

ผลของการเสริมสารสกัดเห็ดเหื่อไผ่ร่วมกับสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ ต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรในการเก็บรักษาที่ 17 องศาเซลเซียส

อรปรียา โชติ¹ มานินพัฒน์ ทองคำ¹ และกรวรรณ ศรีงาม^{1*}

¹ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ 50200

*Corresponding author: korawan.s@cmu.ac.th

(Received: May 30, 2023; Revised: December 20, 2023; Accepted: December 22, 2023)

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมสารสกัดเห็ดเหื่อไผ่ต่อคุณภาพน้ำเชื้อในการเก็บรักษาที่ 17 องศาเซลเซียส ในการทดลองนี้ใช้สุกรพ่อพันธุ์สายพันธุ์แลนด์รอส จำนวน 2 ตัว เก็บตัวอย่างน้ำเชื้อสดเจือจางด้วยสารละลายน้ำเชื้อสูตร Modena extender ร่วมกับสารสกัดเห็ดเหื่อไผ่ โดยแบ่งกลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเสริมสารสกัดเห็ดเหื่อไผ่ (TR1) และกลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดเห็ดเหื่อไผ่ที่มีความเข้มข้น 10 (TR2), 100 (TR3) และ 1,000 (TR4) ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อเมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อในวันที่ 0, 1, 3 และ 5 ที่ตู้เก็บรักษาความเย็นอุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ (Computer Assisted Semen Analysis, CASA) โดยประเมินการเคลื่อนไหวตัวของอสุจิ ได้แก่ การเคลื่อนไหวทั้งหมด การเคลื่อนไหวไปข้างหน้า และจลศาสตร์การเคลื่อนไหวของอสุจิ อีกทั้งประเมินความสมบูรณ์อะโครโซมของตัวอสุจิ ด้วยเครื่อง imaging flow cytometry ผลการศึกษาพบว่าในการเก็บรักษาด้วยความเย็นอุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อในวันที่ 5 กลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดเห็ดเหื่อไผ่ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีร้อยละการเคลื่อนไหวทั้งหมดของอสุจิ (88.11 ± 0.38 %) ซึ่งกลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดเห็ดเหื่อไผ่ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีอัตราการเคลื่อนไหวแนวโค้ง (85.99 ± 4.84 $\mu\text{m/s}$) อัตราการเคลื่อนไหวเส้นตรง (29.83 ± 4.96 $\mu\text{m/s}$) และอัตราการเคลื่อนไหวเฉลี่ยของอสุจิ (37.43 ± 5.26 $\mu\text{m/s}$) สูงกว่าทุกกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) อีกทั้งในการเก็บรักษาน้ำเชื้อในวันที่ 5 กลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดเห็ดเหื่อไผ่ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีร้อยละอสุจิมีชีวิต (75.10 ± 1.24 %) มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) และมีร้อยละอสุจิไม่มีชีวิต (24.70 ± 1.24 %) น้อยกว่าเมื่อเทียบกับทุกกลุ่มการทดลอง ($P < .05$) ดังนั้นการเสริมสารสกัดเห็ดเหื่อไผ่ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จึงส่งผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรในการเก็บรักษาด้วยความเย็นที่ 17 องศาเซลเซียส

คำสำคัญ: สารสกัดเห็ดเหื่อไผ่; สารละลายเจือจางน้ำเชื้อ; คุณภาพน้ำเชื้อ; น้ำเชื้อสุกร

Effects of Bamboo Mushroom Extract Supplementation with Extenders on Swine Semen Quality in Storage at 17 °C

Onpreeya Chot¹, Marninphan Thongkham¹, and Korawan Sringarm^{1*}

¹Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

*Corresponding author: korawan.s@cmu.ac.th

(Received: May 30, 2023; Revised: December 20, 2023; Accepted: December 22, 2023)

Abstract

The objective of this study was to determine the effects of bamboo mushroom extract supplementation on semen quality stored at 17 °C. Semen samples were collected from two landrace boars. The ejaculates were diluted in Modena extender with bamboo mushroom extract. The experimental group was divided into a control group without bamboo mushroom extract supplementation (TR1) and a group with bamboo mushroom extract supplementation at concentrations of 10 (TR2), 100 (TR3), and 1,000 (TR4) µg/ml. The quality of sperm was evaluated before the storage on 0, 1, 3 and 5 days by a computer-assisted semen analyzer (CASA). The samples were stored in a cold storage cabinet at 17 °C. The semen quality was assessed by a CASA including total motility, progressive motility, and sperm kinematics. The acrosome integrity was also assessed using imaging flow cytometry. The results showed that in cold storage at 17 °C, when the sperm was stored on day 5 with a group bamboo mushroom extract at 10 µg/ml had an increase in total motility (88.11 ± 0.38 %) than all experimental groups ($P < .05$). The bamboo mushroom extract at 10 µg/ml had an increase in curvilinear velocity (85.99 ± 4.84 µm/s), straight line velocity (29.83 ± 4.96 µm/s) and average path velocity (37.43 ± 5.26 µm/s) than all experimental groups ($P < .05$). Also, the bamboo mushroom extracts 10 µg/ml on the fifth day of semen storage. The percentage of live sperm (75.10 ± 1.24 %) and dead sperm (24.70 ± 1.24 %) was significantly compared to the experiment group ($P < .05$). Therefore, bamboo mushroom extract supplementation at 10 µg/ml had a positive effect on swine semen quality in storage at 17 °C.

