รายงานวิจัย

เรื่อง

ผลของการลดอุณหภูมิต่อการรอดชีวิตของอสุจิสุกร

Effects of cooling on survival of swine spermatozoa

โดย

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน

และ

ทวีศักดิ์ นิยมบัณฑิต

คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2546

วิ๒๐

เลขหมู่ [illegible]

Bib Key 236381

ผลของการลดอุณหภูมิต่อการรอดชีวิตของอสุจิสุกร

Effects of cooling on survival of swine spermatozoa

บทคัดย่อ

การศึกษาการลดอุณหภูมิที่มีต่อการรอดชีวิตของอสุจิสุกร ได้ศึกษาปัจจัยที่สำคัญคือ การบ่มน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ การหมุนเหวี่ยงก่อนการลดอุณหภูมิ และอัตราการลดอุณหภูมิ โดยการวัดร้อยละของการเคลื่อนที่และความเร็วของอสุจิโดยการบันทึกแถบวีดีทัศน์และวัด คำนวณค่าความเร็ว

การทดลองพบว่าการบ่มน้ำเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (0.5 และ 1.0 ชั่วโมง) และที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (บ่มที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0 ชั่วโมง) ไม่มีผลต่อค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิ โดยค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเคลื่อนที่มีค่าตั้งแต่ 54.38±3.67 ถึง 56.87±3.69 เปอร์เซ็นต์ ค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าเริ่มลดต่ำลงในกลุ่มที่บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1.0 ชั่วโมง (7.81±1.54 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (10.47±2.13 เปอร์เซ็นต์) ส่วนร้อยละของการเคลื่อนทีอย่างรุนแรงกว่าปกติ ไม่ได้รับผลกระทบจากผลของการบ่ม ($p > 0.05$)

การบ่มน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิทำให้ความเร็วตามทาง (track velocity) ของอสุจิเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม (278.40±4.15 ไมครอน/วินาที) เมื่อบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (286.89±5.21 และ 291.70±4.39 ไมครอน/วินาที ในน้ำเชื้อที่บ่มไว้เป็นเวลา 0.5 และ 1.0 ชั่วโมง ตามลำดับ, $p < 0.05$) แต่การบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องไม่มีผลต่อความเร็วทางลัด (path velocity) และความเร็วทางตรง (direct velocity) ของอสุจิ ($p > 0.05$)

การลดอุณหภูมิทำให้ร้อยละของการเคลื่อนที่ลดลงจาก 75.63±1.44 เปอร์เซ็นต์ เป็น 35.94±1.25 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.01$) ร้อยละของของการเคลื่อนทีไปข้างหน้าลดลงจาก 17.34±1.15 เปอร์เซ็นต์ เป็น 1.33±0.28 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.01$) ร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงกว่าปกติลดลงจาก 10.63±0.67 เปอร์เซ็นต์ เป็น 4.92±0.39 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.01$) ความเร็วตามทางลดลงจาก 308.54±3.13 ไมครอน/วินาที เป็น 259.06±3.40 ไมครอน/วินาที ($p < 0.01$) ความเร็วทางลัดลดลงจาก 271.81±2.49 ไมครอน/วินาที เป็น 173.07±1.84 ไมครอน/วินาที ($p < 0.01$) และความเร็วทางตรงลดลงจาก 222.89±2.73 ไมครอน/วินาที เป็น 126.96±1.88 ไมครอน/วินาที ($p < 0.01$)

การหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิทำให้การเคลื่อนที่ของอสุจิส่วนใหญ่เพิ่มขึ้นในขณะที่ความเร็วอสุจิลดลง การเคลื่อนที่ในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (51.25±5.64 เปอร์เซ็นต์) ต่ำกว่าในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 500*g* (57.81±4.39 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม 800*g* และ 1000*g* ค่าการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าไม่ได้รับผลกระทบจากการหมุนเหวี่ยงก่อนการลดอุณหภูมิ ส่วนค่าการเคลื่อนอย่างรุนแรงที่ในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (3.59±1.01 เปอร์เซ็นต์) มีค่าต่ำกว่า ในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 500*g* ในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 800*g* และในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 1000*g* (7.03±1.45, 6.25±1.42 และ 6.25±1.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, $p < 0.05$)

การหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อทำให้ความเร็วตามทางของอสุจิลดลงจาก 287.50±4.70 ไมครอน/วินาที ในกลุ่มควบคุม ลงมาเป็น 279.81±4.25, 267.44±4.46 และ 263.67±4.95 ไมครอน/วินาที ในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 500*g* ในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 800*g* และในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 1000*g* ตามลำดับ ($p < 0.01$) ความเร็วทางลัดของอสุจิได้รับผลกระทบเมื่อหมุนเหวี่ยงด้วยแรง 800*g* (186.06±4.09 ไมครอน/วินาที) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (192.18±3.91 ไมครอน/วินาที, $p < 0.05$) ส่วนความเร็วทางตรงเริ่มลดลงจากกลุ่มควบคุม (149.48±4.09 ไมครอน/วินาที) เมื่อหมุนเหวี่ยงด้วยแรง 800*g* และ 1000*g* (137.13±4.42 และ 189.89±3.63 ไมครอน/วินาที ตามลำดับ, $p < 0.05$)

การลดอุณหภูมิทำให้ของการเคลื่อนที่ลดลงจาก 80.47±0.47 เปอร์เซ็นต์ ก่อนการลดอุณหภูมิเป็น 25.55±1.41 เปอร์เซ็นต์ หลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (25.63±0.80 เปอร์เซ็นต์) ลดลงเป็น 9.38±1.75 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.01$) ส่วนการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงกว่าปกติลดลงจาก 11.09±1.02 เป็น 0.47±0.18 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.01$) ความเร็วตามทางลดลงจาก 336.49±2.48 ไมครอน/วินาที เป็น 212.72±1.79 ไมครอน/วินาที ($p < 0.01$) ความเร็วทางลัดลดลงจาก 243.54±2.46 ไมครอน/วินาที เป็น 138.90±1.17 ไมครอน/วินาที ($p < 0.01$) และความเร็วทางตรงลดลงจาก 187.23±3.08 ไมครอน/วินาที เป็น 97.91±1.43 ไมครอน/วินาที ($p < 0.01$)

การลดอุณหภูมิจาก 37° เซลเซียส ลงมาที 18° เซลเซียส ในอัตรา 0.5, 1.0 และ 2.0° เซลเซียส/นาที มีการเคลื่อนที่ (60.31±3.72, 60.31±3.98 และ 62.50±3.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) สูงกว่ากลุ่มควบคุม (52.34±5.13 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.01$) ส่วนการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในกลุ่มควบคุม (18.28±1.70 เปอร์เซ็นต์) สูงกว่ากลุ่มที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 0.5, 1.0 และ 2.0° เซลเซียส/นาที (10.94±0.91, 12.34±1.03 และ 15.47±0.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, $p < 0.01$) ค่าการเคลื่อนอย่างรุนแรงกลุ่มที่มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม (2.34±0.95 เปอร์เซ็นต์) คือกลุ่มที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 2.0° เซลเซียส/นาที (3.91±0.86 เปอร์เซ็นต์, $p > 0.05$)

ความเร็วตามทางของอสุจิในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (297.62±4.03 ไมครอน/วินาที) มีค่าต่ำกว่าในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 0.5 และ 1.0° เซลเซียส/นาที (336.61±1.74 และ 305.07±2.90 ไมครอน/วินาที ตามลำดับ, $p < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างจากในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 2.0° เซลเซียส/นาที (301.98±3.70 ไมครอน/วินาที, $p > 0.05$) ความเร็วทางลัดของอสุจิในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (180.06±3.15 ไมครอน/วินาที) มีค่าต่ำกว่าในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 0.5 และ 1.0° เซลเซียส/นาที (201.50±2.21 และ 188.84±2.49 ไมครอน/วินาที ตามลำดับ, $p < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างจากในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 2.0° เซลเซียส/นาที (175.20±2.71 ไมครอน/วินาที, $p > 0.05$) ส่วนความเร็วทางตรงของอสุจิในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (138.47±3.64 ไมครอน/วินาที) มีค่าต่ำกว่าในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 0.5° เซลเซียส/นาที (154.83±3.21 ไมครอน/วินาที, $p < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างจากในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 1.0 และ 2.0° เซลเซียส/นาที (142.58±3.03 และ 131.37±3.44 ไมครอน/วินาที ตามลำดับ, $p > 0.05$)

การลดอุณหภูมิทำให้การเคลื่อนที่ลดลงจาก 78.75±0.47 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงก่อนการลดอุณหภูมิ เป็น 38.98±1.96 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงหลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (17.03±0.94 เปอร์เซ็นต์) ลดลงเป็น 11.48±0.74 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.01$) ส่วนร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงกว่าปกติลดจาก 5.39±0.55 เป็น 0.39±0.17 เปอร์เซ็นต์ ($p < 0.01$) ส่วนความเร็วตามทางลดลงจาก 348.94±1.44 ไมครอน/วินาที ก่อนการลดอุณหภูมิ มาเป็น 271.70±2.08 ไมครอน/วินาที หลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) ความเร็วทางลัดลดลงจาก 207.59±1.74 ไมครอน/วินาที เป็น 165.22±1.72 ไมครอน/วินาที ($p < 0.01$) และความเร็วทางตรงลดลงจาก 160.72±2.49 ไมครอน/วินาที เป็น 122.91±2.02 ไมครอน/วินาที ($p < 0.01$)

การทดลองในครั้งนี้พอสรุปได้ว่าการบ่มที่อุณหภูมิห้องทำให้คุณภาพน้ำเชื้อดีกว่าการบ่มที่ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง การหมุนเหวี่ยงทำให้อสุจิว่ายได้ช้าลง ส่วนอัตราการลดอุณหภูมิเป็นเส้นตรงจาก 37° เซลเซียส มาที่ 18° เซลเซียส อย่างช้าให้ผลดีกว่าอย่างเร็ว

Abstract

Effects of cooling of semen on survival of spermatozoa were studied in swine. The main effects studied were incubation before cooling, centrifugation of semen and rates of cooling.

Incubation at room temperature (28°C) for 0.5 and 1.0 hour did not enhance the percentages of sperm motility and mean value ranged from 54.38±3.67 to 56.87±3.69 %. The percentages of progressive motility declined from 10.47±2.13 % in semen incubated at 37°C for 0 hr to 7.81±1.54 % in semen incubated at room temperature for 1.0 hr ($p < 0.05$) but not significantly different from those at 37°C for 0.5 hr and room temperature for 0.5 hr (8.75±1.93 and 10.31±1.78 respectively, $p < 0.05$). The percentages of hypermotility was not affected by incubation and ranged from 7.19 to 8.75 %.

Incubation at room temperature increased the sperm track velocity to 291.70±4.39 and 286.89±5.21 μm/sec in 0.5 and 1.0 hour respectively when compare to incubation at 37°C for 0 hour (278.40±4.15 μm/sec, $p < 0.05$). This effect was not pronounced for the short and direct velocities. ,

Cooling reduced all the parameter measured. Sperm motility declined from 75.63±1.44 % before cooling to 35.94±1.25 % after cooling ($p < 0.01$). The progressive motility declined from 17.34±1.15 to 1.33±0.28 % ($p < 0.01$) and the hypermotility declined from 10.63±0.67 to 4.92±0.39 % ($p < 0.01$). Cooling reduced the track velocity from 308.54±3.13 μm/sec to 259.06±3.40 μm/sec ($p < 0.01$), the short velocity from 271.81±2.49 μm/sec to 173.07±1.84 μm/sec ($p < 0.01$) and the direct velocity from 222.89±2.73 μm/sec to 126.96±1.88 μm/sec ($p < 0.01$).

Centrifugation before cooling increased sperm motility form 51.25±5.64 % in control group to 57.81±4.39 % ($p < 0.01$) in semen centrifuged at 500*g*, had no effect in semen subjected to 800*g* and 1000*g* centrifugation. There was no centrifugation effect on the progressive motility but the hypermotilities were higher in centrifugation groups (7.03±1.45, 6.25±1.42 and 6.25±1.62 % in 500*g*, 800*g* and 1000*g* groups respectively compared to 3.59±1.01 % in control group, $p < 0.05$).

The track velocity decreased from 287.50±4.70 μm/sec in control group to 279.81± 4.25, 267.44±4.46 and 263.67±4.95 μm/sec in semen centrifuged at 500*g*, 800*g* and 1000*g* respectively ($p < 0.01$). The short velocity in 800*g* group (186.06±4.09 μm/sec) was lower than the control group (192.18±3.91 μm/sec, $p < 0.05$) and the direct velocity started to declined when centrifugation reached 800*g* (137.13±4.42 and 189.89±3.63 μm/sec in 800*g* and 1000*g* groups respectively when compared to control group (149.48±4.09 μm/sec, $p < 0.05$).

Cooling reduced sperm motility from 80.47±0.47 % before cooling to 25.55±1.41 % after cooling ($p < 0.01$). The progressive motility was reduced from 25.63±0.80 % to 9.38± 1.75 % ($p < 0.01$) and the hypermotility from 11.09±1.02 to 0.47±0.18 % ($p < 0.01$). The track velocity decreased from 336.49±2.48 to 212.72±1.79 μm/sec ($p < 0.01$), the short velocity from 243.54±2.46 to 138.90±1.17 μm/sec ($p < 0.01$) and the direct velocity from 187.23±3.08 to 97.91±1.43 μm/sec ($p < 0.01$).

The rate of cooling from 37°C to 18°C increased sperm motility from 52.34±5.1 % in control group to 60.31±3.72, 60.31±3.98 and 62.50±3.11 % in semen cooled down at the rate of 0.5, 1.0 and 2.0°C/min respectively ($p < 0.01$). The progressive motility in control group (18.28±1.70 %), on the other hand, was higher than those in semen cooled down at the rate of 0.5, 1.0 and 2.0°C/min (10.94±0.91, 12.34±1.03 and 15.47±0.96 respectively, $p < 0.01$). The highest hypermotility was in 2.0°C/min group (3.91±0.86 % compare to 2.34± 0.95 % in control group, $p > 0.05$)

The track velocities were higher when cooled down at the rate of 0.5 and 1.0°C/min (336.61±1.74 and 305.07±2.90 μm/sec) when compared to control group (297.62±4.03 μm/sec, $p < 0.01$). The short velocity reflected the same pattern and velocity in 0.5 and 1.0° C/min groups (201.50±2.21 and 188.84±2.49 μm/sec, respectively) were higher than that of control group (180.06±3.15 μm/sec, $p < 0.01$). The direct velocity in control group (138.47± 3.64 μm/sec) was lower that that of 0.5°C/min group (154.83±3.21 μm/sec, $p < 0.01$).

Sperm motility before cooling (78.75±0.47 %) reduced to 38.98±1.96 % after cooling ($p < 0.01$). The progressive motility reduced from 17.03±0.94 % to 11.48±0.74 % ($p < 0.01$) and the hypermotility from 5.39±0.55 to 0.39±0.17 % ($p < 0.01$). The track velocity reduced from 348.94±1.44 μm/sec before cooling to 271.70±2.08 μm/sec after cooling ($p < 0.01$). The short velocity reduced from 207.59±1.74 to 165.22±1.72 μm/sec ($p < 0.01$) and the direct velocity from 160.72±2.49 to 122.91±2.02 μm/sec ($p < 0.01$).

We concluded that incubation at room temperature (28°C) enhanced semen quality while centrifugation reduced sperm velocity. Cooling semen slowly from 37°C to 18°C resulted in better semen quality.

