

ผลของการเสริม DMA ในสูตรน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งไก่พ่อพันธุ์พื้นเมือง

และไก่พ่อพันธุ์ลูกผสมต่อคุณลักษณะของอสุจิภายหลังการทำละลาย

ชนนัท จินาวัลย์

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

สัมมนาฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริม DMA ในสูตรน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งไก่พ่อพันธุ์พื้นเมืองและไก่พ่อพันธุ์ลูกผสมต่อคุณลักษณะของอสุจิภายหลังการทำละลายโดยการรวบรวมและศึกษาข้อมูลจากเอกสารทางวิชาการจำนวน 3 ฉบับ ซึ่งการเสริม DMA ในสูตรน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งไก่พ่อพันธุ์พื้นเมืองและไก่พ่อพันธุ์ลูกผสมต่อคุณลักษณะของอสุจิ พบว่าการเติมสาร DMA ต่อน้ำอสุจิที่ระดับความเข้มข้น 3%, 5%, 7% และ 9% ทำให้มีการเคลื่อนที่แบบหมู่ของตัวอสุจิ และอัตราการรอดชีวิตของตัวอสุจิที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรณีไม่เติมสาร DMA แต่ในทางตรงกันข้ามพบว่าความผิดปกติของตัวอสุจิมีการเพิ่มมากขึ้น โดยพบว่าการเติมที่ระดับ 5% ตัวอสุจิมีประสิทธิภาพค่อนข้างดี และจากการเติมสาร DMA ต่อน้ำอสุจิที่ระดับความเข้มข้น 10%, 14%, 18% พบว่าที่มีการเคลื่อนที่แบบหมู่ของตัวอสุจิ และอัตราการทำงานได้ของตัวอสุจิที่ลดน้อยลง ความผิดปกติของตัวอสุจิเพิ่มมากขึ้น ซึ่งพบมากที่สุดในระดับการเติมที่ 18% สรุปได้ว่าการเติมสาร DMA ในระดับ 5% สามารถช่วยลดการสูญเสียของตัวอสุจิและลักษณะคุณภาพในด้านอัตราการเคลื่อนที่รวมถึงลดอัตราความผิดปกติของตัวอสุจิภายหลังการทำละลาย

คำสำคัญ: ตัวอสุจิไก่พ่อพันธุ์, Dimethylacetamide (DMA) ดูการเคลื่อนที่ตัวอสุจิ

บทนำ

ไคพื้เมืองจัดเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยด้วยมีคุณสมบัติหลายประการ คือ เป็นสัตว์ ท้องถิ่นเลี้ยงง่าย มีความต้านทานต่อโรคสูง เนื้อมีรสชาติดีเป็นที่นิยม และสามารถใช้ เลี้ยงเพื่อนันทนาการได้ อย่างไรก็ดีตามความสำคัญของไคพื้เมืองอยู่ที่เป็นแหล่งอาหารของกับ เกษตรกรโดยเป็นแหล่งโปรตีนราคาถูก หลังจากเกิดวิกฤตใช้หวัดนกระบาด และมีการทำลายสัตว์ปีกตั้งแต่ปี พ.ศ.2549 เป็นต้น มาจำนวนไคพื้เมือง ไทยมีจำนวนลดลงเหลือ 54,394,705 ตัว จากนั้นจำนวนไคพื้เมืองก็คงที่ และเริ่มเพิ่มขึ้นเป็น 57,017,133 ตัว และ 61,613,546 ตัว ใน ปี พ.ศ. 2551 และ 2552ตามลำดับ จนกระทั่งปี พ.ศ. 2553จึงมีจำนวนไค พื้เมืองเพิ่มขึ้นจาก ปี 2547 ได้ โดยมีจำนวน 71,207,090 ตัว และเพิ่มขึ้นอีกในปี พ.ศ. 2554 โดยมีจำนวน 76,115,430 ตัว (กรมปศุสัตว์,2554) Dimethylacetamide หรือ DMA ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีคุณสมบัติ คล้ายเยื่อของเซลลูโลส (Cellulose membrane) นิยมใช้เคลือบชั้นผิววัสดุ และเนื้อเยื่อสิ่งมีชีวิต นอกจากนี้ ยังพบว่ามีการใช้ DMA ในกระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็ง ซึ่งให้ผลดีต่อการคงสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ อสุจิและอัตราการเคลื่อนที่สูงกว่าการไม่เสริม DMA ในสูตรน้ำยาเจือจาง ดังนั้น สัมมนานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องให้ทราบถึงของการเสริม DMA ในสูตรน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งไคพื้เมือง และไคพื้เมืองสุกผสมต่อคุณลักษณะของอสุจิภายหลังการทำละลาย

