



ใบรับรองวิทยานิพนธ์  
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

.....  
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์)  
.....

ปริญญา

.....  
การผลิตสัตว์

สาขา

.....  
สัตวบาล

ภาควิชา

เรื่อง ผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมในอาหารต่อคุณภาพ  
น้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

The Effect of Dietary Superoxide Dismutase and Selenium Supplementation  
on Boar Semen Quality

นามผู้วิจัย นางสาวเสาวลักษณ์ สุวัน

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

.....  
( รองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย, วท.ม. )

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....  
( รองศาสตราจารย์วาณี ชัยวัฒน์สิน, Ph.D. )

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

.....  
( ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุเจตน์ ชื่นชม, Dr.Med.Vet. )

หัวหน้าภาควิชา

.....  
( ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อาตมางกูร, Ph.D. )

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....  
( รองศาสตราจารย์กัญญา วีระกุล, D.Agr. )

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... เดือน ..... พ.ศ. ....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของ  
พ่อพันธุ์สุกร

The Effect of Dietary Superoxide Dismutase and Selenium Supplementation  
on Boar Semen Quality

โดย

นางสาวเสาวลักษณ์ สุวัน

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์)

พ.ศ. 2552

เสาวลักษณ์ สุวัน 2552: ผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและ  
ซีลีเนียมในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร ปรินญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต  
(การผลิตสัตว์) สาขาการผลิตสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:  
รองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย, วท.ม. 53 หน้า

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส  
และซีลีเนียมในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร ใช้พ่อพันธุ์สุกรพันธุ์ครอก จำนวน 15 ตัว อายุ  
เฉลี่ย 24 เดือน แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว พ่อพันธุ์สุกรทุกกลุ่มได้รับอาหาร  
สำหรับเลี้ยงแม่สุกรระยะอู้มท้องเป็นอาหารควบคุมแล้วเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส  
และซีลีเนียม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 อาหารควบคุมไม่เสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียม  
(กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 เสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันและกลุ่มที่ 3  
เสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม จากผลการ  
ทดลองพบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มที่ 2 และ กลุ่มที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์ live sperm สูงกว่าและมีเปอร์เซ็นต์  
cytoplasmic droplet ต่ำกว่าพ่อพันธุ์สุกรในกลุ่มควบคุมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
( $P < 0.05$ ) เมื่อศึกษาความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัมพบว่า พ่อสุกรกลุ่มที่ 3 ที่ระยะเวลา 45 วันของ  
การทดลองมีความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัมสูงกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ 2 แตกต่างกันอย่างมี  
นัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) และการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในซีรัม พบว่า  
พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มที่ 2 และ กลุ่มที่ 3 ที่ระยะเวลา 90 วันของการทดลอง มีเปอร์เซ็นต์การทำงานของ  
เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ  
( $P < 0.05$ ) และพบว่า สีของน้ำเชื้อ ความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของตัวอสุจิ ปริมาตรของน้ำเชื้อ  
จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อ เปอร์เซ็นต์ motile sperm อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยเป็นแนวตรง  
เมื่อเทียบกับการเคลื่อนที่จริงของตัวอสุจิ อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นโค้ง อัตราเร็วในการ  
เคลื่อนที่เป็นเส้นตรงจากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของตัวอสุจิ เปอร์เซ็นต์ progressive movement  
เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติที่ส่วนหัวและส่วนหางของพ่อพันธุ์สุกรทั้ง 3 กลุ่ม แตกต่างกันอย่างไม่มี  
นัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

Saowalak Suwan 2009: The Effect of Dietary Superoxide Dismutase and Selenium Supplementation on Boar Semen Quality. Master of Science (Animal Production), Major Field: Animal Production, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Srisuwan Chomchai, M.S. 53 pages.

The experiment was conducted to investigate the effect of dietary superoxide dismutase and selenium supplementation on boar semen quality. Fifteen Duroc boars, average 24 months of age, were allocated randomly into 3 treatments. Each treatment consisted of five boars. All treatments were fed with gestation sow diet (basal feed). The boars in treatment 1 were provided with basal feed (control group), treatment 2 basal feed + 200 mg. /day of superoxide dismutase and treatment 3 basal feed + 200 mg. /day of superoxide dismutase + 0.3 ppm. of selenium in the diet. The results indicated that the boars in treatment 2 and 3 had higher live sperm and lower cytoplasmic droplet ( $P < 0.05$ ) than control group. Selenium concentration in serum of the boars in treatment 3 at 45<sup>th</sup> day of experiment were higher than control group and treatment 2 ( $P < 0.01$ ). Activity of superoxide dismutase in serum of the boars in treatment 2 and 3 at 90<sup>th</sup> day of the experiment were lower than control group ( $P < 0.05$ ). There were not significant difference ( $P > 0.05$ ) of color, pH, sperm concentration, semen volume, total sperm per ejaculation, motile sperm, average path velocity (VAP), curvilinear velocity (VCL), straight line velocity (VSL), percentage of progressive movement, percentage of abnormal sperm head and tail among treatment.

---

Student's signature

---

Thesis Advisor's signature

\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

## กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
หลัก รองศาสตราจารย์ ดร. วาณี ชัยวัฒนสิน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. สุเจตน์  
ชื่นชม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาด้านการศึกษาตลอดจนการทำ  
วิทยานิพนธ์และข้าพเจ้าขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุริยะ สะวานนท์ ประธานการสอบและ  
รองศาสตราจารย์กษิธิศ อื้อเขียวชาญกิจ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำ การแก้ไข  
วิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ สถาบันสุวรรณวาทกสิกิจ ที่  
เอื้อเฟื้อสถานที่ในการเลี้ยงสัตว์ทดลอง รวมทั้งบุคลากรในศูนย์วิจัยฯ ที่ให้ความช่วยเหลือและ  
อำนวยความสะดวกงานวิจัยแล้วเสร็จ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการคณะสัตวแพทยศาสตร์ วิทยาเขต  
กำแพงแสน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และให้คำแนะนำในการปฏิบัติการทางด้านเอนไซม์

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อจ้งชัย สุวัน คุณแม่เรือนคำ สุวัน ผู้เป็นแบบอย่างของข้าพเจ้า ผู้ที่มี  
ความตั้งใจอย่างยิ่งในการส่งเสริมด้านการศึกษาให้แก่ลูกๆ และคอยเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้าจน  
สำเร็จดังความตั้งใจ ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่อบรมสั่งสอนจนได้สำเร็จการศึกษา  
และขอบคุณพี่น้องและเพื่อนทุกๆ คนที่ทำให้กำลังใจและช่วยเหลือด้วยดีตลอดมา

เสาวลักษณ์ สุวัน

กันยายน 2552

## สารบัญ

## หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	22
อุปกรณ์	22
วิธีการ	24
ผลและวิจารณ์	30
สรุปและข้อเสนอแนะ	41
สรุป	41
ข้อเสนอแนะ	42
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	43
ภาคผนวก	49
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	53

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ค่าปกติของน้ำเชื้อพ่อสุกร	10
2	ชนิดของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต	17
3	ความต้องการซีลีเนียมของสุกรระยะต่างๆ	20
4	ส่วนประกอบอาหารสูตรควบคุม	25
5	การเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์และซีลีเนียมในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร	33
6	การเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสและซีลีเนียมต่อความผิดปกติของตัวอสุจิ	37
7	ผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมต่อความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัม	39
8	ผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในซีรัม	40
<b>ตารางผนวกที่</b>		
1	สูตรสารละลายน้ำเชื้อ NSRTC 4	50

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ภาพตัดขวางของท่อเซมินิเฟอร์สทูนูล	6
2	ขั้นตอนการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้	8
3	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน โดยเอนไซม์ ซูเปอร์ออกไซด์ คิสมิวเตส	13
4	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์แคทตาเลส	13
5	ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์ กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส	14
6	วิธีการสร้างและการกำจัด reactive oxygen species (ROS)	15
7	สมมติฐานของเอนไซม์ xanthine และ xanthine oxidase ต่อการทำงานของ ตัวอสุจิ	18

# ผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสและซีลีเนียมในอาหารต่อ คุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

## The Effect of Dietary Superoxide Dismutase and Selenium Supplementation on Boar Semen Quality

### คำนำ

ปัจจุบันการเลี้ยงสุกรในประเทศไทยได้พัฒนาการเลี้ยงเป็นอุตสาหกรรมมากขึ้น และฟาร์มต่างๆ ได้นำเทคโนโลยีการผสมเทียมมาใช้แทนการผสมแบบธรรมชาติ ดังนั้นพ่อพันธุ์สุกรจึงมีบทบาทสำคัญในการผสมพันธุ์ จะทำอย่างไรให้พ่อพันธุ์สุกรสามารถให้น้ำเชื้อที่มีคุณภาพดีที่สุด เพื่อจะสามารถผลิตน้ำเชื้อได้มากที่สุด คุณภาพน้ำเชื้อที่ดีมีผลมาจากการที่เซลล์อสุจิมีชีวิตรอดสูง และมีความแข็งแรงในการเคลื่อนไหวดี ซึ่งเกิดจากสภาพแวดล้อมของเซลล์อสุจิ กระบวนการสร้างปราศจากหรือมีอนุมูลอิสระน้อยที่สุด เอนไซม์ที่มีฤทธิ์เป็นแอนติออกซิแดนซ์เอนไซม์ ตัวอย่างเช่น ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase, SOD) แคทตาเลส เปอร็อกซิเดส (catalase peroxidase) ที่ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ สารเหล่านี้เรียกว่า แอนติออกซิแดนซ์ กลุ่มของสารตัวกลางออกซิเจนที่มีความว่องไวสูงเหล่านี้เป็นพิษต่อเซลล์ โดยสามารถทำอันตรายต่อสารชีวโมเลกุลในเซลล์ไม่ว่าจะเป็น DNA โปรตีน หรือกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (polyunsaturated fatty acid) ซึ่งเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง และมีความไวต่อการเกิดลิปิด เปอร็อกซิเดชัน ทำให้เกิดอันตรายต่อเซลล์อสุจิ ส่งผลให้คุณภาพน้ำเชื้อที่ได้จากพ่อพันธุ์สุกรมีคุณภาพลดลง นอกจากนี้การเสริมแร่ธาตุบางอย่างเช่น ซีลีเนียม ก็มีความสำคัญต่อโครงสร้างของเซลล์อสุจิ เนื่องจากซีลีเนียมจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการทางเคมีต่าง ๆ โดยร่างกายจะนำแร่ธาตุไปใช้ประโยชน์เพื่อเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อในร่างกาย และยังเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร็อกซิเดส ซึ่งมีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งบริเวณส่วนหัวและส่วนกลางของเซลล์อสุจิเป็นส่วนที่เปราะบางเนื่องจากประกอบด้วย กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง อาจถูกทำลายได้ง่ายด้วยอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นภายในร่างกาย ส่งผลต่อความผิดปกติของเซลล์อสุจิ คุณภาพน้ำเชื้อที่ได้จากพ่อพันธุ์สุกรมีคุณภาพลดลง ความแข็งแรงและการเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิลดลง โดยเฉพาะอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจน ได้แก่ อนุมูลอิสระของซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน การทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเกี่ยวกับการให้เอนไซม์

ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในรูปซีลีโนเมทไธโอนีนในอาหารฟอพันธุสุกรว่าจะมีผล  
อย่างไรต่อคุณภาพน้ำเชื้อของฟอพันธุสุกร

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร
2. เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมในอาหารต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัม

## การตรวจเอกสาร

### น้ำเชื้อ

#### 1. องค์ประกอบของน้ำเชื้อ

น้ำเชื้อประกอบด้วย 2 ส่วน ส่วนแรก คือ ส่วนของตัวอสุจิ (spermatozoa) โดยตัวอสุจิเกิดจากกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ซึ่งตัวอสุจิจะถูกสร้างขึ้นมาเมื่ออายุได้ 80-150 วัน และสามารถหลั่งน้ำเชื้อได้เมื่ออายุ 5.5-6 เดือน ส่วนที่สอง ประกอบด้วยส่วนของน้ำกาม (seminal plasma) (ศรีสุวรรณ, 2542) สร้างมาจากต่อมร่วมสร้างน้ำกามต่างๆ ได้แก่ ต่อมน้ำกาม (seminal vesicles) ต่อมนี้ผลิตของเหลวออกมา 20 เปอร์เซ็นต์ของน้ำกาม ซึ่งของเหลวที่ผลิตออกมาประกอบด้วย น้ำตาลฟรุกโตสและซอบิทอล นอกจากนี้ยังมีโปรตีน โปแตสเซียม กรดซิตริก สำหรับต่อมลูกหมาก (prostate gland) ทำหน้าที่ผลิตน้ำล้างท่อปัสสาวะและแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น โซเดียม โคลีน และยังมีผลิตสารละลายป้องกันตัวอสุจิจากการถูกจับกันให้เป็นปึก และต่อมข้างท่อปัสสาวะ (Cowper's glands หรือ bulbo urethral glands) ต่อมนี้จะผลิตสารหล่อลื่น เหนียวใส เพื่อสำหรับชะล้างท่อปัสสาวะก่อนที่น้ำเชื้อจะผ่านออกและยังผลิตเม็ดสาคูเพื่ออุดตันปากช่องคลอดของแม่สุกรไม่ให้ให้น้ำเชื้อไหลกลับหลังการผสมพันธุ์ (ศรีสุวรรณ, 2542)

1.1 อสุจิ (sperm) เกิดจากกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatogenesis) เกิดขึ้นในท่อเซมินิเฟอรัสทิวบูล (seminiferous tubules) ที่อยู่ในอัณฑะ รูปร่างปกติของตัวอสุจิประกอบด้วยส่วนหัวและหาง

