The Thai Journal of Veterinary Medicine

Volume 35
Issue 3 *September, 2005*

Article 1

9-1-2005

INTRAUTERINE ARTIFICIAL INSEMINATION IN THE PIG: THE TECHNIQUES, THE APPLICATIONS AND THE LIMITATIONS

Tuempong Wongtawan

Peerapong Samransarp

Padet Tummaruk

Follow this and additional works at: https://digital.car.chula.ac.th/tjvm

Part of the Veterinary Medicine Commons

Recommended Citation

Wongtawan, Tuempong; Samransarp, Peerapong; and Tummaruk, Padet (2005) "INTRAUTERINE ARTIFICIAL INSEMINATION IN THE PIG: THE TECHNIQUES, THE APPLICATIONS AND THE LIMITATIONS," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 35: Iss. 3, Article 1.
Available at: https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol35/iss3/1

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

บทความปริทัศน์

การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อเข้ามดลูกในสุกร: เทคนิค การนำไปใช้ และข้อจำกัด

เติมพงศ์ วงศ์ตะวัน[1*] พีระพงษ์ สำราญทรัพย์[2] เผด็จ ธรรมรักษ์[3]

Abstract

Tuempong Wongtawan[1*] Peerapong Samransarp[2] Padet Tummaruk[3]

INTRAUTERINE ARTIFICIAL INSEMINATION IN THE PIG: THE TECHNIQUES, THE APPLICATIONS AND THE LIMITATIONS

This review aims to update information on the success of intra-uterine and deep intra-uterine insemination in the pig. Three artificial insemination (AI) techniques in pigs included conventional AI (semen is deposited intra cervically), intra-uterine insemination (IUI) and deep intra-uterine insemination (DIUI). With conventional AI, it has been shown that more than 90% of spermatozoa are lose before reaching the oviducts. Therefore, new techniques for AI were developed in order to maximize the use of boar semen and to reduce semen backflow, which can reduce pregnancy rates. The advantages of intra-uterine and deep intra-uterine insemination include a reduction in the number of spermatozoa used (3-20 times), an increase in the efficacy of using thawed-frozen boar semen and sex sorted semen, it could also be used in non-surgical embryo transfer. The use of IUI and DIUI techniques does not cause any damage to the sow's reproductive tract or result in endometritis. Information on sperm transport, the optimal number of spermatozoa per dose, the optimal semen volume, the deposition site of the semen, the timing of insemination and the reproductive performance of sows using the 3 insemination techniques are reviewed and discussed.

Keywords : pig, artificial insemination, intrauterine insemination, deep intrauterine insemination

[1]Faculty of Veterinary Science, Mahidol University, Salaya campus, Puthamonthon, Nakhonprathom, 73170

[2]Ratchaburi Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Photaram, Ratchaburi, 70120

[3]Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330

[*]Corresponding author

[1]คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

[2]ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพราชบุรี ต.หนองโพ อ.โพธาราม จ.นครปฐม 70120

[3]ภาควิชาสูติศาสตร์เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10300

[*]ผู้รับผิดชอบบทความ

บทคัดย่อ

เติมพงศ์ วงศ์ตะวัน[1*] พีระพงษ์ สำราญทรัพย์[2] เผด็จ ธรรมรักษ์[3]

การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อเข้ามดลูกในสุกร: เทคนิค การนำไปใช้ และข้อจำกัด

บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมข้อมูลใหม่ๆ เกี่ยวกับความสำเร็จของการผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อเข้ามดลูกในสุกร วิธีการผสมเทียมในสุกรที่รวบรวมในบทความนี้มี 3 แบบ คือ การผสมเทียมแบบเดิมโดยปล่อยน้ำเชื้อบริเวณคอมดลูก (AI) การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อบริเวณตัวมดลูก (IUI) และการผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อที่ส่วนปลายของปีกมดลูก (DIUI) การศึกษาพบว่าการผสมเทียมแบบเดิมมีการสูญเสียอสุจิสูงกว่า 90% ก่อนที่จะเข้าถึงท่อนำไข่ อุปกรณ์ผสมเทียมแบบใหม่จึงถูกพัฒนาขึ้นเพื่อให้สามารถใช้น้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นและยังช่วยลดปัญหาการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อขณะผสมเทียมซึ่งเป็นสาเหตุของการผสมไม่ติดลงด้วย การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อในมดลูก มีข้อดีกว่าการผสมแบบเดิมคือสามารถลดปริมาณน้ำเชื้อที่ใช้ลงได้ถึง 3-20 เท่าตัว สามารถใช้ได้ผลดีกับน้ำเชื้อแช่แข็ง และน้ำเชื้อที่ผ่านการคัดแยกเพศแล้ว และใช้ในการย้ายฝากตัวอ่อนโดยไม่ต้องผ่าตัดได้ การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อในมดลูกมีผลข้างเคียงน้อยมากในสุกรและไม่พบว่าทำให้มดลูกอักเสบ นอกจากนี้ข้อมูลเกี่ยวกับการขนส่งอสุจิหลังการผสมเทียม ปริมาณอสุจิที่เหมาะสม ปริมาตรของน้ำเชื้อ ตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อ เวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียม ตลอดจนผลผลิตของแม่สุกรที่ได้จากการผสมเทียมทั้ง 3 แบบ ได้ถูกรวบรวมและนำมาอภิปราย

คำสำคัญ : สุกร การผสมเทียม การผสมเทียมเข้ามดลูก การผสมเทียมเข้าปีกมดลูก

บทนำ

การผสมเทียมสุกรมีการเริ่มต้นครั้งแรกที่ประเทศรัสเซียเมื่อประมาณ 70 ปีที่ผ่านมา (Rodin and Lipatov, 1936) จนกระทั่งปัจจุบัน การผสมเทียมสุกรได้มีการนำมาใช้อย่างกว้างขวางทั่วโลก ประมาณกว่า 60% ของการผลิตสุกรใช้การผสมเทียม และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเป็น 80% (Burke, 1999)

การผสมเทียมสุกรทั่วไปในปัจจุบันใช้น้ำเชื้อสดหรือแช่เย็น โดยละลายน้ำเชื้อด้วยสารละลายน้ำเชื้อจนมีปริมาตร 80-100 มล. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 16-20 องศาเซลเซียส ได้ไม่เกิน 3-5 วัน การผสมเทียมแต่ละครั้งจะใช้ปริมาณตัวอสุจิมีชีวิต 3 พันล้านตัว/โด๊ส แม่สุกรจะถูกผสมประมาณ 2-4 ครั้ง ระหว่างแสดงอาการเป็นสัด โดยเริ่มผสมครั้งแรกประมาณ 12 ชม. หลังแสดงอาการเป็นสัดในแม่สุกรปกติ และกรณีที่เป็นสุกรสาวหรือแม่สุกรตกค้างจะทำการผสมทันทีที่พบการเป็นสัด การผสมเทียมในปัจจุบันใช้ท่อพลาสติกหรือท่อยางซึ่งได้รับการออกแบบให้บริเวณส่วนปลายของท่อมีลักษณะเป็นเกลียวหรือก้อน มีรูปร่างและคุณสมบัติคล้ายคลึงกับอวัยวะเพศของพ่อสุกร โดยส่วนปลายของท่อผสมเทียมจะทำหน้าที่ยึดกับคอมดลูกแม่สุกร

