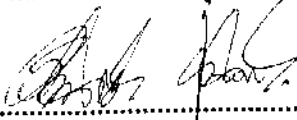
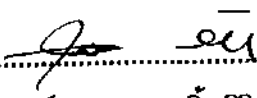


ชื่อวิทยานิพนธ์ ผลของสารกระตุ้นการเคลื่อนที่ของอสุจิต่อคุณภาพน้ำเชื้อ
หลังการละลายและการผสมติดของน้ำเชื้อแช่แข็งในโค

ชื่อผู้ทำวิทยานิพนธ์ นายสุรัชย์ สุวรรณลี
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุจินต์ สิมารักษ์)

.....กรรมการ
(นายสัตวแพทย์ มานิตย์ ชนิตรวงศ์)

.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร.สุวร ลิมศิริชัยกุล)

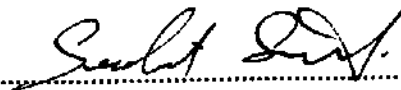
บทคัดย่อ

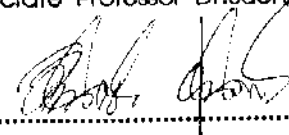
การทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของคาเฟอีน (caffeine) และออกซิโตซิน (oxytocin) ต่อคุณภาพและความสามารถในการผสมติดของน้ำเชื้อแช่แข็งโค โดยรีดน้ำเชื้อจากพ่อโคพันธุ์อเมริกันบราห์มันจำนวน 4 ตัว อายุประมาณ 7 ปี แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลองคือการทดลองที่ 1 ใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Blocks Design โดยมีทริทเมนต์ทดลองคือ ทริทเมนต์ที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ทริทเมนต์ที่ 2 ถึง 5 เติมคาเฟอีนระดับความเข้มข้น 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมลต่อมิลลิลิตรน้ำเชื้อที่มีการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นเท่ากันแล้ว ตามลำดับ ทริทเมนต์ที่ 6 ถึง 10 เติมออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-10} และ 10^{-12} โมลต่อมิลลิลิตรน้ำเชื้อ ตามลำดับ การทดลองที่ 2 ผสมเทียมโคพื้นเมืองตัวเมียที่เคยให้ลูกมาแล้วและผ่านการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย PGF_{2α} จำนวน 23 ตัว ด้วยน้ำเชื้อจากทริทเมนต์ 1, 5 และ 8 จากการทดลองที่ 1 พบว่าการเคลื่อนที่ของอสุจีก่อนการแช่แข็งเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรงตามระดับการเพิ่มความเข้มข้นของคาเฟอีน ($P < 0.05$) ดังนี้คือ 75.75, 76.75, 78.63 และ 79.13 เปอร์เซ็นต์

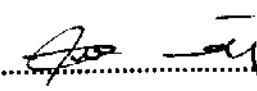
ตามลำดับ และหลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง (post-thaw) ที่ 0 ชั่วโมง พบว่าการเคลื่อนที่ของอสุจิโดยเฉลี่ยเพิ่มขึ้น 7.62 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับระดับคาเฟอีน 0 มิลลิโมล ($P < 0.05$) แต่ที่ 2 และ 4 ชั่วโมงหลังการละลาย คาเฟอีนทุกระดับมีผลต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ทั้งก่อนการแช่แข็งและหลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งคาเฟอีนทุกระดับความเข้มข้นมีผลต่อการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าของอสุจิ, การมีชีวิตของเซลล์อสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติอย่างไม่มีแตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$)

