การศึกษาความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองไทย ภายหลังการเจือจางและเก็บรักษา โดยน้ำยาเจือจาง BPSE, Egg yolk-Tris และ Kiev

Semen Quality of Thai Indigenous Chicken after Diluted and Preservation in BPSE, Egg yolk-Tris and Kiev Extenders

สุนทร สุนาทัย[1] สราวุธ ศรีงาม[2] อดิศักดิ์ สังข์แก้ว[2] อภิชัย พูลชัย[3] กังวาน กาญจนพงศ์กิจ[1]
Suntron Sunathai[1] Sarawut Sringam[2] Adisak Sangkaew[2] Apichai Poolchai[3] Kungwan Kanjanapongkit[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองไทย ภายหลังการเก็บรักษาด้วยน้ำยา BPSE, Egg yolk-Tris และ Kiev ในการศึกษาอิทธิพลของน้ำยาเจือจางต่อคุณภาพน้ำเชื้อของไก่พื้นเมือง พบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย BPSE มีการเคลื่อนที่รายตัวดีที่สุด และมีการเคลื่อนที่นานถึง 6 วัน ในขณะที่ Kiev มีการเคลื่อนที่ต่ำสุด และมีการเคลื่อนที่เพียง 1 วัน ($p<0.01$) การผสมเทียมแม่ไก่ด้วยน้ำเชื้อหลังการเจือจาง และที่เก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน (150 ล้านตัว/โด๊ส) พบว่าอัตราการฟักออกลดลงทุกกลุ่มในน้ำเชื้อที่เก็บไว้นาน 3 วัน ($p<0.05$) น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย BPSE มีอัตราการฟักออกสูงกว่า Egg yolk-Tris และ Kiev (ร้อยละ 44.64, 21.68 และ 4.69 ตามลำดับ; $p<0.05$) การศึกษาผลของอุณหภูมิ (4 และ 10 องศาเซลเซียส) และชนิดของน้ำยาเจือจาง (BPSE และ Egg yolk-Tris) ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อของไก่พื้นเมืองพบว่าอัตราการฟักออกของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย BPSE และ Egg yolk-Tris ไม่มีความแตกต่างกัน (ร้อยละ 32.50 และ 21.46 ตามลำดับ; $p>0.05$) ในขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่งผลให้อัตราการผสมติดและฟักออกสูงกว่าการเก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส (ร้อยละ 38.01 และ 18.31 ตามลำดับ; $p<0.05$) จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า BPSE เหมาะสมที่สุดในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง และ Egg yolk-Tris ก็สามารถใช้ได้ในลำดับถัดมา อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาน้ำเชื้อคือ 4 องศาเซลเซียส

คำสำคัญ: ไก่พื้นเมืองไทย น้ำเชื้อ BPSE Egg yolk-Tris Kiev ผสมเทียม

Keywords: Thai indigenous chicken, semen, BPSE, Egg yolk-Tris, Kiev, artificial insemination

[1] สถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์บุรีรัมย์ ต.หูทำนบ อ.ปะคำ จ.บุรีรัมย์ 31220
Burirum Test and Research Station, T.Hootumnop, A. Prakum, Burirum, 31220

[2] ภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002
Department of Surgery and Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, 40002

[3] ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพนครราชสีมา อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000
Nakonrachasima Artificial Insemination Research and Biotechnology Center, A.Muang, Nakonrachasima, 30000

Abstract

Maximum fertility of Thai indigenous cock's semen was determined by using extenders, storage duration and temperature. Levels of motility were high in BPSE extender and spermatozoa still motiled up to 6 days. But the lowest sperm motility was found in Kiev extender and there was sperm motile only 1 day. After artificial insemination with diluted fresh semen and semen that stored for 3 days at 4°C, the hatchability of BPSE diluted semen were higher than in Egg yolk-Tris and Kiev (44.64, 21.68 and 4.69% respectively; $p<0.05$). Also, the effect of temperature (4 and 10°C) and extenders (BPSE and Egg yolk-Tris) on the hatchability was determined. We found that there was no significantly difference on the hatchability between extenders (32.50 and 21.46% respectively; $p>0.05$), however the hatchability was higher in semen that stored at 4°C than 10°C (38.01 and 18.31 % respectively; $p<0.05$). The results indicated that BPSE is suitable for Thai indigenous semen preservation and the semen should be stored at 4°C.

