ผลของการเสริม Transforming Growth Factor-beta ในน้ำเชื้อพ่อสุกรต่ออัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ

Effect of addition transforming growth factor-beta to boar semen on sperm motility

สุรพงษ์ ทองเรือง[1*], ยุพิน ผาสุข[1], เทวินทร์ วงษ์พระลับ[1], วัชราภรณ์ สีมูลโท[1], วัชรพงษ์ สิงห์โสภา[1], กษมา ตั้งมุทธาภัทรกุล[1] และ มรกต วงศ์หน่อ[2]

Surapong Tongrueng[1*], Yupin Phasuk[1], Thevin Vongphalub[1],
Watcharaporn Srimooltho[1], Watcharapong singsopa[1],
Gasama Tangmutthapattharakun[1] and Morrakod Wongnhor[2]

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริม Transforming Growth Factor-beta (TGF-β) ในน้ำเชื้อพ่อสุกรต่ออัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ ใช้พ่อสุกรสายพันธุ์ดูร็อค (Duroc) จำนวน 24 ตัว แบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่1 ไม่เสริม TGF-β ลงในน้ำเชื้อ (ควบคุม) กลุ่มที่ 2 เสริม TGF-β ลงในน้ำเชื้อที่ความเข้มข้น 1000 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร กลุ่มที่ 3 เสริม TGF-β ลงในน้ำเชื้อที่ความเข้มข้น 2000 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร การศึกษาพบว่า การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า, ความเร็วในการเคลื่อนแบบ velocity average path (VAP) ในชั่วโมงที่ 24 และความเร็วในการเคลื่อนที่แบบ velocity average path (VAP), velocity straight line (VSL) ของอสุจิในชั่วโมงที่ 72 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) นอกจากนี้อัตราการเคลื่อนที่รวม, อสุจิที่ไม่เคลื่อนที่, ความเร็วในการเคลื่อนที่แบบ velocity average path (VAP), velocity curvilinear (VCL)และ velocity straight line (VSL) ชั่วโมงที่ 24 รวมทั้งการเคลื่อนที่รวม, การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า, อสุจิที่ไม่เคลื่อนที่, ความเร็วในการเคลื่อนที่แบบ velocity curvilinear (VCL)ในชั่วโมงที่ 72 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

คำสำคัญ: น้ำเชื้อสุกร, คุณภาพน้ำเชื้อสุกร, Transforming Growth Factor-beta (TGF-β).

ABSTRACT: The The objective of this study was to determine the effect of addition transforming growth factor-beta (TGF-β) to boar semen on sperm motility. Twenty four boars (Duroc breed) were subjected into 3 treatments. Treatment 1 (control group), no addition TGF-β to fresh semen boar. Treatment 2, Addition TGF-β 1000 pg. to fresh semen boar. Treatment 3, Addition TGF-β 2000 pg. to fresh semen boar. The results showed that treatment on 24 hour progressives and velocity average path (VAP), velocity straight line (VSL) on 72 hour were significantly ($P<0.05$). However, motility, static, velocity average path (VAP), Velocity curvilinear (VCL), velocity straight line (VSL) on 24 were not significantly ($P>0.05$). Moreover, motility, progressive, static, velocity curvilinear (VCL), on 72 hour were not significantly ($P>0.05$).

Keywords: Semen Boar, Semen quality, Transforming Growth Factor-beta (TGF-β).

[1] สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002
Division of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon kaen University, Khon kaen 40002, Thailand

[2] สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ จ.แพร่ 54140
Division Animal Production Technology Maejo University-Phrae campus, Phrae 54140, Thailand

[*] Corresponding author: tongrueng_s@hotmail.com

บทนำ

การผสมเทียม (Artificial Insemination, AI) นับเป็นเทคโนโลยีหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ และได้รับความนิยมกันอย่างแพร่หลาย พบว่ามีการขยายตัวของการผสมเทียมที่มากขึ้นถึงร้อยละ 90 (Knox, 2016) เนื่องจากการผสมเทียมให้ผลดีในหลายด้าน เช่น สามารถลดต้นทุนการผลิตได้โดยการลดจำนวนการเลี้ยงพ่อสุกรในฟาร์มให้น้อยลง โดยขั้นตอนหนึ่งของกระบวนการผสมเทียมที่น่าสังเกตคือ ขั้นตอนการเจือจางน้ำเชื้อด้วยสารละลายน้ำเชื้อ เพื่อเพิ่มปริมาตรให้มากขึ้น O'Leary et al. (2011) ได้รายงานว่า ในขั้นตอนการเจือจางน้ำเชื้อมีอัตราส่วนในการเจือจางน้ำเชื้อมากถึง 10-50 เท่า ก่อนทำการผสมเทียม ทำให้สารใน seminal plasma ที่เป็นประโยชน์อื่นๆ เช่น สารกลุ่มโปรตีน สารต้านอนุมูลอิสระ สารกลุ่ม antioxidant ฮอร์โมน รวมทั้งสารในกลุ่ม cytokine ได้แก่ transforming growth factor-beta (TGF-β) ที่มีบทบาทสำคัญต่อความสมบูรณ์พันธุ์ในสัตว์ลดลง (Aumuller and Riva, 1992; Bromfield, 2016)

Transforming growth factor-beta (TGF-β) เป็นสารที่ถูกผลิตขึ้นจากต่อมร่วม (accessory gland) ในระบบสืบพันธุ์เพศผู้ โดยมีคุณสมบัติเป็นสารกลุ่ม cytokine ที่มีหน้าที่กระตุ้นระบบสืบพันธุ์ของสุกรเพศเมียให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระบบภูมิคุ้มกัน และเกิดการปรับเปลี่ยนสภาพแวดล้อมภายในมดลูกเพื่อช่วยในการฝังตัวของตัวอ่อน (Bromfield, 2016) นอกจากนี้ยังพบว่า อิทธิพลจากการทำงานของ TGF-β ซึ่งเป็น growth factor ที่มีความสำคัญต่อขบวนการ angiogenesis โดย macrophage/monocyte ส่งผลต่อการโยกย้าย tumor necrosis factor alpha และเกิดการสร้าง vascular endothelial growth factor (VEGF) basic fibroblast growth factor (bFGF) เพื่อควบคุมกลไกการสร้างเส้นเลือดใหม่อีกด้วย (Yoshida et al., 1997) นอกจากนี้พบการรายงานความเข้มข้นของ transforming growth factor-beta (TGF-β) ในสุกรประมาณ 20.4-766.5 pg/ml (Jiwakanon and Dalin, 2012) และเมื่อทำการเจือจางน้ำเชื้อจะทำให้ปริมาณสารดังกล่าวมีความเข้มข้นที่ลดลง งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริม TGF-β ในน้ำเชื้อพ่อสุกร เพื่อศึกษาถึงระดับการเสริมน้ำกามสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อคุณภาพน้ำเชื้อตลอดจนระยะเวลาการเก็บรักษา เพื่อสามารถนำผลงานวิจัยนี้ไปพัฒนาเทคนิคในประยุกต์ใช้การผสมเทียมในสุกรต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้พ่อสุกรสายพันธุ์ดูร็อค (Duroc) จำนวน 24 ตัว มีอายุเฉลี่ย 2 ปี โดยใช้แผนการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) แบ่งเป็น 3 กลุ่มการทดลอง (treatments) โดยศึกษาระดับการเสริม transforming growth factor-beta (TGF-β) ที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ กลุ่มที่ 1 ระดับที่ 0 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 เสริม transforming growth factor-beta 1000 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร กลุ่มที่ 3 เสริม transforming growth factor-beta 2000 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร

ทำการรีดน้ำเชื้อสุกรและตรวจคุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้นโดยใช้โปรแกรม computer analyser iSperm® หลังจากนั้นเจือจางด้วยสารละลาย beltsville thawing solution (BTS) โดยมีอสุจิที่

เคลื่อนที่ได้ 3x109 ตัว/100 มิลลิลิตร และทำการเสริม TGF-β ที่แตกต่างกัน นำน้ำเชื้อที่ได้ไปเก็บรักษาในอุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส จากนั้นทำการตรวจคุณภาพอสุจิในช่วงเวลา 24 และ 72 ชั่วโมง เพื่อศึกษาคุณภาพอสุจิในระยะเวลาการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน เมื่อครบกำหนดเวลาดังกล่าว นำน้ำเชื้อมาอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และตรวจประเมินคุณภาพอสุจิด้วยกล้อง computer assisteds sperm analyser (CASA) ได้แก่ อัตราการเคลื่อนที่รวม (motility), อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (progressive motility) และความเร็วแบบ velocity average path (VAP) velocity curvilinear (VCL), velocity straight line (VSL) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวิธี duncan's new multiple range test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS Software (SAS Inst. Inc., Cary, NC,) สถานที่ทำการทดลองศูนย์ผลิตน้ำเชื้อสุกรของแก่น บริษัท เบทาโกร, ศูนย์วิจัยและผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และ ห้องปฏิบัติการกายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาสัตว์เลี้ยง สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ผลการศึกษา

ผลของการเสริม Transforming Growth Factor-beta (TGF-β) ในน้ำเชื้อพ่อสุกรต่อการอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ ในระยะ 24 และ 72 ชั่วโมง พบว่า อสุจิที่เคลื่อนไปข้างหน้า (progressive motility) ของกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มที่ 1 ระดับที่ 0 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 เสริม TGF-β 1000 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร กลุ่มที่ 3 เสริม TGF-β 2000 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร มีค่า

Table 1 Effect of addition transforming Growth Factor-beta (TGF-β) to boar semen on time storage and semen quality

time of storage (hour.)	parameter	TGF-β (pg./Semen 100 ml.)		
		0	1000	2000
24	motility (%)	79.32	81.91	82.40
	progressives (%)	50.60^{b}	53.22^{ab}	56.78^{a}
	static (%)	20.65	18.08	18.86
	velocity average path (VAP; µm/s)	78.28	80.31	82.97
	velocity curvilinear (VCL; µm /s)	47.96	55.49	57.37
	velocity straight line (VSL; µm/s)	160.68	159.80	168.33
72	motility (%)	79.11	81.56	81.30
	progressives (%)	50.51	52.98	53.81
	static (%)	20.88	18.30	19.15
	velocity average path (VAP; µm/s)	68.21^{b}	71.91^{b}	81.33^{a}
	velocity curvilinear (VCL; µm /s)	47.88	49.45	55.46
	velocity straight line (VSL; µm/s)	142.44^{b}	152.59^{ab}	162.78^{a}

mean with difference characteristic (^{a,b,c}) in the same low are significantly difference ($P<0.05$).

ร้อยละ50.60, 53.22 และ 56.78 ในชั่วโมงที่ 24 ตามลำดับ และพบว่า ในชั่วโมงที่ 72 ความเร็วในการเคลื่อนที่แบบ velocity average path (VAP; µm/s) ของกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มที่ 1 ระดับที่ 0 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 เสริม TGF-β 1000 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร กลุ่มที่ 3 เสริม TGF-β 2000 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ 68.21, 71.91 และ 81.33 ตามลำดับ และความเร็วในการเคลื่อนที่แบบ velocity straight line (VSL; µm/s) ของกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่กลุ่มที่ 1 ระดับที่ 0 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร (กลุ่มควบคุม) กลุ่มที่ 2 เสริม TGF-β 1000 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร กลุ่มที่ 3 เสริม TGF-β 2000 pg./น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ 142.44, 152.59 และ 162.78 ตามลำดับ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Table 1)

นอกจากนี้พบว่า อัตราการเคลื่อนที่รวม (motility), อสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ (static) ความเร็วในการเคลื่อนที่แบบ velocity average path (VAP; µm/s), velocity curvilinear (VCL; µm/s)และ velocity straight line (VSL; µm/s) ในชั่วโมงที่ 24 รวมทั้งการเคลื่อนที่รวม (motility), การเคลื่อนที่ไปข้างหน้า(progressive), อสุจิที่ไม่เคลื่อนที่ (static), ความเร็วในการเคลื่อนที่แบบ velocity curvilinear (VCL µm/s)ในชั่วโมงที่ 72 ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (Table 1)

วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของการเสริม Transforming Growth Factor-beta (TGF-β) ในระดับที่แตกต่างกันในน้ำเชื้อพ่อสุกรที่เจือจางต่อการอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ ในระยะการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ 24 และ 72 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่า ระดับการเสริมที่ 1000 และ 2000 pg. /น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร ไม่ส่งผลกระทบในทางลบต่อคุณภาพน้ำเชื้อ นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า รวมทั้งพบค่าที่มีความเกี่ยวข้องต่อความเร็วในการเคลื่อนที่ในรูปแบบต่างๆที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม โดยระดับการเสริม transforming growth factor-beta (TGF-β) ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ทางผู้วิจัยได้ทำการศึกษาถึงความเข้มข้นของ transforming growth factor-beta (TGF-β) ด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) แล้วจึงนำระดับความเข้มข้นมาทำการศึกษาต่อในการวิจัยครั้งนี้ นอกจากนี้ จากการศึกษาของ O' leary et al. (2011) รายงานว่า ระดับความเข้มข้นของ TGF-β ที่อยู่ในน้ำเชื้อของพ่อสุกรมีค่าความสัมพันธ์ต่อ ความเข้มข้น และ ปริมาตรน้ำเชื้อของพ่อสุกร นอกจากนี้ ยังส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของจำนวนลูกสุกรแรกคลอด สอดคล้องกับ Bromfield (2016) รายงานว่า transforming growth factor-beta (TGF-β) เป็นสารที่ถูกผลิตขึ้นจากต่อมร่วม (accessory gland) ในระบบสืบพันธุ์เพศผู้ โดยมีคุณสมบัติเป็นสารกลุ่ม cytokine ที่มีหน้าที่กระตุ้นระบบสืบพันธุ์ของสุกรเพศเมียให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของระบบภูมิคุ้มกัน และเกิดการปรับเปลี่ยนสภาพแวดล้อมภายในมดลูกเพื่อช่วยในการฝังตัวของตัวอ่อน Jiang et al. (2001) ได้ทำการศึกษาโดยการตัดต่อม seminal vesicle ออก ส่งผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ที่ต่ำลงในหนู ซึ่งแสดงให้เห็นว่าต่อมร่วมนั้นมีความสำคัญต่อการควบคุมการทำงานของต่อมไร้ท่อและความสมบูรณ์พันธุ์ในสัตว์ TGF-β มีบทบาทสำคัญในการช่วยการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิทั้งในระบบสืบพันธุ์เพศเมีย ป้องกันการจับตัวเป็นก้อนของอสุจิ และปรับสภาพภายใน

มดลูกในเพศเมีย (Bromfield et al., 2004). ในสุกร seminal plasma มีหน้าที่ต่อกระบวนการเมทาบอลิซึมและการเคลื่อนที่ของอสุจิ และเป็นแหล่งพลังงานให้กับอสุจิ ปกป้องการเสียสภาพของ DNA ของอสุจิ นอกจากนี้โปรตีน TGF-β มีผลโดยตรงต่อการทำงานของระบบสืบพันธุ์เพศเมีย และเกิดการเปลี่ยนแปลงภายในระบบสืบพันธุ์ ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายเพื่อขจัดเชื้อแบคทีเรียและตัวอสุจิที่อ่อนแอด้วย จึงส่งผลให้การตั้งท้องในสัตว์เพศเมียเพิ่มสูงขึ้น (Bromfield, 2016) ดังนั้นควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงระดับการเสริม TGF-βในน้ำเชื้อแล้วนำไปผสมเทียมให้กับแม่สุกรเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรต่อไป

สรุปผลการทดลอง

ผลของการเสริม Transforming growth factor-beta (TGF-β) ในระดับที่แตกต่างกันในน้ำเชื้อพ่อสุกร ต่ออัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ ในระยะ 24 และ 72 ชั่วโมง พบว่า การเสริม TGF-β ที่ระดับ 2000pg. /น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีอัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (progressive) สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นๆ นอกจากนี้กลุ่มที่มีการเสริม TGF-β ที่ระดับ 2000 pg. /น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ที่ระยะเวลาที่ 72 ชั่วโมง พบว่า มีค่าความเร็วในการเคลื่อนที่แบบ velocity average path (VAP), velocity straight line (VSL) สูงที่สุด พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามในการเสริม TGF-β ในระดับที่ 1000 pg. /น้ำเชื้อ 100 มิลลิลิตร ให้ผลที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม ดังนั้นการเสริม TGF-β ในน้ำเชื้อพ่อสุกรที่เจือจางแล้วจะไม่ส่งผลในทางลบต่อคุณภาพน้ำเชื้อให้ต่ำลง และสามารถเสริมสารดังกล่าวนี้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ในสุกรต่อไป

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยภายใต้แผนงานเสริมสร้างศักยภาพและพัฒนานักวิจัยรุ่นใหม่ ตามทิศทางยุทธศาสตร์การวิจัยและนวัตกรรม ประเภททุนบัณฑิตศึกษา จากสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2562 และขอขอบคุณ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี โครงการพัฒนาศักยภาพบุคคลากร STEM (Science, Technology Engineering, and Mathematics) เพื่อการวิจัยและพัฒนาสำหรับภาคอุตสาหกรรม ประจำปี 2561 ตลอดจนบริษัท โปรเกรชชีพ จำกัด, ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อสุกรขอนแก่น บริษัทเบทาโกรเกษตรอุตสาหกรรม จำกัด สำนักงานภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน และห้องปฏิบัติการกายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาสัตว์เลี้ยง สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

Aumuller, G., and A. Riva. 1992. Morphology and functions of the human seminal vesicle. Andrologia 24:183–196.

Bromfield, J.J. 2016. A role for seminal plasma in modulating pregnancy outcomes in domestic species. Reproduction. 152: 223-232.

Bromfield, J. J., C. T. Roberts, and S. A. Robertson. 2004. Seminal plasma programs uterine receptivity and pregnancy outcome. Biol. Reprod. 37th Annual Meeting of the Society for the study of Reproduction: 94.

Jiwakanon, J., and A. M. Dalin. 2012. Short communication: Concentration of TGF-β 1, IL-10 and IL-6 in boar seminal plasma and TGF-β1 level in different fractions of ejaculates. Anim. Repord. Sci. 131: 194-198.

Jiang, H.Y., O. W.S., K.H Lee, P.L Tang, and. P.H. Chow. 2001. Ablation of paternal accessory glands is detrimental to embryo development during implantation. Anat Embryol (Berl) 203:255–263.

Knox, R.V. 2016. Artificial insemination in pigs today. Theriogenology. 85:83–93.

O'Leary, S., D.T. Armstrong, S.A. Robertson. 2011. Transforming growth factor-beta (TGFbeta) in porcine seminal plasma. Reprod. Fertil. Dev. 23: 748–758.

Yoshida, S., M. Ono, T. Shono, H. Izumi, T. Ishibashi, H. Suzuki, and M. Kuwano. 1997. Involvement of interleukin-8, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in tumor necrosis factor α-dependent angiogenesis. Mol. Cell. Biol. 17:4015–4023.