



<https://li01.tci-thaijo.org/index.php/pajrmu/index>

บทความวิจัย

การพัฒนาน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อไก่อพื้นเมือง เพื่ออนุรักษ์และพัฒนาสายพันธุ์ไก่อพื้นเมืองไทย

ทิพย์สุดา บุญมาทัน^{1*} นพรัตน์ ผกาเขต¹ ธนิตพันธ์ พงษ์จงมิตร¹ ณัฐวัฒน์ ตันพล¹ และ สมร พรชื่นชวงค์²

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ อำเภอเมืองกาฬสินธุ์ จังหวัดกาฬสินธุ์ ประเทศไทย 46000

²สาขาวิชาเทคโนโลยีและนวัตกรรมทางสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย 30000

ข้อมูลบทความ	บทคัดย่อ
Article history รับ: 20 มิถุนายน 2567 แก้ไข: 6 สิงหาคม 2567 ตอบรับการตีพิมพ์: 20 กันยายน 2567 ตีพิมพ์ออนไลน์: 30 กันยายน 2567 คำสำคัญ น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ ไก่อพื้นเมือง	การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของน้ำยาเจือจาง KSU diluent (น้ำยาเจือจางที่พัฒนาขึ้น) BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม (NaCl 0.90 %) ต่อคุณภาพน้ำเชื้อไก่อพื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่ระยะเวลา 1-4 วัน พบว่าคุณภาพน้ำเชื้อสดของไก่อพื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวมีปริมาณน้ำเชื้อ 0.39 ± 0.04 มล./ตัว ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ $2.28 \pm 0.13 \times 10^9$ ตัว/มล. ค่า pH 7.38 ± 0.02 ค่าออสโมลาลิตี 324 ± 2.65 mOsm/kg อัตราการเคลื่อนที่ 91.67 ± 14.43 % และอัตราการมีชีวิต 96.00 ± 1.00 % ผลของน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุมต่อคุณภาพน้ำเชื้อไก่อพื้นเมือง พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น การใช้น้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE และ Lake's diluent ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า ลักษณะการเคลื่อนที่ (average path velocity (VAP) curvilinear velocity (VCL) และ straight line velocity (VSL)) อัตราการมีชีวิต อัตราการผสมติด และอัตราการฟักลดลง ($P < 0.05$) โดยน้ำยาเจือจาง KSU diluent ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า และลักษณะการเคลื่อนที่ (VAP VCL และ VSL) ลดลงในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา ($P < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 และ 2 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง KSU diluent ให้ผลอัตราการผสมติดสูงไม่แตกต่างจาก BPSE และ Lake's diluent ($P > 0.05$) โดยน้ำยาเจือจาง KSU diluent ให้ผลอัตราการผสมติดสูงที่สุด (57.51 ± 11.54 %) เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 3 วัน ($P < 0.05$) นอกจากนี้ น้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE และ Lake's diluent ให้ผลอัตราการฟักไม่แตกต่างกันในทุกระยะเวลาของการเก็บรักษา ($P > 0.05$) ดังนั้นน้ำยาเจือจาง KSU diluent สามารถนำมาใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่อพื้นเมืองได้ 3 วัน

บทนำ

ไก่อพื้นเมืองไทยถือเป็นทรัพยากรทางธรรมชาติที่มีคุณค่าอยู่คู่กับคนไทยมาตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน เนื่องจากไก่อพื้นเมืองเลี้ยงง่าย ทนทานต่อโรค สภาพแวดล้อมที่แร้นแค้น และเนื้อสัตว์อร่อยจึงทำให้มีราคาสูงกว่าไก่อะเทศประมาณ 2-3 เท่า อีกทั้งยังสามารถผสมพันธุ์ และขยายพันธุ์ได้เองตามธรรมชาติ (Laopai boon & Duangjinda, 2012) แต่อย่างไรก็ตามไก่อพื้นเมืองไทยมีข้อเสียในด้านการเจริญเติบโตช้า แต่ลักษณะเด่นของไก่อพื้นเมืองไทยยังเป็นประโยชน์อย่างมากต่อการพัฒนาสายพันธุ์ นอกจากนี้ปัญหาของโรคระบาดในไก่อพื้นเมืองที่สำคัญ เช่น โรคไขหวัดนก โรคคหิวหวัด โรคนิวคลีโอซิส และโรคฝีดาษ มีผลกระทบทำให้จำนวนไก่อพื้นเมืองไทยลดลง อีกทั้งยังมีผลกระทบทำให้เกิดความเสียหายทางด้านเศรษฐกิจ โดยเฉพาะโรคไขหวัดนก ซึ่งเกิดการระบาดอย่างหนักตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2547 และมีแนวโน้มกลายเป็นโรคประจำ

ถิ่น (Phomwisetsirikun et al., 2012) ดังนั้นจึงควรที่จะศึกษาแนวทางแก้ปัญหาดังกล่าวเพื่ออนุรักษ์และพัฒนาสายพันธุ์ไก่อพื้นเมืองไทย ซึ่งการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่เย็นเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะสามารถช่วยในการขยายพันธุ์กรรมไก่อพื้นเมืองได้อย่างรวดเร็ว และสามารถช่วยอนุรักษ์และพัฒนาสายพันธุ์ไก่อพื้นเมืองไทยไว้ได้ โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่เย็น คือ น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ (diluent) มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มปริมาณน้ำเชื้อ เป็นแหล่งพลังงานให้กับตัวอสุจิเพื่อใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม ช่วยยืดระยะเวลาการเคลื่อนที่และการมีชีวิตรอดให้กับตัวอสุจิ ซึ่งน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่มีประสิทธิภาพจะต้องมีค่า pH และค่าออสโมลาลิตีที่เหมาะสม และใกล้เคียงกับค่า seminal fluid ของน้ำเชื้อสัตว์ที่ทำการศึกษา เพราะหากอสุจิอยู่ในสภาวะที่มีค่า pH ต่ำ จะทำให้อสุจิมีการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้น มีการผลิตกรดแลกติก ส่งผลให้อสุจิเคลื่อนที่ลดลง และหากอสุจิอยู่ในสภาวะที่มีค่า pH สูง จะส่งผลให้อสุจิมีอัตรา

*Corresponding author

E-mail address: Thipsuda_Boonmatan@hotmail.com (T. Boonmatan)

Online print: 30 September 2024 Copyright © 2024. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2024.40>

