ห้องสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัย

เรื่อง

การเคลื่อนไหวของอสุจิและอสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อกระต่ายที่เจือจางด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงและไข่แดง-ซิเตรต

Motility and Live Sperm of Tris buffered-Yolk and Yolk-Citrate Diluted Rabbit Semen

T100846

โดย

สมศักดิ์ บัณฑุชัย

ทรงศักดิ์ ดันพิพัฒน์

RCH
SF
A5A-2
ส282ก

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....100846
วัน,เดือน,ปี.....22 JUN2009

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเคลื่อนไหวของอสุจิและอสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อกระต่ายที่เจือจางด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงและไข่แดง-ซิเตรต

Motility and Live Sperm of Tris buffered-Yolk and Yolk-Citrate Diluted Rabbit Semen

โดย

สมศักดิ์ บัณฑุชัยและทรงศักดิ์ ดันพิพัฒน์

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

บทคัดย่อ

การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและอสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อกระต่ายที่เจือจางด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง-ซิเตรต (20 % ไข่แดง-ซิเตรต และ 40 % ไข่แดง-ซิเตรต) ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 5° C วางแผนการทดลองแบบ 3 × 5 Factorial Experiment in Completely Randomized Disign มี 5 ซ้ำ ผลการศึกษาพบว่า น้ำเชื้อมีเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิที่สูงตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา 30 ชั่วโมง เมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และสูงกว่าการใช้สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ภายหลังการเก็บรักษาตั้งแต่ 18 ชั่วโมง ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต ให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง - ซิเตรต แต่มีแนวโน้มสูงกว่าเล็กน้อยเมื่อเก็บรักษาเชื้อไว้ 30 ชั่วโมง นอกจากนั้นแล้วยังพบว่าเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตเมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตรแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ 18 ชั่วโมง แต่ภายหลังการเก็บรักษาตั้งแต่ 24 ชั่วโมง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ให้เปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต ให้เปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรตทุกช่วงอายุการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
สารบาญตาราง	(2)
สารบาญภาพ	(3)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	6
ผลการทดลอง	9
วิจารณ์	13
สรุป	15
เอกสารอ้างอิง	16
ภาคผนวก	18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบทางเคมีบางอย่างในน้ำเชื้อกระต่ายและโค	2
2	ส่วนประกอบของสารเจือจางน้ำเชื้อกระต่ายสูตรต่าง ๆ	7
3	แสดงผลเฉลี่ยเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต เนื่องจากอิทธิพลของสารเจือจางน้ำเชื้อเมื่อคิดเฉลี่ยจากทุกช่วงอายุการเก็บรักษา	11
4	แสดงผลเฉลี่ยเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต เนื่องจากอิทธิพลของอายุการเก็บรักษาเมื่อคิดเฉลี่ยจากสารเจือจางน้ำเชื้อทุกสูตร	11
5	แสดงเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต ภายหลังเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตรในแต่ละช่วงอายุการเก็บรักษา	12

สารบาญตารางผนวก

ตารางผนวกที่		
1	ผลวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ ภายหลังเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง	19
2	ผลวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต ภายหลังเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ

ภาพผนวกที่		หน้า
1	การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ เมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง	21
2	การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต เมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเคลื่อนไหวของอสุจิและอสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อกระต่ายที่เจือจางด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงและไข่แดง-ซิเตรต

Motility and Live Sperm of Tris buffered-Yolk and Yolk-Citrate Diluted Rabbit Semen

คำนำ

การเจือจางน้ำเชื้อนั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำเชื้อสำหรับฉีดให้กับแม่กระต่ายได้มากตัวขึ้น และอาจจะเก็บรักษาไว้ในช่วงเวลาหนึ่ง (ในสภาพน้ำเชื้อเหลวหรือน้ำเชื้อแช่แข็ง) ขึ้นอยู่กับสารเจือจางน้ำเชื้อที่ใช้ โดยทั่วไปน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.9 % ต้องนำไปฉีดให้กับแม่กระต่าย ในช่วงเวลาสั้น ๆ ภายหลังการเจือจาง แต่ถ้าจะเก็บรักษาไว้ในช่วงเวลาหนึ่งที่อุณหภูมิ 5 °C จำเป็นต้องใช้สารเจือจางน้ำเชื้อที่มีคุณสมบัติเหมาะสมคือสามารถยืดอายุเซลล์อสุจิในขณะเก็บรักษา ซึ่งสารเจือจางน้ำเชื้อดังกล่าวที่ใช้ในสัตว์เลี้ยงประเภทต่าง ๆ และกระต่ายมีอยู่ด้วยกันหลายสูตร แต่ผลที่มีต่อการเคลื่อนไหวของอสุจิและอสุจิมีชีวิตในขณะเก็บรักษายังมีรายงานน้อยมาก การทดลองครั้งนี้ จึงมุ่งศึกษาสารเจือจางน้ำเชื้อที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป และมีแนวโน้มที่จะมีผลดีต่อการเก็บรักษา ได้แก่ สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง - ซิเตรต เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้สารเจือจางน้ำเชื้อและระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เหมาะสม

