ผลของชนิดน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็งต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรภายหลังการละลาย

จุฬฉัตร ชาปัญญา[1/] พิงค์ลานนา กุญชร[2/]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็งต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรภายหลังการละลาย (ทรีทเม้นท์) ได้แก่ Duragen® Modena™ Acromax® และ Bets-ville Thawing Solution (BTS®) วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยใช้พ่อพันธุ์สุกรดูร็อก ลาร์จไวท์ และแลนเรซ จำนวนพันธุ์ละ 3 ตัว (บล็อก) รีดน้ำเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้งต่อเนื่องกัน 5 สัปดาห์ น้ำเชื้อแต่ละพ่อที่รีดเก็บได้จะถูกแบ่งออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆ กันเพื่อเจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็งทั้ง 4 ชนิด ในอัตราส่วน 1 : 1 (v/v) ผลการศึกษาพบว่า คุณภาพน้ำเชื้อสุกรภายหลังการละลายโดยใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็ง Duragen® Modena™ Acromax® และ BTS® มีคุณภาพน้ำเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ทั้งอัตราการเคลื่อนที่ มีค่า 42.12±14.08, 36.76±13.58, 35.57±15.36 และ 37.14±14.70 % ตามลำดับ อัตราการการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า 14.8±9.42, 13.01±9.85, 12.95±10.09 และ 12.87±9.26 % จำนวนอสุจิมีชีวิต 34.40±13.53, 38.96±11.45, 37.39±10.34 และ 35.37±10.73 % และความสมบูรณ์ของอะโครโซม 51.44±19.15, 51.14±23.23, 53.68±21.54 และ 58.95±17.60 % สรุปว่าน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็งทั้ง 4 ชนิด มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรภายหลังการละลายไม่ต่างกัน ดังนั้นจึงอาจพิจารณาเลือกใช้น้ำยาที่มีราคาต่ำที่สุดเพื่อประหยัดงบประมาณในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งสุกร หรือตามความสะดวกของผู้ใช้งาน

คำสำคัญ: คุณภาพน้ำเชื้อ น้ำเชื้อสุกร น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ

เลขทะเบียนวิจัย : 60(1)-(60:01)-0208-025

[1/]ศูนย์วิจัยและผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ลำพญากลาง ตำบลหนองรี อำเภอลำสนธิ จังหวัดลพบุรี

[2/] ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการย้ายฝากตัวอ่อนและเซลล์สืบพันธุ์สัตว์ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา

Effect of Different Extenders on Quality of Frozen-thawed Boar Semen.

Jullachat Chapanya[1/] Pinglanna Kunshorn[2/]

Abstract

The objective of the present study was to compare the effect of 4 extenders on the quality of frozen-thawed boar semen. Sperm-rich fraction from nine boars was collected and froze once a week for 5 consecutive weeks. Each sample was accessed weekly for 4 treated groups: Duragen® Modena™ Acromax® and Bets-ville Thawing Solution (BTS®) by 1:1 (v/v). There was no significantly different on post-thawed semen quality between groups (Sperm motility: 42.12±14.08, 36.76±13.58, 35.57±15.36 and 37.14±14.70 %, Progressive motility : 14.8±9.42, 13.01±9.85, 12.95±10.09 and 12.87±9.26 %, Sperm viability : 34.40±13.53, 38.96±11.45, 37.39±10.34 and 35.37±10.73 %, Intact acrosome : 51.44±19.15, 51.14±23.23, 53.68±21.54 and 58.95±17.60 %). The results from this study indicated that these 4 extenders made no difference in post-thawed semen quality so it can be subjectively chosen for boar semen production.

