โครงการย่อยที่ 1

โครงการวิจัยเรื่อง (ภาษาไทย) การศึกษาจำนวนอสุจิ อัตราการปฏิสนธิ และจำนวนคัพภะ ในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์แม่สุกรหลังการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก(IUI) และเข้าปีกมดลูก(DIUI) ด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งในสุกร

(ภาษาอังกฤษ) Study on number of spermatozoa, fertilization rate and number of embryos in the sow reproductive tracts after intra uterine (IUI) and deep intra uterine insemination (DIUI) using frozen-thawed boar semen

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2553 **จำนวนเงิน** 890,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่มิถุนายน ปี พ.ศ. 2553ถึงมิถุนายน ปี พ.ศ. 2554

รายนามคณะผู้วิจัยพร้อมทั้งหน่วยงานที่สังกัดและหมายเลขโทรศัพท์

รศ.น.สพ.ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์

ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 02-2189644-5 E-mail: Padet.T@chula.ac.th

รศ.น.สพ.ดร. ไพศาล เทียนไทย

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0-2218-9658 โทรสาร 0-2218-9657E-mail: Paisan.T@chula.ac.th

ผศ.สพ.ญ.ดร. ศยามณ ศรีสุวัฒนาสกุล

ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0-2218-9708 โทรสาร 0-2218-9657E-mail:ssayamon@chula.ac.th

ลงชื่อ หัวหน้าโครงการ

(รศ.น.สพ.ดร. เผด็จ ธรรมรักษ์)

14/ตุลาคม/2554

บทคัดย่อ

ในช่วง 5-10 ปี ที่ผ่านมา การผสมเทียมสุกรด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งมีการพัฒนาและใช้งานในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรอย่างรวดเร็วในสหรัฐอเมริกา ยุโรป และประเทศไทย ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง ในประเทศไทยยังขาดข้อมูลพื้นฐานหลายด้านที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิต ขั้นตอนและเทคนิคการผลิตจนถึงเทคนิคการผสมพันธุ์ อย่างไรก็ดีผู้เลี้ยงสุกรยังต้องนำเข้าพันธุกรรมสุกรจากต่างประเทศ เพื่อใช้พัฒนาพันธุกรรมของสุกรในประเทศไทยให้มีศักยภาพการผลิตสูงขึ้น ลดต้นทุนการผลิตสุกร และสามารถแข่งขันกับต่างประเทศได้ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาแนวทางในการการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้ามดลูกและเข้าปีกมดลูกในแม่สุกรหย่านมด้วยน้ำเชื้อสุกรแช่แข็ง ตลอดจนศึกษาแนวทางการกำหนดเวลาในการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อพ่อสุกรแช่แข็ง และดูลักษณะการกระจายตัวของเซลล์อสุจิภายหลังการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสุกรแช่แข็ง การศึกษาครั้งนี้ใช้แม่สุกรเพศเมีย จำนวน 51 ตัว ที่ซื้อมาจากฟาร์มเอกชนแห่งหนึ่งในจังหวัดราชบุรี สุกรถูกนำออกจากฟาร์มในวันหย่านมและนำเข้ามาทดลองที่ โรงพยาบาลปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ จังหวัดนครปฐม แม่สุกรมีลำดับครอกเฉลี่ย 6.8±0.6 และแสดงอาการเป็นสัด 4.8±0.7 วัน หลังหย่านม แม่สุกรที่ไม่เป็นสัด และขาเจ็บถูกคัดทิ้งจากการทดลอง จำนวน 2 ตัว คงเหลือสุกรในการทดลองจำนวน 49 ตัว แบ่งแม่สุกรออกเป็น 2 กลุ่ม ผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสด แบบปกติ (3 ตัว) ผสมเทียมด้วยวิธี IUI (13 ตัว) ผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งด้วยวิธี IUI (24 ตัว) และ ผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งด้วยวิธี DIUI (9 ตัว) ทำการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วย ฮอร์โมน hCG 750 IUในวันแรกของการเป็นสัด ผสมเทียม 1 ครั้ง ก่อนไข่ตก 4-6ชั่วโมงกลุ่ม AI ใช้น้ำเชื้อปริมาตร 100 มล. และจำนวนอสุจิ $3,000\times10^6$ตัว กลุ่ม IUI ใช้อสุจิ $2,000\times10^6$ตัว ปริมาตร 20 มล.และกลุ่ม DIUI ใช้อสุจิ$1,000\times10^6$ตัว ปริมาตร 10 มล.หลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมง (การทดลองย่อยที่ 1: 20 ตัว) นำสุกรส่งโรงฆ่าสัตว์แล้วเก็บมดลูกออกมาทันที ตรวจหาจำนวนอสุจิในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์และหลังการผสมเทียม 48ชั่วโมง (การทดลองย่อยที่ 2: 26 ตัว) เก็บมดลูกออกมาเพื่อตรวจหาจำนวนโอโอไซต์ที่ถูกปฏิสนธิในการทดลองย่อยที่ 1ผลการทดลองพบว่าเซลล์อสุจิส่วนใหญ่ถูกพบอยู่ที่ บริเวณอิสมัสส่วนท้าย และยูทีเจ ในทุกกลุ่มโดยพบเซลล์อสุจิที่บริเวณอิสมัสส่วนท้ายและยูทีเจสูงกว่าบริเวณแอมพูลล่า อิสมัสส่วนต้น และปีกมดลูก อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) นอกจากนี้สัดส่วนการกระจายตัวของเซลล์อสุจิก็สอดคล้องกันในทุกกลุ่มทดลอง โดยพบอสุจิที่บริเวณยูทีเจ ในสัดส่วน 38.1-47.8% นอกจากนี้ผลรวมของเซลล์อสุจิที่ตรวจพบในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์เพศเมียไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ระหว่างน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็งในการทดลองที่ 2 จำนวนเอมบริโอ จำนวนไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ และอัตราการปฏิสนธิ ไม่ต่างกันระหว่างแม่สุกรที่ได้รับการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็ง นอกจากนี้ยังพบว่าการผสมเทียมด้วยวิธี DIUI ใช้

ปริมาณอสุจิเพียง 1,000 ล้านตัว/โด๊ส ยังคงพบเซลล์อสุจิในส่วนต่างๆ ของท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ไม่ต่างจากการผสมเทียมด้วยวิธี IUI ด้วยปริมาณอสุจิ 2,000 ล้านตัว/โด๊ส นอกจากนี้ยังพบว่า สัดส่วนของเซลล์อสุจิที่พบในท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ของแม่สุกรที่ถูกผสมเทียมด้วยวิธี DIUI สูงกว่าแม่สุกรที่ถูกผสมเทียมด้วยวิธี IUI อย่างมีนัยสำคัญ (P=0.0006)โดยสรุปการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการผลิตและผสมเทียมสุกรด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งสามารถทำได้ในประเทศไทย โดยวิธีการผสมเทียมสามารถเลือกใช้ได้ทั้งแบบ IUI และ DIUI โดยการผสมเทียมแบบ DIUI สามารถลดปริมาณน้ำเชื้อลงได้ครึ่งหนึ่ง โดยไม่มีผลกระทบต่อจำนวนเซลล์อสุจิที่สะสมอยู่ในบริเวณ sperm reservoir ที่เวลา 12 ชั่วโมงหลังการผสมเทียม

Abstract

During the past 5-10 years, the use of cryopreserved boar semen for artificial insemination (AI) in pig industry is increasing continuously in USA, Europe and Thailand. In Thailand, information concerning the technique and the process of cryopreservation of pig semen is lackingand also the AI technique using cryopreserved boar semen in pig is being developed. However, the cryopreserved boar semen is still required to be imported from aboard in order to utilize for genetic improvement in the Thai swine herds. The present study was performed to examine the possibility to inseminate the pig using IUI and DIUI technique in weaned sows with cryopreserved boar semen. Furthermore, distribution of boar sperm after IUI and DIUI with cryopreserved semen was investigated. The study included 51 weaned sows bought from a swine commercial herd in Rachaburi province. The sows were brought from the herd on the day of weaning and were kept at the Large Animal Hospital, Chulalongkorn University, Nakorn-pathom province. The average parity number of sows was 6.8±0.6 and the weaning-to-first-service interval was4.8±0.7 days. Of all the sows, 2 sows were excluded due to post-weaning anestrus and leg problems, thus 49 sows remained in the experiment. The sows were divided into four groups and were inseminated using conventional AI using extended fresh semen (n=3), IUI with extended fresh semen (n=13), IUI with cryopreserved boar semen (n=24), and DIUI with cryopreserved boar semen (n=9). The sows were induced ovulation using hCG 750 IU at the onset of estrus and were inseminated once at 4-6 h before ovulation.The AI group used 100 ml of semen containing 3,000$\times 10^6$sperm, IUI group used 20 ml of semen containing 2,000$\times 10^6$sperm and DIUI group use 10 ml of semen containing 1,000$\times 10^6$sperm. At 12 h after AI (experiment I, n=20), the sows were sent to slaughter house and uterine horns were collected. Sperm distribution was investigated. At 48 h after AI (experiment II, n=26), uterus were collected from slaughter house and oocytes and embryos were investigated. In experiment I, it was found that most of the sperm cells were accumulated in the caudal isthmus and utero-tubal junction (UTJ) in all groups. The number of sperm cells were significantly higher in the caudal isthmus and UTJ than ampulla, cranial and uterine horns ($P<0.05$). The distribution pattern of sperm cells was similar among the treatment groups. The proportion of sperm cells accumulated in the UTJ was 38.1-47.8%. The total number of sperm cells in the female reproductive tracts was not significantly different between fresh and cryopreserved boar semen ($P>0.05$). In experiment II, the number of embryos, non-fertilized oocytes and fertilization rate

did not differ significantly between fresh and cryopreserved semen. In addition, the sows that were inseminated with DIUI technique with 1,000 x 10^6 sperm had a similar number of sperm in the female reproductive tracts compared with sows inseminated using IUI with 2,000 x 10^6 sperm. Furthermore, the proportion of recover sperm per total inseminated sperm was higher in the DIUI than IUI groups (P=0.0006). In conclusions, the present study revealed that artificial insemination can be accomplished under field conditions in Thailand using either IUI or DIUI technique. The use of DIUI technique for AI in pig with cryopreserved semen can be reduced the number of sperm/dose compared to IUI without a negative effect on number of sperm cells accumulated in the sperm reservoir at 12 h after insemination.