รหัสโครงการ SUT3-303-53-24-26

# รายงานการวิจัย

# การเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง (Cryopreservation of Thai indigenous chicken, Leung Hang Kao spermatozoa)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-303-53-24-26

# รายงานการวิจัย

# การเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง (Cryopreservation of Thai indigenous chicken, Leung Hang Kao spermatozoa)


**คณะผู้วิจัย**

**หัวหน้าโครงการ**
**อาจารย์ ดร. สมร พรชื่นชูวงศ์**
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ผู้ร่วมวิจัย**
1. นายธีระชัย ช่อไม้
2. รศ.ดร. เทวินทร์ วงษ์พระลับ
3. ผศ.ดร. อมรรัตน์ โมฬี



**ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2553**


**ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว**

**กันยายน 2556**

# กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2552-2554 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี สุรนารี ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการวิจัย ขอขอบคุณฟาร์มมหาวิทยาลัย เทคโนโลยีสุรนารี ผศ.น.สพ.ดร.บัญชร ลิขิตเดชาโรจน์ หัวหน้าโครงการวิจัยไก่เนื้อโคราช และคุณธีระชัย ช่อไม้ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรี จังหวัดปราจีนบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และสัตว์ทดลอง ตลอดจนนักวิชาการ และเจ้าหน้าที่ประจำศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรีทุกๆ ท่าน ที่ได้มีส่วนช่วยให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้วิจัย
กันยายน 2556

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# บทคัดย่อ

การศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 การทดลองดังนี้ 1) ผลของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น 2) ผลของสาร extender และสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยวิธีการแช่แข็งและ 3) ผลของอัตราการลดอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางโดยวิธีการแช่แข็ง

สำหรับการทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสาร extender 5 ชนิด ได้แก่ Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg), Beltville Poultry Semen Extender (BPSE), Lake's diluent, IGGKP และ EK โดยใช้ 0.9% NaCl ร่วมกับ 0.2% glucose เป็นตัวควบคุม ทำการเจือจางน้ำเชื้อด้วยสาร extender แต่ละชนิด และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5°C ในตู้เย็นจากนั้นทำการทดสอบผลของสาร extender ต่ออัตราการเคลื่อนที่ และอัตราการมีชีวิต ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 ถึง 7 วัน จากนั้นทำการเลือกสาร extender ที่ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่มากกว่า 60% ซึ่งได้แก่ BPSE, Lake's diluent และ Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300, 350 และ 400 mOsm/kg โดยใช้ 0.9%NaCl+ 0.2%glucose เป็นตัวควบคุม นำสารมาทดสอบอัตราการผสมติดที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 ถึง 5 วัน จากการศึกษาพบว่า ระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต และอัตราการผสมติดลดลง ($P<0.05$) การเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 วัน เมื่อใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 และ 400 mOsm/kg ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงกว่าสาร extender ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา ($P<0.05$) เมื่อใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 mOsm/kg มีผลทำให้อัตราการมีชีวิตไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมและการใช้ BPSE, Lake's diluent, IGGKP และ EK ($P<0.05$) เมื่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 วันพบว่าการใช้ สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 400 mOsm/kg ให้ผลอัตราการผสมติดสูงที่สุด (100±0.00%) ซึ่งไม่แตกต่างกับการใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 mOsm/kg และ BPSE ($P>0.05$) สำหรับกลุ่มควบคุมให้ผลอัตราการผสมติดต่ำที่สุด (33.33±7.07%) ($P<0.05$) เมื่อทำการเก็บรักษาระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น 2 ถึง 3 วัน พบว่าการใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg) ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่และอัตราการผสมติดสูงกว่าการใช้สาร extender ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา ($P<0.05$) แต่สาร extender ที่ใช้ในการศึกษาไม่มีผลต่ออัตราการมีชีวิต ($P>0.05$)

การทดลองที่ 2 ศึกษาชนิดของสาร extender และสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง โดยใช้สาร extender 3 ชนิด ได้แก่ สาร Modified extender 300 mOsm/kg, BPSE และ Lake's diluent ร่วมกับสาร cryoprotectant 4 ชนิด ได้แก่ 6%DMA, 6%DMF, 10%DMSO และ 11%Glycerol และเก็บรักษาน้ำเชื้อในถังไนโตรเจนเหลว (-196°C) เป็นระยะเวลา 2 วัน จากนั้นนำน้ำเชื้อแช่แข็งไปทดสอบอัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิต พบว่าการใช้สาร extender ร่วมกับสาร cryoprotectant ทุกชนิดให้ผลอัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิตต่ำกว่าน้ำเชื้อสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าชนิดของสาร cryoprotectant มีอิทธิพลร่วมกัน (Interaction) กับสาร extender ($P<0.05$)

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของอัตราการลดอุณหภูมิ 2 แบบ ได้แก่ การลดอุณหภูมิโดยใช้ Freezer control และการลดอุณหภูมิโดยวิธีอังไอไนโตรเจนเหลว ($LN_2$ Vapour) พบว่าการลดอุณหภูมิด้วย Freezer

control ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่รวม (38.67±3.84) อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (14.33±4.91) และอัตราการมีชีวิต(57.00±2.65) ซึ่งสูงกว่าและแตกต่าง ($P<0.05$) จากการใช้วิธีการลดอุณหภูมิโดยวิธีการอังไอไนโตรเจนเหลว

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# ABSTRACT

This study examined the feasibility of cryopreservation of Thai indigenous chicken (Leung Hang Kao) spermatozoa. Three major experiments were carried out. The first experiment was to determine the effect of extenders on short-term storage of Thai indigenous chicken (Leung Hang Kao) spermatozoa. The second experiment was to investigate the effect of extender and cryoprotectant on cryopreservation of Thai indigenous chicken sperm. The third experiment was to examine the effect of freezing method on cryopreservation of Thai indigenous sperm.

The effects of five extenders (Modified extender with osmotic pressure 300, 350 and 400 mOsm/kg, Beltsville Poultry Semen (BPSE), Lake's diluted, IGGKP and EK) on the short-term storage of Thai indigenous chicken (Leung Hang Kao) sperm were investigated. Fresh semen, which diluted with 0.9% NaCl and 0.2% glucose, was used as a control. Sperm samples were diluted with each extender and stored for 1 to 7 days at 4-5 $^{\circ}$C, motility and viability rates were assessed. The extender, which yielding good motility rate (more than 60 percentages) after storage for one day, was used as a diluent for fertilization trial. These extenders were included (Modified extender with osmotic pressure of 300, 350 and 400 mOsm/kg, BPSE and Lake's diluent). With increasing storage time, the motility rate, viability rate and fertility rate among treatments were decreased ($P<0.05$). After day one storage, the sperm diluted with Modified extender with osmotic pressure 350 and 400 mOsm/kg were resulted in significantly higher motility rates than that of the other treatments ($P<0.05$). The extenders used did not affect viability rates during storage for three days ($P>0.05$), except Modified extender with osmotic pressure 300 and 400 mOsm/kg in which viability rates were significantly lower than the other extenders at day one storage. In fertility trial, the highest fertilization rate was (100±0.00%) resulting from Modified extender with osmotic pressure 400 mOsm/kg. This was not significantly difference from the Modified extender 350 mOsm/kg (93.21±4.53%) and BPSE (91.25±5.91%). The control treatment yielded the lowest fertility rate (33.33±7.07%). With increasing storage time from two day to three day, the sperm diluted with Modified extender with osmotic pressure 300, 350 and 400 mOsm/kg gave motility rate and fertility rate higher than the other extenders ($P<0.05$).

In experiment 2, the effects of three extenders (Modified extender 300 mOsm/kg, BPSE and Lake's diluent) with four cryoprotectants (10%dimethyl sulfoxide-DMSO, 6% dimethyl acetamide-DMA, 6%dimethyl formamide and 11%Glycerol), on motility and viability of Thai indigenous chicken (Leung Hang Kao) sperm were investigated. Sperm were stored for two days in a liquid nitrogen container (-196 ℃). They were thawed at 5 ℃, motility, progressive motility and viability rates were assessed. Among treatments used the combination of extender and cryoprotectant yielded lower motility, progressive motility and

viability percentage than that of the control (fresh sperm, $P<0.05$). In addition, they have interaction between the extenders and crtoprotectants used. In experiment 3, the effect freezing methods (Freezer control and $LN_2$ Vapour) were determined. The percentage of motility (38.67±3.84), progressive motility (14.33±4.91) and viability (57.00±2.65) of frozen Thai indigenous chicken sperm resulting from freezer control method yielded a higher rate than that of the $LN_2$ Vapour method ($P<0.05$).

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| **กิตติกรรมประกาศ** | ก |
| **บทคัดย่อภาษาไทย** | ข |
| **บทคัดย่อภาษาอังกฤษ** | ง |
| **สารบัญ** | ฉ |
| **สารบัญตาราง** | ซ |
| **สารบัญภาพ** | ญ |
| **บทที่ 1 บทนำ** | 1 |
| 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาในการทำงานวิจัย | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ในการวิจัย | 3 |
| 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ | 3 |
| **บทที่ 2 วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** | 5 |
| **บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย** | 9 |
| 3.1 วัสดุและอุปกรณ์ | 9 |
| 3.2 สารเคมี | 10 |
| 3.3 วิธีการศึกษา | 11 |
| 3.3.1 การคัดเลือกพ่อพันธุ์ไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว | 11 |
| 3.3.2 การรีดน้ำเชื้อ | 12 |
| 3.3.3 การศึกษาส่วนประกอบไอออนของซีรั่ม (serum) ค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว | 13 |
| 3.3.4 วิธีประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ | 13 |
| 3.3.4.1 การประเมินลักษณะทางกายภาพของน้ำเชื้อ | 13 |
| 3.3.4.2 การหาความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (จำนวนอสุจิต่อหนึ่งมิลลิลิตร) | 13 |
| 3.3.4.3 ศึกษาอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ | 14 |
| 3.3.4.4 ศึกษาอัตราการมีชีวิตรอด | 16 |
| 3.3.4.5 การศึกษาอัตราการผสมติด | 18 |
| 3.3.5 ขั้นตอนและวิธีการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้นและโดยวิธีการแช่แข็ง | 18 |
| 1) การทดลองที่ 1 ศึกษาชนิดของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น | 18 |


# สารบัญ (ต่อ)


| | หน้า |
|---|---|
| 2) การทดลองที่ 2 ศึกษาชนิดของสาร extender และสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง | 22 |

3) การทดลองที่ 3 ศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิ (freezing rate) ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว โดยวิธีการแช่แข็ง 26

**บทที่ 4 ผลการศึกษา** 28

4.1 ส่วนประกอบไอออนของซีรั่ม (serum) ค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้ ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว 28

4.2 ผลของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง พันธุ์เหลืองหางขาว แบบระยะสั้น 28

4.3 ผลของชนิดของสาร extender และสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับ การเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง 36

4.4 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิ ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง พันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง 39

**บทที่ 5 อภิปรายผล สรุป และข้อเสนอแนะ** 40

5.1 ผลของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง พันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น 40

5.2 ผลของชนิดของสาร extender และสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับ การเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง 41

5.3 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิ ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง พันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง 43

สรุป และข้อเสนอแนะ 43

**เอกสารอ้างอิง** 45

**ภาคผนวก ก. ตารางแสดงการวิเคราะห์วาเรียนซ์** 49

**ประวัตินักวิจัย** 56

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

## สารบัญตาราง

**หน้า**

ตารางที่ 1 หลักเกณฑ์การสังเกตอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ 14

ตารางที่ 2 ค่า Sperm tracker 15

ตารางที่ 3 ค่า Analysis setup 16

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบทางเคมี (g/25 ml) ของสาร extender ที่ใช้เจือจาง น้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว 19

ตารางที่ 5 แผนการทดลองผลของสาร extender 5 ชนิด (Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg), BPSE, Lake's diluent, IGGKP และ EK) ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น 20

โดยใช้ 0.9%NaCl ร่วมกับ 0.2%glucose เป็นกลุ่มควบคุม ต่ออัตราการเคลื่อนที่
และอัตราการมีชีวิตรอด ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-7 วัน
ตารางที่ 6 แผนการทดลองผลของสาร extender 5 ชนิด (Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ 21
ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg), BPSE และ Lake's diluent, IGGKP
และ EK) ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว
แบบระยะสั้น โดยใช้ 0.9%NaCl ร่วมกับ 0.2%glucose เป็นกลุ่มควบคุม
ต่ออัตราการผสมติด ที่ระยะเวลาการเก็บ 1-5 วัน
ตารางที่ 7 แผนการทดลองผลของสาร extender 3 ชนิด (Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ 24
ที่ระดับ 300 mOsm/kg, BPSE และ Lake’s diluent) ร่วมกับสาร cryoprotectant
4 ชนิด (6%DMA, 6%DMF, 10%DMSO และ 11%Glycerol) ต่อการเก็บรักษา
น้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง
ตารางที่ 8 แผนการทดลองผลของวิธีการลดอุณหภูมิแบบต่างๆ ต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง 27
พันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง
ตารางที่ 9 ส่วนประกอบไอออนของซีรั่ม (serum) ปริมาตร ความเข้มข้น ค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้ 28
ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว
ตารางที่ 10 ผลของสาร extender ต่ออัตราการเคลื่อนที่ (Mean±S.E.) 30
ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1-7 วัน
ตารางที่ 11 ผลของสาร extender ต่ออัตราการมีชีวิตรอด (Mean±S.E.) 31
ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง พันธุ์เหลืองหางขาว ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1-7 วัน
ตารางที่ 12 ผลของสาร extender ต่ออัตราการผสมติด (Mean±S.E.) 35
ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1-5 วัน

**สารบัญตาราง (ต่อ)**

**หน้า**

ตารางที่ 13 ผลของสาร extender 3 ชนิด (Modified extender 300 mOsm/kg, BPSE และ 38
Lake’s diluent) และสาร cryoprotectant 4 ชนิด (6%DMA, 6%DMF, 10%DMSO
และ 11%Glycerol) ที่มีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า
และอัตราการมีชีวิตรอด (Mean±S.E.) ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว
ที่เก็บรักษาโดยวิธีการแช่แข็ง

**สารบัญภาพ**


| | | หน้า |
|---|---|---|
| ภาพที่ 1 | การรีดน้ำเชื้อไก่ | 12 |
| ภาพที่ 2 | สไลด์สำหรับนับเม็ดโลหิต (heamacytometer counting chamber, ก) บริเวณที่นับจำนวนอสุจิทั้ง 5 บริเวณ (1, 2, 3, 4 และ 5, ข) | 14 |
| ภาพที่ 3 | อสุจิมีชีวิตมีลักษณะสีขาว และอสุจิตายจะติดสีชมพูแดงหรือสีม่วงเข้ม เมื่อย้อมด้วยสี Eosin - nigrosin (ภายใต้กล้อง compound microscope กำลังขยาย 100 เท่า) | 17 |
| ภาพที่ 4 | กระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว แบบระยะสั้น | 21 |
| ภาพที่ 5 | กระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง | 23 |
| ภาพที่ 6 | ชุดควบคุมการลดอุณหภูมิในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง โดยใช้ Freezer control (CL 3300) ร่วมกับ cryogenesis version 4 | 25 |
| ภาพที่ 7 | ผลของสาร extender ต่ออัตราการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-7 วัน | 32 |
| ภาพที่ 8 | ผลของสาร extender ต่ออัตราการมีชีวิตรอดของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-7 วัน | 33 |
| ภาพที่ 9 | ผลของสาร extender ต่ออัตราการผสมติดของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-5 วัน | 36 |
| ภาพที่ 10 | ผลของอัตราการลดอุณหภูมิแบบต่างๆที่มีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิตรอดของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว | 39 |

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาในการทำงานวิจัย

จากการประชุมสรุปชุดโครงการ: การพัฒนาไก่พื้นเมือง ระหว่างวันที่ 24-25 กรกฎาคม 2551 ซึ่งมีสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว) โดยความร่วมมือของคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี รวมทั้งการร่วมทุนวิจัยกับหน่วยงานต่างๆ ทั้งภาครัฐและเอกชน อาทิ กรมปศุสัตว์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสานวิทยาเขตกาฬสินธุ์ บริษัทตะนาวศรีไก่ไทย เป็นต้น ซึ่งได้ดำเนินการมาตั้งแต่ปี 2544 ได้ผลงานที่ปรากฏเด่นชัดคือ ได้ฝูงต้นพันธุ์ (Foundation stock) ไก่พื้นเมืองที่มีข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ พร้อมจดทะเบียนพันธุ์และสายพันธุ์ (breed and strain) จากกรมปศุสัตว์จำนวน 4 ฝูง และขณะนี้ดำรงฝูงอยู่ที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ของกรมปศุสัตว์ (อุดมศรี และคณะ, 2551) ดังนี้

1) ไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว สายพันธุ์กบินทร์ 1 จังหวัดปราจีนบุรี
2) ไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ สายพันธุ์เชียงใหม่ 1 จังหวัดเชียงใหม่
3) ไก่พื้นเมืองพันธุ์แดง สายพันธุ์สุราษฎร์ 1 จังหวัดสุราษฎร์ธานี
4) ไก่พื้นเมืองพันธุ์ชี สายพันธุ์ท่าพระ 1 จังหวัดขอนแก่น

โดยไก่แต่ละฝูงดังกล่าวยังคงไว้ซึ่งลักษณะเด่นของไก่พื้นเมือง เช่นความสามารถในการดำรงพันธุ์ เลี้ยงง่าย หากินเก่ง มีความต้านทานโรค มีอัตราการรอดสูงกว่าไก่เนื้อทั่วไป มีรสชาติดี มีเนื้อแน่นและมีไขมันน้อย (อภิชัย, 2541; มนต์ชัย และคณะ 2551; กนกอร และคณะ 2551; ศุภมิตร และคณะ 2551 และ ชนินทร์ และคณะ 2551) นอกจากนี้ยังมีความหลากหลายทางพันธุกรรมที่จะนำไปพัฒนาต่อให้สอดคล้องกับความต้องการสำหรับเกษตรกรในชนบท และภาคอุตสาหกรรม อีกทั้งยังพบว่าไก่พื้นเมืองมีศักยภาพสูงในการแข่งขันเชิงพาณิชย์ เพราะคุณภาพเนื้อเป็นที่ต้องการของตลาด และราคาสูงกว่าไก่กระทงประมาณ 15-20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีผลผลิตปีละประมาณ 15-20 ล้านตัว (เกรียงไกร, 2551) ดังนั้นการผลิตไก่ลูกผสมพื้นเมืองโดยใช้จุดเด่นของไก่พ่อพันธุ์พื้นเมือง ที่มีความต้านทานโรค และมีอัตราการรอดสูงกว่าไก่กระทง อีกทั้งมีรสชาติดี มีคลอเรสเตอรอลต่ำ แต่มีจุดด้อยคือ เจริญเติบโตช้า ไปผสมกับแม่พันธุ์ทางการค้าที่นำเข้าจากต่างประเทศ และมีความโดดเด่นในเรื่องการเจริญเติบโต ในระดับอุตสาหกรรมจึงมีความเป็นไปได้สูงทั้งตลาดในและต่างประเทศ โดยมีจุดขายที่สำคัญคือคุณภาพเนื้อ ในปัจจุบันมีการกระจายพันธุ์ไก่ทั้ง 4 ฝูง ไปสู่เกษตรกรและภาคเอกชนในรูปของ parent stock หรือมีการขนย้ายพ่อพันธุ์ไก่ไปผสมกับสายแม่พันธุ์ทางการค้าซึ่งพบปัญหาเกี่ยวกับการเคลื่อนย้ายสัตว์ อีกทั้งยังมีการระบาดของโรคติดต่อในสัตว์ปีก อาทิโรคไข้หวัดนก ซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัสสายพันธุ์ H5N1 เป็นสายพันธุ์ที่ก่อโรครุนแรง โดยก่อให้เกิดความเสียหายต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีกและเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ปีก ประเทศไทยได้พบการระบาดของเชื้อไวรัสไข้หวัดนกสายพันธุ์ H5N1 ครั้งแรกเมื่อวันที่ 23 มกราคม 2547 (สำนักงานควบคุม ป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์, 2549) จึงทำให้รัฐบาลต้องออกมาตรการควบคุมการระบาดของโรคไข้หวัดนกโดยการทำลายสัตว์ปีกที่เป็นพาหะซึ่งรวมถึงไก่พื้นเมืองด้วยประมาณ 60,811,081 ตัว (สำนักงานควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์, 2549) การทำลายไก่เป็นจำนวนมากนี้ส่งผลให้ไก่ที่มีพันธุกรรมที่ดีลดจำนวนลง นอกจากนี้ยังเกิดการระบาดของโรคนิวคาสเซิล ซึ่งสามารถติดต่อได้โดยสัตว์หายใจเอาละอองอากาศที่มีเชื้อไวรัสเข้าไป และสามารถติดต่อผ่านสัตว์พาหะ เช่น นกธรรมชาติ นกป่า และแมลง นอกจากนี้ยังสามารถติดต่อจากการสัมผัสกับสิ่งคัดหลั่งโดยเฉพาะอุจาระ อาหาร และน้ำรวมถึงการติดต่อผ่านไข่ โดย

ลูกไก่จะตายภายใน 4-5 ของการฟัก จึงก่อให้เกิดความเสียหายทั้งในระบบการเลี้ยงสัตว์ปีกแบบพื้นบ้านและการเลี้ยงสัตว์ปีกเป็นอุตสาหกรรม (วนิดา และสร้อยนภา, 2556)

ปัญหาที่สำคัญอีกประการหนึ่ง คือ ข้อจำกัดของน้ำเชื้อไก่ที่มีลักษณะหนืด และมีปริมาตรน้อย โดยปริมาตรน้ำเชื้อไก่ที่ได้จากการหลั่งแต่ละครั้งเฉลี่ย 0.11 มิลลิลิตร/ตัว แต่มีปริมาณความเข้มข้นสูงถึง 600-1,200 ล้านตัว/มิลลิลิตร (Donoghue and Wishart 2000) จึงทำให้ไม่สะดวกในการนำไปผสมเทียม จึงจำเป็นต้องมีการเจือจางน้ำเชื้อก่อนนำไปผสมเทียมหรือก่อนนำน้ำเชื้อมาทำการเก็บรักษา โดยพบว่าสามารถเจือจางน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองได้ในอัตราส่วนที่สูงถึง 1:8 (อสุจิ: สาร extender) ดังนั้นการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองน่าจะเป็นเครื่องมือหนึ่งที่จะสามารถเก็บรักษาพันธุกรรมที่ดีของไก่พื้นเมือง และเป็นวิธีที่ช่วยกระจายพันธุกรรมไก่พื้นเมืองได้รวดเร็ว ซึ่งการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีวิธีการเก็บ 2 วิธี คือ 1.) การเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบระยะสั้น จะใช้สาร extender ในการเจือจางน้ำเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาตร เป็นแหล่งพลังงานให้กับตัวอสุจิเพื่อใช้ในกระบวนการเมทาบอลิซึม อีกทั้งสาร extender ยังช่วยยืดระยะเวลาการเคลื่อนที่และการมีชีวิตให้กับตัวอสุจิ โดยการเลือกชนิดของสาร extender นั้น ควรมีค่า pH และค่า osmolarity ใกล้เคียงกับ seminal fluid ของน้ำเชื้อสัตว์ที่ทำการศึกษา โดยทั่วไปค่า pH และค่า osmolarityที่เหมาะสมในสัตว์ปีกจะอยู่ในช่วงระหว่าง 6.0-8.0 และ 250-460 mOsm/kg ตามลำดับ (Siudzinska and Lukaszewicz, 2008) หากอสุจิอยู่ในสภาวะที่มี pH ต่ำ จะทำให้อสุจิมีการใช้ออกซิเจนเพิ่มขึ้น มีการผลิตกรดแลกติก ส่งผลให้อสุจิมีการเคลื่อนที่ลดลง และหากอสุจิอยู่ในสภาวะที่มี pH สูง จะส่งผลให้อสุจิมีอัตราเมทาบอลิซึมสูงขึ้น สำหรับสภาวะที่มีค่า osmolarityต่ำจะทำให้เซลล์อสุจิบวม และสภาวะที่มีค่า osmolarity สูง จะทำให้เซลล์อสุจิมีการสูญเสียน้ำ และเกิดภาวะเซลล์เหี่ยว โดยการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบระยะสั้นนี้จะสามารถแก้ปัญหาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่มีลักษณะหนืด และมีปริมาตรน้อย ให้สามารถนำไปผสมกับแม่ไก่ได้ง่ายขึ้น ผสมให้กับแม่ไก่ได้ในจำนวนที่เพิ่มขึ้น แก้ปัญหาการระบาดของโรคติดต่อในสัตว์ปีกจากการเคลื่อนย้ายพ่อพันธุ์ที่มีคุณภาพดีไปผสมกับแม่ไก่พันธุ์ดี อีกทั้งยังลดต้นทุนในการเลี้ยงพ่อพันธุ์ไก่ในปริมาณที่มากได้ 2.) การเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบระยะยาว หรือการเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยวิธีการแช่แข็ง เป็นการเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ในไนโตรเจนเหลว (-196°C) ซึ่งจะอาศัยการทำงานของสาร extender ร่วมกับสาร cryoprotectantโดยสาร cryoprotectantจะมีหน้าที่ป้องกันอันตรายให้กับเซลล์อสุจิระหว่างกระบวนการแช่แข็ง และการละลาย ซึ่งการเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยวิธีการแช่แข็งจะสามารถเก็บเป็น sperm bank เพื่อการอนุรักษ์ไก่พื้นเมืองที่มีพันธุกรรมดี และนำไปใช้ประโยชน์ในอนาคต โดยมีการรายงานว่าสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ที่ผ่านกระบวนการแช่แข็งได้นานถึง 9 ปี โดยไม่มีการลดลงของอัตราการผสมติด (Lake, 1986) นอกจากนี้อัตราการลดอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งที่จะทำให้การเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยวิธีการแช่แข็งประสบความสำเร็จ เนื่องจากการลดอุณหภูมิช้าหรือเร็วเกินไปก็จะทำให้เกิดอันตรายต่อตัวอสุจิได้ หากมีการลดอุณหภูมิช้าเกินไปก็จะทำให้มีการสูญเสียน้ำจากภายในเซลล์ออกสู่ภายนอกเซลล์ในปริมาณที่มาก ส่งผลให้เกิดภาวะเซลล์เหี่ยว และอาจทำให้ความเข้มข้นของตัวทำละลายทั้งในสารละลายและในตัวอสุจิสูงเกินไป เมื่อตัวอสุจิสัมผัสอยู่กับสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงเป็นเวลานาน ก็จะทำเกิดอันตรายต่อเซลล์อสุจิได้และหากมีการลดอุณหภูมิเร็วเกินไป จะทำให้น้ำภายในเซลล์เคลื่อนที่ออกสู่ภายนอกเซลล์ได้น้อย ส่งผลให้เกิดผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์ ซึ่งอาจทำให้เซลล์และออแกเนลถูกผลึกน้ำแข็งทิ่มแทงได้ ในช่วงที่ผ่านมาพบว่าการศึกษาทางด้านการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อย และผลการศึกษายังมีความแปรปรวนซึ่งเนื่องมาจากปัญหาในการเลือกใช้สารเคมีที่เกี่ยวข้องในกระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ได้แก่ สาร extender, สาร cryoprotectantและอัตราการลดอุณหภูมิ งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดที่จะศึกษาชนิดของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง

แบบระยะสั้น ศึกษาชนิดของสาร extender สาร cryoprotectantและอัตราการลดอุณหภูมิที่เหมาะสม สำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองโดยวิธีการแช่แข็ง โดยใช้ไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวเป็นต้นแบบในการศึกษา เพื่อเป็นประโยชน์ในการใช้น้ำเชื้อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุด

**1.2 วัตถุประสงค์ในการวิจัย**

1.2.1 เพื่อศึกษาชนิดของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว แบบระยะสั้น

1.2.2 เพื่อศึกษาชนิดของสาร extender และสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง

1.2.2 เพื่อศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิ (freezing rate) ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง

**1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ**

ทำให้ทราบชนิดของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น ทราบชนิดของสาร extender สาร cryoprotectantและอัตราการลดอุณหภูมิ ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง ซึ่งประโยชน์จากการศึกษาดังกล่าวนี้จะนำไปสู่การเพิ่มผลผลิตให้กับอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ปีกในด้านการผสมเทียม โดยใช้ประโยชน์จากการเพิ่มปริมาตรน้ำเชื้อ และยังสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ในธนาคารอสุจิ ถึงแม้ว่าพ่อพันธุ์จะไม่มีชีวิตอยู่ ซึ่งง่ายต่อการกระจายพันธุกรรมเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ และเพื่ออนุรักษ์ไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวที่มีพันธุกรรมดี อีกทั้งยังสามารถลดต้นทุนในการเลี้ยงพ่อพันธุ์ และจัดเป็นองค์ความรู้ใหม่และเป็นองค์ความรู้ในการวิจัยครั้งต่อไป เนื่องจากการศึกษาและการวิจัยเกี่ยวกับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวยังมีค่อนข้างน้อย และงานวิจัยในครั้งนี้สามารถพัฒนาเทคนิคและวิธีการที่ได้ไปประยุกต์ใช้กับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองในสายพันธุ์อื่นๆ และสัตว์ปีกชนิดอื่นๆ และนำเทคนิคที่ได้ไปเผยแพร่ประชาชน (เกษตรกรที่เลี้ยงไก่) ฟาร์มเอกชน และประชาชนที่สนใจ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# บทที่ 2
## วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว มีถิ่นกำเนิดอยู่บริเวณภาคเหนือของประเทศไทย คือ บ้านหัวเท หรือบ้านกร่าง จังหวัดพิษณุโลก ลักษณะเด่นประจำพันธุ์ คือ เพศผู้ จะมีขนพื้นตัวสั้น แน่น ตั้งแต่บริเวณหน้าคอถึงหน้าอก ขนบริเวณใต้ปีก ใต้อกแน่น ขนช่วงท้องเป็นปุย ขนสร้อยคอ สร้อยปีก สร้อยหลัง และระบ้าเป็นขนละเอียด ปลายแหลมเส้นเล็ก ก้านแข็ง เป็นแผงสีเหลืองสด ขนสร้อยคอยาวประบ่าเรียกว่า "สร้อยต่อ หรือ ประบ่า" ขนระย้ายาวประกัน ซึ่งขนสีเหลือง จะมี 3 เฉดสี คือ สีเหลืองแก่ เรียกเหลืองใหญ่ สีเหลืองกลาง เรียกเหลืองรวก และสีเหลืองอ่อน เรียกเหลืองดอกโสน ขนหางพัดมีสีดำ ขนกระรวยสีขาว พ่อพันธุ์มีน้ำหนักประมาณ 3.00-3.50 กิโลกรัม เพศเมีย มีขนพื้นตัวเป็นสีดำตลอด หรือบางตัวอาจมีจุดกระขาวอยู่ 5 หย่อม คือที่บริเวณหัว ปีกทั้งสองข้าง ข้อขาทั้งสองข้าง ปาก แข้ง ปุ่มเดือย เล็บ เกล็ด เป็นสีขาวอมเหลืองตลอดแบบสีงาช้าง ปากมีรองน้ำ 2 ข้าง ปลายปากงองุ้มเล็กน้อย ตาสีเหลืองอ่อนมีเส้นเลือดสีแดงในตาเห็นได้ชัดเจน แม่พันธุ์มีน้ำหนักประมาณ 2.00-2.50 กิโลกรัม โดยไก่พื้นเมืองนั้นเป็นสัตว์พื้นเมืองของไทย ที่มีความสำคัญต่อสังคมและเศรษฐกิจของคนไทย จุดประสงค์ของผู้เลี้ยงส่วนใหญ่เลี้ยงเพื่อบริโภคในครอบครัว ส่วนที่เหลือจากการบริโภคจึงจำหน่าย สำหรับการเลี้ยงเพื่อการค้านั้นมีน้อยมาก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำเชื้อไก่มีปริมาตรน้อย แต่มีปริมาณความเข้มข้นสูง หากให้มีการผสมพันธุ์แบบธรรมชาติก็จะส่งผลให้การกระจายพันธุกรรมเกิดความล่าช้า นอกจากนี้อาจเนื่องมาจากเกิดการระบาดของโรคติดต่อในสัตว์ปีก และขาดการนำเทคโนโลยีที่เหมาะสมไปใช้ในฟาร์มเกษตรกร (บัญญัติ และคณะ, 2529 และ เชิดชัย และคณะ, 2530) ต่อมาจึงได้มีการคิดค้นเทคนิคการผสมเทียมโดยการใช้สาร extender เจือจางน้ำเชื้อไก่เพื่อทำให้ปริมาตรน้ำเชื้อเพิ่มขึ้น และสามารถนำน้ำเชื้อไปผสมเทียมให้กับแม่ไก่ได้มากกว่าการผสมแบบธรรมชาติ ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการเลี้ยงไก่พ่อพันธุ์ ลดปัญหาการเคลื่อนย้ายไก่พ่อพันธุ์ไปผสมกับแม่พันธุ์ ลดปัญหาการเกิดโรคระบาดในสัตว์ปีก และเป็นการกระจายพันธุกรรมของไก่พันธุ์ดีได้อย่างรวดเร็ว บางครั้งมีการขนส่งน้ำเชื้อไปบริการในถิ่นทุรกันดารซึ่งต้องใช้ระยะเวลาในการเดินทาง การเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบระยะสั้นโดยการเลือกใช้สาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ก็จะสามารถช่วยรักษาคุณภาพน้ำเชื้อไว้ได้ ซึ่งการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบระยะสั้นเป็นการเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ในตู้เย็น (4-5°C) โดยมีปัจจัยที่สำคัญ คือ สาร extender เป็นสารที่ใช้เจือจางน้ำเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาตรน้ำเชื้อและไม่ทำให้น้ำเชื้อมีความเข้มข้นมากเกินไป อีกทั้งมีบทบาทในการยืดระยะเวลาการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ลดการใช้พลังงานของตัวอสุจิและเป็นแหล่งพลังงานให้กับตัวอสุจิ โดยชนิดของสาร extender ที่เลือกใช้นั้นควรมีค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้ใกล้เคียงกับ seminal fluid ของน้ำเชื้อสัตว์ที่ทำการศึกษา เนื่องจากค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้มีผลต่อการเคลื่อนที่และอัตราการเมทาบอลิซึมของตัวอสุจิ โดยสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาสัตว์ปีกควรมีค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้อยู่ในช่วง 6.0-8.0 และ 250-460 mOsm/kg ตามลำดับ (Siudzinska and Lukaszewicz, 2008) สาร extender ที่มีการใช้ในการเจือจางน้ำเชื้อไก่มีหลายชนิด ได้แก่ Beltville Poultry Semen Extender (BPSE), Egg yolk-Tris, Lake's diluent, Tselutin, Schramm, IGGKP, EK Tris-citric-acid-glucose medium (TCG) และ Egg yolk เป็นต้น (เทวินทร์ และยุพิน 2550, 2551; Tselutin et al., 1999; Pistenma et al., 1971; Chalah et al., 1999; พรจิต และคณะ 2554; Moreno et al., 2008; Gee et al., 1993; Seigneurin and Blesbois, 1994 และ Blesbois et al., 2008) ซึ่งที่ผ่านมาได้มีการศึกษาผลของสาร extender ต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ โดยเทวินทร์ และยุพิน (2550) ได้ศึกษาผลของสาร Lake's

diluted, Tselutin, Schramm, BPSE และ IGGKP ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ 3 สายพันธุ์ คือ เหลืองหางขาว, คละสี และโร๊ดไอส์แลนด์เรด ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1, 3 และ 6 ชั่วโมง โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 41 °C พบว่า BPSE และ IGGKP ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่และอัตราการมีชีวิตไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวและคละสี (P>0.05) ส่วนในไก่โร๊ดไอแลนด์เรด IGGKP ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่และอัตราการมีชีวิตสูงที่สุด และยังพบว่า Lake's diluted, Tselutin, Schramm, BPSE และ IGGKP ให้ผลอัตราการผสมติดไม่แตกต่างกัน (P>0.05) เมื่อใช้เก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวและคละสีรวมกัน และ Pistenma et al. (1971) ได้ศึกษาผลของสาร Egg-yolk medium และ Modified Kreb's solution ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พันธุ์ White Leghorn ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2 ชั่วโมงพบว่า Modified Kreb's solution (80%) ให้ผลอัตราการผสมติดสูงกว่าการใช้ Egg-yolk medium (9.1%) เนื่องจากที่ผ่านมาการศึกษาในไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวยังมีการศึกษาที่ค่อนข้างน้อย จึงยังไม่สามารถสรุปได้ว่าสาร extender ชนิดใดเหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้สาร extender ต่อการเก็บรักษาไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว

การเก็บรักษาน้ำเชื้อโดยวิธีการแช่แข็งเป็นการเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ในถังที่มีไนโตรเจนเหลว (-196°C) ซึ่งจะเป็นการเก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบของ sperm bank เพื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ใช้ในอนาคต ซึ่งประเทศไทยนั้นยังมีการรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งของไก่พื้นเมืองไทยน้อย และผลการศึกษาค่อนข้างแปรปรวน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปัญหาเกี่ยวกับการเลือกใช้สารเคมีต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแช่แข็ง เช่น สาร extender สาร cryoprotectant และนอกจากนี้ยังมีสาเหตุมาจากการเลือกใช้เทคนิคการลดอุณหภูมิที่มีผลทำให้เซลล์อสุจิเกิดการถูกทำลายได้เช่นกัน สาร cryoprotectant เป็นสารที่สำคัญในกระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่โดยวิธีการแช่แข็ง ซึ่งมีหน้าที่ปกป้องเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายระหว่างกระบวนการแช่แข็งและการละลาย ซึ่งสาร cryoprotectant แต่ละชนิดจะต้องมีความเข้มข้น และระยะเวลา (equilibration time) ที่เหมาะสม เพื่อที่จะออกฤทธิ์และป้องกันการเซลล์ถูกทำลาย โดยสาร cryoprotectant ที่มีการนำมาใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ ได้แก่ glycerol, Dimethyl sulfoxide (DMSO), Dimethyl acetamide (DMA), Dimethyl formamide (DMF) เป็นต้น และที่ผ่านมาได้มีการศึกษาผลของสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ โดย Tselutin et al. (1999) ได้ศึกษาการใช้สาร glycerol, DMA และ DMSO ที่ระดับความเข้มข้น 4, 6, 8 และ 11% ร่วมกับ Lake's diluted ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่สายพันธุ์ทางการค้า (type I99 roosters) พบว่าการใช้ glycerol (72-76%), DMA (62-68%) และ DMSO (20-27%) ให้ผลอัตราการมีชีวิตต่ำกว่าน้ำเชื้อสด (92-94%) และเมื่อนำสาร 11%glycerol และ 6%DMA ร่วมกับ Lake's diluent ไปศึกษาอัตราการผสมติด พบว่าการใช้ 6%DMA (84.1%) ที่มีการลดอุณหภูมิด้วยวิธี Pellet method ให้ผลอัตราการผสมติดไม่แตกต่างจากน้ำเชื้อสด (94.7%) (P>0.05) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Chalah et al. (1999) ที่พบว่าการใช้ 6%DMA ร่วมกับ Lake's diluent (88%) ที่มีการลดอุณหภูมิด้วยวิธี Pellet method ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่สายพันธุ์ทางการค้า (Shaver Starbro) ให้ผลอัตราการผสมติดไม่แตกต่างจากน้ำเชื้อสด (93%) นอกจากนี้จากการศึกษาของ เทวินทร์ และยุพิน (2551) ได้ศึกษาการใช้ 2%DMSO และ 2%Ethylene glycol (EG) ร่วมกับ BPSE ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพบว่าการใช้ 2% DMSO (74.29%) และ 2%EG (59.28%) ให้ผลอัตราการผสมติดไม่แตกต่างกัน และให้ผลอัตราการผสมติดต่ำกว่าน้ำเชื้อสด (96.61%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) Moreno et al. (2008) ได้ทำการศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ *Capra pyrenaica* โดยวิธีการแช่แข็งโดยใช้ Tris-citric acid glucose medium (TCG)

เป็นสาร extender ร่วมกับ 6%chicken egg yolk และ 6%quail egg yolk โดยใช้วิธีการลดอุณหภูมิแบบอังไอไนโตรเจนเหลวโดยวางตัวอย่างเหนือไอไนโตรเจนเหลวที่ระดับ 5 เซนติเมตร นาน 10 นาที พบว่า 6%chicken egg yolk (63.3%) ให้ผลอัตราการผสมติดสูงกว่าการใช้ 6% quail egg yolk (36.4%) ($P<0.05$) นอกจากนี้ Gee et al. (1993) ได้เก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ American kestrel โดยวิธีการแช่แข็งโดยใช้ BPSE ร่วมกับ 4, 6, 8 และ 10% DMSO และใช้ freezer control ในการควบคุมการลดอุณหภูมิ พบว่า 6%DMSO (62%) ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงกว่า 10%DMSO (44%) ($P<0.05$) จากผลการศึกษาเกี่ยวกับสาร cryoprotectant ต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พบว่าการเลือกใช้สาร cryoprotectant ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ไก่ ระดับความเข้มข้นของสาร cryoprotectant และชนิดของสาร extender สำหรับการศึกษาผลของสาร cryoprotectant ในไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อย จึงไม่สามารถสรุปได้ว่าสาร cryoprotectant ชนิดใดและระดับความเข้มข้นใดที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการใช้สาร cryoprotectant ต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว

ความสำเร็จของการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่โดยวิธีการแช่แข็งไม่เพียงแต่ขึ้นอยู่กับชนิดของสาร cryoprotectant และสาร extender ที่เหมาะสมเท่านั้น แต่ยังขึ้นอยู่กับอัตราการลดอุณหภูมิที่เหมาะสมในการแช่แข็งด้วย ซึ่งหากมีการลดอุณหภูมิช้าเกินไปก็จะทำให้มีการสูญเสียน้ำจากภายในเซลล์ออกสู่ภายนอกเซลล์ในปริมาณที่มาก ส่งผลให้เกิดภาวะเซลล์เหี่ยวและอาจทำให้ความเข้มข้นของตัวทำละลายทั้งในสารละลายและในตัวอสุจิสูงเกินไป เมื่อตัวอสุจิสัมผัสอยู่กับสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงเป็นเวลานาน ก็จะทำเกิดอันตรายต่อเซลล์อสุจิได้ และหากมีการลดอุณหภูมิเร็วเกินไปจะทำให้น้ำภายในเซลล์เคลื่อนที่ออกสู่ภายนอกเซลล์ได้น้อย ส่งผลให้เกิดผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์ ซึ่งอาจทำให้เซลล์และออแกเนลถูกผลึกน้ำแข็งทิ่มแทงได้ โดยวิธีการลดอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่โดยวิธีการแช่แข็งมี 3 วิธี คือ 1). การอังไอไนโตรเจนเหลว ( $LN_2$ vapour) โดยจะมีตะแกรงสำหรับวางหลอดน้ำเชื้อเหนือระดับไอไนโตรเจนเหลวที่บรรจุอยู่ในภาชนะ (กล่องโฟม) และสามารถปรับระดับตะแกรงสำหรับวางหลอดน้ำเชื้อขึ้นลงได้ตามระดับที่ต้องการ ซึ่งวิธีนี้มีข้อเสีย คือ ในกรณีที่มีตัวอย่างมากเกินไปอาจทำให้การกระจายของไอไนโตรเจนเหลวไม่ทั่วถึง ซึ่งจะทำให้น้ำเชื้อที่เก็บรักษานั้นมีคุณภาพต่ำ 2). การใช้ Freezer control วิธีการนี้มีหลักการ คือ การพ่นไอของไนโตรเจนเหลวเข้าไปในห้องเล็กๆ (chamber) ที่มีฉนวนอยู่โดยรอบ อัตราการพ่นไอของไนโตรเจนเหลวเข้าไปขึ้นอยู่กับอัตราการลดอุณหภูมิที่ต้องการ ซึ่งการใช้ freezer control จะสามารถควบคุมอัตราการลดอุณหภูมิได้ดีกว่าการลดอุณหภูมิด้วยวิธีอื่นๆ 3). การลดอุณหภูมิด้วยวิธี Pellet method ทำได้โดยหยดตัวอย่างลงบนภาชนะมีลักษณะเป็นถาดหลุม ที่วางอยู่บนน้ำแข็งแห้ง (-79°C) ตัวอย่างจะแข็งตัวมีลักษณะเป็นเม็ด และนำเม็ดน้ำเชื้อนั้นไปเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลว (-196°C) ที่ผ่านมาได้มีการรายงานการศึกษาผลของอัตราการลดอุณหภูมิในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่โดยวิธีการแช่แข็ง โดยสุนทรและคณะ (2552) ได้ศึกษาผลของอัตราการลดอุณหภูมิโดยใช้วิธีการอังไอไนโตรเจนเหลวที่ระดับ 11 และ 5 เซนติเมตร นาน 5, 10 และ 15 นาที โดยใช้ 10%glycerol และ 6%DMF ร่วมกับ Schramm ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว พบว่าการใช้ 10%glycerol (60%) ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงกว่า 6%DMF (42.8%) ($P<0.05$) ขณะที่การใช้ 10%glycerol และ 6%DMF ให้ผลอัตราการมีชีวิตไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) เมื่อพิจารณาผลอัตราการผสมติดพบว่าการใช้ 6%DMF ให้ผลอัตราการผสมติดเพียง 22.80% สำหรับ 10% glycerol ไม่ทำให้เกิดการผสมติด จากการศึกษาของ Tselutin et al. (1999) ได้ทำการศึกษาเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่สายพันธุ์ type I 99 โดยวิธีการแช่แข็ง โดยใช้การลดอุณหภูมิ 2 วิธีคือ 1) ใช้ freezer control ที่อัตราการลดอุณหภูมิที่ 7°C/นาที จากอุณหภูมิ 5°C ถึง –35°C และใช้

อัตราการลดอุณหภูมิ 20°C/นาที จากอุณหภูมิ -35°C ถึง -140°C 2) การลดอุณหภูมิด้วยวิธี Pellet method โดยใช้ Dry ice (-80 C) ซึ่งใช้ Lake's diluent เป็นสาร extender ร่วมกับ Glycerol, DMSO และ DMA ที่ระดับความเข้มข้น 4, 6, 8, 11% พบว่าเมื่อใช้ Glycerol ให้ผลอัตราการมีชีวิตอยู่ในช่วง 72-76% เซึ่งให้ผลอัตราการมีชีวิตสูงกว่า DMA (62-68%) และการใช้ DMSO (20-27%) ให้ผลอัตราการมีชีวิตต่ำ นอกจากนี้ยังพบว่าหากต้องการลดอุณหภูมิโดยวิธี Pellet method ควรเลือกใช้สาร DMA เป็นสาร cryoprotectant แต่หากใช้การลดลดอุณหภูมิด้วย freezer control นั้นควรใช้ Glycerol เป็นสาร cryoprotectant และยังพบว่า DMSO เป็นพิษต่อเซลล์อสุจิมากที่สุด ขณะที่ glycerol เป็นพิษต่อเซลล์อสุจิน้อยที่สุด และจากการศึกษาของ Seigneurin and Blesbois (1994) ได้ทำการศึกษาเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ (SASSO, Sabrcs, France) โดยวิธีการแช่แข็ง โดยใช้ Freezer control ในการควบคุมการลดอุณหภูมิและเปรียบเทียบอัตราการลดอุณหภูมิที่ 5°C/นาที, 7°C/นาที และ 10°C/นาที จากอุณหภูมิ 5°C ถึง -90°C พบว่าที่อัตราการลดอุณหภูมิ 7°C/นาที ให้ผลอัตราการผสมติดสูงกว่าอัตราการลดอุณหภูมิที่ 5°C/นาที และ 10°C/นาที แต่ให้ผลอัตราการผสมติดต่ำกว่าน้ำเชื้อสด ($P<0.05$) จากการรวบรวมเอกสารพบว่าการเลือกใช้อัตราการลดอุณหภูมิ ขึ้นอยู่กับชนิดของสาร cryoprotectant แต่อย่างไรก็ตามการศึกษาในไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวยังมีค่อนข้างน้อย จึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเลือกใช้อัตราการลดอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# บทที่ 3
# วิธีดำเนินงานวิจัย

การศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้นและโดยวิธีการแช่แข็ง มีการดำเนินงานวิจัยทั้งในภาคสนามและในห้องปฏิบัติการ ในส่วนของห้องปฏิบัติการนั้นใช้ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาและกายวิภาคสัตว์ อาคารเครื่องมือ 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำหรับการศึกษาในภาคสนามนั้นใช้ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรี จังหวัดปราจีนบุรี และฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีเป็นสถานที่ในการดำเนินงานวิจัย โดยการศึกษาครั้งนี้แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 ศึกษาชนิดของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว แบบระยะสั้น

การทดลองที่ 2 ศึกษาชนิดของสาร extender สาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง

การทดลองที่ 3 ศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิ (freezing rate) ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง

โดยการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวทั้งและแบบระยะสั้นและโดยวิธีการแช่แข็ง มีการประเมินคุณภาพของน้ำเชื้อจากอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต และอัตราการผสมติด ซึ่งใช้วัสดุ อุปกรณ์และสารเคมี พร้อมทั้งวิธีการศึกษา ดังนี้

