# การศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการย้ายฝากตัวอ่อนโคนม ในสภาพการจัดการแบบการลดความเครียดเนื่องจากความร้อน

# Increasing the efficacy of embryo transfer in dairy cattle with management to reduce heat stress

## บทคัดย่อ

การลดปัญหาความเครียดจากความร้อนช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการตกไข่และการผลิตตัวอ่อนของโคนม การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาประสิทธิภาพการชักนำให้เกิดการตกไข่หลายใบ (superovulation) และการเก็บตัวอ่อนจากโคนมที่เลี้ยงในสภาพโรงเรือนที่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นโดยหลักการ evaporative cooling system โดยมีกลุ่มควบคุมเป็นโคนมที่เลี้ยงในโรงเรือนเปิด (open house) โคทั้งสองกลุ่มๆ ละ 10 ตัว ถูกชักนำให้เป็นสัดพร้อมกันโดย $PGF_{2\alpha}$ ตามด้วยโปรแกรมกระตุ้นการตกไข่ ด้วยฮอร์โมน follitropin ระดับ 200 mg แบ่งฉีดวันละ 2 ครั้ง รวม 4 วัน โดยให้ฮอร์โมนแบบลดระดับในสัดส่วน 4:3:2:1 ในวันที่ 3 ของการให้ FSH ฉีด $PGF_{2\alpha}$ ทำการผสมเทียมเมื่อแสดงอาการเป็นสัด และผสมซ้ำอีกครั้งที่ 12 ชั่วโมงถัดมา เก็บตัวอ่อนหลังการผสมเทียมครั้งแรก 7-8 วัน โดยวิธีการชะล้าง (flushing embryo) ผลการศึกษาพบว่าโคนมที่เลี้ยงในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิความชื้น (n=4) สามารถเก็บตัวอ่อนได้ 17 ตัวอ่อน และตัวอ่อนส่วนใหญ่ (9 ตัวอ่อน) อยู่ในระยะ blastocyst และมีคุณภาพดี (เกรด A=7 เกรด B= 2) ในขณะที่โคนมกลุ่มที่อยู่ในโรงเรือนเปิด (n= 4) เก็บตัวอ่อนได้ 9 ตัว และตัวอ่อนที่ได้มีคุณภาพต่ำ (เกรด C) ตัวอ่อนที่เก็บได้ทั้งหมดของการศึกษาครั้งนี้ได้นำไปแช่แข็งเพื่อรอการศึกษาต่อไป

**Key Words:** dairy cow, embryo, evaporative, superovulation, stress alleviation

## Abstract

Dairy cattle raised under alleviated heat stress management help increase theirs ovulation and embryo production. This study aims to compare the superovulation efficiency of dairy cattle raised in temperature-controlled house using evaporative cooling system and the control group raised in open house. Ten cattle in each group were induced estrous by $PGF_{2\alpha}$, followed by induced superovulation using follitropin. The follitropin program was as followed: 200 mg was given twice a day for 4 days in decreasing dose 4:3:2:1 fashioned. On Day 3 0f given follitropin, $PGF_{2\alpha}$ was given. Two times AI (12 h apart) were conducted when cattle show sign of estrus. On day 7 embryo were collected by flushing, number and quality were examines and recorded. The results found that 17 embryo were collected from dairy cattle in temperature controlled house (n=4), and 9 of them were in blastocyst with good quality. While cattle in open house (n=4) only 9 embryo were flushed successfully and they are poor quality. All embryo were kept frozen for further study.

