ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

.....

ปริญญา

วิจัยและพัฒนาการเกษตร | โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

Effect of Chitooligosaccharide (Nuclear-COS) Addition in Semen Extender on Boar Semen Quality

นามผู้วิจัย นายกษิดิ์เดช ธีรนิตยาธาร

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(รองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย, วท.ม.)

ประธานสาขาวิชา .....

(รองศาสตราจารย์วรวิทย์ สิริพลวัฒน์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

Effect of Chitooligosaccharide (Nuclear-COS) Addition in Semen Extender on Boar Semen Quality

โดย

นายกษิดิ์เดช ธีรนิตยาธาร

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิจัยและพัฒนาการเกษตร)
พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กษิดิ์เดช ธีรนิตยาธาร 2554: ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิจัยและพัฒนาการเกษตร) สาขาวิจัยและพัฒนาการเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย, วท.ม. 65 หน้า

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อสุกร แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 น้ำเชื้อเจือจางด้วยสารละลายสูตร NSRTC 4 (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 น้ำเชื้อเจือจางด้วยสารละลายสูตร NSRTC 4 + นิวเคลียร์-COS สูตร1 ในอัตราส่วน 2 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มที่ 3 น้ำเชื้อเจือจางด้วยสารละลายสูตร NSRTC 4 + นิวเคลียร์-COS สูตร2 ในอัตราส่วน 2 เปอร์เซ็นต์ ทำการเจือจางน้ำเชื้อในแต่ละกลุ่มให้น้ำเชื้อที่เจือจางแล้วแต่ละกลุ่มมีความเข้มข้นของตัวอสุจิมีชีวิตเท่ากับ 3×10^9 ตัวต่อน้ำเชื้อ 80 มิลลิลิตร นำน้ำเชื้อมาตรวจคุณภาพที่มีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 10 วัน ผลการทดลองพบว่า น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุมมีค่าความเป็นกรด-ด่างและเปอร์เซ็นต์ progressive movement แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับน้ำเชื้อในกลุ่มที่เสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ กลุ่มที่เสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 2 ส่วนค่าแรงดันออสโมติคและเปอร์เซ็นต์ curve line movement แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อเจือจางที่นานขึ้นพบว่า ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ค่าแรงดันออสโมติค เปอร์เซ็นต์ motile sperm เปอร์เซ็นต์ live sperm เปอร์เซ็นต์ progressive movement ความเร็วในการว่ายแบบ VCL VSL VAP แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ส่วนเปอร์เซ็นต์ curve line movement แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Karsidete Teeranitayatarn 2011: Effect of Nuclear-COS (Chitooligosaccharide) Addition in Semen Extender on Boar Semen Quality. Master of Science (Agricultural Research and Development), Major Field: Agricultural Research and Development, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Associate Professor Srisuwan Chomchai, M.S. 65 pages.

The experiment was conducted to investigate the effect of Nuclear-COS (Chitooligosaccharide) addition in semen extender on boar semen quality. Three Duroc boars average 2 years of age were allocated into 3 treatment groups, group 1 NSRTC4 extender (control group), group 2 NSRTC4 extender+ 2% of Nuclear-COS 1, group 3 NSRTC4 extender + 2% of Nuclear-COS 2. The final semen dilution contained $3{,}000x10^{6}$ spermatozoa in the dose of 80 ml. in each treatment group. The diluted semen were examined the quality on the 1^{st}, 3^{rd}, 5^{th}, 7^{th} and 10^{th} days after dilution. The results found that there were highly significant differences ($P<0.01$) in pH and progressive movement of diluted semen between control and treatment groups while osmotic pressure and curve line movement had significant differences ($P<0.05$). At various time of storage pH osmotic pressure motile sperm live sperm progressive movement VCL VSL VAP of diluted semen had highly significant differences ($P<0.01$) while curve line movement had significant differences ($P<0.05$).

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก เป็นอย่างสูง ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำในด้านการศึกษา และการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณประธานกรรมการสอบ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรประพันธ์ ส่งเสริม ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก รองศาสตราจารย์ กษิดิศ อื้อเชี่ยวชาญกิจ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ที่กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ดร. ฐิตาภา สมิตินนท์ และคุณเสาวภา ยุววุฑโท หัวหน้างานและที่ปรึกษาเทคโนโลยี โครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทย (Industrial Technology Assistance Program, ITAP) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ที่ได้ให้ทุนสนับสนุนในการวิจัย ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. อนุชัย ภิญโญภูมิมินทร์ ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกสัตว์ใหญ่และสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ สถาบันสุวรรณวาจกสิกิจมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สถานที่เลี้ยงสัตว์ทดลองรวมทั้งบุคลากรภายในศูนย์วิจัยฯที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกจนงานวิจัยสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อยุ่ยทง แซ่ตั๊ง ผู้ล่วงลับไปแล้ว คุณแม่กิมเลี้ยง แซ่ตั๊งและพี่น้องทุกคนที่คอยสนับสนุนและให้กำลังใจตลอดเวลาเมื่อข้าพเจ้าเกิดความท้อแท้ และขอขอบพระคุณเภสัชกรประเสริฐ หวานยิ่ง ประธานบริษัท วิน วิน เวิลด์ไวด์ จำกัด ที่ให้การสนับสนุนและส่งเสริมทางการศึกษา การทำงาน และการดำเนินชีวิตบนพื้นฐานของการมีคุณธรรมให้กับข้าพเจ้าตลอดมาตั้งแต่เยาว์วัยและเจ้าหน้าที่ในบริษัททุกท่าน ขอขอบพระคุณครู อาจารย์ที่ประสิทธิ์ประสาทวิชาทุกๆ ท่าน ขอขอบพระคุณเพื่อน รุ่นพี่รุ่นน้องทุกท่านที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำที่ดีจนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์ คุณประโยชน์จากวิทยานิพนธ์นี้ขอมอบให้กับคนไทยทุกๆ คนประเทศชาติและพระมหากษัตริย์

กษิดิ์เดช ธีรนิตยาธาร

มีนาคม 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	28
อุปกรณ์	28
วิธีการ	30
ผลและวิจารณ์	35
สรุปและข้อเสนอแนะ	47
สรุป	47
ข้อเสนอแนะ	49
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	50
ภาคผนวก	56
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	65

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะทางเคมีของน้ำเชื้อสุกร	5
2	ลักษณะทางกายภาพของน้ำเชื้อสุกร	6
3	ส่วนประกอบทางเคมีในส่วนต่างๆ ของอสุจิ	10
4	ผลของการเสริมโคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายน้ำเชื้อต่อ คุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร	39
5	ผลของระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร	45
6	ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในสารละลายน้ำเชื้อต่อระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อ (วัน) ของพ่อพันธุ์สุกร	46

ตารางผนวกที่

1	สูตรสารละลายน้ำเชื้อ NSRTC 4	57
2	ส่วนประกอบอาหารสูตรพ่อพันธุ์	58

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ความดันออสโมติค	8
2	ส่วนประกอบต่าง ๆ ของตัวอสุจิ	10
3	ขั้นตอนการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้	16
4	โครงสร้างไคตินและไคโตซาน	23

ภาพผนวกที่

1	ค่าเฉลี่ยของ pH ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	59
2	ค่าเฉลี่ยของ osmotic pressure ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	59
3	ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ motile sperm ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	60
4	ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ live sperm ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	60
5	ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ progressive movement ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	61
6	ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ curve line movement ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	61
7	ค่าเฉลี่ย VCL ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	62
8	ค่าเฉลี่ย VSL ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	62
9	ค่าเฉลี่ย VAP ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	63
10	ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติส่วนหัวของตัวอสุจิตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	63
11	ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติส่วนหางของตัวอสุจิตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	64
12	ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ cytoplasmic droplet ของตัวอสุจิตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ	64

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

Effect of Chitooligosaccharide (Nuclear-COS) Addition in Semen Extender on Boar Semen Quality

คำนำ

ปัจจุบันการผลิตสุกรในประเทศไทยผู้เลี้ยงสุกรส่วนใหญ่ ได้ยอมรับเอาวิธีการผสมเทียมสุกรมาใช้แทนที่การผสมพันธุ์ตามแบบธรรมชาติมากยิ่งขึ้น การผสมเทียมสุกรจะประสบความสำเร็จได้นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งคือ พ่อพันธุ์สุกร ซึ่งเป็นแหล่งผลิตน้ำเชื้อเพื่อใช้ในการผสมพันธุ์ น้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรจะมีคุณภาพดีหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น สุขภาพของพ่อพันธุ์สุกร การจัดการเรื่องอุณหภูมิภายในโรงเรือนพ่อพันธุ์ อายุและการใช้งานพ่อพันธุ์ การจัดการเรื่องอาหารทั้งวิธีการให้อาหารและคุณภาพของอาหาร นอกจากนี้ยังอาจจะขึ้นอยู่กับความผิดปกติของตัวพ่อพันธุ์เองแต่ละตัวไป การใช้น้ำเชื้อของพ่อสุกรในการผสมเทียมให้กับแม่สุกร ได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีการผสมเทียมหลายอย่างเช่น เทคโนโลยีของอุปกรณ์ในการผสมเทียม เทคโนโลยีทางด้านการควบคุมการเป็นสัดของแม่สุกร เทคโนโลยีทางด้านการแยกอสุจิเพศผู้ เพศเมียเทคโนโลยีในการทำน้ำเชื้อแช่แข็งเป็นต้น ในการผสมเทียมสุกรในปัจจุบัน การใช้น้ำเชื้อสดยังเป็นที่นิยมแพร่หลายของผู้เลี้ยงสุกรอยู่ ดังนั้นการพัฒนาเทคโนโลยีของสารละลายน้ำเชื้อ เพื่อผลิตน้ำเชื้อสดให้สามารถเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อให้ได้นานวันมากขึ้นและมีตัวอสุจิมีชีวิตรอดสูง โดยที่เมื่อถูกนำไปผสมเทียมให้กับแม่สุกรจะไม่มีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่สุกร สารที่เป็นส่วนประกอบของสารละลายน้ำเชื้อที่นิยมใช้ในสารละลายสูตรต่างๆในปัจจุบันจะประกอบด้วย สารที่ให้พลังงานแก่ตัวอสุจิ เช่น น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุคโตส สารที่ใช้เป็นตัวรักษาแรงดันออสโมติคและทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ เช่น เกลือโซเดียม เกลือโปแตสเซียม อี. ดี. ที. เอ และ ทรีส (ไฮดรอกซี่เมทธีล) อมิโนมีเทน ซึ่งปัจจุบันได้ให้ความสนใจในการใช้เพื่อเป็นบัฟเฟอร์เพราะสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อให้มีชีวิตได้นานขึ้น ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นอนุพันธ์ของไคตินและไคโตซานโดยเป็นสารสกัดจากธรรมชาติ 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีสารพิษเจือปน เป็นสารสกัดจากเปลือกกุ้ง เปลือกปู ที่มีทั้งสายโมเลกุลยาวและสั้น โดยผ่านกระบวนการผลิตถึง 3 เทคโนโลยีอันประกอบด้วยไคโตเทคโนโลยี นาโนเทคโนโลยีและไบโอเทคโนโลยี โดยเอ็นไซม์จากธรรมชาติ จึงทำให้มีความบริสุทธิ์มากกว่าและมีขนาดที่เล็กกว่าไคโตซานทั่วไป 1,000 เท่า สัตว์จึงสามารถดูดซึม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เข้าสู่กระแสเลือดได้เร็วและนำไปใช้ประโยชน์ได้ทันทีไคโตโอลิโกแซค-คาไรด์ มีฤทธิ์ในการช่วยต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ช่วยเพิ่มการดูดซึมสารอาหาร และขับสารพิษออกจากร่างกายสัตว์ ทำให้สัตว์มีระบบการขับถ่ายที่ดี ส่งผลให้สัตว์ แข็งแรง มีความต้านทานโรคสูง ไม่มีพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเมื่อนำมาผสมลงไปในสารละลายน้ำเชื้อแล้วก็น่าจะเป็นการช่วยทำให้น้ำเชื้อสุกรสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานขึ้น ตัวอสุจิมีความแข็งแรงในการเคลื่อนไหว ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการผสมเทียมสุกร การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ลงไปในสารละลายน้ำเชื้อว่ามีผลอย่างไรต่อคุณภาพน้ำเชื้อ ซึ่งเป็นอีกเทคโนโลยีหนึ่งที่จะนำมาใช้ในการเพิ่มประสิทธิภาพในการผสมเทียมสุกรให้สูงขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อสุกรและคุณภาพของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

2. เพื่อศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อสุกร ที่เก็บรักษาไว้ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

น้ำเชื้อ

1. คุณสมบัติของน้ำเชื้อ

พีรศักดิ์ (2528) ได้รายงานว่า น้ำเชื้อเป็นของเหลวที่ไหลออกมาจากองคชาตของสัตว์เพศผู้ในขณะที่ทำการผสมพันธุ์ หรือขณะที่ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อด้วยวิธีใดๆก็ตาม น้ำเชื้อที่ได้ออกมานั้นจะแบ่งเป็น 2 ส่วนด้วยกันคือ ส่วนที่เป็นตัวอสุจิ (semen) ส่วนที่เป็นน้ำกาม (seminal plasma) ส่วนที่เป็นตัวอสุจิสร้างขึ้นมาจากท่อขดฝอยหรือท่อสร้างอสุจิ (seminiferous tubule) ที่อยู่ในถุงอัณฑะ ตัวอสุจิจะมีลักษณะแบ่งออกได้ 2 ส่วน คือ ส่วนหัวและส่วนของหาง ส่วนที่เป็นน้ำกามนั้นจะเป็นของเหลวที่อยู่ล้อมรอบตัวอสุจิให้ตัวอสุจิแขวนลอยอยู่ และหลั่งออกมาจากอัณฑะและท่อสำรองต่างๆ ซึ่งลักษณะทางเคมีของน้ำเชื้อสุกรจะมีส่วนประกอบที่แสดงไว้ดังตารางที่ 1

1.1 ลักษณะของน้ำเชื้อ

พีรศักดิ์ (2528) กล่าวว่า น้ำเชื้อของพ่อสุกรจะประกอบไปด้วย 3 ส่วนที่สำคัญ คือ ส่วนก่อนมีตัวอสุจิ ส่วนที่มีตัวอสุจิมาก และส่วนหลังมีตัวอสุจิ สำหรับส่วนก่อนที่มีการหลั่งอสุจิจะมีเม็ดสาคูซึ่งออกมาจากต่อมคาวเปอร์อยู่เป็นจำนวนมาก และส่วนหลังมีตัวอสุจิก็มีเม็ดสาคูและน้ำคัดหลั่งต่างๆจากต่อมสำรองอยู่ คาดกันว่าเม็ดสาคูที่หลั่งออกมานั้นจะเป็นตัวช่วยป้องกันการไหลกลับของน้ำเชื้อในขณะที่พ่อพันธุ์สุกรผสมเสร็จแล้ว ทั้งนี้เนื่องจากน้ำเชื้อพ่อสุกรมีปริมาตรในการหลั่งครั้งหนึ่งๆเป็นจำนวนมากนั่นเอง

ศรีสุวรรณ (2528) กล่าวว่า น้ำเชื้อที่พ่อสุกรหลั่งออกมานั้นส่วนแรกสุดจะเห็นเป็นเม็ดสาคู แต่จะออกมาในปริมาณที่น้อย ซึ่งน้ำเชื้อในส่วนนี้จะทิ้งไป ส่วนที่สองจะเห็นเป็นน้ำใสๆ ออกมาก็จะปล่อยทิ้งไปเช่นกัน เพราะไม่ใช่ในส่วนของน้ำเชื้อที่มีตัวอสุจิ และส่วนนี้จะมีเชื้อแบคทีเรียปะปนอยู่มาก ส่วนที่สามจะเห็นเป็นสีขาวขุ่น ส่วนนี้จะทำการเก็บเพราะเป็นน้ำเชื้อที่มีตัวอสุจิอยู่มาก พ่อสุกรจะใช้เวลาในการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้งนานประมาณ 3-15 นาที มีปริมาณน้ำเชื้อที่หลั่งประมาณ 80-300 มิลลิลิตร การหลั่งน้ำเชื้อของพ่อสุกรจะหลั่งออกมาเป็นวงรอบ ครั้งแรกจะมีเม็ดสาคู ต่อมาจะเป็นน้ำใส ๆ และต่อไปเป็นน้ำขุ่นๆ ต่อไปอาจเป็นน้ำใสสลับกับน้ำขุ่น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ซึ่งเป็นน้ำใสจากเม็ดสาคู จนกว่าอวัยวะเพศของพ่อสุกรจะอ่อนตัวลง Hughes and Varley (1980) กล่าวถึงคุณลักษณะของน้ำเชื้อพ่อสุกร โดยอ้างถึงงานของ Hafez ปี 1974 ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะทางเคมีของน้ำเชื้อสุกร

คุณสมบัติ	ค่าเฉลี่ย (mg/100 ml)	ช่วง (mg/100 ml)
pH	7.5	7.3-7.8
H_2O	95	94-98
Sodium	650	290-850
Potassium	240	80-380
Calcium	5	2-6
Magnecium	11	5-14
Chloride	330	260-430
Fructose	13	3-50
Sorbital	12	6-18
Citric acid	130	30-330
Inosital	530	380-630
Glycerophosphorylcholine (GCP)	-	110-240
Ergothioneine		6-23
Protein	3700	

ที่มา: Hafez (1974)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของน้ำเชื้อสุกร

คุณสมบัติ	ช่วง
Volume (ml)	150-300
Concentration (10^6/ml)	200-300
Total sperm/ejaculation (10^9)	30-60
Total sperm/week (10^9)	100-150
Motile sperm (%)	50-90
Morphologically normal sperm (%)	70-90

ที่มา: Hafez (1974)

1.2 ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของน้ำเชื้อสุกร

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของน้ำเชื้อสุกรและสารละลายน้ำเชื้อเป็นตัวที่ใช้บ่งบอกถึงคุณภาพน้ำเชื้อและสารละลายโดยปกติความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อจะอยู่ที่ 6.8-7.8 ในขณะที่ความเป็นกรดเป็นด่างของสารละลายน้ำเชื้อจะอยู่ที่ 6.5-7.5 (ศรีสุวรรณ, 2542) หรือความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้ออาจสูงถึง 7.9 (Nalbandov, 1976) แม้ว่าสภาพความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่ออสุจิคือสภาพที่เป็นกลางก็ตาม (Bearden and Fuquay, 1980) ความเป็นกรดเป็นด่างจะช่วยยืดอายุของตัวอสุจิ ทำให้เก็บน้ำเชื้อได้นานขึ้น ซึ่งอายุของตัวอสุจิก็เป็นผลมาจากการเกิดกรดแลกติก (lactic acid) ในการใช้น้ำตาลฟลุคโตสของตัวอสุจิเองหรืออาจเกิดมาจากการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่อุณหภูมิสูงกว่า 15 องศาเซลเซียส ซึ่งอาจจะทำให้น้ำเชื้อเกิดการสูญเสียประสิทธิภาพและคุณสมบัติได้ เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถเจริญได้ จึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดสภาพความเป็นกรดจากของเสียที่จุลินทรีย์ปล่อยออกมา (Appell and Evans, 1978) ซึ่งเมื่อเกิดกรดแลกติกมากก็จะทำให้ตัวอสุจิตาย ดังนั้นจึงต้องมีการปรับความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อโดยต่อมเซมินัลเวสซิเคิล (seminal vescicle gland) ในระบบสืบพันธุ์ของสุกร (ศรีสุวรรณ, 2542) และจากสารละลายน้ำเชื้อที่เรานำไปเจือจางเพื่อเพิ่มปริมาตรของน้ำเชื้อก็ยังช่วยรักษาสภาพความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อด้วยซึ่งสารละลายน้ำเชื้อที่นำมาเจือจางก็ควรที่จะมีความเป็นกรดเป็นด่างที่คงที่ด้วย โดยสารละลายน้ำเชื้อที่ใช้เจือจางควรเตรียมทิ้งไว้ก่อนการเจือจางประมาณ 30 นาที เพราะช่วง 30 นาทีแรกนี้เป็นช่วงที่ความเป็นกรดเป็นด่างยังไม่คงที่ มักจะค่อยๆ ลดต่ำลง จนอีกประมาณ 30 นาทีต่อมา ความเป็นกรด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เป็นด่างจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนคงที่ไปเรื่อยๆ ซึ่งมีผลต่ออายุของตัวอสุจิและการเก็บรักษาน้ำเชื้อปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อและสารละลายน้ำเชื้อ ได้แก่

1.2.1 น้ำเชื้อ ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องคือเมแทบอลิซึม (metabolism) การใช้น้ำตาลฟลุคโตสทำให้เกิดกรดแลกติก น้ำปัสสาวะของพ่อสุกรที่ปะปนไปในน้ำเชื้อขณะการรีดเก็บน้ำเชื้อ การติดเชื้อของอวัยวะสร้างน้ำเชื้อ การอักเสบของต่อมสร้างน้ำเชื้อ

1.2.2 สารละลายน้ำเชื้อ สารละลายน้ำเชื้อมีปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดความเป็นกรดเป็นด่างของสารละลายคือ น้ำที่นำมาละลายสารเคมีเพื่อผลิตสารละลายน้ำเชื้อ ซึ่งต้องเป็นน้ำที่บริสุทธิ์ เพราะน้ำทั่วๆไปอาจมีสารเคมีปนอยู่ทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างไม่คงที่ ซึ่งส่งผลต่อการมีชีวิตรอดของตัวอสุจิ

