



Nation
University
มหาวิทยาลัยเนชั่น

การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ ครั้งที่ 14
เรื่อง "วิถีนวัตกรรมเพื่อการพัฒนางานวิจัยสู่เศรษฐกิจชุมชนไทยให้ยั่งยืน"

สัตวแพทยศาสตร์



วันเสาร์ที่ 27 และวันอาทิตย์ที่ 28 เมษายน พ.ศ. 2562
ณ อาคารคณะทันตแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น อำเภอคำชะอี จังหวัดบึงกาฬ

ปัจจัยที่ส่งเสริมให้ประสบความสำเร็จในการผสมเทียมสุนัข : ทบทวนวรรณกรรม

The Key to Success for Artificial Insemination in Canine : A review literature

ผู้วิจัย

สัตวแพทย์หญิงจุฑามาศ ประภาพรรณพงศ์

บทคัดย่อ

การผสมเทียมเป็นการนำเอาน้ำเชื้อที่เก็บได้จากสุนัขพ่อพันธุ์ นำไปผสมกับไข่ที่อยู่ในระบบสืบพันธุ์เพศเมีย เพื่อให้เกิดการปฏิสนธิโดยไม่มีการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ โดยเทคนิคการผสมเทียมนั้นเป็นเทคนิคที่สะดวกในการสืบพันธุ์ในสัตว์ ซึ่งการผสมเทียมนี้อาจใช้เมื่อเกิดความผิดปกติทางกายภาพหรือพฤติกรรมที่ไม่เหมาะสมทำให้ไม่สามารถผสมพันธุ์ได้ทั้งในเพศผู้หรือเพศเมีย โดยทำการเก็บและตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อเพื่อประเมินความสมบูรณ์พันธุ์ในสุนัขเพศผู้ก่อนที่จะทำการผสมเทียม นอกจากนี้ปัจจัยที่จะส่งเสริมให้ประสบความสำเร็จในการผสมเทียมนั้น ประกอบด้วยสิ่งเหล่านี้ คือ ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียม ปริมาณของน้ำเชื้อที่เพียงพอและเหมาะสมในการผสมเทียมแต่ละครั้ง การเตรียมและจัดการกับน้ำเชื้ออย่างเหมาะสม และตำแหน่งในการปล่อยน้ำเชื้อที่ระบบสืบพันธุ์เพศเมีย

คำสำคัญ : การผสมเทียม, น้ำเชื้อ, การตกไข่, การปฏิสนธิ, สุนัข

Abstract

In Artificial Insemination (AI) the semen is collected manually from a stud male and thereafter deposited inseminated in the female so that fertilization can occur in the absence of natural mating. Artificial Insemination, one of the earliest techniques for assisted reproduction in animals. It is also an important technique whenever physical and behavioural abnormalities in the male or female preventing natural mating. Semen collection in the dog is a relatively easy procedure. Semen assessment is an important part of the evaluation of fertility in males and it should be performed as routine element of pre-breeding examination. The key success for artificial insemination include proper timing of the insemination, use of adequate number of viable sperm cells per dose, good semen preparation and handling, adequate deposition of semen in the female reproductive tract.

Key Word : Artificial insemination, Semen, Ovulation, Fertilization, Canine

บทนำ

การผสมเทียม (Artificial Insemination)

การผสมเทียม ความหมายตามพจนานุกรมฉบับบัณฑิตยสถาน หมายถึง การผสมพันธุ์โดยการฉีดน้ำเชื้ออสุจิเข้าอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย โดยไม่ได้ร่วมเพศสัมพันธ์กัน ส่วนในทางวิทยาศาสตร์ การผสมเทียมหมายถึงการนำเทคโนโลยีทางวิทยาศาสตร์เข้ามาเพื่อปรับปรุงและขยายพันธุ์สัตว์ โดยทำการรีดน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ แล้วนำมาตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อทางห้องปฏิบัติการ แล้วนำไปฉีดเข้าในอวัยวะสืบพันธุ์ของสัตว์เพศเมียที่อยู่ในช่วงเป็นสัด เพื่อให้ไข่และอสุจิปฏิสนธิกัน

