การพัฒนาอาหารเสริมสมรรถภาพทางเพศสำหรับพ่อพันธุ์สุกร จากผลพลอยได้ของการผลิตถั่งเช่าสีทอง

อรปรียา โชติ

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์
ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

การพัฒนาอาหารเสริมสมรรถภาพทางเพศสำหรับพ่อพันธุ์สุกร จากผลพลอยได้ของการผลิตถั่งเช่าสีทอง

อรปรียา โชติ

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์
ปีการศึกษา 2564

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "การพัฒนาอาหารเสริมสมรรถภาพทางเพศสำหรับพ่อพันธุ์สุกร จากผลพลอยได้ของการผลิตถั่งเช่าสีทอง"

ของ อรปรียา โชติ

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(รองศาสตราจารย์ ดร.วันดี ทาตระกูล)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิลาสินี อินญาวิเลิศ)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

(รองศาสตราจารย์ ดร.ทศพร อินเจริญ)

อนุมัติ

.....

(ศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล มุณีสว่าง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง การพัฒนาอาหารเสริมสมรรถภาพทางเพศสำหรับพ่อพันธุ์สุกร จากผลพลอยได้ของการผลิตถั่งเช่าสีทอง

ผู้วิจัย อรปรียา โชติ

ประธานที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.วันดี ทาตระกูล

กรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิลาสินี อินญาวิเลิศ

ประเภทสารนิพนธ์ วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาสัตวศาสตร์, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2564

คำสำคัญ ถั่งเช่าสีทอง ฐานถั่งเช่าสีทอง คอร์เดซิปิน สมรรถภาพทางเพศ พ่อพันธุ์สุกร

บทคัดย่อ

ฐานถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris* spent mushroom substrate; CM-SMS) เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตถั่งเช่าที่มาจากวัสดุเพาะเห็ดถั่งเช่า ฐานถั่งเช่าสีทองถึงแม้เป็นส่วนเหลือทิ้ง แต่ยังคงมีสารสำคัญในการนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ คือ คอร์เดซิปิน (Cordycepin) และอะดีโนซิน (Adenosine) ซึ่งในอุตสาหกรรมนั้นการนำ CM-SMS มาใช้ประโยชน์วงจำกัดเมื่อเทียบกับถั่งเช่าสีทอง ดังนั้นหากนำส่วน CM-SMS มาผลิตในรูปแบบอาหารเสริมที่ใช้ในสัตว์แล้ว จะเป็นการเพิ่มมูลค่าทางการตลาดอย่างมาก ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้มีฤทธิ์ในการเพิ่มภูมิคุ้มกัน รักษาความสมดุลของร่างกาย ช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ และมีฤทธิ์กระตุ้นสมรรถภาพทางเพศ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาหาระดับความเข้มข้นของการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองที่เหมาะสมต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์สุกรพ่อพันธุ์ และผลของการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองที่ระดับเหมาะสมร่วมกับ L-carnitine ต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์สุกรพ่อพันธุ์ โดยใช้สุกรพ่อพันธุ์ดูร็อค อายุเฉลี่ย 104-156 สัปดาห์ น้ำหนักเฉลี่ย 280±0.5 กิโลกรัม จำนวนทั้งหมด 18 ตัว (กลุ่มการทดลอง 6 ซ้ำ ๆ ละ 1 ตัว) โดยการศึกษาที่ 1 ทดสอบผลการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองที่ระดับความเข้มข้นต่างกันต่อคุณภาพน้ำเชื้อ การเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน และการแสดงพฤติกรรมการสืบพันธุ์สุกรพ่อพันธุ์ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 15 และ 30 กรัม/ตัว/วัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ระยะการทดลอง 8 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่ากลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าสูงกว่ากลุ่มการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มควบคุม (61.62 ± 4.26^{a}, 52.31 ± 1.52^{b} และ 50.37 ± 3.26^{b} ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) ในสัปดาห์ที่ 8 ขณะกลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ทั้งหมด ปริมาตรน้ำเชื้อ ความเข้มข้นอสุจิ จำนวนอสุจิทั้งหมด และความผิดปกติของตัวอสุจิ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริม

CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน นอกจากนี้จากการศึกษาผลของการเสริม CM-SMS ต่อการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการสืบพันธุ์ และการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน พบว่าสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน มีการแสดงพฤติกรรมความกำหนัด 9.57±3.39[a] มากกว่ากลุ่มควบคุม 5.90±1.29[b] และกลุ่มการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน 5.43±0.51[b] อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05) ในช่วงสัปดาห์ที่ 5 ขณะที่การเปลี่ยนแปลงของปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน พบว่า กลุ่มการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน มีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนมากกว่ากลุ่มที่เสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มควบคุม แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ (P>0.05) (19.85±8.70[a], 12.45±3.44[b] และ 11.09±6.30[b] ตามลำดับ) การศึกษาที่ 2 ทดสอบผลการเสริม CM-SMS ร่วมกับ L-carnitine ต่อคุณภาพน้ำเชื้อ พฤติกรรม ฮอร์โมนความเครียด และสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำการทดลองในสุกรพ่อพันธุ์จำนวน 18 ตัว 6 ซ้ำๆ ละ 1 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 เสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่ 3 เสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน พบว่า กลุ่มการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน มีความเข้มข้นของตัวอสุจิที่เพิ่มขึ้น (P≤0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองที่ 1 และกลุ่มที่ 3 (469.30±1.81[a], 457.97±7.97[b] และ 466.11±2.47 [a] ตามลำดับ) ในสัปดาห์ที่ 7 และกลุ่มที่ทำการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน พบความผิดปกติของตัวอสุจิเพิ่มขึ้น (P≤0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองที่ 1 และกลุ่มที่ 2 (68.17±22.24[a], 46.17±12.45[b] และ 47.42±7.46[b] ตามลำดับ) ในสัปดาห์ที่ 5 อีกทั้งกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ยังส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่อสุจิแบบอัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นตรงจากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของตัวอสุจิ (Straight line velocity; VSL) มากกว่า (P≤0.05) กลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 3 (36.89±2.27[a], 34.17±2.44[ab] และ 32.35±2.26[b] ตามลำดับ) ในสัปดาห์ที่ 4 อีกทั้งเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของกลุ่มที่เสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน มากกว่า (P≤0.05) กลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 3 (58.50±1.76[a], 53.33±4.72[ab] และ 51.50±6.06[b] ตามลำดับ) ในสัปดาห์ที่ 5 พฤติกรรมพื้นฐาน พฤติกรรมสเตอริโอไทป์ พฤติกรรมทางเพศ ฮอร์โมนความเครียด และปริมาณเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มการทดลอง (P>0.05) จากการศึกษานี้จึงสรุปได้ว่าการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ซึ่งสุกรจะได้รับสารคอร์เดซิปิน 316.10 มิลลิกรัม/ตัว/วัน และ อะดีโนซิน 30.92 มิลลิกรัม/ตัว/วัน เสริมติดต่อกัน 4-6 สัปดาห์ จะสามารถเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อสุกร ปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน และพฤติกรรมทางเพศของสุกรพ่อพันธุ์

Title DEVELOPMENT OF DIETARY SUPPLEMENT FORMULAS FOR SEXUAL ENHANCEMENT OF BREEDING BOAR FROM BY-PRODUCTS OF THE *CORDYCEPS MILITARIS* SPENT MUSHROOM SUBSTRATE

Author ONPREEYA CHOT

Advisor Associate Professor Wandee Tartrakoon, Dr Sci. Agr.

Co-Advisor Assistant Professor Wilasinee Inyawilert, Ph.D.

Academic Paper M.S. Thesis in Animal Science - (Type A2), Naresuan University, 2021

Keywords Cordyceps militaris Cordyceps militaris spent mushroom substrate Cordycepin Sexual enhancement Boar

ABSTRACT

Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) is a by-product of the cordyceps manufacturing industry. *Cordyceps militaris* cultivation material comes from the cultivation of mushrooms with an agar medium *Cordyceps militaris* base. CM-SMS contains cordycepin and adenosine as important bioactive substances that could be used as animal feed. If CM-SMS is produced as an animal supplement, this will significantly increase its market value. Both cordycepin and adenosine enhance the performance and immunity and maintain the balance of the body's antioxidants. A previous study was conducted on the stimulating effect of cordycepin and adenosine on the sexual performance of people with impaired sexual function. This study evaluated the effect of CM-SMS and CM-SMS combined with L-carnitine supplementation on the reproductive performance of the breeding boar. Eighteen Duroc boars with average age and bodyweight of 104-156 weeks and 280±0.5 kg, respectively were selected and divided into three groups using a completely randomized design (CRD). T1 was the control group fed a basal diet, while T2 and T3 were experimental groups fed a basal diet topped with CM-SMS 15 and 30 g/boar/day for eight weeks. Results showed that boars fed CM-SMS 30 g/boar/day increased in percentage of progressive motility ($P \leq 0.05$) compared to boars fed CM-

SMS 15 g/boar/day and the control group (61.62±4.26^{a}, 52.31±1.52^{b} and 50.37±3.26^{b}, respectively) at the eighth week. Boars fed CM-SMS 30 g/boar/day had a non-significantly different (P>0.05) percentage of total sperm motility, semen volume, sperm concentration, total sperm, and abnormal sperm compared to the control group and boars fed CM-SMS 15 g/boar/day. Results of CM-SMS supplementation on sexual behavior and testosterone hormone level of the boars in this experiment showed that boars fed 30 g/boar/day CM-SMS supplementation exhibited higher (P≤0.05) libido behavior on the fifth week at 9.57±3.39^{a} than the control group at 5.90±1.29^{b} and the CM-SMS supplement 15 g/boar/day 5.43±0.51^{b}. Highest testosterone hormone level (P>0.05) was found in the boars fed CM-SMS 30 g/boar/day (19.85±8.70^{a}, 12.45±3.44^{b} and 11.09±6.30^{b}, respectively). The second experiment evaluated the effect of CM-SMS and CM-SMS combined with L-carnitine supplementation on semen quality, behavior, cortisol hormones and oxidative stress of the breeding boars. Eighteen Duroc boars were divided into three groups of six replications according to CRD as 1) control group, 2) CM-SMS supplementation of 30 g/boar/day, and 3) CM-SMS 30 g/boar/day combined with L-carnitine 0.25 g/boar/day. Results of the second experiment found that boars fed CM-SMS at 30 g/boar/day significantly (P≤0.05) increased sperm concentration compared with the control and the third group (469.30±1.81^{a}, 457.97±7.97^{b}, and 466.11±2.47^{a}, respectively) at the seventh week. The group of boars supplemented with CM-SMS 30 g/boar/day combined with L-carnitine 0.25 g/boar/day showed an increase (P≤0.05) of abnormal sperm compared to the control and the second group (68.17±22.24^{a}, 46.17±12.45^{b} and 47.42±7.46^{b}, respectively) at the fifth week. The CM-SMS supplement of 30 g/boar/day influenced the straight-line velocity (VSL) as significantly (P≤0.05) higher than the control group and the third group (36.89±2.27^{a}, 34.17±2.44^{ab} and 32.35±2.26^{b}, respectively) at the fourth week. A significantly greater (P≤0.05) progressive sperm motility percentage was recorded in boars fed 30 g/boar/day CM-SMS than the control and the third group (58.50±1.76^{a}, 53.33±4.72^{ab} and 51.50±6.06^{b}, respectively) over five weeks. However, no significant differences (P>0.05) were recorded among treatment groups on the standard behavior, stereotype behavior, sexual behavior, cortisol hormones, and oxidative stress-related enzymes. Therefore,

this study concluded that 30 g/boar/day CM-SMS supplement for 4-6 consecutive weeks improved boar semen quality, testosterone hormone and sexual behavior. The boars received cordycepin 316.10 mg/boar/day and adenosine 30.92 mg/boar/day.

ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงของ รองศาสตราจารย์ ดร.วันดี ทาตระกูล ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นที่ปรึกษา คำแนะนำตลอดการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ อีกทั้งขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการวิทยานิพนธ์อันประกอบด้วย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิลาสินี อินญาวิเลิศ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ทศพร อินเจริญ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน และรองศาสตราจารย์ ดร.ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์ ประธานสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาจากกระทรวงอุดมศึกษา การวิจัยและนวัตกรรม (สปอว.) ประจำปีงบประมาณ 2563 บริษัท ไฮกู๊ดส์ โปรดักส์ จำกัด จังหวัดฉะเชิงเทรา ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณสมทบสำหรับการทำวิจัย และการสนับสนุนผลิตภัณฑ์ใช้ในการทดลอง ฟาร์มสุกรพันธุ์เขาน้ำสุด ตำบลทับยายเชียง อำเภอพรหมพิราม จังหวัดพิษณุโลก ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ทดลอง อุปกรณ์ เครื่องมือทำการทดลองจนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบคุณนายวัชรินทร์ อ้มทองหลาง นายนิทัศน์ วิชาสิทธิ์ นางสาวรุ่งทิวา ใจมาศรี ว่าที่ รต. อดิศักดิ์ คงแก้ว และนิสิตบัณฑิตศึกษาสาขาวิชาสัตวศาสตร์ทุกคน ที่คอยให้ความช่วยเหลือ สนับสนุนในการทำวิจัยนี้ จนผ่านพ้นอุปสรรคไปได้ด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวของผู้วิจัยที่ให้กำลังใจ และสนับสนุนการศึกษา การทำงานวิจัยนี้มาโดยตลอด

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบและอุทิศแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน ซึ่งผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะมีประโยชน์ต่อการพัฒนา และปรับปรุงอุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกร

อรปรียา โชติ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

ประกาศคุณูปการ ..... ซ

สารบัญ ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ฑ

สารบัญภาพ ..... ณ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 3

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 3

1.4 สมมติฐานของงานวิจัย 3

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 5

2.1 เห็ดถั่งเช่าสีทอง 5

1) องค์ประกอบทางเคมีของถั่งเช่า 7

2) การศึกษาวิจัยฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และการกระตุ้นสมรรถภาพทางเพศ 7

3) ประโยชน์ของเห็ดถั่งเช่าสีทอง 8

4) สารคอร์เดซิปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง 9

5) การนำฐานถั่งเช่าสีทองใช้ในสัตว์ 10

2.2 แอล–คาร์นิทีน 11

1) องค์ประกอบทางเคมีของแอล-คาร์นิทีน 11

2) แอล-คาร์นิทีนต่อการเพิ่มคุณภาพอสุจิ.....12

2.3 ระบบสืบพันธุ์สุกร.....12

1) กายวิภาคและสรีรวิทยาระบบสืบพันธุ์สุกร 12

2.4 ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์.....15

1) ประเภทของฮอร์โมน.....15

2) กลไกลการออกฤทธิ์ และการควบคุมการทำงานของฮอร์โมนเพศผู้.....16

3) ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน 17

2.5 กระบวนการสร้างตัวอสุจิ และการสร้างเซลล์สืบพันธุ์.....18

1) ลักษณะทางกายวิภาคของตัวอสุจิ.....20

2) กลไกของฮอร์โมนในการสร้างอสุจิ.....21

3) ปัจจัยที่มีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของพ่อพันธุ์สุกร 21

2.6 พฤติกรรมทางเพศของสุกร.....22

2.7 ความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน 23

1) การเกิดสภาวะออกซิเดชันในสัตว์ 23

2) ปฏิกิริยา Reactive Oxygen Species และความเสียหายต่อเซลล์อสุจิ 24

3) การศึกษาผลกระทบความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์อสุจิของสัตว์.....25

4) สารต้านอนุมูลอิสระ 26

2.8 ฮอร์โมนคอติซอล.....27

2.9 การผสมเทียมสุกร 29

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....31
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมีในการทดลอง.....31
1) วัสดุ อุปกรณ์.....31
2) สารเคมี.....32
3.2 ตัวอย่าง และการเตรียมตัวอย่างการทดลอง.....32
3.3 วิธีการทดลอง.....34
3.3.1 การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสำคัญที่มีในฐานถั่งเช่าสีทอง ที่นำไปเป็นอาหารเสริมในสุกรพ่อพันธุ์.....34
1) สัตว์ทดลอง และกลุ่มการทดลอง.....34
2) วิธีการทดลอง และเก็บข้อมูล.....35
(1) การวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ.....35
(2) การวิเคราะห์ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน.....35
(3) วิเคราะห์พฤติกรรมทางเพศ.....35
3) การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....36
3.3.2 การทดลองที่ 2 การพัฒนาอาหารเสริมเพิ่มประสิทธิภาพพ่อพันธุ์สุกรที่ใช้ฐานถั่งเช่าสีทองเป็นวัตถุดิบหลักผสมกับแอล–คาร์นิทีน.....36
1) สัตว์ทดลอง และกลุ่มการทดลอง.....36
2) วิธีการทดลอง และเก็บข้อมูล.....37
(1) การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ.....37
(2) การวิเคราะห์พฤติกรรมทางเพศ.....38
3) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....39
3.4 สถานที่ทำการวิจัย และเก็บรวบรวมข้อมูล.....39

3.5 ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย.....39
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....40
4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสำคัญที่มีในฐานถั่งเช่าสีทองที่นำไปเป็นอาหารเสริมในสุกรพ่อพันธุ์.....40
4.1.1 คุณภาพของน้ำเชื้อ.....40
4.1.2 ปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน.....44
4.1.3 พฤติกรรมทางเพศสุกรพ่อพันธุ์.....45
4.2 การพัฒนาอาหารเสริมเพิ่มประสิทธิภาพพ่อพันธุ์สุกรที่ใช้ฐานถั่งเช่าสีทองเป็นวัตถุดิบหลักผสมกับแอล-คาร์นิทีน.....49
4.2.1 คุณภาพน้ำเชื้อ.....49
4.2.2 พฤติกรรมพื้นฐาน พฤติกรรมสเตอริโอไทป์ และพฤติกรรมทางเพศ.....53
4.2.3 ความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน.....59
บทที่ 5 บทสรุป.....61
5.1 อภิปรายผล.....61
5.1.1 ผลการศึกษาการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองต่อคุณภาพน้ำเชื้อ.....61
5.1.2 ผลการศึกษาการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองต่อปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน.63
5.1.3 ผลการศึกษาการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองต่อพฤติกรรมทางเพศ.....65
5.1.4 ผลการศึกษาการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองต่อความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน.....66
5.2 สรุปผลการวิจัย.....68
5.3 ข้อเสนอแนะ.....69
บรรณานุกรม.....70

ภาคผนวก.....85

อภิธานศัพท์ 121

ประวัติผู้วิจัย 123

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 The chemical composition of boar diet 33

ตาราง 2 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on oxidative stress-related enzymes of boars (n=18).....60

ตาราง 3 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on semen volumes and sperm concentrations (n=18).....94

ตาราง 4 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) supplement on total sperm and abnormal sperm of boars (n=18).....95

ตาราง 5 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) supplement on sperm motility and progressive motility of boars (n=18) 96

ตาราง 6 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on sperm kinetic parameters (n=18).....97

ตาราง 7 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on serum testosterone hormone concentration of boars (n=18) ...98

ตาราง 8 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) supplement on masturbate frequency and masturbate behavior of boars (n=12) 99

ตาราง 9 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate(CM-SMS) supplementation on pre-libido frequency and pre-libido behavior of boars (n=12) 100

ตาราง 10 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate(CM-SMS) supplement on libido frequency and libido behavior of boars (n=12) 101

ตาราง 11 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplement on semen volumes and sperm concentrations of boars (n=18) 102

ตาราง 12 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on total of sperm and sperm abnormal of boars (n=18) 103

ตาราง 13 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplement on sperm motility and progressive motility of boars (n=18).. 104

ตาราง 14 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on the sperm kinetic parameters (n=18)..... 106

ตาราง 15 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on standard behavior of boars (n=12)..... 108

ตาราง 16 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on stereotype behavior of boars (n=12) 112

ตาราง 17 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on masturbate frequency and masturbate behavior of boars (n=12) 114

ตาราง 18 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on pre-libido frequency and pre-libido behavior of boars (n=12)..... 115

ตาราง 19 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on libido frequency and libido behavior of boars (n=12) 116

ตาราง 20 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on cortisol hormone of boars (n=18)..... 117

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพ 1 Cordyceps militaris life cycle 7

ภาพ 2 The chemical structure of cordycepin and adenosine 9

ภาพ 3 Reproductive organs and internal features of the testis,..... 15

ภาพ 4 Mechanism of regulating sex hormone..... 17

ภาพ 5 The sperm structure 20

ภาพ 6 The characteristics of the house and pen 34

ภาพ 7 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on semen volumes (A), sperm concentrations (B), total sperm (C) and abnormal sperm (D) of boars..... 41

ภาพ 8 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on sperm motility (A) and progressive motility (B) of boars spermatozoa..... 42

ภาพ 9 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on the sperm kinetic parameters; curvilinear velocity: VCL (A), straight-line velocity: VSL (B), average path velocity: VAP (C). 43

ภาพ 10 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on serum testosterone hormone concentration of boars 44

ภาพ 11 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) supplement on masturbate frequency (A) and masturbate behavior (B) of boars 46

ภาพ 12 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate(CM-SMS) supplementation on pre-libido frequency(A) and pre-libido behavior(B) of boars 47

ภาพ 13 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate(CM-SMS) supplement on libido frequency (A) and libido behavior (B) of boars 48

ภาพ 14 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on semen volumes (A), sperm concentrations (B), total of sperm (C) and sperm abnormal (D) of boars 50

ภาพ 15 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplement on sperm motility (A), total progressive motility (B) and progressive motility (C) of boars 51

ภาพ 16 Effect of Cordyceps militaris spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on the sperm kinetic parameters; curvilinear velocity: VCL (A), straight-line velocity: VSL (B), average path velocity: VAP (C). 52

ภาพ 17 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on standard behavior; Eating (A), Walking (B). 53

ภาพ 18 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on standard behavior; Standing (C), Sleeping (D), Sitting (E), Urinate (F), and Defecate (G). 54

ภาพ 19 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplement on stereotype behavior; Self-care (A), Watering nipple playing (B), Sham chewing (C), Bar biting (D). 55

ภาพ 20 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation 56

ภาพ 21 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplement on pre-libido frequency (A) and pre-libido behavior (B) of boars 57

ภาพ 22 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation 58

ภาพ 23 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation 59

ภาพ 24 Feeding of boars 118

ภาพ 25 Collecting semen and prepare a semen sample 118

ภาพ 26 Semen quality analysis with CASA program 119

ภาพ 27 Blood sample collection 119

ภาพ 28 Antioxidant analysis 120

ภาพ 29 Recording the behavior of boars 120

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาของปัญหา

ในปัจจุบันสถานการณ์อุตสาหกรรมสุกรมีแนวโน้มเติบโตเพิ่มขึ้นตามยุคสมัยที่ประชากรมีเพิ่มขึ้นในประเทศ ทำให้ความต้องการของผู้บริโภค การตลาดของประเทศขยายตัวเพิ่มมากขึ้นตามมาอีกด้วย เพื่อการผลิตที่ตอบสนองความต้องการของการบริโภค จึงต้องมีผลผลิตที่มีประสิทธิภาพและปลอดภัยตามมาตรฐาน กระบวนการผลิตสุกรนั้นเริ่มต้นมาจากกระบวนการจัดการพ่อ-แม่พันธุ์สุกรให้มีประสิทธิภาพ เพื่อให้สุกรมีความพร้อมในการปฏิสนธิและสามารถให้ผลผลิตลูกสุกร จากแนวโน้มสถานการณ์การผลิตสุกรปี 2563 มีการเติบโตของปริมาณจำนวนสุกร 20.45 ล้านตัว ลดลงจากปี 2562 เป็นร้อยละ 0.15 เนื่องจากสถานการณ์การระบาดโรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร จึงส่งผลให้เกษตรกรลดความเสี่ยงในการเลี้ยงสุกรลดลง แต่อย่างไรก็ตามปริมาณการส่งออกของไทยยังคงเติบโตเพิ่มขึ้น เนื่องจากต่างประเทศที่ได้รับผลกระทบจากการระบาดของโรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกรนั้น มีความต้องการสุกรมีชีวิตไปทดแทน ซึ่งสอดคล้องจากข้อมูลการเลี้ยงสุกรในปี กรมปศุสัตว์ (2564) มีจำนวนสุกรทั้งหมด 13.41 ล้านตัว จึงเห็นได้จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นว่าการจัดการสุกรที่ดีมีความสำคัญเป็นอย่างมาก ทั้งในการจัดการด้านอาหารและน้ำ การจัดการด้านสภาพแวดล้อม เป็นต้น

ดังนั้นพ่อพันธุ์สุกรเป็นปัจจัยอีกอย่างหนึ่งที่ทางผู้จัดทำวิจัยเห็นความสำคัญในการศึกษา ซึ่งจากข้อมูลที่มีการรายงานถึงจำนวนการผลิตของพ่อพันธุ์สุกรภายในประเทศจำนวน 80,750 ตัว/ปี ราคาซื้อขาย 25,000 บาท/ตัว รวมงบประมาณทั้งหมด 2,018.75 ล้านบาท/ปี (กรมปศุสัตว์, 2564) จึงทำให้การจัดการดูแลพ่อพันธุ์สุกรเพื่อเป็นการคุ้มค่ากับต้นทุนมีความสำคัญ ในการจัดการพ่อพันธุ์สุกรที่ดีนั้น ต้องมีกระบวนการจัดการในด้านสภาพโรงเรือน ด้านสภาพแวดล้อม ด้านอาหารและน้ำ และด้านการสืบพันธุ์ของพ่อพันธุ์สุกร โดยปัจจัยที่กล่าวมาล้วนมีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรทั้งสิ้น แต่ด้านการให้อาหารจะมีความสำคัญเป็นอย่างมาก เนื่องจากองค์ประกอบของอาหารที่สุกรได้รับจะเป็นตัวเพิ่มความสมบูรณ์พันธุ์มากยิ่งขึ้น ซึ่งลักษณะของพ่อพันธุ์สุกรที่ดีนั้นจะต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้ ขนาดครอกต้องมาจากแม่สุกรที่ให้ลูกมีชีวิตไม่น้อยกว่า 11 ตัว และหย่านม 10 ตัวขึ้นไป มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่อายุ 154 วัน (5 เดือน) มีน้ำหนัก 100 กิโลกรัม อัตราการ

แลกเนื้อดี ไม่เกิน 2.75 ที่น้ำหนัก 60-90 กิโลกรัม ค่าความหนาไขมันสันหลัง ไม่เกิน 25 มิลลิเมตร รูปร่างใหญ่ สมบูรณ์ แข็งแรง ลำตัวยาวลึกและสูง ไม่มีลักษณะผิดปกติทางพันธุกรรม และสุขภาพร่างกายแข็งแรง ซึ่งลักษณะที่กล่าวมานี้ล้วนมีความสำคัญทั้งสิ้นในการส่งผลต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของพ่อพันธุ์สุกรที่มีการคัดเลือกเป็นพ่อพันธุ์สุกรทดแทน หากลักษณะที่ดีของพ่อสุกรไม่เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดก็จะส่งผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ แต่สำหรับพ่อพันธุ์สุกรที่คัดเลือกมีปัญหาด้านการผลิตน้ำเชื้อ ทางอุตสาหกรรมก็จะต้องใจความสำคัญถึงปัญหานี้ด้วย และรีบแก้ไขให้โดยเร็วที่สุด ในปัจจุบันการผสมเทียมเข้ามามีบทบาทอย่างมากในการผลิตสุกรเนื่องจากเดิมที่เลี้ยงพ่อสุกร 1 ตัวต่อแม่สุกร 15-20 ตัว ปัจจุบันพ่อสุกร 1 ตัว จะใช้น้ำเชื้อเพื่อผสมเทียม และสามารถควบคุมดูแลแม่สุกรได้ถึง 100 ตัว เช่น ฟาร์มขนาด 1,000 แม่ มีพ่อสุกร 10 ตัวก็เพียงพอกับการผลิตน้ำเชื้อ ซึ่งในการรีดน้ำเชื้อการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อหลังรีดเป็นอีกสิ่งหนึ่งที่สำคัญ คือ น้ำเชื้อที่ออกมาต้องมีปริมาณที่เหมาะสม โดยเฉลี่ยทั่วไปพ่อพันธุ์สุกรสามารถหลั่งน้ำเชื้อได้ครั้งหนึ่งประมาณ 250 ซีซี จนถึง 400 ซีซี และเมื่อมีการส่งตรวจคุณภาพน้ำเชื้อที่ห้องปฏิบัติการ น้ำเชื้อต้องวิ่งไปข้างหน้าได้อย่างน้อย 60% ถึงจะอยู่ในเกณฑ์ ถ้าวิ่งได้ 80% ขึ้นไปคุณภาพดีมาก ถ้าต่ำกว่า 60% ไม่เหมาะสมที่จะนำมาผสมเทียม (ศรีสุวรรณ สมชัย, 2542) จากข้อมูลที่กล่าวมาล้วนเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งในกระบวนการผลิตสุกร หากพ่อพันธุ์สุกรมีปัญหาด้านประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ เช่น ปัญหาอัตราการตายของตัวอสุจิเพิ่มขึ้น หรือปัญหาด้านฮอร์โมนที่กระตุ้นสมรรถภาพทางเพศน้อยลง ปัญหาทั้งหมดล้วนส่งผลต่อพ่อพันธุ์สุกรทั้งสิ้น เพราะพ่อพันธุ์สุกรที่มีปัญหาจะทำให้กำลังการผลิตที่วางแผนไว้ไม่บรรลุตามเป้าหมาย ทำให้ทางอุตสาหกรรมสูญเสียเงินงบประมาณที่ลงทุนไปด้วย

ในปัจจุบันกระแสนิยมในการรักษาสุขภาพกำลังเป็นกระแสนิยม แล้วยิ่งผลผลิตที่จะมาจำหน่ายให้กับผู้บริโภคนั้นแล้วมาวัตถุดิบธรรมชาติ หรือสมุนไพรแล้วนั้น ล้วนเป็นสิ่งที่น่าสนใจสำหรับผู้บริโภคเป็นอย่างมาก ซึ่งทางผู้จัดทำวิจัยได้เล็งเห็นถึง อุตสาหกรรมการผลิตถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) ที่ในปัจจุบันกระแสการผลิตถั่งเช่ากำลังเติบโตขึ้นอย่างแพร่หลาย เนื่องจากวิทยาการทางวิทยาศาสตร์ล้ำสมัยมากยิ่งขึ้น ทำให้การเพาะถั่งเช่าทำได้ง่ายมากยิ่งขึ้น การตลาดของถั่งเช่าจึงเติบโตขึ้นมากจากความต้องการของผู้บริโภค จากข้อมูลการผลิตถั่งเช่าสีทองของบริษัท ไฮกู๊ดส์ โปรดักท์ จำกัด ได้ให้ข้อมูลว่า กำลังการผลิตถั่งเช่าสีทองอยู่ที่ประมาณ 10 ตัน/ปี คิดเป็นมูลค่าการขายกิโลกรัมละ 28,000 บาท หรือ 280 ล้านบาท/ปี ซึ่งนับเป็นมูลค่ามหาศาลในการผลิต ส่วนของฐานถั่งเช่าสีทองคิดเป็นมูลค่ากิโลกรัมละ 5,000 บาท หรือ 50 ล้านบาท/ปี ซึ่งในการตลาด

ส่วนของฐานถั่งเช่า (*Cordyceps militaris* spent mushroom substrate; CM-SMS) ล้วนไม่เป็นความต้องการของตลาดเทียบเท่ากับถั่งเช่าสีทอง ซึ่ง CM-SMS ที่ได้จากกระบวนการผลิตนี้มีสารสำคัญที่สามารถนำมาใช้แปรรูปเป็นอาหารสัตว์ได้ คือ คอร์เดซิปิน และอะดีโนซิน (Shashidhar et al., 2013) ซึ่งจากผลการทดสอบฐานถั่งเช่าสีทองบดผงละเอียด 26 กรัม ผ่านการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC พบว่ามีสารคอร์เดซิปิน 1053.65 มิลลิกรัม/100 กรัม และสารอะดีโนซีน 103.06 มิลลิกรัม/100 กรัม (ณัฐชัย พงษ์ประเสริฐ, 2562) สารสำคัญนี้ส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน ต้านอนุมูลอิสระ และเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ อีกทั้งมีการศึกษาฤทธิ์กระตุ้นสมรรถภาพทางเพศในคนที่ด้อยสมรรถภาพทางเพศ พบว่าถั่งเช่าช่วยเพิ่มจำนวนอสุจิ กระตุ้นความต้องการทางเพศ และการทำงานของต่อมหมวกไต (นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และคณะ, 2556) ดังนั้นการใช้สารเสริมในอาหารจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งช่วยกระตุ้นสมรรถภาพทางเพศสำหรับสุกรพ่อพันธุ์ที่มีปัญหาคุณภาพน้ำเชื้อ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาหาระดับความเข้มข้นของการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองที่เหมาะสมต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์สุกรพ่อพันธุ์

2) เพื่อศึกษาผลของการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองที่ระดับเหมาะสมร่วมกับ L-carnitine ต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์สุกรพ่อพันธุ์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ทดสอบอาหารเสริมฐานถั่งเช่าสีทอง และอาหารเสริมฐานถั่งเช่าสีทองร่วมกับแอล-คาร์นิทีนในพ่อพันธุ์สุกรดูร็อค อายุเฉลี่ย 104-156 สัปดาห์ น้ำหนักเฉลี่ย 280±0.5 กิโลกรัม ประเมินผลด้วยคุณภาพน้ำเชื้อ ปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน พฤติกรรมทางเพศ ฮอร์โมนความเครียด และความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

1.4 สมมติฐานของงานวิจัย

สุกรพ่อพันธุ์มีความสำคัญด้านคุณภาพน้ำเชื้อ สุกรที่อายุมากมักพบปัญหาสมรรถภาพทางเพศด้อยลง ซึ่งส่งผลต่อสุขภาพสุกรพ่อพันธุ์ และผลผลิต ดังนั้นอาหารเสริมฐานถั่งเช่าสีทองที่อุดมไปด้วยสารคอร์เดซิปิน และอะดีโนซินนี้อาจมีส่วนช่วยเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อ สมรรถภาพทางเพศได้ดีขึ้น

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถพัฒนาต้นแบบอาหารเสริมสำหรับสุกรพ่อพันธุ์ ที่มาจากผลพลอยได้การผลิตถั่งเช่าสีทองให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพน้ำเชื้อ และสมรรถภาพทางเพศในสุกรพ่อพันธุ์

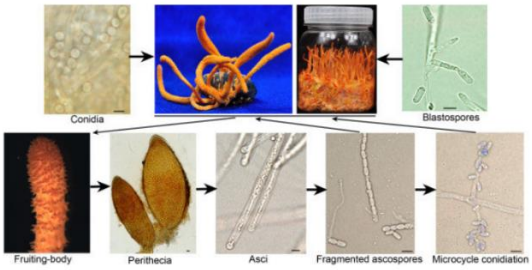
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เห็ดถั่งเช่าสีทอง

เห็ดถั่งเช่า (*Cordyceps mushroom*) เป็นเชื้อราปรสิตของแมลง (*Entomofungus*) ที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม Ascomycetes (Das et al, 2010) เชื้อราในสกุลคอร์เดเซพ มีมากกว่า 750 สายพันธุ์ทั่วโลก (Li et al., 2006) พบในทวีปเอเชีย เช่น ทิเบต เนปาล จีน ญี่ปุ่น เกาหลี เวียดนาม และไทย ประมาณ 400 สายพันธุ์ (Sung, 2007) แต่เห็ดถั่งเช่าที่นำมาใช้ประโยชน์ทางเภสัชกรรมและทางการค้ามี 4 ชนิด คือ เห็ดถั่งเช่าทิเบต (*Cordyceps sinensis*) เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) เห็ดถั่งเช่าหิมะ (*Paecilomyces tenuipes*) (ธัญญา ทะพิงค์แก, 2555) ซึ่งเห็ดถั่งเช่าที่มีชื่อเสียงและมีค่ามากที่สุด คือ เห็ดถั่งเช่าทิเบต โดยเห็ดชนิดนี้จะเจริญเติบโตในตัวอ่อนของผีเสื้อกลางคืนที่อยู่บนเทือกเขาหิมาลัยที่ความสูงกว่า 3,500 เมตร เหนือจากระดับน้ำทะเล เห็ดถั่งเช่าเป็นที่รู้จักมาตั้งแต่อดีตกาล โดยชาวจีนส่วนใหญ่เชื่อว่าเป็นยาอายุวัฒนะใช้ในการรักษาโรค (Winkler, 2008) จากการศึกษาค้นคว้าทางเภสัชวิทยาพบว่า เห็ดถั่งเช่ามีสารสำคัญทางชีวภาพหลายชนิด ได้แก่ โพลีแซ็กคาไรด์ แมนนิทอล หรือกรดคอร์เดซิปิก อะดีโนซีน คอร์เดซิปิน เออโกสเตอรอล เป็นต้น (Shashidhar et al., 2013) นอกจากนี้ยังพบสารชนิดอื่นๆ เช่น โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก คอปเปอร์ แมงกานีส สังกะสี เป็นต้น (Bhandari et al., 2010) การวัดคุณภาพของเห็ดถั่งเช่าในรายงานส่วนใหญ่จะวัดจากปริมาณของสารกลุ่มนิวคลีโอไซด์เป็นหลัก เช่น อะดีโนซีนและคอร์เดซิปิน (Li et al., 2006) ซึ่งอะดีโนซีนเป็นสารสำคัญที่ช่วยป้องกันและรักษาภาวะโรคหัวใจล้มเหลว (Kitakaze & Hori, 2000) ส่วนคอร์เดซิปินมีฤทธิ์ช่วยเพิ่มพลังภายในร่างกาย มีคุณสมบัติบำรุงไตและปอด (Nakamura et al., 2005) ช่วยต้านอนุมูลอิสระ (Li et al., 2006) ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Yu et al., 2006) ช่วยในการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง (Schmidt et al., 2003) กระตุ้นการไหลเวียนของโลหิต ช่วยรักษาสมดุลของคลอเรสเตอรอลในหลอดเลือดและลดการอักเสบ (Kim et al., 2011) ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (Lee et al., 2012) สามารถต้านการเกิดเนื้องอก (Dai et al., 2001) และต้านมะเร็ง (Yoshikawa et al., 2004) อีกทั้งเชื่อว่ามีสรรพคุณที่ช่วยเพิ่มสมรรถภาพทางเพศได้ (Lim et al., 2012) จากการค้นพบสารออกฤทธิ์

ทางชีวภาพดังกล่าวจึงทำให้เห็ดถั่งเช่าเริ่มเป็นที่รู้จักและนิยมนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรรักษาโรคต่าง ๆ และเป็นอาหารเสริมสุขภาพที่มีราคาสูงมาก เนื่องจากความต้องการบริโภคมีมากขึ้น ในปัจจุบันเห็ดถั่งเช่าทิเบตที่เกิดจากธรรมชาติมีปริมาณลดลงเรื่อย ๆ ทำให้มีราคาแพงและหาได้ยาก ที่ผ่านมามีหลายประเทศที่ทำการวิจัยเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าทิเบตในห้องทดลอง แต่ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงให้เกิดดอกค่อนข้างยากและมีข้อจำกัดหลายอย่าง (Huang et al., 2009) ทำให้มีการศึกษาเห็ดสกุลคอร์เดเซพสายพันธุ์อื่น ๆ ที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ด้วยกรรมวิธีที่ง่ายกว่า และมีสารสำคัญทางยาที่ใกล้เคียงกับเห็ดถั่งเช่าทิเบต ซึ่งพบว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นเห็ดที่มีสรรพคุณทางยาเหมือนกับเห็ดถั่งเช่าทิเบตและไม่เป็นพิษต่อผู้บริโภค (Hong et al., 2010) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสารสำคัญทางยาบางชนิดสูงกว่าถั่งเช่าทิเบต โดยเฉพาะสารคอร์เดซิปิน (Li et al., 2006) ที่พบครั้งแรกในถั่งเช่าสีทอง (Cunningham et al., 1951) รวมถึงการเพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองก็ทำได้ง่ายกว่าเห็ดถั่งเช่าทิเบต เนื่องจากสามารถเพาะได้ในแมลงหลายชนิด เช่น ดักแด้ไหม (Hong et al., 2010) และสามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารเทียมที่เป็นเมล็ดและกากธัญพืช เช่น ข้าวฟ่าง ข้าวขาว ข้าวกล้อง ถั่ว เมล็ดข้าวโพด ข้าวสาลี เป็นต้น (Lim et al., 2012; Kim et al., 2011; Dong et al., 2012; Gregori, 2014; ธัญญา ทะพิงค์แก และคณะ, 2555; รัฐพล ศรประเสริฐ และคณะ, 2559) ทำให้ถั่งเช่าสีทองกลายเป็นเห็ดเศรษฐกิจตัวใหม่ที่มาแทนเห็ดถั่งเช่าทิเบต และมีราคาจำหน่ายสูงใกล้เคียงกับเห็ดถั่งเช่าทั่วไป เห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นเห็ดเศรษฐกิจของประเทศไทย มีการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตเป็นอาหารเสริมสุขภาพจำหน่ายทั้งในประเทศและต่างประเทศ ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทองมีหลายประการ ได้แก่ สายพันธุ์ วิธีการเพาะเลี้ยง ส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเพาะเลี้ยง สภาพแวดล้อม แสง ความชื้น และอุณหภูมิ (Tapingkae et al., 2016)