บทนำ

ไก่พื้นเมืองไทย (*Gallus domesticus*) เป็นสัตว์ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจมากชนิดหนึ่งของเกษตรกร โดยพบว่าแต่ละครอบครัวจะมีการเลี้ยงไก่พื้นเมืองราว 10-45 ตัว เพื่อใช้ในการบริโภคในครัวเรือนและจำหน่ายในกรณีที่มีไก่เกินความต้องการบริโภค (บัญญัติ และคณะ, 2529; สวัสดิ์, 2540) เมื่อเปรียบเทียบคุณภาพเนื้อแล้ว จะพบว่าเนื้อของไก่พื้นเมืองไทยมีรสชาด ความอร่อย และเนื้อแน่นกว่าไก่พันธุ์เนื้อทั่วๆ ไป ถึงแม้ว่าไก่พื้นเมืองไทยจะโตช้ากว่าไก่พันธุ์เนื้อแต่เมื่อเปรียบเทียบราคาแล้วจะพบว่าไก่พื้นเมืองไทยมีราคาสูงกว่าไก่พันธุ์เนื้อ 2-3 เท่า นอกจากนี้ไก่พื้นเมืองไทยยังถูกเลี้ยงในกลุ่มของผู้ที่ต้องการอนุรักษ์และผู้ที่นิยมกีฬาไก่ชนซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้ไก่ตัวนั้นๆ อีกหลายเท่าตั้งแต่ 500-100,000 บาทหรือมากกว่าในกรณีที่ไก่ชนนั้นมีความสามารถในการชนไก่ การอนุรักษ์ไก่พื้นเมืองไทย หรือการกระจายสายพันธุ์ของไก่ที่มีลักษณะดีเด่นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เทคโนโลยีการผสมเทียมและการเก็บรักษาน้ำเชื้อ จึงมีความจำเป็นในการดำเนินการดังกล่าว ในปัจจุบันน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อไก่ที่นิยมคือ Beltsville Poultry Semen Extender (BPSE; ประกอบด้วย Dipotassium phosphate 12.7 gm, sodium acetate 8.67 gm, potassium citrate 0.64 gm, monopotassiam phosphate 0.65 gm, sodium glutamate 8.67 gm, fructose 5.0 gm, TES 1.95 gm และ magnesium chloride hexahydrate 0.34 gm; Sexton, 1977) ซึ่งเป็นน้ำยาที่เหมาะกับลักษณะของน้ำเชื้อสัตว์ปีกที่ไม่มี seminal plasma เหมือนสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม อย่างไรก็ตาม BPSE นั้นมีการใช้กันน้อยมากในวงการปศุสัตว์บ้านเราทั้งนี้อาจเนื่องจากส่วนประกอบเป็นสารเคมีหลายตัวมากกว่าใน Egg yolk-Tris ซึ่งเป็นน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสำหรับโค (ประกอบด้วย tris 30.28 gm, citric acid 16.75 gm,