หลักการของการผสมเทียม คือ จำเป็นต้องมีการตรวจสัต์ที่ดีและแม่นยำ เพื่อให้ได้ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการปฏิสนธิของไข่และอสุจิ การนำน้ำเชื้อเข้าไปปล่อยในสวนใดส่วนหนึ่งของทางเดินของระบบสืบพันธุ์เพศเมีย โดยใช้อุปกรณ์ในการช่วยเหลือ เพื่อให้เกิดการปฏิสนธิของอสุจิและไข่ในรูปร่างของเพศเมีย ซึ่งการผสมเทียมเป็นหนึ่งในเทคนิคที่ช่วยในการผสมพันธุ์ทั้งในมนุษย์และสัตว์ โดยข้อดีของการผสมเทียมในสุนัข คือ หลีกเลี่ยงการสัมผัสกันโดยตรงของสุนัขเพศผู้และเพศเมีย เพื่อลดการแพร่กระจายของโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ (venereal disease) เช่น *Brucella canis* หรือ Herpes virus ในกรณีที่พ่อพันธุ์มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีต้องการที่จะขยายสายพันธุ์ที่มีลักษณะในช่วงระยะเวลาอันรวดเร็ว หรือต้องการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ได้จากพ่อพันธุ์ที่กรรมพันธุ์ที่ดีไว้ในอนาคต รวมถึงลดความเครียดและค่าใช้จ่ายในการขนส่งสุนัขไปผสมพันธุ์จริง ลดค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงสุนัขเพศผู้ กรณีที่สุนัขเพศผู้หรือเพศเมียมีลักษณะทางกายภาพหรือพฤติกรรมที่ผิดปกติไปจึงต้องมีการป้องกันการผสมพันธุ์กันเองตามธรรมชาติ ซึ่งปัญหาในการผสมพันธุ์จริงที่พบได้ในสุนัขเพศเมีย เช่น สุนัขตัวเมียปฏิเสธสุนัขตัวผู้ ความก้าวร้าว และความผิดปกติแต่กำเนิด เช่น การตีบตันของท่อนำไข่ ช่องคลอดมีขนาดเล็ก เยื่อช่องคลอดมีลักษณะที่ผิดปกติไป นอกจากนี้ในสุนัขเพศผู้ปัญหาที่พบได้ เช่น ความกำหนัดต่ำ ซึ่งอาจเกิดจากพฤติกรรม ฮอร์โมน อายุ ยา การจัดการในการผสมพันธุ์ที่ไม่เหมาะสม หรือโรคทางระบบสืบพันธุ์ ส่วนข้อเสียของการผสมเทียม คือ หากกระบวนการเก็บรักษาน้ำเชื้อไม่เหมาะสม จะส่งผลทำให้อัตราการผสมติดต่ำ นอกจากนี้ช่วงเวลาในการปฏิสนธิเป็นปัจจัยที่สำคัญมากอีกประการหนึ่ง เพราะหากมีการจับสัต์ที่ผิดพลาด หรือช่วงเวลาในการทำการผสมเทียมไม่เหมาะสม จะทำให้อโอกาสและอัตราการผสมติดต่ำลง

ปัญหาการผสมไม่ติดในสุนัข

อาจมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย อาทิเช่น การจัดการผสมเทียมไม่ถูกช่วงเวลา คุณภาพน้ำเชื้อ ชนิดของน้ำเชื้อไม่เหมาะสมกับตำแหน่งที่ทำการปล่อยน้ำเชื้อในระบบสืบพันธุ์เพศเมีย สิ่งสำคัญคือ จะต้องอาศัยความรู้ในเรื่อง สรีรวิทยาของระบบสืบพันธุ์ วิทยาการการสืบพันธุ์ เทคนิคและความชำนาญในการผสมเทียม ประวัติสุนัข ผลการตรวจทางคลินิกทั้งในสุนัขเพศผู้และเพศเมีย ประกอบกันเพื่อกำหนดระยะเวลาที่เหมาะสมที่จะทำการผสมเทียม