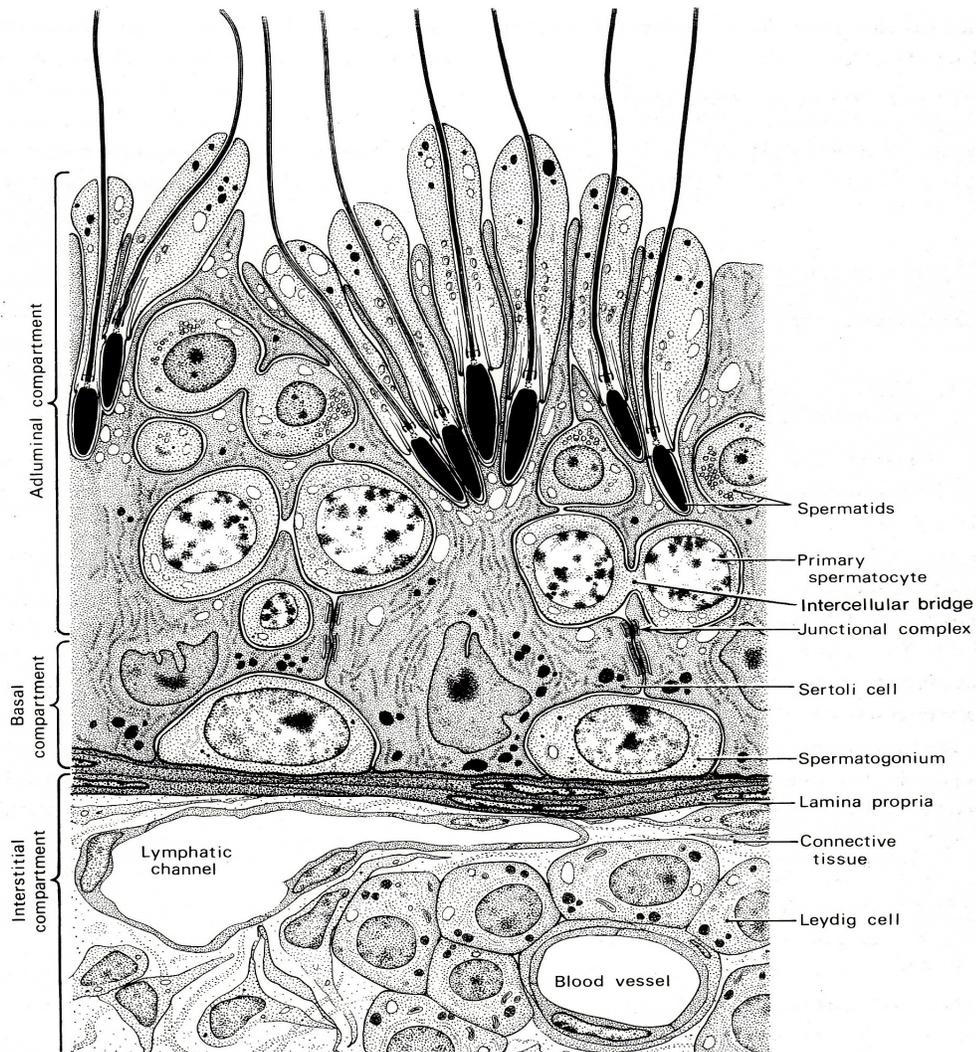
1.1.1 ส่วนหัวของตัวอสุจิ ประกอบด้วยส่วนนิวเคลียส (nucleus) ภายในนิวเคลียสจะเป็นโครโมโซม ซึ่งเป็นจำนวน  $1n$  เท่านั้น นิวเคลียสของตัวอสุจิจะถูกห่อหุ้มบริเวณส่วนท้ายของหัวด้วยส่วนโพสตันิวเคลียร์แคป (post nuclear cap) และบริเวณส่วนหัวของนิวเคลียสจะถูกห่อหุ้มด้วยอะโครโซม (acrosome) ภายในอะโครโซมมีเอนไซม์ที่สำคัญ เช่น เอนไซม์ไฮยาลูโรนิเดส (hyaluronidase) และเอนไซม์อะโครซิน (acrosin) (Senger, 1999) เอนไซม์เหล่านี้ตัวอสุจิจะใช้ย่อยสลายผนังหุ้มไข่ส่วนที่เป็นเซลล์หุ้มหนาหลายชั้นของกลุ่มเซลล์โคโรนา เรดิเอต้า (corona radiata) และชั้นโซนินาเพลลูซิเด้า (zona pellucida) ให้เข้าไปปฏิสนธิกับไข่ได้ (สุรชัย, 2545)

1.1.2 ส่วนหางของตัวอสุจิ ประกอบด้วย หางส่วนมิดพีซ (mid piece) หรือมิดเคิลพีซ (middle piece) จะมีไมโทคอนเดรียชีท (mitochondria sheath) ถูกสร้างมาจากไมโทคอนเดรีย (mitochondria) เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของส่วนมิดพีซเนื่องจากมีเอนไซม์ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทางเคมีในการสลายน้ำตาลฟรุกโตส (fructose) ในน้ำกามให้กลายเป็นพลังงานเอทีพี (ATP) ที่ตัวอสุจิสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ หางส่วนเมนพีซ (main piece) หรือพริซิเพิลพีซ (principal piece) และหางส่วนเอนพีซ บริเวณกึ่งกลางจะมีเส้นใยไฟบริล (fibril) อยู่ 1 คู่ เรียกว่า เซ็นทรัลไฟบริล (central fibril) ซึ่งจะถูกล้อมรอบด้วยเส้นใยไฟบริลละเอียดอันเล็กอีก 9 คู่ ไปจนตลอดถึงหางส่วนเมนพีซ บริเวณหางส่วนมิดพีซจะมีเส้นใยไฟบริลขนาดใหญ่รอบรอบเป็นวงนอกสุด 9 อัน การขยับตัวของไฟบริลเหล่านี้ทำให้ตัวอสุจิขยับตัวเคลื่อนที่ไปข้างหน้าได้ (สุรชัย, 2545)

1.2 น้ำกาม (seminal plasma) เป็นสารละลายที่ผลิตขึ้นจากเซลล์ภายในลูกอั้นทะ ท่ออีพิดิไดมิส (epididymis) ท่อนำส่งอสุจิ (vas deferens) ต่อมน้ำกาม (seminal vesicles) ต่อมลูกหมาก (prostate gland) ต่อมข้างท่อปัสสาวะ (cowper's glands หรือ bulbo urethral glands) (สุรชัย, 2545) หน้าที่ของน้ำกาม คือ เป็นแหล่งสารอาหารและพลังงานของตัวอสุจิ ช่วยในการเคลื่อนย้ายตัวอสุจิไปยังมดลูก (Robertson, 2007)

## 2. กระบวนการสร้างตัวอสุจิ

กระบวนการสร้างตัวอสุจิ (spermatogenesis) เป็นกระบวนการที่สเปออร์มาโตโกเนีย (spermatogonia) มีการพัฒนาจนกลายเป็นสเปออร์มาโตซัว (spermatozoa) กระบวนการดังกล่าวเกิดขึ้นใน ท่อเซมินิเฟอร์สทิวบูลที่อยู่ในอั้นทะ (สุรชัย, 2545) ท่อเซมินิเฟอร์สทิวบูล มีลักษณะเป็นท่อเล็ก ๆ ขดไปมาอยู่ภายในลูกอั้นทะ ภายในท่อเซมินิเฟอร์สทิวบูล ประกอบด้วย เจิมเซลล์ (germ cell) หรือ สเปออร์มาโตโกเนีย มีขนาดเล็กและมีจำนวนมาก เซอร์โทไลเซลล์ (sertoli cell) มีขนาดใหญ่และมีปริมาณน้อย ซึ่งเซลล์เหล่านี้ทำหน้าที่ผลิตตัวอสุจิโดยจะผลิตตลอดเวลา (ศรีสุวรรณ, 2542) ส่วนของท่อเซมินิเฟอร์สทิวบูล แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ของ สเปออร์มาโตโกเนีย ที่อยู่ใกล้ เซอร์โทไลเซลล์ การสร้าง สเปออร์มาโตซัวเกิดขึ้นบริเวณผนังเซลล์ของ ท่อเซมินิเฟอร์สทิวบูล ใกล้เยื่อบุผิวเบสเม้นท์ เมมเบรน ซึ่งเป็นบริเวณที่ สเปออร์มาโตโกเนีย เริ่มมีการแบ่งตัว และได้เป็น ไพรมารี สเปออร์มาโตไซต์ (primary spermatocyte) เซคันดารี สเปออร์มาโตไซต์ (secondary spermatocyte ) สุดท้ายได้เป็น สเปออร์มาทิด (spermatid) (Senger, 1999) ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ภาพตัดขวางของท่อเซมินิเฟอร์สทิวบูล

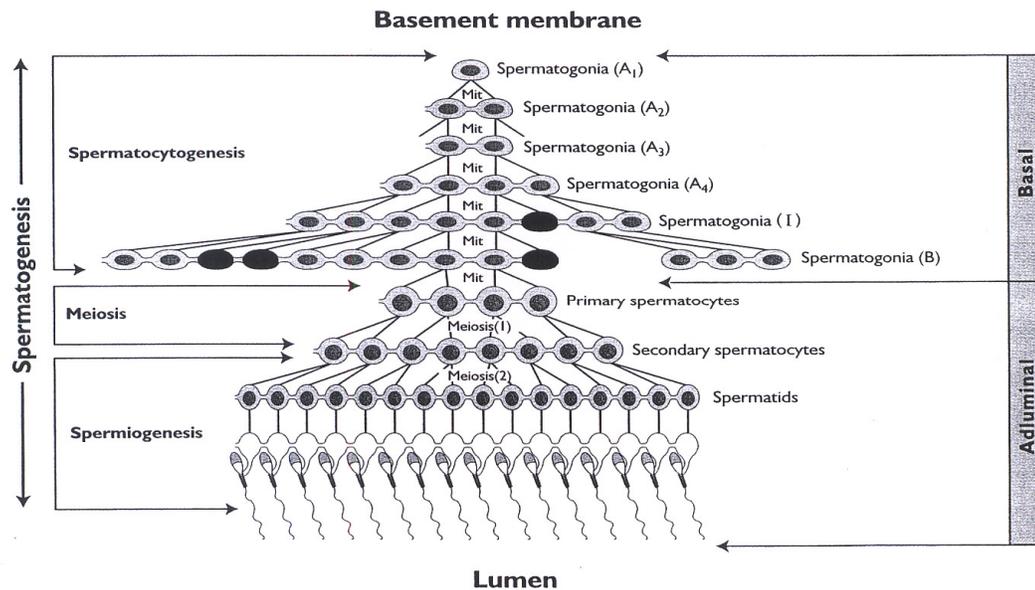
ที่มา: Senger (1999)

สุกรเพศผู้จะเริ่มผลิตตัวอสุจิขั้นแรก (primary spermatocyte) ในลูกอ้นทะเลเมื่ออายุได้ประมาณ 3 เดือน หลังจากเกิดมาแล้ว การผลิตอสุจิขั้นที่ 2 (secondary spermatocyte) เมื่อเริ่มอายุได้ประมาณ 4-5 เดือน และจะมีตัวอสุจิปรากฏขึ้นเมื่ออายุประมาณ 5-6 เดือน และอสุจิระยะนี้จะไม่สมบูรณ์ เมื่ออายุได้ประมาณ 6-7 เดือน จะเริ่มมีตัวอสุจิที่สมบูรณ์พันธุ์แล้ว แต่มีปริมาณน้อยอยู่ ถ้าหากตรวจพบอสุจิของสุกรเพศผู้เมื่ออายุเท่าไรจะแสดงถึงการย่างเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ (Puberty) ของสุกร (ศรีสุวรรณ, 2542) อัตราการผลิตตัวอสุจิในสุกรจะมีประมาณ 25-30 ล้านตัวต่อกรัมของเนื้อลูกอ้นทะเลต่อวัน และเมื่อคิดคำนวณเป็นต่อวันมีการผลิตตัวอสุจิในพ่อสุกรประมาณ 5,600-14,000 ล้านตัวต่อวัน (อรณพ, 2545) กระบวนการสร้างตัวอสุจิเกิดขึ้นในท่อเซมินิเฟอร์สทิวบูล ที่อยู่ในอ้นทะเล

การสร้างตัวอสุจิของพ่อสุกรทั้งหมดกินเวลา 34.4 วัน และการเคลื่อนย้ายตัวอสุจิไปพักยังท่ออีพิดิไดมิส (epidymis) จะใช้เวลา 9-12 วัน (ศรีสุวรรณ, 2542) กระบวนการสร้างตัวอสุจิแบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

## 2.1 ระยะเวลาการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatocytogenesis)

กระบวนการนี้เริ่มจากในตอนที่ยังตัวอ่อน มีการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์ขึ้นมา เมื่อเข้าสู่วัยหนุ่มสาว ในสัตว์เพศผู้จะมีเซลล์สืบพันธุ์ดั้งเดิม (gonocyte) อยู่ในอวัยวะที่บริเวณท่อผลิตอสุจิ เซลล์สืบพันธุ์ดั้งเดิมเหล่านี้เจริญขึ้นเป็นสเปออร์มาโตโกเนีย โดยมี 3 ชนิดใหญ่ๆ คือ ชนิดเอ (A-spermatogonia) ชนิดไอ (I-spermatogonia) และชนิดบี (B-spermatogonia) สเปออร์มาโตโกเนียชนิด A<sub>0</sub> แบ่งตัวได้สเปออร์มาโตโกเนียชนิด A<sub>1</sub> ถึง ชนิด A<sub>4</sub> ต่อจากนั้นสเปออร์มาโตโกเนียชนิด A<sub>4</sub> แบ่งตัวไปเป็นสเปออร์มาโตโกเนียชนิดไอ แล้วจึงเจริญไปเป็นสเปออร์มาโตโกเนียชนิดบี เป็นการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิส (mitosis) ซึ่งจะแบ่งตัวอย่างน้อย 1 ครั้ง แล้วจึงกลายเป็นไปพรมาตีสเปออร์มาโตไซต์ และเจริญเป็นเซคันดารี สเปออร์มาโตไซต์ และจะมีการลดโครโมโซมในนิวเคลียสลงมาครึ่งหนึ่ง ทำให้เซคันดารี สเปออร์มาโตไซต์มีโครโมโซมเป็นครึ่งหนึ่ง (haploid) ของเซลล์ร่างกาย ซึ่งเซคันดารี สเปออร์มาโตไซต์มีการแบ่งตัวอีกครั้ง โดยไม่มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมกลายเป็น สเปออร์มาทิด (พริกคัก, 2548; Senger, 1999) ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้

ที่มา: Senger (1999)

## 2.2 ระยะเวลาเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอสุจิ (spermiogenesis)

ในระยะเวลาการเป็นการเจริญของสเปิร์มาทิดไปเป็นตัวอสุจิ โดยมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง มีการสร้างหางและอะโครโซม (acrosome) สุรชัย (2545); พีรศักดิ์ (2548); Senger (1999) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอสุจิแบ่งได้เป็น 4 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 กอลจิเฟส (golgi phase) เป็นระยะแรกในการพัฒนาอะโครโซมโดยมีการรวมกลุ่มของเม็ดขนาดเล็ก (granule) ซึ่งอยู่ในกอลจิ แอปพาราตัส (golgi apparatus) กลายเป็นเม็ดอะโครโซม (acrosome granule) ติดกันอยู่รอบๆ นิวเคลียสของสเปิร์มาทิด และระยะนี้ก็จะเริ่มมีการเจริญของหางในด้านตรงข้ามกับเม็ดอะโครโซม

ระยะที่ 2 แคปเฟส (cap phase) ระยะนี้กลุ่มเม็ดอะโครโซม จะมีการกระจายล้อมรอบนิวเคลียสของสเปิร์มาทิด เป็นชั้นบางๆ 2 ชั้น มีลักษณะคล้ายหมวก กั้นเนื้อที่ประมาณ 2 ใน 3 ของนิวเคลียส และมีการเจริญของหาง (axoneme) เพิ่มมากขึ้น โดยพรอกซิมอล เซนทริโอล (proximal centriol) เป็นส่วนที่เชื่อมส่วนหัวของตัวอสุจิเข้ากับส่วนหางและดิสตัล เซนทริโอล (distal centriol)

จะก่อรูปเป็นหางโดยมีการบีบยาวออกมา โดยมีโครงสร้างเป็นท่อใหญ่ตรงกลาง 1 ท่อ และท่อเล็ก ๆ 9 ท่อ ล้อมรอบ

ระยะที่ 3 อะโครโซมเฟส (acrosome phase) ในระยะนี้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของนิวเคลียส อะโครโซมและหาง โดยนิวเคลียสจะเคลื่อนตัวจากตำแหน่งที่อยู่ในบริเวณจุดศูนย์กลางมาอยู่ที่บริเวณขอบของเซลล์ มีการรวมตัวของโครมาทิน (chromatin) และมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของนิวเคลียสจากรูปกลมให้เป็นรูปยาวขึ้นและแบนลง อะโครโซมจะเปลี่ยนรูปร่างไปตามการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสและยังคงมีลักษณะเป็นหมวกหุ้มนิวเคลียสอยู่เช่นเดิม การเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียสถูกควบคุมโดยเซลล์เซอร์โทไล ซึ่งส่งผลทำให้สเปิร์มาทิดในสัตว์ชนิดต่าง ๆ มีส่วนหัวของอสุจิแตกต่างกันออกไปเป็นลักษณะเฉพาะตัว