fructose 12.50 gm และ egg yolk 20%; Salisbury et al., 1978) และ Kiev น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสำหรับสุกร (ประกอบด้วย glucose 60 gm, tri - sodium citrate 3.7 gm, sodium bicarbonate 1.2 gm และ EDTA 3.7 gm; พีระศักดิ์, 2526) ทำให้มีราคาสูงกว่าน้ำยาข้างต้น ในขณะที่ Egg yolk-Tris และ Kiev เป็นน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่มีการใช้ค่อนข้างแพร่หลาย รวมทั้งมีการนำเข้ามาจำหน่ายในรูปกึ่งสำเร็จรูป เป็นผลิตภัณฑ์ในรูปผงบรรจุซอง เมื่อเติมน้ำกลั่นในปริมาณที่กำหนดก็สามารถใช้ได้ ถ้าหากสามารถนำน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อเหล่านี้มาใช้ในไก่พื้นเมืองได้จะทำให้สะดวกและประหยัดยิ่งขึ้น ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จะทำการศึกษาในไก่พื้นเมืองไทย เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ BPSE, Egg yolk-Tris และ Kiev และผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อ การผสมติด และการฟักออก ภายหลังการผสมเทียม

วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการ

สัตว์ทดลองและโรงเรือน

เลี้ยงพ่อพันธุ์ไก่พื้นเมืองอายุ 1 ปี จำนวน 20 ตัว คอกละ1 ตัว และแม่ไก่ไข่ลูกผสมทางการค้าอายุ 8-9 เดือน จำนวน 60 ตัว เลี้ยงบนกรงตับช่องละ 1 ตัว ดำเนินการทดลองที่สถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์บุรีรัมย์ ต.หูทำนบ อ.ปะคำ จ.บุรีรัมย์ ไก่ทดลองทั้งหมดได้รับการถ่ายพยาธิ ให้วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลและอหิวาต์ และให้ไก่ปรับตัว 1 สัปดาห์ ก่อนเข้าทำการทดลอง ให้อาหารวันละ 2 ครั้งในตอนเช้าและเย็น (อาหารสำเร็จรูปคุณค่าทางโภชนาการโปรตีนไม่ต่ำกว่าร้อยละ 16 ให้กินประมาณ 125 กรัม/ตัว/วัน) และมีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา

การรีดน้ำเชื้อ การผสมเทียม และการฟักไข่

รีดเก็บน้ำเชื้อโดยวิธีการนวดทวารรวมตามวิธีของ Lake (1977) 2 ครั้ง/สัปดาห์ โดยรีดน้ำเชื้อไก่พ่อพันธุ์ 20 ตัวและนำน้ำเชื้อมารวมกัน (pool semen) ทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อโดยการวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) วัดความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (concentration) ประเมินการเคลื่อนที่รายตัว (motility) ประเมินความมีชีวิต (live sperm) ประเมินลักษณะรูปร่างของอสุจิ (abnormal morphology) โดยขณะตรวจจะอุ่นน้ำเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส ก่อนแบ่งน้ำเชื้อสำหรับการศึกษาต่างๆ

การผสมเทียมตามวิธีของ Lake (1977) โดยทำการฉีดน้ำเชื้อเจือจางปริมาตร 0.25 มล./โด๊ส (จำนวนอสุจิที่มีชีวิต150 ล้านตัว) ในเวลา 16.00 น. ทำการเก็บไข่ในวันที่ 2 หลังผสมเทียม เก็บทุกวันช่วงเย็น เป็นเวลา 7 วัน นำไข่เข้าฟัก และทำการส่องไข่ในวันที่ 18 เพื่อหาร้อยละผสมติด (fertility) และทำการกระเทาะไข่ที่ไม่มีเชื้อเพื่อยืนยันผลการส่องไข่ และหาร้อยละการฟักออก (hatchability) เมื่อครบ 21 วัน

วิธีการศึกษา

ใช้แผนการทดลองจัดทรีตเมนต์แบบแฟคทอเรียลในการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (factorial experimental in completely randomized design) โดยทำการรีดน้ำเชื้อ และเจือจางให้ทุกกลุ่มมีความเข้มข้น 600 ล้านตัว/มล. สำหรับใช้ในแต่ละการทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 การเปรียบเทียบอิทธิพลของน้ำยาเจือจางในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองไทย โดยปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัยได้แก่ น้ำยาเจือจาง 3 สูตรคือ BPSE, Egg yolk-Tris และ Kiev ซึ่งน้ำยาเจือจาง เตรียมเองในห้องปฏิบัติการ และระยะเวลาในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 4 ช่วงเวลา (0, 3, 6 และ 9 วัน) โดยเก็บข้อมูลการตรวจการเคลื่อนที่รายตัวของอสุจิซึ่งทำการตรวจประเมินโดยผู้ชำนาญการบุคคลเดียวตลอดการศึกษาโดยไม่มีความลำเอียง

