



วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

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



อิทธิพลของดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละฤดูกาลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งของไก่พันธุ์แดงดอกคูณและประดู่หางดำ

Effect of temperature humidity index in each season on the quality of frozen semen in Thai Native Chickens Deang Dok Koon and Pradu Hang Dam

ณัฐนรี กันทะสอน¹, สจี กันหาเรียง¹, เทวินทร์ วงษ์พระลับ¹ และ ยุพิน ผาสุก^{1*}

Natnaree Kantason¹, Sajee Kunhareang¹, Thevin Vongpralub¹ and Yupin Phasuk^{1*}

¹ สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002, ประเทศไทย

¹ Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาอิทธิพลของดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละฤดูกาลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง ในไก่พันธุ์แดงดอกคูณและไก่พันธุ์ประดู่หางดำเพื่อเก็บเป็นข้อมูลประจำพันธุ์ของเพศผู้ สำหรับการปรับปรุงคุณภาพน้ำเชื้อและการอนุรักษ์พันธุ์กรรมที่มีคุณค่าของไก่พันธุ์แดงดอกคูณและไก่พันธุ์ประดู่หางดำ โดยใช้ข้อมูลน้ำเชื้อของไก่พันธุ์ประดู่หางดำเป็นมาตรฐานคุณภาพน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองไทยเพื่อใช้ในการพิจารณาปรับปรุงคุณภาพน้ำเชื้อต่อไป ในการทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ 3x2 Factorial Experiment in CRD ปัจจัยที่ศึกษาประกอบด้วย ปัจจัยจากฤดูกาลได้แก่ ฤดูร้อน ฤดูฝนและฤดูหนาว และปัจจัยจากพันธุ์ได้แก่ พันธุ์แดงดอกคูณและประดู่หางดำ ทำการศึกษาโดยใช้พ่อพันธุ์ไก่พันธุ์แดงดอกคูณและพ่อพันธุ์ไก่พันธุ์ประดู่หางดำ อายุ 1 ปี พันธุ์ละ 12 ตัว เลี้ยงในโรงเรือนเปิดภายใต้สภาพแวดล้อมธรรมชาติและรีดเก็บน้ำเชื้อ สัปดาห์ละ 2 ครั้ง 24 สัปดาห์ รวมรีดน้ำเชื้อทั้งสิ้น 48 ครั้ง ทำการรวมน้ำเชื้อในแต่ละพันธุ์และแช่แข็ง ภายหลังการละลายน้ำเชื้อจะประเมินคุณภาพน้ำเชื้อจากการเคลื่อนที่โดยรวม การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าและร้อยละของอสุจิที่มีชีวิต จากการศึกษาพบว่า ในการทดลองไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของอิทธิพลร่วมกันระหว่างฤดูกาลและพันธุ์ ($p>0.05$) แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของฤดูกาลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง ($p<0.05$) โดยการเคลื่อนที่โดยรวมในฤดูฝน (41.03%) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับฤดูร้อน (39.84%) และฤดูหนาว (44.17%) แต่การเคลื่อนที่โดยรวมของฤดูร้อนพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับฤดูหนาว การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ฤดูหนาว (33.79%) มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด แต่การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในฤดูร้อน (27.28%) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับฤดูฝน (26.02%) ร้อยละอสุจิมีชีวิต ฤดูหนาว (67.34%) มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด แต่ร้อยละอสุจิมีชีวิตในฤดูร้อน (55.61%) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับฤดูฝน (54.83%) และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของพันธุ์ต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง ($p>0.05$) จากผลการทดลองสรุปผลได้ดังนี้ อิทธิพลของฤดูกาลส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งโดย น้ำเชื้อแช่แข็งในฤดูหนาวจะให้น้ำเชื้อที่มีคุณภาพสูงกว่าฤดูร้อนและฤดูฝน การเก็บน้ำเชื้อในฤดูหนาวจึงเหมาะสำหรับการทำน้ำเชื้อแช่แข็งเพื่อเป็นการรักษาพันธุ์กรรมมากที่สุด และคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งของไก่พันธุ์ประดู่หางดำและแดงดอกคูณไม่มีความแตกต่างกัน

คำสำคัญ: น้ำเชื้อแช่แข็ง; คุณภาพน้ำเชื้อ; ไก่พื้นเมือง; ฤดูกาล

* Corresponding author: yuplua@kku.ac.th

Received: date; August 13, 2024 Revised: date; October 29, 2024

Accepted: date; November 1, 2024 Published: date; April 2, 2025

ABSTRACT: The objective of this study was to investigate the influence of temperature-humidity index in each season on the quality of frozen semen in Thai native chickens Deang Dok Koon (DDK) and Thai native chickens Pradu Hang Dam (PD) to improve semen quality and conserving valuable genetics of DDK and PD. The semen data from PD was used as a standard for semen quality in Thai native chickens, to be considered in future efforts to improve semen quality. The study employed a 3x2 factorial experiment in a completely randomized design (CRD). The factors studied include seasonal (summer, rainy, and winter) and breed (DDK and PD). The experiment involved 12 roosters per breed (DDK and PD), all aged 1 year. All chickens were raised in an open-air housing. Semen was collected twice a week over a total period of 24 weeks, totaling 48 times. The semen of each breed is pool semen and frozen. After thawing, the evaluation of semen quality consists of total motility, sperm progressive, and sperm viability. No significant difference was found for seasons and breed ($p>0.05$), but seasons showed statistically significant differences in the quality of frozen semen ($p<0.05$). Total motility in the rainy season (41.03%) was not different compared to summer (39.84%) and winter season (44.17%), in summer, total motility was lower than the winter season. Sperm progressiveness was highest in the winter (33.79%), while the summer (27.28%) showed no significant difference from the rainy season (26.02%). The average sperm viability in winter (67.34%) was the highest, but summer (55.61%) was not different from the rainy season (54.83%). Also, it was found that there were no statistically significant differences for the breed on the quality of frozen semen ($p>0.05$). In summary, the influence of seasons affects the quality of frozen semen. In the winter, it gives high-quality semen in frozen semen compared to the summer and rainy seasons. A collection of semen in the winter season is most suitable for frozen semen to preserve genetics and the quality of frozen semen of DDK and PD did not differ.

