RESEARCH ARTICLE

Effect of Solid Storage on Subsequent Quality of Boar Semen

Pronjit Sonseeda[1], Thevin Vongphalub[1*], Jatupron Phongpeng[2]

Abstract

Objective—To study effect of storage in solid phase extender on boar semen quality conserved at 17 °C.

Materials and Methods—Effect of four level of gelatin (0%, 0.7%, 1.4%, and 2.1%) and the benefits of 3 long-term diluents (Androhep, Butschwiller, and Reading) on storage for 2, 5, and 12 days were evaluated. Individual motility assessments were made using computer-assisted sperm analysis (CASA) system and acrosome integrity was evaluated by giemsa stianing.

Results—At the storage time of 2 days, the percentage of static cells of control extender was higher than that of solid phase extender ($P<0.05$). The percentage of semen quality was similar for 3 extenders. At the storage time of 5 days, comparision of effect of levels gelatin (0%, 0.7%, 1.4%, and 2.1%) on static cell, the results indicated that 2.1% and 1.4% gelatin groups were lower than the 0.7% and 0% groups ($P<0.05$). The percentage of normal acrosome of 2.1% gelatin extender was superior to liquid semen and 1.4% gelatin extender. The long term extenders gave similar of normal acrosome affer storage semen. At the storage time of 12 days, the results showed that supplementation of gelatin gave significant higher semen quality than that of control group ($P<0.05$). The long term extenders gave similar semen quality affer storage.

Conclusion—Dilution in gelatin-supplemented extender could be a successful method for boar semen storage at 17˚C, but it warrants further evaluation in fertility trail.

KKU Vet J. 2011;21(2):164-171. http://vmj.kku.ac.th

Keywords: Boar semen; Solid semen; Extender; Semen quality

[1]Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kean University, Khon Kaen, Thaialnd 40002
[2]Lumphayaklang AI bull center, Department of Livestock Development, Lumsonthi, Lop Buri, Thailand 15190
[*]**Coresponding author** e-mail: vthevi@kku.ac.th

ผลของการเก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบวุ้น ต่อคุณภาพของน้ำเชื้อสุกรภายหลังการเก็บรักษา

พรจิต สอนสีดา[1], เทวินทร์ วงษ์พระลับ[1*], จตุพร พงษ์เพ็ง[2]

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลน้ำเชื้อสุกรที่เก็บรักษาในรูปแบบวุ้น ที่อุณหภูมิ 17 °C จากการเสริมเจละติน (gelatin) 4 ระดับ (0%, 0.7%, 1.4% และ2.1%) และผลจากน้ำยาเจือจางแบบ long-term 3 สูตร (Androhep, Butschwiller และReading)

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อในวันที่ 2, 5 และ12 ของการเก็บรักษา ประเมินลักษณะการเคลื่อนที่ด้วยเครื่อง Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA) และตรวจดูความผิดปกติของอะโครโซมโดยการย้อมสี Giemsa

ผลการศึกษา ในวันที่ 2 พบว่าระดับการเสริม เจละติน มีผลลดร้อยละของอสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ (% static cell) โดยพบว่ากลุ่มควบคุมมีร้อยละของอสุจิที่ไม่เคลื่อนที่สูงกว่ากลุ่มที่เสริม เจละติน ทั้ง 3 ระดับ ($P<0.05$) สำหรับการใช้น้ำยาเจือจางทั้ง 3 สูตรไม่มีความแตกต่างกัน ในวันที่ 5 พบว่าร้อยละของอสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ ในกลุ่มที่เสริม เจละติน ระดับ 2.1% และ 1.4% มีค่าน้อยกว่ากลุ่มที่เสริม เจละติน ที่ระดับ 0.7% และ 0% ($P<0.05$) ส่วนผลต่อร้อยละของอะโครโซมปกตินั้นพบว่าการเสริม เจละติน ที่ระดับ 2.1% มีผลดีต่ออสุจิมากที่สุด ต่างจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มการเสริม เจละติน ในระดับ 1.4% ($P<0.05$) สำหรับผลของน้ำยาเจือจางต่อร้อยละของอะโครโซมปกติของอสุจิไม่มีความแตกต่างกันทั้งสามสูตรน้ำยา และคุณภาพน้ำเชื้อในวันที่ 12 วัน พบว่ากลุ่มที่เสริม เจละติน ทุกระดับให้ผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ส่วนผลของน้ำยาต่อคุณภาพน้ำเชื้อนั้นไม่พบความแตกต่างกัน