Keywords: semen quality, boar semen, semen extender

Registered No. : 60(1)-(60:01)-0208-025

[1/]Lumphayaklang Frozen Semen Production and Research Center Lamsonthi Lopburi

[2/] Embryo Transfer Biotechnology and Animal Germplasm Research Center Pakchong Nakhonratchasima

คำนำ

ปัจจุบันการผสมเทียมสุกรยังคงนิยมใช้น้ำเชื้อในรูปแบบการแช่เย็น ซึ่งมีข้อจำกัดในระยะเวลาการเก็บรักษา ภายหลังมีความพยายามในการปรับปรุงเทคโนโลยีการผสมเทียมด้วยการใช้น้ำเชื้อแช่แข็ง แต่ยังไม่เป็นที่นิยมเท่าที่ควร เนื่องจากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งมีจำนวนลูกต่อครอกต่ำกว่าการใช้น้ำเชื้อสด และมีความผันแปรของคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งค่อนข้างสูง (Wagne and Tibier, 2000)

การผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งสุกร มีขั้นตอนที่ค่อนข้างซับซ้อนกว่าปศุสัตว์ชนิดอื่น โดยเฉพาะการปรับสมดุลอุณหภูมิของอสุจิ ที่มีอยู่ 2 ช่วง ได้แก่ การปรับสมดุลอุณหภูมิที่ 15 ℃ และ 5 ℃ ซึ่งส่งผลทำให้อสุจิมีโอกาสเกิด cold shock จากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิได้ ส่งผลต่อความสามารถในการแช่แข็งและคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็ง (Kaeoket et al., 2008) ดังนั้นน้ำยาเจือจางที่ใช้ในแต่ละช่วงต้องมีคุณสมบัติเป็นทั้งแหล่งพลังงานและมีสารป้องกันอันตรายจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่มีผลต่อการอยู่รอดของอสุจิ ลดการเกิดกระบวนการ Lipid Peroxidation (LPO) ในขั้นตอนการเจือจางน้ำเชื้อส่งผลต่อความสามารถในการเคลื่อนที่ของอสุจิ เพื่อเป็นการเตรียมความพร้อมให้กับตัวอสุจิก่อนเข้าสู่กระบวนการแช่แข็ง (Rienprayoon, 2012)

ในขั้นตอนปรับสมดุลอุณหภูมิที่ 15 °C น้ำยาเจือจางที่ใช้ถือเป็นน้ำยาเจือจางชนิดแรกที่สัมผัสกับน้ำเชื้อที่รีดเก็บมาจากพ่อสุกร ซึ่งมีหน้าที่ในการปรับสมดุลแรงดันออสโมติกและการซึมผ่านสารที่จำเป็นในการปกป้องเซลล์ไม่ให้เป็นอันตรายจากอุณหภูมิลดลงในช่วงเวลา 120 นาทีแรก และจะถูกปั่นแยกน้ำยาส่วนนี้ทิ้งเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของอสุจิในการนำไปคำนวณและเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการ และทำการปรับสมดุลอุณหภูมิที่ 5 ℃ เพื่อเตรียมความพร้อมก่อนเข้าสู่กระบวนการแช่แข็งต่อไป ซึ่งน้ำยาเจือจางแต่ละชนิดมีความสัมพันธ์กับคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็ง (Weitze, 1990; Reed, 1990; Althouse, 1997; Johnson, 2000) น้ำยาเจือจางสำหรับในการปรับสมดุลที่ 15 °C มีคุณสมบัติเช่นเดียวกับน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสุกรสำหรับเก็บรักษาในรูปแบบการแช่เย็น ที่มีจำหน่ายทั่วไปในรูปแบบกึ่งสำเร็จรูปหลายชนิด เช่น ชนิด short-term extender สำหรับเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อสดได้นาน 1-3 วัน ได้แก่ Bets-ville Thawing Solution (BT®S) และชนิด long-term extender สำหรับเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อสดได้นานมากกว่า 4 วัน ได้แก่ Modena™ Acromax® (Gadea, 2003) และ Duragen® เก็บรักษาได้นาน 10 - 12 วัน (Marina et al., 2016)

ดังนั้นจึงศึกษาผลของชนิดน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสุกรสำเร็จรูปที่มีจำหน่ายในท้องตลาด สำหรับใช้ในขั้นตอนการปรับสมดุลอสุจิก่อนการแช่แข็งต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรภายหลังการละลาย

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สัตว์ทดลอง

พ่อพันธุ์สุกรสายพันธุ์ดูร็อค ลาร์จไวท์ และแลนด์เรซ ที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ อายุระหว่าง 2-3 ปี สายพันธุ์ละ 3 ตัว รวมจำนวน 9 ตัว เลี้ยงที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาสุกร จังหวัดนครราชสีมา รีดเก็บน้ำเชื้อโดยใช้เทคนิคการใช้มือบีบนวดที่ปลายอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (gloved hand technique) สัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 5 สัปดาห์ติดต่อกัน โดยน้ำเชื้อสดสุกรที่นำมาผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งต้องมีค่าอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิไม่ต่ำกว่า 70% และค่า

ความผิดปกติของอสุจิในส่วนหัวและส่วนหางไม่เกิน 12% และ 25% ตามลำดับ (Buranaamnuay et al. 2009; Kaeoket et al. 2010)

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) กำหนดให้สายพันธุ์พ่อสุกรเป็นบล็อก (block) ปัจจัยที่ศึกษา (ทรีทเม้น) คือชนิดของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็ง (Extender I) ได้แก่ Duragen® Modena™ Acromax® และ Bets-ville Thawing Solution (BTS®) จำนวน 5 ซ้ำ โดยน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกรทุกตัว แบ่งออกเป็น 4 กลุ่มเท่าๆ กัน เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อในอัตราส่วน 1:1 (v/v) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 เติมน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Duragen®

กลุ่มที่ 2 เติมน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Modena™

กลุ่มที่ 3 เติมน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Acromax®

กลุ่มที่ 4 เติมน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Bets-ville Thawing Solution (BTS®)

การเจือจางน้ำเชื้อและการแช่แข็ง

นำน้ำเชื้อที่ผสมกับ Extender I แต่ละทรีทเม้นท์วางในภาชนะที่หล่อด้วยน้ำให้มีระดับเดียวกันกับของเหลวภายในขวด บ่มที่อุณหภูมิ 15 °C นาน 120 นาทีเพื่อปรับสมดุล เมื่อครบเวลานำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 800 x g อุณหภูมิ 15 °C นาน 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง (Extender I) นำส่วน pellet ที่ได้มาตรวจนับความเข้มข้นอีกครั้งเพื่อเจือจางน้ำเชื้อด้วยน้ำยาเจือจางที่ 2 (Extender II) lactose-egg yolk (LEY; 20% ไข่แดง ในสารละลาย 11% lactose) ให้อสุจิมีความเข้มข้น 1.5×10^9 ตัว/มิลลิลิตร และแช่เย็นที่ 5 °C นาน 90 นาที เมื่อครบเวลาเจือจางด้วยน้ำยาเจือจางที่ 3 (Extender III) LEY ผสมกับ 9% glycerol และ 1.5% Equex-STM ให้มีความเข้มข้น 1.0×10^9 ตัว/มิลลิลิตร จากนั้นบรรจุน้ำเชื้อด้วยหลอดบรรจุขนาด 0.5 มิลลิลิตร นำไปอังไว้เหนือไอไนโตรเจนเหลว 3-4 เซนติเมตร อุณหภูมิประมาณ -120 °C นาน 20 นาที ดัดแปลงจากวิธีของ Buranaamnuay et al. (2009) และเก็บรักษาไว้ภายใต้ระดับไนโตรเจนเหลวเพื่อตรวจคุณภาพน้ำเชื้อต่อไป

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งภายหลังการละลาย

สุ่มน้ำเชื้อแช่แข็งจากทุกชุดการผลิต ชุดละ 3 หลอดต่อพ่อพันธุ์สุกร ละลายน้ำเชื้อแช่แข็งสุกรด้วยวิธีการอุ่นในน้ำอุณหภูมิที่ 50 °C นาน 12 วินาที และรักษาอุณหภูมิ ตัวอย่างไว้ที่ 37 °C ตลอดการตรวจคุณภาพ ดังนี้

