

การเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังละลายของพ่อโคพันธุ์อเมริกันบราห์มัน และชาร์โลเล่ห์ โดยใช้ระบบวิเคราะห์ด้วยคอมพิวเตอร์ (CASA)

Comparative evaluation of post-thawed frozen semen quality of American Brahman and Charolais bulls using Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA)

เยาวลักษณ์ หวังสุข¹, วรณลักษณ์ ถาวร¹, พชรพร ตาดี¹, พัทธี พรหมตัน², นิตยา ทองทิพย์³, ผกาสิณี ขาวแดง³ และ วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์^{1*}

Yaowalak Wangsuk¹, Wannaluk Thaworn¹, Phacharaporn Tadee¹, Patcharee Promtan², Nittaya Thongtip³, Pakasinee Khaodang³ and Wiwat Pattanawong^{1*}

¹ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้

¹ Faculty of Animal Science and Technology Maejo University

² คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

² Faculty of Agriculture and Natural Resources Rajamangala University of Technology Tawan-ok

³ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง

³ Faculty of Sciences and Agricultural Technology Rajamangala University of Technology Lanna Lampang

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายของโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน (American Brahman) และโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ส์ (Charolais) โดยใช้ระบบวิเคราะห์อสุจิด้วยคอมพิวเตอร์ (Computer-Assisted Sperm Analysis; CASA) ทำการประเมินน้ำเชื้อแช่แข็งเพื่อตรวจคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลาย โคพ่อพันธุ์อเมริกันบราห์มัน จำนวน 8 ตัว โคพ่อพันธุ์ชาร์โลเล่ส์ จำนวน 8 ตัว ตัวละ 10 หลอด หลังการละลายที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 30 วินาที นำมาวิเคราะห์คุณภาพในด้านอัตราการเคลื่อนที่ทั้งหมด อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ และพารามิเตอร์เชิงจลศาสตร์ ได้แก่ ความตรงเชิงเส้น ความถี่การส่ายหัว ความกว้างของการส่ายหัว และอัตราส่วนความเร็วเชิงเส้นตรงต่อความเร็วโค้ง ผลการศึกษาพบว่าน้ำเชื้อจากพ่อโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน มีค่าอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราความตรงของการเคลื่อนที่ของอสุจิสูงกว่าโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ส์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในขณะที่ค่าความถี่ของการส่ายหัวอสุจิ ของสายพันธุ์ชาร์โลเล่ส์สูงกว่าพันธุ์บราห์มันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามการประเมิน ค่าอัตราการเคลื่อนที่ทั้งหมด และในส่วนอื่นไม่พบความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังนั้นการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างบางประการในคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายระหว่างสายพันธุ์ ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลประกอบการคัดเลือกพ่อโคที่เหมาะสมต่อการผสมเทียมและการปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อในสภาพภูมิอากาศเขตร้อนของประเทศไทย

คำสำคัญ: น้ำเชื้อแช่แข็ง; อสุจิ; โคพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน; โคพันธุ์ชาร์โลเล่ส์

ABSTRACT: This study aimed to compare the post-thaw quality of frozen semen from American Brahman and Charolais bulls using Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA). Frozen semen from 8 American Brahman and 8

* Corresponding author: Wpattawong@gmail.com

Received: date; June 4, 2025 Revised: date; October 15, 2025

Accepted: date; October 27, 2025 Published: date; February 6, 2026

Charolais bulls, with 10 straws per bull, was thawed at 37 °C for 30 seconds and evaluated for total motility, progressive motility, sperm morphology, and kinematic parameters, including linearity, beat-cross frequency, amplitude of lateral head displacement, and the ratio of straight-line velocity to curvilinear velocity. The results showed that sperm from American Brahman bulls had significantly higher progressive motility and linearity compared to Charolais bulls ($P < 0.05$), whereas Charolais bulls exhibited significantly higher beat-cross frequency than American Brahman bulls ($P < 0.05$). No significant differences were observed in total motility or other evaluated parameters ($P > 0.05$). These findings indicate some breed-specific differences in post-thaw semen quality, which can be used to support the selection of suitable sires for artificial insemination and genetic improvement of beef cattle under tropical conditions in Thailand.

Keywords: frozen semen; sperm; American Brahman; Charolais

บทนำ

การปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อเป็นกลยุทธ์สำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตของอุตสาหกรรมปศุสัตว์ไทย เทคโนโลยีการผสมเทียม (Artificial Insemination; AI) เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการกระจายพันธุ์กรรมดีจากพ่อพันธุ์คุณภาพสูงไปสู่แม่โคจำนวนมากได้อย่างรวดเร็ว ช่วยให้แม่โคแต่ละตัวสามารถคลอดลูกได้ปีละหนึ่งตัว ซึ่งจะเพิ่มผลผลิตของปศุสัตว์ได้สูงสุด (Raafi et al., 2021; Susilawati, 2013) ในประเทศไทยที่มีภูมิอากาศร้อนชื้น ความสำเร็จของการผสมเทียมขึ้นอยู่กับคุณภาพของน้ำเชื้อที่นำมาใช้ โดยเฉพาะในกรณีของน้ำเชื้อแช่แข็งซึ่งถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการจัดการผสมพันธุ์โคทั้งในระดับฟาร์มและเชิงอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตามการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งมีข้อจำกัดสำคัญ คือการสูญเสียความมีชีวิตของอสุจิในระหว่างกระบวนการแช่แข็งและการละลายน้ำเชื้อ ซึ่งทำให้อัตราการรอดชีวิตของอสุจิลดลงประมาณ 40-50% ในโคเนื้อและโคนม (Bearden and Fuquay, 1984). หลังการละลายน้ำเชื้อ เซลล์อสุจิมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความคงตัวของสภาพแวดล้อมอย่างมาก ส่งผลให้ชีวิตของเซลล์ลดลงอย่างรวดเร็ว การแช่แข็งยังมีผลต่อโครงสร้างโครมาตินของอสุจิที่แตกต่างกัน Januskauskas et al. (2003) และขั้นตอนการละลายก็มีความสำคัญ เนื่องจากอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วอาจทำให้อสุจิเสียหายทั้งทางโครงสร้าง ชีวเคมี และการทำงาน Muiño et al. (2008) ความเสื่อมคุณภาพของน้ำเชื้อหลังการละลายนี้อาจเป็นสาเหตุหนึ่งของอัตราการผสมติดที่ต่ำกว่าศักยภาพสูงสุดของโคพ่อพันธุ์