Keywords: frozen semen; semen quality; native chicken; season

บทนำ

สภาวะเศรษฐกิจของประเทศไทยในปัจจุบันการเลี้ยงไก่พื้นเมืองถือเป็นอาชีพหนึ่งที่มีความสนใจและมีศักยภาพควรส่งเสริมเป็นอาชีพทางเลือก เนื่องจากไก่พื้นเมืองเป็นสัตว์ที่ทนต่อสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศของประเทศไทยได้เป็นอย่างดี สามารถเลี้ยงแบบปล่อยตามธรรมชาติโดยใช้ปัจจัยภายในครัวเรือนและทรัพยากรท้องถิ่นในการเลี้ยงได้ ทำให้ประหยัดค่าอาหาร นอกจากนี้ไก่พื้นเมืองยังเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่เข้าถึงได้ง่ายสำหรับเกษตรกร และไข่ของไก่พื้นเมืองยังจัดเป็นกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่มีศักยภาพในการแข่งขันด้านอาหารสุขภาพ แต่ไก่พื้นเมืองยังมีข้อด้อยคือ ให้ผลผลิตไข่ที่ต่ำเมื่อเทียบกับไก่ไข่ทางการค้า ในไก่ประดู่หางดำให้ผลผลิตไข่เมื่ออายุ 300 วัน เฉลี่ย 41.90 ฟอง จำนวนไข่สะสม 1 ปี เฉลี่ยเท่ากับ 122.50 ฟอง และในไก่ซีให้ผลผลิตไข่เมื่ออายุ 300 วัน เฉลี่ย 57.40 ฟอง จำนวนไข่สะสม 1 ปี เฉลี่ยเท่ากับ 163.40 ฟอง (มนต์ชัย และคณะ, 2556) ไข่ไก่ส่วนใหญ่ที่บริโภคทั่วไปจึงมาจากไข่ของไก่ไข่ทางการค้าที่ต้องซื้อตามท้องตลาด (กัญญาณัฐ และ กรรณิกา, 2562) อย่างไรก็ตามในเขตชนบทไก่พื้นเมืองยังมีบทบาทที่สำคัญในการให้ผลผลิตเพื่อตอบสนองต่อความต้องการด้านอาหารที่เป็นแหล่งโปรตีนของชุมชน ดังนั้นเพื่อส่งเสริมการเลี้ยงไก่พื้นเมืองให้เกษตรกรมีผลผลิตทั้งเนื้อและไข่ไว้บริโภคในครัวเรือนรวมถึงการจำหน่าย ลดค่าใช้จ่ายด้านอาหาร เป็นแนวทางหนึ่งในการสร้างความมั่นคงทางด้านอาหารและความยั่งยืนทางเศรษฐกิจในชนบทที่สามารถพึ่งพาตนเองได้ จึงได้มีการพัฒนาไก่พันธุ์แดงดอกคูณขึ้นเพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการสร้างอาชีพให้แก่เกษตรกรรายย่อย เนื่องจากไก่พันธุ์แดงดอกคูณเป็นไก่สายพันธุ์สังเคราะห์ (Synthetic line) พันธุ์ใหม่ที่ได้รับการคัดเลือกและผสมพันธุ์อย่างต่อเนื่อง เพื่อใช้ประโยชน์ได้ทั้งผลผลิตเนื้อและไข่ (Dual purpose) สามารถปล่อยเลี้ยงอิสระได้ดี เลี้ยงง่ายในสภาพอากาศร้อน ในเพศเมีย ให้ไข่ตก ผลผลิตไข่ประมาณ 220-240 ฟอง/ตัว/ปี มีสัดส่วนปริมาณไข่แดงสูง คิดเป็น 26-28% ของไข่ทั้งฟอง ไข่ขาวไม่มีกลิ่นควารับประทานง่าย โปรตีนไข่ขาวมีสีขาวใส มีความยืดหยุ่นและคงตัวก่อนโปรตีนได้ดี ทำให้มีความสด เก็บได้นาน ส่วนเพศผู้ ให้ผลผลิตเนื้อที่มีความนุ่มแน่น ไขมันน้อย มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว (สจี และคณะ, 2564)

ไก่พันธุ์แดงดอกคูณเป็นไก่สายพันธุ์สังเคราะห์ พันธุ์ใหม่ที่ยังไม่มีการเก็บรักษาพันธุกรรม ดังนั้นเพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมที่ให้ผลผลิตไข่สูงกว่าไก่พื้นเมืองทั่วไปของไก่พันธุ์แดงดอกคูณไม่ให้สูญหายและพัฒนาพันธุ์ให้มีผลผลิตเพิ่มขึ้นต่อไปในอนาคต การเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็งซึ่งเป็นวิธีการเก็บรักษาพันธุกรรมได้ยาวนานและเหมาะสมในการอนุรักษ์พันธุกรรม การทำน้ำเชื้อแช่แข็งให้ประสบความสำเร็จนั้นคุณภาพน้ำเชื้อตั้งต้นที่ดีก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อความสำเร็จ แต่ในปัจจุบันเกิดสภาวะโลกร้อน ทำให้โลกมีพลังงานความร้อนสะสมอยู่บนผิวโลกและชั้นบรรยากาศมากขึ้น เป็นเหตุให้พื้นผิวโลกมีอุณหภูมิสูงขึ้นส่งผลให้สัตว์เกิดความเครียด

เนื่องจากความร้อน (Heat stress) โดยการประเมินความเครียดเนื่องจากความร้อนในระดับต่างๆของสัตว์นั้นประเมินได้จากค่าดัชนี อุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature Humidity Index; THI) ที่กระทบต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของสัตว์ในระดับต่างๆ THI คือ ค่าความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ซึ่งเป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึงระดับที่สัตว์การเกิดภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน คำนวณได้จากสมการต่างๆ สำหรับสัตว์แต่ละชนิดจะมีค่า THI ที่บ่งชี้ระดับความเครียดที่แตกต่างกัน ในไก่ไข่ทางการค้า ค่า THI ที่ 78 ส่งผลให้แม่ไก่มีอัตราการกินได้และอัตราการผลิตไข่ลดลง อีกทั้งความเครียดจากความร้อนที่รุนแรงยังทำให้สีของไข่แดง ความหนาและความแข็งแรงของเปลือกไข่ลดลง (Kim et al., 2024) สำหรับไก่พื้นเมืองไทย (ประดู่หางดำ) THI ที่ 74 ถือเป็นจุดเริ่มต้นความเครียดเนื่องจากความร้อนซึ่งส่งผลกระทบต่อทำให้ผลผลิตไข่ นอกจากนี้ความเครียดเนื่องจากความร้อนยังส่งผลกระทบในด้านการสืบพันธุ์ของเพศผู้ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อกระบวนการผลิตน้ำเชื้อทำให้คุณภาพน้ำเชื้อลดลง (Obidi et al., 2008) ความเครียดจากความร้อนจะสร้างความเสียหายให้กับอวัยวะของไก่ ความสมบูรณ์ของโครงสร้างเนื้อเยื่ออวัยวะได้รับความเสียหาย เยื่อบุผิว Seminiferous tubules บาง มีการจัดเรียงของเซลล์หลวมและผิดปกติ ลดการผลิตฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนส่งผลให้คุณภาพอสุจิลดลง (Chen et al., 2015) หากได้รับความเครียดจากความร้อนเป็นระยะเวลานานจะทำให้การผลิตน้ำเชื้อและประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ลดลง (Bah et al., 2001; Obidi et al., 2008) และด้วยความแปรปรวนของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละฤดูกาลของประเทศไทยส่งผลให้คุณภาพน้ำเชื้อในแต่ละฤดูกาลแตกต่างกัน ค่าเฉลี่ย THI ที่สูงในฤดูร้อน (81.06) และฤดูฝน (80.54) บริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยส่งผลให้น้ำเชื้อของไก่พันธุ์ประดู่หางดำ มีปริมาณการเกิดลิวติเปอร์ออกซิเดชันมีค่าสูงในฤดูร้อน ทำให้การเคลื่อนที่ของอสุจิในฤดูร้อนต่ำกว่าฤดูฝนและฤดูหนาว (Pimprasert et al., 2023) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันไก่พันธุ์แดงดอกคูณยังขาดข้อมูลงานวิจัยด้านคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง จึงต้องมีการศึกษาถึงผลของดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละฤดูกาลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง และใช้ข้อมูลน้ำเชื้อของไก่พันธุ์ประดู่หางดำเป็นมาตรฐานคุณภาพน้ำเชื้อของไก่พื้นเมืองไทยเนื่องจากมีการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อก่อนหน้านี้อย่างแพร่หลาย เพื่อใช้ในการพิจารณาปรับปรุงคุณภาพน้ำเชื้อต่อไป ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของฤดูกาลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในไก่พันธุ์แดงดอกคูณ เพื่อเก็บเป็นข้อมูลประจำพันธุ์ของเพศผู้สำหรับการปรับปรุงคุณภาพน้ำเชื้อและการอนุรักษ์พันธุ์กรรมที่มีคุณค่าของไก่พันธุ์แดงดอกคูณเพื่อใช้ประโยชน์ต่อไปในอนาคต

วิธีการศึกษา

1. สัตว์ทดลอง

ใช้พ่อพันธุ์ไก่จากหมวดผลิตสัตว์ผสมผสาน และแม่พันธุ์ไก่จากหมวดสัตว์ปีกภายใต้โครงการวิจัย “การถ่ายทอดเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการเลี้ยงไก่ไข่พื้นเมืองสำหรับวิสาหกิจชุมชนในชนบทสู่ตลาดไข่สุขภาพอย่างยั่งยืน” สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในการทดลองพ่อพันธุ์ที่ใช้ประกอบด้วย พ่อพันธุ์ไก่พันธุ์แดงดอกคูณ อายุ 1 ปี น้ำหนัก 2.5-3.0 kg จำนวน 12 ตัว และพ่อพันธุ์ไก่พันธุ์ประดู่หางดำ อายุ 1 ปี น้ำหนัก 2.5-3.0 kg จำนวน 12 ตัว

