

## ผลของการเสริมนมแพะในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่มีต่อการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิของแพะหลังการแช่แข็ง

### Effect of Goat Milk Supplementation in Semen Extender on the Motility of Post-Thaw Goat Sperm

นิตยา ทองทิพย์<sup>1\*</sup>, ปิยามาส์ ตันจเรญรัตน์<sup>1</sup>, ผกาสินี ขาวแดง<sup>1</sup>, วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์<sup>2</sup>,  
เยาวลักษณ์ หวังสุข<sup>2</sup>, พัชร พรหมตัน<sup>3</sup> และวาทิ คงบรรทัด<sup>4</sup>  
Nittaya Thongtip<sup>1\*</sup>, Piyamas Tancharoenrat<sup>1</sup>, Pakasinee Khaodang<sup>1</sup>, Wiwat Pattanawong<sup>2</sup>,  
Yaowalak Wangsuk<sup>2</sup>, Patcharee Promtan<sup>3</sup> and Watee Kongbuntad<sup>4</sup>

Received date: 10 ก.ย. 68 Revised date: 15 ธ.ค. 68 Accepted date: 17 ธ.ค. 68

DOI: <https://doi.org/10.55003/kmaj.2026.269054>

#### บทคัดย่อ

การศึกษาการเสริม นมชนิดต่าง ๆ ในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่มีต่อการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิของแพะหลังการแช่แข็ง โดยเก็บน้ำเชื้อจากแพะพ่อพันธุ์ลูกผสมเบอร์ 3 ตัว ในการเก็บน้ำเชื้อทำการเก็บน้ำเชื้อแพะสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกัน 6 สัปดาห์ นำน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์แพะแต่ละตัวที่รีดได้ในแต่ละครั้งมาแบ่งออกเป็น 3 ส่วน น้ำเชื้อแต่ละส่วนจะถูกเติมน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแต่ละสูตร ซึ่งสารเจือจางน้ำเชื้อที่ใช้ มีส่วนผสมหลักคือ Tris (hydroxymethyl) aminomethane ได้แก่ Tris + egg Yolk, Tris + goat milk หรือ Tris + cow milk จากนั้นทำการแช่แข็งน้ำเชื้อด้วยวิธีเดียวกัน แช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง และอุณหภูมิต่ำกว่า -121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 13 นาที จากนั้นนำลงเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว -196 องศาเซลเซียส หลังจากแช่แข็งเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทำการสุมน้ำเชื้อแพะแช่แข็งจากแพะแต่ละตัวของแต่ละกลุ่มทดลอง ๆ ละ 6 ตัวอย่าง/สัปดาห์ ทั้งหมด 6 ครั้ง นำมาประเมินคุณภาพภายหลังละลาย ด้วยเครื่องวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ Computer Assisted Sperm Analysis (CASA) เพื่อวิเคราะห์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ผลการศึกษาพบว่า สารละลายเจือจางสูตร Tris + goat milk ให้ค่าการเคลื่อนที่รวมของอสุจิ (Total motility) สูงที่สุด เมื่อเทียบกับสูตร Tris + egg yolk และ Tris + cow milk แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และค่าการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (Progressive motility) ของสูตร Tris + goat milk สูงกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ค่า (path velocity; VAP), (straight-line velocity; VSL), (straightness; STR), (curvilinear velocity; VCL), (linearity; LIN) และ (beat cross frequency; BCF) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ค่า (lateral head displacement; ALH) พบว่าสารละลายสูตร Tris + egg yolk มีค่าเฉลี่ยสูงกว่าสูตรที่ผสมนมโคและนมแพะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สรุปได้ว่าสารละลายสูตร Tris + goat milk สามารถคงคุณภาพและการเคลื่อนที่รวมของอสุจิแพะหลังการแช่แข็งได้ดีกว่าสูตรอื่น จึงเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการพัฒนาสารละลายเจือจาง เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของน้ำเชื้อแพะ

**คำสำคัญ:** นม สารละลายเจือจาง น้ำเชื้อแพะแช่แข็ง คุณภาพตัวอสุจิ

#### Abstract

This study aimed to determine the effect of different milk supplementation in semen extenders on the post-thaw motility of goat spermatozoa. Semen samples were collected from three Boer crossbred bucks. For semen collection, goat semen was collected once a week for six consecutive weeks, and each ejaculate was divided into three equal parts. Each part was diluted with one of three different Tris (hydroxymethyl) aminomethane-based extenders: Tris + egg yolk, Tris + goat milk, or Tris + cow milk. The diluted semen was cooled at 4 °C for 4 hours, then exposed to liquid nitrogen vapor at -121 °C for 13 minutes, after that it was plunged into liquid nitrogen at -196 °C for storage. After 24 hours of cryopreservation, frozen goat semen samples were then randomly selected from each male in each treatment group, with six samples per week, for a total of six collections. The post-thaw sperm quality was evaluated by using Computer Assisted Sperm Analysis

<sup>1</sup> สาขาสัตวศาสตร์และประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง จังหวัดลำปาง 52000

<sup>2</sup> สาขาสัตวศาสตร์ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

<sup>3</sup> สาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก จังหวัดชลบุรี 20110

<sup>4</sup> สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

<sup>1</sup> Department of Animal Science and Fisheries, Faculty of Sciences and Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Lampang 52000

<sup>2</sup> Department of Animal Science, Faculty of Animal Science and Technology, Maejo University, Chiang Mai 50290

<sup>3</sup> Department of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chon Buri 20110

<sup>4</sup> Department of Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290

\* Corresponding author: nittayathongtip33@gmail.com

(CASA) system to measure sperm motility parameters. The results revealed that the Tris + goat milk extender had the highest total motility ( $p < 0.01$ ) compared with Tris + egg yolk and Tris + cow milk. The progressive motility of spermatozoa in the Tris + goat milk group was higher ( $p < 0.05$ ) than the other treatments. No significant differences ( $p > 0.05$ ) were found in other motility parameters (path velocity; VAP), (straight-line velocity; VSL), (straightness; STR), (curvilinear velocity; VCL), (linearity; LIN) and (beat cross frequency; BCF). However, the amplitude of lateral head displacement (lateral head displacement; ALH) was higher ( $p < 0.05$ ) in the Tris + egg yolk extender than those containing cow or goat milk. In conclusion, the Tris + goat milk extender was more effective than other extenders in preserving the post-thaw total motility of goat spermatozoa. Therefore, goat milk is an alternative extender for efficiency of goat semen.