<u>วัตถุประสงค์</u>

เพื่อเปรียบเทียบการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและอสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อกระต่ายที่เจือจางด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง-ซิเตรต อายุการเก็บรักษา 0 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ลักษณะและองค์ประกอบของน้ำเชื้อกระต่าย

Paufler และ Mitautoren (1974) รายงานว่า น้ำเชื้อกระต่ายที่หลั่งออกมาแต่ละครั้ง มีปริมาตร 0.2-3.0 ซีซี ความเข้มข้นของอสุจิ 100-1000 x 10^6/ซีซี อสุจิที่เคลื่อนตรงไปข้างหน้า 40-80 % โดยน้ำเชื้อที่จะนำมาใช้ในงานผสมเทียม ควรมีอสุจิที่เคลื่อนตรงไปข้างหน้า 70 % หรือมากกว่านั้น สำหรับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) เท่ากับ 6.9 หรืออยู่ในช่วง 6.59-7.5 ซึ่งมีแนวโน้มสูงกว่าในโค (6.48-6.88) เล็กน้อย (Cole, 1977)

ในด้านองค์ประกอบทางเคมีของน้ำเชื้อกระต่ายพบว่า ฟรุคโตส และกรดซิตริค ในกระต่ายโตเต็มวัยมีค่าเฉลี่ย 292 ± 48.7 และ 178.0 ± 27.5 มก.ต่อ 100 ซีซี ตามลำดับ (Skinner, 1967) เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีบางอย่างระหว่างน้ำเชื้อกระต่ายและน้ำเชื้อโค พบว่าในน้ำเชื้อกระต่ายมีกลูโคส ฟรุคโตส ซอบิตอล กรดซิตริค กลีเซอรีลฟอสฟอรีล-โคลีน ไบคาร์บอเนต โปแตสเซียม และโซเดียม น้อยกว่าน้ำเชื้อโค ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบทางเคมีบางอย่างในน้ำเชื้อกระต่ายและโค (มก.ต่อ 100 ซีซี)

ส่วนประกอบทางเคมี	กระต่าย	โค
กลูโคส [1/]	น้อยมาก	300
ไบคาร์บอเนต [1/]	-	16
โปแตสเซียม [1/]	29	172
โซเดียม [1/]	82	258
ฟรุคโตส [2/]	40-150	120-540
ซอบิตอล [2/]	80	10-136
กลีเซอรีลฟอสฟอรีลโคลีน [3/]	280	350
กรดซิตริค [3/]	110-550	720

ที่มา : 1/ Weisbroth (1974); 2/ Cole(1977); 3/ White(1958)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเจือจางและการเก็บรักษาน้ำเชื้อกระต่าย

Bearden และ Fuquay (1980) ได้รายงานถึงสารเจือจางน้ำเชื้อว่าควรมีคุณสมบัติที่ดี ดังนี้

1. ต้องมีสภาพเป็น isotonic ต่อน้ำเชื้อ เช่น 2.9 % โซเดียมซิเตรต ไดไฮ-เตรต

2. สามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง โดยทำให้สภาพกรดที่เกิดจากเมตาบอลิซึมของอสุจิเป็นกลาง (buffering capacity) เช่น สารละลายโซเดียมซิเตรตที่เป็น isotonic

3. ต้องป้องกันอสุจิมิให้ช็อคเนื่องจากความเย็น (cold shock) ระหว่างการลดอุณหภูมิจากอุณหภูมิร่างกายเหลือ 5 °C เช่น เลซิธิน (lecithin) และโปรตีนไขมัน (lipoprotein) จากไข่แดงหรือน้ำนม

4. ต้องมีโภชนะสำหรับเมตาบอลิซึมของอสุจิ เช่นไข่แดง น้ำนม และน้ำตาล (simple sugar) บางชนิด

5. สามารถควบคุมการติดเชื้อจุลินทรีย์ได้ เช่น ยาปฏิชีวนะที่นิยมใช้ ได้แก่ เพนิซิล-ลิน และสเตรปโตมัยซิน

6. สามารถป้องกันอสุจิไม่ให้เกิดอันตรายระหว่างการแช่แข็งหรือการละลาย เช่น กลีเซอรอล ไดเมธิล ซัลฟอกไซด์