Keywords: Bamboo mushroom extract; Extenders; Sperm quality; Swine semen



บทนำ

การผสมเทียมนิยมอย่างมากในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร เนื่องจากช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสุกร และลดความเสี่ยงของโรคติดต่อทางพันธุกรรม (Zuidema et al., 2021) โดยการผสมเทียมสุกรนิยมใช้สารละลายเจือจางน้ำเชื้อ (extender) ในการเจือจางน้ำเชื้อสด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผสมเทียม อย่างไรก็ตามในกระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อต้องอาศัยการเก็บรักษาในอุณหภูมิเย็น ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเสียหายต่ออสุจิได้ ส่งผลให้การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิลดลง สันฐานวิทยาของตัวอสุจิผิดปกติ (Bailey et al., 2000) ส่งผลให้เกิดความเสียหายจากภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชันของตัวอสุจิ เป็นผลมาจากอนุมูลอิสระที่ถูกปลดปล่อยมาจากองค์ประกอบของเซลล์อสุจิในระหว่างการเก็บรักษาซึ่งความเสียหายเหล่านี้ทำให้อัตราการผสมติดลดลง (Sheshtawy et al., 2016) รวมถึงปฏิกิริยา reactive oxygen species (ROS) ซึ่งถูกผลิตขึ้นในระหว่างกระบวนการเมแทบอลิซึมของออกซิเจน ซึ่งการเกิดปฏิกิริยา ROS ที่ไม่สมดุลจะส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์อสุจิจากภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชันได้ (Sanocka and Kurpisz, 2004) โดยธรรมชาติทั่วไปสิ่งมีชีวิตจะมีสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยในการต่อต้านการเกิด ROS ดังนั้นการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการเก็บรักษาน้ำเชื้อจะสามารถควบคุมและยับยั้งอนุมูลอิสระที่ส่งผลต่อเซลล์อสุจิได้ (Amidi et al., 2016)

สารสกัดจากธรรมชาติมีแนวโน้มได้รับความนิยมอย่างมากในการใช้เป็นองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระ ในปัจจุบันนิยมนำเห็ดกินได้มาประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลาย ได้แก่ เห็ดเหื่อไม้ หรือ เห็ดร่างแห (*Phallus indusiatus*; *Bamboo mushrooms*) เป็นเห็ดที่อยู่ในวงศ์ตระกูล *Phallaceae* มีการกระจายพันธุ์ในพื้นที่เขตร้อน และพบได้ในแถบเอเชียตอนใต้ซึ่งในประเทศไทยสามารถพบการกระจายพันธุ์ได้ทั่วทุกภาค มีลักษณะเด่น คือ ได้ดอกเห็ดจะมีเยื่อบาง ๆ คล้ายร่างแหห้อยลงมาคลุมส่วนก้านดอก (Habtemariam, 2019) โดยสารสกัดเห็ดเหื่อไม้จะอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากมายที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยพบปริมาณสูงของโพลีแซ็กคาไรด์ (Wang et al., 2021) สารประกอบฟีนอล ได้แก่ epicatechin, gallic acid, caffeic acid เป็นต้น อีกทั้งพบปริมาณของ total flavonoid จำนวนมาก (Srisuk et al., 2020) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีส่วนช่วยป้องกันการเกิด ROS เป็นปฏิกิริยาที่ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์อสุจิ (Liu et al., 2018) ผลจากการศึกษาของ Ruksiriwanich et al. (2022) รายงานว่าสารสกัดเห็ดเหื่อไม้ สายพันธุ์ *Dictyophora indusiata* เป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ polyphenolic compounds, total flavonoid และ polysaccharide ที่มีคุณสมบัติทางยาสามารถต้านการอักเสบได้ อย่างไรก็ตามการศึกษากการเสริมสารสกัดเห็ดเหื่อไม้ต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรนั้นยังไม่แพร่หลาย ส่งผลให้มีความน่าสนใจในการศึกษาการเสริมสารสกัดเห็ดเหื่อไม้ ดังนั้นวัตถุประสงค์การศึกษารั้งนี้คือเพื่อศึกษาผลของการเสริมสารสกัดเห็ดเหื่อไม้ต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรในการเก็บรักษาด้วยความเย็นที่อุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารสกัดเห็ดเหี่ยวไผ่

เตรียมสารสกัดเห็ดเหี่ยวไผ่ 100 มิลลิกรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง ตกตะกอนความเร็วรอบที่ 5,000 x g เวลา 10 นาที เพื่อให้ตกตะกอน (Hermle Z 200 A, Germany) คำนวณ สัดส่วนปริมาตรความเข้มข้นของสารสกัดเห็ดเหี่ยวไผ่ร่วมกับสารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่มีความเข้มข้น 0, 10, 100 และ 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยแบ่งกลุ่มการทดลองดังนี้ กลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเสริมสารสกัด เห็ดเหี่ยวไผ่ โดยใช้สารละลายเจือจางน้ำเชื้อสูตร Modena extender (TR1), กลุ่มที่มีการเสริมสารสกัด เห็ดเหี่ยวไผ่ในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (TR2), กลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดเห็ดเหี่ยวไผ่ ในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (TR3) และ กลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดเห็ดเหี่ยวไผ่ ในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (TR4)

Table 1. The composition of swine extender. (ModenaTM extender)

Chemicals	Composition (g/L)
Glucose monohydrate	25.00
Sodium citrate	6.90
Ethylene diamine tetra acetate (EDTA)	2.25
Sodium bicarbonate	1.00
Bovine serum albumin (BSA)	3.00
Tris (hydroxymethyl) methylamine	5.65
Citric acid monohydrate	2.00
Penicillin-Streptomycin	1.00
pH	6.9

Source: Gadea (2003)

