

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของการวิจัย

ปัจจุบันการใช้พ่อแม่โคผสมพันธุ์กันแบบธรรมชาติมีน้อยลงถึงแม้ว่าการผสมแบบธรรมชาติจะให้ผลการผสมติดที่ดีกว่าการผสมเทียมก็ตาม การผสมพันธุ์แบบวิธีธรรมชาติมีข้อจำกัดหลายอย่างเช่น พ่อโคพันธุ์ดีที่พิการขึ้นผสมไม่ได้และการปรับปรุงพันธุ์ทำได้ช้าทำให้ไม่สะดวกในการใช้ ขณะที่การผสมเทียมได้เปรียบในเรื่องความรวดเร็วในการขยายพันธุ์ของพ่อพันธุ์ที่ต้องการและลดค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงพ่อพันธุ์ อย่างไรก็ตามวิธีการผสมเทียมเองยังต้องพัฒนาต่อไปเพื่อให้ได้ผลการผสมติดสูงขึ้นและทำให้การใช้ทรัพยากรทางพันธุกรรมมีประสิทธิภาพสูงสุด เนื่องจากปัจจัยสำคัญต่อความสำเร็จในการทำผสมเทียมนั้นขึ้นอยู่กับคุณภาพของน้ำเชื้อ และคุณภาพน้ำเชื้อขึ้นอยู่กับกรรมวิธีในการเตรียมน้ำเชื้อ การทำให้เย็นลงจนแข็งตัว การเก็บรักษา การละลายก่อนใช้และการขนส่ง ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีส่วนในการทำให้น้ำเชื้อมีคุณภาพต่างกัน

การเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อนอกจากจะอยู่ที่ตัวเจี๊ยะจาง (extender) แล้วได้มีการคิดสารบางอย่างให้ตัวเมียเมื่อเวลาผสมหรือเติมสารบางชนิดลงไปในน้ำเชื้อทั้งก่อนและหลังแช่แข็งเพื่อให้การเคลื่อนที่ของอสุจิเข้าสู่ท่อไข่ได้มากที่สุดเนื่องจากความล้มเหลวของการผสมติดส่วนใหญ่เกิดจากการที่ตัวอสุจิไม่ได้ผสมกับไข่มากกว่าเกิดจากไข่นั้นผสมไม่ดี (Howk, 1987) อัตราการปฏิสนธิจะสูงถึงเกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ ถ้าหากมีอสุจิเคลื่อนที่ถึง ampulla (Hill et al., 1971) นอกจากนั้น Hunter และ Wilmut (1984) และ Hawk และ Tanabe (1986) ยังพบว่าจำนวนของ spermatozoa ที่พบที่ zona pellucida มีความสัมพันธ์ในทางบวกกับการผสมติดในโค มีการฉีด oxytocin, PGF<sub>2α</sub> หรือ prostaglandin E<sub>1</sub> และ E<sub>2</sub>, estradiol และ ergonovin ให้ตัวเมียเมื่อทำการผสมหรือหลังการผสมเทียม โดยสันนิษฐานว่าการบีบตัวของมดลูกหรือปีกมดลูกจะช่วยให้การขนส่งตัวอสุจิให้เข้าถึงไข่ได้มากที่สุดให้โอกาสที่อสุจิได้ผสมกับไข่มีมากขึ้นด้วย (Howk, 1983) แต่สารเหล่านี้ให้ผลแตกต่างกันในสัตว์แต่ละชนิดในกระต่ายและแกะให้ผลต่อการบีบตัวของมดลูกคล้ายกัน โดยในกระต่ายนั้นสารเกือบทุกชนิดเพิ่มปริมาณตัวอสุจิที่พบที่ cervix, มดลูกและ ท่อไข่ ที่ 2 หรือ 2.5 ชั่วโมง หลังการผสม

เทียมและยังเพิ่มอัตราการผสมติดอีกด้วย ส่วนในแกะมีเพียง ergonovine เท่านั้นที่เพิ่มการขนส่งและอัตราการผสมติด (Hawk and Cooper, 1984)

การเติมสารบางชนิดลงในน้ำเชื้อเช่น calcium ionophore A23187 (Gibbons, 1980 และ Bird et al., 1989), bovine serum albumin (Bakst and Cecil, 1992), bicarbonate (Boatman and Robbins, 1991) และโดยเฉพาะสารในกลุ่มที่ยับยั้งการทำงานของ phosphodiesterase อย่างเช่น คาเฟอีน ซึ่งมีใช้ทั้งในน้ำเชื้อคน (Aitken et al., 1983; Moussa, 1983; Ree et al., 1990; Levin et al., 1981; Cai and Marik, 1989 และ Prins and Ross, 1985) ในน้ำเชื้อกระบือ (Singh and Raina, 1994 และ Fattouh and Abdou, 1991) และในน้ำเชื้อโค (El-Gaafary et al., 1990) การเติมคาเฟอีนมีผลดีหลายประการเช่น ช่วยทดแทนความสามารถในการขับออกแคลเซียมของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ถูกทำลายในระหว่างขบวนการแช่แข็ง (Cai and Marik, 1989) กระตุ้นการเคลื่อนที่ของอสุจิหลังแช่แข็ง (Barkay et al., 1977) และเพิ่มความสามารถในการปฏิสนธิในน้ำเชื้อที่คุณภาพต่ำได้ (Prins and Ross, 1985) และคาเฟอีนยืดเวลาการเคลื่อนที่และการมีชีวิตของอสุจิ (Schoenfeld et al., 1975) แต่ยังมีงานวิจัยที่ทำกับน้ำเชื้อแช่แข็งจำนวนไม่มากนัก (Cai and Marik, 1989; Aitken et al., 1983 และ Fattouh and Abdou, 1991) โดยเฉพาะในน้ำเชื้อโค ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จึงใช้คาเฟอีนในน้ำเชื้อแช่แข็งโคเพื่อทดสอบคุณภาพน้ำเชื้อหลังการแช่แข็ง ซึ่งน่าจะมีความสะดวกในการผสมเทียมในภาคสนาม

ในการศึกษานี้ได้ใช้ออกซิโตซินในน้ำเชื้อแช่แข็งโคด้วยเนื่องจากโดยปกติในธรรมชาติเมื่อเวลาการผสมพันธุ์มีสารหลายชนิดที่หลั่งออกมาเพื่อช่วยสนับสนุนให้อสุจิเดินทางเข้าถึงบริเวณที่เกิดปฏิสนธิกับไข่ได้และออกซิโตซินเป็นสารชนิดหนึ่งที่ถูกหลั่งออกมาเพื่อจุดประสงค์ดังกล่าวโดยเพิ่มการบีบตัวของระบบสืบพันธุ์เพศเมียซึ่งอาจเกิดจากการกระตุ้นขบวนการ phosphorylation ของ myosin ในเซลล์กล้ามเนื้อ (Olins and Bremel, 1982) และเป็นไปได้ว่าออกซิโตซินอาจมีผลกระตุ้นโดยตรงต่อเซลล์อสุจิด้วย

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการเคลื่อนที่, การมีชีวิตและสภาพอะโครโซมของอสุจีก่อนการแช่แข็งและหลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งที่ 0, 2 และ 4 ชั่วโมง
2. เพื่อศึกษาผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อการผสมติดในแมโคพื้นเมืองที่เหนียว นำการเป็นสัตว์ prostaglandin  $F_{2\alpha}$

### 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

การทดลองครั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลองคือ 1). การทดลองผลของคาเฟอีนที่ระดับความเข้มข้น 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิโมลต่อมิลลิลิตรน้ำเชื้อและผลของออกซิโตซินที่ระดับความเข้มข้น  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-10}$  และ  $10^{-12}$  โมลต่อมิลลิลิตรน้ำเชื้อที่มีต่อการเคลื่อนที่และคุณภาพของอสุจิหลังการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งที่ 0, 2 และ 4 ชั่วโมง 2). การศึกษาผลของคาเฟอีนที่ระดับ 1.0 มิลลิโมล และออกซิโตซินที่ระดับ  $10^{-8}$  โมล ต่อการผสมติดในแม่โคพื้นเมืองที่ถูกเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย prostaglandin  $F_{2\alpha}$

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ทราบผลของคาเฟอีนและออกซิโตซินต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งของโค
2. นำไปใช้ในการปรับปรุงการผลิตและใช้น้ำเชื้อต่อไป