7. สามารถยืดอายุการเก็บรักษา โดยให้มีการลดความสมบูรณ์พันธุ์น้อยที่สุด

Salisbury และคณะ(1978) รายงานว่า มีการใช้สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1941 ซึ่งสารเจือจางน้ำเชื้อดังกล่าวเมื่อนำมาใช้กับน้ำเชื้อโค และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 °C พร้อมกับนำไปฉีดให้แม่โคในช่วงอายุการเก็บรักษา น้ำเชื้อ 1 2 3 และ 4 วัน ให้ผลการไม่กลับเป็นสัด (non return) 74 68 62 และ 60 % ตามลำดับ (Hayden และคณะ, 1960 อ้างโดย Salisbury และคณะ, 1978) สำหรับสัดส่วนไข่แดง : ซิเตรต เมื่อนำมาใช้เก็บรักษาในสภาพน้ำเชื้อเหลวคือ 1:1 (Bearden และ Fuquay ,1980) หรือ 40:60 (% โดยปริมาตร) (Sorensen, 1979) แต่เมื่อนำมาใช้เก็บรักษาในสภาพน้ำเชื้อแช่แข็งสัดส่วนที่ใช้คือ 20:80:(% โดยปริมาตร) (Bearden และ Fuquay, 1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Adams (1981) รายงานว่า น้ำเชื้อกระต่ายที่หลั่งออกมาแต่ละครั้ง โดยไม่มีการเติมสารเจือจางน้ำเชื้อและนำไปเก็บรักษาไว้ อสุจิอาจจะไม่มีการเคลื่อนไหว (immotile)ภายใน 15 นาที และตายลง ดังนั้นสารเจือจางน้ำเชื้อที่ใช้นอกจากจะเพิ่มปริมาตรน้ำเชื้อที่จะฉีดให้กับกระต่ายเพศเมียแล้ว ยังช่วยเก็บรักษาอสุจิให้มีชีวิตนานขึ้น อสุจิกระต่ายสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นเวลาหลายชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง และหลายวันถ้าเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 °C โดย Paufler และ Mitautoren (1974) รายงานว่า ถ้าต้องการเก็บรักษาน้ำเชื้อเป็นเวลาหลายชั่วโมงหรือหลายวัน จำเป็นต้องใช้สารเจือจางน้ำเชื้อที่มีสารละลายบัฟเฟอร์กับไข่แดงหรือใช้น้ำนม อย่างไรก็ตามสารเจือจางน้ำเชื้อที่แนะนำให้ใช้คือ สูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ซึ่งสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ได้เป็นเวลา 2 วัน โดยยังคงให้ผลที่ดีอยู่

<u>คุณสมบัติของสารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของสารเจือจางน้ำเชื้อ</u>

โซเดียมซิเตรต ไดไฮเดรต มีสูตรทางเคมีคือ $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ ในสภาพสารละลายที่มีความเข้มข้น 2.9 % มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ มีหน้าที่ทำให้ของเสียที่ปลดปล่อยออกมาโดยอสุจิ เนื่องจากขบวนการเมตาบอลิซึม โดยเฉพาะกรดแลคติคให้เป็นกลาง นอกจากนั้นแล้วยังมีคุณสมบัติเป็น isctonic ต่อน้ำเชื้อด้วย (Sorensen, 1979)

ไข่แดงมีส่วนประกอบที่เป็น เลซิธิน และไปรตีนไขมัน ที่มีคุณสมบัติในการป้องกันไม่ให้อสุจิช็อค เนื่องจากความเย็น นอกจากนั้นแล้วยังเป็นแหล่งให้โภชนะสำหรับเมตาบอลิซึมของอสุจิ (Bearden และ Fuquay, 1980)

กลูโคส มีสูตรทางเคมี คือ $C_6H_{12}O_6$ เป็นแหล่งให้พลังงานต่อเซลล์อสุจิ เช่นเดียวกับฟรุคโตส (Salisbury และคณะ, 1978)

กรดซิตริค (โมโนไฮเดรต) มีสูตรทางเคมี คือ $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ มีคุณสมบัติในการปรับค่าความเป็นกรดด่างของสารเจือจางน้ำเชื้อ (Salisbury และคณะ, 1978)

ทริส (TRIS) มีสูตรทางเคมีคือ $C_4H_{11}NO_3$ มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ในสารเจือจางน้ำเชื้อ (Bearden และ Fuquay, 1980)

ไดเมธิล ซัลฟอกไซด์ มีสูตรทางเคมีคือ $(CH_3)_2SO$ เป็นอินทรีย์สารที่มีลักษณะเป็นของเหลว มีคุณสมบัติเป็น Salt-buffering capacity สามารถซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ได้อย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวดเร็ว นอกจากนั้นยังมีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็ง (Cryoprotectant) เช่นเดียวกับกลีเซอรอล (glycerol) โดยจะมีประสิทธิภาพมากที่สุดในระหว่างการแช่แข็งอย่างช้า ๆ (Bearden และ Fuquay,1980)

ยาปฏิชีวนะ เพนิซิลลิน และสเตรปโตมัยซิน ใช้ในการควบคุมการติดเชื้อจุลินทรีย์ในสารเจือจางน้ำเชื้อ (Bearden และ Fuquay, 1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พ่อกระต่ายโตเต็มวัยและให้คุณภาพน้ำเชื้อดีจำนวน 5 ตัว
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการรีดเก็บน้ำเชื้อ ตามรายงานของสมศักดิ์ (2528)
3. อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อ เจือจางน้ำเชื้อและเก็บรักษาน้ำเชื้อ

วิธีการ

1. แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบ 3 × 5 Factorial Experiment in Completely Randomized Design สิ่งทดลองประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัย A เป็นสูตรสารเจือจางน้ำเชื้อ และปัจจัย B เป็นอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ โดยที่