ภาพ 1 *Cordyceps militaris* life cycle

ที่มา: (Zheng et al., 2011)

1) องค์ประกอบทางเคมีของถั่งเช่า

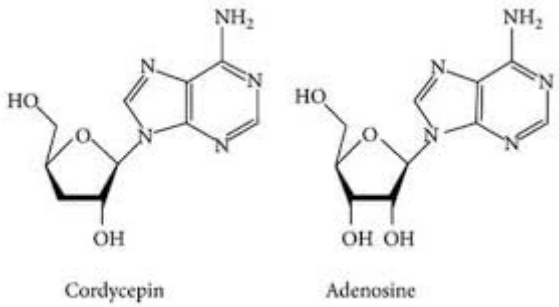
ถั่งเช่าสีทองอุดมไปด้วยสารต่าง ๆ ที่มีประโยชน์มากมาย ได้แก่ โพลีแซคคาไรด์ นิวคลีโอไทด์ ได้แก่ อะดีโนซีน และคอร์เดซิปิน กรดคอร์เดซิปิก กรดอะมิโน และ สเตอรอล นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารอาหารสำคัญอื่น ๆ เช่น โปรตีน วิตามินต่างๆ เช่น วิตามิน E, K, B1, B2 และ B12 และแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก สังกะสี และซิลิเนียม เป็นต้น (ธัญญา ทะพิงค์แก, 2555)

2) การศึกษาวิจัยฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา และการกระตุ้นสมรรถภาพทางเพศ

ผลการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาจากการทดลองในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง พบว่าถั่งเช่ามีฤทธิ์ปรับสมดุลของร่างกาย กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ลดระดับน้ำตาลในเลือด ต้านการอักเสบ และกระตุ้นสมรรถภาพทางเพศ เป็นต้น (นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และคณะ, 2556) อีกทั้งในการรายงานวิจัยของ นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และคณะ (2556) พบว่าการวิจัยในผู้ชาย 22 คน ใช้ถั่งเช่าเป็นอาหารเสริม พบว่าช่วยเพิ่มจำนวนของอสุจิได้ 33% และมีผลลดปริมาณของอสุจิที่ผิดปกติลง 29% และมีศึกษาในผู้ป่วยทั้งชายและหญิง 189 คน ที่มีความต้องการทางเพศลดลง พบว่าถั่งเช่าสามารถช่วยทำให้อาการและความต้องการทางเพศสูงขึ้น 66% นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยสนับสนุนว่าการรับประทานถั่งเช่าจะช่วยปกป้อง และช่วยการทำงานของต่อมหมวกไต ฮอร์โมนจากต่อมไทมัส และจำนวนของสเปิร์มที่สามารถปฏิสนธิได้เพิ่มขึ้น 30%

3) ประโยชน์ของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

เห็ดถั่งเชาสีทองอุดมไปด้วยสารสำคัญหลายชนิดที่มีผลทางชีวภาพ เชน โมโนแซคคาไรด ไดแซคคาไรด เบตา-กลูแคน แมนนิทอล กาแล็กโตส อะดีโนซีน คอรเดซิปน กรดคอร์เดซิปก กรดอะมิโน โปรตีน สเตอรอล วิตามิน และแรธาตุที่เป็นประโยชนหลายชนิด เชน ไบโอติน กรดโฟลิก ไนอาซิน กรดแพนโทธีนิก ซิลีเนียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก คอปเปอร สังกะสี แมงกานีส และซิลีเนียม เป็นตน (Das et al., 2010; ธัญญา ทะพิงค์แก, 2555) เห็ดถั่งเชาสีทองประกอบไปด้วยนิวคลิโอไซด (Nucleosides) มากกวา 10 ชนิด นิวคลิโอไซดเกี่ยวของกับกลไกและการทำงานของกลไกในกระบวนการสรีรศาสตรที่เกี่ยวของกับระบบประสาทสวนกลาง (Gu et al., 2007) และต้านการเกิดเนื้องอก (Muller et al., 1977) ยิ่งไปกวานั้นโพลีแซคคาไรดในเห็ดชนิดนี้ยังช่วยต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มภูมิคุมกัน (Yu et al., 2006) ต้านการเกิดเนื้องอกและเซลล์มะเร็ง (Wasser, 2002) มีฤทธิ์ยับยั้งการอักเสบ (Yu et al., 2004) และสงเสริมระบบภูมิคุมกันในหนูทดลอง (Wu et al., 2012) สารคอรเดซิปน [Cordycepin (3'-deoxyadenosine)] และกรดคอรเดซิปกในเห็ดถั่งเช่าช่วยเพิ่มพลังงานภายในร่างกายโดยถูกใชในการเพิ่มความแข็งแรงของนักกีฬา (Parcell et al., 2004) ใชในการปองกันและรักษาสารพัดโรค เชน โรคหอบหืด วัณโรค โรคหลอดลมอักเสบเรื้อรัง โรคตับอักเสบเฉียบพลันและเรื้อรัง โรคไต โรคหัวใจ รวมถึงโรคที่เกี่ยวของกับระบบไหลเวียนโลหิต ความดันโลหิตสูง ภาวะเม็ดเลือดขาวต่ำ ลดระดับน้ำตาลในเลือด อาการออนลา เครียด นอนไม่หลับ โรคระบบประสาท โรคเบาหวาน ภูมิคุมกัน เพิ่มความแข็งแรงของร่างกายใหต้านทานตอแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อเอชไอวี ต้านเซลล์มะเร็งและเซลล์เนื้องอก แกความผิดปกติทางเพศทั้งในเพศชายและหญิง (Kodama et al., 2000; Lin et al., 2007; Das et al., 2010)



ภาพ 2 The chemical structure of cordycepin and adenosine

ที่มา: (Kai et al., 2013)

4) สารคอร์เดซิปินในเห็ดถั่งเช่าสีทอง

เชื้อราสกลุคอร์ไดเซพอยู่ในวงศ์ *Clavicipitaceae* ที่มีความหลากหลายของจำนวนชนิดและแมลงอาศัยมากที่สุด แมลงตัวนำของราแมลงสกุลนี้ คือ (*Cordyceps* Fr. host) ซึ่งมีมากมายหลายชนิด เช่น ไหมปา นอกจากนี้ยังพบโดยทั่วไป เชน หนอนนก ตอแตน ตอฟนเลื่อย และในแมลงวัน เชน แมลงวัน แมงมุม หรือยุงยักษ โดยทั่วไปราแมลงจะมีความจำเพาะกับแมลงตัวนำชนิดใดชนิดหนึ่งเท่านั้น หรือใกล้เคียงแมลงตัวนำชนิดนั้นๆ และไม่เป็นอันตรายกับคน แต่อย่างไรก็ตามมีเชื้อราเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่สามารถรับประทานได้ และในผู้ที่เป็นภูมิแพ้ก็อาจเกิดอาการแพ้เชื้อราเหล่านี้ได้ (Sung et al., 2007) อีกทั้ง สมศักดิ์ ศิวิชัย (2544) พบเชื้อราสกุลคอร์เดเซพมากถึง 80 ชนิด ซึ่งการสำรวจและแยกเชื้อราให้เป็นเชื้อที่บริสุทธิ์เพื่อการศึกษาต่อไปในอนาคตนั้นเป็นเรื่องที่ต้องมีการดำเนินการควบคู่ไปกับการจำแนกชนิดเช่นกัน เนื่องจากเชื้อราเหล่านี้เป็นแหล่งพันธุกรรมสำคัญที่สามารถนำไปเพิ่มมูลค่า และใช้ประโยชน์อย่างมากมาย แม้ว่าจะเป็นเชื้อราที่มีคุณภาพในการนำไปใช้ประโยชน์ทั้งด้านการเกษตรและการแพทย์ชั้นสูง แต่การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับราทำลายแมลงในประเทศไทยยังไม่แพร่หลายมากนักเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อรากลุ่มอื่นๆ มีการนำไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตร เช่น การนำไปควบคุมศัตรูพืชโดยชีววิธี (Biocontrol) เช่น ราแมลงกลุ่ม *Metarhizium anisopliae* หรือราเขียว ซึ่งเจริญเติบโตง่ายและมีประสิทธิภาพการทำลายแมลงสูง ทำลายเฉพาะแมลงศัตรูพืชชนิดที่เป็นเป้าหมายเท่านั้น แต่ไม่ทำลายแมลงที่มีประโยชน์อย่างตัวห้ำ ตัวเบียน แมงมุม มวน ด้านการแพทย์มีการศึกษาเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อพัฒนายารักษาโรค โดยทีมนักวิจัย

แห่งศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) ได้ทำการศึกษาเชื้อราทำลายแมลงเป็นกล่มุแรกของประเทศไทย โดยได้ค้นพบว่าราทำลายแมลงและแมงมุมหลายชนิดให้สารออกฤทธิ์ต้านเชื้อโรควัณโรค มาลาเรีย เอดส์ เป็นต้น (Hywel-Jones, 1994; Isaka et al., 2005) ยิ่งไปกว่านั้นยังมีรายงานว่า ราแมลงสามารถสร้างสารโพลิเมอร์ที่นำไปใช้ประโยชน์ในงานด้านการแพทย์ได้ (ศิริพร โอโกโนกิ และคณะ, 2547)

5) การนำฐานถั่งเช่าสีทองใช้ในสัตว์

ฐานถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris* spent mushroom substrate; CM-SMS) เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีการเจริญเติบโตเพิ่มสูงขึ้นของอุตสาหกรรมการผลิต ซึ่งใน CM-SMS ที่ได้จากเพาะวัสดุเห็ดถั่งเช่านี้มาจากการเพาะอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบของสารสำคัญในการนำมาแปรรูปเป็นอาหารที่ใช้ในสัตว์ได้ คือ สารคอร์เดซิปิน และอะดีโนซิน ซึ่งจากรายงานผลการทดสอบของบริษัท ไฮกู๊ดส์ โปรดักส์ จำกัด CM-SMS ที่บดผงละเอียด 26 กรัม พบปริมาณสารคอร์เดซิปิน 1,053.65 มิลลิกรัม/100 กรัม และสารอะดีโนซิน 103.06 มิลลิกรัม/100 กรัม ที่ผ่านการทดสอบด้วยวิธีการ HPLC (ณัฐชัย พงษ์ประเสริฐ, 2562) จากข้อมูลการผลิตถั่งเช่าสีทองของบริษัท ไฮกู๊ดส์ โปรดักส์ จำกัด ได้รายงานว่ากำลังการผลิตถั่งเช่าสีทองอยู่ที่ประมาณ 10 ตัน/ปี คิดเป็นมูลค่าการขายกิโลกรัมละ 18,000 บาท หรือ 180 ล้านบาท/ปี ซึ่งนับเป็นมูลค่าสูงมาก แต่อย่างไรก็ตามในส่วนของ CM-SMS คิดเป็นมูลค่ากิโลกรัมละ 50 บาท หรือ 6 แสนบาท/ปี ซึ่งจากการคำนวณรอบการผลิตในหนึ่งปีได้ปริมาณ 10 ตัน/ปี คิดเป็นต้นทุนทั้งหมด 10 ล้านบาท/ปี ซึ่งในการตลาดส่วนของ CM-SMS ล้วนไม่เป็นความต้องการของตลาดเทียบเท่ากับถั่งเช่าสีทอง แต่หากนำส่วน CM-SMS มาทำการเสริมในรูปแบบอาหารเสริมที่ใช้ในสัตว์แล้วนั้น จะเป็นการเพิ่มมูลค่าทางการตลาดเป็นอย่างมาก (ไฮกู๊ดส์ โปรดักส์, 2562)

จากผลรายงานการศึกษา Han et al. (2014) ทำการศึกษาการเสริมถั่งเช่าหมักต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และความแข็งของกระดูกไก่เนื้อ โดยแบ่งไก่เนื้อเพศเมียพันธุ์ Ross 308 จำนวน 240 ตัว จัดกลุ่ม 4 กลุ่มการทดลอง 6 ซ้ำๆละ 10 ตัว ให้ได้รับอาหาร 4 กลุ่ม คือ อาหารกลุ่มควบคุม และอาหารควบคุมที่มีการเสริมถั่งเช่าหมักระดับ 1 2 และ 4 กรัม/กิโลกรัม ผลการเสริมพบว่าการเสริมถั่งเช่าหมักที่ระดับ 1 กรัม/กิโลกรัม ส่งผลต่อน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในวันที่ 22-42 วัน อีกทั้งในระดับ 2 กรัม/กิโลกรัม พบว่าช่วยเพิ่มความแข็งแรงของกระดูกแข้งไก่เนื้อในวันที่ 21-42 วัน ซึ่ง

กล่าวได้ว่าการเสริมถั่งเช่าหมักมีผลเชิงบวกต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต และความแข็งแรงของกระดูกในไก่เนื้ออายุ 1-42 วัน ในส่วนของรายงาน Koh et al. (2002) ศึกษาผลของสารสกัดถั่งเช่าสีทองต่อการกระตุ้นของแมคโครฟาจ และระบบภูมิคุ้มกันในหนูทดลอง ทำการวิเคราะห์ในหนูทดลองที่ได้รับอาหารที่ 1 กรัม/กิโลกรัม เป็นเวลา 7 วัน ผลพบว่ามีการแพร่กระจายของไขกระดูกเพิ่มขึ้น 1.9 เท่า และการผลิตของ IL-6 จากการกระตุ้นของแมคโครฟาจยังไปช่วยเพิ่มการหลั่งของปัจจัยการเจริญเติบโตของเม็ดเลือดที่ทำหน้าที่ในระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย อีกทั้งในรายงานการวิจัยของ Lin et al. (2007) ทำการศึกษาผลของการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองเพื่อปรับปรุงคุณภาพการผลิตของตัวอสุจิ ในพ่อพันธุ์ดูร็อค 17 ตัว แลนด์เรซ 12 ตัว ระยะเวลาการทดลอง 12 สัปดาห์ แบ่งสุกรให้ได้รับการเสริมอาหารที่มีระดับของถั่งเช่าสีทอง 10 กรัม/ตัว/วัน ผลลัพธ์ชี้ให้เห็นว่าพบความแตกต่างของกระบวนการผลิตตัวอสุจิในการเสริม 4 สัปดาห์ และสูงสุดในสัปดาห์ที่ 8 อีกทั้งยังคงเพิ่มสูงภายหลังหยุดการเสริมฐานถั่งเช่า ส่วนของเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหว และสัณฐานวิทยาของตัวอสุจิพบความแตกต่างกันในการเสริมถั่งเช่าในสัปดาห์ที่ 8 และยังคงระดับภายหลังหยุดการเสริมอีกด้วย

2.2 แอล–คาร์นิทีน

1) องค์ประกอบทางเคมีของแอล-คาร์นิทีน

แอล-คาร์นิทีน (L-carnitine) เป็นกรดอะมิโนที่ผลิตได้ที่ตับ โดยมีการสังเคราะห์จากกรดอะมิโน 2 ชนิด ได้แก่ ไลซีน และเมทไธโอนีน โดยอาศัยตัวเร่งให้เกิดการสังเคราะห์ ได้แก่ ไนอาซีน วิตามินบี 6 วิตามินซี และธาตุเหล็ก มีคุณสมบัติเป็นโคแฟกเตอร์ทำงานร่วมกับกรดไขมัน จากการรายงานของ Lenzi et al. (2003) ส่วนของสายยาวของกรดไขมันที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิจะไปเสริมการทำงานไมโตรคอนเดรีย (Mitochondria) ทำให้มีการเคลื่อนที่เพิ่มสูงขึ้น (พัชรา ธนานุรักษ์, 2559) ซึ่งแอล-คาร์นิทีนช่วยให้ร่างกายเปลี่ยนกรดไขมันเป็นพลังงาน โดยทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึม โดยพลังงานที่ได้ส่วนใหญ่จะถูกนำไปใช้ในส่วนของกล้ามเนื้อทั่วร่างกาย โดยผ่านกระบวนการเผาผลาญกรดไขมันที่เรียกว่า β-Oxidation ที่เกิดภายในไมโตรคอนเดรียของเซลล์ต่างๆ โดยปกติแอล-คาร์นิทีนจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป Acyl-carnitine ทำหน้าที่ขนส่งไขมันสายยาวเพื่อนำไปเผาผลาญในไมโตรคอนเดรียแล้วจึงกลับมาเป็นแอล-คาร์นิทีน โดยในปัจจุบันอาหารสัตว์ส่วนใหญ่ผลิตจากวัตถุดิบที่มีพืชเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งอาจส่งผลภาวะการขาดแอล-คาร์นิทีนได้ อย่างไรก็ตามสารนี้ไม่ได้ถูกจัดเข้าในกลุ่มวิตามิน ซึ่งคาร์นิทีนที่อยู่ในโครงสร้าง เรียกว่า แอล-คาร์นิทีน

จะเป็นโครงสร้างที่ร่างกายสามารถนำไปใช้งานได้ (Active form) ในรูปแบบอื่น เช่น ดี-คาร์นิทีน จะอยู่ในกลุ่มที่ร่างกายไม่สามารถนำไปใช้งานได้ (Inactive form) (โครงการเพิ่มศักยภาพฐานข้อมูลอุตสาหกรรมยาทางชีวภาพและเชื้อเพลิงชีวภาพ, 2561)

ชนิดของคาร์นิทีนที่เป็นผลิตภัณฑ์เสริมคาร์นิทีนที่ใช้ในคนมีอยู่ 3 รูปแบบ ได้แก่ แอล-คาร์นิทีน (LC) เป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย และมีราคาถูกที่สุด แอล-อะซิทิลคาร์นิทีน (L-acetylcarnitine; LAC) ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรคแอลไซเมอร์ (Alzheimer) และโรคที่เกี่ยวกับความผิดปกติของสมอง แอล-โพรพิโอนิลคาร์นิทีน (L-propionylcarnitine; LPC) นำมาใช้ทางการแพทย์ในการรักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับหัวใจ

2) แอล-คาร์นิทีนต่อการเพิ่มคุณภาพอสุจิ

แอล–คาร์นิทีนเป็นกรดอะมิโนที่ช่วยเพิ่มการผลิต และการเคลื่อนที่ของเซลล์อสุจินำพาไขมันสู่ไมโตรคอนเดรีย มีคุณสมบัติเป็นโคแฟกเตอร์ทำงานร่วมกับกรดไขมันสายยาว โดยจะช่วยสลาย Polyunsaturated fatty acid ให้เป็นพลังงาน ทำให้มีการเคลื่อนที่เพิ่มสูงขึ้น (พัชรา ธนานุรักษ์, 2559) จากรายงานการศึกษา Pribilova et al. (2018) ผลของการเสริม L-carnitine ให้สุกรพ่อพันธุ์ทุกวันต่อตัวชี้วัดการหลั่งน้ำเชื้อสุกรพ่อพันธุ์ในช่วงฤดูร้อน คัดเลือกพ่อพันธุ์ดูร็อคจำนวน 24 ตัว เลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 29.9 องศาเซลเซียส แบ่งการทดลอง 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเสริม L-carnitine 0.50 กรัม/วัน ทำการเก็บตัวอย่างน้ำเชื้อทุกสัปดาห์ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเสริม L-carnitine 0.50 กรัม/วัน ในอาหารมีผลในเชิงบวกต่อการเคลื่อนไหวของอสุจิ 8.54% และมีการลดลงของอสุจิที่ผิดปกติทางสัณฐานวิทยา 12.6% อีกทั้งหลังจากการวิเคราะห์ทางชีวเคมีพบว่าความเข้มข้นของ L-carnitine เพิ่มขึ้นในการหลั่งน้ำเชื้อของสุกร 21.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2.3 ระบบสืบพันธุ์สุกร

1) กายวิภาคและสรีรวิทยาระบบสืบพันธุ์สุกร

ระบบสืบพันธุ์สุกรเป็นส่วนหนึ่งของระบบที่มีความสำคัญมากในกระบวนการผลิตสุกร โดยระบบการสืบพันธุ์ที่ดีของพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์สุกร จะส่งผลต่อจำนวนการผสมติดลูกสุกรอีกด้วย ซึ่งในระบบการสืบพันธุ์แต่ละเพศจะมีเซลล์สืบพันธุ์ที่จำเพาะเจาะจง เซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ คือ ตัวอสุจิ

(Sperm) และเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย คือ รังไข่ (Ovum) ภายในเซลล์สืบพันธุ์จะบรรจุสารพันธุกรรมที่กำหนดลักษณะทางกายภาพของลูกหลานไว้ และเมื่อเซลล์สืบพันธุ์ทั้งสองชนิดรวมตัวกันจะออกมาเป็นไซโกต (Zygote) ที่ได้สารพันธุกรรมมาอย่างสมบูรณ์และเจริญเติบโตเป็นตัวอ่อน (Embryo) และลูกสุกร (Piglet) ตามลำดับ ซึ่งสารพันธุกรรมในเซลล์จะต้องทำงานร่วมกับปัจจัยอื่นๆ เช่น ระดับฮอร์โมนและสารสื่อประสาท เพื่อให้กระบวนการระบบสืบพันธุ์มีประสิทธิภาพ (วิลาสินี อินญาวิเลิศ, 2562) ซึ่งอวัยวะเพศผู้ประกอบไปด้วยส่วนต่างๆ ดังต่อไปนี้

(1) อัณฑะ (Testis) จะพบได้เมื่อตัวออนในทองอายุประมาณ 100 วัน มี 2 อัน อยู่ภายนอกร่างกายและอยู่ภายในถุงหุ้มอัณฑะ ลักษณะรูปร่างเป็นทรงกลมรี ทำหนาที่ ผลิตตัวอสุจิ และผลิตฮอร์โมนเพศผู้ (Testosterone หรือ Androgen) ซึ่งภายในลูกอัณฑะมีท่อขดฝอย เรียกวา เซมินิเฟอรัสทูบู (Seminiferous tubules) ภายในทอนี้บุด้วย Germ cells หรือ Germinal epithelium ซึ่งตอมาพัฒนาเป็นตัวอสุจิภายนอกทอนี้มีเซลล์ชื่อ เลดิกเซลล์ (Leydig cells) หรืออินเตอรสติเชียลเซลล์ (Interstitial cells) ทำหนาที่ฮอร์โมนเพศผู้ คือ ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน ฮอรโมนนี้จะถูกสงออกไปตามกระแสเลือดกระจายไปทั่วร่างกาย ฮอร์โมนนี้จะมีอยู่มากในระยะที่สุกรตัวผู้เป็นหนุม หรือระยะสมบูรณ์พันธุ ทำใหสุกรแสดงความเป็นเพศผู้ เชน มีมัดกล้ามเนื้อและอยากผสมพันธุ

(2) ถุงหุ้มอัณฑะ (Scrotum) เป็นหนังหุ้มอัณฑะทั้งสอง มีหนาที่หอหุมอัณฑะ และควบคุมอุณหภูมิของอัณฑะใหเหมาะสมตลอดเวลา ซึ่งควรต่ำกวาอุณหภูมิของร่างกาย 2-3 องศาเซลเซียส ถุงอัณฑะประกอบด้วย ชั้นผิวหนังและชั้นกล้ามเนื้อที่มี 2 ชั้น คือ ทูนิกาดารโตส (Tunica dartos) และทูนิกาวาไจนาลิส (Tunica vaginalis) ชั้นแรกติดกับผิวหนัง การถ่ายเทอุณหภูมิโดยการระเหยน้ำและควบคุมโดยการยืดหรือหดของชั้นแรก และการปรับตัวทางด้านการหมุนเวียนของเลือดที่ไปหล่อเลี้ยง ถาอัณฑะไม่ลงมาอยู่ในถุงหุ้ม เรียกวา อัณฑะทองแดง (Cryptorchidism) ซึ่งถ้าเป็นข้างเดียวสุกรยังคงสืบพันธุได้แต่ไม่ค่อยดีนัก แต่ถ้าเป็นทั้ง 2 ข้างจะทำใหเป็นหมัน

(3) ทอเก็บอสุจิ (Epididymis) เป็นทอเก็บและพักอสุจิจนกวาจะเจริญเติบโตเป็นตัวแก่กอนจะฉีดสู่อวัยวะเพศเมีย ทอเก็บอสุจิมี 3 สวน คือ สวนหัว (Head) สวนตัว (Body) และสวนหาง (Tail) อายุอสุจิที่อยู่ในทอนี้จะนานประมาณ 45 วัน ถาไม่มีการผสมพันธุหรือใชเชื้ออสุจิ เชื้ออสุจิจะสลายตัวและถูกดูดซับหายไป

(4) ทอนำน้ำอสุจิ (Vas deferens หรือ Ductus deferens) ทำหนาที่เป็นทางเดินของน้ำอสุจิ (Semen) ไปยังบริเวณทอปสสาวะในขณะฉีดน้ำเชื้อออกจากร่างกาย ตอนบนของทอนำน้ำอสุจิ

ติดกับสเปอรมาติคคอรท (Spermatic cord) ซึ่งเป็นเยื่อเหนียวหอหุมเสนประสาท หลอดเลือด และหลอดน้ำเหลือง มาจากบริเวณอุ้งเชิงกรานผ่านทางชองทองทางชองบริเวณขาหนีบ (Inguinal canal) สงไปยังลูกอัณฑะมีอยู่ 2 เสน ข้างละเสนของลูกอัณฑะ ทอนำน้ำอสุจิจะขนานกับทอนำส่งปัสสาวะซึ่งออกมาจากไตขนานไปตามแนวกระดูกสันหลัง

(5) ทอปสสาวะ (Urethra) เป็นท่อร่วมระหว่างท่อนำน้ำอสุจิกับทอนำปสสาวะ ทำหนาที่เป็นทางผานของน้ำอสุจิและน้ำปสสาวะออกไปยังอวัยวะเพศผู้ หรือลึงค์ สวนหนึ่งของทอนี้งอเป็นรูปตัวเอส เรียก Sigmoid flexure ขณะที่สัตวหลั่งน้ำอสุจิสวนทอที่งอนี้จะเหยียดตรงเพื่อส่งลึงค์สวนปลายใหเขาไปปล่อยน้ำกามในอวัยวะเพศเมีย

(6) อวัยวะเพศผู้หรือลึงค์ (Penis) ทำหนาที่ปล่อยน้ำอสุจิเขาสู่อวัยวะสืบพันธุของสุกรเพศเมีย และขับส่วนปสสาวะออกนอกร่างกาย ประกอบด้วยเนื้อเยื่อยืดหดได้ มีลักษณะเป็นเกลียวคล้ายสว่าน เพราะคอมดลูกของสุกรตัวเมียมีชองบิดเป็นเกลียวปดรองอย่างมิดชิด เมื่อยืดตัวเต็มที่ยาวประมาณ 50 เซนติเมตร ขนาดเสนผ่าศูนย์กลาง 1-1.5 เซนติเมตร เป็นอวัยวะที่หอหุมด้วยปลอก (Sheath) ตอนปลายของลึงค์มีสวนที่รับความรูสึกในขณะที่ผสมพันธุ เรียกวา เกลนเพนนิส (Glans pennis)

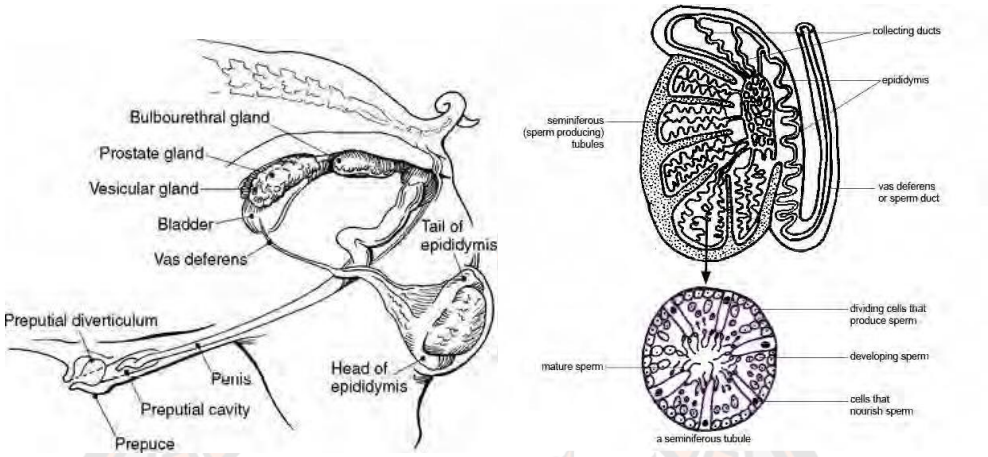
(7) ตอมน้ำกาม เป็นตอมที่สร้างน้ำกามอยู่บริเวณข้างท่อปสสาวะ ทำหนาที่หล่อเลี้ยงและหล่อลื่นอสุจิ น้ำกามจะถูกปล่อยออกมาขณะผสมพันธุ ตอมน้ำกามมีอยู่ 3 ตอม คือ

ก. ตอมเซมินอล เวสซิคอล (Seminal vesicle) มี 2 ตอมอยู่ในอุ้งเชิงกรานติดกับสวนหลังของกระเพาะปสสาวะ ทำหนาที่ผลิตน้ำหล่อลื่นใส (Fluid) ประกอบด้วย ฟอสเฟต ไบคารบอเนต เพื่อปรับ pH ของน้ำเชื้อ สงเขาไปยังท่อนำน้ำอสุจิ เพื่อใหการเดินทางของอสุจิสะดวกขึ้นและใหพลังงานแกอสุจิ

ข. ตอมลูกหมากหรือพรอสเตต (Prostate gland) ตอมนี้อยู่ติดอยู่กับบริเวณกระเพาะปสสาวะลอมรอบทอปสสาวะตอนตน ทำหนาที่ผลิตน้ำหล่อเลี้ยงอสุจิ ประกอบด้วย โปรตีน และเกลือแร เชน โซเดียมคลอไรด แมกนีเซียม เป็นตน มีลักษณะขน สภาพคอนข้างเป็นด่าง

ค. ตอมคาวเปอร (Cowper’s gland หรือ Bulbo urethral gland) มี 2 ตอมอยู่ติดสองข้างของทอปสสาวะ มีทอเล็ก ๆ จำนวนมากและปลายท่อเปิดสู่ทอปสสาวะ ทำหนาที่ผลิตน้ำสงเขาสู่ทอปสสาวะ น้ำที่ผลิตในทอนี้จะมีสมบัติเป็นด่าง เพื่อทำใหน้ำอสุจิเป็นกลาง หรือผลิตออกมาเพื่อล้างทำความสะอาดทอปสสาวะกอนน้ำอสุจิจะไหลผ่าน น้ำกามสวนนี้มีลักษณะเป็นวุ้น สำหรับอุดคอ

มดลูกของตัวเมีย ปองกันไม่ใหน้ำกามที่ตัวผู้ปล่อยเข้าไปในมดลูกไหลกลับออกมาภายนอกอีก (วิลาสินี อินญาวิเลิศ, 2562)



ภาพ 3 Reproductive organs and internal features of the testis, epididymis in boar

ที่มา: (Christopher et al., 2016 & Ruth Lawson., 2017)

2.4 ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์

ฮอร์โมนเป็นสารที่หลั่งจากต่อมไร้ท่อ โดยอาศัยการทำงานผ่านกระแสเลือด และระบบน้ำเหลือง ซึ่งฮอร์โมนมีบทบาทสำคัญในการควบคุมระบบสืบพันธุ์ของสัตว์ คือ วงรอบการเป็นสัด การตกไข่ การหลั่งน้ำเชื้อ การปฏิสนธิ เป็นต้น (วิลาสินี อินญาวิเลิศ, 2562) ฮอร์โมนสามารถจำแนกได้ตามโครงสร้างทางชีวเคมี (Biochemical structure) ได้เป็น 4 ประเภท ดังนี้

1) ประเภทของฮอร์โมน

ก. ฮอร์โมนประเภทเปปไทด์และโปรตีน (Peptide and protein hormone) เป็นฮอร์โมนที่มีขนาดโมเลกุล ประกอบด้วยกรดอะมิโน ซึ่งฮอร์โมนกลุ่มนี้มีความสามารถในการละลายน้ำได้ และสามารถเกิดกลายสภาพเป็นกรดแก่ ด่างแก่ ส่งผลให้ฮอร์โมนไม่สามารถออกฤทธิ์ได้ ซึ่ง

ฮอร์โมนในกลุ่มนี้ ได้แก่ Gonadotropin releasing hormone (GnRH), Follicle-stimulating hormone (FSH), Luteinizing hormone (LH)

ข. ฮอร์โมนประเภทสเตียรอยด์ (Steroid hormone) ฮอร์โมนประเภทนี้ไม่ละลายในน้ำ แต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอีเทอร์หรือสารละลายที่ใช้สกัดไขมัน ซึ่งสารตั้งต้นของฮอร์โมนกลุ่มนี้ คือ คอเลสเตอรอล ฮอร์โมนกลุ่มนี้ ได้แก่ เอสโตรเจน โปรเจสเตอโรน และเทสโทสเทอโรน

ค. เอมีนฮอร์โมน (Amine hormone) เป็นฮอร์โมนที่มีขนาดเล็กสังเคราะห์มาจากไทโรซีน (Tyrosine) มีสูตรโครงสร้างอนุพันธ์กรดอะมิโน คือ Epinephrine, Norepinephrine, Thyroxine, Serotonin และ Melatonin

ง. กรดไขมันหรือเอโคซานอยด์ (Eicosanoids hormone) เป็นโมเลกุลขนาดเล็ก เป็นอนุพันธ์ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ฮอร์โมนกลุ่มนี้ ได้แก่ Prostaglandin

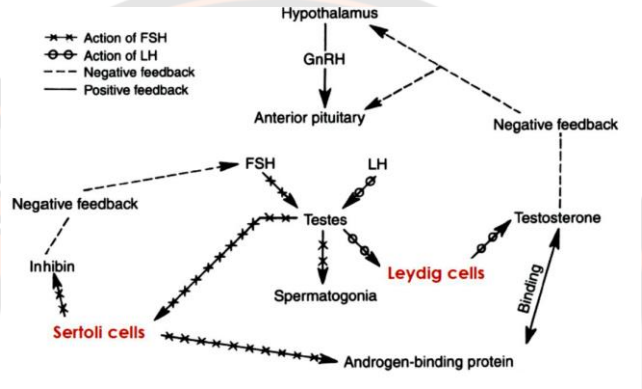
2) กลไกลการออกฤทธิ์ และการควบคุมการทำงานของฮอร์โมนเพศผู้

กลไกการออกฤทธิ์ของฮอร์โมน (Mechanism of hormone action) จะแตกต่างตามคุณสมบัติชีวเคมีของฮอร์โมน ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ

ก. กลไกการออกฤทธิ์ของสเตียรอยด์ฮอร์โมน (Mechanism of steroid hormone action) เป็นกลไกการลำเลียงฮอร์โมนกลุ่มสเตียรอยด์ฮอร์โมนในกระแสเลือดโดยอาศัยการจับตัวกับพลาสมาโปรตีน (Plasma protein) เพื่อส่งไปยังเซลล์เป้าหมาย โดยสเตียรอยด์ฮอร์โมนจะแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่เซลล์ได้โดยตรงและไปจับกับโปรตีนตัวรับ (Steroid receptor) ที่อยู่บริเวณภายในไซโตพลาสซึม หรือจับกับตัวรับที่อยู่ในนิวเคลียส ทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนใหม่

ข. กลไกการออกฤทธิ์ของกลุ่มที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ฮอร์โมน (Mechanism of non- steroid hormone action) ฮอร์โมนกลุ่มนี้เป็นโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ ไม่สามารถแพร่ผ่านเข้าไปได้ในเซลล์โดยตรง ดังนั้นฮอร์โมนกลุ่มนี้จะต้องจับตัวโปรตีนตัวรับจำเพาะที่เยื่อหุ้มเซลล์ฮอร์โมน และไปกระตุ้นให้เอนไซม์ Adenylate cyclase ที่เยื่อหุ้มเซลล์ เอนไซม์ที่ถูกกระตุ้นแล้วไปเปลี่ยนเป็น cAMP (Cyclic adenosine mono phosphate) ทำหน้าที่เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นในเซลล์จากการกระตุ้นตัวรับ (Second messenger) ไปกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาชีวเคมีขึ้นภายในเซลล์ ฮอร์โมนจะไปออกฤทธิ์โดยตรงต่อยีนส์บนโครโมโซมทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนขึ้น

การควบคุมการทำงานของฮอร์โมนเพศผู้จะมีกลไก คือ GnRH จากไฮโปธาลามัสกระตุ้นการหลั่ง FSH และ LH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า โดย LH กระตุ้น Leydig cells สร้างฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน ซึ่งฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนที่สร้างขึ้นจะจับกับ Androgen-binding protein (ABP) ใน Seminiferous tubules ทำให้มีการสร้างตัวอสุจิอย่างต่อเนื่อง เมื่อระดับของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนที่ลดลงจะกระตุ้นการสร้าง GnRH ส่วน FSH กระตุ้น Sertoli cells เพื่อสร้างอินไฮบินและอินไฮบินมีผลระงับการหลั่ง FSH (วิลาสินี อินญาวิเลิศ, 2562) ดังแสดง **ภาพ 4**



ภาพ 4 Mechanism of regulating sex hormone

ที่มา: (Bearden & Fuquay., 2004)

3) ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน

ฮอร์โมนนี้เป็นฮอร์โมนหลักในกลุ่มฮอร์โมนเพศผู้และสเตอรอยด์ มีบทบาทสำคัญในพัฒนาการของเนื้อเยื่อในระบบสืบพันธุ์เพศผู้ เช่น อัณฑะและต่อมลูกหมาก นอกจากนี้แล้วฮอร์โมนยังเป็นสิ่งจำเป็นต่อสุขภาพสัตว์และความสุขสบาย แต่อย่างไรก็ตามระดับฮอร์โมนที่ไม่เพียงพอในเพศผู้ อาจส่งผลก่อให้เกิดความผิดปกติต่าง ๆ เช่น เสื่อมสมรรถภาพทางเพศ ความอ่อนแอ และภาวะกระดูกพรุน และฮอร์โมนจะลดลงเรื่อย ๆ ตามอายุที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นการรักษาระดับฮอร์โมนจะสามารถรักษาการแสดงออกทางเพศได้ ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนเป็นสเตอรอยด์ในกลุ่ม Androstane ที่มีกลุ่มคีโทนและไฮดรอกซิล ซึ่งสามารถสังเคราะห์จากคอเลสเตอรอล ซึ่งในสุกร อัณฑะเป็นอวัยวะสำคัญที่หลั่งฮอร์โมนเพศผู้มากกว่าในเพศเมีย เนื่องจากในเพศผู้จะมีกระบวนการเมแทบอลิซึมของ

ระดับฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนมากกว่าเพศเมีย ซึ่งฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนมีกลไกลการออกฤทธิ์ผ่านหลายอย่าง คือ ออกฤทธิ์ต่อตัวรับแอนโดรเจน Androgen receptor (AR) ซึ่งเป็นตัวรับในนิวเคลียส (Nuclear receptor) และเปลี่ยนเป็น Estradiol-17 (E2) แล้วออกฤทธิ์ต่อตัวรับเอสโทรเจนบางอย่างทั้งในนิวเคลียสและบนเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน ยังคงยึดและออกฤทธิ์ต่อ Membrane androgen receptor ซึ่งเป็นตัวรับที่เยื่อหุ้มเซลล์ด้วย (Wikipedia, 2021)

ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนที่เป็นอิสระจะส่งเข้าไปยังเซลล์เป้าหมายในไซโทพลาสซึม ที่มันสามารถเข้ายึดกับ AR แล้วรีดิวซ์เป็น 5α-Dihydrotestosterone (DHT) โดยเอนไซม์ในไซโทพลาสซึม คือ 5α-Reductase โดย DHT จะเข้ายึดกับ AR เดียวกัน ดังนั้นจึงมีฤทธิ์ทางแอนโดรเจนมากกว่าถึง 5 เท่า อีกทั้งตัวรับฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนหรือจะเปลี่ยนรูป ทำให้มันสามารถเข้าไปในนิวเคลียสของเซลล์ และเข้ายึดกับลำดับนิวคลีโอไทด์ โดยเฉพาะบนโครโมโซมของดีเอ็นเอได้ โดยจุดที่เข้ายึดเรียกว่า Hormone response element (HREs) (Wikipedia, 2021)

ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นความต้องการทางเพศ โดยปริมาณปกติของฮอร์โมนชนิดนี้จะอยู่ในช่วงวัยเจริญพันธุ์ และเริ่มลดลงในช่วงอายุที่มากขึ้น (อภิชาต วิชญาณรัตน์, 2551) การลดลงของปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนส่งผลต่อภาวะพร่องฮอร์โมนทางเพศ (Late onset hypogonadism) และเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ (หทัย เทพพิสัย และคณะ, 2545) ผลจากการศึกษาของ Hong et al. (2011) ที่มีการเสริมถั่งเช่าสีทองในหนูทดลอง พบว่ากลุ่มที่ทำการเสริมถั่งเช่าสีทองมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน เนื่องจาก CM มีส่วนในการสร้างเอนไซม์ที่เกิดขึ้นในกระบวนการสร้างตัวอสุจิ คือ E2 ที่มีบทบาทในการแสดงออกของ Granulosa-lutein cells (GLC) และ Testosterone hormones (Hsu et al., 2003) อีกทั้งจากรายงานผลการศึกษาของ Hsu et al. (2003) ที่ได้ทำการศึกษาผลของ *Cordyceps sinensis* (CS) ต่อการผลิตฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนใน Leydig cells ของหนูทดลอง พบว่าสารสำคัญใน CS กระตุ้นการผลิตฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนใน Leydig cells ได้ และปริมาณของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนยังคงเพิ่มขึ้นในพลาสมาของหนูอีกด้วย

2.5 กระบวนการสร้างตัวอสุจิ และการสร้างเซลล์สืบพันธุ์

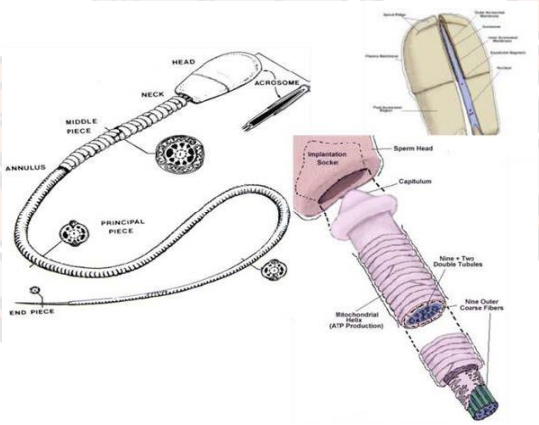
การสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ หรือการสร้างอสุจิ (Spermatogenesis) เป็นการผลิตเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ ที่เกิดขึ้นภายในท่อผลิตอสุจิ (Seminiferous tubules) ที่อยู่ในอัณฑะ ซึ่งประกอบด้วย

เซลล์ที่สำคัญอยู่ 2 กลุ่ม คือ เซอร์โทไลเซลล์ (Sertoli cell) ที่มีบทบาทในการค้ำจุนเซลล์สืบพันธุ์และสเปอร์มาโทโกเนีย (Spermatogonia) ที่มีการแบ่งตัวแบบไมโทซิสเพื่อสร้างสเปอร์มาโทโกเนียสำรองไว้ในการเข้าสู่กระบวนการผลิตอสุจิ และได้ตัวอสุจิออกมา ซึ่งในสุกรใช้เวลาประมาณ 36-40 วัน ในการสร้างตัวอสุจิออกมาสมบูรณ์ โดยในแต่ละวันสามารถผลิตตัวอสุจิได้วันละ 15-20 พันล้านตัว และในขณะที่กระบวนการผลิตอสุจิดำเนินไปเรื่อย ๆ เซลล์สืบพันธุ์ที่เจริญเติบโตจะค่อยๆ เคลื่อนที่จากด้านฐานของผนังท่อสร้างอสุจิไปทางด้านช่องว่างภายในท่อ จนกระทั่งเมื่อเจริญเป็นตัวอสุจิแล้วก็จะหลุดเข้ามาอยู่ภายในท่อและเดินทางตามท่อระบบสืบพันธุ์ ดังนั้นกระบวนการสร้างอสุจินี้จะเริ่มจากตอนที่สัตว์ยังมีอายุน้อย และมีการเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์เรื่อย ๆ จนเข้าสู่วัยหนุ่ม ซึ่งในสัตว์เพศผู้จะมีเซลล์ดั้งเดิม (Gonocyte) อยู่ในอัณฑะที่บริเวณท่อ seminiferous tubule จากกระบวนการสร้างตัวอสุจิซึ่งจะเกิดขึ้นได้ในหลายระยะ ได้แก่ Spermatogonium และ Spermatocyte จะมีการพัฒนาเซลล์ในรูปแบบต่าง ๆ จนไปเป็นตัวอสุจิที่สมบูรณ์ (วิลาสินี อินญาวิเลิศ, 2562)

จากรายงานทดลองของ Lin et al. (2007) ที่ทำการเสริม *Cordyceps militaris* (CM) ในสุกรพ่อพันธุ์ที่บกพร่องสมรรถภาพทางเพศ ระยะการทดลอง 12 สัปดาห์ ศึกษาเปรียบเทียบกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม และกลุ่มที่ได้รับการเสริม CM พบว่ากลุ่มที่มีการเสริม CM มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนอสุจิ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในระหว่างสัปดาห์ที่ 6 ถึง 8 ซึ่งการเสริม CM ส่งผลต่อกระบวนการผลิตตัวอสุจิตั้งแต่ 4 สัปดาห์ และมากที่สุด 8 สัปดาห์ อีกทั้งภายหลังหยุดการเสริม CM พบว่ากระบวนการผลิตตัวอสุจิไม่ลดลง จึงชี้ให้เห็นว่าการเสริมถั่งเช่ามีบทบาทเป็นสารเมทาบอไลต์ที่มีผลต่อกระบวนการสร้างตัวอสุจิ อีกทั้งผลการศึกษาของ Huang et al. (2004) รายงานว่าการเสริมถั่งเช่า *Cordyceps sinensis* (CS) ในหนูทดลอง จำนวน 18 ตัว เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ เลือกเก็บตัวอย่างซีรัมจากเลือด พบว่าการเสริม CM ช่วยเพิ่มจำนวนอสุจิทั้งหมด และเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในสัปดาห์ที่ 6 อีกทั้งความเข้มข้นของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน และ E2 เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 และ 6 ของการเสริม CM ซึ่งเป็นไปได้ว่าสาร Cordycepin เกี่ยวข้องกับกลไกเหนี่ยวนำเอนไซม์ E2 และฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน ที่มีผลต่อ Steroidogenic acute regulatory protein และ Aromatase ที่มีส่วนเพิ่มการสร้าง E2 ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญต่อกระบวนการสร้างตัวอสุจิ (Chang et al., 2008)

1) ลักษณะทางกายวิภาคของตัวอสุจิ

ตัวอสุจิประกอบด้วยส่วนหัวและส่วนหาง ดังแสดงใน **ภาพ 5** ซึ่งส่วนประกอบส่วนหัว คือ (1) นิวเคลียส (2) โพสนิวเคลียแคป ซึ่งจะปกคลุมส่วนท้ายของนิวเคลียส (3) อะโคโซม ซึ่งจะปกคลุมส่วนหน้าของนิวเคลียสใน Acrosome มีเอนไซม์ช่วยตัวอสุจิในการเจาะไข่ บริเวณที่หางต่อกับหัวมี Proximal centriole ซึ่งเรียกว่า บริเวณฝังตัว บริเวณนี้เป็นจุดที่ส่วนหัวและหางแยกจากกันระหว่างปฏิสนธิ หรือกรณีที่ตัวอสุจิถูกความร้อนมากๆ ส่วนของหางทั้งหมดจะมี Axial filament ซึ่งเป็นมัดของ Fibril ที่เริ่มจากส่วน Proximal centriole และทอดยาวมาตลอดส่วนหาง การบีบตัวของไฟบิลจะทำให้ส่วนหางของตัวอสุจิเคลื่อนที่พุ่งไปข้างหน้าได้ ส่วนของหางส่วนต้น (Mid piece) เป็นบริเวณที่มีความหนาอยู่ต่อจาก Proximal centriole ส่วนหางส่วนต้นนี้จะมีเยื่อหุ้มไมโทคอนเดรีย ซึ่งเกิดจากไมโทคอนเดรียของ Spermatid ภายในจะมีเอนไซม์ที่เปลี่ยน Fructose และแหล่งพลังงานอื่นให้เป็นส่วนประกอบที่มีพลังงานสูง เพื่อให้ตัวอสุจิได้ใช้หางส่วนปลาย (End piece) แตกต่างจากส่วนอื่นตรงที่ไม่มีเยื่อหุ้ม (วิลาสินี อินญาวิเลิศ, 2562)



ภาพ 5 The sperm structure

ที่มา: (Hafez., 1993)

2) กลไกของฮอร์โมนในการสร้างอสุจิ

กลไกนี้เริ่มจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Anterior pituitary) หลั่งฮอร์โมนออกมา 2 ชนิด คือ Follicle stimulating hormone (FSH) และ Luteinizing hormone (LH) โดย FSH จะถูกกระตุ้นให้ส่วนของ Seminiferous tubules ทำให้เกิดกระบวนการสร้างอสุจิเข้าสู่ Primary spermatocytes เพื่อให้เกิดการแบ่งตัวแบบ Meiosis I ขณะที่ LH จะทำหน้าที่กระตุ้นให้ Interstitial cells หรือ Leydig cells ให้ผลิตฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน จากนั้นฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนจะถูกส่งไปยัง Sertoli cells (วิลาสินี อินญาวิเลิศ, 2562)

3) ปัจจัยที่มีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของพ่อพันธุ์สุกร

ก. สายพันธุ์สุกร สายพันธุ์สุกรนั้นมีผลทำให้คุณภาพน้ำเชื้อแตกต่างกัน ซึ่งจากรายงานของ Schulze et al. (2014) ที่ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อพ่อสุกร 5 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ลาร์จไวท์ (Large White) พันธุ์ยอร์คเชียร์ (Yorkshire) พันธุ์เปียแตรง (Pietrain) พันธุ์ดูร็อค (Duroc) และพันธุ์แลนด์เรซ (Landrace) พบว่า ปริมาตรของน้ำเชื้อของแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน ซึ่งสายพันธุ์ดูร็อคมีค่าต่ำที่สุด และสายพันธุ์ยอร์คเชียร์มีค่าสูงสุด ทำให้เห็นได้ว่าสายพันธุ์ที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ต่างกันด้วย

ข. อายุสุกร อายุของพ่อสุกรที่ดีนั้น เริ่มผสมพันธุ์หรือรีดน้ำเชื้อมาใช้ในการผสมพันธุ์ได้จะอยู่ที่อายุประมาณ 7-8 เดือน ขึ้นไป โดยจะเป็นช่วงอายุนี้น้ำเชื้อของพ่อสุกรจะมีความสมบูรณ์พันธุ์และมีอัตราการผสมติดสูง (Banaszewska & Kondracki, 2012; Hemsworth et al., 1978) จากรายงานของ Knecht et al. (2017) ที่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อสุกรในแต่ละช่วงอายุ โดยแบ่งออกเป็น 6 ช่วงอายุ ได้แก่ 8-9 เดือน 10-12 เดือน 13-18 เดือน 19-24 เดือน 25-30 เดือน และ 30 เดือนขึ้นไป พบว่าปริมาตรของน้ำเชื้อพ่อสุกรในช่วงอายุ 19-24 เดือน 25-30 เดือน และ 30 เดือนขึ้นไป มีค่ามากกว่าของพ่อสุกรที่ช่วงอายุ 13-18 เดือน 10-12 เดือน และ 8-9 เดือน ดังนั้นอายุพ่อสุกรที่เหมาะสมจะส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่ดีด้วย

ค. อาหาร อาหารพ่อสุกรเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อ พ่อสุกรจำเป็นต้องได้รับอาหารที่เพียงพอทั้งปริมาณและคุณภาพปริมาณอาหารที่พ่อสุกรควรจะได้รับประมาณ 1.5-1.8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว หรือประมาณ 2-2.5 กิโลกรัม/ตัว/วัน ซึ่งอาหารพ่อสุกรทั่วไปมีโปรตีนประมาณ 15-16 เปอร์เซ็นต์ (บุญล้อม ชีวะอิสระกุล, 2541) นอกจากนี้อาหารเสริมที่มี

องค์ประกอบต่างๆ จะช่วยส่งผลต่อตัวพ่อพันธุ์สุกร เช่น วิตามินอี จัดเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดออกซิเดชันของสารในกลุ่มไขมัน ทำให้ไขมันที่อยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ถูกทำลายจากอนุมูลอิสระ เซลล์อสุจิประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวในปริมาณที่สูงจึงไวต่อการเกิด Lipid peroxidation ทำให้น้ำเชื้อที่หลั่งออกมาเสื่อมสภาพ โดยเกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ (เทวินทร์ วงษ์พระลับ, 2559) การเสริมวิตามินอีลงไปในอาหารพ่อสุกรจึงช่วยให้อสุจิมีคุณภาพดีขึ้น ซีลีเนียมเป็นธาตุกึ่งโลหะ ที่มีคุณสมบัติทางเคมีใกล้เคียงกับซัลเฟอร์ บทบาทของซีลีเนียมต่อการสืบพันธุ์มีการศึกษากันมากในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเพศผู้ โดยมีความสำคัญต่อคุณภาพของอสุจิโดยเฉพาะการมีรูปร่างปกติ ตลอดจนการพัฒนาของระบบสืบพันธุ์ (Johnson et al., 2000)

2.6 พฤติกรรมทางเพศของสุกร

เมื่อสัตว์ถึงวัยเจริญพันธุ์หรือวัยหนุ่มสาว (Puberty) ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่อวัยวะสืบพันธุ์สัตว์มีความพร้อมที่จะสืบพันธุ์ได้ โดยอายุสุกรประมาณ 8-12 เดือน เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการแสดงออกพฤติกรรมทางเพศ จากรายงาน Bearden et al. (2000) ได้ให้คำจำกัดความของการเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ในสัตว์เพศผู้ หมายถึง การที่สัตว์แสดงพฤติกรรมทางเพศ (Sexual behavior) เช่น การ สนใจเพศตรงข้าม การขึ้นทับ หรือปีนป่ายตัวอื่นพร้อมลึงค์แข็งตัวและโผล่ออกนอกหนังหุ้มลึงค์ พร้อมกับมีการหลั่งน้ำกามที่มีตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ในครั้งแรก และเมื่อผสมพันธุ์แล้วมีโอกาสให้ลูกได้ รายงานการศึกษาอายุเมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ในสุกรเพศผู้ส่วนใหญ่ให้ความสำคัญด้านความสามารถในการตรวจพบการผลิตน้ำเชื้อมากกว่าการแสดงพฤติกรรมทางเพศครั้งแรก (Kosco et al., 1987; Trudeau et al., 1992; Lunstra et al., 1997; Karunakaran et al., 2009; Kumaresan et al., 2011) เนื่องจากการแสดงพฤติกรรมทางเพศอาจพบได้ในลูกสุกรอายุน้อยโดยไม่พบการหลั่งน้ำเชื้อร่วมด้วย จากรายงานของ Ford (1990) รายงานว่าการแสดงพฤติกรรมขึ้นปีนป่ายตัวอื่นของลูกสุกรเพศผู้สามารถพบได้ตั้งแต่อายุ 1 เดือน โดยเพิ่มความถี่ในการแสดงพฤติกรรมมากขึ้นในเดือนที่ 2 หลังจากนั้นความถี่เริ่มลดลงก่อนเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ในขณะที่ Bazer et al. (2001) กล่าวว่าลูกสุกรเพศผู้เริ่มมีการพัฒนาพฤติกรรมทางเพศตั้งแต่อายุ 2 ปี ก่อนเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์

2.7 ความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นจากความไม่สมดุลของระดับ (Reactive Oxygen Species; ROS) และสารต้านอนุมูลอิสระ แม้ว่า ROS บางชนิดจะเป็นอนุมูลอิสระ เช่น Superoxide และ Hydroxyl นอกจากนี้ ROS ยังมีอยู่ในรูปแบบที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่ระดับภายนอกต่ำ ROS มีหน้าที่สำคัญในการทำหน้าที่ทางสรีรวิทยาต่างๆ อย่างไรก็ตามเมื่อระดับของ ROS ถึงจุดที่สูงกว่าที่กำหนด สภาวะของความเครียดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นสามารถทำลายส่วนประกอบของเซลล์ได้ ความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่เพียงเกี่ยวข้องกับความเสื่อมสภาพเท่านั้น แต่ยังเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์กับโรคต่างๆ เช่น โรคอัลไซเมอร์ โรคปอดอุดกั้นเรื้อรัง เบาหวาน และโรคหลอดเลือดหัวใจ นอกจากอายุมากขึ้นแล้ว ความเครียดจากอัณฑะยังสามารถเกิดขึ้นได้เนื่องจากปัจจัยอื่นๆ เช่น เคมีบำบัด การอักเสบ โรคเส้นเลือดขอด และการสัมผัสสารพิษมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม (Shrilatha, 2007)

1) การเกิดสภาวะออกซิเดชันในสัตว์

การเกิดสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในสัตว์มีปัจจัยหลากหลายที่เหนี่ยวนำให้สัตว์เกิดสภาวะความเครียด เช่น สภาวะที่สัตว์ใช้พลังงานในร่างกายมากกว่าปกติ การเปลี่ยนแปลงของกระบวนการเมแทบอลิซึม การเจ็บป่วย และสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลง เป็นต้น (วรพล เองวานิช, 2563) ในร่างกายของสัตว์จะมีการปรับตัวต่อสภาวะความเครียดออกซิเดชัน (Hormesis) โดยการเกิดกลไกการตอบสนองของเซลล์กับการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมที่มีความสัมพันธ์กับสรีรวิทยาร่างกายสัตว์ (Pickering et al., 2013) ผลจากการศึกษาของ Pamok et al. (2009) ที่ทำการศึกษาระดับเอนไซม์มาลอนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde; MDA) ในไก่กระทงในสภาวะความเครียดจากความร้อน ในวันที่ 1 4 7 11 และ 21 พบว่าระดับของ MDA ในวันที่ 1 และ 4 สูงกว่าวันที่ 7 แต่อย่างไรก็ตามระดับของ MDA หลังจากวันที่ 7 นั้นไม่พบความแตกต่างกันถึงแม้ไก่จะอยู่ในอุณหภูมิที่สูงก็ตาม และจากผลการศึกษาของ Aengwanich et al. (2010) ที่ทำการศึกษาสภาวะความเครียดออกซิเดชันจากความร้อนในไก่กระทง โดยทำการเปรียบเทียบระดับ MDA ระหว่างไก่ที่อยู่อุณหภูมิสูงกับไก่ที่อยู่อุณหภูมิปกติไม่พบความแตกต่างกันในวันที่ 7 ของการทดลอง ซึ่งจากผลการศึกษาข้างต้นชี้ให้เห็นว่าสัตว์นั้นมีการปรับตัวต่อการเกิดความเครียดสภาวะออกซิเดชันได้ ผลจากการศึกษาสภาวะปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากรายการศึกษาของ วัชรินทร์ อ้มทองหลาง และ

คณะ (2563) ที่ทำการเสริม CM-SMS ในสุกรอนุบาล เพื่อศึกษาความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน พบว่าการเสริม CM-SMS ไม่พบความแตกต่างกันของระดับ SOD และ GPx อีกทั้งผลการศึกษาของ Boontiam et al. (2019) ที่ทำการเสริม CM-SMS ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกัน รูปแบบการเผาผลาญ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสุกรระยะรุ่น ผลการศึกษาพบว่า กลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 2 กรัม/กิโลกรัมอาหาร ส่งผลที่ดีต่อระดับของกลูตาไธโอนเปอออกซิเดรส ซึ่งกิจกรรมเอนไซม์ในสุกรมีความแตกต่างกัน เนื่องจากสภาวะปัจจัยที่แตกต่างกัน เช่น สภาพแวดล้อม อายุ สายพันธุ์ เป็นต้น อีกทั้งเอนไซม์ของสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสัตว์สามารถสร้างขึ้นได้เองเพื่อช่วยปกป้องเซลล์จากการทำลายสิ่งแปลกปลอมของระบบสิ่งมีชีวิต (Dawood et al., 2019)

2) ปฏิกิริยา Reactive Oxygen Species และความเสียหายต่อเซลล์อสุจิ

ปฏิกิริยา ROS ส่วนใหญ่พบมากในตับอ่อน ตับ ไต และอัณฑะ (El-Missiry, 1999; Shrilatha, 2007; Shrilatha & Muralidhara, 2007) ซึ่งภาวะน้ำตาลในเลือดสูงจะส่งผลทำให้เกิดการผลิตซุปเปอร์ออกไซด์โดยขัดขวางการขนส่งสายโซ่อิเล็กตรอนของไมโตคอนเดรีย ซึ่งยับยั้งการทำงานของ glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase ทำให้เกิดความไม่สมดุลของการเผาผลาญของปฏิกิริยา ROS ในเซลล์ (Wentzel et al., 2003; Blatnik et al., 2008) ในทางกลับกัน ปฏิกิริยา ROS ที่สูงสามารถลดการต้านอนุมูลอิสระของเซลล์ หนูสายพันธุ์ Wistar ที่รักษาด้วย Streptozotocin แสดงให้เห็นการลดลงของ Catalase (CAT) GR GPx และ SOD หลังจาก 1 2 4 และ 6 สัปดาห์หลังการฉีด Streptozotocin ในขณะที่กิจกรรมของ Glutathione-S-transferase (GST) เพิ่มขึ้น (Shrilatha , 2007) กิจกรรมของ CAT GPX GSH และ GR ในกระต่ายที่ได้รับการรักษาด้วย Alloxane หลังการรักษา 10 สัปดาห์ (Gumieniczek & Wilk, 2009) มีรายงานการลดลงของ GPx แต่ไม่มี GR และในหนูสายพันธุ์ Goto-Kakizaki พบว่ามีระดับไขมันเปอร์ออกซิเดชันสูงกว่าเกินที่กำหนด โดยทำการทดสอบสารทำปฏิกิริยาของกรด Thiobarbituric (TBARS) และ ROS จำนวนมากเมื่อเทียบกับอัณฑะของหนูที่มีสุขภาพดี (Amaral et al., 2006 ; Shrilatha และ Muralidhara, 2007) ในทางตรงกันข้ามการบำบัดด้วยสารต้านอนุมูลอิสระได้รับการยอมรับว่าเป็นการต่อต้านผลร้ายของการรักษาสเตรปโตโซโตซิน สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารเคมีที่ทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับอิเลคตรอน ROS และ RNS ซึ่งป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้ ผลการศึกษาต่างๆ

พบว่าสารต้านอนุมูลอิสระนี้ช่วยเพิ่มการเคลื่อนที่ของอสุจิ ความเข้มข้นของอสุจิ และน้ำหนักของอัณฑะ หลอดน้ำอสุจิ ถุงน้ำอสุจิ และต่อมลูกหมากในหนูไม่ปกติ นอกจากนี้ส่วนที่ย้อมด้วย Haematoxylin-eosin ของอัณฑะหนูที่ไม่ปกติ แสดงให้เห็นว่าลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาคล้ายกับของหนูที่มีสุขภาพดีมาก ในการศึกษาอื่น กิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในอัณฑะของหนูเพิ่มขึ้นด้วยการฉีด Ascorbic acid ทุกวัน เมื่อเทียบกับหนูที่ไม่ปกติที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ (Shrilatha, 2007)

3) การศึกษาผลกระทบความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในเซลล์อสุจิของสัตว์

ผลการศึกษาผลกระทบความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันมีแบบจำลองสัตว์และสิ่งมีชีวิตแบบจำลองต่างๆ เพื่ออธิบายความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ หนอนมีโทดา (*Caenorhabditis elegans*) แมลงหวี่ (*Drosophila melanogaster*) หนู สุนัข และไพรเมตที่ไม่ใช่มนุษย์ (Dai et al., 2009) ซึ่งแบบจำลองเหล่านี้ใช้เพื่อกำหนดการเปลี่ยนแปลงระดับโมเลกุลที่เกิดขึ้นด้วยอายุ และเพื่อระบุปัจจัยสำคัญที่ควบคุมอายุขัย โดยเฉพาะในหนูที่มักใช้เป็นแบบจำลองสัตว์เพื่อศึกษาวัยเจริญพันธุ์ของผู้ชาย เนื่องจากขนาดของหนูมีจีโนมคล้ายคลึงกับของมนุษย์และมีการเข้ารหัสยีนจำนวนใกล้เคียงกัน นอกจากนี้การดัดแปลงพันธุกรรมในหนูทำได้ค่อนข้างง่ายเพื่อศึกษาต่อการเกิดออกซิเดชันความเครียดโดยการแสดงออกยีนต้านอนุมูลอิสระมากเกินไป (Selman et al., 2013) งานวิจัยหลายชิ้นได้ศึกษาวิธีการได้รับสารต้านอนุมูลอิสระหรือการแสดงออกของสารต้านอนุมูลอิสระมากเกินไป ซึ่งเป็นประโยชน์ในการป้องกันความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน การศึกษาการแสดงออกที่มีมากเกินไปแสดงให้เห็นว่าหนูที่มีแสดงออกมากเกินไป จะมีการลดลงของโรคที่เกี่ยวข้องกับอายุที่เพิ่มขึ้น ในทางตรงกันข้าม SOD ที่แสดงมากเกินไป อาหารเสริมที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี หรือ วิตามินซี ทำให้ความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันลดลงโดยการลดไขมันเปอร์ออกซิเดชัน อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงในความเสียหายของ DNA ออกซิเดชันในเซลล์ตับและลิมโฟไซต์ (Selvaratnam et al., 2015) จากการศึกษาที่กล่าวไว้ก่อนหน้านี้พบว่าก่อนการบำบัดเซลล์สืบพันธุ์ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ EUK-134 ก่อนการรักษาด้วย SIN-1 จะสามารถลดระดับของ ROS ในเซลล์สืบพันธุ์ในหนูเท่านั้น อย่างไรก็ตาม EUK-134 ไม่ได้ส่งผลย้อนกลับการลดลงในการแสดงออกของสารต้านอนุมูลอิสระในเซลล์อสุจิของหนู (Paulina et al., 2020)

ผลจากการศึกษาของ บังอร บำรุงพงษ์ (2551) ทำการศึกษาผลของสารต้านอนุมูลอิสระต่อคุณภาพน้ำเชื้อสดของสุกรพ่อพันธุ์ โดยทำการเสริมสารต้านการเกิดออกซิเดชันในสารละลายน้ำเชื้อ พบว่าการเสริมกลูตาไธโอนที่ระดับความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 มิลลิโมล ส่งผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสูงกว่าทุกกลุ่ม โดยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิสูงกว่า 50% อีกทั้งเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของตัวอสุจิสูงกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และสามารถเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อได้นาน 5 วัน ในการศึกษาของ Zhang et al. (2016) ที่ทำการศึกษาผลการเสริมกลูตาไธโอนต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่เก็บรักษาแช่เย็นที่อุณหภูมิ 17 องศาเซลซียส ในสุกรพ่อพันธุ์ โดยแบ่งระดับความเข้มข้นของกลูตาไธโอน 0, 1, 5, 10, 15 มิลลิโมล/ลิตร ทำการศึกษาการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มพลาสมาและอะโครโซมของตัวอสุจิ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ คือ MDA และ Hydrogen peroxide (H_2O_2) พบว่าการเสริมกลูตาไธโอน 1, 5 และ 10 มิลลิโมล/ลิตร สามารถเพิ่มการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ความสมบูรณ์ของพลาสมาเมมเบรน และสามารถลดปริมาณของมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ ซึ่งการเสริมกลูตาไธโอนที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อสุกรพ่อพันธุ์ได้อีกด้วย

4) สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เป็นโมเลกุลหนึ่งที่มีความสำคัญในการลดการทำงานของปฏิกิริยา ROS และ RNS ในกระบวนการทำงานของอวัยวะต่างๆ ในร่างกาย ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระจะมีบทบาทในการเข้าไปลดไม่ให้อนุมูลอิสระเกิดขึ้น โดยการกำจัดสารอนุมูลอิสระก่อนจะเข้าไปจับกับสารชีวโมเลกุล และป้องกันไม่ให้ออกซิเจนเกิด Reactive species ในร่างกาย (Azzi et al., 2004) สารต้านอนุมูลอิสระสามารถจำแนกได้ 2 ประเภท คือ 1) สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มเอนไซม์ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มแรกที่เข้าไปทำลายอนุมูลอิสระ โดยเร่งปฏิกิริยาให้อนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์เปลี่ยนเป็นไฮโรเจนเปอร์ออกไซด์ด้วยปฏิกิริยา Reduction แล้วหลังจากนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำกับออกซิเจน โดยเอนไซม์คาตาเลส หรือกลูตาไธโอน เพอออกซิเดส ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มนี้ คือ Superoxide dismutase Catalase Glutathione peroxidase และ Glutathione reductase 2) สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมร่างกาย (Metabolic antioxidants) เช่น Lipoic acid Glutathione และ Melatonin เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระจากอาหาร (Nutrient antioxidants)

จะได้มาจากภายนอกร่างกาย เนื่องจากเป็นสารประกอบที่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ เช่น วิตามินอี วิตามินซี แคโรทีนอยด์ เป็นต้น

กลไกการเกิดการต้านอนุมูลอิสระ เกิดขึ้นเมื่อสารต้านอนูมลอิสระเข้าไปทำลายอนุมูลอิสระ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระจะเป็นตัวรีดิวซ์ บทบาทหน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระแบ่งได้ 2 วิธี คือ การตัดลูกโซ่ เช่น การยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน และวิธีการป้องกัน เช่น การทำงานของ Superoxide dismutase Catalase และ Glutathione peroxidase ในการป้องกันการเกิดสภาวะออกซิเดชัน

ก. Superoxide dismutase เป็นเอนไซม์ที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ทั้งภายในและภายนอกเซลล์ (Agarwel & Prabakaran, 2005) โดยการเปลี่ยนซุปเปอร์ออกไซด์ให้กลายเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หลังจากนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะถูกทำลายโดยเอนไซม์ Glutathione peroxidase (Mates & Sanchez, 1999) ซึ่งโดยปกติเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดจะทำงานในการกำจัดอนุมูลอิสระในร่างกาย และคุณสมบัติที่สำคัญของเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมูเทส คือ การป้องกันการเกิดเอนไซม์ดีไฮดราเลส (Dehydralase) ไม่ให้ยับยั้งการทำงานโดยอนุมูลซุปเปอร์ออกไซด์ (Agarwel & Prabakaran, 2005) ซึ่งเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมูเทส ระหว่างเซลล์ เป็นเอนไซม์ที่มีองค์ประกอบ คือ คอปเปอร์ ซิงค์ และไกลโคโปรตีน ซึ่งเอนไซม์นี้จะไม่ถูกเหนี่ยวนำโดยอนุมูลอิสระชนิดอื่น แต่จะถูกควบคุมโดยสารเฉพาะต่ออนุมูลอิสระเท่านั้น

ข. Glutathione peroxidase เป็นเอนไซม์ที่มีซีลีเนียมเป็นองค์ประกอบ โดยมีบทบาทหน้าที่ในการป้องกันเซลล์ของสัตว์จากสภาวะเครียดออซิเดชัน อีกทั้งยังสามารถป้องกันการเกิด Lipid peroxidation ในเยื่อหุ้มเซลล์ได้ นอกจากนี้เอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสยังสามรถทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อีกด้วย (Agarwel & Prabakaran, 2005) การเกิดกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสในเซลล์และไมโทรคอนเดีย เป็นการเกิดขึ้นระหว่างกรดไขมัน Hydroperoxides และไฮโดรเจนปอร์ออกไซด์ที่สัมผัสกับ กลูตาไธโอน

2.8 ฮอร์โมนคอติซอล

ฮอร์โมนคอร์ติซอล (Cortisol) เป็นฮอร์โมนที่จัดอยู่ในกลุ่มสเตอร์รอยฮอร์โมน (Steroid hormone) มี โครงสร้างคล้ายโคเลสเตอรอล (Cholesterol) ที่ถูกขับจากต่อมหมวกไตส่วนนอก (Adrenal cortex) ซึ่งบทบาทของต่อมหมวกไตส่วนนอกนี้ ทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนคอร์ติคอย

(Corticoid hormone) เป็นกลุ่มฮอร์โมนที่ประกอบด้วยกลูโคคอร์ติคอยฮอร์โมน (Glucocorticoid hormone) เช่น คอร์ติซอล และ Corticosterone (เพทาย พงษ์เพียจันทร์, 2538) ซึ่งในการขนส่งฮอร์โมนคอร์ติคอยไปยังอวัยวะเป้าหมายมีความจำเป็นต้องมีโปรตีนพลาสมาช่วยในการขนส่ง ในการควบคุมการสังเคราะห์ฮอร์โมนคอร์ติคอยเกิดจากการทำงานของ อะดรีโนคอร์ติโคโทรฟิคฮอร์โมน (Adrenocorticotrophic hormone; ACTH) ในลักษณะ Negative feedback คือ กลูโคคอร์ติคอยที่ผลิตจากต่อมหมวกไตส่วนนอกจะไปยับยั้งการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติโคโทรฟิน รีเลสซิงฮอร์โมน (Corticotrophinreleasing hormone; CRH) ส่งผลให้ลดการหลั่ง ACTH จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า นอกจากนั้นกลูโคคอร์ติคอยยังคงมีผล Negative feedback ต่อต่อมใต้สมองโดยตรง นอกจากนี้การควบคุมระดับกลูโคคอร์ติคอย มีปัจจัยจากระยะเวลาของวันมาเกี่ยวข้องด้วย คือ ในกลางคืนระดับคอร์ติซอลจะมีระดับที่ต่ำกว่าในกลางวัน (เพทาย พงษ์เพียจันทร์, 2538) ซึ่งปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อคอร์ติซอล คือ ความเครียด โดยเมื่อร่างกายได้รับความเครียดจะกระตุ้นการทำงานของแกน HPA-axis จะส่งทำให้มีระดับคอร์ติซอลเพิ่มขึ้น ซึ่งฮอร์โมนนี้จะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงที่มีอิทธิพลต่อการทำงานของระบบประสาท เมื่อร่างกายมีความเครียดมากเกินไปจะเกิดการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลออกมาในเลือด และน้ำลายอีกด้วย ซึ่งหากปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลมีมากเกินไปจะส่งผลกระทบต่อสมอง กระบวนการทำงานของเซลล์ประสาท ยับยั้งประสิทธิภาพการส่งข้อมูลระหว่างเซลล์สมอง ทำลายเซลล์สมองและใยประสาท และอาจทำให้เซลล์ประสาทตาย (Vedhara, 2003)

กลไกการทำงานของคอร์ติซอล จากการรายงานของ สายลม เกิดประเสริฐ และคณะ (2547) กล่าวว่าเมื่อมีภาวะกดดันหรือความเครียดต่อสัตว์ร่างกายจะมีการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอลส่งผลทำให้ร่างกายสัตว์ความดันโลหิตสูงและหัวใจเต้นเร็ว สัตว์จะมีอาการตื่นตัว กล้ามเนื้อสั่น เกร็ง มีอุณหภูมิร่างกายสูง ซึ่งมีสาเหตุมาจากอุณหภูมิ ความหิว ความกระหาย ความกดดัน อีกทั้งจากการรายงานของ เพทาย พงษ์เพียจันทร์ (2538) ได้รายงานการออกฤทธิ์ของฮอร์โมนคอร์ติซอล ดังนี้

(1) กระตุ้นการผลิตกลูโคส (Gluconeogenesis) ขึ้นที่ตับ

(2) เพิ่มการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนให้เป็นคาร์โบไฮเดรต ทำให้ตับมีไกลโคเจนเพิ่มขึ้นเป็นแหล่งของ กลูโคสในเลือดต่อไป นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ยับยั้งการนำกลูโคสเข้าเซลล์ โดยเฉพาะเซลล์กล้ามเนื้อ และเซลล์ไขมัน (Adipose tissue)

(3) เพิ่มการสลายไขมัน (Lipolysis)

(4) ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน และเพิ่มการสลายโปรตีน เพื่อให้ได้พลังงานไปสนับสนุนการผลิต กลูโคสจากกรดอะมิโนที่ได้จากการสลายโปรตีน ดังนั้นการทำงานของฮอร์โมนคอร์ติคอยอย่างต่อเนื่องจะทำให้มีปัญหากล้ามเนื้อลีบ และกระดูกผุกร่อน

(5) กระตุ้นให้ไตมีการขับน้ำมากขึ้น เนื่องจากไปยับยั้งการทำงานของ ADH

(6) ยับยั้งการเกิดการอักเสบ โดยการทำให้เส้นเลือดฝอยขยายตัว มีของเหลวออกสู่เนื้อเยื่อ มีเม็ดเลือดขาวมาที่บริเวณเกิดการอักเสบ

ผลจากการศึกษาสภาวะความเครียดในการเลี้ยงสัตว์ เมื่อสัตว์มีความเครียดจะไปกระตุ้นการทำงานของสมองส่วนไฮโปธาลามัส ต่อมใต้สมอง และต่อมหมวกไต โดยเริ่มต้นจากฮอร์โมนคอร์ติโคโทรปิน รีลิสซิงฮอร์โมน ที่สมองส่วนไฮโปธาลามัส ไปกระตุ้นการหลั่ง แอดรีโนคอร์ติโคทรอพิกฮอร์โมนที่ต่อมใต้สมอง ซึ่งจะไปกระตุ้นต่อมหมวกไตให้สร้างฮอร์โมนคอร์ติซอล (Tsigos et al., 2002) ซึ่งฮอร์โมนคอร์ติซอลที่ถูกสร้างขึ้นจากสภาวะความเครียดจะมีผลต่อการทำงานในหลายระบบของร่างกายรวมถึงระบบสืบพันธุ์ (Chrousos, 2009) และการศึกษาก่อนหน้าของ Breen et al. (2005) และ Cates et al. (2004) พบว่าความเข้มข้นของฮอร์โมนคอร์ติซอลที่สูงขึ้นสัมพันธ์กับการลดลงของฮอร์โมน GnRH และ LH ซึ่งส่งผลทำให้ระบบสืบพันธุ์ทำงานผิดปกติ ไม่เกิดการตกไข่ในแกะเพศเมีย เมื่อลองชักนำให้เกิดสภาวะความเครียด เช่น การให้สารพิษจำพวก (Lipopolysaccharide; LPS) การบังคับสัตว์ (Restrain) หรือการทำให้เกิดภาวะระดับน้ำตาลในเลือดต่ำ (Hypoglycemia) ภายใต้ภาวะเครียดเหล่านี้ ล้วนส่งผลให้การหลั่ง LH ลดลง (Grachev et al., 2013 & Kinsey-Jones et al., 2009)

2.9 การผสมเทียมสุกร

การผสมเทียม (Artificial insemination; AI) มีความสำคัญอย่างมากสำหรับกระบวนการผลิตสุกร ในสุกรพ่อพันธุ์การผลิตน้ำเชื้อที่มีคุณภาพจะส่งผลดีต่อวงจรการผลิตสุกร ซึ่งน้ำเชื้อที่มีคุณภาพจะต้องปราศจากเชื้อโรคติดต่อ มีคุณสมบัติที่ดีในการเก็บรักษาน้ำเชื้อ คือ สุกรพ่อพันธุ์มีลักษณะพันธุกรรมที่ดี (Conlenbrander et al., 1993) ในปัจจุบันการผสมเทียมสุกรจึงเป็นวิธีการโดยทั่วไปที่เลือกใช้ เพื่อลดความเสี่ยงโรคติดต่อ อีกทั้งการผสมเทียมยังสามารถลดการใช้พ่อพันธุ์ลงได้และกระจายน้ำเชื้อได้จำนวนมากกว่าการผสมจริง โดยอัตราน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกรอยู่ที่ 1:70-100 แม่พันธุ์ (Conlenbrander et al., 1990) ดังนั้นการผสมเทียมจึงเป็นสิ่งสำคัญต่อวงจรการผลิตสุกร

นอกจากนี้สิ่งหนึ่งที่สำคัญอย่างยิ่งในการผสมเทียม คือ ขั้นตอนการรีดน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ที่มีสุขภาพร่างกายที่แข็งแรง การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ การบรรจุ และการเก็บรักษาน้ำเชื้อทั้งระยะเวลาสั้นและระยะยาว การผสมเทียมจึงเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการเพิ่มการผลิตสัตว์ในฟาร์ม (ศรีสุวรรณ สมชัย, 2542)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมีในการทดลอง

1) วัสดุ อุปกรณ์

(1) กระบอกรีดน้ำเชื้อ และกระดาษกรองน้ำเชื้อ (Pronchai intertrade limited partnership, Thailand)

(2) เครื่องชั่งดิจิตอล ทศนิยมสองตำแหน่ง (Precisa Model BJ2200C, Switzerland)

(3) เครื่องตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ รุ่น Dynamic-WLJY 9000 (Pronchai intertrade limited partnership, Thailand)

(4) บีกเกอร์ขนาด 3000 และ 1000 มิลลิลิตร

(5) กล้องจุลทรรศน์ รุ่น B-350 (Optika, Italy)

(6) เทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิ 0-100 องศาเซลเซียส

(7) Water bath รุ่น WNB 7 (Memmert GmbH, Co.KG, Germany)

(8) Micropipette 10-100 ไมโครลิตร และ Micropipette tips (Joanlab, China)

(9) กระจกสไลด์ และกระจกปิดสไลด์

(10) เครื่องปั่นเหวี่ยง รุ่น CF-10 (Wise spin, Germany)

(11) ถุงมือแพทย์ แบบยางไม่มีแป้ง ไซส์ M (Progloves, Thailand)

(12) Microcentrifuge tubes 1.5 ml (Gibthai, Thailamd)

(13) หลอดเก็บตัวอย่างเลือดแบบ Clot blood 5 มิลลิลิตร (PP Dealing Group Co., LTD, Thailand)

(14) ไซริงส์ 10 ml (Nipro sales (Thailand) Co., LTD, Thailand)

(15) เข็มฉีดยา เบอร์ 18Gx1.5 นิ้ว (Nipro sales (Thailand) Co., LTD, Thailand)

(16) ตู้อบลมร้อน (Memmert GmbH, Co.KG, Germany)

(17) ตู้เย็นเก็บรักษาน้ำเชื้อ 15-17 องศาเซลเซียส

(18) เครื่องอุ่นแผ่นสไลด์ (Pronchai intertrade limited partnership, Thailand)

(19) หลอดบรรจุน้ำเชื้อ ขนาด 100 มิลลิลิตร (Pronchai intertrade limited partnership, Thailand)

(20) เครื่องบดอเนกประสงค์ ยี่ห้อ (We2perfect, China)

(21) กล้องบันทึกวิดิโอ (Hillook DVR-216G-F1, Thailand)

(22) เครื่องตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนสารมาตรฐานที่ใช้ Testosterone calibrator (Alinity, Abbott Ltd, USA)

(23) ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป สารต้านอนุมูลอิสระ SOD และ GPx (#65354, Superoxide Dismutase Activity Assay Kit ; #102530, Glutathione Peroxidase Assay Kit, Biomed Co., LTD, USA)

(24) เครื่องตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลสารมาตรฐานที่ใช้ Cortisol calibrator รุ่น Ci 4100 (Alinity, Abbott Ltd, USA)

2) สารเคมี

(1) สารละลายน้ำเชื้อสุกรสำหรับเก็บรักษาตัวอสุจิได้ 5-7 วัน ยี่ห้อ D-Max Gold (Cobiporc, France)

(2) น้ำกลั่นบริสุทธิ์ (Leecierhuad, LTD.)