สารบัญ

บทคัดย่อ 1

ABSTRACT 4

บทนำ 7

อุปกรณ์และวิธีการ 8

น้ำเชื้อและการรีดเก็บน้ำเชื้อ 8

การตรวจร้อยละของการเคลื่อนที่ 8

การตรวจลักษณะของการเคลื่อนที่ 9

การตรวจวัดความเร็วของอสุจิ 9

การทดลองที่ 1 ผลของการบ่มน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ 10

การทดลองที่ 2 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ 11

การทดลองที่ 3 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิ 11

การวิเคราะห์ข้อมูล 12

ผลการทดลอง 13

การทดลองที่ 1 ผลของการบ่มน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ 13

การทดลองที่ 2 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ 18

การทดลองที่ 3 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิ 24

วิจารณ์ 30

กิตติกรรมประกาศ 33

บรรณานุกรม 34

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ ร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรง ความเร็วตามทาง ความเร็วทางลัด และความเร็วทางตรงของอสุจิ 13

ตารางที่ 2 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ ร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรง ความเร็วตามทาง ความเร็วทางลัด และความเร็วทางตรงของอสุจิ 19

ตารางที่ 3 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ ร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรง ความเร็วตามทาง ความเร็วทางลัด และความเร็วทางตรงของอสุจิ.. 24

สารบัญรูป

รูปที่ 1 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ 15
รูปที่ 2 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....15
รูปที่ 3 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรง ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....16
รูปที่ 4 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วตามทางของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....17
รูปที่ 5 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางลัดของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....17
รูปที่ 6 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางตรงของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ 18
รูปที่ 7 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....21
รูปที่ 8 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ 21
รูปที่ 9 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....22
รูปที่ 10 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วตามทางของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....22
รูปที่ 11 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางลัดของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....23
รูปที่ 12 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางตรงของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....23
รูปที่ 13 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....26
รูปที่ 14 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ 26
รูปที่ 15 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ. 27
รูปที่ 16 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วตามทางของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....27
รูปที่ 17 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางลัดของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....28
รูปที่ 18 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางตรงของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ.....28

บทนำ

การผสมเทียมสุกรในปัจจุบันใช้น้ำเชื้อสดเป็นหลัก (พีระศักดิ์, 2526) ซึ่งอาจใช้ในวันเดียวกันหรือทำการเจือจาง ลดอุณหภูมิและเก็บไว้ใช้ในเวลา 2-3 วัน (พีรศักดิ์, 2528) นอกจากนั้นยังมีการพัฒนาการทำน้ำเชื้อแช่แข็งสำหรับสุกร (Bwanga, 1991; Johnson *et al.*, 2000) ซึ่งในกระบวนการทำน้ำเชื้อแช่แข็งนั้น น้ำเชื้อจะต้องผ่านการลดอุณหภูมิจากประมาณ 37° เซลเซียส ลงมาถึงอุณหภูมิที่ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งเพื่อทำการเก็บรักษา ทั้งการใช้น้ำเชื้อสดที่เก็บไว้ 2-3 วันและน้ำเชื้อแช่แข็งล้วนทำให้น้ำเชื้อต้องผ่านกระบวนการในการลดอุณหภูมิ การผสมเทียมสุกรในปัจจุบันยังคงต้องพึ่งพาการเก็บรักษาน้ำเชื้อเพื่อประโยชน์ในการนำกลับมาใช้อีก กระบวนการดังกล่าวต้องผ่านการลดอุณหภูมิ และมีผลโดยตรงต่อคุณภาพน้ำเชื้อ โดยเฉพาะการว่ายของอสุจิ

การแช่แข็งน้ำเชื้อสุกรยังคงต้องการความรู้ในเรื่องของผลกระทบจากการลดอุณหภูมิในหลายแง่มุม ก่อนที่จะประสบผลสำเร็จในการแช่แข็ง ทั้งนี้เนื่องจากอสุจิสุกรมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ทำให้การแช่แข็งน้ำเชื้อสุกรยังไม่ประสบผลสำเร็จถึงระดับที่นำมาประยุกต์ใช้ได้อย่างทั่วไป

การว่ายของเชื้ออสุจิเป็นลักษณะเฉพาะ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่นำอสุจิเข้าผสมกับไข่ ลักษณะของการว่ายของอสุจิไม่เป็นเส้นตรงทีเดียวแต่จะมีลักษณะเฉพาะ ซึ่งทำให้อสุจิสามารถว่ายผ่านเมือกที่หลั่งจากคอมดลูก (cervical mucous) ซึ่งมีลักษณะคล้ายใบเฟิร์น เข้าในทางเดินระบบสืบพันธุ์จนกระทั่งไปผสมกับไข่ได้ ลักษณะของการว่ายดังกล่าวมีความสำคัญต่อความสามารถในการผสมติดของตัวอสุจิ

ความเร็วของอสุจิยังคงเป็นส่วนสำคัญที่ใช้ประกอบการตัดสินว่า น้ำเชื้อมีคุณภาพดีเพียงใด สิ่งที่ย้ำให้ค่าความเร็วอสุจิมีความสำคัญหนักแน่นขึ้นอีกก็คือรายงานความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วอสุจิกับความสมบูรณ์พันธุ์ (Harvey, 1960; Aitken, 1990) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่าความเร็วอสุจิอาจเป็นตัวบ่งชี้ความสมบูรณ์พันธุ์ของอสุจิได้อีกทางหนึ่ง การว่ายของอสุจิในสารละลายนั้นสามารถวัดความเร็วของอสุจิได้โดยการบันทึกและแสดงผลทีละภาพเพื่อวัดระยะการเคลื่อนที่ที่แท้จริงของอสุจิ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อ ก) ศึกษาผลกระทบของการบ่มน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ การหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ ต่อการว่ายและความเร็วของตัวอสุจิของสุกรในสารละลายซึ่งมีทริสเป็นส่วนประกอบ โดยใช้วิธีการบันทึกลงบนแถบบันทึกภาพและฉายภาพศึกษาทีละขั้นตอน และ ข) ศึกษาผลกระทบของอัตราการลดอุณหภูมิ ที่มีต่อคุณภาพน้ำเชื้อ

อุปกรณ์และวิธีการ

น้ำเชื้อและการรีดเก็บน้ำเชื้อ

การรีดเก็บน้ำเชื้อทำในสุกรโตเต็มวัยที่เลี้ยงอยู่ในมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ การรีดเก็บทำในช่วงเช้าของแต่ละวันที่จะทำการทดลอง โดยใช้วิธีการรีดเก็บน้ำเชื้อใช้วิธีหุ่นล่อร่วมกับการจับด้วยมือ (พีรศักดิ์, 2528) เมื่อรีดเก็บได้แล้วนำน้ำเชื้อใส่ในกระติกควบคุมอุณหภูมิเพื่อนำมายังห้องปฏิบัติการ

การปฏิบัติการในห้องทดลอง ในเบื้องต้นนำน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้มาหล่อเลี้ยงในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37° เซลเซียส ทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้น ได้แก่

1. **ปริมาตร** โดยใช้กระบอกวัดปริมาตร
2. **ความหนืด** (consistency) ประมาณด้วยสายตาออกเป็น 3 ระดับ คือ
   - ก. D
   - ข. DD
   - ค. DDD
3. **การเคลื่อนที่** (motility) หยดน้ำเชื้อลงบนกระจกสองกล้องจุลทรรศน์ โดยไม่ทำการปิดกระจกบางทับ ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 150 เท่า ประมาณการเคลื่อนที่ด้วยสายตาแบ่งออกเป็น 11 ระดับ ตั้งแต่ 0 จนถึง 10 โดยค่า 10 เป็นค่าที่ดีที่สุด และ 0 เป็นค่าที่ต่ำที่สุด
4. **ความเข้มข้น** (concentration) ตรวจความเข้มข้นโดยใช้ เครื่องนับเม็ดเลือดแดง

การตรวจร้อยละของการเคลื่อนที่

การตรวจร้อยละของการเคลื่อนที่ในแต่ละการทดลองเป็นการตรวจในสภาพที่น้ำเชื้อได้รับการเจือจางแล้ว ดังนั้นจึงทำการตรวจการเคลื่อนที่โดยใช้น้ำเชื้อ 50 ไมโครลิตร หยดลงบนกระจกส่องกล้องจุลทรรศน์ ที่อุ่นไว้ที่ 37° เซลเซียส ใช้กระจกบางขนาด 22×22 มม. ปิดทับ โดยใช้ความระมัดระวังให้กระจกบางปิดทับทุกส่วนของน้ำเชื้อและไม่มีฟองอากาศอยู่ภายใต้กระจกบางหลังจากที่ได้ทำการปิดทับแล้ว ทั้งนี้เพื่อให้มีความหนาของน้ำเชื้อในการส่องตรวจมีค่าคงที่เพื่อลดความแปรปรวนในการประมาณค่าการเคลื่อนที่ การปฏิบัติดังกล่าวจะได้ความหนา (ความสูง) ของน้ำเชื้อที่ใช้ตรวจประมาณ 103 ไมครอน ซึ่งจะได้ค่าไม่ต่ำกว่า 60 ไมครอน เพื่อลดการรบกวนการว่ายในแนวตั้งของอสุจิตามที่ได้

แนะนำไว้ (Rickmenspoel, 1962) หลังจากนั้นส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 150 เท่า ประมาณร้อยละของการเคลื่อนที่ด้วยสายตาแบ่งออกเป็น 0 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ โดยมีขั้นเพิ่มครั้งละ 10 เปอร์เซ็นต์ และประมาณร้อยละของการเคลื่อนที่ไปในแนวข้างหน้าและร้อยละของอสุจิที่เคลื่อนที่อย่างรุนแรงด้วยวิธีเดียวกัน

การตรวจลักษณะการเคลื่อนที่

ดูดน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วจำนวน 10 ไมโครลิตร หยดลงบนกระจกส่องกล้องจุลทรรศน์ที่อุ่นไว้ที่ 37° เซลเซียส และปิดด้วยกระจกบาง (cover glass) ขนาด 22×22 มม. เพื่อบีบบังคับให้ความสูงของน้ำเชื้อลดลงและอสุจิว่ายในแนวดิ่งได้น้อยลง ดังนั้น การส่องตรวจจะมีการว่ายในแนวระนาบมากขึ้น สามารถตรวจได้ดียิ่งขึ้น โดยที่อสุจิไม่ว่ายดิ่งลึกลงไปหรือลอยตื้นขึ้นมาซึ่งอาจทำให้ภาพไม่ชัดเจนและตรวจได้ยาก ทำการส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ขนาดกำลังขยาย 200-400 เท่า ซึ่งต่อไว้ด้วยกล้องถ่ายภาพวีดีทัศน์ เครื่องบันทึกภาพวีดีทัศน์ และจอโทรทัศน์แสดงภาพการเคลื่อนไหว ทำการเลือกบริเวณที่ส่องตรวจและบันทึกภาพวีดีทัศน์เป็นเวลา 1 นาที

ในการตรวจ ทำการเดินเครื่องวีดีทัศน์เพื่อฉายภาพทางจอโทรทัศน์ ตรวจนับ 1) ร้อยละของอสุจิที่เคลื่อนที่ (motility) โดยไม่คำนึงว่าจะว่ายในลักษณะใด 2) ร้อยละของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า (progressive motility) โดยตรวจนับเฉพาะตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าอย่างรวดเร็ว และ 3) ร้อยละของอสุจิที่มีการเคลื่อนที่อย่างรุนแรง (hypermotility)

การตรวจวัดความเร็วของอสุจิ

ตรวจความเร็วของการว่ายหรือการเคลื่อนที่โดยการฉายภาพนิ่งและตรวจดูทีละภาพ ทำการตรวจโดยใช้ลักษณะการเตรียมเช่นเดียวกับการตรวจร้อยละของการเคลื่อนที่ ดังที่ได้อธิบายข้างต้น ทำการตรวจเคลื่อนที่ของอสุจิโดยการสุ่มเลือกอสุจิในจอโทรทัศน์ และทำการฉายภาพและหยุดนิ่งไว้เพื่อให้วาดลักษณะการว่ายได้สะดวกขึ้น แล้วจึงวาดรูปอสุจิลงบนแผ่นใสที่แนบกับจอโทรทัศน์ เมื่อเสร็จแล้วจึงปล่อยให้ภาพเคลื่อนไปหนึ่งภาพ ทำการวาดอสุจิตัวเดิมที่เคลื่อนที่มายังตำแหน่งใหม่จนเสร็จ ทำดังนี้ทีละภาพจนกระทั่งอสุจิเคลื่อนที่ได้ 1 วินาที (22 ภาพ) ทำการวัดระยะการเคลื่อนที่ในแต่ละช่วงจากภาพหนึ่งไปยังอีกภาพหนึ่งโดยใช้ปลายสุดของหัวอสุจิเป็นตำแหน่งที่วัด และคำนวณระยะทางดังนี้คือ

1) ระยะทางรวม คำนวณจากระยะทางแต่ละช่วงรวมกันจากภาพที่ 1 จนถึงภาพที่ 22 (21 ช่วง)

2) ระยะทางลัด คำนวณจากระยะทางตรงจากภาพที่ 1 ถึงภาพที่ 8 รวมกับระยะทางตรงจากภาพที่ 8 ถึงภาพที่ 22 เป็น

3) ระยะทางตรง คำนวณจากระยะทางตรงจากภาพที่ 1 ถึงภาพที่ 22

นำระยะทางที่วัดได้มาคำนวณเป็นระยะทางที่แท้จริง โดยเทียบกับตารางของเครื่องนับเม็ดเลือดที่ส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์ ในขนาดกำลังขยาย 400 เท่าและฉายขึ้นจอแสดงภาพอันเดียวกัน ทำการวัดเส้นตรงที่ปรากฏบนจอโทรทัศน์ และเทียบกับความยาวที่แท้จริงของเส้นในตารางของเครื่องนับเม็ดเลือด ทำให้ได้ระยะทางของการเคลื่อนที่ที่แน่นอน

คำนวณความเร็วในการว่ายของอสุจิโดยใช้ระยะทางที่วัดจากข้อ 1, 2 และ 3 และให้ความเร็วที่ได้จากการคำนวณในข้อ 1 เป็น ความเร็วตามทาง (track velocity) ความเร็วจากข้อ 2 เป็น ความเร็วทางลัด (path velocity) และความเร็วที่ได้จากข้อ 3 เป็น ความเร็วทางตรง (direct velocity)

การทดลองที่ 1 ผลของการบ่มน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ

การทดลองนี้ศึกษาผลของการบ่มน้ำเชื้อสุกรที่อุณหภูมิห้อง (28° เซลเซียส) ต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่ผ่านการลดอุณหภูมิจาก 37° เซลเซียส ลงมาที่ 4° เซลเซียส ทำการรีดน้ำเชื้อสุกรและนำน้ำเชื้อมาแบ่งเป็น 4 ทรีตเม้นท์ เจือจางน้ำเชื้อในขนาด 1:4 โดยใช้สารละลายทริส-กลูโคส (ประกอบด้วย ทริส 3.6 กรัม, กลูโคส 0.5 กรัม, กรดซิตริก 2.0 กรัม และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร) และทำการทดลองดังนี้คือ ทรีตเม้นท์แรกนำมาอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0 ชั่วโมง ทรีตเม้นท์ที่ 2 นำมาอุ่นในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง ทรีตเม้นท์ที่ 3 นำมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28° เซลเซียส) เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง และทรีตเม้นท์ที่ 4 นำมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28° เซลเซียส) เป็นเวลา 1.0 ชั่วโมง

หลังจากนั้น นำน้ำเชื้อในแต่ละทรีตเม้นท์ มาลดอุณหภูมิลงมาที่ 4° เซลเซียส โดยนำมาใส่ในตู้เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 4° เซลเซียส ทิ้งไว้ในตู้เย็นอย่างน้อย 3 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำน้ำเชื้อมาอุ่นให้มีอุณหภูมิ 37° เซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ทำการตรวจร้อยละของการเคลื่อนที่ และบันทึกแถบวิดีทัศน์เพื่อตรวจลักษณะการเคลื่อนที่และความเร็วของอสุจิต่อไป

ในแต่ละทรีตเม้นท์ทำ 4 ซ้ำ และทดสอบในน้ำเชื้อ 4 ชุด

การทดลองที่ 2 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ

การทดลองนี้ศึกษาผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิที่มีต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่ผ่านการลดอุณหภูมิจาก 37° เซลเซียส ลงมาที่ 4° เซลเซียส ทำการรีดน้ำเชื้อสุกรและนำน้ำเชื้อมาแบ่งเป็น 4 ทรีตเม้นท์ และทำการทดลองดังนี้คือ ทรีตเม้นท์แรกนำมาเจือจางน้ำเชื้อในขนาด 1:4 โดยใช้สารละลายทริส-กลูโคส เป็นกลุ่มควบคุม ทรีตเม้นท์ที่ 2 น้ำเชื้อ 10 มิลลิลิตร มาหมุนเหวี่ยงที่แรงโน้มถ่วง 500*g* เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนใสทิ้งและนำตะกอนมาเจือจางด้วยสารละลายทริส-กลูโคสจนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทรีตเม้นท์ที่ 3 น้ำเชื้อ 10 มิลลิลิตร มาหมุนเหวี่ยงที่แรงโน้มถ่วง 800*g* เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนใสทิ้งและนำตะกอนมาเจือจางด้วยสารละลายทริส-กลูโคสจนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ทรีตเม้นท์ที่ 4 น้ำเชื้อ 10 มิลลิลิตร มาหมุนเหวี่ยงที่แรงโน้มถ่วง 1000*g* เป็นเวลา 10 นาที แยกส่วนใสทิ้งและนำตะกอนมาเจือจางด้วยสารละลายทริส-กลูโคสจนได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

หลังจากนั้น นำน้ำเชื้อในแต่ละทรีตเม้นท์ มาลดอุณหภูมิลงมาที่ 4° เซลเซียส โดยนำมาใส่ในตู้เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 4° เซลเซียส ทิ้งไว้ในตู้เย็นอย่างน้อย 3 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำน้ำเชื้อมาอุ่นให้มีอุณหภูมิ 37° เซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ทำการตรวจร้อยละของการเคลื่อนที่ และบันทึกแถบวิดีทัศน์เพื่อตรวจลักษณะการเคลื่อนที่และความเร็วของอสุจิต่อไป

ในแต่ละทรีตเม้นท์ทำ 4 ซ้ำ และทดสอบในน้ำเชื้อ 4 ชุด

การทดลองที่ 3 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิ

การทดลองนี้ศึกษาผลของอัตราการลดอุณหภูมิจาก 37° เซลเซียส ลงมาที่ 18° เซลเซียส ที่มีต่อคุณภาพน้ำเชื้อ ทำการรีดน้ำเชื้อสุกรและนำน้ำเชื้อมาแบ่งเป็น 4 ทรีตเม้นท์ เจือจางน้ำเชื้อในขนาด 1:4 โดยใช้สารละลายทริส-กลูโคส และทำการทดลองดังนี้คือ ทรีตเม้นท์แรกลดอุณหภูมิจาก 37° เซลเซียส ลงมาที่ 18° เซลเซียส ในอัตรา 2.0° เซลเซียส/นาที ทรีตเม้นท์ที่ 2 ลดอุณหภูมิจาก 37° เซลเซียส ลงมาที่ 18° เซลเซียส ในอัตรา 1.0° เซลเซียส/นาที ทรีตเม้นท์ที่ 3 กลดอุณหภูมิจาก 37° เซลเซียส ลงมาที่ 18° เซลเซียส ในอัตรา 0.5° เซลเซียส/นาที ทรีตเม้นท์ที่ 4 น้ำเชื้อมาลดอุณหภูมิลงมาที่ 4° เซลเซียส โดยนำมาใส่ในตู้เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 4° เซลเซียส

