Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของไก่ป่าตุ้มหูขาวในรอบปี

A study of annual variation on semen characteristics of Thai red junglefowl (*Gallus gallus gallus*)

สินีนาฏ พลแสง[1], พงศ์เทพ พลแสง[2], สุวิทย์ อินฉายา[3], ยุพิน ผาสุข[1], สจี กัณหาเรียง[1] และ เทวินทร์ วงษ์พระลับ[1]*

Sineenart Polsang[1], Pongtep Polsang[2], Suwit Inchaya[3], Yupin Phasuk[1], Sajee Kunhareang[1] and Thevin Vongpralub[1]*

[1] สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002, ประเทศไทย
[1] Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, KhonKaen 40002, Thailand
[2] แผนกวิชาสัตวศาสตร์ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยียโสธร ยโสธร 35130, ประเทศไทย
[2] Department of Animal Science, Yasothon College of Agriculture and Technology, Yasothon 35130, Thailand
[3] แผนกวิชาสัตวศาสตร์ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีศรีสะเกษ ศรีสะเกษ 30000, ประเทศไทย
[3] Department of Animal Science, Srisaket College of Agriculture and Technology, Srisaket, 33000, Thailand

บทคัดย่อ: ไก่ป่าตุ้มหูขาว (*Gallus gallus gallus*) เป็นบรรพบุรุษของไก่บ้าน แต่พบไม่มีรายงานที่เกี่ยวกับการผลิตน้ำเชื้อของไก่ป่าสายพันธุ์นี้ ซึ่งข้อมูลนี้มีความสำคัญต่อการพัฒนาและการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่ป่าตุ้มหูขาว โดยเฉพาะการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็ง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำเชื้อของไก่ป่าตุ้มหูขาวในรอบปี ใช้พ่อพันธุ์ไก่ป่าตุ้มหูขาวอายุ 1 ปี ทั้งหมด 8 ตัว จัดการเลี้ยงภายใต้สภาพแวดล้อมทางธรรมชาติและเก็บน้ำเชื้อเป็นประจำ สัปดาห์ละสองครั้ง ตรวจประเมินคุณภาพของน้ำเชื้อทุกสัปดาห์เป็นเวลา 15 เดือน น้ำเชื้อได้รับการประเมินปริมาตร คะแนนการเคลื่อนที่อสุจิแบบหมู่ ร้อยละการเคลื่อนที่อสุจิตรงไปข้างหน้า ร้อยละอสุจิมีชีวิตรอด ร้อยละอสุจิผิดปกติ ความเข้มข้นของอสุจิ (เซลล์/ มล.) และจำนวนอสุจิต่อการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้ง ผลการศึกษาพบว่าคุณภาพน้ำเชื้อไก่ป่าตุ้มหูขาวจัดว่าอยู่ในเกณฑ์ดี ดังนี้ ปริมาตรน้ำเชื้อ 0.281±0.089 มล. คะแนนการเคลื่อนที่อสุจิแบบหมู่ 4.83±0.24 การเคลื่อนที่อสุจิตรงไปข้างหน้า 98.15±1.77% อสุจิมีชีวิตรอด 98.43±0.96% อสุจิผิดปกติ 1.34±0.54% ความเข้มข้นของอสุจิ 6,320±502.29 ($1x10^6$) เซลล์/มล. และจำนวนอสุจิต่อการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้ง $1,776x10^6$ เซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่าคุณภาพน้ำเชื้อไก่ป่าตุ้มหูขาวมีสหสัมพันธ์กับอุณหภูมิสิ่งแวดล้อม ปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ จากรายงานการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำเชื้อของไก่ป่าตุ้มหูขาวมีคุณภาพที่ดี สามารถนำไปศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็งเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมไก่ป่าตุ้มหูขาวได้ตลอดปี
คำสำคัญ: ไก่ป่าตุ้มหูขาว; คุณภาพน้ำเชื้อ; การผลิตน้ำเชื้อในรอบปี

ABSTRACT: Thai red junglefowl is the ancestor of the domestic fowl, in which its previous studies about semen production were barely found. This current study provides contributions for the development of the genetic diversity and conservation of the Thai red junglefowl with semen cryopreservation. The objective of the present study was to investigate sperm production and semen quality throughout the year. The eight Thai red junglefowl roosters that were 1 year old, were housed under the natural environment. Semen was collected routinely, then the information about their semen was collected twice a week for a period of 15 months. The information about semen consists of its semen volume, the total motility, the percentage of progressive motile, the percentage of viability, the percentage of abnormal sperm, the sperm concentration per mL, and sperm count per ejaculation. The results showed that

* Corresponding author: vongpralub@gmail.com

Received: date; May 11, 2021 Accepted: date; August 18, 2021 Published: date; December 29, 2021

the semen quality of the Thai red junglefowl was considered to be good: the semen volume: 0.281±0.089 mL, the total motility: 4.83±0.24, the percentage of progressive motile: 98.15±1.77, the percentage of viability: 98.43±0.96, the percentage of abnormal sperm: 1.34±0.54, the concentration of sperm per mL: 6,320±502.29 ($1x10^6 mL^{-1}$), and the sperm count per ejaculation: 1,776 ($1x10^6$) sperm. It found that environmental temperature, rainfall amount, and relative humidity are correlated with semen quality. Overall, the semen of Thai red junglefowl was of good quality. The result of the present study suggests that the sperm production and semen quality of Thai red junglefowl could be used to cryopreserved for genetic conservation throughout the year.
Keywords: Thai red junglefowl; semen quality; annual semen production

บทนำ

ไก่ป่าตุ้มหูขาว (*Gallus gallus gallus*) เป็นบรรพบุรุษของไก่บ้าน (กลุ่มวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพ, 2559; Fumihito et al., 1994) มีความเสี่ยงต่อการสูญเสียพื้นที่หากิน (Akaboot et al., 2012) เนื่องจากพื้นที่ป่าถูกบุกรุกเพื่อเป็นที่อยู่อาศัยและทำการเกษตร ซึ่งอาจเกิดผลกระทบต่อความหลากหลายทางชีวภาพ อันอาจส่งผลต่อความมั่นคงด้านอาหารสำหรับมนุษย์ได้เช่นกัน (สำนักความหลากหลายทางชีวภาพ, 2559ก, ข) และยังมีความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์จากการที่พันธุกรรมอาจปนกับไก่พื้นเมือง (Callaway, 2016) จากการผสมข้ามกลุ่ม สาเหตุจากถิ่นที่อยู่มีสภาพที่เป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น ด้วยเหตุผลนี้ ไก่ป่าตุ้มหูขาวจึงมีพันธุกรรมที่ควรค่าแก่การอนุรักษ์เพื่อรักษาความหลากหลายทางชีวภาพ (Biodiversity) โดยเร่งด่วน จึงควรมีการศึกษาสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของไก่ป่าตุ้มหูขาว ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการเป็นข้อมูลพื้นฐานในการอนุรักษ์สายพันธุ์ และการเก็บรักษาพันธุกรรมในอนาคต

