บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

การเลี้ยงกระบือเป็นอาชีพพื้นฐานที่สำคัญของประเทศไทยและนับว่าเป็นสัตว์เลี้ยงที่มีความสำคัญต่อเกษตรกรรายย่อย กระบือที่เลี้ยงในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นกระบือปลัก (swamp buffalo) ซึ่งเกษตรกรเลี้ยงไว้สำหรับใช้งาน เพราะมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม โรคและแมลงรบกวน และสามารถกินพืชอาหารสัตว์หรือวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรที่หาง่ายในท้องถิ่นได้เกือบทุกชนิด ปัจจุบันประเทศไทยมีจำนวนกระบือประมาณ 1,388,685 ตัว โดยมีกระบือเพศผู้จำนวน 357,631 ตัว เลี้ยงกันมากที่สุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีจำนวน 254,836 ตัว ภาคเหนือ 64,607 ตัว ภาคกลาง 29,572 ตัว และภาคใต้ 8,616 ตัว ตามลำดับ (กรมปศุสัตว์, 2552) การเปลี่ยนแปลงทางเศรษฐกิจและสังคมทำให้บทบาทของกระบือปลักเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งขนาดของกระบือปลักในประเทศไทยเล็กลงมากเมื่อเทียบกับน้ำหนักของกระบือปลักในอดีต ทั้งนี้เนื่องจากมีการตอนกระบือเพศผู้หนุ่มที่มีร่างกายขนาดใหญ่ไว้ใช้งาน และการเลี้ยงกระบือพ่อพันธุ์ไว้เพื่อใช้ผสมพันธุ์ในฝูงนั้นมีการจัดการที่ยาก กระบือพ่อพันธุ์ที่เลี้ยงไว้คุมฝูงมักมีขนาดเล็กทำให้แพร่กระจายลักษณะที่ไม่ต้องการไปในฝูง

ดังนั้นการนำเทคโนโลยีการเก็บรักษาน้ำเชื้อกระบือแบบแช่แข็งมาใช้เพื่อผสมเทียมในการผลิตพ่อพันธุ์กระบือปลักจึงสามารถช่วยแก้ปัญหาเหล่านี้ได้เป็นอย่างมาก เพราะเป็นการปฏิบัติงานที่รวมอยู่ทั้งหลักการคัดเลือกพ่อกระบือพันธุ์ที่ดีเยี่ยมนำมาใช้ปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์ เพื่อเพิ่มจำนวนกระบือปลักพันธุ์ดีของประเทศ (ปาริฉัตร, 2544) ซึ่งได้มีความพยายามหาแนวทางในการเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็ง โดยการนำความรู้และเทคโนโลยีใหม่ๆมาใช้ ไม่ว่าจะเป็นการศึกษาอิทธิพลของเซมินอลพลาสมาซึ่งมีการทดสอบในน้ำเชื้อของสัตว์หลายชนิด เช่น กวาง (Martinez-pastor et al., 2006) แพะ (Azeredo et al., 2001) ถึงแม้ว่าเซมินอลพลาสมาส่งผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อหลังละลายแต่ในม้า (Moore et al., 2005) พบว่าการแยกเซมินอลพลาสมานั้นส่งผลทำให้การเคลื่อนที่ดีขึ้น โดยเซมินอลพลาสมาของน้ำเชื้อกระบือประกอบด้วย ฟรุคโตส ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานสำหรับเซลล์อสุจิ (Rattan et al., 1980 อ้างโดย Ahmad et al., 1996) แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อพ่อพันธุ์มีการหลั่งน้ำเชื้อเซลล์อสุจิจะเคลื่อนผ่านออกมาทางท่อนำน้ำเชื้อเข้าสู่ท่อปัสสาวะและลึงค์ ซึ่งจะได้รับน้ำเลี้ยงเชื้อจากต่อมผลิตน้ำเลี้ยงเชื้อต่างๆจึงจะมีการเคลื่อนไหว และมีกระบวนการย่อยสลายน้ำตาลและการหายใจ ซึ่งมีผลทำให้เกิดกรดแลคติคและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้นในขั้นสุดท้าย ส่งผลให้น้ำเชื้อ