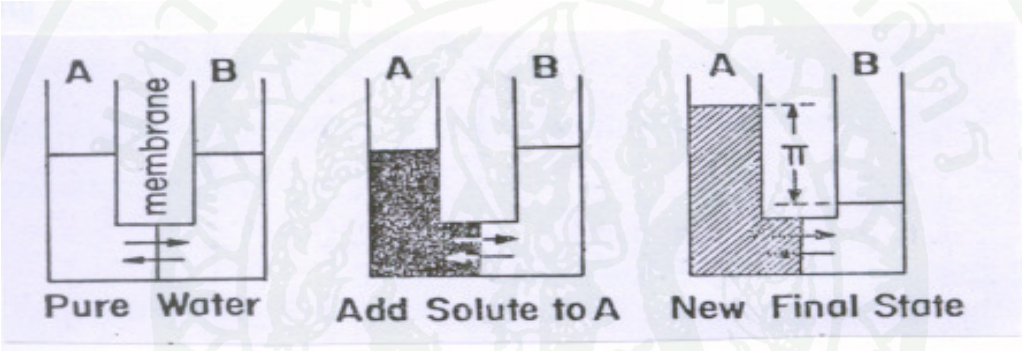
1.3 ค่าแรงดันออสโมติคของน้ำเชื้อสุกร

ค่าแรงดันออสโมติกเป็นแรงดันจำนวนหนึ่ง ซึ่งเกิดในสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงจนถึงจุดสมดุลจะสามารถที่จะหยุดการไหลของของเหลวได้ Schilling and Vengust (1986) กล่าวว่าโดยธรรมชาติน้ำเชื้อมีค่า tonicity เฉลี่ย 304$\pm$7 มิลลิออสโมต่อกิโลกรัม แม้ออสโมลาลิตี้ของน้ำเชื้อจะไม่อยู่ในสภาพที่สมดุลทั้งภายในและภายนอกเซลล์ แต่อสุจิก็สามารถเคลื่อนไหวเพิ่มขึ้นได้โดยเฉพาะเมื่ออยู่ในสารละลายที่เป็น hypotonic (แรงตึงตัวน้อย) และให้ความสมบูรณ์พันธุ์สูงสุดเมื่ออยู่ในสารละลายที่เป็น isotonic (Graham, 1978) โดยสูตรสารละลายน้ำเชื้อจะต้องมีค่าแรงดันออสโมติคที่ใกล้เคียงหรือเท่ากับค่าแรงดันออสโมติคของตัวอสุจิ เพราะหากค่าแรงดันออสโมติคของสารละลายน้ำเชื้อและค่าแรงดันออสโมติคของตัวอสุจิแตกต่างกัน จะทำให้เซลล์อสุจิแฟบหรือแตก ส่งผลให้คุณภาพของน้ำเชื้อหลังการเจือจางลดลง ซึ่งถ้าหากความเข้มข้นของของเหลวภายนอกเซลล์อสุจิต่ำกว่าภายในเซลล์อสุจิจะทำให้เซลล์อสุจิแตก และถ้าหากความเข้มข้นของของเหลวภายนอกเซลล์อสุจิสูงกว่าภายในเซลล์อสุจิ จะทำให้ของเหลวจากภายนอกเซลล์ซึมออกจากเซลล์อสุจิจนทำให้เซลล์อสุจิเหี่ยว และอสุจิจะสามารถรักษาสภาพการเคลื่อนไหวได้เป็นระยะเวลานานนั้นจำเป็นต้องมีสารละลายที่มีแรงตึงตัวคล้ายกับน้ำเชื้อ (Hafez, 1987) ซึ่งค่าแรงดันออสโมติคของตัวอสุจิจะมีค่าประมาณ 285–300 มิลลิออสโมต่อกิโลกรัมของน้ำ (ศรีสุวรรณ, 2542) ถ้าสารละลายน้ำเชื้อมีระดับความดันสูงหรือต่ำเกินไปเมตาบอลิซึมของตัวอสุจิจะผิดปกติทำให้อสุจิมีชีวิตสั้นลง (Bearden and Fuquay, 1980)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.3.1 คุณสมบัติทางออสโมติคของของเหลว

ปรากฏการณ์ออสโมติคขึ้นอยู่กับ colligative properties ของสารละลาย การแสดงง่ายๆ ถึงความดันออสมติกของสารละลายโดยใช้ภาชนะรูปตัว U แบ่งเป็น 2 ส่วนโดย semipermeable membrane (ดังภาพที่ 1) ซึ่งน้ำผ่านเข้าออกได้อย่างเดียว ถ้าใส่น้ำลงไปน้ำสามารถผ่านจาก A ไป B จนระดับทั้งสองข้างเท่ากันถ้าเติม solute A เช่น NaCl ไปใน A จะพบว่าระดับน้ำใน B เริ่มลดลงและเพิ่มระดับใน A จนกระทั่งถึงระดับหนึ่งซึ่งไม่มีแรงดูดใน A อีกต่อไป การวัดความดันออสโมติกเดิมใช้หน่วยเป็นมิลลิเมตรปรอทคือ 1 osmole = 17,000 มม.ปรอท แต่นิยมใช้หน่วย milliosmole (mOsm) มากกว่าซึ่ง 1 mOsm มีค่า = 17 มม.ปรอท



ภาพที่ 1 ความดันออสโมติก

1.3.2 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับค่าแรงดันออสโมติกของน้ำเชื้อและสารละลาย

ก. ความเข้มข้นของน้ำเชื้อและสารละลายที่แตกต่างกันเพราะความเข้มข้นมีผลต่อการเหี่ยวหรือแตกของเซลล์อสุจิ

ข. อุณหภูมิ อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้โครงสร้างบางส่วนเกิดการเปลี่ยนแปลงคือทำให้เยื่อหุ้มเซลล์อ่อนตัว ทำให้เกิดการซึมผ่านได้ง่ายกว่าอุณหภูมิต่ำ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. โครงสร้างของตัวอสุจิ

ศรีสุวรรณ (2528) กล่าวว่า ส่วนหัวของอสุจิ ประกอบไปด้วยนิวเคลียส (nucleus) และอะ-โครโซม (acrosome) ลักษณะส่วนหัวของอสุจิ เป็นรูปไข่ ประกอบด้วย โครมาตินจำนวนมากอัดแน่นโดยมีการหุ้มโครมาตินไม่ให้กระจายไป อะโครโซม เป็นส่วนที่ปกคลุมนิวเคลียสอยู่ทางด้านหน้า มีลักษณะเป็นถุงหุ้ม ประกอบด้วยผนังสองชั้นติดกับนิวเคลียส ภายในจะมีเอ็มไซม์ทำหน้าที่ย่อยในขบวนการปฏิสนธิ โดยจะถูกปล่อยออกมาเมื่อเกิดการปฏิสนธิ ส่วนหัวประกอบด้วย 4 ส่วน คือ

คอหรือชิ้นเชื่อม (connecting) มีลักษณะเป็นแผ่นทำหน้าที่เป็นข้อต่อเชื่อมระหว่างส่วนท้ายของนิวเคลียสกับชิ้นกลางของส่วนหาง ส่วนตรงคอนั้นหากมีขนาดเล็กมากก็จะแตกหักได้ง่าย ซึ่งเป็นสาเหตุของความผิดปกติของอสุจิอย่างหนึ่ง

ชิ้นกลาง (mid piece) ต่อมาจากคอไปจนถึงแอนนูลัซ (annulus) ประกอบไปด้วยฟิลาเม้นต์ (filament) หรือท่อเล็กๆ 9 คู่จัดเรียงตัวอยู่รอบฟิลาเมนต์ อันกลางถัดออกมาจะเป็นไมโตคอนเดรีย จึงเป็นส่วนสำคัญในการให้พลังงานแก่ตัวอสุจิที่ใช้ในการเคลื่อนไหว

ชิ้นสำคัญ (main piece) ต่อมาจากแอนนูลัสไปจนถึงชิ้นท้าย ประกอบด้วยแกนกลางเหมือนกับชิ้นกลาง มีเส้นใยเหนียวหนาเป็นแผ่นคลุมตามความยาวตั้งแต่ส่วนหัวของชิ้นสำคัญไปถึงชิ้นปลาย

ชิ้นท้าย ต่อมาจากชิ้นสำคัญ ประกอบด้วย แกนกลางที่มีพลาสมาเมมเบรนกั้นหุ้มอยู่

2.1 รูปร่างและลักษณะของอสุจิ

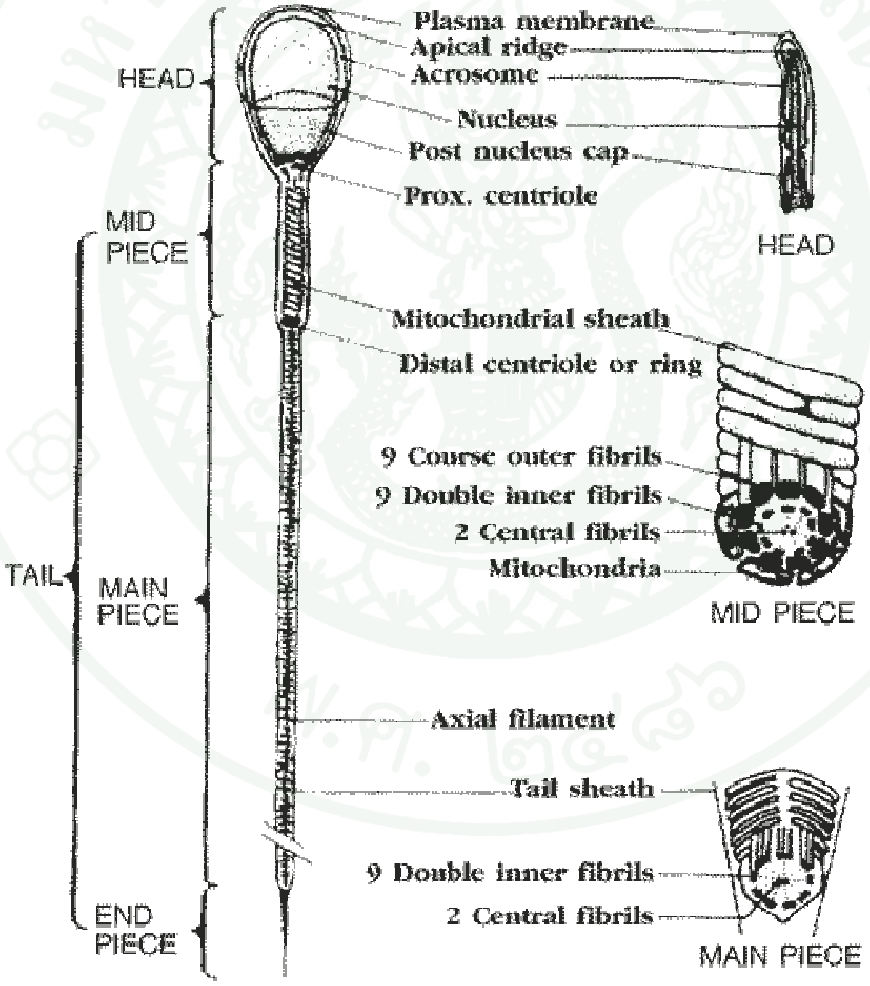
ไพฑูรย์ (2527) กล่าวว่า ลักษณะของส่วนหัวของอสุจิจะเป็นรูปทรงไข่แบน ต่อกับส่วนของตัวอสุจิ ตรงส่วนคอมีหางเรียวยาวต่อออกไป Hafez (1974) กล่าวว่า ปกติตัวอสุจิของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมนั้นจะมีความยาวประมาณ 50-80 ไมครอน ส่วนหัวมีขนาด 8 x 4 x 1 ไมครอน จะประกอบด้วยนิวเคลียสที่หุ้มไว้ด้วยโครโมโซม ส่วนหางยาวประมาณ 40-50 ไมครอน ประกอบขึ้นจาก 3 ส่วน ได้แก่ ชิ้นกลาง ชิ้นสำคัญ และชิ้นท้าย โดยที่ชิ้นส่วนหางนั้นจะมีความสำคัญในการเคลื่อนไหวภายในอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศเมีย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 ส่วนประกอบทางเคมีในส่วนต่างๆ ของอสุจิ

ส่วนของอสุจิ	สารประกอบ
นิวเคลียส	Deoxyribonucleoprotein
อะโครโซม	Protein bound mucopolysaccharide
ชิ้นกลางและหาง	Phospholipid
ผนังหุ้ม	Keratin – like proteins

ที่มา: Perry (1969)



ภาพที่ 2 ส่วนประกอบต่างๆ ของตัวอสุจิ

ที่มา: Perry (1969)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.2 รูปร่างและความผิดปกติของตัวอสุจิ

พ่อสุกรพันธุ์บางตัวที่มีลักษณะภายนอกดีและให้ปริมาณน้ำเชื้อมาก น้ำเชื้อมีสีขาวขุ่น แต่บางทีผสมแล้วไม่ติด อาจจะเนื่องจากว่ามีตัวเชื้ออสุจิที่ผิดปกติอยู่เป็นจำนวนมาก ในสุกรที่ยังไม่เจริญเติบโตเต็มที่จะพบว่ามีจำนวนตัวอสุจิที่ผิดปกติมากหรือถ้าหากให้พ่อสุกรผสมพันธุ์ถี่เกินไป ไม่ได้หยุดพัก หรือรีดเก็บน้ำเชื้อในช่วงห่างกัน 12 ชั่วโมงก็จะพบความผิดปกติของตัวเชื้อมากขึ้นเช่นกัน ความผิดปกติที่พบมากคือบริเวณส่วนหัว (acrosome) ซึ่งมีมากกว่าร้อยละ 80 ของส่วนที่ผิดปกติอื่นๆ ถ้าพบว่าน้ำเชื้อชุดนั้นมีความผิดปกติของส่วนต่างๆ มากกว่าร้อยละ 25 แล้วไม่ควรจะนำน้ำเชื้อชุดนั้นมาผสมพันธุ์ เพราะจะมีผลต่ออัตราการผสมติด ความสมบูรณ์พันธุ์จะลดลง ความผิดปกติของตัวอสุจิอาจจะมีสาเหตุมาจากการช็อค เนื่องจากความร้อนหรือความเย็น แสงเอกซ์-เรย์ อาหาร หรือความไม่สมดุลของฮอร์โมน ซึ่งจะไปมีผลกระทบกระเทือนต่อกระบวนการสร้างตัวอสุจิ ตัวอสุจิที่ผิดปกติจะไม่มีการเคลื่อนที่แบบพุ่งไปข้างหน้า (progressive movement) ดังนั้นถ้าหากน้ำเชื้อมีเปอร์เซ็นต์ของตัวอสุจิที่ผิดปกติสูงขึ้น จะทำให้เปอร์เซ็นต์ของตัวอสุจิที่เคลื่อนไหวแบบพุ่งไปข้างหน้าลดลง

ความผิดปกติของตัวอสุจิเกิดขึ้นได้ทุกระยะ ตั้งแต่กระบวนการสร้างจนกระทั่งออกสู่ภายนอกร่างกาย ซึ่งการเกิดความผิดปกติแบ่งออกตามระยะของเวลาการผิดปกติได้เป็น 2 ระยะคือ (Sorensen, 1979)

2.2.1. ความผิดปกติขั้นปฐมภูมิ (primary abnormalities) การผิดปกตินี้จะเกิดขึ้นที่บริเวณลูกอัณฑะ เช่นมีความผิดปกติในกระบวนการสร้างตัวอสุจิและระหว่างการเคลื่อนย้ายภายในระบบท่อ ซึ่งแบ่งการเกิดความผิดปกติออกเป็นส่วนต่างๆได้ดังนี้

ก. ความผิดปกติที่ส่วนหัว ประกอบด้วย หัวคล้ายลูกแพร์หรือลูกชมพู่ (pyriform of pear-shaped) หัวกลม (round) หัวเรียวยาว (elongated or slender) หัวเล็ก (microcephalic or small) หัวใหญ่ (macrocephalic or giant) สองหัว (double or twin) อะโครโซมผิดปกติ (abnormal acrosome)

ข. ความผิดปกติที่บริเวณส่วนกลาง ประกอบด้วยหางพับ (bent or kinded at right angle) สองหาง (twin or double) หางบวม (enlarged or swollen) หางต่อไม่ตรงกลางหัว (off-center attachment or abaxial)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ค. ความผิดปกติที่ส่วนหาง ประกอบด้วย หางขดม้วน (coiled or curled) และสองหาง (double tail)

2.2.2 ความผิดปกติขั้นทุติยภูมิ (secondary abnormalities) ความผิดปกติแบบนี้จะเกิดขึ้นในระบบท่อภายหลังตัวอสุจิออกมาจากท่อขดฝอย (seminiferrous tububules) แล้วความผิดปกตินี้ได้แก่ หัวและหางหลุดออกจากกัน (detached heads) มีหยดน้ำที่หาง (protoplasmic droplet on the neck or tail) หางพับงอ (shoehook tail) อะโครโซมเกาะอยู่ที่ส่วนหัวอย่างหลวมๆ (loose cap from the head) หัวหลุดมักจะเกิดขึ้นเนื่องจากการขนส่ง อย่าเขย่าน้ำเชื้อแรงๆหรือหัวอาจจะหลุดเนื่องจากการย้องสีบนแผ่นสไลด์ หรือน้ำเชื้อมีอายุมาก ตัวอสุจิที่ผิดปกติ อาจจะแบ่งความผิดปกติออกได้เป็น 3 อย่างคือ

ก. ส่วนหัวผิดปกติ (Abnormal heads) เช่นหัวใหญ่ผิดปกติ (Giant head), หัวเล็กผิดปกติ (micro heads), หัวแหลมเหมือนก้านไม้ขีดไฟ (tapering head), หัวคล้ายลูกแพร์หรือลูกชมพู่ (pyriform head), มีสองหัว (double heads)

ข. ส่วนหางผิดปกติ (abnormal tails) เช่น หางขยายใหญ่ (enlarged tail), หางหัก (broken tail), หางงอ (bent tail), หางเล็ก (filiform tail), มี 2 หาง (double tails), หางขดเป็นม้วน (coiled tail)

ค. มีหยดน้ำที่ส่วนหาง (protoplasmic or cytoplasmic droplets) หยดน้ำที่เกิดขึ้นบนส่วนหางของตัวอสุจิสุกรจะเกิดขึ้นในระหว่างการสร้างตัวอสุจิ หยดน้ำนี้จะถูกสลัดออกเมื่อตัวอสุจิเคลื่อนตัวมาอยู่ที่บริเวณท่อเก็บน้ำเชื้อข้างลูกอัณฑะ (epididymis) ถ้าหากว่าหยดน้ำนี้ไม่ถูกสลัดออกไปจากหาง ตัวอสุจิที่หลั่งออกมาและมีหยดน้ำอยู่ที่ส่วนหางก็ถือว่าเป็นตัวอสุจิที่ผิดปกติ ถ้าหากในน้ำเชื้อมีตัวอสุจิที่มีหยดน้ำอยู่ที่ส่วนหางสูง จะทำให้ความสมบูรณ์พันธุ์ลดลง เนื่องจากตัวอสุจิที่มีหยดน้ำอยู่ที่ส่วนหางจะทำให้ไม่สามารถใช้ไพรูเวท (pyruvate) ได้ เวลาเข้าไปอยู่ในระบบสืบพันธุ์ของสุกรตัวเมียจะมีชีวิตอยู่ได้ประมาณ 4 ชั่วโมงก็จะตาย

ในบางครั้งอาจจะตรวจดูความผิดปกติของอะโครโซมของตัวอสุจิด้วย เพราะว่าตัวอสุจิที่มีการเคลื่อนไหวปกติดีแต่เวลาเอาไปผสมพันธุ์แล้ว พบว่าผสมไม่ติด โดยเฉพาะน้ำเชื้อที่ผ่านขบวนการเจือจางหรือทำน้ำเชื้อแช่แข็ง ซึ่งผ่านความเย็นมาแล้วพบว่าอสุจิของสุกรไม่ค่อยจะทนกับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ความเย็นได้ดีเหมือนกับอสุจิของโค เมื่อกระทบกับความเย็นส่วนของอะโครโซมจะถูกทำลายได้ง่าย ถ้าอะโครโซมถูกทำลายแล้วตัวอสุจิก็ไม่สามารถผสมกับไข่ได้

3. น้ำกาม (Seminal plasma)

น้ำกามประกอบไปด้วยน้ำคัดหลั่งจากต่อมสำรองต่างๆ และจากท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ส่วนอื่นๆ เช่น ท่อพักอสุจิ เป็นต้น ซึ่งควบคุมโดยฮอร์โมนแอนโดรเจน หน้าที่สำคัญของส่วนนี้คือเป็นตัวนำ spermatozoa เข้าสู่อวัยวะสืบพันธุ์ของเพศตรงข้าม ดังนั้น seminal plasma ของน้ำเชื้อจึงมีคุณสมบัติหลายประการที่เหมาะสมสำหรับทำหน้าที่นี้ ซึ่งได้แก่ มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ มีแหล่งพลังงานที่ spermatozoa สามารถใช้ได้โดยตรง (fructose และ sorbital) และโดยอ้อม (GPC, Glycerophosphorylcholine) ซึ่งต้องการเอนไซม์ในอวัยวะเพศเมียย่อยก่อน มี pH เป็นกลาง คือ 7 และ แรงดันออสโมติคเท่ากับโลหิต (เท่ากับ 0.9 % NaCl) ในส่วนของ seminal plasma ยังมี citrate และ bicarbornate ซึ่งทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ และยังมีสารอินทรีย์อื่นๆ คือ fructose , citric acid , sorbital , inosital , GPC และ ergothioneine ซึ่งมีในระดับสูงกว่าในส่วนใด ๆ ของร่างกาย (สุจินต์, 2526)