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อเป็นขั้นตอนสำคัญในการคัดเลือกน้ำเชื้อที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการผสมเทียม ในอดีตการตรวจประเมินมักอาศัยวิธี Manual ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ซึ่งขึ้นกับความชำนาญและมีโอกาสเกิดอคติจากผู้ประเมิน (Subjective assessment) ทำให้ผลไม่สม่ำเสมอและขาดมาตรฐานกลาง (Farrell et al., 1998) ปัจจุบันจึงมีการนำระบบวิเคราะห์ด้วยคอมพิวเตอร์ (Computer-Assisted Sperm Analysis; CASA) มาใช้ ซึ่งสามารถให้ข้อมูลเชิงปริมาณเกี่ยวกับการเคลื่อนไหว ความมีชีวิต และลักษณะของตัวอสุจิได้อย่างแม่นยำและเป็นระบบ Singh et al. (2021) ช่วยลดความคลาดเคลื่อน เพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือกน้ำเชื้อสำหรับการผสมเทียม Valverde et al. (2020) ประเทศไทยมีภูมิอากาศแบบร้อนชื้น มีอุณหภูมิและความชื้นสูงเกือบตลอดปี ซึ่งส่งผลกระทบต่อโดยตรงต่อการเลี้ยงโคและประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ โคสายพันธุ์บราห์มัน (American Brahman) เป็นโคสายพันธุ์ *Bos indicus* ที่มีการปรับตัวต่อสภาพภูมิอากาศร้อนได้ดี ทนทานต่อความเครียดจากความร้อนและโรคในเขตร้อนชื้น จึงเป็นสายพันธุ์โคเนื้อที่นิยมเลี้ยงอย่างแพร่หลายในประเทศไทย ในทางตรงกันข้าม โคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ (Charolais) ซึ่งเป็น *Bos taurus* จากยุโรป มีอัตราการเจริญเติบโตและกล้ามเนื้อที่ดี แต่ความทนทานต่อสภาพอากาศร้อนชื้นน้อยกว่าพันธุ์บราห์มัน ทำให้ประสิทธิภาพด้านสืบพันธุ์และคุณภาพน้ำเชื้ออาจแตกต่างกัน Viquez et al., (2021) แม้ว่าจะมีการใช้ทั้งสองสายพันธุ์อย่างแพร่หลายในประเทศไทย แต่ยังขาดข้อมูลการเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งระหว่างโคสายพันธุ์บราห์มันและโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ภายใต้สภาพแวดล้อมเดียวกัน

ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อหลังการละลายระหว่างโคสายพันธุ์บราห์มันและโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่โดยใช้ระบบ CASA เพื่อให้ได้ข้อมูลที่เป็ปรนัยและแม่นยำ ข้อมูลที่ได้จะช่วยสนับสนุนการคัดเลือกพันธุ์พ่อโคให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมของประเทศไทย อันจะนำไปสู่การเพิ่มประสิทธิภาพของการผสมเทียมและอัตราการผสมติดในฟาร์มโคเนื้อไทย

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง

การทดลองใช้น้ำเชื้อโคสายพันธุ์อเมริกันบราห์มันและสายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์แช่แข็งจากพ่อโคทั้ง 16 ตัว สายพันธุ์อเมริกันบราห์มัน (American Brahman) จำนวน 8 ตัว สายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์ (Charolais) จำนวน 8 ตัว พ่อพันธุ์แต่ละตัวมีอายุอยู่ระหว่าง 3-5 ปี อยู่ในสภาพร่างกายสมบูรณ์และผ่านการตรวจสุขภาพประจำปีเพื่อคัดกรองโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ ปริมาณน้ำเชื้อต่อครั้ง 3-8 มิลลิลิตร หลังจากทำการรีดน้ำเชื้อได้มีการประเมินคุณภาพของน้ำเชื้อสดก่อนทำการผสมกับสารละลายน้ำเชื้อ โดยน้ำเชื้อที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ต้องผ่านเกณฑ์การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อสด ดังนี้ มีลักษณะเป็นสีครีม หรือขาวขุ่นปราศจากสิ่งปนเปื้อน มีปริมาณความเข้มข้นของอสุจิมากกว่าหรือเท่ากับ 800 ล้านเซลล์/มิลลิลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ และมีอสุจิที่มีลักษณะปกติมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานเดียวกัน น้ำเชื้อทุกตัวผลิตจากศูนย์ผลิตน้ำเชื้อโคเนื้อมาตรฐานที่ได้รับการรับรองจากกรมปศุสัตว์ ประเทศไทย

การจัดการการเลี้ยงดูโคพ่อพันธุ์ การจัดการที่เหมาะสมมีเป้าหมายหลักในการรักษาสุขภาพโดยรวมของพ่อโคและลดปัจจัยความเครียดที่อาจส่งผลกระทบต่อการสร้างและคุณภาพของเซลล์สเปิร์ม โรงเรือนควรได้รับการจัดสร้างให้มีความสะอาด มีระบบการระบายน้ำและการถ่ายเทอากาศที่ได้มาตรฐาน เพื่อป้องกันภาวะความเครียดจากความร้อน (Heat Stress) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของอสุจิ (Barth and Oko, 1989) โภชนาการด้านอาหารควรได้รับพลังงานประมาณ 6-7 กก./วัน โปรตีนควรได้รับ 11-13% ของ DM วิตามิน และแร่ธาตุในปริมาณที่เพียงพอต่อความต้องการทางสรีรวิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งแร่ธาตุ สังกะสี (Zinc), อย่างน้อย 30-40 มก./กก. DM ซีลีเนียม (Selenium), และ วิตามินอี (Vitamin E) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสนับสนุนความสมบูรณ์พันธุ์และคุณภาพของน้ำเชื้อ (Hafez and Hafez, 2000) ความถี่ในการรีดน้ำเชื้อ สำหรับโคโตเต็มวัยที่มีความพร้อมทางสรีรวิทยา ดำเนินการรีดน้ำเชื้อได้ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ และในแต่ละรอบการรีดอาจดำเนินการเก็บน้ำเชื้อได้ 2 ครั้ง (Ejaculates) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสูงสุด (Chenoweth and McPherson, 2016) และช่วงเวลาในการรีดน้ำเชื้อดำเนินการในช่วงเวลา 09.00 น. หรือช่วงเวลาที่เหมาะกับสภาพอากาศไม่ร้อนจัด เพื่อลดความเสี่ยงของการเกิดความเครียดจากความร้อน (Thermal Stress) และช่วยในการรักษาคุณภาพของน้ำเชื้อไว้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่เขตร้อนชื้น น้ำเชื้อโคเนื้อทั้งสองสายพันธุ์ถูกเก็บน้ำเชื้อในช่วงเวลาที่เหมาะสมและเท่ากัน เพื่อควบคุมผลกระทบของช่วงเวลาต่อคุณภาพน้ำเชื้อ โดยใช้สูตรสารเจือจาง Tris-egg yolk extender ที่ได้รับการรับรองมาตรฐานของศูนย์ผลิตน้ำเชื้อ ซึ่งประกอบด้วยสาร Cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับโคเนื้อ การเจือจางน้ำเชื้อและกระบวนการแช่แข็งดำเนินการตามมาตรฐานเดียวกันสำหรับทั้งสองสายพันธุ์ โดยน้ำเชื้อแช่แข็งทั้งหมดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียส (ไนโตรเจนเหลว) มีระยะเวลาเก็บรักษา 12-18 เดือน เท่ากันทั้งสองสายพันธุ์ การใช้สัตว์เพื่องานวิจัยได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (Approval No. MACUC052A/2565)

แผนการทดลอง

การวิจัยนี้ใช้แผนการทดลองแบบสมบูรณ์สุ่ม หรือ completely randomized design (CRD) โดยมีปัจจัยทดลอง (Treatment) จำนวน 2 ปัจจัย ซึ่งได้แก่ 1. น้ำเชื้อโคแช่แข็งสายพันธุ์อเมริกันบราห์มัน (American Brahman) 2. น้ำเชื้อโคแช่แข็งสายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์ (Charolais) ในการดำเนินการทดลอง ได้กำหนดให้ใช้ตัวอย่างน้ำเชื้อจากพ่อโคแต่ละตัวจำนวน 10 หลอด และน้ำเชื้อแต่ละหลอดจะถูกนำมาประเมินคุณภาพโดยมีการทำซ้ำ (Replicate) จำนวน 3 ซ้ำ/หลอด

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลอัตราการเคลื่อนที่ทั้งหมด อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ และพารามิเตอร์เชิงจลศาสตร์ ได้แก่ ความตรงเชิงเส้น ความถี่การส่ายหัว ความกว้างของการส่ายหัว และอัตราส่วนความเร็วเชิงเส้นตรงต่อความเร็วโค้ง โดยวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปสำหรับวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ SPSS (Statistics Package for Social Sciences) ใช้วิธีวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย (Independent samples t-test) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$)

