



575

ใบรับรองวิทยุหาติ เศษปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

เรื่อง

เปรียบเทียบอสุจิมิชีวิตและการเคลื่อนไหวของอสุจิระหว่างน้ำเชื้อกระต่ายที่เจือจาง
ด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงและไข่แดง-ซิเตรต
Comparison of Dead and Live Sperm and Motility between Tris
buffered-Yolk and The Yolk-Citrate Diluted Rabbit Semen

โดย

นาย วิชัย เหลืองกระจ่าง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

กรรมการ

กรรมการ

กรรมการ

กรรมการ

13662
27 พ.ย. 2547

ภาควิชารับรองแล้ว

(นายทรงศักดิ์ ศันทิพย์)

ปลน.
๐๖๑๙๗
๕๕๓

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในคณะสัตวแพทยศาสตร์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
เว้นแต่...เดือน...ปี...ค.ศ.
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



13662

โครงการสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

เปรียบเทียบอสุจิมิชีวิตและการเคลื่อนไหวของอสุจิระหว่างน้ำเชื้อกระด่ายที่เจือจาง

ด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงและไข่แดง-ซิเตรต

Comparison of Dead and Live Sperm and Motility between Tris

buffered-yolk and The Yolk-Citrate Diluted Rabbit Semen



T100724



โดย

นาย วินัย เหลืองกระจ่าง

เสนอ

พ.ศ.
๒๕๓๑
๒๕๓๑

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....**100724**
วันเดือนปี.....**21 JUN 2009**

ภาควิชา เทคโนโลยีการผลิตสัตว์

คณะ เทคโนโลยีการ เกษตร

สถาบัน เทคโนโลยีพระจอมเกล้า

เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

พ.ศ. ๒๕๓๑

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

เปรียบเทียบของอสุจิมิชีวิตและการเคลื่อนไหวของอสุจิระหว่างน้ำเชื้อกระต่ายที่เจือจาง

ด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงและไข่แดง-ซิเตรต

Comparison of Dead and Live Sperm and Motility between Tris buffered-Yolk and The Yolk-Citrate Diluted Rabbit Semen.

การศึกษาเพื่อเปรียบเทียบของอสุจิมิชีวิตและการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิระหว่างน้ำเชื้อกระต่ายที่เจือจางด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง-ซิเตรต (มี 2 สูตร คือ 20 % ไข่แดง-ซิเตรต และ 40 % ไข่แดง-ซิเตรต) ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ 3 x 5 Factorial Experiment in completely randomized design มี 5 ซ้ำ ซึ่งมีปัจจัย A คือ สารเจือจางน้ำเชื้อ และปัจจัย B คือ อายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ โดยรีดเก็บน้ำเชื้อจากพ่อกระต่าย 5 ตัว แล้วตรวจหาการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและจำนวนอสุจิมิชีวิต จากนั้นจึงแบ่งน้ำเชื้อเป็น 3 ส่วน แต่ละส่วนเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตร ให้มีความเข้มข้นอสุจิ (Insemination dose) 20×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยภายหลังการเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตรให้การเคลื่อนไหวของอสุจิเท่ากัน คือ 22 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอสุจิมิชีวิตเท่ากับ 94.4 93.0 และ 92.0 % เมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง สูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต และสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรต ตามลำดับ จากนั้นนำน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วด้วยสารเจือจางแต่ละสูตร ไปเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส แล้วนำมาตรวจหาการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และอสุจิมิชีวิตในชั่วโมงที่ 12 18 24 และ 30

ปรากฏว่า สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ให้การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิดีกว่า สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรตทั้ง 2 สูตรพบว่า สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต มีแนวโน้มให้การเคลื่อนไหวรายตัวที่ดีกว่า สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรต โดยมีการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิเท่ากับ 78 16 และ 7 % ของอายุการเก็บรักษา 30 ชั่วโมง เมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง สูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต และสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรต ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิระหว่างอายุการเก็บรักษาของแต่ละสูตร ปรากฏว่า สารเจือจาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำเชื้อสูตรทรีสตีฟเฟอร์-ไข่แดง อสุจิมีการเคลื่อนไหวรายตัวที่ติดตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา 30 ชั่วโมง แต่สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซีเตรต ให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ ลดลงภายหลังการเก็บรักษาตั้งแต่ 18 ชั่วโมง สำหรับการเปรียบเทียบอสุจิมิชีวิต ปรากฏว่า สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทรีสตีฟเฟอร์-ไข่แดง ให้เปอร์เซ็นต์อสุจิมิชีวิตสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซีเตรต ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ของอายุการเก็บรักษา ส่วนสารเจือจางสูตร 20 % ไข่แดง-ซีเตรต และสูตร 40 % ไข่แดง-ซีเตรต ให้เปอร์เซ็นต์อสุจิมิชีวิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอสุจิมิชีวิตเมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ 30 ชั่วโมง เท่ากับ 84.2 68.0 และ 73.6% เมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทรีสตีฟเฟอร์-ไข่แดง สูตร 20 % ไข่แดง-ซีเตรต และสูตร 40 % ไข่แดง-ซีเตรต ตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ในการทำปัญหาพิเศษเรื่อง การเปรียบเทียบอสุจิมีชีวิตและการเคลื่อนไหวของอสุจิ ระหว่างน้ำเชื้อกระด่ายที่เจือจางด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง-ซีเตรด ครั้งนี้ ได้รับความช่วยเหลือจากผู้ที่เกี่ยวข้องหลายฝ่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าพเจ้าขอขอบพระคุณท่านอาจารย์สมศักดิ์ บัณษุชัย และอาจารย์ทรงศักดิ์ ดันพิพัฒน์ ที่กรุณาให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ตลอดจนให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ แก้ปัญหาต่าง ๆ ตั้งแต่เริ่มต้นการทดลองจนกระทั่งเสร็จสิ้นการทดลอง นอกจากนี้ก็ขอขอบคุณ คุณวิรัชศักดิ์ วิระรักษ์เดชา ที่คอยให้ความช่วยเหลือในด้านการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูล และ ขอขอบพระคุณ อาจารย์ เจ้าหน้าที่และคณาจารย์ของคณะเทคโนโลยีการเกษตรทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในระหว่างที่ทำการศึกษาทดลอง

