

3-1-1988

การศึกษารูปร่างปกติและผิดปกติของตัวอสุจิในกระซิบปลักด้วย Light และ Phase Contrast Microscope

พิสุทธิ มังกรกาญจน์

จำลอง ใจอ้อมศีล

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm>



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

Recommended Citation

มังกรกาญจน์, พิสุทธิ and ใจอ้อมศีล, จำลอง (1988) "การศึกษารูปร่างปกติและผิดปกติของตัวอสุจิในกระซิบปลักด้วย Light และ Phase Contrast Microscope," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 18: Iss. 1, Article 6.

DOI: <https://doi.org/10.56808/2985-1130.1489>

Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol18/iss1/6>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

การศึกษารูปร่างปกติและผิดปกติของตัวอสุจิในกระบือปลักด้วย Light และ Phase Contrast Microscope

พิสุทธิ มังกรกาญจน์*
จำลอง ใจอัมเส็ด*

บทย่อ

นำเชื้อกระบือปลักจำนวน 20 ตัว เก็บจากส่วน vas deferens นำมาตรวจดูตัวอสุจิ ที่มีรูปร่างปกติและผิดปกติโดยใช้วิธี smear และย้อมดูด้วยสี papanicolaou และ nigrosin-eosin ดูสดด้วย phase contrast microscope ตัวอสุจิกระบือมีรูปร่างแบบรีคล้ายใบพายยาวประมาณ 60 ไมครอน บริเวณส่วนหัวปลายสุดจะบางและค่อนหนาขึ้นที่ฐานของหัว ขนาดตัวอสุจิที่ปกติวัดจาก light microscope มีส่วนหัวยาวประมาณ 7.1 ± 0.3 ไมครอน กว้างสุด 3.6 ± 0.1 ไมครอน ฐานกว้าง 1.8 ± 0.1 ไมครอน และขนาดที่วัดได้จาก phase contrast microscope ความยาวประมาณ 7.1 ไมครอน กว้างสุด 4.5 ไมครอน และฐานกว้าง 2.6 ไมครอน ที่หัวมีแอกโครโซม, equatorial segment และหางส่วน middle piece ชัดเจน หางจะยื่นออกจากตรงกลางฐานหรือไม่ก็ได้ ตัวอสุจิมีความผิดปกติที่หัวและหาง ความผิดปกติที่หัวได้แก่ large head, pyriform head, small round head, amorphous head, tapering head, loose head, double head, cigar head และ small head ส่วนหางที่ผิดปกติได้แก่ 2 หาง, หางส่วน middle piece และ main piece หนากว่าปกติ หางขดเป็นวง หางขาด หางมี cytoplasmic droplets และหางมีลักษณะเป็นเส้นใย การใช้สีย้อม papanicolaou และ nigrosin-eosin แล้วดูด้วย light microscope เปรียบเทียบกับ phase contrast microscope ให้ผลข้อดีและรายละเอียดต่างกัน

* ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กทม. 10900

บทนำ

คุณภาพของน้ำเชื้อกระปือมีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ของกระปือในประเทค์เป็นอย่างยิ่ง และในปัจจุบันการปรับปรุงพันธุ์ ตลอดจนการเพิ่มผลผลิตของกระปือได้เริ่มใช้วิธีการผสมเทียมเช่นเดียวกับในโคซึ่งได้ผลมาแล้ว ตัวอสุจิกระปือและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำเชื้อยังไม่มีรายละเอียดมากนักเมื่อเทียบกับสัตว์เลี้ยงในฟาร์มชนิดอื่น หรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม การศึกษาและการประเมินคุณภาพของน้ำเชื้อโดยใช้ light และ phase contrast microscope จึงยังเป็นสิ่งที่ต้องใช้ในงานประจำเพื่อใช้ตรวจดูรูปร่างและลักษณะของตัวอสุจิซึ่งเป็นส่วนสำคัญส่วนหนึ่งที่ใช้ในการประเมินความสมบูรณ์พันธุ์ของสัตว์ (fertility) แม้ว่าการดูรูปร่างสัตว์จากภายนอกจะสัมพันธ์แข็งแรงก็ตาม สัตว์อาจมีความผิดปกติที่ตัวอสุจิได้