ที่หลั่งออกมาเกิดสภาวะที่ใช้สารอาหารหมดไปและเกิดของเสียขึ้นตลอดเวลา มีผลทำให้อสุจิตายในที่สุด (ปาริฉัตร, 2544) อีกทั้งเซมินอลพลาสมายังมีประกอบด้วยสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำซึ่งส่งผลทำให้เกิดความเสียหายต่อการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิ (Al-Somai et al., 1994) และเป็นสาเหตุให้เกิดการหลั่งของ amino acid oxidase ซึ่งส่งผลทำให้การเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิลดลง (Martinus et al., 1991 อ้างโดย Ahmad et al., 1996) และการแยกเซมินอลพลาสมายังช่วยเพิ่มอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์อสุจิกระบือซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37°C (Ahmad et al., 1996)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาสูตรน้ำยาเจือจางที่เหมาะสมสำหรับน้ำเชื้อกระบือ รวมถึงสารป้องกันความเสียหายจากการแช่แข็ง ซึ่ง Rasul et al. (2007) พบว่าการใช้ Glycerol ความเข้มข้น 6% ส่งผลให้การเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิหลังละลายและอะโครโซมปกติสูงขึ้น ตลอดจนกระบวนการขั้นตอนการแช่แข็งซึ่งพบว่าในกระบวนการลดอุณหภูมิและการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งนั้นจะส่งผลทั้งทางกายภาพและเคมีทำให้เกิดความเครียดส่งผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิ ความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์อสุจิและความสามารถในการสืบพันธุ์ลดลง (Stradaioli et al., 2007) โดยอัตราการลดอุณหภูมิจาก 4°C มาที่ -120°C ที่อัตราเร็ว 20°C และ 30°C ต่อนาที ส่งผลทำให้การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของเซลล์อสุจิกระบืออยู่ที่ประมาณ 40% (Sukhato et al., 2001) ส่วนอุณหภูมิในการละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง Sukhato et al. (2001) พบว่าการละลายน้ำเชื้อกระบือปลักแช่แข็งที่อัตราเร็ว 1000°C ต่อนาที ดีกว่าการละลายน้ำเชื้อที่อัตราเร็ว 200°C ต่อนาที ซึ่งการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจิของน้ำเชื้อกระบือแช่แข็งหลังละลายจะอยู่ประมาณ 30-50% (Vale et al., 1991; Dhami and Sahni, 1993; Sukhato et al., 2001; Kumaresan et al., 2005; Kumaresan et al., 2006; Andrabi et al., 2008)

แม้ว่ากระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อกระบือแบบแช่แข็งจะมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง แต่งานวิจัยส่วนใหญ่เป็นงานที่ศึกษาในกระบือแม่น้ำ ดังนั้นการศึกษาถึงกระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็งในกระบือปลักจึงมีความสำคัญและใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อการพัฒนาและใช้ในการขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์กระบือปลักของประเทศไทยต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งของกระบือปลักโดยศึกษาผลของปัจจัยดังต่อไปนี้

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของเซมินอลพลาสมาต่อคุณภาพน้ำเชื้อกระบือปลักแบบแช่แข็ง

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของสารป้องกันความเสียหายจากการแช่แข็งต่อคุณภาพน้ำเชื้อกระบือปลักแบบแช่แข็ง

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิก่อนการแช่แข็งในไนโตรเจนเหลวและอุณหภูมิในการละลายน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อกระบือปลักแบบแช่แข็ง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 การศึกษาการปรับปรุงเทคนิคในการเก็บรักษาน้ำเชื้อกระบือปลักแบบแช่เย็นใช้น้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์กระบือปลักจำนวน 4 ตัว ที่เลี้ยงภายใต้การจัดการของศูนย์ผลิตน้ำเชื้อแช่เย็นพ่อพันธุ์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

1.3.2 การศึกษานี้เป็นการทดสอบปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่เย็น ได้แก่ การปั่นแยกเซมินอลพลาสมา (seminal plasma) สารป้องกันความเสียหายจากการแช่เย็น (cryoprotectant) อุณหภูมิก่อนการแช่เย็นในไนโตรเจนเหลว (plunge temperature) และอุณหภูมิในการละลายน้ำเชื้อ (thawing temperature)

1.3.3 บันทึกข้อมูลคุณภาพน้ำเชื้อหลังการแช่เย็น ได้แก่ total motility (MOT), progressive motility (PMOT), average path velocity (VAP), straight line velocity (VSL), curvilinear velocity (VCL), amplitude of lateral head displacement (ALH), beat cross frequency (BCF), linearity (LIN), straightness (STR) และ velocity distribution (rapid, medium, slow และ static) ด้วยเครื่อง CASA (computer assisted sperm analysis) และความสมบูรณ์ของอะโครโซม (acrosome integrity) โดยการย้อมสี FITC-PNA

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงอิทธิพลของเซมินอลพลาสมาต่อคุณภาพน้ำเชื้อแบบแช่เย็นของกระบือปลัก

1.4.2 ทราบถึงชนิดและระดับของสารป้องกันความเสียหายจากการแช่เย็นที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตน้ำเชื้อแช่เย็นกระบือปลัก

1.4.3 ทราบถึงอุณหภูมิก่อนการแช่เย็นในไนโตรเจนเหลวและอุณหภูมิในการละลายน้ำเชื้อที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตน้ำเชื้อแช่เย็นกระบือปลัก