ข้อสรุป การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการเสริม เจละติน ลงในน้ำยาเจือจาง มีผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาถึงผลของ เจละติน ต่ออัตราการผสมติดในโอกาสต่อไป

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 2554;21(2):164-171. http://vmj.kku.ac.th/

คำสำคัญ: น้ำเชื้อสุกร น้ำเชื้อรูปแบบวุ้น น้ำยาเจือจาง คุณภาพน้ำเชื้อ

[1]ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002

[2]ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ลำพญากลาง กรมปศุสัตว์ อ. ลำสนธิ จ. ลพบุรี 15190

[*]ผู้เขียนที่ให้การติดต่อ e-mail: vthevi@kku.ac.th

บทนำ

สุกรเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญของโลก ซึ่งในปัจจุบันความนิยมของการบริโภคเนื้อสุกรมีอย่างกว้างขวาง นอกจากนี้สุกรมีความสำคัญต่อเศรษฐกิจและสังคมไทยเป็นอย่างมาก ในปัจจุบันการผสมเทียมในสุกรนั้นเป็นเทคโนโลยีทางการสืบพันธุ์ที่มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่ง โดยการผลิตสุกรเพื่อการค้านั้นใช้วิธีผสมเทียมแทบทั้งสิ้น เนื่องจากสามารถกระจายพันธุกรรมสัตว์ที่ต้องการได้โดยสะดวกและรวดเร็ว โดยยังประโยชน์ทั้งในด้านการปรับปรุงพันธุ์ การประหยัดต้นทุนในการเลี้ยงดูพ่อพันธุ์ การควบคุมโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ การจัดคู่ผสมพันธุ์ของสุกรที่อยู่ห่างไกลกันได้ และยังช่วยลดปัญหาการบาดเจ็บจากการผสมในแบบธรรมชาติ ที่อาจเกิดปัญหาจากคู่ผสมที่มีขนาดตัวต่างกันจากการผสมจริง และในต่างประเทศพบว่าการผสมเทียมได้มีการใช้อย่างแพร่หลายตั้งแต่ปี 1980 เนื่องจากมีรูปแบบของการใช้ที่มีมาตรฐานและให้ผลดี [1] ปัจจุบันมีการใช้การผสมเทียมของสุกรมีการใช้แพร่หลายทั่วโลก สำหรับน้ำยาเจือจางที่ใช้ก็มีความแตกต่างกันในแต่ละประเทศ ในประเทศแถบยุโรปมีการใช้การผสมเทียมเป็นส่วนใหญ่ถึงร้อยละ 80 ซึ่งหากเปรียบเทียบกับในแถบสหรัฐอเมริกานั้นยังคงมีการใช้ผสมเทียมเพียงประมาณร้อยละ 50 [2] การผสมเทียมโดยส่วนใหญ่แล้วนิยมเก็บรักษาน้ำเชื้อสุกรในรูปแบบเหลวทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15-20 °C และใช้ผสมเทียมภายใน 1-5 วัน [1] โดยจะเห็นได้ว่ายังมีข้อจำกัดในเรื่องของความยืดหยุ่นในการใช้งานที่สั้นอยู่ และหากมีวิธีการปรับปรุงการเก็บรักษาน้ำเชื้อให้คงคุณภาพดีได้ยาวนานกว่าเดิม จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการผลิตเพื่อนำไปใช้งานและการปรับปรุงพันธุ์สุกร ทั้งนี้เนื่องจากในอนาคตมีแนวโน้ม ความต้องการซื้อขายน้ำเชื้อเพื่อนำมาผสมเทียมที่เพิ่มสูงขึ้น หากมีการเก็บรักษาน้ำเชื้อได้นานขึ้นก็จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในเชิงพาณิชย์ และมีความยืดหยุ่นเพิ่มสูงขึ้นในการผสมเทียมสำหรับการนำไปใช้ในฟาร์มสุกร

