ผลของการเปลี่ยนเซมินอลพลาสมา ต่อคุณภาพน้ำเชื้อโคแช่แข็ง

อภิรักษ์ อุทธา[1/] นิติรัฐ ถียัง[2/] สุจิรา ธรรมวัง[2/] อธิศักดิ์ ศิริบุรี[3/]

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเปลี่ยนเซมินอลพลาสมาต่อคุณภาพน้ำเชื้อโคหลังการแช่แข็ง ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ใช้น้ำเชื้อสดจากพ่อพันธุ์บราห์มันจำนวน 3 ตัว อายุระหว่าง 5 – 8 ปีที่มีอัตราการเคลื่อนที่ระหว่าง 40–70% รีดเก็บน้ำเชื้อสัปดาห์ละครั้ง ติดต่อกัน 4 สัปดาห์ แบ่งน้ำเชื้อที่ได้ออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ไม่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 เปลี่ยนเซมินอลพลาสมาที่ได้จากพ่อพันธุ์โคที่มีคุณภาพน้ำเชื้อดี ประเมินคุณภาพน้ำเชื้อด้วยเครื่อง CASA จำนวนอสุจิมีชีวิตด้วยการย้อมด้วย Eosin-Nigrosin และความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิด้วย HOS test ผลการศึกษาพบว่าการเปลี่ยนเซมินอลพลาสมาไม่มีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่ (32.3±2.9%, 41.6±4.7%) ในขณะที่อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (7.0±1.1%, 14.0±3.2%) จำนวนอสุจิมีชีวิต (43.7±3.2%, 55.4±4.9%) และความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิ (37.6±3.0%, 48.8±4.5%) ของกลุ่มที่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมามีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เปลี่ยน อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

คำสำคัญ: คุณภาพน้ำเชื้อ โคพ่อพันธุ์ เซมินอลพลาสมา

เลขทะเบียนวิชาการ: 63(2)-0208-127

[1/] ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น

[2/] ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่ อ. เมือง จ. เชียงใหม่

[3/] ศูนย์วิจัยและผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อ. เมือง จ. ขอนแก่น

Effect of substitution of seminal plasma on frozen bull semen

Apirak Utta[1/] Nitirut Theeyoung[2/] Sujira Thammawung[2/] Athisak Siriburi [3/]

Abstract

The objective of this study was to determine the effects of substitution on improving semen quality of bulls with low post-thawed semen quality. The study was conducted at North Eastern Frozen Semen Production and Research Center, Khon kaen province. Three Brahman bulls, age between 5 - 8 years, with fresh sperm motility between 40 – 70 percent were enrolled into this study. Semen were collected once weekly for 4 weeks. Semen sample from each bull were divided into 2 groups. Group1 seminal plasma was not removed (Control), and gorup2 substitution of seminal plasma. Seminal plasma for replacement was prepare from bulls that had high sperm quality. Sperm quality were determined by computer assisted semen analyzer (CASA), live spem (Eosin-Nigrosin straining), and plasma membrane integrity (HOS test) were used to evaluated sperm quality. The result showed that substitution of seminal plasma had no effect on sperm motility (32.3±2.9, 41.6±4.7) but improved percentages of progressive motility (7.0±1.1, 14.0±3.2) live sperm (43.7±3.2, 55.4±4.9) and plasma membrane intact (37.6±3.0, 48.8±4.5) sperm were significantly improved by seminal plasma replacement ($P<0.05$).

Keywords: Semen quality, Bull, Seminal plasma

Registered No: 63(2)-0208-127

[1/] Khon Kaen Artificial Insemination and Biotechnology Research Center Muang Khon Kaen.

[2/] Chiang Mai Artificial Insemination and Biotechnology Research Center Muang Chiang Mai.

[3/] North Eastern Frozen Semen Production and Research Center Muang Khon Kaen.