น้ำเชื้อกระปือปลักมีลักษณะข้นสีขาวครีม มีปริมาตร 0.7-8.0 มล. ความเข้มข้นตัวอสุจิ 400-1,350 ล้านตัว/มล. ความผิดปกติที่หัว 9.24% middle piece 1-7% และ tail 12-34% (พีระศักดิ์ และคณะ, 2522; ประสิทธิ์ และ พีระศักดิ์, 2524) ซึ่งก็ไม่ได้รายงานรายละเอียดหรือจำแนกลักษณะรูปร่างความผิดปกติของตัวอสุจิกระปือไว้เป็นแบบชนิดใดบ้าง

อุปกรณ์และวิธีการ

น้ำเชื้อกระปือปลักจำนวน 20 ตัว เก็บจากโรงงานฆ่าสัตว์ กลัวยน้ำไหลจากส่วน vas deferens และทำการ smear

บนสไลด์กระจกแล้วปล่อยให้แห้ง ทำให้คงสภาพด้วย 70% แอลกอฮอล์ต่ออีเธอร์ 1:1 นาน 15 นาที ย้อมด้วยสี papanicolaou และ nigrosin-eosin (WHO, 1980) แล้วศึกษาด้วย light microscope น้ำเชื้ออีกส่วนหนึ่งนำมาศึกษาด้วย phase contrast microscope วัดขนาดตัวอสุจิปกติจำนวน 50 ตัว และหาค่าเฉลี่ยจาก light microscope

ผลการทดลอง

ลักษณะตัวอสุจิปกติ

จากตัวอย่างน้ำเชื้อของกระปือปลักที่มีรูปร่างแข็งแรง พบว่าตัวอสุจิมีรูปร่างคล้ายใบพาย มีความยาวตลอดทั้งตัวประมาณ 60 ไมครอน ซึ่งแบ่งเป็นส่วนหัวยาว 1.7 ± 0.3 ไมครอน กว้างสุด 3.6 ± 0.1 ไมครอน ฐานกว้าง 1.8 ± 0.1 ไมครอน แต่ถ้าวัดจาก phase contrast microscope จะมีความยาวประมาณ 7.1 ไมครอน กว้างสุด 4.5 ไมครอนและฐานกว้าง 2.6 ไมครอน ส่วนปลายสุดหางหัวมีลักษณะโค้งกลมปกคลุมด้วยแอกโครโซม (acrosome) เห็นชัดเจน ซึ่งจะยื่นปกคลุมด้านข้างทั้งสองของหัว แอโครโซมนี้จะเห็นชัดในตัวอสุจิที่ย้อมด้วยสี nigrosin และ eosin (ภาพที่ 28) แต่ไม่เห็นในสไลด์ที่ย้อมด้วย papanicolaou หรือสไลด์ที่ดูด้วย phase contrast microscope ส่วนกว้างที่สุดของตัวอสุจิอยู่ที่บริเวณกลางหัวโดยเห็นเส้นแบ่งหัวของตัวอสุจิออกเป็นสองส่วนคือ ส่วนหน้าและส่วนหลัง (post acrosomal region) เส้นนี้

เรียกว่า equatorial segment ซึ่งเห็นได้ชัดเจนเมื่อดูด้วย phase contrast microscope (ภาพที่ 1) ของตัวอสุจิจะค่อยรีเล็กลงจากบริเวณ equatorial segment จนถึงส่วนท้ายของหัวที่เป็นฐานของหัวอสุจิ ที่ตรงบริเวณฐานของตัวอสุจิมีรอยบุ๋มลึกเข้าไปเล็กน้อย ซึ่งเป็นบริเวณที่หางของตัวอสุจิยื่นออกมาตรงกลางของฐาน บางครั้งหางของตัวอสุจิก็ไม่ออกที่ตรงกลางฐาน แต่จะออกห่างจากแกนกลางด้านในด้านหนึ่ง (abaxial) ส่วนหางของตัวอสุจิเริ่มต่อจากบริเวณซึ่งใสและเห็นชัดด้วย phase contrast microscope (ภาพที่ 1)

หางส่วนแรกเรียกว่า middle piece ยาวประมาณ 12 ไมครอน (ภาพที่ 1) ถัดจากส่วน middle piece จะยาวเรียวไปถึงสุดปลายหางซึ่งรวมเอาทั้ง principal piece และ end piece จากการใช้สี papanicolaou ทำให้ทราบว่าหัวอสุจิกระป๋องนั้นมีความหนาไม่เท่ากัน กล่าวคือจะบางสุดบริเวณหัวและค่อยหนาขึ้นทางส่วนท้ายของหัวตรงฐานของหัวอสุจิ ซึ่งสอดคล้องกับการดูด้วย phase contrast microscope

