ผลของการผสมเทียมล่าช้าต่ออัตราการตั้งท้องเมื่อใช้น้ำเชื้อแยกเพศในโค

(Effects of Delayed Artificial Insemination with Sexed Semen on Pregnancy Rate in Cattle)

วินยะดา ศรีสะเกษ

Winyada Srisages

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

น้ำเชื้อโคที่ผ่านกระบวนการแยกเพศมีอายุที่สามารถทำการปฏิสนธิกับไข่ได้สั้นกว่าน้ำเชื้อปกติ หากทำการผสมเทียมในเวลาที่ใกล้กับเวลาที่ไข่ตกอาจจะทำให้โคมีอัตราการตั้งท้องมากขึ้น สัมมนาฉบับนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการผสมเทียมล่าช้าต่ออัตราการตั้งท้อง เมื่อใช้น้ำเชื้อแยกเพศในโค ซึ่งได้ทำการศึกษาจากเอกสารวิชาการจำนวน 3 ฉบับ ตั้งแต่ปี พ.ศ.2560-2564 ซึ่งเป็นงานวิจัยที่มีการเหนี่ยวนำการเป็นสัดแล้วทดลองเปรียบเทียบระหว่างการผสมในเวลาที่กำหนดและการผสมล่าช้ากว่ากำหนด 6-8 ชั่วโมง โดยใช้น้ำเชื้อแยกเพศในโค พบว่าการผสมล่าช้ากว่ากำหนดมีปริมาณโคที่แสดงพฤติกรรมการเป็นสัดในช่วงที่ผสมเทียมมากกว่า (61-83%) การผสมตามเวลาที่กำหนด (50-74%) ในขณะที่โคที่ผสมล่าช้ากว่ากำหนด 6-8 ชั่วโมงมีอัตราการตั้งท้อง (34-70%) ไม่แตกต่างจากโคที่มีการผสมเทียมตามกำหนดเวลาปกติ (35-88%) ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการผสมเทียมล่าช้ากว่าเวลาที่กำหนด 6-8 ชั่วโมง โดยใช้น้ำเชื้อแยกเพศในโค ไม่มีผลให้อัตราการตั้งท้องสูงขึ้น

คำสำคัญ : ผสมเทียมล่าช้า น้ำเชื้อโคแยกเพศ การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบกำหนดเวลาผสมเทียม อัตราการตั้งท้อง

บทนำ

เกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อโคนมมีเป้าหมายที่ต้องการผลิตลูกโคที่สามารถกำหนดเพศได้ โดยในโคนมส่วนใหญ่ต้องการลูกโคเพศเมีย ในขณะที่ในโคเนื้อความต้องการเพศลูกโคขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของผู้เลี้ยงและระบบการผลิตของฟาร์ม ซึ่งวิธีการแยกเพศอสุจิทำได้หลายวิธี โดยอาศัยคุณสมบัติที่แตกต่างกันของเซลล์อสุจิที่มีโครโมโซม X และ Y ทั้งขนาด น้ำหนัก ปริมาณสารพันธุกรรม ความเร็วในการเคลื่อนที่และประจุไฟฟ้าที่ผนังเซลล์ อย่างไรก็ตาม วิธีที่มีความแม่นยำและรวดเร็วคือวิธี flow cytometry ซึ่งแยกอสุจิโดยอาศัยคุณสมบัติของปริมาณสารพันธุกรรมและประจุไฟฟ้าเป็นตัวบ่งชี้ วิธีนี้มีความแม่นยำมากกว่า 90% (Bittante et al., 2020) และในปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตโคเนื้อและโคนมก็นิยมใช้น้ำเชื้ออสุจิแยกเพศเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องรวมทั้งในประเทศไทยด้วย

นอกจากนั้นแล้วในอุตสาหกรรมโคเนื้อโคนมยังมีวิธีการเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้ฮอร์โมนเพื่อลดปัญหาการจับสัดและสะดวกในการจัดฤดูผสมพันธุ์เพื่อให้โคคลอดลูกในช่วงเวลาที่ต้องการ โดยการผสมเทียมหลังจากทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัดสามารถแบ่งได้เป็น 2 แนวทางคือทำการผสมเทียมเมื่อพบโคแสดงพฤติกรรมการเป็นสัด (estrus artificial insemination; ED) และทำการผสมเทียมตามเวลาที่กำหนด (time artificial insemination; TAI) ซึ่งการผสมเทียมตามเวลาที่กำหนดหลังการเหนี่ยวนำนี้หากใช้น้ำเชื้อปกติจะมีอัตราการตั้งท้องอยู่ประมาณ 50-65% (Patterson et al.,2017) แต่หากใช้น้ำเชื้อแยกเพศอัตราการตั้งท้องจะต่ำกว่านี้ ซึ่งมีข้อมูลว่าเซลล์อสุจิที่ผ่านกระบวนการแยกเพศจะมีช่วงชีวิตสั้นกว่าเซลล์อสุจิปกติเมื่ออยู่ในระบบสืบพันธุ์เพศเมีย ด้วยเหตุนี้จึงควรผสมในช่วงเวลาที่ใกล้กับเวลาตกไข่ (Bombardelli et al., 2016; Carvalho et al., 2013; Mocé et al., 2006) โดย Thomas et al.,(2014) เสนอแนะให้ชะลอเวลาในการผสมเทียม ในกรณีที่มีการเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบกำหนดเวลาผสม (TAI) ซึ่งอาจจะทำให้อัตราการผสมติดมากขึ้น อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อสรุปเกี่ยวกับเวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแยกเพศ ดังนั้นสัมมนาฉบับนี้จึงมุ่งเน้นในการหาข้อสรุปในประเด็นดังกล่าว

พฤติกรรมการเป็นสัด

Hall et al. (2017) ทำการทดลองโดยใช้โคเนื้อลูกผสม (Angus X Hereford) จำนวน 839 ตัว ถูกแบ่งกลุ่มตามอายุและวันหลังคลอด มีการใช้การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้โปรแกรม CO-Synch + CIDR 5 วัน ดังแสดงใน Figure 1 และสุ่มโคเพื่อทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแยกเพศหลังการฉีด PG เข็มแรก 72 ชั่วโมง (Fixed-time artificial insemination; FTAI) (ซึ่งถือเป็นเวลาปกติหรือกลุ่มควบคุมจำนวน 460 ตัว) และ FTAI หลังฉีด PG เข็มแรก 80 ชั่วโมง (เป็นกลุ่มที่ผสมล่าช้า 8 ชั่วโมง จำนวน 379 ตัว) และพบว่ากลุ่มที่ผสมเทียมปกติมีอัตราการเป็นสัด 50.3% ส่วนการผสมเทียมแบบล่าช้ากว่ากำหนดมีอัตราการเป็นสัด 61.70% ดังแสดงใน Table 1 จึงเห็นได้ว่าการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาล่าช้ากว่ากำหนดมีจำนวนโคที่แสดงพฤติกรรมการเป็นสัดมากกว่าแบบกำหนดเวลาผสมเทียมแบบปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

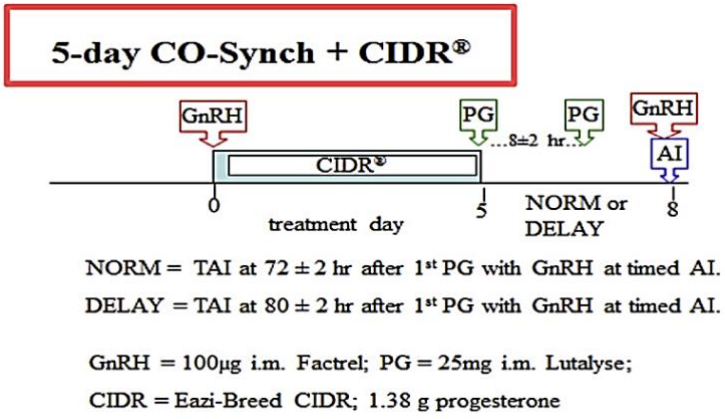


Figure 1 A 5-day CO-Synch+CIDR protocol

Source: Hall et al. (2017)

Table 1 Effect of AI timing in a fixed time AI protocol on estrus status classifications[a]

Treatment	Estrus status			
	Yes	NR	Ques	No
NORM	50.3[a]	14.4	20.7[a]	14.6[a]
DELAY	61.7[b]	18.2	11.9[b]	8.1[b]

[ab] Within columns, different superscripts indicated effect of treatment ($P < 0.05$).

[a] All cows were synchronized with 5-day CO-Synch + CIDR protocol with AI at 72 (NORM) or 80 h (DELAY) after CIDR removal. Estrus status:

YES = detection aid activated; QUES = detection aid partially activated; NR = detection aid lost or not recorded; NO = detection aid not activated.

Source: Hall et al. (2017)

Ketchum et al. (2021) ทำการทดลองโดยใช้โคเนื้อสาวอายุ 1 ปี จำนวน 749 ตัว โดยเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยการสอด CIDR ไว้ในช่องคลอดของโคเป็นเวลา 14 วัน และหลังจากนั้น 6 วัน ฉีด prostaglandin (CIDR-PG) ดังแสดงใน Figure 2 เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแยกเพศแบบกำหนดเวลาปกติและแบบล่าช้ากว่ากำหนด ในเวลาปกติคือการผสมที่ 66 ชั่วโมงหลังจากฉีด prostaglandin และการผสมแบบล่าช้าคือการผสมที่ 72 ชั่วโมงหลังจากฉีด prostaglandin (ล่าช้าไป 6 ชั่วโมง) โดยพบว่าการแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดของการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาปกติมีสัดส่วนอยู่ที่ 74% และการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาล่าช้ากว่าปกติมีสัดส่วนอยู่ที่ 83% ดังแสดงใน Figure 3 ซึ่งจะเห็นได้ว่าการผสมเทียมแบบล่าช้ากว่ากำหนดมีสัดส่วนของโคที่แสดงพฤติกรรมการเป็นสัดมากกว่าการผสมแบบกำหนดเวลาปกติ

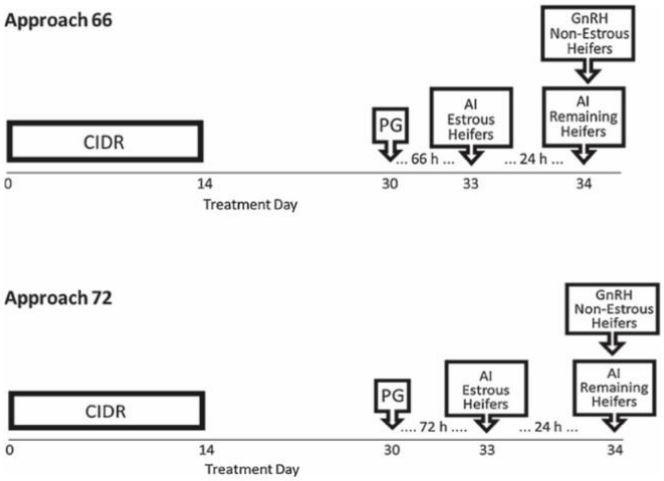


Figure 2 Experimental design evaluating either approach 66 and approach 72 with conventional or sexed semen used for AI**.**

Source: Ketchum et al. (2021)

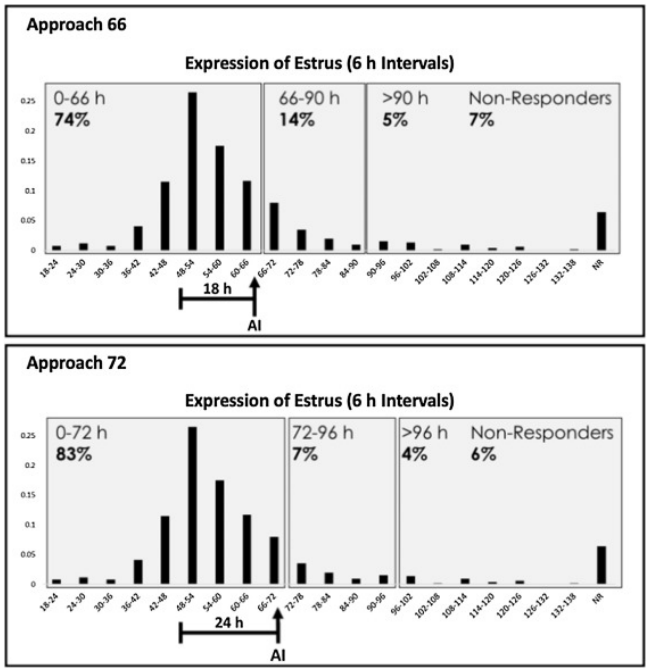


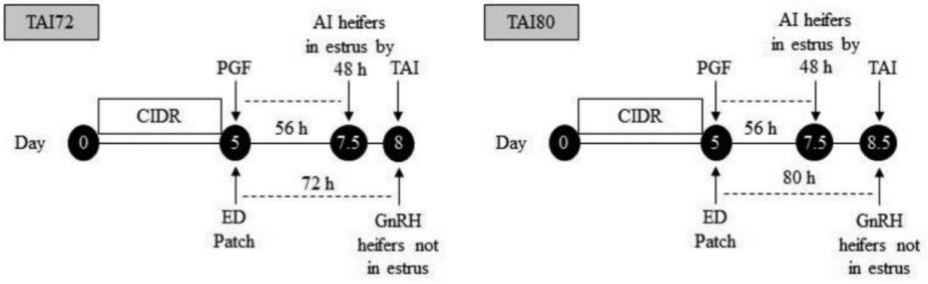
Figure 3 Expression of estrus approach 66 or 72 following use of the 14-d CIDR-PG protocol

Source: Ketchum et al. (2021)

Macmillan et al. (2021) ทำการทดลองในโคสาวพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเชี่ยน อายุ 14-16 เดือน ทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยโปรแกรม CO-Sync +CIDR 5 วัน ดังแสดงใน Figure 4 เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแยกเพศ แบบกำหนดเวลาปกติและแบบล่าช้ากว่ากำหนด ระหว่าง

ในช่วงเวลาปกติที่ 72 ชั่วโมง และแบบล่าช้าที่ 80 ชั่วโมง (ล่าช้าไป 8 ชั่วโมง) ซึ่งพบว่าการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาปกติที่ 72 ชั่วโมง มีผลให้สัดส่วนการแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดอยู่ที่ 62.7% ต่ำกว่ากลุ่มที่ทำการผสมเทียมแบบล่าช้ากว่ากำหนดที่ 80 ชั่วโมง ที่มีโคที่แสดงพฤติกรรมการเป็นสัด 81.4% ($p<0.01$)

Figure 4 Illustration of synchronization protocol (5- day CO-Synch+CIDR) and time of AI.



Source: Macmillan et al. (2021)

จากผลการทดลองที่สอดคล้องและเป็นไปในทิศทางเดียวกันทั้งสามฉบับ สามารถสรุปได้ว่าการผสมแบบล่าช้ากว่ากำหนดมีสัดส่วนของโคที่แสดงพฤติกรรมการเป็นสัดมากกว่าการผสมตามเวลาที่กำหนดปกติ แสดงให้เห็นว่าโคส่วนใหญ่หากการผสมเทียมล่าช้ากว่ากำหนดจะอยู่ในระยะใกล้เวลาที่ไข่ตกมากกว่า ซึ่งโดยปกติแล้วโคจะแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดระหว่าง 56-72 ชั่วโมง หลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัด ดังนั้นโคส่วนใหญ่ในบทวิจัยทั้ง 3 งานก็อยู่ในช่วงดังกล่าว

อัตราการตั้งท้อง

Hall et al. (2017) ทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแยกเพศในโคสาว เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการตั้งท้องระหว่างการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาปกติและแบบล่าช้ากว่ากำหนด (ล่าช้า 8 ชั่วโมง) ซึ่งผลการทดลองพบว่าอัตราการตั้งท้องที่ได้การผสมทั้ง 2 แบบ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (อัตราการตั้งท้องประมาณ 35%) เมื่อตรวจท้อง 55-60 วันหลังผสม ดังแสดงใน Figure 5

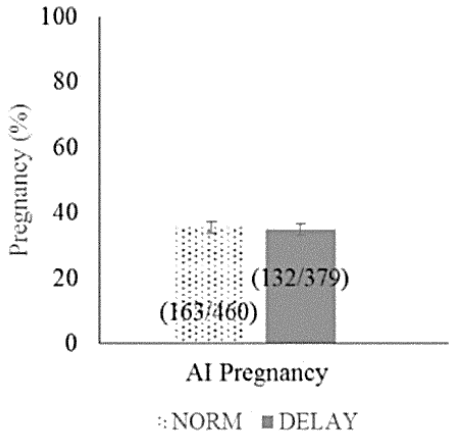


Figure 5 Impact of timing of AI sex-sorted semen in a fixed-time AI protocol on pregnancy rates.

Source: Hall et al. (2017)

Ketchum et al. (2021) ทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแยกเพศให้แก่โคสาวเฉพาะตัวที่แสดงพฤติกรรมการเป็นสัดหลังการเหนี่ยวนำที่ 66 ชั่วโมง (แบบปกติ) และที่ 72 ชั่วโมง (แบบล่าช้า) พบว่าผลของการผสมเทียมแบบปกติมีอัตราการตั้งท้อง 53% ในขณะที่ผลของการผสมเทียมแบบล่าช้ากว่าปกติไป 6 ชั่วโมง มีอัตราการตั้งท้อง 58 % ซึ่งทั้งสองแบบไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงใน Table 2

Table 2 Effect of AI time (66 and 72 h after PG administration)[1] on pregnancy rate of estrus response heifers.

Time of AI	AI Estrus heifers[1]	
	Proportion	%
overall	146/264	55
66	63/120	53
72	83/144	58

[1]Heifers were administered 1.38 g progesterone insert (CIDR®; Zoestis, Madison, NJ) on Day 0, which was then removed on Day 14. On Day 30, 16 days after CIDR® insert removal, 25 mg dinoprost tromethamine (PG; Lutalyse®; Zoetis) was administered i.m.

Source: Adapted from Ketchum et al. (2021)

Macmillan et al. (2021) ทำการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแยกเพศ เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาปกติและแบบล่าช้ากว่ากำหนด ระหว่างในช่วงเวลาปกติที่ 72 ชั่วโมง และแบบล่าช้าที่ 80 ชั่วโมง (ล่าช้าไป 8 ชั่วโมง) พบว่าอัตราการตั้งท้อง (88 vs. 70%) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนั้นยังพบว่าอัตราการตั้งท้องเมื่อผสมโคที่แสดงพฤติกรรมการเป็นสัดสูงกว่าเมื่อผสมโคที่ไม่มีพฤติกรรมการเป็นสัดทั้งกรณีที่ผสมตามเวลาปกติและผสมแบบล่าช้า ดังแสดงใน Figure 6

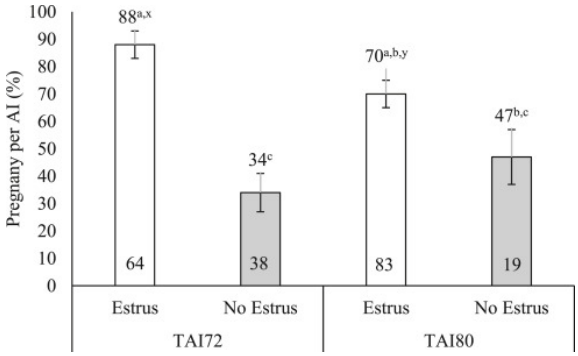


Figure 6 Pregnancy per AI (P/AI) at 28 d after AI based on treatment and display of estrus at AI. There was an interaction between treatment and display of estrus at AI (P = 0.03) for P/AI; columns with differing superscripts (a, b, c) have a P < 0.05 and (x, y) have a P = 0.07. The number at the bottom of the column represents the n for each subgroup.

Source: Macmillan et al. (2021)

จากผลการทดลองของ Hall et al. (2017) พบว่าการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแยกเพศแบบล่าช้ากว่ากำหนดมีอัตราการตั้งท้องต่ำกว่าแบบที่กำหนดเวลาปกติ แต่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ และเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับ Macmillan et al. (2021) ซึ่งมีความเป็นไปได้ว่าการผสมล่าช้าโดยผสมเทียมที่ 80 ชั่วโมง (ล่าช้าไป 8 ชั่วโมง) ในกลุ่มโคที่ผสมเทียมช้าบางตัวมีโอกาสเป็นสัด 24-36 ชั่วโมงก่อนจะผสมเทียมซึ่งอาจจะใกล้กับเวลาตกไข่หรือหลังตกไข่มากเกินไปจนส่งผลให้การปฏิสนธิล้มเหลว แต่การทดลองของ Ketchum et al. (2021) การผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้ออสุจิแยกเพศแบบล่าช้ากว่ากำหนดมีอัตราการตั้งท้องมากกว่าแบบที่กำหนดเวลาปกติ แต่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะผสมเทียมล่าช้า (6 ชั่วโมง) นั้นมีจำนวนโคที่เป็นสัดมากกว่าจึงเพิ่มโอกาสในการตั้งท้องขึ้นมาได้เล็กน้อย เนื่องจากเทคโนโลยีการคัดแยกเพศอสุจิสร้างความเสียหายต่อดีเอ็นเอและส่งผลต่ออายุขัยของอสุจินั้นลดลงจึงมีการแนะนำให้ผสมเทียมใกล้กับเวลาตกไข่ซึ่งเวลาไข่ตกจะเกิดขึ้นหลังเป็นสัด12-16 ชั่วโมง (Seidel et Al., 1999) เช่นเดียวกับ Colazo et al. (2017) รายงานว่า หากผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแยกเพศหลังเป็นสัด 0, 12, 24, 36 ชั่วโมงจะมีอัตราการตั้งท้อง 44.4, 83.3, 66.6, 50.0% ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าช่วงเวลา 12ชั่วโมง มีอัตราการตั้งท้องสูงที่สุดและหากผสมหลังจากเป็นสัดไปแล้ว 24-36 ชั่วโมงเป็นต้นไปจะส่งผลให้อัตราการตั้งท้องลดลงอย่างเห็นได้ชัด ดังแสดงใน Table 3

Table 3. Effect of time of ovulation relative to timed-AI and type of semen on pregnancy per AI (P/AI) in Holstein heifers subjected to a modified 5-day Co-synch plus PRID protocol.

Time of ovulation (h)	N (%)	P/AI		
		Conventional semen n/n (%)	Sex-selected semen n/n (%)	Overall n/n (%)
0	20 (17.9)	5/11 (45.4)	4/9 (44.4)	9/20 (45.0)
12	27 (24.1)	6/9 (66.6)	15/18 (83.3)	21/27 (77.7)
24	25 (22.3)	10/13 (76.9)	8/12 (66.6)	18/25 (72.0)
36[a]	38 (33.9)	14/20 (70.0)	9/18 (50.0)	23/38 (60.5)
No ovulation	2 (1.8)	0/2 (0.0)	-	0/2 (0.0)

[a] P/AI tended to differ (P=0.1) between sex-selected and conventional semen.

Source: Marcos et al. (2017)

สรุป

จากการทบทวนข้อมูลที่ได้มาจากงานทดลองทั้งสามฉบับของการชะลอเวลาผสมเทียมหลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบกำหนดเวลาโดยใช้น้ำเชื้ออสุจิแยกเพศ สามารถสรุปได้ว่าการผสมเทียมล่าช้ากว่ากำหนด 6-8 ชั่วโมงไม่ทำให้การอัตราการตั้งท้องมากขึ้น แม้ว่าจะมีโคที่แสดงพฤติกรรมการเป็นสัดมากกว่าการผสมแบบกำหนดตามเวลาก็ตาม

เอกสารอ้างอิง

Bittante, G., Negrini R., Bergamaschi M., Cecchinato A. and Alvarado T.H. 2020. "Pure-breeding with sexed semen and crossbreeding with semen of double-muscled sires to improve beef production from dairy herds: Factors affecting heifer and cow fertility and the sex ratio". **Journal of Dairy Science**. 103: 5246-5257.

Bombardelli, G.D., Soares H.F. and Chebel R.C. 2016. "Time of insemination relative to reaching activity threshold is associated with pregnancy risk when using sex-sorted semen for lactating Jersey cows". **Theriogenology**. 85: 533-539.

Carvalho, J.O., Silava L.P., Sartorial R. and Dode M.A.N., 2013. "Quality assessment of bovine cryopreserved sperm after sexing by flow cytometry and their use in in vitro embryo production". **Plos one**. 8.

Colazo, M.G. and Mapletoft R.J., 2017. "Pregnancy per AI in Holstein heifers inseminated with sex-selected or conventional semen after estrus detection or timed-AI". **Can Vet J**. 58: 365-370

Hall, J.B., Kasimanickam R.K., Glaze J.J.B. and Roberts-Lew M.C. 2017. "Impact of delayed insemination on pregnancy rates to gender selected semen in a fixed-time AI system". **Theriogenology**. 102: 154-161.

Ketchum, J.N., Bonacker R.C., Andersen C.M., Smith E.G., Stoecklein K.S., Spinka C.M. and Thomas J.M. 2021. " Evaluation of later timepoints for split-time artificial insemination when using sex-sorted semen among beef heifers following the 14-d CIDR®-PG protocol". **Animal Reproduction Science**. 224: 106649.

Macmillan, K., Gobikrushanth M., Mapletoft R. J. and Colazo M. G. 2021. " The effect of altering the timing of GnRH administration and artificial insemination in a modified 5-d CO-Synch protocol using sex-sorted semen in dairy heifers". **Theriogenology**. 159: 53-59.

Mocé, E., Graham J.K. and Schenk J.L., 2006. " Effect of sex-sorting on the ability of fresh and cryopreserved bull sperm to undergo an acrosome reaction".**Theriogenology**. 66: 929-936.

Patterson, D.J., Kojima F.N. and Smith M.F., 2017. "Areview of methods to synchronize estrus in replacement beef heifers and postpartum cows". **J Anim Sci.** 81: 166-177.

Seidel, J.R., Schenk J.L., Herickhoff L.A., Doyle S.P., Brink Z. and Green R.D. 1999. "Insemination of heifers with sexed sperm". **Theriogenology**. 52: 1407-20.

Thomas, J.M., Smith M.F., Patterson D.J., Poock S.E. and Ellersieck M.R., 2014. "Delayed insemination of non-estrous heifers and cows when using conventional semen in timed artificial insemination". **J. Anim. Sci**. 92: 4189-4197