**3.1 วัสดุและอุปกรณ์**

1. หลอดฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร
2. กระดาษทิชชู
3. กระบอกน้ำกลั่น
4. กระติกน้ำแข็ง
5. ependorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
6. micropipette (ขนาด 10, 100, 200 และ 1,000 ไมโครลิตร)
7. small and large pipettes tips
8. หลอดทดลองพลาสติกขนาด 5 และ 15 มิลลิลิตร พร้อมฝาปิด
9. beaker ขนาด 250, 100, 50, 25 มิลลิลิตร
10. volumetric flasks ขนาด 250 มิลลิลิตร
11. graduated sylinders ขนาด 25 มิลลิลิตร
12. ขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร
13. hemacytometer
14. glass stirring rod
15. counter
16. rack
17. กระดาษ lable
18. เทปใส
19. ปากกา lable
20. vortex mixer

21. pH meter
22. osmometer
23. ตู้เย็น
24. slides และ cover slides
25. ไม้จิ้มฟัน
26. หลอดแช่แข็ง (french straws) ขนาด 0.25 มิลลิลิตร
27. forcept
28. ตะเกียงแอลกอฮอล์
29. ขวดสีชา ขนาด 50 มิลลิลิตร
30. กระดาษเช็ดเลนส์
31. แผ่น DVD
32. ไม้ขีด
33. เข็มเขี่ย
34. Liquid nitrogen containers dewar 20 XT (Taylor-Wharton U.S.A.)
35. Liquid nitrogen storage with dispenser
36. cryobath
37. cryochamber
38. cryocane
39. cryo gloves
40. freezer control (CL 3300)
41. computer and software operating manual (cryogenesis version 4 for windows)
42. compound microscope and Stereo microscope
43. Image j software
44. Computer Assisted Semen Analysis (CASA)

**3.2 สารเคมี**

1. Water cell culture grade
2. ไนโตรเจนเหลว
3. Sodium cholride
4. sodium acetate
5. potassium citrate
6. sodium glutamate
7. dipotassium hydrogen phosphate
8. potassium dihydrogenphosphate
9. Fructose
10. Tes(N-Tris(hydrxy methal) methyl-2-amino ethane sulfonic acid)
11. magnesium acetate
12. potassium acetate
13. Polyvinylpyroridone (PVP)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

14. sodium dihydrogen phosphate
15. Glucose
16. Inositol
17. Protamine sulfate
18. Anhydrous sodium hydrogen phosphate
19. Dimethyl sulfoxide (DMSO)
20. Dimethyl acetamide (DMA)
21. Glycerol
22. Dimethyl sulfonamide (DMF)
23. Eosin B
24. Nigrosin
25. Sodium citrate dehydrate
26. น้ำยาเช็ดเลนส์
27. น้ำยาเคลือบเล็บ
28. immersion Oil

**3.3 วิธีการศึกษา**

**3.3.1 การคัดเลือกพ่อพันธุ์ไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว**

คัดเลือกไก่ตั้งแต่อายุ 6 เดือน ที่มีความสมบูรณ์พันธุ์และมีลักษณะเด่นตรงตามสายพันธุ์เหลืองหางขาว คือ ด้านบนของหงอนหินบางเรียบ ปลายหงอนยาวเลยตา โคนหงอนโค้งติดกับศรีษะ ลักษณะลำตัวและอกแน่น มีเนื้อเต็ม กระดูกอกยาวตรง หลังเป็นแผ่นกว้างมีกล้ามเนื้อมาก เรียบตรงไม่โค้งนูน ไหล่กว้างยกตั้งตรง คอใหญ่ กระดูกคอถี่ ปั้นขาใหญ่ กล้ามเนื้อมาก เนื้อแน่น แข็งแรง ผิวหนังขาวอมเหลือง สีขนลำตัวดำมีขาวแซมบ้างที่หัว หัวปีก ข้อขา สร้อยคอเหลืองชัดเจน ยาวประบ่า สร้อยหลังเป็นสีเดียวกับสร้อยคอเรียงกันเต็มแผ่นหลัง เริ่มจากโคนคอถึงโคนหาง เส้นขนละเอียดยาวเป็นระย้า สร้อยปีกสีเดียวกับสร้อยคอเรียงกันแน่นเต็มบริเวณหัวปีกถึงปีกชัย ขนหางกะลวยมีสีขาวพุ่มออกยาว ขนหางควรพุ่งตรงและยาว ปลายโค้งตกลงเล็กน้อย ขาแข้งมีเดือยขาวอมเหลืองสีเดียวกับปาก เกล็ดแข็งแน่นหนาเรียบ เดือยใหญ่แข็งแรง นิ้วยาว เล็บสีขาวอมเหลือง ไม่มีสีดำปน

**3.3.2 การรีดน้ำเชื้อ**

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้พ่อพันธุ์ไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวจากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรี จังหวัดปราจีนบุรี และฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อายุประมาณ 7 เดือนขึ้นไป จำนวน 60 ตัวโดยจะรีดสัปดาห์ละ 2 ครั้ง การรีดน้ำเชื้อจะมีผู้รีด 2 คน คือ คนอุ้มไก่จะกระชับพ่อไก่ไว้ที่เอวยื่นหางไก่ออกข้างหน้าหัวไก่อยู่ด้านหลังของคนอุ้ม มือหนึ่งจะจับขาไก่ทั้ง 2 ข้างรวบเข้าหากัน โดยใช้นิ้วชี้และนิ้วกลางอยู่ระหว่างขาทั้งสอง แล้วใช้มืออีกข้างหนึ่งลูบหลังพ่อไก่เบาๆ จากโคนปีกผ่านมาที่หลังและโคนหางพอถึงโคนหางใช้นิ้วหัวแม่มือและนิ้วชี้บีบกระตุ้นอย่างรวดเร็วที่โคนหาง ไก่จะแสดงปฏิกิริยากระดกหางขึ้น พร้อมกับดันอวัยวะเพศรูปร่างเป็นลอนคู่ปลายแหลมยื่นออกมาจากรูทวาร ซึ่งอวัยวะดังกล่าวเป็นที่เก็บน้ำเชื้อและฉีดน้ำเชื้อ คนรีดอีกคนหนึ่งจะใช้ภาชนะที่สะอาดรองรับน้ำเชื้อที่ไหลออกมาดังแสดงในภาพที่ 1 ข้อควรระวัง ก่อนรีดน้ำเชื้อจะต้องทำความสะอาดบริเวณทวารด้วยน้ำกลั่นหรือน้ำสะอาด และใช้กระดาษทิชชู่ซับ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากน้ำ และอุจจาระ ซึ่งน้ำเชื้อที่นำมาทำการเก็บรักษาจะต้องไม่ปนเปื้อนจากสิ่งดังกล่าว และจะทำ

การประเมินอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิของพ่อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวเป็นรายตัว โดยน้ำเชื้อที่จะนำมาศึกษานั้นจะต้องมีอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ 75% ขึ้นไป จากนั้นนำน้ำเชื้อที่รีดได้มาผสมรวมกันก่อนนำไปศึกษาต่อไป

**ภาพที่ 1** การรีดน้ำเชื้อไก่

**3.3.3 การศึกษาส่วนประกอบไอออนของน้ำเลือด ค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว**

เนื่องจากน้ำเชื้อไก่มีปริมาตรน้อย ในการศึกษาครั้งนี้จึงใช้น้ำเลือดของไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวเพื่อศึกษาส่วนประกอบไอออน โดยการนำเลือดที่ได้จากการเจาะเส้นเลือดบริเวณปีก (Wing vain) มาทำการ centrifuged ที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 นาที โดยการใช้เครื่อง universal high speed centrifuges รุ่น Z 323 K (Hermle Labortechnik, Wehingen, Germany) หลังจากการ centrifuged จะสังเกตเห็นได้ว่าตัวอย่างเลือดมีการแยกออกเป็นสองส่วน โดยส่วนล่างจะมีลักษณะสีแดงเข้ม คือ เม็ดเลือด และส่วนบนจะมีลักษณะเป็นสีเหลืองใส คือ น้ำเลือด (plasma) จากนั้นนำไมโครไปเปตดูดส่วนของน้ำเลือดใส่ ependrof ขนาด 1.5 มิลลิลิตร และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80°C เพื่อนำไปศึกษาส่วนประกอบของไอออนชนิดต่างๆ ได้แก่ แคลเซียม และแมกนีเซียม โดยใช้เครื่อง Cobas Integra 800 (Roche, Nannhein, Germany) และวิเคราะห์ โซเดียม โพแทสเซียม และคลอไรด์ ด้วยเครื่อง NOVA 4 CRT (Nova Biomedical, Waltham, USA) เป็นต้น สำหรับค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ทำได้โดยนำน้ำเชื้อไก่มาวัดค่า pH ด้วยเครื่อง Hach pH Meter รุ่น EC10 (Hach, Loveland, USA) และทำการวัดค่าออสโมลาลิตี้ด้วยเครื่อง Fiske Associates Osmometer รุ่น 210 (Fiske Associates, Massachusetts, USA)

**3.3.4 วิธีประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ**

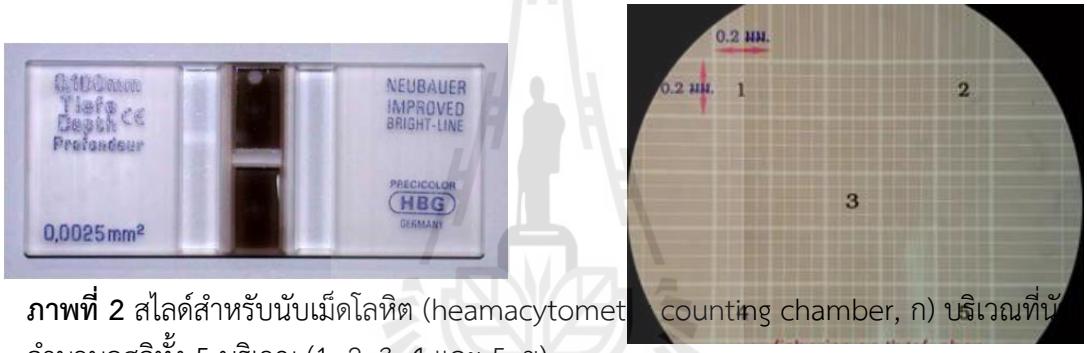
**3.3.4.1 การประเมินลักษณะทางกายภาพของน้ำเชื้อ**

ควรสังเกตทันทีภายหลังจากการรีดน้ำเชื้อ โดยดูสี ความเข้มข้น และสิ่งเจือปน เช่น อุจาระ ปัสสาวะ และของเสียอื่นๆ โดยน้ำเชื้อที่จะนำมาศึกษาต้องปราศจากสิ่งปนเปื้อน (อุจาระ ปัสสาวะ)

**3.3.4.2 การหาความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (จำนวนอสุจิต่อหนึ่งมิลลิลิตร)**

การหาความเข้มข้นของน้ำเชื้อหาได้โดยทำการเจือจางน้ำเชื้อสดด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วนน้ำเชื้อต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 1: 1,000 เท่า ขณะที่ทำการดูดน้ำเชื้อควรใช้กระดาษทิชชู่ซับน้ำเชื้อส่วนเกินที่ติดมากับ pipettes tips จากนั้นทำการนับจำนวนอสุจิ โดยใช้สไลด์สำหรับนับเม็ดโลหิต (heamacytometer counting chamber) (ภาพที่ 2 ก) ภายใต้กล้อง compound microscope (40X) นับจำนวนอสุจิจากมุมบน-ล่าง ทั้ง 4 มุม และช่องตรงกลาง รวม 5 ช่อง (ภาพที่ 2 ข) แล้วนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยจำนวนอสุจิที่นับได้ต่อ 1 มิลลิลิตร ดังนี้

จำนวนอสุจิ / มิลลิลิตร = (รวมจำนวนอสุจิที่นับได้ทั้ง 5 บริเวณ / 5) × 25 × dilution rate × $10^4$




**ภาพที่ 2** สไลด์สำหรับนับเม็ดโลหิต (heamacytometer counting chamber, ก) บริเวณที่นับจำนวนอสุจิทั้ง 5 บริเวณ (1, 2, 3, 4 และ 5, ข)

**3.3.4.3 ศึกษาอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ**

การศึกษาอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิมีวิธีการศึกษา 3 วิธี คือ

วิธีที่ 1 เป็นวิธีการศึกษาอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่ใช้ในภาคสนามก่อนนำน้ำเชื้อมาทำการศึกษา ทำได้โดยการหยดน้ำเกลือ 1 หยด (5 ไมโครลิตร) ลงบนสไลด์ และหยดน้ำเชื้อ 1 ไมโครลิตร จากนั้นใช้ไม้จิ้มฟันเขี่ยน้ำเกลือมาแตะกับน้ำเชื้อเพียงเล็กน้อย แล้วสังเกตการเคลื่อนที่ภายใต้กล้อง compound microscope (10X) โดยให้เกณฑ์การเคลื่อนที่ของอสุจิ ดัดแปลงจาก Guest (1973) ดังรายละเอียดในตารางที่ 1

**ตารางที่ 1 หลักเกณฑ์การสังเกตอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ**

| หลักเกณฑ์ | คะแนน | การเคลื่อนที่ (%) |
|---|---|---|
| อสุจิทุกตัวเคลื่อนที่ | 4 | 100 |
| อสุจิส่วนใหญ่เคลื่อนที่ (3/4) | 3 | 75 |
| อสุจิบางตัวเคลื่อนที่ (2/4) | 2 | 50 |
| อสุจิส่วนใหญ่ไม่เคลื่อนที่ มีเพียงเล็กน้อยที่เคลื่อนที่ (1/4) | 1 | 25 |
| อสุจิไม่มีการเคลื่อนที่ | 0 | 0 |

ดัดแปลงจาก: Guest (1973)

โดยน้ำเชื้อที่จะนำมาศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้นและโดยวิธีการแช่แข็งนั้น ต้องมีการเคลื่อนที่มากกว่า 75%

วิธีที่ 2 เป็นวิธีการศึกษาอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ 1). ใช้โปรแกรม Image J ประเมินอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่ทำการเก็บรักษาแบบระยะสั้น ทำได้โดยการนำตัวอย่างที่มีอัตราการการเจือจาง 1:3 (Sperm:Extender) มาเจืออีกครั้งด้วยสาร extender ที่อัตราการเจือจาง 1:60 (diluted milt: extender) และใช้ micropipette ดูดตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร โหลดลงบน Dual Slided Sperm Analysis ที่ปิดด้วย Cover Glass (Hamilton Thorne Biosciences, Beverly, MA, USA) แล้วสังเกตการเคลื่อนที่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ compound รุ่น Axioskop 40 ที่กำลังขยาย 10X และทำการอัดวีดีโอนาน 10 วินาที โดยใช้กล้องถ่ายวีดีโอรุ่น Sony Model SSC-E458P color video camera SuperExwave ซึ่งต่ออยู่กับกล้องจุลทรรศน์ จากนั้นนำภาพวีดีโอที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Image J โดยมีการกำหนดค่า sperm tracker ดังรายละเอียดในตารางที่ 2 (ดัดแปลงจาก Sontakke et al. (2004))

**ตารางที่ 2 ค่า Sperm tracker**

| | |
|---|---|
| Minimum sperm size (pixels) | 5 |
| Maximun sperm size (pixels) | 30 |
| Minimum track length (frames) | 30 |
| Maximun sperm velocity between frame (pixels) | 20 |
| Minimum VSL for motile (um/s) | 4 |
| Minimum VAP for motile (um/s) | 5 |
| Minimum VCL for motile (um/s) | 5 |
| Low VAP speed (um/s) | 5 |
| Maximum percentage of path with zero VAP | 1 |
| Maximum percentage of path with low VAP | 25 |
| Low VAP speed 2 (um/s) | 25 |
| Low VCL speed (um/s) | 35 |
| High WOB (percent VAP/VCL) | 80 |
| High LIN (percent VSL/VAP) | 80 |
| High WOB two (percent VAP/VCL) | 50 |
| High LIN two (percent VSL/VAP) | 60 |
| Frame Rate (frames per second) | 60 |
| Microns per 1000 pixels | ต้อง set scale |
| Print xy co-ordinate for all tracked sperm | 0 |
| Print motion characteristics for all motile sperm | 0 |
| Print median values for motion characteristics | 0 |

ดัดแปลงจาก: Sontokke et al. (2004)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2). ใช้เครื่อง Computer Assisted Semen Analysis (CASA) รุ่น version 10 HTM-IVOS (Hamilton Thorne Biosciences, Beverly, MA, USA) สำหรับประเมินอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่ทำการเก็บรักษาโดยวิธีการแช่แข็ง ทำได้โดยการนำตัวอย่างน้ำเชื้อแช่แข็งมาเจืออีกครั้งด้วยสาร extender ที่อัตราการเจือจาง 1:15 (Frozen semen: Extender) และใช้ micropipette ดูดตัวอย่าง 5 ไมโครลิตร โหลดลงบน Dual Slided Sperm Analysis ที่ปิดด้วย Cover Glass (Hamilton Thorne Biosciences, Beverly, MA, USA) ที่วางอยู่บน stage ของเครื่อง IVOS จากนั้นเลื่อน stage เข้าไปในเครื่อง IVOS และทำการวิเคราะห์ โดยมีการกำหนดค่า Analysis setup ดังรายละเอียดในตารางที่ 3 (ดัดแปลงจาก Sontakke et al. (2004))

**ตารางที่ 3 ค่า Analysis setup**

| | |
|---|---|
| Temperature (˚C) | 37.0 |
| Apply sort | 0 |
| Frames Acquired | 30 |
| Frames rate (Hz) | 60 |
| Minimum contrast | 25 |
| Minimum Cell Size (pixels) | 4 |
| Minimum Static Contrast | 15 |
| Straightness (STR) Threshold (%) | 80 |
| VAP Cutoff (μm/sec) | 5 |
| Prog. Min VAP (μm/sec) | 20 |
| VSL Cutoff (μm/sec) | 20 |
| Cell Size (pixels) | 4 |
| Cell Intensity | 50 |
| Static Head Size | 0.72-8.82 |
| Static Head Intensity | 0.14-1.84 |
| Static Elongation | 0-47 |
| Slow Cell Motile | Yes |
| Magnification | 1.92 |
| Video Frequncy | 60 |
| Bright Field | No |
| Chamber depth (μm) | 20 |
| Field Selection Mode | Auto |

ดัดแปลงจาก: Sontakke et al. (2004)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**3.3.4.4 ศึกษาอัตราการมีชีวิตรอด**

การศึกษาอัตราการมีชีวิตรอดใช้เทคนิคการย้อมสีด้วย Eosin และ Nigrosin โดยมีวิธีการเตรียมสีย้อมและขั้นตอนการศึกษาอัตราการมีชีวิตรอดดังนี้

**วิธีการเตรียมสีย้อม**

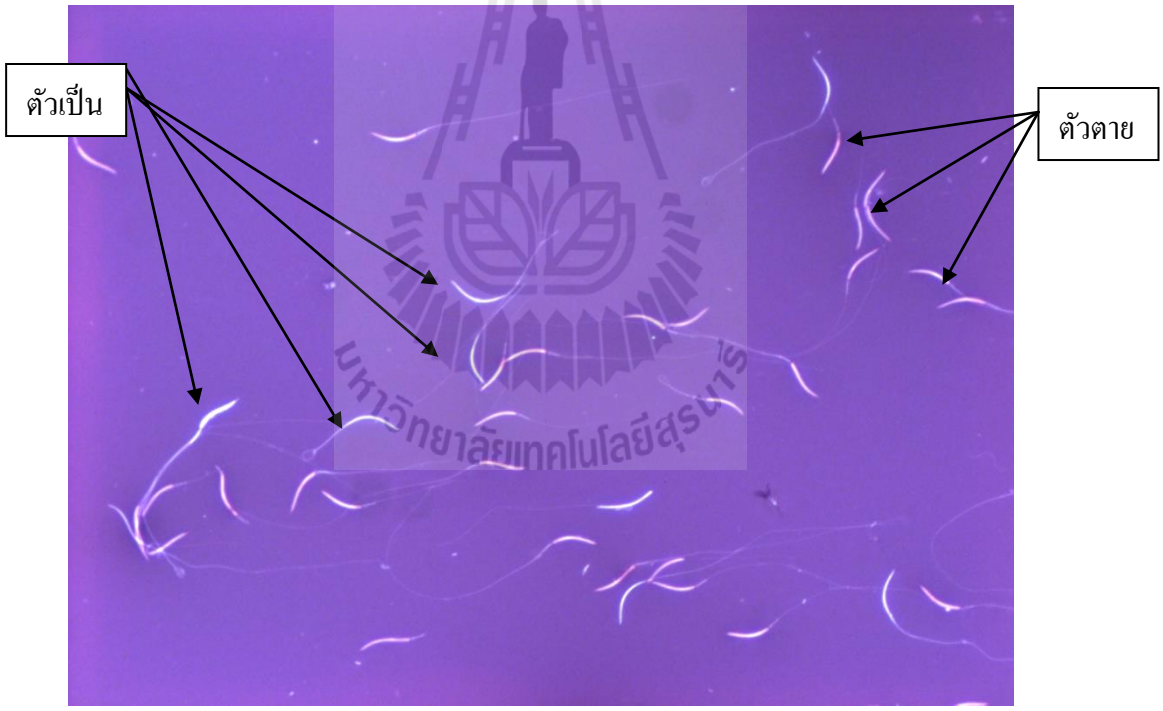
ชั่ง Eosin B 1 กรัม, Nigrosin 5 กรัม, Sodium citrate dehydrate 1.5 กรัม ใส่ใน Beager และเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร โดยให้ความร้อนขณะเตรียมสารเพราะสารจะไม่ละลาย เมื่อสารละลายเข้ากันดีแล้วนำไปกรอง จนไม่มีตะกอนเหลืออยู่ แล้วนำสีย้อมที่ได้เก็บไว้ในขวดสีชาโดยเก็บที่อุณหภูมิห้อง

**วิธีการศึกษาอัตราการมีชีวิตมีขั้นตอนดังนี้**

- หยดสี Eosin-Nigrosin dye ลงบนแผ่นสไลด์ 1 หยด (5 ไมโครลิตร) แล้วหยดน้ำเชื้อตัวอย่างข้างๆ สีย้อมประมาณ 1 ไมโครลิตร
- ใช้เข็มเขี่ยคนน้ำเชื้อกับสีย้อมให้เข้ากันจากนั้นใช้แผ่นสไลด์อีกแผ่นหนึ่งเกลี่ยน้ำเชื้อให้กระจายบางๆ โดยเกลี่ยเพียงครั้งเดียว
- นำแผ่นสไลด์ที่ smear แล้ว ผึ่งให้แห้งในอุณหภูมิห้อง
- หยดน้ำยาทาเล็บลงบนแผ่นสไลด์ 1 หยด แล้วปิดด้วย cover slide นำไปส่องดูภายใต้กล้อง

compound microscope กำลังขยาย 100 เท่า

- นับจำนวนเซลล์ตัวเป็นและตัวตายโดยการสุ่มนับ 5 บริเวณๆ ละ 20 เซลล์ โดยที่เซลล์ตัวเป็นจะมีลักษณะสีขาวไม่ติดสีย้อม ส่วนตัวตายจะติดสีย้อมเป็นสีชมพูแดงหรือสีม่วงเข้มดังแสดงในภาพที่ 3




**ภาพที่ 3** อสุจิมีชีวิตมีลักษณะสีขาว และอสุจิตายจะติดสีชมพูแดงหรือสีม่วงเข้ม เมื่อย้อมด้วยสี Eosin - nigrosin (ภายใต้กล้อง compound microscope กำลังขยาย 100 เท่า)

**3.3.4.5 การศึกษาอัตราการผสมติด**

การศึกษาอัตราการผสมติดในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้นและโดยวิธีการแช่แข็งเป็นการศึกษาในภาคสนามที่มีวิธีการศึกษาดังนี้

ใช้แม่ไก่สายพันธุ์ Isa Brown (จากฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี) อายุระหว่าง 7 เดือน ถึง 1 ปี จำนวน 300 ตัว ซึ่งจะทำการผสมเทียม 2 ครั้ง วันเว้นวัน นาน 1 สัปดาห์ โดยการศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น จะใช้จำนวนตัวอสุจิต่อแม่ไก่ 1 ตัว ( total number spermatozoa/hen) เท่ากับ 300 x $10^6$ และจะเริ่มเก็บไข่ภายหลังจากการผสมเทียม 1 วันต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ โดยจะทำการเก็บไข่ทุกวันในช่วงบ่ายและนำไข่เข้าฟักทุกๆ 1 สัปดาห์ โดยการเรียงไข่ลงในถาดฟักและนำเข้าตู้ฟักที่มีอุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ซึ่งถาดไข่จะวางเอียงทำมุม 45 องศา และมีการกลับไข่ทุกๆ 1 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบการผสมติดโดยการส่องไข่ที่อายุฟัก 10 วัน แล้วนำจำนวนไข่ที่ผสมติดมาคำนวณหาอัตราการผสมติดดังนี้

อัตราการผสมติด = (จำนวนไข่ที่ผสมติด / จำนวนไข่ที่เข้าฟัก) x 100

### 3.3.5 ขั้นตอนและวิธีการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว แบบระยะสั้นและโดยวิธีการแช่แข็ง

การเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้นและโดยวิธีการแช่แข็งแบ่งออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