2. ปัจจัยในการทดลอง

ปัจจัยที่ศึกษาประกอบด้วย ปัจจัยจากฤดูกาลได้แก่ ฤดูร้อน ฤดูฝนและฤดูหนาว และปัจจัยจากพันธุ์ได้แก่ พันธุ์แดงดอกคูณ และประดู่หางดำ

3. การดูแลไก่พ่อพันธุ์

ไก่พ่อพันธุ์ถูกเลี้ยงในโรงเรือนแบบเปิดภายใต้สภาวะแวดล้อมธรรมชาติ และมีน้ำสะอาดให้กินแบบตลอดเวลา มาตรการป้องกันโรคของโรงเรือนที่ทำการทดลอง ไม่อนุญาตให้ผู้ที่ไม่เกี่ยวข้องในงานทดลองเข้า-ออก โรงเรือนเพื่อป้องกันการปนเปื้อนเชื้อโรคจากภายนอกเข้าสู่โรงเรือนสัตว์ทดลอง ไก่พ่อแม่พันธุ์จะได้รับอาหารไก่ไข่สำเร็จรูปทางการค้าประกอบด้วย โปรตีนไม่ต่ำกว่า 17%, ไขมันไม่ต่ำกว่า 3%, แกลบไม่สูงกว่า 6% และความชื้นไม่เกิน 13% ไก่พ่อพันธุ์จะถูกแยกเลี้ยงในกรงขังเดี่ยวขนาด 45x50x60 cm³ (กว้างxยาวxสูง) ให้อาหาร 120 กรัม/ตัว/วัน

4. การเตรียมน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ

ในการทดลองใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสูตร The Blumberger Hahnen Sperma Verdünner (BHSV) extender (Schramm, 1991) ประกอบด้วย Magnesium acetate 0.07%, Sodium glutamate 2.85%, Glucose 0.5%, Inositol 0.25% และ Potassium acetate 0.5% เติมน้ำกลั่นชนิด Ultra-pure และอุ่นที่อุณหภูมิ 37°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ละลายได้ดี เขย่าหลอดที่บรรจุน้ำยาเจือจางให้เข้ากันและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5°C ก่อนนำออกมาใช้งานและในการเตรียมน้ำยาเจือจางจะต้องดำเนินการก่อนนำไปใช้งานอย่างน้อยประมาณ 1 ชั่วโมงและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5°C (เทวินทร์, 2559)

5. การรีดน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ไก่

รีดน้ำเชื้อพ่อพันธุ์ สัปดาห์ละ 2 ครั้ง ในช่วงเช้า เวลา 07:00 น. ก่อนการรีดน้ำเชื้อตัดขนบริเวณรอบๆ ทวารร่วม (Cloaca) เพื่อให้สะดวกต่อการปฏิบัติงานและป้องกันสิ่งสกปรกปนเปื้อนในน้ำเชื้อ ในระหว่างกระบวนการรีดเก็บน้ำเชื้อผู้ปฏิบัติจะสวมชุดปฏิบัติงานที่มีชุดเพื่อป้องกันอุบัติเหตุที่อาจเกิดขึ้น วิธีการรีดน้ำเชื้อใช้ผู้ปฏิบัติ 2 คน รองรับน้ำเชื้อไก่ ด้วยหลอด Microtube ขนาด 1.5 ml โดยในหลอดมี น้ำยาเจือจาง The Blumberger Hahnen Sperma Verdünner (BHSV) extender 200 μ l ซึ่งแช่น้ำเย็นที่ควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 20°C ก่อนการใช้ จากนั้นทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อรายตัวเบื้องต้น ภายหลังการรีดไม่เกิน 15 นาที (พรจิต และคณะ, 2556)

การรีดน้ำเชื้อโดยใช้ผู้ปฏิบัติ 2 คน เป็นวิธีที่นิยมที่สุด ผู้ปฏิบัติคนหนึ่งเป็นผู้บังคับสัตว์ จับบังคับด้วยความนุ่มนวล โดยหันหัวไก่สอดเข้าใต้รักแร้ รวบปีกและขาด้วยมือทั้ง 2 ข้าง ให้ขาไก่ถ่างในท่าธรรมชาติ ผู้ปฏิบัติงานคนที่สองเป็นผู้กระตุ้น-รีด โดยใช้มือข้างหนึ่งลูบบริเวณหลังไก่จากบริเวณใกล้โคนปีกไปทางหางอย่างรวดเร็ว จากนั้นหันที่เบาไปหาหน้า เมื่อนิ้วมือไปถึงโคนหางให้ใช้นิ้วบีบบริเวณโคนกัน พร้อมกับใช้หลอดเก็บน้ำเชื้อรองรับน้ำเชื้อของไก่ จะเป็นไปอย่างรวดเร็วประมาณ 1-2 วินาที (เทวินทร์, 2559)

6. การทำน้ำเชื้อแช่แข็ง ในแต่ละฤดูกาลทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อสดรายตัวและคัดเลือกว่าน้ำเชื้อที่มีการเคลื่อนที่ของอสุจิ 80% ขึ้นไปมารวมเป็นน้ำเชื้อรวม (Pool semen) แยกแต่ละพันธุ์และเจือจางน้ำเชื้อด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสูตร BHSV extender ร่วมกับ Dimethylformamide (DMF) 6% อัตราส่วนน้ำเชื้อต่อน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ 1:3 (Thananurak et al., 2017) แล้วลดอุณหภูมิจาก 20°C ไปที่ 5°C ใช้เวลา 1 ชั่วโมง บรรจุน้ำเชื้อลงในหลอดพลาสติก (Straw) ขนาด 0.5 mL และปิดปลายหลอดน้ำเชื้อด้วยผง Polyvinyl alcohol บ่มที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 15 นาที นำหลอดบรรจุน้ำเชื้อออกมาแช่ให้แห้งด้วยกระดาษที่ซับน้ำได้ดี หลังจากนั้นนำหลอดบรรจุน้ำเชื้อวางบนตะแกรงในกล่องโฟมเหนือไนโตรเจนเหลวบริเวณอุณหภูมิประมาณ -35°C เป็นเวลา 12 นาที จากนั้นลดระยะความห่างเหนือไนโตรเจนบริเวณที่อุณหภูมิ -135°C เป็นเวลา 5 นาที แล้วจุ่มหลอดบรรจุน้ำเชื้อลงในไนโตรเจนเหลวเพื่อเก็บรักษาต่อไป (Vongpralub et al., 2011)

7. การละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง ทำโดยนำหลอดบรรจุน้ำเชื้อแช่แข็งออกจากถังไนโตรเจนเหลว ละลายในน้ำเย็นอุณหภูมิ 2-5°C นาน 3 นาที หลังจากนั้นนำหลอดบรรจุน้ำเชื้อมาแช่ให้แห้งแล้วตัดปลายเพื่อเทน้ำเชื้อลงในหลอด Microtube ขนาด 1.5 ml และแช่หลอดเก็บน้ำเชื้อในน้ำเย็นที่อุณหภูมิ 2-5°C เพื่อนำไปตรวจคุณภาพน้ำเชื้อหรือใช้ในการผสมเทียม (Vongpralub et al., 2011)

8. การเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำเชื้อ

8.1 การประเมินการเคลื่อนที่ของอสุจิ

8.1.1 การเคลื่อนที่โดยรวม (Total motility) ใช้ในการประเมินน้ำเชื้อแช่แข็งโดยหยดน้ำเชื้อแช่แข็งที่ผ่านการละลายแล้วลงบนแผ่นสไลด์ปริมาตร 5 μ l ปิดด้วย Cover slip ลงบนหยดน้ำเชื้อ ประเมินภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400x นับอสุจิที่เคลื่อนที่อย่างรวดเร็วจำนวนไม่น้อยกว่า 300 ตัวและคำนวณการเคลื่อนที่โดยรวมของอสุจิเป็นร้อยละ (เทวินทร์ และยุพิน, 2552)

8.1.2 การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิโดยสังเกตรายตัว (Progressive motile) ประเมินโดยการหยดน้ำเชื้อบนแผ่นสไลด์ปริมาตร 5 μ l ปิดด้วย Cover slip ลงบนหยดน้ำเชื้อ ประเมินภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400x สังเกตการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าของอสุจิและตรวจนับอสุจิอย่างรวดเร็วจำนวนไม่น้อยกว่า 300 ตัวและคำนวณการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิเป็นร้อยละ (เทวินทร์ และยุพิน, 2552)

