เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2556; 11(2): 167-175

บทความต้นฉบับ

ลักษณะน้ำเชื้อในพ่อลาที่เลี้ยงบริเวณทางตอนเหนือของไทย

ศศิธร พนโสภณกุล*, ศิริวรรณ ตั้งยืนยง

ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ การศึกษาลักษณะน้ำเชื้อในพ่อลาจำนวน 7 ตัว ที่เลี้ยงทางตอนเหนือของประเทศไทย ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อพ่อลาด้วยช่องคลอดเทียมชนิดมิสซูรี่ สัปดาห์ละครั้ง ติดต่อกัน 4 สัปดาห์ การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อทำหลังจากแยกส่วนของเจลออก ผลการศึกษาพบว่า ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาตรน้ำเชื้อส่วนตัวอสุจิเข้มข้น (sperm rich fraction) ค่าออสโมลาริตี้ และค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ที่ 65.8±16.1 มิลลิลิตร 251±11.7 มิลลิออสโมล / กิโลกรัม และ 7.1±0.2 ตามลำดับ ในการประเมินอัตราการเคลื่อนที่โดยรวมและการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิ พบมีค่าเฉลี่ยที่ร้อยละ 80.8±4.2 และ 74.0±5.7 ตามลำดับ ส่วนร้อยละของจำนวนอสุจิที่มีชีวิตมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 84.6±4.5 เมื่อทำการตรวจวัดความเข้มข้นของตัวอสุจิด้วยเครื่องนับตัวอสุจิอัตโนมัติ พบมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 340±1.1 x 10^6 ตัว/ มิลลิลิตร โดยมีจำนวนอสุจิโดยรวมเฉลี่ยอยู่ที่ 21.2±4.5 x 10^9 ตัว ในการตรวจหาความผิดปกติของรูปร่างอสุจิในน้ำเชื้อพบว่า อัตราค่าเฉลี่ยความผิดปกติของรูปร่างอสุจิโดยรวมเท่ากับ 10.1±3.0 โดยจำแนกเป็นความผิดปกติที่ส่วน อโครโซม 0.3±0.2% ส่วนหัว 1.2±0.9% ส่วน mid-piece 3.8±2.3% ส่วนหาง 3.9±1.5% proximal droplets 0.1±0.1% และ distal droplets 0.8±0.4% ตามลำดับ ผลดังกล่าวสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการกำหนดความสมบูรณ์พันธุ์ของลาพ่อพันธุ์เพื่อประโยชน์ในการผสมพันธุ์และผลิตน้ำเชื้อในรูปแบบการแช่เย็นและแช่แข็งต่อไป **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2556; 11(2). 167-175**

คำสำคัญ ลักษณะน้ำเชื้อ พ่อลา ตอนเหนือของไทย

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่: ศศิธร พนโสภณกุล ภาควิชาคลินิกสัตว์เลี้ยงและสัตว์ป่า คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100 โทร 053-948083 ต่อ 105: E-mail address: sasithorn.pana@cmu.ac.th
ได้รับบทความวันที่ 8 มกราคม 2556

บทนำ

ลา (donkey; *Equus asinus*) เป็นสัตว์ในตระกูลม้าที่มีเลี้ยงกันมากในเขตตอนเหนือของประเทศไทย ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบปล่อยแปลงและทำการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการผสมจริงตามธรรมชาติ หรือ การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสด (กองการสัตว์และเกษตรกรรม ที่ 3, 2555) ในการผสมพันธุ์ลามีทั้งการผสมพันธุ์ระหว่างลากับลา และการผสมข้ามชนิดระหว่างลากับม้า เพื่อผลิตลูกลาและลูกล่อสำหรับใช้เป็นพาหนะในการขนส่งและเดินทางบนที่ราบสูง

ความสำเร็จหนึ่งในการเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ คือ การประเมินความสมบูรณ์พันธุ์ของพ่อพันธุ์ ซึ่งสามารถประเมินเบื้องต้นได้จากการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ อีกทั้งยังใช้เป็นข้อมูลสำคัญในการคัดเลือกพ่อพันธุ์อีกด้วย ปัจจุบันมีการศึกษาและรายงานถึงคุณลักษณะพื้นฐานของน้ำเชื้อในสัตว์ชนิดต่างๆ มากมาย อาทิเช่น สุกร โค แกะ สัตว์ป่าตระกูลแมว ช้าง และสัตว์ตระกูลม้า เช่น ม้าและลา (Dowsett & Pattie, 1982; Borg, et al., 1993; Schmitt & Hildebrandt, 1998;

Ax et al., 2000; Jayaprakash et al., 2001; Purdy, 2005)

