

การแยกเพศน้ำเชื้อโคนม

วิชญ์ ไพศาลรุ่งพนา

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

การผสมเทียมเป็นวิธีการหนึ่งของกรมปศุสัตว์ที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์โคนมของเกษตรกรให้ดียิ่งขึ้น ซึ่งการผสมเทียมที่กรมปศุสัตว์ให้บริการแก่แม่โคนมของเกษตรกรนั้น เป็นการให้บริการโดยไม่คิดมูลค่า น้ำเชื้อที่ใช้ผสมเทียม จะเป็นน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ที่ผ่านการทดสอบแล้ว โดยมุ่งหวังว่าแม่โคเกษตรกรที่ได้รับการผสมเทียม จะตั้งท้อง คลอดลูก ให้กำเนิดลูกสัตว์พันธุ์ดี ซึ่งเป็นการเพิ่มผลผลิต เช่น จำนวนโค และน้ำนม ให้มีปริมาณมากขึ้น จนเกษตรกรสามารถจำหน่ายเป็นรายได้เลี้ยงครอบครัว ซึ่งเหตุที่ต้องใช้การผสมเทียมในการผสมพันธุ์แม่โคมนั้น เนื่องจากการผสมเทียม สามารถทำได้ในแทบทุกพื้นที่ของประเทศ มีน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์โคชั้นเยี่ยมให้เลือกใช้ได้หลากหลายเพื่อการปรับปรุงและพัฒนาสายพันธุ์ของแม่โค รวมถึงสามารถเลือกน้ำเชื้อที่เหมาะสมกับแม่พันธุ์ของเกษตรกรได้ โดยศึกษาจากสมุดพ่อพันธุ์โคนม (Sire Summary) ซึ่งเผยแพร่ในทุกๆ ปี นอกจากนี้ การผสมเทียมยังสามารถป้องกันโรคติดต่อที่เกิดจากการผสมพันธุ์ได้อีกด้วย แต่อย่างไรก็ตาม การผสมเทียมยังไม่สามารถกำหนดเพศของลูกโคที่จะเกิดมาได้ เช่น เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมต้องการให้ลูกที่เกิดมาเป็นเพศเมีย เพื่อเพิ่มจำนวนประชากรของฝูง แต่บางครั้งกลับได้ลูกโคเพศผู้ ซึ่งลูกโคเพศผู้แทบไม่เกิดประโยชน์กับเกษตรกรเลย หรือกรมปศุสัตว์ ต้องการลูกโคเพศผู้เพื่อนำมาคัดเลือกเป็นพ่อพันธุ์ทดแทนในอนาคต แต่กลับได้ลูกโคเพศเมีย ทำให้ขาดโคเพศผู้ที่จะเข้าทดสอบ เป็นต้น จึงเกิดแนวคิดที่จะกำหนดเพศของลูกโคให้ได้ตามความต้องการ โดยในช่วงแรกๆ ของแนวคิด จะใช้การสังเกตจากเวลาในการผสมเทียมว่าเร็วหรือช้าจะได้ลูกเพศใด หรือใช้ตำแหน่งปล่อยน้ำเชื้อว่าปล่อยตำแหน่งใดได้ลูกเพศใด หรือใช้การล้างช่องคลอดของแม่โคก่อนการผสมเทียม ด้วยสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรดหรือด่างอ่อนๆ แล้วสังเกตว่าล้างด้วยอะไรแล้วจะได้ลูกเพศใด แล้วเก็บเป็นข้อมูล ซึ่งทั้งหมดนี้ ไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร จึงเกิดแนวคิดใหม่ว่า ควรใช้การแยกเพศของอสุจิในการกำหนดเพศของลูกโคซึ่งน่าจะแม่นยำกว่า

ความรู้เดิมคือ ไข่ของแม่โคมีโครโมโซมเพศเป็น X ส่วนอสุจิในน้ำเชื้อพ่อโคที่ใช้ผสมเทียม บางตัวมีโครโมโซมเพศเป็น X หรือเรียกว่า มี X-chromosome DNA ในนิวเคลียส บางตัวมีโครโมโซมเพศเป็น Y หรือเรียกว่า มี Y-chromosome DNA ในนิวเคลียส การหลั่งน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์โคแต่ละครั้ง จะให้อสุจิ X และอสุจิ Y ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน คือ 50 ต่อ 50 ซึ่งหากอสุจิ X ได้ผสมกับไข่ ลูกที่เกิดจะเป็นเพศเมีย แต่หากอสุจิ Y ได้ผสมกับไข่ ลูกที่เกิดจะเป็นเพศผู้ ในสัดส่วนที่ใกล้เคียงกันในทำนองเดียวกัน คือ มีโอกาสจะได้ลูกเป็นเพศผู้หรือเพศเมีย 50 ต่อ 50 แต่หากสามารถแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ออกจากกัน แล้วเลือกใช้อสุจิ X หรืออสุจิ Y ไปผสมเทียมให้แม่โค ก็จะสามารถกำหนดเพศของลูกได้ตามอสุจิ X หรืออสุจิ Y ที่นำไปผสม ซึ่งในการเพิ่มประชากรของฝูงแม่โคนม

ของเกษตรกร ก็ต้องการอสุจิ X เพื่อจะได้ลูกเพศเมียในฟาร์ม แต่ในการสร้างพ่อพันธุ์โคทดแทนของกรมปศุสัตว์ ก็ต้องการอสุจิ Y เพื่อจะได้ลูกเพศผู้

นักวิชาการต่างๆ ทั้งสัตวแพทย์ สัตวบาล และนักวิทยาศาสตร์ในสายเกษตรทั้งหลาย ทั้งของกรมปศุสัตว์ และมหาวิทยาลัยต่างๆ จึงพยายามหาวิธีการที่จะทำการแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ออกจากกัน โดยเริ่มจากการหาความแตกต่างของอสุจิ X และ Y ในด้านต่างๆ ได้แก่ น้ำหนัก ขนาด การเคลื่อนที่ ลักษณะของ antigen บนพื้นผิวของอสุจิ ความแตกต่างของประจุไฟฟ้าบนพื้นผิวของอสุจิ DNA ที่เป็นองค์ประกอบของอสุจิ ฯลฯ จึงเกิดวิธีการที่จะคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y หลายๆ วิธี ตามความแตกต่างที่พบ แต่รายละเอียดในความแตกต่างของอสุจิ X และอสุจิ Y ด้านต่างๆ ที่กล่าวมา มีความแตกต่างน้อยมาก การคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y จึงมีความยุ่งยากซับซ้อนพอสมควร จำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือ และวิธีการที่แม่นยำ เชื่อถือได้ อีกทั้งสารเคมีและเครื่องมือที่จะแยกเพศของอสุจิจะต้องเหมาะสม และไม่มีผลกระทบต่อตัวอสุจิ ทั้งการมีชีวิตอยู่ของอสุจิ ความสามารถในการเจาะทะลุเปลือกไข่ การเข้าปฏิสนธิ และการพัฒนาเป็นตัวอ่อนหลังการปฏิสนธิ ทำให้วิธีการคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y เพื่อนำไปผสมเทียมให้แม่โคตั้งท้อง จนแม่โคคลอด และให้ลูกที่แข็งแรง ได้อย่างปกติ จึงยังเป็นวิธีการที่เรียกได้ว่ายากพอสมควร

จากที่ได้กล่าวมาแล้วว่า การคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y จะใช้ความแตกต่างของอสุจิ X และ Y ในด้านต่างๆ มาดำเนินการ ซึ่งพอจะจำแนกวิธีการคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ที่ได้ดำเนินการกันในปัจจุบัน โดยสังเขปได้ดังนี้

การคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยน้ำหนัก

มีความพยายามที่จะคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยน้ำหนัก โดยความรู้เดิมมีอยู่ว่า อสุจิ X จะมีน้ำหนักมากกว่าอสุจิ Y เล็กน้อย คือมีน้ำหนักต่างกันประมาณ 3.82 - 4.18% ดังนั้น ถ้านำอสุจิมาทำการปั่นเหวี่ยง อสุจิ X ควรจะตกตะกอนได้เร็วกว่าอสุจิ Y เนื่องจากมีน้ำหนักมากกว่า และในการปั่นเหวี่ยงหากผ่านสารละลายที่จัดให้มีชั้นความหนาแน่นต่างๆ กัน ก็จะทำให้การแยกอสุจิ X และอสุจิ Y มีความแม่นยำมากขึ้น ซึ่งเรียกวิธีการนำอสุจิไปปั่นเหวี่ยงนี้ว่า Density gradient centrifugation สารละลายที่ใช้ร่วมในการปั่นเหวี่ยงมีหลายชนิดในความเข้มข้นต่างๆ กัน เช่น สารละลายซูโครส สารละลาย Percoll ซึ่งปัจจุบัน นิยมใช้สารละลาย Percoll ที่ความเข้มข้น 90%, 60% และ 40% ปั่นที่ 200 G นาน 10 นาที Percoll เป็นสารละลายที่ไม่ทำอันตรายต่ออสุจิ ไม่ซึมผ่านเข้าไปในตัวอสุจิ Osmolarity ไม่เปลี่ยนแปลงในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน สารละลาย Percoll เป็นสารพวก Silicagel ที่มีขนาดเล็กมาก อยู่ในรูปของสารละลาย ซึ่งถูกเคลือบด้วยสาร Polyvinylpyrrolidone (PVP) และอยู่ในลักษณะของคอลลอยด์ เนื่องจากสารละลาย Percoll ไม่มีผลกระทบกับตัวอสุจิ จึงนิยมใช้สารละลาย Percoll เพื่อการคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยวิธีการ Density gradient centrifugation วิธีการนี้ มีรายงานว่าสามารถแยกความบริสุทธิ์ของอสุจิ X ได้ 60-70%

การคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยขนาด

มีความพยายามที่จะคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยขนาด โดยความรู้เดิมมีอยู่ว่า อสุจิ X จะมีขนาดใหญ่กว่าอสุจิ Y เล็กน้อย ถ้านำมาทำการกรองควรจะสามารถแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ได้ สิ่งที่ใช้ในการกรองได้แก่ Sephadex โดย Sephadex ได้เคยถูกทดลองใช้แยกตัวอสุจิที่ตายหรือผิดปกติออกจากอสุจิที่ปกติได้ในระดับหนึ่ง Sephadex มีลักษณะเป็นผง ทำมาจากอนุพันธ์ของ inert polysaccharide (dextran) เมื่อนำมาแช่ในของเหลวเป็นเวลาหลายๆ ชั่วโมง จะเกิดการพองตัวขึ้น 2-3 เท่า จนเป็นเม็ดเล็กๆ เหมือนลูกปัดหรือเม็ดเจล ผิวยาบ Sephadex มีหลายขนาดให้เลือกใช้ ตั้งแต่ Sephadex G10 ไปจนถึง Sephadex G200 เม็ดเจลขนาดเล็กจะใช้แยกได้ละเอียดกว่าเม็ดเจลขนาดใหญ่ เนื่องจากมีพื้นที่ผิวเจลต่อปริมาตรมากกว่า และที่สำคัญ Sephadex สามารถจับกับตัวอสุจิได้ จึงได้มีการทดลองแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ผ่านเม็ดเจล Sephadex ด้วยวิธีการที่เรียกว่า Sephadex column วิธีการนี้ ในไคยังไม่มีรายงานความสำเร็จ

การคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยการเคลื่อนที่

มีความพยายามที่จะคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยการเคลื่อนที่ โดยความรู้เดิมมีอยู่ว่า อสุจิ X มีปริมาณ DNA มากกว่าอสุจิ Y ทำให้อสุจิ X หนักกว่าและมีการเคลื่อนที่ช้ากว่าอสุจิ Y ที่เบากว่า และการเคลื่อนที่ของอสุจิในของเหลวหนึ่ง ทั้งอสุจิ X และอสุจิ Y จะเคลื่อนที่แบบคลื่น แต่หากเป็นของเหลวที่ไหล อสุจิ Y จะเคลื่อนที่ได้ตรงกว่าอสุจิ X จึงมีการทดลองแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยการเคลื่อนที่ ด้วยเทคนิคการใช้ albumin gradient ในสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าอสุจิ Y จะเคลื่อนที่ลงสู่ส่วนล่างของชั้น albumin และพบอสุจิ X ลอยอยู่ในชั้นบนของ albumin ซึ่งวิธีการนี้ ในไคยังไม่มีรายงานความสำเร็จ

การคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยความแตกต่างของแอนติเจน (antigen) ที่ผิวตัวอสุจิ

มีความพยายามที่จะคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยความแตกต่างของแอนติเจนที่ผิวตัวอสุจิ โดยพบว่าอสุจิ Y มี H-Y antigen บนผิวเซลล์มากกว่า และปริมาณ DNA น้อยกว่าอสุจิ X ซึ่งเชื่อว่าเป็นผลมาจาก Haploid expression ของโครโมโซม Y ซึ่งแอนติเจนเอช-วาย (Histocompatibility Y-chromosome, H-Y) นี้เป็นแอนติเจนที่จำเพาะกับโครโมโซมเพศผู้ ดังนั้นหากเราใช้ antibody ที่จำเพาะต่อ H-Y antigen และมีสารเรืองแสงติดอยู่ด้วย เราก็จะสามารถนับอสุจิที่ติดสารเรืองแสง ซึ่งเป็นอสุจิ Y ได้ โดยดูจากกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนส์ และหากต้องการแยกอสุจิ X อสุจิ Y ก็จำเป็นต้องใช้เทคนิคต่อต้าน H-Y antigen ให้ไปมีผลลดจำนวนของเซลล์ที่มี H-Y antigen ทำให้อสุจิที่เหลือเป็นอสุจิ X ในเปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้น วิธีการนี้ มีรายงานว่าสามารถแยกความบริสุทธิ์ของอสุจิ X ได้ 70-80%

การคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยความแตกต่างของประจุที่ผิวตัวอสุจิ

มีความพยายามที่จะคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยความแตกต่างของประจุที่ผิวตัวอสุจิ โดยพบว่า อสุจิ X ที่ผิวอสุจิจะมีประจุลบมากกว่าอสุจิ Y ซึ่งอาจจะเป็นผลของความแตกต่างของกรดนิรามินิก (nearaminic acid) ที่มีไกลโคโปรตีนอยู่บนผิวเซลล์อสุจิ X จึงใช้ความแตกต่างของประจุบนผิวอสุจินี้ นำมาแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยวิธี Electrophoresis ทำให้อสุจิ X ซึ่งผิวมีประจุลบวิ่งเข้าหาขั้วบวก ในขณะที่อสุจิ Y วิ่งเข้าหาขั้วลบ วิธีการนี้ วิธีการนี้ ยังไม่มีรายงานว่าสามารถแยกความบริสุทธิ์ของอสุจิ X ได้ แต่พบว่าอสุจิที่ผ่านกระบวนการนี้มักมีความผิดปกติในการเคลื่อนที่

การคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วย DNA

มีความพยายามที่จะคัดแยกอสุจิ X และอสุจิ Y ด้วยความแตกต่างของ DNA โดยความรู้เดิมมีอยู่ว่า อสุจิ X มีปริมาณ DNA มากกว่าอสุจิ Y ประมาณ 3-7% หรือ 4% โดยเฉลี่ย การจะแยกอสุจิทำได้ด้วยการย้อมสีอสุจิด้วยสี Hoeschst 33342 ซึ่งสีจะไม่ทำให้อสุจิตาย แต่จะทำให้อสุจิเรืองแสงสีฟ้าเมื่อกระทบกับแสงเลเซอร์ที่มีความยาวคลื่น 351 - 364 nm เนื่องจากอสุจิ X มี DNA มากกว่าอสุจิ Y เมื่อถูกแสงเลเซอร์ก็จะเกิดการเรืองแสงหรือมีความเข้มของสี (DNA - specific fluorochrome) มากกว่าอสุจิ Y หลังจากทำการย้อมสีอสุจิเรียบร้อยแล้วก็นำอสุจิเข้าสู่เครื่อง sorter หรือเครื่องคัดแยก เครื่องจะทำการบีบตัวอสุจิที่ถูกย้อมสีให้เรียงตัวผ่านแสงเลเซอร์ที่มีความยาวคลื่นตามที่กำหนดเพื่อให้เกิดการเรืองแสง และให้ผ่านสนามไฟฟ้า ซึ่งตัวอสุจิย้อมสีเมื่อผ่านแสงเลเซอร์จะเปล่งแสงฟลูออเรสเซนส์สีฟ้าออกมา อสุจิ X เนื่องจากมี DNA มากกว่าอสุจิ Y อสุจิ X ก็จะเรืองแสงสีฟ้าที่เข้มมากกว่าอสุจิ Y เราก็จะสามารถแยกเก็บอสุจิ X และอสุจิ Y ออกจากกันได้ ส่วนอสุจิที่สีไม่ชัดเจน หรือไม่มีประจุไฟฟ้ามักเป็นอสุจิที่ตายหรือเสียหายซึ่งจะถูกแยกออกเป็นของเสีย การแยกเพศวิธีนี้ มีความแม่นยำในการคัดแยกประมาณ 80-90% เครื่องมือที่ใช้ในการแยกอสุจิที่กล่าวมา มีชื่อว่าเครื่อง flow cytometer

flow cytometer เป็นวิธีการที่ได้รับการยอมรับ และมีความแม่นยำสูงที่สุดในการแยกเพศอสุจิโคในปัจจุบัน โดยในช่วงเริ่มต้นของเทคโนโลยีการแยกเพศอสุจิโคด้วยเครื่อง flow cytometer นั้น เทคโนโลยียังมีประสิทธิภาพในการแยกเพศอสุจิโคได้ไม่สูงมากนัก สามารถแยกเพศอสุจิต่อชั่วโมงได้น้อย จึงเป็นไปได้ยากที่จะผลิตน้ำเชื้อโคแยกเพศ ที่มีความเข้มข้นของอสุจิในหนึ่งหลอดให้เทียบเท่ากับน้ำเชื้อโคที่ใช้ผสมเทียมตามปกติที่ไม่ผ่านการแยกเพศ ซึ่งมีความเข้มข้นอยู่ที่ 20-30 ล้านตัวอสุจิในหนึ่งหลอด แต่ต่อมาเทคโนโลยีการแยกเพศอสุจิโคด้วย flow cytometer มีการพัฒนาให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้น จนสามารถผลิตอสุจิแยกเพศได้ 2 ล้านตัวต่อหลอดและพัฒนาต่อมาเป็น 4 ล้านตัวต่อหลอดในปัจจุบัน

บทสรุป

การใช้เทคโนโลยีการแยกเพศอสุจิ เริ่มขึ้นตั้งแต่ปลายปี พ.ศ. 2523 และประสบความสำเร็จในการให้กำเนิดลูกโคตัวแรกในปี พ.ศ. 2536 โดยตลอดระยะเวลาหลายสิบปีที่ผ่านมา ได้มีการประยุกต์ใช้น้ำเชื้อโคแยกเพศ

ในฟาร์มโคนมและฟาร์มโคเนื้อจำนวนมากทั่วโลก เนื่องจากเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมและโคเนื้อมีความต้องการที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการให้ผลผลิตของฟาร์มให้สูงขึ้น รวมทั้งจากหลักสวัสดิภาพสัตว์ในฟาร์มโคนม เกษตรกรจึงไม่ต้องการให้เกิดลูกโคเพศผู้ในฟาร์ม

ในกระบวนการแยกเพศอสุจิ จะมีการกระทำต่างๆ กับตัวอสุจิ ด้วยวิธีที่แตกต่างกัน ตามวิธีการแยกเพศ ซึ่งมักจะก่อให้เกิดความเสียหายต่อตัวอสุจิ รวมถึงระยะเวลาที่ใช้ในการแยกเพศที่ส่งผลกระทบต่อตัวอสุจิ โดยทำให้อสุจิโคที่ผ่านการแยกเพศ มีอัตราการเคลื่อนที่อสุจิ (motility) ระยะเวลามีชีวิต (longevity) ความสมบูรณ์ของอะโครโซม (acrosome) และเยื่อหุ้มอสุจิ (plasma membrane) ที่ลดลง และยังส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อไมโทคอนเดรียของตัวอสุจิที่เพิ่มมากขึ้นอีกด้วย นอกจากนี้ ยังส่งผลกระทบต่อการศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างอสุจิในท่อนำไข่ (sperm-oviduct interactions) อีกด้วย ทั้งนี้ ยังมีรายงานการผลิตตัวอ่อนโคด้วยวิธี IVP (in vitro embryo production) โดยใช้สเปิร์มแยกเพศ ซึ่งพบว่าได้ผลผลิตตัวอ่อนโคลดลง และยังพบว่ามีพัฒนาการของตัวอ่อนโคที่ผิดปกติอีกด้วย

ปัจจุบันจึงยังมีข้อถกเถียงถึงผลสำเร็จในการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแยกเพศ แม้ว่าวิธีการการแยกเพศอสุจิบางวิธี จะสามารถแยกอสุจิเพศเมียได้ในเปอร์เซ็นต์ที่สูงถึง 70-90% ก็ตาม โดยพบรายงานจำนวนมากที่ศึกษาผลของการใช้น้ำเชื้อโคแยกเพศในการผสมเทียมโคในภาคสนาม ที่พบว่า ทำให้อสุจิแยกเพศสูญเสียความสามารถในการเจาะไข่ (Oocytes) ระหว่างขั้นตอนการคัดแยกประมาณ 8.8% และเมื่อนำอสุจิที่ผ่านการแยกเพศไปผสมกับไข่ อัตราสมมติ (conception rate) ลดลงจาก 50% เหลือ 42% และพบว่าตัวอ่อนระยะตอนที่แบ่งตัวได้ถึงระยะ Blastocysts มีน้อยกว่า 16-18% จากปกติ 24-25% นอกจากนี้ มีรายงานการศึกษาทางวิชาการจำนวนมากตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542 จนถึงปี พ.ศ. 2564 ที่มีความเกี่ยวข้องกับผลของการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อโคแยกเพศ ซึ่งได้เก็บข้อมูลเกี่ยวกับอัตราการไม่กลับสัดหลังผสมเทียม ภายหลังวันที่ 24 หรือวันที่ 60 (non-return rates after 24 or 60 days) อัตราการตั้งท้อง (pregnancy rates) และอัตราการคลอด (calving rates) โดยทำการเปรียบเทียบกับการใช้น้ำเชื้อโคที่ไม่ผ่านการแยกเพศ (non-sorted semen) พบว่าอัตราการไม่กลับสัดภายหลังวันที่ 24 หรือวันที่ 60 จากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อโคแยกเพศลดลงอย่างมีนัยสำคัญจาก 70.7% ลงเหลือ 61.7% เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำเชื้อที่ไม่ผ่านการแยกเพศ และพบว่าการใช้น้ำเชื้อแยกเพศมีผลให้อัตราการตั้งท้องลดลงจาก 56.1% เหลือ 43.9% การเปรียบเทียบผลการผสมเทียมในกลุ่มโคสาวและกลุ่มโคนาง พบว่าการใช้น้ำเชื้อโคแยกเพศทำให้อัตราการตั้งท้องลดลงทั้งสองกลุ่ม โดยกลุ่มโคสาวเมื่อนำน้ำเชื้อโคแยกเพศมีอัตราการตั้งท้องลดลงจาก 60.2% เหลือ 48.8% และกลุ่มโคนางเมื่อนำน้ำเชื้อโคแยกเพศมีอัตราการตั้งท้องลดลงจาก 46.2% เหลือ 34.4% และในส่วนของการคลอดนั้น พบว่าอัตราการคลอดลดลงจาก 54.6% ลงเหลือ 41.3% เมื่อผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อโคแยกเพศ

แต่อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการใช้น้ำเชื้อโคแยกเพศจะมีผลกระทบด้านลบต่ออัตราการตั้งท้องและอัตราการคลอด รวมทั้งยังมีราคาที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำเชื้อที่ไม่ผ่านการแยกเพศ แต่การใช้น้ำเชื้อโคแยกเพศก็มีประโยชน์เป็นอย่างยิ่งต่อฟาร์มเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม โดยสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์กรรมของ

ฝูงโค เช่น การใช้น้ำเชื้อโคนมแยกเพศเมีย (female-sexed semen) ทำการผสมเทียมกับโคสาวและโคนางที่มีพันธุกรรมชั้นเลิศ (genetically superior heifer and cow) ในฝูงโคนม เพื่อสร้างลูกโคสาวพันธุกรรมดีให้เพิ่มมากขึ้นในฝูง ซึ่งจะเป็นการเพิ่มโอกาสที่จะใช้ในการคัดเลือกโคสาวพันธุกรรมดี เพื่อจะใช้สำหรับเป็นแม่พันธุ์ทดแทนที่เพิ่มมากขึ้น โดยเป็นการเพิ่มความเข้มข้นของการคัดเลือก (selection intensity) ของฝูงโค ซึ่งช่วยเพิ่มความก้าวหน้าทางพันธุกรรม (genetic progress) ของฝูงโคให้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ ยังสามารถใช้น้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ชั้นเลิศของโคนม นำมาแยกเป็นน้ำเชื้อเพศผู้ (male-sexed semen) ในการผสมเทียมกับแม่โคนมที่มีพันธุกรรมที่ดี เพื่อนำมาทดสอบและสร้างเป็นพ่อพันธุ์โคทดแทนในรุ่นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Avery, B., and Schmidt, M. (1989). Sex determination of bovine embryos using HY antibodies. *Acta veterinaria Scandinavica*. 30(2),155.
- Cartwright, E.J., Harrington, P.M., Cowin, A., and Sharpe, P.T. (1993). Separation of bovine X and Y sperm based on surface differences. *Molecular Reproduction and Development*. 34, 323-328.
- Cran, D.G., L.A. Johnson, N.G. Miller, D. Cochrane and C. Polge. 1993. Production of bovine calves following separation of X- and Y-chromosome bearing sperm and in vitro fertilisation. *Vet. Rec.* 132:40–41.
- Garner, D.L. 1983. Quantification of the X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry. *Biol Reprod*. 28:312–321.
- Garner, D.L. and G.E. Seidel. 2008. History of commercializing sexed semen for cattle. *Theriogenology* 69:886–895.
- González, M.C. 2018. In vitro sperm quality and DNA integrity of SexedULTRATM sex-sorted sperm compared to non-sorted bovine sperm. *Theriogenology*. 114:40–45.
- Holden, S.A. and S.T. Butler. 2018. Review: Applications and benefits of sexed semen in dairy and beef herds. *Animal*. 12:97–103.
- Hossepian, V.F.M., M.F.D.T. Ramalho, B.C.A. Alves, A.C. Lucio, L.Z. Oliveira, A.C. Filho and L.C. Carneiro. 2015. Enrichment of bovine semen with x-bearing spermatozoa using Percoll™ and Optiprep® discontinuous gradients. *Animal and Veterinary Sciences* 3(1):1-7.

- Johnson, L.A., J.P. Flook and M.V. Look. 1987. Flow-Cytometry of X-Chromosome-Bearing and Y-Chromosome-Bearing Sperm for DNA Using an Improved Preparation Method and Staining with Hoechst-33342. *Gamete Res.* 17:203–212.
- Johnson, L.A. 1992. Gender preselection in domestic animals using flow cytometrically sorted sperm. *J. Anim. Sci.* 70:8–18.
- Johnson, L.A., G.R. Welch and W. Rens. 1999. The Beltsville sperm sexing technology: high-speed sperm sorting gives improved sperm output for in vitro fertilization and AI. *J. Anim. Sci.* 77(2):213–220.
- Maicas, C. 2019. Fertility of frozen sex-sorted sperm at 4×10^6 sperm per dose in lactating dairy cows in seasonal-calving pasture-based herds. *J. Dairy Sci.* 103:929–939.
- Pellegrino, C.A.G. 2016. Use of sexed sorted semen for fixed-time artificial insemination or fixed-time embryo transfer of in vitro-produced embryos in cattle. *Theriogenology.* 86:888–893.
- Peter, A.T., Jones, P.P., and Robinson, J.P. (1993). Fractionation of bovine spermatozoa for sex selection: A rapid immunomagnetic technique to remove spermatozoa that contain the HY antigen. *Theriogenology.* 40(6), 1177-1185.
- Pinkel, D.L.S., B.L. Gledhill, M.A. Van Dilla, D. Stephenson and G. Watchmaker. 1982. High resolution DNA content measurements of mammalian sperm. *Cytometry.* 3:1–9.
- Phanuwit, P., S. Apinya, T. Marninphan, S. Anucha, L. Chompunut, P. Wiwat, H. Surat and S. Korawan. 2024. Sperm quality variables of sex-sorted bull semen produced by magnetic-activated cell sorting coupled with recombinant antibodies targeting Y-chromosome-bearing sperm. *Theriogenology.*
- Pontes, J.H.F. 2010. Large-scale in vitro embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm. *Theriogenology.* 74:1349–1355.
- Quelhas, J., J. Santiago, B. Matos, A. Rocha, G. Lopes and M. Fardilha. 2021. Bovine semen sexing: Sperm membrane proteomics as candidates for immunological selection of X- and Y-chromosome-bearing sperm. *Vet Med Sci.* 7(5):1633-1641.
- Reese, S., M.C. Pirez, H. Steele and S. Kolle. 2021. The reproductive success of bovine sperm after sex-sorting: a meta-analysis. *Sci Rep.* 11.

Seidel, G.E., C.H. Allen, L.A. Johnson, M.D. Holland, Z. Brink, G.R. Welch, J.K. Graham and M.B. Cattell, 1997. Uterine horn insemination of heifers with very low numbers of nonfrozen and sexed spermatozoa, *Theriogenology*. 48(8):1255-1264

Steele, H., D. Makri, W.E. Maalouf, S. Reese and S. Kolle. 2020. Bovine sperm sexing alters sperm morpho kinetics and subsequent early embryonic development. *Sci. Rep.* 10:62.

Thomas, J.M. 2019. Evaluation of Sexed-ULTRA 4M (TM) sex-sorted semen in timed artificial insemination programs for mature beef cows. *Theriogenology*. 123:100–107.

Zabel, F., B. Putzenlechner and W. Mauser. 2014. Global agricultural land resources—A high resolution suitability evaluation and its perspectives until 2100 under climate change conditions. *Plos one*. 9:11-14.