## บทนำ

ภายใต้ปัญหาผลกระทบจากความเครียดเนื่องจากความร้อนที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการผลิตโคนม เช่น ปริมาณน้ำนมลดลง ความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ (ยวงยศ, 2544; เด่นพงศ์ และคณะ, 2544; Milam et al., 1986; Younas et al., 1993) โครงการนี้อยู่ภายใต้ชุดโครงการวิจัย **"การพัฒนาโคนมทนร้อนด้วยการบูรณาการเทคโนโลยีเพื่อการผลิตอย่างยั่งยืนภายใต้สภาพภูมิอากาศร้อนชื้นของประเทศไทย"** ซึ่งเป็นโครงการต่อเนื่อง 3 ปี (2552-2554) มีวัตถุประสงค์หลักในการสร้างโคนมสายพันธุ์ทนร้อนที่เหมาะสมกับสภาพภูมิอากาศของประเทศไทย ซึ่งการจัดการการสืบพันธุ์เป็นขั้นตอนสำคัญในการเพิ่มจำนวนโคนม และการใช้เทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนจะเป็นวิธีการที่ช่วยให้ระยะเวลาในการสร้างฝูงโคนมสั้นกว่าการจัดการสืบพันธุ์ด้วยวิธีการปกติ และยังเป็นเทคโนโลยีที่ช่วยให้สามารถเลือกพันธุกรรมและเพศสัตว์ที่ต้องการได้ด้วย อย่างไรก็ดี ความสำเร็จของการใช้เทคโนโลยีนี้ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ และความเครียดเนื่องจากความร้อนเป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่ง และมีผลอย่างยิ่งต่อการย้ายฝากตัวอ่อน (Rivera et al., 2004; Paula-Lopes et al., 2003; Hansen, 2004) มีรายงานการศึกษาการผลิตตัวอ่อนจากแม่โคตัวให้ในช่วงฤดูกาลที่แตกต่างกันที่ส่งผลให้แม่โคตัวให้ได้รับความเครียดเนื่องจากความร้อนมีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์โคนม (Ambrost et al., 1999; Al Katanani et al., 2002) ดังนั้นการมีวิธีการที่ช่วยผ่อนคลายผลกระทบจากความเครียดเนื่องจากความร้อน จะส่งเสริมประสิทธิผลการย้ายฝากตัวอ่อน (efficacy of embryo transfer) โดยเฉพาะในประเทศไทยที่มีสภาพภูมิอากาศร้อนเกือบตลอดปี

การใช้โรงเรือนควบคุมอุณหภูมิและความชื้น (evaporative cooling system) ทำให้สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมให้อยู่ในระดับที่โคนมอยู่ได้สุขสบาย หลักการของโรงเรือนดังกล่าวเป็นการลดอุณหภูมิโดยการใช้น้ำผ่าน cooling pad และใช้พัดลมดูดอากาศในการกระจายอุณหภูมิให้ทั่วโรงเรือนและช่วยลดความชื้นในโรงเรือน ซึ่งโดยหลักการนี้การสร้างโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิความชื้นสามารถดำเนินการได้ และมีการจัดการที่ไม่ซับซ้อน ดังนั้น การใช้โรงเรือนควบคุมอุณหภูมิและความชื้นในการเลี้ยงโคนมจึงเป็นวิธีการที่น่าสนใจในการศึกษาวิธีการจัดการอย่างง่ายเพื่อทำให้โคนมฟื้นตัวจากความเครียดเนื่องจากความร้อน และเป็นประเด็นที่นำมาต่อยอดและนำไปสู่กรอบแนวคิดวิจัยที่จะใช้โรงเรือนที่ใช้หลักการ evaporative cooling system เพื่อควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ในการศึกษาประสิทธิภาพการย้ายฝากตัวอ่อนโคนมในสภาพการจัดการแบบการลดความเครียดเนื่องจากความร้อน

## วิธีการศึกษา

**การจัดการสัตว์ทดลอง** โคลูกผสมโฮลสไตน์ สายเลือดสูง (> 85%) จำนวน 12 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรก (กลุ่มควบคุม) อยู่ในโรงเรือนเปิด ซึ่งเป็นโรงเรือนโคนมปกติของฟาร์ม กลุ่มสอง

อยู่ในโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิและความชื้นอย่างง่าย (evaporative cooling system) โคนมทั้งสองกลุ่มได้รับอาหารและการจัดการอื่นๆ ตามปกติของการจัดการในฟาร์ม การศึกษาครั้งนี้ทำการศึกษาช่วงฤดูร้อน (เดือนมีนาคม – เมษายน ปีพ.ศ. 2554)

ดำเนินการตามโปรแกรมการย้ายฝากตัวอ่อนโดยโปรแกรมการให้ฮอร์โมนตามแบบ เทวินทร์ และคณะ (2547) ซึ่งมีแนวปฏิบัติโดยสังเขปดังนี้