4. การสร้างตัวอสุจิ

การสร้างตัวอสุจิเกิดขึ้นในท่อสร้างอสุจิซึ่งอยู่ในอัณฑะ ท่อสร้างอสุจิจะมีเยื่อบุผิวภายในท่อ ซึ่งประกอบด้วยเซลล์ 2 ชนิด ที่สำคัญคือ เซอร์โทไลเซลล์ (sertoli cell) และเซลล์สืบพันธุ์ โดยเซลล์สืบพันธุ์จะมีการเจริญเติบโตหลายขั้นตอนกลายมาเป็นสเปอร์มาโตโกเนีย(spermatogonia) และผ่านขั้นตอนการลดดีเอ็นเอลงครึ่งหนึ่งจนเกิดเซลล์ที่เรียกว่า สเปอร์มาติค (spermatic) ขบวนการในขั้นนี้เรียกว่า spermatocytogenesis สเปอร์มาติคที่ได้จะเจริญผ่านอีกหลายขั้นตอนกลายเป็นตัวอสุจิ ขบวนการในขั้นตอนนี้เรียกว่า spermatogenesis การเจริญของตัวอสุจิในขั้นต่างๆ นี้ได้อาศัยเซอร์โทไลเซลล์ ซึ่งเป็นตัวอุ้มชูคอยส่งอาหารไปเลี้ยงเซลล์สืบพันธุ์ที่กำลังเจริญโดยเซลล์สืบพันธุ์ที่กำลังเติบโตจะมีส่วนหัวมารวมกันเป็นกลุ่มติดที่เซอร์โทไลเซลล์
(ศรีสุวรรณ, 2528)

4.1 กระบวนการสร้างตัวอสุจิ (spermatogenesis) กระบวนการสร้างตัวอสุจิสามารถแบ่งเป็น 2 ขั้นตอนคือ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.1.1 สเปอร์มาโตไซโตเจเนซีส (spermatocytogenesis)

ขบวนการนี้เริ่มจากในตอนที่สัตว์อายุน้อย มีการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์ขึ้นมาและเมื่อเข้าสู่วัยหนุ่มสาวแล้วในสัตว์เพศผู้จะมีเซลล์สืบพันธุ์ดั้งเดิม (gonocyte) อยู่ในอัณฑะที่บริเวณท่อผลิตอสุจิเซลล์สืบพันธุ์ดั้งเดิมเหล่านี้เริ่มเจริญขึ้นเมื่อสัตว์เข้าสู่วัยหนุ่มสาวแล้วเจริญไปเป็นสเปอร์มาโตโกเนียชนิดเอศูนย์ (Ao) สเปอร์มาโตโกเนียชนิดนี้หลังจากแบ่งตัวแล้วจะได้สเปอร์มาโตโกเนีย ชนิดเอหนึ่ง (A1) ชนิดเอหนึ่งจะแบ่งตัวให้ชนิดเอสอง (A2) ชนิดเอสองก็จะแบ่งตัวให้ชนิดเอสาม (A3) และเอสามก็แบ่งตัวให้ชนิดเอสี่ (A4) ไปตามลำดับ ในสัตว์บางชนิดแทนที่จะมีสเปอร์มาโตโกเนีย 4 ชนิด ก็มีเพียง 3 ชนิดเท่านั้น นอกจากนั้นยังพบว่าสเปอร์มาโตโกเนียชนิดเอสองนั้น นอกจากจะทำหน้าที่ในการแบ่งตัวให้สเปอร์มาโตโกเนียชนิดเอสามออกมาเป็นจำนวนมากเพื่อเจริญไปเป็นตัวอสุจิแล้วยังเป็นส่วนสำรองในการผลิตสเปอร์มา-โตโกเนียชนิดเอหนึ่งได้ด้วย (พีรศักดิ์, 2548; Senger, 1999)

ต่อจากนั้นสเปอร์มาโตโกเนียชนิดเอสี่ก็แบ่งตัวไปเป็นชนิดไอเอ็น (In) หรือสเปอร์มาโตโกเนียกึ่งกลาง (intermediate spermatogonia) แล้วจึงเจริญต่อไปเป็นสเปอร์มาโตโกเนียชนิด บี (B) ซึ่งจะแบ่งตัวอย่างน้อยหนึ่งครั้งแล้วจึงกลายเป็น ไพรมารีสเปอร์มาโตไซท์ (primary spermatocyte) ไพรมารีสเปอร์มาโตไซท์จะแบ่งตัวออกไปอีกซึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญอยู่ที่นิวเคลียสของเซลล์ โดยมีการเปลี่นแปลงแบบไมโอติคโปรเฟส (meiotic prophasa) ซึ่งมี 5 ระยะ คือ พรีเล็ฟโตทีน (preleptotene) เลฟโตทีน (leptotene) ไซโกทีน (zygotene) แพคคีทีน (pachytene) และดิพโลทีน (diplotene) แล้วจึงผ่านขั้นตอนไดอะไคเนซีส (diakinesis) แล้วก็กลายมาเป็นเซคันดารีสเปอร์มาโตไซท์ (secondary spermatocyte) เนื่องจากในการเจริญจากไพร-มารีสเปอร์มาโตไซท์มาเป็นเซคันดารีสเปอร์มาโตไซท์ และจะมีการลดโครมาโซมในนิวเคลียสลงมาครึ่งหนึ่งซึ่งทำให้เซคันดารีสเปอร์มาโตไซท์มีโครโซมเป็นครึ่งหนึ่ง (haploid) ของโซมาติกเซลล์ (somatic cell) และเซคันดารีสเปอร์มาโตไซท์จะแบ่งตัวอีกครั้งหนึ่งโดยไม่มีการเพิ่มจำนวนโครมาโซมกลายเป็นสเปอร์มาติค และสเปอร์มาติคนี้เองที่จะเจริญต่อไปเป็นตัวอสุจิ

4.1.2 สเปอร์มีโอเจเนซีส(spermiogenesis)

กระบวนการขั้นนี้เป็นการเจริญของสเปอร์มาติค ไปเป็นตัวอสุจิโดยมีการเปลี่ยนรูปร่างไปจากเดิม โดยจะมีการสร้างหาง และอะโครโซม (acrosome) ขึ้นมา วิธีการศึกษาการเปลี่ยนรูปร่างนี้ทำได้โดยการย้อมตัวอสุจิด้วยเพอริโอดิก แอซิคชิฟฟ์ หรือพีเอสเอ (periodic acid-schiff,

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

PAS) ย้อมอะโครโซมซึ่งจะติดสีแดงเข้ม การเปลี่ยนแปลงในขบวนการสเปอร์มีโฮเจเนซิส แบ่งเป็นหลายขั้นตอน สุรชัย (2545); พีรศักดิ์ (2548); Senger (1999) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของตัวอสุจิ ดังนี้

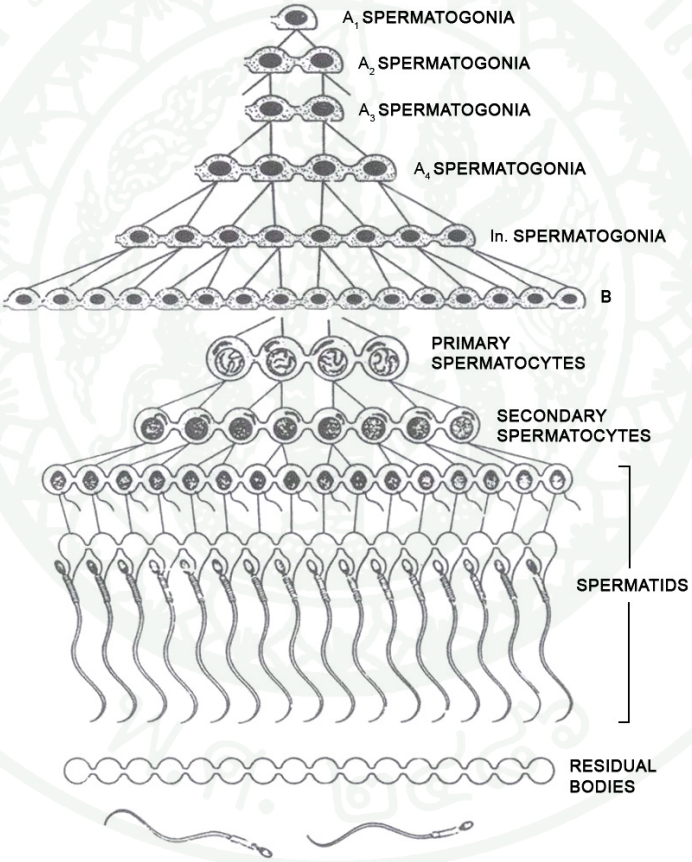
ก. ระยะกอลไจ (golgi phase) ในระยะนี้จะมีการรวบกลุ่มกันของเม็ดขนาดเล็ก (granule) ซึ่งจะอยู่ในกอลไจแอพพาราทัส (golgi aparatus) และจะกลายไปเป็นเม็ดอะโครโซม (acrosome granule) ติดกันอยู่รอบๆนิวเคลียสของสเปอร์มาติคซึ่งสามารถตรวจพบได้โดยการย้อมสีพีเอสติดสีแดงเข้ม และในระยะนี้จะเริ่มมีการเจริญของหางเกิดขึ้นที่หัวด้านตรงข้ามของเม็ดอะโครโซม

ข. ระยะแคฟ (cap phase) เป็นระยะต่อจากระยะกอลไจ ซึ่งเม็ดของอะโครโซมจะกระจายออกล้อมรอบนิวเคลียสของสเปอร์มาติคจนเป็นชั้นบางๆ 2 ชั้น หุ้มทางด้านหน้าของนิวเคลียสของสเปอร์มาติคประมาณ 2 ใน 3 ในขณะเดียวกันจะมีการเจริญของหาง (axoneme) เพิ่มมากขึ้นและเซนตริโอล (centriole) ที่อยู่ในนิวเคลียสจะเคลื่อนตัวไปทางขั้วของนิวเคลียส ในบริเวณที่มีหางเริ่มเจริญขึ้น เซนตริโอลชิ้นบน (proximal centriole) อยู่ใกล้นิวเคลียสเซนตริโอลชิ้นนี้ เป็นส่วนที่เชื่อมส่วนหัวของตัวอสุจิเข้ากับหาง ในส่วนของเซนตริโอลชิ้นล่าง (distal centriole) จะก่อรูปเป็นหางโดยมีการยืดตัวยาวออกมาในช่วงนี้หางจะเจริญเติบโตโดยมีโครงสร้างเป็นท่อใหญ่อยู่ตรงกลางหนึ่งท่อ และมีท่อเล็กๆ 9 ท่อ อยู่ล้อมรอบ

ค. ระยะอะโครโซม (acrosomal phase) สเปอร์มาติคที่ติดจะค่อยๆหมุนตัวให้ในของส่วนอะโครโซมไปอยู่ชิดผนังของท่อผลิตอสุจิ ทำให้ส่วนหางที่กำลังเกิดการเปลี่ยนแปลงนั้นชี้เข้าใน ส่วนช่องว่างภายในท่อของท่อผลิตอสุจิทำให้ง่ายและสะดวกในการเปลี่ยนแปลงมากยิ่งขึ้นในส่วนของนิวเคลียสมีการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญคือ นิวเคลียสจะค่อยๆเคลื่อนตัวจากตำแหน่งที่อยู่ในบริเวณจุดศูนย์กลางมาอยู่ที่บริเวณ ขอบของเซลล์มีการรวมตัวของโครมาติคเข้าเป็นเม็ดที่เข้มข้น (dense granule) และ มีการเปลี่ยนรูปร่างนิวเคลียสจากรูปกลมให้เป็นยาวขึ้น และแบนลงในส่วนของอะโครโซมที่ติดอยู่กับนิวเคลียสนั้น ก็จะเปลี่ยนแปลงรูปร่างไปตามการเปลี่ยนแปลงของนิวเคลียส ส่วนหาง มีการเจริญขึ้นโดยที่ไซโตพลาสซึมของเซลล์นั้นจะเคลื่อนตัวไปทางท้ายห่อหุ้มส่วนของหางที่เจริญขึ้นไว้ เป็นรูปทรงกระบอก ในส่วนของไซโตพลาสซึมจะมีท่อเล็กๆอยู่เรียกว่า แมนเซทเท (manchette) ซึ่งเป็นส่วนที่ต่อมาจากด้านท้ายของอะโครโซม และแมนเซทเทจะถูกห่อหุ้มด้วยไซโตพลาสซึมที่เรียกว่า แอนนูลัส (annulus) และยังมีการเปลี่ยนแปลงของไมโตคอนเดรียซึ่งเป็นแหล่งพลังงานของเซลล์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ง. ระยะเมทูเรชั่น (maturation phase) เป็นการเจริญเติบโตเพื่อให้โตเต็มวัยและเริ่มหลุดออกจากผนังท่อผลิตอสุจิ เข้ามาอยู่ในช่องว่างในท่อของท่อผลิตอสุจิ โดยมีการเจริญของไฟบรัสชีส (fibrous sheath) ซึ่งประกอบด้วยเยื่อใยหนา 9 ชั้นรวมตัวกันอยู่รอบๆ ส่วนหางแอนนูลัส ซึ่งเกิดขึ้นในระยะก่อนหน้านี้จะค่อยๆ เคลื่อนตัวไปทางหางไปหยุดที่จุดหนึ่ง ซึ่งจุดนั้นจะเป็นจุดที่แบ่งระหว่างชิ้นกลางของหางกับชิ้นสำคัญของหางไมโตรคอนเดรียเริ่มจัดตัวเอง ในช่วงท้ายๆ ที่สเปอร์มาติคจะกลายเป็นตัวอสุจิแมนเซทเทจะหายไปและเซอร์โทไลเซลล์จะสร้าง เรซิดวล บอดี้ (residual body) จากไซโตรพลาสซึมที่เหลือของสเปอร์มาติค และติดกับสเปอร์มาติคแต่ละตัวตรงส่วนชิ้นกลางของหางจนกระทั่งสเปอร์มาติคหลุดออกจากเรซิดวลบอดี้ แล้วก็เป็นตัวอสุจิ



ภาพที่ 3 ขั้นตอนการแบ่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้

ที่มา: Setchell (1993)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. สารละลายน้ำเชื้อ

5.1 ความสำคัญของสารละลายน้ำเชื้อกับตัวอสุจิ

สารละลายน้ำเชื้อเป็นแหล่งให้อาหารแก่ตัวอสุจิโดยเป็นแหล่งของพลังงาน รักษาแรงดันออสโมติค (osmotic pressure) ที่เหมาะสมและปรับความสมดุลของตัวอสุจิ เป็นบัฟเฟอร์ (buffer) ปรับสภาพความเป็นกรดเป็นด่าง เพื่อป้องกันอันตรายแก่ตัวอสุจิจากการเกิดกรดแลคติค (lactic acid) เนื่องจากการเมแทบอลิซึมของตัวอสุจิ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย ป้องกันอันตรายแก่ตัวอสุจิจากอุณหภูมิที่เย็นลงหรือเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างกะทันหัน เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำเชื้อให้มากขึ้น สามารถนำไปใช้ผสมให้กับสุกรเพศเมียได้หลายตัว

สารละลายน้ำเชื้อที่ดี นอกจากจะช่วยในการเพิ่มปริมาณของน้ำเชื้อให้มากขึ้นแล้ว จะต้องสามารถทำให้ตัวอสุจิเก็บรักษาไว้ได้นาน โดยที่ยังมีความสมบูรณ์พันธุ์อยู่หรือเปลี่ยนแปลงไปเล็กน้อยเท่านั้น

5.2 ลักษณะสารละลายน้ำเชื้อสูตรต่างๆ และส่วนประกอบ

5.2.1 สารที่ให้พลังงานและเป็นอาหารให้กับตัวอสุจิ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาล ฟรุคโตส น้ำตาลเดกโตส น้ำตาลแลคโตส ไข่แดง น้ำนม เป็นต้น

5.2.2 สารที่ใช้เป็นตัวรักษาแรงดันออสโมติคและทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ ได้แก่ โซเดียมซิเตรท โซเดียมไบคาร์บอเนต โปแตสเซียมคลอไรด์ อีดีทีเอ (ethylene diamine tetra acetic acid = EDTA) ทรีส (ไฮดรอคซีเมธิล) อะมีโนมีเทน (tris (hydroxymethyl) aminomethane) ซึ่งในปัจจุบันนี้ได้หันมาสนใจในการใช้ทรีสเพื่อเป็นบัฟเฟอร์มากขึ้น เพราะสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อให้มีชีวิตได้มากขึ้น

5.2.3 ยาพวกซัลฟา (sulfanilamide) จะทำหน้าที่ยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึมและทำลายพวกเชื้อแบคทีเรีย ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทำลาย และยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ได้แก่ เพนนิซิลิน (penicillin) สเตรปโตมัยซิน (streptomycin) ไดเบคาซิน (dibekacin) อะมิคาซิน (amikacin) เจนตามัยซิน (gentamycin) กานามัยซิน (kanamycin) ซัลเบนนิซิลิน (sulbenicillin) โพลีมัยซิน บี (polymycin B) และนีโอมัยซิน (neomycin)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในกรณีน้ำเชื้อแช่แข็งจะมีการเติม glycerol เพื่อป้องกันการเสียหายของ spermatozoa เนื่องจากการแข็งตัว โดยช่วยลดการตกผลึกของน้ำภายในเซลล์

น้ำเชื้อที่มีความดันของของเหลวเท่ากับของเหลวภายในร่างกาย คือ เลือด น้ำนม หรืออื่นๆ (มีจุดเยือกแข็ง–0.56 องศาเซลเซียส) ดังนั้นการที่เป็นตัวเจือจางก็ควรมีความดันของสารละลายเท่ากันด้วย ความเป็นกรดหรือด่างควรจะใกล้เคียงกับระดับธรรมชาติ โดยเป็นกลางที่ 7.0 และ 6.8 หรือมีฤทธิ์ออกเป็นด่างเล็กน้อยจนถึงเป็นกรดเพียงเล็กน้อยซึ่งขึ้นกับชนิดของสัตว์ (เทวินทร์, 2530)

Reed (1982) ได้รายงานว่าปัจจุบันมีผู้พยายามพัฒนาสูตรของสารละลายน้ำเชื้อเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บรักษาน้ำเชื้อพันธุ์ที่จืดจางแล้วในรูปเชื้อสดให้นานวันออกไป และความสมบูรณ์พันธุ์สูง

5.3 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่ทำการเก็บรักษาภายหลังจากการเจือจางแล้ว

น้ำเชื้อของพ่อสุกรพ่อพันธุ์ภายหลังจากที่เรารีดเก็บออกมาได้แล้วนั้น ถ้าหากว่าเราไม่ใช้น้ำเชื้อชุดนั้นให้หมดเลยทันที ต้องการเก็บรักษาไว้เพื่อจะเอาไว้ใช้ผสมในวันต่อไป เราจำเป็นที่จะต้องเจือจางน้ำเชื้อชุดนั้นก่อน แต่ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อภายหลังจากการเจือจางแล้วนั้นมีปัจจัยหลายอย่างเข้ามาเกี่ยวข้อง ที่จะทำให้ตัวอสุจิมีชีวิตรอดและมีความอุดมสมบูรณ์พันธุ์สามารถปฏิสนธิกับไข่ได้ ปัจจัยเหล่านั้นได้แก่

5.3.1 ระดับอุณหภูมิที่เก็บรักษาน้ำเชื้อ อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อสดจะอยู่ในช่วง 15-20 องศาเซลเซียส ถ้าหากอุณหภูมิสูงกว่านี้ตัวอสุจิจะมีการเคลื่อนไหวมาก ทำให้สูญเสียพลังงานที่สะสมไว้มาก อายุของตัวอสุจิก็จะสั้นลง การที่เราลดอุณหภูมิของน้ำเชื้อให้อยู่ในช่วงนี้ก็เพราะว่าต้องการให้ตัวอสุจิเคลื่อนไหวน้อยที่สุด แต่ถ้าหากอุณหภูมิลดลงต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียสจะมีผลทำให้เกิดความผิดปกติของตัวอสุจิ เช่น ส่วนของหางผิดปกติ ส่วนของอะโครโซม เกิดการแตกหรือถูกทำลาย ทำให้ตัวอสุจิเหล่านี้ไม่สามารถปฏิสนธิกับไข่ได้

5.3.2 สารละลายน้ำเชื้อ เมื่อเราต้องการเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ใช้หลายๆ วัน เราจะต้องทำการเจือจางน้ำเชื้อด้วยสารละลายน้ำเชื้อเสียก่อนการที่ตัวอสุจิจะสามารถมีชีวิตอยู่ได้หลายวันส่วนหนึ่งจะขึ้นอยู่กับความสามารถของสารละลายน้ำเชื้อ ซึ่งแต่ละสูตรจะมีความสามารถที่แตกต่างกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ก. สารละลายน้ำเชื้อที่สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ได้ในระยะสั้นประมาณ 3-4 วัน ได้แก่สารละลายน้ำเชื้อสูตร เคียฟ (Kiev) บีทีเอส (BTS) เมิร์ค (Merk) ซอร์เลสโค (Zorlesco) บุซ วิลล์ (Butschwill) และสารละลายสูตรเอนเอสอาร์ที่ซี 3 (NSRTC3) เป็นต้น ในฟาร์มที่ใช้ผสมเทียมสุกรเพื่อผลิตลูกสุกรขุน ซึ่งไม่จำเป็นที่จะต้องใช้น้ำเชื้อพ่อสุกรตัวเดียวกันผสมกับแม่สุกรตัวเดียวเหมือนกับการผลิตสุกรพันธุ์แท้ เพราะในการผสมพันธุ์แท้นั้นจะต้องเก็บรักษาน้ำเชื้อของพ่อสุกรตัวนั้นไว้ใช้หลายวัน ก็อาจใช้สารละลายสูตรต่างๆ เหล่านี้ได้ เพราะราคาไม่แพงเกินไปและโดยทั่วไปแล้วฟาร์มส่วนใหญ่เมื่อรีดน้ำเชื้อมาได้แล้ว เมื่อเจือจางเสร็จก็จะนำไปฉีดให้กับแม่สุกรหมดเลยโดยไม่เก็บรักษาเอาไว้ ถ้าต้องการใช้อีกก็จะไปรีดใหม่

ข. สารละลายน้ำเชื้อที่สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ได้ระยะยาวมากกว่า 5 วัน บางสูตรอาจจะเก็บได้ถึง 10 วัน สารละลายน้ำเชื้อเหล่านี้ได้แก่สารละลายน้ำเชื้อสูตร เอส ซี เค-7 (SCK7) เอ็ม อาร์-เอ (MR-A) โมดีนา (Modena) แอนโดรเฮฟ (Androhep) ซอร์ฟวา (Zorpva) เอนเอสอาร์ทีซี4 (NSRTC4) เป็นต้น สารละลายน้ำเชื้อสูตรต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วทั้งหมด จะสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ได้นานหลายวัน จึงเหมาะกับการใช้เพื่อเจือจางน้ำเชื้อที่จะผลิตสุกรพันธุ์แท้หรือใช้เพื่อการขนส่งน้ำเชื้อในระยะทางไกลๆ เมื่อไปถึงปลายทางแล้วก็ยังสามารถเก็บรักษาต่อไว้ได้ ข้อเสียของสารละลายน้ำเชื้อเหล่านี้คือ ราคาค่อนข้างจะแพงกว่าสารละลายสูตรที่เก็บรักษาไว้ได้ระยะเวลาสั้นๆ

5.3.3 สภาพบรรยากาศภายในภาชนะเก็บน้ำเชื้อ การที่จะเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ให้ได้นานๆ นั้น ภาชนะที่ใช้บรรจุน้ำเชื้อจะต้องปิดให้มิดชิด อย่าให้น้ำเชื้อสัมผัสกับอากาศได้เพราะในอากาศมีก๊าซออกซิเจนมากจะทำให้ตัวอสุจิมีเมแทบอลิซึมมากอายุก็จะสั้นลง ในการบรรจุน้ำเชื้อถ้าบรรจุใส่ในขวดพลาสติกใช้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะเห็นว่าภายในขวดจะมีพื้นที่ของอากาศอยู่ก่อนที่จะปิดฝาควรจะไล่อากาศออกให้หมดก่อนแล้วค่อยปิดฝาขวด

5.3.4 จุลินทรีย์ น้ำเชื้อภายหลังจากการเจือจางด้วยสารละลายแล้ว ถึงแม้ว่าในสารละลายน้ำเชื้อทุกสูตรจะมียาปฏิชีวนะ แต่ถ้าจำนวนจุลินทรีย์ที่ปะปนมากับน้ำเชื้อในขณะที่รีดเก็บน้ำเชื้อนั้นมาก ยาปฏิชีวนะที่มีอยู่ในสารละลายน้ำเชื้อนั้นก็อาจจะช่วยอะไรไม่ได้ ดังนั้นในช่วงเวลาที่รีดน้ำเชื้อควรจะต้องให้สะอาดที่สุดเท่าที่จะทำได้ จำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ในน้ำเชื้อที่ไม่มีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของตัวอสุจิคือ 0-3,800 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ถ้าน้ำเชื้อมีแบคทีเรียที่ปะปนอยู่มากของเสียที่แบคทีเรียผลิตออกมาจะมีผลต่อการมีชีวิตรอดของตัวอสุจิ แบคทีเรียที่ปะปนมากับน้ำเชื้อมีอยู่หลายชนิด เช่น อีโคลัย (E.*coli*) สูโดโมแนส (*Pseudomonas* spp)โปรเตียส (*Proteus* spp)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เคลบไซลลา (*Klebsiella* spp) สเตรปโตคอกคัส (Streptococco) สแตรปไฟโลคอกคัส (Staphylococci)

ยาปฏิชีวนะที่ใช้เติมลงไปในสารละลายน้ำเชื้อสุกรเพื่อควบคุมแบคทีเรีย ได้แก่ เพนนิซิลิน (Penicillin) สเตรปโตมัยซิน (Streptomycin) ไดเบคาซิน (Dobekacin) อะมิคาซิน (Amikacin) เจนต้ามัยซิน (Gentamycin) กานามัยซิน (Kanamycin) ซัลเบนนิซิลิน (Sulbenicillin) โพลีมัยซิน บี (Polymycin B) นีโอมัยซิน (Neomycin) ลินโคสเปคติน (Linco-Spectin) เซฟติโอเฟอร์ (Ceftiofur)

5.3.5 สารที่เป็นพิษต่อตัวอสุจิ สารที่เป็นพิษต่อตัวอสุจิ เช่น ยาฆ่าเชื้อ ยาฆ่าแมลง ผงซักฟอก แอลกอฮอล์ ตลอดจนของเสียที่เกิดจากเมตาบอลิสมของตัวอสุจิเองหรือจากจุลินทรีย์ที่ปะปนมากับน้ำเชื้อ ได้แก่ กรดแลคติค ก๊าซแอมโมเนีย ก๊าซมีเทน เป็นต้น ซึ่งสารพิษเหล่านี้จะทำให้ตัวอสุจิไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้นานหรือทำให้ตายได้

5.3.6 สารต่างๆ ที่เติมลงในสารละลายน้ำเชื้อ ทำให้การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิดีขึ้นและยืดอายุของตัวอสุจิให้นานขึ้นได้ เช่น โบวายน์ซีรั่มอัลบูมิน โพลี่ไวนีล แอลกอฮอล์ เป็นต้น

5.3.7 น้ำเชื้อพ่อสุกรแต่ละตัว เคยได้กล่าวมาแล้วว่าพ่อสุกรที่จะคัดเลือกมาใช้ในการรีดน้ำเชื้อเพื่อเจือจางและเก็บไว้ใช้หลายวันนั้น จะต้องทดสอบดัชนีการเคลื่อนไหวว่าน้ำเชื้อของพ่อสุกรตัวนั้นภายหลังจากการเจือจางแล้วสามารถเก็บรักษาไว้ได้หรือเปล่า และสามารถทนต่อความเย็นที่อุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียสได้หรือไม่ เพราะพ่อสุกรแต่ละตัวจะมีคุณภาพของน้ำเชื้อไม่เท่ากัน น้ำเชื้อของพ่อสุกรภายหลังจากการเจือจางแล้วบางตัวสามารถจะเก็บรักษาไว้ได้นานเป็นสัปดาห์ แต่บางตัวภายหลังจากการเจือจางน้ำเชื้อจะตายหมด ดังนั้นคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์แต่ละตัวจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะทำให้การเก็บรักษาน้ำเชื้อได้นานขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

6. ผลของอนุมูลอิสระต่อคุณภาพน้ำเชื้อ

ในสภาวะ oxidative stress จะเกิดอนุมูลอิสระขึ้น ทำให้ตัวอสุจิเกิดความเสียหายได้ โดยอนุมูลอิสระจะไปทำลาย plasma membrane ของตัวอสุจิ ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acid หรือ PUFA) ที่มีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอน ซึ่งสามารถถูกออกซิไดส์ได้โดยง่าย ทำให้เกิดการสูญเสียอิเล็กตรอนให้กับอนุมูลอิสระ เช่น hydroxyl radical ($OH^{\cdot}$) superoxide radical ($O_2^{\cdot}$) เป็นต้น โมเลกุลที่สูญเสียอิเล็กตรอนนี้ก็จะมีการแย่งจับอิเล็กตรอนของโมเลกุลอื่นต่อไปเรื่อยๆ เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ขึ้น ทำให้เซลล์อสุจิเกิดการเสียสภาพ มีผลทำให้การมีชีวิตของตัวอสุจิลดลง

นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังทำให้เกิดการตายของตัวอสุจิ (apoptosis) โดยเมื่ออนุมูลอิสระทำลายเมมเบรนชั้นนอกและชั้นในของไมโตคอนเดรียได้แล้วจะทำให้เกิดการหลั่งของ cytochrome-C protein ออกมา ซึ่งกระตุ้นให้เอนไซม์ caspases-8 และ 9 ทำงาน โดยเอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้จะไปกระตุ้นให้มีการหลั่งของเอนไซม์ caspases3, 6 และ 7 ทำงานด้วย ส่งผลให้เซลล์อสุจิเกิดการเสื่อมสลายขึ้น โดยทำให้ไซโตพลาสซึม และเมมเบรนต่างๆ เกิดการเปลี่ยนแปลง และกระตุ้นให้เอนไซม์ endonuclease ทำงาน ส่งผลให้สาย DNA แตกหักเสียหายได้ (Agrawal *et al*., 2002)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Chitooligosaccharide)

1. ไคติน-ไคโตซาน (chitosan)

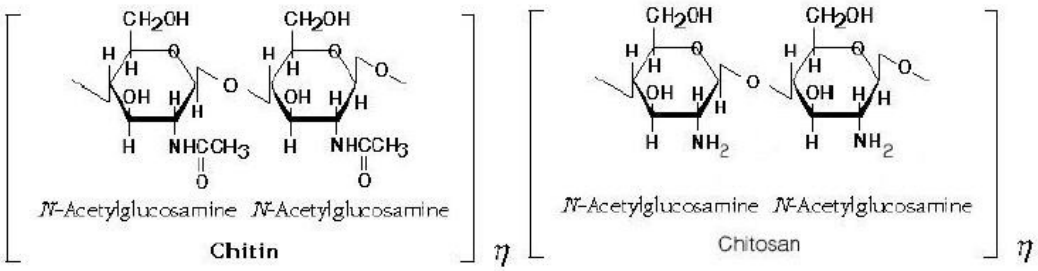
ไคตินค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1811 โดย Braconnot Odier ในปีค.ศ. 1823 เรียกสารนี้ว่า ไคติน (chitin) มาจากคำว่า chiton ในภาษากรีก มีความหมายว่า เกราะหุ้มไคตินเป็นโพลิเมอร์ชีวภาพที่มีมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส พบได้ในเปลือกของสัตว์ เช่น กุ้ง ปู แกนหมึก เปลือกแข็งของ แมลง ตัวไหม หอยมุก ผนังเซลล์ของพวกรา ยีสต์ และจุลินทรีย์หลายชนิด แหล่งสำคัญของไคตินที่ใช้ในการผลิตในอุตสาหกรรม คือ เปลือกกุ้ง และกระดองปู ซึ่งเป็นของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเล พบว่าจะมีไคตินในปริมาณร้อยละ 10-50 เมื่อคิดเป็นปริมาณต่อปีของสิ่งเหลือทิ้งจากการผลิตและแปรรูปกุ้งและปูทั้งโลกจะให้ไคตินถึง 150 ล้านกิโลกรัม (ปิยนุฐ, 2551)

1.1. คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

1.1.1 คุณสมบัติทางเคมี

ไคติน-ไคโตซานเป็นสารโคโพลิเมอร์ธรรมชาติระหว่างสองโมโนเมอร์ของ anhydro-N-acetyl-D-glucosamine และ anhydro-D-glucosamine ถ้าสัดส่วนที่อยู่ร่วมกันของโมโนเมอร์แรกมากกว่า จะแสดงลักษณะสมบัติเด่นของไคติน แต่ถ้าสัดส่วนที่อยู่ร่วมกันของโมโนเมอร์ที่สองมากกว่าจะแสดงสมบัติเด่นของไคโตซาน ไคตินจัดอยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตประเภทโครงสร้างที่เป็นเส้นใย โดยสูตรโครงสร้างทางเคมี (ภาพที่ 4) คล้ายคลึงกับเซลลูโลส แต่ที่ต่างกันคือ ไคตินจะประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีธาตุไนโตเจน (ในรูปของหมู่อะซีโตมิโน "–$NHCOCH_3$") เกาะอยู่ภายในโมเลกุลที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 ทำให้มีคุณสมบัติเฉพาะตัว ในการเกิดปฏิกิริยากับสารอื่นๆ หลายๆ ชนิด ไคตินมีสูตรทางเคมีของโมโนเมอร์ คือ $C_8H_{13}NO_5$ ประกอบด้วย C 47.29% H 6.45% N 6.89% และ O 39.37% พบได้ในเปลือกของสัตว์ เช่น กุ้ง ปู หมึก แมลง ตัวไหม หอยมุก และผนังเซลล์ของพวกรา ยีสต์ และจุลินทรีย์อีกหลายชนิด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 4 โครงสร้างของ ไคติน-ไคโตซาน
ที่มา: บุญล้อม (2546)

1.1.2 การละลาย

การละลายเป็นกระบวนการหนึ่งที่จะทำให้เกิดพันธะระหว่างโมเลกุลของสารกับตัวทำละลายไคติน-ไคโตซานมีโครงสร้างที่แข็งแรงด้วยพันธะไฮโดรเจนอย่างหนาแน่นและเป็นระเบียบ ดังนั้นโมเลกุลของตัวทำละลายจึงไม่สามารถแทรกผ่านและทำพันธะกับสายโซ่ของไคติน-ไคโตซานได้ (สุวบุญ และคณะ, 2544) ปกติไคโตโอลิโกแซคคาไรด์จะไม่ละลายน้ำ แต่จะละลายได้ดีในกรดอินทรีย์ สารละลายของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีความเหนียว ใส มีพฤติกรรมแบบนอน-นิวโตเนียน (non-newtonian) สามารถขึ้นรูปเป็นแผ่นเยื่อบางได้ตามธรรมชาติ มีลักษณะเป็นพลาสติกใสและยืดหยุ่นได้ ดังนั้นไคโตโอลิโกแซคคาไรด์สามารถขึ้นรูปได้หลายแบบ เช่น แผ่นเยื่อบาง เจล เม็ด เส้นใย คอลลอยด์ และสารเคลือบ เป็นต้น ดังนั้นจากลักษณะคุณสมบัติที่โดดเด่นเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว ที่มีส่วนร่วมในกิจกรรมทางชีวภาพ ไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิต และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ จึงมีความปลอดภัยในการนำเอาไคติน-ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มาประยุกต์ใช้งานด้านต่างๆ อาทิเช่น การเกษตร การอาหาร การจัดการคุณภาพน้ำ การทอ การแยกสาร การแพทย์ ยา และเครื่องสำอาง ฯลฯ ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ถูกนำไปใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในสุกรได้ทำให้อัตราแลกเนื้อเพิ่มขึ้น และยังทำให้สุกรมีสุขภาที่ดีขึ้น

1.2. การใช้ไคโตซานในพืชและสัตว์

1.2.1 ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์กับการต้านทานต่อศัตรูพืช

ประมาณ 30 ปีที่ผ่านมา นักวิทยาศาสตร์ด้านโรคพืชทราบว่า ที่ผนังเซลล์ของรามีองค์ประกอบบางอย่างที่กระตุ้นให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันของตนเองได้ (Albersheim and Anderson-

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Prouty, 1975) โดยพบว่าสารชนิดหนึ่งที่สามารถกระตุ้นความสามารถในการต้านทานโรคหรือภูมิคุ้มกันตนเองของพืชนี้คือ ไคโตซานซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ของรา นอกจากนี้ ผนังเซลล์ของรายังมีไคตินเป็นองค์ประกอบอีกด้วย (Peberdy, 1990) และเมื่อเข้าทำลายเซลล์พืช เซลล์พืชจะมีเอนไซม์ไคติเนส (Collinge *et al*., 1993) และไคโตซาเนส (Grenier and Asselin, 1990) ซึ่งสามารถย่อยสารดังกล่าวได้ ดังนั้นการที่พืชสร้างภูมิคุ้มกันตนเองหลังจากการได้รับเชื้อราจึงอาจมาจากการกระตุ้นของโมเลกุลประเภทไคตินและไคโตซาน ที่มีความหลากหลายทั้งด้านขนาด และโครงสร้าง

ความสามารถของไคโตซานในการกระตุ้นให้พืชมีความสามารถในการต้านทานโรคดีขึ้นนี้เป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางในปัจจุบัน และเรียกโมเลกุลที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคพืชนี้ว่า elicitor (Taiz and Zeiger, 2002) ไคโตซานสามารถกระตุ้นการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองของพืชเช่น ยีนที่สร้างเอนไซม์ phenylalanine ammonia-lyase (PAL) (Notsu *et al*., 1994; Vander *et al*., 1998) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารประกอบกลุ่มฟีนอลิก เช่น ลิกนิน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช และสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้น ที่เรียกว่า phytoalexin (Agrawal *et al*., 2002) นอกจากนี้ ไคโตซานยังสามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันที่เรียกว่า systemic acquired resistance (SAR) (Sathiyaba and Balasubramaman, 1998) ซึ่งทำให้พืชมีการสร้างโปรตีนหลายชนิดที่ล้วนมีบทบาททำให้พืชมีความสามารถในการต้านทานโรคดีขึ้นทั่วทั้งต้น ไม่เฉพาะเพียงแต่บริเวณที่ได้รับสารกระตุ้นเท่านั้น โปรตีนในกลุ่มของ SAR นี้ ได้แก่ pathogenesis-related proteins ชนิดต่างๆ ซึ่งรวมทั้งไคติเนส และกลูคาเนส (Mason and Davis, 1997; Agrawal *et al*., 2002)

ในการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันของพืชนี้พบว่า การทำงานของไคโตซานจะเกี่ยวข้องกับการกระตุ้น octadecanoid signaling pathway (Doares *et al*., 1995) ซึ่งเป็น signaling pathway หนึ่งในกลไกการป้องกันตนเองของพืช โดยพบว่าการให้ไคโตซานแก่พืชจะทำให้เกิดการสร้าง 12-oxo-phytodieonic acid (OPDA) และ jasmonic acid (JA) (Rakwal *et al*., 2002) ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้ไปมีผลต่อการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันตนเองของพืชได้ นอกจากนี้ยังพบว่าไคโตซานไปมีผลต่อการเกิด reactive oxygen species เช่น H_2O_2 (Lee *et al*., 1999) ซึ่งการเกิด reactive oxygen species นี้ก็เป็นกลไกหนึ่งของการระบบภูมิคุ้มกันในพืช (Ebel and Mithofer, 1998) เช่นกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อมูลสนับสนุนการทำงานของไคโตซานในฐานะของ elicitor ยังพบอีกด้วยว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นการทำงานของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับ signal transduction pathway ที่ตอบสนองต่อภาวะที่ไม่เหมาะสม เช่น การกระตุ้นการทำงานของ mitogen-activated protein kinase (MAPK) cascade เป็นต้น (Kim *et al.*, 2003)

ด้วยข้อมูลต่างๆ เกี่ยวกับการกระตุ้นความสามารถในการต้านทานโรคในพืชด้วยไคโตซาน สารชนิดนี้จึงถูกนำมาศึกษาในเชิงประยุกต์เพื่อเป็นสารควบคุมการเกิดโรคในพืชบางชนิด เช่น สตรอเบอร์รี่ (Eikemo *et al*., 2003) และ celery (Bell *et al*., 1998) เป็นต้น โดยพบว่าไคโตซานสามารถลดการเกิดโรค crown rot ที่มีสาเหตุมาจาก *Phytopthora cactorum* ได้ แต่ไม่สามารถลดการเกิดโรคใน alpine strawberry ที่มี *P. fragariae* var. *fragariae* เป็นสาเหตุของโรค แต่ไคโตซานในความเข้มข้นสูง เช่น 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของราที่สองชนิดในหลอดทดลองได้ (Eikemo *et al*., 2003) สำหรับการศึกษาใน celery พบว่า เมื่อจุ่มรากของ celery ในสารละลายไคโตซานจะช่วยลดความรุนแรงของโรคที่เกิดจาก *Fusarium oxysporum* ได้เมื่อใช้วิธีนี้กับ celery พันธุ์ต้านทานโรค แต่หากเป็นพันธุ์ไม่ต้านทานโรค ไคโตซานก็ไม่สามารถช่วยลดความรุนแรงของโรคได้ (Bell *et al*., 1998) นอกจากไคโตซานจะสามารถกระตุ้นให้พืชต้านทานต่อจุลินทรีย์แล้ว ยังมีรายงานว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นให้พืชบางชนิด เช่น มะเขือเทศสร้างโปรตีน cystatin ซึ่งมีสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ย่อยโปรตีนของหนอนแมลงปีกแข็ง *Callosobruchus maculates* และ *Zabrotes subfasciatus* ได้อีกด้วย (Siqueira-Júnior *et al*., 2002)

1.2.2 การใช้ไคติน-ไคโตซานในการเลี้ยงสัตว์

ไคโตซานเป็นสารเส้นใยที่ไม่สามารถดูดซึมและไม่สามารถย่อยสลายได้ในทางเดินอาหาร แต่มีคุณสมบัติดูดซับไขมันได้ประมาณ 6-8 เท่าของน้ำหนักตัว และจับกับโลหะหนักรวมทั้งสารพิษอื่น ๆ ที่ปนเปื้อนมากับอาหาร โดยไคโตซานมีผลต่อไขมันในกระเพาะอาหารก่อนที่จะมีการย่อยและดูดซึม โดยจะมีการละลายในกระเพาะโดยตรงแล้วแปรสภาพเป็นเจลซึ่งห่อหุ้มไขมัน จึงสามารถป้องกันการดูดซึมและการสะสมไขมันในร่างกาย จากนั้นทั้งไคโตซานและไขมันที่ถูกดูดซับเอาไว้จะถูกขับถ่ายออกจากร่างกาย การให้ไคโตซานในปริมาณมากไม่มีผลในการเพิ่มปริมาณแคลอรี ไม่ดูดซึมในร่างกาย ไม่ตกค้างในเนื้อเยื่อ และยังช่วยปรับปรุงการเจริญเติบโต

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้อาหาร จากการศึกษาของปิยะบุตร (2543) โดยใช้ไคติน-ไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในสุกร พบว่าไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตของสุกรที่ทำให้อัตราแลกเนื้อเพิ่มขึ้นและสามารถลดปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะลงในปริมาณมาก ซึ่งยาปฏิชีวนะที่ใช้คือ amoxycillin และchlortetracycline 15 เปอร์เซ็นต์ โดยการเพิ่มปริมาณการใช้ไคโตซานจากที่ไม่ได้ใช้เลยไปเป็น 1.5 กิโลกรัม/ตัน และเป็น 2 กิโลกรัม/ตัน ทำให้การใช้ amoxycillin ลดลงจาก 300 ppm / ตัน เหลือเพียง 100 ppm / ตัน และการใช้ chlortetracycline 15 เปอร์เซ็นต์ จาก 2 กิโลกรัม/ตัน เหลือเพียง 1 กิโลกรัม/ตัน ตามลำดับ

2. ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีลักษณะเป็นโคพอลิเมอร์ที่อยู่ร่วมกันบนสายโซ่ของโมเลกุลระหว่างโมโนเมอร์ของไคติน (anhydro-N-acetyl-D-glucosamine) และโมโนเมอร์ของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์(anhydro-D-glucosamine) โดยโมโนเมอร์ของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เรียกว่า กลูโคซามีน มีสูตรทางเคมี คือ $C_6H_{11}NO_4$ เกิดจากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซิทิล (deacetylation) ของไคตินด้วยด่างเข้มข้น ทำให้โครงสร้างของไคตินบางส่วนเปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะหมู่ฟังก์ชั่นที่มีธาตุไนโตรเจน(สุวบุญและคณะ, 2544)

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (chitooligosaccharide) เรียกย่อว่า COS เป็นสารเสริมการเจริญเติบโตสำหรับสัตว์ (animal supplementary) โดยการสกัดสารไคโตซานให้เล็กลงในระดับนาโนโดยผ่านกระบวนการผลิตถึง 3 เทคโนโลยีอันประกอบด้วย ไคโตเทคโนโลยี (chito technology) นาโนเทคโนโลยี (nanotechnology) และไบโอเทคโนโลยี (biotechnology)โดยเอ็นไซม์จากธรรมชาติ จึงทำให้มีความบริสุทธิ์มากกว่าและมีขนาดที่เล็กกว่าไคโตซานทั่วไป 1,000 เท่า

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์แต่ละสูตรต่างกันที่น้ำหนักโมเลกุลและเปอร์เซ็นต์ DD (Degree of deacetylation คือ กระบวนการกำจัดหรือลดหมู่อะซิติล (CH_3CO) เป็นตัวบ่งชี้ความเป็นไคติน-ไคโตซาน ถ้ามีค่าต่ำแสดงว่าเป็นไคตินสูง ถ้ามีค่าสูง แสดงว่าเป็นไคโตซานสูง) ซึ่งในการศึกษาการทดลองครั้งนี้ได้ศึกษาการใช้นิวเคลียร์-COS ด้วยกัน 2 สูตร ได้แก่ นิวเคลียร์-COS สูตร 1 มีน้ำหนักโมเลกุล 1.5x104-1.2x10^6 มีเปอร์เซ็นต์ DD เท่ากับ 85-95 เปอร์เซ็นต์และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 มีน้ำหนักโมเลกุล 1.5x105-1.9x10^7 มีเปอร์เซ็นต์ DD เท่ากับ 80-98 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การใช้ไคโตโอลิโกแซคาไรด์เติมในสารละลายน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกร

สำหรับข้อมูลเกี่ยวกับการศึกษาการใช้ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เติมในสารละลายน้ำเชื้อเพื่อศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกรนั้น ยังไม่พบข้อมูลที่ทำการศึกษามาก่อนและไคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นสารสกัดจากธรรมชาติ 100% ชนิดหนึ่งที่น่าสนใจในการที่จะนำมาเสริมในสารละลายน้ำเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

ใช้พ่อสุกรพันธุ์ดูรอค อายุเฉลี่ย 2 ปี จำนวน 3 ตัว เลี้ยงในโรงเรือนระบบเปิด โดยพ่อสุกรแต่ละตัว เลี้ยงในคอกขังเดี่ยว ขนาด 2.5x3 เมตร บนพื้นซีเมนต์ทึบ

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการรีดเก็บน้ำเชื้อ

2.1 หุ่นสำหรับรีดน้ำเชื้อ (dummy)
2.2 บีกเกอร์ (beaker)
2.3 ผ้ากรอส หรือผ้าขาวบาง
2.4 กระติกน้ำแข็ง
2.5 ถุงพลาสติก

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการควบคุมอุณหภูมิของน้ำเชื้อ

3.1 เทอร์โมมิเตอร์
3.2 อ่างน้ำปรับอุณหภูมิ (water bath)
3.3 ตู้เย็น

4. อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อ

4.1 กล้องจุลทรรศน์
4.2 บีกเกอร์ (beaker)
4.3 แผ่นสไลด์ (slide)
4.4 กระจกแผ่นบางปิดสไลด์ (coverglass)
4.5 พลาสเจอร์ไปเปต (pasture pipette)
4.6 ไมโครไปเปต (micro pipette)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

4.7 หลอดทดลอง (test tube)

4.8 น้ำกลั่น (distilled water)

4.9 ซอร์ฟแวร์ Weili Swine Dynamic sperm analysis (WLJY-9000 Dynamic Software)

4.10 เครื่องตรวจความเข้มข้นของน้ำเชื้อ SpermaCue photometer ของบริษัท Minitub ประเทศเยอรมัน

4.11 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (ID 1000 index innovation beyond 2000)

4.12 เครื่องวัดแรงดันออสโมติกของน้ำเชื้อ (Automatic Micro-Osmometer Type 13/13DR-Autocal) ของบริษัท Hermann Roebling MESSTECHNIK ประเทศเยอรมัน

4.13 สีสำหรับย้อมอสุจิ ได้แก่ สีอีโอซิน (eosin) สีนิโกรซิน (nigrosin) และโซเดียมซิเตรท (sodium citrate) สำหรับทำสีย้อม เพื่อตรวจดูอสุจิมีชีวิตและอสุจิที่มีความผิดปกติ โดยสีย้อมมีส่วนประกอบ ดังนี้ สีอีโอซิน 1 กรัม สีนิโกรซิน 5 กรัมและโซเดียมซิเตรท 3 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (ศรีสุวรรณ, 2542)

5. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้เจือจางน้ำเชื้อ

5.1 บีกเกอร์

5.2 กระบอกตวง

5.3 หลอดฉีดยา

5.4 เทอร์โมมิเตอร์

5.5 หลอดบรรจุน้ำเชื้อ

5.6 แท่งแก้ว

5.7 อ่างน้ำปรับอุณหภูมิ

5.8 น้ำกลั่น

5.9 กรวยแก้ว

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิธีการ

1. การเตรียมน้ำเชื้อ

พ่อสุกรทดลองทั้ง 3 ตัว ได้รับอาหารสูตรพ่อพันธุ์ โดยคำนวณให้มีค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ 2,934.08 กิโลแคลอรี่/กิโลกรัมและโปรตีนเท่ากับ 14.74 เปอร์เซ็นต์ (ส่วนประกอบของอาหารแสดงในตารางภาคผนวกที่ 2) ให้อาหารพ่อสุกรวันละ 2 กิโลกรัม ตั้งแต่ก่อนเริ่มการทดลองเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง และมีที่ให้น้ำดื่มอัตโนมัติ เพื่อให้พ่อสุกรได้กินน้ำอย่างเต็มที่ตลอดการทดลอง พ่อสุกรจะได้รับการรีดน้ำเชื้อทุกสัปดาห์ โดยรีดน้ำเชื้อสัปดาห์ละ 2 ครั้ง

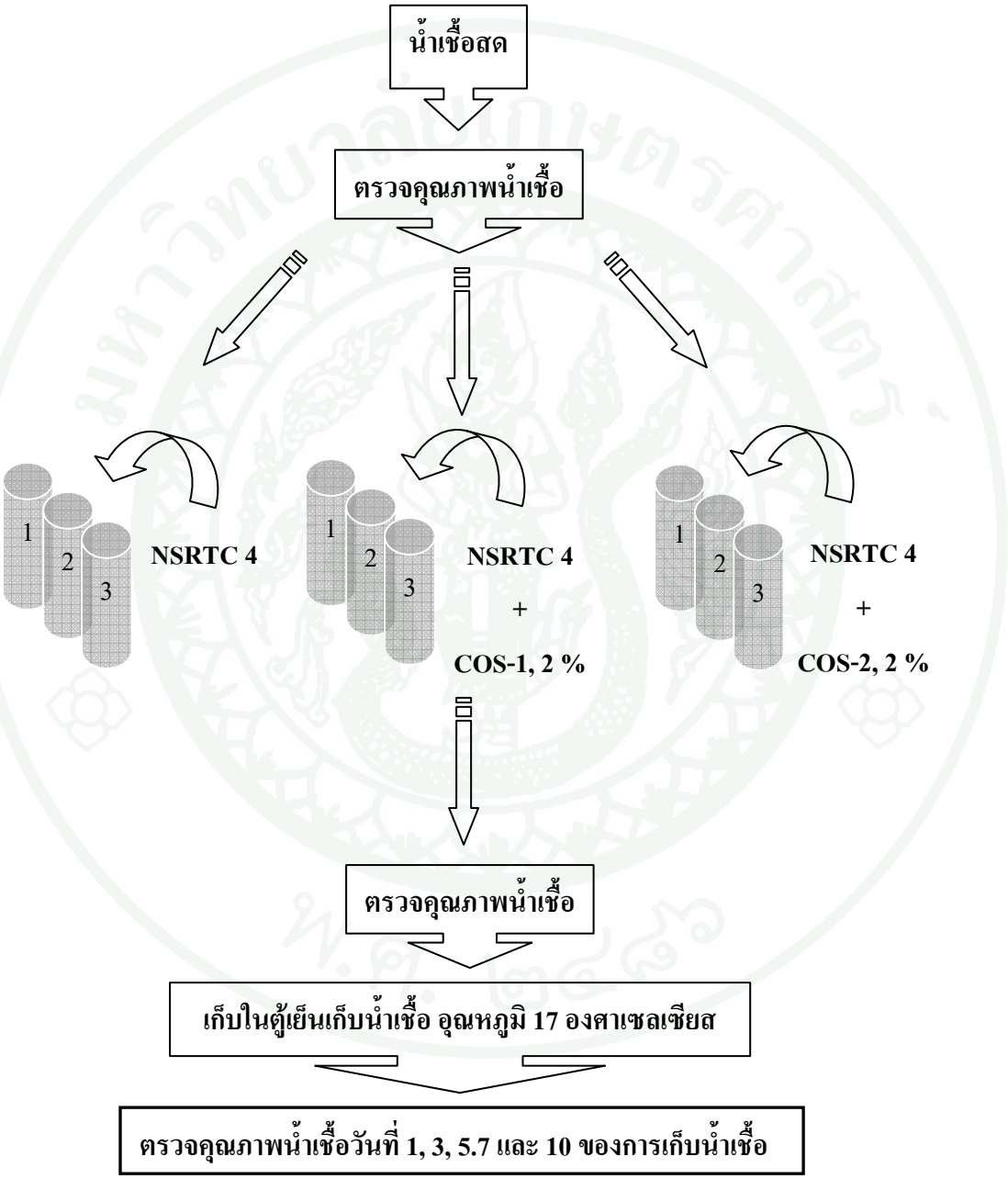
วิธีการเตรียมน้ำเชื้อที่ใช้ในการทดลอง ทำการรีดน้ำเชื้อพ่อสุกร นำน้ำเชื้อที่ได้แต่ละครั้งก่อนที่จะนำไปเจือจาง โดยน้ำเชื้อสดที่นำมาใช้ในการทดลองต้องมีคุณภาพผ่านเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ ดังต่อไปนี้ คะแนนการเคลื่อนไหวแบบกลุ่ม ระดับ 3 ขึ้นไป มีตัวอสุจิมีชีวิตไม่ต่ำกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ มีตัวอสุจิผิดปกติน้อยกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ แบ่งน้ำเชื้อของพ่อสุกรที่รีดมาได้แต่ละครั้งออกเป็น 9 ส่วนเท่า ๆ กัน เพื่อนำมาเจือจางด้วยสารละลายสูตรมาตรฐาน NSRTC 4 (National Swine Research and Training Center 4) ที่เตรียมไว้ (ส่วนประกอบของสารละลายสูตร NSRTC 4 ดังแสดงไว้ในตารางภาคผนวกที่ 1) ดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1 น้ำเชื้อเจือจางด้วยสารละลายสูตร NSRTC 4 (กลุ่มควบคุม)
กลุ่มที่ 2 น้ำเชื้อเจือจางด้วยสารละลายสูตร NSRTC 4 + นิวเคลียร์-COS สูตร1 ในอัตราส่วน 2 เปอร์เซ็นต์
กลุ่มที่ 3 น้ำเชื้อเจือจางด้วยสารละลายสูตร NSRTC 4 + นิวเคลียร์-COS สูตร2 ในอัตราส่วน 2 เปอร์เซ็นต์

ไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ทั้ง 2 สูตร ต่างกันที่น้ำหนักโมเลกุลและเปอร์เซ็นต์ DD (Degree of deacetylation) คือ กระบวนการกำจัดหรือลดหมู่อะซิติล (CH_3CO) เป็นตัวบ่งชี้ความเป็นไคติน-ไคโตซาน ถ้ามีค่าต่ำแสดงว่าเป็นไคตินสูง ถ้ามีค่าสูง แสดงว่าเป็นไคโตซานสูง) นิวเครียร์-COS สูตร 1 มีน้ำหนักโมเลกุล 1.5x104-1.2x10^6 มีเปอร์เซ็นต์ DD เท่ากับ 85-95 และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 มีน้ำหนักโมเลกุล 1.5x105-1.9x10^7 มีเปอร์เซ็นต์ DD เท่ากับ 80-98

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โดยน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วแต่ละหลอดมีความเข้มข้นของตัวอสุจิเท่ากับ $3x10^9$ ตัวต่อน้ำเชื้อที่เจือจางแล้ว 80 มิลลิลิตร เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นเก็บน้ำเชื้อที่อุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส และนำน้ำเชื้อมาตรวจคุณภาพที่มีอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 1, 3, 5, 7 และ 10 วัน การเตรียมน้ำเชื้อและการเจือจางสารละลายน้ำเชื้อดังแผนภาพต่อไปนี้



หมายเหตุ หลอดที่ 1 ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อวันที่ 1 และวันที่ 3

หลอดที่ 2 ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อวันที่ 5 และวันที่ 7

หลอดที่ 3 ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อวันที่ 10

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อ

ทำการศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของคุณภาพน้ำเชื้อ ดังต่อไปนี้

2.1 ความเป็นกรด-ด่าง (pH) วัดโดยใช้เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

2.2 แรงดันออสโมติคของน้ำเชื้อ วัดโดยนำน้ำเชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดด้วยเครื่องวัดแรงดันออสโมติค (automatic micro-osmometer)

2.3 การเคลื่อนที่ของอสุจิ ประเมินโดยซอร์ฟแวร์ Weili Swine Dynamic sperm analysis (WLJY-9000 Dynamic Software)

2.4 ตัวเป็น-ตาย ของเซลล์อสุจิ ตรวจโดยนำสีย้อมอีโอซิน (eosin) และนิโกรซิน (nigrosin) ตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า นับตัวอสุจิทั้งหมด 200 ตัว แล้วคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

2.5 เปอร์เซ็นต์ progressive movement และเปอร์เซ็นต์curve line movement อัตราเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ซึ่งได้แก่ อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นโค้งของตัวอสุจิ (Curvilinear Velocity : VCL) (μm/s) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นตรงจากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของตัวอสุจิ (Straight Line Velocity: VSL) (μm/s) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยเป็นแนวตรงเมื่อเทียบกับการเคลื่อนที่จริงของตัวอสุจิ (Average Path Velocity : VAP) (μm/s) ประเมินโดยซอร์ฟแวร์ Weili Swine Dynamic sperm analysis (WLJY-9000 Dynamic Software)

2.6 ความผิดปกติของตัวอสุจิ (sperm abnormality) ตรวจโดยนำสีย้อมอีโอซิน (eosin) และนิโกรซิน (nigrosin) ที่อุ่นแล้วใส่ในหลอดทดลองจำนวน 3 หยด จากนั้นนำน้ำเชื้อที่ผ่านการอุ่นไปหยดใส่หลอดทดลองที่มีสีย้อมนี้ เขย่าสีย้อมและน้ำเชื้อให้เข้ากัน แล้วใช้ไมโครไปเปตดูดขึ้นมาหยดลงบนปลายข้างหนึ่งของสไลด์ที่สะอาด และใช้ปลายของสไลด์อีกแผ่นหนึ่งวางทำมุม 30-40 องศา ตรงตำแหน่งที่หยดส่วนผสมของสี และน้ำเชื้อนี้ แล้วลากสไลด์ เพื่อให้สีกระจายตัวเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ ปล่อยให้สไลด์แห้ง จากจึงนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า นับตัวอสุจิทั้งหมด 200 ตัว แล้วคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของแต่ละลักษณะ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3. การบันทึกข้อมูล

ทำการบันทึกข้อมูลของลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

3.1 ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH)

3.2 แรงดันออสโมติคของน้ำเชื้อ (osmotic pressure)

3.3 การเคลื่อนที่ของอสุจิ ประเมินโดยซอร์ฟแวร์ Weili Swine Dynamic sperm analysis (WLJY-9000 Dynamic Software)

3.4 ตัวเป็น-ตัวตายของเซลล์อสุจิ (live-death sperm)

3.5 อัตราเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ซึ่งได้แก่ เปอร์เซ็นต์ progressive movement และเปอร์เซ็นต์ curve line movement อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นตรงจากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของตัวอสุจิ (straight line velocity: VSL) (μm/s) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นโค้งของตัวอสุจิ (curvilinear velocity : VCL) (μm/s) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยเป็นแนวตรงเมื่อเทียบกับการเคลื่อนที่จริงของตัวอสุจิ (average path velocity : VAP) (μm/s) ประเมินโดยซอร์ฟแวร์ Weili Swine Dynamic sperm analysis (WLJY-9000 Dynamic Software)

3.6 ความผิดปกติของตัวอสุจิ (sperm abnormality)

4. แผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองและวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ 3x5 Factorial in CRD เมื่อพบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของลักษณะ ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ความแข็งแรงในการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ ร้อยละของอสุจิมีชีวิต (motile sperm) รูปร่างสัณฐานของเซลอสุจิ (sperm morphology) และตัวเป็น-ตัวตายของเซลอสุจิ(live-death sperm) และค่าแรงดันออสโมติคของน้ำเชื้อนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี Duncan's new multiple rang test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (2003) ซึ่งมีแบบหุ่นจำลองทางสถิติดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + A_iB_j + \varepsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = ค่าสังเกตจากทรีตเมนต์ ที่ได้รับอิทธิพลของสารละลายน้ำเชื้อที่ i ระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ ที่ j, ซ้ำที่ k เมื่อ k=1,2,3

μ = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง

A_i = อิทธิพลเนื่องจากชนิดสารละลายน้ำเชื้อ ที่ระดับ i เมื่อ i =1,2,3

B_j = อิทธิพลเนื่องจากระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ ที่ระดับ j เมื่อ j = 1,2…,5

A_iB_j = อิทธิพลร่วมระหว่างสารละลายน้ำเชื้อ ที่ i กับระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อที่ j

ε_{ijk} = ค่าความคลาดเคลื่อน

5. สถานที่ทำการทดลอง

ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

6. ระยะเวลาการวิจัย

เริ่มต้นการทดลอง: มกราคม พ.ศ. 2553

สิ้นสุดการทดลอง: เมษายน พ.ศ. 2553

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าชนิดของสารละลายน้ำเชื้อและระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ไม่มีอิทธิพลร่วมต่อกัน จึงแยกการสรุปผลเป็นหัวข้อดังต่อไปนี้

1. ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

จากการศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อต่อลักษณะคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรได้ผลดังต่อไปนี้

1.1 ความเป็นกรด-ด่างของน้ำเชื้อ (พีเอช, pH)

จากตารางที่ 4 พบว่าพีเอช (pH) ของน้ำเชื้อในกลุ่มควบคุม มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับน้ำเชื้อในกลุ่มที่เสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และกลุ่มที่เสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 2 ในสารละลาย โดยมีค่าพีพีเอชของน้ำเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 6.87, 6.8 และ 6.79 ตามลำดับ สาเหตุอาจจะเนื่องมาจากคุณสมบัติของนิวเคลียร์-COS ทั้งสองสูตรมีพีเอชค่อนข้างต่ำ โดยทั่วไปสารละลายน้ำเชื้อสูตร NSRTC 4 มีค่าพีเอชเท่ากับ 7.0 เมื่อเติมนิวเคลียร์-COS ลงในสารละลายน้ำเชื้อสูตร NSRTC 4 จึงส่งผลให้พีเอชของสารละลายน้ำเชื้อลดลงตามไปด้วย ซึ่งพีเอชของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายน้ำเชื้อกลุ่มที่เติมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.80 และ 6.79 ตามลำดับ นอกจากนี้ศรีสุวรรณ (2542) ได้รายงานว่าน้ำเชื้อของพ่อสุกรพันธุ์ดูรอคค่อนข้างจะมีพีเอชต่ำกว่าพันธุ์อื่นๆ ซึ่งในการทดลองนี้ได้ใช้น้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ดูรอคในการทดลอง ซึ่งมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 7.1-7.3 สำหรับ โดยปกติแล้วพีเอชของน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกรจะอยู่ระหว่าง 6.8-7.8

1.2 แรงดันออสโมติค (osmotic pressure)

ค่าแรงดันออสโมติกของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 โดยมีค่าเฉลี่ยของแรงดันออสโมติคในน้ำเชื้อเท่ากับ 326.20 , 323.03 และ323.00 มิลลิออสโมลต่อกิโลกรัมของน้ำตามลำดับ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สาเหตุที่ทำให้ค่าแรงดันออสโมติคของกลุ่มที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอาจเนื่องมาจากสารละลายนิวเคลียร์-COS มีลักษณะเป็นน้ำข้นหนืดเมื่อนำไปเติมในสารละลาย NSRTC 4 อาจส่งผลให้ระดับความเข้มข้นของสารที่ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์และรักษาแรงดันออสโมติคให้เหมาะสมกับตัวอสุจิ เช่น sodium citrate sodium bicarbonate และ potassium chloride ในสารละลายลดลง และอาจทำให้ระดับความเข้มข้นของกลูโคสในสารละลายลดลงตามไปด้วย เนื่องจากสารละลายน้ำเชื้อที่มีกลูโคสในระดับสูงจะส่งผลให้ค่าแรงดันออสโมติคสูงตามไปด้วย เช่น สารละลายสูตร KIVE มีปริมาณกลูโคสในสูตร 60.0 กรัม มีค่าแรงดันออสโมติค 380 มิลลิออสโมลต่อกิโลกรัมของน้ำ สารละลายสูตร BTS มีปริมาณกลูโคสในสูตร 37.0 กรัม มีค่าแรงดันออสโมติค 330 มิลลิออสโมลต่อกิโลกรัมของน้ำ และสารละลายสูตร Modena มีปริมาณกลูโคสในสูตร 25.0 กรัม มีค่าแรงดันออสโมติค 240 มิลลิออสโมต่อกิโลกรัมของน้ำ (ศรีสุวรรณ, 2542) ในขณะที่สารละลาย NSRTC 4 มีปริมาณกลูโคสในสูตร 30.0 กรัม มีค่าแรงดันออสโมติค 326.20 มิลลิออสโมต่อกิโลกรัมของน้ำ Schilling and Vengust (1986) โดยธรรมชาติน้ำเชื้อมีค่า tonicity เฉลี่ย 304 $\pm$ 7 มิลลิออสโมต่อกิโลกรัมของน้ำ แม้แรงดันออสโมติคของน้ำเชื้อจะไม่อยู่ในสภาพที่สมดุลทั้งภายในภายนอกเซลล์ แต่อสุจิก็สามารถเคลื่อนไหวเพิ่มขึ้นได้โดยเฉพาะเมื่ออยู่ในสารละลายที่เป็น hypotonic (แรงตึงตัวน้อย) น้ำเชื้อของพ่อสุกรมีแรงดันออสโมติก 290-300 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ (Gadea , 2003) หรืออาจมีค่าอยู่ระหว่าง 250-290 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำได้โดยไม่มีผลเสียต่อการมีชีวิตของอสุจิ (Fraser *et al*., 2001)

1.3 motile sperm

ค่าเปอร์เซ็นต์ motile sperm ของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุมแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับกลุ่มที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 โดยค่าเฉลี่ยเท่ากับ 85.11, 87.14 และ 87.03 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4 การเสริมนิวเคลียร์-COS ไม่ส่งผลต่อการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิถึงแม้ว่าความเป็นกรด-ด่าง และแรงดันออสโมติคจะแตกต่างกันกับกลุ่มควบคุม อาจเนื่องสารละลายน้ำเชื้อสูตร NSRTC 4 ที่เติมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 ยังมีสภาพที่เหมาะสมต่อการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ ซึ่งยังมีสารที่ให้พลังงานและเป็นอาหารให้กับตัวอสุจิ ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และยังมีสารที่ใช้เป็นตัวรักษาแรงดันออสโมติคและทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ ได้แก่ โซเดียมซีเตรท EDTA ทรีส (ไฮดรอกซี่เมทธีล) อะมิโนมีเทน (ศรีสุวรรณ, 2542)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1.4 live sperm

ลักษณะเปอร์เซ็นต์ live sperm มีค่าเช่นเดียวกันกับเปอร์เซ็นต์ motile sperm กล่าวคือ น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุม แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับกลุ่มที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 โดยค่าเฉลี่ยเท่ากับ 82.02, 83.50 และ 83.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4 การตรวจเปอร์เซ็นต์ live sperm จะได้จากการย้อมสีตัวอสุจิด้วยสีนิโกรซิน-อีโอซิน ส่วนเปอร์เซ็นต์ motile sperm ได้จากการวัดโดยเครื่องวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ(sperm vision) ซึ่ง live sperm ที่ได้จากการวัดทั้ง 2 วิธี จะมีค่าไปในทิศทางเดียวกัน

1.5 ความเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (velocity and movement of sperm)

จากตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ progressive movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุมมีค่าต่ำกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) โดยมีค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ progressive movement เท่ากับ 47.99, 53.32 และ 52.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการเสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 ช่วยทำให้ตัวอสุจิมีความแข็งแรง มีความสามารถเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าได้ดี การที่น้ำเชื้อมีเปอร์เซ็นต์ progressive movement ของอสุจิที่สูงนี้จะเพิ่มโอกาสให้ตัวอสุติว่ายไปปฏิสนธิกับไข่ได้สูงขึ้น Xie *et al.* (2001) กล่าวว่า โครงสร้างของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีโครงสร้างที่มีหมู่ อะมิโนอิสระ(-NH2) และ หมู่ไฮดรอก-ซี (-OH) โดยให้ไฮโดรเจน แก่เปอร์ออกซิล แรดิคัล(peroxyl radical: $RO^{\cdot}$) และอัลคอกซิล แรดิคัล (alkoxyl radical: $ROO^{\cdot}$) สามารถจับกับอนุมูลอิสระได้ และสลาย peroxide ที่เกิดขึ้นในเซลล์ ซึ่ง peroxide เป็นสาเหตุที่ส่งผลให้เซลล์เมมเบรนของ organal ที่สำคัญ เช่น ไมโตคอนเดรียถูกทำลาย ซึ่งส่งผลกระทบต่อการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ

เปอร์เซ็นต์ curve line movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงที่สุด แตกต่างจากเปอร์เซ็นต์ curve line movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 36.82 และ 33.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนเปอร์เซ็นต์ Curve line movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 2 มีค่าเท่ากับ 34.77 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับเปอร์เซ็นต์ curve line movement ของตัวอสุจิ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 ลักษณะการเคลื่อนไหวแบบ curve line movement ของตัวอสุจิที่มีเปอร์เซ็นต์สูง จะทำให้ความสามารถของตัวอสุจิในการว่ายเข้าไปปฏิสนธิกับไข่ลดลง การที่ตัวอสุจิว่ายไม่ตรงไปข้างหน้านี้อาจจะเกิดจากความผิดปกติของส่วนหางอสุจิโดยพบว่าตัวอสุจิในกลุ่มควบคุมจะมีความผิดปกติในส่วนหางสูงกว่าตัวอสุจิในอีก 2 กลุ่ม หรืออาจเกิดจากออสโมติคช็อคของตัวอสุจิก็เป็นได้

ความเร็วในการว่ายแบบ VCL VSL และVAP ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 63.82, 36.22, 39.08; 62.01, 38.16, 40.96 และ 62.83, 37.79, 43.60 ไมโครเมตร/วินาที ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) จากข้อมูลจะเห็นว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายใน กลุ่มที่เจือจางด้วยสารละลายนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 จะมีความเร็วในการว่ายแบบ VSL ดีกว่ากลุ่มควบคุม การที่ตัวอสุจิมีเปอร์เซ็นต์ความเร็วในการว่ายแบบตรงสูงจะทำให้ตัวอสุจิสามารถที่จะว่ายเข้าไปปฏิสนธิกับไข่ของตัวเมียได้ดีกว่าการมีเปอร์เซ็นต์ความเร็วในการว่ายแบบโค้งสูง

1.6 ความผิดปกติของตัวอสุจิ

ลักษณะความผิดปกติของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุม น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 มีค่าความผิดปกติที่ส่วนหัว ความผิดปกติที่ส่วนหาง และ cytoplasmic droplet เฉลี่ยเท่ากับ 1.33, 1.03, 1.13; 1.05, 0.87, 1.17 และ 0.86, 0.85, 0.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงในตารางที่ 4

ความผิดปกติของน้ำเชื้อสดโดยทั่วไปจะพบความผิดปกติของตัวอสุจิไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์ ความผิดปกติส่วนหัว 2-5 เปอร์เซ็นต์ ความผิดปกติของส่วนกลางลำตัว 2-5 เปอร์เซ็นต์ ความผิดปกติส่วนหาง 1-5 เปอร์เซ็นต์ และcytoplasmic droplet 1-5 เปอร์เซ็นต์ (อรรณพ, 2545) จากการศึกษาทดลองการเสริมนิวเคลียร์-COS ในสารละลายน้ำเชื้อพบว่าความผิดปกติของน้ำเชื้อในลักษณะต่าง ๆ อยู่ในระดับไม่เกิน 20 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 4 ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

ลักษณะ	สารละลายเจือจางน้ำเชื้อ			P-value
	NSRTC 4	NSRTC 4 เติมนิวเคลียร์-COS1	NSRTC 4 เติมนิวเคลียร์-COS2	
ความเป็นกรด-ด่าง	6.87^{ก} ± 0.02	6.80^{ข} ± 0.01	6.79^{ข} ± 0.01	0.001
แรงดันออสโมติก (milliosmole/kg of H_2O)	326.20^{ก} ± 1.19	323.03^{ง} ± 0.70	323.00^{ง} ± 0.84	0.039
Motile sperm (%)	85.11± 2.30	87.14 ± 2.54	87.03 ± 2.21	0.229
Live sperm (%)	82.02 ± 3.12	83.50 ± 3.28	83.08 ± 3.01	0.527
Progressive movement (%)	47.99^{ก} ± 2.80	53.32^{ข} ± 2.52	52.62^{ข} ± 2.43	0.001
Curve line movement (%)	36.82^{ค} ± 0.58	33.67^{ง} ± 0.95	34.77^{คง} ± 0.95	0.034
VCL[1] (µm/sec)	63.82 ± 3.32	62.01 ± 2.99	62.83 ± 3.06	0.857
VSL[2] (µm/sec)	36.22 ± 2.32	38.16 ± 2.15	37.79 ± 2.06	0.554
VAP[3] (µm/sec)	39.08 ± 0.41	40.96 ± 0.50	43.60 ± 0.42	0.726
ความผิดปกติส่วนหัว (%)	1.33 ± 0.17	1.05 ± 0.15	0.86 ± 0.10	0.080
ความผิดปกติส่วนหาง (%)	1.03 ± 0.21	0.87 ± 0.13	0.85 ± 0.11	0.714
cytoplasmic droplet (%)	1.13 ± 0.15	1.17 ± 0.12	0.98 ± 0.12	0.569

หมายเหตุ ^{กข} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

^{คง} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)

[1]curvilinear velocity, [2]straight line velocity, [3]average path velocity

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2. ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อต่อลักษณะคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

ผลการศึกษาการเสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 ในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อแล้วนำไปเก็บรักษาไว้ในระยะเวลา 1,3,5,7 และ 10 วันต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร ได้ผลดังต่อไปนี้

2.1 ความเป็นกรด- ด่างของน้ำเชื้อ (พีเอช, pH)

น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 แล้วทำการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5,7 และ 10 วัน มีค่าพีเอช ของน้ำเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 6.76, 6.79, 6.82, 6.85 และ 6.88 ตามลำดับ พบว่าค่าพีเอช ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 5, 7 และ10 วัน มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับค่าพีเอช ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 วัน ดังแสดงในตารางที่ 5 จากการทดลองนี้พบว่า เมื่อเก็บน้ำเชื้อไว้นานวันขึ้น ค่าพีเอช ของน้ำเชื้อมีค่าสูงขึ้น ซึ่งขัดแย้งกับการรายงานของ ศรีสุวรรณ(2542) ที่กล่าวว่าค่าพีเอช ของน้ำเชื้อขึ้นอยู่กับการใช้น้ำตาลฟรุคโตสของตัวอสุจิ ผลพลอยได้จากการใช้น้ำตาลฟลุคโตสนี้จะเกิดกรดแลคติค ซึ่งน้ำเชื้อควรจะมีค่าพีเอช ลดลงเมื่ออายุการเก็บนานขึ้น แต่อย่างไรก็ตามค่าพีเอช ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้จะมีค่าออกมาทางเป็นกรด (พีเอช ต่ำกว่า 7)

2.2 แรงดันออสโมติค (osmotic pressure)

จากตารางที่ 5 น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 แล้วทำการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5,7 และ 10 วัน มีค่าแรงดันออสโมติคเฉลี่ยเท่ากับ 323.76, 321.92, 324.72, 323.89 และ 326.10 มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ ตามลำดับ พบว่าค่าแรงดันออสโมติคของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ในวันที่ 3 มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ในวันที่ 10

ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ในวันที่ 10 มีค่าแรงดันออสโมติคสูงขึ้นอาจจะเกี่ยวข้องกับการเสื่อมสลายของเซลล์อสุจิที่มีมากขึ้นเพราะพบว่า เปอร์เซ็นต์ motile sperm จะต่ำเมื่ออายุการเก็บน้ำเชื้อมากขึ้น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.3 motile sperm

เปอร์เซ็นต์ motile sperm ของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 แล้วทำการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5,7 และ 10 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 94.31, 92.47, 89.1, 85.24 และ 71.02 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 5 พบว่าเปอร์เซ็นต์ motile sperm ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 วัน มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ในวันที่ 5, 7 และ10 นอกจากนี้ยังพบว่าเปอร์เซ็นต์ motile sperm ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 และ 5 วัน มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ในวันที่ 7 และ10

แสดงให้เห็นว่าถ้ายิ่งเก็บน้ำเชื้อไว้นานวันขึ้นจะทำให้เปอร์เซ็นต์ motile sperm ของน้ำเชื้อลดลง เนื่องจากการเสื่อมของเซลอสุจินั่นเอง แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าจะทำการเก็บน้ำเชื้อไว้นานจนถึง อายุ 10 วันก็ตาม เปอร์เซ็นต์ motile sperm ในวันที่ 10 ยังคงเฉลี่ยอยู่ที่ 71.02 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือว่ามีค่าที่สูงอยู่ น้ำเชื้อที่เก็บได้นานอย่างนี้อาจขึ้นอยู่กับอิทธิพลของสารละลายเจือจางน้ำเชื้อสูตร NSRTC 4 ซึ่งเป็นสูตร long term extender หรือการเสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และนิวเคลียร์สูตร 2 ซึ่งไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ อาจจะรักษาสภาพเซลล์เมมเบรนของเซลอสุจิให้คงอยู่ได้นานขึ้น Xie *et al.* (2001) กล่าวว่าโครงสร้างของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งมีหมู่อะมิโนอิสระสามารถจับกับอนุมูลอิสระได้และสลาย peroxide ที่เกิดขึ้นในเซลล์ซึ่ง peroxide เป็นสาเหตุที่ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ของ organelle ที่สำคัญ เช่นไมโตคอนเดรียถูกทำลาย ซึ่งส่งผลกระทบเป็นอันตรายต่อตัวอสุจิ ดังนั้นการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ลงไปในสารละลายน้ำเชื้ออาจจะมีส่วนช่วยทำให้ตัวอสุจิมีชีวิตรอดเพิ่มขึ้น

2.4 live sperm

จากตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ live sperm ของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 แล้วทำการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5,7 และ 10 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 93.81, 91.99, 87.51, 78.06, 62.96 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์ live sperm ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 และ3 วัน มีค่าสูงกว่าเปอร์เซ็นต์ live sperm ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 5, 7 และ10 วัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และในระหว่างเปอร์เซ็นต์ live sperm ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 5, 7 และ10 วัน ก็แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เช่นเดียวกัน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จะเห็นว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ live sperm เนื่องจากการเสื่อมสลายของผนังเซลล์อสุจิ ทำให้มีอสุจิตายเพิ่มมากขึ้น การเสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 อาจจะช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาน้ำเชื้อให้นานขึ้นได้ เนื่องจากไคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีหมู่อะมิโนอิสระสามารถจับกับอนุมูลอิสระได้และสลาย peroxide ที่เกิดขึ้นในเซลล์ ทำให้สภาพแวดล้อมที่อยู่รอบตัวอสุจิดี เซลล์อสุจิจึงมีชีวิตนานขึ้น

2.5 ความเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (velocity and movement of sperm)

จากตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ Progressive movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วย นิวเคลียร์-COS สูตร 1 และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 แล้วทำการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5,7 และ 10 วัน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 62.76, 56.48, 52.85, 48.42 และ35.64 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ พบว่าเปอร์เซ็นต์ progressive movement ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 วัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับ เปอร์เซ็นต์ progressive movement ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3, 5, 7 และ 10 วัน นอกจากนี้ เปอร์เซ็นต์ Progressive movement ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 และ 5 วัน ยังมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับ เปอร์เซ็นต์ progressive movement ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 7 และ 10 วันด้วยเช่นกัน ในระหว่างเปอร์เซ็นต์ progressive movement ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 7 และ 10 วันก็มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้นานขึ้นก็จะมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ progressive movement ที่ลดลงเช่นเดียวกัน การที่เปอร์เซ็นต์ progressive movement ของตัวอสุจิลดลงตามอายุของตัวอสุจิที่มากขึ้นน่าจะมาจากตัวอสุจิมีความแข็งแรงในการเคลื่อนไหวที่ลดลงเนื่องจากการเสื่อมของตัวอสุจินั่นเอง

เปอร์เซ็นต์ curve line movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 แล้วทำการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5,7 และ 10 วันพบว่าเปอร์เซ็นต์ curve line movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 วันมีค่าต่ำที่สุดคือเท่ากับ 31.70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับเปอร์เซ็นต์ curve line movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3,5,7 และ 10 วัน โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 35.99, 35.89, 36.42 และ 35.43 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ น้ำเชื้อที่อายุยังน้อยจะมีความแข็งแรงและมีชีวิตมากกว่าน้ำเชื้อที่มีอายุในการเก็บไว้หลายวัน เปอร์เซ็นต์การว่ายแบบ curve line movement จะสูงขึ้นเมื่ออายุการเก็บนานขึ้นอาจเป็นเพราะสภาพแวดล้อมที่อยู่รอบ ๆ ตัวอสุจิที่เปลี่ยนไปไม่ว่าจะเป็นสภาพพีเอชที่ลดลงมีของเสีย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพิ่มขึ้นเช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซแอมโมเนียเป็นต้น จึงอาจทำให้ตัวอสุจิมีความผิดปกติของส่วนหางที่มากขึ้นเป็นผลให้ทิศทางการว่ายที่เปลี่ยนไป

ความเร็วในการว่ายแบบ VCL ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 แล้วทำการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5,7 และ 10 วัน พบว่าความเร็วในการว่ายแบบ VCL ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 10 วัน มีค่าต่ำที่สุดคือ 46.34ไมโครเมตร/วินาทีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับความเร็วในการว่ายแบบ VCL ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5 และ7 วันซึ่งมีค่าเท่ากับ 71.97, 70.32, 54.85 และ 60.96 ไมโครเมตร/วินาทีตามลำดับ นอกจากนี้ความเร็วในการว่ายแบบ VCL ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 และ3 วันมีค่าสูงกว่าความเร็วในการว่ายแบบ VCL ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 7 และ10 วัน

ความเร็วในการว่ายแบบ VSL ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5,7 และ 10 วันมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 45.42, 42.18, 38.08, 36.20 และ 25.10 ไมโครเมตร/วินาที ตามลำดับ ความเร็วในการว่ายแบบ VSL ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา1วันจะมีค่าสูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับความเร็วในการว่ายแบบ VSL ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 5,7 และ 10 วัน นอกจากนี้ยังพบว่าความเร็วในการว่ายแบบ VSL ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 5 วันยังแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับความเร็วในการว่ายแบบ VSL ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 10 วัน

ความเร็วในการว่ายแบบ VAP ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5,7 และ 10 วันมีค่าฉลี่ยเท่ากับ 49.87, 47.04, 42.65, 40.44 และ 30.07 ไมโครเมตร/วินาที ตามลำดับ ความเร็วในการว่ายแบบ VAP ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 วัน จะมีค่าสูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับความเร็วในการว่ายแบบ VAP ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 5,7 และ 10 วัน นอกจากนี้ยังพบว่าความเร็วในการว่ายแบบ VAP ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 วันยังแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับความเร็วในการว่ายแบบ VAP ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 7 และ10 วัน ความเร็วในการว่ายแบบ VCL VSL VAP ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 10 วัน มีค่าต่ำที่สุด เมื่ออสุจิมีอายุมากขึ้นเซลล์อสุจิก็ตายมากขึ้นและความแข็งแรงก็ลดลง ดังนั้นจึงมีผลต่อความเร็วในการว่าย

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

2.6 ความผิดปกติของตัวอสุจิ

ลักษณะความผิดปกติของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุม น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 มีค่าเฉลี่ยความผิดปกติที่ส่วนหัว ความผิดปกติที่ส่วนหาง และ cytoplasmic droplet เมื่อทำการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5,7 และ 10 วัน เท่ากับ 0.78, 0.84, 0.84; 0.8, 0.91, 1.12; 1.3, 0.91, 1.12; 1.31, 0.79, 0.95 และ 1.15, 1.07, 1.43 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5 จะเห็นว่าความผิดปกติของตัวอสุจิในลักษณะต่าง ๆ ที่ทำการศึกษาถึงแม้ว่าจะมีอายุการเก็บถึง 10 วัน ติดกันก็ตาม ก็ไม่ทำให้มีเปอร์เซ็นต์ผิดปกติสูงกว่าค่ามาตรฐาน แสดงให้เห็นว่าน้ำเชื้อของพ่อสุกรที่นำมาใช้ในการศึกษานี้มีคุณภาพเริ่มต้นที่ดี ผ่านเกณฑ์มาตรฐานที่ตั้งเอาไว้ก่อนนำมาเจือจาง

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 5 ผลของระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

ลักษณะ	ระยะเวลาการเก็บ (วัน)				
	1	3	5	7	10
ความเป็นกรด-ด่าง	6.76^{ง}±0.01	6.79^{คง}±0.02	6.82^{ขค}± 0.01	6.85^{กข}±0.02	6.88^{ก}±0.02
แรงดันออสโมติก (มิลลิออสโมล/กิโลกรัมของน้ำ)	323.7^{กข}±1.51	321.9^{ข}±0.54	324.72^{กข}±1.17	323.89^{กข}±1.5	326.10^{ก}±0.11
Motile sperm (%)	94.31^{ก}±0.51	92.47^{กข}±0.45	89.1^{ข}±0.73	85.24^{ค}±0.91	71.02^{ง}±2.04
Live sperm (%)	93.81^{ก}±0.29	91.99^{ก} ±0.45	87.51^{ข}±0.97	78.06^{ค}±1.4	62.96^{ง}±1.68
Progressive movement (%)	62.76^{ก} ±1.48	56.48^{ข}±0.85	52.85^{ข}±1.58	48.42^{ค}±1.45	35.64^{ง}±1.77
Curve line movement (%)	31.70^{จ}±1.14	35.99^{ฉ}±0.86	35.89^{ฉ}±0.95	36.42^{ฉ}±0.76	35.43^{ฉ}±1.37
VCL[1] (µm/sec)	71.97^{ก}±1.05	70.32^{ก}±2.61	54.85^{กข}±2.45	60.96^{ข}±2.88	46.34^{ค}±3.38
VSL[2] (µm/sec)	45.42^{ก}±0.98	42.18^{กข}±0.84	38.08^{ข}±1.46	36.20^{ขค}±2.02	25.10^{ค}±1.99
VAP[3] (µm/sec)	49.87^{ก}±0.98	47.04^{กข}±1.05	42.65^{ขค}±1.38	40.44^{ค}±1.92	30.07^{ค}±2.15
Abnormal head (%)	0.78±0.12	0.8±0.15	1.3 0±0.23	1.31±0.20	1.15±0.21
Abnormal tail (%)	0.84±0.11	0.91±0.13	0.91±0.27	0.79±0.13	1.07±0.31
cytoplasmic droplet (%)	0.84±0.09	1.12±0.15	1.12±0.24	0.95±0.09	1.43±0.18

หมายเหตุ ^{กขคง} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01)

^{จฉ} อักษรแตกต่างกันที่อยู่บนค่าเฉลี่ยในแถวนอนเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

ค่าเฉลี่ย±ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean ± standard error)

[1]Curvilinear Velocity, [2]Straight Line Velocity, [3]Average Path Velocity

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 6 ผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในสารละลายน้ำเชื้อต่อระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อ (วัน) ของพ่อพันธุ์สุกร

ลักษณะ	NSRTC 4					NSRTC 4 + นิวเคลียร์-COS สูตร 1					NSRTC 4 + นิวเคลียร์-COS สูตร 2				
	1	3	5	7	10	1	3	5	7	10	1	3	5	7	10
ความเป็นกรด-ด่าง	6.80	6.83	6.85	6.92	6.93	6.73	6.77	6.80	6.80	6.85	6.75	6.77	6.80	6.83	6.85
แรงดันออสโมติค (milliosmole/kg of H_2O)	326.82	328.31	328.12	326.40	328.31	322.61	322.02	323.36	322.10	325.07	321.83	322.45	322.67	323.16	324.91
Motile sperm (%)	93.96	92.02	87.71	83.73	68.41	94.25	93.05	90.07	85.87	72.48	94.83	92.35	89.53	86.13	72.17
Live sperm (%)	95.50	91.77	86.22	77.79	60.82	93.70	92.40	88.57	78.57	64.48	94.25	91.79	87.95	77.84	63.58
Progressive (%)	60.05	55.02	48.49	45.38	31.01	64.01	57.70	56.27	51.38	37.26	64.21	56.73	53.79	49.71	38.65
Curve line (%)	33.64	37.00	38.20	38.35	36.89	30.25	35.37	33.50	34.49	34.75	31.20	35.61	35.95	36.43	34.66
VCL (µm/sec)	72.92	74.02	65.42	62.26	44.48	71.68	67.91	64.01	60.54	45.92	71.30	69.03	65.13	60.09	48.62
VSL (µm/sec)	44.00	42.43	36.88	35.17	22.62	46.96	42.26	38.36	37.43	25.86	45.28	41.84	39.00	36.00	26.86
VAP (µm/sec)	48.43	47.35	41.53	39.96	38.58	51.31	47.18	43.50	41.88	30.24	49.56	46.60	42.92	39.49	31.40
Abnormal head (%)	0.76	1.06	1.57	1.62	1.65	0.95	0.83	1.17	1.49	0.83	0.63	0.72	1.16	0.81	0.99
Abnormal tail (%)	1.01	0.70	1.26	0.83	1.38	0.83	0.70	0.83	0.91	1.11	0.69	1.33	0.84	0.65	0.72
Cytoplasmic droplet (%)	0.86	1.18	1.20	1.14	1.26	0.88	1.20	1.09	0.87	1.82	0.80	0.97	1.08	0.83	1.21

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

จากการศึกษาผลของการเสริมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (นิวเคลียร์-COS) ในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อต่อลักษณะคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรและระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อสรุปผลดังนี้

1. ความเป็นกรด - ด่างของน้ำเชื้อ (pH) ในกลุ่มควบคุม มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับน้ำเชื้อในกลุ่มที่เสริมนิวเคลียร์-COS 1 และ กลุ่มที่เสริมนิวเคลียร์-COS สูตร 2 ในสารละลาย ส่วนความเป็นกรด – ด่างของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 5, 7 และ10 วัน มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับความเป็นกรด – ด่างของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 วัน

2. แรงดันออสโมติค (osmotic pressure) ของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์- COS สูตร 2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนค่าแรงดันออสโมติคของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ในวันที่ 3 มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ในวันที่ 10

3. Motile sperm ของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุม แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) กับกลุ่มที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 แต่เปอร์เซ็นต์ Motile sperm ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 วัน มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ในวันที่ 5, 7 และ10 นอกจากนี้ยังพบว่าเปอร์เซ็นต์ Motile sperm ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 และ 5 วัน มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) กับน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ในวันที่ 7 และ10

4. Live sperm ของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุม แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) กับกลุ่มที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 ส่วนเปอร์เซ็นต์ Live sperm ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 และ3 วัน มีค่าสูงกว่าเปอร์เซ็นต์ Live sperm ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 5, 7 และ10 วัน แตกต่างอย่างมี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

นัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) และในระหว่างเปอร์เซ็นต์ Live sperm ของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 5, 7 และ10 วัน ก็แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) เช่นเดียวกัน

5. ความเร็วและทิศทางในการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (velocity and movement of sperm) น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุมมีค่าต่ำกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.01) ส่วนเปอร์เซ็นต์ Progressive movement ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา1วันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) กับ เปอร์เซ็นต์ Progressive movement ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3, 5, 7 และ 10 วัน นอกจากนี้ เปอร์เซ็นต์ Progressive movement ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3 และ 5 วัน ยังมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) กับ เปอร์เซ็นต์ Progressive movement ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 7 และ 10 วันด้วยเช่นกัน เปอร์เซ็นต์ Curve line movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุมมีค่าสูงที่สุดแตกต่างจากเปอร์เซ็นต์ Curve line movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ส่วนเปอร์เซ็นต์ Curve line movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1 วันมีค่าต่ำที่สุดซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) กับเปอร์เซ็นต์ Curve line movement ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 3, 5, 7 และ 10 วัน ความเร็วในการว่ายแบบ VCL VSL VAP ของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ความเร็วในการว่ายแบบ VCL ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 10 วัน มีค่าต่ำที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) กับความเร็วในการว่ายแบบVCLของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1,3,5 และ7 วัน ความเร็วในการว่ายแบบ VSLและ VAP ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา1วันจะมีค่าสูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P<0.01) กับความเร็วในการว่ายแบบ VSL ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 5,7 และ 10 วัน

6. ความผิดปกติของตัวอสุจิ ความผิดปกติของตัวอสุจิของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายในกลุ่มควบคุม น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 และการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่เจือจางไว้เป็นเวลา 1,3,5,7 และ 10 วันพบว่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงผลของการเติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในสารละลายน้ำเชื้อต่อความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระในน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกร

2. จากการศึกษาผลของการเสริมนิวเคลียร์-COS (Chitooligosaccharide) ในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรพบว่ากลุ่มที่น้ำเชื้อถูกเจือจางด้วยสารละลายที่เสริมด้วยนิวเคลียร์-COS สูตร 1 และนิวเคลียร์-COS สูตร 2 พบว่า ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อและแรงดันออสโมติคลดลง ทำให้เปอร์เซ็นต์ Progressive movement สูงขึ้นและเปอร์เซ็นต์ Curve line movement ต่ำลง จากผลการทดลองการที่นิวเคลียร์-COS สูตร 1 และ นิวเคลียร์-COS สูตร 2 มีบทบาทไปช่วยทำให้เปอร์เซ็นต์ Progressive movement สูงขึ้นกว่าการใช้สารละลายสูตรปกติน่าจะช่วยทำให้เซลล์อสุจิเดินทางไปยังตำแหน่งปฏิสนธิในท่อนำไข่ได้เป็นจำนวนมากขึ้น ซึ่งจะทำให้ช่วยเพิ่มอัตราการผสมติดและจำนวนลูกต่อครอกได้ จึงควรมีการศึกษาในภาคสนามเพิ่มเติมถึงการนำน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายที่เติมไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ไปใช้ในการผสมจริงแก่แม่พันธุ์สุกรเพื่อศึกษาผลของไคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อประสิทธิภาพการผลิตสุกร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

เทวินทร์ วงษ์พระลับ. 2530. **การทำน้ำเชื้อสุกรแช่แข็งชนิดเม็ด และชนิดบรรจุหลอดพลาสติก**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2546. **ชีวเคมีทางสัตวศาสตร์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

ปิยนุฐ ธนาวุธ. 2551. **ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของข้าวฟ่าง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2543. **การใช้ไคติน-ไคโตซานเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตในสุกร**. *ใน* การประชุมสัมมนาพร้อมนิทรรศการ เกษตรยุคใหม่กับไคติน-ไคโตซาน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน. 2528. **การผสมเทียม**. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน. 2548. **สรีรวิทยาการสืบพันธุ์ของสัตว์เลี้ยง**. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ไพฑูรย์ เภสัชชา. 2527. **การจัดการน้ำเชื้อพันธุ์ของสุกรเพื่อนำไปใช้ในการผสมเทียมให้เกิดประสิทธิภาพ**. สัมมนาบัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาตร์

ศรีสุวรรณ ชมชัย. 2528. **คู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสุกร**. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

_____. 2542. **คู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสุกร**. ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สุจินต์ สิมารักษ์. 2526**. การสืบพันธุ์ในสัตว์เลี้ยง**. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น

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

สุวบุญ จิรชาญชัย, รังรอง ยกส้าน และ โกสุม สมัครรัตน์. 2544. สมบัติทางเคมีและกายภาพของไคติน-ไคโตซาน, น.11-40. *ใน* **การประชุมเชิงปฏิบัติการ ไคติน-ไคโตซาน จากวัตถุดิบธรรมชาติสู่การประยุกต์ใช้**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

อรรณพ คุณาวงษ์กฤต. 2545. **วิทยาการสืบพันธุ์สุกร**. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Agrawal, G. H., Rakwal, S. Tamogami, M. Yonekura, A. Kubo and H. Saji. 2002. Chitosan activates defense/stress response(s) in the leaves of *Oryza sativa* seedlings Plant **Physiology and Biochemistry**. 40: 1061-1069.

Albersheim, P. and A. J. Anderson-Prouty. 1975. Carbohydrates, proteins, cell surfaces, and biochemistry of pathogenesis. **Annu Rev Plant Physiol**. 26: 31-52**.**

Appell, R. A. and P. R. Evans. 1978. The effect of temperature on sperm motility II. Is bacterial growth a facter. **Fertil. Sgeril**. 30: 436-438.

Bearden, H. J. and J. W. Fuquay. 1980. **Applied Animal Reproduction**. Reston Publishing Co., Inc., A Prentic-Hall Co., Reston, Virginia. 337 p.

Bell, A. A., J. C. Hubbard and L. Liu. 1998. Effects of chitin and chitosan on the incidence and severity of *Fusarium* Yellow of celery. **Plant Disease**. 82: 322-328.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Collinge, D. B., K. M. Kragh, J. D. Mikkelsen, K. K. Nielsen, U. Rasmussen and K. Vad. 1993. Plant chitinases. **Plant J**. 3: 31-40.

Doares, S. H., T. Syrovets, E. W. Weiler and C. A. Ryan. 1995. Oligogalacturonides and chitosan activate plant defensive genes through the octadecanoid pathway. **Proc.Natl. Natl. Acad.Sci**. 92: 4095-4098

Ebel, J. and A. Mithofer. 1998. Early events in the elicitation of plant defense. **Planta**. 206: 335-348.

Eikemo, H., A. Stensvand and A. M. Tronsmo. 2003. Induced resistance as a possible means to control diseases of strawberry caused by *Phytophthora* spp. **Plant Dis**. 87: 345-350.

Fraser, L., K. Gorszczaruk and J. Strzezek. 2001. Relationship between motility and membrane integrity of boar spermatozoa in media varying in osmolality. **Reprod. Domest. Anim.** 36: 325-329.

Gadea, J. 2003. Semen extenders used in the artificial insemination of swine. **Spanish Journal of Agricultural Research.** 1(2): 17-27.

Graham, E. F. 1978. Foundamentals of preservation of spermatozoa, pp. 4-44. *In* N.R.C. (ed.). **The Integrity of Frozen Spermatozoa**. National Academy of Sciences, Washington, D.C.

Grenier, J. and A. Asselin. 1990. Some pathogenesis-related proteins are chitosanases with lytic activity against fungal spores. **Mol Plant-Microbe Interact**. 3: 401-407.

Hafez, E. S. E. 1974. **Reproduction in Farm Animal**. 3 rd ed. Wyne State University Detroit, Michigan.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

_____, E. S. E. 1987. **Reproduction in Farm Animal**. 5 th ed. Lea and Febiger, Philadelphia.

Hughes, P. E. and M. A. Varley. 1980. **Reproduction the Pig**. Butterworths.

Johnson, L. A., J. G. Alabers, C. M. T. Willems, J. H. M. Redermaker and C. E. Rexoad, JR. 1980. Use of boar spermatozoa for artificial insemination. III. Fecundity of boar spermatozoa stored in Beltsville liquid and Kiev extenders for three days at 18. J. **Anim. Sci**. 54: 132-136

Kim, J. A., Agrawal, R. Rakwal, K. S. Han, K. N. Kim, C. H. Yun, S.Heu, S. Y. Park, Y. H. Lee and N. S. Jwa. 2003. Molecular cloning and mRNA expression analysis of a novel rice (*Oryza sativa* L.) MAPK kinase, *OsEDR*1, an ortholog of *Arabidopsis AtEDR*1, reveal its role in defense/stress signaling pathways and development. **Biochem. Bjophys. Res. Com**. 300: 868-876.

Lee, S., H. Choi, S. Suh, I-S. Doo, K-Y .Oh, E. J. Choi, A. T. S. Taylor, P. S. Low and Y. Lee. 1999. Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. **Plant Physiol**. 121: 147-152

Mason, M. E. and J. M. Davis. 1997. Defense response in slash pine: Chitosan treatment alters the abundance of specific mRNA. **Mol Plant Microbe Interact**. 10: 135-137.

Nalbandov, A. V. 1976. **Reproductive physiology of mammals and birds**. 3nd ed. W. H. Freeman and company, San Francisco.

Notsu, S., N. Saito, H. Kosaki, H. Inui and S. Hirano. 1994. Stimulation of phenylalanine ammonia-lyase activity and lignification in rice callus treated with chitin, chitosan, and their derivatives. **Biosci. Biotech. Biochem**. 58: 552-553.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Peberdy, J. F. 1990. Fungal cell walls-a review. *In* P. J. Kuhn, A. P. J. Trinci, M. J. Jung, M. W. Goosey and L. G. Copping, eds. **Biochemistry of Cell Walls and Membranes in Fungi**. Springer Verlag, Berlin, pp. 5-30.

Perry, E. J. 1969. **The artificial insemination of farm animals**. Fourth revised edition. Oxford and IBH publishing co.

Rakwal, R., S. Tamogami, G. K. Agrawal and H. lwahashi,. 2002. Octadecanoid signaling component "burst" in rice (Oryza *sativa* L.) seedling leaves upon wounding by cut and treatment with fungal elicitor chitosan. **Bicohem Biophys Res Com**. 295: 1041-1045

Reed, H. C. B. 1982. Artificial insemination, pp 65-90. *In* D. J. A. Cole and G. R. Foxcroft, eds. **Control of Pig Reproduction**. Butterworth Scientific, London.

SAS. 2003. **SAS/STAT User' Guide**. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.

Sathiyabama, M. and R. Balasubramanian. 1998. Chitosan induces resistance components in *Arachis hypogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. **Crop Protect**. 17: 307-313.

Schilling, E. and M. Vengust. 1986. Osmotic pressure of boar semen. **Pig News and Information** . 7: 278.

Senger, P.L. 1999. **Pathway to pregnancy and parturition**. Current Conception, Inc., Washington.

Setchell, B. P. 1993. Male reproduction, pp. 83-127. *In* G. E. King, ed. **Reproduction in Domesticated Animals**. Elsevier, Amsterdam.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Sipueira-Junior, C. L., K. V. S. Fernandes, O. L. T. Machado, M. da Cunha, V. M. Gmes, D. Moura and T. Jacitnto. 2002. 87 kDa tomato cystatin exhibits properties of a defense protein and forms protein crystals in prosystemin overexpressing transgenic plants. **Plant Physiol. Biochem**. 40: 247-254

Sorensen, A. M. 1979. **Animal Reproduction**. McGraw-Hill, Inc. USA.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2002. **Plant Physiology**. 3rd ed. Sinauer Associates, Inc., Sunderland., USA.

Vander, P., Varum, K. M., Domatd, A., Gueddari, N. E. E., Moerschacher, B. M. 1998. **Plant Physiol**. 118: 1353-1359.

Xie, W. M., P. X. Xu and Q. Liu. 2001. Antioxidant activity of water-soluble chitosan derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letter.** 11: 1699-1701.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 1 สูตรสารละลายน้ำเชื้อ NSRTC 4

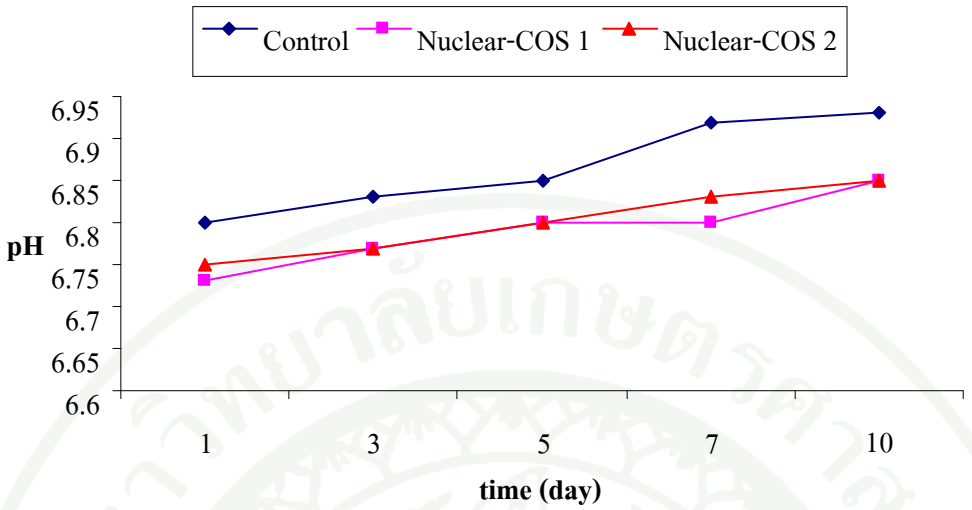
ส่วนประกอบ	ปริมาณ (กรัม)
กลูโคส	30.0
อีดีทีเอ	3.7
ซิตริค แอซิค	3.0
ทรีส (ไฮดรอกซีเมทธีล) อมิโนมีเทน	5.0
ไตรโซเดียมซิเตรตไดไฮเดรท	4.4
โซเดียมไบคาร์บอเนต	1.2
โปแตสเซียมคลอไรด์	0.3
นีโอมัยซินซัลเฟต	1.0
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1,000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

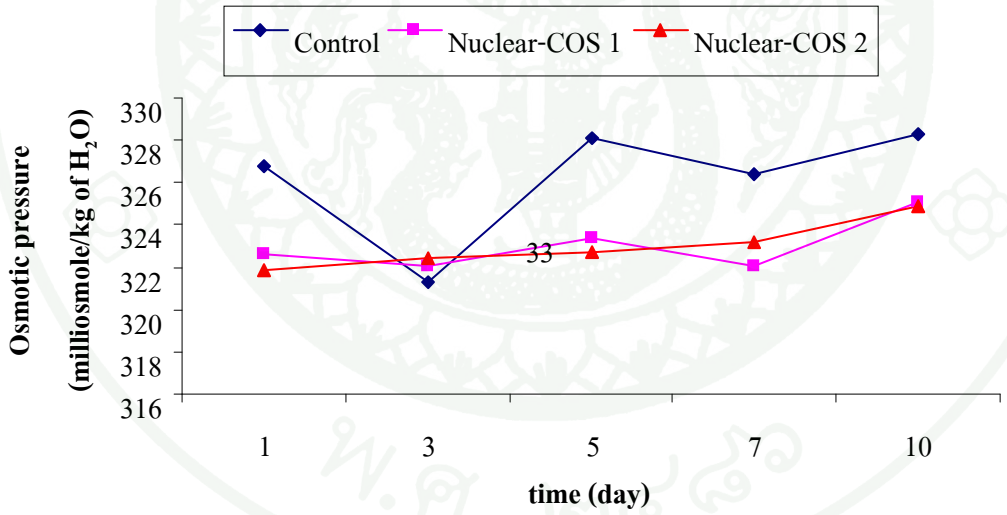
ตารางผนวกที่ 2 ส่วนประกอบอาหารสูตรพ่อพันธุ์

วัตถุดิบ	เปอร์เซ็นต์
ข้าวโพด	6.17
มันสำปะหลัง	30.00
รำละเอียด	21.24
รำสกัดน้ำมัน (16% โปรตีน)	20.81
กากน้ำตาล	3.96
กากถั่วเหลือง	14.85
แคลเซียมคาร์บอเนต	1.24
ไดแคลเซียมฟอสเฟต	0.25
เกลือ	0.50
พรีมิกซ์สุกรพันธุ์	0.99
รวม	100.00
ปริมาณโภชนะโดยการคำนวณ	
โปรตีน	14.74
พลังงาน (กิโลแคลอรี่/กิโลกรัม)	2,934.08
ไขมัน	5.24
เยื่อใย	6.89
แคลเซียม	1.09
ฟอสฟอรัสที่ใช้ประโยชน์ได้	0.45
ไลซีน	0.76

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

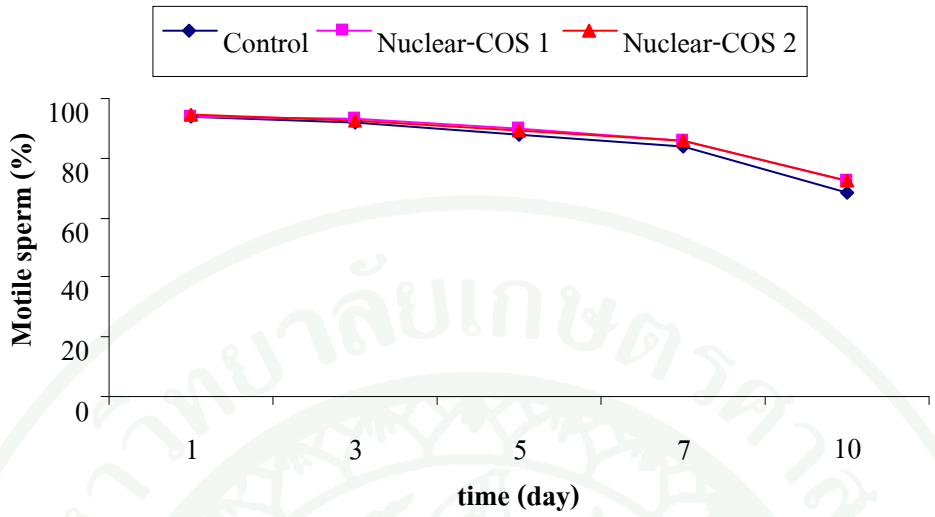


ภาพผนวกที่ 1 ค่าเฉลี่ยของ pH ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ

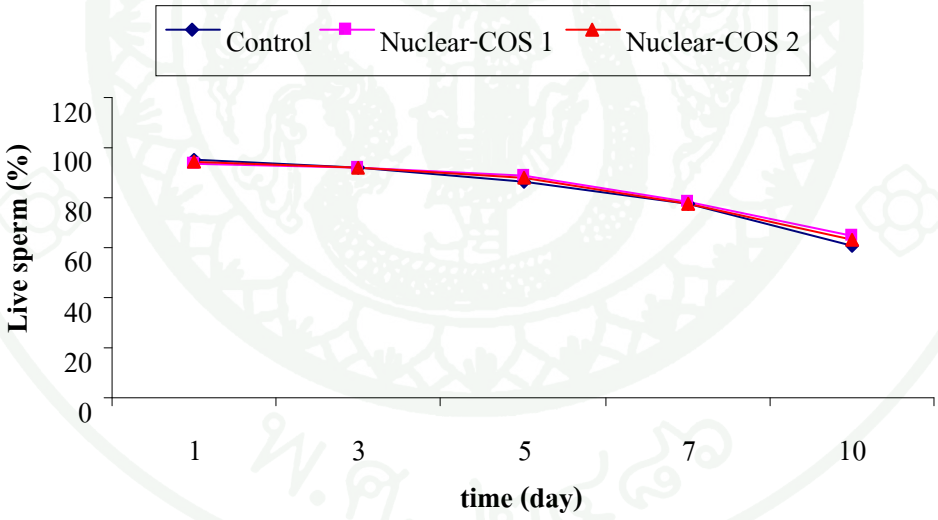


ภาพผนวกที่ 2 ค่าเฉลี่ยของ osmotic pressure ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

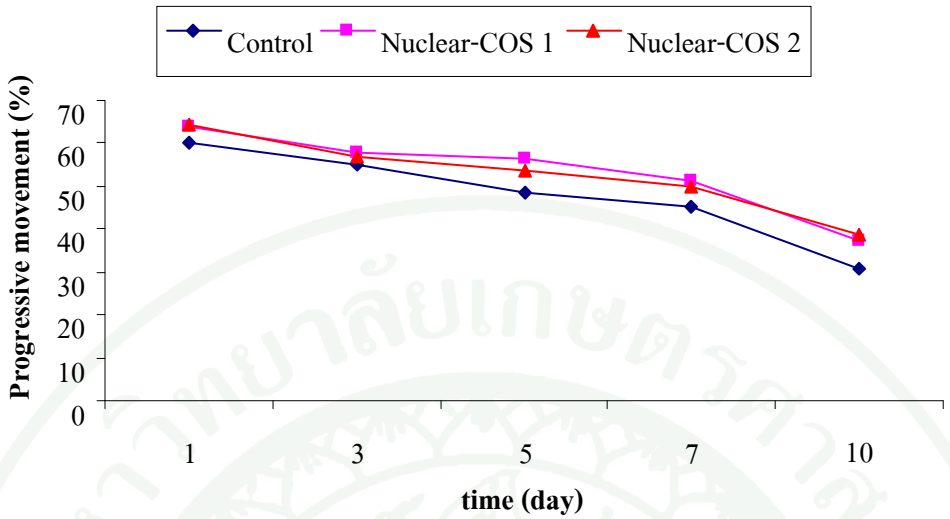


ภาพผนวกที่ 3 ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ motile sperm ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ

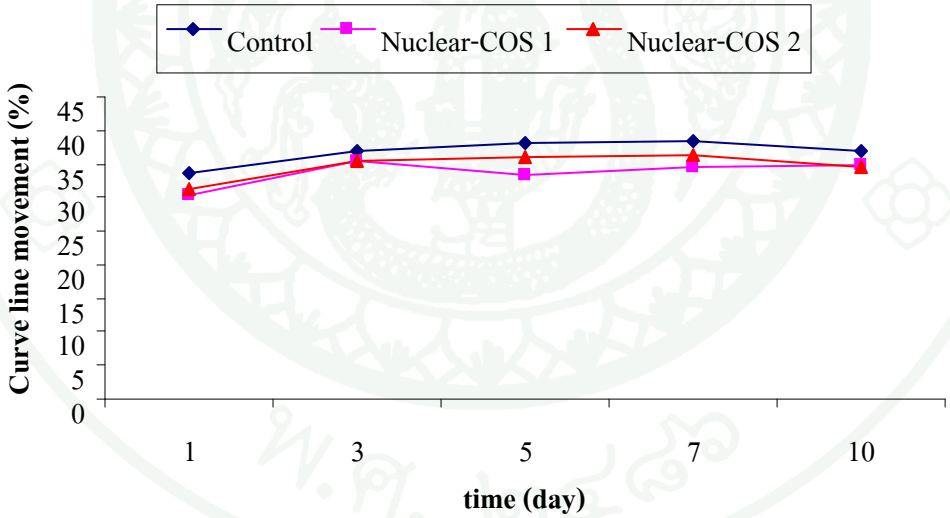


ภาพผนวกที่ 4 ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ live sperm ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

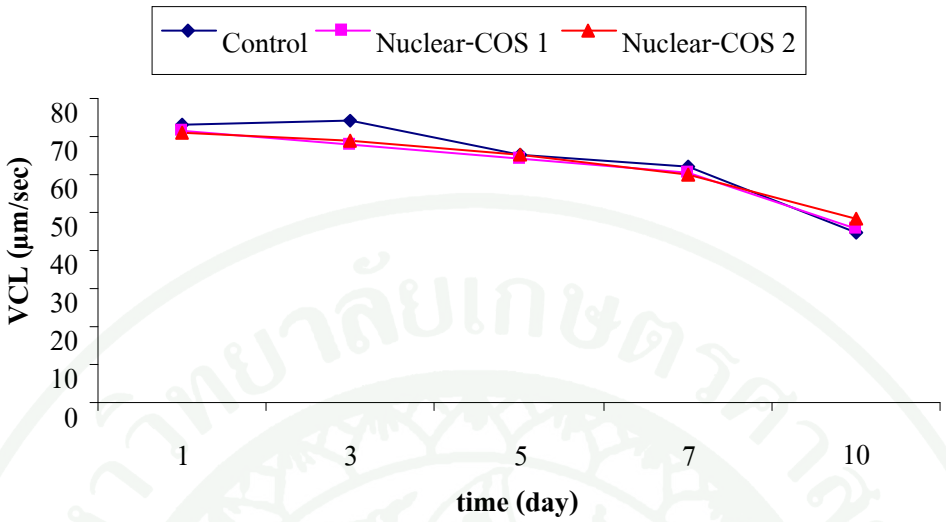


ภาพผนวกที่ 5 ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ progressive movement ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ

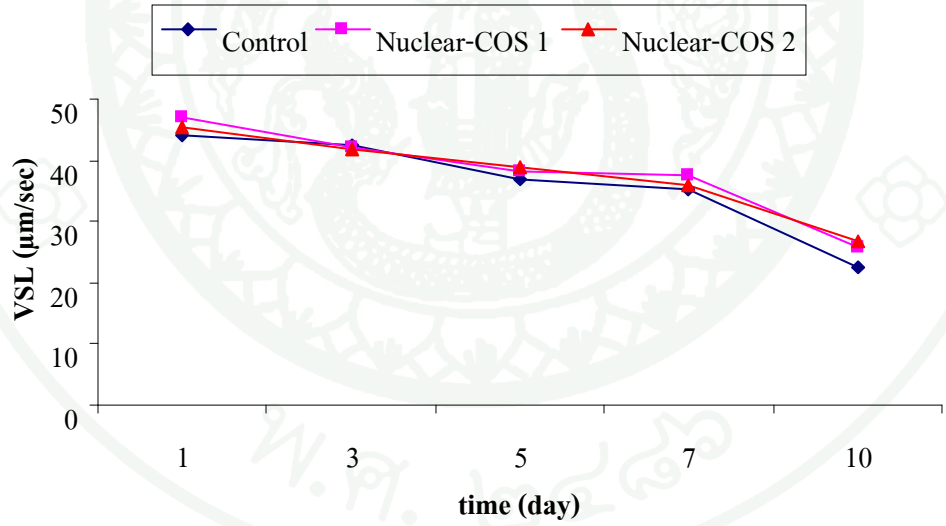


ภาพผนวกที่ 6 ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ curve line movement ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

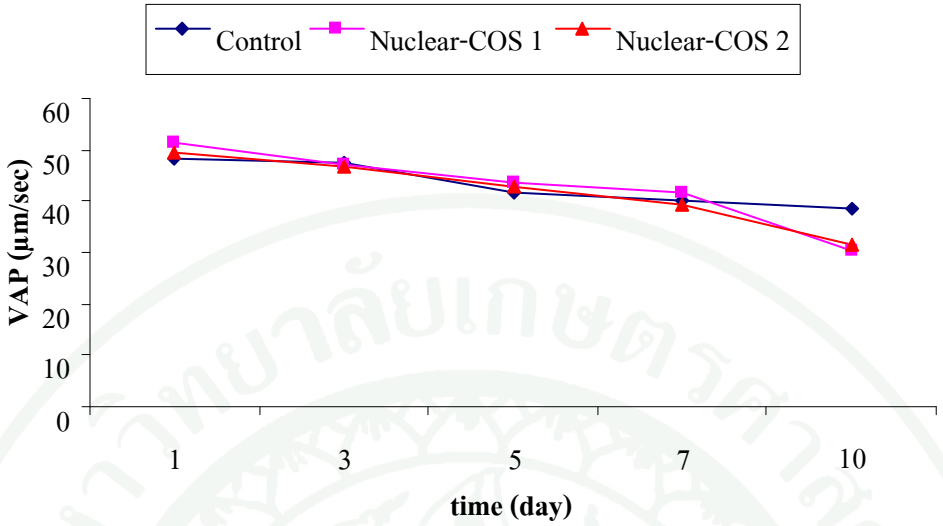


ภาพผนวกที่ 7 ค่าเฉลี่ย VCL ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ

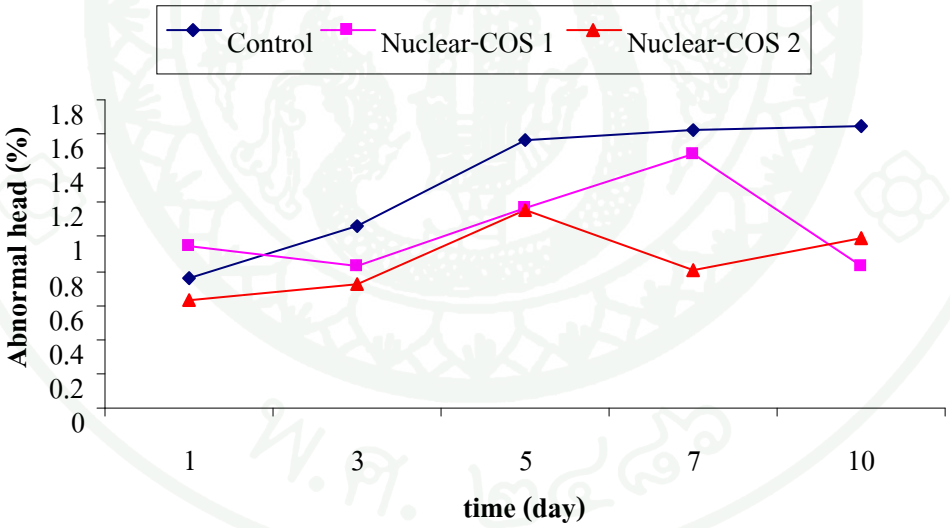


ภาพผนวกที่ 8 ค่าเฉลี่ย VSL ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

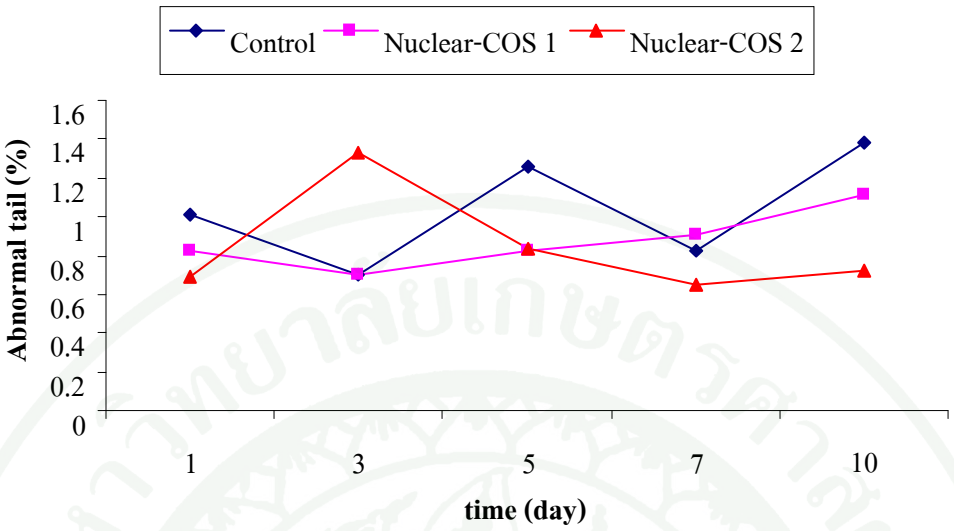


ภาพผนวกที่ 9 ค่าเฉลี่ย VAP ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ

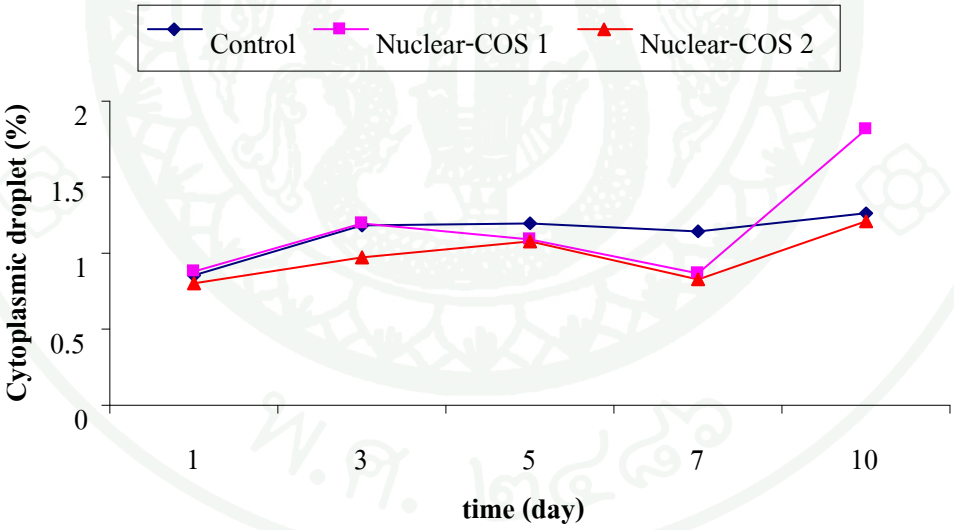


ภาพผนวกที่ 10 ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ abnormal head ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 11 ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ abnormal tail ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ



ภาพผนวกที่ 12 ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ cytoplasmic droplet ตามระยะเวลาการเก็บน้ำเชื้อ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ	นายกษิดิ์เดช ธีรนิตยาธาร
วันที่เกิด	5 พฤษภาคม 2510
สถานที่เกิด	จังหวัดพระนครศรีอยุธยา
ประวัติการศึกษา	สพ. บ. (สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต)
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2534
ตำแหน่งปัจจุบัน	รองประธานบริษัท
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	บริษัทอควาคิงกรุ๊ป จำกัด
	บริษัท วิน วิน เวิลด์ไวด์ จำกัด

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์