ผลของฤดูกาลต่อการตอบสนองการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ โดยใช้โปรแกรมฮอร์โมน FSH (Antorin R 10 AL) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน

โดย
นางสาวญาณี วัฒนศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ผลของฤดูกาลต่อการตอบสนองการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ โดยใช้โปรแกรมฮอร์โมน FSH (Antorin R 10 AL) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน

โดย
นางสาวญาณี วัฒนศรี

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาสัตวศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2563
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

EFFECT OF SEASONS ON SUPEROVULATION PROTOCOL USING FSH (ANTORIN R 10 AL) IN HOLSTEIN FRIESIAN CROSSBRED DAIRY COWS

By

MISS Yanee WATTANASRI

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (Animal Science)

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2020

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	ผลของฤดูกาลต่อการตอบสนองการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้โปรแกรมฮอร์โมน FSH (Antorin R 10 AL) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน
โดย	ญาณี วัฒนศรี
สาขาวิชา	สัตวศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ดร. พิรวิทย์ เชื้อวงษ์บุญ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

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

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรพรรณ แสนภูมิ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ดร.พิรวิทย์ เชื้อวงษ์บุญ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(ดร.กฤติยา เลิศชุณหะเกียรติ)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(รองศาสตราจารย์ ดร.เทวินทร์ วงษ์พระลับ)

60751202 : สัตวศาสตร์ แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

นางสาว ญาณี วัฒนศรี: ผลของฤดูกาลต่อการตอบสนองการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ โดยใช้โปรแกรมฮอร์โมน FSH (Antorin R 10 AL) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ดร. พิรวิทย์ เชื้อวงษ์บุญ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของฤดูกาลต่อการตอบสนองในโปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ใน 1 รอบปี ที่มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิและความชื้น โดยศึกษา การตอบสนองของรังไข่ จำนวนคอร์ปัสลูเทียม (Corpus Luteum; CL) จำนวนและคุณภาพของตัวอ่อนที่ได้จากการชะล้างเก็บตัวอ่อน (Flushing embryos) เพื่อนำไปทำการย้ายฝากตัวอ่อน โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่มการทดลอง ทำการทดลองกลุ่มละ 12 ตัว และทำการทดลองซ้ำกลุ่มละ 4 ซ้ำ ได้แก่ กลุ่มการทดลองที่ 1 การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในฤดูหนาว, กลุ่มการทดลองที่ 2 การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในฤดูร้อน และกลุ่มการทดลองที่ 3 การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในฤดูฝน โดยใช้โปรแกรมฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ปริมาณ 40 AU จากการศึกษา พบว่าจำนวนคอร์ปัสลูเทียม ในวันที่ 7 พบค่าเฉลี่ยจำนวนคอร์ปัสลูเทียม ในกลุ่มการทดลองที่ 1, 2 และ 3 มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม ในทุกกลุ่มการทดลอง มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ต่อจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ ในกลุ่มการทดลองที่ 1 และ 2 มีค่า 65.99 ± 35.30 และ 60.32 ± 36.46 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่ากลุ่มการทดลองที่ 3 ที่มีค่า 31.71 ± 32.07 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) เปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม ในกลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 51.59 ± 33.58 เปอร์เซ็นต์ มีค่าสูงกว่ากลุ่มการทดลองที่ 3 ที่มีค่าเท่ากับ 23.33 ± 26.58 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$) จำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ต่อตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ถึงระยะบลาสโตซิสต์ ในกลุ่มการทดลองที่ 1 2 และ 3 มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ตัวอ่อนที่เก็บได้ต่อตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ ในกลุ่มการทดลองที่ 1 2 และ 3 มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และ ตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ ในกลุ่มในกลุ่มการทดลองที่ 1 มีค่าเท่ากับ 41.86 ± 37.09 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่า กลุ่มที่ 2 และ 3 ที่มีค่า 9.40 ± 14.10 และ 12.10 ± 19.13 เปอร์เซ็นต์ ($P<0.05$)

จากการศึกษาวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ สามารถสรุปได้ว่าฤดูกาลมีผลต่อการตอบสนองในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนเมื่อเปรียบเทียบผลการตอบสนองของต่อฤดูกาล โดย ค่าเฉลี่ยจำนวนคอร์ปัสลูเทียม, ตัวอ่อนที่เก็บได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม, ตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ถึงระยะบลาสโตซิสต์ และตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ส่วนเปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ต่อตัวอ่อนที่เก็บได้ และเปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI) พบว่าขณะทำการศึกษาในฤดูหนาว ร้อน และฝน มีค่า THI เท่ากับ 73.18, 76.97 และ 76.25 ตามลำดับ ซึ่งหมายถึงอยู่ในสภาวะเครียดเล็กน้อย (Mild stress) จนถึง เครียดปานกลาง (Moderate) นอกจากนี้ยังกล่าวได้ว่าประเทศไทยควรทำการผสมพันธุ์โคนม หรือทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัด คือ ช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ ซึ่งทำให้แม่โคคลอดในช่วงระหว่างฤดูฝน จึงสรุปได้ว่าการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ฤดูกาล และความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละฤดูกาลที่แตกต่างกัน อาจส่งผลต่อความเครียดจากความร้อนที่ระดับต่างกันที่อาจส่งผลต่อการตอบสนองต่อโปรแกรมฮอร์โมนที่กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ที่แตกต่างกันได้

มหาวิทยาลัยศิลปากร

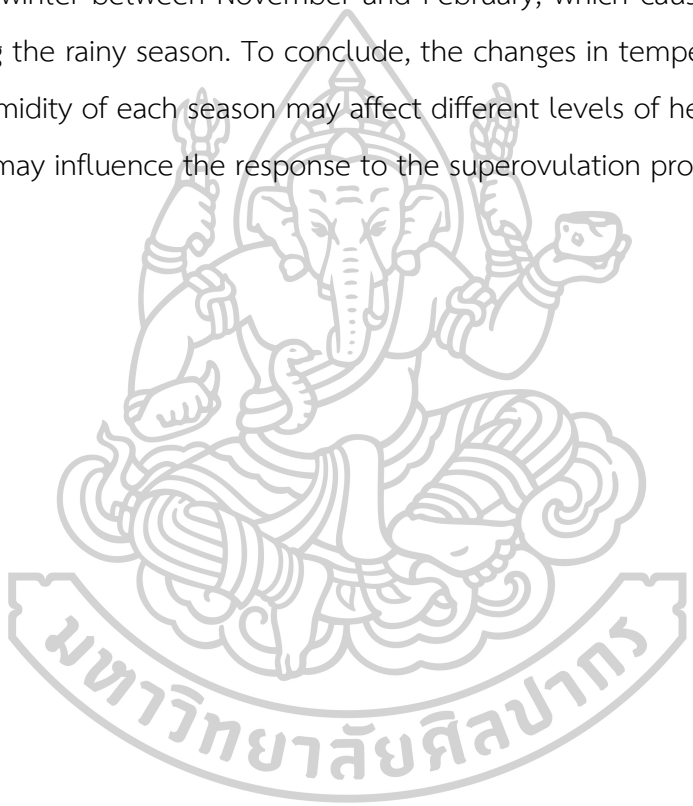
60751202 : Major (Animal Science)

MISS YANEE WATTANASRI : EFFECT OF SEASONS ON SUPEROVULATION PROTOCOL USING FSH (ANTORIN R 10 AL) IN HOLSTEIN FRIESIAN CROSSBRED DAIRY COWS THESIS ADVISOR : DR. PHIRAWIT CHUAWONGBOON

The objective of this research was to study the effect of superovulation protocols using FSH (Antorin R10 AL) with different temperatures and humidity in one year. The researcher studied the superovulatory response, the number of corpus luteum, and the quality of collected embryos from the process of flushing embryos. The samplings were separated into 3 groups (each group has 12 samplings), which group 1 conducted superovulatory experiment in the winter, group 2 conducted superovulatory experiment in the summer, and group 3 conducted superovulatory experiment in the rainy season, using FSH (Antorin R10) 40 AU.The results on day 7 showed that the average number of the corpus luteum and the collected embryos per corpus luteum in the sampling groups 1, 2 and 3 were no statistically significant differences (P> 0.05). On the other hand, the percentage of transferable embryos to the number of collected embryos in sampling groups 1 and 2 were 65.99 ± 35.30 and 60.32 ± 36.46 percent, which were higher than in sampling groups 3 at 31.71. ± 32.07 percent (P <0.05). The percentage of transferable embryos per corpus luteum count in sampling group 1 was 51.59 ± 33.58 percent, which was 23.33 ± 26.58 percent higher than in sampling group 3 (P <0.05). The number of collected embryos per embryo from morula to blastocyst stage in sampling groups 1, 2, and 3, there were no statistically significant differences (P> 0.05). The number of morula-stage embryos in sampling groups 1, 2, and 3, there were no statistically significant differences (P> 0.05), while the number of blastocyst-stage embryos in sampling group 1, the values were 41.86 ± 37.09 percent, which was higher than those in groups 2 and 3 with 9.40 ± 14.10 and 12.10 ± 19.13 percent (P <0.05), respectively.

From the results of the study, it can be concluded that seasons affect the ovulation stimulation response in the Holstein-Friesian breed. The average number of corpus luteum, collected embryo per corpus luteum, embryo from morula to blastocyst stage, and embryo collected from the morula stage were no statistically

significant differences (P> 0.05). Nevertheless, the percentage of transferable embryos per embryo collected and the percentage of embryos transferable per corpus luteum were statistically significant differences (P> 0.05). For the temperature-humidity index (THI), it was found that during the study, in summer, winter, and rainy season, THI was 73.18, 76.97, and 76.25, respectively, meaning that the cows were in mild to moderate stress being. From the experiment, it also found that the optimal time for breeding or induction of estrus in crossbred dairy cows in Thailand was during the winter between November and February, which caused the cows to give birth during the rainy season. To conclude, the changes in temperature, seasons, and relative humidity of each season may affect different levels of heat stress in the dairy cows that may influence the response to the superovulation protocol.



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับช่วยเหลือและให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์จาก ดร. พิรวิทย์ เชื้อวงษ์บุญ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาหลัก และ ดร. กฤติยา เลิศชุณหะเกียรติ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ช่วยตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ รวมทั้งขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พรพรรณ แสนภูมิ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และ รองศาสตราจารย์ ดร. เทวินทร์ วงษ์พระลับ ผู้ทรงคุณวุฒิ ที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ และข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์แก่ผู้วิจัย ส่งผลให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณในความกรุณาของท่านเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ คุณอาทิตย์ ทิตวงศ์ เจ้าของฟาร์ม เอส อาร์ ซี แอ็นนิมัล เฮล ที่สนับสนุนการทำการทำงานวิจัยจนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ คุณประวิน พายัพสถาน สัตวบาลประจำฟาร์ม เอส อาร์ ซี แอ็นนิมัล เฮล ที่ให้การช่วยเหลือในการทำงานวิจัยจนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ทุกท่าน ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชา ความรู้ แนวคิด คำแนะนำต่าง ๆ ทำให้ผู้วิจัยสามารถดำเนินการวิจัยจนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณ น้อง ๆ นักศึกษาระดับปริญญาบัณฑิต และผู้มีส่วนเกี่ยวข้องกับวิทยานิพนธ์ทุกท่าน สำหรับการช่วยเหลือตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา

สุดท้ายขอขอบพระคุณบิดา และมารดา สำหรับผู้ให้ชีวิต คอยสนับสนุน ส่งเสริมการศึกษา คอยเป็นสติปัญญา ให้กำลังใจ และเป็นแรงผลักดันอันสำคัญเสมอมา

ญาณี วัฒนศรี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ฉ

กิตติกรรมประกาศ ..... ช

สารบัญ ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ฏ

สารบัญรูปภาพ ..... ฑ

บทที่ 1 บทนำ 1

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย 4

3. สมมติฐานของการศึกษา 5

4. ขอบเขตของการศึกษา 5

บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 6

1. โคนมสายพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน (Holstein Friesian) 6

1.1 ลักษณะทั่วไป 6

1.2 สถิติการเลี้ยงโคนมในประเทศไทย 8

1.3 ปัญหา อุปสรรค และความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ของโคนม 9

2. การเป็นสัด การตกไข่ และการพัฒนาการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลโค 10

2.1 การเป็นสัด 10

2.2 การตกไข่ (Ovulation) 13

2.3 การพัฒนาของฟอลลิเคิล (Folliculogenesis) 14

3. ฮอร์โมนที่ควบคุมการทำงานของระบบสืบพันธุ์ 15

3.1 การใช้ฮอร์โมนเพื่อกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ 18
3.2 FSH Antorin R10 AL 21
3.3 วิธีการให้ฮอร์โมน 26
4. การผลิตตัวอ่อนภายในร่างกาย (In vivo production of embryo) 26
4.1 การเลือกแม่โคตัวให้ (Characteristics of donors) 26
4.2 การเลือกแม่โคตัวรับ (Characteristics of recipients) 29
5. การชะล้างเก็บตัวอ่อน 31
6. การย้ายฝากตัวอ่อน 34
7. ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ 37
7.1 ปัจจัยภายใน (Intrinsic factors) ได้แก่ อายุ (Age), สายพันธุ์ (Breed) 37
7.2 ปัจจัยภายนอก (Extrinsic factors) ได้แก่ การจัดการฟาร์ม, สภาพภูมิอากาศและฤดูกาล และความเครียดจากความร้อน 38
7.3 ปัจจัยอื่น ๆ 42
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 43
1. ขั้นตอนเตรียมการทดลอง 43
2. แผนการทดลอง 47
3. สิ่งที่ศึกษา 47
4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ 52
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 53
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 64
แนวทางในการประยุกต์ใช้ประโยชน์ 65
รายการอ้างอิง 66
ภาคผนวก 78
ภาคผนวก ก อุปกรณ์และฮอร์โมนที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ 79

ภาคผนวก ข การกระตุ้นการตกไข่โดยการสอด CIDR ฉีดฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ถอด CIDR และผสมเทียม 80
ภาคผนวก ค อุปกรณ์ในการชะล้างเก็บตัวอ่อน 81
ภาคผนวก ง ขั้นตอนในการชะล้างเก็บตัวอ่อน 83
ภาคผนวก จ ขั้นตอนในตรวจค้นหาตัวอ่อน 84
ภาคผนวก ฉ ตัวอ่อนที่เก็บได้ 85
ภาคผนวก ช ฉลากฮอร์โมน Antorin R 10 AL 86
ประวัติผู้เขียน 90

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แสดงผลการใช้ฮอร์โมน PMSG และ FSH ในระดับต่าง ๆ ต่อจำนวนไข่ตก 20

ตารางที่ 2 การใช้ฮอร์โมน FSH Antorin R10 Al ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน และในโคเนื้อสายพันธุ์ Hanwoo และ โควากิว 24

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบผลกระตุ้นการตกไข่พร้อมกันหลายใบโดยฉีดฮอร์โมน FSH 400 มิลลิกรัม เข้าทางกล้ามเนื้อ 4 วัน (กลุ่มควบคุม) และฉีดฮอร์โมน FSH 400 มิลลิกรัม เข้าทางช่องไขสันหลังแบบเข็มเดียวในโคนมลูกผสมพันธุ์ไทยโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน 28

ตารางที่ 4 แสดงผลของการใช้ฮอร์โมนกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ต่อการย้ายฝากตัวอ่อน 30

ตารางที่ 5 จำนวนการเก็บตัวอ่อนและอัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนในโคเนื้อและโคนม ระหว่างปี 2002 – 2011 32

ตารางที่ 6 อัตราการตั้งท้องจากการย้ายฝากตัวอ่อน 35

ตารางที่ 7 โปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคตัวให้โดยใช้ฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) 44

ตารางที่ 8 โปรแกรมเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแม่โคตัวรับโดยใช้ฮอร์โมน GnRH 46

ตารางที่ 9 การแบ่งระยะการเจริญของตัวอ่อนโคก่อนการฝังตัว 50

ตารางที่ 10 การแบ่งคุณภาพของตัวอ่อน 51

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ย (± SD) ผลการศึกษาฤดูกาลที่มีผลการตอบสนองของรังไข่โดยใช้โปรแกรม FSH (Antorin R10 AL) กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน ในปี 2561 57

ตารางที่ 12 ผลการทดลองอัตราการรอดชีวิตของฟอลลิเคิล ใน 3 ฤดูกาล (หนาว, ร้อน และฝน).... 58

ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุด (°C) , ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิต่ำสุด (°C) ตั้งแต่เดือน มกราคม – ธันวาคม ปี พ.ศ. 2561 59

ตารางที่ 14 ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุด (°C) , ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิต่ำสุด (°C) ในฤดูร้อน ฤดูหนาว และ ฤดูฝน ปี พ.ศ. 2561 60

ตารางที่ 15 ดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI) ตลอดปี พ.ศ. 2561 63

ตารางที่ 16 ดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI) ในกลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูร้อน) และ กลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูฝน) ปี พ.ศ. 2561 63

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 การเลี้ยงโคนมสายพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน (Holstein Friesian) 7

ภาพที่ 2 อนุกรมวิธานของโคนม..... 7

ภาพที่ 3 แผนภูมิแสดงจำนวนเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมและจำนวนโคนมรายเขตปศุสัตว์..... 8

ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิลและการหลั่งโกนาโดโทรปินส์ในระหว่างการเกิดคลื่นฟอลลิเคิล 2 คลื่น (รูปบน) และ 3 คลื่น (รูปล่าง) *Ov = การตกไข่, FSH = เส้นหนา, LH = เส้นบาง 12

ภาพที่ 5 วงรอบการเป็นสัดของโค..... 13

ภาพที่ 6 การเจริญของฟอลลิเคิลที่ระยะต่าง ๆ 15

ภาพที่ 7 กลไกของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของฟอลลิเคิล..... 18

ภาพที่ 8 ฮอร์โมน Antorin R10 AL..... 21

ภาพที่ 9 การชะล้างตัวอ่อน..... 33

ภาพที่ 10 แสดงกลไกการเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน 41

ภาพที่ 11 การล้วงตรวจประเมินจำนวนฟอลลิเคิลและคอร์ปัสลูเทียม 48

ภาพที่ 12 วิธีการตรวจหาตัวอ่อน..... 48

บทที่ 1
บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การเลี้ยงโคนมเป็นอาชีพที่ได้รับการส่งเสริมและสนับสนุนจากภาครัฐบาลมาอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานกว่า 50 ปี ซึ่งเป็นอาชีพพื้นฐานที่สำคัญของประเทศไทย และนอกจากนี้แล้วโคนมยังเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อการประกอบอาชีพของเกษตรกร ซึ่งสามารถสร้างรายได้ที่ยั่งยืนและมั่นคง (สำนักงานปศุสัตว์อำเภอ, 2561) ปัญหาของการเลี้ยงโคนมที่สำคัญอย่างหนึ่งคือการผสมติดยากหรือความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากเกษตรกรบางรายยังขาดองค์ความรู้ในการจัดการโดยเฉพาะด้านการสืบพันธุ์ เป้าหมายของการเลี้ยงโคนมคือการจัดการวงจรการสืบพันธุ์และวงจรการให้นมให้มีความสอดคล้องกัน เพื่อให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมสามารถผลิตลูกโค จำนวน 1 ตัวต่อปี ให้ได้นั้น จึงต้องจัดการวงจรการสืบพันธุ์ให้มีการผสมติดภายใน 85 วัน หลังคลอด (Parkinson and Noakes, 2001; วรัญญู และคณะ, 2558) สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อการผสมติดยาก ซึ่งเป็นสาเหตุที่สำคัญต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตโคนม ได้แก่ ปัจจัยทางพันธุกรรมโค เช่น มีปัญหาทางการสืบพันธุ์ (Aiumlamai, 2010) และปัจจัยเนื่องจากสิ่งแวดล้อม เช่น การจัดการสภาพแวดล้อม อุณหภูมิ ฤดูกาล และความเครียดจากความร้อน (Heat stress) (Ono et al., 2016)

การผสมเทียม (Artificial Insemination; AI) และการย้ายฝากตัวอ่อน (Embryo transfer; ET) เป็นเทคโนโลยีชีวภาพทางด้านการสืบพันธุ์ (Reproductive technology) ที่มีประโยชน์ในการอนุรักษ์และการเพาะขยายพันธุ์ โดยเป็นวิธีการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตโคนมที่มีพันธุกรรมดีให้สามารถสืบพันธุ์และมีจำนวนเพิ่มขึ้นได้ตามความต้องการ (Dematawewa and Berger, 1998) สำหรับการย้ายฝากตัวอ่อนเป็นเทคโนโลยีทางการสืบพันธุ์ที่ช่วยกระจายพันธุ์หรือเพาะขยายพันธุ์โคที่มีพันธุกรรมดีเด่นได้เร็วกว่าการผสมจริงตามธรรมชาติ และการผสมเทียม อย่างไรก็ตามการย้ายฝากตัวอ่อนยังเป็นเทคโนโลยีพื้นฐานให้กับเทคโนโลยีทางการสืบพันธุ์อื่น ๆ เช่น การผลิตตัวอ่อนในร่างกาย (*In vivo* production) การผลิตตัวอ่อนนอกร่างกาย (*In vitro* production) การคัดเลือกเพศตัวอ่อน (Sexing embryos) การแช่แข็งตัวอ่อน (Freezing embryos) การตัดแบ่งตัวอ่อน (Splitting embryos) การโคลนนิ่ง (Cloning) และการย้ายฝากยีน (Gene transfer) เป็นต้น โดยเฉพาะเทคนิคการผลิตตัวอ่อนที่มีพันธุกรรมดีด้วยวิธีการใช้ฮอร์โมนเหนี่ยวนำการเป็นสัดเพื่อกระตุ้นเพิ่มการตกไข่พร้อมกันหลายใบ (Superovulation) ทั้งนี้การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่หลายใบเป็นการเพิ่มจำนวนเพิ่มการตกไข่หลายใบเป็นการเพิ่มจำนวนการตกไข่ต่อหนึ่งวงรอบการเป็นสัดเพื่อทำให้ได้จำนวนตัวอ่อนที่สามารถทำการย้ายฝากตัวอ่อน โดยมีขั้นตอนและวิธีการดังนี้ การคัดเลือกแม่

โคตัวให้ (Donor) การทำโปรแกรมฮอร์โมนให้กับแม่โคตัวให้เพื่อกระตุ้นเพิ่มการพัฒนาของฟอลลิเคิล (Follicle) และเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ ให้มีจำนวนมาก แล้วผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์ที่มีพันธุกรรมดี และเกิดการปฏิสนธิระหว่างเซลล์อสุจิกับโอโอไซต์ (Oocyte) ในร่างกายของแม่โคตัวให้จนได้เป็นตัวอ่อน และพัฒนาเจริญเติบโตจนถึงระยะมอร์รูล่าร์ และบลาสโตซีสต์ซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมสำหรับการนำมาย้ายฝากกับแม่โคตัวรับอื่น ๆ ให้มีเหมาะสมสำหรับการนำมาย้ายฝากกับแม่โคตัวรับ (Recipient) อื่น ๆ ให้มีการตั้งท้องแทนเพื่อเพิ่มการกระจายพันธุ์ได้มากกว่าวิธีการผสมพันธุ์แบบธรรมชาติหรือการผสมเทียม (Bo et al., 2002; Wakchaure and Ganguly., 2015) โดยฮอร์โมนที่นิยมนำมาใช้กระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิล คือ ฮอร์โมนกลุ่มโกนาโดโทรปินส์ (Gonadrotropin) ซึ่งได้แก่ ฮอร์โมนเพร็กแนนแมร์ซีรัมโกนาโดโทรปินส์ (Pregnant Mare Serum Gonadotropin; PMSG) แต่พบว่าในโคมีการออกฤทธิ์ข้างเคียงโดยการเกิดปัญหาการตกค้างของฟอลลิเคิลที่ไม่เกิดการตกไข่ (Unovulatory Follicles) หรือเกิดถุงน้ำที่รังไข่ (Ovarian Cyst) ค่อนข้างสูง (Bo et al., 1994) และฮอร์โมนอีกหนึ่งชนิดคือ ฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลติง (Follicle stimulating hormone; FSH) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่จัดอยู่ในกลุ่มไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) ซึ่งมีค่าครึ่งชีวิต (Half life) ที่สั้นเพียง 2-5 ชั่วโมง จึงต้องฉีดฮอร์โมนจำนวนหลายครั้ง จึงเกิดความยุ่งยากในการบังคับสัตว์และอาจทำให้แม่โคเกิดความเครียด (Bo et al., 1994) นอกจากนี้การใช้ฮอร์โมน FSH ให้ผลการตอบสนองสูงที่สุดเมื่อพิจารณาถึงการพัฒนาของจำนวนฟอลลิเคิล และจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ในโคหลายสายพันธุ์ไม่ว่าจะเป็นลูกผสมแองกัส (Chaubal et al., 2006) หรือ โคสายพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน (De Roover et al., 2005) และจากการรายงานของ Mallory et al. (2011) พบว่าในโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ เช่น การใช้ Controlled intravagina drug release-bovine (CIDR-B) ร่วมกันกับโกนาโดโทรปินส์รีลีสซิ่ง ฮอร์โมน (Gonadotrophin releasing hormone; GnRH) และ พรอสตาแกลนดิน เอฟ ทู อัลฟา (Prostaglandin F2alpha; $PGF_2\alpha$) ส่งผลต่อฟอลลิเคิลมีการตกไข่ที่เพิ่มขึ้น และเมื่อมีการผสมในเวลาที่เหมาะสมเวลาแล้วส่งผลให้มีอัตราการผสมติดเพิ่มมากขึ้นตามมาด้วย นอกจากนี้ Morotti et al. (2018) รายงานว่า ขนาดของรังไข่มีความสัมพันธ์กับจำนวนการพัฒนาของฟอลลิเคิลและจำนวนของฟอลลิเคิลที่เกิดการตกไข่โดยจำนวนฟอลลิเคิลและการตกไข่ของแม่โคที่ผสมติดต่ำจะส่งผลต่อขนาดของรังไข่ที่ลดลง และแม่โคที่มีขนาดฟอลลิเคิลใหญ่จะมีผลต่อขนาดรังไข่ที่เพิ่มขึ้นและมีผลต่ออัตราการผสมติดที่สูงขึ้น โดยมีปัจจัยที่มีผลของการตอบสนองของรังไข่จากการใช้โปรแกรมการให้ฮอร์โมนกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ได้แก่ ชนิดและขนาดของฮอร์โมน ด้านคะแนนสภาพร่างกาย สุขภาพและความสมบูรณ์ของระบบสืบพันธุ์ของแม่โค เทคนิค ความชำนาญของผู้ปฏิบัติงานนอกจากนี้อาจเกิดจากปัจจัยจากสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น (Mapletoft and Bo, 2014) อย่างไรก็ตามสำหรับการใช้ปริมาณฮอร์โมนในระดับปริมาณสูงจะส่งผลต่อต้นทุนในการฉีดเนื่องจากฮอร์โมนมีราคา

ที่สูง โดยฮอร์โมน FSH Antorin R10 AL เป็นฮอร์โมนที่ผลิตมาจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของสุกร ออกฤทธิ์ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโค โดยใช้ตัวละ 30 - 40 AU ต่อตัว มีวิธีการฉีดดังนี้ ปริมาณการใช้ยา 10 AU ละลายในน้ำเกลือ 5 ml และฉีดยาเข้าไปในกล้ามเนื้อ โดยฉีดวันละ 2 ครั้ง เช้า – เย็น เป็นระยะเวลา 3 ถึง 5 วันต่อวัน หลังจากนั้นค่อย ๆ ลดปริมาณการให้ยาลงเรื่อย ๆ โดยจากการรายงานของ Song et al. (2012) ที่ทำการศึกษาผลของจำนวนครั้งที่ตั้งท้องและฤดูกาลในการผลิตตัวอ่อนโดยการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคเนื้อสายพันธุ์ Hanwoo โดยการฉีดกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ใช้โค 22 ตัว โดยไม่คำนึงถึงวงรอบการเป็นสัด ทำการสอด CIDR ผ่านทางช่องคลอด, ฉีดฮอร์โมนโปรเจนเตอโรน ปริมาณ 50 mg และ ฉีดเอสตราไดออล เบนโซเอท ปริมาณ 2.50 mg หลังจากนั้น 4-5 วัน กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคตัวให้โดยใช้ฮอร์โมน FSH Antorin R10 (28 AU) ฉีดวันละ 2 ครั้ง และลดปริมาณยาที่ใช้ฉีดวันที่ 4 วัน ในวันที่ 6 และ วันที่ 7 ของการฉีดฮอร์โมน FSH ฉีด 2.50 mg และฉีด PGF $_{2}\alpha$ 15.00 mg ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าการตอบสนองของแม่โคตัวให้คือ จำนวนค่าเฉลี่ยรวมของไข่, ตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้, ตัวอ่อนที่เสื่อมสลาย และไข่ที่ไม่ได้รับการผสม มีค่าเท่ากับ 11.60 ± 7.90 ใบ, 5.50 ± 4.40 ตัวอ่อน, 3.00 ± 3.30 ตัวอ่อน และ 2.60 ± 4.10 ตัวอ่อน ตามลำดับ จำนวนค่าเฉลี่ยรวมของไข่ที่เพิ่มสูงขึ้นของโคที่ผ่านการตั้งท้องจำนวน 3 - 5 ท้อง มีค่าเท่ากับ 14.30 ± 1.30 ใบ มีค่ามากกว่า โคที่ตั้งท้องจำนวน 1 – 2 ท้อง 8.90 ± 1.90 ใบ ที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) จำนวนตัวอ่อนที่สมบูรณ์ในกลุ่มโคที่ตั้งท้องจำนวน 3 - 5 ท้อง มีค่าเท่ากับ 7.80 ± 0.80 ตัวอ่อน มีค่าแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) มีค่าเท่ากับ 3.70 ± 1.50 ตัวอ่อน ผลของไข่และตัวอ่อนที่ปกติในฤดูร้อนมีค่าเท่ากับ 16.40 ± 2.30 ใบ, 8.10 ± 1.40 ตัวอ่อน ซึ่งมีค่ามากกว่า ฤดูใบไม้ร่วง 10.10 ± 1.80 ใบ, 4.50 ± 1.00 ตัวอ่อน และ ฤดูหนาว 6.30 ± 1.80 ใบ, 3.30 ± 1.10 ตัวอ่อน ตามลำดับที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) และผลจำนวนการย้ายฝากตัวอ่อนในฤดูร้อนมีค่าเท่ากับ 7.60 ±.1.30 ตัวอ่อน ซึ่งมีค่ามากกว่าในฤดูหนาว 3.00 ± 1.00 ตัวอ่อน ที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) จึงสรุปได้ว่า จำนวนครั้งที่ตั้งท้องและฤดูกาลมีผลในการผลิตตัวอ่อนโดยการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคเนื้อสายพันธุ์ Hanwoo

สำหรับประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งอยู่ในเขตที่มีสภาพอากาศร้อน ทำให้มีอุณหภูมิและความชื้นสูงตลอดทั้งปี โดยมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศแบ่งเป็น 3 ฤดูกาล ได้แก่ ฤดูร้อน ฤดูฝน และฤดูหนาว โดยเฉพาะอย่างยิ่งในฤดูร้อน อากาศที่ร้อนขึ้น และอุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2562) จากการรายงานของ Winai (2011) พบว่าค่าเฉลี่ยของค่าความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI) ทุกภาคของประเทศไทยมีค่าอยู่ในช่วง 72 ถึง 80 โดยพบค่า THI ในฤดูหนาว มีค่าเท่ากับ 73.18 ฤดูร้อน มีค่าเท่ากับ 76 .97 ฤดูฝน มีค่าเท่ากับ 76.25 ซึ่งจากอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศในฤดูร้อนที่อาจเพิ่มสูงขึ้นหรือลดต่ำลง จะส่งผลทำให้โคเกิดความเครียด เรียกสภาวะนี้ว่า ความเครียดเนื่องจากความร้อน (Heat stress) โดยพบว่าโคนม

ลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนที่เลี้ยงในสภาพอากาศเขตร้อนชื้นมักเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อนเมื่อมีค่า THI เท่ากับ 75 ซึ่งค่าดังกล่าวมีค่าที่สูงกว่าการรายงานค่าในเขตหนาวที่มีการรายงานค่า THI เท่ากับ 72 (Boonkum et al., 2011) จากความเครียดเนื่องจากความร้อนนี้ ทำให้โคกินอาหารลดลง ส่งผลกระทบต่อผลผลิตน้ำนมที่ลดลงและระบบสืบพันธุ์ที่มีการผสมติดยากขึ้นและมีผลต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนในระยะแรก (Deb et al., 2014; Hansen et al., 2004; Ravagnolo and Misztal, 2000) นอกจากนั้นยังว่าประเทศไทยควรทำการผสมพันธุ์โคนม หรือทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัด คือ ช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ ซึ่งทำให้แม่โคคลอดในช่วงระหว่างฤดูฝน (Kaewlamun et al., 2011) นอกจากนั้นการศึกษาข้อมูลจากฟาร์มโคนมในประเทศไทย พบว่าโคมีระยะการเป็นสัดครั้งแรกหลังคลอดยาวนานถึง 72 ± 65 วัน (Rukkwamsuk, 2011)

ทั้งนี้เนื่องด้วยประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตภูมิอากาศแบบร้อนชื้น มีการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและอุณหภูมิที่แตกต่างกันของฤดูกาลในรอบปีหรือในแต่ละปีและจากการค้นคว้าพบว่าการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤดูกาลต่อผลการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่และทำการเก็บตัวอ่อนในโคนมมีการทำการศึกษาค่อนข้างจำกัด อาจส่งผลต่อการตอบสนองแม่โคที่นำมาเป็นตัวให้ในการใช้โปรแกรมฮอร์โมนกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในการผลิตตัวอ่อนเพื่อนำไปย้ายฝากตัวอ่อนให้กับแม่โคตัวรับ การวิจัยในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของฤดูกาลต่อการตอบสนองในการใช้โปรแกรมกระตุ้นเพิ่มการตกไข่เพื่อผลิตตัวอ่อนในโคนมลูกผสมโฮลไตน์ฟรีเชี่ยนในรอบปี โดยวัดการตอบสนองของรังไข่จากจำนวลฟอลลิเคิล จำนวนของคอร์ปัสลูเทียม อัตราการปฏิสนธิ รวมถึงจำนวนและคุณภาพของตัวอ่อนที่เก็บได้ อัตราการพัฒนาของตัวอ่อนจนถึงระยะที่ย้ายฝากได้ และมีความสัมพันธ์กับค่า THI และมีความแตกต่างกันในแต่ละฤดูกาลในรอบปีอย่างไร เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกฤดูกาลที่จะปฏิบัติงานเพื่อทำการกระตุ้นการตกไข่เพื่อผลิตตัวอ่อนให้ได้ตัวอ่อนคุณภาพที่ดีมีจำนวนมากและมีการรอดชีวิตของตัวอ่อนที่สูงในโคนม

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาผลของฤดูกาลที่มีต่อการตอบสนองของการใช้โปรแกรมฮอร์โมนที่มี FSH (Antorin R10 AL) ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน

2.2 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของอุณหภูมิและความชื้นในแต่ละฤดูกาลว่ามีผลต่อการกระตุ้นการตกไข่ในด้านจำนวนและคุณภาพของตัวอ่อนในโคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน

3. สมมติฐานของการศึกษา

3.1 ฤดูกาลที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของฟอลลิเคิลใช้ฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน

3.2 อุณหภูมิความร้อนและความชื้นที่มีผลต่อการตอบสนองการกระตุ้นการตกไข่ในด้านจำนวนและคุณภาพของตัวอ่อนในแม่โคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน

4. ขอบเขตของการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ศึกษาอัตราการตอบสนองต่อการใช้ฮอร์โมน Antorin R10 AL และโปรแกรมที่นำมากระตุ้นเพิ่มการตกไข่ (Superovulation) เพื่อให้รังไข่ตอบสนองต่อกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ และ ศึกษาอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมใน 1 รอบปี ได้แก่ อุณหภูมิและความชื้นที่ส่งผลให้เกิดการตอบสนองต่อโปรแกรมกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยดูจำนวนและคุณภาพของตัวอ่อนในการย้ายฝากตัวอ่อน ในแม่โคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน

มหาวิทยาลัยศิลปากร

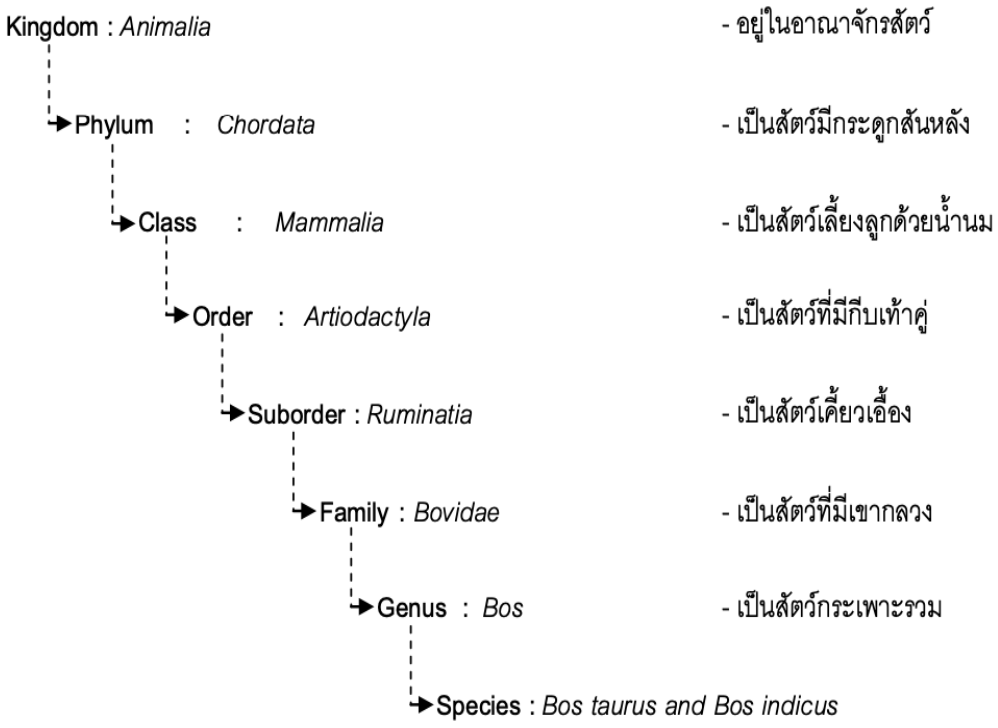
บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

1. โคนมสายพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน (Holstein Friesian)

1.1 ลักษณะทั่วไป

โคนมสายพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน (Holstein Friesian) เป็นโคนมพันธุ์ที่กรมปศุสัตว์ได้คัดเลือกให้เป็นพันธุ์หลักในการปรับปรุงพันธุ์โคนมของประเทศไทย และจัดอยู่ในกลุ่ม *Bos Taurus* โคสายพันธุ์นี้มีถิ่นกำเนิดมาจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ซึ่งอยู่ในทวีปยุโรป ชาวยุโรปมักนิยมเรียกว่าพันธุ์ฟรีเชียน (Friesian) ชื่อนี้สอดคล้องกับเมืองฟรีแลนด์ (Friesland) ซึ่งอยู่ทางตอนเหนือของประเทศเนเธอร์แลนด์ สำหรับประเทศไทย เรียกโคนมสายพันธุ์นี้ว่า พันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน (Holstein Friesian) เนื่องจากได้มีการนำเข้าตัวโคและน้ำเชื้อมาจากประเทศในยุโรป สหรัฐอเมริกา และแคนนาดา ลักษณะประจำสายพันธุ์คือ มีสีดำและสีขาวตัดกัน มีโครงร่างใหญ่ ลำตัวเป็นรูปทรงสามเหลี่ยม ส่วนไหล่เรียวบาง เพศเมียมีน้ำหนัก 500 – 800 กิโลกรัม มีเต้านมขนาดใหญ่ ปริมาณผลผลิตน้ำนมเฉลี่ย 6,000 – 7,000 กิโลกรัม ต่อระยะการให้น้ำนม ลักษณะนิสัย เชื่องไม่ตื่นและตกใจง่ายทำให้สามารถจัดการรีดน้ำนมได้ง่าย โคนมสายพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนจึงเป็นโคนมที่นิยมเลี้ยงมากที่สุด โดย โคเพศเมียที่มีอายุ ตั้งแต่ 1 – 1.6 ปี สามารถผสมพันธุ์ครั้งแรกได้ และ มีอายุโตเต็มที่ประมาณ 6 – 7 ปี (กลุ่มวิจัยและพัฒนาโคนม กองบำรุงพันธุ์สัตว์, 2553) (ภาพที่ 1) และการจัดจำแนกโคนมโดยพิจารณาตามหลักการจัดอนุกรมวิธาน (ภาพที่ 2)

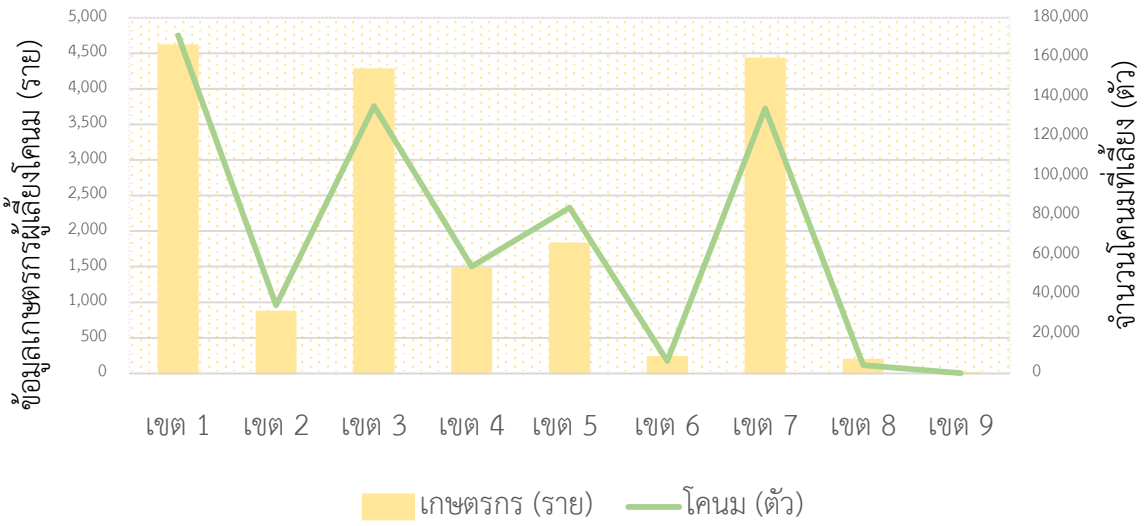
ภาพที่ 1 การเลี้ยงโคนมสายพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน (Holstein Friesian)



ภาพที่ 2 อนุกรมวิธานของโคนม

1.2 สถิติการเลี้ยงโคนมในประเทศไทย

ประเทศไทยมีครัวเรือนเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมจำนวน 17,925 ครัวเรือน ซึ่งส่วนใหญ่อยู่ในพื้นที่ภาคกลาง (เขต 1) จำนวน 4,613 ราย รองลงมาคือ ภาคกลาง (เขต 7) จำนวน 4,428 ราย และ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (เขต 3) จำนวน 4,273 ราย โดยการเลี้ยงโคนมทั้งหมดมีจำนวน 623,427 ตัว ซึ่งพื้นที่ภาคกลาง (เขต 1) เลี้ยงโคนมมากที่สุด จำนวน 171,129 ตัว รองลงมาคือภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (เขต 3) จำนวน 135,246 ตัว และภาคกลาง (เขต 7) จำนวน 134,195 ตัว ตามลำดับ (สำนักงานปศุสัตว์อำเภอ, 2561) (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 แผนภูมิแสดงจำนวนเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมและจำนวนโคนมรายเขตปศุสัตว์
ที่มา: สำนักงานปศุสัตว์อำเภอ (2561)

1.3 ปัญหา อุปสรรค และความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ของโคนม

ในปัจจุบัน ปัญหา และอุปสรรค ของการเลี้ยงโคนมมีสาเหตุมาจากหลาย ๆ ด้าน ได้แก่ พันธุ์ อาหาร การจัดการ และสิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นจากสภาพภูมิอากาศ เป็นต้น และเป็นสาเหตุของปัญหาและความล้มเหลวทางการสืบพันธุ์ที่เกิดกับระบบสืบพันธุ์อาจเกิดได้เกิดอย่างชั่วคราวและถาวร เช่น การตายของตัวอ่อนระยะต้น การแท้ง การเป็นหมัน โดยปัญหาที่สำคัญของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมมักประสบมากเป็นอันดับต้น ๆ คือ ปัญหาการผสมติดยาก การผสมซ้ำหลายครั้ง โคไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังซึ่งมีสาเหตุจากปัญหาทางด้านความสมบูรณ์พันธุ์ของระบบสืบพันธุ์ (Tamburini et al., 2010) ซึ่งจากปัญหาข้างต้นที่ได้กล่าวมาส่งผลให้ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์และผลผลิตที่ได้จากโคนมลดลง ส่งผลต่อผลกำไรที่โดยนับเป็นปัญหาที่สำคัญที่กำลังเผชิญอย่างต่อเนื่องของฟาร์มโคนมทั่วโลก (Lucy, 2001; Nakada, 2006)

อีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการเลี้ยงโคนมคือ ปัจจัยที่เกิดจากสภาพแวดล้อมและอากาศ สำหรับประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งอยู่ในเขตที่มีสภาพภูมิอากาศแบบร้อนชื้น มีอุณหภูมิและความชื้นสูงตลอดทั้งปี จากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมในความหมายของอุณหภูมิและความชื้นที่สูง ซึ่งสาเหตุจากการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศ ส่งผลกระทบทำให้โคไม่สามารถรักษาสมดุลอุณหภูมิร่างกายให้ปกติได้ ซึ่งอาจจะก่อให้โคนมมีภาวะความเครียดจากความร้อน ส่งผลกระทบต่อการดำรงชีวิตของโคที่มีสายเลือดมาจากโคเขตหนาว ทั้งในด้านความเป็นอยู่ การหายใจ สภาพร่างกาย จนบางตัวมีปัญหาด้านสุขภาพ และระบบสืบพันธุ์ ทำให้โคแสดงอาการเป็นสัดไม่ชัดเจน เกิดขบวนการตกไข่ที่ผิดปกติและไข่มีคุณภาพไม่ดี ทำให้อัตราการผสมติดลดลง (Mitlöhner et al., 2002; Rensis and Scaramuzzi, 2003; West et al., 2003) ดังนั้นการแก้ปัญหาการผสมติดยากจึงเป็นเป้าหมายหลักของการจัดการระบบสืบพันธุ์โคนม ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยปรับปรุงระบบสืบพันธุ์ให้ดีขึ้น และถือว่าเป็นเป้าหมายที่สำคัญของการจัดการที่ทำให้ฟาร์มโคนมมีประสิทธิ์ภาพมากที่สุด (McDougall et al., 2014)

2. การเป็นสัด การตกไข่ และการพัฒนาการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลโค

2.1 การเป็นสัด

โคเพศเมียจะเริ่มเป็นสัดเมื่อถึงวัยเจริญพันธุ์ (Puberty) อายุวัยเจริญพันธุ์ประมาณ 7– 8 เดือน ขึ้นกับการเลี้ยงดู และความสมบูรณ์ของอาหาร ซึ่งหากการได้รับการเลี้ยงดูที่ไม่เหมาะสม และได้รับอาหารไม่เพียงพอ จะทำให้โคเจริญพันธุ์ช้า (Delay puberty) (พีรศักดิ์, 2548) “ซึ่งวงรอบการเป็นสัดของโคโดยอยู่ระหว่างช่วง 20-21 วัน (18-24 วัน)” การแสดงอาการเป็นสัดในโคแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ อาการเป็นสัดแท้จริง (Primary estrus signs) คือการยืนนิ่งหากมีโคเพศผู้หรือเพศเมียตัวอื่นปีน เป็นการแสดงการยอมรับการผสม (Sexual receptivity) และ อาการเป็นสัดร่วม (Secondary estrus signs) เช่น แสดงอาการตื่นเต้น (Excitement) การส่งเสียงร้อง (Vocalization) การบวม (Vulva edema) การมีสีแดงของอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอก (Vulva reddening) และมีสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดที่เป็นลักษณะเมือกเหนียวใสไหลยาวไม่ขาดง่าย (Transparent mucus genital discharge) (Roche, 1996)

วงรอบการเป็นสัดสามารถแบ่งตามการพัฒนาของคลื่นฟอลลิเคิล โดยได้รับอิทธิพลมาจากฮอร์โมน FSH ที่หลั่งมาจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Hamilton et al., 1995) โดยลักษณะการพัฒนาของฟอลลิเคิลที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นคลื่น เรียกว่า คลื่นฟอลลิเคิล (Follicular wave) ในวงรอบการเป็นสัดหนึ่งรอบ อาจมีฟอลลิเคิลหลายใบที่เจริญขึ้น หรืออาจฝ่อสลายไป และฟอลลิเคิลบางใบอาจมีการตกไข่ การเจริญและฝ่อสลายไปของฟอลลิเคิล มักแบ่งออกเป็น 2 คลื่น และ 3 คลื่น โดยลำดับคลื่นฟอลลิเคิลลำดับแรกเริ่มประมาณวันที่ 1 ถึง 5 ลำดับคลื่นฟอลลิเคิลที่ 2 ประมาณวันที่ 9 ถึง 12 และ ลำดับคลื่นฟอลลิเคิลที่ 3 ประมาณวันที่ 17 ถึง 19 (ภาพที่ 4) (Fortune et al., 2001) วงรอบการเป็นสัด สามารถแบ่งได้ 3 ระยะ (ภาพที่ 5) คือ

1.ช่วงระยะการเจริญของไพรมอเดียลฟอลลิเคิล (Primordial Follicle) เป็นระยะที่ฟอลลิเคิลเกิดปรากฏพร้อมกันระหว่างลำดับคลื่น (Recruitment phase)

2. ช่วงระยะที่เกิดการคัดเลือกฟอลลิเคิลให้เหลือเพียงใบเดียว (Selection phase) ในสัตว์ที่มีการตกไข่ใบเดียวหรือตกไข่มากกว่า 1 ใบ ที่มีขนาดใหญ่

3. ช่วงระยะที่มีฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ (Dominance phase) และเรียกฟอลลิเคิลขนาดใหญ่นี้ว่า โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ระยะนี้ฟอลลิเคิลมีขนาดใหญ่ ซึ่งสมบูรณ์พร้อมที่จะตกไข่ แต่หากไม่อยู่ใกล้ระยะที่คอร์ปัสลูเทียมสลาย ฟอลลิเคิลจะฝ่อสลายไป (Roche, 1996)

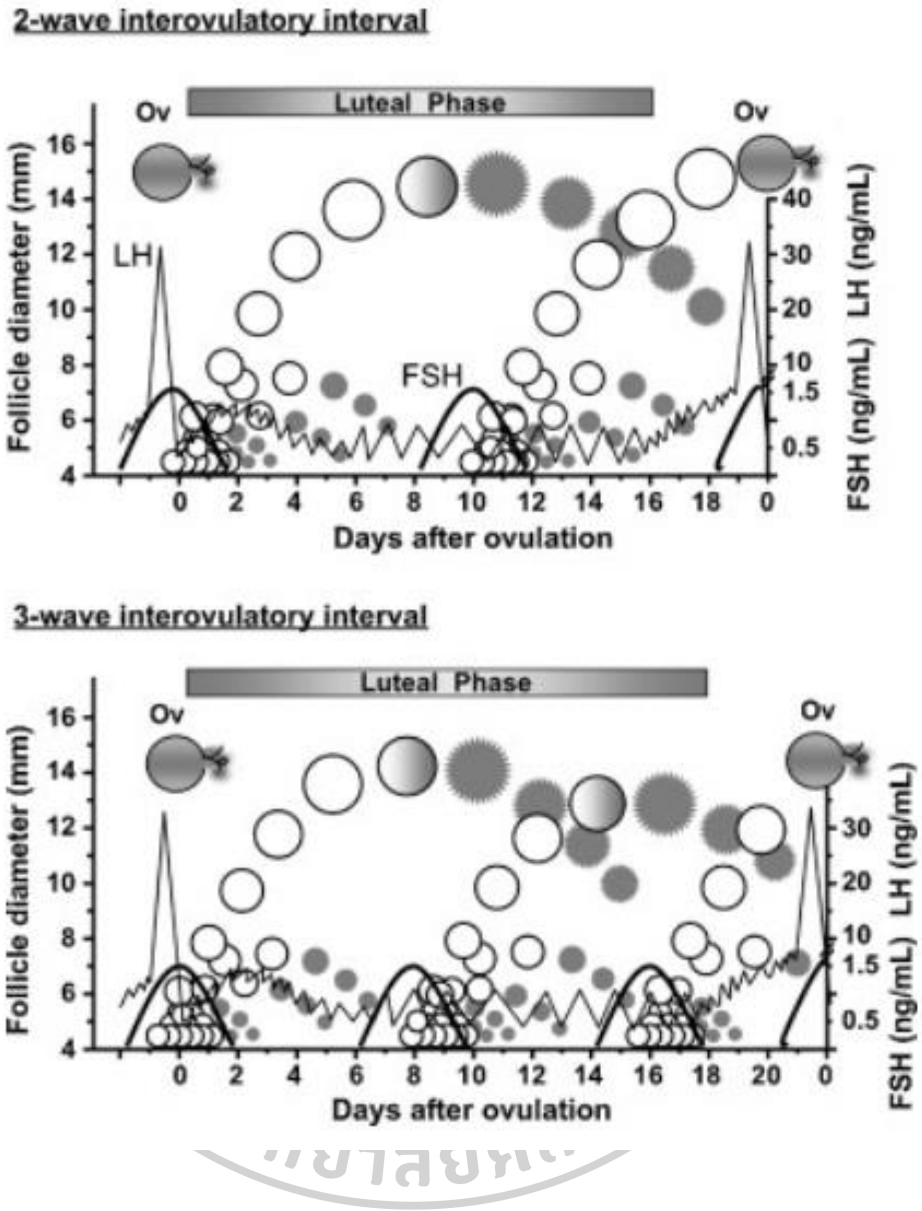
วงรอบการเป็นสัดแบ่งตามการพบฟอลลิเคิลและคอร์ปัสลูเทียม แบ่งเป็น 2 ระยะคือ

1. ระยะฟอลลิคูลาเฟส (Follicular phase) เกิด 14-18 วัน คือระยะก่อนเป็นสัด (Pro - estrus) เป็นระยะที่โคเข้าสู่วงรอบการเป็นสัดใหม่ ระบบสืบพันธุ์มีการเปลี่ยนแปลงฟอลลิเคิลและคอร์ปัสลูเทียมจากาการเป็นสัดในรอบที่ผ่านมาฝ่ออย่างรวดเร็ว และระยะเป็นสัด (Oestrus) คือวันที่ 0 ของการเป็นสัดเป็นระยะที่ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ มีการเจริญเติบโตเต็มที่ และเกิดการตกไข่ จากนั้นโคจะแสดงอาการเป็นสัดโดยเฉลี่ย 4 ถึง 24 ชั่วโมง (Roche, 1996)

2. ระยะลูเทียลเฟส (Luteal phase) เกิด 4-6 วัน คือ ระยะหลังการเป็นสัด (Met-estrus) ในระยะนี้โคหยุดแสดงอาการเป็นสัดและรังไข่ไม่มีการสร้างคอร์ปัสลูเทียม และเริ่มมีการแสดงออร์โมนโปรเจสเตอโรน และระยะไม่เป็นสัด (Dioesturs) หลังจากการเป็นสัดเป็นระยะที่มีคอร์ปัสลูเทียมเจริญเติบโตเต็มที่มดลูกพร้อมรับการตั้งท้อง มีระดับโปรเจสเตอโรนสูง หากไม่มีการตั้งท้องจะมีการสลายคอร์ปัสลูเทียม และหลังจากนั้นจะเป็นการเริ่มขบวนการเป็นสัดในวงรอบใหม่ โดยทั่วไปคลื่นวงรอบของการเป็นสัดแบ่งเป็น 2 คลื่น คือ การเจริญเติบโตของโคสาว และการเจริญเติบโตของโคนาง (Roche, 1996)

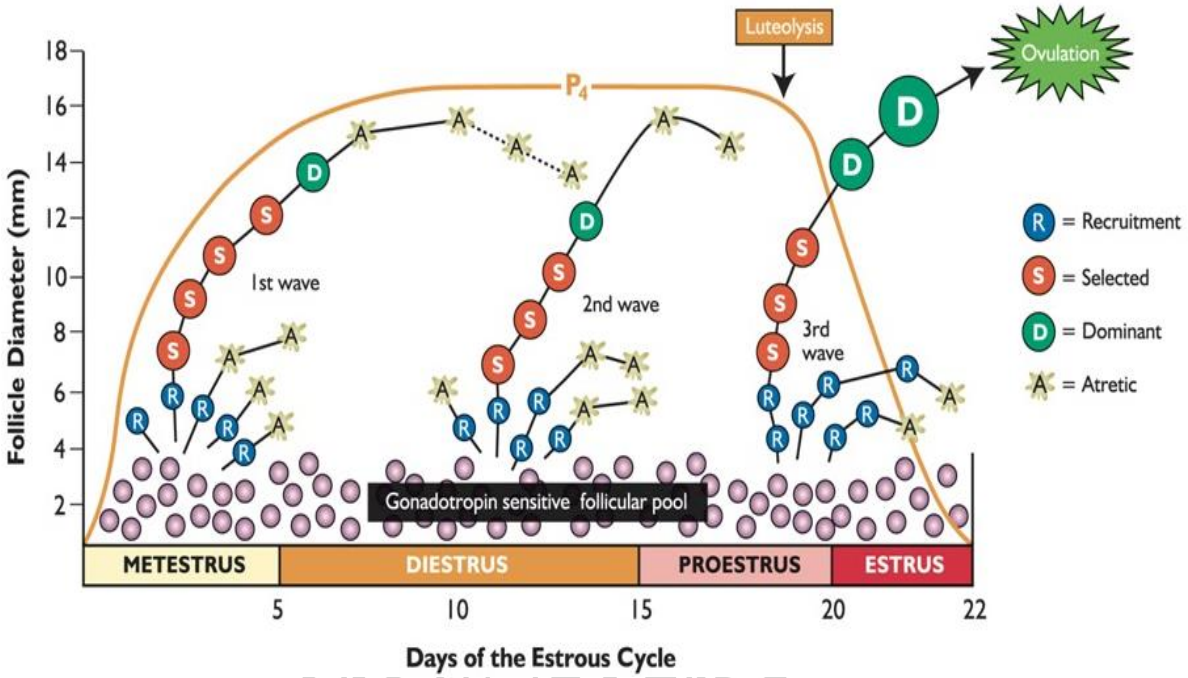
ในประเทศไทยพบว่าช่วงที่ควรทำการผสมพันธุ์โคนม หรือทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัด คือ ช่วงฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ ซึ่งทำให้แม่โคคลอดในช่วงระหว่างฤดูฝน (Kaewlamun et al., 2011) นอกจากนั้นการศึกษาข้อมูลจากฟาร์มโคนมในประเทศไทย พบว่าโคมีระยะการเป็นสัดครั้งแรกหลังคลอดยาวนานถึง 72 ± 65 วัน (Rukkwamsuk, 2011)

มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิลและการหลั่งโกนาโดโทรปินส์ในระหว่างการเกิดคลื่นฟอลลิเคิล 2 คลื่น (รูปบน) และ 3 คลื่น (รูปล่าง) *Ov = การตกไข่, FSH = เส้นหนา, LH = เส้นบาง

ที่มา :Adams et al. (2008)



ภาพที่ 5 วงรอบการเป็นสัดของโค

ที่มา :Brown (2018)

2.2 การตกไข่ (Ovulation)

การตกไข่ คือ การที่เยื่อหุ้มผนังของฟอลลิเคิลบนรังไข่ปริแตก เซลล์ไข่จะถูกขับตกลงสู่ปากแตรของท่อนำไข่ โดยก่อนการตกไข่ฮอร์โมนเอสโตรเจนเพิ่มสูงขึ้น และไปกระตุ้นฮอร์โมน LH ให้เพิ่มขึ้น จนเกิดการกระตุ้นให้ไข่ตกจากรังไข่ เมื่อไข่ตกจากรังไข่แล้วจึงลงไปสู่ท่อนำไข่ โดยอาศัยการบีบตัวของท่อนำไข่ เพื่อนำไข่ไปปฏิสนธิกับอสุจิ โดยขณะที่โคเป็นสัด ปากแตรของท่อนำไข่เกิดบวมน้ำและเคลื่อนออกมาโอบรังไข่ไว้ เมื่อฟอลลิเคิลแตก ไข่ที่อยู่ในฟอลลิเคิลจึงตกลงสู่ปากแตรของท่อนำไข่และเดินทางมาสู่ท่อนำไข่ส่วนแอมพูล่า โดยการบีบตัวของท่อนำไข่อาศัยการเคลื่อนที่ของของเหลวในท่อนำไข่ รวมถึงซีเลีย (Sterecilia) ในท่อนำไข่จะช่วยโบกพัด และเมื่อเทียบระยะเวลาที่โคเกิดการตกไข่กับช่วงเวลาที่โคแสดงอาการเป็นสัด และพบว่า การตกไข่มักเกิดขึ้นหลังจากโคเป็นสัดเริ่มยืนนิ่งยอมให้ตัวอื่นขึ้นขี่ประมาณ 30 ชั่วโมง หรือ หลังจากโคเริ่มสิ้นสุดการยืนนิ่งประมาณ 10 ชั่วโมง (Senger, 1997)

2.3 การพัฒนาของฟอลลิเคิล (Folliculogenesis)

การพัฒนาของฟอลลิเคิลแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่

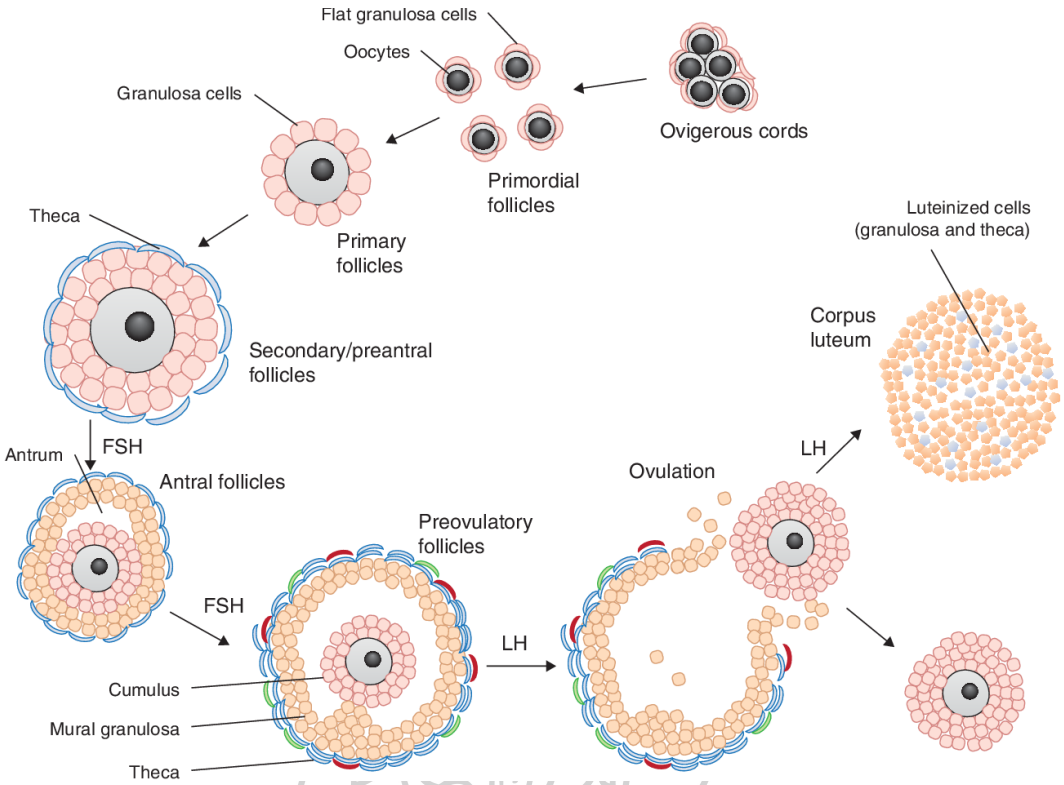
2.3.1 Primordial (Primary) follicle คือ โอโอไซต์ (Oocyte) ที่ล้อมรอบด้วยเซลล์รูปร่างแบนเพียงชั้นเดียว ในโคพบ Primordial follicle ประมาณ 150,000 ใบ ซึ่งต่อมาจะลดลงเรื่อย ๆ ในโคอายุประมาณ 15 – 20 ปี จะพบฟอลลิเคิลเหลือเพียง 1,000 ใบ

2.3.2 Secondary follicle คือ การพัฒนาโดยเซลล์ที่ล้อมรอบ Oocyte เกิดการแบ่งตัวแบบไมโตซิส (Mitosis) ทำให้เซลล์เกิดรูปร่างทรงลุกบาศก์หลายชั้น โซนาเพลลูซิดา (Zona pellucida) เริ่มเด่นชัดขึ้น ในโคที่เริ่มเข้าสู่วัยหนุ่มสาวจะพบฟอลลิเคิลในระยะนี้ประมาณ 200 ใบ

2.3.3 Tertiary (Vesicular) follicle คือ การแยกตัวของฟอลลิคูลา เซลล์ (Follicular cell) จนเกิดช่องว่าง (Antrum) มีของเหลวซึ่งประกอบไปด้วยโปรตีน (Protein) และเอสโตรเจน (Estrogen) อยู่ในช่องว่าง เซลล์บุช่องว่างเรียกว่า เมมเบรน แกรนูโลซา (Membrane granulosa) จะเพิ่มจำนวนชั้นขึ้น

2.3.4 Graafian follicle คือ ฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่และสมบูรณ์เต็มที่ ช่องว่างภายในมีขนาดใหญ่ และมี Oocyte ยื่นเข้าไปในช่องว่าง มีเซลล์กลุ่มหนึ่งยึดไว้กับผนังด้านในของฟอลลิเคิล ฟอลลิเคิลจะยื่นนูนขึ้นจากผิวของรังไข่คล้ายถุงน้ำ โดยที่แกรนูโลซา เซลล์ (Granulosa cell) ถูกกั้นโดย เบสเมน เมมเบรน (Basement membrane) granulosa cell หยุดการแบ่งตัว 2-3 วันก่อนเกิดการตกไข่ โดยจำนวน graafian follicle ที่เกิดขึ้นในแต่ละวงรอบการเป็นสัดขึ้นอยู่กับพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม ในโคโดยปกติจะเกิดขึ้นเพียงฟอลลิเคิลเดียว มงคล (2543) (ภาพที่ 6)

มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 6 การเจริญของฟอลลิเคิลที่ระยะต่าง ๆ

ที่มา : Georges et al. (2014)

3. ฮอร์โมนที่ควบคุมการทำงานของระบบสืบพันธุ์

ระบบที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการสืบพันธุ์ แบ่งได้ 2 ระบบคือ ระบบประสาท และระบบต่อไร้ท่อ โดยระบบประสาททำหน้าที่ในการรับรู้สภาวะต่าง ๆ ส่งผ่านไปยังสมอง เส้นประสาทตา (Optic nerve) ทำหน้าที่ในการมองเห็นภาพและแสง เส้นประสาทรับกลิ่น (Olfactory nerve) ทำหน้าที่ในการรับกลิ่น เส้นประสาทรับเสียง (Auditory nerve) ทำหน้าที่ในการรับฟังเสียง และเส้นประสาทรับความรู้สึก (Sensory nerve) ทำหน้าที่เมื่อสัมผัสได้รอบข้าง และระบบฮอร์โมนโดยฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มฮอร์โมนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์โดยตรง (Primary hormone) สร้างกระบวนการผลิตอสุจิ, การตกไข่, การปฏิสนธิ, การตั้งท้อง, การให้น้ำนม ตลอดจนความเป็นแม่ และพฤติกรรมทางเพศ เป็นต้น ฮอร์โมนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์ทางอ้อม สร้างกระบวนการเมตาบอลิซึม, การดำรงชีพ, การเจริญเติบโต และการสร้างและหลั่งฮอร์โมนในระดับที่ปกติ (เทวินทร์, 2542)

แหล่งที่สำคัญในการสร้างฮอร์โมนในการสืบพันธุ์ ได้แก่ ไฮโปธาลามัส (Hypothalamus) ต่อมใต้สมอง (Pituitary gland), อัณฑะและรังไข่, มดลูก (Uterus) และรก (Placenta) (เทวินทร์, 2542; ผกาทิพย์, 2561)

ไฮโปธาลามัส อยู่บริเวณสมองส่วนกลาง บริเวณไดเอนเซปฟารอน (Diencephalon) เป็นส่วนของสมองส่วนหน้า ด้านหน้าของไฮโปธาลามัส คือ ออฟติกไคแอสมา (Optic chiasma) ด้านหลังติดกับแมมมิลารี บอดี (Mammillary body) ด้านบนติดกับธาลามัส (Thalamus) ซึ่งเป็นไดเอนเซปฟารอน (Diencephalon) ส่วนหนึ่งต่อจากไฮโปธาลามัส ด้านล่างเป็นต่อมใต้สมอง ซึ่งไฮโปธาลามัสทำหน้าที่ควบคุมพฤติกรรมทางเพศ โดยมีความเชื่อมโยงระหว่างระบบประสาทส่วนกลางและระบบฮอร์โมน ผลิตนิวโรเอนโดคราย (Neuroendocrine) ส่วนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ คือ ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินส์รีลิสซิงฮอร์โมน (Gonadotrophin Releasing Hormone; GnRH) ต่อมไฮโปธาลามัสจะผลิตฮอร์โมนที่ออกฤทธิ์กระตุ้น หรือ กดการทำงานของต่อมใต้สมองส่วนหน้า ปลดปล่อยที่มีเดียนอีมิแนนซ์ (Median eminence) ไปตามเส้นเลือด (Hypothalamo-hypophyseal portal vessels) ไปสู่ต่อมใต้สมองส่วนหน้า ตัวยับยั้งโปรแลคติน (Prolactin inhibiting factor; PIF), ไทโรโทรปินรีลิซซิงฮอร์โมน (Thyroteopin – releasing hormone; TRH), โซมาโตสเตติน (Somatostatin) หรือตัวยับยั้งโกรทฮอร์โมน (Geowth hormone –inhibiting hormone, GH- IH), โกรทฮอร์โมน – รีลีสซิงฮอร์โมน (Geowth hormone – releasing hormone, GH- RH), คอร์ติโคโทรปินรีลีซซิงฮอร์โมน (Cortictropin – releasing hormone; CRH) และเกี่ยวข้องกับการสืบพันธุ์โดยตรงคือ GnRH หรือ LH-RH หรือเรียกชื่ออื่นว่า โกนาโดลิเบอริน (Gonadoliberin), ซิสโทเรลิน (Cystorelin) และแฟคเตรล (Factrel) (เทวินทร์, 2542; ผกาทิพย์, 2561)

ต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Pituitary gland หรือ Hypophysis) แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Anterior pituitary หรือ Adenohypophysis) แบ่งออกเป็น 3 ส่วนย่อย คือ พาร์สดิสทอลิส (Pars distalis), พาร์สอินเตอร์มีเดีย (Pars intermedia) และพาร์สทิวเบอราลิซ (Pars tuberalis) ต่อมใต้สมองส่วนหน้าไม่มีระบบประสาทจากไฮโปธาลามัสมาหล่อเลี้ยงโดยตรง ดังนั้นจึงเชื่อมกับระบบสมองโดยเส้นเลือดไฮปธาลาโม – ไฮโปฟีเซียล พอร์ทัล ซิสเท็ม (Hypothalamo – hypophyseal portal system)

เซลล์ที่ต่อมใต้สมองส่วนหน้ามีหลายชนิด ขนาด รูปร่าง และคุณสมบัติในการติดสี เชื่อว่าฟอลลิเคิลสติมิวเลติงฮอร์โมน หรือ เอฟเอสเอช (Follicle stimulating hormone; FSH) และลูทีไนซิงฮอร์โมน หรือ แอลเอช (Luteinizing hormone; LH) สร้างจากเซลล์ชนิดเดียวกันคือ โกนาโทรป (Gonadotrope) ส่วนเซลล์โซมาติก (Somatic cell) ผลิตโกรทฮอร์โมน (Geowth Hormone; GH), เซลล์คอร์ติโคโทรป (Corticotrope cell) ผลิตฮอร์โมนอะดีโนคอร์ติโคโทรปิก (Adreno Corticotropic Hormone; ACTH), ไทโรโทรป (Thyrotrope) ผลิตไทรอยด์สติมูเลติงฮอร์โมน

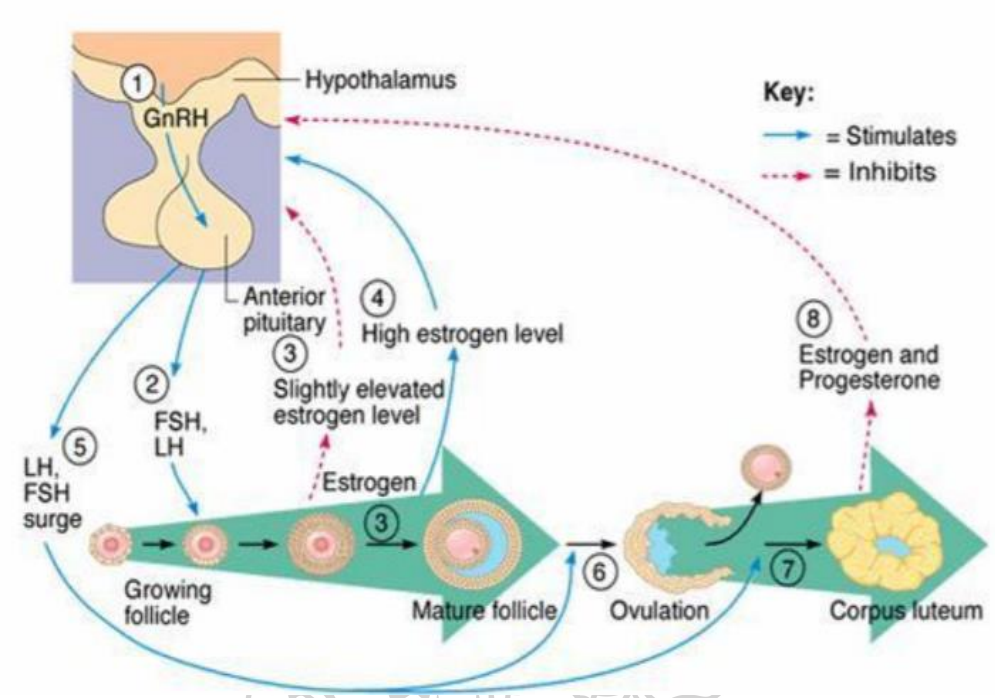
(Thyroid Stimulating Hormone; TSH), และแมมโมโทรป (Mammotrope) หรือ แลคโทรโทรป (Lactrotroph) ผลิตโปรแลคติน (Prolactin)

โกนาโดโทรปินส์ (Gonadrotropin) ได้แก่ FSH และ LH ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดนี้เป็น ไกลโคโปรตีน (Glycoprotein) มีสายเปปไทด์ 2 สาย คือ อัลฟาและเบตาซับยูนิต, อัลฟาซับยูนิต (α and β – subunits, α– subunit) จะเหมือนกันระหว่าง FSH, LH และ TSH ส่วน β – subunits จะต่างกัน FSH จะทำหน้าที่พัฒนากระตุ้นให้ฟอลลิเคิลเจริญเติบโตไม่ได้มีการกระตุ้นให้เกิดการผลิตเอสโตรเจนโดยตรง ส่วนหน้าที่ของ LH จะทำหน้าที่ร่วมกับ FSH ในการกระตุ้นการผลิตเอสโตรเจน LH ในระดับที่สูง (LH - peak) ทำให้เกิดการตกไข่

ในส่วนของรังไข่ผลิตฮอร์โมน 2 กลุ่มคือ กลุ่มสเตรียรอยด์ฮอร์โมน (Steroid Hormone) ได้แก่ โปรเจสเตอโรน (Progesterone) และเอสตราไดออล 17 เบตา โปรเจสเตอโรน (Estradiol – 17 β progesterone) ทำหน้าที่คงสภาวะการตั้งท้องของสัตว์ โดยทำให้กล้ามเนื้อมดลูกคลายตัวตัวบีบตัวลง และกลุ่มที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ฮอร์โมน (Non – steroid hormone) ได้แก่ พรอสตาแกลนดิน (Prostaglandin), ออกซิโทซิน (Oxytocin) และรีแลกซิน ต่อมใต้สมองส่วนหลัง (Posterior Pituitary หรือ Neurohypophysis) (เทวินทร์, 2542; ผกาทิพย์, 2561)

ฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน (Prostaglandin) ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีววิทยาหลายอย่าง เช่น การบีบตัวของกล้ามเนื้อเรียบในระบบสืบพันธุ์และทางเดินอาหาร การแข็งตัวของลึงค์ การหลั่งน้ำเชื้อ การขนส่งอสุจิ การตกไข่ การก่อตัวของคอร์ปัสลูเทียม การคลอด และการหลั่งน้ำนม (Forde et al., 2011; เทวินทร์, 2542; ผกาทิพย์, 2561)

มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 7 กลไกของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของฟอลลิเคิล
ที่มา: Pattaraporn (n.n.d.)

3.1 การใช้ฮอร์โมนเพื่อกระตุ้นเพิ่มการตกไข่

การใช้ฮอร์โมนเพิ่มการกระตุ้นการตกไข่ส่งผลให้ได้รับตัวอ่อนที่นำมาถ่ายโอนได้จำนวนมากและมีอัตราการตั้งท้องมากขึ้น (Bo et al., 2002) ทำโดยใช้ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินส์ (Gonadotropin) มาฉีดกระตุ้นให้กับตัวสัตว์ทำให้ฟอลลิเคิล (Follicle) เจริญไปเป็น โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล (Dominant follicle) ได้หลายใบ มีการตกไข่ครั้งละหลายใบ ปัจจัยที่มีอิทธิพลกับการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ได้แก่ พันธุ์ อายุ ขนาดรูปร่างของสัตว์ การให้อาหาร ชนิดและระดับของฮอร์โมนที่นำมากระตุ้นการตกไข่ (พีรยุทธ, 2554) โดยฮอร์โมน PMSG และ FSH จะเริ่มกระตุ้นให้กับแม่โคที่เป็นสัดปกติมาแล้ว 2-4 รอบ โดยเริ่มฉีดในวันที่ 8-14 ของรอบการเป็นสัด (มงคล, 2543)

จากการรายงานของ Ramakrishna and Ramachandraiah (1989) ทำการศึกษาการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ – เจอร์ซี่ โดยใช้ฮอร์โมน Folltropin – V ปริมาณ 200 – 400 มิลลิกรัม จำนวน 10 ตัว พบค่าเฉลี่ย CL เท่ากับ 11 ใบต่อตัว ซึ่งสอดคล้องกับ Bo et al. (1991) ได้ทำศึกษาการใช้ฮอร์โมน Folltropin – V ปริมาณ 400 มิลลิกรัม เข้าทางกล้ามเนื้อ และทางใต้ผิวหนัง พบค่าเฉลี่ย CL เท่ากับ 13.2 และ 6.5 ใบต่อตัว

สำหรับประเทศไทย วิทวัส (2554) ได้ศึกษาการเพิ่มการตกไข่ในโคพื้นเมืองไทย เปรียบเทียบ PMSG 3 ระดับ คือ 1,000, 2,000 และ 3,000 Unit พบจำนวนคอร์ปัสลูเทียม 4.50 ± 3.10, 7.25 ± 5.31 และ 7.66 ± 1.52 ใบ ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และการรายงานของอนนท์ และคณะ (2553) พบว่าผลการใช้ฮอร์โมน FSH 3 ระดับต่อการเพิ่มการตกไข่และคุณภาพของตัวอ่อนในโคพันธุ์ไทยแบล็คให้ผลไม่แตกต่างกันต่อกระตุ้นการตกเพิ่มไข่ เช่นเดียวกันกับการรายงานของวรวัชญ์ และคณะ (2553) ศึกษาเปรียบเทียบขนาดฮอร์โมน FSH 4 ระดับ คือ 130, 150, 200 และ 220 mg ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ และจำนวนและคุณภาพของตัวอ่อนของโคพื้นเมืองสายภาคอีสานและโคพื้นเมืองสายภาคกลาง พบจำนวนคอร์ปัสลูเทียมของโคพื้นเมืองสายภาคอีสานมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) กับโคพื้นเมืองสายภาคกลาง และสอดคล้องกับ การรายงานของพีรยุทธ (2554) ที่เปรียบเทียบการใช้ ฮอร์โมน FSH ที่ระดับ 200 และ 250 mg ในแม่โคและ โคสาว พบว่าจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยมีค่าเท่ากับ 15.00 ± 4.28, 7.25 ± 4.28, 15.50 ± 3.40 และ 13.50 ± 3.40 ใบ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 1)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 1 แสดงผลการใช้ฮอร์โมน PMSG และ FSH ในระดับต่าง ๆ ต่อจำนวนไข่ตก

ระดับฮอร์โมน (mg)	สายพันธุ์โค	จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	อ้างอิง
ฮอร์โมนPMSG			
1,000 Unit	โคพื้นเมืองไทย	4.50 ± 3.10	วิทวัส (2544)
2,000 Unit	โคพื้นเมืองไทย	7.25 ± 5.31	
3,000 Unit	โคพื้นเมืองไทย	7.66 ± 1.52	
ฮอร์โมนFSH			
160	โคไทยแบล็ค F1	10.21 ± 1.38	
180	โคไทยแบล็ค F1	12.38 ± 1.18	อนนท์ และคณะ (2553)
200	โคไทยแบล็ค F1	11.14 ± 1.42	
200	โคพันธุ์กำแพงแสน (แม่โค)	15.00 ± 4.28	
250	โคพันธุ์กำแพงแสน (แม่โค)	7.25 ± 4.28	พีรยุทธ (2554)
200	โคพันธุ์กำแพงแสน (โคสาว)	15.50 ± 3.40	
250	โคพันธุ์กำแพงแสน (โคสาว)	13.50 ± 3.40	

3.2 FSH Antorin R10 AL

ฮอร์โมน FSH Antorin R10 AL เป็นฮอร์โมนที่ผลิตมาจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของสุกร ประกอบไปด้วย ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของสุกร 10 AU น้ำเกลือ 2.5 ml และอลูมิเนียมไฮดรอกไซด์ เจล (Aluminum hydroxide gel) 1 ml กลไกการออกฤทธิ์ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโค โดยใช้ตัวละ 30 - 40 AU ต่อตัว ผลิตโดยบริษัท Kyoritsu Seiyaku Corporation Tokyo Japan มีวิธีการฉีดดังนี้ ปริมาณการใช้ยา 10 AU ละลายในน้ำเกลือ 5 ml และฉีดยาเข้าไปในกล้ามเนื้อ โดยฉีดวันละ 2 ครั้ง เช้า – เย็น เป็นระยะเวลา 3 ถึง 5 วันต่อวัน

ภาพที่ 8 ฮอร์โมน Antorin R10 AL

การศึกษาการใช้ฮอร์โมน Antorin R10 AL เพื่อกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ Yamamoto et al. (1995) ศึกษาการตอบสนองการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมน FSH-R ละลายใน Polyvinylpyrrolidone เพียงเข็มเดียวในโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม A (FSH-R 20 mg), กลุ่ม B (FSH-R 30 mg), กลุ่ม C (FSH-R 40 mg) และ กลุ่ม D (FSH-R 50 mg) โดย FSH-R 10 ml ละลายใน 30 % PVP เหมือนกันทุกกลุ่ม จำนวนไข่และตัวอ่อนเก็บได้ ในกลุ่ม A, B, C และ D มีค่าเท่ากับ 9.00 ± 0.00, 8.30 ± 5.40, 13.00 ± 8.80 และ 9.20 ± 6.40 ตัว ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) และพบจำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ ในกลุ่ม D มีค่าเท่ากับ 1.00 ± 0.00 ซึ่งมีค่าแตกต่างจากกลุ่ม B และ C มีค่าเท่ากับ 6.20 ± 3.80 และ 7.10 ± 5.90 ตัว ตามลำดับ แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) และกลุ่ม A มีค่าเท่ากับ 5.00 ± 0.00 ตัว และจากการศึกษาของ Takedomi et al. (1995) ที่ศึกษาการกระตุ้น

เพิ่มการตกไข่ในโคนมลูกผสมพันธุ์โฮลไตน์ฟรีเชี่ยน โดยใช้ฮอร์โมน FSH ละลายใน Polyvinylpyrrolidone เพียงเข็มเดียว โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม A (ฉีด pFSH เจือจางด้วยน้ำเกลือแบบเข็มเดียว ปริมาณ 30 mg) กลุ่ม B (ฉีด pFSH เจือจาง 50 % PVP K-30 แบบเข็มเดียว ปริมาณ 30 mg) กลุ่ม C (ฉีด pFSH เจือจาง 25 % PVP K-90 แบบเข็มเดียว ปริมาณ 30 mg) และ กลุ่ม D (ฉีด pFSH เจือจางด้วยน้ำเกลือแบบหลายเข็ม ปริมาณ 30 mg) พบจำนวนคอร์ปัสลูเทียม ในกลุ่ม A, B, C และ D มีค่าเท่ากับ 6.00 ± 0.00, 9.80 ± 1.70, 6.50 ± 2.40 และ 10.50 ± 1.90 ใบ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) จำนวนไข่และตัวอ่อนเก็บได้ ในกลุ่ม A, B, C และ D มีค่าเท่ากับ 1.00 ± 0.00, 8.80 ± 1.70, 6.30 ± 2.60 และ 9.50 ± 2.10 ตัว ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) และพบจำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ในกลุ่ม A, B, C และ D มีค่าเท่ากับ 1.00 ± 0.00, 4.30 ± 2.40, 5.00 ± 2.10 และ 6.00 ± 2.50 ตัว ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) และพบการรายงานของ Song et al. (2012) ที่ทำการศึกษาผลของจำนวนครั้งที่ตั้งท้องและฤดูกาลในการผลิตตัวอ่อนโดยการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคเนื้อสายพันธุ์ Hanwoo โดยการฉีดกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ใช้โค 22 ตัว โดยไม่คำนึงถึงวงรอบการเป็นสัด ทำการสอด CIDR ผ่านทางช่องคลอด, ฉีดฮอร์โมนโปรเจนเตอโรน ปริมาณ 50 mg และ ฉีดเอสตราไดออล เบนโซเอท ปริมาณ 2.50 mg หลังจากนั้น 4 - 5 วัน กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคตัวให้โดยใช้ฮอร์โมน FSH Antorin R10 AL (28 AU) ฉีดวันละ 2 ครั้ง และลดปริมาณยาที่ใช้ฉีดวันที่ 4 วัน ในวันที่ 6 และ วันที่ 7 ของการฉีดฮอร์โมน FSH ฉีด 2.50 mg และฉีด $PGF_{2\alpha}$ 15.00 mg ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าการตอบสนองของแม่โคตัวให้คือ จำนวนคอร์ปัสลูเทียม, ตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้, ตัวอ่อนที่เสื่อมสลาย และไข่ที่ไม่ได้รับการผสม มีค่าเท่ากับ 11.60 ± 7.90 ใบ, 5.50 ± 4.40 ตัวอ่อน, 3.00 ± 3.30 ตัวอ่อน และ 2.60 ± 4.10 ตัวอ่อน ตามลำดับ จำนวนค่าเฉลี่ยรวมของไข่ที่เพิ่มสูงขึ้นของโคที่ผ่านการตั้งท้องจำนวน 3 - 5 ท้อง มีค่าเท่ากับ 14.30 ± 1.30 ใบ มีค่ามากกว่า โคที่ตั้งท้องจำนวน 1 - 2 ท้อง 8.90 ± 1.90 ใบ ที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) จำนวนตัวอ่อนที่สมบูรณ์ในกลุ่มโคที่ตั้งท้องจำนวน 3 - 5 ท้อง มีค่าเท่ากับ 7.80 ± 0.80 ตัวอ่อน มีค่าแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) มีค่าเท่ากับ 3.70 ± 1.50 ตัวอ่อน ผลของไข่และตัวอ่อนที่ปกติในฤดูร้อนมีค่าเท่ากับ 16.40 ± 2.30 ใบ, 8.10 ± 1.40 ตัวอ่อน ซึ่งมีค่ามากกว่า ฤดูใบไม้ร่วง 10.10 ± 1.80 ใบ, 4.50 ± 1.00 ตัวอ่อน และ ฤดูหนาว 6.30 ± 1.80 ใบ, 3.30 ± 1.10 ตัวอ่อน ตามลำดับที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) และผลจำนวนการย้ายฝากตัวอ่อนในฤดูร้อนมีค่าเท่ากับ 7.60 ± 1.30 ตัวอ่อน ซึ่งมีค่ามากกว่าในฤดูหนาว 3.00 ± 1.00 ตัวอ่อน ที่ระดับนัยสำคัญ ($P<0.05$) และ Hiraizumi et al. (2015) ทำการเปรียบเทียบการกระตุ้นการตกไข่โดยใช้ FSH (Antrin R 10) ที่มีปริมาณต่างกันฉีดเข้าใต้กล้ามเนื้อในโควากิว แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มการทดลองที่ 1 แบ่งออกเป็น 3 วิธี คือ กลุ่ม A (FSH 20 AU ฉีดเพียงเข็มดียว) กลุ่ม B (FSH 20 AU เจือจางด้วยน้ำเกลือ 10 ml.)