คุณภาพน้ำเชื้อที่ดีนับเป็นหัวใจในความสำเร็จในการอนุรักษ์พันธุกรรมโดยการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็ง น้ำเชื้อที่มีคุณภาพดีมีความเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลายด้าน เช่น ด้านสิ่งแวดล้อมทางธรรมชาติ ได้แก่ อุณหภูมิแวดล้อม ความยาวช่วงแสง ด้านการจัดการเลี้ยงดู ได้แก่ การให้อาหาร และการจัดการอื่นๆ (เทวินทร์, 2559) ทั้งนี้ อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมมีผลต่อตัวสัตว์ทำให้เกิดความเครียดได้ ซึ่งส่งผลต่อกระบวนการผลิตอสุจิและทำให้การผลิตน้ำเชื้อและประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ลดลง (Bah et al., 2001; Obidi et al., 2008) ที่ผ่านมามีรายงานการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อในไก่สายพันธุ์อื่น เช่น ไก่พื้นเมืองไทย (พรจิต, 2556) ไก่ดำสายพันธุ์มัง ไก่บาร์พลีมัทร็อค และไก่พื้นเมืองไทย (ประดู่หางดำ) (แสนน้ำผึ้ง, 2559) ไก่ป่าแดงอินเดีย (Rakha et al., 2015, 2016) เป็นต้น แต่ยังไม่มีรายงานการศึกษาถึงคุณภาพของน้ำเชื้อไก่ป่าในรอบปี ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญต่อการรีดเก็บน้ำเชื้อที่มีคุณภาพ เพื่อนำไปศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็งให้สัมฤทธิ์ผล

ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบอิทธิพลของอุณหภูมิสิ่งแวดล้อม ปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ต่อคุณภาพน้ำเชื้อสดในไก่ป่าตุ้มหูขาว เพื่อที่จะนำข้อมูลดังกล่าวไปใช้พิจารณากำหนดเวลาของกิจกรรมในการทำน้ำเชื้อแบบแช่แข็งเพื่อการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ทางพันธุกรรมในไก่ป่าตุ้มหูขาวต่อไปในอนาคต

วิธีการศึกษา

มีลำดับการศึกษา ดังนี้

1. การวางแผนการศึกษา รีดเก็บน้ำเชื้อไก่ป่าตุ้มหูขาว นำมาประเมินคุณภาพน้ำเชื้อรายตัว นำคุณภาพน้ำเชื้อมาเปรียบเทียบและหาอิทธิพลของปริมาณน้ำฝนและหรืออุณหภูมิต่อคุณภาพน้ำเชื้อตลอดการทดลอง

2. สัตว์ทดลอง ใช้พ่อพันธุ์ไก่ป่าตุ้มหูขาวอายุ 1 ปี (**Fig. 1**) จำนวน 8 ตัว ที่ผ่านการตรวจไข้หวัดนก (H_5N_1) และโรคนิวคาสเซิลโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง จังหวัดสุรินทร์ ทำเครื่องหมายที่ปลอกขาทุกตัว จัดเลี้ยงในคอกขนาด 4x6 ม. ซึ่งมีรั้วตาข่ายคลุมบริเวณรอบคอกเลี้ยง เป็นพื้นที่ขนาด 10x30 ม. พื้นที่รอบคอกเลี้ยงเป็นแปลงหญ้าเลี้ยงไก่ป่าตุ้มหูขาวแบบปล่อยลานจนถึงอายุ 10 เดือน จึงเลี้ยงในกรงตับขนาด 45x60 ซม. สำหรับฝึกรีดเก็บน้ำเชื้อ และเมื่ออายุ 1 ปีจะรีดเก็บน้ำเชื้อเพื่อทำการวิจัย การให้อาหาร 80 ก./ตัว/วัน ให้น้ำกินเต็มที่ ปล่อยไก่ในเวลากลางวันออกจากคอกเลี้ยงมาที่แปลงหญ้า เพื่อไม่ให้สัตว์มีความเครียด อุณหภูมิเป็นไปตามธรรมชาติ ให้แสงสว่าง 14 ชั่วโมง/วัน ในบริเวณคอกมีร่มไม้ธรรมชาติ ณ วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยียโสธร (15°32′41.0″N) ภายใต้การควบคุมการเลี้ยงดูของโครงการอนุรักษ์และรวบรวมพันธุ์สัตว์ป่า สวนสมเด็จพระศรีนครินทร์ศรีสะ

เกษ อ.เมืองศรีสะเกษ จ.ศรีสะเกษ การวิจัยในครั้งนี้อยู่ภายใต้การควบคุมของสาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้รับใบอนุญาต (Approval No.: 0514.1.75/15) จากศูนย์สัตว์ทดลองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มหาวิทยาลัยขอนแก่น



Fig. 1 Thai red junglefowl cock

3. วิธีการดำเนินการศึกษา

3.1 การฝึกรีดน้ำเชื้อ

โดยกระตุ้นลูบหลังให้คุ้นกับการรีดน้ำเชื้อสม่ำเสมอทุกวันก่อนให้น้ำและอาหารในเวลา 8.00 น.เป็นเวลา 1 เดือน ต่อมาทำการฝึกรีดน้ำเชื้อวันเว้นวันเป็นเวลา 1 เดือน หลังจากนั้นคัดไก่ป่าตุ้มหูขาวเพศผู้ที่มีคุณภาพน้ำเชื้อดี เพื่อทำการรีดเก็บน้ำเชื้อในวันอังคารและวันพฤหัสบดี เวลา 10.00 น.ทุกสัปดาห์ของการทดลอง รีดเก็บน้ำเชื้อโดยใช้บุคคลทีมเดียวกัน 2 คน สำหรับจับบังคับไก่ 1 คน อีกคนเป็นผู้กระตุ้นพ่อพันธุ์ด้วยการลูบหลังจากด้านหน้าไปด้านหลังพ่อพันธุ์จะตอบสนองด้วยการเกร็งและกระดกหาง จากนั้นบีบโคนก้นเพื่อเก็บน้ำเชื้อทันที รองเก็บน้ำเชื้อด้วยหลอดที่สะอาดขนาด 1.5 มล. โดยในหลอดมีน้ำยาเจือจางอยู่ 100 ไมโครลิตร (µL) เมื่อรีดน้ำเชื้อเสร็จ ปิดฝาหลอดและกลับหลอดให้น้ำเชื้อผสมกับน้ำยาเจือจางทันที เก็บหลอดน้ำเชื้อโดยแช่ น้ำเย็นที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 20°ซ ในภาชนะเก็บความเย็นและทึบแสง (Burrows and Quinn, 1937) วิธีการรีดเก็บ เวลา และเงื่อนไขการรีดเหมือนกันในทุกครั้งจนข้อมูลคุณภาพน้ำเชื้อสม่ำเสมอ จึงเริ่มบันทึกข้อมูลคุณภาพน้ำเชื้อ ปริมาณน้ำฝน และอุณหภูมิตลอดการศึกษา จากวันที่ 1 กรกฎาคม 2561 ถึง 30 กันยายน 2562 รวมเวลา 15 เดือน