**Keywords:** milk, extender, frozen goat semen, sperm quality

## คำนำ

ประเทศไทยเริ่มมีการเลี้ยงแพะเพื่อการบริโภคและการพาณิชย์ตั้งแต่สมัยรัชกาลที่ 5 โดยมีการนำเข้าแพะเลี้ยงจากต่างประเทศ เช่น อินเดีย มาเลเซีย และอินโดนีเซีย เพื่อใช้เป็นอาหารและประกอบพิธีกรรมทางศาสนา ปัจจุบันการเลี้ยงแพะในประเทศไทยได้รับความนิยมมากขึ้น โดยเฉพาะในพื้นที่ภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งนี้เนื่องจากแพะเป็นสัตว์ที่เลี้ยงง่าย ใช้พื้นที่น้อย ทนทานต่อสภาพแวดล้อม และให้ผลตอบแทนเร็ว

จากรายงานสถิติของกรมปศุสัตว์ (Department of Livestock Development, 2023) ประเทศไทยมีจำนวนแพะรวมทั้งสิ้นกว่า 1.5 ล้านตัว ซึ่งเพิ่มขึ้นจากปีก่อนหน้า 2565 กว่า 8 % และมีเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะกว่า 98,000 ราย อย่างไรก็ตาม การปรับปรุงพันธุ์แพะเพื่อเพิ่มคุณภาพและปริมาณการผลิตยังประสบปัญหาหลายประการ เช่น การขาดแคลนพ่อพันธุ์ที่มีคุณภาพ การผสมพันธุ์ตามธรรมชาติที่ไม่สม่ำเสมอ และระยะเวลาการเป็นสัตว์ของสัตว์ที่แตกต่างกัน การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการสืบพันธุ์สมัยใหม่ เช่น การผสมเทียม จึงเป็นทางเลือกที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการพัฒนาสายพันธุ์แพะอย่างยั่งยืน

การผสมเทียม (Artificial Insemination; AI) เป็นกระบวนการนำอสุจิที่เก็บจากพ่อพันธุ์เข้าสู่ระบบสืบพันธุ์ของแม่พันธุ์ โดยไม่ต้องพึ่งการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงจากโรคติดต่อ เพิ่มอัตราการผสมติด และสามารถใช้อสุจิคุณภาพสูงได้อย่างคุ้มค่า การผสมเทียมในแพะสามารถทำได้ โดยใช้น้ำเชื้อสดและแช่แข็ง โดยเฉพาะน้ำเชื้อแช่แข็งเป็นน้ำเชื้อที่สามารถเก็บรักษาไว้ได้นานและสะดวกต่อการกระจายพันธุ์กรรม (Nakafeero et al., 2024)

อย่างไรก็ตาม ความสำเร็จของการแช่แข็งน้ำเชื้อขึ้นอยู่กับคุณภาพของตัวอสุจิหลังละลาย ซึ่งมักลดลงเนื่องจากความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์จากภาวะการลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว (cold shock) การเกิดอนุมูลอิสระ Reactive oxygen species (ROS) และผลจากสารเจือจางบางชนิด (Watson, 2000) เพื่อเพิ่มอัตราการรอดของตัวอสุจิหลังการแช่แข็ง จึงมีการใช้สารป้องกันการแช่แข็ง (Cryoprotectants) และน้ำยาเจือจาง (Extenders) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ ลดการรวมกลุ่มของตัวอสุจิ และคงสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

สารละลายเจือจางที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย เช่น Tris-egg yolk, skim milk หรือ citrate-based extenders มักมีส่วนประกอบของไข่แดง อย่างไรก็ตาม ในกรณีของแพะพบว่า seminal plasma มีเอนไซม์ phospholipase A ที่ทำปฏิกิริยากับไข่แดง ทำให้เกิด lysolecithins ซึ่งเป็นพิษต่ออสุจิเมื่อใช้ไข่แดงประมาณ 10-20 % (Sias et al., 2005) ดังนั้นการใช้ไข่แดงในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อของแพะจึงต้องแยก seminal plasma ออกก่อนการผสม ทำให้เกิดความยุ่งยากในการดำเนินการและอาจส่งผลให้อสุจิตายได้

เพื่อการรักษาความมีชีวิตของอสุจิโดยเฉพาะความแข็งแรงของเยื่อหุ้มเซลล์ให้คงไว้ซึ่งการทำงานให้มากที่สุด ดังนั้นขั้นตอนของการแช่แข็ง จึงเป็นหัวใจที่สำคัญ อย่างไรก็ตามจากอดีตจนถึงปัจจุบันได้มีการพัฒนาสูตรการทำสารละลายสำหรับทำน้ำเชื้อแช่แข็งมาโดยตลอด เพื่อเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของอสุจิ อัตราการเคลื่อนที่รายตัวภายหลังการแช่แข็งให้อยู่ในระดับสูง และการดูลักษณะพื้นผิวของตัวอสุจิ นักวิจัยจึงได้มีการพัฒนาสารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่ไม่ใช้ไข่แดง (egg yolk-free extenders) เป็นส่วนผสม โดยเลือกใช้น้ำนมจากสัตว์ เช่น นมโค นมแพะ หรือโปรตีนจากพืช มาเป็นส่วนประกอบหลัก นมแพะถือเป็นตัวเลือกที่น่าสนใจเนื่องจากมีองค์ประกอบใกล้เคียงกับไข่แดง อุดมด้วยกรดอะมิโน วิตามิน และแร่ธาตุที่จำเป็น มีขนาดอนุภาคไขมันเล็กและย่อยง่าย (Manjunath, 2012)

โดยนมแพะมีองค์ประกอบของ โปรตีนเคซีน (casein), กรดอะมิโน และ สารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติ สูงกว่าไข่แดงและนมโคบางส่วน ซึ่งมีส่วนช่วยลดการเกิดอนุมูลอิสระและการเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์สเปิร์มในกระบวนการแช่แข็ง (cryodamage) ได้ (Manjunath, 2012) โดยโปรตีนเคซีนในนมแพะมีคุณสมบัติพิเศษที่สามารถยับยั้งการจับตัวของโปรตีน

