ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส: เครื่องใช้ทางเลือกสำหรับเก็บรักษาน้ำเชื้อโคนมแช่แข็ง

คคนางค์ บูรณะอำนวย[1*], กรกนก พรหมเทพ[1], ทัศนีย์ ฝ่ายซ้ายคราม[1],
ชินรัตน์ แจ้งแสงฟ้า[1] และก้องเกียรติ ศรีสุวรรณ[2]

-80°C Freezer: an Alternative Appliance for Storage of Bovine Frozen Semen

Kakanang Buranaamnuay[1*], Kornkanok Promthep[1], Tassanee Faisaikarm[1],
Chinarat Changsangfa[1] and Kongkiat Seesuwan[2]

[1] กลุ่มวิจัยชีววิทยาระบบสืบพันธุ์ สถาบันชีววิทยาศาสตร์โมเลกุล มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม 73170
[2] บริษัท ฟาร์มโชคชัย จำกัด จังหวัดนครราชสีมา 30130
[1] Reproductive Biology Research Group, Institute of Molecular Biosciences (MB), Mahidol University, Nakhon Pathom, 73170
[2] Farm Chokchai®, Nakhon Ratchasima, 30130
*Corresponding author. E-mail: ningkakanang@yahoo.com

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของตัวอสุจิหลังการอุ่นละลายระหว่างกลุ่มตัวอย่างน้ำเชื้อโคนมที่เก็บรักษาในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส (°C) กับกลุ่มที่เก็บในถังไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196°C ตัวอย่างที่ใช้ศึกษาคือน้ำเชื้อแช่แข็งที่บรรจุในหลอดพลาสติกขนาด 0.25 มล. ซึ่งผลิตจากน้ำเชื้อของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียนจำนวน 8 ตัว ที่เลี้ยงในฟาร์มโคนมแห่งหนึ่ง ทำการแบ่งน้ำเชื้อแช่แข็งของพ่อโคแต่ละตัว (25 หลอด) โดยวิธีการสุ่มออกเป็น 3 กลุ่ม น้ำเชื้อแช่แข็งกลุ่มที่ 1 (กลุ่มควบคุม จำนวน 8 หลอด) ยังคงถูกเก็บรักษาในถังไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ - 196°C น้ำเชื้อแช่แข็งกลุ่มที่ 2 (จำนวน 8 หลอด) และ 3 (จำนวน 9 หลอด) ถูกย้ายจากถังไนโตรเจนเหลวไปเก็บรักษาในกระบอกเก็บหลอดน้ำเชื้อซึ่งวางในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ - 80°C โดยตู้แช่แข็งที่ใช้เป็นแบบมีฝาเปิดด้านบน ขนาดความจุ 0.566 ลูกบาศก์เมตร และมีระบบแสดงอุณหภูมิแบบดิจิตัล ซึ่งตลอดระยะเวลาทำการทดลองพบว่าอุณหภูมิภายในตู้แช่แข็งอยู่ในช่วง - 80±2°C เมื่อเก็บครบระยะเวลา 2 วัน 8 วัน (1 สัปดาห์) และ 31 วัน (1 เดือน) จึงนำน้ำเชื้อแช่แข็งจากแต่ละกลุ่มมาอุ่นละลาย (37°C นาน 30 วินาที) ครั้งละ 2 - 3 หลอด ทั้งนี้ในกลุ่มที่ 3 จะย้ายน้ำเชื้อแช่แข็งกลับมาเก็บในถังไนโตรเจนเหลวก่อนการอุ่นละลาย 1 วัน (วันที่ 1, 7 และ 30) น้ำเชื้อหลังการอุ่นละลายจากทั้งสามกลุ่มถูกเจือจางด้วยสารละลาย Tyrode albumin-lactate-pyruvate (TALP) และอุ่นที่อุณหภูมิ 37°C นาน 15 นาที ก่อนตรวจคุณภาพของตัวอสุจิ ผลปรากฏว่า ณ เวลาเก็บรักษาใด ๆ ก็ตาม น้ำเชื้อแช่แข็งจากทั้งสามกลุ่มมีตัวอสุจิเคลื่อนที่ร้อยละ 45 - 52.5 ตัวอสุจิมีชีวิตร้อยละ 47.5 - 58.5 ตัวอสุจิที่มีเยื่อหุ้มเซลล์เป็นปกติร้อยละ 46.5 - 55.5 และตัวอสุจิที่มีอโครโซมสมบูรณ์ร้อยละ 81 - 86 โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างน้ำเชื้อแช่แข็งทั้งสามกลุ่ม ($p>0.05$)อีกทั้งยังพบว่าความแตกต่างระหว่างพ่อพันธุ์แต่ละตัวและระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งแต่ละระยะ ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพของตัวอสุจิภายหลังการอุ่นละลาย ($p>0.05$) จึงสรุปเบื้องต้นได้ว่าตู้แช่แข็งอุณหภูมิ - 80°C มีประสิทธิภาพในการรักษาคุณภาพของน้ำเชื้อโคนมแช่แข็งได้ดีใกล้เคียงกันกับการเก็บในถังไนโตรเจนเหลว จึงเหมาะสำหรับนำมาเป็นเครื่องใช้ทางเลือกสำหรับเก็บรักษาน้ำเชื้อโคนมแช่แข็ง โดยจะสามารถรักษาคุณภาพของน้ำเชื้อได้นานอย่างน้อย 1 เดือน นอกจากนี้ยังสามารถนำน้ำเชื้อที่เก็บในตู้แช่แข็งนี้ย้ายกลับลงในถังไนโตรเจนเหลวได้ เพื่อความสะดวกสำหรับการเคลื่อนย้ายและการอุ่นละลายนอกสถานที่