ลักษณะของน้ำเชื้อลามีความแตกต่างบางประการเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำเชื้อม้า อาทิเช่น ปริมาตรของน้ำเชื้อ ซึ่งพบว่าน้ำเชื้อที่รีดได้จากพ่อลามักมีปริมาตรของน้ำเชื้อโดยรวมน้อยกว่าที่รีดได้จากพ่อม้า (20- 115 มิลลิลิตร และ 30-250 มิลลิลิตร ตามลำดับ) แต่เมื่อพิจารณาถึงความเข้มข้นของอสุจิต่อปริมาตรน้ำเชื้อใน 1 มิลลิลิตร พบว่าในลามีค่าสูงกว่าในม้า 2-3 เท่า (200-500 x 10^6 ตัว/ มิลลิลิตร และ 100-200 x 10^6ตัว/ มิลลิลิตร ตามลำดับ) (Kreuchauf, 1984; Pickett et al., 1989; Ricketts, 1993; Gastal et al., 1997) อย่างไรก็ตามลักษณะต่างๆ ของน้ำเชื้อลามักมีความผันแปรขึ้นกับปัจจัยหลายอย่างเช่นเดียวกับน้ำเชื้อม้า (Pugh, 2002) ได้แก่ อายุ สายพันธุ์ การจัดการ สภาพแวดล้อม ความถี่ของการรีดน้ำเชื้อ หรือ ฤดูกาล เป็นต้น

การเพาะขยายพันธุ์ล่อในประเทศไทยปัจจุบันยังคงใช้ลาพ่อพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศเป็นหลัก ดังนั้นสภาพภูมิอากาศและสภาพแวดล้อม รวมถึงการจัดการที่แตกต่างกันในแต่ละประเทศอาจส่งผลทำให้ลักษณะของน้ำเชื้อที่รีดได้แตกต่างกัน การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะน้ำเชื้อของพ่อลาพันธุ์ต่างประเทศที่เลี้ยงทางตอนเหนือของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง

ทำการคัดเลือกพ่อลาพันธุ์เติ้งโจ (Dezhou) และพันธุ์ออสเตรเลีย (Australian donkey) จำนวน 7 ตัว ที่เลี้ยงอยู่ในอำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ มีช่วงอายุตั้งแต่ 3-15 ปี และมีน้ำหนักอยู่ในช่วง 150-250 กิโลกรัม พ่อลาทุกตัวที่ผ่านการคัดเลือกเป็นพ่อลาที่มีสุขภาพดี ไม่มีประวัติของโรคและปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ และถูกใช้ในการผสมพันธุ์เป็นประจำ พ่อลาจะถูกเลี้ยงไว้ในคอกได้รับอาหารข้นครั้งละ 1.5 กิโลกรัม วันละ 2 ครั้ง (เช้า-บ่าย) และหญ้าสดหรือหญ้าแห้งประมาณ 10 กิโลกรัม/ตัว/วัน โดยได้รับน้ำสะอาดอย่างเพียงพอตลอดทั้งวัน และมีการปล่อยแปลงทุกวันตลอดช่วงเช้า พ่อลาทุกตัวจะได้รับการฝึกให้สามารถขึ้นรีดเก็บน้ำเชื้อโดยใช้หุ่นหรือลาเพศเมียที่เป็นสัดเป็นตัวล่อ เป็นเวลาอย่างน้อย 1 เดือน หรือจนกว่าจะสามารถทำการรีดเก็บน้ำเชื้อได้

การรีดเก็บน้ำเชื้อ

ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อทุกสัปดาห์ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกัน 4 สัปดาห์ ด้วยช่องคลอดเทียมชนิดมิสซูรี่ (Missourie Model AV, Nasco, Ft. Atkinson, WI, USA) ที่มีการบรรจุน้ำอุ่นอุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส และเติมลมเพื่อเพิ่มแรงดันให้เหมาะสม โดยก่อนการรีดเก็บน้ำเชื้อทุกครั้ง พ่อลาจะได้รับการทำความสะอาดส่วนของอวัยวะเพศด้วยน้ำสะอาด และเช็ดให้แห้งด้วยฟองน้ำหรือผ้าสะอาดเพื่อลดการปนเปื้อนของสิ่งสกปรกจากภายนอก

ในขณะรีดเก็บน้ำเชื้อ ทำการสังเกตพฤติกรรมที่แสดงออกขณะรีดเก็บน้ำเชื้อและบันทึกระยะเวลาในการรีดเก็บน้ำเชื้อแต่ละครั้งร่วมด้วย

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

หลังการรีดเก็บน้ำเชื้อ นำน้ำเชื้อที่รีดได้มากรองผ่านผ้าก๊อซที่แห้งและสะอาดเพื่อแยกเอาส่วนเจล ออก ทำการวัดปริมาตรน้ำเชื้อส่วนตัวอสุจิเข้มข้น (gel-free volume) ตรวจดูลักษณะสีของน้ำเชื้อ รวมถึงวัดหาค่าออสโมลาริตี้ (osmolarity) (Osmomat®030; Gonotec GmbH, Germany) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (pH Scan WP2; Eutech Instruments, Malaysia) จากนั้นทำการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ ได้แก่ การเคลื่อนที่ของอสุจิ การมีชีวิตรอดของอสุจิ ความเข้มข้นของอสุจิ รวมถึงความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ โดยในขณะทำการประเมินน้ำเชื้อจะถูกอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียสตลอดเวลา

- *การตรวจอัตราการเคลื่อนที่โดยรวม* (% total motility) *และการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิ (% progressive motility)* ทำโดยเจือจางตัวอย่างน้ำเชื้อในสารละลายที่มีส่วนผสมของนมผงขาดมันเนยและ

กลูโคสเป็นหลักตามวิธีของ Brinsko และ Varner (1993) ที่ความเข้มข้น 25 x 10^6 ตัว ต่อปริมาตรน้ำเชื้อ 1 มิลลิลิตร หยดน้ำเชื้อ 10 ไมโครลิตรลงบนแผ่นสไลด์ ปิดด้วยแผ่นสลิป และตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า บนแผ่นควบคุมอุณหภูมิที่ 37 °C ที่ตำแหน่งต่างๆ กัน 5 ตำแหน่ง

- *การตรวจอัตราการมีชีวิตรอดของอสุจิ* (% viability) ทำโดยย้อมตัวอสุจิด้วยสีอีโอซิน นิโกรซิน (eosin-nigrosin) นับอสุจิจำนวน 200 ตัว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า ตัวอสุจิที่มีชีวิตจะย้อมไม่ติดสีอีโอซิน (ตัวอสุจิใส ไม่ติดสี) ส่วนตัวอสุจิที่ตายจะติดสีอีโอซิน (ตัวอสุจิมีสีม่วง-แดง) (Hermenet et al., 1993)

- *การประเมินความเข้มข้นของอสุจิ* ด้วยเครื่องนับความเข้มข้นของตัวอสุจิแบบอัตโนมัติ (SpermaCue®; Minitube of America, Inc., Verona, WI)

- *การตรวจความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ* ทำการตรวจความผิดปกติของหัวอสุจิ (head morphology) โดยการย้อมด้วยสี อีโอซิน นิโกรซิน นับอสุจิจำนวน 200 ตัว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า (Hurtgen, 1987) ส่วนการตรวจความผิดปกติของหางอสุจิ (tail morphology) ทำโดยการเจือจางน้ำเชื้อด้วยสารละลายฟอร์มอลซาไลน์ (formal saline) และตรวจนับอสุจิจำนวน 200 ตัว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดตัดแสงกำลังขยาย 400 เท่า (Wells & Awa, 1970) ทำการบันทึกความผิดปกติที่พบตามลักษณะที่จำแนกไว้ดังนี้

1) ความผิดปกติส่วนหัว ได้แก่ ลักษณะดังต่อไปนี้ pear-shaped heads, narrow heads, big heads, double heads, abnormal contour heads, undeveloped heads และ loose heads

2) ความผิดปกติส่วนอโครโซม ได้แก่ knobbed acrosomes, swollen acrosomes, small acrosomes, partially lifted acrosomes, lifted acrosomes และ part missing acrosomes

3) ความผิดปกติที่ส่วน mid-pieces ได้แก่ short mid-pieces, thickened mid-pieces, split หรือ constricted mid-pieces, bent annulus mid-pieces, fibrous mid-pieces, broken mid-pieces และ double mid-pieces

4) ความผิดปกติที่ส่วนหาง ได้แก่ double folded tails, single bent tails, coiled tails และ shoehorn tails

5) การมี Proximal cytoplasmic droplets

6) การมี Distal cytoplasmic droplets

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ระยะเวลาในการรีดเก็บน้ำเชื้อแต่ละครั้ง และข้อมูลลักษณะต่างๆ ของน้ำเชื้อในพ่อลาแต่ละตัว นำมาทำการวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel

ผลการศึกษา และวิจารณ์

ในการรีดเก็บน้ำเชื้อพ่อลาจำนวน 7 ตัว สามารถทำการรีดเก็บน้ำเชื้อได้ 27 ครั้ง จากทั้งหมด 28 ครั้ง จากตารางที่ 1 พบว่าค่าเฉลี่ยของระยะเวลาในการรีดเก็บน้ำเชื้อตั้งแต่เริ่มทำการล่อด้วยแม่ลาจนกระทั่งมีการขึ้นทับและหลั่งน้ำเชื้อของพ่อลาอยู่ที่ 16.3±8.7 นาที โดยพบว่าช่วงเวลาที่ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อในพ่อลาแต่ละตัวมีความแตกต่างกันค่อนข้างมาก คือ ตั้งแต่ 8-31 นาที ซึ่งสอดคล้องกับผลที่เคยมีการรายงานไว้ คือ ตั้งแต่ 5-32 นาที (Kreuchauf, 1984; Gastal et al., 1997; Tibary, 2007) อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการเปรียบเทียบกับระยะเวลาที่ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อในม้าพบว่า การรีดเก็บน้ำเชื้อในพ่อม้าแต่ละตัวไม่มีความแตกต่างกัน และมีช่วงระยะเวลาในการรีดเก็บสั้นกว่าในพ่อลา คืออยู่ที่ประมาณ 10-11 นาที (Gastal et al., 1997; Pugh, 2002) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลักษณะการแสดงออกของพฤติกรรมทางเพศที่แตกต่างกันระหว่างพ่อม้าและพ่อลา (Henry et al., 1998; Purdy, 2005) โดยในระหว่างขั้นตอนของการรีดเก็บน้ำเชื้อตั้งแต่เริ่มกระตุ้นอาการกำหนัด (libido) จนกระทั่งมีการหลั่งของน้ำเชื้อพบว่า พ่อลาแสดง