ปัจจัย A : a_1 คือ สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง

a_2 คือ สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต

a_3 คือ สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรต

ปัจจัย B : b_1 น้ำเชื้อภายหลังการเติมสารเจือจางน้ำเชื้อแล้วนำมาตรวจคุณภาพทันทีหรือมีอายุการเก็บรักษา 0 ชั่วโมง

b_2 คือ อายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ 12 ชั่วโมง

b_3 คือ อายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ 18 ชั่วโมง

b_4 คือ อายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ 24 ชั่วโมง

b_5 คือ อายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ 30 ชั่วโมง

การทดลองครั้งนี้มี 15 combination แต่ละ combination มี 5 ซ้ำ

2. การทดลอง

2.1 รีดเก็บน้ำเชื้อจากพ่อกระต่าย โดยน้ำเชื้อที่ได้จากพ่อกระต่ายแต่ละตัว(1 ซ้ำ) นำมาวัดปริมาตรน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้ แล้วตรวจหาการเคลื่อนไหวเป็นหมู่ การเคลื่อนไหวรายตัว ความเข้มข้นอสุจิ และเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตและไม่มีชีวิต หลังจากนั้นจึงแบ่งน้ำเชื้อออกเป็น 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงส่วนประกอบของสารเจือจางน้ำเชื้อกระต่ายสูตรต่าง ๆ

ส่วนประกอบ		สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร		
		1 1/	2 2/	3 3/
โซเดียมซิเตรต ไดไฮเดรต (Sodium citrate dihydrate) 2.9 %,	ซีซี	-	80	60
ทริส อมิโน มีเธน (Tris amino methane),	กรัม	3.028	-	-
ซิตริค แอซิด โมโนไฮเดรต (Citric acid monohydrate),	กรัม	1.675	-	-
ดี-กลูโคส โมโนไฮเดรต (D-glucose monohydrate),	กรัม	1.250	-	-
ไดเมธิล ซัลฟอกไซด์ (DMSO, Dimethyl sulphoxide),	ซีซี	15	-	-
น้ำกลั่น,	ซีซี	85	-	-
ไข่แดง (Egg yolk),	ซีซี	20	20	40
เพนิซิลลิน (Penicillin), หน่วยสากล/100 ซีซี		100,000	100,000	100,000
สเตรปโตมัยซิน (Streptomycin), กรัม/100 ซีซี		0.1	0.1	0.1

1/ หมายถึง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร ทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง

2/ หมายถึง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต

3/ หมายถึง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนเท่า ๆ กัน โดยน้ำเชื้อแต่ละส่วนเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตร ให้มีความเข้มข้นอสุจิเท่า ๆ กัน คือ 20×10^6 เซลล์ต่อซีซี

2.2 นำน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตร มาตรวจหาการเคลื่อนไหวรายตัว และเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต เสร็จแล้วจึงนำน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วส่วนที่เหลือไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5° C เพื่อรอการตรวจหาการเคลื่อนไหวรายตัว เปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต ในชั่วโมงที่ 12 18 24 และ 30 ต่อไป

3. การบันทึกข้อมูล

3.1 บันทึกการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต ก่อนเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตร

3.2 บันทึกการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต ภายหลังการเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อทันที และ อายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อในชั่วโมงที่ 12 18 24 และ 30

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูล การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต นำมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ Analysis of variance และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ตามวิธีของ จรัญ (2523)

5. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการผสมเทียม ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

6. ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่ วันที่ 9 กุมภาพันธ์ 2532 ถึงวันที่ 16 กุมภาพันธ์ 2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

<u>อิทธิพลของสารเจือจางน้ำเชื้อที่มีต่อการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและอสุจิมีชีวิต</u>

เมื่อพิจารณาอิทธิพลของสารเจือจางน้ำเชื้อ (ตารางที่ 3) ผลปรากฏว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและอสุจิมีชีวิตสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต และ 40 % ไข่แดง-ซิเตรตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยให้การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ 80.6 55.0 และ 50.4 % และให้อสุจิมีชีวิต 89.9 83.0 และ 84.7 % ตามลำดับ สำหรับสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต ให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและอสุจิมีชีวิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรต

<u>อิทธิพลของอายุเก็บรักษาที่มีต่อการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและอสุจิมีชีวิต</u>

เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลของอายุเก็บรักษา (ตารางที่ 4) ผลปรากฏว่า เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและอสุจิมีชีวิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างอายุเก็บรักษา 0 และ 12 ชั่วโมง แต่เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ตั้งแต่ 18 ชั่วโมง มีผลทำให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและอสุจิมีชีวิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยน้ำเชื้อเมื่อเก็บรักษาไว้ 0 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง มีการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ 82.0 79.9 70.7 44.0 และ 33.7 % และ อสุจิมีชีวิต 93.2 92.5 89.0 79.0 และ 75.3 % ตามลำดับ

<u>อิทธิพลของสารเจือจางน้ำเชื้อและอายุเก็บรักษาที่มีต่อการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและอสุจิมีชีวิต</u>

เมื่อพิจารณาอิทธิพลของสารเจือจางน้ำเชื้อ และอายุเก็บรักษา (ตารางที่ 5) ซึ่งเป็นการแสดงผลรวมของสารเจือจางน้ำเชื้อทุกสูตรและอายุเก็บรักษาทุกช่วง ผลปรากฏว่า สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติตลอดช่วงอายุ 30 ชั่วโมงของการเก็บรักษา ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต และ 40 % ไข่แดง-ซิเตรต ให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ภายใน 12 ชั่วโมงของการเก็บรักษา แต่เมื่อเก็บรักษาไว้ตั้งแต่ 18 ชั่วโมง น้ำเชื้อมีเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิลดลง และต่ำกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงอย่างมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต มีแนวโน้มให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรต เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ 30 ชั่วโมง สำหรับทางด้านเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตนั้น พบว่า สารเจือจางน้ำเชื้อทุกสูตรให้เปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติภายใน 18 ชั่วโมง ของการเก็บรักษา และสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ยังคงให้เปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตเมื่อเก็บรักษาไว้ตั้งแต่ 24 ชั่วโมง แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติกับเมื่อเก็บรักษาไว้ 18 ชั่วโมง ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต และ 40 % ไข่แดง-ซิเตรต ให้เปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตลดลงและต่ำกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ตั้งแต่ 24 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต ให้เปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตแตกต่างกับสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรต อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติทุกช่วงอายุการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงผลเฉลี่ยเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต เนื่องจากอิทธิพลของสารเจือจางน้ำเชื้อเมื่อคิดเฉลี่ยจากทุกช่วงอายุการเก็บรักษา

สูตรสารเจือจางน้ำเชื้อ	การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ (%) [1/]	อสุจิมีชีวิต (%) [1/]
ทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง	80.6 ก	89.9 ก
20 % ไข่แดง-ซิเตรต	55.0 ข	83.0 ข
40 % ไข่แดง-ซิเตรต	50.4 ข	84.7 ข

1/ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีตัวอักษรแตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4 แสดงผลเฉลี่ยเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต เนื่องจากอิทธิพลของอายุการเก็บรักษา เมื่อคิดเฉลี่ยจากสารเจือจางน้ำเชื้อทุกสูตร

อายุการเก็บรักษา (ชั่วโมง)	การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ (%) [1/]	อสุจิมีชีวิต (%) [1/]
0	82.0 ก	93.2 ก
12	79.7 ก	92.5 ก
18	70.7 ข	89.0 ข
24	70.7 ค	79.0 ค
30	33.7 ง	75.3 ง

1/ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีตัวอักษรแตกต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 แสดงเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต ภายหลังเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตร ในแต่ละช่วงอายุการเก็บรักษา

	อายุการเก็บรักษา (ชั่วโมง)	และสูตรสารเจือจางน้ำเชื้อ[1/]	การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ[2/] (%)	อสุจิมีชีวิต[2/] (%)
1.	0	สูตร 1	82.0 ก	94.4 ก
2.	0	สูตร 2	82.0 ก	93.0 ก
3.	0	สูตร 3	82.0 ก	92.2 กข
4.	12	สูตร 1	82.0 ก	94.2 ก
5.	12	สูตร 2	77.0 ก	91.8 กข
6.	12	สูตร 3	80.0 ก	91.6 กข
7.	18	สูตร 1	82.0 ก	90.8 กขค
8.	18	สูตร 2	66.0 ข	87.8 กขค
9.	18	สูตร 3	64.0 ข	88.4 กขค
10.	24	สูตร 1	79.0 ก	85.8 ขค
11.	24	สูตร 2	34.0 ค	74.4 ง
12.	24	สูตร 3	19.0 ง	77.6 ง
13.	30	สูตร 1	78.0 ก	84.2 ค
14.	30	สูตร 2	16.0 งจ	68.0 จ
15.	30	สูตร 3	7.0 จ	73.6 งจ

1/ สูตร 1 2 และ 3 หมายถึง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง 20 % ไข่แดง-ซิเตรต และ 40 % ไข่แดง-ซิเตรต ตามลำดับ

2/ ค่าเฉลี่ยในคอลัมน์เดียวกันที่มีตัวอักษรแตกต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารเจือน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง มีเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิที่ดีกว่าและอายุการเก็บรักษาที่นานกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ทั้งนี้น่าจะมาจากผลของความเป็นกรดด่างและสารให้พลังงาน ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเคลื่อนไหวของอสุจิ (Salisbury และคณะ, 1978 และ Bearden และ Fuquay, 1980) โดยน้ำเชื้อในขณะเก็บรักษายังคงมีเมตาบอลิซึมอยู่ (ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน) และมีกรดแลคติคเกิดขึ้น ทำให้ความเป็นกรดด่างของน้ำเชื้อลดต่ำลงจึงกลับมามีผลเสียต่อการเคลื่อนไหวของอสุจิ (Bearden และ Fuquay, 1980) แต่เนื่องจากสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง นั้นมีคุณสมบัติในการเป็นบัฟเฟอร์ที่ดีกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต (Salisbury และคณะ, 1978) การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างจึงน่าจะมีน้อยกว่า จึงมีผลให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิที่ดีตลอดการทดลอง ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรตนั้น มีเพียงโซเดียม-ซิเตรตเป็นบัฟเฟอร์เพียงอย่างเดียว ซึ่งอาจจะไม่เพียงพอต่อการป้องกันการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานาน สังเกตได้จากเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิลดต่ำลงภายหลังการเก็บรักษาตั้งแต่ 18 ชั่วโมง ส่วนในเรื่องของสารให้พลังงานนั้น โดยปกติน้ำเชื้อกระต่ายมีสารให้พลังงานแต่ละตัวเป็นปริมาณค่อนข้างน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับในน้ำเชื้อโค (White, 1958; Weisbroth, 1974; Cole, 1977) จึงทำให้การเก็บรักษาน้ำเชื้อกระต่าย ด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ได้ผลไม่ดีเท่ากับน้ำเชื้อโค ส่วนสารเจือจางสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงนั้น นอกจากจะมีไข่แดงเป็นแหล่งพลังงานสำหรับเมตาบอลิซึมแล้ว ยังมีกลูโคสอยู่อีกด้วย ซึ่งโดยปกติในน้ำเชื้อกระต่ายมีกลูโคสอยู่น้อยมาก (Weisbroth, 1974) จึงทำให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวของอสุจิดีกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต

สำหรับสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรตทั้ง 2 สูตร ปรากฏว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต มีแนวโน้มให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิดีกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรตเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และจากการทดลองพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรต อสุจิมีการเคลื่อนไหวรายตัวแบบวงกลม และแบบสั่น จึงทำให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวมีแนวโน้มต่ำกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารเจือจางน้ำเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตร 40% ไข่แดง-ซิเตรตมีความเข้มข้นของบัฟเฟอร์เป็น hypotonic สำหรับน้ำเชื้อเพราะถ้าสภาพของสารเจือจางน้ำเชื้อไม่เป็น isotonic แล้ว จะพบว่าอสุจิหางจะงอโค้ง และมีการเคลื่อนไหวเป็นวงกลม (Foote, 1970. อ้างโดยSalibury และคณะ, 1978)

ทางด้านเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตเห็นได้ว่า น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง มีเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง มีแหล่งของพลังงานสำหรับอสุจิมากกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต โดยอสุจินั้นมีความต้องการพลังงานเพื่อการเคลื่อนไหวและการมีชีวิตของเซลล์ (Salisbury และคณะ, 1987) อย่างไรก็ตาม พบว่าเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตสูงกว่าเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิสอดคล้องกับรายงานของ Bearden และ Fuquay (1980) ที่ว่า เปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตจะสูงกว่าเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิเสมอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการศึกษาทดลองเปรียบเทียบอสุจิมีชีวิตและการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิระหว่างน้ำเชื้อกระต่ายที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง-ซิเตรต โดยเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 30 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 5 °C ปรากฏว่า

1. สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิที่สูงตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา 30 ชั่วโมง และสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ภายหลังการเก็บรักษาตั้งแต่ 18 ชั่วโมง ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิที่สูงภายใน 12 ชั่วโมงของการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามสารเจือจางน้ำเชื้อ 20 % ไข่แดง-ซิเตรต มีแนวโน้มให้เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรตเล็กน้อย เมื่อเก็บรักษาไว้ 30 ชั่วโมง

2. สารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตรให้เปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตที่สูงและแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเก็บรักษาไว้ 18 ชั่วโมง แต่ภายหลังการเก็บรักษาตั้งแต่ 24 ชั่วโมง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ให้เปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตที่สูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จรัญ จันทลักขณา. 2523. สถิติวิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช, กรุงเทพฯ. 468 น.

Adams, C.E. 1981. Artificial insemination in the rabbit: The technique and application to practice. J. Appl. Rabbit Res. 4(1):10-13.

Bearden, H.J. and J.W. Fuquay. 1980. Applied Animal Reproduction. Reston Publishing Company, Inc., Virginia. 337 p.

Cole, H.H. and P.T. Cupps. 1977. Reproduction in Domestic Animals. 3rd. ed., Academic press, New York. 665 p.

Foote, R.H. 1970. Fertility of bull semen at high extensive rate in tris buffered extenders. pp. 444. Cited by Salisbury, G.W., N.L. Van Demark and J.R. Lodge. 1978. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle. 2nd. ed., W.H. Freeman and Company, San Francisco. 798 p.

Hayden, J.S., H.P. Peterson and O.T.Stallcup. 1980. Fertility results form the use of bovine semen in a carbon dioxide extender. pp. 450. Cited by Salisbury. G.W., N.L. Van Demark and J.R. Lodge. 1978. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle. 2nd. ed., W.H. Freeman and Company, San Francisco. 798 p.

Paufler, S.K. and Mitautoren. 1974. Artificial Insemination and Transportation in Animal and Human. M & H. Schapper, Hannover. 13 p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Salisbury, G.W., N.L. Van Demark and J.R. Lodge. 1978. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle. 2nd.ed., W. H. Freeman and company, San Francisco. 798 p.

Skinner, J.D. 1967. Puberty in the male rabbit. J. Reprod. Fert. 14 : 151 - 154.

Sorensen, A.W. 1979. Animal Reproduction, Principles and Practices McGraw Hill Book company, New York. 496 p.

