



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)

ปริญญา

เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร

โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การศึกษาวงรอบการเป็นสัดและการจัดการเพื่อการผสมพันธุ์ในแม่ม้าพื้นเมืองไทย

A Study of Estrus Cycle and Breeding Management in Thai Native Crossbred Mares

นามผู้วิจัย นางสาวอารีย์ ไหลกุล

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์อนุชัย ภิญโญภูมิมินทร์, D.Vet.Med.Sc.)

ประธานสาขาวิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสริมศิริ จันทร์เปรม, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ _____ เดือน _____ พ.ศ. _____

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาวงรอบการเป็นสัดและการจัดการเพื่อการผสมพันธุ์ในแม่ม้าพื้นเมืองไทย

A Study of Estrus Cycle and Breeding Management in Thai Native Crossbred Mares

โดย

นางสาวอารีย์ ไหลกุล

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร)

พ.ศ. 2558

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อารีย์ ไหลกุล 2558: การศึกษาวงจรการเป็นสัดและการจัดการเพื่อการผสมพันธุ์ในแม่ม้าพื้นเมืองไทย
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขา
เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษา
วิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์อนุชัย ภิญโญภูมิมินทร์, D.Vet.Med.Sc. 109 หน้า

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา วงจรการเป็นสัด ในด้านการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล เนื้อเยื่อ
ลูเทียลและมดลูก หาหลักการเลือกเวลาที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์และวางแผนการจัดการทางระบบสืบพันธุ์ในแม่ม้า
พื้นเมืองไทย โดยการตรวจระบบสืบพันธุ์ทางทวารหนักด้วยอัลตราซาวด์ ในแม่ม้าพื้นเมืองไทย 9 ตัว จำนวน 11
วงจรและแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต 9 ตัว จำนวน 8 วงรอบ ขนาดของฟอลลิเคิลที่ใหญ่สุดก่อนการตกไข่ของแม่ม้า
พื้นเมืองไทย (37.9 ± 4.6 มม.) มีขนาดเล็กกว่าของแม่ม้าโทโรเบรต (45.4 ± 4.1 มม.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p < 0.01$) แต่ไม่พบความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตของโดมินันท์ฟอลลิเคิลในช่วง 6 วันก่อนการตกไข่ และ
ระยะเวลาของวงจรการเป็นสัดของแม่ม้าพื้นเมืองไทย (23.5 ± 1.8 วัน) กับแม่ม้าโทโรเบรต (22.3 ± 0.9 วัน) แม่ม้า
พื้นเมืองไทยมีจำนวนของฟอลลิเคิลขนาดมากกว่า 10 มม. ในชุดของฟอลลิเคิล (2.7 ± 1.2 ฟอลลิเคิล) น้อยกว่าโท
โรเบรต (10 ± 5.1 ฟอลลิเคิล) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) วงจรการเป็นสัด 6 วงรอบของแม่ม้าพื้นเมืองไทย
จำนวน 6 ตัว (6/6 IOIs, 100%) พบการพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นชนิดคลื่นปฐมภูมิที่มีการตกไข่ 1 คลื่น ต่อ 1
วงรอบ แม่ม้า 3 ตัวจาก 6 ตัว (3/6 IOIs, 50%) มีคลื่นทุติยภูมิพัฒนาขึ้นร่วมกับคลื่นปฐมภูมิ โดยการพัฒนาของคลื่น
ฟอลลิเคิลทุติยภูมิเกิดขึ้นก่อนหรือเกิดตามมาภายหลัง ค่าเฉลี่ยวันที่เริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของ
ฟอลลิเคิลในขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิลคือวันที่ 7.3 ± 0.5 ก่อนการตกไข่ โดยฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ 2 ลำดับแรกของ
คลื่นมีขนาดเฉลี่ยเท่ากับ 21.1 ± 1.9 มม. และ 19.7 ± 2.6 มม. การจัดการทางระบบสืบพันธุ์โดยใช้ข้อมูลการ
เปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล เนื้อเยื่อลูเทียลและมดลูกในวงจรการเป็นสัด ในแม่ม้าพื้นเมืองไทยจำนวน 21 ตัว ให้ผล
อัตราการตั้งท้อง 85.7% สรุปได้ว่าการจัดการทางระบบสืบพันธุ์ที่เหมาะสมใช้การล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์ทางทวาร
หนักด้วยอัลตราซาวด์ร่วมกับการจับสัด และเวลาที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์แม่ม้าพื้นเมืองไทย คือ ช่วงที่แม่ม้าแสดง
อาการเป็นสัดโดยการยืนนิ่ง โดมินันท์ฟอลลิเคิลมีขนาด 35 มม. ขึ้นไป และความตึงของผนังฟอลลิเคิลลดลงร่วมกับการ
การลดลงของความตึงตัว ขนาด และการบวมตัวของเยื่อบุมดลูก

คำสำคัญ: แม่ม้าพื้นเมืองไทย วงจรการเป็นสัด คะแนนการบวมตัวของมดลูก เวลาที่เหมาะสมในการผสม
พันธุ์ การเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล

Aree Laikul 2015: A Study of Estrus Cycle and Breeding Management in Thai Native Crossbred Mares. Master of Science (Agricultural Biotechnology),

Major Field: Agricultural Biotechnology, Interdisciplinary Graduate Program.

Thesis Advisor: Associate Anuchai Pinyopummin, D.Vet.Med.Sc. 109 pages

The aims of this study were to investigate the follicular dynamics, characteristic changes of luteal tissue and endometrium during estrus cycle, in attempt to set the optimal breeding time and to impose breeding management in Thai native crossbred mares. Follicular dynamics were studied by transrectal ultrasonography during 11 interovulatory intervals (IOIs) of 9 Thai native crossbred and 8 IOIs of 9 Thoroughbred mares. Maximum diameter of preovulatory follicles was smaller ($p < 0.01$) in Thai native crossbred (37.9 ± 4.6 mm.) than those of Thoroughbred mares (45.4 ± 4.1 mm.), but no significant difference was found in growth rate during 6 days before ovulation. The IOI was not significant difference between Thai native crossbred (23.5 ± 1.8 days) and Thoroughbred mares (22.3 ± 0.9 days). Thai native crossbred had fewer ($p < 0.01$) follicles (≥ 10 mm.) per ovulatory wave (2.7 ± 1.2) than those of Thoroughbred mares (10 ± 5.1). In 6/6 (100%) IOIs in Thai native crossbred mare, the follicular waves were major ovulatory waves which 50% of the waves had minor waves emerging before or after the major waves. Day of deviation was found to be $D -7.3 \pm 0.5$ (mean $\pm$ SD.) when the mean diameter of the two largest follicles were 21.1 ± 1.9 mm. and 19.7 ± 2.6 mm. (Day 0 = ovulation). The breeding protocol according to follicular, luteal and endometrial dynamics during the estrus cycle was applied to 21 Thai native crossbred mares, resulting in 85.7% conception rate. In conclusion, the optimal breeding management requires transrectal palpation, ultrasonography, and heat detection. The optimal breeding time indicator consist of; time to show standing heat, softening of the dominant follicle with ≥ 35 mm. in diameter, decreasing tone of the uterus, and decreasing edematous of the endometrial folds.

Keywords: Thai native crossbred mare, estrus cycle, optimal breeding time, follicular dynamics, endometrial echotexture score

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อนุชัย ภิญโญภูมิมินทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้คำปรึกษา
แนะแนวทางในการปฏิบัติงาน และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ทั้งได้ให้ความรู้
อบรมสั่งสอน ช่วยเหลือทั้งด้านการเรียน และด้านอื่นๆ

ขอขอบพระคุณ Dr.Carla L.Carleton สำหรับคำปรึกษา แนะนำ การจัดเตรียมต้นฉบับเพื่อ
การตีพิมพ์

ขอขอบคุณอย่างยิ่ง แก่ สพ.ญ.สุภารัตน์ อมรศักดิ์ อ.สพ.ญ.ดร.ชนิษฐา เพชรอุดมสินสุข
สพ.ญ.สุชมาล พฤกษ์อุดม และ บุคลากรหน่วยคลินิกม้า โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดนครปฐม ที่ให้
ความช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขต
กำแพงแสน จังหวัดนครปฐม และคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ได้ช่วยเหลือ
ทุนการศึกษา และสนับสนุนด้านการวิจัย

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบคุณเจ้าของม้าทุกท่าน ม้าทุกตัวที่ร่วมเป็นแรงบันดาลใจในการ
ทำงานของข้าพเจ้า หลายคนเป็นครูที่ดีแก่ข้าพเจ้า ให้โอกาสได้เรียนรู้ถึงธรรมชาติของม้าไทย

อารีย์ ไหลกุล
ธันวาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำอธิบายสัญลักษณ์ และคำย่อ	(5)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	36
ผลและวิจารณ์	44
ผล	44
วิจารณ์	74
สรุปและข้อเสนอแนะ	81
สรุป	81
ข้อเสนอแนะ	83
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	84
ภาคผนวก	99
ภาคผนวก ก แบบฟอร์มจดบันทึกผลการตรวจด้วยอัลตราซาวด์	100
ภาคผนวก ข ระดับคะแนนของการบวมน้ำของเยื่อหุ้มดลูก และการจับสัตว์	102
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	109

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงข้อมูลแม่ม้า สายพันธุ์พ่อม้าและประเภทการผสมพันธุ์	43
2	ค่าเฉลี่ยขนาดของ F1 และ F2 ก่อนการตกไข่	49
3	แสดงค่าเฉลี่ย (mean±SD.) วันและขนาดของฟอลลิเคิลที่เกิด deviation ที่มีการระบุติดตาม (follicle identity) และไม่ติดตาม(without day by day identity)	50
4	แสดงรายละเอียดในคลิ่นฟอลลิเคิลที่พบในวงรอบการเป็นสัดของแม่ม้าพื้นเมืองไทย	52
5	แสดงค่าเฉลี่ย (mean±SD) ระยะเวลา ขนาดของฟอลลิเคิล อัตราการเจริญเติบโต และจำนวนของฟอลลิเคิลในคลิ่น ของแม่ม้าพื้นเมืองไทยและแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต	69
6	แสดงผลการผสมพันธุ์และพฤติกรรมการเป็นสัด ของแม่ม้าจำนวน 21 ตัว	73
7	แสดงค่าเฉลี่ย (mean±SD) ระยะเวลา ขนาดของฟอลลิเคิล อัตราการเจริญเติบโต และจำนวนของฟอลลิเคิลในชุด ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย แม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต(TB) มินิเอเจอร์โพนี่ โพนี่ใหญ่ และม้าพันธุ์บริตัน จำนวน 9, 8, 11, 12 และ 12 ตัวอย่าง ตามลำดับ	76
8	แสดงค่าเฉลี่ย ขนาดของฟอลลิเคิล 5 ลำดับแรก ที่ไม่มีการติดตาม(follicle identity) ช่วงก่อนตกไข่ 7 วัน	79
ตารางผนวกที่		หน้า
ก1	แบบฟอร์มจดบันทึกผลการตรวจด้วยอัลตราซาวด์	101

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ร้อยละของแม่ม้าที่มีการตกไข่ในแต่ละเดือน	7
2	ระดับฮอร์โมนในวงจรรอบการเป็นสัดของม้า	15
3	ตัวอย่างคลื่นของฟอลลิเคิลที่พบในวงจรรอบการเป็นสัดของแม่ม้า 4 ตัว	16
4	สมมุติฐานขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิล	18
5	การพบฟอลลิเคิลที่มีขนาดที่สามารถเข้าถึงจุดเปลี่ยนได้ก่อนโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล	19
6	สมมุติฐานขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิลในแม่ม้า	23
7	ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางฟอลลิเคิล 6 ลำดับและ ความเข้มข้นของฮอร์โมน FSH, LH และ estradiol	24
8	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮอร์โมน FSH, LH, estradiol และ progesterone ในช่วงใกล้การตกไข่	27
9	ภาพอัลตราซาวด์ของฟอลลิเคิลก่อนการตกไข่ของแม่ม้า	29
10	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของฟอลลิเคิลช่วงก่อนการตกไข่ของแม่ม้า ในรูปแบบสัญญาณสีของการหมุนเวียนเลือด	30
11	ภาพอัลตราซาวด์ของฟอลลิเคิลใกล้การตกไข่ของแม่ม้า 3 ตัว	31
12	ภาพอัลตราซาวด์รังไข่ขณะเกิดการตกไข่และ การขับออกแบบปกติ	33
13	ค่าเฉลี่ยจำนวนของฟอลลิเคิลทั้งหมด ที่มีขนาดใหญ่กว่า 10 มม.	45
14	ค่าเฉลี่ยจำนวนของฟอลลิเคิล ใน 3 กลุ่ม	46
15	ค่าเฉลี่ยขนาดของฟอลลิเคิล 5 ลำดับแรก ที่พบในแต่ละวันของวงจรรอบการเป็นสัด	47
16	แสดงวันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลสองลำดับแรก	48
17	สถานะการพัฒนาทุกฟอลลิเคิลในวงจรรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 1	54
18	สถานะการพัฒนาทุกฟอลลิเคิลในวงจรรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 2	56
19	สถานะการพัฒนาทุกฟอลลิเคิลในวงจรรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 3	58
20	สถานะการพัฒนาทุกฟอลลิเคิลในวงจรรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 4	60
21	สถานะการพัฒนาทุกฟอลลิเคิลในวงจรรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 5	62
22	สถานะการพัฒนาทุกฟอลลิเคิลในวงจรรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 6	64
23	ค่าเฉลี่ยจำนวนฟอลลิเคิลที่พบในลำดับวันของวงจรรอบการเป็นสัด	65

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
24	ค่าเฉลี่ยจำนวนฟอลลิเคิลขนาด (mean±SD.) 12±1.4 มม.ในลำดับวันของวงรอบการเป็นสัด จำนวน 6 วงรอบ ของแม่ม้าพื้นเมืองไทยจำนวน 6 ตัว	66
25	แสดงค่าเฉลี่ย ขนาดของ preovulatory follicles ช่วง 6 วันก่อนการตกไข่ ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย (n=12) และแม่ม้า Thoroughbred (n=8)	68
26	ค่าเฉลี่ยขนาดของ CL (มม.) ของแม่ม้าพื้นเมืองไทยจำนวน 6 ตัว	70
27	ค่าเฉลี่ยระดับการบวมน้ำของชั้นเยื่อBUMDลูกในแม่ม้าพื้นเมืองไทย จากการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ (n=5)	71
ภาพผนวกที่		หน้า
ข1	คะแนนการบวมน้ำของเยื่อBUMDลูกระดับ 0	103
ข2	คะแนนการบวมน้ำของเยื่อBUMDลูกระดับ 1	103
ข3	คะแนนการบวมน้ำของเยื่อBUMDลูกระดับ 2	104
ข4	คะแนนการบวมน้ำของเยื่อBUMDลูกระดับ 3	104
ข5	ภาพอัลตราซาวด์ของรังไข่	105
ข6	ภาพอัลตราซาวด์ของ Corpus Hemorrhagicum	105
ข7	ภาพอัลตราซาวด์ของ Corpus Luteum ในช่วงต้น luteal phase	106
ข8	ภาพอัลตราซาวด์ของ Corpus Luteum ในช่วงท้าย luteal phase	106
ข9	แสดงวิธีการจับสัด	107
ข10	อาการเป็นสัด ยกหาง ขับปัสสาวะ	107
ข11	อาการเป็นสัด การบีบตัวของกล้ามเนื้อปมกระสัน และอาการยืนนิ่ง	108

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CH	=	corpus hemorrhagicum
CL	=	corpus luteum
E2	=	estrogen
FSH	=	follicle stimulating hormone
GnRH	=	gonadotrophin releasing hormone
hCG	=	human chorionic gonadotrophin
IGF-1	=	insulin-like growth factor-1
IGFBPs	=	insulin-like growth factor binding protein
IOI	=	interovulatory interval
LH	=	luteinizing hormone
P4	=	progesterone
PGF _{2α}	=	prostaglandin F _{2α}
VEGF	=	vascular endothelial growth factor

การศึกษาวงจรการเป็นสัดและการจัดการเพื่อการผสมพันธุ์ในแม่ม้าพื้นเมืองไทย

A Study of Estrus Cycle and Breeding Management in Thai Native Crossbred Mares

คำนำ

ม้าพื้นเมืองของประเทศไทยจัดเป็นม้าขนาดเล็ก (small pony) ถูกเรียกว่า ม้าแกลบ มีความสูงประมาณ 100-130 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 120-250 กิโลกรัม มีร่างกายแข็งแรง ทนทานต่อโรคและภาวะความเจ็บป่วย มีกีบและโครงสร้างร่างกายที่แข็งแรง นิสัยดี ไม่ดุร้าย ง่าย ไม่ตื่นตกใจง่าย เลี้ยงดูง่าย มีความทนทานต่อสภาพการเลี้ยงดู ภูมิประเทศ ภูมิอากาศ สภาพแวดล้อมของประเทศไทย ลักษณะภายนอกของม้าพื้นเมืองไทยบางลักษณะเหมือนกับม้าป่ามองโกเลีย Przewalski เช่น สีลาน (Dun color) มีแถบหลัง (dorsal stripe) มีสีนวลถึงขาวบริเวณรอบปาก ดวงตา และใต้ท้อง หัวโต ลำตัวสั้น หนา ขนแผงคอดำ ตั้ง ม้าพื้นเมืองไทยมีลักษณะเหมือนกับประชากรม้าพื้นเมืองในประเทศแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปัจจุบันยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับที่มาและสายพันธุ์ของม้าพื้นเมืองในประเทศไทย มีเพียงผลการวิจัยเบื้องต้นที่ยังไม่ได้ตีพิมพ์โดยห้องปฏิบัติการทางพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนียเดวิส ได้ยืนยันว่า ม้าพื้นเมืองไทย เป็นสายพันธุ์โบราณ เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ไม่ใช่สายพันธุ์ที่มนุษย์สร้างขึ้น การวิจัยได้มีผลสำเร็จในการค้นพบหลักฐานที่เป็น เครื่องหมายทางพันธุกรรมที่แสดงถึงสายพันธุ์ม้าพื้นเมืองไทย ซึ่งการสำรวจสายพันธุ์เพื่อค้นหาที่มา และความเกี่ยวเนื่องกับม้าอื่นๆในทวีปเอเชีย จะเป็นหลักฐานทางประวัติศาสตร์และความเกี่ยวเนื่องของชนชาติต่างๆในทวีปเอเชียมีผลเชื่อมโยงอารยธรรมของคนไทยและต่างชาติในอดีตม้าพื้นเมืองไทยถูกใช้เป็นสัตว์พาหนะเพื่อการเดินทางในท้องถิ่นทุรกันดาร บรรทุกสิ่งของ สัมภาระในลักษณะสัตว์ต่าง ปัจจุบันถูกใช้งานประเภทต่างๆ เช่น ใช้เพื่อลากรถม้า ใช้ขี่เพื่อสันทนาการตามชายหาดหรือขี่ท่องเที่ยวตามภูมิประเทศ กีฬาขี่ม้าเอ็นดูแรนซ์และกีฬาขี่ม้าอ้อมถึง พิธีบวชนาคและพิธีกรรมทางศาสนาอื่นๆเช่น งานทอดกฐินทอดผ้าป่า จากสภาวะการเปลี่ยนแปลงทางเศรษฐกิจ สังคมและการดำเนินชีวิตของประชาชน มีการใช้งานม้าพื้นเมืองไทยลดลงและถูกทดแทนด้วยยานพาหนะอื่นๆส่งผลต่อการลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วของประชากรม้าไทย ปี พ.ศ. 2550 กรมปศุสัตว์ รายงานจำนวนประชากรม้าในประเทศไทยมีเท่ากับ 5,629 ตัว ซึ่งประกอบด้วยม้าพื้นเมืองไทยและม้ากีฬาพันธุ์แท้เป็นกลุ่มประชากรหลัก ม้าเทศสายพันธุ์ต่างๆ ถูกนำเข้าจากต่างประเทศเป็นจำนวนมาก เกษตรกรผู้เลี้ยงม้านิยมทำการคัดเลือกม้าพื้นเมืองไทยที่มีลักษณะดีไปปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ม้าลูกผสมที่ได้รับการถ่ายทอดคุณสมบัติที่ดีจากม้าพื้นเมืองไทยและได้ลักษณะที่เหมาะสม

ต่อลักษณะงานจากน้ำพันธุ์อื่น เช่น ขนาดร่างกายเหมาะสมกับลักษณะงาน เลี้ยงดูง่าย ทนทานต่อโรค และมีกีบที่แข็งแรง ลดความเสี่ยงต่อความเสียหายทางเศรษฐกิจจากการเลี้ยงม้าใหญ่ หรือการที่ม้าที่ถูกนำเข้ามาจากต่างประเทศไม่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพการเลี้ยงดูในประเทศไทยได้ ด้วยเหตุที่การเปลี่ยนพฤติกรรมและการเลี้ยงการเพาะพันธุ์ม้าของเกษตรกร ความนิยมในการซื้อม้าลูกผสมขนาดกลางและม้าเทศพันธุ์แท้จากต่างประเทศ ส่งผลกระทบโดยตรงต่อการลดลงของจำนวนประชากรและคุณภาพการปฏิบัติบำรุงการดูแลม้าพื้นเมืองไทย ทั้งๆที่ม้าพื้นเมืองไทยอาจเป็นสายพันธุ์ม้าเลี้ยงสายพันธุ์หนึ่งที่สำคัญ เป็นมรดกทางธรรมชาติอย่างหนึ่งของโลก ที่สมควรได้รับการอนุรักษ์สายพันธุ์ไว้อย่างเป็นรูปธรรมในประเทศไทย

การคัดเลือกม้าพื้นเมืองไทยและการปรับปรุงพันธุ์ จำเป็นที่จะต้องข้อมูลและองค์ความรู้ทางระบบสืบพันธุ์ แต่พบว่ามีการศึกษาเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ของแม่ม้าพื้นเมืองไทยน้อยมากดังนั้นจึงมีความจำเป็นในการวิจัยครั้งนี้เพื่อให้ได้องค์ความรู้ที่สามารถนำไปใช้เป็นค่าอ้างอิง การตรวจวินิจฉัยสุขภาพระบบสืบพันธุ์ การศึกษาค้นคว้าวิจัยด้านเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการผสมพันธุ์ และการอนุรักษ์ม้าพื้นเมืองไทยต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษารอบการเป็นสัด ในด้านการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล เนื้อเยื่อลูเทียลในรังไข่ และลักษณะของเยื่อบุมดลูก
2. เพื่อหาหลักการเลือกเวลาที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์และแนวทางการจัดการทางระบบสืบพันธุ์



การตรวจเอกสาร

ฤดูผสมพันธุ์ของม้า (reproductive seasonality)

ม้าเป็นสัตว์ที่ผสมพันธุ์เป็นฤดูกาล (seasonal breeder) โดยที่ระบบสืบพันธุ์จะทำงานในช่วงฤดูที่มีช่วงแสงยาว (long-day breeder) นอกจากอิทธิพลความยาวแสงของวันแล้วปัจจัยจากภายนอกอื่นๆ เช่น อายุ สถานะภาพทางระบบสืบพันธุ์ อุณหภูมิ ความอุดมสมบูรณ์ของแหล่งอาหาร คะแนนร่างกาย จะมีอิทธิพลต่อภาวะแห่งฤดูทางระบบสืบพันธุ์ของม้า เมื่อเข้าสู่ช่วงฤดูหนาว ช่วงเวลากลางวันสั้นอุณหภูมิหนาวเย็น การทำงานของระบบสืบพันธุ์ของม้าส่วนใหญ่ก็จะหยุดพักในประเทศฝั่งซีกโลกเหนือ ฤดูผสมพันธุ์ (ovulatory season หรือ physiologic breeding season) ของแม่ม้า จะอยู่ในช่วงที่มีช่วงเวลากลางวันยาวในเดือนพฤษภาคมถึงเดือนตุลาคมของปี ขณะที่เดือนพฤศจิกายนถึงเดือนมีนาคม เป็นช่วงเดือนที่มีกลางวันสั้น พบว่าประมาณ 85% ของแม่ม้า ในช่วงเดือนนี้มีวงรอบการเป็นสัดไม่ชัดเจนหรือไม่ตกไข่ ช่วงนี้ถูกจัดเป็น ฤดูที่ไม่มีการตกไข่ (anovulatory season) ในแม่ม้าที่ผ่าตัดต่อมไพเนียล (pineal gland) ออก การทำงานของระบบสืบพันธุ์ของม้ายังคงหมุนเวียนครบวงจรตามรอบหนึ่งปี เพียงแต่ไม่สัมพันธ์กับถิ่นที่อยู่และฤดูกาล บ่งชี้ว่าการเปลี่ยนแปลงการทำงานของระบบสืบพันธุ์ตามฤดูกาล ถูกขับเคลื่อนโดยระบบควบคุมรอบการทำงานภายในร่างกายที่เกิดตามถิ่นที่อยู่อาศัยภายใต้อิทธิพลของ ความยาวแสง (Grubbaugh *et al.*, 1982) เป็นที่ทราบกันทั่วไปมานานแล้วว่า หากจัดการให้แม่ม้าได้รับแสงยาวนานขึ้น ปรับการจัดการทางโภชนาการเพิ่มคะแนนร่างกายให้เหมาะสมและเพิ่มอุณหภูมิแวดล้อมให้สูงขึ้นต่างจากฤดูหนาว จะส่งผลต่อ การเข้าสู่การทำงานทางระบบสืบพันธุ์ของแม่ม้าได้เร็วขึ้น และการศึกษาเพิ่มเติมเป็นการยืนยันได้ว่าเป็นการควบคุมของกลไกจาก Hypothalamic-pituitary-gonadal axis เริ่มจาก การกระตุ้นของแสงที่เซลล์รับแสงบริเวณจอประสาทตา การผลิตและหลั่งฮอร์โมนเมลาโตนิน (melatonin) และสารสื่อประสาทประสาท เช่น opioids และ catecholamines (Nagy *et al.*, 2000) ระดับฮอร์โมน follicle stimulating hormone (FSH) ในกระแสเลือดและในต่อมพิทูอิทารี (pituitary gland) ซึ่งมีระดับคงที่ตลอดปี ระดับฮอร์โมน luteinizing hormone (LH) ที่มีระดับสูงสุดในช่วงฤดูร้อน ต่ำสุดในฤดูที่ไม่มีการตกไข่ และเกือบจะตรวจไม่พบในฤดูหนาว (Alexander and Irvine, 1986) อย่างไรก็ตามพบได้ว่าประมาณ 30% ของม้ากีฬาและม้าแข่งสามารถมีวงรอบการเป็นสัดได้ตลอดปี (Aurich, 2011)

ฤดูที่ไม่มีการตกไข่ (anovulatory season)

การเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลในฤดูที่ไม่มีการตกไข่

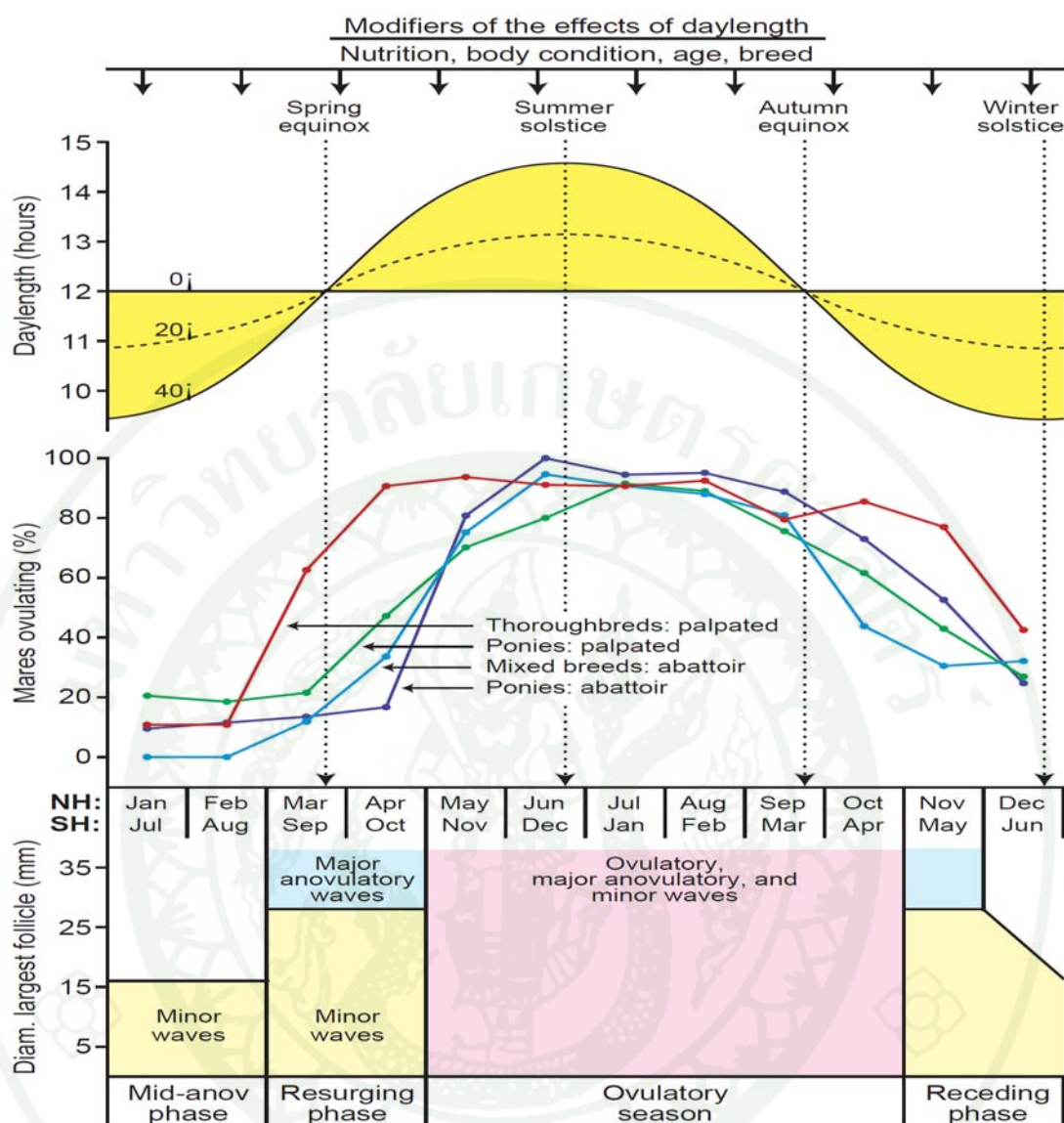
ฤดูที่ไม่มีการตกไข่ แบ่งออกได้เป็น 3 ช่วง ประกอบด้วย ช่วงแรกเป็น ช่วงลดการพัฒนาของฟอลลิเคิล จะเกิดขึ้นสัมพันธ์กับช่วงฤดูใบไม้ร่วง ก่อนเข้าสู่ฤดูหนาว (receding phase หรือ fall transition) เกิดหลังจากผ่านฤดูที่มีการตกไข่ ในฤดูร้อน รังไข่มีการพัฒนาฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ขึ้นมาได้แต่ไม่เกิดการตกไข่ ช่วงที่สองเป็น ช่วงลดหรือหยุดพักการพัฒนาฟอลลิเคิล (inactive phase) หรือช่วงกลางของฤดูที่ไม่ตกไข่ (mid-anovulatory phase หรือ deep anestrus) มักเกิดขึ้นในฤดูหนาว ช่วงนี้ในรังไข่ส่วนใหญ่จะพบฟอลลิเคิลขนาดเล็ก ฟอลลิเคิลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-20 มม. มีจำนวนน้อยมาก และช่วงที่สาม เป็นช่วงที่ปรับสภาพออกจากระยะหยุดพักเริ่มมีการพัฒนาฟอลลิเคิลมากขึ้น ซึ่งมักจะเกิดในฤดูใบไม้ผลิ (resurging phase หรือ spring transition) (Ginther, 1992) (ภาพที่ 1)

ในรังไข่ของแม่ม้าที่อยู่ในวัยเจริญพันธุ์จะมีฟอลลิเคิลที่กำลังเจริญ (growing follicle) อยู่ประมาณ 100 ฟอลลิเคิลและไพรมอดีลฟอลลิเคิล (primordial follicle) หรือ pre-antral follicle ประมาณ 36,000 ฟอลลิเคิล ที่สามารถจะพัฒนาไปเป็น antral follicle ที่ขนาดตั้งแต่ 0.3 มม. (Driancort *et al.*, 1982) การวิจัยที่นำฮอร์โมนมาใช้เพื่อปรับเปลี่ยนการทำงานของรังไข่ในช่วงฤดูที่ไม่มีการตกไข่ แล้วพบว่าให้ผลแตกต่างกันนั้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ สถานะของฟอลลิเคิล ณ ขณะนั้นๆ บ่งชี้ว่า กลไกในระดับรังไข่ (local ovarian mechanisms) มีส่วนสำคัญในการควบคุมการพัฒนาฟอลลิเคิล การตอบสนองต่อ trophic stimuli จาก Hypothalamus-pituitary axis (Watson and Al-zi'abi, 2002; Watson *et al.*, 2004a; Acosta *et al.*, 2004a)

การศึกษาในช่วงลดการพัฒนาของฟอลลิเคิล ซึ่งผ่านจากฤดูผสมพันธุ์ออกมา พบว่าการพัฒนาฟอลลิเคิลได้ฟอลลิเคิลที่มีขนาดเล็กลง แต่ในรังไข่ยังคงพบฟอลลิเคิลอยู่เป็นจำนวนมาก (Snyder *et al.*, 1997) พบฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่กว่า 25 มม. คงค้างนาน 1 เดือนหลังจากการตกไข่ครั้งสุดท้ายไปก่อนหน้านี้ (Nequin *et al.*, 2000) และพบแม่ม้า 2 ตัวจาก 6 ตัว มีการพัฒนาฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่ ≥ 28 มม. คงค้างอยู่หลังจากผ่านการตกไข่ครั้งสุดท้าย ขณะที่แม่ม้า 4 ตัวที่เหลือลดการพัฒนาฟอลลิเคิลลงอย่างชัดเจน สำหรับฟอลลิเคิลที่พบมีขนาด ≤ 25 มม. และคงลดการพัฒนาต่อเนื่องให้ค่าเฉลี่ยขนาดฟอลลิเคิลที่ประมาณ 16 มม. ในฤดูหนาว (Ginther *et al.*, 2003a)

การล้วงตรวจแม่ม้าด้วยอัลตราซาวด์ในช่วงลดหรือหยุดพักการพัฒนาฟอลลิเคิล ที่ปลายเดือนมกราคมซึ่งเป็นฤดูหนาว ในประเทศเขตขั้วโลกเหนือ พบการพัฒนาของฟอลลิเคิลต่ำมาก ขนาดฟอลลิเคิลที่พบไม่เกิน 21 มม. โดยเฉลี่ยพบฟอลลิเคิลที่มีขนาด 15 มม. และค่าเฉลี่ยจำนวนฟอลลิเคิลในแต่ละวันที่มีขนาด 15 มม. อยู่ที่ 2 ฟอลลิเคิล การพัฒนาของฟอลลิเคิลในรังไข่คงอยู่ในระดับต่ำเป็นระยะเวลานาน ต่อมาพบว่าแม่ม้ากลุ่มนี้เริ่มมีการพัฒนาของฟอลลิเคิลเพิ่มขึ้น มีค่าเฉลี่ยจำนวนฟอลลิเคิลในแต่ละวันที่มีขนาด 15 มม. อยู่ที่ 9 ฟอลลิเคิล โดยมีขนาดฟอลลิเคิลเกิน 21 มม. ถูกพัฒนาขึ้นมาได้บ้าง ค่าเฉลี่ยวันที่เริ่มมีการพัฒนาของฟอลลิเคิลเพิ่มขึ้น จนพบว่าการตกไข่ เท่ากับ 54 วัน (Donadue and Ginther, 2002a)