พฤติกรรมส่งเสียงร้อง (vocalization) ดมกลิ่น และกัดบริเวณใบหน้า หู และแผงคอของลาตัวล่อเหมือนในม้า แต่ใช้ระยะเวลาในการกระตุ้นให้เกิดอาการกำหนัดนานกว่าที่มีการรายงานในม้า คือ อย่างน้อย 5-15 นาที (ไม่ได้แสดงผล) โดยยังไม่มีการยื่นออกของอวัยวะเพศ (mount without exposure of the penis) หรือ มีการยื่นออกมาของอวัยวะเพศบางส่วนหรือทั้งหมดแต่ไม่มีการแข็งตัว (partial or total exposure of the penis without erection) นอกจากนี้พ่อลายังมีพฤติกรรมการขึ้นคร่อมบนลาตัวล่อ (mount) มากกว่า 1 ครั้ง เพื่อกระตุ้นให้มีการยื่นและการแข็งตัวของอวัยวะเพศอย่างสมบูรณ์เพื่อพร้อมขึ้นผสมพันธุ์ (Henry, et al., 1991; Tibary et al., 2006) แต่ในพ่อม้าพบมีการยื่นและแข็งตัวของอวัยวะเพศทันทีที่มีการเข้าหาตัวล่อ โดยระยะเวลาของการกระตุ้นให้เกิดความกำหนัดและการแข็งตัวของอวัยวะเพศในม้านั้นสั้นกว่าในลา (Tibary, et al., 2007)

เมื่อนำน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้มาทำการแยกส่วนเจลออกและประเมินลักษณะโดยรวมพบว่า น้ำเชื้อมีสีขาวขุ่นหรือสีครีม มีปริมาตรเฉลี่ยอยู่ที่ 65.8±16.1 มิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าที่เคยมีรายงานในลาพันธุ์ Catalonian (56.6 มิลลิลิตร) (Miró et al., 2005) แต่ต่ำกว่าที่มีรายงานในลาพันธุ์ Martina Franca (77-84 มิลลิลิตร) (Veronesi et al., 2011; Carluccio et al., 2013) ส่วนค่าเฉลี่ยของค่าออสโมลาริตี้และค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ที่ 251±11.7 มิลลิออสโมล/กิโลกรัม และ 7.1±0.2 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) โดยพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างจากการศึกษาครั้งนี้มีค่าใกล้เคียงกับลาพันธุ์ Martina Franca (7.2) (Carluccio et al., 2013) แต่มีค่าน้อยกว่าในลาพันธุ์ Nordestina (7.6) (Gastal et al., 1997) และ พันธุ์ Catalonian (7.7) (Miró et al., 2005) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากปริมาตรน้ำเชื้อและความเข้มข้นของอสุจิที่รีดได้จากพ่อลาแต่ละตัวแตกต่างกัน ส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำเชื้อต่างกัน โดยพบว่าปริมาตรของน้ำเชื้อและความเข้มข้นของอสุจิจะแปรผกผันกับค่าความเป็นกรด-ด่างที่เปลี่ยนไป (Pickett, 1976; Pickett et al.,1988) จากการประเมินอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ พบมีร้อยละของการเคลื่อนที่โดยรวมและเคลื่อนที่ไปข้างหน้าแบบรายตัวเฉลี่ยอยู่ที่ 80.8±4.2 % และ 74.0±5.7% ตามลำดับ ใกล้เคียงกับในลาพันธุ์ Pêga และ Martina Franca (Canisso et al., 2010; Carluccio et al., 2013) เมื่อทำการวัดความเข้มข้นด้วยเครื่องนับตัวอสุจิอัตโนมัติ พบว่าน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้มีค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของอสุจิต่อมิลลิลิตรและโดยรวมอยู่ที่ 340±1.1 x 10^6 ตัว และ 21.2±4.5 x 10^9 ตัว ตามลำดับ สูงกว่าผลการศึกษาที่ผ่านมาในพันธุ์ Pêga (Canisso et al., 2010) และ พันธุ์ Martina Franca (Veronesi et al., 2011) ซึ่งมีช่วงค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 253-276 x 10^6