ในการผสมเทียมสุกร นอกจากคุณภาพน้ำเชื้อซึ่งสำคัญต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตแล้ว อุปกรณ์และวิธีการในการผสมเทียมก็มีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตเช่นเดียวกัน การผสมเทียมสุกรในปัจจุบันน้ำเชื้อจะถูกปล่อยบริเวณคอมดลูก จากการศึกษาพบว่าหลังการผสมเทียมในแต่ละครั้งมากกว่า 90% ของอสุจิมีการสูญเสียก่อนที่จะสามารถเข้าถึงบริเวณที่มีการปฏิสนธิภายในท่อนำไข่ได้ การสูญเสียนี้เกิดจากการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อ (semen back flow) (Steverink et al., 1998) และกระบวนการเก็บกินจากเม็ดเลือดขาวภายในมดลูก (Mburu et al., 1996) ปัจจุบันได้มีการพัฒนาอุปกรณ์ในการผสมเทียมเพื่อให้มีการใช้งานที่สะดวกและมีประสิทธิภาพมากขึ้น อุปกรณ์ผสมเทียมที่ได้รับการพัฒนาขึ้นมาใหม่ ได้แก่ ท่อผสมเทียมชนิดสอดท่อเข้าตัวมดลูก (intrauterine catheter) และท่อผสมเทียมชนิดสอดท่อเข้าปีกมดลูก (deep intrauterine catheter) ทั้ง 2 ชนิดช่วยลดจำนวนของอสุจิและปริมาตรของน้ำเชื้อในการผสมเทียมแต่ละครั้งลง ทำให้สามารถใช้น้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้นและยังช่วยลดปัญหาการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อขณะผสมเทียมซึ่งเป็นสาเหตุของการผสมไม่ติดลงด้วย (Watson and Behan, 2002; Bennemann et al.,

2004; Martinez et al., 2001[a]; Martinez et al., 2001[b]; Wongtawan, 2004)

ในประเทศไทยการเจือจางน้ำเชื้อสดเพื่อใช้ในการผสมเทียมสุกรในฟาร์มส่วนใหญ่ยังไม่ได้มาตรฐานและมีจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดในการผสมเทียมแต่ละครั้งมากเกินความจำเป็น ทำให้การใช้น้ำเชื้อสิ้นเปลืองและไม่ได้ประโยชน์สูงสุด อีกทั้งการผสมเทียมในฟาร์มถ้าผู้ผสมเทียมทำการผสมเทียมโดยเทคนิคที่ไม่ถูกต้อง อาจมีโอกาสทำให้เกิดการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อหลังการผสมมากซึ่งอาจจะมีผลต่ออัตราการผสมติดและขนาดของครอกได้ ในการผสมเทียมสุกรปริมาณของน้ำเชื้อที่ใช้ในการผสม และตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อ มีความสัมพันธ์กับความสมบูรณ์พันธุ์และประสิทธิภาพในการผสมเทียม โดยจำนวนตัวอสุจิที่พบหรือที่เข้าไปในท่อนำไข่ได้ มีความสำคัญต่อการอัตราการผสมติดและจำนวนลูกต่อครอก การผสมเทียมโดยปล่อยน้ำเชื้อที่ตัวมดลูก (IUI) หรือ ปีกมดลูก (DIUI) (รูปที่ 1 และ 2) โดยการลดจำนวนอสุจิและปริมาตรที่ใช้ในการผสมเทียมแต่ละครั้งลง ทำให้สามารถลดจำนวนการใช้พ่อพันธุ์สุกรลง ลดจำนวนของน้ำเชื้อที่ค้างอยู่ในมดลูกโดยไม่ได้รับการปฏิสนธิได้มากขึ้น (มากกว่าหรือเท่ากับ 2,000 ล้านตัวต่อการผสม 1 ครั้ง) ซึ่งอาจลดโอกาสการเกิดมดลูกอักเสบได้ ลดการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อขณะผสมซึ่งมีผลต่ออัตราการผสมติด (Steverink et al., 1998) ดังนั้นการผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อเข้ามดลูกในสุกรน่าจะเป็นทางเลือกสำหรับวิธีการผสมเทียมสุกรแบบใหม่เพื่อพัฒนาประสิทธิภาพการการผสมเทียมสุกรให้สูงขึ้น

นอกจากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสดแล้ว ปัจจุบันน้ำเชื้อสุกรแช่แข็งได้ถูกพัฒนาขึ้นมาอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีข้อดี คือ สามารถเก็บน้ำเชื้อไว้ได้นาน ควบคุมโรคติดต่อทางการผสมพันธุ์ได้ ขนส่งน้ำเชื้อได้ไกล และลดจำนวนการเลี้ยงพ่อพันธุ์ลงได้ อย่างไรก็ดีปัจจุบันมีการใช้น้ำเชื้อแช่แข็งสุกรทั่วโลกประมาณ 1 % (Wagner and Tibier, 2000) สาเหตุที่การใช้น้ำเชื้อแช่แข็งยังไม่แพร่หลายเนื่องจากอสุจิที่ผ่านการแช่แข็งค่อนข้างอ่อนแอและมีอัตราการรอดชีวิตหลังทำละลายต่ำทำให้ได้ผลผลิตต่ำกว่าการใช้น้ำเชื้อสด นอกจากนี้ยังมีกระบวนการผลิตที่ค่อนข้างยุ่งยากและต้องลงทุนสูงกว่า การใช้วิธีการผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อเข้ามดลูกจึงอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้น้ำเชื้อแช่แข็งในสุกรได้