ลักษณะตัวอสุจิผิดปกติ

ตัวอสุจิของกระป๋องปกติที่พบมีความผิดปกติแบ่งได้เป็นสองชนิดคือ ผิดปกติที่หัวและผิดปกติที่หาง

1. ความผิดปกติที่หัว บริเวณหัว

ของตัวอสุจิมีความผิดปกติได้หลายแบบคือ

1.1 Large head หัวของตัวอสุจิมีขนาดใหญ่และหนาที่ตรงบริเวณฐาน

ของหัวกว่าตัวอสุจิปกติเนื่องจากติดสีเข้ม (ภาพที่ 2, 3 และ 4) ขนาดหัวยาว 7.5-8.6 ไมครอน ส่วนกว้างสุด 4.7-5.0 ไมครอน และฐานกว้าง 1.5-3.0 ไมครอน ตัวอสุจิบางตัวที่หัวใหญ่ (ภาพที่ 4) มีสองหางที่ middle piece ส่วนต้นและรวมกันที่ส่วนปลายของ middle piece อีกครึ่ง

1.2 Pyriform head

(pear shape) หัวมีลักษณะคล้ายหยดน้ำ กล่าวคือบริเวณปลายสุดของหัวมีลักษณะปกติ ยกเว้นบริเวณฐานของหัวจะแคบและติดสีเข้มหรือดูหนากว่าตัวอสุจิปกติ (ภาพที่ 5, 6 และ 7) ความยาวและความกว้างอยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างปกติ แต่ equatorial segment เห็นไม่ชัด

1.3 Small round head

หัวของตัวอสุจิค่อนข้างกลมเนื่องจากความยาวที่สั้นกว่าปกติ (ภาพที่ 8, 9, 10, 11 และ 12) ที่ฐานของหัวอสุจิติดสีเข้มมากกว่าปกติ ส่วนฐานอาจจะแคบหรือกว้างกว่าปกติ ตัวอสุจินี้อาจมี 2 หางได้ (ภาพที่ 11)

1.4 Amorphous head หัว

ของตัวอสุจิจะมีขนาดเล็กทั้งส่วนกว้างและส่วนยาว (ภาพที่ 13, 14, 15, 16 และ 17) ส่วนหัวมีลักษณะไม่เรียบหรือบาง หัวติดสีเข้มกับทั้งหัว มักมีความผิดปกติที่หางร่วมด้วย

1.5 Tapering head หัว

ของตัวอสุจิจะยาวเรียวกว่าปกติ (7.8 x 8.6 ไมครอน) แม้ว่า ฐานของหัวจะแคบ

การติดสีกส่วนนี้ปกติหรือเข้มกว่าเล็กน้อย
(ภาพที่ 18)

1.6 Loose head ส่วนหัว
ปกติแต่ไม่มีหาง การติดสีกปกติ (ภาพที่ 2)

1.7 Double head ตัวอสุจิ
มีสองหัว และ middle piece ที่มีลักษณะ
ปกติ และส่วนหางส่วนนี้จะไปรวมกันอีกที่ส่วน
ปลายของ middle piece (ภาพที่ 19)

1.8 Cigar head หัวมี
ส่วนกว้างตลอดความยาวประมาณ 3.3
ไมครอน และหัวสั้นกว่าปกติยาวประมาณ
6.3 ไมครอน (ภาพที่ 20)

1.9 Small head หัวของ
ตัวอสุจิมีขนาดเล็กกว่าปกติและติดสีเข้ม
ส่วนหางปกติ (ภาพที่ 33)

2. ความผิดปกติที่หาง บริเวณ
หางของตัวอสุจิมีความผิดปกติได้หลายแบบคือ

2.1 Two tails ตัวอสุจิมี
2 หางออกจากที่ฐาน (ภาพที่ 21, 22, 23
24) แล้วจะไปรวมกันที่ middle piece
หรือ main piece และหางมักมีความผิด
ปกติเป็นห่วงหรือโค้งที่ส่วน middle piece
ตัวอสุจิบางตัวมี 2 หาง และหัวอาจใหญ่
กว่าปกติ โดยเฉพาะส่วนกว้าง และที่
บริเวณฐานจะมีสีเข้มกว่าปกติด้วย (ภาพที่
24)