1. กระตุ้นการเป็นสัด (estrous synchronization) โดยการฉีด $PGF_{2\alpha}$ ให้กับโคทั้ง 2 กลุ่ม สังเกตและบันทึกพฤติกรรมการเป็นสัด
2. โคที่แสดงอาการเป็นสัดจากโคทั้งสองกลุ่ม ถูกจัดเข้ารับโปรแกรมกระตุ้นการตกไข่ โดยโปรแกรมการให้ฮอร์โมนดังนี้ ฉีดฮอร์โมน FSH (follitropin) ระดับ 200 mg แบ่งฉีดวันละ 2 ครั้ง รวม 4 วัน ให้ฮอร์โมนแบบลดระดับในสัดส่วน 4:3:2:1 จากวันที่ 1 - 4 โดยเริ่มให้ FSH ในวันที่ 9-13 ของวงรอบการเป็นสัด
3. ในวันที่ 3 ของการให้ FSH ฉีด $PGF_{2\alpha}$ ทำการผสมเทียมเมื่อแสดงอาการเป็นสัด และผสมซ้ำอีกครั้งที่ 12 ชั่วโมงถัดมา
4. เก็บตัวอ่อนหลังการผสมเทียมครั้งแรก 7-8 วันโดยวิธีการชะล้าง (flushing embryo) บันทึกอัตราการตกไข่ จำนวนและคุณภาพตัวอ่อนที่ได้ ทั้งนี้บันทึกภาพรังไข่ก่อนการชะล้างด้วยเครื่องอัลตร้าโซโนกราฟฟิกแบบเรียลไทม์

## ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

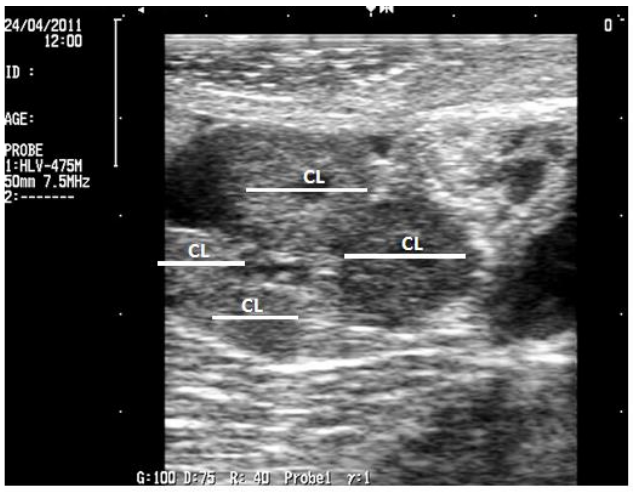
จากการศึกษาอุณหภูมิและความชื้นในโรงเรือนสองแบบ พบว่า โรงเรือนปิดที่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นโดยหลักการ evaporative cooling system มีอุณหภูมิค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองไม่แตกต่างจากโรงเรือนเปิด (ตารางที่ 1) แม้ว่าแสดงแนวโน้มที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า นอกจากนี้ ในโรงเรือนที่ใช้หลักการ evaporative cooling system ยังมีสภาพความชื้นสูง ทั้งนี้อันเนื่องจากมีการใช้น้ำไหลผ่าน cooling pad และแม้ว่าจะมีพัดลมดูดอากาศ ตามหลักการ evaporative cooling system ก็ตาม อย่างไรก็ดี เมื่อพิจารณาในเชิงของค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้น (Temperature humidity index, THI) ไม่มีความแตกต่างกัน

