บทนำรวม

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ปัจจุบันการผสมเทียมได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย เนื่องจากการผสมเทียมนั้นสามารถทำให้เกิดการถ่ายทอดทางด้านพันธุกรรมไปได้อย่างรวดเร็ว ตลอดจนให้ผลดีหลายอย่างด้วยกัน แต่ที่สำคัญที่สุดก็คือทำให้ผู้ผลิตสุกรสามารถผสมสุกรเพศเมียได้คราวละจำนวนมาก ด้วยการรีดน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์สุกรเพียงครั้งเดียว ข้อดีอีกประการหนึ่งก็คือสามารถผสมแม่พันธุ์ด้วยปริมาตรของน้ำเชื้อและความเข้มข้นของตัวอสุจิที่ต่ำกว่าการผสมด้วยพ่อพันธุ์สุกร ในขณะเดียวกันก็ยังสามารถรักษาประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ไว้ได้ (Flowers and Esbenshade, 1993; Almond et al., 1998; Waberski et al., 1994; Soede et al., 1995; Nissen et al., 1997; Weitze, 2000; Singleton, 2001) โดยปกติแล้ว การรีดน้ำเชื้อ หรือการหลั่งน้ำเชื้อของพ่อสุกรครั้งหนึ่ง จะประกอบด้วยน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ (seminal plasma) และตัวอสุจิประมาณ 50-100 พันล้านตัว ปัจจุบันนี้ การผสมเทียมส่วนใหญ่ใช้จำนวนตัวอสุจิที่สามารถเคลื่อนที่ได้ประมาณ 2-5 พันล้านตัว (2-5 x 10^9ตัว) ก็จะทำให้ประสบความสำเร็จในการผสมเทียม ในขณะที่การผสมโดยวิธีทางธรรมชาติด้วยพ่อพันธุ์สุกรนั้นจะต้องใช้ตัวอสุจิถึง 50-100 พันล้านตัวต่อการผสมหนึ่งครั้ง ปัจจัยที่มีผลทำให้การผสมเทียมในสุกรมีประสิทธิภาพ และประสบความสำเร็จ ประกอบด้วยปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้ (1) คุณภาพของน้ำเชื้ออสุจิ (2) เทคนิคและวิธีการผสมเทียม (3) คุณภาพของสุกรเพศเมีย (4) เวลาในการผสมเทียม (Soede et al., 1995; Nissen et al., 1997; Kaeoket et al., 2002, 2005)

การผสมเทียมในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรนั้น ปกติทำโดยเจือจางน้ำเชื้อสด ด้วยสารละลายเจือจาง (extender) จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 2-3 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดภาวะสมดุลย์ (equilibrium) ของสารละลายอาจนำไปผสมหลังจากนั้น หรือนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 18 $^{\circ}$C เพื่อนำไปใช้ในวันหลัง (เก็บได้นาน 3-5 วันขึ้นกับชนิดของ extender) โดยจะมีตัวอสุจิประมาณ 3-5 พันล้านตัว (3-5 x 10^9ตัว) ในปริมาตร 80-100 มิลลิลิตร โดยใช้ท่อพลาสติก (เดือยเทียม) สอดผ่านทางช่องคลอด (vagina) และเข้าไปที่คอมดลูก (cervix) เพื่อปล่อยน้ำเชื้อ (Stratman and Self, 1960; Wagner and Tibier, 2000) ซึ่งจะให้ผลผลิตใกล้เคียงกับการผสมตามธรรมชาติ อย่างไรก็ดี การผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแช่เย็นนั้นมีข้อด้อย คือ ไม่สามารถเก็บน้ำเชื้อได้นาน (เก็บไว้ได้แค่ 3-5 วัน) ทำให้ไม่สามารถขนส่งน้ำเชื้อไปยังที่ที่ อยู่ไกลออกไปได้ เมื่อไม่สามารถขนส่งน้ำเชื้อไปได้ ทำให้ต้องขนส่งพ่อสุกรไปแทน แต่ก็จะทำให้ค่าใช้จ่ายสูงขึ้น พ่อพันธุ์นำเข้าจากต่างประเทศราคาตัวละประมาณ 70,000 บาทที่น้ำหนักซื้อขาย 25-30 กิโลกรัม ส่วนพ่อพันธุ์ในประเทศราคาตัวละประมาณ17,000-20,000 บาท สำหรับทำหมูขุนสามสายพันธุ์ นอกจากนี้ยังเสี่ยงต่อการติดโรค หรือแพร่กระจายโรคจากที่หนึ่งไปสู่อีกที่หนึ่งได้กรณีใช้วิธีผสมจริง