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย และค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean+SD) ของระยะเวลาในการรีดเก็บน้ำเชื้อพ่อลาจำนวน 7 ตัว

พ่อลา	จำนวนครั้งที่ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อ	ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มรีดน้ำเชื้อถึงมีการหลั่งน้ำเชื้อ (นาที)
1	4	9±3.9
2	4	8±3.0
3	4	24±3.3
4	4	18±11.5
5	4	15±4.4
6	3	31±8.5
7	4	10±2.4
ค่าเฉลี่ย		16.3±8.7
ขอบเขต		8-31

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean+SD) ของลักษณะน้ำเชื้อที่รีดได้จากพ่อลา จำนวน 7 ตัว

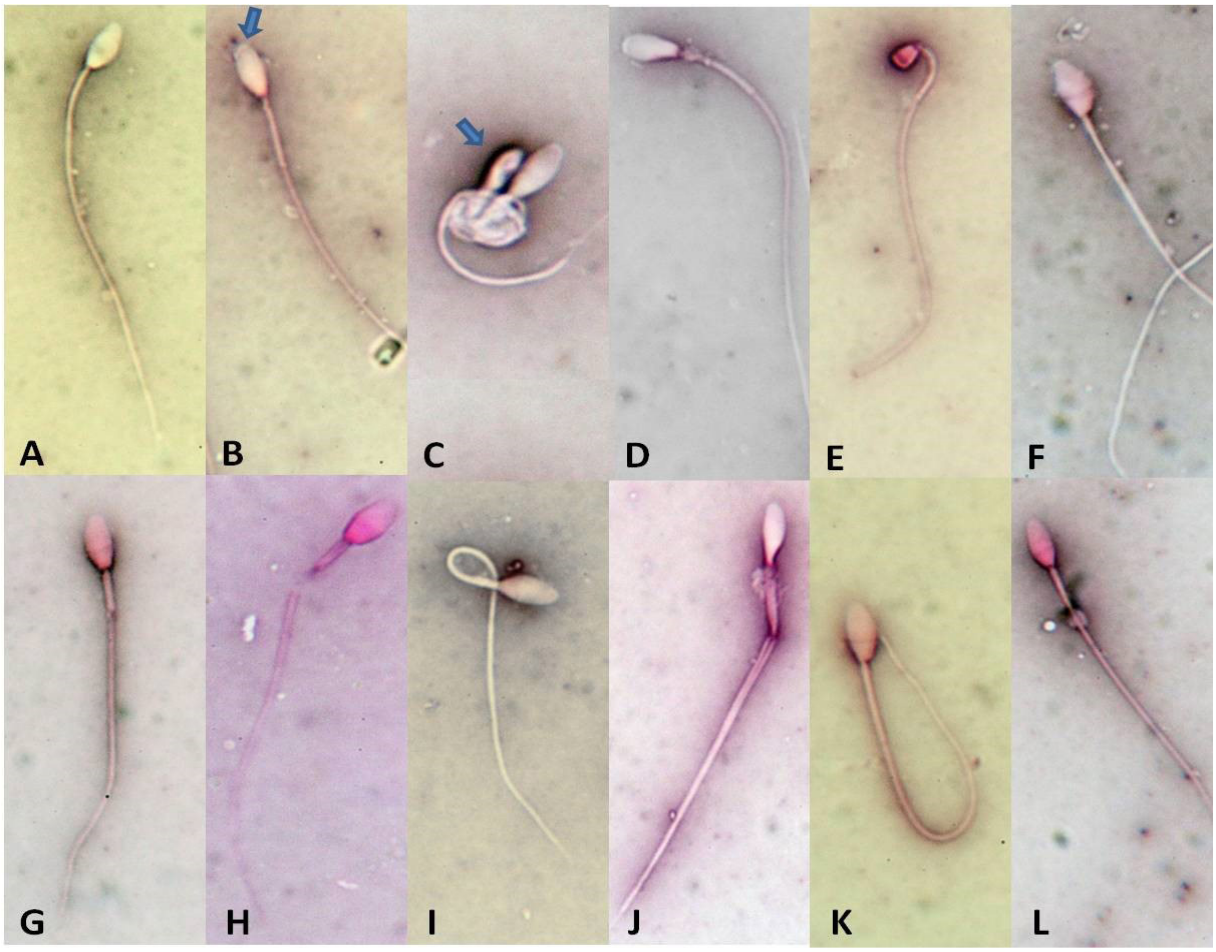
คุณลักษณะของน้ำเชื้อ	ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน(mean±SD)	ขอบเขต
ปริมาตรน้ำเชื้อที่แยกส่วนเจล (มล.)	65.8±16.1	40-130
ค่าออสโมลาริตี้ (มิลลิออสโมล/กก.)	251±11.7	178-284
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	7.1±0.2	6.7-7.6
ความเข้มข้นของอสุจิ (x106/มล.)	340±1.1	130-520
จำนวนของอสุจิในน้ำเชื้อโดยรวม (x109)	21.2±4.5	7.6-34.0
การเคลื่อนที่โดยรวมของอสุจิ (%)	80.8±4.2	70-90
การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิ (%)	74.0±5.7	60-85
จำนวนอสุจิที่มีชีวิต (%)	84.6±4.5	72.5-96.0