1) อัตราการเคลื่อนที่ (motility; %) อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (progressive motility; %)

2) ความเร็วในการเคลื่อนที่ ได้แก่

- Average Path Velocity (VAP; µm/s) หมายถึง ความเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยจากระยะทางจริงใน 1 วินาที
- Straight Line Velocity (VSL; µm/s) หมายถึง ความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรง เป็นการคำนวณจากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่งในแนวเส้นตรงในช่วงระยะเวลา 1 วินาที
- Curvilinear Velocity (VCL; µm/s) หมายถึง ความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีโค้ง เป็นการคำนวณแนวโน้มของการเคลื่อนที่เฉลี่ยใน 1 วินาที

3) ลักษณะการเคลื่อนที่ ได้แก่

- Amplitude of Lateral Head Displacement (ALH; μm) หมายถึง ความกว้างของส่วนหัวของอสุจิที่ส่ายไปมา

- Beat Cross Frequency (BCF; Hz) หมายถึง ความถี่ของการส่ายส่วนหัวของอสุจิ

- Straightness (STR; %) หมายถึง ความตรงในการเคลื่อนที่ ซึ่งคำนวณจากอัตราส่วนความเร็วของการเคลื่อนที่ในวิถีตรง (VSL) ต่อความเร็วเฉลี่ยในการเคลื่อนที่ (VAP) คูณด้วยร้อย

- Linearity (LIN; %) หมายถึง อัตราส่วนความเร็วของการเคลื่อนที่ในวิถีตรงต่อความเร็วเฉลี่ยของการเคลื่อนที่วิถีโค้ง (VCL) คูณด้วยร้อย

- Wobble (WOB; %) หมายถึง อัตราส่วนความเร็วเฉลี่ยในการเคลื่อนที่ (VAP) ต่อความเร็วเฉลี่ยของการเคลื่อนที่วิถีโค้ง (VCL) คูณด้วยร้อย

4) ความผิดปกติในส่วนหางของอสุจิโดยใช้โปรแกรมตรวจความผิดปกติอสุจิด้วยเครื่อง CASA

5) อสุจิมีชีวิตและความสมบูรณ์ของอะโครโซมด้วยเครื่อง flow cytometer (Attune NxT, Thermo Fisher Scientific, USA) ดังนี้

- ความสมบูรณ์ของอะโครโซมโดยย้อมด้วยสี FITC-PNA (Lectin PNA From Arachis hypogaea (peanut), Alexa Fluor™ 488, Thermo Scientific, Kalamazoo, MI, L21409.) และ PI (LIVE/DEAD Sperm Viability Kit ,Molecular Probes) ตามวิธีการของ Nagy et al. (2003) นับจำนวนอสุจิทั้งสิ้น 10,000 ตัวอสุจิ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วย one-way analysis of variance (one-way ANOVA) และเปรียบเทียบผลเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's multiple comparison test กำหนดค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับร้อยละ 95 ($P > 0.05$) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ R commander version 3.5.2 (R Core Team, 2018)

ผลการทดลอง

การศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อสุกรภายหลังการแช่แข็งที่ใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็งทั้ง 4 ชนิด พบว่าสายพันธุ์สุกรไม่มีอิทธิพลต่อปัจจัยการทดลอง โดยคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็งจากการเจือจางน้ำเชื้อสำหรับปรับสมดุลอุณหภูมิที่ 15 °C เป็นเวลา 120 นาทีด้วยน้ำยาเจือจาง Duragen® Modena™ Acromax® และ BTS® มีอัตราการเคลื่อนที่ การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ความเร็วในการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Velocity) ได้แก่ VAP VSL และ VCL และลักษณะการเคลื่อนที่ (Kinematic movement) ได้แก่ ALH BCF STR LIN และ WOB มีค่าไม่ต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ดัง Table 1

Table 1 Effect of extender on post-thawed sperm motility, velocity and kinematic movement (mean ± SD)