การจัดการเพื่อให้ผสมติดในสุนัข (Management fertility in dogs)

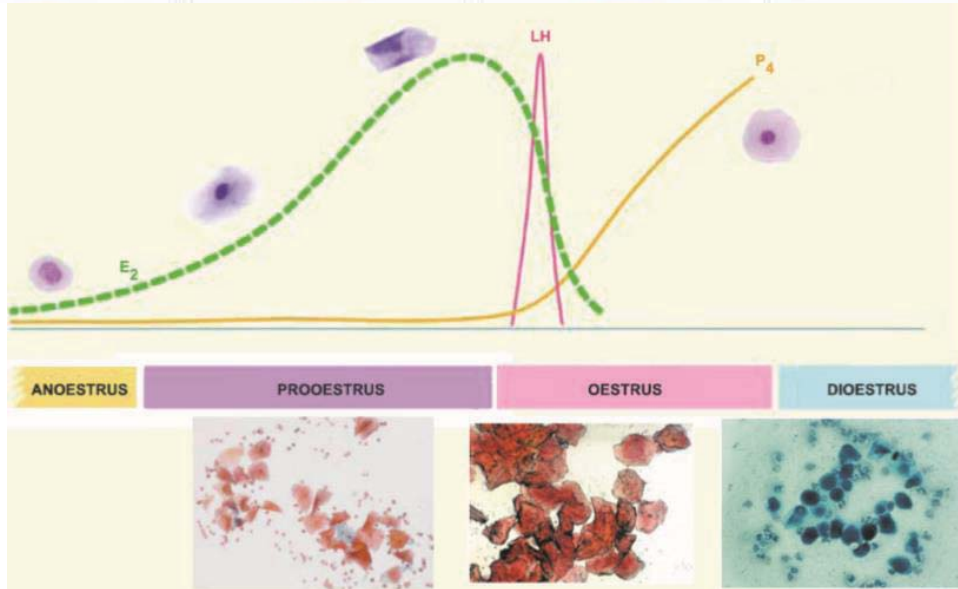
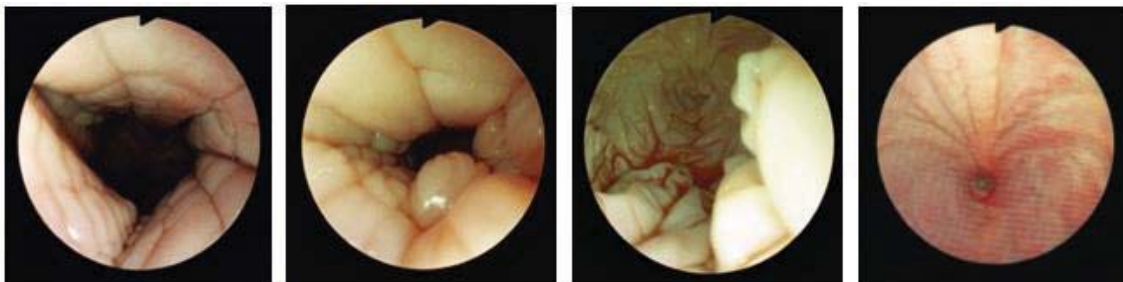
การจัดการจะต้องมีการเตรียมการที่ดีทั้งในสุนัขเพศผู้และเพศเมีย เพื่อให้สุนัขได้รับการผสมเทียมในช่วงเวลาที่เหมาะสมที่สุด ที่จะทำให้น้ำเชื้อและไข่ปฏิสนธิกันได้ โดยสามารถจัดการได้ดังนี้