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้กำลังใจและครอบครัวที่เจริญโภคภัณฑ์ ที่ได้ให้ทุนในการศึกษาจนสำเร็จตามที่ได้ปรารถนาไว้

วินัย เหลืองกระจ่าง

มีนาคม 2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(2)
คำนำ	1
การตรวจ เอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	7
ผลการทดลองและวิจารณ์	12
สรุป	17
เอกสารอ้างอิง	18
ภาคผนวก	20



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบทางเคมีบางอย่างในน้ำเชื้อกระต่ายและโค	3
2	ส่วนประกอบของสารเจือจางน้ำเชื้อกระต่ายสูตรต่าง ๆ	9
3	การเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิ (เปอร์เซนต์) ภายหลังจากเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร ทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง-ซีเตรต ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง	14
4	เปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต ภายหลังจากเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร ทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงและไข่แดง-ซีเตรต ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง	16
ตารางผนวกที่		
1	ผลวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิ ภายหลังจากการเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง	21
2	ผลวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต ภายหลังจากเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0 - 30 ชั่วโมง	22
สารบัญภาพ		
ภาพผนวกที่		
1	การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิ เมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง	23
2	การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตเมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบอสุจิมีชีวิตและการเคลื่อนไหวของอสุจิระหว่างน้ำเชื้อกระด้ายที่เจือจาง

ด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงและไข่แดง-ซิเตรต

Comparison of Dead and Live Sperm and Motility between Tris buffered-Yolk and The Yolk-Citrate Diluted Rabbit Semen

คำนำ

การผสมเทียมกระด้าย จัดว่าเป็นวิธีการผสมพันธุ์แบบหนึ่งนอกเหนือจากวิธีการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ โดยการผสมเทียมมีขั้นตอนที่สำคัญคือ การรีดเก็บน้ำเชื้อ การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ การเจือจางน้ำเชื้อ การกระตุ้นให้กระด้ายเพศเมียเกิดการตกไข่ และการฉีดน้ำเชื้อ ซึ่งขั้นตอนการเจือจางน้ำเชื้อนั้น มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำเชื้อสำหรับฉีดให้กับกระด้ายเพศเมียได้มากตัวขึ้น โดยน้ำเชื้อภายหลังการเจือจางอาจจะนำไปฉีดให้กับกระด้ายเพศเมียเลย หรืออาจจะเก็บรักษาในช่วงเวลาหนึ่ง (ในสภาพน้ำเชื้อเหลวหรือน้ำเชื้อแช่แข็ง) ขึ้นอยู่กับสารเจือจางน้ำเชื้อเหลวหรือน้ำเชื้อแช่แข็ง) ขึ้นอยู่กับสารเจือจางน้ำเชื้อที่ใช้ โดยทั่วไปการเจือจางน้ำเชื้อด้วยน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ ต้องนำไปฉีดให้กับกระด้ายเพศเมียในช่วงเวลาสั้น ๆ ภายหลังการเจือจาง แต่ถ้าจะเก็บรักษาไว้ในช่วงเวลาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส จำเป็นต้องใช้สารเจือจางน้ำเชื้อที่มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการเก็บรักษา ซึ่งสารเจือจางน้ำเชื้อดังกล่าวที่นิยมใช้ในสัตว์เลี้ยงประเภทต่าง ๆ และในกระด้ายมีอยู่ด้วยกันหลายสูตร แต่ผลของการเก็บรักษาที่มีต่อการเคลื่อนไหวของอสุจิ ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการผสมติด และอายุการเก็บรักษาที่แน่นอนยังมีรายงานน้อยมาก การศึกษาครั้งนี้ จึงมุ่งศึกษาสารเจือจางน้ำเชื้อที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป และมีแนวโน้มที่จะมีผลดีต่อการเก็บรักษาได้แก่ สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดงและไข่แดง-ซิเตรต โดยศึกษาถึงผลของสารเจือจางน้ำเชื้อดังกล่าว ที่มีต่อการเคลื่อนไหวของอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตในช่วงอายุการเก็บรักษาต่าง ๆ กัน เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกใช้น้ำเชื้อเจือจางและระยะเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่เหมาะสมต่อการนำมาใช้งาน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิระหว่างน้ำเชื้อกระด้ายที่เจือจางด้วยทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง-ซิเตรต อายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๒. เพื่อเปรียบเทียบ เปรอร์เซนค่อสุฉิมชีวิต ระหว่างน้ำเชื้อกระต่ายที่เจือจางด้วย
ทริสมีฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง-ฉิเตรค ฉายการเก็บรักษา ๐-๓๐ ชั่วโมง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ลักษณะและองค์ประกอบของน้ำเชื้อกระดาษ