เมแทบอลิซึมสูงขึ้น สำหรับสภาวะที่มีค่าออสโมลาลิตีต่ำจะทำให้เซลล์อสุจิ บวม และสภาวะที่มีค่าออสโมลาลิตีสูงจะทำให้เซลล์อสุจิมีการสูญเสียน้ำ และเกิดภาวะเซลล์เหี่ยว (Boonmatan, 2013) โดยทั่วไปค่า pH และค่าออสโมลาลิตีที่เหมาะสมในสัตว์ปีกจะอยู่ในช่วงระหว่าง 6.0-8.0 และ 250-460 mOsm/kg ตามลำดับ (Siudzinska & Lukaszewicz, 2008) ปัจจุบันมีการพัฒนาน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสัตว์ปีกเชิงพาณิชย์เพื่อจำหน่าย และบริษัทผู้ผลิตส่วนใหญ่อยู่ในต่างประเทศ การนำเข้ามาใช้ในประเทศไทย ส่งผลให้น้ำยาเจือจางเชิงพาณิชย์มีราคาแพง จึงทำให้นักวิจัยให้ความสนใจ ในการพัฒนาคิดค้นน้ำยาเจือจางที่เหมาะสมกับสายพันธุ์สัตว์ปีก จากการศึกษาของ Getachew et al. (2023) ได้ศึกษาเปรียบเทียบน้ำยาเจือจาง BPSE (น้ำยาเจือจางทางการค้า) กับน้ำยาเจือจางที่พัฒนาขึ้นเอง โดยมี Tris-egg yolk เป็นส่วนประกอบหลัก ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองสายพันธุ์ Horro พบว่า น้ำยาเจือจางที่พัฒนาขึ้นมีคุณภาพใกล้เคียงกับน้ำยาเจือจางทางการค้า Chankitisakul et al. (2022) พัฒนาน้ำยาเจือจาง NCAB ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองไทยสายพันธุ์ประดู่ทางดำ พบว่าการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง น้ำยาเจือจาง NCAB ให้ผลอัตราการผสมติดอัตราการฟักออกสูงกว่าน้ำยาเจือจาง IGGKPh ดังนั้นงานวิจัยครั้งนี้จึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาน้ำยาเจือจางให้เหมาะสมกับน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง เพื่ออนุรักษ์และพัฒนาสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองไทยให้อยู่คู่กับประเทศไทยอย่างยั่งยืน

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

สัตว์ทดลอง

การศึกษานี้ได้รับอนุญาตใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ตามเอกสารอนุญาตเลขที่ KSU-AE-012/2565 โดยใช้พ่อพันธุ์ไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวอายุประมาณ 7 เดือนขึ้นไป จำนวน 30 ตัว และใช้แม่ไก่ไข่สายพันธุ์การคำ (CP Brown) ที่มีอัตราการไข่ไม่น้อยกว่า 75 % จำนวน 96 ตัว ซึ่งใช้สถานที่แผนกสัตว์ปีก และห้องปฏิบัติการสัตววิทยาทางสัตว์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ ในการดำเนินงานวิจัย

การรีดน้ำเชื้อ

การรีดน้ำเชื้อพ่อพันธุ์ไก่ใช้วิธีการนวดช่องท้อง (abdominal massage) ตามวิธีของ Quinn & Burrows (1936) โดยใช้ผู้ปฏิบัติจำนวน 2 คน คือ คนที่ 1 เป็นคนอุ้มไก่กระชับไว้ที่เอวยื่นทางออกทางด้านหน้า ใช้มือรวบขาทั้ง 2 ข้างเข้าหากัน และใช้อีกมือหนึ่งลูบหลังพ่อไก่เบา ๆ ค่อย ๆ ลงน้ำหนักจากโคนปีกผ่านมาที่หลังไปที่หาง และใช้นิ้วหัวแม่มือกับนิ้วชี้บีบกระดุนบริเวณก้นพ่อไก่อย่างรวดเร็ว พ่อไก่จะแสดงปฏิกิริยากระดกหางขึ้นพร้อมดันอวัยวะเพศรูปร่างเป็นลอนคู่ปลายแหลมยื่นออกมาจากรูทวาร และผู้ปฏิบัติคนที่ 2 จะนำภาชนะที่สะอาดรองรับน้ำเชื้อที่ไหลออกมา จากนั้นทำการประเมินปริมาณน้ำเชื้อ ความเข้มข้นของตัวอสุจิ อัตราการเคลื่อนที่ และอัตราการมีชีวิตเป็นรายตัว แล้วนำน้ำเชื้อรวมกัน (pool semen) เพื่อนำไปวัดค่า pH และค่าออสโมลาลิตี โดยน้ำเชื้อที่จะนำมาใช้ในการศึกษาจะต้องมีลักษณะสีขาวขุ่นคล้ายนํ้านม ไม่มีเลือด อุจจาระ ปนอยู่ และมีอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิมากกว่า 75 %

การศึกษาผลของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น

ทำการเตรียมน้ำยาเจือจาง 3 สูตร ได้แก่ KSU diluent (น้ำยาเจือจางที่พัฒนาขึ้น) BPSE (Sexton & Fewlass, 1978) และ Lake's diluent (Chalah et al., 1999) ตามส่วนประกอบที่แสดงใน Table 1 โดยใช้โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride; NaCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0.90 % เป็นกลุ่มควบคุม นำไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าออสโมลาลิตี เก็บใส่ขวดแก้วปิดฝาให้สนิท และนำไปเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-5 °C จากนั้นนำน้ำเชื้อสดที่มีอัตราการเคลื่อนที่ 75 % ขึ้นไป มาเจือจางกับน้ำยาเจือจางในหลอด eppendorf ที่อัตราส่วนน้ำเชื้อสดต่อน้ำยาเจือจาง 1:3 ผสมให้เข้ากันโดยการกลับลดไปมาอย่าง เบา ๆ และนำไปเก็บรักษาในตู้เย็นที่ อุณหภูมิ 4-5 °C เพื่อนำไปประเมินอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า ลักษณะการเคลื่อนที่แบบต่าง ๆ (average path velocity (VAP) curvilinear velocity (VCL) และ straight line velocity (VSL)) อัตราการมีชีวิต อัตราการผสมติด และอัตราการฟัก เป็นระยะเวลา 1-4 วัน

Table 1 The composition of sperm diluents

Composition	Diluents (g/25 ml)			
	Control	KSU diluent	BPSE	Lake's diluent
Sodium chloride	0.2250	-	-	-
Magnesium acetate	-	0.0600	0.0085	0.0292
Sodium acetate	-	-	0.1075	-
Potassium citrate	-	0.0500	0.0170	-
Sodium glutamate	-	0.6000	0.2442	0.5311
Dipotassium hydrogen phosphate	-	-	0.4160	-
Potassium dihydrogen phosphate	-	-	0.0163	-
Fructose	-	-	-	0.2000
TES*	-	-	0.0488	-
Potassium acetate	-	-	-	0.1480
Polyvinylpyrrolidone (PVP)	-	0.1000	-	0.0750
Glucose	-	0.3000	0.1250	-
pH	6.04±0.03	7.13±0.01	9.03±0.01	7.36±0.01
Osmolarity (mOsm/kg)	285±1.67	351±2.83	459±4.92	378±3.67

* N-[Tris(hydroxymethyl)methyl]-2-aminoethanesulfonic acid.