8.2 การย้อมสีตรวจสอบร้อยละอสุจิที่มีชีวิต (Sperm viability)

การเตรียมสีย้อม Eosin-nigrosine ประกอบด้วย Eosin 1% และ Nigrosine 5% ในสารละลาย Sodium citrate 2.9% ปริมาตร 100 ml Eosin เป็นสีย้อมที่ออกชมพูจะไม่สามารถผ่านเข้าสู่เซลล์ที่มีชีวิต ส่วนอสุจิตายหรือผนังบกพร่อง สีจะย้อมเข้าไปภายในเซลล์ ส่วนสี Nigrosine จะมีบทบาทเป็นสีย้อมพื้นหลังเพื่อให้มองเห็นชัด (เทวินทร์, 2559)

การตรวจสอบร้อยละอสุจิที่มีชีวิตด้วยการย้อมสี Eosin-nigrosine ตามวิธีการของ Blesbois et al. (2005) อุ่นสี Eosin-nigrosine และน้ำเชื้อ ที่อุณหภูมิประมาณ 41°C เป็นเวลา 3-5 นาที ใช้น้ำเชื้อ 1 หยด ผสมกับสี Eosin-nigrosine ประมาณ 5-10 เท่า ของน้ำเชื้อ คนให้สี Eosin-nigrosine กับน้ำเชื้อให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 3-5 วินาที นำมาหยดบนแผ่นกระจกสไลด์แล้ว Smear และใช้ไคโรเปาผมเป่าให้แห้ง โดยเป่าด้านหลังแผ่นสไลด์เพื่อไม่ให้ความร้อนโดนน้ำเชื้อโดยตรง ตรวจอัตราการรอดชีวิต(อสุจิที่มีชีวิตจะไม่ติดสีย้อมและอสุจิที่ตายจะติดสีย้อม) ตรวจดูตัวอสุจิภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000x นับจำนวนอสุจิที่มีชีวิตจากตัวอสุจิทั้งหมด 300 ตัว แล้วนำไปคำนวณอัตราการรอดชีวิตของอสุจิหรือร้อยละของอสุจิมีชีวิต

9. การเก็บข้อมูล

ประกอบด้วยการเคลื่อนที่โดยรวม การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าและร้อยละของอสุจิที่มีชีวิต บันทึกข้อมูลสัปดาห์ละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 24 สัปดาห์ โดยแบ่งเป็นช่วงเวลาในฤดูร้อนเริ่มจากเดือนเมษายน-พฤษภาคม พ.ศ. 2566 เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามประกาศประเทศไทยเข้าสู่ฤดูร้อนอย่างเป็นทางการในวันที่ 5 มีนาคม พ.ศ. 2566 ฤดูฝนเริ่มจากเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามประกาศประเทศไทยเข้าสู่ฤดูฝนอย่างเป็นทางการในวันที่ 22 พฤษภาคม พ.ศ. 2566 และฤดูหนาวเริ่มจากเดือนธันวาคม-มกราคม เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ตามประกาศประเทศไทยเข้าสู่ฤดูร้อนอย่างเป็นทางการในวันที่ 14 พฤศจิกายน พ.ศ. 2566 ไก่พ่อพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองเป็นตัวเดิมตลอดการศึกษาในครั้งนี้ และเก็บข้อมูลฤดูกาลละ 16 ชั่วโมง ข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์เก็บโดยอุปกรณ์ Data logger รุ่น GSP-6 (Elitech, UK) ณ หมวดผลิตสัตว์ผสมผสาน สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ตำแหน่งที่ตั้งละติจูด 16°27'N และลองจิจูด 102°48'E บันทึกข้อมูลทุกๆ 5 นาที ตลอด 24 ชั่วโมง และนำข้อมูลมาคำนวณ ค่า Temperature-humidity index (THI) ด้วยสูตร $THI = (0.8 \times AT) + [(RH/100) \times (AT - 14.4)] + 46.4$ โดย AT คือ อุณหภูมิ (°C) และ RH คือ ความชื้นสัมพัทธ์ (%) (Mader and Davis, 2004)

10. การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ 3x2 Factorial Experiment in Completely Randomized Design และนำข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Analysis of variance (ANOVA) ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายกับค่า THI ทำการวิเคราะห์ด้วย Proc GLM โดยการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical analysis (SAS) (SAS, 1996)

ผลการศึกษา

จากการเก็บข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์และนำมาคำนวณค่าTHI ในแต่ละฤดูกาลของสถานที่ทำการทดลอง พบว่าค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และTHI ในแต่ละฤดูกาลมีความแตกต่างกัน โดยค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิ และ THI ในฤดูร้อนเดือนเมษายน-พฤษภาคม (30.28°C และ 81.41) สูงที่สุด ลำดับถัดมาคือ ฤดูฝนเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม (28.02°C และ 80.34) และฤดูหนาวเดือนธันวาคม-มกราคม (24.18°C และ 73.43) แต่ค่าความชื้นสัมพัทธ์ ในฤดูร้อน (67.77%) ต่ำกว่าฤดูหนาว (74.66%) และฤดูฝน (84.73%) มีค่าสูงที่สุด ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Maximum-minimum, average temperature, relative humidity, and THI in each season at the experimental location

Observations	Maximum	Minimum	Average	SD
Temperature (°C)				
Summer	39.20	22.40	30.28	1.99
Rainy	34.20	23.30	28.02	1.07
Winter	32.80	14.90	24.18	1.89
Relative humidity (%)				
Summer	98.80	39.90	67.77	9.48
Rainy	99.70	57.00	84.73	4.58
Winter	96.70	40.20	74.66	4.44
THI				
Summer	90.50	70.74	81.41	1.78
Rainy	86.78	72.25	80.34	1.25
Winter	84.81	56.06	73.43	3.18

Places to collect data at integrated Farm, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University

คุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายในแต่ละฤดูกาลพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนี้ การเคลื่อนที่โดยรวมในฤดูฝน (41.03%) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับฤดูร้อน (39.84%) และฤดูหนาว (44.17%) แต่การเคลื่อนที่โดยรวมของฤดูร้อนต่ำกว่าฤดูหนาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ฤดูหนาว (33.79%) มีค่าเฉลี่ยสูงสุด แต่การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าในฤดูร้อน (27.28%) กับฤดูฝน (26.02%) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ร้อยละอสุจิมีชีวิต ฤดูหนาว (67.34%) มีค่าเฉลี่ยสูงสุด แต่ร้อยละอสุจิมีชีวิตในฤดูร้อน (55.61%) กับฤดูฝน (54.83%) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2)

Table 2 Influence of season and breed on the quality of frozen semen in Thai native chickens Deang Dok Koon and Pradu Hang Dam

Factor	Total motility (%)	Sperm progressive (%)	Sperm viability (%)
Season			
Summer	39.84 ^b	27.28 ^b	55.61 ^b
Rain	41.03 ^{ab}	26.02 ^b	54.83 ^b
Winter	44.17 ^a	33.79 ^a	67.34 ^a
p-value	0.02	0.004	0.001
Breed			
Deang Dok Koon	40.97	27.50	57.98
Pradu Hang Dam	42.40	30.56	60.54
p-value	0.27	0.12	0.18
Season*Breed	0.22	0.61	0.82
SEM	0.69	1.06	1.24

^{a, b} superscript letters within columns indicate significant differences ($p < 0.05$)

จากความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายกับค่าเฉลี่ย THI ในแต่ละฤดูกาล พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อค่าเฉลี่ย THI ลดลง น้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายมีคุณภาพสูงขึ้นโดย การเคลื่อนที่โดยรวมของอสุจิเพิ่มขึ้นเมื่อค่า THI ลดลง ส่งผลให้คุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในฤดูหนาวหลังการละลายมีการเคลื่อนที่โดยรวมของอสุจิสูงกว่าฤดูร้อน (Figure 1) การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของน้ำเชื้อแช่แข็งในฤดูหนาวหลังการละลายมีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าสูงกว่าฤดูร้อนและฤดูฝน (Figure 2) และร้อยละของอสุจิมีชีวิตน้ำเชื้อแช่แข็งในฤดูหนาวหลังการละลายมีร้อยละของอสุจิมีชีวิตสูงกว่าฤดูร้อนและฤดูฝน (Figure 3)