Paufler และ Mitautoren (1974) รายงานว่า น้ำเชื้อกระดาษที่หลังออกมาแต่ละครั้ง มีปริมาณ 0.2-3.0 มล. ความเข้มข้นของอสุจิ $100-1000 \times 10^6$ ต่อมล. อสุจิที่เคลื่อนตรงไปข้างหน้า 40-80 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำเชื้อที่จะนำมาใช้ในงานผสมเทียม ควรมีอสุจิที่เคลื่อนตรงไปข้างหน้า 70 เปอร์เซ็นต์หรือมากกว่านั้น สำหรับค่าความเป็นกรดต่าง (pH) เท่ากับ 6.9 หรืออยู่ในช่วง 6.59-7.5 ซึ่งมีแนวโน้มสูงกว่าในช่วง (6.48-6.99) เล็กน้อย (Cole, 1977)

ในด้าน องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเชื้อกระดาษพบว่า ฟรุคโตส และกรดซิตริก ในกระดาษโตเต็มวัยมีค่าเฉลี่ย 292 ± 48.7 และ 178.0 ± 27.5 มก.ต่อ 100 มล. ตามลำดับ (Skinner, 1967) เมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีบางอย่างระหว่างน้ำเชื้อกระดาษและน้ำเชื้อโค พบว่าในน้ำเชื้อกระดาษมีกลูโคส ฟรุคโตส ซอปีคอลล กรดซิตริก กลีเซอรอลฟอสเฟอริล-โคสทิน ไบคาร์บอเนต ไปแคสเซียม และโซเดียม น้อยกว่าน้ำเชื้อโค ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบทางเคมีบางอย่างในน้ำเชื้อกระดาษและโค (มก.ต่อ 100 มล.)

ส่วนประกอบทางเคมี	กระดาษ	โค
กลูโคส ^{1/}	น้อยมาก	300
ฟรุคโตส ^{2/}	40-150	120-540
ซอปีคอลล ^{2/}	80	10-136
กรดซิตริก ^{3/}	110-550	720
กลีเซอรอลฟอสเฟอริล-โคสทิน ^{3/}	280	350
ไบคาร์บอเนต ^{1/}	-	16
ไปแคสเซียม ^{1/}	29	172
โซเดียม ^{1/}	82	258

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ 1/ Weisbroth (1974); 2/ Cole (1977); 3/ White (1958) ยืนยันการคำนวณว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร เจือจางและการเก็บรักษาน้ำเชื้อกระต่าย

Bearden และ Fuquay (1980) ได้รายงานถึงสาร เจือจางน้ำเชื้อว่าควรมีคุณสมบัติ ที่ดี ดังนี้

1. ต้องมีสภาพเป็น isotonic ค่อน้ำเชื้อ เช่น 2.9 % โซเดียมซัลเฟต ไดไฮ-เดรต
2. สามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดค่าด่าง โดยทำให้สภาพกรดที่เกิดจากเมตาบอลิซึมของอสุจิเป็นกลาง (buffering capacity) เช่น สารละลายโซเดียมซัลเฟต ที่เป็น isotonic
3. ต้องป้องกันการอสุจิให้ช็อค เนื่องจากความเย็น (cold shock) ระหว่างการลดอุณหภูมิจากอุณหภูมิร่างกายเหลือ 5 องศาเซลเซียส เช่น เลซิธิน (lecithin) และโปรตีนไขมัน (lipoprotein) จากไข่แดงหรือน้ำมัน
4. ต้องมีโภชนะสำหรับเมตาบอลิซึมของอสุจิ เช่น ไข่แดง น้ำมัน และน้ำตาล (simple sugar) บางชนิด
5. สามารถควบคุมการคิดเชื้อจุลินทรีย์ได้ เช่น ยามูซิซวันะที่นิยมใช้ ได้แก่ เพนิซิลลิน และสเตรปโตมัยซิน
6. สามารถป้องกันการอสุจิไม่ให้เกิดอันตรายระหว่างการแช่แข็งหรือการละลาย เช่น กลีเซอรอล ไดเมทิล ซัลฟอกไซด์
7. สามารถยืดอายุการเก็บรักษา โดยให้มีการลดความสมบูรณ์พันธุ์น้อยที่สุด

Salisbury และคณะ (1978) รายงานว่า การใช้สาร เจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซัลเฟต ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1941 ซึ่งสาร เจือจางน้ำเชื้อดังกล่าวเมื่อนำมาใช้กับน้ำเชื้อโค และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส พร้อมกับนำไปฉีดให้แม่โคในช่วงอายุการเก็บรักษา น้ำเชื้อ 1 2 3 และ 4 วัน ให้ผลการไม่กลับเป็นสัด (non return) 74 68 62 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Eayden และคณะ, 1960 อ้างโดย Salisbury และคณะ, 1978) สำหรับสัดส่วน ไข่แดง-ซัลเฟต เมื่อนำมาใช้เก็บรักษาในสภาพน้ำเชื้อเหลวคือ 1:1 (Bearden และ Fuquay , 1980) หรือ 40:60 (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) (Sorensen, 1979) แต่เมื่อนำมาใช้เก็บรักษา ในสภาพน้ำเชื้อแช่แข็งสัดส่วนที่ใช้คือ 20:80 (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร) (Bearden และ

ไม่ว่าการณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fuquay, 1980)