3.2 วัดประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

3.2.1 การประเมินปริมาตรน้ำเชื้อ ประเมินปริมาตรน้ำเชื้อโดยใช้กระบอกฉีดยาที่มีค่าของความละเอียดของปริมาตรที่ 0.01 มล. ตามวิธีการของ Bakst et al. (1997)

3.2.2 การเคลื่อนที่แบบหมู่ (Mass movement) ลักษณะการเคลื่อนที่แบบหมู่เหมือนคลื่น ความไวของคลื่นขึ้นกับความเร็วในการเคลื่อนที่ ถ้าตัวอสุจิมีจำนวนมากคลื่นจะหนาแน่น การตรวจการเคลื่อนที่แบบหมู่ของตัวอสุจิทำโดยหยดน้ำเชื้อบนแผ่นกระจกสไลด์ ประเมินภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า (เทวินทร์ และ ยุพิน, 2550) ดังแสดงการให้ค่าคะแนนการเคลื่อนที่แบบหมู่ของอสุจิ (Evan and Maxwell, 1987 อ้างโดย เทวินทร์, 2559) ดังนี้ คะแนน 5 การเคลื่อนที่ดีมาก น้ำเชื้อเข้มข้นสูง เคลื่อนที่เป็นลูกคลื่น เร็ว สังเกตเป็นรายตัวไม่ได้ อสุจิประมาณ 90% หรือสูงกว่าเคลื่อนที่ได้;คะแนน 4 การเคลื่อนที่ดี อสุจิเคลื่อนที่แรง ความแรงของคลื่นไม่เท่าระดับ 5 เคลื่อนที่ประมาณ 70-80%; คะแนน 3 การเคลื่อนที่ปานกลาง การเคลื่อนที่เป็นคลื่นเล็กน้อย เคลื่อนที่ช้า สามารถสังเกตการเคลื่อนที่รายตัวได้ อสุจิเคลื่อนที่ได้ 45-65%; คะแนน 2 การเคลื่อนที่ต่ำ ไม่พบลักษณะคลื่น มีอสุจิเคลื่อนที่ได้

ประมาณ 20-40% และเคลื่อนที่อ่อน; คะแนน 1 การเคลื่อนที่ต่ำมาก ประมาณ 10% ของอสุจิเท่านั้นที่เคลื่อนที่ได้; และคะแนน 0 ไม่พบการเคลื่อนที่ อสุจิตาย

3.2.3 การเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าโดยสังเกตรายตัว (Proportion of progressive motile sperm) เป็นการตรวจประเมินการเคลื่อนที่ของอสุจิเคลื่อนที่ไปข้างหน้า วิธีตรวจการเคลื่อนที่รายตัวทำโดยการหยดน้ำเชื้อลงบนแผ่นสไลด์ที่สะอาด และปิดด้วย Cover slip สังเกตการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าของอสุจิและตรวจนับอสุจิอย่างรวดเร็วจำนวนไม่น้อยกว่า 300 ตัว ประเมินภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า (เทวินทร์ และ ยุพิน, 2550)

3.2.4 อสุจิมีชีวิต ใช้วิธี Eosin-nigrosin staining สี Eosin ไม่สามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิที่มีชีวิตได้ทำให้เซลล์อสุจิที่มีชีวิตไม่ติดสี แต่เซลล์อสุจิที่ตายจะติดสี โดยมีวิธีการ (Blesbois et al., 2005) ดังนี้ นำน้ำเชื้อ 10 µL ลงในหลอดขนาด 1.5 µL หยดสี 100 µL ลงในหลอดน้ำเชื้อ โดยสีที่ใช้ย้อมต้องมีอุณหภูมิเท่ากับน้ำเชื้อเสมอ คนสีย้อมและน้ำเชื้อให้เข้ากันทิ้งไว้ประมาณ 3 นาที หยดส่วนผสมในข้อ 3 ลงบนสไลด์ สเมียร์ และเป่าให้แห้งทันทีด้วยไดร์เป่าผม และนับจำนวนตัวอสุจิที่มีชีวิตรอดจะย้อมไม่ติดสี ส่วนตัวตายจะติดสีแดงหรือชมพู นับอย่างน้อย 300 ตัว แล้วคำนวณเป็นร้อยละ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 1,000 เท่า

3.2.5 ความผิดปกติของอสุจิ ประเมินจากแผ่นสไลด์ในข้อ 3.3.5 มาตรวจหาตัวอสุจิที่ผิดปกติ นับรวมกับตัวอสุจิที่ปกติประมาณ 300 เซลล์ แล้วนำมาคำนวณหาค่าร้อยละอสุจิที่ผิดปกติ น้ำ (เทวินทร์ และ ยุพิน, 2550)

3.2.6 ความเข้มข้นของอสุจิ ประเมินโดยใช้อุปกรณ์นับเม็ดเลือด (Haemacytometer) เป็นสไลด์นับเม็ดแบบ Neubauer ซึ่งใน 1 ตารางมิลลิเมตร จะมี 25 ตารางใหญ่ จากนั้นสุ่มนับ 5 ตารางใหญ่ โดยนับตารางจาก 4 มุมและตารางตรงกลาง 1 ตาราง ที่มีการกระจายอสุจิสม่ำเสมอ แต่ละตารางใหญ่จะมีปริมาตรน้ำเชื้อ 0.1x0.1x0.01 = 0.0001 มล. การประเมินความเข้มข้นอสุจิทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า มีวิธีการตรวจความเข้มข้นของอสุจิของ เทวินทร์ และ ยุพิน (2550) ดังนี้ 1) เจือจางน้ำเชื้อ 1 ใน 1,000 เท่าโดยเจือจางด้วยสารละลาย 4 NaCl/eosin โดยใช้ไมโครไปเปตดูดน้ำเชื้อ 5 µL และดูด NaCl/eosin ปริมาตร 4,995 µL หยดลงไปในหลอดทดลองและกลับหลอดไปมาให้น้ำเชื้อและสารละลายเข้ากันสม่ำเสมอ; 2) ใช้ Cover slip ปิดวางบนแผ่น Haemacytometer จึงหยดส่วนผสมของน้ำเชื้อในข้อที่ 1 ลงบนขอบส่วนบนของ Cover slip ตรวจดูว่าของเหลวบรรจุอยู่เต็มช่องว่างไม่มีฟองอากาศหรือช่องว่าง; 3) ทิ้งไว้ประมาณ 3-5 นาที เพื่อให้อสุจิโรยตัวลงบนพื้นระนาบเดียวกัน จากนั้นนับจำนวนอสุจิใน 5 ตารางใหญ่ของทั้ง 2 ข้าง; และ 4) คำนวณความเข้มข้นโดยหาค่าเฉลี่ยของจำนวนอสุจิที่นับได้ 5 ตารางใหญ่ของทั้ง 2 ข้าง จากนั้นรวมจำนวนอสุจิใน 5 ตารางใหญ่เป็น N จำนวนอสุจิใน 1 มล. ของน้ำเชื้อโดยคำนวณได้ ดังนี้ จากการเจือจางน้ำเชื้อ = 1 : 1000 เท่า ใช้ปริมาตร 25 ตาราง กว้าง 0.1 ซม. ยาว 0.1 ซม. ลึก 0.01 ซม. = 0.1x0.1x0.01 = 1/10,000 มล. หาค่าเฉลี่ยของจำนวนอสุจิที่นับได้ 5 ช่อง จาก 25 ช่อง (น้ำเชื้อ 5/25 ตาราง = 1 : 5) = N ดังนั้น จำนวนอสุจิใน 1 มล. = Nx10,000x1,000x5 = Nx5x10^7 เซลล์