ตัว/มิลลิลิตร ความแตกต่างเหล่านี้อาจเนื่องมาจากลักษณะสายพันธุ์ การจัดการ และสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงดูที่ต่างกัน ทำให้เกิดความผันแปรของพฤติกรรมการขึ้นผสมและระยะเวลาของการหลั่งน้ำเชื้อ ซึ่งพบว่าส่งผลอย่างมากต่อปริมาตรของน้ำเชื้อและความเข้มข้นของอสุจิที่รีดได้ (Henry et al., 1991; Pugh, 2002; Veronesi et al., 2011) ในการประเมินร้อยละของจำนวนอสุจิที่มีชีวิตพบมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 84.6±4.5 (ตารางที่ 2) ส่วนร้อยละความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ ได้แก่ ความผิดปกติของส่วนหัว ส่วนอโครโซม ส่วน mid-piece ส่วนหาง และความผิดปกติของ proximal และ distal cytoplasmic droplets (รูปที่ 1) พบว่ามีค่าเฉลี่ยตามลำดับดังนี้ 1.2±0.9, 0.3±0.2, 3.8±2.3, 3.9±1.5, 0.1±0.1 และ 0.8±0.4 โดยคิดเป็นความผิดปกติของรูปร่างอสุจิโดยรวมอยู่ที่ร้อยละ 10.1±3.0 (ตารางที่ 3) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับผลที่เคยมีการรายงานในลาพันธุ์ Nordestina และ Martina Franca (Gastal et al., 1997; Gloria et al., 2011) อย่างไรก็ตาม ความผิดปกติในส่วนของ proximal cytoplasmic droplets ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสร้างตัวอสุจิ (Rossdale & Ricketts, 1980) พบว่ามีค่าแตกต่างจากที่มีรายงานในลาพันธุ์ Martina Franca ค่อนข้างมาก (10.2%)

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการศึกษาลักษณะของน้ำเชื้อลาครั้งนี้กับน้ำเชื้อม้า พบว่าน้ำเชื้อลามีสีขาวขุ่นเช่นเดียวกับม้า และมีปริมาตรน้ำเชื้อหลังการแยกส่วนเจลและค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำเชื้อลา (65 มิลลิลิตร และ 7.1) ใกล้เคียงกับม้า (60-80 มิลลิลิตร และ 6.9-7.7) ตามลำดับ (Davies Morel,1999) แต่ในน้ำเชื้อลาพบว่ามีค่าออสโมลาริตี้ต่ำกว่าม้าเล็กน้อย (178-284 vs 290-310 มิลลิออสโมล/กิโลกรัม) (Pickett & Amann, 1989) ส่วนความเข้มข้นของอสุจิ (130-520 x 10^6 ตัว/มิลลิลิตร) พบว่ามีค่าสูงกว่าม้า (100-200 x 10^6 ตัว/มิลลิลิตร) ประมาณ 2-3 เท่า (Ricketts, 1993; Tibrary, 2005) อย่างไรก็ตาม ไม่พบว่ามีความแตกต่างของจำนวนการมีชีวิตรอดของอสุจิระหว่างลาและม้า (Davies Moreal, 1999; Gloria et al., 2011) ในส่วนของการประเมินรูปร่างอสุจิพบว่า ลักษณะของอสุจิในลามีความคล้ายคลึงกับในม้า โดยเฉพาะการเกาะของส่วนหัวและลำตัวพบมีลักษณะเบี่ยงไปทางด้านข้าง (abaxial) เมื่อพิจารณาถึงร้อยละความผิดปกติของอสุจิโดยรวมพบว่า ในลามีค่าต่ำกว่าที่มีการรายงานในม้าค่อนข้างมาก (10% vs 27-51%) (Kavak et al., 2004; Kanittha et al., 2008; Einarsson et al., 2009) โดยในส่วนของความผิดปกติที่ส่วนอโครโซม mid-piece และ หางพบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน แต่ในส่วนของความผิดปกติที่ส่วนหัว และการมี proximal และ distal cytoplasmic droplets พบว่าในม้ามีค่าสูงกว่ามาก ทั้งในม้าที่เป็นพันธุ์แท้ เช่น พันธุ์ Estonian และ Tori (Kavak et al., 2004) และ ในม้า

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean+SD) ของเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของรูปร่างอสุจิในน้ำเชื้อที่รีดได้จากพ่อลา จำนวน 7 ตัว

ความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ (%)	ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD)	ขอบเขต
ส่วนอโครโซม	0.3±0.2	0.1-0.6
ส่วนหัว	1.2±0.9	0.3-3.1
ส่วน mid-piece	3.8±2.3	1.4-7.8
ส่วนหาง	3.9±1.5	2.6-7.0
Proximal droplet	0.1±0.1	0-0.3
Distal droplet	0.8±0.4	0.4-1.3
ความผิดปกติโดยรวม	10.1±3.0	7-14.5



รูปที่ 1 แสดงลักษณะรูปร่างของอสุจิพ่อลาที่ย้อมด้วยสีอีโอซิน นิโกรซิน; A) ตัวอสุจิปกติ; B) ตัวอสุจิที่มีลักษณะ knobbed acrosome (ลูกศรชี้); C) ตัวอสุจิที่มีลักษณะ double heads และ coiled mid-piece ร่วมกับความผิดปกติที่ส่วนอโครโซม (ลูกศรชี้); D) ตัวอสุจิที่มีpear-shape head และมี proximal cytoplasmic droplet; E) ตัวอสุจิที่มีลักษณะ microhead และ thickened mid-piece; F) ตัวอสุจิที่มีลักษณะ lanciolated head; G) ตัวอสุจิที่มีลักษณะ short midpiece; H) ตัวอสุจิที่มีลักษณะ broken midpiece; I) ตัวอสุจิที่มีลักษณะ single bent tail; J) ตัวอสุจิที่มีลักษณะ narrow head และ double tails; K) ตัวอสุจิที่มีลักษณะ shoehorn tail; L) ตัวอสุจิที่มีลักษณะ distal cytoplasmic droplet (กำลังขยาย 1000 เท่า)

พันธุ์พื้นเมืองของไทย (Kanittha et al., 2008)

จากผลดังกล่าวข้างต้นสรุปได้ว่า ปัจจัยจากชนิดสัตว์ สายพันธุ์ ความผันแปรที่เกิดจากตัวสัตว์เอง รวมถึงการจัดการและสภาพแวดล้อมต่างๆ มีผลอย่างมากต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะของน้ำเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของปริมาตร ความเข้มข้นของอสุจิ และรูปร่างตัวอสุจิ ซึ่งผลของการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า น้ำเชื้อในพ่อลาพันธุ์เติ้งโจและพันธุ์ออสเตรเลียที่เลี้ยงอยู่ทางตอนเหนือของไทย มีลักษณะโดยรวมอยู่ในเกณฑ์ดีเมื่อเทียบกับในลาสายพันธุ์อื่นและในม้า สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการกำหนดความสมบูรณ์พันธุ์ของพ่อลาได้ เพื่อประโยชน์ในการผสมเทียมและการผลิตน้ำเชื้อในรูปแบบการแช่เย็นและแช่แข็งในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กองการสัตว์และเกษตรกรรมที่ 3 กรมการสัตว์ทหารบก ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเข้าเก็บตัวอย่างน้ำเชื้อ ตลอดจนพลทหารทุกท่านที่ได้ช่วยเหลือจนทำให้การปฏิบัติงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี และขอขอบคุณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

กองการสัตว์และเกษตรกรรมที่ 3. 2555. สรุปผลการดำเนินงานตามแผนการผลิตสัตว์ (ม้า, ลา, ล่อ, โค) ประจำปี 2555. เชียงใหม่: กรมการสัตว์ทหารบก.

Ax, R. L., Dally, M., Didion, B. A., Lenz, R. W., Love, C. C., Varner, D. D., Hafez, B., & Bellin, M. E. (2000). Semen Evaluation: Reproduction in Farm Animals (7th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, p. 365-375.

Borg, K. E., & Lunstra, D. D., & Christenson, R. K. (1993). Semen characteristic, testicular size, and reproductive hormone concentrations in mature Duroc, Meishan, Fengjing, and Minzhu boars. Biol Reprod, 49, 515-521.

Brinsko, S. P., & Varner, D. D. (1993). Artificial nsemination: Equine Reproduction. Philadelphia: Lea and Febiger, p. 790-797.

Canisso, I. F., Carvalho, G. R., Davies Morel, M. C. G., Guimarães, J. D., & McDonnell, S. M. (2010). Sexual behavior and ejaculate characteristics in Pêga donkeys (Equus asinus) mounting estrous horse mares (Equus caballus). Theriogenology, 73, 56-63.

Carluccio, A., Panzani, S., Contri, A., Bronzo, V., Robbe, D., & Veronesi, M.C. (2013). Influence of season on testicular morphometry and semen characteristics in Martina Franca jackass. Theriogenology, 79, 502-507.

Davies Morel, M. C. G. (1993). Semen Evaluation: Equine Artificial Insemination. Aberystwyth: CABI Publishing, p. 190-233.