Weisbroth, S.H., E.Flatt and L.kraus. 1974. The Biology of the Laboratory Rabbit. Academic press, New York. 496 p.

White, I.G. 1958. Biochemical aspects of mammalian semen. Animal Breeding Abstr. 26:109-123.

100846

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิภายหลังเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-3 ชั่วโมง

SOV	df	SS	MS	F
Treatments	14	54,440	3,888.57	56.7674**
A	2	13,238	6,619.00	96.6277**
B	4	28,710	7,177.50	104.7810**
AB	8	12,490	1,561.50	22.7956**
Error	60	4,110	68.50	
Total	74	58,550		

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างผวกของเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ

T_{15}	T_{14}	T_{12}	T_{11}	T_9	T_8	T_5	T_{13}	T_{10}	T_6	$T_{1,2,3,4,7}$
7.0	16.0	19.0	34.0	64.0	66.0	77.0	78.0	79.0	80.0	82.0

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างอายุการเก็บรักษาของเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ

(30)	(24)	(18)	(12)	(0)
33.7	44.0	70.7	79.7	82.0

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสูตรสารเจือจางน้ำเชื้อของเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ

(สูตร 3)	(สูตร 2)	(สูตร 1)
50.4	55.0	80.6

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ไม่ได้อยู่บนเส้นตรงเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนค่าเฉลี่ยบนเส้นตรงเดียวกันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต ภายหลังเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง

SOV	df	SS	MS	F
Treatments	14	5,040.59	360.04	16.2107**
A	2	643.31	321.65	14.4802**
B	4	3,959.39	989.85	44.5609**
AB	8	437.89	54.74	2.4641*
Error	60	1,232.80	22.21	
Total	74			

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างพวกของเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต

T_{14}	T_{15}	T_{11}	T_{12}	T_{13}	T_{10}	T_8	T_9	T_7	T_6	T_5	T_3	T_2	T_4	T_1
68.0	73.6	74.4	77.6	84.2	85.8	87.8	88.4	90.8	91.6	91.8	92.2	93.0	94.2	94.4

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างอายุการเก็บรักษาของเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต

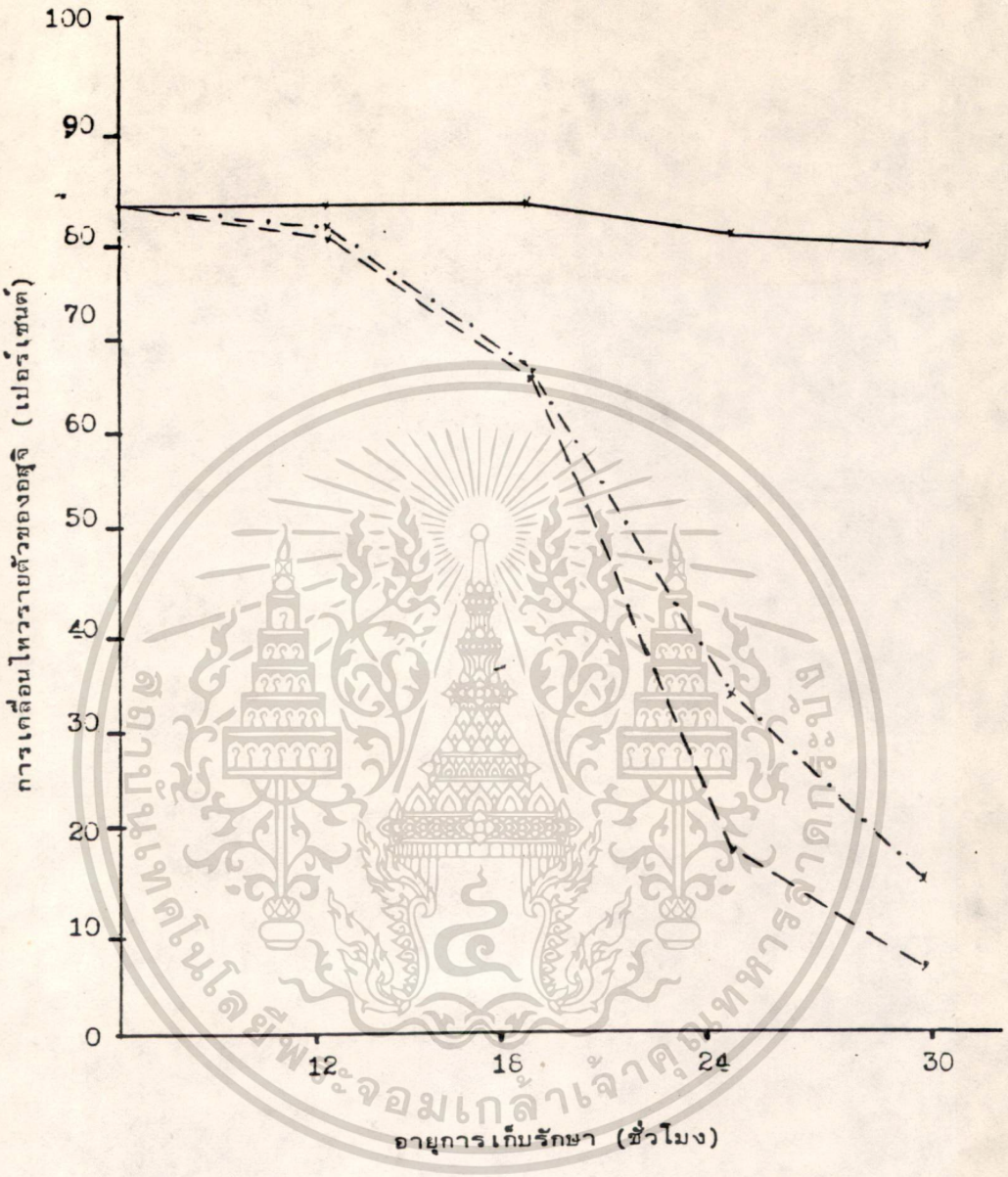
(30)	(24)	(18)	(12)	(0)
75.3	79.0	89.0	92.5	93.2

