

ผลของ Gentamycin Neomycin และ Ammoxycillin ในสารละลายน้ำเชื้อที่มีต่อ คุณภาพน้ำเชื้อสุกรและต้นทุนการผลิต

Effects of Gentamycin Neomycin and Ammoxycillin in Semen Extender on Quality of Boar Semen and Production Cost

คำนำ

ผู้เลี้ยงสุกรในประเทศไทยได้เริ่มนำเอาวิธีการผสมเทียมมาใช้แทนการผสมจริง ในฟาร์มเป็นเวลานานมาแล้ว ในระยะแรกของการนำมาใช้ฟาร์มสุกรส่วนใหญ่ยังไม่ยอมรับที่จะนำเอาวิธีการผสมเทียมมาใช้ในฟาร์มแต่ในปัจจุบันนี้ ผู้เลี้ยงสุกรเห็นแล้วว่าวิธีการผสมเทียมนี้มีข้อดีกว่าการผสมตามแบบธรรมชาติหลายอย่าง เช่น ค่าใช้จ่ายถูกลง ใช้พ่อสุกรที่มีคุณสมบัติเลิศได้อย่างมีประสิทธิภาพ ปรับปรุงพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว สามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อไว้ได้นาน สะดวกในการผสมกรณีที่พ่อพันธุ์และแม่พันธุ์มีขนาดที่แตกต่างกัน และสะดวกในการจัดการด้านต่าง ๆ จึงทำให้ทุกวันนี้ผู้เลี้ยงสุกรหันมาใช้วิธีผสมเทียมมากขึ้น

การผสมเทียมสุกรโดยใช้น้ำเชื้อสด ซึ่งในกระบวนการรีดเก็บน้ำเชื้อสามารถเกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียได้ (Poolperm, 1999) และยังพบว่าการปนเปื้อนของแบคทีเรียในน้ำเชื้อสดนี้มีอยู่ในระดับสูง (Sone, 1982) ในกระบวนการเตรียมน้ำเชื้อสดในสุกรนั้น การรีดเก็บน้ำเชื้อสุกรจึงเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญ เนื่องจากว่าสุกรมีถุงตันอยู่ที่หลังหุ้มองคชาต ซึ่งถุงนี้เป็นที่สะสมของแบคทีเรียและสิ่งสกปรกจำนวนมาก ดังนั้นในกระบวนการรีดเก็บน้ำเชื้อสุกรจะต้องทำความสะอาดถุงหุ้มองคชาตก่อนการรีดเก็บ (ศรีสุวรรณ, 2542) อย่างไรก็ตามการปนเปื้อนของแบคทีเรียในน้ำเชื้ออาจเกิดเนื่องมาจากขั้นตอนในการรีดเก็บน้ำเชื้อ (Almond and Poolperm, 1998) ซึ่งน้ำเชื้อที่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียอาจทำให้มีผลต่ออัตราการผสมติดและเกิดการติดเชื้อโรคทางระบบสืบพันธุ์ในแม่สุกรได้

วิธีการหนึ่งที่จะช่วยทำให้น้ำเชื้อที่เจือจางแล้วลดปริมาณของแบคทีเรียลงคือ การเสริมยาปฏิชีวนะลงในสารละลายน้ำเชื้อ ซึ่งยาปฏิชีวนะที่ใช้อยู่มีอยู่หลายชนิด แต่ละชนิดมีคุณสมบัติและราคาที่แตกต่างกัน ในการศึกษาเรื่องนี้เพื่อจะเปรียบเทียบผลของยาปฏิชีวนะที่ใช้เป็นตัวเดียว ๆ หรือใช้ร่วมกันกับยาปฏิชีวนะชนิดอื่นในสารละลายน้ำเชื้อ ที่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร

ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อสุกร และต้นทุนการผลิตน้ำเชื้อ ที่ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

วัตถุประสงค์

1. เพื่อเปรียบเทียบผลของการใช้ยาปฏิชีวนะในสารละลายน้ำเชื้อที่มีต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร หลังอายุการเก็บรักษาที่ 0 1 2 และ 3 วัน โดยลักษณะที่ทำการศึกษาคือ ร้อยละของอสุจิมีชีวิต ร้อยละของอสุจิตัวเป็น ร้อยละของความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ ร้อยละของลักษณะอะโครโซมผิดปกติ
2. เพื่อเปรียบเทียบผลของการใช้ยาปฏิชีวนะต่อจำนวนแบคทีเรียในน้ำเชื้อสุกรหลังอายุการเก็บรักษาที่ 0 1 2 และ 3 วัน
3. เพื่อเปรียบเทียบต้นทุนในการผลิตน้ำเชื้อที่เสริมด้วยยาปฏิชีวนะที่แตกต่างกัน

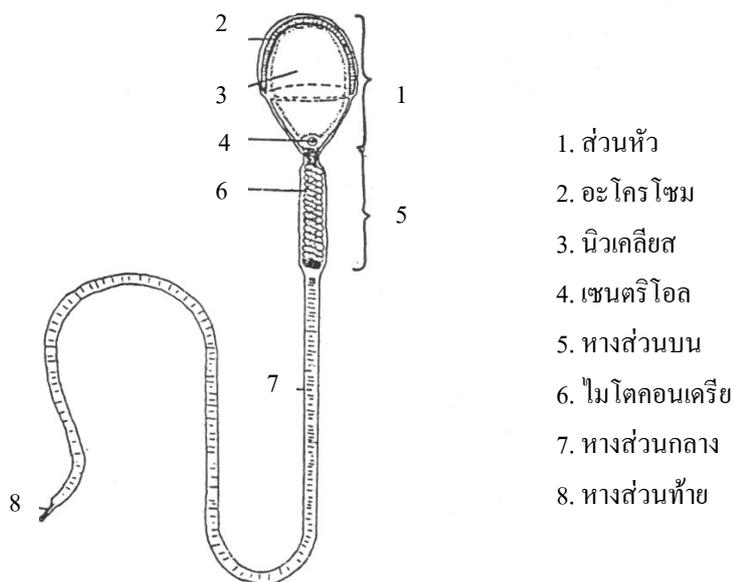
การตรวจเอกซเรย์

ลักษณะทั่วไปของน้ำเชื้อ

1. องค์ประกอบของน้ำเชื้อ

น้ำเชื้อของสัตว์เลี้ยงโดยทั่วไป มีองค์ประกอบหลักแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนของตัวอสุจิ (spermatozoa) และ ส่วนของน้ำกาม (seminal plasma) โดยที่ตัวอสุจิจะแขวนลอยอยู่ในส่วนของน้ำกาม อัตราส่วนระหว่างตัวอสุจิ และน้ำกามจะผันแปรตาม ชนิดของสัตว์ สมรรถภาพของสัตว์แต่ละตัว และจำนวนครั้งของการหลั่งน้ำเชื้อ (Setchell, 1991) นอกจากนี้ในน้ำเชื้อของสุกรยังพบส่วนที่เป็นเจล (gelatinous material) อีกส่วนหนึ่ง ซึ่งพบในปริมาณมาก ทั้งนี้เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำเชื้อที่จะไหลย้อนกลับจากท่อสืบพันธุ์เพศเมีย (Hamner, 1970; Cameron, 1987; Brooks, 1990) ส่วนที่เป็นเจลนี้เกิดจากสาร sialomucin จากต่อมข้างท่อปัสสาวะ (cowper's gland) ทำปฏิกิริยากับโปรตีนจากต่อมน้ำกาม (seminal vesicle) จากนั้นเจลจะดูดซับของเหลวที่อยู่ในน้ำเชื้ออย่างช้า ๆ (Brooks, 1990) ทำให้น้ำเชื้อสุกรขาดคุณสมบัติที่จะเอื้ออำนวยต่อการมีชีวิตของอสุจิขณะทำการเก็บรักษา หรือภายใต้กระบวนการทำน้ำเชื้อสำหรับผสมเทียมถ้าไม่แยกส่วนที่เป็นเจลนี้ออก (White, 1974)

1.1 ตัวอสุจิสุกรสร้างมาจากกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (spermatogenesis) ซึ่งตัวอสุจิถูกสร้างเมื่ออายุได้ 125 วัน และหลั่งน้ำเชื้อได้เมื่ออายุ 5-8 เดือน (Garner and Hafez, 1993) สอดคล้องกับ ศรีสุวรรณ (2542) รายงานว่าตัวอสุจิถูกสร้างขึ้นเมื่ออายุได้ 80-150 วัน และหลั่งน้ำเชื้อได้เมื่ออายุ 5.5-6 เดือน โดยมีจุดกำเนิดมาจากเซลล์สืบพันธุ์ดั้งเดิมและ เปลี่ยนแปลงไปเป็น spermatogonia โครงสร้างของเซลล์อสุจิสุกรประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือส่วนหัว และส่วนหาง (ภาพที่ 1) ซึ่งมีหน้าที่แตกต่างกัน โดยส่วนหัวมีบทบาทเกี่ยวกับการปฏิสนธิกับไข่ ในขณะที่ส่วนหางมีบทบาทเกี่ยวกับการเคลื่อนที่และเมแทบอลิซึมของตัวอสุจิ (Garner and Hafez, 1993)



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะ และ โครงสร้างของตัวอสุจิ

ที่มา: ศรีสุวรรณ (2542)

1.2 น้ำกามสร้างมาจาก ต่อมร่วมสร้างน้ำกามต่าง ๆ โดยมีหน้าที่คือ ทำหน้าที่แขวนลอย และกระตุ้นให้อสุจิเคลื่อนไหวเพื่อนำพาตัวอสุจิจากระบบสืบพันธุ์เพศผู้เข้าสู่ระบบสืบพันธุ์เพศเมีย และเป็นแหล่งของอาหารและพลังงานเพื่อหล่อเลี้ยงตัวอสุจิ (Nalbandov, 1976)

2. คุณภาพของน้ำเชื้อ

ลักษณะคุณภาพน้ำเชื้อมีความสำคัญมากต่อการนำมาใช้ประโยชน์ในการผสมเทียมและกระบวนการแยกอสุจิต่าง ๆ เนื่องจากคุณภาพของน้ำเชื้อที่เปลี่ยนแปลงไปย่อมส่งผลถึงประสิทธิภาพในการปฏิสนธิของอสุจิ (Woelder, 1991) ดังนั้น การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อส่วนมากจึงเป็นการประเมินคุณภาพของอสุจิ โดยอาศัยลักษณะต่าง ๆ ดังนี้ คือ ปริมาตร สี ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ และความเป็นกรดเป็นด่าง ลักษณะการเคลื่อนที่ของอสุจิ ลักษณะการติดสีย้อม ลักษณะความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ ลักษณะโครงสร้างของอสุจิโดยละเอียด (ultrastructure morphology) เช่น ลักษณะของเยื่อหุ้มเซลล์ ลักษณะของอะโครโซม ตัวเป็น ตัวตายของเชื้ออสุจิ (live-dead sperm) เป็นต้น (ศรีสุวรรณ, 2542; Brooks, 1990; Woelder, 1991) การวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมีของน้ำเชื้อ และลักษณะความผิดปกติของโครงสร้างอสุจิเพียงร้อยละ 20 สามารถที่จะใช้บอกถึงความสามารถในการปฏิสนธิลดลงได้ ในขณะที่การวิเคราะห์อัตราเมแทบอลิซึมและการหายใจ จะ

สัมพันธ์กับลักษณะการเคลื่อนที่ของอสุจิ แต่การเปลี่ยนแปลงของลักษณะอะโครโซมจะมีผลกระทบต่อความสามารถในการปฏิสนธิมากกว่าลักษณะการเคลื่อนที่ของอสุจิ อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของอสุจิยังสามารถใช้แสดงคุณภาพน้ำเชื้ออย่างคร่าว ๆ ได้ (Hughes and Varley, 1980)

2.1 การตรวจและประเมินคุณภาพน้ำเชื้อสุกรโดยทั่วไป อาจแบ่งได้เป็น 3 วิธีคือ 1. การตรวจด้วยตาเปล่าได้แก่ การตรวจดูสี ปริมาตร เป็นต้น 2. การตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ได้แก่ การตรวจดูความเข้มข้นของตัวอสุจิ การเคลื่อนไหว ตัวเป็นตัวตายของอสุจิและลักษณะของตัวอสุจิ เป็นต้น 3. การตรวจโดยวิธีพิเศษเช่น การตรวจเพาะเชื้อแบคทีเรียในน้ำเชื้อ การตรวจโรคแฝงติดต่อในน้ำเชื้อ เป็นต้น (อรรณพ, 2545) การประเมินคุณภาพทั่วไปของน้ำเชื้อ จะทำการประเมินลักษณะต่าง ๆ ดังนี้ คือ ปริมาตร ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ สีของน้ำเชื้อ อสุจิที่เคลื่อนไหวได้หรืออสุจิที่มีชีวิต ความผิดปกติของตัวเชื้ออสุจิ ตัวเป็นตัวตายของเชื้ออสุจิ และสภาพความเป็นกรด-ด่างของน้ำเชื้อ (ศรีสุวรรณ, 2542; Moss *et al.*, 1979; Sorensen, 1979; Bearden and Fuquay, 1980)

2.1.1 ปริมาตร การวัดปริมาตรนั้นจะวัดเป็นมิลลิลิตร โดยตวงวัดจากน้ำเชื้อที่เก็บมาได้ น้ำเชื้อของพ่อสุกรที่หลังออกมาครั้งหนึ่งจะประกอบด้วย 3 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นเม็ดสาคู ส่วนที่เป็นน้ำใส (pre-sperm fraction) และส่วนที่เป็นน้ำขาวขุ่น (sperm-rich fraction) ในการวัดปริมาตรจะไม่รวมเม็ดสาคู ปกติในพ่อสุกรจะมีค่าเฉลี่ยของน้ำเชื้อครั้งหนึ่งประมาณ 80-300 มิลลิลิตร (ศรีสุวรรณ, 2542; อรรณพ, 2545)