Adams (1981) รายงานว่า น้ำเชื้อกระต่ายที่หลังออกมาแต่ละครั้ง โดยไม่มีการเติมสารเชื้อจางน้ำเชื้อและนำไปเก็บรักษาไว้ อสุจิอาจจะไม่มีการเคลื่อนไหว (immotile) ภายใน 15 นาที และตายลง ดังนั้นสารเชื้อจางน้ำเชื้อที่ใช้ นอกจากจะเพิ่มปริมาณน้ำเชื้อที่จะฉีดให้กับกระต่ายเพศเมียแล้ว ยังช่วยเก็บรักษาอสุจิให้มีชีวิตนานขึ้น อสุจิกระต่ายสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นเวลาหลายชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง และหลายวันถ้าเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส โดย Paufler และ Mitautoren (1974) รายงานว่า ถ้าต้องการเก็บรักษาน้ำเชื้อเป็นเวลาหลายชั่วโมงหรือหลายวัน จำเป็นต้องใช้สารเชื้อจางน้ำเชื้อที่มีสารละลายบัฟเฟอร์กับไข่แดงหรือใช้น้ำนม อย่างไรก็ตามสารเชื้อจางน้ำเชื้อที่แนะนำให้ใช้คือ สูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ซึ่งสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ได้เป็นเวลา 2 วัน โดยยังคงให้ผลที่ดีอยู่

คุณสมบัติของสารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของสารเชื้อจางน้ำเชื้อ

โซเดียมซีเตรต ไดไฮเดรต มีสูตรทางเคมีคือ $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ในสภาพสารละลายที่มีความเข้มข้น 2.9 เปอร์เซ็นต์ มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ มีหน้าที่ทำให้ของเสียที่ปลดปล่อยออกมาโดยอสุจิ เนื่องจากขบวนการเมตาบอลิซึม โดยเฉพาะกรดแลคติกให้เป็นกลาง นอกจากนี้แล้วยังมีคุณสมบัติเป็น isotonic ค่อน้ำเชื้อด้วย (Sorensen, 1979)

ไข่แดงมีส่วนประกอบที่เป็น เลซิธิน และโปรตีนไขมัน ที่มีคุณสมบัติในการป้องกันไม่ให้อสุจิซีด เนื่องจากความเย็น นอกจากนี้แล้วยังเป็นแหล่งให้โภชนะสำหรับ เมตาบอลิซึมของอสุจิ (Bearden และ Fuquay, 1980)

กลูโคส มีสูตรทางเคมี คือ $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ เป็นแหล่งให้พลังงานต่อเซลล์อสุจิ เช่นเดียวกับฟรุคโตส (Salisbury และคณะ, 1978)

กรดซิตริก (ไมโนไฮเดรต) มีสูตรทางเคมี คือ $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ มีคุณสมบัติในการปรับค่าความเป็นกรดต่างของสารเชื้อจางน้ำเชื้อ (Salisbury และคณะ, 1978)

ทริส (TRIS) มีสูตรทางเคมีคือ $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$ มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ในสารเชื้อจางน้ำเชื้อ (Bearden และ Fuquay, 1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไดเมธิล ซัลฟอกไซด์ มีสูตรทางเคมีคือ $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ เป็นอินทรีย์สารที่มีลักษณะเป็นของเหลว มีคุณสมบัติเป็น Salt-buffering capacity สามารถซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ได้อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็ง (Cryoprotectant) เช่นเดียวกับกลีเซอรอล (glycerol) โดยจะมีประสิทธิภาพมากที่สุดในระหว่างการแช่แข็งอย่างช้า ๆ (Bearden และ Fuqay, 1980)

ยาปฏิชีวนะ เพนิซิลลิน และสเตรปโตมัยซิน ใช้ในการควบคุมการติดเชื้อจุลินทรีย์ในสารเจือจางน้ำเชื้อ (Bearden และ Fuquay, 1980)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. ฟอกระด้ายที่โตเต็มวัย และสามารถให้คุณภาพน้ำเชื้อที่ดี จำนวน 5 ตัว
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการรีดเก็บน้ำเชื้อกระด้าย ซึ่งประกอบด้วย
 - 2.1 ช่องคลอดเทียม (Artificial vagina) ประกอบด้วย
 - 2.1.1 กระบอกยางที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางภายใน 3.5 ซม. ยาว 10 ซม.
 - 2.1.2 หลอดยางหรือถุงยางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3/4 นิ้ว ยาว 6 นิ้ว
 - 2.1.3 หลอดยางหรือถุงยางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5/8 นิ้ว ยาว 2 นิ้ว
 - 2.1.4 หลอดเก็บน้ำเชื้อแบบพลาสติก ปริมาตร 5-7 มล.
 - 2.2 กระด้ายเพศเมีย ซึ่งใช้เป็นตัวล่อให้ฟอกระด้ายขึ้นตัว
 - 2.3 กระดิกใส่น้ำร้อน
 - 2.4 กระบอกฉีดยาขนาด 5 มล.
 - 2.5 สารหล่อลื่นปากช่องคลอดเทียม ได้แก่ K-Y Jelly
 - 2.6 กระบอกสุบลม
3. อุปกรณ์สำหรับตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ
 - 3.1 กล้องจุลทรรศน์
 - 3.2 สไลด์และกระจกปิดสไลด์
 - 3.3 Haemocytometer สำหรับตรวจวัดความเข้มข้นของอสุจิ
 - 3.4 สไลด์สำหรับตรวจวัดความเข้มข้นของอสุจิ
 - 3.5 สไลด์ Eosin-nigrosin staining สำหรับตรวจหาจำนวนอสุจิมิชีวิต และไม่มีชีวิต
 - 3.6 Dilution pipette อัตราส่วนเจือจาง 1 : 200
 - 3.7 ที่อุ่นสไลด์ อุณหภูมิ 35 - 37 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์

