สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2542

เรื่อง

ความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็งกระต่าย

Fertility of Liquid and Frozen Rabbit Semen

โดย

รศ.สมศักดิ์ บัณฑุชัย

ผศ.ทรงศักดิ์ ตันพิพัฒน์

RCH
SF
454.2
ส282ร

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 54617
วัน,เดือน,ปี 24 มิ.ย. 2548

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

b11346735
b.....
i.....

ความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็งกระต่าย

Fertility of Liquid and Frozen Rabbit Semen

โดย

รศ.สมศักดิ์ บัณฑุชัย และ ผศ.ทรงศักดิ์ ตันพิพัฒน์

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่กระต่ายที่ได้รับจากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็งโดยใช้แม่กระต่ายจำนวน 85 ตัว แบ่งแม่กระต่ายออกเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 17 ตัว โดยกลุ่มที่ 1 ถึง 5 ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษา ไม่เกิน 8 ชั่วโมง 1 2 3 วัน และน้ำเชื้อแช่แข็งตามลำดับ น้ำเชื้อเหลวที่ใช้ฉีดต่อแม่ในแต่ละกลุ่มมีจำนวนอสุจิ 20 ล้านต่อ 0.5 ซีซี ส่วนน้ำเชื้อแช่แข็งที่ใช้ฉีดต่อแม่ มีจำนวนอสุจิ 40 ล้านต่อ 0.5 ซีซี มีการฉีดฮอร์โมนเอชซีจี 20 ยูนิต ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ให้แม่กระต่ายก่อนการฉีดน้ำเชื้อ 5 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบ CRD เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนลูกต่อครอก น้ำหนักลูกแรกเกิด ระยะเวลาการตั้งท้อง และจำนวนแม่กระต่ายที่ผสมติดในแต่ละกลุ่มโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน และไคสแควร์ (χ^2) ผลการศึกษาพบว่าความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่กระต่ายที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็ง แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีแนวโน้มว่าน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาไว้ไม่เกิน 8 ชั่วโมงและน้ำเชื้อแช่แข็งให้เปอร์เซ็นต์การผสมติด จำนวนลูกต่อครอกสูงกว่าน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษา 1 2 และ 3 วัน โดยมีอัตราการผสมติด 82.35 64.71 52.94 52.94 และ 82.35 เปอร์เซ็นต์ จำนวนลูกต่อครอกเฉลี่ย 5.00 4.00 4.22 4.00 และ 5.07 ตัว น้ำหนักลูกแรกเกิดเฉลี่ย 52.21 54.86 51.96 53.48 และ 50.68 กรัม และระยะเวลาการตั้งท้องเฉลี่ย 30.93 31.00 30.67 31.11 และ 30.93 วัน ในแม่กระต่ายกลุ่มที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษา ไม่เกิน 8 ชั่วโมง 1 2 3 วัน และน้ำเชื้อแช่แข็งตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
สารบาญตาราง	(2)
สารบาญตารางภาคผนวก	(2)
สารบาญภาพผนวก	(3)
ความนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	5
ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล	9
สรุป	13
เอกสารอ้างอิง	14
ภาคผนวก	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การเคลื่อนไหวของอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง	10
2	ผลของน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของกระต่าย	10
3	ผลของน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีต่ออัตราการผสมติดของแม่กระต่ายจากการวิเคราะห์โดยใช้ไคสแควร์	11

สารบาญตารางผนวก

ตารางผนวกที่		
1	แสดงส่วนประกอบของสารเจือจางน้ำเชื้อเหลว	17
2	จำนวนลูกกระต่ายต่อครอกของแม่กระต่าย ที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง	17
3	น้ำหนักลูกแรกเกิดต่อตัวจากแม่กระต่าย ที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง	18
4	ระยะเวลาการตั้งท้องของแม่กระต่าย ที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง	19
5	การวิเคราะห์ผลทางสถิติของการผสมติดจากการใช้น้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง	20
6	ผลวิเคราะห์ทางสถิติ ของจำนวนลูกต่อครอกของแม่กระต่าย ที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง	21
7	ผลวิเคราะห์ทางสถิติ ของน้ำหนักลูกแรกเกิดต่อตัวจากแม่กระต่าย ที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง	21
8	ผลวิเคราะห์ทางสถิติ ของระยะเวลาการตั้งท้องของแม่กระต่าย ที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพผนวก

ภาพผนวกที่		หน้า
1	การเก็บรักษาน้ำเชื้อเหลว	22
2	การบรรจุน้ำเชื้อเข้าหลอดฟาง	22
3	การแตะปลายหลอดฟางกับหวีพลาสติก เพื่อไล่น้ำเชื้อจากปลายหลอดฟางออก	23
4	การปิดปลายหลอดฟางอีกด้านหนึ่งด้วยผงอุด (sealing powder)	23
5	การจุ่มปลายหลอดฟางด้านที่มีผงอุดในน้ำเย็น 5^0 C	24
6	การวางเรียงหลอดฟางในแนวนอนบนตะแกรง เพื่อให้น้ำเชื้อสัมผัสไอไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -120^0 C	24
7	การเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งในไนโตรเจนเหลว ภายในถังเก็บที่อุณหภูมิ -196^0 C	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็งกระต่าย

Fertility of Liquid and Frozen Rabbit Semen

ความนำ

กระต่าย (*Oryctolagus cuniculus*) เป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมประเภทหนึ่ง ที่มนุษย์รู้จักเลี้ยงกันมานานแล้ว โดยการผสมพันธุ์จัดว่าเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการผลิตกระต่าย นอกเหนือไปจากเรื่องพันธุ์ อาหาร หรือการจัดการดูแล การผสมพันธุ์กระต่ายสามารถทำได้ทั้งการผสมตามธรรมชาติและการผสมเทียมที่จัดว่ามีข้อได้เปรียบมากกว่าการผสมตามธรรมชาติหลายประการ (สมศักดิ์, 2531) ในการผสมเทียมนั้นน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้จากพ่อพันธุ์ต้องนำไปประเมินคุณภาพ และเจือจางเพื่อเพิ่มปริมาตรน้ำเชื้อด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อให้มีจำนวนอสุจิที่เหมาะสมต่อความสมบูรณ์พันธุ์ น้ำเชื้อที่เจือจางแล้วอาจเก็บรักษาในสภาพน้ำเชื้อเหลว (liquid semen) ซึ่งสามารถเก็บรักษาไว้ได้ที่อุณหภูมิ 5^0 C ในช่วงเวลาหนึ่ง โดยสามารถใช้น้ำเชื้อได้เป็นเวลาหลายชั่วโมงหรือหลายวันต่อการผลิตครั้งหนึ่ง ๆ แต่ก็มีปัญหาเรื่องช่วงเวลาที่ใช้ได้อย่างแน่นอน โดยไม่เกิดผลเสียต่อความสมบูรณ์พันธุ์ สำหรับน้ำเชื้อแช่แข็งอาจเก็บไว้ได้นานหลายปี ซึ่งจะเป็นประโยชน์มากต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อพ่อพันธุ์ที่มีลักษณะดีมาก แต่ความสมบูรณ์พันธุ์ที่ได้รับจากน้ำเชื้อแช่แข็งอาจจะต่ำ ดังนั้นถ้าได้มีการศึกษาถึงความสมบูรณ์พันธุ์ที่ได้รับจากการใช้น้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็งแล้ว จะทำให้การตัดสินใจเลือกใช้น้ำเชื้อกระต่ายเป็นไปอย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพมากขึ้น

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่กระต่ายที่ได้รับการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อเหลวอายุการเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

การผสมพันธุ์กระต่าย สามารถกระทำได้ทั้งการผสมตามธรรมชาติและการผสมเทียม ซึ่ง Sinkovics และคณะ (1983) รายงานจากการศึกษาเบื้องต้น (ใช้แม่กระต่ายประมาณ 1,000 แม่) พบว่า การผสมเทียมให้ผลดีกว่าการผสมตามธรรมชาติ โดยการผสมเทียมและการผสมตามธรรมชาติมีผลทำให้แม่กระต่ายผสมติดเท่ากับ 73.8% (303/462 ตัว) และ 54.3%(251/462 ตัว) จำนวนลูกกระต่ายต่อครอกเฉลี่ย 7.7 ตัว (ลูกทั้งหมด3,722 ตัว) และ 8.0 ตัว (ลูกทั้งหมด2,016) ส่วนข้อมูลจากฟาร์มขนาดใหญ่ (มีแม่กระต่ายประมาณ 10,000 แม่) พบว่า การผสมเทียมให้ผลต่ำกว่าการผสมตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นผลมาจากปัจจัยบางประการ เช่น มีการใช้น้ำเกลือเป็นสารเจือจางน้ำเชื้อ มีการใช้น้ำเชื้อรวมจากพ่อพันธุ์จำนวนมาก เป็นต้น โดยการผสมเทียมและการผสมตามธรรมชาติ มีผลทำให้แม่กระต่ายผสมติดเท่ากับ 39.9% (483/1,211 ตัว) และ 45.8% (757/1,653 ตัว) จำนวนลูกกระต่ายต่อครอกเฉลี่ย 7.3 ตัว (ลูกทั้งหมด 5,510 ตัว)

ในการผสมเทียม จำเป็นต้องมีการรีดเก็บน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์มาใช้ฉีดให้แม่พันธุ์ โดย Paufler (1974) รายงานว่าน้ำเชื้อกระต่ายพันธุ์นิวซีแลนด์ไวท์มีค่าเฉลี่ยปริมาตรน้ำเชื้อ 0.86 ซีซี ความเข้มข้นอสุจิ 310 ล้านต่อซีซี และการเคลื่อนไหวของอสุจิ 55% ส่วนกระต่ายเลือด 50% นิวซีแลนด์ไวท์และ 50% แคลิฟอร์เนียนมีค่าเฉลี่ยของปริมาตรน้ำเชื้อ 0.61 และ 0.63 ซีซี ความเข้มข้นอสุจิ 267.3 และ 301.8 ล้านต่อซีซี (สมศักดิ์ และ มรว.ชวนิศนดากร , 2523)

น้ำเชื้อกระต่ายที่รีดเก็บได้ควรนำไปใช้โดยเร็วที่สุด เพราะสภาพน้ำเชื้อภายใต้อุณภูมิห้องภายหลังรีดเก็บจากพ่อกระต่ายแล้วประมาณ 1 ชั่วโมง จะมีความสมบูรณ์พันธุ์ของอสุจิลดลง (Adams, 1972) โดยทั่วไปแล้วน้ำเชื้อที่รีดได้จะนำมาเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำน้ำเชื้อ (diluter) ซึ่งนอกจากจะเพิ่มปริมาตรน้ำเชื้อที่จะฉีดให้แม่กระต่ายได้มากตัวขึ้นแล้ว ยังช่วยยืดอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อให้นานขึ้นอีกด้วย น้ำเชื้อภายหลังการเจือจางสามารถเก็บรักษาไว้ได้เป็นเวลาหลายชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง หลายวันที่อุณหภูมิ 5^0 C หรือเก็บรักษาในสภาพแช่แข็ง (Adams, 1981) สารเจือจางน้ำเชื้อแบบง่ายๆ คือ น้ำเกลือเข้มข้น 0.9% ในอัตราส่วนการเจือจาง 1:1 ถึง 1:20 ซึ่งให้ผลการผสมติดที่ดี แต่ควรใช้ภายใน 4 ชั่วโมง (Battaglini, 1982) สำหรับสารเจือจางน้ำเชื้อเหลวที่อุณหภูมิเก็บรักษา 5^0 C มีอยู่ด้วยกันหลายสูตร เช่น สูตรไข่แดง-ซิเตรท สูตรทริสบัฟเฟอร์ - ไข่แดง เป็นต้น (สมศักดิ์ และ ทรงศักดิ์, 2533) โดยน้ำเชื้อเหลวที่เจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อสูตร 20% ไข่แดง-ซิเตรท ที่ระดับความเข้มข้นน้ำเชื้อ 20 10 5 และ 1 ล้าน ต่อ 0.5 ซีซี ให้อัตราการผสมติดเท่ากับ 86.67 73.33 73.33 และ 66.67% ตามลำดับ ส่วนจำนวนลูกกระต่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อครอกเฉลี่ย 5.38 5.91 5.0 และ 7.1 ตัว ตามลำดับ (สมศักดิ์ และ มรว.ชวนิศนดากร , 2523) สำหรับระดับความเข้มข้นน้ำเชื้อ 20 ล้านต่อ 0.5 ซีซี และใช้ฮอร์โมนเอชซีจี 20 ยูนิต ต่อน้ำหนักตัวแม่กระต่าย 1 กิโลกรัม นั้น สมศักดิ์และทรงศักดิ์ (2530) รายงานว่า แม่กระต่ายมีอัตราการผสมติด 80.95% และจำนวนลูกต่อครอกเฉลี่ย 6.0 ตัว ส่วนสารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง Paufler (1974) รายงานว่า สามารถใช้ได้เป็นเวลาอย่างน้อย 2 วัน ซึ่งยังคงให้ผลที่ดี โดยมีจำนวนลูกกระต่ายเกิด คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนคอร์ปัสลูเตียม เท่ากับ 42 49 และ 34% เมื่อผสมแม่กระต่ายด้วยน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 0 2 และ 4 วัน ที่อุณหภูมิ 5^{0}C ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม Salmon (1976) อ้างโดย พีรศักดิ์ (2528) รายงานว่า ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อแกะที่อุณหภูมิ 2-5^{0} C การเคลื่อนที่ของอสุจิจะลดลง จากปกติประมาณ10-15% ต่อวันของการเก็บรักษา ในทำนองเดียวกันการเก็บรักษาน้ำเชื้อนานวัน จะทำให้การรอดชีวิตของอสุจิในทางเดินระบบสืบพันธุ์เพศเมียของแกะลดลงด้วย และพบว่าน้ำเชื้อสด น้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ 24 และ 48 ชั่วโมง อสุจิจะยังคงมีความแข็งแรงอยู่ในทางเดินระบบสืบพันธุ์ของแกะได้นานมากกว่า 10 6-7 และ 4-5 ชั่วโมง ตามลำดับ

สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง นอกจากจะนำมาใช้เก็บรักษาน้ำเชื้อเหลวได้เป็นอย่างดีแล้ว ยังสามารถนำมาใช้เก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งได้อีก ด้วยการเติมกลีเซอรอลลงในน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วที่อุณหภูมิ 5^{0} C โดย Stranzinger และคณะ (1971) รายงานว่า น้ำเชื้อกระต่ายพันธุ์ไวท์เวียนนา (White Vienna) เมื่อเจือจางด้วยสารเจือจางสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง โดยใช้ DMSO 12.5% และเติมกลีเซอรอล 6% (เมื่อทำน้ำเชื้อแช่แข็ง) ในการฉีดน้ำเชื้อให้แม่กระต่าย ถ้าเป็นน้ำเชื้อเหลวใช้ในปริมาตรน้ำเชื้อ 0.3 ซีซีต่อแม่ แต่ถ้าเป็นน้ำเชื้อแช่แข็งใช้ปริมาตรน้ำเชื้อ 0.6 ซีซีต่อแม่ โดยให้มีอสุจิที่เคลื่อนไหวอย่างน้อย 12 ล้านเซลล์ต่อโดส น้ำเชื้อแช่แข็งมีการเคลื่อนไหวของอสุจิภายหลังการเจือจางอยู่ระหว่าง 25-50% และมีการใช้ฮอร์โมน LH ก่อนการฉีดน้ำเชื้อ 5 ชั่วโมง ผลปรากฏว่าน้ำเชื้อเหลว น้ำเชื้อแช่แข็งแบบเม็ด (pellet) และหลอดฟาง มีอัตราการผสมติดและจำนวนลูกต่อครอกเท่ากับ 65% 4.8 ตัว , 52.6% 3.7 ตัว และ 25% 1.1 ตัว ตามลำดับ สำหรับการใช้ DMSO และกลีเซอรอล ในการทำน้ำเชื้อแช่แข็งสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง อาจใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำคือ DMSO 5% และกลีเซอรอล 1.3% (Andrieu และ Courot, 1976 อ้างโดย Battaglini, 1982)

โดยทั่วไปในการเก็บรักษาน้ำเชื้อกระต่ายแบบแช่แข็ง ทั้งในน้ำแข็งแห้งหรือไนโตรเจนเหลว น้ำเชื้อกระต่ายมีความไวต่อการกระทำของสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็ง (cryoprotector) มากกว่าน้ำเชื้อสัตว์เลี้ยงประเภทอื่น ทำให้มีความเข้มข้นอีเลคโทรไลท์เพิ่มขึ้น เกิด ionic shock มีผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้อัตราการรอดชีวิตของอสุจิต่ำ ความสามารถในการปฏิสนธิลดลง การอยู่รอดในระบบสืบพันธุ์เพศเมียต่ำ มีการตายของตัวอ่อนในระยะบลาสโทไซท์สูง (Battaglini, 1982) ในระหว่างขบวนการแช่แข็ง การเคลื่อนไหวของอสุจิจะลดลงประมาณ 40% การนำน้ำเชื้อแช่แข็งไปใช้ในงานผสมเทียมควรให้มีการเคลื่อนไหวของอสุจิอย่างน้อย 30% (Paufler,1974) นอกจากนั้นแล้ว การเพิ่มอัตราการผสมติดจากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง อาจทำได้โดยคัดเลือกน้ำเชื้อที่จะใช้ทำน้ำเชื้อแช่แข็ง เช่น ให้มีอัตราการเคลื่อนไหวมากกว่า 75% เพิ่มโดสในการฉีดต่อแม่ให้สูงขึ้น และใช้เทคนิคการผสมเทียมที่เหมาะสม (Battaglini,1982)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

ก. อุปกรณ์

1. แม่กระต่ายจำนวน 85 ตัว

2. พ่อกระต่ายจำนวน 12 ตัว

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเลี้ยงกระต่ายและรังคลอด

4. อุปกรณ์ที่ใช้ในการรีดเก็บน้ำเชื้อและฉีดน้ำเชื้อตามรายงานของ สมศักดิ์ (2531) และฮอร์โมนเอชซีจี (Human Chorionic Gonadotrophin)

5. อุปกรณ์ที่ในใช้ในการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ ได้แก่

5.1 กล้องจุลทรรศน์พร้อมที่อุ่นสไลด์ (slide warmer)

5.2 สไลด์และกระจกปิด

5.3 Haemocytometer เพื่อประเมินความเข้มข้นของอสุจิ

5.4 หลอดดูดน้ำเชื้อ (pipette)

5.6 ตะเกียงแอลกอฮอล์

6. ขวดแก้วใช้ใส่น้ำเชื้อเหลวเพื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5^0 C

7. หลอดฟางขนาด 0.25 ซีซี

8. ตู้เย็นเก็บรักษาน้ำเชื้อเหลว

9. อุปกรณ์ที่ใช้ในการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง ได้แก่

9.1 กล่องโฟมขนาด 12 x 17 x 17 นิ้ว

9.2 ตะแกรงวางหลอดฟาง

9.3 ชุดอุปกรณ์ที่ใช้บรรจุน้ำเชื้อเข้าหลอดฟาง ได้แก่ หวี อ่างใส่น้ำเชื้อ และชุดหวีดูด

9.4 ถังไนโตรเจนเหลว

10. สีย้อมสำหรับหาความเข้มข้นอสุจิ ประกอบด้วยอีโอซิน 2% จำนวน 1 ซีซี โซเดียมคลอไรด์ 3% จำนวน 1 ซีซี และ น้ำกลั่น 50 ซีซี

11. สีย้อมสำหรับตรวจหาอสุจิมีชีวิตและไม่มีชีวิตประกอบด้วย 1% อีโอซิน 5% ไนโกรซิน และ 2.9% โซเดียมซิเตรทไดไฮเดรท

12. สารเจือจางน้ำเชื้อเหลวที่มีส่วนประกอบดังแสดงในตารางผนวกที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. สารเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีส่วนประกอบเช่นเดียวกันกับน้ำเชื้อเหลว เพียงแต่ปรับลดปริมาณ DMSO เหลือเพียง 5% และใช้กลีเซอรอล (glycerol) 1.3% ของปริมาตรสารเจือจางน้ำเชื้อที่ใช้

ข. วิธีการ

รีดเก็บน้ำเชื้อจากพ่อกระต่าย นำน้ำเชื้อที่ได้มารวมกัน หลังจากนั้นจึงนำไปวัดหาปริมาตรน้ำเชื้อ ประเมินการเคลื่อนไหวของอสุจิเป็นกลุ่ม (mass movement) และเป็นรายตัว (individual movement) ประเมินความเข้มข้นอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิต หลังจากนั้นแบ่งน้ำเชื้อออกเป็น 2 ส่วน คือ

ส่วนที่ 1 นำน้ำเชื้อปริมาตร 4 ใน 6 ของน้ำเชื้อทั้งหมด มาเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อเหลว ให้มีจำนวนอสุจิ 20 ล้าน ต่อ 0.5 ซีซี หลังเจือจางนำมาตรวจสอบการเคลื่อนไหวรายตัวและเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตก่อนแบ่งออกเป็น 4 ส่วนเท่า ๆ กัน แต่ละส่วนนำไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 5^0 C เพื่อรอนำไปผสมให้แม่กระต่ายแต่ละกลุ่มตามอายุการเก็บรักษา โดยเมื่อจะนำน้ำเชื้อไปฉีดให้แม่กระต่ายแต่ละกลุ่มจะมีการตรวจสอบการเคลื่อนไหวรายตัว และเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตก่อนด้วย

ส่วนที่ 2 นำน้ำเชื้อปริมาตร 2 ใน 6 ของน้ำเชื้อทั้งหมด มาเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อแช่แข็ง ให้มีจำนวนอสุจิ 40 ล้านต่อ 0.5 ซีซี หลังเจือจางนำมาตรวจสอบการเคลื่อนไหวรายตัวและเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิต เสร็จแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น ให้มีอุณหภูมิของน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วเท่ากับ 5^0 C หลังจากนั้นจึงเติมกลีเซอรอลลงไป 1.3% ของปริมาตรสารเจือจางน้ำเชื้อที่ใช้ หลังจากนั้นนำไปผ่านกรรมวิธีการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง โดยน้ำเชื้อแช่แข็งบรรจุในหลอดฟางขนาด 0.25 ซีซี และมีการตรวจสอบการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ และเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตหลัง equilibration time ซึ่งใช้เวลา 30 นาที และภายหลังการเก็บรักษาไว้ในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196^0 C แล้ว สำหรับการละลายน้ำเชื้อ (thawing) ใช้แช่ในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 40^0 C เป็นเวลา 40-60 วินาที

ก่อนการฉีดน้ำเชื้อให้แม่กระต่ายในแต่ละกลุ่มการทดลองเป็นเวลา 5 ชั่วโมง ฉีดเอชซีจีให้แม่กระต่ายแต่ละตัวก่อนในปริมาณ 20 ยูนิตต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม หลังจากฉีดน้ำเชื้อแล้ว 14 วัน นำแม่กระต่ายมาตรวจการตั้งท้อง แม่กระต่ายที่ตั้งท้องให้อยู่ในที่สงบ จัดเตรียมรังสำหรับคลอดในวันที่ 28 หลังผสม เมื่อครบกำหนดคลอดให้บันทึกแม่กระต่ายคลอด วันที่คลอด จำนวนลูกต่อครอกและน้ำหนักลูกแรกเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design เพื่อเปรียบเทียบผลของน้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็ง ที่มีต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่กระต่าย โดยกลุ่มทดลองแบ่งเป็น 5 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 น้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้ไม่เกิน 8 ชั่วโมง
กลุ่มที่ 2 น้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้ 1 วัน
กลุ่มที่ 3 น้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้ 2 วัน
กลุ่มที่ 4 น้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้ 3 วัน
กลุ่มที่ 5 น้ำเชื้อแช่แข็ง

แต่ละกลุ่มการทดลองใช้แม่กระต่ายจำนวน 17 ตัว

ง. การวิเคราะห์ข้อมูล

ค่าเฉลี่ยของข้อมูลจำนวนลูกต่อครอก น้ำหนักลูกแรกเกิดและระยะเวลาการตั้งท้องของแม่กระต่าย นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Excel และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ส่วนจำนวนแม่กระต่ายที่ผสมติดในแต่ละกลุ่ม นำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบโดยใช้ Chi-Square Test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS

จ. การบันทึกข้อมูล

1. บันทึกข้อมูลปริมาตรน้ำเชื้อ การเคลื่อนไหวอสุจิเป็นรายตัวและเป็นกลุ่ม ความเข้มข้นอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อ หลังจากนำมารวมกันแล้ว

2. บันทึกการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อเหลว ภายหลังการเจือจางด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อ และก่อนนำไปฉีดให้แม่กระต่ายตามกลุ่มอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. บันทึกการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิและเปอร์เซนต์อสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อแช่แข็ง หลังจากเจือจางด้วยสารเจือจาง ภายหลัง equilibration time และภายหลังการเก็บรักษาไว้ในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -196^{0} C

4. บันทึกสีอวัยวะเพศของแม่กระต่ายทุกตัวก่อนการฉีดน้ำเชื้อว่ามีสีแดง ชมพู หรือสีซีด

5. บันทึกจำนวนแม่กระต่ายที่ผสมติด จำนวนลูกต่อครอก น้ำหนักลูกแรกเกิด และระยะเวลาการตั้งท้องในแต่ละกลุ่มการทดลอง

ฉ. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการผสมเทียม และฟาร์มเลี้ยงกระต่าย ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ช. ระยะเวลาการทดลอง

พฤศจิกายน 2544 – ตุลาคม 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

การเคลื่อนไหวของอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

คุณภาพน้ำเชื้อ ประเมินจากการเคลื่อนไหวของอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิต ของน้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็งกระต่าย แสดงไว้ในตารางที่ 1 พบว่า น้ำเชื้อจากพ่อกระต่ายจำนวน 12 ตัว เมื่อนำมารวมกันก่อนนำไปเจือจางมีคุณภาพอยู่ในเกณฑ์ดี คือ มีการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ (individual movement) และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิต เท่ากับ 80% และ 90% ตามลำดับ คุณภาพน้ำเชื้อภายหลังการเจือจางทันทีของน้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อที่จะนำไปแช่แข็งยังคงมีการเคลื่อนไหวรายตัว (80% และ 80%) และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิต ใกล้เคียงกันกันมาก (90% และ 89%) สำหรับน้ำเชื้อเหลวก่อนนำไปฉีดให้แม่กระต่ายและเก็บรักษาไว้ไม่เกิน 8 ชั่วโมง 1 2 และ 3 วัน มีเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตลดลงเล็กน้อย โดยมีค่าเท่ากับ 90 86 85 และ 84% ตามลำดับ ส่วนการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิลดลงจากเดิมในแต่ละช่วงการเก็บรักษาประมาณ 10% โดยการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิก่อนนำไปฉีดและเก็บรักษาไว้ไม่เกิน 8 ชั่วโมง 1 2 และ 3 วัน เท่ากับ 80 70 60 และ 50% ตามลำดับ สำหรับน้ำเชื้อแช่แข็ง ภายหลังขบวนการทำและเก็บรักษาไว้ในโตรเจนเหลวที่ อุณหภูมิ -196^{0} C เป็นเวลา 1 วัน ก่อนนำไปฉีดให้แม่กระต่ายมีการเคลื่อนไหวรายตัวและเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตค่อนข้างต่ำ โดยมีค่าเท่ากับ 40 และ 62% ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิ ของน้ำเชื้อแช่แข็งลดลงมากเช่นเดียวกับรายงานของ Paufler (1974) และอยู่ในช่วงที่รายงานไว้โดย Stranzinger และคณะ (1971) คือ 25-50 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามยังคงเป็นเปอร์เซ็นต์ที่แนะนำให้ใช้ได้ คือตั้งแต่ 30 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป (Battaglini, 1982)

การผสมติด

ผลของน้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีต่อการผสมติดแสดงไว้ในตารางที่ 2 และตารางที่ 3 พบว่า การผสมติดของกระต่ายจากการใช้น้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$, $\chi^2 = 6.71$ และ $df = 4$) แต่มีแนวโน้มว่า น้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้ไม่เกิน 8 ชั่วโมงและน้ำเชื้อแช่แข็ง ให้การผสมติดสูงสุด คือ 82.35% รองลงไปได้แก่ น้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้ 1 2 และ 3 วัน ที่มีการผสมติดเท่ากับ 64.71 52.94 และ 52.94% จากการทดลองจะเห็นได้ว่า น้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้ไม่เกิน 8 ชั่วโมง ให้การผสมติดสอดคล้องกับรายงานของสมศักดิ์ และ มรว.ชวนิศนดากร (2523) และ สมศักดิ์ และทรงศักดิ์ (2530) คือ มีค่าใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 การเคลื่อนไหวของอสุจิและเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อเหลวอายุต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็งที่ใช้ในการทดลอง

	การเคลื่อนไหวรายตัว(%)	อสุจิมีชีวิต (%)
น้ำเชื้อเหลวภายหลังเจือจางทันที	80	90
น้ำเชื้อแช่แข็งภายหลังเจือจางทันที	80	89
น้ำเชื้อเหลวก่อนนำไปฉีด		
เก็บรักษาไว้ไม่เกิน 8 ชั่วโมง	80	90
เก็บรักษาไว้ 1 วัน	70	86
เก็บรักษาไว้ 2 วัน	60	85
เก็บรักษาไว้ 3 วัน	50	84
น้ำเชื้อแช่แข็ง		
หลัง equilibration time	80	88
ที่อุณหภูมิ -196^0 C	40	62

หมายเหตุ น้ำเชื้อเมื่อนำรวมรวมกันภายหลังรีดเก็บได้ มีการเคลื่อนไหวรายตัว 80% และอสุจิมีชีวิต 91%

ตารางที่ 2 ผลของน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง ที่มีต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของกระต่าย

	น้ำเชื้อเก็บรักษา				น้ำเชื้อ
ข้อมูล	ไม่เกิน 8 ชม.	1 วัน	2 วัน	3 วัน	แช่แข็ง
แม่กระต่ายที่ใช้ผสมพันธุ์ (ตัว)	17	17	17	17	17
แม่กระต่ายที่ผสมติด (ตัว)	14	11	9	9	14
เปอร์เซ็นต์การผสมติด	82.35	64.71	52.94	52.94	82.35
จำนวนลูกกระต่ายต่อครอกเฉลี่ย (ตัว)	5.00	4.00	4.22	4.00	5.07
น้ำหนักลูกกระต่ายแรกเกิดเฉลี่ย(กรัม)	52.21	54.86	51.96	53.48	50.68
ระยะเวลาการตั้งท้องเฉลี่ย (วัน)	30.93	31.00	30.67	31.11	30.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 น้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง ที่มีต่ออัตราการผสมติดของแม่กระต่ายจากการวิเคราะห์โดยใช้ไคสแควร์

น้ำเชื้อที่ใช้ผสมเทียม	จำนวนข้อมูลค่าสังเกต			จำนวนข้อมูลค่าคาดหวัง			การผสมติด
	ผสมติด	ผสมไม่ติด	สัดส่วน	ผสมติด	ผสมไม่ติด	สัดส่วน	(เปอร์เซ็นต์)
น้ำเชื้อเหลวเก็บรักษาไว้							
ไม่เกิน 8 ชั่วโมง	14	3	4.67	11.4	5.6	2.04	82.35
1 วัน	11	6	1.83	11.4	5.6	2.04	64.71
2 วัน	9	8	1.13	11.4	5.6	2.04	52.94
3 วัน	9	8	1.13	11.4	5.6	2.04	52.94
น้ำเชื้อแช่แข็ง	14	3	4.67	11.4	5.6	2.04	82.35

หมายเหตุ ระดับนัยสำคัญ $P = 0.152$

แต่มีแนวโน้มสูงกว่ารายงานของ Stranzinger และคณะ (1971) เนื่องจากงานทดลองครั้งนี้ใช้จำนวนอสุจิที่ฉีดต่อแม่สูงกว่า ส่วนน้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้สามารถใช้ได้ถึง 3 วัน สอดคล้องกับรายงานของ Paufler (1974) ที่ว่า น้ำเชื้อเหลวที่ใช้สารเจือจางน้ำเชื้อสูตรทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง สามารถใช้ได้เป็นเวลาอย่างน้อย 2 วัน อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์การผสมติด ที่ได้รับจากการใช้น้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ 1-3 วัน มีแนวโน้มลดลงบ้างเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำเชื้อที่เก็บรักษาไว้ไม่เกิน 8 ชั่วโมง ทั้งที่ยังคงมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวรายตัวของอสุจิอยู่ในเกณฑ์ดี (50-70%) และเปอร์เซ็นต์การผสมติดดังกล่าวมีแนวโน้มต่ำกว่าเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ สมศักดิ์ และ มรว.ชวนิศนดากร (2523) และ Stranzinger และคณะ (1971) ทั้งที่จำนวนอสุจิที่เคลื่อนไหวในการฉีดต่อแม่ (12 -15 ล้านเซลล์) มีค่าใกล้เคียงกัน เนื่องจากการเก็บรักษามีผลทำให้การเคลื่อนไหวของเซลล์อสุจิลดลงประมาณ 10% ต่อจำนวนวันของการเก็บรักษา และการเก็บรักษาที่นานวันขึ้นจะทำให้การรอดชีวิตของอสุจิในทางเดินระบบสืบพันธุ์เพศเมียลดลง เช่นเดียวกับในแกะ (Salmon , 1976 อ้างโดยพีรศักดิ์ , 2528) สำหรับน้ำเชื้อแช่แข็งที่ให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดสูงกว่ารายงานของ Stranzinger และคณะ (1971) เนื่องจากน้ำเชื้อที่ใช้ทำน้ำเชื้อแช่แข็งมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนไหวรายตัวที่สูง (80%) และมีจำนวนอสุจิที่ใช้ฉีดต่อแม่สูง (40 ล้านต่อ 0.5 ซีซี) ดังรายงานของ Battaglini (1982) ที่กล่าวถึงการเพิ่มอัตราการผสมติดของกระต่ายด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง ซึ่งจำนวนอสุจิที่ใช้ฉีดต่อแม่ภายหลังการแช่แข็งจากการทดลองครั้งนี้ยังคงมีจำนวนที่สูงอยู่ คือ ประมาณ 20 ล้านเซลล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนลูกต่อครอก น้ำหนักลูกแรกเกิดและระยะเวลาการตั้งท้อง

ผลของน้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีต่อจำนวนลูกต่อครอก น้ำหนักลูกแรกเกิด และระยะเวลาการตั้งท้องแสดงไว้ในตารางที่ 3 พบว่า ให้ผลแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีแนวโน้มว่าน้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้ไม่เกิน 8 ชั่วโมง และน้ำเชื้อแช่แข็ง ให้จำนวนลูกต่อครอกเฉลี่ยสูงกว่าเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้ 1 2 และ 3 วัน โดยน้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้ไม่เกิน 8 ชั่วโมง 1 2 และ 3 วัน และน้ำเชื้อแช่เข็งให้จำนวนลูกต่อครอกเฉลี่ยเท่ากับ 5.00 4.00 4.22 4.00 และ 5.07 ตัว น้ำหนักลูกแรกเกิดเท่ากับ 52.21 54.86 51.96 53.46 และ 50.68 กรัม และมีระยะเวลาการตั้งท้องเฉลี่ยนาน 30.93 31.00 30.67 31.11 และ 30.93 วัน ตามลำดับ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าน้ำเชื้อเหลวที่เก็บรักษาไว้ 1-3 วัน มีผลทำให้จำนวนลูกต่อครอกมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย อาจเนื่องจากการเก็บรักษาน้ำเชื้อนานขึ้น ส่งผลให้อสุจิมีความแข็งแรงอยู่ในระบบสืบพันธุ์เพศเมียลดลง ดังรายงานของ Salmon (1976) อ้างโดย พีรศักดิ์ (2528)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากผลการศึกษาเปรียบเทียบความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่กระต่ายที่ได้รับจากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อเหลวที่มีอายุการเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง พบว่าน้ำเชื้อเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็งให้เปอร์เซ็นต์การผสมติด จำนวนลูกต่อครอก น้ำหนักลูกแรกเกิดและระยะเวลาการตั้งท้องแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีแนวโน้มว่า น้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาไม่เกิน 8 ชั่วโมง และน้ำเชื้อแช่แข็ง ให้เปอร์เซ็นต์การผสมติด จำนวนลูกต่อครอกสูงกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษา 1 2 และ 3 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน. 2528. การผสมเทียม. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่, สงขลา. 411 น.

สมศักดิ์ บัณฑุชัย. 2531. การผสมเทียมกระต่าย. เอกสารเผยแพร่อันดับที่ 24. ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 18 น.

สมศักดิ์ บัณฑุชัย และ มรว.ชวนิศนดากร วรวรรณ. 2523. การศึกษาการผลิตกระต่ายเนื้อในประเทศไทย (4). การศึกษาข้อมูลพื้นฐานบางอย่างในการผสมเทียมกระต่าย. รายงานการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 18 สาขาสัตว์ (หมวดสัตวบาล). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ.

สมศักดิ์ บัณฑุชัย และ ทรงศักดิ์ ตันพิพัฒน์. 2530. ผลของเอชซีจีและกระต่ายตัดท่อน้ำเชื้อที่มีต่ออัตราการผสมติดและจำนวนลูกต่อครอกของกระต่าย. ว.วิทย.กษ.20(5) : 352-359.

สมศักดิ์ บัณฑุชัย และ ทรงศักดิ์ ตันพิพัฒน์. 2533. การเคลื่อนไหวของอสุจิและอสุจิมีชีวิตของน้ำเชื้อกระต่ายที่เจือจางด้วย ทริสบัฟเฟอร์-ไข่แดง และไข่แดง-ซิเตรท. แก่นเกษตร. 18(2) : 97-106.

อาวุธ ตันโช. 2542. การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 347 น.

Adams, C.E. 1972. Introduction of ovulation and AI technigues in the rabbit. Vet Rec. 91 : 194-197.

Adams, C.E.1981. Artifical insemination in the rabbit : The technigue and application.to practice.J Appl Rabbit Res. 4(1) : 10-13.

Battaglini, M. 1982. Recent advances on rabbit artificial insemination techniques. Commercial Rabbit. 10(11) : 15-18.

Paufler, S.K. 1974. Artificial insemination and transportation in animal and human. M & H. Schapper, Hannouer. 13 p.

Sinkovics, G., I. Medgyes and J. Paljak. 1983. Some result of artificial insemination in rabbits. J Appl Rabbit Res. 6(2) : 43-48.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Stranzinger, G.E., R.R. Mauer and S.K. Paufler. 1971. Fertility of frozen rabbit semen. J. Reprod Fert. 24 : 111-113.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ตารางผนวกที่ 1 แสดงส่วนประกอบของสารเจือจางน้ำเชื้อเหลว

Tris-hydroxymethylaminomethane ($C_4H_{11}NO_3$)	3.028 g.
Citric acid , monohydrate ($C_6H_8O_7 . H_2O$)	1.675 g.
D–glucose , monohydrate ($C_6H_{12}O_6$)	1.250 g.
Distilled water	85 ml.
Dimethylsulfoxide (DMSO)	15 ml.
Egg yolk	20 ml.
Penicillin-g-sodium	100,000 i.u.
Streptomycin sulphate	0.1 g.

ตารางผนวกที่ 2 จำนวนลูกกระต่ายต่อครอกของแม่กระต่าย ที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง

แม่กระต่ายคลอดตัวที่	น้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษา				น้ำเชื้อแช่แข็ง
	ไม่เกิน 8 ชม.	1 วัน	2 วัน	3 วัน	
1	5	4	3	3	5
2	4	2	5	3	4
3	5	1	4	7	3
4	6	6	5	4	4
5	8	2	2	6	8
6	7	6	5	3	5
7	2	6	4	4	4
8	7	7	6	1	7
9	5	5	4	5	7
10	5	2			6
11	2	3			1
12	4				5
13	6				5
14	4				7
เฉลี่ย	5.00	4.00	4.22	4.00	5.07

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

54617

ตารางผนวกที่ 3 น้ำหนักลูกแรกเกิดต่อตัวจากแม่กระต่าย ที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง

แม่กระต่ายคลอดตัวที่	น้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษา				น้ำเชื้อแช่แข็ง
	ไม่เกิน 8 ชม.	1 วัน	2 วัน	3 วัน	
1	57.55	53.41	40.54	51.65	57.20
2	61.57	65.19	49.61	41.69	59.19
3	51.81	60.03	46.30	45.65	46.49
4	34.11	48.63	51.63	64.40	55.07
5	47.15	59.18	64.92	5.096	37.17
6	55.14	43.06	45.09	63.70	34.96
7	56.93	44.17	55.77	60.32	50.25
8	49.16	52.90	55.89	47.78	48.09
9	49.83	55.18	57.85	55.21	46.23
10	48.67	58.87			52.53
11	61.54	62.83			75.77
12	56.44				55.84
13	43.89				47.12
14	57.09				43.58
ค่าเฉลี่ย	52.21	54.86	51.96	53.48	50.68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 ระยะเวลาการตั้งท้องของแม่กระต่ายที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง

แม่กระต่ายคลอดตัวที่	น้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษา				น้ำเชื้อแช่แข็ง
	ไม่เกิน 8 ชม.	1 วัน	2 วัน	3 วัน	
1	31	32	31	31	31
2	30	32	31	32	31
3	32	33	31	31	32
4	31	30	31	30	32
5	30	32	31	31	30
6	32	30	31	32	30
7	33	30	30	32	30
8	30	31	30	30	30
9	30	30	30	31	31
10	31	30			31
11	31	31			33
12	30				31
13	31				31
14	31				30
ค่าเฉลี่ย	30.93	31.00	30.67	31.11	30.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติของการผสมติดจากการใช้น้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง

```
data chi_rab 1;
input semen$ mate$ amout; /* semen = F, L0 , L1 , L2 , L3 */
cards;            /* mate = p(pregnant) , np(non pregnant) */
F       P       14
F       NP       3
L0      P       14
L0      NP       3
L1      P       11
L1      NP       6
L2      P        9
L2      NP       8
L3      P        9
L3      NP       8
;
proc freq;
weight amount;
table semen*mate/chisq;
run;
```

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 6 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนลูกต่อครอกของแม่กระต่ายที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง

Source of variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	13.65622389	4	3.414055973	1.066353374	0.382573	2.549761
Within Groups	166.484127	52	3.201617827			
Total	180.1403509	56				

ตารางผนวกที่ 7 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำหนักลูกแรกเกิดต่อตัวจากแม่กระต่ายที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง

Source of variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	120.3023106	4	30.07557766	0.440479361	0.778762	2.549761
Within Groups	3550.518314	52	68.27919834			
Total	3670.820625	56				

ตารางผนวกที่ 8 ผลวิเคราะห์ทางสถิติของระยะเวลาการตั้งท้องของแม่กระต่าย ที่ได้รับน้ำเชื้อเหลวอายุเก็บรักษาต่างกันและน้ำเชื้อแช่แข็ง

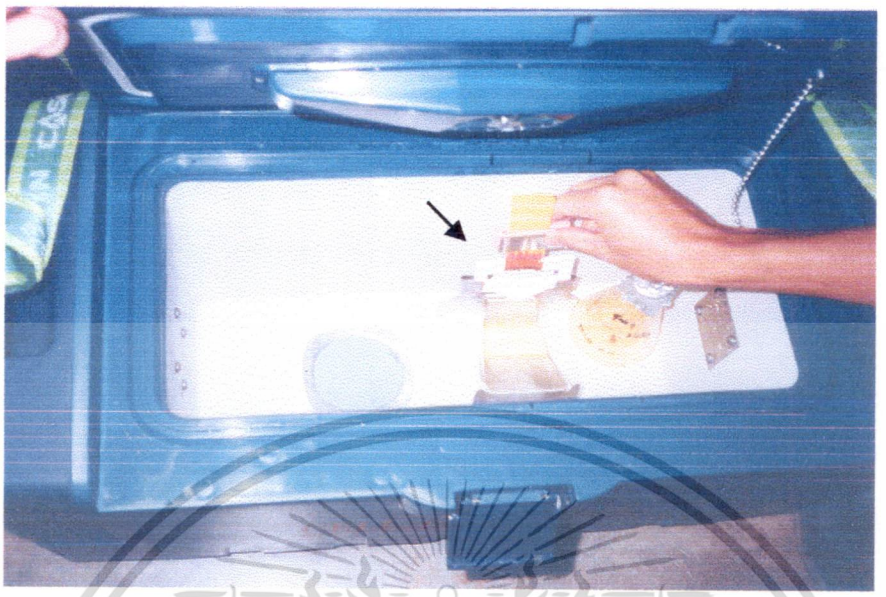
Source of variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*P-value*	*F crit*
Between Groups	0.9732665	4	0.243316625	0.310520165	0.869664	2.549761
Within Groups	40.74603175	52	0.783577534			
Total	41.71929825	56				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

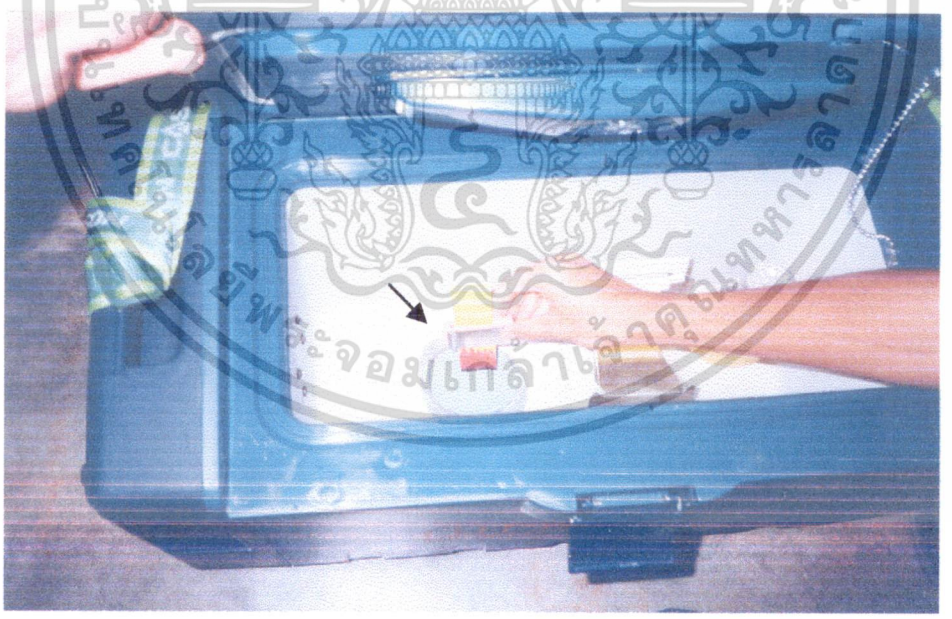
ภาพผนวกที่ 1 การเก็บรักษาน้ำเชื้อเหลว

ภาพผนวกที่ 2 การบรรจุน้ำเชื้อเข้าหลอดฟาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

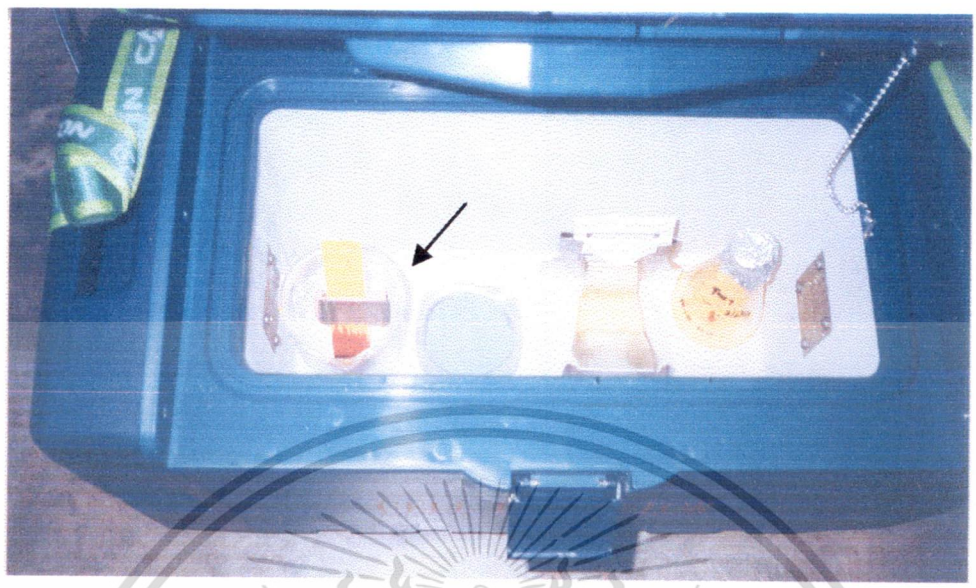


ภาพผนวกที่ 3 การแตะปลายหลอดฟางเข้ากับหวีพลาสติกเพื่อไล่น้ำเชื้อจากปลายหลอดฟาง

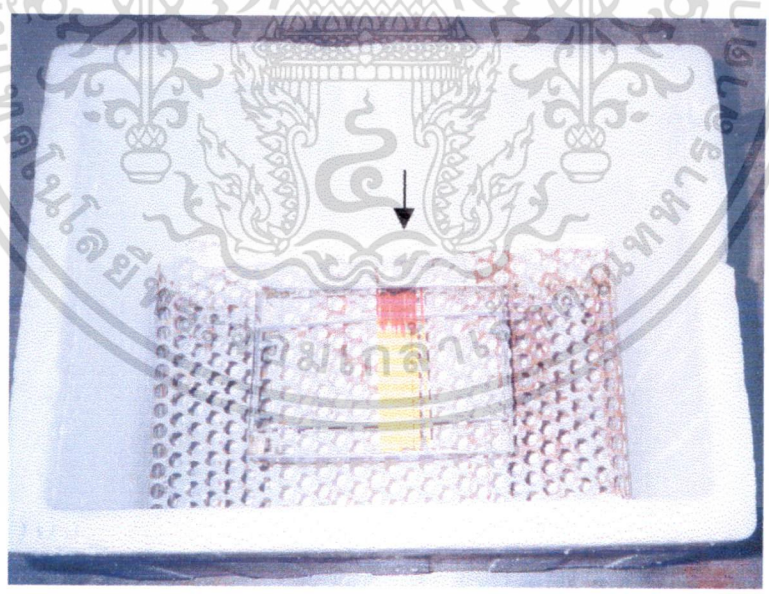


ภาพผนวกที่ 4 การปิดปลายหลอดฟางอีกด้านหนึ่งด้วยผงอุด (sealing powder)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

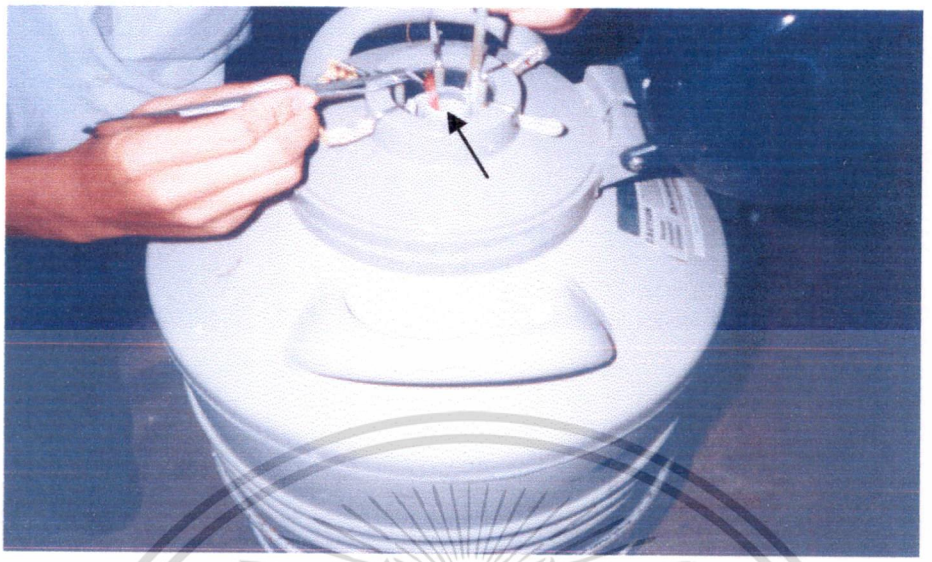


ภาพผนวกที่ 5 จุ่มปลายหลอดฟางด้านที่มีผงอุดในน้ำเย็น 5^{0} C



ภาพผนวกที่ 6 การวางเรียงหลอดฟางในแนวนอนบนตะแกรง เพื่อให้สัมผัสไอไนโตรเจนเหลว โดยมีอุณหภูมิ –120^{0} C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 7 การเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็ง ในไนโตรเจนเหลวภายในถังเก็บที่อุณหภูมิ -196^{0} C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้