2.1.2 สีของน้ำเชื้อขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของตัวอสุจิ แบ่งออกเป็นระดับตามลักษณะความขุ่นของสีน้ำเชื่อดังนี้คือ

ระดับ 0 หรือ เกรด ดี (D) สีของน้ำเชื้อใสคล้ายกับน้ำ (watery) แสดงว่าไม่มีตัวอสุจิ

ระดับ 1 หรือ เกรด ซี (C) สีของน้ำเชื้อจะมีสีขุ่นขึ้น (cloudy) น้ำเชื้อระดับนี้จะมีตัวอสุจิอยู่น้อย ความเข้มข้นอาจอยู่ประมาณ 100-200 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร น้ำเชื้อชนิดนี้ไม่ควรนำมาใช้ในการผสมเทียม

ระดับ 2 หรือเกรด บี (B) สีของน้ำเชื้อออกสีขาวขุ่นใกล้เคียงสีของน้ำนม (milky) ความเข้มข้นของตัวอสุจิในระดับนี้มีมากประมาณ 300-400 ล้านตัวต่อมิลลิตร น้ำเชื้อชนิดนี้สามารถนำมาใช้ในการเจาะจางเพื่อผสมเทียม

ระดับ 3 หรือเกรด เอ (A) สีของน้ำเชื้อออกสีขาวขุ่นเหมือนน้ำครีมที่ข้น ๆ (thick creamy) มีความเหนียวหนืดมากกว่าระดับที่ 2 และมีความเข้มข้นของตัวอสุจิมาก มากกว่า 500 ล้านตัวต่อมิลลิตร

การตรวจสอบสีของน้ำเชื้อ สามารถบอกได้ว่ามีความผิดปกติอื่นๆ ประปรมาเช่น ปัสสาวะ อุจจาระหรือ โลหิต ซึ่งจะทำให้สีของน้ำเชื้อผิดปกติ และน้ำเชื้อดังกล่าวไม่ควรนำมาใช้ (ศรีสุวรรณ, 2542)

2.1.3 การวัดความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อสุกรจะเป็นตัวที่บ่งบอกถึงคุณภาพของน้ำเชื้อได้เช่นกัน ปกติแล้วความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อจะอยู่ระหว่าง pH 6.8-7.8 ความเป็นกรดเป็นด่างที่ดีของน้ำเชื้อหลังจากรีดออกมาแล้วควรจะอยู่ในช่วง pH 7.2-7.5 ถ้าหากน้ำเชื้อมีสภาพเป็นกรด แสดงถึงลักษณะที่มีการทำลายเซลล์หรือการสูญเสียของเซลล์ เนื่องจากการติดเชื้อของอวัยวะสร้างน้ำเลี้ยงเชื้อทำให้เปลี่ยนสภาพของน้ำเชื้อเป็นกรดได้ และทำให้การเคลื่อนไหวของตัวอสุจิช้าลง (ศรีสุวรรณ, 2542; อรรถนพ, 2545)

2.1.4 อสุจิที่เคลื่อนไหวได้หรืออสุจิที่มีชีวิต การตรวจความเคลื่อนไหวของตัวอสุจิที่มีชีวิตกระทำได้ 2 แบบคือ ตรวจความเคลื่อนไหวแบบเป็นกลุ่ม (mass movement หรือ wave motion) ใช้ตรวจสำหรับน้ำเชื้อสดที่เพิ่งรีดเก็บมาใหม่ ๆ โดยแบ่งค่าคะแนน 0-5 (ตารางผนวกที่ 1) และการเคลื่อนไหวรายตัว (Individual movement) ใช้ในกรณีของน้ำเชื้อที่ทำการเจาะจางแล้ว

2.1.5 ตัวเป็นตัวตายของเชื้ออสุจิ เป็นการตรวจสอบอสุจิตัวเป็นตัวตายโดยการย้อมสี ซึ่งสีที่นิยมใช้กันมากคือ สี eosin-nigrosin (Dott and Foster, 1972) ตัวอสุจิที่ตายแล้วเมื่อถูกสีที่ใช้ย้อมจะมีสีทึบ ส่วนตัวอสุจิที่ยังมีชีวิตอยู่จะมีสีขาวใส (ศรีสุวรรณ, 2542)

2.1.6 ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ ความเข้มข้นของตัวอสุจิของน้ำเชื้อสุกรจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างเช่น พันธุ์ อายุ น้ำหนัก สุขภาพร่างกาย อาหาร ความชำนาญและเทคนิคในการรีดน้ำเชื้อ สภาพแวดล้อมของอากาศ ความถี่ในการรีดเก็บน้ำเชื้อเป็นต้น ความเข้มข้น

ของตัวอสุจิในพอสุกรโดยทั่วไปแล้วจะมีค่าประมาณ 200-300 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร หรือเฉลี่ย 250 ล้านตัวต่อมิลลิลิตร (ศรีสุวรรณ, 2542) การตรวจสอบความเข้มข้นของตัวอสุจิ นิยมนับโดยตรงจากอุปกรณ์ที่ใช้นับเม็ดโลหิตแดง (haemocytometer) หรือใช้ photoelectric colorimeter (Sorensen, 1979; Bearden and Fuquay, 1980)

2.1.7 รูปร่างและความผิดปกติของตัวเชื้ออสุจิ การศึกษารูปร่างและความผิดปกติของตัวเชื้ออสุจิทำได้โดยการย้อมสี สามารถใช้สีเดียวกันกับการย้อมเพื่อคูตัวเป็นตัวตายของอสุจิ โดยปกติแล้วน้ำเชื้อสดจะพบความผิดปกติของตัวอสุจิประมาณร้อยละ 20 และสำหรับน้ำเชื้อแช่แข็งจะพบความผิดปกติของตัวอสุจิประมาณร้อยละ 50 น้ำเชื้อสดที่มีคุณภาพสูงจะมีตัวอสุจิผิดปกติต่ำประมาณร้อยละ 5-15 ส่วนน้ำเชื้อที่มีคุณภาพไม่ดีจะมีตัวอสุจิผิดปกติมากกว่าร้อยละ 30 (ศรีสุวรรณ, 2542)

การตรวจคุณภาพของน้ำเชื้อสุกรมีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยเฉพาะน้ำเชื้อที่จะต้องนำไปใช้ในการผสมเทียม วรรณพ (2545) ได้กล่าวถึงประโยชน์ของการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อพอสุกรดังนี้ 1. เพื่อตรวจความสมบูรณ์พันธุ์ของพอสุกร 2. เพื่อตรวจความผิดปกติของอวัยวะสืบพันธุ์ที่อาจจะเกิดจากการติดเชื้อ หรืออื่น ๆ 3. เพื่อตรวจสอบเทคนิคการรีดน้ำเชื้อว่าถูกต้องหรือไม่ 4. เพื่อตรวจสอบว่าน้ำเชื้อสามารถนำไปใช้ในการผสมเทียมได้หรือไม่

2.2 ค่าปกติของน้ำเชื้อในพอสุกร (ตารางที่ 1) ค่าปกตินี้จะเป็ค่าที่บ่งชี้ให้หลังจากการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อว่ามีความผิดปกติไปจากน้ำเชื้อทั่วไปหรือไม่

ตารางที่ 1 แสดงค่าปกติของน้ำเชื้อพ่อสุกร

	ค่าเฉลี่ย (mean)	ช่วง (range)
ปริมาตร (ลบ. ซม.)	250	100-500
ความเป็นกรดค่า	7.5	7.3-7.8
ความเข้มข้น (ล้านต่อลบ. ซม.)	100	25-300
ตัวสูกิจทั้งหมดต่อการหลัง (10 ⁹)	25	10-100
การเคลื่อนไหวเฉพาะตัว (%)	70	60-90
ตัวสูกิจปกติ (%)	ไม่น้อยกว่า 80	70-90
ตัวสูกิจผิดปกติ (%)	ไม่เกิน 20	5-20
- ความผิดปกติของส่วนหัว (%)	3	2-5
- มีความผิดปกติของส่วนกลางลำตัว (%)	3	2-5
- ความผิดปกติของส่วนหาง (%)	2.5	1-5
- มีหยดน้ำ (%)	2.5	1-5

ที่มา: อรรถนพ (2545)

ปัจจัยที่มีผลต่อการมีชีวิตของตัวสูกิจสุกรภายหลังการรีดเก็บน้ำเชื้อ

ศรีสุวรรณ (2542) ได้รายงานถึงปัจจัยที่มีผลต่อการมีชีวิตของตัวสูกิจสุกรภายหลังการรีดเก็บน้ำเชื้อมาแล้วดังนี้

1. อุณหภูมิ

อุณหภูมิของน้ำเชื้อขณะทำการรีดเก็บควรอยู่ระหว่าง 37-37.5 องศาเซลเซียส ถ้าหากน้ำเชื้อได้รับอุณหภูมิสูงมากกว่านี้ จะทำให้ตัวสูกิจเพิ่มอัตราเมแทบอลิซึม เกิดการสูญเสียพลังงานที่สะสมไว้ ส่งผลให้ตัวสูกิจมีชีวิตสั้นลง หากอุณหภูมิสูงเกินกว่า 45 องศาเซลเซียส ตัวสูกิจจะตาย การลดอุณหภูมิทำให้เมแทบอลิซึมของตัวสูกิจลดลง แต่ถ้ามีการลดอุณหภูมิลดอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะอย่างยิ่งต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส จะทำให้ตัวสูกิจตาย เมื่อนำน้ำเชื้อมาอุ่นความแข็งแรงในการเคลื่อนไหวก็ไม่ดีขึ้นเหมือนเดิม และตัวสูกิจจะสูญเสียความสามารถในการปฏิสนธิไป กรณีเช่นนี้เรียกว่าการช็อกเนื่องจากอุณหภูมิลดลงเร็วเกินไป (cold shock) ซึ่งจะเกิดขึ้นได้ ถ้าหากไม่

ระมัดระวังเรื่องการเก็บน้ำเชื้อภายหลังการรีด อีกประการหนึ่งที่ต้องระมัดระวังคือ ในขณะที่เจือจางน้ำเชื้อ ต้องแน่ใจว่าอุณหภูมิของน้ำเชื้อและสารละลายน้ำเชื้อเท่ากันขณะเจือจาง การลดอุณหภูมิลงอย่างช้า ๆ จนถึงอุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิประมาณ 6-8 นาทีต่อองศาเซลเซียส การลดเมแทบอลิซึมของตัวสุจิที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้ตัวสุจิมีชีวิตรอดนานขึ้น ถ้าหากนำน้ำเชื้อมาอุ่นความแข็งแรงในการเคลื่อนไหวยังคงอยู่ และตัวสุจิอาจยังคงสมบูรณ์พันธุ์เช่นเดิม

2. แสงสว่าง

ตัวสุจิของสุกรจะถูกทำลาย และมีชีวิตสั้นลง หากได้รับแสงสว่างจากดวงอาทิตย์โดยตรง เพราะในแสงแดดจะมีรังสีอัลตราไวโอเล็ต ถ้าหากวางทิ้งไว้นานประมาณ 30-40 นาที แสงสว่างจากดวงอาทิตย์จะทำให้ตัวสุจิตาย

3. น้ำ

น้ำป่อ น้ำประปา น้ำฝน หรือน้ำกลั่นจะทำให้แรงดันออสโมติก (Osmotic pressure) ของน้ำกามลดลง ซึ่งจะทำให้ตัวสุจิตายได้ ดังนั้นน้ำจึงเป็นสารชนิดหนึ่งที่สามารถฆ่าตัวสุจิ การที่ผสมน้ำกลั่นลงไปในการเตรียมสารละลายน้ำเชื้อ เพื่อจะละลายสารเคมีต่าง ๆ ให้เข้ากันซึ่งเมื่อสารเคมีเหล่านั้นละลายในน้ำกลั่นแล้ว สารละลายน้ำเชื้อที่เตรียมไว้จะมีแรงดันออสโมติกเท่ากับหรือใกล้เคียงกับแรงดันออสโมติกของน้ำเชื้อ จึงไม่เป็นอันตรายต่อตัวสุจิ

4. วัสดุอุปกรณ์ที่เป็นโลหะ

วัสดุอุปกรณ์ที่เป็นโลหะทุกชนิดจะเป็นอันตรายต่อตัวสุจิ ควรหลีกเลี่ยงอุปกรณ์ที่เป็นโลหะทุกชนิดในการผสมเทียม และควรใช้อุปกรณ์ที่เป็นเครื่องแก้วหรือพลาสติก ในการรีดเก็บน้ำเชื้อ การเจือจาง การเก็บรักษา และการฉีดน้ำเชื้อ

5. ยามาเชื้อและผงซักฟอก

ยามาเชื้อและผงซักฟอกจะเป็นพิษต่อตัวสุจิ ในการทำความสะอาดอุปกรณ์ในการผสมเทียมไม่ควรใช้ยามาเชื้อ หรือผงซักฟอก ควรล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปต้ม นึ่งหรืออบ เพื่อฆ่าเชื้อ และทำให้แห้งก่อนนำไปใช้

