การเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของแพะโดยการพัฒนาโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาและสารละลายน้ำเชื้อที่เหมาะสม

โดย
นางสาวผกาทิพย์ ยอดมิ่งขวัญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของแพะโดยการพัฒนาโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาและสารละลายน้ำเชื้อที่เหมาะสม

โดย
นางสาวผกาทิพย์ ยอดมิ่งขวัญ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2561
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

INCREASING THE EFFICIENCY OF GOAT REPRODUCTION BY DEVELOPING TIMED ARTIFICIAL INSEMINATION (TAI) AND APPROPRIATE SEMEN EXTENDER

By

MISS Phakatip YODMINGKWAN

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (Animal Science)

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2018

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	การเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของแพะโดยการพัฒนาโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาและสารละลายน้ำเชื้อที่เหมาะสม
โดย	ผกาทิพย์ ยอดมิ่งขวัญ
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ดร. กฤติยา เลิศชุณหะเกียรติ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

..... ประธานกรรมการ
(ดร. อรรถพล เทียนทอง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ดร. กฤติยา เลิศชุณหะเกียรติ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร. วัชราภรณ์ รวมธรรม)

..... ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมจิตร์ กันธาพรม)

57751203 : สัตวศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : แพะ โปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา สารละลายน้ำเชื้อ ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์

นางสาว ผกาทิพย์ ยอดมิ่งขวัญ: การเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของแพะโดยการพัฒนาโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาและสารละลายน้ำเชื้อที่เหมาะสม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ดร. กฤติยา เลิศชุณหะเกียรติ

การศึกษาในครั้งนี้ประกอบไปด้วย 2 การทดลอง โดยการทดลองที่ 1 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของฮอร์โมนที่มีต่ออัตราการเป็นสัดและตกไข่ของแพะสาวที่เหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์รูปแบบซิลิโคน (controlled internal drug releasing device-goat; CIDR-G) ร่วมกับโกนาโดโทรปินส์รีลิสซิงฮอร์โมน (gonadotropin releasing hormone; GnRH) ที่เสริมหรือไม่เสริมด้วยฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูอัลฟา (prostaglandin F_{2a}; PGF_{2a}) วางแผนการทดลองสุ่มแบบสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) โดยใช้แพะสาวพันธุ์บอร์จำนวน 10 ตัว แบ่งแพะออกเป็น 2 กลุ่ม (n=5) ทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ดังนี้คือ ทรีทเมนต์ที่ 1 ใช้การสอด CIDR-G ทางช่องคลอดเป็นเวลา 8 วัน และในวันที่ถอด CIDR-G ฉีด GnRH 0.75 มิลลิกรัม และในทรีทเมนต์ที่ 2 ใช้การสอด CIDR-G ทางช่องคลอดเป็นเวลา 8 วัน ในวันที่ถอด CIDR-G ทำการฉีด GnRH 0.75 มิลลิกรัม และ PGF_{2a} 0.5 มิลลิกรัม พบว่าแพะในกลุ่มการทดลองทั้งสองกลุ่มมีเปอร์เซ็นต์การเป็นสัด 100 % (5/5) มีอาการเป็นสัดโดยนับจากถอด CIDR-G จนกระทั่งแสดงอาการเป็นสัดเฉลี่ยในชั่วโมงที่ 15.60±2.40 และ 49.20±18.04 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งในกลุ่มทรีทเมนต์ที่ 2 แสดงอาการเป็นสัดช้ากว่ากลุ่มทรีทเมนต์ที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.01$) และทั้ง 2 กลุ่มการทดลองมีระยะเวลาเป็นสัด 14.40±2.40 และ 27.60±14.40 ชั่วโมง ซึ่งกลุ่มทรีทเมนต์ที่ 2 มีระยะเวลาเป็นสัดนานกว่ากลุ่มทรีทเมนต์ที่ 1 แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งภายหลังจากการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่ทั้งสองโปรแกรมที่มีต่ออัตราการผสมติด โดยใช้แพะสาวสายพันธุ์บอร์เพศเมีย จำนวน 12 ตัว แล้วผสมเทียมผ่านทางคอมดลูกด้วยน้ำเชื้อแพะแช่แข็งจากกรมปศุสัตว์ ในชั่วโมงที่ 48 หลังถอด CIDR-G จากนั้นตรวจสอบการกลับสัดภายหลังการผสมเทียมในวันที่ 21 และตรวจสอบด้วยเครื่องอัลตราซาวน์หลังการผสมเทียม 30 วัน พบว่าทั้ง 2 กลุ่มการทดลองมีอัตราการผสมติด 83.33 % และ 75 % ตามลำดับ ซึ่งกลุ่มทรีทเมนต์ที่ 1 มีอัตราการผสมติดสูงกว่ากลุ่มทรีทเมนต์ที่ 2 แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) สรุปได้ว่า ประสิทธิภาพของโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาทั้งสองโปรแกรมสามารถใช้ทำการผสมเทียมในชั่วโมงที่ 48 ให้อัตราการผสมติดใน

แพะสาวได้ดี ซึ่งโปรแกรมตามกลุ่มทรีทเมนต์ที่ 1 ซึ่งไม่ใช้ PGF_{2a} ให้ผลดีสำหรับช่วงเวลาตกไข่ที่แม่นยำกว่า และยังมีต้นทุนต่ำกว่าเหมาะสำหรับนำไปใช้ในฝูงแพะสาว

การทดลองที่ 2 มีวัตถุประสงค์เพื่อเพื่อเปรียบเทียบผลการใช้สารละลายเจือจางน้ำเชื้อต่างกันที่มีต่อคุณภาพของน้ำเชื้อแพะในรูปน้ำเชื้อสด โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) รีดเก็บน้ำเชื้อด้วยช่องคลอดเทียมจากพ่อพันธุ์ 3 ตัว ผสมรวมกัน (pooled semen) นำน้ำเชื้อสดมาผสมกับสารเจือจางน้ำเชื้อ 4 ทรีทเมนต์ๆ ละ 6 ซ้ำ โดยใช้สารเจือจางน้ำเชื้อ PBS (กลุ่มควบคุม), tris citric fructose (TCF), tris citric fructose+1.5% soybean lecithin (TCFSL) และ tris citric fructose+ 2.5 % egg yolk (TCFEY) พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิที่ทรีทเมนต์ TCFSL มีค่าสูงที่สุด ($p<0.05$) เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของอสุจิที่ทรีทเมนต์ TCF มีค่าสูงที่สุด ($p<0.05$) เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของอสุจินั้นมีค่าที่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของอะโครโซมที่ทรีทเมนต์ TCF, TCFSL และ TCFEY มีค่าที่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) จากการศึกษานี้สรุปได้ว่า การใช้ TCF จะทำให้คุณภาพน้ำเชื้อสดดีที่สุด นอกจากนี้ยังสามารถใช้เลซิทินจากถั่วเหลืองเป็นแหล่งของลิปิดและไลโปโปรตีนแทนไข่แดงในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อสดได้เนื่องจากให้ผลไม่แตกต่างกัน

มหาวิทยาลัยศิลปากร

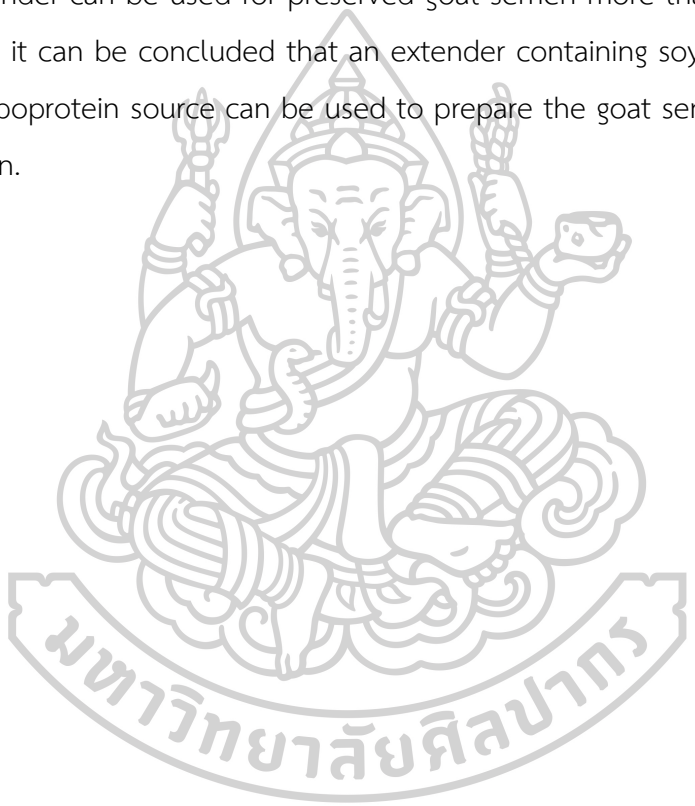
57751203 : Major (Animal Science)
Keyword : Goat Timed artificial insemination Semen extender Efficiency of reproduction

MISS PHAKATIP YODMINGKWAN : INCREASING THE EFFICIENCY OF GOAT REPRODUCTION BY DEVELOPING TIMED ARTIFICIAL INSEMINATION (TAI) AND APPROPRIATE SEMEN EXTENDER THESIS ADVISOR : KRITTIYA LERTCHUNHAKIAT, Ph.D.

The study consisted of 2 experiments. Firstly, the objective was to study efficacy of controlled internal drug releasing (CIDR-G) device with gonadotropin releasing hormone (GnRH) supplemented with or without PGF_{2a} on estrus synchronization and ovulation in goats. Ten nulliparous does were used and divided into 2 treatments (n=5) follow as, treatment 1: intravaginal progestin with CIDR-G for 8 days and intramuscularly with GnRH at CIDR-G removal and treatment 2: intravaginal CIDR-G device for 8 days and intramuscularly GnRH and PGF_{2a} at CIDR-G removal. The result showed that animals in both groups have percentage of estrus 100 % did not differ significant between groups ($p>0.05$). Time to estrus after intramuscularly of both groups were 15.60 ± 2.40 and 49.20 ± 18.04 hours respectively, were differ highly significant between groups ($p<0.01$) and duration of estrus were 14.40 ± 2.40 and 27.60 ± 14.40 hours did not differ significant between groups ($p>0.05$). After this study, the efficiency of the two ovulation induction programs was studied using 12 does and fixed- time transcervical intrauterine artificial insemination at 48 hours after progesterone removal with frozen goat semen from Department of Livestock Development (DLD) of Thailand. Then, return to estrus were investigated and transrectal ultrasonogrophy were performed after TAI on day 21 and 30, repectively. The conception rates of 8 days and GnRH and 8 days and GnRH+ PGF_{2a} were 83.33% and 75%, respectively, did not differ significant between groups ($p>0.05$). Therefore, both types of programs could be used in nulliparous doe for ovulation synchronization and fixed-time AI. However, hormone program treatment 1 was higher precision time of ovulation and lower cost than treatment 2.

Secondly, the objective was to compare the effects of substance diluted semen on semen quality of boer goat. Semen from three boer bucks was collected

using artificial vagina. The semen samples were pooled and preserved in liquid state and subsequently were diluted with phosphate buffer solution (PBS), tris-fructose-citric acid (TFC), tris-fructose-citric acid + 1.5% soybean lecithin (TFCSL) and tris fructose-citric acid + 2.5% egg yolk (TFCEY). It was found that percentage of sperm motility of TFCSL was highest ($p<0.05$). Percentage of sperm viability of TFC was highest ($p<0.05$). Percentage of sperm abnormality were not significantly differed ($p>0.05$). Percentage of membrane integrity of TFCSL was highest ($p<0.05$). This study shows that TCFSL and TCFEY extender can be used for preserved goat semen more than 3 days. Based on the results, it can be concluded that an extender containing soybean lecithin as the lipid and lipoprotein source can be used to prepare the goat semen for fresh semen preservation.



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาจากอาจารย์ ดร. กฤติยา เลิศชุณหะเกียรติ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และอาจารย์ ดร.วัชราภรณ์ รวมธรรม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมที่ให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้าน โดยให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ รวมไปถึงการแก้ไขในจุดบกพร่องต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงมาได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.อรรถพล เทียนทอง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รวมถึงผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมจิตร์ กันธาพรม กรรมการสอบผู้ทรงคุณภายนอกที่ให้ความกรุณาในการตรวจสอบ แนะนำ และเสนอแนะที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย ส่งผลให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องและสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์และนักศึกษาปริญญาตรีผู้ช่วยวิจัยทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือตลอดการทำวิทยานิพนธ์ จนสำเร็จลุล่วงมาได้ด้วยดี

ขอบคุณสมาชิกในครอบครัวที่เป็นกำลังใจ และเป็นแรงผลักดันที่ทำให้ผู้วิจัยสามารถทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ผกาทิพย์ ยอดมิ่งขวัญ

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ฉ

กิตติกรรมประกาศ ..... ซ

สารบัญ ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ฏ

สารบัญภาพ ..... ฐ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของการศึกษา 2

สมมติฐานของการศึกษา 2

ขอบเขตของการศึกษา 3

บทที่ 2 ตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

2.1 สถานการณ์การผลิต การบริโภคและการตลาดแพะ 4

2.2 ปัญหา อุปสรรค และความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ของแพะ 5

2.3 ชีววิทยาทั่วไปของแพะ 5

2.4 การสืบพันธุ์ของแพะเพศเมีย 7

2.4.1 ระยะการเป็นสัดและการตกไข่ 9

2.4.2 การกระตุ้นการเป็นสัด (estrus synchronization) 12

2.4.3 การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบพร้อมกัน (estrus synchronization) 15

2.5 ระบบสืบพันธุ์แพะเพศผู้ (male goat reproduction system) 18

2.5.1 น้ำเชื้อ 19

2.6 การรีดเก็บน้ำเชื้อแพะ 20
2.7 การเก็บรักษาน้ำเชื้อ 21
2.8 หลักในเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อในสภาพของเหลว 22
2.8.1 การเจือจางน้ำเชื้อ 22
2.8.2 อุณหภูมิในการเก็บรักษา 23
2.8.3 แหล่งพลังงาน 23
2.8.4 ความดันสารละลายและสมดุลย์อิเลคโทรไลท์ 23
2.8.5 การป้องกันการเปลี่ยนแปลงระดับ pH 23
2.8.6 สภาวะของก๊าซในภาชนะเก็บน้ำเชื้อ 24
2.8.7 การควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ 24
2.8.8 สารพิษและโลหะหนัก 24
2.8.9 การป้องกันความเสียหายของอสุจิในอุณหภูมิต่ำ 24
2.8.10 การเติมสารเสริมต่างๆ ในสารละลายเจือจาง 25
2.9 สารละลายเจือจางน้ำเชื้อ 25
2.10 การผสมเทียมแพะ 30
2.10.1 การผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (fixed time artificial insemination; FTAI) 31
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย 35
3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ 35
3.1.1 วัสดุอุปกรณ์การเลี้ยง 35
3.1.2 วัสดุอุปกรณ์ในการเก็บข้อมูล 35
3.1.3 วัสดุอุปกรณ์ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัด 35
3.1.4 วัสดุอุปกรณ์การรีดน้ำเชื้อแพะ 36
3.1.5 สารเคมี 36
3.1.6 อุปกรณ์ในการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ 37

3.2 วิธีการทดลอง 37
การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ชนิดสอดรูปแบบซิลิโคนร่วมกับโกนาโดโทรปินส์หรือโกนาโดโทรปินส์รีลิสซิงฮอร์โมนต่อการกระตุ้นเป็นสัดและการตกไข่ของแพะ 37
การทดลองที่ 2 การเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำเชื้อแพะในสภาพของเหลวจากการผลิตโดยใช้สารละลายน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน 40
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 43
การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ชนิดสอดรูปแบบซิลิโคนร่วมกับโกนาโดโทรปินส์หรือโกนาโดโทรปินส์รีลิสซิงฮอร์โมนต่อการกระตุ้นเป็นสัดและการตกไข่ของแพะ 43
การทดลองที่ 2 การเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำเชื้อแพะในสภาพของเหลวจากการผลิตโดยใช้สารละลายน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน 48
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 56
รายการอ้างอิง 57
รายการอ้างอิง 66
ภาคผนวก 66
ภาคผนวก ก ภาพภาคผนวกประกอบการทดลองเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน . 67
ภาคผนวก ข ขั้นตอนการรีดเก็บน้ำเชื้อ 73
ภาคผนวก ค ขั้นตอนการเจือจางน้ำเชื้อ 75
ภาคผนวก ง ขั้นตอนการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง 77
ภาคผนวก จ การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ ตามวิธีของรพีพรรณ (2552) 79
ภาคผนวก ฉ ภาพภาคผนวกประกอบการทดลองผลของสารเจือจางน้ำเชื้อ 83
ประวัติผู้เขียน 86

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 องค์ประกอบโภชนาการของเนื้อแพะและเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ 7

ตารางที่ 2 ลักษณะทางด้านความสมบูรณ์พันธุ์ของแพะ 8

ตารางที่ 3 ตัวอย่างการใช้ฮอร์โมนเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแม่แพะ 16

ตารางที่ 4 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 18

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของสารละลายน้ำเชื้อ 41

ตารางที่ 6 น้ำหนักตัวเฉลี่ยของแพะก่อนและหลังการสอดฮอร์โมน 43

ตารางที่ 7 ผลของการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่วมกับ 44

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนของฟอลลิเคิล และคอร์ปัสลูเทียม (CL) ในวันที่ 0, 8, 10 และ 12..... 46

ตารางที่ 9 ข้อมูลพื้นฐานของแพะสาวที่ใช้ในการทดลองและประสิทธิภาพของโปรแกรมการ 48

ตารางที่ 10 ผลการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อสดเบื้องต้น..... 49

ตารางที่ 11 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิในสารเจือจางน้ำเชื้อสดที่แตกต่างกัน 50

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตในน้ำเชื้อสดในสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน 51

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ตัวผิดปกติของอสุจิในน้ำเชื้อสดในสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน 52

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบความสมบูรณ์ของอะโครโซมในน้ำเชื้อสด 53

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบความสมบูรณ์ของเนื้อเยื่อในน้ำเชื้อสด 55

ตารางที่ 16 ลักษณะ ความหนาแน่น และความเข้มข้นของน้ำเชื้อจากการประมาณด้วยสายตา..... 80

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แผนภูมิแสดงจำนวนเกษตรกรและแพะรายเขตปศุสัตว์ 4

ภาพที่ 2 แพะพันธุ์บอร์ 6

ภาพที่ 3 จลศาสตร์ของรังไข่ 9

ภาพที่ 4 ระดับของฮอร์โมนเพศสัมพันธ์กับวงรอบการเป็นสัดในแพะ 11

ภาพที่ 5 รูปแบบของการเจริญเติบโตและการสลายของแต่ละฟอลลิเคิลในรอบการเป็นสัดในแพะ .. 12

ภาพที่ 6 อวัยวะสืบพันธุ์แพะเพศผู้ 19

ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบกลุ่มเลซิทิน 26

ภาพที่ 8 น้ำหนักตัวเฉลี่ยของแพะก่อนและหลังการสอดฮอร์โมน 43

ภาพที่ 9 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิในสารเจือจางน้ำเชื้อสดที่แตกต่างกัน 50

ภาพที่ 10 เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตในน้ำเชื้อสดในสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน 51

ภาพที่ 11 เปอร์เซ็นต์ตัวผิดปกติของอสุจิในน้ำเชื้อสดด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน 53

ภาพที่ 12 เปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของอะโครโซมในน้ำเชื้อสดในสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน .. 54

ภาพที่ 13 เปอร์เซ็นต์ความความสมบูรณ์ของเนื้อเยื่อในน้ำเชื้อสดด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่าง 55

ภาพที่ 14 การเลี้ยงแพะ 68

ภาพที่ 15 วัสดุอุปกรณ์ในการทดลอง 69

ภาพที่ 16 การเก็บข้อมูล 70

ภาพที่ 17 ฮอร์โมนใช้ในการทดลอง 71

ภาพที่ 18 วิธีการสังเกตอาการเป็นสัด 72

ภาพที่ 19 สไลด์นับเม็ดเลือดนำมาใช้ตรวจวัดความเข้มข้นของน้ำเชื้อ และการแบ่งเป็นช่องสี่เหลี่ยม 81

ภาพที่ 20 อุปกรณ์และการรีดเก็บน้ำเชื้อ 84

ภาพที่ 21 อสุจิลักษณะต่าง ๆ 85

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันประเทศไทยมีการเลี้ยงแพะจำนวนมาก ทั้งแพะเนื้อและแพะนม เนื่องจากเลี้ยงง่าย ใช้ต้นทุนต่ำ (วิไลวรรณ และคณะ, 2555) ทั้งนี้ประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์นับเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตของการเลี้ยงแพะ เกษตรกรผู้เลี้ยงแพะจึงพยายามที่จะเพิ่มผลผลิตให้สูงและมีคุณภาพที่ดี โดยมีการใช้เทคโนโลยีการผสมเทียมเข้ามาช่วย ซึ่งการที่จะทำให้การผสมเทียมประสบความสำเร็จต้องมี 1) การจัดการแม่พันธุ์ที่ดี และ 2) การใช้น้ำเชื้อที่มีคุณภาพ ซึ่งการจัดการแม่พันธุ์นั้นคือ การกำหนดวันเป็นสัดและการตกไข่ของแม่แพะให้ถูกต้องและแน่นอน แตการเลี้ยงแพะมักประสบปัญหาในเรื่องของการจับสัด และระยะเวลาในการเป็นสัด ทำให้มีนักวิจัยทำการพัฒนาการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาขึ้นมา เพื่อกระตุ้นการตกไข่ในแม่แพะให้อยู่ในระยะเวลาที่แน่นอน โดยทั่วไปแม่แพะที่เริ่มเข้าสู่วงรอบของการเป็นสัดมักจะอยู่ในขั้นตอนต่างๆ ของวงจรการเป็นสัด ซึ่งโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาถูกออกแบบมาเพื่อ 1) ควบคุมการเปลี่ยนแปลงของคลื่นฟอลลิเคิล 2) ทำให้เกิดการสลายคอร์ปัสลูเทียม (corpus luteum; CL) และ 3) ก่อให้เกิดการตกไข่จากฟอลลิเคิลที่มีความสมบูรณ์ พร้อมสำหรับการปฏิสนธิจากน้ำเชื้อที่ได้รับในการผสม การพัฒนาการใช้ฮอร์โมนเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดเริ่มพัฒนาเป็นเวลากว่า 50 ปีมาแล้ว ทำให้ทราบถึงกระบวนการต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเหนี่ยวนำให้เกิดการเป็นสัดโดยขึ้นอยู่กับการควบคุมของระยะเวลาในช่วงวงรอบการเป็นสัด (estrous cycle) ซึ่งมีการพัฒนาเลือกใช้ชนิดของฮอร์โมน ระยะเวลาการให้ รูปแบบการให้ หรือการใช้โปรแกรมฮอร์โมนต่างๆ นั้น มีการพัฒนากันมาแล้วหลายวิธี และเป็นการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้เกิดวิธีที่ดีที่จะเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแม่แพะ และสามารถผสมเทียมในเวลาที่กำหนดเพื่อทำให้อัตราการตั้งท้องสูงขึ้นในแม่แพะ โดยไม่ต้องตรวจสอบการเป็นสัด ซึ่งโปรแกรมการใช้ฮอร์โมนที่มีประสิทธิภาพที่ดีวิธีหนึ่งในการทำให้อัตราการตั้งท้องสูงขึ้นในแม่แพะก็คือการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่วมกับ gonadotropin-releasing hormone (GnRH) และ prostaglandin F_{2a} (PGF_{2a})

สำหรับการใช้น้ำเชื้อที่มีคุณภาพนั้นต้องอาศัยเทคโนโลยีสำหรับเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อที่ดีที่สุด ที่ได้คัดมาจากการพ่อพันธุ์ที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ และจะเป็นแนวทางในการเพิ่มผลผลิตและการผสมติดโดยตรง โดยจะนำน้ำเชื้อที่ได้มาทำเป็นน้ำเชื้อแช่แข็งเพื่อง่ายต่อการกระจายพันธุ์ที่แข็งแรง (บุญเสริม, 2546) ในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งของสัตว์แต่ละชนิดมักจะใช้ไข่แดงในการทำสารละลายเจือ

จางน้ำเชื้อ เพราะในไข่แดงมีส่วนประกอบของเลซิทิน (phospholipid) และไลโปโปรตีน (lipoprotein) เพื่อป้องกันความเสียหายจากการลดอุณหภูมิ (cold shock) โดยทำหน้าที่เหมือนฟิล์มเคลือบรอบนอกเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิ และสามารถเข้าไปแทนที่ phospholipid ในเยื่อหุ้มเซลล์ระหว่างการลดอุณหภูมิ ทำให้ลดความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ได้ (อนนท์ และคณะ, 2551) แต่สำหรับแพะจะไม่สามารถนำไข่แดงมาทำเป็นสารเจือจางน้ำเชื้อได้ เนื่องจากแพะจะมีต่อมคาวเปอร์หรือต่อมบัลโบยูรีทรัล (cowper gland or bulbourethral gland) ซึ่งจะมีการขับเอมไซม์ที่มีชื่อว่า เอนไซม์ฟอสโฟไลเปส (phospholipases) ปนออกมากับเซมินอลพลาสมา เอมไซม์นี้เมื่อเจอกับไข่แดงจะทำปฏิกิริยากับเลซิตินในไข่แดงทำให้เกิดพิษที่เรียกว่าไลโซเลซิติน (lysolecithin) เป็นอันตรายกับอสุจิแพะ เพราะจะเกิดการจับตัวกันของอสุจิและจะทำให้อสุจิเคลื่อนที่ได้ช้าตัวลง (ภูเบศวร์ และคณะ, 2555) เมื่อรู้ถึงปัญหาที่เกิดขึ้นจึงควรหลีกเลี่ยงการใช้ไข่แดงเป็นองค์ประกอบของสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ จึงต้องมีการหาสิ่งทดแทนในการทำสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาผลในการเหนี่ยวนำการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนร่วมกับ GnRH ในแม่แพะพันธุ์ลูกผสมในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาด้วยน้ำเชื้อที่เจือจางในสารละลายเจือจางที่เหมาะสมโดยไม่ต้องตรวจการเป็นสัดต่ออัตราการผสมติดในแพะสาวพันธุ์บอร์

สมมติฐานของการศึกษา

1. อัตราการเป็นสัดและการตกไข่ของแพะที่เหนี่ยวนำด้วย CIRD-G ร่วมกับ GnRH ที่เสริมด้วย PGF_{2a} สูงกว่าแพะที่ไม่ได้เสริมด้วย PGF_{2a}

2. คุณภาพของน้ำเชื้อในแพะที่เจือจางด้วยเลซิทินจากถั่วเหลืองสูงกว่าคุณภาพของน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยไข่แดง

3. อัตราการผสมติดของแพะสาวที่เหนี่ยวนำด้วย CIRD-G ร่วมกับ GnRH ที่เสริมด้วย PGF_{2a} สูงกว่าแพะที่ไม่ได้เสริมด้วย PGF_{2a}

ขอบเขตของการศึกษา

1. ศึกษาเกี่ยวกับประสิทธิภาพของการใช้ CIDR-G 0.3 g ร่วมกับ GnRH 0.75 mg ที่เสริมหรือไม่เสริมด้วย PGF_{2a} 0.5 mg ต่อการกระตุ้นเป็นสัดและการตกไข่ของแพะสาว

2. เปรียบเทียบผลการใช้สารเจือจางน้ำเชื้อที่มีส่วนผสมของไข่แดง 2.5 % และเลซิตินจากถั่วเหลือง 1.5 % ที่มีต่อคุณภาพน้ำเชื้อแพะพันธุ์บอร์

3. เปรียบเทียบอัตราการผสมติดในแม่แพะที่ได้รับการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมน CIDR-G 0.3 g ร่วมกับ GnRH 0.75 mg ที่เสริมหรือไม่เสริมด้วย PGF_{2a} 0.5 mg แล้วผสมเทียมแบบกำหนดเวลาด้วยน้ำเชื้อหลังจากที่ถอดฮอร์โมน CIDR-G ออกแล้ว 48 ชั่วโมง

บทที่ 2
ตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สถานการณ์การผลิต การบริโภคและการตลาดแพะ

แพะเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่เลี้ยงทั่วไปกระจายอยู่ทั่วโลก มีมากในประเทศด้อยพัฒนาและกำลังพัฒนา โดยเฉพาะในประเทศจีนและอินเดีย (Galal, 2005) ในกลุ่มประเทศอาเซียน อินโดนีเซียมีจำนวนแพะมากเป็นอันดับหนึ่ง ส่วนประเทศไทยอยู่ในอันดับที่ 5 (บุญเสริม, 2546; เอกชัย, 2546) และมีการเลี้ยงมากในภาคใต้ตอนล่าง เนื่องจากมีประชากรนับถือศาสนาอิสลามมากถึง 80-85% (วินัย, 2542) ซึ่งต้องการแพะเพื่อเป็นอาหาร และใช้ประกอบพิธีกรรมสำคัญทางศาสนา สำหรับในปี 2560 มีเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะทั้งหมดจำนวน 51,851 ราย ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่เขต 9 จำนวน 35,819 ราย (ร้อยละ 69.08) รองลงมาคือเขต 8 จำนวน 6,772 ราย (ร้อยละ 13.06) และเขต 7 จำนวน 3,420 ราย (ร้อยละ 6.60) ตามลำดับ โดยมีการเลี้ยงแพะทั้งหมดจำนวน 652,964 ตัว ซึ่งในพื้นที่เขต 9 เลี้ยงแพะมากที่สุด จำนวน 223,452 ตัว (ร้อยละ 34.22) รองลงมาคือ เขต 7 จำนวน 142,256 ตัว (ร้อยละ 21.79) และ เขต 8 จำนวน 100,179 ตัว (ร้อยละ 15.34) ตามลำดับ (กรมปศุสัตว์, 2560)

ภาพที่ 1 แผนภูมิแสดงจำนวนเกษตรกรและแพะรายเขตปศุสัตว์

ที่มา: กรมปศุสัตว์ (2560)

ถึงแม้ว่าผลิตภัณฑ์เนื้อและนมแพะมีปริมาณเพิ่มขึ้นทุกปี แต่ยังไม่เพียงพอกับความต้องการของประชากรมุสลิมทั่วโลก ในประเทศไทยโดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีประชากรชาวไทยมุสลิมอยู่จำนวนมาก แพะเป็นอาหารที่บริโภคในพิธีกรรมที่มีความสำคัญยิ่งถึง 48% รวมทั้งได้มีการตั้งเป้าหมายในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเพื่อรองรับการเพิ่มปริมาณและการส่งออกสู่ประเทศเพื่อนบ้าน ซึ่งเป็นการเพิ่มโอกาสในการส่งออกไปยังกลุ่มประเทศอื่นๆ เช่น มาเลเซีย อินโดนีเซีย บรูไน เป็นต้น จากการเปิดประชาคมอาเซียน (Asean Economics Community: AEC) เพื่อเป็นการสร้างอาชีพที่มั่นคง รายได้ที่ดี และคุณภาพชีวิตที่ดีของเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะ (บัญชา, 2556) ดังนั้นการนำเอาเทคโนโลยีชีวภาพการสืบพันธุ์ เช่น การผสมเทียม การเหนี่ยวนำการเป็นสัดเข้ามาช่วยเพื่อเพิ่มผลผลิตโดยลดจำนวนวันท้องว่าง (day open) และเพิ่มการผสมพันธุ์โดยใช้น้ำเชื้อในปริมาณน้อย

2.2 ปัญหา อุปสรรค และความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ของแพะ

ปัญหาของระบบสืบพันธุ์แพะมีหลายด้าน ได้แก่ ปัญหาเกี่ยวกับแม่พันธุ์ น้ำเชื้อและการเก็บรักษาน้ำเชื้อ การจัดการเลี้ยงดู เป็นต้น ดังนั้นผู้เลี้ยงแพะต้องหาแนวทางในการป้องกันและแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในการผสมเทียม โดยเฉพาะในแพะเพศเมีย เพราะกระบวนการต่างๆ ทางการสืบพันธุ์ขึ้นอยู่ภายในเพศเมียเป็นส่วนใหญ่ ปัญหาและอุปสรรคที่สำคัญที่สุด คือ การเป็นหมันและการผสมติดยากในแม่แพะ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจาก อวัยวะสืบพันธุ์พิการ ความผิดปกติของการเป็นสัด โรคพยาธิซึ่งมีหลายโรคที่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ ก่อให้เกิดการแท้ง ลูกอ่อนแอหรือสูญเสียเมื่อคลอดเช่น โรคแท้งติดต่อ (brucellosis) และความเครียดจากสิ่งแวดล้อม เป็นต้น (พงศ์เทพ, 2557)

นอกจากนี้การที่เกษตรกรผู้เลี้ยงใช้ระบบพ่อพันธุ์คุมฝูงแม่พันธุ์ ทำให้แม่แพะรุ่นอายุที่ยังไม่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ได้รับการผสมก่อนเวลาอันควร ส่งผลให้ลูกแพะที่เกิดมามีน้ำหนักแรกคลอดต่ำ สุขภาพไม่แข็งแรง และมีอัตราการตายสูง เป็นผลสืบเนื่องมาจากพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์ของแม่แพะยังไม่สมบูรณ์ การเจริญเติบโตของรกแพะ และพัฒนาการของลูกแพะไม่สมบูรณ์ตั้งแต่อยู่ในท้องแม่ รวมทั้งมีการเจริญเติบโตของร่างกายแม่ไปพร้อมกับการตั้งท้อง (กฤติยา และคณะ, 2555) นอกจากนี้ยังทำให้เกิดปัญหาการผสมแบบเลือดชิด ซึ่งทำให้แพะในรุ่นถัดไปมีขนาดตัวเล็ก ความต้านทานโรคต่ำ ความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ ทำให้ประสิทธิภาพในการสืบพันธุ์ลดลง (วิไลวรรณ และคณะ, 2555)

2.3 ชีววิทยาทั่วไปของแพะ

แพะถูกจัดอยู่ในอาณาจักรสัตว์ เป็นสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง เลี้ยงลูกด้วยนม มีเท้ากีบ และเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก แพะจำแนกออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ แพะเนื้อ เช่น แพะพันธุ์บอร์ แพะ

ดอย แพะเมือง แพะบังกะลา และแพะคัมบิงคัทจัง แพะนม เช่น แพะซาแนน แพะอัลไพน์ และแพะลาแมนชา แพะขน เช่น แพะแองโกลา แพะแคชเมียร์ และแพะแบล็คเบงกัลป์ (ภัทรภร, 2556)

ปัจจุบันประเทศไทยนิยมเลี้ยงแพะพันธุ์บอร์ (boer) เพื่อผลิตเป็นแพะเนื้อมากขึ้น เพราะเป็นแพะที่มีขนาดรูปร่างใหญ่ ล่ำสัน มีลำตัวใหญ่ ยาว กว้าง มีกล้ามเนื้อมาก และมีลักษณะของกระดูกโครงร่างใหญ่ แข็งแรง ลักษณะสีลำตัวเป็นสีขาวมีสีน้ำตาลแดงที่หัวและคอ หัวโหนกนูน จมูกโด่งและงุ้มลง เขาเอนไปด้านหลังและงอโค้งลงด้านล่าง ใบหูยาวและห้อยลง มีเคราแต่ไม่มีติ่ง (wattle) ที่คอ น้ำหนักเฉลี่ยของตัวผู้ประมาณ 70-90 กิโลกรัม ส่วนตัวเมียมีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 50-56 กิโลกรัม แม่แพะมีอัตราการมีลูกแฝดสูง โดยจำนวนลูก 1-2 ตัวต่อครอก (กันยารัตน์ และนิตยา, 2557)

ภาพที่ 2 แพะพันธุ์บอร์
ที่มา: กองบำรุงพันธุ์สัตว์ (2558)

เมื่อแพะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์แพะตัวเมียจะมีวงรอบการเป็นสัดประมาณ 18-21 วัน และมีระยะการเป็นสัด 24-48 ชั่วโมง เมื่อตัวเมียเริ่มมีอาการเป็นสัดจะมีอาการกระวนกระวาย ส่งเสียงร้องหาตัวผู้และเข้าหาตัวผู้ แกว่งและกระดิกหางเป็นจังหวะ อวัยวะเพศบวมและเต้านมเต่ง มีเมือกไหลออกจากช่องคลอด มีการขึ้นทับแพะตัวอื่นหรือยอมให้แพะตัวอื่นขึ้นทับ และในแพะที่กำลังให้นมจะให้นมลดลง (กฤติยา, 2556)

แพะเป็นสัตว์เลี้ยงง่าย มีลักษณะนิสัยร่าเริง อยากรู้อยากเห็นและฉลาด แพะสามารถกินอาหารได้หลายชนิด เช่น พืชตระกูลถั่ว พืชตระกูลหญ้า เศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร และใบไม้ (ซา

รีนา, 2550) นอกจากนั้นในด้านของโภชนาการยังพบว่า เนื้อแพะมีปริมาณแคลอรี ไข่มัน ไข่มันอิ่มตัว โปรตีน และคลอเรสเตอรอลต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับ เนื้อไก่ เนื้อโค เนื้อสุกร และเนื้อแกะ แต่มีธาตุเหล็กสูงกว่าชนิดของเนื้อสัตว์ดังกล่าว ดังในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบโภชนาการของเนื้อแพะและเนื้อสัตว์ชนิดอื่นๆ

โภชนาการ	เนื้อแพะ	เนื้อไก่	เนื้อโค	เนื้อสุกร	เนื้อแกะ
พลังงาน (แคลอรี)	122	162	179	180	175
ไข่มัน (กรัม)	2.6	6.3	7.9	8.2	8.1
ไข่มันอิ่มตัว(กรัม)	0.79	1.7	3.0	2.9	2.9
โปรตีน (กรัม)	23	25	25	25	2.4
คลอเรสเตอรอล (มิลลิกรัม)	63.8	76.0	73.1	73.1	78.2
ธาตุเหล็ก (มิลลิกรัม)	3.2	1.5	2.9	2.7	1.4

ที่มา: สุวิทย์ (2558)

2.4 **การสืบพันธุ์ของแพะเพศเมีย**

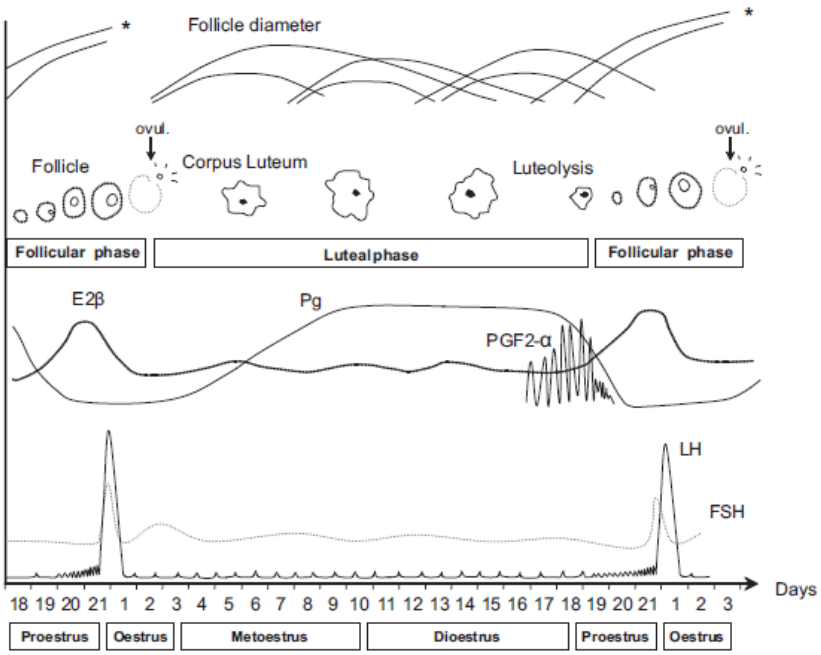
แพะสามารถขยายพันธุ์ได้ง่ายและรวดเร็ว ซึ่งตัวเมียสามารถผสมพันธุ์ได้ตั้งแต่อายุ 7-8 เดือน แต่จะมีความสมบูรณ์เต็มที่เหมาะสมแก่การสืบพันธุ์ที่อายุประมาณ 10-12 เดือน ระยะเวลาการเป็นสัด 18±2 วัน (Rahman et al., 2008) ซึ่งช่วงเวลาเป็นสัดค่อนข้างที่จะสม่ำเสมอในแม่แพะที่มีสุขภาพสมบูรณ์ดี ระยะเวลาในการตั้งท้องของแพะ คือ 150 วัน (เอกชัย, 2546) แม่แพะก็มักจะคลอดลูกได้ครั้งละ 1-2 ตัว ซึ่งมักจะเป็นแฝดสองหรือแฝดสามสามารถพบได้อยู่เสมอ ส่วนระยะเวลาในการเลี้ยงลูกและหย่านมของแพะนั้นสั้น ซึ่งอายุการหย่านมของแพะขึ้นอยู่กับความสมบูรณ์ของแม่แพะและปริมาณน้ำนมของแม่แพะ โดยทั่วไปลูกแพะจะหย่านมอายุประมาณ 3-4 เดือน ทำให้แม่แพะกลับมาเป็นสัดและตั้งท้องได้ใหม่ (วินัย, 2542)

ตารางที่ 2 ลักษณะทางด้านความสมบูรณ์พันธุ์ของแพะ

ลักษณะสังเกต	ค่าเฉลี่ย±ความแปรปรวน	อ้างอิง
อายุเฉลี่ยเมื่อสมบูรณ์พันธุ์ (เดือน)	10-12	Rahman et al. (2008)
อายุเฉลี่ยเมื่อให้ลูกครั้งแรก (เดือน)	12.40	กฤติยา และคณะ (2555)
วงรอบการเป็นสัด (วัน)	20.70±0.70	Greyling (2000)
ระยะเวลาเป็นสัด (ชั่วโมง)	37.40±8.60	Grayling (2000)
ระยะเวลาอุ้มท้อง (วัน)	148.20±3.7	Greyling (2000)
ระยะเป็นสัดหลังคลอด (วัน)	55.50±24.90	Greyling (2000)
ช่วงระยะห่างการให้ลูก (วัน)	62.00±20.20	Grayling (2000)
อัตราการให้ลูกโดยเฉลี่ย	81.00%	สมเกียรติ และคณะ (2544)
อัตราการให้ลูกแฝด	47.80%	สมเกียรติ และคณะ (2544)
อัตราการตายของลูก	29%	กฤติยา และคณะ (2555)

แพะมีวงรอบการเป็นสัดโดยเฉลี่ย 21 วัน วงรอบการเป็นสัดประกอบด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในรังไข่ วงรอบของรังไข่ คือ ในระหว่างรอบการเป็นสัดนั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและทางสรีรวิทยา ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงนี้จะนำไปสู่การตกไข่ วิวัฒนาการการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลมีลักษณะเป็นคลื่นตลอดวงจร ซึ่งคลื่นฟอลลิเคิลเป็นลักษณะของความถี่ในการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล วงรอบของรังไข่แบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ ระยะฟอลลิคูลาร์ (follicular phase) และระยะลูเทียล (luteal phase) ระยะฟอลลิคูลาร์เป็นขั้นตอนการพัฒนาของฟอลลิเคิลในรังไข่เพื่อให้เกิดการตกไข่ ในขั้นตอนนี้ฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลติง (follicle-stimulating hormone; FSH) ที่หลั่งมาจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าจะกระตุ้นให้ฟอลลิเคิลมีการเจริญเติบโต ซึ่งจะมีขนาดประมาณ 2-4 มิลลิเมตร จากนั้นก็จะเริ่มเข้าสู่การทำงานของฮอร์โมนลูติไนซิง (luteinizing hormone; LH) ซึ่งช่วงก่อนการตกไข่ฟอลลิเคิลจะมีขนาด 6-9 มิลลิเมตร ช่วงนี้ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) สูงขึ้นส่งผลทำให้สัตว์แสดงพฤติกรรมการเป็นสัดออกมา ซึ่งในช่วงนี้จะมีการสร้างและหลั่ง GnRH เพิ่มมากขึ้น จากนั้นก็จะไปกระตุ้นให้มีการสร้างและหลั่ง LH จนกระทั่งมีปริมาณที่สูงที่สุด (LH-peak) และเกิดการตกไข่ใน 20-26 ชั่วโมง ต่อมาในช่วงก่อนที่สัตว์จะแสดงอาการเป็นสัดนั้นจะเรียกว่า “โปรเอสทรัส” (proestrus) ต่อมาเมื่อพบสัตว์แสดงอาการเป็นสัดจะเรียกระยะนี้ว่า “เอสทรัส” (estrus) จากนั้นเข้าสู่ระยะลูเทียลต่อจากระยะตกไข่ หรือหลังจากระยะเอสทรัสประมาณ 5 วัน เซลล์ของฟอลลิเคิลที่ตกไข่ไปแล้วจะกลายเป็นลูเทียลเซลล์ และคอร์ปัสลูเทียมนี้จะทำหน้าที่ในการคัดหลั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone) จึงส่งผลให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีระดับฮอร์โมนที่เพิ่มสูงขึ้น (>1ng/ml) ใน 16 วัน หลังจากหมด

ระยะลูเทียล (16-18 วัน หลังระยะเอสทรัส) PGF_{2a} ที่ถูกหลั่งมาจากมดลูกก็จะไปทำงานโดยการสลายคอร์ปัสลูเทียม ส่งผลทำให้ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดลง จากนั้นไฮโปธาลามัส (hypothalamus) สร้างและหลั่ง GnRH และเข้าสู่วงรอบการเป็นสัดใหม่ ซึ่งช่วงระยะลูเทียลเป็นระยะก่อนการเป็นสัด ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็นระยะเมทเอสทรัส (metestrus) ซึ่งเป็นระยะที่มีระดับความเข้มข้นของโปรเจสเตอโรนสูงขึ้น และระยะไดเอสทรัส (diestrus) เป็นระยะที่มีการสลายของคอร์ปัสลูเทียมที่มีระดับโปรเจสเตอโรนสูง



ภาพที่ 3 จลศาสตร์ของรังไข่

ที่มา: Fatet et al. (2011)

2.4.1 ระยะการเป็นสัดและการตกไข่

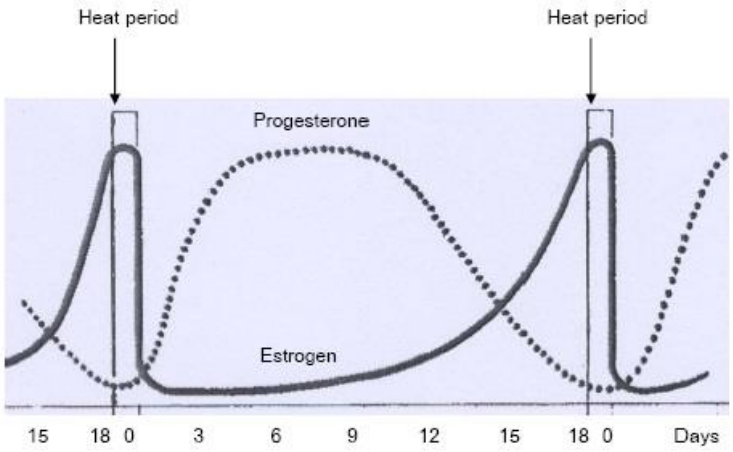
โดยทั่วไปแล้วแพะถือว่าเป็นสัตว์ที่มีวงรอบการเป็นสัดที่ขึ้นอยู่กับฤดูกาล (seasonally polyestrus) โดยการแสดงอาการเป็นสัดนั้นขึ้นอยู่กับความยาวของช่วงแสงที่ได้รับในกลางวัน Rahman et al. (2008) กล่าวว่า การแสดงออกทางเพศ (sexual activity) ของแพะจะพบได้มากในฤดูใบไม้ผลิและฤดูหนาว และการแสดงออกดังกล่าวของแพะที่เลี้ยงในเขตร้อนมีมากกว่าในเขตที่มีความแตกต่างของอุณหภูมิในแต่ละฤดู (temperate climate) ในแพะที่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์จะมีวงรอบ

การเป็นสัด 18-21 วัน โดยสามารถแบ่งได้เป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะก่อนการเป็นสัด (proestrus) ระยะเป็นสัด (estrus) ระยะคลายการเป็นสัด (metestrus) และระยะหมดการเป็นสัด (diestrus) นอกจากนี้อาจพบระยะพักการเป็นสัด (anestrus) ในแพะที่โตแล้วซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากความผิดปกติของรังไข่หรือโรคบางอย่างที่เกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์

อาการเป็นสัดของแพะแบ่งได้เป็น 2 แบบคือ อาการหลัก (primary signs) และอาการรอง (secondary signs) โดยที่อาการหลักคือ แพะเพศเมียจะให้ความสนใจต่อแพะเพศผู้ กระดิกหางและส่งเสียงร้องเมื่อได้เห็นแพะเพศผู้ อวัยวะเพศบวมแดงและพบเมือกใสที่บริเวณอวัยวะเพศ สำหรับอาการรองนั้นแพะจะแสดงอาการกระวนกระวาย ถ่ายปัสสาวะบ่อยครั้ง แยกตัวออกจากฝูงกินอาหารได้น้อยลง และส่งเสียงร้องอย่างต่อเนื่อง แพะที่แสดงอาการเป็นสัดอาจจะไม่แสดงอาการทั้งหมดออกมาในเวลาเดียวกัน ปกติแล้วการตรวจการเป็นสัดจะกระทำวันละ 2 ครั้งในเวลาเช้าและเย็น ซึ่งถือเป็นสิ่งจำเป็นที่จะช่วยในการผสมพันธุ์และการคำนวณวันคลอด ในวงรอบการเป็นสัดของแพะมีช่วงระยะเวลาที่อยู่ภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมนโปรเจสเตอร์โรนที่ยาวนานประมาณ 15 วัน และช่วงระยะเวลาที่อยู่ภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจน 5-6 วัน (ภาพที่ 4) โดยวันที่ 0 ของวงรอบการเป็นสัดนั้นจะถือเอาวันที่แพะแสดงอาการเป็นสัด ซึ่งจะพบว่าแพะมีระดับฮอร์โมน estradiol 17β สูงขึ้นอันเป็นผลมาจากการพัฒนาการของ pre-ovulatory follicle ระดับ estradiol 17β ที่สูงนั้นกระตุ้นการหลั่งของ gonadotropin releasing hormone (GnRH) ซึ่งจะส่งผลให้มีการหลั่ง leuteinizing hormone (LH) ส่งผลให้เกิดการตกไข่และมีการพัฒนาต่อเป็นคอร์ปัสลูเทียม ในที่สุดซึ่งคอร์ปัสลูเทียมจะเป็นแหล่งสำคัญในการผลิตฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในระหว่างการเป็นสัด ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดจะต่ำกว่า 0.1 ng/ml และจะคงระดับต่ำนี้จนถึงวันที่ 2 ของระยะหมดการเป็นสัด หลังจากนั้นฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและมีระดับสูงสุดใน 7 วัน ระดับฮอร์โมนจะสูงอยู่เช่นนี้อยู่นาน 13-15 วัน การเสื่อมสลายของคอร์ปัสลูเทียม (luteolysis) โดย prostaglandin F_{2a} (PGF_{2a}) พบได้ในกรณีที่ไม่มีเอ็มบริโอในมดลูกโดยผลของ PGF_{2a} ในการสลายคอร์ปัสลูเทียมนี้เองจะส่งผลให้ระดับโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดลดต่ำลงอย่างรวดเร็ว โดย PGF_{2a} ถูกหลั่งมาจากมดลูกชั้นเอนโดนมีเมียม (endometrium) ซึ่งถูกกระตุ้นการหลั่งโดยฮอร์โมนออกซิโตซินที่หลั่งมาจากรังไข่ (ovarian oxytocin) วงรอบการเป็นสัดรอบต่อไปเริ่มจากระดับโปรเจสเตอโรนที่ต่ำ GnRH และ LH เพิ่มขึ้นในขณะที่ระดับของ follicle stimulating hormone (FSH) เริ่มลดลง การเพิ่มขึ้นของ GnRH และ LH ถูกควบคุมโดยฮอร์โมน estrogen และ inhibin ซึ่งผลิตมาจากฟอลลิเคิลที่กำลังเจริญเติบโต ฟอลลิเคิลแต่ละอันที่เกิดขึ้นอาจจะพบได้นานถึง 48 ชั่วโมง นั้นจะถือเป็น 1 คลื่นฟอลลิเคิล (follicular wave) โดยทั่วไปในแพะจะมี 3-4 คลื่นหรือมากกว่านั้น ใน 1 วงรอบ ซึ่งในคลื่นสุดท้ายจะมีฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ (dominant follicle) และมีการตกไข่ในที่สุด

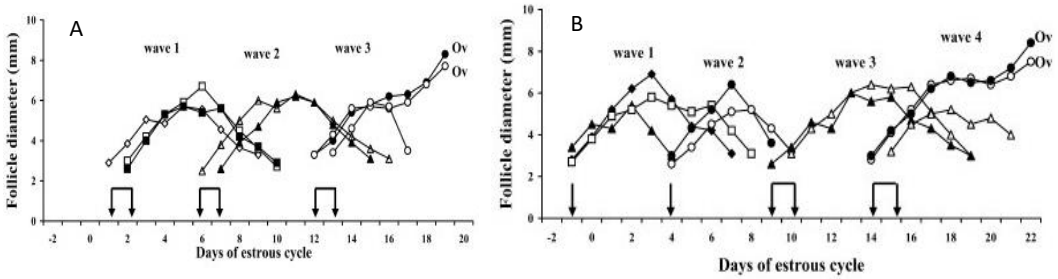
(Medan et al., 2005) แต่ที่แตกต่างกับสัตว์ชนิดอื่นคือในแพะนั้นจะสามารถพบคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ได้แม้ว่าฟอลลิเคิลขนาดใหญ่จากคลื่นก่อนจะยังคงอยู่ นอกจากนี้ยังพบว่าการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล (follicular dynamics) ในแพะนม (Rahman et al., 2008)

ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดในขณะที่แพะเป็นสัดอยู่ที่ 3.5±0.6 ng/ml (Bitaraf et al., 2007) ส่วนระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดในขณะที่แพะตั้งท้องนั้นพบว่าในเดือนที่ 1-5 ที่แพะตั้งท้องนั้นมีระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนดังนี้ 8.10±0.50, 7.05±0.71, 19.30±1.50, 30.34±2.32 และ 20.75±1.84 ng/ml ตามลำดับ พบว่าปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในขณะที่แพะท้องในเดือนที่ 1 และเดือนที่ 2 นั้นไม่แตกต่างกัน จากนั้นในเดือนที่ 3 และเดือนที่ 4 ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากนั้นก็ลดระดับลงในช่วงเดือนที่ 5



ภาพที่ 4 ระดับของฮอร์โมนเพศสัมพันธ์กับวงรอบการเป็นสัดในแพะ

ที่มา: หนึ่งนุช (2557)



ภาพที่ 5 รูปแบบของการเจริญเติบโตและการสลายของแต่ละฟอลลิเคิลในรอบการเป็นสัดในแพะแบบสาม (A) และสี่ (B) คลื่นฟอลลิเคิล ลูกศรบ่งบอกถึงการเกิดขึ้นของคลื่นฟอลลิเคิลและสัญลักษณ์ต่าง ๆ บ่งบอกถึงความแตกต่างของฟอลลิเคิล

ที่มา: ดัดแปลงจาก Medan et al. (2005)

2.4.2 การกระตุ้นการเป็นสัด (estrus synchronization)

การกระตุ้นการเป็นสัด (เทวินทร์, 2542) คือ การควบคุมวงรอบการเป็นสัดและตกไข่ หรือการเหนี่ยวนำการเป็นสัดเพื่อทำให้สัตว์หนึ่งตัวหรือหลายๆ ตัวแสดงอาการเป็นสัดในเวลาที่กำหนดในเวลาที่ต้องการเพื่อให้สะดวกในการจัดการการผสมพันธุ์มีการสังเคราะห์หรือการผลิตฮอร์โมนเลียนแบบการทำงานของฮอร์โมนปกติเพื่อใช้สำหรับการแก้ปัญหาระบบสืบพันธุ์ หรือเพื่อเหนี่ยวนำให้เป็นสัด (estrous induction) ซึ่งฮอร์โมนที่ควบคุมการสืบพันธุ์ขบวนการสืบพันธุ์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะถูกควบคุมอย่างน้อย 2 ระบบ คือ ระบบฮอร์โมนและระบบประสาท โดยระบบประสาทจะทำหน้าที่รับรู้สภาวะต่างๆ จากนั้นส่งผ่านไปยังสมอง โดยเส้นประสาทตา (optic nerve) จะทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับแสงและการมองเห็นภาพ เส้นประสาทรับกลิ่น (olfactory nerve) เกี่ยวข้องกับการรับรู้กลิ่น โดยเฉพาะกลิ่นกระสัน (sex odours) เส้นประสาทรับเสียง (auditory nerve) เกี่ยวข้องกับการรับรู้เสียง และเส้นประสาทรับความรู้สึก (sensory nerve) รับรู้สภาวะที่สัมผัสได้รอบข้าง เมื่อประสาทได้รับข้อมูลแล้วจะส่งผ่านข้อมูลดังกล่าวไปยังสมอง จากนั้นจะส่งข้อมูลไปยังเป้าหมายโดยตรงหรือกระตุ้นผ่านระบบฮอร์โมน โดยส่งในรูปสารสื่อประสาท ซึ่งมีการควบคุมโดยผลผลิตที่เกิดขึ้นและการกระตุ้นจากระบบประสาทและอวัยวะอื่นๆ ฮอร์โมนก็คือ สารเคมีที่ถูกผลิตโดยต่อมหรือเนื้อเยื่อในร่างกาย ซึ่งทำงานเฉพาะเจาะจงกับเซลล์เป้าหมาย หากแบ่งฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ตามความสำคัญของบทบาทหน้าที่ อาจแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ ฮอร์โมนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์โดยตรง (primary hormone) ได้แก่ ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมระบบการสืบพันธุ์

โดยตรง เช่น กระบวนการผลิตอสุจิ, การตกไข่, การปฏิสนธิ, การตั้งท้อง, การให้น้ำนม และความเป็นแม่ ตลอดจนพฤติกรรมทางเพศ เป็นต้น ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเมตาบอลิตาซึม ได้เกี่ยวข้องโดยอ้อมกับการสืบพันธุ์ เช่น เกี่ยวข้องกับการดำรงชีพ การเจริญเติบโต และการสร้างและหลั่งในระดับที่ปกติของฮอร์โมนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์โดยตรง สร้างจากต่อมใต้สมอง, ไทรอยด์, พาราไทรอยด์, ต่อมหมวกไตชั้นนอก, มดลูก และตับอ่อน

แหล่งสำคัญในการสร้างฮอร์โมนในการสืบพันธุ์ ได้แก่ ไฮโปธาลามัส ต่อมใต้สมอง อัณฑะ และรังไข่ (gonads) มดลูกและรก

ไฮโปธาลามัส อยู่บริเวณสมองส่วนล่าง บริเวณ ไดเอนเซปฟารอน (diencephalon) เป็นส่วนหนึ่งของสมองส่วนหน้า ด้านหน้าของไฮโปธาลามัสจะเป็นออฟติกไคแอสมา (optic chiasma) ด้านหลังติดกับบริเวณแมมมิลารี บอดี (mammillary body) ด้านบนติดกับธาลามัส (thalamus) ซึ่งเป็นไดเอนเซปฟารอน (diencephalon) ส่วนหนึ่งต่อจากไฮโปธาลามัส ทางด้านล่างจะเป็นต่อมใต้สมอง ซึ่งไฮโปธาลามัสทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการที่สำคัญต่างๆ เช่น พฤติกรรมทางเพศ โดยมีความเชื่อมโยงระหว่างระบบประสาทส่วนกลางและระบบฮอร์โมน ผลิตนิวโรเอนโดคราย (neuro endocrine) ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ คือ GnRH ไฮโปธาลามัสจะผลิตฮอร์โมนที่ออกฤทธิ์กระตุ้น หรือกดการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้า โดยฮอร์โมนดังกล่าวจะถูกปลดปล่อยที่มีเดียนอีมิแนนซ์ (median eminence) ไปตามเส้นเลือด (hypothalamo-hypophyseal portal vessels) ไปสู่ต่อมใต้สมองส่วนหน้า ฮอร์โมนดังกล่าว ได้แก่ ตัวยับยั้งโปรแลคติน (prolactin inhibiting factor; PIF), ไทโรโทรปินรีลีซซิงฮอร์โมน (thyrotropin–releasing hormone; TRH), โซมาโตสเตติน (ssomatostatin) หรือตัวยับยั้งโกรทฮอร์โมน (growth hormone–inhibiting hormone; GH-IH), โกรทฮอร์โมน-รีลีซซิงฮอร์โมน (growth hormone–releasing hormone; GH-RH), คอร์ติโคโทรปินรีลีซซิงฮอร์โมน (corticotropin-releasing hormone; CRH) และที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์โดยตรงคือ GnRH หรือ LH-RH หรือเรียกชื่ออื่นว่า โกนาโดลิเบอริน (gonadoliberin), คิสตอร์ลิน (cystorelin) และ แฟคเตรล (factrel)

การผลิตและการหลั่งฮอร์โมนของเอ็นโดครายน์นิวรอนถูกควบคุมโดยเซลล์ประสาทผ่านทางไซแนฟติกนิวโรทรานสมิทเตอร์ (synaptic neurotransmitters) และการควบคุมโดยฮอร์โมนที่ผ่านมาตามกระแสเลือด โดยทั้งสองกลไกนี้ทำงานแยกกัน

มีเครือข่ายของระบบประสาทมากมายที่เชื่อมโยงระหว่างสมองส่วนอื่นและไฮโปธาลามัส ซึ่งรวมทั้งเซลล์ประสาทที่มีตัวเซลล์อยู่ภายในและภายนอกไฮโปธาลามัส ซึ่งทั้ง 2 ชนิดนี้จะมีการเชื่อมโยงกับเอ็นโดครายน์นิวรอน ทั้งตัวเซลล์เองและปลายรากของเซลล์

เส้นประสาทต่างๆ ที่มาเชื่อมโยงกันดังกล่าวมีบทบาททั้งสนับสนุนและขัดขวาง การทำงานของเส้นประสาทเกิดขึ้นโดยเส้นประสาทกลุ่มที่มีตัวเซลล์อยู่ภายนอกไฮโปธาลามัสจะส่งผ่านการรับรู้

ต่างๆ ที่ถูกกระตุ้น (ได้เห็น ได้ยิน ได้กลิ่น ฯลฯ) ส่วนเส้นประสาทที่มีตัวเซลล์อยู่ภายในไฮโปธาลามัส จะต่อไซแนฟกับเอ็นโดครายน์นิวรอนทำให้เกิดการเชื่อมโยงกันระหว่างเซลล์ต่างๆ ภายในไฮโปธาลามัส จึงทำให้สมองสามารถควบคุมการทำหน้าที่ของฮอร์โมนได้

การควบคุมเอ็นโดครายน์นิวรอนอีกทางหนึ่งคือ การควบคุมโดยฮอร์โมนที่สร้างขึ้นจากอวัยวะเป้าหมาย จากอิทธิพลของเอ็นโดครายน์นิวรอนฮอร์โมนดังกล่าวจะมากับกระแสเลือดย้อนกลับมาออกฤทธิ์ควบคุมเอ็นโดครายน์นิวรอน (ย้อนกลับ) รายละเอียดในการควบคุมดังกล่าวยังไม่ชัดเจนนัก อย่างไรก็ตามเป้าหมายของฮอร์โมนจากอัณฑะและรังไข่ (gonadol hormones) ไม่ได้จำเพาะเจาะจงอยู่เฉพาะบริเวณไฮโปธาลามัสเท่านั้น แตกระจัดกระจายอยู่ทั้งสมอง แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลที่เกิดขึ้นต่อเซลล์เหล่านั้น และส่งผลต่อเซลล์ในไฮโปธาลามัสและต่อมใต้สมองส่วนหน้าในที่สุด

ต่อมใต้สมอง (pituitary gland หรือ hypophysis) แบ่งได้เป็น 2 ส่วนใหญ่ๆ คือ ต่อมใต้สมองส่วนหน้า (anterior pituitary หรือ adenohypophysis) และต่อมใต้สมองส่วนหลัง (posterior pituitary หรือ neurohypophysis)

ต่อมใต้สมองส่วนหน้านั้นแบ่งออกเป็น 3 ส่วนย่อยคือ พาร์ส์ดิสทอลิส (pars distalis), พาร์ส์อินเตอร์มีเดีย (pars intermedia) และพาร์ส์ทิวเบอราลิช (pars tuberalis) ต่อมใต้สมองส่วนหน้าไม่มีระบบประสาทจากไฮโปธาลามัสมาหล่อเลี้ยงโดยตรง ดังนั้นจึงเชื่อมกับระบบสมองโดยเส้นเลือด ไฮโปธาลาโม-ไฮโปฟีเซียล พอร์ทัล ซิสเท็ม (hypothalamo-hypophyseal portal system) นอกจากนี้ยังพบเส้นเลือดที่ไหลกลับจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าไปยังไฮโปธาลามัส

เซลล์ที่ต่อมใต้สมองส่วนหน้ามีหลายชนิดแบ่งตามบรรทัดฐานของ ขนาด รูปร่าง และคุณสมบัติในการติดสี เชื่อว่า FSH และ LH สร้างจากเซลล์ชนิดเดียวกัน คือ โกนาโทรป (gonadotrope) ส่วนเซลล์โซมาติก (somatotrope cell) ผลิต GH, เซลล์คอร์ติโคโทรป (corticotrope cell) ผลิตฮอร์โมนอะดรีโนคอร์ติโคโทรปิก (adreno corticotropic hormone; ACTH), ไทโรโทรป (thyrotrope) ผลิตไทรอยด์สติมูเลติงฮอร์โมน (thyroid stimulating hormone; TSH) และแมมโมโทรป (mammotrope) หรือ แลคโทรโทรป (lactrotroph) ผลิต โปรแลคติน (prolactin)

โกนาโทรปินส์ ได้แก่ FSH และ LH ซึ่งทั้งสองฮอร์โมนนี้เป็นไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ซึ่งมีสายเปปไทด์ 2 สาย คือ อัลฟาและเบตาซับยูนิต, อัลฟาซับยูนิต (α and β-subunits, α-subunits) จะมีเหมือนกันระหว่าง FSH, LH และ TSH ส่วน β-subunits จะต่างกัน FSH จะทำหน้าที่พัฒนากระตุ้นให้ฟอลลิเคิลเจริญเติบโตไม่ได้มีการกระตุ้นให้เกิดการผลิตเอสโตรเจนโดยตรง ส่วนหน้าที่ของ LH จะทำหน้าที่ร่วมกับ FSH ในการกระตุ้นการผลิตเอสโตรเจน LH ในระดับที่สูง (LH-peak) ทำให้เกิดการตกไข่

ในส่วนของรังไข่จะผลิตฮอร์โมน 2 กลุ่ม คือ กลุ่มสเตียรอยด์ฮอร์โมน (steroid hormone) ได้แก่ โปรเจสเตอโรน และเอสตราไดออล 17 เบตา โปรเจสเตอโรน (estradiol-17β progeste rone) มีหน้าที่คงสภาวะการตั้งท้องของสัตว์ โดยทำให้กล้ามเนื้อมดลูกคลายตัวบีบตัวลดลง และกลุ่มที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ฮอร์โมน (non-steroid hormone) ได้แก่ พรอสตาแกลนดิน, ออกซิโทซิน และรีแลกซิน

ฮอร์โมนที่ผลิตจากมดลูกที่สำคัญคือ พรอสตาแกลนดิน หน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีววิทยาหลายอย่าง ตัวอย่างเช่น การบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบในระบบสืบพันธุ์และทางเดินอาหาร การแข็งตัวของลึงค์ การหลั่งน้ำเชื้อ การขนส่งอสุจิ การตกไข่ การก่อตัวของคอร์ปัสลูเทียม การคลอด การหลั่งน้ำนม (เทวินทร์, 2542)

2.4.3 การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบพร้อมกัน (estrus synchronization)

การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบพร้อมกัน (estrus synchronization) มีหลายวิธีแต่ละวิธีหรือชนิดของฮอร์โมนจะมีข้อจำกัด ที่แตกต่างกัน ต้องมีการศึกษาให้เข้าใจก่อนนำมาใช้ในปัจจุบันมีการใช้ฮอร์โมนหรือโปรแกรมหลัก คือ

1) การใช้ PGF_{2a} มีทั้งแบบการฉีด 1 ครั้ง (1 shot) และการฉีดแบบ 2 ครั้ง (2 shots) ห่างกันระหว่าง 11-14 วัน วิธีการใช้ PGF_{2a} นี้จะได้ผลดีมาก ถ้าใช้ร่วมกับการล้วงตรวจเพื่อหาคอร์ปัสลูเทียมก่อนการฉีดฮอร์โมน หลังจากการฉีดฮอร์โมนสัตว์จะแสดงอาการเป็นสัดได้ตั้งแต่วันที่ 3-5 วัน การใช้วิธีนี้ต้องมีการตรวจการสัดที่ดีร่วมด้วย เพราะถ้าล้วงตรวจแล้วไม่พบคอร์ปัสลูเทียมสัตว์ก็จะไม่ตอบสนองต่อการเหนี่ยวนำด้วย PGF_{2a} การใช้ PGF_{2a} หลังจากแสดงอาการเป็นสัดในช่วง 5 วันแรก พบว่าคอร์ปัสลูเทียมจะตอบสนองต่อ PGF_{2a} และแสดงอาการเป็นสัดหลังจากฉีดในระดับที่สูง (Ptaszynska, 2003)

2) การใช้ PGF_{2a} ร่วมกับ GnRH โปรแกรมการเหนี่ยวนำนี้เรียกว่า “ออฟซิงค์” (ovsynch) เป็นการใช้ฮอร์โมน GnRH ฉีด 2 ครั้ง และมีการฉีด PGF_{2a} คั่นกลาง 1 ครั้งเหตุผลในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการใช้โปรแกรมออฟซิงค์ โดยการใช้ฮอร์โมน GnRH ก่อน เพราะปกติจะไม่ทราบว่าสัตว์อยู่ในระยะใดของการเป็นสัด การฉีด GnRH จะทำให้มั่นใจได้ว่ามี คอร์ปัสลูเทียมมีการตอบสนองต่อการฉีด PGF_{2a} ในอีก 7 วันต่อมา การฉีด GnRH ครั้งที่ 2 หลังจากการให้ PGF_{2a} ในระยะ 50-60 ชั่วโมง จะทำให้มีการพัฒนาของกระเปาะไข่ต่อมา และสามารถผสมเทียมได้โดยไม่ต้องแสดงการเป็นสัด (Ptaszynska, 2003)

3) การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน โดยการจำลองภาวะที่เหมือนกับช่วงที่สัตว์มีคอร์ปัสลูเทียมปกติ โดยโปรเจสเตอโรนจะกดการทำงานของสมองส่วนไฮโปธา

ลามัสไว้ระยะหนึ่ง หลังจากนั้นเมื่อมีการนำฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนออกไป สมองก็จะไม่ถูกกดและสัตว์จะเริ่มมีการพัฒนาวงรอบของการเป็นสัดตามมา การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการใช้โปรเจสเตอโรนแบบอื่น เช่น CIDR-G การฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออลเบนโซเอต (estradiol benzoate) ในวันแรกเพื่อจัดรอบการเป็นสัดให้ได้ดีมากขึ้น หรือก่อนที่จะมีการนำ CIDR-G ออกจากช่องคลอด อาจจะต้องใช้ PGF_{2a} ฉีดก่อนที่จะถอดฮอร์โมนออก เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีคอร์ปัสลูเทียมค้างอยู่และสามารถเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้ตามกำหนดที่ต้องการ โปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่อง CIDR-G และ PRID เป็นฮอร์โมนที่ต้องคำนึงถึงความสะอาดเพราะอาจจะทำให้เกิดการติดเชื้อในบริเวณช่องคลอดได้ (vaginitis) สำหรับสัตว์ที่มีขนาดเล็กอาจจะทำให้แท่งฮอร์โมนโผล่ออกมาในขณะที่สัตว์นอน เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการติดเชื้อตามมาด้วย เช่นกัน การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบพร้อมกันในปัจจุบันอาจจะมีอีกหลากหลายวิธี คือ การใช้ PGF_{2a}, GnRH และโปรเจสเตอโรน ซึ่งก่อนที่ฟาร์มจะนำไปใช้ต้องศึกษาให้เข้าใจก่อนหรือต้องคำนึงถึงการจัดการในแต่ละฟาร์มเป็นหลัก และมีอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงอย่างมากก่อนการใช้ฮอร์โมน คือ สัตว์ต้องมีสุขภาพที่ดี ไม่มีปัญหาระบบสืบพันธุ์อื่นๆ เช่น ไม่เป็นมดลูกอักเสบ (metritis) ซึ่งต้องทำการตรวจวินิจฉัยก่อนการใช้ฮอร์โมนทุกครั้ง (Ptaszynska, 2003)

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเป็นสัดและการตกไข่ ได้แก่ ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม และปัจจัยทางกายภาพ เช่น ลักษณะภูมิประเทศ, ภูมิอากาศ, อาหาร, ความสามารถในการย่อยได้, สายพันธุ์ และระบบสืบพันธุ์ เป็นต้น (Fatet et al., 2011)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 3 ตัวอย่างการใช้ฮอร์โมนเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแม่แพะ

ชนิด	เวลาเหนี่ยวนำ (วัน)	ปริมาณ (มก.)	โปรแกรมในการเหนี่ยวนำ	พันธุ์แพะ	จำนวน (ตัว)	การผสมเทียม	การเป็นสัด (%)	เวลาในการเป็นสัด (ชม.)	ระยะเวลาของการเป็นสัด (%)	รายการอ้างอิง
Ovsynch	9	-	0. 004 mg GnRH at D0, D9 and 3. 75 mg PGF_{2a} at removal	Boer	24	Fix time AI	100	44.8 ± 2.3	40.4± 3.8	Holtz et al. (2008))
FGA	12	45	3. 75 mg PGF_{2a} Two day sponge withdrawal		24		100	37.1 ± 3.0	32.1 ± 3.0	
MAP	13	60	500 IU eCG	Saanan	15	Fix time AI	100[a]	21.0 ± 1.2[a]	35.0 ± 1.6	Kajaysri and Thammakarn (2012)
MAP	13	60	500 IU eCG and 125 μg PGF_{2a}		15		100[a]	21.5 ± 1.3[a]	35.5 ± 1.3	
CIDR	13	300	500 IU eCG		15		66.7[b]	18.5 ± 1.9[b]	35.1 ± 1.6	
CIDR	13	300	500 IU eCG and 125 μg PGF_{2a}		15		100[a]	18.6 ± 2.0[b]	36.0 ± 2.3	

ovsynch= GnRH-PGF_{2a} -GnRH FGA=fluorogestone acetate MAP= Medroxyprogesterone acetate

CIDR= controlled internal drug release (CIDR) devide eCG= equine chorionic gonadotropin PGF_{2a} = prostaglandins F_{2a}

[a,b] difference superscripts in same column indicate significant different *($p<0.05$)*

ตารางที่ 3 ตัวอย่างการใช้ฮอร์โมนเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแม่แพะ (ต่อ)

ชนิด	เวลาเหนี่ยวนำ (วัน)	ปริมาณ (มก.)	โปรแกรมในการเหนี่ยวนำ	พันธุ์แพะ	จำนวน (ตัว)	การผสมเทียม	การเป็นสัด (%)	เวลาในการเป็นสัด (ชม.)	ระยะเวลาของการเป็นสัด (%)	รายการอ้างอิง
MAP	14	60	at 24 h before removal	Thai-	12	-	100	36.0 ± 4.2^{ab}	34.0 ± 3.3^{a}	Lertchun
MAP	7	60	300 IU eCG at 24 h before removal	native	12	-	100	42.0 ± 3.5^{a}	24.0 ± 2.1^{b}	hakiat et al. (2012)
MAP	14	60	And 5 mg. PGF_{2a} at removal FSH twice daily (5,4,3 mg on day 12,13,14)		12	-	83.3	27.8 ± 2.3^{b}	28.0 ± 1.7^{ab}	

ovsynch= GnRH-PGF_{2a} -GnRH FGA=fluorogestone acetate MAP= Medroxyprogesterone acetate

CIDR= controlled internal drug release (CIDR) devide eCG= equine chorionic gonadotropin PGF_{2a} = prostaglandins F_{2a}

^{a,b} difference superscripts in same column indicate significant different *($p<0.0$*

2.5 ระบบสืบพันธุ์แพะเพศผู้ (male goat reproduction system)

ในกระบานการการสืบพันธุ์น้ำเชื้อมีผลโดยตรงต่อการผสมติด การที่แพะจะมีการผสมติดมากหรือน้อยจะขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของน้ำเชื้อ ดังนั้นการเรียนรู้และทำความเข้าใจพร้อมทั้งทำการศึกษาเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ของแพะ จะเป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการผสมติดอีกด้วย ระบบสืบพันธุ์เพศผู้แบ่งออกได้เป็น 3 ส่วน คือ

1. Primary sex organs เป็นอวัยวะหลักที่ทำหน้าที่ในการผลิตอสุจิ และฮอร์โมนเพศผู้ ได้แก่ อัณฑะ ซึ่งมี 2 ข้าง ซึ่งแต่ละข้างจะหุ้มด้วยถุงหุ้มอัณฑะ (scrotum)

ถุงหุ้มอัณฑะมีหน้าที่ป้องกันอันตรายแก่อัณฑะ พยุงอัณฑะ และช่วยปรับอุณหภูมิภายในอัณฑะให้มีระดับที่เหมาะสม ในการทำหน้าที่ผลิตอสุจินั้นอุณหภูมิของอัณฑะจะต้องต่ำกว่าอุณหภูมิร่างกายประมาณ 1 – 10 องศาฟาเรนไฮต์ หากอุณหภูมิสูงเกินไป จะทำให้เกิดการสลายตัวของเซลล์บนผนังของท่อเซมินิเฟอรัส (seminiferous tubule) ทำให้เป็นหมันชั่วคราว ในการเป็นหมันแบบนี้เซลล์เลย์ดิก (leydig cell) ยังคงผลิตฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (testosterone) อยู่ กลไกที่ทำให้อัณฑะมีอุณหภูมิต่ำกว่าร่างกายมี 2 กลไก คือ ทางการระเหยทางพื้นที่ผิวกับระบบการไหลเวียนของโลหิต ผิวหนังของถุงหุ้มอัณฑะมีต่อมเหงื่อมากมาย และจะมีการเพิ่มพื้นที่ผิวของถุงหุ้มอัณฑะขณะอากาศร้อน (เทวินทร์, 2542)

อัณฑะ (testis) เป็นอวัยวะเพศของผู้ชายอยู่ในถุงอัณฑะมีอยู่ 2 ข้างซ้ายและขวา ระยะแรกอยู่ในช่องท้อง ก่อนคลอดเล็กน้อยจึงออกมาอยู่ในถุงอัณฑะ ทำให้อุณหภูมิของอัณฑะต่ำกว่าอุณหภูมิของร่างกายประมาณ 2 องศาเซลเซียส ทำหน้าที่ในการผลิตสร้างตัวอสุจิและผลิตฮอร์โมนเพศชายที่สำคัญได้แก่ เทสโทสเทอโรน (เทวินทร์, 2542)

2. Secondary sex organs ทำหน้าที่เป็นท่อเพื่อนำอสุจิจากแหล่งผลิตหรืออัณฑะออกสู่ภายนอก ได้แก่ ท่อต่าง ๆ คือ เรเตเทสทิส (rete testis), ท่อพักอสุจิ (epididymis), ท่อนำเชื้ออสุจิ (vas deferens), แอมพูลา (ampulla), ท่อปัสสาวะ (urethra) และ ลึงค์ (penis)

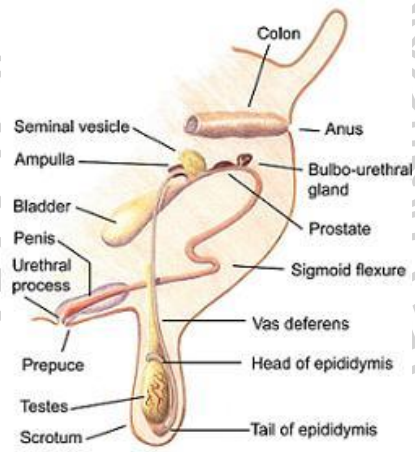
ภายในอัณฑะจะมีท่อเซมินิเฟอรัสเป็นที่สร้างอสุจิ ซึ่งภายในท่อจะประกอบด้วยเซลล์เซอโทลิ (sertoli cell) และเซลล์สืบพันธุ์ (germinal cell) อสุจิที่ยังไม่เจริญจะมีลักษณะกลมอยู่ในวงล้อมของเซลล์เซอโทลิ เซอโทลิจะสร้างโปรตีนที่จับกับฮอร์โมนเพศชาย (androgen binding protein) ทำให้เทสโทสเทอโรนมีระดับสูงที่ทำให้มีการผลิตอสุจิได้ แล้วตัวอสุจิจะเคลื่อนที่ไปยังท่อพักน้ำเชื้อซึ่งต่อกับท่อนำเชื้ออสุจิ จากนั้นอสุจิจะเข้าสู่ท่อหลั่งน้ำอสุจิ (ejaculatory duct) ซึ่งเปิดเข้าสู่ท่อปัสสาวะตรงต่อมลูกหมาก (prostate gland)

3. Accessory sex organs ต่อมร่วม (accessory gland) ต่อมร่วมจะอยู่บริเวณ pelvic portion ของท่อปัสสาวะ โดยมีท่อออกสู่ท่อปัสสาวะ ต่อมร่วมเป็นแหล่งสำคัญของน้ำเชื้อ มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ (buffer) เป็นแหล่งอาหาร และอื่นๆ ที่ทำให้น้ำเชื้อมีความสมบูรณ์พันธุ์ ต่อมร่วมมี 3 ต่อม ได้แก่ ต่อมเวสคิวล่าร์ (vesicular gland), ต่อมลูกหมาก (prostate gland) และต่อมคาวเปอร์ หรือต่อมบัลโบยูรีทรัล (cowper gland or bulbourethral gland)

1) ต่อมเวสคิวล่าร์ เป็นต่อมคู่ แต่ละต่อมมีลักษณะคล้ายพวงองุ่น ท่อเปิดของต่อมเวสคิวล่าร์ (vesicular gland) จะเปิดบริเวณใกล้กับ bifurcation ซึ่งเป็นบริเวณที่แอมพูลาต่อกับท่อปัสสาวะ ซึ่งมีสารอินทรีย์มากมายหลายชนิด

2) ต่อมลูกหมาก เป็นต่อมเดียว และอยู่รอบตามยาวของท่อปัสสาวะใกล้กับท่อเปิดของต่อมเวสคิวล่าร์ สามารถคลำต่อมลูกหมากได้โดยผ่านทางทวารหนัก น้ำเชื้อที่มาจากต่อมนี้มีปริมาณเพียงเล็กน้อย ซึ่งประกอบด้วยสารอนินทรีย์ (inorganic ions) ได้แก่ โซเดียม, คลอไรด์, แคลเซียม และแมกนีเซียม

3) ต่อมคาวเปอร์หรือต่อมบัลโบยูรีทรัล เป็นต่อมคู่ วางตัวตามยาวของท่อปัสสาวะ ต่อมคาวเปอร์หรือต่อมบัลโบยูรีทรัล จะสร้างของเหลวเพียงนิดเดียว



ภาพที่ 6 อวัยวะสืบพันธุ์แพะเพศผู้

ที่มา: Abeb (2016)

2.5.1 น้ำเชื้อ

น้ำเชื้อ ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นเซลล์อสุจิ (spermatozoa) และส่วนที่เป็นของเหลว (seminal plasma) เซลล์อสุจิสร้างมาจาก spermatogonia หรือ stem cell ในท่อเซมินิ

เฟอรัส โดยขบวนการ spermatogenesis อสุจิจะถูกส่งมาเก็บสะสมไว้ที่ท่อพักอสุจิ ในส่วนนี้อสุจิจะมีการพัฒนาเปลี่ยนแปลงเป็นอสุจิที่สมบูรณ์และพร้อมหลั่งออกนอกร่างกาย ความสามารถในการผลิตอสุจิของอัณฑะขึ้นอยู่กับกรรมพันธุ์และอายุของสัตว์ โดยปกติการผลิตอสุจิจะเริ่มเมื่อ สัตว์เป็นหนุ่ม คือ เมื่อสัตว์มีความเจริญเติบโตทางเพศเต็มที่การผลิตอสุจิถูกกระตุ้นโดยฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าคือ ลูติไนซิงฮอร์โมน (luteinizing hormone ; LH) และฟอลลิเคิลสติมูลเลติงฮอร์โมน (follicle stimulating hormone ; FSH) โดยฮอร์โมน LH มีผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของอินเตอร์สิติเตียล (interstitial) หรือ เซลล์เลดิก ซึ่งเซลล์เลดิกทำหน้าที่ในการหลั่งฮอรโมนเทสโทสเทอโรน และฮอร์โมนนี้มีผลกระตุ้นท่อเซมินิเฟอรัสให้ทำหน้าที่ในการผลิตอสุจิ นอกจากนี้ฮอร์โมนเทสโทสเทอโรนยังมีผลต่อการเจริญเติบโตการพัฒนาและการทำงานของต่อมร่วมต่างๆ ได้แก่ ต่อมเวสคิวล่าร์ ต่อมลูกหมาก และต่อมคาวเปอร์หรือต่อมบัลโบยูรีทรัล ส่วนฮอร์โมน FSH มีผลต่อขบวนการสร้างตัวอสุจิ รูปร่างลักษณะของอสุจิเป็นเซลล์ที่มีลักษณะพิเศษซึ่งไม่เจริญและแบ่งตัวอีก ประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ส่วนหัว (head) ส่วนคอ (neck) และส่วนหาง (tail)

ส่วนที่เป็นของเหลว หรือเซมินอลพลาสมา เป็นสารซึ่งหลั่งจากต่อมเพศผู้โดยมีหน้าที่สร้างสารที่มีประโยชน์สำหรับตัวอสุจิ สารนี้จะปนออกมากับอสุจิ ในขณะที่พ่อพันธุ์หลั่งน้ำเชื้อ ต่อมเพศผู้ที่สำคัญ ได้แก่ ต่อมแอมพุลลารี ถุงน้ำเลี้ยงอสุจิ ต่อมลูกหมาก ต่อมคาวเปอร์หรือต่อมบัลโบยูริทัล และต่อมโคแอกกูเลติง ในขณะที่พ่อพันธุ์ทำการผสมพันธุ์พ่อพันธุ์จะทำการหลั่งน้ำเชื้อ ซึ่งสามารถมองเห็นของเหลวสีขาวขุ่น น้ำเชื้อนี้ คือ อสุจิผสมกับเซมินอลพลาสมา (เทวินทร์, 2542)

2.6 **การรีดเก็บน้ำเชื้อแพะ**

อวัยวะสืบพันธุ์ของแพะเพศผู้มีรูปร่างคล้ายกับสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดอื่น อัณฑะมีรูปร่างคล้ายของโคแต่ขนาดเล็กกว่า แต่ลึงค์ในแพะมีท่อปัสสาวะยื่นโผล่พ้นออกจากหัวองคชาต (เฉลิม, 2552) การรีดน้ำเชื้อจากพ่อแพะสามารถทำได้ 3 วิธีด้วยกัน คือ 1) การใช้ช่องคลอดเทียม (artificial vagina) 2) การใช้เครื่องกระตุ้นการหลั่งน้ำเชื้อด้วยไฟฟา (electro-ejaculator) และ 3) การเก็บน้ำเชื้อจากท่อพักอสุจิ (postmortem epididymis recovery) (เฉลิม, 2552) การรีดเก็บน้ำเชื้อด้วยเครื่องกระตุ้นการหลั่งน้ำเชื้อด้วยไฟฟานั้น จะทำให้ได้น้ำเชื้อปริมาณมากแต่ความเข้มข้นของตัวอสุจิต่ำกว่าการใช้ช่องคลอดเทียม แต่ไม่ส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Akusu et al., 1984) อย่างไรก็ตามเซมินอลพลาสมานี้จะเป็นอันตรายกับตัวอสุจิเมื่อมีการเก็บรักษาน้ำเชื้อ (Leboeuf et al., 2000) วิธีการใช้เครื่องกระตุ้นการหลั่งน้ำเชื้อแตกต่างกันไปตามบริษัทที่ผลิต ปกติจะใช้แรงดันไฟฟ้าประมาณ 2-15 โวลต์ อาจใช้มือปรับเองหรือเป็นระบบอัตโนมัติที่ทำงานเป็นรอบมีจังหวะ หยุด และพักเป็น

ระยะ (Crenshaw et al., 1999; Sundararaman et al., 2009; พีระศักดิ์, 2548) การเก็บน้ำเชื้อจากท่อพักอสุจิหรืออิพิดิไดมิสนั้นเป็นการเก็บน้ำเชื้อจากแพะเพศผู้ที่ถูกชำแหละจากโรงฆ่าสัตว์แลวนำน้ำเชื้อไปผสมเทียมหรือเก็บรักษาต่อไป มีรายงานนำไปแช่แข็ง (Kundu et al., 2002; Kundu et al., 2001; Santiago-Moreno et al., 2006) และคุณภาพของน้ำเชื้อที่ผ่านการแช่แข็งจากวิธีนี้อยู่ในระดับดีกล่าวคือ ตัวอสุจิเคลื่อนที่ในระดับสูง 60.3 ± 4.4 % (Santiago-Moreno et al., 2006)

2.7 การเก็บรักษาน้ำเชื้อ

น้ำเชื้อที่เก็บได้จากพ่อพันธุ์ภายหลังจาการรีด หากเก็บไว้ภายนอกโดยไม่มีการเติมสารละลายเจือจาง จะมีการเสื่อมสภาพหรือแก่อย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีการสร้างของเสียและสารต่างๆ ที่เป็นอันตรายต่อการดำรงชีวิตของอสุจิ มีการสูญเสียพลังงาน ขณะเดียวกันผนังเซลล์และ ออร์แกลเนล (organelles) ภายในจะมีการเสื่อมสภาพจนอสุจิไม่สามารถปฏิสนธิได้ และจะตายไปในที่สุดในระยะเวลาอันสั้น

ในการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ พ่อพันธุ์จะปลดปล่อยน้ำเชื้อในระบบสืบพันธุ์เพศเมียที่อยู่ในระยะพร้อม ซึ่งสภาพภายในระบบสืบพันธุ์มีสภาพที่เอื้ออำนวยต่อการอยู่รอดของอสุจิ เป็นหลักประกันที่จะทำให้เกิดการปฏิสนธิกับไข่ต่อไปได้ อสุจิจะสามารถดำรงชีวิตภายในระบบสืบพันธุ์ของเพศเมียได้ในระยะเวลาหนึ่งแตกต่างกันไปในสัตว์แต่ละชนิด

การเก็บรักษาน้ำเชื้อมีวัตถุประสงค์หลัก 2 ประการ คือ

1. เพื่อรักษาระดับความสมบูรณ์พันธุ์หรืออัตราการผสมติดเอาไว้ให้ยาวนานกว่าธรรมชาติ
2. เพื่อเพิ่มปริมาณน้ำเชื้อ ให้สามารถนำไปผสมเทียมกับแม่พันธุ์ได้จำนวนมากกว่าที่ผสมได้ในธรรมชาติ

ซึ่งวิธีการเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อมี 2 วิธี คือ 1) การเก็บรักษาในสภาพเหลวที่อุณหภูมิห้องถึง 5 องศาเซลเซียส (semen preservation in liquid state) และ 2) การเก็บรักษาในสภาพแช่แข็งในอุณหภูมิต่ำมาก (deep frozen semen) ซึ่งนิยมเก็นรักษาที่ -196 องศาเซลเซียส ในถังไนโตรเจนเหลว

2.8 หลักในเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อในสภาพของเหลว

การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อเหลวเป็นแนวทางหนึ่งที่ปฏิบัติโดยทั่วไป แต่ก็มีจุดอ่อนเช่นเดียวกัน คือ น้ำเชื้อเจือจางซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม. ขึ้นไป ให้อัตราการผสมติดต่ำลง ระดับความเข้มข้นของไขมันทั้งหมด ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิลดลง ซึ่งแสดงถึงการเสื่อมสภาพของอสุจิ นอกจากนี้ยังทำให้ระดับของ ATP ลดต่ำลงกว่าน้ำเชื้อเจือจางที่รีดมาใหม่อีกด้วย จึงเห็นได้ว่าแม้เก็บรักษาน้ำเชื้อที่อุณหภูมิต่ำก็ตาม น้ำเชื้อยังคงเคลื่อนที่และมีคุณภาพลดลงอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นหากสามารถชะลอการเคลื่อนที่ของอสุจิให้ลดต่ำลงโดยที่อสุจิยังคงมีสภาพสมบูรณ์ อาจเป็นแนวทางหนึ่งในการปรับปรุงวิธีการเก็บรักษาคุณภาพน้ำเชื้อแบบแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ให้ดีขึ้น ในปัจจุบันการเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบเหลวโดยการแช่เย็นนั้นยังมีข้อจำกัดและมีความยืดหยุ่นน้อยในการใช้งาน เนื่องจากสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อให้คงสภาพอัตราการผสมติดได้ดีของน้ำเชื้อที่เก็บรักษาแบบเหลวได้ไม่เกิน 1 วัน

นอกจากคุณภาพเบื้องต้นของน้ำเชื้อแล้วมีปัจจัยต่างๆ ที่มีผลกระทบต่อคุณภาพน้ำเชื้อที่ทำการเก็บรักษาได้แก่ วิธีการเจือจาง อุณหภูมิที่เก็บรักษา แหล่งพลังงานในสารละลายเจือจาง ความดันสารละลาย และสมดุลย์อิเลคโทรไลท์ ระดับความเป็นกรดด่าง สภาพบรรยากาศภายในหลอดเก็บน้ำเชื้อ การควบคุมจุลินทรีย์ สารที่เป็นพิษต่ออสุจิ สารป้องกันอุณหภูมิต่ำ สารเสริมที่เติมลงในสารละลายเจือจาง วิธีการปฏิบัติขณะทำการเก็บรักษา (เทวินทร์, 2542)

2.8.1 การเจือจางน้ำเชื้อ

1. อุณหภูมิของสารละลายเจือจาง ภายหลังการรีดน้ำเชื้อ การเปลี่ยนแปลงอุณภูมิที่รวดเร็วจะมีผลเสียต่อคุณภาพน้ำเชื้อ ดังนั้นน้ำเชื้อควรเก็บในภาชนะที่สามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิได้ โดยส่วนใหญ่ภายหลังได้น้ำเชื้อมาแล้ว มักจะเก็บในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ในอุณหภูมิระดับ 30-35 องศาเซลเซียส สารละลายเจือจางและน้ำเชื้อควรจะมีระดับอุณหภูมิเท่ากัน ทั้งนี้เพื่อป้องกันความเสียหายของน้ำเชื้อจากความเย็น

2. ระยะเวลาจาการเก็บน้ำเชื้อและการเจือจาง ควรดำเนินการเจือจางภายในระยะเวลาสั้นที่สุดภายหลังการรีดเก็บ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของจุลินทรีย์ และรักษาสภาวะที่เหมาะสมให้กับอสุจิ

3. อัตราการเจือจางน้ำเชื้อ การเจือจางควรคำนึงถึง จำนวนอสุจิที่จำเป็นต่อการผสมเทียม 1 ครั้ง หากมีการเจือจางในอัตราส่วนของสารละลายเจือจางที่สูงมาก จะมีผลทำให้เกิดความเสียหายที่เรียกว่า “dilution effect” ซึ่งทำให้อสุจิเคลื่อนที่ช้าลง อย่างไรก็ตามสารละลายเจือจางที่มีองค์ประกอบของไข่แดง นม และพลาสมา จะบรรเทาหรือขจัดปัญหาดังกล่าวได้ อัตราการเจือ

จางน้ำเชื้อของแพะโดยทั่วไปไม่เกิน 5 เท่า แต่สามารถยึดเอาจำนวนอสุจิ/dose เป็นบรรทัดฐานในการเจือจางด้วย

2.8.2 อุณหภูมิในการเก็บรักษา

ในสภาพที่มีอุณหภูมิสูงน้ำเชื้อจะมีเมตาบอลิซึมสูง เคลื่อนที่แรงก่อให้เกิดสิ่งปฏิกูลและสิ่งที่เป็นพิษ นอกจากนี้แล้วอุณหภูมิสูงยังเอื้ออำนวยต่อการขยายจำนวนของจุลินทรีย์ที่มีในน้ำเชื้อ แม้ว่าจะควบคุมด้วยยาปฏิชีวนะแล้วก็ตาม การลดอุณหภูมิลงจึงมีผลต่อการอยู่รอดของอสุจิหรือรักษาคุณภาพน้ำเชื้อให้อยู่ได้ยาวนานขึ้น การเก็บรักษาน้ำเชื้อในสภาพเหลวสำหรับแพะนิยมเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น 5 องศาเซลเซียส โดยน้ำเชื้อที่เก็บรักษาที่ระดับอุณหภูมินี้ จะมีอัตราการผสมติดต่ำลงภายหลังการเก็บรักษาไปแล้ว 3-4 วัน

2.8.3 แหล่งพลังงาน

พลังงานที่อสุจิต้องการส่วนใหญ่ใช้เพื่อการเคลื่อนไหว การเพิ่มเติมสารพลังงานลงไป จึงมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อดำรงสภาวะปกติของเซลล์ อสุจิมีความสามารถที่จะเกิดเมตาบอลิซึมทั้งแบบต้องการออกซิเจน (aerobic) และแบบไม่ต้องการออกซิเจน (anaerobic) แหล่งพลังงานโดยทั่วไปที่เติมลงในสารละลายเจือจาง ได้แก่ glucose หรือ fructose ในขณะเดียวกันไข่แดงซึ่งใช้ในสารละลายเจือจางหลายสูตรก็เป็นแหล่งของน้ำตาล และสารประกอบอื่นๆ ที่อสุจิสามารถนำไปใช้ได้

2.8.4 ความดันสารละลายและสมดุลย์อิเลคโทรไลท์

โดยปกติน้ำเชื้อของสัตว์จะมีความดันสารละลายใกล้เคียง 300 milliosmols (mOsmol) โดยความสามารถที่จะยอมให้สารแต่ละตัวผ่านเข้าออกเซลล์มีความแตกต่างกัน และนอกจากนี้แล้วยังมีปัจจัยอื่นเข้ามาเกี่ยวข้อง ตัวอย่างเช่น pH อิออนเฉพาะ ตลอดจนสารที่ไม่ให้อิเลคโทรไลท์ เป็นต้น ซึ่งทำให้ค่าความดันสารละลายที่วัดได้ในระดับที่เท่ากับความดันสารละลายของน้ำเชื้อ (isotonic) อาจไม่เป็นจริงก็ได้ อย่างไรก็ตามอสุจิก็ทนต่อสภาวะ hypertonic และ hypotonic ได้ในระดับหนึ่ง หากความดันสารละลายสูงหหรือต่ำเกินไป อสุจิจะหางงอ เคลื่อนที่วนและตาย (osmotic shock) ความทนได้ของอสุจิจะเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาร่วมระหว่าง pH และจำนวนและชนิดของอิออนต่างๆ ดังนั้นสารละลายเจือจางน้ำเชื้อควรจะมีความดันสารละลายใกล้เคียงกับน้ำเชื้อ

2.8.5 การป้องกันการเปลี่ยนแปลงระดับ pH

อสุจิต้องการสภาพที่มีการป้องกันการเกิดพิษภายในสิ่งแวดล้อม ซึ่งมักมาจากผลการผลิตกรด ที่เกิดการขบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งจะเกิดขึ้นในปริมาณที่สูงขึ้นหากอยู่ในระดับอุณหภูมิที่สูง ระดับ pH ที่เหมาะสม สำหรับการมีชีวิตรอด และความสามารถในการผสมติดอยู่ใกล้เคียงกับ pH 7

2.8.6 สภาวะของก๊าซในภาชนะเก็บน้ำเชื้อ

ควรมีการควบคุมสภาวะก๊าซในภาชนะเก็บน้ำเชื้อในขณะทำการเก็บรักษาคุณภาพ ก๊าซ CO_2 และ N_2 จะมีผลทำให้เมตาบอลิซึมของอสุจิต่ำลง ในขณะที่ H_2O_2 ในน้ำเชื้อซึ่งเกิดจากการเมตาบอลิซึมและมาจากอสุจิที่ตายจะเป็นพิษต่ออสุจิ ก๊าซ O_2 ในขณะที่มีแสงสว่างจะมีผลเสียต่ออสสุจิในห้องปฏิบัติการบางแห่งมีการใช้สารละลายเจือจางที่มีการปล่อย CO_2 ลงจนอิ่มตัวในการเจือจางน้ำเชื้อ เช่น สูตร IVT เป็นต้น หรือมีการปล่อย CO_2 หรือ N_2 แทนที่บรรยากาศในหลอดเก็บน้ำเชื้อเป็นต้น

2.8.7 การควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์

สารละลายเจือจางเป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับจุลินทรีย์ โดยเฉพาะในสูตรที่มีองค์ประกอบของไข่แดงและนม นอกจากนี้แล้วการเก็บรักษาน้ำเชื้อเหลวในสภาพอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิตู้เย็นก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้จุลินทรีย์เจริญได้ดี และผลิตสารที่เป็นพิษต่ออสุจิ โดยทั่วไปแล้วมีการเติมยาปฏิชีวนะลงในน้ำเชื้อโดยตรงและให้สารละลายเจือจาง และยาที่ใช้กันกว้างขวาง คือ penicillin ระดับ 500 IU – 1000 IU/ml และ streptomycin ระดับ 500 – 1000 มก./มล. ซึ่งเมื่อใช้ยาทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน จะมีคุณสมบัติเป็นยาปฏิชีวนะวงกว้าง

2.8.8 สารพิษและโลหะหนัก

โลหะหนักเป็นพิษต่ออสุจิ ดังนั้นน้ำกลั่นที่ใช้จึงควรกลั่นจากเครื่องกลั่นแก้ว นอกจากนี้แล้วสารเคมี

ยาฆ่าเชื้อประเภทต่างๆ ล้วนแต่เป็นอันตรายต่ออสุจิทั้งสิ้น การฆ่าเชื้อเครื่องมือด้วย 70 % แอลกอฮอล์ ควรปล่อยให้แห้งก่อนนำมาใช้งาน

การทำความสะอาดเครื่องมือด้วยน้ำยาดีเทอร์เจนต์ (detergent) ต่างๆ ต้องระมัดระวัง ควรใช้กลุ่ม non-ionic detergent ควรหลีกเลี่ยงการใช้ผงซักฟอก หากใช้ต้องล้างอุปกรณ์ให้สะอาดด้วยน้ำประปาหลายครั้งและกลั้วด้วยน้ำกลั่น และทำให้แห้งก่อนใช้งาน

2.8.9 การป้องกันความเสียหายของอสุจิในอุณหภูมิต่ำ

เมื่อลดอุณหภูมิน้ำเชื้อลงไปถึง 5 องศาเซลเซียส อสุจิของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะเกิดความเสียหายที่เรียกว่า การช็อคจากความเย็น (cold shock) ขึ้น โดยมีการสูญเสียสิ่งต่างๆ จากภายในเซลล์ออกสู่ภายนอกคือ เอนไซม์ โปแตสเซียม ไลโปโปรตีน ATP และอื่นๆ การเคลื่อนที่ได้ของอสุจิจะต่ำลง และหางงอ กลไกต่างๆ ที่เกิดขึ้นยังไม่ทราบแน่ชัด การค่อยๆ ลดอุณหภูมิเป็นหนทางหนึ่งที่แก้ไขปัญหานี้ได้ องค์ประกอบในวัตถุธรรมชาติ คือ นมและไข่ สามารถป้องกันการช็อคจากความเย็นได้เช่นกัน สารต่างๆ เหล่านี้ ได้แก่ เลซิทิน โปรตีน และไลโปโปรตีน เป็นต้น ปกติแล้วสารละลายใน

การเก็บรักษาน้ำเชื้อที่อุณหภูมิตู้เย็นและการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง จะมีองค์ประกอบส่วนหนึ่งเป็นไข่แดง นอกจากนี้ยังมีการเติมกลีเซอรอลในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่ทำการเก็บรักษาในอุณหภูมิตู้เย็น

2.8.10 การเติมสารเสริมต่างๆ ในสารละลายเจือจาง

มีการเติมสารเสริมต่างๆ ลงในสารละลาบเจือจางน้ำเชื้อ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาคุณภาพและอัตราการผสมติด ซ่งมีทั้งที่ให้ผลดีและเป็นโทษต่ออสุจิและทำให้การผสมติดต่ำลง

2.9 สารละลายเจือจางน้ำเชื้อ

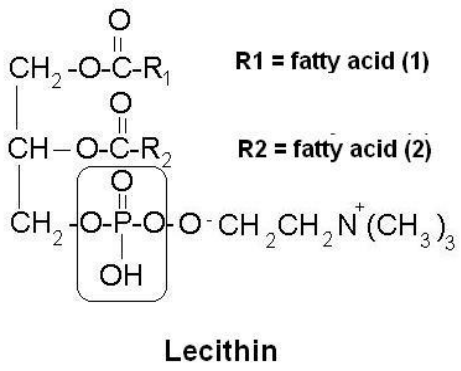
วัตถุประสงค์ในการเจือจางน้ำเชื้อ คือ การยืดอายุการมีชีวิตรอดของอสุจิเพื่อให้มีความสามารถในการผสมติดยาวนานขึ้น และเพื่อเพิ่มปริมาณน้ำเชื้อ ให้สามารถนำไปผสมเทียมกับแม่พันธุ์ได้จำนวนมากขึ้น ซึ่งคุณสมบัติทั่วไปของสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ คือ

1. มีความดันสารละลายใกล้เคียงกับน้ำเชื้อ
2. มีคุณสมบัติในการป้องกันการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง (pH) อันเนื่องมาจากการผลิตกรดในน้ำเชื้อ
3. น้ำเชื้อที่เก็บรักษาในระดับอุณหภูมิตู้เย็น สารละลายเจือจางต้องมีส่วนประกอบของเลซิทินและไลโปโปรตีนจากนมหรือไข่ เพื่อป้องกันความเสียหายจากการช็อคจากความเย็น
4. เป็นแหล่งพลังงานแก่อสุจิ ซึ่งได้มาจาก นม ไข่ และน้ำตาล
5. สามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ โดยเติมยาปฏิชีวนะ (เทวินทร์, 2542)

ซึ่งในการพัฒนาสูตรสารละลายเจือจางน้ำเชื้อให้เหมาะกับสัตว์แต่ละชนิดนั้นมีความสำคัญมาก เพราะจะส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพน้ำเชื้อและการนำไปใช้ผสมเทียม โดยทั่วไปสารละลายเจือจางน้ำเชื้อจะมีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ ฟอสโฟลิปิด (phospholipid (lecithin)) ซึ่งเป็นสารที่เติมลงไปเพื่อป้องกันการช็อคจากความเย็น ทำหน้าที่เหมือนฟิล์มเคลือบอยู่รอบนอกเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิ (Manjunath, 2012) และสามารถเข้าไปแทนที่ฟอสโฟลิปิดในโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์อสุจิในระหว่างการลดอุณหภูมิ ทำให้ลดความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ได้ ซึ่งสารป้องกันการช็อคจากความเย็นที่นิยมใช้ในการแช่แข็งน้ำเชื้อโค คือ ไข่แดง (egg yolk) ซึ่งในน้ำเชื้อแพะนั้นพบว่าไข่แดงจะไปทำปฏิกิริยา hydrolysis กับ egg yolk coagulating enzyme (EYCE) ที่พบในเซมินอลพลาสมา ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ลดความสามารถในการเคลื่อนที่ของอสุจิ (Leboeuf et al., 2000; Purdy P.H., 2006) จึงมีการศึกษาเพื่อลดปริมาณการใช้ไข่แดงในสารละลายเจือจางน้ำเชื้อ

แพะ (ณรงค์ และคณะ, 2551) ซึ่งผลที่ได้ไม่ดีเท่าที่ควรต่อมาจึงมีการใช้วิธีการปั่นแยกเอาเซมินอลพลาสมาออกก่อนที่จะเติมสารละลายเจือจางน้ำเชื้อที่มีไข่แดง (อนนท์ และคณะ, 2551)) ซึ่งในการผลิตน้ำเชื้อในปัจจุบันจะใช้วิธีการนี้ อย่างไรก็ตาม การใช้ไข่แดงในสูตรสารละลายเจือจางยังมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อโรค จึงได้มีการวิจัยและพัฒนาสูตรโดยการใช้เลซิทินจากแหล่งอื่นๆ เช่น สารสกัดเลซิทินจากถั่วเหลืองมาใช้ทดแทนไข่แดงมากขึ้น (Forouzanfar et al., 2010; Sarıozkan et al., 2010; Salmani et al., 2013; Vidal et al., 2013; Salmani et al., 2014) ดังแสดงในตารางที่ 4

เลซิทิน (lecithin) เป็นลิพิด (lipid) ประเภทฟอสโฟลิพิด (phospholipid) ซึ่งเกิดจากการรวมตัวของ กลีเซอรอล (glycerol) 1 โมเลกุล ของกรดไขมัน (fatty acid) 2 โมเลกุล และกรดฟอสฟอริก 1 โมเลกุล



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของสารประกอบกลุ่มเลซิทิน

ที่มา: พิมพ์เพ็ญ และธิยา (2561)

เลซิทิน มีสารที่สำคัญคือ ฟอสฟาทิดิล โคลีน (phosphatidyl choline) ฟอสฟาทิดิล เอทาโนลามีน (phosphatidyl ethanolamine) ฟอสฟาทิดิล อิโนซิทอล (phosphatidyl inositol) และกรดฟอสฟาทิดิก (phosphatidic acid) ผลิตภัณฑ์ของเลซิทินมีลักษณะทั้งที่เป็นของเหลว ข้น เหนียว และเป็นของแข็ง ซึ่งขึ้นกับปริมาณสารสำคัญทั้ง 4 ชนิด แหล่งที่พบ เลซิทินพบมากทั้งในไข่แดง ถั่วเหลือง น้ำนม สมอง ตับ ไต ปลา เมล็ดธัญพืช น้ำมันพืช และสัตว์ต่างๆ ในไข่แดงมีเลซิทินประมาณร้อยละ 6-8 สำหรับในพืชพบว่าถั่วเหลืองมีเลซิทินนสูงที่สุดประมาณ ร้อยละ 1.1-3.2 ในข้าวโพดมีร้อยละ 1.0-2.4 และในเมล็ดฝ้ายพบเพียงร้อยละ 0.7 (พิมพ์เพ็ญ และธิยา, 2561)

ตารางที่ 4 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ตัวแปร	การเคลื่อนที่ (%)	การมีชีวิตรอด (%)	ตัวผิดปกติ (%)	ความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์	อ้างอิง
Egg yolk concentrations					ณรงค์ และคณะ (2551)
2.5 %	25.0±4.8	32.5±5.0	58.4±2.8	-	
5 %	25.0±4.7	35.6±5.3	51.7±4.3	-	
10 %	31.0±5.5	41.9±5.9	51.0±2.9	-	
เปรียบเทียบการปั่นเหวี่ยง					อนนท์ และคณะ (2551)
ปั่น	62.0±3.7	72.4±3.5	46.5±3.6	85.6±1.5	
ไม่ปั่น	36.0±4.0	51.8±3.5	42.6±2.4	83.6±1.4	
ความเร็วxเวลา ในการปั่น					ภูเบศวร์ และคณะ (2555)
500x3	27.2	31.8	-	-	
500x10	36.0	46.6	-	-	
1500x3	40.6	50.7	-	-	
1500x10	35.6	43.4	-	-	

ตารางที่ 4 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (ต่อ)

ตัวแปร	การเคลื่อนที่ (%)	การมีชีวิตรอด (%)	ตัวผิดปกติ (%)	ความสมบูรณ์ของเนื้อเยื่อ	อ้างอิง
สารเจือจางน้ำเชื้อ					Salmani et al. (2013)
ไข่แดง (กลุ่มควบคุม)	-	66..89	-	-	
เลซิตินจากถั่วเหลือง (กลุ่มควบคุม)	-	63.71	-	-	
เลซิตินจากถั่วเหลือง	-	60.24	-	-	
ที่ใส่กลูตาไธโอน 5 mM					
เลซิตินจากถั่วเหลือง	-	57.98	-	-	
ที่ใส่กลูตาไธโอน 10 mM					
สารเจือจางน้ำเชื้อ					Vidal et al. (2013)
Skim milk	-	-	-	56.75±14.21	
ทริส + เลซิติน 0.04%	-	-	-	62.25±14.12	
ทริส + เลซิติน 0.08%	-	-	-	63.00±17.42	
ทริส + เลซิติน 0.16%	-	-	-	61.33±15.72	
สารเจือจางน้ำเชื้อ					Chelucci et al. (2015)
ทริส (กลุ่มควบคุม)	10	25	-	32.7±4.5	
ไข่แดง 20%	40	56	-	38.7±4.5	
เลซิตินจากถั่วเหลือง 1%	30	45	-	66.2±4.5	

ตารางที่ 4 ตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (ต่อ)

ตัวแปร	การเคลื่อนที่ (%)	การมีชีวิตรอด (%)	ตัวผิดปกติ (%)	ความสมบูรณ์ของเนื้อเยื่อ	อ้างอิง
สารเจือจางน้ำเชื้อ					Salmani et al. (2014)
สารเจือจางน้ำเชื้อที่ใช้ไข่แดงเป็นตัวควบคุม	59.8±1.8	64.9±1.7	-	67.2±1.68	
เลซิตินจากถั่วเหลือง 0.5%	31.6±1.8	49.6±1.7	-	51.7±1.68	
เลซิตินจากถั่วเหลือง 1%	55.2±1.8	61.3±1.7	-	62.4±1.68	
เลซิตินจากถั่วเหลือง 1.5%	58.4±1.8	62.7±1.7	-	66±1.68	
เลซิตินจากถั่วเหลือง 2%	51.6±1.8	57.8±1.7	-	61.3±1.68	
เลซิตินจากถั่วเหลือง 2.5%	49.6±1.8	53.3±1.7	-	54.6±1.68	

2.10 การผสมเทียมแพะ

การผสมเทียมแพะด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง เป็นเทคนิคที่นำมาใช้เพื่อการปรับปรุงพันธุ์และกระจายพันธุ์กรรมของพ่อแพะพันธุ์ดีได้อย่างรวดเร็ว ประหยัดค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงพ่อพันธุ์ สะดวกในการจัดการฟาร์ม และป้องกันการแพร่กระจายโรคติดต่อทางการสืบพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งในปัจจุบันการผสมเทียมแพะนิยมทำกันอย่างแพร่หลายในฟาร์มเกษตรกรในทุกภาคของประเทศไทย จากการสนับสนุนและส่งเสริมโดยกรมปศุสัตว์เริ่มตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 วิธีการผสมเทียมโดยทั่วไปเป็นแบบการผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อในคอมดลูก (cervical artificial insemination) ให้กับแม่แพะที่แสดงการเป็นสัดตามธรรมชาติ หรือแม่แพะที่มีการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด และทำการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (fixed time) การผสมเทียมด้วยวิธีการดังกล่าว พบว่าให้อัตราผสมติดที่ค่อนข้างต่ำประมาณ 28.9-65 เปอร์เซ็นต์ (นิวัตน์ และคณะ, 2550; พีรพงษ์ และคณะ, 2552; พีระศักดิ์, 2548; มาลี และคณะ, 2556)

การผสมเทียมแพะ คือ การทำให้เกิดการปฏิสนธิโดยไม่ต้องมีการร่วมเพศตามธรรมชาติ โดยมนุษย์เป็นผู้ฉีดน้ำเชื้อของแพะตัวผู้เข้าไปในอวัยวะสืบพันธุ์ของแพะตัวเมียที่กำลังเป็นสัด เพื่อให้ตัวอสุจิผสมกับไข่ทำให้เกิดการปฏิสนธิ ซึ่งเป็นวิธีที่ต้องทำควบคู่ไปกับการสังเกตอาการเป็นสัดโดยทั่วไปต้องผสมก่อนการตกไข่ ซึ่งการตกไข่จะตกในเวลาที่ค่อนข้างแน่นอนหลังเริ่มอาการเป็นสัด (onset of estrus) หรือเริ่มอาการยืนนิ่งยอมให้เพศผู้ผสม (standing estrus) จึงควรสังเกตอาการเป็นสัดอย่างน้อยวันละ 2 ครั้ง หากต้องการผสมเทียมแพะที่มีระยะการแสดงอาการเป็นสัดสั้น (short estrus duration) อาจมีการตกไข่หลังจากหมดอาการเป็นสัด (end of estrus) แล้ว แต่แพะที่มีระยะการแสดงอาการเป็นสัดยาว (long estrus duration) การตกไข่เกิดก่อนหมดอาการเป็นสัด

เวลาที่เหมาะสมในการทำผสมเทียมขึ้นกับวิธีที่ใช้ผสมเทียม ชนิดของน้ำเชื้อที่ใช้ เช่น น้ำเชื้อสด น้ำเชื้อแช่เย็นหรือน้ำเชื้อแช่แข็ง อายุและพันธุ์ของแพะ การทำการผสมเทียมครั้งเดียวหรือสองครั้ง การเป็นสัดธรรมชาติหรือเหนี่ยวนำการเป็นสัด ชนิดของฮอร์โมนที่ใช้การเหนี่ยวนำการเป็นสัดหรือกระตุ้นการตกไข่ (Faigl et al., 2012; Salamon and Maxwell, 1995) การใช้น้ำเชื้อแช่แข็งร่วมกับการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่เคลือบบนแท่งซิลิโคน (CIDR®) โดยการสอดเข้าไปในช่องคลอดเป็นเวลา 17 วัน ควรทำที่ 48-60 ชั่วโมงหลังถอดฮอร์โมน โดยพบว่า อัตราการตั้งท้องมีค่าลดลงเมื่อทำการผสมเทียมก่อนที่ 24-36 ชั่วโมง หรือช้าที่ 72-78 ชั่วโมงหลังถอดฮอร์โมน (Salamon and Maxwell, 1995) การเหนี่ยวนำด้วย CIDR® ทำให้แพะแสดงอาการสัดเร็ว การเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่เคลือบบนแท่งฟองน้ำ (sponge) ประมาณ 4 ชั่วโมง เมื่อใช้ CIDR® เหนี่ยวนำการเป็นสัด ควรทำการผสมเทียม 50-54 ชั่วโมง หลังถอดโปรเจสเตอ

โรน ในขณะที่การใช้ sponge ควรทำการผสมเทียม 54-58 ชั่วโมงหลังถอดโปรเจสเตอโรน (Steyn, 2010)

2.10.1 การผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (fixed time artificial insemination; FTAI**)** เป็นเทคโนโลยีการสืบพันธุ์ที่ได้รับความนิยมเนื่องจากมีความคุ้มค่า และมีวิธีการ ขั้นตอนที่ค่อนข้างง่ายเหมาะสำหรับการเพิ่มคุณค่าทางพันธุ์กรรมโดยรวมในฝูง และที่สำคัญคือเป็นกระบวนการที่การผสมพันธุ์สัตว์โดยไม่ขึ้นอยู่กับการเป็นสัด แต่สามารถนำน้ำเชื้อเข้าสู่ช่องคลอดท่อนำไข่หรือมดลูกในช่วงที่มีการตกไข่โดยวิธีอื่นนอกเหนือจากการมีเพศสัมพันธุ์ตามธรรมชาติ ซึ่งการผสมเทียมแบบกำหนดเวลานี้มักจะทำควบคู่กับการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่ เช่น การใช้โปรแกรม OvSynch เหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ (Holtz, 2008) เพื่อให้ได้อัตราการผสมติด ที่ยอมรับได้ นอกจากนี้ยังมีการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (การฉีดหรือการสอด / การฝัง CIDR) ควบคู่กับการใช้ฮอร์โมน eCG และ PGF_{2a} หรือ พรอสตาแกลนดินสังเคราะห์ เพื่อให้สามารถผสมเทียมในช่วงเวลาที่กำหนด (Corteel et al., 1988 ; Evan and W.C. Maxwell, 1987; Gordon, 1983 ; Simões J., 2016; Vilariñoa M. et al., 2011) ด้วยวิธีการนี้ทำให้ผู้ผลิตสามารถใช้พ่อแม่พันธุ์ที่ดี ๆ ได้จากทั่วโลกและสามารถผสมเทียมได้ในวันและเวลาเดียวกัน

การที่ใช้พ่อแม่พันธุ์ที่ดีในการผสมพันธุ์ถือเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเพิ่มคุณภาพของฝูง การผสมเทียมแบบกำหนดเวลาเป็นตัวช่วยที่สำคัญที่ทำให้ผู้ผลิตสามารถเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมเข้าไปในฝูง สามารถซื้อน้ำเชื้อที่มีคุณค่าทางพันธุกรรมซึ่งมีลักษณะเฉพาะตามความต้องการได้ และยังสามารถลดการตรวจจับสัดที่ต้องเฝ้าดูในแม่พันธุ์แพะไม่ว่าจะมีหรือไม่มีแพะเพศผู้หรือไม่ก็ตาม นอกจากนี้การผสมเทียมแบบกำหนดเวลายังช่วยให้การบริหารจัดการภายในฟาร์มทั้งด้านแรงงาน อาหารสำหรับเลี้ยงแพะ พ่อพันธุ์ แม่พันธุ์ เป็นเรื่องง่ายมากขึ้น เนื่องจากทำให้การคลอดลูกง่ายในช่วงเวลาที่ใกล้เคียงกันได้ ระยะเวลาการผสมพันธุ์ที่สั้นลง ลดวันท้องว่าหลังคลอด ช่วยปรับปรุงภาวะเจริญพันธุ์ และให้จำนวนลูกที่สม่ำเสมอยิ่งขึ้น

เทคนิคการผสมเทียมแพะแบบต่างๆ

1.การผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อในช่องคลอด (fornix artificial insemination)

การผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อในช่องคลอด เป็นการทำผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อในช่องคลอดส่วนหน้าหรือส่วนที่ต่อจากคอมดลูก โดยไม่ต้องเห็นปากทางเข้าของคอมดลูก (external cervical os) วิธีนี้ให้ผลการตั้งท้องต่ำเมื่อผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง คือ ประมาณ 5-15 เปอร์เซ็นต์

(Cseh et al., 2012) จึงเหมาะที่จะนำมาใช้กับการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสด (fresh) หรือน้ำเชื้อแช่เย็น (chilled semen) ที่มีจำนวนตัวเชื้อที่มีชีวิตจำนวนมาก หรือมีอย่างน้อย $400x10^6$ ตัว ในปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร (Cseh et al., 2012; Faigl et al., 2012) เวลาที่เหมาะในการทำผสมเทียมด้วยวิธีนี้ คือ ผสมก่อนการตกไข่ หรือประมาณ 12-18 ชั่วโมง หลังจากแม่แพะเริ่มอาการเป็นสัดแบบยืนนิ่ง (Evan and Maxwell, 1987)

2. การผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อที่คอมดลูก (cervical artificial insemination)

การผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อที่คอมดลูก เป็นการผสมเทียมโดยการปล่อยน้ำเชื้อในคอมดลูก เป็นวิธีการที่นิยมใช้กันอยู่ทั่วไปในการผสมเทียมแพะ โดยทำการสอดอุปกรณ์ผสมเทียมเข้าไปในคอมดลูกให้ได้ลึกที่สุดเท่าที่จะทำได้โดยไม่ใช้แรงดันเข้าไป ซึ่งส่วนใหญ่จะสามารถสอดเข้าไปได้ลึกประมาณ 5-12 มิลลิเมตร เวลาที่เหมาะในการทำการผสมเทียมด้วยวิธีนี้ คือ ประมาณ 15-17 ชั่วโมง หลังจากแม่แพะเริ่มอาการเป็นสัดแบบยืนนิ่ง หรือ 55 ชั่วโมง หลังถอดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Faigl et al., 2012) หรือประมาณ 45 ชั่วโมงหลังถอดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในการผสมครั้งเดียว หรือในการผสมสองครั้ง ให้ทำการผสมในชั่วโมงที่ 30 และ 48 หลังถอดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Cseh et al., 2012) การผสมเทียมด้วยวิธีนี้ควรใช้น้ำเชื้อ $200x10^6$ ตัว ในปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร (Cseh et al., 2012; Faigl et al., 2012; Sohnrey and Holtz, 2005) อัตราการผสมติดขึ้นอยู่กับความลึกของการปล่อยน้ำเชื้อในคอมดลูก และจำนวนอสุจิที่มีชีวิตที่ใช้ผสมเทียม อย่างไรก็ตาม เวลาที่ใช้ในการผสมเทียมมีผลต่ออัตราการตั้งท้อง โดยมีคำแนะนำให้สอดอุปกรณ์ผสมเทียมลึกไม่เกิน 38 มิลลิเมตร เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดอันตรายต่อคอมดลูก (Faigl et al., 2012) มีรายงานว่าการผสมเทียมที่ใช้เวลาน้อยประมาณ 20 วินาที เปรียบกับการผสมเทียมที่ใช้เวลา 60 วินาที โดยปล่อยน้ำเชื้อในคอมดลูก พบว่ากลุ่มที่ใช้เวลาน้อยให้ผลอัตราการตั้งท้องสูงกว่ากลุ่มที่ใช้เวลานาน (61.0 และ 50.7 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) โดยไม่คำนึงถึงความลึกของการปล่อยน้ำเชื้อในคอมดลูก (Houdeau et al., 2008)

จากการนำเทคนิคนี้มาใช้ผสมเทียมแพะในประเทศไทยมีรายงานดังนี้ มีการศึกษาเปรียบเทียบการผสมเทียมครั้งเดียวกับสองครั้งโดยการผสมเทียมแพะโปรแกรมระยะสั้น 5 วัน แบบกำหนดเวลาโดยการเหนี่ยวการเป็นสัดโดยใช้ CIDR® ในแพะที่เลี้ยงในพื้นที่ภาคใต้ เปรียบเทียบการผสมเทียมครั้งเดียวและสองครั้ง ในชั่วโมงที่ 49 และ 73 หลังถอด CIDR® พบว่า ผลอัตราการตั้งท้องของทั้ง 2 กลุ่ม มีค่าไม่แตกต่างกัน 28.9 เปอร์เซ็นต์ (22/76) และ 34.2 เปอร์เซ็นต์ (26/76) ตามลำดับ (มาลี และคณะ, 2556) นิวัตน์ และคณะ, (2550) รายงานว่า การผสมเทียมแพะนมโดยใช้โปรแกรมการผสมเทียมและเหนี่ยวนำสัดแบบเดียวกัน ให้ค่าอัตราการผสมติด 52 เปอร์เซ็นต์ (21/40) พีรพงษ์ และคณะ, (2552) รายงานว่า การผสมเทียมด้วยวิธีมีค่าอัตราการผสมติดเท่ากับ 50

เปอร์เซ็นต์ และพีระศักดิ์ (2548) การผสมเทียมด้วยวิธีนี้เพียงครั้งเดียว ในชั่วโมงที่ 43-45 มีค่าอัตราการผสมติดเท่ากับ 60-65 เปอร์เซ็นต์

3.การผสมเทียมโดยการสอดอุปกรณ์ผสมเทียมผ่านทางคอมดลูกเพื่อปล่อยน้ำเชื้อในมดลูก transcervical intrauterine insemination)

การผสมเทียมวิธีนี้เป็นการผสมเทียมโดยการสอดปืนผสมเทียมผ่านทางคอมดลูก แล้วไปปล่อยน้ำเชื้อในมดลูก ในแพะควรใช้น้ำเชื้อที่มีจำนวนอสุจิอย่างน้อย $60x10^6$ ตัว ในปริมาตร 0.2-0.5 มิลลิลิตร เวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียม คือ 49-55 ชั่วโมง หลังถอดฮอร์โมนโปร เจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด การตั้งท้องจากการผสมเทียมวิธีนี้ โดยน้ำเชื้อสด และน้ำเชื้อแช่แข็งมีค่าเท่ากับ 40-70 และ 30-70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Cseh et al., 2012; Faigl et al., 2012) การผสมเทียมโดยการสอดอุปกรณ์ผสมเทียมผ่านคอมดลูกเข้าไปในตัวมดลูกอาจทำให้เกิดการบาดแผลทำให้คอมดลูกฉีกขาดได้ จึงไม่นิยมผสมเทียมแพะด้วยวิธีนี้

4. การผสมเทียมโดยการสอดอุปกรณ์ผสมเทียมผ่านทางคอมดลูกโดยปล่อยน้ำเชื้อลึกเข้าไปในส่วนปีกมดลูก deep cornutranscervical insemination)

การผสมเทียมวิธีนี้ เป็นการปล่อยน้ำเชื้อที่ตำแหน่งปีกมดลูก โดยใช้ท่อ (catheter) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก 3.2 มิลลิลิตร ร่วมกับแท่งโลหะนำ (stylet) เพื่อช่วยในการสอดท่อผ่านคอมดลูก เมื่อสอดผ่านรูเปิดของคอมดลูกด้านในแล้วจึงดึงแท่งโลหะนำออก ก่อนที่จะสอดท่อลึกเข้าไปอีกประมาณ 10-12 เซนติเมตร โดยใช้นิ้วที่สอดอยู่ในช่องคลอดควบคุมการสอดเข้าไปทีละข้าง และใช้ท่อ polyethylene (PE) ยาว 40 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางภายนอก 1.52 มิลลิเมตร และภายใน 0.86 มิลลิเมตร เป็นท่อดูดน้ำเชื้อปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ดันท่อ PE ที่มีน้ำเชื้อนี้ผ่านท่อที่สอดไว้แล้ว เพื่อนำน้ำเชื้อไปปล่อยในปีกมดลูก การผสมเทียมด้วยวิธีนี้โดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็ง ให้ผลอัตราการให้ลูกสูงถึง 71 เปอร์เซ็นต์ (Sohnrey and Holtz, 2005) ถึงแม้ว่าวิธีการนี้จะให้ผลอัตราการให้ลูกสูง แต่ก็เป็นวิธีที่มีข้อด้อย คือ เป็นวิธีทำได้ยากและมีโอกาสทำให้มดลูกเกิดบาดแผลได้หากไม่มีความชำนาญและทำให้อัตราผสมติดต่ำลง

5. การผสมเทียมแพะด้วยเทคนิคการส่องกล้องลาพาโรสโคบ (Laparoscopic artificial insemination)

เป็นการผสมเทียมโดยการสอดอุปกรณ์ผ่านหน้าท้องโดยใช้กล้องลาพาโรสโคบ (Laparoscopic Artificial Insemination) ขั้นตอนการทำผสมเทียมด้วยเทคนิคนี้ เริ่มจากเหนี่ยวนำการเป็นสัดแม่พันธุ์ที่จะผสมเทียมด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด ร่วมกับพรอสตาแก

รนดินและพีเอ็มเอสจี ตามวิธีของนิวัตน์ และคณะ, (2550) เวลาที่เหมาะในการทำผสมเทียมด้วยวิธีนี้ คือ 48-65 ชั่วโมง หลังถอดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด และควรใช้น้ำเชื้อที่มีจำนวนอสุจิอย่างน้อย 20-40x10^6 ตัว ในปริมาตร 0.05-0.1 มิลลิลิตร

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 **อุปกรณ์และเครื่องมือ**

3.1.1 วัสดุอุปกรณ์การเลี้ยง

- อาหารข้นสำเร็จรูประดับโปรตีน 21%
- ถังน้ำ
- รางอาหาร
- ยาถ่ายพยาธิภายใน (Albendazol®)
- ยาถ่ายพยาธิภายในและภายนอก (Ivomectin®)

3.1.2 วัสดุอุปกรณ์ในการเก็บข้อมูล

- เครื่องชั่งน้ำหนัก
- กระสอบอาหาร
- เชือก
- เข็มฉีดยา
- กระบอกฉีดยา
- หลอดเก็บตัวอย่างเลือดเคลือบสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด
- กระติกน้ำแข็ง
- น้ำแข็ง
- สำลีก้อน
- แอลกอฮอล์

3.1.3 วัสดุอุปกรณ์ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัด

1) วัสดุอุปกรณ์ในการอัลตราซาวนด์
   - เครื่องอัลตราซาวนด์
   - เจลสำหรับอัลตราซาวนด์
   - สำลีแผ่น
   - แอลกอฮอล์

2) วัสดุอุปกรณ์ในการทดลอง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

- CIDR-G (Pfizer, Co. Ltd.)
- GnRH (Fertagyl®, Intervet, Co. Ltd.)
- PGF_{2a} (Lutalyse®, Pfizer, Co. Ltd.)
- KY gel
- สำลีแผ่น
- แอลกอฮอล์

3.1.4 วัสดุอุปกรณ์การรีดน้ำเชื้อแพะ

- อวัยวะเพศเทียมของแพะเพศเมีย (Artificial vagina: AV)
- หลอดเก็บน้ำเชื้อ (Ampule)
- ตะแกรงวางหลอดน้ำเชื้อ (Rack)
- สารหล่อลื่น (K-Y Gel)
- กระติกน้ำร้อน
- กระปุกเก็บน้ำร้อน
- เทอร์โมมิเตอร์

3.1.5 สารเคมี

- ทริส (Tris-hydroxymethy-methylamine)
- กรดซิตริก (Citric acid)
- กลูโคส (Glucose monohydrate)
- กลีเซอรอล (Glycerol)
- ฟรุกโทส (Fructose monohydrate)
- Egg yolk
- น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (Autoclavable distrilled water)
- Steptomicin
- KH_2PO_4 (Potassium dihydrogenphosphate)
- Na_2HPO_4 (Disodium hydrogenphosphate)
- NaCl (sodium chloride)
- KCl (Potassium chioride)
- Soybean lecitine

3.1.6 อุปกรณ์ในการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (Light microscope)
- เครื่องตรวจวัดความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (Spermacue)
- กระดาษลิตมัส (Litmus paper)
- ไมโครปิเปต (Micropipette)
- แผ่นสไลด์ และกระจกปิดสไลด์ (Slide and cover glass)
- แผ่นสไลด์หลุม
- แผ่นฮีโมไซโตมิเตอร์ (Hemocytometer)
- ตะแกรงใส่หลอดทดลอง
- อุปกรณ์เครื่องแก้ว
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifugation)
- สีย้อมสูตรอิโอซิน-นิโกรซิน (Eosin-nigrosin)
- นาฬิกาจับเวลา (Stop watch)
- เครื่องมือนับ (Counter)

3.2 **วิธีการทดลอง**

ในการศึกษาครั้งนี้จะแบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ชนิดสอดรูปแบบซิลิโคนร่วมกับโกนาโดโทรปินส์หรือโกนาโดโทรปินส์รีลิสซิงฮอร์โมนต่อการกระตุ้นเป็นสัดและการตกไข่ของแพะ

วัตถุประสงค์ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของฮอร์โมนและอัตราการเป็นสัดและการตกไข่ของแพะสาวที่เหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์รูปแบบซิลิโคน (CIRD-G) ร่วมกับโกนาโดโทรปินส์รีลิสซิงฮอร์โมน (GnRH) ที่เสริมหรือไม่เสริมด้วยพรอสตาแกลนดิน (PGF_{2a})

ผลที่คาดว่าจะได้รับ ทราบถึงประสิทธิภาพของการใช้ฮอร์โมนต่ออัตราการเป็นสัดและการตกไข่ของแพะสาว

สัตว์ทดลอง

ใช้แพะสาวสายพันธุ์บอร์ อายุ 8 เดือน หรือยังไม่เคยผสมพันธุ์ (nulliparous doe) และตั้งท้องมาก่อน ที่มีคะแนนร่างกาย (นับจาก 1-5) ประมาณ 2.5 จำนวน 10 ตัว เก็บข้อมูลน้ำหนักตัวก่อนทดลองและทุกสัปดาห์ และใช้พ่อพันธุ์บอร์ 1 ตัว ที่ผ่าตัดท่อส่งน้ำเชื้อ (vasectomized buck) เพื่อ

ใช้ตรวจเช็ค อาการเป็นสัดของแพะเพศเมีย จากนั้นแบ่งกลุ่มสัตว์ทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมี 4 ตัว ก่อนการทดลองมีการปรับสัตว์ โดยการถ่ายพยาธิภายในด้วยอัลเบนดาโซล (Albendazole®) และถ่ายพยาธิภายนอกด้วยไอโวเม็กติน (Ivomectin®) เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจวิเคราะห์โรคแท้งติดต่อ (brucellosis) ปรับอาหารด้วยการให้อาหารข้น 3 % ของน้ำหนักตัว วันละ 2 มื้อ เช้าและเย็น มีกระถินให้ตลอดเวลา การให้น้ำจะเปลี่ยนทุกเช้าและเย็น โดยเลี้ยงแพะในโรงเรือนพื้นยกสูง ขังตัวผู้ในคอกเดี่ยว ทุกเช้าและเย็น จะปล่อยแพะวิ่งบริเวณลานของโรงเรือน เพื่อตรวจสัด นอกจากนี้ยังมีการชั่งน้ำหนักแพะอาทิตย์ละ 1 ครั้ง เพื่อปรับอาหารให้เหมาะสมตาม (NRC, 1981)

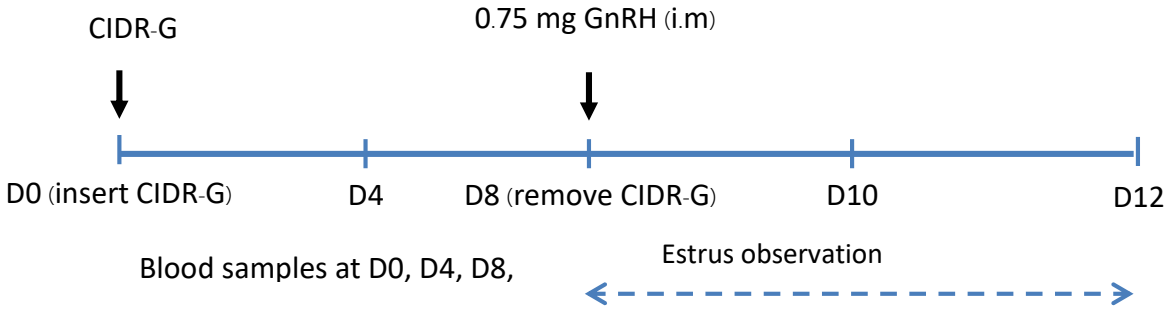
แผนการทดลอง

ในการทดลองได้แบ่งแพะเป็น 2 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 5 ซ้ำ รวมเป็น 10 หน่วยการทดลอง ตามแผนการทดลองสุ่มแบบสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) ดังนี้

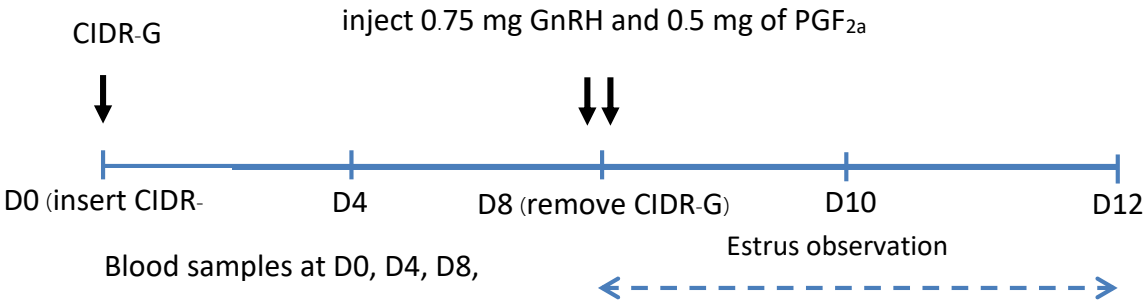
ทรีทเมนต์ที่ 1 (8 days, P4 and GnRH): ทำการสอด CIDR-G 0.3 g ใส่ช่องคลอดเป็นเวลา 8 วัน และฉีด GnRH (Fertagyl® Intervet, Germany) 0.75 mg หลังจากที่ถอด CIDR-G ออกจากช่องคลอด

ทรีทเมนต์ที่ 2 (8 days, P4 and GnRH +PGF_{2a}): ทำการสอด CIDR-G 0.3 g ใส่ช่องคลอดเป็นเวลา 8 วัน และฉีด GnRH 0.75 mg และ PGF_{2a} (Lutalyse®, Pfizer, New Zealand) 0.5 mg หลังจากที่ถอด CIDR-G ออก

ทรีทเมนต์ 1 (8 days, P4 and GnRH):



ทรีทเมนต์ 2 (8 days, P4 and GnRH +PGF_{2a}):



การเก็บข้อมูล

สังเกตและจดบันทึกข้อมูลการเป็นสัดโดยเริ่มการเป็นสัดหลังจากการฉีด GnRH และ GnRH + PGF_{2a} ซึ่งบันทึกจากเปอร์เซ็นต์ของแม่แพะที่แสดงอาการเป็นสัดหลังจากการฉีดฮอร์โมน (ชั่วโมง) ช่วงเวลาการเป็นสัด (ชั่วโมง) ตรวจสอบได้โดยการใช้แพะเพศผู้ที่ตัดท่อน้ำเชื้อแล้ว ซึ่งการตรวจการเป็นสัดจะตรวจสอบการเป็นสัดในแพะทดลองวันละ 2 เวลาในช่วงเช้าเวลาประมาณ 6.00 – 7.00 น. และช่วงเย็นเวลาประมาณ 17.00 – 18.00 น. โดยใช้เวลาการสังเกตการเป็นสัดอย่างน้อย 30 นาที และการสังเกตพฤติกรรมการเป็นสัดของแพะ ซึ่งการบันทึกข้อมูลมีวิธีการ ดังนี้

1. น้ำหนักตัว (body weight) และ สภาพร่างกายของแพะ (body condition score) โดยชั่งน้ำหนักแพะก่อนที่จะเข้าทำการทดลอง และให้คะแนนสภาพของร่างกาย ใช้ระดับคะแนน 1 ถึง 5 โดยคะแนน 1 มีสภาพร่างกายที่ผอมมาก และคะแนน 5 มีสภาพร่างกายที่อ้วนมาก (Ferguson et al., 1994)

2. ตรวจหาอัตราการเป็นสัด = (จำนวนแม่แพะที่แสดงอาการเป็นสัด (ตัว) ×100 / แม่แพะทั้งหมด (ตัว)

3. ระยะเวลาตั้งแต่ถอดฮอร์โมนจนเป็นสัด (ชั่วโมง) วัดได้จากการนับชั่วโมงตั้งแต่ถอดฮอร์โมนจนกระทั่งแพะมีอาการเป็นสัด

4. ระยะเวลาการเป็นสัดของแพะ (ชั่วโมง) นับตั้งแต่ชั่วโมงที่เริ่มเป็นสัดจนกระทั่งสิ้นสุดการเป็นสัด

5. สังเกตอาการเป็นสัดได้จาก แม่แพะจะแสดงอาการกระดกหางบ่อย ปัสสาวะ บ่อย อวัยวะเพศบวมแดง มีเมือกออกจากอวัยวะเพศภายนอก กระวนกระวายไม่พักผ่อน ชอบปีนป่ายตัวอื่นหรือยอมให้ตัวอื่นปีนป่าย

6. ตรวจหาอัตราการตกไข่ โดยการอัลตร้าซาวน์รังไข่ทั้งสองผ่านทางทวารหนัก ในวันที่ 0, 4, 8, 10, 12 เพื่อตรวจนับจำนวนของคอร์ปัสลูเทียม (CL) และการพัฒนาการของฟอลลิเคิลดูจากจำนวนและขนาดของฟอลลิเคิล แบ่งขนาดฟอลลิเคิลเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ขนาดเล็ก (1-2 mm) ขนาดกลาง (2-4 mm) และขนาดใหญ่ (>4 mm) (Gonzalez et al., 2001)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ข้อมูลน้ำหนักตัว (body weight) และ สภาพร่างกายของแพะ (body condition score) ระยะเวลาตั้งแต่ถอดฮอร์โมนจนเป็นสัด ระยะเวลาการเป็นสัดของแพะ จำนวนของคอร์ปัสลูเทียม (CL) จำนวนและขนาดของฟอลลิเคิล และระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (P4) ในพลาสมา วิเคราะห์โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มโดยใช้ Student's T-test ส่วนเปอร์เซ็นต์ของแม่แพะที่แสดงอาการเป็นสัดวิเคราะห์โดยใช้ Chi-square test

การทดลองที่ 2 การเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำเชื้อแพะในสภาพของเหลวจากการผลิตโดยใช้สารละลายน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน

วัตถุประสงค์ เพื่อเปรียบเทียบผลของสารเจือจางน้ำเชื้อที่มีต่อการคุณภาพของน้ำเชื้อแพะพันธุ์บอร์ในสภาพของเหลว

ผลที่คาดว่าจะได้รับ ทราบถึงประสิทธิภาพของสารเจือจางน้ำเชื้อที่มีผลต่อน้ำเชื้อแพะพันธุ์บอร์ และทราบถึงคุณสมบัติของสารเจือจางน้ำเชื้อแต่ละชนิดที่มีผลต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อแพะในสภาพของเหลวมากที่สุด

สัตว์ทดลอง

แพะพันธุ์บอร์เพศผู้ อายุประมาณ 2-3 ปี มีน้ำหนักประมาณ 50-70 กิโลกรัม จำนวน 3 ตัว ที่มีคะแนนร่างกาย (นับจาก 1-5) อยู่ในช่วง 2.5 ก่อนการทดลองมีการปรับสัตว์ โดยการถ่ายพยาธิภายในด้วยอัลเบนดาโซล (Albendazole®) และถ่ายพยาธิภายนอกด้วยไอโวเม็กติน (Ivomectin®) ปรับอาหารด้วยการให้อาหารข้น 3 % ของน้ำหนักตัว วันละ 2 มื้อ เช้าและเย็น มีกระถินให้ตลอดเวลา การให้น้ำจะเปลี่ยนทุกเช้าและเย็น โดยเลี้ยงแพะในโรงเรือนพื้นยกสูง โดยแพะเพศผู้แยกขังเดี่ยวและ

ได้รับการเลี้ยงดูแบบเดียวกัน ให้อาหารข้นตามความต้องการโภชนะของแพะระยะโตเต็มวัย (NRC, 1981)

น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ

น้ำยาพื้นฐาน คือ Tris (2.4 g) citric acid (1.4 g) fructose (1 g) ปรับค่า pH เป็น 7.0 ค่า osmolality ประมาณ 375 mOsm/kg (Qureshi et al., 2013) ใช้สำหรับปั่นแยกเซมินอลพลาสมา ส่วนน้ำยาเจือจางที่ใช้แช่แข็งน้ำเชื้อ ประกอบด้วย น้ำยาพื้นฐานที่มีไข่แดง 2.5 % และ 1.5% soybean lecithin (v/v) ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 องค์ประกอบของสารละลายน้ำเชื้อ

Ingredient	PBS	TFC	TFCSL	TFCEY
Tris (g)	-	2.4	2.4	2.4
Fructose (g)	-	1	1	1
Citric acid (g)	-	1.4	1.4	1.4
Soybean lecithin (g)	-	-	1.5	-
Egg yolk (ml)	-	-	-	2.5
Streptomycin (mg/ml)	100	100	100	100
Penicillin G (µg/ml)	100	100	100	100
di-sodium hydrogen orthophosphate (g)	0.128	-	-	-
Potassium di-hydrogen orthophosphate (g)	0.02	-	-	-
Sodium Chloride (g)	0.8	-	-	-
Potassium Chloride (g)	0.02	-	-	-
Sterile distilled water (ml)	up to 100	up to 100	up to 100	up to 100

หมายเหตุ: PBS = Phosphate Buffer Saline, TFC = Tris fructose citric,

TFCSL= TFC + 1.5% Soybean lecithin and TFCEY = TFC + 2.5% Egg yolk

การรีดเก็บน้ำเชื้อ การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อก่อนการเก็บรักษา

รีดเก็บน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ทั้ง 3 ตัวสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ติดต่อกัน 6 สัปดาห์ โดยใช้โยนีเทียม (artificial vagina) เติมน้ำอุ่นประมาณ 45°C และใช้แพะตัวเมียเป็นสัดเป็นตัวล่อ บันทึก ปริมาตร

ตรวจคุณภาพของน้ำเชื้อโดยดู สี ความหนืด ค่าความเป็นกรด – ด่าง การเคลื่อนไหวหมู่ (mass movement) อัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (motility) อัตราส่วนตัวอสุจิมีชีวิต (live spermatozoa) ความผิดปกติของรูปร่างตัวอสุจิ โดยการย้อมสี nigrosine-eosin ความผิดปกติของอโครโซม (abnormal acrosome) โดยการย้อมสี Coomassie-G ตรวจสอบความสมบูรณ์ของผนังเซลล์อสุจิ (membrane integrity) ด้วยวิธี Hypoosmotic Swelling Test (HOS-Test) และตรวจนับความเข้มข้นโดยใช้ haemocytometer ตามวิธีของรพีพรรณ (2552) คัดเลือกน้ำเชื้อที่ใช้ทดลองที่มีคุณสมบัติดังต่อไปนี้ ต้องมีปริมาตรอยู่ระหว่าง 1 - 2 มล./ตัว ความเข้มข้นมากกว่า 2.5×10^9 ตัว/มล. มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่มากกว่า 75 % และมีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่ไม่ผิดปกติมากกว่า 85 % (Salmani et al., 2014) น้ำเชื้อที่รีดเก็บได้ไปแช่ในอ่างน้ำอุ่น 30°C

แผนการทดลอง การศึกษาครั้งนี้เป็นการเปรียบเทียบสารเจือจางน้ำเชื้อที่มีความแตกต่างกันต่อคุณภาพน้ำเชื้อแพะพันธุ์บอร์ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) ทำการทดลองทั้งหมด 4 ทรีทเมนต์ ทรีทเมนต์ละ 6 ซ้ำ รวมเป็น 24 หน่วยการทดลอง ดังนี้

ทรีทเมนต์ 1 Phosphate Buffer Saline (PBS) เป็นทรีทเมนต์ควบคุม

ทรีทเมนต์ 2 Tris fructose citric (TFC)

ทรีทเมนต์ 3 Tris fructose citric + 1.5% Soybean lecithin (TFCSL)

ทรีทเมนต์ 4 Tris fructose citric + 2.5% Egg yolk (TFCEY)

นำน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้มาผสมรวมกัน เนื่องจากต้องการเพิ่มปริมาณของน้ำเชื้อและต้องการลดปัจจัยของพ่อพันธุ์ จากนั้นแบ่งเป็นสามส่วนเท่าๆ กัน นำไปปั่นแยกเซมินอลพลาสมาด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ปรับแรงหนีศูนย์กลางที่ 900 g นาน 10 นาที ใช้อัตราส่วนของน้ำเชื้อ : น้ำยา พื้นฐาน เท่ากับ 1: 10 ตามวิธีของ Salvador et al. (2006) เสร็จแล้วดูดเอาน้ำยาส่วนใสออก เติมน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ TFCSL และ TFCEY ปรับให้ความเข้มข้นเป็น 480×10^6 ตัว/มล. จากนั้นนำไปปรับลดอุณหภูมิ ที่ 4°C ในตู้ปรับอุณหภูมิ เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อหลังจากเก็บรักษามาแล้ว 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง โดยละลายน้ำเชื้อด้วยน้ำอุ่น 37°C นาน 60 วินาที แล้วนำไปตรวจดูอัตราการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ตัวอสุจิมีชีวิต

การวิเคราะห์ทางสถิติ_ผลของสารเจือจางน้ำเชื้อต่อคุณภาพของน้ำเชื้อแพะพันธุ์บอร์ ใช้วิเคราะห์ข้อมูลแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD)) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง ทรีทเมนต์ด้วยวิธีดันแคน (Duncan's new Multiple Range Test, DMRT) ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์

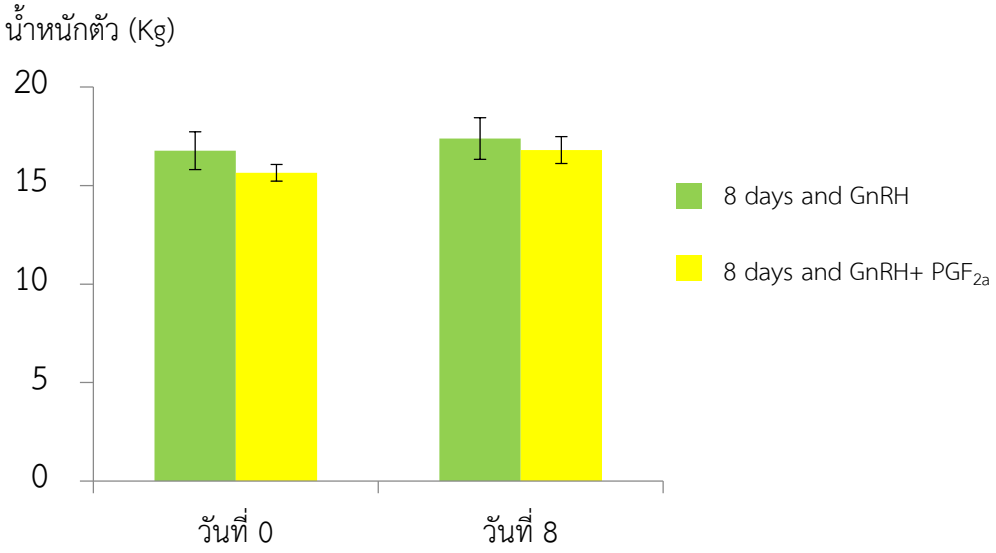
บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ชนิดสอดรูปแบบซิลิโคนร่วมกับโกนาโดโทรปินส์หรือโกนาโดโทรปินส์รีลิสซิงฮอร์โมนต่อการกระตุ้นเป็นสัดและการตกไข่ของแพะ

การศึกษาครั้งนี้ใช้แพะสาวพันธุ์บอร์ อายุ 151-156 วัน จำนวน 10 ตัว น้ำหนักเฉลี่ย 16.2±0.53 กิโลกรัม ซึ่งเป็นแพะที่มีวงรอบการเป็นสัดแล้ว แพะทุกตัวยังไม่เคยตั้งท้องและให้ลูก (Nulliparous doe) คะแนนร่างกาย (นับจาก 1-5) อยู่ระหว่าง 2-2.5

ตารางที่ 6 น้ำหนักตัวเฉลี่ยของแพะก่อนและหลังการสอดฮอร์โมน

รายการ	8 days and GnRH	8 days and GnRH+ PGF_{2a}
วันที่ 0	16.76±0.99	15.64±0.43
วันที่ 8	17.38±1.01	16.80±0.63



ภาพที่ 8 น้ำหนักตัวเฉลี่ยของแพะก่อนและหลังการสอดฮอร์โมน

จากนั้นทำการสุ่มสัตว์ทดลองโดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว เพื่อให้ได้รับทรีทเมนต์ที่แตกต่างกันดังนี้ กลุ่มการทดลองที่ 1 ทำการสอด CIDR-G เป็นเวลา 8 วัน ในวันที่ถอด CIDR-G ฉีด GnRH 0.75 มิลลิกรัม และในกลุ่มการทดลองที่ 2 สอด CIDR-G เป็นเวลา 8 วัน ในวันที่ถอด CIDR-G ฉีด GnRH 0.75 มิลลิกรัม และ PGF_{2a} 0.5 มิลลิกรัม ทำการศึกษาผลการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ โดยดูจากเปอร์เซ็นต์การเป็นสัด ระยะเวลาที่เริ่มเป็นสัดหลังถอดฮอร์โมน ระยะเวลาแสดงอาการเป็นสัด และชั่วโมงที่สิ้นสุดการเป็นสัดมีผลการศึกษา ดังนี้

1. แพะทั้งสองกลุ่มแสดงอาการเป็นสัด 100% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

2. ระยะเวลาที่เริ่มเป็นสัดหลังจากที่ถอดฮอร์โมนกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 มีค่าเท่ากับ 15.60±2.40 และ 49.20±18.04 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3. ระยะเวลาที่แพะแสดงอาการเป็นสัดกลุ่มการทดลองที่ 1 และกลุ่มการทดลองที่ 2 มีค่าเท่ากับ 14.40±2.40 และ 27.60±14.40 ชั่วโมง ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 7 ผลของการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่วมกับโกนาโดโทรปินส์รีลิซซิงฮอร์โมน

รายการ	8 days and GnRH	8 days and GnRH+ PGF_{2a}
เปอร์เซ็นต์ที่แพะแสดงอาการเป็นสัด	100 (5/5)	100 (5/5)
ระยะเวลาตั้งแต่ถอดฮอร์โมนจนกระทั่งเป็นสัด (ชั่วโมง)	15.60 ± 2.40^{b}	49.20 ± 18.04^{a}
ระยะเวลาที่เป็นสัด (ชั่วโมง)	14.40 ± 2.40^{b}	27.60 ± 14.40^{a}

หมายเหตุ: ^{a,b} ที่แสดงในคอร์ลัมเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.05$)

ซึ่งจากผลการเหนี่ยวนำการเป็นสัด พบว่าแพะทั้งสองกลุ่มแสดงอาการเป็นสัด 100% ภายใน 24 ชั่วโมงหลังจากถอดฮอร์โมนออก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Wildeus (2000) และ Whitley and Jackson (2004) แต่จะให้ผลดีกว่าการศึกษาของ Bitaraf et al. (2007) ที่เหนี่ยวนำด้วยการสอด CIDR-G เพียงอย่างเดียวในฤดูผสมพันธุ์ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเป็นสัด 94% ผลที่แตกต่างนี้อาจเนื่องมาจากในการเหนี่ยวนำในครั้งนี้มีการใช้ CIDR-G ร่วมกับ GnRH และ PGF_{2a} โดย GnRH เป็นฮอร์โมนระหว่างไฮโปธาลามัสและต่อมใต้สมองส่วนหน้า ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นให้เริ่มกระบวนการเป็นสัดโดย GnRH ที่สร้างจากสมองส่วนไฮโปธารามัสจะไปกระตุ้นการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้าให้มีการสร้างและหลังฮอร์โมน FSH และ LH ส่วน PGF_{2a} เป็นฮอร์โมนที่ผลิตจากมดลูก ทำหน้าที่เป็น

ตัวกระตุ้นการสลายของคอร์ปัสลูเทียม (luteolytic factor) และเกิดการพัฒนาวงรอบการเป็นสัดใหม่ตามมา (Gonzalez et al., 2005)

สำหรับผลของระยะเวลาที่เริ่มเป็นสัดหลังจากถอดฮอร์โมน พบว่าแพะในทรีทเมนต์ที่ 1 จะเริ่มเป็นสัดก่อนแพะในทรีทเมนต์ที่ 2 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากการศึกษาของ Kajaysri and Thammakarn (2012) ที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดในแพะพันธุ์ซาแนนด้วย CIDR-G ร่วมกับ eCG และ PGF_{2a} เป็นเวลา 13 วัน พบว่าแพะจะเริ่มเป็นสัดใน 18.6 $\pm$ 2.0 ชั่วโมง นอกจากนี้ Romano (2004) รายงานการใช้ CIDR-G เป็นเวลา 13 วัน ในแพะพันธุ์นูเบียน พบว่าแพะจะเริ่มเป็นสัดใน 40.2 $\pm$ 10.5 ชั่วโมง ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้ก็สอดคล้องกับการศึกษาของ Bitaraf et al. (2007) และ Kajaysri and Thammakarn (2012) แต่จะใช้เวลามากกว่าของ Romano (2004) ซึ่งความแตกต่างของชั่วโมงที่เริ่มเป็นสัดนี้อาจเนื่องมาจากการเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน อาหาร สายพันธุ์ และฤดูกาลผสมพันธุ์ (Saribay et al., 2011)

และระยะเวลาเป็นสัดในการทดลองของ Bitaraf et al. (2007) มีระยะเวลา 21.7±0.4 ชั่วโมง ซึ่งในแพะในทรีทเมนต์ที่ 1 มีระยะเวลาการเป็นสัดสั้นกว่าของ Bitaraf et al. (2007) และให้ผลดีกว่าเนื่องจากระยะเวลาที่สั้นนั้นให้ความแม่นยำของระยะเวลาการตกไข่ที่ดีกว่า แต่ในทรีทเมนต์ที่ 2 นั้นให้ระยะเวลาการเป็นสัดที่ยาวนานการทดลองของ Bitaraf et al. (2007) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสัตว์กลุ่มทรีทเมนต์ที่ 2 นั้นเป็นแพะที่มีวงรอบการเป็นสัดในช่วงแรก จึงมีการตอบสนองต่อ PGF_{2a} ช้า

จากตารางที่ 8 จำนวนของฟอลลิเคิลจะแบ่งตามขนาดของฟอลลิเคิลออกเป็น 3 กลุ่ม คือ ขนาดเล็ก (≤3 mm) ขนาดกลาง (4-6 mm) หรือขนาดใหญ่ (≥7 mm) ซึ่งแพะในทรีทเมนต์ที่ 1 จะมีจำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมดสูงกว่าแพะในทรีทเมนต์ที่ 2 ในวันที่ 0 (2.60 ± 0.40 ฟอลลิเคิล) และวันที่ 8 (7.80 ± 0.66 ฟอลลิเคิล) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนแพะในทรีทเมนต์ที่ 2 จะมีฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ (≥7 mm) ในวันที่ 8 สูงกว่าแพะในทรีทเมนต์ที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับจำนวนคอร์ปัส ลูเทียมทั้งหมดนั้น แพะในทรีทเมนต์ที่ 1 จะมีมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 8 (4.60 ± 0.68) และวันที่ 10 (3.40 ± 0.40)

ตารางที่ 8 แสดงจำนวนของฟอลลิเคิล และคอร์ปัสลูเทียม (CL) ในวันที่ 0, 8, 10 และ 12

รายการ	8 days and GnRH	8 days and GnRH+ PGF_{2a}
ฟอลลิเคิลขนาด ≤3 mm. ในวันที่ 0	0.60 ± 0.40[a]	0.00 ± 0.00[a]
ฟอลลิเคิลขนาด ≤3 mm. ในวันที่ 8	1.20 ± 1.20[a]	0.20 ± 0.20[a]
ฟอลลิเคิลขนาด ≤3 mm. ในวันที่ 10	1.80 ± 0.37[a]	0.40 ± 0.40[b]
ฟอลลิเคิลขนาด ≤3 mm. ในวันที่ 12	0.00 ± 0.00[a]	0.20 ± 0.20[a]
ฟอลลิเคิลขนาด 4-6 mm. ในวันที่ 0	2.00 ± 0.45[a]	0.00 ± 0.00[b]
ฟอลลิเคิลขนาด 4-6 mm. ในวันที่ 8	6.00 ± 0.83[a]	2.20 ± 1.20[b]
ฟอลลิเคิลขนาด 4-6 mm. ในวันที่ 10	1.00 ± 0.45[a]	2.00 ± 0.54[a]
ฟอลลิเคิลขนาด 4-6 mm. ในวันที่ 12	0.80 ± 0.58[a]	0.80 ± 0.37[a]
ฟอลลิเคิลขนาด ≥7 mm. ในวันที่ 0	0.20 ± 0.20[a]	0.00 ± 0.00[a]
ฟอลลิเคิลขนาด ≥7 mm. ในวันที่ 8	0.60 ± 0.40[b]	2.60 ± 0.40[a]
ฟอลลิเคิลขนาด ≥7 mm. ในวันที่ 10	0.00 ± 0.00[a]	1.20 ± 0.58[a]
ฟอลลิเคิลขนาด ≥7 mm. ในวันที่ 12	0.00 ± 0.00[a]	0.40 ± 0.40[a]
จำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมด ในวันที่ 0	2.60 ± 0.40[a]	0.00 ± 0.00[b]
จำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมด ในวันที่ 8	7.80 ± 0.66[a]	4.00 ± 0.77[b]
จำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมด ในวันที่ 10	2.80 ± 0.58[a]	3.60 ± 0.75[a]
จำนวนฟอลลิเคิลทั้งหมด ในวันที่ 12	0.80 ± 0.58[a]	1.40 ± 0.40[a]
จำนวน CL ทั้งหมด ในวันที่ 0	2.60 ± 0.40[a]	1.80 ± 0.58[a]
จำนวน CL ทั้งหมด ในวันที่ 8	2.00 ± 0.31[a]	0.00 ± 0.00[b]
จำนวน CL ทั้งหมด ในวันที่ 10	4.60 ± 0.68[a]	0.40 ± 0.24[b]
จำนวน CL ทั้งหมด ในวันที่ 12	3.40 ± 0.40[a]	2.40 ± 0.24[a]

หมายเหตุ: [a,b] ที่แสดงในคอร์ลัมเดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p<0.05$)

ซึ่งจากผลการตรวจนับจำนวนของฟอลลิเคิลด้วยเครื่องอัลตราซาวน์รังไข่ผ่านทางทวารหนัก โดยแบ่งตามขนาดของฟอลลิเคิลออกเป็น 3 ขนาด คือ เล็ก กลาง ใหญ่ ตามวิธีของ Gonzalez et al. (2001) พบว่าแพะที่ได้รับทรีทเมนต์ที่ 1 มีจำนวนฟอลลิเคิลในวันที่ 0 และวันที่ 8 มากกว่าแพะที่ได้รับทรีทเมนต์ที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาซึ่งรายงานว่า การเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแพะด้วย CIDR-G ร่วมกับ GnRH สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการ

ทำงานของรังไข่และการพัฒนาของฟอลลิเคิลได้ดีขึ้น (Gebrekidan et al., 2014; Karaca et al., 2010; Saribay et al., 2011)

สำหรับผลการตรวจนับคอร์ปัสลูเทียมในรังไข่ ซึ่งการมีของคอร์ปัสลูเทียมแสดงให้เห็นว่าแพะมีการตกไข่และมีวงรอบการเป็นสัดแล้ว จากการตรวจนับพบว่าแพะที่ได้รับทรีทเมนต์ที่ 1 จะมีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่อย่างไรก็ตามแพะทั้งสองกลุ่มนี้มีการตกไข่ภายใน 96 ชั่วโมงเหมือนกัน แต่ในแพะที่ได้รับ CIDR-G ร่วมกับ GnRH จะมีการตกไข่ก่อนและตกไข่ได้มากกว่าแพะที่ได้รับ CIDR-G ร่วมกับ GnRH และ PGF_{2a} อาจเนื่องมาจากคอร์ปัสลูเทียมในแพะกลุ่มนี้มีการเสื่อมสลายไปเองตามธรรมชาติ จากการทำงานที่ผิดปกติของระบบไหลเวียนเลือดภายในรังไข่เอง ซึ่งมีสาเหตุการเพิ่มของระบบไหลเวียนรอบลูเตียลเซลล์อย่างรวดเร็ว หรือปริมาณไนตริกออกไซด์ในเลือด ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีอิทธิพลอย่างยิ่งยวดต่อการเสื่อมสลายของคอร์ปัสลูเทียม (Miyamoto and Shirasuna, 2009)

ซึ่งภายหลังจากการศึกษาครั้งนี้ ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา โดยใช้แพะสาวสายพันธุ์บอร์เพศเมีย จำนวน 12 ตัว (อายุระหว่าง 7-8 เดือน) สุ่มแพะออกเป็น 2 กลุ่ม (n=6) กลุ่มการทดลองที่ 1 ทำการสอด CIDR-G เป็นเวลา 8 วัน ในวันที่ถอด CIDR-G ฉีด GnRH 0.75 มิลลิกรัม และในกลุ่มการทดลองที่ 2 สอด CIDR-G เป็นเวลา 8 วัน ในวันที่ถอด CIDR-G ฉีด GnRH 0.75 มิลลิกรัม และ PGF_{2a} 0.5 มิลลิกรัม จากนั้นทำการผสมเทียมผ่านทางคอมดลูก (transcervical intrauterine artificial insemination; TCAI) ในชั่วโมงที่ 48 หลังถอดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดโดยใช้น้ำเชื้อแพะแช่แข็งจากกรมปศุสัตว์ที่มีจำนวนอสุจิอย่างน้อย 60×10^6 ตัว (ปริมาตรบรรจุ 250 µl) มีเปอร์เซ็นต์อสุจิเคลื่อนไหวมากกว่า 80% ซึ่งหลังจากทำการผสมเทียมครบเวลา 21 วัน ตรวจสอบการกลับสัด และตรวจสอบด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์บันทึกอัตราการผสมติดในวันที่ 30 หลังจากผสมเทียม จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ได้แก่ อายุ (age) น้ำหนักตัว (body weight; BW) สภาพคะแนนร่างกายของแพะ (body condition score; BCS) มาวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยและหาความแปรปรวนของข้อมูล (analysis of vatiance; ANOVA) สำหรับค่าอัตราการผสมติด (conception rate; CR) ทำการวิเคราะห์โดยไคสแควร์ (Chi-square test)

ผลการศึกษาพบว่าแพะสาวที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ มีอายุ น้ำหนักตัว สภาพคะแนนร่างกายและอัตราการผสมติดไม่แตกต่างกันทั้งสองกลุ่มการทดลอง (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ข้อมูลพื้นฐานของแพะสาวที่ใช้ในการทดลองและประสิทธิภาพของโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาต่ออัตราการผสมติดในแพะสาวพันธุ์บอร์ ($p>0.05$)

ข้อมูลพื้นฐานของแพะ	8 days and GnRH	8 days and GnRH+ PGF_{2a}
อายุ (เดือน)	7.00±0.25	7.08±0.23
น้ำหนักตัว (กิโลกรัม)	20.25±0.42	21.16±0.38
คะแนนความสมบูรณ์ของร่างกาย (1-5)	2.54±0.13	2.46±0.11
อัตราการผสมติด (%)	83.33% (10/12)	75.00% (9/12)

การทดลองที่ 2 การเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำเชื้อแพะในสภาพของเหลวจากการผลิตโดยใช้สารละลายน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน

จากการรีดเก็บน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ทั้ง 3 ตัวสัปดาห์ละ 2 ครั้ง ติดต่อกัน 6 สัปดาห์ โดยใช้โยนีเทียม (artificial vagina) และใช้แพะตัวเมียเป็นสัดเป็นตัวล่อ (treaser) พบว่า

1. ผลการประเมินคุณภาพของน้ำเชื้อสดเบื้องต้น

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อสดเบื้องต้นของแพะพันธุ์บอร์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ โดยทำการรีดเก็บน้ำเชื้อทั้งหมด 6 ซ้ำ พบว่า พ่อแพะที่นำมารีดน้ำเชื้อมีความกำหนัดระดับ 3 (คะแนน 1-3) น้ำเชื้อของแพะมีลักษณะเป็นสีขาวขุ่น มีค่าความเป็นกรด - ด่าง เท่ากับ 7.00±0.00 ปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ย เท่ากับ 1.15±0.15 มล./ตัว มีความหนาแน่น (D-4D) เท่ากับ 4D (ข้น) คะแนนการเคลื่อนที่รายกลุ่มเฉลี่ย (1-5 คะแนน) มีค่าเท่ากับ 4.89±0.09 คะแนน เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิเฉลี่ย มีค่าเท่ากับ 95.27±1.15% เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของอสุจิเฉลี่ย มีค่าเท่ากับ 1.38±0.31% และเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตเฉลี่ย มีค่าเท่ากับ 87.31±1.13 % ซึ่งน้ำเชื้อสดที่ดีและเหมาะที่จะสามารถนำไปใช้ในการผสมเทียมได้ ต้องมีปริมาตรอยู่ระหว่าง 1 ถึง 2 มล./ตัว ความเข้มข้นมากกว่า 2.5 x 10^9 ตัว/มล. มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่มากกว่า 75 % และมีเปอร์เซ็นต์อสุจิที่ไม่ผิดปกติมากกว่า 85 % (Salmani et al., 2014) ซึ่งจากการศึกษาพบว่าน้ำเชื้อที่รัดได้มีปริมาตร 1.15 มล./ตัว ความเข้มข้น 55.6± 0.61 x 10^6 ตัว/มล. มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ 95.27±1.15% และเปอร์เซ็นต์อสุจิที่ไม่ผิดปกติ เท่ากับ 97% ดังตารางที่10

ตารางที่ 10 ผลการประเมินคุณภาพน้ำเชื้อสดเบื้องต้น

ลักษณะ	คุณภาพน้ำเชื้อสด
สี	ขาวขุ่น
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (เฉลี่ย)	7.0±0.0
ปริมาตรน้ำเชื้อเฉลี่ยต่อครั้ง (มิลลิลิตร)	1.15±0.15
คะแนนการเคลื่อนที่รายกลุ่ม (0-5 คะแนน)	4.89±0.09
การเคลื่อนที่ของอสุจิเฉลี่ย (%)	95.27±1.15
เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของอสุจิ (%)	3.00±0.31
เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิต (%)	87.31±1.13

2. ผลการประเมินน้ำเชื้อสด

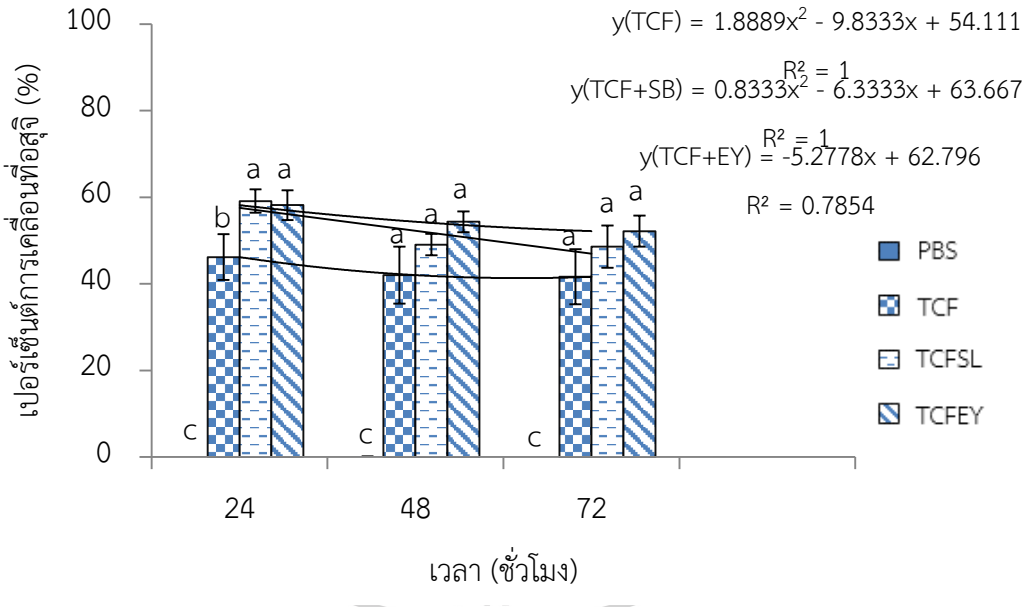
2.1 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิในน้ำเชื้อสด

จากการศึกษาผลของการเคลื่อนที่ด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อที่ต่างกัน คือ PBS (กลุ่มควบคุม), Tris citric fructose (TCF), Tris citric fructose + 1.5% soybean lecithin (TCFSL) และ Tris citric fructose + 2.5% egg yolk (TCFEY) ในชั่วโมงที่ 0, 24, 48 และ 72 พบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิที่ทรีทเมนต์ TCFSL มีค่าสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 24 และ TCFEY มีค่าสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 48 และ 72 ที่ระดับนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังตารางที่ 11 และพบว่า PBS มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เฉลี่ยของอสุจิต่ำสุด เนื่องจาก PBS ประกอบด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer) เกลือโซเดียมและโพแทสเซียม ซึ่งไม่มีสารพลังงานที่ช่วยในการเคลื่อนที่ เมื่อเทียบกับ TCFEY ที่มี Egg yolk เป็นแหล่งให้พลังงานแก่ตัวอสุจิ ซึ่งจากการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่เฉลี่ยของอสุจิใน TCFEY เท่ากับ 54.89±2.81% มีค่ามากกว่า PBS เท่ากับ 0.03±0.02% ผลการทดลองนี้ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chelucci et al. (2015) ที่มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิในสารเจือจางน้ำเชื้อ TCFEY เท่ากับ 40% ที่ระดับนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 11 การเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิในสารเจือจางน้ำเชื้อสดที่แตกต่างกัน

สารละลายเจือจางน้ำเชื้อ	เวลา (ชั่วโมง)		
	24	48	72
PBS	0.11±0.07^{c}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
TCF	46.17±6.61^{b}	42.00±6.35^{a}	41.61±7.43^{a}
TCFSL	59.11±2.49^{a}	49.06±4.87^{a}	48.56±4.13^{a}
TCFEY	58.17±2.42^{a}	54.33±3.57^{a}	52.17±2.44^{a}

หมายเหตุ: ^{a,b,c} อักษรที่อยู่ในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



ภาพที่ 9 เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิในสารเจือจางน้ำเชื้อสดที่แตกต่างกัน ด้วยระยะเวลาการทดสอบที่ 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

2.2 เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตในน้ำเชื้อสด

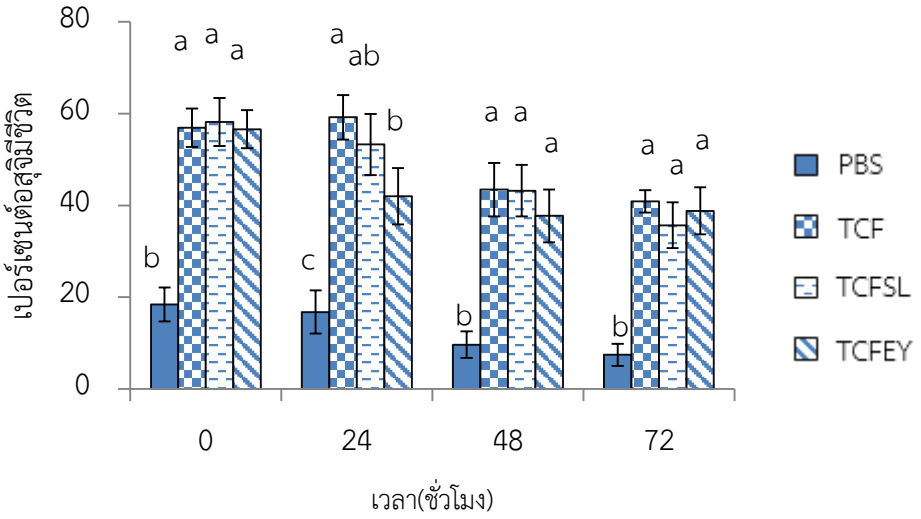
จากการศึกษาผลของอสุจิมีชีวิตด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อที่ต่างกัน คือ PBS (กลุ่มควบคุม), Tris citric fructose (TCF), Tris citric fructose + 1.5% soybean lecithin (TCFSL) และ Tris citric fructose + 2.5% egg yolk (TCFEY) ในชั่วโมงที่ 0, 24, 48 และ 72 พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ยของอสุจิที่ทรีทเมนต์ TCF มีค่าสูงกว่า TCFSL, TCFEYและ PBS ตามลำดับ ที่ระดับนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังตารางที่ 12 และพบว่าที่ 0 ชั่วโมง TCF มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของอสุจิต่ำกว่า TCFSL

เนื่องมาจาก TCFSL มีเลซิตินจากถั่วเหลืองเป็นสารโมเลกุลเล็กที่อสุจิสามารถนำไปใช้เป็นพลังงาน โดยผลของการวิจัยพบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของอสุจิใน TCF เท่ากับ 56.94±4.20 เปอร์เซ็นต์ น้อยกว่า TCFSL เท่ากับ 58.22±5.23 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองนี้ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Chelucci et al., 2015) และ (Salmani et al., 2014) มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของอสุจิ ใน TCF เท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์ และ TCFSL เท่ากับ 62.7 ± 1.7 ที่ระดับนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตในน้ำเชื้อสดในสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน

สารเจือจางน้ำเชื้อ	เวลา (ชั่วโมง)			
	0	24	48	72
PBS	18.44±3.70^{b}	16.78±4.70^{c}	9.67±2.91^{b}	7.44±2.41^{b}
TCF	56.94±4.20^{a}	59.22±4.84^{a}	43.44±5.81^{a}	40.89±5.09^{a}
TCFSL	58.22±5.23^{a}	53.28±6.63^{ab}	43.22±5.62^{a}	35.67±4.99^{a}
TCFEY	56.61±4.13^{a}	42.00±6.13^{b}	37.72±5.77^{a}	38.83±5.12^{a}

หมายเหตุ: ^{a,b,c} อักษรที่อยู่ในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



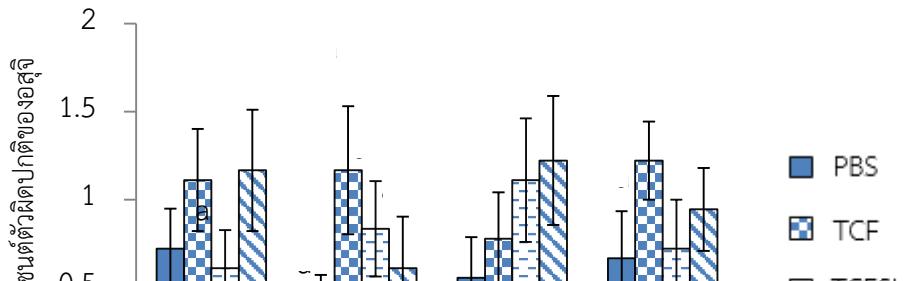
ภาพที่ 10 เปอร์เซ็นต์อสุจิมีชีวิตในน้ำเชื้อสดในสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน ด้วยระยะเวลาการทดสอบที่ 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

2.3 เปอร์เซ็นต์ตัวผิดปกติของอสุจิในน้ำเชื้อสด

จากการศึกษาผลของตัวผิดปกติของอสุจิด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อที่ต่างกัน PBS (กลุ่มควบคุม), Tris citric fructose (TCF), Tris citric fructose + 1.5% soybean lecithin (TCFSL) และ Tris citric fructose + 2.5% egg yolk (TCFEY) ในชั่วโมงที่ 0, 24, 48 และ 72 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของอสุจิที่ทรีทเมนต์ TCF, TCFSL, TCFEYและ PBS มีค่าไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 13 เนื่องจากพ่อพันธุ์ที่นำมาทำการรีดเก็บน้ำเชื้อมีความสมบูรณ์พันธุ์สูง ไม่เป็นโรค จึงส่งผลทำให้เกิดความผิดปกติของตัวอสุจิน้อย และเป็นค่าที่ยอมรับได้สามารถใช้ในการผสมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลการทดลองนี้ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ ณรงค์ และคณะ (2551) ที่มีค่าเปอร์เซ็นต์ตัวผิดปกติของอสุจิ เท่ากับ 58.4±2.8 ที่ระดับนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งจะพบว่าเปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของอสุจิส่วนมากจะเกิดที่ส่วนหัวของอสุจิ และถ้าเกิดความผิดปกติต่ำก็จะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดสูง

ตารางที่ 13 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ตัวผิดปกติของอสุจิในน้ำเชื้อสดในสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน ($p>0.05$)

สารเจือจางน้ำเชื้อ	เวลา (ชั่วโมง)			
	0	24	48	72
PBS	0.72±0.22	0.39±0.18	0.55±0.23	0.67±0.27
TCF	1.11±0.29	1.17±0.36	0.78±0.26	1.22±0.22
TCFSL	0.61±0.21	0.83±0.27	1.11±0.35	0.72±0.28
TCFEY	1.17±0.34	0.61±0.29	1.22±0.37	0.94±0.23



ภาพที่ 11 เปอร์เซ็นต์ตัวผิดปกติของอสุจิในน้ำเชื้อสดด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่างกัน ด้วยระยะเวลาการทดสอบที่ 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

2.4 เปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของอะโครโซมในน้ำเชื้อสด

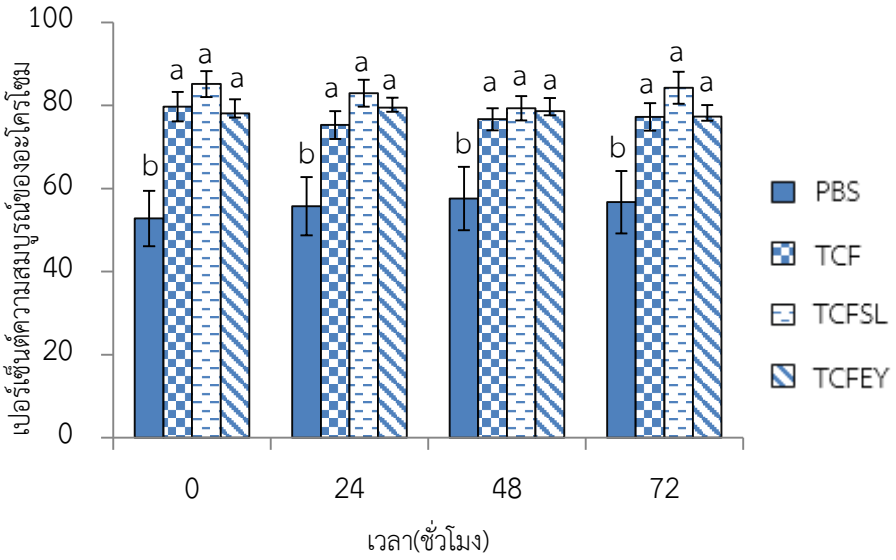
จากการศึกษาผลความสมบูรณ์ของอะโครโซมด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อที่ต่างกัน PBS (กลุ่มควบคุม), Tris citric fructose (TCF), Tris citric fructose + 1.5% soybean lecithin (TCFSL) และ Tris citric fructose + 2.5% egg yolk (TCFEY) ในชั่วโมงที่ 0, 24, 48 และ 72 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของอะโครโซมที่ทรีทเมนต์ TCF, TCFSL และ TCFEY มีค่าไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($p>0.05$) แต่มีค่าสูงกว่า PBS ที่ระดับนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังตารางที่ 14 และพบว่า TCFSL มีเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของอะโครโซมของอสุจิเฉลี่ยมากที่สุด เนื่องจากเลซิตินในถั่วเหลืองที่อยู่ใน TCFSL เป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็ก ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาที่ช่วยในการเกิดออกซิเดชัน ในการรักษาสภาพของเซลล์ ลดแรงตรึงผิว และยังเป็นส่วนประกอบที่สำคัญมากของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งจะพบว่าเมื่ออะโครโซมมีความสมบูรณ์มากก็จะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การผสมติดสูงตามไปด้วย เนื่องจากอะโครโซมเป็นออร์แกแนลล์ที่อยู่บริเวณส่วนหัวของตัวอสุจิ เอนไซม์ที่สำคัญในอะโครโซม คือ hyaluronidase และ acrosin ซึ่งจะใช้ในการเจาะเยื่อหุ้มของเซลล์ไข่เพื่อให้นิวเคลียสของอสุจิเข้าไปผสมกับนิวเคลียสของไข่

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบความสมบูรณ์ของอะโครโซมในน้ำเชื้อสด

	เวลา (ชั่วโมง)

สารเจือจางน้ำเชื้อ	0	24	48	72
PBS	52.78±6.66[b]	55.72±6.99[b]	57.61±7.61[b]	56.72±7.51[b]
TCF	79.72±3.54[a]	75.28±3.38[a]	76.67±2.66[a]	77.22±3.33[a]
TCFSL	85.17±3.11[a]	82.94±3.25[a]	79.33±2.93[a]	84.27±3.86[a]
TCFEY	78.11±3.38[a]	79.50±2.25[a]	78.61±3.51[a]	77.33±2.79[a]

หมายเหตุ: [a,b] อักษรที่อยู่ในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



ภาพที่ 12 เปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของอะโครโซมในน้ำเชื้อสดในสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่างกันด้วยระยะเวลาการทดสอบที่ 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

2.5 เปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ในน้ำเชื้อสด

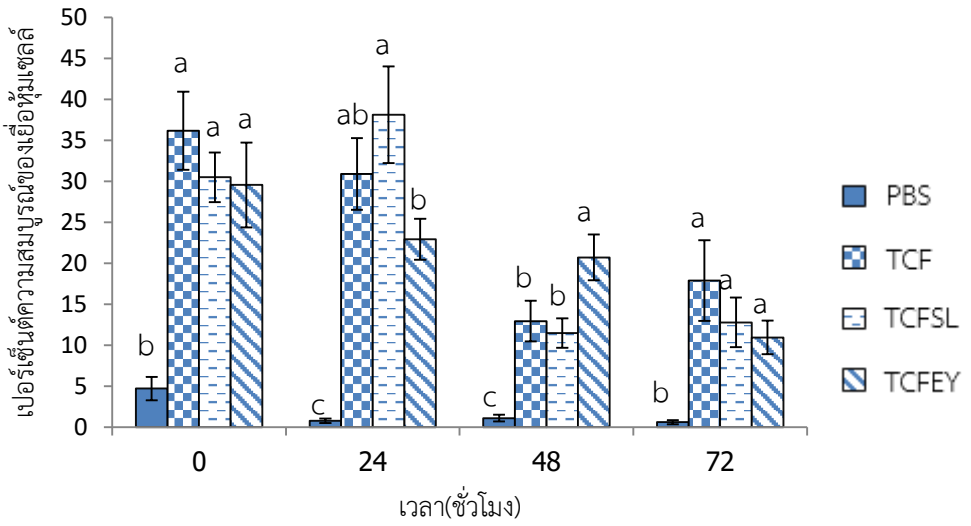
จากการศึกษาผลของความสมบูรณ์ของเนื้อเยื่อของตัวอสุจิด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อที่ต่างกัน คือ PBS (กลุ่มควบคุม), Tris citric fructose (TCF), Tris citric fructose + 1.5% soybean lecithin (TCFSL) และ Tris citric fructose + 2.5% egg yolk (TCFEY) ในชั่วโมงที่ 0, 24, 48 และ 72 พบว่าเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของเนื้อเยื่อเฉลี่ยที่ทรีทเมนต์ TCF มีค่าเท่ากับ 24.44±4.12 ซึ่งมีค่าสูงกว่า TCFSL, TCFEY และ PBS ตามลำดับ ที่ระดับนัยสำคัญ ($p<0.05$) ซึ่งผลการทดลองนี้ขัดแย้งกับงานวิจัยของ Chelucci et al. (2015) และ Salmani et al. (2014) ที่พบว่า TCFSL มีเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของเนื้อเยื่ออสุจิสูงกว่า TCF แต่ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับผลการมีชีวิตของอสุจิที่พบว่า

อสุจิในสารเจือจาง TCF มีค่าสูงที่สุด เนื่องจากตัวอสุจิที่มีชีวิตเท่านั้นที่จะตอบสนองต่อแรงดันของสารเจือจางน้ำเชื้อส่งผลให้หางของอสุจิม้วนงอ

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์เปรียบเทียบความสมบูรณ์ของเนื้อเยื่อในน้ำเชื้อสด

สารเจือจางน้ำเชื้อ	เวลา (ชั่วโมง)			
	0	24	48	72
PBS	4.72±1.43^{b}	0.77±0.28^{c}	1.11±0.39^{c}	0.61±0.24^{b}
TCF	36.17±4.7^{a}	30.88±4.37^{ab}	12.94±2.48^{b}	17.88±4.93^{a}
TCFSL	30.50±3.03^{a}	38.11±5.90^{a}	11.50±2.78^{b}	12.77±2.04^{a}
TCFEY	29.55±5.17^{a}	22.94±2.50^{b}	20.72±1.79^{a}	10.94±3.03^{a}

หมายเหตุ: ^{a,b,c} อักษรที่อยู่ในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



ภาพที่ 13 เปอร์เซ็นต์ความความสมบูรณ์ของเนื้อเยื่อในน้ำเชื้อสดด้วยสารเจือจางน้ำเชื้อที่แตกต่างด้วยระยะเวลาการทดสอบที่ 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลอง การศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ชนิดสอดรูปแบบซิลิโคนร่วมกับโกนาโดโทรปินส์หรือโกนาโดโทรปินส์รีลิสซิงฮอร์โมนต่อการกระตุ้นเป็นสัดและการตกไข่ของแพะ สรุปได้ว่าประสิทธิภาพของโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา ทั้งสองโปรแกรม ได้แก่ กลุ่มทรีทเมนต์ที่ 1 ทำการสอด CIDR-G เป็นเวลา 8 วัน ในวันที่ถอด CIDR-G ฉีด GnRH 0.75 มิลลิกรัม และในกลุ่มทรีทเมนต์ที่ 2 สอด CIDR-G เป็นเวลา 8 วัน ในวันที่ถอด CIDR-G ฉีด GnRH 0.75 มิลลิกรัม และ PGF_{2a} 0.5 มิลลิกรัม สามารถใช้ทำการผสมเทียมในชั่วโมงที่ 48 ให้อัตราการผสมติดในแพะสาวได้ดี ซึ่งโปรแกรมตามกลุ่มทรีทเมนต์ที่ 1 ซึ่งไม่ใช้ PGF_{2a} ให้ผลดีสำหรับช่วงเวลาตกไข่ที่แม่นยำกว่า และยังมีต้นทุนต่ำกว่าเหมาะสำหรับนำไปใช้ในฝูงแพะสาว

และจากผลการทดลอง การเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำเชื้อแพะจากการผลิตโดยใช้สารละลายน้ำเชื้อที่แตกต่างกันนั้น สามารถสรุปได้ว่าการใช้ไข่แดง และเลซิตินจากถั่วเหลืองร่วมกับสารเจือจางน้ำเชื้อทริสซิตริกฟรุกโตสพื้นฐาน สามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในสารเจือจางน้ำเชื้อต่อการเก็บรักษาน้ำเชื้อในสภาพของเหลวที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสได้ และยังสามารถใช้เลซิตินจากถั่วเหลืองทดแทนการใช้ไข่แดง เพื่อเป็นการลดปัญหาการเป็นพิษของไข่แดงต่อตัวอสุจิในกระบวนการแช่เย็นก็ได้เช่นกัน

มหาวิทยาลัยศิลปากร

รายการอ้างอิง

Abeb, G. (2016). Reproduction in Sheep and Goats. Retrieved from http://www.esgpip.org/handbook/Chapter5.html

Akusu, M., O. E. A. Agiang, & G. N. Egdunike. (1984). Ejaculate and plasma characteristic of west African Dwarf (WAD) buck. *In:* 10*th Int Congr. Anim- Reprod. A. I. Illinois,* 2 *abstract No.*5.

Batista, M., T. Nino, D. Alamo, N. Castro, M. Santana, F. Gonzalez, A.Gracia. (2009). Successful artificial insemination using semen frozen and stored by an ultra freezer in the Majorrera goat breed. *Theriogenology,* 71, 1307-1315.

Beilby, P. C., K. H. Grupen, P. C. Thomson, W. M. C. Maxwell, & G. Evans. (2009). The effect of insemination time and sperm dose on pregnancy rate using sexsorted ram sperm. *Theriogenology,* 71, 829-835.

Bitaraf, A., Zamiri, M. J., Kafi, M., & Izadifard, J. (2007). Efficacy of CIDR, fluogestone acetate sponges and cloprostenol for estrous synchronization of Nadooshani goats during the breeding season. *Iranian Journal of Veterinary Research,* 8(3), 218-224. doi:10.22099/ijvr.2007.927

Chelucci, S., V. Pasciu, S. Succu, D. Addis, G. G. Leoni, M. E. Manca, & S. Naitana. (2015). Soybean lecithin–based extender preserves spermatozoa membrane integrity and fertilizing potential during goat semen cryopreservation. *Theriogenology,* 83, 1064–1074.

Corteel, J. M., Leboeuf, B., & Baril, G. (1988). Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season *Small Ruminant Research, 1* 19-35.

Crenshaw, C. C., L. M. Martin., C. R. Mains., R. D. Wright., M. G .Perkins., P. H. Purdy, & S. A. Ericsson. (1999). The use of buck and extenders and two packaging systems to cryopreserve aoudad (Aminotragus lervia) spermatozoa. *Theriogenology,* 54, 69-74.

Cseh, S., V. Fail, & G. S. Amiridis. (2012). Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminant. *Animal Reproduction Science,* 130, 187-192.

Dorado, J., I. Rodri Guez, & M. Hidalgo. (2007). Cryopreservation of goat spermatozoa: comparison of two freezing extenders based on post-thaw sperm quality and fertility rates after artificial insemination. *Theriogenology,* 68, 168-177.

Dovenski, T., K. Popovski, V. Petkov, G. Mickovski, Lj. Kocoski, P. Trojacanec, & B. Stojanovski. (2012). Comparison of intrauterine and cervical insemination in goats with deep frozen semen. Paper presented at the Proceeding of 1st Croatian Veterinary Congress. , October 1997, Cavtat, Croatia.

Evan, G., & W.C. Maxwell. (1987). Salamons artificial insemination of sheep and goats. *Butterwarths. Sydney*, 194.

Faigl, V., N. Vass, A. Javor, M. Kulcsar, L. Solti, G. Amiridis, & S. Cseh. (2012). Artificial insemination of small ruminants-a review. *Acta Veterinaria Hungarica,* 60, 115-129.

Fatet, A., Pellicer-Rubio, M.-T., & Leboeuf, B. (2011). Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science,* 124(3), 211-219. doi:https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.029

Forouzanfar M., M. Sarafi, S.M. Hosseini, S. Ostadhosseini, M. Hajian, L. H., P. Abedi, M.H. Nasr-Estahani. (2010). In vitro comparison of egg yolk-based and soybean lecithin based extender for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology,* 73, 480-487.

Galal, S. (2005). Biodiversity in goats. *Small Ruminant Research,* 60(1), 75-81.

Gebrekidan, B., G. Gebremariam , Bahlibi, W., & T.A. Yohanes. (2014). Efficacy of GnRH-PGF2a Treatment in Synchronization of Estrus in Ethiopian Local Sheep Breed. *International Journal of Livestock Research,* 4, 40-48.

Gonzalez-Bulnes A., C. Dıaz-Delfa, R. M. Garcia-Garcia, B. Urrutia, J. A. Carrizosa, & A. Lopez-Sebastian. (2005). Origin and fate of preovulatory follicles after induced luteolysis at different stages of the luteal phase of the estrous cycle in goats. *Animal Reproduction Science.,* 86, 237-245.

Gonzalez, F., M. Batista, F. Cabrera, J.L. Alabart, & A. Gracia. (2001). Local effect of the corpus luteum on ovarian follicular functional and morphological features in the goat. *Reproduction Dominant Animal,* 36, 147-151.

Gordon, I. R. (1983). Controlled breeding in farm animals. Oxford Oxfordshire ; New York.: Pergamon Press.

Greyling, J. P. C. (2000). Reproduction traits in the Boer goat doe. *Small Ruminant Research,* 36(2), 171-177. doi:https://doi.org/10.1016/S0921-4488(99)00161-3

Houdeau, E., V. Furstoss, Y. Forgerit, J. Bonne, & B. Leboeuf. (2008). Short-duration insemination with frozen semen increase fertility rate in nulliparous dairy goats. *(Abtract). Animal,* 2, 1496-1500.

Kajaysri, J., & C. Thammakarn. (2012). Estrus synchronization using intravaginal medroxyprogesterone acetate (MAP), MAP plus prostaglandin F_{2a}, controlled internal drug release (CIDR) or CIDR plus prostaglandin F_{2a}, in saanen dairy goats in Thailand. *Kasetsart J. (Nat. Sci.),* 46, 71-79.

Karaca, F., D. Gökhan , M. K. Sarıbay, & C. T. Ates. (2010). Oestrus synchronization with short-term and long-term progestagen treatments in goats: the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment. *Italian J. of Anim. Sci.,* 9, 1-8.

Kundu, C. N., J. Chakrabarty, P. Dutta, & D. Bhattacharyya. (2000). Development of a simple sperm cryopreservation model using a chemically defined medium and goat cauda epididymal spermatozoa. *Cryobiology,* 40, 117-125.

Kundu, C. N., J. Chakrabarty, P. Dutta, D. Bhattacharyya, A. Ghosh, & G. C. Majumder. (2002). Effect of dextrans on cryopreservation of goat cauda epididymial spermatozoa using a chemically defined medium. *Reproduction,* 123, 907-913.

Kundu, C. N., K. Das, & G. C. Majumder. (2001). Effect of amino acids on goat cauda epididymal sperm cryopreservation using a chemically defined model system. *Cryobioiogy,* 41, 21-27.

Leboeuf, B., B. Restall, & S. Salamon. (2000). Production and Storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science,* 62, 113-141.

Manjunath, P. (2012). New insignts into the understanding of the mechanism of sperm protection by extender componants. *Animal Reproduction,* 9, 809-815.

Medan, M. S., G. Watanabe, K. Sasaki, N.P. Groome, S. Sharawy, & K.Taya. (2005). Follicle and hormonal dynamics during the estrus cycle in goats. *Journal* of *Reproduction* and *Development,* 51, 455-463.

Memom, A. A., H. Wahid, Y. Rosnina, Y. M. Goh, Ebrahimi, M., F. M. Nadia, & G.Audrey. (2011). Effect of butylated hydroxytoluueen on cryopreservation of Boer goat semen in Tris egg yolk extender. *Animal Reproduction Science,* 129, 44-49.

Memom, A. A., H. Wahid, Y. Rosnina, Y. M. Goh, M. Ebrahimi, & F. M. Nadia. (2012). Effect of antioxidants on post thaw microscopic, oxidative stress parameter and fertility of Boer goat spermatozoa in Tris egg yolk glycerol extender. *Animal Reproduction Science*., 136, 55-60.

Miyamoto, A., & K. Shirasuna. (2009). Luteolysis in the cow: a novel concept of vasoactive molecules. *Animal Reproduction Science,* 6, 47-59.

Naijian, H. R., H. Kohram, A. Z. Shahneh, & M. Sharafi. (2013). Effects of various concentrations of BSA on microscopic and oxidative parameters of Mahabadi goat semen following the freeze-thaw process. *Small Ruminant Research,* 113, 371-375.

Nordstoga, A. B., L. Soderquist, T. Adnoy, W. Farstad, & H. Paulenz. (2010). Vaginal deposition of frozen-thawed semen in Norwegain dairy goats: Comparison of single and double insemination with equal total number of spermatozoa. *Theriogenology,* 74, 895 - 900.

Paulenz, H., L. Soderquist, T. Adnoy, K. Soltun, P. A. Saether, K. R. Fjellsoy, & K. Andersen Berg. (2005). Effect of cervical and vaginal insemination with liquid semen stored at room temperature on fertility of goats. *Animal Reproduction Science,* 86, 109-117.

Ptaszynska, M. (2003). Caprine Reproduction *Compendium of Animal Reproduction*, 149-159.

Purdy P.H. (2006). A review on goat sperm cryopreservation. *Small Ruminant Research,* 63, 215-225.

Qureshi, M. H., D. Khan, A. Mushtaq, & S. S. Afridi. (2013). Effect of extenders, post dilution intervals, and seasons on semen quality in dairy goats. *Turk J. Vet. Anim. Sci,* 37, 147-152.

Rahman, R.B. Abdullah, & W.E.Wan-Khadijah. (2008). Estrus synchronization and superovulation in goats: a review.

Roca, J., J. A. Carrizosa, I. Campos, A. Lafuente, J. M. Vazquez, & E. Martinez. (1997). Viability and fertility of unwashed Murciano- Granadina goat spermatozoa diluted in Tris- egg yolk extender and stored at 5ºC. *Small Ruminant Research,* 25, 147-153.

Romano, J. E. (2004). Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Ruminant Research,* 55(1), 15-19. doi:https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.10.015

Salamon, S., & W. Maxwell. (1995). Frozen storage of ram semen II. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. *Animal Reproduction Science,* 38, 1-36.

Salamon, S., & W.M.C. Maxwell. (2000). Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science,* 62, 77-111.

Salmani, H., M. M. Nabi, H. Vasenghi- Dodaran, M. B. Rahman, A. Mohammadi-Sangcheshmeh, M. Shakeri, M. Zhandi. (2013). Effect of glutathione in soybean lecithin- based semen extender on goat semen quality after freeze- thawing. *Small Ruminant Research,* 112, 123-127.

Salmani, H., Towhidi, A., Zhandi, M., Bahreini, M., & Sharafi, M. (2014). *In vitro* assessment of soybean lecithin and egg yolk based diluents for cryopreservation of goat semen. *Cryobiology,* 68, 276-280.

Salvador, I., J. Yaniz, M.P. Viudes-de-Castro, E.A. Gomez, & M.A. Silvestre. (2006). Effect of solid storage on caprine semen conservation at 5 degrees C. *Theriogenology,* 66, 974-981.

Santiago-Moreno, J., A. Toledano-Di'az, A. Pulido-Pastor, A. Go'mez-Brunet, & Lo'pez-Sebastia'n, A. (2006). Brith of live Spanish ibex (Capra pyrenaica hispanica) derived from artificial insemination with epididymal spermatozoa retrieved after death. *Theriogenology,* 66, 283-291.

Saribay, M. K., K. Fikret, D. Gokhan, E. Yasar, Ilker, Y., & T. A. Cafer. (2011). Oestrus Synchronization by Short and Long- Term Intravaginal Sponge Treatment in Lactating Goats During the Breeding Season : The Effects of GnRH

Administrations Immediately after Matings on Fertility. *Journal of Animal Veterinary advances,* 10, 3134-3139.

Sarıozkan S, M.N. Bucak , P.B. Tuncer , U. Tas¸demir , H. Kinet , & Ulutas¸, P. A. (2010). Effects of different extender and centrifugation/ washing on post- thaw microscopic- oxidative stress parameter and fertilizing ability of Angora buck sperm. *Theriogenology,* 73, 316-323.

Simões J. (2016). Synchronization of ovulation in goats using prostaglandin F_{2a} based protocols during the breeding season. *J Coast Life Med, 4*, 240-243.

Sohnrey B., & W. Holtz. (2005). Technical Note: Transcervical deep cornual insemination of goats. *Journal of Animal Science,* 83(7), 1543-1548.

Steyn, J. (2010). Application of Artificial Insemination (AI) on commercial sheep and goat production. Retrieved from http: / / mysare. sare. org/ wp-content/uploads/993336Sheep%20AI%20-%20Steyn%20-%20fresh.pdf.

Sundararaman, M. N., J. Kalatharan, & M. J. Edwin. (2009). Attempts to achieve semen collection from incapacitated boer bucks by electro-ejaculation. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances,* 2, 244-246.

Vilariñoa M., E. Rubianes, & Menchaca, A. (2011). Re-use of intravaginal progesterone devices associated with theShort-term Protocol for timed artificial insemination in goats. *Theriogenology, 75*, 1195-1200.

Whitley, N. C., and D. J. Jackson. (2004). An update on estrus synchronization in goats: A minor species. *Journal of Animal Science,* 82, 270-276.

Wildeus, S. (2000). Current concept in synchronization of estrus: sheep and goat. *Journal of Animal Science,* 77, 1-14.