การเก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบวุ้น (solid semen) คือ การนำน้ำเชื้อมาเจือจางกับน้ำยาเจือจางที่มีการเสริมสารที่มีคุณสมบัติก่อให้เกิดวุ้น เช่น เจละติน โดยหากเก็บน้ำยาเจือจางที่อุณหภูมิห้องน้ำยาที่เสริมสารก่อเกิดวุ้นยังคงมีสภาพเป็นของเหลว แต่หากนำไปเก็บรักษาไว้ในที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 ° C จะทำให้กลายสภาพเป็นวุ้น ซึ่ง เจละติน มีคุณสมบัติเป็น collagen hydrolyzate โดยจะมีขนาดของโมเลกุลใหญ่ที่ไม่สามารถซึมผ่านเข้าสู่ผิวเซลล์อสุจิได้ ทำให้ผิวเซลล์อสุจิไม่เกิดความเสียหายและไม่มีความแตกต่างในเรื่องของ osmolarity และการเกิด plasmolysis [3] จึงเป็นเหตุผลที่ทำให้เลือกใช้สาร เจละติน ในการศึกษานี้ โดยมีการศึกษาน้ำเชื้อที่เก็บรักษาในรูปแบบวุ้นที่เสริม เจละติน ในกระต่าย [4,5] แพะ [6] และแกะ [7] พบว่าให้ผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อต่างจากกลุ่มที่เก็บรักษาในรูปแบบเหลวทั้งสิ้น ส่วนในสุกรยังไม่มีรายงาน จึงเป็นวิธีการใหม่ที่น่าสนใจในการนำมาใช้เก็บรักษาน้ำเชื้อของสุกร ซึ่งอาจเป็นแนวทางที่สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพของการเก็บรักษาน้ำเชื้อให้คงคุณภาพดีได้ยาวนานขึ้น เป็นประโยชน์ในการนำไปใช้สำหรับการผสมเทียมสุกรในอนาคตต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

สุกรพ่อพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษานี้ เป็นสุกรในหมวดสุกรภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ใช้พ่อสุกรจำนวน 4 ตัว เป็นพันธุ์ Large White 2 ตัว และพันธุ์ Landrace จำนวน 2 ตัว อายุประมาณ 1-2 ปี ดำเนินการศึกษาในช่วงเดือน มิถุนายน-ธันวาคม พ.ศ. 2553

การรีดเก็บน้ำเชื้อ

ดำเนินการรีดน้ำเชื้อด้วยเทคนิค gloved-hand technique โดยใช้มือบีบรัดล็อกเกลียวปลายลึงค์ ใช้กระติกทึบแสงซึ่งมีถุงพลาสติกอยู่ด้านในรองเก็บน้ำเชื้อ ใช้ผ้าก๊อตปิดทับด้านบนเพื่อกรองเม็ดสาคูของน้ำเชื้อออก รีดเก็บน้ำเชื้อในส่วนที่สองซึ่งมีลักษณะสีขาวขุ่นซึ่งจะมีความเข้มข้นของอสุจิที่สูง ส่วนน้ำเชื้อส่วนแรกและส่วนที่สาม(ส่วนท้าย) เป็นส่วนที่มีตัวอสุจิในปริมาณน้อย ไม่นำมาใช้ในการศึกษา นำน้ำเชื้อมาทำการเจือจางด้วยน้ำยาเจือจางบนห้องปฏิบัติการภายใน 30 นาที โดยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อจะมีอุณหภูมิอยู่ที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิของน้ำเชื้อหรืออุณภูมิร่างกายของตัวสัตว์