คำนำ

ในปี 2561 ประเทศไทยมีจำนวนโคเนื้อประมาณ 5.45 ล้านตัว ผู้เลี้ยง 0.8 ล้านครอบครัว และเพิ่มขึ้นในปี 2562 เป็น 5.87 ตัว เป็นโคเพศเมีย 3,819,390 ตัว แบ่งเป็นโคแรกเกิดถึงโคสาว 1,969,110 ตัว และแม่โค 1,850,280 ตัว (กรมปศุสัตว์, 2562) ปัญหาหลักของอุตสาหกรรมโคเนื้อคือ การขาดแคลนแม่โคพันธุ์ดี ที่ให้ผลผลิตสูง เพื่อผลิตโคขุนส่งตลาดเนื้อโคที่มีความต้องการเพิ่มขึ้น เกษตรกรส่วนใหญ่จึงอาศัยการปรับปรุงพันธุ์จากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งของพ่อโคพันธุ์ดี แทนการใช้พ่อพันธุ์ที่มีมูลค่าค่อนข้างสูง แต่การให้บริการผสมเทียมจากกรมปศุสัตว์ยังมีข้อจำกัดในส่วนของน้ำเชื้อแช่แข็งในพ่อพันธุ์โคบางสายพันธุ์ที่อาจยังมีจำนวนไม่เพียงพอต่อความต้องการ เนื่องมาจากคุณภาพน้ำเชื้อที่ใช้ในการผลิต ซึ่งปัญหาที่พบอยู่บ่อยครั้งคือน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้จากพ่อพันธุ์บางตัวมีคุณภาพต่ำ มีอัตราการเคลื่อนที่ก่อนการแช่แข็งประมาณร้อยละ 40 - 60 เมื่อผ่านกระบวนการแช่แข็ง โดยเฉพาะขั้นตอนการปรับสมดุลอุณหภูมิที่ 4°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิวิกฤตที่ทำให้เกิด Cold shock ได้ง่าย และก่อความเสียหายให้กับอสุจิส่งผลทำให้อสุจิมีชีวิตภายหลังการแช่แข็งไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศของกรมปศุสัตว์ คือต้องมีอสุจิมีชีวิตไม่ต่ำกว่า 8 ล้านตัวต่อโด๊ส ดังนั้นน้ำเชื้อสดที่รีดเก็บได้จากพ่อพันธุ์โคจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะส่งผลถึงคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็ง

องค์ประกอบของน้ำเชื้อโค แบ่งออกเป็น 2 ส่วนหลักคือ ส่วนของอสุจิ และส่วนของเหลว ที่เรียกว่าเซมินอลพลาสมา (seminal plasma) ซึ่งประกอบด้วยสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ ต่างๆ เช่น ไบคาร์บอเนต ซิเตรท น้ำตาลฟรุคโตส สเปอร์มีน อิเลคโทรไลท์ต่างๆ ไขมัน แร่ธาตุ และโปรตีน เป็นต้น (Bearden et al., 2004) โดยองค์ประกอบต่าง ๆ ในเซมินอลพลาสมามีคุณสมบัติในการรักษาการเมทาบอลิซึมของอสุจิ (sperm metabolism) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ค่าออสโมลาร์ลิตี้ (osmolarity) รักษาความสมบูรณ์ของผนังเซลล์ของตัวอสุจิ ซึ่งมีความสำคัญในการทำให้อสุจิสามารถมีชีวิตอยู่ได้และทำหน้าที่ในการเคลื่อนที่เข้าไปปฏิสนธิกับไข่ในระบบสืบพันธุ์เพศเมียได้ (Cancel et al., 1997; Moura et al., 2006; Odhiambo and Daile., 2011; Maxwell et al., 2007; Asadpour, 2012; Goerick et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเซมินอลพลาสมามีองค์ประกอบของฮอร์โมนเพศรวมอยู่ด้วย แต่อาจมีสัดส่วนขององค์ประกอบที่แตกต่างกันในพ่อพันธุ์แต่ละตัวหรือแต่ละชนิดของสัตว์ (Juyena and Stelletta, 2012) ซึ่งส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อหรือการรอดของอสุจิภายหลังการแช่แข็ง จากการรายงานของ Sarsaifi et al. (2015) พบว่าน้ำเชื้อที่มีคุณภาพดี มีองค์ประกอบของโปรตีน Binder of sperm 1 (BSP1), Tissue inhibitor of metalloproteinases 2 (TIMP-2) และ Phospholipase A_2 (PLA_2) ในเซมินอลพลาสมาสูง ในการทดลองของ Patel et al. (2016) ทำการเสริม Heparin binding protein (HBP) ที่แยกออกจากเซมินอลพลาสมาในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อก่อนทำการแช่แข็ง พบว่า ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของน้ำเชื้อหลังการแช่แข็งสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม แต่อย่างไรก็ตามเซมินอลพลาสมาที่ได้จากพ่อพันธุ์บางตัวอาจมีองค์ประกอบแตกต่างกัน (Sarsaifi et al., 2015) ซึ่งอาจส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่ผลิตได้เช่นกัน