แผนการทดลอง

การพัฒนาถ่ายน้ำเชื้อจากน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองเพื่ออนุรักษ์และพัฒนาสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองไทย ใช้พ่อพันธุ์ไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว จำนวน 30 ตัว ในการศึกษาผลของน้ำยาเจือจางต่อคุณภาพน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น และใช้แม่พันธุ์ไข่ จำนวน 96 ตัว แบ่งออกเป็น 4 ทรีตเมนต์ ทรีตเมนต์ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 8 ตัว ในการศึกษาผลของน้ำยาเจือจางต่ออัตราการผสมติดและอัตราการฟักออกของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น โดยมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) มีกลุ่มทดลองที่ต้องการศึกษา จำนวน 4 กลุ่มทดลอง คือ 1) 0.9 % NaCl (กลุ่มควบคุม) 2) น้ำยาเจือจาง KSU diluent 3) น้ำยาเจือจาง BPSE และ 4) น้ำยาเจือจาง Lake's diluent

การเก็บข้อมูล

การประเมินอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิใช้วิธีการประเมิน 2 วิธี คือ 1) การประเมินอัตราการเคลื่อนที่เบื้องต้นก่อนนำน้ำเชื้อมาทำการศึกษา ทำได้โดยการหยดน้ำเกลือ 5 ไมโครลิตรลงบนสไลด์ และหยดน้ำเชื้อ 1 ไมโครลิตร จากนั้นใช้เข็มเขี่ยน้ำเกลือมาแตะกับน้ำเชื้อเพียงเล็กน้อย แล้วสังเกตการเคลื่อนที่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope ที่กำลังขยาย 10 เท่า โดยให้เกณฑ์การเคลื่อนที่ของอสุจิ ดังต่อไปนี้ จาก Guest (1973) 2) ใช้เครื่อง computer assisted semen analysis (CASA) สำหรับประเมินอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า และลักษณะการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น โดยการนำน้ำเชื้อที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นมาเจือจางด้วยน้ำยาเจือจางที่อัตราการเจือจาง 1 : 15 (Sample : diluent) และใช้ micropipette ดูด้วยอย่าง 3 ไมโครลิตร โหลดลงบน dual slide sperm analysis ที่ปิดด้วย cover glass ที่วางอยู่บน stage ของเครื่อง CASA และทำการ

วิเคราะห์โดยมีการกำหนดค่า analysis setup (Temperature: 37.0 °C, Cell Travel Max: 10 µm, Enable Motile Static Collision: False, Motile cell require a tail: True, Progressive: STR 50 %, Progressive VAP: 30 µm/s, Slow VAP: 10 µm/s, Slow VSL: 15 µm/s, Static Algorithm: Width Multiplier, Static VAP: 3 µm/s, Static VSL: 1 µm/s, Static Width Multiplier: 0.5, Frame Capture Speed: 60 Hz, Frame Count: 45, Elongation Max: 100 %, Elongation Min: 1 %, Enable Advanced Tail Detect: True, Head Brightness Min: 90, Head Size Max: 30 µm² และ Head Size Min: 3 µm²) ดัดแปลงจาก Boonmatan (2013)

การประเมินอัตราการมีชีวิต โดยการย้อมสี eosin-nigrosin นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope ที่กำลังขยาย 100 เท่า อสุจิมีชีวิตจะมีลักษณะสีขาวไม่ติดสีย้อม ส่วนตัวตายจะติดสีย้อมเป็นสีชมพู สีแดง หรือสีม่วงเข้ม

การประเมินความเข้มข้นของน้ำเชื้อ โดยใช้สไลด์สำหรับนับเม็ดโลหิตนำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope ที่กำลังขยาย 40 เท่า แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนอสุจิที่นับได้ต่อ 1 มล. ดังนี้

$$\text{ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (จำนวนอสุจิ/มล.)} = (\text{จำนวนอสุจิที่นับได้ทั้ง 5 บริเวณ} / 5) \times 25 \times \text{อัตราการเจือจาง} \times 10^4$$

การประเมินอัตราการผสมติดและอัตราการฟัก ทำได้โดยการผสมเทียมให้กับแม่ไก่สายพันธุ์การคำจำนวน 2 ครั้ง (2 วัน/ครั้ง) โดยใช้จำนวนอสุจิต่อแม่ไก่ 1 ตัว เท่ากับ 300 ล้านตัว และจะเริ่มเก็บไข่ภายหลังจากการผสมเทียม 1 วัน เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ และนำไปเข้าตู้ฟัก จากนั้นตรวจสอบอัตราการผสมติดโดยการส่องไข่ที่อายุฟัก 7 วัน และตรวจสอบอัตราการฟักที่อายุฟัก 21 วัน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างทรีตเมนต์ (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ที่มีการวัดซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple rang test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และวิเคราะห์ความแตกต่างเนื่องจากเวลาด้วย orthogonal polynomials โดยใช้โปรแกรม SPSS version 27

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

คุณภาพน้ำเชื้อสดของไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว

จากการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อสดของไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว พบว่ามีปริมาตรน้ำเชื้อเท่ากับ 0.39 ± 0.04 มล./ตัว ความ

เข้มข้นของน้ำเชื้อเท่ากับ $2.28 \pm 0.13 \times 10^9$ ตัว/มล. ค่า pH เท่ากับ 7.38 ± 0.02 ค่าออสโมลาลิตีเท่ากับ 324 ± 2.65 mOsm/kg อัตราการเคลื่อนที่เท่ากับ 91.67 ± 14.43 % และอัตราการมีชีวิตเท่ากับ 96.00 ± 1.00 % แสดงใน Table 2 ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Boonmatan (2013) พบว่าน้ำเชื้อสดของไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวมีปริมาตรเท่ากับ 0.39 ± 0.17 มล./ตัว ความเข้มข้นของน้ำเชื้อเท่ากับ $3.03 \pm 0.37 \times 10^9$ ตัว/มล. ค่า pH เท่ากับ 7.23 ± 0.06 และมีค่าออสโมลาลิตีเท่ากับ 306 ± 0.56 mOsm/kg นอกจากนี้ Chotesangasa (2001) ได้ทำการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อสดของไก่พื้นเมืองไทยที่อายุ 35-52 สัปดาห์ พบว่ามีปริมาตรน้ำเชื้อเท่ากับ 0.4 มล. และความเข้มข้นของน้ำเชื้อเท่ากับ $7.03-8.00 \times 10^9$ ตัว/มล.