สัตว์ทดลองและการเตรียมน้ำเชื้อ

ใช้สุกรพ่อพันธุ์สายพันธุ์แลนแรช อายุเฉลี่ย 1-2 ปี จำนวน 2 ตัว ทำการริดเก็บน้ำเชื้อ 2 ครั้ง ต่อสัปดาห์ และทำการเก็บตัวอย่างน้ำเชื้อสด 100 มิลลิลิตร ณ ฟาร์มสุกร คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยสัตว์ทดลองได้รับการอนุมัติใช้สัตว์เพื่องานวิทยาศาสตร์ เลขที่ RAGIACUC004/2565 ภายใต้การดูแลของคณะกรรมการการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ (สัตว์เกษตร) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ทำการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อสดเบื้องต้นก่อนดำเนินการวิจัย ทำการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ ได้แก่ น้ำเชื้อสดจะต้องมีความเข้มข้นของอสุจิมากกว่า 100×10^6 ตัว/มิลลิลิตร และร้อยละอสุจิมีชีวิตมากกว่า 80% ทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ตู้เก็บรักษาความเย็นอุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส

เพื่อนำไปประเมินการเคลื่อนไหวของตัวสperm และประเมินความสมบูรณ์อะโครโซมของตัวสperm ในวันที่ 0, 1, 3 และ 5 ของการเก็บรักษา โดยการศึกษาที่ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (complete randomized design; CRD)

การประเมินการเคลื่อนไหว และจลศาสตร์การเคลื่อนไหวตัวสperm (sperm motility and kinematic variables)

ทำการประเมินน้ำเชื้อในวันที่ 0, 1, 3 และ 5 ที่ทำการเก็บรักษาความเย็นอุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ (computer assisted sperm analysis; CASA) (Andro Vision CASA software, Minitube, Germany) ประเมินร้อยละการเคลื่อนไหว และจลศาสตร์การเคลื่อนไหวของตัวสperm ได้แก่ การเคลื่อนไหวทั้งหมด (total sperm motility) การเคลื่อนไหวไปข้างหน้า (progressive sperm motility) และจลศาสตร์การเคลื่อนไหวของสperm ได้แก่ average path velocity (VAP, $\mu\text{m/s}$), curvilinear velocity (VCL, $\mu\text{m/s}$) และ straight line velocity (VSL, $\mu\text{m/s}$) อ้างอิงวิธีการของ Valverde et al., (2020) ดังนี้

1. นำตัวอย่างน้ำเชื้อร่วมกับสารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่มีสารสกัดเห็ดเหี้ยไผ่ความเข้มข้น 0, 10, 100 และ 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เก็บตัวอย่างทุกกลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 1 มิลลิลิตร โดยแบ่งตามวันที่การเก็บรักษา คือ 0, 1, 3 และ 5 ทำการเก็บรักษาด้วยความเย็นอุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส
2. สุ่มตัวอย่างน้ำเชื้อกลุ่มการทดลองที่มีสารสกัดเห็ดเหี้ยไผ่ความเข้มข้น 0, 10, 100 และ 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ทำการประเมินตัวอย่างน้ำเชื้อ 4 ซ้ำ/กลุ่ม หยดตัวอย่างน้ำเชื้อ 5 ไมโครลิตร ลงบนแผ่นสไลด์แล้วปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ ประเมินด้วยเครื่องวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ

การประเมินร้อยละของสperm ที่มีชีวิต (sperm viability)

ทำการประเมินน้ำเชื้อในการเก็บรักษาความเย็นที่ 17 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0, 1, 3 และ 5 โดยใช้เครื่อง imaging flow cytometry (Amnis, USA) ด้วยวิธีการย้อมสีฟลูออเรสเซนต์ LIVE/DEAD sperm viability kit (SYBR-14 and PI were excited by a 60-mW, 488-nm laser) กำหนดตรวจนับจำนวนสperm 10,000 ตัว ทำการจำแนกลักษณะสperm ตามการย้อมสี ได้แก่ ร้อยละสperm ที่มีชีวิต (live of sperm viability) และร้อยละสperm ที่ไม่มีชีวิต (dead of sperm viability) อ้างอิงวิธีการของ Thongkham et al., (2021) ดังนี้

1. เติม Phosphate buffered saline (PBS) 960 ไมโครลิตร/หลอด และตัวอย่างน้ำเชื้อ 40 ไมโครลิตร/หลอด เพื่อทำการประเมินร้อยละสperm ที่มีชีวิต
2. เจือจางอัตราส่วนสีย้อมฟลูออเรสเซนต์ SYBR-14 1 ไมโครลิตร กับ PBS 49 ไมโครลิตร หลังจากนั้นเติมสีย้อมฟลูออเรสเซนต์ SYBR-14 1.5 ไมโครลิตร และเติมสีย้อม propidium iodide (PI) 3 ไมโครลิตร ในการประเมินร้อยละสperm ที่มีชีวิต

3. ทำการบ่มตัวอย่างที่อุณหภูมิ 37 °C เวลา 15 นาที เมื่อครบกำหนดนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยง ตกตะกอน 5,000 x g เวลา 5 นาที เพื่อให้เกิดการตกตะกอน

4. ดูดส่วนของเหลวใสทิ้งให้เหลือตะกอน แล้วจึงเติม PBS 50 ไมโครลิตร แล้วดูดตัวอย่างขึ้น-ลง ให้เกิดการกระจายตัว หลังจากนั้นดูดตัวอย่างใส่ 96-well plate แล้วนำเข้าเครื่อง imaging flow cytometry โดยใช้ความยาวคลื่น 488 นาโนเมตร ทำการจำแนกลักษณะของเซลล์ด้วยโปรแกรม IDEAS version 6.2 software (Amnis, USA)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

อัตราการเคลื่อนไหวน้ำของอสุจิ และความสมบูรณ์อะโครโซมของอสุจิวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 20.0 statistical software program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) หลังจากนั้นทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความแปรปรวนด้วยวิธี Duncan's new multiple range test