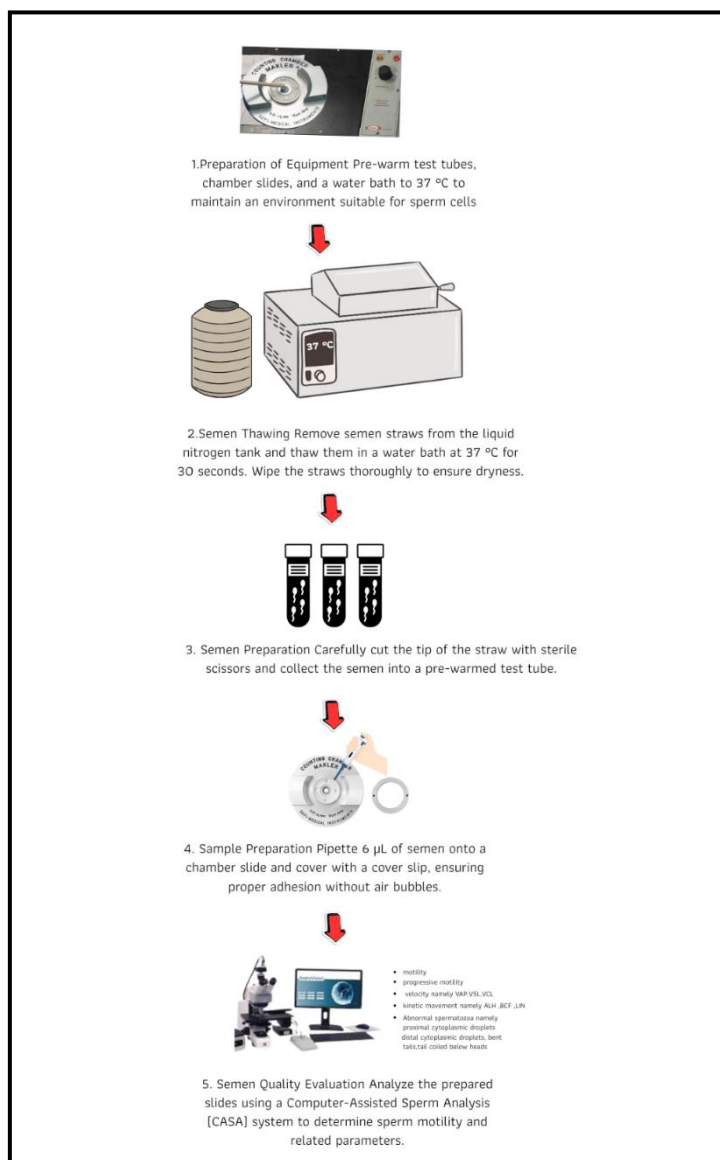


Figure 1 Semen thawing and semen quality assessment after thawing.

วิธีการประเมินการเคลื่อนไหว และจลศาสตร์การเคลื่อนไหวตัวอสุจิ (Sperm motility and kinematic variables)

ทำการประเมินน้ำเชื้อแช่แข็งเพื่อตรวจคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลาย โคฟอพันธุ์อเมริกันบราห์มัน จำนวน 8 ตัว โคฟอพันธุ์ชาร์โลเลห์ จำนวน 8 ตัว ตัวละ 10 หลอด มีวิธีการทดลองดังนี้ 1.การเตรียมอุปกรณ์ ทำการอุ่นหลอดทดลอง Makler counting chamberและ อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ให้อยู่ที่อุณหภูมิ 37°C ก่อนเริ่มการทดลอง 2.การละลายน้ำเชื้อโคแช่แข็งนำหลอดน้ำเชื้อแช่แข็งออกจากถังไนโตรเจนเหลว และละลายในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 30 วินาที หลังจากนั้นเช็ดผิวภายนอกของหลอดน้ำเชื้อให้แห้งสนิทด้วยกระดาษทิชชูที่สะอาด 3.การเตรียมน้ำเชื้อสำหรับการวิเคราะห์ ใช้กรรไกรตัดปลายหลอดน้ำเชื้อเพื่อให้หัวเชื้อไหลออก จากนั้นเก็บรวบรวมลงในหลอดทดลองที่อุ่นเตรียมไว้ 4.การเตรียมตัวอย่างบนสไลด์ ดูดน้ำเชื้อที่ละลายแล้วปริมาตรประมาณ 6 ไมโครลิตร หยดลงบนสไลด์ และปิดด้วยแผ่น Cover slip โดยจัดให้แนบสนิท ปราศจากฟองอากาศ 5.การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ นำสไลด์ที่เตรียมไว้วางบนแท่นกล้องจุลทรรศน์ จากนั้นตรวจคุณภาพน้ำเชื้อด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ คุณภาพน้ำเชื้อด้วย Computer Assisted Semen Analysis (CASA) (ยี่ห้อ : HAMILTON THORNE; รุ่น: CEROS II) ซึ่งมี

การตั้งค่าเลนส์กำลังขยาย 10x และใช้สไลด์ตรวจวัดคุณภาพน้ำเชื้อ (Chamber slide) ที่มีความลึกคงที่เพื่อการวิเคราะห์ที่แม่นยำ โดยพารามิเตอร์ที่ใช้ในการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อมีดังนี้