การเตรียมน้ำยาเจือจาง

ใช้น้ำยาเจือจางใช้สูตร Androhep, Butsehwiller และ Reading โดยมีการเตรียมน้ำยาเจือจางตามองค์ประกอบของสูตร (**Table 1**) โดยใช้น้ำที่กลั่น 3 ครั้งเตรียมน้ำยาเจือจาง ทำการเสริมเจละติน ลงในน้ำยาเจือจางที่อุณหภูมิ 37 °C โดยอุ่นใน water bath จน เจละติน ที่เสริมลงไปละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งเสริม เจละติน ลงไปทั้งสิ้น 4 ระดับ คือ 0%, 0.7%, 1.4% และ 2.1 % (w/v) บรรจุในหลอดขนาด 50 มิลลิลิตร ปิดผนึกฝาหลอดและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 17 °C เมื่อใช้งานนำมาเจือจางมาอุ่นที่อุณหภูมิ 37 °C จนกลายสภาพเป็นของเหลวอีกครั้ง แล้วค่อยนำไปใช้เจือจางน้ำเชื้อ

การประเมินคุณภาพอสุจิ

ประเมินความสามารถในเคลื่อนที่ของอสุจิที่เก็บรักษาด้วยเครื่อง CASA (computer-assisted sperm analysis) ด้วยเครื่องของ GTM-IVOS รุ่น 12.3 D Hammilton- Thorne Bioscience, MA, USA

ทำการตรวจอะโครโซม ด้วยการย้อมสี giemsa จากนั้นทำการนับจำนวนอสุจิที่มีอะโครโซมรูปร่างปกติ (Normal Apical Ridge; NAR) ตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 1000 เท่า [8]

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

สำหรับคุณภาพน้ำเชื้อวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (Analysis of Variances: ANOVA) และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละปัจจัยการทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อตามแผนการทดลอง (3X4 factorial in CRD) ทำการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกร 4 ซ้ำต่อตัว/กลุ่มทดลอง และทำการทดสอบความแปรปรวน ด้วยโปรแกรม SAS version 6.12 (SAS Inc., Cary, NC)

Table 1. Composition of Extenders Used Commercially for Liquid Storage of Boar Semen

Ingredient	Formula (g / 1000 ml distilled water)		
	Androhep	Butsehwiller	Reading
D-Glucose	26	35.0	11.0
Tri-sodium citrate	8.0	6.9	11.65
Soduim carbonate	1.2	1.0	1.75
EDTA	2.4	2.25	2.35
TRIS	-	5.65	5.50
HEPES	9.0	-	-
Citric acid	-	3.15	4.10
Potassium chloriride	-	-	0.75
Cysteine	-	0.05	0.07
Trehalose	-	-	1.0
BSA	2.5	3	-
Polyvinyl alcohol(Type II)	-	-	1.0

Source: Gadea [2]

ผลการศึกษา

ผลของการเสริมระดับ เจละติน ต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน พบว่าร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิในกลุ่มการเสริม เจละติน ที่แตกต่างกัน 4 ระดับไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนร้อยละของอสุจิเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้า (progressive cell) พบว่าการเสริม เจละติน ที่ระดับ 2.1% ให้ค่าการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างต่ำกว่ากลุ่มที่เสริม เจละติน ในกลุ่มอื่นและกลุ่มควบคุม (P<0.05) สำหรับร้อยละของเซลล์อสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ (static cell) พบว่าในกลุ่มควบคุมให้ค่าอสุจิที่ไม่เคลื่อนที่สูงกว่ากลุ่มที่ทำการเสริม เจละติน ทั้ง 3 ระดับ (P<0.05) ส่วนผลของสูตรน้ำยาเจือจางทั้ง 3 ไม่มีความแตกต่างกันต่อคุณภาพน้ำเชื้อ (**Table 2**)

ผลของการเสริม เจละติน ต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรที่เก็บรักษานาน 5 วัน พบว่าร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิ, ร้อยละของอสุจิเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้า(progressive cell) และร้อยละของเซลล์อสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ (static cell) ไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนร้อยละของเซลล์อสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ (static cell) ในกลุ่มที่เสริม เจละติน 2.1% และ 1.4% มีค่าน้อยที่สุดต่างจากกลุ่มที่เสริม เจละติน 0.7% และกลุ่มควบคุม (P<0.05) ผลของการเสริม เจละติน ที่ระดับ 2.1% มีผลดีต่อร้อยละของอะโครโซมปกติมากที่สุดรองลงมา คือ กลุ่มที่เสริม เจละติน ระดับ 0.7%, 1.4% และ 0% ตามลำดับ (P<0.05) ส่วนผลของสูตรน้ำยาเจือจางทั้ง 3 ไม่มีความแตกต่างกันต่อคุณภาพน้ำเชื้อ

ผลของการเสริมระดับ เจละติน ต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรที่เก็บรักษานาน 12 วัน พบว่าร้อยละของการเคลื่อนที่และร้อยละของอสุจิที่เคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้ากลุ่มที่เสริม เจละติน 1.4% ให้ผลดีกว่าต่างจากกลุ่มควบคุม แต่ไม่ต่างจากการเสริม เจละติน ที่ระดับ 0.7% และ 2.1% (P<0.05) พบว่ากลุ่มที่เสริม เจละติน 1.4% และ 2.1% มีค่าร้อยละของอสุจิที่ไม่เคลื่อนที่น้อยที่สุดต่างจากกลุ่มควบคุม (P<0.05) แต่ไม่ต่างจากการเสริม เจละติน ที่ระดับ 0.7% ส่วนผลของสูตรน้ำยาที่แตกต่างกัน 3 สูตร ต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ ต่อร้อยละของอสุจิที่เคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้า และต่อร้อยละของอสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ ไม่มีความแตกต่างกัน (**Table 2**)

Table 2. Effect of Solid Semen Storage and the Benefits of Long-term Diluents on Boar Semen Quality

	2 day				5 day				12 day		
	% Motile	% Prog	% Static	% Norm	% Motile	% Prog	% Static	% Motile	% Prog	% Static
gelatin 0%	91.3	57.1^{a}	4.2^{a}	71.2^{c}	82.6	45.7	6.7^{a}	21.4^{b}	5.8^{b}	56.8^{a}
gelatin 0.7%	92.7	57.4^{a}	2.5^{b}	76.5^{ab}	84.3	51.0	5.0^{a}	35.1^{ab}	12.4^{ab}	31.6^{ab}
gelatin 1.4%	90.8	54.7^{ab}	1.7^{b}	73.9^{bc}	84.7	51.2	2.4^{b}	51.2^{a}	21.0^{a}	26.0^{b}
gelatin 2.1%	91.9	51.2^{b}	0.8^{b}	78.9^{a}	86.4	53.0	1.6^{b}	42.9^{ab}	14.3^{ab}	15.2^{b}
Androhep	90.0	54.9	2.7	74.5	85.6	53.2	4.6	32.3	11.3	35.9
Butsehwiller	92.4	58.4	2.2	75.4	85.8	52.9	3.3	48.7	18.2	28.8
Reading	92.6	55.0	2.0	76.5	82.2	51.5	3.9	31.9	10.6	32.5
extender x %gelatin	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	3.3	9.5	11.5	6.9	6.1	17.3	10.6	6.1	17.3	46.6

Abbreviations: Motile = % total motile sperm; Prog = % progressive motile sperm; Static = % static sperm; Norm = % Normal acrosome; ns = non significantly (P>0.05); CV= coefficient of variation.

$^{a-c}$Means within column with no common superscript differ significantly (P<0.05).

วิจารณ์

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการเสริม เจละติน ดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 17 °C ซึ่งเห็นได้จากคุณภาพน้ำเชื้อในวันที่ 2, 5, และ 12 ของการเก็บรักษาพบว่าร้อยละของอสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ของการเสริม เจละติน ในทุกระดับ (0.7%, 1.4% และ 2.1%) มีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุม (0%) แสดงให้เห็นถึงการเสริม เจละติน มีผลดีต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อสุกร ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบวุ้นในสัตว์ชนิดอื่น โดยมีรายงานว่าการเสริม เจละติน ในน้ำเชื้อ

กระต่ายพบว่าให้ผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่เก็บรักษาเช่นกัน [4,5] นอกจากนี้ยังมีการศึกษา การเสริมเจละติน ในน้ำยาเจือจางของน้ำเชื้อแกะที่ระดับ 1.5 กรัม (w/v) พบว่าการเก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบวุ้นให้ผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อและร้อยละของการปฏิสนธิ ต่างจากการเก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบเหลว ($P<0.05$) [7] สอดคล้องกับการศึกษาในน้ำเชื้อแพะในรูปแบบวุ้น พบว่าให้ผลดีต่อคุณภาพอสุจิกว่าการเก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบเหลวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) [6] ส่วนการศึกษาในสุกรนั้นยังไม่พบรายงานมาก่อนและจากข้อมูลการศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบวุ้นในกระต่าย แพะ และในแกะจากที่กล่าวข้างต้น ล้วนแต่มีผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้

การที่คุณภาพน้ำเชื้อในกลุ่มที่เก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบวุ้นให้ผลดีกว่าในกลุ่มที่เก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบของเหลว นั้นอาจเนื่องมาจากการเก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบวุ้นขณะเก็บรักษาความเป็นวุ้นอาจขัดขวางการเคลื่อนที่ของอสุจิและอสุจิเคลื่อนที่ได้ยากลำบาก เมื่อการเคลื่อนที่ลดลงจึงทำให้มีอัตราการ เมตาบอลิซึมลดต่ำลงด้วยเช่นกัน [5] โดยอสุจิที่เกิดขบวนการเมตาบอลิซึมสูงในระหว่างการเก็บรักษาเป็นสาเหตุให้อสุจิมีอายุสั้นลง ต่างจากการเก็บรักษาในรูปแบบเหลวซึ่งอสุจิสามารถเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ [9] ทำให้อสุจิเสียพลังงานจากการเคลื่อนที่และอาจเป็นเหตุทำให้คุณภาพน้ำเชื้อในรูปแบบเหลวด้อยกว่าการเก็บในรูปแบบวุ้น

ส่วนในการศึกษาในครั้งนี้พบว่าผลการศึกษาของสูตรน้ำยาทั้ง 3 สูตร คือ Androhep, Butschwiller และ Reading โดยภาพรวมแล้วมีผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรที่เก็บรักษาใกล้เคียงกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำยาเจือจางทั้ง 3 สูตร มีความใกล้เคียงกันในเรื่องของความดันของสารละลายและองค์ประกอบของสูตรน้ำยา โดยสูตรน้ำยาเจือจาง Androhep มีค่าเท่ากับ 309 mOsm และ Reading มีค่าเท่ากับ 300 mOsm [2] Butschwiller มีค่าเท่ากับ 284 [10] ปกติแล้วอสุจิของสุกรนั้นจะมีค่า osmotic pressure ของเหลวในร่างกายอยู่ที่ 290-300 mOsm และอสุจิอาจสามารถทนค่า osmotic pressures อยู่ได้ในช่วงระหว่าง 240-380 mOsm ค่า osmotic pressure ต่ำกว่า 200 mOsm จะมีผลทำให้การเคลื่อนที่ลดต่ำลง [11,12] ทั้งนี้น้ำยาเจือจางที่ใช้ทางการค้าจะมีค่า osmotic pressure ประมาณ 300 mOsm ซึ่งจะมีค่าความดันของสารละลายเป็น isotonic หรือมีค่าความดันของสารละลายที่เป็น hypertonic แบบอ่อน ๆ [2] ส่วนในการศึกษานี้น้ำยาเจือจางมีค่าความดันของสารละลาย และองค์ประกอบทางเคมีที่มีความเหมาะสมต่ออสุจิที่คล้ายคลึงกัน จึงเป็นเหตุทำให้คุณภาพน้ำเชื้อในการการรักษาด้วยน้ำยาทั้ง 3 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรที่เก็บรักษาของการศึกษานี้

เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อสุกรที่อุณหภูมิ 17 °C ในวันที่ 2 พบว่าในกลุ่มที่เก็บรักษาในรูปแบบวุ้นทุกระดับ เจละติน มีร้อยละของอสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ต่ำกว่าการเก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบเหลว ($P<0.05$) ส่วนการเก็บรักษาน้ำเชื้อในวันที่ 5 และวันที่ 12 พบว่าการเสริม เจละติน ที่ระดับ 1.4% และ 2.1% มีผลต่อร้อยละของอสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ลดลงต่างจากกลุ่มที่เก็บรักษาในรูปแบบเหลว แต่ไม่

ต่างจากกลุ่มที่เสริม เจละติน ที่ระดับ 0.7% ($P<0.05$) ส่วนน้ำยาเจือจางทั้ง 3 สูตรคือ Butsehwiller, Androhep และ Reading เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อให้คุณภาพที่ใกล้เคียงกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาสัตวศาสตร์คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้เอื้อเฟื้อทุนวิจัยและสถานที่รวมทั้งสัตว์ทดลองในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อพันธุ์ผสมเทียมลำพญากลาง จ.ลพบุรี ในการใช้เครื่อง CASA สำหรับตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ จึงทำให้การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี จึงใคร่ขอขอบคุณไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Johnson LA, Weitze KF, Fiser P, Maxwell WMC. Storage of boar semen. *Anim Reprod Sci.* 2000;62:143-172.
2. Gadea J. Review: Semen extenders used in the artificial insemination of swine. *Span J Agric Res.* 2003;1:17-27.
3. Resseguie WD, Hughes BL, Jones JE, Thurton RJ. An evaluation of gelatin as a diluent component for storage of chicken semen. *Poult Sci.* 1981;60:469-476.
4. Lopez-Gatius SF, Sancho GM, Yaniz J, Santolaria P, Gutierrez R, Nunez M, et al. Effect of solid storage at 15 °C on the subsequent motility and fertility of rabbit semen. *Theriogenology.* 2005;64:252-260.
5. Nagy Sz, Sinkovics Gy, Kovács A. Short communication viability and acrosome integrity of rabbit spermatozoa processed in a gelatin-supplemented extender. *Anim Reprod Sci.* 2002;70:283-286.
6. Salvador I, Ya´niz J, Viudes-de-Castro MP, Go´mez EA, Silvestre MA. Effect of solid storage on caprine semen conservation at 5 °C. *Theriogenology.* 2006;66:974-981.
7. Yaniz J, Mati JI, Silvestre MA, Folch J, Santolaria P, Alabart JL, et al. Effects of solid storage of sheep spermatozoa at 15 °C on their survival and penetrating capacity. *Theriogenology.* 2005;64:1844-1851.
8. Pursel VG, Johnson LA, Rampacek GB. Acrosome morphology of boar spermatozoa incubated before cold shock. *J Anim Sci.* 1972;34:278-283.
9. Bearden HJ, Fuquay JW, Willard ST. *Applied Animal Reproduction.* 6th ed. New Jersey: Prentice-Hall; 2004.
10. Weitze KF. The use of “long-term extender” in pig AI – a view of the international situation. *Pig News Inform.* 1990;11:23-26.
11. Fraser L, Gorszczaruk K, Strzezek J. Relationship between motility and membrane integrity of boar spermatozoa in media varying in osmolality. *Reprod Dom Anim.* 2001;36:325-329.
12. Gilmore JA, Du J, Tao J, Peter AT, Critser JK. Osmotic properties of boar spermatozoa and their relevance to cryopreservation. *J Reprod Fertil.* 1996;107:87-95.