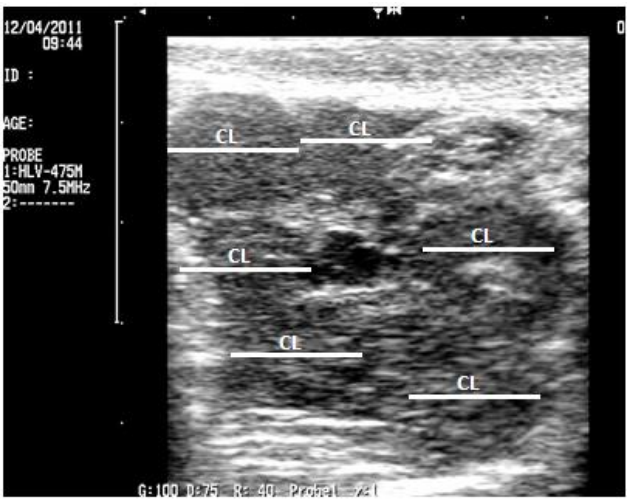
นอกจากนี้ ยังพบว่าโรงเรือนปิดที่มีการจัดการอย่างง่ายในครั้งนี้ยังไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิความชื้นให้คงที่ได้ เนื่องจากพบอุณหภูมิในโรงเรือนปิดมีการเปลี่ยนแปลงในรอบวัน ซึ่งอาจส่งผลให้ค่าเฉลี่ยของโรงเรือนทั้งสองแบบไม่แสดงความแตกต่างกัน จึงอาจต้องมีการปรับปรุงระบบการทำงานของ cooling pad และ พัดลมดูดอากาศ เพื่อให้ภายในโรงเรือนมีอุณหภูมิและความชื้นที่คงที่

**ตารางที่ 1** ค่าเฉลี่ย อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และค่า THI ของโรงเรือนเปิด และโรงเรือนแบบ evaporative cooling system ในช่วงฤดูร้อน (มีนาคม – เมษายน พ.ศ. 2554)

| | โรงเรือนเปิด | โรงเรือน evaporative cooling system | SEM |
|---|---|---|---|
| อุณหภูมิ | 29.36 | 26.88 | 2.99 |
| ความชื้น | 59.36 | 70.61 | 5.41 |
| THI | 86.42 | 81.59 | 5.46 |

ผลการชักนำให้เกิดการตกไข่หลายใบ (superovulation) เมื่อใช้อัลตร้าซาวด์ตรวจสอบที่รังไข่เพื่อดูการปรากฏของ corpus luteum เพื่อยืนยันว่ามีการตอบสนองต่อการชักนำให้เกิดการตกไข่หลายใบ (ภาพที่ 1) พบว่าจากจำนวนโคกลุ่มละ 6 ตัว ค่าเฉลี่ยของจำนวนและขนาดของคอร์ปัส ลูเตียมใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 2) อย่างไรก็ดี พบความแตกต่างของจำนวนและคุณภาพตัวอ่อนที่ชะล้างได้จากโคกลุ่มที่อยู่ในโรงเรือนแบบ evaporative cooling system มากกว่าโคกลุ่มที่อยู่ในโรงเรือนเปิด (ตารางที่ 3)






ภาพที่ 1 รังไข่ของโคนมที่อยู่ในโรงเรือนแบบเปิด (ภาพบน) และโคนมที่อยู่ในโรงเรือนแบบ evaporative cooling system (ภาพล่าง) ภาพถ่ายโดยเครื่องอัลตร้าโซโนกราฟิกแบบเรียลไทม์ แสดงรังไข่โคนมที่ถูกชักนำให้เกิดการตกไข่หลายใบ สังเกตุจากจำนวนคอปัสลูเตียม (CL) ที่พบบนรังไข่

ตารางที่ 2 จำนวนและขนาด (ค่าเฉลี่ย ± SD) ของคอร์ปัส ลูเตียม ในรังไข่ของโคนมที่อยู่ในโรงเรือนเปิด และโรงเรือนแบบ evaporative cooling system โคนมได้รับการชักนำให้เกิดการตกไข่หลายใบ โดยฮอร์โมน FSH (follitropin) ระดับ 200 mg แบบลดระดับในสัดส่วน 4:3:2:1

| **คอร์ปัส ลูเตียม** | **โรงเรือนเปิด (N=6)** | **โรงเรือน evaporative (N=6)** |
|---|---|---|
| จำนวน | 7.17 ± 4.92 | 8.67 ± 5.92 |
| เส้นผ่าศูนย์กลาง (mm) | 7.93 ± 1.99 | 9.62 ± 2.94 |