Dowsett, K. F., & Pattie, W. A. (1982). Characteristics and fertility of stallion semen. J Reprod Fert Suppl, 32, 1-8.

Einarsson, S., Dalin, A-M., & Lundeheim, N. (2009). Sperm production and sperm morphology of Swedish Warmblood stallions. Reprod Dom Anim, 44, 33-36.

Gastal, M. O., Henry, M., Becker, A. R., & Gastal, E. L. (1997). Effect of ejaculation frequency and season on donkey jack semen. Theriogenology, 46, 593-603.

Gloria, A., Contri, A., De Amicis, I., Robbe, D., & Carluccio, A. (2011). Differences between epididymal and ejaculated sperm characteristics in donkey. Anim Reprod Sci, 128, 117-122.

Henry, M., McDonnell, S. M., Lodi, L. D., & Gastal, E. L. (1991). Pasture mating behavior of donkeys (Equus minus) at natural and induced oestrus. J Reprod Fert Suppl, 44, 77-86.

Henry, M., Lodi, L. D., & Gastal, M. M. F. O. (1998). Sexual behaviour of domesticated donkeys (Equus asinus) breeding under controlled or free range management systems. Appl Anim Behav Sci, 60(2-3), 263–276.

Hermenet, M. J., Sawyer, H. R., Pickett, B. W, Amann, R. P., Squires, E. L., & Long, P. L. (1993). Effect of stain, technician, number of spermatozoa evaluated and

slide preparation on assessment of spermatozoal viability by light microscopy. J Equine Vet Sci, 13, 449-455.

Hurtgen, J. P. (1987). Stallion genital abnormalities: Current Therapy in Equine Medicine (2nd ed.). Philadelphia: W.B. Saunders, p. 558-562.

Jayaprakash, D., Patil, S. B., Kumar, M. N., Majumdar, K. C., & Shivaji, S. (2001). Semen Characteristics of The Captive Indian Leopard, Panthera pardus. J Androl, 22, 25-33.

Phetudomsinsuk, K., Sirinarumitr, K., Laikul, A. & Pinyopummin, A. 2008. Morphology and head morphometric characters of sperm in Thai native crossbred stallions. Acta Vet. Scand, 50.

Kavak, A., Lundeheim, N., Aidnik, M. & Einarsson, S. 2004. Sperm morphology in Estonian and Tori breed stallions. Acta Vet. Scand, 45, 11-18.

Kreuchauf, A. (1984). Reproductive physiology in the jackass. Anim Res Dev, 20, 51-78.

Miró, J., Lobo, V., Quintero-Moreno, A., Medrano, A., Peña, A., & Rigau, T. (2005). Sperm motility patterns and metabolism in Catalonian donkey semen. Theriogenology, 63, 1706-1716.

Pickett, B.W., Voss, J.L., Bowen, R.A., Squires, E.L., & McKinnon, A.O. (1988). Seminal characteristics and total scrotal width (TSW) of normal and abnormal stallions. Proceedings of the 33rd Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, 485-518.

Pickett, B. W., Amann, R. P., McKinnon, A. O., Squires, E. L., & Voss, J. L. (1989). Management of the stallion for maximum reproductive efficiency: Animal Reproduction Laboratory General Series. Bulletin No. 05, Fort Collins: Colorado State University, p. 121-125.

Pugh, D. G. (2002). Donkey reproduction. AAEP Proceedings, 48, 113-114.

Purdy, S. R. (2005). Artificial Insemination for Miniature Donkey: Veterinary Care of Donkeys, NewYork: International Veterinary Information Service, p. 234-236.

Ricketts, S. W. (1993). Evaluation of stallion semen. Eq Vet Education, 5(5), 232-237.

Schmitt, D. L., & Hildebrandt, T. B. (1998). Manual collection and Characterization of semen from Asian elephant (Elephas maximus), J Anim Reprod Sci, 53, 309-314.

Tibary, A., Sghiri, A., Bakkoury, M., & Fite, C. (2006). Reproductive patterns in donkeys. 9th World Equine Veterinary Congress Proceedings, Marrakech, 311-319.

Tibary, A. (2007). Stallion reproductive behavior: Current therapy in equine reproduction. Philadelphia: W.B. Saunders, p. 174-84.

Tibrary, A. (2005). Pathologie genital/Infertility: Reproduction Equine, Tome II. Morocco: Rabat, p. 185-356.

Veronesi, M. C., De Amicis, I., Panzani, S., Kindahl, H., Govoni, N., Probo, M., & Carluccio, A. (2011). $PGF_{2\alpha}$, LH, testosterone, oestrone sulphate, and cortisol plasma concentrations around sexual stimulation in jackass. Theriogenology, 75, 1489-1498.

Wells, M. E., & Awa, D. A. (1970). New technique for assessing acrosomal characteristics of spermatozoa. J Dairy Sci, 53, 227–232.