(Binder of Sperm Protein; BSP) ซึ่งเป็นโปรตีนที่สัมพันธ์กับการสูญเสียลิพิดจากเยื่อหุ้มเซลล์สุจิ ส่งผลให้โครงสร้างเยื่อหุ้มคงสภาพและความสามารถในการเคลื่อนที่หลังการแช่แข็ง (Aad, 2024)

ด้วยเหตุนี้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรสารละลายเจือจางน้ำเชื้อแพะแช่แข็ง โดยใช้นมเป็นองค์ประกอบ และศึกษาผลของน้ำนมแพะต่อคุณภาพตัวอสุจิหลังการแช่แข็ง เปรียบเทียบกับสูตรมาตรฐานที่มีไข่แดงและนมโค โดยศึกษาการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิหลังการแช่แข็ง

## วิธีการศึกษา

### สัตว์ทดลอง

ใช้แพะพ่อพันธุ์ลูกผสมบอร์ จำนวน 3 ตัว อายุเฉลี่ย 3 ปี ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยที่ 40 กิโลกรัม/ตัว โดยเลี้ยงแบบแยกคอกเดี่ยว มีรำน้ำและอาหารสำหรับสัตว์ทุกตัว สัตว์ทุกตัวทำการถ่ายพยาธิภายนอกและภายใน มีการตรวจโรคสำคัญเป็นประจำ สัตว์ได้รับอาหารผสมสำเร็จ TMR (Total Mixed Ration) เป็นอาหารหยาบและอาหารข้นมาผสมกันในอัตราส่วนที่เหมาะสม โปรตีนไม่น้อยกว่า 14-16 เปอร์เซ็นต์ โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง มีน้ำสะอาดและหญ้าแพงโกลาแห้งให้กินตลอดเวลา

### การอนุญาตวิจัยในสัตว์ (กรณีใช้สัตว์ทดลอง)

การทดลองนี้ได้รับอนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ ตามเอกสารอนุญาตเลขที่ (U1-067182560) และรหัสใบรับรองจริยธรรมในสัตว์อนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ RMUTL-IACUC 014/2024

### การรีดเก็บน้ำเชื้อแพะ

เนื่องจากสัตว์แต่ละตัวมีลักษณะทางสรีรวิทยาและคุณภาพอสุจิที่แตกต่างกันตามธรรมชาติ การกำหนดให้สัตว์เป็นบล็อกจึงช่วยลดความแปรปรวนที่ไม่เกี่ยวกับกลุ่มการทดลอง ทำให้สามารถเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสูตรสารละลายเจือจางน้ำเชื้อได้อย่างแม่นยำยิ่งขึ้น กำหนดให้แพะพ่อพันธุ์แต่ละตัวเป็นบล็อก รวมจำนวน 3 บล็อก โดยเก็บน้ำเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวม 6 สัปดาห์ หรือ 6 ขั้ว ขั้นตอนการรีดเก็บน้ำเชื้อทำแบบใกล้เคียงธรรมชาติ ใช้ช่องคลอดเทียม (Artificial Vagina; AV) ในการเก็บน้ำเชื้อทำการเก็บน้ำเชื้อแพะสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกัน 6 สัปดาห์ น้ำเชื้อสดที่รีดได้ต้องมีคุณภาพดี มีการเคลื่อนไหววรัญหุมน้อยกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าไม่น้อยกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป (Nunes and Salgueiro, 2011)

การเตรียมตัวล่อ ใช้แพะตัวเมียที่เป็นสัด เพื่อช่วยกระตุ้นความกำหนดของแพะพ่อพันธุ์ และการเตรียมคอกรีดหรือบริเวณรีดน้ำเชื้อจะต้องโล่ง พื้นเรียบไม่ลื่น เหยียบสงบไม่มีสิ่งรบกวน

การเตรียมแพะพ่อพันธุ์ โดยทำความสะอาดและตัดขนบริเวณรอบๆ หนึ่งหุ้มลิงค์ให้สั้น

การเตรียมช่องคลอดเทียม (Artificial Vagina; AV) ก่อนและหลังการใช้งานจะต้องล้างทำความสะอาดช่องคลอดเทียมและอุปกรณ์ประกอบต่างๆ เช่น กรวยยาง หลอดรับน้ำเชื้อ ให้ปราศจากเชื้อ เก็บไว้ในตู้แห้งและสะอาด เตรียมช่องคลอดเทียม ให้เพียงพอกับจำนวนแพะพ่อพันธุ์ที่จะรีดในแต่ละครั้ง เมื่อจะรีดน้ำเชื้อให้ประกอบช่องคลอดเทียม สวมด้วยกรวยยาง และหลอดเก็บน้ำเชื้อคลุมด้วยถุงหรือหนังหุ้มเพื่อป้องกันการกระแทกและกันแสง เติมน้ำอุ่นอุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ในช่องคลอดเทียม ให้เต็ม ปิดจุกให้แน่นและอัดอากาศเข้าไปให้ยางในช่องคลอดเทียมตึงพอประมาณและหล่อลื่นช่องคลอดเทียมโดยใช้สารหล่อลื่น (K-Y Jelly®)

เมื่อพ่อพันธุ์ขึ้นทับตัวล่อ ใช้มือจับบริเวณปลายถุงหุ้มลิงค์ เบี่ยงลิงค์ออกมาสวมเข้ากับช่องคลอดเทียม ที่เตรียมไว้จนกระทั่งพ่อพันธุ์กระแทกช่องคลอดเทียม และกลับลงมายืนในท่าปกติ ส้ารวจดูน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้ ถอดหลอดรองรับน้ำเชื้อหุ้มด้วยภาชนะทึบแสง นำส่งห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อสด ได้แก่ สี ปริมาตร ความหนาแน่น รวมถึงความเข้มข้นของน้ำเชื้อ เพื่อประเมินคุณภาพตามมาตรฐานน้ำเชื้อสดที่ใช้ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง (Department of Livestock Development, 2013) ก่อนจะนำน้ำเชื้อที่รีดได้ไปผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง จำเป็นต้องตรวจประเมินคุณภาพก่อน ในระหว่างการตรวจให้บ่มน้ำเชื้อในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส จากนั้นนำน้ำเชื้อสดที่รีดได้แต่ละตัว แบ่งออกเป็น 3 ส่วนเท่า ๆ กันไปเจือจางด้วยสารละลายสูตรต่างๆ โดยมีส่วนประกอบของทั้ง 3 สูตร ดัง Table 1