หลังจากนั้น นำน้ำเชื้อในทรีตเม้นท์ที่ 1-3 มาลดอุณหภูมิลงมาที่ 4° เซลเซียส โดยนำมาใส่ในตู้เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 4° เซลเซียส ทิ้งไว้ในตู้เย็นอย่างน้อย 3 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำน้ำเชื้อในทุกทรีตเม้นท์มาอุ่นให้มีอุณหภูมิ 37° เซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ทำการตรวจร้อยละของการเคลื่อนที่ และบันทึกแถบวิดีทัศน์เพื่อตรวจลักษณะการเคลื่อนที่และความเร็วของอสุจิต่อไป

ในแต่ละทรีตเม้นท์ทำ 4 ซ้ำ และทดสอบในน้ำเชื้อ 4 ชุด

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลความเร็วในการเคลื่อนที่ของอสุจิ และค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิ นำมาทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดย Duncan's multiple range test (Steel and Torrie, 1980)

ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ผลของการบ่มน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ

จากการทดลองพบว่าการบ่มน้ำเชื้อไม่มีผลต่อค่าการเคลื่อนที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเคลื่อนที่ในน้ำเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง, บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1.0 ชั่วโมง, อุ่นที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง และอุ่นที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0 ชั่วโมง มีค่า 56.25±4.42, 54.38±3.67, 56.87±3.69 และ 55.62±4.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ ร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรง ความเร็วตามทาง ความเร็วทางลัด และความเร็วทางตรงของอสุจิ

	การบ่ม[1]				
	37°ซ, 0 ชม	37°ซ, 0.5 ชม	28°ซ, 0.5 ชม	28°ซ, 1.0 ชม	
การเคลื่อนที่ (%)	55.62±4.35	56.87±3.69	56.25±4.42	54.38±3.67	NS
การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (%)	10.47±2.13^{a}	8.75±1.93^{ab}	10.31±1.78^{a}	7.81±1.54^{b}	*
การเคลื่อนที่อย่างรุนแรง (%)	7.19±1.17	8.75±0.71	7.19±0.78	7.97±1.00	NS
ความเร็วตามทาง (ไมครอน/วินาที)	278.40±4.15^{b}	278.20±5.42^{b}	286.89±5.21^{a}	291.70±4.39^{a}	*
ความเร็วทางลัด (ไมครอน/วินาที)	223.07±3.75^{a}	214.78±4.20^{b}	223.79±4.10^{a}	228.12±4.50^{a}	*
ความเร็วทางตรง (ไมครอน/วินาที)	176.58±4.10^{a}	163.32±4.09^{b}	179.01±4.06^{a}	180.80±4.73^{a}	**

[1] ค่าเฉลี่ยในแถวที่มีอักษรต่างกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

NS = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.01$

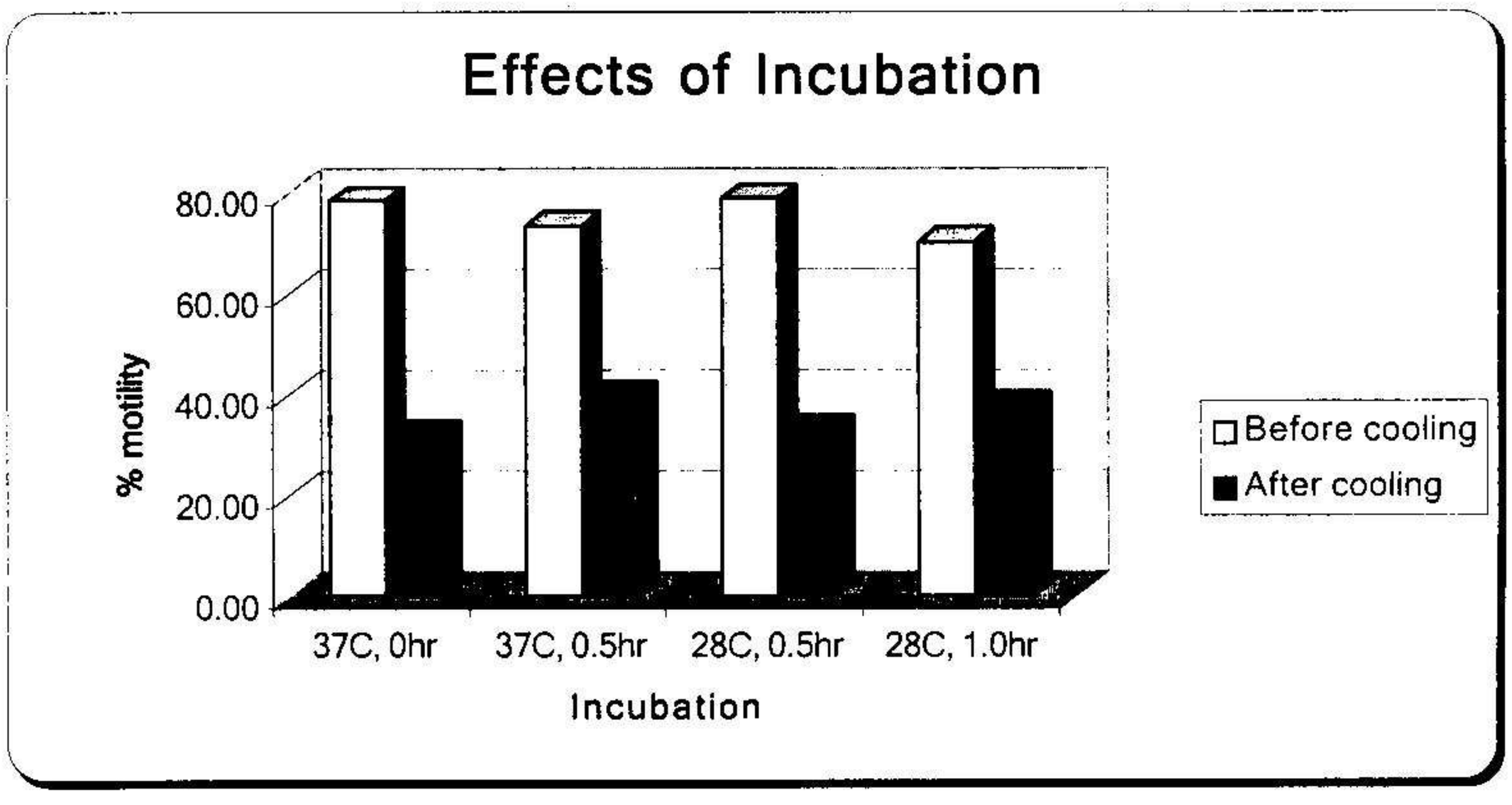
ส่วนค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในกลุ่มควบคุม (อุ่นที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0 ชั่วโมง, 10.47±2.13 เปอร์เซ็นต์) มีค่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่อุ่นที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง และกลุ่มที่บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง (8.75±1.93 และ10.31±1.78 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, $p > 0.05$) แต่มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่อุ่นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1.0 ชั่วโมง (7.81±1.54 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.05$)

ส่วนร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงกว่าปกติ พบว่าไม่ได้รับผลกระทบจากผลของการบ่ม โดยพบว่าค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเคลื่อนอย่างรุนแรงที่ในน้ำเชื้อที่อุ่นที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0 ชั่วโมง และ 0.5 ชั่วโมง, บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง และ 1.0 ชั่วโมงมีค่า 7.19±1.17, 8.75±0.71, 7.19±0.78 และ 7.97±1.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ($p > 0.05$)

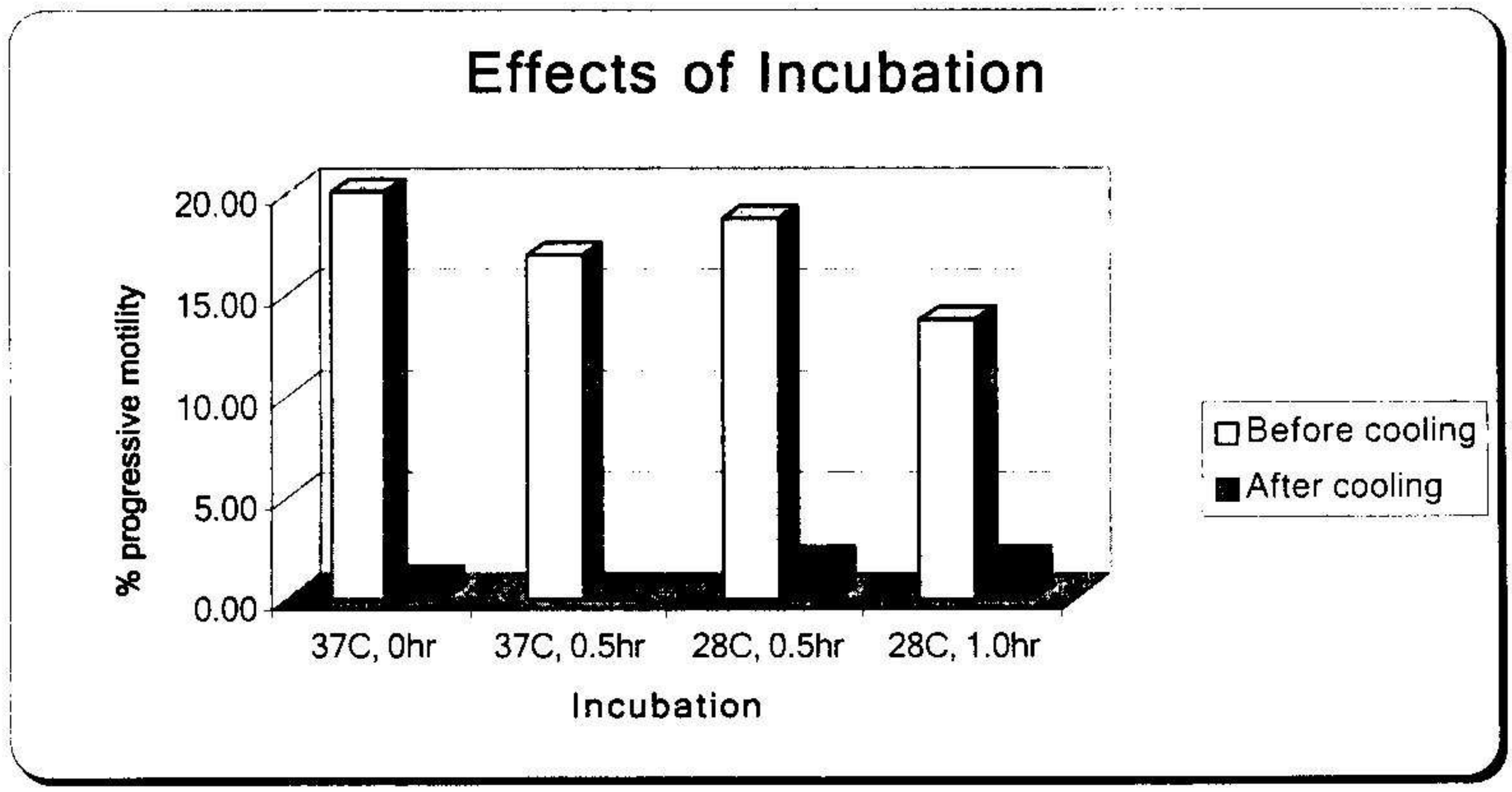
การบ่มน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิมีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อความเร็วอสุจิ ทั้งความเร็วตามทาง (track velocity) ความเร็วทางลัด (path velocity) และความเร็วทางตรง ความเร็วตามทางของอสุจิในน้ำเชื้อที่อุ่นที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0 ชั่วโมง (278.40±4.15 ไมครอน/วินาที) มีค่าไม่แตกต่างจากในน้ำเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง (278.20±5.42 ไมครอน/วินาที $p > 0.05$) แต่มีค่าต่ำกว่าในน้ำเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0.5 และ 1.0 ชั่วโมง (286.89±5.21 และ 291.70±4.39 ไมครอน/วินาที ตามลำดับ, $p < 0.05$)

ความเร็วทางลัดของอสุจิมีค่าลดลงในน้ำเชื้อที่อุ่นที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง (214.78±4.20 ไมครอน/วินาที) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (223.07±3.75 ไมครอน/วินาที, $p < 0.05$) แต่ความเร็วอสุจิในน้ำเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0.5 และ 1.0 ชั่วโมง (223.79±4.10 และ 228.12±4.50 ไมครอน/วินาที ตามลำดับมีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p > 0.05$)

ความเร็วทางตรงของอสุจิได้รับผลกระทบจากการบ่มน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ เช่นเดียวกันกับความเร็วทางลัด พบว่าความเร็วทางตรงในน้ำเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง (163.32±4.09 ไมครอน/วินาที) มีค่าต่ำกว่าความเร็วอสุจิในน้ำเชื้อที่บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1.0 ชั่วโมง, ที่อุ่นที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง และที่อุ่นที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 0 ชั่วโมง (179.01±4.06, 180.8012±4.73 และ 176.58±4.10 ไมครอน/วินาที ตามลำดับ, $p < 0.01$)



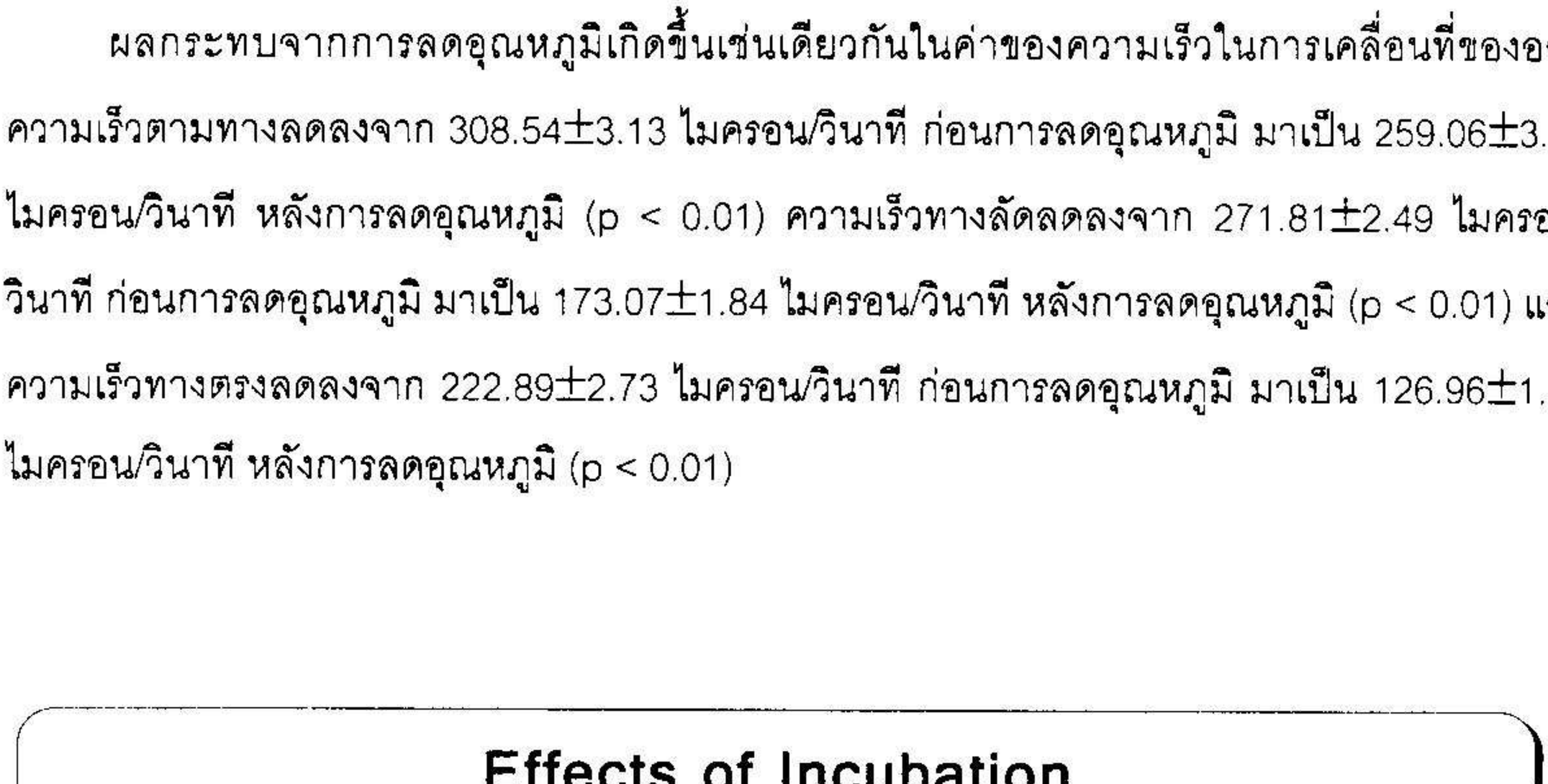
รูปที่ 1 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



