การศึกษาเปรียบเทียบจำนวนตัวอสุจิในปีกมดลูกและท่อนำไข่ของสุกรสาวในชั่วโมงที่ 3 และ 12 ภายหลังการผสมเทียม โดยแบ่งและไม่แบ่งส่วนน้ำเชื้อเจือจาง

กฤษทศักดิ์ แสงกาศนีย์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ภาควิชา สูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์
คณะ สัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2543

ISBN 974-347-052-2

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A COMPARATIVE STUDY ON THE NUMBER OF RECOVERED SPERMATOZOA IN GILT UTERINE HORNS AND OVIDUCTS 3 AND 12 HOURS AFTER ARTIFICIAL INSEMINATION OF FRACTIONATED AND NOT FRACTIONATED LIQUID STORED-SEMEN

Mr. Kridtasak Sang-gasanee

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Theriogenology
Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction
Faculty of Veterinary Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2000

ISBN 974-347-052-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเปรียบเทียบจำนวนตัวอสุจิในปีกมดลูกและท่อนำไข่ของสุกรสาวในชั่วโมงที่ 3 และ 12 ภายหลังการผสมเทียมโดยแบ่งและไม่แบ่งส่วนน้ำเชื้อเจือจาง
โดย	นาย กฤษทศักดิ์ แสงกาศนีย์
สาขาวิชา	วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ศ.น.สพ.ดร.อรรณพ คุณาวงษ์กฤต
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.น.สพ.ดร.มงคล เตชะกำพุ

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศ.น.สพ.ดร.ณรงค์ศักดิ์ ชัยบุตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ศ.น.สพ.พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป)

.....อาจารย์ที่ปรึกษา
(ศ.น.สพ.ดร.อรรณพ คุณาวงษ์กฤต)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รศ.น.สพ.ดร.มงคล เตชะกำพุ)

.....กรรมการ
(รศ.น.สพ.ดร.ชัยณรงค์ โลหะชิต)

.....กรรมการ
(รศ.สพ.ญ.ดร.สุมลยา กาญจนะพังคะ)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กฤษทศักดิ์ แสงกาศนีย์ : การศึกษาเปรียบเทียบจำนวนตัวอสุจิในปีกมดลูกและท่อนำไข่ของสุกรสาวใน ชั่วโมงที่ 3 และ 12 ภายหลังการผสมเทียมโดยแบ่งและไม่แบ่งส่วนน้ำเชื้อเจือจาง (A COMPARATIVE STUDY ON THE NUMBER OF RECOVERED SPERMATOZOA IN GILT UTERINE HORNS AND OVIDUCTS 3 AND 12 HOURS AFTER ARTIFICIAL INSEMINATION OF FRACTIONATED AND NOT FRACTIONATED LIQUID STORED-SEMEN) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศ. น.สพ. ดร. อรรณพ คุณาวงษ์กฤต, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ. น.สพ. ดร. มงคล เตชะกำพุ, 52 หน้า. ISBN 974-347-052-2

การศึกษาครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาเปรียบเทียบจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับและปริมาณตัวอสุจิในปีกมดลูกและท่อนำไข่ของสุกรสาวในการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อเจือจางและตามด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อ และการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อเจือจางเพียงอย่างเดียว ซึ่งใช้สุกรสาวสามสายพันธุ์ทั้งสิ้น 30 ตัวแบ่งเป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1ทำการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อเจือจางที่มีตัวอสุจิทั้งหมด 3×10^9 ตัว/100 มิลลิลิตรเพียงอย่างเดียว กลุ่มที่ 2 ทำการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อเจือจางที่มีตัวอสุจิทั้งหมด 3×10^9 ตัว/50 มิลลิลิตรและตามด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อ 50 มิลลิลิตรและในกลุ่มที่ 3 ทำการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อเจือจางที่มีตัวอสุจิ ทั้งหมด 1.5×10^9 ตัว/50 มิลลิลิตรและตามด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อ 50 มิลลิลิตร ในแต่ละกลุ่มจะทำการผ่าตัดเพื่อนำเอามดลูก ปีกมดลูก ท่อนำไข่ และ รังไข่ของสุกรทดลองภายหลังทำการผสมเทียม 3 ชั่วโมงจำนวน 5 ตัวและ 12 ชั่วโมง จำนวน 5 ตัวเพื่อชะล้างเอาตัวอสุจิมานับจากส่วนต่าง ๆ ผลการศึกษาค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 3 ชั่วโมง พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเฉพาะในส่วนต้นของ Isthmus โดยกลุ่มที่ 1 มีจำนวนตัวอสุจิมากกว่ากลุ่มที่ 3 (223.9 ± 22.4 และ 1.0 ± 1.0; $p<0.05$) แต่กลุ่มที่ 2 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 1 และ 3 ($p>0.05$) และในส่วน Ampulla, ส่วนปลายของ Isthmus, ส่วน Utero-tubal junction (UTJ) และในส่วนต้นและปลายของปีกมดลูกพบว่าไม่พบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดทั้ง 3 กลุ่ม ($p>0.05$) ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมง ไม่พบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในส่วนของปีกมดลูกและท่อนำไข่ทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง ($p>0.05$) จากการศึกษานี้สามารถสรุปได้ว่าวิธีการผสมเทียมกลุ่มที่ 1 ไม่มีความแตกต่างกับวิธีผสมเทียมในกลุ่มที่ 2 และพบว่าจำนวนตัวอสุจิในท่อนำไข่ในกลุ่มที่ 1 มากกว่ากลุ่มที่ 2 อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนจำนวนตัวอสุจิในท่อนำไข่ในกลุ่มที่ 2 มีจำนวนมากกว่าในกลุ่มที่ 3 เนื่องจากการลดจำนวนตัวอสุจิที่ใช้ในการผสมในกลุ่มที่ 3 อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา สูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ ลายมือชื่อนิสิต.....
สาขาวิชา วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา 2543 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4175552731 : MAJOR THERIOGENOLOGY

KEY WORD: GILT / ARTIFICIAL INSEMINATION / SPERMATOZOA / DILUENT / LIQUID STORED-SEMENKRIDTASAK SANG-GASANEE : A COMPARATIVE STUDY ON THE NUMBER OF RECOVERED SPERMATOZOA IN GILT UTERINE HORNS AND OVIDUCTS 3 AND 12 HOURS AFTER ARTIFICIAL INSEMINATION OF FRACTIONATED AND NOT FRACTIONATED LIQUID STORED-SEMEN. THESIS ADVISOR : PROF. ANNOP KUNAVONGKRIT, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR : ASSO. PROF. MONGKOL TECHAKUMPHU, Ph.D., 52 pp. ISBN 974-347-052-2

The objective of the study was to compare the back flow of spermatozoa with the number of spermatozoa in the uterine horns and oviducts of gilts using artificial insemination (A.I.) with liquid stored-semen and liquid stored-semen followed by diluent. Thirty, healthy gilts were allocated into 3 groups, group 1 gilts were inseminated with liquid stored-semen, 3×10^9 spermatozoa/100 cc., group 2 gilts were inseminated with liquid stored-semen, 3×10^9 spermatozoa/50 cc., followed by 50 cc. of diluent, and group 3, gilts were inseminated with liquid stored-semen, with a total spermatozoa count of 1.5×10^9 spermatozoa/50 cc., followed by 50 cc. of diluent. The gilts were anesthetized for laparotomy, either 3 or 12 hours after A.I. Five of the gilts from each group were anesthetized for laparotomy at 3 hours after A.I. Nine hours later, or twelve hours after A.I., another five gilts from each group underwent the same procedure. Only in one segment of cranial isthmus was the mean count of spermatozoa number, 3 hours after A.I., significantly higher in group 1 compared to group 3 (223.9 ± 22.4 and 1.0 ± 1.0; $p<0.05$), but there was no significant difference between group 2 and group 3. The mean of spermatozoa count in the segment of cranial and caudal uterine horns, ampulla, caudal isthmus and utero-tubal junction (UTJ) were not significantly different ($p>0.05$) in the three groups, three hours after A.I. For all segments, the mean of spermatozoa number, 12 hours after A.I., were not significantly different ($p>0.05$) between the three groups. The conclusion of this study was that A.I. method was not different in group 1 compared with group 2 and spermatozoa number in oviduct in group 1 was higher than group 2 ($p>0.05$). The spermatozoa number in oviduct in group 3 was fewer than group 2 ($p>0.05$) because the inseminated spermatozoa in group 3 was reduce.

Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction
Field of study Theriogenology
Academic year 2000

Student's signature……
Advisor's signature……
Co-advisor's signature……..

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะสำเร็จลุล่วงไปไม่ได้หากไม่ได้รับความกรุณา ช่วยเหลือและให้คำแนะนำ ในด้านต่าง ๆ เป็นอย่างดียิ่งจากศาตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. อรรณพ คุณาวงษ์กฤต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และรองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. มงคล เตชะกำพุ อาจารย์ที่ปรึกษา วิทยานิพนธ์ร่วม Professor Stig Einarsson (Swedish University of Agriculture Science) ที่ให้ คำแนะนำและปรับปรุงแผนการวิจัยของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมทั้ง อ.น.สพ.ดร. วิชัย ทันตศุภารักษ์ ที่ให้ ข้อแนะนำด้านสถิติและและตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ

กราบขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่กรุณาสละเวลาและให้คำแนะนำต่าง ๆ ซึ่งทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีคุณค่าและมีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณ น.สพ. ชัยณรงค์ ภูมิรัตนประพิณ ที่ให้ความช่วยเหลือในการผ่าตัดสุกรที่ใช้ในงานวิจัย ตลอดจนนายสัตวแพทย์และเจ้าหน้าที่โรงพยาบาลปศุสัตว์ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ภาควิชา สูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยเฉพาะ คุณวันเพ็ญ อดุลยานุภาพ คุณพยอม ร่มโพธิ์ดี และคุณบุญส่ง ร่มโพธิ์ดี ที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ บริษัท ฟิลลิปส์ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนในการทำการวิจัยบางส่วน ท่อผสมเทียม (Golden pig®) และน้ำยาละลายน้ำเชื้อ (BTS) บริษัท อกริไทย แอนด์ คอนซัลแทนต์ จำกัด และบัณฑิตวิทยาลัยที่ให้การสนับสนุนเงินทุนอุดหนุนงานวิจัยบางส่วนด้วยเช่นกัน

ขอขอบพระคุณคงศักดิ์ แสงกาศนีย์, คุณธนาวุธ แสงกาศนีย์, คุณสุดานันท์ แสงกาศนีย์และคุณยาใจ สิงห์มณีฉาย ที่ให้กำลังใจและให้คำปรึกษาต่าง ๆ รวมทั้งให้คำปรึกษาในด้านการทดสอบทางสถิติ และท้ายที่สุดนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านแก่ผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฌ

สารบัญภาพ..... ฎ

บทที่

1. บทนำ..... 1

2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3

3. วัสดุและวิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุและเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย..... 9

สถานที่ทำการศึกษา..... 9

สัตว์ทดลอง..... 9

ตัวอย่างและการแบ่งกลุ่มตัวอย่าง..... 9

ระยะเวลาในการวิจัย..... 10

วิธีดำเนินการวิจัย..... 10

การวิเคราะห์ข้อมูล..... 14

4. ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ระยะเวลาวงรอบการเป็นสัด จำนวนฟอลลิเคิลและจำนวนคอร์โปร่า ลูเทีย 15

ปริมาตรน้ำเชื้อและจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 17

จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในระบบสืบพันธุ์สุกร..... 21

5. สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

ระยะเวลาวงรอบการเป็นสัด จำนวนฟอลลิเคิลและจำนวนคอร์โปร่า ลูเทีย 25

ปริมาตรน้ำเชื้อและจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 26

จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในระบบสืบพันธุ์สุกร..... 28

ข้อเสนอแนะ..... 31

สารบัญ (ต่อ)

รายการอ้างอิง..... 32

ภาคผนวก

ก. วัสดุและเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย..... 39

ข. การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ..... 45

ค. การคำนวณการเจือจางน้ำเชื้อสดเป็นน้ำเชื้อเจือจาง..... 48

ง. สารเคมีและวิธีการเตรียมสีย้อม..... 50

ประวัติผู้เขียน..... 52

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของระยะการเป็นสัดครั้งแรก (oestrus) ระยะเวลาระหว่างการเป็นสัด (IOI) ระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งที่ 2 (proestrus) ระยะเริ่มการเป็นสัดครั้งที่สองจนกระทั่งผสมเทียม (OI) จำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมด (follicle) จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมด (CL) จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมดในรอบการเป็นสัดที่แล้ว (old CL) ในสุกรที่ทำการผ่าตัดหลังการผสม 3 ชั่วโมง.....	16
2	แสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของระยะการเป็นสัดครั้งแรก (oestrus) ระยะเวลาระหว่างการเป็นสัด (IOI) ระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งที่ 2 (proestrus) ระยะเริ่มการเป็นสัดครั้งที่สองจนกระทั่งผสมเทียม (OI) จำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมด (follicle) จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมด (CL) จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมดในรอบการเป็นสัดที่แล้ว (old CL) ในสุกรที่ทำการผ่าตัดหลังการผสม 12 ชั่วโมง.....	16
3	แสดงค่าเฉลี่ยเรขาคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในกลุ่มที่มีการตกไข่และไม่ตกไข่ภายหลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมง.....	16
4	แสดงจำนวนสุกรและเปอร์เซ็นต์สุกรที่มีน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับในช่วงเวลาต่าง ๆ	17
5	แสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของปริมาตร (มิลลิลิตร) น้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ (backflow).....	18
6	แสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของปริมาตร (มิลลิลิตร) น้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับสะสม (backflow).....	19
7	แสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับ (backflow).....	20
8	แสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับสะสม (backflow).....	20
9	แสดงค่าเฉลี่ยเรขาคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 3 ชั่วโมง.....	21

สารบัญตาราง (ต่อ)

10 แสดงค่าเฉลี่ยเรขาคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมง..... 22

11 แสดงค่าเฉลี่ยเรขาคณิตและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\bar{X} \pm$ S.D.) และค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่า% $\pm$ S.D.) ในส่วน ampulla ถึงส่วน UTJ ที่เวลา 3 และ 12 ชั่วโมงหลังการผสมเทียม..... 23

12 แสดงผลคะแนนลอกาลิทึ่มตัวอสุจิทั้งหมดและคะแนนสัดส่วนตัวอสุจิทั้งหมดในกลุ่มที่ 1, 2 และกลุ่มที่ 3..... 24

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1 แสดงส่วนต่าง ๆ ของปีกมดลูกที่แบ่งเป็นส่วนคือ 1.ส่วน ampulla, 2.ส่วนต้นของ isthmus, 3.ส่วนปลายของ isthmus, 4.ส่วน UTJ, 5.ส่วนต้นของปีกมดลูก 6. ส่วนปลายของปีกมดลูก..... 13

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1
บทนำ

การเลี้ยงสุกรในประเทศไทยปัจจุบันได้มีการนำเอาวิทยาการต่าง ๆ เข้ามาช่วยในการเลี้ยงและการผลิตในด้านต่าง ๆ เพื่อให้ได้เนื้อสุกรที่มีคุณภาพที่ดีและปริมาณมาก ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญคือสายพันธุ์สุกร ซึ่งการพัฒนาสายพันธุ์ให้เร็วนั้นจำเป็นจะต้องคัดเลือกพ่อสุกรที่มีลักษณะเด่นเพื่อเป็นพ่อพันธุ์ ถ้าฟาร์มที่มีการผสมพันธุ์โดยวิธีธรรมชาติจะมีผลทำให้มีการกระจายพันธุกรรมของพ่อสุกรได้ช้ากว่าฟาร์มที่ใช้การผสมเทียมเพราะการผสมเทียมสามารถแพร่พันธุ์ได้มากกว่าการผสมแบบธรรมชาติถึง 10 เท่า (อรรณพ คุณาวงษ์กฤต, 2537) มีการนำเอาวิธีการผสมเทียมมาทดแทนการผสมแบบธรรมชาติกันอย่างแพร่ลายมากขึ้น ข้อดีคือสามารถลดจำนวนพ่อพันธุ์ได้ไม่น้อยกว่าครึ่งหนึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการผสมแบบธรรมชาติทำให้ลดค่าใช้จ่ายด้านอาหารและลดคอกพ่อสุกรลงทำให้สามารถเพิ่มคอกแม่สุกรได้มากขึ้น สามารถเลือกใช้พ่อพันธุ์ที่มีคุณภาพน้ำเชื้อและพันธุกรรมที่ดีทำให้มีการกระจายพันธุกรรมที่ดีและเกิดการปรับปรุงพันธุ์ได้รวดเร็วขึ้น อีกทั้งสามารถลดขั้นตอนและเวลาในการผสมแบบธรรมชาติ สามารถใช้ประโยชน์พ่อพันธุ์ได้สูงสุดนั่นคือการเก็บน้ำเชื้อในแต่ละครั้งสามารถใช้ผสมแม่สุกรได้หลายตัว ไม่มีปัญหาเรื่องน้ำหนักและขนาดของพ่อสุกรที่มีผลต่อแม่สุกร นอกจากนี้ยังพบอีกว่าสามารถลดความเครียดในฝูงแม่สุกรที่จะทำการผสมแบบธรรมชาติลงได้โดยเฉพาะในฤดูร้อน ลดความเสี่ยงในการติดโรคทางระบบสืบพันธุ์และสามารถลดจำนวนคนงานในส่วนของการผสมพันธุ์ (Tubb, 1995)

จากข้อดีดังกล่าวข้างต้นทำให้มีการพัฒนาอุปกรณ์ ตลอดจนวิธีการในการผสมเทียมเพื่อให้มีการใช้งานที่สะดวกและมีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแล้ว คุณภาพน้ำเชื้อก็เป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่มีผลต่อประสิทธิภาพการผสมเทียมอีกด้วย ในประเทศไทยพบว่าการเจือจางน้ำเชื้อสดเป็นน้ำเชื้อเจือจางนั้นมักไม่ค่อยได้มาตราฐานและมีจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด/โด๊สมากกว่าปกติ (ศรีสุวรรณ ชมชัย, 2541) ทำให้การใช้น้ำเชื้อไม่คุ้มค่า อีกทั้งการผสมเทียมในฟาร์ม ผู้ผสมเทียมต้องผสมสุกรเป็นจำนวนมากทำให้ใช้เวลาในการผสมเทียมแต่ละตัวน้อยเกินไปหรือรีบเร่งในการผสมเทียมสุกรมากเกินไปนั่นเอง มีผลทำให้เกิดน้ำเชื้อไหลย้อนกลับในระหว่างการผสม ซึ่งมีผลต่ออัตราการผสมติดถ้าใช้ปริมาณตัวอสุจิที่น้อย (Steverink et al., 1998) นอกจากนี้แล้วภายหลังการผสมเทียมชั่วโมงแรกจะพบว่ามีการสูญเสียจำนวนตัวอสุจิไปกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (Baker et al., 1968) และทำให้พบจำนวนตัวอสุจิในระบบสืบพันธุ์สุกรเพียง 5 – 10 เปอร์เซ็นต์ภายหลังการผสมเทียม 1 – 2 ชั่วโมงเท่านั้น (First et al., 1968; Pursel et al., 1978; Viring, 1980) นอกจากนี้มีการรายงานจากประเทศยูเครนว่ามีการผสมเทียมซึ่งใช้เทคนิคเลียนแบบการหลั่งน้ำเชื้อพ่อสุกรโดยฉีดน้ำเชื้อเจือจางส่วนที่มีตัวอสุจิเข้าไปในมดลูกแม่