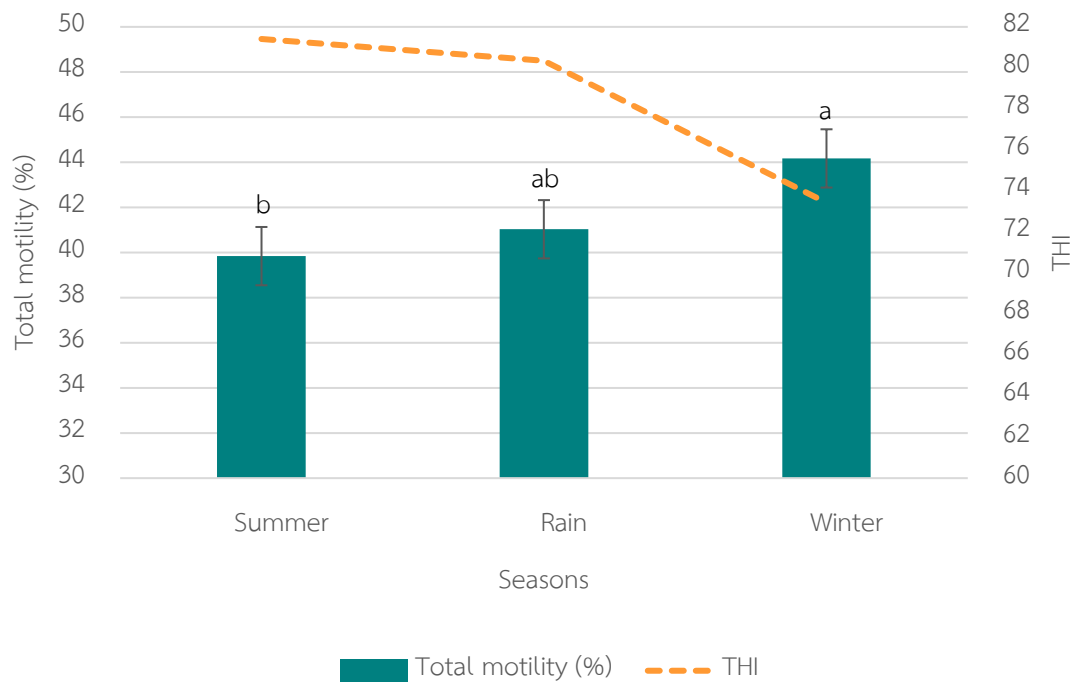


Figure 1 Total motility and average of THI in each season

THI: Temperature Humidity Index

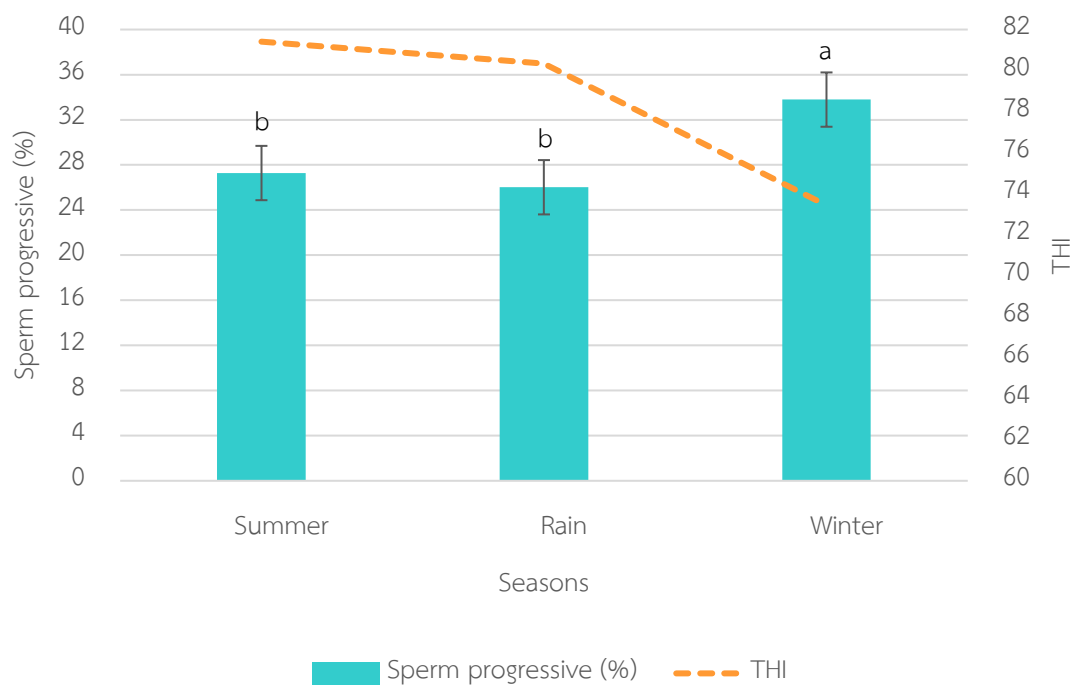


Figure 2 Sperm progressive and average of THI in each season

THI: Temperature Humidity Index

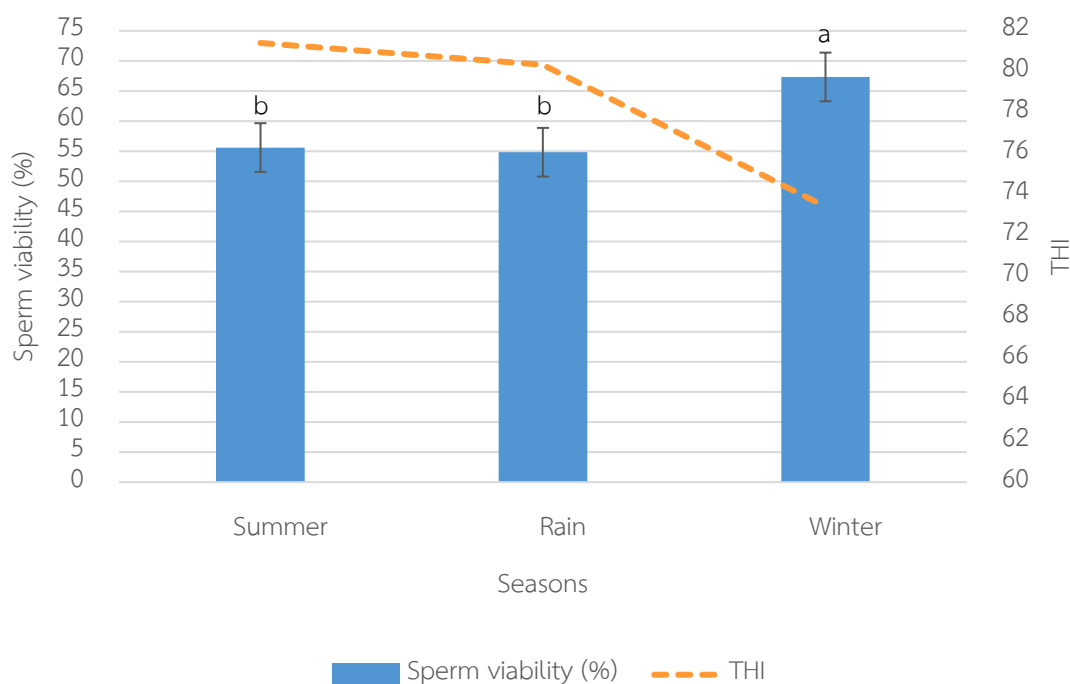


Figure 3 Sperm viability and average of THI in each season

THI: Temperature Humidity Index

วิจารณ์

ในการจัดการระบบระบายความร้อนของโรงเรือนเบื้องต้น เริ่มจากการออกแบบโรงเรือนให้มีอากาศถ่ายเทสะดวก มีการติดตั้งระบบพ่นละอองน้ำเพื่อลดความร้อนภายในโรงเรือน อย่างไรก็ตาม จากค่าเฉลี่ย THI ในฤดูร้อนและฤดูฝน ณ สถานที่ทำการทดลองใน Table 1 มีค่า 81.41 และ 80.34 เป็นค่าที่ทำให้เกิดความเครียดจากความร้อนส่งผลกระทบต่อตัวไก่ในระดับที่รุนแรง ระบบระบายความร้อนในโรงเรือนอาจไม่เพียงพอในการระบายความร้อนซึ่งส่งผลให้เกิดความเครียดจากความร้อน ทั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาในไก่ไข่ซึ่งมีรายงานว่า THI สำหรับแม่ไก่ไข่โดยพิจารณาจากผลผลิตไข่และการตอบสนองทางสรีรวิทยา THI แบ่งออกเป็น 4 ระดับได้แก่ ระดับไม่ก่อให้เกิดความเครียด ($THI < 70$), ก่อให้เกิดความเครียดระดับต่ำ ($THI 70-75$), ก่อให้เกิดความเครียดระดับรุนแรง ($THI 76-81$) และก่ให้เกิดความเครียดระดับวิกฤต ($THI > 81$) (Zulovich and DeShazer, 1990 อ้างโดย Kim et al., 2021) ความเครียดจากความร้อนยังมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของไก่เนื้อและไก่ไข่ การผลิตไข่ที่ลดลง คุณภาพซากและคุณภาพไข่ต่ำลง อีกทั้งยังผลต่อการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันลดลง (Talebi et al., 2022) ในด้านระบบสืบพันธุ์จะได้รับผลกระทบอย่างมากเมื่ออุณหภูมิสิ่งแวดล้อมสูงขึ้น ส่งผลต่อการทำงานของระบบสืบพันธุ์ลดลงจนนำไปสู่การทำงานที่ล้มเหลว (Ebeid et al., 2012) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเพศผู้ เมื่ออุณหภูมิสิ่งแวดล้อมเพิ่มขึ้นส่งผลกระทบต่อทุกๆ ขั้นตอนของการผลิตน้ำเชื้อ (Fouad et al., 2016)

จากการศึกษาผลของฤดูกาลที่ดำเนินการเก็บรักษาน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งภายหลังการละลายในไก่พันธุ์แดงดอกคุณและประดู่หางดำ พบว่า ในการทดลองไม่พบอิทธิพลร่วมกันระหว่างฤดูกาลและพันธุ์ ($p > 0.05$) ต่อการเคลื่อนที่โดยรวม การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และร้อยละสุกมีชีวิต (Table 2) และพบว่า ฤดูกาลมีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลาย และพันธุ์ไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลาย

อิทธิพลของฤดูกาลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลาย

ในการทดลองคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายของไก่พันธุ์แดงดอกคุณและประดู่หางดำในแต่ละฤดูกาล พบว่า ฤดูกาลมีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลาย โดยมีผลกระทบต่อการเคลื่อนที่โดยรวม การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และร้อยละสุกมีชีวิต มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งภายหลังการละลาย เมื่อพ่อพันธุ์เกิด

ความเครียดจากความร้อนค่า THI ที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้คุณภาพน้ำเชื้อลดลง และด้วยระหว่างกระบวนการแช่แข็งน้ำเชื้อมีการเกิดผลึกน้ำแข็ง, oxidative stress, heat shock และ osmotic shock (O'Neill et al., 2019) อีกทั้งอสุจิของสัตว์ปีกมีไฮโดรพลาซึมและไมโทคอนเดรียน้อยกว่า และมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนในเยื่อหุ้มพลาสมาสูงกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมบางชนิด ส่งผลให้เกิดความเสียหายในกระบวนการแช่แข็งมากขึ้น (Zong et al., 2023) ซึ่งสร้างความเสียหายให้กับอะโครโซม เยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิและไมโทคอนเดรีย ส่งผลให้จำนวนอสุจิมีชีวิตลดลง 60% และการเคลื่อนที่โดยรวมของอสุจิลดลงประมาณ 