14. อุปกรณ์สำหรับ เก็บรักษาน้ำเชื้อ

14.1 ขวดแก้วขนาดเล็กที่หุ้มด้วยกระดาษขาว เพื่อป้องกันแสง จำนวน 15

ขวด

14.2 ถาดพลาสติกใส่น้ำ

14.3 ตู้เย็น

5. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมสารเชื้อจากน้ำเชื้อ

5.1 สารเคมีในสูตรสารเชื้อจากน้ำเชื้อทั้ง 3 สูตร ดังตารางที่ 2

5.2 กระจกตวง จำนวน 2 กระจก

5.3 เทอร์โมมิเตอร์

5.4 เครื่องชั่งอย่างละเอียด

5.5 Flask แก้ว ขนาด 250 มล. จำนวน 3 ใบ

5.6 Water bath

5.7 กระดาษกรอง

5.8 แท่งแก้ว จำนวน 3 อัน

5.9 บีเกอร์ ขนาด 200 มล. จำนวน 3 ใบ

5.10 กระจกชั่งตวงพลาสติก ขนาด 1 มล. จำนวน 6 อัน

6. คู่มือฆ่าเชื้อ

วิธีการ

1. แผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบ 3×5 Factorial experiment in completely randomized design สิ่งทดลองประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัย A เป็นสูตรสารเชื้อจากน้ำเชื้อ และปัจจัย B เป็นอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ โดยที่

ปัจจัย A : a_1 คือ สารเชื้อจากน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงส่วนประกอบของสารเจือจางน้ำเชื้อกระต่ายสูตรต่าง ๆ

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

- a_2 คือ สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซีเตรด
- a_3 คือ สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซีเตรด
- 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 รีดเก็บน้ำเชื้อจากพ่อกระด้าย โดยน้ำเชื้อที่ได้จากพ่อกระด้ายแต่ละตัว (1 ซ้ำ) นำมาวัดปริมาตรน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้ แล้วตรวจหาการเคลื่อนไหว เป็นหมู่ การเคลื่อนไหวรายตัว ความเข้มข้นอสุจิ และเปอร์เซ็นต์อสุจิมิชีวิตและไม่มีชีวิต หลังจากนั้นจึงแบ่งน้ำเชื้อออกเป็น 3 ส่วนเท่า ๆ กัน โดยน้ำเชื้อแต่ละส่วนเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตร ให้มีความเข้มข้นอสุจิเท่า ๆ กัน คือ 20×10^6 เซลล์ต่อมิล.

2.2 นำน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตร มาตรวจหาการเคลื่อนไหวรายตัว และเปอร์เซ็นต์อสุจิมิชีวิต เสร็จแล้วจึงนำน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วส่วนที่เหลือไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจหาการเคลื่อนไหวรายตัวเปอร์เซ็นต์อสุจิมิชีวิต ในชั่วโมงที่ 12 18 24 และ 30 ต่อไป

3. การบันทึกข้อมูล

3.1 บันทึกการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และเปอร์เซ็นต์อสุจิมิชีวิต ก่อนเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตร

3.2 บันทึกการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และเปอร์เซ็นต์อสุจิมิชีวิต ภายหลังจากเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อทันที และ อายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อในชั่วโมงที่ 12 18 24

และ 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูล การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และเปอร์เซ็นต์อสุจิมิชีวิต 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 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการศึกษาเปรียบเทียบการเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิ ระหว่างสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรต่าง ๆ ในแต่ละช่วงอายุการเก็บรักษา (ตารางที่ 3) ปรากฏว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร ให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติภายใน 12 ชั่วโมงของการเก็บรักษา แต่สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ภายหลังจากการเก็บรักษาตั้งแต่ 18 ชั่วโมง ($P < 0.01$) สำหรับสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร ไข่แดง-ซิเตรตทั้ง 2 สูตร ปรากฏว่า สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต ให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิสูงกว่าภายหลังจากการเก็บรักษา 24 ชั่วโมง และมีแนวโน้มสูงกว่า ภายหลังจากการเก็บรักษา 30 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซิเตรต

ผลการศึกษาเปรียบเทียบการเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิ ระหว่างอายุการเก็บรักษา ในสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตร (ตารางที่ 3) ปรากฏว่า เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิของสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง มีค่าคงที่ภายใน 18 ชั่วโมงของการเก็บรักษา และมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยภายหลังจากการเก็บรักษาตั้งแต่ 24 ชั่วโมง สำหรับสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ปรากฏว่า ทั้งสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซิเตรต และ 40 % ไข่แดง-ซิเตรต ให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิลดลงภายหลังจากการเก็บรักษาตั้งแต่ 18 ชั่วโมง