การจัดการในสุนัขเพศผู้ ควรได้รับการตรวจร่างกาย มีการรีดและตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ เพื่อประเมินคุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้นก่อนที่จะนำมาผสมเทียม โดยในการตรวจประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ สามารถทำได้โดยทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้น (macroscopic examination) ได้แก่ สี ปริมาตร ความหนืด ความหนาแน่น ความเป็นกรดต่าง และความเข้มข้นของน้ำเชื้อ และในส่วนการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination) ได้แก่ การเคลื่อนไหวแบบหมี การเคลื่อนไหวรายตัว ร้อยละการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ ร้อยละตัวเป็นตัวตายของอสุจิ ความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ ซึ่งปัจจัยเหล่านี้จะแสดงให้เห็นถึงความแข็งแรงและศักยภาพน้ำเชื้อจากสุนัขพ่อพันธุ์ตัวนั้น นอกจากนี้การนำน้ำเชื้อเข้าไปผสมในช่วงเวลาที่ใกล้เคียงกับเวลาที่ไข่พร้อมปฏิสนธิที่สุด เป็นอีกหนึ่งในปัจจัยของความสำเร็จในการผสมเทียมในสุนัข

การจัดการในสุนัขเพศเมีย ควรได้รับการตรวจเพื่อประมาณหาวันตกไข่ (timing ovulation) เพื่อหาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์หรือผสมเทียม โดยใช้เทคนิคและวิธีการต่างๆ ได้แก่ 1. การสังเกตพฤติกรรม การยืนนิ่ง ยอมรับการผสมจากสุนัขเพศผู้ (acceptance of male) โดยในช่วงที่สุนัขเพศเมียเป็นสัต์ จะแสดงพฤติกรรมยืนนิ่งยอมรับการผสมพันธุ์จากสุนัขเพศผู้ ในวันที่ LH surge โดยวิธีการนี้ไม่แม่นยำนักจะต้องได้รับการยืนยันร่วมกับวิธีการอื่นในการประเมิน 2. ลักษณะการนึ่มลงของอวัยวะเพศภายนอก (vulval softening) เนื่องจาก

ในระยะเวลา proestrus อวัยวะเพศของสุนัขจะมีการบวมน้ำและแข็งเนื่องจากอิทธิพลของฮอร์โมน estrogen แต่หลังจากการตกไข่แล้ว ระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนจะลดต่ำลง ร่วมกับมีการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมน โปรเจสเตอโรน ส่งผลให้อวัยวะเพศภายนอกอ่อนนุ่มลง 3. การใช้กล้องส่องดูลักษณะผนังช่องคลอด (vaginostomy) ใช้กล้อง endoscope โดยสังเกตจากลักษณะผิว สี ของเหลวบนรอยพับเยื่อเมือกภายในช่องคลอด (vaginal mucosal fold) คือ การบวมน้ำจะหายไป พบรอยพับบนผนังช่องคลอด (รูปภาพที่ 1) 4. สิ่งคัดหลั่งจากคอมดลูกและช่องคลอด ของเหลวที่ออกจากช่องคลอด จะมีสีคล้ายน้ำฟางขาว 5. การตรวจเซลล์เยื่อผนังช่องคลอด (รูปภาพที่ 2) โดยการใช้ไม้พันสำลีจุ่มน้ำเกลือสอดเข้าไปในช่องคลอด เพื่อป้ายเซลล์เยื่อผนังช่องคลอด แล้วนำมาป้ายลงแผ่นสไลด์ ย้อมด้วยสี modified Wrights-Giemsa แล้วส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบว่าช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียมคือ ลักษณะเซลล์ที่พบเป็นเซลล์ชนิดเหลี่ยม (superficial cells) มากกว่าร้อยละ 80 วิธีนี้มักใช้ร่วมกับการตรวจระดับฮอร์โมนในเลือด 6. การตรวจระดับฮอร์โมน LH ในกระแสเลือด (LH assays) 7. การตรวจระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือด (progesterone assay) โดยพบว่า 1 วันหลังจากการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมน โปรเจสเตอโรน มากกว่า 8-10 ng/ml หรือ 25-32 nmol/l เป็นวันเริ่มต้นของระยะปฏิสนธิ ซึ่งวิธีการนี้เป็นที่นิยม และให้ผลค่อนข้างแม่นยำในการตรวจหาช่วงเวลาที่เหมาะสม 8. การตรวจการตกไข่โดยใช้เครื่องอัลตราซาวด์ เพื่อดูการตกไข่ แต่สามารถทำได้ยากและยังไม่มีเป็นที่นิยมในทางคลินิก