ผลการทดลองและอภิปรายผล

ผลของสารสกัดเห็ดเหี้ยไผ่ต่อการเคลื่อนไหวน้ำ และจุลศาสตร์การเคลื่อนไหวน้ำของอสุจิสุกร

ผลของการเสริมสารสกัดเห็ดเหี้ยไผ่ร่วมกับสารละลายเจือจางน้ำเชื้อสุกรระดับความเข้มข้นที่ 0, 10, 100 และ 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อในวันที่ 0, 1, 3 และ 5 ที่ผู้เก็บรักษาความเย็นอุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส พบว่าในการเก็บรักษาน้ำเชื้อในวันที่ 5 กลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดเห็ดเหี้ยไผ่ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีร้อยละการเคลื่อนไหวน้ำทั้งหมดของอสุจิ (88.11 ± 0.38 %) สูงกว่าเมื่อเทียบกับทุกกลุ่ม การทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังรูปภาพที่ Figure 1 (A) อีกทั้งกลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดเห็ดเหี้ยไผ่ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีอัตราการเคลื่อนไหวน้ำแนวโค้ง (85.99 ± 4.84 $\mu\text{m/s}$) ดังรูปภาพที่ Figure 1 (B) อัตราการเคลื่อนไหวน้ำเส้นตรง (29.83 ± 4.96 $\mu\text{m/s}$) ดังรูปภาพที่ Figure 2 (A) และอัตราการเคลื่อนไหวน้ำเฉลี่ยของอสุจิ (37.43 ± 5.26 $\mu\text{m/s}$) สูงกว่าทุกกลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังรูปภาพที่ Figure 2 (B) ซึ่งในกระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่มีระยะเวลานานมักเกิดความไม่สมดุลของสารต้านอนุมูลอิสระและอนุมูลอิสระ ซึ่งก่อให้เกิด ROS เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดสภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน ทำให้เซลล์อสุจิเกิดความเสียหาย (Martins et al., 2020) ดังนั้นการเสริมสารสกัดเห็ดเหี้ยไผ่ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ร่วมกับสารละลายเจือจางน้ำเชื้อสุกรสามารถช่วยปรับปรุงการเคลื่อนไหวน้ำของตัวอสุจิได้ ซึ่งสารสกัดเห็ดเหี้ยไผ่เป็นสารสกัดที่มีแหล่งสำคัญของสารประกอบฟีนอลที่เป็นสารสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ (Taofiq et al., 2016) ในการศึกษาของ Park and Yu (2016) มีการรายงานผลของการเสริมสารสกัดชาเขียวต่อคุณภาพของอสุจิ reactive oxygen species และ lipid peroxidation ในระหว่างการเก็บรักษาน้ำเชื้อสุกร พบว่าการเสริมสารสกัดชาเขียวที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ส่งผลต่อการเคลื่อนไหวน้ำและควมมีชีวิตของอสุจิ เนื่องจากสารสกัดชาเขียวมีสารประกอบที่สำคัญ คือ สารประกอบ



ฟินอล ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระส่งผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระลดลงเนื่องจากการเก็บรักษาน้ำเชื้อเวลานาน อสุจิจะเกิดความเสียหายต่อตัวอสุจิ ทำให้อสุจิมีการเคลื่อนไหวลดลง และคุณภาพอสุจิต่ำ (Sheshtawy et al., 2016) อีกทั้งจากผลการศึกษาของ Jofré et al. (2019) รายงานผลการศึกษาการเสริมสารสกัด Murtilla (*Ugni molinae* Turcz.) ที่อุดมไปด้วยสารประกอบฟินอล ต่อกระบวนการต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการเก็บรักษาน้ำเชื้อสุกร พบว่าสารสกัด Murtilla ที่มีสารประกอบฟินอลที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันนั้นมีบทบาทในกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และลดกระบวนการเมตาบอลิซึมของตัวอสุจิ ซึ่งส่งผลดีต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อในระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น และในการศึกษาของ Türk et al. (2008) ได้รายงานผลการศึกษาการเสริมสารสกัดทับทิมต่อคุณภาพอสุจิ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในหนูเพศผู้ พบว่าสารสกัดทับทิมที่มีสารประกอบฟินอล ถูกใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อป้องกันการเกิดความเสียหายต่อเซลล์อสุจิจากการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation อีกทั้งยังสามารถลดปริมาณ malondialdehyde (MDA) และมีปริมาณของ glutathione (GSH), glutathione peroxidase (GSH-Px) และ catalase (CAT) เพิ่มขึ้นอีกด้วย

ดังนั้นจากผลการรายงานดังกล่าวจึงมีความสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ เนื่องจากสารสกัดเห็ดเหื่อไม้มีสารประกอบฟินอลเป็นองค์ประกอบสำคัญที่มีส่วนในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระ และการเกิดความเสียหายจากสภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชันของเซลล์อสุจิ

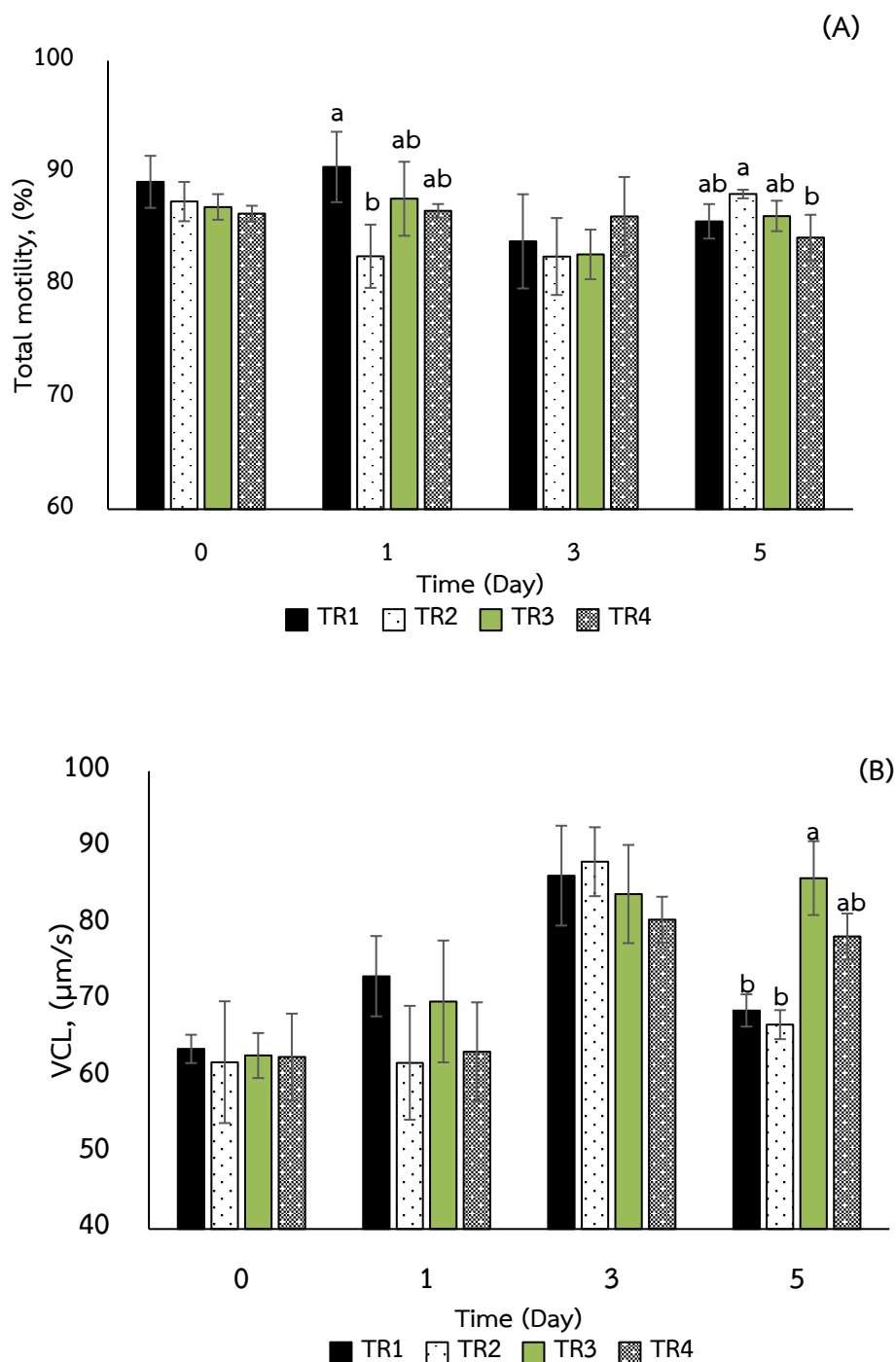


Figure 1. Effect of Bamboo mushroom extract (BME) on sperm motility and sperm kinematic characteristics in different concentrations of swine semen on stored at 0, 1, 3, and 5 days. 1TR 1 = Modena extender, TR 2 = Modena + BME extender 10 $\mu\text{g/ml}$, TR 3 = Modena + BME extender 100 $\mu\text{g/ml}$ and TR 4 = Modena + BME extender 1,000 $\mu\text{g/ml}$. 2Total sperm motility (TMot, %) (A) and VCL ($\mu\text{m/s}$), curvilinear velocity (B). a,b Means $\pm$ SE without a common superscript difference ($P < .05$).

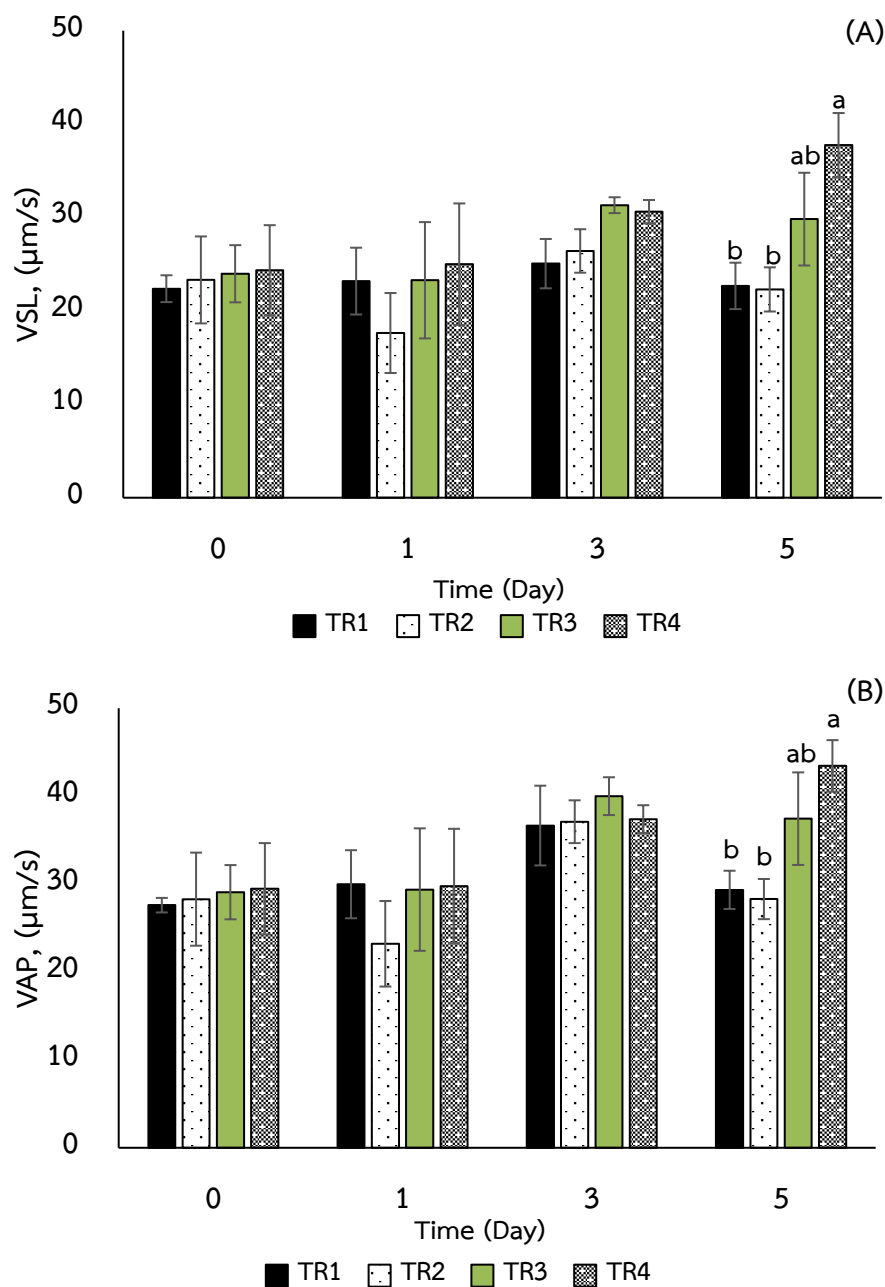


Figure 2. Effect of Bamboo mushroom extract (BME) on sperm kinematic variables characteristics in different concentrations of swine semen on stored at 0, 1, 3, and 5 days. 1TR 1 = Modena extender, TR 2 = Modena + BME extender 10 µg/ml, TR 3 = Modena + BME extender 100 µg/ml and TR 4 = Modena + BME extender 1,000 µg/ml. 2VSL (µm/s), straight line velocity (A) and VAP (µm/s), average pathway velocity (B). a,b Means ± SE without a common superscript difference ($P < .05$).

ผลของสารสกัดเห็ดเหื่อไผ่ต่อการประเมินความสมบูรณ์อะโครโซมของตัวอสุจิ

จากการประเมินผลการเสริมสารสกัดเหื่อไผ่ร่วมกับสารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 100 และ 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ในการเก็บรักษาวินาที 0, 1, 3 และ 5 ตู้เก็บรักษาความเย็น อุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส พบว่ากลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดเหื่อไผ่ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อทำการเก็บรักษาเชื้อในวินาที 5 มีร้อยละอสุจิมิชีวิต (75.10 ± 1.24 %) มากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .05$) ดังรูปภาพที่ Figure 3 (A) อีกทั้งกลุ่มที่มีการเสริมสารสกัดเหื่อไผ่ 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร มีร้อยละอสุจิไม่มีชีวิต (24.70 ± 1.24 %) น้อยกว่าเมื่อเทียบกับทุกกลุ่มการทดลอง ($P < .05$) ดังรูปภาพที่ Figure 3 (B) ซึ่งโดยทั่วไปความสมบูรณ์ของอสุจิในเพศผู้ได้รับผลกระทบจากปัจจัยต่าง ๆ ในร่างกายรวมถึงปฏิกิริยา ROS ที่ส่งผลให้ความสมบูรณ์ของอสุจิลดลง (Sanocka and Kurpysz, 2004) การรักษาสมดุลของ ROS ได้อย่างเหมาะสมจึงส่งผลดีต่อความสมบูรณ์ของอสุจิ ปฏิกิริยาของอะโครโซม และการปฏิสนธิ (Covarrubias et al., 2008) ในการศึกษาของ Wittayarat et al. (2022) ได้รายงานผลของการเสริมสารสกัดชาเขียวที่มี polyphenol และ α -tocopherol ต่อความสมบูรณ์ของอสุจิในน้ำเชื้อแมวแช่แข็งที่เก็บรักษาในระยะยาว พบว่าสารสกัดชาเขียวที่มี polyphenol และ α -tocopherol ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีผลช่วยในการป้องกันความเสียหายของความสมบูรณ์อะโครโซมอสุจิ และความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิ เนื่องจากในระหว่างการเก็บรักษาด้วยความเย็น โดยทั่วไปเซลล์อสุจิจะเกิดกระบวนการเมตาบอลิซึมส่งผลให้เกิดภาวะเครียดจากออกซิเดชันส่งผลต่อความเสียหายส่วนประกอบของเซลล์อสุจิ ได้แก่ โปรตีน, ไขมัน และกรดนิวคลีอิก (Aitken et al., 1998) สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่มีอยู่ในส่วนประกอบน้ำเชื้อและตัวอสุจิของสัตว์ ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อไซโตพลาสซึมของอสุจิ (Gibb et al., 2021) อย่างไรก็ตามการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระควรมีระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อสัตว์ เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้ความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มากเกินไป ซึ่งจะส่งผลเสียต่อคุณภาพของตัวอสุจิ จากการศึกษาของ Sun et al., (2020) รายงานว่าการเสริมสารสกัด Resveratrol ที่เป็นสารกลุ่มโพลีฟีนอลต่อความสมบูรณ์ของอสุจิสุกร พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ Resveratrol คือ 50 ไมโครโมล ที่การเก็บรักษาน้ำเชื้อ 17 องศาเซลเซียส สามารถปรับปรุงความสมบูรณ์ของเมมเบรน และความสมบูรณ์อะโครโซมของอสุจิได้ อย่างไรก็ตามในการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ถูกลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็วที่ 5 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นที่เหมาะสมของการเสริม Resveratrol คือ 150 ไมโครโมล จึงสามารถช่วยปรับปรุงความสมบูรณ์ของอสุจิได้ ซึ่งจากรายงานดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการเสริมสารสกัดต่าง ๆ ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจะสามารถช่วยปรับปรุงความสมบูรณ์ของอสุจิ ที่การเก็บรักษาด้วยความเย็นได้ ดังนั้นจึงสอดคล้องกับผลการศึกษาค้นคว้าในการเสริมสารสกัดเหื่อไผ่ ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อความสมบูรณ์อะโครโซมอสุจิสุกร ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ 17 องศาเซลเซียส

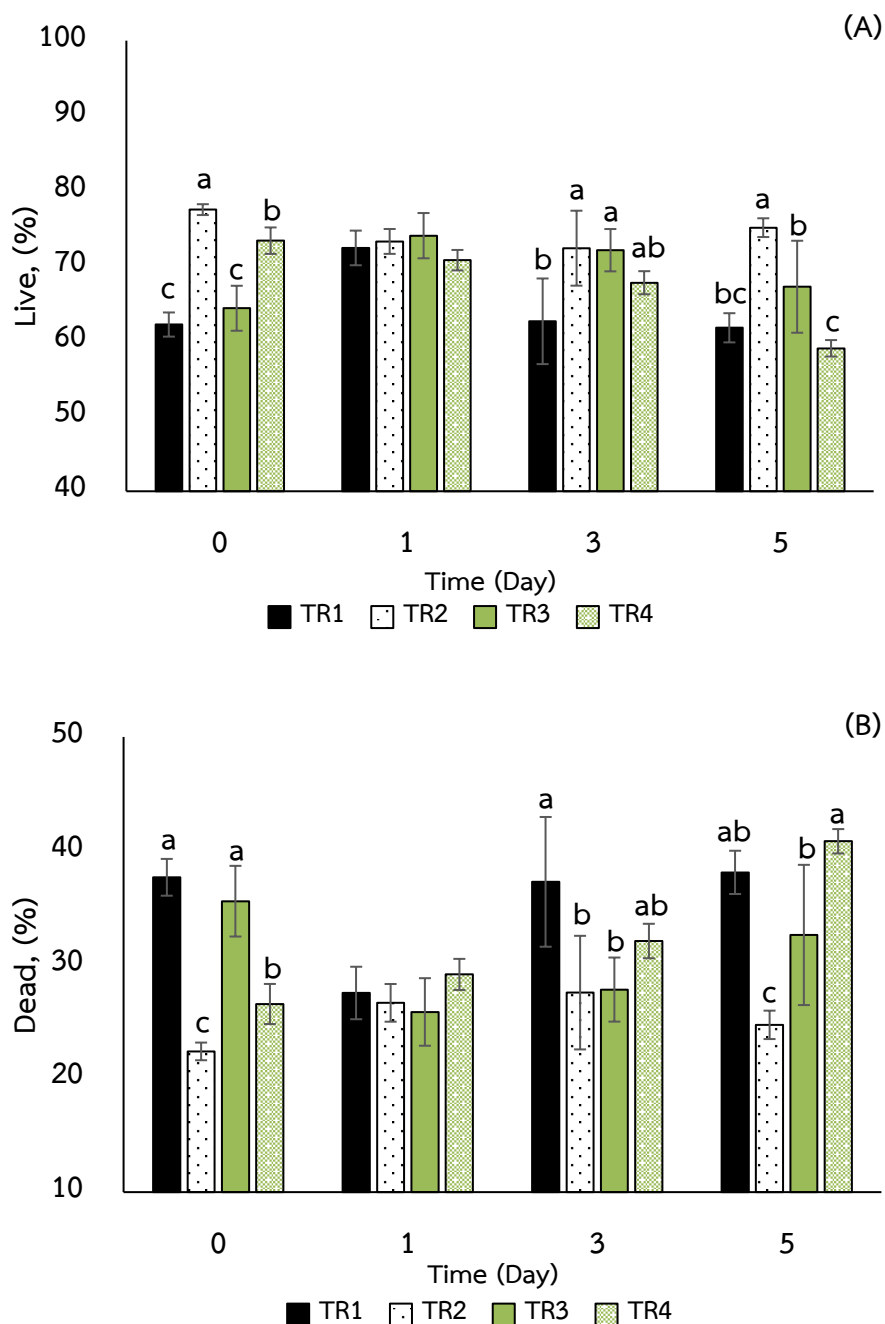


Figure 3. Effect of Bamboo mushroom extract (BME) on sperm viability in different concentrations of swine semen on stored at 0, 1, 3, and 5 days. 1TR 1 = Modena extender, TR 2 = Modena + BME extender 10 μ g/ml, TR 3 = Modena + BME extender 100 μ g/ml and TR 4 = Modena + BME extender 1,000 μ g/ml. 2Live of sperm viability (%) (A) and dead of sperm viability (%) (B). a,b,c Means $\pm$ SE without a common superscript difference ($P < .05$).