3.2.7 จำนวนอสุจิต่อการรีดน้ำเชื้อแต่ละครั้ง = จำนวนอสุจิ/มล. X ปริมาตรน้ำเชื้อ (มล.) ที่รีดเก็บ 1 ครั้ง

4. การเก็บรวบรวมข้อมูล

บันทึกข้อมูลของปริมาตรน้ำเชื้อ การเคลื่อนที่อสุจิแบบหมู่ การเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ อสุจิมีชีวิตรอด อสุจิผิดปกติ จำนวนอสุจิ/มล. สัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 15 เดือน จาก 1 กรกฎาคม 2561 ถึง 30 กันยายน 2562 ในไก่ป่าตุ้มหูขาวแต่ละตัวซึ่งเป็นตัวเดิมตลอดการศึกษาในครั้งนี้

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่เป็นค่าร้อยละถูกแปลงข้อมูลเป็นค่า Arcsin ($\sqrt{y/2}$) และค่าจำนวนของตัวอสุจิถูกแปลงข้อมูลเป็นค่า Log_{10} ก่อนวิเคราะห์ความแปรปรวน ทำการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (Correlation) ของคุณภาพน้ำเชื้อซึ่งประกอบด้วย ปริมาตรน้ำเชื้อ การเคลื่อนที่อสุจิแบบหมู่ การเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ อสุจิมีชีวิตรอด อสุจิผิดปกติ จำนวนอสุจิ/มล. และจำนวนอสุจิต่อการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้ง กับอุณหภูมิสิ่งแวดล้อม ปริมาณน้ำฝน และความชื้นสัมพัทธ์ในรอบปี หาค่า $P \leq 0.05$ การวิเคราะห์สถิติใช้โปรแกรม SASTM Edition SAS University v 9.4 (SAS Institute, 2018)

ผลการศึกษา

พบว่าคุณภาพน้ำเชื้อเฉลี่ยจากเดือนกรกฎาคม 2561 ถึงเดือนกันยายน 2562 เป็นเวลา 15 เดือน (**Table 1**) มีปริมาตรของน้ำเชื้อ 0.281±0.09 มล. คะแนนการเคลื่อนที่อสุจิแบบหมู่ 4.83±0.24 การเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ 98.15±1.77% อสุจิมีชีวิตรอด 98.43±0.95% อสุจิผิดปกติ 1.34±0.54% จำนวนอสุจิ 6,320±500.19 ($1x10^6$) เซลล์/มล. และจำนวนอสุจิต่อการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้ง 1,776±600.55 ($1x10^6$) เซลล์

อุณหภูมิสิ่งแวดล้อมมีสหสัมพันธ์กับปริมาตรน้ำเชื้อ อสุจิมีชีวิตรอด และจำนวนอสุจิต่อการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้ง ($P < 0.01$) ปริมาณน้ำฝนมีสหสัมพันธ์กับปริมาตรน้ำเชื้อ การเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ อสุจิมีชีวิตรอด อสุจิผิดปกติ จำนวนของอสุจิ/มล. และจำนวนอสุจิต่อการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้ง ($P < 0.01$) และความชื้นสัมพัทธ์มีสหสัมพันธ์กับปริมาตรน้ำเชื้อ (**Table 1, Fig. 2-7**)

Table 1 Annual semen characteristic of the Thai red junglefowl

Semen Quality	Temperature (°C)	Rainfall (mm.)	Relative Humidity (%)	Volume (mL)	Mass movement (Score)	Progressive motile (%)	Viability (%)	abnormal sperm (%)	Sperm concentration ($1x10^6mL^{-1}$)	Sperm count ($1x10^6$ cell/ejac)
Jul, 2018	27.80	309.50	87.99	0.130±0.043	4.66±0.305	98.75±0.16	97.27±0.93	1.38±0.32	6,203±95.65	802±255.97
Aug, 2018	27.70	318.20	87.28	0.213±0.020	4.88±0.139	98.70±0.11	98.67±0.10	1.25±0.12	6,295±155.86	1,342±129.64
Sep, 2018	28.30	317.00	83.28	0.306±0.015	5.00±0.000	98.69±0.11	98.76±0.09	1.39±0.18	6,425±134.07	1,965±92.47
Oct, 2018	28.20	77.30	76.60	0.335±0.002	4.75±0.218	98.64±0.05	98.69±0.10	1.52±0.24	6,463±106.54	2,182±47.87
Nov, 2018	27.60	11.70	73.79	0.343±0.008	4.72±0.195	98.75±0.09	98.79±0.11	1.36±0.25	6,778±125.87	2,323±55.41
Dec, 2018	26.80	0.90	69.06	0.339±0.008	4.84±0.121	98.72±0.11	98.74±0.09	1.08±0.14	6,403±145.75	2,168±77.47
Jan, 2019	25.70	0.00	63.92	0.339±0.010	4.93±0.097	98.74±0.07	98.83±0.04	1.15±0.18	6,548±131.88	2,220±76.31
Feb, 2019	29.40	0.00	60.02	0.341±0.013	4.91±0.174	98.69±0.20	99.01±0.15	3.02±0.54	6,565±131.81	2,241±100.71
Mar, 2019	30.90	19.50	60.27	0.340±0.009	4.94±0.108	98.84±0.13	99.24±0.11	1.10±0.20	6,483±134.70	2,202±58.72
Apr, 2019	31.90	91.40	65.22	0.354±0.017	4.81±0.242	98.81±0.09	98.74±0.16	1.19±0.14	6,345±147.56	2,243±98.93
May, 2019	30.20	236.30	76.17	0.344±0.021	4.85±0.194	98.68±0.06	98.72±0.08	1.09±0.14	6,106±74.59	2,101±145.98
Jun, 2019	30.40	102.00	76.04	0.354±0.014	4.75±0.260	98.65±0.07	98.71±0.11	1.13±0.16	6,158±113.82	2,178±85.55
Jul, 2019	28.70	318.50	79.35	0.151±0.030	4.95±0.132	98.44±0.32	98.80±0.27	1.16±0.38	6,733±727.66	1,017±278.88
Aug, 2019	28.00	341.90	84.86	0.192±0.053	4.81±0.207	97.11±0.40	97.83±0.64	1.19±0.10	6,475±302.59	1,245±349.92
Sep, 2019	27.70	554.50	83.27	0.136±0.031	4.63±0.423	92.07±2.03	95.64±0.84	1.04±0.44	4,847±414.62	654±142.74
Mean	28.62	179.91	75.14	0.281±0.090	4.83±0.240	98.15±1.77	98.43±0.95	1.34±0.54	6,322±500.19	1,792±600.55
SEM				0.029	0.082	0.016	0.011	0.011	0.014	0.064
Temperature Correlation				0.31141	0.04190	0.17531	0.24733	0.06484	-0.01649	0.27139
Pr>F (Temperature Correlation)				0.0005	0.6496	0.0555	0.0065	0.4817	0.8587	0.0027
Rainfall Correlation				-0.79958	-0.11933	-0.63602	-0.68650	-0.25986	-0.54080	-0.84123
Pr>F (Rainfall Correlation)				< 0.0001	0.1942	< 0.0001	<0.0001	0.0042	< 0.0001	< 0.0001
Relative Humidity Correlation				-0.69511	0.12262	-0.02446	-0.09130	-0.12452	-0.15970	-0.15079
Pr>F (Relative Humidity Correlation)				< 0.0001	0.1821	0.7908	0.3213	0.1754	0.0828	0.1002

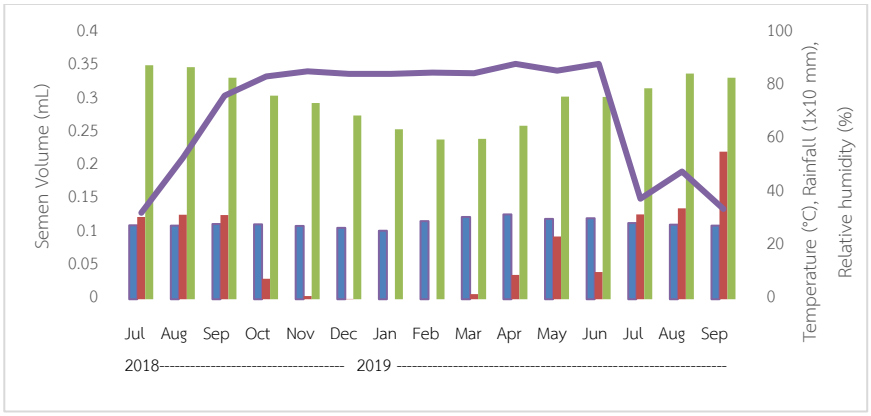


Fig. 2 The volume of semen correlated with temperature, rainfall, and relative humidity. Semen volume (mL), Temperature (°C), Rainfall (1x10 mm), and Relative humidity (%)

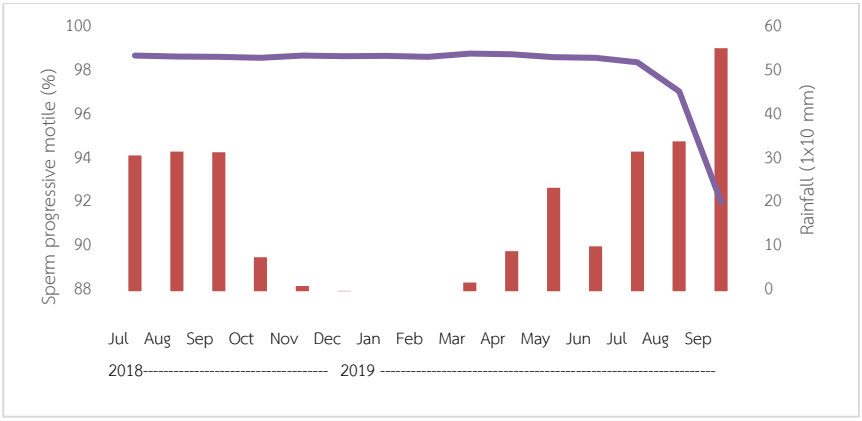


Fig. 3 The percentage of sperm progressive motile correlated with rainfall. Sperm progressive motile (%) and Rainfall (1x10 mm)

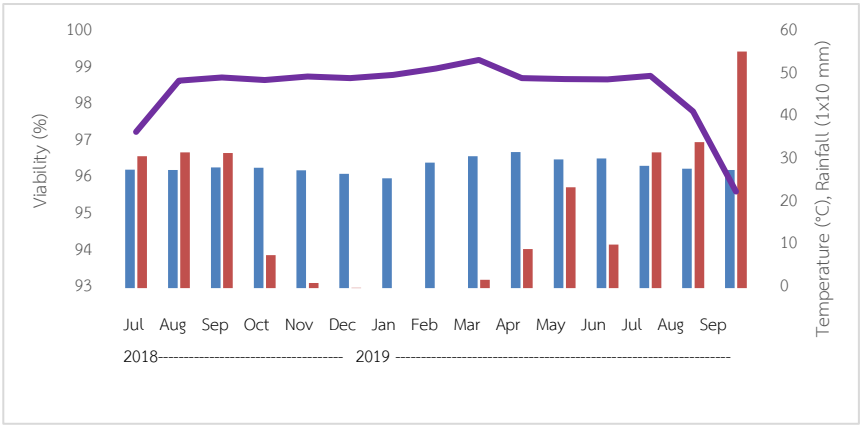


Fig. 4 The percentage of viability correlated with temperature and rainfall. Viability (%), Temperature (°C), and Rainfall (1x10 mm)

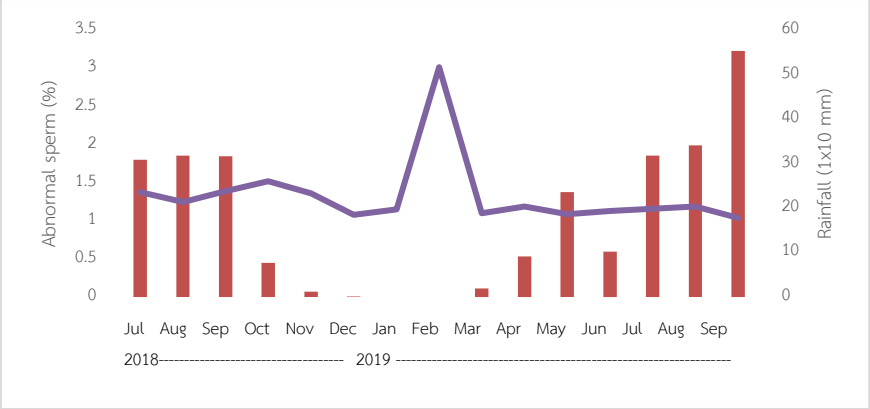


Fig. 5 The percentage of abnormal sperm correlated with rainfall.

Abnormal Sperm (%) and Rainfall (1x10 mm)

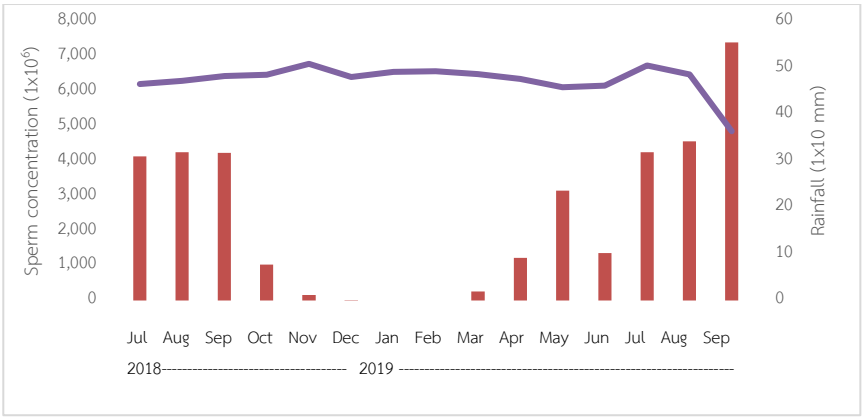


Fig. 6 The sperm concentration correlated with rainfall.