สุกรก่อนแล้วจึงตามด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อ ซึ่งจะสามารถลดการสูญเสียน้ำเชื้อเจือจางในการผสมพันธุ์ (Kovalenko, 1998)

จากแนวคิดดังกล่าวเชื่อว่าเทคนิคข้างต้นจะสามารถลดปริมาณน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับรวมทั้งจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม ทำให้มีปริมาณตัวอสุจิอยู่ในระบบสืบพันธุ์สุกรมากขึ้น ซึ่งจะสามารถลดจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่จะใช้ในการผสมเทียมต่อแม่ลง เป็นการใช้น้ำเชื้อสุกรได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

ดังนั้นการทำวิจัยครั้งนี้เพื่อพิสูจน์ว่าเทคนิคการผสมเทียมแยกส่วนโดยใช้น้ำเชื้อเจือจางแล้วจึงตามด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อน่าจะช่วยลดปริมาณตัวอสุจิที่จะไหลย้อนกลับออกมา และสามารถลดปริมาณการใช้จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในแต่ละครั้งของการผสมเทียม มีผลให้สามารถลดจำนวนพ่อสุกรรวมทั้งค่าใช้จ่ายอื่น ๆ อีกเป็นจำนวนมาก อีกทั้งทำให้สามารถเลือกวิธีการผสมเทียมให้มีความเหมาะสมและมีประสิทธิภาพมากขึ้น

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการผสมเทียมแยกส่วนโดยใช้น้ำเชื้อเจือจางและตามด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อ รวมทั้งศึกษาจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับและจำนวนตัวอสุจิในปีกมดลูกและท่อนำไข่ของสุกรสาวในการผสมเทียมที่ใช้น้ำเชื้อเจือจางและตามด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อและการผสมเทียมที่ใช้น้ำเชื้อเจือจางเพียงอย่างเดียว

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตสุกรในประเทศไทยมีการพัฒนาการเลี้ยงและการผลิตเป็นลำดับ มีการนำเทคโนโลยีทางวิทยาการสืบพันธุ์ที่นิยมมากคือการผสมเทียมมาใช้ในส่วนการผลิตสุกร เพื่อช่วยในการแพร่กระจายพ่อพันธุ์ที่ดี เพิ่มปริมาณและคุณภาพของซากสุกร ลดการแพร่โรคทางการ สืบพันธุ์ รวมทั้งช่วยลดต้นทุนการผลิตอีกด้วย มีรายงานการพัฒนาวิธีการสำหรับการเก็บน้ำเชื้อจากพ่อสุกรและวิธีการผสมเทียมในช่วงกลางทศวรรษที่ 1950 (Aamdal and Hogset, 1957; Glossop, 1990) ส่วนการผสมเทียมในประเทศไทยได้เริ่มมีการพัฒนาใช้เมื่อปี พ.ศ. 2504 (อรรณพ คุณาวงษ์กฤต, 2540) และมีการพัฒนาวิธีการเก็บน้ำเชื้อจากพ่อสุกร วิธีการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ วิธีการเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อรวมทั้งวิธีการผสมเทียมเป็นลำดับ จนกระทั่งในปัจจุบันผู้เลี้ยงสุกรได้หันมาสนใจใช้วิธีการผสมเทียมมากขึ้นทั้งในฟาร์มสุกรเพื่อผลิตสุกรพันธุ์และเพื่อผลิตสุกรขุน มีรายงานการวิจัยของ Flowers และ Alhusen (1992) ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการผสมเทียม การผสมพันธุ์แบบธรรมชาติและการผสมพันธุ์แบบธรรมชาติร่วมกับการผสมเทียมพบว่าการผสมพันธุ์แบบธรรมชาติ 2 ครั้งทั้งในสุกรสาวและแม่สุกรมีอัตราเข้าคลอด ขนาดของครอกและจำนวนลูกเกิดมีชีวิตมากกว่าการผสมพันธุ์แบบธรรมชาติเพียงครั้งเดียว นอกจากนี้การใช้การผสมเทียมภายหลังการผสมแบบธรรมชาติหรือการผสมเทียมทั้งสองครั้งก็จะให้อัตราเข้าคลอด ขนาดของครอกและจำนวนลูกเกิดมีชีวิตที่มากกว่าการผสมแบบธรรมชาติเพียงครั้งเดียว ซึ่งผลการวิจัยคล้ายคลึงกับของ Hooper และ Green (1990) และ Crabo และ Dial (1992) นอกจากนี้ในการผสมเทียมให้ได้ผลที่ดีนั้นต้องคำนึงตั้งแต่การเก็บน้ำเชื้อจากพ่อสุกรจนกระทั่งขั้นตอนการผสมเทียม ซึ่งขั้นตอนการเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อนั้นเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญมากขั้นตอนหนึ่งก่อนทำการผสมเทียม เพราะหากทำการเก็บรักษาคุณภาพของน้ำเชื้อไม่ดีจะมีผลต่อการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิและความคงทนของอะโครโซม เป็นต้น ซึ่งมีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของตัวอสุจิและมีผลต่อการผสมติดอีกด้วย

การเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อสามารถแบ่งได้ 2 ประเภทคือ การเก็บรักษาแบบน้ำเชื้อแช่แข็ง (freezing method) และการเก็บรักษาแบบน้ำเชื้อเจือจาง (liquid stored-semen) ซึ่งการเก็บน้ำเชื้อแบบวิธีหลังเป็นวิธีที่นิยมในประเทศไทยและมีการนำไปใช้อย่างกว้างขวาง ในขณะที่วิธีแช่แข็งให้ผลที่ไม่น่าพอใจและไม่มีการใช้อย่างกว้างขวาง

น้ำยาละลายน้ำเชื้อสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ

1. น้ำยาละลายน้ำเชื้อที่เก็บได้ระยะสั้น (1 – 3 วัน) ได้แก่ Beltsville thawing solution (BTS), Kiev เป็นต้น (Johnson, 1998)

2. น้ำยาละลายน้ำเชื้อที่เก็บได้ระยะยาว (3 – 5 วัน) ได้แก่ Androhep, Modena, MR-A เป็นต้น (Johnson, 1998)

ในปัจจุบันน้ำยาละลายน้ำเชื้อที่มีใช้กันมากได้แก่ BTS, Androhep, MR-A, Modena, Kiev (ซึ่งอาจมีชื่อเรียกแตกต่างกันเช่น Merck I, Merck III, Sperm-aid) ภายหลังการเจือจางน้ำเชื้อ จะทำการบรรจุน้ำเชื้อเจือจางลงในภาชนะซึ่งปัจจุบันมีการพัฒนาเป็นอย่างมากได้แก่ ขวดพลาสติก หลอด maxi-straw หรือในถุงพลาสติก (cochette) เป็นต้น จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 15 – 20 องศาเซลเซียสซึ่งจะทำการใช้ภายในเวลาไม่เกิน 3 วัน โดยเฉพาะในน้ำยาละลายน้ำเชื้อที่เก็บได้ระยะสั้น มีรายงานว่าหากใช้ภายใน 3 วันแรกที่ทำการเจือจางจะไม่มีผลต่ออัตราการผสมติดและยังพบอีกว่ามีอัตราการผสมติด 83 $\pm$ 3 เปอร์เซ็นต์ ขนาดของครอกเฉลี่ย 10 – 11 ตัว/ครอก (Althouse, 1997; Johnson, 1998)

ในการเจือจางน้ำเชื้อด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อจนกระทั่งได้น้ำเชื้อเจือจางซึ่งมีการรายงานว่าควรมีความเข้มข้นของตัวอสุจิที่เคลื่อนไหวได้ทั้งหมด (total active sperm) 2.5 – 3 x 10^9 ตัว/80 – 100 มิลลิลิตร ต่อโด๊ส (dose) (Tubbs, 1995) และมีการรายงานของ Johnson (1998) แนะนำว่าความเข้มข้นของตัวอสุจิทั้งหมดต่อโด๊สควรมีประมาณ 3 x 10^9 ตัว/80 – 100 มิลลิลิตร ต่อโด๊สและ Hofmo และ Blichfeldt (1990) รายงานว่าทำการเจือจางน้ำเชื้อโดยใช้ BTS ที่มีความเข้มข้นตัวอสุจิทั้งหมด 2 x 10^9 ตัว/100 มิลลิลิตรเมื่อนำไปใช้ผสมเปรียบเทียบกับการทำการเจือจางน้ำเชื้อโดยใช้ BTS ที่มีขนาดความเข้มข้นตัวอสุจิทั้งหมด 2 x 10^9 ตัว/40 มิลลิลิตร พบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างอัตราการผสมติด อย่างไรก็ตามมีการรายงานของ Steverink และคณะ (1998) พบว่าน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับระหว่างการผสมเทียมในสุกรที่ผสมด้วยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 1 x 10^9 ตัว/โด๊ส จะมีอัตราการปฏิสนธิต่ำกว่าสุกรที่ผสมด้วยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 1 x 10^9 ตัว/โด๊สแต่ไม่พบน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับระหว่างการผสมเทียม ส่วนน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียมจะไม่มีผลต่ออัตราการ ปฏิสนธิไม่ว่าจะผสมเทียมด้วยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 1 x 10^9, 3 x 10^9,หรือ 6 x 10^9 ตัว/โด๊ส นอกจากนี้ยังมีการรายงานของ Steverink และคณะ (1997) พบว่าไม่มีความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่ปกติในสุกรที่ทำการผสมพันธุ์โดยใช้ตัวอสุจิทั้งหมด 1 x 10^9 และ 3 x 10^9 ตัว/โด๊ส ถ้าผสมพันธุ์ก่อนการตกไข่ 12 – 24 ชั่วโมง และไม่พบความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่ปกติในสุกรที่ทำการผสมพันธุ์โดยใช้ตัวอสุจิทั้งหมด 3 x 10^9 และ 6 x 10^9 ตัว/โด๊ส ถ้าผสมพันธุ์ก่อนการตกไข่ 24 – 36 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามยังมีรายงานอีกว่าในช่วงเวลาในการผสมพันธุ์ถึงการตกไข่มีผลกับเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่ปกติ โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์ของตัวอ่อนที่ปกติจะลดลง 20 เปอร์เซ็นต์หากช่วงเวลาในการผสมพันธุ์ถึงการตกไข่เท่ากับ 24 ชั่วโมงซึ่งสอดคล้องกับ

งานทดลองของ Soede และคณะ (1995b) ที่ได้ทำการผสมพันธุ์สุกรด้วยตัวอสุจิทั้งหมด 3 x 10^9 ตัว/โด๊ส โดยทำการผสมพันธุ์เพียงครั้งเดียว ซึ่งมีช่วงเวลาในการผสมเทียมจนกระทั่งการตกไข่มากกว่า 24 ชั่วโมง พบว่าเปอร์เซ็นต์ของตัวอ่อนที่ปกติเท่ากับ 63 ± 40 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับช่วงระหว่างการผสมพันธุ์จนกระทั่งการตกไข่น้อยกว่า 24 ชั่วโมง (เปอร์เซ็นต์ของตัวอ่อนที่ปกติเท่ากับ 88 ± 20 เปอร์เซ็นต์)

จากที่ได้กล่าวมาข้างต้นถึงการผสมเทียมแล้วนั้น ขั้นตอนของการผสมเทียมอีกขั้นตอนหนึ่งที่มีความสำคัญมากคือช่วงเวลาของการผสมเทียมนั่นเอง ซึ่งหากมีการผสมเทียมก่อนการตกไข่หรือภายหลังการตกไข่นานเกินไปจะทำให้มีเปอร์เซ็นต์การผสมติดต่ำลง อีกทั้งพบว่าการตกไข่จะเกิดขึ้นประมาณชั่วโมงที่ 40 ภายหลังจากการเริ่มต้นการแสดงอาการเป็นสัด (อรรณพ คุณาวงษ์กฤต, 2537; Hunter, 1982) มีการรายงานของ Soede และคณะ (1992) พบว่าสุกรนางจะเริ่มมีการตกไข่เฉลี่ย 67 ± 6 เปอร์เซ็นต์และ 60 ± 10 เปอร์เซ็นต์ของระยะเวลาการเป็นสัดในกลุ่มสุกรที่มีการตกไข่ตามธรรมชาติและในกลุ่มสุกรที่มีการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วย human chorionic gonadotropin (hCG) ตามลำดับ ซึ่งมีความสอดคล้องกับการวิจัยของ Mburu และคณะ (1995) Soede และคณะ (1995a) Nissen และคณะ (1997) และ Steverink และคณะ (1997) ซึ่งพบว่าเปอร์เซ็นต์ของระยะเวลาที่เริ่มต้นการเป็นสัดจนกระทั่งการตกไข่ของสุกรนางคือ 68 ± 7.7, 72 ± 15, 71 ± 14 และ 68 ± 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นั่นคือระยะเวลาที่เริ่มมีการตกไข่จะประมาณ 2/3 ของระยะเวลาในการเป็นสัดทั้งหมด แต่พบว่าในสุกรสาวจะมีเปอร์เซ็นต์ของระยะเวลาที่เริ่มต้นการเป็นสัดจนกระทั่งการตกไข่ยาวนานกว่าในสุกรนางซึ่งพบว่ามีค่าเท่ากับ 85.74 ± 13.85 เปอร์เซ็นต์ (Almeida et al., 2000) นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกว่าช่วงการผสมจนถึงการตกไข่ที่ มากกว่า 48 ชั่วโมง 48 – 40 ชั่วโมง 40 – 32 ชั่วโมง 32 – 24 ชั่วโมง 24 – 16 ชั่วโมง 16 – 8 ชั่วโมง 8 – 0 ชั่วโมง และช่วงการผสมภายหลังการตกไข่ที่ 0 ถึง –8 ชั่วโมง -8 ถึง –16 ชั่วโมง และน้อยกว่า –16 ชั่วโมงพบว่ามีอัตราการผสมติด (วัดจากการชะล้างตัวอ่อนประมาณ 5 วันภายหลังการตกไข่) 35 เปอร์เซ็นต์ 51 ± 36 เปอร์เซ็นต์ 54 ± 36 เปอร์เซ็นต์ 79 ± 32 เปอร์เซ็นต์ 94 ± 11 เปอร์เซ็นต์ 92 ± 21 เปอร์เซ็นต์ 95 ± 22 เปอร์เซ็นต์ 75 ± 38 เปอร์เซ็นต์ 74 ± 43 เปอร์เซ็นต์และ 0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นช่วงการผสมจนกระทั่งการตกไข่ระหว่างชั่วโมงที่ 0 – 24 จะให้อัตราการผสมติดในระดับที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับการผสมสุกรก่อนการตกไข่มากกว่า 24 ชั่วโมงและภายหลังการตกไข่ (Soede et al., 1995a) ซึ่งมี ความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nissen และคณะ (1997) ซึ่งพบว่าการผสมสุกรในช่วงก่อนการตกไข่ 28 ชั่วโมงจนกระทั่งภายหลังจากการตกไข่ 4 ชั่วโมงจะมีจำนวนลูกสุกรมีชีวิตต่อแม่สูงกว่าและมีจำนวนแม่ที่ไม่ตั้งท้องต่ำกว่าการผสมสุกรก่อนการตกไข่ก่อน 28 ชั่วโมงและภายหลังการตกไข่มากกว่า 4 ชั่วโมง นอกจากนี้มีการรายงานถึงขนาดของฟอลลิเคิล (follicle) อีกว่าก่อนการตกไข่ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลางของฟอลิเคิลในช่วงของการเริ่มต้นการ

เป็นสัดจะมีขนาดเฉลี่ย 0.63 ± 0.05 เซนติเมตรและจะมีเส้นผ่าศูนย์กลางในช่วงของการตกไข่เฉลี่ย 0.93 ± 0.05 เซนติเมตร (Mburu et al., 1995)

หลังจากทำการผสมสุกรแล้วการกระจายของน้ำเชื้อไปยังปีกมดลูก (uterine horns) ทั้งสองข้างขึ้นกับปริมาตรของน้ำเชื้อรวมทั้งการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกเนื่องจากการหลั่งฮอร์โมน อ๊อกซิโตซิน (oxytocin) โดยเฉพาะหากมีการผสมแบบธรรมชาติในน้ำเชื้อจะมีโปรสตาแกลนดิน อี ทูและ เอฟ ทู อัลฟา (prostaglandin E_2, $F_{2\alpha}$) ในระดับต่ำ ๆ ช่วยในการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกอีกด้วย (Hunter, 1982) มีรายงานการทดลองของ Dunne และคณะ (1994) พบว่าการผสมเทียมที่มีการใส่อ๊อกซิโตซินขนาด 5 iu ในน้ำเชื้อเจือจางและการฉีดอ๊อกซิโตซินในขนาด 5 iu ภายหลังการผสมแบบธรรมชาติพบว่าอัตราการตั้งท้องไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับสุกรที่ไม่ได้รับอ๊อกซิโตซิน และมีรายงานของ Claus และคณะ (1989) และ Waberski (1997) พบว่า seminal plasma ในน้ำเชื้อพ่อสุกรจะมีปริมาณเอสโตรเจนอยู่ในระดับที่สูง (อาจสูงถึง 11.5 ไมโครกรัม / การหลั่งน้ำเชื้อ) ซึ่ง เอสโตรเจนจะมีผลกระตุ้นการหลั่งโปรสตาแกลนดิน เอฟ ทู อัลฟา จากผนังมดลูกซึ่งการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกมีผลต่อการนำตัวอสุจิไปยังส่วน utero-tubal junction (UTJ) (Hunter, 1982) นอกจากนี้แล้วยังพบว่ามีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับภายหลังการผสม ซึ่งเป็นกระบวนการทางสรีรวิทยาที่พบได้เป็นปกติ มีรายงานของ Viring และ Einarsson (1981) ในการผสมสุกรโดยพ่อสุกรพบว่าน้ำเชื้อจะไหลย้อนกลับประมาณหนึ่งในสามของจำนวนทั้งหมดภายหลังการผสม 2 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการ รายงานของ Steverink และคณะ (1998) ซึ่งพบว่าปริมาตรของน้ำเชื้อ 70 เปอร์เซ็นต์และจำนวน ตัวอสุจิ 25 เปอร์เซ็นต์มีการไหลย้อนกลับมาภายใน 2.5 ชั่วโมงภายหลังการผสมเทียม แต่มีการทดลองของ First และคณะ (1968) Pursel และคณะ (1978) และ Viring (1980) ได้รายงานว่าจำนวนตัวอสุจิในปีกมดลูกจะมีจำนวนเพียง 5 – 10 เปอร์เซ็นต์ภายหลังการผสมเทียม 1 – 2 ชั่วโมงเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Baker และคณะ (1968) ซึ่งพบว่าจำนวนตัวอสุจิจะสูญเสียไปกับน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับมากถึง 50 เปอร์เซ็นต์ในชั่วโมงแรกภายหลังการผสมเทียม นอกจากน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียมจะทำให้จำนวนตัวอสุจิในปีกมดลูกของสุกรลดลงแล้วนั้นยังพบว่าเม็ดเลือดขาวในปีกมดลูกก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้จำนวนตัวอสุจิลดลง โดยมีการรายงานของ Lovellและ Getty (1968) พบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวชนิด polymorphonuclear จะเริ่มพบภายหลังการผสม 30 นาทีและจะพบมากขึ้นจนกระทั่งพบสูงสุดภายหลังการผสม 12 ชั่วโมง (Rozeboom et al., 1998) ซึ่งการพบเม็ดเลือดขาวดังกล่าวจะพบในส่วนปีกมดลูกเท่านั้นจะไม่พบในส่วน UTJ และท่อนำไข่ (Rodriguez-Martinez et al., 1990) นอกจากนี้แล้วยังพบว่าโปรตีนใน seminal plasma ก็เป็นส่วนสำคัญในการกระตุ้นให้พบเม็ดเลือดขาวในปีกมดลูก (Leshin et al., 1998; Yang et al., 1998)