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อหลังการละลายได้แก่ อัตราการเคลื่อนไหวของอสุจิ (Motility) แสดงถึงร้อยละของอสุจิที่มีชีวิต และสามารถเคลื่อนไหวได้เมื่อเทียบกับจำนวนทั้งหมด โดยทั่วไปน้ำเชื้อที่มีอัตราการเคลื่อนไหวไม่ต่ำกว่า 70% ถือว่าเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในกระบวนการผสมเทียม การเคลื่อนที่ทั้งหมด (Total Motility) และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (Progressive Motility) ความเร็วในการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Velocity) ได้แก่ ความเร็วเฉลี่ยตามเส้นทาง (Average Path Velocity; VAP) เป็นค่าความเร็วเฉลี่ยของอสุจิตามเส้นทางที่ปรับให้เรียบลงจากเส้นทางจริง โดยคำนวณจากความเร็วที่หัวอสุจิเคลื่อนที่ไปตามวิถีเฉลี่ย จึงอยู่ระหว่าง VCL และ VSL ค่านี้สะท้อนถึงความเร็วโดยรวมที่ลดอิทธิพลจากการส่ายหรือวายเป็นวงมากเกินไป ความเร็วตามเส้นตรง (Straight-Line Velocity; VSL) หมายถึงค่าความเร็วเชิงเส้นตรงจากตำแหน่งเริ่มต้นไปยังตำแหน่งสิ้นสุดของการเคลื่อนที่ของอสุจิ หน่วยเป็น $\mu\text{m/s}$ เป็นดัชนีที่สะท้อนถึงประสิทธิภาพของการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า หากอสุจิเคลื่อนที่เป็นเส้นตรง ค่า VSL จะใกล้เคียงกับ VCL แต่หากมีการว้ายแบบวนหรือคดเคี้ยวมาก VSL จะลดลงอย่างชัดเจน (Curvilinear Velocity; VCL) คือค่าความเร็วเฉลี่ยของอสุจิตามเส้นทางที่เคลื่อนที่จริง มีหน่วยเป็น $\mu\text{m/s}$ คำนวณจากระยะทางทั้งหมดที่อสุจิเคลื่อนที่ตามเส้นทางที่คดเคี้ยวหารด้วยระยะเวลา เนื่องจากอสุจิไม่ได้เคลื่อนที่เป็นเส้นตรงเสมอไป VCL จึงเป็นค่าที่สะท้อนถึงความสามารถในการเคลื่อนที่โดยรวมของเซลล์ (Total motile activity) อสุจิที่มีค่า VCL สูงบ่งชี้ถึงความสามารถในการเคลื่อนที่ได้อย่างรวดเร็ว แม้จะเป็นการเคลื่อนที่แบบคดเคี้ยวก็ตาม ลักษณะการเคลื่อนที่ (kinetic movement) ได้แก่ ขนาดการส่ายหัว (Amplitude of Lateral Head Displacement; ALH) วัดระยะสูงสุดของการแกว่งด้านข้างของหัวอสุจิในแต่ละจังหวะของการตีหาง หน่วยเป็น μm ค่าสูงแสดงถึงการเคลื่อนที่ของอสุจิที่มีการส่ายหัวไปมาในทิศทางด้านข้างขณะที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าอย่างรวดเร็ว ซึ่งพบได้ในสภาวะ hyperactivation ขณะที่ค่าต่ำบ่งชี้ถึงการว้ายแบบมีเสถียรภาพและตรงแนว ความถี่การส่ายหัว (Beat-Cross Frequency; BCF) คือจำนวนครั้งต่อวินาทีที่หัวอสุจิตัดผ่านเส้นทางเฉลี่ยของตนเอง เป็นดัชนีสะท้อนความถี่ของการตีหาง อสุจิที่มีค่า BCF สูงบ่งชี้ถึงการตีหางที่ถี่และมีพลัง ซึ่งสัมพันธ์กับสภาวะพลังงานของเซลล์ รวมถึงการเปลี่ยนแปลงในช่วง hyperactivation ความตรงของการว้าย (Straightness: STR) หมายถึงอัตราส่วนระหว่าง VSL ต่อ VAP ($\text{STR} = \text{VSL}/\text{VAP} \times 100\%$) ใช้ประเมินความเบี่ยงเบนของวิถีในระยะสั้น STR มีความสัมพันธ์กับ LIN แต่เปรียบเทียบกับวิถีเฉลี่ยแทนที่จะเปรียบเทียบกับเส้นทางจริงโดยตรง อสุจิที่เคลื่อนที่แบบก้าวหน้าโดยทั่วไปจะมีค่า STR และ LIN สูง ความเป็นเส้นตรงของวิถี (Linearity; LIN) LIN คำนวณจากอัตราส่วนระหว่าง VSL ต่อ VCL ($\text{LIN} = \text{VSL}/\text{VCL} \times 100\%$) ใช้เป็นตัวชี้วัดความตรงของการเคลื่อนที่ อสุจิที่มีค่า LIN สูงมีแนวโน้มว้ายเป็นเส้นตรง ในขณะที่ค่า LIN ต่ำแสดงถึงการเคลื่อนไหวแบบคดเคี้ยวหรือว้ายวน ความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ (Abnormal spermatozoa) มีหน่วยเป็น % ของตัวอสุจิ Proximal cytoplasmic droplets ตัวอสุจิที่มีก้อนคล้ายหยดน้ำเกาะติดที่หางได้ฐานของหัว Distal cytoplasmic droplets ตัวอสุจิที่มีก้อนคล้ายหยดน้ำเกาะที่หางตรงส่วนปลายมิดพิช Bent tails ตัวอสุจิที่หางงอ Tail coiled below heads ตัวอสุจิที่หางขงอได้ส่วนหัว ความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ (Abnormal spermatozoa) มีหน่วยเป็น % ของตัวอสุจิ Proximal cytoplasmic droplets ตัวอสุจิที่มีก้อนคล้ายหยดน้ำเกาะติดที่หางได้ฐานของหัว Distal cytoplasmic droplets ตัวอสุจิที่มีก้อนคล้ายหยดน้ำเกาะที่หางตรงส่วนปลายมิดพิช Bent tails ตัวอสุจิที่หางงอ Tail coiled below heads ตัวอสุจิที่หางขงอได้ส่วนหัว

ผลการศึกษา

จากการศึกษาการเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังละลายของโคสายพันธุ์อเมริกันบราห์มัน และโคสายพันธุ์ซาร์โลเลห์ ในการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังละลายด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ CASA พบว่ามีอัตราการเคลื่อนที่ทั้งหมด จำนวนของอสุจิที่เคลื่อนที่ช้า และอสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Figure 2)

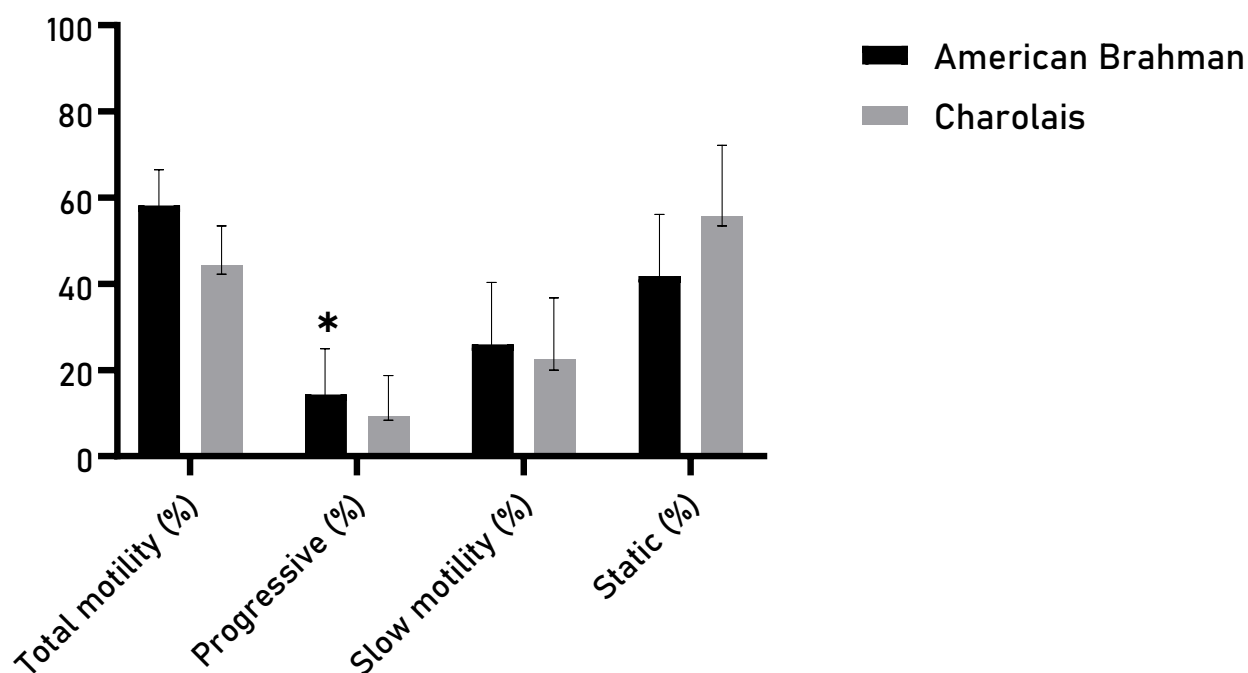


Figure 2 Average Motility sperm of Frozen bull semen * indicates significant differences between breeds (Mean $\pm$ SD) ($P < 0.05$).