ดังนั้นจึงทำการศึกษาเปลี่ยนเซมินอลพลาสมาที่ได้จากน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์โคเนื้อที่มีคุณภาพดีแทนเซมินอลพลาสมาของพ่อพันธุ์ที่มีคุณภาพน้ำเชื้อต่ำในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง เพื่อเป็นแนวทางการเพิ่มคุณภาพและปริมาณการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งในพ่อพันธุ์ที่มีพันธุกรรมดีแต่คุณภาพน้ำเชื้อไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของกรมปศุสัตว์แต่เป็นที่ต้องการของเกษตรกรสำหรับใช้ผสมเทียมเพื่อการปรับปรุงพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สัตว์ทดลอง

โคพ่อพันธุ์บราห์มันจากศูนย์วิจัยและผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 3 ตัว อายุระหว่าง 5-8 ปี และน้ำเชื้อมีอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิในน้ำเชื้อสดอยู่ระหว่าง 40–70% มีอสุจิรูปร่างผิดปกติไม่เกิน 30% และใช้เซมินอลพลาสมาจากพ่อโคพันธุ์จำนวน 4 ตัว อายุระหว่าง 5 - 8 ปี ที่มีอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิมากกว่า 70%

การเตรียมเซมินอลพลาสมา

น้ำเชื้อสดจากพ่อโคที่มีคุณภาพน้ำเชื้อดีมาปั่นแยกเซมินอลพลาสมาด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็ว 3,000 rpm นาน 10 นาที นำเอาเฉพาะของเหลวส่วนบนมากรองด้วย nylon mesh ขนาด 40 ไมครอน อีกครั้งเพื่อป้องกันการเจือปนของอสุจิ นำเซมินอลพลาสมาจากพ่อพันธุ์ทุกตัวรวมกันแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 ^{O}C จนถึงเวลาทดลอง

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomize Complete Block design (RCBD) รีดเก็บน้ำเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกัน 4 สัปดาห์ (4 ซ้ำ) นำน้ำเชื้อพ่อโคพันธุ์ที่มีอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิระหว่าง 40-70% แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ไม่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา (กลุ่มควบคุม)

กลุ่มที่ 2 เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา

การผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง

เตรียมสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ egg-yolk tris buffer ที่มีส่วนประกอบของ Tris buffer (Tris 24.2 กรัม Citric acid 13.4 กรัม และFructose 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตรร่วมกับ Glycerol 7% และไข่แดง 20% โดยให้ความเข้มข้นของน้ำเชื้อหลังการเจือจางที่ 96 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร แบ่งน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็ง และนำส่วนที่เหลือบรรจุในหลอดขนาด 0.25 มิลลิลิตร จากนั้นลดอุณภูมิน้ำเชื้อ โดยใช้ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และแช่แข็งน้ำเชื้อโดยใช้เครื่องแช่แข็งอัตโนมัติ ยี่ห้อ IMV (IMV, France) ตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อหลังการแช่แข็งโดยทำการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 30 วินาที

การตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

การประเมินลักษณะการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อเพื่อหาอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิก่อนการแช่แข็งใช้การประเมินด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope) ที่กำลังขยาย 100-400 เท่า อัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิก่อนหลังการแช่แข็งใช้เครื่อง Computerized automatic semen analyzer (CASA) รุ่น CEROS II™ Hamilton Thron, USA โดยใช้ค่า