(3) สีย้อม Eosin-nigrosin (Pronchai intertrade limited partnership, Thailand)

3.2 ตัวอย่าง และการเตรียมตัวอย่างการทดลอง

ในการศึกษาที่ 1 และ 2 ใช้ตัวอย่างจากผลพลอยได้การผลิตเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นวัตถุดิบหลัก คือ ฐานเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris* spent mushroom substrate; CM-SMS) ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ไฮกู๊ดส์ โปรดักท์ จำกัด จังหวัดฉะเชิงเทรา ที่มีสารสำคัญสามารถนำมาใช้แปรรูปเป็นอาหารสัตว์ได้ คือ คอร์เดซิปิน และอะดีโนซิน จากผลการทดสอบตัวอย่างฐานถั่งเช่าสีทองชุดที่นำมาใช้สำหรับการทดลองในครั้งนี้ ผ่านการวิเคราะห์โดยวิธี HPLC พบว่ามีสารคอร์เดซิปิน 1,053.65 มิลลิกรัม/100 กรัม และสารอะดีโนซีน 103.06 มิลลิกรัม/100 กรัม (ณัฐชัย พงษ์ประเสริฐ, 2562) อีกทั้งในส่วนการศึกษาที่ 2 ใช้ตัวอย่าง CM-SMS เป็นวัตถุดิบหลักผสมกับ L-carnitine (L-

tartrate 99%) (Nutrakey Co., LTD, USA) หลังจากนั้นนำ CM-SMS บดวัตถุดิบละเอียดด้วยเครื่องบดอเนกประสงค์ ได้วัตถุดิบอนุภาคขนาด 100 Mesh โดยสุกรพ่อพันธุ์ทุกตัวจะได้รับอาหารพื้นฐานตามคะแนนความสมบูรณ์ของร่างกาย ดังแสดงใน **ตาราง 1** และให้วัตถุดิบในรูปแบบอาหารโรยหน้าอาหาร (Topping)

การศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสำคัญที่มีในฐานถั่งเช่าสีทอง ที่นำไปเป็นอาหารเสริมในพ่อพันธุ์สุกร ทำการคัดเลือกพ่อพันธุ์สายพันธุ์ดูร็อค จำนวน 18 ตัว ทำ 6 ซ้ำๆ ละ 1 ตัว น้ำหนักสุกรเฉลี่ย 280±0.5 กิโลกรัม อายุเฉลี่ย 104-156 สัปดาห์ โดยใช้เกณฑ์ในการคัดเลือกพ่อพันธุ์สุกรที่มีสุขภาพร่างกายแข็งแรง และมีคุณภาพน้ำเชื้อที่ดีมากกว่า 80% วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD)

การทดลองที่ 2 การพัฒนาอาหารเสริมเพิ่มประสิทธิภาพพ่อพันธุ์สุกรที่ใช้ฐานถั่งเช่าสีทองเป็นวัตถุดิบหลักผสมกับ L-carnitine โดยการจัดกลุ่มการทดลอง สายพันธุ์สุกร จำนวนสุกร จำนวนซ้ำ อายุเฉลี่ย น้ำหนักเฉลี่ย และการวางแผนการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ตาราง 1 The chemical composition of boar diet

Items	The composition
Ash (g/100 g)	7.88
Carbohydrate (g/100 g)	53.72
Crude fiber (g/100 g)	14.18
Energy (kcal/100 g)	355.83
Fat (g/100 g)	7.51
Moisture (g/100 g)	12.55
Protein (g/100 g)	18.34

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การทดลองที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสำคัญที่มีในฐานถั่งเช่าสีทอง ที่นำไปเป็นอาหารเสริมในสุกรพ่อพันธุ์

1) สัตว์ทดลอง และกลุ่มการทดลอง

การทดลองนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์ทดลองทางวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยนเรศวร NU-AG630103 ทำการคัดเลือกพ่อพันธุ์ดูร็อค จำนวน 18 ตัว แบ่งกลุ่มการทดลอง 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารพื้นฐาน (กลุ่มที่ไม่มีการเสริม CM-SMS) กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่ได้รับอาหารพื้นฐานและเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน ที่มีปริมาณสารคอร์เดซิปิน 158.05 มิลลิกรัม/ตัว/วัน และสารอะดีโนซีน 15.46 มิลกรัม/ตัว/วัน กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ได้รับอาหารพื้นฐานและเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ที่มีปริมาณสารคอร์เดซิปิน 316.10 มิลลิกรัม/ตัว/วัน และสารอะดีโนซีน 30.92 มิลกรัม/ตัว/วัน ระยะการทดลอง 8 สัปดาห์ สุกรทุกตัวมีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรง เลี้ยงในคอกขังเดี่ยว ระบบโรงเรือนปิดที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 26.0-28.0 องศาเซลเซียส โดยสุกรทุกตัวจะได้รับอาหารพื้นฐาน 2.0-2.5 กิโลกรัม ตามคะแนนความสมบูรณ์ของร่างกาย (Body condition score; BCS) และมีน้ำให้ดื่มตลอดเวลา โดยการเสริม CM-SMS ให้ในรูปแบบผงโรยบนหน้าอาหาร (Topping) ที่ได้รับการสนับสนุนจาก บริษัท ไฮกู๊ดส์โปรดักส์ จำกัด จังหวัดฉะเชิงเทรา

ภาพ 6 The characteristics of the house and pen

2) วิธีการทดลอง และเก็บข้อมูล

(1) การวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ

รีดเก็บน้ำเชื้อสุกรพ่อพันธุ์ทุกตัว โดยทำการรีดเก็บน้ำเชื้อ 1 ครั้งต่อสัปดาห์ ด้วยวิธีการรีดน้ำเชื้อโดยใช้มือบีบปลายลึงค์ (Glove hand method) การเก็บข้อมูลแบ่งเป็น 2 ช่วง คือ รีดเก็บน้ำเชื้อสัปดาห์ที่ 0 (สัปดาห์ก่อนการทดลอง) และสัปดาห์ที่ 1-8 (สัปดาห์การทดลอง) ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการรีดคือ ปริมาตร (Semen volumes) ด้วยเครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยมสองตำแหน่ง ความเข้มข้นของตัวอสุจิ (Sperm concentrations) จำนวนตัวอสุจิทั้งหมด (Total sperm) การเคลื่อนที่ และทิศทางการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ได้แก่ อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยเป็นแนวตรงเทียบกับการเคลื่อนที่จริงของตัวอสุจิ Average path velocity (VAP) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นแนวโค้งของตัวอสุจิ Curvilinear velocity (VCL) อัตราเร็วในการเคลื่อนที่เป็นเส้นตรงจากจุดเริ่มต้นถึงจุดสุดท้ายของตัวอสุจิ Straight line velocity (VSL) และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า (Progressive motility) ประเมินด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ (Color swine sperm analysis system) และตรวจลักษณะรูปร่างสัณฐาน รูปร่างผิดปกติของตัวอสุจิ (Sperm abnormal) โดยวิธีการย้อมสี Eosin-nigrosine ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 1000 เท่า

(2) การวิเคราะห์ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน

สุ่มเลือกสุกรพ่อพันธุ์ 6 ตัว/กลุ่ม เก็บตัวอย่างเลือด 10 มิลลิลิตร/ตัว ภายหลังสิ้นสุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 8 ระหว่างวันที่ 26 ตุลาคม ถึง 1 พฤศจิกายน 2563 โดยทำการเจาะเลือดบริเวณหลอดเลือดดำ (External jugular vein) นำตัวอย่างเลือดเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วดูดเก็บส่วนเซรัม ปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 10000 rpm เวลา 5 นาที แล้วนำเก็บรักษาในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปตรวจหาปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน ด้วยหลักการ (Electrochemiluminescence immunoassay; ECLIA)

(3) วิเคราะห์พฤติกรรมทางเพศ

คัดเลือกสุกรพ่อพันธุ์จำนวน 12 ตัว เก็บข้อมูล 4 ตัว/กลุ่ม โดยทำการติดตั้งกล้องบันทึกวิดิโอ 2 ตัว/สุกรพ่อพันธุ์ 1 ตัว ติดตั้งบริเวณด้านหน้าและด้านหลังของคอกเดี่ยว และติดตั้งกล้องบริเวณคอกรีดน้ำเชื้อ ด้านหน้า ด้านข้าง และด้านหลังของคอกรีด บันทึกข้อมูลพฤติกรรมตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวันที่มีการรีดเก็บน้ำเชื้อเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ การเก็บข้อมูล

แบ่งเป็น 2 ระยะ คือ ระยะก่อนการทดลอง (0 สัปดาห์) และระยะการทดลอง (1-8 สัปดาห์) ทำการบันทึกพฤติกรรมที่แสดงออกพฤติกรรมทางเพศ คือ ความถี่พฤติกรรมการสำเร็จความใคร่ (Masturbate frequency) ครั้ง/วัน พฤติกรรมสำเร็จความใคร่ (Masturbate) นาที/วัน และความถี่พฤติกรรมความกำหนัด (Libido frequency) ครั้ง/วัน พฤติกรรมความกำหนัด (Libido) นาที/วัน ในช่วงระยะเวลาก่อนการหลั่งน้ำเชื้อ และระยะเวลาการหลั่งน้ำเชื้อ

3) การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลแบบ one-way ANOVA โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS version 20 ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน และการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองวิธีการ Duncan's ในการวิเคราะห์พฤติกรรมทางเพศ ซึ่งค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองถือว่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P \leq 0.05$)

3.3.2 การทดลองที่ 2 การพัฒนาอาหารเสริมเพิ่มประสิทธิภาพพ่อพันธุ์สุกรที่ใช้ฐานถั่วเช่าสีทองเป็นวัตถุดิบหลักผสมกับแอล–คาร์นิทีน

1) สัตว์ทดลอง และกลุ่มการทดลอง

การทดลองนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการดำเนินการต่อสัตว์ทดลองทางวิทยาศาสตร์ สัตว์ทดลอง สุกรพ่อพันธุ์ดูร็อค อายุ 104-156 สัปดาห์ กลุ่มการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ แบ่งกลุ่มการทดลองเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1: กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 : กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน (ระดับที่เหมาะสมจากการศึกษาที่ 1) และกลุ่มที่ 3 : กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน ระยะการทดลอง 8 สัปดาห์ เลี้ยงสุกรในคอกขังเดี่ยว ระบบโรงเรือนปิดที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 26.0-28.0 องศาเซลเซียส โดยสุกรทุกตัวจะได้รับอาหารพื้นฐาน 2.0-2.5 กิโลกรัม ตามคะแนนความสมบูรณ์ของร่างกาย (Body condition score; BCS) และสุกรพ่อพันธุ์ได้รับน้ำอย่างไม่จำกัด วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD)

2) วิธีการทดลอง และเก็บข้อมูล

การเก็บข้อมูล การวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อเช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 1

(1) การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

เก็บตัวอย่างเลือดสุกรพ่อพันธุ์ทุกตัวบริเวณ (External jugular vein) ตัวละ 10 มิลลิลิตร ภายหลังสิ้นสุดการทดลอง นำส่วนใสปั่นเหวี่ยงแยกซีรัม โดยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ตามชุดทดสอบสำเร็จรูป ที่ 1200 rpm เวลา 15 นาที และ 10000 rpm เวลา 10 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์ฮอร์โมนคอร์ติซอล โดยใช้หลักการ (Electrochemiluminescence immunoassay analyzer; ECLIA) และเพื่อนำไปวิเคราะห์ปฏิกิริยาของการเกิดการต้านอนุมูลอิสระ คือ Superoxide dismutase (SOD) และ Glutathione peroxidase (GPx) ด้วยวิธี Colorimetric ที่ความยาวคลื่นแสง 340 และ 450 นาโนเมตร ตามลำดับ ด้วยเครื่อง ELIZA microplate reader หลังจากนั้นคำนวณหาระดับสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันตามคำแนะนำของผลิตภัณฑ์ ได้ดังนี้

ก. Glutathione peroxidase (GPx)

$$\Delta A_{340}\text{nm} = [(\text{sample A1} - \text{sample A2}) - (\text{Reagent control A1} - \text{Reagent control A2}$$

ใช้ **Δ**_A340 nm กับเส้นโค้งมาตรฐาน NAPDH เพื่อรับ NADPH จำนวน B

$$B = \frac{\Delta A_340nm - intercept}{Slope}$$

ความเข้มข้นของ GPx ในตัวอย่างทดสอบคำนวณโดย (nmol/min/mL=mU/mL):

$$GPx\ Activity = \frac{B}{(T2 - T1) \times V} \times D$$

B = ปริมาณ NADPH ที่ลดลงระหว่าง T1 และ T2 (nmol)

T1 = เวลาของการอ่านครั้งแรก (A1) (นาที)

T2 = เวลาอ่านวินาที (A2) (นาที)

V = ปริมาตรตัวอย่างสำเร็จรูปที่เติมลงในหลุมปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)

D = ปัจจัยการเจือจางตัวอย่าง

นิยามหน่วย: หนึ่งหน่วยถูกกำหนดให้เป็นปริมาณของเอนไซม์ที่จะทำให้เกิดออกซิเดชัน 1 ไมโครโมลของ NADPH ถึง $NADP^+$ ภายใต้เงื่อนไขชุดทดสอบต่อนาทีที่ 25 องศาเซลเซียส

ข. Superoxide dismutase (SOD)

คำนวณการทำงานของ SOD (% อัตราการยับยั้ง) โดยใช้สมการต่อไปนี้

$$SOD\ Activity\ (inhibition\ reat\ \%) = \frac{(Ablank1 - Ablank2) - (Asample - Ablank2)}{(Ablank1 - Ablank3)} \times 100$$

A = Absorbance

(2) การวิเคราะห์พฤติกรรมทางเพศ

คัดเลือกสุกรพ่อพันธุ์จำนวน 12 ตัว เก็บข้อมูลจำนวน 4 ตัว/กลุ่ม โดยทำการติดตั้งกล้องบันทึกวิดิโอจำนวน 2 ตัว/สุกรพ่อพันธุ์ 1 ตัว ติดตั้งบริเวณด้านหน้าและด้านหลังของคอกเดี่ยว และติดตั้งกล้อง บริเวณคอกรีดน้ำเชื้อ ด้านหน้า ด้านข้าง และด้านหลังของคอกรีด บันทึกข้อมูลพฤติกรรมตลอดระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในวันที่มีการรีดเก็บน้ำเชื้อเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ การเก็บข้อมูลแบ่งเป็น 2 ระยะ คือ ระยะก่อนการทดลอง (0 สัปดาห์) และระยะการทดลอง (1-8 สัปดาห์) ทำการบันทึกพฤติกรรมพื้นฐาน (Standard behavior) ได้แก่ การกิน (Eating) การเดิน (Walking) การยืน (Standing) การนอน (Sleeping) การนั่ง (Sitting) ปัสสาวะ (Urinate) อุจจาระ(Defecate) พฤติกรรมสเตอริโอไทป์ (Stereotype behavior) ได้แก่ การดูแลตัวเอง (Self-care) การเล่นอุปกรณ์ให้น้ำ (Watering nipple playing) การเคี้ยวหลอก (Sham chewing) การกัดแท่งเหล็ก (Bar

biting) พฤติกรรมที่แสดงออกพฤติกรรมทางเพศ ได้แก่ พฤติกรรมการสำเร็จความใคร่ และพฤติกรรมความกำหนัด ในช่วงระยะเวลาก่อนการหลั่งน้ำเชื้อ และระยะเวลาการหลั่งน้ำเชื้อ

3) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธี one-way ANOVA โปรแกรม SPSS Version 20 ในการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ สารต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์ค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P \leq 0.05$) ในระหว่างกลุ่มทดลอง อีกทั้งในข้อมูลพฤติกรรมวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มการทดลองด้วยวิธีการของ Duncan’s

3.4 สถานที่ทำการวิจัย และเก็บรวบรวมข้อมูล

1) สถานที่ทดลอง ณ ฟาร์มสุกรพันธุ์เขาน้ำสุด อำเภอพรหมพิราม จังหวัดพิษณุโลก (บริษัท เบทาโกรเกษตรอุตสาหกรรม จำกัด)

2) ห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ ศูนย์ปฏิบัติการวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

3) ห้องปฏิบัติการทดลอง คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

3.5 ระยะเวลาในการดำเนินงานวิจัย

ระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2563 - มกราคม พ.ศ. 2564

บทที่ 4

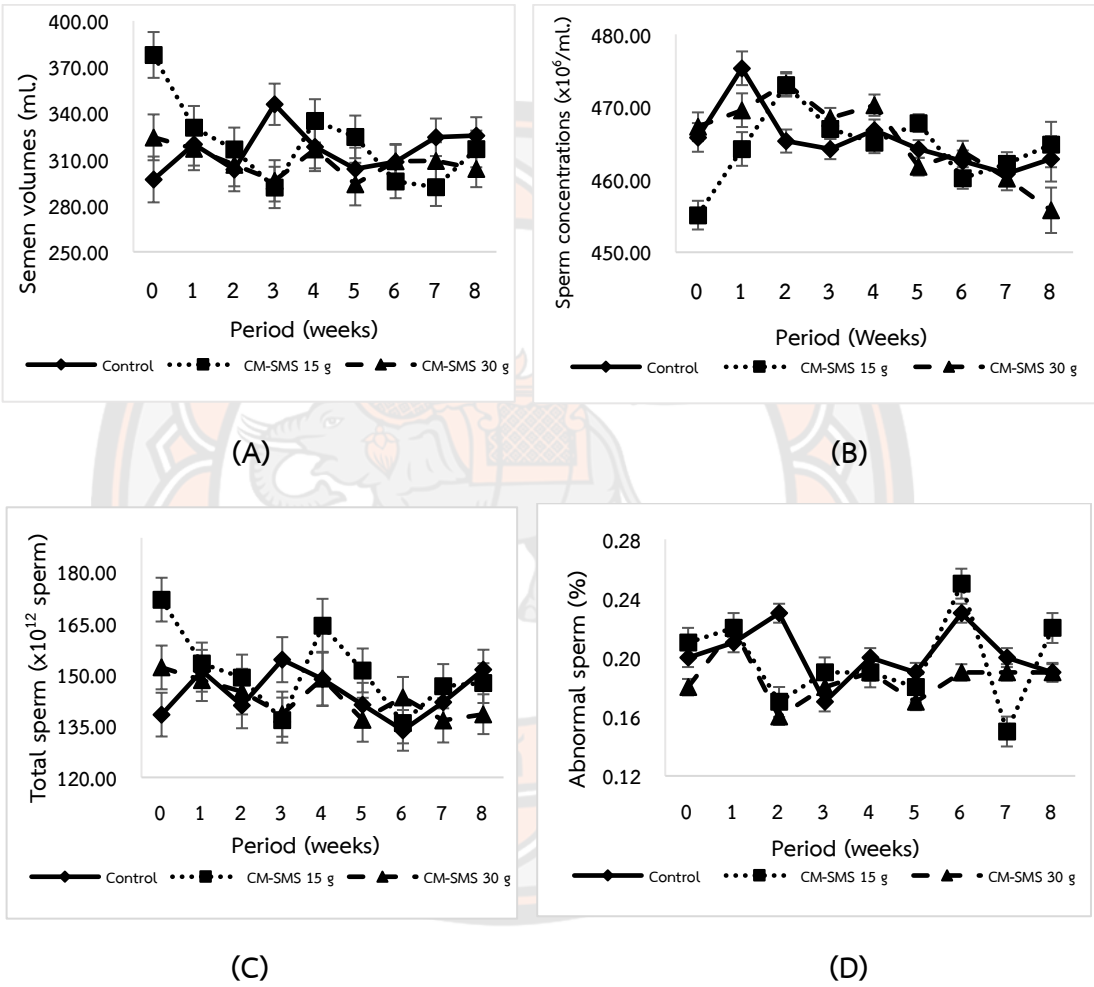
ผลการวิจัย

4.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสำคัญที่มีในฐานถั่งเช่าสีทองที่นำไปเป็นอาหารเสริมในสุกรพ่อพันธุ์

4.1.1 คุณภาพของน้ำเชื้อ

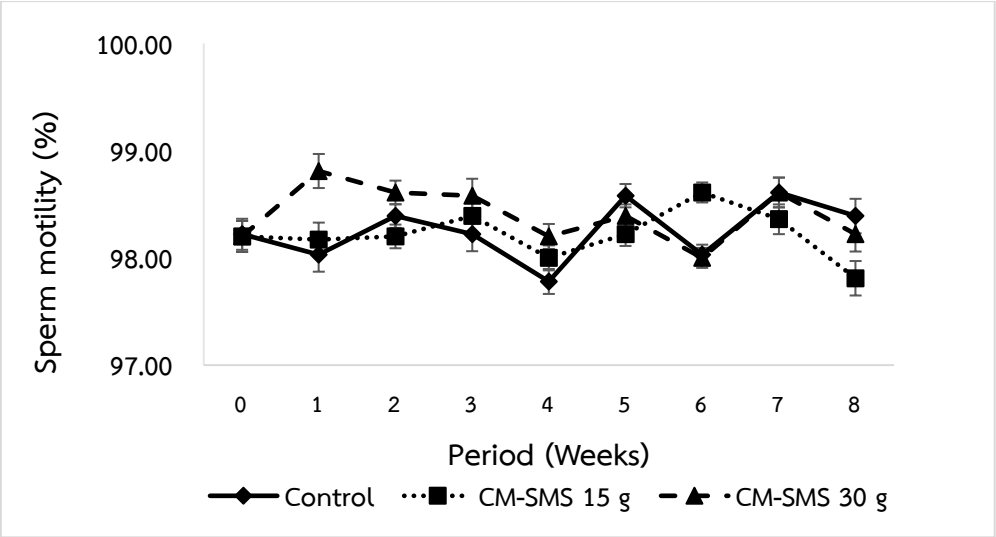
จากการศึกษาผลของการเสริม CM-SMS ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันต่อคุณภาพน้ำเชื้อในสุกรพ่อพันธุ์ ได้แก่ 1) กลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารพื้นฐาน (ไม่มีการเสริม CM-SMS) 2) กลุ่มที่ได้รับอาหารพื้นฐานและเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน 3) กลุ่มที่ได้รับอาหารพื้นฐานและเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จากผลการทดลองพบว่าสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ แบบ VCL เพิ่มขึ้น 64.28 ± 6.81^{a} เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน เท่ากับ 61.83 ± 3.76^{ab} และ 55.53 ± 5.75^{b} ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) ในสัปดาห์ที่ 7 ในส่วนของการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ VSL เท่ากับ 34.20 ± 1.17^{a} เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน เท่ากับ 29.97 ± 3.34^{b} และ 30.39 ± 1.02^{b} ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 2 ($P\leq0.05$) และในสัปดาห์ที่ 7 ยังคงมีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) ของ VSL เท่ากับ 35.03 ± 2.83^{a} เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน เท่ากับ 31.87 ± 3.50^{ab} และ 29.64 ± 2.50^{b} ตามลำดับ อีกทั้งสุกรพ่อพันธุ์ที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) ของ VAP เท่ากับ 40.83 ± 3.19^{a} เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน เท่ากับ 37.73 ± 3.53^{ab} และ 35.42 ± 3.44^{b} ตามลำดับ ดังแสดงใน **ภาพ 9** อีกทั้งผลของการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ยังคงส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวไปข้างหน้าของตัวอสุจิ 61.62 ± 4.26^{a} เพิ่มขึ้นกว่ากลุ่มควบคุม 50.37 ± 1.52^{b} และกลุ่มการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน 52.31 ± 3.26^{b} ในสัปดาห์ที่ 8 อย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) ดังแสดงใน **ภาพ 8** แต่อย่างไรก็ตามการเสริม CM-SMS ที่

ระดับ 15 และ 30 กรัม/ตัว/วัน ไม่มีค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) ตลอดระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ สำหรับปริมาตรน้ำเชื้อ ความเข้มข้นของอสุจิ จำนวนอสุจิทั้งหมด เปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของตัวอสุจิ และรูปร่างสัณฐานความผิดปกติของตัวอสุจิเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ดังแสดงใน **ภาพ 7**

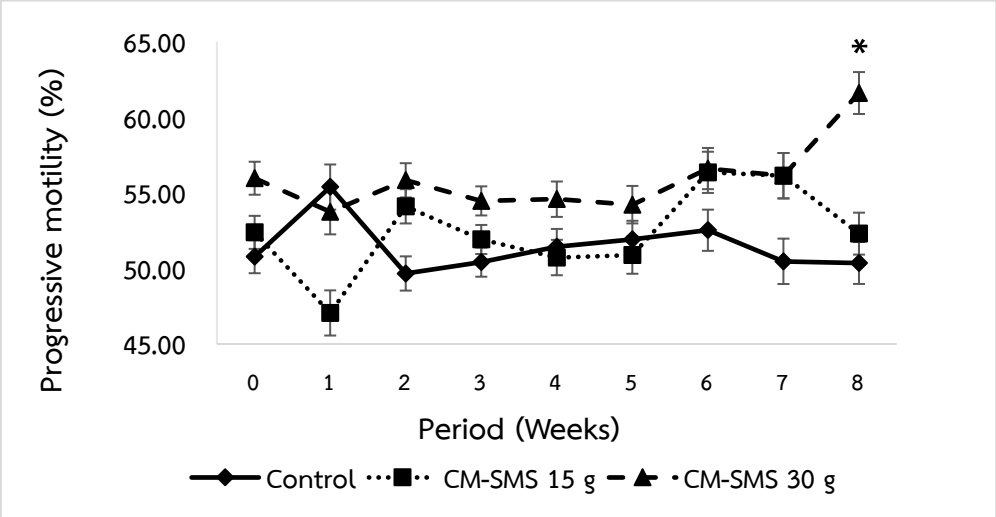


ภาพ 7 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on semen volumes (A), sperm concentrations (B), total sperm (C) and abnormal sperm (D) of boars

Note: *Means ± standard error with different superscript is significantly different of sperm quality (P≤0.05).



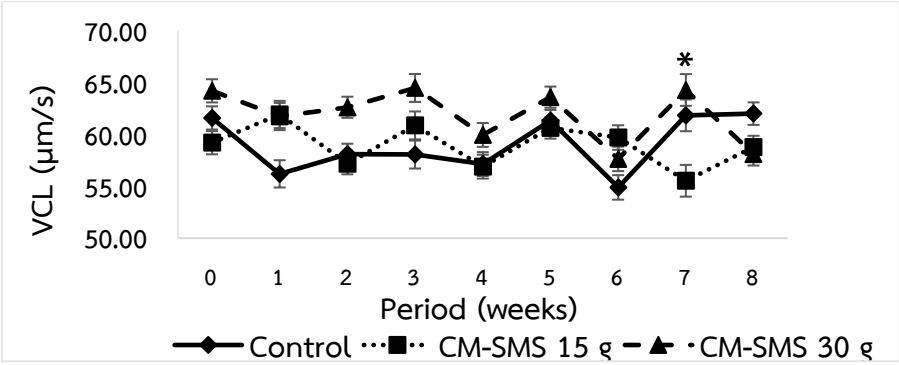
(A)



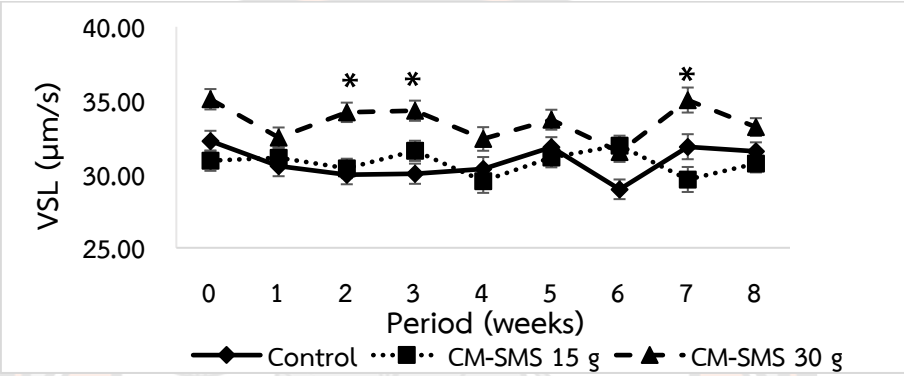
(B)

ภาพ 8 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on sperm motility (A) and progressive motility (B) of boars spermatozoa

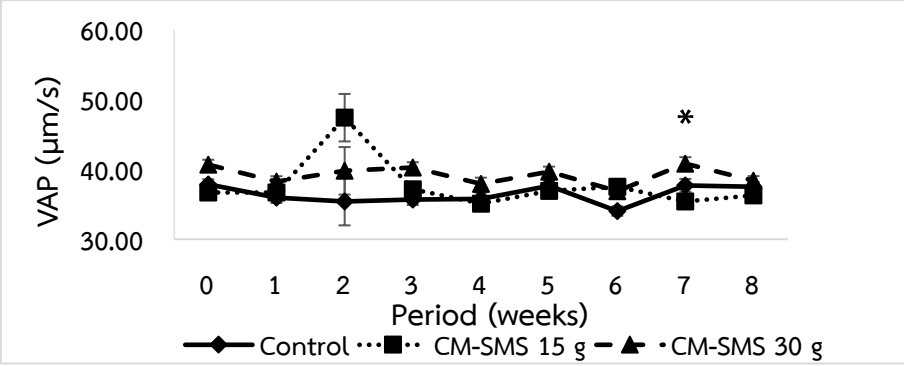
Note: *Means ± standard error with different superscript is significantly different of sperm quality (P≤0.05).



(A)



(B)



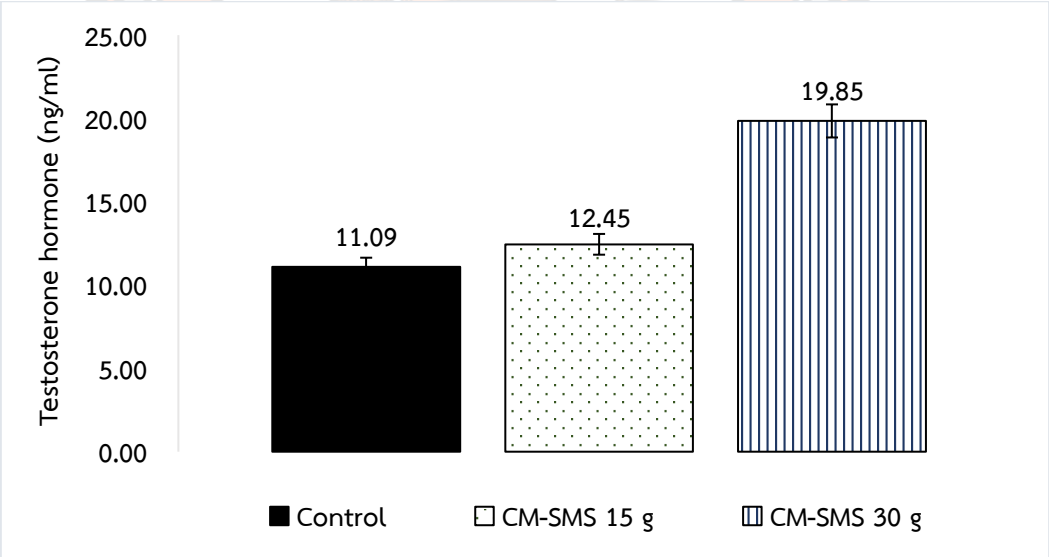
(C)

ภาพ 9 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on the sperm kinetic parameters; curvilinear velocity: VCL (A), straight-line velocity: VSL (B), average path velocity: VAP (C).

Note: *Means ± standard error with different superscript is significantly different of sperm quality ($P \leq 0.05$).

4.1.2 ปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน

ในการศึกษาการเสริม CM-SMS ในรูปแบบอาหารเสริมสำหรับสุกรพ่อพันธุ์ เป็นระยะเวลาทดลอง 8 สัปดาห์ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนภายหลังสิ้นสุดการทดลอง ผลการศึกษาพบว่า กลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ไม่พบความแตกต่างของปริมาณเทสโทสเทอโรนอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่เสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน แต่อย่างไรก็ตามปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนยังคงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน 19.85 ± 8.70^{a} เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม 11.09 ± 6.30^{b} และกลุ่มที่ทำการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน 12.45 ± 3.44^{ab} ดังแสดงใน **ภาพ 10**

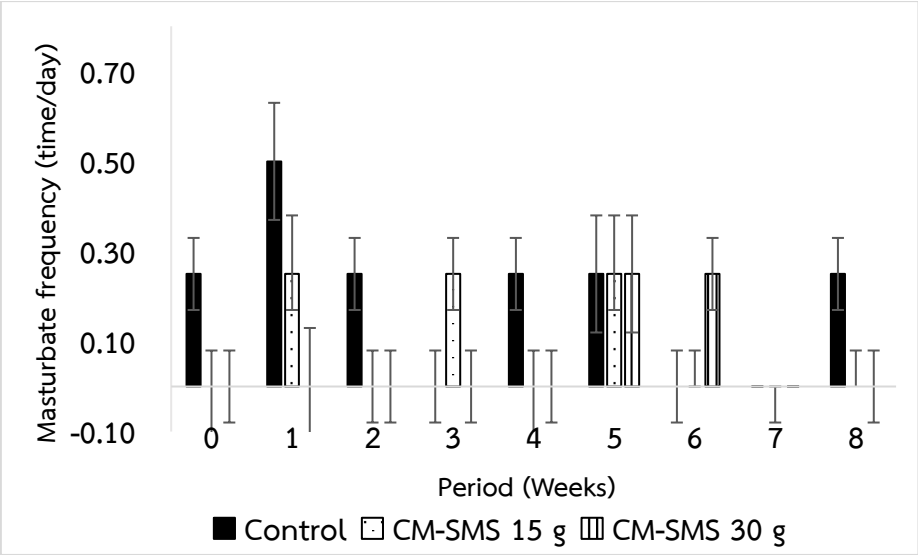


ภาพ 10 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on serum testosterone hormone concentration of boars

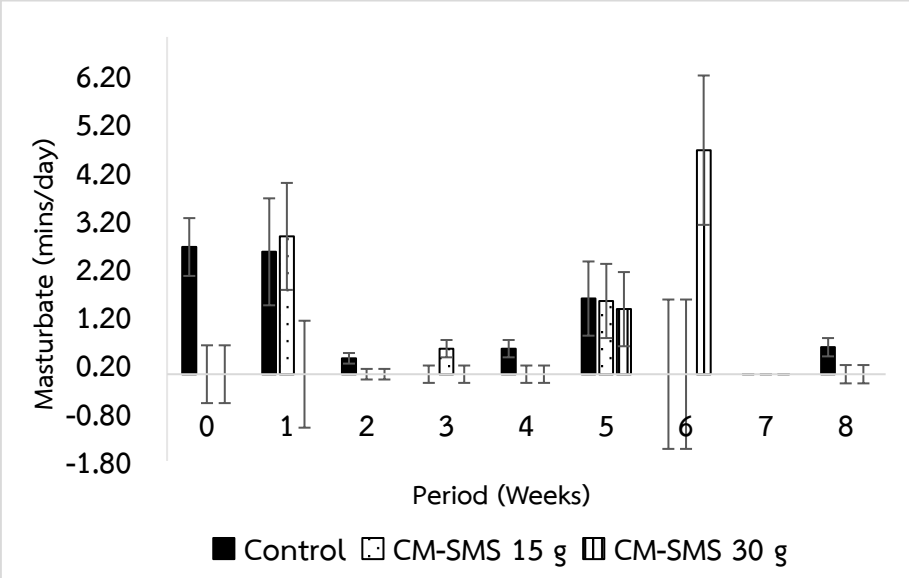
Note: *Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of testosterone hormone (P≤0.05).