ลักษณะความผิดปกติของรูปร่างอสุจิหลังผ่านกระบวนการแช่แข็งน้ำเชื้อจากโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน และโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์ พบว่าจำนวนของตัวอสุจิที่มีก่อนคล้ายหยดน้ำเกาะติดที่หางใต้ฐานของหัว ตัวอสุจิที่มีก่อนคล้ายหยดน้ำเกาะติดที่หางตรงส่วนปลายมีดพืช ตัวอสุจิที่หางงอ และตัวอสุจิที่หางขดงอได้ส่วนหัว ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (Figure 3)

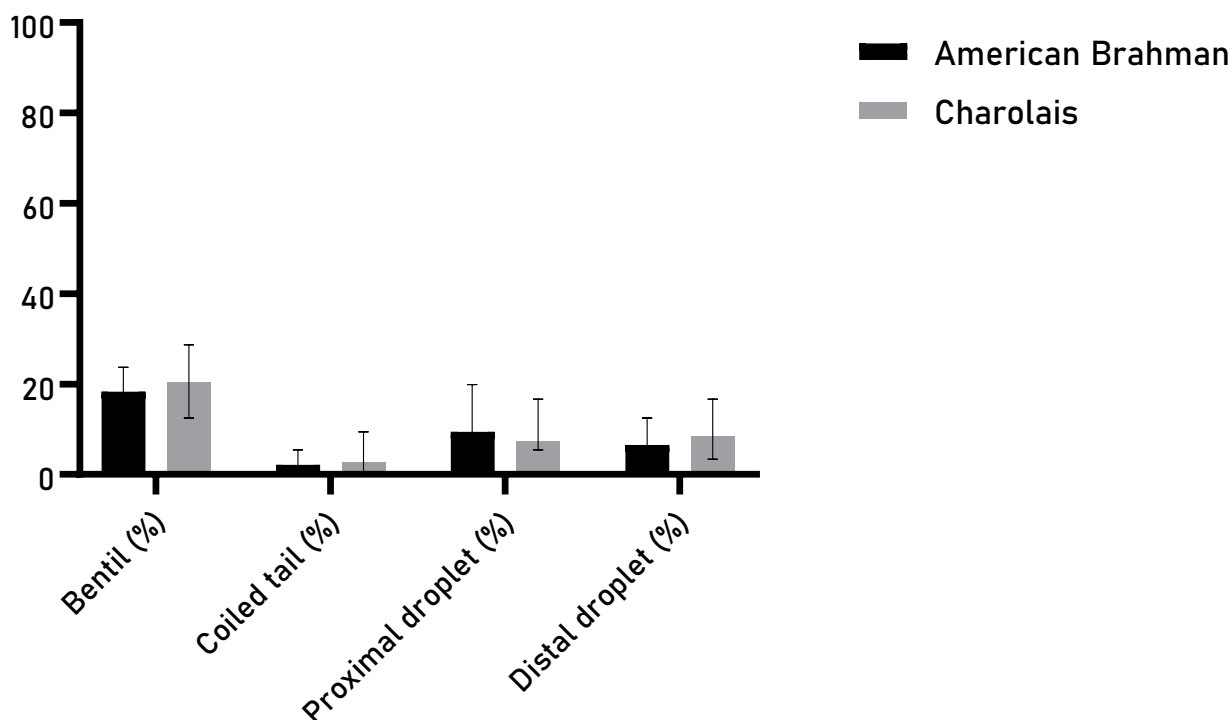


Figure 3 Average Sperm abnormalities of Frozen bull semen * indicates significant differences between breeds (Mean $\pm$ SD) ($P < 0.05$).

ลักษณะการเคลื่อนที่ของอสุจิจากน้ำเชื้อโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน และโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์ หลังการละลาย พบว่าความกว้างในการส่ายหัวอสุจิ (ALH) และอัตราส่วนความเร็วของการเคลื่อนที่ในวิถีตรงต่อความเร็วของการเคลื่อนที่วงโค้ง (STR) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วนความถี่ของการส่ายหัวของอสุจิ (BCF) และความเป็นเส้นตรงของการเคลื่อนที่ (LIN) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยความถี่ของการส่ายหัวของอสุจิจากน้ำเชื้อแช่แข็งหลังละลายของโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน ต่ำกว่าโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์ และอัตราส่วนความเร็วของการเคลื่อนที่ในวิถีตรงต่อความเร็วของการเคลื่อนที่วงโค้งของอสุจิจากน้ำเชื้อแช่แข็งหลังละลายโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน สูงกว่าโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์ (Table 1.)

Table 1 Average Velocity movement and Kinetic movement of Frozen bull semen (Mean $\pm$ SD)

Parameter	American Brahman	Charolais	P-value
Velocity movement			
VAP ($\mu\text{m/s}$)	77.94 $\pm$ 7.91	114.26 $\pm$ 8.95	0.065
VSL ($\mu\text{m/s}$)	70.05 $\pm$ 9.11	72.70 $\pm$ 11.32	0.238
VCL ($\mu\text{m/s}$)	127.60 $\pm$ 21.02	196.57 $\pm$ 23.09	0.076
Kinetic movement			
ALH (μm)	6.53 $\pm$ 2.55	6.86 $\pm$ 1.70	0.211
BCF (Hz)	23.37 $\pm$ 2.55	24.09 $\pm$ 3.45	0.014*
STR (%)	90.11 $\pm$ 7.39	88.43 $\pm$ 12.52	0.175
LIN (%)	59.37 $\pm$ 10.45	56.01 $\pm$ 11.31	0.001*

* indicates significant differences between breeds ($P < 0.05$).

วิจารณ์

ผลการศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังละลายระหว่างโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน และโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์ โดยใช้เครื่องวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ (CASA) พบว่าการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Sperm Motility) อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (Progressive motility) ของน้ำเชื้อโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน สูงกว่าโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Brito et al. (2002) ที่พบว่าโคพันธุ์ *Bos indicus* (ซึ่งรวมถึงบราห์มัน) มีคุณภาพน้ำเชื้อหลังแช่แข็งที่ดีกว่าโคพันธุ์ *Bos taurus* โดยเฉพาะในเรื่องของการทนต่อกระบวนการแช่แข็งและการละลาย ผลการศึกษาที่พบว่าโคสายพันธุ์บราห์มันมีการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าสูงกว่าโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์ เป็นผลมาจากความสามารถในการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูงและความทนทานต่อสภาวะเครียดที่ดีกว่า (Chenoweth, 2005) นอกจากนี้ จากงานวิจัยของ Karoui et al. (2012) ยังพบว่าความแตกต่างทางพันธุกรรมระหว่างโคสายพันธุ์ต่างๆ ส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพของน้ำเชื้อหลังการแช่แข็ง โดยเฉพาะในส่วนของการเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิที่มีองค์ประกอบของไขมันและโปรตีนที่ต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อความต้านทานต่อกระบวนการแช่แข็งและการละลาย

ความเร็วและลักษณะการเคลื่อนที่ของอสุจิ ผลการวิเคราะห์พบว่าความถี่ของการส่ายหัวของอสุจิ (Beat Cross Frequency, BCF) ของโคพันธุ์ชาร์โลเล่ห์ สูงกว่าโคพันธุ์อเมริกัน บราห์มันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่อัตราส่วนความเร็วของการเคลื่อนที่ในวิถีตรงต่อความเร็วของการเคลื่อนที่ในวิถีโค้ง (Linearity, LIN) ของโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน สูงกว่าโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hoflack et al. (2007) ที่พบว่าโคพันธุ์ที่มี Linearity สูงมีความสามารถในการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าได้ดี ซึ่งมีความสัมพันธ์กับอัตราการผสมติดที่สูงขึ้น โดย Mortimer (2000) ได้อธิบายว่าค่า LIN ที่สูงบ่งชี้ถึงการเคลื่อนที่ของอสุจิที่มีประสิทธิภาพมากกว่า เนื่องจากอสุจิสามารถเคลื่อนที่ไปในทิศทางเดียวกันได้ดี ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการผ่านทางเดินระบบสืบพันธุ์เพศเมียเพื่อไปผสมกับเซลล์ไข่ สำหรับค่า BCF ที่สูงในโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ห์นั้น Kathiravan et al. (2011) อธิบายว่าอาจเป็นผลจากการที่อสุจิพยายามเคลื่อนที่ในสภาวะที่มีแรงต้านสูง หรืออาจเป็นลักษณะเฉพาะของพันธุกรรมโคสายพันธุ์ *Bos taurus* ซึ่งแตกต่างจากโคสายพันธุ์ *Bos indicus* อย่างไรก็ตาม Farrell et al. (1998) พบว่าค่า BCF เพียงอย่างเดียวอาจไม่สามารถบอกความสามารถในการปฏิสนธิได้ดีเท่ากับการพิจารณาพร้อมกับค่าพารามิเตอร์อื่นๆ เช่น VAP, VSL และ LIN

ความแตกต่างเชิงสายพันธุ์ของคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการละลายที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยระบบ CASA สะท้อนให้เห็นถึงพฤติกรรมการเคลื่อนไหวของอสุจิที่ต่างกันมากกว่าความเร็วเฉลี่ยโดยรวม กล่าวคือ น้ำเชื้อของโคพันธุ์อเมริกัน บราห์มันมีค่าการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และค่าความเป็นเส้นตรงของการเคลื่อนที่ (LIN) สูงกว่า ขณะที่โคพันธุ์ชาร์โลเล่ห์มีค่าความถี่การเปลี่ยนทิศของเส้นทางเฉลี่ย (BCF) สูงกว่า โดยไม่พบความแตกต่างในค่าพารามิเตอร์อื่น ได้แก่ ความเร็วเฉลี่ยตามเส้นทาง (VAP), ความเร็วเชิงเส้น (VSL), ความเร็วแบบเส้นโค้ง (VCL), ความเป็นเส้นตรงสัมพัทธ์ (STR) และแอมพลิจูดของการเหวี่ยงหัว (ALH) (Table 1) ผลดังกล่าวบ่งชี้ว่า โคพันธุ์บราห์มันสามารถคงเสถียรภาพของทิศทางการเคลื่อนไหวและการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าได้ดีกว่าหลังการละลาย ในขณะที่โคพันธุ์ชาร์โลเล่ห์มีรูปแบบการว่ายน้ำที่ “ตัดผ่านเส้นทางเฉลี่ย” บ่อยกว่า ซึ่งอาจสะท้อนถึงความแตกต่างของคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์และรูปแบบการควบคุมการแกว่งของหาง มากกว่าความแตกต่างในด้านพลังงานขับเคลื่อนโดยรวม

ทั้งนี้ ค่า BCF ที่ได้จากระบบ CASA ไม่ได้แปลว่าเป็นความถี่การตีหางโดยตรง แต่ควรตีความในเชิงเรขาคณิตของการเคลื่อนไหว เช่น ความถี่ของการเปลี่ยนทิศบนเส้นทางเฉลี่ย (Average path) มากกว่าความเร็วของการแกว่งหาง (Flagellar beat) กลไกที่อาจเกี่ยวข้องกับความแตกต่างนี้ ได้แก่ องค์ประกอบของลิพิดในเยื่อหุ้มเซลล์ และระดับความทนต่อการแช่แข็ง (Cryotolerance) ซึ่งขึ้นอยู่กับพันธุกรรมและสภาพแวดล้อม ตลอดจนบทบาทของโปรตีนที่ตอบสนองต่อความเครียดจากความร้อน เช่น Heat shock protein (HSP70/HSP70-2) และโปรตีนในโครงสร้าง Ibrous sheath ได้แก่ AKAP4 และ proAKAP4 ที่มีหน้าที่ในการถ่ายเทพลังงานและควบคุมรูปแบบการแกว่งของหาง ซึ่งมีรายงานว่าสัมพันธ์กับคุณภาพและความทนทานของน้ำเชื้อโคในภาคสนาม ดังนั้น ความแตกต่างของค่า LIN และ BCF ระหว่างสายพันธุ์ในงานวิจัยนี้อาจถือเป็น “ลายเส้นทางชีวโมเลกุล” ที่สามารถนำไปใช้ในการพัฒนามาตรฐานการคัดเลือกพ่อพันธุ์ รวมถึงการปรับปรุงพันธุ์น้ำเชื้อแช่แข็งให้เหมาะสมกับแต่ละสายพันธุ์ต่อไปได้

ผลการสังเกตที่พบว่าโคพันธุ์ชาร์โลเล่หมีค่า BCF สูงกว่า สอดคล้องกับรายงานของ Özen et al. (2025) ซึ่งใช้ระบบ CASA จำแนกสายพันธุ์โค และพบว่าพารามิเตอร์ Progressive motility, Hyperactivity และ VSL เป็นตัวแปรหลักที่สามารถใช้จำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลดังกล่าวสะท้อนบทบาททางชีวกลศาสตร์ของการตีหางอสุจิที่สัมพันธ์กับค่า BCF ในการกำหนดประสิทธิภาพการเคลื่อนที่หลังการละลาย ค่าที่โคพันธุ์บราห์มันมีค่าการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และ LIN สูงกว่า อาจเกี่ยวข้องกับการความสามารถในการทนต่อความร้อนของโคกลุ่ม *Bos indicus* ซึ่งปรับตัวได้ดีกว่าในสภาพอากาศร้อนชื้น โดยมีรายงานว่า ระดับความไวต่อความร้อนแตกต่างกันระหว่างตัวผู้ และส่งผลต่อคุณภาพของน้ำเชื้อโดยตรงเมื่ออุณหภูมิสูง (Netherton et al., 2022) การใช้สภาวะการละลายที่ 37 °C เป็นเวลา 30 วินาทีในงานวิจัยนี้ยังสอดคล้องกับรายงานของ Solís et al. (2024) ซึ่งพบว่าสภาวะดังกล่าวให้คุณภาพการเคลื่อนไหวดีที่สุดโคพันธุ์ Holstein และ Jersey และยืนยันว่าคุณภาพน้ำเชื้อจะลดลงตามระยะเวลาหลังการละลายที่ยาวนานขึ้น ในแนวทางการพัฒนาคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการละลาย อาจพิจารณาการเสริมสารยับยั้ง Rho-associated protein kinase (ROCK inhibitor; Y-27632) ในสูตรน้ำยาแช่แข็ง ซึ่งรายงานว่าช่วยเพิ่มค่า TM, BCF และ VAP รวมทั้งส่งเสริมอัตราการพัฒนาเอ็มบริโอในการปฏิสนธิในอกร่างกาย (In vitro fertilization; IVF) (Behnam et al., 2023) อย่างไรก็ตาม ผลดังกล่าวยังจำเป็นต้องมีการยืนยันเพิ่มเติมในโคพันธุ์ที่ใช้ในประเทศไทย

ความสัมพันธ์กับความสามารถในการปฏิสนธิ จากผลการศึกษาพบว่าโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มันมีค่า Progressive motility และ LIN ที่สูงกว่าโคสายพันธุ์ชาร์โลเล่ Budworth et al. (1988) และ Amann and Waberski (2014) ได้รายงานว่าทั้งสองค่านี้มีความสัมพันธ์ทางบวกกับความสามารถในการปฏิสนธิของอสุจิ การที่โคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มันมีค่าดังกล่าวสูงกว่า บ่งชี้ถึงความสามารถในการผสมติดที่ดีกว่าเมื่อใช้ในโปรแกรมผสมเทียม นอกจากนี้ Perumal et al. (2011) ยังพบว่าโคพันธุ์ที่เลี้ยงในเขตร้อน เช่น โคพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน มีความทนทานต่อความเครียดจากความร้อน (heat stress) ในระหว่างกระบวนการแช่แข็งและละลายน้ำเชื้อได้ดีกว่าโคพันธุ์ที่มาจากเขตหนาว

ความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์ CASA กับอัตราการผสมติดในโค การใช้ CASA อย่างแพร่หลายในการประเมินพ่อพันธุ์ ระบุว่าพารามิเตอร์หลายตัวมีความสัมพันธ์กับความสามารถให้ลูกของพ่อโคในระดับหนึ่ง Farrell et al. (1998) ได้รายงานว่า อัตราการเคลื่อนไหวทั้งหมด (%Motility) อัตราการเคลื่อนที่แบบก้าวหน้า (Progressive Motility) ความเร็วต่างๆ (VCL, VAP) รวมถึงตัวชี้วัดเชิงคุณภาพอย่าง LIN, STR และ BCF นั้นมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับอัตราการผสมติด (วัดโดยอัตราการไม่กลับสัด 59 วันหลังผสม)

Fernandez-Novó et al. (2021) รายงานว่าในกลุ่มพ่อโคที่มีอัตราการให้ลูกสูง ค่าพารามิเตอร์การเคลื่อนที่ต่าง ๆ ที่วัดด้วยเครื่อง Computer-Assisted Sperm Analysis (CASA) จะสูงกว่ากลุ่มพ่อโคที่มีอัตราการให้ลูกต่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งรวมถึงพารามิเตอร์ด้านการเคลื่อนที่ เช่น Total Motility, Progressive Motility, ความเร็วต่าง ๆ (VCL, VSL, VAP), และตัวชี้วัดเชิงทิศทาง (LIN, STR, BCF) นอกจากนี้ พารามิเตอร์ความกว้างของการแกว่งด้านข้างของหัวอสุจิ (Amplitude of Lateral Head Displacement; ALH) ซึ่งเป็นตัวชี้วัดรูปแบบการเคลื่อนที่ของอสุจิที่วัดโดยเครื่อง CASA พบว่าค่า ALH ที่สูงเกินไปมีความสัมพันธ์เชิงลบกับอัตราการให้ลูก โดยกลุ่มพ่อโคที่มีจำนวนลูกน้อยมักมีค่า ALH เฉลี่ยสูงกว่า ซึ่งสอดคล้องกับแนวคิดที่ว่า การแกว่งหัวอสุจิมากเกินไป (hyperactivation) อาจส่งผลเสียต่อประสิทธิภาพการปฏิสนธิในโค (Fernandez-Novó et al., 2021) ในโค พารามิเตอร์เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิและความเร็ว เป็นตัวทำนายที่มีประสิทธิภาพระดับปานกลางในการสะท้อนถึงความสำเร็จของการผสมพันธุ์ของอสุจิ พบว่าในกลุ่มโคที่มีค่าการเคลื่อนที่และความเร็ว ได้แก่ ความเร็วตามเส้นทางโค้ง (VCL), ความเร็วตามเส้นตรง (VSL) และความเร็วเฉลี่ยตามเส้นทาง (VAP) สูง จะมีอัตราการผสมติดสูงกว่ากลุ่มที่มีค่าต่ำอย่างมีนัยสำคัญ (Farrell et al., 1998) อย่างไรก็ตาม ความสัมพันธ์ระหว่างพารามิเตอร์เหล่านี้กับอัตราการผสมติดมักอยู่ในช่วงปานกลาง โดยทั่วไปอยู่ในระดับความสัมพันธ์ (r) ประมาณ 0.3–0.6 และในบางพารามิเตอร์ยังพบผลการศึกษาที่ขัดแย้งกัน เช่น พารามิเตอร์ STR, LIN, BCF และ ALH บางงานวิจัยกล่าวว่าไม่มีความสัมพันธ์ที่ชัดเจนกับอัตราการมีลูกในโค (Farrell et al., 1998) ความแตกต่างดังกล่าวอาจมาจากความแตกต่างในวิธีการทดลองหรือสภาพแวดล้อมที่ใช้ในการศึกษา

อย่างไรก็ดี โดยภาพรวมสำหรับพ่อโค พารามิเตอร์ที่มีความสม่ำเสมอและน่าเชื่อถือในการเป็นตัวชี้วัดคุณภาพน้ำเชื้อ คืออัตราการเคลื่อนที่โดยเฉพาะค่าการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (Progressive motility) และค่าความเร็ว VAP, VSL, VCL ที่อยู่ในระดับปานกลางถึงสูง ขณะที่ลักษณะการเคลื่อนที่แบบ hyperactive ที่แสดงด้วยค่า ALH สูงและค่า LIN ต่ำ หากพบในน้ำเชื้อเป็นจำนวนมาก อาจสัมพันธ์กับการลดลงของภาวะเจริญพันธุ์ (Farrell et al., 1998) ในการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อพ่อโค กำหนดเกณฑ์ว่าควรมีอสุจิเคลื่อนไหวอย่างน้อยประมาณ 70% จึงจะถือว่าใช้ผสมพันธุ์ได้อย่างปลอดภัย (Perry, 2021) กรมปศุสัตว์ (2560) มาตรฐานการผลิตน้ำเชื้อตามประกาศกรมปศุสัตว์ พ.ศ. 2560 ได้ระบุข้อกำหนดสำคัญสำหรับศูนย์ผลิตน้ำเชื้อสัตว์ผสมพันธุ์ ได้แก่ การตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อที่ต้องมีการตรวจสอบความเข้มข้นของอสุจิและบันทึกข้อมูลทุกครั้ง ตัวอย่างน้ำเชื้อที่เก็บไว้ ต้องตรวจโรคอย่างละเอียดเพื่อป้องกันการแพร่โรค และเกณฑ์ขั้นต่ำของอสุจิในแต่ละสายพันธุ์ โค และกระบือ ไม่น้อยกว่า 8 ล้านตัว/โดส สำหรับอสุจิที่มีชีวิตและเคลื่อนที่ไปข้างหน้า

สรุป

การศึกษาการเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งหลังการละลายระหว่างโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน และโคสายพันธุ์ชาร์โลเลห์ โดยใช้ระบบวิเคราะห์อสุจิด้วยคอมพิวเตอร์ (CASA) พบว่าน้ำเชื้อจากพ่อโคสายพันธุ์อเมริกัน บราห์มัน มีคุณภาพในด้านอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าและค่าความตรงเชิงเส้นของการเคลื่อนที่ของอสุจิสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับโคสายพันธุ์ชาร์โลเลห์ ขณะที่พารามิเตอร์อื่น ๆ ส่วนใหญ่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมที่ส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อหลังการแช่แข็ง ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนในการคัดเลือกพันธุ์พ่อโคที่เหมาะสมต่อการผสมเทียมในโคเนื้อ โดยเฉพาะภายใต้สภาพภูมิอากาศเขตร้อนของประเทศไทย อันจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพด้านการสืบพันธุ์และการผลิตลูกโคต่อไป

ข้อเสนอแนะสำหรับการวิจัยในอนาคต

เพื่อขยายผลการศึกษานี้ ควรมีการวิจัยเพิ่มเติมในภาคสนามเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพจริงของคุณภาพน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน เช่น การประเมินอัตราการผสมติด (Conception rate) และผลผลิตลูกโคในสภาพการเลี้ยงจริง ตลอดจนศึกษาผลกระทบของฤดูกาลหรือปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่อาจมีอิทธิพลต่อคุณภาพน้ำเชื้อหลังการแช่แข็ง ข้อมูลดังกล่าวจะช่วยเพิ่มความชัดเจนในการคัดเลือกและใช้ประโยชน์จากพันธุ์พ่อโคได้อย่างเหมาะสมภายใต้สภาพภูมิอากาศเขตร้อนของประเทศไทย

คำขอบคุณ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษาทุกท่าน ที่กรุณาให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในด้านการวิชาการและด้านการดำเนินงานวิจัย อันนำไปสู่การต่อยอดองค์ความรู้ในด้านงานวิจัย ขอขอบพระคุณบุคลากรห้องปฏิบัติการ และคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้อำนวยความสะดวกและช่วยเหลือในการทำวิจัย ขอขอบคุณครอบครัว เพื่อนบัณฑิตศึกษา และน้องนักศึกษาที่ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจที่ดีเสมอมา ตลอดจนทุกท่านที่มีส่วนช่วยเหลือในการทำวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2560 ประกาศกรมปศุสัตว์ เรื่อง การรับคืน และผลคืนใช้เชื้อสำหรับผสมพันธุ์สัตว์ พ.ศ. 2560. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

Amann, R. P., and D. Waberski. 2014. Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. *Theriogenology*. 81: 5-17.