Parameters (%)	Extenders			
	Duragen®	Modena™	Acromax®	BTS®
Total motility	42.12±14.08	36.76±13.58	35.57±15.36	37.14±14.70
Progressive motility	14.8±9.42	13.01±9.85	12.95±10.09	12.87±9.26
Velocity				
VAP (μm/s)	80.91±16.71	79.61±17.15	76.36±21.86	75.83±21.33
VSL (μm/s)	59.11±14.50	57.77±15.21	56.11±17.72	55.69±17.16
VCL (μm/s)	162.90±38.11	161.28±35.78	152.78±46.45	151.83±44.95
Kinematic movement				
ALH (μm)	7.03±1.54	6.92±1.29	6.70±1.89	6.58±1.74
BCF (Hz)	31.23±1.56	31.52±2.01	31.65±2.92	32.24±3.63
STR (%)	75.26±6.76	75.14±6.04	76.14±7.49	76.76±6.26
LIN (%)	43.18±9.23	42.64±9.35	44.83±10.84	45.67±8.68
WOB (%)	54.84±6.81	54.38±5.33	56.13±8.10	56.70±6.47

เมื่อเปรียบเทียบความผิดปกติส่วนหางของอสุจิภายหลังการแช่แข็ง (Sperm with tail defects) และอสุจิมีชีวิตภายหลังการแช่แข็ง (sperm viability and intact acrosome) พบว่า น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็งทั้ง 4 ชนิด ให้ผลไม่ต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ดัง Table 2

Table 2 Effect of extender on post-thawed sperm with tail defects, sperm viability and intact acrosome (mean ± SD)

Parameters (%)	Extenders			
	Duragen®	Modena™	Acromax®	BTS®
Tail defects				
Bent tail	22.63±6.89	22.77±6.54	23.80±7.21	23.75±8.90
Coil tail	3.27±1.60	3.70±1.56	3.89±2.18	4.01±2.37
Proximal droplet	11.95±4.89	12.15±4.18	12.69±4.78	12.64±4.16
Distal droplet	8.63±3.48	9.01±3.49	9.26±3.13	8.77±3.24
Viability				
Sperm viability	34.40±13.53	38.96±11.45	37.39±10.34	35.37±10.73
Intact acrosome	51.44±19.15	51.14±23.23	53.68±21.54	58.95±17.60

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งสุกรภายหลังการละลายโดยใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสำเร็จรูปเป็นสารละลายที่ 1 (Extender I) ก่อนการแช่แข็ง ได้แก่ Duragen® Modena™ Acromax® และ BTS® มีอัตราการเคลื่อนที่ (Motility) การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (Progressive motility) ความเร็วในการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Velocity ; VAP, VSL, VCL) ลักษณะการเคลื่อนที่ (Kinematic movement ; ALH, BCF, STR, LIN, WOB) ความผิดปกติที่ส่วนหางของตัวอสุจิ อสุจิมีชีวิต และความสมบูรณ์ของอะโครโซม ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็งทั้ง 4 ชนิด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในขั้นตอนการปรับสมดุลของตัวอสุจิเพื่อการผลิตเป็นน้ำเชื้อแช่แข็ง ต่างไปจากการเก็บรักษาน้ำเชื้อสด คือน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสำเร็จรูปมีโอกาสสัมผัสกับตัวอสุจิเพียงช่วงเวลาสั้น ๆ เท่านั้น โดยในกระบวนการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งสุกรนั้น น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสำเร็จรูปมีโอกาสสัมผัสกับอสุจิเพียง 90-120 นาที ในช่วงระยะปรับสมดุลหลังจากนั้นจะปั่นแยกน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อออก สอดคล้องกับ Chumpol et al. (2014) รายงานว่าน้ำเชื้อสุกรสดที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางสำเร็จรูปทั้งระยะสั้นและระยะยาวในช่วง 24 ชั่วโมงแรกไม่พบความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ

การทดลองในครั้งนี้พบว่าชนิดน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อในระยะปรับสมดุลอุณหภูมิไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็ง ในขณะที่ Rienprayoon et al. (2012) รายงานว่าการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งสุกรในขั้นตอนการปรับสมดุลของตัวอสุจิด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่อุณหภูมิ 15 °C เป็นเวลา 120 นาที ชนิดของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อมีอิทธิพลต่อคุณภาพน้ำเชื้อพ่อสุกรหลังการทำละลายอย่างมีนัยสำคัญ และ Kaeoket et al. (2011) ทำการศึกษาเปรียบเทียบน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแบบระยะยาวได้แก่ Vitasem Androstar® plus และ Modena™ กับแบบระยะสั้น ได้แก่ BTS® เป็นสารละลายที่ 1 (Extender I) ในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งสุกร พบว่าน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแบบระยะยาวชนิด Modena™ มีผลทำให้คุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการละลาย ได้แก่ อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และตัวอสุจิมีชีวิต ดีกว่าน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแบบระยะสั้น เช่นเดียวกับ Chanapiwat et al. (2008) ศึกษาการใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อชนิด Modena™ ในขั้นตอนการรักษาอุณหภูมิที่ 15 °C นาน 120 นาที พบว่ามีอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และตัวอสุจิมีชีวิตภายหลังการละลายดีกว่าน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อชนิด BTS® ในขณะที่น้ำเชื้อสด น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแบบระยะยาว สามารถรักษาสภาพตัวอสุจิให้มีอัตราการเคลื่อนที่ และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าได้ดีกว่าน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแบบอื่น (Marina et al., 2016) อาจเนื่องมาจากน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อระยะยาว เช่น Modena™ มีปริมาณ EDTA เป็นส่วนประกอบอยู่มากกว่าสารละลายเจือจางน้ำเชื้อระยะสั้นชนิด BTS® ซึ่ง EDTA เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการจับกับแคลเซียมในน้ำเชื้อ ช่วยป้องกันการเกิดกระบวนการคาปาซิเตชั่น (capacitation) และมีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Luconi et al., 2006) โดยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแบบระยะสั้น ส่วนใหญ่จะมีองค์ประกอบหลักเป็นกลูโคส EDTA โซเดียมซิเตรท โซเดียมคาร์บอเนท โพแทสเซียมคลอไรด์ ในสัดส่วนที่น้อยกว่า (Pursel and Johnson,1975)

อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสำเร็จรูปที่วางจำหน่ายทั่วไปตามท้องตลาดทั้ง 4 ชนิดที่ใช้ในขั้นตอนการปรับสมดุลอุณหภูมิที่ 15 °C เป็นเวลา 120 นาทีมีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการละลายไม่แตกต่างกัน โดยที่ไม่มีอิทธิพลของสายพันธุ์ แต่น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแบบระยะยาวจะมีราคาสูงกว่าแบบระยะสั้น โดยแต่ละชนิดมีราคาประมาณตั้งแต่ 80 – 360 บาท (Table 3) และสามารถเตรียมเป็นน้ำยาเจือจางได้ 1,000 มิลลิลิตรเท่ากัน ดังนั้นจึงอาจพิจารณาเลือกใช้น้ำยาที่มีราคาต่ำที่สุดเพื่อประหยัดงบประมาณในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งสุกร หรือตามความสะดวกของผู้ใช้งาน

Table 3 Price per unit of commercial extender

Extender	Unit price (Baht)
Duragen®	250
Modena™	360
Acromax®	180
BTS®	80

สรุปผลการทดลอง

น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็งในขั้นตอนการปรับสมดุลอุณหภูมิที่ 15 °C ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ Duragen® Modena™ Acromax® และ BTS® มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรแช่แข็งหลังการละลาย (อัตราการเคลื่อนที่ การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ความเร็วในการเคลื่อนที่ของอสุจิ ลักษณะการเคลื่อนที่ ความผิดปกติส่วนหาง และความสมบูรณ์ของอะโครโซม) ไม่ต่างกัน ($P > 0.05$) ดังนั้นจึงอาจพิจารณาเลือกใช้น้ำยาที่มีราคาต่ำที่สุดเพื่อประหยัดงบประมาณในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งสุกร หรือตามความสะดวกของผู้ใช้งาน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย นายกมล ฉวีวรรณ และเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาสุกรที่ให้การสนับสนุนสัตว์ทดลองและให้ความช่วยเหลือในการดำเนินการวิจัย ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนและเซลล์สืบพันธุ์สัตว์ที่ให้การสนับสนุนห้องปฏิบัติการ