สำหรับการเปลี่ยนแปลงที่นิวเคลียส ส่วนหางมีการเจริญขึ้นโดยไซโทพลาสซึมของเซลล์มีการเคลื่อนไปทางส่วนท้ายและห่อหุ้มหางเป็นรูปทรงกระบอก ในส่วนของไซโทพลาสซึมจะมีท่อเล็ก ๆ อยู่ เรียกไซโทพลาสซึมและท่อเล็ก ๆ รวมกันว่า แมนเชตเท (manchette) เป็นส่วนที่ต่อมาจากด้านท้ายของอะโครโซม ส่วนนี้จะห่อหุ้มส่วนหางไว้อย่างหลวมๆ และในแมนเชตเทนั้นมีโครงสร้างที่เป็นไซโทพลาสซึมที่เรียกว่า โครมาทินบอดี (chromatin body) ซึ่งรวมกลุ่มกันและหนาตัวขึ้นรอบ ๆ หาง ส่งผลให้เกิดเป็นวงแหวน เรียกว่า แอนนูลัส (annulus) ซึ่งจะเกิดขึ้นใกล้กับ พรอกซิโมล เซนทริโอล และจะค่อยๆ เคลื่อนตัวมาทางท้ายของส่วนหาง สำหรับไมโทคอนเดรียซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของเซลล์จะกระจายอยู่ทั่วไปในไซโทพลาสซึม และรวมตัวกันใกล้บริเวณส่วนหางกลายเป็นแผ่นอยู่รอบหางส่วนมิดพิชของสเปิร์มาทิด

ระยะที่ 4 แมนทูเรชันเฟส (maturation phase) ในระยะนี้มีการพัฒนาเพื่อให้โตเต็มวัย เช่น เกิดการหุ้มของไมโทคอนเดรียซิท และการเจริญของไฟบรัสซิท หุ้มพันรอบหาง ในระยะนี้ถ้าตัวอสุจิยังเกาะติดอยู่กับเซลล์เซอร์โทไล จะยังมีไซโทพลาสซึม ครอบเลท (cytoplasmic droplet) บริเวณหางส่วนมิดพิช และจะสลายตัวไปเมื่อเคลื่อนตัวหลุดออกจากเซลล์เซอร์โทไลเพื่อผ่านไปยังท่ออีพิดีไดมิส

### 3. คุณภาพของน้ำเชื้อ

คุณภาพของน้ำเชื้อมีความสำคัญต่อการนำไปใช้ประโยชน์ การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อจึงเป็นการประเมินคุณภาพของอสุจิ โดยอาศัยลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ ปริมาตร สี ความเป็นกรดเป็นด่าง อสุจิที่เคลื่อนไหวได้หรือมีชีวิต ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ ความผิดปกติของตัวอสุจิ โดยการย้อมสีเพื่อ ดูตัวเป็น ตัวตาย และเพื่อดูรูปร่างและความผิดปกติของตัวอสุจิ โดยปกติแล้วน้ำเชื้อสดจะพบความผิดปกติของตัวอสุจิประมาณร้อยละ 20 และสำหรับน้ำเชื้อแช่แข็งพบความผิดปกติของตัวอสุจิประมาณร้อยละ 50 ความผิดปกติที่พบบ่อยคือ บริเวณอะโครโซม (ศรีสุวรรณ, 2542) โดยค่าปกติของน้ำเชื้อพ่อสุกร เป็นค่าที่บ่งชี้หลังจากการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อซึ่งมีความผิดปกติไปจากน้ำเชื้อทั่วไปหรือไม่ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่าปกติของน้ำเชื้อพ่อสุกร

	ค่าเฉลี่ย	ช่วง
ปริมาตร (มล.)	250	100-500
ความเป็นกรดต่าง	7.5	7.3-7.8
ความเข้มข้น (ล้านตัว ต่อ มล.)	100	25-300
ตัวอสุจิทั้งหมดต่อการหลัง ( $10^9$ )	25	10-100
การเคลื่อนไหวเฉพาะตัว (%)	70	60-90
ตัวอสุจิปกติ (%)	ไม่น้อยกว่า 80	70-90
ตัวอสุจิผิดปกติ (%)	ไม่เกิน 20	5-20
- ความผิดปกติของส่วนหัว (%)	3	2-5
- มีความผิดปกติของส่วนกลางลำตัว (%)	3	2-5
- ความผิดปกติของส่วนหาง (%)	2.5	1-5
- มีหยดน้ำ (%)	2.5	1-5

ที่มา: อรรถนพ (2545)

### 3.1 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ

3.1.1 อายุของพ่อพันธุ์สุกรมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการผลิตน้ำเชื้อ ซึ่งการหลั่งน้ำเชื้อในสุกรหนุ่มโตเต็มวัยจะมากกว่าสุกรหนุ่มที่มีอายุน้อยกว่า 9 เดือนในเรื่องของปริมาตร ความเข้มข้นของเซลล์อสุจิ และปริมาณน้ำเชื้อที่เจือจางได้ ดังนั้นการรีดน้ำเชื้อควรเลือกทำกับสุกรหนุ่มที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่และมีความสมบูรณ์พันธุ์ เพื่อที่จะได้น้ำเชื้อที่มีคุณภาพที่ดีและยังส่งผลให้สุกรพ่อพันธุ์มีอายุการใช้งานนานขึ้น (ศรีสุวรรณ, 2542; Cole *et al.*, 1990)

3.1.2 ความถี่ในการรีดน้ำเชื้อ การรีดน้ำเชื้อไม่ควรรีดบ่อยเกินไป เพราะถ้าหากรีดน้ำเชื้อบ่อยเกินไปจะทำให้ปริมาณน้ำเชื้อลดลงรวมถึงมีเซลล์อสุจิที่ผิดปกติมากขึ้น และหากมีการรีดน้ำเชื้อไม่สม่ำเสมอ หรือพักการรีดนาน ถึงแม้จะได้น้ำเชื้อที่มีปริมาณมาก มีความเข้มข้นสูงแต่มักพบเซลล์อสุจิตายมาก ดังนั้นจึงควรรีดเป็นประจำ สม่ำเสมอ การรีดน้ำเชื้อสามารถทำได้ 1-2 ครั้งต่อสัปดาห์โดยไม่มีผลต่อจำนวนเซลล์อสุจิ (ศรีสุวรรณ, 2542)

3.1.3 อุณหภูมิ โดยปกติแล้วในคอกพ่อพันธุ์จะเป็นโรงเรือนปิดที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ เพราะอุณหภูมิที่สูงจะมีผลให้เกิดความเครียดเนื่องจากความร้อนในพ่อสุกรและยังส่งผลต่อกระบวนการสร้างเซลล์อสุจิของพ่อสุกร รวมถึงการลดลงของเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่และการเพิ่มขึ้นของจำนวนอสุจิที่มีรูปร่างผิดปกติ และถ้าหากในคอกรีดน้ำเชื้อมีอุณหภูมิสูงอาจจะส่งผลให้เซลล์อสุจิในน้ำเชื้อที่รีดได้ตายมากขึ้น (ศรีสุวรรณ, 2542; Hughes and Varley, 1990; Cole *et al.*, 1990)

3.1.4 อาหารสำหรับพ่อพันธุ์สุกร อาหารมีความจำเป็นมากสำหรับพ่อพันธุ์สุกร ซึ่งพ่อสุกรที่รีดน้ำเชื้อจำเป็นต้องได้รับอาหารที่มีความเข้มข้นของโภชนะสูง รวมถึงได้รับวิตามินแร่ธาตุที่จำเป็นต่อกระบวนการสร้างเซลล์อสุจิ และความสมบูรณ์พันธุ์ในพ่อสุกร ซึ่ง Louis *et al.* (1994) ได้รายงานว่า การได้รับสารอาหารประเภทโปรตีนโดยการกินในระดับต่ำมีผลทำให้ปริมาตรของน้ำเชื้อลดลง

3.1.5 ความสกปรกและแบคทีเรีย ความสกปรกและแบคทีเรียที่อาจปะปนมากับน้ำเชื้อ ภายหลังจากรีดเก็บน้ำเชื้อ จะทำให้การมีชีวิตของตัวอสุจิสั้นลงและทำให้อสุจิตายได้ ภายหลังจากรีดต้องรีบปิดปากภาชนะที่รองเก็บน้ำเชื้อ (ศรีสุวรรณ, 2542)

#### 4. อนุมูลอิสระ

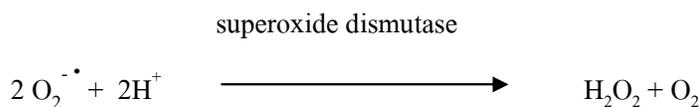
อนุมูลอิสระเป็นอะตอมหรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอย่างน้อย 1 ตัวอยู่ในออร์บิทัลวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง อนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้เมื่อพันธะระหว่างอะตอมแตกออกและมีอิเล็กตรอนเดี่ยวหลงเหลือ อิเล็กตรอน เดี่ยวนี้ทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรต่ำและพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่น ดังนั้นอนุมูลอิสระจึงมีคุณสมบัติเฉพาะ คือ มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาสูงจึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบๆ โดยดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียงเพื่อให้ตัวมันเสถียร โมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่ไม่เสถียร และเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไป ซึ่งลิวคิล โปรตีนและดีเอ็นเอ เป็นสารชีวโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจนที่หลุดออกโดยง่าย ทำให้อนุมูลอิสระเข้าไปทำปฏิกิริยาโดยเข้าไปจับคู่กับอิเล็กตรอนของชีวโมเลกุล ทำให้คุณสมบัติและการทำงานของชีวโมเลกุลเปลี่ยนไป (โอภา, 2550)

อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญและมีผู้ศึกษากันมาก คือ อนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจน ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน ( $O_2^{\cdot -}$ ) และอนุมูลไฮดรอกซี ( $\cdot OH$ ) เนื่องจากอนุมูลอิสระเข้าไปเกี่ยวข้องกับกระบวนการสลายของเซลล์ต่าง ๆ ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระจะเกิดขึ้นตลอดเวลาในร่างกายและขณะเดียวกันร่างกายก็ควบคุมระดับของอนุมูลอิสระโดยอาศัยสารประกอบต่าง ๆ ที่ทำหน้าที่หยุดปฏิกิริยาถูกโซ่ของอนุมูลอิสระ สารเหล่านั้นเรียกว่า แอนติออกซิแดนซ์ ได้แก่ เอนไซม์ ซึ่งมีฤทธิ์เป็นแอนติออกซิแดนซ์เอนไซม์ ตัวอย่างเช่น ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) แคทตาเลส เปอร์ออกซิเดส (catalase peroxidase) และ กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) (ปราณี, 2547)

##### 4.1 สารต้านอนุมูลอิสระ

เซลล์ประกอบไปด้วยเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ และ โมเลกุลต้านอนุมูลอิสระ (Ames *et al.*, 1995; Yu, 1994) ซึ่งประกอบด้วย

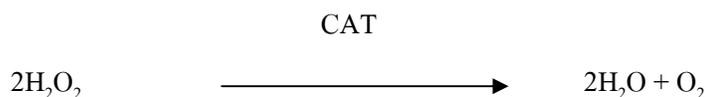
4.1.1 เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ซึ่งเร่งปฏิกิริยา dismutation ของ  $O_2^{\cdot -}$  ไปเป็น  $H_2O_2$  และ เอนไซม์แคทตาเลส เปอร์ออกซิเดส และกลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส ซึ่งเปลี่ยน  $H_2O_2$  ไปเป็น น้ำ



**ภาพที่ 3** ปฏิกิริยาการเปลี่ยนซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน โดยเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส  
ที่มา: วิชัย (2545)

#### 4.1.2 แคทตาเลส (catalase)

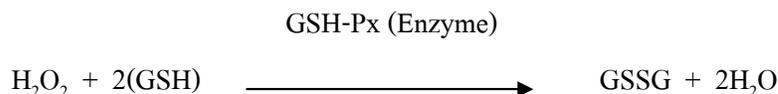
เป็นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ที่มีโครงสร้างเป็น homotetrameric protein (MWt., 240 kDa) (Fridovich and Freeman, 1986) ทำหน้าที่เปลี่ยน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำ และ ออกซิเจน



**ภาพที่ 4** ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์แคทตาเลส  
ที่มา: Fridovich and Freeman (1986)

#### 4.1.3 กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (Glutathione peroxidase, GPx)

กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส อยู่ในตระกูลของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่มีซีลีเนียม เป็นองค์ประกอบ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่อยู่ภายในเซลล์ และนอกเซลล์ โดยทั่วไปกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส มีโครงสร้างเป็น tetrameric protein (MWt, 85 kDa) ต้องการซีลีเนียม 4 โมเลกุล จับตัวกันเป็น seleno-cysteine ซึ่งเป็นบริเวณที่เร่งปฏิกิริยา กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส จะรีดิวซ์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็น น้ำ ดังภาพที่ 5 ปฏิกิริยารีดักชันของออกซิไดซ์ ไคซัลไฟด์ กลูตาไธโอน (GSSG) จะถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์กลูตาไธโอนรีดักเทสตามวิถีกลูตาไธโอน วิถีกลูตาไธโอนจะเกิดขึ้นเพื่อเป็นกลไกการป้องกันของเซลล์และการป้องกันการสูญเสียของหมู่ไทอลภายในเซลล์ (Heffner anf Repine, 1989)



ภาพที่ 5 ปฏิกริยาการเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส  
ที่มา: ปราณ (2547)

#### 4.2 การเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในเยื่อหุ้มเซลล์

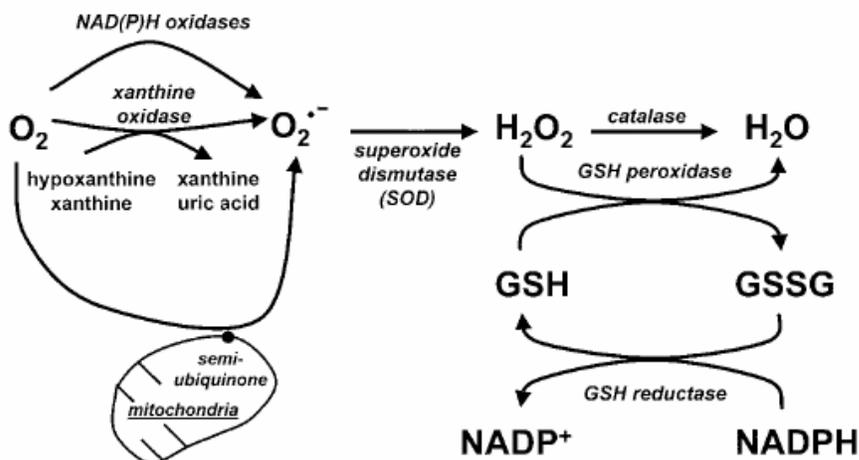
ในกรณีที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของร่างกาย อนุมูลอิสระจะเข้าทำลายกรดไขมันสายยาวชนิดที่ไม่อิ่มตัวของเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดเป็นอนุมูลอิสระไขมันเปอร์ออกไซด์ (lipid peroxy radical) จากนั้นอนุมูลอิสระไขมันเปอร์ออกไซด์ จะเข้าไปทำลายโครงสร้างและการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ที่เป็น โปรตีนและส่วนอื่นให้เปลี่ยนแปลง ซึ่งผลจากการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันสามารถทำให้โครงสร้างและการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์ที่เป็นโปรตีนเปลี่ยนแปลงได้ ทำให้สูญเสียการควบคุมแคลเซียมไอออน (calcium ion) ภายในเซลล์จากการทำงานของเอนไซม์แคลเซียมไอออนเอทีพีเอส (calcium ion ATPase) ซึ่งนำไปสู่การตายของเซลล์ อนุมูลอิสระและไขมันเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นภายในเซลล์สามารถออกซิไดซ์โปรตีนและดีเอ็นเอภายในเซลล์ ขณะที่การปล่อยอนุมูลอิสระสู่ภายนอกเซลล์สามารถทำความเสียหายให้กับเซลล์ข้างเคียงได้ (Bottje *et al.*, 1995)

#### เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

##### 1. คุณสมบัติทั่วไปของซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (Superoxide dismutase)

สารตัวกลางออกซิเจนที่มีความว่องไวในการทำปฏิกิริยากับสารอื่นได้แก่ hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ) และ superoxide radical ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) กลุ่มของสารตัวกลางออกซิเจนที่มีความว่องไวสูงเหล่านี้เป็นพิษต่อเซลล์ โดยสามารถทำอันตรายต่อสารชีวโมเลกุล ในเซลล์ ไม่ว่าจะเป็น DNA โปรตีน หรือกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง (polyunsaturated fatty acid) ซึ่งพบเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ จะเกิดลิปิด เปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) ทำให้สายของกรดไขมันนั้นเกิดการแตกแยกมีผลต่อการเกิดการทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์

เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิเตส เป็นเอนไซม์ที่พบในไซโทพลาสซึมของเซลล์ และได้จำแนกเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิเตสตามชนิดของไอออนโลหะที่อยู่ในบริเวณเร่ง คือ Cu/Zn-SOD, MnSOD และ FeSOD (ปราณี, 2547) ซึ่งมีหน้าที่ในการเปลี่ยนอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และออกซิเจน แต่  $H_2O_2$  ยังคงมีพิษต่อเซลล์อยู่ จึงต้องใช้เอนไซม์แคตาเลส (catalase) เปลี่ยน  $H_2O_2$  ให้เป็นน้ำและออกซิเจน ถึงแม้ว่า  $H_2O_2$  จะไม่ใช่อนุมูลอิสระแต่ก็สามารถทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับเซลล์อื่น ๆ ต่อไปได้ ซึ่ลิเนียมส่วนมากอยู่ในรูป glutathione peroxidase (GSH-Px) โดย GSH-Px จะไปมีผลต่อการลด hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ แชนทีน ออกซิเดส (xanthine oxidase) จะกระตุ้นการสร้างซูเปอร์ออกไซด์ เรดิคัล โดยเปลี่ยนจากไฮโปแซนทีน (hypoxanthine) ไปเป็นแซนทีน (xanthine) และแซนทีน ไปเป็นกรดยูริก และเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิเตสจะเปลี่ยน ซูเปอร์ออกไซด์ เรดิคัล ไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อาจจะถูกเปลี่ยนไปเป็น น้ำ โดยเอนไซม์ แคตาเลส (catalase, CAT) หรือกลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase, GPx) (ภาพที่ 6) ซึ่งในปฏิกิริยาของเอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส กลูตาไธโอน (glutathione, GSH) จะถูกออกซิไดซ์ไปเป็นกลูตาไธโอนไดซัลไฟด์ (glutathione disulfide) ซึ่งสามารถเปลี่ยนกลับมาเป็นกลูตาไธโอนโดยเอนไซม์กลูตาไธโอนรีดักเทส (glutathione reductase) โดยใช้ไนโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ ฟอสเฟต (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) จากกระบวนการ pentose phosphate pathway



ภาพที่ 6 วิธีการสร้างและการกำจัด reactive oxygen species (ROS)

ที่มา: Dorge (2002)

เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิเตส จำเป็นต่อทุกๆเซลล์ในร่างกายและมีความสำคัญในการป้องกันเซลล์จากการเกิดความเครียดจากภาวะออกซิเดชัน เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิเตส ได้แก่

คอปเปอร์ซิงค์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (copper zinc superoxide dismutase, CuZnSOD) แมงกานีส ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (MnSOD) เอ็กตราเซลล์ลูลาร์ ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (ECSOD) (Irfan *et al.*, 2006) เหล็กซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (Iron Superoxide dismutase, FeSOD) (โอภา, 2550) โดยจะมีลักษณะการทำงานที่เหมือนกันโดยเร่งปฏิกิริยาดิสมิวเตชัน (dismutation reaction) ของซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน ไปเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

1.1 คอปเปอร์ ซิงค์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (Copper Zinc superoxide dismutase, Cu Zn-SOD) พบมากในไซโทซอล (Crapo *et al.*, 1980) มีโครงสร้างเป็น homodimeric protein (MWt, 32.5 kDa) และต้องการทั้งทองแดง และสังกะสี ที่บริเวณเร่งปฏิกิริยา (active site) (Fridovich and Freeman, 1986) ทองแดงมีความจำเป็นสำหรับการเร่งปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ และ สังกะสี ทำหน้าที่รักษาโครงสร้างของโปรตีนให้มีสภาพคงที่ (Fridovich, 1975)

1.2 แมงกานีส ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (Manganese Superoxide dismutase, MnSOD) มีโครงสร้างเป็น homotetrameric (MWt, 88 kDa) และต้องการแมงกานีสที่บริเวณเร่งปฏิกิริยา (Fridovich, 1975) มีความสำคัญในเซลล์ แมงกานีสซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส มีส่วนร่วมประมาณ 10-15 % ของปริมาณเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ทั้งหมด พบในไมโทคอนเดรีย

1.3 เอ็กตราเซลล์ลูลาร์ ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (Extra Cellular superoxide dismutase, ECSOD) เป็นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่มีโครงสร้างเป็นแบบ tetrameric glycoprotein (MWt, 135 kDa) และต้องการคอปเปอร์และซิงค์สำหรับการทำงาน เป็นโปรตีนชนิดหลั่งนอกเซลล์ และประมาณ 90-99% ของ เอนไซม์เอ็กตราเซลล์ลูลาร์ ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส โดยรวมพบในบริเวณ extracellular matrix (Marklund, 1984) เอนไซม์เอ็กตราเซลล์ลูลาร์ ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส จะอยู่ในช่องว่างระหว่างเนื้อเยื่อหรือกลุ่มเซลล์ และอยู่ในของเหลวภายนอกเซลล์ด้วย เช่น พลาสมาน้ำเหลือง และน้ำไขข้อ (โอภา, 2550)

1.4 เหล็กซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (Iron Superoxide dismutase, FeSOD) เอนไซม์เหล็กซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส มีโลหะเหล็กสำหรับเร่งปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ พบเหล็กซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในไซโทซอลของ cyanobacteria และใน chloroplast stroma ของพืชชั้นสูงและในโปรโตซัว (โอภา, 2550)

การกระจายของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในเซลล์ และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิตต่าง แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ชนิดของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ในเซลล์และเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต

ชนิดของ SOD	เซลล์ที่มี SOD
Fe-SOD	Prokaryotes Eukaryotes
Mn-SOD	Prokaryotes + Eukaryotes (mitochondria + peroxisomes)
Cu/Zn-SOD	Eukaryotes cytosol + chloroplast + mitochondria

ที่มา: ปราณี (2547)

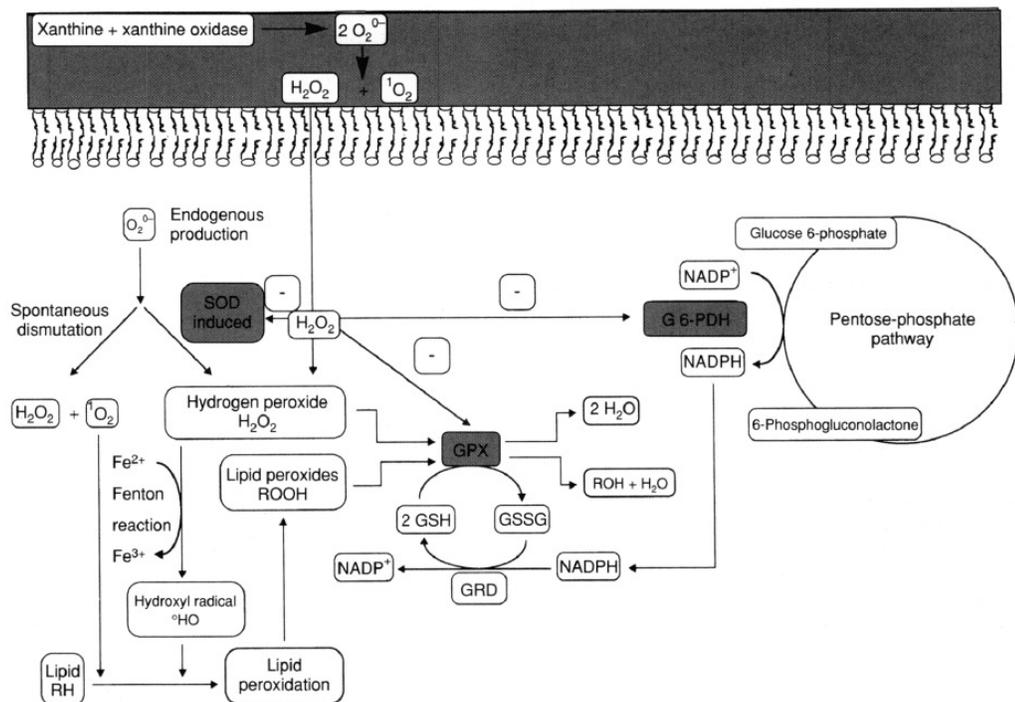
## 2. ผลของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ต่อคุณภาพน้ำเชื้อ

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ส่งผลต่อการเพิ่มการเกิด oxidative stress ในเลดิกเซลล์ (Leydig's cell) เป็นการเพิ่มการเกิดลิปิด เปอร์ออกซิเดชัน และมีผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และ แคทตาเลส ลดลง (Duane, 1987; Gautam *et al.*, 2006) การศึกษาในหนู เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส เป็นเอนไซม์แรกที่ป้องกันภัยและด้านการเกิดออกซิเดชันใน spermatozoa (Juan *et al.*, 1983)

นอกจากนี้ยังพบเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ในน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ (seminal plasma) ซึ่งอายุและฤดูกาลยังมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ในน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ และการศึกษาในพ่อพันธุ์สุกรยังพบเอนไซม์ดังกล่าวในน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ ซึ่งเรียกว่า Extra Cellular superoxide dismutase (ECSOD) โดยศึกษาในพ่อพันธุ์สุกร นอกจากนี้การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสปรากฏขึ้นเมื่อเริ่มเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ (8-12 เดือน) (Kowalowka *et al.*, 2008)

นอกจากนี้ผลของเอนไซม์ แชนทีน – แชนทีนออกซิเดส (xanthine-xanthine oxidase) ยังมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ของตัวอสุจิ โดย xanthine-xanthine oxidase จะผลิต อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์ ( $O_2^-$ ) ส่งผลให้มี ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $H_2O_2$ ) เกิดขึ้น โดยสามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้ม

เซลล์เข้าไปภายในเซลล์ และยับยั้งการทำงานของบางเอนไซม์ ได้แก่ G6PDH ลดการนำ NADPH เข้าไปในระบบการเปลี่ยน GSS ให้เป็น GSH และลดการทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส และเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ส่งผลต่อการลดการต้านอนุมูลอิสระของตัวออกซิเจน ส่งผลให้เกิดความบกพร่องของระบบต้านอนุมูลอิสระ นำไปสู่การเกิด lipid peroxidation ของเยื่อหุ้มเซลล์ (ภาพที่ 7) (Griveau et al., 1995)



ภาพที่ 7 สมมติฐานของเอนไซม์ xanthine oxidase และ xanthine ต่อการทำงานของเอนไซม์ของตัวออกซิเจน

ที่มา: Griveau et al. (1995)

## ซีลีเนียม

### 1. คุณสมบัติทั่วไปของซีลีเนียม

ซีลีเนียมในอาหารมีทั้งอยู่ในรูปอินทรีย์และอนินทรีย์ส่วนใหญ่อยู่ในรูปอินทรีย์โดยซีลีเนียมจับกับสายโปรตีนตรงตำแหน่งกรดอะมิโนซิสเทอีน(cysteine) และกรดอะมิโนเมทไธโอนีน (methionine) เรียก Selenocysteine (Sec) และ Selenomethionine (Sem) ซีลีเนียมอนินทรีย์มี 3 รูป ได้แก่ ไฮโดรเจนซีลีไนด์ (Hydrogen selenide,  $H_2Se$ ) ซีลีไนด์ (Selenite,  $SeO_3^{2-}$ ) และ ซีลีเนต (Selenate,  $SeO_4^{2-}$ ) (นัยนา, 2548)

### 2. เมทาบอลิซึมของซีลีเนียม

เมื่อร่างกายได้รับซีลีเนียม Sec และ Sem ที่อยู่ในสายเปปไทด์ถูกย่อยได้ Sec และ Sem อีตระและดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด ส่วนซีลีเนียมอนินทรีย์ก็จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดเช่นกัน เมื่อซีลีเนียมเข้าสู่เซลล์ Sem จะเป็นเสมือนกรดอะมิโนเมทไธโอนีนซึ่งจะนำไปใช้สังเคราะห์โปรตีนในเนื้อเยื่อในภาวะที่ร่างกายต้องการซีลีเนียม Sem โปรตีนในเนื้อเยื่อจะถูกนำออกมาเปลี่ยนเป็น Sec จากนั้น เอนไซม์ selenocysteinylase จะสลาย Sec ได้เป็น ซีลีไนด์ (selenide) สำหรับ Sec และซีลีเนียมอนินทรีย์จากอาหารที่เปลี่ยนเป็นซีลีไนด์เช่นกัน ซีลีไนด์จะถูกนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ โดยใช้รูปซีลีไนด์ฟอสเฟต (selenophosphate) ขณะที่มีการสังเคราะห์เอนไซม์ซีลีไนด์รูปฟอสเฟตจะเข้าไปจับกับกรดอะมิโนซิสเทอีนที่จะนำไปใช้สังเคราะห์เอนไซม์

### 3. การดูดซึมและการขับออกของซีลีเนียม

ซีลีเนียมที่ได้รับจากอาหารมีการดูดซึมอย่างรวดเร็ว ทั้งในสัตว์เคี้ยวเอื้องและสัตว์กระเพาะเดียว ในสุกรและในแกะบริเวณที่มีการดูดซึมมากที่สุดเกิดขึ้นในส่วนปลายของลำไส้เล็ก ส่วนในการขับออกของซีลีเนียมจากภายในเข้ามาในทางเดินอาหารส่วนคูโอดินัม โดยมากกับน้ำดี และน้ำย่อยจากตับอ่อน ปริมาณการดูดซึมของซีลีเนียมในสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้องสูงกว่าสัตว์เคี้ยวเอื้อง (85 เปอร์เซ็นต์ และ 35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) การดูดซึมของซีลีเนียมที่เสริมในอาหารรูป ซีลีเนียมอินทรีย์ สูงกว่าในรูป ซีลีไนด์ (selenite) กลไกการดูดซึมของซีลีเนียมเป็นการดูดซึมแบบ active mechanism (ฉลอง, 2543)

#### 4. ความต้องการซีลีเนียมของสุกร

ตารางที่ 3 ความต้องการซีลีเนียมของสุกรระยะต่างๆ

ชนิดสุกร	ความต้องการต่อกิโลกรัมของ อาหาร (มก./กก. อาหาร)	ความต้องการต่อวัน (มก.)
น้ำหนักสุกร		
3-5 กิโลกรัม	0.30	0.08
5-10 กิโลกรัม	0.30	0.15
10-20 กิโลกรัม	0.25	0.25
20-50 กิโลกรัม	0.15	0.28
50-80 กิโลกรัม	0.15	0.39
80-120 กิโลกรัม	0.15	0.46
แม่สุกรอู้มท้อง	0.15	0.3
แม่สุกรเลี้ยงลูก	0.15	0.8
พ่อสุกร	0.15	0.3

ที่มา: NRC (1998)

ความต้องการปริมาณซีลีเนียมตามที่ NRC กำหนดไว้ในสุกรระยะต่าง ๆ ซึ่งแสดงดังตารางที่ 3 โดยปริมาณซีลีเนียมที่ NRC แนะนำ อยู่ในช่วง 0.15-0.3 พีพีเอ็ม