ในช่วงที่มีการพัฒนาฟอลลิเคิลมากขึ้น จะพบการพัฒนาฟอลลิเคิลแบบคลื่น (follicular wave) ชนิดคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่ฟอลลิเคิลไม่สามารถพัฒนาต่อจนถึงการตกไข่ (major anovulatory wave) เช่น แม่ม้า 8 ตัวจาก 14 ตัว มีการพัฒนาฟอลลิเคิลขนาด ≥ 38 มม. จำนวน 1 ถึง 3 ฟอลลิเคิล ในช่วงเวลาทุกๆ 10 วัน ก่อนที่จะเริ่ม เข้าฤดูที่มีการตกไข่ (Ginther, 1990) แม่ม้า 9 ตัวจาก 10 ตัว พัฒนาฟอลลิเคิลขนาด ≥ 30 มม. จำนวนเฉลี่ย 3.7 ฟอลลิเคิล ในช่วงเวลาทุกๆ 9.9 วัน (Watson *et al.*, 2002b) และโพนี่ 3 ตัว จาก 8 ตัว พัฒนาฟอลลิเคิลขนาด ≥ 30 มม. จำนวน 1 ฟอลลิเคิลขณะที่เหลือ 5 ตัว มีการพัฒนาฟอลลิเคิลขนาด 23-29 มม. (Donadue and Ginther, 2002a)



ภาพที่ 1 ร้อยละของแม่ม้าที่มีการตกไข่ในแต่ละเดือน

หมายเหตุ จากการตรวจรังไข่แม่ม้าหลายสายพันธุ์จำนวนมากหลายพันตัวอย่างจากโรงฆ่า (Osborne, 1966) พันธุ์ผสมและโพนี่ (Wesson and Ginther, 1981a) และจากการล้วงตรวจแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรตและโพนี่ (data courtesy of D. C. Sharp, University of Florida). การเปลี่ยนแปลงของความยาวแสงใช้ตำแหน่ง 0°, 20°, และ 40° latitudes. ในฤดูที่ไม่มีการตกไข่ได้แสดงขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโดยประมาณของฟอลลิเคิลใบที่ใหญ่ที่สุด พบคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิ (minor waves) พัฒนาในช่วงกลางของฤดูที่ไม่มีการตกไข่ และช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิล ฟอลลิเคิลใบใหญ่ที่สุดของช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิ

เซลล์มีขนาดใหญ่กว่าช่วงกลางของฤดูที่ไม่มีการตกไข่ รอยต่อระหว่าง 2 ช่วงฤดูนี้ถูกตัดออกไป แม้ม้าหลายตัวมีการพัฒนาจากคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิ เข้าสู่ คลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิแต่ไม่เกิดการตกไข่ (major anovulatory wave) ในช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิลที่เข้าใกล้ฤดูที่มีการตกไข่ ช่วงที่เข้าสู่ การลดการพัฒนาของฟอลลิเคิล สามารถพบ คลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิแต่ไม่เกิดการตกไข่ ได้บ้าง

ที่มา: Ginther *et al.*, 2004a

การควบคุมจากต่อมไร้ท่อต่อการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลในฤดูที่ไม่มีการตกไข่ (Endocrine control of follicular growth during the anovulatory season)

ระดับฮอร์โมน FSH มีอิทธิพลต่อการพัฒนาของฟอลลิเคิลของรังไข่ในทุกฤดู แต่จากงานวิจัยพบว่า การเปลี่ยนแปลงระดับการพัฒนาของฟอลลิเคิลใน 3 ช่วงของฤดูที่ไม่มีการตกไข่ ไม่สัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของ FSH ในกระแสเลือด (Donadue and Ginther, 2002a; Ginther *et al.*, 2003b) แต่พบว่ามีผลสอดคล้องกับระดับความเข้มข้นของ LH การลดระดับการสังเคราะห์ LH ในฤดูหนาว (Sylvia *et al.*, 1986, 1987) การเพิ่มความถี่ในการหลั่ง LH ในช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิล (Bergfelt *et al.*, 2001) ค่าเฉลี่ยระดับความเข้มข้นของ LH ที่พบได้ในช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิลช่วยยืนยันอิทธิพลของ LH ต่อการพัฒนาฟอลลิเคิลในฤดูที่ไม่มีการตกไข่ (Snyder *et al.*, 1979; Nequin *et al.*, 2000; Donadue and Ginther, 2003b, 2004; Ginther *et al.*, 2003b) การพบระดับ LH ที่สูงขึ้นในช่วงท้ายของในช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิล (Acosta *et al.*, 2004a) ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของตัวรับ LH ที่ชั้น theca cell และ granulosa cell ของฟอลลิเคิลใบที่พร้อมเกิดการตกไข่เมื่อเปรียบเทียบกับฟอลลิเคิลที่เจริญค้างอยู่เป็นระยะเวลานานในช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิลของฤดูที่ไม่มีการตกไข่ (Watson *et al.*, 2004b) บ่งบอกได้ว่าระดับฮอร์โมน LH มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลและความสมบูรณ์ของมีดักยภาพที่พร้อมเกิดการตกไข่

Dopamine ในน้ำไขสันหลังเพิ่มระดับสูงขึ้นใน ฤดูที่ไม่มีการตกไข่ (Melrose *et al.*, 1990) การให้ dopamine antagonists มีผลเพิ่มการพัฒนาของฟอลลิเคิลได้ในช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิลแต่ไม่มีผลในช่วงกลางการพักการพัฒนาฟอลลิเคิล (Besognet *et al.*, 1997; Bennett-Wimbush *et al.*, 1998; Brendemuehl and Cross, 2000; Daels *et al.*, 2000; Donadue and Thompson, 2002) ขณะที่การให้ dopamine agonist สามารถยับยั้งการพัฒนาของฟอลลิเคิลได้ในช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิล (Bennett-Wimbush *et al.*, 1998) การพบ dopamine

receptor type 1 และ 2 ที่รังไข่ (King *et al.*, 2005) ช่วยป้องกันการตอบสนองของรังไข่เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงระดับ dopamine

การหลั่ง Prolactin ที่ผลิตจากต่อมพิทูอิทารีจะถูกยับยั้งโดย dopamine (Nagy *et al.*, 2000) ในช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิล จะพบระดับ prolactin เพิ่มขึ้น (Johnson, 1986) สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงทางสรีระ การผลิตของไข่เมื่อสิ้นสุดฤดูหนาว (Donadue and Thompson, 2002)

การควบคุมระดับรังไข่ต่อการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลในฤดูที่ไม่มีการตกไข่

ระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรนที่ลดลงในรอบการเป็นสัดต่างๆของฤดูผสมพันธุ์บ่งชี้ถึงการลดศักยภาพในการสร้างสเตียรอยด์ฮอร์โมนของรังไข่ลง (King *et al.*, 1998; Weedman *et al.*, 1993; Nequin *et al.*, 2000) อย่างไรก็ตามในช่วงลดการพัฒนาฟอลลิเคิลของฤดูที่ไม่มีการตกไข่พบฟอลลิเคิล ที่ขนาด ≥ 28 มม. สามารถสังเคราะห์เอสตราไดออลได้ระดับหมุนเวียนในกระแสเลือดสูงกว่าฟอลลิเคิลที่ขนาดเล็ก (Ginther *et al.*, 2003b) การลดลงของเอสตราไดออลต่อเนื่องไปจนถึงระยะการพักการพัฒนาฟอลลิเคิลและช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิล แต่จะเริ่มเพิ่มระดับสูงขึ้นเมื่อเข้าใกล้ช่วงฤดูผสมพันธุ์ (Oxender *et al.*, 1977; Seamans and Sharp, 1982; Donadue and Ginther, 2002a) การวัดระดับเอสตราไดออลจากของเหลวในฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่เท่ากับขนาดที่ตกไข่ในช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิลของฤดูที่ไม่มีการตกไข่ พบว่า มีระดับต่ำ (Sharp *et al.*, 1991; Watson *et al.*, 2002a) ฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่เท่ากับขนาดที่ตกไข่ ในช่วงเริ่มการพัฒนาฟอลลิเคิลของฤดูที่ไม่มีการตกไข่และ ฟอลลิเคิลขนาด 12 มม.จะขาดเอนไซม์ในทุกขั้นตอนหลักของขบวนการสังเคราะห์สเตียรอยด์ฮอร์โมนจึงเป็นเหตุให้มีระดับฮอร์โมนเอสตราไดออล แอนโดรเจน และโปรเจสเตอโรนในช่วงพักการพัฒนาต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเริ่มการพัฒนาของฟอลลิเคิลในฤดูที่ไม่มีการตกไข่และฤดูผสมพันธุ์ (Donadue, 2006) ฮอร์โมน Inhibin จะค่อยเพิ่มสูงขึ้นคู่ขนานไปกับระดับการพัฒนาฟอลลิเคิลที่เพิ่มขึ้นในช่วงเริ่มการพัฒนาของฟอลลิเคิลในฤดูที่ไม่มีการตกไข่ (Donadue and Ginther, 2002a, 2003a) การลดลงของการสังเคราะห์สเตียรอยด์ฮอร์โมนของฟอลลิเคิลในฤดูที่ไม่มีการตกไข่เป็นผลส่วนหนึ่งมาจากการขาด trophic stimuli ที่เป็นตัวกระตุ้นจาก LH (Nequin *et al.*, 2000; Ginther *et al.*, 2003b) การให้ฮอร์โมน human chorionic gonadotropin (hCG) แก่แม่ม้า ฟอลลิเคิล จะสามารถสังเคราะห์เอนไซม์ของขบวนการสร้างสเตียรอยด์ฮอร์โมนได้ (Boerboom *et al.*, 1999; Kerban *et al.*, 1999; Boerboom and Sirois, 2001) และฟอลลิเคิลใบหลักที่พร้อมจะเกิดการตกไข่ของแม่ม้าที่มีวงรอบการเป็นสัดสามารถสร้างและหลั่งฮอร์โมนเอสโตรเจนออกมา เมื่อได้รับการกระตุ้นจากระดับ LH ที่สูงเพียงพอ (Bergfelt *et al.*, 2001) ฮอร์โมนเอสโตรเจนเกี่ยวข้องกับการหลั่ง LH จากต่อมพิทูอิทารี

และยังมีการออกฤทธิ์ข้างเคียงส่งเสริมการเจริญเติบโตและความสมบูรณ์ของฟอลลิเคิล โดยช่วย LH ในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวน granulosa cell ที่ผนังด้านในฟอลลิเคิลในช่วงพัฒนาความสมบูรณ์ของฟอลลิเคิล (follicular maturation) รวมถึงช่วยเหนี่ยวนำการเพิ่มจำนวนตัวรับต่อ LH ที่ฟอลลิเคิล (Drummond, 2006) การที่ฟอลลิเคิลเพิ่มการตอบสนองต่อ gonadotropins การเพิ่มการสังเคราะห์สเตียรอยด์ฮอร์โมน และการเจริญที่สมบูรณ์ของฟอลลิเคิลที่สามารถสร้างและหลั่งฮอร์โมนเอสโตรเจนในระดับที่มากพอจากฟอลลิเคิลใบหลักที่พร้อมจะเกิดการตกไข่ เกิดขึ้นในระยะท้ายของช่วงเพิ่มการพัฒนาของฟอลลิเคิลในฤดูที่ไม่มีการตกไข่ จะเกิดการเหนี่ยวนำ LH surge และเกิดการตกไข่ในที่สุด เป็นการเริ่มเข้าสู่ฤดูผสมพันธุ์

Gonadotrophins และ insulin-like growth factor-1 (IGF-1) กระตุ้นฟอลลิเคิลให้มีการสร้าง vascular endothelial growth factor (VEGF) (Martinez-Chequer *et al.*, 2003; Ginther *et al.*, 2004c, 2005) ฟอลลิเคิลในช่วงเพิ่มการพัฒนาฟอลลิเคิลของฤดูที่ไม่มีการตกไข่ จะมี IGF-1 อยู่ในระดับต่ำซึ่งมีผลต่อการลดลงของการเจริญของหลอดเลือดของฟอลลิเคิลทำให้ไม่เกิดการตกไข่ ระดับการพัฒนาฟอลลิเคิลในฤดูที่ไม่มีการตกไข่ เกิดขึ้นตอบสนองต่อ FSH surge แต่การเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลและความสมบูรณ์จนมีศักยภาพที่พร้อมเกิดการตกไข่ ต้องการ ระดับของ LH และ ปัจจัยอื่นที่สำคัญต่อการพัฒนาของฟอลลิเคิล ซึ่งได้แก่ estradiol, IGF-1, insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs), VEGF และ Inhibins

ฤดูผสมพันธุ์ (ovulatory season หรือ physiologic breeding season)

แม่ม้าจะมีวงจรการเป็นสัดหลายครั้งในฤดูผสมพันธุ์ (seasonal polyestrus) ในช่วงที่สมบูรณ์ที่สุดของฤดูผสมพันธุ์ แม่ม้าจะมีวงจรการเป็นสัดและการตกไข่ การกลับสัดที่สม่ำเสมอ ถ้าหากได้รับการผสมพันธุ์ก็จะเกิดการตั้งท้อง

วงจรการเป็นสัด (Estrus Cycle)

วงจรการเป็นสัดของแม่ม้านานประมาณ 21 วัน จำนวนวันของวงจรการเป็นสัดของม้าจะนับจากช่วงของวันระหว่างการตกไข่สองครั้ง (Interovulatory interval (IOI)) วงจรการเป็นสัดอยู่ในช่วงกว้างได้ระหว่าง 18-24 วัน สายพันธุ์และสถานะทางระบบสืบพันธุ์มีผลต่อวงจรการเป็นสัดของแม่ม้าซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอย่างยิ่ง ($p < 0.01$) ระหว่างกลุ่มแม่ม้าที่กำลังให้นมลูก ซึ่งนาน 21.2 ± 1.8 วัน กับกลุ่มที่ไม่ได้ให้นมลูก ซึ่งนาน 22.8 ± 1.4 วัน นอกจากนี้ยัง

มีความแตกต่างกันระหว่างสายพันธุ์ โดยพบว่าโพนี จะมีวงรอบการเป็นสัดที่ยาวนานกว่าแม่ม้าประมาณ 2 วัน (Heidler *et al.*, 2004)

วงรอบการเป็นสัด ประกอบด้วยช่วง luteal phase หรือ diestrus นาน 14 ถึง 15 วัน ที่มีระยะเวลาค่อนข้างคงที่เสมอ และช่วง follicular phase หรือ estrus ที่ระยะเวลาค่อนข้างมีความผันแปร ระหว่าง 3 ถึง 12 วัน หรือโดยเฉลี่ย 5 ถึง 7 วัน มีระดับ plasma progesterone ≤ 1 ng/ml ในช่วงต้นและท้ายของฤดูผสมพันธุ์ มักพบว่าช่วง follicular phase จะกว้างขึ้นระหว่าง 7 ถึง 12 วัน ขณะที่กลางฤดูผสมพันธุ์ช่วง follicular phase จะสั้นระหว่าง 3 ถึง 4 วัน (Hughes *et al.*, 1975) ทั้งนี้เนื่องจากปัจจัยของตัวแม่ม้า ช่วงฤดูการของปี การสัมผัสใกล้ชิดกับพ่อม้าหรือม้าอื่นๆ (Ginther, 1992) ในช่วง follicular phase หรือ estrus แม่ม้าควรมีพฤติกรรมการเป็นสัด การตกไข่จะเกิดขึ้นก่อนสิ้นสุดการแสดงอาการเป็นสัด 1-2 วัน (Nagy *et al.*, 2000; Ginther, 1992)

พฤติกรรมการเป็นสัด (Estrus Behavior)

ฝูงม้าป่าที่อยู่ตามธรรมชาติ แม่ม้ามีความคุ้นเคยและผูกพันกับพ่อม้าตัวคุมฝูงมากกว่าม้าเลี้ยง แม่ม้าที่มีลำดับสูงในฝูงจะมีผลผลิตที่ดีกว่า มักจะมีลักษณะดีและถูกเลือกโดยพ่อม้ามากกว่าแม่ม้าลำดับถัดไป การเลี้ยงในฟาร์มเมื่อนำพ่อม้าไปล่อเพื่อจับสัดแม่ม้าเลี้ยงอาจไม่มีความสนใจในตัวพ่อม้าตัวล่อนั้นๆอย่างสิ้นเชิง

ลักษณะการแสดงพฤติกรรม การเป็นสัดของแม่ม้า ประกอบด้วย การมีความสนใจต่อพ่อม้า ยอมรับและตอบสนองต่อการกระตุ้นทางเพศ พยายามเข้าหาพ่อม้า เบนส่วนท้ายให้พ่อม้า ยกหางสูง สายหางไปมา ย่อตัวและแยกขาหลังออก ยกเบี่ยงหางเปิดส่วนปากช่องคลอดและบริเวณใกล้เคียง ร่วมกับการบิ๊บและคลายตัวของกล้ามเนื้อที่ยึดต่อมกระสันเพื่อเปิดเผยส่วนต่อมกระสัน ปล่อย ปัสสาวะกระปิบกระปอย ปัสสาวะบ่อยครั้งขึ้นเพื่อปลดปล่อยฟีโรโมน ซึ่งมีผลกระตุ้นพ่อม้าผ่านทางอวัยวะรับกลิ่นในโพรงจมูกของพ่อม้า การแสดงออกทางส่วนหน้าของแม่ม้าโดยกล้ามเนื้อใบหน้าผ่อนคลาย ใบหูหย่นตัวเอียงจากแนวปกติได้ ในทางตรงกันข้ามเมื่อแม่ม้าเข้าสู่ luteal phase แม่ม้าจะหมดความสนใจต่อพ่อม้า เมื่อพ่อม้าเข้าใกล้ แม่ม้าส่งเสียงขู่ ส่งเสียงร้อง ยกขาเตรียมต่อสู้ หรือเตะพ่อม้า ใบหน้าแสดงออกได้ถึงพฤติกรรมก้าวร้าว หน้าตึง ใบหูชี้ไปด้านหลัง และแสดงออกคล้ายจะพุ่งเข้ากัด (Crowell-Davis, 2007) แม่ม้าแต่ละตัวจะมีระดับของการแสดงออก เริ่มจาก ยอมรับระดับอ่อน จนถึงยินยอมมากที่สุด (Hedberg *et al.*, 2007) ในปีค.ศ. 1992 O.J. Ginther ได้รายงานว่ 87% ของแม่ม้าเท่านั้นที่แสดงอาการยืนยกหาง ยอมให้พ่อม้าป้อนขึ้นผสมพันธุ์และเผยต่อมกระสัน และพบลักษณะอาการที่ไม่ปกติ เช่น ส่งเสียงร้อง (34%) เดินหนี (20%) ใบหูชี้ไปด้านหลัง (17%) และเตะ

พอม้า (10%) ทั้งๆที่อยู่ใน follicular phase เมื่อเข้า luteal phase พบอาการเดินหนี (93%) ใบหูชี้ไปด้านหลัง (85%) แกว่งหาง (82%) และ ส่งเสียงร้อง (66%) ขณะที่อีกการศึกษาหนึ่งในปี 2005 พบว่าอาการเป็นสัดโดยแม่ม้ายืนนิ่ง เท่ากับ (51%) และเผยต่อมกระสัน (10%) (Gorecka *et al.*, 2005) พฤติกรรมการแสดงออกของแม่ม้าจะเหมือนเดิมในรอบการเป็นสัดถัดไป ดังนั้นจึงสามารถนำประวัติการแสดงออกมาใช้วางแผนการจัดการผสมพันธุ์ได้ (Ginther, 1992 และ Gorecka *et al.*, 2005) อย่างไรก็ตาม แม่ม้าที่ได้ทำการผ่าตัดรังไข่ออก, แม่ม้าที่อยู่นอกฤดูผสมพันธุ์, ม้าสาวที่ยังไม่เข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ และแม่ม้าตั้งท้อง ก็สามารถแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดได้ (Asa *et al.*, 1980a; Asa *et al.*, 1980b; Asa, 1986; Ginther, 1974; Ginther, 1992; Hayes *et al.*, 1985; Hooper *et al.*, 1993 and Wesson *et al.*, 1981) มีการศึกษา 2 ครั้งถึงภาวะที่แม่ม้าไม่แสดงอาการเป็นสัด (Silent heat) พบว่าเกิดได้ 6% (McCaughey *et al.*, 1973) และ 7.5% (Cummings, 1942) ของวงจรการเป็นสัด ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการที่แม่ม้าเกิดภาวะเครียดระดับรุนแรง (Asa *et al.*, 1983)

การเปลี่ยนแปลงของมดลูกในวงจรการเป็นสัด

การเปลี่ยนแปลงของชั้นเยื่อบุมดลูกในวงจรการเป็นสัด ถูกควบคุมโดย progesterone และ estrogen ร่วมกับ receptors ที่อยู่ที่เซลล์เยื่อบุโพรงมดลูก เซลล์เยื่อบุต่อมในมดลูก และ ในบริเวณถัดจากชั้นเซลล์เยื่อบุโพรงมดลูก ช่วงestrus ของวงจรการเป็นสัด แม่ม้าส่วนใหญ่แสดงอาการเป็นสัด จำนวน receptors ถูกสร้างมากขึ้นเนื่องจากมี estrogen อยู่ในระดับสูง แต่การสร้าง receptors จะลดลงโดยการควบคุมของ progesterone (Hartt *et al.*, 2005) เกิดการบวมน้ำเกิดขึ้นที่ชั้น stratum compactum ของเยื่อบุมดลูกและมีน้ำสะสมในโพรงมดลูกได้ ซึ่งระยะนี้มีระดับ estrogen สูงและ progesterone อยู่ในระดับต่ำ ส่งผลทำให้ปากมดลูกเปิดและการแบนตัวของมดลูกเมื่อตรวจด้วยการล้วงตรวจทางทวารหนักเนื่องจากมดลูกหย่อนตัวลงและการบวมน้ำทำให้น้ำอสุจิของมดลูกนี้ขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับช่วง diestrus ที่น้ำอสุจิค่อนข้างแข็ง

ตามปกติโครงสร้างชั้นเยื่อบุมดลูกจะเป็นรอยพับมีแนววางตัวตามยาวไปกับความยาวของมดลูกมีความสูงเข้าสู่ส่วนกลางของโพรงมดลูก (longitudinal endometrial fold) ในขณะที่มี estrogen สูงในช่วง estrus รอยพับของชั้นเยื่อบุมดลูกจะกว้างขึ้นและเพิ่มความสูงเข้าสู่ส่วนกลางของโพรงมดลูกมากขึ้นเพราะมีการสะสมของน้ำที่ออกมาจากหลอดเลือด การเพิ่มจำนวนของหลอดเลือดและการคั่งของเลือดภายในหลอดเลือด การขยายขนาดของต่อมภายในมดลูกและการสร้างสารคัดหลั่งมากขึ้น

ลักษณะเด่นของมดลูกในช่วงเป็นสัดที่ตรวจพบได้จากการทำการล้างตรวจด้วยอัลตราซาวด์ ในระบบความสว่าง (Brightness mode) คือ การบวมน้ำ ซึ่งสามารถตรวจพบได้โดยง่ายเนื่องจากแต่ ละรอยพับของชั้นเยื่อบุมดลูกที่มีการบวมน้ำเกิดภาพชัดเจนของเนื้อเยื่อส่วนที่ไม่เกิดการบวมน้ำเป็นสี เทาสลับกับส่วนที่บวมน้ำเป็นสีดำ ภาพอัลตราซาวด์มีลักษณะคล้ายล้อเกวียนหรือผลส้มที่ผ่าตามขวาง ซึ่งระดับการบวมน้ำจะสัมพันธ์กับระดับของ estrogen พบการบวมน้ำสูงสุดก่อน 1-2 วันการตกไข่ และค่อยลดลงจนถึงวันตกไข่ ในทางตรงกันข้าม ระยะ diestrus จะพบภาพสีเทาลักษณะเป็นเนื้อ เดียวกันโดยตลอดเนื่องจากเนื้อเยื่อไม่มีการบวมน้ำ (Tunon *et al.*, 1995)

รูปแบบการทำหน้าที่บอกพัดและสร้างสารคัดหลั่งของเยื่อบุมดลูกของแม่ม้าจะเหมือนกันกับ สัตว์ชนิดอื่น ในช่วง estrus เยื่อบุมดลูกสร้างสารคัดหลั่ง ชั้นกล้ามเนื้อมดลูกทำการบีบตัวขับสิ่ง แปรกลปอมซึ่งเป็นกลไกป้องกันของมดลูก เพื่อการกำจัดเชื้อโรคป้องกันการติดเชื้อภายในมดลูก secretory cells ของมดลูกทำหน้าที่ผลิต เก็บและหลั่ง oxytocin ซึ่งเกี่ยวข้องกับการกระตุ้นและ การคงอยู่ของการบีบตัวของมดลูก (Bea and Watson, 2003) เซลล์ที่เคลื่อนตัวเข้าไปในมดลูก เช่น granulocytes ,macrophages ช่วยสนับสนุนกลไกป้องกันของมดลูกหลังการผสมพันธุ์(Tunon *et al.*, 1995)

ในช่วง diestrus มีการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของเซลล์ของมดลูกโดยเกิดการลดจำนวนลงของ secretory cells และการเพิ่มขึ้นของ ciliary cells ซึ่งการเพิ่มขึ้นของ ciliary cells ถึงระดับสูงสุดที่ mid-distrus แล้วค่อยลดจำนวนลงเมื่อเข้าระยะ estrus (Samuel *et al.*,1979)

การควบคุมจากต่อมไร้ท่อต่อวงจรการเป็นสัด (Endocrine regulation of estrus cycle)

การควบคุมวงจรการเป็นสัดเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ที่ละเอียดอ่อนระหว่าง ฮอร์โมน จาก ต่อมไพเนียล สมอส่วนไฮโปทาลามัส ต่อมพิทูอิทารี รังไข่และเยื่อบุมดลูก โดยสมอส่วนไฮโปทา ลามัส หลั่ง gonadotropin-releasing hormone (GnRH) ออกมาเป็น pulses เข้าสู่ hypothalamic-pituitary portal system โดย GnRH เข้าจับกับ receptors ไปกระตุ้นต่อมพิทูอิ ทารี ให้เกิดการสังเคราะห์และการหลั่ง gonadotropins ซึ่งได้แก่ FSH และ LH จำนวน free receptors เป็นตัวกำหนดลักษณะการตอบสนอง การเพิ่มจำนวน free receptors จะเกิดขึ้นเมื่อมี GnRH ที่มีระดับต่ำและการมี estrogen

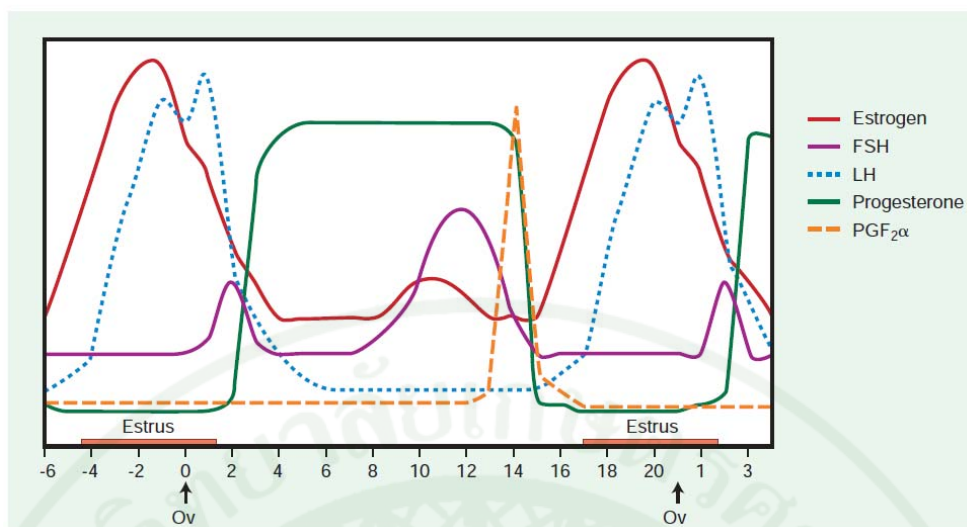
ความถี่ของการหลั่ง GnRH และ กลไกการตอบสนองทางสรีระโดย inhibin estrogen และ progesterone จากรังไข่ เป็นกลไกควบคุมการหลั่ง FSH และ LH ความถี่ของการหลั่ง GnRH ที่

ระดับต่ำจะส่งผลให้เกิดการหลั่ง FSH เช่นในช่วง diestrus ความถี่ของการหลั่ง GnRH ที่ระดับสูงจะส่งผลให้เกิดการหลั่ง LH เช่นในช่วง estrus ขณะที่ระดับ progesterone ต่ำ โดยเฉพาะใกล้วันตกไข่ที่มี estrogen สูง

ถึงแม้ว่ายังไม่มีรายงานยืนยันการพบ steroid receptor ที่ GnRH neurons จึงคาดว่ากลไกการควบคุมการหลั่ง GnRH น่าจะอยู่ที่สมองระดับสูงขึ้นไป ในช่วง diestrus ฮอร์โมน progesterone ร่วมกับ estrogen จะกระตุ้น opioidergic system ยับยั้งการหลั่ง Hypothalamic GnRH ไม่เกิดการปลดปล่อย LH ออกมา ขณะที่ในช่วง estrus ที่ progesterone มีระดับต่ำและ estrogen ที่ยังคงอยู่ในระดับต่ำเช่นเดียวกัน ไม่สามารถไปยับยั้ง การหลั่ง GnRH ได้จึงมีการเพิ่มการหลั่ง LH (Aurich *et al.*, 1995) FSH จะกระตุ้นให้รังไข่เริ่มต้นกระบวนการพัฒนาฟอลลิเคิล ส่วน LH จะกระตุ้นให้เกิด ขบวนการสร้างความสมบูรณ์ของฟอลลิเคิลและเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย การสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนจากฟอลลิเคิล การตกไข่และการสร้างเนื้อเยื่อลูเตียล (Ginther, 1992)

ระดับ progesterone จะเพิ่มสูงขึ้นทันทีขณะตกไข่สูงถึงระดับสูงสุดที่วันที่ 8 หลังการตกไข่ หลังจากนั้นจะค่อยๆ ลดลงจนถึงวันที่มีการสลายเนื้อเยื่อลูเตียล สัมพันธ์กับการเพิ่มจำนวน เซลล์ที่สร้างฮอร์โมนในเนื้อเยื่อลูเตียล ที่เริ่มเพิ่มขึ้นจนถึงช่วง mid-luteal phase และการเพิ่มพื้นที่ของเนื้อเยื่อลูเตียล ที่ตรวจด้วยอัลตราซาวด์ (Roberto da costa *et al.*, 2005; Van Niekerk *et al.*, 1975; Aguilar *et al.*, 2006; Ginther, 2007)

ช่วงท้ายของระยะ diestrus จะเกิดการหลั่งของ oxytocin โดยส่วนใหญ่มาจาก pituitary gland และบางส่วนสร้างจากมดลูก ไปกระตุ้นเซลล์เยื่อบุมดลูกให้สร้างและปลดปล่อย prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) (Bae and Watson, 2003) ผ่านหลอดเลือดดำของมดลูกและเข้าสู่ระบบหมุนเวียนโลหิตส่วนกลาง $PGF_{2\alpha}$ จะเพิ่มขึ้นเป็นลำดับจะอยู่ในระดับสูงประมาณวันที่ 14 ถึง 15 ของวงจรการเป็นสัด ทำให้เกิดการสลายเนื้อเยื่อลูเตียล



ภาพที่ 2 ระดับฮอร์โมนในวงจรการเป็นสัดของม้า

ที่มา: ดัดแปลงจาก Irvine CHG: Endocrinology of the estrous cycle of the mare: applications to embryo transfer, Theriogenology 15:85, 1981; and Neely DP, et al: Equine reproduction , Princeton, NJ, 1983, Veterinary Learning Systems Co.