4.1.3 พฤติกรรมทางเพศสุกรพ่อพันธุ์

การศึกษาผลของการเสริม CM-SMS สำหรับสุกรพ่อพันธุ์ต่อการแสดงออกของพฤติกรรมทางเพศ ซึ่งแบ่งระยะการทดลองออกเป็น 2 ช่วง คือ ระยะก่อนการทดลอง และระยะการทดลอง 8 สัปดาห์ อีกทั้งแบ่งกลุ่มการทดลองเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน จากการศึกษาพบว่าสุกรพ่อพันธุ์ที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน แสดงพฤติกรรมความกำหนัด 9.57 ± 3.39^{a} มากกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม 5.90 ± 1.29^{b} และกลุ่มการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน 5.43 ± 0.51^{b} อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) ในช่วงสัปดาห์ที่ 5 ดังแสดงใน **ภาพ 13** แต่อย่างไรก็ตามสำหรับกลุ่มควบคุม กลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 15 และ 30 กรัม/ตัว/วัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ในการแสดงออกความถี่ของพฤติกรรมการสำเร็จความใคร่ พฤติกรรมการสำเร็จความใคร่ และความถี่พฤติกรรมความกำหนัด ตลอดระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ ดังแสดงใน **ภาพ 11, 12 และ 13**



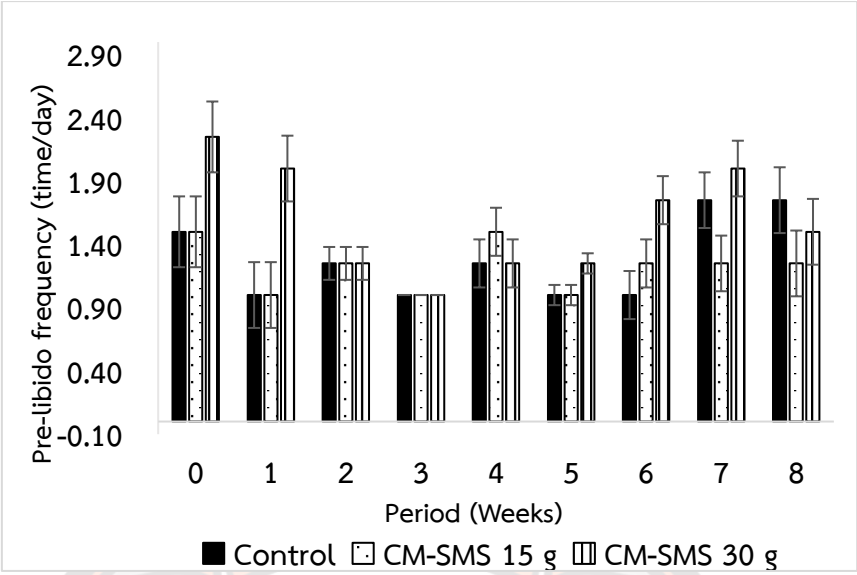
(A)



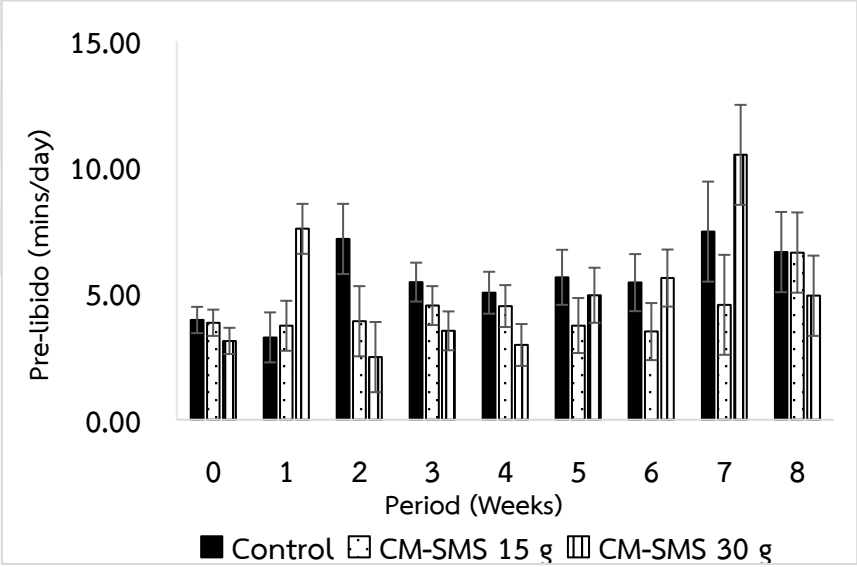
(B)

ภาพ 11 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) supplement on masturbate frequency (A) and masturbate behavior (B) of boars

Note: *Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of boar sexual behavior (P≤0.05).



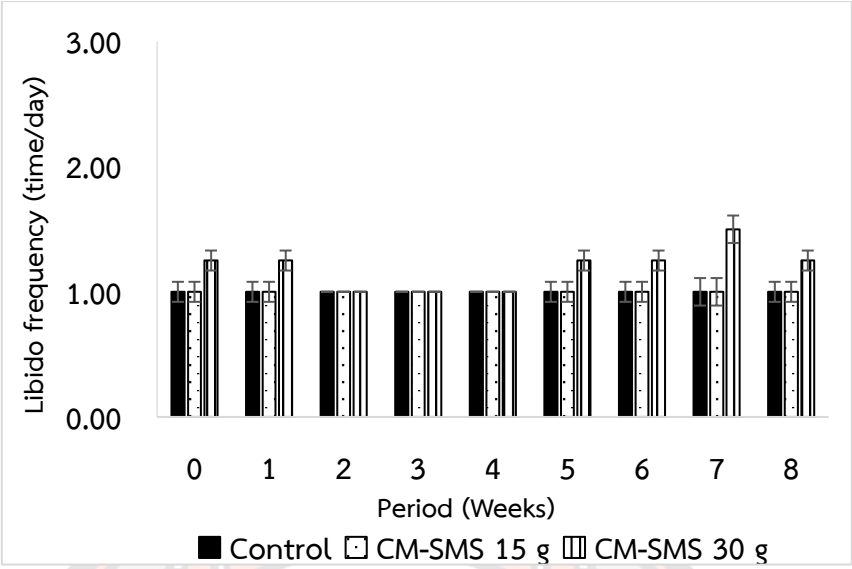
(A)



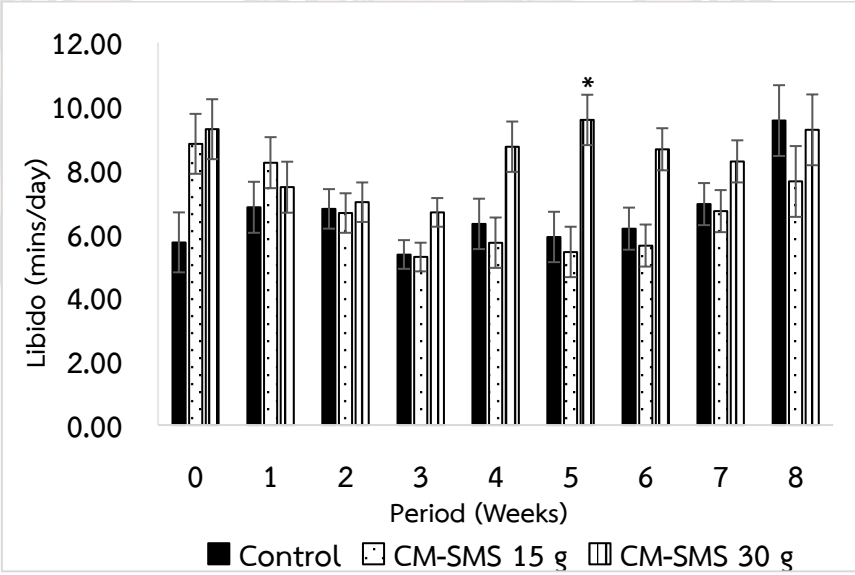
(B)

ภาพ 12 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate(CM-SMS) supplementation on pre-libido frequency(A) and pre-libido behavior(B) of boars

Note: *Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of boar sexual behavior (P≤0.05).



(A)



(B)

ภาพ 13 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate(CM-SMS) supplement on libido frequency (A) and libido behavior (B) of boars

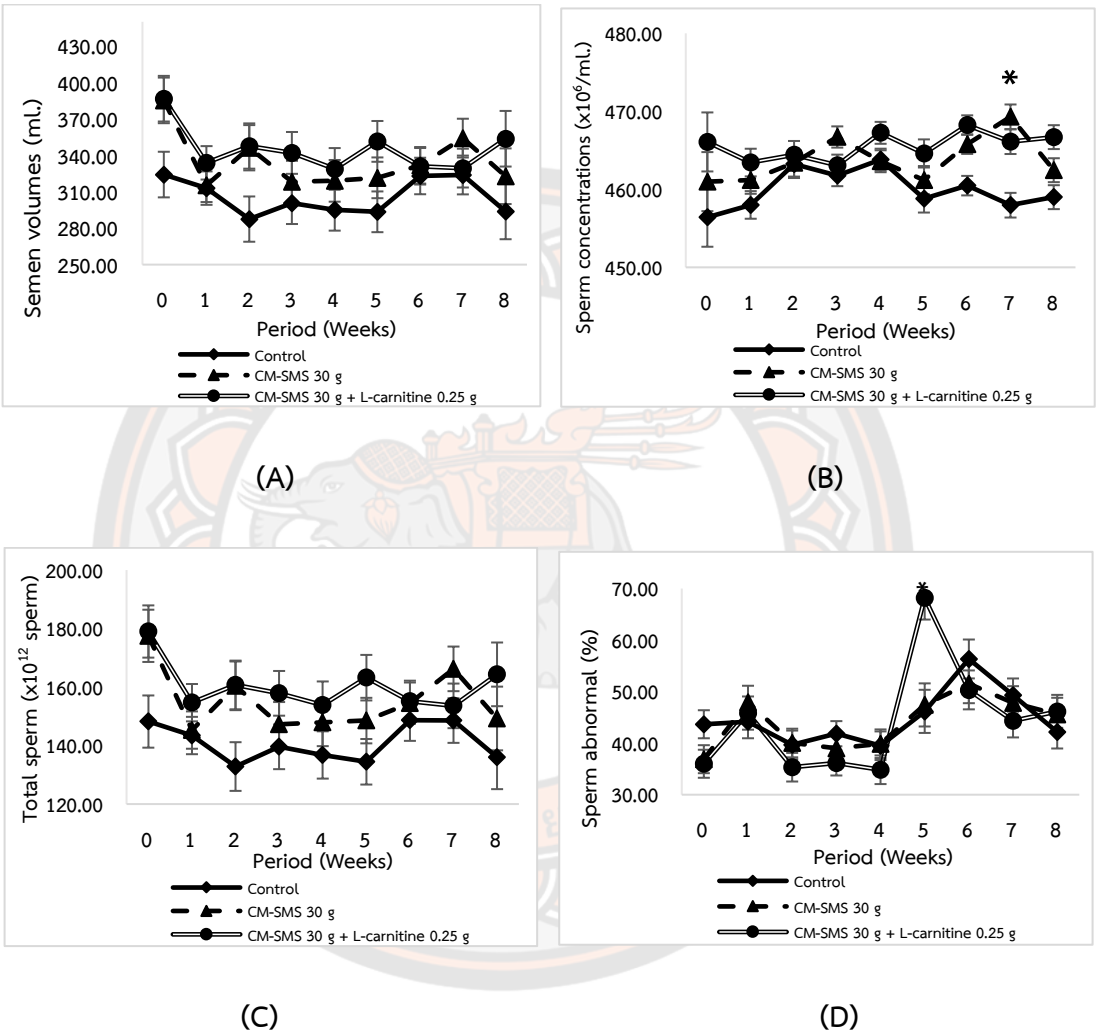
Note: *Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of boar sexual behavior (P≤0.05).

4.2 การพัฒนาอาหารเสริมเพิ่มประสิทธิภาพพ่อพันธุ์สุกรที่ใช้ฐานถั่งเช่าสีทองเป็นวัตถุดิบหลักผสมกับแอล-คาร์นิทีน

4.2.1 คุณภาพน้ำเชื้อ

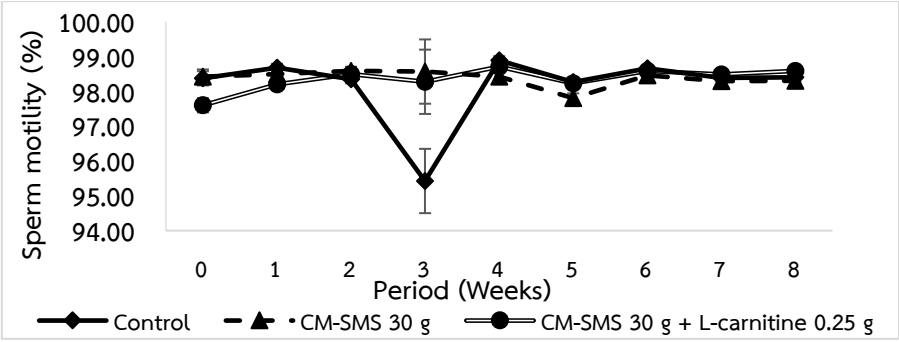
ในการศึกษาผลการเสริม CM-SMS ต่อคุณภาพน้ำเชื้อในสุกรพ่อพันธุ์ ทำการศึกษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารพื้นฐาน (ไม่มีการเสริมอาหาร) กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน ผลการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกร พบว่ากลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ของความเข้มข้นของตัวอสุจิ 469.30 ± 1.18^{a} มากกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองที่ 1 และกลุ่มที่ 3 ที่ระดับ 457.97 ± 7.97^{b} และ 466.11 ± 2.47^{a} ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 7 ดังแสดงใน **ภาพ 14** ในกลุ่มที่ทำการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน ระดับ 68.17 ± 22.24^{a} พบความผิดปกติของตัวอสุจิเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองที่ 1 เท่ากับ 46.17 ± 12.45^{b} และกลุ่มที่ 2 เท่ากับ 47.42 ± 7.46^{b} ในสัปดาห์ที่ 5 ดังแสดงใน **ภาพ 14** อีกทั้งกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ยังส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ตัวอสุจิทั้งหมด สำหรับ VCL ที่ระดับ 67.82 ± 4.71^{a} เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองที่ 1 เท่ากับ 55.65 ± 4.08^{b} และกลุ่มที่ 3 เท่ากับ 58.55 ± 4.38^{ab} ในสัปดาห์ที่ 3 ในส่วนของ VSL กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ที่ระดับ 36.89 ± 2.27^{a} เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองที่ 1 เท่ากับ 34.17 ± 2.44^{ab} และกลุ่มที่ 3 เท่ากับ 32.35 ± 2.26^{b} ในสัปดาห์ที่ 4 อีกทั้งเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ตัวอสุจิแบบ VAP มีการเพิ่มขึ้นมากกว่าในกลุ่มที่เสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ที่ระดับ 41.41 ± 3.56^{a} เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองที่ 1 กลุ่มที่ 3 เท่ากับ 35.99 ± 3.19^{b} และ 37.84 ± 3.10^{ab} ตามลำดับ ในสัปดาห์ที่ 3-4 ดังแสดงใน **ภาพ 16** อีกทั้งในส่วนของการเคลื่อนที่แบบ Total progressive ของกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ที่ 132.17 ± 20.00^{a} มากกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองที่ 1 และกลุ่มที่ 3 เท่ากับ 120.03 ± 112.78^{b} และ 117.05 ± 122.95^{b} ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Progressive (%) ที่ระดับ 58.50 ± 1.76^{a} มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองที่ 1 ระดับ 53.33 ± 4.72^{ab} และ 3 ที่ระดับ 51.50 ± 6.06^{b} ในสัปดาห์ที่ 5 ดังแสดงใน **ภาพ 15** อย่างไรก็ตามสำหรับกลุ่มการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน และ

กลุ่มการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ของปริมาตรน้ำเชื้อ จำนวนอสุจิทั้งหมด เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิต ในระยะการทดลอง 8 สัปดาห์ ดังแสดงใน **ภาพ 14 และ 15**

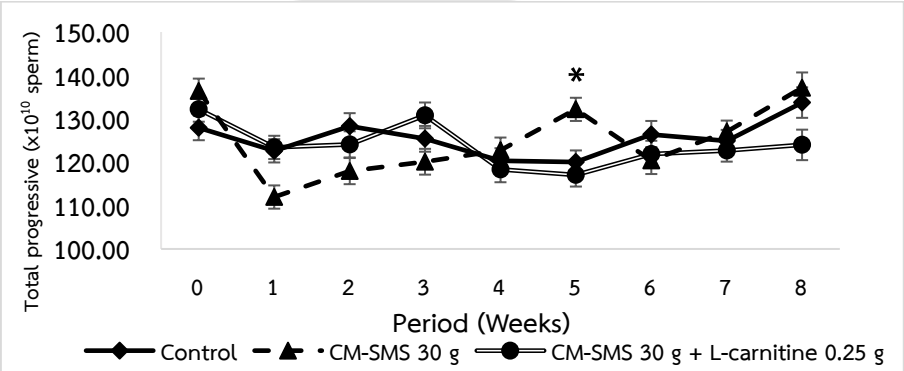


ภาพ 14 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on semen volumes (A), sperm concentrations (B), total of sperm (C) and sperm abnormal (D) of boars

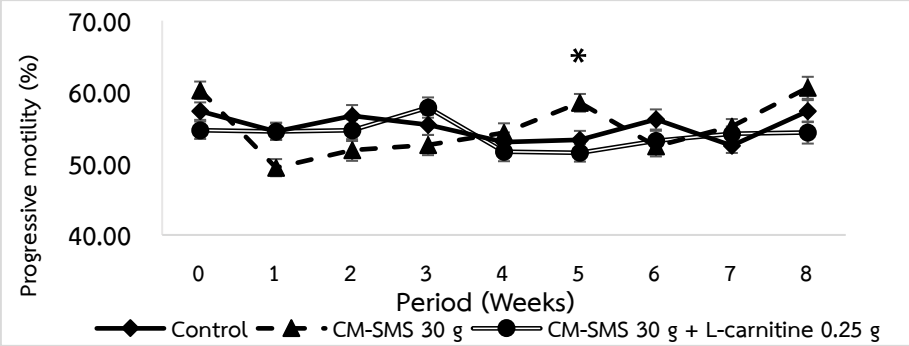
Note: *Means ± standard error with different superscript is significantly different of sperm quality (P≤0.05).



(A)



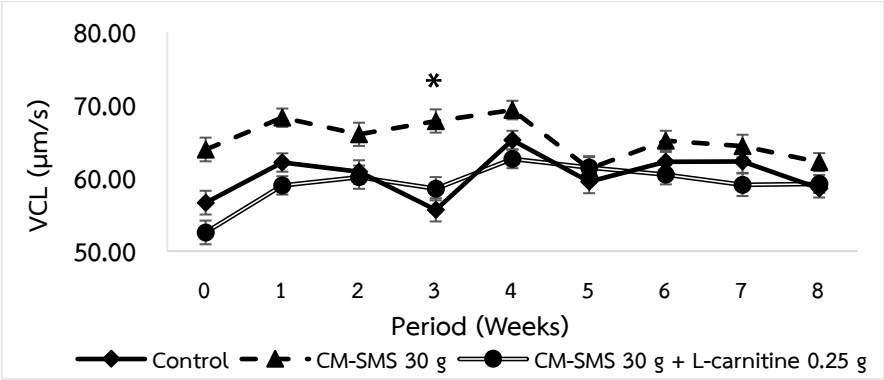
(B)



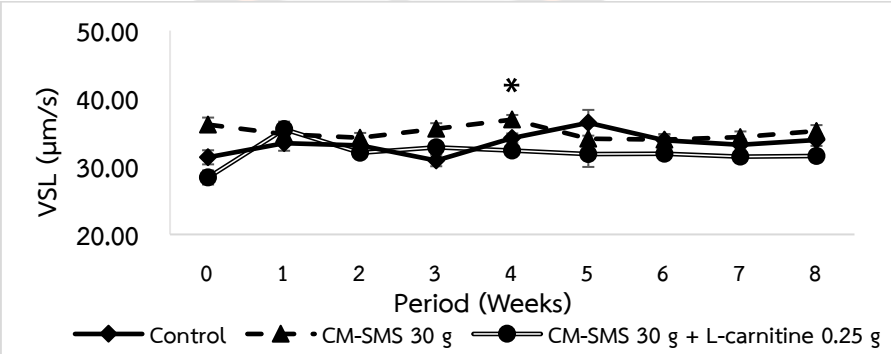
(C)

ภาพ 15 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplement on sperm motility (A), total progressive motility (B) and progressive motility (C) of boars

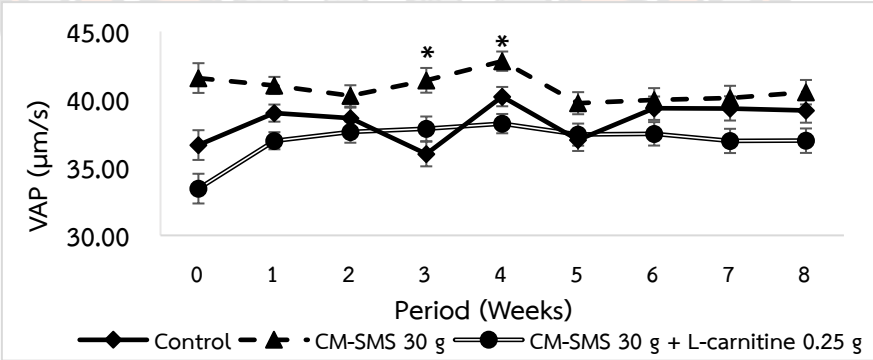
Note: *Means ± standard error with different superscript is significantly different of sperm quality ($P \leq 0.05$).



(A)



(B)



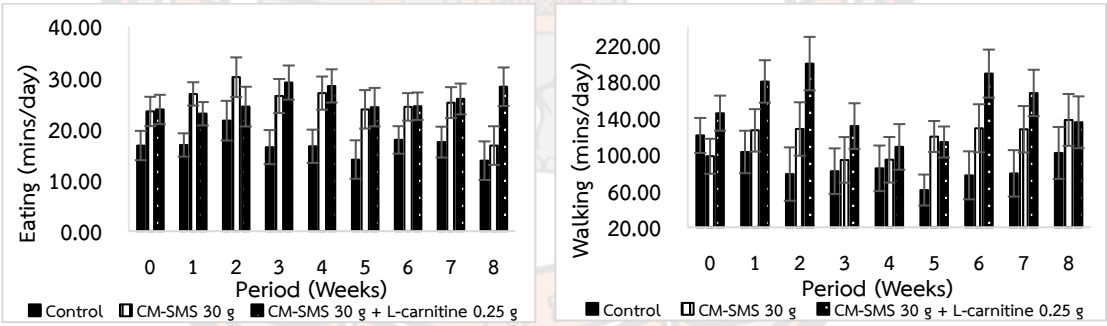
(C)

ภาพ 16 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on the sperm kinetic parameters; curvilinear velocity: VCL (A), straight-line velocity: VSL (B), average path velocity: VAP (C).

Note: *Means ± standard error with different superscript is significantly different of sperm quality (P≤0.05).

4.2.2 พฤติกรรมพื้นฐาน พฤติกรรมสเตอริโอไทป์ และพฤติกรรมทางเพศ

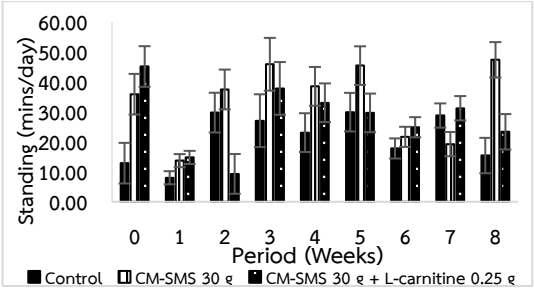
ในการศึกษาผลการเสริม CM-SMS ต่อพฤติกรรมพื้นฐาน พฤติกรรมสเตอริโอไทป์ และพฤติกรรมทางเพศในสุกรพ่อพันธุ์ เป็นระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ได้รับการเสริมCM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน ผลการศึกษาการแสดงพฤติกรรมในพ่อพันธุ์สุกร พบว่าพฤติกรรมพื้นฐาน คือ การกิน การเดิน การยืน การนอน การนั่ง การขับถ่าย พฤติกรรมสเตอริโอไทป์ คือ การดูแลตัวเอง การเล่นอุปกรณ์ให้น้ำ การเคี้ยวหลอก การกัดแท่งเหล็ก และพฤติกรรมทางเพศ คือ พฤติกรรมการสำเร็จความใคร่ และพฤติกรรมความกำหนัด ไม่พบความแตกต่างกัน (P>0.05) ในกลุ่มการทดลองกลุ่มควบคุม กลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน ดังแสดงใน **ภาพ 17, 18, 19, 20, 21 และ 22**



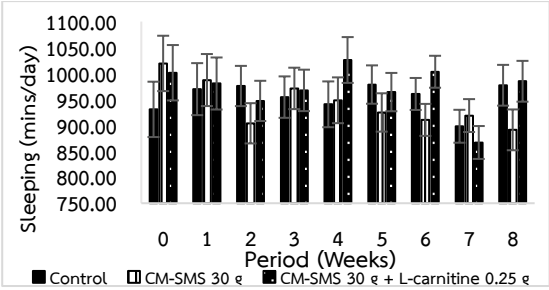
(A) **(B)**

ภาพ 17 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on standard behavior; Eating (A), Walking (B).

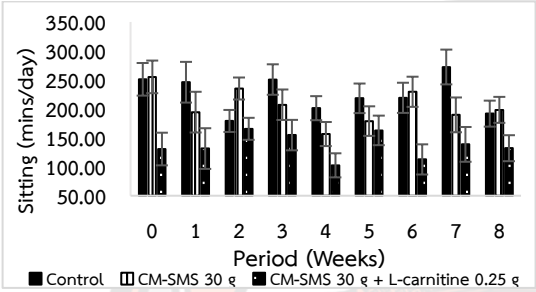
Note: *Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of standard behavior (P≤0.05).



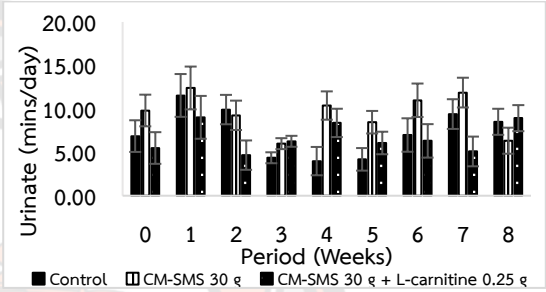
(C)



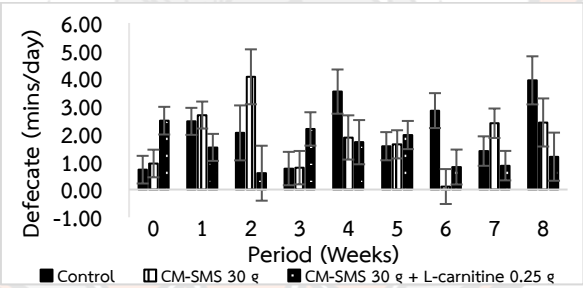
(D)



(E)



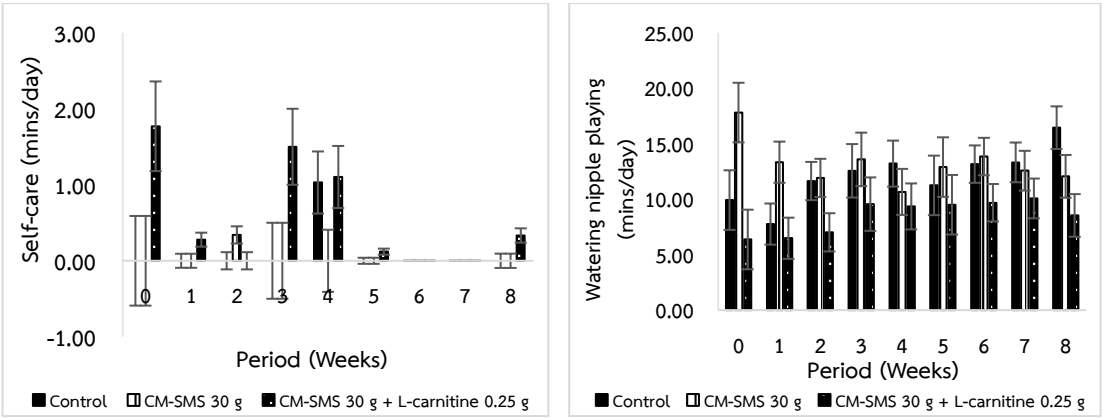
(F)



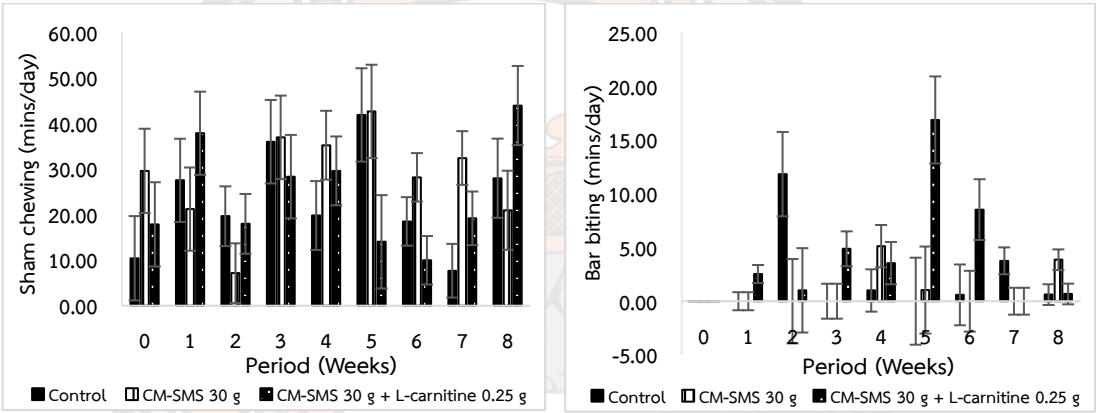
(G)

ภาพ 18 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on standard behavior; Standing (C), Sleeping (D), Sitting (E), Urinate (F), and Defecate (G).

Note: *Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of standard behavior (P≤0.05).



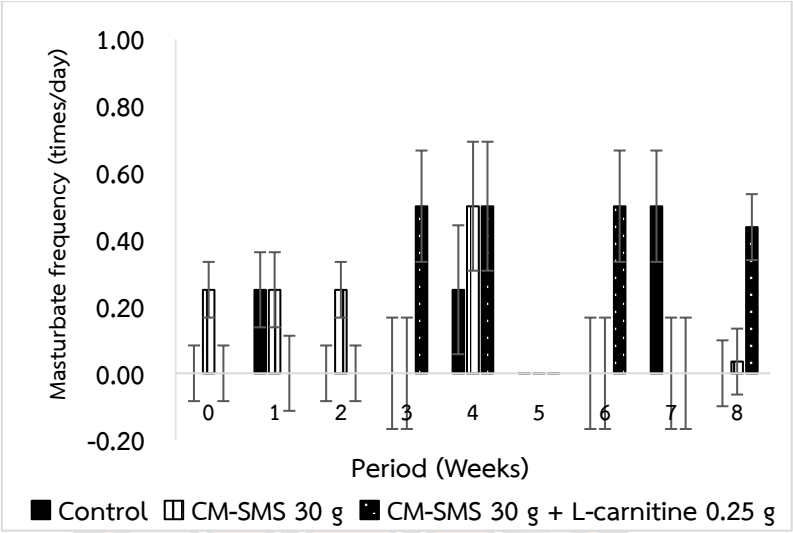
(A) (B)



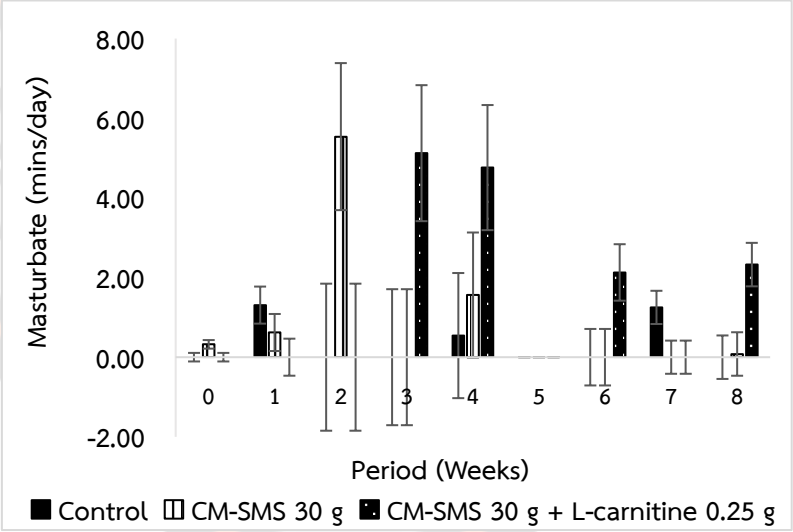
(C) (D)

ภาพ 19 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplement on stereotype behavior; Self-care (A), Watering nipple playing (B), Sham chewing (C), Bar biting (D).

Note: *Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of standard behavior (P≤0.05).



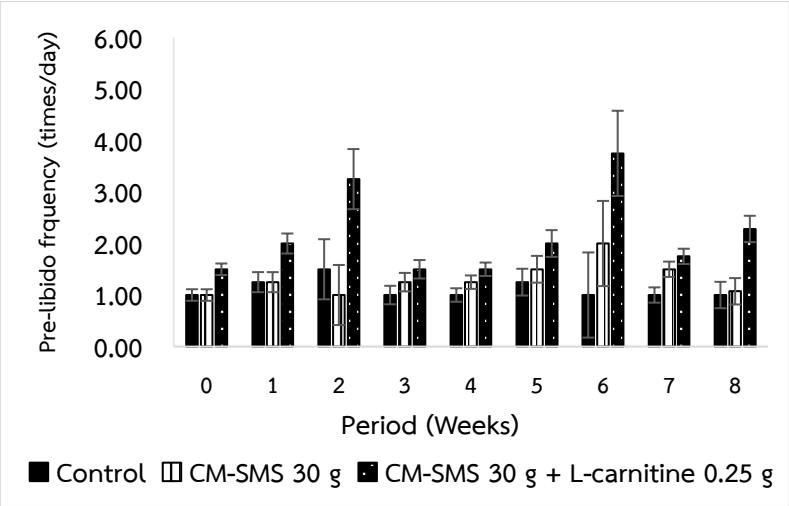
(A)



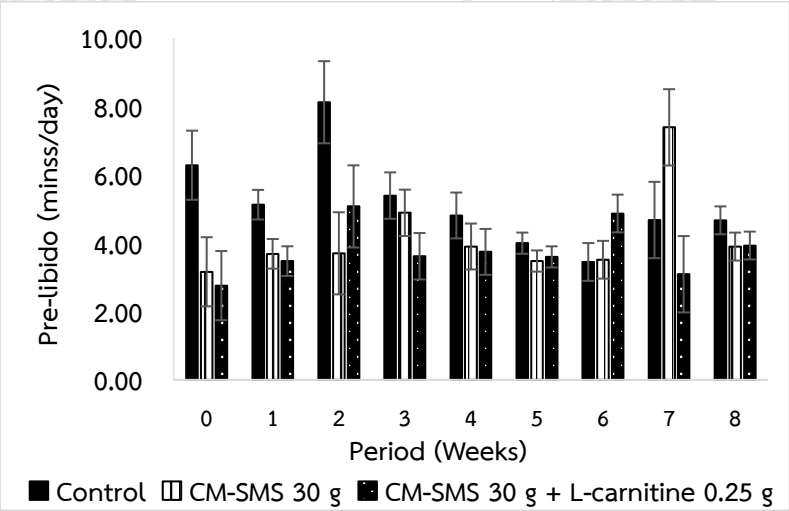
(B)

ภาพ 20 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on masturbate frequency (A) and masturbate behavior (B) of boars

Note: *Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of boar sexual behavior (P≤0.05).



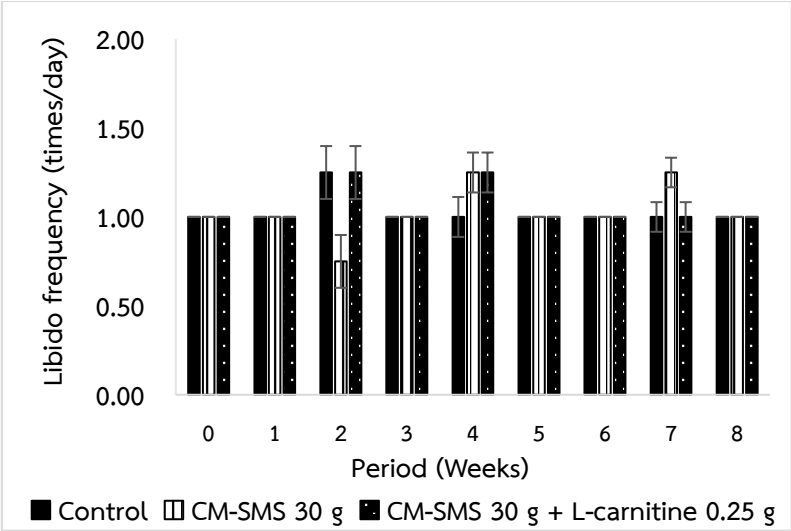
(A)



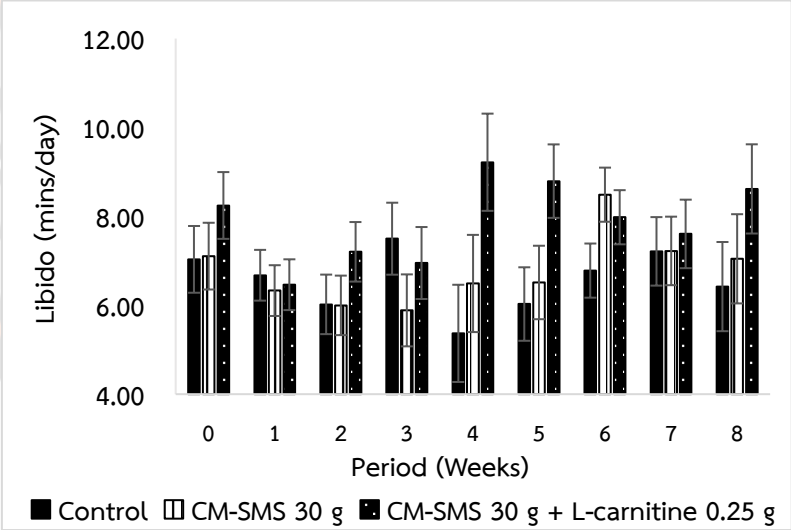
(B)

ภาพ 21 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplement on pre-libido frequency (A) and pre-libido behavior (B) of boars

Note: *Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of boar sexual behavior (P≤0.05).



(A)



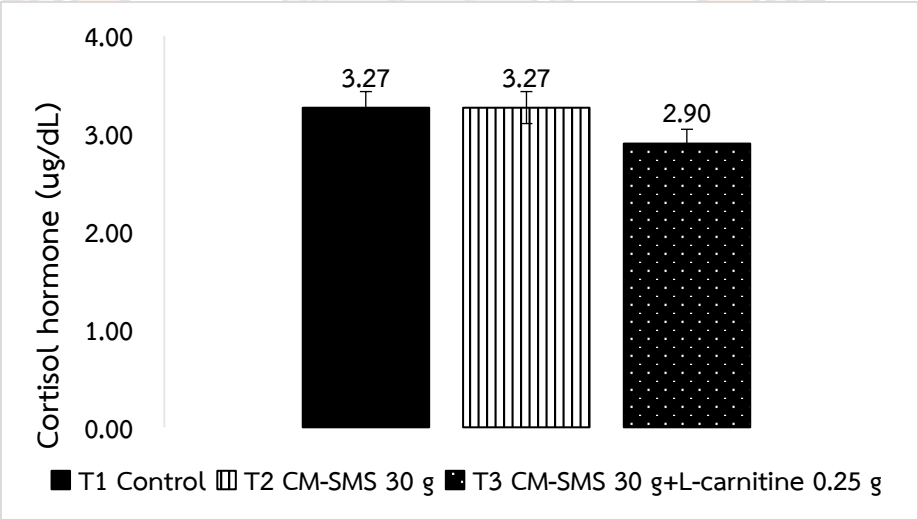
(B)

ภาพ 22 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on Libido frequency (A) and Libido behavior (B) of boars

Note: *Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of boar sexual behavior (P≤0.05).

4.2.3 ความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

จากผลการศึกษาการเสริม CM-SMS ต่อสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในสุกรพ่อพันธุ์ เป็นระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารพื้นฐาน (ไม่มีการเสริมอาหาร) กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน จากผลการศึกษาพบว่าฮอร์โมนคอร์ติซอลในซีรัมของพ่อพันธุ์สุกร ไม่พบความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ดังแสดงใน **ภาพ 23** อีกทั้งผลการศึกษาความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของระดับสารต้านอนุมูลอิสระ คือ Superoxide dismutase (SOD) และ Glutathione peroxidase (GPx) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P>0.05) เช่นเดียวกัน ในกลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มควบคุม กลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน ในระยะการทดลอง 8 สัปดาห์ ดังแสดง **ตาราง 2**



ภาพ 23 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on cortisol hormone of boars

Note: *Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of cortisol hormone (P≤0.05).