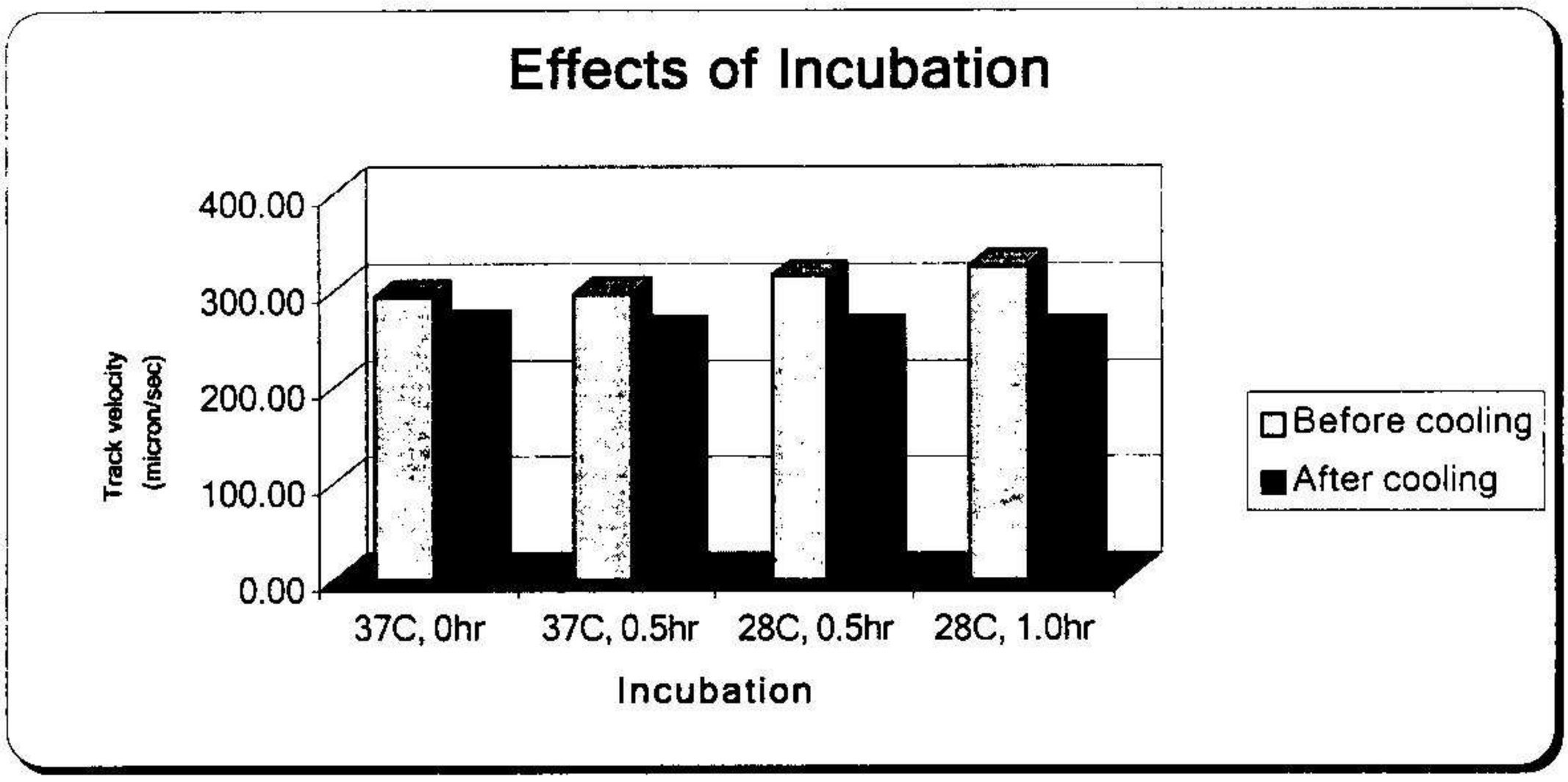
รูปที่ 2 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ

การลดอุณหภูมิมีผลทำให้ค่าร้อยละของการเคลื่อนที่และความเร็วอสุจิทุกค่า ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ ร้อยละของของการเคลื่อนที่ลดลงจาก 75.63±1.44 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงก่อนการลดอุณหภูมิ เป็น 35.94±1.25 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงหลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) ร้อยละของของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในช่วงก่อนการลดอุณหภูมิ (17.34±1.15 เปอร์เซ็นต์) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังการลดอุณหภูมิ (1.33±0.28 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.01$) ส่วนร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงกว่าปกติก็ลดลงในทำนองเดียวกัน (ลดจาก 10.63±0.67 มาเป็น 4.92±0.39 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.01$)

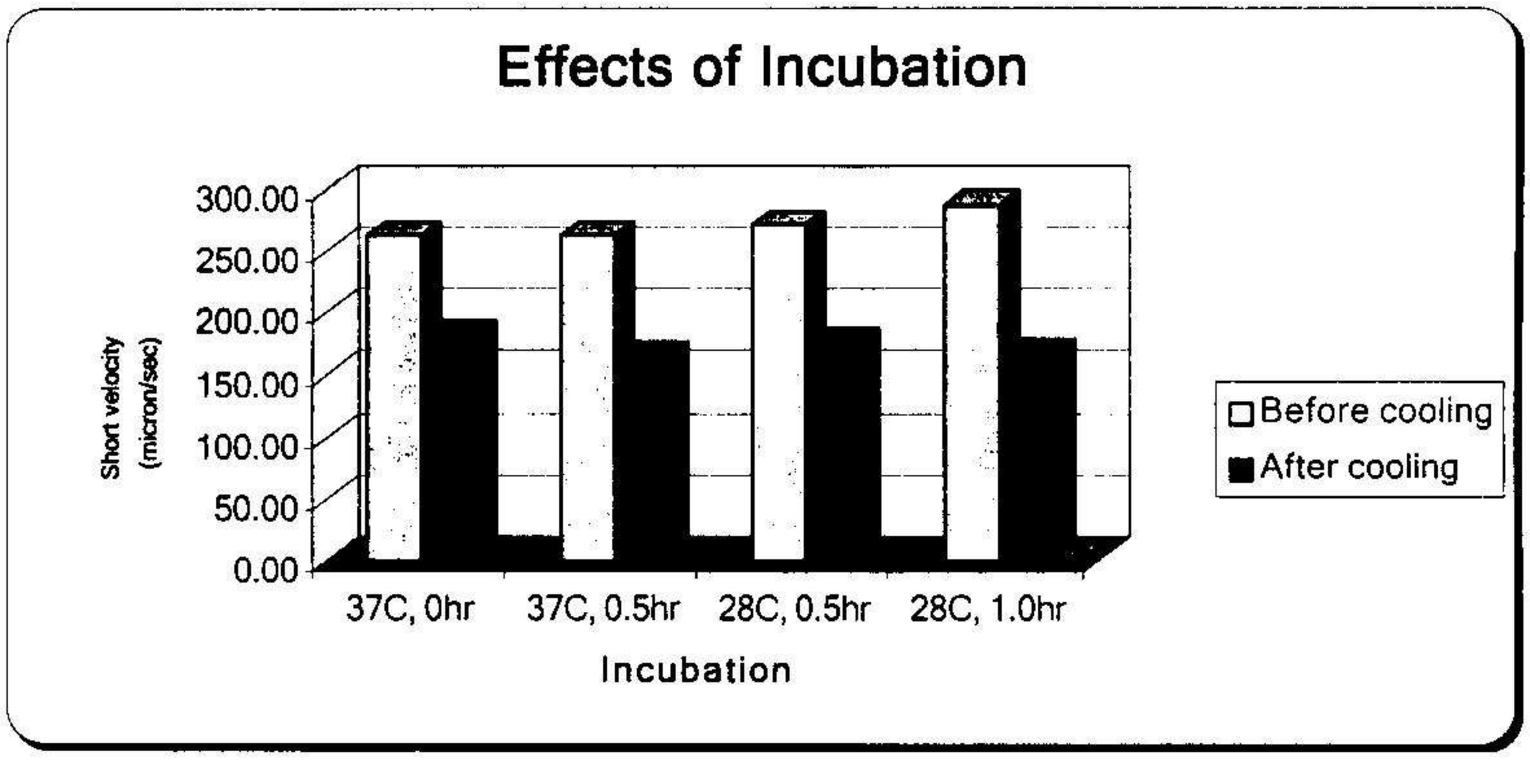
ผลกระทบจากการลดอุณหภูมิเกิดขึ้นเช่นเดียวกันในค่าของความเร็วในการเคลื่อนที่ของอสุจิ ความเร็วตามทางลดลงจาก 308.54±3.13 ไมครอน/วินาที ก่อนการลดอุณหภูมิ มาเป็น 259.06±3.40 ไมครอน/วินาที หลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) ความเร็วทางลัดลดลงจาก 271.81±2.49 ไมครอน/วินาที ก่อนการลดอุณหภูมิ มาเป็น 173.07±1.84 ไมครอน/วินาที หลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) และความเร็วทางตรงลดลงจาก 222.89±2.73 ไมครอน/วินาที ก่อนการลดอุณหภูมิ มาเป็น 126.96±1.88 ไมครอน/วินาที หลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$)



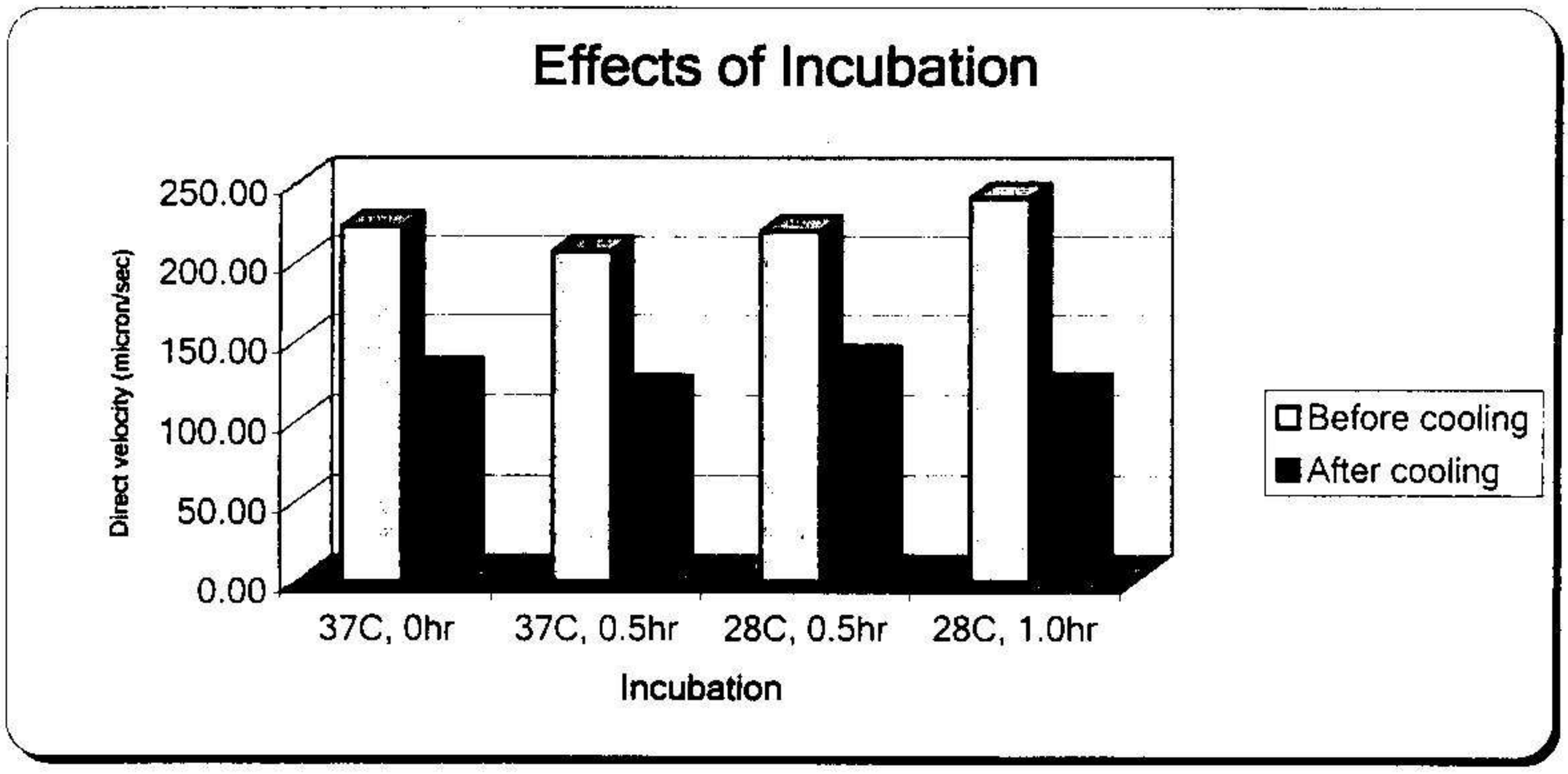
รูปที่ 3 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรง ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



รูปที่ 4 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วตามทางของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



รูปที่ 5 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางลัดของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



รูปที่ 6 ผลของการบ่มน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางตรงของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ

การทดลองที่ 2 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิ

การหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิมีผลกระทบต่อค่าการเคลื่อนที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบว่าค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเคลื่อนที่ในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม ในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 800*g* และในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 1000*g* มีค่าไม่แตกต่างกัน (51.25±5.64, 52.34±4.95 และ 50.63±5.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, ตารางที่ 2) แต่มีค่าต่ำกว่าในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 500*g* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (57.81±4.39 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.01$) ส่วนค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าไม่ได้รับผลกระทบจากการหมุนเหวี่ยงก่อนการลดอุณหภูมิ โดยพบว่าร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าที่ในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม ในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 500*g* ในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 800*g* และในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 1000*g* มีค่า 20.47±3.55, 17.19±1.84, 17.19±1.98 และ 15.16±1.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 2 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ ร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรง ความเร็วตามทาง ความเร็วทางลัด และความเร็วทางตรงของอสุจิ

	การหมุนเหวี่ยง[1]				
	ควบคุม	500*g*	800*g*	1000*g*	
การเคลื่อนที่ (%)	51.25±5.64^{b}	57.81±4.39^{a}	52.34±4.95^{b}	50.63±5.44^{b}	**
การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (%)	20.47±3.55	17.19±1.84	17.19±1.98	15.16±1.79	NS
การเคลื่อนที่อย่างรุนแรง (%)	3.59±1.01^{b}	7.03±1.45^{a}	6.25±1.42^{a}	6.25±1.62^{a}	*
ความเร็วตามทาง (ไมครอน/วินาที)	287.50±4.70^{a}	279.81±4.25^{b}	267.44±4.46^{c}	263.67±4.95^{c}	**
ความเร็วทางลัด (ไมครอน/วินาที)	192.18±3.91^{ab}	196.77±4.32^{a}	186.06±4.09^{c}	189.89±3.63^{bc}	*
ความเร็วทางตรง (ไมครอน/วินาที)	149.48±4.09^{a}	145.46±4.33^{ab}	137.13±4.42^{b}	138.22±4.00^{b}	*

[1] ค่าเฉลี่ยในแถวที่มีอักษรต่างกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

NS = ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.01$

ค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเคลื่อนอย่างรุนแรงที่ในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (3.59±1.01 เปอร์เซ็นต์) มีค่าต่ำกว่า ในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 500*g* ในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 800*g* และในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 1000*g* (7.03±1.45, 6.25±1.42 และ 6.25±1.62 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, $p < 0.05$)

การหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิมีผลทำให้ความเร็วตามทางของอสุจิลดลงจาก 287.50±4.70 ไมครอน/วินาที ในกลุ่มควบคุม ลงมาเป็น 279.81±4.25, 267.44±4.46 และ 263.67±4.95 ไมครอน/วินาที ในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 500*g* ในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 800*g* และในน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 1000*g* ตามลำดับ ($p < 0.01$)

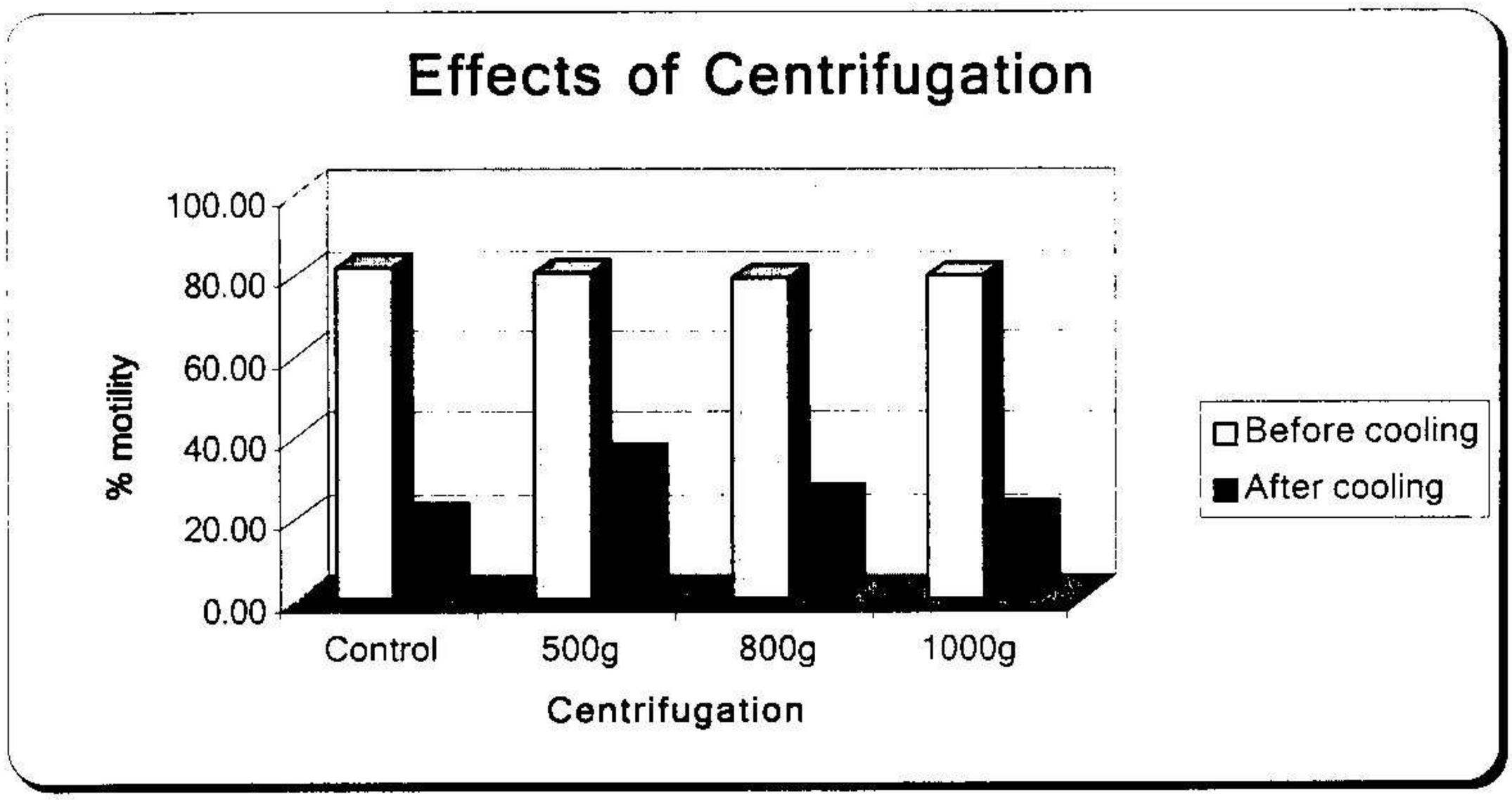
Central Library
Prince of Songkla University

