

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่ทำการเก็บรักษา

2.1.1 คุณภาพน้ำเชื้อสดเบื้องต้น

คุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้นก่อนการเก็บรักษามีความสำคัญมาก ต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่เก็บรักษาในภายหลัง จึงมีการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการรีด โดยเลือกน้ำเชื้อที่มีคุณภาพดีมีการเคลื่อนที่ของอสุจิที่ร้อยละ 80 ขึ้นไป มีความเข้มข้นและมีความแข็งแรงในการเคลื่อนที่สูง จึงจะทำให้ น้ำเชื้อที่เก็บรักษานั้นอยู่ได้นานขึ้น (Buss, 1993)

2.1.2 กระบวนการเจือจาง

กระบวนการเจือจางนั้นมีความสำคัญมากต่อน้ำเชื้อที่ทำการเก็บรักษา ในสัตว์ปีกควรเจือจางน้ำเชื้อทันทีภายใน 10 -15 นาทีหลังจากรีดเก็บน้ำเชื้อ หากเจือจางน้ำเชื้อมากกว่านี้จะทำให้อัตราการผสมติดลดลง (Blesbois and Brillard, 2007) Christensen (1995) รายงานว่าในการเจือจางน้ำเชื้ออุณหภูมิของน้ำเชื้อและน้ำยาเจือจางควรมีอุณหภูมิใกล้เคียงกัน

2.1.3 อัตราการเจือจางน้ำเชื้อ

ในไก่สามารถเจือจางสามารถทำได้มากกว่า 10 เท่าซึ่งไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ (Parker and McDaniel, 2004) แต่ส่วนใหญ่ในไก่นิยมเจือจาง 1 : 2 เท่า สำหรับปริมาณของน้ำเชื้อในการผสมเทียม หากเป็นน้ำเชื้อเจือจางปริมาณน้ำเชื้อในการผสมเทียมจะอยู่ระหว่าง 0.1 – 0.4 มิลลิลิตร ทั้งนี้อัตราการเจือจางน้ำเชื้อขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของจำนวนอสุจิ (เทวินทร์และยุพิน, 2552)

2.1.4 น้ำยาเจือจาง

วัตถุประสงค์ในการทำน้ำยาเจือจางคือเพื่อต้องการให้ได้สารละลายที่มีส่วนประกอบและคุณสมบัติคล้ายกับน้ำเชื้อสดมากที่สุด หลังจากที่ทำกรรีดน้ำเชื้อแล้วจะมีการเติมน้ำยาเจือจางเพื่อเป็นการถนอมและเพิ่มปริมาณของน้ำเชื้อที่ได้จากการหลังของพ่อพันธุ์แต่ละครั้ง ทำให้สามารถนำไปผสมกับแม่พันธุ์ได้เป็นจำนวนมาก และทำให้การเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อเป็นไปได้ดีและยาวนานขึ้น โดยองค์ประกอบทางเคมีในน้ำยาเจือจางมักมีองค์ประกอบที่คล้ายกับน้ำเชื้อของสัตว์ปีก (Lake, 1995) Dumpala et al (2006) รายงานว่าในการเก็บรักษาน้ำเชื้อเจือจางเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ทำการประเมินคุณภาพทุกๆ ชั่วโมง คุณภาพของน้ำเชื้อจะค่อย ๆ ลดต่ำลงเป็นลำดับๆ เทวินทร์และยุพิน (2552) ทำการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการผสมติดของน้ำเชื้อเจือจางและน้ำเชื้อสด พบว่าไม่มีความแตกต่างในเรื่องอัตราการผสมติดและฟักออก ตัวอย่างของน้ำยาเจือจางที่นิยมใช้ได้แก่ 5 สูตรโดยมีสูตร Lake' diluent, Tselutin et al., (1995), Schamm diluent, BPSE และ IGGKP โดยมีองค์ประกอบทางเคมีของสูตรน้ำยาเจือจางต่อ 1000 มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของสูตรน้ำยาเจือจางต่อ 1000 มิลลิลิตร

ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำยา เจือจาง(กรัม/ลิตร)	สูตรที่				
	1	2	3	4	5
Magnesium acetate	0.7		0.7		
Magnesium chloride				0.34	
Sodium acetate				4.3	
Potassium citrate				6.4	1.4
Sodium glutamate	19.2	19.2	28.5	8.67	14
Dipotassiumhydrogen phosphate				12.7	9.8
Potassium dihydrogen phosphate				0.65	
Disodium hydrogen phosphate					2.1
Glucose	8.0		5.0		9.0
Fructose		8.0		5.0	
Inositol			2.5		9.0
TES				1.95	
Protamine sulfate		0.32			
Protassium acetate	5.0	5.0	5.0		
PVP (polyvinyl pyrrolidone)	3.0	3.0			

หมายเหตุ สูตรที่ 1 คือ Prefreezing Lake'diluent (Lake, 1960 อ้างโดย Han et al., 2005)

สูตรที่ 2 คือ Tselutin (Tselutin et al., 1995 อ้างโดย Han et al., 2005)

สูตรที่ 3 คือ Schramm diluent (Schramm., 1976 อ้างโดย Chalah et al., 1999)

สูตรที่ 4 คือ BPSE (Sexton, 1977)

สูตรที่ 5 คือ IGGKP (Surai and Whishart, 1996)

และในน้ำยาเจือจางควรมีสภาพที่มีความเหมาะสมต่อการดำรงชีพของอสุจิโดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

มีรายงานว่าระดับ pH Buffer ที่ต่ำหรือสูงเกินไปเป็นอันตรายต่อตัวอสุจิ ระดับ pH ที่เหมาะสมในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อไก่นั้นสำหรับน้ำเชื้อเจือจางที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 °C ควรอยู่ระหว่าง 6.8 – 7.1 (Sexton and Fewlass, 1978 อ้างโดย Chistensen, 1995)

อสุจิต้องการแหล่งพลังงานเพื่อการอยู่รอดได้นานขึ้นและใช้ในการเคลื่อนไหว น้ำยาเจือจางในปัจจุบันนิยมเติม ฟรุคโตส และกลูโคส เพื่อเป็นแหล่งพลังงานให้อสุจิ (Chistensen, 1995)

ปริมาณออกซิเจน สำหรับอสุจิไก่อ้วนนั้นต้องการออกซิเจนสำหรับ aerobic metabolism จึงมีการศึกษาถึงการเติมออกซิเจนในน้ำเชื้อเจือจางในระหว่างที่ทำการเก็บรักษา การเติม perfluorochemicals (PFC) มีผลต่อปริมาณออกซิเจนในน้ำยาเจือจาง และทำให้อสุจิมีชีวิตรอดได้นานขึ้น แต่ในไกไม่มีผลดี (Chistensen, 1995) จะเห็นได้ว่าปริมาณออกซิเจนในน้ำยาเจือจางมีผลต่อการรอดชีวิตของอสุจิ

น้ำบริสุทธิ์ การเก็บรักษาน้ำเชื้อเจือจางที่อุณหภูมิเย็นจะมีการไหลเข้าออกของแคลเซียมสูงขึ้นส่งผลให้มีการไหลออกของ acrocin ที่หัวอสุจิ ซึ่งมีผลเสียต่อการผสมติด และน้ำที่ใช้ควรเป็นน้ำที่บริสุทธิ์ไม่มีโลหะหนักปนเปื้อน และไม่มี Ca^{2+} ซึ่งจะมีผลเสียต่อตัวอสุจิ (Froman and Thurston, 1985) และ Van Voorst and Leenstra (1995) มีข้อสังเกตว่าการใช้ ultrapure water ในการประกอบน้ำยาเจือจางน่าจะให้ผลดีกว่าน้ำกลั่น

ยาปฏิชีวนะ จุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำเชื้อมักมาจากบริเวณ cloaca ซึ่งปนเปื้อนมาในขณะรีดน้ำเชื้อ การเสริมสารปฏิชีวนะในน้ำยาเจือจาง สามารถควบคุมจุลินทรีย์ได้โดยไม่มีผลเสียต่ออัตราการผสมติดและการฟักออก (Omprakash et al., 2006)