ตารางที่ 3 จำนวน ระยะการพัฒนา และคุณภาพตัวอ่อน จากโคนมในโรงเรือนเปิด และโรงเรือนแบบ evaporative cooling system โคนมได้รับการชักนำให้เกิดการตกไข่หลายใบ
โดยฮอร์โมน FSH (follitropin) ระดับ 200 mg แบบลดระดับในสัดส่วน 4:3:2:1

| | **จำนวน (คุณภาพ) ตัวอ่อน** | |
|---|---|---|
| | **โรงเรือนเปิด** | **โรงเรือน evaporative cooling system** |
| จำนวนตัวอ่อนรวม | 9 | 17 |
| ระยะการพัฒนาของตัวอ่อน | | |
| Blastocyst | 5(C) | 9(B=2, A=7) |
| Morular | 3(C) | 6(A) |
| Hatched | 1 | 1 |
| Clevage | - | 1(A) |
| จำนวนตัวอ่อนแช่แข็ง | 7* | 16 |

*อักษรในวงเล็บหมายถึงคุณภาพของตัวอ่อน แบ่งเป็น 3 ระดับคือ A, B, C โดย A หมายถึงตัวอ่อนที่มีคุณภาพดี C หมายถึงตัวอ่อนที่มีคุณภาพไม่ดี*

*ตัวอ่อนระยะ hatched ไม่นำมาแช่แข็ง และมีการสูญเสียตัวอ่อน 1 หลอดระหว่างการแช่แข็ง

ตัวอ่อนที่ชะล้างได้จะมีการตรวจสอบคุณภาพและให้เกรด A, B, C ซึ่ง A หมายถึงตัวอ่อนที่มีการพัฒนาอย่างน้อยถึงระยะ blastocyst และมีลักษณะของเยื่อหุ้ม และลักษณะของเซลล์ใน inner cell mass สมบูรณ์ ตัวอ่อน เกรด B หมายถึงตัวอ่อนที่มีระยะการพัฒนาอยู่ในระยะ early blastocyst ตัวอ่อนเกรด C เป็นตัวอ่อนที่มีสภาพของเยื่อหุ้ม และสภาพของเซลล์ไม่สมบูรณ์ ตัวอ่อนที่ได้ทั้งหมด นำไป

ผ่านกระบวนการแช่แข็งเพื่อรอการย้ายฝากต่อไป ยกเว้นตัวอ่อนที่อยู่ในระยะ hatched ที่ไม่มีการเก็บรักษาแช่แข็งเนื่องจากไม่สามารถใช้ประโยชน์ในการย้ายฝากได้

ในการศึกษาครั้งนี้ แม้ว่าค่าเฉลี่ย อุณหภูมิ และค่า THI ของโรงเรือนเปิด และโรงเรือนแบบ evaporative cooling system ไม่มีความแตกต่างกัน แต่หากพิจารณาการเปลี่ยนแปลงในรอบวันพบว่าอุณหภูมิในโรงเรือนแบบ evaporative cooling system มีแนวโน้มที่จะมีอุณหภูมิ และค่า THI ต่ำกว่า ซึ่งอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่เอื้อต่อการตอบสนองของโคนมกลุ่มที่อยู่ในโรงเรือนดังกล่าวให้มีตัวอ่อนที่มีคุณภาพดี ดังนั้น หากสามารถจัดการให้ระบบ evaporative cooling system มีการทำงานของ cooling pad และการดูดอากาศโดยพัดลมให้ดียิ่งขึ้น ก็จะสามารถรักษาอุณหภูมิในโรงเรือนให้คงที่ และไม่แปรปรวนไปตามสภาพภูมิอากาศภายนอก และสามารถลดความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเรือนได้ดีขึ้น

ข้อสังเกตประการหนึ่งจากการจัดการโรงเรือนแบบควบคุมอุณหภูมิความชื้น คือ ในช่วงบ่ายที่อุณหภูมิในรอบวันสูง อันอาจส่งผลให้โคนมเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน สภาพอุณหภูมิในโรงเรือนควบคุมจะเอื้อต่อการคลายปัญหาความเครียดร้อนได้ ดังนั้นในช่วงของการจัดการการผสมพันธุ์โคนมเพื่อให้แม่โคมีการตกไข่ และได้ตัวอ่อนที่มีคุณภาพดีจึงอาจใช้โรงเรือนควบคุมอุณหภูมิความชื้นเฉพาะในช่วงเวลาดังกล่าว ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนค่าใช้จ่ายจากการเดินเครื่องโรงเรือนได้