(natural mating) หรือในกรณีใช้วิธีผสมเทียมก็ไม่สามารถใช้พ่อพันธุ์ที่นำเข้าได้อย่างคุ้มค่าเนื่องจากพ่อพันธุ์มีอายุการใช้งานแค่ 3 ปี ซึ่งเป็นข้อจำกัดการใช้ประโยชน์ของพ่อพันธุ์ที่มีสายพันธุกรรมดี

เพื่อให้การเก็บน้ำเชื้อทำได้ในระยะเวลายาวนานขึ้น ลดค่าใช้จ่ายจากการขนส่งพ่อสุกร และลดความเสี่ยงต่อการกระจายโรคติดต่อ ตลอดจนเพื่อใช้ประโยชน์จากน้ำเชื้อพ่อพันธุ์สายพันธุ์แท้ (purebred) ให้ได้มากที่สุด เทคโนโลยีการแช่แข็งตัวอสุจิ (frozen semen) จึงได้ถูกนำเข้ามาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสุกร แต่เนื่องจาก ตัวอสุจิของสุกร ค่อนข้างอ่อนแอต่อการแช่แข็ง ทำให้อัตราการอยู่รอด (survival rate) หลังการแช่แข็งของตัวอสุจิ ค่อนข้างต่ำและมีชีวิต อยู่ค่อนข้างสั้น (Einarsson and Viring, 1973) ส่งผลให้ อัตราการตั้งท้อง และ จำนวนลูกต่อครอก มีจำนวนต่ำกว่าการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสด หรือน้ำเชื้อแช่เย็น (Einarssonet al., 1973; Eriksson et al., 2002) นอกจากนี้ในการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง จะต้องเพิ่มปริมาณตัวอสุจิต่อการผสมหนึ่งครั้งให้มากขึ้นประมาณสองเท่าของการผสมเทียมแบบใช้น้ำเชื้อสด ด้วยเหตุผลดังที่กล่าวมาทั้งหมดนี้จึงทำให้ความนิยมในการใช้น้ำเชื้อแช่แข็งสำหรับผสมเทียมไม่แพร่หลายมากนัก และจากการสำรวจ พบว่าปริมาณการใช้น้ำเชื้อแช่แข็งทั่วโลกอยู่ ประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ของการผสมเทียมสุกร (Wagner and Tibier, 2000)

ปัจจุบันการใช้น้ำเชื้อสุกรแช่แข็งในระบบการผลิต มีการทำกันอยู่ 2 วิธี ได้แก่ การแช่แข็งโดยใช้เครื่องควบคุมอุณหภูมิในการแช่แข็ง (controlled rate freezer) และการแช่แข็งผ่านไอไนโตรเจนเหลว พบว่ายังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร เนื่องมาจากคุณภาพของน้ำเชื้อที่ลดลงหลังจากผ่านกระบวนการแช่แข็ง อันเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระ (Free radicals) ในระหว่างขั้นตอนการแช่แข็ง (Aitken and Clarkson, 1988; Chatterjee et al., 2001; Watson, 2000) ซึ่งจะทำให้คุณภาพน้ำเชื้อที่ได้ลดลง ไม่ว่าจะเป็น ลักษณะรูปร่างของอสุจิ (Sperm morphology) ที่เปลี่ยนแปลงไป การเคลื่อนที่ของอสุจิ (Sperm motility) และอัตราการอยู่รอดของอสุจิ (Survival rate) (Cerolini et al., 2001; Maldjian et al., 2005) นอกจากนี้ยังมีการรายงานการศึกษาความสามารถในการทนทานต่อการแช่แข็งที่แตกต่างกันระหว่างพ่อสุกรในสายพันธุ์เดียวกัน และต่างสายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์นอร์วีเจี้ยน แลนด์เรซ และสายพันธุ์ดูร็อกซ์ (Waterhouse et al., 2006)

จากการศึกษาวิจัยพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระสามารถเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อภายหลังการแช่แข็งได้ และสารต้านอนุมูลอิสระที่มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางก็คือ วิตามินอี โดยพบว่าการเติมวิตามินอีในช่วงก่อนทำการแช่แข็งจะสามารถเพิ่มความสามารถในการเคลื่อนที่ของอสุจิและอัตราการอยู่รอดของอสุจิได้ (Breininger et al., 2005) และจากการศึกษาผลของกลูตาไทโอน พบว่าเมื่อทำการเสริมกลูตาไทโอนลงไปในน้ำเชื้อในช่วงก่อนทำการแช่แข็งน้ำเชื้อจะสามารถเพิ่มความสามารถในการเคลื่อนที่ของอสุจิและอัตราการอยู่รอดของอสุจิได้เช่นกัน (Gadea et al., 2005) นอกจากนี้ยังมีการศึกษา

ว่าการใส่ซีสเทอีนลงในน้ำเชื้อก่อนการแช่เข็ง สามารถเพิ่มการเคลื่อนที่ตัวอสุจิได้ในการเสริมซีสเทอีนลงไปในน้ำเชื้อก่อนทำการแช่เข็ง (Bilodeau et al., 2000)นอกจากนี้ Kaeoket et al. (2008) ยังได้ศึกษาเปรียบเทียบสารต้านอนุมูลอิสระทั้งสามชนิด คือ L-cysteine watersoluble vitamin E และ Glutathione พบว่า การใส่L-cysteine(5 mMol) มีแนวโน้มให้คุณภาพน้ำเชื้อหลังการแช่เข็งดีกว่าชนิดอื่น จากข้อมูลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระมีความสามารถในการเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการแช่เข็งได้

นอกจากปัญหาที่เกิดขึ้นหลังกระบวนการแช่เข็งดังที่ได้กล่าวแล้วในเบื้องต้น ยังมีปัญหาคุณภาพของน้ำเชื้อที่ลดลงหลังผ่านกระบวนการแช่เข็งนั้นมีสาเหตุสำคัญมาจากเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิสุกรมีความคงทนที่ต่ำต่อการลดลงของอุณหภูมิ นอกจากนี้ยังเกิดกระบวนการ lipid peroxidation ทำให้เกิดการสูญเสียกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิอย่างมีนัยสำคัญ จึงส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิถูกทำลายเป็นอย่างมากในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำเชื้อสุกรแช่เข็ง

จากการศึกษาพบว่าเมื่อผ่านกระบวนการแช่เข็ง เยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิจะมีปริมาณกรดไขมันชนิดอิ่มตัวเพิ่มขึ้นในขณะที่มีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวลดลง ซึ่งอัตราการรอดชีวิตของอสุจิสุกรมีความสัมพันธ์กับปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวแบบสายยาวในเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้การมีส่วนประกอบของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวแบบสายยาวในปริมาณสูงนั้นจะเป็นการเพิ่มระดับของความชุ่มน้ำ (fluidity) ทำให้มีความยืดหยุ่นตัวมากขึ้น พบว่าอสุจิสุกรที่มีความชุ่มน้ำแรกเริ่มมากกว่าจะมีคุณภาพในการรอดชีวิตสูงกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าเซลล์อสุจิสามารถนำสารกลุ่มไขมันจากไข่แดงไปใช้ระหว่างกระบวนการแช่เข็ง และมีการศึกษาพบว่าองค์ประกอบไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิจะมีความแตกต่างกันใน พ่อสุกรพันธุ์ แลนด์เรจและ ดูร็อกซ์

อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาเปรียบเทียบถึงระดับความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสมในการใส่ลงไปในกระบวนการแช่เข็ง ตลอดจนยังไม่มีผู้ศึกษาถึงวิธีการผสมเทียมสุกรโดยใช้ supernatant จากกระบวนการแช่เข็งมาใช้ในการผสมเทียม โดยใช้การผสมเทียมแบบ Intra uterine insemination(IUI) และ deep intrauterine insemination (DIUI) การศึกษาเรื่องความสัมพันธ์กันของตัวรับโปรเจสเตอโรน ตัวรับเอสโตรเจนกับการเกิดปฏิสนธิ ของตัวอสุจิที่ผ่านการแช่เข็ง ก็มีความสำคัญต่อการพัฒนากระบวนการแช่เข็ง นอกจากนี้การศึกษาการปนเปื้อนของแบคทีเรียจากน้ำเชื้อสดไปในกระบวนการการแช่เข็ง ก็เป็นเรื่องที่สำคัญเพราะจะทำให้ทราบว่า ยาปฏิชีวนะชนิดใดเหมาะสมที่สุดที่จะใส่ลงในกระบวนการแช่เข็ง ประเด็นหัวข้อวิจัยเหล่านี้ หากได้คำตอบ จะนำซึ่งการพัฒนากระบวนการแช่เข็งน้ำเชื้อสุกร และพัฒนาหรือเพิ่มประสิทธิภาพในการผสมเทียมสุกรด้วยน้ำเชื้อแช่เข็งได้

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

วัตถุประสงค์ของแผนงานวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบผลของการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระชนิด L-cysteine ที่ความเข้มข้นต่างๆ ต่ออัตราการรอดชีวิตและคุณภาพของน้ำเชื้อภายหลังการผ่านกระบวนการผลิตน้ำเชื้อแช่ แข็ง
2. เพื่อศึกษาผลของการนำ supernatant จากกระบวนการแช่แข็งกลับมาเป็น post-thawing solution และ semen extender ต่อประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกรนางหลังจากผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง
3. เพื่อศึกษาแนวทางในการการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้ามดลูกและเข้าปีกมดลูกในแม่สุกรหย่านมด้วยน้ำเชื้อสุกรแช่แข็ง
4. เพื่อศึกษาผลของการเสริมสารต้านอนุมูลอิสระ ต่อลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์อสุจิของน้ำเชื้อพ่อสุกรแช่แข็งที่ระยะเวลาต่างๆ กันภายหลังจากการทำละลาย โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (transmission electron microscope) และแบบส่องผ่าน (scanning electron microscope)
5. เพื่อศึกษาการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจน และโปรเจสเตอโรนบนตัวอสุจิสุกรในระหว่างกระบวนการแช่แข็งและหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวรับฮอร์โมนทั้งสองชนิดกับกระบวนการ capacitation, acrosome reaction และคุณภาพน้ำเชื้อสุกร

ความเชื่อมโยงระหว่างโครงการวิจัยย่อย

กระบวนการแช่แข็งสามารถทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระ เกิด lipid peroxidation ขึ้นได้ และส่งผลให้ตัวอสุจิถูกทำลายระหว่างการแช่แข็ง ดังนั้นการเติม L-cysteine ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)ในความเข้มข้นที่เหมาะสมลงไปในกระบวนการแช่แข็ง น่าจะไปช่วยลดการเกิด lipid peroxidation และส่งผลให้มีตัวอสุจิที่รอดชีวิตมากขึ้นและมี intact membrane เพิ่มมากขึ้น

การนำ seminal plasma ซึ่งมีสารเอสโตรเจนและสารโปรตีนชนิดต่างๆ ที่มีประโยชน์กับตัวอสุจิเองในการเดินทางไปปฏิสนธิกับโอโอไซท์ และseminal plasma นี้เป็นองค์ประกอบของ supernatant (seminal plasma + semen extender) ที่ได้จากกระบวนการแช่แข็งมาเป็น post thawing solution และ semen extender จะช่วยให้ตัวอสุจิสามารถปฏิสนธิได้ดีขึ้น

กระบวนการแช่แข็งทำให้เกิดกระบวนการ capacitation ของตัวอสุจิทำให้ตัวอสุจิมีชีวิตรอดหลังจากการละลายสั้นลง ซึ่งการเกิด capacitation มีความสัมพันธ์กับการมีอยู่ของตัวรับฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน ดังนั้นการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนทั้งสองชนิดในขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระน่าจะมีความแตกต่างกัน และอาจบ่งบอกความสัมพันธ์ระหว่างการแสดงออกของตัวรับฮอร์โมนทั้งสองชนิดต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกรได้

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ - 1 ต.ค. 2555
เลขทะเบียน 246500
เลขเรียกหนังสือ

ความสำเร็จในการผสมเทียมมีปัจจัยที่ต้องควบคุมในหลายด้าน คุณภาพน้ำเชื้อทั้งน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็งจัดเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ ตลอดจนวิธีการผสมเทียมและท่อผสมเทียมที่ใช้ ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะส่งผลกระทบโดยตรงต่อความสำเร็จในการผสมเทียม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.ทำให้ทราบถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารต้านอนุมูลอิสระชนิด L-cysteine ที่มีผลต่อคุณภาพของน้ำเชื้อสุกรแช่แข็ง

2.ทำให้ทราบถึงประสิทธิภาพของการใช้ supernatant จากกระบวนการแช่แข็งมาเป็น post-thawing solutionและ semen extender สำหรับใช้ในการผสมเทียมสุกรด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งโดยใช้การผสมแบบ DIUI และ IUI

3. สามารถนำข้อมูลที่ได้จากการทำวิจัยไปปรับใช้จริงเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำเชื้อสุกรและเพิ่มประสิทธิภาพในการผสมเทียมสุกรโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็ง

4.ลดต้นทุนการนำเข้าพ่อสุกร การนำเข้าน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็ง และทำให้ลดต้นทุนการผลิตปรับปรุงพันธุ์ได้เร็วขึ้น

5. นำไปสู่การทำธนาคารน้ำเชื้อหรือธนาคารพันธุกรรมของสุกรต่อไป

หน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

หน่วยงานทั้งภาครัฐและภาคเอกชน สามารถนำองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัย ไปต่อยอดเพื่อทำธนาคารน้ำเชื้อสุกรของฟาร์มตัวเอง เพื่อเก็บน้ำเชื้อจากพ่อสุกรพันธุ์ที่มีคุณค่าทางพันธุกรรมสูง เช่น มีอัตราการเจริญเติบสูง มีประสิทธิภาพการใช้อาหารต่ำ อีกทั้งหน่วยงานของกรมปศุสัตว์ยังสามารถนำเทคโนโลยีนี้ไปประยุกต์ใช้เก้บน้ำเชื้อสุกร เพื่อจำหน่ายและแจกให้กับเกษตรกร ซึ่งควรทำควบคู่ไปกับการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผสมเทียม สำหรับภาคเอกชนสามารถนำเทคโนโลยีไปใช้ได้โดยตรง กล่าวคือสามารถทำน้ำเชื้อแช่แข็งโดยการคัดเลือกน้ำเชื้อของพ่อสุกรที่เป็นที่ต้องการและส่งไปไปจำหน่ายต่างประเทศโดยไม่จำเป็นต้องส่งตัวสุกรไป