**การทดลองที่ 1 ศึกษาชนิดของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น มีขั้นตอนการทดลองดังนี้**

**ขั้นตอนการทดลอง**

1. ทำการเตรียมสาร extender 5 สูตร ได้แก่ Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300, 350 และ 400 mOsm/kg, BPSE, Lake's diluted, IGGKP และ EK ตามส่วนประกอบดังแสดงในตารางที่ 4 โดยใช้ 0.9%NaCl ร่วมกับ 0.2%glucose เป็นกลุ่มควบคุม ทำการวัดค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้ของสาร extender นำสาร extender ที่เตรียมไว้ใส่ขวดแก้วปิดฝาให้สนิทเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-5˚C

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 4** ส่วนประกอบทางเคมี (g/v) ของสาร extender ที่ใช้เจือจางน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว

| Composition | Dilutent (g/25ml) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Control | Modified extender 300mOsm/kg | Modified extender 350mOsm/kg | Modified extender 400mOsm/kg | BPSE | Lake's diluent | IGGKP | EK |
| Sodium chloride | 0.2250 | - | - | - | - | - | - | - |
| magnesium acetate | - | 0.0200 | 0.0200 | 0.0200 | 0.0085 | 0.0292 | - | - |
| sodium acetate | - | - | - | - | 0.1075 | - | - | - |
| potassium citrate | - | 0.1000 | 0.1000 | 0.1000 | 0.0170 | - | 0.0371 | 0.0350 |
| sodium glutamate | - | 0.5000 | 0.5000 | 0.5000 | 0.2442 | 0.5311 | 0.3873 | 0.3873 |
| dipotassium hydrogen phosphate | - | - | - | - | 0.4160 | - | - | - |
| potassium dihydrogen phosphate | - | - | - | - | 0.0163 | - | - | - |
| Fructose | - | 0.0494 | 0.2662 | 0.5392 | - | 0.2000 | - | 0.0500 |
| Tes(N-Tris(hydrxy methal) methyl-2-amino ethane sulfonic acid | - | 0.2500 | 0.2500 | 0.2500 | 0.0488 | - | - | - |
| potassium acetate | - | - | - | - | - | 0.1480 | - | - |
| Polyvinylpyroridone(PVP) | - | - | - | - | - | 0.0750 | - | 0.0250 |
| Glucose | 0.0500 | - | - | - | 0.1250 | - | 0.2250 | 0.1750 |
| sodium dihydrogen phosphate | - | - | - | - | - | - | 0.0525 | 0.0525 |
| Inositol | - | - | - | - | - | - | 0.2250 | 0.1750 |
| Protamine sulfate | - | - | - | - | - | - | - | 0.0050 |
| Anhydrous sodium hydrogen phosphate | - | - | - | - | - | - | 0.2450 | 0.2450 |
| Osmolarity (mOsm $kg^{-1}$) | 297±0.58 | 303±1.73 | 353±2.00 | 404±1.73 | 377±1.53 | 363±0.58 | 384±2.65 | 391±1.00 |
| pH | 6.59±0.02 | 7.44±0.02 | 7.45±0.01 | 7.42±0.03 | 7.53±0.02 | 7.18±0.02 | 7.62±0.02 | 7.61±0.01 |

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2. นำน้ำเชื้อสดที่มีอัตราการเคลื่อนที่ 75% ขึ้นไป มาเจือจางกับสาร extender ทั้ง 5 สูตร และกลุ่มควบคุมที่เตรียมไว้ในอัตราส่วนน้ำเชื้อสดต่อสาร extender 1:3 ใน efpendrof ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการกลับหลอดไปมาอย่างเบาๆ หลังจากนั้นนำมาเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการทดสอบอัตราการเคลื่อนที่ และอัตราการมีชีวิต ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-7 วัน ดังแผนการทดลองแสดงในตารางที่ 5

**ตารางที่ 5** แผนการทดลองผลของสาร extender 5 ชนิด (Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg), BPSE, Lake's diluent, IGGKP และ EK) ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น โดยใช้ 0.9%NaCl ร่วมกับ 0.2%glucose เป็นกลุ่มทควบคุม และทำการทดสอบอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิตรอด ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-7 วัน

| กลุ่มการทดลอง | สาร extender | อัตราการเคลื่อนที่ (%) | | | | | | | อัตราการมีชีวิต (%) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ระยะเวลาการเก็บ (วัน) | | | | | | | ระยะเวลาการเก็บ (วัน) | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| 1 | Control | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | Modified extender 300 mOsm/kg | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | Modified extender 350 mOsm/kg | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | Modified extender 400 mOsm/kg | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | BPSE | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | Lake’sdiluent | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | IGGKP | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | EK | | | | | | | | | | | | | | |

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

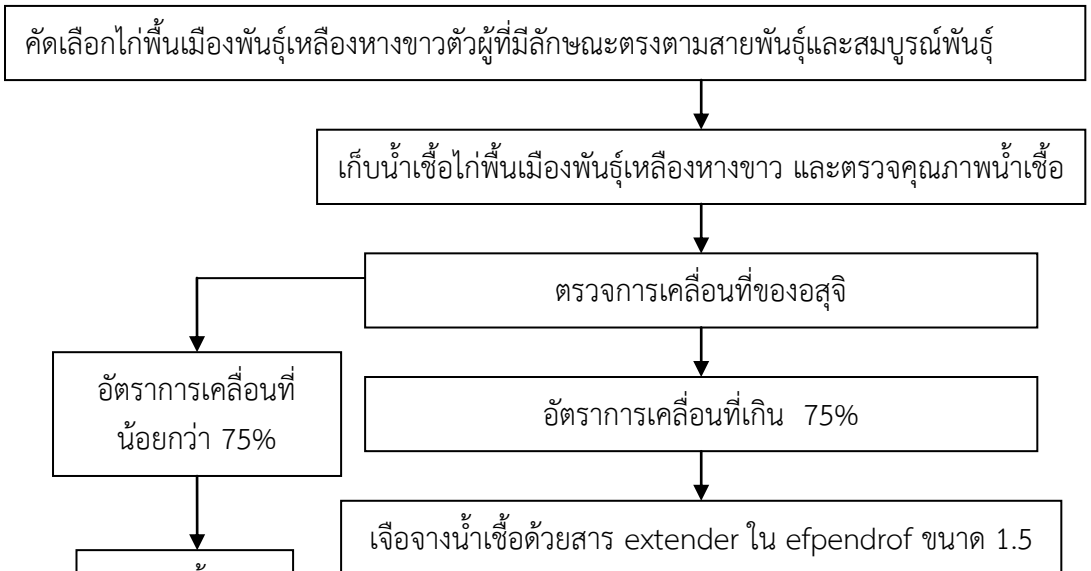
3. นำสาร extender ที่ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่มากกว่า 60% ได้แก่ Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg), BPSE, Lake’s diluent และกลุ่มควบคุม (0.9%NaCl ร่วมกับ 0.2%glucose) มาทำการทดสอบอัตราการผสมติดที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-5 วัน ดังแผนการทดลองแสดงในตารางที่ 6 โดยขั้นตอนและกระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้นดังแสดงในแผนภาพที่ 4

**ตารางที่ 6** แผนการทดลองผลของสาร extender 5 ชนิด (Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg), BPSE, Lake's diluent, IGGKP และ EK) ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น โดยใช้ 0.9%NaCl ร่วมกับ 0.2%glucose เป็นกลุ่มควบคุม และทำการทดสอบอัตราการผสมติด ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-5 วัน

| กลุ่มการทดลอง | สาร extender | อัตราการผสมติด (%) |
|---|---|---|

| | | ระยะเวลาการเก็บ (วัน) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | Control | | | | | |
| 2 | Modified extender 300 mOsm/kg | | | | | |
| 3 | Modified extender 350 mOsm/kg | | | | | |
| 4 | Modified extender 400 mOsm/kg | | | | | |
| 5 | BPSE | | | | | |
| 6 | Lake'sdiluent | | | | | |
| 7 | IGGKP | | | | | |
| 8 | EK | | | | | |

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



**ภาพที่ 4** กระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว แบบระยะสั้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**การวิเคราะห์ผลทางสถิติ**

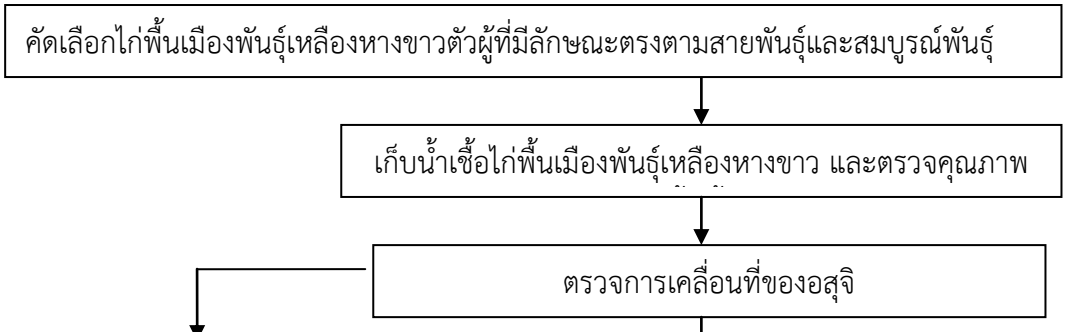
วิเคราะห์ผลของสาร extender 5 ชนิด (Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg), BPSE, Lake's diluent, IGGKP และ EK) ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น โดยใช้ 0.9%NaCl ร่วมกับ 0.2%glucose เป็นกลุมควบคุม โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Desing) ที่มีการวัดซ้ำ (Repeated Measurements) ซึ่งในแต่ละทรีทเมนต์จะทำการทดสอบอัตราการเคลื่อนที่ 10 ซ้ำต่อทรีทเมนต์ ทดสอบอัตราการมีชีวิต 5 ซ้ำต่อทรีทเมนต์ และทดสอบอัตราการผสมติด 3 ซ้ำต่อทรีทเมนต์ ก่อนวิเคราะห์ความแปรปรวนนำผลอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต และอัตราการผสมติดไป transformed โดยใช้วิธี Arcsine Transformation จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนระหว่างทรีทเมนต์ (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ CRD ที่มีการวัดซ้ำ และเปรียบเทียบผลของสาร extender แต่ละชนิดที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ One way ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ด้วยวิธี Duncan’s test ที่ระดับนัยสำคัญ $P<0.05$ โดยใช้โปรแกรม SPSS Version 10

**การทดลองที่ 2 ศึกษาชนิดของสาร extender และสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง**

ทำการศึกษาชนิดของสาร extender และสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง ในการศึกษาครั้งนี้ใช้สาร extender 3 ชนิด ได้แก่ Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 mOsm/kg, BPSE และ Lake’s diluent ร่วมกับสาร cryoprotectant 4 ชนิด ได้แก่ 6%DMA, 6%DMF, 10%DMSO และ 11%Glycerol โดยมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

**ขั้นตอนการทดลอง**

1. เตรียมสาร extender (Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 mOsm/kg, BPSE และ Lake’s diluent) วัดค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้ ใส่ขวดแก้วปิดฝาให้สนิทเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-5°C
2. เตรียมสาร cryoprotectant 4 ชนิด ได้แก่ 6%DMA, 6%DMF, 10%DMSO และ 11%Glycerol โดยใช้สาร extender ที่เตรียมไว้ในข้อ 1 เป็นตัวทำละลาย และนำสาร cryoprotectant ที่เตรียมไว้ใส่ขวดสีชาปิดฝาให้สนิทเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-5°C
3. นำน้ำเชื้อสดที่มีอัตราการเคลื่อนที่ 75% ขึ้นไปมาเจือจางด้วยสาร extender ที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ในอัตราส่วน 1:3 (Sperm: Extender) ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นเติมสาร cryoprotectant แต่ละชนิด (6%DMA, 6%DMF, 10%DMSO และ 11%Glycerol) โดยใช้สัดส่วน 1: 3 (diluted milt: cryodiluent) ซึ่งมีขั้นตอนและกระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง ดังแสดงในแผนภาพที่ 5 และแผนการทดลองดังแสดงในตารางที่ 7



**ภาพที่ 5** กระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง

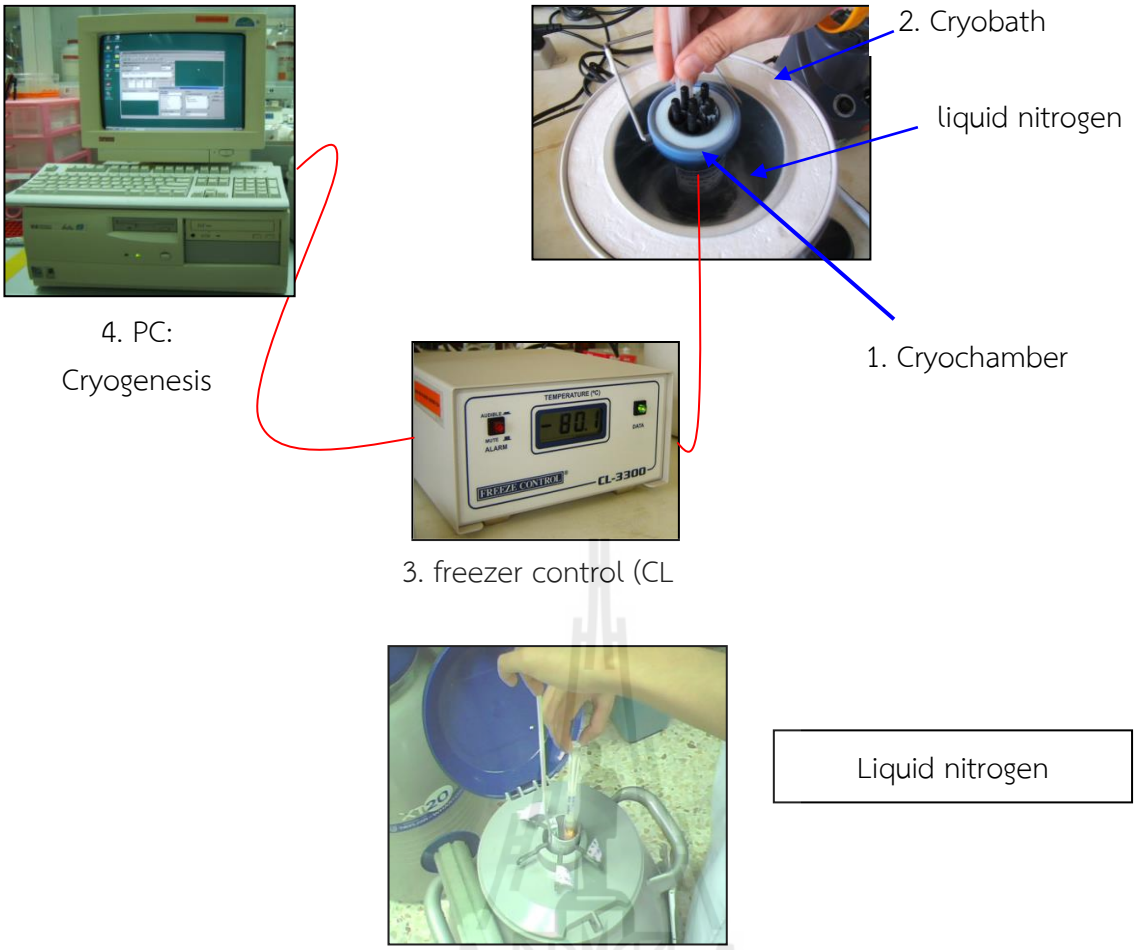
**ตารางที่ 7** แผนการทดลองผลของสาร extender 3 ชนิด (Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 mOsm/kg, BPSE และ Lake's diluent) ร่วมกับสาร cryoprotectant 4 ชนิด (6%DMA, 6%DMF, 10%DMSO และ 11%Glycerol) ต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อพื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง

| กลุ่มการทดลอง | สาร extender | สาร cryoprotectant | อัตราการเคลื่อนที่ (%) | อัตราการเคลื่อนที่รวม (%) | อัตราการมีชีวิต (%) |
|---|---|---|---|---|---|

| | | |
|---|---|---|
| 1 | Modified | 6%DMA |
| 2 | extender | 6%DMF |
| 3 | 350 | 10%DMSO |
| 4 | mOsm/kg | 11%Glycerol |
| 5 | BPSE | 6%DMA |
| 6 | | 6%DMF |
| 7 | | 10%DMSO |
| 8 | | 11%Glycerol |
| 9 | Lake's | 6%DMA |
| 10 | diluent | 6%DMF |
| 11 | | 10%DMSO |
| 12 | | 11%Glycerol |
| 13 | กลุ่มควบคุม (น้ำเชื้อสด) | |

4. ใช้ micropipet ดูดน้ำเชื้อปริมาณ 240 ไมโครลิตร ใส่หลอดแช่แข็ง (French straw ขนาด 250 ไมโครลิตร) แล้วปิดหลอดแช่แข็งโดยใช้ forcep ลนไฟจนร้อนแล้วหนีบปากหลอดแช่แข็ง ซึ่งหลังจากการเติมสาร cryoprotectant จะเริ่มจับเวลาจนถึงการนำหลอดแช่แข็งใส่ลงใน cryochamber โดยใช้เวลาประมาณ 10 นาที

5. การเตรียม freezer control และคอมพิวเตอร์เพื่อควบคุมการลดอุณหภูมิ ทำได้โดยเติมไนโตรเจนเหลว ($LN_2$) ลงใน cryobath ให้สูงประมาณ 15 เซนติเมตร จากนั้นใส่ cryochamber ลงใน cryobath แล้วปิดฝา โดยที่ cryochamber ต่ออยู่กับ freezer control (CL 3300) และ freezer control ต่ออยู่กับคอมพิวเตอร์อีกทีเพื่อควบคุมการทำงานของ freezer control จากนั้นเลือกอัตราการลดอุณหภูมิดัดแปลงตามวิธีของ Tselutin et al. (1999) โดยลดอุณหภูมิ 7˚C/นาที จากอุณหภูมิ 5˚C ถึง -35˚C และลดอุณหภูมิ 20 7˚C/นาที จากอุณหภูมิ -35˚C ถึง -90˚C โดยใช้เมนู execute โปรแกรม Cryogenesis version 4 นำ straw ที่บรรจุตัวอย่างน้ำเชื้อใส่ลงใน cryochamber ปิดฝา แล้วทำการ run program จากนั้นรอให้คอมพิวเตอร์ และ freezer control ทำงานจนอุณหภูมิที่ freezer control ถึง- 90˚C (ภาพที่ 6) จึงนำ straw ออกจาก cryochamber เก็บรักษาไว้ในถังไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196˚C เป็นเวลา 2 วัน จากนั้นนำไปทดสอบอัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิต




**ภาพที่ 6** ชุดควบคุมการลดอุณหภูมิในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองโดยใช้ Freezer control (CL 3300) ร่วมกับ cryogenesis version 4

**การวิเคราะห์ผลทางสถิติ**

การศึกษาชนิดของสาร extender และสาร cryoprotectant ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ CRD ที่มีการจัดทรีทเมนต์แบบ 3x4 factorial คือใช้สาร extender 3 ชนิด ได้แก่ Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 mOsm/kg, BPSE และ Lake's diluent ร่วมกับสาร cryoprotectant 4 ชนิด ได้แก่ ได้แก่ 6%DMA, 6%DMF, 10%DMSO และ 11%Glycerol โดยใช้น้ำเชื้อสดเป็นกลุ่มควบคุม ซึ่งในแต่ละทรีทเมนต์ได้ทำการทดสอบอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการเคลื่อนที่รวม และอัตราการมีชีวิต 3 ซ้ำต่อทรีทเมนต์ ก่อนการวิเคราะห์ความแปรปรวนนำผลอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการเคลื่อนที่รวม และอัตราการมีชีวิตไป transform โดยใช้วิธี Arcsine Transformation จากนั้นวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD และวิเคราห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ด้วยวิธี Duncan's test ที่ระดับนัยสำคัญ $P<0.05$ โดยใช้โปรแกรม SPSS

**การทดลองที่ 3 ศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิ (freezing rate) ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง**

การทดลองนี้เป็นการทดลองต่อเนื่องจากการทดลองที่ 2 โดยการเลือกสาร extender และสาร cryoprotectant ที่ให้ผลดีที่สุด คือ 11%Glycerol ร่วมกับ Lake's diluent มาทำการศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิ (freezing rate) ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง โดยทำการศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิ 2 แบบ ได้แก่ 1). การลดอุณหภูมิโดยใช้ Freezer control ที่อัตราการลดอุณหภูมิ 7°C/นาที จาก 5°C ถึง -35°C และ 20°C/นาที จาก -35°C ถึง -90°C 2). การลดอุณหภูมิโดยการอังไอไนโตรเจนเหลว ที่ระดับเหนือไอไนโตรเจนเหลว 11 เซนติเมตร นาน 12 นาที และ 3 เซนติเมตร นาน 5 นาที โดยมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

**ขั้นตอนการทดลอง**

1. นำน้ำเชื้อสดที่มีอัตราการเคลื่อนที่ 75% ขึ้นไป มาเจือจางด้วยสาร extender (Lake's diluent) ที่อัตราส่วน sperm: extender 1: 3 (diluted milt) จากนั้นนำมาผสมกับสาร cryoprotectant (11%Glycerol) โดยใช้สัดส่วน 1: 3 (diluted milt: cryodiluent)
2. ใช้ไมโครไปเปตดูดตัวอย่างน้ำเชื้อในข้อ 1 ปริมาตร 240 ไมโครลิตร ใส่หลอดแช่แข็ง (French straw ขนาด 250 ไมโครลิตร) แล้วปิดหลอดแช่แข็งโดยใช้ forcep ที่ลนไฟจนร้อนแล้วหนีบปากหลอดแช่แข็ง ซึ่งหลังจากที่เติมสาร cryoprotectant จะเริ่มจับเวลาจนถึงการนำหลอดแช่แข็งใส่ลงใน cryochamber ใช้เวลาประมาณ 10 นาที
3. เตรียม freezer control และ คอมพิวเตอร์เพื่อควบคุมการลดอุณหภูมิ นำ cryobath ใส่ไนโตรเจนเหลวสูงประมาณ 15 เซนติเมตร จากนั้นใส่ cryochamber ลงใน cryobath แล้วปิดฝา โดยที่ cryochamber ต่อกับ freezer control (CL 3300) และ freezer control ต่อกับคอมพิวเตอร์อีกทีเพื่อควบคุมการทำงานของ freezer control จากนั้นจากนั้นเลือกอัตราการลดอุณหภูมิ ดังแสดงในแผนการทดลองตารางที่ 8 โดยใช้โปรแกรม Cryogenesis version 4 สำหรับการลดอุณหภูมิโดยการอังไอไนโตรเจนเหลวทำได้โดย ใช้กล่องโฟมที่บรรจุไนโตรเจนเหลวและวางหลอดน้ำเชื้อลงบนตะแกรงสำหรับวางหลอดน้ำเชื้อ จากนั้นเลื่อนระดับของตระแกรงตามระดับที่กำหนดดังแสดงในแผนการทดลองตารางที่ 8 จากนั้นนำน้ำเชื้อแช่แข็งไปเก็บรักษาในถังไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196°C เพื่อรอการทดสอบหาอัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิต

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 8** แผนการทดลองผลของอัตราการลดอุณหภูมิแบบต่างๆ ต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง

| Freezing method | Freezing rate |
|---|---|
| Freezer control | 7°C/นาที จาก 5°C ถึง -35°C และ 20°C/นาที จาก -35°C ถึง -90°C |
| $LN_2$ vapour | 11 เซนติเมตร (นาน 12 นาที) และ 3 เซนติเมตร (นาน 5 นาที) |

**การวิเคราะห์ผลทางสถิติ**

การศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง มีการวางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิ 2 แบบ ได้แก่ การลดอุณหภูมิโดยใช้ Freezer control และการลดอุณหภูมิโดยการอังไอไนโตรเจนเหลว โดยใช้น้ำเชื้อสดเป็นกลุ่มควบคุม ซึ่งในแต่ละทรีทเมนต์จะทำการทดสอบอัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิต 3 ซ้ำต่อทรีทเมนต์ ก่อนการวิเคราะห์ความแปรปรวนนำผลอัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิตรอดไป transform โดยใช้วิธี Arcsine Transformation จากนั้นวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) และวิเคราห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ด้วยวิธี Duncan’s test ที่ระดับนัยสำคัญ $P<0.05$ โดยใช้โปรแกรม SPSS

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# บทที่ 4
# ผลการศึกษา

## 4.1 ส่วนประกอบไอออนของซีรั่ม (serum) ค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้ ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว

จากการศึกษาพบว่าไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวมีปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ย 0.39±0.17 มิลลิลิตร/ตัว โดยมีความเข้มข้นของน้ำเชื้อประมาณ 2.40-3.50x$10^9$ ตัว/มิลลิลิตร ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) มีค่าเท่ากับ 7.23±0.06 ค่าออสโมลาลิตี้มีค่าเท่ากับ 306±0.56 mOsm/kg และในซีรั่มมีส่วนประกอบของไอออนชนิดต่างๆ ได้แก่ โซเดียม ($Na^+$), โพแทสเซียม ($K^+$), แคลเซียม ($Ca^{2+}$), แมกนีเซียม ($Mg^{2+}$) และคลอไรด์ ($Cl^-$) ดังแสดงในตารางที่ 9