#### 5. ผลของซีลีเนียมต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของพ่อสุกร

ความต้องการซีลีเนียมในพ่อพันธุ์สุกร คือให้มีซีลีเนียมที่ระดับ 0.15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของอาหาร และ โดยปริมาณความต้องการซีลีเนียมต่อวันเท่ากับ 0.3 มิลลิกรัม (NRC, 1998) การเพิ่มระดับของซีลีเนียมและวิตามินอี (0.5 พีพีเอ็ม ร่วมกับวิตามินอี 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร) ในอาหารส่งผลให้ความเข้มข้นของตัวสpermเพิ่มขึ้น อาหารที่ขาดซีลีเนียมจะมีผลทำให้อณูสperm ปริมาณน้ำเชื้อที่หลังต่อครั้งและความเข้มข้นของตัวสpermลดลง (Kolodziej and Jacyno, 2005) การเสริมซีลีเนียมในอาหารที่ระดับ 0.2 พีพีเอ็ม ส่งผลต่อความเข้มข้นของตัวสpermต่อมิลลิลิตรสูงขึ้น การเสริมซีลีเนียมในอาหารที่ระดับ 0.2 และ 0.3 พีพีเอ็มมีผลต่อการลดเปอร์เซ็นต์ของความ

ผิดปกติของการเกิด cytoplasmic droplet (วนิดา, 2550) และในพ่อสุกรที่ได้รับอาหารที่ขาดซีลีเนียม จะส่งผลให้เกิด cytoplasmic droplet ที่ส่วนหางของตัวอสุจิ อสุจิหางพับ และหางงอ สูงกว่าพ่อสุกรที่ได้รับการเสริมซีลีเนียมในอาหาร (Manin-Guzman *et al.*, 1997)

กระบวนการเสื่อมของ seminiferous tubule มีผลทำให้ความสมบูรณ์ของอสุจิลดต่ำลง ลดจำนวนของตัวอสุจิภายใน seminiferous tubule และลดการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ซึ่งเกิดขึ้นในหนูที่ขาดซีลีเนียม อาหารพ่อสุกรที่มีซีลีเนียมในระดับต่ำมีผลต่อโครงสร้างที่ผิดปกติในไมโทคอนเดรีย (mitochondria) การลดต่ำลงของระดับความเข้มข้นของ ATP และการทำงานของเอนไซม์กลูตาไรโอนเปอร้ออกซิเดส การเสริมซีลีเนียมที่ระดับ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของอาหารในพ่อพันธุ์สุกร ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนของ เซลล์เซอร์โทไล (sertoli cells) ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่เป็นเซลล์พี่เลี้ยงในกระบวนการสร้างอสุจิ และส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนอสุจิ (Manin-Guzman *et al.*, 2000a) จากการศึกษาในหนูที่ได้รับซีลีเนียมในระดับต่ำ ( $2-7 \mu\text{g Se kg}^{-1}$ ) ส่งผลต่อการลดของขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเซอร์โทไล เซลล์ในท่อขดฝอย (Behne *et al.*, 1996) ในโค แกะ และสุกร ความเข้มข้นของซีลีเนียมเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้แก่ ในไต ตับ หัวใจ โครงสร้างกล้ามเนื้อ เนื้อเยื่อไขมัน โดยในโครงสร้างกล้ามเนื้อของสุกรพบความเข้มข้นของซีลีเนียมที่ระดับ 0.03 มิลลิกรัม ถึง 0.52 มิลลิกรัม (Duane, 1987)

การใช้ซีลีเนียมในระดับสูง ที่ระดับ 5-8 พีพีเอ็ม จะทำให้เกิดความเป็นพิษ สำหรับในแม่สุกรถ้ามีซีลีเนียมระดับ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมในอาหาร จะทำให้สมรรถภาพในการสืบพันธุ์ต่ำ (วินัย, 2527) ผิวหนังเป็นขุยหนา ขนร่วง และเกิดภาวะอัมพาตที่ขาและส่วนล่างของร่างกาย (Stowe, 1992)

# อุปกรณ์และวิธีการ

## อุปกรณ์

### 1. สัตว์ทดลอง

พ่อสุกร พันธุ์ดูรอก อายุเฉลี่ย 2 ปี จำนวน 15 ตัว โดยสุกรแต่ละตัวเลี้ยงในคอกขังเดี่ยว คอกทดลอง ขนาด 2.5 x 3 ตารางเมตร พื้นซีเมนต์ทึบในสภาพโรงเรือนระบบเปิดซึ่งมีอุปกรณ์ให้น้ำอัตโนมัติ

### 2. อาหารทดลอง

อาหารทดลองเป็นอาหารควบคุม โดยพ่อสุกรทุกกลุ่มได้รับอาหารสูตรสำหรับเลี้ยงแม่สุกร ระยะอู่มท้อง โดยคำนวณให้มีค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ 2,934.08 กิโลแคลอรีต่อกิโลกรัมและโปรตีนเท่ากับ 14.74 เปอร์เซ็นต์ โดยมีการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียม แหล่งของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ได้มาจากผลิตภัณฑ์ Promutase™ 200

### 3. อุปกรณ์รีดเก็บน้ำเชื้อ

- 3.1 หุ่นล่อ (dummy)
- 3.2 ถุงพลาสติก
- 3.3 บีกเกอร์พลาสติกแบบมีหู (beaker)
- 3.4 ผ้ากรอส (gauze)
- 3.5 กระตักน้ำแข็ง
- 3.6 กระดาษชำระ
- 3.7 ยางวงรัดของ

### 4. อุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิของน้ำเชื้อ

- 4.1 เทอร์โมมิเตอร์
- 4.2 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)

## 5. สารเคมีและอุปกรณ์ตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อ

- 5.1 กล้องจุลทรรศน์ ชนิด compound eye (Olympus B H-2)
- 5.2 เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยมสองตำแหน่ง
- 5.3 ปีกเกอร์ (beaker)
- 5.4 แผ่นสไลด์ (slide)
- 5.5 กระจกแผ่นบางปิดสไลด์ (coverglass)
- 5.6 Micropipette
- 5.7 เครื่องวัดความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (SpermaCue Photometer) ของบริษัท Minitub Abfüll- und Labortechnik GmbH & Co. KG ประเทศเยอรมัน
- 5.8 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter INDEX ID-1000)
- 5.9 เครื่องนับจำนวน (hand operated counter)
- 5.10 น้ำกลั่น
- 5.11 หลอดทดลอง (microcentrifuge tube) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
- 5.12 เครื่องตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อด้วยซอฟต์แวร์ Weili Color Sperm Analysis System (WLJY-9000 Dynamic Software)
- 5.13 สีอีโอซิน (eosin) สีนิโกรซิน (nigrosin) โซเดียมซิเตรท (sodium citrate) สำหรับทำสีย้อมเพื่อตรวจดูตัวเป็นตัวตายและความผิดปกติของตัวอสุจิ โดยสีย้อมประกอบด้วย สีอีโอซิน 1 กรัม สีนิโกรซิน 5 กรัม โซเดียมซิเตรท 3 กรัม และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (ศรีสุวรรณ, 2542)

## 6. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเลือด

- 6.1 เข็มฉีดยา
- 6.2 กระบอกฉีดยา
- 6.3 หลอดทดลอง
- 6.4 กล้องโฟม
- 6.5 สำลี
- 6.6 แอลกอฮอล์ 70%

## วิธีการ

### 1. สัตว์ทดลอง

พ่อสุกร พันธุ์ครอก อายุเฉลี่ย 2 ปีจำนวน 15 ตัว แบ่งพ่อสุกรดังกล่าวออกเป็น 3 กลุ่มๆละ 5 ตัว โดยสุ่ม ตามแผนการทดลองแบบ Repeated Measurement in CRD (Complete Randomized Design) แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของทริทเมนต์โดยวิธี orthogonal Comparisons

### 2. การให้อาหารและน้ำ

ให้อาหารแก่พ่อพันธุ์สุกร 2 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน ทำการให้อาหารวันละ 1 มื้อ เวลา 7.30 น. โดยอาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารสูตรสุกรพันธุ์ระยะอู่มท้อง (อาหารควบคุม) ดังแสดงในตารางที่ 4 ทำการวิเคราะห์ปริมาณซีลีเนียมในอาหารอาหารควบคุม ซึ่งมีซีลีเนียมเท่ากับ 0.23 มก./กก.และมีที่ให้น้ำอัตโนมัติให้กินตลอดเวลา พ่อสุกรทั้ง 3 กลุ่มได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียม ดังนี้

กลุ่มที่ 1: อาหารควบคุมไม่เสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสและซีลีเนียม

กลุ่มที่ 2: อาหารควบคุมเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน

กลุ่มที่ 3: อาหารควบคุมเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน

และซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบอาหารสูตรควบคุม

วัตถุดิบ	เปอร์เซ็นต์
ข้าวโพด	5.17
มันสำปะหลัง	30.00
รำละเอียด	20.24
รำสกัดน้ำมัน (16% โปรตีน)	19.81
กากน้ำตาล	3.96
กากถั่วเหลือง	14.85
แคลเซียมคาร์บอเนต	1.24
ไคแคลเซียมฟอสเฟต	0.25
เกลือ	0.50
พรีมิกซ์สุกรพันธุ์*	0.99
อื่นๆ	3.00
รวม	100.00
ปริมาณ โภชนะ โดยการคำนวณ	
โปรตีน	14.74
พลังงาน (กิโลแคลอรี/กิโลกรัม)	2,934.08
ไขมัน	5.24
เยื่อใย	6.89
แคลเซียม	1.09
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.45
ไลซีน	0.76

หมายเหตุ จากการวิเคราะห์อาหารควบคุมพบว่ามีซีสตีน 0.233 มก. /กก.

### 3. การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อ

การรีดเก็บน้ำเชื้อใช้วิธีบีบนวดปลายอวัยวะสืบพันธุ์ของพ่อสุกร (Glove hand method) แล้วทำการรีดเก็บทุกส่วนของน้ำเชื้อ (total semen) ยกเว้นส่วนใสส่วนแรกที่ออกมาโดยมีผ้ากรองแยกเม็ดสาคูออก ในการรีดเก็บน้ำเชื้อเพื่อบันทึกผลการทดลองใช้ระยะเวลา 12 สัปดาห์ตั้งแต่เริ่มทำการเสริมซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียม โดยมีความถี่ในการรีดเก็บน้ำเชื้อ 1 ครั้งต่อสัปดาห์ การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อจะตรวจตามวิธีการของศรีสุวรรณ (2542) ดังนี้

3.1 ปริมาตร (volume) วัดปริมาตรน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้จากถุงพลาสติกที่เป็นภาชนะรองรับน้ำเชื้อโดยนำถุงพลาสติกที่มีน้ำเชื้อไปชั่งด้วยเครื่องชั่งดิจิทัล แล้วหักน้ำหนักของถุงพลาสติกออกและนำมาคำนวณเป็นปริมาตรโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาตร (มิลลิลิตร)} = \text{น้ำหนักของน้ำเชื้อ (กรัม)} \times 0.95$$

3.2 สี (color) แบ่งระดับคะแนนสีของน้ำเชื้อออกเป็น 4 ระดับ (0-3) คือ

ระดับ 0 หรือ เกรดดี (D) สีของน้ำเชื้อจะใสคล้ายกับน้ำ (watery)

ระดับ 1 หรือ เกรดซี (C) สีของน้ำเชื้อมีสีขุ่นขึ้น (cloudy) ดีกว่าระดับ 0

ระดับ 2 หรือ เกรดบี (B) สีของน้ำเชื้อออกสีขาวขุ่นใกล้เคียงสีของน้ำนม (milky)

ระดับ 3 หรือ เกรดเอ (A) สีของน้ำเชื้อออกสีขาวขุ่นเหมือนสีครีม (thick creamy)

3.3 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำเชื้อ วัดโดยใช้เครื่องวัด pH meter

3.4 ความเข้มข้นของตัวสperm ในน้ำเชื้อ (sperm concentration) โดยใช้เครื่องวัดความเข้มข้นของน้ำเชื้อ ( spermaCue photometer)

3.5 จำนวนตัวสperm ทั้งหมดในน้ำเชื้อ (total sperm) โดยคำนวณจากสูตร

$$\text{จำนวนตัวสperm ทั้งหมดในน้ำเชื้อ} = \text{ปริมาตรน้ำเชื้อ (มล.)} \times \text{ความเข้มข้นของตัวสperm ในน้ำเชื้อ (} 10^6 \text{ ตัว/มล.)}$$

3.6 motile sperm และทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ซึ่งได้แก่ อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยเป็นแนวตรงเมื่อเทียบกับการเคลื่อนที่จริงของตัวอสุจิ (Average Path Velocity : VAP,  $\mu\text{m/s}$ ) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นโค้งของตัวอสุจิ (Curvilinear Velocity : VCL,  $\mu\text{m/s}$ ) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นตรงจากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของตัวอสุจิ (Straight Line Velocity: VSL,  $\mu\text{m/s}$ ) และ เปอร์เซ็นต์ progressive movement โดยการเจือจางน้ำเชื้อกับสารละลายน้ำเชื้อ สูตร NSRTC 4 (ส่วนประกอบแสดงในตารางผนวกที่ 1) ในอัตราส่วน 1:3 และนำน้ำเชื้อที่ทำการเจือจางแล้วไปประเมินโดยเครื่องตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ (WLJY-9000 Dynamic Software)

3.7 live sperm และลักษณะความผิดปกติของรูปร่างตัวอสุจิ (Sperm morphology) ตรวจสอบโดยนำสีย้อม อีโอซิน-นิโกรซินที่อุ่นแล้วใส่ในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตรจำนวน 3-5 หยด ต่อน้ำเชื้อ 1 หยด เขย่าเบาๆ ให้น้ำเชื้อและสีย้อมเข้ากัน จากนั้นใช้ Micropipette ดูดขึ้นมาแล้วนำมาหยดลงบนแผ่นสไลด์ที่สะอาด แล้วใช้ปลายของสไลด์อีกแผ่นหนึ่งวางทำมุม 30-40 องศา ตรงตำแหน่งที่หยดแล้วลากสไลด์ ให้เป็นแผ่นฟิล์มบางๆ ปล่อยให้สไลด์แห้ง แล้วจึงนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า นับตัวอสุจิทั้งหมด 200 ตัว แล้วคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของอสุจิที่ผิดปกติแต่ละลักษณะ และตรวจสอบ live sperm โดยการนับจำนวนตัวอสุจิ โดยดูการติดสีและไม่ติดสีของตัวอสุจิ ตัวอสุจิย้อมแล้วติดสีโดยมีลักษณะเป็นสีม่วงหรือสีชมพูบริเวณส่วนหัว แสดงว่าเป็นอสุจิตัวตาย ซึ่งอสุจิตัวเป็น (live sperm) จะไม่ติดสีบริเวณส่วนหัว

#### 4. การวัดความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัมและการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

ทำการเจาะเลือดเพื่อเก็บตัวอย่างซีรัมของพ่อสุกรทุกตัวก่อนการทดลองและหลังการทดลอง โดยเจาะเลือดเมื่อเริ่มต้นทำการทดลอง ที่ระยะ 45 วันและที่ระยะ 90 วัน ของการทดลอง เจาะเลือดบริเวณ Jugular vein ปริมาตร 20 ซีซีต่อตัวและแยกเก็บซีรัมจากพ่อสุกรตัวละ 4 ซีซี เก็บรักษาซีรัมไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณความเข้มข้นของซีลีเนียม โดยวิธี Fluorometric method (Koh and Benson, 1893) และการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส โดยใช้ชุดทดสอบ SOD Assay Kit-WST ตามวิธีของ Ukeda *et al.* (1999) และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader

## 5. การบันทึกข้อมูล

### 5.1 บันทึกข้อมูลคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อสุกรแต่ละตัวดังต่อไปนี้

5.1.1 ปริมาตรของน้ำเชื้อ (volume)

5.1.2 สีของน้ำเชื้อ (color)

5.1.3 ความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำเชื้อ (pH)

5.1.4 ความเข้มข้นของตัวอสุจิในน้ำเชื้อ (sperm concentration)

5.1.5 จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดต่อการหลั่งแต่ละครั้ง (total sperm /ejaculate)

5.1.6 motile sperm

5.1.7 ความเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (velocity and movement) ซึ่งได้แก่ VCL, VSL, VAP และ เปอร์เซ็นต์ progressive movement

5.1.8 live sperm

5.1.9 ความผิดปกติของตัวอสุจิ (sperm abnormality)

5.2 บันทึกปริมาณความเข้มข้นของซีลีเนียม และการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในซีรัมของพ่อสุกรหลังได้รับการเสริมซีลีเนียม และเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ในวันที่ 1, 45 และ 90 ของการทดลอง

## 6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ Repeated Measurement in CRD (Complete Randomized Design) แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Orthogonal Comparisons ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (2003)

ซึ่งมีแบบหุ่่นจำลองทางสถิติดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \delta_{k(i)} + \tau_j + \alpha\tau_{ij} + \epsilon_{ij}$$

$Y_{ijk}$  = ค่าสังเกตจากปัจจัย treatment ที่ระดับ  $i$  และช่วงเวลาในระดับ  $j$   
ซ้ำที่  $k$  เมื่อ  $k = 1, 2, 3, 4, 5$

$\mu$  = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง

$\alpha_i$  = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัย treatment ที่ระดับ  $i$  เมื่อ  $i = 1, 2, 3$

$\tau_j$  = อิทธิพลเนื่องจากปัจจัยช่วงเวลา ที่ระดับ  $j$  เมื่อ  $j = 1, 2, 3, \dots, 12$

$\alpha\tau_{ij}$  = อิทธิพลร่วมเนื่องจากปัจจัย treatment ที่ระดับ  $i$  และช่วงเวลา ที่ระดับ  $j$

$\delta_{k(i)}$  = อิทธิพลเนื่องจากตัวสัตว์หรือหน่วยทดลองที่ระดับ  $k$  เมื่อ  $k = 1, 2, 3, 4, 5$

$\epsilon_{ij}$  = ค่าความคลาดเคลื่อน

## 7. สถานที่ทำการทดลอง

7.1 ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต  
กำแพงแสน จ.นครปฐม

7.2 ห้องปฏิบัติการชีวเคมีคลินิกและโภชนศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย  
เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

7.3 ห้องปฏิบัติการภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทย์  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

## 8. ระยะเวลาในการทำการทดลอง

เริ่มต้นการทดลอง: พฤษภาคม พ.ศ. 2552

สิ้นสุดการทดลอง: กรกฎาคม พ.ศ. 2552

## ผลและวิจารณ์

จากการศึกษาผลของการเสริมซีลีเนียมและวิตามินอีต่อคุณภาพน้ำเชื้อ พบว่า ระยะเวลาการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมกับจำนวนครั้งที่รีดน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร ไม่มีอิทธิพลร่วมกันทางสถิติ ( $P>0.05$ )

### 1. การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

#### 1.1 ปริมาตร (volume)

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อปริมาตรของน้ำเชื้อ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 163.16, 167.4 และ 163.93 มิลลิลิตร ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 5 สอดคล้องกับการทดลองของ วนิดา (2550) ที่ทำการเสริมซีลีโนเมทไซโออินที่ระดับ 0, 0.2 และ 0.3 พีพีเอ็มลงในอาหาร แล้วพบว่า ปริมาตรน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) และ Marin Guzman et al. (1997) รายงานว่าการเสริม ซีลีเนียมยีสต์ โซเดียมซีลีไนด์ และวิตามินอีในอาหารพ่อพันธุ์สุกร พบว่าคุณภาพของน้ำเชื้อในลักษณะ ปริมาตร ความเข้มข้น แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) แต่ขัดแย้งกับการรายงานของ Kolodziej and Jacyno (2005) ที่ได้ศึกษาการเสริมซีลีเนียมที่ระดับ 0.2 และ 0.3 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเสริมวิตามินอีที่ระดับ 30 และ 60 ไอ.ยู ส่งผลต่อปริมาตรของน้ำเชื้อที่หลังต่อครั้งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ซึ่งปริมาตรน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรที่ได้ทำการศึกษาในศึกษาครั้งนี้ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Suriyasomboon (2005) ซึ่งศึกษาลักษณะคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรพันธุ์ครอกในโรงเรือนระบบเปิด และจากการศึกษาพบว่ามีปริมาตรน้ำเชื้อเท่ากับ  $228.7 \pm 62.7$  มิลลิลิตร โดยอายุเฉลี่ยของพ่อพันธุ์สุกรเท่ากับ 23.27 เดือน ซึ่งปริมาตรน้ำเชื้อที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ถือว่า มีปริมาตรน้ำเชื้ออยู่ในระดับปกติตามสายพันธุ์

## 1.2 สีของน้ำเชื้อ (color)

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในอาหาร พ่อพันธุ์สุกรต่อลักษณะสีของน้ำเชื้อ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์-ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันและกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์-ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม มีค่าเฉลี่ยคะแนนสีของน้ำเชื้อเท่ากับ 2.93, 2.97 และ 2.98 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 5 เมื่อพิจารณาสีของน้ำเชื้อจากการทดลองทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง มีลักษณะสีขาวปนใกล้เคียงกับสีของน้ำนม โดยความเข้มข้นที่ระดับนี้จะมิตัวอสุจิในน้ำเชื้อมาก ประมาณ 300-400 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร ซึ่งสีของน้ำเชื้อมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของอสุจิต่อมิลลิลิตร โดยถ้าสีของน้ำเชื้อขุ่นมาก ความเข้มข้นของอสุจิต่อมิลลิลิตรจะสูง (ศรีสุวรรณ, 2542)

## 1.3 ความเป็นกรด - ด่างของน้ำเชื้อ (pH)

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในอาหาร พ่อพันธุ์สุกรต่อลักษณะความเข้มข้นของตัวอสุจิ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์-ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.27, 7.29 และ 7.26 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 5 ซึ่งความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำเชื้อโดยปกติของสุกรจะอยู่ระหว่าง 6.8-7.8 และความเป็นกรด-ด่าง ที่ดีของน้ำเชื้อหลังจากรีดออกมาแล้วควรอยู่ในช่วง 7.2-7.5 แสดงว่าการเสริม เอนไซม์ซูเปอร์-ออกไซด์ ดิสมิวเตส และการเสริมเอนไซม์ร่วมกับซีลีเนียม ไม่ทำให้ความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำเชื้อแตกต่างกัน ความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำเชื้อ ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น การใช้น้ำตาลฟรักโตส ซึ่งผลพลอยได้จากการใช้น้ำตาลฟรักโตสนี้จะทำให้เกิดกรดแลคติกขึ้น ซึ่งจะทำให้น้ำเชื้อมีสภาพเป็นกรด นอกจากนี้ การปนเปื้อนของน้ำปัสสาวะขณะรีดน้ำเชื้อจะทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างลดลง ส่งผลให้การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิช้าลง (ศรีสุวรรณ, 2542)

## 1.4 ความเข้มข้นของตัวอสุจิ (sperm concentration)

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในอาหาร พ่อพันธุ์สุกรต่อลักษณะความเข้มข้นของตัวอสุจิ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการ

เสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม มีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของตัวอสุจิเท่ากับ 416.66, 414.07 และ 415.6 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 5 สอดคล้องกับ Marin-Guzman *et al.* (1997) ที่ศึกษาพบว่าการเสริมซีลีเนียม (0 และ 0.5 พีพีเอ็ม) และวิตามินอี (0 และ 220 ไอ.ยู.) ไม่มีผลต่อความเข้มข้นของตัวอสุจิ เช่นเดียวกับ วนิดา (2550) ที่รายงานว่า ความเข้มข้นของตัวอสุจิในพ่อพันธุ์สุกรที่ได้รับการเสริมซีลีโนเมทไซโอไนน์ในระดับ 0, 0.2 และ 0.3 พีพีเอ็ม แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ขัดแย้งกับการทดลองของ Kolodziej and Jacyno (2005) รายงานว่าการเสริมซีลีโนเมทไซโอไนน์ในอาหารที่ระดับ 0.5 พีพีเอ็มร่วมกับการเสริมวิตามินอี 60 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของอาหาร ส่งผลต่อความเข้มข้นของตัวอสุจิต่อมิลลิลิตรเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) เนื่องจากซีลีเนียมและวิตามินอีมีบทบาทเกี่ยวข้องกับฮอร์โมน FSH, LH และ testosterone (Umeda *et al.*, 1982) ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการสร้างอสุจิ จึงอาจเป็นไปได้ว่าพ่อพันธุ์สุกรทั้ง 3 กลุ่มมีระดับฮอร์โมนดังกล่าวที่ใกล้เคียงกัน จึงทำให้ไม่พบความแตกต่างของความเข้มข้นของอสุจิ พ่อพันธุ์สุกรทั้ง 3 กลุ่ม สาเหตุหนึ่งที่ทำให้ไม่พบความแตกต่างของการทดลองอาจเนื่องมาจากอาหารทดลองที่ใช้ในการทดลองมีระดับซีลีเนียมเท่ากับ 0.233 พีพีเอ็ม และเมื่อเสริมให้อีกวันละ 0.3 พีพีเอ็ม ทำให้พ่อสุกรได้รับซีลีเนียม 0.533 พีพีเอ็ม ซึ่งความต้องการซีลีเนียมต่อวันในพ่อพันธุ์สุกรอยู่ที่ระดับ 0.15 พีพีเอ็ม (NRC, 1998) การเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสร่วมกับซีลีเนียมอาจไม่ส่งผลต่อระดับความเข้มข้นและปริมาณของน้ำเชื้อที่หลังต่อครั้งของพ่อพันธุ์สุกรแต่อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของตัวอสุจิที่รีดได้นั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น พันธุ์ อายุ น้ำหนัก สุขภาพร่างกาย อาหาร ความชำนาญ เทคนิคในการรีดน้ำเชื้อ สภาพแวดล้อม และความถี่ในการรีดเก็บน้ำเชื้อ เป็นต้น (ศรีสุวรรณ, 2542)

### 1.5 จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อ (total sperm)

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 66.94, 67.93 และ 66.95 พันล้านตัว/ครั้งที่หลัง ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 5 สอดคล้องกับ Marin-Guzman *et al.* (1997) ที่รายงานว่า การเสริมซีลีเนียมและวิตามินอีไม่มีผลต่อจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อ แต่ขัดแย้งกับการศึกษาของ Kolodziej and

Jacyno (2005) ที่ได้ศึกษาการเสริมซีลีเนียมที่ระดับ 0.2 และ 0.3 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเสริมวิตามินอีที่ระดับ 30 และ 60 ไอ.ยู ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

**ตารางที่ 5** การเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

ลักษณะ	อาหารทดลอง			P-value
	กลุ่มควบคุม	SOD <sup>1</sup>	SOD + Se <sup>2</sup>	
ปริมาตรของน้ำเชื้อที่หลังต่อครั้ง (มิลลิลิตร)	163.16±7.34	167.4±6.19	163.93±4.45	0.9976
สีของน้ำเชื้อ (0-3)	2.93±0.03	2.97±0.02	2.98±0.01	0.3989
ความเป็นกรด-ด่าง	7.27±0.01	7.29±0.02	7.26±0.01	0.5354
ความเข้มข้นของตัวอสุจิ (10 <sup>6</sup> ต่อมิลลิลิตร)	416.66±18.18	414.07±10.45	415.6±10.84	0.9132
จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในน้ำเชื้อ (พันล้านตัว)	66.94±2.83	67.93±3.14	66.95±1.85	0.8977
motile sperm (เปอร์เซ็นต์)	96.82±0.46	97.71±0.37	97.20±0.32	0.3841
VCL <sup>3</sup> (ไมโครเมตร/วินาที)	58.34±1.05	64.92±1.38	64.96±1.22	0.2762
VSL <sup>4</sup> (ไมโครเมตร/วินาที)	40.17±0.85	46.84±1.31	44.84±1.10	0.4785
VAP <sup>5</sup> (ไมโครเมตร/วินาที)	42.76±0.67	48.92±1.24	48.20±1.11	0.2675
Progressive movement (เปอร์เซ็นต์)	69.77±0.75	72.61±0.79	72.47±0.77	0.5339
Live sperm (เปอร์เซ็นต์)	83.17 <sup>n</sup> ±0.53	85.72 <sup>u</sup> ±0.44	85.98 <sup>u</sup> ±0.48	0.0475

หมายเหตุ <sup>n,u</sup> อักษรที่แตกต่างกันในแถวอนเดียวกั้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ( $P < 0.05$ )

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± standard error)

<sup>1</sup>Superoxide dismutase, <sup>2</sup>Selenium, <sup>3</sup>Curvilinear Velocity, <sup>4</sup> Straight Line Velocity,

<sup>5</sup>Average Path Velocity.

### 1.6 motile sperm

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์ Motile sperm พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 96.82, 97.71 และ 97.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 5 สอดคล้องกับการรายงานของ Kolodziej and Jacyno (2005) ที่ได้ศึกษาการเสริมซีลีเนียมที่ระดับ 0.2 และ 0.3 พีพีเอ็ม ร่วมกับการเสริมวิตามินอี ที่ระดับ 30 และ 60 ไอ.ยู ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์ motile sperm แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) แต่ขัดแย้งกับการรายงานของวนิดา (2550) รายงานว่า พ่อพันธุ์สุกรที่ได้รับการเสริมซีลีโนเมทไร โอนินในระดับ 0.3 พีพีเอ็ม มีเปอร์เซ็นต์ motile sperm เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับ Marin-Guzman *et al.* (1997) ที่พบว่า เปอร์เซ็นต์ motile sperm เพิ่มขึ้นถึง 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการเสริมซีลีเนียมให้กับพ่อพันธุ์สุกร จากการทดลองครั้งนี้ ค่า motile sperm ของน้ำเชื้อสดจากการทดลองของพ่อพันธุ์สุกรทั้ง 3 กลุ่ม มีค่าใกล้เคียงกับรายงานของ สุรพงษ์ (2550) เนื่องจากการวัดค่าในการทดลองใช้เครื่องตรวจคุณภาพน้ำเชื้อในการประเมิน แต่อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์ motile sperm ที่สูงอาจจะเนื่องมาจากพ่อพันธุ์สุกรได้รับประมาณซีลีเนียมในอาหารใกล้เคียงกันกับความต้องการของ NRC (1998) จึงอาจทำให้ไม่เห็นความแตกต่างของทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง

### 1.7 ความเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (velocity and movement)

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อความเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม มีความเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ซึ่งมีค่าเฉลี่ย VCL เท่ากับ 58.34, 64.92 และ 64.96 ไมโครเมตร/วินาที ค่าเฉลี่ย VSL เท่ากับ 40.17, 46.84 และ 44.84 ไมโครเมตร/วินาที ส่วนค่าเฉลี่ย VAP เท่ากับ 42.76, 48.92 และ 48.20 ไมโครเมตร/วินาที ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5 สอดคล้องกับการทดลองของ Castellini *et al.* (2002) รายงานว่า การเสริมซีลีเนียม วิตามินอี และการเสริมซีลีเนียมร่วมกับวิตามินอีลงในอาหารไม่มีผลต่อ VCL, VSL และ VAP ของน้ำเชื้อพ่อกระต่าย และเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์ progressive movement ของกลุ่ม