ผลของออกซิโตซินก่อนการแช่แข็งพบว่าการเคลื่อนที่ของอสุจิเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรงตามระดับการเพิ่มความเข้มข้นของออกซิโตซิน ($P < 0.05$) ดังนี้คือ 79.38, 79.13, 79.25, 79.00 และ 78.38 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และหลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งที่ 0 ชั่วโมง พบว่าการเคลื่อนที่ของอสุจิเพิ่มขึ้นแบบเส้นตรงตามระดับการเพิ่มความเข้มข้นของออกซิโตซิน ($P < 0.05$) ดังนี้คือ 51.38, 48.38, 50.62, 48.50 และ 46.75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และที่ 2 ชั่วโมงหลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง ออกซิโตซินระดับ 10^{-4} และ 10^{-8} โมล มีผลต่อการเพิ่มการเคลื่อนที่ของอสุจิสูงกว่าระดับอื่น ๆ ($P < 0.05$) แต่ที่ 4 ชั่วโมงหลังการละลายทุกระดับของออกซิโตซินมีผลต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P > 0.05$) และก่อนการแช่แข็งออกซิโตซินมีผลเพิ่มการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าของเซลล์อสุจิ ($P < 0.05$) และหลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งที่ 2 ชั่วโมง ออกซิโตซินระดับความเข้มข้น 10^{-4} โมล เท่านั้นที่มีผลต่อการเพิ่มการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าของเซลล์อสุจิ และหลังการละลายที่ 4 ชั่วโมง ออกซิโตซินทุกระดับความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าของอสุจิและทั้งก่อนการแช่แข็งและหลังการละลายออกซิโตซินไม่มีผลต่อการมีชีวิตรอดและเปอร์เซ็นต์อสุจิที่มีสภาพอะโครโซมปกติ ($P > 0.05$) จากการทดลองสรุปได้ว่าคาเฟอีนและออกซิโตซินทำให้การเคลื่อนที่ของอสุจิเพิ่มขึ้นได้หลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งในระยะสั้น แต่เมื่อเวลาหลังการละลายเพิ่มขึ้นมีแนวโน้มว่าการเคลื่อนที่ของอสุจิตดลงตามระดับความเข้มข้นของคาเฟอีนและออกซิโตซินที่เพิ่มขึ้น การทดลองที่ 2 พบว่าคาเฟอีนระดับ 1.0 มิลลิโมล และออกซิโตซินระดับ 10^{-8} โมล ไม่ทำให้อัตราการผสมติด (37.5 และ 37.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (25 เปอร์เซ็นต์) แต่ทุกกลุ่มมีค่าค่อนข้างต่ำ ฉะนั้นในการปรับปรุงการผสมติดในโคที่ใช้วิธีการผสมเทียมอาจทำได้ด้วยการเติมคาเฟอีนหรือออกซิโตซินเนื่องจากสามารถกระตุ้นการเคลื่อนที่ของอสุจิได้ อย่างไรก็ตามสารกระตุ้นการเคลื่อนที่เหล่านี้มีผลกระตุ้นในช่วงเวลาไม่นานหลังการละลาย ดังนั้นหากต้องนำไปใช้ในการปฏิบัติภาคสนามควรทำการผสมทันทีหลังการละลาย ส่วนความเข้มข้นของสารทั้ง 2 ชนิดนี้ที่ให้ผลต่อการผสมติดที่สูงขึ้นยังต้องมีการศึกษาค้นคว้าต่อไป

• THESIS TITLE EFFECTS OF SPERM MOTILITY STIMULATORS ON QUALITY AND
FERTILITY OF POST-THAW FROZEN BULL SEMEN
• AUTHOR MR. SURACHAI SUWANLEE
• THESIS ADVISORY COMMITTEE

.....Chairman
(Associate Professor Dr. Suchint Simaraks)

.....Member
(Veterinarian Manit Chanutaravong)

.....Member
(Dr. Suporn Limsirichaikul)

•
•
•
Abstract

•
•
•
•
The objectives of this research were to study effects of caffeine and oxytocin on quality and fertility of frozen bull semen. Semen samples were collected from four seven-years old American Brahman bulls and were used in two experiments. Experiment 1, under Randomized Completed Blocks Design, consisted of ten treatments, treatment 1 as control, treatments 2 to 5 were supplemented with caffeine at 0.4, 0.6, 0.8 and 1.0 mM/ml of extended semen, respectively, treatments 6 to 10 were supplemented with oxytocin at 10^{-4} , 10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-10} and 10^{-12} M/ml of extended semen, respectively. Experiment 2, twenty three native cattle were estrus synchronized by PGF_{2α} and artificially inseminated by extended semen from treatment 1 (control), 5 (caffeine supplemented) and 8 (oxytocin supplemented). Percentages of motile sperm before freezing in caffeine treatment 2, 3, 4 and 5 were 75.75, 76.75, 78.63 and 79.13, respectively ($P < 0.05$). In all

caffeine treatments the mean motility of the spermatozoa was significantly increased after 0 h thawing by 7.62 percent ($P < 0.05$), but at 2 and 4 h post-thawing sperm motility was unaltered ($P > 0.05$). Caffeine had no influence on percentage of progressive sperm motility, live sperm and sperm with normal apical acrosomal ridge ($P > 0.05$). Percentages of motile sperm before freezing of oxytocin treatments 6, 7, 8, 9 and 10 were 79.38, 79.13, 79.25, 79.00 and 78.38, respectively ($P < 0.05$). As the oxytocin concentrations were increased in treatments 6 to 10, the percentage of sperm motility also significantly increased at 0 h post-thawing 51.38, 48.38, 50.62, 48.50 and 46.75 percent, respectively ($P < 0.05$). At oxytocin concentrations of 10^{-4} and 10^{-8} M, there were significant higher percentages of motile sperm than others at 2 h post-thawing ($P < 0.05$). Oxytocin had no influence on sperm motility at 4 h post-thawing. At 10^{-4} to 10^{-12} M, oxytocin significantly increased percentages of progressive sperm motility before freezing, but it had no influence at 0 h post-thawing. At 2 h post-thawing, only 10^{-4} M of oxytocin significantly increased percentage of progressive sperm motility. Oxytocin 10^{-4} to 10^{-12} M had no influence on progressive sperm motility at 4 h post-thawing. Oxytocin had no influence on percentage of live sperm and percentage of normal apical acrosomal ridge ($P > 0.05$). Experiment 2, the pregnancy rate in cattle that were artificial inseminated by control semen (25 %) was not significantly different from semen supplemented with 1.0 mM caffeine (37.5 %) and 10^{-8} M oxytocin (37.5 %) ($P > 0.05$). The rate of pregnancy in all treatments were low. These results suggested that caffeine and oxytocin may improved pregnancy rate by stimulating on sperm motility before freezing and shortly after thawing. For field application stimulated semen should be used immediately after thawing. More study should be carried out on the pregnancy rate.