ความเร็วทางลัดของอสุจิได้รับผลกระทบจากการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิในทำนองเดียวกับความเร็วตามทางของอสุจิ โดยความเร็วทางลัดของอสุจิในกลุ่มควบคุม (192.18±3.91 ไมครอน/วินาที) ไม่แตกต่างจากกลุ่มน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 500*g* (196.77±4.32 ไมครอน/วินาที, $p > 0.05$) แต่มีค่าสูงกว่ากลุ่มน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 800*g* (186.06±4.09 ไมครอน/วินาที, $p < 0.05$) และไม่แตกต่างจากกลุ่มน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 1000*g* (189.89±3.63 ไมครอน/วินาที, $p > 0.05$)

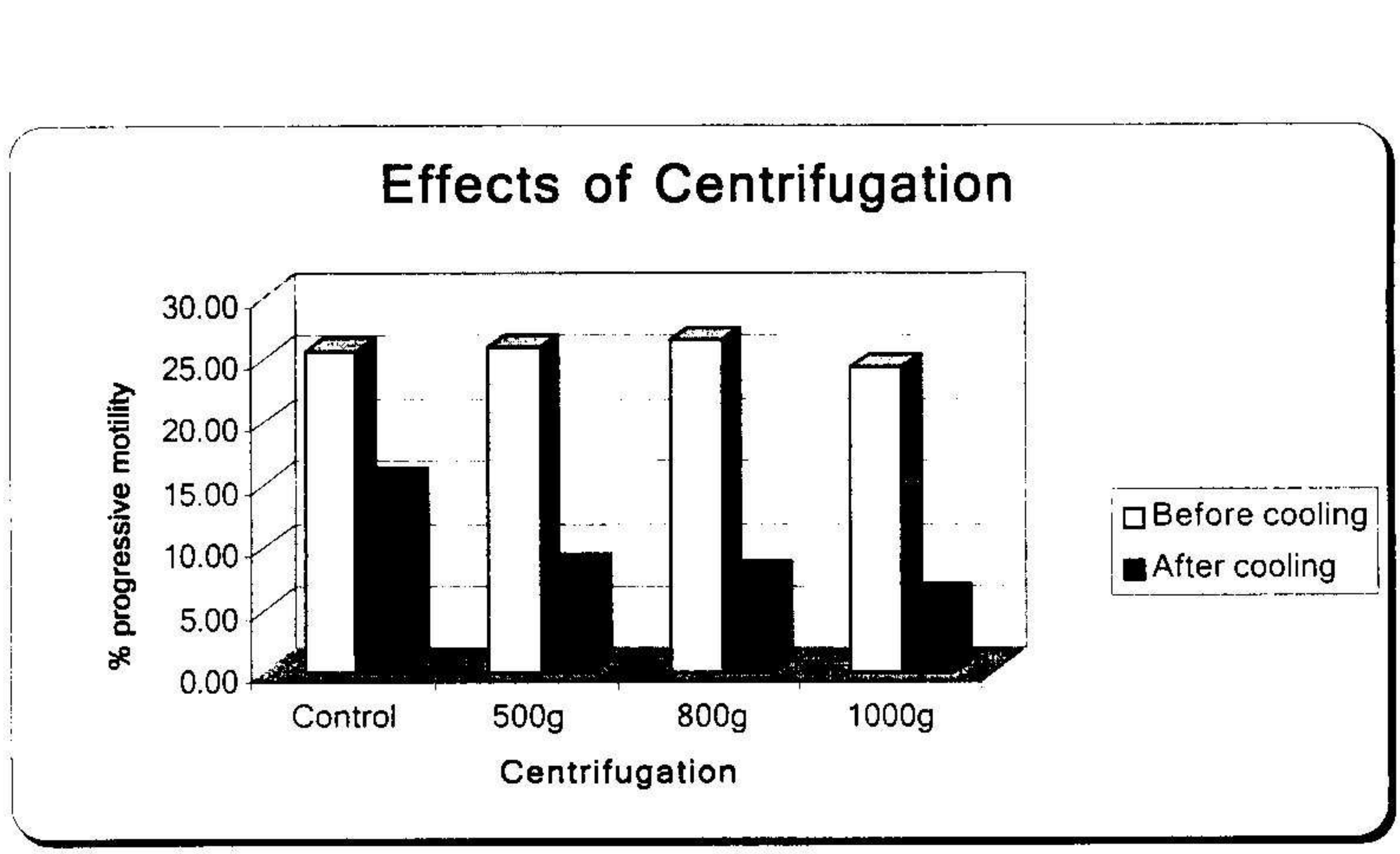
ในทำนองเดียวกัน ความเร็วทางตรงของอสุจิในกลุ่มควบคุม (149.48±4.09 ไมครอน/วินาที) ไม่แตกต่างจากกลุ่มน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 500*g* (145.46±4.33 ไมครอน/วินาที, $p > 0.05$) แต่มีค่าสูงกว่ากลุ่มน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 800*g* และกลุ่มน้ำเชื้อที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรง 1000*g* (137.13±4.42 และ 189.89±3.63 ไมครอน/วินาที ตามลำดับ, $p < 0.05$)

การลดอุณหภูมิมีผลทำให้ค่าร้อยละของการเคลื่อนที่และความเร็วอสุจิลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่าร้อยละของการเคลื่อนที่ลดลงจาก 80.47±0.47 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงก่อนการลดอุณหภูมิเป็น 25.55±1.41 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงหลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) ร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในช่วงก่อนการลดอุณหภูมิ (25.63±0.80 เปอร์เซ็นต์) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังการลดอุณหภูมิ (9.38±1.75 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.01$) ส่วนร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงกว่าปกติก็ลดลงในทำนองเดียวกัน (ลดจาก 11.09±1.02 มาเป็น 0.47±0.18 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.01$)

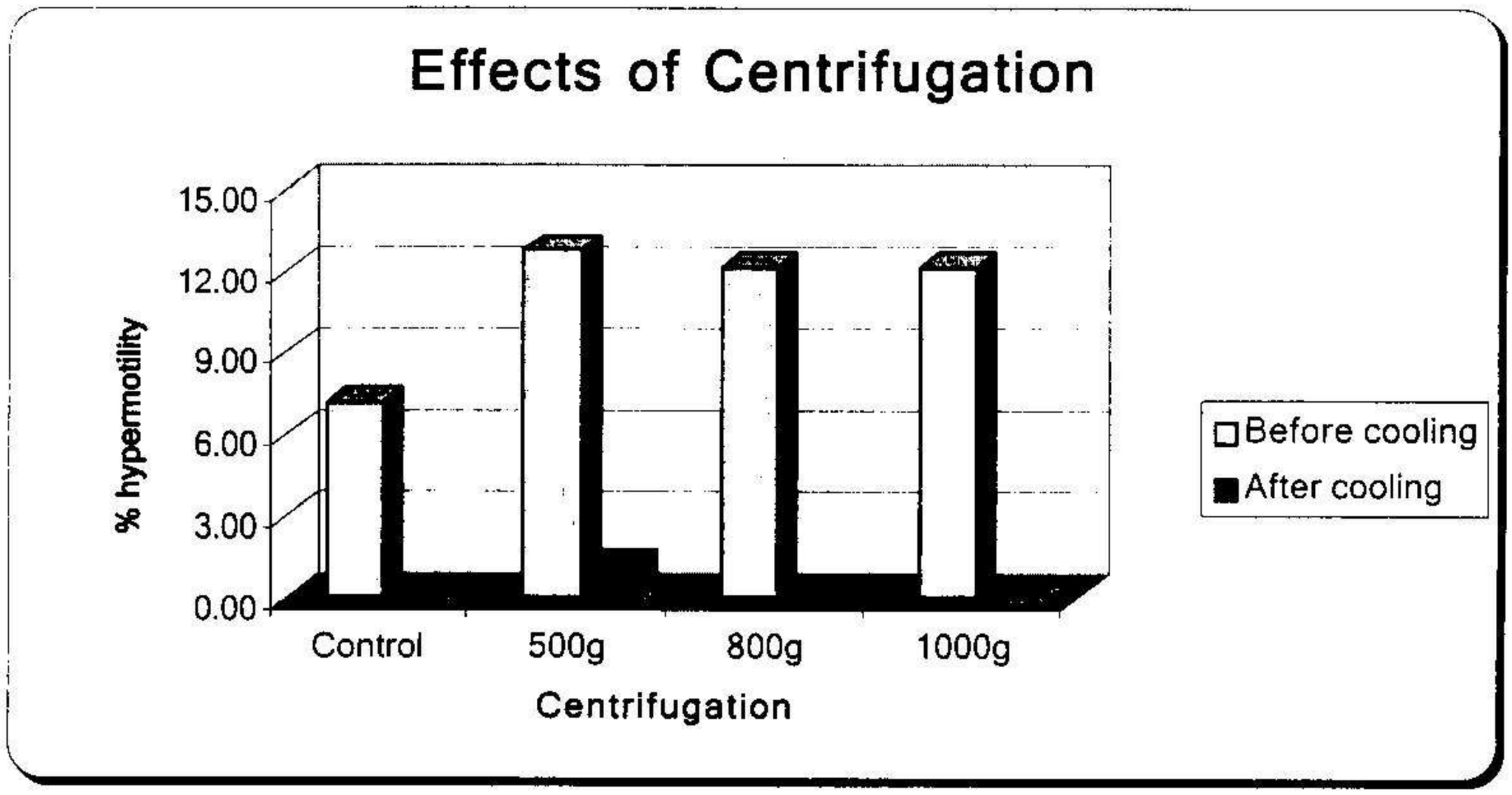
ความเร็วในการเคลื่อนที่ของอสุจิได้รับผลกระทบจากการลดอุณหภูมิเกิดเช่นเดียวกับร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิ พบว่าค่าของความเร็วตามทางลดลงจาก 336.49±2.48 ไมครอน/วินาที ก่อนการลดอุณหภูมิ มาเป็น 212.72±1.79 ไมครอน/วินาที หลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) ความเร็วทางลัดลดลงจาก 243.54±2.46 ไมครอน/วินาที ก่อนการลดอุณหภูมิ มาเป็น 138.90±1.17 ไมครอน/วินาที หลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) และความเร็วทางตรงลดลงจาก 187.23±3.08 ไมครอน/วินาที ก่อนการลดอุณหภูมิ มาเป็น 97.91±1.43 ไมครอน/วินาที หลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$)



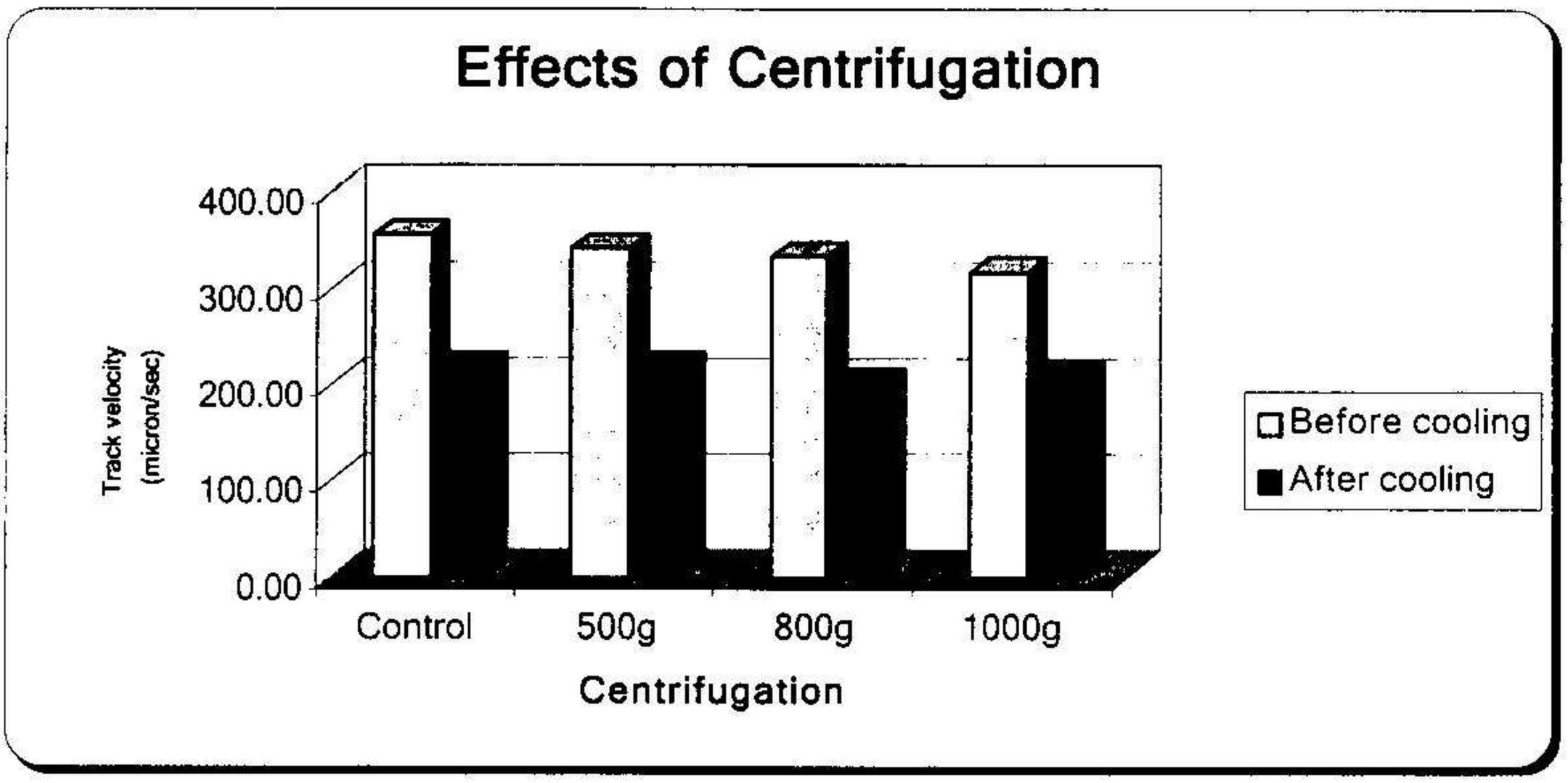
รูปที่ 7 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



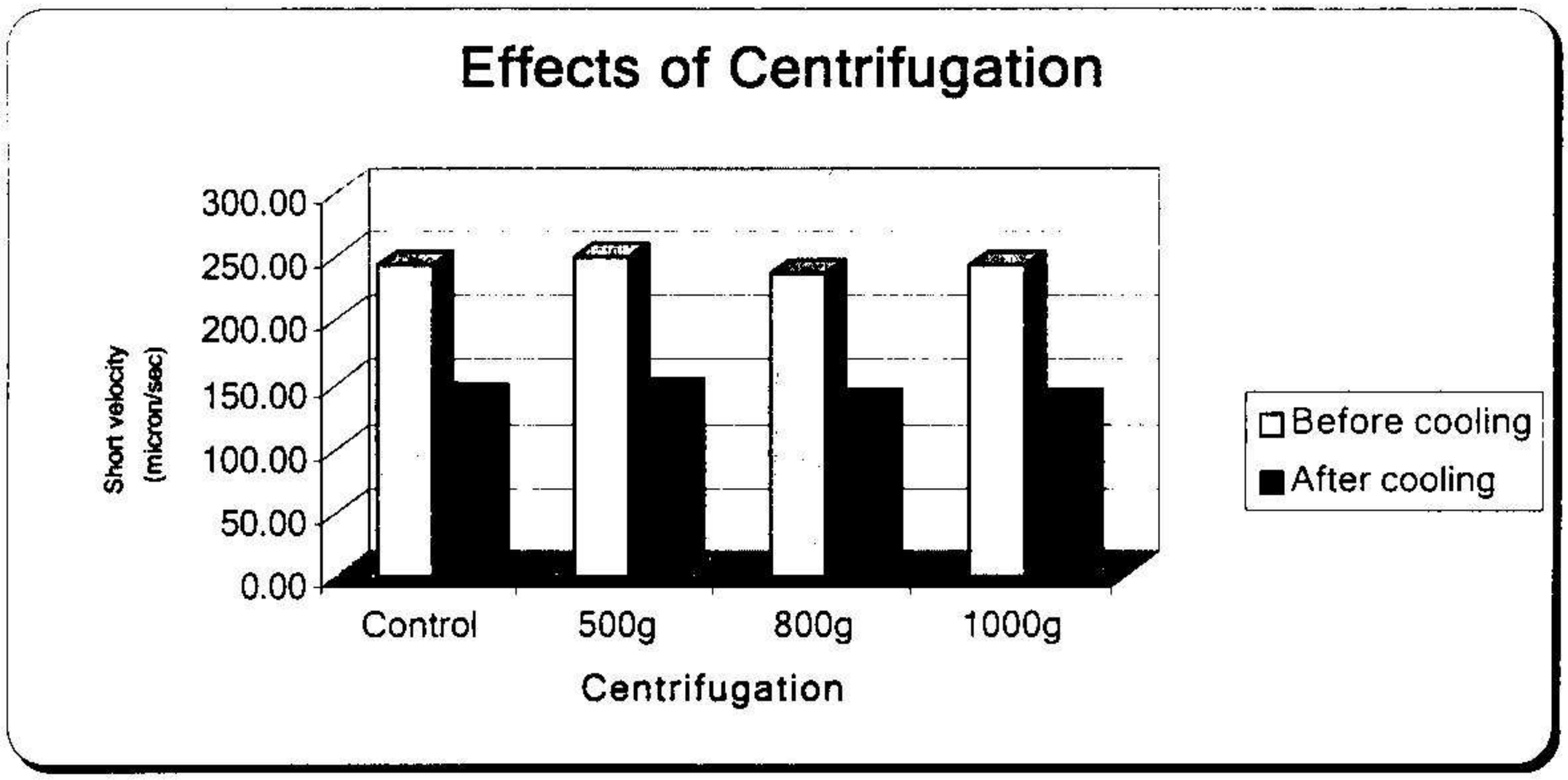
รูปที่ 8 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



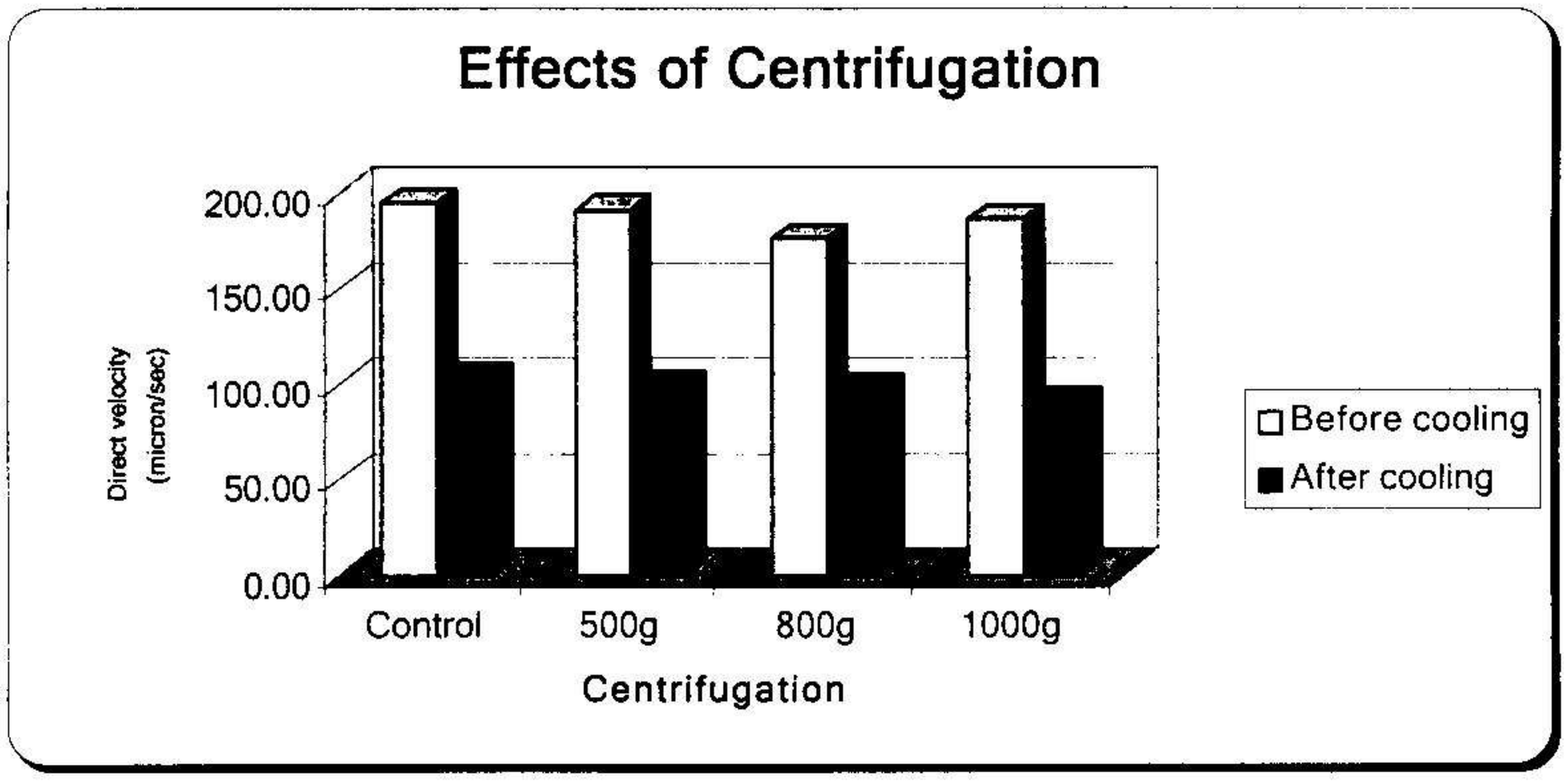
รูปที่ 9 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



รูปที่ 10 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วตามทางของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



รูปที่ 11 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางลัดของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



รูปที่ 12 ผลของการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางตรงของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ

การทดลองที่ 3 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิ

อัตราการลดอุณหภูมิจาก 37° เซลเซียส ลงมาที่ 18° เซลเซียส ทำให้ค่าการเคลื่อนที่ในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (52.34±5.13 เปอร์เซ็นต์) มีค่าต่ำกว่าในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 0.5, 1.0 และ 2.0° เซลเซียส/นาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (60.31±3.72, 60.31±3.98 และ 62.50±3.11 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, $p < 0.01$) ในทางกลับกันค่าร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (18.28±1.70 เปอร์เซ็นต์) มีค่าสูงกว่าในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 0.5, 1.0 และ 2.0° เซลเซียส/นาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (10.94±0.91, 12.34±1.03 และ 15.47±0.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, $p < 0.01$)

ตารางที่ 3 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ ร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรง ความเร็วตามทาง ความเร็วทางลัด และความเร็วทางตรงของอสุจิ

	อัตราการลดอุณหภูมิ[1]				
	Control	0.5°ซ/นาที	1°ซ/นาที	2°ซ/นาที	
การเคลื่อนที่ (%)	52.34±5.13^{b}	60.31±3.72^{a}	60.31±3.98^{a}	62.50±3.11^{a}	**
การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (%)	18.28±1.70^{a}	10.94±0.91^{c}	12.34±1.03^{c}	15.47±0.96^{b}	**
การเคลื่อนที่อย่างรุนแรง (%)	2.34±0.59^{b}	2.97±0.67^{ab}	3.91±0.86^{a}	2.34±0.74^{b}	*
ความเร็วตามทาง (ไมครอน/วินาที)	297.62±4.03^{c}	336.61±1.74^{a}	305.07±2.90^{b}	301.98±3.70^{bc}	**
ความเร็วทางลัด (ไมครอน/วินาที)	180.06±3.15^{c}	201.52±2.21^{a}	188.84±2.49^{b}	175.20±2.71^{c}	**
ความเร็วทางตรง (ไมครอน/วินาที)	138.47±3.64^{bc}	154.83±3.21^{a}	142.58±3.03^{b}	131.37±3.44^{c}	**

[1] ค่าเฉลี่ยในแถวที่มีอักษรต่างกัน แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

** = แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.01$

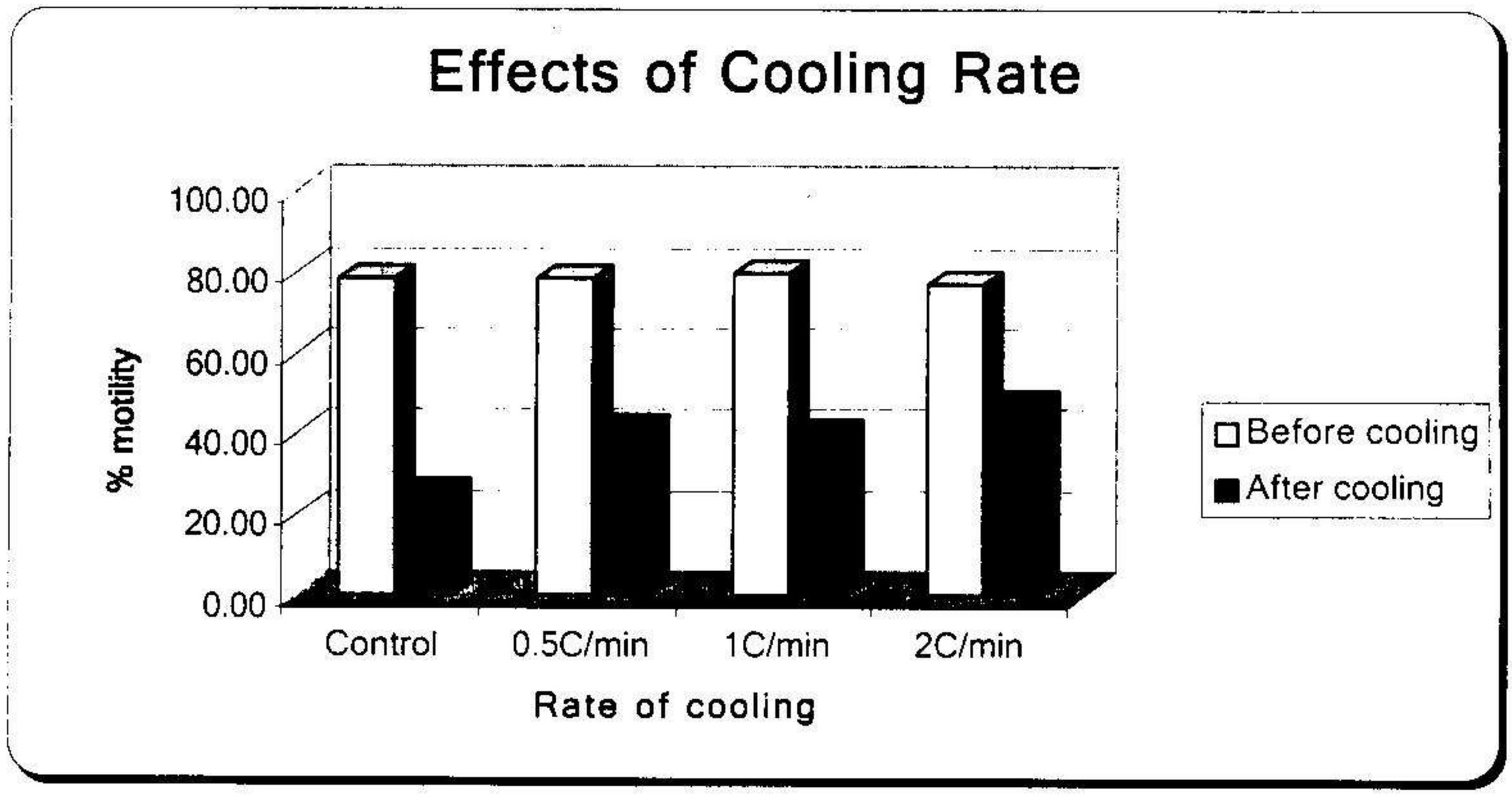
ค่าเฉลี่ยของร้อยละของการเคลื่อนอย่างรุนแรงในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (2.34±0.95 เปอร์เซ็นต์) มีค่าไม่แตกต่างจากในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 0.5 และ 2.0° เซลเซียส/นาที (2.97±0.67 และ 2.34±0.74 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ, $p > 0.05$) แต่ต่ำกว่าในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 1.0° เซลเซียส/นาที (3.91±0.86 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.05$)

ความเร็วตามทางของอสุจิในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (297.62±4.03 ไมครอน/วินาที) มีค่าต่ำกว่าในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 0.5 และ 1.0° เซลเซียส/นาที (336.61±1.74 และ 305.07±2.90 ไมครอน/วินาที ตามลำดับ, $p < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างจากในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 2.0° เซลเซียส/นาที (301.98±3.70 ไมครอน/วินาที, $p > 0.05$)

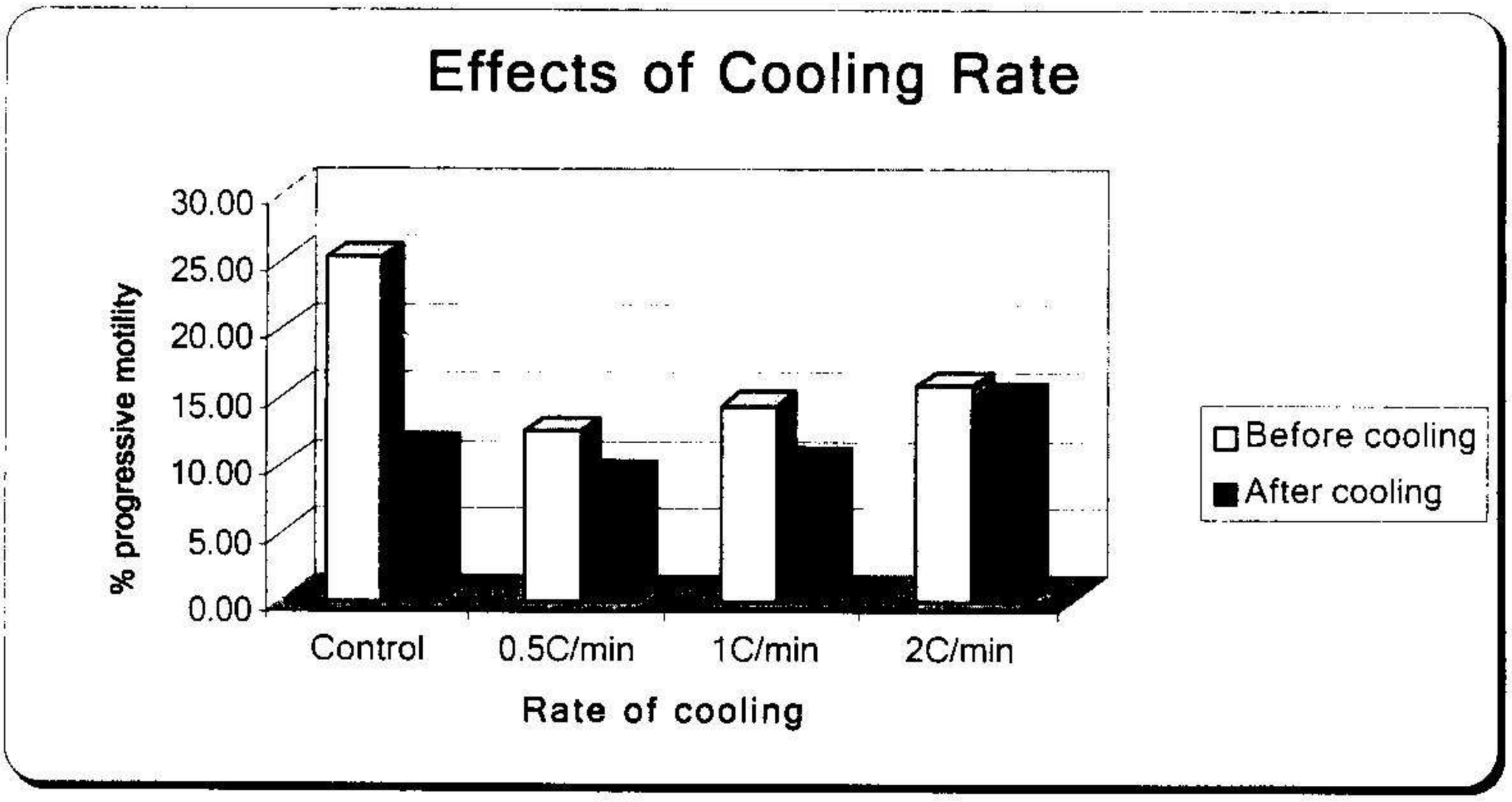
ความเร็วทางลัดของอสุจิให้ผลในทำนองเดียวกันและความเร็วทางลัดในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (180.06±3.15 ไมครอน/วินาที) มีค่าต่ำกว่าในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 0.5 และ 1.0° เซลเซียส/นาที (201.50±2.21 และ 188.84±2.49 ไมครอน/วินาที ตามลำดับ, $p < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างจากในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 2.0° เซลเซียส/นาที (175.20±2.71 ไมครอน/วินาที, $p > 0.05$)

ความเร็วทางตรงของอสุจิในน้ำเชื้อกลุ่มควบคุม (138.47±3.64 ไมครอน/วินาที) มีค่าต่ำกว่าในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 0.5° เซลเซียส/นาที (154.83±3.21 ไมครอน/วินาที, $p < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างจากในน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิในอัตรา 1.0 และ 2.0° เซลเซียส/นาที (142.58±3.03 และ 131.37±3.44 ไมครอน/วินาที ตามลำดับ, $p > 0.05$)

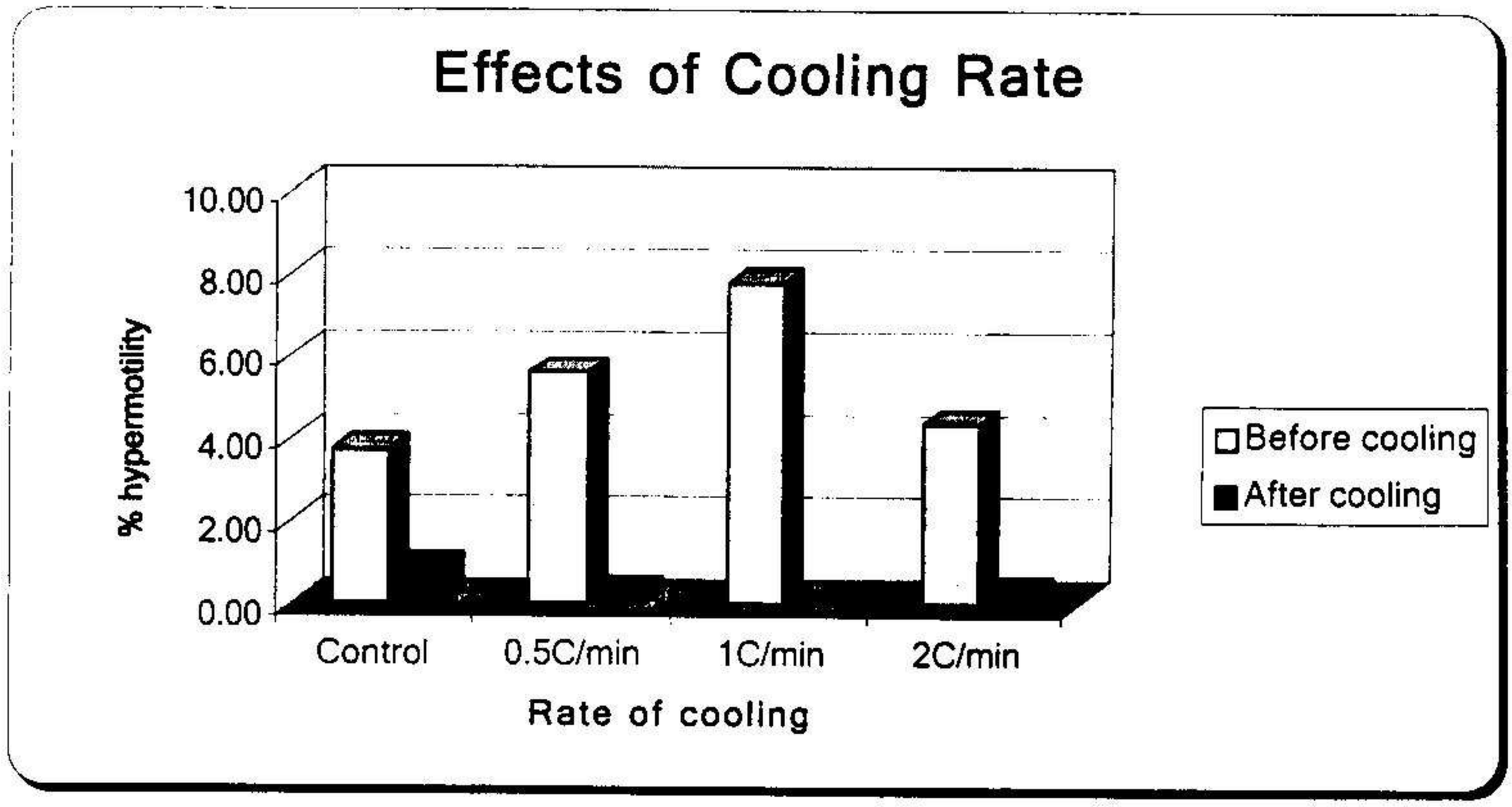
การลดอุณหภูมิมีผลทำให้ค่าร้อยละของการเคลื่อนที่และความเร็วอสุจิลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่าร้อยละของของการเคลื่อนที่ลดลงจาก 78.75±0.47 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงก่อนการลดอุณหภูมิ เป็น 38.98±1.96 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงหลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) ร้อยละของของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในช่วงก่อนการลดอุณหภูมิ (17.03±0.94 เปอร์เซ็นต์) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังการลดอุณหภูมิ (11.48±0.74 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.01$) ส่วนร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงกว่าปกติก็ลดลงในทำนองเดียวกัน (ลดจาก 5.39±0.55 มาเป็น 0.39±0.17 เปอร์เซ็นต์, $p < 0.01$)



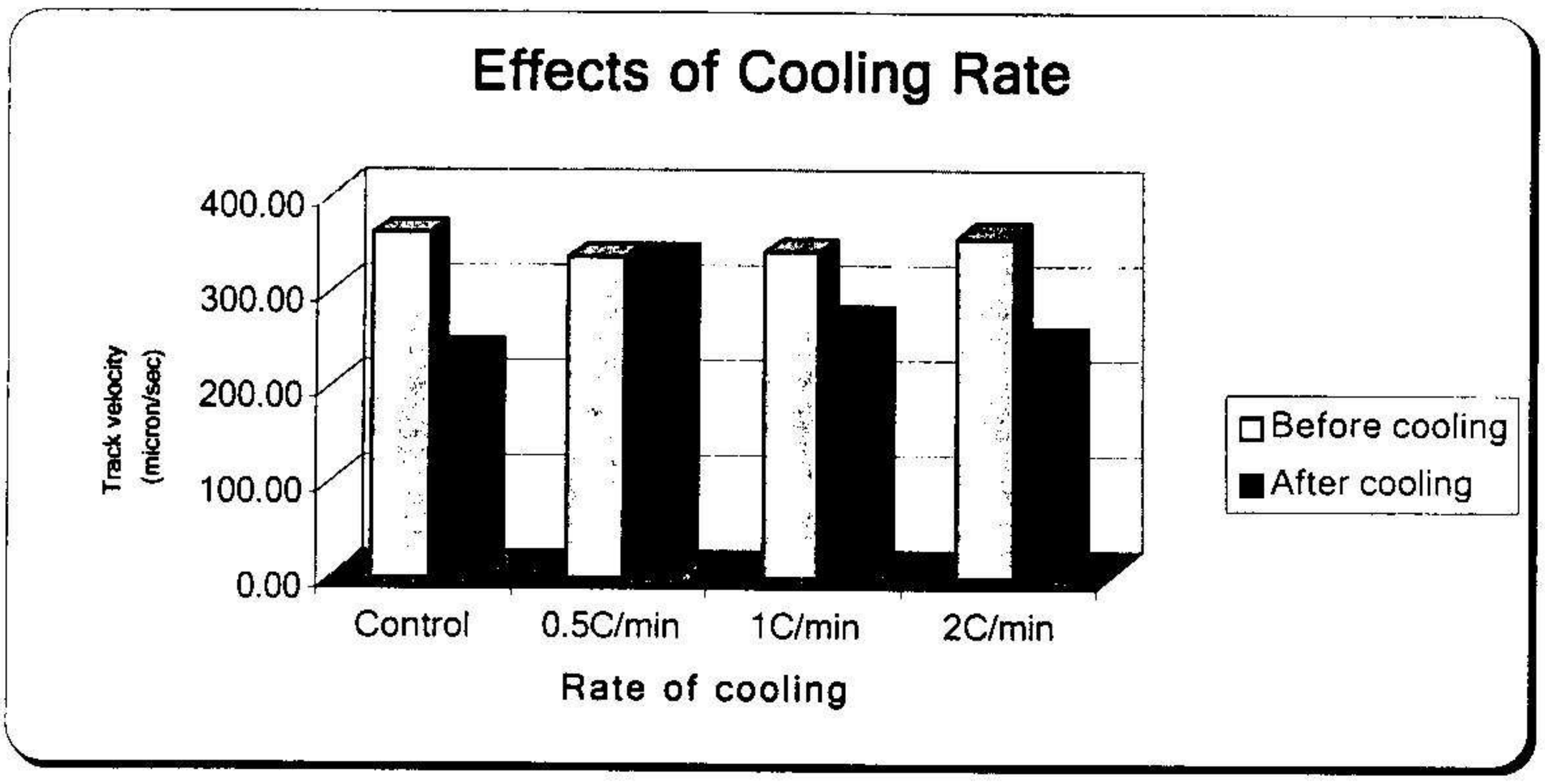
รูปที่ 13 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



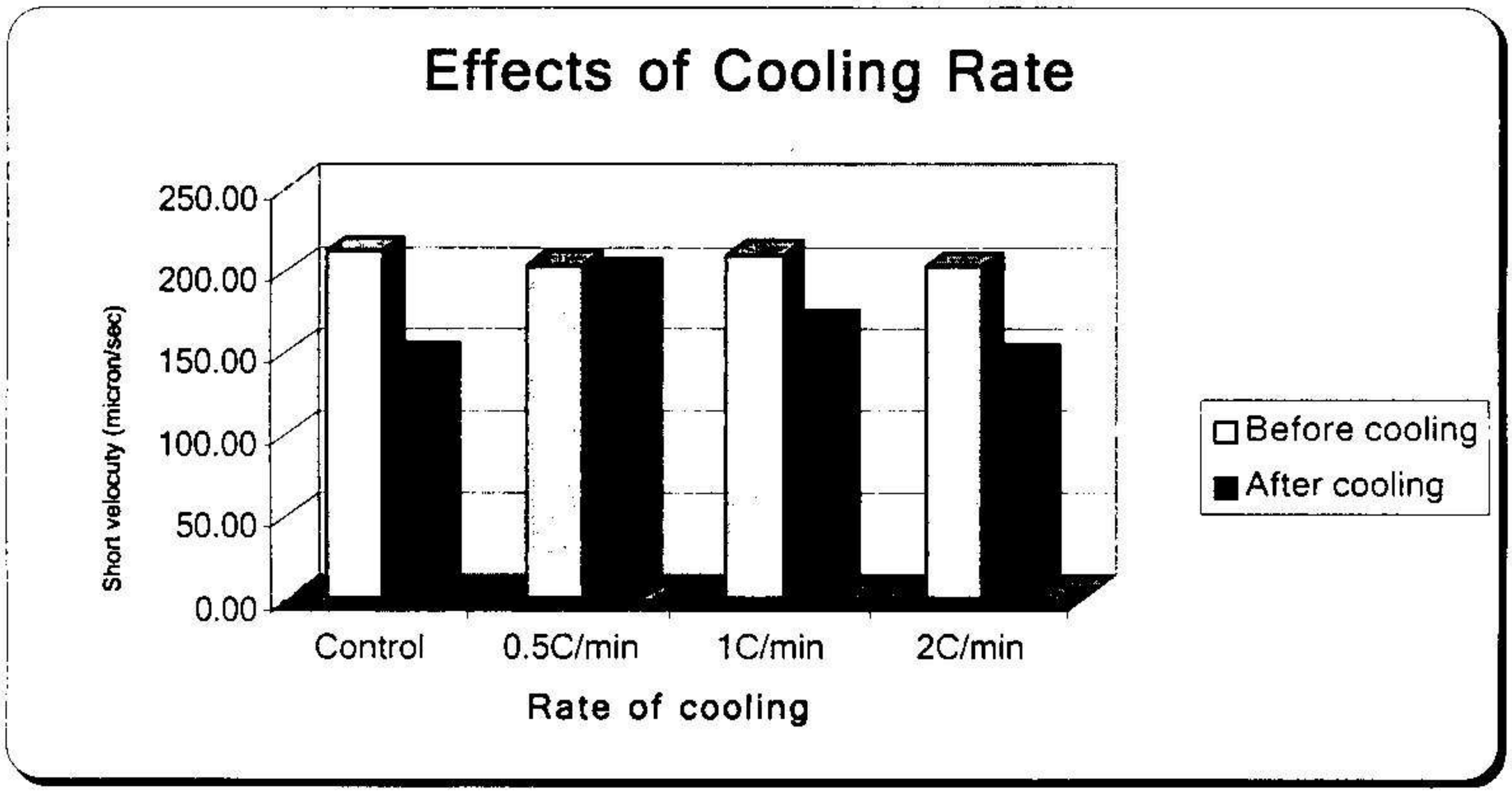
รูปที่ 14 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



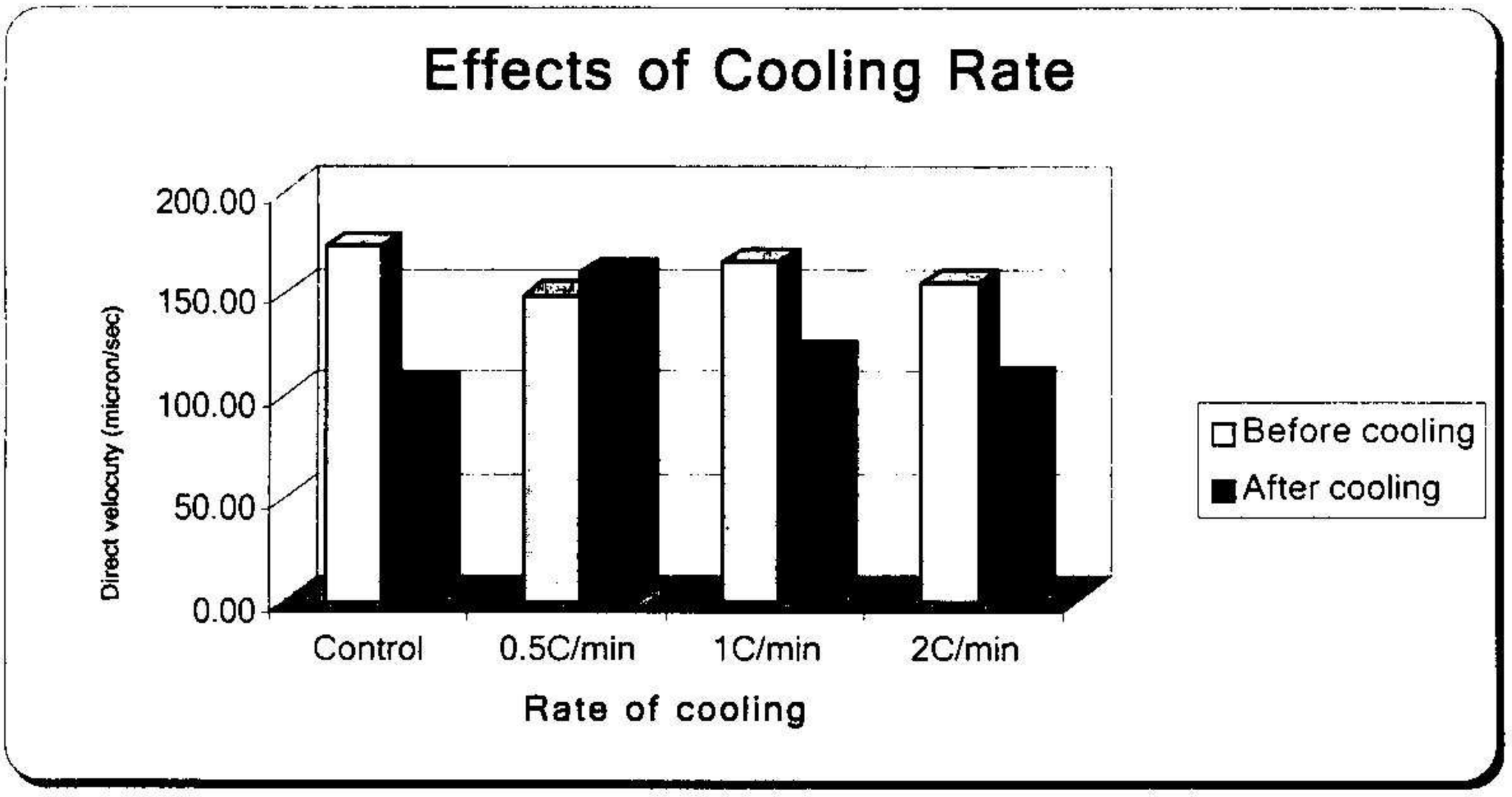
รูปที่ 15 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อร้อยละของการเคลื่อนที่อย่างรุนแรงก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



รูปที่ 16 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วตามทางของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



รูปที่ 17 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางลัดของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ



รูปที่ 18 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อที่มีต่อความเร็วทางตรงของอสุจิ ก่อนและหลังการลดอุณหภูมิ

ความเร็วในการเคลื่อนที่ของอสุจิได้รับผลกระทบจากการลดอุณหภูมิเกิดเช่นเดียวกับร้อยละของการเคลื่อนที่ของอสุจิ พบว่าค่าของความเร็วตามทางลดลงจาก 348.94±1.44 ไมครอน/วินาที ก่อนการลดอุณหภูมิ มาเป็น 271.70±2.08 ไมครอน/วินาที หลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) ความเร็วทางลัดลดลงจาก 207.59±1.74 ไมครอน/วินาที ก่อนการลดอุณหภูมิ มาเป็น 165.22±1.72 ไมครอน/วินาที หลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$) และความเร็วทางตรงลดลงจาก 160.72±2.49 ไมครอน/วินาที ก่อนการลดอุณหภูมิ มาเป็น 122.91±2.02 ไมครอน/วินาที หลังการลดอุณหภูมิ ($p < 0.01$)

วิจารณ์

ความเร็วของอสุจิยังคงเป็นส่วนสำคัญที่ใช้ประกอบการตัดสินว่า น้ำเชื้อมีคุณภาพดีเพียงใด สิ่งที่ย้ำให้ค่าความเร็วอสุจิมีความสำคัญหนักแน่นขึ้นอีกก็คือรายงานความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วอสุจิกับความสมบูรณ์พันธุ์ (Harvey, 1960; Aitken, 1990) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่าความเร็วอสุจิอาจเป็นตัวบ่งชี้ความสมบูรณ์พันธุ์ของอสุจิได้อีกทางหนึ่ง การว่ายของอสุจิในสารละลายนันสามารถวัดความเร็วของอสุจิได้โดยการบันทึกและแสดงผลทีละภาพเพื่อวัดระยะการเคลื่อนที่ที่แท้จริงของอสุจิ