และ กลุ่ม C (FSH 20 AU เจือจางด้วยน้ำเกลือ 50 ml.) โดยพบจำนวนคอร์ปัสลูเทียม ในกลุ่ม A, B และC มีค่าเท่ากับ 17.20 ± 2.60, 15.40 ± 2.50 และ 18.10 ± 3.40 ใบ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ (P<0.05) ค่าเฉลี่ยจำนวนไข่และตัวอ่อนเก็บได้ ในกลุ่ม A, B และC มีค่าเท่ากับ 16.20 ± 2.80, 12.90 ± 1.40 และ 15.90 ± 3.50 ตัว ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ (P<0.05) และจำนวนค่าเฉลี่ยตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ ในกลุ่ม A, B และC มีค่าเท่ากับ 8.00 ± 2.10, 7.50 ± 2.00 และ 10.40 ± 2.80 ตัว ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ (P<0.05) กลุ่มการทดลองที่ 2 แบ่งออกเป็น 3 วิธี กลุ่ม A FSH 20 AU ฉีดเพียงเข็มดียว กลุ่ม B FSH 30 AU เจือจางด้วยน้ำเกลือ 10 ml และ กลุ่ม C FSH 30 AU เจือจางด้วยน้ำเกลือ 50 ml โดยพบจำนวนคอร์ปัสลูเทียม ในกลุ่ม A, B และC มีค่าเท่ากับ 20.10 ± 3.40, 20.50 ± 4.30 และ 20.40 ± 2.70 ใบ ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ (P<0.05) ค่าเฉลี่ยจำนวนไข่และตัวอ่อนเก็บได้ ในกลุ่ม A, B และC มีค่าเท่ากับ 16.50 ± 2.80, 21.70 ± 4.20 และ 17.30 ± 3.40 ตัว ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ (P<0.05) และจำนวนค่าเฉลี่ยตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ ในกลุ่ม A, B และC มีค่าเท่ากับ 9.50 ± 1.90, 8.10 ± 1.60 และ 9.30 ± 2.20 ตัว ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ (P<0.05) (ตารางที่ 2)

จึงสรุปได้ว่า การใช้ฮอร์โมน Antorin R10 Al ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ต่อฤดูกาลมีผลในการผลิตตัวอ่อน และ พบว่าการใช้ฮอร์โมนในระดับที่แตกต่างกัน ไม่มีผลต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม ค่าเฉลี่ยจำนวนไข่และตัวอ่อนเก็บได้ และ จำนวนค่าเฉลี่ยตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 2 การใช้ฮอร์โมน FSH Antorin R10 Al ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน และในโคเนื้อสายพันธุ์ Hanwoo และ โควากิว

ระดับฮอร์โมน	สายพันธุ์โค	จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	จำนวนไข่และตัวอ่อนเก็บได้	ตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้	อ้างอิง
FSH-R					
กลุ่ม A 20mg	โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน	-	9.00 ± 0.00	5.00 ± 0.00	
กลุ่ม B 3 0mg	โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน	-	8.30 ± 5.40	6.20 ± 3.80 [b]	Yamamoto
กลุ่ม C 4 0mg	โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน	-	13.00 ± 8.80	7.10 ± 5.90 [b]	et al. (1995)
กลุ่ม D 5 0mg	โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน	-	9.20 ± 6.40	1.00 ± 0.00 [a]	
pFSH					
กลุ่ม A ฉีดเข็มเดียว 30mg	โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน	6.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	
กลุ่ม B เจือจาง 50% PVP K-30	โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน	9.80 ± 1.70	8.80 ± 1.70,	4.30 ± 2.40	Takedomi et al.
กลุ่ม C เจือจาง 25 % PVP K-90	โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน	6.50 ± 2.40	6.30 ± 2.60	5.00 ± 2.10	(1995)
กลุ่ม D ฉีดหลายเข็ม 30mg	โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน	10.50 ± 1.90	9.50 ± 2.10	6.00 ± 2.50	
Antorin R10 AL					Song et al.
Antorin R10 AL (28 AU)	Hanwoo	11.60 ± 7.90	-	5.50 ± 4.40	(2012)

ตารางที่ 2 การใช้ฮอร์โมน FSH Antorin R10 Al ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน และในโคเนื้อสายพันธุ์ Hanwoo และ โควากิว (ต่อ)

ระดับฮอร์โมน	สายพันธุ์โค	จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	จำนวนไข่และตัวอ่อนเก็บได้	ตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้	อ้างอิง
pFSH (Antrin R 10)					
กลุ่มที่ 1					
กลุ่ม A 20 AU ฉีดเพียงเข็มดียว	โควากิว	1.70 ± 2.60	16.20 ± 2.80	8.00 ± 2.10	
กลุ่ม B 20 AU/10 mg ฉีดเข็มเดียว	โควากิว	15.40 ± 2.50	12.90 ± 1.40	7.50 ± 2.00	Hiraizumi et al.
กลุ่ม C 20 AU/50 mg ฉีดเข็มเดียว	โควากิว	18.10 ± 3.40	15.90 ± 3.50	10.40 ± 2.80	(2015)
กลุ่มที่ 2					
กลุ่ม A 20 AU ฉีดหลายเข็ม	โควากิว	20.10 ± 3.40	16.50 ± 2.80	9.50 ± 1.90	
กลุ่ม B 30 AU/10 mg ฉีดเข็มเดียว	โควากิว	20.50 ± 4.30	21.70 ± 4.20	8.10 ± 1.60	
กลุ่ม C 30 AU/50 mg ฉีดเข็มเดียว	โควากิว	20.40 ± 2.70	17.30 ± 3.40	9.30 ± 2.20	

หมายเหตุ ^{a,b} แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$

3.3 วิธีการให้ฮอร์โมน

การให้ฮอร์โมนในสัตว์ ทำได้โดย 2 วิธี คือ 1. การฉีดฮอร์โมนเข้ากล้ามเนื้อ และ 2. การฉีดฮอร์โมนเข้าใต้ผิวหนัง จากการศึกษาของ Ramakrishna and Ramachandraiah (1989) ทำการฉีดฮอร์โมน FSH-P 30 mg. โดยฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ในโคสายพันธุ์ Crossbred จำนวน 10 ตัว พบจำนวน CL 11 ใบ และ Hockley et al. (1992) ทำการฉีดฮอร์โมน Folltropin 200 มก. NIH - FSH – P1 ในโคสายพันธุ์โฮลไตน์ฟรีเชี่ยน 11 ตัว พบจำนวน CL 3.6 ใบ และ Mishra et al. (1996) ทำการฉีดกระตุ้นการตกไข่เข้ากล้ามเนื้อ โดยใช้ฮอร์โมน FSH - P 28 mg. ในโคสายพันธุ์ซาฮิวาล (Sahiwal) พบจำนวน CL 9.16 ใบ จากการศึกษาข้อมูลและนำมาเปรียบเทียบข้างต้น พบว่า วิธีการฉีดฮอร์โมนเข้ากล้ามเนื้อมีผลแนวโน้มการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ได้ผลดีกว่า การฉีดกระตุ้นการตอบสนองเข้าทางใต้ผิวหนัง

4. การผลิตตัวอ่อนภายในร่างกาย (In vivo production of embryo)

4.1 การเลือกแม่โคตัวให้ (Characteristics of donors)

การคัดเลือกแม่พันธุ์เพื่อบริจาคตัวอ่อน แม่โคควรมีอายุ 5 ปี มีน้ำหนักเฉลี่ยอยู่ที่ 430 – 480 กิโลกรัม และมีคะแนนร่างกาย (BCS) อยู่ในช่วง 2.5 ถึง 3.0 (มาตราส่วน 5 : 1 = ผอมมาก และ 5 = อ้วนเกินไป) (Houghton et al., 1990) ในการคัดเลือกแม่พันธุ์ต้องมีความสมบูรณ์ของระบบสืบพันธุ์ เช่น ปราศจากโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ ไม่มีการอักเสบของมดลูก และรังไข่ทำงานปกติ มีพันธุกรรมที่ดี (Naranjo and Fernando, 2020) โดยปกติสัตว์จะตกไข่ครั้งละ 1 ใบ แต่ถ้าต้องการให้ตกไข่หลาย ๆ ใบ ต้องใช้ฮอร์โมนกระตุ้นเพื่อการตกไข่ได้ครั้งละหลายใบโดย การฉีดฮอร์โมน FSH และเหนี่ยวนำการเป็นให้แม่พันธุ์เป็นสัด โดยใช้ฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูอัลฟา (Prostaglandin $F_2\alpha$,$PGF_2\alpha$) ซึ่งมีชื่อทางการค้าเช่น ลูทาไลซ์ (Lutalyse®) เอสทรูเมส (Estrumate®) และ เอสโตรแพลน (EstroPLAN®) แม่พันธุ์จะเป็นสัดภายใน 2-3 วัน จากนั้นทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์คุณภาพดี (Larson et al., 2010)

จากการศึกษาของ ธนพร และคณะ (2563) ทำการศึกษาผลการกระตุ้นการตกไข่หลายใบโดยใช้ฮอร์โมน FSH เข้ากล้ามเนื้อชนิดแบ่งฉีดสองเข็มในโคนมลูกผสมพันธุ์ไทยโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน พบ จำนวนฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่กว่า 8 มิลลิเมตร มีค่าเท่ากับ 13.30 ± 1.80 และ 12.00 ± 2.00 ใบ ตามลำดับ จำนวนคอร์ปัสลูเทียม มีค่าเท่ากับ 10.70 ± 1.09 และ 10.00 ± 1.79 ใบ ตามลำดับ จำนวนฟอลลิเคิลที่ไม่ตกไข่ 2.00 ± 0.51 และ 1.70 ± 0.61 ใบ ตามลำดับ อัตราการตกไข่ มีค่าเท่ากับ 83.20 ± 4.95 และ 82.80 ± 8.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และการตอบสนองของรังไข่ มีค่า 12.67 ± 0.62 และ 11.67 ± 1.63 ใบตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ รุจิรา และคณะ (2563)

ทำการศึกษาผลการกระตุ้นการตกไข่พร้อมกันหลายใบโดยฉีดฮอร์โมน FSH เข้าช่องไขสันหลังเพียงเข็มเดียวในโคนมลูกผสมพันธุ์ไทยโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน พบ จำนวนฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่กว่า 8 mm. มีค่าเท่ากับ 16.75 ± 2.00 และ 20.25 ± 2.24 ใบตามลำดับ จำนวนคอร์ปัสลูเทียม มีค่าเท่ากับ 17.20 ± 2.60 และ 10.50 ± 2.53 ใบ ตามลำดับ จำนวนฟอลลิเคิลที่ไม่ตกไข่ 0 และ 3.00±1.83 ใบ ตามลำดับ อัตราการตกไข่ มีค่าเท่ากับ 100 และ 71.26 ± 6.34 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และการตอบสนองของรังไข่ มีค่า 13.25 ± 0.70 และ 13.50 ± 1.82 ใบ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ (P>0.05) (ตารางที่ 3) จากการสืบค้นข้อมูลจากการศึกษาจึงสรุปได้ว่าการกระตุ้นการตกไข่พร้อมกันหลายใบโดยใช้ฮอร์โมน FSH สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล และการตกไข่หลายใบในโคนมลูกผสมไทยโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบผลกระตุ้นการตกไข่พร้อมกันหลายใบโดยฉีดฮอร์โมน FSH 400 มิลลิกรัม เข้าทางกล้ามเนื้อ 4 วัน (กลุ่มควบคุม) และฉีดฮอร์โมน FSH 400 มิลลิกรัม เข้าทางช่องไขสันหลังแบบเข็มเดียวในโคนมลูกผสมพันธุ์ไทยโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน

รายการ	ทรีทเมนต์		P-value	อ้างอิง
	กลุ่มควบคุม	โปรโตคอลพื้นฐาน		
จำนวนตัวโค	6	6	-	
ผลการกระตุ้นการตกไข่โคแสดงอาการเป็นสัด	100	100	-	
จำนวนฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่กว่า 8 mm (n)	13.30 ± 1.80	12.00 ± 2.00	-	ธนพร และคณะ (2562)
จำนวนคอร์ปัสลูเทียม (n)	10.70 ± 1.09	10.00 ± 1.79	-	
จำนวนฟอลลิเคิลที่ไม่ตกไข่ (n)	2.00 ± 0.51	1.70 ± 0.61	-	
อัตราการตกไข่	83.20 ± 4.95	82.80 ± 8.29	-	
การตอบสนองของรังไข่ (n)	12.67 ± 0.62	11.67 ± 1.63	-	
จำนวนตัวโค	4	4	-	
ผลการกระตุ้นการตกไข่โคแสดงอาการเป็นสัด	100	75	-	
จำนวนฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่กว่า 8 mm (n)	16.75 ± 2.00	20.25 ± 2.24	0.32	รุจิรา และคณะ (2563)
จำนวนคอร์ปัสลูเทียม (n)	17.20 ± 2.60	10.50 ± 2.53	0.42	
จำนวนฟอลลิเคิลที่ไม่ตกไข่ (n)	0	3.00 ± 1.83	0.12	
อัตราการตกไข่	100	71.26 ± 6.34	0.20	
การตอบสนองของรังไข่ (n)	13.25 ± 0.70	13.50 ± 1.82	0.88	

4.2 การเลือกแม่โคตัวรับ (Characteristics of recipients)

การคัดเลือกแม่พันธุ์เพื่อรับตัวอ่อน เพื่อให้ตัวอ่อนเจริญเติบโตในปีกมดลูกของแม่โคตัวรับจนถึงกำหนดคลอด โดยแม่พันธุ์ตัวรับจะต้องมีความสมบูรณ์ของระบบสืบพันธุ์ เช่น ปราศจากโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ ไม่มีการอักเสบของมดลูก รังไข่ทำงานปกติ มีพันธุกรรมที่ดีและมีมดลูกพร้อมที่จะรับการฝังของตัวอ่อน (Naranjo and Fernando, 2020) เพื่อเตรียมตัวรับให้เป็นสัดพร้อมกับแม่พันธุ์ตัวให้ โดยใช้แม่พันธุ์ตัวรับที่เป็นสัดตามธรรมชาติพร้อมกับแม่พันธุ์ตัวให้ หรือทำการเหนี่ยวนำแม่พันธุ์ตัวรับให้เป็นสัดโดยฉีดฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ แม่พันธุ์จะเป็นสัดภายใน 2 - 3 วัน หลังจากทำการผสมเทียม 5 - 7 วันทำการเก็บตัวอ่อน (Embyro collection) (Fufa et al., 2016)

จากการศึกษาของ Amporn (2008) ทำการศึกษาผลการตอบสนองของฮอร์โมนFSH ในโคไทยสายพันธุ์พื้นเมือง ฉีดฮอร์โมนเข้ากล้ามเนื้อโดยใช้ฮอร์โมนที่มีระดับต่างกันคือ 100 150 และ 200 mg พบว่า การย้ายฝากตัวอ่อนในโคไทยสายพันธุ์พื้นเมือง มีค่าเท่ากับ 4.33 ± 1.33, 4.17 ± 0.87 และ 4.33 ± 1.12 ตามลำดับ ที่ระดับนัยสำคัญ (P > 0.05) สอดคล้องกับ Tríbulo et al. (2012) ที่ศึกษาการตอบสนองของการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคสายพันธุ์แองกัส โดยใช้ฮอร์โมน Folltropin – V และ 2% hyaluronan ที่มีระดับต่างกัน คือ 400, 300 และ 200 โดยแบ่งฉีดฮอร์โมนเป็น 2 กลุ่มคือ ฉีด Folltropin – V แบบเข็มเดียว และ 2% hyaluronan แบ่ง ฉีดสองเข็ม พบว่า การย้ายฝากตัวอ่อนในโคสายพันธุ์แองกัส โดยใช้ฮอร์โมน Folltropin – V มีค่าเท่ากับ 6.50 ± 1.10^{b}, 5.70 ± 0.90^{b} และ 4.60 ± 0.80^{a} ตามลำดับ การย้ายฝากตัวอ่อนในโคสายพันธุ์แองกัส โดยใช้ฮอร์โมน 2% hyaluronan มีค่าเท่ากับ 6.50 ± 1.00^{b} , 6.40 ± 1.10^{b} และ 3.40 ± 0.70^{a} ตามลำดับ แตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ (P > 0.05)และสอดคล้อง (Mikkola and Taponen, 2017) ศึกษาการใช้ฮอร์โมน Folltropin และ Pluset เพื่อเพิ่มกระตุ้นการตกไข่และการย้ายฝากตัวอ่อนระหว่างโคสาวและโคนางสายพันธุ์ผสมโฮลส์ไตน์ - แองกัส พบว่าการย้ายฝากตัวอ่อนในแม่โคสาว มีค่าเท่ากับ 6.90 และ 7.10 ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 แสดงผลของการใช้ฮอร์โมนกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ต่อการย้ายฝากตัวอ่อน

รายการ	ชนิดฮอร์โมน	การย้ายฝากตัวอ่อน	อ้างอิง
โคไทยสายพันธุ์พื้นเมือง	FSH		
	100	4.33 ± 1.33	Amporn (2008)
	150	4.17 ± 0.87	
	200	4.33 ± 1.12	
โคสายพันธุ์แองกัส	Folltropin – V		
กลุ่มที่ 1	400	6.50 ± 1.10[b]	Tribulo et al.
กลุ่มที่ 2	300	5.70 ± 0.90[b]	(2012)
กลุ่มที่ 3	200	4.60 ± 0.80[a]	
	2% hyaluronan		
กลุ่มที่ 1	400	6.50 ± 1.00[b]	
กลุ่มที่ 2	300	6.40 ± 1.10[b]	
กลุ่มที่ 3	200	3.40 ± 0.70[a]	
โคสาวสายพันธุ์ลูกผสม	Folltropin	6.90	
โฮลส์ไตน์ - แองกัส			Mikkola and
โคนางสายพันธุ์ลูกผสม	Pluset	7.10	Tapone
โฮลส์ไตน์ - แองกัส			(2017)
โคสาวสายพันธุ์ลูกผสม	Folltropin	6.70	
โฮลส์ไตน์ - แองกัส			
โคนางสายพันธุ์ลูกผสม	Pluset	7.80	
โฮลส์ไตน์ - แองกัส			

[a,b,] หมายถึง มีค่าแตกต่างที่ระดับนัยสำคัญ P<0.05

5. การชะล้างเก็บตัวอ่อน

การชะล้างเก็บตัวอ่อนแบบไม่ผ่าตัดตามวิธีการของ รังสรรค์ และสรรเพชญ (2530) โดยล้วงตรวจรังไข่ผ่านทางทวารหนักเพื่อประเมินการตอบสนองต่อการกระตุ้นการตกไข่และนับจำนวนลักษณะของ CL ล้างทำความสะอาดอวัยวะเพศโคให้สะอาดแล้วเช็ดให้แห้ง ฉีดยาชาเข้าช่องกระดูกไขสันหลังโดยใช้ยา 2.00 % ไซโลเคน ไฮโดรคลอไรด์ (Xylocaine HCL) ประมาณ 4.00 – 6.00 ml หลังจากนั้นใช้เหล็กนำ (Cervical dilator) ถ่างคอมดลูกให้ขยายตัวออกประมาณ 5 นาที จากนั้นนำเหล็กถ่างมดลูกออก สอดท่อยางโฟเลย์ (Foley catheter) ที่แกนสแตนเลส (Sterlie stylette) อยู่ภายในเข้าไปยังปีกมดลูกที่ตำแหน่ง Bifurcation จากนั้นดึงแกนสแตนเลสออกแล้วใช้กระบอกฉีดยา (Cuff) เติมลมให้ลูกโป่งที่ Foley catheter ให้มีขนาดพอเหมาะกับขนาดโพรงปีกมดลูก ต่อชุดสายยาง (Flushing tube set) เข้ากับปลายท่อยางโฟเลย์ โดยทางหนึ่งเป็นท่อน้ำยาเข้า (Inlet) และอีกทางหนึ่งเป็นท่อน้ำยาออก (Outlet) ปลายข้างหนึ่งของท่อน้ำยาเข้าต่อกับขวดน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนที่แขวนให้สูงจากหลังสัตว์ประมาณ 1 M. และปลายของท่อน้ำยาออกต่อกับถ้วยกรองตัวอ่อน (miniflush) ที่อยู่บนกระบอกตวงที่ฆ่าเชื้อแล้ว (Sterile cylinder) ขนาด 500 ml โดยท่อน้ำยาเข้าและท่อน้ำยาออกสามารถควบคุมการไหลเข้าออกของน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนได้ด้วยกรรไกรหนีบ แล้วปล่อยน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อน (modified Dulbecco’s Phosphate Buffer Saline; mDPBS) เข้าตัวมดลูกจนกระทั่งเต็มปีกมดลูกทั้งสองข้าง โดยคลายตัวเปิดท่อน้ำยาเข้า และใช้มือที่ล้วงผ่านช่องทวารหนักโอบปีกมดลูกเอาไว้ขณะที่ปล่อยน้ำยาชะล้างเก็บตัวอ่อนเข้าไป หลังจากนั้นให้น้ำยาชะล้างเก็บตัวอ่อนไหลพร้อมทั้งทำการนวดปีกมดลูกสองข้างเบา ๆ ให้น้ำยาไหลออกจนหมด แล้วปิดท่อน้ำยาออก ทำการเปิดปิดท่อให้น้ำยาชะล้างเก็บตัวอ่อนไหลเข้าออกหลาย ๆ ครั้ง จนกระทั่งน้ำยาชะล้างเก็บตัวอ่อนเข้าในมดลูกประมาณ 1,000 ml (มักใช้น้ำยาในการชะล้างเก็บตัวอ่อนปริมาณ 500 ml ต่อข้างของปีกมดลูก) ทำการปล่อยน้ำยาชะล้างเก็บตัวอ่อนจนกระทั่งเต็มปีกมดลูก เมื่อเสร็จแล้วปล่อยลมออกจาก Cuff แล้วดึงท่อยางโฟเลย์ออก ฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟา 500 ไมโคร และฉีด Ceftiofur และ Lutalyse เข้ากล้ามเนื้อของสัตว์ เพื่อป้องกันการติดเชื้อและการตั้งท้อง (Saito, 1994) (ภาพที่ 9)

และจากการศึกษาวิธีการชะล้างเก็บตัวอ่อนแบบไม่ผ่าตัด โดยฮอร์โมน FSH กระตุ้นเพิ่มการตกไข่และใช้น้ำยาชะล้างตัวอ่อนชนิด mDPBS ของพีรยุทธ (2554) พบจำนวนคอร์ปัสลูเทียมมีค่าเท่ากับ 15.50 ± 3.40 และ 13.50 ± 3.40 ใบ ตามลำดับ และพบจำนวนตัวอ่อนที่สามารถนำไปย้ายฝากได้จากการชะล้างด้วยน้ำยาชะล้างตัวอ่อนชนิด mDPBS มีค่าเท่ากับ 8.50 ± 3.48 และ 3.50 ± 3.48 ใบ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ ชโลธร และคณะ (2556) พบจำนวนคอร์ปัสลูเทียมมีค่า

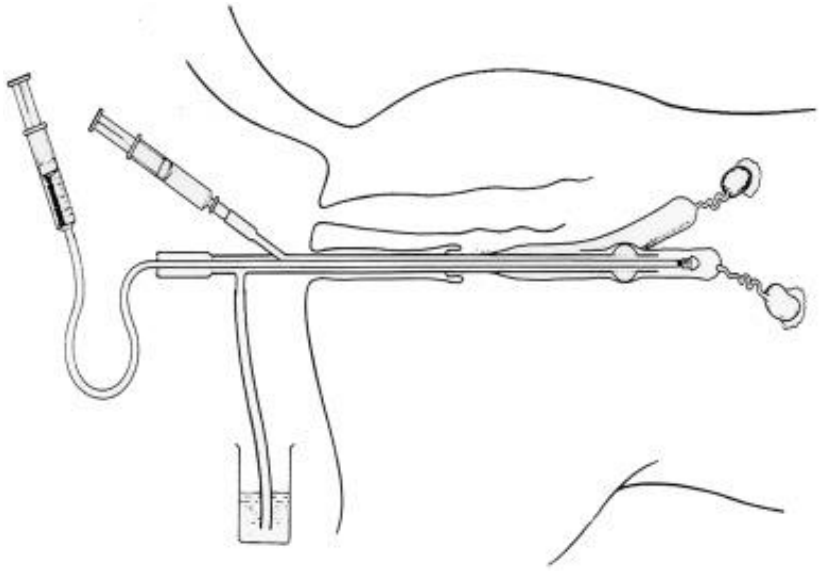
เท่ากับ 10.83 ± 1.40 และ 5.83 ± 0.31 ใบ ตามลำดับ และพบจำนวนตัวอ่อนที่ได้จากการชะล้างด้วยน้ำยาชะล้างตัวอ่อนชนิด mDPBS มีค่าเท่ากับ 8.50 ± 1.69 และ 4.50 ± 0.34 ใบ ตามลำดับ

ทั้งนี้ Hasler (2010) ได้นำเสนอข้อมูลเกี่ยวกับจำนวนการเก็บตัวอ่อนและอัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนในโคเนื้อและโคนม ระหว่างปี 2002 –2011 พบว่าจำนวนเฉลี่ยการเก็บตัวอ่อนและอัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนในโคเนื้อและโคนมมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 จำนวนการเก็บตัวอ่อนและอัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนในโคเนื้อและโคนม ระหว่างปี 2002 – 2011

ปี	จำนวนการเก็บตัวอ่อน	อัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อน	ค่าเฉลี่ยอัตราการรอดชีวิตต่อการเก็บตัวอ่อน
2002	28,109	172,118	6.1
2003	34,896	205,441	5.9
2004	40,701	248,469	6.1
2005	48,233	305,129	6.3
2006	51,802	319,984	6.2
2007	54,080	332,486	6.1
2008	52,804	329,171	6.2
2009	36,330	238,210	6.6
2010	38,552	247,830	6.4
2011	41,151	274,887	6.7

ที่มา: Hasler (2010)



ภาพที่ 9 การชะล้างตัวอ่อน
ที่มา : Allen and Sandra (2020)

การประเมินคุณภาพตัวอ่อน

การประเมินคุณภาพตัวอ่อน เป็นการคัดเลือกตัวอ่อนไว้สำหรับย้ายฝากตัวอ่อนสด หรือการทำตัวอ่อนแช่แข็ง วิธีการประเมินคุณภาพตัวอ่อนแบ่งออกเป็น 7 วิธี 1. การวัดอัตราเมทาบอลิซึม (Metabolic rate) 2. การย้อมสี (Staining) 3. การใช้วิธีทางเอ็นไซม์ (Enzyme assay) 4. วิธีทางฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescence assay) 5. การเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง (In vitro culture) 6. การถ่ายฝากให้สัตว์ตัวรับ 7. การประเมินจากการใช้กล้องจุลทรรศน์ (Gordon, 1994) แต่โดยส่วนใหญ่จะใช้การประเมินจากกล้องจุลทรรศน์ เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกและนิยมใช้กันมากที่สุด โดยประเมินจากรูปร่างลักษณะของตัวอ่อน โดยแบ่งคุณภาพออกเป็น 4 ประเภท ตามหลักเกณฑ์ของ (Lindner and Wright, 1983)

6. การย้ายฝากตัวอ่อน

การย้ายฝากตัวอ่อน เริ่มมีการรายงานตั้งแต่ ปี ค.ศ 1940 (Hasler, 2010) โดยเป็นเทคโนโลยีการปรับปรุงพันธุ์สัตว์เพื่อให้สามารถเพิ่มจำนวนสัตว์พันธุ์ดีได้อย่างรวดเร็ว กว่าการผสมตามธรรมชาติ (Barati et al., 2006) การย้ายฝากตัวอ่อน คือ การนำตัวอ่อน ที่เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างตัวอสุจิของพ่อพันธุ์และไข่ของแม่พันธุ์ที่คัดเลือกไว้ ในระยะก่อนการฝังตัวออกมาจากปีกมดลูกของแม่โคตัวให้ แล้วนำไปย้ายฝากให้กับแม่โคตัวรับซึ่งตัวอ่อนจะฝังตัวในปีกมดลูกของแม่โคตัวรับและเจริญเติบโตเป็นลูกโคพันธุ์ดีและลูกโคที่เกิดจะได้ลักษณะพันธุกรรมครึ่งหนึ่งจากพ่อโคพันธุ์ชั้นดีและอีกครึ่งหนึ่งจากแม่โคตัวให้ (พีรยุทธ, 2554)

Hasler (2001) ทำการย้ายฝากตัวอ่อนโดยใช้วิธีผ่าตัดและไม่ผ่าตัดในโคสาวและโคนาง โดยใช้ตัวอ่อนสดและตัวอ่อนแช่แข็ง ผลจากการใช้ตัวอ่อนสด โดยวิธีการผ่าตัดและไม่ผ่าตัดพบว่าการย้ายฝากตัวอ่อนสดในโคสาวและโคนางให้ผลแตกต่างกัน โดยตัวอ่อนสดในโคสาวและโคนาง มีค่าเท่ากับ 79.9, 78.8, 69.7 และ 60.7 ตามลำดับ และการใช้ตัวอ่อนแช่แข็งในโคนาง พบว่า อ่อนแช่แข็ง ในโคสาวและโคนาง มีค่าเท่ากับ 70.8, 59.7, 71.1 และ 38.5 ตามลำดับ และ Hirayama et al. (2014) ศึกษาการย้ายฝากตัวอ่อนโดยใช้วิธีการผ่าตัดและไม่ผ่าตัด แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 2 กลุ่มคือ การย้ายฝากตัวอ่อนสดและตัวอ่อนแช่แข็ง ตัวอ่อน 2 ตัว และการย้ายฝากตัวอ่อนสดและตัวอ่อนแช่งแข็ง ตัวอ่อน 3 ตัว ผลการศึกษาการย้ายฝากตัวอ่อนสดและตัวอ่อนแช่แข็งกลุ่มตัวอ่อน 2 ตัว โดยใช้วีการไม่ผ่าตัดและผ่าตัด พบอัตราการทั้งท้องที่ 40 วันและ 60 วัน มีค่า 54, 50 % และ 50, 35 % ตามลำดับ การทดลองกลุ่มที่ใช้ตัวอ่อน 2 ตัว ให้ผลอัตราการตั้งท้องที่ไม่แตกต่างกัน และกลุ่มที่ 2 การย้ายฝากตัวอ่อนสดและตัวอ่อนแช่งแข็ง ตัวอ่อน 3 ตัว พบอัตราการทั้งท้องที่ 40 วันและ 60 วัน มีค่า 35, 29 % และ 65, 35 % ตามลำดับผลอัตราการตั้งท้องที่ไม่แตกต่างกัน จึงสรุปได้ว่าการใช้วิธีไม่ผ่าตัดและผ่าตัดในการย้ายฝากตัวอ่อน ให้อัตราการตั้งท้องไม่แตกต่างกัน แต่ปัจจุบันการใช้วิธีการผ่าตัดในการย้ายฝากตัวอ่อนเป็นวิธีที่ไม่นิยมปฏิบัติ เนื่องด้วยการดูแลรักษาแผลที่เกิดจากการผ่าตัด หากดูแลรักษาไม่ดี อาจส่งผลให้เกิดการติดเชื้อที่แผลผ่าตัดได้ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Kanazawa et al. (2016) ที่เปรียบเทียบการย้ายฝากตัวอ่อนโดยใช้ตัวอ่อนสดและตัวอ่อนแช่แข็งในการย้ายฝากตัวอ่อน พบอัตราการตั้งท้องอยู่ที่ 54.1 % และ 62.5 % ซึ่งแปลผลว่าการใช้ตัวอ่อนสดและตัวอ่อนแช่แข็ง พบว่าอัตราการตั้งท้องที่ไม่แตกต่างกัน และสอดคล้องกับการศึกษาของSousa et al. (2017) ศึกษาการย้ายฝากตัวอ่อนโดยใช้ตัวอ่อนที่มาจากการตัดแบ่งตัวอ่อน และการไม่ตัดแบ่งตัวอ่อน โดยเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องเมื่อทำการย้ายตัวอ่อนที่ 30 วันและ 90 วัน พบว่าอัตราการตั้งท้องจากการตัดแบ่งตัวอ่อนและไม่ตัดแบ่งตัวอ่อน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 อัตราการตั้งท้องจากการย้ายฝากตัวอ่อน

ประเภทตัวอ่อน	วิธีการย้ายฝากตัวอ่อน	อัตราการตั้งท้องจากการการย้ายฝากตัวอ่อน					อ้างอิง
		ตั้งท้อง	30 วัน	40 วัน	60 วัน	90 วัน	
ตัวอ่อนสด (โคสาว)	ผ่าตัด	79.9[a]		-	-	-	Hasler (2001)
ตัวอ่อนสด (โคนาง)	ผ่าตัด	69.7[b]	-	-	-	-	
ตัวอ่อนแช่แข็ง (โคสาว)	ผ่าตัด	70.8[c]	-	-	-	-	
ตัวอ่อนแช่แข็ง (โคนาง)	ผ่าตัด	71.1[c]	-	-	-	-	
ตัวอ่อนสด (โคสาว)	ไม่ผ่าตัด	78.8[a]	-	-	-	-	
ตัวอ่อนสด (โคนาง)	ไม่ผ่าตัด	60.7[b]	-	-	-	-	
ตัวอ่อนแช่แข็ง (โคสาว)	ไม่ผ่าตัด	59.7	-	-	-	-	
ตัวอ่อนแช่แข็ง (โคนาง)	ไม่ผ่าตัด	38.5[d]	-	-	-	-	
ตัวอ่อนแช่แข็ง จำนวนตัวอ่อน 2 ตัว	ไม่ผ่าตัด	-	-	54	-	50	Hirayama et al. (2014)
ตัวอ่อนแช่แข็ง จำนวนตัวอ่อน 2 ตัว	ผ่าตัด	-	-	50	-	35	
ตัวอ่อนแช่แข็ง จำนวนตัวอ่อน 3 ตัว	ไม่ผ่าตัด	-	-	35	-	29	
ตัวอ่อนแช่แข็ง จำนวนตัวอ่อน 3 ตัว	ผ่าตัด	-	-	65	-	35	

ตารางที่ 6 อัตราการตั้งท้องจากการย้ายฝากตัวอ่อน (ต่อ)

ประเภทตัวอ่อน	วิธีการย้ายฝากตัวอ่อน	อัตราการตั้งท้องจากการการย้ายฝากตัวอ่อน					อ้างอิง
		ตั้ท้อง	30 วัน	40 วัน	60 วัน	90 วัน	
ตัวอ่อนสด	-	54.1	-	-	-	-	Kanazawa et al. (2016)
ตัวอ่อนแช่แข็ง	-	62.5	-	-	-	-	
ตัดแบ่งตัวอ่อน	-	-	57.36	-	54.21	-	Sousa et al. (2017)
ไม่ตัดแบ่งตัวอ่อน	-	-	57.64	-	55.89	-	

หมายเหตุ [a,b] แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P<0.01, [c,d] แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ P<0.05

มหาวิทยาลัยศิลปากร

7. ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่

ปัจจัยที่ส่งผลต่อความสำเร็จในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ มี 2 ปัจจัยหลัก คือ 1. ปัจจัยภายใน (Intrinsic factors) 2. ปัจจัยภายนอก (Extrinsic factors) และ 3. ปัจจัยอื่น ๆ

7.1 ปัจจัยภายใน (Intrinsic factors) ได้แก่ อายุ (Age), สายพันธุ์ (Breed)

7.1.1 อายุ (Age)