ควบคุม กลุ่มที่เสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และกลุ่มที่เสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสร่วมกับซีลีเนียมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 69.77, 72.61 และ 72.47 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ถ้าหากพ่อพันธุ์สุกรมีตัวอสุจิก่อนไหวไปข้างหน้าได้มากและแข็งแรงในแง่ของการผสมเทียมแล้วจัดได้ว่าน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรตัวนั้นเหมาะสมที่จะนำมาฉีดเก็บน้ำเชื้อเพื่อนำไปเจือจางเป็นน้ำเชื้อสดหรือน้ำเชื้อแช่แข็ง (ศรีสุวรรณ, 2542) และเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิเป็นแหล่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง ซึ่งไวต่อการถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ โดยการเกิด lipid peroxidation ใน sperm plasma membrane ส่งผลต่อการลดการผลิต ATP ของตัวอสุจิ โดยเฉพาะเปอร์เซ็นต์อสุจิก่อนไหวไปข้างหน้า (Marek, 2007) Marin-Guzman *et al.* (1997) รายงานว่า การเสริมซีลีเนียมช่วยให้มีอัตราการปฏิสนธิสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการเสริมซีลีเนียมช่วยให้โครงสร้างของไมโทคอนเดรียที่บริเวณหางส่วนมิดพิซมีรูปร่างปกติ และส่งผลให้สร้างพลังงาน ATP ได้ดีขึ้น Marin-Guzman *et al.* (2000b) ได้ศึกษาการเสริมซีลีเนียม 2 ระดับ (0 และ 0.5 พีพีเอ็ม) โดยในอาหารทดลองมีซีลีเนียมที่ระดับ 0.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ซึ่งระดับของ ATP ของตัวอสุจิจะลดต่ำลงเมื่อพ่อสุกรได้รับอาหารที่มีซีลีเนียมระดับต่ำ

### 1.8 live sperm

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์ Motile sperm พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 83.17, 85.72 และ 85.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 5 สาเหตุเนื่องมาจากเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและการเพิ่มระดับซีลีเนียมลงไปในอาหาร อาจจะมีส่วนช่วยทำให้ตัวอสุจิมีชีวิตรอดเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากซีลีเนียมจะเป็นองค์ประกอบของ เอนไซม์ กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส (GSH-Px) ซึ่งเอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส จะทำหน้าที่สลาย peroxide ที่เกิดขึ้นในเซลล์อันเป็นสาเหตุที่ส่งผลให้ cell membrane ของ organall ที่สำคัญ เช่น ไมโทคอนเดรีย ถูกทำลาย การเพิ่มปริมาณซีลีเนียมให้สูงขึ้นจะส่งผลให้เอนไซม์กลูตาไธโอน เปอร์ออกซิเดส เพิ่มสูงขึ้นตามลำดับ ส่งผลให้การเกิด peroxide ลดลง (Tangbanluekal, 1992 ; Mahan and Kim, 1996) เมื่อนำน้ำเชื้อมาข้อมสิจึงพบว่า ตัวอสุจิของพ่อพันธุ์สุกรในกลุ่มควบคุมซึ่งไม่มีการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส ที่จะไปช่วยป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ ที่ถูกทำลายจากอนุมูลอิสระเหมือนกับน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์สุกรที่มีการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และการเสริมเอนไซม์ร่วมกับซีลีเนียม

ดังนั้นเชื้อหุ้มเซลล์จึงถูกทำลายได้ง่ายและส่งผลให้ตัวอสุจิตาย สิจจึงสามารถซึมเข้าไปบริเวณส่วนหัวของตัวอสุจิได้

## 1.9 ความผิดปกติของตัวอสุจิ

### 1.9.1 ความผิดปกติในส่วนหัวของตัวอสุจิ

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติในส่วนหัวของตัวอสุจิ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์-ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิว-เตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.52, 2.22 และ 2.29 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 6 ทั้งนี้ Suria *et al.* (2001) รายงานว่าซีลีเนียมอาจเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างอสุจิระยะ Primary และ Secondary spermatocyte ซึ่งในระยะนี้จะมีการสังเคราะห์ DNA จำนวนมาก รวมทั้งสารอื่นๆ การขาดซีลีเนียมจะส่งผลให้เกิดความผิดปกติส่วนหัวเพิ่มขึ้นและความสมบูรณ์ของหางอสุจิส่วน mid piece ลดลง แต่เนื่องจากการศึกษาครั้งนี้อาหารทดลองที่ใช้ในการทดลองมีระดับซีลีเนียมเท่ากับ 0.233 พีพีเอ็ม ซึ่งใน 1 วัน พ่อสุกรได้รับอาหาร 2 กิโลกรัม ดังนั้นจึงได้รับซีลีเนียมปริมาณ 0.466 พีพีเอ็ม ซึ่งเพียงพอตามที่ NRC (1998)แนะนำ แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่า พ่อสุกรทั้ง 3 กลุ่มมีความผิดปกติส่วนหัวของอสุจิอยู่ในช่วงปกติคือ 2-5 เปอร์เซ็นต์ (อรรถพ, 2545)

### 1.9.2 ความผิดปกติในส่วนหางของตัวอสุจิ

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติในส่วนหางของตัวอสุจิ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์-ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิว-เตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.58, 2.27 และ 2.29 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 6 ขัดแย้งกับรายงานของ วนิตา (2550) ที่รายงานว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มที่ได้รับการเสริมซีลีโนเมทไซโอนีนมีเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติในส่วนหางต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.05$ )

ตารางที่ 6 การเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมต่อความผิดปกติของตัวอสุจิ

ลักษณะ	อาหารทดลอง			P-value
	กลุ่มควบคุม	SOD <sup>1</sup>	SOD + Se <sup>2</sup>	
ความผิดปกติที่ส่วนหัว (เปอร์เซ็นต์)	2.52±0.57	2.22±0.46	2.29±0.49	0.6847
ความผิดปกติที่ส่วนหาง (เปอร์เซ็นต์)	2.58±0.42	2.27±0.46	2.29±0.57	0.8095
cytoplasmic droplet ที่ส่วนหาง (เปอร์เซ็นต์)	8.80 <sup>n</sup> ±0.37	4.37 <sup>u</sup> ±0.23	3.56 <sup>u</sup> ±0.25	0.0380

หมายเหตุ <sup>n</sup> อักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ (P<0.05)

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± standard error)

<sup>1</sup>Superoxide dismutase, <sup>2</sup>Selenium

### 1.9.3 cytoplasmic droplet ที่ส่วนหางของอสุจิ

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียม ในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์ cytoplasmic droplet ที่ส่วนหางของตัวอสุจิ พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็มมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 8.80, 4.37 และ 3.56 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยกลุ่มควบคุมมีเปอร์เซ็นต์ cytoplasmic droplet ที่ส่วนหางของอสุจิสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และการเสริมเอนไซม์ดิสมิวเตสร่วมกับการเสริมซีลีเนียม สอดคล้องกับผลการทดลองของวนิดา (2550) ที่พบว่า พ่อสุกรที่ไม่ได้รับการเสริมซีลีโนเมทไซโอนินมีเปอร์เซ็นต์ cytoplasmic droplet ที่ส่วนหางของอสุจิสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ ซึ่งในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอสุจิริยะมาตสุเรชันเฟส (maturation phase) ในระยะนี้มีการพัฒนาเพื่อให้โตเต็มวัย เช่น เกิดการหุ้มของไมโทคอนเดรียซิท และการเจริญของไฟบรัสซิท หุ้มพันรอบหาง ในระยะนี้ถ้าตัวอสุจียังเกาะติดอยู่กับเซลล์เซอร์โทไล จะยังทำให้มีไซโทพลาสซึม ครอบเลข (cytoplasmic droplet) บริเวณหางส่วนมิดพิซ และจะสลายตัวไปเมื่อเคลื่อนตัวหลุดออกจากเซลล์เซอร์โทไลเพื่อผ่านไปยังท่ออีพิดิส (พีรศักดิ์, 2548) เนื่องจากการได้รับซีลีเนียมไม่เพียงพอ ส่งผลให้

กระบวนการสกัด cytoplasmic droplet ของสเปอร์มาโตซัว เมื่ออยู่ในท่ออิมพิดิไดมิสเกิดช้าลง จึงทำให้การหลั่งน้ำเชื้อในแต่ละครั้งมี cytoplasmic droplet มากขึ้น (Marin-Guzman *et al.*, 2000b)

## 2. การศึกษาผลของความเข้มข้นของซีลีเนียมและการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในซีรัม

### 2.1 ความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัมเมื่อได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสร่วมกับซีลีเนียม

ผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และการเสริมเอนไซม์ร่วมกับซีลีเนียม เมื่อเริ่มการทดลอง 45 วัน ระยะเวลาของการทดลองที่ 90 วัน ดังแสดงในตารางที่ 7 พบว่าพ่อพันธุ์สุกรทั้ง 3 กลุ่ม มีความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัมแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ ) แต่ในกลุ่มพ่อพันธุ์สุกรที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสร่วมกับซีลีเนียม ที่ระดับ 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารมีค่าค่อนข้างสูงกว่าทั้งสองกลุ่ม และสำหรับระยะเวลาของการทดลองที่ 45 วันความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.178 0.176 และ 0.209  $\mu\text{g/ml}$ . โดยในกลุ่มพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตสร่วมกับซีลีเนียมมีค่าเฉลี่ยสูงกว่าทั้งสองกลุ่มแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P<0.01$ ) ซึ่งก่อนเริ่มทำการทดลองได้ทำการเจาะเลือดเพื่อหาความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัม พบว่าทั้ง 3 กลุ่มการทดลองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.212  $\mu\text{g/ml}$  Duane (1987) รายงานว่า ซีลีเนียมในซีรัมของสุกรมีค่าอยู่ระหว่าง 0.8-0.12  $\mu\text{g/ml}$  ทั้งนี้ค่าความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัมอาจมีความแปรปรวนไปตามสภาพสรีรวิทยาของสัตว์และอาหารที่สัตว์ได้รับ ขณะที่ Stowe and Herde (1992) รายงานว่าโดยทั่วไปในสุกร (พันธุ์ลูกผสม) มีระดับซีลีเนียมในซีรัมเท่ากับ 0.17  $\mu\text{g/ml}$  เมื่อเปรียบเทียบกับค่าความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัมจากการทดลองนี้ จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัมของสุกรก่อนการทดลองมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.212  $\mu\text{g/ml}$  ซึ่งอยู่ในช่วงสูงกว่าปกติ เนื่องจากก่อนการทดลองพ่อสุกรอาจจะไม่มีการหลั่งน้ำเชื้อสม่ำเสมอ และไม่ได้ใช้งานบ่อย แต่เมื่อเริ่มการทดลอง ได้ทำการรีดน้ำเชื้ออย่างสม่ำเสมอ จึงทำให้มีการนำซีลีเนียมที่สะสมไว้มาใช้ในกระบวนการสร้างตัวอสุจิ จึงส่งผลให้ระดับซีลีเนียมในซีรัมที่ 45 วัน ของการทดลอง มีระดับซีลีเนียมในซีรัมลดลง

**ตารางที่ 7** ผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมต่อความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัม

ระดับซีลีเนียม ( $\mu\text{g. /ml.}$ )	อาหารทดลอง			P-value
	กลุ่มควบคุม	SOD <sup>1</sup>	SOD + Se <sup>2</sup>	
วันที่ 1	0.221 $\pm$ 0.003	0.209 $\pm$ 0.012	0.205 $\pm$ 0.001	0.5322
วันที่ 45	0.178 <sup>n</sup> $\pm$ 0.005	0.176 <sup>n</sup> $\pm$ 0.004	0.209 <sup>u</sup> $\pm$ 0.008	0.0084
วันที่ 90	0.191 $\pm$ 0.008	0.195 $\pm$ 0.009	0.215 $\pm$ 0.008	0.1314

หมายเหตุ <sup>n</sup> <sup>u</sup> อักษรที่แตกต่างกันในแถวอันเดียวกันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ )  
ค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean  $\pm$  standard error)

<sup>1</sup>Superoxide dismutase, <sup>2</sup>Selenium

2.2 การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในซีรัมเมื่อได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสร่วมกับซีลีเนียม

การศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และซีลีเนียมในอาหารพ่อพันธุ์สุกรต่อเปอร์เซ็นต์การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส พบว่า พ่อพันธุ์สุกรกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวัน และกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับการเสริมซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม ซึ่งเปอร์เซ็นต์การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสวัดจากการหยุดยั้งปฏิกิริยาการเกิดซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออนในซีรัม ถ้ามีเปอร์เซ็นต์การหยุดยั้งสูงแสดงให้เห็นว่าในซีรัมมีซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออนอยู่สูง (Ukeda, 1999)

ในวันที่ 1 ของการทดลอง เปอร์เซ็นต์การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 93.21, 94.62 และ 91.85 ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) และในวันที่ 45 ของการทดลอง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 90.04, 90.51 และ 86.65 ตามลำดับโดยกลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสร่วมกับซีลีเนียมมีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ( $P = 0.091$ ) และวันที่ 90 ของการทดลอง กลุ่มที่ได้รับการเสริมเอนไซม์และการเสริมเอนไซม์ร่วมกับซีลีเนียม มีเปอร์เซ็นต์การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสเท่ากับ

91.78, 86.57 และ 85.39 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 8 การศึกษาผลการทดลองในครั้งนี้ พ่อพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองถูกเลี้ยงในโรงเรือนระบบเปิด ทำให้การควบคุมสภาพแวดล้อมภายในโรงเรือนเป็นไปได้ยาก โดยเฉพาะอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ สุกรจึงอาจเกิดความเครียดจากอากาศร้อนได้ง่ายและหากความชื้นอากาศสูง (มากกว่า 80%) จะทำให้การระบายความร้อนเป็นไปได้ยากขึ้น เนื่องจากอากาศสามารถรับน้ำได้น้อยลง (นพพันธ์, 2532) สภาพความเครียดส่งผลให้มีการสร้างอนุมูลอิสระเกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้ไปมีผลให้เซลล์ต่างๆ มีการหลั่งสารไซโตไคน์ชนิดอินเตอร์ลิวคิน 1 (interlukin-1, IL-1) และอินเตอร์ลิวคิน 6 (interlukin-6, IL-6) ออกมาซึ่งไซโตไคน์ทั้ง 2 ชนิดนี้ไปมีผลในการเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (Stralin and Marklund, 1994) ซึ่งสารไซโตไคน์เป็นโปรตีนโมเลกุลขนาดเล็ก ทำหน้าที่เป็นสื่อสารระหว่างเซลล์ และสารไซโตไคน์ชนิดอินเตอร์ลิวคิน 1 (interlukin-1, IL-1) และอินเตอร์ลิวคิน 6 (interlukin-6, IL-6) เป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดการอักเสบ เกิดผลที่มีปัญหาคือ การกระตุ้นการมีไข้ การกระตุ้นภาวะเบื่ออาหารและการอักเสบ (สันนิภา, 2545)

**ตารางที่ 8** ผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสในซีรัม

การทำงานของเอนไซม์ ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (เปอร์เซ็นต์)	อาหารทดลอง			P-value
	กลุ่มควบคุม	SOD <sup>1</sup>	SOD + Se <sup>2</sup>	
วันที่ 1	93.21±2.36	94.62±1.12	91.85±0.84	0.4423
วันที่ 45	90.04±0.92	90.51±0.76	86.65±1.50	0.0951
วันที่ 90	91.78 <sup>n</sup> ±1.11	86.57 <sup>u</sup> ±1.46	85.39 <sup>u</sup> ±0.91	0.0147

หมายเหตุ <sup>n</sup> อักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )  
ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± standard error)

<sup>1</sup>Superoxide dismutase, <sup>2</sup>Selenium

## สรุปและข้อเสนอแนะ

### สรุป

ผลจากการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส และการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสร่วมกับซีลีเนียม ในอาหารพ่อกุ้งต่อคุณภาพน้ำเชื้อ สามารถสรุปได้ดังนี้

1. การเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันและการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม0.3 พีพีเอ็ม มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ ในลักษณะ เปอร์เซ็นต์ live sperm เพิ่มขึ้น ( $P<0.05$ ) และมีเปอร์เซ็นต์ cytoplasmic droplet ที่ส่วนหางลดลง ( $P<0.05$ ) แต่การเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันและการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับการเสริมซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม ไม่มีผลต่อลักษณะ สี ความเป็นกรดค่า ความเข้มข้นของตัวอสุจิ ปริมาตร เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติในส่วนหัว เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติในส่วนหาง เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวข้างหน้า อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยเป็นแนวตรงเมื่อเทียบกับการเคลื่อนที่จริงของตัวอสุจิ อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้น โค้งของตัวอสุจิ อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นตรงจากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของตัวอสุจิ เปอร์เซ็นต์ progressive movement และเปอร์เซ็นต์ motile sperm ของตัวอสุจิ ( $P>0.05$ )
2. การเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันและการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม มีผลต่อทำให้ความมีผลต่อความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัม ที่ระยะเวลา 45 วันของการทดลอง ( $P<0.01$ ) แต่ไม่มีผลต่อระดับความเข้มข้นของซีลีเนียมในซีรัม ในวันที่ 1 และระยะเวลา 90 วันของการทดลอง ( $P>0.05$ )
3. การเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันและการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส 200 มิลลิกรัมต่อวันร่วมกับซีลีเนียม 0.3 พีพีเอ็ม ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสลดลงกว่ากลุ่มควบคุม ที่ระยะเวลา 90 วัน ของการทดลอง ( $P<0.05$ )

### ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นถึงการใช้น้ำมันจมูกเปอร็อกไซด์ คิสมิวเตสในอาหารพ่อพันธุ์สุกร ควรศึกษาใช้น้ำมันจมูกเปอร็อกไซด์ คิสมิวเตสเพิ่มเติมที่มีอยู่ในส่วนของน้ำกาม (seminal plasma)
2. ควรจะทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับน้ำมันที่เกี่ยวข้องกับแร่ธาตุซีลีเนียม ได้แก่ น้ำมันกลูตาไธโอน เปอร็อกไซด์
3. ควรมีการศึกษาระดับการเสริมใช้น้ำมันจมูกเปอร็อกไซด์ คิสมิวเตส ในระดับที่เหมาะสมสำหรับพ่อพันธุ์สุกร
4. การใช้น้ำมันซีลีเนียมควรคำนึงถึงความเหมาะสมในการใช้ โดยพิจารณาจากสมรรถภาพของพ่อพันธุ์สุกรและอาหารที่ใช้ในการเลี้ยง เพื่อให้ได้ประโยชน์สูงสุดจากการใช้เพื่อให้มีความสอดคล้องกับความต้องการของสัตว์

## เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- ฉลอง วชิราภากร. 2543. โภชนศาสตร์แร่ธาตุของสัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น
- นพพันธ์ แมนธนานนท์. 2532. การศึกษาสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของสุกรเพศผู้จากน้ำไวท์ ณ สถานีปรับปรุงพันธุ์สุกรทับกวาง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- นัยนา บุญทวีวัฒน์. 2548. ชีวิตเคมีทางโภชนาการ. บริษัท ชิกม่า ดีไซน์กราฟฟิค จำกัด, กรุงเทพฯ.
- ปราณี อ่านเปรื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- พิรศักดิ์ สุทธิโยธิน. 2548. สรีรวิทยาการสืบพันธุ์ของสัตว์เลี้ยง. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- วนิดา ชัยชนะ. 2550. ผลของการเสริมซีลีโนเมทไธโอนีนในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อสุกร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วิชัย เอื้อสียาพันธุ์. 2545. ชีวิตเคมีทางการแพทย์. บริษัท บุ๊คเน็ต จำกัด, กรุงเทพฯ.
- วินัย ประลมภ์กาญจน์. 2527. การผลิตสุกร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานครพิมพ์, กรุงเทพฯ.
- ศรีสุวรรณ ชมชัย. 2542. คู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสุกร. สำนักพิมพ์สัตวเศรษฐกิจ, กรุงเทพฯ.
- สันนิภา สุรทัตต์. 2545. **Veterinary Immunology An Update**. บริษัท โนวาร์ตีส (ประเทศไทย) จำกัด, กรุงเทพฯ.

สุรชัย ชาครีรัตน์. 2545. การสืบพันธุ์และการผสมเทียมโค-กระบือ. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรพงษ์ ทองเรือง. 2550. ผลของการเสริม พรอสตาแกลนดิน เอฟ ทู อัลฟา ในน้ำเชื้อพ่อสุกรต่อ สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกรสาว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อรรณพ คุณาวงษ์กฤต. 2545. วิทยาการสืบพันธุ์สุกร. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์ มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

โอภา วัชรคุปต์. 2550. สารต้านอนุมูลอิสระ. บริษัทนิวไทยมิตรการพิมพ์ (1996) จำกัด, กรุงเทพฯ.

Ames, B.N., L.S. Gold and W.C. Willett. 1995. The causes and prevention of cancer. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 92: 5258-5265.

Behne, D., H. Weiler and Kyriakopoubs. 1996. Effects of selenium deficiency on testicular morphology and function in rats. **J. Reprod Fert.** 106: 291-297.

Bottje, W., B. Enkvetchakul and R. Moore. 1995. Effect of  $\alpha$ -tocopherol on antioxidants, lipid peroxidation, and the incidence of pulmonary hypertension syndrome (ascites) in broilers. **Poult. Sci.** 74: 1356-1369.

Castellini, C., P. Lattaioli, A. D. Bosco and D. Beghelli. 2002. Effect of supranutritional level of dietary  $\alpha$ -tocopherol acetate and selenium on rabbit semen. **Theriogenology** 58: 1723-1732.

Cole, D.A., Foxcroft, G.R. and B.J. Weir. 1990. **Journal of Reproduction and Fertility Supplement.** Henry Ling Ltd., Britain.

- Crapo, J.D., B.E. Barry, H.A. Foscus and J. Shelbume. 1980. Structural and Biochemical change in rat lungs occurring during exposures to lethal and adaptive doses of oxygen. **Am. Rev. Respir. Dis.** 122: 123-143.
- Dorge, W. 2002. Free radicals in physiological control of cellular function. **Physiol. Rev.** 82: 47-95.
- Duane E. Ullrey. 1987. Biochemical and physiological indicators of selenium status in animal. **J. Anim. Sci.** 65: 1712-1726.
- Fridovich, I. 1975. Superoxide dismutase. **Am. Rev. Respir. Dis.** 44: 147-159.
- \_\_\_\_\_ and B. Freeman. 1986. Antioxidant defenses in the lung. **Annu. Rev. Physiol.** 48: 693-702.
- Gautam, D.K. Misro, S.P. Chaki and N. Sehgal. 2006. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at physiological concentrations modulates Leydig cell function, induction of oxidative stress and apoptosis. **Apoptosis.** 11: 39-46.
- Griveau, J.F., E. Dumont, P. Renard, J.P. Callegari and D. Le Lannou. 1995. Reactive oxygen species, lipid peroxidation and enzymatic defence system in human spermatozoa. **J. Reprod Fert.** 103: 17-26
- Heffner, J.E. and Repine. 1989. Pulmonary strategies of antioxidant defense. **Am. Rev. Respir. Dis.** 140: 531-554.
- Hughes, P.E. and M.A. Varley. 1980. **Reproduction in the Pig.** Butterworths and Co., Ltd., London, United Kingdom.
- Irfan, R., S.K. Biswas and A. Kode. 2006. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway disease. **Eur. J. Pharm.** 533: 222-239.

- Juan, G., Alvarez and Bayard T. Storey. 1983. Role of Superoxide Dismutase in Protecting Rabbit Spermatozoa from O<sub>2</sub> Toxicity Due to Lipid Peroxidation. **Biol. Reprod.** 28: 1129-1136.
- Koh, T. S. and T. H. Benson. 1983. Critical re-appraisal of fluorometric method for determination of selenium in biological materials. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.** 66: 918-926.
- Kolodziej, A. and E. Jacyno. 2005. Effect of selenium and vitamin E supplementation on reproductive performance of young boars. **Archiv für Tierzucht.** 48: 68-75.
- Kowalowka, M., P. Wysocki, L. Fraser and J Strzezek . 2008. Extracellular Superoxide Dismutase of Boar Seminal Plasma. **Reprod. Dom. Anim.** 43: 490-496.
- Louis, G. F., A. J. Lewis, W. C. Weldon, P. S. Miller, R. J. Kittok, and W. W. Stroup. 1994. The effect of protein intake on boar libido, semen characteristics, and plasma hormone concentrations. **J. Anim. Sci.** 72: 2038-2050.
- Mahan, D. C. and Y. Y. Kim. 1996. Effect of inorganic or organic selenium at two dietary levels on reproductive performance and tissue selenium concentrations in first-parity gilts and their progeny. **J. Anim. Sci.** 74: 2711-2718.
- Marin-Guzman, J., D. C. Mahan, Y. K. Chung, J. L. Pate and W. F. Pope. 1997. Effects of dietary selenium and vitamin E on boar performance and tissue responses, semen quality, and subsequent fertilization rates in mature gilts. **J. Anim. Sci.** 75: 2994-3003.
- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and J. L. Pate. 2000a. Effects of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boar. **J. Anim. Sci.** 78: 1537-1543.

- \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ and R. Whitmoyer. 2000b. Effect of dietary selenium and vitamin E on the ultrastructure and ATP concentration of boar spermatozoa, and the efficacy of added sodium selenite in extended semen on sperm motility. **J. Anim. Sci.** 78: 1544-1550.
- Marklund, S.L. 1984. Extracellular superoxide dismutase in human tissue and human cell lines. **J. Clin. Invest.** 74: 1398-1403.
- Murawski, M., J. Saczko, A. Marcinkowska, A. Chwilkowska, M. Grybos and T. 2007. Evaluation of superoxide dismutase activity and its impact on semen quality parameters of infertile men. **Folia histochemica et cytobiologica.** 45: 123-126.
- National Research Council (NRC). 1998. **Nutrient Requirements of swine.** 10<sup>th</sup> ed, National Academy Press, Washington, DC.
- Robertson, S. A. 2007. Seminal fluid signaling in the female reproductive tract: Lessons from rodents and pigs. **J. Anim. Sci.** 85 (E. Suppl.): E36–E44.
- SAS. 2003. **SAS/STAT User' Guide.** SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.
- Senger, P.L. 1999. **Pathway to pregnancy and parturition.** Current Conception, Inc., Washington.
- Stowe, H.D. and T.H. Herdt. 1992. Clinical assessment of selenium status of livestock. **J. Anim. Sci.** 70: 3928-3933.
- Stralin, P. and S.L. Marklund. 1994. Effects of oxidative stress on expression of extracellular superoxide dismutase, CuZn-superoxide dismutase and Mn-superoxide dismutase in dermal fibroblasts. **Biochem. J.** 298: 347-352.

- Suria , P.F., N. Fujihara, B.K. Speaks, J.P. Brillard, G.J. Wishart and N.H.C. Sparks. 2001. Polyunsaturated fatty acid, lipid peroxidation and anti oxidant protection in avian semen. Asian-Aust. **J. Anim. Sci.** 14: 1024 – 1050 .
- Suriyasomboon, A., N. Lundeheim, A. Kunavongkrit and S. Einarsson. 2005. Effect of temperature and humidity on sperm morphology in Duroc boars under different housing systems in Thailand. **J. Vet. Med. Sci.** 67(8): 777-785
- Tangbanluekal, L. 1992. Free radicals and protection mechanisms against reactive radicals attack. **Thai J. Toxicology.** 8: 1-8.
- Ukeda, H., Sarker, A. K., Kawana, D. and Sawamura, M. 1999. SOD Assay Kit-WST. **Anal. Sci.** 15: 353.
- Umeda, F., K. Kato, K. Muta and H.Ibayashi. 1982. Effect of vitamin E on function of pituitary-gonadal axis in male rats and human subjects. **Endocrinol. Jpn.** 29(3): 287-292.
- Yu, B.P. 1994. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. **Physiol. Rev.** 74: 139-162.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 สูตรสารละลายน้ำเชื้อ NSRTC 4

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (กรัม)
กลูโคส	30.0
อีดีทีเอ	3.7
ซิทริก แอซิก	3.0
ทริส (ไฮดรอกซีเมทิล) อมิโนมีเทน	5.0
ไทรโซเดียมซิเตรตไดไฮเดรท	4.4
โซเดียมไบคาร์บอเนต	1.2
โปแตสเซียมคลอไรด์	0.3
นีโอมัยซินซัลเฟต	1.0
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1,000 มิลลิลิตร

## การวิเคราะห์การทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส

ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตสและซีลีเนียมต่อการทำงานของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส โดยใช้ SOD Assay Kit-WST ตามวิธีของ Ukeda *et al.* (1999)

### อุปกรณ์และสารเคมี

1. WST solution 5 ml
2. Enzyme solution 100  $\mu$ l
3. Buffer solution 100  $\mu$ l
4. Dilution buffer 50 ml
5. Manual 1 booklet
6. Plate reader (450 nm filter)
7. 96-well micro plate
8. 10  $\mu$ l 100-200  $\mu$ l 1 ml pipettes และ multi-channel pipette
9. Incubator
10. เครื่องอ่าน micro plate reader

### วิธีการทดลอง

#### 1. วิธีการเตรียม working solution

1.1 เตรียม WST working solution ใช้ WST solution 1 ml ผสมกับ buffer solution 19 ml

1.2 เตรียม enzyme working solution: นำ enzyme solution tube มา centrifuge เป็นเวลา 5 วินาที และทำการผสม enzyme solution 15  $\mu$ l กับ dilution buffer 2.5 ml ผสมให้เข้ากัน ใช้ pipette

## 2. วิธีการวิเคราะห์หา SOD activity

### 2.1. การเตรียม blank

2.1.1 blank 1: ใส่ H<sub>2</sub>O ลงใน well ของ blank 1 จำนวน 20 µl แล้วเติม WST working solution 200 µl และ enzyme working solution จำนวน 20 µl

2.1.2 blank 2: ใส่ sample solution 20 µl ลงใน well ของ blank ที่ 2 เติม WST working solution 200 µl และ dilution buffer จำนวน 20 µl

2.1.3 blank 3: ใส่ H<sub>2</sub>O ลงใน well ของ blank 3 จำนวน 20 µl เติม WST working solution 200 µl และ dilution buffer จำนวน 20 µl

2.2. การเตรียม sample solution โดยใช้ตัวอย่างซีรัมใส่ลงในแต่ละ well จำนวน 20 µl และใส่ WST working solution 200 µl ลงในแต่ละ well แล้วผสมให้เข้ากัน โดยใช้ pipette จากนั้นเติม enzyme working solution จำนวน 20 µl แล้วผสมให้เข้ากัน นำ plate ที่ได้ไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำ plate ไปอ่านค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 450 nm โดยใช้เครื่องอ่าน micro plate reader

### 2.3 การคำนวณค่า superoxide dismutase (SOD) activity โดยสูตร

$$\text{SOD activity} = \{[(A \text{ blank 1} - A \text{ blank 3}) - A \text{ sample} - A \text{ blank 2}]/ (A \text{ blank 1} - A \text{ blank 3})\} \times 100$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสง

## ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวเสาวลักษณ์ สุวัน
วัน เดือน ปี ที่เกิด	28 มกราคม 2526
สถานที่เกิด	จังหวัดพะเยา
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (เทคโนโลยีการผลิตสัตว์) มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ พ.ศ. 2548