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิที่ดีกว่าและอายุการเก็บรักษาที่นานกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ทั้งนี้จะมาจากผลของความ เป็นกรดต่างและสารให้พลังงาน ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเคลื่อนไหวของอสุจิ (Salisbury และคณะ, 1978 และ Bearden และ Fuquay, 1980) โดยน้ำเชื้อในขณะที่เก็บรักษายังคงมีเมตาบอลิซึมอยู่ (ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน) และมีกรดแลคติกเกิดขึ้น ทำให้ความเป็นกรดต่างของน้ำเชื้อลดต่ำลงจึงกลับมามีผลเสียต่อการเคลื่อนไหวของอสุจิ (Bearden และ Fuquay, 1980) แต่เนื่องจากสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง นั้นมีคุณสมบัติในการเป็นบัฟเฟอร์ที่ดีกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต (Salisbury และคณะ, 1978)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงความ เป็นกรดต่างจึงน่าจะมึ้นน้อยกว่า จึงมีผลให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไทรายตัวของอสุจิที่ติดลดการทดลอง ส่วนสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซีเตรดนั้น มีเพียงไซเดียม-ซีเตรด เป็นบัฟเฟอร์เพียงอย่างเดียว ซึ่งอาจจะไม่เพียงพอต่อการป้องกันการเปลี่ยนแปลงความ เป็นกรดต่าง เมื่อ เก็บรักษา เป็น เวลารานาน สังเกตได้จาก เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไทรายตัวของอสุจิ ลดต่ำลงภายหลังจากการเก็บรักษาตั้งแต่ 18 ชั่วโมง ส่วนในเรื่องของสารให้พลังงานนั้น โดยปกติ น้ำเชื้อกระด่ายมีสารให้พลังงานแต่ละตัว เป็นปริมาณค่อนข้างน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับในน้ำเชื้อโค (ตารางที่ 1) จึงทำให้การเก็บรักษาน้ำเชื้อกระด่าย ด้วยสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซีเตรด ได้ผลไม่ดี เท่ากับน้ำเชื้อโค ส่วนสาร เจือจางสูตรทริสมัฟเฟอร์-ไข่แดงนั้น นอกจากจะมีไข่แดง เป็นแหล่งพลังงานสำหรับ เมตาบอลิซึมแล้ว ยังมีกลูโคสอยู่อีกด้วย ซึ่งโดยปกติในน้ำเชื้อกระด่าย มีกลูโคสอยู่น้อยมาก (ตารางที่ 1) จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไทรายตัวของอสุจิตีกว่าสาร เจือจาง น้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซีเตรด

สำหรับสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซีเตรดทั้ง 2 สูตร ปรากฏว่าสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซีเตรด มีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไทรายตัวของอสุจิตีกว่าสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซีเตรดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง และจากการทดลองพบว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซีเตรด อสุจิมีการเคลื่อนไทรายตัวแบบวงกลม และแบบล้น จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไทรายตัวมีแนวโน้มต่ำกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซีเตรด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดงมีความเข้มข้นของบัฟเฟอร์เป็น hypotonic สำหรับน้ำเชื้อ เพราะถ้าสภาพของสาร เจือจางน้ำเชื้อไม่เป็น isotonic แล้ว จะพบว่าอสุจิทางจะงอโค้ง และมีการเคลื่อนไทรายตัวเป็นวงกลม (Foote, 1970. อ้างโดย Salisbury และคณะ , 1978)

ผลการศึกษาเปรียบเทียบอสุจิมีชีวิต ระหว่างสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตรต่าง ๆ ในแต่ละช่วงอายุการเก็บรักษา (ตารางที่ 4) ปรากฏว่า สาร เจือจางน้ำเชื้อสูตรให้เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติภายใน 18 ชั่วโมงของการเก็บรักษา แต่สาร เจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสมัฟเฟอร์-ไข่แดง ให้เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตสูงกว่าสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง - ซีเตรด ภายหลังจากการเก็บรักษาตั้งแต่ 24 ชั่วโมง ($P < 0.01$) สำหรับสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซีเตรด ทั้ง 2 สูตร ปรากฏว่า สาร เจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซีเตรด ให้เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตแตกต่างกับสาร เจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซีเตรดอย่างไม่มีนัยสำคัญทาง

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงการเคลื่อนไหวยารายตัวของอสุจิ (เปอร์เซ็นต์) ภายหลังจากเจือจางด้วยสารเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร ทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง-ซีเตรต ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง

อายุการเก็บรักษา (ชั่วโมง)	สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร		
	1 1/	2 2/	3 3/
0	82 ก	82 ก	82 ก
12	82 ก	77 ก	80 ก
18	82 ก	66 ข	64 ข
24	79 ก	34 ค	19 ง
30	78 ก	16 งจ	7 จ

1/ หมายถึง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร ทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง

2/ หมายถึง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซีเตรต

3/ หมายถึง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซีเตรต

หมายเหตุ อักษรกำกับตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถิติทุกช่วงอายุของการเก็บรักษา

ผลการศึกษาเปรียบเทียบอสุจิมีชีวิต ระหว่างอายุการเก็บรักษาในสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตร (ตารางที่ 4) ปรากฏว่า สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ให้เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติภายใน 18 ชั่วโมงของการเก็บรักษา และแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติภายหลังการเก็บรักษาตั้งแต่ 18 ชั่วโมง ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซีเตรตทั้ง 2 สูตร ปรากฏว่า ทั้งสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง - ซีเตรต และ 40 % ไข่แดง-ซีเตรต ต่างให้เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติภายใน 18 ชั่วโมงของการเก็บรักษา และให้เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอายุการเก็บรักษาตั้งแต่ 24 ชั่วโมง

จากผลการศึกษา เห็นได้ว่า น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง มีเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตสูงกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซีเตรต ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง มีแหล่งของพลังงานสำหรับอสุจิมากกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซีเตรต โดยอสุจินั้นมีความต้องการพลังงานเพื่อการเคลื่อนไหวและการมีชีวิตของเซลล์ (Salisbury และคณะ, 1987) อย่างไรก็ตาม พบว่าเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตสูงกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิสอดคล้องกับรายงานของ Bearden และ Fuquay (1980) ที่ว่า เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตจะสูงกว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิเสมอ

ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์ต่อสูจิมีชีวิต ภายหลัง เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร ทริส-บัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง-ซีเตรต ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง

อายุการเก็บรักษา (ชั่วโมง)	สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร		
	1 1/	2 2/	3 3/
0	94.4 ก	93.0 ก	92.2 กข
12	94.2 ก	81.8 กข	91.6 กข
18	90.8 กขค	87.8 กขค	88.4 กขค
24	85.8 ขค	74.4 ง	77.6 ง
30	84.2 ค	68.0 จ	73.6 งจ

