

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสาร antioxidant ต่อคุณภาพของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาแบบแช่แข็งในไก่พื้นเมืองพันธุ์เหลืองหางขาว แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้ 1) ผลของสาร extender และสาร cryoprotectant ต่อคุณภาพน้ำเชื้อและอัตราการผสมติดในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็ง และ 2) ผลของชนิดและระดับความเข้มข้นของสาร antioxidant ที่เหมาะสมต่อคุณภาพน้ำเชื้อและอัตราการผสมติดในไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวที่ผ่านการเก็บรักษาแบบแช่แข็ง

การทดลองที่ 1 ทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวแบบแช่แข็ง โดยใช้สาร extender 8 ชนิด (modified extender ที่มีค่าออสโมลาลิตีที่ระดับต่าง ๆ (300, 350 และ 400 mOsm kg⁻¹), Lake's diluent, BPSE, IGGKP, EK และ Schramm) ใช้สารโคริโอโพรเทคแทนท์ 3 ชนิด (DMF, DMA, DMSO) ที่ระดับความเข้มข้น 6% โดยใช้วิธีการลดอุณหภูมิแบบอั้งไนโตรเจนเหลว และประเมินคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็งจากอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต อัตราการผสมติด ความสมบูรณ์ของอะโครโซมด้วยสี fluorescein isothiocyanate conjugated peanut agglutinin (FITC-PNA) ร่วมกับ propidium iodide (PI) และการทำงานของไมโทคอนเดรีย ด้วยสี Rhodamine 123 ร่วมกับ propidium iodide (PI) จากการศึกษาพบว่า เมื่อใช้ 6% DMF ร่วมกับ EK ให้อัตราการผสมติดสูงสุด เท่ากับ 42.37±1.45% (46% ของน้ำเชื้อสด) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับผลการประเมินความสมบูรณ์ของอะโครโซมพบอสุจิมีชีวิตและอะโครโซมสมบูรณ์เท่ากับ 51.00±3.21% และการทำงานของไมโทคอนเดรียสมบูรณ์เท่ากับ 52.00±3.79% ซึ่งสูงกว่าเมื่อเทียบกับทริทเมนต์อื่น ๆ (P<0.05)

ศึกษาผลของการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระ 3 ชนิด ที่ 3 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ วิตามินอี ที่ระดับความเข้มข้น 1.16, 2.32 และ 3.48 mM ซีสเทอีนที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 5.0 mM และ กลูต้าไธโอนที่ระดับความเข้มข้น 0.025, 0.05 และ 0.1 mM และประเมินคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็งจากอัตราการเคลื่อนที่ อัตราการมีชีวิต อัตราการผสมติด และการเกิดปฏิกิริยาลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน พบว่า การเสริมวิตามินอีที่ระดับความเข้มข้น 2.32 mM ให้อัตราการผสมติดเท่ากับ 63.02±5.26% (65% ของน้ำเชื้อสด) ซึ่งสูงและแตกต่างกว่ากลุ่มที่ไม่มีการเสริมวิตามินอี (P<0.05) และให้ผลการเกิดปริมาณของ MDA ต่ำเท่ากับ 2.68±0.04 nmol/50x10⁶ spz. เมื่อเปรียบเทียบกับทริทเมนต์อื่น ๆ (P<0.05) และพบว่าการเสริมวิตามินอีที่ระดับความเข้มข้น 2.32 mM ส่งผลให้อัตราการเคลื่อนที่รวม (68.00±3.46%), อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (39.33±2.91%) และอัตราการมีชีวิตรอด (54.00±2.65%) สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทริทเมนต์อื่น ๆ (P<0.05) การเสริมซีสเทอีนที่ระดับความเข้มข้น 5.0 mM และ กลูต้าไธโอนที่ระดับความเข้มข้น 0.1 mM ส่งผลให้ประสิทธิภาพของน้ำเชื้อลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับทริทเมนต์อื่น ๆ ที่ทำการศึกษา

Abstract

The present study examined the feasibility of antioxidant on frozen semen quality in native chickens (Leung Hang Kao). Two experiments were carried out: (1) investigate the effect of extenders and cryoprotectants on quality of sperm and fertility rate of native chickens (Leung Hang Kao), (2) determine the effects of antioxidant on frozen semen quality and fertility rate of native chickens (Leung Hang Kao).

The first experiment was to investigate the effects of eight extenders (modified extenders with osmotic pressure 300, 350 and 400 mOsm kg⁻¹, Lake's diluent, BPSE, IGGKP, EK and Schramm), three cryoprotectants (dimethyl acetamide-DMA, dimethyl formamide-DMF and dimethyl sulfoxide-DMSO,) at concentrations of 6% on the cryopreservation of native chicken (Leung Hang Kao) semen. Sperm samples were frozen using a liquid nitrogen vapour in 500 μ L straws and stored for seven days in a liquid nitrogen container. They were then thawed at 5 °C for 5 min, and motility, viability, fertility, acrosome integrity and mitochondria function rates were assessed. The highest fertility rate of 42.37 \pm 1.45% (46% of control), acrosome integrity of 51.00 \pm 3.21% and mitochondria activity of 52.00 \pm 3.79% were achieved with the combination of 6% DMF and EK as the extender. These results were higher when compared with the other treatments (P<0.05).

Three antioxidants with three concentrations of vitamin E at concentrations at 1.16, 2.32 and 3.48 mM, cysteine at 0.5, 1.0 and 5.0 mM and glutathione at 0.025, 0.05 and 0.1 mM on the cryopreservation of native chicken (Leung Hang Kao) sperm were investigated. Semen was diluted with EK as the extender, mixed with each antioxidant and 6% DMF was added. Frozen sperm was thawed, and motility, viability, fertility rates and lipid peroxidation were assessed. It was found that vitamin E at a concentration of 2.32 mM yielded a higher fertility rate of 63.02 \pm 5.26% (65% of control) and a lower MDA of 2.68 \pm 0.04 nmol/50 \times 10⁶ spz. when compared with the other treatments (P<0.05). The highest motility rate of 68.00 \pm 3.46%, progressive motility rate of 39.33 \pm 2.91%, and viability rate of 54.00 \pm 2.65% were also achieved from vitamin E at a concentration of 2.32 mM. The supplement cysteine at 5.0 mM and 0.1 mM of glutathione had a negative impact on sperm quality.