กรมปศุสัตว์. (2560). สถิติปศุสัตว์ ศูนย์สารสนเทศ: สรุปข้อมูลและสถิติจานวนแพะและเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะประจำปี 2560. กรมปศุสัตว์ พญาไท กรุงเทพฯ.

กฤติยา เลิศชุณหะเกียรติ. (2556). โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการสืบการสืบพันธุ์และการจัดการด้านอาหารเพื่อส่งเสริมให้เกิดประสิทธิภาพในการผลิตแพะอย่างยั่งยืน. หลักการและเทคนิคการผสมพันธุ์แพะวิธีการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการผสมเทียมแพะ. คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี, จังหวัดเพชรบุรี.

กฤติยา เลิศชุณหะเกียรติ, ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์, จิรัฐติ ธรรมศิริ, ทศพล มูลมณี, ศรุติวงศ์ บุญคง , วิไลวรรณ ขันธุแสง, และอารีย์ ไกรสูรย์. (2555). ผลของอายุแม่แพะในการผสมพันธุ์ต่อการตั้งท้อง. *แก่นเกษตร,* 40 (ฉบับพิเศษ 2), 3-36.

กองบำรุงพันธุ์สัตว์, (2558). สายพันธุ์แพะ. กรมปศุสัตว์ พญาไท กรุงเทพฯ. Retrieved from www.breeding.dld.go.th/small/breeding_2/goat_deer/goat1.html

กันยารัตน์ ภูมี และนิตยา ลีละประสพโชค. (2557). การเปรียบเทียบของขนหนังของแพะเพศผู้สายพันธุ์บอร์ที่ผ่านกระบวนฟอกหนังด้วยสูตรเกลือ-กรดและสูตรกากกาแฟสด. คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี, จังหวัดเพชรบุรี.

จุรีรัตน์ สำเร็จประสงค์. (2559). การผสมเทียมแพะแกะ. เอกสารประกอบการบรรยายในการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ “การวิจัยการขยายพันธุ์แพะแกะด้วยเทคโนโลยีการผสมเทียมผ่านคอมดลูกและผ่านกล้องลาพาโลสโคบ” วันที่ 26-28 กรกฎาคม 2559 In (pp. 1-12). ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อน จังหวัดนครราชสีมา.

เฉลิม มหามาตร. (2552). ศึกษาผลของการคัดแยกเซมินอลพลาสมาและการเสริม *Eguex STM Paste* ต่อคุณภาพน้ำเชื้อแพะแช่แข็ง. (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต), มหาวิทยาลัยขอนแก่น,

ซารีนา ลือแม. (2550). การเลี้ยงแพะตามวิถีมุสลิม:แนวทางสู่ความสำเร็จ. วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา, 2(1), 72-81.

ณรงค์ เลี้ยงเจริญ, อนนท์ เทืองสันเทียะ, จตุพร พงษ์เพ็ง, & มาลี อภิเมธีธำรง. (2551). การเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็งแพะจากการผลิตโดยใช้สารละลายน้ำเชื้อที่มีปริมาณไข่แดง 2.5, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์. ประชุมวิชาการสัตวแพทย์ศาสตร์ มข. ครั้งที่ 9, 229-234.

เทวินทร์ วงษ์พระลับ. (2542). การสืบพันธุ์ในสัตว์เลี้ยง. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นิวัตน์ ถาวระ, อนนท์ เทืองสันเทียะ, & บันลือ กล่ำพูล. (2550). การเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR-G และ PGF 2α ร่วมกับ PMSG ต่อการผสมติดของแพะพันธุ์ซาแนน. *วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์,* 2(1), 1-7.

บัญชา สัจจาพันธ์. (2556). สถานการณ์การผลิต การบริโภค และการตลาดแพะในพื้นที่ภาคใต้ตอนล่าง.

บุญเสริม ชีวะอิสระกุล. (2546). การเลี้ยงดูและจัดการแพะ. ภาควิชาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พงศ์เทพ พลแสง. (2557). การผสมเทียม: ปัญหา อุปสรรค และความล้มเหลวในการผสมเทียม. Retrieved from http://www.seekun.net/15.Alys12.pdf

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงษ์, & ธิยา รัตนาปนนท์. (2561). lecithin / เลซิทิน. Retrieved from http: / / www. foodnetworksolution. com/ wiki/ word/ 1 2 8 0 / lecithin-%E0%B9%80%E0%B8%A5%E0%B8%8B%E0%B8%B4%E0%B8%97%E0%B8%B4%E0%B8%99

พีรพงษ์ สำราญทรัพย์, สาโรช งามขำ, อนนท์ เทืองสันเทียะ, และณรงค์ เลี้ยงเจริญ. (2552). ประสิทธิภาพการลดฮอร์โมน PMSG ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัด และ ผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งในแพะ. *วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์,* 4(1), 16-23.

พีระศักดิ์ สุทธิโยธิน. (2548). สรีรวิทยาการสืบพันธุ์ของสัตว์เลี้ยง. กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภัทรภร ทัศพงษ์. (2556). การผลิตสัตว์เคี้ยงเอื้อง (Ruminants Production). เอกสารประกอบการเรียนการสอน ส าหรับนิสิตสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหารสัตว์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ภูเบศวร์ เศรษฐสุข, สุกัญญา รัตนทับทิมทอง, ศรีสุวรรณ ชมชัย, จักรภพ จันทร์สะอาด, และวิศิษฐ ทองเที่ยง. (2555). ผลของความเร็วและเวลาในการปั่นแยกเซมินิลพลาสมาต่อคุณภาพอสุจิในน้ำเชื้อแพะแช่เข็ง. การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9, 1382-1387.

มาลี อภิเมธีธำรง, จักรภพ จันทร์สะอาด, บรรจง จงรักษ์วัฒนา, วิทยา ขจีรัมย์, อรุณ ชุมแก้ว, และณรงค์ เลี้ยงเจริญ. (2556). อัตราการตั้งท้องหลังผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในแพะที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบโปรแกรมระยะสั้น. *วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร,* ฉบับที่ 44 (พิเศษ). 207-210.

รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล. (2552). การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อ. Retrieved from http://km.dld.go.th/th/images/stories/document/division/biotech/documents/Semen/semenqcmanual.pdf

วินัย ประลมพ์กาญจน์. (2542). การผลิตแพะเนื้อและแพะนมในเขตร้อน. ไทม์พริ้นติ้ง, นครศรีธรรมราช.

วิไลวรรณ ขันธุแสง, ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์, ทศพล มูลมณี, จิรัฐติ ธรรมศิริ, ศรุติวงศ์ บุญคง, และ วินัย ใจขาน. (2555). ผลของชนิดโปรเจสเทอโรนสังเคราะห์ต่ออัตราการผสมติดในแพะพื้นเมืองไทยโดยวิธีผสมเทียมแบบกำหนดเวลา. *แก่นเกษตร,* 40 (ฉบับพิเศษ 2), 239-242.

สมเกียรติ สายธนู, พีระศักดิ์ สุทธิโยธิน, และเสาวนิต คูประเสริฐ. (2544). การกระจายของประชากรแพะและลักษณะของแพะพันธุ์พื้นเมืองในภาคใต้. ศูนย์วิจัยและพัฒนาสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก. ฝ่ายวิจัยและบริการวิชาการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุวิทย์ อโนทัยสินทวี. (2558). การให้อาหารแพะตามปริมาณความต้องการ (NRC, 1989). Retrieved from http://breeding.dld.go.th/small/pdf/nrc.pdf,

อนนท์ เทืองสันเทียะ, จตุพร พงษ์เพ็ง, บันลือ กล่ำพูล, & มาลี อภิเมธีธำรง. (2551). คุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็งแพะจากการผลิตโดยวิธีปั่นและไม่ปั่นแยกเซมินิลพลาสมา. Paper presented at the ประชุมวิชาการสัตวแพทย์ศาสตร์ มข. ครั้งที่ 9, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เอกชัย พฤกษ์อำไพ. (2546). คู่มือเลี้ยงแพะ. โรงพิมพ์เทพพิทักษ์การพิมพ์. กรุงเทพฯ.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

รายการอ้างอิง

Corteel, J. M., Leboeuf, B., & Baril, G. (1988). Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season *Small Ruminant Research, 1* 19-35.

Evan, G., & W.C. Maxwell. (1987). Salamons artificial insemination of sheep and goats. *Butterwarths. Sydney*, 194.

Gordon, I. R. (1983). *Controlled breeding in farm animals*. Oxford Oxfordshire ; New York.: Pergamon Press.

Simões J. (2016). Synchronization of ovulation in goats using prostaglandin F2α based protocols during the breeding season. *J Coast Life Med, 4*, 240-243.

Vilariñoa M., E. Rubianes, & Menchaca, A. (2011). Re-use of intravaginal progesterone devices associated with theShort-term Protocol for timed artificial insemination in goats. *Theriogenology, 75*, 1195-1200.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ภาพภาคผนวกประกอบการทดลองเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน

ก.

ข.

ค.

ง.

จ.

ฉ.

ภาพที่ 14 การเลี้ยงแพะ

ก. โรงเรือนที่ใช้ในการเลี้ยงแพะ

ข. การปล่อยแพะ เพื่อตรวจเช็คอาการเป็นสัด

ค. ขังแพะตัวผู้ไว้ในคอก

ง. การให้อาหารข้น

จ. การให้อาหารหยาบ

ฉ. การให้น้ำ

ก.

ข.

ค.

ง.

ภาพที่ 15 วัสดุอุปกรณ์ในการทดลอง

ก. วัสดุอุปกรณ์ในการถ่ายพยาธิ

ข. วัสดุอุปกรณ์ในการอัลตราซาวนด์

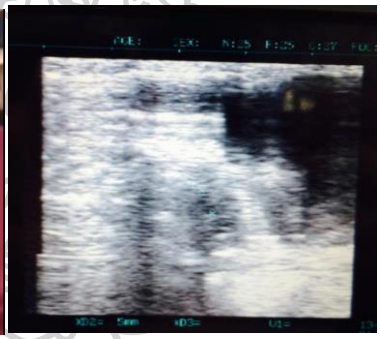
ค. วัสดุอุปกรณ์ในการเก็บตัวอย่างเลือด

ง. วัสดุอุปกรณ์ในการสอดฮอร์โมน

ก.

ข.

ค.


ง.

ภาพที่ 16 การเก็บข้อมูล

ก. การชั่งน้ำหนักแพะ

ข. การเก็บตัวอย่างเลือด

ค. การอัลตราซาวนด์

ง. ภาพรังไข่จากการอัลตราซาวนด์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ก.

ข.

ค.

ง.

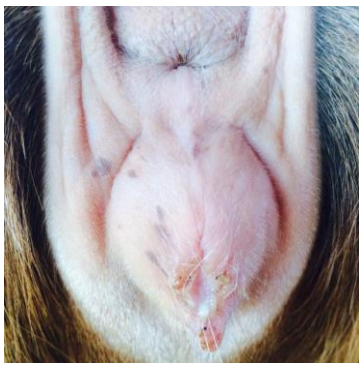
ภาพที่ 17 ฮอร์โมนใช้ในการทดลอง

ก.-ข. ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนรูปแบบสอดซิลิโคน (CIDR-G)

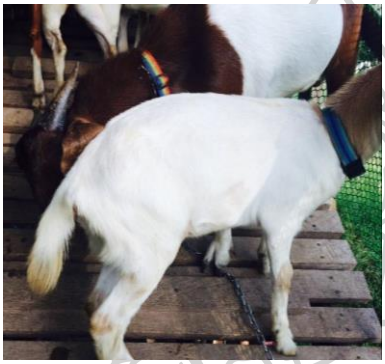
ค. ฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูอัลฟา ($PFG_{2}\alpha$)

ง. โกนาโดโทรปินส์รีลิซซิงฮอร์โมน (GnRH)

ก.



ข.



ค.

ง.

จ.

ภาพที่ 18 วิธีการสังเกตอาการเป็นสัด

ก. ปัสสาวะบ่อย

ข. อวัยวะเพศบวมแดงและมีเมือก

ค. ตัวผู้ดมปัสสาวะและอวัยวะเพศตัวเมีย

ง. ปีนป่ายตัวอื่นและยอมให้ตัวอื่นปีนป่าย

จ. male frehmen

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนการรีดเก็บน้ำเชื้อ

ขั้นตอนการรีดเก็บน้ำเชื้อ ตามวิธีของเทวินทร์ (2542)

เตรียมอุปกรณ์รีดน้ำเชื้อ ช่องคลอดเทียม (artificial vagina; AV)
หลอดเก็บน้ำเชื้อ (ampule) ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
กระปุกเก็บน้ำร้อน อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เพื่อควบคุมอุณหภูมิของอสุจิหลังการรีดเก็บแล้ว
กระปุกน้ำร้อนอุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส เพื่อควบคุมอุณหภูมิของช่องคลอดเทียม
เทอร์โมมิเตอร์ และสารหล่อลื่น
กระบอกฉีดยาขนาด 10 มิลลิลิตร
กระดาษวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

⇩

ทำการรีดน้ำเชื้อแพะเพศผู้รายตัว โดยการใช้แพะเพศเมียเป็นตัวล่อ ใช้ช่องคลอดเทียมและหลอดเก็บน้ำเชื้อสอดเข้าใต้ท้องแพะเพศเมีย ให้ปากช่องคลอดเทียมอยู่ตรงบริเวณบริเวณอวัยวะสืบพันธุ์ของแพะเพศเมีย

⇩

ดูปริมาตรน้ำเชื้อสด และเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
ตรวจคุณภาพของน้ำเชื้อเบื้องต้น
สี
ปริมาตร (มิลลิลิตร)
ค่ากรด-ด่าง
ความเข้มข้นของน้ำเชื้อเฉลี่ย
คะแนนการเคลื่อนที่รายกลุ่มเฉลี่ย

⇩

ทำน้ำเชื้อรวม (pool semen)

ภาคผนวก ค

ขั้นตอนการเจือจางน้ำเชื้อ

ขั้นตอนการเจือจางน้ำเชื้อ ตามวิธีของภูเบศวร์ และคณะ (2555)

น้ำเชื้อรวม (Pool semen)

ทำการเจือจางน้ำเชื้อ

เตรียมสารเจือจางน้ำเชื้อ
ทรีทเมนต์ 1 PBS เป็นทรีทเมนต์ควบคุม
ทรีทเมนต์ 2 Tris citric fructose glycerol (TCF)
ทรีทเมนต์ 3 Tris citric fructose glycerol (TCF) + Soybean Lecithin
ทรีทเมนต์ 4 Tris citric fructose glycerol ((TCF) + Egg yolk

ละลายสารเคมีดังกล่าวด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้น
เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ
เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของอสุจิเฉลี่ย
เปอร์เซ็นต์การตายของอสุจิเฉลี่ย
เปอร์เซ็นต์ค่าความผิดปกติเฉลี่ย
ความเข้มข้นของน้ำเชื้อเฉลี่ย

ภาคผนวก ง

ขั้นตอนการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ขั้นตอนการทำน้ำเชื้อแช่แข็งตามวิธีของเทวินทร์ (2542)

น้ำเชื้อรวม (pool semen)
ที่ผสมสารเจือจางน้ำเชื้อกับ
สารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งแล้ว

ทำการลดอุณหภูมิจาก 37 องศาเซลเซียส
ให้อยู่ภายในอุณหภูมิห้อง ลดลงให้เหลือ
5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง
จากนั้นลดอุณหภูมิให้เหลือ-196 องศาเซลเซียส

เก็บน้ำเชื้อที่ทำการลดอุณหภูมิที่
ถังไนโตรเจนแล้ว

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก จ

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ ตามวิธีของรพีพรรณ (2552)

การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อ

1. ลักษณะทั่วไป ได้แก่ สี กลิ่น และการปนเปื้อน โดยปกติแล้วน้ำเชื้อที่มีอสุจิเข้มข้นจะมีลักษณะขาวขุ่น หากน้ำเชื้อมีลักษณะใสแสดงว่ามีตัวอสุจิน้อย ไม่ควรนำมาใช้

2. ปริมาตร (volume) วัดได้จากหลอดที่รองเก็บน้ำเชื้อ

3.ความหนาแน่น (density) ความหนาแน่นของน้ำเชื้อบอกถึงจำนวนตัวอสุจิหรือ ความเข้มข้นของน้ำเชื้อโดยประมาณ ถ้ามีตัวอสุจิมากหรือมีความหนาแน่นสูงน้ำเชื้อจะมีลักษณะทึบ (opaque) การรีดเก็บน้ำเชื้อโดยให้ขึ้นทับตัวล่อแต่ไม่หลั่งน้ำเชื้อ (false mount) จะทำให้น้ำเชื้อที่รีดเก็บได้มีความหนาแน่นสูง จำนวนตัวอสุจิเพิ่ม การตรวจวิเคราะห์ความหนาแน่นของน้ำเชื้อใช้วิธีประเมินด้วยสายตา ทำให้ทราบเข้มข้นของน้ำเชื้อได้โดยประมาณ

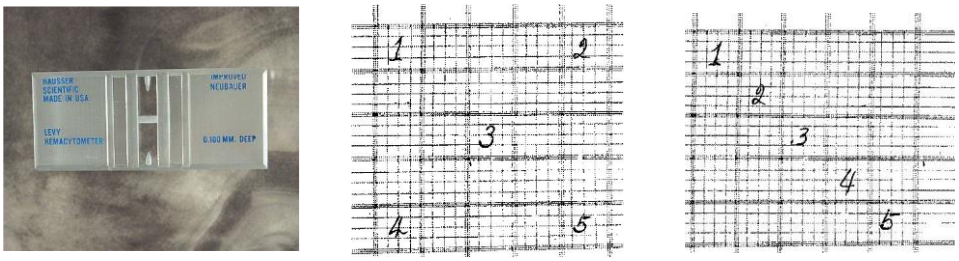
ตารางที่ 16 ลักษณะ ความหนาแน่น และความเข้มข้นของน้ำเชื้อจากการประมาณด้วยสายตา

ลักษณะ	**ความหนาแน่น**	**ความเข้มข้นโดยประมาณ (จำนวนตัวอสุจิ/ลบ.มม.)**
ใส (watery)	D	<200,000
ขุ่น (opalescent)	DD	200,000 – 500,000
คล้ายน้ำนม (milky opaque)	DDD	500,000 – 1,000,000
ข้น (creamy-grainy)	DDDD	>1,000,000

ที่มา: รพีพรรณ (2552)

4. ความเป็นกรดและด่าง (pH) น้ำเชื้อปกติมีความเป็นกรดและด่าง ประมาณ 6.0-7.0 การวัดความเป็นกรดและด่างของน้ำเชื้อนิยมใช้กระดาษวัดความเป็น กรดและด่าง (pH paper) วิธีการคือหยดน้ำเชื้อลงบนกระดาษวัดความเป็นกรดและด่าง เมื่อกระดาษเปลี่ยนสี นำไปเปรียบเทียบกับตัวอย่างสีมาตรฐานบนกล่องวัดความเป็นกรดและด่าง

5. ความเข้มข้น (concentration) การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อโดยการวัดความเข้มข้นของน้ำเชื้อ มีจุดประสงค์เพื่อที่จะทราบจำนวนตัวอสุจิต่อมิลลิลิตรของน้ำเชื้อ เพื่อนำไปคำนวณสำหรับการเจือจางน้ำเชื้อให้มีจำนวนตัวอสุจิที่ต้องการต่อโด๊สในการผลิตน้ำเชื้อสำหรับผสมเทียม โดยใช้สไลด์นับเม็ดเลือด (haemocytometer) (ภาพที่ 19) จะต้องเจือจางน้ำเชื้อ นับจำนวนตัวอสุจิผ่านกล้องจุลทรรศน์ และคำนวณความเข้มข้นกลับตามอัตราการเจือจางที่เจือจางไว้



ภาพที่ 19 สไลด์นับเม็ดเลือดนำมาใช้ตรวจวัดความเข้มข้นของน้ำเชื้อ และการแบ่งเป็นช่องสี่เหลี่ยมจัตุรัสเล็ก 16 ช่องในสี่เหลี่ยมที่มีขอบเป็นเส้นขนานบนสไลด์นับเม็ดเลือด

การนับตัวอสุจิที่อยู่คาบเส้นคู่ ให้กำหนดว่าจะนับตัวอสุจิที่อยู่ด้านบนและด้านซ้ายของเส้นคู่ หรือ จะนับตัวอสุจิที่อยู่ด้านขวาและด้านล่างของเส้นคู่ อย่างใดอย่างหนึ่ง เพื่อมิให้นับซ้ำ เมื่อนับจำนวนตัวอสุจิใน 5 ช่องรวมกันแล้ว คำนวณความเข้มข้นของน้ำเชื้อ ซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้

<u>ถ้าเจือจางน้ำเชื้อ 1:100</u>

นับตัวอสุจิ 5 ช่อง = N ตัว จะได้ความเข้มข้นของน้ำเชื้อเท่ากับ $5Nx10^6$ ตัว/มล.

<u>ถ้าเจือจางน้ำเชื้อ 1:200</u>

นับตัวอสุจิ 5 ช่อง = N ตัว จะได้ความเข้มข้นของน้ำเชื้อเท่ากับ $10Nx10^6$ ตัว/มล.

6. เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของอสุจิ (percentage of sperm motility) การประเมินการเคลื่อนที่จะใช้การประเมินการเคลื่อนที่แบบคลื่น (wave motion characteristics) หรือการเคลื่อนที่แบบหมู่ (mass movement) โดยปกติแล้วน้ำเชื้อที่รีดมาใหม่เมื่อทำการตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40-400 เท่า จะพบการเคลื่อนที่ของอสุจิแบบคลื่น วิธีการนี้จะทำโดยหยดน้ำเชื้อลงบนแผ่นสไลด์หลุมที่สะอาด อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปจะประเมินการเคลื่อนที่เป็นคะแนน 0-5 คะแนน

7. เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของอสุจิ (percentage of sperm viability) วิธีที่นิยมและสะดวก คือ การย้อมสีเพื่อแยกอสุจิมีชีวิต และอสุจิตาย (differential staining of live and dead sperm) โดยสีที่ใช้ย้อม คือ อีโอซิน-นิโกรซิน โดยอีโอซินจะไม่สามารถผ่านเข้าไปภายในเซลล์ของอสุจิมีชีวิตได้ ส่วนที่ตายหรือผนังเซลล์บกพร่องจะติดสีชมพูของอีโอซินในการย้อม

8. เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของอสุจิ (percentage abnormal spermatozoa) โดยปกติแล้วน้ำเชื้อจะมีอสุจิรูปร่างผิดปกติประมาณ 5% การผสมติดจะไม่กระทบกระเทือนหากตัวอสุจิที่ผิดปกติมีไม่ถึง 20-25% ซึ่งตัวอสุจิที่ผิดปกตินี้จะเคลื่อนที่ไม่ตรง ดังนั้น การประเมินการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิตรวจใต้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดาและการย้อมสีจะทำให้การตรวจเช็คทำได้

9. การตรวจความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มตัวอสุจิ (Membrane integrity) ด้วยวิธี Hypo-osmotic swelling test (HOS test) เป็นวิธีที่ใช้ตรวจจำนวนตัวอสุจิที่มีชีวิตในน้ำเชื้อสดและน้ำเชื้อแช่แข็ง อาศัยหลักการของแรงดันออสโมติก (osmotic pressure) น้ำเกลือที่มีแรงดันออสโมติกต่ำ (hypotonic saline) สามารถแทรกซึมเข้าไปในตัวอสุจิที่มีชีวิต ทำให้หางตัวอสุจิจะงอม้วน ตัวอสุจิที่ตายจะไม่เกิดปรากฏการณ์นี้ โดยหยดน้ำเชื้อ 1 หยด ผสมกับน้ำยา ซึ่งประกอบด้วย fructose และ sodium citrate ซึ่งมีความดันสารละลาย 100 mOsmol 1 หยด บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 – 60 นาที จากนั้นนำมาตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจดูอัตราส่วนของอสุจิที่มีการบวมที่หาง

10. การตรวจความสมบูรณ์ของอโครโซม (acrosome integrity) โดยการย้อมสี coomassie blue G -250 (0.22% coomassie blue G-250, 50% methanol, 10% glacial acetic acid, 40% water) แล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจดูอัตราส่วนความผิดปกติอโครโซม

ภาคผนวก ฉ

ภาพภาคผนวกประกอบการทดลองผลของสารเจือจางน้ำเชื้อ

ภาพภาคผนวกประกอบการทดลองผลของสารเจือจางน้ำเชื้อ

ก

ข

ค

ง

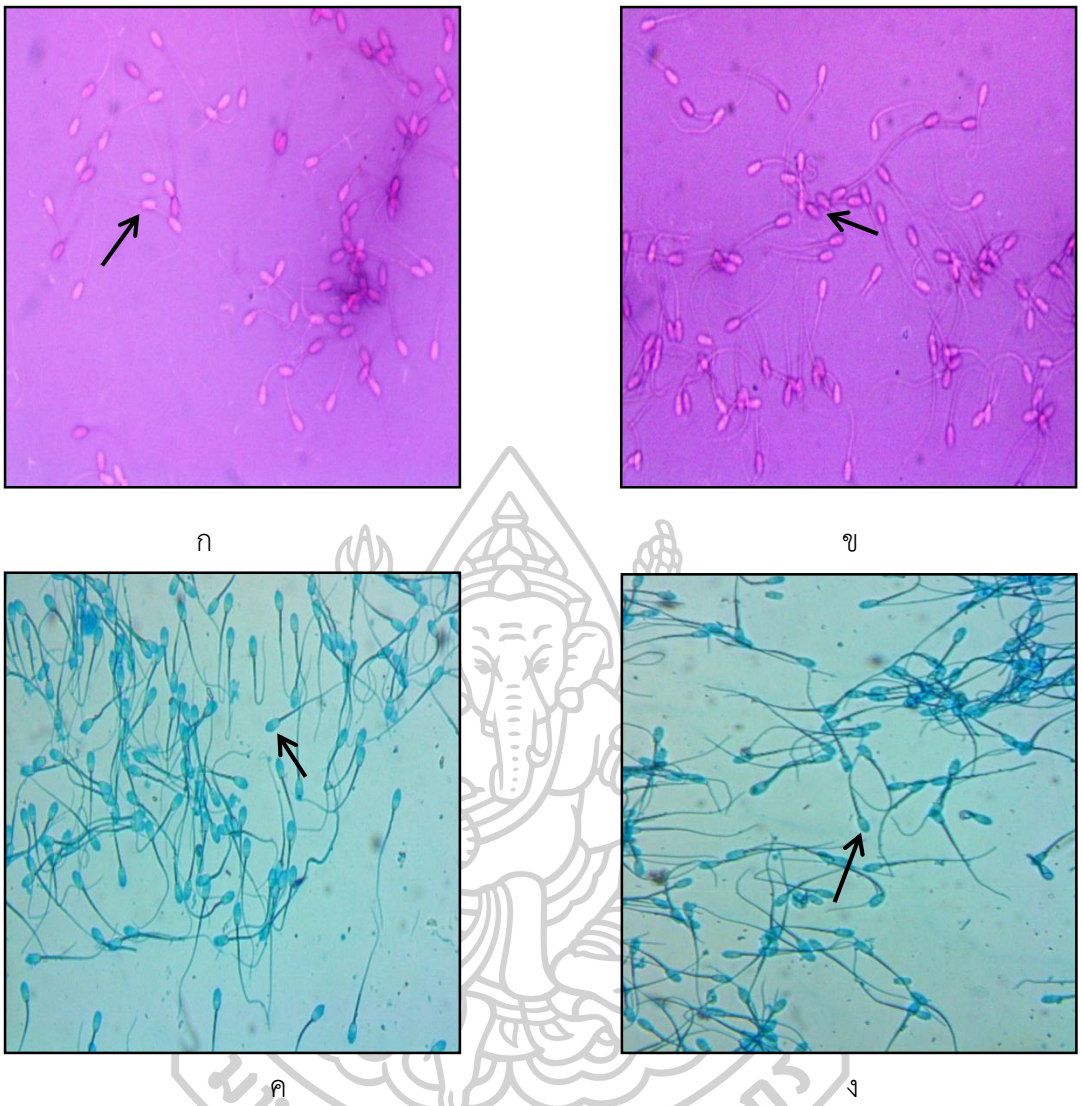
ภาพที่ 20 อุปกรณ์และการรีดเก็บน้ำเชื้อ

ก=ช่องคลอดเทียม (artificial vagina; AV)

ข=เจลหล่อลื่น

ค=ฮอร์โมนในการเหนี่ยวนำการเป็นสัด

ง=ขั้นตอนการรีดน้ำเชื้อ



ก ข

ค ง

ภาพที่ 21 อสุจิลักษณะต่าง ๆ

ก = ลักษณะของอสุจิที่ไม่มีชีวิต

ข = ลักษณะของอสุจิที่มีชีวิต

ค = ลักษณะของอะโครโซมที่สมบูรณ์

ง = ลักษณะของอะโครโซมที่ไม่สมบูรณ์

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ผกาทิพย์ ยอดมิ่งขวัญ
วัน เดือน ปี เกิด	24 พฤศจิกายน 2522
สถานที่เกิด	จังหวัดนครปฐม
วุฒิการศึกษา	ปริญญาตรี
ที่อยู่ปัจจุบัน	คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร ม.ศิลปากร เลขที่ 1 ม. 3 ต.สามพระยา อ.ชะอำ จ.เพชรบุรี 76120
ผลงานตีพิมพ์	Phakatip Yodmingkwan, Somchit Guntaprom, Juggrid Jaksamrit, Krittiya Lertchunhakiat .Effects of Extenders on Fresh and Freezing Semen of Boer Goat. Agriculture and Agricultural Science Procedia 11 (2016) 125 – 130

มหาวิทยาลัยศิลปากร