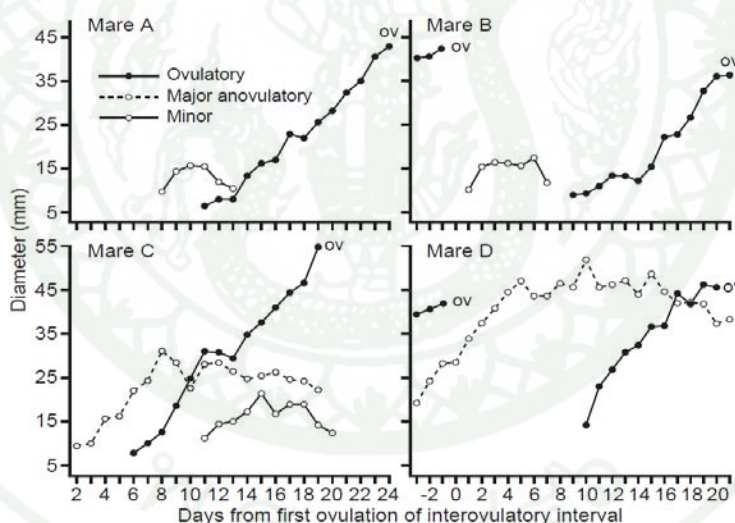
การพัฒนาของฟอลลิเคิลในวงจรการเป็นสัด (Ovarian follicular dynamics during the estrus cycle)

คลื่นฟอลลิเคิล (Follicular wave) หมายถึง กลุ่มฟอลลิเคิลที่ปรากฏขึ้น เจริญเติบโต พร้อมๆกันในวงจรการเป็นสัด หรือเรียกว่า การพัฒนาของฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่น คลื่นฟอลลิเคิลแบ่งออกเป็น คลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ (primary หรือ major follicular wave) และ คลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิ (secondary หรือ minor follicular wave) โดยที่ฟอลลิเคิลใบใหญ่ที่สุดของคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ จะต้องมีความยาว $\geq 28-30$ มม. และในช่วงการพัฒนาของฟอลลิเคิลในคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมินั้นอาจไม่เกิดการตกไข่ จะถูกเรียกว่า major anovulatory wave สำหรับคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิ ฟอลลิเคิลใบใหญ่ที่สุดของคลื่น จะมีขนาดเล็กกว่า 28-30 มม. (Ginther *et al.*, 2004b)

การพัฒนาของฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นในวงจรการเป็นสัดของแม่ม้า ส่วนใหญ่จะพบ 1-2 คลื่น ซึ่งอาจเกิดแบบ 1 คลื่น ใน 1 วงรอบการเป็นสัดหรือ 2 คลื่น ใน 1 วงรอบการเป็นสัดโดยส่วนใหญ่พบคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ เกิดขึ้นกลางวงจรการเป็นสัด (mid-cycle) พัฒนาไปสู่การตกไข่ในระยะท้ายของ follicular phase สัมพันธ์กับพฤติกรรมการเป็นสัด บางครั้งพบว่ามีความถี่ของฟอลลิเคิล

ทุติยภูมิ เกิดพัฒนาขึ้นในช่วงต้นของ luteal phase ภาพที่3 แสดงตัวอย่างชุดของฟอลลิเคิลที่พบใน วงรอบการเป็นสัดของแม่ม้า 4 ตัว แม่ม้า A และ B พบ คลื่นฟอลลิเคิล 2 คลื่น คือ คลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิและคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิ แม่ม้า C พบ คลื่นฟอลลิเคิล 3 คลื่น คือ คลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิ คลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่ไม่สามารถพัฒนาต่อไปจนเกิดการตกไข่และคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่มีการตกไข่ และแม่ม้า D พบ คลื่นฟอลลิเคิล 2 คลื่น คือ คลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่ไม่สามารถพัฒนาต่อไปจนเกิดการตกไข่ และคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่มีการตกไข่

การพัฒนาแบบ 2 คลื่น ในวงรอบการเป็นสัด จะเพิ่มโอกาสให้เกิดการตกไข่มากกว่า 1 ใบ โดยมีฟอลลิเคิลขนาดใหญ่จากคลื่นที่สองคงอยู่ในช่วงต้นของระยะ luteal phase คงอยู่ภายหลังที่มีการตกไข่ครั้งที่ 1 ร่วมกับระดับ LH ที่สูง ทำให้เกิดการตกไข่ครั้งที่ 2 ของรอบการเป็นสัดนั้น การตกไข่ในช่วง luteal phase หรือ diestrus ovulation เป็นลักษณะเฉพาะที่พบได้ในแม่ม้า โดยเฉพาะในสายพันธุ์โทโรเบรต และวอร์มบลัด การพัฒนาของฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัดของแม่ม้าสายพันธุ์ควอเตอร์และโพนี่มักจะมีคลื่นเดียว (Ginther, 2000)



ภาพที่ 3 คลื่นของฟอลลิเคิลที่พบในวงรอบการเป็นสัดของแม่ม้า 4 ตัว

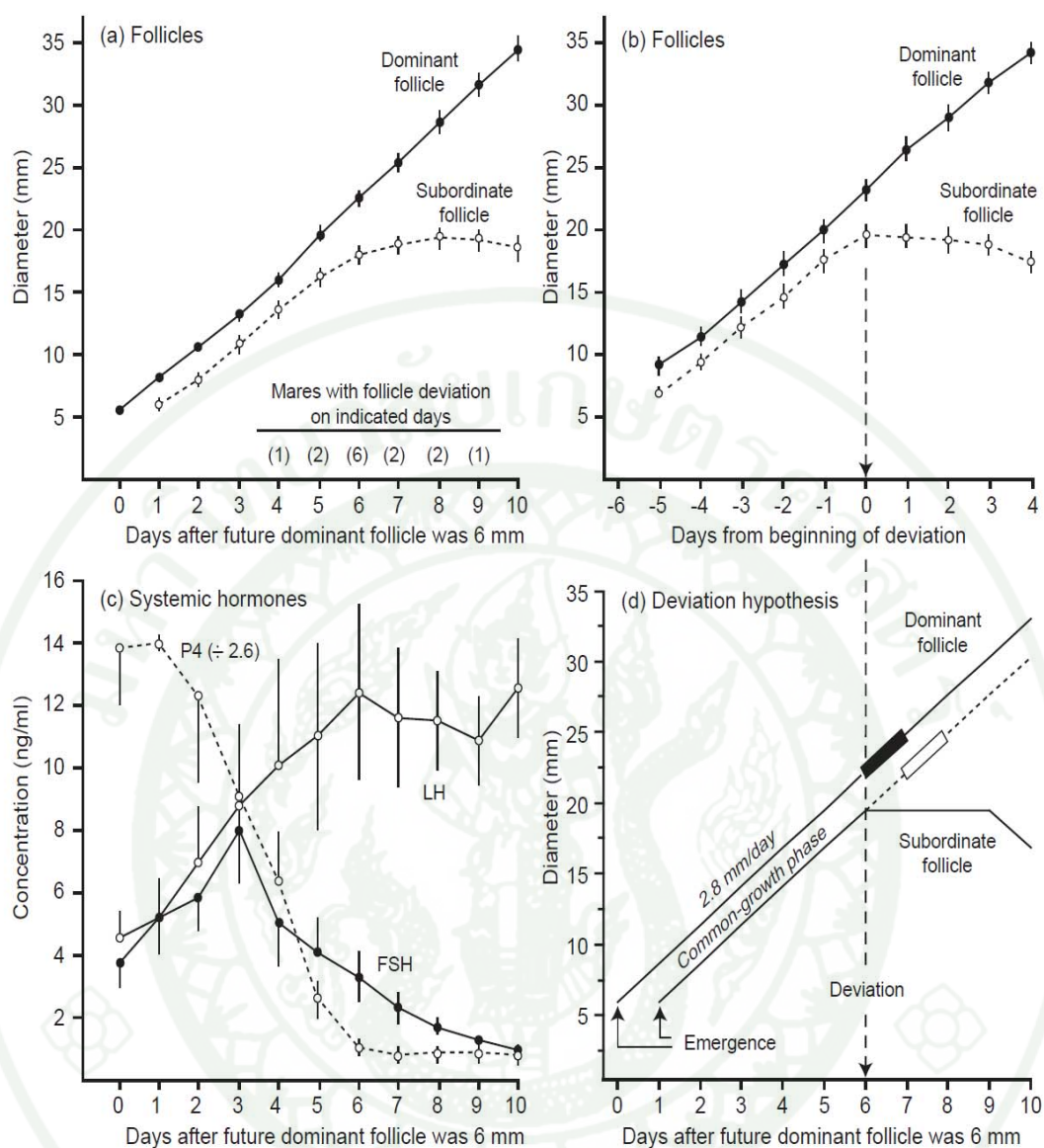
หมายเหตุ ตัวอย่างชุดของฟอลลิเคิลที่พบในวงรอบการเป็นสัดของแม่ม้า 4 ตัว ได้แก่ คลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิ คลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่ไม่สามารถพัฒนาต่อไปจนเกิดการตกไข่ และคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่มีการตกไข่ แต่ละเส้นแสดงเฉพาะขนาดของฟอลลิเคิลใบหลักของคลื่น

ที่มา: Ginther et al., 2004b

การปรากฏขึ้นของกลุ่มฟอลลิเคิล (Follicular recruitment or emergence)

การพบกลุ่มฟอลลิเคิล ที่ขนาด 6 มม. ที่ประมาณกลางวงรอบการเป็นสัด หรือเฉลี่ยที่วันที่ 12 หลังการตกไข่ครั้งก่อน ภายหลังจากการปรากฏขึ้นของกลุ่มฟอลลิเคิล การพัฒนาของฟอลลิเคิล จะดำเนินไปด้วยอัตราการเจริญเติบโตคงที่เป็นระยะเวลาหนึ่ง (common growth phase) จนถึงระยะที่เกิดขบวนการคัดเลือกหรือจุดเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล (follicle selection or deviation) ซึ่งพบว่าฟอลลิเคิลใบใหญ่ที่สุดสองลำดับแรกของคลิ่นจะมีขนาดเฉลี่ย 22.5 และ 19 มม. โดยทั่วไปฟอลลิเคิลใบใหญ่ที่สุดมักจะปรากฏขึ้นมาก่อนฟอลลิเคิลใบอื่น 1 วัน จึงมีขนาดที่ใหญ่กว่าใบอื่นเสมอพร้อมเกิดขบวนการป้องกันไม่ให้ใบที่เล็กกว่าได้มีโอกาสพัฒนาขึ้นมา เรียกฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่และถูกเลือกให้มีแนวโน้มเกิดการตกไข่ว่า โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล (dominant follicle) ในขณะที่ฟอลลิเคิลที่มีขนาดเล็กกว่าและจะฝ่อไปเรียกว่า ซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล (subordinate follicle) โดยส่วนใหญ่ จะพบขบวนการคัดเลือกหรือจุดเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโต ที่ 6 วัน หลังจากรับการปรากฏขึ้นของกลุ่มฟอลลิเคิล (ภาพที่ 4)

จุดที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล (deviation) คือเมื่อการพัฒนาของกลุ่มฟอลลิเคิลผ่านช่วงอัตราการเจริญเติบโตคงที่แล้วมีการเปลี่ยนอัตราการเจริญเติบโตในกลุ่มฟอลลิเคิลมีอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันโดยโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลคงอัตราการเจริญเติบโตเดิมสามารถเพิ่มขนาดได้อย่างต่อเนื่อง แต่ซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล เจริญเติบโตในอัตราที่ลดลงและฝ่อไป (Gastal *et al.*, 1997, 1999; Ginther *et al.*, 2004b)

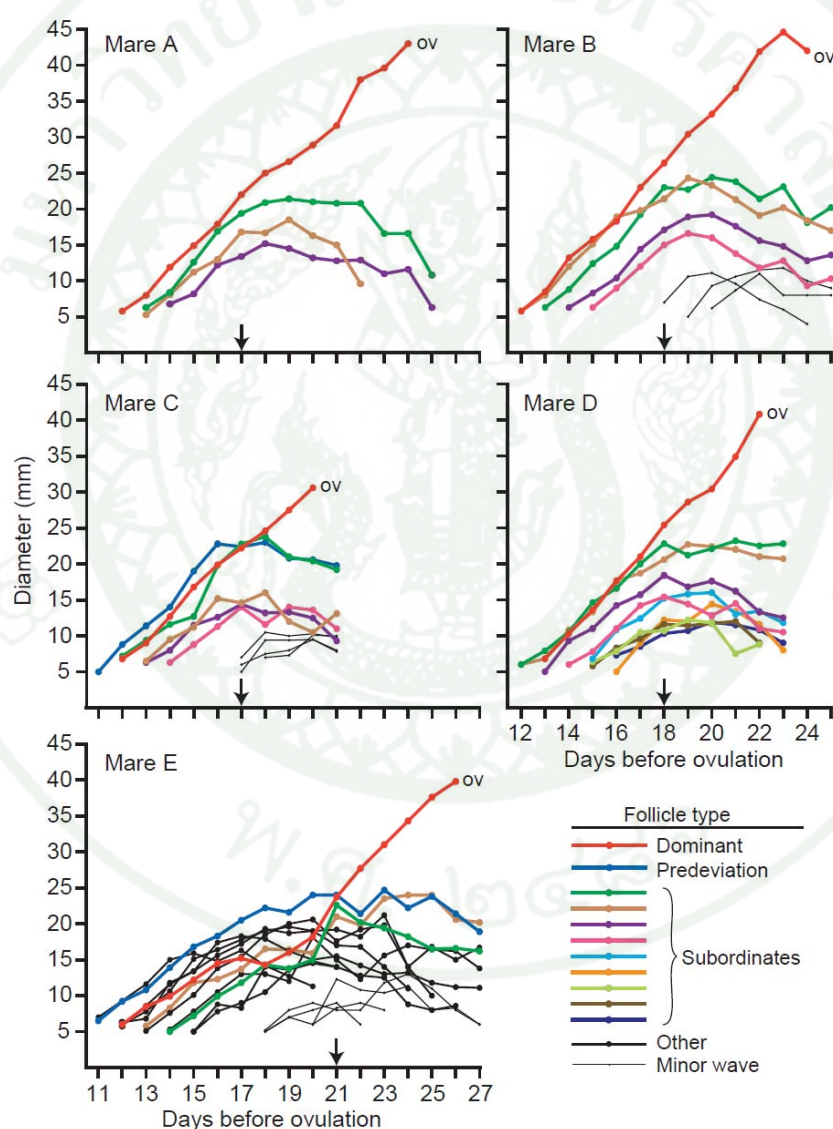


ภาพที่ 4 สมมุติฐานขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิล

หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บคือจำนวนแม่ม้าที่เกิด deviation ในวันนั้น (a) และระดับฮอร์โมน ช่วง Emergence (c) เปรียบเทียบกับช่วง Deviation (b) และการพรรณนา deviation hypothesis (d) แสดงถึงฟอลลิเคิลใบที่ใหญ่กว่าหรือที่จะพัฒนาเป็น โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ต่อไป มีการพัฒนามาถึงระดับที่วิกฤติ (แถบสีดำ)และเกี่ยวข้องกับขบวนการยับยั้ง การพัฒนาของ ซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล ก่อนที่จะสามารถพัฒนาได้จนถึงระดับวิกฤติ (แถบสีขาว) เดียวกัน

ที่มา: Ginther *et al.*, 2004b

มีรายงานการพบฟอลลิเคิลที่มีขนาดที่สามารถเข้าถึงจุดเปลี่ยน (predeviation follicle) ได้ก่อนโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล จากการศึกษานมแม่จำนวน 27 ตัว มีนมแม่จำนวน 37% ที่เกิดฟอลลิเคิลดังกล่าวปรากฏขึ้นก่อนโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล และเจริญเติบโตในช่วง common-growth phase มีอัตราเดียวกันกับ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิลที่เป็นฟอลลิเคิลใบที่เกิดการตกไข่ในรอบการเป็นสัดนั้น จนได้ขนาดเดียวกันที่เป็น deviation size (ประมาณ 22.5 มม.) 1 วัน ก่อนเริ่มขบวนการการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล แต่ฟอลลิเคิลที่มีขนาดที่สามารถเข้าถึงจุดเปลี่ยนเกิดชะลอการเจริญเติบโตจนฝ่อไปในที่สุด (Ginther *et al.*, 2004b) (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 การพบฟอลลิเคิลที่มีขนาดที่สามารถเข้าถึงจุดเปลี่ยนได้ก่อนโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล

หมายเหตุ ตัวอย่างคลื่นฟอลลิเคิลของแม่ม้า 5 ตัวที่เกิดขึ้นหลังจากถูกกำจัดฟอลลิเคิล ขนาด ≥ 6 มม. ออกจากรังไข่ การพบฟอลลิเคิลที่สามารถเข้าถึงจุดเปลี่ยนได้ก่อนโดมินันท์ฟอลลิเคิล ในแม่ม้า C และ E การพบ minor waves ในแม่ม้า B, C และ E โดยมีคลื่นฟอลลิเคิลใหม่เกิดขึ้นภายหลังจากชุดแรก 2 วัน การมีจำนวนของฟอลลิเคิลที่แตกต่างกันในชุด เช่น 12 ใบ ในแม่ม้า E และ 4 ใบ ในแม่ม้า A และในแม่ม้า E พบกลุ่มฟอลลิเคิลอื่น (สีดำ) ที่มีความสัมพันธ์กับฟอลลิเคิลที่สามารถเข้าถึงจุดเปลี่ยนโดยเริ่มชะลอการเจริญเติบโตก่อนระยะ deviation (ลูกศรสีดำ) การพัฒนาของโดมินันท์ฟอลลิเคิลและซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิลเกิดการคงที่นานประมาณ 3 วันเป็นขณะเดียวกันกับฟอลลิเคิลอื่นๆเริ่มฝ่อลง

ที่มา: Ginther *et al.*, 2004b

ขบวนการคัดเลือก (follicle selection or deviation mechanism)

และกลไกที่มาจากฮอร์โมนผ่านระบบไหลเวียนของร่างกาย (Systemic hormonal aspects of follicular deviation)

ระดับฮอร์โมน FSH ที่เพิ่มขึ้น (surge) จะสัมพันธ์กับการพบกลุ่มฟอลลิเคิล ที่ขนาด 6 มม. ที่ประมาณกลางวงรอบการเป็นสัด หรือเฉลี่ยที่วันที่ 12 หลังการตกไข่ครั้งก่อน จุดที่ระดับฮอร์โมน FSH ขึ้นสูงสุด (peak) จะพบฟอลลิเคิลใบใหญ่ที่สุดมีขนาด 13 มม. แล้ว FSH จะเริ่มลดระดับลง การเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลในช่วงแรกที่ขนาดเล็กกว่า 15 มม. นี้จะถูกควบคุมโดย FSH (Checura *et al.*, 2008) Inhibin จะเพิ่มสูงขึ้นหลังจากที่ FSH เริ่มลดระดับลงจาก FSH peak ฮอร์โมน Estradiol และ Inhibin จาก Follicles ทำงานแยกกันและร่วมกันในการกดการหลั่ง FSH ระดับ Inhibin ที่กลุ่มฟอลลิเคิลสร้างขึ้นจะเพิ่มสูงขึ้นก่อน estradiol

ระดับ estradiol เริ่มสูงขึ้น 1 วัน ก่อนขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิล และคงอยู่ในระดับสูงจนถึงช่วงเวลา 1-2 วันก่อนการตกไข่ (Bregfelt *et al.*, 2001) estradiol สร้างจากฟอลลิเคิลก่อนเข้าขบวนการคัดเลือกและโดมินันท์ฟอลลิเคิล

โดมินันท์ฟอลลิเคิลสังเคราะห์ estrogens เพิ่มขึ้นก่อนเข้าขบวนการคัดเลือก 1 วัน (Gastal *et al.*, 1999) การสังเคราะห์และการหลั่ง estrogens จากฟอลลิเคิลส่งผลไปยับยั้งการหลั่ง FSH และงานวิจัยพบ ความสัมพันธ์ที่ FSH ลดระดับลงขณะ inhibin เพิ่มสูงขึ้นในแม่ม้าที่มีวงรอบการเป็น

ส์ด (Bergfelt *et al.*, 1991) จึงมีความเป็นไปได้ว่าระดับ LH ไม่เกี่ยวข้องกับขบวนการคัดเลือกแต่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลภายหลังการคัดเลือก (Ginther, 2000)

การลดระดับ LH ก่อนระยะเข้าขบวนการคัดเลือกจะส่งผลให้เกิดฟอลลิเคิลที่ผ่านขบวนการคัดเลือกมีขนาดเล็กกว่ากลุ่มควบคุมรวมถึงระดับ estradiol และ inhibin ที่ต่ำกว่า แสดงว่า LH มีส่วนในการสร้าง estradiol และ inhibin และ ความอยู่รอดของโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล (Ginther *et al.*, 2003a, 2004b)

กลไกจากสารที่ผลิตจากฟอลลิเคิล (local regulation)

การยับยั้งการเจริญเติบโตของซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิลในคลีนฟอลลิเคิลเดียวกันไม่ได้เกิดจากกลไกการยับยั้งการพัฒนาระหว่างฟอลลิเคิลต่อฟอลลิเคิล แต่เกี่ยวข้องกับ การเปลี่ยนแปลงภายในโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลก่อนถึงขนาดที่เริ่มขบวนการคัดเลือก ซึ่งประกอบด้วย การเพิ่มขึ้นของความไวในการตอบสนองต่อระดับ FSH ที่ต่ำลง และการเปลี่ยนแปลงของระบบ insulin-like growth factor ของฟอลลิเคิลที่กำลังจะเป็นโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลต่อไป free IGF-1 ไปกระตุ้นโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลเกิดการสร้าง inhibin-A, activin-A และ VEGF

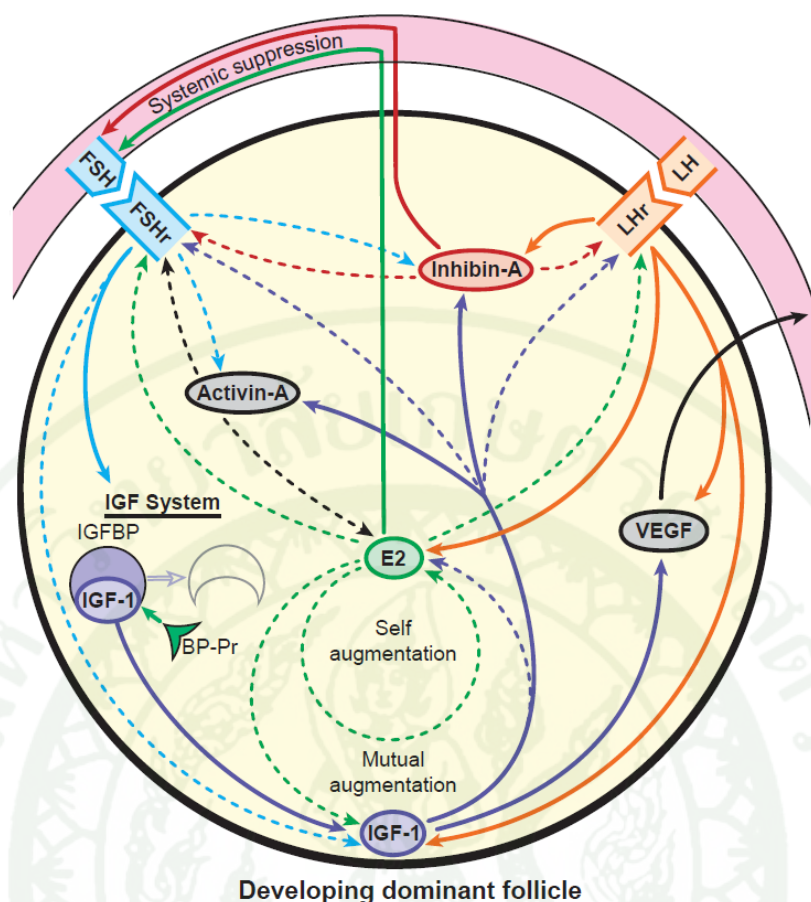
VEGF กระตุ้นขบวนการแบ่งเซลล์ของเซลล์บุหลอดเลือด การสร้างหลอดเลือดและการแลกเปลี่ยนสารน้ำผ่านผนังหลอดเลือดในฟอลลิเคิล มีรายงานพบการเพิ่มขึ้นของหลอดเลือด ในฟอลลิเคิลที่จะพัฒนาเป็น โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล (Beg and Ginther, 2006) และฟอลลิเคิลขนาดใหญ่จะมีระดับ VEGF สูงกว่า ขนาดเล็ก โดยวัดระดับที่หลังจากผ่านขบวนการคัดเลือก 1 วัน (Ginther *et al.*, 2004b) VEGF จึงช่วยให้โดมิแนนท์ฟอลลิเคิลมีระดับการไหลเวียน gonadotropins ได้ดีกว่าซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล

การลดระดับต่ำลงของ FSH มีความสำคัญต่อขบวนการคัดเลือก พบว่าการให้ FSH การกระตุ้นให้เพิ่มการหลั่ง FSH ด้วยวิธี anti-inhibin immunization สามารถเลื่อนและยับยั้งขบวนการคัดเลือกได้ (Ginther *et al.*, 2003b; McCue *et al.*, 2007; McCue and Squires, 2007)

FSH มีหน้าที่สำคัญต่อ การปรากฏขึ้นของกลุ่มฟอลลิเคิล การพัฒนาและการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล ขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิล และกระตุ้นการสร้าง estradiol, IGF-1, inhibin-A, activin-A และ ปัจจัยอื่นๆ

ฟอลลิเคิลใบใหญ่ 4 ลำดับแรกของคลื่นฟอลลิเคิล มีศักยภาพที่จะเป็น โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล (dominance) แต่จะถูกยับยั้งเมื่อมี หนึ่งใบที่เกิดเป็นโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลขึ้นได้ก่อน (Gastal *et al.*, 2004) การป้องกันไม่ให้ซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิลพัฒนาขึ้นมาเป็นโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลได้เช่นเดียวกัน น่าจะเป็นเหตุการณ์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการคัดเลือก ขนาดของฟอลลิเคิลที่แตกต่างกันประมาณ 3-4 มม. กับอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล ประมาณ 3 มม.ต่อวัน แสดงว่าช่วงเวลาประมาณ 1 วัน ก่อนและหลัง จุดที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล มีความสำคัญสำหรับการ กำหนด แนวทางการเจริญเติบโตกลุ่มฟอลลิเคิลที่อยู่ระหว่างการพัฒนา การคงสภาวะศักยภาพในการ คงการเป็นโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล รวมถึงการวางแผนการทำการเหนี่ยวนำการตกไข่หลายใบ

ภาพที่ 6 แสดงสมมุติฐานขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิลในแม่ม้า แสดงความสัมพันธ์ระดับ systemic และ local aspects โดย systemic FSH และ LH มี positive effect ต่อส่วน local aspects ส่งผลให้เฉพาะ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล สามารถตอบสนองต่อ Gonadotrophins ได้ดีกว่า ซับ ออร์ดิเนตฟอลลิเคิลและโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล คงการเจริญเติบโตต่อไปแม้ FSH ลดระดับลง IGF-system เป็น critical intrafollicular initiator ที่สำคัญ เมื่อ wave-stimulating FSH surge ลด ระดับลงก่อนเข้าสู่ขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิล IGF system ที่ได้รับ positive effect จาก Gonadotrophins เริ่มทำงาน binding-protein proteases (BPPr) เข้าทำปฏิกิริยา degradation แยก IGFBPs ปลดปล่อย free IGF-1 ไปกระตุ้นโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล เกิดการสร้าง inhibin-A, activin-A และ VEGF แต่ไม่มีผลต่อ estradiol



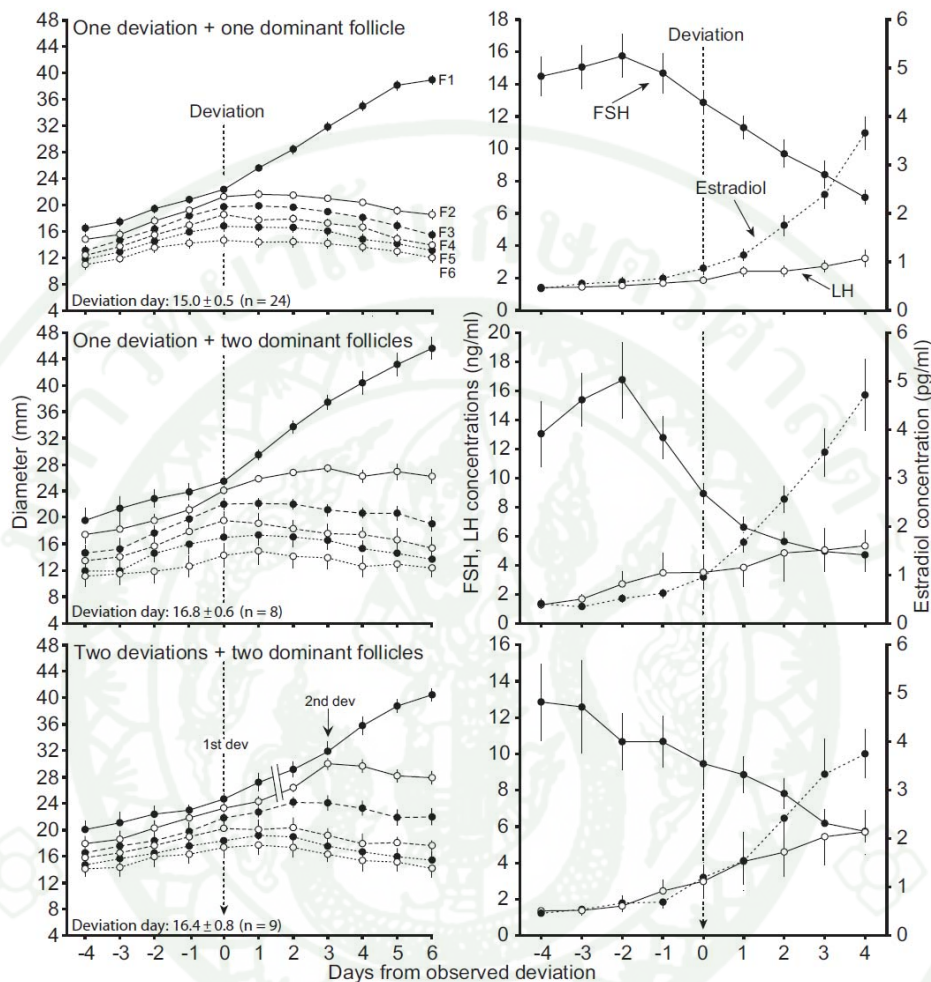
ภาพที่ 6 สมมุติฐานขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิลในแม่ม้า

หมายเหตุ เส้นลูกศรทึบแสดงทิศทาง positive effects ที่ in vivo in mares หรือ in vitro with equine granulosa cells ส่วนเส้นลูกศรประแสงทิศทาง positive effects ที่ in vivo หรือ in vitro ใน cattle และสัตว์อื่นนอกเหนือจากม้า

ที่มา: Ginther *et al.*, 2004b.

การพัฒนาของฟอลลิเคิลในวงจรการเป็นสัดของแม่ม้าอาจพบโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลมากกว่าหนึ่งใบ มีรายงานการพบ 20% ของแม่ม้าสายพันธุ์ Breton ที่โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล มีขนาด ≥ 28 -30 มม. จำนวน 2 ใบ (Ginther *et al.*, 2004b) 30% ใน Large ponies (Ginther *et al.*, 2008; Jacob *et al.*, 2009) แต่ไม่พบใน miniature ponies (Gastal *et al.*, 2008) อาจเกิดจากขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิลครั้งเดียวกันหรือคนละครั้ง การที่มีโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล 2 ใบแต่มีการตกไข่เพียงหนึ่งใบเปรียบเทียบกับ การตกไข่หนึ่งใบจาก โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล 1 ใบ ไม่มีความ

แตกต่างของ plasma LH , estradiol, ir-Inhibin ยกเว้นการที่มี โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล 2 ใบแต่มีการตกไข่เพียงหนึ่งใบมีระดับ FSH ที่ต่ำกว่า (Jacob *et al.*, 2009) (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางฟอลลิเคิล 6 ลำดับและ ความเข้มข้นของฮอร์โมน FSH, LH และ estradiol

ที่มา: Jacob *et al.*, 2009

การตกไข่สองใบ double ovulations เป็นผลมาจาก สายพันธุ์ สถานภาพทางระบบสืบพันธุ์ อายุ และ ลักษณะเฉพาะตัวที่มีภาวะเกิดซ้ำ พบได้ 2% ในโพนิ และ 25% ในม้าสายพันธุ์ โจรเบรต แต่เมื่อมีฟอลลิเคิลที่ขนาดใหญ่กว่า 28 มม จำนวน 2 ใบเจริญขึ้นมาในคลิ่นฟอลลิเคิลเดียวกันจะมีโอกาสตกไข่สองใบได้ถึง 40% (Ginther *et al.*, 2008b) การตกไข่มากกว่าหนึ่งใบไม่มีผลต่อระยะเวลาของรอบการเป็นสัด (Ginther *et al.*, 2008b) ขนาดของ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ที่มีการตก

ไข่ใบเดียวจะใหญ่กว่ากรณีการตกไข่สองใบ (Ginther, 1995) แต่ไม่ได้เกิดจากความแออัดที่ทำให้ขนาดเล็กกว่า เพราะถึงแม้ว่าการตกไข่สองใบนั้นมาจากคนละข้างของรังไข่ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ก็คงมีขนาดเล็กกว่าการตกไข่ใบเดียว ในช่วงใกล้การตกไข่ กรณีไข่ตกสองใบ นอกจากจะพบขนาดฟอลลิเคิลที่เล็กกว่า ยังพบว่ามียะดับ FSH ที่ต่ำกว่า ระดับ estradiol ที่สูงกว่า โดยที่ระดับ LH และ ir-Inhibin ไม่มีความแตกต่างกัน ทั้งนี้เกิดจากอิทธิพลซึ่งกันและกันของฮอโมนที่ถูกสร้างขึ้น (Ginther *et al.*, 2008a)

ความสัมพันธ์ของฮอโมนในช่วงการตกไข่ (Interrelationships of periovulatory reproductive hormones)

การเจริญเติบโตของ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ในอัตราเฉลี่ย 3 มม.ต่อวัน ภายหลังจุดที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลจนได้ขนาดเฉลี่ยโดยประมาณ 35 มม. ที่ก่อนตกไข่ 4 วัน และคงการเจริญเติบโตต่อไปจนถึงก่อนตกไข่ 2 วัน ช่วงเวลานี้จะพบว่าโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลมีขนาดคงที่ โดยประมาณ เท่ากับ 40 มม. (Ginther *et al.*, 2008a) และอาจพบที่ขนาด 55 มม. หรือมากกว่าได้ แม้มันมักจะตกไข่ที่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใกล้เคียงกันกับรอบการเป็นสัดที่ผ่านมา (Cuervo-Arango and Newcombe, 2008)

ฟอลลิเคิลที่ใกล้การตกไข่ (preovulatory follicle) จะมีขนาดที่พร้อมจะเกิดการตกไข่ (ovulation size) ที่มีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ เช่น ม้าใหญ่และโพนี่ขนาดใหญ่ ฟอลลิเคิลที่ใกล้การตกไข่ จะสามารถพัฒนาถึงขนาด 40-45 มม. ก่อนตกไข่หนึ่งวัน โพนี่และพันธุ์ควอเตอร์ มีอัตราการเจริญเติบโตและขนาดขนาดที่พร้อมจะเกิดการตกไข่ที่เหมือนกัน (Bregfelt and Ginther, 1996) พันธุ์ควอเตอร์มีขนาดที่พร้อมจะเกิดการตกไข่ เท่ากับ 43 มม. ใหญ่กว่าพันธุ์อาหรับที่มีขนาด 40 มม. (Dimmick *et al.*, 1993) พันธุ์โทโรเบรต 2 กลุ่มพบขนาดที่พร้อมจะเกิดการตกไข่ เท่ากับ 41 และ 44 มม. (Vivo and Vinuesa, 1993) และ miniature ponies มีขนาดที่พร้อมจะเกิดการตกไข่เท่ากับ 35.9 ± 0.6 มม. (Gastal *et al.*, 2006a)

ความสัมพันธ์ของฮอโมนในช่วงการตกไข่ (ภาพที่ 8) โดยกำหนดให้วันตกไข่ = Day 0 ช่วงก่อนตกไข่

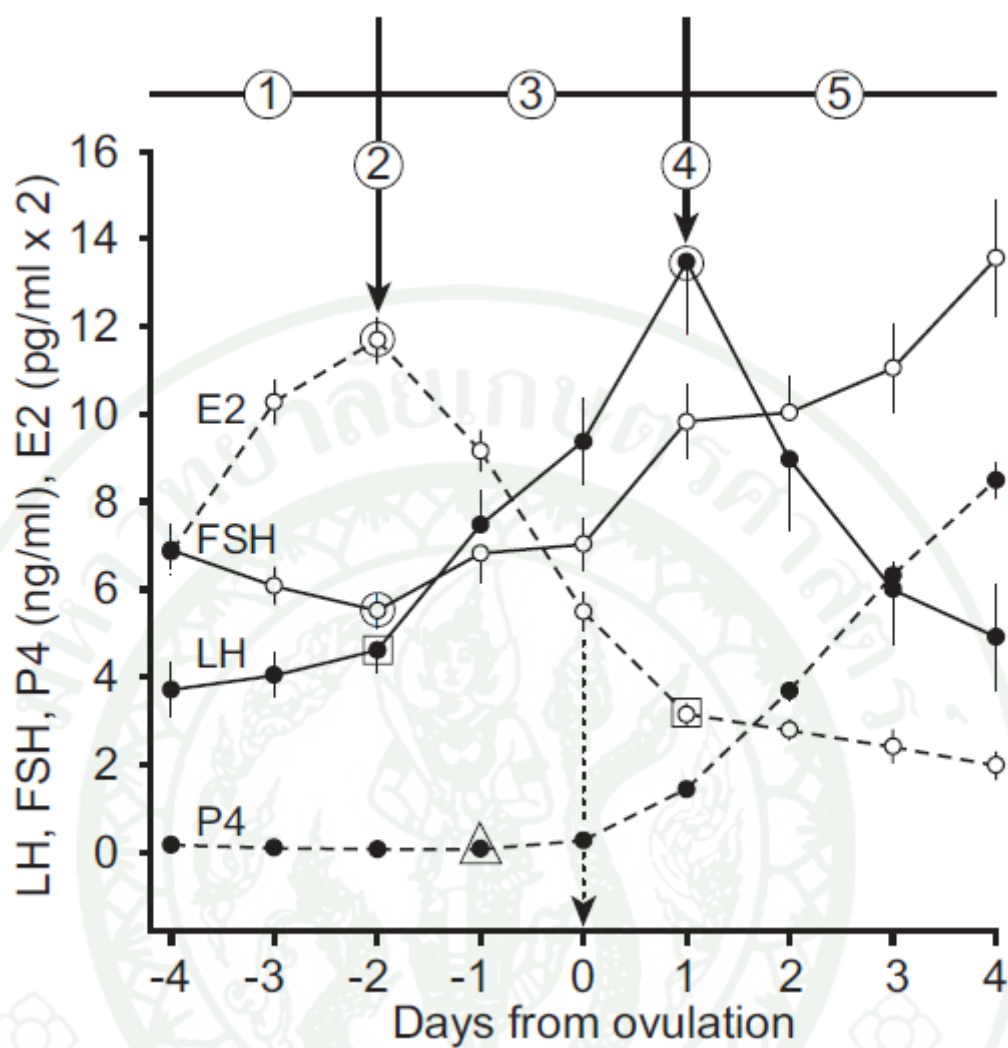
(1) ช่วงวัน Day -4 to -2 การพัฒนาของฟอลลิเคิลที่ใกล้การตกไข่ มีการเจริญเติบโตคงอยู่ จะพบการเพิ่มสูงของ estradiol ที่มี negative effect ต่อ FSH และ LH เกิดการลดระดับของ FSH และการชะลอการเพิ่มสูงของ LH