## สรุป

จากการศึกษาโคนมที่เลี้ยงในสภาพโรงเรือนเปิด และโรงเรือนควบคุมอุณหภูมิความชื้นอย่างง่าย โดยอาศัยหลักการ evaporative cooling system พบว่าค่าเฉลี่ย อุณหภูมิ และค่า THI ของโรงเรือนที่ควบคุมโดย evaporative cooling system ไม่แตกต่างกับโรงเรือนเปิด อย่างไรก็ดี ผลการชักนำให้เกิดการตกไข่หลายใบ (superovulation) และการชะล้างตัวอ่อน พบว่าโคนมที่เลี้ยงในโรงเรือนแบบ evaporative cooling system มีจำนวน และคุณภาพตัวอ่อนที่ดีกว่าโคนมที่เลี้ยงในโรงเรือนเปิด หากจัดการให้โรงเรือนมีการควบคุมอุณหภูมิความชื้นให้คงที่ จะสามารถเห็นผลของการคลายความเครียดเนื่องจากความร้อน และเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตตัวอ่อนในโคนม

## เอกสารอ้างอิง

เด่นพงศ์ สาฆ้อง, สุภร กตเวทิน และ มนต์ชัย ดวงจินดา. 2544. ผลกระทบของความเครียดอันเนื่องจากความร้อนต่อการพัฒนาฟอลลิเคิลในรังไข่โคนม. รายงานการประชุมวิชาการเกษตรศาสตร์ ประจำปี 2544. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ยวงยศ อินทะจักร. 2544. อิทธิพลของอุณหภูมิน้ำดื่มต่อการตอบสนองทางสรีรวิทยา การให้ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบน้ำนมของโคนมในช่วงฤดูร้อน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Al-Katanani, Y.M., F.F. Paula-Lopes, and P.J. Hansen. 2002. Effect of seasons and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein Cows. J. Dairy Sci. 85: 390-396.

Ambrose, J.D., M. Drost, R.L. Monson, J.J. Rutledge, M.L. Leibfried-Rutledge, M.J. Thatcher, T. Kassa, M. Binelli, P.J. Hansen, P.J. Chenoweth, and W.W. Thatcher. 1999. Efficacy of timed embryo transfer with fresh and frozen in vitro produced embryo to increase pregnancy rates in heat-stressed dairy cattle. J. Dairy Sci. 82(11): 2369-2376.

Hansen, P.J., F.D. Jonson, and J. Block. 2004. Embryo transfer that works: Embryo transfer as a tool for improving fertility during heat stress. Proceedings 2004 Florida Dairy Reproduction. University of Florida, Gainesville.

Milam, K.Z., C.E. Coppock, J.W. West, J.K. Lanham, D.H. Nave, R.A. Stermer, and C.F. Bastington. 1986. Effects of drinking water temperature on production responses in lactating Holstein cows in summer. J. Dairy Sci. 69 : 1013.

Paula-Lopes, F.F., C.C. Chase Jr, Y.M. Al-Katanani, C.E. Krininger III, R.M. Rivera, S. Tekin, 2003. Genetic divergence in cellular resistance to heat shock in cattle: differences between breeds developed in temperate versus hot climates in responses of preimplantation embryos, reproductive tract tissues and lymphocytes t increased culture temperatures. Reproduction 125: 285-294.

Rivera, R.M., G.M. Dahlgren, L.A. de Castro Paula, R.T. Kennedy, P.J. Hansen. 2004. Actions of thermal stress in two-cell bovine embryos: oxygen metabolism, glutathione and ATP content, and the time-course of development. Reproduction 128: 33-42.

Younas, M., J.W. Fuquay, A.E. Smith, and A.B. Moore. 1993. Estrous and endocrine response of lactating Holsteins to forced ventilation during summer. J. Diary Sci. 76: 430.