สรุปผลการศึกษา

การเสริมสารสกัดเห็ดเหี่ยวไผ่ร่วมกับสารละลายเจือจางน้ำเชื้อสักรที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ยังคงรักษาคุณภาพน้ำเชื้อ และส่งผลดีต่อความสมบูรณ์อะโครโซมของอสุจิ ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อวันที่ 5 ดังนั้นการเสริมสารสกัดเห็ดเหี่ยวไผ่ร่วมกับสารละลายเจือจางน้ำเชื้อสักรที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จึงส่งผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสักรในการเก็บรักษาด้วยความเย็นที่ 17 องศาเซลเซียส

เอกสารอ้างอิง

- Aitken, R. J., Gordon, E., Harkiss, D., Twigg, J. P., Milne, P., Jennings, Z., & Irvine, D. S. (1998). Relative impact of oxidative stress on the functional competence and genomic integrity of human spermatozoa. *Biology of Reproduction*, 59(5), 1037–1046.
- Amidi, F., Pazhohan, A., Shabani Nashtaei, M., Khodarahmian, M., & Nekoonam, S. (2016). Review: the role of antioxidants in sperm freezing. *Cell and Tissue Banking*, 17(4), 745–756.
- Bailey, J. L., Bilodeau, J. F., & Cormier, N. (2000). Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon. *Journal of Andrology*, 21(1), 1–7.
- Covarrubias, L., Hernández-García, D., Schnabel, D., Salas-Vidal, E., & Castro-Obregón, S. (2008). Function of reactive oxygen species during animal development: Passive or active. *Developmental Biology*, 320(1), 1–11.
- Gadea, J. (2003). Review: semen extenders used in the artificial insemination of swine. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 1(2), 17–27.
- Gibb, Z., Blanco-Prieto, O., & Bucci, D. (2021). The role of endogenous antioxidants in male animal fertility. *Research in Veterinary Science*, 136, 495–502.
- Habtemariam, S. (2019). The chemistry, pharmacology and therapeutic potential of the edible mushroom *Dictyophora indusiata* (Vent ex. Pers.) fischer (Synn. *Phallus indusiatus*). *Biomedicines*, 7(4), 98.
- Jofré, I., Cuevas, M., de Castro, L. S., de Agostini Losano, J. D., Torres, M. A., Alvear, M., Scheuermann, E., Andrade, A. F. C., Nichi, M., Assumpção, M. E. O., & Romero, F. (2019). Antioxidant effect of a polyphenol rich Murtilla (*Ugni molinae* Turcz.) extract and its effect on the regulation of metabolism in refrigerated boar sperm. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 5, 1–15.

- Liu, H., Ma, J., Gong, F., Wei, F., Zhang, X., & Wu, H. (2018). Structural characterization and immunomodulatory effects of polysaccharides isolated from *Dendrobium aphyllum*. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(5), 1185–1194.
- Martins, V. E. D., Pinto, S. C. C., Chaves, R. M., Filho, A. K. D. B., Laskoski, L. M., & Souza, F. A. (2020). Antioxidant effect on viability of boar semen cooled to 15°C. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 72(1), 145–152.
- Park, S. H., & Yu, I. J. (2016). Effects of green tea extract on sperm quality, reactive oxygen species and lipid peroxidation in long-term liquid preservation of boar spermatozoa. *Journal of Veterinary Clinics*, 33(6), 356–361.
- Ruksiriwanich, W., Khantham, C., Linsaenkart, P., Chaitep, T., Rachtanapun, P., Jantanasakulwong, K., Phimolsiripol, Y., Režek Jambrak, A., Nazir, Y., Yoojin, W., Sommano, S. R., Jantrawut, P., Sainakham, M., Tocharus, J., Mingmalairak, S., & Sringarm, K. (2022). Anti-inflammation of bioactive compounds from ethanolic extracts of edible bamboo mushroom (*Dictyophora indusiata*) as functional health promoting food ingredients. *International Journal of Food Science and Technology*, 57(1), 110–122.
- Sanocka, D., & Kurpisz, M. (2004). Reactive oxygen species and sperm cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2(12), 100–117.
- Sheshtawy, R. I., El-Sisy, G. A., & El-Nattat, W. S. (2016). Effects of pomegranate juice in Tris-based extender on cattle semen quality after chilling and cryopreservation. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(4), 335–339.
- Srisuk, N., & Jirasatid, S. (2020). Characteristics co-encapsulation of lactobacillus acidophilus with *Dictyophora Indusiata*. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 8(3), 1013–1024.
- Sun, L., Fan, X., Zeng, Y., Wang, L., Zhu, Z., Li, R., Tian, X., Wang, Y., Lin, Y., Wu, D., & Zeng, W. (2020). Resveratrol protects boar sperm in vitro via its antioxidant capacity. *Zygote*, 28(5), 417–424.
- Taofiq, O., González-Paramás, A. M., Martins, A., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). Review: mushrooms extracts and compounds in cosmetics, cosmeceuticals and nutricosmetics. *Industrial Crops and Products*, 90, 38–48.

- Thongkham, M., Thaworn, W., Pattanawong, W., Teepatimakorn, S., Mekchay, S. & Sringarm, K. (2021). Spermatological parameters of immunologically sexed bull semen assessed by imaging flow cytometry, and dairy farm trial. *Reproductive Biology*, 21(2), 100486.
- Türk, G., Sönmez, M., Aydin, M., Yüce, A., Gür, S., Yüksel, M., Aksu, E. H. & Aksoy, H. (2008). Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. *Clinical Nutrition*, 27(2), 289–296.
- Valverde, A., Barquero, V. & Soler, C. (2020). Review: the application of computer-assisted semen analysis (casa) technology to optimize semen evaluation. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 29(3), 189–198.
- Wang, J., Wen, X., Zhang, Y., Zou, P., Cheng, L., Gan, R., Li, X., Liu, D. & Geng, F. (2021). Quantitative proteomic and metabolomic analysis of *Dictyophora indusiata* fruiting bodies during post-harvest morphological development. *Food Chemistry*, 339, 127884.
- Wittayarat, M., Panyaboriban, S., Kupthammasan, N., Otoi, T. & Chatdarong, K. (2022). Effects of green tea polyphenols and α -tocopherol on the quality of chilled cat spermatozoa and sperm IZUMO1 protein expression during long-term preservation. *Animal Reproduction Science*, 237, 69-72.
- Zuidema, D., Kerns, K. & Sutovsky, P. (2021). An exploration of current and perspective semen analysis and sperm selection for livestock artificial insemination. *Animals*, 11(12), 3563.