Baştan, İ. 2024. Comparison of computer-assisted sperm analysis and smartphone-applied sperm analysis for evaluation of frozen-thawed bull semen. *Reproduction in Domestic Animals*. 59: e14695.

Bearden, H. J., and J. W. Fuquay. 1984. *Applied Animal Reproduction*. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, NJ.

- Behnam, M., R. Asadpour, T. R. Topraggaleh, and H. Hamali. 2023. Improvement of post-thaw quality and fertilizing ability of bull spermatozoa using Rho kinase inhibitor in freezing extender. *Frontiers in Veterinary Science*. 10: 1155048.
- Brito, L., A. Silva, L. Rodrigues, F. Vieira, L. Deragon, and J. Kastelic. 2002. Effects of environmental factors, age and genotype on sperm production and semen quality in *Bos indicus* and *Bos taurus* AI bulls in Brazil. *Animal Reproduction Science*. 70: 181-190.
- Budworth, P. R., R. P. Amann, and P. L. Chapman. 1988. Relationships between computerized measurements of motion of frozen-thawed bull spermatozoa and fertility. *Journal of Andrology*. 9: 41-54.
- Celeghini, E. C. C., R. De Arruda, A. De Andrade, J. Nascimento, and C. Raphael. 2007. Practical techniques for bovine sperm simultaneous fluorimetric assessment of plasma, acrosomal and mitochondrial membranes. *Reproduction in Domestic Animals*. 42: 479-488.
- Chatterjee, S., E. de Lamirande, and C. Gagnon. 2001. Cryopreservation alters membrane sulfhydryl status of bull spermatozoa: protection by oxidized glutathione. *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*. 60: 498-506.
- Chenoweth, P. J. 2005. Genetic sperm defects. *Theriogenology*. 64: 457-468.
- Davila, R., R. A. Ledezma-Torres, J. G. Soto, U. Macias-Cruz, J. F. Calderón-Cortés, L. Avendaño-Reyes, and A. Correa-Calderón. 2021. Influence of environmental stressors on reproductive efficiency in cattle. *Tropical Animal Health and Production*. 53: 407.
- Farrell, P., G. Presicce, C. Brockett, and R. Foote. 1998. Quantification of bull sperm characteristics measured by computer-assisted sperm analysis (CASA) and the relationship to fertility. *Theriogenology*. 49: 871-879.
- Fernandez-Novo, A., S. Santos-Lopez, C. Barrajon-Masa, P. Mozas, E. de Mercado, E. Caceres, A. Garrafa, J. V. Gonzalez-Martin, N. Perez-Villalobos, and A. Olier. 2021. Effect of extender, storage time and temperature on kinetic parameters (CASA) on bull semen samples. *Biology*. 10: 806.
- Hoflack, G., G. Opsomer, T. Rijsselaere, A. Van Soom, D. Maes, A. De Kruif, and L. Duchateau. 2007. Comparison of computer-assisted sperm motility analysis parameters in semen from belgian blue and Holstein-Friesian bulls. *Reproduction in Domestic Animals*. 42: 153-161.
- Januskauskas, A., A. Johannisson, and H. Rodriguez-Martinez. 2003. Subtle membrane changes in cryopreserved bull semen in relation with sperm viability, chromatin structure, and field fertility. *Theriogenology*. 60: 743-758.
- Karoui, S., C. Díaz, C. González-Marín, M. Amenabar, M. Serrano, E. Ugarte, J. Gosálvez, R. Roy, C. López-Fernández, and M. Carabaño. 2012. Is sperm DNA fragmentation a good marker for field AI bull fertility? *Journal of Animal Science*. 90: 2437-2449.
- Kathiravan, P., J. Kalatharan, G. Karthikeya, K. Rengarajan, and G. Kadirvel. 2011. Objective sperm motion analysis to assess dairy bull fertility using computer-aided system—a review. *Reproduction in Domestic Animals*. 46: 165-172.
- Mortimer, S. T. 2000. CASA—practical aspects. *Journal of Andrology*. 21: 515-524.

- Muiño, R., C. Tamargo, C. Hidalgo, and A. Peña. 2008. Identification of sperm subpopulations with defined motility characteristics in ejaculates from Holstein bulls: effects of cryopreservation and between-bull variation. *Animal Reproduction Science*. 109: 27–39.
- Netherton, J. K., B. R. Robinson, R. A. Ogle, A. Gunn, A. I. S. B. Villaverde, K. Colyvas, and M. A. Baker. 2022. Seasonal variation in bull semen quality demonstrates there are heat-sensitive and heat-tolerant bulls. *Scientific Reports*. 12: 15322.
- Özen, D., H. Özen, E. B. Gül, K. T. Olğaç, K. Tekin, M. B. Tirpan, and A. Daşkin. 2025. Comparison of Tree-Based Machine Learning Algorithms for Classification of Livestock Breeds Based On Post-Thaw Spermatological Parameters. *Veterinary Medicine and Science*. 11: e70539.
- Perry, V. 2021. The role of sperm morphology standards in the laboratory assessment of bull fertility in Australia. *Frontiers in Veterinary Science*. 8: 672058.
- Perumal, P., S. Selvaraju, S. Selvakumar, A. Barik, D. Mohanty, S. Das, R. Das, and P. Mishra. 2011. Effect of pre-freeze addition of cysteine hydrochloride and reduced glutathione in semen of crossbred Jersey bulls on sperm parameters and conception rates. *Reproduction in Domestic Animals*. 46: 636–641.
- Raafi, M., M. Yusuf, A. Toleng, and A. Diansyah. 2021. Movement patterns of sperms at different bull breeds using computer-assisted sperm analysis (CASA). P. 1-7. In: *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Singh, A., A. Kumar, and A. Bisla. 2021. Computer-assisted sperm analysis (CASA) in veterinary science: A review. *The Indian Journal of Animal Sciences*. 91: 419–429.
- Solís, J. M., F. Sevilla, M. A. Silvestre, I. Araya-Zúñiga, E. R. Roldan, A. Saborío-Montero, and A. Valverde. 2024. Effect of thawing procedure and thermo-resistance test on sperm motility and kinematics patterns in two bovine breeds. *Animals*. 14: 2768.
- Susilawati, T. 2013. *Pedoman inseminasi buatan pada ternak*. Universitas Brawijaya Press.
- Valverde, A., V. Barquero, and C. Soler. 2020. The application of computer-assisted semen analysis (CASA) technology to optimise semen evaluation. A review. *Journal of Animal and Feed Sciences*. 29: 189–198.
- Viquez, L., V. Barquero, and A. Valverde. 2021. Condiciones óptimas de análisis cinético en semen fresco de toros Brahman con un sistema CASA-Mot. *Agron. Mesoam*. 32: 920–938.