2.2 Thickening of mid-
dle piece and main piece Middle
piece หรือ main piece จะมีขนาดใหญ่
กว่าปกติ (ภาพที่ 25 และ 26) แล้วค่อย
เรียวเล็กลง ที่ฐานของหัวติดสีเข้มกว่าปกติ

2.3 Loop of the tail
หางของตัวอสุจิมีการขดเป็นวงต่างกัน อาจ
พบที่ Middle piece (ภาพที่ 27), main
piece หรือ end piece (ภาพที่ 27 และ
28)

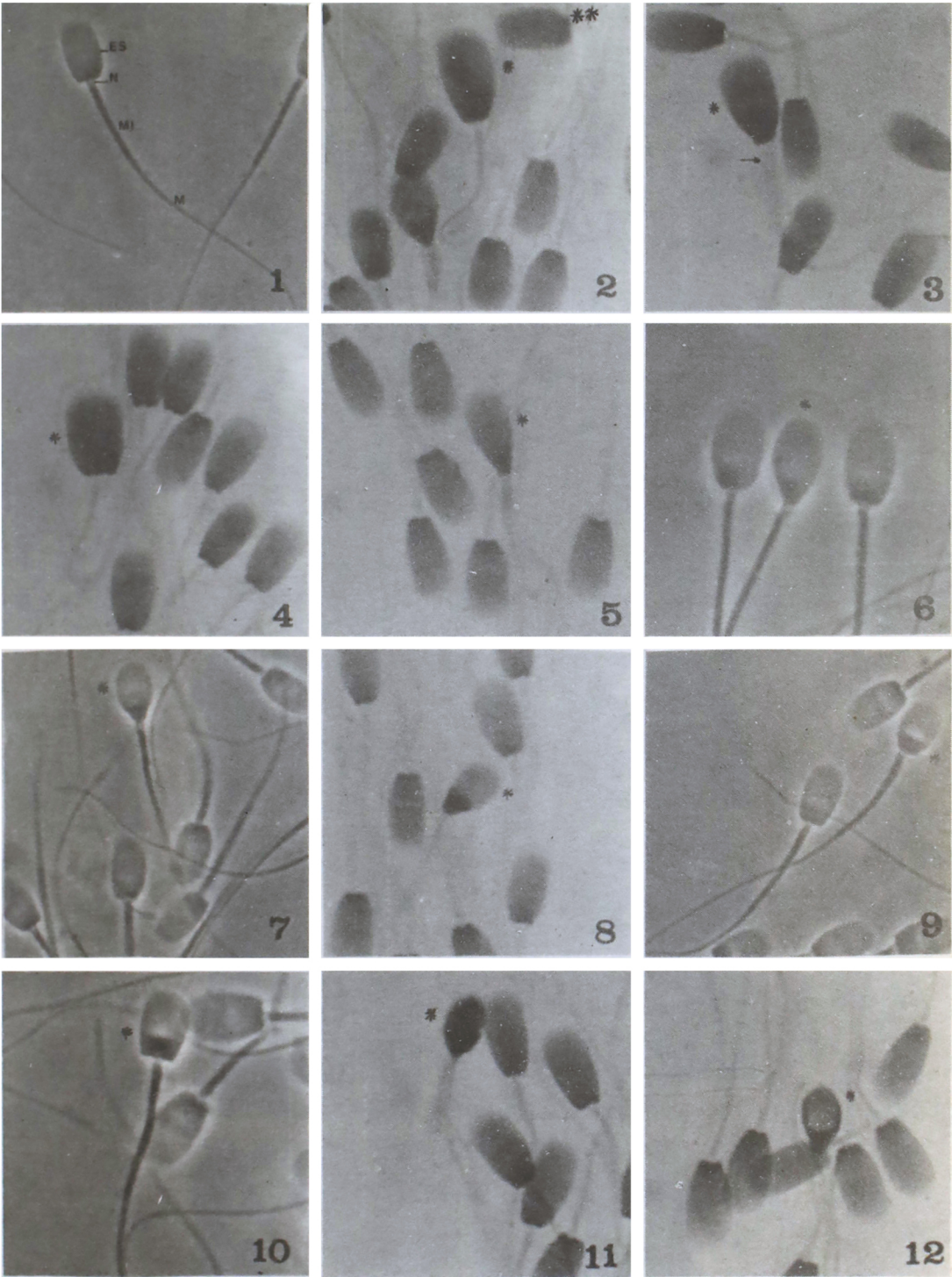
2.4 Damaged tail หาง
จะขาดที่ส่วนใดส่วนหนึ่ง (ภาพที่ 29)