1. อัตราการเคลื่อนที่ (motility; %) และอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (progressive motility; %)
2. ความเร็วในการเคลื่อนที่ (velocity) 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) หมายถึงความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีโค้ง เป็นการคำนวณแนวโน้มของการเคลื่อนที่เฉลี่ยใน 1 วินาที
3. ลักษณะการเคลื่อนที่ (kinematic movement) ได้แก่
   - Amplitude of Lateral Head Displacement (ALH; μm) หมายถึง ความกว้างของส่วนหัวของอสุจิที่ส่ายไปมา
   - Beat Cross Frequency (BCF; Hz) หมายถึง ความถี่ของการส่ายส่วนหัวของอสุจิ
   - Linearity (LIN; %) หมายถึง อัตราส่วนความเร็วของการเคลื่อนที่ในวิถีตรงต่อความเร็วเฉลี่ยของการเคลื่อนที่วิถีโค้ง (VCL) คูณด้วยร้อย
4. การประเมินจำนวนอสุจิมีชีวิต (Live sperm; %) โดยการย้อมสี Eosin-Nigrosin (Dott and Foster, 1972)
5. การประเมินความสมบูรณ์เยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิ(membrane integrity) ด้วยการใช้สารที่มีความดันออสโมติกต่ำ (hypo-osmotic swelling test; HOS test) (Revell and Mrode, 1994)

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูล คุณภาพน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็ง คุณภาพน้ำเชื้อหลังการแช่แข็ง ที่ได้ในแต่ละทรีทเมนต์วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย ANOVA และความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ด้วย T-Test จากโปรแกรมสำเร็จรูป

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองพบว่า น้ำเชื้อก่อนการแช่แข็งของพ่อพันธุ์โคในกลุ่มที่ทำการเปลี่ยนและไม่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมามีคุณภาพไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมีอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ จำนวนอสุจิมีชีวิต และความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิดัง Table 1 ซึ่งน้ำเชื้อทั้งหมดไม่สามารถนำไปใช้ในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งได้ เนื่องจากมีอัตราการเคลื่อนของอสุจิต่ำกว่า 70% ไม่ผ่านเกณฑ์ของมาตรฐานการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ (รพีพรรณ, 2551)

Table 1 Effect of substitution of seminal plasma on sperm quality before freezing (means±SE)

Parameter	control	substitution of seminal plasma
Motility (%)	56.3±2.7	60.8±3.8
live sperm (%)	76.6±1.7	77.9±1.8
HOS-test (%)	81.1±0.9	80.1±0.7

น้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็งพบว่าการเปลี่ยนเซมินอลพลาสมาไม่ส่งผลต่อ อัตราการเคลื่อนที่ ความเร็วในการเคลื่อนที่ คือ VAP, VSL, VCL, และลักษณะการเคลื่อนที่ LIN, ALH และ BCF (P>0.05) แต่มีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า จำนวนอสุจิมีชีวิต และความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิ สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา (P<0.05) ดังแสดงใน Table 2 ซึ่งน้ำเชื้อในกลุ่มที่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมามีอัตราการเคลื่อนที่ภายหลังการแช่แข็งตามค่ามาตรฐานตามข้อกำหนดของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ในการผลิตน้ำเชื้อโคแช่แข็งที่กำหนดให้มีอัตราการเคลื่อนที่ภายหลังการแช่แข็งไม่น้อยกว่าร้อยละ 40 (รพีพรรณ, 2551) และตามประกาศกรมปศุสัตว์ กำหนดให้น้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็งโค ต้องมีตัวอสุจิมีชีวิตไม่ต่ำกว่า 8 ล้านตัวในหนึ่งโด๊ส (กรมปศุสัตว์, 2560) กลุ่มที่ไม่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมามีตัวอสุจิมีชีวิตหลังการแช่แข็ง มีตัวอสุจิมีชีวิตประมาณ 6.5 ล้านตัว (ไม่ผ่านเกณฑ์ตามประกาศกรมปศุสัตว์) แต่กลุ่มที่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา มีตัวอสุจิมีชีวิตประมาณ 8.3 ล้านตัว (ผ่านเกณฑ์ตามประกาศกรมปศุสัตว์)

Table 2 Effect of substitution of seminal plasma on sperm quality post-thawing (means±SE)

Parameter	control	substitution of seminal plasma
Motile (%)	32.3±2.9	41.6±4.7
Progressive (%)	7.0 [a]±1.1	14.0 [b]±3.2
live sperm (%)	43.7 [a]±3.2	55.4 [b]±4.9
HOS-test (%)	37.6 [a]±3.0	48.8 [b]±4.5
VAP (μm/s)	54.8±3.5	56.5±3.5
VSL (μm/s)	41.1±2.3	44.4±2.7
VCL (μm/s)	103.2±6.7	104.3±5.5
ALH (Hz)	7.9±1.6	6.2±0.3
BCF (Hz/s)	25.1±2.8	24.4±1.0
LIN (%)	43.8±1.0	45.2±1.6