**การเจือจางน้ำเชื้อ** นำน้ำเชื้อสดที่รีดได้ในแต่ละตัว แบ่งออกเป็น 3 ส่วนเท่า ๆ กัน

ส่วนที่ 1 (T1) เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งสูตรพื้นฐาน Tris + egg Yolk

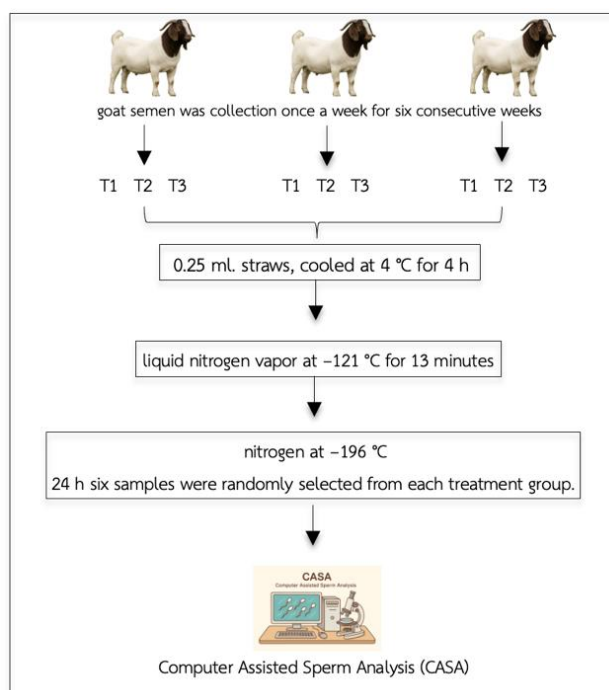
ส่วนที่ 2 (T2) เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งสูตร Tris + cow milk

ส่วนที่ 3 (T3) เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งสูตร Tris + goat milk

**Table 1** The semen extender formula consists of the following components.

| item                                    | Amount / Concentration |       |                  |       |                  |       |
|-----------------------------------------|------------------------|-------|------------------|-------|------------------|-------|
|                                         | Treatment 1 (T1)       |       | Treatment 2 (T2) |       | Treatment 3 (T3) |       |
| Tris (hydroxymethyl aminomethane)       | 3.63                   | g.    | 3.63             | g.    | 3.63             | g.    |
| Citric acid                             | 1.99                   | g.    | 1.99             | g.    | 1.99             | g.    |
| Fructose                                | 0.5                    | g.    | 0.5              | g.    | 0.5              | g.    |
| Glycerol                                | 7 %                    | (v/v) | 7 %              | (v/v) | 7 %              | (v/v) |
| Egg yolk                                | 20 %                   | (v/v) | -                |       | -                |       |
| cow milk                                | -                      |       | 20 %             | (v/v) | -                |       |
| goat milk                               | -                      |       | -                |       | 20 %             | (v/v) |
| Antibiotics (Penicillin + Streptomycin) | 1,000 IU/ml.           |       | 1,000 IU/ml.     |       | 1,000 IU/ml.     |       |
| Sterile distilled water                 | Up to 100 ml.          |       | Up to 100 ml.    |       | Up to 100 ml.    |       |

นำน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารละลายเจือจางน้ำเชื้อทั้ง 3 สูตร ซึ่งสารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่ใช้ มีส่วนผสมคือ Tris (hydroxymethyl aminomethane) และส่วนผสมด้วยน้ำนมโคและน้ำนมแพะที่ใช้ในรูปแบบนมสด บรรจุใส่หลอดน้ำเชื้อขนาด 0.25 มิลลิลิตร โดยกำหนดความเข้มข้นสุดท้ายที่  $20 - 30 \times 10^6$ /มิลลิลิตร นำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวางบนแท่นเรียงหลอดน้ำเชื้อ ซึ่งบรรจุอยู่ในกล่องอะลูมิเนียม โดยมีแท่นโลหะที่ทนต่ออุณหภูมิติดลบให้สูงกว่าพื้นกล่องและสามารถเติมไนโตรเจนเหลวให้มีความสูงประมาณ 5 - 10 เซนติเมตร ปิดฝากล่อง 1 - 2 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในกล่องสม่ำเสมอ โดยสังเกตจากไอน์โตรเจนจะไม่ฟุ้งกระจาย จากนั้นนำหลอดน้ำเชื้อเรียงไว้อย่างสม่ำเสมอ วางลงบนแท่นให้ระดับของหลอดบรรจุน้ำเชื้อสูงจากระดับไนโตรเจนเหลวประมาณ 3 - 4 เซนติเมตร หรือที่อุณหภูมิ -121 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 13 นาที จากนั้นรวบหลอดน้ำเชื้อแช่แข็งบนแท่นเรียงหลอดน้ำเชื้อ นำน้ำเชื้อที่บรรจุในหลอดไปแช่ในกระบอกไนโตรเจนเหลวที่มีอุณหภูมิ -196 องศาเซลเซียสอย่างรวดเร็ว หลังจากแช่แข็งเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ โดยใช้เครื่องวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อด้วยระบบคอมพิวเตอร์ (CASA) ดังแสดงใน Figure 1

**Figure 1** Experimental procedure for evaluating the effect of goat milk supplementation in semen extender on post-thaw goat sperm motility

### การตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็ง 24 ชั่วโมง

การทดลองใช้แผนการทดลองแบบ (RCBD) โดยกำหนดให้ แพะพ่อพันธุ์แต่ละตัวเป็นบล็อก รวมจำนวน 3 บล็อก และมี 3 กลุ่มทดลอง คือ Tris + egg yolk, Tris + cow milk และ Tris + goat milk โดยเก็บน้ำเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง รวม 6 สัปดาห์ เมื่อแช่แข็งน้ำเชื้อแพะครบ 24 ชั่วโมง ภายในแต่ละบล็อกทำการสุมน้ำเชื้อแช่แข็งจากแพะแต่ละตัวของแต่ละกลุ่มทดลอง ๆ ละ 6 ตัวอย่าง/สัปดาห์ รวมทั้งหมด 6 ครั้ง นำมาประเมินคุณภาพภายหลังละลาย เพื่อวิเคราะห์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ตามวิธีการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อของ Solis et al. (2024) และ Galián et al. (2023) โดยทำการอุ่นละลายน้ำเชื้อ (thawing) ในน้ำอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที และทำการตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ ตรวจสอบการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ด้วยเครื่องวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อคอมพิวเตอร์ (Computer assisted sperm analysis; CASA) โดยโปรแกรม HT CASA II Goat version 1.12 เพื่อหาตัวชี้วัดดังนี้