**ตารางที่ 9** ส่วนประกอบไอออนของซีรั่ม (serum) ปริมาตร ความเข้มข้น ค่า pH และค่าออสโมลาลิตี้ ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว

| Parameter | *N* | Minimum | Maximum | Mean | S.D. |
|---|---|---|---|---|---|
| ปริมาตรน้ำเชื้อ (มิลลิลิตร) | 15 | 0.15 | 0.80 | 0.39 | 0.17 |
| ความเข้มข้นน้ำเชื้อ (x$10^9$ ตัว/มิลลิลิตร) | 15 | 2.40 | 3.50 | 3.03 | 0.37 |
| ส่วนประกอบไอออนของ plasma | | | | | |
| โซเดียม (mM) | 3 | 152 | 154 | 153 | 1.00 |
| คลอไรด์ (mM) | 3 | 113 | 115 | 114 | 1.00 |
| โพแทสเซียม (mM) | 3 | 4.5 | 4.8 | 4.63 | 0.15 |
| แคลเซียม (mM) | 3 | 10.9 | 11.1 | 10.97 | 0.03 |
| แมกนีเซียม (mM) | 3 | 2.4 | 2.5 | 2.47 | 0.02 |
| pH | 3 | 7.2 | 7.3 | 7.23 | 0.06 |
| Osmolality (mOsm/kg) | 3 | 306 | 307 | 306 | 0.56 |

## 4.2 ผลของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น

จากการทดลองการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น ด้วยสาร extender 5 ชนิด ได้แก่ Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg), BPSE, Lake's diluent, IGGKP และ EK โดยใช้ 0.9% NaCl ร่วมกับ 0.2% glucose เป็นกลุ่มควบคุม ภายหลังทำการทดสอบอัตราการเคลื่อนที่ ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 – 7 วัน พบว่าสาร extender แต่ละชนิดที่นำมาศึกษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ โดยการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 วัน เมื่อใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 (83.99±0.87%) และ 400 mOsm/kg (85.67±1.21%) ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงกว่าสาร extender ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา ($P<0.05$) สำหรับการใช้สาร IGGKP (56.55±1.03%) และ EK (54.84±0.74%) เป็นสาร extender มีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ต่ำกว่าทรีตเมนต์อื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา ($P<0.05$) เมื่อทำการเก็บรักษาในระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นเป็น 2 วัน พบว่าเมื่อใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg) ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงไม่แตกต่างกัน

(74.55±1.09%, 76.79±1.27% และ 76.93±1.04% ตามลำดับ) (P>0.05) และให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงกว่าทรีตเมนต์อื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา (P<0.05) การเก็บรักษาในระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นเป็น 3 วัน พบว่าเมื่อใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300 mOsm/kg (74.35±2.06%) ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงกว่าและแตกต่างจากสาร extender ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา (P<0.05) ยกเว้นสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 400 mOsm/kg (70.97±1.48%) (P>0.05) การเก็บรักษาในระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น 4 วัน พบว่าสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300 mOsm/kg (62.07±0.86%) ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงที่สุด (P<0.05) และหลังจากการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 5 ถึง 7 วัน พบว่าสาร extender ทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษาให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ลดลงต่ำกว่า 50% (ตารางที่ 10)

สำหรับผลของอัตราการมีชีวิต พบว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1 วัน พบว่าสาร extender ทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษาให้ผลอัตราการมีชีวิตไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (P>0.05) ยกเว้นสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300 และ 400 mOsm/kg เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อในระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นเป็น 2 และ 3 วัน พบว่าสาร extender ทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษามีผลทำให้อัตราการมีชีวิตไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (P>0.05) เมื่อเก็บรักษาน้ำเชื้อในระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น 4 ถึง 5 วัน พบว่าสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300 mOsm/kg ให้ผลอัตราการมีชีวิตสูงกว่าและแตกต่างจากสาร extender ชนิดอื่นๆที่ใช้ในการศึกษา ยกเว้นสาร IGGKP และสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 และ 400 mOsm/kg และภายหลังจากการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 6 วัน พบว่าเมื่อใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ระดับ 300 mOsm/kg ให้ผลอัตราการมีชีวิตรอดสูงที่สุด (61.80±1.20%) (P<0.05) (ตารางที่ 11)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ตารางที่ 10** ผลของสาร extender ต่ออัตราการเคลื่อนที่ (Mean±S.E.) ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1-7 วัน

| สาร extender | ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Control | 73.84±1.29$^{c}$ | 65.77±1.86$^{b}$ | 60.72±1.06$^{c}$ | 34.72±1.05$^{e}$ | 9.01±1.27$^{d}$ | 0.00±0.00$^{d}$ | 0.00±0.00$^{e}$ |
| Modified extender 300 mOsm/kg | 80.08±0.93$^{b}$ | 74.55±1.09$^{a}$ | 74.35±2.06$^{a}$ | 62.07±0.86$^{a}$ | 37.45±1.25$^{a}$ | 26.38±2.33$^{a}$ | 14.96±1.49$^{c}$ |
| Modified extender 350 mOsm/kg | 83.99±0.87$^{a}$ | 76.79±1.27$^{a}$ | 68.11±1.20$^{b}$ | 57.62±0.42$^{b}$ | 34.77±1.45$^{a}$ | 24.89±1.45$^{a}$ | 8.26±0.94$^{d}$ |
| Modified extender 400 mOsm/kg | 85.67±1.21$^{a}$ | 76.93±1.04$^{a}$ | 70.91±1.48$^{ab}$ | 38.89±1.01$^{d}$ | 20.65±0.98$^{c}$ | 8.82±0.61$^{c}$ | 7.98±0.87$^{d}$ |
| BPSE | 62.17±1.10$^{d}$ | 48.87±3.91$^{c}$ | 47.54±1.32$^{e}$ | 37.89±0.91$^{d}$ | 25.42±0.90$^{b}$ | 24.99±2.29$^{a}$ | 22.18±0.80$^{a}$ |
| Lake's diluent | 76.65±1.36$^{c}$ | 65.87±3.00$^{b}$ | 56.10±1.50$^{d}$ | 43.24±0.55$^{c}$ | 37.87±0.75$^{a}$ | 26.52±2.10$^{a}$ | 17.96±1.40$^{bc}$ |
| IGGKP | 56.55±1.03$^{e}$ | 50.82±1.57$^{c}$ | 38.17±1.01$^{f}$ | 35.14±0.34$^{e}$ | 34.74±0.27$^{a}$ | 25.80±0.81$^{a}$ | 19.22±0.65$^{ab}$ |
| EK | 54.84±0.74$^{e}$ | 47.53±1.73$^{c}$ | 34.75±0.97$^{f}$ | 34.64±0.99$^{e}$ | 26.77±2.61$^{b}$ | 19.14±0.76$^{b}$ | 15.66±0.91$^{c}$ |

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

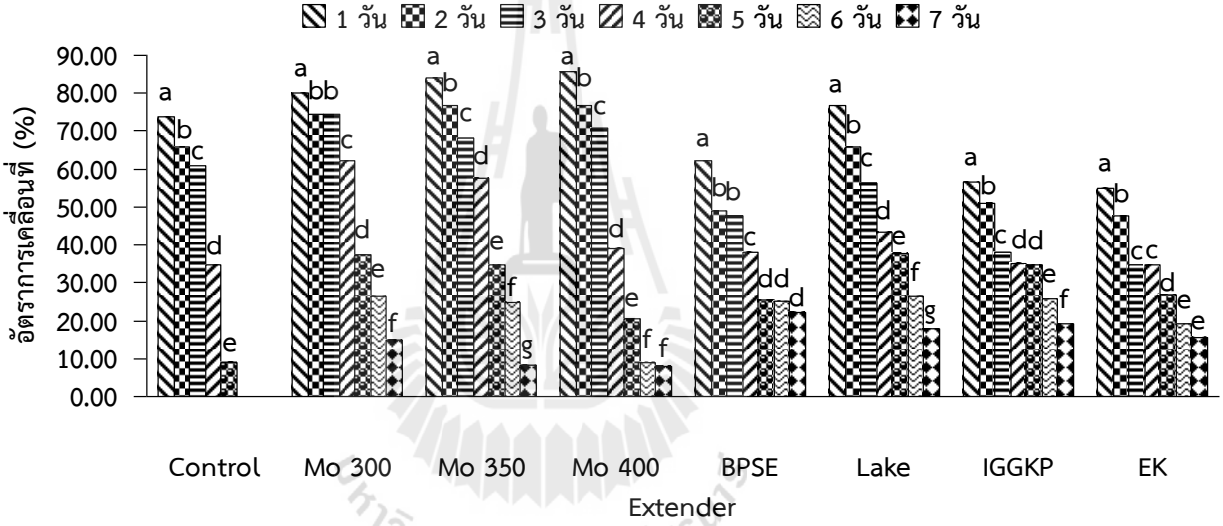
**ตารางที่ 11** ผลของสาร extender ต่ออัตราการมีชีวิตรอด (Mean±S.E.) ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1-7 วัน

| สาร extender | ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Control | 88.00±0.63$^{a}$ | 77.60±0.60 | 69.60±0.51 | 60.80±0.37$^{c}$ | 39.40±0.24$^{e}$ | 28.20±1.11$^{f}$ | 12.80±0.80$^{e}$ |
| Modified extender 300 mOsmo/kg | 82.00±0.95$^{b}$ | 79.00±1.10 | 74.00±2.90 | 70.20±2.18$^{a}$ | 61.40±2.38$^{a}$ | 61.80±1.20$^{a}$ | 37.80±1.46$^{a}$ |
| Modified extender 350 mOsmo/kg | 87.00±1.67$^{a}$ | 76.60±2.18 | 73.20±3.15 | 67.80±1.07$^{ab}$ | 59.20±3.09$^{ab}$ | 49.20±1.32$^{b}$ | 8.00±0.55$^{f}$ |
| Modified extender 400 mOsmo/kg | 81.80±1.91$^{b}$ | 79.80±1.93 | 71.40±4.03 | 68.80±1.36$^{a}$ | 59.20±0.97$^{ab}$ | 46.80±2.52$^{bc}$ | 29.20±2.18$^{c}$ |
| BPSE | 85.00±0.45$^{ab}$ | 78.80±0.37 | 70.60±0.60 | 55.60±0.87$^{d}$ | 46.20±0.58$^{d}$ | 37.00±2.70$^{ef}$ | 30.80±0.73$^{ab}$ |
| Lake's diluent | 87.60±0.24$^{a}$ | 79.40±0.60 | 72.80±0.49 | 61.20±1.07$^{c}$ | 51.40±1.54$^{c}$ | 33.40±1.54$^{e}$ | 23.40±1.08$^{d}$ |
| IGGKP | 86.00±0.32$^{a}$ | 79.60±0.51 | 72.00±0.95 | 67.00±0.95$^{ab}$ | 56.80±0.37$^{ab}$ | 42.40±1.81$^{cd}$ | 33.00±1.14$^{bc}$ |
| EK | 87.20±0.49$^{a}$ | 79.40±0.60 | 71.60±0.51 | 64.20±1.69$^{bc}$ | 55.80±1.11$^{bc}$ | 38.20±2.31$^{d}$ | 29.20±0.58$^{c}$ |

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

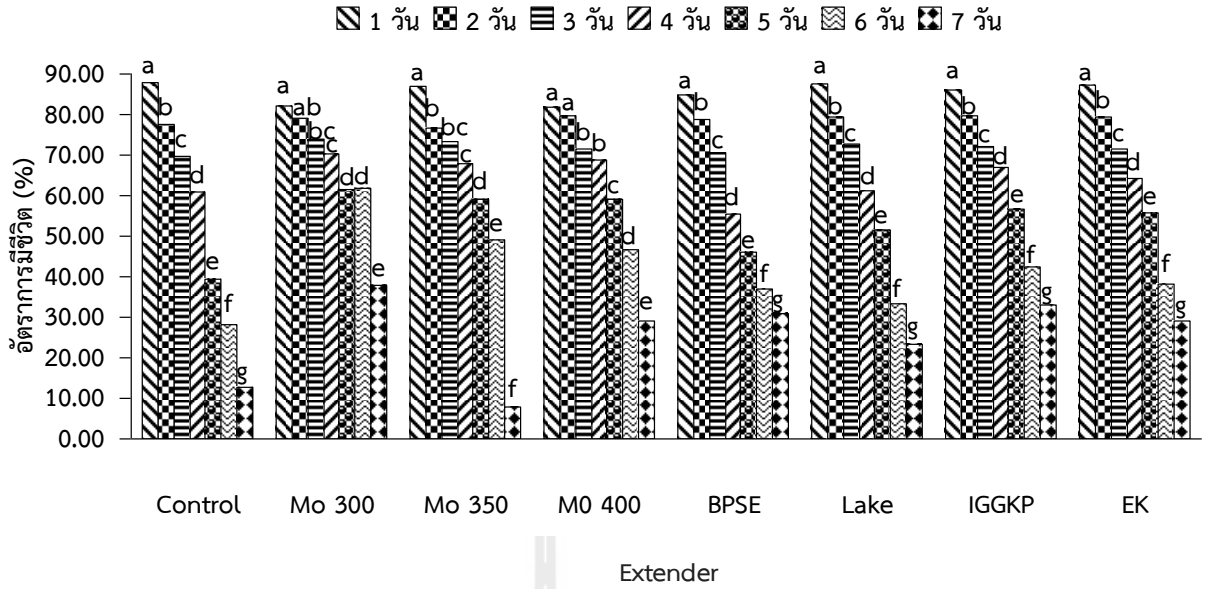
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

นอกจากนี้จากการศึกษายังพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการเคลื่อนที่ และอัตราการมีชีวิตรอดของอสุจิ โดยพบว่าการใช้สาร extender ทุกชนิดมีแนวโน้มของอัตราการเคลื่อนที่ลดลงแบบเส้นโค้งยกกำลังสี่ เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) ซึ่งสาร extender ทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษาให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ลดลงเมื่อมีการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 2 วัน ($P<0.05$) และการใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300 mOsm/kg สามารถยืดระยะเวลาการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิได้ยาวนานที่สุด 4 วัน โดยให้ผลอัตราการเคลื่อนที่เท่ากับ 62.07±0.86% (ภาพที่ 7) สำหรับผลของอัตราการมีชีวิตพบว่าอัตราการมีชีวิตมีแนวโน้มลดลงแบบเส้นโค้งยกกำลังสี่เช่นเดียวกัน เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ($P<0.05$) โดยการใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300, 350 และ 400 mOsm/kg มีการลดลงของอัตราการมีชีวิตช้ากว่าสาร extender ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา และการใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300 mOsm/kg สามารถรักษาอัตราการมีชีวิตได้ยาวนานที่สุด 6 วัน โดยให้ผลอัตราการมีชีวิตเท่ากับ 61.80±1.20% (ภาพที่ 8)




**ภาพที่ 7** ผลของสาร extender ต่ออัตราการเคลื่อนที่ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 1-7 วัน

หมายเหตุ: $^{a, b, c, d, e, f}$ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$), Mo 300; Modified extender 300 mOsm/kg, Mo 350; Modified extender 350 mOsm/kg, Mo 400; Modified extender 400 mOsm/kg, Lake; Lake's diluent




**ภาพที่ 8** ผลของสาร extender ต่ออัตราการมีชีวิตรอดของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 1-7 วัน

หมายเหตุ: $^{a, b, c, d, e, f, g}$ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05), Mo 300; Modified extender 300 mOsm/kg, Mo 350; Modified extender 350 mOsm/kg, Mo 400; Modified extender 400 mOsm/kg, Lake; Lake's diluent

สำหรับผลของสาร extender ต่ออัตราการผสมติด ทำการทดลองโดยนำสาร extender ที่ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่มากกว่า 60% ได้แก่ Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg), BPSE, Lake's diluent และกลุ่มควบคุม (0.9%NaCl ร่วมกับ 0.2%glucose) มาทำการทดสอบอัตราการผสมติด ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-5 วัน พบว่าสาร extender ทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการผสมติด โดยการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 1 วัน เมื่อใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 400 mOsm/kg ให้ผลอัตราการผสมติดเท่ากับ 100±0.00% และไม่แตกต่างจากการใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 mOsm/kg (93.21±4.53%) และ BPSE (91.25±5.91%) (P>0.05) สำหรับกลุ่มควบคุมให้ผลอัตราการผสมติดต่ำที่สุด (33.33±7.07%) (P<0.05) เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อในระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นเป็น 2 วัน พบว่าการใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300 mOsm/kg (84.52±5.38%) ให้ผลอัตราการผสมติดสูงกว่าและแตกต่างจากการใช้สาร extender ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา (P<0.05) ยกเว้นสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 (70.96±3.45%) และ 400 mOsm/kg (65.81±8.30%) (P>0.05) การเก็บรักษาน้ำเชื้อในระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นเป็น 4 และ 5 วัน พบว่าสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 mOsm/kg ให้ผลอัตราการผสมติดสูงกว่าและแตกต่างจากสาร extender ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา (P<0.05) ยกเว้นสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300 และ 400 mOsm/kg (ตารางที่ 12)

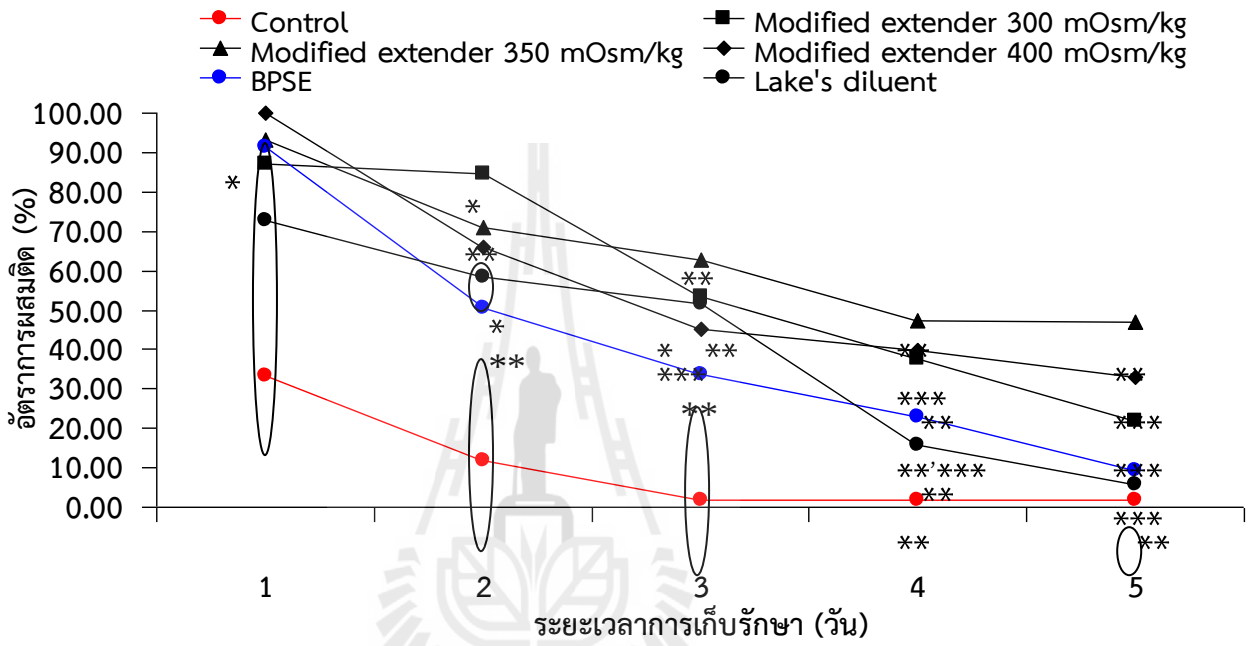
**ตารางที่ 12** ผลของสาร extender ต่ออัตราการผสมติด (Mean±S.E.) ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1-5 วัน

| สาร Extender | ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Control | 33.33±7.07$^{d}$ | 11.89±8.95$^{c}$ | 1.85±1.85$^{c}$ | 1.85±1.85$^{d}$ | 1.85±1.85$^{c}$ |
| Modified extender 300 mOsmo/kg | 86.93±3.60$^{bc}$ | 84.52±5.38$^{a}$ | 53.45±5.79$^{a}$ | 37.58±0.73$^{ab}$ | 21.99±1.82$^{ab}$ |
| Modified extender 350 mOsmo/kg | 93.21±4.53$^{ab}$ | 70.96±3.45$^{ab}$ | 62.60±5.12$^{a}$ | 47.31±6.65$^{a}$ | 46.92±8.58$^{a}$ |
| Modified extender 400 mOsmo/kg | 100.00±0.00$^{a}$ | 65.81±8.30$^{ab}$ | 45.00±4.19$^{ab}$ | 39.90±2.39$^{ab}$ | 32.90±7.25$^{a}$ |
| BPSE | 91.25±5.91$^{ab}$ | 50.56±7.02$^{b}$ | 33.68±5.12$^{b}$ | 22.77±8.68$^{bc}$ | 9.37±6.65$^{bc}$ |
| Lake's diluent | 72.81±2.56$^{c}$ | 58.50±4.81$^{b}$ | 51.72±2.64$^{a}$ | 15.70±2.77$^{c}$ | 5.56±5.56$^{c}$ |

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการผสมติดมีแนวโน้มลดลงแบบเส้นโค้งยกกำลังหนึ่ง เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (P<0.05) โดยการใช้ Lake's diluent ไม่มีการเปลี่ยนแปลงผลของอัตราการผสมติดในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 1-3 วัน และการใช้สาร modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300 mOsm/kg ไม่มีการเปลี่ยนแปลงผลของอัตราการผสมติดในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 1-2 วัน สำหรับสาร extender ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ BPSE และสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 และ 400 mOsm/kg ให้ผลอัตราการผสมติดลดลง เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 2 วัน (ภาพที่ 9)




**ภาพที่ 9** ผลของสาร extender ต่ออัตราการผสมติดของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 1-5 วัน

หมายเหตุ: *' **' *** แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

### 4.3 ผลของชนิดของสาร extender สาร cryoprotectant และความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง

จากการทดลองการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง โดยใช้สาร cryoprotectant 4 ชนิด ได้แก่ 6% DMA, 6% DMF, 10% DMSO และ 11% Glycerol ร่วมกับ Modifeid extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 300 mOsm/kg, BPSE และ Lake's diluent เป็นสาร extender และใช้อัตราการลดอุณหภูมิ 7°C/นาที จากอุณหภูมิ 5°C ถึง -35°C และอัตราการลดอุณหภูมิ 20°C/นาที จากอุณหภูมิ -35°C ถึง -90°C จากผลการศึกษาพบว่าการใช้สาร extender ร่วมกับสาร cryoprotectant ทุกชนิดให้ผลอัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิตต่ำกว่าน้ำเชื้อสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) นอกจากนี้ยังพบว่าชนิดของสาร cryoprotectant มีอิทธิพลร่วมกัน (Interaction) กับสาร extender (P<0.05) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อใช้ 11% Glycerol ร่วมกับ Lake's diluent ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่รวม 40.00±3.00 (50% ของน้ำเชื้อสด) ไม่

แตกต่างกับการใช้ combination ของ 10% DMSO และ 11% Glycerol ร่วมกับ Modified extender และให้ผลอัตราการเคลื่อนที่รวมสูงกว่าทรีทเมนต์อื่นๆที่ใช้ในการศึกษา (P<0.05, ตารางที่ 13) สำหรับผลอัตราการมีชีวิตพบว่าการใช้ 11% Glycerol ร่วมกับ Lake's diluent ให้อัตราการมีชีวิตสูงที่สุด 68.67±1.85 (73% ของน้ำเชื้อสด) (ตารางที่ 13) สำหรับการศึกษาอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (Progressive) ไม่พบอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของสาร cryoprotectant และสาร extender (P>0.05) การใช้ 11% Glycerol ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าสูงกว่าการใช้สาร cryoprotectant ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา (P<0.05) ดังแสดงในตารางที่ 13

**ตารางที่ 13** ผลของสาร extender 3 ชนิด (Modified extender 300 mOsm/kg, BPSE และ Lake's diluent) และสาร cryoprotectant 4 ชนิด (6%DMA, 6%DMF, 10%DMSO และ 11%Glycerol) ที่มีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิตรอด (Mean±S.E.) ของไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวที่เก็บรักษาโดยวิธีการแช่แข็ง