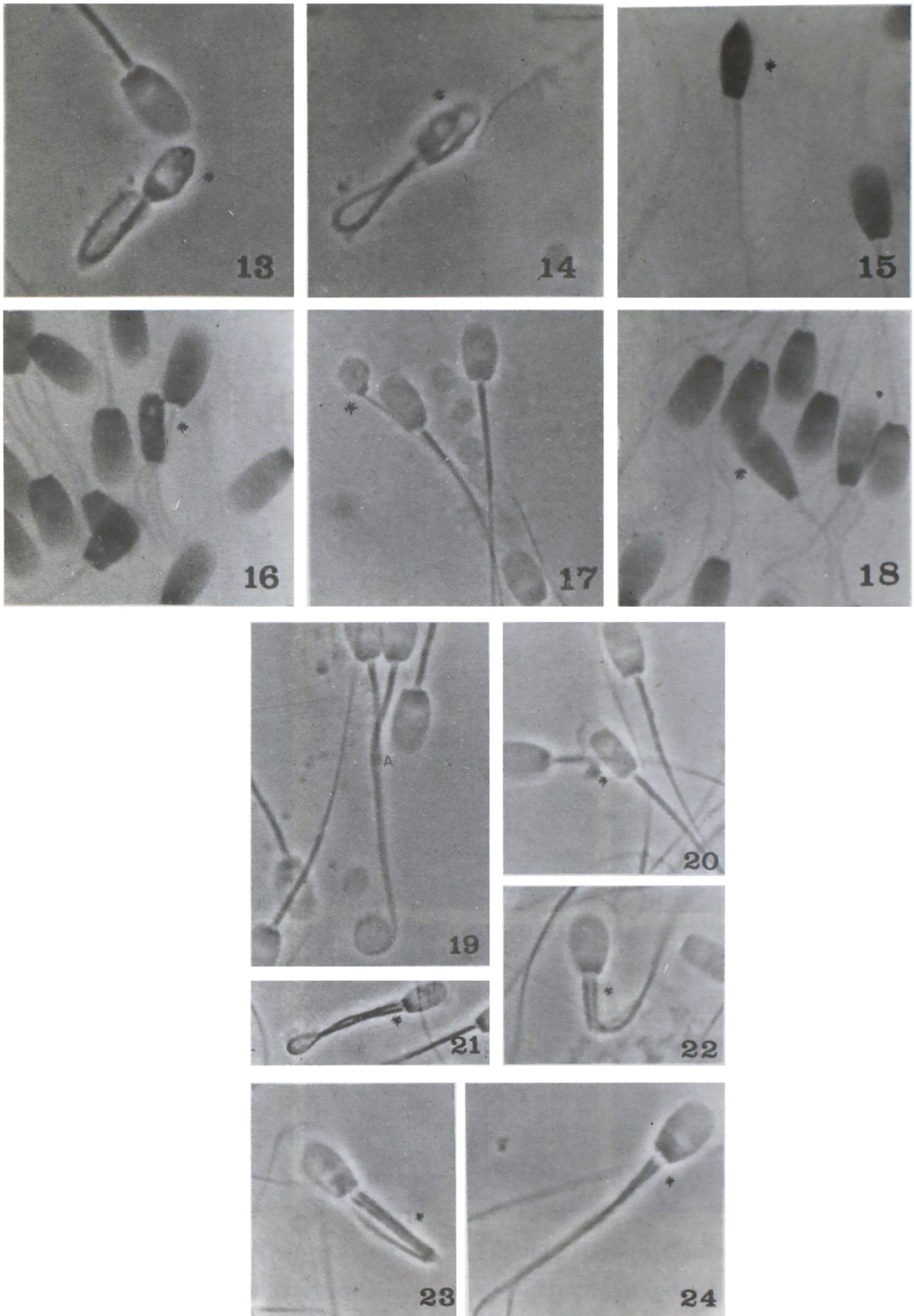
2.5 Cytoplasmic dro-
plet มี cytoplasmic droplet ที่ใกล้
บริเวณคอหรือส่วนต้นของ middle piece
(proximal position) (ภาพที่ 30
และ 32) หรือส่วนปลายของ middle
piece (distal position) (ภาพที่ 32)
หรือที่ส่วนปลายหาง (end piece)

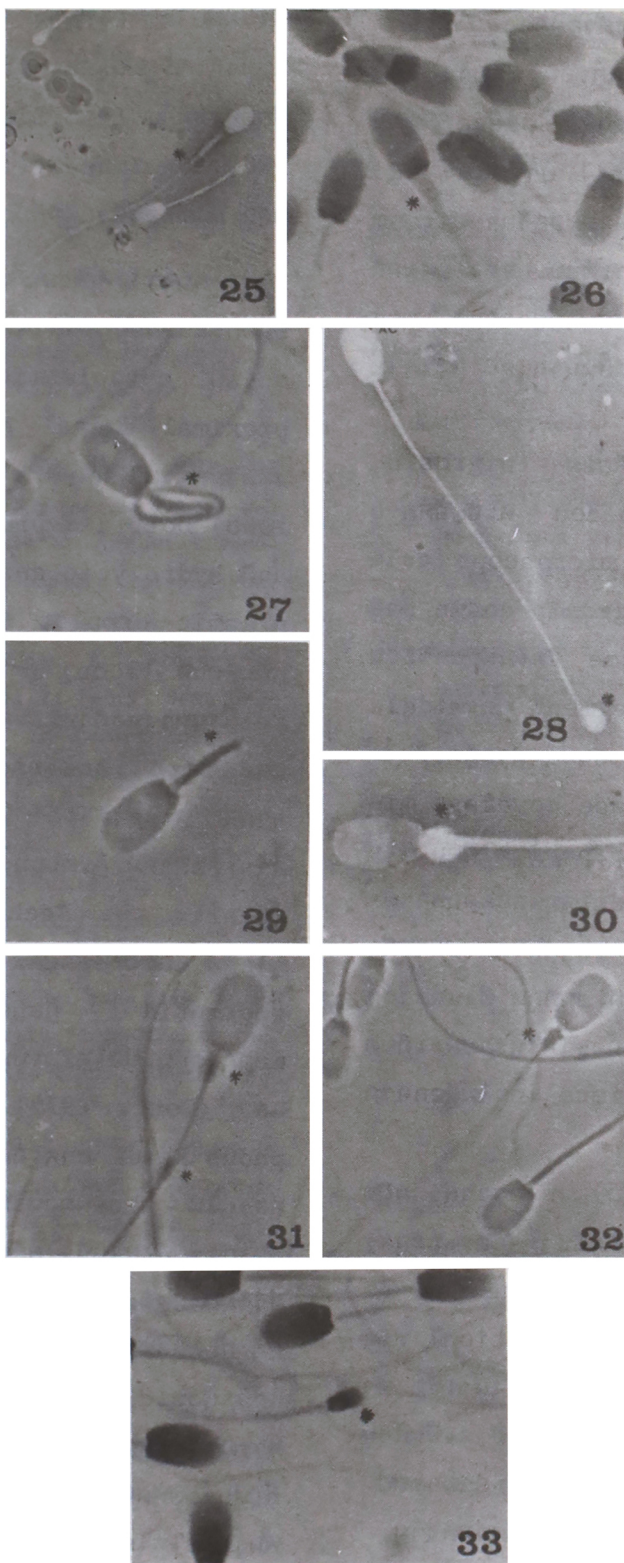
2.6 Thread like mid-
dle piece Middle piece ส่วนนี้บาง
กว่าปกติ (ภาพที่ 31 และ 32)

วิจารณ์

ตัวอสุจิของกระป้อมมีลักษณะและส่วน-
ประกอบคล้ายกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทั่วไป
กล่าวคือประกอบด้วยส่วนหัวและส่วนหางซึ่ง
ประกอบด้วยส่วนย่อยอีก 4 ส่วนคือ คอ,
middle piece, main piece และ
end piece (Fawcett, 1975) และมี
ลักษณะส่วนหัวคล้ายกับโค (Hancock,
1952) ขนาดของความกว้างและฐานของ
หัวตัวอสุจิเมื่อวัดจากภาพถ่ายด้วย phase
contrast microscope จะมีขนาดใหญ่
กว่าตัวอสุจิที่ย้อมสีด้วย nigrosin eosin
เล็กน้อย ซึ่งอาจเป็นผลจากน้ำยาคงสภาพ
ทำให้ตัวอสุจิหดตัว ประสิทธิ์ และ พิระศักดิ์