บทบาทของ DMA ในการป้องกันความเสียหายของเซลล์อสุจิ

สเปิร์มที่ถูกแช่แข็งอาจทำให้ตัวอสุจิเสียหายเนื่องจากการปรับสภาพไม่ทัน ดังนั้นตัวแทน Cryoprotectant (CPA) จึงถูกใช้เพื่อป้องกันตัวอสุจิจากการถูกทำลายในกระบวนการแช่แข็ง Dimethylacetamide (DMA) เป็นหนึ่งใน CPA ที่ใช้สำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไคพื้เมืองให้ผลดีที่สุด DMA มักจะใช้ในการเตรียมความพร้อมในการสร้างเยื่อเซลลูโลส สำหรับบทบาทของ CPA ในการป้องกันความเสียหายแก่เซลล์อสุจิ มีหลายสมมุติฐาน โดยอาจมีผลต่อขนาดและรูปร่างของผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์ ซึ่งการ ก่อตัวของผลึกน้ำแข็งดังกล่าว หากเป็นผลึกขนาดใหญ่และเหมาะสมจะมีผลเสียหายต่อเซลล์อสุจิ CPA จะทำ ให้ผลึกน้ำแข็งเล็กลง สมมุติฐานที่ค่อนข้างยอมรับกันคือ CPA ทำหน้าที่ที่ผ่านกลไกของความเป็นเกลือบัพเฟอร์โดยการจับกับน้ำ ทำให้จุดเยือกแข็งของสารละลายภายในเซลล์ต่ำลงเกิดการก่อตัวของน้ำแข็งใน ปริมาณต่ำในทุกระดับอุณหภูมิ ซึ่งส่งผลให้ความเข้มข้นของสารละลายในช่องเหลวที่เหลือในเซลล์ต่ำลงด้วย ความเสียหายจากความเข้มข้นของสารละลายที่เกิดขึ้นนี้ ขึ้นกับระดับอุณหภูมิ CPA ไป ลดอุณหภูมิที่จะถึงจะ จุดเยือกแข็งของสารละลายภายในเซลล์ จึงไปลดความเสียหายที่จะเกิดขึ้น โดยปริยาย บทบาทส่วนหนึ่งของ CPA คือเป็นไปได้อาไปลดปริมาณน้ำในเซลล์และการจับตัวกับอออนของโลหะและโดยทั่วไปแล้วความเสียหาย ที่เกิดขึ้นกับเซลล์ในขณะแช่แข็งเกิดได้ 2 ด้าน คือ จากความเสียหายที่เป็นผลจากการก่อตัวของผลึกน้ำแข็ง และความเสียหายที่เกิดจากความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของสารละลายภายในเซลล์ ซึ่งทำให้ pH ลดต่ำลงอย่างมาก

หลักการแช่แข็งน้ำเชื้อ

น้ำนับเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของเซลล์ มีบทบาทหน้าที่ในการขนส่งสารเคมีที่สำคัญทั้งภายในและภายนอกเซลล์ น้ำบริสุทธิ์จะแข็งตัวอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส ในขณะที่น้ำมีอออนจะแข็งตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ขึ้นกับความเข้มข้นของอออนต่างๆ (เทวินทร์ และยุพิน, 2550)

การทำละลาย

น้ำเชื้อแช่แข็งที่ทำการแช่แข็งด้วยการลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะทำให้น้ำยังคงเหลืออยู่ในเซลล์ปริมาณมากนั้น หากทำการละลายด้วยอัตราการละลายช้า จะทำให้อสุจิรอดตายต่ำ เนื่องจากทำให้เกิดการก่อตัวของน้ำแข็งขนาดใหญ่ภายในเซลล์ เกิดผลึกน้ำรูปทรงแหลม ตลอดจนเกิด dilution shock น้ำเชื้อแช่แข็งที่ลดอุณหภูมิช้าซึ่งภายในเซลล์เหลือน้ำอยู่น้อยจะต้องทำการละลายอย่างช้าเพื่อให้มีน้ำมีโอกาสซึมเข้าเซลล์ได้ในอัตราที่เหมาะสม หากทำการละลายด้วยอุณหภูมิสูง ซึ่งจะทำให้การละลายเป็นไปอย่างรวดเร็ว ผนังเซลล์อสุจิอาจเกิดความเสียหายจากการไหลเข้าหาน้ำได้

แหล่งพลังงาน อสุจิต้องการแหล่งพลังงานเพื่อการอยู่รอดและการเคลื่อนไหว น้ำยาเจือจางที่ใช้อยู่ในปัจจุบันนิยมเติมฟรุคโตสหรือกลูโคสเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานสำหรับอสุจิ

ผลของระดับความเข้มข้นของ Dimethylacetamide (DMA) ต่ออัตราการเคลื่อนที่หนุ่มของอสุจิ (%)

ตารางที่ 1 ผลของระดับความเข้มข้นของ DMA ต่ออัตราการเคลื่อนที่หนุ่มของอสุจิ (%)

เอกสารอ้างอิง	ความเข้มข้นของ DMA(%)							
	0	3	5	7	9	10	14	18
Junaedi et al.(2014)	NA	NA	14.25 ^b	16.29 ^b	24.44 ^a	NA	NA	NA
Laura et al.(2017)	NA	38.00 ^c	46.00 ^d	NA	NA	16.00 ^b	8.00 ^{ab}	1.00 ^a
Laura and Raynardia (2017)	86.00 ^a	NA	NA	NA	NA	15.00 ^b	7.00 ^c	0.00 ^d

หมายเหตุ: a,b,c,d ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.01$)

จากตารางที่ 1 Junaedi et al. (2014) รายงานว่าการเติมสาร Dimethylacetamide หรือ DMA ที่ระดับความเข้มข้น 5% และ 7% มีการเคลื่อนที่ได้ไม่แตกต่างกัน แต่พบว่าการเสริม DMA ที่ความเข้มข้น 9% มีการเคลื่อนไหวยาวมากขึ้น ($P < 0.01$) ส่วนในงานศึกษาของ Y. Laura et al. (2017) ที่พบว่า การเติมสาร DMA ในระดับเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มมากขึ้นยิ่งทำให้การเคลื่อนที่ได้มีการเคลื่อนที่น้อยลงส่งผลให้การเติมสาร DMA มีการเคลื่อนที่ได้ดีที่สุด ($P > 0.01$) และในงานวิจัยของ Laura and Raynardia (2017) พบว่าการเติมสาร DMA ในระดับเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้การเคลื่อนที่อสุจิน้อยลง ($P < 0.01$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Y. Laura et al.(2017)

ผลของระดับความเข้มข้นของ DMA ต่ออัตราอยู่รอดของตัวอสุจิในน้ำเชื้อ (%)

ตารางที่ 2 ผลของระดับความเข้มข้นของ DMA ต่ออัตราอยู่รอดของตัวอสุจิในน้ำเชื้อ (%)

เอกสารอ้างอิง	ความเข้มข้นของ DMA(%)							
	0	3	5	7	9	10	14	18
Junaedi et al.(2014)	NA	NA	26.13 ^b	28.41 ^b	36.52 ^a	NA	NA	NA
Laura et al.(2017)	NA	40.10 ^{bcd}	53.50 ^d	NA	NA	22.00 ^{abc}	15.30 ^{ab}	12.00 ^a
Laura and Raynardia (2017)	80.00 ^a	NA	NA	NA	NA	22.00 ^b	0.00 ^c	0.00 ^c

หมายเหตุ: a,b,c,d ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 2 Junaedi et al.(2014) พบว่าการเสริมสาร DMA ที่ระดับความเข้มข้น 5 และ 7% มีอัตราอยู่รอดของตัวอสุจิในน้ำเชื้อต่ำกว่าการเติมที่ระดับ 9% ที่พบอัตราอยู่รอดของตัวอสุจิในน้ำเชื้อเพิ่มมากขึ้น ($P < 0.01$) ในส่วนการศึกษาของ Y. Laura et al. (2017) พบว่าการเสริมสาร DMA แต่ละระดับมีความแตกต่างกันซึ่งพบอัตราอยู่รอดของตัวอสุจิในน้ำเชื้อต่ำที่สุดคือ การเติมที่ระดับ 18% ($P < 0.01$) และ Laura and Raynardia (2017) พบว่าการเสริม DMA ที่ระดับ 18% ไม่พบว่ามีอสุจิที่รอดชีวิต ซึ่งคล้ายคลึงกับงานวิจัย Y. Laura et al. (2017) ที่พบว่าระดับความเข้มข้นของ DMA ที่สูงขึ้น ทำให้มีอัตราอยู่รอดของตัวอสุจิในน้ำเชื้อต่ำลง

ผลของระดับความเข้มข้นของ DMA ต่ออัตราความผิดปกติของน้ำเชื้ออสุจิ(%)

ตารางที่ 3 ผลของระดับความเข้มข้นของ DMA ต่ออัตราความผิดปกติของตัวอสุจิ (%)

เอกสารอ้างอิง	ความเข้มข้นของ DMA(%)							
	0	3	5	7	9	10	14	18
Junaedi et al.(2014)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Laura et al.(2017)	NA	60.40 ^{bc}	41.00 ^a	NA	NA	67.10 ^{bcd}	68.20 ^{ab}	71.00 ^a
Laura and Raynardia (2017)	27.00 ^a	NA	NA	NA	NA	67.20 ^c	75.20 ^d	61.80 ^b