ตาราง 2 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on oxidative stress-related enzymes of boars (n=18)

Parameters	CM-SMS (g)[1]			SEM	*P*
	0	30	+L-carnitine 0.25 g		
SOD (u/ml)[2]	45.86±4.73	52.74±9.53	51.90±6.49	1.76	0.23
GPx (u/ml)[3]	466.76±82.23	438.20±27.85	468.86±45.33	12.97	0.59

Note: [1]CM-SMS (*Cordyceps militaris* spent mushroom substrate) (g)

[2]SOD (Superoxide dismutase) (u/ml)

[3]GPx (Glutatione peroxidase) (u/ml)

[a,b] Means±standard error with different superscript within the row are significantly different of antioxidants (P≤0.05).

บทที่ 5

บทสรุป

5.1 อภิปรายผล

5.1.1 ผลการศึกษาการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองต่อคุณภาพน้ำเชื้อ

การผสมเทียม (Artificial insemination; AI) มีความสำคัญเป็นอย่างมากสำหรับกระบวนการผลิตสุกร ในสุกรพ่อพันธุ์การผลิตน้ำเชื้อที่มีคุณภาพจะส่งผลดีต่อวงจรการผลิตสุกร ซึ่งน้ำเชื้อที่มีคุณภาพจะต้องปราศจากเชื้อโรคติดต่อ มีคุณสมบัติที่ดีในการเก็บรักษาน้ำเชื้อ คือ สุกรพ่อพันธุ์มีลักษณะพันธุกรรมที่ดี (Conlenbrander et al., 1993) ในปัจจุบันการผสมเทียมสุกรจึงเป็นวิธีการโดยทั่วไปที่เลือกใช้ เพื่อลดความเสี่ยงโรคติดต่อ อีกทั้งการผสมเทียมยังสามารถลดการใช้พ่อพันธุ์ลงได้ และกระจายน้ำเชื้อได้จำนวนมากกว่าการผสมจริง โดยอัตราน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สุกรอยู่ที่ 1:70-100 แม่พันธุ์ (Conlenbrander et al., 1990) กระบวนการสร้างตัวอสุจิล้วนได้รับอิทธิพลจากหลายๆปัจจัย ได้แก่ โภชนาการทางอาหาร อุณหภูมิ ฤดูกาล ความถี่ของการรีดน้ำเชื้อ สายพันธุ์สุกร อายุสุกร และคุณภาพการผลิตตัวอสุจิของสุกรพ่อพันธุ์ ซึ่งสายพันธุ์ และการผลิตตัวอสุจิมีแนวโน้มจะเปลี่ยนแปลงตามอายุ และสภาพแวดล้อม (Suriyasomboon et al., 20005) ดังนั้นการเพิ่มประสิทธิภาพตัวอสุจิจึงเป็นสิ่งสำคัญต่อการผสมเทียมสุกร จากผลการศึกษาที่ 1 การเสริม CM-SMS ต่อคุณภาพน้ำเชื้อในสุกรพ่อพันธุ์ ในระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า การเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิมากกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังแสดงใน **ภาพ 8 และ 9** อีกทั้งในการศึกษาที่ 2 การเสริม CM-SMS เป็นวัตถุดิบหลักผสมกับแอล-คาร์นิทีนต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร ในระยะการทดลอง 8 สัปดาห์ กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน พบว่า ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นตัวอสุจิ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 15 กรัม/ตัว/วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังแสดงใน **ภาพ 14, 15 และ 16** ซึ่งจากผลการศึกษาที่ 1 ที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของคุณภาพน้ำเชื้อ เนื่องจากการเสริม CM-SMS ที่มีสารสำคัญสามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ คือ คอร์เดซิปินที่เป็นสารสำคัญส่งผลต่อการเพิ่มสมรรถภาพทางเพศ ซึ่งจากผล

การศึกษาสอดคล้องกับรายงานการทดลองของ Lin et al. (2007) ที่ทำการเสริม *Cordyceps militaris* (CM) ในสุกรพ่อพันธุ์ที่บกพร่องสมรรถภาพทางเพศ ระยะการทดลอง 12 สัปดาห์ ผลการศึกษาเปรียบเทียบกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม และกลุ่มที่ได้รับการเสริม CM พบว่ากลุ่มที่มีการเสริม CM มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนอสุจิ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในระหว่างสัปดาห์ที่ 6 ถึง 8 ซึ่งการเสริม CM ส่งผลต่อกระบวนการผลิตตัวอสุจิตั้งแต่ 4 สัปดาห์ และมากที่สุด 8 สัปดาห์ อีกทั้งภายหลังหยุดการเสริม CM พบว่ากระบวนการผลิตตัวอสุจิไม่ลดลง การเสริมถั่งเช่าจึงมีบทบาทเป็นสารเมทาบอไลต์ที่มีผลต่อกระบวนการสร้างตัวอสุจิ อีกทั้งผลการศึกษาของ Huang et al. (2004) รายงานว่าการเสริมถั่งเช่า *Cordyceps sinensis* (CS) ในหนูทดลอง จำนวน 18 ตัว เป็นระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ เลือกเก็บตัวอย่างซีรัมจากเลือด พบว่าการเสริม CM ช่วยเพิ่มจำนวนอสุจิทั้งหมด และเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในสัปดาห์ที่ 6 อีกทั้งความเข้มข้นของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน และ Estradiol-17 (E2) เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 และ 6 ของการเสริม CM ซึ่งเป็นไปได้ว่าสารคอร์เดซิปินถูกจัดอยู่ในกลุ่มของสารนิวคลิโอไทด์ที่เป็นสารประกอบของกรดนิวคลิอิก DNA และ RNA อีกทั้งยังมีคุณสมบัติในการเป็นตัวกลางของ Cyclic adenosine monophosphate (cAMP) ที่มีบทบาทใน Second messenger ต่อฮอร์โมนในกลุ่ม Gonadotropin คือ Follicle stimulating hormone (FSH) ที่มีบทบาทในกระบวนการสร้างตัวอสุจิ และ Luteinizing hormone (LH) ที่เป็นฮอร์โมนอยู่ภายใน Leydig cell ในอัณฑะ (Richard, n.d.) อีกทั้ง cAMP ยังส่งผลทำให้เกิดการสังเคราะห์ฮอร์โมนสเตียรอยด์ใน Adrenal gland ซึ่งการสร้างฮอร์โมนสเตียรอยด์ได้นั้นจะเกิดจากการกระตุ้นของฮอร์โมนจากสมอง ได้แก่ ฮอร์โมน α-MSH, β-endorphine และ ACTH ผ่าน Melanocortin 2 receptor (MC2R) และ Melanocortin 5 receptor (MC5R) ที่เยื่อหุ้มเซลล์ต่อมหมวกไต และการขนส่งโคเลสเตอรอลจากเยื่อหุ้มชั้นนอกของไมโตคอนเดรียเข้าสู่เยื่อหุ้มชั้นใน และไป P450scc โดยโปรตีน Steroidogenic acute regulatory protein (StAR) (Arakane et al., 1996) นอกจากนี้สารคอร์เดซิปินยังเป็นสารเมทาบอไลต์ที่มีความเกี่ยวข้องกับกลไกการเหนี่ยวนำการหลั่งฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนที่พบได้ในอัณฑะและต่อมหมวกไต มีส่วนต่อกระบวนการสร้างตัวอสุจิ (Chang et al., 2008)

จากผลการศึกษาที่ 2 ที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของการเคลื่อนที่ตัวอสุจิที่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 2-5 ของระยะการทดลองนั้น จะเห็นได้ว่าไม่มีความสัมพันธ์กันกับการศึกษาที่ 1 ที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ตัวอสุจิในสัปดาห์ที่ 7-8 ของการเสริม ซึ่ง

ในกระบวนการสร้างตัวอสุจิในสุกรพ่อพันธุ์นั้นมีระยะเวลา 40 วัน โดยแต่ละระยะในกระบวนการสร้างตัวอสุจิ คือ Proliferation, Meiosis, และ Differentiation จะใช้เวลาในแต่ละระยะประมาณ 14 วัน ก่อนที่จะเคลื่อนที่มาสู่ Epididymis โดยใช้ระยะเวลาประมาณ 12 วัน จนได้อสุจิสมบูรณ์ (วิลาสินี อินญาวิเลิศ, 2562) ดังนั้นผลจากการศึกษาที่ 1 และ 2 ที่มีระยะพักการทดลอง 3 สัปดาห์ หรือ 21 วัน การเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน จากการศึกษาที่ 1 จึงยังคงส่งผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่อสุจิที่เพิ่มขึ้นในการศึกษาที่ 2 อีกทั้งผลจากการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน นั้นไม่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาตรน้ำเชื้อ ความเข้มข้นของตัวอสุจิ และเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ทั้งหมด จากผลการศึกษาของ Pribilova et al. (2018) ที่ทำการเสริม L-carnitine ให้สุกรพ่อพันธุ์ จำนวน 24 ตัว โดยแบ่งกลุ่มการทดลอง 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่มีการเสริม L-carnitine 0.50 กรัม/ตัว/วัน แล้วทำการเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำเชื้อทุกสัปดาห์ พบว่าการเสริม L-carnitine 0.50 กรัม/ตัว/วัน ส่งผลต่อการเคลื่อนที่ตัวอสุจิที่เพิ่มขึ้น และลักษณะความผิดปกติของตัวอสุจิลดลง ดังนั้นการเสริม L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน ที่ไม่ส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ เนื่องจากระดับของการเสริมแอล-คาร์นิทีนมีระดับน้อยเกินไปซึ่งอาจยังไม่ใช่ระดับที่จะช่วยส่งผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร

5.1.2 ผลการศึกษาการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองต่อปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน

ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน เป็นฮอร์โมนที่มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมเพศผู้ การแสดงพฤติกรรมทางเพศ และการสืบพันธุ์ ซึ่งการหลั่งของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนจาก Leydig cells ถูกควบคุมจาก Luteinizing hormones (LH) ที่มาจากการหลั่งส่วนสมองส่วนหน้าของต่อมใต้สมอง (Saez, 1994) การหลั่งของ LH จะถูกควบคุมเพิ่มเติมโดยฮอร์โมนที่ปล่อยมาจาก Gonadotropin (GnRH) จากไฮโพทาลามัส ซึ่ง LH จะจับกับตัวรับบน Leydig cells เพื่อกระตุ้นวงจร AMP-protein kinase A (PKA) (Moger, 1991) และทำให้เกิดการสังเคราะห์โปรตีนขึ้นใหม่สำหรับการผลิตฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน (Stocco et al., 1996) อย่างไรก็ตามต่อมใต้สมองเพศผู้นั้นจะได้รับอิทธิพลจากปัจจัยหลายๆ อย่าง คือ อายุ สภาพแวดล้อม สภาวะความเครียด ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อการหลั่งของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน (Sinclair, 2000; Roscoe et al., 2001) ในปัจจุบันการบกพร่องสมรรถภาพทางเพศสมัยใหม่ คือ การฉีดฮอร์โมน Gonadotropin และฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน เพื่อช่วยฟื้นฟูสมรรถภาพทางเพศ (Zitzmann et al., 2000; Huff et al., 2001; Bouloux et al.,

2002) แต่การฟื้นฟูสมรรถภาพทางเพศโดยทางเลือกอื่น คือ การกินอาหาร เป็นอีกวิธีการที่พบโดยทั่วไปเพื่อให้ร่างกายสามารถเพิ่มประสิทธิภาพทางเพศได้อีกทางหนึ่ง (Rege et al., 1997; Veal, 1998; Crimmel et al., 2001) จากผลการศึกษาการเสริม CM-SMS ต่อปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนในสุกรพ่อพันธุ์ ระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ไม่พบความแตกต่างกัน (P>0.05) แต่อย่างไรก็ตามปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนยังคงมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นภายหลังสิ้นสุดการทดลอง 8 สัปดาห์ ดังแสดงใน **ภาพ 10** ซึ่งฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นความต้องการทางเพศ โดยปริมาณปกติของฮอร์โมนนี้อยู่ในช่วงวัยเจริญพันธุ์ และเริ่มลดลงในช่วงอายุที่มากขึ้น (อภิชาต วิชญาณรัตน์, 2551) การลดลงของปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนจะส่งผลต่อภาวะพร่องฮอร์โมนทางเพศ (Late onset hypogonadism) และเสื่อมสมรรถภาพทางเพศ (หทัย เทพพิสัย และคณะ, 2545) ดังนั้นแนวโน้มการเพิ่มขึ้นฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนกลุ่มการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน สามารถกระตุ้นความต้องการทางเพศได้ จึงสอดคล้องจากการศึกษาของ Hong et al. (2011) ที่มีการเสริมถั่งเช่าสีทองในหนูทดลอง พบว่ากลุ่มที่ทำการเสริมถั่งเช่าสีทองมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน อีกทั้งจากรายงานผลการศึกษาของ Hsu et al. (2003) ที่ได้ทำการศึกษาผลของ *Cordyceps sinensis* (CS) ต่อการผลิตฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนใน Leydig cells ของหนูทดลอง พบว่าสารสำคัญคอร์เดซิปินมีส่วนกระตุ้นการผลิตฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนใน Leydig cells ได้ และปริมาณของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนยังคงเพิ่มขึ้นในพลาสมาของหนูอีกด้วย ดังนั้นสารสำคัญคอร์เดซิปินจึงมีส่วนในกระบวนการสร้างตัวอสุจิ โดยเป็นสารที่มีบทบาทในการหลั่งของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน (Hsu et al., 2003)

ในความสัมพันธ์ของคุณภาพน้ำเชื้อต่อฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนนั้นสืบเนื่องมาจากการหลั่งน้ำเชื้อจาก Accessory gland ที่มีกลไกการควบคุมจากฮอร์โมนเพศผู้ (Androgen hormone) (วารี วิดจายา, 2549) แอนโดรเจน คือ ฮอร์โมนที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ และอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ ซึ่งฮอร์โมนกลุ่มนี้มีหลายชนิด แต่ฮอร์โมนที่พบมากในกลุ่มนี้ คือ ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนซึ่งจากกลไกการหลั่งของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนเริ่มจากต่อมใต้สมองจะปล่อยฮอร์โมน Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) ออกมาเพื่อกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมน LH จากต่อมใต้สมองเข้าสู่กระแสเลือด หลังจากนั้น LH จะจับกับตัวรับ LH บนเซลล์ Leydig ของอัณฑะ รวมถึงทำให้เกิดเปลี่ยนแปลงของคอเลสเตอรอล (LDL) ในไมโทรคอนเดรีย เป็น Pregnenolone ตามด้วย

ปฏิกิริยาต่างๆ ให้เปลี่ยน Pregnenolone เป็นฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนซึ่งจะเกิดการหลั่งออกมาจากอัณฑะจะแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อเป้าหมายต่างๆ เช่น ตับ กล้ามเนื้อ และเนื้อเยื่อไขมัน ฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนจะจับกับ Androgen receptor (AR) โดยตรง ส่งผลต่อต่อมลูกหมากและเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ อีกทั้งฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนจะต้องถูกแปลงเป็น Dihydrotestosterone (DHT) ด้วย 5-α-reductase เพื่อจับตัวรับแอนโดรเจน อีกทั้งในกระดูกและสมองฮอร์โมนเทสโทสเตอโรนจะถูกแปลงโดย Aromatization เป็น Estradiol-17 (E2) ซึ่งถูกจับกับ Estrogen receptor (E2R) เพื่อให้เกิดการออกฤทธิ์ระบบสืบพันธุ์เพศผู้ (Mechanisms in medicine, 2011)

5.1.3 ผลการศึกษาการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองต่อพฤติกรรมทางเพศ

การแสดงออกของพฤติกรรมทางเพศขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ฮอร์โมนเพศผู้ หรืออายุของสุกร ซึ่งเมื่อสุกรเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ที่เป็นช่วงเวลาที่อวัยวะสืบพันธุ์มีความเหมาะสมต่อการแสดงพฤติกรรมทางเพศ การแสดงพฤติกรรมทางเพศ คือ การ สนใจเพศตรงข้าม การขึ้นทับ หรือปีนป่ายตัวอื่นพร้อมลึงค์แข็งตัวและโผล่ออกนอกหนังหุ้มลึงค์ พร้อมกับมีการหลั่งน้ำกามที่มีตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ในครั้งแรก (Bearden et al., 2000) จากรายงานการศึกษาอายุเมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ในสุกรเพศผู้ส่วนใหญ่ให้ความสำคัญด้านความสามารถในการตรวจพบการผลิตน้ำเชื้อมากกว่าการแสดงพฤติกรรมทางเพศครั้งแรก (Kosco et al., 1987; Trudeau et al., 1992; Lunstra et al., 1997; Karunakaran et al., 2009; Kumaresan et al., 2011) จากผลการศึกษาการเสริม CM-SMS ต่อพฤติกรรมทางเพศในสุกรพ่อพันธุ์ ระยะเวลาการทดลอง 8 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน มีการแสดงพฤติกรรมความกำหนัด ในสัปดาห์ที่ 5 ดังแสดงใน **ภาพ 13** อีกทั้งจากผลการศึกษาการเสริม CM-SMS เป็นวัตถุดิบหลักผสมกับแอล-คาร์นิทีนต่อพฤติกรรม พบว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่มีการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน ไม่ส่งผลกระทบต่อพฤติกรรมพื้นฐาน และพฤติกรรมสเตอริโอไทป์ของสุกร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงใน **ภาพ 17, 18, 19, 20, 21 และ 22** ดังนั้นโดยทั่วไปการแสดงพฤติกรรมความกำหนัด และคุณภาพน้ำเชื้อของเพศผู้อยู่ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน โดยฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนจะถูกผลิตจากอัณฑะของเพศผู้ แต่การเพิ่มขึ้นของระดับฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนจะต้องอยู่ในระดับที่เหมาะสม เนื่องจากการเพิ่มของระดับฮอร์โมนที่สูงกว่าระดับมาตรฐานมักไม่ส่งผลต่อการแสดงออกของพฤติกรรมทางเพศ

(Hemsworth et al., 2007) อย่างไรก็ตามระดับฮอร์โมนทางเพศที่ส่งผลต่อการแสดงพฤติกรรมทางเพศในระดับต่ำมักส่งผลต่อสมรรถภาพทางเพศลดลง หรือความต้องการทางเพศลดลง (Fraser et al., 1997) อีกทั้งส่วนหนึ่งของปัจจัยอื่นๆ เช่น สภาพแวดล้อม ความเครียด เป็นต้น ส่งผลต่อความสัมพันธ์ทางลบของพฤติกรรมทางเพศ ซึ่งการรักษาระดับปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนได้จะสามารถเพิ่มความต้องการทางเพศได้เช่นเดียวกัน (Alexander et al., 1997)

5.1.4 ผลการศึกษาการเสริมฐานถั่งเช่าสีทองต่อความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

สภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นจากความไม่สมดุลของระดับ ROS และสารต้านอนุมูลอิสระ แม้ว่า ROS บางชนิดจะเป็นอนุมูลอิสระ ซึ่ง ROS มีหน้าที่สำคัญในการทำหน้าที่ทางสรีรวิทยาต่างๆ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อระดับของ ROS ถึงจุดที่สูงกว่าที่กำหนด สภาวะของความเครียดออกซิเดชันที่เกิดขึ้นสามารถทำลายส่วนประกอบของเซลล์ได้ (Shrilatha, 2007) สภาวะความเครียดที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถพบได้จากระดับเอนไซม์ SOD และ GPx ในพลาสมาของสุกร จากผลการศึกษาที่ 2 การเสริม CM-SMS เป็นวัตถุดิบหลักผสมกับแอล-คาร์นิทีนต่อความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในพ่อพันธุ์สุกร ในระยะการทดลอง 8 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน ไม่พบความแตกต่างกัน ($P>0.05$) ของฮอร์โมนความเครียด ได้แก่ ฮอร์โมนคอร์ติซอล ดังแสดงใน **ภาพ 23** จากการรายงานของ สายลม เกิดประเสริฐ และคณะ (2547) สภาวะกดดันหรือความเครียดต่อร่างกายสัตว์นั้นจะเกิดการหลั่งฮอร์โมนความเครียดออกมา คือ ฮอร์โมนคอร์ติซอลซึ่งจะส่งผลให้ไปกระตุ้นการทำงานของ Hypothalamus ให้เกิดการหลั่ง Corticotropin releasing hormone (CRH) ที่จะไปยับยั้ง Adrenocorticotropic hormone (ACTH) ที่มีอยู่ในต่อมใต้สมองให้กระตุ้น Adrenal gland เกิดการหลั่งฮอร์โมนคอร์ติซอล(Tsigos et al., 2002) การหลั่งของฮอร์โมนคอร์ติซอลที่ส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์นั้น จะมีความสัมพันธ์ต่อการลดลงของ GnRH และ LH ซึ่งจะส่งผลทำให้ระบบสืบพันธุ์มีกลไกการทำงานที่ผิดปกติ (Breen et al., 2005; Cates et al., 2004) ดังนั้นจากผลการศึกษาที่ 2 ที่ไม่ส่งผลต่อปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลจึงไม่มีผลกระทบต่อความเครียดในร่างกายของสุกรพ่อพันธุ์ อีกทั้งพบว่ากลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน และกลุ่มที่ 3 กลุ่มที่ได้รับการเสริม CM-SMS 30 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับ L-carnitine 0.25 กรัม/ตัว/วัน ไม่พบความแตกต่างกัน

(P>0.05) ของเอนไซม์ปฏิกิริยาสารต้านอนุมูลอิสระ SOD และ GPx ดังแสดงใน **ตาราง 2** ปฏิกิริยาสารต้านอนุมูลอิสระ โดยทั่วไปในสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดจากการสร้างอนุมูลอิสระที่มากเกินกว่าที่ร่างกายทำลายได้หมด หรือความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระลดลง (Briones & Touyz, 2010) เมื่อร่างกายเกิดสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันแล้วนั้นจะมีผลกระทบต่อตัวอสุจิ (Paulina et al., 2020) แต่อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปในเซลล์ของสัตว์มีสารต้านอนุมูลอิสระที่มีบทบาทสำคัญในการป้องกันเซลล์ร่างกายจากอนุมูลอิสระ คือ SOD CAT และ GPx (Patlevic et al., 2016) จากผลการศึกษาของ บังอร บำรุงพงษ์ (2551) ทำการศึกษาผลของสารต้านอนุมูลอิสระต่อคุณภาพน้ำเชื้อสดของสุกรพ่อพันธุ์ โดยทำการเสริมสารต้านการเกิดออกซิเดชันในสารละลายน้ำเชื้อ พบว่าการเสริมกลูตาไธโอนที่ระดับความเข้มข้น 0.25 และ 0.5 มิลลิโมล ส่งผลดีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสูงกว่าทุกกลุ่ม โดยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิสูงกว่า 50% อีกทั้งเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตของตัวอสุจิสูงกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม และสามารถเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อได้นาน 5 วัน ในการศึกษาของ Zhang et al. (2016) ที่ทำการศึกษาผลการเสริมกลูตาไธโอนต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่เก็บรักษาแช่เย็นที่อุณหภูมิ 17 องศาเซลซียส ในสุกรพ่อพันธุ์ โดยแบ่งระดับความเข้มข้นของกลูตาไธโอน 0, 1, 5, 10, 15 มิลลิโมล/ลิตร ทำการศึกษาการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มพลาสมาและอะโครโซมของตัวอสุจิ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ คือ MDA และ Hydrogen peroxide (H_2O_2) พบว่าการเสริมกลูตาไธโอน 1, 5 และ 10 มิลลิโมล/ลิตร สามารถเพิ่มการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ความสมบูรณ์ของพลาสมาเมมเบรน และสามารถลดปริมาณของ MDA ได้ ซึ่งการเสริมกลูตาไธโอนที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถลดความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อสุกรพ่อพันธุ์ได้อีกด้วย อีกทั้งจากผลการรายงานของ วัลย์วิณี อาจวิชัย และคณะ (2562) ที่ทำการศึกษาสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของการเสริม *Cordyceps militaris* ในแม่พันธุ์สุกรอุ้มท้องและเลี้ยงลูก ไม่พบความแตกต่างกันของเอนไซม์ SOD เช่นเดียวกับการศึกษานี้ซึ่งแสดงว่า การเสริม CM-SMS ไม่ส่งผลต่อการเกิดสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในสุกรเช่นเดียวกัน อีกทั้งผลการศึกษาของ วัชรินทร์ อ้มทองหลาง และคณะ (2563) ที่ทำการเสริม CM-SMS ในสุกรอนุบาล เพื่อศึกษาสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน พบว่าการเสริม CM-SMS ไม่พบความแตกต่างกันของระดับ SOD และ GPx แต่อย่างไรก็ตามผลการศึกษานี้ไม่สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Boontiam et al. (2019) ที่ทำการเสริม CM-SMS ต่อประสิทธิภาพการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกัน รูปแบบการเผา

ผลาญ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสุกรระยะรุ่น ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ทำการเสริม CM-SMS 2 กรัม/กิโลกรัมอาหาร ส่งผลที่ดีต่อระดับของ GPx อีกทั้งผลจากการศึกษาของ Pamok et al. (2009) ที่ทำการศึกษาระดับเอนไซม์ MDA ในไก่กระทงต่อสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจากสภาพอากาศร้อน ในวันที่ 1, 4, 7, 11 และ 21 พบว่าระดับของเอนไซม์ MDA ในวันที่ 1, 4 สูงกว่าวันที่ 7 แต่อย่างไรก็ตามระดับของ MDA หลังจากวันที่ 7 นั้นไม่พบความแตกต่างกันถึงแม้ไก่จะอยู่ในอุณหภูมิที่สูงก็ตาม และจากผลการศึกษาของ Aengwanich et al. (2010) ที่ทำการศึกษาสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจากความร้อนในไก่กระทง โดยทำการเปรียบเทียบระดับ MDA ระหว่างไก่ที่อยู่อุณหภูมิสูงกับไก่ที่อยู่อุณหภูมิปกติไม่พบความแตกต่างกันในวันที่ 7 ของการทดลอง ดังนั้นจากผลการศึกษาข้างต้นชี้ให้เห็นว่าสัตว์นั้นมีการปรับตัวต่อการเกิดสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ จึงเป็นไปได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ในสุกรมีความแตกต่างกัน เนื่องจากสภาวะปัจจัยต่างๆที่ทำการทดลองแตกต่างกัน เช่น สภาวะของสภาพแวดล้อมของสุกรที่อาศัยอยู่ อายุของสุกรที่ทำการศึกษาที่มีความแตกต่างกัน อีกทั้งเอนไซม์ GPx สารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสัตว์สามารถสร้างขึ้นได้เองเพื่อช่วยปกป้องเซลล์จากการทำลายสิ่งแปลกปลอมของระบบสิ่งมีชีวิต (Xenobiotics) (Dawood et al., 2019) จึงเป็นไปได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระนี้เกิดขึ้นเองได้ตามธรรมชาติของสุกร

5.2 สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาการเสริมฐานถั่งเช่าสีทอง 30 กรัม/ตัว/วัน ระยะเวลา 8 สัปดาห์ ในสุกรพ่อพันธุ์ที่มีอายุ อายุเฉลี่ย 104-156 สัปดาห์ น้ำหนัก 280±0.5 กิโลกรัม สามารถสรุปได้ดังนี้

1) เพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อด้านการเคลื่อนที่ และทิศทางการเคลื่อนที่ตัวอสุจิ

2) เพิ่มปริมาณฮอร์โมนเทสโทสเทอโรน

3) มีการแสดงพฤติกรรมทางเพศในสุกรพ่อพันธุ์เพิ่มมากขึ้น

4) ไม่มีผลต่อสภาวะความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และปริมาณฮอร์โมนคอร์ติซอลในสุกรพ่อพันธุ์

5.3 ข้อเสนอแนะ

ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมฐานถั่งเช่าสีทองสำหรับสุกรพ่อพันธุ์เป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่สามารถนำไปต่อยอดในการพัฒนาเป็นอาหารเสริมสมรรภาพทางเพศผู้ชายที่ด้อยสมรรถภาพได้ อีกทั้งควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยใช้ในระดับที่มากกว่าที่ใช้ในการศึกษานี้ หรือเสริมร่วมกับ L-carnitine ในระดับการเสริมเพิ่มเติม คือ 0.25 0.50 1.00 กรัม/ตัว/วัน เพื่อให้ได้ระดับที่เหมาะสมที่สุด อีกทั้งการเสริมร่วมกับสารอื่นที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินซี วิตามินอี สังกะสี ซีลีเนียม เพื่อพัฒนาเป็นอาหารเสริมเพิ่มประสิทธิภาพได้ต่อไป

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กรมปศุสัตว์. (2564). *ข้อมูลเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์และสุกร ปีงบประมาณ พ.ศ.2564*. กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมปศุสัตว์.

โครงการเพิ่มศักยภาพฐานข้อมูลอุตสาหกรรมยาทางชีวภาพและเชื้อเพลิงชีวภาพ. (2561). รายละเอียดข้อมูลยาทางชีวภาพคาร์นิทีน (Carnitine). *รายงานความก้าวหน้าครั้งที่ 3*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

ณัฐชัย พงษ์ประเสริฐ. (2562). *รายงานผลการทดสอบสาระสำคัญฐานถั่งเช่าสีทองบดผง โดยวิธีการ HPLC*. กรุงเทพฯ: ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวิทยาศาสตร์เกษตรและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

เทวินทร์ วงษ์พระลับ. (2559). *การเก็บรักษาน้ำเชื้อและการผสมเทียมสัตว์ปีก*. ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ธัญญา ทะพิงค์แก. (2555). การเพาะเห็ดถั่งเช่าเป็นอาชีพ. *วารสารเคหะการเกษตร*, เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และธิดารัตน์ จันทร์ดอน. (2556). *ถั่งเช่าช่วยเพิ่มสมรรถภาพทางเพศได้จริงหรือ*. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. (2541). *โภชนาศาสตร์สัตว์*. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พัชรา ธนานุรักษ์ และคณะ. (2559). การเสริมแอล-คาร์นิทีน ในน้ำยาเจือจางชนิดเก็บรักษาระยะสั้นเพื่อปรับปรุงคุณภาพน้ำเชื้อสุกรที่เก็บรักษาด้วยวิธีแช่เย็น. *วารสารแก่นเกษตร*, *44* (พิเศษ 1), 25-30.

เพทาย พงษ์เพียจันทร์. (2538). *สรีรวิทยาสัตว์เลี้ยง*. เชียงใหม่: คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รัฐพล ศรประเสริฐ, อนงค์ หัมพานนท์ และสยาม อรณุศรมีรกต. (2559). การเพาะเลี้ยง *Cordyceps militaris* ด้วยเมล็ดธัญพืชและแมลงในท้องถิ่นและประสิทธิภาพการยั้งเชื้อ *Trichophyton rubrum* และ *Staphylococcus aureus*. *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, 26*(2), 239-251.

วัชรินทร์ อ้มทองหลาง, ระพีพร จัยทัพ, อรปรียา โชติ, อดิศักดิ์ คงแก้ว, นิทัศน์ วิชาสิทธิ์, ทศพร อินเจริญ, ชัยสิทธิ์ หมอนประเสริฐ, และวันดี ทาตระกูล. (2563). ผลของการเสริมฐานเห็ดถั่งเช่าสีทองต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต และความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในสุกรอนุบาล. *วารสารแก่นเกษตร*, *47* (พิเศษ 1), 75-80.

วัลย์วิณี อาจวิชัย, ยุวเรศ เรืองพานิชย์, และ นิติพงศ์ หอมวงษ์. (2562). ผลของการเสริม *Cordyceps militaris* ในอาหารต่อประสิทธิภาพรวมถึงภาวะออกซิเดชันของแม่สุกร และประสิทธิภาพการผลิตลกสุกรดูดนม. *วารสารแก่นเกษตร*, *47* (พิเศษ 2).

วารี วิดจายา. (2549). *เอกสารประกอบการสอนการสืบพันธุ์ของประชากรมนุษย์ และการควบคุมการเจริญพันธุ์*. นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

วิลาสินี อินญาวิเลิศ. (2562). *เอกสารประกอบการสอนการสืบพันธุ์และการผสมเทียมในสัตว์เลี้ยง*. พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยนเรศวร.

วรพล เองวานิช. (2563). สรีรวิทยาทางสัตวแพทย์. มหาสารคาม: *อภิชาตการพิมพ์*.

ศรีสุวรรณ ชมชัย. (2542). *คู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสุกร*. นครปฐม: ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

ศิริพร โอโกโนกิ, กฤษฎากรณ์ พริ้งเพราะ และจิราภรณ์ เลิศโภคานนท์. (2547). *สมุนไพรไทย : โอกาส และทางเลือกใหม่ของอุตสาหกรรมผลิตสัตว์*. กรุงเทพฯ: โรงแรมสยามซิตี้.

สมศักดิ์ ศิวิชัย. (2544). เชื้อราทำลายแมลง. *วารสารชีวปริทรรศน์, 3*(3), 9-12.

สายลม เกิดประเสริฐ, ภิญโญ พานิชพันธ์, และพิณทิพ รื่นวงษา. (2547). *สำรวจโลกฮอร์โมน*. สืบค้นจาก: https://li.mahidol.ac.th (เข้าถึงเมื่อ 20 กันยายน 2563)

หทัย เทพพิสัย, อุรุษา เทพพิสัย, มยุรี จิรภิญโญ, อภิชาติ จิตต์เจริญ, และจิตติมา มโนนัย. (2545). ปัญหาที่พบบ่อยในวัยทอง. สุขภาพชาย-หญิงยุควัยทอง 200, กรุงเทพฯ: *สำนักพิมพ์ข้าวฟ่าง*.

อภิชาต วิชญาณรัตน์. (2551). The role of long-action testosterone replacement therapy in late onset hypogonadal men. *ในการประชุมวิชาการ 120 ปี ศิริราช*, กรุงเทพฯ: คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล โรงพยาบาลศิริราช, 2-4.

ไฮกู๊ดส์ โปรดักส์. (2562). *ข้อมูลฐานถั่งเช่าสีทอง หรือวัสดุเพาะเห็ดถั่งเช่าสีทอง*. ฉะเชิงเทรา: บริษัท ไฮกู๊ดส์ โปรดักท์ จำกัด.

Aengwanich, W., & Suttajit, M. (2010). Efeect of polyphenols extracted from Tamarind (Tamarindus indica L.) seed coat on physiological changes, heterophil/lymphocyte ratio. Oxidative stress and body weight of broilers (Gallus domesticus) under chronic heat stress. *Journal of Animal science, 81*, 264-270.

Agarwal, A., & Prabakaran, S.A. (2005). Oxidative stress and antioxidants in male infertility: A difficult balance. *Iranian Journal of Reproductive medicine*, *3,* 1-8.

Alexander, G.M., Swerdloff, R.S., & Wang, C. (1997). Androgen-behavior correlations in hypogonadal men and eugonadal men. *Journal of Hormones and Behavior*, *31*, 110–119.

Amaral, S., Moreno, A.J., Santos, M.S., Seica, R., & Ramalho-Santos, J. (2006). Effects of hyperglycemia on sperm and testicular cells of Goto-Kakizaki and streptozotocin-treated rat models for diabetes. *Theriogenology*, *66*, 2056-2067.

Arakane, F., Sugawara, T., Nishino, H., Liu, Z., Holt, H.A., Pain, D., Stocco, D.M., Miller, W.L., & Strauss-III, J.F. (1996). Steroidogenic acute regulatory protein (StAR) retains activity in the absence of its mitochondrial import sequence: Implications for the mechanism of StAR action. *The National Academy of Sciences, 93*, 13731–13736.

Azzi, A., Davies, K.J.A., & Kelly, F. (2004). Free radical biology - terminology and critical thinking. *FEBS Letters*, *558*(1-3), 3-6.

Banaszewska, D., & Kondracki, S. (2012). An assessment of the breeding maturity of insemination boars based on ejaculate quality changes. *Folia Biologica, 60*, 151–162.

Bazer, F.W., Ford, J.J., & Kensinger, R.S. (2001). Reproductive physiology. In Pond, W.G., & Mersmann, H.J. (Eds.). *Biology of the domestic pig*. NY: Cornell university, New York.

Bearden, H.J., & Fuquay, J.W. (2000). *Applied Animal Reproduction*. USA: New Jersey. 381.

Bearden, H.J., Fuquay, J.W. & Willard, S.T. (2004). *Applied animal reproduction*. USA: New Jersy. 456.

Bhandari, A.K., Negi, J.S., Bisht, V.K., Rana, C.S., Bharti, M.K. & Singh, N. (2010). Chemical constituent, inorganic elements and properties of *Cordyceps sinensis*: A review. *Journal of nature science, 8*(9), 253-256.

Blatnik, M., Frizzell, N., Thorpe, S.R. & Baynes, J.W. (2008). Inactivation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by fumarate in diabetes: formation of S-(2-succinyl) cysteine, a novel chemical modification of protein and possible biomarker of mitochondrial stress. *Journal of Diabetes*, *57*, 41-49.

Boontiam, W., Wachirapakorn, C., Phaengphairee, P., & Wattanachai, S. (2019). Growth performance and hematological changes in growing pigs treated with *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate. *Veterinary world, 13*(4), 768-773.

Bouloux, P., Warne, D.W., & Loumaye, E. (2002). Efficacy and safety of recombinant human follicle-stimulating hormone in men with isolated hypogonadotropic hypogonadism. *Fertility and Sterility*, *77*(2), 270–273.

Breen, K.M., Billings, H.J., Wagenmaker, E.R., Wessinger, E.W., & Karsch, F.J. (2005). Endocrine basis for disruptive effects of cortisol on preovulatory events. *Endocrinology*, *146*(4), 2107-2115.

Briones, A.M., & Touyz, R.M. (2010). Oxidative stress and hypertension: current concepts. *Current hypertension reports*, *12*, 135-142.

Cates, P., Li, X., & O'Byrne, K. (2004). The Influence of 17β-Oestradiol on corticotrophin-releasing hormone induced suppression of luteinising hormone pulses and the role of CRH in hypoglycaemic stress-induced suppression of pulsatile LH secretion in the female rat. *Journal of Stress*, *7*(2), 113-118.

Chang, Y., Jeng, K.C., Huang, K.F., Lee, Y.C., Hou, C.W., Chen, K.H., Cheng, F.Y., Liao, J.W., & Chen, Y.S. (2008). Effect of *Cordyceps militaris* supplementation on sperm production, sperm motility and hormones in sprague-dawley rats. *The American journal of Chinese medicine*, *36*(5), 849-859.

Christopher, E.K., & Gray C.A. (2016). *Reproductive physiology and endocrinology of boar*. Retrieved November 10, 2020, from https://veteriankey.com/reproductive-physiology-and-endocrinology-of boars/access 23/04/2019.

Chrousos, G.P. (2009). Stress and disorders of the stress system. *Nature Reviews Endocrinology*, *5*(7), 374.

Colenbrander, B., & Kemp, B. (1990). Factors influencing semen quality in pigs. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, *40*, 105-115.

Colenbrander, B., Feitsma, H., & Grooten, H. (1993). Optimizing semen production for artificial insemination in swine. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, *48*, 207-215.

Crimmel, A.S., Conner, C.S., & Monga, M. (2001). Withered Yang: a review of traditional Chinese medical treatment of male infertility and erectile dysfunction. *Journal of Andrology*, *22*(2), 173–182.

Cunningham, K.G., Hutchinson, S.A., Manson, W., & Spring, F.S. (1951). Cordycepin: A metabolic product from cultures of *Cordyceps militaris* Part I. isolation and characterization. *Journal of the chemical society,* 2299-3200.

Dai, G.W., Bao, T.T., Xu, G.F., Cooper, R., & Zhu, G.X. (2001). Cordy Max TM Cs-4 Improves steady-state bioenergy status in mouse liver. *The Journal of alternative and complementary medicine*, *7*, 231-240.

Dai, D.F., Santana, L.F., Vermulst, M., Tomazela, D.M., Emond, M.J., MacCoss, M.J., Gollahon, K., Martin, G.M., Loeb, L.A., & Ladiges, W.C. (2009). Overexpression of catalase targeted to mitochondria attenuates murine cardiac aging. *Circulation, 119*, 2789–2797.

Das, S.K., Masuda, M., Sakurai, A., & Sakukabara, M. (2010). Medicinal uses of the mushroom *Codyceps militaris:* Current state and prospects. *Fitoterapia*, *81*(8), 961-968.

Dawood, M.A.O., Magouz, F.I., Salem, M.F.I., & Abdel-Daim, H.A. (2019). Modulation of digestive enzyme activity, blood health, oxidative responses, and growth-related gene expression in GIFT by Heat-Killed *Lactobacillus Plantarum* (L-137). *Aquaculture,* 505.