ตัวอสุจิจะใช้เวลาประมาณ 15 - 30 นาทีภายหลังการผสมพันธุ์เคลื่อนไปถึงส่วนหน้าของท่อนำไข่ (ส่วน isthmus, ampulla, infundibulum และ fimbria) (Baker and Degen, 1972) แต่พบว่าตัวอสุจิโดยส่วนใหญ่จะอยู่ในส่วน UTJ และส่วนล่างของ isthmus (ส่วนที่ติดกับ UTJ) ในกลุ่มสุกรก่อนการตกไข่มากกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มสุกรระหว่างการตกไข่และกลุ่มสุกรภายหลังการตกไข่ และยังพบว่าในกลุ่มสุกรระหว่างและกลุ่มสุกรภายหลังการตกไข่มีจำนวนตัวอสุจิในส่วนต้นของ isthmus (ส่วนที่ติดกับ ampulla) มากกว่ากลุ่มสุกรก่อนการตกไข่ (Mburu et al., 1996) ซึ่งตัวอสุจิส่วนหนึ่งจะไปเกาะติดกับเยื่อบุภายในส่วน UTJ หรือส่วน isthmus แต่อีกส่วนจะไปเกาะติดกับกลุ่มสารคัดหลั่งภายในส่วนดังกล่าวนั่นเองซึ่งจะส่งผลทำให้ตัวอสุจิโดนทำลาย (Mburu et al., 1997) ได้มีการทดลองของ Suarez และคณะ (1991) และ Suarez (1998) พบว่าหลังจากการผสมพันธุ์ ก่อนการตกไข่ตัวอสุจิจะติดกับเซลล์ขน (cilia) และเมือก (mucus) ในส่วน Isthmus ซึ่งเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาระหว่างโครงสร้างคาร์โบไฮเดรตของเนื้อเยื่อท่อนำไข่และ lectin-like บนส่วนหัวของตัวอสุจิ โดยตัวอสุจิที่ยังไม่สามารถปฏิสนธิกับโอโอไซต์ได้ (uncapacitated sperm) จะมีส่วนของ lectin-like บนส่วนหัวของตัวอสุจิ ซึ่งจะจับกับส่วนของคาร์โบไฮเดรตของผิวท่อนำไข่ ทำให้ก่อนการตกไข่ตัวอสุจิจะเหมือนถูกเก็บไว้ในส่วนปลายของ isthmus รวมถึงในส่วนของ UTJ เมื่อมีการตกไข่จะทำให้ท่อนำไข่มีการบีบตัวทำให้มีการเคลื่อนไหวและทำลายเมือกมีผลทำให้ตัวอสุจิเคลื่อนไหวต่อไปได้และช่วยทำให้ตัวอสุจิสามารถไป
ปฏิสนธิกับไข่ได้ (capacitated sperm) โดยส่วนของ lectin-like บนส่วนหัวของตัวอสุจิจะหลุดออกไป นอกจากนี้ยังพบอีกว่าจำนวนตัวอสุจิในส่วนของ UTJ มีผลโดยตรงกับปริมาณตัวอสุจิในส่วนต้นของ isthmus ทั้งในกลุ่มสุกรระหว่างการตกไข่และกลุ่มสุกรภายหลังการตกไข่ (Mburu et al., 1996) ยังมีการรายงานของ Viring (1980) พบว่าในชั่วโมงแรกที่ทำการผสมพันธุ์จะพบตัวอสุจิจำนวนมากในส่วนล่างของท่อนำไข่และในชั่วโมงที่สองของการผสมพันธุ์จะพบตัวอสุจิจำนวนมากในส่วนต้นของท่อนำไข่ ส่วนในชั่วโมงที่ 6 และ 12 ภายหลังการผสมพันธุ์ไม่พบความแตกต่างของการกระจายของตัวอสุจิในท่อนำไข่

นอกจากนี้ยังพบว่าก่อนการตกไข่จะมีการบวมน้ำที่ติ่งของส่วน isthmus ที่ยื่นเข้าไปในส่วนของปีกมดลูกช่วยป้องกันไม่ให้ตัวอสุจิเข้าไปในส่วนของ isthmus อีกทางหนึ่ง เพื่อป้องกันการเกิดตัวอสุจิหลายตัวปฏิสนธิกับไข่เพียงใบเดียว (polyspermy) ซึ่งบริเวณที่มีการปฏิสนธิระหว่างไข่และตัวอสุจินั้นจะเกิดบริเวณตำแหน่งส่วนต่อระหว่าง ampulla และ isthmus (ampullary-isthmic junction; AIJ) ซึ่งจำนวนตัวอสุจิบริเวณดังกล่าวจะเหลืออยู่ประมาณ 100 ตัวเท่านั้น (Hunter, 1982) มีการทดลองยืนยันว่าส่วน isthmus เป็นส่วนที่ป้องกันการเกิดตัวอสุจิหลายตัวผสมกับไข่เพียงใบเดียวโดยการตัดส่วน isthmus ออกและเชื่อมส่วน UTJ และส่วน ampulla ซึ่งพบว่ามีไข่พบการเกิดตัวอสุจิหลายตัวผสมกับไข่เพียงใบเดียวมากถึง 34 เปอร์เซ็นต์ซึ่งบ่งชี้ว่าส่วน isthmus จะเป็นส่วนที่จำกัดให้ตัวอสุจิไปยังตำแหน่ง AIJ ได้น้อยลงนั่นเอง (Hunter and Leglise, 1971) ซึ่งคล้ายคลึงกับการรายงานของ Wang และคณะ (1998)

บทที่ 3

วัสดุและวิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุและเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย (รายละเอียดดูในภาคผนวก ก)

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการรีดเก็บน้ำเชื้อ
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ
3. อุปกรณ์สำหรับการเตรียมน้ำยาละลายน้ำเชื้อ (diluent)
4. อุปกรณ์สำหรับการเจือจางน้ำเชื้อและเก็บน้ำเชื้อเจือจาง
5. อุปกรณ์สำหรับการผสมเทียมและอุปกรณ์สำหรับเก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ
6. อุปกรณ์และเวชภัณฑ์สำหรับการวางยาสลบและศัลยกรรมช่องท้อง
7. อุปกรณ์สำหรับเก็บปีกมดลูกและท่อนำไข่
8. อุปกรณ์สำหรับการชะล้างท่อนำไข่และปีกมดลูก
9. อุปกรณ์สำหรับนับจำนวนตัวอสุจิจากท่อนำไข่ ปีกมดลูกและจากน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ

สถานที่ทำการศึกษา

ศูนย์ฝึกนิสิตสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ต.บ่อพลับ จ.นครปฐม

สัตว์ทดลอง

สุกรสาวสามสายพันธุ์ (ดูร็อค x ลาร์จไวท์ x แลนเรซ) ที่มีสุขภาพแข็งแรงจำนวน 30 ตัว และพ่อสุกรโตเต็มวัยพันธุ์ดูร็อคจำนวน 2 ตัว

ตัวอย่างและการแบ่งกลุ่มตัวอย่าง

นำสุกรสาวที่ผ่านการเป็นสัดมาแล้วอย่างน้อยหนึ่งครั้งหรือในระยะก่อนการเป็นสัด (ระยะ proestrus) จากฟาร์มมาเลี้ยงในคอกเดี่ยว (individual Pens) และทำการตรวจสัดทุกวันจนสุกรเข้าสู่ระยะการเป็นสัด (ระยะ estrus) ทำการสุ่มแบ่งกลุ่มสุกรสาวเป็นกลุ่มต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1: สุกรจำนวน 10 ตัว ทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อเจือจางที่มีตัวอสุจิทั้งหมด (total spermatozoa) 3×10^9 ตัว/โด๊ส จำนวน 1 โด๊ส (โดยที่ 1 โด๊ส เท่ากับ 100 มิลลิลิตร)

กลุ่มที่ 2: สุกรจำนวน 10 ตัว ทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อเจือจางที่มีตัวอสุจิทั้งหมด 3×10^9 ตัว/โด๊ส จำนวน 1 โด๊ส (โดยที่ 1 โด๊สเท่ากับ 50 มิลลิลิตร) และภายหลังจากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อเจือจางแล้ว จะทำการผสมเทียมต่อด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อจำนวน 50 มิลลิลิตรทันที

กลุ่มที่ 3: สุกรจำนวน 10 ตัว ทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อเจือจางที่มีตัวอสุจิทั้งหมด 1.5 x 10^9 ตัว/โด๊ส จำนวน 1 โด๊ส (โดยที่ 1 โด๊สเท่ากับ 50 มิลลิลิตร) และภายหลังจากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อเจือจางแล้วจะทำการผสมเทียมต่อด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อจำนวน 50 มิลลิลิตรทันที

ในแต่ละกลุ่มการทดลองจะทำการวางยาสลบและศัลยกรรมช่องท้องสุกรสาวในชั่วโมงที่ 3 จำนวน 5 ตัว ซึ่งสุกรจะอยู่ในระยะก่อนการตกไข่และชั่วโมงที่ 12 จำนวน 5 ตัว ซึ่งสุกรจะอยู่ในระยะภายหลังการตกไข่ ภายหลังการผสมเทียมทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง เพื่อนำเอามดลูก ปีกมดลูก ท่อนำไข่และรังไข่ มาทำการชะล้างตัวอสุจิเพื่อตรวจนับต่อไป

ระยะเวลาในการวิจัย

10 เดือน โดยเริ่มตั้งแต่เดือน มกราคม จนกระทั่งเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2543

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การตรวจการเป็นสัด

นำสุกรสาวจากฟาร์มและนำมาเก็บในคอกเดี่ยว (individual pens) ใกล้กับสุกรเพศผู้ที่โตเต็มวัยแล้ว โดยให้อาหารอัดเม็ดสำเร็จรูปสำหรับสุกรอุ้มท้องของบริษัทวันละ 2 ครั้ง/วัน ครั้งละ 1 กิโลกรัม จากนั้นทำการสังเกตการเป็นสัดของสุกรสาวโดยตรวจสอบการเป็นสัดโดยละเอียด 2 ครั้งต่อวัน (6:00 – 8:00 และ 16:00 – 18:00 น.) จนกระทั่งพบอาการก่อนการเป็นสัด (ระยะ proestrus) ซึ่งมีอาการบวมแดงของปากช่องคลอด จากนั้นทำการตรวจสุกรทุก ๆ 4 ชั่วโมงโดยวิธีการกดหลัง (back pressure test) และมีพ่อสุกรอยู่หน้าคอกช่วยในการตรวจการเป็นสัดด้วย เพื่อกำหนดระยะการเป็นสัด (ระยะ estrus) โดยเมื่อทดสอบด้วยวิธีการกดหลังแล้วพบว่าสุกรยืนนิ่ง (standing heat or standing estrus) ให้ถือว่าเริ่มต้นเข้าสู่ระยะการเป็นสัดเมื่อ 2 ชั่งโมงที่ผ่านมา (ระยะเวลากึ่งกลางระหว่างที่ตรวจพบสุกรก่อนการยืนนิ่งและครั้งแรกที่พบว่าสุกรยืนนิ่ง) ทำการตรวจสุกรทุก ๆ 4 ชั่วโมงต่อไปจนกระทั่งสุกรไม่ยืนนิ่ง (เข้าสู่ระยะ diestrus) ให้ถือว่าหมดระยะการเป็นสัดเมื่อ 2 ชั่วโมงที่ ผ่านมา (ระยะเวลากึ่งกลางระหว่างการพบสุกรยืนนิ่งครั้งสุดท้ายและไม่พบสุกรยืนนิ่งครั้งแรก) (Mburu et al., 1996) ทำการจดบันทึกว่าสุกรตัวนั้น ๆ มีระยะการเป็นสัดครั้งแรก (duration of first oestrus) กี่ชั่วโมง

ทำการตรวจการเป็นสัดเช้าและเย็นทุกวันหลังจากสิ้นสุดการเป็นสัดครั้งแรก เมื่อสุกรแสดงอาการก่อนการเป็นสัดอีกครั้ง ทำการตรวจสุกรทุก ๆ 4 ชั่วโมงจนกระทั่งสามารถกำหนดระยะเวลาที่เริ่มต้นการเป็นสัดได้อีกครั้ง (การเป็นสัดในครั้งที่ 2) กำหนดระยะเวลาในการผสมเทียมโดยใช้ระยะการเป็นสัดที่ทำการบันทึกในครั้งแรก จากนั้นทำการผสมพันธุ์สุกรเพียงครั้งเดียวด้วยวิธีการผสมเทียม (artificial insemination) ก่อนการตกไข่ 6 – 8 ชั่วโมง (เวลาที่สุกรตกไข่คือเวลา 2/3 ของระยะการเป็นสัดที่ทำการบันทึกการเป็นสัดในครั้งแรก) (Mburu et al.,1996) โดยที่ใช้น้ำเชื้อพ่อสุกรตัวเดียวกันทุกครั้งที่ทำการผสมเทียมและพ่อสุกรดังกล่าวเคยผ่านการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อว่าคุณภาพน้ำเชื้ออยู่ในเกณฑ์ปกติ (ภาคผนวก ข) (อรรณพ คุณาวงษ์กฤต, 2537; Soderquist, 1991) และตรวจคุณภาพน้ำเชื้อเป็นระยะทุก ๆ 1 – 2 เดือน ทำการผสมเทียมตามกลุ่มทดลองต่าง ๆ และทำการจดบันทึกระยะเวลาระหว่างการเป็นสัด (interoestrus interval; IOI) ระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งที่ 2 (duration of second proestrus) ระยะเวลาเริ่มการเป็นสัดครั้งที่ 2 จนกระทั่งผสมเทียม (interval from onset second oestrus to inseminstion; OI)

2. การรีดเก็บและการเจือจางน้ำเชื้อ

รีดเก็บน้ำเชื้อสดจากพ่อสุกรโดยวิธีการเก็บน้ำเชื้อโดยใช้มือ (glove-hand method) นำน้ำเชื้อมาตรวจดูเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวเฉพาะตัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์และหาความเข้มข้นของน้ำเชื้อสด (Soderquist, 1991) เพื่อนำมาคำนวณและเจือจางน้ำเชื้อสดเป็นน้ำเชื้อเจือจางตามกลุ่มการทดลองทั้ง 3 กลุ่ม โดยที่จะใช้น้ำยาละลายน้ำเชื้อ BTS (Beltsville thawing solution; Minitub, Germany) ในการเจือจางน้ำเชื้อ ซึ่งทำการคำนวณการเจือจางน้ำเชื้อสดเป็นน้ำเชื้อเจือจาง (ภาคผนวก ค)

เก็บน้ำเชื้อเจือจางในอุณหภูมิระหว่าง 15 – 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลาไม่เกิน 48 ชั่วโมง ก่อนการผสมเทียมจะทำการอุ่นน้ำเชื้อเจือจางให้มีอุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 นาทีและจะทำการตรวจดูเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวเฉพาะตัวอีกครั้งก่อนการใช้งานต่อไป

3. การผสมเทียมและเก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ

ผสมเทียมตามกลุ่มการทดลองและระยะเวลาที่กำหนด เก็บของเหลวที่ไหลย้อนกลับ (backflow) ระหว่างการผสมเทียมและภายหลังการผสมเทียม 15 นาที โดยใช้กระบอกเก็บน้ำเชื้อที่มีถุงพลาสติกภายใน เก็บและจดบันทึกปริมาณของเหลวที่ไหลย้อนกลับ ความเข้มข้น เพื่อคำนวณหาจำนวนอสุจิทั้งหมด (Steverink et al., 1998)

4. การเก็บตัวอสุจิ

วางยาสลบสุกรเพื่อทำการศัลยกรรมช่องท้อง (laparotomy) ในชั่วโมงที่ 3 ภายหลังการผสมเทียมจำนวน 5 ตัวและ 12 ชั่วโมงภายหลังการผสมเทียมอีกจำนวน 5 ตัวทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง โดยจะให้ยานำสลบด้วย Azaperone (Stretnil®; Janssen pharmaceutica, Belgium) ขนาด 3 มิลลิกรัม/กิโลกรัม หลังจากนั้นประมาณ 10 นาทีทำการฉีดยาชาเข้ากระดูกสันหลังบริเวณ lumbosarcal space โดยใช้ Lidocaine (Xylocaine® 2 %; OLIC (thailand) Ltd., Thailand) ในขนาด 5 มิลลิลิตร/ตัว จากนั้นจึงวางยาสลบด้วย Thiopentone sodium (PentothalSodium®; Abbott Laboratories (india) Ltd., India) ขนาด 10 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (Clutton, 1994; Yolande, 1994) หลังจากที่สุกรสลบแล้วทำผ่าตัดเป็นขั้นตอนดังนี้

1. โกนขนและล้างทำความสะอาดบริเวณ caudal midline หลังจากนั้นนำสุกรขึ้นโต๊ะผ่าตัดและผูกขาสุกรทั้ง 4 ข้างรวมทั้งทำความสะอาดอีกครั้งด้วยทิงเจอร์ไอโอดีนและ แอลกอฮอร์ตามลำดับ

2. กรีดผิวหนังบริเวณ caudal midline ใต้สะดือ ยาวประมาณ 10 เซนติเมตร กรีด sheath of muscle และแหวกกล้ามเนื้อ หลังจากนั้นทำการเปิด peritoneum ดึงปีกมดลูกสุกรออกมาที่ปากแผล หนีบส่วนปลายของปีกมดลูกที่ติดกับส่วนมดลูกทั้งสองข้างด้วย artery forceps ทันที ทำการผูกเส้นเลือดที่ broad ligament ทั้งด้านซ้ายและขวาด้วยวิธี transfix suture และ circumference suture ทำการหนีบเหนือรังไข่ โดยใช้ artery forceps เพื่อเก็บรังไข่ด้วย กรีดระหว่าง suture และ artery forceps ที่ทำการหนีบไว้

3. หลังจากผูกและตัดเส้นเลือดที่ broad ligament ทั้งซ้ายขวาแล้ว ทำการผูกเส้นเลือดที่คอมดลูกทั้ง 2 เส้นด้วยวิธี transfix suture และ circumference suture ใช้ artery forceps เพื่อหนีบเส้นเลือดทั้ง 2 เส้นเหนือ suture และตัดระหว่าง suture และ artery forceps เพื่อนำเอาปีกมดลูกและท่อนำไข่ทั้งสองข้างออกจากตัวสุกร

4. เย็บชั้น peritoneum ด้วยวิธี simple continuous suture เย็บ sheath of muscle ด้วยวิธี simple interrupted suture และเย็บผิวหนังด้วยวิธี horizontal matrass suture ทาทิงเจอร์ไอโอดีนที่แผลและพ่นยาภายนอกอีกครั้งพร้อมทั้งทำการฉีดยาปฏิชีวนะเข้ากล้ามเนื้อสุกร

นำปีกมดลูกและท่อนำไข่ทั้งสองข้างแบ่งเป็น 6 ส่วนทั้งซ้ายและขวาดังรูปที่ 1 คือ

1. ส่วน ampulla (2/3 ของ ampulla ที่ติดกับส่วนต้นของ isthmus)