1. อัตราการเคลื่อนที่ทั้งหมดของตัวอสุจิ (total motility)
2. อัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิแบบตรงไปข้างหน้า (progressive motility)
3. ความเร็วเฉลี่ยในการเดินทางของตัวอสุจิแบบราบเรียบ (path velocity; VAP)
4. ความเร็วเฉลี่ยในการเดินทางของตัวอสุจิที่วัดได้จากเส้นทางตรงจากจุดเริ่มต้นไปถึงจุดสิ้นสุด (straight-line velocity; VSL)
5. ความเร็วเฉลี่ยที่วัดได้จากการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าของตัวอสุจิ (curvilinear velocity; VCL)
6. ค่าเฉลี่ยอัตราความเร็วของตัวอสุจิที่วัดได้จากความเร็วเฉลี่ยเป็นเส้นตรงหารด้วยความเร็วเฉลี่ยที่วัดได้จากการเดินทางของตัวอสุจิแบบราบเรียบ (straightness; STR)
7. ความเร็วเฉลี่ยที่วัดได้จากการเคลื่อนที่แบบตรงไปข้างหน้าของตัวอสุจิหารด้วยความเร็วเฉลี่ยที่วัดได้จากการเดินทางของตัวอสุจิแบบราบเรียบ (linearity; LIN)
8. ความกว้างเฉลี่ยของส่วนหัวอสุจิที่แกว่งขณะมีการเคลื่อนที่ (lateral head displacement; ALH)
9. ความถี่เฉลี่ยในการขยับหัวของอสุจิระหว่างเส้นทางในทิศทางใดทางหนึ่ง (beat cross frequency; BCF)

### การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบ สุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design; RCBD) โดยกำหนดให้ แพะพ่อพันธุ์แต่ละตัวเป็นบล็อก (block) เนื่องจากแพะแต่ละตัวมีคุณภาพน้ำเชื้อแตกต่างกันโดยธรรมชาติ ซึ่งอาจส่งผลต่อค่าตัวชี้วัดต่าง ๆ ในการประเมินหลังการแช่แข็ง เพื่อควบคุมความแปรปรวนที่เกิดจากความแตกต่างระหว่างตัวสัตว์ภายในบล็อก จึงสุมน้ำเชื้อแช่แข็งแต่ละกลุ่ม ๆ ละ 6 ตัวอย่าง/ครั้ง ทั้งหมด 6 ครั้ง ข้อมูลทั้งหมดของตัวชี้วัดต่าง ๆ ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละกลุ่มการทดลอง โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ผลสำเร็จรูป (Statistics Package for the Science: SPSS 16.0 For Windows) ลิขสิทธิ์ สำนักหอสมุดมหาวิทยาลัยแม่โจ้

### ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อสดเบื้องต้นของแพะที่ใช้ในการศึกษานี้ พบว่ามีปริมาณน้ำเชื้อเฉลี่ย  $1.12 \pm 0.95$  มล./ครั้ง น้ำเชื้อสีครีม ความหนาแน่น (D-4D) เท่ากับ 4D (ชั้น) มีความหนืด (C-5C) เท่ากับ 4C (คล้ายนม) มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ยเท่ากับ  $6.73 \pm 0.14$  ค่าความเข้มข้น  $18,144 \pm 1,593.10 \times 10^6$ /มล. มีการเคลื่อนไหวหมู่ ++++ หรือ  $95.5 \pm 0.18$  % ซึ่งน้ำเชื้อสดที่รีดเก็บได้นั้นมีลักษณะที่ดี อยู่ในเกณฑ์ที่สามารถนำมาผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งได้ มีคุณสมบัติอยู่ในเกณฑ์ปกติ ปริมาณของน้ำเชื้อ 1-2 มิลลิลิตร/ครั้ง (Department of Livestock Development, 2013) มีการเคลื่อนไหวหมู่ไม่น้อยกว่า ++++ หรือ 80 เปอร์เซ็นต์ และอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้ามากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป เมื่อนำไปทำน้ำเชื้อแช่แข็งโดยใช้วิธีการของ Nunes and Salgueiro (2011) และทำการวัดค่าออสโมติกของสารเจือจางน้ำเชื้อทั้ง 3 สูตร พบว่ามีค่า Osmolarity ของ Tris-egg Yolk ที่ 1671 (mOsmol/kg), Tris + cow milk มีค่า 1754 (mOsmol/kg) และ Tris + goat milk มีค่า 1783 (mOsmol/kg) ดังแสดงใน Table 2

ผลของการใช้สารละลายเจือจางน้ำเชื้อทั้ง 3 สูตร Tris + egg Yolk, Tris + cow milk และ Tris + goat milk ที่มีต่ออัตราการเคลื่อนที่ทั้งหมดของตัวอสุจิ และคุณภาพของน้ำเชื้อหลังจากการอุ่นละลายน้ำเชื้อได้แสดงไว้ใน Table 3 จากค่าการเคลื่อนที่ของอสุจิทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง พบว่า สารเจือจางสูตร Tris + goat milk ให้ค่าการเคลื่อนที่รวมของอสุจิ (Total motility)

สูงที่สุด ( $77.52 \pm 3.02$  %) เมื่อเทียบกับสูตร Tris + egg yolk และ Tris + cow milk โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ ค่าการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (Progressive motility) ของสูตร Tris + goat milk สูงกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งสารเจือจางสูตรนี้สามารถคงสภาพการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิหลังการแช่แข็งได้ดีกว่าสูตรอื่น ๆ อาจเป็นเพราะส่วนประกอบของนมแพะมีศักยภาพในการคงสภาพการเคลื่อนไหวของอสุจิแพะหลังการแช่แข็งได้ดีกว่า ทั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Dorado et al. (2007) ที่พบว่าการใช้สารละลายเจือจางน้ำเชื้อสูตร Tris-glucose และ skim milk สำหรับการแช่แข็งน้ำเชื้อแพะ ตัวอสุจิมีการเคลื่อนที่หลังละลายน้ำแข็งในระดับสูง ซึ่งกลุ่มสารเจือจางที่มีน้ำนมเป็นองค์ประกอบมีการเคลื่อนที่ของอสุจิได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่อมีการปรับสมดุลองค์ประกอบอื่น ๆ ในสูตรอย่างเหมาะสม