การเดินทางของอสุจิในระบบสืบพันธุ์เพศเมีย

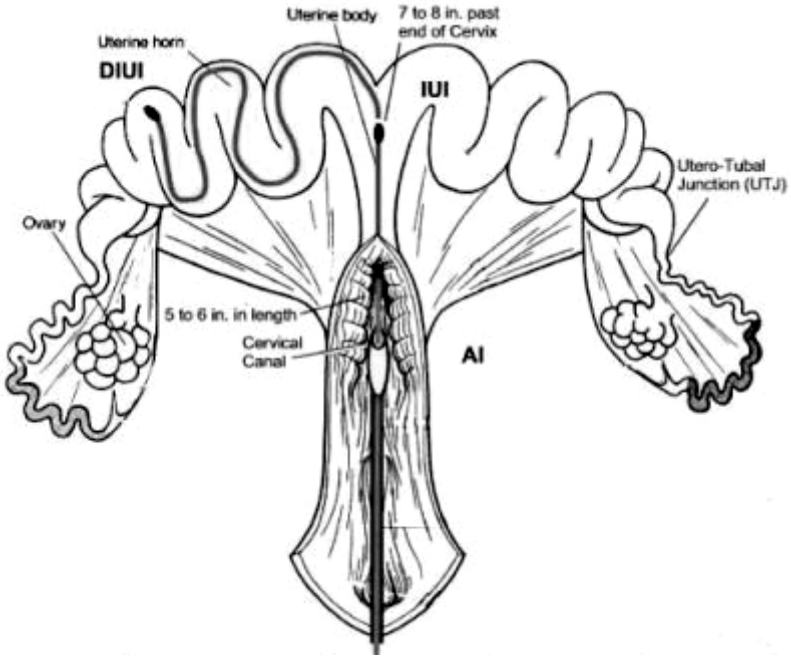
หลังการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติหรือการผสมเทียมด้วยวิธีปกติในสุกรอสุจิมากกว่าพันล้านตัวถูกปล่อยที่บริเวณคอมดลูก (cervix) ซึ่งมีความยาวประมาณ 15-20 ซม. หลังจากนั้นอสุจิจะเดินทางผ่านตัวมดลูก (body of uterus) ซึ่งมีความยาวประมาณ 5 ซม. และเข้าสู่ปีกมดลูก (uterine horns) ซ้ายและขวา ซึ่งแต่ละข้างมีความยาวประมาณ 90-140 ซม. (รูปที่ 1) อสุจิส่วนใหญ่จะถูกกักอยู่บริเวณรอยต่อระหว่างปีกมดลูกกับท่อนำไข่หรือยูทีเจ (utero-tubal junction, UTJ) บริเวณนี้ เรียกว่า “sperm reservoir” ซึ่งมีหน้าที่คัดกรองอสุจิที่วิ่งผ่านเข้าไปยังท่อนำไข่ให้มีปริมาณน้อยลงป้องกันการเกิดภาวะไข่ถูกผสมโดยตัวอสุจิมากกว่าสองตัว (polyspermia) นอกจากนี้ยังทำให้อสุจิอยู่ในระยะพร้อมปฏิสนธิ (capacitation) และช่วยให้อสุจิสามารถมีชีวิตอยู่ได้นานขึ้นโดยการป้องกันเซลล์ของระบบภูมิคุ้มกันมิให้เข้ามาทำลายอสุจิ (Hunter, 1990; Rodriguez-Martinez et al., 2001)

อสุจิจะรออยู่ที่บริเวณยูทีเจจนกระทั่งเกิดการตกไข่ (Hunter, 1990) หลังตกไข่อสุจิจะถูกปล่อยให้เข้าไปยังท่อนำไข่มากขึ้น อย่างไรก็ดีอสุจิที่สามารถเดินทางผ่านท่อนำไข่เพื่อเข้าไปปฏิสนธิกับไข่ได้นั้นมีจำนวนน้อยกว่าจำนวนที่ผสมเข้าไปมาก (ตารางที่ 1) Mburu และคณะ (1996) พบว่ามีจำนวนอสุจิที่บริเวณยูทีเจเพียงประมาณ 1-2 หมื่นตัว และที่บริเวณท่อนำไข่ส่วนล่างพบอสุจิน้อยกว่า 1,000 ตัว ในขณะที่แม่สุกรตกไข่และมีตัวอสุจิเพียงหนึ่งตัวเท่านั้นจะมีโอกาสได้ผสมกับไข่หนึ่งใบ

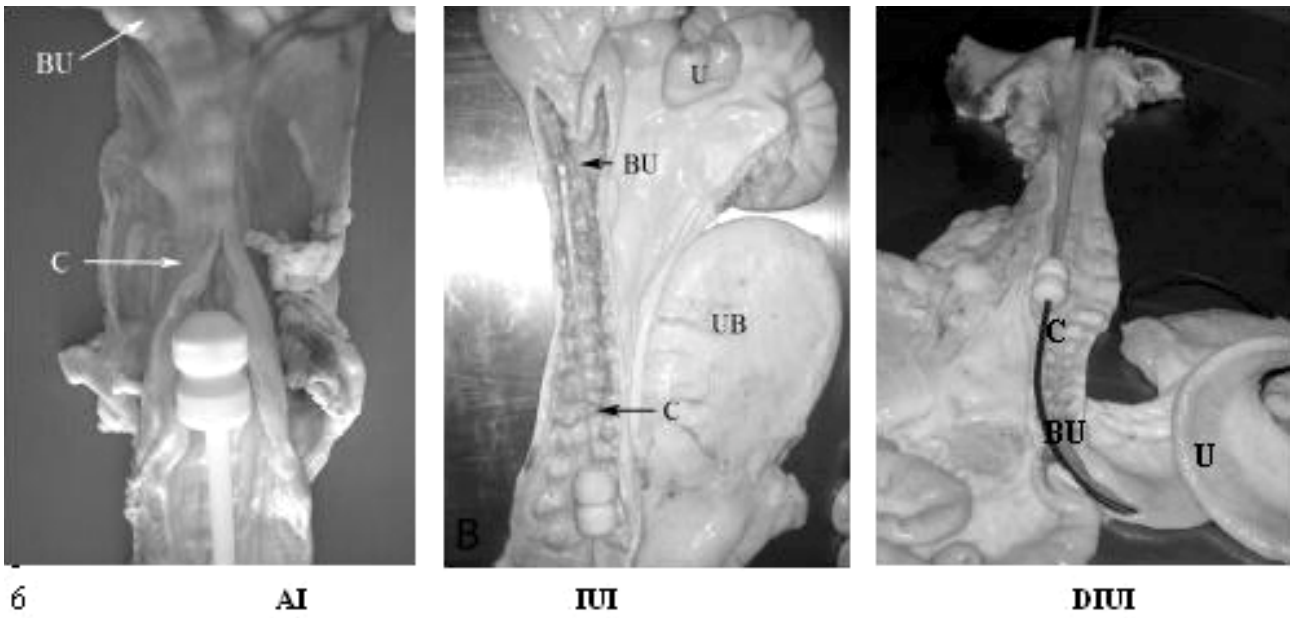
การผสมเทียมโดยปกติใช้อสุจิมากกว่า 3,000 ล้านตัวในการผสมแต่ละครั้งประมาณ 25-40% ถูกขับออกภายในสองชั่วโมงครึ่งหลังผสม (Steverink et al., 1998; Matthijs et al., 2003) และอสุจิอีกมากกว่า 50% ถูกเก็บกินโดยเซลล์เม็ดเลือดขาวหลังผสมเทียมประมาณหนึ่งชั่วโมง (Woelders and Matthijs, 2001; Matthijs et al., 2003) อสุจิบางส่วนอาจหลบอยู่ตามซอกหลืบของคอมดลูกและตัวมดลูก (Matthijs et al., 2003) หรืออาจหลุดเข้าไปในช่องท้อง ในที่สุดเหลืออสุจิเพียงไม่ถึง 5% ที่มีความสามารถที่จะผสมได้ซึ่งอสุจิเหล่านี้จะรอการตกไข่อยู่บริเวณยูทีเจ (Mburu et al., 1996)

เทคนิคการผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อเข้ามดลูก

จากข้อมูลของงานวิจัยทางด้านการขนส่งอสุจิ (sperm transport) ที่ผ่านมาทำให้ทราบว่าปริมาณอสุจิจำนวนเพียงไม่กี่พันตัวก็เพียงพอสำหรับการปฏิสนธิ จึงมีงานวิจัยเพื่อหา



รูปที่ 1 แสดงวิธีการผสมเทียมแบบปกติ (AI) เปรียบเทียบกับการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้ามดลูก (IUI) และเข้าปีกมดลูก (DIUI) *(ดัดแปลงจาก Belstra, 2002)*



รูปที่ 2 อวัยวะสืบพันธุ์แม่สุกรและตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อขณะทำการผสมเทียมโดยเทคนิคการผสมเทียมตามปกติ (AI) และการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าตัวมดลูก (IUI) และการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าปีกมดลูก (DIUI) (C = คอมดลูก; BU = ตัวมดลูก; U = ปีกมดลูก; UB = กระเพาะปัสสาวะ)

ตารางที่ 1 แสดงค่าเฉลี่ย (mean) ของจำนวนตัวอสุจิทั้งหมดที่ตรวจพบในท่อนำไข่และปีกมดลูกในแม่สุกรหลังการผสมเทียมแบบปกติ (AI) แบบสอดท่อเข้ามดลูก (IUI) และแบบสอดท่อเข้าปีกมดลูก (DIUI) (ดัดแปลงจาก พีระพงษ์ และคณะ 2004 และ Tummaruk et al., 2005)

กลุ่ม	จำนวน	1	2	3	4	5	6	7
AI	6	87[a]	343[a]	1,411[a]	142,500[b]	90,000[c]	69,167[cd]	45,000[d]
IUI	6	85[a]	296[a]	1,280[a]	131,167[b]	90,000[c]	66,167[cd]	37,250[ad]
DIUI	5	25[a]	76[a]	284[a]	23,500[b]	15,400[c]	9,000[d]	7,000[d]

[*]ส่วนที่ 1 แอมพูล่า 2 อิสมัสส่วนต้น 3 อิสมัสส่วนปลาย 4 ยูทีเจ 5 ปีกมดลูกส่วนต้น 6 ปีกมดลูกส่วนกลาง 7 ปีกมดลูกส่วนปลาย [abcd]อักษรต่างกันในแถวแนวนอนมีความแตกต่างทางสถิติ *($p<0.05$)*

ตารางที่ 2 ผลผลิตของแม่สุกรที่เกิดการตกไข่ตามธรรมชาติหลังการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งโดยใช้ท่อผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อเข้าปีกมดลูก (DIUI)

ปริมาณอสุจิ (ล้านตัว)	ปริมาตรน้ำเชื้อ (มล.)	จำนวนสุกร	อัตราเข้าคลอด (%)	จำนวนลูกทั้งหมด/ครอก	เอกสารอ้างอิง
1000	5	40	70.0	9.25	Roca et al. (2003)
250	5	ไม่แสดง	42.9	7.2	Bathgate et al. (2003)
1000	0.5	20	65.0[*]	6[*]	Wongtawan. (2004)

[*]ตัวเลขที่แสดงเป็นอัตราการตั้งท้อง และจำนวนตัวอ่อนที่นับได้ในมดลูก

ตารางที่ 3 ผลผลิตของแม่สุกรที่ถูกฉีดฮอร์โมนเพื่อกระตุ้นการตกไข่หลังการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อที่ผ่านการคัดแยกเพศโดยใช้ท่อผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อเข้าปีกมดลูก (DIUI)

ปริมาณอสุจิ (ล้านตัว)	จำนวนสุกร (มล.)	อัตราเข้าคลอด (%)	จำนวนลูกทั้งหมด/ครอก	เอกสารอ้างอิง
140	45	46.6	9.2	Vazquez et al. (2003)
70	-	39.1	8.7	Vazquez et al. (2003)
50	12	33.	7.5	Grossfeld et al. (2005)

ตารางที่ 4 ผลผลิตของแม่ที่สุกรถูกฉีดฮอร์โมนเพื่อกระตุ้นการตกไข่หลังการย้ายฝากตัวอ่อนโดยใช้ท่อผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อเข้าปีกมดลูก (DIUI)

จำนวนสุกร	อัตราเข้าคลอด (%)	จำนวนลูกทั้งหมด/ครอก	เอกสารอ้างอิง
24	42.9	5.4	Cuello et al. (2005)
6	16.7	7	Suzuki et al. (2004)

ตารางที่ 5 ปริมาณอสุจิและปริมาตรน้ำเชื้อที่ต้องการสำหรับการผสมเทียมด้วยวิธีต่างๆ กัน

ปริมาณอสุจิ ($x10^6$)	ปริมาณของเหลว (มล.)	อัตราเข้าคลอด (%)	จำนวนลูกมีชีวิต/ครอก	เอกสารอ้างอิง	เทคนิคที่ใช้
5	0.50	87.5	7.9	Krueger et al. (1999)	Surgery
5	0.50	92.9	7.6	Fantinati et al. (2004)	Laparoscope
50	5.00	92.3	9.4	Martinez et al. (2001)	DIUI[1]
500	80.00	85.7[2]	13.0[2]	Mezalina et al. (2004)	IUI[3]
1000	80.00	86.9	12.1	Watson and Behan (2002)	IUI

[1]Deep intra uterine insemination [2]ตัวเลขที่แสดงเป็นอัตราการตั้งท้อง และจำนวนตัวอ่อนที่นับได้ในมดลูก [3]Intra uterine insemination

แนวทางในการลดปริมาณอสุจิในการผสมเทียมแต่ละครั้ง และใช้น้ำเชื้ออย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น เพื่อให้การผสมเทียมสุกรได้อัตราการปฏิสนธิสูงสุดโดยใช้ปริมาณอสุจิน้อยที่สุด การผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อเข้ามดลูกจึงได้รับการพัฒนาขึ้นเพื่อให้สามารถปล่อยน้ำเชื้อใกล้บริเวณ "sperm reservoir" ให้มากที่สุดโดยใช้น้ำเชื้อในปริมาณที่น้อยที่สุด วิธีนี้เรียกว่า การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อเข้ามดลูก

การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อเข้ามดลูกสามารถแบ่งได้ 2 วิธี คือ การปล่อยน้ำเชื้อไว้ที่ตัวมดลูก (intrauterine insemination; IUI) (Levis et al., 2002; Watson and Behan, 2002; Rozeboom et al., 2004) และการปล่อยน้ำเชื้อที่ปีกมดลูกด้านใดด้านหนึ่ง (deep intrauterine insemination; DIUI) (Martinez et al., 2001[a]; Martinez et al., 2001[b]; Wongtawan, 2004) (รูปที่ 1 และ 2)

1. การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อที่ตัวมดลูก (IUI)

การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อที่ตัวมดลูก สามารถทำได้โดยใช้ท่อขนาดเล็กสอดเข้าผ่านท่อผสมเทียมปกติแล้วเข้าไปปล่อยน้ำเชื้อที่ตัวมดลูก ท่อนี้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก 4 มม. มีความยาว 850 มม. (รูปที่ 2) จากการทดลองในฟาร์มสุกรพบว่าเมื่อใช้เทคนิค IUI สามารถลดปริมาณอสุจิที่ใช้ในการผสมเทียมลงเหลือเพียง 500-1,000 ล้านตัว/โด๊ส จากปกติที่ต้องใช้สูงถึง 3,000-5,000 ล้านตัว/โด๊ส เท่ากับลดลงประมาณ 3-5 เท่าตัว (Watson and Behan, 2002; Mezalira et al., 2004; Rozeboom et al., 2004) โดยผลผลิตของแม่สุกรที่ผสมเทียมยังคงเดิม นอกจากนี้ยังไม่พบว่ามีปัญหาแทรกซ้อนมากนัก และวิธีทำค่อนข้างรวดเร็ว (Levis et al., 2002; Dallanora et al., 2004) การศึกษาในระดับฟาร์มสุกรพบว่าสามารถสอดท่อผสมเทียมผ่านคอมดลูกได้ในแม่สุกรมากกว่า 94% และมีโอกาสพบเลือดปริมาณเล็กน้อยที่ปลายท่อผสมเทียมไม่เกิน 1.7% (Roca et al., 2003; Dollanora et al., 2004)

2. การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อที่ปีกมดลูก (DIUI)

การผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อที่ปลายปีกมดลูกในสุกรเริ่มทำครั้งแรกโดยการผ่าตัด ปล่อยน้ำเชื้อไว้บริเวณยูทีเจทั้งด้านซ้ายและขวา (Krueger et al., 1999; Krueger and Rath, 2000) จากการทดลองพบว่าสามารถลดจำนวนตัวอสุจิลงได้ถึง 150 เท่า เมื่อเทียบกับการผสมเทียมแบบปกติโดยผลผลิตของสุกรคงเดิม ต่อมาได้มีความพยายามใช้ท่อเอนโดสโคปส์สอดผ่านคอมดลูกเข้าไปจนถึงปลายปีกมดลูกและทำการปล่อยตัวอสุจิที่มีปริมาณน้อยพบว่าสามารถให้ผลผลิตในระดับสูงเป็นที่น่าพอใจ (Martinez et al., 2001[a]) อย่างไรก็ดีท่อเอนโดสโคปส์มีราคาแพง และไม่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการปฏิบัติงานในฟาร์มจึงได้มีการพัฒนาท่อไฟเบอร์ (fiber) (Martinez et al., 2002) ที่มีลักษณะยืดหยุ่นตัวคล้ายกับเอนโดสโคปส์ มีความยาวประมาณ 180 ซม. (รูปที่ 2) เมื่อทำการปล่อยน้ำเชื้อเข้าไปที่ปลายปีกมดลูกโดยใช้ท่อไฟเบอร์จะปล่อยน้ำเชื้อไว้เพียงข้างใดข้างหนึ่ง โดยพบว่าหลังผสมพันธุ์ด้วยตัวอสุจิจำนวนน้อย (150 ล้านตัว) สามารถทำให้เกิดการปฏิสนธิได้ทั้งสองด้านของปีกมดลูก

การใช้ท่อผสมเทียมสอดเข้าไปลึกถึงปีกมดลูก มีประโยชน์ในการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อที่อ่อนแอกว่าปกติ เช่น การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง (ตารางที่ 2) และน้ำเชื้อที่ผ่านการคัดแยกเพศ (ตารางที่ 3) นอกจากนี้การสอดท่อผสมเทียมสอดเข้าไปลึกถึงปีกมดลูกยังนำไปใช้ได้กับการ

ย้ายฝากตัวอ่อนอีกด้วย (ตารางที่ 4)

การเดินทางของอสุจิหลังการผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อในมดลูก

หลังการผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อในตัวมดลูก น้ำเชื้อประมาณ 60% และอสุจิประมาณ 15% อาจมีการไหลย้อนกลับออกมาทางช่องคลอด (Mezalira et al., 2005) แต่อย่างไรก็ดีอสุจิสามารถเดินทางไปสู่ยูทีเจทั้งสองข้างได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งสองข้าง จากรายงานของ พีระพงษ์ และคณะ (2004) พบว่าอสุจิที่บริเวณยูทีเจหลังการผสมเทียมแบบปกติหรือแบบปล่อยน้ำเชื้อที่ตัวมดลูกมีปริมาณไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1) ในขณะที่การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อบริเวณปีกมดลูกตรวจพบอสุจิเพียงด้านใดด้านหนึ่งของยูทีเจเท่านั้น (Tummaruk et al., 2005) ประสิทธิภาพการขนส่งอสุจิขึ้นกับปริมาณอสุจิ คุณภาพของอสุจิ ปริมาตรของน้ำเชื้อ ตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อ และการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูก (myometrial contraction) เมื่อปล่อยน้ำเชื้อไว้ที่ข้างใดข้างหนึ่งของปีกมดลูกอสุจิส่วนใหญ่จะคงอยู่ที่ข้างเดียวกับที่ปล่อยน้ำเชื้อ อสุจิส่วนที่เหลืออาจเคลื่อนที่ไปยังอีกข้างหนึ่งโดยการเคลื่อนที่ผ่านตัวมดลูก (transuterine migration) (Viring and Einarsson, 1980; Viring et al., 1980) หรือการเคลื่อนที่ผ่านช่องท้อง (intraperitoneum migration) (Hunter, 1978; Martinez et al., 2002) กระบวนการขนส่งอสุจิหลังการผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อที่มดลูกและปีกมดลูกกำลังอยู่ระหว่างดำเนินการวิจัย