คำสำคัญ: ไนโตรเจนเหลว ตู้แช่แข็ง คุณภาพ อสุจิ โคนม น้ำเชื้อแช่แข็ง

Abstract

This study aims to compare the post-thaw sperm quality of frozen bovine semen stored in a - 80°C freezer versus in liquid nitrogen (- 196°C). Frozen semen from eight Holstein-Friesian bulls supported from a commercial dairy farm was used. Twenty-five frozen semen straws from each bull were randomly assigned to three groups. In group I (a control), the frozen semen straws (n = 8 straws) were remained in a liquid nitrogen tank (- 196°C). In group II (n = 8 straws) and group III (n = 9 straws), the frozen semen straws were abruptly transferred from the tank to store further in goblets placed in the - 80°C freezer (chest freezer, capacity 0.566 m^3). Temperatures in the freezer, which were monitored through the manufacturer-installed digital dials, were - 80± 2°C throughout experimental period. Semen thawing (37°C for 30 sec) was performed after 2-day, 8-day (1-week) and 31-day (1-month) of storage (2 - 3 straws per group per time). However one day prior to being thawed (day-1, -7 and -30), the straws in group III were immediately put back to the tank. The thawed semen in all groups was extended with Tyrode albumin-lactate-pyruvate (TALP) medium, incubated at 37°C for 15 min and evaluated sperm quality. The results showed that irrespective of storage time, the sperm motility (45% - 52.5%), sperm viability (47.5% - 58.5%), membrane integrity (46.5% - 55.5%) and acrosome integrity (81% - 86%) among the storage temperatures (- 196°C, - 80°C and - 80 & - 196°C) were not significantly different ($p>0.05$). Differences of bulls and the lengths of storage time had no significant influence ($p>0.05$) on the post-thaw sperm quality. In summary, a - 80°C freezer was as effective as liquid nitrogen in preserving quality of frozen-thawed bovine spermatozoa throughout 1 month of storage. Therefore, it is suitable to use this appliance as an alternative for storage of frozen bovine semen. The frozen semen stored in the freezer can be transferred to the liquid nitrogen tank for thawing after transport.

Keywords: liquid nitrogen, mechanical freezers, quality, spermatozoa, bovine, frozen semen