1/ หมายถึง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร ทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง

2/ หมายถึง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 % ไข่แดง-ซีเตรต

3/ หมายถึง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 % ไข่แดง-ซีเตรต

หมายเหตุ อักษรกำกับตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการศึกษาทดลอง เปรียบเทียบอสุจิมีชีวิตและการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ ระหว่างน้ำเชื้อกระด้ายที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง - ซิเตรต โดยเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 30 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ปรากฏว่า

1. สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิที่สูงตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา 30 ชั่วโมง และสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ภายหลังการเก็บรักษาตั้งแต่ 18 ชั่วโมง ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต ให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิที่สูงภายใน 12 ชั่วโมงของการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20 เปอร์เซ็นต์ไข่แดง-ซิเตรตมีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิสูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 40 เปอร์เซ็นต์ไข่แดง-ซิเตรตเล็กน้อยเมื่อเก็บรักษาไว้ 30 ชั่วโมง

2. สารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตรให้เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตที่สูงและแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเก็บรักษาไว้ 18 ชั่วโมง แต่ภายหลังการเก็บรักษาตั้งแต่ 24 ชั่วโมง สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง ให้เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตที่สูงกว่าสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรไข่แดง-ซิเตรต

100724

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

เจริญ 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. 1960. 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 Pratices.
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.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ตารางผนวกที่ 1 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของ เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ ภายหลังจาก
การเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา
0-30 ชั่วโมง

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	14	54,440		
A	2	13,238	6,619	96.6277**
B	4	28,710	7,177.5	104.7810**
AB	8	12,490	1,561.5	22.7956**
Error	60	4,110	68.5	
Total	74	58,550		

** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของ เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวหลังจากเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง

7 16 19 34 64 66 77 78 79 80 82

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่อยู่บนเส้นตรงเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกัน
อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างถึงที่มาของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**

**ตารางผนวกที่ 2 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซ็นต์สุจิมิชีวิต ภายหลังจากฉีดด้วยสารเชื้อ
จากน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง**

SOV	df	SS	MS	F
Treatment	14	5,040.5867		
A	2	643.3067	321.6533	14.4802**
B	4	3,959.3867	989.8466	44.5609**
AB	8	437.8933	54.7366	2.4641*
Error	60	1,332.8	22.2133	
Total	74	6,373.3867		

* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

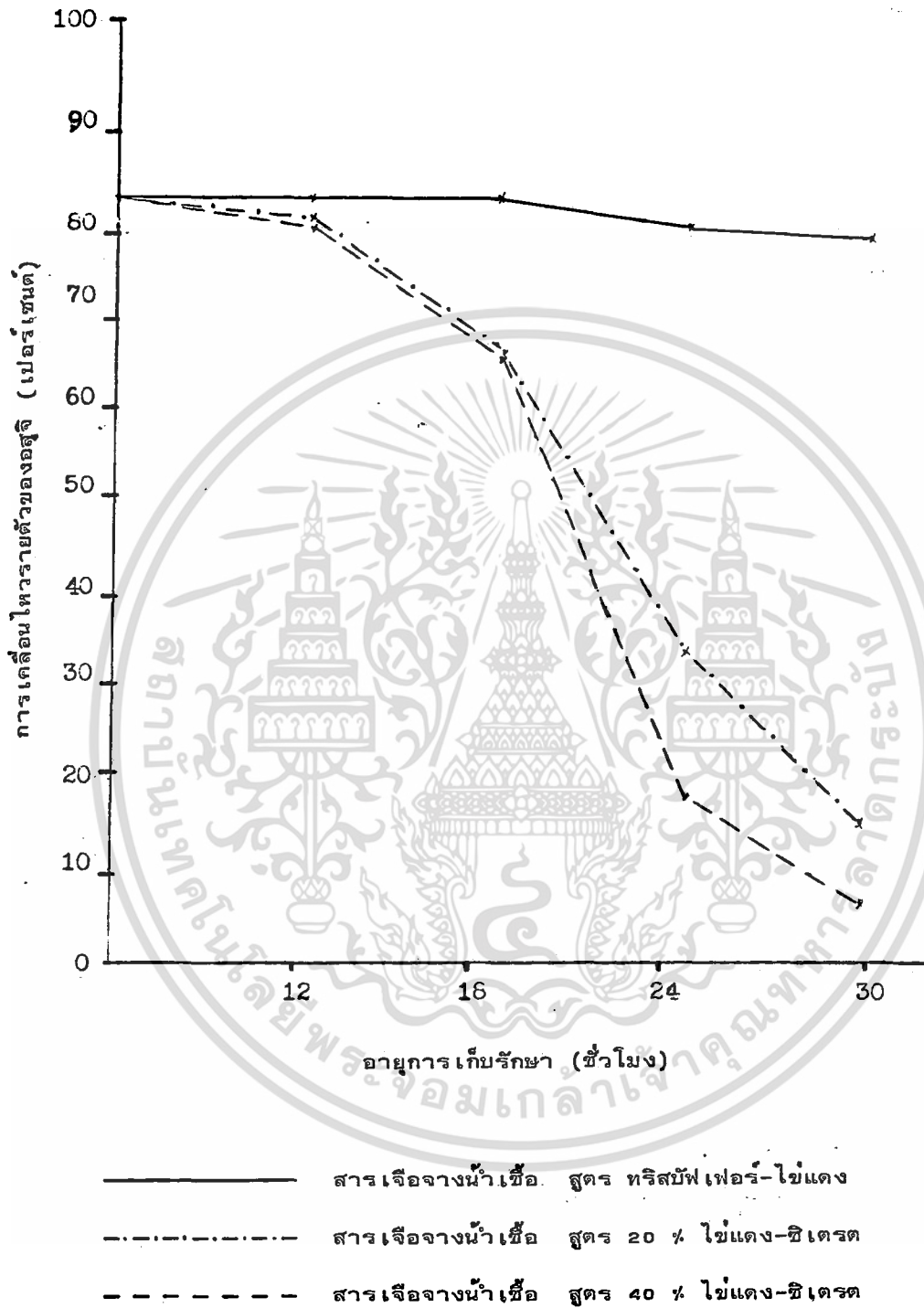
** หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์สุจิมิชีวิต ภายหลังจาก
ฉีดด้วยสารเชื้อจากน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง

68 73.6 74.4 77.4 77.6 84.2 85.8 87.8 88.4 90.8 91.6 91.8 92.2 93 94.2 94.4

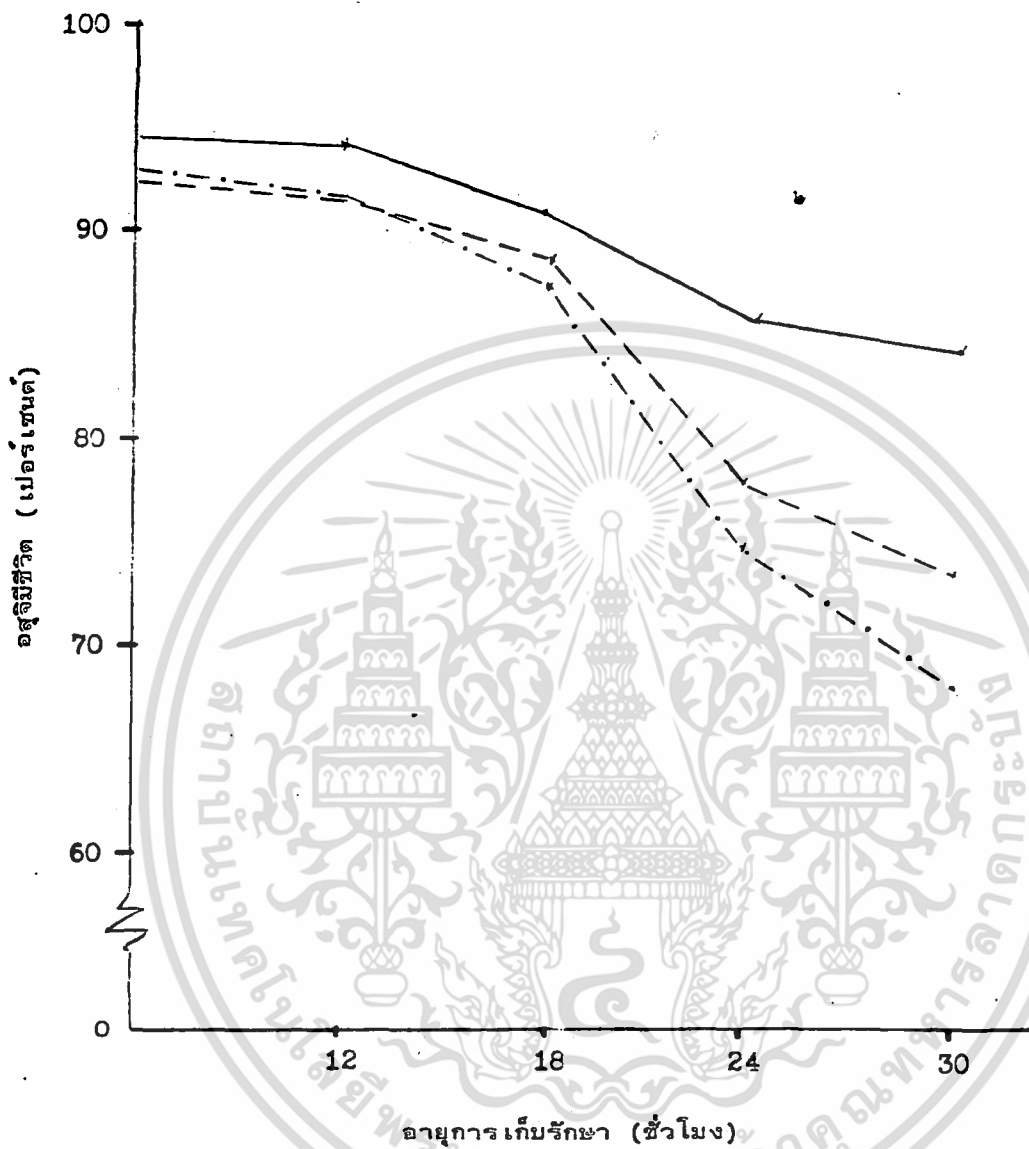
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่อยู่บนเส้นตรงเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่าง
ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแปลง เปอร์เซนต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิเมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



- สารเจือจางน้ำเชื้อ สูตร 3% (เปอร์เซ็นต์)
- · - · - · สารเจือจางน้ำเชื้อ สูตร 20% (เปอร์เซ็นต์)
- สารเจือจางน้ำเชื้อ สูตร 40% (เปอร์เซ็นต์)

ภาพผนวกที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ออสโมมิชิวิต เมื่อใช้สารเจือจางน้ำเชื้อ 3 สูตร ในช่วงอายุการเก็บรักษา 0-30 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ... ศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า...
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิ... และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