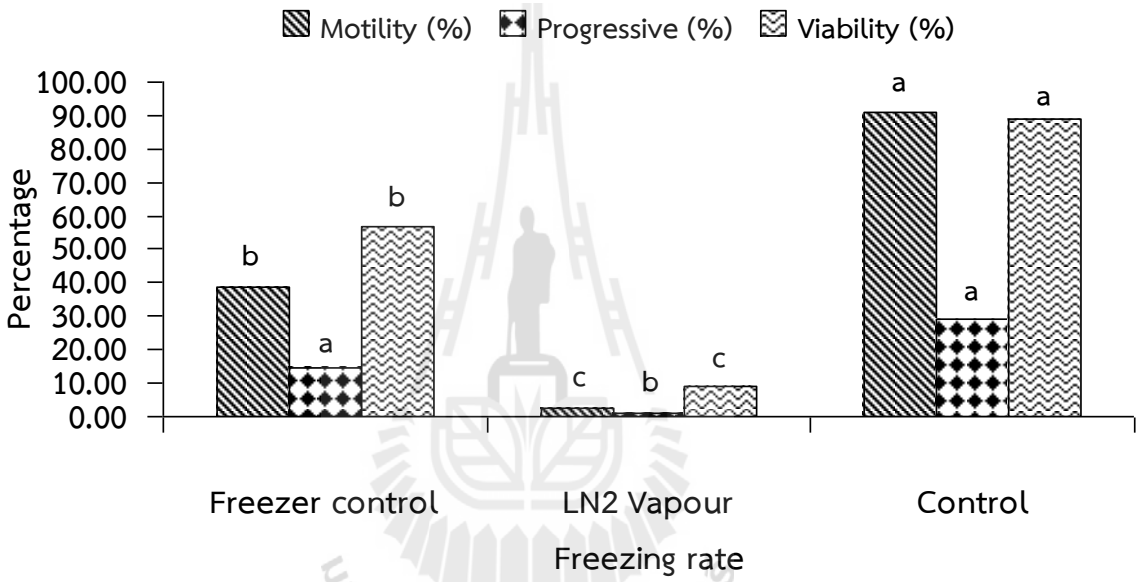
| Extender | Cryoprotectant | Motility (%) | Progressive (%) | Viability (%) |
|---|---|---|---|---|
| Modified extender | 6% DMA | 14.00±1.73$^{de}$ (17.23) | 1.67±0.33$^{de}$ (5.68) | 28.33±4.09$^{g}$ (1.72) |
| | 6% DMF | 25.67±2.03$^{c}$ (31.73) | 6.33±1.20$^{cd}$ (21.68) | 40.00±2.52$^{ef}$ (42.33) |
| | 10% DMSO | 44.00±5.03$^{b}$ (54.44) | 10.67±2.03$^{bc}$ (36.58) | 31.67±0.88$^{efg}$ (33.52) |
| | 11% Glycerol | 50.67±3.71$^{b}$ (62.77) | 19.00±1.00$^{b}$ (66.21) | 40.33±2.03$^{e}$ (42.69) |
| BPSE | 6% DMA | 8.00±2.00$^{e}$ (9.65) | 2.33±0.66$^{de}$ (7.73) | 31.00±0.58$^{fg}$ (31.40) |
| | 6% DMF | 10.00±6.00$^{e}$ (10.61) | 4.00±3.51$^{de}$ (7.39) | 31.00±2.08$^{fg}$ (32.78) |
| | 10% DMSO | 13.00±3.61$^{de}$ (15.11) | 2.33±0.33$^{de}$ (8.06) | 63.67±2.33$^{bc}$ (67.44) |
| | 11% Glycerol | 26.00±2.89$^{c}$ (32.07) | 12.00±1.00$^{bc}$ (41.74) | 59.00±1.73$^{cd}$ (62.48) |
| Lake's diluent | 6% DMA | 7.00±3.61$^{e}$ (7.60) | 1.33±0.88$^{e}$ (2.91) | 51.33±2.40$^{d}$ (54.36) |
| | 6% DMF | 11.67±0.33$^{de}$ (14.45) | 4.00±0.58$^{de}$ (13.81) | 62.67±6.96$^{bc}$ (66.36) |
| | 10% DMSO | 19.67±0.33$^{cd}$ (24.36) | 4.00±0.58$^{cd}$ (13.81) | 64.00±2.08$^{bc}$ (67.79) |
| | 11% Glycerol | 40.00±3.00$^{b}$ (49.51) | 5.67±0.88$^{b}$ (19.53) | 68.67±1.85$^{b}$ (72.73) |
| น้ำเชื้อสด (กลุ่มควบคุม) | | 80.67±1.65$^{a}$ | 28.67±0.33$^{a}$ | 94.33±1.20$^{a}$ |

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ตัวเลขในวงเล็บ คือ เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับน้ำเชื้อสด

### 4.4 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิ ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง

จากการศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง โดยใช้วิธีการลดอุณหภูมิ 2 แบบ ได้แก่ การลดอุณหภูมิโดยใช้ Freezer control ที่อัตราการลดอุณหภูมิ 7˚C/นาที จากอุณหภูมิ 5˚C ถึง -35˚C และใช้อัตราการลดอุณหภูมิ 20˚C/นาที

จากอุณหภูมิ -35°C ถึง -90°C และการลดอุณหภูมิโดยวิธีอังไอไนโตรเจนเหลว ($LN_2$ Vapour) ที่ระดับเหนือไอไนโตรเจนเหลว 11 เซนติเมตร (12 นาที) และ 3 เซนติเมตร (5 นาที) โดยใช้ 11% Glycerol ร่วมกับ Lake's diluent พบว่าเมื่อลดอุณหภูมิโดยใช้วิธีการลดอุณหภูมิทั้ง 2 แบบ ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิตต่ำกว่าน้ำเชื้อสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ยกเว้นการลดอุณหภูมิโดยใช้ Freezer control ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าไม่แตกต่างจากการใช้น้ำเชื้อสด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และจากการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าเมื่อลดอุณหภูมิโดยใช้ Freezer control ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่รวม (38.67±3.84) อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (14.33±4.91) และอัตราการมีชีวิต (57.00±2.65) ซึ่งสูงกว่าและแตกต่างกับการลดอุณหภูมิโดยวิธีการอังไอไนโตรเจนเหลว ซึ่งมีการเคลื่อนที่รวม (2.67±0.33) อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (1.00±0.00) และอัตราการมีชีวิต (9.00±1.00) ดังแสดงในภาพที่ 10




**ภาพที่ 10** ผลของอัตราการลดอุณหภูมิแบบต่างๆ ที่มีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า อัตราการมีชีวิตรอด ของน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว
หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

# บทที่ 5
# อภิปรายผล สรุป และข้อเสนอแนะ

## 5.1 ผลของสาร extender ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น

จากการศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น ด้วยสาร extender 5 ชนิด ได้แก่ Modified extender ที่มีค่าออสโมลาริตี้ที่ระดับต่างๆ (300, 350 และ 400 mOsm/kg), BPSE, Lake's diluent, IGGKP และ EK โดยใช้ 0.9% NaCl ร่วมกับ 0.2% glucose เป็นกลุ่มควบคุม หลังจากทำการทดสอบอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต และอัตราการปฏิสนธิ พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น สาร extender ทุกชนิดที่ใช้ในการศึกษามีแนวโน้มของอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิตและอัตราการปฏิสนธิลดลง ($P<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากตัวอสุจิมีการเผาผลาญสารอาหาร เช่น glucose, fructose และ inositol เพื่อใช้เป็นพลังงานสำหรับการทำงานของเซลล์ ส่งผลให้แหล่งของสารอาหารลดลง จึงมีสารอาหารไม่เพียงพอสำหรับการดำรงชีพของตัวอสุจิในระหว่างการเก็บรักษา ส่งผลให้อัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต และอัตราการผสมติดลดลง และสาเหตุอีกประการหนึ่งที่ทำให้คุณภาพน้ำเชื้อลดลง เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น อาจเป็นผลมาจากการที่ตัวอสุจิมีการเผาผลาญพลังงานทั้งแบบใช้ออกซิเจน และแบบไม่ใช้ออกซิเจนที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาน้ำเชื้อ โดยจากการรายงานของ Donoghue and Wishart (2000) พบว่าการเผาผลาญพลังงานแบบไม่ใช้ออกซิเจนนี้ทำให้เกิดการผลิตกรดแลกติก ซึ่งมีผลทำให้ค่า pH ของน้ำเชื้อที่เจือจางอยู่ในสาร extender ลดลง และมีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิลดลงด้วย สำหรับการเผาผลาญพลังงานโดยใช้ออกซิเจนจะมีผลต่อเซลล์เมมเบรนของตัวอสุจิ เนื่องจากเซลล์เมมเบรนของตัวอสุจิประกอบไปด้วยกรดไขมันสายยาว (Polyunsaturated Fatty Acid, PUFA) เป็นจำนวนมาก ส่งผลให้มีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ซึ่งทำให้เกิดการปรับเปลี่ยนโครงสร้างทั้งทางกายภาพและทางเคมีของเซลล์เมมเบรน โดยมีผลทำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาว โปรตีน และ DNA ถูกทำลาย ส่งผลให้อัตราการมีชีวิต และการผสมติดลดลง (Partyka et al., 2010) แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่า การเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 วัน เมื่อใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาริตี้ที่ระดับ 350 และ 400 mOsm/kg ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงกว่าสาร extender ชนิดอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษา ($P<0.05$) และยังพบว่าการใช้สาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาริตี้ที่ระดับ 300, 350 และ 400 mOsm/kg และ การใช้ BPSE ให้ผลอัตราการผสมติดสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ใช้ในการศึกษา ($P<0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากน้ำตาล fructose ซึ่งเป็นสารที่อาจจะเป็นส่วนประกอบสำคัญในสาร Modified extender ที่เป็นแหล่งพลังงานให้กับตัวอสุจิ นอกจากนี้ในสาร Modified extender ยังมีTES เป็นส่วนประกอบ ซึ่ง TES มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ที่มีไอออนทั้งประจุบวกและประจุลบอยู่ในตัวเอง จึงมีคุณสมบัติเป็นได้ทั้งกรดและเบสเพื่อควบคุมค่า pH ของสารละลายไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลง และการที่จะทำให้ TES ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดนั้น ค่า pH ของสาร extender จะต้องมีค่าใกล้เคียงกับค่า pKa ของ TES ซึ่งมีค่าเท่ากับ 7.4 จึงมีข้อสังเกตว่าสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาริตี้ที่ระดับ 350 และ 400 mOsm/kg มี TES เป็นส่วนประกอบมากกว่าสาร BPSE 5 เท่า และค่า pH ของสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาริตี้ที่ระดับ 350 และ 400 mOsm/kg มีค่าเท่ากับ 7.45±0.01 และ 7.42±0.03 ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงกับค่า pKa ของ TES ขณะที่สาร BPSE มีค่า pH เท่ากับ 7.53±0.02 จึงทำให้ TES ที่ประกอบอยู่ในสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาริตี้ที่ระดับ 350 และ 400 mOsm/kg ทำงานได้มีประสิทธิภาพมากกว่า TES ที่ประกอบอยู่ใน

สาร BPSE สำหรับสูตรสาร extender ของ Lake's diluent, IGGKP, EK และ control ไม่มี TES เป็นส่วนประกอบ ดังนั้นการใช้สาร extenders เหล่านี้จึงน่าจะเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้คุณภาพของน้ำเชื้อไก่ที่มีการเก็บแบบระยะสั้นในตู้เย็นมีประสิทธิภาพลดลง ดังนั้นหากพิจารณาผลอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต และอัตราการผสมติด การใช้ Modified extender ที่มีค่าออสโมลาริตี้ที่ระดับ 300 mOsm/kg น่าจะเหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสาร Modified extender ที่มีค่าออสโมลาริตี้ที่ระดับ 300 mOsm/kg มีค่าออสโมลาริตี้ใกล้เคียงกับค่าออสโมลาริตี้ของน้ำเชื้อไก่ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 306±0.56 ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น isoosmotic การศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Iaffaldano et al., 2008 ได้ศึกษาการใช้ BPSE, Lake's diluent และ IGGKP ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่งวง ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าการใช้ BPSE ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต และความสมบูรณ์ของเซลล์เมมเบรนสูงกว่าการใช้ Lake's diluent และ IGGKP ($P<0.05$) เนื่องจากสาร BPSE มีค่าออสโมลาลิตี้ และค่า pH ใกล้เคียงกับกับ seminal plasma ของไก่งวง และสอดคล้องกับการศึกษาของ Latif et al., 2005 ได้ศึกษาค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350, 375 และ 400 mOsm/kg ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่เนื้อสายพันธุ์ Hubbard ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 4, 24 และ 48 ชั่วโมง พบว่าการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 24 และ 48 ชั่วโมง การใช้สาร extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 375 mOsm/kg ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงกว่าการใช้สาร extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 และ 400 mOsm/kg ($P>0.05$) เนื่องจากสาร extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 375 mOsm/kg มีคุณสมบัติเป็น isoosmotic การศึกษาในครั้งนี้จะแตกต่างกับรายงานของ Siudzinska and Lukaszewicz (2008) ที่พบว่าสาร extender ที่มีคุณสมบัติเป็น hyperosmotic เหมาะสมกับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่ โดยจะส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของตัวอสุจิแบบคอโค้งงอต่ำกว่าสาร extender ที่มีคุณสมบัติเป็น isoosmotic และ hypoosmotic

**5.2 ผลของชนิดของสาร extender และสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง**

จากการศึกษาชนิดของสาร extender และสาร cryoprotectant ที่มีผลต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง โดยใช้สาร extender 3 ชนิด ได้แก่ Modified extender ที่มีค่าออสโมลาริตี้ 300 mOsm/kg, BPSE และ Lake's diluent ร่วมกับสาร cryoprotectant 4 ชนิด ได้แก่ 6%DMA, 6%DMF, 10%DMSO และ 11%Glycerol จากการศึกษาพบว่าชนิดของสาร extender และสาร cryoprotectant มีอิทธิพลร่วมกัน ดังนั้นการเลือกใช้สาร cryoprotectant จะต้องคำนึงถึงชนิดของสาร extender ด้วย เนื่องจากการทำงานร่วมกันระหว่างสาร extender และสาร cryoprotectant ต่างชนิดกันมีผลต่อการเพิ่มแรงดันออสโมติกที่แตกต่างกัน ซึ่งแรงดันออสโมติกที่เพิ่มขึ้นนี้จะมีผลทำให้เซลล์อสุจิถูกทำลาย จากการศึกษาเมื่อพิจารณาผลอัตราการเคลื่อนที่รวมและอัตราการมีชีวิตพบว่าการใช้ 11%Glycerol ร่วมกับ Lake's diluent มีความเป็นพิษต่อตัวอสุจิต่ำกว่าการใช้สาร cryoprotectant ร่วมกับสาร extender ชนิดอื่นๆที่ใช้ในการศึกษา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้ระยะเวลา (equilibration time) ที่เท่ากัน (10 นาที) ทำให้สาร cryoprotectant DMSO (78.13), DMA (87.12) และ DMF (73.09) ซึ่งมีมวลโมเลกุลน้อยกว่า glycerol ที่มีมวลโมเลกุล (92.09) มีอัตราการแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้เร็วกว่า glycerol เนื่องจาก equilibration time มีผลต่อการแพร่ของสาร cryoprotectant เข้าสู่เซลล์ จึงเป็นสาเหตุทำให้มีพิษกับเซลล์อสุจิของไก่ อีกทั้งโครงสร้างของเซลล์อสุจิของไก่ที่ประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวสายยาวจำนวนมากนั้นมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยา Lipid

peroxidation จึงเกิดการยับยั้งการใช้ออกซิเจนของตัวอสุจิ ทำให้ DNA ของตัวอสุจิถูกทำลาย ทำให้อัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิลดลง Gholami et al., 2010 นอกจากนี้ Safarinejad et al. (2010) และ Fang et al. (2002) พบว่าการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ทำให้มีการผลิตสารอนุมูลอิสระ และสาร reactive oxygen species (ROS) ซึ่งจะส่งผลเสียต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิ และทำให้กลไกหรือหน้าที่ความสมบูรณ์พันธุ์ของเพศผู้สูญเสียไป มีการรายงานว่า Glycerol มีความเป็นพิษต่อเซลล์อสุจิน้อยที่สุด รองลงมาคือ DMA และ DMSO มีความเป็นพิษต่อเซลล์อสุจิมากที่สุด (Tselutin et al., 1999) ซึ่งมีหลายรายงานที่ประสบความสำเร็จในการใช้ Glycerol ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อสัตว์ปีก เช่น Maeda et al. (1985) พบว่าในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่สายพันธุ์ White Leghorn โดยใช้ 5.7%glucose เป็นสาร extender ร่วมกับ 10%Glycerol ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่สูงกว่าการใช้ Glycerol ที่ระดับความเข้มข้น 5, 15 และ 20% ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของสาร Glycerol ที่ต่ำและสูงเกินไป ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าการใช้ 5%Glycerol เคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์อสุจิช้ากว่า 10%Glycerol ที่ equilibration time 2 ถึง 10 นาที จึงส่งผลให้มีปริมาณไม่เพียงพอที่จะปกป้องเซลล์ และการใช้ 15 และ 20%Glycerol สามารถเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์ได้เร็วกว่า 10%Glycerol จึงส่งผลให้มีปริมาณของ Glycerol มากเกินไปจนเป็นพิษต่อเซลล์ และจากการศึกษาของ Tselutin et al. (1999) ได้ศึกษาการใช้ Glycerol, DMA และ DMSO ที่ระดับความเข้มข้น 4, 6, 8 และ 11% ร่วมกับ Lake’s diluted ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่สายพันธุ์ทางการค้า (type I99 roosters) พบว่าการใช้ Glycerol ให้ผลอัตราการมีชีวิตอยู่ในช่วง 72-76% ซึ่งสูงกว่าการใช้ DMA (62-68%) และการใช้ DMSO ให้ผลอัตราการมีชีวิตรอดต่ำที่สุดอยู่ในช่วง 22-26% และยังพบว่าการใช้ 11%Glycerol (53.7±4.7%) ให้ผลอัตราการผสมติดสูงกว่าการใช้ 6%DMA (26.7±4.5%) แต่จากการศึกษาของ Chalah et al. (1999) พบว่าการใช้ 11%Glycerol ร่วมกับ Lake’s diluent ให้ผลอัตราการผสมติด (76%) ไม่แตกต่างกับการใช้ 6.5%DMA (79%)

### 5.3 ผลของอัตราการลดอุณหภูมิที่มีผลต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง

จากการศึกษาอัตราการลดอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวโดยวิธีการแช่แข็ง โดยใช้วิธีการลดอุณหภูมิ 2 แบบ ได้แก่ การลดอุณหภูมิโดยใช้ Freezer control ที่อัตราการลดอุณหภูมิ 7°C/นาที จากอุณหภูมิ 5°C ถึง -35°C และใช้อัตราการลดอุณหภูมิ 20°C/นาที จากอุณหภูมิ -35°C ถึง -90°C และการลดอุณหภูมิโดยวิธีอังไอไนโตรเจนเหลว ($LN_2$ Vapour) ที่ระดับเหนือไอไนโตรเจนเหลว 11 เซนติเมตร (12 นาที) และ 3 เซนติเมตร (5 นาที) โดยใช้ 11% Glycerol ร่วมกับ Lake’s diluent พบว่าการลดอุณหภูมิโดยการใช้ Freezer control ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่รวม อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และอัตราการมีชีวิตสูงกว่าการลดอุณหภูมิด้วยการอังไอไนโตรเจนเหลว ($P<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการใช้ Freezer control มีการใช้ระบบคอมพิวเตอร์เข้ามาควบคุมในการลดอุณหภูมิ จึงสามารถควบคุมอัตราการลดอุณหภูมิได้ดีกว่าการอังไอไนโตรเจนเหลว ขณะที่การลดอุณหภูมิด้วยการอังไอไนโตรเจนเหลวจะต้องอาศัยความเย็นที่เกิดจากการกระจายของไอไนโตรเจน หากมีการกระจายไอไนโตรเจนไม่สม่ำเสมอจะมีผลทำให้อุณหภูมิมีการผันแปรได้ ด้วยเหตุนี้จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำเชื้อไก่แช่แข็งมีคุณภาพต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ehling et al. (2012) ได้ศึกษาการลดอุณหภูมิโดยใช้ Freezer control ที่อัตราการลดอุณหภูมิ 3°C/นาที จากอุณหภูมิ 0°C ถึง -35°C และที่อัตราการลดอุณหภูมิ 50°C/นาที จากอุณหภูมิ -35°C ถึง -135°C เปรียบเทียบกับการลดอุณหภูมิโดยการอังไอไนโตรเจนเหลวที่ระดับเหนือไอไนโตรเจนเหลว 4 ถึง 4.5 เซนติเมตร โดยใช้ 6.5%DMF+6.5%

Methyl acetamide (MA) ร่วมกับ HS-1 ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่สายพันธุ์ White Leghorn พบว่าการลดอุณหภูมิโดยใช้ Freezer control ให้ผลอัตราการผสมติด (49.3%) ซึ่งสูงกว่าและแตกต่าง ($P<0.05$) จากการลดอุณหภูมิโดยการอังไอไนโตรเจนเหลว (11.5%) และจากผลการศึกษายังสอดคล้องกับการศึกษาของ Masindi et al. (2012) ที่พบว่าในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่สายพันธุ์ Venda โดยใช้การลดอุณหภูมิแบบ Freezer control ที่อัตราการลดอุณหภูมิ 1°C จากอุณหภูมิ 5°C ถึง -20°C ให้ผลอัตราการเคลื่อนที่รวม (43.0±7.9%) และอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (21.6±9.7%) สูงกว่าการลดอุณหภูมิด้วยการอังไอไนโตรเจนเหลวที่ระดับ 4 ถึง 6 เซนติเมตร นาน 5 นาที (2.5±0.9% และ 2.3±1.2% ตามลำดับ) ($P<0.05$)

**สรุปและข้อเสนอแนะ**

1. สาร Modified extender ที่จัดเตรียมขึ้นสามารถใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวแบบระยะสั้นได้

2. ชนิดของสาร Cryoprotectant มีอิทธิพลร่วมกันกับชนิดของสาร extender จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเมื่อใช้ 11% Glycerol เป็นสาร Cryoprotectant มีแนวโน้มให้อัตราการเคลื่อนที่ และอัตราการมีชีวิตสูงกว่าสาร Cryoprotectant ชนิดอื่นๆ แต่เปอร์เซ็นต์ค่อนข้างต่ำ จึงยังไม่สามารถสรุปชนิดของสาร extenderและสาร cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาวที่เก็บรักษาโดยวิธีการแช่แข็งได้

3. อัตราการลดอุณหภูมิโดยใช้ Freezer control มีความเหมาะสมกว่าวิธีการอังไอไนโตรเจนเหลว แต่อาจต้องศึกษาอัตรา (rate) การลดอุณหภูมิที่เหมาะสมเพิ่มเติมทั้งนี้เพื่อเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็ง

4. ในการทดสอบอัตราการผสมติด การส่องไข่ที่อายุไข่เข้าฟัก 7 วัน อาจมองเห็นเส้นเลือดที่เป็นร่างแหไม่ชัด อาจทำให้ประเมินอัตราการผสมติดผิดพลาดได้ ดังนั้นควรส่องไข่ที่อายุไข่เข้าฟัก 10 วัน เพื่อทำให้ มองเห็นฟองไข่มีลักษณะทึบครึ่งฟองได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

# เอกสารอ้างอิง


กนกอร อินทราพิเชฐ วิศิษฐิพร สุขสมบัติ และ บุษยารัตน์ ไมขุนทด. 2551. **องค์ประกอบเคมี กรดไขมัน คอลลาเจน และคอเลสเตอรอลของเนื้อไก่ไทยลูกผสมพื้นเมืองและไก่กระทง.** การประชุมเชิงปฏิบัติการ การอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ไก่พื้นเมือง ครั้งที่ 2. สำนักประสานงานชุดโครงการ การพัฒนาไก่พื้นเมืองฝ่ายเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย วันที่ 24-25 กรกฎาคม 2551 ณ โรงแรมเอเชีย แอร์พอร์ท อ. ลำลูกกา จ. ปทุมธานี. หน้า 21.

เกรียงไกร โชประการ. 2551. **ชุดโครงการ การพัฒนาไก่พื้นเมือง** สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยร่วมกับมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ระหว่าง พ.ศ. 2544-2551 การประชุมเชิงปฏิบัติการ การอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ไก่พื้นเมือง ครั้งที่ 2. สำนักประสานงานชุดโครงการ การพัฒนาไก่พื้นเมืองฝ่ายเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย วันที่ 24-25 กรกฎาคม 2551 ณ โรงแรมเอเชียแอร์พอร์ท อ. ลำลูกกา จ.ปทุมธานี. หน้า 10.

ชนินทร์ ติรวัฒนวานิช วิราช นิมิตสันติวงศ์ วรศักดิ์ ปัจฉิมะศิริ และ ธานีรัตน์ สานติวัตร. 2551. **อิทธิพลของพันธุกรรมและภูมิอากาศเขตร้อนต่อความเครียด และการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่เจาะจง แบบพึ่งเซลล์ และภูมิคุ้มกันในกระแสโลหิตของไก่เนื้อ ไก่พื้นเมือง และลูกผสมพื้นเมือง.** การประชุมเชิงปฏิบัติการ การอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ไก่พื้นเมือง ครั้งที่ 2. สำนักประสานงานชุดโครงการ การพัฒนาไก่พื้นเมืองฝ่ายเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย วันที่ 24-25 กรกฎาคม 2551 ณ โรงแรมเอเชีย แอร์พอร์ท อ. ลำลูกกา จ. ปทุมธานี. หน้า 29.