(2) วัน Day -2 พบว่า ฟอลลิเคิลที่ใกล้การตกไข่ มีขนาดคงที่ ที่จุดนี้ให้ระดับ estradiol ที่สูงที่สุด แล้วจะเป็นจุดที่เริ่มพบ negative effect ของ LH ต่อ estradiol เป็นจุดเปลี่ยนแปลงให้ estradiol เริ่มลดระดับลงในวันต่อไป ส่วน FSH เพิ่มระดับสูงขึ้นในวันต่อไป และ LH จะเพิ่มระดับสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในวันต่อไป

(3) ช่วงวัน Day -2 to Day 1 เป็นช่วงวันที่ estradiol ลดระดับลงเรื่อยๆในอัตราที่รวดเร็ว เนื่องจาก negative effect ของ LH ที่เพิ่มระดับสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลในทางกลับกันโดยเกิดการลด negative effect ต่อ FSH และ LH ของ estradiol ดังนั้นจึงเพิ่มการสร้าง LH และการเพิ่มสูงขึ้นของ FSH ที่ Day -1 เริ่มพบการเริ่มต้นของการเพิ่มขึ้นของ progesterone

(4) วัน Day 1 การเพิ่มขึ้นของ progesterone ในระดับที่วิกฤติพอต่อการเกิด negative effect ให้ LH เริ่มเกิดการลดระดับลง และเป็นวันที่ estradiol ยังคงลดระดับลงอย่างรวดเร็ว

(5) ช่วงวัน Day 1 to Day 4 การเพิ่มขึ้นของ progesterone มี negative effect ให้ LH ลดระดับลง ขณะเดียวกัน negative effect ของ LH ต่อ estradiol ก็จะน้อยลง การลดระดับลงของ estradiol ก็จะชะลอตัวลง (Ginther *et al.*, 2008a)



ภาพที่ 8 ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮอร์โมน FSH, LH, estradiol และ progesterone ในช่วงใกล้การตกไข่

หมายเหตุ ระดับ estradiol แสดงค่าเป็นสองเท่าของค่าที่ตรวจได้จริง

ที่มา: Ginther *et al.*, 2008a

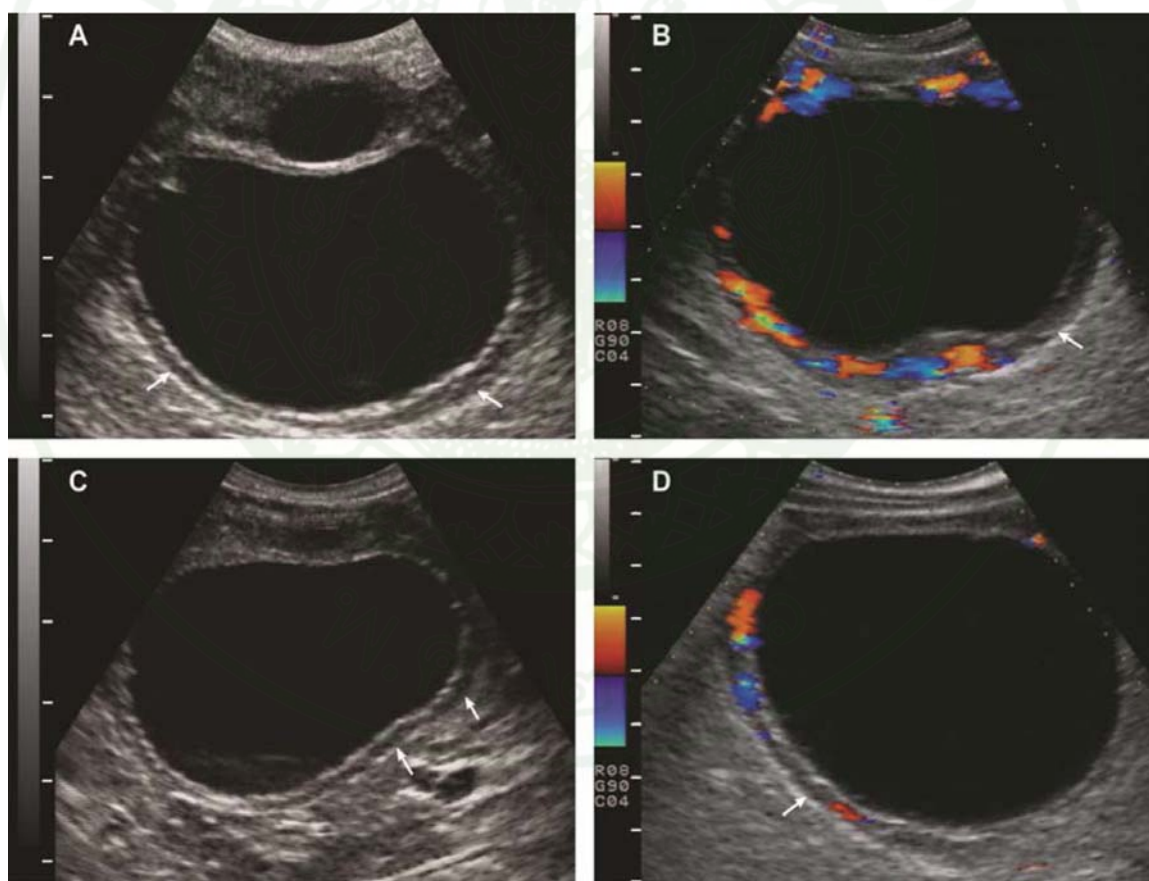
การตกไข่ (ovulation)

การตกไข่เป็นลำดับของเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นขณะที่ LH เพิ่มระดับขึ้นสูง เกิดการแตกของผนังฟอลลิเคิล ที่ ตำแหน่งแอ่งตกไข่ (ovulation fossa) ของรังไข่ ส่วนของเหลวภายในฟอลลิเคิล granulosa cells และ cumulus-oocyte complex ถูกขับออกจากฟอลลิเคิลสู่ภายนอก การตกไข่จะเกิดขึ้นประมาณ 1-2 วัน ก่อนสิ้นสุดการแสดงอาการเป็นสัด

โครงสร้างของ ฟอลลิเคิลที่กำลังจะตกไข่ ตรงกลางมีลักษณะเป็นถุงน้ำมีของเหลวอยู่ภายใน ชั้นในบุด้วย granulosa cells อยู่ใน granulosa layer เป็นส่วน avascular stratum ซึ่งมี basement membrane กันชั้นถัดไป theca interna layer (vascular theca layer) ซึ่งมี granulosa cells ผสมปะปนกับกลุ่มหลอดเลือดฝอย และชั้นนอกสุด theca externa layer ซึ่งมี fibrous tissue มากขึ้นและมีหลอดเลือดแดงและดำขนาดใหญ่ชัดเจน ขณะที่ฟอลลิเคิลเจริญเติบโตสมบูรณ์เต็มที่ จะมีการสร้างหลอดเลือดฝอยเพิ่มขึ้นที่ theca interna layer และการขยายเพิ่มขนาดของหลอดเลือดใน theca externa layer (Hunter, 2003; Familiari *et al.*, 1991)

ลักษณะทางอัลตราซาวด์ในรูปแบบความสว่าง (gray-scale echotexture) และรูปแบบสัญญาณสีของการหมุนเวียนเลือด (color-Doppler signals of blood flow) สามารถพบการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล ที่เร็วที่สุดคือ 1-2 วัน ก่อนเริ่มขบวนการคัดเลือกหรือจุดเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล (Gastal *et al.*, 1999; Acosta *et al.*, 2004b) พบการเปลี่ยนรูปร่างจากทรงกลม (loss of spherical shape) ได้ก่อนตกไข่ 3 วัน แต่จะพบได้บ่อยมากที่สุดในช่วงก่อนตกไข่ 24-12 ชั่วโมง (Gastal *et al.*, 1998) การเปลี่ยนรูปร่างจากทรงกลมรวมกับการลดความตึงของผนังฟอลลิเคิลจากการล้าทางทวารหนัก ก่อนตกไข่ 24-12 ชั่วโมง (Gastal *et al.*, 2006b) ความหนาของ granulosa layer จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาเข้าใกล้การตกไข่มากขึ้น (Pierson and Ginther, 1985) ค่าเฉลี่ยคะแนนศักยภาพการสะท้อนคลื่นและความหนาของ granulosa layer จะเพิ่มขึ้นในช่วงเวลา 24 ชั่วโมงก่อนตกไข่ (Carnevale, 1998) สามารถแยกส่วน granulosa layer ออกจากส่วน theca layer ได้พบเป็นแถบสะท้อนคลื่น (echoic band) ที่อยู่ในสุดของถุงน้ำ (Gastal *et al.*, 1998) (ภาพที่ 9) B-mode ultrasonograms (A, C) of preovulatory follicles ของแม่ม้า 2 ตัว ที่ 2 วันหลังจากที่ฟอลลิเคิลมีขนาด 35 มม. และ 1 วันก่อนตกไข่ ลูกศรแสดง แถบที่ไม่สะท้อนคลื่น anechoic band color-doppler ultrasonograms (B, D) ของแม่ม้า 2 ตัวที่ 4 วันหลังจากที่ฟอลลิเคิลมีขนาด 35 มม. และ 3 ชั่วโมงก่อนตกไข่ ลูกศรแสดง แถบที่ไม่สะท้อนคลื่น anechoic band (theca interna ;vascular theca layer) และ color-doppler signals จะอยู่ที่ แถบที่ไม่สะท้อนคลื่นหรือเหนือขึ้นไป นอกจากการเพิ่มของ ศักยภาพการสะท้อนคลื่นและความหนา

ของ granulosa layer ยังพบความชัดเจนขึ้นของแถบที่ไม่สะท้อนคลื่น anechoic band (theca interna ; vascular theca layer) เพิ่มขึ้นเด่นชัดขึ้นทุกวันๆตลอดช่วง 3 วันก่อนตกไข่ และช่วงต้นฤดูผสมพันธุ์พบได้มากกว่าช่วงท้าย (Gastal *et al.*, 1998; Chan *et al.*, 2003) การศึกษาเปรียบเทียบการได้รับ hCG พบว่า ก่อนตกไข่ 36 ชั่วโมง แม่ม้าที่ได้รับ hCG มีการเพิ่มความหนาและระดับการสะท้อนคลื่นของ granulosa layer เพิ่มสัญญาณสีและความเด่นชัดกว่าที่ผนังฟอลลิเคิล การลดลงของ estradiol ที่มากกว่ากลุ่มควบคุม แต่ไม่แตกต่างกันทั้งสองกลุ่มที่ระหว่าง 36-12 ชั่วโมงก่อนตกไข่โดยเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามก่อนตกไข่ 4 ชั่วโมง ทั้งสองกลุ่มจะเกิดการลดลงสัญญาณสีที่เหมือนกัน ดังนั้นลักษณะการเปลี่ยนแปลงของผนังฟอลลิเคิลก่อนตกไข่จากการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ไม่เกี่ยวข้องกับระดับ estradiol (Gastal *et al.*, 2006a) และพบว่าอายุแม่ม้าไม่มีผลต่อลักษณะการเปลี่ยนแปลงของผนังฟอลลิเคิลก่อนตกไข่จากการตรวจด้วยอัลตราซาวด์เช่นเดียวกัน (Ginther *et al.*, 2009)

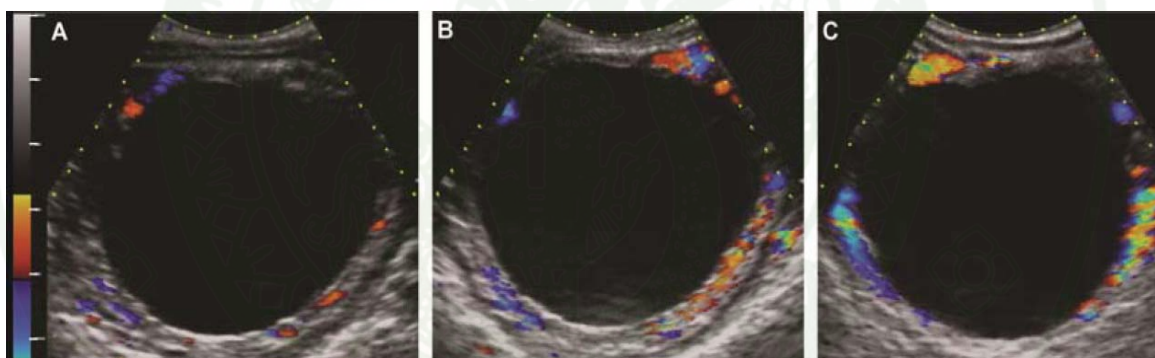


ภาพที่ 9 ภาพอัลตราซาวด์ของฟอลลิเคิลก่อนการตกไข่ของแม่ม้า

หมายเหตุ (A, C) B-mode ultrasonograms of preovulatory follicles ของแม่ม้า 2 ตัว ที่ 2 วัน หลังจากทีฟอลลิเคิลมีขนาด 35 มม. และ 1 วันก่อนตกไข่ ลูกศรแสดง แถบที่ไม่สะท้อนคลื่น (B, D) Color-Doppler ultrasonograms ของแม่ม้า 2 ตัวที่ 4 วันหลังจากทีฟอลลิเคิลมีขนาด 35 มม. และ 3 ชั่วโมงก่อนตกไข่ ลูกศรแสดง แถบที่ไม่สะท้อนคลื่น และสัญญาณสี จะอยู่ที่แถบที่ไม่สะท้อนคลื่นหรือเหนือขึ้นไป

ที่มา: Gastal *et al.* 2006a

ตลอดช่วงเวลาของการพัฒนาของโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลมีการเพิ่มขึ้นในทุกๆวันของระบบการหมุนเวียนเลือดโดยเฉพาะช่วงที่เติบโตอย่างสมบูรณ์และเข้าใกล้วันตกไข่ (Gastal *et al.*, 2006a; Palmer *et al.*, 2006; Ginther *et al.*, 2009) (ภาพที่ 10) อย่างไรก็ตามการหมุนเวียนเลือดที่ผนังฟอลลิเคิลในวันที่ตกไข่ ก่อนตกไข่ไม่กี่ชั่วโมงจะพบการลดลงของการหมุนเวียนเลือดที่ผนังฟอลลิเคิลอย่างรวดเร็ว (Gastal *et al.*, 2006a; Ginther *et al.*, 2007)



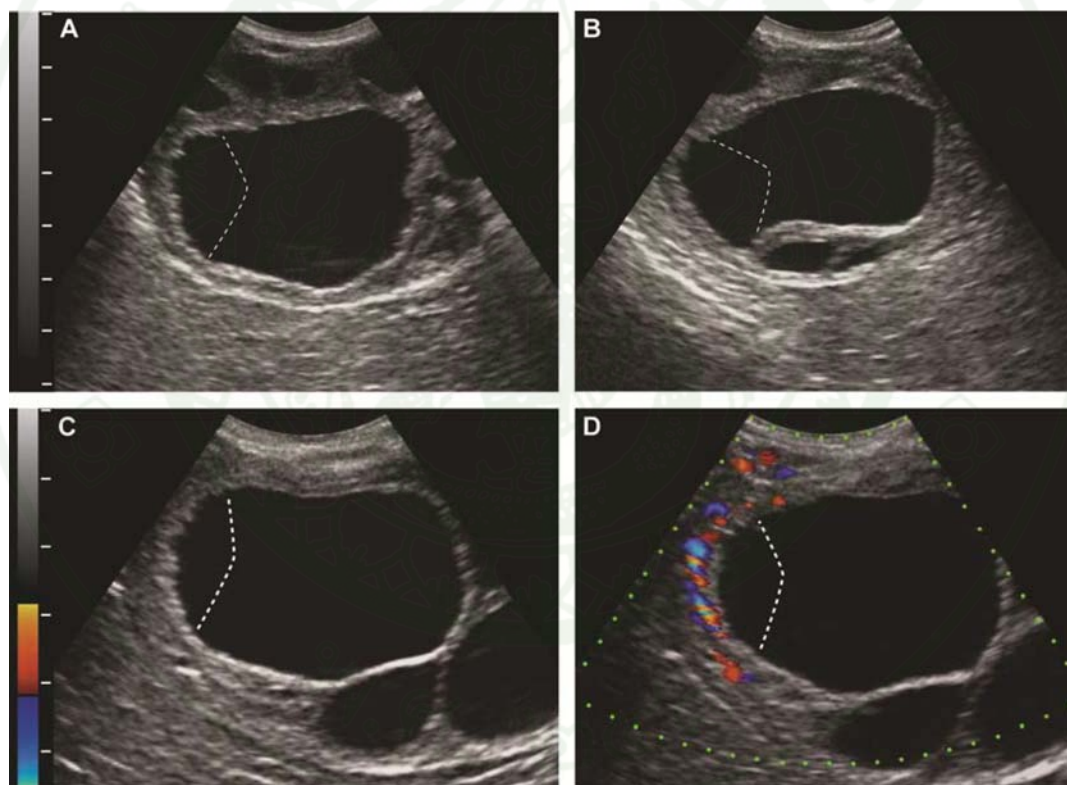
ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของฟอลลิเคิลช่วงก่อนการตกไข่ของแม่ม้า ในรูปแบบสัญญาณสีของการหมุนเวียนเลือด

หมายเหตุ ลำดับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของฟอลลิเคิลที่ก่อนการตกไข่ของแม่ม้า ในรูปแบบสัญญาณสีของการหมุนเวียนเลือด ที่ 48 (A), 40 (B), และ 24 (C) ชั่วโมงก่อนตกไข่ การเพิ่มสัญญาณสี (จำนวนจุดสีและความเข้มของสี) ตั้งแต่ซ้ายไปขวาตามลำดับการพัฒนาของฟอลลิเคิล การกระจายตัวของสัญญาณสีจะอยู่ที่แถบที่ไม่สะท้อนคลื่นหรือเหนือขึ้นไป

ที่มา: Gastal *et al.* 2006a.

ลักษณะที่พบขณะเกิดการตกไข่

ลักษณะทางอัลตราซาวด์ของฟอลลิเคิลที่ก่อนการตกไข่ประกอบด้วย การเปลี่ยนรูปร่างจากทรงกลม (Pierson and Ginther, 1985; Carnevale *et al.*, 1988; Townson and Ginther, 1989a) ระดับของขอบขรุขระของชั้น granulosa ทั้งสองด้าน (ที่ช่องว่างด้านในถุงน้ำและด้านที่ติดกับชั้น theca interna) (Gastal *et al.*, 2006b; Ginther *et al.*, 2007) (ภาพที่ 11) มีรอยลักษณะคล้ายลูกแพร์ คล้ายปลายเต้านม หรือโคนยอติยาวชี้ออกไปสู่แอ่งตกไข่ (Pierson and Ginther, 1985; Carnevale *et al.*, 1988) การหลุดลอกออกของชั้น granulosa (Carnevale *et al.*, 1988; Townson and Ginther, 1989b) และบางครั้งที่เกิดจุดสะท้อนคลื่นอัลตราซาวด์ภายในถุงน้ำ (Carnevale *et al.*, 1988)



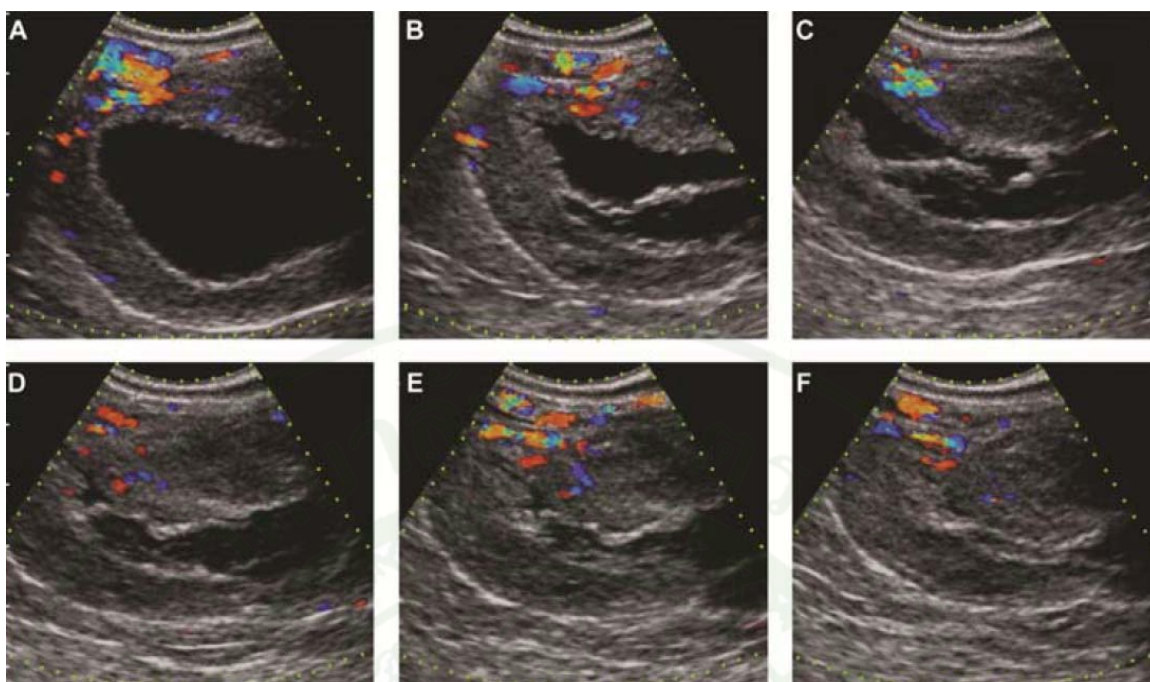
ภาพที่ 11 ภาพอัลตราซาวด์ของฟอลลิเคิลใกล้การตกไข่ของแม่ม้า 3 ตัว

หมายเหตุ แสดงระดับขอบขรุขระของชั้น granulosa (เส้นประสีขาว) (A) ที่ 4 ชั่วโมง (B, C, D) ที่ 1 ชั่วโมง ก่อนตกไข่ (D) เป็นฟอลลิเคิลใบเดียวกับ (C)

ที่มา: Gastal *et al.*, 2006a

ขณะเกิดการตกไข่จะเกิดการแตกของผนังฟอลลิเคิลที่ตำแหน่งแอ่งตกไข่ของรังไข่ ส่วนของเหลวภายในฟอลลิเคิล granulosa cells และ cumulus-oocyte complex ถูกขับออกจากฟอลลิเคิลสู่ภายนอก ในลักษณะ การขับออกแบบปกติ (normal evacuation) โดยเกิดขึ้นประมาณ 50% ของการตกไข่ ซึ่งมีการขับ 85% ขององค์ประกอบภายในฟอลลิเคิล ออกได้ในเวลา 5-90 วินาที ส่วนอีกประมาณ 50% ของการตกไข่ จะเป็นแบบค่อยดำเนินไป โดยมีการขับออกของ 90% องค์ประกอบภายในฟอลลิเคิล ในเวลา 6-7 นาที หากทำการการตรวจด้วยอัลตราซาวด์จะพบว่าการที่จะตรวจไม่พบของเหลวในถุงน้ำของฟอลลิเคิล และโดยรอบรังไข่ เกิดขึ้นในระดับนาที่ ระดับชั่วโมง หรือ 2 วัน (Townson and Ginther, 1989b; Ginther *et al.*, 2007) บางครั้งพบการขับออกที่มีลักษณะที่ไม่ปกติ โดยพบช่องว่างหลายช่องเกิดขึ้นแทนที่ในถุงน้ำของฟอลลิเคิล (septated evacuation) เป็นผลสืบเนื่องมาจากการขับของเหลวออกช้ามากกว่า 3 ชั่วโมง และฟอลลิเคิลก่อนการตกไข่มีการกระจายตัวของหลอดเลือดโดยรอบถุงน้ำ แตกต่างจาก normal evacuation ที่มีการกระจายตัวของหลอดเลือดเฉพาะบริเวณฐานของฟอลลิเคิล (ภาพที่ 12) ซึ่งฐานของฟอลลิเคิลจะอยู่ตรงข้ามกับขั้วที่จะแตกออกบริเวณแอ่งตกไข่ การเกิด septated evacuation นอกจากจะพบหลอดเลือดโดยรอบถุงน้ำของฟอลลิเคิลยังพบขอบขรุขระของชั้น granulosa โดยรอบของผนังฟอลลิเคิลเช่นเดียวกัน ปัจจุบันยังไม่มีการศึกษายืนยันว่ามีการปลดปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกมาหรือไม่และความสมบูรณ์พันธุ์ของเซลล์สืบพันธุ์เป็นอย่างไรในกรณีที่เกิด septated evacuation

หลังจากการตกไข่ เกิดการทำลาย basement membrane ที่กั้นระหว่างชั้น granulosa และ theca interna และเกิดการพัฒนาหลอดเลือด เนื้อเยื่อ luteal tissue ขึ้นอย่างรวดเร็ว ภายในระยะเวลา 6 วันภายหลังการตกไข่ (Ginther *et al.*, 2007)



ภาพที่ 12 ภาพอัลตราซาวด์รังไข่ขณะเกิดการตกไข่และ การขับออกแบบปกติ

หมายเหตุ การกระจายตัวของหลอดเลือดพบเฉพาะบริเวณฐานของฟอลลิเคิลตรงข้ามขั้วที่ผนังแตกออก

A. ประมาณ 60 นาที ก่อนเริ่มตกไข่ B.ทันทีที่เกิดการตกไข่ ผนังฟอลลิเคิลแตกของเหลว และองค์ประกอบภายในถูกขับออกสู่ภายนอก C-F. การเคลื่อนย้ายขององค์ประกอบภายใน หลังจากการแตกของผนังฟอลลิเคิล ที่ 2.1, 2.2, 2.4 และ 3.2 นาทีหลังจากภาพ B

ที่มา: E.L. Gastal and M.O. Gastal, 2011

การคาดคะเนเวลาตกไข่ Gastal *et al.*, 2006a ได้ทำการศึกษาโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล โดยการล้วงตรวจด้วยอัลตราซาวด์ ทุก 12 ชม ติดต่อกัน 3 ครั้ง หลังจากนั้นตรวจทุกชั่วโมงติดต่อกัน 12 ครั้ง หลังจากโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล มีขนาด 35 มม.และร่วมกับการบวมน้ำของชั้นเยื่อมดลูกในช่วงเป็น สัดของแม่ม้าจนกระทั่งเกิดการตกไข่ หรือจนกว่าเกิดการตกไข่ ผู้ตรวจต้องประเมิน

1. ระดับของความไม่เรียบสม่ำเสมอของชั้น granulosa
2. ความตึงของผนังฟอลลิเคิลจากการล้วงตรวจทางทวารหนัก
3. การเปลี่ยนรูปร่างจากทรงกลม มีรอย ลักษณะคล้ายลูกแพร์ คล้ายปลายเต้านม หรือโคน ยอดยาวชี้ออกไปสู่แอ่งตกไข่ และพบจุดสะท้อนคลื่นอัลตราซาวด์ภายในถุงน้ำ

ผลการศึกษาพบว่า ถ้าทำการตรวจ ทุก 12-24 ชั่วโมงและใช้เกณฑ์การตรวจเพียงหนึ่งเกณฑ์จะไม่สามารถการคาดคะเนเวลาตกไข่ได้อย่างแม่นยำ กรณีใช้เกณฑ์พบความไม่เรียบสม่ำเสมอของชั้น granulosa แล้วคาดคะเนว่าการตกไข่จะเกิดขึ้นในอีก 12 ชั่วโมงต่อไป จะถูกต้อง 59% เพราะว่าเมื่อก้อนที่เหลือนำไปเกิดการตกไข่หลังจากผ่าน 12 ชั่วโมงแต่ยังอยู่ในช่วงก่อน 24 ชั่วโมง การพบจุดสะท้อนคลื่นอัลตราซาวด์ภายในถุงน้ำ พบได้ 50% ของฟอลลิเคิลใบที่จะตกไข่ เมื่อเกิดจุดสะท้อนคลื่นอัลตราซาวด์ภายในถุงน้ำ จะพบว่า การตกไข่ จะเกิดขึ้นใน 1-2 ชั่วโมง ต่อไป

จากการตรวจทุกชั่วโมงติดต่อกันและ หากพบทั้งสามเกณฑ์ คาดคะเนว่าการตกไข่จะเกิดขึ้นในอีกหนึ่งชั่วโมงถัดไป จะถูกต้อง 100%

ภายหลังการตกไข่ ตำแหน่งของโดมินันท์ฟอลลิเคิลเดิมจะถูกแทนที่ด้วยเลือด ที่เรียกว่า corpus hemorrhagicum (CH) หลังจากนั้นประมาณ 4 ถึง 5 วัน CH จะถูกพัฒนาไปเป็น corpus luteum (CL) ของม้าม มีรูปร่างคล้ายลูกแพร์ พื้นผิวขรุขระ มีลักษณะเป็นช่องว่างเล็กๆ ขยายตัวอยู่ภายในรังไข่ไม่หลุดออกมาจากผิวรังไข่ดังเช่นที่พบในวัวเนื่องจากโครงสร้างทางกายวิภาคภายในรังไข่ของม้ามต่างจากสัตว์อื่น ในช่วงพัฒนาตัวอ่อนของม้ามเกิดการสลับที่ของเนื้อเยื่อโดยส่วน cortex จะม้วนเข้าสู่ด้านในของเนื้อเยื่อส่วน medulla โดยกระบวนการที่เรียกว่า corticomedullary reversal ขึ้น ทำให้ส่วน medulla ล้อมรอบ cortex ที่อยู่ด้านใน ตำแหน่งที่ตกไข่เกิดได้เพียงตำแหน่งเดียวคือบริเวณแอ่งตกไข่ ซึ่งถูกปกคลุมไปด้วย germinal epithelium (Kimura *et al.*, 2005)

โครงสร้างของ CL ประกอบด้วย large และ small luteal cell โดย large luteal cell เป็นหลักในการทำหน้าที่ของ CL ทั้งสองชนิดของ luteal cell ส่วนใหญ่ มีแหล่งกำเนิดมาจาก granulosa cell เพราะว่าในช่วงระหว่างการตกไข่ theca cells ส่วนใหญ่อยู่ในภาวะ degeneration และต่อมาจะถูกทดแทนด้วย fibroblasts โครงสร้างของ CL ส่วนที่ไม่ใช่ luteal cells จะเป็น fibroblasts smooth muscle cells macrophages และ endothelial cells ซึ่งกำเนิดมาจาก vascular endothelium ของฟอลลิเคิลใบที่ตกไข่ small luteal cells เป็นแหล่งสำรอง อยู่ในระยะพักและเป็น cell ที่พัฒนาต่อไปเป็น large luteal cell (Van Nierkerk *et al.*, 1975) ในช่วงต้น luteal phase พบ ระดับ mitotic activity ของ luteal cells ที่สูง (Aguilar *et al.*, 2006) และการเพิ่มการสร้างหลอดเลือดที่ถูกควบคุมโดย angiogenic factor เช่น VEGF ที่ถูกสร้างโดย luteal cells (Al-zi'abi *et al.*, 2003)

การทำหน้าที่ของ CL ถูกควบคุมโดย LH และ progesterone เมื่อพบการแสดงออกของยีนในการสร้าง progesterone receptor เฉพาะที่ใน large luteal cells ร่วมกับการไม่ตรวจพบ

steroidogenic enzymes ใน small luteal cells ช่วยยืนยันว่า เฉพาะ large luteal cells เท่านั้นที่ทำหน้าที่ในการสร้าง progesterone ซึ่งแตกต่างจากสัตว์ชนิดอื่น (Roberto da costa *et al.*, 2005 ; Ferreira-Dias *et al.*, 2007)

การสลายของ CL (Luteolysis)

การสูญเสียการทำหน้าที่เมื่อเกิดขบวนการสลาย CL (functional luteolysis) มีลักษณะคือ เกิดการลดระดับลงอย่างรวดเร็วของ progesterone ที่ประมาณวันที่ 15-17 ของวงรอบการเป็นสัด ควบคู่ไปกับการลดการสังเคราะห์ steroidogenic enzymes การเพิ่มขึ้นของ IGFBP-2 ซึ่งแสดงถึงการลดประสิทธิภาพของ IGFs ของ CL ในการป้องกัน apoptosis (Watson *et al.*, 2005) พร้อมกับเริ่มเกิดขบวนการ apoptosis ของ hormone-producing luteal cell บางส่วน และการลดลงของการสร้าง VEGF ของ CL ตามมา ดังนั้นการเกิด apoptosis ของ hormone-producing luteal cell จะเกิดขึ้นก่อน endothelial cell death บ่งชี้ว่า Luteolysis ไม่ได้เกิดการขาดเลือดไปเลี้ยง CL อย่างฉับพลัน (Aguilar *et al.*, 2006) ส่วนการฝ่อทางรูปร่างของ CL (morphological luteolysis) จะเกิดอย่างช้าๆ ต่อจากการสูญเสียการทำหน้าที่ (functional luteolysis) (Ginther *et al.*, 2005, 2007)

สัญญาณเริ่มต้นของขบวนการ Luteolysis เกิดจากการหลั่ง $\text{PGF}_{2\alpha}$ จากมดลูกผ่านระบบหมุนเวียนเลือด ในแม่ม้าต่างจากสัตว์ชนิดอื่นที่ไม่มี local counter current system เพื่อแลกเปลี่ยน $\text{PGF}_{2\alpha}$ ระหว่าง uterine veins และ ovarian arteries แต่ CL ของม้าจะมี binding affinity ต่อ $\text{PGF}_{2\alpha}$ ได้ดีมากกว่าสัตว์ชนิดอื่น CL ของม้าจึงมีความไวต่อ $\text{PGF}_{2\alpha}$ อย่างมาก (Boerboom *et al.*, 2004) oxytocin จาก pituitary gland และที่สร้างจากมดลูกของแม่ตัวเองเป็นตัวกระตุ้น การหลั่ง $\text{PGF}_{2\alpha}$ จากมดลูก ซึ่ง CL ของม้าไม่ทำหน้าที่สร้าง oxytocin เช่นเดียวกันกับสัตว์ชนิดอื่น (Bae and Watson, 2003)

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 การศึกษาวรรอบการเป็นสัดในแม่ม้าพื้นเมืองไทย

1. แม่ม้า

แม่ม้าที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ทุกตัวไม่มีปัญหาสุขภาพและมีความสมบูรณ์ทางระบบสืบพันธุ์ โดยเคยตั้งท้องและคลอดลูกมาก่อน กลุ่มแม่ม้าพื้นเมืองไทยขนาดเล็ก จำนวน 9 ตัว อายุ 4-13 ปี เฉลี่ย 8.7 ± 3.8 ปี ความสูง 116-134 เซนติเมตร เฉลี่ย 124.3 ± 5.6 เซนติเมตร น้ำหนัก 210-246 กิโลกรัม เฉลี่ย 224.5 ± 13.4 กิโลกรัม และกลุ่มแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต จำนวน 9 ตัว อายุ 4-12 ปี เฉลี่ย 8.3 ± 2.5 ปี ความสูง 149-167 เซนติเมตร เฉลี่ย 160.4 ± 5.4 เซนติเมตร น้ำหนัก 399-469 กิโลกรัม เฉลี่ย 446.6 ± 21.9 กิโลกรัม ที่เลี้ยงในฟาร์มม้าของเกษตรกร ม้าทุกตัวได้รับอาหารข้น อาหารหยาบ ตามความเหมาะสมกับขนาดร่างกาย น้ำดื่มตลอดเวลา และการปล่อยแปลงในเวลากลางวัน การศึกษาครั้งนี้ดำเนินการที่ฟาร์มม้าของเกษตรกร ตำบลชนงพระ อำเภอปากช่อง จังหวัด นครราชสีมา โดยทำการศึกษาในช่วงเดือน พฤษภาคม ถึง ตุลาคม 2554 ซึ่งแม่ม้าทุกตัวต้องผ่านการ ตกไข่และมีรอบการเป็นสัดมาก่อนเริ่มการทดลอง ทุกขั้นตอนจะดำเนินการโดยผู้วิจัยเพียงคนเดียว

2. การล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์และการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ (Transrectal palpation and ultrasonography)

การติดตามการเปลี่ยนแปลงของรังไข่และมดลูก ทำการล้วงตรวจทุกวันตลอดวงจรรอบการเป็น สัดที่ทำการศึกษาและโดยใช้เครื่องอัลตราซาวด์และหัวตรวจ (Minray 3300 model with 7.5 MHz linear transducer) นับจำนวน วัดขนาด และบันทึกตำแหน่งของฟอลลิเคิลในรังไข่ โดย พยายามแยกนับให้ทั่วพื้นที่ของรังไข่ ตั้งแต่ขั้วด้านหน้าถึงด้านหลังของรังไข่และการวัดขนาดของฟอล ลีเคิลใช้โปรแกรมการวัดที่ติดตั้งมากับเครื่อง จะทำการวัดจากภาพนิ่งบนจอภาพที่เลือกหยุดภาพเมื่อ ได้ส่วนที่กว้างที่สุดของฟอลลิเคิลและการวางแผนการวัดทุกครั้งจะจัดให้ขนานกับแอ่งตกไข่ และ ลักษณะของมดลูกจากการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ (endometrial echotexture) วันตกไข่และขนาด ของ CL จดบันทึกลงในบัตรประจำตัวแม่ม้า

2.1 การติดตามการพัฒนาของฟอลลิเคิลในกลุ่มแม่ม้าพื้นเมืองไทย

2.1.1 การติดตามการพัฒนาของฟอลลิเคิลโดยไม่ได้มีการระบุติดตามฟอลลิเคิล (without day-to-day identity) เพื่อหาค่าเฉลี่ยขนาดและจำนวนของฟอลลิเคิลในแต่ละลำดับวันของวงจรการเป็นสัด

แบ่งกลุ่มของฟอลลิเคิล ออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่กว่า 10 มม. ถึง 20 มม. กลุ่มที่ 2 ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่กว่า 20 มม. ถึง 30 มม. กลุ่มที่ 3 ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่กว่า 30 มม. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลำดับวันของวงจรการเป็นสัดกับกลุ่มของฟอลลิเคิล

จัดลำดับฟอลลิเคิลที่พบที่มีขนาดตั้งแต่ 10 มม. ขนาดใหญ่ 5 ลำดับแรก (F1 to F5 โดย F1 มีขนาดใหญ่เป็นลำดับที่ 1) ที่พบในแต่ละวันหลังจากการตกไข่ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลำดับวันของวงจรการเป็นสัดกับค่าเฉลี่ยขนาดของฟอลลิเคิล

2.1.2 การระบุฟอลลิเคิล (follicle identity)

ทำการติดตามฟอลลิเคิลแต่ละใบ (day-to-day tracking) ฟอลลิเคิลที่มีขนาดตั้งแต่ 10 มม. บันทึกขนาด วันที่ปรากฏจนกว่าจะหายไปจากรังไข่ เพื่อศึกษาการพัฒนาของฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นของแม่ม้าพื้นเมืองไทยแต่ละตัว ในด้านขนาดและจำนวนของฟอลลิเคิลในคลื่นฟอลลิเคิล วันที่ปรากฏขึ้นของฟอลลิเคิล (emergence) วันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล (day of deviation) ในขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิล และเปรียบเทียบขนาดเฉลี่ยของฟอลลิเคิลในแต่ละลำดับวันของวงจรการเป็นสัดกับวิธีการศึกษาการพัฒนาของฟอลลิเคิลโดยไม่ได้มีการระบุติดตามฟอลลิเคิล

การกำหนดคลื่นฟอลลิเคิล (follicular wave) ดูจากวันที่ปรากฏขึ้นของฟอลลิเคิล (emergence) ที่ขนาดใหญ่มากกว่า 10 มม. กรณีที่ฟอลลิเคิลแต่ละฟอลลิเคิลจัดเป็นคลื่นฟอลลิเคิลเดียวกันต้องปรากฏขึ้นห่างกันไม่เกิน 1 วัน กรณีที่ห่างกันมากกว่า 2 วัน ถือว่าเป็นคนละคลื่นฟอลลิเคิลกัน (Gastal *et al.*, 1999, 2000) คลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่มีการตกไข่ (major ovulatory wave) จะต้องมีโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่มากกว่า 28 มม. เจริญขึ้นมาแล้วมีการตกไข่ คลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่ไม่มีการตกไข่ (Major anovulatory wave) จะต้องมีโดมิแนนท์ฟอลลิ

เซลล์ที่มีขนาดใหญ่กว่า 28 มม. เจริญขึ้นมาแล้วฝ่อไป คลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิ (minor wave) จะต้องไม่มีฟอลลิเคิลในคลื่นที่มีขนาดใหญ่กว่า 28 มม. เจริญขึ้นมา (Ginther 1993; Ginther *et al.*, 2004b)

การกำหนดวันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล (day of deviation) ในขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิล ทำโดยศึกษาข้อมูลขนาดของฟอลลิเคิลย้อนหลัง กำหนดให้ deviation เป็นหนึ่งวันก่อนวันที่เริ่มพบความแตกต่างของขนาดฟอลลิเคิลใบใหญ่ 2 ลำดับแรกอย่างชัดเจน (Gastal *et al.*, 1997)

2.1.3 การติดตามการเจริญเติบโตของ preovulatory follicles ในแม่ม้า พื้นเมืองไทย

วัดขนาดของโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลตลอดช่วง 6 วันก่อนการตกไข่ (D-6 to D-1) เพื่อหา ค่าเฉลี่ยขนาดในแต่ละลำดับวันของวงจรการเป็นสัด คำนวณอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย ใช้หน่วย มม./วัน ประกอบด้วย อัตราการเจริญเติบโต ที่ช่วงเวลา D-6 to D-3 ที่ช่วงเวลา D-3 to D-1 และที่ช่วงเวลา maximum diameter to ovulation หาวันที่เกิดการตกไข่ซึ่งยืนยันโดยการหายไปของ preovulatory follicle แล้วถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อลูเทียล เพื่อหา ระยะเวลาของวงจรการเป็นสัด (estrus cycle หรือ IOI)

2.2 การติดตามการพัฒนาของฟอลลิเคิลในกลุ่มแม่ม้าโทโรเบรค

2.2.1 การติดตามการพัฒนาของฟอลลิเคิลโดยไม่ได้มีการระบุติดตามฟอลลิ เคิล

ทำการติดตามการพัฒนาฟอลลิเคิลตลอดช่วง 6 วันก่อนการตกไข่ (D-6 to D-1) เพื่อหา จำนวนเฉลี่ยของฟอลลิเคิลในคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่มีการตกไข่

2.2.2 การติดตามการเจริญเติบโตของ preovulatory follicles

วัดขนาดของโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลตลอดช่วง 6 วันก่อนการตกไข่ (D-6 to D-1) เพื่อหา ค่าเฉลี่ยขนาดในแต่ละลำดับวันของวงจรการเป็นสัด คำนวณอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย ใช้หน่วย มม.ต่อ วัน ประกอบด้วย อัตราการเจริญเติบโต ที่ช่วงเวลา D-6 to D-3 ที่ช่วงเวลา D-3 to D-1 และที่ช่วงเวลา maximum diameter to ovulation

หาวันที่เกิดการตกไข่ซึ่งยืนยันโดยการหายไปของ preovulatory follicle แล้วถูกแทนที่ด้วยเนื้อเยื่อลูเทียล เพื่อหาระยะเวลาของวงจรการเป็นสัด (estrus cycle หรือ IOI)

2.3 การตกไข่และการติดตามการเปลี่ยนแปลงขนาดของเนื้อเยื่อ CL ในแม่ม้าพื้นเมืองไทย

การตกไข่ จะกำหนดโดยการหายไปของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ที่สุดและถูกทดแทนด้วยโครงสร้างที่สะท้อนคลื่นอัลตราซาวด์ (hyperechoic tissue) ที่เป็นลักษณะของ CH ในวันต่อมา วัดขนาดของ CH และ CL ทุกวันโดยทำการวัดเช่นเดียวกับการวัดขนาดฟอลลิเคิล และบันทึกวันสุดท้ายที่ไม่สามารถแยกเนื้อเยื่อ CL ออกจาก ovarian stroma เฉพาะกลุ่มแม่ม้าพื้นเมืองไทย

2.4 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของมดลูกในแม่ม้าพื้นเมืองไทย

ติดตามและประเมินการบวมน้ำของชั้นเยื่อบุมดลูก โดยตรวจด้วยอัลตราซาวด์ให้ทั่วทุกพื้นที่ของมดลูก เลือกตำแหน่งที่เห็นว่ามีระดับการบวมสูงที่สุดของแม่ม้าตัวนั้นๆ แบ่งตามระดับคะแนน จดบันทึกลงในบัตรประจำตัวแม่ม้า เฉพาะกลุ่มแม่ม้าพื้นเมืองไทย

ระดับคะแนนของการบวมน้ำของเยื่อบุมดลูก (endometrial echotexture score)

ระดับที่ 0 ไม่มีการบวมน้ำ มีสีเทาลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันโดยตลอด

ระดับที่ 1 การบวมน้ำเล็กน้อย สามารถแยกออกได้ว่ามีแถบสีเทา (echogenic band) สลับกับแถบสีดำ (anechoic band) โดยที่แถบสีเทามีขนาดใหญ่กว่าแถบสีดำ ความกว้างของแถบสีเทาเป็นสองเท่าของแถบสีดำโดยประมาณ

ระดับที่ 2 การบวมน้ำปานกลาง สามารถแยกแถบสีเทากับแถบสีดำออกได้อย่างชัดเจน โดยที่แถบสีดามีขนาดใหญ่กว่าแถบสีเทา ความกว้างของแถบสีดำเป็นสองเท่าของแถบสีเทาโดยประมาณ

ระดับที่ 3 การบวมน้ำมาก สามารถแยกแถบสีเทากับแถบสีดำออกได้อย่างชัดเจนมาก โดยที่แถบสีดำมีขนาดใหญ่กว่าแถบสีเทามากกว่า 2 เท่าขึ้นไป

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติใช้ซอฟต์แวร์ NCSS 2007 การศึกษาอิทธิพลของวันในวงจรการเป็นสัด (effect of day) ต่อ กลุ่มของฟอลลิเคิล และการเปลี่ยนแปลงขนาดของฟอลลิเคิล (F1 to F5 sequential data) จะใช้การทดสอบด้วย Repeated ANOVA measurements การเปรียบเทียบผลการศึกษาระหว่างวันในวงจรการเป็นสัดใช้วิธี Fisher's LSD multiple-comparison tests. การเปรียบเทียบผลการศึกษาระหว่าง 2 กลุ่มใช้วิธี T- tests การทดสอบทางสถิติทั้งหมดจะถูกประเมินว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยกำหนดค่าความเชื่อมั่นที่ $p < 0.05$

การทดลองที่ 2 การจัดการเพื่อการผสมพันธุ์ของแม่ม้าไทยพื้นเมืองที่เข้ารับบริการในคลินิกพิเศษทางระบบสืบพันธุ์ โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน

1.แม่ม้าพื้นเมืองไทย จำนวน 21 ตัว ที่เข้ารับบริการ ด้านการจัดการสุขภาพระบบสืบพันธุ์ ช่วงเวลา 2 ปี (พ.ศ. 2552-2553) ในคลินิกพิเศษทางระบบสืบพันธุ์ โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน คณะสัตวแพทยศาสตร์ แม่ม้าทุกตัวถูกจัดให้อยู่ในคอกพัก โดยได้รับอาหารชั้น อาหารหยาบตามความเหมาะสมกับขนาดร่างกาย น้ำดื่มตลอดเวลา และการปล่อยแปลงวันละ 6 ชั่วโมง

2.พ่อม้า จำนวน 11 ตัว ประกอบด้วย สายพันธุ์พื้นเมืองไทย 3 ตัว สายพันธุ์อเมริกันควอเตอร์ฮอร์ส 1 ตัว สายพันธุ์อาหรับ 2 ตัว สายพันธุ์ออร์มบลัด 2 ตัว สายพันธุ์ไทยผสม 2 ตัว และสายพันธุ์ควอห์ 1 ตัว พ่อม้าทุกตัวได้รับอาหารชั้น อาหารหยาบ น้ำดื่ม และการปล่อยแปลง เป็นไปตามสภาวะความเป็นจริงของฟาร์มเพาะพันธุ์ม้าในประเทศไทย รายละเอียดแม่ม้า พ่อม้าและประเภทการผสมพันธุ์แสดงในตารางที่ 1

3.การจัดการทางระบบสืบพันธุ์

3.1 การจับสัด (Heat Detection)

ทำการจับสัด จดบันทึกและประเมินอาการเป็นสัด ตลอดช่วงเวลาแม่ม้าแสดงอาการ โดยใช้วิธีนำพ่อม้าเข้าใกล้และสังเกตอาการเป็นสัดที่แม่ม้าแสดงออก (Crowell-Davis, 2007) ประเมินการแสดงอาการเป็นสัดเป็น 2 ประเภท คือ แสดงอาการและแสดงอาการยืนนิ่งยอมรับการป้อนผสมของพ่อม้า (Showed and Standing Heat) และไม่แสดงอาการเป็นสัด (Silent Heat)

3.2 การล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์ติดตามการเปลี่ยนแปลงของรังไข่และมดลูก

ทำการล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์และการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ (Transrectal palpation and ultrasonography) โดยใช้เครื่องอัลตราซาวด์ และหัวตรวจ (Aloka Scanner, SSD 500 with 5 MHz linear transducer) ติดตามการเปลี่ยนแปลงของรังไข่และมดลูกตลอดวงจรการเป็นสัดและ จดบันทึกการพัฒนาของฟอลลิเคิล ลักษณะของมดลูกจากการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ การตกไข่ และเนื้อเยื่อ CL ลงใน แบบเก็บบันทึกข้อมูลทางระบบสืบพันธุ์ประจำตัวแม่ม้า เมื่อพบว่าแม่ม้าอยู่ในระยะ การพัฒนาของฟอลลิเคิลของวงจรการเป็นสัดและ ฟอลลิเคิลใบหลักของชุดของ

ฟอลลิเคิลมีขนาดมากกว่า 30 มม. ทำการล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์ต่อเนื่องทุกวันสำหรับกรณีผสมพันธุ์ตามธรรมชาติและการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสด ทำการล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์ ทุกๆ 12 ชั่วโมง ในกรณีผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่เย็น และทำการล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์ ทุกๆ 4-6 ชั่วโมง ในกรณีผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง

3.3 การผสมพันธุ์ (Breeding)

3.3.1 ประเภทของการผสมพันธุ์ ประกอบด้วย การผสมจริงตามธรรมชาติ การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสด การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่เย็น และ การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง

3.3.2 หลักการกำหนดวันและเวลาในการผสมพันธุ์ ประกอบด้วย

1. วันที่แม่ม้าแสดงอาการ Standing Heat
2. การล้วงตรวจแล้วพบว่า การติ่งของผนังของโอดมิแนนท์ฟอลลิเคิลลดลงโดยการคลำสัมผัสได้ถึงความอ่อนนุ่มขึ้นของผนังฟอลลิเคิล การเปลี่ยนแปลงการติ่งตัวและขนาดของมดลูกและปากมดลูกโดยการคลำสัมผัสได้ถึงเนื้อสัมผัสนุ่มขึ้น
3. ภาพอัลตราซาวด์ของฟอลลิเคิลใบที่จะตก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 35 มม. และหรือเริ่มพบการเปลี่ยนรูปร่างไปจากทรงกลม
4. ภาพอัลตราซาวด์ของมดลูก แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับการบวมน้ำ พบการบวมน้ำ ลดลงของของชั้นเยื่อบุมดลูก
5. วันที่ที่พบการตกไข่ในกรณีที่ผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง

3.4 การตรวจการตั้งครรภ์ (pregnancy diagnosis) ทำการล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์และการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ (transrectal palpation and ultrasonography) เพื่อตรวจการตั้งครรภ์ที่ 14 วันหลังการตกไข่ รายงานผลการตั้งครรภ์ในรูปร้อยละ (percent)

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลแม่ม้า สายพันธุ์พ่อม้าและประเภทการผสมพันธุ์

Mare no.	Age(year)	Type of Breeding	Stallion Breed
1	7	Natural	American Quaterhorse
2	15	Natural	American Quaterhorse
3	12	Natural	Arabian no.1
4	3	Natural	Native Thai pony no.1
5	6	Natural	Thai Native crossbred no.1
6	12	Natural	Quarab
7	7	Natural	Quarab
8	4	Natural	Native Thai pony no.2
9	10	Natural	Thai Native crossbred no.1
10	12	Natural	Native Thai pony no.1
11	15	Natural	Native Thai pony no.3
12	10	A.I.(fresh semen)	Arabian no.2
13	6	A.I.(fresh semen)	Arabian no.2
14	14	A.I.(fresh semen)	Arabian no.2
15	6	A.I.(fresh semen)	Warmblood no.1
16	11	A.I.(fresh semen)	Warmblood no.1
17	6	A.I.(fresh semen)	Warmblood no.1
18	3	A.I.(Chiled)	Warmblood no.2
19	8	A.I.(Frozen semen)	Thai Native crossbred no.2
20	7	A.I.(Frozen semen)	Arabian no.2
21	15	A.I.(Frozen semen)	Arabian no.2

ผลและวิจารณ์

ผล

การทดลองที่ 1

1. วงรอบการเป็นสัด (estrus cycle หรือ IOI)

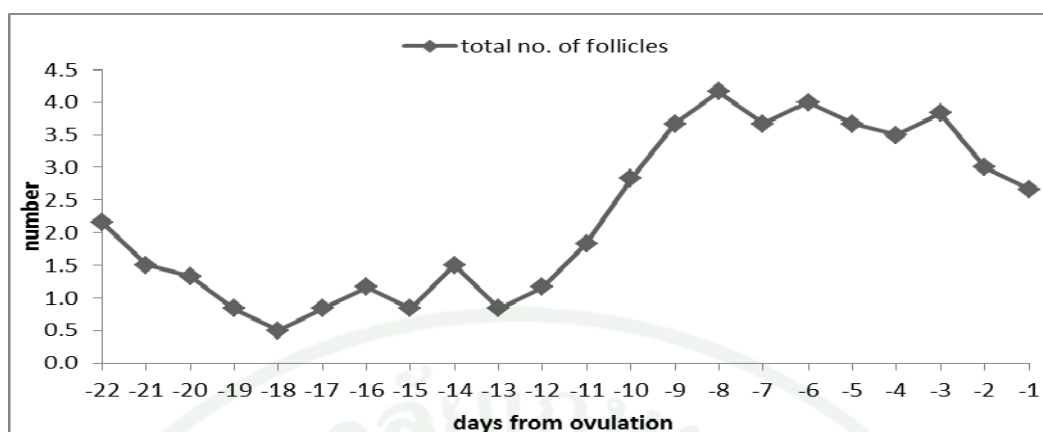
จากการศึกษาระยะเวลาระหว่างการตกไข่ของแม่ม้าพื้นเมืองไทยจำนวน 11 วงรอบ และแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต จำนวน 8 วงรอบ (ตารางที่ 5) พบว่า ค่าเฉลี่ย IOI ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย 23.5 ± 1.8 วัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าเฉลี่ย IOI ของแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต 22.3 ± 0.9 วัน ($p = 0.07$)

2. การติดตามการพัฒนาของฟอลลิเคิลในกลุ่มแม่ม้าพื้นเมืองไทยโดยไม่ได้มีการระบุติดตามฟอลลิเคิล (without day by day identity)

2.1 จำนวนของฟอลลิเคิลทั้งหมดที่มีขนาดใหญ่กว่า 10 มม. ที่พบในแต่ละวันของวงรอบการเป็นสัด

การรายงานผลการศึกษากำหนดวงรอบการเป็นสัดให้มีระยะเวลา 23 วัน แม่ม้า 2 ตัวที่มีวงรอบการเป็นสัด 23 วัน ข้อมูลของทุกวันจะถูกนำมาใช้ทั้งหมด แม่ม้า 3 ตัวมีวงรอบการเป็นสัดยาวกว่า 23 วัน ข้อมูลที่นำมาใช้คือช่วง 22 วันก่อนการตกไข่ครั้งที่ 2 แม่ม้า 1 ตัวที่มีวงรอบการเป็นสัด 22 วัน จะนำข้อมูลของ 1 วันสุดท้ายของรอบการเป็นสัดก่อนหน้ามาใช้ เพื่อให้ข้อมูลจากแม่ม้าทุกตัวตรงกันตามลำดับวันของวงรอบการเป็นสัด

พบว่า ลำดับวันของวงรอบการเป็นสัดมีผลต่อค่าเฉลี่ยจำนวนของฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่กว่า 10 มม. ที่พบในแต่ละวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอย่างยิ่ง ($p < 0.01$) (ภาพที่ 13)

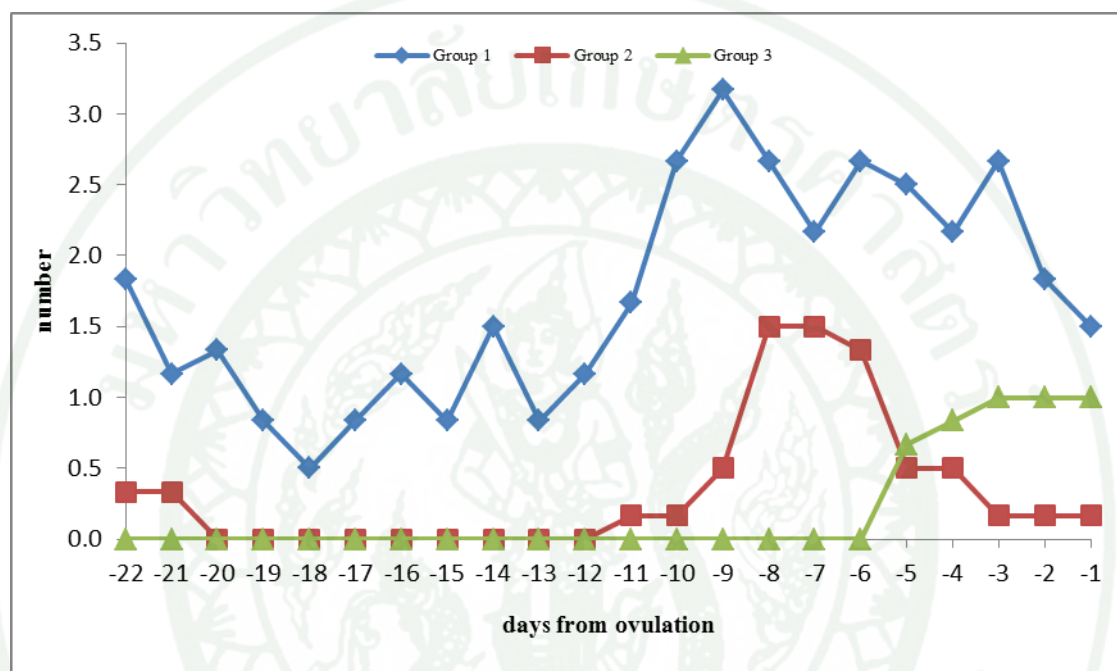


ภาพที่ 13 ค่าเฉลี่ยจำนวนของฟอลลิเคิลทั้งหมด ที่มีขนาดใหญ่กว่า 10 มม.

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจำนวนของฟอลลิเคิลทั้งหมด ที่มีขนาดใหญ่กว่า 10 มม. ที่พบในแต่ละวัน หลังจากการตกไข่ ในวงรอบการเป็นสัด 23 วัน ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย จำนวน 6 ตัว โดยไม่ได้มีการระบุติดตามฟอลลิเคิล (without day by day identity) จากจำนวน 6 วงรอบการเป็นสัด โดยใช้ช่วงข้อมูลเดียวกันที่ 22 วันก่อนการตกไข่ครั้งถัดไป

2.2 จำนวนของฟอลลิเคิล 3 กลุ่มที่พบในแต่ละวันของวงรอบการเป็นสัด

ข้อมูลจากแม่ม้าทุกตัวตรงกันตามลำดับวันของวงรอบการเป็นสัด 23 วัน เช่นเดียวกับข้อ 2.1 พบว่า ลำดับวันของวงรอบการเป็นสัดมีผลต่อค่าเฉลี่ยจำนวนของฟอลลิเคิลทั้ง 3 กลุ่มที่พบในแต่ละวันและพบความแตกต่างระหว่างกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอย่างยิ่ง ($p < 0.01$) (ภาพที่ 14)

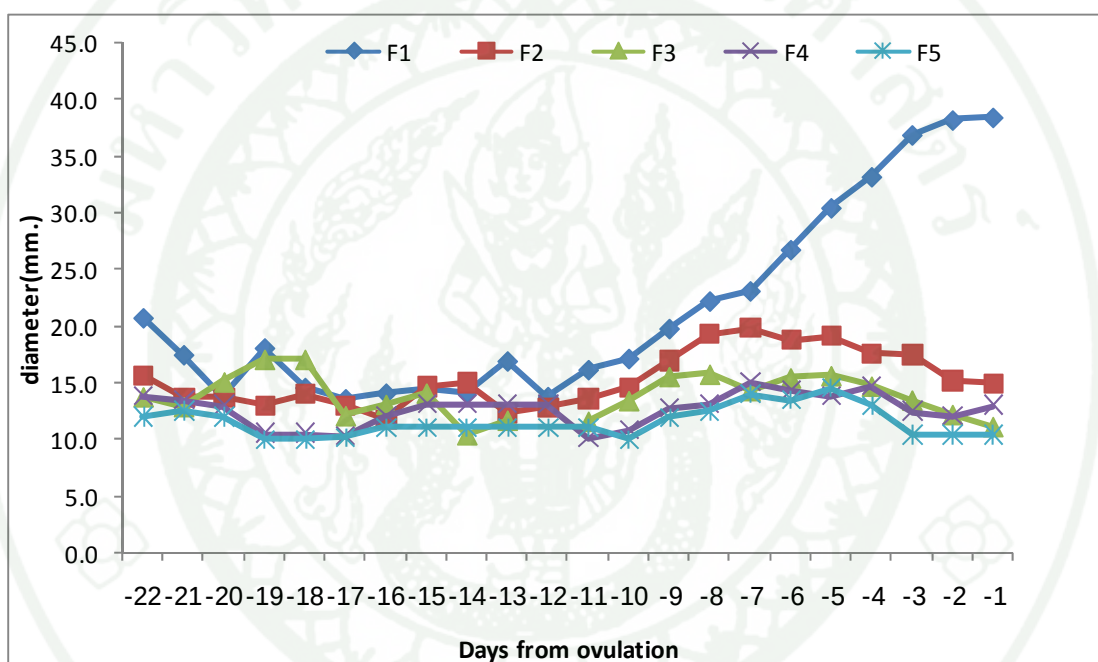


ภาพที่ 14 ค่าเฉลี่ยจำนวนของฟอลลิเคิล ใน 3 กลุ่ม

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจำนวนของฟอลลิเคิล ในแต่ละกลุ่ม กลุ่มที่ 1 กลุ่มฟอลลิเคิล ที่มีขนาดใหญ่กว่า 10 มม.ถึง 20 มม. กลุ่มที่ 2 ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่กว่า 20 มม.ถึง 30 มม. และกลุ่มที่ 3 ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่กว่า 30 มม. ที่พบในแต่ละวันหลังจากการตกไข่ ในวงรอบการเป็นสัด 23 วัน ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย จำนวน 6 ตัว โดยไม่ได้มีการระบุติดตามฟอลลิเคิล จากจำนวน 6 วงรอบการเป็นสัด โดยใช้ช่วงข้อมูลเดียวกันที่ 22 วันก่อนการตกไข่ครั้งถัดไป

2.3 ลำดับฟอลลิเคิล 5 ลำดับแรกที่พบในแต่ละวันของวงจรการเป็นสัด (ภาพที่ 15)

ข้อมูลจากแม่ม้าทุกตัวตรงกันตามลำดับวันของวงจรการเป็นสัด 23 วัน เช่นเดียวกับข้อ 2.1 พบว่า ลำดับวันของวงจรการเป็นสัดมีผลต่อค่าเฉลี่ยขนาดของฟอลลิเคิลแต่ละลำดับที่พบในแต่ละวัน และพบความแตกต่างระหว่างฟอลลิเคิลแต่ละลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอย่างยิ่ง ($p < 0.01$) ดังนั้นคือ ค่าเฉลี่ยขนาดของฟอลลิเคิล F1 ที่พบในแต่ละวัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอย่างยิ่งกับค่าเฉลี่ยขนาดของฟอลลิเคิล F2,3,4, และ F5 ขณะที่ F2, F3, F4 มีขนาดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



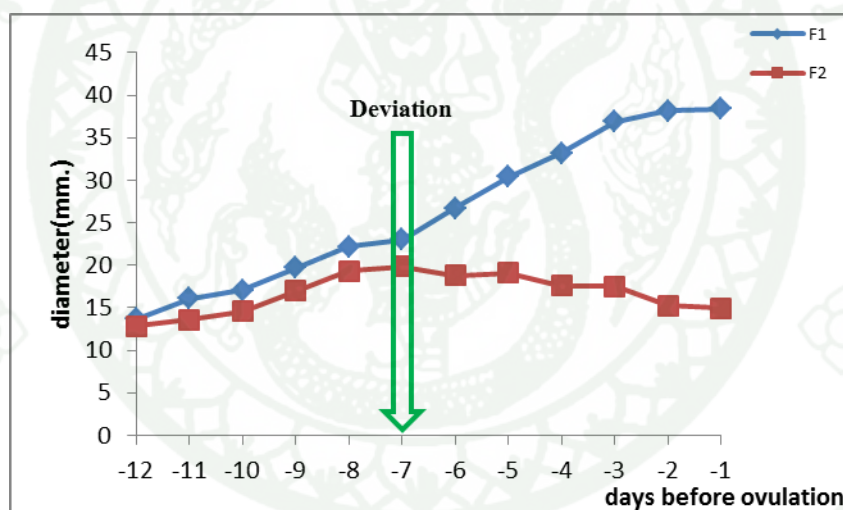
ภาพที่ 15 ค่าเฉลี่ยขนาดของฟอลลิเคิล 5 ลำดับแรก ที่พบในแต่ละวันของวงจรการเป็นสัด

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย ขนาดของฟอลลิเคิล ขนาดใหญ่ 5 ลำดับแรก ที่พบในแต่ละวันหลังจากการตกไข่ วงจรการเป็นสัด 23 วัน ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย จำนวน 6 ตัว โดยไม่ได้มีการระบุ ติดตามฟอลลิเคิล (without day by day identity) จากจำนวน 6 วงจรการเป็นสัดโดยใช้ช่วงข้อมูลเดียวกันที่ 22 วันก่อนการตกไข่ครั้งถัดไป กลุ่มฟอลลิเคิลจากวงจรการเป็นสัดครั้งก่อนไม่ได้ถูกคัดออกไป

2.4 วันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล (day of deviation) ใน ขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิล

ข้อมูลจากแม่ม้าทุกตัวตรงกันตามลำดับวันของวงจรการเป็นสัด 23 วัน เช่นเดียวกับข้อ 2.1 จากค่าเฉลี่ย ขนาดของฟอลลิเคิล ขนาดใหญ่ 5 ลำดับแรก ที่พบในแต่ละวันหลังจากการตกไข่ วงจรการเป็นสัด 23 วัน ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย จำนวน 6 ตัว โดยไม่ได้มีการระบุติดตามฟอลลิเคิล (without day by day identity) จากจำนวน 6 วงจรการเป็นสัด

พบว่าวันที่ 16 หลังจากการตกไข่ ครั้งก่อนหน้าหรือ 7 วัน (Day -7) ก่อนการตกไข่ครั้งต่อไป เป็นวันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล โดย F1 คงอัตราการเจริญเติบโตเดิม ขณะที่ F2 เจริญเติบโตในอัตราที่ลดลง ทำให้ฟอลลิเคิลทั้งสองใบมีขนาดแตกต่างกันอย่างชัดเจนในวันถัดไป(วันที่ 17 หรือ D -6)(ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 แสดงวันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลสองลำดับแรก

หมายเหตุ Deviation แสดงวันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลค่าเฉลี่ย ขนาดของฟอลลิเคิล ขนาดใหญ่ 2 ลำดับแรก F1 และ F2 ที่พบในแต่ละวันหลังจากการตกไข่ วงจรการเป็นสัด 23 วัน ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย จำนวน 6 ตัว โดยไม่ได้มีการระบุติดตามฟอลลิเคิล จำนวน 6 วงจรการเป็นสัด

2.5. Follicle diameter at deviation

ข้อมูลจากแม่ม้าทุกตัวตรงกันตามลำดับวันของวงรอบการเป็นสัด 23 วัน เช่นเดียวกับข้อ 2.1 จากค่าเฉลี่ย ขนาดของฟอลลิเคิล ขนาดใหญ่ 5 ลำดับแรก ที่พบในแต่ละวันหลังจากการตกไข่ วงรอบการเป็นสัด 23 วัน ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย จำนวน 6 ตัว โดยไม่ได้มีการระบุติดตามฟอลลิเคิล (without day by day identity) จากจำนวน 6 วงรอบการเป็นสัด

พบว่าวันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล (D -7) ขนาดเฉลี่ยของ F1 เท่ากับ 23.1 มม. และ F2 มีขนาดเฉลี่ย เท่ากับ 19.8 มม. (ตารางที่ 2)

หมายเหตุ ที่ D-12 ขนาดของ F1 และ F2 ไม่ต่างกันมาก (ผลต่างของขนาดมีค่าเท่ากับ 0.8 มม.) เนื่องจากเป็นระยะแรกที่ฟอลลิเคิลเริ่มปรากฏขึ้นมาที่ขนาดมากกว่า 10 มม.

ระหว่าง D-11 to D-7 ขนาดของ F1 และ F2 ต่างกันค่อนข้างคงที่ (ผลต่างของขนาดมีค่าเท่ากับ 2.8 มม. โดยเฉลี่ย) แสดงว่าฟอลลิเคิลมีอัตราการเจริญเติบโตที่อัตราคงที่ทั้งสองฟอลลิเคิล

หลัง D-6 เป็นต้นไป ขนาดของ F1 และ F2 ต่างกัน มากขึ้นทุกวันๆ แสดงว่า F1 มีการเจริญเติบโตเพิ่มขนาดได้ส่วน F2 เจริญในอัตราที่ลดลงและกำลังจะฝ่อหายไป

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยขนาดของ F1 และ F2 ก่อนการตกไข่

	D -12	D -11	D -10	D -9	D -8	D -7	D -6	D -5	D -4	D -3	D -2	D -1
F1 (mm.)	13.7	16.1	17.1	19.7	22.2	23.1	26.7	30.4	33.2	36.9	38.2	38.4
F2(mm.)	12.9	13.6	14.6	17.0	19.3	19.8	18.8	19.1	17.6	17.5	15.2	15.0
Diameter different (mm.)	0.8	2.5	2.5	2.7	2.9	3.3	7.9	11.3	15.6	19.4	23	23.4

จากค่าเฉลี่ยวันและขนาดของฟอลลิเคิล จากการศึกษทั้งสองวิธีโดยไม่ติดตาม และการติดตามการพัฒนาของฟอลลิเคิล ที่ได้รายงานดังผลการทดลองข้างต้น พบ วันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล และขนาดของฟอลลิเคิลใบใหญ่ที่สุด สองลำดับแรก มีค่าใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ย (mean±SD.) วันและขนาดของฟอลลิเคิลที่เกิด deviation ที่มีการระบุติดตาม (follicle identity) และไม่ติดตาม(without day by day identity)

End points	Follicle identity	Without follicle identity
Day of deviation	D -7.3±0.5	D -7
Diameter at deviation (mm.)		
Dominant follicle	21.1±1.9	23.1±1.8
Subordinate follicle	19.7±2.6	19.8±2.3

3. การพัฒนาของฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัดในแม่ม้าพื้นเมืองไทยแต่ละตัว (Profiles of individual identified follicles)

สถานการณ์พัฒนาของฟอลลิเคิลทุกใบที่พบในแต่ละวันหลังจากการตกไข่ของวงรอบการเป็นสัด โดยมีการติดตามฟอลลิเคิล (follicle tracking)

การใช้สัญลักษณ์ f ตามด้วยหมายเลข แทนฟอลลิเคิลแต่ละใบที่พบและใช้ตัวเลขแทนลำดับขนาดของฟอลลิเคิล เช่น f1 หมายถึง ฟอลลิเคิลใบที่มีขนาดใหญ่ที่สุด f2 หมายถึงฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่เป็นลำดับที่สอง ของคลื่นฟอลลิเคิล ยกเว้น

กลุ่มของฟอลลิเคิลขนาดเล็กมาก ไม่เกิน 7.5 มิลลิเมตร แสดงด้วย จุด 5 มม. และ กลุ่มของฟอลลิเคิลขนาดเล็ก ระหว่าง 7.5 - 10 มม. แสดงด้วย จุด 7.5 มม.

กรณีที่ต้องการระบุขนาดของฟอลลิเคิล จะใช้สัญลักษณ์ ff ตามด้วยตัวเลขขนาดมีหน่วยเป็น มิลลิเมตร

กำหนดให้ D 0 เป็นวันตกไข่

ผลการศึกษาคีกลื่นของฟอลลิเคิล แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงรายละเอียดในคลื่นฟอลลิเคิลที่พบในวงจรการเป็นสัดของแม่ม้าพื้นเมืองไทย

End points	Thai native pony
Number of interovulatory interval	6
Number of IOI with major ovulatory wave	6/6(100%)
Day of emergence (mean $\pm$ SD.)	D -11.3 $\pm$ 1.5
Day of deviation (mean $\pm$ SD.)	D -11.3 $\pm$ 1.5
Follicular diameter at diviation (mm.)	
Dominant follicle (f1) (mean $\pm$ SD.)	21.3 $\pm$ 1.9
Subordinate follicle (f2) (mean $\pm$ SD.)	19.7 $\pm$ 2.6
Number of growing follicles $\geq$ 10 mm. per ovulatory wave (mean $\pm$ SD.)	2.7 $\pm$ 1.2
Number ovulatory wave with only one follicle $\geq$ 10 mm.	1/6(16.7%)
Number of ovulatory wave with unidentified deviation	2/6(33.3%)
Number of IOI with major anovulatory wave	0/6(0%)
Number of IOI with major follicular wave	3/6(50%)
Number of minor follicular wave	4
Preceding the major ovulatory wave	2
Emerging after the major ovulatory wave	2

หมายเหตุ การติดตามฟอลลิเคิล (follicle tracking) ในแต่ละวันหลังจากการตกไข่ของวงจรการเป็นสัด จำนวน 6 วงรอบ ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย จำนวน 6 ตัว

3.1 แม่ม้าพื้นเมืองไทย หมายเลข 1 (ภาพที่ 17)

มีวงรอบการเป็นสัด 24 วัน มีการพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นจำนวน 2 คลื่นในวงรอบการเป็นสัด

พบคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิประกอบด้วยฟอลลิเคิลจำนวน 4 ใบ (f1 ถึง f4) ปรากฏขึ้นพร้อมกันที่ D-10 โดยฟอลลิเคิลจำนวน 2 ใบ (f3 และ f4) ปรากฏอยู่นาน 2 วันแล้วฝ่อหายไป f1 และ f2 เจริญพัฒนาต่อเนื่องจนถึงวันที่ f1 เกิดการตกไข่ f2 เจริญพัฒนาช้าลงและฝ่อไปหลังการตกไข่

day of emergence คือ D -10

day of deviation คือ D -7

f1 diameter at deviation เท่ากับ 20.1 มม.

f2 diameter at deviation เท่ากับ 18.5 มม.

พบคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิเกิดขึ้นตามหลังคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิประกอบด้วยฟอลลิเคิลจำนวน 3 ใบ (f5 ถึง f7) ปรากฏขึ้นที่ D -6 ในรังไข่ด้านตรงข้าม

ฟอลลิเคิลขนาดต่างๆที่พบ(นอกเหนือจากฟอลลิเคิลขนาดเล็กกว่า 10 มม.)จำนวน 8 ฟอลลิเคิล ดังนี้

พบ ff15 มม.และ ff14 มม. ปรากฏที่ D -18

พบ ff11.8 มม. ปรากฏที่ D -14

พบ ff11.9 มม. ปรากฏที่ D -8

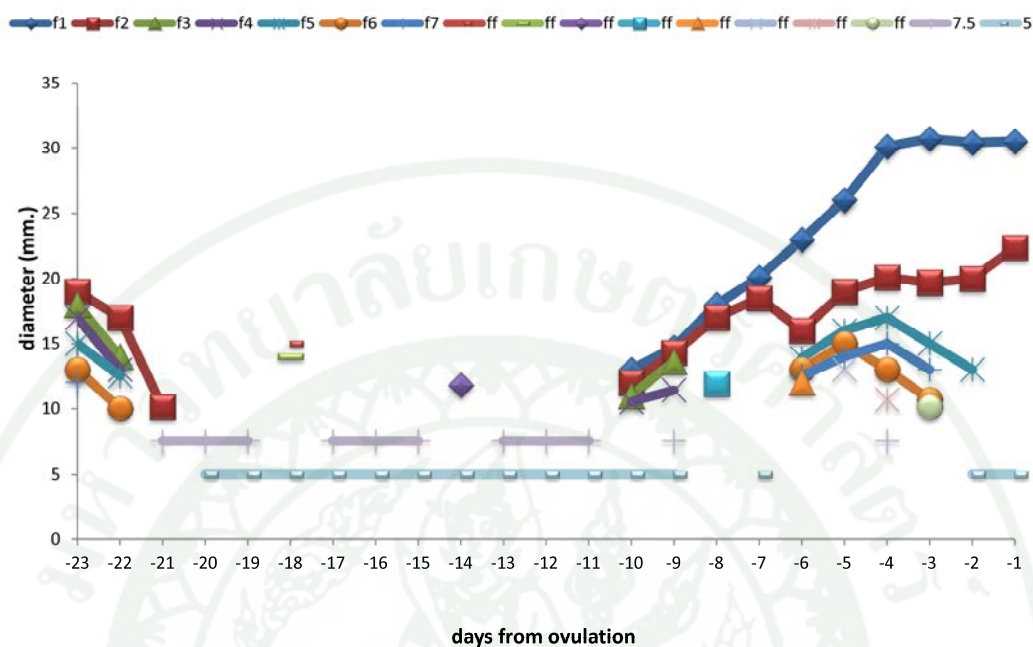
พบ ff12 มม. ปรากฏที่ D -6

พบ ff13 มม. ปรากฏที่ D -5

พบ ff10.7 มม. ปรากฏที่ D -4

พบ ff10.1 มม. ปรากฏที่ D -3

Thai native crossbred mare no. 1



ภาพที่ 17 สถานะการพัฒนาทุกฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 1

หมายเหตุ แสดงสถานะการพัฒนาของฟอลลิเคิลทุกใบยกเว้น ฟอลลิเคิลขนาดเล็กมาก ไม่เกิน 7.5 มม. แสดงด้วย จุด 5 มม. และฟอลลิเคิลขนาดเล็ก ระหว่าง 7.5 - 10 มม. แสดงด้วยจุด 7.5 มม. ในวงรอบการเป็นสัด 24 วัน ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย หมายเลข 1 โดยมีการติดตามฟอลลิเคิล

3.2 แม่น้ำพื้นเมืองไทย หมายเลข 2 (ภาพที่ 18)

มีวงรอบการเป็นสัด 22 วัน มีการพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นจำนวน 1 คลื่นในวงรอบการเป็นสัด

พบคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิประกอบด้วยฟอลลิเคิลจำนวน 4 ใบ (f1 ถึง f4) f1 ปรากฏขึ้นที่ D -12 หนึ่งวันก่อน f2 ถึง f4 ที่ปรากฏขึ้นที่ D -11

day of emergence คือ D -12

day of deviation คือ D -8

f1 diameter at deviation เท่ากับ 20.2 มม.

f2 diameter at deviation เท่ากับ 20.8 มม.

ไม่พบคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิที่ชัดเจน เนื่องจาก f5 และ f6 ไม่นับรวมเป็นคลื่นเดียวกัน ทั้งๆที่ ปรากฏอยู่ได้นานก่อนฝ่อหายไป

ที่ D -10 to D -7 มี f5 ปรากฏขึ้น คงอยู่ในขนาด Group 1 นาน 4 วัน

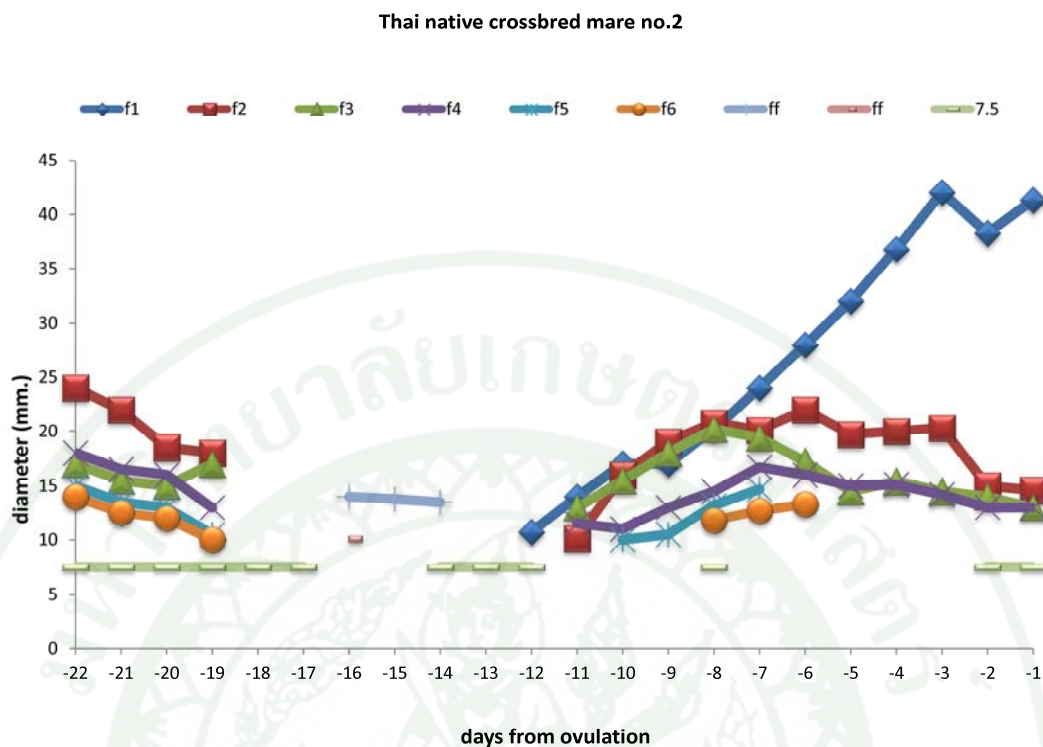
ที่ D -8 to D -6 มี f6 ปรากฏขึ้นคงอยู่ในขนาด Group 1 นาน 3 วัน

ฟอลลิเคิลขนาดต่างๆที่พบ(นอกเหนือจากฟอลลิเคิลขนาดเล็กกว่า 10 มม.) จำนวน 2 ฟอลลิเคิล ดังนี้

พบ ff 10.1 มม. ปรากฏขึ้นที่ D -16

พบ ff 14 มม. ปรากฏขึ้นที่ D -16 to D -14 ปรากฏขึ้นคงอยู่ในขนาด Group 1 นาน

3 วัน



ภาพที่ 18 สถานะการพัฒนาทุกฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 2

หมายเหตุ แสดงสถานะการพัฒนาของฟอลลิเคิลทุกใบยกเว้น ฟอลลิเคิลขนาดเล็กมาก ไม่เกิน 7.5 มม. แสดงด้วย จุด 5 มม. และฟอลลิเคิลขนาดเล็ก ระหว่าง 7.5 - 10 มม. แสดงด้วยจุด 7.5 มม. ในวงรอบการเป็นสัด 22 วัน ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย หมายเลข 2 โดยมีการติดตามฟอลลิเคิล

3.3 แม่ม้าพื้นเมืองไทย หมายเลข 3 (ภาพที่ 19)

มีวงรอบการเป็นสัด 23 วัน การพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นจำนวน 2 คลื่นในวงรอบการเป็นสัด

พบ คลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิประกอบด้วยฟอลลิเคิลจำนวน 2 ใบ (f1 และ f2) f1 ปรากฏขึ้นที่ D -12 หนึ่งวันก่อน f2 ที่ปรากฏขึ้นที่ D -11

day of emergence คือ D -12

day of deviation คือ D -7

f1 diameter at deviation เท่ากับ 20.1 มม.

f2 diameter at deviation เท่ากับ 16.7 มม.

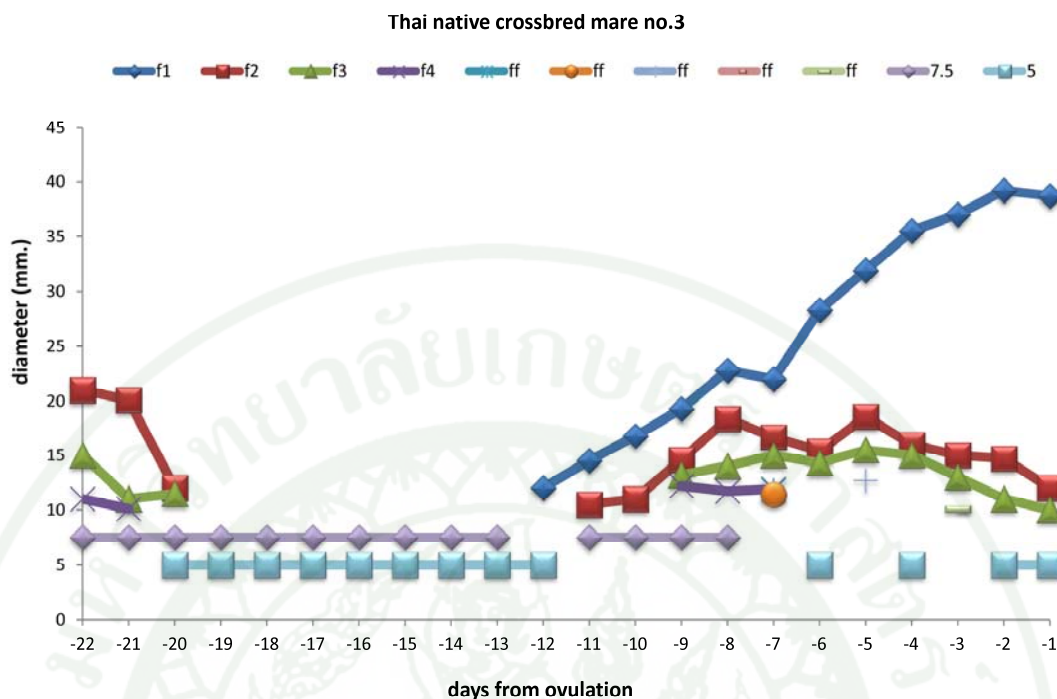
พบคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิเกิดขึ้นตามหลังคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิประกอบด้วยฟอลลิเคิลจำนวน 2 ใบ (f3 และ f4) ปรากฏขึ้นที่ D -9 อยู่ในขนาด Group 1 ในรังไข่ข้างเดียวกันกับคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ

ฟอลลิเคิลขนาดต่างๆที่พบ(นอกเหนือจากฟอลลิเคิลขนาดเล็กกว่า 10 มม.) จำนวน 5 ฟอลลิเคิล ดังนี้

พบ ff11.4 มม.และ f11.5 มม.ปรากฏขึ้นที่ D -7

พบ ff12.7 มม.ปรากฏขึ้นที่ D -5

พบ ff10.1 มม.จำนวน 2 ใบปรากฏขึ้นที่ D -3



ภาพที่ 19 สถานะการพัฒนาทุกฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 3

หมายเหตุ แสดงสถานะการพัฒนาของฟอลลิเคิลทุกใบยกเว้น ฟอลลิเคิลขนาดเล็กมาก ไม่เกิน 7.5 มม. แสดงด้วย จุด 5 มม. และฟอลลิเคิลขนาดเล็ก ระหว่าง 7.5 - 10 มม. แสดงด้วยจุด 7.5 มม. ในวงรอบการเป็นสัด 23 วัน ของแม่ม้าพันธุ์เมืองไทย หมายเลข 3 โดยมีการติดตามฟอลลิเคิล

3.4 แม่ม้าพื้นเมืองไทย หมายเลข 4 (ภาพที่ 20)

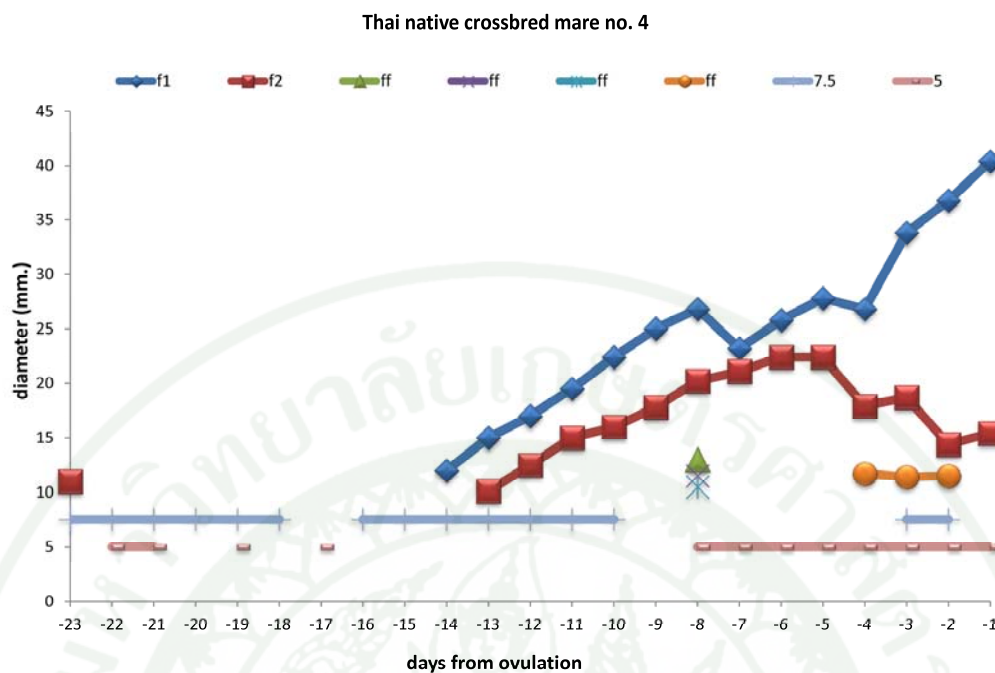
มีวงรอบการเป็นสัด 24 วัน วัน มีการพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นจำนวน 1 คลื่นในวงรอบการเป็นสัด

พบคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิประกอบด้วยฟอลลิเคิลจำนวน 2 ใบ (f1 และ f2) f1 ปรากฏขึ้นที่ D -14 หนึ่งวันก่อน f2 ที่ปรากฏขึ้นที่ D -13 ไม่พบวัน deviation และ ขนาดที่เกิด deviation ได้อย่างชัดเจน

ฟอลลิเคิลขนาดต่างๆที่พบ(นอกเหนือจากฟอลลิเคิลขนาดเล็กกว่า 10 มม.) จำนวน 4 ฟอลลิเคิล ดังนี้

พบ ff13 มม. f11.5 มม. และ ff10.5 มม. ปรากฏขึ้นที่ D -8

พบ ff11.7 มม. ปรากฏขึ้นที่ D -4 to D-2



ภาพที่ 20 สถานะการพัฒนาทุกฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 4

หมายเหตุ แสดงสถานะการพัฒนาของฟอลลิเคิลทุกใบยกเว้น ฟอลลิเคิลขนาดเล็กมาก ไม่เกิน 7.5 มม. แสดงด้วย จุด 5 มม. และฟอลลิเคิลขนาดเล็ก ระหว่าง 7.5 - 10 มม. แสดงด้วยจุด 7.5 มม. ในวงรอบการเป็นสัด 24 วัน ของแม่ม้าพันธุ์เมืองไทย หมายเลข 4 โดยมีการติดตามฟอลลิเคิล

3.5 แม่น้ำพื้นเมืองไทย หมายเลข 5

มีวงรอบการเป็นสัด 26 วัน มีการพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นจำนวน 3 คลื่นในวงรอบการเป็นสัด

พบคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิ คลื่นแรกเกิดขึ้นก่อนคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ ประกอบด้วยฟอลลิเคิลจำนวน 5 ใบ (f1 ถึง f5) ปรากฏขึ้นที่ D -17 อยู่ในขนาด Group 1 ในรังไข่ข้างซ้าย คงอยู่ประมาณ 5 วัน (D -17 to D-13)

พบคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิคลื่นถัดมาเกิดขึ้นก่อนคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ ประกอบด้วยฟอลลิเคิลจำนวน 2 ใบ (f6 และ f7) ปรากฏขึ้นที่ D -12 อยู่ในขนาด Group 2 ในรังไข่ข้างขวา ขนาดใหญ่ที่สุดของ f6 คือ 22.7 มม. f6 ปรากฏไปจนถึงสิ้นสุดวงรอบ

พบคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ ประกอบด้วยฟอลลิเคิลจำนวน 3 ใบ (f8 ถึง f10) f8 ปรากฏขึ้นที่ D -10 f9 และ f10 ปรากฏขึ้น ที่ D -9 โดย f8 to f10 อยู่ในรังไข่ข้างซ้าย

day of emergence คือ D -10

day of deviation คือ D -7

f1 diameter at deviation เท่ากับ 24 มม.

f2 diameter at deviation เท่ากับ 16.5 มม.

ที่ D -7 เกิด deviation ของ f8 และ f9 จาก คลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ มีขนาด 24 มม. และ 16.5 มม.ตามลำดับ ในขณะที่เดียวกันกับที่ f6 จาก คลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิที่เกิดขึ้นก่อนหน้ามีขนาด 22.7 มม.

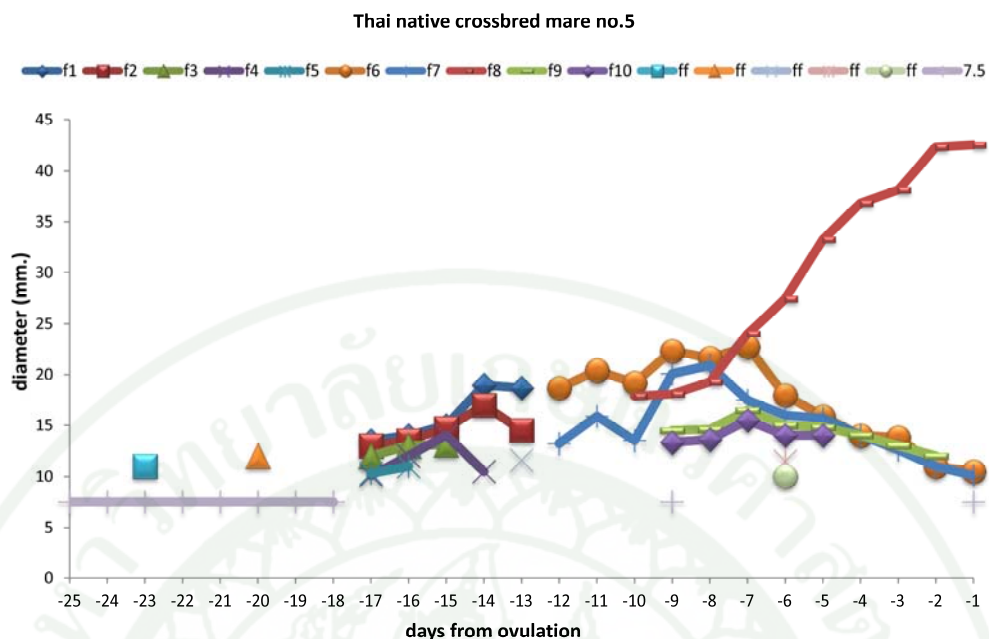
ฟอลลิเคิลขนาดต่างๆที่พบ(นอกเหนือจากฟอลลิเคิลขนาดเล็กกว่า 10 มม.) จำนวน 5 ฟอลลิเคิล ดังนี้

พบ ff11 มม. ปรากฏขึ้นที่ D -23

พบ ff12 มม. ปรากฏขึ้นที่ D -20

พบ ff11.6 มม. ปรากฏขึ้นที่ D -13

พบ ff10.1 มม. และ ff11.5 มม. ปรากฏขึ้นที่ D -6 (ภาพที่ 21)



ภาพที่ 21 สถานะการพัฒนาทุกฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 5

หมายเหตุ แสดงสถานะการพัฒนาของฟอลลิเคิลทุกใบยกเว้น ฟอลลิเคิลขนาดเล็กมาก ไม่เกิน 7.5 มม. แสดงด้วย จุด 5 มม. และฟอลลิเคิลขนาดเล็ก ระหว่าง 7.5 - 10 มม. แสดงด้วยจุด 7.5 มม. ในวงรอบการเป็นสัด 26 วัน ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย หมายเลข 5 โดยมีการติดตามฟอลลิเคิล

3.6 แม้ม้าพื้นเมืองไทย หมายเลข 6

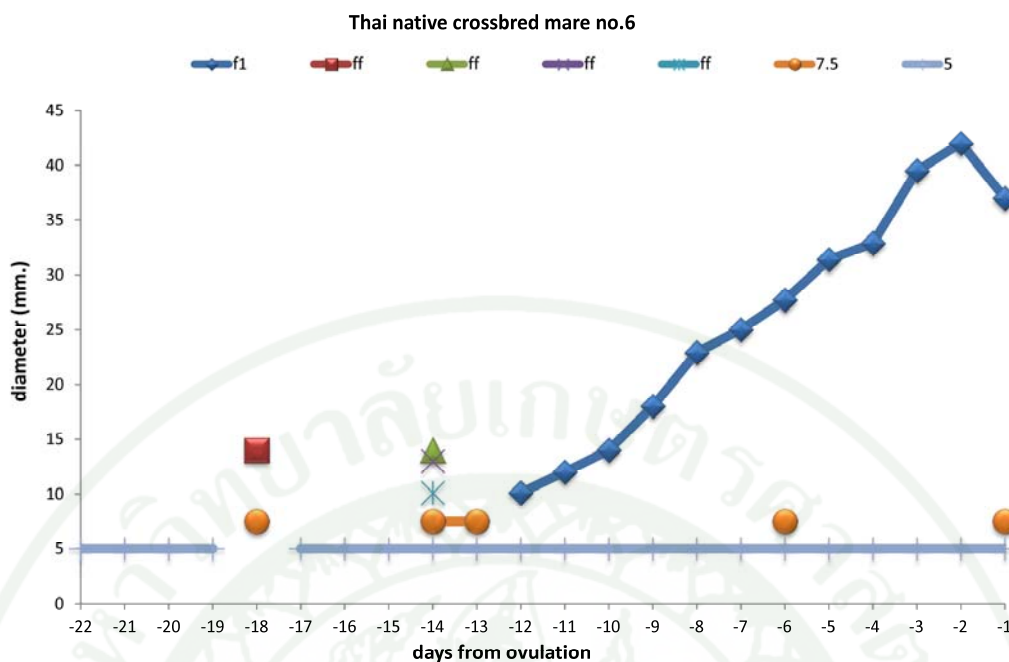
มีวงรอบการเป็นสัด 23 วัน วันมีการพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นจำนวน 1 คลื่นในวงรอบการเป็นสัด

พบคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิประกอบด้วยฟอลลิเคิลจำนวน 1 ใบ ปรากฏชั้นที่ D -12 ที่ขนาด 10.1 มม. พัฒนาต่อเนื่องจนมีขนาดใหญ่ที่สุด ที่ D -2 ก่อนการตกไข่

ฟอลลิเคิลขนาดต่างๆที่พบ(นอกเหนือจากฟอลลิเคิลขนาดเล็กกว่า 10 มม.) จำนวน 4 ฟอลลิเคิล ดังนี้

พบ ff14 มม. ปรากฏชั้นที่ D -18

พบ ff10.1 มม. ff13 มม. และ ff14 มม. ปรากฏชั้นที่ D -14 (ภาพที่ 22)

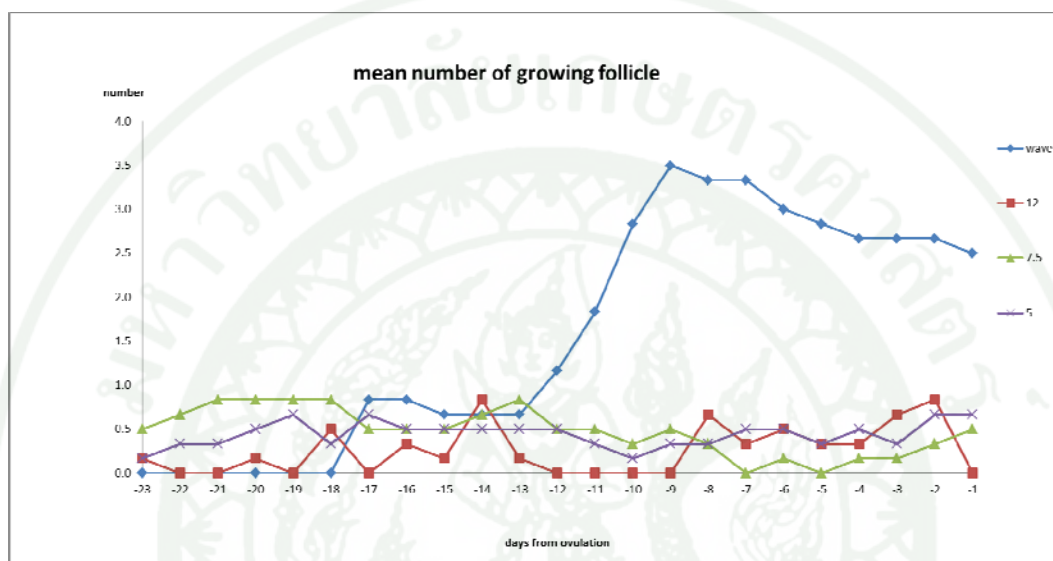


ภาพที่ 22 สถานะการพัฒนาฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัดในแม่ม้าหมายเลข 6

หมายเหตุ แสดงสถานะการพัฒนาของฟอลลิเคิลทุกใบ ฟอลลิเคิลขนาดเล็กมาก ไม่เกิน 7.5 มม. แสดงด้วย จุด 5 มม. และฟอลลิเคิลขนาดเล็ก ระหว่าง 7.5 - 10 มม. แสดงด้วยจุด 7.5 มม. ในวงรอบการเป็นสัด 23 วัน ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย หมายเลข 6 โดยมีการติดตามฟอลลิเคิล

3.7 การปรากฏขึ้นของฟอลลิเคิล ที่นอกเหนือจากคลื่นฟอลลิเคิลของวงรอบการเป็นสัด

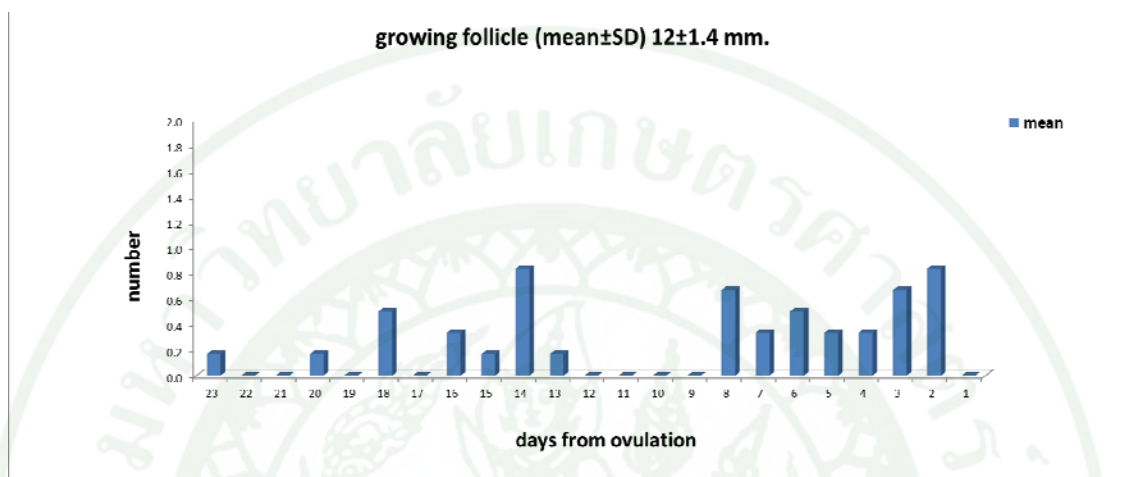
การปรากฏขึ้นของฟอลลิเคิลขนาดเล็กกว่า 10 มม (ขนาด 7.5 – 10 มม. และเล็กกว่า 7.5 มม.) และฟอลลิเคิลขนาดมากกว่า 10 มม. มีจำนวนเฉลี่ยของฟอลลิเคิลขนาดเล็กที่พบตามลำดับวันต่างๆของวงรอบการเป็นสัด (ภาพที่ 23)



ภาพที่ 23 ค่าเฉลี่ยจำนวนฟอลลิเคิลที่พบในลำดับวันของวงรอบการเป็นสัด

หมายเหตุ 5 แทนกลุ่มของฟอลลิเคิลขนาดเล็กมาก ไม่เกิน 7.5 มิลลิเมตร 7.5 แทนกลุ่มของฟอลลิเคิลขนาดเล็ก ระหว่าง 7.5 - 10 มม. 12 แทนกลุ่มฟอลลิเคิลจำนวน 28 ฟอลลิเคิล ที่มีขนาดเฉลี่ย 12 มม. และ wave แทนกลุ่มฟอลลิเคิลในการพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่น ของวงรอบการเป็นสัด จำนวน 6 วงรอบ ของแม่ม้าพื้นเมืองไทยจำนวน 6 ตัว

การปรากฏขึ้นของฟอลลิเคิล (นอกเหนือจากฟอลลิเคิลขนาดเล็กกว่า 10 มม.) จำนวน 28 ใบ มีขนาดโดยเฉลี่ย (mean±SD.) 12 ± 1.4 มม. พบกระจายตามลำดับวันต่างๆของวงรอบการเป็นสัด ฟอลลิเคิลดังกล่าวมีค่าเฉลี่ยของจำนวนที่พบในแต่ละวันของวงรอบการเป็นสัด (ภาพที่ 24) โดยส่วนใหญ่ฟอลลิเคิลดังกล่าวปรากฏขึ้นมาเพียง 1 วันแล้วฝ่อหายไป



ภาพที่ 24 ค่าเฉลี่ยจำนวนฟอลลิเคิลขนาด (mean±SD.) 12 ± 1.4 มม.ในลำดับวันของวงรอบการเป็นสัด จำนวน 6 วงรอบ ของแม่ม้าพื้นเมืองไทยจำนวน 6 ตัว

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยจำนวน ที่พบในแต่ละวันในวงรอบการเป็นสัด โดยการติดตามฟอลลิเคิล จำนวน 6 วงรอบการเป็นสัดของแม่ม้าพื้นเมืองไทยจำนวน 6 ตัว

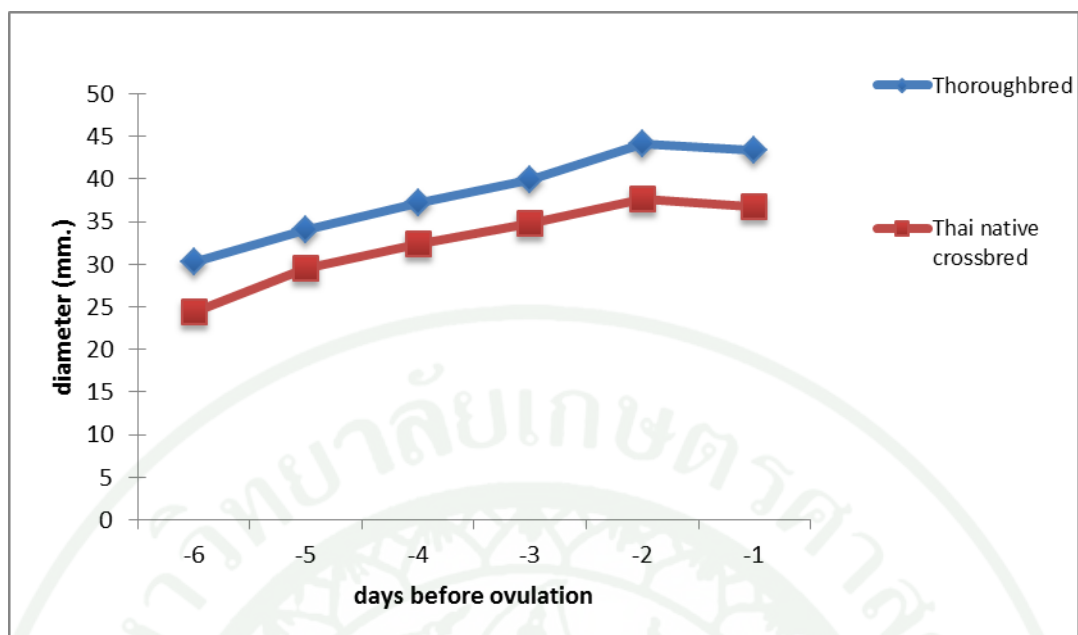
4. การติดตามการเจริญเติบโตของ preovulatory follicles

4.1 Diameter of ovulatory follicle

จากการศึกษาขนาดของ preovulatory follicles ในช่วง 6 วันก่อนการตกไข่ ของแม่ม้าทั้งสองกลุ่ม (ตารางที่ 5) พบว่าแม่ม้าพื้นเมืองไทย ($n=11$) มีค่าเฉลี่ย ขนาด ovulatory follicle ที่สูงสุด 38.7 ± 3.7 มม. มีความแตกต่างกับแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต ($n=8$) 45.5 ± 4.1 (mm.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และที่ก่อนตกไข่ 1 วัน แม่ม้าพื้นเมืองไทย ($n=12$) มีค่าเฉลี่ย ขนาด ovulatory follicle 36.8 ± 4.1 (mm.) มีความแตกต่างกับ แม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต ($n=8$) 43.4 ± 4.6 (mm.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกัน ($p < 0.05$) (ภาพที่ 25 และตารางที่ 5)

4.2 Growth rate

จากการศึกษาขนาดของ preovulatory follicles ในช่วง 6 วันก่อนการตกไข่ ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย ($n=12$) และแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต ($n=8$) พบว่า อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยที่ช่วงเวลา Day -6 to -3 ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย 3.2 ± 0.7 mm/day ไม่มีความแตกต่างกับ แม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต 3.2 ± 1.2 mm./day อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยที่ช่วงเวลา Day -3 to -1 ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย 1.3 ± 1.8 mm/day ไม่มีความแตกต่างกับแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต 1.7 ± 1.0 mm./day อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยที่ช่วงตั้งแต่ขนาดใหญ่สุดจนถึงวันตกไข่ ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย -1.7 ± 1.9 mm./day ไม่มีความแตกต่างกับแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต -1.1 ± 1.0 mm./day อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ภาพที่ 25 และตารางที่ 5)



ภาพที่ 25 แสดงค่าเฉลี่ย ขนาดของ preovulatory follicles ช่วง 6 วันก่อนการตกไข่ ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย (n=12) และแม่ม้าโทโรเบรต (n=8)

ตารางที่ 5 แสดงค่าเฉลี่ย (mean±SD) ระยะเวลา ขนาดของฟอลลิเคิล อัตราการเจริญเติบโตและจำนวนของฟอลลิเคิลในคลื่น ของแม่ม้าพื้นเมืองไทยและแม่ม้าพันธุ์โรเบิร์ต

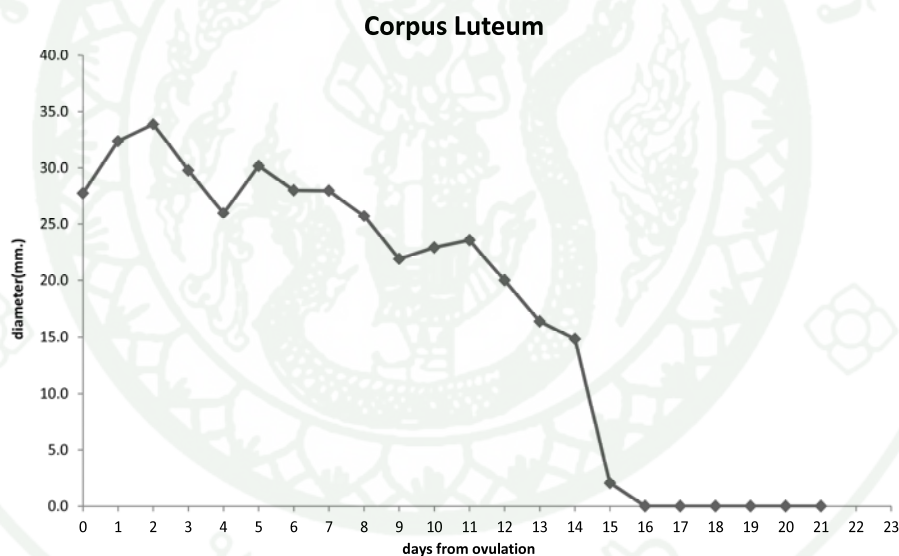
End points	Thai Native Crossbred	Thoroughbred
Interval (days) from		
ovulation to ovulation	23.5±1.8	22.3±0.9
ovulation to last detection of corpus luteum	14.1±0.6	N/A
maximum diameter to ovulation	1.5±0.5	1.8±0.5
Diameter of ovulatory follicle (mm.)		
At maximum	37.9±4.6 ^a	45.5±4.1 ^b
On day -1	36.7±4.0 ^a	43.4±4.6 ^b
Growth rate (mm/day) from:		
Day -6 to -3	3.2±0.7	3.2±1.2
Day -3 to -1	1.3±1.8	1.7±1.0
Maximum diameter to ovulation	-1.7±1.9	-1.1±1.0
Number of growing follicle $\geq$ 10 mm. per ovulatory wave	2.7±1.2 ^a	10±5.1 ^b
Number ovulatory wave with only one follicle $\geq$ 10 mm.	1/6(16.7%)	0/10(0%)

Note ^{a,b} values with different superscripts within rows are significantly different from each other ($p < 0.05$)

5. การตกไข่และการติดตามการเปลี่ยนแปลงขนาดของเนื้อเยื่อ CL

ผลการศึกษาพบว่า จากการล้วงตรวจไม่สามารถคลำระบุได้ถึงตำแหน่งและขนาดของ CL เนื่องจาก CL ทั้งหมดจะอยู่ภายในรังไข่ ผิวรังไข่จะเรียบโดยตลอด

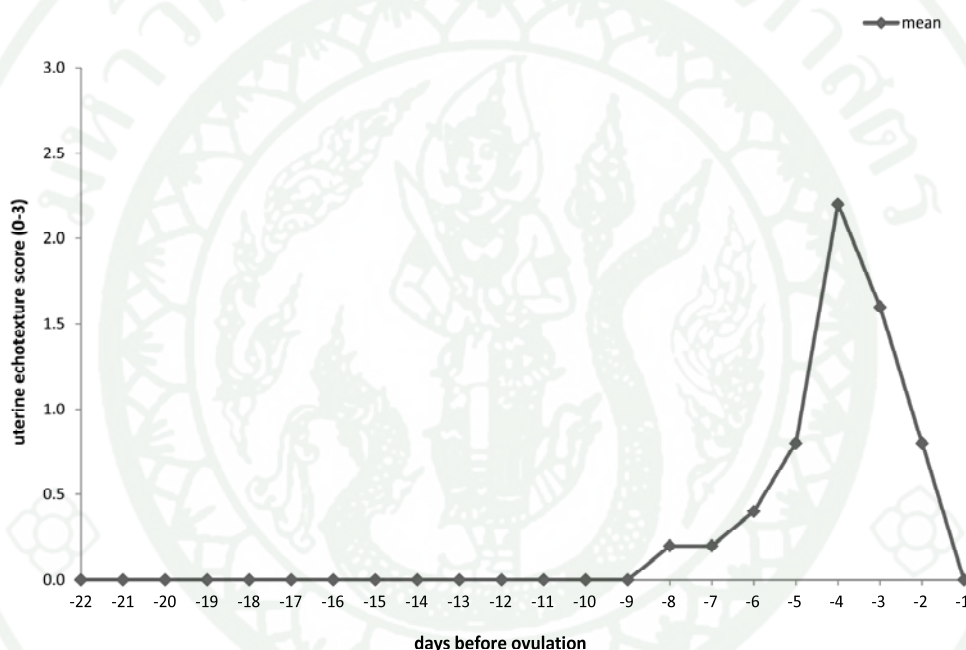
ในวันที่เกิดการตกไข่ ตำแหน่งของฟอลลิเคิลใบใหญ่สุดในรังไข่จะถูกแทนที่ด้วยโครงสร้างที่สะท้อนคลื่นอัลตราซาวด์ ภาพที่ 24 การเพิ่มขนาดของ CL จะค่อยเพิ่มขึ้นจากวันที่ 1 หลังการตกไข่ จนเกือบใกล้เคียงกับขนาดที่เกิดการตกไข่ของฟอลลิเคิล ที่วันที่ 2 และมีขนาดเกือบคงที่ช่วง 7 วัน หลังจากนั้นจะค่อยๆลดขนาดลง จนตรวจไม่พบ วันสุดท้ายที่ไม่สามารถตรวจพบ CL คือ วันที่ 15 หลังจากการตกไข่ ซึ่งจากการตรวจด้วยอัลตราซาวด์จะไม่สามารถแยกขอบเขตของ CL ออกจาก ovarian stroma



ภาพที่ 26 ค่าเฉลี่ยขนาดของ CL (มม.) ของแม่ม้าพื้นเมืองไทยจำนวน 6 ตัว

6. การติดตามการเปลี่ยนแปลงของมดลูก

จากผลการศึกษา ระดับการบวมน้ำของชั้นเยื่อมดลูกจากการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ ในช่วง estrus ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย พบว่า มีโอกาสที่จะตรวจพบการบวมน้ำของชั้นเยื่อมดลูกในระยะ 7 วัน ก่อนการตกไข่ ภาพที่ 25 โดย แบ่งออกได้เป็น 3 ช่วงเวลา คือ ระยะ 5 วันแรก (D -8 to D -4) ระดับการบวมน้ำจะค่อยๆเพิ่มขึ้นสูงขึ้นในช่วงแรกถึงระดับสูงสุดประมาณ (D-4) ระยะ 2 วันหลัง (D -3 to D -2) ระดับการบวมน้ำจะค่อยๆลดลง และที่ 1 วัน ก่อนการตกไข่ (D -1) จะไม่พบการบวมน้ำ



ภาพที่ 27 ค่าเฉลี่ยระดับการบวมน้ำของชั้นเยื่อมดลูกในแม่ม้าพื้นเมืองไทย จากการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ (n=5)

การทดลองที่ 2

การแสดงอาการเป็นสัด

พบว่าแม่มี 18 ตัวจากจำนวน 21 ตัว คิดเป็น 85.7% (ตารางที่ 6) ที่แสดงอาการเป็นสัดยืนนิ่ง (Standing Heat) และ 14.3% ไม่แสดงอาการเป็นสัด (Silent Heat)

การแสดงอาการเป็นสัดของแม่มีส่วนใหญ่ พบว่า ระดับการแสดงอาการจะเริ่มจากน้อยไปมากแล้วจึงลดลงจนหมดไป ลักษณะอาการเป็นสัดที่พบ ประกอบด้วย การยินยอมให้พ่อมาเข้าใกล้ สนใจพ่อมา หยุดยืน เดินเข้าหาพ่อมา ถ่ายปัสสาวะ ยกหาง สายหางไปมา การเผยต่อมกระสัน ยืนนิ่ง ย่อตัวเบนเข้าหาพ่อมา ยินยอมให้พ่อมาป้อนนมผสม

การตรวจการตั้งท้อง (Pregnancy Diagnosis)

อัตราการตั้งท้องจากแม่ที่ได้รับการผสมพันธุ์ทั้งสิ้น 21 ตัว พบว่าผสมติดและตั้งท้อง 18 ตัว คิดเป็นอัตราการตั้งท้อง 85.7% เมื่อแจกแจงตามวิธีการผสมพันธุ์ได้ผลดังนี้ (ตารางที่ 6)

การผสมจริง อัตราการตั้งท้องเท่ากับ 90.9% (10/11)

การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสด อัตราการตั้งท้องเท่ากับ 100% (6/6)

การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่เย็น อัตราการตั้งท้องเท่ากับ 100 % (1/1)

การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง อัตราการตั้งท้องเท่ากับ 33.3 % (1/3)

จำนวนวงจรการเป็นสัดต่อการตั้งท้อง (cycles / pregnancy) เท่ากับ 1.5 วงจร โดยจำนวนวงจรการเป็นสัดทั้งหมดที่ใช้ในการผสมพันธุ์ 27 วงจร เกิดการตั้งท้อง 18 ครั้ง เมื่อแจกแจงตามวิธีการผสมพันธุ์ได้ผลดังนี้

การผสมจริง จำนวนวงจรการเป็นสัดต่อการตั้งท้อง(13/10) เท่ากับ 1.3 วงจร

การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อสด 1 วงจร (6/6)

การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่เย็น 1 วงจร (1/1)

การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง 7 วงจร (7/1)

ตารางที่ 6 แสดงผลการผสมพันธุ์และพฤติกรรมการเป็นสัด ของแม่ม้าจำนวน 21 ตัว

Mare no.	Showed heat	Type of Breeding	Stallion no.	Pregnancy test	No. of Estrus cycle
1	Yes	Natural	1	positive	1
2	No	Natural	1	positive	1
3	Yes	Natural	2	positive	1
4	Yes	Natural	3	positive	1
5	Yes	Natural	4	positive	1
6	Yes	Natural	5	positive	1
7	Yes	Natural	5	positive	1
8	Yes	Natural	6	positive	1
9	Yes	Natural	4	positive	2
10	Yes	Natural	3	negative	2
11	Yes	Natural	7	positive	1
12	Yes	A.I.(fresh)	8	positive	1
13	Yes	A.I.(fresh)	8	positive	1
14	Yes	A.I.(fresh)	8	positive	1
15	Yes	A.I.(fresh)	9	positive	1
16	Yes	A.I.(fresh)	9	positive	1
17	Yes	A.I.(fresh)	9	positive	1
18	Yes	A.I.(Chilled)	10	positive	1
19	Yes	A.I.(Frozen)	11	positive	1
20	Yes	A.I.(Frozen)	8	negative	3
21	No	A.I.(Frozen)	8	negative	3

วิจารณ์

การพัฒนาของฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัดในแม่ม้าพื้นเมืองไทยแต่ละตัว จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าแม่ม้าพื้นเมืองไทยมีการพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นในวงรอบการเป็นสัด ประกอบด้วยคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิและคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิ โดยจะพบคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่มีกลุ่มฟอลลิเคิลขนาดใหญ่กว่า 10 มม. ปรากฏขึ้นช่วงกลางของวงรอบการเป็นสัด วันที่ $D -11.4 \pm 1.5$ ซึ่งวงรอบการเป็นสัดของแม่ม้าพื้นเมืองไทย มีระยะเวลานาน 23.5 ± 1.8 วัน กรณีที่เกิดแบบ 1 คลื่น ใน 1 วงรอบการเป็นสัด จะพบคลื่นฟอลลิเคิลเป็นแบบปฐมภูมิเท่านั้น (แม่ม้าหมายเลข 2 4 และ 6) กรณีที่เกิดแบบ 2 คลื่น ใน 1 วงรอบการเป็นสัด (แม่ม้าหมายเลข 1 และ 3) จะพบคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิและคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิ โดยคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิเกิดขึ้นภายหลังคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ ส่วนแม่ม้าหมายเลข 5 ของการศึกษานี้ มี 3 คลื่นฟอลลิเคิล ใน 1 วงรอบการเป็นสัดทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าแม่ม้าตัวนี้มีช่วง follicular phase ของวงรอบการเป็นสัดที่ยาว จึงมีการพัฒนาคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิขึ้นมา 2 คลื่นก่อนที่จะเกิดคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ และมีการพบฟอลลิเคิล f6 ที่มีขนาดที่สามารถเข้าถึงจุดเปลี่ยน (predeviation follicle) ขนาดโดยประมาณ 22.5 มม. ซึ่ง predeviation follicle (f6) นี้มาจากคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิที่ปรากฏขึ้นก่อน(ล่วงหน้า 2 วัน) โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล (f8) ของคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ การเจริญพัฒนาของ f6 สามารถพัฒนาได้ถึงขนาด deviation size ก่อนที่จะเกิดขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิลและพบด้วยว่าเกิดการชะลอตัวการเจริญเติบโตของกลุ่มฟอลลิเคิลในช่วง 3 วันก่อนผ่านวัน deviation ในช่วงเข้าถึงจุดเปลี่ยน deviation size ของ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล (f8) มีขนาด เท่ากับ 24 มม. ซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล (f9) ของคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิมีขนาด 16.5 มม. และ predeviation follicle (f6) จากคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิมีขนาด เท่ากับ 22.7 มม. แต่อย่างไรก็ตามจะพบว่า เมื่อเกิดขบวนการคัดเลือกขึ้นแล้ว ได้ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล จากคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิขึ้นมาเพียงหนึ่งฟอลลิเคิล จะส่งผลให้ฟอลลิเคิลที่เหลือทั้งหมด ชะลอการเจริญเติบโตและฝ่อไป ทั้งนี้การพบ predeviation follicle ในแม่ม้าตัวนี้ 1 วัน ก่อนเข้าขบวนการคัดเลือก มีความสอดคล้องกับการรายงานก่อนหน้านี้ (Ginther *et al.*, 2004b) ที่พบได้ถึง 37% แต่อาจเป็นเพราะกลุ่มแม่ม้าที่ทำการศึกษาในครั้งนี้มีขนาดเล็กกว่าจึงพบเพียง 16.7% (1/6)

การพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นในวงรอบการเป็นสัดของแม่ม้าพื้นเมืองไทย จำนวนคลื่นและความยาวของช่วง follicular phase ของวงรอบการเป็นสัดไม่มีผลกระทบต่อกระบวนการคัดเลือกและจุดที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลในด้านของ ขนาดฟอลลิเคิลที่เข้าสู่ขบวนการคัดเลือกและช่วงวันที่เกิดขบวนการคัดเลือก หลังจากที่มีกลุ่มฟอลลิเคิลขนาดใหญ่กว่า 10 มม.ปรากฏขึ้นในวันที่ $D -11.4 \pm 1.5$ ประมาณ 4 วันต่อมาจะเกิดขบวนการคัดเลือกฟอลลิเคิลและ

จุดที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล ที่มีค่าเฉลี่ยขนาดของฟอลลิเคิล 2 ลำดับแรกของคลิ่นมีขนาด 21.1 ± 1.9 มม. และ 19.7 ± 2.6 มม. ตามลำดับ ที่วันที่ D - 7.3 ± 0.5

ในทุกวงรอบการเป็นสัดที่ทำการศึกษารั้งนี้ พบการตกไข่จากทุกคลิ่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ (6/6, 100%) ใน 4/6 ของคลิ่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ปรากฏขึ้นก่อน ซับออร์ดิเนต ฟอลลิเคิล 1 วัน 1/6 ของคลิ่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิมี โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ปรากฏขึ้นพร้อมกันกับ ซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล และพบ 1/6 ของคลิ่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิที่มีเพียงฟอลลิเคิลเดียวปรากฏขึ้น และพัฒนาเป็น โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล จนเกิดการตกไข่

ภายหลังขบวนการคัดเลือก โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล จะมีการเจริญเติบโตต่อไปส่วน ซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล มีขนาดเล็กลงและฝ่อหายไปในเวลาต่อมา โดยอัตราการเจริญเติบโตของ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ช่วง 4 วันแรก (D-6 to D-3) ภายหลัง deviation อยู่ที่ 3.2 ± 0.7 mm./day ในช่วง 3 วันหลัง (D-3 to D-1) อยู่ที่ 1.3 ± 1.8 mm./day จนได้ขนาดเฉลี่ยที่สูงที่สุด ที่ 37.9 ± 4.6 มม. แล้วจะมีขนาดเล็กลงเมื่อเข้าสู่ช่วงตกไข่ เนื่องจากอัตราการเจริญเติบโตจากขนาดที่ใหญ่ที่สุดถึงวันตกไข่ อยู่ที่ -1.7 ± 1.9 mm./day จะพบว่าขนาดของ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ที่ 1 วันก่อนตกไข่ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 36.7 ± 4.0 มม. ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าในแม่ม้าหลายสายพันธุ์ (Gastal *et al.*, 1997, 1999, 2008; Ginther *et al.*, 2004b)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มแม่ม้าพื้นเมืองไทย ที่สัดส่วนร่างกายเล็กกว่ามากและแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรตที่มีขนาดใหญ่กว่า พบส่วนที่ไม่มีความแตกต่างกันคือ วงรอบการเป็นสัด (IOI) และอัตราการเจริญเติบโตของ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ส่วนที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคือ ขนาดของ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล และจำนวนของ growing follicle ใน follicular wave รวมถึงเมื่อทำการเปรียบเทียบกับการศึกษาที่ผ่านมาโดย Gastal *et al.*, 2008 ดังตารางที่ 7 พบว่า แม่ม้าพื้นเมืองไทยมีการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล เนื้อเยื่อลูเทียลในรังไข่ และมดลูก ในวงรอบการเป็นสัด ไปในแนวทางเดียวกันกับม้า miniature pony สอดคล้องกับรายงานที่มีการศึกษาไว้ก่อนหน้านี้ ในด้านของ IOI, follicle diameter, growth rate, number of growing follicle per follicular wave รวมถึงวันสุดท้ายที่สามารถตรวจพบเนื้อเยื่อ corpus luteum ถึงแม้ว่าขนาดร่างกายที่แตกต่างกันในสัดส่วนที่มากแต่ความแตกต่างของฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัดไม่ได้แตกต่างไปตามสัดส่วนขนาดร่างกาย ทั้งนี้ ส่วนของฟอลลิเคิลที่แตกต่างกันระหว่างโพนีและม้าน่าจะเป็นเพราะขนาดพื้นที่ที่จำกัดของรังไข่

ตารางที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ย (mean±SD) ระยะเวลา ขนาดของฟอลลิเคิล อัตราการเจริญเติบโตและจำนวนของฟอลลิเคิลในชุด ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย แม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต(TB) มินิเอเจอร์ โพนี โพนีใหญ่ และม้าพันธุ์บริตัน จำนวน 9, 8, 11, 12 และ 12 ตัวอย่าง ตามลำดับ

End points	Thai Native Crossbred	TB	Miniature Pony*	Large Pony*	Breton Horse*
Body weight(kg., range)	210-246	399-469	110-136	300-400	400-530
Interval (days) from					
ovulation to ovulation	23.5±1.8	22.3±0.9	23.3±0.9	23.9±0.5	20.3±0.7
ovulation to last detection of CL	14.1±0.6	N/A	14.3±0.6	N/A	N/A
maximum diameter to ovulation	1.5±0.5	1.8±0.5			
Diameter of ovulatory follicle (mm.)					
At maximum	37.9±4.6	45.5±4.1	38.3±0.7	40.7±1.4	44.5±1.4
On day -1	36.7±4.0	43.4±4.6	36.8±1.2	40.4±1.3	44.0±1.3
Growth rate (mm day ⁻¹) from:					
Day -6 to -3	3.2±0.7	3.2±1.2	2.9±0.3	3.8±0.2	3.0±0.4
Day -3 to -1	1.3±1.8	1.7±1.0	1.0±0.6	2.6±0.4	1.9±0.4
Maximum diameter to ovulation	-1.7±1.9	-1.1±1.0	N/A	N/A	N/A
Number of growing follicle $\geq$ 10 mm. per ovulatory wave	2.8±1.3	10±5.1	1.5±0.3	9.8±0.8	5.8±0.9
Number ovulatory wave with only one follicle $\geq$ 10 mm.	1/6	0/10	6/11	0/12	0/12

หมายเหตุ (*) แหล่งข้อมูลจาก Gastal *et al.*, 2008

กรณีที่ทำการศึกษาติดตามการพัฒนาของฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัด ในแม่ม้าพื้นเมืองไทยรายตัวพบค่าเฉลี่ยวันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล เท่ากับ $D-7.3 \pm 0.5$ และมีค่าเฉลี่ยขนาดของโดมินันท์ฟอลลิเคิล 21.1 ± 1.9 มม. และซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล 19.7 ± 2.6 มม. ส่วนกรณีที่ไม่ได้ทำการศึกษาติดตามการพัฒนาของฟอลลิเคิล พบว่า ค่าเฉลี่ยวันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล คือ $D-7$ ค่าเฉลี่ยขนาดของโดมินันท์ฟอลลิเคิล 23.1 ± 1.8 มม. และซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล 19.8 ± 2.3 มม. ซึ่งมีผลใกล้เคียงกัน ดังนั้นในการนำไปใช้ประโยชน์ทางปฏิบัติสามารถใช้ข้อมูลการสังเกตจากระบบสืบพันธุ์ของแต่ละวันมาประเมินผลได้โดยไม่จำเป็นต้องติดตามระบุฟอลลิเคิล (follicle identity) และจากการศึกษาครั้งนี้มีความสอดคล้องกับผลการศึกษาที่ผ่านมา (Gastal *et al.*, 1997, 1999 และ Ginther *et al.*, 2004a) ในขบวนการพัฒนาของฟอลลิเคิลและการคัดเลือก ที่รายงานขนาดของโดมินันท์ฟอลลิเคิลเท่ากับ 22.5 มม. และ ซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล เท่ากับ 19 มม.

ค่าเฉลี่ยขนาด ของ F2 ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในวงรอบการเป็นสัดใน วันที่พบการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิล เท่ากับ 19.8 ± 2.3 มม. มีขนาดใหญ่กว่าใน miniature pony 17 มม. ที่รายงานไว้โดย Gastal *et al.*, 2008 และมีขนาดเล็กกว่าใน large pony 24 มม. ที่รายงานไว้โดย Ginther *et al.*, 2007 เป็นความสอดคล้องของขนาดร่างกายที่มี สัดส่วนแตกต่างกันตามลำดับ

ในวงรอบการเป็นสัดของแม่ม้าพื้นเมืองไทยที่ทำการศึกษาในครั้งนี้พบการปรากฏขึ้นของฟอลลิเคิลขนาดต่างๆ (นอกเหนือจากฟอลลิเคิลขนาดเล็กกว่า 10 มม.) กระจายตามลำดับวันต่างๆของ วงรอบการเป็นสัด รวมจำนวน 28 ใบ ฟอลลิเคิลดังกล่าวมีขนาดเฉลี่ย (mean $\pm$ SD) 12 ± 1.4 มม. มีค่าเฉลี่ยของจำนวนที่พบในแต่ละวันของวงรอบการเป็นสัด ซึ่งเฉลี่ยไม่เกิน 1 ฟอลลิเคิล โดยส่วนใหญ่พบว่า ปรากฏขึ้นมาเพียง 1 วัน และผ่านไป ส่วนน้อยที่พบว่าปรากฏอยู่ต่อเนื่องหลายวันแต่ก็ไม่เจริญเติบโตเพิ่มขนาดได้อย่างชัดเจน เช่นเดียวกับที่พบว่ามีย่อยกลุ่มของฟอลลิเคิลขนาดเล็กกว่า 10 มม. ที่มักจะพบได้เสมอเมื่อตรวจด้วยอัลตราซาวด์ในแต่ละวันของวงรอบการเป็นสัด เป็นไปได้ว่า ฟอลลิเคิลเหล่านี้ถูกพัฒนาเจริญขึ้นและผ่านไปตามปกติของรังไข่ เช่นที่สามารถพบได้ในฤดูที่ไม่มีการตกไข่ที่มีรายงานจากการศึกษาที่ผ่านมาเกี่ยวกับการพบฟอลลิเคิล ขนาดเฉลี่ย 15 มม. ได้บ้างในช่วงพักการพัฒนาของฟอลลิเคิล mid-anovulatory phase ถึงแม้ว่าจะเป็นช่วงเวลาที่ยังไม่มีการทำงานที่ลดลงอย่างชัดเจน ผู้วิจัยคาดว่ากลุ่มฟอลลิเคิลที่กล่าวถึงข้างต้นไม่มีความเกี่ยวข้องกับ การพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นของวงรอบการเป็นสัด แต่การศึกษาครั้งนี้จะมีข้อจำกัดที่ไม่สามารถติดตามฟอลลิเคิลที่มีขนาดเล็กกว่า 10 มม. ได้ จึงไม่สามารถแยกฟอลลิเคิลของคลื่นฟอลลิเคิลที่มีขนาดเล็กกว่า 10 มม. ที่

มีการเจริญพัฒนาต่อเนื่องต่อไปในคลื่นฟอลลิเคิล ออกจากฟอลลิเคิลอื่นที่ไม่ได้พัฒนาต่อเนื่องหรือการฝ่อไปของแต่ละฟอลลิเคิล

การบวมน้ำของชั้นเยื่อบุมดลูกที่สามารถตรวจพบได้จากการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ออกมาเป็นระดับ 4 ระดับคะแนน 0-3 ในการศึกษาในแม่ม้าพื้นเมืองไทยครั้งนี้ ทำได้โดยง่ายและเป็นการวัดผลที่เป็นรูปธรรม ซึ่งพบว่าจะเริ่มตรวจพบการบวมน้ำของชั้นเยื่อบุมดลูกสัมพันธ์กับวัน deviation และการบวมค่อยๆเพิ่มระดับขึ้นในช่วงที่ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล มีอัตราการเจริญเติบโตที่สูง เมื่อเข้าระยะที่มีอัตราการเจริญเติบโตที่ลดลงก็จะพบว่าระดับการบวมน้ำค่อยๆลดลงเช่นเดียวกัน ทั้งนี้การบวมน้ำของชั้นเยื่อบุมดลูกจะมีความสัมพันธ์กับระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนจากฟอลลิเคิล (Pycock *et al.*, 1995; Gastal *et al.*, 2006a) ค่าเฉลี่ยระดับคะแนนของการบวมน้ำสูงสุด 2.2 ± 0.4 หมายถึงมีการบวมน้ำที่สามารถแยกแยะสีดำที่มีขนาดใหญ่เป็นสองเท่าของแถบสีเทาได้อย่างชัดเจนพบได้ที่ 4 วันก่อนการตกไข่ แล้วจะเริ่มลดระดับการบวมน้ำลงสอดคล้องกับ miniature pony (D-4) ลดลงเร็วกว่าม้าใหญ่ (D-3 และ D-2) (Ginther and Pierson, 1984; Hayes *et al.*, 1985; Gastal *et al.*, 2007) จนไม่พบการบวมน้ำ 1 วันก่อนการตกไข่

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้เมื่อนำไปใช้ในทางปฏิบัติ ตัวอย่างเช่น การล้วงตรวจและการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ในช่วงที่แม่ม้าแสดงอาการเป็นสัด ประมาณหนึ่งสัปดาห์ก่อนการตกไข่หรือผ่านการตกไข่ครั้งก่อนหน้าไปแล้วประมาณสองสัปดาห์ ควรจะพบ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล (F1) และ ซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล (F2) ที่มีขนาดแตกต่างกันอย่างชัดเจน อาจจะมีฟอลลิเคิลลำดับรองๆลงไป และอาจจะพบ คลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิปรากฏขึ้นมาที่มีจำนวนฟอลลิเคิลในชุดไม่มากนักและมีขนาดโดยประมาณไม่เกิน 15 มม. (F3 ถึง F5) (ตารางที่ 8) ในช่วงเวลาประมาณ 3 วันก่อนการตกไข่จะพบว่า ขนาดของ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ของแม่ม้าพื้นเมืองไทยเกือบไม่มีการเปลี่ยนแปลง หรือเพิ่มขนาดเพียงเล็กน้อย ประกอบกับค่าเฉลี่ย endometrial echotexture score ที่ต่ำ การที่จะเลือกวันผสมพันธุ์ที่ใกล้เคียงเวลาตกไข่ ที่ใช้ข้อมูล ขนาดฟอลลิเคิลที่วัดได้ และคะแนนการบวมน้ำของมดลูกในช่วง 3 วันนี้ ทำได้ยาก เพราะหา ไม่มีความแตกต่างกัน จึงต้องอาศัยข้อมูลอื่นมาประกอบเช่น แนวโน้มการลดลงของคะแนนการบวมน้ำของมดลูกในแต่ละวัน การเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล การลดลงของความตึงตัวของผนังฟอลลิเคิลและมดลูก เพื่อทำการเลือกวันผสมพันธุ์

ตารางที่ 8 แสดงค่าเฉลี่ย ขนาดของฟอลลิเคิล 5 ลำดับแรก ที่ไม่มีการติดตาม(follicle identity) ช่วงก่อนตกไข่ 7 วัน

Follicle Diameter (mm.)	D-7	D-6	D-5	D-4	D-3	D-2	D-1
F1	23.1	26.7	30.4	33.2	36.9	38.2	38.4
F2	19.8	18.8	19.1	17.6	17.5	15.2	15.0
F3	14.2	15.4	15.6	14.6	13.4	12.1	11.0
F4	15.0	14.3	13.8	14.7	12.5	12.0	13.0
F5	14.0	13.4	14.5	13.0	10.4	10.4	10.4

หมายเหตุ D 0 คือวันตกไข่ D -7 คือ day of deviation D-4 คือวันที่มีการบวมน้ำสูงที่สุด (score 2.2)

การแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดของแม่ม้าพื้นเมืองไทยเหมือนกับแม่ม้าทั่วไปในเขตพื้นที่อื่นของโลก (Crowell-Davis, 2007) ประกอบด้วย การยินยอมให้พ่อม้าเข้าใกล้ สนใจพ่อม้า หยุดยืน เดินเข้าหาพ่อม้า ถ่ายปัสสาวะ ยกหาง สะบัดหางไปมา การเผยต่อมกระสัน ยืนนิ่ง ย่อตัวเบนเข้าหาพ่อม้า ยินยอมให้พ่อม้าป้อนขึ้นผสมและระดับการแสดงอาการจะเริ่มจากน้อยไปมากแล้วจึงลดลงจนหมดไปหลังการตกไข่ และพฤติกรรมการแสดงออกของแม่ม้าตัวเดิมจะเหมือนเดิมในรอบการเป็นสัดถัดไปสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้า (Hedberg *et al.*, 2007; Ginther, 1992 และ Gorecka *et al.*, 2005) ดังนั้นสามารถนำประวัติการแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดมาใช้วางแผนการจัดการผสมพันธุ์ได้ พบว่ามีแม่ม้า 85.7 % ที่แสดงอาการเป็นสัดยืนนิ่ง (Standing Heat) ใกล้เคียงกับที่รายงานไว้ก่อนหน้า (Ginther, 1992) ขณะที่ 14.3 % ที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด (Silent Heat) ซึ่งสูงกว่า 6% และ 7.5% ที่รายงานไว้ก่อนหน้านี้ (McCaughy *et al.*, 1973; Cummings, 1942) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากจำนวนตัวอย่างในการศึกษานี้มีจำนวนน้อย หรืออาจเนื่องมาจากความซับซ้อนของการแสดงออกทางพฤติกรรมการเป็นสัดของแม่ม้า การไม่ยอมรับพ่อม้าตัวล่อ การเปลี่ยนสถานที่เลี้ยงดู ดังนั้นหากพบว่าแม่ม้าไม่แสดงอาการเป็นสัด ควรเปลี่ยนตัวพ่อม้าตัวล่อ หรือปรับเปลี่ยนวิธีจับสัดเพิ่มระยะเวลาให้แม่ม้าได้มีโอกาสใกล้ชิดกับพ่อม้ามากขึ้น ลดโอกาสที่เกษตรกรจะพลาดการจับสัด (missed heat)