แม้ว่าจะมีการผสมเทียมสุกรกันอย่างแพร่หลายมาเป็นระยะเวลานานพอสมควรก็ตาม การใช้น้ำเชื้อเพื่อการผสมเทียมยังคงใช้น้ำเชื้อสดเป็นหลัก (พีระศักดิ์, 2526) ซึ่งกระบวนการส่วนใหญ่ยังคงต้องมีการเจือจางน้ำเชื้อและมีการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อ นอกจากนั้นยังมีการพัฒนาการทำน้ำเชื้อแช่แข็งสำหรับสุกร (Johnson *et al.*, 2000) ซึ่งในกระบวนการทำน้ำเชื้อแช่แข็งนั้น น้ำเชื้อจะต้องผ่านการลดอุณหภูมิจากประมาณ 37° เซลเซียส ลงมาถึงอุณหภูมิที่ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งเพื่อทำการเก็บรักษา ทั้งการใช้น้ำเชื้อสดที่เก็บไว้ 2-3 วันและการใช้น้ำเชื้อแช่แข็งล้วนทำให้น้ำเชื้อต้องผ่านกระบวนการในการลดอุณหภูมิ นอกจากนั้นน้ำเชื้อสุกรยังมีความไวต่อการลดอุณหภูมิ (Johnson *et al.*, 2000) หากลดอุณหภูมิน้ำเชื้อสุกรจากอุณหภูมิร่างกายลงมาให้ต่ำกว่า 15° เซลเซียส อย่างรวดเร็วก็จะทำให้ตัวอสุจิตายเพิ่มมากขึ้น

อย่างไรก็ตาม เมื่อบ่มหรืออุ่นน้ำเชื้อสุกรไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาหลายชั่วโมงก่อนที่จะทำการลดอุณหภูมิสามารถทำให้อสุจิมีความต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิได้ดีขึ้น (Pursel *et al.*, 1973)

ผลจากการทดลองในรายงานฉบับนี้ได้พบว่าการบ่มน้ำเชื้อก่อนการลดอุณหภูมิไม่มีผลต่อการค่าเคลื่อนที่ของอสุจิ (การทดลองที่ 1) การทดลองดังกล่าวทดสอบการบ่มที่อุณหภูมิ 37° เซลเซียส และที่ 28° เซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับการทดลอง Eriksson และคณะ (2001) ในส่วนที่ได้บ่มน้ำเชื้อที่ 15° เซลเซียส และแสดงให้เห็นว่าค่าของการเคลื่อนที่ไม่ได้รับผลกระทบในช่วงของการลดอุณหภูมิ อย่างไรก็ตามการทดลองของเขาชี้ให้เห็นว่าหลังจากแช่แข็งและละลายมาตรวจจะได้รับผลกระทบจากการบ่มในระยะเวลานาน เมื่อเทียบเคียงกับการทดลองนี้ยังชี้ให้เห็นว่าการบ่มที่ 37° เซลเซียส และที่ 28° เซลเซียส ไม่ได้ให้ผลดีมากขึ้น ดังนั้นจึงไม่มีความจำเป็นที่จะต้องบ่มน้ำเชื้อที่อุณหภูมิดังกล่าว

ในกระบวนการทำน้ำเชื้อแช่แข็งสุกรในปัจจุบันมักแนะนำให้บ่มน้ำเชื้อไว้ที่ 15° เซลเซียส ชั่วระยะเวลาหนึ่ง ซึ่งสอดคล้องกับการที่อสุจิสามารถมีความต้านทานต่อการลดอุณหภูมิได้มากขึ้น

(Pursel *et al.*, 1973) ขณะเดียวกันเราพบว่าการบ่มน้ำเชื้อที่อุณภูมิ 28° เซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้องของประเทศในแถบร้อน ไม่ได้ทำให้การเคลื่อนที่ของอสุจิดีขึ้นกว่ากระบวนการตามปกติ

ในรายงานฉบับนี้ยังได้ตรวจความเร็วของอสุจิซึ่งพบว่าการบ่มที่ 37° เซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จะทำให้ความเร็วส่วนใหญ่ลดลง แต่การบ่มที่ 28° เซลเซียส ให้ผลที่ไม่แตกต่างจากในกลุ่มควบคุม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอุณหภูมิ 37° เซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเคลื่อนที่ของอสุจิ เมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นระยะเวลาหนึ่งก็อาจทำให้อสุจิใช้พลังงานจนเหลือน้อยลงและอสุจิมีความอ่อนล้ามากขึ้น ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ที่การบ่มที่อุณหภูมิ 28° เซลเซียส ไม่ทำให้อสุจิเคลื่อนที่ด้วยความเร็วลดลง อย่างไรก็ตามเนื่องจากการบ่มที่ 37° เซลเซียส ทำให้ความเร็วอสุจิลดลง จึงไม่แนะนำให้บ่มที่อุณหภูมิดังกล่าวไว้เป็นระยะเวลานาน นอกจากนั้นยังมีรายงานการบ่มน้ำเชื้อที่ 38° เซลเซียส นั้นทำให้อสุจิมีการรอดชีวิตน้อยลง (Maxwell and Johnson, 1996) เป็นสิ่งที่ยืนยันข้อสังเกตดังกล่าว

สำหรับการบ่มน้ำเชื้อยังมีความสำคัญในช่วงหลังจากแช่แข็งแล้วและละลายน้ำเชื้อเพื่อมาใช้งาน มีรายงานว่าเมื่อใช้น้ำเชื้อจากท่อพักอสุมาทำการแช่แข็งนั้น การบ่มน้ำเชื้อสุกรที่ 37° เซลเซียส หลังจากละลายจากการแช่แข็ง จะทำให้ค่าดัชนีของการเคลื่อนที่ดีกว่ากรณีที่ไม่บ่ม แต่ต้องอยู่ในระยะเวลาที่เหมาะสม (Ikeda *et al.*, 2002)

เนื่องจากน้ำเชื้อสุกรมีความเข้มข้นต่ำและมีปริมาตรมาก (พีรศักดิ์, 2528; พีรศักดิ์ และ วรวิทย์, 2545) การทำน้ำเชื้อแช่แข็งจึงต้องใช้ปริมาตรมาก (Holt, 2000) และเป็นการยากในการแช่แข็งและการเก็บรักษา ในบางกรณีได้มีการหมุนเหวี่ยงเพื่อแยกอสุจิออกจากน้ำเชื้อ เพื่อล้างอสุจิ หรือเพื่อทำให้อสุจิเข้มข้นขึ้น ก่อนการแช่แข็ง

การหมุนเหวี่ยงอาจมีประโยชน์แต่มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องคือ ความแรงและระยะเวลาของการหมุนเหวี่ยง โดยเฉพาะเมื่อทำการหมุนเหวี่ยงอสุจิซึ่งเป็นสิ่งมีชีวิตและต้องการรักษาชีวิตนั้นให้ยาวนาน หากจะหมุนเหวี่ยงให้แยกส่วนน้ำออกจากอสุจิได้ดีก็คงต้องใช้ความแรงสูงซึ่งจะใช้เวลาสั้นก็เป็นการเพียงพอ แต่ก็จะทำให้อสุจิได้รับความกระทบกระแทกสูง หากใช้ความแรงต่ำก็จะต้องใช้เวลามากซึ่งอาจทำให้อสุจิตายในระหว่างที่หมุนเหวี่ยงนั้นได้มากขึ้น มีการศึกษาผลกระทบของความแรงและระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมุนเหวี่ยงอสุจิสุกรน้อยมาก อย่างไรก็ตามมีการใช้การหมุนเหวี่ยงในการแช่แข็งน้ำเชื้อสุกรต่างกันไปเช่น 350*g* เป็นเวลา 10 นาที (Cordova *et al.*, 1997) 500*g* เป็นเวลา 10 นาที (Sanchez-Prieto *et al.*, 1995) 600*g* เป็นเวลา 5 นาที (Zeng et al., 2001) 700*g* เป็นเวลา 20 นาที (Cerolini *et al.*, 2000) 800*g* เป็นเวลา 10 นาที (Cordova *et al.*, 2002; Eriksson *et al.*, 2002; Kikuchi *et al.*, 1997; Park and Yi, 2002; Yi *et al.*, 2002) เป็นต้น

ในรายงานนี้พบว่าการหมุเหวี่ยงที่ 500*g* เป็นเวลา 10 นาที ทำให้การเคลื่อนที่ของอสุจิดีกว่ากลุ่มควบคุมและกลุ่มที่หมุนเหวี่ยงด้วยแรงที่มากกว่า แสดงให้เห็นว่าแม้การหมุนเหวี่ยงจะมีผลกระทบต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิ แต่เมื่อใช้แรงที่เหมาะสมอาจทำให้อสุจิได้รับอันตรายน้อยประกอบกับการได้รับสารเจือจางใหม่จึงอาจทำให้การเคลื่อนที่ดีกว่ากลุ่มควบคุมได้ ในทำนองเดียวกัน การหมุนเหวี่ยงที่ความแรงสูงกว่าอาจทำให้อสุจิได้รับอันตรายมากกว่า จึงมีค่าการเคลื่อนที่ต่ำกว่าในกลุ่มควบคุม

ส่วนค่าความเร็วในการเคลื่อนที่ของอสุจิเมื่อหมุนเหวี่ยงด้วยความแรง 500*g* เป็นเวลา 10 นาที สวนใหญ่มีค่าไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าอสุจิมี "ปริมาณ" คือ เปอร์เซ็นต์รอดมากขึ้น (จากค่าการเคลื่อนที่ข้างต้น) แต่ "คุณภาพ" หรือความเร็วในการเคลื่อนที่ยังคงเดิม ในขณะที่การหมุนเหวี่ยงด้วยแรงที่มากกว่าทำให้ค่าการเคลื่อนที่ลดลงอย่างชัดเจน ผลการทดลองนี้ยืนยันได้ว่าการหมุนเหวี่ยงน้ำเชื้อสุกรที่ 500*g* เป็นเวลา 10 นาที น่าจะให้ผลดี อย่างไรก็ตามข้อมูลที่มีอยู่ก็ยังคงมีน้อยและควรได้รับการศึกษาถึงผลกระทบจากการหมุนเหวี่ยงที่มีต่ออสุจิสุกรในแง่มุมอื่นๆ ต่อไป

ในการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิจาก 37° เซลเซียส ลงมาถึง 18° เซลเซียส ซึ่งการเคลื่อนที่ของอสุจิที่ได้รับการลดอุณหภูมิโดยการควบคุมที่ 0.5-2° เซลเซียส/นาที ให้ผลดีกว่าการลดอุณหภูมิแบบที่ใช้กันทั่วไป เมื่อดูที่ค่าความเร็วในการเคลื่อนที่ของอสุจิในการลดอุณหภูมิที่ช้าสุดในการทดลอง (0.5° เซลเซียส/นาที) จะให้ผลดีที่สุด ดังนั้นจึงเป็นสิ่งยืนยันว่าการลดอุณหูมิน้ำเชื้อสุกรยังคงต้องใช้วิธีการลดอุณหภูมิอย่างช้าๆ ซึ่งเป็นไปตามข้อมูลที่บันทึกไว้ว่าอสุจิสุกรจะได้รับผลกระทบจากการช้อคเนื่องจากความเย็นได้มากเมื่อมีการลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็วจากอุณหภูมิร่างกายลงมาถึง 15° เซลเซียส (Johnson *et al.*, 2000) แต่เมื่ออสุจิสุกรได้รับการบ่มที่15° เซลเซียส เป็นเวลาหลายชั่วโมงก็จะทำให้สามารถต้านทานต่อการช้อคเนื่องจากความเย็นได้ (Pursel *et al.*, 1973)

อย่างไรก็ตาม การลดอุณหภูมิน้ำเชื้อสุกรยังขึ้นอยู่กับปริมาตรของน้ำเชื้อด้วย โดยส่วนใหญ่แล้วการลดอุณหภูมิน้ำเชื้อของสัตว์ชนิดอื่น เช่น โคกระบือ แพะ และแกะ ได้รับผลกระทบน้อยเนื่องจากปริมาตรของน้ำเชื้อที่ลดอุณหภูมิน้อย ในขณะที่น้ำเชื้อสุกรมีปริมาตรมาก ซึ่งทำให้อุณหภูมิของน้ำเชื้อที่ลดลงที่บริเวณพื้นผิวเป็นไปได้เร็วกว่าที่บริเวณศูนย์กลางของน้ำเชื้อนั้นๆ ผลดังกล่าวจะมีมากขึ้นเมื่อมีการลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็วทำให้มีความแตกต่างของอุณหภูมิ และทำให้อสุจิรอดชีวิตน้อยลง

การแช่แข็งน้ำเชื้อสุกรยังคงต้องการความรู้ในเรื่องของผลกระทบจากการลดอุณหภูมิในหลายแง่มุม ก่อนที่จะประสบผลสำเร็จในการแช่แข็ง ทั้งนี้เนื่องจากอสุจิสุกรมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมากกว่าสัตว์อื่นโดยทั่วไป

บรรณานุกรม

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน. 2528. การผสมเทียม. ภาควิชาสัตวศาสตร์, คณะทรัพยากรธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, หาดใหญ่.

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน และ วรวิทย์ วณิชาภิชาติ. 2545. ปฏิบัติการการผสมเทียม. ภาควิชาสัตวศาสตร์, คณะทรัพยากรธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, หาดใหญ่.

พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป. 2526. การผสมเทียมในหมู. ภาควิชาสูติศาสตร์-เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Aitken, R.J. 1990. Motility parameters and fertility. In C. Gagnon (Ed.) "Control of Sperm Motility: Biological and Clinical Aspects". CRC Press, Boca Raton, pp. 285-302.

Bwanga, C.O. 1991. Cryopreservation of boar semen. I a literature review. Acta Vet. Scand., 32:431-453.

Cerolini, S., Maldjian, A., Surai, P. and Noble, R. 2000. Viability, susceptibility to peroxidation and fatty acid composition of baor semen during liquid storage. Anim. Reprod. Sci., 58:99-111.

Cordova, A., Ducolomb, Y., Jimenez, I., Casas, E., Bonilla, E. and Betancourt, M. 1997. In vitro fertilizing and chromatin condensation of deep frozen boar semen packaged in 0.5 and 5 ml straws. Theriogenology, 57:2119-2128.

Cordova, A., Perez-Gutierrez, J.F., Lleo, B., Garcia-Artiga, C., Alvarez, A., Drobchak, V. and Martin-Rillo, S. 2002. In vitro fertilizing and chromatin condensation of deep frozen boar semen packaged in 0.5 and 5 ml straws. Theriogenology, 57:2119-2128.

Eriksson, B.M., Petersson, H. and Rodriguez-Martinez, H. 2002. Field fertility with exported boar semen frozen in the new FlatPack container. Theriogenology, 58:1065-1079.

Eriksson, B.M., Vazquez, J.M., Martinez, E.A., Roca, J., Licas, X. and Rodriguez-Martinez, H. 2001. Effects of holding time during cooling and of type of package on plasma membrane integrity, motility and in vitro oocyte penetration ability of frozen-thawed boar spermatozoa. Theriogenology, 55:1593-1605.

Harvey, C. 1960. The speed of human spermatozoa and the effect on it of various diluents, with some preliminary observations on clinical material. J. Reprod. Fertil., 1: 84-95.

Holt, W.V. 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. Anim. Reprod. Sci., 62:3-22.

Ikeda, H., Kikuchi, K., Noguchi, J., Takeda, H., Shimada, A. Mizokami, T. and Kaneko, H. 2002. Effect of preincubation of cryopreserved pocine epididymal sperm. Theriogenology, 57:1309-1318.

Johnson, L.A., Weitze, K.F., Fiser, P. and Maxwell, W.M.C. 2000. Storage of boar semen. Animal Reproduction Science, 62:143-172.

Kikuchi, K., Nagai, T., Kashiwazaki, N., Noguchi, J., Ahimada, A., Soloy, E. and Kaneko, H. 1997. Cryopreservation and in vitro fertilization of pig sperm collected from refrigerated epididymes. Theriogenology, 47:258.

Maxwell, W.M.C. and Johnson, L.A. 1996. Membrane status of boar spermatozoa after cooling or cryopreservation. Theriogenology, 48:209-219.

Park, C.S. and Yi, Y.J. 2002. Comparision of semen characteristics, sperm freezbility and testosterone concentration between Duroc and Yorkshire boars during seasons. Anim. Reprod. Sci., 73:53-61.

Pursel, V.G., Johnson, L.A. and Shuman, L.L. 1973. Effect of dilution, seminal plasma and incubation period on cold shock susceptibility of baor spermatozoa. J. Anim. Sci., 37:532-535.

Rickmenspoel, R. 1962. Biophysical approaches to the measurement of sperm motility. In D.W. Bishop (Ed.) "sperm motility". American Association for the Advancement of Science, Washington DC, pp. 31-54.

Sanchez-Prieto, J., Illera, M.J., Lorenzo, P.L., Gonzalez, J. and Orensanz, L. 1995. Effect of storage period on 3H-heparin binding to boar spermatozoa. Theriogenology, 43:314.

Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. MaGraw-Hill, Singapore. 633 pp.

Yi, Y.J., Cheon, Y.M. and Park, C.S. 2002. Effect of *N*-acetyl-D-glucosamine, and glycerol concentration and equilibration time on acrosome morphology and motility of frozen-thawed boar semen. Anim. Reprod. Sci., 69:91-97.

Zeng, W.X., Shimada, M., Isobe, N. and Terada, T. 2001. Survival of boar spermatozoa frozen in diluents of varying osmolality. Theriogenology, 56:447-458.