หมายเหตุ: a,b,c,d ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ

จากตารางที่ 3 Y. Laura et al. (2017) พบว่าการเติมสาร DMA ที่ระดับ 5, 14 และ 18% พบอัตราความผิดปกติของตัวอสุจิไม่แตกต่างกัน การเติมสาร DMA ที่ระดับเพิ่มมากขึ้นยิ่งทำให้พบความผิดปกติเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Laura and Raynardia (2017) ซึ่งรายงานว่า ระดับสาร DMA ที่ระดับสูงขึ้น ยิ่งพบความผิดปกติมากขึ้นทำให้ตัวอสุจตายหรือไม่สมบูรณ์

จากการศึกษาทั้ง 3 งานวิจัย Junaedi et al. (2014) พบว่าการเติมสาร DMA ที่ระดับความเข้มข้น 5% และ 7% มีการเคลื่อนที่ได้ของตัวสุจิค่อนข้างน้อยต่างจากการเติมที่ระดับ 9% ที่มีการเคลื่อนที่และอัตราการทำได้ของตัวสุจิเพิ่มมากขึ้น ($P < 0.01$) ซึ่งเห็นสอดคล้องกับการศึกษาของ Y. Laura et al. (2017) ที่พบว่าการเติมสาร DMA ที่ระดับความเข้มข้น 3% และ 5% มีการเคลื่อนที่ได้ของตัวสุจิเพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน แต่การเติมสาร DMA ที่ความเข้มข้นเกิน 10% ขึ้นไปทำให้มีการเคลื่อนที่ได้ลดน้อยลงไปเรื่อยๆจนส่งผลต่ออัตราการทำงานได้ของตัวสุจิและระดับความผิดปกติของตัวสุจิยังเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย ส่วนในการศึกษาของ Raynardia E.N. (2017) พบว่าในกลุ่มที่ไม่มีการเสริมสาร DMA มีการเคลื่อนที่ได้มากที่สุดถึง 86% แต่การเติมสาร DMA ที่ระดับความเข้มข้นเกิน 10%, 14%, 18% มีการเคลื่อนที่และอัตราการทำงานได้น้อยลงตามลำดับ อีกทั้งยังทำให้ตัวสุจิมีความผิดปกติเพิ่มมากขึ้นเหมือนกับการศึกษาของ Y. Laura et al. (2017) ทั้งนี้ เป็นเพราะในกระบวนการแช่แข็งน้ำเชื้อทำให้เกิดการลดลงของอุณหภูมิอย่างรวดเร็วและรุนแรงการใช้ DMA จึงเป็นการป้องกันสเปิร์ม

สรุป

การเติมสาร DMA ที่ระดับความเข้มข้น 0%, 3%, 5%, 7% และ 9% พบว่ามีอัตราการเคลื่อนที่แบบหมุน อัตราการทำงานได้เพิ่มมากขึ้นความผิดปกติของตัวสุจิที่เกิดขึ้นพบการเติมที่ระดับ 0% น้อยที่สุด รองลงมาคือที่ระดับ 5% และ 3% แต่พบว่าการเติมที่ระดับ 10%, 14%, 18% มีอัตราการเคลื่อนที่แบบหมุน และอัตราการทำงานได้ลดน้อยลงความผิดปกติของตัวสุจิเพิ่มมากขึ้น จากการศึกษาทำให้ได้ข้อสรุปว่าควรมีการเติมสารเคลือบตัวสุจิที่ระดับความเข้มข้น 5% เพื่อให้ตัวสุจิมีประสิทธิภาพดีขึ้นให้ตัวสุจิมีการปรับสภาวะอยู่ในสภาพที่เหมาะสม

เอกสารอ้างอิง

- Junaedi., Raden lis Arifiantini and cece sumantri. 2017. The Quality of Kampung Broiler (KB) Chicken Frozen Semen With DMA Concentrations on Yolk Lactate Ringer Diluent. Chalaza Journal of Animal Husbandry. cJAH/2(2): 19-24.
- Y. Laura.,sri Kampung Harimurti and Ismaya. 2017. Effect of Different Levels of Dimethylacetamide (DMA) on Sperm Survivability in Reproductive Tract of Hen. Pakistan Journal of nutrition. 16(3): 144-147, 2017.
- Y. Laura and Raynardia E.N. 2017. Pengaruh Perbedaan Level Krioprotektan DMA terhadap Pembekuan sperma Ayam. *Journal of Livestock Science and production*.