30-60% ภายหลังการแช่แข็ง (Long, 2006) ดังใน Table 2 น้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายมีคุณภาพลดลง อีกทั้งในพลาสมาของน้ำเชื้อไก่ที่ได้รับความเครียดจากความร้อนส่งผลให้มีไอออนของแคลเซียมต่ำ ซึ่งแคลเซียมไอออนมีบทบาทสำคัญในการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Thomson and Wishart, 1989) นอกจากนี้ใน Transparent fluid ของน้ำเชื้อไก่งยังมี Lymphatic fluid ประกอบด้วยกลูโคสสูง เกิดในช่วงรีดเก็บน้ำเชื้อ มาจาก Phallus หากน้ำเชื้อมี Lymphatic fluid สูงจะส่งผลต่อความทนต่อการแช่แข็งต่ำ ซึ่งฤดูกาลมีผลต่อปริมาณ Lymphatic fluid และด้วยปริมาณกลูโคสที่สูงใน Transparent fluid จะกระตุ้นการเคลื่อนที่ของอสุจิ แต่ส่งผลเสียต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อ (Santiago-Moreno and Blesbois, 2020) ในการทดลองนี้สอดคล้องกับ Santiago-Moreno et al. (2012) รายงานว่า ฤดูกาลมีอิทธิพลต่อการเก็บและแช่แข็งน้ำเชื้อของไก่พื้นเมืองในประเทศสเปน โดยฤดูใบไม้ผลิเป็นช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเก็บน้ำเชื้อ เนื่องจากในฤดูใบไม้ผลิ มีช่วงแสงยาวส่งผลต่อการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมน Luteinizing Hormone (LH), Follicle Stimulating Hormone (FSH) และ Testosterone ซึ่งมีความสำคัญต่อกระบวนการผลิตอสุจิ (Thurston and Korn, 2000) เช่นเดียวกับ Pimprasert et al. (2023) ศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของไก่ประดู่หางดำในประเทศไทย พบว่า อุณหภูมิที่สูงในฤดูร้อนเร่งให้เกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในระหว่างกระบวนการแช่แข็ง ส่งผลให้น้ำเชื้อมีคุณภาพต่ำ และด้วยในกระบวนการแช่แข็งในขั้นตอนการลดอุณหภูมิ เกิดอนุมูลอิสระส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ของอสุจิเกิดความเสียหาย (Donoghue and Wishart, 2000) ซึ่งทำให้น้ำเชื้อมีคุณภาพลดลงเป็นอย่างมาก

อิทธิพลของพันธุ์ต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลาย

ในการทดลองนี้พบว่า พันธุ์ไม่ส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลาย ($p>0.05$) ไก่พันธุ์แดงดอกคูณและประดู่หางดำมีการเคลื่อนที่โดยรวมเฉลี่ยเท่ากับ 40.97 และ 42.40% ตามลำดับ การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 27.50 และ 30.56% ตามลำดับ และร้อยละอสุจิมีชีวิตเฉลี่ยเท่ากับ 57.98 และ 60.54% ตามลำดับ จากผลการทดลอง พันธุ์ไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลาย สอดคล้องกับการศึกษาของเทวินทร์ และยุพิน (2552) รายงานว่า น้ำเชื้อไก่ 5 พันธุ์ ได้แก่ โรดไอแลนด์เรด ซี เหลืองหางขาว แดง และประดู่หางดำ มีคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการละลายและอัตราการผสมติดไม่แตกต่างกันระหว่างพันธุ์ เช่นเดียวกับ Sonseeda et al. (2013) ศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อหลังการละลายของไก่พันธุ์พื้นเมืองไทย (ประดู่หางดำ เหลืองหางขาว และซี) พบว่าพันธุ์ไก่ไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็ง อิทธิพลของพันธุ์ไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ อาจเกิดจากไก่ทั้ง 3 พันธุ์เป็นไก่พื้นเมืองไทย ซึ่งมีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม เป็นสาเหตุให้คุณภาพน้ำเชื้อไม่มีความแตกต่างกัน (เกศรา, 2553; กรกาญจน์ และ วรฤต, 2560) และมีการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง ในไก่สายพันธุ์ Ovambo, Potchefstroom Koekoek และ White Leghorn พบว่าคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็งของไก่ทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกัน (Makhafola et al., 2009) ในการทดลองนี้ก่อนการทำน้ำเชื้อแช่แข็งในแต่ละฤดูกาลมีการคัดเลือกน้ำเชื้อที่มีการเคลื่อนที่มากกว่า 80% มาทำน้ำเชื้อแช่แข็ง จึงอาจเป็นเหตุที่ส่งผลให้พันธุ์ไม่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อหลังการละลาย

ความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายกับค่า THI ที่เปลี่ยนแปลงในแต่ละฤดูกาล จากผลการทดลองข้างต้น พบว่า เมื่อค่า THI มีการเปลี่ยนแปลงจะส่งผลให้คุณภาพน้ำเชื้อมีการเปลี่ยนแปลงโดยค่า THI ที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้น้ำเชื้อมีคุณภาพลดลง เนื่องจากสภาพแวดล้อมภายนอกมีผลกระทบต่อสรีรวิทยาของสัตว์ (Wishart and Wilson, 1999) หากอุณหภูมิและความชื้นสูงจะส่งผลต่อตัวสัตว์ทำให้เกิดความเครียดเนื่องจากความร้อนเมื่ออุณหภูมิร่างกายสูงขึ้น ไก่จะลดอุณหภูมิร่างกายโดยการหอบและหายใจเร็วขึ้น (Daghir, 1995) การหายใจเร็วขึ้นจะช่วยเพิ่มการระบายความร้อนจากทางเดินหายใจเพื่อลดอุณหภูมิร่างกาย หากในสภาพแวดล้อมมีความชื้นสูงร่างกายไม่สามารถระบายความร้อนในร่างกายได้จะทำให้ไก่เกิดความเครียดจากความร้อน (Charles, 2002) ซึ่งส่งผลต่อกระบวนการสร้างอสุจิ ความเครียดจากความร้อนจะทำลายเซลล์ Sertoli ส่งผลให้มีการสร้างอสุจิลดลง (Guo et al., 2021) รวมถึงลดความเข้มข้นและเพิ่มอัตราการตายของอสุจิ (Telangana et al., 2021) ในกระบวนการทำน้ำเชื้อแช่แข็งถึงแม้จะมีการ

คัดเลือกว่าเชื้อที่มีการเคลื่อนที่ 80% ขึ้นไปมาทำน้ำเชื้อแช่แข็ง แต่ในฤดูกาลที่มีค่า THI สูง ความเครียดจากความร้อนทำให้เกิดลูปิดเปอร์ออกซิเดชันก่อให้เกิดสารอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น (Yongjie, 2020) ส่งผลต่อกระบวนการสร้างอสุจิที่อยู่ภายในอัณฑะ ทำให้เกิดการแตกตัวของ Deoxyribonucleic acid (DNA) และทำลายความหนาแน่นของโครมาตินของอสุจิ ทำให้อสุจิเกิดการตายของเซลล์เพิ่มขึ้น (Abdollahi et al., 2021) อสุจิมีรูปร่างผิดปกติ (Rahman et al., 2018) ซึ่งอสุจิที่ตายจะถูกกำจัด แต่อสุจิจำนวนหนึ่งที่ยังมีชีวิตจะถูกพัฒนาจนเสร็จสมบูรณ์และถูกพัฒนาต่อไปจนสามารถเคลื่อนไหวได้ อย่างไรก็ตามอสุจิเหล่านั้นยังคงมี DNA ที่เสียหายจากการได้รับความเครียดเนื่องจากความร้อนซึ่งส่งผลต่อความสมบูรณ์ของอสุจิ (Banks et al., 2005) มีผลต่อความทนได้ของอสุจิในกระบวนการแช่แข็งของน้ำเชื้อที่เก็บได้ในแต่ละฤดูกาลจึงมีความแตกต่างกัน

สรุป

จากการทดลองอิทธิพลของดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละฤดูกาลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งในไก่พันธุ์แดงดอกคูณและประดู่หางดำได้ทราบถึง ดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละฤดูกาลส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลาย มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในฤดูหนาวจะให้น้ำเชื้อแช่แข็งที่มีคุณภาพสูงที่สุด ซึ่งฤดูหนาวมีการเคลื่อนที่โดยรวมสูงกว่าฤดูร้อน 4.33% และ ฤดูฝน 3.14% การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าสูงกว่าฤดูร้อน 6.51% และ ฤดูฝน 7.77% ร้อยละของอสุจิมีชีวิตสูงกว่าฤดูร้อน 11.73% และ ฤดูฝน 12.51% นอกจากนี้คุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งของไก่พันธุ์แดงดอกคูณและประดู่หางดำไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นในการทำน้ำเชื้อแช่แข็งเพื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กรรมควรทำในฤดูหนาวซึ่งเป็นฤดูกาลที่เหมาะสมในการทำน้ำเชื้อแช่แข็งให้น้ำเชื้อหลังการทำละลายมีคุณภาพดี หากต้องการทำน้ำเชื้อแช่แข็งในฤดูกาลที่มีค่า THI สูง ควรมีระบบจัดการระบายความร้อนภายในโรงเรือน เพื่อลดความเครียดจากความร้อนที่เกิดขึ้นกับพ่อพันธุ์ และเพิ่มการดูแลในด้านโภชนาการเพิ่มขึ้น เช่น การให้วิตามินเสริมในน้ำหรืออาหาร หรือเพิ่มแร่ธาตุที่มีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพน้ำเชื้อ

การอนุญาตวิจัยในสัตว์

การทดลองนี้ได้ผ่านการพิจารณาของคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นแล้ว โดยยึดหลักเกณฑ์จรรยาบรรณการใช้สัตว์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ รหัสโครงการเลขที่ จส.มข. 81/66 เมื่อวันที่ 20 กรกฎาคม 2566

คำขอบคุณ

การศึกษานี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้สนับสนุนทุนวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรมจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ และบริษัท สยามฟีดแอนด์ฟู้ด จำกัด และขอขอบพระคุณผู้ให้ความอนุเคราะห์สัตว์ทดลอง โครงการวิจัย การถ่ายทอดเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการเลี้ยงไก่ไข่พื้นเมืองสำหรับวิสาหกิจชุมชนในชนบทสู่ตลาดโซ่สุขภาพอย่างยั่งยืน ให้ความอนุเคราะห์ใช้สัตว์ทดลอง สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สนับสนุนสถานที่และห้องปฏิบัติการในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กรกาญจน์ ชูมี และวรภฤต วรันทกิจ. 2560. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทยโดยใช้เทคนิค RAPD. น. 152-159.

ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55. สาขาวิทยาศาสตร์และพันธุ์วิศวกรรม.

กัญญาณัฐ กิตติวงศ์ และกรรณิกา แซ่ลิ้ว. 2562. การผลิตและการตลาดไข่ไก่ในประเทศไทย. วารสารแก่นเกษตร. 7: 889-894.

เกศรา อำพากรณ์. 2553. การศึกษาความหลากหลายและเปรียบเทียบโครงสร้างทางพันธุกรรมระหว่างไก่ป่าและไก่พื้นเมืองไทยโดยใช้