**Table 2** The result of macroscopic and microscopic quality of fresh semen

| Parameter                     | Fresh semen quality (Mean $\pm$ SD) |
|-------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Macroscopic</b>            |                                     |
| Volume (ml)                   | 1.12 $\pm$ 0.95                     |
| Color                         | Cream                               |
| Density (D-4D)                | Creamy-grainy                       |
| Consistency (C-5C)            | Milky                               |
| pH                            | 6.73 $\pm$ 0.14                     |
| <b>Microscopic</b>            |                                     |
| Concentration ( $10^6$ /ml)   | 18,144 $\pm$ 1,593.10               |
| Mass movement (%)             | 95.5 $\pm$ 0.18                     |
| Motility (%)                  | 86.27 $\pm$ 0.34                    |
| <b>Osmolarity (mOsmol/kg)</b> |                                     |
| Tris-egg Yolk                 | 1671                                |
| Tris + cow milk               | 1754                                |
| Tris + goat milk              | 1783                                |

**Table 3** Effects of frozen goat semen diluent Tris + cow milk Tris + goat milk extender and Tris + egg yolk extender formula on sperm motility quality after freezing.

| Variable                 | Treatment                     |                               |                               | P value |
|--------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------|
|                          | Tris + egg Yolk               | Tris + cow milk               | Tris + goat milk              |         |
| Total motility (%)       | 63.25 $\pm$ 3.27 <sup>c</sup> | 66.32 $\pm$ 3.21 <sup>b</sup> | 77.52 $\pm$ 3.02 <sup>a</sup> | 0.004   |
| Progressive motility (%) | 55.75 $\pm$ 3.18 <sup>c</sup> | 57.12 $\pm$ 3.31 <sup>b</sup> | 60.63 $\pm$ 3.15 <sup>a</sup> | 0.009   |
| VAP ( $\mu$ m/sec)       | 73.21 $\pm$ 2.01              | 73.33 $\pm$ 2.05              | 73.86 $\pm$ 2.03              | 0.054   |
| VSL ( $\mu$ m/sec)       | 55.74 $\pm$ 4.34              | 55.35 $\pm$ 4.02              | 55.91 $\pm$ 4.26              | 0.201   |
| VCL ( $\mu$ m/sec)       | 120.04 $\pm$ 7.42             | 120.10 $\pm$ 7.15             | 120.08 $\pm$ 7.38             | 0.311   |
| STR (%)                  | 71.50 $\pm$ 6.20              | 72.82 $\pm$ 6.14              | 72.36 $\pm$ 6.09              | 0.099   |
| LIN (%)                  | 47.19 $\pm$ 3.01              | 46.48 $\pm$ 3.03              | 46.48 $\pm$ 3.12              | 0.121   |
| ALH ( $\mu$ m)           | 7.92 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>  | 7.47 $\pm$ 0.24 <sup>b</sup>  | 7.45 $\pm$ 0.22 <sup>b</sup>  | 0.037   |
| BCF (Hz)                 | 25.32 $\pm$ 1.36              | 25.81 $\pm$ 1.06              | 25.74 $\pm$ 1.12              | 0.202   |

a, b, c Means in the same row with different letters are statistically significantly different ( $p < 0.05$ )

เนื่องจากแพะแต่ละตัวมีคุณลักษณะด้านคุณภาพน้ำเชื้อแตกต่างกันตามธรรมชาติ เช่น ปริมาณน้ำเชื้อ ความเข้มข้น การเคลื่อนที่ และค่าการแกว่งส่วนหัว (lateral head displacement; ALH) จึงกำหนดให้แพะแต่ละตัวเป็นบล็อกในแผนการทดลอง RCBD เพื่อควบคุมความแปรปรวนที่เกิดจากความแตกต่างเฉพาะตัวของสัตว์ จากผลการวิเคราะห์ ANOVA พบว่าบล็อกมีผลต่อค่าพารามิเตอร์ ALH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งแพะพ่อพันธุ์แต่ละตัวให้รูปแบบการเคลื่อนที่บางส่วนแตกต่างกัน แต่ผลของบล็อกได้ถูกควบคุมภายในแผนการทดลองของ RCBD ทำให้สูตรสารละลายเจือจางน้ำเชื้อแต่ละกลุ่มมีผลทดลองอย่างถูกต้อง โดยไม่ถูกรบกวนจากความแตกต่างระหว่างสัตว์ โดยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ค่า VAP, VSL, VCL, STR, LIN และ BCF ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) แสดงว่าทั้ง 3 สูตร มีลักษณะการเคลื่อนที่ของอสุจิที่ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตาม ค่าความกว้างเฉลี่ยของส่วนหัวอสุจิที่แกว่งขณะมีการเคลื่อนที่ (lateral head displacement; ALH) พบว่าสูตร Tris + egg yolk มีค่าเฉลี่ยสูงกว่าสูตรที่ผสมนมโคและนมแพะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งอาจสัมพันธ์กับลักษณะการว่ายน้ำแบบ “แกว่ง” ของอสุจิในสารเจือจางที่มีไข่แดงมากกว่า โดยอสุจิในสูตรดังกล่าวมีการเคลื่อนไหวในลักษณะกว้างแต่ไม่เป็นทิศทาง จึงทำให้ค่าการเคลื่อนที่รวมต่ำกว่าสูตรที่มีนมเป็นองค์ประกอบหลัก

นอกจากนี้ (Alm-Kristiansen, 2023) ได้พบว่าอสุจิโคมีค่า ALH เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญหลังการแช่แข็ง ซึ่งกระบวนการแช่แข็งสามารถทำให้การเคลื่อนไหวของอสุจิ “สูญเสียทิศทาง” และมีการแกว่งของส่วนหัวมากขึ้น เช่นเดียวกับผลที่พบในสูตรไข่แดงของการทดลองนี้ ซึ่งสอดคล้องกับผลของค่า ALH ของสูตรที่มีไข่แดงสูงกว่าสูตรที่มีนมเป็นองค์ประกอบ อาจมาจากความไวของอสุจิต่อองค์ประกอบฟอสโฟลิพิดและไลโปโปรตีนในไข่แดงที่มีผลต่อเยื่อหุ้มขณะผ่านกระบวนการแช่แข็ง