[a,b] Different superscripts within the same row demonstrate significant differences $p<0.05$

Taylor (1991) กระบวนการแช่แข็งน้ำเชื้อโคจะสร้างความเสียหายแก่อสุจิในขั้นตอนการปรับสมดุลและการลดอุณภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งซึ่งจะส่งผลทำให้อสุจิสูญเสียคุณสมบัติบางประการหรือตายได้ โดยความเสียหายดังกล่าวจะเกิดขึ้นประมาณร้อยละ 40-60 ซึ่งจากการทดลองในครั้งนี้พบว่ากลุ่มที่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมามีอัตราการสูญเสียเฉลี่ยประมาณร้อยละ 40 ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มไม่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา ในขณะที่อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของกลุ่มที่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา (14.0±3.2) สูงกว่า ($P<0.05$) กลุ่มไม่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา (7.0±1.1) จำนวนอสุจิมีชีวิตของกลุ่มที่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา (55.4±4.9) สูงกว่า ($P<0.05$) กลุ่มไม่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา (43.7±3.2) และความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิของกลุ่มที่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา (48.8±4.5) สูงกว่า ($P<0.05$) กลุ่มไม่เปลี่ยนเซมินอลพลาสมา (37.6±3.0) ดังนั้น เมื่อทำการเปลี่ยนเซมินอลพลาสมาจึงทำให้อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า อัตราการรอดชีวิตและอัตราความสมบูรณ์เยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิภายหลังการแช่แข็งดีขึ้น ทั้งนี้อาจเกิดจากองค์ประกอบที่แตกต่างกันของเซมินอลพลาสมาของพ่อพันธุ์แต่ละตัว โดย Sarsaifi et al. (2015) รายงานว่าในเซมินอลพลาสมาในน้ำเชื้อที่มีคุณภาพดีประกอบด้วยโปรตีน Binder of sperm 1 (BSP1), Tissue inhibitor of metalloproteinases 2 (TIMP-2) และ Phospholipase A_2 (PLA_2) ซึ่งโปรตีนดังกล่าวช่วยรักษาสภาพสมดุลของเหลวภายในและ

ภายนอกเซลล์อสุจิได้ดี สามารถลดความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ให้อัตราการรอดชีวิตภายหลังการแช่แข็งของตัวอสุจิเพิ่มขึ้น นอกจากนี้อาจเป็นผลจากองค์ประกอบอื่นที่มีอยู่ในเซมินอลพลาสมา เช่น ไบคาร์บอเนต ซิเตรท น้ำตาลฟรุคโตส สเปอร์มีน อิเลคโทรไลท์ต่างๆ ไขมัน และแร่ธาตุ (Bearden et al., 2004) ที่ช่วยในการรักษาการเมทาบอลิซึ่มของอสุจิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าออสโมลาร์ลิตี้ที่เหมาะสม และมีผลต่อการมีชีวิตของอสุจิ (Maxwell et al., 2007; Asadpour, 2012; Goerick et al., 2015) และเมื่อเติมสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ egg-yolk tris buffer ที่ประกอบด้วยสารป้องกันการแข็งตัว การเกิด Cold Shock (egg-yolk) สารปรับความเป็นกรด-ด่าง (Tris, Citric acid) และสารให้พลังงาน (Fructose) ซึ่งเป็นจุดที่มีการเปลี่ยนแปลงค่าออสโมลาร์ลิตี้ที่มีความแตกต่างเพิ่มขึ้นมากกว่า 10 เท่า เซมินอลพลาสมาที่มีองค์ประกอบที่เหมาะสมจึงมีส่วนสำคัญในการรักษาความสมบูรณ์ของผนังเซลล์และอะโครไซม การเคลื่อนที่ของอสุจิ ความแข็งแรงของอสุจิ และความมีชีวิตรของอสุจิ (Vidal et al., 2013)

สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาสรุปได้ว่าการเปลี่ยนเซมินอลพลาสมาจากโคพ่อพันธุ์ที่มีคุณภาพน้ำเชื้อที่ดี ให้กับน้ำเชื้อของโคพ่อพันธุ์ที่มีคุณภาพไม่ดี สามารถทำให้อัตราการรอดชีวิต อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิภายหลังการแช่แข็งในโคพ่อพันธุ์ดีขึ้น ซึ่งเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถเพิ่มคุณภาพและปริมาณน้ำเชื้อแช่แข็งสำหรับบริการผสมเทียมให้เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกรเพื่อการปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2560. ประกาศกรมปศุสัตว์ เรื่อง การรีดเก็บ และผลิตน้ำเชื้อสำหรับผสมพันธุ์สัตว์ พ.ศ. 2560. Available source : file:///C:/Users/acer/Downloads/3_001.PDF . 1 สิงหาคม 2563.

กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2562. ข้อมูลเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์และโคเนื้อรายจังหวัด ปีงบประมาณ พ.ศ. 2562. Available source : http://ict.dld.go.th/webnew/images/stories/stat_web/yearly/2562/country/2---cattle.pdf , 1 สิงหาคม 2563.

รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล. 2551. คู่มือการปฏิบัติงาน การควบคุมคุณภาพน้ำเชื้อพ่อพันธุ์ผสมเทียม (Quality control of livestock semen for artificial insemination). ม.ป.ท

Asadpour, R. 2012. Relationship between mineral composition of seminal plasma and semen quality in various ram breeds. Acta Scientiae Veterinariae 40(2): 1027.

Bearden, H.J., J.W. Fuquay and S.T. Willard. 2004. Applied Animal Reproduction. 6th ed. New Pearson Education, Inc., Uppersaddle River, NJ.

Cancel, A.M., D.A. Chapman and G.J. Killian. 1997. Osteopontin is the 55-kilodalton fertility-associated protein in Holstein bull seminal plasma. Biol. Biology of Reproduction 57: 1293-1301.

Dott, H.M. and G.C. Foster. 1972. A technique for studying the morphology of mammalian spermatozoa which are eosinophilic in a differential live/dead stain. Journal Reproduction and Fertility 29:443- 445.

Goericke-Pesch, S., S. Hauck, K. Failing and A. Wehrend. 2015. Effect of seminal plasma vesicular structures in canine frozen-thawed semen. Theriogenology 84(9): 1490–1498.

Juyena, N.S. and C. Stelletta. 2012. Seminal plasma: An essential attribute to spermatozoa. Journal of Andrology 33(4): 536-551.

Maxwell, W.M.C, S.P. de Graaf, R-H. Ghaoui and G. Evan. 2007. Seminal plasma effects on sperm handling and female infertility. DOI: 10.5661/RDR-VI-13.

Moura, A.A., H. Koc., D.A. Chapman and G.J. Killian. 2006. Identification of proteins in the accessory sex gland fluid associated with fertility indexes of dairy bulls: a proteomic approach. Journal of Andrology 27: 201-211.

Odhiambo, J.F. and R.A. Dailey. 2011. Characterization of proteins in cryopreserved and non-cryopreserved seminal plasma of dairy bulls of differing fertility. Open Journal of Animal Sciences. 1: 33-40.

Patel, M., V.K. Gandotra, R.S. Cheema, A.K. Bansal and A Kumar. 2016. Seminal plasma heparin binding proteins improve semen quality by reducing oxidative stress during cryopreservation of cattle bull semen. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 29(9): 1247-1255.

Revell, S.G. and R.A. Mrode. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. Animal Reproduction Science 36(1):77-86.

Sarsaifi, K., J. Vejayan, A.W. Haron, R. Yusoff, H. Hani, M. Rasol., M.A. Omar and A.M. Othman. 2015. Protein profile and functionality of spermatozoa from two semen collection methods in Bali bulls. Livestock Science 172: 96–105.

Taylor, J. 1991. Bovine Semen Collection and Processing Techniques. 2nd ed. Canadian Association of Animal Breeders. International Livestock Management Schools. pp. 132.

Vidal, A.H., A.M. Batista, E.C.B. Silva, W.A. Gomes, M.A. Pelinca, S.V. Silva and M.M.P. Guerra. 2013. Soybean lecithin-based extender as an alternative for goat sperm cryopreservation. Small Ruminant Research 109: 47-51.