Dong, J., Liu, M., Lie, C., Zheng, X., & Wang, Y. (2012). Effect of selenite and light wavelengths on liquid culture of *Codyceps militaris* Link. *Applied Biochemical Bioethanol, 166*(8), 2030-2036.

El-Missiry, M.A. (1999). Enhanced testicular antioxidant system by ascorbic acid in alloxan diabetic rats. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology*, *124*, 233-237.

Ford, J.J. (1990). Differentiation of sexual behavior in pigs. *Journal of reproduction and fertility- supplement, 40*, 311- 321.

Fraser, A.F., & Broom, D.M. (1997). *Farm animal behavior and welfare* (3rd Edition), U.K: Oxford.

Grachev, P., Li, X.F., & O'Byrne, K. (2013). Stress regulation of kisspeptin in the modulation of reproductive function. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *784*, 31-54.

Gregori, A. (2014). Cordycepin production by *Cordyceps militaris* cultivation on spent brewery grains. *Acta Biologica Slovenica, 57*(2), 45–52.

Gu, W.L., Fu, S.L., Wang, Y.X., Li, Y., Wang, X.F., Xu, X.M., & Lu, P.H. (2007). Expression and regulation of versican in neural precursor cells and their lineages. *Acta Pharmacologica Sinica, 28*, 1519–1530.

Han, J.C., Qu, H.X., Wang, J.G., Yan, Y.F., Zhang, J.L., Yang, L., Zhang, M., & Cheng, Y.H. (2014). Effects of fermentation products of *Cordyceps militaris* on growth performance and bone mineralization of broiler chicks. *Journal of Applied Animal Research, 43*(2), 1-6.

Hafez, E.S.E. (1993). *Reproduction in farm animals.* Lea & Febiger (6th edition), USA: Philadelphia, 573.

Hemsworth, P.H., Beilharz, R.G. & Brown, W.J. (1978). The importance of the courting behavior of the boar on the success of natural and artificial mattings. *Applied Animal Ethology, 4*, 341-347.

Hemsworth, P.H., & Tilbrook, A.J. (2007). Sexual behavior of male pigs. *Journal of Hormones and Behavior*, 52, 39–44.

Hong, I.P., Kang, P.D., Kim, K.Y., Nam, S.H., Lee, M.Y., Choi, Y.S., Kim, N.S., Kim, H.K., Lee, K.G., & Humber, R.A. (2010). Fruit body formation on silkworm by *Cordyceps militaris. Journal of Microbiology, 38*(2), 128-132.

Hong, I.P., Choi, Y.S., Woo, S.O. Han, S.M., Kim, H.K., Lee, M.Y., Lee, M.R., & Humber, R.A. (2011). Effect of *Cordyceps militaris* on testosterone production in Sprague-Dawley rats. *International Journal of Industrial Entomology*, *23*(1), 143-146.

Hsu, C.C, Huang, Y.L., Tsai, S.J., Sheu, C.C., & Huang, B.M. (2003). In vivo and in vitro stimulatory effects of *Cordyceps sinensis* on testosterone production in mouse Leydig cells. *Journal of Life Sciences, 73*, 2127-2136.

Huang, B., Ramanis, Z., & Luck, D.J. (1982). Suppressor mutations in Chlamydomonas reveal a regulatory mechanism for Flagellar function. *Journal of Cell, 28*(1), 115–124.

Huang, B.M., Hsiao, K.Y., Chuang, P.C., Wu, M.H., Pan, H.A., & Tsai, S.J. (2004). Upregulation of steroidogenic enzymes and ovarian 17β-estradiol in human granulosa-lutein cells by *Cordyceps sinensis* mycelium. *Journal of Biology of Reproduction*, *70*, 1358–1364.

Huang, L., Li, Q., Chen, Y., Wang, X., & Zho, X. (2009). Determination and analysis of cordycepin and adenosine in products of *Cordyceps spp. African Journal of Microbiology Research*, *3*(12), 957-961.

Huff, D.S., Snyder III, H.M., Rusnack, S.L., Zderic, S.A., Carr, M.C., & Canning, D.A. (2001). Hormonal therapy for the subfertility of cryptorchidism. *Hormone Research, 55*(1), 38–40.

Hywel-Jones, N.L. (1994). *Cordyceps khaoyaiensis* and *C. pseudomilitaris*, two new pathogens of lepidopteran larvae from Thailand. *Journal of Mycological Research, 98*, 939-942.

Isaka, M., Kittakoop, P., Kirtikara, K., Hywel-Jones, N.L., & Thebtaranonth, Y. (2005). Bioactive substances from insect pathogenic fungi. *Accounts of chemical research journal, 38*, 813-823.

Johnson, L.A., Weitze, K.F. Fiser, P. & Maxwell, W.M.C. (2000). Storage of boar semen. *Journal of animal reproduction science, 62*, 143-172.

Kai, Y., Yea, M., Zhoua, Z., Sunb, W., & Linb, X. (2013). The genus Cordyceps : a chemical and pharmacological: A review. *Journal of pharmacy and pharmacology*, *65*, 474–493.

Karunakaran, M., Mondal, M., Rajarajan, K., Karmakar, H.D., Bhat, B.P., Jitumoni, D., Bhaskar, B., Baruah, K.K., & Rajkhowa, C. (2009). Early puberty in local Naga boar of India: Assessment through epididymal spermiogram and in vivo pregnancy. *Journal of animal production science, 111*, 112-119.

Kim, S.Y., Shrestha, B., Sung, G.H., Han, S.K., & Sung, J.M. (2011). Optimum conditions for artificial fruiting body formation of *Cordyceps cardinalis*. *Journal of Microbiology*, *38*(2), 133-136.

Kinsey-Jones, J., Li, X., Knox, A., Wilkinson, E., Zhu, X., Chaudhary, A., Milligan, S., Lightman, S., & O'byrne, K. (2009). Down-regulation of hypothalamic kisspeptin and its receptor, Kiss1r, mRNA expression is associated with stress-induced suppression of luteinizing hormone secretion in the female rat. *Journal of Neuroendocrinology*, *21*(1), 20-29.

Kitakaze, M., & Hori, M. (2000). Adenosine therapy: a new approach to chronic heart failure, expert opininvestig. *Journal of Drugs.* 9, 2519-2535.

Knecht, D., Makosa, A.J. & Duzinski, K. (2017). The effect of age interval collection and season on selected semen parameters and prediction of AI boar productivity. *Livestock Science, 201*, 13-21.

Koh, J.H., Yu, K.W., Suh, H.J., Choi, Y.M., & Ahn, T.S. (2002). Activation of macrophages and the intestinal immune system by an orally administered decoction from cultured mycelia of *Cordyceps sinensis*. *Journal of bioscience, biotechnology and biochemistry, 66*, 407–411.

Kosco, M.S., Bolt, D.J., Wheaton, J.E., Loseth, K.J., & Crabo, B.G. (1987). Endocrine responses in relation to compensatory testicular growth after neonatal hemicastration in boars. *Journal of biology of reproduction, 36*, 1177-1185.

Kumaresan, A., Bujarbaruah, K.M., Kadirvel, G., Khargharia, G., Sarma, R.G., Goswami, J., Basumatary, R., Palaniappan, K., & Bardoloi, R.K. (2011). Early sexual maturity in local boars of Northeastern India: Age-related changes in testicular growth, epididymal sperm characteristics and peripheral testosterone levels. *Theriogenology, 75*, 687-695.

Lee, H.J., Burger, P., Vogel, M., Friese, K., & Brüning, A. (2012). The nucleoside antagonist cordycepin causes DNA double strand breaks in breast cancer cells. *Journal of investigational new drugs, 30,* 1917–1925.

Lenzi, A., Lombardo, F., Sgro, P., Salacone, P., Caponecchia, L., Dondero, F., & Gandini, L. (2003). Use of carnitine therapy in selected cases of male factor infertility: a double-blind crossover trial. *Journal of fertility and sterility, 79*, 292-300.

Li, C., Li, Z., Fan, M., Cheng, W., Long, Y., Ding, T., & Ming, L. (2006). The composition of *Hirsutella sinensis*, anamorph of *Cordyceps sinensis*. *Journal of food composition and analysis, 19*(8), 800-805.

Lin, W.H., Tsai, M.T., Chen, Y.S., Hou, R.C., Hung, H.F., Li, C.H., Wang, H.K., Lai, M.N., & Jeng, K.C. (2007). Improvement of sperm production in sub fertile boars by *Cordyceps militaris* supplement. *The American Journal of Chinese Medicine, 35*(4), 631-41.

Lim, K., Lee, C. H., & Chang, E. (2012). Optimization of solid state culture condition for the production of adenosine, cordycepin, and d-mannitol in fruiting bodies of medicinal caterpillar fungus *Codyceps militaris* (L.:Fr.) Link (Ascomycetes). *International journal of medicinal mushrooms, 14*(2), 181-187.

Lunstra, D.D., Ford, J. J., Klindt, J., & Wise, T.H. (1997). Physiology of the Meishan boar. *Journal of reproduction and fertility-supplement, 52*, 181-193.

Mates, J.M., & Sanchez-Jimenez, F. (1999). Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Frontier in Bioscience*, 4, 339-345.

Mechanisms in medicine. (2011). *Testosterone production*. Retrieved July 30, 2021, from: http://www.mechanismsinmedicine.com/site/index/animation

Moger, W.H. (1991). Evidence for compartmentalization of adenosine 3V,5V-monophosphate (cAMP)-dependent protein kinases in rat Leydig cells using site-selective cAMP analogs. *Endocrinology*, *128*(3), 1414–1418.

Müller-Martin, M.D., & Stefan-Zotter, M.D. (1997). Natural antibody in mammary tumor virus-infected mice that reacts with intracytoplasmic a particles of mouse mammary tumors. *Journal of the national cancer institute, 58*, 967–975 .

Nakamura, K., Konoha, K., Yoshikawa, N., Yamaguchi, Y., Kagota, S., Shinozuka, K., & Kunitomo, M. (2005). Effect of cordycepin (3'-deoxyadenosine) on hematogenic lung metastatic model mice. *Journal of In Vivo, 19*, 137–141.

Pamok, S., Aengwanich, W., & Komatarin, T. (2009). Adaptation to oxidative stress and impact of chronic oxidative stress on immunity in heat-stressed broilers. *Journal of Thermal Biology*, *34*, 353-357.

Parcell, A.C., Smith, J.M., Schulthies, S.S., & Myrer, J.W. (2004). Fellingham G. *Cordyceps Sinensis* (CordyMax Cs-4) supplementation does not improve endurance exercise performance. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism, 14,* 236–242.

Patlevic, P., Vaskova, J., Svorc-Jr, P., Ladislav-Vasko, L., & Svorc, P. (2016). Reactive oxygen species and antioxidant defense in human gastrointestinal diseases. *Integrative Medicine research*, *5*, 250-258.

Paulina, N.P., & Bernard, R. (2020). Oxidative Stress and Reproductive Function in the Aging Male: A review. *Biology, 9*, 282.

Pilania, P.K., Solanki, S., Mohammed, N., Asopa, S., Maan, R., Joshi, A., Sankhala, L.N., Mathur, M., Thori, M.K., Gaur, J.S. Meena, A., & Kataria, N. (2013). Oxidative stress vis a vis gastrointestinal paratism and pneumonia in Marwari goat. *Veterinary research*, *6*, 54-57.

Pribilová, M., Horký, P., Urbánková, L., Nevrkla, P., & Skládanka, J. (2018). Influence of L-carnitine daily supplement on qualitative and quantitative ejaculate indicators in boars during the summer period. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae mendelianae brunensis, 66*(5), 1199-1206.

Rege, N.N., Date, J., Kulkarni, V., Prem, A.R., Punekar, S.V., & Dahanukar, S.A. (1997). Effect of Y virilin on male infertility. *Journal of Postgraduate Medicine, 43*(3), 64–67.

Richard, B. (n.d.). *Mechanism of Action: Hormones with Cell Surface Receptors*. Retrieved July 15, 2021, from: http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/endocrine/moaction/surface.html

Roscoe, W.A., Barr, K.J., Mhawi, A.A., Pomerantz, D.K., & Kidder, G.M. (2001). Failure of spermatogenesis in mice lacking connexin43. *Biology of Reproduction*, *65*(3), 829–838.

Ruth, L. (2017). *The male reproductive organs*. Retrieved November 15, 2020, from: https://med.libretexts.org/Bookshelves/Veterinary_Medicine/Book%3A_Anatomy_and_Physiology_of_Animals_(Lawson)/13%3A_Reproductive_System/13.05%3A_The_Male_Reproductive_Organs access 23/04/2019.

Saez, J.M. (1994). Leydig cells: endocrine paracrine and autocrine regulation: A review. *Endocrine, 15*(5), 574–626.

Schmidt, K., Li, Z., Schubert, B., Huang, B., Stoyanova, S., & Hamburger, M. (2003). Screening of entomopathogenic deuteromycetes for activities on targets involved in degenerative diseases of the central nervous system. *Journal of Ethnopharmacology, 89*(2-3), 288-297.

Schulze, M., Waberski, D., Buder, S., Rudiger, K., and Beyerbach, M. (2014). Influences on semen traits used for selection of young AI boars. *Journal of animal reproduction science, 148*, 164-170.

Selman, C., McLaren, J.S., Collins, A.R., Duthie, G.G., & Speakman, J.R. (2013). Deleterious consequences of antioxidant supplementation on lifespan in a wild-derived mammal. Biological Letters, *9*(4), 20130432.

Selvaratnam, J., Paul, C., Robaire, B. (2015). Male Rat Germ Cells Display Age-Dependent and Cell-Specific Susceptibility in Response to Oxidative Stress Challenges. *Biology of Reproduction*, *93*, 72.

Shashidhar, M.G., Giridhar, P., Sankar, U.K., & Manohar, B. (2013). Bioactive principles from *Cordyceps sinensis*: A potent food supplement: A review. *Journal of functional foods,* 1013-1030.

Shrilatha, B., and Muralidhara. (2007). Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in streptozotocin-induced diabetic mice: its progression and genotoxic consequences. *Journal of reproductive toxicology*, *23*, 578-587.

Shrilatha, B. (2007). Occurrence of oxidative impairments, response of antioxidant defenses and associated biochemical perturbations in male reproductive milieu in the Streptozotocin-diabetic rat. *International Journal of Andrology*, *30*, 508-518.

Sinclair, S. (2000). Male infertility: nutritional and environmental considerations: A review. *Alternative Medicine,* 5(1), 28–38.

Stocco, D.M., & Clark, B.J. (1996). Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells: A review. *Endocrine, 17*(3), 221–244.

Sung, G.H., Hywel-Jones, N.L., Sung, J.M., Luangsaard, J.J., Shrestha, B., & Spatafora, J.W. (2007). Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Journal of studies in mycology*, *57*, 5-59.

Suriyasomboon, A., Lundeheim, N., Kunavongkrit, A., & Einarsson, S. (2005). Effect of temperature and humidity on sperm morphology in duroc boars under different housing systems in Thailand. *The Journal of Veterinary Medical Science, 67*, 777–785.

Tapingkae, T., Luerdara, K., Kulsarin, J., & Buranapanichpan, Sawai. (2016). Growth of gold Cordyceps (*Cordyceps militaris*) on pupae of Nanglai thai native silkworm and eri silkworm. *Journal of Agriculture,* Chiang Mai University.

Tsigos, C., & Chrousos, G.P. (2002). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *Journal of Psychosomatic Research*, *53*(4), 865-871.

Tuli, H.S., Sharma, A.K., & Sandhu, S.S. (2014). Optimization of fermentation conditions for cordycepin production using *Cordyceps militaris*. *International Journal of biological and chemical sciences, 1*(1), 35 - 47.

Trudeau, V.L., Somoza, G.M., Nahorniak, C.S., and Peter, R. E. (1992). Interactions of estradiol with gonadotropin-releasing hormone and thyrotropin-releasing hormone in the control of growth hormone secretion in the goldfish. *Journal of Neuroendocrinology*, *56*, 483-490.

Veal, L. (1998). Complementary therapy and infertility: an Icelandic perspective. *Complementary Therapies in Nursing and Midwifery, 4*(1), 3–6.

Vedhara, K. (2003). An investigation into the relationship between salivary cortisol, stress, anxiety and depression. *Biological Psychology*, *62*, 89-96.

Wasser, S.P. (2002). Medicinal mushrooms as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides. *Microbiology and Biotechnology, 60*(3), 258-74.

Wentzel, P., Ejdesjo, A., and Eriksson, U.J. (2003). Maternal diabetes in vivo and high glucose in vitro diminish GAPDH activity in rat embryos. *Journal of Diabetes*, *52*, 1222-1228.

Winkler, D. (2008). Yartsa Gunbu (*Cordyceps sinensis*) and the fungal commodification of Tibet's rural economy. *Economic Botany, 62*(3), 291-305.

Wikipedia. (2021). *Testosterone hormones*. Retrieved December 25, 2020, from https://th.wikipedia.org/wiki/testosterones

Wu, K.J., Hsieh, M.T., Wu, C.R., Wood, W.G., & Chen, Y.F. (2012). Green tea extract ameliorates learning and memory deficits in ischemic rats via its active component polyphenol epigallocatechin-3-gallate by modulation of oxidative stress and neuroinflammation. *Application of complementary and alternative medicine on neurodegenaretive disorders*.

Yoshikawa, N., Nakamura, K., Yamaguchi, Y., Kagota, S., Shinozuka, K., & Kunitomo, M. (2004). Antitumor activity of cordycepin in mice. *Clinical and experimental pharmacology and physiology, 31*, 51–3.

Yu, J., Fleming, S.L., Williams, B., Williams, E.V., Li, Z., Somma, P., Rieder, C.L., & Goldberg, M.L. (2004). Great wall kinase: a nuclear protein required for proper chromosome condensation and mitotic progression in Drosophila. *Journal of Cell Biology, 164*(4), 487-492.

Yu, H.M., Wang, B.S., Huang, S.C., & Duh, P.D. (2006). Comparison of protective effects between cultured *Cordyceps militaris* and natural *Codyceps sinensis* against oxidative damage. *Journal of agricultural and food chemistry, 54*(8), 3138-3188.

Zheng, P., Yongliang, X., Guohua, X., & Chengshu, W. (2011). Genome sequence of the insect pathogenic fungus *Cordyceps militaris*, a valued traditional Chinese medicine. *Genome biology, 12*(11), 116.

Zitzmann, M., & Nieschlag, E. (2000). Hormone substitution in male hypogonadism. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *161*(1–2), 73–88.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การรีดเก็บน้ำเชื้อ และเจือจางน้ำเชื้อสุกรพ่อพันธุ์

การรีดเก็บน้ำเชื้อเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการเก็บน้ำเชื้อสุกรพ่อพันธุ์เพื่อนำไปผสมเทียม ซึ่งขั้นตอนการรีดน้ำเชื้อสุกรพ่อพันธุ์ มีดั้งนี้

1) ก่อนรีดน้ำเชื้อควรทำความสะอาดสุกรพ่อพันธุ์ และคอกรีดให้สะอาด พื้นคอกไม่มีชื้นแฉะ สุกรพ่อพันธุ์สุกรที่นำมารีดจะต้องตัดขนบริเวณปลายถุงหุ้มอวัยวะเพศ เพื่อไม่ให้สุกรพ่อพันธุ์รู้สึกเจ็บในระหว่างรีดน้ำเชื้อ

2) นำสุกรพ่อพันธุ์ที่จะทำการรีดน้ำเชื้อเข้าคอกรีด ซึ่งในคอกจะมีหุ่น (Dummy) สำหรับรีดน้ำเชื้ออยู่

3) ต้อนให้สุกรพ่อพันธุ์ขึ้นหุ่นและผู้รีดจะเข้าทางด้านข้าง หันหน้าไปทางหัวหรือส่วนท้ายของสุกรพ่อพันธุ์ก็ได้ แล้วใช้มือข้างที่ถนัดที่สุดทำการกระตุ้นสุกรพ่อพันธุ์ให้อวัยวะเพศแข็งตัว โดยใช้มือกระตุ้นตรงบริเวณถุงหุ้มอวัยวะเพศโดยการชักเข้าชักออกสลับกันไปมา

4) ก่อนรีดน้ำเชื้อควรรีดน้ำปัสสาวะที่ค้างอยู่ที่ถุงหุ้มอวัยวะเพศออกให้หมดก่อน

5) เมื่อปลายอวัยวะเพศของสุกรพ่อพันธุ์ยื่นออกให้ใช้มือจับส่วนปลายอวัยวะเพศ ในการจับต้อง ให้นิ้วมือล็อคที่เกลียวของอวัยวะเพศของสุกรพ่อพันธุ์บีบรัดให้แน่น

6) ใช้น้ำเกลือล้างที่ปลายอวัยวะเพศ และซับด้วยกระดาษทิชชู

7) ขณะรีดทำการกระตุ้นอวัยวะเพศโดยบีบนิ้วเข้าออกเป็นจังหวะ สุกรพ่อพันธุ์ก็จะปล่อยน้ำเชื้อออกมา โดยที่น้ำเชื้อจะประกอบไปด้วย 3 ส่วน ได้แก่ ส่วนแรกจะมีลักษณะเป็นสีขาวใสในส่วนนี้จะมีตัวเชื้ออสุจิอยู่น้อยซึ่งจะรีดทิ้งไป ส่วนที่สองจะมีลักษณะเป็นสีขาวขุ่นส่วนนี้จะมีตัวเชื้ออสุจิอยู่มากจะรีดเก็บเอาส่วนนี้ ส่วนที่สามจะเป็นเม็ดสาคูที่หลั่งออกมา เมื่อรีดได้น้ำเชื้ออสุจิแล้วก็จะนำใส่กระติกเพื่อไม่ให้โดนแสงและนำไปส่งยังห้องปฏิบัติการน้ำเชื้อ

ขั้นตอนการเจือจางน้ำเชื้อ มีดังนี้

1) เตรียมสารละลายเพื่อใช้ในการเจือจางน้ำเชื้อ โดยนำสารเจือจางผสมกับน้ำกลั่น (Distilled water) ที่ผ่านการอบหรือนึ่งฆ่าเชื้อแล้วให้ครบตามสัดส่วนที่ถูกต้อง โดยทั่วไปสารเจือจาง

1 ซองต่อน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร เทผสมรวมกันในภาชนะและเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นทำการระบุวันที่เตรียมสารละลายและวันหมดอายุไว้ที่ภาชนะบรรจุ

2) อุ่นสารละลายที่จะใช้ในการเจือจางน้ำเชื้อในอ่างน้ำ ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้เพื่อหลีกเลี่ยงการช็อกของตัวอสุจิ เนื่องจากการเปลี่ยนอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว

3) สารละลายที่ใช้เจือจางน้ำเชื้อที่ผสมแล้ว ถ้าใช้ไม่หมดต้องเก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส) ถ้าเก็บไว้นานกว่า 3 วันไม่ควรนำมาใช้

4) คำนวณปริมาตรสารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่ต้องใช้เทสารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่คำนวณได้ใส่ในบีกเกอร์ วัดอุณหภูมิของน้ำเชื้อและสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ อุณหภูมิของน้ำเชื้อ และสารละลายเจือจางน้ำเชื้อควรต่างกันไม่เกิน 0.5 องศาเซลเซียส แล้วค่อยๆเทน้ำเชื้อลงในสารละลายเจือจางน้ำเชื้ออย่างช้าๆ

ภาคผนวก ข สารต้านอนุมูลอิสระ

1. Superoxide dismutase (SOD)

1.1 อุปกรณ์ที่ต้องเตรียม

- เครื่อง Microplate reader capable 450 nm
- แผ่นก้นแบนใสสำหรับทดสอบสี 96 well
- SOD human standard สำหรับการวัดเส้นโค้งมาตรฐาน
- Microcentrifuge tube
- Trips
- Pipette
- ddH_2O

1.2 การเตรียม Reagent

1) ละลาย WST: เจือจางสารละลาย WST 1 มิลลิลิตร ด้วย SOD Assay Buffer 19 มิลลิลิตร ทำการแบ่งหรือผสมให้เพียงพอต่อการทดสอบ

2) สารละลาย Enzyme SOD: ปั่นเหวี่ยง Enzyme 5 นาที และทำให้ผสมเข้ากันโดยใช้การปิเปต (จำเป็นมากเพราะเนื่องจาก Enzyme มี 2 ชั้น และต้องผสม

ให้เข้ากันก่อนเจือจาง) เจือจาง 15 ไมโครลิตร ด้วย Dilution Buffer 2.5 มิลลิลิตร (สามารถเก็บไว้ได้ 3 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส)

3) SOD Assay Buffer: เตรียมให้พร้อมใช้งานโดยปรับให้อยู่อุณหภูมิห้อง

4) SOD Dilution Buffer: เตรียมให้พร้อมใช้งานโดยปรับให้อยู่อุณหภูมิห้อง (ควรตรวจสอบจำนวนตัวอย่างให้แน่นอนก่อนใช้ เพื่อความเพียงพอต่อการใช้)

1.3 ขั้นตอนการทดสอบ

1) ปรับสมดุลทั้งหมดและ Reagent ที่เตรียมไว้ให้อยู่ในอุณหภูมิห้องก่อนใช้งาน และกวนหรือทำให้เข้ากันอีกครั้งอย่างเบาๆ

2) วิเคราะห์มาตรฐานการควบคุม และตัวอย่างทั้งหมดซ้ำกัน

1.3.1 ตั้งค่าหลุมปฏิกิริยา

- Blank 1 = ddH_2O 20 ไมโครลิตร
- Blank 2 = ตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร
- Blank 3 = ddH_2O 20 ไมโครลิตร
- หลุมตัวอย่าง = ตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร

ส่วนประกอบ	**ตัวอย่าง (µL)**	**Blank1 (µL)**	**Blank2 (µL)**	**Blank3 (µL)**
สารละลายตัวอย่าง	20	0	20	0
ddH_2O	0	20	0	20
สารละลาย WST ที่พร้อมใช้งาน	200	200	200	200
สารละลายเอนไซม์ที่พร้อมใช้งาน	20	20	0	0
Buffer ที่เจือจางแล้ว	0	0	20	20

1.4 หลักการทำงาน

1) เติม WST solution 200 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม

2) เติม Buffer ที่เจือจางแล้ว 20 ไมโครลิตร ลงใน Blank 2 และ Blank 3

3) เติมเอนไซม์ 20 ไมโครลิตร ลงในแต่ละตัวอย่าง และ Blank 1

4) ผสมให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 20 นาที

5) นำเข้าเครื่องไมโครเพลทเพื่อทดสอบค่าดูดกลืน แสงที่ OD 450 นาโนเมตร

<u>หมายเหตุ</u> เนื่องจาก Superoxide จะทำปฏิกิริยาทันทีหลังจากการเติมเอนไซม์ลงไปในตัวอย่าง แนะนำให้ใช้ปิเปตหลายอัน เพื่อความรวดเร็วและการหน่วงเวลาการตอบสนองในแต่ละหลุม

1.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

1) คำนวณการทำงานของ SOD (% อัตราการยับยั้ง) โดยใช้สมการต่อไปนี้

$$SOD\ Activity\ (inhibition\ reat\ \%) = \frac{(Ablank1 - Ablank2) - (Asample - Ablank2)}{(Ablank1 - Ablank3)} \times 100$$

A = Absorbance

2) หากใช้เส้นมาตรฐาน (Standard Curve)

- การวาดเส้นโค้งผ่านจุดต่างๆเพื่อให้ได้เส้นโค้งตามมาตรฐานที่ต้องการแนะนำใช้ซอฟแวร์หรือ ไมโครซอฟเอกซ์เซล (Excel) พล็อตค่าที่ได้
- การคาดการการอ่านค่าตัวอย่างจากเส้นโค้งมาตรฐานโดยใช้สมการดังนี้

$$X = \frac{Corrected\ absorbance - (y - intercep)}{Slope}$$

- ใช้การอ่านตัวอย่างในสมการนี้ที่ระบุไว้ในขั้นตอนการวิเคราะห์ข้อมูล เพื่ออ่านการทำงานของ SOD

2. Glutathione peroxidase (GPx)

2.1 วัสดุ-อุปกรณ์ที่ต้องเตรียม

- น้ำกลั่น
- เครื่อง Colorimetric Microplate reader capable 340 nm
- แผ่นก้นแบนใสสำหรับทดสอบสี 96 well
- Microcentrifuge tube
- Trips
- Pipet
- Water bath
- Vortex

2.2 เทคนิค

1) เก็บตัวอย่างทุกส่วนไว้บนน้ำแข็งหรือแช่แข็งระหว่างการทดสอบ
2) ตรวจสอบว่าบัฟเฟอร์และสารละลายทั้งหมดอยู่ในอุณหภูมิห้องก่อนเริ่มการทดลอง
3) ตัวอย่างที่มีค่าสูงกว่ามาตรฐานให้เจือจางในบัฟเฟอร์ในระดับที่เหมาะสม
4) หลีกเลี่ยงการเกิดฟอง หรือฟองอากาศในขณะผสม
5) หลีกเลี่ยงการปนเปื้อนข้ามตัวอย่างตรวจสอบให้แน่ใจว่าปิดผนึกอย่างถูกต้องในระหว่างการบ่ม

2.3 การเตรียมสารเคมี Reagent

1) GPx Buffer: ก่อนเริ่มใช้ให้อยู่ในอุณหภูมิห้องก่อนเริ่มใช้ และควรเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส
2) NASPH Standard: สร้างใหม่ด้วย dH_2O 500 ไมโครลิตร เพื่อให้ได้โซลูชันมาตรฐาน 40 mM NADPH Aliquot standard เพื่อให้มีจำนวนการทดสอบเพียงพอที่ต้องการเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 เดือนหรือที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์
3) Glutahione Reductase: เจือจางด้วย Assay Buffer 220 ไมโครลิตร
4) Glutathione (GSH): สร้างใหม่ด้วย Assay Buffer 220 ไมโครลิตร

5) Cumene Hydroperoxide: เจือจางด้วย Assay Buffer 1.25 ไมโครลิตร

2.4 Glutathione Peroxidase (Positive Control): สร้างใหม่ด้วย Assay Buffer 100 ไมโครลิตร

มาตรฐาน #	**ปริมาตรมาตรฐาน (μL)**	**Assay Buffer (μL)**	**มาตรฐานปริมาตรสุดท้ายในหลุม (μL)**	**สิ้นสุด [NADPH] ในหลุม**
1	0	300	100	0 nmol/well
2	60	240	100	20 nmol/well
3	120	180	100	40 nmol/well
4	180	120	100	60 nmol/well
5	240	60	100	80 nmol/well
6	300	0	100	100 nmol/well

*หากทำสารละลายแล้วที่จะเจือจางแล้ว ควรใช้ภายใน 4 ชม.

2.5 การเตรียมมาตรฐาน

1) เตรียม NADPH มาตรฐาน โดยเจืองจาง 25 ไมโครลิตรของสารละลายมาตรฐาน 40 mM NADPH ใน 975 ไมโครลิตร ของ dH_2O

2) เตรียมความพร้อมเพื่อสร้างส่วนของเส้นโค้งมาตรฐาน ตามที่อธิบายตามตาราง การเจือจางแต่ละครั้งมีปริมาณมาตรฐานเพียงพอที่จะตั้งค่าการอ่านซ้ำ (2x100 ไมโครลิตร)

2.6 ขั้นตอนการประเมิน และตรวจจับ

- ปรับสมดุลรีเอเจนต์ทั้งหมดให้อยู่ในอุณหภูมิห้องก่อนการทดลอง
- แนะนำให้ทดสอบมาตรฐานควบคุมและตัวอย่างทั้งหมดซ้ำกัน

1) ตั้งค่าหลุมมาตรฐานปฏิกิริยายา

A. หลุมมาตรฐาน โดยเจือจางมาตรฐาน 100 ไมโครลิตร

B. หลุมตัวอย่าง ใส่ 2-50 ไมโครลิตร (ปรับปริมาณเป็น 50 ไมโครลิตร/หลุม ด้วย Assay buffer)

C. (ไม่บังคับ) การควบคุมเชิงบวก ใส่ 5-10 ไมโครลิตรของ GPx Positive

D. หลุมควบคุมรีเอเจนต์ ใส่ 50 ไมโครลิตร Assay Buffer

2) ส่วนผสมของปฏิกิริยา

ก่อนผสมใช้งานให้เตรียมส่วนผสมของปฏิกิริยาสำหรับแต่ละชนิดดังนี้

Component	Colorimetric Reaction Mix (μL)
Assay Buffer	33
40 mM NADPH solution	3
GR solution	2
GSH solution	2

ผสมรีเอเจนต์ให้เพียงพอสำหรับการตรวจ (ตัวอย่างการควบคุมเชิงเชิงบวก และตัวควบคุมรีเอเจนต์) ที่จะดำเนินการ เตรียมส่วนผสมหลัก Reaction Mix ตรวจสอบเพื่อเพียงพอต่อการทดลอง

3) เติม Reaction Mix จำนวน 40 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่างหลุมควบคุมเชิงบวก และหลุมควบคุมรีเอเจนต์

4) ผสมให้เข้ากัน และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้ GSSG ละลายทั้งหมดในตัวอย่าง

<u>หมายเหตุ</u> วัด OD 340 นาโนเมตรก่อนเติม cumene hydroperoxide ถ้า OD ที่ 340 นาโนเมตรต่ำกว่า 1.0 ให้เพิ่ม NADPH มากขึ้นเพื่อให้แน่ใจว่ามี NADPH เพียงพอในระบบปฏิกิริยา 1 ไมโครลิตร ของ 40 mM NADPH จะให้ ~ 0.5 OD ที่ 340 นาโนเมตร

5) เติมสารละลาย Cumene hydroperoxide 10 ไมโครลิตร ลงในตัวอย่าง หลุมควบคุมเชิงบวก และควบคุมรีเอเจนต์ เท่านั้น เพื่อเริ่มปฏิกิริยา GPx ผสมให้เข้ากัน

6) วัดเอาต์พุต (A1) บนเครื่องอ่าน Microplate reader ที่ OD340 นาโนเมตร ที่ T1

7) บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที หรือนานกว่านั้นหากเกิดกิจกรรมของ GPx ต่ำ (วิธีการนี้ต้องป้องกันแสง)

8) วัดเอาต์พุต (A2) บนเครื่องอ่าน Microplate reader ที่ OD340 นาโนเมตร ที่ T2

<u>หมายเหตุ</u> 1) หากค่า A1 ต่ำเกินไป (<0.7) แสดงว่ามี GPx มากเกินไปหรือมี GSSG มากเกินไปในตัวอย่าง อาจต้องเจือจางตัวอย่างหรือลบ GSSG ออกจากตัวอย่าง โดยใช้วิธีต่างๆเช่น การหมุนตัวอย่างเพื่อลบ GSSG 2) จำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องอ่าน A1 และ A2 ในช่วงเชิงเส้นของปฏิกิริยา จะแม่นยำมากขึ้นถ้าคุณอ่านจลนศาสตร์ของปฏิกิริยา จากนั้นเลือก A1 และ A2 ในช่วงเชิงเส้นของปฏิกิริยา

2.7 การคำนวณ

- ตัวอย่างที่แสดงผลมากกว่ามาตรฐานสูงสุดควรเจือจางเพิ่มเติมในบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมและวิเคราะห์ใหม่จากนั้นคูณความเข้มข้นที่พบด้วยปัจจัยการเจือจางที่เหมาะสม
- ด้วยเหตุผลทางสถิติเราขอแนะนำให้ทดสอบแต่ละตัวอย่างด้วยการจำลองอย่างน้อยสองรายการ (ซ้ำกัน)

1) เฉลี่ยการอ่านที่ซ้ำกันสำหรับแต่ละมาตรฐานและตัวอย่าง

2) ลบค่าการดูดกลืนแสงเฉลี่ยของช่องว่าง (Standard #1) จากการอ่านค่ามาตรฐาน และตัวอย่างทั้งหมด จะได้ค่าดูดกลืนแสง

3) พล็อตค่าการดูดกลืนแสงที่แก้ไขแล้วสำหรับแต่ละมาตรฐานเป็นฟังก์ชันของความเข้มข้นสุดท้ายของ NADPH

4) วาดเส้นโค้งที่ดีที่สุดผ่านจุดเหล่านี้เพื่อสร้างเส้นโค้งมาตรฐาน จากซอฟต์แวร์ตัวอ่านเพลท หรือ Excel ส่วนใหญ่สามารถพล็อตค่าเหล่านี้และพอดีกับเส้นโค้ง คำนวณสมการเส้นแนวโน้มตามข้อมูลเส้นโค้งมาตรฐานของคุณ (ใช้สมการที่ให้ความพอดีที่แม่นยำที่สุด)

5) สรุปการอ่านตัวอย่างจากเส้นโค้งมาตรฐานที่พล็อตโดยใช้สมการต่อไปนี้:

$$\Delta A_{340}nm = [(sample\ A1 - sample\ A2) - (Reagent\ control\ A1 - Reagent\ control\ A2$$

ใช้ **Δ**_A340 nm กับเส้นโค้งมาตรฐาน NAPDH เพื่อรับ NADPH จำนวน B:

$$B = \frac{\Delta A_340nm - intercept}{Slope}$$

ความเข้มข้นของ GPx ในตัวอย่างทดสอบคำนวณโดย (nmol/min/mL=mU/mL):

$$GPx\ Activity = \frac{B}{(T2 - T1) \times V} \times D$$

B = ปริมาณ NADPH ที่ลดลงระหว่าง T1 และ T2 (nmol)

T1 = เวลาของการอ่านครั้งแรก (A1) (นาที)

T2 = เวลาอ่านวินาที (A2) (นาที)

V = ปริมาตรตัวอย่างสำเร็จรูปที่เติมลงในหลุมปฏิกิริยา (มิลลิลิตร)

D = ปัจจัยการเจือจางตัวอย่าง

นิยามหน่วย: หนึ่งหน่วยถูกกำหนดให้เป็นปริมาณของเอนไซม์ที่จะทำให้เกิดออกซิเดชัน 1.0 ไมโครโมล ของ NADPH ถึง $NADP^+$ ภายใต้เงื่อนไขชุดทดสอบต่อนาทีที่ 25 องศาเซลเซียส

ตาราง 3 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on semen volumes and sperm concentrations (n=18)

Parameter/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	15	30		
Volumes (ml.)[1]					
0	297.00±43.62	377.89±76.75	324.36±41.40	14.89	0.07
1	319.97±27.64	330.78±85.59	316.97±60.77	13.95	0.92
2	303.45±58.01	316.58±84.02	306.67±40.84	14.12	0.93
3	345.83±48.80	291.81±68.41	296.11±42.50	13.43	0.19
4	318.31±49.21	335.06±82.66	316.50±51.13	14.07	0.85
5	303.83±59.06	324.67±63.08	294.00±60.50	13.84	0.68
6	308.44±44.19	295.86±47.52	308.97±55.94	11.05	0.87
7	324.39±61.91	291.95±55.39	309.00±39.24	12.18	0.58
8	325.53±59.22	316.81±65.62	303.89±23.85	11.90	0.78
Concentration ($x10^6$/ml.)[2]					
0	465.81±4.99	455.11±7.51	467.28±7.20	1.98	0.01
1	475.33±9.40	464.22±6.82	469.56±10.97	2.32	0.15
2	465.31±5.51	473.03±8.12	473.22±3.10	1.59	0.06
3	464.22±6.11	467.00±6.26	468.47±5.68	1.40	0.48
4	466.81±3.71	465.11±9.28	470.25±3.92	1.47	0.37
5	464.22±5.76	467.78±5.34	461.78±2.88	1.23	0.13
6	462.53±4.19	460.22±9.46	463.86±4.42	1.48	0.63
7	460.83±7.49	462.17±8.18	460.14±5.68	1.61	0.89
8	462.86±10.94	464.83±15.94	455.78±13.04	3.13	0.49

Note: [1] Semen volumes with CM-SMS supplementation.

[2]Sperm concentrations with CM-SMS supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript are significantly different of sperm quality ($P \leq 0.05$).