Sperm concentration ($1x10^6$) and Rainfall (1x10 mm)

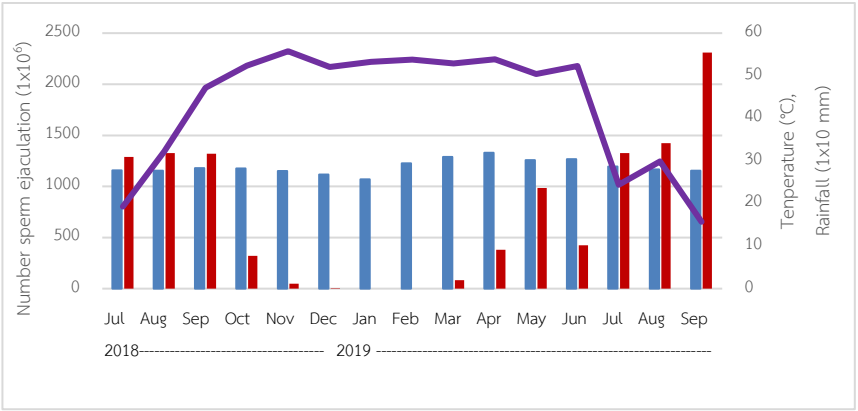


Fig. 7 The number sperm ejaculation correlated with temperature and rainfall.

Number sperm ejaculation ($1x10^6$), Temperature (°C), and Rainfall (1x10 mm)

วิจารณ์

ไก่ป่าตุ้มหูขาวที่ใช้ในการรีดเก็บน้ำเชื้อเพื่อการศึกษาในครั้งนี้ มาจากไก่ป่าตุ้มหูขาวที่มีถิ่นอาศัยอยู่ในป่าบุ่งป่าทาม ลุ่มลำน้ำชี จังหวัดยโสธร นำลูกไก่มาเลี้ยงให้คุ้นเคยกับผู้รีดเก็บน้ำเชื้อ ทำให้พบว่าไก่ป่าตุ้มหูขาวเพศผู้มีการตอบสนองต่อการจัดการเลี้ยงดูแบบระบบฟาร์ม มีอายุเริ่มถึงวัยเจริญพันธุ์ 10 เดือน เริ่มฝึกรีดน้ำเชื้อ และเริ่มเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำเชื้อเมื่อไก่อายุ 12 เดือน สามารถรีดเก็บน้ำเชื้อได้ตลอดปี ยกเว้นในช่วงฝนตกหนักเดือนกรกฎาคมถึงเดือนกันยายน ซึ่งไก่ให้ปริมาณน้ำเชื้อในเดือนกรกฎาคม 2561 และ 2562 เป็น 0.130±0.043 และ 0.151±0.030 มล., สิงหาคม 2561 และ 2562 เป็น 0.213±0.002 และ 0.192±0.053 มล., กันยายน 2561 และ 2562 เป็น 0.306±0.015 มล. และ 0.136±0.031 มล. ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าปริมาตรน้ำเชื้อของเดือนอื่น ๆ ในรอบปี อาจเป็นผลมาจากตัวไก่เองที่ได้รับผลกระทบจากปริมาณน้ำฝนที่มากกว่า 309.50 มม. และความชื้นสัมพัทธ์ที่มากกว่า 79.35% ซึ่งจากการที่มีปริมาณน้ำฝนและความชื้นสัมพัทธ์ที่มากจะส่งผลต่อความสุขสบายมีผลกระทบต่อปริมาตรน้ำเชื้อด้วย เมื่อปริมาตรน้ำเชื้อลดลงจะทำให้มีผลต่อจำนวนอสุจิต่อการรีดน้ำเชื้อแต่ละครั้ง เมื่อเปรียบเทียบอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อไก่ป่ามากที่สุดคือปริมาณน้ำฝนที่มากขึ้นจะทำให้ปริมาตรน้ำเชื้อ การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิ อสุจิรอดชีวิต และจำนวนอสุจิต่อการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้ง มีค่าลดลงเนื่องมาจากการรีดน้ำเชื้อไก่พ่อพันธุ์แต่ละตัวให้ปริมาตรลดลง จากการสังเกตพฤติกรรมไก่ป่าตุ้มหูขาวในวันที่ฝนตกจะตื่นตกใจกลัว มีอาการเครียด ไม่ค่อยตอบสนองต่อการกระตุ้นลูบหลัง แต่หลังจากรีดน้ำเชื้อได้น้อยในวันฝนตกหนัก จะสามารถกลับมารีดน้ำเชื้อเป็นปกติได้ในวันต่อมาที่ไม่มีฝนหรือฝนตกไม่หนัก

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการรีดน้ำเชื้อแต่ละเดือน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำฝน มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อสดในไก่ป่าตุ้มหูขาว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อไก่ในประเทศไทยของแสนน้ำผึ้ง (2559) ซึ่งพบว่าปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอกได้แก่อุณหภูมิและความชื้น มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อสดในไก่ดำสายพันธุ์ม้ง ไก่บาร์พลีมัทร็อค และไก่ประดู่หางดำ ยังพบว่ามีความสอดคล้องรายงานในประเทศไนจีเรียของ Bah et al. (2001) ซึ่งพบว่าอุณหภูมิมีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน รายงานของ Elagib et al. (2012) ซึ่งพบว่าในช่วงฤดูร้อนกับในช่วงฤดูหนาว คุณภาพน้ำเชื้อจะมีความแตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องจากความเครียดซึ่งเกิดจากอุณหภูมิสูงจะส่งผลให้ไก่มีคุณภาพน้ำเชื้อลดลง จากรายงานของ Boone and Huston (1963) และ Joshi et al. (1980) ที่พบว่าสภาพแวดล้อม ฤดูกาล และอุณหภูมิเป็นผลกระทบที่สำคัญต่อคุณภาพน้ำเชื้อในพ่อพันธุ์ไก่ อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้มีผลที่แตกต่างจากการศึกษาของ พรจิต (2556) และ Santiago-Moreno et al. (2011) ซึ่งได้รายงานว่าสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ ซึ่งอาจเป็นเพราะสัตว์ทดลองมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม และจากการศึกษาของ พรจิต (2556) ในไก่พื้นเมืองไทย 3 พันธุ์ (เหลืองหางขาว ประดู่หางดำ และชี) ซึ่งสัตว์ทดลองทั้งสามพันธุ์มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม จึงทำให้คุณภาพน้ำเชื้อจากไก่ทั้งสามพันธุ์ไม่แตกต่างกัน และเนื่องจากเป็นไก่บ้านที่คุ้นเคยกับการเลี้ยงดูในสภาพแวดล้อมที่มนุษย์สร้างขึ้น จึงไม่ค่อยตื่นกลัว