2. ส่วนต้นของ isthmus (1/2 ของ isthmus ที่ติดกับส่วน ampulla)

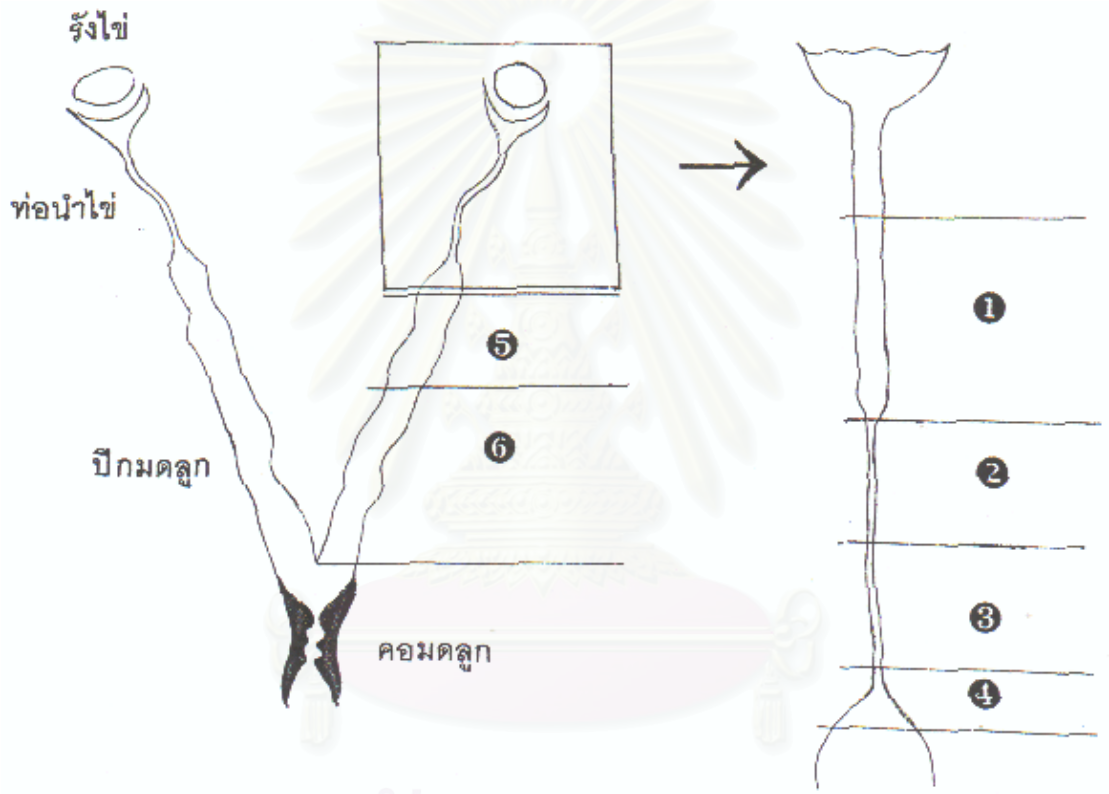
3. ส่วนปลายของ isthmus (1/2 ของ isthmus ที่ติดกับส่วน UTJ)

4. ส่วน UTJ นั่นคือนับจากส่วนปลาย 1 เซนติเมตรของปีกมดลูกและส่วน isthmus จำนวน 1 เซนติเมตร

5. ส่วนต้นของปีกมดลูก (1/3 ของปีกมดลูกที่ติดกับส่วน UTJ)

6. ส่วนปลายของปีกมดลูก (2/3 ของปีกมดลูกที่ติดกับส่วนต้นของปีกมดลูก)

จดบันทึกจำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมดของรอบการเป็นสัดที่แล้ว (total number of old corpus luteum; old CL) จำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมดขนาด 8 – 10 มิลลิเมตร (total number of follicles) และจำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมดที่เกิดขึ้นใหม่ที่รังไข่ (total number of corpus luteum; CL) รวมทั้งวัดความยาวในแต่ละส่วนที่ได้แบ่งไว้ ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 การแบ่งส่วนต่าง ๆ ของปีกมดลูกและท่อนำไข่ภายหลังการทำศัลยกรรมช่องท้อง

1.ส่วน ampulla
2.ส่วนต้นของ isthmus
3. ส่วนปลายของ isthmus
4.ส่วน UTJ
5.ส่วนต้นของปีกมดลูก
6. ส่วนปลายของปีกมดลูก

นำส่วนของ ampulla ทำการชะล้างด้วย BTS จำนวน 1 มิลลิลิตรจำนวน 2 ครั้ง ส่วน isthmus ทั้ง 2 ส่วนและส่วน UTJ ที่ได้แบ่งเอาไว้นำแต่ละส่วนมาชะล้างด้วย BTS 0.5 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง โดยใช้เข็มเบอร์ 21 ที่ทำการตัดปลายเข็ม ลงในหลอดพลาสติกขนาด 1.5 มิลลิลิตร และส่วนปีกมดลูกในแต่ละส่วนจะนำมาชะล้างด้วย BTS 20 มิลลิลิตร จำนวน 2 ครั้ง ลงในขวดขนาด 100 มิลลิลิตร (Mburu et al.,1996) เพื่อนำไปคำนวณหาจำนวนอสุจิทั้งหมดในแต่ละส่วน โดยการนับโดยใช้วิธีฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer Method) (อรรณพ คุณาวงษ์กฤต,2537) หากไม่พบตัวอสุจิหรือพบจำนวนน้อยให้ทำการปั่นด้วยเครื่องปั่นที่ความเร็ว 1,000 รอบ/วินาที เป็นเวลา 5 นาที นำของเหลวใสที่ลอยอยู่บนชั้นตะกอนออก จากนั้นนับและคำนวณหาตัวอสุจิทั้งหมดในแต่ละส่วนอีกครั้งด้วยวิธีฮีโมไซโตมิเตอร์ จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่ได้จากการคำนวณในแต่ละส่วนจากปีกมดลูกด้านซ้ายและขวาจะถูกนำไปทดสอบทางสถิติต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่เก็บมาได้จะนำมาทดสอบทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) (เติมศรี ชำนิจารกิจ, 2531; ศิริชัย พงษ์วิชัย, 2540) เพื่อทดสอบ

1. ความแตกต่างของระยะเวลาการเป็นสัดครั้งแรก ระยะเวลาระหว่างการเป็นสัด ระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งที่ 2 ระยะเวลาเริ่มการเป็นสัดครั้งที่ 2 จนกระทั่งผสมเทียม จำนวนฟอลลิเคิลและจำนวนคอร์โปร่า ลูเทียใช้การทดสอบด้วยวิธี analysis of variance (ANOVA)

2. ความแตกต่างของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในระบบสืบพันธุ์ (รวมจำนวนตัวอสุจิทั้งด้านซ้ายและขวา) ระหว่างกลุ่มที่พบการตกไข่และไม่พบการตกไข่หลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมง โดยจะทำการปรับค่าของข้อมูลเป็นค่าลอกาลิทึ่ม (logarithum) แล้วใช้วิธีการทดสอบด้วยวิธี ANOVA จากนั้นจะทำการปรับข้อมูลกลับเพื่อรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยเรขาคณิต (geometric mean)

3. ความแตกต่างของปริมาตรน้ำเชื้อและจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับหลังผสมเทียม ทดสอบด้วยวิธี ANOVA โดยจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับได้ปรับข้อมูลเป็นเปอร์เซ็นต์ก่อนการทดสอบ

4. ความแตกต่างของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในระบบสืบพันธุ์ (รวมจำนวนตัวอสุจิทั้งด้านซ้ายและขวา) จะทำการปรับค่าของข้อมูลเป็นค่าลอกาลิทึ่ม เปอร์เซ็นต์ คะแนนลอกาลิทึ่มหรือคะแนนสัดส่วน แล้วจึงทำการทดสอบด้วยวิธี ANOVA ซึ่งข้อมูลที่ได้ปรับค่าเป็นลอกาลิทึ่มจะทำการปรับข้อมูลกลับเพื่อรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยเรขาคณิตต่อไป

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

สุกรที่ใช้ในการทำการวิจัยมีจำนวนทั้งสิ้น 30 ตัว ในระหว่างการทดลองพบว่าสุกรในกลุ่มที่ 3 (ทำการผ่าตัด 3 ชั่วโมงภายหลังการผสมเทียม) และสุกรในกลุ่มที่ 1 และ 3 (ทำการผ่าตัด 12 ชั่วโมงภายหลังการผสมเทียม) มีน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับจำนวนมากในระหว่างการผสมเทียม รวมทั้งสิ้น 3 ตัวจึงได้ทำการตัดสุกรดังกล่าวออกจากการวิเคราะห์ข้อมูล

ระยะเวลาวงรอบการเป็นสัด จำนวนฟอลลิเคิลและจำนวนคอร์โปร่า ลูเทีย

ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระยะเวลาการเป็นสัดครั้งแรก ระยะเวลาระหว่างการเป็นสัด ระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งที่ 2 ระยะเวลาเริ่มการเป็นสัดครั้งที่ 2 จนกระทั่งผสมเทียม จำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมด จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมด และจำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมดในรอบการเป็นสัดที่แล้ว โดยแยกตามสุกรที่ทำการผ่าตัดภายหลังการผสมเทียม 3 (ตารางที่ 1) และ 12 ชั่วโมง (ตารางที่ 2) ไม่พบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ทั้งระยะเวลาการเป็นสัดครั้งแรก ระยะเวลาระหว่างการเป็นสัด ระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งที่ 2 ระยะเวลาเริ่มการเป็นสัดครั้งที่ 2 จนกระทั่งผสมเทียม จำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมด จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมดและจำนวน คอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมดในรอบการเป็นสัดที่แล้วทั้งในสุกรกลุ่มที่ทำการผ่าตัดภายหลังการผสมเทียม 3 และ 12 ชั่วโมง

นอกจากนี้พบว่ากลุ่มสุกรที่ผ่าตัดภายหลังการผสมเทียม 3 ชั่วโมง มีสุกรอยู่จำนวน 1 ตัวที่มีการตกไข่ก่อนการผ่าตัดดังตารางที่ 1 คือพบว่ามีคอร์โปร่า ลูเทีย ส่วนในสุกรที่ผ่าตัดภายหลังการ ผสมเทียม 12 ชั่วโมงมีจำนวนสุกรที่ไม่พบการตกไข่ทั้งหมด 5 ตัวและพบสุกรที่ตกไข่ไปแล้วจำนวน 8 ตัว ดังตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยของจำนวนตัวอสุจิของกลุ่มตกไข่สูงกว่ากลุ่มไม่ตกไข่ในส่วน isthmus และต่ำกว่าในส่วนปีกมดลูก อย่างไรก็ตามได้ทำการทดสอบสถิติเปรียบเทียบจำนวนอสุจิในแต่ละส่วนของท่อนำไข่และปีกมดลูกไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ของจำนวนตัวอสุจิระหว่างกลุ่มที่มีการตกไข่ไปแล้วและกลุ่มที่ยังไม่มีการตกไข่

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของระยะการเป็นสัดครั้งแรก (oestrus) ระยะเวลาระหว่างการเป็นสัด (IOI) ระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งที่ 2 (proestrus) ระยะเริ่มการเป็นสัดครั้งที่สองจนกระทั่งผสมเทียม (OI) จำนวนฟอลลิเคิล ทั้งหมด (follicle) จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมด (CL) จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมด ในรอบการเป็นสัดที่แล้ว (old CL) ในสุกรที่ทำการผ่าตัดหลังการผสม 3 ชั่วโมง

กลุ่ม	n	Oestrus (ชั่วโมง)	IOI (วัน)	Proestrus (ชั่วโมง)	OI (ชั่วโมง)	Follicle	CL	Old CL
		$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.
1	5	43.2 ± 5.2	21.4 ± 2.6	72.8 ± 22.5	22.5 ± 2.5	14.4 ± 2.5	0	10.0 ± 1.7
2	5	45.6 ± 15.9	21.6 ± 2.2	58.4 ± 16.6	19.4 ± 2.4	12.0 ± 4.3	0	10.2 ± 3.0
3	4	31.0 ± 9.5	19.8 ± 1.3	69.0 ± 20.5	12.4 ± 7.0	9.3 ± 5.5	2.3 ± 4.5	9.5 ± 1.3

n = จำนวนสุกร

ตารางที่ 2 แสดงแสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของระยะการเป็นสัดครั้งแรก (oestrus) ระยะเวลาระหว่างการเป็นสัด (IOI) ระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งที่ 2 (proestrus) ระยะเริ่มการเป็นสัดครั้งที่สองจนกระทั่งผสมเทียม (OI) จำนวนฟอลลิเคิล ทั้งหมด (follicle) จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมด (CL) จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมดในรอบการเป็นสัดที่แล้ว (old CL) ในสุกรที่ทำการผ่าตัดหลังการผสม 12 ชั่วโมง

กลุ่ม	n	Oestrus (ชั่วโมง)	IOI (วัน)	Proestrus (ชั่วโมง)	OI (ชั่วโมง)	Follicle	CL	Old CL
		$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.
1	4	43.0 ± 7.6	22.0 ± 0.0	80.0 ± 43.9	17.6 ± 9.2	3.0 ± 6.0	8.3 ± 5.6	10.0 ± 0.8
2	5	42.8 ± 9.1	19.8 ± 0.5	60.8 ± 20.7	19.6 ± 6.0	4.8 ± 7.2	8.6 ± 8.1	13.2 ± 3.6
3	4	39.0 ± 10.5	23.0 ± 4.3	40.0 ± 12.7	16.5 ± 6.3	7.0 ± 8.1	7.0 ± 8.3	10.0 ± 8.3

n = จำนวนสุกร

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ยเรขาคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในกลุ่มที่มีการตกไข่และไม่ตกไข่ภายหลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมง

กลุ่ม	n	Ampulla	Isthmus ส่วนต้น	Isthmus ส่วนปลาย	UTJ	ปีกมดลูก ส่วนต้น	ปีกมดลูก ส่วนปลาย
		$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.
กลุ่มตกไข่	8	13.5 ± 38.0	61.7 ± 30.9	2,454.7 ± 3.0	134,896.3 ± 2.0	549,540.9 ± 6.0	181,970.1 ± 208.9
กลุ่มไม่ตกไข่	5	15.1 ± 44.7	3.2 ± 13.5	1,412.5 ± 2.6	125,892.5 ± 3.4	1,584,893.2 ± 2.2	1,348,962.9 ± 6.3

n = จำนวนสุกร

ปริมาตรน้ำเชื้อและจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม

1. จำนวนสุกรที่มีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับ

ในการทดลองมีการเก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับเป็น 5 ระยะคือ ระหว่างการผสมเทียม ภายหลังการผสมเทียม 0 – 15 นาที ภายหลังการผสมเทียม 16 – 30 นาที ภายหลังการผสมเทียม 31 – 45 นาทีและภายหลังการผสมเทียม 46 – 60 นาที (ตารางที่ 4) ซึ่งในระยะระหว่างการผสมเทียมมีสุกรที่มีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับจำนวน 3 ตัวและได้ตัดออกจากการวิเคราะห์ข้อมูล

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนสุกรและเปอร์เซ็นต์สุกรที่มีน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับในช่วงเวลาต่าง ๆ

กลุ่ม	ภายหลังการผสมเทียม (นาที)			
	0 - 15	16 – 30	31 – 45	46 – 60
	n / n_t	n / n_t	n / n_t	n / n_t
1	4/9	6/7	7/7	5/5
	(44.4)	(85.7)	(100.0)	(100.0)
2	7/10	6/10	5/8	5/8
	(70.0)	(60.0)	(62.5)	(62.5)
3	4/8	4/6	2/4	4/4
	(50.0)	(66.7)	(50.0)	(100.0)
รวม	15/27	16/23	14/19	14/17
	(55.6)	(69.6)	(73.7)	(82.4)

n / n_t คือจำนวนสุกรที่พบน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับต่อจำนวนสุกรที่ทำการเก็บตัวอย่างทั้งหมด

( ) คือเปอร์เซ็นต์ของจำนวนสุกรที่มีน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ

จากการที่เก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับพบว่า ภายหลังการผสมเทียม 0 – 15 นาทีสัดส่วนจำนวนสุกรคิดรวมทั้ง 3 กลุ่มการทดลองมีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับเท่ากับ 55.6 เปอร์เซ็นต์ โดยที่กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 จำนวนสุกรที่มีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับคิดเป็น 44.4, 70.0 และ 50.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ภายหลังการผสมเทียม 16 – 30 นาทีสัดส่วนจำนวนสุกรคิดรวมทั้ง 3 กลุ่มการทดลองมีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับ 69.6 เปอร์เซ็นต์ซึ่งกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 จำนวนสุกรที่มีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับคิดเป็น 85.7, 60.0 และ 66.7 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ภายหลังการผสมเทียม 31 – 45 นาทีสัดส่วนจำนวนสุกรคิดรวมทั้ง 3 กลุ่มการทดลองมีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับ 73.7 เปอร์เซ็นต์ซึ่งกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 จำนวนสุกรที่มีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับคิดเป็น 100.0, 62.5 และ 50.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับและภายหลังการผสมเทียม 46 – 60 นาที สัดส่วนจำนวนสุกรคิดรวมทั้ง 3 กลุ่มการทดลองมีน้ำเชื้อไหล

ย้อนกลับ 82.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 จำนวนสุกรที่มีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับคิดเป็น 100.0, 62.5 และ 100.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

2. ปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ

2.1. ค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ

ค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 0 – 15 นาทีในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาตรน้ำเชื้อไหลย้อนกลับ 7.2, 7.2 และ 8.9 มิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยปริมาตร น้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 16 – 30 นาทีพบว่ากลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาตรน้ำเชื้อไหลย้อนกลับ 17.9, 8.3 และ 16.3 มิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 31 – 45 นาทีพบว่ากลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาตรน้ำเชื้อไหลย้อนกลับ 11.8, 8.7 และ 7.9 มิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 46 – 60 นาทีพบว่ากลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาตรน้ำเชื้อไหลย้อนกลับ 13.7, 11.1 และ 11.0 มิลลิลิตรตามลำดับ ซึ่งค่าเฉลี่ยน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 0 – 15 นาที 16 – 30 นาที 31 – 45 นาทีและ 46 – 60 นาที ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของปริมาตร (มิลลิลิตร) น้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ (backflow)

กลุ่ม	ช่วงเวลาในการเก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ (นาที)			
	0 - 15	16 – 30	31 – 45	46 – 60
	$\bar{X} \pm$ S.D.	$\bar{X} \pm$ S.D.	$\bar{X} \pm$ S.D.	$\bar{X} \pm$ S.D.
1	7.2 ± 12.6	17.9 ± 17.0	11.8 ± 14.9	13.7 ± 13.9
2	7.2 ± 7.8	8.3 ± 14.4	8.7 ± 16.5	11.1 ± 18.4
3	8.9 ± 16.8	16.3 ± 20.7	7.9 ± 9.7	11.0 ± 7.3

2.2.ค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับสะสม

ปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 0 – 15, 0 – 30, 0 - 45 และ 0 – 60 นาทีพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ทั้งสามกลุ่มการทดลอง โดยที่ปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ยที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 0 – 15 นาทีในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาตร 7.2, 7.2 และ 8.9 มิลลิลิตร ปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ยที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 0 – 30 นาทีในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีปริมาตร 25.1, 15.5 และ 27.2 มิลลิลิตร ปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ยที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 0 – 45 นาทีพบว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 และกลุ่มที่ 3 มีปริมาตรเฉลี่ย 36.9, 24.4 และ 47.5 มิลลิลิตรและภายหลังการผสมเทียม 0 – 60 นาทีมีปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับเฉลี่ย 43.1, 35.6 และ 59.0 มิลลิลิตรตามลำดับกลุ่มที่ 1 – 3 ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของปริมาตร (มิลลิลิตร) น้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับสะสม (backflow)