รูปภาพที่ 1 ภาพลักษณะผนังช่องคลอด (vaginostomy) ในระยะ anestrus, proestrus, estrus และ diestrus ที่มา : Carreira *et al.* (2011)



รูปภาพที่ 2 ภาพลักษณะเซลล์เยื่อผนังช่องคลอด ระดับฮอร์โมน Progesterone, Estradiol, LH ในระยะ anestrus, proestrus, estrus และ diestrus

ที่มา : Carreira *et al.* (2011)

เทคนิคการผสมเทียมในสุนัข หลักๆแล้วสามารถแบ่งได้ 3 เทคนิค คือ

1. **Deep vaginal insemination** เป็นเทคนิคการผสมเทียมที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายในการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสด โดยการสอดท่อผ่านช่องคลอด แล้วทำการฉีดน้ำเชื้อที่ตำแหน่ง paracervical ใกล้กับตำแหน่งของ external cervical os ซึ่งวิธีการนี้เป็นการผสมเทียมเลียนแบบการผสมตามธรรมชาติ เหมาะกับน้ำเชื้อสดมากกว่าน้ำเชื้อแช่แข็ง อุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมเตรียมการไม่ยุ่งยากและเทคนิคที่ใช้ไม่ซับซ้อน

2. **Intrauterine insemination** เป็นเทคนิคการผสมเทียมที่มีการปล่อยน้ำเชื้อที่ตำแหน่งของมดลูก พบว่ามีอัตราการผสมติดที่ดีกว่าการปล่อยน้ำเชื้อที่ตำแหน่งช่องคลอด deep vaginal insemination ซึ่งการปล่อยน้ำเชื้อที่มดลูก เหมาะสำหรับน้ำเชื้อแช่แข็ง ซึ่งแบ่งได้เป็น 2 เทคนิค คือ 1. The Norwegian or Scandinavian technique เป็นเทคนิคที่ใช้อุปกรณ์สอดเข้าไปปล่อยน้ำเชื้อที่ตำแหน่งของมดลูก และ 2. Endoscope-assisted vaginoscopic method (New Zealand method) เป็นเทคนิคการผสมเทียมที่อาศัยกล้อง endoscope ช่องส่องเพื่อช่วยกำหนดทิศทางในการนำพาน้ำเชื้อไปยังตำแหน่งที่จะทำการฉีดน้ำเชื้อโดยสอดท่อผสมเทียมผ่านคอมดลูก ซึ่งเทคนิคนี้เริ่มเป็นที่นิยมและมีประสิทธิภาพที่ดี เหมาะแก่การใช้ในทางคลินิก

3. **Surgical technique** เป็นวิธีการผสมเทียมโดยการผ่าตัดเปิดผ่าช่องท้อง (laparotomy) หรือ การส่องกล้องผ่าตัดผ่านช่องท้อง (laparoscopy) เพื่อทำการผสมเทียม โดยการฉีดน้ำเชื้อเข้าไปในตำแหน่งปีกมดลูก (uterine horn) วิธีการจะต้องทำการวางยาสลบแก่สุนัขเพื่อทำการผ่าตัด รวมถึงผู้ทำการผสมเทียมจะต้องมีทักษะที่ดีในการผ่าตัด ซึ่งวิธีการนี้เหมาะสำหรับสุนัขเพศเมียที่มีปัญหาทางกายภาพ เช่น การตรวจพบว่าอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียมีส่วนตีบตันไป แต่อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้ยังไม่เป็นที่ยอมรับนัก เนื่องจากไม่เป็นไปตามหลักสวัสดิภาพสัตว์ (animal welfare) ซึ่งชนิดของน้ำเชื้อ ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียม ตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อและร้อยละในการปฏิสนธิได้เทียบเทียบไว้ในตารางที่ 1 ดังแสดง