ตาราง 4 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) supplement on total sperm and abnormal sperm of boars (n=18)

Parameter/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	15	30		
Total sperm ($x10^{12}$ sperm)[1]					
0	138.34±19.62	171.94±32.00	152.13±20.20	6.39	0.09
1	151.15±12.64	153.28±37.91	148.42±25.90	6.11	0.95
2	141.02±27.06	149.20±39.86	145.06±18.96	6.67	0.89
3	154.39±31.31	136.73±33.43	138.47±18.11	6.58	0.51
4	148.68±23.30	164.35±49.22	148.86±24.84	7.83	0.67
5	141.21±27.70	151.25±28.99	136.83±27.93	6.42	0.67
6	133.74±31.25	135.89±20.71	143.40±26.40	5.95	0.80
7	141.98±24.49	146.64±41.61	136.66±12.84	6.46	0.84
8	151.49±28.41	147.55±32.46	138.46±10.10	5.82	0.67
Abnormal sperm (%)[2]					
0	0.20±0.02	0.21±0.07	0.18±0.02	0.01	0.42
1	0.21±0.02	0.22±0.06	0.22±0.03	0.01	0.91
2	0.23±0.04	0.17±0.06	0.16±0.08	0.02	0.14
3	0.17±0.02	0.19±0.01	0.18±0.03	0.01	0.33
4	0.20±0.03	0.19±0.02	0.19±0.05	0.01	0.84
5	0.19±0.02	0.18±0.03	0.17±0.01	0.01	0.29
6	0.23±0.05	0.25±0.06	0.19±0.05	0.01	0.23
7	0.20±0.06	0.15±0.03	0.19±0.05	0.01	0.24
8	0.19±0.04	0.22±0.07	0.19±0.04	0.01	0.51

Note: [1]Total sperm with CM-SMS supplementation.

[2]Abnormal sperm with CM-SMS supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript are significantly different of sperm quality ($P \leq 0.05$).

ตาราง 5 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) supplement on sperm motility and progressive motility of boars (n=18)

Parameter/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	15	30		
Sperm motility (%)[1]					
0	98.22±0.75	98.20±0.40	98.20±0.75	0.14	1.00
1	98.03±0.64	98.17±0.75	98.81±0.40	0.16	0.10
2	98.39±0.49	98.20±0.40	98.61±0.49	0.11	0.32
3	98.22±0.75	98.39±0.80	98.58±0.49	0.16	0.67
4	97.78±0.75	98.00±0.00	98.20±0.40	0.12	0.36
5	98.58±0.49	98.22±0.40	98.39±0.49	0.11	0.42
6	98.03±0.07[b]	98.61±0.49[a]	98.00±0.00[b]	0.09	0.003
7	98.61±0.49	98.36±0.81	98.61±0.49	0.14	0.72
8	98.39±0.80	97.81±0.75	98.22±0.40	0.16	0.33
Progressive motility (%)[2]					
0	50.78±5.33	52.39±3.36	55.97±4.05	1.09	0.14
1	55.39±6.98[a]	47.06±4.83[b]	53.75±4.22[ab]	1.49	0.04
2	49.67±3.39	54.11±4.60	55.83±4.71	1.13	0.06
3	50.42±1.86	51.92±4.59	54.47±4.71	0.96	0.23
4	51.45±3.93	50.72±5.57	54.58±5.24	1.17	0.38
5	51.92±5.16	50.89±6.15	54.22±4.76	1.24	0.56
6	52.53±5.83	56.36±6.07	56.61±5.52	1.36	0.42
7	50.47±7.66	56.14±5.07	56.14±5.30	1.50	0.21
8	50.37±1.52[b]	52.31±3.26[b]	61.62±4.26[a]	1.39	0.00005

Note: [1]Motility lives of sperm with CM-SMS supplementation.

[2]Progressive motility with CM-SMS supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript are significantly different of sperm quality (P≤0.05).

ตาราง 6 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on sperm kinetic parameters (n=18)

Parameter/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	15	30		
VCL (μm/s)[1]					
0	61.58±5.35	59.20±4.53	64.20±3.48	1.12	0.19
1	56.20±4.96	61.92±4.76	61.72±5.74	1.31	0.13
2	58.08±5.00	57.17±2.99	62.61±3.01	1.02	0.05
3	58.06±7.31	60.86±4.52	64.47±3.47	1.35	0.15
4	57.14±6.34	56.89±1.81	59.95±5.53	1.15	0.51
5	61.33±5.61	60.61±3.90	63.58±3.38	1.02	0.49
6	54.89±3.34	59.70±5.46	57.64±5.54	1.18	0.26
7	61.83±3.76[ab]	55.53±5.75[b]	64.28±6.81[a]	1.53	0.04
8	62.00±2.83	58.78±3.62	58.08±6.38	1.09	0.31
VSL (μm/s)[2]					
0	32.25±3.57	30.92±1.74	35.08±1.63	0.69	0.03
1	30.56±3.74	31.11±2.33	32.47±2.81	0.70	0.54
2	29.97±3.34[b]	30.39±1.02[b]	34.20±1.17[a]	0.66	0.01
3	30.03±3.24[b]	31.58±1.63[b]	34.31±2.07[a]	0.68	0.02
4	30.36±4.59	29.53±2.44	32.39±2.65	0.80	0.34
5	31.83±2.71	31.14±3.82	33.70±1.38	0.68	0.30
6	28.97±2.27	31.95±2.45	31.50±3.15	0.67	0.15
7	31.87±3.50[ab]	29.64±2.50[b]	35.03±2.83[a]	0.85	0.02
8	31.56±1.50	30.72±1.61	33.20±3.71	0.61	0.25

Note: [1]VCL (The curvilinear velocity) of sperm with CM-SMS supplementation.

[2]VSL (The straight linear velocity) of sperm with CM-SMS supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript are significantly different of sperm quality (P≤0.05).

Parameter/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	15	30		
VAP (μm/s)[3]					
0	37.86±3.88	36.70±2.26	40.67±1.37	0.72	0.06
1	35.97±4.19	36.70±2.65	38.25±3.06	0.78	0.5
2	35.39±3.28	47.42±24.64	39.81±1.33	3.4	0.37
3	35.67±3.67[b]	37.14±1.94[ab]	40.28±2.08[a]	0.76	0.03
4	35.78±5.04	35.11±2.46	37.95±3.23	0.88	0.41
5	37.67±3.01	36.92±4.15	39.67±1.37	0.73	0.3
6	34.03±2.30	37.50±2.59	36.89±2.72	0.67	0.07
7	37.73±3.53[ab]	35.42±3.44[b]	40.83±3.19[a]	0.92	0.04
8	37.53±1.51	36.31±2.17	38.39±4.08	0.65	0.45

Note: [3]VAP (The average path velocity) of sperm with CM-SMS supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript are significantly different of sperm quality (P≤0.05).

ตาราง 7 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) supplementation on serum testosterone hormone concentration of boars (n=18)

Parameter	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	15	30		
Testosterone hormones (ng/ml)[1]	11.09±6.30	12.45±3.44	19.85±8.70	1.72	0.07

Note: [1]Serum testosterone hormone concentration with CM-SMS supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of testosterone hormone (P≤0.05).

ตาราง 8 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) supplement on masturbate frequency and masturbate behavior of boars (n=12)

Parameter/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	15	30		
Masturbate frequency (times/day)[1]					
0	0.25±0.50	0.00±0.00	0.00±0.00	0.08	0.41
1	0.50±0.58	0.25±0.50	0.00±0.00	0.13	0.32
2	0.25±0.50	0.00±0.00	0.00±0.00	0.08	0.41
3	0.00±0.00	0.25±0.50	0.00±0.00	0.08	0.41
4	0.25±0.50	0.00±0.00	0.00±0.00	0.08	0.41
5	0.25±0.50	0.25±0.50	0.25±0.50	0.13	1.00
6	0.00±0.00	0.00±0.00	0.25±0.50	0.08	0.41
7	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00	-
8	0.25±0.50	0.00±0.00	0.00±0.00	0.08	0.41
Masturbate (mins/day)[2]					
0	2.64±3.12	0.00±0.00	0.00±0.00	0.60	0.11
1	2.54±3.81	2.86±5.73	0.00±0.00	1.11	0.56
2	0.33±0.66	0.00±0.00	0.00±0.00	0.11	0.41
3	0.00±0.00	0.53±1.06	0.00±0.00	0.18	0.41
4	0.53±1.07	0.00±0.00	0.00±0.00	0.18	0.41
5	1.57±3.14	1.52±3.03	1.35±2.69	0.77	0.99
6	0.00±0.00	0.00±0.00	4.65±9.29	1.55	0.41
7	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00	-
8	0.56±1.12	0.00±0.00	0.00±0.00	0.19	0.41

Note: [1]Masturbate frequency (times/day) with CM-SMS supplementation.

[2]Masturbate behavior (mins/day) with CM-SMS supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of boar sexual behavior ($P \leq 0.05$).

ตาราง 9 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate(CM-SMS) supplementation on pre-libido frequency and pre-libido behavior of boars (n=12)

Parameter/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	15	30		
Pre-libido frequency (times/day)[1]					
0	1.50±0.58	1.50±0.58	2.25±1.50	0.28	0.49
1	1.00±0.00	1.00±0.00	2.00±1.41	0.26	0.19
2	1.25±0.05	1.25±0.05	1.25±0.05	0.13	1.00
3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	0.00	-
4	1.25±0.05	1.50±0.58	1.25±0.05	0.19	0.85
5	1.00±0.00	1.00±0.00	1.25±0.05	0.08	0.41
6	1.00±0.00	1.25±0.05	1.75±0.96	0.19	0.27
7	1.75±0.96	1.25±0.05	2.00±1.41	0.22	0.42
8	1.75±0.96	1.25±0.05	1.50±0.58	0.26	0.77
Pre-libido (mins/day)[2]					
0	3.95±2.75	3.84±1.31	3.12±1.42	0.52	0.81
1	3.26±1.11	3.72±1.21	7.56±5.04	0.99	0.15
2	7.16±8.04	3.90±2.24	2.48±0.52	1.39	0.41
3	5.45±3.63	4.52±2.65	3.52±1.82	0.77	0.64
4	5.03±4.06	4.50±3.12	2.96±0.94	0.83	0.62
5	5.64±2.71	3.73±1.95	4.93±6.19	1.09	0.80
6	5.43±3.93	3.49±1.37	5.61±5.97	1.13	0.74
7	7.45±7.31	4.55±3.20	10.49±9.22	1.98	0.52
8	6.64±5.29	6.62±7.00	4.91±5.52	1.59	0.90

Note: [1]Pre-libido frequency (times/day) with CM-SMS supplementation.

[2]Pre-libido behavior (mins/day) with CM-SMS supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of sexual behavior ($P \leq 0.05$).

ตาราง 10 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate(CM-SMS) supplement on libido frequency and libido behavior of boars (n=12)

Parameter/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	15	30		
Libido frequency (times/day)[1]					
0	1.00±0.00	1.00±0.00	1.25±0.05	0.08	0.41
1	1.00±0.00	1.00±0.00	1.25±0.05	0.08	0.41
2	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	0.00	-
3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	0.00	-
4	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	0.00	-
5	1.00±0.00	1.00±0.00	1.25±0.05	0.08	0.41
6	1.00±0.00	1.00±0.00	1.25±0.05	0.08	0.41
7	1.00±0.00	1.00±0.00	1.50±0.58	0.11	0.10
8	1.00±0.00	1.00±0.00	1.25±0.05	0.08	0.41
Libido (mins/day)[2]					
0	5.73±2.42	8.82±4.12	9.28±2.52	0.94	0.27
1	6.83±1.41	8.23±4.96	7.46±0.60	0.8	0.81
2	6.78±1.07	6.65±2.95	6.99±2.67	0.62	0.98
3	5.35±1.96	5.27±1.42	6.67±1.19	0.45	0.40
4	6.31±2.06	5.72±2.25	8.73±3.37	0.79	0.28
5	5.90±1.29[b]	5.43±0.51[b]	9.57±3.39[a]	0.79	0.04
6	6.16±1.39	5.63±1.94	8.65±2.61	0.66	0.14
7	6.93±2.28	6.71±3.13	8.27±1.44	0.66	0.62
8	9.55±3.49	7.64±2.89	9.26±5.54	1.11	0.78

Note: [1]Libido frequency (times/day) with CM-SMS supplementation.

[2]Libido behavior (mins/days) with CM-SMS supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of sexual behavior (P≤0.05).

ตาราง 11 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplement on semen volumes and sperm concentrations of boars (n=18)

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Semen volume (ml.)[1]					
0	324.17±58.34	385.25±50.90	386.67±111.82	18.79	0.32
1	313.00±56.78	315.28±54.20	333.83±71.49	13.76	0.81
2	287.50±63.75	346.28±54.16	347.67±106.96	18.64	0.34
3	300.67±51.49	318.25±27.78	342.00±117.16	17.24	0.64
4	295.17±48.18	319.00±42.19	328.83±114.96	17.17	0.74
5	293.50±69.13	321.50±45.21	351.50±91.71	16.79	0.39
6	323.00±51.88	331.80±71.69	331.00±77.27	15.05	0.97
7	323.83±59.41	354.20±69.94	329.50±81.08	15.98	0.74
8	293.83±68.02	322.80±60.92	353.67±147.07	22.91	0.59
Sperm concentrations ($x10^6$ sperm)[2]					
0	456.42±25.24	460.99±9.96	466.08±9.15	3.78	0.61
1	458.00±10.86	461.20±5.26	463.43±5.32	1.77	0.48
2	463.22±9.12	463.41±2.74	464.43±10.04	1.77	0.96
3	461.77±5.23	466.71±1.78	463.09±8.19	1.36	0.33
4	463.81±7.51	463.60±5.56	467.24±4.84	1.40	0.52
5	458.83±4.95	461.18±11.36	464.60±5.02	1.80	0.45
6	460.48±4.47[b]	465.79±3.22[ab]	468.24±5.25[a]	1.25	0.02
7	457.97±7.97[b]	469.30±1.81[a]	466.11±2.47[a]	1.58	0.003
8	459.00±6.39	462.45±7.81	466.69±2.51	1.53	0.12

Note: [1]Semen volumes with *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and L-carnitine supplement.

[2]Sperm concentrations with *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and L-carnitine supplement.

[a,b]Means ± standard error with different superscript are significantly different of sperm quality ($P \leq 0.05$).

ตาราง 12 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on total of sperm and sperm abnormal of boars (n=18)

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Total sperm (x10^{12} sperm)[1]					
0	148.21±29.50	177.51±22.79	178.99±52.58	8.93	0.30
1	143.43±26.87	145.30±24.37	154.66±33.01	6.38	0.77
2	132.83±29.80	160.43±24.89	160.72±45.99	8.32	0.31
3	139.58±22.13	147.23±13.73	157.86±51.93	7.65	0.65
4	136.79±21.57	147.88±19.37	153.84±54.52	8.08	0.71
5	134.46±30.46	148.54±22.73	163.21±42.05	7.78	0.34
6	148.66±23.26	154.51±33.16	155.13±37.09	7.06	0.93
7	148.55±29.29	166.22±32.79	153.572±37.76	7.63	0.65
8	136.00±34.21	149.26±28.09	164.35±69.38	10.89	0.60
Sperm abnormal (%)[2]					
0	43.67±8.16	36.89±2.93	36.00±18.30	2.72	0.48
1	44.17±16.06	47.92±10.45	45.83±16.12	3.22	0.90
2	39.67±12.26	40.03±11.67	35.33±13.00	2.78	0.77
3	41.83±13.23	39.00±8.51	36.17±9.91	2.44	0.67
4	39.50±15.20	39.89±13.90	34.83±5.34	2.78	0.73
5	46.17±12.45^{b}	47.42±7.46^{b}	68.17±22.24^{a}	4.18	0.04
6	56.33±21.40	51.53±13.47	50.33±14.43	3.77	0.81
7	49.33±19.36	47.83±11.99	44.33±10.05	3.22	0.83
8	42.17±18.79	45.60±11.64	46.17±11.30	3.20	0.87

Note: [1]Total sperm with *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and L-carnitine supplement.

[2]Sperm abnormal with *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and L-carnitine supplement.

[a,b]Means ± standard error with different superscript is significantly different of sperm quality (P≤0.05).

ตาราง 13 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplement on sperm motility and progressive motility of boars (n=18)

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Sperm motility (%)[1]					
0	98.37±0.60	98.42±0.28	97.60±1.26	0.20	0.18
1	98.68±0.64	98.49±0.29	98.20±0.33	0.11	0.21
2	98.35±0.68	98.59±0.35	98.49±0.51	0.12	0.75
3	95.43±6.70	98.57±0.13	98.27±0.25	0.92	0.33
4	98.89±0.30	98.42±0.62	98.71±0.51	0.12	0.28
5	98.26±0.56	97.81±0.49	98.23±0.65	0.14	0.33
6	98.66±0.44	98.46±0.28	98.58±0.45	0.09	0.69
7	98.38±0.50	98.29±0.62	98.48±0.16	0.11	0.77
8	98.40±0.47	98.30±0.64	98.58±0.51	0.12	0.67
Total progressive ($x10^{10}$ sperm)[2]					
0	127.92±9.25	136.41±11.45	132.18±15.44	2.85	0.51
1	122.62±12.47	111.96±5.12	123.40±12.67	2.68	0.15
2	128.28±12.36	117.94±6.48	124.10±17.21	3.01	0.39
3	125.38±16.48	120.10±8.49	130.78±11.33	2.97	0.36
4	120.28±16.21	122.74±8.94	118.32±13.17	2.94	0.84
5	120.03±11.28[b]	132.17±2.00[a]	117.05±12.29[b]	2.67	0.04
6	126.40±18.75	120.36±11.44	121.83±9.02	3.10	0.73
7	124.92±12.94	127.06±5.10	122.65±13.65	2.53	0.80
8	133.73±10.36	137.16±12.72	123.98±19.35	3.51	0.30

Note: [1]Sperm motility with *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and L-carnitine supplement.

[2]Total progressive with *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and L-carnitine supplement.

[a,b]Means ± standard error with different superscript are significantly different of sperm quality ($P \leq 0.05$).

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Progressive motility (%)[3]					
0	57.33±4.41	60.25±4.86	54.67±5.47	1.22	0.18
1	54.50±5.13	49.42±2.73	54.50±5.82	1.20	0.14
2	56.67±5.92	51.89±2.91	54.67±9.14	1.52	0.46
3	55.42±7.55	52.58±3.83	57.83±5.88	1.42	0.34
4	53.00±7.77	54.28±3.62	51.67±5.79	1.35	0.75
5	53.33±4.72[ab]	58.50±1.76[a]	51.50±6.06[b]	1.24	0.05
6	56.17±8.26	52.40±5.12	53.17±4.22	1.41	0.54
7	52.50±3.56	55.20±2.71	54.17±6.24	1.02	0.58
8	57.33±3.61	60.60±5.89	54.33±8.59	1.54	0.26

Note: [3]Progressive motility with *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and L-carnitine supplement.

[a,b]Means ± standard error with different superscript are significantly different of sperm quality (P≤0.05).

ตาราง 14 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on the sperm kinetic parameters (n=18)

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
VCL (μm/s)[1]					
0	56.64±2.70[b]	63.92±5.73[a]	52.56±6.45[b]	1.62	0.01
1	62.14±2.23[b]	68.27±4.90[a]	59.00±3.76[b]	1.26	0.002
2	60.86±7.01	66.00±5.02	60.13±7.46	1.59	0.27
3	55.65±4.08[b]	67.82±4.71[a]	58.55±4.38[b]	1.59	0.001
4	65.21±4.59	69.32±4.91	62.63±5.14	1.27	0.09
5	59.51±8.26	61.30±6.36	61.43±6.38	1.58	0.87
6	62.24±5.89	65.14±6.22	60.48±4.87	1.34	0.38
7	62.27±7.17	64.40±8.15	59.09±3.37	1.55	0.39
8	58.58±5.26	62.19±5.29	59.20±5.36	1.23	0.47
VSL (μm/s)[2]					
0	31.35±1.76[b]	36.16±3.49[a]	28.38±3.70[b]	1.04	0.002
1	33.44±2.17	34.76±2.04	35.48±8.13	1.12	0.78
2	33.11±3.58	34.24±1.87	32.03±3.30	0.70	0.47
3	30.87±3.14	35.53±3.42	32.79±2.93	0.84	0.07
4	34.17±2.44[ab]	36.89±2.27[a]	32.35±2.26[b]	0.69	0.01
5	36.43±13.81	34.09±3.02	31.83±2.66	1.89	0.64
6	33.85±3.15	33.95±4.06	31.89±3.53	0.83	0.55
7	33.21±3.40	34.34±4.67	31.44±1.73	0.82	0.37
8	33.91±3.11	35.21±4.06	31.55±3.59	0.88	0.24

Note: [1]VCL (The curvilinear velocity) of sperm with *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and L-carnitine supplement.

[2]VSL (The straight linear velocity) of sperm with *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and L-carnitine supplement.

[a,b]Means ± standard error with different superscript are significantly different of sperm quality (P≤0.05).

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
VAP (μm/s)[3]					
0	36.64±1.86[b]	41.57±3.76[a]	33.44±3.92[b]	1.09	0.002
1	38.99±2.46[b]	41.03±2.47[a]	36.96±1.50[b]	0.63	0.02
2	38.62±3.88	40.26±2.27	37.60±3.63	0.78	0.40
3	35.99±3.19[b]	41.41±3.56[a]	37.84±3.10[ab]	0.91	0.04
4	40.21±2.32[b]	42.82±2.71[a]	38.22±2.32[b]	0.71	0.02
5	37.021±3.59	39.72±3.69	37.41±2.97	0.81	0.36
6	39.36±3.08	39.97±4.38	37.47±3.56	0.86	0.49
7	39.34±3.38	40.11±5.25	36.95±1.78	0.89	0.34
8	39.19±3.19	40.53±4.24	36.97±3.69	0.90	0.28

Note: [3]VAP (The average path velocity) of sperm with *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate and
L-carnitine supplement.
[a,b]Means ± standard error with different superscript are significantly different of sperm quality (P≤0.05).

ตาราง 15 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on standard behavior of boars (n=12)

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Eating (mins/day)[1]					
0	16.73±5.70	23.39±9.85	23.77±13.80	2.87	0.58
1	16.84±3.59	26.82±7.40	22.95±9.70	2.28	0.21
2	21.58±11.39	30.08±11.65	24.34±18.66	3.88	0.70
3	16.42±4.32	26.41±9.86	29.04±15.95	3.33	0.29
4	16.59±2.56	26.97±13.70	28.38±12.64	3.25	0.29
5	13.99±4.00	23.81±19.47	24.24±11.71	3.76	0.50
6	17.83±4.01	24.29±9.35	24.42±13.29	2.69	0.57
7	17.40±4.50	25.12±8.46	25.83±15.84	3.02	0.49
8	13.77±7.34	16.73±7.38	28.22±19.06	3.77	0.28
Walking (mins/day)[2]					
0	120.55±90.56	97.74±46.51	144.96±66.03	19.19	0.65
1	102.48±57.92	126.10±97.13	179.68±82.59	23.25	0.42
2	78.27±97.18	127.63±85.95	199.22±104.83	29.27	0.26
3	81.39±74.24	93.76±72.34	130.81±122.54	25.01	0.74
4	84.55±99.69	93.89±69.10	108.01±111.06	24.96	0.94
5	60.80±64.66	119.40±62.85	113.40±41.91	16.96	0.33
6	76.88±58.64	128.41±111.15	188.27±79.38	26.28	0.24
7	79.03±52.57	127.36±110.28	167.08±91.24	25.42	0.40
8	101.42±81.53	137.56±130.87	134.94±103.26	28.41	0.87

Note: ([1]Eating, [2]Walking) (mins/day) of standard behavior with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[a,b] Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of standard behavior (P≤0.05).

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Standing (mins/day)[3]					
0	12.86±10.66	35.82±18.42	45.04±28.77	6.76	0.13
1	8.01±6.44	13.69±2.81	14.77±11.21	2.19	0.44
2	29.69±26.17	37.40±25.73	9.28±4.42	6.62	0.21
3	27.00±19.90	45.79±47.72	37.75±22.09	8.79	0.72
4	23.03±23.79	38.44±22.43	32.97±24.49	6.45	0.66
5	29.84±17.62	45.34±31.31	29.59±17.60	6.43	0.56
6	17.76±10.32	21.62±14.22	24.82±12.36	3.35	0.73
7	28.72±17.55	19.20±11.10	31.15±13.54	4.05	0.49
8	15.39±8.03	47.27±26.51	23.31±5.15	5.89	0.05
Sleeping (mins/day)[4]					
0	930.83±109.45	1019.37±235.28	1001.42±228.19	53.35	0.81
1	969.82±71.46	987.34±275.18	980.66±171.82	50.13	0.99
2	975.89±61.51	904.00±141.28	947.13±197.20	38.77	0.78
3	954.47±100.34	971.21±168.80	967.44±177.02	39.92	0.99
4	940.60±84.96	948.35±194.60	1025.96±186.12	44.12	0.72
5	978.65±127.52	924.89±142.30	964.14±146.71	36.96	0.85
6	960.54±102.00	910.57±90.87	1003.34±131.70	30.80	0.51
7	898.32±113.86	918.91±124.30	867.04±118.23	31.70	0.83
8	977.29±92.37	891.37±166.55	984.97±156.60	39.31	0.60

Note: ([3]Standing, [4]Sleeping) (mins/day) of standard behavior with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[a,b] Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of standard behavior (P≤0.05).

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Sitting (mins/day)[5]					
0	251.01±27.88	255.22±118.35	130.62±82.44	28.18	0.11
1	246.00±59.92	194.32±156.99	131.43±131.66	35.14	0.45
2	179.13±75.39	235.14±51.43	165.52±62.70	19.00	0.31
3	250.64±93.51	207.11±92.30	154.67±84.04	26.32	0.36
4	201.15±39.32	156.51±69.36	102.46±78.25	20.78	0.15
5	218.21±93.76	178.87±71.38	162.79±112.26	25.52	0.70
6	219.07±74.58	229.47±86.35	112.68±75.43	26.05	0.12
7	272.28±135.30	189.63±74.30	138.64±61.45	30.05	0.19
8	191.72±79.90	198.26±87.93	132.05±67.25	22.46	0.46
Urinate (mins/day)[6]					
0	6.86±3.18	9.81±9.10	5.49±6.36	1.82	0.66
1	11.54±7.74	12.40±9.88	9.02±10.08	2.47	0.87
2	9.92±7.58	9.26±5.33	4.67±4.28	1.69	0.43
3	4.37±1.65	5.99±1.66	6.26±3.04	0.63	0.46
4	3.98±3.16	10.38±7.73	8.38±4.33	1.63	0.28
5	4.19±2.23	8.46±6.49	6.07±3.85	1.30	0.44
6	6.99±3.93	10.99±10.84	6.31±3.64	1.93	0.61
7	9.40±3.32	11.87±9.05	5.10±2.14	1.71	0.29
8	8.51±4.89	6.33±7.56	8.93±3.57	1.50	0.78

Note: ([5]Sitting, [6]Urinate) (mins/day) of standard behavior with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[a,b] Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of standard behavior (P≤0.05).

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Defecate (mins/day)[7]					
0	0.72±1.34	0.94±1.13	2.48±2.42	0.50	0.32
1	2.46±2.10	2.68±1.99	1.52±1.04	0.49	0.63
2	2.04±4.08	4.06±4.17	0.59±0.96	0.99	0.39
3	0.76±0.63	0.79±1.02	2.18±3.56	0.60	0.59
4	3.53±4.72	1.88±1.64	1.71±0.46	0.80	0.63
5	1.56±1.69	1.63±1.78	1.96±2.28	0.51	0.95
6	2.84±3.32	0.11±0.22	0.81±0.99	0.63	0.19
7	1.39±2.03	2.39±2.34	0.86±1.09	0.53	0.54
8	3.93±5.05	2.42±0.85	1.18±1.33	0.87	0.47

Note: [7]Defecate (mins/day) of standard behavior with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[a,b] Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of standard behavior (P≤0.05).

ตาราง 16 Effect of *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate (CM-SMS) and L-carnitine supplementation on stereotype behavior of boars (n=12)

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Self-care (mins/day)[1]					
0	0.00±0.00	0.00±0.00	1.77±3.54	0.59	0.41
1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.28±0.56	0.09	0.41
2	0.00±0.00	0.34±0.68	0.00±0.00	0.11	0.41
3	0.00±0.00	0.00±0.00	1.50±3.00	0.50	0.41
4	1.03±2.06	0.00±0.00	1.10±1.44	0.41	0.51
5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.12±0.24	0.04	0.41
6	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00	-
7	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00	-
8	0.00±0.00	0.00±0.00	0.33±0.54	0.09	0.27
Watering nipple playing (mins/day)[2]					
0	9.92±3.38	17.81±14.17	6.37±3.73	2.69	0.22
1	7.76±6.67	13.33±8.10	6.48±2.43	1.86	0.30
2	11.64±7.35	11.92±6.14	7.01±4.33	1.72	0.47
3	12.56±11.09	13.59±10.11	9.55±4.33	2.41	0.81
4	13.21±10.24	10.66±7.94	9.35±3.35	2.08	0.78
5	11.24±7.06	12.89±14.43	9.50±7.16	2.68	0.90
6	13.16±6.99	13.84±6.22	9.68±4.93	1.69	0.60
7	13.32±8.14	12.57±7.88	10.07±2.29	1.79	0.78
8	16.44±8.48	12.06±5.22	8.53±4.70	1.93	0.26

Note: ([1]Self-care, [2]Watering nipple playing) (mins/day) of stereotypy behavior with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of standard behavior (P≤0.05).

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Sham chewing (mins/day)[3]					
0	10.42±12.63	29.63±50.10	17.87±29.26	9.26	0.73
1	27.55±8.70	21.23±27.51	37.90±51.53	9.14	0.79
2	19.66±20.58	7.14±14.27	17.98±33.90	6.57	0.74
3	36.04±24.20	37.00±50.11	28.36±23.39	9.17	0.93
4	19.82±21.57	35.27±35.06	29.63±25.72	7.57	0.74
5	41.92±47.88	42.69±32.19	14.04±24.36	10.26	0.47
6	18.52±17.63	28.20±21.97	9.99±15.31	5.33	0.42
7	7.69±5.67	32.46±24.51	19.20±22.09	5.90	0.25
8	28.02±32.51	20.97±13.55	43.99±41.45	8.70	0.59
Bar biting (mins/day)[4]					
0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00	-
1	0.00±0.00	0.00±0.00	2.53±5.06	0.84	0.41
2	11.84±23.67	0.00±0.00	1.01±2.03	3.93	0.43
3	0.00±0.00	0.00±0.00	4.88±9.76	1.63	0.41
4	1.00±2.00	5.13±10.26	3.55±7.10	1.97	0.73
5	0.00±0.00	1.04±2.08	16.89±21.89	4.05	0.16
6	0.59±1.18	0.00±0.00	8.53±17.06	2.83	0.43
7	3.76±7.52	0.00±0.00	0.00±0.00	1.25	0.41
8	0.62±1.04	3.86±5.37	0.68±1.35	0.96	0.32

Note: ([3]Sham chewing, [4]Bar biting) (mins/day) of stereotypy behavior with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of standard behavior (P≤0.05).

ตาราง 17 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on masturbate frequency and masturbate behavior of boars (n=12)

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Masturbate frequency (times/day)[1]					
0	0.00±0.00	0.25±0.50	0.00±0.00	0.08	0.41
1	0.25±0.50	0.25±0.50	0.00±0.00	0.11	0.62
2	0.00±0.00	0.25±0.50	0.00±0.00	0.08	0.41
3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.50±1.00	0.17	0.41
4	0.25±0.50	0.50±1.00	0.50±1.00	0.19	0.86
5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00	-
6	0.00±0.00	0.00±0.00	0.50±1.00	0.17	0.41
7	0.50±1.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.17	0.41
8	0.00±0.00	0.04±0.07	0.44±0.52	0.10	0.13
Masturbate (mins/day)[2]					
0	0.00±0.00	0.32±0.65	0.00±0.00	0.11	0.41
1	1.31±2.62	0.62±1.24	0.00±0.00	0.47	0.56
2	0.00±0.00	5.54±11.08	0.00±0.00	1.85	0.41
3	0.00±0.00	0.00±0.00	5.12±10.25	1.71	0.41
4	0.54±1.09	1.56±1.95	4.76±9.52	1.57	0.57
5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00	-
6	0.00±0.00	0.00±0.00	2.13±4.26	0.71	0.41
7	1.25±2.50	0.00±0.00	0.00±0.00	0.42	0.41
8	0.00±0.00	0.08±0.16	2.33±2.91	0.55	0.14

Note: [1]Masturbate frequency (times/day) with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[2]Masturbate behavior (mins/day) with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of boar sexual behavior ($P \leq 0.05$).

ตาราง 18 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on pre-libido frequency and pre-libido behavior of boars (n=12)

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Pre-libido frequency (times/day)[1]					
0	1.00±0.00	1.00±0.00	1.50±0.58	0.11	0.10
1	1.25±0.50	1.25±0.50	2.00±0.82	0.19	0.20
2	1.50±0.58	1.00±0.00	3.25±3.20	0.58	0.28
3	1.00±0.00	1.25±0.50	1.50±0.58	0.18	0.57
4	1.00±0.00	1.25±0.50	1.50±0.58	0.13	0.32
5	1.25±0.50	1.50±0.58	2.00±0.82	0.26	0.53
6	1.00±0.00	2.00±0.82	3.75±4.86	0.83	0.43
7	1.00±0.00	1.50±0.58	1.75±0.50	0.15	0.10
8	1.00±0.00	1.07±0.15	2.28±1.22	0.26	0.05
Pre-libido (mins/day)[2]					
0	6.28±5.59	3.16±1.87	2.76±0.61	1.01	0.33
1	5.13±2.07	3.69±0.98	3.48±0.95	0.43	0.26
2	8.12±6.41	3.70±2.42	5.08±1.71	1.20	0.34
3	5.39±2.55	4.89±3.15	3.62±1.25	0.68	0.59
4	4.81±3.74	3.90±1.10	3.75±1.93	0.67	0.82
5	4.00±1.52	3.48±0.96	3.60±0.90	0.31	0.80
6	3.45±0.56	3.52±1.11	4.87±3.19	0.55	0.54
7	4.68±0.90	7.39±6.39	3.09±0.83	1.12	0.31
8	4.67±1.22	3.90±2.02	3.93±1.12	0.41	0.73

Note: [1]Pre-libido frequency (times/day) with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[2]Pre-libido behavior (mins/day) with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of boar sexual behavior (P≤0.05).

ตาราง 19 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on libido frequency and libido behavior of boars (n=12)

Parameters/ Weeks	CM-SMS (g)			SEM	P-value
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Libido frequency (times/day)[1]					
0	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	0.00	-
1	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	0.00	-
2	1.25±0.50	0.75±0.50	1.25±0.50	0.15	0.31
3	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	0.00	-
4	1.00±0.00	1.25±0.50	1.25±0.50	0.11	0.62
5	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	0.00	-
6	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	0.00	-
7	1.00±0.00	1.25±0.50	1.00±0.00	0.08	0.41
8	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	0.00	-
Libido (mins/day)[2]					
0	7.03±1.89	7.11±2.82	8.25±3.47	0.75	0.80
1	6.68±1.91	6.33±1.39	6.46±2.95	0.57	0.97
2	6.02±1.91	6.00±2.62	7.20±2.82	0.67	0.74
3	7.50±2.22	5.89±3.41	6.95±3.24	0.81	0.75
4	5.37±0.99	6.49±3.00	9.22±5.67	1.09	0.37
5	6.03±1.77	6.51±2.43	8.79±3.90	0.83	0.38
6	6.78±0.94	8.49±2.16	7.98±2.96	0.61	0.55
7	7.21±3.27	7.22±2.66	7.61±2.86	0.77	0.98
8	6.42±1.92	7.05±3.44	8.62±5.04	1.00	0.70

Note: [1]Libido frequency (times/day) with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[2]Libido behavior (mins/day) with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[a,b]Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of boar sexual behavior (P≤0.05).

ตาราง 20 Effect of CM-SMS and L-carnitine supplementation on cortisol hormone of boars (n=18)

Parameters	CM-SMS (g)			SEM	*P*
	0	30	+ L-carnitine 0.25 g		
Cortisol hormone (ug/dL)	3.27±1.34	3.27±1.17	2.90±0.97	0.262	0.823

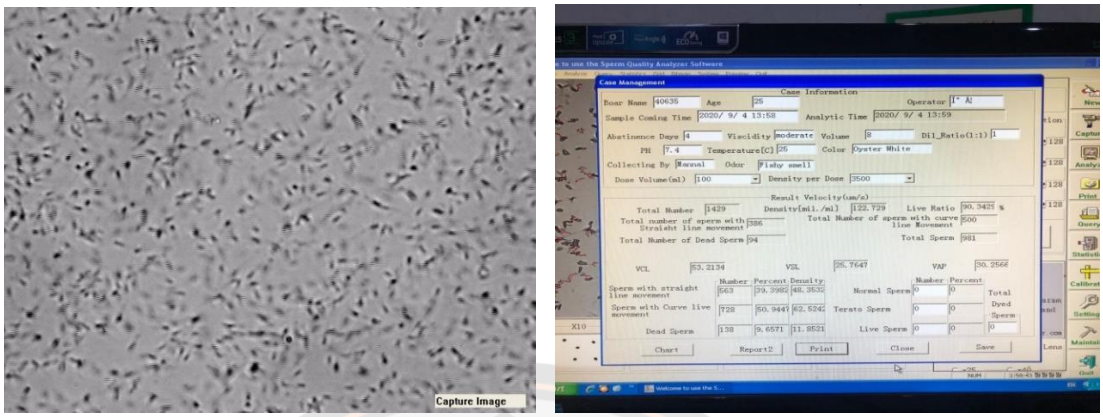
Note: [1]Cortisol hormone (ug/dl) with CM-SMS and L-carnitine supplementation.

[a,b] Means ± standard error with different superscript within the row are significantly different of cortisol hormones (P≤0.05).

ภาคผนวก ค ขั้นตอน และการเก็บข้อมูลงานทดลอง

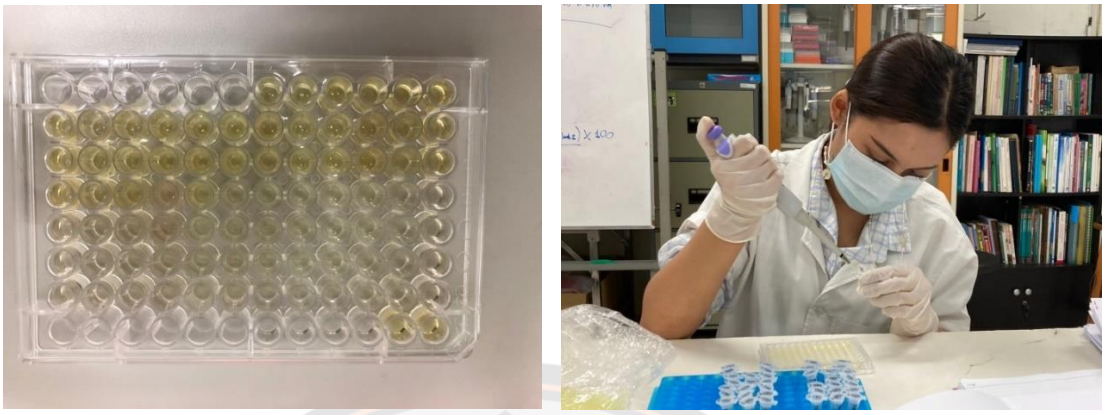
ภาพ 24 Feeding of boars

ภาพ 25 Collecting semen and prepare a semen sample



ภาพ 26 Semen quality analysis with CASA program

ภาพ 27 Blood sample collection



ภาพ 28 Antioxidant analysis

ภาพ 29 Recording the behavior of boars

อภิธานศัพท์

CM-SMS	= The *Cordyceps militaris* spent mushroom substrate
CM	= The *Cordyceps militaris*
CS	= The *Cordyceps sinensis*
L-carnitine	= L-carnitine (l-tartrate 99%)
Control	= The control with basal diet
VCL	= The curvilinear velocity of sperm
VSL	= The straight-line velocity of sperm
VAP	= The average path velocity of sperm
SOD	= Superoxide dismutase
GPx	= Glutathione peroxidase
CAT	= Catalase
MDA	= Malondialdehyde
HPLC	= High performance liquid chromatography
GnRH	= Gonadotropin releasing hormone
FSH	= Follicle stimulating hormone
LH	= Luteinizing hormone
cAMP	= Cyclic adenosine monophosphate
ABP	= Androgen-binding protein
AR	= Androgen receptor
DHT	= 5α-dihydrotestosterone
HREs	= Hormone response element
GLC	= Granulosa-lutein cells
E2	= Estradiol-17
ROS	= Reactive oxygen species
ACTH	= Adrenocorticotrophic hormone

CRH = Corticotrophin releasing hormone

HPA-axis = Hypothalamic pituitary adrenal axis

AI = Artificial insemination

BCS = Body condition score

ECLIA = Electrochemiluminescence immunoassay