2.1.5 อุณหภูมิในการเก็บรักษา

น้ำเชื้อไกมีความหนาแน่นของตัวอสุจิสูงและมีเมตาบอลิซึมสูง การเก็บรักษาที่อุณหภูมิที่สูงกว่าหรือเท่ากับอุณหภูมิร่างกาย ทำให้อสุจิของไกมีการสูญเสียพลังงานอย่างรวดเร็ว Dumpala et al. (2006) รายงานว่าในการรักษาคุณภาพน้ำเชื้อที่ 4 °C , 21 °C , และ 41 °C หลังจากเก็บรักษาน้ำเชื้อเจือจางเป็นเวลา 8 ชั่วโมงทำการประเมินคุณภาพโดยตรวจดูการเคลื่อนที่ และอสุจิที่รอดชีวิตพบว่า คุณภาพของน้ำเชื้อจะค่อย ๆ ลดต่ำลงเป็นลำดับๆในทุกกลุ่ม และการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่อุณหภูมิต่ำ น้ำเชื้อจะมีคุณภาพดีกว่าการเก็บที่อุณหภูมิร่างกายของไก ในการเก็บรักษาเมื่อใช้ผสมเทียมภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 ถึง 5 °C (Douard et al., 2004) Chalah et al. (1999) รายงานว่า น้ำเชื้อที่รีดมาแล้วแต่ยังไม่เจือจางจะไวต่ออุณหภูมิที่ต่ำกว่า 5 °C ในขณะที่น้ำเชื้อเจือจางจะทนต่ออุณหภูมิที่ต่ำกว่าได้ดีกว่า การลดอุณหภูมิน้ำเชื้อหลังจากการรีดไปที่อุณหภูมิ 5 °C มักใช้เวลาประมาณ 20 – 30 นาที

2.1.6 เซมินอลพลาสมา (Seminal plasma)

องค์ประกอบของ Seminal plasma เป็นปัจจัยที่มีผลเสียต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของอสุจิ ซึ่งอาจมีแหล่งมาจากอสุจิที่ตายแล้ว ของเหลวต่างๆ เซลล์และเซลล์ต่างๆ ที่ปนมากับการรีดน้ำเชื้อ (Sexton, 1988) เนื่องจากไกไม่มี accessory gland เหมือนสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ดังนั้นน้ำเชื้อที่หลังออกมาจึงมีปริมาณที่น้อย และเซมินอลพลาสมาจะหลั่งออกมาจาก seminiferous และ vas deferens โดยจะประกอบไปด้วย lipoprotein (Blesbois and Hermier, 1990 อ้างโดย Christensen, 1995) Morell (2006) รายงานว่าสิ่งที่ปนเปื้อนมาในเซมิ

นออลพลาสมานั้นมีเซลล์ epithelium ส่วนของเซลล์ที่ตายแล้วรวมทั้งแบคทีเรียด้วย ซึ่งล้วนเป็นองค์ประกอบสำคัญมีผลต่อการอยู่รอดของตัวอสุจิ Blesbois and Reviers (1992) รายงานว่าในเซมินออลพลาสมาของสัตว์ปีกนั้นมีสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำซึ่งมีผลดีต่ออัตราการผสมติด

2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผสมติดจากการผสมเทียม

2.2.1 วิธีการรีดน้ำเชื้อ

วิธีการรีดน้ำเชื้อในไก่เป็นอีกปัจจัยหนึ่งซึ่งส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ โดยการรีดเก็บน้ำเชื้อไก่พ่อพันธุ์ควรระมัดระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของมูลไก่และ Urates ซึ่งจะมีผลเสียต่ออัตราการผสมติดและความบ่อยครั้งในการรีดมีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อเช่นกัน โดยควรทำการรีดน้ำเชื้อ 2-3 ครั้ง/สัปดาห์ จะทำให้คุณภาพน้ำเชื้อที่รีดนั้นมีคุณภาพดี (Noirault and Brillard, 1999) สอดคล้องกับรายงานของ Zahraddeen et al.(2005) ซึ่งได้ศึกษาถึงความถี่ในการรีดน้ำเชื้อ 1-3 ครั้ง/สัปดาห์พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในเรื่องคุณภาพน้ำเชื้อ แต่ส่งผลต่อความเข้มข้นของน้ำเชื้อที่ลดลงหากทำการรีดน้ำเชื้อบ่อยครั้งเพิ่มขึ้น

2.2.2 คุณภาพน้ำเชื้อสดเบื้องต้น

คุณภาพน้ำเชื้อสดเบื้องต้นก่อนการแช่แข็งมีความสำคัญมากต่อคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็งและการทำละลาย จึงมีการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการรีด โดยควรทำการคัดเลือกน้ำเชื้อที่มีคุณภาพดี มีการเคลื่อนที่และความเข้มข้นสูง จึงทำให้น้ำเชื้อที่เก็บรักษาคงสภาพได้นานขึ้น (Buss, 1993) สำหรับความเข้มข้นของน้ำเชื้อในการปฏิบัติงานประจำจะใช้การวัดความเข้มข้นจากการนับโดย colorimeter หรือ spectrophotometer ซึ่งเทียบค่าจากการทำกราฟมาตรฐานด้วยการวัดกับอุปกรณ์ haemocytometer (Wishart, 2009) โดยปกติแล้วน้ำเชื้อไก่จะมีความเข้มข้นประมาณ $2-4 \times 10^9$ ตัว/มล. โดยส่วนใหญ่ น้ำเชื้อที่รีดได้ปริมาณสูงจะมีความเข้มข้นต่ำกว่าน้ำเชื้อที่รีดได้ในปริมาณที่น้อย และอัตราการผสมติดมีความสัมพันธ์อย่างยิ่งกับปริมาณและคุณภาพน้ำเชื้อ (Wishart and Palmer, 1986)

2.2.3 พันธุกรรมของพ่อพันธุ์

พันธุกรรมเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพอสุจิ โดยพบว่ามีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมเป็นเหตุให้คุณภาพน้ำเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน (Peters et al., 2008) Siudzinska and Lakaszewicz (2008) ได้ศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อในไก่ 4 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์มีผลต่อสัณฐานวิทยาและการมีชีวิตรอดของอสุจิแตกต่างกัน นอกจากนี้ในแต่ละสายพันธุ์มีปัจจัยในเรื่องของความแตกต่างในด้านของอายุพ่อพันธุ์ที่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อด้วยเช่นกัน ซึ่งหมายถึงในช่วงเจริญพันธุ์ที่สามารถให้คุณภาพน้ำเชื้อดีที่สุดในแต่ละสายพันธุ์อยู่ในช่วงอายุที่แตกต่างกันนั่นเอง โดยจากการศึกษาของ Cerolini et al. (1997b) รายงานว่าเมื่อพ่อพันธุ์มีอายุมากขึ้น องค์ประกอบของ phospholipid ของอสุจิจะลดลงตามอายุที่เพิ่มขึ้น โดยที่ lipid และ fatty acid ต่างๆ นี้เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิ มีการศึกษาเกี่ยวกับอายุพ่อพันธุ์ต่อคุณภาพน้ำเชื้อโดยอายุพ่อพันธุ์ไก่ Leghorn ที่ให้คุณภาพน้ำเชื้อดีนั้นอยู่ในช่วงอายุ 26 -28 สัปดาห์ จนถึงช่วงอายุ 32 - 36 สัปดาห์ และ Wineland (1995) รายงานว่าพ่อพันธุ์ไก่เนื้อทางการค้าจะให้คุณภาพน้ำเชื้อดีที่สุดเมื่อมีอายุ 34 - 37 สัปดาห์ จากการศึกษาข้างต้นจะเห็นได้ว่าอายุที่ให้คุณภาพน้ำเชื้อ

ที่ดีแตกต่างกัน เนื่องจากการศึกษาดังกล่าวศึกษาในไก่ต่างสายพันธุ์ที่มีพันธุกรรมแตกต่างกัน จึงเป็นเหตุให้คุณภาพน้ำเชื้อมีความแตกต่างด้วยเช่นกัน ดังนั้นหากจะทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อด้วยวิธีการแบบแช่แข็งแล้ว จำเป็นต้องทำการศึกษาว่าช่วงอายุใดที่สายพันธุ์ดังกล่าวให้คุณภาพน้ำเชื้อที่ดี

2.2.4 อาหารและการจัดการ

อาหารและการจัดการเป็นอีกปัจจัยหนึ่งซึ่งมีความสำคัญต่อคุณภาพน้ำเชื้อ Hocking and Bernard, (1997) รายงานว่าให้อาหารที่มีโปรตีนสูงเกินความต้องการในไก่ พบว่าในกลุ่มที่ให้อาหารโปรตีนสูงมีผลต่อความเข้มข้นของสเปิร์มต่ำลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ให้อาหารโปรตีนต่ำ นอกจากนี้พบว่า การเสริมไขมันเป็นอีกวิธีการหนึ่งซึ่งมีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ โดยในตัวของสเปิร์มในสัตว์เกือบทุกชนิดจะมีองค์ประกอบของ PUFA (polyunsaturated fatty acids) เป็นองค์ประกอบอยู่เป็นส่วนใหญ่ การให้ essential fatty acid (EFA) ที่มีองค์ประกอบของ n-3 PUFA และ n-6 PUFA จากการกินเข้าไปมีผลดีต่อการสืบพันธุ์ ทั้งในสเปิร์มของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีก (Kelso et al., 1996; Howarth et al., 1977) และพบว่า PUFA มีส่วนสำคัญในการลดความเสียหายของสเปิร์มที่เกิดจากการเคลื่อนที่และทำให้ออสุมิมีความสามารถในการผสมติดสูงขึ้นในสัตว์ปีก (Ansah and Bucklandand., 1983; Kelso et al., 1996)

2.2.5 ฤดูกาล

ฤดูกาลเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ โดย Wishart (1995) ได้ศึกษาในประเทศอเมริกาและรายงานว่าน้ำเชื้อไก่จะมีการเคลื่อนที่ดีในช่วงฤดูร้อนและจะมีการเคลื่อนที่ต่ำลงในช่วงฤดูหนาว ส่วน Kamar (1960) อ้างโดย (Wishart, 1995) รายงานว่าในช่วงฤดูหนาวออสุมิจะมีความผิดปกติของรูปร่างที่บริเวณหัวเป็นร้อยละที่สูงมาก ส่วนในฤดูร้อนออสุมิจะมีความผิดปกติของรูปร่างบริเวณหางมากกว่า Obidi et al. (2008) รายงานว่าน้ำเชื้อไก่จะมีปริมาตรและความเข้มข้นสูงในช่วงฤดูฝน และมีปริมาตรและความเข้มข้นต่ำในช่วงฤดูร้อนของประเทศ Nigeria ต่างจากการศึกษาของ Santiago-Moreno et al. (2011) ได้ศึกษาในไก่พื้นเมืองของประเทศสเปนภายใต้สภาพโรงเรือนเปิด พบว่าฤดูกาลไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ

2.2.6 น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ (Semen diluents)

วัตถุประสงค์ในการทำน้ำยาเจือจางคือ เพื่อต้องการให้ได้สารละลายที่มีส่วนประกอบและคุณสมบัติคล้ายกับน้ำเชื้อจริงมากที่สุด เป็นการถนอมและเพิ่มปริมาณของน้ำเชื้อที่ได้จากการหลั่งของพ่อพันธุ์แต่ละครั้ง ทำให้สามารถนำไปผสมกับแม่พันธุ์ได้เป็นจำนวนมาก และทำให้การเก็บรักษาคูณภาพน้ำเชื้อเป็นไปได้ดีและยาวนานขึ้น โดยองค์ประกอบทางเคมีในน้ำยาเจือจางมักมีองค์ประกอบที่คล้ายกับน้ำเชื้อของสัตว์ปีก (Lake, 1995) ซึ่งในน้ำยาเจือจางนั้นจะต้องมีคุณสมบัติและองค์ประกอบที่สำคัญคือ มีแหล่งพลังงาน, pH และความเข้มข้นบัฟเฟอร์, ความดันของสารละลายที่เหมาะสม, ยาปฏิชีวนะ ซึ่งจะกล่าวต่อไปดังนี้ การเติมแหล่งพลังงานนั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ออสุมิการอยู่รอดได้นานขึ้นและใช้ในการเคลื่อนไหว น้ำยาเจือจางในปัจจุบันนิยมเติม ฟรุคโตส และกลูโคส เพื่อเป็นแหล่งพลังงานให้ออสุมิ (Christensen, 1995) มีรายงานว่าระดับ pH ที่ต่ำหรือสูงเกินไปเป็นอันตรายต่อตัวออสุมิ ระดับ pH ที่เหมาะสมในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อไก่นั้นสำหรับน้ำเชื้อเจือจางที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 °C ควรอยู่ระหว่าง 6.8 – 7.1 (Sexton and Fewlass, 1978 อ้างโดย Chistensen, 1995) สำหรับออสุมิไก่อ้วนนั้นต้องการออกซิเจนสำหรับ aerobic metabolism จึง

มีการศึกษาถึงการเติมออกซิเจนในน้ำเชื้อเจี๊จางในระหว่างที่ทำการเก็บรักษา การเติม perfluorochemicals (PFC) มีผลต่อปริมาณออกซิเจนในน้ำยาเจี๊จาง และทำให้อสุจิมีชีวิตรอดได้นานขึ้น แต่ในไก่ไม่ให้ผลดี (Christensen, 1995) จะเห็นได้ว่าปริมาณออกซิเจนในน้ำยาเจี๊จางมีผลต่อการรอดชีวิตของอสุจิ สำหรับน้ำบริสุทธิ์ที่ใช้ทำน้ำยาเจี๊จาง ควรเป็นน้ำที่บริสุทธิ์ไม่มีโลหะหนักปนเปื้อน และไม่มี Ca^{2+} ซึ่งจะมีผลเสียต่อตัวอสุจิ (Froman and Thurston, 1985) และ Van Voorst and Leenstra (1995) มีข้อสังเกตว่าการใช้ ultrapure water ในการประกอบน้ำยาเจี๊จางน่าจะให้ผลดีกว่าน้ำกลั่น และในน้ำเชื้อเจี๊จางอาจพบจุลินทรีย์ซึ่งมักมาจากบริเวณ cloaca โดยปนมาในขณะรีดน้ำเชื้อ พบว่าการเสริมสารปฏิชีวนะในน้ำยาเจี๊จาง สามารถควบคุมจุลินทรีย์ได้โดยไม่มีผลเสียต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิและอัตราการผสมติด (Omprakash et al., 2006) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงผลของการใช้สูตรน้ำยาที่แตกต่างกัน ส่งผลต่อความแตกต่างในเรื่องของคุณภาพน้ำเชื้อ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสูตรน้ำยาที่แตกต่างกันนั้นองค์ประกอบของสารเคมีในสัดส่วนที่แตกต่างกัน ทำให้แหล่งพลังงาน, pH, ค่าของ osmolarity และความเป็น buffer ในสูตรน้ำยาที่ไม่เหมือนกัน จึงส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่ต่างกันกันได้ ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

2.2.7 อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อ

เนื่องจากในน้ำเชื้อไก่มีความหนาแน่นของตัวอสุจิสูง และมีเมตาบอลิซึมสูง การเก็บรักษาที่อุณหภูมิที่สูงกว่าอุณหภูมิร่างกายหรือเท่ากับอุณหภูมิร่างกาย จึงทำให้อสุจิของไก่มีการสูญเสียพลังงานไปอย่างรวดเร็ว Dumpala et al. (2006) รายงานว่าในการรักษาคุนภาพน้ำเชื้อที่ 4 °ซ , 21 °ซ , และ 41 °ซ หลังจากเก็บรักษาน้ำเชื้อเจี๊จางเป็นเวลา 8 ชั่วโมงทำการประเมินคุณภาพโดยตรวจดูอัตราการเคลื่อนที่ และอัตราการอสุจิที่รอดชีวิตพบว่า คุณภาพของน้ำเชื้อจะค่อย ๆ ลดต่ำลงเป็นลำดับๆในทุกกลุ่ม และการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่อุณหภูมิต่ำ น้ำเชื้อจะมีคุณภาพดีกว่าการเก็บที่อุณหภูมิร่างกายของไก่ ในการเก็บรักษาเมื่อใช้ผสมเทียมภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง จึงต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 ถึง 5 °ซ (Douard et al., 2003) Chalah et al. (1999) รายงานว่า น้ำเชื้อที่รีดมาแล้วแต่ยังไม่เจี๊จางจะไวต่ออุณหภูมิที่ต่ำกว่า 5 °ซ ในขณะที่น้ำเชื้อเจี๊จางจะทนต่ออุณหภูมิต่ำได้ดีกว่า การลดอุณหภูมิน้ำเชื้อหลังจากการรีดไปที่อุณหภูมิ 5 °ซ มักใช้เวลาประมาณ 20 – 30 นาที

2.2.8 การเจี๊จางและอัตราการเจี๊จาง

กระบวนการเจี๊จางและอัตราการเจี๊จางนั้นมีความสำคัญมากต่อน้ำเชื้อที่ทำการเก็บรักษา ควรเจี๊จางน้ำเชื้อทันทีภายใน 10 -15 นาทีหลังจากรีดเก็บน้ำเชื้อ ไม่เช่นนั้นแล้วจะมีการสูญเสียทำให้อัตราการผสมติดลดลง (Blesbois and Brillard, 2007) Christensen (1995) รายงานว่าในการเจี๊จางน้ำเชื้อ อุณหภูมิของน้ำเชื้อและน้ำยาเจี๊จางไม่ควรมีอุณหภูมิที่แตกต่างกัน Sexton (1977) รายงานว่าในไก่วงอัตราการเจี๊จางที่เหมาะสมที่สุด คือ 1 : 1 ถึง 1 : 2 ส่วนการเจี๊จางน้ำเชื้อไก่สามารถทำได้มากกว่า 10 เท่า (Parker and McDaniel, 2004) แต่ส่วนใหญ่ในไก่นิยมเจี๊จาง 1 : 2 เท่า (Sexton, 1983)

2.2.9 อายุและพันธุ์กรรมของแม่พันธุ์

มีการศึกษาอายุของแม่พันธุ์ในแม่ไก่ไข่ที่มีอายุ 31 ถึง 56 สัปดาห์ พบว่าเมื่อแม่ไก่มีอายุมากขึ้น อัตราการผสมติดจะลดต่ำลง และพิจารณาถึงช่วงระยะเวลาของความยาวนานของไข่ที่มีเชื้อ

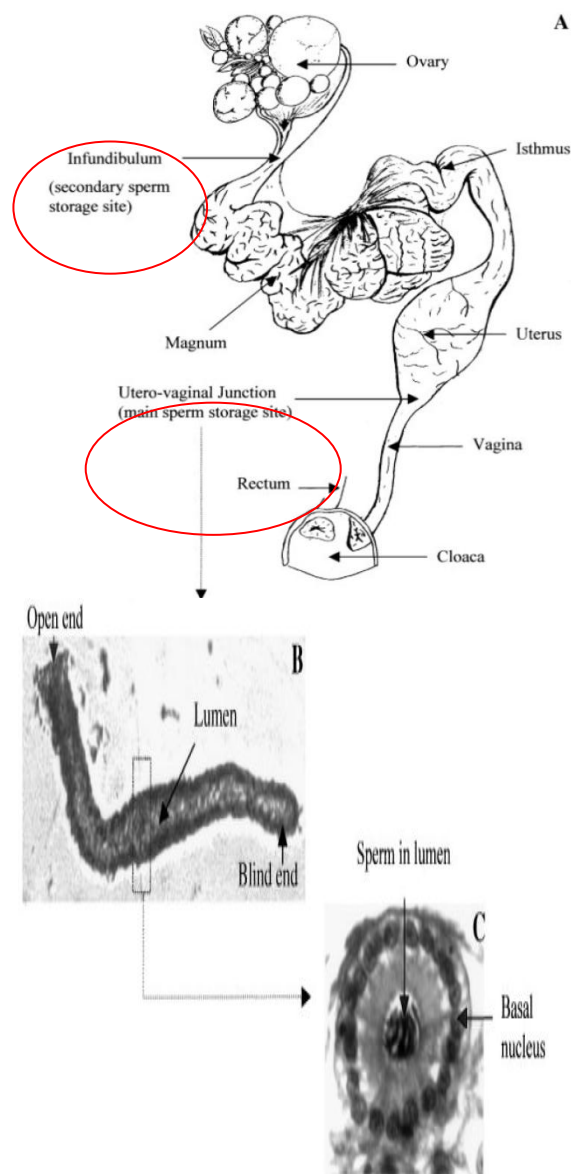
ของการผสมติด หรือช่วงเวลาภายหลังของการผสมเทียมครั้งเดียวในไก่ที่มีอายุมากพบว่าระยะเวลาของไข่มีเชื้อภายหลังการผสมสั้นลง และจำนวนอสุจิที่สามารถเจาะ perivitelline layer น้อยลงด้วยเช่นกัน (Gamulka and Kapkowska, 2005) นอกจากนี้พันธุกรรมของแม่พันธุ์พบว่าป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่ออัตราการผสมติด Wishart (1995) กล่าวว่าสายพันธุ์ของไก่นั้นมีผลต่ออัตราการผสมติดที่ต่างกัน ซึ่งแม่พันธุ์บางตัวให้อัตราการผสมติดจากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งต่ำกว่าตัวอื่นประมาณร้อยละ 25 ทั้งที่ใส่ไข่ปกติ (Buss, 1993)

2.2.10 เทคนิคในการผสมเทียม

วิธีการผสมเทียมเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่ออัตราการผสมติดของน้ำเชื้อเช่นกัน โดยภายหลังจากการผสมเทียมนั้นจะอยู่ในบริเวณ Utero vaginal junction การผสมเทียมบ่อยครั้งอย่างต่อเนื่องมีผลเสียต่ออัตราการผสมติด (Gamulka and Kapkowska, 2005) ปัจจัยอย่างหนึ่งที่มีผลกระทบต่ออัตราการผสมติดคือ ความลึกของการสอดผ่านอุปกรณ์ในการผสมเทียมโดย Donoglue and Wishart (2000) ได้รายงานว่าการผสมเทียมความลึกที่เหมาะสมคือ 3 – 4 ซม. เทวินทร์และยุพิน (2552) ได้ศึกษาถึงความลึกของการสอดใส่ไซริงค์ ในการผสมเทียมที่ 3 และ 6 ซม. พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วน Van Voorst and Leenstra (1995) รายงานว่าผสมเทียมที่ระดับความลึก 6 ซม. ให้อัตราการผสมติดที่ดี และ Bacon et al., (1986) รายงานว่าการผสมเทียมไก่ที่ระดับความลึกที่ 5 ซม. เป็นความลึกที่เหมาะสมในการผสมเทียม

2.3 แหล่งกักเก็บอสุจิภายในภายในท่อนำไข่

อสุจิของสัตว์จำพวกนกหลายชนิดสามารถรอดชีวิตอยู่ในระบบสืบพันธุ์ของเพศเมียได้เป็นเวลายาวนานกว่า 1 สัปดาห์ โดยในไก่อสุจิสามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ถึง 32 วัน และ ในไก่วง 70 วัน ต่างจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเมื่ออสุจิอยู่ในระบบสืบพันธุ์เพศเมียสามารถมีชีวิตได้ไม่เกิน 4 – 5 วัน บริเวณที่กักเก็บอสุจิที่มีประสิทธิภาพในสัตว์ปีกเพศเมีย คือ uterovaginal junction ซึ่งอสุจิเมื่อเข้าไปพักอาศัยอยู่ดังกล่าวเซลล์เยื่อบุผิวจะผลิตสารบางอย่างเพื่อขัดขวางการเคลื่อนที่ ทำให้อสุจิอยู่ในสภาวะพักและสูญเสียพลังงานน้อย (Froman and Feltmann, 2005) อย่างไรก็ตามรายละเอียดการเดินทางถึงการดำรงชีวิตของอสุจิข้อมูลยังมีน้อยในสัตว์ปีก Froman and Feltmann (2005) รายงานว่า Van Dremmelen ค้นพบว่าระบบสืบพันธุ์สัตว์ปีกเพศเมียไก่นั้นจะมี crypts ที่เป็นแหล่งพักพิงของอสุจิบางครั้งอาจเรียกว่า sperm gland หรือ sperm-host glands มีอยู่ 2 บริเวณ คือ อยู่ใน infundibulum และ uterovaginal junction (UVJ) ในปี 1983 ดังแสดงไว้ในภาพที่ 2.5 โดยที่กักเก็บอสุจิบริเวณ uterovaginal junction (UVJ) เรียกว่า primary sperm nest นั้นเมื่อเกิดการตกไข่ท่อนำไข่จะเกิดการบีบตัวหรือส่งสัญญาณให้อสุจิบริเวณดังกล่าวค่อยๆ ปลดปล่อยอสุจิออกมาและถูกขับเคลื่อนไปยังบริเวณที่เรียกว่า secondary sperm nest ซึ่งอยู่บริเวณ chalaziferous เป็นบริเวณที่แคบของ Infundibulum ในท่อนำไข่ เพื่อโปรอปฏิสนธิกับไข่ (Bakst et al., 1994)



ภาพที่ 2.1 แหล่งกักเก็บอสุจิภายในภายในท่อนำไข่
ที่มา: Bakst et al. (1994)