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ ประยูร อุดมเรียง และสุวัฒน์ จิตต์ปราณีชัย. 2530. **รายงานการวิจัยการปรับปรุงการเลี้ยงไก่พื้นเมืองในชนบท.** ขอนแก่น. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เทวินทร์ วงพระลับ และ ยุพิน ผาสุข. 2550. **ผลของชนิดน้ำยาเจือจางต่อคุณภาพน้ำเชื้อไก่**. การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 3 มหาวิทยาลัยขอนแก่น, หน้า 196-203.

เทวินทร์ วงพระลับ และ ยุพิน ผาสุข. 2550. **ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อเจือจางในไก่พื้นเมืองต่ออัตราการผสมติด**. ประชุมวิชาการสัตวแพทย์ศาสตร์ มข.ครั้งที่ 8, หน้า 43-46.

เทวินทร์ วงษ์พระลับ และ ยุพิน ผาสุข. 2551. **การพัฒนาเทคนิคการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็งและการผสมเทียมไก่พื้นเมือง**. การประชุมเชิงปฏิบัติการ การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ไก่พื้นเมือง ครั้งที่ 2. สำนักประสานงานชุดโครงการ การพัฒนาไก่พื้นเมืองฝ่ายเกษตร สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย วันที่ 24-25 กรกฎาคม 2551 ณ โรงแรมเอเชีย แอร์พอร์ท อ. ลำลูกกา จ. ปทุมธานี. หน้า 19.

บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล และประภาส เนรมิตมานสุข. 2529. **การศึกษาสภาพการเลี้ยงไก่พื้นเมืองของเกษตรกรจังหวัดชัยภูมิ**. แก่นเกษตร 14(3): 195-202.

พรจิต สอนสีดา ยุพิน ผาสุข สินชัย วิโรจน์วุฒิกุล และเทวินทร์ วงษ์พระลับ. 2554. **ผลของการเก็บรักษาน้ำเชื้อในรูปแบบวุ้นที่อุณหภูมิ 5°ซ ต่อการเคลื่อนที่และอัตราการผสมติดของน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง**. แก่นเกษตร 39: 55-62.

มนต์ชัย ดวงจินดา บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ เทวินทร์ วงษ์พระลับ พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา และ เกษม นันทชัย. 2551. **การทดสอบสมรรถนะการเจริญเติบโตและความนุ่มเนื้อในไก่ลูกผสมที่ได้จากพ่อพันธุ์พื้นเมืองไทยกับแม่พันธุ์ทางการค้า.** การประชุมเชิงปฏิบัติการ การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ไก่พื้นเมือง ครั้งที่ 2. สำนัก ประสานงานชุดโครงการ การพัฒนาไก่พื้นเมืองฝ่ายเกษตร สำนักงานกองทุน

สนับสนุนการวิจัย วันที่ 24 - 25 กรกฎาคม 2551 ณ โรงแรมเอเชีย แอร์พอร์ท อ. ลำลูกกา จ. ปทุมธานี. หน้า 17.

วนิดา สร้อยประจักษ์ และ สร้อยนภา กรองสะอาด. 2556. **แนวทางการกำจัดโรคนิวคาสเซิลของประเทศไทย**. ส่วนโรคสัตว์ สำนักควบคุม ป้องกัน และบำบัดโรคสัตว์. สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดชัยนาท.

ศุภมิตร เมฆฉาย ธวัชชัย แถวถาทำ และ พัชรินทร์ ครุฑเมือง. 2551. **การวิเคราะห์ทางโปรติโอมิกส์ของลักษณะความนุ่มในเนื้อไก่ไทยพันธุ์ลูกผสม.** การประชุมเชิงปฏิบัติการ การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ไก่พื้นเมือง ครั้งที่ 2. สำนักประสานงานชุดโครงการ การพัฒนาไก่พื้นเมืองฝ่ายเกษตร สำนักงานกองทุน สนับสนุนการวิจัย วันที่ 24-25 กรกฎาคม 2551 ณ โรงแรมเอเชีย แอร์พอร์ท อ. ลำลูกกา จ. ปทุมธานี. หน้า 28.

สุนทร สุนาทัย ธีรชัย ช่อไม้ จตุรงค์ จริยะนรวิชช์ และ ศิริพันธ์ โมราถบ. (2552). **ศึกษาเปรียบเทียบการใช้ Glycerol กับ Dimethyl Sulfloxide เป็นสารป้องกันการสูญเสียของเซลล์อสุจิในกระบวนการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งไก่พื้นเมือง.**

สำนักงานควบคุม ป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์. 2549. **การควบคุมโรคไขหวัดนกในประเทศไทย.** โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

อุดมศรี อินทรโชติ ธีรชัย ช่อไม้ อำนวย เสี้ยวธารากุล ทวีศิลป์ จีนด้วง และ ชูศักดิ์ ประภาสวัสดิ์. 2551 **การสร้างฝูงพื้นฐานไก่พื้นเมืองไทยจำนวน 4 สายพันธุ์.** การประชุมเชิงปฏิบัติการ การอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ไก่พื้นเมือง ครั้งที่ 2. สำนักประสานงานชุดโครงการ การพัฒนาไก่พื้นเมืองฝ่ายเกษตร สนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย วันที่ 24-25 กรกฎาคม 2551 ณ โรงแรมเอเชียแอร์พอร์ท อ. ลำลูกกา จ.ปทุมธานี. หน้า 16.

อภิชัย รัตนวราหะ. 2541. **ไก่พื้นเมือง: สัตว์เศรษฐกิจระดับชาวบ้าน.** กรุงเทพมหานคร. มติชน.

Blesbois, E., Grasseau, I., Seigneurin, F., Grasteau, S.M., Jalme, M.S. and Richard, M. 2008. Predictors of success of semen cryopreservation in chickens. **Theriogenology**, 69: 252-261.

Chalah, T., Seigneurin, F., Blesbois, E. and Brillard, J. P. (1999). *In vitro* Comparison of Fowl Sperm Viability in Ejaculates Frozen by Three Different Techniquent Fertility *in Vivo*. **Cryobiology**. 39:185- 191.

Donoghue, A. M. and Wishart, G. J. (2000). Storage of poultry semen. **Animal Reproduction Science**. 62: 213-232.

Ehling, C., Taylor, U., Baulain, U., Weigend, S., Henning, M. and Rath, D. (2012). Cryopreservation of semen from genetic resource chicken lines. **Agriculture and Forestry Research**. 3: 151-158.

Fang, Y. Z., Yang, S. and Wu, G. 2002. Free Radicals, Antioxidant and Nutrition. **Nutrition**, 18: 872-879.

Gee, G. F., Morrell, C. A., Franson, J. C. and Pattee, O. H. (1993). Cryopreservation of American Kestrel Semen with Dimethylsulfoxide**. J. Raptor Res**. 27: 21-25.

Gholami H., Chamani, M., Towhidi, A. and Fazeli, M. H. (2010). Effect of feeding a docosahexaenoic acid-enriched nutriceutical on the quality of fresh and frozen-

thawed semen in Holstein bulls. **An International Journal of Animal Reproduction.** 74: 1548-1558.

Guest, W. C. (1973). Spermatology and sperm preservation of Channel catfish, *Ictalurus punctatus*. M.S. thesis, Louisiana State University and Agricultural and Mechanical college, United States of America.

Iaffaldano, N., Manchisi, A. and Rosato, M. P. (2008). The preservability of turkey semen quality during liquid storage in relation to strain and age of males. **Animal Reproduction Science**. 109: 266-273.

Lake, P. E. (1986). The history and future of the cryopreservation of avian germ plasm. **Ploutry Sci**. 65: 1-15.

Latif, A., Ijaz, A., Aleem, M. and Mahmud, A. (2005). Effect of osmotic pressure and pH on the short-term storage and fertility of broiler breeder sperm. **Pakistan Vet. J.** 25: 179-182.

Maeda, T., Hiromi, S., Takato, T. and Yoshio, T. (1985). Studies on Morphological Frozen-Injuries of Avian Spermatozoa: Optimum Glycerol Concentration for Freezing Fowl Spermatozoa. **J. Fac. App. Biol. Sci.** 24: 25-31.

Masindi, L. M., Dibung, L. and Ben, S. (2012). Comparison of slow freezing and vitrification methods for Venda cockerel's spermatozoa. **Journal of Animal Sciences.** 3: 204-210.

Mereno, J., Coloma, M.A., Diaz, A.T., Brunet, A.G., Pastor, A.P., Soria, A.Z., Carrizosa, J.A., Urrutia, B. and Sebastian, A. L. 2008. A comparison of the protective action of chicken and quail egg yolk in the cryopreservation of Spanish ibex epididymal spermatozoa. **Cryobiology**. 57: 25-29

Partyka, A., Nizanski, W. and Lukaszewicz, E. (2010) Evaluation of fresh and frozen-thawed fowl semen by flow cytometry. **Theriogenology**. 74: 1019-1027.

Pistenma, D. A., Snapir, N. and Mel, H. C. (1971). Biophysical Characterization of Fowl Spermatozoa. I. Preservation of Motility and Fertilizing and Low Sperm oncentrations. **J. Reprod. Fert**. 24: 153-160.

Safarinejad, M. R., Hosseini, S. Y., Dadkhah, F. and Asgari, M. A. 2010. Relationship of omega-3 and omega-6 fatty acid with semen characteristic and anti-oxidant status of seminal plasma: A comparison between fertile and infertile men. **Clinical Nutrition**, 29: 100-105.

Seigneurin, F. and Blesbois, E. (1994). Effect of the Freezing rate on viability and fertility of frozen thawed fowl spermatozoa. **Theriogenology**. 43: 1351-1358.

Siudzinska, A. and Lukaszewicz, E. (2008). Effect of Semen Extenders and Storage Time on Sperm Morphology of Four Chicken Breeds. **Poultry Science Association Inc.** 17: 101-108.

Sontakke, S. D., Umapathy, G., Sivaram, V., Kholkute, S.D. and Shivaji, S. (2004). Semen characteristics, cryopreservation, and successful artificial insemination in the blue rock pigeon (Columba livia). **Theriogenology**. 62: 139-153.

Tseluntin, K., Seigneurin, F. and Blesbois, E. (1999). Comparison of Cryoprotectants and methodes of Cryopreservation of Fowl Spermatozoa. **Poultry Science**. 78: 586 – 590.

**ประวัตินักวิจัย**

**1. ชื่อ:** (ภาษาไทย) อ.ดร. สมร พรชื่นชูวงศ์
(ภาษาอังกฤษ) Dr. Samorn Ponchunchoovong
หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน: 3 9201 00947 09 0

**2. ตำแหน่งปัจจุบัน:** รองคณบดีสำนักเทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**3. สถานที่ติดต่อ:**

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
อำเภอเมือง จ.นครราชสีมา 30000
Tel: (044) 224377-8
Fax: (044) 224150
E-mail: samorn@sut.ac.th

**4. ประวัติการศึกษา:**

| Degree | Institution | Year | Country |
|---|---|---|---|
| B.Sc. (Biology) | Prince of Songkhla University | 1992 | Thailand |
| M.Sc. (Zoology) | Chulalongkorn University | 1995 | Thailand |
| Ph.D (Aquaculture) | Asian Institute of Technology | 2003 | Thailand |

**5. สาขาวิชาการที่ชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา):**

- Cryopreservation of fish spermatozoa
- Aquaculture (seed production)

**6. ผลงานวิจัย:**

**Kwantong, S**. and Bart, A. N. 2003. Effect of cryoprotectants, extenders and freezing rates on the fertilization rates of frozen striped catfish, Pangasius hypophthalmus (Sauvage), sperm. Aquaculture research, 34: 887-893.

**Kwantong, S**. and Rodtong, S. 2004. Species identification of Thai rice-field crab using stereomicroscopy and scanning electron microscopy. 8 th Asia- Pacific conference on electron microscopy (8APEM). June 7-14, 2004. Kanazawa, Japan. P. 83.

Rodtong, S. and **Samorn Kwantong.** 2004. Scanning electron microscopy and nucleic acid

technique aid the identification and diversity study of Thai rice-field crab. 8 th Asia-Pacific conference on electron microscopy (8APEM). June 7-14, 2004. Kanazawa, Japan. P. 122.

**Kwantong, S.** and Bart, A. N. 2004. Cryoperservation of striped catfish, Pangasius hypophthalmus sperm. International symposium on animal and plant production for food and environmental security. August 9-11, 2004, Chaophya park hotel, Bangkok. Thailand. P. 105-109.

**Kwantong, S.** and Bart, A. N. 2006. Cryopreservation of black eared catfish, A Pangasius larnaudii sperm. Aquaculture research, 37: 955-957.

**Ponchunchoovong, S**. 2006. Species identification of Thai rice-field crab in the lower north-eastern region of Thailand. Suranaree J. Sci. Technol. 13(3): 245-249.

สมร พรชื่นชูวงศ์ สุพรรณ ขันน้ำเที่ยง สุรชัย ภาสดา สุคนธา เลขะพันธ์รัตน์ นิศารัตน์ ปุณณารักษ์ และ นฤพล สุขุมาสวิน. 2550. ผลของสาร extenders และสาร cryoprotectants ที่มีผลต่ออัตราการปฏิสนธิของน้ำเชื้อปลาสวายโดยวิธีการแช่แข็ง. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง. ปีที่ 1 เล่มที่ 1: 11-22.

**Ponchunchoovong**, S. 2007. Effects of equilibration times on the fertilization rate of cryopreserved striped catfish, *Pangasius hpophthalmus* (Sauvage, 1878) sperm. First international conference on sustainable animal agriculture in developing countries. 27-29 September, Guandu Hotel, Kunming, China. P. 341-344.

**Ponchunchoovong,** S. 2008. Effects of freezing rates on the cryopreservation of striped catfish, Pangasius hypophthalmus (Sauvage, 1878) sperm. Proceedings “The 13 th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. September 22-26, 2008, Hanoi, Vietnam. P. 406.

**Kwantong, S**. and Bart, A. N. 2009. Fertilization efficiency of cryopreserved sperm from striped catfish, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage). Aquaculture Research, 40: 292-297.

Dokpong, D., **S. Ponchunchoovong**, U. Amsin, U. Piasoongnoen & S. Singhae. 2009. The effect of freezing Rates on the cryopreservation of Small scale mud carp, *Cirrhinus microlepis* (Sauvage, 1878) sperm. Proceedings 2nd International conference on sustainable animal agriculture for developing countries 8-11 November, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia. P. 268-270.

**Ponchunchoovong, S**. & S. Kannumteing. Effects of freezing rates on the cryopreservation of black ear catfish, *P. larnaudii* spermatozoa. Proceedings 2nd International conference on sustainable animal agriculture for developing countries. 8-11 November, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia. P. 271- 273.

Kainin, S., **S. Ponchunchoovong**, U. Imsin, U. Piasoongnoen & S. Singhae. Successful hybridization of *Pangasius* species using cryopreserved sperm. Proceedings 2nd International conference on sustainable animal agriculture for developing countries. 8-11 November, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia. P. 274-275.

Boonanuntanasarn, S., K. sukoim, T. Changmunwai, **S. Ponchunchoovong** & Y. Manakasem. Effect of *Butea superba* on masculinization of Nile tilapia. Proceedings 2nd International conference on sustainable animal agriculture for developing countries. 8-11 November, 2009. Kuala Lumpur, Malaysia. P. 250-251.

Nipon, S. , R. Yahsiro , S. Tunkijjanukij and **S. Ponchunchoovong** . 2009. Preservation of Humpback Grouper, *Cromileptes altivelis* (Valenciennes, 1828) Spermatozoa. Kasetsart University Fisheries research Bulletin Vol. 33(2): May, 2009. p. 12-23.

**Samorn, P**., Augkana, J. and Tunyaluk, R. 2010. Effect of activators solution on motility and fertilization of frozen striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus*. Proceedings "The 14 th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies (AAAP). August 23-27, 2010, Pingtung Taiwan, ROC P. 321.

**Samorn, P**., Duangchan. D., Unnop, I., Uraiwan, P. and Sombut, S. 2010. The effect of dilution ratios on short-term storage of Small scale mud carp, *Cirrhinus microlepis* (Sauvage, 1878) sperm. Proceedings "The 14 th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies (AAAP). August 23-27, 2010, Pingtung Taiwan, ROC P. 322.

**Ponchunchoovong, S**. and Plime S. 2010. Effect of combinations of cryoprotectants and freezing rates on cryopreservation of the spermatozoa of Striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878). Kasetsart J. (Nat. Sci.) 44: 1153-1161.

**Ponchunchoovong, S**., S. Kainin1, U. Imsilp, U. Piasoongnoen & S. Singsee. 2011. The effect of freezing rates and combinations cryodiluents on the cryopreservation of Mekong catfish, *Pangasius bocourti* sperm. Proceedings 3rd International conference on sustainable animal agriculture for developing countries. 26-29 July, 2011. Nakhon Ratchasima, Thailand. P.76.

**Ponchunchoovong, S.,** D. Dokpong, U. Imsilp, U. Piasoongnoen& S. Singsee. 2011 Fertilization efficiency of fresh and frozen sperm from Small scale mud carp, *Cirrhinus microlepis* (Sauvage, 1878). Proceedings 3rd International conference on sustainable animal agriculture for developing countries. 26-29 July, 2011. Nakhon Ratchasima, Thailand. P.75.

Boonmatun, T., **S. Ponchunchoovong**, T. Chomai , T. Vongpralub & A. Molee. 2011. Effects of extender and storage time on motility of native chicken "Luang hang kao" spermatozoa. Proceedings 3rd International conference on sustainable animal agriculture for developing countries. 26-29 July, 2011. Nakhon Ratchasima, Thailand. P. 336.

Vechklang, K., S. Boonanuntanasarn, **S. Ponchunchoovong**, N. Pirarat & C. Wanapu. 2011. The potential for rice wine residual as an alternative protein source in a practical diet for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at the juvenile stage. Aquaculture Nutrition. P. 1365-2095.

**Ponchunchoovong, S**., S. Kainin1, U. Imsilp & U. Piasoongnoen. 2011. The effect of freezing procedures on the cryopreservation of Mekong catfish, *Pangasius bocourti* sperm. World academy of science, engineering and technology. 24-26 August, 2011. Paris, France. P.1257-1261.

**7. งานวิจัยที่กำลังดำเนินการ**

1. การพัฒนาและเพิ่มผลผลิตปลาสวายโมง (Thai Panga) เพื่อการส่งออก
(ภาษาอังกฤษ): The improvement of Thai Panga production for export
(เป็นผู้หัวหน้าโครงการวิจัย รับผิดชอบโครงการวิจัย 35%)

## ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

**1. ชื่อ (ภาษาไทย)** นายธีระชัย ช่อไม้
**(ภาษาอังกฤษ)** Mr. Theerachai Chormai

**หมายเลขประจำตัวประชาชน:** 3 1014 00087 67 1 รหัสนักวิจัย (วช.) 49040073

**2. ตำแหน่ง** ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรี จังหวัดปราจีนบุรี

**3. ประวัติการศึกษา**

| ปีที่จบการศึกษา | ระดับปริญญาตรี โท เอก | อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม | สาขาวิชา | ชื่อสถาบันการศึกษา | ประเทศ |
|---|---|---|---|---|---|
| 2525 | ปริญญาตรี | วท.บ.วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต | สัตวศาสตร์ | มหาวิทยาลัยขอนแก่น | ไทย |
| 2540 | ปริญญาโท | วท.ม.วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต | การปรับปรุงพันธุ์สัตว์ | จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย | ไทย |

**4. สาขาที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชา**

- การปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อ และสัตว์ปีก

**5. ประวัติการทำงาน**

| ปี | ตำแหน่ง | หน่วยงาน |
|---|---|---|
| 2526-2541 | นักวิชาการสัตวบาล | สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์ปราจีนบุรี |
| 2542-2545 | นักวิชาการสัตวบาล | สถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์ |

| | | |
|---|---|---|
| | | สระแก้ว |
| 2546 | นักวิชาการสัตวบาล | ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรี |
| ปัจจุบัน | ผู้อำนวยการ | ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์กบินทร์บุรี |

**6.ประสบการณ์ที่สำเร็จแล้ว: ชื่อเรื่อง ปีที่พิมพ์ และสถานภาพการทำงานวิจัย เป็นหัวหน้าโครงการวิจัยหรือผู้ร่วมวิจัย**

| ชื่อ | ปีที่เผยแพร่ | สถานภาพในการวิจัย |
|---|---|---|
| 1. ดัชนีคัดเลือกโครุ่นพันธุ์บราห์มัน | 2539 | หัวหน้าโครงการวิจัย |
| 2. สถานภาพงานวิจัยโคเนื้อในประเทศไทย. | 2539 | หัวหน้าโครงการวิจัย |
| 3. ค่าพารามิเตอร์ทางพันธุศาสตร์ของโคบราห์มัน | 2540 | หัวหน้าโครงการวิจัย |
| 4. สถานภาพการเลี้ยงไก่พื้นเมืองในหมู่บ้านรอบสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สระแก้ว | 2541 | หัวหน้าโครงการวิจัย |
| 5. สมรรถภาพการเจริญเติบโตและลักษณะซากของโคป่าลูกผสม พ่อวัวกระทิงและวัวแดงกับแม่โค บราห์มันและเรดซินดี | 2544 | หัวหน้าโครงการวิจัย |
| 6. ผลของการใช้มันสำปะหลังต่อผลผลิของไก่พื้นเมือง ช่วงอายุ 0-16 สัปดาห์ | 2544 | หัวหน้าโครงการวิจัย |
| 7. สมรรถภาพการเจริญเติบโต และลักษณะซากของโคป่าลูกผสม พ่อวัวกระทิงและวัวแดง กับแม่พันธุ์บราห์มัน และเรดซินดี | 2544 | หัวหน้าโครงการวิจัย |
| 8. อัตราพันธุกรรมของลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจของโคกบินทร์บุรีระยะแรกเกิดถึงอายุ 1 ปี | 2545 | หัวหน้าโครงการวิจัย |
| 9. สมการทำนายน้ำหนักตัวโคกบินทร์บุรีชั่วอายุที่ 1 | 2545 | ผู้ร่วมโครงการวิจัย |
| 10. สมรรถภาพการเจริญเติบโตของเป็ดบาร์บารี่ 2 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงด้วยสำปะหลังระดับต่างๆ | 2545 | ผู้ร่วมโครงการวิจัย |
| 11. การเปรียบเทียบสมรรถภาพการขุนและลักษณะซาก ระหว่างโคลูกผสมทาเรนเทส-บราห์มันและโคลูกผสมซิมเมนทอล-บราห์มัน | 2546 | หัวหน้าโครงการวิจัย |
| 12. การเลี้ยงโคกบินทร์บุรีโดยใช้พื้นที่แปลงหญ้าแบบจำกัด | 2546 | หัวหน้าโครงการวิจัย |
| 13. การสร้างฝูงไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว 1. ลักษณะภายนอกของไก่เมื่อถึงชั่วอายุที่ 1 และ 2 | 2548 | หัวหน้าโครงการวิจัย |
| 14. สมรรภาพการผลิตไก่พื้นเมืองที่ระดับโปรตีน | 2548 | ผู้ร่วมโครงการวิจัย |

ในอาหารต่างๆกัน

15. การสร้างฝูงไก่พื้นเมืองจำนวน 4 พันธุ์ (ประดู่หางดำ, เหลืองหางขาว, แดง และชี) 2549 ผู้ร่วมโครงการวิจัย
16. ประสิทธิภาพการใช้กล่องรักษาอุณหภูมิเป็นภาชนะขนส่งน้ำเชื้อแช่เย็น สำหรับผสมเทียมไก่พื้นเมืองในภาคสนาม 2549 ผู้ร่วมโครงการวิจัย
17. การสร้างฝูงไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว 2. สมรรถภาพการผลิตและค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะน้ำหนักตัวของไก่ 2550 หัวหน้าโครงการวิจัย
18. สมรรถภาพการเจริญเติบโตของโคกบินทร์บุรีเพศผู้ในระยะทดสอบ 2550 ผู้ร่วมโครงการวิจัย
19. สมรรรถภาพการผลิตของไก่พื้นเมืองพันธุ์ประดู่หางดำ, พันธุ์เหลืองหางขาว, พันธุ์แดง และพันธุ์ชี. 2550 ผู้ร่วมโครงการวิจัย
20. อาทิตย์ ใหญ่ลา, เนรมิต สุขมณี, **ธีระชัย ช่อไม้** และวรวิทย์ สิริพลวัฒน์. 2551. การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของสีแข้งในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์เหลืองหางขาว. การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 46. กรุงเทพฯ. น. 107-114.
21. อาทิตย์ ใหญ่ลา, เนรมิต สุขมณี, **ธีระชัย ช่อไม้** และวรวิทย์ สิริพลวัฒน์. 2551. การถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของสีขนในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์เหลืองหางขาว. วารวารวิทยาศาสตร์เกษตร. กรุงเทพฯ. (อยู่ระหว่างรอตีพิมพ์).

**7. ปัจจุบันกำลังดำเนินการวิจัย**

1. โครงการย่อยที่ 4. การเลี้ยงโคกบินทร์บุรีของกรมปศุสัตว์ภายใต้การเลี้ยงของเกษตรกร
   4.1 สมรรถภาพการผลิตโคกบินทร์บุรีในสภาพฟาร์มเกษตรกรเครือข่าย (2550-2554) (เลขทะเบียนวิจัย (50)(1)-(50:4.1)-0206-006)
   4.2 ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจและสังคม ของการผลิตโคกบินทร์บุรีของเกษตรกรฟาร์มเครือข่าย (2550-2554)

2. โครงการทดสอบสมรรถภาพโคเนื้อกรมปศุสัตว์และเกษตรกรฟาร์มเครือข่าย (51(1)- 0206-003)
   2.1 การทดสอบสมรรถภาพโคพันธุ์กบินทร์บุรีของกรมปศุสัตว์และเกษตรกรฟาร์มเครือข่าย (เลขทะเบียนวิจัย 51(1)-(51.3)- 0206-003)

**8. ปัจจุบันดำเนินโครงการวิจัยสิ้นสุดลงแล้ว**

1. โครงการสร้างฝูงไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว (2546-2550)

**ประวัติ ผู้ร่วมโครงการวิจัย**

**1. ชื่อ – นามสกุล** (ภาษาไทย) : นายเทวินทร์ วงษ์พระลับ
(ภาษาอังกฤษ) : Mr. Thevin Vongpralub

**เลขหมายประจำตัวประชาชน** : 3 – 4007 – 00805 – 33 - 9

**2. ตำแหน่งปัจจุบัน :** รองศาสตราจารย์ ระดับ 9

**3. หน่วยงานสังกัด :** ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 โทร. โทรสาร 043 – 202362 E – mail : vthevi@kku.ac.th

**4. ประวัติการศึกษา**

| ปีที่จบการศึกษา | ระดับปริญญา | อักษรย่อปริญญาและชื่อเต็ม | สาขาวิชา | วิชาเอก | ชื่อสถาบัน | ประเทศ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 2522 | ปริญญาตรี | วท.บ. (วิทยาศาสตร์บัณฑิต) | เกษตรศาสตร์ | สัตวศาสตร์ | มหาวิทยาลัยขอนแก่น | ไทย |
| 2530 | ปริญญาโท | วท.ม. (วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต) | เกษตรศาสตร์ | สัตวบาล | มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ | ไทย |
| 2538 | ปริญญาเอก | Dr. Sc. Agr. Doctor in Agriculture | Animal Science | Animal Reproduction | Kyushu Tokai | ญี่ปุ่น |

**5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา)**

**6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

**6.1 ชื่อแผนงานวิจัยในฐานะผู้อำนวยการ:** การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ในโคพื้นเมืองโดยวิธีการแช่แข็ง (สิ้นสุดปีงบประมาณ 2550)

**6.2 ชื่อโครงการวิจัยในฐานะหัวหน้าโครงการ :** การแช่แข็งตัวอ่อนโคพื้นเมืองที่ผ่านการคัดเพศ (สิ้นสุดปีงบประมาณ 2550)

**6.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จ :** ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ และสถานภาพในการวิจัย

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา, วีระ ภาคอุทัย, พรชัย ล้อวิลัย, ฉลอง วชิราภากร และ วิษณุ วิเชียรสรรค์. 2534. การศึกษาถาวรภาพในการเลี้ยงโคนมของเกษตรกรรายย่อยในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ รายงานการวิจัยเสนอต่อสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยขอนแก่น (หัวหน้าโครงการ)

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา, บุญตา ธรรมบุตร และ มานิตย์ สนธิไชย. 2539. อิทธิพลของน้ำยาเจือจางและรูปแบบภาชนะที่ใช้ขนส่งในสภาพสนามต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร. แก่นเกษตร 24(2):81-89. เทวินทร์ วงษ์พระลับ และ มนต์ชัย ดวงจินดา. 2538. อิทธิพลของจำนวนเซลล์กรานูโลซาต่อการพัฒนาตัวอ่อนของหนูขาวเมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกันในหลอดทดลอง. แก่นเกษตร 23:37-43. (หัวหน้าโครงการ)

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา, ปิยศักดิ์ สุวรรณี, ประมร เมืองพรม

และ พิทักษ์ เผ่าผา. 2542. การศึกษาเบื้องต้นในการเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อแบบแช่แข็งในโคพื้นเมือง. วารสารวิจัย มข. 4:22-28.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา, อดศักดิ์ สังข์แก้ว และ กฤตพล สมมาตย์. 2542. การศึกษาเบื้องต้นในการเก็บรักษาน้ำเชื้อกวางซิก้าแบบแช่แข็ง. วารสารสัตว์ป่าเมืองไทย. 7:9-12.

สุจินต์ สิมารักษ์, **เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, ยุพา หาญบุญทรง และ พิรวิทย์ เชื้อวงษ์บุญ. 2543. การเลือกเพศตัวอ่อนโคนมด้วยเทคนิคการเพิ่มขยายยีน. รายงานการวิจัยโครงการวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทอุดหนุนทั่วไป ปีงบประมาณ 2541. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา, อดิศักดิ์ สังข์แก้ว, บุญตา ธรรมบุตร. 2543. การเก็บรักษาน้ำเชื้อและตัวอ่อนสุกรพื้นเมืองโดยวิธีแช่แข็ง. รายงานการวิจัยโครงการวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัยประเภทอุดหนุนทั่วไป ปีงบประมาณ 2541. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุจิตรา อาจริยะวัฒนกุล, **เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ และ พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา. 2544. ผลของระดับเบต้าแคโรทีนในอาหารต่อคุณภาพน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 11:1-11.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, วิทยา ฉินชิยานนท์, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา, อดิศักดิ์ สังข์แก้ว, สนั่น เหลียงไพบูลย์, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, พรชัย ล้อวิลัย และ อารียา ทองประยูร. 2544. ความยาวของเส้นรอบวงอัณฑะและคุณลักษณะน้ำเชื้อกวางป่าในฤดูกาลที่แตกต่างกัน. วารสารวิจัย มข. 6:25-33.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา, พิทักษ์ เผ่าผา, อดิศักดิ์ สังข์แก้ว, มังกร วงษ์ศรี และ มานิตย์ สนธิไชย. 2545. การเก็บรักษาน้ำเชื้อและคัพภะโคพื้นเมืองไทยโดยวิธีแช่แข็ง. รายงานการวิจัย. โครงการวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ปีงบประมาณ 2542. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา,บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ และบุญตา ธรรมบุตร.2546. ผลของระบบโรงเรือนต่อสมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกรพ่อพันธุ์.แก่นเกษตร.31:110-118.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, วิทยา ฉินธิยานนท์, สนั่น เหลียงไพบูลย์, อารียา ทองประยูร, ทองใบ ยะวงษา, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา, มนต์ชัย ดวงจินดา และบัญญัติ เหล่าไพบูลย์.2547. การผสมเทียมในกวางป่า.การประชุมสัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติ สาขาสัตวศาสตร์/สัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา,วิทยา ฉินธิยานนท์,**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**,สนั่น เหลียงไพบูลย์,ยุพิน ผาสุข และอารียา ทองประยูร. 2547. การควบคุมการเป็นสัดในกวางป่าโดยใช้ฮอร์โมนโพรสตาแกรนดิน เอฟ-2 –แอลฟา.การประชุมสัมนา วิชาการเกษตรแห่งชาติ สาขาสัตวศาสตร์/สัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สุจิตรา อาจริยะวัฒนกุล, **เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, วิศาส ศรีสุริยะ, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา และสัมฤทธิ์ แสนบัว. 2547. ผลของการเสริมออกซิโตซินในน้ำเชื้อเจือจางต่ออัตราการผสมติดและจำนวนลูกต่อครอกในสุกร.สุกรสาส์น 30 : 67-74.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**, พีรวิทย์ เชื้อวงษ์บุญ และพิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา. 2548. ผลของการเลี้ยงเซลล์เยื่อบุท่อนำไข่โคร่วมกับตัวอ่อนต่อการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนสุกรพื้นเมืองที่ผ่านการแช่แข็งแบบ vitrification. แก่นเกษตร33(3): (รอการตีพิมพ์เผยแพร่)

Jumpawadee, S., K. Sommart, **T. Vongpralab** and V.Pattarajinda.2005. Estimating rumen

undegradable protein with In situ nylon bug and In vitro enzymatic techniqul in tropical concentrate feedstuffs. Walailuk J. Sci and Tech. 2(1):23-33.

Sangkaew, A.,P.Saengsriraong, P.Suwantada and S.Sringam.2005.Effect of dimethylsulfoxide (DMSO) on cryopreserved Thai cock semen. The 12th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction, Chaingmai, 2 – 4 August 2005. Abstracts.

Sringams, S., A. Sangkaew, B.Laopiboon, M. Duangjinda and **T. Vongpralab**. 2005. Comparison of different diluents on semen quality of Thai native cook. The 12th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction, Chaingmai, 2 – 4 August 2005. Abstracts.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ** วิทยา ฉินชิยานนท์ สนั่น เหลียงไพบูลย์ อารียา ทองประยูร ทองใบ ยะวงษา พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา มนต์ชัย ดวงจินดา และบัญญัติ เหล่าไพบูลย์. 2549. การผสมเทียมกวางป่าโดยกำหนดเวลาภายใต้การควบคุมการเป็นสัด. การประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น หน้า 405 – 412.

สมยศ เปสี **เทวินทร์ วงษ์พระลับ** และพิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา. 2549. การใช้มันสำปะหลังในสูตรอาหารพื้นฐานปลายข้าวต่อสมรรถนะการผลิตและคุณภาพซากของสุกรรุ่นและขุน. การประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 2 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น หน้า 336 – 346.

สินีนาฎ พลแสง และ**เทวินทร์ วงษ์พระลับ.** 2549. ผลของการเปิดแถบบันทึกเสียงแม่สุกรต่อพฤติกรรมและสมรรถภาพทางการผลิตของลูกสุกรหย่านม. การประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 2 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น หน้า 413 – 425.

พงศ์เทพ พลแสง และ**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**. 2549 ผลการนวดปุ่มกระสันภายหลังการผสมเทียมต่ออัตราการผสมติดในแม่โค. การประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 2 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น หน้า 426 – 433.

ธัญญา คงนวลอินทร์ **เทวินทร์ วงษ์พระลับ** และบัญญัติ เหล่าไพบูลย์. 2549. อิทธิพลของอุณหภูมิน้ำดื่มต่อสมรรถภาพทางการผลิตของไก่ไข่ในช่วงฤดูร้อน. 2549. การประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 2 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น หน้า 506 – 517.

สุนทร ทองดี และ**เทวินทร์ วงษ์พระลับ**. 2549. การเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแม่โคนมด้วยเทคนิคการฉีดฮอร์โมนโปรสตาแกลนดิน เอฟ ทู อัลฟา ทางโยนี. การประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 2 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น หน้า 582 – 590.

เด่นพงษ์ สาฆ้อง **เทวินทร์ วงษ์พระลับ** และ สหัส นุชนารถ. 2550. การพัฒนาของฟอลิเคิลในแม่กระบือปลัก. ประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ ครั้งที่ 8. คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 64-66.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ** บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ พิชรัตน์ แสนไชยสุริยา สจี กัณหาเรียง และ ยุพิน ผาสุข. 2550. การศึกษาผลการผสมติดจากการผสมเทียมโดยน้ำเชื้อไก่พื้นเมือง. ประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 3. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ร่วมกับ กรมปศุสัตว์ และสมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย. หน้า 180-187.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ** บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ พิชรัตน์ แสนไชยสุริยา สจี กัณหาเรียง และ ศราวุธ ศรีงาม.

2550. ผลของชนิดน้ำเชื้อเจือจาง และชนิด cryoprotectant ต่อคุณภาพน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองที่เก็บรักษา. ประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 3. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ร่วมกับ กรมปศุสัตว์ และสมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย. หน้า 188-195.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ** ยุพิน ผาสุก บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ จุฬานีย์ น่วมจิต และ พรจิต สอนสีดา. 2550. ผลของชนิดน้ำยาเจือจางต่อคุณภาพน้ำเชื้อไก่. ประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 3. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ร่วมกับ กรมปศุสัตว์ และสมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย. หน้า 196-203.

**เทวินทร์ วงษ์พระลับ** และ ยุพิน ผาสุข . 2551. ความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อแช่แข็งในไก่พื้นเมือง. การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ครั้งที่ 4 ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ร่วมกับกรมปศุสัตว์ และสมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย. หน้า 127-130.

ชโลธร อัมพร และ **เทวินทร์ วงษ์พระลับ.** 2551. ระดับฮอร์โมน FSH ที่มีผลต่อการตอบสนองการตกไข่และคุณภาพตัวอ่อนในโคพื้นเมืองไทย. การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ครั้งที่ 4 ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นร่วมกับกรมปศุสัตว์ และสมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย. หน้า 144-147.

ดำรงรักษ์ รักวงษ์ฤทธิ์ **เทวินทร์ วงษ์พระลับ** และยุพิน ผาสุข. 2551. ผลของการตัดแบ่งและวิธีแช่แข็งต่อคุณภาพตัวอ่อนโคนม. การประชุมวิชาการครั้งที่ 46 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาสัตว์และสาขาสัตวแพทย์. หน้า 91-98.

Simaraks, S. and **T. Vongpralub**. 1987. Artificial Insemination in Chinese Geese. Thai J. Agric. Sci. 20:65-75.

**Vongpralub, T** and F. Koyanagi. 1994. Effect of oxytocin on sperm molityty and invitro fertilization in the mouse. Animal Science and Technology (Japan) 65:695-700.

**Vongpralub, T.** and F. Koyanagi. 1994. Effects of oxytocin and granulosa all co-culture on the development of mouse one-cell stagee embryos. J. Mann. Ova. Res.

Worapol Aengwanich, Udom Chuachan, Yupin Phasuk, **Thevin Vongpralab**, Parwadee Pakdee, Suporn Katavetin and Suchint Simaraks.2003.Effect of Ascobic Acid on Respiratory rate, Body Temperature, Heterophil:Lymphocyte Ratio and Microscopic Lession Score in Lung, Liver, Kidney, Cardiac Muscle and Spleen in Broilers under Heat Stress. Thai Journal Agriculture Science.36(2):207-218.

Worapol Aengwanich, Pornchai Sridama, Yupin Phasuk, **Thevin Vongpralab**, Parwadee Pakdee, Suporn Katavetin and Suchint Simaraks.2003.Effect of Ascobic Acid on Cell mediated, humoral immune response and phathophysiology of white blood cell in broilers under heat stress. Songklanakarin Journal Science Technology.23(3): 297–305.

Jumpawadee, S., K. Sommart, **T. Vongpralab** and V.Pattarajinda.2005. Estimating rumen undegradable protein with In situ nylon bug and In vitro enzymatic techniqul in tropical concentrate feedstuffs. Walailuk J. Sci and Tech. 2(1):23-33.

Chumpawadee, S., K. Sommart, **T. Vongpralup** and V. Pattarajida. 2006. Effects of Synchronizing

the rate of Dietary Energy and Nitrogen Release on Ruminal Fermentation, Microbial Protein Synthesis, Blood Urea Nitrogen and Nutrient Digestibility in Beef Cattle. Asian-Australasian Journal of Animal Science. 19(2): 181- 188.

Chumpawadee, S., K. Sommart, **T. Vongpralup** and V. Pattarajida. 2006. Effects of synchronizing the rate of degradation of dietary energy and nitrogen release on growth performance in Brahman cattle. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 28(1): 59-70.

Chumpawadee, S., K. Sommart, **T. Vongpralup** and V. Pattarajida. 2004. Effects of synchronizing the rate of degradation rate of dietary energy and nitrogen release on digestibility, rumen fermentation and average daily gain in Brahman beef cattle. In : The 11th AAAP Animal Science Congress – 2004, The Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. Kuala Lumpur, Malaysia. 2, 364-366.

W. Aengwanich, P. Sridama, Y. Phasuk, **T. Vongpralup**, P. Pakdee, S. Katawatin and S. Simaraks. 2003. Effects of ascorbic acid on cell mediated, humoral immune response and pathophysiology of white blood cell in broilers under heat stress. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 25(3): 297-305.

W. Aengwanich, U. Chuachan, Y. Phasuk, **T. Vongpralup**, P. Pakdee, S. Katawatin and S. Simaraks. 2003. Effects of ascorbic acid on respiratory rate, body temperature, heterophil: lymphocyte ratio and microscopic lesion score in lung, liver, kidney, cardiac muscle and spleen in broilers under chronic heat stress. Thai Journal Agricultural Science. 36(2): 207-218.

W. Aengwanich, Y. Phasuk, **T. Vongpralup**, P. Pakdee, S. Katawatin and S. Simaraks. 2003. Physiological adaptation and effects of ascorbic acid on adaptation in broilers under heat stress. Thai Journal Agricultural Science. 36(3): 225-232.

**ประชุมวิชาการนานาชาติ:**

**T. Vongpralup** and W. Chinchiyanonda. 2005. Effect of serum source on bovine embryo development *in vitro*. The 12th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction, Chaingmai, Thailand.

Sangkaew, A., P. Saengsriraong, P. Suwantada and S. Sringam. 2005. Effect of dimethylsulfoxide (DMSO) on cryopreserved Thai cock semen. The 12th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction, Chaingmai, Thailand.

Sringams, S., A. Sangkaew, B. Laopiloon, M. Duangjinda and **T. Vongpralup**. 2005. Comparison of different diluents on semen quality of Thai native cock. The 12th International Congress on Biotechnology in Animal Reproduction, Chaingmai, Thailand.

Chumpawadee, S., K. Sommart, **T. Vongpralup** and V. Pattarajida. 2005. Nutritional evaluation of crop residues and selected roughages for ruminant using *in vitro* gas production technique. In: Proceeding Integrating Livestock-crop systems to meet the challenges of globalization. Vol. 2. P53. AHAT/BSAS International Conference. Thailand.

Chumpawadee, S., K. Sommart, **T. Vongpralup** and V. Pattarajida. 2005. Ruminal undegradable

protein of tropical feed stuffs using nylon bag and enzymatic techniques. In Proceeding The agricultural Annual conference 2005, Khon kaen University, Khon Kaen, Thailand.

Chumpawadee, S., K. Sommart, **T. Vongpralup** and V. Pattarajida. 2004. Effects of synchronizing degradation rate of dietary energy and nitrogen release on growth performance, microbial protein synthesis and blood urea nitrogen in beef cattle. In: The 11th AAAP Animal Science Congress – 2004, The Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. Kuala Lumpur, Malaysia. 3, 364-366.

Chumpawadee, S., K. Sommart, **T. Vongpralup** and V. Pattarajida. 2004. Effects of synchronizing the rate of degradation of dietary energy and nitrogen release on growth performance in Brahman beef cattle. In Proceeding The agricultural Annual conference 2004, Khon kaen University, Khon Kaen, Thailand.

**6.4 งานวิจัยที่กำลังทำ :**

การปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองไทยประดู่หางดำและชีด้วยดัชนีการคัดเลือก (ปีงบประมาณ 2550 – 2553) แหล่งทุนจาก สกว. (ผู้ร่วมวิจัย)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

## ประวัติผู้วิจัยร่วม

**1.** ชื่อ – นามสกุล (ภาษาไทย) นางอมรรัตน์ โมพี
(ภาษาอังกฤษ) Ms.Amonrat Molee

**รหัสประจำตัวประชาชน** 3909900062333

**2. คุณสมบัติทางวิชาการ มีรายละเอียดดังนี้**

**1. ประเภทงาน** เป็นอาจารย์มหาวิทยาลัย

**2. ตำแหน่ง** อาจารย์

**3. หน่วยงานและที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวกพร้อมหมายเลขโทรศัพท์, โทรสาร, มือถือ และ e-mail**

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
อำเภอ เมือง จังหวัดนครราชสีมา
โทรศัพท์ 0897446440
e-mail amonrat@sut.ac.th

**4. ประวัติการศึกษา**

| | | |
|---|---|---|
| วิทยาศาสตร์บัณฑิต (สัตวศาสตร์) | 2533 | มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย |
| วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (สัตวศาสตร์) | 2538 | มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย |
| ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ปรับปรุงพันธุ์สัตว์) | 2548 | มหาวิทยาลัยขอนแก่น ประเทศไทย |

**5. สาขาวิชาการที่ชำนาญที่สุด (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ (ถ้ามี)**

ด้านการปรับปรุงพันธุ์ ทั้งด้าน conventional และ Molecular breeding และการจัดการฐานข้อมูล

**6. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานะภาพในการทำการวิจัย** -

**7. ผลงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ**

**1. ผลงานที่ตีพิมพ์ โปรดเขียนแยกเป็นรายหัวข้อ**

**ผลงานตีพิมพ์วารสารต่างประเทศ** -

**ผลงานตีพิมพ์วารสารภายในประเทศ**

**อมรรัตน์ โมพี** และ มนต์ชัย ดวงจินดา .2549 .ผลตอบสนองการคัดเลือกเมื่อใช้โมเดลที่มี อิทธิพลของยีนหลักโดยการจำลองข้อมูลในโคนม. วารสารแก่นเกษตร.4(33).

**ผลงานตีพิมพ์ในรายงานการประชุม**

**อมรรัตน์ โมพ**, มนต์ชัย ดวงจินดา ,วิโรจน์ ภัทรจินดา ,สุภร กตเวทิน ,จิรวัฒน์ สนิทชน, กนก ผลารักษ์ , และ พงษ์ชาญ ณ ลำปาง .2547 .การตรวจหา quantitative trait loci ต่อ ลักษณะปริมาณน้ำนมบนโครโมโซมคู่ที่ 3 ในประชากรโคนมลูกผสม .งานประชุมประจำปีเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ครั้งที่ 16 .มหาวิทยาลัยนเรศวร ,พิษณุโลก.

**อมรรัตน์ โมพี** และ มนต์ชัย ดวงจินดา. 2548. ผลตอบสนองการคัดเลือกเมื่อใช้โมเดลที่มีอิทธิพลของยีนหลักโดยการจำลองข้อมูลในโคนม. งานประชุมสัมมนา วิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 1. คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยขอนแก่น

**อมรรัตน์ โมฬี** และ มนต์ชัย ดวงจินดา .2549. ขนาดประชากรที่เหมาะสมในการ วิเคราะห์หายีนควบคุมลักษณะเชิงปริมาณน้ำนมในโคนโดยการจำลองข้อมูล.งานประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 1 . คณะเกษตรศาสตร์ ,มหาวิทยาลัยขอนแก่น

กนก เชาวภาษี **อมรรัตน์ โมฬี** และ วาณี ชัยวัฒนสิน. 2551. การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมและคุณค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะทางเศรษฐกิจบางลักษณะในโคกำแพงแสน. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 46 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

**Molee A.**, M. Duangjinda, V. Pattarajinda, S. Katawatin, J. Sanitchon, K Phalaraksh, and P. Na-Lampang. 2005. Detection of putative quantitative trait loci affecting milk yield on chromosome 3 in Thai crossbred Holstein. Annaul conference for 2nd graduate agriculture biotechnology, Juraporn research centre. Bangkok. (Poster)

**8. ท่านได้รับทุนวิจัยหรือดำเนินโครงการวิจัยอยู่หรือไม่ (รายละเอียด)**

**ทุนวิจัยที่ได้รับ**

1. การสำรวจเพื่อศึกษาสถานภาพการเลี้ยงกวางในประเทศไทย

**แหล่งทุน** สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย )สกว (.

**ระยะเวลา** 3 เดือน

**งบประมาณ** 145,000 บาท

**การดำเนินโครงการ** อยู่ระหว่างการตรวจสอบรายงานฉบับสมบูรณ์

**ความรับผิดชอบ** ผู้ร่วมวิจัย และเลขานุการโครงการ

2. ความสัมพันธ์ของรูปแบบยีนเคซีนกับระดับสายเลือดโฮลสไตล์ในโคนมลูกผสม

**แหล่งทุน** สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว)

**ระยะเวลา** 24 เดือน

**งบประมาณ** 360,000 บาท

**การดำเนินโครงการ** อยู่ระหว่างการดำเนินการ

**ความรับผิดชอบ** หัวหน้าโครงการ

3. อิทธิพลของยีน Acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase1 ต่อปริมาณน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนมในโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ลูกผสม

**แหล่งทุน** มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

**ระยะเวลา** 12 เดือน

**งบประมาณ** 100,000 บาท

**การดำเนินโครงการ** อยู่ระหว่างการดำเนินการ

**ความรับผิดชอบ** หัวหน้าโครงการ

**9. บทบาทความรับผิดชอบในโครงการ เช่น เป็นหัวหน้าโครงการ/ นักวิจัยหลักในโครงการ / นักวิจัยที่สนับสนุนเพียงบางกิจกรรม** ตามรายละเอียดข้อ 8

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี