ทิพย์สุดา บุญมาทัน : การเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวแบบแช่เย็นและแบบแช่แข็ง (COLD AND FROZEN STORAGE OF NATIVE CHICKEN " LEUNG HANG KAO " SEMEN) อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร.สมร พรชื่นชูวงศ์, 103 หน้า.

การศึกษาการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวแบบแช่เย็นและแบบแช่แข็ง แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้ 1) ผลของสารละลายน้ำเชื้อ และระยะเวลาการเก็บรักษาที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวแบบแช่เย็น และ 2) ผลของสารละลายน้ำเชื้อ ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารไครโอโพรเทคแทนท์ ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวแบบแช่แข็ง

การศึกษาผลของสารละลายน้ำเชื้อ และระยะเวลาการเก็บรักษาที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวแบบแช่เย็น โดยใช้สารละลายน้ำเชื้อ 7 ชนิด (สาร modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่าง ๆ (300 350 และ 400 mOsm kg^{-1}) Beltsville poultry semen extender (BPSE) Lake's diluent IGGKP และ EK) และใช้ 0.9% โซเดียมคลอไรด์ ร่วมกับ 0.2% น้ำตาลกลูโคส เป็นกลุ่มควบคุม ทำการเจือจางน้ำเชื้อในสารละลายน้ำเชื้อแต่ละชนิด และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการทดสอบผลของสารละลายน้ำเชื้อ และระยะเวลาการเก็บรักษาต่ออัตราการเคลื่อนที่ และอัตราการมีชีวิต ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-7 วัน พบว่าการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1-3 วัน เมื่อใช้สารกลุ่ม modified extender (300 350 และ 400 mOsm kg^{-1}) ให้อัตราการเคลื่อนที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมและสารละลายน้ำเชื้อชนิดอื่น ๆ ที่ใช้ในการศึกษา ($P<0.05$) แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารละลายน้ำเชื้อทุกชนิดไม่มีผลต่ออัตราการมีชีวิตที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 2-3 วัน เมื่อนำสารละลายน้ำเชื้อที่ให้อัตราการเคลื่อนที่สูงกว่า 60% ซึ่งได้แก่ สาร modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่าง ๆ (300 350 และ 400 mOsm kg^{-1}) สาร BPSE และ Lake's diluent มาทำการทดสอบอัตราการผสมติดที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1-5 วัน พบว่าการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ระยะเวลา 1 วัน เมื่อใช้สาร modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 400 mOsm kg^{-1} ให้อัตราการผสมติดสูงที่สุด 100±0.00% ซึ่งไม่แตกต่างกับการใช้สาร modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 mOsm kg^{-1} และ BPSE เมื่อเก็บรักษาในระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นเป็นระยะเวลา 4-5 วัน พบว่าการใช้สารกลุ่ม modified extender (300 350 และ 400 mOsm kg^{-1}) ให้อัตราการผสมติดสูงกว่ากลุ่มควบคุมและการใช้ Lake's diluent และเมื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพของตัวอสุจิจากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้โครงสร้างของตัวอสุจิโดยเฉพาะส่วนหัวและส่วน midpiece ถูกทำลาย นอกจากนี้ยังได้ศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเคลื่อนที่กับลักษณะการเคลื่อนที่แบบต่าง ๆ (อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยเป็นแนวตรงเมื่อเทียบกับการเคลื่อนที่จริงของตัวอสุจิ (Average Path Velocity : VAP μm/s) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นโค้ง

ของตัวอสุจิ (Curvilinear Velocity : VCL μm/s) และอัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นตรงจากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของตัวอสุจิ (Straight Line Velocity : VSL μm/s)) อัตราการมีชีวิต และอัตราการผสมติด ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 5 วัน พบว่าอัตราการเคลื่อนที่ไม่มีความสัมพันธ์กับอัตราการผสมติดแต่มีความสัมพันธ์กับลักษณะการเคลื่อนที่แบบต่าง ๆ ($P<0.01$)

การศึกษาผลของสารละลายน้ำเชื้อ ชนิดและระดับความเข้มข้นของสารไครโอโพรเทคแทนท์ที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวแบบแช่เย็น โดยใช้สารละลายน้ำเชื้อ 5 ชนิด (สาร modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับต่าง ๆ (300 350 และ 400 mOsm kg^{-1}) สาร BPSE และ Lake's diluent) ร่วมกับสารไครโอโพรเทคแทนท์ 4 ชนิด (dimethyl acetamide-DMA dimethyl formamide-DMF dimethyl sulfoxide-DMSO และ glycerol) ที่ระดับความเข้มข้น 5 10 และ 15% พบว่าชนิดของสารละลายน้ำเชื้อ และสารไครโอโพรเทคแทนท์มีอิทธิพลร่วมกัน โดยการใช้ BPSE ร่วมกับ DMA และ DMF ที่ระดับความเข้มข้น 15% การใช้สาร modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 350 mOsm kg^{-1} ร่วมกับ 15% DMSO และสาร modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 400 mOsm kg^{-1} ร่วมกับ 15% glycerol ให้อัตราการเคลื่อนที่รวมและอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าสูงกว่าทรีทเมนต์อื่น ๆ ที่ใช้ในการศึกษา ($P<0.05$) จึงได้นำทั้ง 4 ทรีทเมนต์ดังกล่าวมาทดสอบอัตราการผสมติดพบว่า การใช้สาร modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตี้ที่ระดับ 400 mOsm kg^{-1} ร่วมกับ 15% glycerol ให้อัตราการผสมติดเพียง 9.52±9.52% (4% ของน้ำเชื้อสด) และเมื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพของตัวอสุจิจากภาพถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด พบว่ามีการถูกทำลายโครงสร้างของตัวอสุจิบริเวณส่วนหัวและส่วน midpiece

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2556 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

THIPSUDA BOONMATAN : COLD AND FROZEN STORAGE OF NATIVE CHICKEN " LEUNG HANG KAO " SEMEN. THESIS ADVISOR : SAMORN PONCHUNCHOOVONG, Ph.D.,103 PP.

COLD STORAGE/FROZEN STORAGE/NATIVE CHICKEN/LEUNG HANG KAO/SEMEN

This study examined the feasibility of cold and frozen storage of native chicken " Leung Hang Kao " semen. Two major experiments were carried out. The first experiment was to investigate the effect of extenders and storage times on cold storage of native chicken " Leung Hang Kao " semen. The second experiment was to investigate the effect of extenders, cryoprotectants and their concentrations on the frozen storage of native chicken " Leung Hang Kao " semen.

The effect of seven extenders (modified extenders with osmotic pressure 300, 350 and 400 mOsm kg^{-1}, Beltsville poultry semen extender (BPSE), Lake's diluent, IGGKP and EK) on cold storage of native chicken " Leung Hang Kao " semen was investigated. Fresh semen diluted with 0.9% NaCl and 0.2% glucose was used as a control. Sperm samples were diluted with each extender and stored for seven days at 4°C, and motility and viability rates were assessed every day from day 1 to day 7. After storage for 3 days, the sperm diluted with the modified extenders (300, 350 and 400 mOsm kg^{-1}) showed significantly higher motility rates than the control group and the other extenders ($P<0.05$). None of the extenders used had an effect on viability rates after storage for 3 days ($P>0.05$). Five extenders (modified extenders with osmotic pressure 300, 350 and 400 mOsm kg^{-1}, BPSE and Lake's diluent) were selected and used as a diluent for a fertilization trial, due to yielding motility rates more than 60%. The fertility rate was evaluated from day 1 to day 5. After day 1 of storage, the highest fertility rate (100±0.00%) resulted from the modified

extender with osmotic pressure 400 mOsm kg^{-1}. There was no significant difference between the modified extender with osmotic pressure 350 mOsm kg^{-1} and BPSE ($P>0.05$). With increasing storage times from 4 to 5 days, the sperm diluted with the modified extenders (300, 350 and 400 mOsm kg^{-1}) yielded higher fertility rates than that of the control group and Lake's diluent. The morphological changes of cold semen were observed using Scanning Electron Microscopy (SEM). With increasing storage times, more frequently ruptured plasma membrane damaged were found on the head part and midpiece. In addition, the correlation between motility, velocity parameters (VAP, VCL and VSL), viability and fertility rates were investigated from day 1 to day 5. After storage for 5 days, the correlation between motility, velocity parameters, viability and fertility rates were observed and it was found that the motility rate was no correlation with viability and fertility rates ($p<0.01$).

The effect of five extenders (modified extenders with osmotic pressure 300, 350 and 400 mOsm kg^{-1}, BPSE and Lake's diluent) and four cryoprotectants (DMA, DMF, DMSO and glycerol) at three concentrations (5, 10 and 15%) on the frozen storage of native chicken " Leung Hang Kao " semen were investigated, and an interaction between the extenders and the cryoprotectants were found. The combination of BPSE and 15% DMA or 15% DMF, the modified extender with osmotic pressure 350 mOsm kg^{-1} and 15% DMSO and the modified extender with osmotic pressure 400 mOsm kg^{-1} and 15% glycerol yielded higher progressive rates and motility rates than that of the other treatments ($P<0.05$). These were conducted for fertilization trial. The fertility rate 9.52±9.52% (4% of control) was achieved with a combination of modified extender with osmotic pressure 400 mOsm kg^{-1} and 15% glycerol. SEM was used to assess the physical damage of the frozen semen and it was found that ruptured plasma membrane damaged was commonly found on head part and midpiece.

School of Animal Production Technology Student's Signature_____

Academic Year 2013 Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____