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบชนิดของน้ำเชื้อ ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียม ตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อและร้อยละในการปฏิสนธิ

ชนิดของน้ำเชื้อ	ระยะเวลาการอยู่รอด	ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียม	ตำแหน่งในการปล่อยน้ำเชื้อและร้อยละความสำเร็จในการปฏิสนธิ
น้ำเชื้อสด	4-6 วัน	- เมื่อระดับโปรเจสเตอโรนสูงกว่า 4 ng/ml ทำการผสมเทียมวันเว้นวัน 3 ครั้ง - วันที่ 1-4 หลังการตกไข่ - ระดับโปรเจสเตอโรน ระหว่าง 8-15 ng/ml	Transcervical หรือ Vaginal 80-90%
น้ำเชื้อแช่เย็น	24-72 ชั่วโมง	- ทำการผสมเทียม 1-2 ครั้งหลังจากการตกไข่ 2-4 วันหลังการตกไข่ (ระดับโปรเจสเตอโรน 4-10 ng/ml) - วันที่ 2-4 หลังวันตกไข่ - ระดับโปรเจสเตอโรน ระหว่าง 8-15 ng/ml	Transcervical หรือ Vaginal 80-90%

ชนิดของน้ำเชื้อ	ระยะเวลาการอยู่รอด	ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียม	ตำแหน่งในการปล่อยน้ำเชื้อและร้อยละความสำเร็จในการปฏิสนธิ
น้ำเชื้อแช่แข็ง	12-24 ชั่วโมง	- ผสม 2 ครั้งเมื่อระดับโปรเจสเทอโรนมากกว่า 8 ng/ml และ estrus vaginal cytology - วันที่ 5-7 หลังวันตกไข่ - ระดับโปรเจสเทอโรน ระหว่าง 18-28 ng/ml	45% ใน Vaginal 67-84% ใน Transcervical หรือ Intrauterine

ที่มา : ดัดแปลงจาก Pankaj *et al.* (2015)

บทสรุป

ปัจจัยที่ทำให้การผสมเทียมในสุนัขประสบความสำเร็จ คือ คุณภาพน้ำเชื้อที่ดี การรีดเก็บน้ำเชื้อและการรักษาคุณภาพน้ำเชื้อถูกวิธี เทคนิคการผสมเทียมถูกต้อง เลือกใช้น้ำเชื้อที่เหมาะสมกับตำแหน่งที่จะปล่อยน้ำเชื้อในสุนัขเพศเมีย ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียมก็จะช่วยเพิ่มโอกาสความสำเร็จในการปฏิสนธิระหว่างไข่และอสุจิ ทักษะประสบการณ์ความพร้อมของผู้ทำการผสมเทียม

เอกสารอ้างอิง

- Carreira, R.P., Miranda S., Nizanski W. 2011. Artificial insemination in dogs. *Artificial insemination in farm animals* 1: 51-78.
- Farstad, W.K. 2010. Artificial insemination in dogs, In *BSAVA Manual of Canine and Feline Reproduction and Neonatology*, 2nd edition, England G. and von Heimendahl A. (Eds.). British Small Animal Veterinary Association ISBN 978-1905319190, Gloucester, UK.
- Gary, C.W., Russo, M., Freeman, S.L. 2014. Artificial insemination in dog and explained how to collect and pressure canine semen. In *practice discussed the benefits* 36: 77-84.
- Pankaj, J. 2015. Characteristics of different parameter for dog semen evaluation. *Indo-American journal of agricultural and veterinary science* 1: 18-25.
- Romagnoli, S., Lopate, C. 2014. Transcervical artificial insemination in dogs and cats: Review of the technique and practical aspects. *Reproduction in Domestic Animals* 49(4): 56-63.
- Stuart, J.M. 2018. Current review of artificial insemination in dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 48(4): 567-580