6. ระยะเวลาในการเก็บน้ำเชื้อ

หลังจากรีดเก็บน้ำเชื้อแล้ว หากทิ้งน้ำเชื้อไว้นานเกินไป ตัวอสุจิจะใช้ออกซิเจนในอากาศมาก ทำให้เพิ่มเมแทบอลิซึมเกิดการสะสมกรดแลคติกอย่างมาก กรดแลคติกจะทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำเชื้อลดต่ำลงน้อยกว่า 7 ทำให้การมีชีวิตของตัวอสุจิสั้นลง ซึ่งสอดคล้องกับ Gibbon (1983) ที่รายงานว่า การตายของอสุจิเป็นผลมาจากความสัมพันธ์ระหว่างพลังงานทั้งหมดไปกับความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นในร่างกายดังกล่าวคือ ขณะที่อสุจิเผาผลาญอาหารนั้นผลสุดท้ายของปฏิกิริยา คือ กรดแลคติก คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ ซึ่งจะถูกเปลี่ยนไปเป็นไฮโดรเจนไอออนและไบคาร์บอเนตอิสระ จึงทำให้ความเป็นกรดและด่างในตัวของอสุจิลดลง อสุจิจึงหยุดการเคลื่อนไหว

7. ความสกปรกและแบคทีเรีย

ความสกปรกและแบคทีเรียที่อาจปะปนมากับน้ำเชื้อ จะเกิดได้มากที่สุดในช่วงที่รีดเก็บน้ำเชื้อ Poolperm (1999) กล่าวว่า การปนเปื้อนของแบคทีเรียในน้ำเชื้อสาเหตุหนึ่งมาจากกระบวนการในการรีดเก็บน้ำเชื้อหรือขั้นตอนในห้องปฏิบัติการ แบคทีเรีย ฝุ่น ขน ปัสสาวะหรือสิ่งสกปรกอื่น ๆ ที่ปะปนมากับน้ำเชื้อจะทำให้การมีชีวิตรอดของตัวอสุจิสั้นลง และทำให้ตัวอสุจิตายได้ Almond and Poolperm (1996) รายงานว่า ผลจากการเมแทบอลิซึมและสารพิษจากแบคทีเรียมีผลต่อการมีชีวิตรอดของอสุจิ นอกจากนี้ Almond *et al.* (1998) กล่าวว่า เชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อไม่ทำให้เกิดปัญหาต่อการผสมพันธุ์ของแม่สุกร แต่จะก่อให้เกิดมดลูกอักเสบได้ และแบคทีเรียที่อยู่ในน้ำเชื้อจะผลิตสารพิษทำลายอสุจิ แบคทีเรียที่พบว่าปนเปื้อนในน้ำเชื้อโดยทั่วไปได้แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงแบคทีเรียโดยทั่วไปที่พบได้ในน้ำเชื้อสุกร

Tamuli <i>et al.</i> (1984)	Dagnall (1986)	Danowski (1989)	Sone <i>et al.</i> (1989)
<i>E. coli</i>	<i>Citrobacter</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Micrococcus</i> spp.
<i>Bacillus</i> spp.	<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus</i> spp.
<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Citrobacter</i> spp.	<i>Klebsiella</i> spp.
<i>Klebsiella</i> spp.	<i>E. coli</i>	<i>Providencia</i> spp.	<i>E. coli</i>
<i>Proteus</i> spp.	<i>Actinomyces-like</i> spp.	<i>Neisseria</i> spp.	<i>Citrobacter</i> spp.
<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Bacteroides</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.
<i>Pasteurella</i> spp.	<i>Lactobacillus</i> spp.		<i>Actinomyces</i> spp.
<i>Citrobacter</i> spp.	<i>Actinobacter</i> spp.		<i>Serratia</i> spp.
	<i>Bacillus</i> spp.		<i>Enterobacter</i> spp.
	<i>Actinobacillus</i> spp.		<i>Bacillus</i> spp.
	<i>Staphylococcus</i> spp.		<i>Streptococcus</i> spp.
	<i>Micrococcus</i> spp.		
	<i>Flavobacterium</i> spp.		
	<i>Klebsiella</i> spp.		
	<i>Micrococcus</i> spp.		
	<i>Proteus</i> spp.		

ที่มา: Althouse and Kristina (2005)

สารละลายน้ำเชื้อสุกร

สารละลายน้ำเชื้อหรือ extender คือสารละลายที่เกิดจากการนำเอาสารที่มีคุณสมบัติช่วยในการมีชีวิตรอดของตัวสุจิ โดยสารเหล่านั้นต้องไม่ทำอันตรายต่อตัวสุจิ และต้องมีคุณสมบัติยืดอายุของตัวสุจิให้มีชีวิตนานขึ้น นอกจากนี้ สารละลายน้ำเชื้อต้องมีคุณสมบัติที่จะคงความสมบูรณ์พันธุ์ของตัวสุจิไว้ด้วยคือ ความสามารถในการเข้าเจาะเซลล์ไข่ จุดประสงค์ของการใช้สารละลายน้ำเชื้อ เพื่อเพิ่มปริมาตรของน้ำเชื้อให้มากขึ้นในการที่จะนำไปผสมกับแม่สุกรได้หลายแม่ และเป็น การป้องกันรักษาสุจิให้มีชีวิตรอด (Almond *et al.*, 1998) นอกจากนี้แล้วสารละลายน้ำเชื้อยังเป็น ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการมีชีวิตรอดของสุจิตัวด้วย (White, 1974; Bearden and Fuquay, 1980)

1. ความสำคัญของสารละลายน้ำเชื้อ มีดังต่อไปนี้

- 1.1 ให้อาหารแก่เชื้ออสุจิโดยเป็นแหล่งพลังงาน
- 1.2 รักษาแรงดันออสโมติกที่เหมาะสมและปรับความสมดุลของสารละลายของตัวอสุจิ
- 1.3 เป็นบัฟเฟอร์เพื่อปรับสภาพความเป็นกรดต่าง และป้องกันอันตรายแก่เชื้ออสุจิจากการเกิดกรดแลคติก เนื่องจากการเมแทบอลิซึมของตัวอสุจิ
- 1.4 ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย
- 1.5 ป้องกันอันตรายแก่เชื้ออสุจิจากการที่อุณหภูมิเย็นลงหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างกะทันหัน
- 1.6 เพื่อเพิ่มปริมาณของน้ำเชื้อให้มากขึ้นทำให้สามารถนำไปผสมกับสุกรเพศเมียได้หลายตัว (ศรีสุวรรณ, 2542)

2. องค์ประกอบที่สำคัญของสารละลายน้ำเชื้อ

สารละลายน้ำเชื้อประกอบด้วย

2.1 สารเคมี (chemical) สารเคมีที่ใช้เป็นส่วนประกอบของสารละลายน้ำเชื้อมีหน้าที่หลักอยู่ 2 ประการคือ ส่วนที่ทำหน้าที่ให้พลังงานและสารอาหารแก่ตัวอสุจิ เช่น glucose fructose dextrose lactose ไข่แดงและน้ำมันเป็นต้น อีกส่วนทำหน้าที่เป็น buffer และรักษาแรงดันออสโมติกให้เหมาะสมกับตัวอสุจิ เช่น sodium citrate sodium bicarbonate potassium chloride เป็นต้น (ศรีสุวรรณ, 2542)

2.2 น้ำกลั่น น้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลายน้ำเชื้อมีส่วนสำคัญมากต่อการมีชีวิตรอดของตัวอสุจิ การใช้น้ำที่มีคุณภาพต่ำจะทำให้ความสามารถในการมีชีวิตรอดของตัวอสุจิลดลง น้ำที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้เตรียมสารละลายน้ำเชื้อคือ น้ำกลั่นที่ไม่มีประจุ

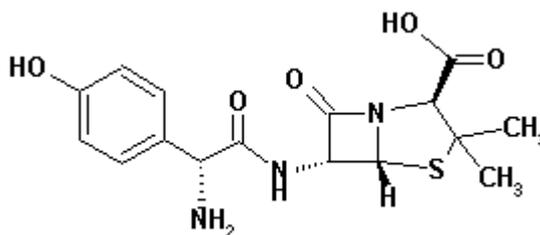
2.3 ยาปฏิชีวนะ (antibiotics) ใช้ในการทำลายและยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยาที่ใช้ส่วนใหญ่ได้แก่ penicillin, streptomycin, dibekacin, amikacin, gentamycin, kanamycin, sulbenicillin, polymycin B และ neomycin (ศรีสุวรรณ, 2542)

ยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะเป็นสารที่ผลิตโดยสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก มีผลในการยับยั้งหรือทำลายสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กอื่น ๆ ยาปฏิชีวนะผลิตโดยเชื้อราและแบคทีเรีย penicillin เป็นตัวอย่างของยาปฏิชีวนะที่ถูกผลิตโดยเชื้อรา ยาปฏิชีวนะหลายตัวในปัจจุบันถูกสังเคราะห์หรือผลิตดัดแปลงด้วยสารเคมีเพื่อใช้ฆ่าเชื้อที่ทำให้เกิดโรคอย่างกว้างขวาง เรียกยาปฏิชีวนะว่า ยาปฏิชีวนะกึ่งสังเคราะห์ (กมลชัย, 2547; Burton and Engelkirk, 2000)

amoxicillin

amoxicillin เป็นอนุพันธ์ของ ampicillin มีโครงสร้างทางเคมีอยู่ในยากลุ่ม penicillin (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมี amoxicillin

ที่มา: Anonymous (2004)

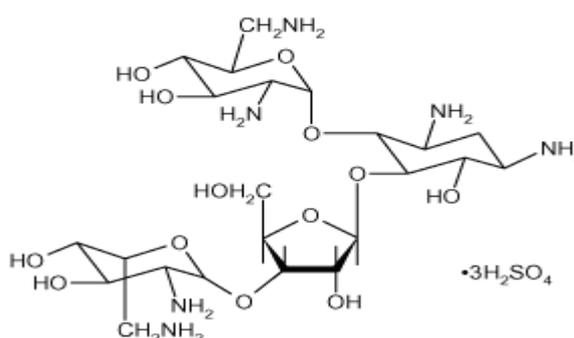
กลไกการทำงานกับแบคทีเรีย

1. penicillin จะทำการเชื่อมติดและยับยั้งการนำ peptidase ในการสร้างและยึดติดกันกับผนังเซลล์แบคทีเรียในระยะที่ 3 หรือระยะสุดท้ายในการสร้างผนังเซลล์ ทำให้เซลล์แตกและตายในที่สุด
2. penicillin จะยับยั้งขบวนการ peptidase อื่น ที่อาจเกี่ยวข้องกับกำการสร้างผนังเซลล์ทำให้ผนังเซลล์แบคทีเรียมีการแตกสลายเอง
3. แบคทีเรียที่มีการเจริญอย่างรวดเร็ว ส่วนใหญ่จะไวต่อผลของ penicillin (สมพงษ์ และ อธิภู, 2547)

amoxicillin เป็นยาที่ออกฤทธิ์กว้าง (broad-spectrum penicillin) ทำลายทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ โดยจะออกฤทธิ์ขัดขวางการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย นอกจากนี้แล้วจัดเป็นยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายเชื้อออกฤทธิ์ได้ดีต่อเชื้อแบคทีเรียที่กำลังเจริญเติบโต แต่ออกฤทธิ์ได้ไม่ค่อยดีต่อเชื้อแบคทีเรียที่โตเต็มที่แล้ว หรือที่อยู่ในช่วง resting phase ไม่ควรใช้ยานี้ร่วมกับยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เพราะจะไปยับยั้งการออกฤทธิ์ของยาในกลุ่ม penicillin ยาในกลุ่ม penicillin จะเสริมฤทธิ์กับยาที่ออกฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียเหมือนกัน (กมลชัย, 2547) ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของ amoxicillin ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (MIC) คือ $MIC < 4$ (สมพงษ์ และ อธิภู, 2547)

neomycin

neomycin เป็นยาในกลุ่ม aminoglycosides มีสูตรโครงสร้างทางเคมีดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดงสูตรโครงสร้างทางเคมี neomycin

ที่มา: Related product group (2004)

กลไกการออกฤทธิ์

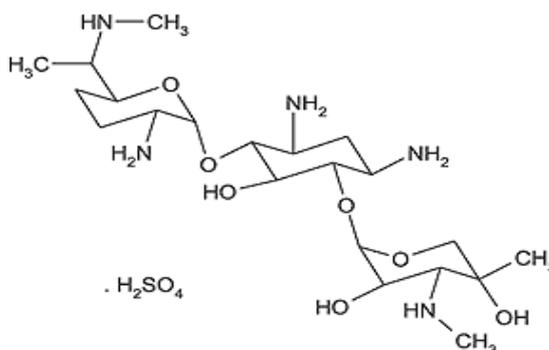
ยาในกลุ่ม aminoglycosides จะจับกับไรโบโซมที่ 30S เป็นส่วนใหญ่ (rRNA) ทำให้การส่งถ่ายข้อมูลของ mRNA ผิดพลาด มีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนผิดพลาดหรือยับยั้งการสร้างโปรตีน aminoglycosides เข้าสู่เซลล์แบคทีเรียใน 2 ระยะคือ Energy-dependent ระยะที่ 1 (EDP1) เป็นระยะแรกของการเข้าสู่เซลล์ที่อาศัย electron transport ที่มีความต่างศักย์ไฟฟ้าระหว่างภายนอกและภายในเซลล์ ระยะนี้ต้องอาศัยออกซิเจนและพลังงานในสถานะแอนแอโรบิก หรือความเป็นกรดรวมทั้งการมี แคลเซียมหรือแมกนีเซียม ไอออนสูง (Ca^{2+} และ Mg^{2+}) ซึ่งจะขัดขวาง