กลุ่ม	ช่วงเวลาในการเก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ (นาที)			
	0 - 15	0 – 30	0 – 45	0 - 60
	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.
1	7.2 ± 12.6	25.1 ± 14.4	36.9 ± 27.5	43.1 ± 24.7
2	7.2 ± 7.8	15.5 ± 18.5	24.4 ± 23.9	35.6 ± 30.1
3	8.9 ± 16.8	27.2 ± 27.5	47.5 ± 19.2	59.0 ± 18.7

3. จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับ

ได้ทำการปรับค่าจำนวนอสุจิที่ไหลย้อนกลับเป็นค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับ โดยนำค่าจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับแต่ละค่ามาหารด้วยจำนวนตัวอสุจิที่ทำการผสมเทียมนั่นคือในกลุ่มที่ 1 และ 2 หารด้วย 3×10^9 และในกลุ่มที่ 3 หารด้วย 1.5×10^9 และนำค่าที่ได้มาคูณด้วย 100

3.1. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับ

ค่าเฉลี่ยเปอร์เซนต์จำนวนอสุจิที่ไหลย้อนกลับพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ($p > 0.05$) ในช่วงเวลา 0 – 15 นาที, 16 – 30 นาที, 31 – 45 นาที และ 46 – 60 นาทีภายหลังการผสมเทียม โดยที่ในช่วงเวลา 0 – 15 นาทีภายหลังการผสมเทียมมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนอสุจิที่ไหลย้อนกลับของกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 คือ 6.6, 5.4 และ 7.9 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในช่วงเวลา 16 – 30 นาทีภายหลังการผสมเทียมพบว่าในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนอสุจิทั้งหมดที่ไหลย้อนกลับ 14.4, 7.5 และ 23.4 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงเวลา 31 – 45 นาทีภายหลังการผสมเทียมมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนอสุจิทั้งหมดที่ไหลย้อนกลับในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 คือ 9.6, 9.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์และในช่วง 46 – 60 นาทีภายหลังการผสมเทียมพบว่ากลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนอสุจิทั้งหมดที่ไหลย้อนกลับ 11.8, 6.9 และ 9.2 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับดังตารางที่ 7

3.2. ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อยกลับสะสม

จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 0 – 15 นาที, 0 – 30 นาทีและ 0 – 60 นาทีพบว่ามีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิไหลย้อนกลับสะสมไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้ง 3 กลุ่ม ($p > 0.05$) ซึ่งในช่วงเวลา 0 –15 นาทีภายหลังการผสมเทียมในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับ 6.6, 5.4 และ 7.9 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในช่วงเวลา 0 – 30 นาทีภายหลังการผสมเทียมในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิไหลย้อนกลับ 21.7, 12.9 และ 33.7 เปอร์เซ็นต์และในช่วงเวลา 0 – 60 นาทีภายหลังการผสมเทียมมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับ 39.1 ,26.6 และ 66.8 เปอร์เซ็นต์ในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับดังตารางที่ 8

ตารางที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับ (backflow)

กลุ่ม	ช่วงเวลาในการเก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ (นาที)			
	0 - 15	16 – 30	31 – 45	46 – 60
	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.
1	6.6 ± 12.7	14.4 ± 14.4	9.6 ± 10.6	11.8 ± 16.3
2	5.4 ± 7.3	7.5 ± 14.4	9.0 ± 19.7	6.9 ± 10.4
3	7.9 ± 16.4	23.4 ± 28.4	10.0 ± 11.7	9.2 ± 2.7

ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ยเลขคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับสะสม (backflow)

กลุ่ม	ช่วงเวลาในการเก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ (นาที)			
	0 – 15	0 – 30	0 – 45	0 - 60
	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.	$\bar{X}$ ± S.D.
1	6.6 ± 12.7	21.7 ± 13.8	31.3 ± 20.9 [ab]	39.1 ± 31.3
2	5.4 ± 7.3	12.9 ± 17.7	19.6 ± 22.1 [a]	26.6 ± 25.4
3	7.9 ± 16.4	33.7 ± 32.0	57.6 ± 23.4 [b]	66.8 ± 21.2

a,b แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 0 – 45 นาทีมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกับแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างกลุ่มที่ 2 และ 3 ($p < 0.05$) ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับ 19.6 และ 57.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับและในกลุ่มที่ 1 มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับ 31.3 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8)

จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในระบบสืบพันธุ์สุกร

1. ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด

ในการตรวจนับและเก็บข้อมูลจำนวนอสุจิทั้งหมด (โดยรวมจำนวนตัวอสุจิทั้งด้านซ้ายและขวาของระบบสืบพันธุ์สุกร) พบว่าข้อมูลไม่มีการกระจายแบบปกติ (แบบระฆังคว่ำ) ดังนั้นจึงทำการปรับค่าของข้อมูลดังกล่าวโดยการปรับเป็นค่าลอกาลิทึ่ม (logarithum, Log) เพื่อให้ข้อมูลมีการกระจายใกล้เคียงกับการกระจายแบบปกติและทำการทดสอบทางสถิติจากนั้นทำการปรับข้อมูลดังกล่าวกลับซึ่งจะได้เป็นค่าเฉลี่ยเรขาคณิต (geometric mean)

1.1. ค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 3 ชั่วโมง

ค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 3 ชั่วโมง ในส่วน Isthmus ส่วนต้น (cranial Isthmus) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างกลุ่มที่ 1 และ 3 ซึ่งมีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 223.9 และ 1.0 ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในกลุ่มที่ 2 คือ 56.2 ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงค่าเฉลี่ยเรขาคณิต ($\overline{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 3 ชั่วโมง

กลุ่ม	Ampulla	Isthmus ส่วนต้น	Isthmus ส่วนปลาย	UTJ	ปีกมดลูก ส่วนต้น	ปีกมดลูก ส่วนปลาย
	$\overline{X} \pm$ S.D.	$\overline{X} \pm$ S.D.	$\overline{X} \pm$ S.D.	$\overline{X} \pm$ S.D.	$\overline{X} \pm$ S.D.	$\overline{X} \pm$ S.D.
1	55.7 ± 38.0	223.9 ± 22.4 [a]	2,041.7 ± 3.2	107,151.9 ± 1.6	6,456,542.3 ± 3.8	13,803,842.7 ± 3.8
2	19.5 ± 60.3	56.2 ± 40.7 [ab]	1,318.3 ± 2.1	147,910.8 ± 1.6	14,454,397.7 ± 17.8	33,884,415.6 ± 24.6
3	25.7 ± 50.1	1.0 ± 1.0 [b]	1,318.3 ± 2.9	257,039.6 ± 1.9	3,388,441.6 ± 1.9	5,754,399.4 ± 1.8

a,b แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ในส่วน ampulla, isthmus ส่วนปลาย (caudal Isthmus), ส่วน UTJ, ปีกมดลูกส่วนต้น (cranial uterine horn) และปีกมดลูกส่วนปลาย (caudal uterine horn) พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 โดยในส่วน ampulla พบว่ามีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 55.7, 19.5 และ 25.7 ในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ส่วนปลายของ isthmus มีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 2,041.7, 1,318.3 และ 1,318.3 ในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ส่วน UTJ มีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 107,152, 147,911 และ 257,039 ในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ปีกมดลูกส่วนต้นกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 6,456,542, 14,454,398 และ 3,388,442 และในส่วนปีกมดลูกส่วนปลายกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 13,803843, 33,884,416 และ 5,754,399 ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

1.2. ค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมง

ค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมงพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ในทุกส่วน โดยในส่วน ampulla กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 144.5, 3.6 และ 7.4 isthmus ส่วนต้นกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 123.0, 15.9 และ 4.3 isthmus ส่วนปลายกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 4,365.2, 1,513.6 และ 1,318.3 ส่วน UTJ มีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 81,283, 128,824. และ 218,776 ตามลำดับกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ในส่วนต้นปีกมดลูกกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 398,107, 707,946 และ 2,041,738 และในส่วนปลายของปีกมดลูกในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยเรขาคณิตของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 446,684, 104,713 และ 1,778,279 ตามลำดับ ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 แสดงค่าเฉลี่ยเรขาคณิต ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมง

กลุ่ม	Ampulla	Isthmus ส่วนต้น	Isthmus ส่วนปลาย	UTJ	ปีกมดลูก ส่วนต้น	ปีกมดลูก ส่วนปลาย
	$\bar{X}$± S.D.	$\bar{X}$±S.D.	$\bar{X}$±S.D.	$\bar{X}$±S.D.	$\bar{X}$± S.D.	$\bar{X}$± S.D.
1	144.5±31.6	123.0±25.7	4,365.2±1.5	81,283.1±1.4	398,107.2±3.2	446,683.6±8.1
2	3.6±18.2	15.9±43.7	1,513.6±2.4	128,824.0±2.6	707,945.8±4.5	104,712.9±812.8
3	7.4±56.2	4.3±18.2	1,318.3±4.0	218,776.2±3.0	2,041,738.0±6.2	1,778,279.4±8.7

2. ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดโดยรวมส่วน ampulla ถึงส่วน UTJ

ทำการรวมจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในส่วน ampulla จนถึงส่วน UTJ แล้วทำการปรับค่าของข้อมูลเป็นค่าลอกาลิทึ่มหรือปรับเป็นค่าเปอร์เซ็นต์โดยการนำจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในส่วน ampulla จนถึงส่วน UTJ ที่ได้นั้นหารด้วยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในส่วน ampulla จนถึงปีกมดลูกส่วนปลายและคูณด้วย 100 แล้วจึงนำไปทดสอบทางสถิติ ซึ่งจากการทดสอบทั้งการปรับค่าเป็นลอกาลิทึ่ม และเปอร์เซ็นต์ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้ง 3 กลุ่มการทดลองภายหลังการผสมเทียม 3 และ 12 ชั่วโมง ดังตารางที่ 11

3. คะแนนจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด

3.1. คะแนนจากการปรับค่าจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดเป็นค่าลอกาลิทึ่ม (score log)

การให้คะแนนโดยคิดทั้ง 6 ส่วนจะให้คะแนน 1 ถึง 6 เรียงลำดับจากส่วนปลายปีกมดลูกไปจนถึงส่วน ampulla โดยคูณกับค่าจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่ได้ปรับค่าเป็นค่าลอกาลิทึ่มแล้วจากนั้นรวมคะแนนที่ได้ทั้งหมดทุกส่วนในสุกรแต่ละตัวเพื่อนำไปทดสอบต่อไปและการให้คะแนนโดยคิดเพียง 4 ส่วนซึ่งจะให้คะแนน 1 ถึง 4 เรียงลำดับจากส่วน UTJ ไปถึงส่วน ampulla โดยคูณกับค่าจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่ได้ปรับค่าเป็นค่าลอกาลิทึ่มแล้วจากนั้นรวมคะแนน ที่ได้ทั้งหมดทุกส่วนในสุกรแต่ละตัวเช่นกันเพื่อนำไปทดสอบต่อไป ซึ่งจากการทดสอบพบว่าไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้ง 3 กลุ่มการทดลองทั้งการให้คะแนนแนบ 6 ส่วน และ 4 ส่วน (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 11 แสดงค่าเฉลี่ยเรขาคณิตและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\overline{X} \pm$S.D.) และค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ค่าเฉลี่ย% $\pm$S.D.) ในส่วน ampulla ถึงส่วน UTJ ที่เวลา 3 และ 12 ชั่วโมงหลังการผสมเทียม

กลุ่ม	3 ชั่วโมง		12 ชั่วโมง	
	$\overline{X} \pm$ S.D.	ค่าเฉลี่ย% $\pm$ S.D.	$\overline{X} \pm$ S.D.	ค่าเฉลี่ย% $\pm$ S.D.
1	112,201.9 $\pm$ 1.7	0.9 $\pm$ 0.9	87,096.4 $\pm$ 1.4	10.4 $\pm$ 9.5
2	151,356.1 $\pm$ 1.6	7.4 $\pm$ 16.3	131,826.0 $\pm$ 2.6	21.5 $\pm$ 27.6
3	263,026.8 $\pm$ 1.9	3.9 $\pm$ 4.1	218,776.2 $\pm$ 2.9	7.3 $\pm$ 5.7

3.2 คะแนนจากการปรับจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดเป็นค่าสัดส่วน (score proportion)

ทำการคิดค่าสัดส่วนโดยนำจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่พบในส่วนนั้นๆ หารด้วยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่พบทั้ง 6 ส่วนและให้คะแนนโดยให้คะแนน 1 ถึง 6 เรียงลำดับจากส่วนปลายปีกมดลูกไปจนถึงส่วน ampulla โดยคูณกับค่าจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่ได้ปรับค่าเป็นสัดส่วนแล้วจากนั้นรวมคะแนนที่ได้ทั้งหมดทุกส่วนในสุกรแต่ละตัวเพื่อนำไปทดสอบต่อไปและการให้คะแนนโดยคิดเพียง 4 ส่วนนั้นจะทำการคิดค่าสัดส่วนเหมือกับการคิดทั้ง 6 ส่วน โดยจะคิดส่วน UTJ ไปถึงส่วน ampulla เท่านั้นและจะให้คะแนน 1 ถึง 4 เรียงลำดับจากส่วน UTJ ไปถึงส่วน ampulla โดยคูณกับค่าจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่ได้ปรับค่าเป็นสัดส่วนแล้วจากนั้นรวมคะแนนที่ได้ทั้งหมดทุกส่วนในสุกรแต่ละตัวเช่นกันเพื่อนำไปทดสอบต่อไป ซึ่งจากการทดสอบพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้ง 3 กลุ่มการทดลองทั้งการให้คะแนนแบบ 6 ส่วน และ 4 ส่วน (ตารางที่ 12)

ตารางที่ 12 แสดงผลคะแนนลอกาลิทึ่มตัวอสุจิทั้งหมดและคะแนนสัดส่วนตัวอสุจิทั้งหมด ในกลุ่มที่ 1, 2 และกลุ่มที่ 3

	Ampulla - ส่วนปลายของปีกมดลูก	Ampulla - UTJ
คะแนนลอกาลิทึ่ม	N.S.	N.S.
คะแนนสัดส่วน	N.S.	N.S.

N.S. ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างกลุ่มที่ 1, 2 และ 3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ

สุกรจำนวน 3 ตัวในการวิจัยได้ทำการตัดออกไปจากการวิเคราะห์ข้อมูลเนื่องมาจากพบว่ามีปริมาตรน้ำเชื้อหรือจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับระหว่างการผสมเทียมจำนวนมากซึ่งอาจเนื่องจากการสอดท่อผสมเทียมไม่ดีทำให้มีการไหลย้อนกลับเกิดขึ้นระหว่างการผสมเทียม

ระยะเวลาวงรอบการเป็นสัด จำนวนการเป็นสัดและจำนวนคอร์โปร่า ลูเทีย

ระยะเวลาการเป็นสัดครั้งแรก ระยะเวลาเริ่มการเป็นสัดครั้งที่ 2 จนกระทั่งผสมเทียมในสุกรที่ทำการผ่าตัดภายหลังการผสมเทียม 3 และ 12 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง แต่พบว่าระยะเวลาการเป็นสัดครั้งแรกของสุกรกลุ่มที่ 3 ภายหลังการผสมเทียม 3 ชั่วโมงมีระยะเวลาน้อยกว่ากลุ่มอื่น เนื่องมาจากมีสุกรจำนวน 1 ตัวที่มีระยะการเป็นสัดครั้งแรกสั้นมาก จึงทำให้ตรวจพบการตกไข่ที่ 3 ชั่วโมงภายหลังการผสมเทียม ซึ่งมีการรายงานว่าระยะการเป็นสัดมีความสัมพันธ์กับระยะเริ่มต้นการเป็นสัดจนกระทั่งการตกไข่นั่นคือ เปอร์เซ็นต์ของระยะเวลาที่เริ่มต้นการเป็นสัดจนกระทั่งการตกไข่ในสุกรนางมีค่า 68 $\pm$ 7.7 เปอร์เซ็นต์ (Mburu et al., 1995) คล้ายคลึงกับการรายงานของ Soede และคณะ (1995a) Steverink และคณะ (1997) และ Nissen และคณะ (1997) ซึ่งพบว่าระยะเวลาที่เริ่มต้นการเป็นสัดจนกระทั่งการตกไข่ในสุกรนางประมาณ 2 ใน 3 ของระยะการเป็นสัด นั่นคือระยะเวลาที่เริ่มต้นการเป็นสัดจนกระทั่งการตกไข่ในสุกรนางประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าภายหลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมงมีสุกรจำนวน 8 ตัวจากทั้งหมด 13 ตัวที่พบการตกไข่หรือคิดเป็น 62 เปอร์เซ็นต์ มีการรายงานของ Almeida และคณะ (2000) ว่าเปอร์เซ็นต์ของระยะเวลาที่เริ่มต้นการเป็นสัดจนกระทั่งการตกไข่ในสุกรสาวมีค่าประมาณ 86 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากข้างต้นเป็นอย่างมาก อาจเนื่องมาจากปัจจัยทาง พันธุกรรม ฤดูกาล ความเครียดที่เรื้อรัง เป็นต้น (Soede and Kemp, 1997) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุส่วนหนึ่งที่ทำให้งานวิจัยนี้พบสุกรที่ตกไข่ภายหลังการผสมเทียมเพียง 62 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้ระยะเวลาการเป็นสัดในการวิจัยในครั้งแรกน่าจะสามารถกำหนดระยะเวลาของการเป็นสัดในการวิจัยครั้งที่สองได้ เนื่องจากสุกรในงานวิจัยได้ผ่านการเป็นสัดมาแล้วอย่างน้อยหนึ่งครั้ง ซึ่งมีการรายงานสนับสนุนของ Eliasson (1989) ได้ทำการศึกษาพบว่าระยะหรือช่วงเวลาในการเป็นสัดครั้งแรก (duration of first oestrus) แตกต่างกับครั้งที่ 2 และ 3 แต่ระยะเวลาในการเป็นสัดครั้งที่ 2 และ 3 ไม่แตกต่างกัน ซึ่งคล้ายคลึงกับการรายงานของ

Andersson และคณะ (1984) นั่นคือระยะการเป็นสัดครั้งที่ 2 ไม่มีความแตกต่างกันกับระยะการเป็นสัดในครั้งที่ 4 แต่มีรายงานของ Andersson และ Einarsson (1980) พบว่าระยะเวลาการเป็นสัดไม่มีความแตกต่างกันในการเป็นสัดครั้งแรกจนถึงครั้งที่ 6

ระยะเวลาระหว่างการเป็นสัด ระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งที่ 2 จำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมด จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมดและจำนวนคอร์โปร่า ลูเทียทั้งหมดของรอบการเป็นสัดที่แล้วในสุกรที่ทำการผ่าตัดภายหลังการผสม 3 และ 12 ชั่วโมงไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทั้ง 3 กลุ่มซึ่งทั้งระยะเวลาระหว่างการเป็นสัด ระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งที่ 2 จำนวนฟอลลิเคิล จำนวนคอร์โปร่า ลูเทียและจำนวนคอร์โปร่า ลูเทียของรอบการเป็นสัดที่แล้วไม่พบการรายงานว่ามีผลต่อระยะการเป็นสัดและการตกไข่

ระยะเวลาระหว่างการเป็นสัดทั้ง 3 กลุ่มภายหลังการผสมเทียม 3 และ 12 ชั่วโมงพบว่ามีระยะเวลาดังกล่าวอยู่ในช่วงความผันแปรทางสรีรวิทยาของระยะเวลาระหว่างการเป็นสัดนั่นคือระหว่าง 17 – 24 วัน ซึ่งคล้ายคลึงกับการทดลองของ Andersson และ Einarsson (1980) นอกจากนี้จำนวน คอร์โปร่า ลูเทียจะเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนครั้งของการเป็นสัดเพิ่มขึ้น (Andersson and Einarsson, 1980) ซึ่งคล้ายคลึงกับสุกรที่ทำการผ่าตัดภายหลังการผสมเทียม 3 และ 12 ชั่วโมงทั้ง 3 กลุ่มการทดลองนั่นคือจำนวนคอร์ปัสลูเทียลทั้งหมดในรอบการเป็นสัดที่แล้วมีจำนวนน้อยกว่าจำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมดและจำนวนคอร์ปัสลูเทียลทั้งหมดรวมกัน เนื่องจากฟอลลิเคิลและคอร์โปร่า ลูเทียดังกล่าวคือคอร์โปร่า ลูเทียในรอบการเป็นสัดครั้งที่ 2 มีการรายงานของ Eliasson (1989) ว่าระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งแรกจะยาวกว่าครั้งที่สองและหากอายุในการเป็นสัดครั้งแรกมากขึ้นระยะเวลาก่อนการเป็นสัดครั้งแรกจะสั้นลง ซึ่งระยะก่อนการเป็นสัดภายหลังการ ผสมเทียม 3 และ 12 ชั่วโมงมีความผันแปรกัน แม้จะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องมาจากความแตกต่างของอายุที่เริ่มต้นการเป็นสัดครั้งแรกนั่นเอง

ปริมาตรน้ำเชื้อและจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม

จากการศึกษาของ Steverink และคณะ (1998) ว่าภายหลังการผสมเทียม 0 – 30 นาที พบว่ามีจำนวนสุกรที่มีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับ 98 เปอร์เซ็นต์และภายหลังการผสมเทียม 0.5 – 2.5 ชั่วโมง พบว่ามีจำนวนสุกรที่มีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับ 98 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน ซึ่งน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียมนั้นมีกระบวนการหรือปัจจัยต่าง ๆ ประกอบด้วยช่วงเวลาในการเป็นสัดระหว่างการผสมเทียม มีการรายงานของ Claus และคณะ (1989) ว่าในระยะการเป็นสัดระดับเอสโตรเจนในร่างกายสุกรจะสูงสุดทำให้การบีบตัวของกล้ามเนื้อปีกมดลูกมากขึ้นและนานขึ้นเพื่อช่วยให้น้ำเชื้อเคลื่อนที่เข้าไปยังปีกมดลูก แต่เมื่อสุกรไม่อยู่ในระยะการเป็นสัดการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกจะลดลง นอกจากนี้อุณหภูมิของน้ำเชื้อจะมีผลต่อการเคลื่อนที่เข้าไปยังปีกมดลูกเช่นกัน

ดังนั้นการอุ่นน้ำเชื้อก่อนการผสมเทียมจึงมีความสำคัญ รวมทั้งขณะผสมเทียมหากทำการผสมหรือบีบไล่น้ำเชื้อเข้าสู่มดลูกสุกรเร็วเกินไปจะมีโอกาสที่น้ำเชื้อจะไหลย้อนกลับได้จากบริเวณที่ส่วนปลายท่อผสมเทียมต่อกับคอมดลูก

น้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับเป็นกระบวนการทางสรีรวิทยาที่พบได้ภายหลังการผสมเทียมและการผสมพันธุ์ด้วยพ่อสุกรซึ่งจากการทดลองภายหลังการผสมเทียม 0 – 15 นาที, 16 – 30 นาที, 31 – 45 นาทีและ 46 – 60 นาที มีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับทุกช่วงเวลาและมีเปอร์เซ็นต์ของจำนวนสุกรที่พบการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อมากขึ้นเมื่อเวลาภายหลังการผสมเทียมมากขึ้น ในส่วนค่าเฉลี่ยปริมาตรและเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนอสุจิที่ไหลย้อนกลับตามช่วงเวลาที่เก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 3 กลุ่มการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียม 0 – 15 นาที, 16 – 30 นาทีและ 46 – 60 นาทีพบว่าส่วนใหญ่จะมีเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนอสุจิที่ไหลย้อนกลับมากหรือน้อยตามปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับในกลุ่มที่ 1, 2 และ 3

ค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับสะสมภายหลังการผสมเทียม 0 – 15 นาทีพบว่ายังมีปริมาตรไม่แตกต่างกันทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง จนกระทั่งภายหลังการผสมเทียม 0 – 30 เริ่มพบว่ากลุ่มที่ 1 และ 3 มีปริมาตรน้ำเชื้อไหลย้อนกลับมากกว่ากลุ่มที่ 2 และเริ่มเห็นเด่นชัดมากขึ้นภายหลังการผสมเทียม 0 – 45 และ 0 – 60 นาทีว่ากลุ่มที่ 3 มีปริมาตรน้ำเชื้อไหลย้อนกลับมากกว่ากลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 3 และ 1 มีปริมาตรไหลย้อนกลับมากกว่ากลุ่มที่ 2 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งคล้ายคลึงกับผลเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับสะสม โดยในช่วง 0 – 15 นาทีภายหลังการผสมพบว่าทั้ง 3 กลุ่มมีเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับแทบจะไม่แตกต่างกัน แต่ในช่วง 0 – 30 นาทีภายหลังการผสมพบว่าทั้ง 3 กลุ่มเริ่มแตกต่างกันโดยกลุ่มที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิไหลย้อนกลับมากกว่ากลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 3 และ 1 มีเปอร์เซ็นต์ ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิไหลย้อนกลับมากกว่ากลุ่มที่ 2 จนกระทั่งในช่วง 0 – 45 นาที ภายหลังการผสมเทียมก็พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิไหลย้อนกลับโดยกลุ่มที่ 3 มากกว่ากลุ่มที่ 2 และในช่วง 0 – 60 นาทีภายหลังการผสมเทียมทั้ง 3 กลุ่มการทดลองมีเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิไหลย้อนกลับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่กลุ่มที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิไหลย้อนกลับมากกว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 ซึ่งที่เป็นดังกล่าวข้างต้นอาจเนื่องมาจากในน้ำเชื้อสุกรมีปริมาณเอสโตรเจนซึ่งอาจมากถึง 11.5 μg / การหลั่งน้ำเชื้อสุกรหนึ่งครั้งและเอสโตรเจนดังกล่าวซึ่งจะมีผลทำให้มีการหลั่ง prostaglandins จากผนังปีกมดลูกและส่งผลต่อการบีบตัวของมดลูกและการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในปีกมดลูก (Waberki, 1997) และจากการทดลองของ Claus และคณะ (1989) พบว่าเอสโตรเจนในน้ำเชื้อจะสามารถกระตุ้นการบีบตัวของกล้ามเนื้อปีกมดลูกซึ่งมีผลต่อการ

เคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ซึ่งในการทดลองพบว่ากลุ่มที่ 3 มีค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับสะสมและเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนอสุจิที่ไหลย้อนกลับสูงกว่ากลุ่มอื่นอาจเนื่องมาจากมีปริมาณเอสโตรเจนในน้ำเชื้อน้อยที่สุดเพราะในกลุ่มดังกล่าวใช้น้ำเชื้อเจือจางที่มีตัวอสุจิทั้งหมดน้อยกว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 ถึงเท่าตัวทำให้ใช้น้ำเชื้อสดซึ่งมี seminal plasma (น้ำเลี้ยงเชื้อ) น้อยกว่าถึงเท่าตัวด้วย แต่ในขณะที่กลุ่มที่ 1 และ 2 ใช้น้ำเชื้อเจือจางที่มีตัวอสุจิทั้งหมดเท่ากัน แต่พบว่าค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับสะสม และเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนอสุจิที่ไหลย้อนกลับกลุ่มที่ 2 น้อยกว่ากลุ่มที่ 1 ถึงแม้จะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญก็ตามอาจเป็นไปได้ว่าเนื่องจากกลุ่มที่ 2 นั้นได้ทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อดังกล่าวใน 50 มิลลิลิตรแรกไปแล้วส่วน 50 มิลลิลิตรหลังเป็นเพียงน้ำยาละลายน้ำเชื้อเท่านั้นทำให้ปริมาณการสูญเสียเอสโตรเจนน้อยกว่ากลุ่มที่ 1 มีผลให้ให้ค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับสะสมและเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยจำนวนอสุจิที่ไหลย้อนกลับน้อยกว่ากลุ่มที่ 1 ด้วย

จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในระบบสืบพันธุ์สุกร

ปริมาณตัวอสุจิในระบบสืบพันธุ์สุกรมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องได้แก่ คุณภาพน้ำเชื้อสุกรซึ่งถ้าคุณภาพน้ำเชื้อไม่อยู่ในเกณฑ์ปกติอาจส่งผลต่อการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิ (ตัวอสุจิผิดปกติการเคลื่อนไหวเฉพาะตัวต่ำ) หรือต่อการมีชีวิตรอดของตัวอสุจิได้ (pH สูงหรือต่ำเกินไป) ซึ่งหากมีตัวอสุจิที่ผิดปกติมากหรือตัวอสุจิที่ตายมากกว่าปกติจะส่งผลต่อการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิเข้าไปในระบบสืบพันธุ์ ซึ่งมีรายงานของ Baker และ Degen (1972) และ Viring (1980) กล่าวว่าตัวอสุจิที่ตายจะเคลื่อนที่เข้าไปในระบบสืบพันธุ์สุกรได้น้อยกว่าตัวอสุจิที่มีชีวิต ดังนั้นน้ำเชื้อที่สุกรที่จะนำมาใช้ควรอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานเพื่อจะได้ลดปัญหาการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิเข้าไปในระบบสืบพันธุ์ นอกจากนี้ปริมาตรของน้ำเชื้อโดยเฉพาะถ้าทำการผสม 2 ส่วนโดยส่วนแรกมีความเข้มข้นของตัวอสุจิมากและส่วนที่สองไม่มีตัวอสุจิเลยและระหว่างการผสมเทียมไม่มีการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อ ส่วนที่สองของการผสมน่าจะส่งหรือพาตัวอสุจิส่วนแรกเข้าไปในระบบสืบพันธุ์ได้มากขึ้น เวลาของการเป็นสัดดังที่กล่าวข้างต้นว่าในระยะการเป็นสัดระดับเอสโตรเจนในร่างกายสุกรจะสูงสุดทำให้การบีบตัวของกล้ามเนื้อปีกมดลูกสูงมีผลต่อการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิเข้าไปในระบบสืบพันธุ์สุกรมากขึ้น (Claus et al, 1989) การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิก่อนและหลังการตกไข่ ซึ่งมีการรายงานของ Mburu และคณะ (1996) ได้กล่าวว่าก่อนการตกไข่ตัวอสุจิส่วนใหญ่จะอยู่ที่ส่วน UTJ และส่วนล่างของ isthmus มากกว่าส่วนบนของ isthmus แต่ระหว่างหรือภายหลังการตกไข่ตัวอสุจิจะอยู่ที่ส่วน UTJ และส่วนล่างของ isthmus ลดลงแต่จะอยู่ส่วนบนของ isthmus มากขึ้น และจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับจะส่งผลต่อจำนวนตัวอสุจิที่อยู่ในระบบสืบพันธุ์สุกร

ภายหลังการผสมเทียมแล้วนั้นจำนวนตัวอสุจิส่วนหนึ่งจะสูญเสียไปกับน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ ส่วนหนึ่งจะถูกเม็ดเลือดขาวเก็บกิน (Lovell and Getty, 1968; Rozeboom et al., 1998) และจำนวนตัวอสุจิส่วนที่เหลือจะเคลื่อนที่ไปยังส่วน UTJ ซึ่งในส่วน UTJ ดังกล่าวนี้จะช่วยกักตัวอสุจิร่วมกับส่วน isthmus เพื่อป้องกันการเกิดตัวอสุจิหลายตัวปฏิสนธิกับยังโอโอไซต์ใบเดียว (polyspermy) (Viring, 1980; Hunter, 1982) จากผลการวิจัยพบว่าจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 3 ชั่วโมงในส่วนปีกมดลูกทั้งในส่วนต้นและส่วนปลาย ในกลุ่มที่ 2 มีจำนวนตัวอสุจิมากกว่ากลุ่มที่ 1 และ 3 ตามลำดับ แม้จะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติก็ตาม แต่พบว่าปริมาตรหรือเปอร์เซ็นต์น้ำเชื้อที่ไหล ย้อนกลับและเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับในกลุ่มที่ 3 มากกว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 เป็นสาเหตุให้จำนวนตัวอสุจิกลุ่มที่ 2 มีจำนวนมากกว่าในกลุ่มที่ 1 และ 3 ในส่วนดังกล่าวนั่นเอง (ดังตารางที่ 6, 8 และ 9)

ส่วน UTJ และส่วนปลายของ isthmus พบว่าจำนวนตัวอสุจิไม่แตกต่างกันทั้ง 3 กลุ่ม แต่ในส่วนต้นของ isthmus พบว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 มีจำนวนตัวอสุจิมากกว่ากลุ่มที 3 อย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติซึ่งอาจเนื่องมาจากปริมาณ seminal plasma ในน้ำเชื้อเจือจางที่ทำการผสมเทียมกลุ่มที่ 1 และ 2 มากกว่ากลุ่มที่ 3 ซึ่งมีการรายงานของ Viring และ Einarsson (1980a) ว่าภายหลังการผสมเทียม 1 – 2 ชั่วโมงจำนวนตัวอสุจิในท่อนำไข่ของสุกรที่ผสมเทียมโดยใช้ตัวอสุจิใน seminal plasma มีจำนวนมากกว่าในท่อนำไข่ของสุกรที่ผสมเทียมโดยใช้ตัวอสุจิในบัฟเฟอร์ (TESNaK-glucose buffer) รวมทั้งจากการรายงานของ Viring และ Einarsson (1980b) ได้กล่าวว่า seminal plasma จะลด การเคลื่อนไหวของส่วน isthmus ลง 35 – 80 เปอร์เซ็นต์ในสุกรที่วางยาสลบ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้พบจำนวนตัวอสุจิในกลุ่มที่ 1 และ 2 มากกว่ากลุ่มที่ 3 และมีรายงานสนับสนุนโดยพบว่าการผสมเทียมด้วยตัวอสุจิที่ตายแล้วสามารถพบตัวอสุจิในส่วนต้นของท่อนำไข่ภายหลังการผสม 1 – 6 ชั่วโมง (Viring, 1980) ซึ่งคล้ายคลึงกับการรายงานของ Einarsson และคณะ (1980) และ Viring และคณะ (1980) สามารถพบโมเลกุลที่ติดสลากรังสีที่ส่วนต้นของท่อนำไข่ภายหลังการผสม 1 – 2 ชั่วโมง ซึ่งเนื่องมาจากการลดการเคลื่อนไหวของส่วน isthmus ลงนั่นเอง แต่ Pettersson และคณะ (1993) ได้รายงานว่า seminal plasma ไม่มีผลต่อการเคลื่อนไหวของ isthmus ในสุกรที่ไม่ได้วางยาสลบ ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการวิจัยคล้ายคลึงกับการรายงานของ Viring และ Einarsson (1980b) และในส่วนต้นของ isthmus กลุ่มที่ 3 ไม่พบจำนวนตัวอสุจิ ณ ตำแหน่งดังกล่าวเลยนั้น อาจเนื่องมาจากข้อจำกัดของเครื่องมือในการนับจำนวนตัวอสุจิซึ่งหากว่าจำนวนตัวอสุจิในท่อนำไข่น้อยกว่า 333 ตัวแล้วจะไม่สามารถตรวจนับได้ และได้ทำการทดสอบทางสถิติเพิ่มเติมพบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนอสุจิทั้งหมดต่อจำนวนตัวอสุจิที่ได้ทำการผสมเทียมนั้นไม่มีความแตกต่างอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าจำนวน

ตัวอสุจิในท่อนำไข่นั้นที่พบว่ากลุ่มที่ 3 น้อยกว่ากลุ่มที่ 1 และ 2 อาจเนื่องมาจากจำนวนตัวอสุจิที่ได้ผสมเทียมในกลุ่มที่ 3 น้อยกว่ากลุ่มในอื่นด้วย

ในส่วน ampulla ทั้ง 3 กลุ่ม ไม่พบจำนวนตัวอสุจิที่แตกต่างกัน แต่ในกลุ่มที่ 3 พบว่าในส่วนต้นของ isthmus ไม่พบตัวอสุจิเลยแต่ในส่วน ampulla กลับพบตัวอสุจิ ซึ่งเนื่องมาจากข้อจำกัดที่ได้กล่าวในข้างต้น

จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดภายหลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมงทั้ง 3 กลุ่มการทดลองและทั้ง 6 ส่วนไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่ในส่วนต้นและส่วนปลายของปีกมดลูกกลุ่มที่ 1 และ 2 มีจำนวนตัวอสุจิน้อยลงเป็นจำนวนมากนั้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 3 อาจเนื่องมาจากปริมาณโปรตีนใน seminal plasma (ในกลุ่มที่ 1 และ 2 มีปริมาณมากกว่ากลุ่มที่ 3 ดังที่กล่าวมาข้างต้น) จะกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเม็ดเลือดขาว (Leshin et al., 1998; Rozeboom et al., 1998) Mburu และคณะ (1997) และ Mburu และคณะ (1996) ได้รายงานว่าก่อนการตกไข่ ตัวอสุจิจะอยู่ที่ส่วน UTJ และส่วนล่างของ isthmus เป็นจำนวนมาก ระหว่างการตกไข่หรือภายหลังการตกไข่แล้วจะพบว่าตัวอสุจิจะไปอยู่ที่ส่วนต้นของ isthmus มากขึ้นเมื่อเทียบกับก่อนการตกไข่ ซึ่งในการวิจัยพบว่าส่วน UTJ ภายหลังการผสมเทียมชั่วโมงที่ 12 มีจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดลดลงเมื่อเทียบกับภายหลังการผสมเทียม 3 ชั่วโมงซึ่งทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ในส่วนปลายของ isthmus พบว่าจำนวนตัวอสุจิเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกันเว้นแต่กลุ่มที่ 3 และในส่วนต้นของ isthmus พบว่ากลุ่มที่ 3 เท่านั้นที่พบจำนวนตัวอสุจิทั้งหมด เพิ่มขึ้นในขณะที่กลุ่มที่ 1 และ 2 จำนวนตัวอสุจิได้ลดลง และส่วน ampulla นั้นพบว่าจำนวนตัวอสุจิลดลงเว้นแต่กลุ่มที่ 1 เท่านั้น ซึ่งผลดังกล่าวอาจจะมีผลกระทบเนื่องมาจากสุกรจำนวน 38 เปอร์เซ็นต์ยังไม่มีการตกไข่ ในตารางที่ 3 จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดทั้ง 3 กลุ่มการทดลองและทั้ง 6 ส่วนไม่พบ ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะเห็นได้ว่าในกลุ่มสุกรที่มีการตกไข่มีจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดเพิ่มมากขึ้นในส่วนท่อนำไข่เมื่อเทียบกับกลุ่มสุกรที่ยังไม่มีการตกไข่

ค่าเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในส่วน ampulla ถึงส่วน UTJ ภายหลังการผสมเทียม 3 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่เปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในส่วน ดังกล่าว (ampulla ถึง UTJ) พบว่าในกลุ่มที่ 2 มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ 3 และ 1 ตามลำดับซึ่งเนื่องมาจากว่ากลุ่มที่ 2 มีสุกรจำนวน 1 ตัวพบจำนวนตัวอสุจิในส่วนต้นและปีกมดลูกจำนวนน้อยทำให้สุกร ดังกล่าวพบเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในส่วน ampulla ถึงส่วน UTJ มากกว่าปกติมากภายหลังการผสมเทียม 12 ชั่วโมงค่าเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในส่วน ampulla ถึงส่วน UTJ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดลดลงจาก ชั่วโมงที่ 3 ภายหลังการผสมเทียมใกล้เคียงกัน ส่วนเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในส่วนดังกล่าวพบว่ากลุ่มที่ 2 มากกว่ากลุ่มที่ 1 และ 3

ตามลำดับซึ่งเปอร์เซ็นต์ในกลุ่มที่ 1 และ 2 มากกว่าส่วนที่ 3 เนื่องมาจากจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในส่วนต้นและปลายของปีกมดลูกในกลุ่มที่ 1 และ 2 ได้ลดลงไปเป็นจำนวนมากนั่นเอง และผลการให้คะแนนลอกาลิทึ่มและคะแนนสัดส่วนตัวอสุจิทั้งหมดทั้ง 6 ส่วนและ 4 ส่วน (ส่วน UTJ จนถึงส่วน ampulla) ดังตารางที่ 12 ก็พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทั้ง 3 กลุ่มการทดลองซึ่งแสดงให้เห็นว่าเทคนิคหรือวิธีการในการผสมเทียมนั้นไม่มีความแตกต่างกัน

จากการวิจัยครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า

1. วิธีผสมเทียมโดยใช้จำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 3 x 10^9 ตัว/100 มิลลิลิตร (กลุ่มที่ 1) ไม่มีความแตกต่างกับวิธีการผสมเทียมโดยใช้จำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 3 x 10^9 ตัว/50 มิลลิลิตรและตามด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อ 50 มิลลิลิตร (กลุ่มที่ 2) และพบว่าจำนวนตัวอสุจิในท่อนำไข่ที่ 3 และ 12 ชั่วโมงหลังจากผสมเทียมในกลุ่มที่ 1 มากกว่ากลุ่มที่ 2 แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2. การผสมเทียมโดยใช้จำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 3 x 10^9 ตัว/50 มิลลิลิตรและตามด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อ 50 มิลลิลิตร (กลุ่มที่ 2) มีจำนวนตัวอสุจิในท่อนำไข่มากกว่าการผสมเทียมโดยใช้จำนวนตัวอสุจิทั้งหมด 1.5 x 10^9 ตัว/50 มิลลิลิตรและตามด้วยน้ำยาละลายน้ำเชื้อ 50 มิลลิลิตร (กลุ่มที่ 3) และพบว่ากลุ่มที่ 3 มีจำนวนตัวอสุจิในท่อนำไข่น้อยกว่ากลุ่มที่ 2 แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยและเหตุผลดังกล่าวข้างต้นในส่วนของน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับภายหลังการผสมเทียมนั้นน่าจะทำการศึกษาต่อไปว่า การลดปริมาณน้ำเชื้อสดเพื่อทำน้ำเชื้อเจือจางจะมีผลต่อปริมาตรและจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับจริงหรือไม่ รวมทั้งถ้าเติมเอสโตรเจนลงในน้ำเชื้อจะมีผลต่อการกระตุ้นให้มีปริมาตรและโดยเฉพาะจำนวนตัวอสุจิไหลย้อนกลับน้อยลงหรือไม่และการเติมเอสโตรเจนในขนาดเท่าใดจึงจะเหมาะสม (optimum dose) ในการลดปริมาตรและจำนวนตัวอสุจิที่ไหลย้อนกลับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

เติมศรี ชำนิจารกิจ. 2531. สถิติประยุกต์ทางการแพทย์. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศรีสุวรรณ ชมชัย. 2541. คู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสุกร. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ สัตว์เศรษฐกิจ.

ศิริชัย พงษ์วิชัย. 2540. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อรรณพ คุณาวงษ์กฤต. 2537. วิทยาการสืบพันธุ์สุกร. กรุงเทพมหานคร : สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อรรณพ คุณาวงษ์กฤต. 2540. การประกันคุณภาพการใช้เทคโนโลยีการผสมเทียมสุกร. ใน สุพล เลืองยศลือชากุล, อธิภู นันทประเสริฐ, พรชลิต อัศวชีพ และ สุพจน์ วัฒนะพันธ์ศักดิ์ (บรรณาธิการ), ปัญหาการผลิตสุกรและการใช้เทคโนโลยี. สำนักพิมพ์ : คณะสัตวแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Aamdal, J. and Hogset, I. 1957. Artificial insemination in swine. J.A.V.M.A. 131(1): 59 – 64.

Almeida, F.R.C.L., Novak, S. and Foxcroft, G.R. 2000. The time of ovulation in relation to estrus duration in gilts. Theriogenology. 53: 1389 – 1396.

Althouse, G.C. 1997. Comparison of currently used semen extenders in the swine industry. Compend. Food Anim. 19(6): 777 - 782.

Andersson, A – M.and Einarsson, S. 1980. Study on the oestrus and ovarian activity during five successive oestrus cycles in gilts. Acta Vet. Scand. 21: 677 – 688.

Andersson, A – M., Einarsson, S., Edqvist, L – E and Lundeheim, N. 1984. Endocrine pattern and external oestrus symptoms at second and fourth oestrus in gilts. Anim. Reprod. Sci. 6: 301 – 310.

Baker, R.D., Dziuk, P.J. and Norton, H.W. 1968. Effect of volume of semen, number of sperm and drugs on transport of sperm in artificially inseminated gilts. J. Anim. Sci. 27: 88 -93.

Baker, R.D. and Degen, A.A. 1972. Transport of live and dead boar spermatozoa within the reproductive tract of gilts. J. Reprod. Fert. 28: 369 – 377.

Claus, R., Ellendroff, F. and Hoang – Vu. 1989. Spontaneous electromyographic activity

throughout the cycle in the sow and its change by intrauterine oestrogen infusion during oestrus. J. Reprod. Fert. 87: 543 – 551.

Clutton, R.E. 1994. Surgical anaesthesia in pigs. The Pig J. 32: 10 – 36.

Crabo, B.G. and Dial, G.D. 1992. Artificial insemination in swine. Veterinary Clinics of North American: Food Animal Practise. 8(3): 533 – 544.

Dunne, J.H., Davidson, F.M., McPherson, O., Roden, J.A., English, P.R., Hutchinson, J.S.M. and Farmer, A-M.T. 1994. The influence of exogenous oxytocin in association with natural mating and artificial insemination on subsequent fertility. Proc. 13th IPVS Congr., p. 404. Bangkok, Thailand.

Einarsson, S., Jones, B., Larsson, K. and Viring, S. 1980. Distribution of small- and medium-sized molecules within the genital tract of artificial inseminated gilts. J. Reprod. Fert. 59: 453 – 457.

Eliasson, L. 1989. A study on puberty and oestrus in gilts. J. Vet. Med. 36: 46 – 54.

First, N.L., Short, R.E., Peters, J.B. and Stratman, F.W. 1968. Transport and loss of boar spermatozoa in the reproductive tract of the sow. J. Anim. Sci. 27: 1037 – 1040.

Flowers, W.L. and Alhusen, H.D. 1992. Reproductive performance and estimates of labor requirement associated with combinations of artificial insemination and natural service in swine. J. Anim. Sci. 70(3): 615 – 621.

Glossop, C.E. 1990. The development of AI in the U.K. Proc. 11th IPVS Congr., p. 438. Lausanne, Switzerland.

Hofmo, P.O. and Blichfeldt, T. 1990. Liquid preservation of boar semen: A field comparison between two storage volumes using Beltsville TS extender. Proc. 11th IPVS Congr., p. 468. Lausanne, Switzerland.

Hoopter, P.N. and Green, C.G. 1990. Two combined A.I. and natural service mating treatments compared. Proc. 11th IPVS Congr., p. 467. Lausanne, Switzerland.

Hunter, R.H.F. and Leglise, P.C. 1971. Polyspermy fertilization following tubal surgery in pigs, with particular reference to the role of the isthmus. J. Reprod. Fert. 24: 233 – 246.

Hunter, R.H.F. 1982. Functional relationships between boar spermatozoa, the female reproductive tract and the egg investments. The Pig J. 9: 127 – 135.

Johnson, L.A. 1998. Current development in swine semen: Preservation, artificial insemination and sperm sexing. In Proc.15th IPVS Congr., pp. 225 - 229. Birmingham, England.

Kovalenko, V. 1998. Artificial insemination of sows and semen preservation. (Unpublished Manuscript)

Lovell, J.E. and Getty, R. 1968. Fate of semen in the uterus of the sow: Histologic study of endometrium during the 27 hours after natural service. Am. J. Vet. Res. 29(3): 609 – 625.

Leshin, L.S., Raj, S.M.P., Smith, C.K., Kwok, S.C.M., Kraeling, R.R. and Li, W.I. 1998. Immunostimulatory effects of pigs seminal proteins on pig lymphocytes. J. Reprod. Fert. 114: 77 – 84

Mburu, J.N., Einarsson, S., Dalin, A-M. and Rodriguez-Martinez, H. 1995. Ovulation as determined by transrectal ultrasonography in multiparous sows: Relationships with oestrus symptoms and hormonal profiles. J. Vet. Med. A. 42: 285 – 292.

Mburu, J.N., Einarsson, S., Lundeheim, N. and Rodriguez-Martinez, H. 1996. Distribution, number and membrane integrity of spermatozoa in the pig oviduct in relation to spontaneous ovulation. Anim. Reprod. Sci. 45: 109 – 121.

Mburu, J.N., Rodriguez-Martinez, H. and Einarsson, S. 1997. Changes in sperm ultrastructure and localisation in the porcine oviduct around ovulation. Anim. Reprod. Sci. 47: 137 – 148.

Nissen, A.K., Soede, N.M., Hyttel, P., Schmidt, M. and Hoore, L.D. 1997. The influence of time of insemination relative to time of ovulation on farrowing frequency and litter size in sows as investigated by ultrasonography. Theriogenology. 47: 1571 – 1582.

Pettersson, A., Einarsson, S. and Kindahl, H. 1993. Intraluminal pressure variations in the isthmus of the porcine oviduct after intrauterine insemination with saline, oestrogen solution or boar seminal plasma. Acta Vet. Scand. 34: 109 – 116.

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.

Rodriguez-Martinez, H., Nicander, L., Viring, S., Einarsson, S. and Larsson, K. 1990.

Ultrastructure of the uterotubal junction in preovulatory pigs. Anat. Histol. Embryol. 19: 16 – 36.

Rozeboom, K.J., Troedsson, M.H.T. and Crabo, B.G. 1998. Characterization of uterine leukocyte infiltration in gilts after artificial insemination. J. Reprod. Fert. 114: 195 – 199.

Soderquist, L. 1991. Sperm characteristics and fertility in dairy A.I. bulls with special reference to sperm motility, ATP content, sperm morphology, and spermatogenesis. Doctoral dissertation, Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Veterinary Medicine, Swedish University of Agricultural Sciences.

Soede, N.M., Noordhuizen, J.P.T.M. and Kemp, B. 1992. The duration of ovulation in pigs, studies by transrectal ultrasonography, is not related to early embryonic diversity. Theriogenology. 38: 653 – 666.

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

Soede, N.M., Wetzels, C.C.H., Zondag, W., Hazeleger, W. and Kemp, B. 1995b. Effect of a second insemination after ovulation on fertilization rate and accessory sperm count in sows. J. Reprod. Fertil. 105: 135 – 140.

Soede, N.M. and Kemp, B. 1997. Expression of oestrus and timing of ovulation in pigs. J. Reprod. Fert. (suppl.) 52: 91 – 103.

Steverink, D.W.B., Soede, N.M., Bouwman, E.G. and Kemp, B. 1997. Influence of insemination-ovulation interval and sperm cell dose on fertilization in sows. J. Reprod. Fertil. 111: 165 – 171.

Steverink, D.W.B., Soede, N.M., Bouwman, E.G. and Kemp, B. 1998. Semen backflow after insemination and its effect on fertilisation results in sows. Anim. Reprod. Sci. 54: 109 – 119.

Suarez, S., Redfern, K., Raynor, P., Martin, F. and Phillips, M. 1991. Attachment of boar sperm to mucosal explants of oviduct in vitro: Possible role in formation of a

sperm reservoir. Biol. Reprod. 44: 998 - 1004.

Suarez, S.S.1998. The oviductal sperm reservoir in mammals: Mechanisms of formation. Biol. Reprod. 58: 1105 – 1107.

Tubbs, R. 1995. Helping clients implememt an artificial insemination program. Compend. Food Anim. 17(1): 113 - 120.

Viring S. 1980. Distribution of live and dead spermatozoa in the genital tract of gilts at different times after insemination. Acta Vet. Scand. 21: 587 – 597.

Viring, S. and Einarsson, S. 1980a. Influence of boar seminal plasma on the distribution of spermatozoa in the genital tract of gilts. Acta Vet. Scand. 21: 598 – 606.

Viring, S. and Einarsson, S. 1980b. Effect of boar seminal plasma on uterine and oviductal motility in oestrus gilts. Acta Vet. Scand. 21: 607 – 616.

Viring, S., Einarsson, S., Jones, B. and Larsson, K. 1980. Transuterine transport of small- and medium-sized molecules deposited in the uterus in gilts. J. Reprod. Fert. 59: 459 – 462.

Viring, S. and Einarsson, S. 1981. Sperm distribution within the genital tract of naturally inseminated gilts. Nord. Vet. Med. 33: 145 – 149.

Waberski, D. 1997. Effects of semen components on ovulation and fertilization. J. Reprod. Fert. (suppl.) 52: 105 – 109.

Wang, W-H., Abeydeera, L.R., Prather, R.S. and Day, B.N. 1998. Morphologic comparison of ovulated and in vitro-matured porcine oocytes, with particular reference to polyspermy after in vitro fertilization. Mol. Reprod. Dev. 49: 308 – 316.

Yang, W.C., Kwok, S.C.M., Leshin, S., Bollo, E. and Li, W.I. 1998. Purified porcine seminal plasma protein enhances in vitro immune activities of porcine peripheral lymphocytes. Biol. Reprod. 59: 202 – 207.

Yolande, D. 1994.The Veterinary Formulary. The Pharmaceutical Press, London. 2th edition. p. 198, 211 – 212.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

วัสดุและเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการรีดเก็บน้ำเชื้อ

1.1. ตัวล่อ (Dummy)

1.2. ถุงมือไวนีล (Vinyl glove)

1.3. กระบอกเก็บน้ำเชื้อ

1.4. ผ้าก๊อซ

1.5. ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อโรคเพื่อเก็บน้ำเชื้อสด

1.6. ยางวงเล็ก สำหรับรัดผ้าก็อซและถุงพลาสติกไว้กับกระบอกเก็บน้ำเชื้อ

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ

2.1. กระดาษลิตมัส

2.2. เครื่องชั่งน้ำหนัก

2.3. กล้องจุลทรรศน์

2.4. สไลด์ (Slide)

2.5. แผ่นปิดสไลด์ (Cover glass)

2.6. เครื่องอุ่นสไลด์ (Hot plate)

2.7. Counting chamber แบบ Neubauer hemocytometer 1 ชุด

2.8. เครื่องนับตัวอสุจิ

2.9. Formal saline สำหรับการดองน้ำเชื้อเพื่อดูความผิดปกติส่วนหางของตัวอสุจิ

2.10. อุปกรณ์และสีสำหรับการย้อม William's stain เพื่อดูความผิดปกติส่วนหัวของตัวอสุจิอันได้แก่

2.10.1. ตะเกียงแอลกอฮอร์

2.10.2. ไฟแช็ค

2.10.3. Absolute alcohol

2.10.4. Chloramine T Solution 0.5%

2.10.5. Carbolfuchsin - eosin

2.10.6. 95 % Ethyl alcohol

2.10.7. น้ำกลั่น (Distilled water)

2.11. 3% NaCl

2.12. ไมโครไปเปต (Micropipette) ขนาด 200 ไมโครลิตรและ 40 ไมโครลิตร

2.13. Tip ขนาด 200 ไมโครลิตรและขนาด 1,000 ไมโครลิตร

2.14. Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

2.15. แท่นวาง Microcentrifuge tube

2.16. Oil สำหรับดูกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า

2.17. กระดาษเช็ดเลนส์

2.18. Xylene

3. อุปกรณ์สำหรับการเตรียมน้ำยาละลายน้ำเชื้อ (Diluent)

3.1. น้ำยาละลายน้ำเชื้อ (BTS; Minitub, Germany)

3.2. น้ำกลั่นไม่มีประจุ (Deionized distilled water)

3.3. ไซริงค์ขนาด 10 และ 20 มิลลิลิตร

3.4. หัวกรองแบคทีเรีย (Millipore filter ขนาด 0.2 ไมโครเมตร, Sartorius minisart®)

3.5. Magnatic stirrer

3.6. Magnatic bar

3.7. บีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

3.8. Cylinder ขนาด 500 มิลลิลิตร

3.9. ขวดขนาด 100 มิลลิลิตร (ขวดดูแลน)

3.10. หลอดทดลองพลาสติก (Test tube) ขนาด 16 x 125 มิลลิเมตร

3.11. พาราฟินฟิล์ม (Parafilm®)

3.12. แท่นวางหลอดทดลอง (Rack)

4. อุปกรณ์สำหรับการเจือจางน้ำเชื้อและเก็บน้ำเชื้อเจือจาง

4.1. ขวดพลาสติกสำหรับบรรจุน้ำเชื้อเจือจาง

4.2. น้ำยาละลายน้ำเชื้อ

4.3. Cylinder ขนาด 25 และ 50 มิลลิลิตร

4.4. Water bath

4.5. เทอร์โมมิเตอร์

4.6. Counting chamber แบบ Neubauer hemocytometer 1 ชุด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.7. เครื่องนับตัวอสุจิ

4.8. กล้องจุลทรรศน์

4.9. สไลด์ (Slide)

4.10. แผ่นปิดสไลด์ (Cover slide)

4.11. ไมโครไปเปต (Micropipette) ขนาด 200 ไมโครลิตรและ 40 ไมโครลิตร

4.12. Tip ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

4.13. Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

4.14. แท่นวาง Microcentrifuge tube

4.15. 3% NaCl

4.16. ตู้ควบคุมอุณหภูมิสำหรับเก็บน้ำเชื้อเจือจาง

5. อุปกรณ์สำหรับการผสมเทียมและอุปกรณ์สำหรับเก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ

5.1. ท่อผสมเทียม (Golden pig®; IMV, France)

5.2. กล่องโฟม

5.3. น้ำเชื้อเจือจาง

5.4. น้ำยาละลายน้ำเชื้อ

5.5. Water bath

5.6. กระบอกเก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ

5.7. ถุงพลาสติก

5.8. ยางสำหรับรัดถุงพลาสติกไว้กับกระบอกเก็บน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ

6. อุปกรณ์และเวชภัณฑ์สำหรับการวางยาสลบและศัลยกรรมช่องท้อง

6.1. โต๊ะสำหรับผ่าตัดสุกรและเชือกสำหรับผูกขาสุกรจำนวน 4 เส้น

6.2. อุปกรณ์สำหรับการผ่าตัดช่องท้อง 1 ชุดได้แก่

6.2.1. ผ้าหน้าต่าง

6.2.2. ผ้าซับเลือด

6.2.3. ผ้าปูโต๊ะสำหรับวางเครื่องมือผ่าตัด

6.2.4. เครื่องมือผ่าตัด

6.2.4.1. Artery forceps จำนวน 6 ด้าม

6.2.4.2. Uterine forceps จำนวน 1 ด้าม

6.2.4.3. Towel forceps จำนวน 4 ด้าม

6.2.4.4. Alis tissue forceps จำนวน 2 ด้าม

6.2.4.5. ด้ามมีด 1 ด้าม

6.2.4.6. ใบมีด

6.2.4.7. กรรไกรตัดเนื้อเยื่อ 1 ด้าม

6.2.4.8. กรรไกรตัดไหม 1 ด้าม

6.2.4.9. Forceps 1 อัน

6.2.4.10. Needle holder 1 อัน

6.2.4.11. เข็มเหลี่ยม

6.2.4.12. ไหมดำขนาด 1-0

6.3. เวชภัณฑ์สำหรับการวางยาสลบ

6.3.1. ยานำสลบ Azaperone (Stretnil®; Janssen pharmaceutica, Belgium)

6.3.2. ยาชา Lidocain HCl (Xylocaine® 2 %; OLIC (thailand) Ltd., Thailand)

6.3.3. ยาสลบ Thiopentone sodium (PentothalSodium®; Abbott Laboratories (india) Ltd., India)

6.4. แอลกอฮอล์ 70%

6.5. สำลี

6.6. น้ำเกลือ (Normal saline)

6.7. Three way

6.8. เทปปิดแผล

6.9. เข็มสำหรับแทงเส้นเลือด

6.10. ที่จับปากสุกร

6.11. ไซริงค์ ขนาด 10 มิลลิลิตร

6.12. เข็มเบอร์ 18 ยาว 1 นิ้วและยาว 1.5 นิ้ว

6.13. ถุงมือผ่าตัด

6.14. สบู่

6.15. มีดโกนพร้อมด้ามมีด

6.16. ทิงเจอร์ไอโอดีน

6.17. น้ำยาฆ่าเชื้อ

6.18. Penicillin – Streptomycin (Penomycin®)

6.19. Penicillin – Streptomycin L.A. (Pendistrep L.A.®)

6.20. I.V. Catheter เบอร์ 18 ยาว 5/4 นิ้ว (Surflo®)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6.21. ยาทาแผลภายนอก (Dupha spray®)

6.22. ชุดสำหรับใส่ผ่าตัด 2 ชุด

6.23. รถเข็นสุกร 1 คัน

7. อุปกรณ์สำหรับเก็บปีกมดลูกและท่อนำไข่

7.1. ไม้บรรทัด

7.2. ถุงสำหรับใส่มดลูกและปีกมดลูก

7.3. ด้ายดิบ

7.4. Artery forceps จำนวน 2 ด้าม

8. อุปกรณ์สำหรับการชะล้างท่อนำไข่และปีกมดลูก

8.1. น้ำยาละลายน้ำเชื้อ

8.2. 0.9 % NaCl

8.3. ไม้บรรทัด

8.4. ไซริงค์ขนาด 3 และ 20 มิลลิลิตร

8.5. เข็มเบอร์ 21 ตัดส่วนปลายแหลม

8.6. กรรไกรสำหรับตัดเนื้อเยื่อจำนวน 1 ด้าม

8.7. Artery forceps จำนวน 2 ด้าม

8.8. Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

8.9. แท่นวาง Microcentrifuge tube

8.10. ขวดขนาด 100 มิลลิลิตร (ขวดดูแลน)

8.11. ถาดสำหรับวางปีกมดลูกและท่อนำไข่สุกร

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

9. อุปกรณ์สำหรับนับจำนวนตัวอสุจิจากท่อนำไข่ ปีกมดลูกและจากน้ำเชื้อที่ไหลย้อนกลับ

9.1. กล้องจุลทรรศน์

9.2. Counting chamber แบบ Neubauer hemocytometer 1 ชุด

9.3. เครื่องนับตัวอสุจิ

9.4. ไมโครไปเปต (Micropipette) ขนาด 200 ไมโครลิตรและ 40 ไมโครลิตร

9.5. Tip ขนาด 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

9.6. แท่นวาง Microcentrifuge tube

9.7. Cylinder ขนาด 25 และ 50 มิลลิลิตร

9.8. 3 % NaCl

9.9. เครื่อง Centrifuge

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ

1. การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อด้วยตาเปล่า

1.1. ปริมาตร การตรวจวัดปริมาตรน้ำเชื้อจะกระทำทันที โดยตวงวัดจากน้ำเชื้อที่เก็บมาได้และไม่รวมเม็ดสาคูโดยใช้กระบอกตวงหรือทำการชั่งน้ำหนักโดยให้น้ำหนัก 1 กรัมเท่ากับปริมาตร 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร

1.2. สี ตามปกติสีของน้ำเชื้อพ่อสุกรจะเป็นสีขาวอาจปนเหลืองเล็กน้อย ซึ่งการตรวจสอบสีจะทำการตรวจสอบว่ามีสีที่ผิดปกติไปหรือไม่เพราะสีที่มีความผิดไปจากปกติในน้ำเชื้อจะมีผลต่อตัวอสุจิได้เช่นมีเลือดหรือดินปน เป็นต้น

1.3. ความหนืด ตามปกติน้ำเชื้อพ่อสุกรจะไม่ค่อยข้นนักและค่อนข้างคล้ายน้ำนม ในการตรวจน้ำเชื้อจะให้คะแนนและตรวจสอบความเข้มข้นของน้ำเชื้อโดยการเอียงขวดดูว่ามีความเข้มข้นเพียงใดประกอบกับดูความใส น้ำเชื้อพ่อสุกรที่ดีควรจะมีลักษณะความเข้มข้นเหมือนนมสดหรือน้ำเต้าหู้ ไม่ควรขุ่นหรือใสเพราะจะบ่งบอกว่าจำนวนตัวอสุจิมีน้อย ซึ่งความขุ่น-ใสและสีของน้ำเชื้อจะสามารถบ่งบอกถึงความเข้มข้นของตัวอสุจิได้คร่าว ๆ (Tubb, 1995)

1.4. ความเป็นกรด – ด่าง มักจะใช้กระดาษลิตมัสเป็นตัววัด ซึ่งค่าปกติของสุกรจะมีค่าเฉลี่ยประมาณ 7.5 หรือเป็นด่างเล็กน้อย

2. การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์

2.1. การเคลื่อนไหวเฉพาะตัว ทำได้โดยการหยดน้ำเชื้อลงบนแผ่นกระจกแล้วปิดด้วยแผ่นปิดซึ่งแผ่นกระจกควรอุ่นที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสก่อนนำมาใช้ จากนั้นส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 200 – 400 เท่า การประมาณการเคลื่อนไหวเฉพาะตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ไปตรงข้างหน้า โดยเกณฑ์การตัดสินอาจให้เป็นเปอร์เซ็นต์หรือคะแนนก็ได้ดังตารางที่ 1 โดยเกณฑ์ที่จะตัดสินว่าน้ำเชื้อสุกรจะใช้ได้จะต้องมีค่าตั้งแต่ 60 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป

2.2. การนับจำนวนตัวอสุจิ จะเป็นการบอกถึงความเข้มข้นของน้ำเชื้อ โดยมักจะมีการนับเป็นจำนวนตัวอสุจิต่อ 1 ลูกบาศก์เซ็นติเมตรหรือจำนวนตัวต่อหนึ่งการหลั่งน้ำเชื้อ ค่าปกติของพ่อสุกรจะมีความเข้มข้นของน้ำเชื้อเฉลี่ย 100 ล้านตัวต่อลูกบาศก์เซ็นติเมตรหรือประมาณ 25,000 ล้านตัวต่อการหลั่งน้ำเชื้อ ซึ่งวิธีการนับตัวอสุจิจะใช้ฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer method) ซึ่งเป็นการนับจำนวนตัวอสุจิโดยตรงจากน้ำเชื้อที่ทำการเจือจางแล้วและจะนำค่าที่นับ

ได้มาคำนวณย้อนกลับให้เป็นตามปริมาตรที่ต้องการ ซึ่งวิธีการนี้เป็นวิธีมาตรฐานที่นิยมใช้กันทั่วไปและจะตรวจนับตัวอย่างละ 2 ครั้งเพื่อหาค่าเฉลี่ยต่อไป (อรรณพ คุณาวงษ์กฤต, 2537)

ตารางที่ 1 การให้คะแนนน้ำเชื้อที่มีการเคลื่อนไหวเฉพาะตัว

เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่วิ่ง	คุณภาพ	คะแนน
80 – 100	ดีมาก	5
60 – 80	ดี	4
40 – 60	พอใช้	3
20 – 40	เลว	2
ต่ำกว่า 20	เลวมาก	1

ที่มา: อรรณพ คุณาวงษ์กฤต (2537)

2.3. การตรวจลักษณะตัวอสุจิ

2.3.1. การตรวจโดยการย้อมสีตัวอสุจิ จะทำให้เห็นลักษณะต่าง ๆ ของตัวอสุจิชัดเจนขึ้น สีที่ใช้ย้อมตัวอสุจิที่ดีที่สุดสำหรับการย้อมตัวอสุจิเพื่อดูลักษณะคือ การย้อมด้วยสีคาร์บอนฟุกซิน-อีโอซิน (Carbonfuchsin-eosin straining) หรือที่มีชื่อเรียกตามผู้คิดค้นคือ การย้อมสีแบบ วิลเลี่ยมเสตน (William' s stain) กระบวนการย้อมมีวิธีการพิเศษคือมีขั้นตอนของการใช้สารคลอรามีน ที (Chloramine T solution 0.5%) สำหรับละลายเมือกของน้ำเชื้อที่อยู่บนแผ่นกระจกออกไป ทำให้การย้อมสีเห็นตัวอสุจิชัดเจนขึ้น (Soderquist, 1991) ซึ่งมีวิธีการทำโดยการป้ายน้ำอสุจิที่เจือจางแล้วลงบนแผ่นกระจกให้บาง ๆ แล้วย้อมสี จากนั้นเอามาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ด้วยกำลังขยาย 1,000 เท่า แล้วนับตัวอสุจิทั้งหมด 500 ตัว แบ่งประเภทของความผิดปกติไว้และนำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ ในวิธีการนี้ทางห้องปฏิบัติการใช้เป็นการตรวจเฉพาะความผิดปกติของส่วนหัวเท่านั้น ส่วนอื่น ๆ ใช้ตรวจโดยวิธีใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดตัดแสง

2.3.2. การตรวจโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ชนิดตัดแสง วิธีนี้จะใช้น้ำเชื้อที่เก็บไว้ในฟอร์มัลซาไล (Formal saline) (Soderquist, 1991) โดยใช้อัตราส่วนน้ำเชื้อ 1 – 2 หยดต่อฟอร์มัลซาไล 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งการตรวจนี้เหมาะสมกับการตรวจความผิดปกติของลักษณะตัวอสุจิในรูปแบบต่าง ๆ ยกเว้นส่วนหัว การตรวจจะใช้น้ำเชื้อเจือจางหยดลงบนแผ่นกระจกปิดด้วยแผ่นแก้วบางและตรวจด้วย กล้องจุลทรรศน์ชนิดตัดแสงด้วยกำลังขยาย 500 – 1,000 เท่า และทำการนับตัวอสุจิ 200 ตัวและจำแนกความผิดปกติแล้วนำไปคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์

การประเมินผลการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ

การประเมินผลคุณภาพน้ำเชื้อจะทำการเปรียบเทียบกับค่าปกติของน้ำเชื้อ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าปกติของน้ำเชื้อพ่อสุกร

	ค่าเฉลี่ย	ช่วง
1. ปริมาตร (ลบ.ซม.)	250	100 – 500
2. ความเป็นกรดด่าง (pH)	7.5	7.3 – 7.8
3. ความเข้มข้น (ล้านตัวต่อลบ.ซม.)	100	25 – 300
4. ตัวอสุจิทั้งหมดต่อการหลั่ง (พันล้านตัว)	25	10 – 100
5. การเคลื่อนไหวเฉพาะตัว (%)	70	60 - 90
6. ตัวอสุจิปกติ (%)	>80	70 – 90
7. ตัวอสุจิผิดปกติ (%)	<20	5 – 20
- ความผิดปกติส่วนหัว (%)	3	2 – 5
- ความผิดปกติส่วนกลางลำตัว (%)	3	2 – 5
- ความผิดปกติส่วนหาง (%)	2.5	1 – 5
- Cytoplasmic droplet (%)	2.5	1 – 5

ที่มา: อรรณพ คุณาวงษ์กฤต (2537)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

การคำนวณการเจือจางน้ำเชื้อสดเป็นน้ำเชื้อเจือจาง

ปริมาตรของ Hemocytometer

นับจำนวนอสุจิ 5 ช่องคือ (1/5) x (1/5) x (1/10) x 5 = 1/50 mm^3

จำนวนตัวอสุจิ / cm^3

ถ้าปริมาตร 1/50 mm^3 สามารถนับตัวอสุจิได้ N ตัว

ดังนั้นปริมาตร 1 mm^3 สามารถนับตัวอสุจิได้ N/ = 50N x 10^3 ตัว / cm^3

(1/50) = 50N ตัว / mm^3

ในการนับจำนวนตัวอสุจินั้นจะทำการเจือจางด้วยอัตราส่วน 1:20 ก่อนการนับ

ดังนั้นจำนวนตัวอสุจิที่นับได้ 50N x 10^3 x 20 ตัว / cm^3

คือ = N x 10^6 ตัว / cm^3

วิธีการคำนวณการเจือจางน้ำเชื้อ

1. วิธีการคำนวณการเจือจางน้ำเชื้อในกลุ่มควบคุม โดยที่น้ำเชื้อเจือจางมีตัวอสุจิทั้งหมด (Total Spermatozoa) 3 x 10^9 ตัว/โด๊ส (โดยที่ 1 โด๊ส เท่ากับ 100 มิลลิลิตร)

มีจำนวนตัวอสุจิที่นับได้ N x 10^6 ตัวจากน้ำเชื้อสดปริมาตร 1 cm^3

ถ้าต้องการเจือจางให้เป็น 3,000 x 10^6 ตัว ต้องใช้น้ำเชื้อสดจำนวน

= 3,000 x 10^6 / N x 10^6 cm^3

ดังนั้นต้องใช้น้ำเชื้อสดจำนวน 3,000 / N cm^3 และเติมน้ำยาละลายน้ำเชื้อให้ครบ 100 cm^3

2. วิธีการคำนวณการเจือจางน้ำเชื้อในกลุ่มทดลองที่ 1 โดยที่น้ำเชื้อเจือจางมีตัวอสุจิทั้งหมด (Total Spermatozoa) 3 x 10^9 ตัว/โด๊ส (โดยที่ 1 โด๊ส เท่ากับ 50 มิลลิลิตร)

มีจำนวนตัวอสุจิที่นับได้ N x 10^6 ตัวจากน้ำเชื้อสดปริมาตร 1 cm^3

ถ้าต้องการเจือจางให้เป็น 3,000 x 10^6 ตัว ต้องใช้น้ำเชื้อสดจำนวน

= 3,000 x 10^6 / N x 10^6 cm^3

ดังนั้นต้องใช้น้ำเชื้อสดจำนวน 3,000 / N cm^3 และเติมน้ำยาละลายน้ำเชื้อให้ครบ 50 cm^3

3. วิธีการคำนวณการเจือจางน้ำเชื้อในกลุ่มทดลองที่ 2 โดยที่น้ำเชื้อเจือจางมีตัวอสุจิทั้งหมด (Total Spermatozoa) 1.5 x 10^9 ตัว/โด๊ส (โดยที่ 1 โด๊ส เท่ากับ 50 มิลลิลิตร)

มีจำนวนตัวอสุจิที่นับได้ N x 10^6 ตัวจากน้ำเชื้อสดปริมาตร 1 cm^3

ถ้าต้องการเจือจางให้เป็น 1,500 x 10^6 ตัว ต้องใช้น้ำเชื้อสดจำนวน

= 1,500 x 10^6 / N x 10^6 cm^3

ดังนั้นต้องใช้น้ำเชื้อสดจำนวน 1,500 / N cm^3 และเติมน้ำยาละลายน้ำเชื้อให้ครบ 50 cm^3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

สารเคมีและวิธีการเตรียมสีย้อม

วิธีการเตรียม Formal Saline Solution (ศรีสุวรรณ ชมชัย, 2541)

ส่วนประกอบของสารเคมี

1. Sodium Hydrogenphosphate ($Na_2HPO_4 \bullet 2H_2O$)	6.19 กรัม
2. Potassium Hydrogenphosphate (KH_2PO_4)	2.45 กรัม
3. Sodium Chloride (NaCl)	5.41 กรัม
4. Formal Saline Solution Concentration	125 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลายสารเคมีทั้งหมดในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม Carbolfuchsin – Eosin (ศรีสุวรรณ ชมชัย, 2541)

ส่วนประกอบของสารเคมี

1. Basic Carbolfuchsin
2. Phenol
3. Eosin bluish
4. 95% Ethyl alcohol
5. น้ำกลั่น

วิธีการเตรียม

1. Stock basic carbalfuchsin solution โดยการนำ Carbolfuchsin 10 กรัม ละลายใน 95% Ethyl alcohol จำนวน 100 มิลลิลิตร

2. Stock phenol solution (5% phenol) โดยนำ Phenol 5 กรัมละลายในน้ำกลั่น จำนวน 100 มิลลิลิตร

3. Stock eosin bluish solution โดยนำ Eosin bluish จำนวน 1 กรัมมาละลาย ใน 95 % Ethyl alcohol จำนวน 100 มิลลิลิตร

4. นำ Stock ในข้อ 1 จำนวน 10 มิลลิลิตรผสมกับ Stock ในข้อ 2 จำนวน 100 มิลลิลิตร (จะได้ Stock staining)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. จากนั้นนำ Stock straining จำนวน 50 มิลลิลิตรมาผสมกับสารในข้อ 3 จำนวน 25 มิลลิลิตร จากนั้นทิ้งไว้ 3 – 6 เดือนก่อนนำมาใช้ ซึ่งก่อนการใช้ต้องทำการกรองตะกอนสีออกก่อน

วิธีการเตรียม 0.5 % Chloramin – T (ศรีสุวรรณ ชมชัย, 2541)

ส่วนประกอบของสารเคมี

1. Chloramine - T
2. น้ำกลั่น

วิธีการเตรียม

นำ Chloramine – T จำนวน 5 กรัมมาละลายในน้ำกลั่นจำนวน 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นเก็บไว้ 3 – 6 เดือนก่อนนำมาใช้ ซึ่งก่อนการใช้ต้องนำมากรองก่อนเสมอ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นาย กฤษทศักดิ์ แสงกาศนีย์ เกิดวันที่ 20 มกราคม พ.ศ. 2518 ที่อำเภอเมือง จังหวัดนราธิวาส สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีสัตวแพทยศาสตรบัณฑิต จากคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2540 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ที่คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2541

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย