บทความปริทัศน์

บทบาทและความสำคัญของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิต่อการผสมเทียมในสุกร

กัมพล แก้วเกษ[1*] เผด็จ ธรรมรักษ์ [2]

Abstract

Kampon Kaeoket[1*] Padet Tummaruk[2]

SEMINAL PLASMA: ITS FUNCTION AND IMPORTANCE FOR PIG ARTIFICIAL INSEMINATION

The objective of this review is to update information concerning the function of seminal plasma on the pig reproductive system, as well as its importance in artificial insemination (AI). It has been shown that seminal plasma advances ovulation in gilts by an average time of 10-14 hours, improves sperm motility, sustaines sperm viability during uterine transport, suppresses immune activities (chemotaxis of neutrophils), improved sperm transport, improves fertilisation rate, improves litter size in gilts and indirectly enhances fertility. The hormone estrogen, within the seminal plasma, causes a release of prostaglandins from the pigs endometrium to the utero-ovarian veins and lymphatic vessels. Therefore, it seems that the effect of seminal plasma constituents (both the oestrogen and the protein fraction) on ovulation is due to a local mechanism and not a systemic one. The swine industry's routine procedure for extending semen is based on standardised sperm numbers. Optimising both sperm number (3 x 10^9 motile sperm) and seminal plasma (8-12% by volume) in AI doses could well improve pig fertility.

Keywords : seminal plasma, artificial insemination, swine

[1] **Faculty of Veterinary Science, Mahidol University, Phuttamonthon, Nakorn-pathom 73170**

[2] **Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330**

[*]**Corresponding author**

[1] คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พุทธมณฑล นครปฐม 73170

[2] ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

[*]ผู้รับผิดชอบบทความ

บทคัดย่อ

กัมพล แก้วเกษ[1*] เผด็จ ธรรมรักษ์[2]

บทบาทและความสำคัญของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิต่อการผสมเทียมในสุกร

การศึกษาเชิงบทความทบทวนครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมข้อมูลต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับบทบาท หน้าที่และความสำคัญของน้ำเลี้ยงเชื้อต่อระบบสืบพันธุ์และการผสมเทียมในสุกร น้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิมีผลทำให้ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มยืนนิ่งจนถึงตกไข่ในสุกรสาวสั้นลงประมาณ 10-14 ชั่วโมง ทำให้การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิดีขึ้น ลดการเข้ามาเก็บกินอสุจิของเม็ดเลือดขาวในมดลูก ทำให้ตัวอสุจิมีชีวิตอยู่ได้ในมดลูกนานขึ้น เพิ่มการบีบตัวของมดลูกช่วยขนส่งอสุจิไปยังจุดที่เกิดการปฏิสนธิ ทำให้ขนาดของครอกในสุกรสาวใหญ่ขึ้น นอกจากนี้ ยังช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกรในทางอ้อมอีกด้วย เชื่อกันว่าสารเอสโตรเจนที่อยู่ในน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิทำให้เกิดการหลั่งของสารโพรสตาแกลนดินจากเนื้อเยื่อบุโพรงมดลูกไปยังรังไข่โดยผ่านทางระบบหมุนเวียนเลือดและระบบน้ำเหลืองที่เชื่อมโยงจากปีกมดลูกไปยังรังไข่ ดังนั้น จะเห็นว่าการทำงานของสารเอสโตรเจนและสารโปรตีนที่อยู่ในน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิเป็นการทำงานแบบเฉพาะที่ ในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรในปัจจุบัน การเตรียมน้ำเชื้ออสุจิเพื่อใช้ในการผสมเทียมส่วนใหญ่ จะคำนึงถึงแต่จำนวนของตัวอสุจิต่อโด๊ส ถ้าผู้ผลิตสามารถเตรียมน้ำเชื้อให้เกิดความเหมาะสมได้ทั้งจำนวนของตัวอสุจิ (3×10^9 ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้) และปริมาณของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ (8 ถึง 12% โดยปริมาตร) ในน้ำเชื้อที่จะใช้ในการผสมเทียม ก็จะมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ของสุกร

คำสำคัญ : น้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ การผสมเทียม สุกร

บทนำ

ปัจจุบันการผสมเทียมได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมการผลิตสุกรทั่วโลก เนื่องจากการผสมเทียมนั้นสามารถทำให้เกิดการถ่ายทอดทางด้านพันธุกรรมไปได้อย่างรวดเร็ว และยังสามารถรักษาประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ (fertility) ไว้ได้ไม่ด้อยกว่าการผสมด้วยพ่อพันธุ์สุกร (Flowers and Esbenshade, 1993; Almond, 1998; Weitze, 2000; Singleton, 2001) ปัจจัยที่มีผลทำให้การผสมเทียมในสุกรมีประสิทธิภาพ และประสบความสำเร็จ ประกอบด้วย (1) คุณภาพของน้ำอสุจิ (2) เทคนิคและวิธีการผสมเทียม (3) คุณภาพของสุกรเพศเมีย และ (4) เวลาในการผสมเทียม (Soede et al., 1995[a,b]; Nissen et al., 1997; Tummaruk et al., 2000, Kaeoket et al., 2002[b])

การผสมเทียมให้ผลดีหลายอย่างด้วยกัน แต่ที่สำคัญที่สุดก็คือ ทำให้ผู้ผลิตสุกรสามารถผสมสุกรเพศเมียได้คราวละจำนวนมาก ด้วยการรีดน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์สุกรเพียงครั้งเดียว อีกประการหนึ่งก็คือ สามารถผสมแม่พันธุ์ด้วยปริมาตรของน้ำเชื้อและความเข้มข้นของตัวอสุจิที่ต่ำกว่าการผสมด้วยพ่อสุกร (Waberski et al., 1994; Soede et al., 1995[a,b]; Nissen et al., 1997) โดยปกติ ในการรีดน้ำเชื้อ หรือการหลั่งน้ำเชื้อของพ่อ

สุกรครั้งหนึ่ง จะประกอบด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อ (seminal plasma) และตัวอสุจิประมาณ ห้าหมื่นถึงหนึ่งแสนล้านตัว การผสมเทียมส่วนใหญ่แนะนำให้ใช้จำนวนตัวอสุจิที่สามารถเคลื่อนที่ได้ประมาณ 2-5 พันล้านตัว ต่อการผสมแต่ละครั้ง ในขณะที่การผสมโดยวิธีทางธรรมชาติด้วยพ่อสุกรนั้น จะต้องใช้ตัวอสุจิถึง ห้าหมื่นถึงหนึ่งแสนล้านตัวต่อการผสมครั้งหนึ่ง กระบวนการเตรียมน้ำเชื้อเพื่อเพิ่มจำนวนโด๊ส (dose) ที่ใช้ในการผสมเทียมในสุกรนั้น อาจมีส่วนทำให้สัดส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อต่ออสุจิ (ร้อยละ) ลดลง และอาจมีผลทำให้ประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ลดลงไปด้วยเมื่อเทียบกับการผสมแบบธรรมชาติ ดังนั้นการศึกษาเชิงบทความทบทวนครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมข้อมูลต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับบทบาท หน้าที่และความสำคัญของน้ำเลี้ยงเชื้อต่อระบบสืบพันธุ์และการผสมเทียมในสุกร อาทิเช่น ผลของน้ำเลี้ยงเชื้อต่อการตกไข่ในสุกรเพศเมีย ผลของน้ำเลี้ยงเชื้อต่อขนาดครอกในสุกรสาว ผลของน้ำเลี้ยงเชื้อต่อคุณภาพของตัวอสุจิ และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในเยื่อบุโพรงมดลูกต่อน้ำเลี้ยงเชื้อ ทั้งนี้เพื่อที่จะเข้าใจถึงการประยุกต์ใช้น้ำเลี้ยงเชื้อและการเตรียมน้ำเชื้อเพื่อการผสมเทียมอย่างเหมาะสม

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับบทบาทของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิในการผสมเทียม

ในกระบวนการเตรียมน้ำเชื้อเพื่อการผสมเทียมนั้นสัดส่วนของน้ำเลี้ยงเชื้อสามารถแปรผันไปกับการรีดน้ำเชื้อในแต่ละครั้ง และถ้าการหลั่งน้ำเชื้อในครั้งนั้นมีปริมาตรต่ำ แต่มีความเข้มข้นของตัวอสุจิสูง ก็จะทำให้มีร้อยละของน้ำเลี้ยงเชื้อต่ำไปด้วย ในการทดลองครั้งหนึ่งพบว่าถ้าทำการเก็บน้ำเชื้อเฉพาะส่วนของน้ำเชื้อที่มีตัวอสุจิมาก (sperm rich fraction) จะทำให้น้ำเชื้อที่ใช้ในการผสมเทียมนั้นมีปริมาตรของน้ำเลี้ยงเชื้อเพียง 5 มล. แต่ถ้าทำการเก็บทุกส่วนของการหลั่งน้ำเชื้อ ก็จะทำให้มีน้ำเลี้ยงเชื้อเป็นส่วนประกอบประมาณ 35-40 มล. ต่อปริมาตร 100 มล. (Rozeboom, 1999)

น้ำเลี้ยงเชื้อจากพ่อสุกร ประกอบด้วย เอสโตรเจนประมาณ 11.5 ไมโครกรัม ต่อการหลั่งน้ำเชื้อ 1 ครั้ง (Claus et al., 1989) เอสโตรเจนจะทำให้ระยะเวลาจากเริ่มยืนนิ่งจนถึงการตกไข่สั้นลงและเพิ่มการบีบตัวของมดลูกช่วยให้ตัวอสุจิเคลื่อนที่ไปยังจุดที่จะปฏิสนธิได้ดีขึ้น (ampullary isthmic junction, AIJ) (Claus et al., 1987, 1989; Claus, 1990; Waberski, 1997; Langendijk et al., 2002) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้น้ำเลี้ยงเชื้อเป็นที่น่าสนใจกับนักวิจัย Rath et al. (1989) และ Weitze et al. (1990[b]) รายงานว่าการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อเข้าไปในมดลูกก่อนทำการผสมเทียมจะทำให้มีจำนวนตัวอสุจิที่เกาะอยู่ที่ผนังของไข่ (accessory spermatozoa to the zona pellucida) สูงขึ้น

นอกจากความสำคัญในการเป็นสารอาหาร ปกป้องตัวอสุจิ ควบคุมการเคลื่อนที่ และการเกิดการเปลี่ยนแปลงของตัวอสุจิก่อนการปฏิสนธิ (capacitation) (Claus, 1990; Waberski et al., 1996) แล้ว น้ำเลี้ยงเชื้อยังมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของมดลูกในแม่สุกรโดยมีหน้าที่ในการเตรียมความพร้อมของเนื้อเยื่อบุโพรงมดลูกให้กับตัวอ่อนที่กำลังเดินทางมาฝังตัวหลังจากที่ไข่ถูกปฏิสนธิ (Engelhardt et al., 1997; Kaeoket et al., 2002[a])

ผลของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิต่อระยะเวลาของการตกไข่ (time of ovulation) ในสุกรสาว

Weitze et al. (1990[a]) ได้ทดลองฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อเข้าไปในโพรงมดลูกของสุกรสาว โดยฉีดครั้งแรก ณ เวลาที่สุกรสาวยืนนิ่งเพื่อยอมรับการผสมพันธุ์ (standing heat) และครั้งที่สองประมาณ 16 ชม. หลังจากที่ได้ทำการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อครั้งแรก เขาได้สรุปผลการทดลองว่า การฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีดังกล่าวในสุกรสาวนั้นสามารถลดระยะเวลาตั้งแต่เริ่มยืนนิ่งจนถึงตกไข่ลง

ได้ถึง 14.9 ชม. เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มสุกรสาวที่ถูกฉีดด้วยสารละลายน้ำเกลือ และไม่ฉีดสารใดๆ เลยเข้าไปในโพรงมดลูก เขาได้ให้ความเห็นว่า ส่วนประกอบบางอย่างที่อยู่ในน้ำเลี้ยงเชื้อ เช่น สารเอสโตรเจน สารโปรตีน อาจมีส่วนทำให้ระยะเวลาจากการยืนนิ่งเพื่อยอมรับการผสมพันธุ์จนถึงระยะเวลาในการตกไข่สั้นลง เนื่องจากสารต่างๆ ในน้ำเลี้ยงเชื้อจะทำให้เกิดการหลั่งของสารโพรสตาแกลนดินจากเนื้อเยื่อบุโพรงมดลูก (endometrium) ซึ่งสารนี้สามารถเดินทางไปยังรังไข่ได้โดยเดินทางผ่านเส้นเลือดดำและแดงของมดลูกที่เชื่อมโยงไปยังรังไข่ สารโพรสตาแกลนดินจะกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ collagenase และ elastase ซึ่งเกี่ยวกับกระบวนการแตกของฟอลลิเคิล (follicular rupture) เป็นจุดเริ่มให้เกิดการตกไข่ขึ้นในสุกร (Kotwica, 1980; Claus et al., 1987; Claus, 1990) นอกจากนี้ สารโพรสตาแกลนดิน ยังสามารถเดินทางผ่านระบบทางเดินน้ำเหลืองที่เชื่อมโยงจากส่วนรอยต่อระหว่างมดลูกและท่อนำไข่ (utero-tubal junction, UTJ) ไปจนถึงรังไข่ได้อีกด้วย (Kotwica, 1980; Gawronska et al., 1997) อย่างไรก็ดี Waberski (1997) แนะนำว่า ในทางปฏิบัติแล้วควรทำการผสมเทียมหลังจากที่ได้ทำการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อไปแล้วไม่เกิน 24 ชม.

Weitze et al. (1990[b]) ยังได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อ สารละลายเอสโตรเจน และ สารละลายสำหรับเจือจางน้ำเชื้อ (Androhep®) เพื่อศึกษาผลของการฉีดสารต่างๆ เหล่านี้ต่อการขนส่งตัวอสุจิในมดลูก (sperm transport) ระยะเวลาในการตกไข่ (time of ovulation) และการปฏิสนธิ (fertilisation) Waberski et al. (1996) ได้ทำการทดลองลักษณะเดียว กันโดยทำการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อจำนวน 50-60 มล. ก่อนที่จะทำการผสมเทียมหลังจากที่สุกรสาวแสดงอาการยืนนิ่งเพื่อยอมรับการผสมพันธุ์ประมาณ 24 ชม. จากผลการทดลองของนักวิจัยทั้งสองกลุ่มนี้ปรากฏว่า การฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อให้ผลดีกับการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิไปยังจุดที่เกิดการปฏิสนธิ เพิ่มจำนวนอสุจิที่เกาะบนผนังของไข่ และเพิ่มอัตราการปฏิสนธิ

สืบเนื่องมาจากผลการทดลองข้างบน นักวิจัยกลุ่มเดียวกัน (Waberski et al., 1999) ได้ทำการศึกษาถึงผลของน้ำเลี้ยงเชื้อต่อการตกไข่ในสุกรสาว โดยศึกษาถึงรายละเอียดและยืนยันผลของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิต่อการทำให้ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มยืนนิ่งจนถึงตกไข่สั้นลง เขาได้ทำการตัดบางส่วนของปีกมดลูกข้างใดข้างหนึ่งออกไป และเหลือปีกมดลูกอีกข้างหนึ่งไว้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้น้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิเคลื่อนที่ไปยังปีกมดลูกด้านที่เหลืออยู่เพียงข้างเดียว หลังจากนั้นได้ทำการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อจำนวน 100 มล. เข้าไปในโพรงมดลูก ผลการทดลองปรากฏว่า เกิดการตกไข่ของรังไข่ (ipsilateral ovary) ในด้านที่น้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิสามารถเคลื่อนที่เข้าไปในปีกมดลูกได้ 9.3 ชม. ก่อนการตกไข่ของรังไข่อีกด้านหนึ่งจะเกิดขึ้น (contralateral ovary) จากนั้นเขายังได้ทำการทดลองต่อไปอีก เพื่อเปรียบเทียบผลของตำแหน่งในการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิเข้าไปในโพรงมดลูกต่อการตกไข่ โดยการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ 5 มล.ไปที่ตรงกลางของปีกมดลูก และใกล้กับปลายของปีกมดลูก (UTJ) ผลปรากฏว่า การฉีดน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิในการทดลองนี้สามารถทำให้เกิดการตกไข่ในข้างที่มีการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิเข้าไปในตำแหน่งใกล้กับ UTJ 3 ชม. เร็วกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการฉีดด้วยสารละลายน้ำเกลือ ด้วยเหตุนี้ทำให้เขาสรุปผลการทดลองว่า น้ำเลี้ยงเชื้อที่สัมผัสบริเวณ UTJ นั้นมีส่วนทำให้ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มยืนนิ่งจนถึงตกไข่สั้นลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นๆ โดยการทดลองทั้งหมดนี้ นักวิจัยทำการตรวจการตกไข่โดยใช้เครื่องอัลตราซาวด์ ตรวจรังไข่ผ่านผนังหน้าท้องทางด้านข้างของลำตัว (transcutaneous ultrasonography) Waberski et al. (1997) ยังได้ทำการทดลองโดยการตรวจวัดระดับของ ลูทิไนซิ่ง ฮอร์โมน (LH profile) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่รู้กันดีว่ามีส่วนสำคัญในการทำให้เกิด

การตกไข่ โดยเขาได้ทำการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิเข้าไปในมดลูกของสุกรสาวที่เวลาต่างๆ กัน หลังจากที่สุกรสาวยืนนิ่งเพื่อยอมรับการผสมพันธุ์ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจระดับของ ลูทิไนซิ่ง ฮอร์โมน แต่ผลการทดลองนี้ไม่สามารถแสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของฮอร์โมนนี้เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ฉีดสารละลายน้ำเกลือ ถึงแม้ว่าการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิในครั้งนี้จะมีผลทำให้ระยะเวลาจากการยืนนิ่งจนเกิดการตกไข่สั้นลง 9 ชม. ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าโปรตีนบางชนิด รวมทั้งเอสโตรเจนที่เป็นส่วนประกอบอยู่ในน้ำเลี้ยงเชื้อนั้นร่วมกันทำหน้าที่นี้ก็ได้ (Waberski et al., 1995) นอกจากนี้ ยังได้มีการทดลองเพื่อศึกษาถึงผลของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิต่อการตกไข่ในสุกรที่ถูกเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย progestagen (Regumate®) และ pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) (Brüssow and Ratky, 1992) จากนั้นทำการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วย hCG (Soede et al., 1998) หรือ GnRH (Brüssow and Ratky, 1992) ผลการทดลองของกลุ่มนักวิจัยทั้งสองกลุ่มนี้ สรุปว่า การฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อเข้าไปในมดลูกของสุกรที่ถูกเหนี่ยวนำการเป็นสัด หรือเหนี่ยวนำการตกไข่ไม่มีผลทำให้ระยะเวลาจากการยืนนิ่งจนถึงระยะเวลาในการตกไข่สั้นลง

ผลของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิต่อการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (sperm motility) และผลต่อการปฏิสนธิ (fertilisation)

Ottensmeier (1998) รายงานว่าเมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อจากพ่อพันธ์สุกรที่มีร้อยละของตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ได้สูง (high sperm motility) เติมลงไปในน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์สุกรอีกตัวหนึ่งที่มีน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิน้อยกว่า จะมีผลทำให้ตัวอสุจิจากพ่อพันธุ์สุกรที่มีน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิน้อยกว่าเคลื่อนที่ได้ดีขึ้น นักวิจัยผู้นี้ยังได้แนะนำว่าการเติมน้ำเลี้ยงเชื้อลงในน้ำเชื้อที่ต้องการเก็บไว้นาน 72 ชั่วโมง สามารถรักษาร้อยละของตัวอสุจิที่สามารถเคลื่อนที่ได้ไว้ได้ดีกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับการที่ไม่ได้เติมน้ำเลี้ยงเชื้อลงไป ดังนั้น ผลการทดลองของเขาสนับสนุนความคิดที่ว่า การผสมน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์สุกรหลายๆ ตัวเข้าด้วยกันจะเป็นผลดีต่อการผสมเทียม นอกจากนี้ เขายังได้ทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบโดยการนำน้ำเชื้อที่เก็บไว้โดยมีและไม่มีน้ำเลี้ยงเชื้อเป็นส่วนผสม ไปทำการผสมเทียมให้กับสุกรนาง ผลปรากฏว่า น้ำเชื้อที่มีน้ำเลี้ยงเชื้อเป็นส่วนประกอบนั้นมีแนวโน้มที่จะให้ขนาดของครอกสูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีน้ำเลี้ยงเชื้อเป็นส่วนผสม (สูงกว่า 1.1 ตัว)

ผลของการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิเข้าโพรงมดลูกต่อขนาดครอกในสุกรสาว

Murray et al. (1983) รายงานว่า การฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อเข้าไปในโพรงมดลูกของสุกรสาว อย่างน้อย 3 สัปดาห์ ก่อนที่จะทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อจากพ่อสุกรตัวเดียวกันกับที่ได้นำน้ำเลี้ยงเชื้อไปฉีดในสุกรสาว จะเกิดผลดีต่อขนาดครอกของสุกรสาว โดยสุกรสาวที่ถูกฉีดด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อเข้าไปในโพรงมดลูกจะมีขนาดของครอกใหญ่กว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ถูกฉีดด้วยสารละลายน้ำเกลือ (10.35 เทียบกับ 8.39 ตัวต่อครอก) เขาได้ให้เหตุผลว่าการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อเข้าไปในโพรงมดลูกนั้นเป็นการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในโพรงมดลูก และจะเป็นการทำให้เนื้อเยื่อบุโพรงมดลูกเกิดความคุ้นเคยกับแอนติเจนจากสุกรเพศผู้ (intrauterine sensitization) ต่อมานักวิจัยกลุ่มเดียวกันนี้ (Murray et al., 1986) ได้ทำการทดลอง โดยนำน้ำเลี้ยงเชื้อที่มีตัวอสุจิอยู่ด้วยแต่ถูกทำให้ตายโดยการแช่แข็งไปฉีดให้กับสุกรสาว 3 สัปดาห์ ก่อนที่จะถูกผสมด้วยน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ตัวเดียวกันกับที่นำน้ำเลี้ยงเชื้อไปฉีดกับสุกรสาว หรือด้วยน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์คนละตัวกัน การทดลองนี้ให้ผลไม่แตกต่างจากการทดลองของเขาในครั้งที่ผ่านมาโดยในครั้งนี้กลุ่มที่มีการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อก่อนที่จะทำการผสมเทียมให้จำนวนลูกสุกรต่อครอก

สูงกว่ากลุ่มที่ถูกฉีดด้วยสารละลายน้ำเกลือถึง 1.3 ตัว

การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในมดลูกต่อน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิและตัวอสุจิ

โดยทั่วไประบบภูมิคุ้มกันจะตอบสนองต่อน้ำเลี้ยงเชื้อและตัวอสุจิโดยการเพิ่มจำนวน และเกิดการเคลื่อนที่ของเม็ดเลือดขาวชนิด นิวโทรฟิล (neutrophils) ลิมโฟไซต์ (lymphocytes) และ มาโครฟาจ (macrophages) ไปยังเยื่อบุโพรงมดลูก (Bischof et al., 1994; Engelhardt et al., 1997; Kaeoket et al., 2002[a]) เมื่อเปรียบเทียบกับเมื่อไม่มีการฉีดน้ำเลี้ยงเชื้อเข้าไปในโพรงมดลูก (Kaeoket et al., 2001[a,b,c]) นอกจากนี้แล้วมดลูกยังตอบสนองต่อน้ำเลี้ยงเชื้อโดยการขับสารคัดหลั่งสารจากเนื้อเยื่อบุโพรงมดลูกหลังจากการถูกกระตุ้นด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อและตัวอสุจิ (Lovell and Getty, 1968; Pursel et al., 1978) การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อน้ำเลี้ยงเชื้อและตัวอสุจินี้เป็นการทำความสะอาดเนื้อเยื่อบุโพรงมดลูกเพื่อก่อให้เกิดประโยชน์กับตัวอ่อนที่กำลังเดินทางมาฝังตัว (Engelhardt et al., 1997; Rozeboom et al., 1998, 1999; Kaeoket et al., 2002[a])

เมื่อเร็วๆ นี้ Rozeboom et al. (1999, 2000, 2001[a,b]) ได้รายงานว่าน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิมีผลในการลดและยับยั้งหน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกัน โดยเฉพาะผลต่อเม็ดเลือดขาวชนิดนิวโทรฟิล เมื่อขนาดที่ใช้ในการผสมเทียมที่มีน้ำเลี้ยงเชื้อเป็นส่วนประกอบร้อยละ 8-12 โดยปริมาตร เขาจึงแนะนำให้ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อทุกส่วน (entire ejaculation) แต่ไม่แนะนำให้เก็บน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิที่หลั่งออกมาส่วนแรกของการหลั่งน้ำเชื้อ ด้วยวิธีนี้จะทำให้น้ำเชื้ออสุจิที่เก็บได้นั้นมีน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิเป็นส่วนประกอบในปริมาณที่พอเพียง

วิธีการเตรียมน้ำเชื้ออสุจิเพื่อการผสมเทียมเพื่อให้แน่ใจว่าในน้ำเชื้อที่จะใช้ในการผสมเทียมนั้นมีน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิในสัดส่วนที่เหมาะสม

ในทางปฏิบัติสามารถทำได้ 2 วิธี ดังต่อไปนี้

1. การผสมน้ำเชื้อจากการรีดเก็บน้ำเชื้อ 2 ครั้งเข้าด้วยกัน (semen pooling)

ในตารางที่ 1 ในคอลัมน์ที่ 1 และ 2 เมื่อทำการเตรียมน้ำเชื้อเพื่อการผสมเทียมโดยแยกเป็นการรีดน้ำเชื้อครั้งที่ 1 และ 2 นั้น จะทำให้เกิดความแตกต่างของร้อยละของน้ำเลี้ยงเชื้ออย่างมาก คือ ร้อยละ 19 และร้อยละ 7.1 โดยปริมาตร ตามลำดับ ในกรณีนี้จะทำให้ร้อยละของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิในคอลัมน์ที่ 2 ต่ำกว่าที่ควรจะเป็น แต่ถ้าเราทำการรวมน้ำเชื้อจากการรีดทั้ง 2 ครั้งเข้าด้วยกันจะทำให้ร้อยละของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิอยู่ในระดับที่ยอมรับได้คือประมาณร้อยละ 13 ดังนั้นในทางปฏิบัติจะเป็นการดีถ้าเราสามารถรวมน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์สุกรที่มีความเข้มข้นของตัวอสุจิสูงและต่ำเข้าด้วยกัน เพื่อที่จะให้เกิดความสมดุลและจะทำให้ร้อยละของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิอยู่ในระดับที่ยอมรับได้

2. การเติมน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิลงไปในภายหลัง (ตารางที่ 2)

การเติมน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิซึ่งอาจเป็นแบบสดหรือได้จากการแช่แข็งเก็บไว้จากพ่อสุกรที่ทำการตัดท่อนำตัวอสุจิออกไป (vasectomised boar) การเติมจะทำในช่วงของการเตรียมน้ำเชื้อเพื่อการผสมเทียม (semen processing) วิธีนี้ทำให้ร้อยละของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิในน้ำเชื้อที่จะใช้ในการผสมเทียมสูงขึ้นถึงระดับที่เหมาะสม คือ ประมาณร้อยละ10-12 การทำให้ร้อยละของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิอยู่ในระดับที่เหมาะสมนั้นอาจทำได้ทั้งโดยการเติมน้ำลี้ยงเชื้ออสุจิเข้าไปในน้ำเชื้อที่จะใช้ในการผสมเทียมอย่างเดียวหรือการเติมน้ำลี้ยงเชื้ออสุจิเข้าไปในน้ำเชื้อพร้อมกับการลดปริมาตรของสารละลายสำหรับเจือจางน้ำเชื้อลงเล็กน้อย (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำเลี้ยงเชื้อในการเตรียมน้ำเชื้อเพื่อการผสมเทียมด้วยวิธีต่างๆ กัน

	น้ำเชื้อจากพ่อตัวเดียว		น้ำเชื้อผสม
	การรีดน้ำเชื้อครั้งที่ 1	การรีดน้ำเชื้อครั้งที่ 2	ผสมครั้งที่ 1 และ 2 ด้วยกัน
การหลั่งน้ำเชื้อหนึ่งครั้ง			
ปริมาตรของน้ำเชื้อ (มล.)	350	130	480
ความเข้มข้น (sperm/มล.)	200 x 10^6 (ต่ำ)	538 x 10^6 (สูง)	292 x 10^6
จำนวนตัวอสุจิทั้งหมด	70 x 10^9	70 x 10^9	140 x 10^9
โด๊สของตัวอสุจิ			
จำนวนโด๊สที่สามารถผลิตได้	23 (70 x 10^9 /3 x 10^9)	23 (70 x 10^9 /3 x 10^9)	46 (140 x 10^9 /3 x 10^9)
ปริมาตรของหนึ่งโด๊ส (มล.)	80	80	80
ความเข้มข้นของหนึ่งโด๊ส	3 x 10^9	3 x 10^9	3 x 10^9
น้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ (มล./โด๊ส)	15.2 (350/23)	5.7 (130/23)	10.4 (480/46)
% น้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ	19.0 (15.2/80 x 100)	7.1 (5.7/80 x 100)	13.0 (10.4/80 x 100)

ดัดแปลงมาจาก Rozeboom (2001)

ตารางที่ 2 การเติมน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิในน้ำเชื้อที่จะใช้ในการผสมเทียม

	ไม่มีการเติมน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ	มีการเติมน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ	มีการเติมน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ และลดปริมาตรของสาร ละลายเจือจางน้ำเชื้ออสุจิ
การหลั่งน้ำเชื้อหนึ่งครั้ง			
ปริมาตรของน้ำเชื้อ (มล.)	100	100	100
ความเข้มข้น (sperm/มล.)	800 x 10^6	800 x 10^6	800 x 10^6
จำนวนตัวอสุจิทั้งหมด	80 x 10^9	80 x 10^9	80 x 10^9
โด๊สของตัวอสุจิ			
น้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ (มล./โด๊ส)	3.8 (100 /26)	3.8 (100 /26)	3.8 (100 /26)
ความเข้มข้นของหนึ่งโด๊ส	3 x 10^9	3 x 10^9	3 x 10^9
สารละลายเจือจางน้ำเชื้ออสุจิ(มล.)	80	80	75
จำนวนโด๊สที่สามารถผลิตได้	26 (80 x 10^9/3 x 10^9)	26 (80 x 10^9/3 x 10^9)	26 (80 x 10^9/3 x 10^9)
การเติมน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ (มล.)	0	5	5
ปริมาตรรวมของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ	3.8	8.8 (3.8 + 5.0)	8.8 (3.8 + 5.0)
ปริมาตรของโด๊สที่จะนำไปใช้	80	85	80
เปอร์เซ็นต์ของน้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิ	4.7	10.4	11

ดัดแปลงมาจาก Rozeboom (2001)

อย่างไรก็ดี ไม่ควรลดปริมาตรรวมของน้ำเชื้อสำหรับการผสมเทียมลงต่ำกว่า 60 มล. เพราะอาจทำให้เกิดผลเสียต่อการขนส่งตัวอสุจิในโพรงมดลูกได้

บทสรุป

น้ำเลี้ยงเชื้ออสุจิมีความสำคัญต่อการตกไข่ การขนส่งอสุจิ และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในมดลูก ในทางปฏิบัติ การใช้น้ำเลี้ยงเชื้อผสมสุกรสาว 1 ครั้ง ประมาณ 1 วงรอบการเป็นสัดก่อนการผสมเทียม หรือการใช้น้ำเลี้ยงเชื้อผสมนำแล้วทำการผสมเทียมภายใน 24 ชม. ตลอดจนการเตรียมน้ำเชื้อเพื่อใช้ผสมเทียมให้มีปริมาตรของน้ำเลี้ยงเชื้อที่เพียงพอนั้น (ร้อยละ 8-12 โดยปริมาตร) เป็นสิ่งที่ผู้ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสุกรควรศึกษาและคำนึงถึงเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผสมเทียม แต่ทั้งนี้ ปริมาณและความเข้มข้นของตัวอสุจิในน้ำเชื้อที่จะใช้ในการผสมเทียมตลอดจนเวลาในการผสมเทียมต้องเหมาะสมด้วย

เอกสารอ้างอิง

Almond, G. 1998. The swine AI Book: a field and laboratory technicians' guide to artificial insemination in swine. 2nd ed. p. 176.

Bischof, R.J., Lee, C.-S., Brandon, M.R. and Meeusen, E. 1994. Inflammatory response in the pig uterus induce by seminal plasma. J. Reprod. Immunol. 26: 131-146.

Brssow, K.-P. and Ratky, J. 1992. The duration of ovulation in GnRH-treated gilts following seminal plasma infusion. Reprod. Dom. Anim. 28: 119-122.

Claus, R. 1990. Physiological role of seminal components in the reproductive tract of the female pig. J. Reprod. Fert. Suppl. 40: 117-131.

Claus, R., Hoang-Vu, C., Ellendorff, F., Meyer, H.D., Schopper, D. and Weiler, U. 1987. Seminal oestrogens in the boar: origin and functions in the sows. J. Steroid. Biochem. 27: 331-335.

Claus, R., Moshammer, T., Aumuller, R. and Weiler, U. 1989. Replenishment of AI-doses with oestrogens in physiological amounts: effect on sow prolificacy in a field trial. J. Vet. Med. Assoc. 36: 797-800.

Engelhardt, H., Croy, B.A. and King, G.J. 1997. Role of uterine immune cells in early pregnancy. J. Reprod. Fert. Suppl. 52: 115-131.

Flowers, W.L. and Esbenshade, K.L. 1993. Optimizing management of natural and artificial mating in swine. J. Reprod. Fert. Suppl. 48: 217-228.

Gawronska, B., Doboszynska, A. and Zezula-Szpyra, A. 1997. Light and scanning electron microscopy of the porcine mesometrial and paraovarian lymphatic networks. Lymphology 30: 26-35.

Kaeoket, K., Dalin, A.-M., Magnusson, U. and Persson, E. 2001[a]. The sow endometrium at different stages of the oestrous cycle: immunohistochemical study on the distribution of SWC3 (granulocytes, monocytes and macrophages). J. Vet. Med. Assoc. 48: 507-511.

Kaeoket, K., Dalin, A.-M., Magnusson, U. and Persson, E. 2001[b]. The sow endometrium at different stages of the oestrous cycle: studies on the distribution of CD2, CD4, CD8 and MHC class II-expressing cells. Anim. Reprod. Sci. 68: 99-109.

Kaeoket, K., Persson, E. and Dalin, A.-M. 2001[c]. The sow endometrium at different stages of the oestrous cycle: studies on morphological changes and infiltration by cells of the immune system. Anim. Reprod. Sci. 65: 95-114.

Kaeoket, K., Persson, E. and Dalin, A.-M. 2002[a]. Influence of pre-ovulatory insemination and early pregnancy on the infiltration by cells of the immune system in the sow endometrium. Anim. Reprod. Sci. In press. (personal com.)

Kaeoket, K., Persson, E. and Dalin, A.-M. 2002[b]. The influence of pre-and post-ovulatory insemination on sperm distribution in the oviduct, accessory spermatozoa to the zona pellucida, fertilisation rate and embryo development in sows. Anim. Reprod. Sci. 71, 239-248.

Kotwica, J. 1980. Mechanism of prostaglandin F2α penetration from the horn of the uterus to ovaries in pigs. J. Reprod. Fert. 59: 237-241.

Langendijk, P., Bouwman, E.G., Soede, N.M., Tavern, M.A.M. and Kemp, B. 2002. Myometrial activity around oestrus in sows: spontaneous activity and effects of oestrogens, cloprostenol, seminal plasma and clenbuterol. Theriogenology 57: 1563-1577.

Lovell, J.E. and Getty, R. 1968. Fate of semen in the uterus of the sow: histological study of endometrium during the 27 hours after natural services. Am. J.Vet. Res. 29: 609-625.

Murray, F.A. and Grifo Jr., A.P. 1986. Intrauterine infusion of killed semen to increase litter size in gilts. J. Anim. Sci. 62: 187-190.

Murray, F.A., Grifo Jr., A.P. and Parker, C.F. 1983. Increased litter size in gilts by intrauterine infusion of seminal and sperm antigen before breeding. J. Anim. Sci. 56: 895-900.

Nissen, A.K., Soede, N.M., Hyttel, P., Schmidt, M. and D'Hoore, L. 1997. The influence of time of insemination in relation to time of ovulation on farrowing rate and litter size in sows, investigated by ultrasonography. Theriogenology 47: 1571-1583.

Ottensmeier, A. 1998. Effects of boars' seminal plasma as an additive to semen diluents on sperm motility in vitro and mating in vivo, while paying particular attention to boars' characteristics. PhD Thesis, Faculty of Veterinary Medicine, Free University of Berlin, p. 137.

Pursel, V.G., Schulman, L.L. and Johnson, L.A. 1978. Distribution and morphology of fresh and frozen-thawed sperm in the reproductive tract of gilts after insemination. Biol. Reprod. 19: 69-76.

Rath, D., Weitze, K.F., Pena Alfaro, C.E. and Andrade-Moura, J.C. 1989. Effects of seminal plasma on the number of accessory sperm cells and fertilisation in gilts. Zuch thygiene 24: 123-127.

Rozeboom, K.J. 1999. Artificial insemination in swine: The role and regulation of post-breeding uterine inflammation. PhD Thesis, University of Minnesota. p. 175.

Rozeboom, K.J. 2001. Seminal plasma, nature's own extender. Spermnotes 5: 1-4.

Rozeboom, K.J., Rocha-Chavez, G. and Troedsson, M.H.T. 2001[a]. Inhibition of neutrophils chemotaxis by pig seminal plasma *in vitro*: a potential method for modulating post-breeding inflammation in sows. Reproduction 121: 576-572.

Rozeboom, K.J., Troedsson, M.H.T. and Crabo, B.G. 1998. Characterisation of the post-mating uterine inflammatory response in the gilt. J. Reprod. Fert. 114: 195-199.

Rozeboom, K.J., Troedsson, M.H.T., Hodson, H.H., Shurson, G.C. and Crabo, B.G. 2000. The importance of seminal plasma on the fertility of subsequent artificial inseminations in swine. J. Anim. Sci. 78: 443-448.

Rozeboom, K.J., Troedsson, M.H.T., Molitor, T.W. and Crabo, B.G. 1999. The effect of spermatozoa and seminal plasma on leukocyte migration into the uterus of gilts. J. Anim. Sci. 77: 2201-2206.

Rozeboom, K.J., Troedsson, M.H.T., Rocha, G.R. and Crabo, B.G. 2001[b]. The chemotactic properties of seminal plasma components toward neutrophils *in vitro*. J. Anim. Sci. 79: 996-1002.

Singleton, W.L. 2001. State of the art in artificial insemination of pigs in the United States. Theriogenology 56: 1305-1310.

Soede, N.M., Bouwman, E.G. and Kemp, B. 1998. Seminal plasma does not advance ovulation in hCG-treated sows. Anim. Reprod. Sci. 54: 23-29.

Soede, N.M., Wetzels, C.C.H., Zondag, W., de Koning, M.A.I. and Kemp, B. 1995[a]. Effects of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilisation rate and accessory spermatozoa count in sows. J. Reprod. Fert. 104: 99-106.

Soede, N.M., Wetzels, C.C.H., Zondag, W., Hazeleger, W. and Kemp, B. 1995[b]. Effects of a second insemination after ovulation on fertilisation rate and accessory sperm count in sow. J. Reprod. Fert. 105: 135-140.

Tummaruk, P., Lundeheim, N., Einarsson, S. and Dalin, A.-M. 2000. Reproductive performance of purebred Swedish Landrace and Swedish Yorkshire sows: II. Influence of mating type, weaning-to-first-service interval and lactation length. Acta Agric. Scand., Sect. A, Animal Sci. 50: 217-224.

Waberski, D. 1997. Effects of semen components on ovulation and fertilisation. J. Reprod. Fert. Suppl. 52: 105-109.

Waberski, D., Claassen, R., Hahn, T., Jungblut, P.W., Parvizi, N., Kallweit, E. and Weitze, K.F. 1997. LH profile and advancement of ovulation after transcervical infusion of seminal plasma at different stages of oestrus in gilts. J. Reprod. Fert. 109: 29-34.

Waberski, D., Kremer, H., Borchardt Neto, G., Jungblut, P.W., Kallweit, E. and Weitze, K.F. 1999. Studies on a local effect of boar seminal plasma on ovulation time in gilts. J. Vet. Med. A 46: 431-438.

Waberski, D., Soares, J.A.G., Bandeira de Arruda, E. and Weitze, K.F. 1996. Effect of a transcervical infusion of seminal plasma prior to insemination on the fertilizing competence of low numbers of boar spermatozoa at controlled AI-ovulation intervals. Anim. Reprod. Sci. 44: 165-173.

Waberski, D., Südhoff, H., Hahn, T., Jungblut, P.W., Kallweit, E., Calvete, J.J., Ensslin, M., Hoppen, H-O., Wintergalen, N., Weitze, K.F. and Töpfer-Peterson, E. 1995. Advance ovulation in gilts by the intrauterine application of a low molecular mass pronase-sensitive fraction of boar seminal plasma. J. Reprod. Fert. 105: 247-252.

Waberski, D., Weitze, K.F., Gleumes, T., Schwarz, M., Willen, T. and Petzoldt, R. 1994. Effects of time of insemination relative to ovulation on fertility with liquid and frozen boar semen. Theriogenology 42: 831-840.

Weitze, K.F. 2000. Update on the worldwide application of swine AI. Proceedings 4th International Conference on Boar Semen Preservation, Beltsville, Maryland, USA. p. 141-145.

Weitze, K.F., Lotz, J.H., Everwand, A., Willmen, T. and Waberski, D. 1990a. Interaction between inseminate, uterine and ovarian function in the sow II. Investigations into the influencing of ovulation by the use of sperm free media. Reprod. Dom. Anim. 25: 197-204.

Weitze, K.F., Rabeler, J., Willmen, T. and Waberski, D. 1990b. Interaction between inseminate, uterine and ovarian function in the sow I. Influence of seminal plasma and oestrogens in the inseminate on intragenital sperm transport, time of ovulation and fertility results in gilts. Reprod. Dom. Anim. 25: 191-196.