Zhang et al. (2024) มีการศึกษาเกี่ยวกับความเข้มข้นของไข่แดงในสารเจือจางมีผลต่อค่าพารามิเตอร์ ALH โดยพบว่าสัดส่วนไข่แดงบางระดับทำให้ ALH เพิ่มขึ้น แม้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในทุกกรณี แต่ผลการทดลองดังกล่าวชี้ว่าการเพิ่มของ ALH สามารถเกิดได้จากการปฏิสัมพันธ์ระหว่างไข่แดงและเยื่อหุ้มอสุจิ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของสูตร Tris + egg yolk ทำให้อสุจิมี ALH สูง โดยมีการเคลื่อนที่ “แกว่งกว้าง ไม่เป็นทิศทาง” มากกว่า ส่งผลให้ประสิทธิภาพการเคลื่อนที่โดยรวมลดลง เมื่อเทียบกับสูตรที่มีนมโคและนมแพะเป็นองค์ประกอบหลักที่ช่วยรักษาโครงสร้างเยื่อหุ้มให้เสถียรมากกว่า

ผลการศึกษาสอดคล้องกับ (Manjunath, 2012) การใช้นมเป็นองค์ประกอบในสารเจือจางน้ำเชื้อ ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางในสัตว์เศรษฐกิจหลายชนิด เช่น โค แกะ และแพะ โดยโปรตีนเคซีนในนมสามารถจับกับโปรตีนในพลาสมาน้ำเชื้อ (BSP proteins) ช่วยลดการสูญเสียไขมันจากเยื่อหุ้มอสุจิ และป้องกันความเสียหายที่เกิดจากการลดอุณหภูมิและการแช่แข็ง (Bergeron et al., 2004) ขณะเดียวกันโปรตีนเคซีนและไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (Low-Density Lipoprotein; LDL) ยังมีบทบาทสำคัญในการคงสภาพเยื่อหุ้มอสุจิและเพิ่มคุณภาพอสุจิหลังการละลายน้ำแข็ง รวมทั้งมีสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านจุลชีพ (Farah, 1993) ที่อาจช่วยลดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างการเก็บรักษา การใช้นมแพะในงานวิจัยนี้อาจให้ผลดีกว่านมโคเนื่องจากไขมันในนมแพะมีเม็ดเล็กง่ายขึ้น มีวิตามินและกรดไขมันสายสั้นที่ดูดซึมได้รวดเร็ว จึงอาจมีประสิทธิภาพสูงในการคงสภาพของอสุจิระหว่างกระบวนการแช่แข็งและละลายน้ำแข็ง

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าสูตร Tris + goat milk ให้อัตราการเคลื่อนที่ทั้งหมดของตัวอสุจิและการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของตัวอสุจิสูงกว่า Tris + cow milk อาจเกิดจากความแตกต่างในองค์ประกอบทางชีวเคมีของนมแพะและนมโค ทั้งในส่วนโครงสร้างเคซีน และปริมาณไขมันชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อเยื่อหุ้มตัวอสุจิ ซึ่งควรมีการศึกษาถึงกลไกเชิงโมเลกุลเพื่อยืนยันสมมติฐานนี้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Raji et al. (2022) การเปรียบเทียบ whole milk และ skim milk ของโค ในน้ำเชื้อแพะสายพันธุ์ West African Dwarf พบว่า skim milk มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ และไม่เหมาะสมในการใช้เป็นสารเจือจางสำหรับแพะ ในขณะที่ whole milk ให้ผลดีกว่าในด้านการเคลื่อนที่ และควรมีชีวิตของอสุจิ

นอกจากนี้ องค์ประกอบของฟอสโฟลิพิดในน้ำนมแพะ ยังมีความใกล้เคียงกับเยื่อหุ้มเซลล์สเปิร์มของแพะ ซึ่งช่วยให้สามารถคงความยืดหยุ่นของเยื่อหุ้มเซลล์และป้องกันการรั่วซึมของสารภายในเซลล์ได้ดีกว่า (Manjunath, 2012) การคงสมบัติเยื่อหุ้มนี้เป็นกลไกสำคัญที่ช่วยให้ตัวอสุจิทนต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและแรงดันออสโมติกระหว่างการแช่แข็งและละลายน้ำแข็ง ซึ่งสัมพันธ์กับอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิที่สูงขึ้นในสูตร Tris + goat milk

อย่างไรก็ตาม ในนมแพะมีส่วนประกอบเชิงชีวเคมีที่เหมาะสมกว่าในการปกป้องเซลล์สเปิร์มจากความเสียหายระหว่างกระบวนการแช่แข็ง โดยเฉพาะโปรตีนเคซีนและฟอสโฟลิพิดที่ช่วยคงความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้การเคลื่อนที่ของอสุจิหลังแช่แข็งมีประสิทธิภาพสูงกว่าเมื่อเทียบกับนมโคและไข่แดง

### สรุปผลการศึกษา

สารเจือจางสูตร Tris + goat milk ส่งผลให้ตัวสุจิมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่สูงกว่าสูตร Tris-egg Yolk และ Tris + cow milk อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า ค่า VAP, VSL, VCL, STR, LIN และ BCF ได้ผลไม่แตกต่างกัน ส่วนค่า ALH พบว่าสูตร Tris-egg yolk มีค่าเฉลี่ยสูงกว่าสูตรที่ผสมนมโคและนมแพะ ซึ่งสูตร Tris + goat milk ให้คุณภาพน้ำเชื้อแพะหลังแช่แข็งดีที่สุด จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกสำหรับพัฒนาสารเจือจางน้ำเชื้อแพะ เพื่อยกระดับประสิทธิภาพการผสมเทียมในอนาคต

### ผลประโยชน์ทับซ้อน

ผู้เขียนขอรับรองว่าบทความนี้ไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อน

### กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณงบประมาณด้าน กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กองทุน ววน.) ประเภท Fundamental Fund ประจำปีงบประมาณ 2568 กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง ขอบคุนสาขาสัตวศาสตร์และประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ และอาชนย์ฟาร์มแพะ จังหวัดเชียงราย ที่ให้ความร่วมมือและสนับสนุนสัตว์ทดลองในโครงการนี้เป็นอย่างดี

### การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความของผู้เขียน

ความคิดริเริ่ม สมมติฐาน: นิตยา ทองทิพย์, วิวัฒน์ พัฒนาวงค์, วาที คงบรรทัด. การปฏิบัติการวิจัย: นิตยา ทองทิพย์, ปิยมาษฐ์ ตันต์เจริญรัตน์, ผกาสิณี ขาวแดง, วิวัฒน์ พัฒนาวงค์, เยาวลักษณ์ หวังสุข, พัชรี พรหมตัน, วาที คงบรรทัด. การมีส่วนร่วมในการออกแบบการทดลอง: นิตยา ทองทิพย์, วิวัฒน์ พัฒนาวงค์, วาที คงบรรทัด. การเก็บข้อมูล: นิตยา ทองทิพย์, ปิยมาษฐ์ ตันต์เจริญรัตน์, ผกาสิณี ขาวแดง, วิวัฒน์ พัฒนาวงค์, เยาวลักษณ์ หวังสุข, พัชรี พรหมตัน. การวิเคราะห์ข้อมูล: นิตยา ทองทิพย์, ปิยมาษฐ์ ตันต์เจริญรัตน์, วาที คงบรรทัด. การแปลผลและวิจารณ์ผล การเปรียบเทียบงานวิจัยก่อนหน้าและจากการทดลองในครั้งนี้: นิตยา ทองทิพย์, ปิยมาษฐ์ ตันต์เจริญรัตน์, วิวัฒน์ พัฒนาวงค์, วาที คงบรรทัด. การมีส่วนร่วมในการเขียนบทความ: นิตยา ทองทิพย์, ปิยมาษฐ์ ตันต์เจริญรัตน์, ผกาสิณี ขาวแดง.

### เอกสารอ้างอิง

- Aad, R., Dragojlov, I., & Vesentini, S. (2024). Sericin protein: structure, properties, and applications. *Journal of Functional Biomaterials*, 15(11), 322. <https://doi.org/10.3390/jfb15110322>.
- Alm-Kristiansen, A. H. (2023). Motility subpopulations with distinct motility characteristics using swim-up-selected sperm cells from Norwegian red bulls: Effects of freezing–thawing and between-bull variation. *Biology*, 12(8), 1086. <https://doi.org/10.3390/biology12081086>.
- Bergeron, A., Crete, M. H., Brindle, Y., & Manjunath, P. (2004). Low-density lipoprotein fraction from hen's egg yolk decreases the binding of the major proteins of bovine seminal plasma to sperm and prevents lipid efflux from the sperm membrane. *Biology of Reproduction*, 70(3), 708–717. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.103.022996>.
- Department of Livestock Development. (2013). *Production of Frozen Goat Semen 2013*. Department of Livestock Development. Retrieved from: [https://biotech.dld.go.th/files/manual/14\\_semengoat.pdf](https://biotech.dld.go.th/files/manual/14_semengoat.pdf). (in Thai).
- Department of Livestock Development. (2023). *Statistics of Livestock in Thailand 2023*. Department of Livestock Development. Retrieved from: <https://certify2.dld.go.th/livestock-in-thailand-2023>. (in Thai).
- Dorado, J., Rodríguez, I., & Hidalgo, M. (2007). Cryopreservation of goat spermatozoa: Comparison of two freezing extenders based on post-thaw sperm quality and fertility rates after artificial insemination. *Theriogenology*, 68(2), 168–177. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2007.04.048>.
- Farah, Z. (1993). Composition and characteristics of camel milk. *Journal of Dairy Research*, 60(4), 603–626. <https://doi.org/10.1017/S0022029900027953>.
- Galián, S., Peinado, B., Almela, L., Poto, A., & Ruiz, S. (2023). Post-thaw quality of spermatozoa frozen with three different extenders in the Murciano Granadina goat breed. *Animals*, 13(2), 309. <https://doi.org/10.3390/ani13020309>.

- Manjunath, P. (2012). New insights into the understanding of the mechanism of sperm protection by extender components. **Animal Reproduction**, 9(4), 809–815. <https://www.animal-reproduction.org/article/5b5a6053f7783717068b46cc/pdf/animreprod-9-4-809.pdf>.
- Nakafeero, A., Gonzalez-Bulnes, A., & Martinez-Ros, P. (2024). Use of short-term CIDR-based protocols for oestrus synchronisation in goats at tropical and subtropical latitudes. **Animals**, 14(11), 1560. <https://doi.org/10.3390/ani14111560>.
- Nunes, J. F., & Salgueiro, C. C. M. (2011). Strategies to improve reproductive efficiency of goats in Brazil. **Small Ruminant Research**, 98(1-3), 176-184. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.03.036>.
- Raji, L. O., Raheem, K. A., Jimoh, A. A., Ashaolu, T. O., Murtala, R. O., Aladodo, R. A., Yusuf, I., & Sanusi, F. (2022). Evaluation of whole and skimmed cow milk extenders on West African Dwarf goat semen. **Journal of Sustainable Veterinary & Allied Sciences**, 3(2), 90-95. <http://doi.org/10.54328/covm.josvas.2022.087>.
- Sias, B., Ferrato, F., Pellicer-Rubio, M. T., Forgerit, Y., Guillouet, P., Leboeuf, B., & Carrière, F. (2005). Cloning and seasonal secretion of the pancreatic lipase-related protein 2 present in goat seminal plasma. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids**, 1686(3), 169–180. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2004.09.008>.
- Solís, J. M., Sevilla, F., Silvestre, M. A., Araya-Zúñiga, I., Roldan, E. R., Saborío-Montero, A., & Valverde, A. (2024). Effect of thawing procedure and thermo-resistance test on sperm motility and kinematics patterns in two bovine breeds. **Animals**, 14(19), 2768. <https://doi.org/10.3390/ani14192768>.
- Watson, P. F. (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. **Animal Reproduction Science**, 60–61(1), 481–492. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00099-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00099-3).
- Zhang, L., Jiang, C., Wang, X., Sohail, T., Sun, Y., Sun, X., Wang, J., & Li, Y. (2024). Freezing Hu ram semen: Influence of different penetrating cryoprotectants and egg yolk level on the post-thaw quality of sperm. **Animal Bioscience**, 37(9), 1548-1557. <https://doi.org/10.5713/ab.24.0167>.