เปรียบเทียบความแตกต่างสูตรสารเจือจางน้ำเชื้อของเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต

(สูตร 2)	(สูตร 3)	(สูตร 1)
83.0	84.7	89.9

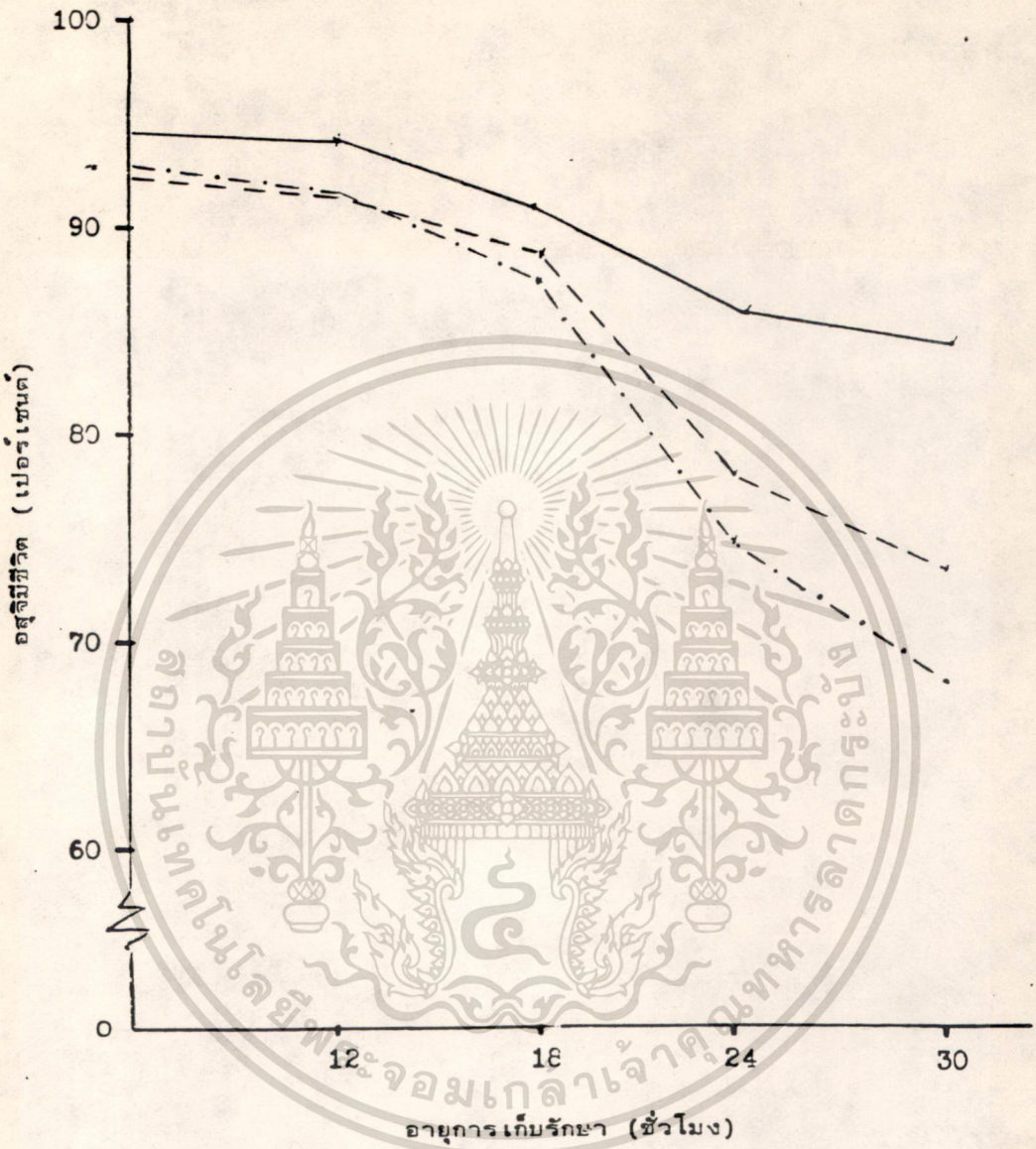
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ไม่ได้อยู่บนเส้นตรงเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ส่วนค่าเฉลี่ยบนเส้นตรงเดียวกันแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแปลง เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิเมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต เมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้