Table 2 Fresh semen quality of native chicken "Leung Hang Kao"

Parameter	N	Mean $\pm$ S.D.
Volume (ml/head)	30	0.39 ± 0.04
Concentration ($\times 10^9$ sperm/ml)	30	2.28 ± 0.13
Motility (%)	30	91.67 ± 14.43
Viability (%)	30	96.00 ± 1.00
pH	3	7.38 ± 0.02
Osmolarity (mOsm/kg)	3	324 ± 2.65

ผลของน้ำยาเจือจางต่ออัตราการเคลื่อนที่ อัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า และลักษณะการเคลื่อนที่แบบต่างๆ (VAP VCL และ VSL) ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น เป็นระยะเวลา 1-4 วัน

จากการศึกษาผลของน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม (NaCl 0.90 %) ต่ออัตราการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นระยะเวลา 1-4 วัน พบว่าการใช้น้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม มีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) โดยน้ำยาเจือจาง KSU diluent มีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ลดลง เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อเป็นระยะเวลา 3 วัน สำหรับน้ำยาเจือจาง Lake's diluent BPSE และกลุ่มควบคุม ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ลดลงเมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อเป็น

ระยะเวลา 2 วัน ($P < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง Lake's diluent ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงไม่แตกต่างกับน้ำยาเจือจาง KSU diluent ($P > 0.05$) เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 2 วัน พบว่าผลของอัตราการเคลื่อนที่ไม่แตกต่างกันเมื่อใช้น้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE และ Lake's diluent ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 3 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง KSU diluent ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ต่ำกว่าน้ำยาเจือจาง BPSE และ Lake's diluent อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และน้ำยาเจือจาง BPSE ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงที่สุด เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 4 วัน ($P < 0.05$) โดยกลุ่มควบคุมให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ต่ำที่สุดทุกระยะเวลาที่ทำการเก็บรักษา ($P < 0.05$) แสดงใน Table 3

Table 3 The effect of diluents on motility rate of native chicken sperm in cool storage at 1-4 day

Diluents	Motility (%)			
	1 day	2 day	3 day	4 day
Control	$56.63 \pm 6.51^{C,a}$	$12.83 \pm 2.38^{B,b}$	$9.37 \pm 1.00^{C,b,c}$	$5.00 \pm 1.44^{C,c}$
KSU diluent	$80.43 \pm 5.44^{A,B,a}$	$76.27 \pm 2.87^{A,a}$	$40.17 \pm 4.20^{B,b}$	$25.87 \pm 4.55^{B,c}$
BPSE	$76.47 \pm 5.50^{B,a}$	$70.30 \pm 7.33^{A,b}$	$52.90 \pm 2.61^{A,c}$	$47.93 \pm 5.44^{A,d}$
Lake's diluent	$88.20 \pm 5.68^{A,a}$	$74.57 \pm 2.34^{A,b}$	$54.30 \pm 7.03^{A,c}$	$23.83 \pm 2.11^{B,d}$

^{A, B, C} within the same column indicated difference between diluents ($P < 0.05$).

^{a, b, c} within the same row indicated difference between time ($P < 0.05$).

จากการศึกษาผลของน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม (NaCl 0.90 %) ต่ออัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นระยะเวลา 1-4 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม มีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าลดลง เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) โดยการใช้น้ำยาเจือจาง KSU diluent มีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าลดลงเมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อเป็นระยะเวลา 3 วัน สำหรับน้ำยาเจือจาง Lake's diluent BPSE และกลุ่มควบคุม ให้ผลอัตราการ

เคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 วัน ($P < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง Lake's diluent ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าสูงที่สุด ($P < 0.05$) เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 2 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง Lake's diluent ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าสูงไม่แตกต่างจากการใช้น้ำยาเจือจาง BPSE และ KSU diluent ($P > 0.05$) และเมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 3 และ 4 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง BPSE ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้าสูงที่สุด ($P < 0.05$) แสดงใน Table 4

Table 4 The effect of diluents on progressive rate of native chicken sperm in cool storage at 1-4 day

Diluents	Progressive (%)			
	1 day	2 day	3 day	4 day
Control	11.16±2.57 ^{D,a}	0.90±1.21 ^{B,b}	0.33±0.23 ^{C,b}	0.13±0.23 ^{B,b}
KSU diluent	20.90±3.15 ^{C,a}	16.50±3.77 ^{AB,a}	1.60±0.57 ^{C,b}	0.60±0.36 ^{B,b}
BPSE	28.87±3.02 ^{B,a}	21.27±10.78 ^{A,ab}	15.33±3.09 ^{A,bc}	6.47±2.27 ^{A,c}
Lake's diluent	45.33±6.30 ^{A,a}	23.90±11.96 ^{A,b}	5.27±1.59 ^{B,c}	0.60±0.35 ^{B,c}

A, B, C, D within the same column indicated difference between diluents ($P < 0.05$).

a, b, c within the same row indicated difference between time ($P < 0.05$).

จากการศึกษาผลของน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม (NaCl 0.90 %) ต่อความเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ย (VAP) ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นระยะเวลา 1-4 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ความเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยลดลงในทุกกลุ่มทดลองที่ทำการศึกษา ($P < 0.05$) ยกเว้นกลุ่มควบคุม โดยการใช้ยาเจือจาง KSU diluent และ BPSE มีผลทำให้ความเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยลดลงเมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อเป็นระยะเวลา 3 วัน สำหรับน้ำยาเจือจาง Lake's diluent มีผลทำให้ความเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยลดลง

เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อเป็นระยะเวลา 2 วัน แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง Lake's diluent ให้ผลความเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยสูงที่สุด ($P < 0.05$) เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 2 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง Lake's diluent ให้ผลความเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยสูงไม่แตกต่างจากการใช้น้ำยาเจือจาง BPSE และ KSU diluent ($P > 0.05$) และเมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 3 และ 4 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง BPSE ให้ผลความเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยสูงที่สุด ($P < 0.05$) แสดงใน Table 5

Table 5 The effect of diluents on average path velocity (VAP) of native chicken sperm in cool storage at 1-4 day

Diluents	VAP (µm/sec)			
	1 day	2 day	3 day	4 day
Control	21.50±2.80 ^{D,a}	15.47±11.11 ^{B,a}	11.54±0.78 ^{C,a}	10.28±2.26 ^{B,a}
KSU diluent	31.80±2.69 ^{C,a}	27.24±4.36 ^{AB,a}	13.51±1.54 ^{C,b}	12.90±2.24 ^{B,b}
BPSE	37.43±0.71 ^{B,a}	36.96±3.12 ^{A,a}	31.32±0.94 ^{A,b}	21.18±4.90 ^{A,c}
Lake's diluent	51.04±4.43 ^{A,a}	37.82±10.22 ^{A,b}	17.99±1.20 ^{B,c}	12.31±2.58 ^{B,c}

A, B, C, D within the same column indicated difference between diluents ($P < 0.05$).

a, b, c within the same row indicated difference between time ($P < 0.05$).