การเข้าสู่เซลล์ของยา Energy-dependent ระยะที่ 2 (EDP2) เป็นระยะที่ยาจับกับไรโบโซมยับยั้งการสร้างโปรตีนทำให้มีการอ่านรหัสผิดเชื่อมุ่เซลล์เสียหาย ทำให้ยาซึมผ่านเข้าเซลล์ได้มากขึ้น (สมพงษ์ และ อธิฎ, 2547)

neomycin จัดเป็นยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายเชื้อแบคทีเรีย ทำให้เชื้อแบคทีเรียลดลงอย่างรวดเร็ว โดย neomycin จะออกฤทธิ์ต่อการสร้างโปรตีนของเชื้อแบคทีเรียเช่นเดียวกับยาตัวอื่นในกลุ่ม aminoglycoside ออกฤทธิ์ได้ดีต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อ *E. coli*, *Enterobacter* หลายชนิด *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella* และ *Proteus* (กมลชัย, 2547) ระดับของ neomycin ที่มีการเสริมในสารละลายน้ำเชื้อแล้วสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีคือ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Poolperm, 1999)

gentamycin

gentamycin เป็นยาในกลุ่ม aminoglycosides แบ่งตามสูตรโครงสร้างทางเคมีได้เป็น 3 แบบ คือ getamicin C1, getamicin C2 และ getamicin C1A gentamycin ที่ขายในท้องตลาดเป็นส่วนผสมของ gentamycin ทั้งสามชนิด และอยู่ในรูป getamicin sulfate (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 แสดงสูตร โครงสร้าง gentamycin

ที่มา: Related product group (2004)

gentamycin เป็นยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายเชื้อแบคทีเรีย โดย gentamycin จะออกฤทธิ์ต่อการสร้างโปรตีนของเชื้อแบคทีเรียเหมือนยาในกลุ่ม aminoglycosides ตัวอื่นดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น แต่ยานี้มีขอบเขตการออกฤทธิ์กว้างกว่ายาในกลุ่ม aminoglycosides ตัวอื่นๆ คือยานี้จะออกฤทธิ์ได้ดีต่อเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกหลายชนิดด้วย เชื้อแบคทีเรียที่ไวต่อ gentamycin ได้แก่ *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*,

Serratia, *Salmonella* และ *Shigella* (กมลชัย, 2547) ระดับของ gentamycin ที่มีการเสริมในสารละลายน้ำเชื้อแล้วสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ดีคือ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (Poolperm, 1999)

ยาปฏิชีวนะที่นิยมเสริมในสารละลายน้ำเชื้อคือ gentamycin, neomycin, kanamycin และ dibekacin (Almond and Poolperm, 1996) นอกจากนี้ยังมีกลุ่มยาอีกหลายตัวที่ใช้ในสารละลายน้ำเชื้อ (ตารางที่ 3) ในประเทศสหรัฐอเมริกานิยมใช้สารละลายน้ำเชื้อของ EU-cocktail หรือ X-Cell ซึ่งจะประกอบด้วยยาปฏิชีวนะต่างๆ และในปัจจุบันได้มีการพัฒนาขึ้นมาใหม่ใช้ชื่อว่า Tri-Xcell[®] ซึ่งมียาปฏิชีวนะต่างๆ เป็นส่วนประกอบคือ gentamycin, amoxycillin และ tylosin สามารถควบคุมการเจริญของแบคทีเรียได้ดี (Hansen, 2004)

ตารางที่ 3 แสดงยาปฏิชีวนะที่เสริมในสารละลายน้ำเชื้อสุกร โดยทั่วไป

ยาปฏิชีวนะที่ใช้เป็นประจำ	ยาปฏิชีวนะที่ใช้เป็นบางครั้ง
ampicillin	amikacin
gentamycin	bacitracin
dihydrosterptomycin	chlortetracycline
lincomycin	colistin
neomycin	dibekacin
penicillin	enrofloxacin
plymixin B	erythromycin
spectinomycin	kanamycin
sulfadiazine	
tylosin	

ที่มา: ทีมงาน ไลฟ์ อินโฟร์เมคส์ (2548)

การศึกษาเปรียบเทียบผลของยาปฏิชีวนะต่างๆ ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียในน้ำเชื้อสุกร โดย Sone *et al.* (1982) ได้ทำการศึกษาถึงผลของยาปฏิชีวนะต่างๆ ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรียในน้ำเชื้อสุกรที่ประเทศญี่ปุ่น พบว่าชนิดของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อได้บ่อยๆ คือ *Pseudomonas* spp.,

Micrococcus spp., *Staphylococcus* spp., *Klebsiella* spp. และ *E. coli* ตามลำดับ และปฏิชีวนะที่ให้ผลดีในการควบคุมก็คือ dibekacin, amikacin และ gentamycin ซึ่งสอดคล้องกับ Toniolli *et al.* (2001) ที่ได้ทำการทดสอบผลของยาปฏิชีวนะต่อการควบคุมแบคทีเรียพบว่า gentamycin เป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการควบคุมแบคทีเรียได้ดีที่สุดในระยะการเก็บรักษาที่ 8 วัน และ neomycin จะควบคุมแบคทีเรียได้ผลดีที่ 24 ชั่วโมงแรกของระยะการเก็บรักษา แต่ Althouse *et al.* (2000) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียที่พบบ่อยในน้ำเชื้อสุกรที่อเมริกาเหนือคือ *Alcaligenes xylosoxydans*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *Serratia marcescens* และ *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* และพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่พบในน้ำเชื้อคือยา gentamycin ซึ่งเป็นยาที่ใช้กันอยู่แพร่หลาย

พิรศักดิ์ และคณะ (2545) ได้ทำการศึกษาหาชนิดของแบคทีเรีย ทดสอบปฏิชีวนะในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย และผลกระทบต่อการเคลื่อนไหวของอสุจิในน้ำเชื้อสุกรที่ภาคใต้ พบว่าในน้ำเชื้อสุกรจะมีการปนเปื้อนของเชื้อ *Acinetobacter baumannii*, *A. junphii*, *Sphingobacterium* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium* spp. และ *Staphylococcus coagulase negative* ตามลำดับ ผลการทดสอบยาปฏิชีวนะพบว่า sulperazone, vancomycin และ imipenem สามารถควบคุมเชื้อให้อยู่ในระดับต่ำได้ใน 3 วันที่ทำการทดสอบ vancomycin และ imipenem ไม่มีผลกระทบต่อร้อยละของการเคลื่อนไหวของอสุจิ ยกเว้นใน sulperazone ที่ทำให้ค่าร้อยละของการเคลื่อนไหวของอสุจิมิแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาที่เก็บรักษา

Poolperm (1999) รายงานว่าน้ำเชื้อที่อยู่ในสารละลายเจือจางที่มี gentamycin อสุจิจะมีการเคลื่อนไหวได้ดีที่สุด รองลงมาคือ neomycin และ amikacin และเมื่อเทียบกับปฏิชีวนะในกลุ่ม penstrep พบว่าปฏิชีวนะ 3 ตัวนี้ไม่มีผลต่อการลดการเคลื่อนไหวของอสุจิ ส่วนปฏิชีวนะในกลุ่ม penstrep และกลุ่มที่ไม่มียาปฏิชีวนะความสามารถในการเคลื่อนไหวของอสุจิจะลดลง นอกจากนี้แล้ว gentamycin, neomycin และ amikacin ไม่มีผลต่อความผิดปกติของอสุจิและอะโครโซมหลังการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการใช้ปฏิชีวนะในน้ำเชื้อของสัตว์หลายชนิดด้วยกันเช่น โค (Bousseau *et al.*, 1998; Visser *et al.*, 1999) และม้าซึ่งพบว่า gentamycin มีผลในการควบคุมการเจริญของแบคทีเรียได้ดีที่สุด (Varner *et al.*, 1998)

แนวคิดเกี่ยวกับต้นทุนการผลิต

สมศักดิ์ (2531) กล่าวถึงองค์ประกอบของต้นทุนการผลิตว่าต้นทุนการผลิตของกิจการเลี้ยงสัตว์หรือการผลิตปศุสัตว์ แบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือต้นทุนคงที่ และต้นทุนผันแปร

1. ต้นทุนคงที่

ต้นทุนคงที่ หมายถึง ต้นทุนการผลิตที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณของผลผลิตปศุสัตว์ ต้นทุนนี้เป็นค่าใช้จ่ายในการผลิตที่เกิดจากการใช้ปัจจัยการผลิตที่คงที่ ซึ่งไม่ว่าผู้ผลิตจะทำการผลิตมากน้อยแค่ไหนก็ตาม ต้นทุนคงที่ทั้งหมดจะคงที่ตายตัวเสมอ และผู้ผลิตไม่สามารถจะเปลี่ยนแปลงปริมาณการใช้ปัจจัยในช่วงดังกล่าวได้ในช่วงระยะเวลาของการผลิตนั้น แบ่งต้นทุนคงที่ที่ออกได้เป็น 2 ประเภทคือ ต้นทุนคงที่เป็นเงินสดและไม่เป็นเงินสด ต้นทุนคงที่ที่เป็นเงินสด หมายถึง ค่าใช้จ่ายที่ผู้ผลิตจะต้องจ่ายในรูปของเงินสดในจำนวนที่คงที่ตลอดปี เช่น ค่าเช่าที่ดิน ค่าดอกเบี้ยของเงินลงทุน เป็นต้น ส่วนต้นทุนคงที่ที่ไม่เป็นเงินสด หมายถึง ค่าใช้จ่ายที่ผู้ผลิตไม่ได้จ่ายออกไปจริงในรูปของเงินสดหรือเป็นค่าใช้จ่ายคงที่ประเมิณ เช่น ค่าเสื่อมเครื่องมืออุปกรณ์การเกษตร เป็นต้น

2. ต้นทุนผันแปร

ต้นทุนผันแปร หมายถึง ต้นทุนการผลิตที่มีการเปลี่ยนแปลงไปตามปริมาณของผลผลิตซึ่งเป็นค่าใช้จ่ายที่เกิดจากการใช้ปัจจัยผันแปรในการผลิตปศุสัตว์ และปัจจัยผันแปรจะใช้หมดไปในช่วงการผลิตนั้น ๆ เช่น ค่าจ้างแรงงาน ค่าอาหาร ค่าผสมพันธุ์ เป็นต้น ต้นทุนผันแปรสามารถแยกออกได้เป็น 2 ประเภท คือ ต้นทุนผันแปรที่เป็นเงินสด และไม่เป็นเงินสด ต้นทุนผันแปรที่เป็นเงินสด หมายถึง ต้นทุนผันแปรที่ผู้ผลิตจ่ายออกไปจริงเป็นเงินสดจากการใช้ปัจจัยผันแปรต่างๆ เช่น ค่าจ้างแรงงาน ค่าอาหารสัตว์ เป็นต้น สำหรับต้นทุนผันแปรที่ไม่เป็นเงินสด หมายถึง ต้นทุนผันแปรที่ผู้ผลิตไม่ได้จ่ายออกไปจริงเป็นเงินสด เป็นค่าใช้จ่ายที่คิดให้กับปัจจัยการผลิตผันแปรต่างๆ ที่เป็นของผู้ผลิตเองหรือที่ได้รับมาแล้วก็ใช้ไปในรูปของสิ่งของ เช่น ค่าแรงงานของบุคคลในครอบครัว ค่าพันธุ์ที่เก็บไว้เอง และค่าเสียโอกาสของเงินลงทุน เป็นต้น

สำหรับต้นทุนทั้งหมดในการเลี้ยงสัตว์ หมายถึง ต้นทุนทั้งหมดที่เกิดขึ้นที่เป็นเงินสดและที่ไม่เป็นเงินสดจากการผลิตปศุสัตว์ชนิดใดชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นผลรวมของต้นทุนคงที่ทั้งหมดและต้นทุนผันแปรทั้งหมด ต้นทุนผันแปรต่อหน่วยน้ำหนักหรือต่อฟาร์ม หมายถึง ต้นทุนการผลิตผันแปรทั้งหมดที่เป็นเงินสดและไม่เป็นเงินสดที่เกิดจากการผลิตปศุสัตว์ชนิดใดชนิดหนึ่งเฉลี่ยต่อหน่วยน้ำหนักหรือหน่วยของผลผลิตของปศุสัตว์ชนิดนั้นๆ ส่วนต้นทุนการผลิตทั้งหมดทั้งที่เป็นเงินสดและไม่เป็นเงินสดที่เกิดจากการผลิตปศุสัตว์ชนิดใดชนิดหนึ่งเฉลี่ยต่อหน่วยน้ำหนักหรือหน่วยของผลผลิตของปศุสัตว์ชนิดนั้นๆ

วิธีวิเคราะห์ต้นทุน

การวิเคราะห์ต้นทุน เป็นการวิเคราะห์รวมเปรียบเทียบต้นทุนในการผลิตน้ำเชื้อสดของพ่อสุกรพันธุ์ กรณีที่ใช้ยาปฏิชีวนะต่างชนิดกัน การวิเคราะห์ต้นทุนในการผลิตน้ำเชื้อของพ่อสุกรพันธุ์ จะแบ่งต้นทุนออกเป็น 2 ประเภท คือ ต้นทุนคงที่ และต้นทุนผันแปร ส่วนต้นทุนคงที่ประกอบด้วย ค่าใช้ที่ดิน ค่าเสื่อมโรงงานและอุปกรณ์ ค่าเสียโอกาสของโรงงานและอุปกรณ์ ค่าเสื่อมของพ่อพันธุ์สัตว์ ค่าเสียโอกาสของเงินลงทุนซื้อพ่อพันธุ์สัตว์ ต้นทุนผันแปร ประกอบด้วย ค่าอาหาร ค่าแรงงาน ค่าวัคซีน ค่ายารักษาโรคและวิตามิน ค่าไฟฟ้า ค่าน้ำประปา ค่าบำรุงรักษาและซ่อมแซม โรงเรือนและอุปกรณ์ ค่าใช้จ่ายในการรีดน้ำเชื้อ และค่าเสียโอกาสของเงินลงทุน

วิเคราะห์โดยอาศัยสมการต้นทุน และผลตอบแทน โดยพิจารณาทั้งต้นทุนที่เป็นเงินสดและไม่เป็นเงินสด ดังนี้ คือ

$$\begin{aligned}
 \text{ต้นทุนการผลิตทั้งหมด} &= \text{ต้นทุนผันแปรทั้งหมด} + \text{ต้นทุนคงที่ทั้งหมด} \\
 \text{ต้นทุนผันแปรทั้งหมด} &= \text{ค่าอาหาร} + \text{ค่าแรงงาน} + \text{ค่าวัคซีน} \\
 &+ \text{ค่ายารักษาโรคและวิตามิน} + \text{ค่าไฟฟ้า} \\
 &+ \text{ค่าน้ำประปา} + \text{ค่าบำรุงรักษาและซ่อมแซม} \\
 &\text{โรงเรือนและอุปกรณ์} + \text{ค่าใช้จ่ายในการรีด} \\
 &\text{น้ำเชื้อ} + \text{ค่าเสียโอกาสของเงินลงทุน} \\
 \text{ต้นทุนคงที่ทั้งหมด} &= \text{ค่าเสื่อมโรงงานและอุปกรณ์} \\
 &+ \text{ค่าเสียโอกาสของเงินลงทุนสร้างโรงเรือน} \\
 &+ \text{ค่าใช้ที่ดิน} + \text{ค่าเสื่อมของพ่อพันธุ์สัตว์} \\
 &+ \text{ค่าเสียโอกาสของเงินลงทุนซื้อพ่อพันธุ์สัตว์} \\
 &\text{และเครื่องมืออุปกรณ์}
 \end{aligned}$$

การคิดต้นทุนการผลิตน้ำเชื้อแยกพิจารณาตามชนิดของยาปฏิชีวนะคือ กลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะ กลุ่มที่เสริม gentamycin, neomycin, amoxycillin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin ตามลำดับ

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

สุกรพ่อพันธุ์จำนวน 6 ตัว ประกอบไปด้วย พันธุ์ลาร์จไวท์ 1 ตัว พันธุ์แลนด์เรซ 2 ตัว และ พันธุ์ครีโอล 3 ตัว อยู่ในช่วงอายุ 3-3.5 ปี

2. โรงเรือน

โรงเรือนพ่อพันธุ์เป็นแบบโรงเรือนเปิดใช้คอกพ่อพันธุ์จำนวน 6 คอก แต่ละคอกมีขนาด 2.5×4 ตารางเมตร

3. อาหารและส่วนประกอบ

อาหารสำหรับสุกรพ่อพันธุ์แต่ละตัวใช้อาหารสำเร็จรูปชนิดเม็ด สูตรแม่พันธุ์อู่มท้อง โดยมี โภชนะดังนี้ โปรตีนไม่น้อยกว่า 14 เปอร์เซ็นต์ ไขมันไม่น้อยกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ กาก ไม่มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น ไม่มากกว่า 13 เปอร์เซ็นต์

4. อุปกรณ์วัดเก็บน้ำเชื้อ

ประกอบด้วย หุ่นล่อ กลิ่นเพศ บีกเกอร์ (beaker) ผ้าพันแผลขนาดใหญ่ (ผ้ากรอส) กระจก น้ำแข็งรักษาอุณหภูมิ

5. อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิของน้ำเชื้อ

ประกอบด้วย อ่างน้ำอุ่นควบคุมอุณหภูมิ (water bath) และแผ่นความร้อน (hot plate)

6. อุปกรณ์และสารเคมีในการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อ

ประกอบด้วย กล้องจุลทรรศน์พร้อมจอทีวี กระจกสไลด์ (slide) กระจกปิดสไลด์ (coverglass) เครื่องวัดสีโคโรมิเตอร์ โมเดล 252 (corning colorimeter 252) ของบริษัท corning จำกัด ใช้ความยาวคลื่นแสงเท่ากับ 520 นาโนเมตร สี eosin-nigrosin ของบริษัท Fluka Chemie AG. ภายใต้เครื่องหมายการค้า Fluka และ sodium citrate ของบริษัท Riedel-de Haën AG. ภายใต้เครื่องหมายการค้า Riedel-de Haën AG. สำหรับทำสีย้อม เพื่อตรวจสอบดูสัณฐานเป็น อสุจิที่มีรูปร่างผิดปกติ และอะโครโซม โดยสีย้อมมีส่วนประกอบ ดังนี้ สี eosin 1 กรัม สี nigrosin 5 กรัม และ sodium citrate 3 กรัม น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร (ศรีสุวรรณ, 2542)

7. อุปกรณ์ในการบรรจุน้ำเชื้อ

ประกอบด้วย plastic sealer และ หลอดพลาสติกบรรจุน้ำเชื้อ

8. อุปกรณ์ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อ

ประกอบด้วย ตู้เย็นขนาด 4.2 คิว ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้

9. สารละลายน้ำเชื้อ

ใช้สารละลายน้ำเชื้อสุกรสูตร Beltsville Thawing Solution (BTS) มีส่วนประกอบดังนี้คือ glucose 37 กรัม ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) 1.25 กรัม sodium citrate 6 กรัม sodium bicarbonate 1.25 กรัม potassium chloride 0.7 กรัม และน้ำกลั่น 1 ลิตร (Pursel and Johnson, 1975)

10. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเชื้อแบคทีเรีย

ประกอบด้วยจานเพาะเชื้อ pipette เครื่องชั่งสาร กระดาษไขรองชั่ง (wax paper) หรือ foil ซ้อนตักสาร (spatula) หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave) ตู้บ่มเชื้อ (incubator) ตู้อบไอร้อน (hot air oven) ตะเกียงแอลกอฮอล์ อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป tryptone glucose yeast extract agar (TGY) หรือที่เรียกว่า plate count agar (PCA) และน้ำเกลือ (normal saline)

11. วัสดุและอุปกรณ์การนับจำนวนแบคทีเรีย

ประกอบด้วย เครื่องตรวจนับจำนวนแบคทีเรีย (colony counter 560) ของบริษัท SUNTEX

12. ยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการทดลอง

ประกอบด้วย gentamycin ของบริษัท ไทยเมจิฟาร์มาชีฟาคัล จำกัด ภายใต้เครื่องหมายการค้า Meiji Seika Kaisha Ltd. neomycin ของบริษัท advance pharmer company Ltd. ภายใต้เครื่องหมายการค้า นีโอมิคซ์[®] 325 และ amoxycillin ของบริษัท Seven Stars Pharmaceutical Co., Ltd. ภายใต้เครื่องหมายการค้า AGRI LINE

วิธีการทดลอง

1. การเลี้ยงสัตว์

การเลี้ยงสุกรพ่อพันธุ์จำนวน 6 ตัว แต่ละตัวเลี้ยงไว้ในคอกย่อยสำหรับพ่อสุกรโรงเรือนระบบเปิด สุกรแต่ละตัวจะได้รับอาหารวันละ 2.5-5 กิโลกรัมต่อวัน และน้ำดื่มสะอาดอย่างเต็มที่ รวมทั้งการจัดการที่เหมือนกันทุกประการ

2. การรีดเก็บน้ำเชื้อ

การรีดเก็บน้ำเชื้อสุกรพ่อพันธุ์โตเต็มวัยอายุ 3-3.5 ปี จำนวน 6 ตัว ซึ่งได้รับการฝึกรีดเก็บน้ำเชื้อแล้วและเป็นสุกรที่เลี้ยงอยู่ในศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม การรีดเก็บน้ำเชื้อจากสุกรพ่อพันธุ์แต่ละตัวจะทำในช่วงเช้าเวลา 6.00-8.00 น. ของแต่ละวันที่ทำการทดลอง ใช้วิธีการรีดเก็บน้ำเชื้อ โดยปฏิบัติตามคู่มือปฏิบัติการผสมเทียมในสุกร (ศรีสุวรรณ, 2542) เมื่อรีดเก็บได้แล้วนำน้ำเชื้อใส่กระติกควบคุมอุณหภูมิ นำมายังห้องปฏิบัติการ

3. การเจือจางน้ำเชื้อ

น้ำเชื้อสุกรที่รีดเก็บมาแต่ละครั้งจะแบ่งออกเป็น 6 ส่วน เพื่อทำการเจือจาง โดยใช้สารละลายน้ำเชื้อสูตร บีทีเอส (BTS) ที่มีการเสริมยาปฏิชีวนะต่างกัน 6 ชนิดคือ

กลุ่มที่ 1 สารละลายน้ำเชื้อบีทีเอสไม่เสริมยาปฏิชีวนะ (กลุ่มควบคุม)

กลุ่มที่ 2 สารละลายน้ำเชื้อบีทีเอสเสริม gentamycin ในความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่มที่ 3 สารละลายน้ำเชื้อบีทีเอสเสริม neomycin ในความเข้มข้น 650 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่มที่ 4 สารละลายน้ำเชื้อบีทีเอสเสริม amoxycillin ในความเข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่มที่ 5 สารละลายน้ำเชื้อบีทีเอสเสริม gentamycin ในความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ neomycin ในความเข้มข้น 325 มิลลิกรัมต่อลิตร

กลุ่มที่ 6 สารละลายน้ำเชื้อบีทีเอสเสริม gentamycin ในความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ amoxycillin ในความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

โดยให้ความเข้มข้นของตัวอสุจิในสารละลายเท่ากับ 1×10^9 ตัวต่อโดส โดยใน 1 โดสมีปริมาตรของน้ำเชื้อที่เจือจางแล้ว 80 มิลลิลิตร

4. การบรรจุน้ำเชื้อสด

น้ำเชื้อภายหลังการเจือจางจะนำมาบรรจุลงในภาชนะบรรจุน้ำเชื้อชนิดหลอดพลาสติก โดยน้ำเชื้อแต่ละกลุ่มจะแบ่งออกเป็น 4 ช่วงอายุเวลาการเก็บรักษา คือ 0 1 2 และ 3 วัน ดังนั้นในแต่ละกลุ่มที่เตรียมน้ำเชื้อ จะได้น้ำเชื้อจำนวน 4 หลอด เก็บน้ำเชื้อไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียสตามระยะเวลาที่กำหนด

5. การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ

นำน้ำเชื้อที่เจือจางแล้ว มาตรวจคุณภาพตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยนำน้ำเชื้อแต่ละหลอดมาอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วทำการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ โดยปฏิบัติตามการศึกษาของศรีสุวรรณ (2542)

5.1 การตรวจนับร้อยละอสุจิมิชีวิต (% motile sperm) โดยตรวจนับอสุจิมิชีวิตที่เคลื่อนไหว ประเมินโดยใช้น้ำเชื้อหยดลงบนแผ่นสไลด์ แล้วปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วสังเกตการเคลื่อนไหวของตัวอสุจิมิชีวิต แล้วประเมินร้อยละของอสุจิมิชีวิต

5.2 การตรวจนับร้อยละอสุจิตัวเป็น (% live sperm) โดยการนับจำนวนตัวอสุจิที่ตายจากน้ำเชื้อที่ผ่านการย้อมสี eosin-nigrosin นับจำนวนอสุจิทั้งหมด 200 ตัว จากนั้นจึงคิดค่าร้อยละอสุจิตัวเป็น

5.3 การตรวจนับลักษณะความผิดปกติของรูปร่างอสุจิ โดยการนับจำนวนของอสุจิที่มีลักษณะรูปร่างผิดปกติ จากน้ำเชื้อที่ผ่านการย้อมสี ในข้อ 5.2 โดยนับจำนวนอสุจิทั้งหมด 200 ตัว จากนั้นจึงคิดร้อยละของอสุจิที่มีลักษณะรูปร่างผิดปกติ

5.4 การตรวจนับลักษณะอะโครโซมผิดปกติ โดยการนับจำนวนอสุจิที่มีอะโครโซมผิดปกติ จากน้ำเชื้อที่ผ่านการย้อมสี ในข้อ 5.2 โดยนับจำนวนอสุจิทั้งหมด 200 ตัว จากนั้นจึงคิดร้อยละของอสุจิที่มีลักษณะอะโครโซมผิดปกติ

6. การตรวจวิเคราะห์จำนวนประชากรแบคทีเรีย

6.1 การเจือจางตัวอย่างน้ำเชื้อสุกร ทำการเจือจางลงทีละ 10 เท่า ตามลำดับ ดังนี้

6.1.1 นำตัวอย่างน้ำเชื้อสุกรของแต่ละกลุ่มปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในน้ำสำหรับเจือจางที่มีปริมาตร 90 มิลลิลิตร ได้ความเจือจางเท่ากับ 10 เท่า (1:10) เขย่าให้เข้ากัน

6.1.2 คูณตัวอย่างน้ำเชื้อสุกรที่เจือจางแล้ว 10 เท่า มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในน้ำสำหรับเจือจางที่มีปริมาตร 9 มิลลิลิตร ได้ความเจือจางเท่ากับ 100 เท่า (1:100) เขย่าให้เข้ากัน

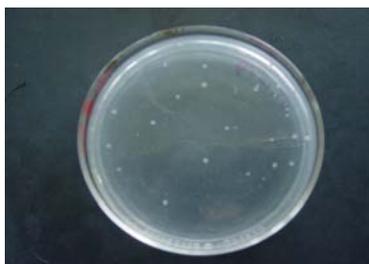
6.1.3 ทำการเจือจางเป็นลำดับไปเช่นนี้ จนกระทั่งได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสมคือ 1000 เท่า (1:10³)

6.2 การทำ pour plate เป็นการตรึงเซลล์ของแบคทีเรียในเนื้ออาหาร โดย

6.2.1 คูดสารละลายที่เจือจางแล้ว ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อแล้วเทอาหาร PCA ที่หลอมแล้วอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อประมาณ 20-25 มิลลิลิตร รวมอาหารกับสารละลายให้เข้ากัน โดยวนซ้าย 5 รอบ ขวา 5 รอบ แล้วเคลื่อนจานขึ้นบนลงล่าง 5 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็งตัว

6.2.2 ทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียที่แต่ละระดับความเจือจางจำนวน 3 ครั้ง

6.2.3 เมื่ออาหารแข็งตัวดีแล้ว ให้กลับจานเพาะเชื้อโดยให้ฝาจานอยู่ด้านล่าง นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นำมาตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในตัวอย่างน้ำเชื้อสุกร ซึ่งเจริญบน plate count agar เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

6.3 การตรวจนับแบคทีเรีย เมื่อแบคทีเรียอยู่ในอาหารและสภาพที่เหมาะสม จะเจริญแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนจนเห็นเป็นโคโลนีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งปริมาณที่เหมาะสมคือ 25-250 โคโลนีต่อ 1 จานเพาะเชื้อ การนับจำนวนแบคทีเรียจึงนิยมรายงานผลเป็น CFU (colony forming unit) นำผลการตรวจนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น มาคำนวณหาปริมาณแบคทีเรียในตัวอย่างน้ำเชื้อสุกร 1 มิลลิลิตร เช่น นับจำนวนแบคทีเรียได้ 147 139 155 โคโลนี จากจานเพาะเชื้อที่เดิมสารละลายที่เจือจาง 1:1000 ($1:10^3$) เท่า

$$\text{การคำนวณ หาค่าเฉลี่ย} \therefore \text{จะได้จำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร} = \frac{147 + 139 + 155}{3} = 147$$

$$\therefore \text{ตัวอย่างเจือจาง } \frac{1}{10^3} \text{ เท่า มีปริมาณแบคทีเรีย} = 147 \text{ โคโลนีต่อมิลลิลิตร}$$

$$\begin{aligned}
 \text{ตัวอย่างเงืงจาง 1 เท่า มีปริมาณแบคทีเรีย} &= 147 \times 10^3 \text{ โคลโลนีต่อมิลลิลิตร} \\
 &= 1.47 \times 10^5 \text{ โคลโลนีต่อมิลลิลิตร} \\
 &= 1.5 \times 10^5 \text{ โคลโลนีต่อมิลลิลิตร}
 \end{aligned}$$

7. การบันทึกข้อมูล

7.1 คุณภาพน้ำเชื้อ

การตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อหลังการเงืงจาง โดยบันทึกข้อมูล ร้อยละของสุกิมชีวิต ร้อยละของสุกิตัวเป็น ร้อยละของสุกิตัวที่มีความผิดปกติ และร้อยละของสุกิตัวที่มีอะโครโซมผิดปกติ

7.2 จำนวนโคลโลนีของแบคทีเรีย

บันทึกจำนวนของแบคทีเรียที่พบในน้ำเชื้อสุกร มีหน่วยเป็น โคลโลนีต่อมิลลิลิตร

8. การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์หาความแปรปรวนร่วม (analysis of covariance) ตามแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มบูรณ์ (randomized complete block design, RCBD) และเปรียบเทียบค่าความแตกต่าง ระหว่างทริทเมนต์โดยใช้ค่าเฉลี่ยสี่สแควร์ (least square mean) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (1998) ซึ่งมีแบบหุ่นจำลองทางสถิติดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \rho_j + \beta (X_{ij} + \bar{X}) + \epsilon_{ijk}$$

$$Y_{ijk} = \text{ค่าสังเกตจากทริทเมนต์ที่ } i \text{ บล็อกที่ } j \text{ เมื่อ } j = 1, \dots, r$$

$$\mu = \text{ค่าเฉลี่ยร่วม}$$

$$\tau_i = \text{อิทธิพลเนื่องจากทริทเมนต์ที่ระดับ } i \text{ เมื่อ } i = 1, \dots, 6$$

$$\rho_j = \text{อิทธิพลเนื่องจากพันธุ์ที่ระดับ } j \text{ เมื่อ } j = 1, \dots, 3$$

$$\beta = \text{ค่าสัมประสิทธิ์รีเกรสชันของลักษณะที่ต้องการศึกษาเมื่อกำหนดตัวแปรร่วม}$$

$$\bar{X} = \text{ค่าเฉลี่ยของตัวแปรร่วม}$$

X_{ij} = ตัวแปรร่วมซึ่งเป็นสาเหตุของความผันแปรของค่าสังเกตจากทรีทเมนต์ที่ i
บล็อกที่ j

ϵ_{ij} = ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

9. การวิเคราะห์ทางเศรษฐศาสตร์

การวิเคราะห์ต้นทุนของการผลิตน้ำเชื้อสด โดยการเปรียบเทียบจากต้นทุนการผลิตสารละลายน้ำเชื้อกลุ่มต่างๆ ที่ใช้ในการเจือจางน้ำเชื้อสุกร

10. สถานที่ทำการทดลอง

10.1 ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม

10.2 สถาบันวิจัยและพัฒนา ฝ่ายงานจุลชีววิทยา แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

11. ระยะเวลาทำการทดลอง

เริ่มต้นการทดลอง: มิถุนายน 2548

สิ้นสุดการทดลอง: พฤศจิกายน 2548

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาเปรียบเทียบผลของการใช้ยาปฏิชีวนะต่าง ๆ ในสารละลายน้ำเชื้อต่อคุณภาพน้ำเชื้อสุกร

จากผลวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ กับเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อไม่มีอิทธิพลร่วมกัน ดังนั้นยาปฏิชีวนะชนิดต่าง ๆ และเวลาในการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อดังนี้

1.1 ร้อยละของอสุจิมีชีวิต

ร้อยละของอสุจิมีชีวิตในกลุ่มสารละลายน้ำเชื้อที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะ กลุ่มที่เสริม gentamycin, neomycin, amoxycillin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีค่าเท่ากับ 80.64, 82.72, 83.90, 81.83, 82.46 และ 82.75 ตามลำดับ โดยร้อยละของอสุจิมีชีวิตในสารละลายน้ำเชื้อพีทีเอสที่เสริม neomycin มีค่ามากที่สุดแตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) ส่วนสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม gentamycin, amoxycillin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีร้อยละของอสุจิมีชีวิตแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และสารละลายน้ำเชื้อทุกกลุ่มที่เสริมยาปฏิชีวนะมีร้อยละของอสุจิมีชีวิตมากกว่าในกลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงค่าเฉลี่ย least square ของคุณภาพน้ำเชื้อสุกร ที่เจือจางในสารละลายน้ำเชื้อกลุ่มต่างๆ

ชนิดยาปฏิชีวนะ	ร้อยละ			
	อสุจิมิชีวิต	อสุจิตัวเป็น	ความผิดปกติของอสุจิ	อสุจิมีอะโครโซมผิดปกติ
control	80.64 ⁿ ±1.22	83.20 ^l ±1.39	6.46±0.33	1.73±0.10
gentamycin	82.72 ^u ±11.04	84.56 ^{uk} ±1.07	6.43±0.30	1.71±0.09
neomycin	83.90 ⁿ ±0.95	86.17 ⁿ ±0.93	6.23±0.29	1.67±0.08
amoxycillin	81.83 ^u ±1.12	83.37 ^{nk} ±1.09	6.37±0.36	1.70±0.08
gentamycin + neomycin	82.46 ^u ±1.09	84.45 ^{ukg} ±1.11	6.44±0.32	1.63±0.09
gentamycin + amoxycillin	82.75 ^u ±1.07	84.74 ^u ±1.08	6.35±0.33	1.70±0.11

^{กขค} อักษรต่างกันบนค่าเฉลี่ยในแถวตั้งเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P < 0.01)

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ร้อยละของอสุจิมิชีวิตในกลุ่มสารละลายน้ำเชื้อที่เสริมยาปฏิชีวนะ มีค่าของอสุจิมิชีวิตมากกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะ เนื่องมาจากในน้ำเชื้อสดมีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย (Sone, 1982; Althouse *et al.*, 1999) ส่งผลให้การเคลื่อนไหวของอสุจิช้าลง (Paulson and Polakoski, 1977; Auroux *et al.*, 1991; Diemer *et al.*, 1996) แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานที่แน่ชัดเกี่ยวกับกลไกการทำงานของแบคทีเรียต่อตัวอสุจิ อาจเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อมีผลกับตัวอสุจิด้วยการเกาะที่ตัวอสุจิโดยตรง (Teague *et al.*, 1971) หรือผลิตสารพิษที่ส่งผลต่อตัวอสุจิ (Paulson and Polakoski, 1977) ทำให้อสุจิมิชีวิตลดลง ยาปฏิชีวนะส่วนใหญ่ที่เสริมลงไปในการละลายน้ำเชื้อ มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อหรือทำลายแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (กมลชัย, 2545; Burton and Engelkirk, 2000) ควบคุมการเจริญเติบโตและป้องกันความเสียหายของตัวอสุจิจากแบคทีเรีย (Teague *et al.*, 1971) ส่งผลให้เมื่อเสริมยาปฏิชีวนะลงในสารละลายน้ำเชื้อจะทำให้การเคลื่อนไหวหรืออสุจิมิชีวิตดีขึ้น ดังนั้นจากการทดลองอสุจิในกลุ่มสารละลายน้ำเชื้อที่เสริมยาปฏิชีวนะจึงมีร้อยละของอสุจิมิชีวิตสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะ ขณะเดียวกันสารละลายน้ำเชื้อที่เสริมยาปฏิชีวนะพบว่า การเสริม neomycin มีค่าร้อยละของอสุจิมิชีวิตสูงที่สุด เนื่องมาจาก โดยทั่วไปจะพบการใช้ amoxycillin และ gentamycin อยู่เป็นประจำซึ่ง

เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ เชื้อแบคทีเรียเกิดกลไกในการดื้อยา ทำให้ยาทั้ง 2 ชนิดมีประสิทธิภาพในการฆ่าหรือทำลายแบคทีเรียได้ต่ำ ดังนั้นแบคทีเรียก็ยังคงมีอยู่ในสารละลายน้ำเชื้อ และทำลายตัวอสุจิ ส่งผลให้การมีชีวิตของตัวอสุจิสั้นลง สอดคล้องกับ Althouse *et al.* (2000) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียที่พบในน้ำเชื้อสุกรที่อเมริกาเหนือ คือ ยา gentamycin ซึ่งเป็นยาที่ใช้กันอยู่แพร่หลาย แต่อย่างไรก็ตาม Poolperm (1999) พบว่า ในการเสริม gentamycin 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในสารละลายน้ำเชื้อทำให้ตัวอสุจิมีการเคลื่อนไหวได้ดีที่สุด รองลงมาคือ neomycin และ amikacin ตามลำดับ

ผลการศึกษาร้อยละของอสุจิมีชีวิตที่อายุเก็บรักษา 0 1 2 และ 3 วัน เมื่อนำมาตรวจดูอสุจิมีชีวิตพบว่า มีค่าเท่ากับ 88.68, 84.82, 80.30 และ 75.73 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) ดังตารางที่ 5 จะเห็นได้ว่าร้อยละของอสุจิมีชีวิตมีค่าลดลงจากวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) เนื่องจากน้ำเชื้อที่เก็บไว้นานตัวอสุจิจะมีการใช้พลังงานและเกิดกระบวนการเมแทบอลิซึม ของเสียที่เกิดขึ้นจะทำให้มีสภาพเป็นกรดส่งผลให้ตัวอสุจิตาย (ศรีสุวรรณ, 2542) สอดคล้องกับรายงานของ Poolperm (1999) ที่ทำการศึกษากการเคลื่อนไหวของอสุจิหลังการเก็บรักษาน้ำเชื้อ 7 วัน พบว่า การเคลื่อนไหวของอสุจิจะลดลงจากวันที่ 1 จนถึงวันที่ 7 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ สอดคล้องกับ Kommissrua *et al.* (2002) รายงานว่า ช่วงเวลาของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีผลต่อร้อยละของการเคลื่อนไหวของอสุจิ

ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ย least square ของคุณภาพน้ำเชื้อหลังเก็บรักษาที่ 0 1 2 และ 3 วัน

เวลา (วัน)	ร้อยละ			
	อสุจิมีชีวิต	อสุจิตัวเป็น	ความผิดปกติของอสุจิ	อสุจิมีอะโครโซมผิดปกติ
0	88.68 ^a ±0.22	90.64 ^a ±0.18	5.40 ^a ±0.20	1.34 ^a ±0.05
1	84.82 ^b ±0.31	87.04 ^b ±0.42	5.95 ^b ±0.21	1.58 ^b ±0.05
2	80.30 ^c ±0.46	82.19 ^c ±0.45	6.55 ^c ±0.22	1.54 ^c ±0.04
3	75.73 ^d ±0.40	77.78 ^d ±0.53	7.62 ^d ±0.24	2.29 ^d ±0.04

^{a, b, c, d} อักษรต่างกันบนค่าเฉลี่ยในแถวตั้งเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

Flowers (1977) รายงานว่าในการผสมเทียมถ้ำอสุจิมีการเคลื่อนไหวหรือมีชีวิตต่ำกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้อัตราเข้าคลอดและจำนวนลูกต่อครอกลดลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Britt *et al.* (1999) กล่าวว่า ถ้าคะแนนมีชีวิตของตัวอสุจิน้อยกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้อสุจิเข้าไปปฏิสนธิกับเซลล์ไข่และอัตราเข้าคลอดน้อยลง ในการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อเพื่อใช้ในการผสมเทียม ร้อยละของการเคลื่อนไหวมีความสำคัญอย่างยิ่งเพราะจะสัมพันธ์กับความสมบูรณ์พันธุ์ของตัวสัตว์ (Bearden และ Fuquay, 1992) เนื่องจากอสุจิที่เคลื่อนไหวไปข้างหน้าจะมีโอกาสในการเข้าไปปฏิสนธิกับเซลล์ไข่ได้มากกว่า น้ำเชื้อที่มีคุณภาพดีจะต้องมีตัวอสุจิเคลื่อนไหวไปข้างหน้าเป็นจำนวนมาก และควรมีค่าอสุจิมีชีวิตมากกว่า 70-79 เปอร์เซ็นต์ ถ้าระดับอสุจิมีชีวิตต่ำกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อทำการเจือจางแล้วจะไม่สามารถเก็บน้ำเชื้อไว้ใช้ได้หลายวัน บางครั้งเก็บได้ไม่ถึง 12 ชั่วโมง (ศรีสุวรรณ, 2542)

1.2 ร้อยละอสุจิตัวเป็น

จากตารางที่ 4 พบว่า อสุจิตัวเป็นในสารละลายน้ำเชื้อที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะ เสริม gentamycin, neomycin, amoxycillin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีค่าเท่ากับ 83.20, 84.54, 86.15, 83.36, 84.43 และ 84.72 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพบว่าร้อยละอสุจิตัวเป็นกลุ่มที่เสริม neomycin มีร้อยละอสุจิตัวเป็นมากกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ส่วนกลุ่มสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม gentamycin, gentamycin ร่วมกับ amoxycillin และ gentamycin ร่วมกับ neomycin มีร้อยละอสุจิตัวเป็นแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

การเสริม gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีผลทำให้อสุจิตัวเป็นมากกว่ากลุ่มสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม amoxycillin และกลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ส่วนกลุ่มที่เสริม amoxycillin มีร้อยละอสุจิตัวเป็นแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับกลุ่มที่เสริม gentamycin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และกลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะ สารละลายน้ำเชื้อที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะ มีร้อยละอสุจิตัวเป็นน้อยกว่ากลุ่มที่เสริม gentamycin อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่มีร้อยละอสุจิตัวเป็นแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับกลุ่มที่เสริม gentamycin ร่วมกับ neomycin ดังแสดงในตารางที่ 4

ผลการศึกษาร้อยละอสุจิตัวเป็นที่อายุการเก็บรักษา 0 1 2 และ 3 วัน พบว่ามีร้อยละอสุจิตัวเป็นเท่ากับ 90.64, 87.04, 82.19 และ 77.78 ตามลำดับ โดยอสุจิตัวเป็นจะลดลงจากวันที่ 0 ถึง

วันที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 5 การที่อสุจิตัวเป็นมีจำนวนลดลงเมื่อเพิ่มจำนวนวันของการเก็บรักษา เนื่องมาจากว่า น้ำเชื้อที่เก็บไว้นานตัวอสุจิจะมีการใช้พลังงานมาก ทำให้อัตราเมแทบอลิซึมเพิ่มมากขึ้น และของเสียที่เกิดจากการเมแทบอลิซึมนี้จะทำให้สภาพของน้ำเชื้อเป็นกรด (ศรีสุวรรณ, 2542) ส่งผลให้มีการตายของตัวอสุจิเพิ่มมากขึ้น

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ โดยการตรวจร้อยละอสุจิตัวเป็นตัวตายจะเป็นการตรวจสอบประเมินร้อยละของตัวอสุจิมีชีวิตว่าการให้คะแนนมีความแม่นยำถูกต้องแค่ไหน การตรวจจำนวนอสุจิที่เคลื่อนไหวได้โดยดูการเคลื่อนที่ทั้งหมด เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์จะดูไม่ออกว่ามีตัวอสุจิที่ตายปนมาด้วย เพราะตัวที่ตายเมื่อถูกคลื่นที่เกิดจากการวายเป็นข้างหน้าอย่างรุนแรงของตัวอสุจิที่มีชีวิตก็จะถูกพาให้เคลื่อนที่ไปด้วย ดังนั้นจึงมีการตรวจหาจำนวนตัวเป็นตัวตายของอสุจิ เพื่อประเมินคุณภาพน้ำเชื้อว่าดีหรือไม่ ตัวอสุจิที่ตายอาจตายในระหว่างที่พ่อสุกรหลังน้ำเชื้อ หรืออาจตายมาแล้วในท่อเก็บน้ำเชื้อของตัวผู้ พ่อสุกรที่งดผสมพันธุ์นานๆ พบว่ามีตัวอสุจิตายเป็นจำนวนมาก หากนำมาผสมพันธุ์จะพบเสมอว่าการผสม 1-2 ครั้งแรก ส่วนใหญ่ผสมไม่ติด อสุจิตัวที่ตายจะทำให้ความเข้มข้นของตัวที่สมบูรณ์พันธุ์ในน้ำเชื้อลดลง นอกจากนี้ตัวอสุจิที่ตายยังเป็นพิษต่อตัวอสุจิที่มีชีวิตอีกด้วย (ศรีสุวรรณ, 2542) น้ำเชื้อที่มีคุณภาพสูงต้องมีร้อยละของอสุจิมีชีวิตสูงด้วย โดยอสุจิของพ่อสุกรที่เจือจางสามารถรักษาความสมบูรณ์พันธุ์ไว้ได้ถึง 3 วัน (Weberski *et al.*, 1964)

1.3 ร้อยละความผิดปกติของตัวอสุจิ

จากตารางที่ 4 พบว่า ความผิดปกติของรูปร่างอสุจิในสารละลายน้ำเชื้อที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะ เสริม gentamycin, neomycin, amoxycillin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีค่าเท่ากับ 6.46, 6.43, 6.23, 6.37, 6.44 และ 6.35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

หลังการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ 0 1 2 และ 3 วัน พบว่า ร้อยละความผิดปกติของรูปร่างอสุจิมีค่าเท่ากับ 5.40, 5.95, 6.55 และ 7.62 ตามลำดับ โดยวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อจะมีร้อยละความผิดปกติของรูปร่างอสุจิสูงที่สุดแตกต่างจากวันที่ 0 1 และ 2 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ส่วนในวันที่ 2 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อจะมีร้อยละความผิดปกติของรูปร่างอสุจิสูงกว่าวันที่ 0 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) และมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับวันที่ 1 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ส่วนร้อยละความผิดปกติ

ของรูปร่างอสุจิวันที่ 0 และ 1 มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 5 สอดคล้องกับ Poolperm (1999) รายงานว่า การเสริมและไม่เสริมยาปฏิชีวนะลงในสารละลายน้ำเชื้อไม่มีผลต่อลักษณะความผิดปกติของตัวอสุจิ แต่ช่วงเวลาของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีแนวโน้มของตัวอสุจิที่ผิดปกติเพิ่มมากขึ้นจากวันแรกจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา โดยทั่วไปแล้วน้ำเชื้อที่มีคุณภาพสูงจะมีตัวอสุจิผิดปกติต่ำ ประมาณ 5-15 เปอร์เซ็นต์ ส่วนน้ำเชื้อที่มีคุณภาพไม่ดีจะมีตัวอสุจิผิดปกติมากกว่าร้อยละ 30 (ศรีสุวรรณ, 2542) จากผลการทดลองความผิดปกติของตัวอสุจิมีค่าเฉลี่ยที่ไม่เกินร้อยละ 5-15 ทำให้ไม่เกิดผลกระทบต่อคุณภาพน้ำเชื้อ

Sorensen (1979) รายงานว่า ความผิดปกติของอสุจิแบ่งได้ 2 ลักษณะ ตามช่วงของการเกิดความผิดปกติ ได้แก่ 1. ความผิดปกติขั้นปฐมภูมิ (primary abnormalities) เป็นความผิดปกติที่เกิดขึ้นที่อณูในระหว่างการสร้างอสุจิ และในระหว่างที่อสุจิเคลื่อนที่ผ่านระบบท่อของอณู 2. ความผิดปกติขั้นทุติยภูมิ ความผิดปกติลักษณะนี้จะเกิดขึ้นภายในระบบท่อหลังจากที่ตัวอสุจิหลุดจากท่อ seminiferous tubules อย่างไรก็ตามตัวอสุจิที่มีรูปร่างผิดปกติอาจแบ่งความผิดปกติออกได้ 3 ลักษณะ ได้แก่ ความผิดปกติที่ส่วนหัว ความผิดปกติที่ส่วนหาง และอสุจิที่มี cytoplasmic หรือ protoplasmic droplet (ศรีสุวรรณ, 2542)

1.4 ร้อยละอสุจิที่มีอะโครโซมผิดปกติ

จากตารางที่ 4 พบว่า อสุจิที่มีอะโครโซมผิดปกติในกลุ่มสารละลายน้ำเชื้อที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะ เสริม gentamycin, neomycin, amoxycillin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีค่าเท่ากับ 1.73, 1.71, 1.67, 1.70, 1.63 และ 1.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

แต่เมื่อทำการศึกษาช่วงระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่ 0 1 2 และ 3 วัน พบว่า ร้อยละของอสุจิที่มีอะโครโซมผิดปกติมีค่าเท่ากับ 1.34, 1.58, 1.54 และ 2.29 ตามลำดับ โดยวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีร้อยละของอสุจิที่มีอะโครโซมผิดปกติมากที่สุดแตกต่างจากวันที่ 0 1 และ 2 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ส่วนในวันที่ 1 และ 2 มีร้อยละของอสุจิที่มีอะโครโซมผิดปกติแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และมีร้อยละของอสุจิที่อะโครโซมผิดปกติมากกว่าวันที่ 0 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 5 สอดคล้องกับ Kommisrua *et al.* (2002) รายงานว่า ช่วงเวลาของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีผลต่อลักษณะอะโครโซม โดยอะโครโซมที่เป็นปกติจะมีค่าลดลงจากวันแรก

จนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ และพ่อพันธุ์ยังมีอิทธิพลต่อความผิดปกติของอะโครโซมด้วย

อสุจิของสุกรไม่ค่อยทนต่อความเย็นได้ดีเหมือนกับอสุจิของโค เมื่อกระทบความเย็น ส่วนของอะโครโซมจะถูกทำลายได้ง่าย ดังนั้นการเก็บรักษาน้ำเชื้อจึงไม่ควรเก็บน้ำเชื้อจากพ่อสุกรภายใต้อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 15 องศาเซลเซียส (White, 1974) อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วควรเก็บที่ 15-20 องศาเซลเซียส (Pursel and Johnson, 1975) โดยน้ำเชื้อที่แช่แข็งจะพบความผิดปกติของตัวอสุจิประมาณร้อยละ 50 ซึ่งความผิดปกติที่พบมากคือ บริเวณส่วนหัว น้ำเชื้อที่มีคุณภาพไม่ดีจะมีความผิดปกติมากกว่าร้อยละ 30 (ศรีสุวรรณ, 2542) อสุจิที่มีลักษณะอะโครโซมผิดปกติทั้ง 3 ลักษณะ ได้แก่ อสุจิที่ขอบอะโครโซมถูกทำลาย อสุจิที่สูญเสียขอบอะโครโซม และอสุจิที่อะโครโซมครอบอยู่อย่างหลวมๆ เนื่องจากส่วนอะโครโซมของตัวอสุจิจะประกอบด้วยเอ็นไซม์ต่างๆ ที่จำเป็นต่อการเจาะผ่านผนังเซลล์ของไข่ เพื่อให้การปฏิสนธิเกิดขึ้นเป็นผลสำเร็จ ถ้าอะโครโซมเกิดความผิดปกติจะทำให้อสุจิไม่สามารถปฏิสนธิกับไข่ได้ (Bearden และ Fuquay, 1992) ซึ่งจะมีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของอสุจิสุกร

2. การศึกษาเปรียบเทียบผลของยาปฏิชีวนะต่อจำนวนโคโลนีแบคทีเรียในน้ำเชื้อสุกรหลังการเก็บรักษา

การทดลองเพื่อศึกษาหาจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในน้ำเชื้อหลังนำน้ำเชื้อมาเจือจางในสารละลายน้ำเชื้อที่มียาปฏิชีวนะต่างชนิดกันพบว่า ในกลุ่มของสารละลายน้ำเชื้อที่ไม่ได้เสริมยาปฏิชีวนะมีจำนวนของแบคทีเรียในวันที่ 0 1 2 และวันที่ 3 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ เท่ากับ 3.42, 3.90, 4.26 และ 4.84 โคโลนีต่อมิลลิเมตร ตามลำดับ โดยจำนวนโคโลนีแบคทีเรียในวันที่ 0 มีน้อยที่สุดแตกต่างจากวันที่ 2 และวันที่ 3 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่มีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับวันที่ 1 ของการเก็บรักษา ส่วนวันที่ 1 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับวันที่ 2 แต่มีโคโลนีของแบคทีเรีน้อยกว่าวันที่ 3 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีจำนวนโคโลนีแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อมากที่สุดแตกต่างจากวันที่ 0 และ 1 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) และแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับวันที่ 2 โดยภาพรวมแล้วในกลุ่มสารละลายน้ำเชื้อที่ไม่ได้ผสมยาปฏิชีวนะไม่มี

ความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียให้อยู่ในระดับต่ำได้ ซึ่งจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บรักษาน้ำเชื้อจากวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 ($P<0.01$) (ตารางที่ 6)

กลุ่มของสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม gentamycin พบว่า มีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในวันที่ 0 1 2 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ เท่ากับ 2.86, 2.51, 2.09 และ 1.48 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในวันที่ 0 มีมากที่สุดแตกต่างจากวันที่ 2 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวันที่ 1 และในวันที่ 1 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีจำนวนโคโลนีแบคทีเรียในน้ำเชื้อมากกว่าวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวันที่ 2 ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีจำนวนของแบคทีเรียแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวันที่ 2 โดยภาพรวมแล้วสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม gentamycin มีความสามารถในการควบคุมจำนวนแบคทีเรียให้อยู่ในระดับต่ำได้จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ($P<0.01$) (ตารางที่ 6)

กลุ่มของสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม neomycin พบว่า มีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในวันที่ 0 1 2 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ เท่ากับ 2.73, 2.36, 1.96 และ 1.25 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในวันที่ 0 มีมากที่สุดแตกต่างจากวันที่ 2 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวันที่ 1 ในวันที่ 1 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีจำนวนโคโลนีแบคทีเรียมากกว่าวันที่ 3 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวันที่ 2 ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ มีจำนวนของแบคทีเรียน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับวันที่ 0, 1 และ 2 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยภาพรวมสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม neomycin มีความสามารถในการควบคุมจำนวนแบคทีเรียให้อยู่ในระดับต่ำได้จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ($P<0.01$) (ตารางที่ 6)

สารละลายน้ำเชื้อที่เสริม amoxycillin พบว่า มีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในวันที่ 0 1 2 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ เท่ากับ 3.14, 3.01, 2.81 และ 2.37 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในวันที่ 0 มีมากที่สุดแตกต่างจากวันที่ 2 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่มีความแตกต่างอย่างไม่มี

นัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวันที่ 1 ในวันที่ 1 มีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวันที่ 2 แต่วันที่ 1 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีจำนวนโคโลนีแบคทีเรียมากกว่าวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีจำนวนโคโลนีแบคทีเรียน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับวันที่ 0, 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยภาพรวมแล้วสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม amoxycillin มีความสามารถในการควบคุมจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียให้อยู่ในระดับต่ำได้จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ($P<0.01$) (ตารางที่ 6)

สารละลายน้ำเชื้อที่เสริม gentamycin ร่วมกับ neomycin พบว่า มีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในวันที่ 0 1 2 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ เท่ากับ 2.77, 2.35, 2.01 และ 1.34 โคโลนีต่อมิลลิเมตร ตามลำดับ โดยจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในวันที่ 0 มีมากที่สุดแตกต่างจากวันที่ 2 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวันที่ 1 ส่วนวันที่ 1 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีจำนวนโคโลนีแบคทีเรียแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวันที่ 2 แต่มีจำนวนโคโลนีแบคทีเรียมากกว่าวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับวันที่ 0, 1 และ 2 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยภาพรวมแล้วสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม gentamycin ร่วมกับ neomycin มีความสามารถในการควบคุมจำนวนโคโลนีแบคทีเรียให้อยู่ในระดับต่ำได้จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 ของอายุการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ($P<0.01$) (ตารางที่ 6)

สารละลายน้ำเชื้อที่เสริม gentamycin ร่วมกับ amoxycillin พบว่า มีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในวันที่ 0 1 2 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ เท่ากับ 2.76, 2.42, 2.08 และ 1.33 โคโลนีต่อมิลลิเมตร ตามลำดับ โดยจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในวันที่ 0 มีมากที่สุดแตกต่างจากวันที่ 2 และวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวันที่ 1 ส่วนวันที่ 1 มีจำนวนโคโลนีแบคทีเรียแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับวันที่ 2 แต่มีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียมากกว่าวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) และในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อมีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับวันที่ 0 1 และ 2 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้ออย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) โดยภาพรวมแล้วสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม gentamycin

ร่วมกับ amoxycillin มีความสามารถในการควบคุมจำนวนโคโลนีแบคทีเรียให้อยู่ในระดับต่ำได้ จากวันที่ 0 ถึงวันที่ 3 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ($P < 0.01$) (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ย least square จำนวนโคโลนีแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อกลุ่มต่างๆ

ยาปฏิชีวนะ	โคโลนี/มิลลิลิตร				
	เวลา (วัน)	0	1	2	3
control		3.42 ⁿ ±0.11	3.90 ^{np} ±0.25	4.26 ^{np} ±0.33	4.84 ⁿ ±0.46
gentamycin		2.86 ⁿ ±0.21	2.51 ^{np} ±0.29	2.09 ^{np} ±0.27	1.48 ⁿ ±0.19
neomycin		2.73 ⁿ ±0.19	2.36 ^{np} ±0.15	1.96 ⁿ ±0.11	1.25 ⁿ ±0.20
amoxycillin		3.14 ⁿ ±0.10	3.01 ^{np} ±0.11	2.81 ⁿ ±0.11	2.37 ⁿ ±0.11
gentamycin + neomycin		2.77 ⁿ ±0.18	2.35 ^{np} ±0.24	2.01 ⁿ ±0.22	1.34 ⁿ ±0.16
gentamycin + amoxycillin		2.76 ⁿ ±0.17	2.46 ^{np} ±0.16	2.08 ⁿ ±0.20	1.33 ⁿ ±0.15

^{np} อักษรต่างกันบนค่าเฉลี่ยในแถวเดียวกัน หมายถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการควบคุมจำนวนโคโลนีแบคทีเรียของยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดในสารละลายน้ำเชื้อวันที่ 0 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อพบว่า จำนวนโคโลนีแบคทีเรียในกลุ่มของสารละลายน้ำเชื้อที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะ และกลุ่มของสารละลายน้ำเชื้อที่มีการเสริม gentamycin, neomycin, amoxycillin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีค่าเท่ากับ 3.27, 2.83, 2.79, 3.16, 2.81 และ 2.77 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ มีความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 7)

วันที่ 1 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อพบว่า จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อกลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะและกลุ่มที่เสริม gentamycin, neomycin, amoxycillin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีค่าเท่ากับ 3.78, 2.51, 2.44, 3.06, 2.41 และ 2.47 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยในกลุ่มของสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม gentamycin, neomycin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีความสามารถ

ในการควบคุมแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยใน ส่วนของสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม neomycin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะและกลุ่มที่ผสมยาปฏิชีวนะ amoxycillin อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ส่วนสารละลายน้ำเชื้อที่ผสมยาปฏิชีวนะ gentamycin และ amoxycillin มีความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) แต่ยาปฏิชีวนะทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถในการควบคุมโคโลนีแบคทีเรียใน สารละลายน้ำเชื้อแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 7)

วันที่ 2 ของการเก็บรักษาน้ำเชื้อพบว่า จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อ กลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะและกลุ่มที่เสริม gentamycin, neomycin, amoxycillin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีค่าเท่ากับ 4.16, 2.10, 2.06, 2.87, 2.09 และ 2.14 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยในกลุ่มของสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม gentamycin, neomycin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดนี้ มีความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะและกลุ่มที่เสริม amoxycillin อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ส่วน สารละลายน้ำเชื้อที่เสริมยาปฏิชีวนะ amoxycillin มีความสามารถในการควบคุมโคโลนีแบคทีเรีย ในสารละลายน้ำเชื้อได้ดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) (ตารางที่ 7)

วันสุดท้ายของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ คือวันที่ 3 พบว่า จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียใน สารละลายน้ำเชื้อกลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะและกลุ่มที่เสริม gentamycin, neomycin, amoxycillin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีค่าเท่ากับ 4.66, 1.41, 1.27, 2.35, 1.34 และ 1.31 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยในกลุ่มของสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม gentamycin, neomycin, gentamycin ร่วมกับ neomycin และ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin มีความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และยาปฏิชีวนะทั้ง 4 ชนิดนี้ มีความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อ ได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะและกลุ่มที่เสริม amoxycillin อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ส่วนสารละลายน้ำเชื้อที่เสริม amoxycillin มีความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียใน สารละลายน้ำเชื้อได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) (ตารางที่ 7)

จากผลการทดลองพบว่า ในกลุ่มของสารละลายน้ำเชื้อที่มีการเสริมยาปฏิชีวนะ สามารถควบคุมจำนวนโคโลนีแบคทีเรียให้อยู่ในระดับที่ต่ำได้ตลอดการทดลอง คือวันที่ 0 ถึง วันที่ 3 ($P < 0.01$) ในขณะที่กลุ่มที่ไม่เสริมยาปฏิชีวนะมีจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียเพิ่มขึ้น จากวันที่ 0 ถึง วันที่ 3 ($P < 0.01$) และแต่วันของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ ยาปฏิชีวนะแต่ละชนิดก็สามารถควบคุมจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียให้อยู่ในระดับที่ต่ำได้ ซึ่งในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาน้ำเชื้อ (วันที่ 3) จำนวนโคโลนีแบคทีเรียในกลุ่มสารละลายน้ำเชื้อที่มีการเสริม neomycin มีแนวโน้มน้อยกว่ากลุ่มอื่น รองลงมาคือ กลุ่มของ gentamycin ร่วมกับ amoxycillin, gentamycin ร่วมกับ neomycin, gentamycin และ amoxycillin ตามลำดับ ($P > 0.05$) การที่จำนวนโคโลนีแบคทีเรียในสารละลายน้ำเชื้อเสริม neomycin มีแนวโน้มน้อยกว่ากลุ่มอื่น อาจเป็นไปได้ว่าการใช้ยาปฏิชีวนะโดยทั่วไปในฟาร์มมีการใช้ gentamycin และ amoxycillin อยู่เป็นประจำ จึงทำให้แบคทีเรียเกิดการดื้อยา ส่งผลให้การออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียมีประสิทธิภาพลดลง และเมื่อนำไปใช้ร่วมกับ neomycin แล้วความสามารถในการออกฤทธิ์ก็ยังคงเดิม จึงทำให้ไม่สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ดีเท่ากับการเสริม neomycin อย่างเดียวก็ตาม จากผลการทดลองยาปฏิชีวนะทุกชนิดก็มีความสามารถในการควบคุมจำนวนโคโลนีแบคทีเรียให้อยู่ในปริมาณที่ต่ำได้

Johnson *et al.* (2000) กล่าวว่า ยาที่มีความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียได้ดีคือ gentamycin, neomycin และ kanamycin นิยมเสริม gentamycin ในสารละลายน้ำเชื้อตั้งแต่ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ขึ้นไป neomycin ในปริมาณ 1 กรัมต่อลิตร แทนการใช้ penicillin และ streptomycin ซึ่งมีความสามารถในการควบคุมแบคทีเรียพวก leptospira ได้ดี โดยยาปฏิชีวนะทั้ง 3 ชนิดนี้เป็นยาปฏิชีวนะที่ใช้เสริมลงในสารละลายน้ำเชื้อโดยทั่วไป (Almond and Poolperm, 1996; Althouse *et al.*, 2000) นอกจากนี้แล้วยังมีการทดลองว่า การใช้ยาปฏิชีวนะ gentamycin 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ร่วมกับ amoxycillin 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถที่จะควบคุมจำนวนแบคทีเรียในน้ำเชื้อให้อยู่ในระดับต่ำได้ (Madsen, 2000) จากผลการทดลองสารละลายน้ำเชื้อที่ไม่มีการเสริมยาปฏิชีวนะจะมีแบคทีเรียเป็นจำนวนมาก และเมื่อนำไปตรวจคุณภาพน้ำเชื้อพบว่า ร้อยละของการเคลื่อนไหวของอสุจิมีน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับกลุ่มที่เสริมยาปฏิชีวนะ ซึ่งพบว่าการปนเปื้อนของแบคทีเรียในน้ำเชื้อจะส่งผลทำให้การเคลื่อนไหวของอสุจิลดลง สอดคล้องกับ Thacke *et al.* (1984) รายงานว่า โดยทั่วไปแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมากับน้ำเชื้อนี้ส่วนใหญ่ไม่ใช่ตัวที่ก่อให้เกิดโรค อย่างไรก็ตามการมีแบคทีเรียปนเปื้อนมากเกินไปก็ส่งผลทำให้ความสมบูรณ์ในการผสมพันธุ์ลดลง และผลิตผลจากเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียจะมีผลต่อการมีชีวิตของตัวอสุจิ (Sone *et al.*, 1982) โดยแบคทีเรียที่ปรากฏจะทำลายเนื้อเยื่ออสุจิทำให้อสุจิอยู่ติดกันเป็นแผ่นหรือเป็นก้อน (Monga and Roberts, 1994) ส่งผลให้การมีชีวิตของตัวอสุจิลดลง (Auroux *et al.*, 1991; Dimer *et al.*,

1996) Almond and Poolperm (1996) กล่าวว่า ผลจากการเมแทบอลิซึมและสารพิษจากแบคทีเรีย มีผลต่อการมีชีวิตรอดของอสุจิ นอกจากนี้แล้ว Kuster and Althouse (1997) รายงานว่า ถ้านำน้ำเชื้อที่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรียอยู่สูงไปผสมเทียม จะทำให้ไปขัดขวางการปฏิสนธิกับเซลล์ไข่เป็นผลให้แม่สุกรมีการกลับสัดเป็นจำนวนมาก Hofmo *et al.* (1999) กล่าวว่า แบคทีเรียที่ปนเปื้อนในน้ำเชื้อไม่ใช่จะก่อให้เกิดความเสียหายต่อคุณภาพน้ำเชื้อและการมีชีวิตของอสุจิเพียงอย่างเดียว แต่ยังทำให้ความเป็นกรดต่างในสภาพเป็นกลางเปลี่ยนไปด้วย ซึ่งสาเหตุการปนเปื้อนของแบคทีเรียในน้ำเชื่อนั้นมาจากตัวสุกรเองเช่น อูจาระ ผิวหนัง ขน น้ำกามที่ค้างตรงบริเวณถุงหุ้มอวัยวะ และน้ำมูกของสุกรเอง จากสาเหตุอื่นก็มาจาก น้ำกลั่นที่ใช้ในการทำสารละลายน้ำเชื้อ สภาพแวดล้อม อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ สุขอนามัยของผู้ปฏิบัติงาน ขั้นตอนและวิธีการในการรีดและเจือจางน้ำเชื้อ เป็นต้น (Althouse *et al.*, 2005) ดังนั้นในกระบวนการรีดเก็บน้ำเชื้อและการเจือจางน้ำเชื้อ ควรทำด้วยความระมัดระวังเพื่อลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียในน้ำเชื้อที่อาจจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพน้ำเชื้อได้