สำหรับในเดือนกันยายน 2562 มีปริมาตรน้ำเชื้อและจำนวนของอสุจิ/การหลั่ง ต่ำกว่าเดือนกันยายน 2561 เพราะฝนตกหนักมีปริมาณน้ำฝนมากถึง 554.50 มม. และเกิดอุทกภัยในพื้นที่ น้ำท่วมเข้ามาในโรงเรือนเลี้ยงไก่ป่า ถึงแม้ว่าน้ำไม่ได้ท่วมถึงกรงเลี้ยงก็ตาม ไก่ป่าอาจมีความเครียดเพราะมีความไม่ปกติในการปฏิบัติการรีดเก็บน้ำเชื้อ ต้องใช้เรือเป็นพาหนะในการทำงาน และอาจเป็นเพราะไก่ป่ามีอายุมากขึ้น ซึ่งไก่ที่อายุมาก คุณภาพน้ำเชื้อจะต่ำลง (เทวินทร์ และคณะ, 2556) และสอดคล้องกับ Wineland (1994) รายงานว่าอายุของพ่อพันธุ์ที่แตกต่างกันจะให้คุณภาพน้ำเชื้อที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ พรจิต (2556) ที่รายงานว่าคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์ไก่พื้นเมืองไม่แตกต่างกันเมื่ออายุ 10 และ 20 เดือน

จากการศึกษาในครั้งนี้ ถึงแม้พบว่าการรีดน้ำเชื้อแต่ละเดือน อุณหภูมิ และปริมาณน้ำฝน มีอิทธิพลต่อคุณภาพน้ำเชื้อสดในไก่ป่าตุ้มหูขาว แต่ค่าการเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ อสุจิมีชีวิต อสุจิผิดปกติ และจำนวนของอสุจิในรอบปี เมื่อเปรียบเทียบกับไก่พันธุ์อื่น ๆ พบว่าไก่ป่าตุ้มหูขาวจะมีน้ำเชื้อที่มีคุณภาพดี สามารถนำไปเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งได้ตลอดปี ซึ่งโดยมาตรฐานน้ำเชื้อสดที่จะนำไปทำการแช่แข็งจะต้องมีอสุจิที่เคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าอย่างน้อย 80% (Eslami et al., 2018) ทั้งนี้คุณภาพเฉลี่ยของน้ำเชื้อในไก่ไทย จะมีปริมาตรน้ำเชื้อสด 0.350 มล. คะแนนการเคลื่อนที่อสุจิแบบหมู่ 4.23 การเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ 83% อสุจิมีชีวิตรอด 91% อสุจิรูปร่างผิดปกติ 92% จำนวนของอสุจิ 4,594 ($1x10^6$) เซลล์/มล. และจำนวนอสุจิต่อการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้ง 1,483 ($1x10^6$) เซลล์ (แสนน้ำผึ้ง, 2559; พรจิต, 2556; พรจิต และคณะ, 2555) และคุณภาพเฉลี่ยของน้ำเชื้อในไก่ต่างประเทศ จะมีปริมาตร

น้ำเชื้อสด 0.567 มล. คะแนนการเคลื่อนที่อสุจิแบบหมู่ 3.90 การเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ 77% อสุจิมีชีวิตรอด 85% อสุจิรูปร่างปกติ 89% จำนวนของอสุจิ 5,321 ($1x10^6$) เซลล์/มล. และจำนวนอสุจิต่อการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้ง 3,128 ($1x10^6$) เซลล์ (Orunmuyi et al., 2013; Mamun et al., 2013; Perters et al., 2008) พบว่าไก่ป่าตุ้มหูขาวมีปริมาตรน้ำเชื้อสดน้อยกว่าค่าเฉลี่ยไก่ไทยและไก่ต่างประเทศ ส่วนการเคลื่อนที่อสุจิแบบหมู่ การเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ อสุจิมีชีวิตรอด อสุจิรูปร่างปกติ และจำนวนของอสุจิ มีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยของไก่ไทยและไก่ต่างประเทศ แต่จำนวนอสุจิทั้งหมดต่อการหลั่งนั้น พบว่ามีค่ามากกว่าค่าเฉลี่ยไก่ไทยแต่น้อยกว่าค่าเฉลี่ยไก่ต่างประเทศ เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานคุณลักษณะน้ำเชื้อไก่ป่าแดงอินเดียของ Rakha et al. (2015) มีปริมาตรน้ำเชื้อ 0.019 มล. จำนวนตัวอสุจิ 800 ($1x10^6$) เซลล์/มล. การเคลื่อนที่หมู่ 76% และการรอดชีวิตอสุจิ 92% และต่อมา Rakha et al. (2016) ได้รายงานอีกครั้งในการศึกษาคุณลักษณะน้ำเชื้อไก่ป่าแดงอินเดียว่ามีปริมาตรน้ำเชื้อ 0.355 มล. การเคลื่อนที่หมู่ 73%, จำนวนตัวอสุจิ 2,080 ($1x10^6$) เซลล์/มล. และอสุจิมีชีวิตรอด 82% ซึ่งทุกค่าคุณลักษณะของไก่ป่าแดงอินเดียจะต่ำกว่าไก่ป่าตุ้มหูขาว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์และสภาพแวดล้อมในการศึกษาวิจัย จากข้อมูลการศึกษาบ่งชี้ว่าพ่อพันธุ์ไก่ป่าตุ้มหูขาวเป็นไก่ป่าที่มีน้ำเชื้อที่มีคุณภาพในระดับที่ดีในระดับที่สามารถนำมาทำการเก็บรักษาแบบแช่แข็งได้ตลอดปี

สรุป

ลักษณะน้ำเชื้อสดของไก่ป่าตุ้มหูขาวจากเดือนกรกฎาคม 2561 ถึงเดือนกันยายน 2562 เป็นเวลา 15 เดือน มีคุณภาพน้ำเชื้อดีดังนี้ ปริมาตรของน้ำเชื้อ 0.281$\pm$0.09 มล. คะแนนการเคลื่อนที่อสุจิแบบหมู่ 4.83$\pm$0.24 การเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ 98.15$\pm$1.77% อสุจิมีชีวิตรอด 98.43$\pm$0.95% อสุจิผิดปกติ 1.34$\pm$0.54% จำนวนอสุจิ 6,320$\pm$500.19 ($1x10^6$) เซลล์/มล. และจำนวนอสุจิต่อการหลั่งน้ำเชื้อแต่ละครั้ง 1,776$\pm$600.55 ($1x10^6$) เซลล์ และปริมาณน้ำฝนที่สูงจะทำให้ปริมาตรน้ำเชื้อ การเคลื่อนที่ตรงไปข้างหน้าของอสุจิ อสุจิมีชีวิตรอด และจำนวนของอสุจิลดลง และความชื้นสัมพัทธ์สูงจะทำให้การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิลดลงได้ ในภาพรวมคุณภาพน้ำเชื้อสดของไก่ป่าตุ้มหูขาวในรอบปีจัดว่ามีคุณภาพดี สามารถนำไปใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็งได้ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการอนุรักษ์พันธุกรรมของไก่ป่าตุ้มหูขาวต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณการให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิจัย ดังนี้ (1) วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยียโสธร (2) ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (3) ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง จ.สุรินทร์ (4) โครงการอนุรักษ์และรวบรวมพันธุ์สัตว์ป่า สวนสมเด็จพระศรีนครินทร์ศรีสะเกษ อ.เมืองศรีสะเกษ จ.ศรีสะเกษ

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยความหลากหลายทางชีวภาพ. 2559. ไก่ตั้ง. กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

เทวินทร์ วงษ์พระลับ และยุพิน ผาสุข. 2550. การเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็งและการผสมเทียมในไก่พื้นเมือง. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

เทวินทร์ วงษ์พระลับ, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา และยุพิน ผาสุข. 2556. ผลของอายุพ่อพันธุ์ไก่พื้นเมืองต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อแบบแช่แข็ง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 44(พิเศษ 1): 215-218.

เทวินทร์ วงษ์พระลับ. 2559. การเก็บรักษาน้ำเชื้อและการผสมเทียมในสัตว์ปีก. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

พรจิต สอนสีดา, เทวินทร์ วงษ์พระลับ, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ และพิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา. 2555. ผลของอายุและสายพันธุ์ต่อการเคลื่อนที่ อัตราการรอดชีวิต และความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อแบบแช่แข็งในไก่พื้นเมืองไทย. แก่นเกษตร. 40(ฉบับพิเศษ 2): 334-338.

พรจิต สอนสีดา. 2556. คุณลักษณะของน้ำเชื้อใน 1 รอบปีและคุณภาพน้ำเชื้อแบบแช่แข็งในไก่พื้นเมือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

สำนักความหลากหลายทางชีวภาพ. 2559ก. พื้นที่ชีวมวล. สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ.

สำนักความหลากหลายทางชีวภาพ. 2559ข. การคุกคามระบบนิเวศป่าไม้. สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพฯ.

แสนน้ำผึ้ง สมท้าว. 2559. การศึกษาเปรียบเทียบคุณลักษณะน้ำเชื้อในรอบ 1 ปี และคุณภาพน้ำเชื้อแบบแช่แข็งของไก่ดำสายพันธุ์ม้ง ไก่บาร์พลีมัทร็อค และไก่พื้นเมืองไทย (ประดู่หางดำ). วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

Akaboot, P., M. Duangjinda, Y. Phasuk, C. Kaenchan, and W. Chinchiyanond. 2012. Genetic characterization of Red Junglefowl (*Gallus gallus*), Thai indigenous chicken (*Gallus domesticus*), and two commercial lines using selective functional genes compared to microsatellite markers. Genetics and Molecular Research. 11: 1881-1890.

Bah, G.S., S.U.R. Chaudhariand, and J.D. Al-Amin. 2001. Semen characteristics of local breeder cocks in the Sahel region of Nigeria. Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux. 54: 153-158.

Blesbois, E., I. Grasseau, and F. Seigneurin. 2005. Membrane fluidity and ability to survive cryopreservation in domestic bird spermatozoa. Reproduction. 129: 371–378.

Boone, M.A., and T.M. Huston. 1963. Effect of high temperature on semen production and fertility in the domestic fowl. Poultry Science Journal. 42: 670-676.

Burrows, W.H., and J.P. Quinn. 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. Poultry Science Journal. 16: 19-24.

Callaway, E. 2016. When chickens go wild. Nature International Weekly Journal of Science. 529: 270.

Elagib, H.A.A., N.A. Musharaf, S.A. Makawi, and H.E. Mohamed. 2012. The effects of age and season on semencharacteristics of white leghorn cocks under Sudan conditions. International Journal of Poultry Science. 11: 47-49.

Eslami, M., E.Z. Hashem, A. Ghaniei, and H. Sayyah-Atashbeig. 2018. Evaluation of linoleic acid on lipid peroxidative/antioxidative parameters, motility and viability of rooster spermatozoa during cold storage. Cell Tissue Bank. 19: 799–807.

Fumihito, A., T. Miyake, S. Sumi, M. Takada, S. Ohno, and N. Kondo. 1994. One subspecies of the red jungle fowl (*Gallus gallus gallus*) suffices as the matriarchic ancestor of all domestic breeds. Proceedings of the National Academy of Sciences. 91: 12505-12509.

Joshi, P.C., B. Panda, and B.C. Joshi. 1980. Effect of ambient temperature on semen characteristics of White Leghorn male chicken. Indian Veterinary Journal. 57: 52-56.

Mamun, T.A.M., M.M.U. Bhuiyan, R.N. Ferdousy, N.S. Juyena, and M.B.R. Mollah. 2013. Evaluation of semen quality among four chicken lines. Agricultural and Veterinary Sciences. 6: 7-13.

Obidi, J.A., B.I. Onyeanusi, J.O. Ayo, P.I. Rekwot, and T. Dzenda. 2008. Determination of gonadal sperm/spermatid reserves in Shikabrown breeder cocks. International Journal Poultry Science. 7: 1200-1203.

Orunmuyi, M., C. L. Akanwa, and B. I. Nwagu. 2013. Semen Quality Characteristics and Effect of Mating Ratio on Reproductive Performance of Hubbard Broiler Breeders. Journal of Agricultural Science. 5: 154-159.

Perters, S.O., O.D. Shoyebo, B.M. Ilori, M.O. Ozoje, C.O.N. Ikeobi, and O.A. Adebambo. 2008. Semen quality traits of seven strain of chickens raised in the humid tropics. International Journal of Poultry Science. 7: 949-953.

Rakha, B.A., M.S. Ansari, I. Hussain, M.F. Malik, S. Akhter, and E. Blesbois. 2015. Semen characteristics of the Indian red junglefowl (*Gallus gallus murghi*). European Journal of Wildlife Research. 61: 379-386.

Rakha, B.A., M.S. Ansari, I. Hussain, M. Anwar, S. Akhter, and E. Blesbois. 2016. Comparison of extenders for liquidstorage of Indian red junglefowl (*Gallus gallus murghi*) spermatozoa. Avian Biology Research. 9: 207-212.

Santiago-Moreno, J., C. Castaño, A. Toledano-Díaz, M.A. Coloma, A. López-Sebastián, M.T. Prieto, and J.L. Campo. 2011. Influence of season on the freeze ability of free-range poultry sperm. Reproduction in Domestic Animals. 47: 575-583.

Statistical Analysis System Institute (SAS). 2018. SAS/STAT user's guide SAS University Edition 9.4. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Wineland, M.J. 1994. Management of broiler breeders for artificial insemination. In: Bakst, M.R. and G.J. Wishart (Eds). The 1st International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry Science. Poultry Science Association, Savoy, IL.