(2524) รายงานว่าตัวอสุจิส่วนหัวมีขนาดความยาว 9 ± 0.5 ไมครอน คอยาว 30 ± 0.25 ไมครอน middle piece ยาว 15 ± 0.5 ไมครอน tail ยาว และ 42 ± 2.0 ไมครอน รวมแล้วตัวอสุจิยาวประมาณ 100 ไมครอน ซึ่งยาวเกือบเท่าตัวของผลที่ศึกษา โดยเฉพาะส่วนคอนั้นยาวมาก เพราะตามปกติคอของตัวอสุจิสั้นมากและเห็นได้ไม่ชัดเจน

ผลจากการใช้สีย้อม nigrosin-eosin, papanicolaou หรือดูสัดด้วย phase contrast microscope จะได้ข้อมูลที่ต่างกัน สี nigrosin-eosin ช่วยให้เห็นส่วน acrosome ชัดเจนกว่าวิธีอื่น แต่ equatorial segment และ middle piece และหางส่วนอื่นของตัวอสุจิเห็นได้ชัดที่สุดเมื่อดูด้วย phase contrast microscope ส่วนสี papanicolaou ให้รูปร่างลักษณะของหัวชัดเจนตลอดจนความเข้มของสีแต่ละส่วนไม่เท่ากันโดยเฉพาะที่ส่วนฐานของหัวจะติดสีเข้มที่สุด ซึ่งแสดงว่าส่วนนี้หนาสุด แต่สีนี้จะไม่ให้รายละเอียดของหาง middle piece แยกไม่ออกจากหางส่วนอื่น

Dott (1975) กล่าวว่าความผิดปกติของตัวอสุจิอาจเกิดขึ้นได้จากระยะการสร้างตัวอสุจิ (spermatogenesis) ตัวอสุจิไม่เจริญเต็มที่ (maturation) หรือระหว่างและภายหลังที่มีการหลั่งน้ำเชื้อ ตัวอสุจิที่มีรูปร่างผิดปกติในน้ำเชื้ออาจเป็นส่วนหนึ่งของพยาธิสภาพที่เป็นได้และสามารถที่จะเกี่ยวข้องกับความผิดปกติในด้านความสมบูรณ์พันธุ์ แต่ความเป็นจริงแล้วอาจมีความผิดปกติในตัวอสุจิอีกมากที่ไม่สามารถ

ตรวจพบได้ด้วยรูปร่าง (Singer, 1980) ในม้าที่เจริญพันธุ์ดีควรมีตัวอสุจิที่มีรูปร่างปกติประมาณ 80% (Bielanski และคณะ, 1982) ซึ่ง Singer (1980) ได้กล่าวถึงหลักเกณฑ์ของตัวอสุจิที่ปกติไว้

จากการศึกษาครั้งนี้โดยทั่วไปพบตัวอสุจิกระป๋องผิดปกติที่ส่วนหางมากกว่าส่วนหัว การพบ cytoplasmic droplet ที่ proximal distal end และ piece แสดงว่าตัวอสุจินั้นเจริญไม่เต็มที่ (Hafez, 1968) Dott และ Dingle (1968) พบว่ามี hydrolytic enzyme อยู่ใน cytoplasmic droplet บริเวณหางตัวอสุจิที่พบเป็นวง (loop) อาจเกิดจาก fiber ของส่วนหางหดตัวหรือเจริญผิดปกติ (Blom และ Birch Anderson, 1966) นอกจากนี้ หัวของตัวอสุจิที่มีขนาดใหญ่กว่าปกติ อาจเกิดจากมีสารพันธุกรรมมากกว่าปกติได้ (Beatty และ Fechheimer, 1972) พวกที่มี double head อาจเกิดจากการที่ spermatid ที่อยู่ติดกันในลูกอ๊อดทะแยงออกจากกันเมื่อเจริญเป็นตัวอสุจิเรียบร้อยแล้ว (Dott, 1975) และพวก amorphous head อาจเกิดจากที่ตัวอสุจิเสื่อมสลายไป ตามขั้นตอนอันเนื่องมาจากสารพันธุกรรมที่อยู่ในนิวเคลียส อย่างไรก็ตาม ความผิดปกติของตัวอสุจินั้นสามารถพบได้ในน้ำเชื้อของสัตว์ทั่วไปที่เจริญพันธุ์ (Martin และ Gould, 1975) แต่สำหรับในกระป๋องควรมีข้อกำหนดว่าความผิดปกตินั้นมิได้มีเกินที่เปอร์เซ็นต์ถึงถือว่าเหมาะที่จะได้ใช้ผสมพันธุ์เพื่อให้ได้ผลดี ประหยัดเวลา และค่าใช้จ่าย

เอกสารอ้างอิง

- ประสิทธิ์ โพธิ์รักษ์ และ พิระศักดิ์ สันทรประทีป.
2524. การรีดและการศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อ-
อสุจิควายปลักไทยเพื่อการผสมเทียม. Con-
ference on Research for Rural De-
velopment. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,
29 - 30 มกราคม 2524.
- พิระศักดิ์ สันทรประทีป, ประสิทธิ์ โพธิ์รักษ์ และ
อรรถพร คุณาวงษ์กฤต. 2522. ข้อสังเกต
บางประการเกี่ยวกับการรีดน้ำเชื้อควายปลัก
และวัว. เวชยสารสัตวแพทย 9(3) : 150-
155.
- Bealty, R.A. and Fehcheimer, N.S. 1972.
Diploid spermatozoa in rabbit se-
men and their experimental sepa-
ration from haploid spermatozoa.
Biol. Reprod. 7:267-277.
- Bielanski, W., Dudke, E., Bittar, A.
and Kosiniak, K. 1982. Some cha-
racteristic of common abnormal
forms of spermatozoa in highly
fertile stallions. J. Reprod.
Fert. 32:21-26.
- Blom, E. and Birch-Anderson, A. 1966.
The ultrastructure of a new here-
ditary sterilizing defect (the
"Dag defect") in the bull sperm
tail. Excerpta. Medica. Int.
Congr. Series 133 : 602-605.
- Dott, H.M. and Dingle, J.T. 1968. Dis-
tribution of lysosomal enzymes in
the spermatozoa and cytoplasmic
droplets of bull and ram. Expl.
Cell. Research 52 : 523-540.
- Dott, H.M. 1975. Morphology of stall-
ion spermatozoa. J. Reprod. Fert.
Supp. 23 : 41-46.
- Fawcett, D.W. 1975. The mammalian
spermatozoa. Dev. Biol. 44 : 394
-436.
- Hefez, E.S.E. 1986. In : Reproduction
in Farm Animals. 2nd ed. Phila-
dephia. p. 30.
- Hancock, J.L. 1952. The morphology of
bull spermatozoa. J. Exp. Biol.
29 : 455-453.
- Martin, D.E. and Gould, K.G. 1975. Nor-
mal and abnormal spermatozoa. J.
Reprod. Med. 14 : 204-209.
- Singer, R., Sagiv, M., Barnet, M. Segen-
reich, E., Allalouf, D., Laudau, B.
and Servadio, C. 1980. Motility,
vitality and percentages of morpho-
logically abnormal forms of human
spermatozoa in relation to sperm
counts. Andologia 12(1): 92-96.
- WHO. 1980. Laboratory Manual for the
Examination of Human Semen and Se-
men-Cervical Interaction. Press
Concern, Singapore.

Summary

A Study on Normal and Abnormal Spermatozoa Morphology of the Swamp Buffaloes by Light and Phase Contrast Microscopes.

*Pisut Mungkornkarn **

*Chamlong Chaiimsil **

Twenty samples of water buffalo spermatozoa collected from vas deferens were studied for normal and abnormal morphology by light and phase contrast microscopes. They were smeared and stained with papanicolaou and nigrosin-eosin. The length of the normal sperm was about 60 μm which consisted of the head $7.1 \pm 0.3 \mu\text{m}$. The head was smooth, flat and oval like paddle. It was gradually increased in thickness towards the base as evaluated from the stains. Under the light microscope observation the broadest and the width at the base of the sperm head were $3.6 \pm 0.1 \mu\text{m}$ and $1.8 \pm 0.1 \mu\text{m}$ respectively while the corresponding measurements were 4.5 μm and 2.6 μm by the phase contrast microscope study. Abaxial tail was sometimes evident. Different types of abnormalities of head and tail were large head, pyriform head, small round head, amorphous head, tapering head, loose head, double head, cigar head, small head, two tails, thickening of middle piece and main piece, loop of the tail, damaged tail, cytoplasmic droplet and filamentous tail.

* Department of Zoology, Faculty of Science, Kasetsart University
Bangkok, 10900.