Lerner et al. (1986) ทำการศึกษาอายุของแม่โคที่นำมาใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคสายพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน อายุระหว่าง 1.8 – 17.8 ปี พบว่า แม่โคที่มีอายุเพิ่มขึ้นผลการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ต่ำลง พบจำนวนตัวอ่อน อัตราการปฏิสนธิ คุณภาพตัวอ่อน และจำนวนตัวอ่อนที่สามารถนำไปย้ายฝากได้มีจำนวนลดลง เป็นผลอันเนื่องมาจาก อายุที่เพิ่มมากขึ้นของแม่โค ทำให้มีจำนวนฟอลลิเคิลที่ปรากฏบนรังไข่ลดน้อยลง และ ได้รายงานว่า แม่โคที่มีอายุมาก จะตอบสนองต่อฮอร์โมนได้ดีขึ้นเมื่อได้รับฮอร์โมนในระดับสูงขึ้น

7.1.2 สายพันธุ์ (Breed)

สายพันธุ์เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการตอบสนองของฮอร์โมนโดยโคที่ได้รับในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ อาจมีแสดงผลการตอบสนองที่แตกต่างกัน ซึ่งสาเหตุมักมาจากความไวต่อความเครียดของการเลี้ยงโคสายพันธุ์นั้น ๆ เช่น การเลี้ยงโคนมแบบสัตว์เลี้ยง พบว่าการตอบสนองต่อฮอร์โมนดีกว่าโคนมที่เลี้ยงตามธรรมชาติ เนื่องจากสัตว์มีความคุ้นเคยกับผู้เลี้ยงสัตว์ (Kafi and McGowan, 1997) จากการรายงานของ Dominguez (1995) พบว่า โคยุโรปสามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ได้ดีกว่าโค ตระกูลอินเดีย ซึ่งสอดคล้องกับ Mishra et al. (1996) รายงานว่าโคสายพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซี่ยน ตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ได้สูงกว่าโคซาฮิวาล ซึ่งเป็นโคตระกูลอินเดีย

7.1.3 การให้อาหาร

จากการรายงานของ สรรเพชรญ และคณะ (2546) พบว่าการให้อาหารข้นที่มีระดับโปรตีนสูงช่วยให้โคสามารถกลับสัดหลังคลอดได้เร็ว อีกทั้งช่วยส่งเสริมประสิทธิภาพการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่และสามารถผลิตตัวอ่อนที่มีคุณภาพสามารถนำไปย้ายฝากตัวอ่อนได้เพิ่มมากขึ้น โดยรายงานว่าอาหารข้นที่ควรให้แก่แม่โคควรระดับโปรตีนอยู่ที่ 16 ถึง 19 เปอร์เซ็นต์

7.2 ปัจจัยภายนอก (Extrinsic factors) ได้แก่ การจัดการฟาร์ม, สภาพภูมิอากาศและฤดูกาล และความเครียดจากความร้อน

7.2.1 การจัดการฟาร์ม

การจัดการฟาร์มโคนมให้มีประสิทธิภาพ คือ 1. การจัดการระบบสาธารณูปโภค โดยเป็นพื้นฐานหลักของการดำเนินการในกิจการฟาร์ม ได้แก่ ที่พักโค ที่รีดนม ที่ให้น้ำ – อาหาร ที่ให้บริการดูแลสุขภาพโคนมโดยเป็นไปตามหลัก Animal welfare เช่น โคสามารถลดความไม่สบายทางกายภาพและจากความร้อน และลดปัญหาจากการเจ็บป่วยและการเกิดบาดแผล 2. การจัดการเครื่องจักรและอุปกรณ์ในการจัดการฟาร์มรวมถึง Software การบริหารจัดการฝูงโคที่มีความทันสมัย โดยจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตโคนม เช่น การจัดหาระบบเครื่องรีดนมอัตโนมัติ หากจัดหาเครื่องรีดนม 1เครื่องจะสามารถรองรับการรีดนมจากแม่โคได้ครั้งละ 50 – 60 ตัว 3. การจัดการระบบการรีดนม ควรทำเป็นระบบการทำความเย็นและเก็บรักษาน้ำนมดิบ พร้อมทั้ง Software ควบคุมการทำงาน และการจดบันทึกข้อมูล เช่น การใช้ระบบการในจับสัด และการติดตามสุขภาพของโค รวมถึงการออกแบบห้องรองรับสำหรับการเข้าศึกษาดูงานฟาร์มผ่านทางห้องกระจก 4. ระบบการจัดการของเสียภายในฟาร์ม ที่จะช่วยลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เช่น มีระบบการจัดการมูลโค โดยใช้เครื่องแยกกากตะกอน และนำส่วนที่เป็นกากไปใช้เป็นปุ๋ยคอก หรือจัดจำหน่ายสู่ภาพนอก และส่วนที่เป็นน้ำ สามารถนำไปใช้ในการฉีดพ่นบำรุงแปลงพืชอาหารสัตว์ รวมถึงลดการใช้ทรัพยากร เช่น น้ำ ไฟฟ้า 5. การจัดการฟาร์มให้สะดวกและง่ายในการบริหารการจัดการ เช่น ออกแบบฟาร์มให้มีความสะดวกและง่ายในการปฏิบัติงาน มีบริเวณรวมแม่โคก่อนเข้ารีดและมีทางเดินกลับคอกพักเองหลังจากรีดนม ทำให้ใช้แรงงานน้อยในการดำเนินกิจการฟาร์ม และ 6. การป้องกันควบคุมโรค เช่น การออกแบบให้มีระบบการควบคุมและป้องกันโรคจากภายนอกก่อนที่จะเข้าสู่ภายในฟาร์ม โดยมีระบบสเปรย์ฆ่าเชื้อยานพาหนะ และบุคคลที่จะเข้าฟาร์ม ด้วยระบบ Auto sensor spraying (องค์การส่งเสริมโคนมแห่งประเทศไทย, 2557)

7.2.2 สภาพภูมิอากาศ และฤดูกาล

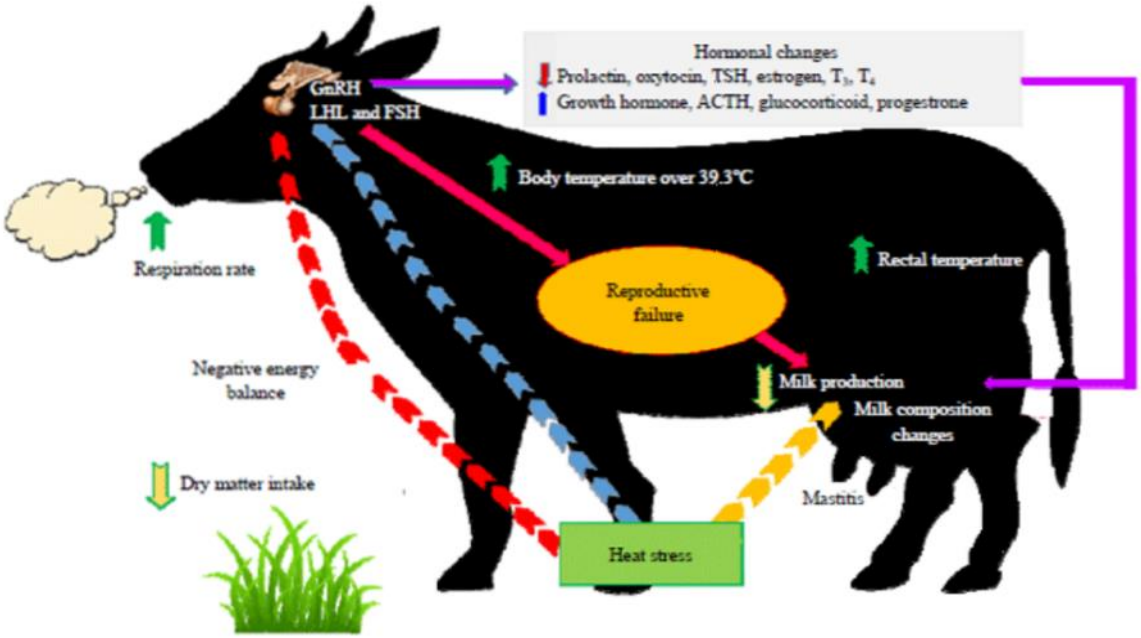
ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อนชื้นมีลักษณะสภาพอากาศร้อนและชื้นตลอดทั้งปี ค่าอุณหภูมิเฉลี่ยตลอดปีเท่ากับ 27 องศาเซลเซียส และค่าความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยตลอดปีเท่ากับ 74 เปอร์เซ็นต์ โดยฤดูกาลของประเทศไทยสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ฤดูกาล ดังนี้ ฤดูร้อน เริ่มต้นประมาณกลางเดือนกุมภาพันธ์ถึงกลางเดือนพฤษภาคม ลักษณะอากาศในฤดูร้อนใช้เกณฑ์สูงสุดของแต่ละวัน โดยแบ่งเป็นดังนี้ อากาศร้อน อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 35 – 39.9 องศาเซลเซียส และ อากาศร้อนจัด อุณหภูมิอยู่ที่ 40 องศาเซลเซียสขึ้นไป มีค่าความชื้นสัมพัทธ์ เท่ากับ 78.63 ฤดูฝน เริ่มต้นประมาณกลางเดือนพฤษภาคมถึงกลางเดือนตุลาคม ลักษณะอากาศในฤดูฝนพิจารณาจากปริมาณฝนใน 24 ชั่วโมงของแต่ละวัน นับตั้งแต่เวลา 07.00 น. จนถึงเวลา 07.00 น. ของวันถัดไป โดยมีเกณฑ์

แบ่ง ดังนี้ ฝนวัดจำนวนไม่ได้ คือ ปริมาณฝนน้อยกว่า 0.1 มิลลิเมตร ฝนเล็กน้อย คือปริมาณฝนระหว่าง 0.1 – 10.0 mm ฝนปานกลาง คือ ปริมาณฝนระหว่าง 10.1 – 35.0 mm ฝนหนัก คือ ปริมาณฝนระหว่าง 35.1 – 90.0 mm และ ฝนหนักมาก คือ ปริมาณฝนตั้งแต่ 90.1 มิลลิเมตรขึ้นไป มีค่าความชื้นสัมพัทธ์ เท่ากับ 76.97 และฤดูหนาวเริ่มต้นประมาณกลางเดือนตุลาคมถึงกลางเดือนกุมภาพันธ์ ลักษณะอากาศในฤดูหนาวใช้เกณฑ์อุณหภูมิต่ำสุดของแต่ละวัน โดยแบ่งเป็นดังนี้ อากาศหนาวจัด อุณหภูมิต่ำกว่า 0.8 องศาเซลเซียส อากาศหนาว อุณหภูมิระหว่าง 8.0 – 15.9 องศาเซลเซียส และ อุณหภูมิเย็น อุณหภูมิระหว่าง 16.0 – 22.9 องศาเซลเซียส มีค่าความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับ 73.18 (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2562) จากลักษณะสภาพอากาศที่มีอุณหภูมิและความชื้นสูงตลอดทั้งปีส่งผลกระทบต่อผลผลิตของโคนม และระบบสืบพันธุ์ โดยผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ที่เกิดจากความร้อนก่อให้เกิดความเครียด Putney et al. (1988) ทำการศึกษาอัตราการตั้งท้องในโคนมโดยกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในช่วงฤดูร้อน พบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงจะส่งผลต่อการพัฒนาของตัวอ่อนโดยพบตัวอ่อนที่เก็บได้มีความผิดปกติเป็นจำนวนมากซึ่งเป็นผลมาจากสภาพอากาศที่ร้อนส่งผลให้โคเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน และBadinga et al. (1993) พบว่าการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในช่วงที่อุณหภูมิและความชื้นสูงอาจส่งผลต่อการพัฒนาเซลล์ไข่ให้สมบูรณ์พร้อมในการปฏิสนธิ จำนวน และคุณภาพตัวอ่อนลดลง และจากอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมที่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลต่อการจำกัดการระบายความร้อนในร่างกายของโค คือ การแผ่รังสีรังความร้อน การพาความร้อน ละการนำความร้อน ทำให้โคพยายามสร้างกลไกต่าง ๆ เช่น การสร้างเหงื่อ การหายใจเร็วขึ้น การหลั่งฮอร์โมนผิดปกติ โดยส่งผลทำให้แม่โคมีความอยากกินอาหารลดลง และทำให้โคได้รับอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย จนส่งผลต่อคุณภาพการผลิตน้ำนมและคุณภาพตัวอ่อนลดลง (Brody, 1945; Esmay, 1977) ผลจากการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ในโคนมของ Thatcher (1974) รายงานว่าการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ และฤดูกาลมีผลต่ออัตราการผสมติด ซึ่งสอดคล้องกับ Stott and Williams (1962) พบว่าสาเหตุของประสิทธิภาพการสืบพันธุ์สามารถลดต่ำลงได้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ และจากการศึกษาอิทธิพลของฤดูกาลที่มีผลต่ออัตราการผสมติดของ (Ray et al., 1992) พบว่า แม่โคที่คลอดลูกในช่วงฤดูใบไม้ผลิ และฤดูร้อนมีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ เนื่องจากในช่วงฤดูร้อนอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้แม่โคเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน (Heat stress) โดยส่งผลกระทบต่อ การตกไข่และการฝังตัวของตัวอ่อน เนื่องจากเป็นช่วงที่อากาศร้อนและโคกินอาหารได้ลดลง ทำให้ได้รับสารอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย (Hall et al., 1959)

7.2.3 ความเครียดจากความร้อน

ความเครียดเนื่องจากความร้อน หมายถึง สภาวะที่สัตว์ไม่สามารถระบายความร้อนออกจากร่างกายได้จนส่งผลกระทบต่อความสมบูรณ์พันธุ์ เมื่อโคได้รับความเครียดต่อมหมวกไตถูกกระตุ้นให้สร้างฮอร์โมนคอร์ติโซน ส่งผลกระทบต่อระบบฮอร์โมนเพศโดย ทำให้โคจะมีวงรอบการเป็น

สัดยาวนานขึ้น การเป็นสัดไม่ชัดเจน สั้นลง และเป็นสัดเงียบ เอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนต่ำลงมีผลต่อกระแสเลือดที่ไปเลี้ยงที่มดลูกลดลง กระทบต่อการฝังตัวและการพัฒนาของตัวอ่อน เพราะปริมาณสารอาหารที่ไปเลี้ยงตัวอ่อนจะลดน้อยลง เมื่ออุณหภูมิบริเวณปีกมดลูกเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลทำให้ตัวอ่อนตาย สุณีรัตน์ (2557) รายงานว่าโคนมที่เกิดความเครียดเนื่องจากความร้อนมีระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดต่ำลง ขณะที่โคนมเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อนแบบฉับพลัน ทำให้ระยะเวลาการฝ่อตัวของคอร์ปัสลูเทียม (Corpus luteum; CL) ช้าออกไปจึงทำให้วงรอบการเป็นสัดยาวนานขึ้นมากกว่าปกติ สิ่งที่สำคัญอีกประการหนึ่ง เกิดผลกระทบต่อการตกไข่หรือการปฏิสนธิ และส่งผลกระทบต่อตัวอ่อนทุกระยะตลอดช่วงการตั้งท้องของโคนม เนื่องจากความเครียดจากความร้อนส่งผลทำให้ฟอลลิเคิลมีขนาดเล็กลง ทำให้การผลิตฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดลง ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อการสร้างสเตียรอยด์ฮอร์โมน และการพัฒนาของฟอลลิเคิล Badinga et al. (1993) และมีผลกระทบต่อการผสมไม่ติด อัตราการคลอด (Calving rate) อัตราการผสมติดที่ 60 วันหลังคลอด (Conception rate at 60 days) และอัตราการผสมติดที่ 90 วันหลังคลอด (Conception rate at 90 days) ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ วรางคณา และคณะ (2560) รายงานว่าอิทธิพลของค่าดัชนีความเครียดเนื่องจากความร้อนต่อผลการผสมเทียมของโคนมในภาคตะวันตกของประเทศไทย ค่าอุณหภูมิและความชื้นในอากาศที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้ค่า THI เพิ่มขึ้น นั่นคือ ถ้าค่า THI 55 โอกาสที่แม่โคจะผสมติด 0.7 แต่ถ้าค่า THI สูงถึง 85 แม่โคจะมีโอกาสผสมติดเพียง 0.2 จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ลดต่ำลงตามมา และความเครียดเนื่องจากความร้อนมีผลต่อความอยู่รอดของตัวอ่อนและอัตราการตั้งท้อง โดยการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่เกิดขึ้นส่งผลให้การพัฒนาของตัวอ่อนล่าช้า และเมื่อความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรยในกระแสเลือดต่ำลง การฝังตังของตัวอ่อนไม่สมบูรณ์และตัวอ่อนตายในระยะแรก ดังนั้นเกษตรกรควรให้ความสำคัญและตระหนักถึงผลกระทบของค่า THI ที่เกิดขึ้นในแต่ละวันต่อโคนม โดยจะต้องจัดการสภาพแวดล้อม เช่น ให้ร่มเงา เพิ่มพัดลม และให้น้ำ เป็นต้น เพื่อเป็นการช่วยลดความเครียดของแม่โคลง



ภาพที่ 10 แสดงกลไกการเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน
ที่มา : Prathap et al. (2016)

7.2.4 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิความชื้นในอากาศ

การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิความชื้นในอากาศ เมื่อความชื้นในอากาศสูงขึ้นมากกว่าร้อยละ 79.9 ทำให้ร่างกายของโคมีปัญหาในการกำจัดและระบายความร้อนออก จนเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ส่งผลกระทบทำให้แม่โคเบื่ออาหาร ประสิทธิภาพการย่อยอาหารต่ำลง โดยปัจจัยที่สำคัญต่อประสิทธิภาพการถ่ายเทความร้อน เกิดขึ้นเนื่องจากความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของร่างกายและอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อม เมื่ออุณหภูมิของสภาพแวดล้อมต่ำกว่าอุณหภูมิของร่างกาย จะเกิดการถ่ายเทความร้อนได้มากขึ้น โดยมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศและความเร็วลม ในการช่วยถ่ายเทความร้อน หากความชื้นสัมพัทธ์สูงการระบายความร้อนโดยอาศัยการระเหยของน้ำส่งผลทำให้โคหอบและสูญเสียพลังงานไปส่วนหนึ่ง นอกจากนั้นอาการหอบยังส่งผลทำให้โคหายใจไปไม่ถึงปอด ปริมาณออกซิเจนที่ได้รับก็จะลดน้อยลง การระบายคาร์บอนไดออกไซด์ออกก็ลดน้อยลง ทำให้การเผาผลาญในร่างกายของโคเกิดความเป็นกรด – ด่าง ในเลือดผิดปกติ ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้โคเข้าสู่สภาวะความเครียดเนื่องจากความร้อน และส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการใช้อาหาร รวมทั้งการให้ผลผลิตที่ลดต่ำลง (ดำรง, 2534)

7.3 ปัจจัยอื่น ๆ

7.3.1 การตรวจจับสัดที่ดี

เกษตรกรควรตรวจสัดช่วงเช้า และช่วงเย็น โดยแต่ละครั้งจับเวลา 30 นาที ระยะเวลาในการผสมเทียมที่เหมาะสมที่สุด คือ ช่วง 12 – 16 ชั่วโมงหลังโคเริ่มยืนนิ่ง (สำนักพัฒนาพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์, 2557)

7.3.2 การประเมินประสิทธิภาพการผสมเทียม

เกษตรกรควรจดบันทึกข้อมูลการผสมเทียมทุกครั้ง รวมถึงจดบันทึกวันที่และชื่อสายพันธุ์ที่นำมาผสม (สำนักพัฒนาพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์, 2557)

7.3.3 โรคต่าง ๆ ที่มีผลต่อระบบสืบพันธุ์

เกษตรกรควรป้องกันไม่ให้แม่โคเป็นโรคติดเชื้อทางระบบสืบพันธุ์ ตัวอย่างเช่น มดลูกอักเสบ, รกค้าง, โรคถุงน้ำในรังไข่ และ มดลูกหรือช่องคลอดทะลัก (สำนักพัฒนาพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์, 2557)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

ศึกษาผลของฤดูกาลต่อการตอบสนองในโปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมนฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน

1. ขั้นตอนเตรียมการทดลอง

1.1 การเตรียมสัตว์ทดลอง (แม่โคตัวให้)

ทำการคัดเลือกแม่โคลูกผสมพันธุสายโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน (Crossbred Holstein Friesian) ที่ระดับสายเลือดสูงกว่า 75 % เพื่อเป็นแม่โคตัวให้ จำนวน 36 ตัว โดยคัดเลือกจากแม่โคที่มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 430 – 480 kg คะแนนร่างกาย 3.0-3.5. มีสุขภาพร่างกายสมบูรณ์แข็งแรง ไม่ป่วย ไม่เครียด มีประวัติและพันธุกรรมที่ดี ไม่มีโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ คือ ไม่มีโรคถุงน้ำที่รังไข่ สภาพมดลูกปกติไม่มีการอักเสบหรือมีหนอง คอมดลูกไม่เล็กหรือคด มดลูกไม่ยาวลึกจนเกินไปเพราะจะทำให้ชะล้างเก็บตัวอ่อนได้ลำบาก รังไข่สมบูรณ์ทั้งสองข้างไม่ลีบหรือแบน ควรมีขนาดไม่ต่ำกว่า 1.5 x 1.5 x 2.0 เซนติเมตร รวมถึงมีสุขภาพร่างกายสมบูรณ์แข็งแรง ไม่ป่วย ไม่เครียด และแม่โคต้องมีวงรอบเป็นสัดปกติ (Chankitisakul et al., 2017)โดยการให้อาหารใช้อาหารข้นยี่ห้อ JBF และอาหารTMR วันละ 2 มื้อ เช้าและเย็น (กวาดทำความสะอาดรางอาหารก่อนให้อาหารทุกครั้ง) การให้น้ำจะมีอ่างเก็บน้ำแบบระบบอัตโนมัติเพื่อให้สัตว์ได้ดื่มกินตลอดเวลา (โดยทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก ๆ 2 วัน หรือหากมีเศษอาหารตกลงไป จะทำการเปลี่ยนน้ำโดยทันที) มีพัดลมเพื่อเปิดระบายอากาศและมีระบบน้ำไหลเวียนเพื่อเพิ่มความเย็นให้กับตัวสัตว์ ดูแลเป็นอย่างดี ถูกสุขลักษณะในตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง (NRC, 2001) จากนั้นทำการการปรับขนานการเป็นสัดในแม่โคตัวให้ ในโปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) (ตารางที่ 7) หลังจากนั้นวันที่ 16 ทำการชะล้างตัวอ่อนโดยการใช้วิธีแบบไม่ผ่าตัด (Non-surgical method) การตรวจหาตัวอ่อน หลังจากชะล้างเก็บตัวอ่อนแล้ว การประเมินคุณภาพของตัวอ่อน การตรวจสภาพรูปร่างลักษณะแบ่งคุณภาพของตัวอ่อนออกเป็น และการประเมินระยะการเจริญเติบโตของตัวอ่อน

ตารางที่ 7 โปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคตัวให้โดยใช้ฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL)

ลำดับวันที่	โคตัวให้	
	เช้า (06.00 น.)	เย็น (18.00 น.)
0		สอด CIDR EB+$P_4$1.30 mg
1		
2		
3		
4	ฉีด FSH (Antorin R10 AL) 5.00 mg	ฉีด FSH (Antorin R10 AL) 4.00 mg
5	ฉีด FSH (Antorin R10 AL) 3.50 mg	ฉีด FSH (Antorin R10 AL) 2.50 mg
6	ฉีด FSH (Antorin R10 AL) 2.50 mg.	ฉีด FSH (Antorin R10 AL) 2.50 mg
		$PGF_{2\alpha}$ 2.00 mg
7	ฉีด FSH (Antorin R10 AL) 1.50 mg	ฉีด FSH (Antorin R10) 1.00 mg
	$PGF_{2\alpha}$ 2.00 mg	ถอด CIDR
8		ฉีด GnRH 2 mg
9	ผสมเทียมครั้งที่ 1	ผสมเทียมครั้งที่ 2
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16	ชะล้างตัวอ่อนเก็บตัวอ่อน	

หมายเหตุ :CIDRแท่งวัสดุโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ =

GnRH = Gonadotrophin Releasing Hormone

EB + P_4 ฮอร์โมน = Estradiol benzoate 2 mg/ml, P_4 = Progestrone implant 50 mg/ml

FSH = Follicle stimulating hormone (Antorin R10) 10 AU 1 หลอด ผสมน้ำกลั่น 5 mg (1 แผง มี 5 หลอด) ($PGF_{2\alpha}$ = Prostaglandin F2 alpha) Estrumate ครั้งที่ 1 ฉีด 2 mg ครั้งที่ 2 ฉีด 1 mg

มหาวิทยาลัยศิลปากร

1.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง (แม่โคตัวรับ)

ทำการคัดเลือกแม่โคลูกผสมพันธุสายโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน (Crossbred Holstein Friesian) โดยแม่โคตัวรับต้องมีสุขภาพร่างกายสมบูรณ์แข็งแรง ไม่ป่วย ไม่เครียด มีประวัติและพันธุกรรมที่ดี ไม่มีโรคติดต่อทางระบบสืบพันธุ์ คือ ไม่มีโรคถุงน้ำที่รังไข่ สภาพมดลูกปกติไม่มีการอักเสบหรือมีหนอง (Chankitisakul et al., 2017) โดยการให้อาหารใช้อาหารข้นยี่ห้อ JBF และอาหารTMR วันละ 2 มื้อ เช้าและเย็น (กวาดทำความสะอาดรางอาหารก่อนให้อาหารทุกครั้ง) การให้น้ำจะมีอ่างเก็บน้ำแบบระบบอัตโนมัติเพื่อให้สัตว์ได้ดื่มกินตลอดเวลา (โดยทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก ๆ 2 วัน หรือหากมีเศษอาหารตกลงไป จะทำการเปลี่ยนน้ำโดยทันที) มีพัดลมเพื่อเปิดระบายอากาศและมีระบบน้ำไหลเวียนเพื่อเพิ่มความเย็นให้กับตัวสัตว์ ดูแลเป็นอย่างดี ถูกสุขลักษณะในตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลองทดลอง (NRC, 2001) และทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแม่โคตัวรับ ในแม่โคตัวรับโดยใช้ฮอร์โมน Gonadotrophin Releasing Hormone (GnRH) (ตารางที่ 8) และการทำการย้ายฝากตัวอ่อนทำโดยเตรียมตัวอ่อนใส่หลอดบรรจุ Straw ใน ปืนย้ายฝากตัวอ่อน (Transfer gun) สอดปลอกพลาสติก (Chemise) เปิดปากช่องคลอด สอดปืนย้ายฝากตัวอ่อนในทิศทางขึ้นบนและไปข้างหน้า โดยมือหนึ่งล้วงผ่านทางทวารหนัก สอดจนถึงคอมดลูกอย่างนิ่มนวล เมื่อผ่านเข้าไปในคอมดลูกแล้ว ใช้มือที่สอดผ่านทางทวารหนักกำหนดทิศทางให้ดีเลยช่วงต่อ (Bifurcation) ของมดลูกเข้าไปปีกมดลูกที่มีการตกไข่ ปล่อยตัวอ่อนในปีกมดลูก ค่อย ๆ ดึงเอา Transfer gun ออกอย่างช้า ๆ จากนั้นปล่อยให้สัตว์เป็นอิสระแล้วติดตามผลการตั้งท้อง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 8 โปรแกรมเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแม่โคตัวรับโดยใช้ฮอร์โมน GnRH

ลำดับวันที่	โคตัวรับ	
	เช้า (06.00 น.)	เย็น (18.00 น.)
	สอด CIDR ฉีด GnRH 2.00 mg	
0		
1		
2		
3		
4		
5		
6		ฉีด $PGF_{2\alpha}$ 2.00 mg
7		ถอด CIDR
8		ฉีด GnRH
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		ตรวจ CL
16	รับฝากตัวอ่อน (ฝากที่ปีกมดลูกข้างที่พบ CL)	

หมายเหตุ :CIDRแท่งวัสดุโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ =

GnRH = Gonadotrophin Releasing Hormone

$PGF_{2\alpha}$ = Prostaglandin F2alpha Estrumate ครั้งที่ 1 ฉีด 2 mg ครั้งที่ 2 ฉีด 1 mg

มหาวิทยาลัยศิลปากร

2. แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized complete block design,RCBD) โดยทำการทดลอง 3 กลุ่ม กลุ่มละ 12 ตัว ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ ดังต่อไปนี้

กลุ่มการทดลองที่ 1 การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ในฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายน – เดือนกุมภาพันธ์)

กลุ่มการทดลองที่ 2 การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ในฤดูร้อน (เดือนมีนาคม – เดือนมิถุนายน)

กลุ่มการทดลองที่ 3 การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ในฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม – เดือนตุลาคม)

โดยแต่ละกลุ่มการทดลองจัดแบ่งโคนมลูกผสมสายพันธุ์โฮลส์ไตน์ฟรีเชี่ยน (Crossbreed Holstein Friesian) ที่ระดับสายเลือดสูงกว่า 75 % มีการปรับขนาดการเป็นสัดในแม่โคตัวให้ โดยใช้โปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมน FSH (Antorin R10) (ตารางที่ 7) การมีการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแม่โคตัวรับในโปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมน Gonadotrophin Releasing Hormone (GnRH) (ตารางที่ 8)

3. สิ่งที่ศึกษา

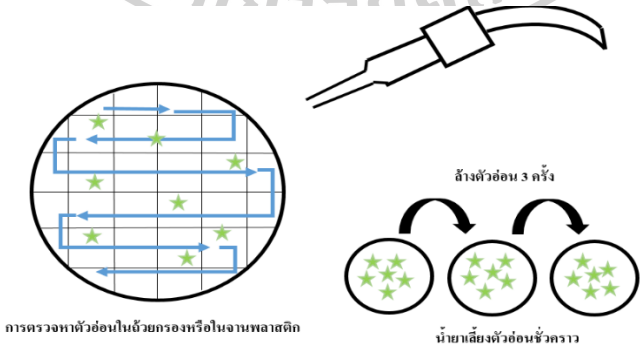
3.1 การประเมินจำนวนฟอลลิเคิลและคอร์ปัสลูเทียม (Corpus luteum; CL)

การประเมินโดยการล้วงตรวจทางทวารหนัก (Rectal palpation) โดยวิธีการล้วงตรวจรังไข่ทางทวารหนัก(Rectal palpation) โดยผู้ที่มีความเชี่ยวชาญ และทำการประเมิน โดยการนับจำนวนฟอลลิเคิลและคอร์ปัสลูเทียม (องค์การส่งเสริมโคนมแห่งประเทศไทย, 2557) แสดงดังภาพที่ 11

ภาพที่ 11 การล้วงตรวจประเมินจำนวนฟอลลิเคิลและคอร์ปัสลูเทียม

3.2 การตรวจหาตัวอ่อน

การตรวจหาตัวอ่อน หลังจากชะล้างเก็บตัวอ่อนแล้ว นำตัวอ่อนที่อยู่ในถ้วยกรองตัวอ่อนที่มีตัวอ่อนมาเทน้ำยาชะล้างเก็บตัวอ่อนลงในจานเลี้ยงเชื้อพลาสติก (Petri dishes) แสดงดังภาพที่ 12 นำจานเลี้ยงเชื้อพลาสติกที่มีน้ำยาไปตรวจหาตัวอ่อนด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (Stereomicroscope) กำลังขยาย 10 ถึง 40 เท่า ตรวจหาตัวอ่อนจากจานเลี้ยงเชื้อแต่ละใบ 3 รอบ เมื่อตรวจพบตัวอ่อนให้ใช้ปิเปตแก้วที่ยืดปลายให้มีขนาดเล็กดูดตัวอ่อนลงในจานพลาสติกกลมปลอดเชื้อขนาด 35 x 10 mm ที่มีน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อน (Modified Dulbecco's phosphate buffer saline) (Ferraz et al., 2016)



ภาพที่ 12 วิธีการตรวจหาตัวอ่อน

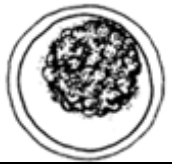
ที่มา: ดัดแปลงมาจาก รังสรรค์ และสรรเพชญ (2530)

3.3 ประเมินและจำแนกระยะการเจริญของตัวอ่อน

การประเมินและจำแนกระยะการเจริญของตัวอ่อน ทำหลังจากการชะล้างตัวอ่อนในวันที่ 7 จำแนกตัวอ่อนแยกตามระยะการเจริญตามมาตรฐานจากวิธีการของ Saito (1994) ที่พบใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอขนาดกำลังขยาย 40 - 50 เท่า หรือกล้องจุลทรรศน์ชนิดกลับหัวกลับ (Inverted microscope) ขนาดกำลังขยาย 40 – 100 เท่า การประเมินคุณภาพของตัวอ่อน ดูจากลักษณะหลาย ๆ ลักษณะ เช่น การแบ่งตัวของเซลล์ การยึดเกาะของเซลล์ รูปร่าง สีของบลาสโตเมียร์ ขนาดช่องว่างระหว่างบลาสโตเมียร์กับเปลือกโซนาเพลลูซิดา จำนวนของเซลล์ที่หลุดออกมาและที่เสื่อมสลาย และจำนวนเซลล์เปล่า (Vesicles) ที่หลุดออกมา ตัวอ่อนที่ถูกชะล้างออกจากปีกมดลูกควรพบตั้งแต่ระยะมอร์รูล่าร์ (Morula) ระยะคอมแพ็คมอร์รูล่าร์ (Compact morula) ถึงระยะบลาสโตซิสต์ (Blastocyst) ซึ่งประกอบด้วยระยะ Early blastocyst, Blastocyts และ Expanded blastocyst จึงถือว่าเป็นตัวอ่อนที่มีพัฒนาการแบบปกติ ถ้าตัวอ่อนมีเซลล์น้อยกว่า 16 เซลล์ ถือเป็นตัวอ่อนที่ตายแล้ว (Degenerated embryo) ไข่ที่ไม่ได้รับการผสม (Unfertilized ova/ovum) ถือว่าตายแล้วและถูกชะล้างมาพร้อมกับตัวอ่อน (Mikkola and Taponen, 2017) ดังแสดงในตารางที่ 9

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 9 การแบ่งระยะการเจริญของตัวอ่อนโคก่อนการฝังตัว

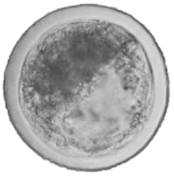
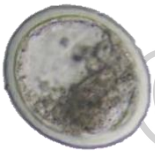
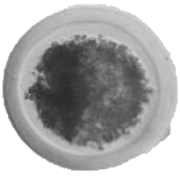
ระยะการเจริญของตัวอ่อน	ลักษณะที่ปรากฏ
มอร์รูล่าร์ (Morula)	ประกอบด้วยเซลล์ 16 – 32 เซลล์ โดยจะสังเกตเห็นเซลล์ที่เกาะกลุ่มกันแบบขรุขระ
คอมแพ็คมอร์รูล่าร์ (Compact morula) 	เซลล์ตัวอ่อน (Blastomere) เพิ่มจำนวนเป็นก้อนกลมและเกิดการรวมตัวกัน เซลล์แต่ละเซลล์จะเห็นไม่ชัดแต่เห็นเป็นผิวเรียบ ๆ ของตัวอ่อน
บลาสโตซีสต์ระยะต้น (Early blastocyst)	เซลล์ตัวอ่อน (Blastomere) เกาะตัวเป็นกลุ่ม มีการสร้างช่องที่มีขนาดเล็กกว่าครึ่งหนึ่งของขนาดตัวอ่อนทั้งตัว ทำให้รูปร่างมีลักษณะคล้ายวงแหวน
บลาสโตซีสต์ (Blastocyst)	ตัวอ่อนระยะนี้มีช่องว่างขนาดใหญ่ และสามารถจำแนกความแตกต่างของชั้นโทรโฟบลาสต์ (Trophoblast) และอินเนอร์เซลล์แมส (Inner cell mass)
บลาสโตซีสต์ระยะขยายตัว (Expanded blastocyst)	ตัวอ่อนระยะนี้มีการขยายตัวใหญ่ ความหนาแน่นของโซนาเพลลูซิดา (Zona pellucida) ลดลง ทำให้ส่วนของโทรโฟบลาสต์ชัดขึ้น และเรียงตัวไปชิดกับส่วนโซนาเพลลูซิดา

ที่มา : Saito (1994)

3.4 ประเมินคุณภาพของตัวอ่อน

การแบ่งคุณภาพของตัวอ่อนแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท คือ คุณภาพดีเยี่ยม (Excellent) คุณภาพดี (Good), คุณภาพพอใช้ (Fair) และคุณภาพเลว (Poor) (Ferraz et al., 2016) (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 10 การแบ่งคุณภาพของตัวอ่อน

คุณภาพตัวอ่อน	ลักษณะที่ปรากฏ
คุณภาพดีเยี่ยม (Excellent) 	ตัวอ่อนมีความสมบูรณ์ที่สุด เซลล์ตัวอ่อน มีรูปร่างกลม ขนาด สี และรูปร่างของเ ซลล์เหมือนกัน
คุณภาพดี (Good) 	ตัวอ่อนมีลักษณะผิดปกติบางส่วน เช่น เซลล์ตัวอ่อนบางเซลล์มีการเกิดถุงน้ำ (Vesicle) เล็กน้อย และรูปร่างของเซลล์ไม่เหมือนเซลล์อื่น
คุณภาพพอใช้ (Fair)	ตัวอ่อนที่มีคุณภาพปานกลาง มีความสมบูรณ์ไม่มาก มีเซลล์ของตัวอ่อนแยกออกมาจากกลุ่ม หรือ อาจมีการเกิดถุงน้ำ (Vesicle)
คุณภาพเลว (Poor) 	ตัวอ่อนมีลักษณะผิดปกติมาก มีการบิดเบี้ยวของโซนาเพลลูซิดาจนผิดรูป และมีสีสันที่เปลี่ยนแปลงไป พบการเกิดถุงน้ำ (Vesicle) ไปจนถึงเซลล์เกิดการฝ่อตัวค่อนข้างสูง

ที่มา : Ferraz et al. (2016); ชโลธร และคณะ (2556)

3.5 การศึกษาสภาพภูมิอากาศประจำเดือน

เก็บบันทึกข้อมูลอุณหภูมิสภาพภูมิอากาศตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง โดยบันทึกจากกรมอุตุนิยมวิทยา ปี 2561 ประกอบไปด้วยข้อมูลค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดในแต่ละเดือน (Monthly average maximum temperature) และค่าเฉลี่ยอุณหภูมิต่ำสุดในแต่ละเดือน (Monthly average minimum temperature) ข้อมูลที่จดบันทึกถูกนำมาเชื่อมด้วยกันโดยใช้โปรแกรม Microsoft Office Excel

3.6 การศึกษาค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI)

เก็บจดบันทึกค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI) โดยบันทึกจากกรมอุตุนิยมวิทยา ปี 2561 ประกอบ ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิชนิดตุ้มแห้งรายเดือน (Monthly average dry bulb temperature) ค่าเฉลี่ยความชื้นสัมพัทธ์รายเดือน (Monthly average relative humidity) นำข้อมูลวิเคราะห์ผลดังสมการของ (Legrand et al., 2011) ข้อมูลที่จดบันทึกถูกนำมาเชื่อมด้วยกันโดยใช้โปรแกรม Microsoft Office Excel ดังสมการ

$$THI = (1.8 \times T + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times T - 26)]$$

เมื่อ T = Dry bulb temperature (℃) อุณหภูมิชนิดตุ้มแห้ง (℃)

RH = Relative Humidity ความชื้นสัมพัทธ์

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance: ANOVA) โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized complete block design, RCBD) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลองโดยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) และวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิตของฟอลลิเคิล ใน 3 ฤดูกาล (หนาว, ร้อน และฝน) ข้อมูลจำแนกประเภทที่ใช้หลักการทดสอบไคสแควร์ (Chi - square) ในรูปแบบการทดสอบภาวะสารูปสนิทดี (Goodness of Fit test) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในโปรแกรม R (R Team, 2012)

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของฤดูกาลต่อการตอบสนองในโปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมนฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน

จากการศึกษาฤดูกาลต่อการตอบสนองในโปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมนฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนที่ระดับ 40 AU โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม การทดลองคือ กลุ่มการทดลองที่ 1 ในฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายน – เดือนกุมภาพันธ์) กลุ่มการทดลองที่ 2 ในฤดูร้อน (เดือนมีนาคม – เดือนมิถุนายน) และ กลุ่มการทดลองที่ 3 ในฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม – เดือนตุลาคม) ทำการทดลองกลุ่มละ 12 ตัว จำนวน 4 ซ้ำ/1 ฤดูกาล ผลจากการนับจำนวนคอร์ปัสลูเทียม (CL) หลังจากการเก็บตัวอ่อน ในวันที่ 7 ผลแสดงดังในตารางที่ 11 โดยพบว่าจำนวนคอร์ปัสลูเทียม ในกลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูฝน) และกลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูร้อน) มีค่าเฉลี่ยจำนวนคอร์ปัสลูเทียม มีค่าเท่ากับ 11.50 ± 3.73, 13.25 ± 5.50 และ 10.58 ± 4.03 ใบ ตามลำดับ โดยไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งใกล้เคียงกับการรายงานของเทวินทร์ และคณะ (2553) ที่ได้ทำการศึกษาการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ได้จำนวนคอร์ปัสลูเทียมเท่ากับ 11.30 ± 1.1 ใบ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ รุจิรา และคณะ (2563) ที่ทำการการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยเปรียบเทียบการฉีดฮอร์โมนเอฟเอชเอส 8 ครั้ง เช้าเย็นและเข้าช่องไขสันหลังเพียงเข็มเดียวในโคนมลูกผสมพันธุ์ไทยโฮลสไตน์ โดยมีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเท่ากับ 13.25 และ 10.50 ใบตามลำดับ และจากการรายงานของ Hiraizumi et al. (2015) ที่ทำการเปรียบเทียบการกระตุ้นการตกไข่โดยใช้ pFSH (Antorin R 10) ที่มีปริมาณต่างกันคือ ที่ระดับ 20 และ 30 AU พบว่า จำนวนคอร์ปัสลูเทียมไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดยมีค่าเฉลี่ยจำนวนคอร์ปัสลูเทียมต่อตัวเท่ากับ 17.2 และ 20.1 ใบ ตามลำดับ แสดงว่าการใช้ฮอร์โมน FSH ช่วยให้มีกระตุ้นการเจริญพัฒนาของฟอลลิเคิลได้มากขึ้น ทำให้ปัจจัยต่าง ๆ เช่น ตัวแม่โคและ คะแนนของสภาพของร่างกายสัตว์แต่ละตัว (Bo et al., 1994) ปัญหาเป็นถุงน้ำในรังไข่ สภาพแวดล้อม สภาพคะแนนร่างกายสัตว์ และความไม่สมบูรณ์ของระบบฮอร์โมนในร่างกาย (Gordon, 1994)

จากการศึกษาครั้งนี้พบค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้เฉลี่ยต่อตัว (n) ในกลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูฝน) และกลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูร้อน) มีค่าเท่ากับ 8.83 ± 4.80, 10.50 ± 5.11 และ 6.50 ± 4.01 ตัวอ่อน ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าโปรแกรมกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) สามารถกระตุ้นพัฒนาของฟอลลิเคิลและเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ได้ทุกฤดูกาล แตกต่างจากกับการรายงาน

ของ Hiraizumi et al. (2015) ที่รายงานว่า ระดับฮอร์โมน 20 และ 30 AU จำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้มีค่าเท่ากับ 16.90 และ 20.30 ตัวอ่อน ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้พบค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้เฉลี่ยต่อตัว (n) ในกลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูฝน) และกลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูร้อน) มีค่าเท่ากับ 6.75 ± 5.11, 6.00 ± 5.02 และ 3.27 ± 4.22 ตัวอ่อน ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งต่ำกว่าการรายงานของ Song et al. (2012) ที่รายงานว่า ฮอร์โมน 28 AU พบตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ มีค่าเท่ากับ 11.60 ± 7.90 ตัวอ่อน และ Hiraizumi et al. (2015) ที่รายงานว่า ระดับฮอร์โมน 20 และ 30 AU ที่มีค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ต่อตัวเท่ากับ 8.0 และ 9.5 ตัวอ่อน จากการศึกษาครั้งนี้พบจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม ในกลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูฝน) และกลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูร้อน) มีค่าเท่ากับ 72.78 ± 24.94, 80.76 ± 23.12 และ 59.98 ± 25.99 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) โดย ในการศึกษาครั้งนี้พบตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ต่อจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ ในกลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูฝน) มีค่าเท่ากับ 31.71 ± 32.07 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งต่ำกว่ากลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) และกลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูร้อน) มีค่าเท่ากับ 65.99 ± 35.30 และ60.32 ± 36.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (P>0.05) ซึ่งสอดคล้องจากการศึกษาของ Mikkola and Taponen (2017) ที่ศึกษาการใช้ฮอร์โมน Folltropin และ Pluset ซึ่งเป็นฮอร์โมน FSH เพื่อเพิ่มกระตุ้นการตกไข่และชะล้างเก็บตัวอ่อนระหว่างโคสาวและโคนางสายพันธุ์ลูกผสมโฮลส์ไตน์ - แองกัส พบว่าตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ในแม่โคสาวและโคนาง มีค่าเท่ากับ 6.90 และ 7.10 ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเปอร์เซ็นต์จำนวนตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม ในกลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) มีค่าเท่ากับ 51.59 ± 33.58 กลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูร้อน) มีค่าเท่ากับ 45.11 ± 30.60 และ กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูฝน) มีค่าเท่ากับ 23.33 ± 26.58 เปอร์เซ็นต์ และ จากการศึกษาครั้งนี้พบตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ถึงบลาสโตซิสต์ต่อจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ในกลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูฝน) และกลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูร้อน) มีค่าเท่ากับ 74.23 ± 37.49, 65.84 ± 38.61 และ 51.92 ± 39.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งสอดคล้องกับ ธนพร และคณะ (2563) ทำการศึกษาผลการกระตุ้นการตกไข่หลายใบโดยใช้ฮอร์โมน FSH เข้ากล้ามเนื้อชนิดแบ่งฉีดสองเข็มในโคนมลูกผสมพันธุ์ไทยโฮลสไตน์ผลพบว่า จำนวนฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่กว่า 8 mm มีค่าเท่ากับ 13.30 ± 1.80 และ 12.00 ± 2.00 ใบ ตามลำดับ จำนวนคอร์ปัสลูเทียม มีค่าเท่ากับ 10.70 ± 1.09 และ 10.00 ± 1.79 ใบ ตามลำดับ จำนวนฟอลลิเคิลที่ไม่ตกไข่มีค่าเท่ากับ 2.00 ± 0.51 และ 1.70 ± 0.61 ใบ ตามลำดับ ในด้านอัตราการตกไข่ มีค่าเท่ากับ 83.20 ± 4.95 และ 82.80 ± 8.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และการตอบสนองของรังไข่ มีค่าเท่ากับ 12.67 ± 0.62 และ 11.67 ± 1.63 ใบ ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้พบตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ในกลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) กลุ่ม

การทดลองที่ 2 (ฤดูฝน) และกลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูร้อน) มีค่าเท่ากับ 32.36 ± 32.25, 56.43 ± 34.28 และ 39.81 ± 3571 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Kubovicova et al. (2013) ที่ทำการศึกษาผลของคะแนนร่างกายและจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ต่อฤดูกาลในเขตหนาว โดยพบว่า การเก็บตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ในฤดูใบไม้ผลิ (มีนาคม - พฤษภาคม) มีค่าสูงที่สุด เมื่อเทียบกับฤดูร้อน (มิถุนายน – สิงหาคม) และใบไม้ร่วง (กันยายน - พฤศจิกายน) มีค่าเท่ากับ 69, 9 และ 35 ใบ ตามลำดับ ผลการศึกษาครั้งนี้พบตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ ในกลุ่มการทดลองที่1 (ฤดูหนาว) มีค่าเท่ากับ 41.86 ± 37.09 เปอร์เซ็นต์ กลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูร้อน) มีค่าเท่ากับ 9.40 ± 14.10 เปอร์เซ็นต์ และ กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูฝน) มีค่าเท่ากับ 12.10 ± 19.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งต่างจาก Kubovicova et al. (2013) ที่ทำการศึกษาผลของคะแนนร่างกายและจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ในฤดูกาล พบว่า การเก็บตัวอ่อนระยะ บลาสโตซิสต์ในฤดูใบไม้ผลิ (มีนาคม - พฤษภาคม) มีค่าสูงที่สุด เมื่อเทียบกับฤดูร้อน (มิถุนายน – สิงหาคม) และใบไม้ร่วง (กันยายน - พฤศจิกายน) มีค่าเท่ากับ 18, 10 และ 18 ตัวอ่อน ตามลำดับ และจากการรายงานของ Song et al. (2012) พบว่า จำนวนค่าเฉลี่ยรวมของไข่ที่เพิ่มสูงขึ้นของโคที่ผ่านการตั้งท้องจำนวน 3 - 5 ท้อง มีค่าเท่ากับ 14.30 ± 1.30 ใบ มีค่ามากกว่า โคที่ตั้งท้องจำนวน 1 - 2 ท้อง 8.90 ± 1.90 ใบ ที่ระดับนัยสำคัญ (P<0.05) จำนวนตัวอ่อนที่สมบูรณ์ในกลุ่มโคที่ตั้งท้องจำนวน 3 - 5 ท้อง มีค่าเท่ากับ 7.80 ± 0.80 ตัวอ่อน มีค่าแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ (P<0.05) มีค่าเท่ากับ 3.70 ± 1.50 ตัวอ่อน ผลของไข่และตัวอ่อนที่ปกติในฤดูร้อนมีค่าเท่ากับ 16.40 ± 2.30 ใบ, 8.10 ± 1.40 ตัวอ่อน ซึ่งมีค่ามากกว่า ฤดูใบไม้ร่วง 10.10 ± 1.80 ใบ, 4.50 ± 1.00 ตัวอ่อน และ ฤดูหนาว 6.30 ± 1.80 ใบ, 3.30 ± 1.10 ตัวอ่อน ตามลำดับที่ระดับนัยสำคัญ (P<0.05) และผลจำนวนการย้ายฝากตัวอ่อนในฤดูร้อนมีค่าเท่ากับ 7.60 ±.1.30 ตัวอ่อน ซึ่งมีค่ามากกว่าในฤดูหนาว 3.00 ± 1.00 ตัวอ่อน ที่ระดับนัยสำคัญ (P<0.05)

สุณีรัตน์ (2557) รายงานว่าการเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อนแบบฉับพลันของโคนมพบว่ามีระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดสูงขึ้นกว่าปกติ ซึ่งจะทำให้ระยะเวลาการฝ่อตัวของคอปัสลูเทียมเข้าสู่ภาวะปกติช้าออกไปจึงทำให้วงรอบการเป็นสัดยาวนานขึ้นมากกว่าปกติ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ วรางคณา และคณะ (2560) รายงานว่าอิทธิพลของค่าดัชนีความเครียดเนื่องจากความร้อนต่อผลการผสมเทียมของโคนมในภาคตะวันตกของประเทศไทย ค่าอุณหภูมิและความชื้นในอากาศที่เพิ่มสูงขึ้นจะส่งผลให้ค่า THI เพิ่มขึ้น นั่นคือ ถ้าค่า THI 55 โอกาสที่แม่โคจะผสมติด 0.7 แต่ถ้าค่า THI สูงถึง 85 แม่โคจะมีโอกาสผสมติดเพียง 0.2 จึงส่งผลให้ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ลดต่ำลงตามมา สอดคล้องกับรายงานของ Abdulkadir et al. (2016) ปัจจัยด้านสายพันธุ์มีผลกระทบมาจากความเครียดเนื่องจากความร้อน สภาพภูมิอากาศ และฤดูกาล มีผลต่ำจำนวนและขนาดของฟอลลิเคิล และจากการรายงานของ Sugano and Shinogi (1999) พบว่าการฉีด

กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฮอร์โมน FSH ทำให้ฟอลลิเคิลมีขนาดใหญ่ขึ้น เนื่องจาก FSH เข้าไปกระตุ้นการพัฒนาของฟอลลิเคิลทำให้มีการสร้างตัวรับเอสโตรเจนในรังไข่เพิ่มขึ้น เมื่อฮอร์โมนผลิตเอสโตรเจนเข้าสู่ช่องแอนทรัมมากขึ้น ส่งผลให้ฟอลลิเคิลมีขนาดใหญ่ อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้ฮอร์โมนหลายตัวร่วมกันเพื่อเลียนแบบฮอร์โมนในวงรอบปกติและการเสริมฮอร์โมนบางตัวเพื่อควบคุมการทำงานของระบบสืบพันธุ์ พบว่าให้ผลการตอบสนองต่อรังไข่ในการพัฒนาของฟอลลิเคิลที่สูงขึ้น มีการแสดงการเป็นสัดที่ชัดเจนขึ้นมีผลให้มีอัตราการผสมติดมากขึ้น และเนื่องจากปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความสำเร็จในการทำการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ได้แก่ปัจจัยภายนอก ความชำนาญและประสิทธิภาพของทีมมีผลในการชะล้างเก็บตัวอ่อน แต่อย่างไรก็ตามดูเหมือนว่าฤดูกาลจะไม่มีผลต่อคุณภาพของตัวอ่อนที่ได้ โดยตัวอ่อนมีอัตราการพัฒนาไปจนถึงระยะแบ่งตัวจนถึงระยะบลาสโตซีสต์สูงกว่าฤดูร้อน (Pieterse et al., 1991; Takuma et al., 2010) โดยแม่โคแต่ละตัวมีความผันแปรต่อการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ออร์โมน FSH แตกต่างกัน ทำให้การเก็บตัวอ่อนแต่ละครั้งได้ผลไม่เท่ากัน ที่สามารถตรวจสอบการตอบสนองต่อฮอร์โมนต่อจำนวนไข่ตกจากจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้และจำนวนตัวอ่อนที่ชะล้างได้ อาจมีโคบางตัวที่ไม่ตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ และไม่แสดงอาการเป็นสัดให้เห็นโดยพบว่าปริมาณของฮอร์โมนเอสโตรเจนในพลาสมาที่มีในช่วงมีฟอลลิเคิลมีความสัมพันธ์กับตัวอ่อนที่เก็บได้จากการชะล้างตัวอ่อน จึงสามารถทำนายได้ว่ามีการตกไข่มากหรือน้อย(Bo et al., 1991) นอกจากนี้มีข้อจำกัดหลายอย่างที่เป็นสาเหตุทำให้การเก็บตัวอ่อนไม่ได้ตามเป้าหมาย เช่น แม่โคอาจเกิดปัญหาเป็นถุงน้ำในรังไข่ สภาพแวดล้อมอากาศไม่อำนวย สภาพคะแนนร่างกายสัตว์ เปอร์เซ็นต์การผสมติดของอสุจิกับรังไข่ และความไม่สมบูรณ์ของระบบฮอร์โมนในร่างกาย (Gordon, 1994) อย่างไรก็ตามความเครียดอาจส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ทำให้โคเปลี่ยนแปลงการทำงานของร่างกาย เพื่อต่อต้านและปรับตัวให้เข้ากับสภาพอากาศและอุณหภูมิที่ร้อนชื้น เช่น การสร้างเหงื่อ และ การหายใจเร็วขึ้น (Thatcher, 1974)

ตารางที่ 11 ค่าเฉลี่ย (± SD) ผลการศึกษาฤดูกาลที่มีผลการตอบสนองของรังไข่โดยใช้โปรแกรม FSH (Antorin R10 AL) กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน ในปี 2561

พารามิเตอร์ (Parameter)	ฤดูกาล			P-value	CV
	หนาว*	ร้อน*	ฝน*		
จำนวนแม่โค (ตัว)	12	12	12		
จำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยต่อตัว (n)	11.50 ± 3.73	13.25 ± 5.50	10.58 ± 4.03	0.13	13.32
ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้เฉลี่ยต่อตัว (n)	8.83 ± 4.80	10.50 ± 5.11	6.50 ± 4.01	0.96	17.13
ค่าเฉลี่ยจำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้เฉลี่ยต่อตัว (n)	6.75 ± 5.11	6.00 ± 5.02	3.27 ± 4.22	0.21	19.89
จำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้/จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	72.78 ± 24.94	80.76 ± 23.12	59.98 ± 25.99	0.15	30.52
จำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้/จำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้	65.99 ± 35.30^{a}	60.32 ± 36.46^{a}	31.71 ± 32.07^{b}	0.01	39.92
จำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้/จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	51.59 ± 33.58^{a}	45.11 ± 30.60^{ab}	23.33 ± 26.58^{b}	0.03	42.76
ตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์-บลาสโตซิสต์/จำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้	74.23 ± 37.49	65.84 ± 38.61	51.92 ± 39.26	0.24	39.85
ตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์	32.36 ± 32.25	56.43 ± 34.28	39.81 ± 3571	0.17	47.63
ตัวอ่อนบลาสโตซิสต์	41.86 ± 37.09^{a}	9.40 ± 14.10^{b}	12.10 ± 19.13^{b}	0.01	52.56

หมายเหตุ $^{a,b.}$ค่าเฉลี่ยในแนวนอนเดียวกันมีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

*ฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายน – เดือนกุมภาพันธ์), ฤดูร้อน (เดือนมีนาคม – เดือนมิถุนายน) และฤดูฝน (เดือนกรกฎาคม – เดือนตุลาคม)

จากการนำอัตราการรอดชีวิตของฟอลลิเคิล ใน 3 ฤดูกาล (หนาว, ร้อน และฝน) วิเคราะห์ข้อมูลจำแนกประเภทที่ใช้หลักการทดสอบไคสแควร์ (Chi - square) ในรูปแบบการทดสอบภาวะสารูปสนิทดี (Goodness of Fit test) ในปี พ.ศ. 2561 พบจำนวนคอร์ปัสลูเทียม, จำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม และตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ ถึงระยะบลาสโตซิสต์ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) มีค่าเท่ากับ 0.855, 0.213 และ 0.137 ตามลำดับ ซึ่งหมายความได้ว่า สัดส่วนของอัตราการรอดชีวิตของฟอลลิเคิลใน 3 ฤดูกาล (หนาว, ร้อน และฝน) มีค่าไม่สัมพันธ์กัน และ จากการศึกษาครั้งนี้พบตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ต่อจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้, ตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม,ตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ และ ตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) มีค่าเท่ากับ 0.001, 0.004, 0.028 และ 0.000 ตามลำดับ ซึ่งหมายความได้ว่า สัดส่วนของอัตราการรอดชีวิตของฟอลลิเคิลใน 3 ฤดูกาล (หนาว, ร้อน และฝน) มีค่าสัมพันธ์กัน ดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการทดลองอัตราการรอดชีวิตของฟอลลิเคิล ใน 3 ฤดูกาล (หนาว, ร้อน และฝน)

รายการ	ฤดูกาล			X^2 -test	P-Value
	หนาว	ร้อน	ฝน		
จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	11.50	13.25	10.58	0.31	0.855
จำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้/จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	72.78	80.76	59.98	3.08	0.213
ตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้/จำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้	65.99	60.32	31.71	12.82	0.001
ตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้/จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	51.59	45.11	23.33	10.95	0.004
ตัวอ่อนระยะมอลลูล่าร์ ถึง ระยะบลาสโตซิสต์	74.23	65.84	51.92	3.96	0.137
ตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์	32.36	56.43	39.81	7.08	0.028
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์	41.86	9.04	12.10	30.73	0.000

การศึกษาสภาพภูมิอากาศประจำเดือน

จากการเก็บบันทึกข้อมูลอุณหภูมิสภาพภูมิอากาศตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง โดยบันทึกจากกรมอุตุนิยมวิทยา ปี 2561 ประกอบไปด้วยข้อมูลค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดในแต่ละเดือน (Monthly average maximum temperature) และค่าเฉลี่ยอุณหภูมิต่ำสุดในแต่ละเดือน (Monthly average minimum temperature) ข้อมูลที่จดบันทึกถูกนำมาเชื่อมด้วยกันโดยใช้โปรแกรม Microsoft Office Excel ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุด (°C) , ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิต่ำสุด (°C) ตั้งแต่เดือน มกราคม – ธันวาคม ปี พ.ศ. 2561

เดือน	ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุด (°C)	ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิต่ำสุด (°C)
มกราคม	29.9	19.1
กุมภาพันธ์	30.4	19.0
มีนาคม	32.6	21.2
เมษายน	32.5	22.2
พฤษภาคม	32.1	22.7
มิถุนายน	31.3	24.2
กรกฎาคม	30.2	24.4
สิงหาคม	29.8	23.5
กันยายน	30.6	22.5
ตุลาคม	31.3	22.3
พฤศจิกายน	30.8	20.9
ธันวาคม	30.3	20.2

ที่มา: กรมอุตุนิยมวิทยา (2562)

ซึ่งจากการจดบันทึกข้อมูลค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดและนำข้อมูลมาวิเคราะห์เป็นฤดูกาล พบว่า กลุ่มการทดลอที่ 1 (ฤดูหนาว) มีค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดอยู่ที่ 30.3 (°C) กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูร้อน) มีค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดอยู่ที่ 32.1 (°C) และ กลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูฝน) มีค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดอยู่ที่ 30.4 (°C) และ จากการจดบันทึกข้อมูลค่าเฉลี่ยต่ำสุด (°C) พบว่า กลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) มีค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดอยู่ที่ 19.8 (°C) กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูร้อน) มีค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดอยู่ที่ 22.5 (°C) และ กลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูฝน) มีค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุดอยู่ที่ 23.1 (°C) ดังตารางที่ 14 ทั้งนี้จากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมที่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลต่อการจำกัดการระบายความร้อนในร่างกายของโค คือ การแผ่รังสีรังความร้อน การพาความร้อน ละการนำความร้อน ทำให้โคพยายามสร้างกลไกต่าง ๆ เช่น การสร้างเหงื่อ การหายใจเร็วขึ้น การหลั่งฮอร์โมนผิดปกติ โดยส่งผลทำให้แม่โคมีความอยากกินอาหารลดลง และทำให้โคได้รับอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย จนส่งผลต่อคุณภาพการผลิตน้ำนมและคุณภาพตัวอ่อนลดลง (Brody, 1945; Esmay, 1977) ผลจากการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการสืบพันธุ์ในโคนมของ Thatcher (1974) รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ และฤดูกาลมีผลต่ออัตราการผสมติด ซึ่งสอดคล้องกับ Stott and Willams (1962) พบว่าสาเหตุของประสิทธิภาพการสืบพันธุ์สามารถลดต่ำลงได้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ และจากการศึกษาอิทธิพลของฤดูกาลที่มีผลต่ออัตราการผสมติดของ Ray et al. (1992) พบว่า แม่โคที่คลอดลูกในช่วงฤดูใบไม้ผลิ และฤดูร้อนมีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ เนื่องจากในช่วงฤดูร้อนอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้แม่โคเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน (Heat stress) โดยส่งผลกระทบต่อ การตกไข่และการฝังตัวของตัวอ่อน เนื่องจากเป็นช่วงที่อากาศร้อนและโคกินอาหารได้ลดลง ทำให้ได้รับสารอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย (Hall et al., 1959)

ตารางที่ 14 ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุด (°C) , ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิต่ำสุด (°C) ในฤดูร้อน ฤดูหนาว และ ฤดูฝน ปี พ.ศ. 2561

ฤดูกาล	ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิสูงสุด (°C)	ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิต่ำสุด (°C)
หนาว	30.3	19.8
ร้อน	32.1	22.5
ฝน	30.4	23.1

ที่มา: กรมอุตุนิยมวิทยา (2562)

ผลการศึกษาค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI)

จากการเก็บจดบันทึกค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI) โดยบันทึกจากกรมอุตุนิยมวิทยา ปี 2561 ประกอบ ค่าเฉลี่ยอุณหภูมิชนิดตุ้มแห้งรายเดือน (Monthly average dry bulb temperature) ค่าเฉลี่ยความชื้นสัมพัทธ์รายเดือน (Monthly average relative humidity) นำข้อมูลวิเคราะห์ผลดังสมการของ (Legrand et al., 2011) ข้อมูลที่จดบันทึกถูกนำมาเชื่อมด้วยกันโดยใช้โปรแกรม Microsoft Office Excell ดังสมการ

$$THI = (1.8 \times T + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times T - 26)]$$

เมื่อ T = Dry bulb temperature (°C) อุณหภูมิชนิดตุ้มแห้ง (°C)

RH = Relative Humidity ความชื้นสัมพัทธ์

พบว่าสภาพแวดล้อมจากการเก็บข้อมูลค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI) ตลอดระยะเวลาในการทำการทดลอง (ปี พ.ศ.2561) ข้อมูลที่จดบันทึกถูกนำมาเชื่อมด้วยกันโดยใช้โปรแกรม Microsoft Office Excell ดังตารางที่ 15 และเมื่อนำข้อมูลมาจำแนกและวิเคราะห์เป็น พบว่าค่า THI กลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) มีค่าเท่ากับ 73.18 กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูร้อน) มีค่าเท่ากับ 76 .97 และ กลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูฝน) มีค่าเท่ากับ 76.25 ดังตารางที่16 Wiersma (1990) กล่าวว่า ถ้าค่า THI น้อยกว่า 72 หมายถึง โคไม่เครียด ไม่มีผลต่อปริมาณการกินอาหาร, THI 72 – 78 หมายถึง โคเครียดเล็กน้อย, THI มากกว่า 78 โคเครียดปานกลาง และ หากค่า THI มากกว่า 89 โคเครียดมาก ซึ่งจากผลการเก็บรวบรวมข้อมูลจึงพบได้ว่าขณะทำการทดลองแม่โคอาจตกอยู่ในสภาพเครียดเล็กน้อย (Mild stress) จนถึง เครียดปานกลาง ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Armstrong (1994) กล่าวว่า ถ้าสภาพแวดล้อมมีค่า THI ระหว่าง 72 – 78 โคอาจตกอยู่ในสภาพเครียดเล็กน้อย (Mild stress) THI ระหว่าง 79 – 89 โคเครียดปานกลาง (Moderate) THI ระหว่าง 89 – 99 โคจะอยู่ในสภาวะเครียดจัด (Severe stress) และถ้ามากกว่า 99 โคจะตายเนื่องจากความเครียดเนื่องจากความร้อน

ทั้งนี้เนื่องจากอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ เป็นปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ ระบบการผลิตน้ำนม และระบบฮอร์โมนต่าง ๆ ของร่างกาย โดยไปส่งผลกระทบต่อการแสดงอาการไม่เป็นสัด การพัฒนาของฟอลลิเคิล การตกไข่ การตายของตัวอ่อน และการหลั่งฮอร์โมน (Wise et al., 1988; Ray et al., 1992; Younas et al., 1993; Wolfenson et

al., 2000; Barash et al., 2001) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ กัลยา และคณะ (2540) ที่รายงานว่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์มีความสัมพันธ์แบบผกผันกับอัตราการผสมติด

จากค่าดัชนีความชื้นสัมพัทธ์ที่วิเคราะห์ในรูปแบบของฤดูกาล สามารถให้คำตอบได้ว่าการเปลี่ยนแปลงค่าความชื้นสัมพัทธ์เป็นสาเหตุและปัจจัยประการหนึ่งที่ส่งผลกับการเจริญพัฒนาฟอลลิเคิลของรังไข่ และความเครียดจากความร้อนส่งผลเสียต่อการสืบพันธุ์ของโคนม และกระบือ (Dash et al., 2016) วุฒิไกร และคณะ (2553) พบข้อมูลการเกิดภาวะความเครียดของโคนมลูกผสมไทยโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน เมื่อมีค่า THI เท่ากับ 75 ซึ่งส่งผลให้ความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมลดต่ำลง นอกจากนี้มีการรายงานว่าสภาวะความเครียดจากความร้อนส่งผลต่อคุณภาพของรังไข่ มีจำนวนไข่ลดลง ทำให้การเจริญพัฒนาของฟอลลิเคิล รวมถึงการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนลดลง ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอัตราการผสมติดต่ำ (De Rensis and Scaramuzzi, 2003; Schüller et al., 2014; Wolfenson et al., 2000) การที่แม่โคเกิดความเครียดเนื่องความร้อน ในช่วง 3 สัปดาห์ ก่อนได้รับการผสมพันธุ์และหลังวันที่ทำการผสมเทียม ภาวะความเครียดเนื่องจากความร้อน มีส่งผลต่อการเจริญพัฒนาของตัวอ่อนจนถึงการตายของตัวอ่อนในระยะเริ่มต้นของการตั้งท้อง (Schüller et al., 2014) และเมื่อแม่โคมีความเครียด ทำให้การกินอาหารลดลง และส่งผลต่อการผลิตน้ำนม รวมถึงองค์ประกอบในน้ำนม และยังส่งผลทำให้ ความสามารถในการสืบพันธุ์ลดลง โดยไปมีผลกระทบต่อการแสดงอาการเป็นสัด การหลั่งฮอร์โมน การพัฒนา ฟอลลิเคิลและการตกไข่ รวมถึงการตายของตัวอ่อน (Mellado et al., 2013) ซึ่งสอดคล้องกับ ธนู และวิทยา (2545) ทำการศึกษาปัจจัยแวดล้อมการผลิตที่มีผลต่ออัตราการตั้งท้องระดับฝูงในฟาร์มโคนมไทย พบว่าในช่วงฤดูฝนมีอัตราการผสมติดต่ำที่สุด และพบว่าช่วงฤดูหนาวมีอัตราการผสมติดสูงที่สุด สอดคล้องกันกับ ปราจีน (2544) ที่ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิและความชื้นต่อการสูญเสียตัวอ่อนในระยะต้นในโคนมในภาคกลางของประเทศไทยที่พบว่า ช่วงเดือนพฤศจิกายนและธันวาคม (ซึ่งอยู่ในฤดูหนาวของประเทศไทย) แม่โคที่ได้รับการผสมพันธุ์จะมีอัตราการผสมติดดีที่สุด

และนอกจากนี้ยังสามารถสรุปได้ว่า สภาพอากาศที่มีความชื้นในอากาศที่ค่อนข้างสูง เมื่อร่วมกับอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้น จะส่งผลทำให้โคตกอยู่ในสภาวะไม่สบายตัว หรืออยากตกอยู่ในสภาวะเกิดความเครียด ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อระบบสืบพันธุ์ มักแสดงผลในรูปแบบการเป็นสัดน้อยลง หรือ เป็นสัดในระยะเวลาสั้น ๆ การหลั่งฮอร์โมนแอลเอชลดลง รวมไปถึงทำให้เกิดการพัฒนาฟอลลิเคิล และไข่ที่ตกไม่สมบูรณ์ เมื่อสภาพแวดล้อมภายในโพรงมดลูกเปลี่ยนไป ส่งผลให้เกิดการตายของตัวอ่อน (Gwazdauskas et al., 1975; Wise et al., 1988; Badinga et al., 1993; Younas et al., 1993; Al Katanami et al., 2002; De Rensis and Scaramuzzi 2003)

ตารางที่ 15 ดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI) ตลอดปี พ.ศ. 2561

เดือน	ดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI)
มกราคม	72.51
กุมภาพันธ์	72.41
มีนาคม	76.11
เมษายน	76.67
พฤษภาคม	77.34
มิถุนายน	77.77
กรกฎาคม	77.33
สิงหาคม	76.44
กันยายน	76.64
ตุลาคม	76.48
พฤศจิกายน	74.43
ธันวาคม	73.36

ที่มา: กรมอุตุนิยมวิทยา (2562)

ตารางที่ 16 ดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI) ในกลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) กลุ่มการทดลองที่ 2 (ฤดูร้อน) และ กลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูฝน) ปี พ.ศ. 2561

ฤดูกาล	ดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI)
หนาว	73.18
ร้อน	76.97
ฝน	76.25

ที่มา: กรมอุตุนิยมวิทยา (2562)

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

ผลของฤดูกาลต่อการตอบสนองในโปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่โดยใช้ฮอร์โมนฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน พบว่าเมื่อเปรียบเทียบผลการตอบสนองของต่อฤดูกาล พบว่า ค่าเฉลี่ยจำนวนคอร์ปัสลูเทียม, ตัวอ่อนที่เก็บได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม, ตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ถึงระยะบลาสโตซิสต์ และตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05), ส่วนเปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ต่อตัวอ่อนที่เก็บได้ และเปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

จากการศึกษาการตอบสนองโปรแกรมกระตุ้นการตกไข่ ใน 3 ฤดูกาล (หนาว, ร้อน และฝน) โดยวิเคราะห์ข้อมูลจำแนกประเภทที่ใช้หลักการทดสอบไคสแควร์ (Chi - square) ในรูปแบบการทดสอบภาวะสารูปสนิทดี (Goodness of Fit test) พบจำนวนคอร์ปัสลูเทียม, จำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม และตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ ถึงระยะบลาสโตซิสต์ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และ จากการศึกษาครั้งนี้พบตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ต่อจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้, ตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม,ตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ และ ตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) โดยตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ต่อจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้, ตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม,ตัวอ่อนระยะมอร์รูล่าร์ และ ตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ ใน 3 ฤดู (หนาว, ร้อน และฝน) มีค่าสัมพันธ์กัน และ พบว่าในกลุ่มการทดลองที่ 3 (ฤดูฝน) มีอัตราการตอบสนองต่อการใช้ฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองที่ 1 (ฤดูหนาว) และ 2 (ฤดูร้อน)

ผลการศึกษาค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature humidity index; THI) พบว่าขณะทำการศึกษา แม่โคตกอยู่ในสภาวะเครียดเล็กน้อย (Mild stress) จนถึง เครียดปานกลาง จึงสรุปได้ว่าเนื่องจากแต่ละปีมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ฤดูกาล และความชื้นสัมพัทธ์ที่แตกต่างกัน อาจส่งผลต่อความเครียดจากความร้อนที่ระดับต่างกันที่อาจส่งผลต่อการตอบสนองต่อโปรแกรมฮอร์โมนที่กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ที่แตกต่างกันได้ในแต่ละปีทำให้มีผล ต่อการตอบสนองของระบบสืบพันธุ์ เช่น อัตราการปฏิสนธิ อัตราการรอดชีวิตและอัตราการตั้งท้อง

แนวทางในการประยุกต์ใช้ประโยชน์

1. จากการใช้ฮอร์โมน FSH ในการฉีดกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ควรคำนึงถึงปริมาณฮอร์โมนที่ใช้ฉีด และความเหมาะสมในด้านอื่น ๆ เช่น ต้นทุน ความคุ้มทุน ประสิทธิภาพในการผลิตตัวอ่อน เนื่องจากราคาของฮอร์โมน FSH ที่ใช้กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาที่สูง

2. จากปฏิบัติงานวิจัยที่มีการปฏิบัติกับตัวสัตว์เป็นระยะเวลานาน ๆ ผู้ทำการวิจัยควรปฏิบัติในขณะที่สัตว์ไม่ตกอยู่ในสภาวะความเครียด หรือไม่กระทำในช่วงที่อากาศร้อนหรือสภาพอากาศเปลี่ยนแปลงมาก ๆ เนื่องจากจะทำให้ผลการตอบสนองที่ต่ำได้

3. จากปฏิบัติงานวิจัยที่มีการปฏิบัติกับตัวสัตว์ ผู้ทำการวิจัยควรมีประสบการณ์ในด้านเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนเนื่องจาก การชะล้างตัวอ่อนเป็นการปฏิบัติงานที่ค่อนข้างยาก ต้องอาศัยความชำนาญในการปฏิบัติงาน

มหาวิทยาลัยศิลปากร

รายการอ้างอิง

ภาษาอังกฤษ

Abdulkadir, K., M. Gulnaz, B. Ebru, G. Baris, O. Abdulkadir, O. Hayrettin, and Ahmet, G. (2016). The effect of ovulatory follicle size at the time of insemination on pregnancy rate in lactating dairy cows. Turkish Journal Veterinary Animal Science., 40(68-74).

Adams, G. P., Jaiswal, R., Singh, J., and, Malhi, P. (2008). Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle. Theriogenology, 69(1), 72-80.

Aiumlamai, S. (2010). Cattle production and the importance of reproductive efficiency. Khon Kean: Khonkaenprint Ltd.

Allen, W. R., and Sandra, S. (2020). Historical Aspects of Equine Embryo Transfer. Journal of Equine Veterinary Science, 89, 102987.

Amporn, C. (2008). Effects of follicle stimulating hormone levels on ovulatory response and embryos quality in Thai native cattle. Paper presented at the Animal Science conference, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand. (abstr.).

Armstrong, D. V. (1994). Heat Stress Interaction with Shade and Cooling. Journal of Dairy Science, 77(7), 2044-2050.

Badinga, L., Thatcher, W. W., Diaz, T., Drost, M., and Wolfenson, D. (1993). Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. Theriogenology, 39(4), 797-810.

Barati, F., Niasari-Naslaji, A., Bolourchi, M., Sarhaddi, F., Razavi, K., Naghzali, E., and Thatcher, W. W. (2006). Superovulatory response of Sistani cattle to three different doses of FSH during winter and summer. Theriogenology, 66(5), 1149-1155.

Bo, G. A., Baruselli, P. S., Moreno, D., Cutaia, L., Caccia, M., Tríbulo, R., and Mapletoft, R. J. (2002). The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. Theriogenology, 57(1), 53-72.

Bo, G. A., Hockley, D. K., Nasser, L. F., and Mapletoft, R. J. (1994). Superovulatory response to a single subcutaneous injection of Folltropin-V in beef cattle. Theriogenology, 42(6), 963-975.

Bo, G. A., Pierson, R. A., and Mapletoft, R. J. (1991). The effect of estradiol valerate on follicular dynamics and superovulatory response in cows with Syncro-Mate-B implants. Theriogenology, 36(2), 169-183.

Boonkum, W., Misztal, I., Duangjinda, M., Pattarajinda, V., Tumwasorn, S., and Sanpote, J. (2011). Genetic effects of heat stress on milk yield of Thai Holstein crossbreds. Journal of Dairy Science, 94(1), 487-492.

Brody, S. (1945). Bioenergetics and Growth.

Brown, J. L. (2018). Comparative ovarian function and reproductive monitoring of endangered mammals. Theriogenology, 109, 2-13. doi:https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.004

Chankitisakul, V., Pitchayapipatkul, J., Chuawongboon, P., Rakwongrit, D., Sakhong, D., Boonkum, W., and Vongpralub, T. (2017). Comparison of three superovulation protocols with or without GnRH treatment at the time of artificial insemination on ovarian response and embryo quality in Thai native heifers. Retrieved from https://link.springer.com/article/10.1007/s11250-017-1243-6

Chaubal, S. A., Molina, J. A., Ohlrichs, C. L., Ferre, L. B., Faber, D. C., Bols, P. E., and Yang, X. (2006). Comparison of different transvaginal ovum pick-up protocols to optimise oocyte retrieval and embryo production over a 10-week period in cows. Theriogenology, 65(8), 1631-1648.

Dash, S., Chakravarty, A. K., Singh, A., Upadhyay, A., Singh, M., and Yousuf, S. (2016). Effect of heat stress on reproductive performances of dairy cattle and buffaloes: A review. Veterinary world, 9(3), 235-244.

De Rensis, F., and Scaramuzzi, R. J. (2003). Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. Theriogenology, 60(6), 1139-1151.

De Roover, R., Genicot, G., Leonard, S., Bols, P., and Dessy, F. (2005). Ovum pick up and in vitro embryo production in cows superstimulated with an individually adapted superstimulation protocol. Anim Reprod Sci, 86(1-2), 13-25.

Deb, R., Singh, U., Kumar, S., Kumar, A., Singh, R., Sengar, G., and Sharma, A. (2014). Genotypic to expression profiling of bovine calcium channel, voltage-dependent, alpha-2/delta subunit 1 gene, and their association with bovine mastitis among Frieswal (HFX Sahiwal) crossbred cattle of Indian origin. Anim Biotechnol, 25(2), 128-138.

Dematawewa, C. M., and Berger, P. J. (1998). Break-even cost of cloning in genetic improvement of dairy cattle. J Dairy Sci, 81(4), 1136-1147.

Domínguez, M. M. (1995). Effects of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows. Theriogenology, 43(8), 1405-1418.

Esmay, M. L. (1977). Principles of animal environment.

Ferraz, P. A., Burnley, C., Karanja, J., Viera-Neto, A., Santos, J. E., Chebel, R. C., and Galvão, K. N. (2016). Factors affecting the success of a large embryo transfer program in Holstein cattle in a commercial herd in the southeast region of the United States. Theriogenology, 86(7), 1834-1841.

Forde, N., Beltman, M. E., Lonergan, P., Diskin, M., Roche, J. F., and Crowe, M. A. (2011). Oestrous cycles in Bos taurus cattle. Animal Reproduction Science, 124(3), 163-169.

Fortune, J. E., Rivera, G., Evans, A., and Turzillo, A. (2001). Differentiation of Dominant Versus Subordinate Follicles in Cattle. Biology of reproduction, 65, 648-654.

Fufa, N., Abera, D., and Kabeta., T. (2016). Review on Bovine Embryo Transfer European ournal of Biological Sciences, 8(79-84.).

Georges, A., Auguste, A., Bessière, L., Vanet, A., Todeschini, A., and Veitia, R. J. J. o. m. e. (2014). FOXL2: a central transcription factor of the ovary. 52 1, R17-33.

Gordon, I. (1994). storage and cryopreservation of oocytes and embryo , In: Laboratory production of cattle embryos. Biotechnology in Agriculture., No. 11. CAB Internationnal. UK. p. 293-382.

Hall, J. G., Branton, C., and Stone, E. J. (1959). Estrus, Estrous Cycles, Ovulation Time, Time of Service, and Fertility of Dairy Cattle in Louisiana1. Journal of Dairy Science, 42(6), 1086-1094. doi:https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(59)90693-9

Hamilton, S. A., Garverick, H. A., Keisler, D. H., Xu, Z. Z., Loos, K., Youngquist, R. S., and Salfen, B. E. (1995). Characterization of ovarian follicular cysts and associated endocrine profiles in dairy cows. Biol Reprod, 53(4), 890-898.

Hansen, M., Lund, M. S., Pedersen, J., and Christensen, L. G. (2004). Gestation length in Danish Holsteins has weak genetic associations with stillbirth, calving difficulty, and calf size. Livestock Production Science, 91(1), 23-33.

Hasler, J. F. (2001). Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. Theriogenology, 56(9), 1401-1415.

Hasler, J. F. (2010). Bovine embryo transfer : Are efficiencies improving Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle.

Hiraizumi, S., Nishinomiya, H., Oikawa, T., Sakagami, N., Sano, F., Nishino, O., . . . Hashiyada, Y. (2015). Superovulatory response in Japanese Black cows receiving a single subcutaneous porcine follicle-stimulating hormone treatment or six intramuscular treatments over three days. Theriogenology, 83(4), 466-473.

Hirayama, H., Moriyasu, S., Kageyama, S., Sawai, K., Takahashi, H., Geshi, M., . . . Minamihashi, A. (2014). Enhancement of maternal recognition of pregnancy with parthenogenetic embryos in bovine embryo transfer. Theriogenology, 81(8), 1108-1115.

Hockley, D. K., Bo, G. A., Palaz, A. T., DEL Campo, M. R., and Mapletoft, R. J. (1992). Superovulation with a single subcutaneous injection of Folltropin in the cow : Effect of dose and site of injection. Theriogenology, 37, 224. (Abstr.).

Houghton, P. L., Lemenager, R. P., Moss, G. E., and Hendrix, K. S. (1990). Prediction of Postpartum Beef Cow Body Composition Using Weight to Height Ratio and Visual Body Condition Score. Journal of Animal Science, 68(5), 1428-1437.

Kaewlamun, W., R. , Chayaratanasin, P., Virakul, A. A., Ponter, P., Humblot, S., Suadsong, P., and Techakumphu., M. (2011). Differences of periods of calving on days open of dairy cows in different regions and months of Thailand. Thai Journal of Veterinary Medicine, 41: 315-320.

Kafi, M., and McGowan, M. R. (1997). Factors associated with variation in the superovulatory response of cattle. Animal Reproduction Science, 48(2), 137-157.

Kanazawa, T., Seki, M., Ishiyama, K., Kubo, T., Kaneda, Y., Sakaguchi, M., . . . Takahashi, T. (2016). Pregnancy prediction on the day of embryo transfer (Day 7) and Day 14 by measuring luteal blood flow in dairy cows. Theriogenology, 86(6), 1436-1444.

Kubovicova, E., A. Makarevic, L. Stadnik, Holasek, R., and Hegedusova., Z. (2013). Effect of body condition and season on the yield and quality of cattle embryos. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Scienes, 1426-1435.

Larson, J. E., Lamb, G. C., Funnell, B. J., Bird, S., Martins, A., and Rodgers, J. C. (2010). Embryo production in superovulated Angus cows inseminated four times with sexed-sorted or conventional, frozen-thawed semen. Theriogenology, 73(5), 698-703.

Legrand, A., Schütz, K. E., and Tucker, C. B. (2011). Using water to cool cattle: Behavioral and physiological changes associated with voluntary use of cow showers. Journal of Dairy Science, 94(7), 3376-3386.

Lerner, S. P., Thayne, W. V., Baker, R. D., Henschen, T., Meredith, S., Inskeep, E. K., . . . Butcher, R. L. (1986). Age, dose of FSH and other factors affecting superovulation in Holstein cows. J Anim Sci, 63(1), 176-183.

Lindner, G. M., and Wright, R. W., Jr. (1983). Bovine embryo morphology and evaluation. Theriogenology, 20(4), 407-416.

Lucy, M. C. R. L. i. H.-P. D. C. W. W. I. E. J. o. D. S., 84(6), 1277-1293. . (2001). Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End? Journal of Dairy Science, 84(6), 1277-1293.

Mallory, D. A., Nash, J. M., Ellersieck, M. R., Smith, M. F., and Patterson, D. J. (2011). Comparison of long-term progestin-based protocols to synchronize estrus before fixed-time artificial insemination in beef heifers. J Anim Sci, 89(5), 1358-1365.

Mapletoft, R. J., and Bo, G. A. (2014). Superovulation in cattle.

McDougall, S., Heuer, C., Morton, J., and Brownlie, T. (2014). Use of herd management programmes to improve the reproductive performance of dairy cattle. Animal, 8, 199-210.

Mellado, M., E. Sepulveda, C.M. Herrera, F.G. Veliz, J.R. Arevalo, J. Mellado, and De., S. A. (2013). Effects of heat stress on reproductive efficiency of high yielding Holstein cows in a hot-arid environment. Rev. Colomb. Cienc. Pecu. , 26(193-200).

Mikkola, M., and Taponen, J. (2017). Embryo yield in dairy cattle after superovulation with Folltropin or Pluset. Theriogenology, 88, 84-88.

Mishra, U. K., Mishra, O. P., and Khan, J. R. (1996). Estrus synchronization superovulation and non- surgical embryo transfer in Sahiwal cow (Bos indicus). Indian J.Anim.Sci., 66, 1271- 1273.

Mitlöhner, F. M., Galyean, M. L., and McGlone, J. J. (2002). Shade effects on performance, carcass traits, physiology, and behavior of heat-stressed feedlot heifers. J Anim Sci, 80(8), 2043-2050.

Morotti, F., Moretti, R., dos Santos, G. M. G., Silva-Santos, K. C., Ramos Cerqueira, P. H., and Seneda, M. M. (2018). Ovarian follicular dynamics and conception rate in Bos indicus cows with different antral follicle counts subjected to timed artificial insemination. Animal Reproduction Science, 188, 170-177.

Nakada, K. (2006). How to improve reproductive efficacy from now in Japan? Find out the factors of late lactation to predict postpartum reproductive diseases. J Reprod Dev, 52(1), 177-183.

Naranjo Chacón, and Fernando Montiel Palacios, F. S., RodolfoAhuja-Aguirre, Concepción. (2020). Embryo production after superovulation of bovine donors with a reduced number of FSH applications and an increased eCG dose. Theriogenology, 141, 168-172.

NRC. (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Seventh Revised Edition, 2001. Washington, DC: The National Academies Press.

Ono, T., T. Isobe, Y. Morita, L. T. K. Do, M. Taniguchi, M. Takagi, and Otoi., T. (2016). Effect of parity and season on pregnancy rates after transfer of embryos to repeat breeder Japanese Black beef cattle. Archives Animal Breeding, 59, 45-49.

Parkinson, T. J., and Noakes, D. E. (2001). Veterinary control of herd fertility: Company Ltd., Philadelphia.

Pattaraporn, T. (n.n.d.). Ruminate Production. Retrieved from http://www.agi.nu.ac.th/science/121113/%E0%B8%9A%E0%B8%97%E0%B8%97%E0%B8%B5%E0%B9%88%208%20%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%AA%E0%B8%B7%E0%B8%9A%E0%B8%9E%E0%B8%B1%E0%B8%99%E0%B8%98%E0%B8%B8%E0%B9%8C%E0%B8%AA%E0%B8%B1%E0%B8%95%E0%B8%A7%E0%B9%8C%E0%B9%80%E0%B8%84%E0%B8%B5%E0%B9%89%E0%B8%A2%E0%B8%A7%E0%B9%80%E0%B8%AD%E0%B8%B7%E0%B9%89%E0%B8%AD%E0%B8%87.pdf

Pieterse, M. C., Vos, P. L. A. M., Kruip, T. A. M., Willemse, A. H., and Taverne, M. A. M. (1991). Characteristics of bovine estrous cycles during repeated transvaginal, ultrasound-guided puncturing of follicles for ovum pick-up. Theriogenology, 35(2), 401-413.

Prathap, P., Abhijith, A., Joy, A., Sejian, V., Krishnan, G., Madiajagan, B., and Bhatta, R. (2016). Heat Stress and Dairy Cow: Impact on Both Milk Yield and Composition. International Journal of Dairy Science.

Putney, D. J., Drost, M., and Thatcher, W. W. (1988). Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between Days 1 to 7 post insemination. Theriogenology, 30(2), 195-209.

R Team, C. (2012). Team RDC.R: A Language And Environment For Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria.

Ramakrishna, O., and Ramachandraiah, S. V. (1989). Superovulation with follicle stimulating hormone in crossbred cows. Indian J. Anim. Sci., 59(102 – 104.).

Ravagnolo, O., and Misztal, I. (2000). Genetic Component of Heat Stress in Dairy Cattle, Parameter Estimation. Journal of Dairy Science, 83(9), 2126-2130.

Ray, D. E., Halbach, T. J., and Armstrong, D. V. (1992). Season and Lactation Number Effects on Milk Production and Reproduction of Dairy Cattle in Arizona1. Journal of Dairy Science, 75(11), 2976-2983. doi:https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78061-8

Rensis, F. D., and Scaramuzzi, R. J. (2003). Heat stress and seasonal ef- fects on reproduction in the dairy cow- a review. Theriogenology, 60(6), 1139-1151.

Roche, J. (1996). Control and regulation of folliculogenesis--a symposium in perspective. Reviews of reproduction, 11, 19-27.

Rukkwamsuk, T. (2011). A field study on negative energy balance in periparturient dairy cows kept in small-holder farms: Effect on milk production and reproduction. African Journal of Agricultural Research, 523, 3157-3163.

Saito, N. (1994). Manual of embryo transfer & in vitro fertilization in cattle. Maff.Japan.

Schüller, L. K., Burfeind, O., and Heuwieser, W. (2014). Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature–humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. Theriogenology, 81(8), 1050-1057.

Senger, P. L. (1997). Pathways to pregnancy and parturition. Pullman, WA 99163-5607: Current Conceptions, Inc., 1615 NE Eastgate Blvd.

Song, S. H., D.I. Jang, Min, C. S., and Park., J. K. (2012). Effects of Parity and Season on Production of Embryos in Superovulated Hanwoo. Retrieved from http://agris.fao.org/agrissearch/search.do?recordID=KR2013001953.

Sousa, d. R. V., da Silva Cardoso, C. R., Butzke, G., Dode, M. A. N., Rumpf, R., and Franco, M. M. (2017). Biopsy of bovine embryos produced in vivo and in vitro does not affect pregnancy rates. Theriogenology, 90(25-31).

Stott, G. H., and Williams., a. R. J. (1962). Cause of low breeding efficiency in dairy cattle associated with seasonal high temperature. J. Dairy Sci, 45(1369-1375).

Sugano, M., and Shinogi, T. (1999). Superovulation induction in Japanese Black cattle by a single intramuscular injection of hMG or FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. Animal Reproduction Science, 55(175-181).

Takedomi, T., Aoyagi, Y., Konishi, M., Kishi, H., Taya, K., Watanabe, G., and Sasamoto, S. (1995). Superovulation of holstein heifers by a single subcutaneous injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. Theriogenology, 43(7)(1259–1268.).

Takuma, T., Sakai, S., Ezoe, D., Ichimaru, H., Jinnouchi, T., Kaedei, Y., and Otoi, T. (2010). Effects of season and reproductive phase on the quality, quantity and developmental competence of oocytes aspirated from Japanese black cows. J Reprod Dev, 56(1), 55-59.

Tamburini, A., Bava, L., Piccinini, R., Zecconi, A., Zucali, M., and Sandrucci, A. (2010). Milk emission and udder health status in primiparous dairy cows during lactation. J Dairy Res, 77(1), 13-19.

Thatcher, W. W. (1974). Effects of Season, Climate, and Temperature on Reproduction and Lactation1. Journal of Dairy Science, 57(3), 360-368.

Tríbulo, A., Rogan, D., Tríbulo, H., Tríbulo, R., Mapletoft, R. J., and Bó, G. A. (2012). Superovulation of beef cattle with a split-single intramuscular administration of Folltropin-V in two concentrations of hyaluronan. Theriogenology, 77(8), 1679-1685.

Wakchaure, R., and Ganguly., S. (2015). Multiple Ovulation Embryo Transfer (MOET)-nucleus breeding scheme : A Review. International Journal of Engineering and Innovative Technolgy, 5(105-107).

West, J. W., Mullinix, B. G., and Bernard, J. K. (2003). Effects of Hot, Humid Weather on Milk Temperature, Dry Matter Intake, and Milk Yield of Lactating Dairy Cows. Journal of Dairy Science, 86(1), 232-242.

Wiersma, F. (1990). Temperature – humidity index table for dairy producers to estimate heat stress for dairy cows. Department of Agricultural Engineering, University of Arizona, Tucson.

Winai, K. (2011). Effect of heat stress and b-carotene supplementation on postpartum reproductive performance in dairy cows. (Ph. D Thesis.). Chulalongkorn University, Bangkok,

Wolfenson, D., Roth, Z., and Meidan, R. (2000). Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. Animal Reproduction Science, 60-61, 535-547.

Yamamoto, M., Ooe, M., Kawaguchi, M., and Suzuki, T. (1995). Dose Response to a Single Intramuscular Injection of FSH Dissolved in Polyvinylpyrrolidone for Superovulation in Cows. Reproduction and Development, 41(1)(93–96).

ภาษาไทย

กรมอุตุนิยมวิทยา. (2562). สภาพอากาศประเทศไทย. Retrieved from https://www.tmd.go.th/thailand.php.

กลุ่มวิจัยและพัฒนาโคนม กองบำรุงพันธุ์สัตว์. (2553). โคนมสายพันธุ์โฮลสไตน์.ไทย. Retrieved from http://km.dld.go.th/th/index.php/th/research-system/knowledge-office/82-present-general/190-holstein-friesian

กัลยา บุญญานุวัตร, อุดมศรี อินทรโชติ, และ เฉลิมพล บุญเจือ. (2540). อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นของสิ่งแวดล้อมต่อการผลิตนม และความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โคนมเอเอฟเอส (ภาคผนวก 3). การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 สาขาสัตว์ ระหว่างวันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ 2540 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ, หน้า 498 -505.

ชโลธร อัมพร, สมจิตร์ กันธาพรม, จักรกฤษณ์ เยรัมย์, และ จักรกฤษณ์ จักรสัมฤทธ์. (2556). การใช้เทคโนโลยีการย้าย ฝากตัวอ่อนและการแช่แข็งตัวอ่อนเพื่ออนุรักษ์และขยายพันธุ์โคพื้นเมืองของเกษตรกรรายย่อย. รายงานการวิจัยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยมาจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน ประจำปีงบประมาณ 2555.

ดำรง ลีนานุรักษ์. (2534). โรงเรือนและสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการเลี้ยงโคนม. วารสารสัตวบาล, 3 ซ 25-34.

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

เทวินทร์ วงษ์พระลับ, ยุพิน ผาสุข, และ ศักดิ์ศิริ ศิริเสถียร. (2553). การแช่แข็งและย้ายฝากตัวอ่อนที่ผ่านการคัดเพศในโคพื้นเมือง. รายงานการวิจัยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป งบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีงบประมาณ 2550.

ธนพร ราษฎร์ศิริ, เทวินทร์ วงษ์พระลับ, ฤทัยพร ราชมัคร, รุจิรา ชุมชัย, วุฒิไกร บุญคุ้ม, และ วิบัณฑิตา จันทร์กิติสกุล. (2563). ผลการกระตุ้นการตกไข่หลายใบโดยการใช้ฮอร์โมนเอฟเอสเฮชเข้ากล้ามเนื้อชนิดแบ่งฉีดสองเข็มในโคนมลูกผสมพันธุ์ไทยโฮลสไตน์. แก่นเกษตร 47, (ฉบับพิเศษ 2), 59 – 64.

ปราจีน วีรกุล. (2544). การศึกษาและแก้ไขปัญหาการสูญเสีย ตัวอ่อนระยะต้นในโคนม. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการการศึกษาแก้ไขปัญหาการผสมติดยากและการสูญเสียคัพภะระยะต้นในโคนม. สำนักงานกองทุน สนับสนุนการวิจัย.

ผกาทิพย์ ยอดมิ่งขวัญ. (2561). การเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของแพะโดยการพัฒนาโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาและสารละลายน้ำเชื้อที่เหมาะสม. (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต). มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.

พีรยุทธ ชื่นนิล. (2554). การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนนระดับที่แตกต่างกันในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน. (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์) สาขาการผลิตสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน. (2548). สรีรวิทยาการสืบพันธุ์ของสัตว์เลี้ยง. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย.

มงคล เตชะกำพุ. (2543). เทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ในปศุสัตว์. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย.

รังสรรค์ พาลพ่าย และสรรเพชญ โสภณ. (2530). เทคนิคการย้ายฝากตัวอ่อนในโคนมโดยไม่ผ่าตัด มณีวรรณ กมลพัฒนะ (กองบรรณาธิการ). การปฏิสนธิในหลอดแก้วและการย้ายฝากตัวอ่อน. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

รุจิรา รุมชัย, ธนพร ราษฎร์ศิริ, ฤทัยพร ราชมัคร, เทวินทร์ วงษ์พระลับ, วุฒิไกร บุญคุ้ม, และ วิบัณฑิตา จันทร์กิติสกุล. (2563). ผลการกระตุ้นการตกไข่พร้อมกันหลายใบโดยฉีดฮอร์โมนเอฟเอชเอสเข้าช่องไขสันหลังเพียงเข็มเดียวในโคนมลูกผสมพันธุ์ไทยโฮลสไตน์. แก่นเกษตร 48, (ฉบับพิเศษ 1), 263 – 268.

วรวัชญ์ วราอัศวปติ, ศิริลักษณ์ วงส์พิเชษฐ์, และ มณฑิชา พุทซาคำ. (2553). การเปรียบเทียบขนาดฮอร์โมน FSH ที่มีผลต่อการเพิ่มการตกไข่ จำนวนและคุณภาพตัวอ่อนโคพื้นเมืองสายภาคอีสานและสายภาคกลาง. Retrieved from https://ag2.kku.ac.th/kaj/PDF.cfm?filename=Oral13.pdf&id=356&-keeptrack=46.

วรัญญู มหาวิจิตร, พิสุทธิ์ เนียมทรัพย์, พหล ศักดิ์คะทัศน์, และ ดำรง ลีนานุรักษ์. (2558). ปัญหาการผลิตโคนมของเกษตรกรผู้โคนมสหกรณ์โคนมลำพูน. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตรกร, 32, 38- 48.

วรางคณา กิจพินิธ, มนัสนันท์ นพรัตน์ไมตรี, นริศรา ริอุบล, ปัทวีกานต์ ปรีสงค์, และ สายัณห์ บัวบาน. (2560). อิทธิพลของค่าดัชนีความเครียดเนื่องจากความร้อนต่อผลการผสมเทียมของโคนมในภาคตะวันของประเทศ. แก่นเกษตร 45 (ฉบับพิเศษ 1), 624 – 630.

วิทวัส เวชกูล. (2544). การเพิ่มการตกไข่ในโคพื้นเมืองไทยโดยใช้ Follicle Stimulating Hormone และ Pregnant Mare serum Gonadotrophin. (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัยขอนแก่น). มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

วุฒิไกร บุญคุ้ม, มนต์ชัย ดวงจินดา, วิโรจน์ ภัทรจินดา, ศรเทพ ธัมวาสร, จุรีรัตน์ แสนโภชน์, และ สายัณห์ บัวบาน. (2553). จุดวิกฤตของดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์และระดับเลือดโคนมโฮลสไตน์ที่มีต่อผลผลิตน้ำนมและค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน. แก่นเกษตร 45, 38, 275 – 284.

สรรเพชญ โสภณ, เกรียงศักดิ์ ทาศรีภู, และ ราตรี จินตนา. (2546). การย้ายฝากตัวอ่อนในโคบราห์มัน : ผลของระดับโปรตีนในอาหารข้นที่มีผลต่อประสิทธิภาพการผลิตตัวอ่อน. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 ระหว่างวันที่ 3 -7 กุมภาพันธ์ 2546 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 96 -10.

สำนักงานปศุสัตว์อำเภอ. (2561). ข้อมูลเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมและโคนม รายจังหวัด ปีงบประมาณ พ.ศ. 2561. Retrieved from Retrieved fromhttp://ict.dld.go.th/webnew/images/stories/stat_web/yearly/2561/land/T3-1.pdf:

สำนักพัฒนาพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์. (2557). ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการผสมติดในโคนม. Retrieved from Retrieved from http://dairydevelopmentprogram.weebly.com/blog-36153634361936603617362636403586/12:

สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย. (2557). ความสมบูรณ์พันธุ์โคนมขอนแก่น และการเพิ่มการผสมติดโคนมหลังผสมเทียม. Retrieved from http://vet.kku.ac.th/yaopdf/sur57_06.pdf.

องค์การส่งเสริมโคนมแห่งประเทศไทย. (2557). จดมายข่าวโคนม. ปีที่ 16 ฉบับที่ 11 ประจำเดือนสิงหาคม 2558, Retrieved from http://www.dpo.go.th/wp-content/uploads/2015/2008/News_August2058.pdf.

อนนท์ เทืองสันเทียะ, มาลี อภิเมธีธำรง, กีรติ ธิแจ้, และ บันลือ กล่ำพูล. (2553). ผลการใช้ฮอร์โมนเอฟเอสเอช 3 ระดับต่อการเพิ่มการตกไข่และคุณภาพของตัวอ่อนในโคไทยแบล็ค. การประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 7.

ภาคผนวก

1

2

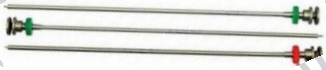
3

4

5

6

7



8

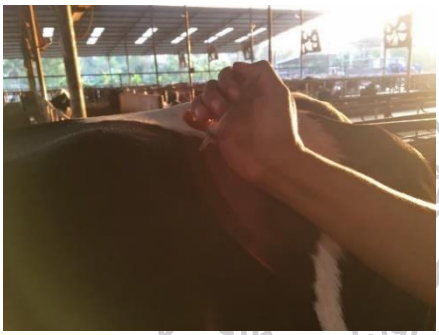
9

ภาพ ภาคผนวก ก อุปกรณ์และฮอร์โมนที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่

1. ฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL Kawasaki Mitaka, Tokyo, Japan)
2. ถุงมือผสมเทียม
3. แท่งวัสดุโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ CIDR (Zoetis , Co.Ltd.)
4. Estrumate®(MSD Animail Health)
5. กระบอกฉีดยา
6. เข็มฉีดยา
7. ถังไนโตรเจนเหลวสำหรับใส่น้ำเชื้อแช่แข็ง
8. ปืนผสมเทียม
9. ปอกพลาสติก

1

2



3

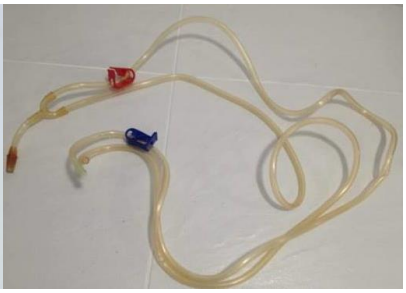
4

5

ภาพ ภาคผนวก ข การกระตุ้นการตกไข่โดยการสอด CIDR ฉีดฮอร์โมน FSH (Antorin R10 AL) ถอด CIDR และผสมเทียม

1. Eazi Breed CIDR + CIDR (Pfizer , Co.Ltd.)
2. สอด CIDR เพื่อกระตุ้นการตกไข่
3. ฉีดโกนาโดโทรปินส์ รีลิสซิ่ง ฮอร์โมน (Receptal® : Intervet , Co.Ltd.)
4. ถอด CIDR
5. ผสมเทียม

1



2

3

4

5

6

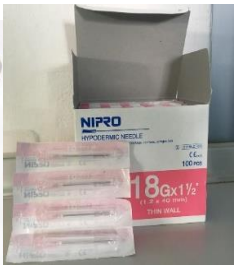
7

8

9

10

11



12

13

14

15

.16

17

ภาพ ภาคผนวก ค อุปกรณ์ในการชะล้างเก็บตัวอ่อน

ภาพ ภาคผนวก ค อุปกรณ์ในการชะล้างเก็บตัวอ่อน (ต่อ)

1. ท่อโฟเลย์แบบ 2 ทาง (Two way foly catheter)
2. สายชะล้างตัวอ่อน (Flushing tube set)
3. ถ้วยกรองตัวอ่อน (Miniflush)
4. กระบอกตวงพลาสติดปลอดเชื้อ (Sterile cylinder) ขนาด 1,500 มิลลิตร
5. น้ำยาชะล้างตัวอ่อน (Modified Dulbecco's phosphate buffer saline; mDPBS)
6. ยาชา 2% Xylocaine (Astrazeneca , Co.Ltd.) , Co.Ltd.)
7. ยา Lutalyse®(Zoetis , Co.Ltd.)
8. ยา Ceftiofur®(BIC , Co.Ltd.)
9. กระบอกฉีดยา ขนาด 20 มิลลิตร
10. กระบอกฉีดยา ขนาด 3 มิลลิตร
11. กระบอกฉีดยา ขนาด 50 มิลลิตร
12. เข็มฉีดยาเบอร์ 18
13. กระบอกตวงพลาสติดปลอดเชื้อ (Sterile cylinder) ขนาด 1,000 มิลลิตร
14. KY เจล
15. เหล็กขยายมดลูก (Cervical dilator)
16. แกนสแตนเลสสำหรับสอดท่อยางโฟเลย์ (Sterile stylette)
17. ซองบังคับสัตว์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

1

2

3

4

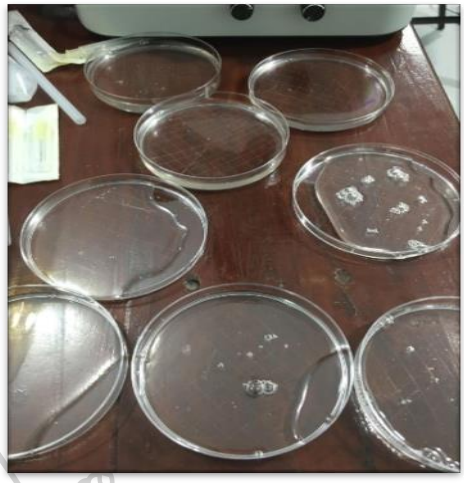
5

6

ภาพ ภาคผนวก ง ขั้นตอนในการชะล้างเก็บตัวอ่อน

1. ล้วงตรวจรังไข่
2. จับโคเข้าซองบังคับสัตว์
3. ฉีดยาชา 2% Xylocaine ที่บริเวณโคนหาง.
4. สอดแกนเหล็กเพื่อขยายมดลูก (Cervical dilator)
5. สอดแกนสแตนเลสที่สวมท่อยางโฟเลย์ (Sterile stylette)
6. เติมน้ำยา mDPBS เพื่อชะล้างตัวอ่อน

1

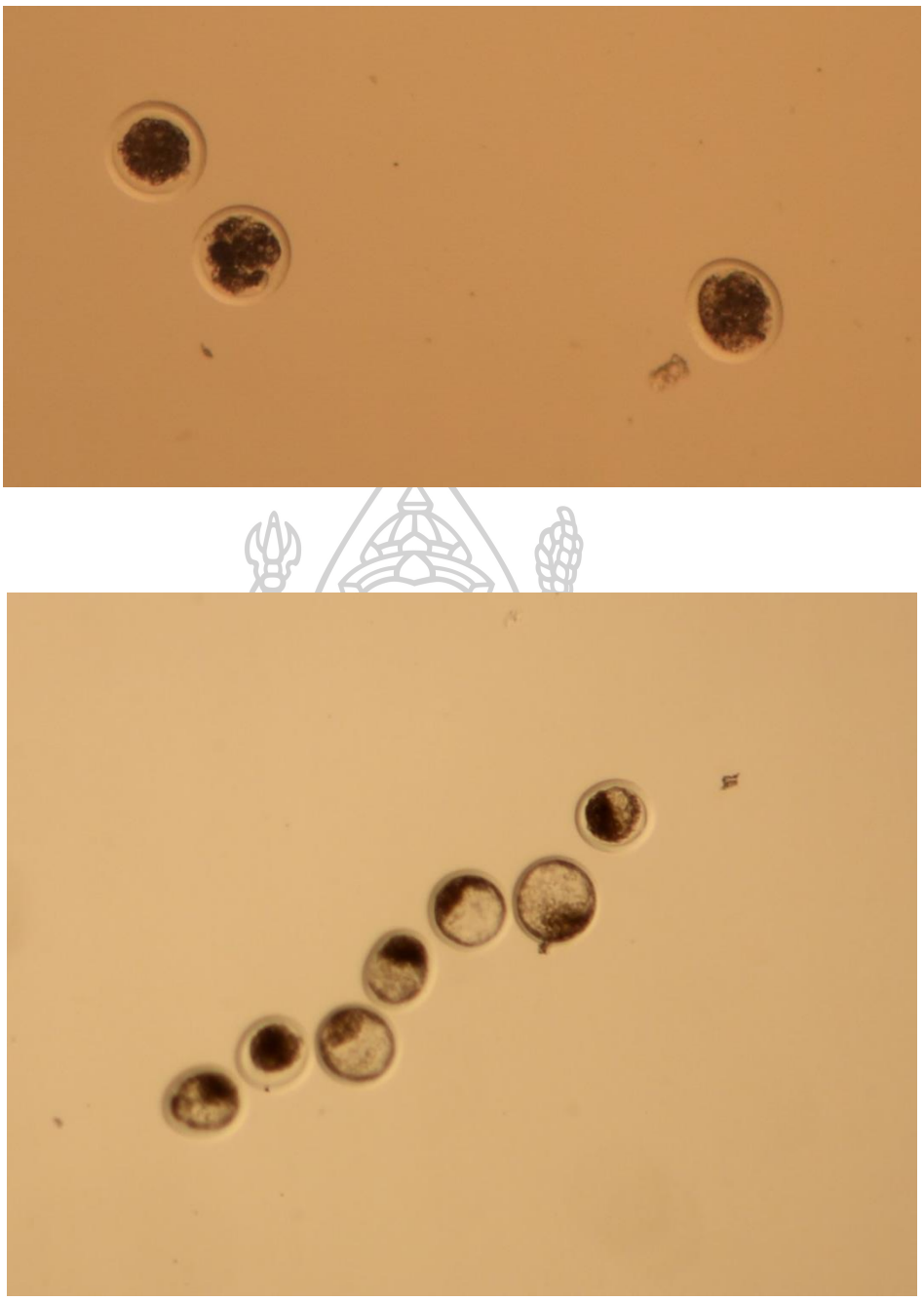


2

3

ภาพ ภาคผนวก จ ขั้นตอนในตรวจค้นหาตัวอ่อน

1. ใช้น้ำยาชะล้างตัวอ่อนล้างบริเวณด้านข้างถ้วยกรองตัวอ่อน
2. นำตัวอ่อนใส่ใน Petri dishes เพื่อตรวจหาตัวอ่อน
3. ตรวจหาตัวอ่อน



ภาพ ภาคผนวก ฉ ตัวอ่อนที่เก็บได้

2018年8月改訂（第3版）

指定

貯法	遮光、室温保存、密封容器

動物用医薬品

承認指令書番号	25動薬第1140号
販売開始	2017年2月

牛過剰排卵誘起剤
前葉性卵胞刺激ホルモン注射液
要指示医薬品　指定医薬品

アントリン® R10・Al

【本質の説明又は製造方法】

本品は、豚の脳下垂体前葉から当社の技術により高純度に精製した卵胞刺激ホルモン（Follicle Stimulating Hormone: FSH）を主成分とする注射剤です。牛の過剰排卵処理に効果を示し、かつ徐放剤により1回の投与で効果が期待できる卵胞刺激ホルモン製剤です。

【成分及び分量】

本品1容器中

有効成分	含量
豚前葉性卵胞刺激ホルモン（FSH）	10アーマー単位（A.U.）

別に溶解用液（生理食塩液）2.5mL及び徐放化用液（水酸化アルミニウムゲル液）1mLを添付する。

【効能又は効果】

牛（雌）：過剰排卵誘起

【用法及び用量】

牛（雌）：1処置1頭あたり肉用牛は30A.U.、乳用牛は40A.U.を用時に溶解用液2.5mLで溶解し、徐放化用液0.5mLを加えて混合し、1回皮下投与する。

＊本品は溶解用液2.5mLで1容器(10A.U.)を溶解した後に、この溶液を用い次の容器を溶解する。この操作を繰り返し、必要量溶解する。
＊徐放化用液は本品の溶解に用いた注射針とは別の注射針で採取する。

【使用上の注意】

（基本的事項）

1．守らなければならないこと

（一般的注意）
- 本剤は、要指示医薬品であるので獣医師等の処方箋・指示により使用すること。
- 本剤は、効能・効果において定められた目的にのみ使用すること。
- 本剤は、定められた用法・用量を厳守すること。

（使用者に対する注意）
- 妊娠中の女性には、注射作業を行わせないこと。

（取扱い及び廃棄のための注意）
- 使用期限が過ぎたものは使用しないこと。
- 小児の手の届かないところに保管すること。
- 本剤の保管は直射日光、高温を避けること。
- 誤用を避け、品質を保持するため、他の容器に入れかえないこと。
- 注射器具は滅菌又は煮沸消毒されたものを使用すること。薬剤により消毒をした器具又は他の薬剤に使用した器具は使用しないこと(ガス滅菌したものを除く。)。なお、乾熱、高圧蒸気滅菌又は煮沸消毒等を行った場合は、室温まで冷えたものを使用すること。
- 使用済みの容器は、地方公共団体条例等に従い処分すること。
- 本剤を廃棄する際は、環境や水系を汚染しないように注意し、地方公共団体条例等に従い処分すること。
- 使用済みの注射針は、針回収用の専用容器に入れること。針回収用の容器の廃棄は産業廃棄物収集運搬業及び産業廃棄物処分業の許可を有した業者に委託すること。

2．使用に際して気を付けること

（使用者に対する注意）
- 誤って注射された者は、直ちに医師の診察を受けること。

（牛に関する注意）
- 本剤の投与前には健康状態について検査し、使用の可否を決めること。
- 副作用が認められた場合には、速やかに獣医師の診察を受けること。

（取扱い上の注意）
- 溶解用液は用時溶解し、残余は他の処置に使用せず適切に廃棄すること。
- 徐放化用液を分割使用する場合は速やかに使用すること。また、残余は他の処置に用いず適切に廃棄すること。
- 注射部位反応及び過剰排卵成績に影響を及ぼすことから、徐放化用液は本品を溶解した注射針とは別の注射針を用い、定められた量を正確に採取すること。
- 徐放化用液は、本剤の効能効果以外の目的には使用しないこと。
- 本剤はワンポイントアンプルを使用しているので、ア

ภาพ ภาคผนวก ช ฉลากฮอร์โมน Antorin R 10 AL

ンプルをカットする際には、アンプル上部の青色丸マークが上になるよう持ち、反対方向（下方）へ折るようにすること。

（専門的事項）

① 対象動物の使用制限等
・本剤は流産のおそれがあるので、妊娠動物には投与しないこと。
・消長試験で注射部位反応の消長を確認していないため、本剤の筋肉内投与は行わないこと。
・10歳以上の高齢牛は繁殖能力の低下が知られていること及び臨床試験において有効性及び安全性を確認していないため、投与しないこと。

② 重要な基本的注意
・本剤を搾乳している乳牛の過剰排卵誘起に用いた場合、一過性に乳量が低下することがある。
・本剤は反復投与により抗体が産生され効果を減ずることがある。

③ 副作用
・本剤は過敏症反応を起こすことがある。本剤投与後、アナフィラキシーなどの症状が見られた場合には、日局エピネフリン0.1%注射液5～7mLを皮下注射するかまたは1mLを静脈内注射し、併せて対症療法を行うこと。また、過敏症の予防には本剤投与前にエピネフリン0.1%注射液同上量を皮下注射すること。
・本剤投与後、注射部位に軽度～中等度の一過性の腫脹及び硬結が認められることがある。なお、実施した消長試験では、常用量投与群で注射部位反応の消失時期は最長34日間であった。

【薬理学的情報等】

（安全性）

牛における安全性

本品を牛の頚部に1日1回、常用量（FSH30（肉用牛）又は40（乳用経産牛）A.U.、生理食塩液2.5mL、水酸化アルミニウムゲル液（アルミニウムとして1.5mg））又は5倍量を3日間連続して皮下注射したところ、5倍量投与群では観察期間中、投与部位の腫脹又は硬結が継続して認められたが、その他の変動は認められなかった。

（臨床試験）

国内臨床試験において、人工授精時に大型卵胞が3個以上存在し、回収胚の内、移植可能な胚が1～2個以上みとめられるものを有効と判定したとき、本品（FSH30(肉用牛)又は40（乳用経産牛）A.U.、生理食塩液2.5mL、水酸化アルミニウムゲル液（アルミニウムとして1.5mg））の単回投与（64頭）と、対照薬（FSH総投与量20～48A.U.、1日2回、3～5.5日間）の漸減投与（57頭）は、有効率に有意差は認められなかった（有効率：本品投与群74.1%、対照薬投与群73.2%）。
また、本品投与に起因すると思われる副作用は認められず、臨床応用上の安全性に問題はなかった。

（薬物動態）

肉用牛及び乳用経産牛、各3頭に本品（FSH30（肉用牛）又は40（乳用経産牛）A.U.、生理食塩液2.5mL、水酸化アルミニウムゲル液（アルミニウムとして1.5mg））を筋肉内に単回投与した後の血漿中FSH濃度（DELFIA法）を検討した。肉用牛では投与12時間後、乳用経産牛は投与8時間後にピークに達した後、緩やかに減少し、96時間後まで全頭で検出された。

（有効成分の物理化学的性状）

FSHは白色～淡黄褐色の粉末又は海綿状物で、においはない。水に溶けやすく、エーテルにはほとんど溶けない。
分子量約33,000付近にメインバンドを有する（SDS-PAGE法）。

【包装】

本品　10A.U.×6アンプル
添付溶解用液　2.5mL×2アンプル
添付徐放化用液　1mL×1バイアル
（肉用牛2頭分／1箱、乳用牛3頭分／2箱）

【製品情報お問い合わせ先】

共立製薬株式会社　学術
〒102-0073
東京都千代田区九段北一丁目11番5号
TEL: 03-3264-7559

製造販売業者
共立製薬株式会社
東京都千代田区九段南 1-5-10
®登録商標

獣医師、薬剤師等の医薬関係者は、本剤による副作用などによると疑われる疾病、障害若しくは死亡の発生又は本剤の使用によるものと疑われる感染症の発生に関する事項を知った場合において、保健衛生上の危害の発生又は拡大を防止するため必要があると認めるときは、上記【製品情報お問い合わせ先】に連絡するとともに、農林水産省動物医薬品検査所（http://www.maff.go.jp/nvsl/iyakutou/fukusayo/sousa/index.html）にも報告をお願いします。

ANA03-G01808

アントリンR10-A I 能書／ウラ　　サイズ：148×210mm

ภาพภาคผนวก ช ฉลากฮอร์โมน Antorin R10 AL(ต่อ)

การเตรียมน้ำยาชะล้างเก็บตัวอ่อน

ขั้นตอนการเตรียมน้ำยาชะล้างตัวอ่อน มีดังนี้

1. เตรียมสารละลาย NaCl, KCl, Na_2HPO_4 และ KH_2 PO_4 ละลายในน้ำกลั่น 500 m^3 ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 ml (เตรียมสารละลายเอ)

2. เตรียมสารละลาย CaC_{12} และ $MgCl_2 6H_2O$ ละลายในน้ำกลั่น 250 ลูก m^3 ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 ml (เตรียมสารละลายบี)

3. เตรียมสารละลาย $C_2H_{16}O_6$ และ $CH_3COCOONa$ ละลายในน้ำกลั่น 250 ลูก m^3 ในบีกเกอร์ขนาด 1,000 ml (เตรียมสารละลายซี)

4. เตรียมบีกเกอร์ขนาด 1,000 ml นำสารละลายเอ ค่อย ๆ เทรวมกับสารละลายบีอย่างช้า ๆ และ ค่อย ๆ เทสารละลายซีรวมกับสารละลายที่ผสมกันระหว่างเอและบีอย่าช้า ๆ แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 ml คนให้สารเข้ากันให้ดี

5. วัดค่า pH ของน้ำยาที่เตรียมไว้ ซึ่งน้ำยาจะมีค่า pH อยู่ระหว่าง 7.2 –7.4 และทำการฆ่าเชื้อน้ำยาโดยการใช้วิธีกรองด้วย Millipore filters ขนาด 0.4 ไมครอน จากนั้นเก็บน้ำยาที่ฆ่าเชื้อแล้วในขวแก้วขนาด 1,000 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และเก็บน้ำยาไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และไม่ควรเก็บนานเกินไปกว่า 4 สัปดาห์ ก่อนนำไปใช้ในการชะล้างเก็บตัวอ่อนต้องเติมยาปฏิชีวนะ และรีรั่มจากโคที่เป็นสัดที่ผ่านการทำลายความเป็นพิษแล้วลงไป

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงส่วนประกอบของน้ำยาชะล้างเก็บตัวอ่อน (mDPBS)

ส่วนประกอบ	สูตรโครงสร้าง	ปริมาณ (g/L)
Sodium chloride	NaCl	8.00
Potassium chloride	KCl	0.20
Sodium phosphate, dibasic	Na_2HPO_4	1.15
Potassium phosphate, monobasic	$KH_2\ PO_4$	0.20
Calcium chloride	CaC_{12}	0.10
Magnesium chloride	$MgCl_26H_2O$	0.10
Glucose	$C_2H_{16}O_6$	1.00
Sodium pyruvate	$CH_3COCOONa$	0.036
Penicillin – G, sodium salt		0.050
Steptomycin sulphate		0.025

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวญาณี วัฒนศรี
วัน เดือน ปี เกิด	22 กันยายน 1994
สถานที่เกิด	โรงพยาบาลราชดำเนิน จังหวัดตรัง
วุฒิการศึกษา	พ.ศ. 2559 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาบัณฑิต หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร พ.ศ. 2560 ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร
ที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 6 ถนนคู่เมือง ตำบลปากน้ำ อำเภอเมือง จังหวัดกระบี่
ผลงานตีพิมพ์	Yanee Wattanasri, Krittiya Lertchunhakiat, Arthit Thitwong, Prawin Payapsathan, Thevin Vongpralub and Phirawit Chuawongboon (2019). Annual variation on superovulation response using FSH (Antorin R 10) for high production in dairy cattle. The 2nd International Conference on Inventions and Innovations for Sustainable Agriculture 15 – 16 August, 2019, Bangkok, Thailand. Page 26. Krittiya Lertchunhakiat, Soranot Chotnipat, Phakatip Yodmingkwan and Yanee Wattanasri (2019). Pancreatic enzyme supplemented with limestone powder and sodium sulfide in hair removal process on physical characteristics of goat leather. The 2nd International Conference on Inventions and Innovations for Sustainable Agriculture 15 – 16 August, 2019, Bangkok, Thailand. Page 36 ญาณี วัฒนศรี, พิรวิทย์ เชื้อวงษ์บุญ, กฤติยา เลิศชุณหะเกียรติ, อาทิตย์ ทิตวงค์, ประวิน พายัพสถาน และ เทวินทร์ วงษ์พระลับ (2564). ผลของฤดูกาลต่อโปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคนม. แก่นเกษตร 48 : 20 – 27.

มหาวิทยาลัยศิลปากร