การทดลองที่ 2 การเปรียบเทียบอิทธิพลของน้ำยาเจือจางและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อการผสมติดและฟักออก ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองไทย โดยปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัยคือ น้ำยาเจือจาง 3 สูตร (BPSE, Egg yolk-Tris และ Kiev) และระยะเวลาในการเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อผสมเทียมใน 2 ช่วงเวลาคือน้ำเชื้อที่เก็บรักษานาน 0 วัน (ผสมน้ำเชื้อเจือจางหลังการรีดไม่เกิน 30 นาที) และน้ำเชื้อที่เก็บรักษานาน 3 วัน โดยเก็บข้อมูลอัตราการผสมติดจากการผสมเทียมครั้งเดียวและเก็บไข่เป็นเวลา 7 วันและนำเข้าฟักตามวิธีที่กล่าวแล้วข้างต้น

การทดลองที่ 3 การเปรียบเทียบอิทธิพลของน้ำยาเจือจาง และอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อการผสมติดและฟักออก ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองไทย โดยปัจจัยที่ศึกษามี 2 ปัจจัยได้แก่ น้ำยาเจือจาง 2 สูตรที่ได้ผลดีที่สุดจาก 2 การทดลอง (BPSE และ Egg yolk-Tris) และอุณหภูมิในการเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น 2 ระดับ (4 และ 10 องศาเซลเซียส) โดยเก็บข้อมูลอัตราการผสมติดจากการผสมเทียมในวันที่ 0 (ผสมน้ำเชื้อเจือจางหลังการรีดไม่เกิน 30 นาที) และน้ำเชื้อที่เก็บรักษานาน 3 วันทำการผสมเทียมในวันที่ 3 เก็บไข่หลังจากการผสมเทียมวันที่ 2 เก็บไข่นาน 7 วันและนำเข้าฟักตามวิธีที่กล่าวแล้วข้างต้น

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ศึกษาผลของการเคลื่อนที่ของอสุจิที่เจือจางด้วยน้ำยา BPSE, Egg yolk-Tris และ Kiev และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิแตกต่างกัน และอัตราการผสมติดของน้ำเชื้อแช่เย็นที่ระยะเวลาการเก็บรักษาแตกต่างกัน โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (จรัญ, 2540) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 1985)

ผลการทดลอง

การรีดน้ำเชื้อรวมของไก่พ่อพันธุ์มีค่าความเข้มข้นของอสุจิประมาณ 2950 ล้านตัว/มล. การเคลื่อนที่รายตัวร้อยละ 85 ความผิดปกติพบร้อยละ 7 ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ (Table 1)

Table 1 Semen quality of Thai indigenous chicken (pool semen).

pH	Mass movement	Motility (%)	Concentration (10^6/ml)	Live sperm (%)	Abnormal morphology (%)
7.5	+++(+)	85	2950	95	7

การทดลองที่1 เปรียบเทียบผลของน้ำยาเจือจางในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองไทย พบว่ามีอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อและระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยน้ำเชื้อไก่ที่เจือจางด้วย BPSE มีการเคลื่อนที่รายตัวสูงที่สุดจากวันแรกจนถึงวันที่ 6 รองลงมาได้แก่น้ำเชื้อไก่ที่เจือจางด้วย Egg yolk-Tris มีการเคลื่อนที่รายตัวจนถึงวันที่ 6 ในขณะที่ น้ำเชื้อไก่ที่เจือจางด้วย Kiev มีการเคลื่อนที่รายตัวต่ำที่สุดในวันแรกและไม่พบการเคลื่อนที่ของอสุจิในวันที่ 3 (Table 2)

Table 2 Sperm motility of Thai indigenous chicken semen diluted in BPSE or Egg yolk-Tris and Kiev and kept at 4°C for different peroids.

Storage Time (day)	Extenders		
	Tris-egg yolk	BPSE	Kiev
0	70 ± 0.80^{a}	80 ± 1.35^{a}	60 ± 3.00^{a}
3	60 ± 7.00^{b}	75 ± 1.23^{b}	0 ± 0.00^{b}
6	10 ± 1.30^{c}	20 ± 5.00^{c}	0 ± 0.00^{b}
9	0 ± 0.00^{d}	0 ± 0.00^{d}	0 ± 0.00^{b}
Average	35.00 ± 35.12^{B}	43.75 ± 39.87^{A}	15.00 ± 30.00^{C}

^{a,b} means in column with different superscripts differ significantly ($p<0.05$)

^{A,B} means in row with different superscripts differ significantly ($p<0.05$)

การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบผลของน้ำยาเจือจางและระยะเวลาการเก็บรักษา ต่อการผสมติดและฟักออกของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองไทย พบว่าการอัตราการผสมติดและอัตราการฟักออกมีผลไปในทางเดียวกันคือ ไม่มีปฏิกิริยาร่วมระหว่างชนิดของน้ำยาเจือจางและระยะเวลาในการเก็บน้ำเชื้อ อัตราการผสมติดและฟักออกลดลงทุกกลุ่มในน้ำเชื้อที่เก็บไว้นาน 3 วัน ($p<0.05$) ในส่วนของน้ำยาเจือจางพบว่า น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย BPSE มีอัตราการผสมติดและอัตราการฟักออกร้อยละ 44.64

ซึ่งสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Egg yolk-Tris และ Kiev ที่มีอัตราการผสมติดและอัตราการฟักออกร้อยละ 21.68 และ 4.69 ตามลำดับ ($p<0.05$) ระยะเวลาจากการผสมเทียมพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย BPSE และ Egg yolk-Tris สามารถผสมติดจนถึงวันที่ 6 หลังจากการผสมในวันแรก ส่วนน้ำเชื้อที่เก็บไว้ 3 วันก่อนนำไปผสม น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย BPSE สามารถผสมติดถึงวันที่ 4 และ Egg yolk-Tris ผสมติดเพียงวันที่ 3 ในขณะที่น้ำเชื้อที่เจือจางด้วย Kiev ไม่สามารถผสมติดในน้ำเชื้อที่เก็บไว้ 3 วัน

Table 3 Fertility and hatchability of eggs from layers inseminated mated with Thai indigenous chicken semen that diluted with BPSE, Egg yolk-Tris and Kiev and stored at 4°C for 0 and 3 days.

Extenders		0 day storage				3 day storage				Average % hatchability
		Day after artificial insemination				Day after Artificial insemination				
		3	4	5	6	3	4	5	6	
Tris egg yolk	Total eggs	10	8	10	6	7	5	8	7	21.68±11.89[b]
	Fertile eggs (day 18)	5	5	3	1	1	0	0	0	
	Hatch eggs (day 21)	5	5	3	1	1	0	0	0	
	% hatchability	50	62.5	30	16.67	14.29	0	0	0	
BPSE	Total eggs	10	7	7	8	8	10	8	10	44.64±22.55[a]
	Fertile eggs (day 18)	8	6	5	3	5	2	0	0	
	Hatch eggs (day 21)	8	6	5	3	5	2	0	0	
	% hatchability	80	85.71	71.43	37.5	62.5	20	0	0	
Kiev	Total eggs	8	9	8	9	8	8	10	10	4.69±9.38[b]
	Fertile eggs (day 18)	3	1	0	0	0	0	0	0	
	Hatch eggs (day 21)	3	0	0	0	0	0	0	0	
	% hatchability	37.5	0	0	0	0	0	0	0	
Average % hatchability		39.28±31.24[a]				8.07±18.41[b]				

[a,b] means in row and column with different superscripts differ significantly ($p<0.05$)

การทดลองที่ 3 เปรียบเทียบผลของน้ำยาเจือจางและอุณหภูมิในการเก็บรักษา ต่อการผสมติดและฟักออกของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองไทย พบว่าการอัตราการผสมติดและอัตราการฟักออกมีผลไปในทางเดียวกันคือไม่มีปฏิกิริยาร่วมระหว่างชนิดของน้ำยาเจือจางและอุณหภูมิการเก็บรักษา โดยอิทธิพลของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วย BPSE และ Egg yolk-Tris ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ต่ออัตราการผสมติดและฟักออกที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส (ร้อยละ 43.61 และ 21.38 กับ 30.17 และ 15.24 ตามลำดับ) ส่วนอิทธิพลของอุณหภูมิที่เก็บรักษาพบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่งผลให้อัตราการผสมติดและฟักออกสูงกว่าการเก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส (ร้อยละ 38.01 และ 18.31) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

Table 4 Fertility and hatchability of eggs from layers inseminated with Thai indigenous chicken with BPSE, and Egg yolk-Tris and stored at 4 and 10°C.

	4°C storage			10°C storage		
Extenders	**Total eggs**	**% Fertility**	**% Hatchability**	**Total eggs**	**% Fertility**	**% Hatchability**
BPSE	65	43.61 ± 26.00^{a}	43.61 ± 26.00^{a}	63	21.38 ± 21.00^{b}	21.38 ± 21.00^{b}
Egg yolk-Tris	64	30.17 ± 15.00^{a}	30.17 ± 15.00^{a}	63	15.24 ± 20.00^{b}	15.24 ± 20.00^{b}
Average	-	38.01 ± 22.54^{a}	38.01 ± 22.54^{a}	-	18.31 ± 20.33^{b}	18.31 ± 20.33^{b}

^{a,b} means in row and column with different superscripts differ significantly ($p<0.05$)

สรุป และวิจารณ์

การศึกษาเปรียบเทียบผลของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสามชนิด ได้แก่ BPSE, Egg yolk-Tris และ Kiev ที่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิพบว่า น้ำยา BPSE และ Egg yolk-Tris ให้ผลดีกว่าน้ำยาเจือจาง Kiev หลังจากทำการเก็บรักษาไว้มากกว่า 1 วัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในน้ำยา Kiev มีส่วนผสมของไบคาร์บอเนต ซึ่งไวต่อการเปลี่ยนแปลงของ pH รวมถึงความเข้มข้นของอสุจิที่ใช้สูงถึง 600 ล้านตัว/มล. ดังนั้นเมื่อทำการเก็บรักษาไว้มากกว่า 1 วัน อสุจิจึงมีการใช้ออกซิเจน เกิดการผลิตกรดแลกติก ส่งผลให้ pH ของน้ำยาต่ำลง (Bogdonoff and Schaffner, 1954; Lake, 1995) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำยา BPSE และ Egg yolk-Tris ซึ่งมีส่วนผสมของ TES {N-tris (hydroxy methyl) -2-animoethane sulfonic acid หรือ N,N-bis (2-hyroxyethyl)-2- animoethene sulfonic acid (BES)} ซึ่งปรับสภาพ pH ของน้ำยาให้คงที่ ทำให้อสุจิมีความสามารถในการเคลื่อนที่ได้นานขึ้น (Christensen, 1995) อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้นานกว่า 3 วัน การเคลื่อนที่ของอสุจิได้ลดลงร้อยละ 6.25 และ 14.29 ในน้ำยา BPSE และ Egg yolk-Tris ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเสื่อมสลายของเยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิที่มากขึ้นจากภาวะ lipid peroxidation ที่เกิดขึ้นตลอดเวลา โดย Fujihara

and Koga (1984) พบว่า เมื่อทำการเก็บรักษาอสุจิไว้นอกร่างกายเยื่อหุ้มอสุจิส่วนที่เป็นฟอสโฟไลปิดจะมีการเสื่อมสลายเปลี่ยนเป็น Monoaldehyde เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาที่เพิ่มมากขึ้นทำให้อสุจิสูญเสียการเคลื่อนที่หรือตายมากขึ้นตลอดเวลา นอกจากนี้น้ำยา BPSE ยังมีส่วนผสมของ sodium glutamate ซึ่งพบในปริมาณมากในน้ำเชื้อของไก่ (Sexton, 1977) ซึ่งอาจทำให้น้ำยา BPSE มีคุณสมบัติในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ได้ดีกว่าน้ำยา Egg yolk-Tris และ Kiev

การลดลงของอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิภายหลังการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในการศึกษาครั้งนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Blesbois et al. (1999) พบว่าการเคลื่อนที่ของอสุจิลดลง 50% ภายหลังการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ในน้ำยา BPSE อย่างไรก็ตาม จากผลการศึกษาพบว่า ยังให้ผลดีกว่าการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่จะเกิดขึ้นในช่วงการเดินทางนำน้ำเชื้อไปใช้งานยังสถานที่ต่างๆ ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงผลเสียที่จะเกิดขึ้น จึงควรที่จะเก็บรักษาน้ำเชื้อในภาชนะที่เหมาะสม และควรตรวจอุณหภูมิตลอดการเดินทาง

อสุจิที่ผ่านการเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลาหนึ่ง จะมีอัตราการผสมติดลดลง ทั้งนี้น่าจะมีสาเหตุสำคัญเนื่องมาจากขณะทำการเก็บรักษา ฟอสโฟไลปิดของอสุจิมีการเปลี่ยนแปลงของ phosphitidylcholine ไปเป็น lysophosphatidylcholine ทำให้อสุจิเกิด spontaneous acrosome reaction อย่างต่อเนื่อง ทำให้อสุจิส่วนหนึ่งสูญเสีย acrosome ก่อนที่จะพบกับเซลล์ไข่ ทำให้ไม่สามารถปฏิสนธิได้ (Blesbois et al., 1999) นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ต่างๆ ในช่วงการเก็บรักษาเช่น acrosin, active plasma proteases (Thurston et al., 1993) ร่วมกับการเปลี่ยนแปลงของไกลโคโปรตีนต่างๆ เช่น neuraminic acid residues ทำให้เยื่อหุ้มอสุจิไม่สามารถคงความสามารถในการปฏิสนธิได้ (Froman and Thurston, 1984)

สรุปผลการศึกษาทำให้ได้แนวทางการปฏิบัติในการผสมเทียมในไก่พื้นเมืองคือ ควรทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ไว้ในน้ำยา BPSE และทำการเก็บรักษาไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ได้นานถึงสามวัน ในขณะที่ควรทำการผสมเทียมมากกว่า 1 ครั้ง ต่ออาทิตย์ เพื่อให้ได้อัตราความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อไก่ให้มากที่สุด

ข้อเสนอแนะ

1. การใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อไก่ที่เหมาะสม ควรเลือกใช้ BPSE เนื่องจากมีความเหมาะสมมากกว่า Egg yolk-Tris และ Kiev สามารถทำการเก็บรักษาไว้ 1-3 วัน ที่ 4 องศาเซลเซียส โดยยังคงรักษาคุณภาพของน้ำเชื้อ ซึ่งเหมาะสำหรับนำไปใช้ผสมเทียมไก่ในภาคสนาม

2. นำผลการศึกษาไปใช้ประโยชน์ โดยเลือกใช้น้ำยา BPSE เป็นน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อไก่เพื่อให้งานผสมเทียมเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ผสมพันธุ์ไก่ได้ปริมาณมาก โดยอัตราการผสมติดไม่ลดลง ให้ผลผลิตมากขึ้น ช่วยกระจายพันธุ์สัตว์ที่คัดเลือกไว้ไปสู่เกษตรกรอย่างทั่วถึง ไม่ต้องนำพ่อพันธุ์ดีไปผสมในที่ต่างๆ ซึ่งล่าช้าและมีปัญหาการขนย้าย

3. การศึกษาความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองควรได้ศึกษาถึงปริมาณของอสุจิและปริมาณของน้ำเชื้อที่เหมาะสมต่อการผสมเทียมให้กับแม่ไก่ในแต่ละครั้งซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาด้านความสมบูรณ์พันธุ์ได้มากยิ่งขึ้น รวมถึงการศึกษาความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองภายหลังการเก็บรักษาแบบแช่แข็ง ซึ่งจะก่อให้เกิดแนวทางการเก็บรักษาพันธุกรรมสัตว์ที่ดีไว้ใช้ประโยชน์ระยะยาวในสภาพแวดล้อมของประเทศ ช่วยคงไว้ซึ่งความหลากหลายทางชีวภาพและการนำไปใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนของไก่พื้นเมืองไทย

เอกสารอ้างอิง

จรัญ จันทลักขณา. 2540. หลักการทดลอง สถิติวิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. ไทยวัฒนาพานิช. กรุงเทพมหานคร.

บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล และประภาส เนรมิตมานสุข. 2529. การศึกษาสภาพการเลี้ยงไก่พื้นเมืองของเกษตรกรจังหวัดชัยภูมิ. แก่นเกษตร. 14(3): 195-202.

พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป. 2526. การผสมเทียมในหมู. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

สวัสดิ์ ธรรมบุตร. 2540. การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตไก่พื้นเมือง. สาส์นไก่. 45: 13-14.

Blesbois, E., Grasseau I. and Hermier, D. 1999. Changes in lipid content of fowl spermatozoa after liquid storage at 2 to 5°C. Theriogenology. 52: 213-232.

Bogdonoff, P.D. and Schaffner, C.S. 1954. The effect of pH on in vitro survival, metabolic activity, and fertilizing capacity of chicken semen. Poult. Sci. 33: 665-669.

Christensen, V.L. 1995. Diluents, dilution, and storage of poultry semen for six hours. In: Proc. First International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry. M.R. Bakst and G.J. Wishart, (eds). Poultry Science Association, Savoy, IL. pp. 90-106.

Froman, D.P. and Thurston, R.J. 1984. Decreased fertility resulting from treatment of fowl spermatozoa with neuraminidase or phospholipase C. Poult. Sci. 63: 2479-2482.

Fujihara, N. and Koga, O. 1984. Prevention of the production of lipid peroxide in rooster spermatozoa. Anim. Reprod. Sci. 7: 385-390.

Lake, P.E. 1977. Male reproduction physiology and the collection of semen. Artificial Insemination in Poultry. London. 5 p.

Lake, P.E. 1995. Historical perspective of artificial insemination technology. In: Proc. First International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry. M.R. Bakst and G.J. Wishart, (eds). Poultry Science Association, Savoy, IL. pp. 1-20.

Salisbury, G.W., Van Demark, N.L. and Lodge, J.R. 1978. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination in Farm Animals. 2nd ed. W.H. Freeman and Company. San Francisco.

SAS. 1985. SAS User's Guied Basics, Version 5 Edition. Cary NC: SAS Institute Inc. U.S.A.

Sexton, T.J., 1977. A new poultry semen extender 1. Effect of extension on the fertilizing of chicken semen. Poult. Sci. 56: 4-6.

Thurston, R.J., Korn, N., Froman, D.P. and Bodine, A.B. 1993. Proteolytic enzymes in seminal plasma of domestic turkey (*Meleagris gallopavo*). Biol. Reprod. 48: 393-402.