เอกสารอ้างอิง

Althouse G.C. 1997. Comparison of currently used semen extenders in the swine industry. Compent. Cont. Educ. Prac. Vet. 19: 777-782

Buranaamnuay, K., P. Tummaruk, J. Singlor, H. Rodriguez-Martinez and M. Techakumphu. 2009. Effects of straw volume and Equex-STM® on boar sperm quality after cryopreservation. Reproduction in Domestic Animals. 44(1): 69-73

Chanapiwat, P., K. Kaeoket, and P. Tummaruk, 2008. Quality of cryopreserved boar semen after using BTS® compared with Modena® extenders during the holding time. Proc. 46th Kasetsart University Annual Conference. : 331-337.

Chumpol, Y., W. Thongdee and R. Pilachai, 2014. Comparative study on commercial semen extenders and storage times on the quality of boar semen. KHON KAEN AGR. J. 42 SUPPL. 4: 68-72

Gadea. J. 2003. Review: Semen extenders used in the artificial insemination of swine. Spanish Journal of Agricultural Research. 1: 17-27.

Johnson, L.A., K.F. Weitze, P. Fiser, W.M.C. Maxwell. 2000. Storage of boar semen. Anim Reprod Sci. 62: 143–172.

Kaeoket, K., K. Tantiparinyakul, W. Kladkaew, P. Chanapiwat and M. Techakumphu. 2008. Effect of different antioxidants on quality of cryopreserved boar semen in different breeds. Thai Journal of Agricultural Science 41(1-2): 1-9.

Kaeoket, K., T. Srisowanna, U. Wichaidit, P. Chanapiwat, and S. Manee-in. 2010. Comparative study on six different long term commercial extenders for fresh boar semen. Thai J. Vet. Med. 40(3): 257-263.

Kaeoket, K., P. Chanapai, P. Junchiyaphoom, and P. Chanapiwat. 2011. The effect of using long term and short term extenders during cooling process on the quality of frozen boar semen. Thai J. Vet. Med. 41(3): 283-288.

Luconi, M., G. Forti and E. Baldi. 2006. Pathophysiology of sperm motility. Front Biosci. 11: 1433-1447.

Marina, A.K., G. Tsousis, C.A. Boscos, E.D. Tzika, P.D. Tassis and I.A. Tsakmakidis. 2016. A comparative study of boar semen extenders with different proposed preservation times and their effect on semen quality and fertility. ACTA VET. BRNO. 85: 023-031.

Nagy, S., J. Jansen, E.K. Topper and B.M. Gadella. 2003. A triple-stain flow cytometric method to assess plasma- and acrosome-membrane integrity of cryopreserved bovine sperm immediately after thawing in presence of egg-yolk particles. Biology of Reproduction. 68(5): 1828-1835.

Pursel V.G., L.A. Johnson. 1975. Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. J. Anim. Sci. 40: 99-102

Reed H.C.B. 1990. Commercial requirements for an effective fresh semen diluent. Reprod. Dom. Anim. 1: 255-270

Rienprayoon. C., C. Klangnak, S. Onton, C. Tretipskul and P. Tummaruk. 2012. A comparative study on the efficacy of four semen extenders and thawing by seminal plasma on the quality of frozen thawed boar semen. Thai J Vet Med. 2012. 42(2): 195-200.

Wagne, H.G. and M. Tibier. 2000. World statistics for artificial insemination in small ruminants and swine. Proceedings of the 14th International congress on animal reproduction: p. 77.

Weitze K.F. 1990. Long-term storage of extended boar semen. Reprod. Dom. Anim. 1: 231-253