ไมโครแซทเทลไลท์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

- มนต์ชัย ดวงจินดา, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, เทวินทร์ วงษ์พระลับ, สจ๊ี่ กัณหาเรียง, วุฒิไกร บุญคุ้ม, พิษณุรัตน์ แสนไชยสุริยา และยุพิน ผาสุข. 2556. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ ศูนย์เครือข่ายและพัฒนาด้านการปรับปรุงพันธุ์ (ไก่พื้นเมือง). ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- เทวินทร์ วงษ์พระลับ และยุพิน ผาสุข. 2552. คู่มือ การเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็งและการผสมเทียมในไก่พื้นเมืองไทย. ศูนย์เครือข่าย วิจัยและพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ (ไก่พื้นเมือง). ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- เทวินทร์ วงษ์พระลับ. 2559. การเก็บรักษาน้ำเชื้อและการผสมเทียมในสัตว์ปีก. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.
- พรจิต สอนสีตา, เทวินทร์ วงษ์พระลับ และบัญญัติ เหล่าไพบูลย์. 2556. ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อคุณภาพน้ำเชื้อและอัตรา การผสมติดของน้ำเชื้อแบบแช่แข็งในไก่พื้นเมืองไทย. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 23: 129-137.
- สจ๊ี่ กัณหาเรียง, ยุพิน ผาสุข และเยาวรัตน์ ศรีวรานันท์. 2564. คู่มือและแนวทางการเกษตรที่ดีในการเลี้ยงไก่พื้นเมืองพันธุ์แดงดอก คูณ. โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการเลี้ยงไก่พื้นเมืองสำหรับวิสาหกิจชุมชนในชนบทสู่ตลาดไข่สุขภาพอย่าง ยั่งยืน. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ.
- Abdollahi, F., S. F. Dehghan, S. Amanpour, A. Haghparast, S. Sabour, and R. Zendehdel. 2021. Effect of co-exposure to heat and psychological stressors on sperm DNA and semen parameters. *Toxicology Reports*. 25: 1948-1954.
- Bah, G. S., S. U. R. Chaudhari, 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.
- Banks, S., S. A. King, D. S. Irvine, and P. T. K. Saunders. 2005. Impact of a mild scrotal heat stress on DNA integrity in murine spermatozoa. *Reproduction*. 129: 505-14.
- Blesbois, E., I. Grasseau, and F. Seigneurin. 2005. Membrane fluidity and ability to survive cryopreservation in domestic bird spermatozoa. *Reproduction*. 129: 371-378.
- Charles, D. R. 2002. Responses to the thermal environment. *Poultry environment problems: a guide to solutions*. Nottingham University Press, Nottingham, United Kingdom.
- Chen, Z., J. R. Zhang, Y. W. Zhou, C. Liang, and Y. Y. Jiang. 2015. Effect of heat stress on the pituitary and testicular development of Wenchang chicks. *Archives Animal Breeding*. 2: 373-378.
- Daghir, N. J. 1995. *Poultry production in hot climates*. 2nd edition. University press Cambridge.
- Donoghue, A. M., and G. J. Wishart. 2000. Storage of poultry semen. *Animal Reproduction Science*. 1-3: 213-232.
- Ebeid, T. A., T. Suzuki, and T. Sugiyama. 2012. High ambient temperature influences eggshell quality and calbindin-D28k localization of eggshell gland and all intestinal segments of laying hens. *Poultry Science*. 91: 2282-2287.
- Fouad, A. M., W. Chen, D. Ruan, S. Wang, W. G. Xia, and C. T. Zheng. 2016. Impact of heat stress on meat, egg quality, immunity and fertility in poultry and nutritional factors that overcome these effects: a review. *International Journal of Poultry Science*. 3: 81-95.
- Guo, Y., H. Chen, Q. J. Wang, X. Qi, Q. Li, W. Fu, J. Huang, C. Y. Yao, Z. Y. Liu, M. Z. Wang, L. An, J. H. Tian, and Z. H. Wu. 2021. Prolonged melatonin treatment promote testicular recovery by enhancing RAC1-mediated apoptotic cell clearance and cell junction-dependent spermatogenesis after heat stress. *Theriogenology*. 162: 22-31.

- Kim, D. H., Y. K. Lee, S. H. Kim, and K. W. Lee. 2021. The impact of temperature and humidity on the performance and physiology of laying hens. *Animals*. 11: article ID 5668.
- Kim, H. R., C. Ryu, S. D. Lee, J. H. Cho, and H. Kang. 2024. Effects of heat stress on the laying performance, egg quality, and physiological response of laying hens. *Animals*. 14: 1-12.
- Long, J. A. 2006. Avian semen cryopreservation: What are the biological challenges. *Poultry Science*. 85: 232-236.
- Mader, T. L., and M. S. Davis. 2004. Effect of management strategies on reducing heat stress of feedlot cattle: Feed and water intake. *Journal of Animal Science*. 82: 3077-3087.
- Makhafola, M. B., K. C. Lehloeny, M. L. Mphaphathi, A. Dinnyes, and T. L. Nedambale. 2009. The effect of breed on the survivability and motility rate of cryopreserved cock semen. *South African Journal of Animal Science*. 39: 242-245.
- Obidi, J. A., B. I. Onyeausi, P. I. Rekwot, J. O. Ayo, and T. Dzenda. 2008. Seasonal variations in seminal characteristics of Shikabrown breeder cocks. *International Journal of Poultry Science*. 12: 1219-1223.
- O'Neill, H. C., M. Nikoloska, H. T. Ho, A. Doshi, and W. Maalouf. 2019. Improved cryopreservation of spermatozoa using vitrification: comparison of cryoprotectants and a novel device for long-term storage. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 36: 1713-1720.
- Pimprasert, M., T. Kheawkanha, W. Boonkum, and V. Chankitisakul. 2023. Influence of semen collection frequency and seasonal variations on fresh and frozen semen quality in Thai native roosters. *Animals*. 13: 1-11.
- Rahman, M. B., K. Schellander, N. L. Luceno, and A. V. Soom. 2018. Heat stress responses in spermatozoa: Mechanisms and consequences for cattle fertility. *Theriogenology*. 113: 102-112.
- Sonseeda, P., T. Vongpralub, and B. Laopaiboon. 2013. Effects of environmental factors, age and breeds on semen characteristics in Thai indigenous chicken: A one-year study. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*. 43: 347-352.
- Santiago-Moreno, J., C. Castano, A. Toledano-Diaz, M. A. Coloma, A. Lopez-Sebastian, M. T. Prieto, and J. L. Campo. 2012. Influence of season on the freezability of free-range poultry semen. *Reproduction in Domestic Animals*. 47: 578-83.
- Santiago-Moreno, J., and E. Blesbois. 2020. Functional aspects of seminal plasma in bird reproduction. *International Journal of Molecular Sciences*. 21: article ID 5664.
- SAS Institute. Inc. 1996. SAS/STAT User's Guide: Version 6.12. 4th ed. SAS Institute Inc., Carry, North Carolina.
- Schramm, G. P. 1991. Suitability of different antifreeze agents for cryoprotection of cock sperm. *Monatsh Veterinarmed*. 46: 438-440.
- Talebi, E., A. Dolatkhah, and M. Joyani. 2022. The effect of high temperature on poultry and effective factors on reducing the adverse effects of heat stress: a review. *Journal of Emerging Trends in Engineering and Applied Sciences (JETEAS)*. 13: 38-43.
- Telangana, R., N. V. S. Rama Rao, P. K. Kumar, V. A. Reddy, and R. Neeradi. 2021. Effects of heat stress on semen quality of Gramapriya male line roosters. *The Pharma Innovation Journal*. 10: 1413-1417.
- Thananurak, P., N. Chuaychu-noo, and T. Vongpralub. 2017. Freezability and fertility of Thai native chicken semen in different diluents. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*. 47: 551-556.

- Thomson, M. F., and G. J. Wishart. 1989. Elucidation of the mechanism responsible for the temperature-dependent reversible inactivation of the motility of fowl spermatozoa. *British Poultry Science*. 30: 687-692.
- Thurston, R. J., and N. Korn. 2000. Spermiogenesis in commercial poultry species: anatomy and control. *Poultry Science*. 79: 1650-1668.
- Vongpralub, T., A. Utha, J. Pongpeng, P. Sonseeda, and W. Yindee. 2011. A comparison of simple vapour method and programmable freezer on motility and fertility of frozen Thai native chicken semen. pp. 649-652. In *Proceedings of the 3rd International Conference on Sustainable Animal Agriculture for Developing Countries (SAADC2110)*, Nakhon Ratchasima, Thailand.
- Wishart, G. J., and Y. I. Wilson. 1999. Temperature-dependent inhibition of motility in spermatozoa from different avian species. *Animal Reproduction Science*. 57: 229–235.
- Yongjie, X., Y. Qirun, L. Jing, and H. Shaojun. 2020. Oxidative stress and endoplasmic reticulum stress are involved in the protective effect of alpha lipoic acid against heat damage in chicken testes. *Animals*. 10: article 384.
- Zong, Y., Y. Li, Y. Sun, G. M. K. Mehaisen, T. Ma, and J. Chen. 2023. Chicken sperm cryopreservation: review of techniques, freezing damage, and freezability mechanisms. *Agriculture*. 13: article ID 445.