จำนวนอสุจิและปริมาตรน้ำเชื้อที่ใช้ในการผสมเทียม

โดยทั่วไปเมื่อเพิ่มจำนวนอสุจิในการผสมเทียมแต่ละครั้ง ส่งผลให้อัตราการปฏิสนธิ อัตราการตั้งท้องและจำนวนลูกต่อครอกสูงขึ้น จนถึงระดับหนึ่งซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมสำหรับการผสมเทียม (Martinez et al., 2002; Bathgate et al., 2003) อย่างไรก็ดีปริมาณอสุจิที่เหมาะสำหรับการผสมเทียมแต่ละวิธีแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 5 การเพิ่มปริมาณอสุจิเป็นการเพิ่มโอกาสให้ตัวอสุจิเคลื่อนไปยังท่อนำไข่ได้มากขึ้น และอาจเพิ่มโอกาสในการกระจายของอสุจิไปทั้งสองข้างของท่อนำไข่ได้มากขึ้นในกรณีที่ผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าปีกมดลูก

ปริมาตรของน้ำเชื้อมีผลต่อการขนส่งอสุจิในมดลูก โดยเฉพาะการผสมเทียมแบบปกติที่ปล่อยน้ำเชื้อไว้ที่บริเวณคอมดลูก จากการทดลองพบว่าปริมาตรของน้ำเชื้อประมาณ 80-100 มล ให้อัตราการปฏิสนธิสูงสุดในการผสมเทียมแบบปกติ (Stratman and Self, 1960; Baker et al., 1968) แต่ในการผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อไว้ที่บริเวณตัวมดลูกนั้น ปริมาตรสามารถลดลงได้อย่างน้อยเท่าตัว จากการทดลองพบว่าปริมาตรน้ำเชื้อยังสามารถลดลงเหลือเพียง 20-30 มล. ได้ (Levis et al., 2002; Wolken et al., 2002; Mezalira et al., 2005) ปริมาตรของน้ำเชื้อเมื่อใช้การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อที่ปีกมดลูกสามารถใช้ปริมาณที่น้อยมากถึง 0.5 มล. ทั้งวิธีผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อที่ปีกมดลูกหรือการใช้ท่อลาพาราโคป อย่างไรก็ดีการใช้ปริมาตรน้อยเกินไปอาจทำให้การขนส่งอสุจิไม่มีประสิทธิภาพ ไม่สามารถช่วยพัดพาตัวอสุจิไปยังยูทีเจได้อย่างมีประสิทธิภาพ และไม่เพียงพอต่อการกระตุ้นการบีบตัวของมดลูก ในทางปฏิบัติการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าปีกมดลูกควรมีปริมาตรของน้ำเชื้ออย่างน้อย 5 มล. (Wongtawan, 2004; Fantinati et al., 2005)

ตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อ

ตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อมีผลต่อการขนส่งอสุจิ เมื่อปล่อยน้ำเชื้อไว้ที่ตัวมดลูกอสุจิจะเดินทางไปทั้งสองข้างของปีกมดลูกในปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน (พีระพงษ์ และคณะ 2004) แต่จะใช้ปริมาณน้ำเชื้อมากกว่าเมื่อเทียบกับการปล่อยน้ำเชื้อบริเวณปีกมดลูก (Martinez et al., 2002; Wolken et al., 2002) นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณอสุจิที่ยูทีเจหลังการปล่อยน้ำเชื้อไว้บริเวณเกินครึ่งหนึ่งของปีกมดลูกไม่แตกต่างจากปล่อยน้ำเชื้อไว้ที่ปลายปีกมดลูก (Martinez et al., 2001[b])

ในกรณีที่ต้องการให้ท่อผสมเทียมถูกสอดผ่านคอมดลูกไปยังด้านใดด้านหนึ่งของปีกมดลูกนั้น อาจจะทำได้โดยใช้ท่อเอนโดสโคปซึ่งสามารถมองเห็นภายในท่อระบบสืบพันธุ์ (Martinez et al., 2001[a]) อย่างไรก็ดียังไม่มีรายงานเกี่ยวกับความแตกต่างในการผสมเทียมที่ปีกมดลูกเปรียบเทียบด้านซ้ายและขวา แต่จากการสังเกตพบว่าท่อที่สอดเข้าไปจะเข้าไปอยู่ด้านซ้ายมากกว่าด้านขวา (40%:60%) และเมื่อผสมซ้ำอีกครั้งก็มักจะอยู่ด้านเดิม (Wongtawan, unpublished data; Martinez, personal communication)

การบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูก

การบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกที่ดีช่วยในการขนส่งอสุจิไปยังยูทีเจได้อย่างมีประสิทธิภาพ ปัจจัยที่ควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อมดลูก คือ ฮอร์โมนเอสโตรเจน และโพรสตาแกรนดินเอฟูอัลฟ่า (Langendijk et al., 2005)

นอกจากนี้ในการผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อที่ปีกมดลูก จะทำให้เกิดการสัมผัสของท่อไฟเบอร์กับผนังมดลูก ซึ่งอาจจะสามารถกระตุ้นการบีบตัวของมดลูกโดยผ่านการหลั่งของโพรสตาแกรนดินเอฟูอัลฟ่าได้ (Wongtawan, 2004)

เวลาที่เหมาะสมสำหรับการผสมเทียม

เนื่องจากระยะเวลาการมีชีวิตของอสุจิในท่อระบบสืบพันธุ์ของเพศเมียมีจำกัด โดยน้ำเชื้อสดและแช่เย็นมีระยะเวลา 24-48 ชม. ในขณะที่น้ำเชื้อแช่แข็งมีระยะเวลาไม่เกิน 8 ชม. สำหรับไข่จะมีระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการปฏิสนธิที่ดี คือไม่เกิน 8 ชม. หลังจากตกไข่ ดังนั้นระยะเวลาที่ผสมเทียมมีผลต่อความสำเร็จในการผสมเทียมมาก (Johnson et al., 2000) การผสมเทียมแบบปกติด้วยน้ำเชื้อสด (Nissen et al., 1997) และการผสมแบบปล่อยน้ำเชื้อไว้ที่ตัวมดลูก (Bennemann et al., 2004) จะให้อัตราการเข้าคลอด และจำนวนลูกต่อครอกสูง เมื่อผสมไม่เกิน 24 ชม. ก่อนตกไข่ สำหรับน้ำเชื้อแช่แข็งนั้นเวลาที่ใช้ในการผสมเทียมต้องใกล้เคียงกับเวลาตกไข่มากที่สุด ในการผสมเทียมวิธีปกติด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งจะได้อัตราการตั้งท้องสูงสุดเมื่อผสม 0-4 ชม. ก่อนตกไข่ (Waberski et al., 1994) และถ้าผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งโดยวิธี DIUI พบว่าเวลาที่เหมาะสมอาจนานขึ้นเป็น 4-8 ชม. ก่อนตกไข่ สาเหตุอาจเกิดเนื่องจากอสุจิสามารถเข้าสู่ยูทีเจได้อย่างรวดเร็วหลังผสม (Wongtawan, 2004)

ข้อจำกัดของการผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อในมดลูก

การผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อในมดลูกทำได้ค่อนข้างเร็ว ส่วนใหญ่จะใช้เวลาประมาณ 2-5 นาที Martinez et al. (2002) พบว่าแม่สุกรที่ถูกผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อในมดลูกจะมีการไหลย้อนกลับของน้ำเชื้อออกจากช่องคลอดเพียง 1% ซึ่งใกล้เคียงกับ Wongtawan et al. (2004, 2005) ซึ่งไม่พบว่ามีน้ำเชื้อไหลย้อนกลับขณะผสมเทียมแบบปล่อยน้ำเชื้อในมดลูกเลย และไม่พบปัญหาการอักเสบของช่องคลอดทางมหกายวิภาคหรือจุลกายวิภาค เมื่อทำการผ่าชันสูตรสุกรหลังผสมพันธุ์ ปริมาณเม็ดเลือดขาวที่บริเวณเยื่อบุมดลูกและภายในมดลูกมีน้อยกว่าการผสมด้วยวิธีปกติ (Wongtawan, unpublished data) อย่างไรก็ดีทั้ง IUI และ DIUI ยังไม่แนะนำให้ใช้ในสุกรสาวเพราะคอมดลูกของสุกรสาวค่อนข้างแคบ ทำให้การสอดท่อเป็นไปได้ยากกว่าสุกรนาง และอาจทำให้เกิดการบาดเจ็บ และอักเสบที่คอมดลูกได้

สรุป

การผสมเทียมสุกรแบบปล่อยน้ำเชื้อเข้ามดลูกและเข้าปีกมดลูกเป็นเทคนิคใหม่ มีข้อดีคือ สามารถลดปริมาณตัวอสุจิลงได้ และยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับน้ำเชื้อแช่แข็งหรือน้ำเชื้อที่ผ่านกระบวนการคัดแยกเพศ และการย้ายฝากตัวอ่อน การผสมเทียมแบบใหม่นี้มีผลกระทบต่ออวัยวะสืบพันธุ์ของสุกรน้อยมาก อย่างไรก็ดียังมีข้อจำกัดในเรื่องการใช้สำหรับผสมเทียมในสุกรสาวซึ่งทำได้ค่อนข้างยาก นอกจากนี้เนื่องจากเป็นวิธีใหม่จึงต้องการการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการใช้งานเทคนิคนี้ ได้แก่ การศึกษาวิจัยเรื่องปริมาณตัวอสุจิที่เหมาะสม ปริมาตรของน้ำเชื้อ ตำแหน่งที่ปล่อยน้ำเชื้อ และเวลาในการผสมเทียม

เอกสารอ้างอิง

พีระพงษ์ สำราญทรัพย์ เผด็จ ธรรมรักษ์ อรรณพ คุณาวงษ์กฤต. 2004 (2547). การกระจายของตัวอสุจิภายหลังการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้ามดลูกและเข้าปีกมดลูกในแม่สุกร ประมวลบทคัดย่อการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์. ครั้งที่ 30 10-12 พฤศจิกายน 2547 กรุงเทพฯ หน้า 115-116.

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

Bathgate, R., Eriksson, B., Maxwell, W.M. and Evans, G. 2003. Low dose deep intrauterine insemination of sows with fresh and frozen-thawed spermatozoa. In: 5th International Conference on Boar semen Preservation. Doorwerth, Netherland.

Belstra, B.A. 2002. “Review: Intrauterine (transcervical) and fixed-time artificial insemination in swine.” Department of Animal Sciences, College of Agriculture & Life Science, North Carolina state University, North Carolina.

Bennemann, P.E., Milbrandt, E., Diehl, G.N., Weber, D., Schimidt, A.C.T., Bernardi, M., Wentz, I. and Bortolozzo, F.P. 2004. Reproductive performance of sows submitted to intrauterine insemination at different pre-ovulatory intervals. Anim. Reprod. 1(1):106-110.

Burke, P. 1999. Productivity assessment of liquid boar semen usage. In: 4th International conference on boar semen preservation. L.A. Johnson and H.D. Guthrie (eds.). Allen Press, Inc., Beltsville, Maryland, USA, pp. 149-152.

Cuello, C., Berthelot, F., Martinat-Botte, F., Venturi, E., Guillouet, P., Vazquez, J.M., Roca, J. and Martinez, E.A. 2005. Piglets born after non-surgical deep intrauterine transfer of vitrified blastocysts in gilts. Anim. Reprod. Sci. 85(3-4): 275-286.

Dallanora, D., Mezalira, A., Katzer, L.H., Bernadi, M.L., Bortolozzo, F.P. and Wentz, I. 2004. Volume and sperm number in the semen backflow after intrauterine or cervical insemination in sows. In: 15th International Congress on Reproduction. L.R. Franca, H.P. Godinho, M. Henry and M.I.V. Melo (eds.). Brazilian college of animal reproduction, Porto Seguro, BA- Brazil. 387.

Fantinati, P., Zannoni, A., Bernardini, C., Webster, N., Lavitrano, M., Forni, M., Seren, E. and Bacci, M.L. 2005. Laparoscopic insemination technique with low numbers of spermatozoa in superovulated prepuberal gilts for biotechnological application. Theriogenology 63(3): 806-817.

Grossfeld, R., Klinc, P., Sieg, B. and Rath, D. 2005. Production of piglets with sexed semen employing a non-surgical insemination technique. Theriogenology (in press).

Hunter, R.H. 1978. Intraperitoneal insemination, sperm transport and capacitaion in the pig. Anim. Reprod. Sci. 1:167-179.

Hunter, R.H. 1990. Fertilization of pig eggs in vivo and in vitro. J. Reprod. Fertil. Suppl. 40 :211-226.

Johnson, L.A., Weitze, K.F., Fiser, P. and Maxwell, W.M. 2000. Storage of boar semen. Anim. Reprod. Sci. 62 (1-3): 143-172.

Krueger, C. and Rath, D. 2000. Intrauterine insemination in sows with reduced sperm number. Reprod. Fertil. Dev. 12(1-2): 113-117.

Krueger, C., Rath, D. and Johnson, L.A. 1999. Low dose insemination in synchronized gilts. Theriogenology 52(8): 1363-1373.

Langendijk, P., Soede, N.M. and Kemp, B. 2005. Uterine activity, sperm transport, and the role of boar stimuli around insemination in sows. Theriogenology 63(2): 500-513.

Levis, D.G., Burroughs, S. and Willium, S. 2002. Use of intra-uterine insemination of pigs: Pros, Cons and Economics. In: Proceedings Reproductive Pharmacology and Technology, Annual Meeting American Association of Swine Veterinarians American Association of Swine Veterinarians, Kansas, MO, U.S.A. 39-62.

Martinez, E.A., Vazquez, J.M., Roca, J., Lucas, X., Gil, M.A., Parrilla, I., Vazquez, J.L. and Day, B.N. 2001a. Successful non-surgical deep intrauterine insemination with small numbers of spermatozoa in sows. Reproduction 122(2): 289-296.

Martinez, E.A., Vazquez, J.M., Roca, J., Lucas, X., Gil, M.A., Parrilla, I., Vazquez, J.L. and Day, B.N. 2002. Minimum number of spermatozoa required for normal fertility after deep intrauterine insemination in non-sedated sows. Reproduction 123(1): 163-170.

Martinez, E.A., Vazquez, J.M., Roca, J., Lucas, X., Gil, M.A. and Vazquez, J.L. 2001b. Deep intrauterine insemination and embryo transfer in pigs. Reproduction Suppl. 58:301-311.

Matthijs, A., Engel, B. and Woelders, H. 2003. Neutrophil recruitment and phagocytosis of boar spermatozoa after artificial insemination of sows, and the effects of inseminate volume, sperm dose and specific additives in the extender. Reproduction 125(3): 357-367.

Mburu, J.N., Einarsson, S., Lundeheim, N. and Rodriguez-Martinez, H. 1996. Distribution, number and membrane integrity of spermatozoa in the pig oviduct in relation to spontaneous ovulation. Anim. Reprod. Sci. 45(1-2): 109-121.

Mezalira, A., Dallanora, D., Bernadi, M., Wentz, I. and Bortolozzo, F.P. 2004. Reproductive performance of sows submitted to intrauterine insemination with different sperm cell dose. In: Proceeding of the 18th International Pig Veterinary Society Congress (IPVS) T.G. Blaha and C. Pahlitzsch (eds.). Hambrug, Germany.477.

Mezalira, A., Dallanora, D., Bernardi, M., Wentz, I. and Bortolozzo, F. 2005. Influence of sperm cell dose and post-insemination backflow on reproductive performance of intrauterine inseminated sows. Reprod. Domest. Anim. 40(1): 1-5.

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

Roca, J., Carvajal, G., Lucas, X., Vazquez, J.M. and Martinez, E.A. 2003. Fertility of weaned sows after deep intrauterine insemination with a reduced number of frozen-thawed spermatozoa. Theriogenology 60(1): 77-87.

Rodin, I.M. and Lipatov, V.I. 1936. Artificial insemination of pigs. Anim. Breed. 4 :205.

Rodriguez-Martinez, H., Tienthai, P., Suzuki, K., Funahashi, H., Ekwall, H. and Johannisson, A. 2001. Involvement of oviduct in sperm capacitation and oocyte development in pigs. Reprod. Suppl. 58 : 129-145.

Rozeboom, K.J., Reicks, D.L. and Wilson, M.E. 2004. The reproductive performance and factors affecting on-farm application of low-dose intrauterine deposit of semen in sows. J. Anim. Sci. 82(7): 2164-2168.

Steverink, D.W., Soede, N.M., Bouwman, E.G. and Kemp, B. 1998. Semen backflow after insemination and its effect on fertilisation results in sows. Anim. Reprod. Sci. 54(2): 109-119.

Stratman, F.W. and Self, H.L. 1960. Effect of semen volume and number of sperm on fertility and embryo survival in artificially inseminated gilts. J. Anim. Sci. 19(1): 1081-1089.

Suzuki, C., Iwamura, S. and Yoshioka, K. 2004. Birth of piglets through the non-surgical transfer of blastocysts produced *in vitro*. J. Reprod. Dev. 50(4): 487-491.

Tummaruk, P., Samransarp, P., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A. 2005. Sperm transport after deep intra uterine insemination compared with conventional artificial insemination in pig. Proc. 2nd Asian Pig Veterinary Society Congress, Sept 19-21, 2005 EDSA Shangri-La, Pasig City, Philippines. 89-91.

Vazquez, J.M., Martinez, E.A., Parrilla, I., Roca, J., Gil, M.A. and Vazquez, J.L. 2003. Birth of piglets after deep intrauterine insemination with flow cytometrically sorted boar spermatozoa. Theriogenology 59(7): 1605-1614.

Viring, S. and Einarsson, S. 1980. Influence of boar seminal plasma on the distribution of spermatozoa in the genital tract of gilts. Acta Vet. Scand. 21(4): 598-606.

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

Waberski, D., Weitze, K., Gleumes, T., Schwarz, M., Willmen, T. and Petzoldt, R. 1994. Effect of time of insemination relative to ovulation on fertility with liquid and frozen boar semen. Theriogenology 42(5): 831-840.

Wagner, H.G. and Tibier, M. 2000. World statistics for artificial insemination in small ruminant and swine. In: Proc. 14th International Congress on Animal Reproduction Stockholm, Sweden. 3.

Watson, P.F. and Behan, J.R. 2002. Intrauterine insemination of sows with reduced sperm numbers: results of a commercially based field trial. Theriogenology 57(6): 1683-1693.

Woelders, H. and Matthijs, A. 2001. Phagocytosis of boar spermatozoa *in vitro* and in vivo. Reprod. Suppl. 58:113-127.

Wolken, A., Rath, D., Bortolozzo, I. and Marquetti, A. 2002. Sows can successfully be inseminated non-surgically into the distal uterine horn with a highly reduced number of sperm cells. Theriogenology 57:392.

Wongtawan, T. 2004. Fertility after deep intra-uterine AI of concentrated low-volume boar semen dose. M.Sc. Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences.

Wongtawan, T., Saravia, F., Wallgren, M., Caballero, I. and Rodríguez-Martínez, H. 2005. Fertility after deep intra-uterine artificial insemination of concentrated low-volume boar semen doses. Theriogenology (in press).