จากการศึกษาผลของน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม (NaCl 0.90 %) ต่อความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีโค้ง (VCL) ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นระยะเวลา 1-4 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น มีผลทำให้ความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีโค้งลดลงเมื่อใช้น้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE และ Lake's diluent ($P < 0.05$) ยกเว้นกลุ่มควบคุม ซึ่งพบว่าเมื่อ

ระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ไม่มีผลต่อความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีโค้ง ($P > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อเป็นระยะเวลา 1 และ 2 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง Lake's diluent ให้ผลความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีโค้งสูงที่สุด ($P < 0.05$) และเมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 3 และ 4 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง BPSE ให้ผลความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีโค้งสูงที่สุด ($P < 0.05$) แสดงใน Table 6

Table 6 The effect of diluents on curvilinear velocity (VCL) of native chicken sperm in cool storage at 1-4 day

Diluents	VCL ($\mu\text{m}/\text{sec}$)			
	1 day	2 day	3 day	4 day
Control	40.28 $\pm$ 4.30 ^{C,a}	36.01 $\pm$ 23.75 ^{C,a}	29.95 $\pm$ 4.16 ^{C,a}	25.68 $\pm$ 3.04 ^{B,a}
KSU diluent	68.49 $\pm$ 2.78 ^{B,a}	64.17 $\pm$ 7.41 ^{A^B,a}	34.67 $\pm$ 3.64 ^{C,b}	34.06 $\pm$ 2.42 ^{B,c}
BPSE	76.45 $\pm$ 1.49 ^{B,a}	72.62 $\pm$ 1.96 ^{A^B,a}	71.52 $\pm$ 5.48 ^{A,a}	55.57 $\pm$ 12.38 ^{A,b}
Lake's diluent	101.61 $\pm$ 7.12 ^{A,a}	88.87 $\pm$ 27.96 ^{A,a}	42.82 $\pm$ 2.71 ^{B,b}	31.07 $\pm$ 4.38 ^{B,b}

A, B, C within the same column indicated difference between diluents ($P < 0.05$).a, b, c within the same row indicated difference between time ($P < 0.05$).

จากการศึกษาผลของน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม (NaCl 0.90 %) ต่อความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรง (VSL) ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นระยะเวลา 1-4 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรงลดลงในทุกกลุ่มทดลองที่ทำการการศึกษา ($P < 0.05$) โดยการใช้ น้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE และ Lake's diluent มีผลทำให้ความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรงลดลงในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา สำหรับกลุ่มควบคุมมีผลทำให้ความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรงลดลงในวันที่ 2 ของการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเก็บรักษา

น้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง Lake's diluent ให้ผลความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรงสูงไม่แตกต่างจากการใช้น้ำยาเจือจาง BPSE ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 2 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง BPSE ให้ผลความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรงสูงไม่แตกต่างจากการใช้น้ำยาเจือจาง Lake's diluent ($P > 0.05$) โดยน้ำยาเจือจาง KSU diluent ให้ผลความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรงไม่แตกต่างจากการใช้น้ำยาเจือจาง Lake's diluent และกลุ่มควบคุม ($P > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อในระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น 3 และ 4 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง BPSE ให้ผลความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรงสูงที่สุด ($P < 0.05$) แสดงใน Table 7

Table 7 The effect of diluents on straight line velocity (VSL) of native chicken sperm in cool storage at 1-4 day

Diluents	VCL ($\mu\text{m}/\text{sec}$)			
	1 day	2 day	3 day	4 day
Control	16.48 $\pm$ 2.54 ^{B,a}	8.09 $\pm$ 5.85 ^{C,b}	6.66 $\pm$ 0.73 ^{C,b}	4.14 $\pm$ 0.69 ^{B,b}
KSU diluent	18.64 $\pm$ 3.12 ^{B,a}	15.30 $\pm$ 2.77 ^{BC,a}	6.31 $\pm$ 0.50 ^{C,b}	4.78 $\pm$ 0.80 ^{B,b}
BPSE	30.17 $\pm$ 4.68 ^{A,a}	27.81 $\pm$ 5.05 ^{A,a}	20.27 $\pm$ 1.79 ^{A,b}	11.53 $\pm$ 2.87 ^{A,c}
Lake's diluent	34.35 $\pm$ 4.40 ^{A,a}	23.74 $\pm$ 9.16 ^{AB,a}	9.21 $\pm$ 1.32 ^{B,b}	6.25 $\pm$ 2.06 ^{B,b}

A, B, C within the same column indicated difference between diluents ($P < 0.05$).a, b, c within the same row indicated difference between time ($P < 0.05$).

ผลของน้ำยาเจือจางต่ออัตราการมีชีวิตของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น เป็นระยะเวลา 1-4 วัน

จากการศึกษาผลของน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม (NaCl 0.90 %) ต่ออัตราการมีชีวิตของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นระยะเวลา 1-4 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น การใช้ น้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม มีผลให้อัตราการมีชีวิตลดลง ($P < 0.05$) โดยทุกกลุ่มทดลองที่

ทำการศึกษาให้ผลอัตราการมีชีวิตลดลงในวันที่ 2 ของการเก็บรักษา ($P < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 และ 2 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง KSU diluent ให้ผลอัตราการมีชีวิตสูงไม่แตกต่างจากการใช้น้ำยาเจือจาง Lake's diluent ($P > 0.05$) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 3 และ 4 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE และ Lake's diluent ให้ผลอัตราการมีชีวิตไม่แตกต่างกันและสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงใน Table 8

Table 8 The effect of diluents on viability rate of native chicken sperm in cool storage at 1-4 day

Diluents	Viability (%)			
	1 day	2 day	3 day	4 day
Control	65.00 $\pm$ 3.00 ^{C,a}	49.00 $\pm$ 3.60 ^{C,b}	7.33 $\pm$ 4.04 ^{C,c}	3.33 $\pm$ 4.16 ^{B,c}
KSU diluent	89.00 $\pm$ 1.00 ^{A,a}	84.33 $\pm$ 2.53 ^{A,b}	70.67 $\pm$ 5.51 ^{A,c}	62.67 $\pm$ 3.05 ^{A,d}
BPSE	84.00 $\pm$ 1.00 ^{B,a}	78.33 $\pm$ 2.51 ^{B,ab}	75.33 $\pm$ 0.58 ^{A,b,c}	70.67 $\pm$ 7.64 ^{A,c}
Lake's diluent	88.67 $\pm$ 1.15 ^{A,a}	84.00 $\pm$ 3.00 ^{A,b}	71.67 $\pm$ 5.13 ^{A,c}	65.67 $\pm$ 0.04 ^{A,d}

A, B, C within the same column indicated difference between diluents ($P < 0.05$).a, b, c, d within the same row indicated difference between time ($P < 0.05$).

ผลของน้ำยาเจือจางต่ออัตราการผสมติดและอัตราการฟักของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็น เป็นระยะเวลา 1-4 วัน

จากการศึกษาผลของน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม (NaCl 0.90 %) ต่ออัตราการผสมติดของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นระยะเวลา 1-4 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น มีผลทำให้อัตราการผสมติดลดลงในทุกกลุ่มทดลองที่ทำการศึกษา ($P < 0.05$) โดยการใช้ยาเจือจาง KSU diluent BPSE และ Lake's diluent ให้ผลอัตราการผสมติดลดลงในวันที่ 2 ของการเก็บรักษา ซึ่งน้ำยาเจือ

จาง KSU diluent ยังคงให้ผลอัตราการผสมติดสูงกว่า 50 % เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อเพิ่มขึ้นเป็นระยะเวลา 3 วัน แต่อย่างไรก็ตามการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 และ 2 วัน พบว่า น้ำยาเจือจาง KSU diluent ให้ผลอัตราการผสมติดสูงไม่แตกต่างจากการใช้น้ำยาเจือจาง BPSE และ Lake's diluent ($P > 0.05$) และเมื่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อเพิ่มขึ้นเป็นระยะเวลา 3 และ 4 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง KSU diluent ให้ผลอัตราการผสมติดสูงที่สุด ($P < 0.05$) สำหรับกลุ่มควบคุม พบว่าไม่ให้ผลอัตราการผสมติดในทุกช่วงเวลาที่ทำการเก็บรักษา แสดงใน Table 9

Table 9 The effect of diluents on fertility rate of native chicken sperm in cool storage at 1-4 day

Diluents	Fertility (%)			
	1 day	2 day	3 day	4 day
Control	0.00±0.00 ^{B,a}	0.00±0.00 ^{B,a}	0.00±0.00 ^{C,a}	0.00±0.00 ^{C,a}
KSU diluent	77.02±6.82 ^{A,a}	59.68±5.15 ^{A,b}	57.51±11.54 ^{A,b}	47.62±5.64 ^{A,b}
BPSE	82.78±15.16 ^{A,a}	53.66±3.57 ^{A,b}	28.33±5.13 ^{B,c}	15.02±0.63 ^{B,c}
Lake's diluent	80.22±10.82 ^{A,a}	52.78±4.81 ^{A,b}	26.74±3.17 ^{B,c}	17.95±4.45 ^{B,c}

^{A, B, C} within the same column indicated difference between diluents ($P < 0.05$).

^{a, b, c} within the same row indicated difference between diluents ($P < 0.05$).

จากการศึกษาผลของน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent และกลุ่มควบคุม (NaCl 0.90 %) ต่ออัตราการฟักของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษาแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นระยะเวลา 1-4 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น มีผลทำให้อัตราการฟักลดลงในทุกกลุ่มทดลองที่ทำการศึกษา ($P < 0.05$) โดยน้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE และ Lake's diluent ให้ผลอัตรา

การฟักลดลงในวันที่ 4 ของการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามเมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1-4 วัน พบว่าการใช้น้ำยาเจือจาง KSU diluent BPSE และ Lake's diluent ให้ผลอัตราการฟักไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) สำหรับกลุ่มควบคุม พบว่าไม่ให้ผลอัตราการฟักในทุกช่วงเวลาที่ทำการเก็บรักษา แสดงใน Table 10

Table 10 The effect of diluents on hatchability rate of native chicken sperm in cool storage at 1-4 day

Diluents	Hatchability (%)			
	1 day	2 day	3 day	4 day
Control	0.00±0.00 ^{B,a}	0.00±0.00 ^{B,a}	0.00±0.00 ^{B,a}	0.00±0.00 ^{B,a}
KSU diluent	76.53±6.01 ^{A,a}	68.45±5.16 ^{A,ab}	65.74±9.75 ^{A,ab}	57.14±12.37 ^{A,b}
BPSE	70.48±0.83 ^{A,a}	68.45±5.16 ^{A,a}	63.89±12.73 ^{A,ab}	50.00±0.00 ^{A,b}
Lake's diluent	72.22±6.94 ^{A,a}	69.84±2.75 ^{A,a}	55.57±9.62 ^{A,ab}	44.44±9.62 ^{A,b}

^{A, B} within the same column indicated difference between diluents ($P < 0.05$).

^{a, b} within the same row indicated difference between diluents ($P < 0.05$).

จากการศึกษาการใช้ยาเจือจาง KSU diluent BPSE Lake's diluent เก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบแช่เย็นที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-4 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อเพิ่มขึ้น มีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ อัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า ความเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ย ความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีโค้ง ความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรง อัตราการมีชีวิต อัตราการผสมติด และอัตราการฟัก ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Boonmatan (2013) ได้ศึกษาการใช้ยาเจือจาง modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตีที่ระดับ 300 350 และ 400

mOsm/kg น้ำยาเจือจาง BPSE Lake's diluent IGGKP และ EK เก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวที่ระยะเวลา 1-7 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นมีแนวโน้มทำให้คุณภาพน้ำเชื้อลดลง และยิ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Siudzinska & Lukaszewicz (2008) พบว่าเมื่อใช้น้ำยาเจือจาง Lake's diluent EK และ Tselutin ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ในระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้คุณภาพน้ำเชื้อลดลงเช่นกัน ซึ่งเป็นผลมาจากการผลิตกรดแลกติกของตัวสุจิจากกระบวนการเมแทบอลิซึมส่งผลทำให้สุจิอยู่ในสภาวะที่มีค่า pH สูงขึ้น และมีผลทำให้การเคลื่อนที่ของตัวสุจิลดลง

อีกทั้งในระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นตัวอสุจิมีการใช้แหล่งพลังงาน (น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุกโทส และ inositol) เพิ่มมากขึ้น จึงส่งผลทำให้อัตราการมีชีวิตของตัวอสุจิลดลง (Donoghue & Wishart, 2000) จากการศึกษาพบว่าน้ำยาเจือจาง KSU diluent ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า ความเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ย ความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีโค้ง และความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรง ลดลงในวันที่ 3 ของการศึกษา ซึ่งลดลงช้ากว่าการใช้ยาเจือจาง BPSE และ Lake's diluent ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อเป็นระยะเวลา 1 วัน และการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 และ 2 วัน พบว่าน้ำยาเจือจาง KSU diluent ให้ผลอัตราการผสมติดสูงไม่แตกต่างจากการใช้น้ำยาเจือจาง BPSE และ Lake's diluent ยิ่งไปกว่านั้นการใช้น้ำยาเจือจาง KSU diluent ยังคงให้ผลอัตราการผสมติดสูงที่สุด และยังคงให้ผลอัตราการผสมติดมากกว่า 50 % เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 3 วัน อาจเนื่องมาจากน้ำยาเจือจาง KSU diluent ที่พัฒนาขึ้นมีระดับของค่า pH (7.13 ± 0.01) และค่าออสโมลาลิตี (351 ± 2.83 mOsm/kg) อยู่ในระดับที่เหมาะสมกับการเก็บรักษาน้ำเชื้อของสัตว์ปีก ซึ่งค่า pH ที่เหมาะสมกับการเก็บรักษาน้ำเชื้อสัตว์ปีกจะอยู่ในช่วง 7.0-7.4 และค่าออสโมลาลิตีที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อสัตว์ปีกอยู่ในช่วง 250-450 mOsm/kg (Siudzinska & Lukaszewic, 2008) หากตัวอสุจิอยู่ในสภาวะที่มีค่า pH และค่าออสโมลาลิตีไม่เหมาะสมจะมีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ และอัตราการมีชีวิตลดลง อสุจิเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีค่า pH สูงเกินไป จะมีผลทำให้เกิดการเมแทบอลิซึมของตัวอสุจิสูงขึ้น และในทางตรงกันข้ามหากอสุจิอยู่ในสภาวะที่มีค่า pH ต่ำเกินไปจะทำให้เกิดการแตกหักจากการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้น มีผลให้อัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิลดลงสำหรับสภาวะที่มีค่าออสโมลาลิตีสูงเกินไป จะทำให้อสุจิสูญเสียน้ำจนเกิดสภาวะเซลล์เหี่ยว และในสภาวะที่มีค่าออสโมลาลิตีต่ำเกินไปจะทำให้ตัวอสุจิบวม (Siudzinska & Lukaszewic, 2008) และนอกจากนี้ น้ำยาเจือจาง KSU diluent มีองค์ประกอบของสารเคมี magnesium acetate potassium citrate sodium glutamate glucose และ Polyvinylpyrrolidone ที่มีความสำคัญต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่แบบแช่เย็น และมีส่วนประกอบของสารเคมีดังกล่าวในปริมาณที่สูงกว่าน้ำยาเจือจาง BPSE และ Lake's diluent โดยน้ำยาเจือจางที่ดีจะต้องมีส่วนประกอบของสารเคมีใกล้เคียงกับค่าไอออนใน seminal plasma และในน้ำเชื้อของสัตว์ โดย Moreno & Blesbois (2020) รายงานว่าใน seminal plasma ของสัตว์ปีกจะมีไอออน Na^+ K^+ Cl^- Ca^{2+} และ Mg^{2+} โดยจะมี Na^+ อยู่ในระดับสูง ดังนั้นการที่มีส่วนประกอบของสาร magnesium acetate และ potassium citrate ในน้ำยาเจือจาง เป็นการพัฒนาน้ำยาเจือจางให้มีส่วนประกอบของค่าไอออนใกล้เคียงกับ seminal plasma และน้ำเชื้อไก่ที่นำมาศึกษา นอกจากนี้ในส่วนประกอบของน้ำยาเจือจาง KSU diluent ยังมีสารเคมี sodium glutamate เป็นส่วนประกอบหลักในน้ำยาเจือจาง

ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักใน seminal plasma ของไก่ที่มีบทบาทในการรักษาระดับของแรงดันออสโมติกของน้ำเชื้อ (Sexton & Fewlass, 1978) สำหรับแหล่งพลังงานของตัวอสุจิไม่ว่าจะเป็นน้ำตาล glucose และน้ำตาล fructose มีความเหมาะสมในการรักษาอัตราการมีชีวิต และรักษาความสมดุลของแรงดัน ออสโมติกของน้ำเชื้อ (Khaeruddin et al., 2023) ยิ่งไปกว่านั้นในน้ำยาเจือจาง KSU diluent ยังมีส่วนประกอบของสารเคมี Polyvinylpyrrolidone ซึ่งมีคุณสมบัติป้องกันอันตรายให้กับตัวอสุจิในสภาวะอุณหภูมิต่ำ และจากการศึกษาพบว่ากลุ่มควบคุม (NaCl 0.90 %) ไม่ให้ผลอัตราการผสมติดและอัตราการฟักตั้งแต่วันที่ 1-4 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ซึ่งจากการประเมินผลของอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการเคลื่อนที่แบบไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิตมีค่าต่ำมาก จึงอาจส่งผลให้ตัวอสุจิไม่สามารถเคลื่อนที่ไปถึงจุดผสมได้

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อสดของไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว พบว่ามีปริมาตรน้ำเชื้อเท่ากับ 0.39 ± 0.04 มล./ตัว ความเข้มข้นของน้ำเชื้อเท่ากับ $2.28 \pm 0.13 \times 10^9$ ตัว/มล. ค่า pH เท่ากับ 7.38 ± 0.02 ค่าออสโมลาลิตีเท่ากับ 324 ± 2.65 mOsm/kg อัตราการเคลื่อนที่เท่ากับ 91.67 ± 14.43 % และอัตราการมีชีวิตเท่ากับ 96.00 ± 1.00 % ส่วนการพัฒนาน้ำยาเจือจาง KSU diluent ที่พัฒนาขึ้นมีคุณภาพใกล้เคียงกับน้ำยาเจือจาง BPSE และ Lake's diluent โดยสามารถนำมาใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5°C ได้เป็นระยะเวลา 3 วัน ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการอนุรักษ์และพัฒนาสายพันธุ์ไก่พื้นเมืองไทยได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ ที่ให้ทุนสนับสนุนในการดำเนินงานวิจัย และขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่เลี้ยงสัตว์ทดลอง และห้องปฏิบัติการในการดำเนินงานวิจัย

References

- Boonmatan, T. (2013). *Cold and frozen storage of native chicken "Leung Hang Kao" semen*. (Master's thesis). Nakhon Ratchasima Thailand: Suranaree University of Technology.
- Chalah, T., Seigneurin, F., Blesbois, E., & Brillard, J. P. (1999). *In vitro* comparison of fowl sperm viability in

- ejaculates frozen by three different techniques and relationship with subsequent fertility *in vivo*. *Cryobiology*, 39(2), 185-191. doi: 10.1006/cryo.1999.2201
- Chankitisakul, V., Boonkum, W., Kaewkanha, T., Pimprasert, M., Ratchamak, R., Authaida, S., & Thananurak, P. (2022). Fertilizing ability and survivability of rooster sperm diluted with a novel semen extender supplemented with serine for practical use on smallholder farms. *Poultry Science*, 101(12), 102188. doi: 10.1016/j.psj.2022.102188
- Chotesangasa, R. (2001). Effects of mating ratio, cock number in the flock and breeder age on fertility in Thai native chicken flock. *Agriculture and Natural Resources*, 35(2), 122 – 131.
- Donoghue, A. M., & Wishart, G. J. (2000). Storage of poultry semen. *Animal Reproduction Science*, 62(1-3), 213-232. doi: 10.1016/S0378-4320(00)00160-3
- Getachew, T., Lemma, A., & Goshu, G (2023). Effects of using commercial and homemade extenders on sperm quality of liquid stored semen of Horro chicken breed. *Journal of World's Poultry Research*, 13(2), 216-222. doi: 10.36380/jwpr.2023.24
- Guest, W. C. (1973). *Spermatology and sperm preservation of channel catfish, Ictalurus punctatus*. (Master's thesis). Louisiana, United States: Louisiana State University.
- Khaeruddin, K., Ciptadi, G., Yusuf, M., Hermawansyah, S., & Wahjuningsih, S. (2023). Effect of addition of glucose or fructose in three types of crystalloid fluid on spermatozoa quality of Gaga' chicken from south Sulawesi, Indonesia. *Pakistan Journal of Zoology*, 1-8. doi: 10.17582/journal.pjz/20211128011130
- Laopaiboon, B., & Duangjinda, M. (2012). Native chickens of Thailand: the past, present, and future. *Khon Kaen Agriculture Journal*, 40, 309-312. (in Thai)
- Moreno, J. S., & Blesbois, E. (2020). Functional aspects of seminal plasma in bird reproduction. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), 5664. doi:10.3390/ijms21165664
- Phornwisetsirikun, S., Yano, T., Chotinun, S., & Rojanasthien, S. (2012). Knowledge, participation and opinion to operate model development project of rearing and management to reduce the risk of Avian Influenza and other outbreaks in native chicken of demonstration farm network farmers in the single outbreak and re-outbreak areas of Avian Influenza in Northern Thailand. *Journal of Kasetsart Veterinarians*, 22(2), 60-75. (in Thai)
- Quinn, J. P., & Burrows, W. H. (1936). Artificial insemination in fowls. *Journal of Heredity*, 28, 31-37.
- Sexton, T. J., & Fewlass, T. A. (1978). A new poultry semen extender 2. effect of the diluent components on the fertilizing capacity of chicken semen stored at 5°C. *Poultry Science*, 57(1), 277-284. doi: 10.3382/ps.0570277
- Siudzinska, A., & Lukaszewicz, E. (2008). Effect of semen extenders and storage time on sperm morphology of four chicken breeds. *Journal of Applied Poultry Research*, 17(1), 101- 108. doi: 10.3382/japr.2007-00048

Research article

Development of native chicken semen diluent for Thai native chicken breeds conservation and development

Thipsuda Boonmatan^{1*} Noppharat Phakachod¹ Tanitpan Pongjongmit¹

Nathawat Tanpol¹ and Samorn Ponchunchoovong²

¹*Department of Animal Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, Kalasin University, Mueang Kalasin District, Kalasin, Thailand 46000*

²*Department of Animal Technology and Innovation, Institute of Agricultural Technology, Suranaree University of Technology, Mueang District, Nakhon Ratchasima, Thailand 30000*

ARTICLE INFO

Article history

Received: 20 June 2024

Revised: 6 August 2024

Accepted: 20 September 2024

Online published: 30 September 2024

Keyword

Semen diluent

Native chicken

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effect of KSU diluent (developed diluent), BPSE, Lake's diluent and control (0.90 % NaCl) on the quality of native chicken sperm during cool storage from day 1 to day 4. The result for fresh semen of native chicken "Leung Hang Kao" showed sperm volume, sperm concentration, pH, osmolality, motility rate and viability rate were 0.39 ± 0.04 ml/head, $2.28 \pm 0.13 \times 10^9$ sperm/ml, 7.38 ± 0.02 , 324 ± 2.65 mOsm/kg, 91.67 ± 14.43 % and 96.00 ± 1.00 % respectively. The effect of KSU diluent, BPSE, Lake's diluent and control on the diluted sperm quality of native chickens indicated that motility rate, progressive rate, average path velocity (VAP), curvilinear velocity (VCL), straight line velocity (VSL), viability rate, fertility rate and hatchability rate decreased with increasing storage time ($P < 0.05$). Sperm diluted with KSU diluent showed decreased motility rate, progressive rate, VAP, VCL and VSL by day 3 of storage ($P < 0.05$). However, sperm diluted with KSU diluent on days 1 and 2 higher fertility rates compared to BPSE and Lake's diluent, though not significantly ($P > 0.05$). KSU diluent yielded the highest fertility rate (57.51 ± 11.54 %) by day 3 of the storage ($P < 0.05$). Additionally, sperm diluted with KSU diluent, BPSE and Lake's diluent did not significantly affect hatchability rates during storage ($P > 0.05$). Therefore, KSU diluent can be used to preserve native chicken semen for up to 3 days.

*Corresponding author

E-mail address: Thipsuda_Boonmatan@hotmail.com (T. Boonmatan)

Online print: 30 September 2024 Copyright © 2024. This is an open access article, production, and hosting by Faculty of Agricultural Technology, Rajabhat Maha Sarakham University. <https://doi.org/10.14456/paj.2024.40>