การวางแผนทางในการจัดการทางระบบสืบพันธุ์โดยใช้ข้อมูลด้านการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิลและมดลูกในวงจรการเป็นสัด ในการทดลองที่ 2 (ตารางที่ 6) ให้ผลเป็นที่น่าพอใจอยู่ในระดับมาตรฐาน เป็นระบบการจัดการที่มีประสิทธิภาพ ตัวอย่างเช่น การผสมเทียมด้วยการใช้น้ำเชื้อสดและ

น้ำเชื้อแช่เย็น ในแม่ม้าจำนวน 7 ตัวให้อัตราผสมติด 100 % และสามารถผสมติดในวงรอบการเป็นสัด เพียงหนึ่งวงรอบเท่านั้น บ่งชี้โดยอ้อมได้ว่า การเลือกวันผสม การรีดเก็บน้ำเชื้อ การเก็บรักษา น้ำเชื้อและเทคนิคการผสมเทียมโดยนายสัตวแพทย์ผู้ทำการผสม ไม่ได้เป็นปัจจัยรบกวนผลการศึกษา เมื่อพิจารณาเฉพาะการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง จะพบว่า น้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อม้าหมายเลข 8 ไม่สามารถทำให้เกิดการตั้งท้องในแม่ม้า จำนวน 2 ตัวและใช้วงรอบการเป็นสัดไปทั้งหมด 6 วงรอบ แต่เมื่อนำน้ำเชื้อสดของพ่อม้าตัวนี้ไปใช้ผสมเทียมให้กับแม่ม้าจำนวน 3 ตัว พบว่าแม่ม้าทั้งหมดตั้งท้องได้ โดยการผสมเทียมในวงรอบการเป็นสัดครั้งเดียว แสดงว่าปัญหาผสมไม่ติดน่าจะเกิดจาก น้ำเชื้อ ภายหลังการอุณหพลของพ่อม้าตัวนี้มีคุณภาพต่ำจนไม่สามารถนำไปใช้ได้ ประกอบกับผลการตั้งท้องจากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งในแม่ม้าหมายเลข 19 โดยใช้ น้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อม้า หมายเลข 11 ที่ทำการผสมเทียมเพียงครั้งเดียวในวงรอบการเป็นสัด ช่วยยืนยันได้ว่า การเลือกเวลา ในการทำการผสม ไม่ได้เป็นปัจจัยรบกวนผลการผสมเทียมเช่นเดียวกัน กรณีที่ต้องการลดความ ยุ่งยากในการจัดการน้ำเชื้อและลดต้นทุนค่าใช้จ่ายในด้านการล้วงตรวจและการตรวจด้วยอัลตรา ซาวด์ลงเท่าที่จำเป็น ควรจะเลือก การผสมจริง จากผลการศึกษาที่ได้ อัตราการตั้งท้อง 90.9% แม่ม้า 10 ตัวจากที่เข้าผสม 11 ตัวและมีค่าวงรอบการเป็นสัดต่อการตั้งท้อง เท่ากับ 1.3 วงรอบ ทั้งๆที่มี ความหลากหลายของพ่อม้าที่ใช้ในการผสม ทั้งสิ้น 7 ตัว

การใช้ข้อมูลด้านการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล เนื้อเยื่ออุเทียลและลักษณะของเยื่อบุมดลูก ในวงรอบการเป็นสัดร่วมกับพฤติกรรมการแสดงอาการเป็นสัดมากำหนดวันและเวลาในการผสมพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วย แม่ม้าแสดงอาการเป็นสัดร่วมกับการยืนนิ่ง การตั้งของผนังของโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ลดลงโดยการคลำสัมผัสได้ถึงความอ่อนนุ่มขึ้นของผนังฟอลลิเคิล การเปลี่ยนแปลงการตั้งตัวและ ขนาดของมดลูกและปากมดลูกโดยการคลำสัมผัสได้ถึงเนื้อสัมผัสนุ่มขึ้นจากการล้วงตรวจ ฟอลลิเคิล ใบที่จะตกไข่ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 35 มม. และหรือเริ่มพบการเปลี่ยนรูปร่างไปจากทรง กลม การลดลงของระดับการบวมน้ำของชั้นเยื่อบุมดลูกจากการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ ช่วยให้ เป็น การผสมพันธุ์ที่ใกล้เคียงกับช่วงเวลาตกไข่ของแม่ม้าพื้นเมืองไทย ได้อัตราผสมติดที่ดี จัดได้ว่าเป็นการ จัดการทางระบบสืบพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าแม่ม้าพื้นเมืองไทยที่ทำการผสมพันธุ์ นั้นมีสุขภาพทั่วไปสมบูรณ์แข็งแรงและอยู่ในฤดูผสมพันธุ์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การศึกษาวงรอบการเป็นสัดในแม่ม้าพื้นเมืองไทยเปรียบเทียบกับแม่ม้าโทโรเบรตจากการล้างตรวจระบบสืบพันธุ์และการตรวจด้วยอัลตราซาวด์ในด้านการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล เนื้อเยื่อลูทีอัลและมดลูก สรุปได้ว่า ขนาดของฟอลลิเคิลที่ใหญ่ที่สุดก่อนไข่ตกของแม่ม้าพื้นเมืองไทย (37.9 ± 4.6 มม.) มีขนาดเล็กกว่าของแม่ม้าสายพันธุ์โทโรเบรต (45.4 ± 4.1 มม.) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แต่ไม่พบความแตกต่างของอัตราการเจริญเติบโตของโดมินันท์ฟอลลิเคิลในช่วง 6 วันก่อนการตกไข่ ระยะเวลาของวงรอบการเป็นสัดของแม่ม้าพื้นเมืองไทย (23.5 ± 1.8 วัน) ไม่มีความแตกต่างกับแม่ม้าสายพันธุ์โทโรเบรต (22.3 ± 0.9 วัน) แม่ม้าพื้นเมืองไทยมีจำนวนของฟอลลิเคิลขนาดมากกว่า 10 มม. ในคลิ่นฟอลลิเคิล (2.7 ± 1.2) น้อยกว่าสายพันธุ์โทโรเบรต (10 ± 5.1) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

ค่าเฉลี่ยจำนวนของฟอลลิเคิลทั้งหมดที่มีขนาดมากกว่า 10 มม. ค่าเฉลี่ยจำนวนของฟอลลิเคิลใน 3 กลุ่มที่แบ่งตามขนาดของฟอลลิเคิลและค่าเฉลี่ยขนาดของฟอลลิเคิล 5 ลำดับที่จัดเรียงตามขนาด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ในแต่ละวันของวงรอบการเป็นสัด

จากวงรอบการเป็นสัด 6 วงรอบของแม่ม้าพื้นเมืองไทยจำนวน 6 ตัว (6/6 IOIs, 100%) พบการพัฒนาฟอลลิเคิลแบบเป็นคลื่นชนิดคลื่นปฐมภูมิที่มีการตกไข่ 1 คลื่นต่อ 1 วงรอบ แม่ม้า 3 ตัวจาก 6 ตัว (3/6 IOIs, 50%) มีคลื่นทุติยภูมิพัฒนาขึ้นร่วมกับคลื่นปฐมภูมิ การพัฒนาของคลื่นฟอลลิเคิลทุติยภูมิเกิดขึ้นก่อนหรือเกิดตามมาภายหลัง

4/6 ของคลื่นฟอลลิเคิลปฐมภูมิมีโดมินันท์ฟอลลิเคิลปรากฏขึ้นก่อนซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิล 1 วัน 1/6 ปรากฏขึ้นพร้อมกันและ 1/6 มีเพียงฟอลลิเคิลเดี่ยวและเป็นโดมินันท์ฟอลลิเคิลปรากฏขึ้น วันที่เริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลคือวันที่ 7 ก่อนการตกไข่ โดยโดมินันท์ฟอลลิเคิลและซับออร์ดิเนตฟอลลิเคิลมีขนาดเฉลี่ย 23.1 มม. และ 19.8 มม. ตามลำดับ

เนื้อเยื่อลูทีอัลมีขนาดเกือบคงที่ช่วง 7 วันแรกหลังการตกไข่ หลังจากนั้นจะค่อยๆลดขนาดลง จนตรวจไม่พบ วันสุดท้ายที่ไม่สามารถตรวจพบเนื้อเยื่อลูทีอัลคือ วันที่ 15 หลังจากการตกไข่ ระดับคะแนนของการบวมน้ำของชั้นเยื่อบุมดลูกเป็นศูนย์ในวันที่ 22 ถึง 9 ในระหว่างวันที่ 8 ถึงวันที่

4 เริ่มพบการบวมน้ำค้อยๆเพิ่มระดับคะแนนขึ้นและระดับการบวมน้ำจะค่อยๆลดลงระหว่างวันที่ 3 ถึง 2 จนวันที่ 1 ก่อนการตกไข่ 1 วัน จะไม่พบการบวมน้ำ มีระดับคะแนนเป็น ศูนย์

การตรวจระบบสืบพันธุ์แม่ม้าพื้นเมืองไทยโดยการล้วงตรวจและการใช้อัลตราซาวด์ร่วมกับการจับสัด เป็นการจัดการทางระบบสืบพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพดีทำได้ง่ายในระดับฟาร์ม สะดวก อ่านและประมวลผลได้ทันทีให้อัตราผสมติดที่ดีนำมาใช้กำหนดวันและเวลาในการผสมพันธุ์ได้ สรุปได้ว่าเวลาที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์แม่ม้าพื้นเมืองไทย ประกอบด้วย วันที่แม่ม้าแสดงอาการ Standing Heat เวลาที่ผลการล้วงตรวจพบว่า ความตึงของผนังของโตนีแวนท์ฟอลลิเคิลลดลงโดยการคลำสัมผัสได้ถึงความอ่อนนุ่มขึ้นของผนังฟอลลิเคิล การเปลี่ยนแปลงความตึงตัวและขนาดของมดลูกและปากมดลูกโดยการคลำสัมผัสได้ถึงเนื้อสัมผัสนุ่มขึ้น ภาพอัลตราซาวด์ฟอลลิเคิลใบที่จะตก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 35 มม. และหรือเริ่มพบการเปลี่ยนรูปร่างไปจากทรงกลมร่วมกับการเปลี่ยนแปลงภาพอัลตราซาวด์ของมดลูกแสดงการบวมน้ำที่ลดลง

ข้อเสนอแนะ

การศึกษารังนี้ผู้วิจัยได้เลือกช่วงเวลาการศึกษาที่แม่ม้าพื้นเมืองไทยและแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรต ได้ผ่านวงจรรอบการเป็นสัดมาก่อนและโดยเฉพาะเลือกช่วงที่วงจรรอบการเป็นสัดมีความสม่ำเสมอของ interovulatory interval และ ovarian dynamics ร่วมกับใช้ข้อมูลจากประชากรแม่ม้าในฟาร์มพันธุ์ม้าทางการค้าส่วนใหญ่ในประเทศไทยช่วยในการยืนยันว่าเป็นช่วงฤดูผสมพันธุ์ของแม่ม้า โดยดูได้จากการที่แม่ม้าท้องว่างในช่วงเดือนที่ทำการศึกษามีวงจรรอบการเป็นสัด แต่หากจะให้ข้อมูลการทำงานทางระบบสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์ ควรจะดำเนินการศึกษาต่อเนื่องเป็นเวลา 1 ปีและศึกษาเปรียบเทียบมากกว่า 2 ฤดูผสมพันธุ์ขึ้นไป

ในการศึกษารังนี้พบปัญหาจากการติดตามการพัฒนาของฟอลลิเคิลวันต่อวันของแต่ละฟอลลิเคิลในระยะแรกๆที่เริ่มปรากฏ ที่ขนาดเล็กกว่าหรือใกล้เคียง 10 มม. มีความความยากในการติดตามเนื่องจากฟอลลิเคิลมีขนาดเล็ก การบันทึกภาพนิ่งเพื่อทำการวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมีโอกาสเกิดความคลาดเคลื่อนได้ง่าย ส่งผลกระทบต่อการอ่านผลของ day of emergence การแยกคลิ่นฟอลลิเคิลออกจากกัน รวมถึงจำนวนของฟอลลิเคิลในแต่ละคลิ่น ในโอกาสต่อไปจึงควรมีการเพิ่มจำนวนตัวอย่างให้มากขึ้นและการทำซ้ำหลายซ้ำ เพื่อผลการศึกษาที่แม่นยำขึ้น

การที่แม่ม้าพื้นเมืองไทยและแม่ม้าพันธุ์โทโรเบรตมีการพัฒนาของฟอลลิเคิลใน follicular wave ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนและเป็นสายพันธุ์ที่มีอยู่ในประเทศไทย จึงมีความเหมาะสมที่จะใช้สองสายพันธุ์นี้เป็นกลุ่มทดลองในการศึกษาค้นคว้าในอนาคตเกี่ยวกับ follicular dynamics และ ovarian activities

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- Acosta, T.J., E.L. Gastal, M.O. Gastal, M.A. Beg and O.J. Ginther. 2004b. Differential blood flow changes between the future dominant and subordinate follicles precede diameter changes during follicle selection in mares. **Biol. Reprod.** 71: 502–507.
- Acosta, T.J., M.A. Beg and O.J. Ginther. 2004a. Aberrant blood flow area and plasma gonadotropin concentrations during the development of dominant-sized transitional anovulatory follicles in mares. **Biol. Reprod.** 71: 637–642.
- Aguilar, J., H.M. Fraser, H. Wilson, E. Clutton, D.J. Shaw and E.D. Watson. 2006. Temporal relationship between proliferating and apoptotic hormone-producing and endothelial cells in the equine corpus luteum. **Reproduction.** 132: 111–118.
- Alexander, S.L. and C.H.G. Irvine. 1986. Effect of graded doses of gonadotrophin-releasing hormone on serum LH concentrations in mares in various reproductive states: comparison with endogenously generated LH pulses. **J. Endocrinol.** 110: 19–26.
- Al-zi'abi, M.O., E.D. Watson and H.M. Fraser. 2003. Angiogenesis and vascular endothelial growth factor expression in the equine corpus luteum. **Reproduction.** 125: 259–270.
- Asa, C.S., D.A. Goldfoot, M.C. Garcia and O.J. Ginther. 1980a. Dexamethasone suppression of sexual behavior in ovariectomized mares. **Horm. Behav.** 14: 55–64.
- Asa, C.S., D.A. Goldfoot, M.C. Garcia and O.J. Ginther. 1980b. Sexual behavior in ovariectomized and seasonally anovulatory pony mares (*Equus caballus*). **Horm. Behav.** 14: 46–54.

- Asa, C.S., J.A. Robinson and O.J. Ginther. 1983. Changes in plasma cortisol concentrations during the ovulatory cycle of the mare. **J. Endocrinol.** 99: 329-334.
- Asa, C.S. 1986. Sexual behavior of mares. **Vet. Clin. North. Am. Equine. Pract.** 2: 519-534.
- Aurich, C., P.F. Daels, B.A. Ball and J.E. Aurich. 1995. Effects of gonadal steroids on the opioid regulation of LH and prolactin release in pony mares. **J. Endocrinol.** 147: 195-202.
- Aurich, C. 2011. Reproductive cycles of horses. **Anim. Reprod. Sci.** 124: 220-228.
- Bae, S.E. and E.D. Watson. 2003. A light microscopic and ultrastructural study on the presence and location of oxytocin in the equine endometrium. **Theriogenology.** 60(5): 909-21.
- Beg, M.A and O.J. Ginther. 2006. Follicle selection in cattle and horses: role of intrafollicular factors. **Reproduction.** 132: 365-377.
- Bennett-Wimbush, K., W.E. Loch, H. Plata-Madrid and T. Evans. 1998. The effects of perphenazine and bromocriptine on follicular dynamics and endocrine profiles in anestrus pony mares. **Theriogenology.** 49: 717-733.
- Bergfelt, D.R., B.G. Mann, N.B. Schwartz and O.J. Ginther. 1991. Circulating concentrations of immunoreactive inhibin and FSH during the estrous cycle of mares. **J. Equine Vet. Sci.** 11: 319-322.
- Bergfelt, D.R. and O.J. Ginther. 1996. Ovarian, uterine and embryo dynamics in horses versus ponies. **J. Equine Vet. Sci.** 16: 66-72.

Bergfelt, D.R., E.L. Gastal and O.J. Ginther. 2001. Response of estradiol and inhibin to experimentally reduced luteinizing hormone during follicle deviation in mares. **Biol. Reprod.** 65: 426–432.

Besognet, B., B.S. Hansen and P.F. Daels. 1997. Induction of reproductive function in anestrus mares using a dopamine antagonist. **Theriogenology**. 47: 467–480.

Boerboom, D., A. Kerban and J. Sirois. 1999. Dual regulation of promoter II- and promoter 1f-derived cytochrome P450 aromatase transcripts in equine granulosa cells during human chorionic gonadotropin-induced ovulation: a novel model for the study of aromatase promoter switching. **Endocrinology**. 140: 4133–4141.

Boerboom, D. and J. Sirois. 2001. Equine P450 cholesterol side-chain cleavage and 3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase/delta(5)-delta(4) isomerase: molecular cloning and regulation of their messenger ribonucleic acids in equine follicles during the ovulatory process. **Biol. Reprod.** 64: 206–215.

Boerboom, D., K.A. Brown, D. Vaillancourt, P. Poitras, A.K. Goff, K. Watanabe, M. Doré and J. Sirois. 2004. Expression of key prostaglandin synthases in equine endometrium during late diestrus and early pregnancy. **Biol. Reprod.** 70: 391–399.

Brendemuehl, J.P. and D.L. Cross. 2000. Influence of the dopamine antagonist domperidone on the vernal transition in seasonally anestrus mares. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 56: 185–193.

Carnevale, E.M. 1998. Folliculogenesis and ovulation. In: Rantanen NW, McKinnon AO (Ed.). **Equine diagnostic ultrasound**. Williams & Wilkins, Baltimore, MD, USA. p.201-211.

- Carnevale, E.M., A.O. McKinnon, E.L. Squires and J.L. Voss. 1988. Ultrasonographic characteristics of the preovulatory follicle preceding and during ovulation in mares. **J. Equine Vet. Sci.** 8: 428-431.
- Chan, J.P.W., H. Tsung-Hsiang, S.T. Chuang, F.P. Cheng, C.L. Chen and C.L. Mao. 2003. Quantitative echotexture analysis for prediction of ovulation in mares. **J. Equine Vet. Sci.** 23:397-402.
- Checura, C.M., M.A. Beg, E.L. Gastal, M.O. Gastal, M. C. Wiltbank, J.J. Parrish and O.J. Ginther. 2008. Effect of Suppression of FSH with a GnRH Antagonist (Acyline) Before and During Follicle Deviation in the Mare. **Reprod. Dom. Anim.** 8: 504-511.
- Crowell-Davis, S.L. 2007. Sexual behavior of mares. **Horm. Behav.** 52: 12-17.
- Cuervo-Arango, J. and J.R. Newcombe. 2008. Repeatability of preovulatory diameter and uterine edema pattern in two consecutive cycles in the mare and how they are influenced by ovulation inductors. **Theriogenology.** 69: 681-687.
- Cummings, J.N. 1942. A study of estrus and ovulation in the mare. **J. Anim. Sci.** 1: 309-313.
- Daels, P.F., S. Fantone, B.S. Hansen and P.W. Concannon, 2000. Dopamine antagonist-induced reproductive function in anoestrus mares: gonadotrophin secretion and the effects of environmental cues. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 56: 173-183.
- Dimmick, M.A., T. Gimenez and R.L. Schalager. 1993. Ovarian follicular dynamics and duration of estrus and diestrus in Arabian vs Quarter Horse mares. **Anim. Reprod.** 31: 123-129.

- Donadeu, F.X. 2006. Early indicators of follicular growth during the anovulatory season in mares. **Anim. Reprod. Sci.** 94: 179–181.
- Donadeu, F.X., and O.J. Ginther. 2002a. Follicular waves and circulating concentrations of gonadotrophins, inhibin and oestradiol during the anovulatory season in mares. **Reproduction**. 124: 875–885.
- Donadeu, F.X. and O.J. Ginther. 2002b. Changes in concentrations of follicular fluid factors during follicle selection in mares. **Biol. Reprod.** 66:1111–1118.
- Donadeu, F.X. and D.L. Thompson Jr. 2002. Administration of sulpiride to anovulatory mares in winter: effects on prolactin and gonadotropin concentrations, ovarian activity, ovulation and hair shedding. **Theriogenology**. 57: 963–976.
- Donadeu, F.X. and O.J. Ginther. 2003a. Interactions of follicular factors and season in the regulation of circulating concentrations of gonadotrophins in mares. **Reproduction**. 125: 743–750.
- Donadeu, F.X. and O.J. Ginther. 2003b. Suppression of circulating concentrations of FSH and LH by inhibin and estradiol during the initiation of follicle deviation in mares. **Theriogenology**. 60: 1423–1434.
- Donadeu, F.X. and O.J. Ginther. 2004. Interrelationships of estradiol, inhibin, and gonadotropins during follicle deviation in pony mares. **Theriogenology**. 61: 1395–1405.
- Driancort, M.A., A. Paris, C. Roux, J.C. Mariana and E. Palmer. 1982. Ovarian follicular population in pony and saddle type mares. **Reprod. Nutr. Dev.** 22: 1035-1047.

Drummond, A. 2006. The role of steroids in follicular growth. **Reprod. Biol. Endocrinol.** 4: 16.

Familiari, G., E. Vizza, A. Miani and P.M. Motta. 1991. Ultrastructural and functional development of the theca interna. In: Familiari G, Makabe S, Motta PM (Ed.). **Ultrastructure of the ovary**. Kluwer Academic, Boston, MA: p.115-128.

Ferreira-Dias, G., L. Mateus, A.S. Costa, S. Sola, R.M. Ramalho, R.E. Castro and C.M.P. Rodrigues. 2007. Progesterone and caspase-3 activation in equine cyclic corpora lutea. **Reprod. Dom. Anim.** 42: 380–386.

Fitzgerald, B.P. and M.J. Schmidt. 1995. Absence of an association between melatonin and reproductive activity in mares during the non-breeding season. **Biol. Reprod.** (Mono 1): 425-434.

Gastal, E.L., M.O. Gastal, D.R. Bergfelt and O.J. Ginther. 1997. Role of diameter differences among follicles in selection of a future dominant follicle in mares. **Biol. Reprod.** 57:1320–1327.

Gastal, E.L., M.O. Gastal and O.J. Ginther. 1998. The suitability of echotexture characteristics of the follicular wall for identifying the optimal breeding day in mares. **Theriogenology**. 50: 1025-1038.

Gastal, E.L., D.R. Bergfelt, G.P. Nogueira, M.O. Gastal and O.J. Ginther. 1999. Role of Luteinizing Hormone in Follicle Deviation Based on Manipulating Progesterone Concentrations in Mares. **Biol. Reprod.** 61: 1492–1498.

Gastal, E. L., M.O. Gastal, M. A. Beg and O.J. Ginther. 2004. Interrelationships among follicles during the common-growth phase of a follicular wave and capacity of individual follicles for dominance in mares. **Reproduction**. 128: 417–422.

- Gastal, E.L., M.O. Gastal and O.J. Ginther. 2006a Relationships of changes in B-mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the preovulatory follicle to changes in systemic oestradiol concentrations and the effects of human chorionic gonadotrophin in mares. **Reproduction**. 131: 699-709.
- Gastal, E.L., M.O. Gastal and O.J. Ginther. 2006b. Serrated granulosa and other discrete ultrasound indicators of impending ovulation in mares. **J. Equine Vet. Sci.** 26: 67-73.
- Gastal, EL, M.O. Gastal, F.X. Donadeu, T.J. Acosta, M.A. Beg and O.J. Ginther. 2007. Temporal relationships among LH, estradiol, and follicle vascularization preceding the first compared with later ovulations during the year in mares. **Anim. Reprod.** 102: 314-321.
- Gastal, E.L., M.O. Gastal, M.A. Beg, A.P. Neves, B.P.L. Petrucci, R.C. Mattos and O.J. Ginther. 2008. Miniature ponies: similarities and differences from larger breeds in follicles and hormones during the estrous cycle. **J. Equine Vet. Sci.** 28, no. 9: 508-517.
- Gastal, E.L. and M.O. Gastal. 2011. Equine preovulatory follicle: blood flow changes, prediction of ovulation and fertility. **Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte**. 35 n.2: 239-252.
- Ginther, O.J. 1974. Occurrence of anestrus, estrus, diestrus, and ovulation over a 12-month period in mares. **Am. J. Vet. Res.** 35: 1173-1179.
- Ginther, O.J. 1990. Folliculogenesis during the transitional period and early ovulatory season in mares. **J. Reprod. Fertil.** 90:311-320.
- Ginther, O.J., 1992. **Reproductive Biology in the Mare: Basic and Applied Aspect**. 2nd ed. Equiservices Publishing, Cross Plains, WI, USA.

- Ginther, O.J. 1995. **Ultrasonic imaging and animal reproduction:** Horses, Book 2. Equiservices Publishing. Cross Plains, WI, USA. 225p.
- Ginther, O.J. 2000. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. **Anim. Reprod. Sci.** 60-61:61–79.
- Ginther, O.J., M.A. Beg, F.X. Donadeu and D.R. Bergfelt. 2003a. Mechanism of follicle deviation in monovular farm species. **Anim. Reprod. Sci.** 78:239–257.
- Ginther, O.J., B.G. Woods, C. Meira, M.A. Beg and D.R. Bergfelt. 2003b. Hormonal mechanism of follicle deviation as indicated by major versus minor follicular waves during the transition into the anovulatory season in mares. **Reproduction.** 126:653–660.
- Ginther, O.J., M.A. Beg, M.O. Gastal and E.L. Gastal. 2004a. Seasonal influence on equine follicle dynamics. **Anim. Reprod.** 1:31-44.
- Ginther, O.J., M.A. Beg, M.O. Gastal, E.L. Gastal. 2004b Follicle dynamics and selection in mares. **Anim. Reprod.** 1:45-63
- Ginther, O.J., E.L. Gastal, M.O. Gastal, M.A. Beg. 2004c. Critical role of insulin-like growth factor system in follicle selection and dominance in mares. **Biol. Reprod.** 70: 1374–1379.
- Ginther, O.J., E.L. Gastal, M.O. Gastal, C.M. Checure, M.A. Beg. 2004d. Dose-response study of intrafollicular injection of insulin-like growth factor-1 on follicular fluid factors and follicle dominance in mares. **Biol. Reprod.** 70:1063–1069.

- Ginther, O.J., Gastal, E.L., Gastal, M.O., Beg and M.A., 2005a. In vivo effects of pregnancy-associated plasma protein-A, activin-A and vascular endothelial growth factor on other follicular-fluid factors during follicle deviation in mares. **Reproduction**. 129: 489–496.
- Ginther, O.J., E.J. Gastal, M.O. Gastal. and M.A. Beg. 2005b. Regulation of circulating gonadotropins by the negative effects of ovarian hormones in mares. **Biol. Reprod.** 73:315–323.
- Ginther, O.J., E.J. Gastal., M.O. Gastal, M.D. Utt and M.A. Beg. 2007. Luteal blood flow and progesterone production in mares. **Anim.Reprod.Sci.** 99: 213–220.
- Ginther, O.J., E.L. Gastal, M.O. Gastal and M.A. Beg. 2008a. Dynamics of the equine preovulatory follicle and periovulatory hormones :what's new? **J. Equine Vet.Sci.** 28:454–460.
- Ginther, O.J., E.L. Gastal, M.O. Gastal, M.A. Beg. and B.L. Rodrigues. 2008b. Follicle diameters and hormone concentrations in the development of single versus double ovulations in mares. **Theriogenology**. 69:583-590.
- Ginther, O.J., E.L. Gastal, M.O. Gastal, M.A. Beg and J.C. Jacob. 2009. Age-related dynamics of follicles and hormones during an induced ovulatory follicular wave in mares. **Theriogenology**. 71: 780-788.
- Gorecka, A., T.A. Jezierski and K. Sloniewski. 2005. Relationships between sexual behaviour, dominant follicle area, uterus ultrasonic image and pregnancy rate in mares of two breeds differing in reproductive efficiency. **Anim. Reprod. Sci.** 87: 283-293.
- Grubbaugh, W., D.C. Sharp, L.A. Berglund. 1982. Effects of pinealectomy in pony mares. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 32:293 - 295 ,.

- Hartt, L.S., S.J. Carling, M.M. Joyce, G.A. Johnson, D.K. Vanderwal and T.L. Ott. 2005. Temporal and spatial association of oestrogen receptor alpha and progesterone receptor in the endometrium of cyclic and early pregnant mares. **Reproduction**. 130: 241-250.
- Hayes, K.E.N., R.A. Pierson, S.T. Scraba and O.J. Ginther. 1985. Effects of estrous cycle and season on ultrasound uterine anatomy in mares. **Theriogenology**. 4:465-477.
- Hedberg, Y., A.M. Dalin, M. Forsberg, N. Lundeheim, G. Sandh, B. Hoffmann, C. Ludwig and H. Kindahl. 2007. Effect of ACTH (tetracosactide) on steroid hormone levels in the mare. Part B. Effect in ovariectomized mares (including estrous behaviour). **Anim. Reprod. Sci.** 100: 92-106.
- Heidler, B., J.E. Aurich, W. Pohl and C. Aurich. 2004. Body weight of mares and foals, estrous cycles and plasma glucose concentration in lactating and non-lactating Lipizzaner mares. **Theriogenology**. 61: 883-893.
- Hooper, N.R., T.S. Taylor, D.D. Varner and T.L. Blanchard. 1993. Effects of bilateral ovariectomy via colpotomy in mares: 23 cases (1984-1990). **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 203: 1043-1046.
- Hughes, J.P., G.H. Stabenfeldt and J.W. Evans. 1975. The oestrous cycle of the mare. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 23:161-166.
- Hunter, R.H.F. 2003. **Physiology of the Graafian follicle and ovulation**. Cambridge University Press. Cambridge, UK.
- Jacob, J.C., E.L. Gastal, M.O. Gastal, M.A. Beg and O.J. Ginther. 2009. Follicle deviation in ovulatory follicular waves with one or two dominant follicles in mares. **Reprod. Domest. Anim.** 44(2):248-54

- Johnson, A.L. 1986. Serum concentrations of prolactin, thyroxine and triiodothyronine relative to season and the estrous cycle in the mare. **J. Anim. Sci.** 62:1012–1020.
- Kerban, A., D. Boerboom and J. Sirois. 1999. Human chorionic gonadotropin induces an inverse regulation of steroidogenic acute regulatory protein messenger ribonucleic acid in theca interna and granulosa cells of equine preovulatory follicles. **Endocrinology**. 140: 667–674.
- Kimura, J., Y. Hirano, S. Takemoto, Y. Nambo, T. Ishinazaka, T. Mishima, S. Tsumagar and H. Yokota. 2005. Three-dimensional reconstruction of the equine ovary. **Anat. Histol. Embryol.** 34:48–51.
- King, S.S., L.G. Nequin, S. Drake, T.S. Hebner, J.F. Roser and J.W. Evans. 1988. Progesterone levels correlate with impending anestrus in the mare. **J. Equine Vet. Sci.** 8: 109–111
- King, S.S., A.G. Campbell, E.A. Dille, J.F. Roser, L.L. Murphy and K.L. Jones. 2005. Dopamine receptors in equine ovarian tissues. **Domest. Anim. Endocrinol.** 28 (4):405–415.
- Martinez-Chequer, J.C., R.L. Stouffer, T.M. Hazzard, P.E. Patton and T.A. Molskness. 2003. Insulin-like growth factors-1 and -2, but not hypoxia, synergize with gonadotropin hormone to promote vascular endothelial growth factor-A secretion by monkey granulosa cells from preovulatory follicles. **Biol. Reprod.** 68:1112–1118.
- McCaughey, W.J., J. Hanna and J.J. O'Brien. 1973. Comparison of 3 laboratory tests for pregnancy diagnosis in the mare. **Equine. Vet. J.** 5:94-95.
- McCue, P.M., M.M. LeBlanc and E.L. Squires. 2007. eFSH in clinical equine practice. **Theriogenology**. 68: 429-433.

- McCue, P.M and E.L. Squires. 2007. Superovulation in mares. **Anim. Reprod. Sci.** 99:1-8.
- Melrose, P.A., R.F. Walker and R.H. Douglas. 1990. Dopamine in the cerebrospinal fluid of prepubertal and adult horses. **Brain Behav. Evol.** 35:98–106.
- Nagy, P., D. Guillaume and P. Daels. 2000. Seasonality in mares. **Anim. Reprod. Sci.** 60/61, 245–262.
- Nagy, P, J. Reiczigel, K. Abavhryl. 1998. Factors influencing ovarian activity and sexual behavior of postpartum mares under farm condition. **Theriogenology.** 50:1109–1119.
- Nequin, L.G., King, S.S., Roser, J.F., Soderstrom, B.L., Carnevale, E.M., Neumann, K.R., 2000. Uncoupling of the equine reproductive axes during transition into anoestrus. **J. Reprod. Fertil.** 153–161.
- Osborne, V.E. 1966. An analysis of the pattern of ovulation as it occurs in the annual reproductive cycle of the mare in Australia. **Austr. Vet. J.** 42: 149-154.
- Oxender, W.D., P.A. Noden and H.D. Hafs. 1977. Estrus, ovulation, and serum progesterone, estradiol, and LH concentrations in mares after an increased photoperiod during winter. **Am. J. Vet. Res.** 38: 203–207.
- Palmer, E.P. Chavatte-Palmer and E. Verdonck. 2006. Field trial of Doppler ultrasonography of the preovulatory follicle in the mare. **Anim. Reprod. Sci.** 94:182-183,
- Palmer, E, M.A. Draincourt and R. Ortavant 1982. Photoperiodic stimulation of the mare during winter anestrous **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 32: 275 - 282 ,

- Pierson, R.A. and O.J. Ginther. 1985. Ultrasonic evaluation of the preovulatory follicle in the mare. **Theriogenology**. 24: 359-368.
- Roberto da Costa, R.P., V. Branco, P. Pessa, J.S. Robaloand and G. Ferreira-Dias. 2005. Progesterone receptors and proliferating cell nuclear antigen expression in equine luteal tissue. **Reprod. Fertil. Develop.** 17: 659–666.
- Samuel, C. A., S. Ricketts, P. Rosedale and D.H. Steven. 1979. Scanning electron microscope of the endometrium of the cyclic mare. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 27:287-292.
- Seamans, K.W. and D.C. Sharp. 1982. Changes in equine follicular aromatase activity during transition from winter anoestrus. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 32:225–233.
- Sharp, D.C., W.R. Grubaug, J. Weithenauer, S.D. Davis and C.J. Wilcox. 1991. Effects of steroid administration on pituitary luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in ovariectomized pony mares in the early spring: pituitary responsiveness to gonadotropin-releasing hormone and pituitary gonadotropin content. **Biol. Reprod.** 44: 983–990.
- Silvia, P.J., E.L. Squires and T.M. Nett. 1986. Changes in the hypothalamic–hypophyseal axis of mares associated with seasonal reproductive recrudescence. **Biol. Reprod.** 35: 897–905.
- Silvia, P.J., E.L. Squires and T.M. Nett. 1987. Pituitary responsiveness of mares challenged with GnRH at various stages of the transition into the breeding season. **J. Anim. Sci.** 64: 790–796.
- Snyder, D.A., D.D. Turner, K.F. Miller, M.C. Garcia and O.J. Ginther. 1979. Follicular and gonadotrophic changes during transition from ovulatory to anovulatory seasons. **J. Reprod. Fertil. Suppl.**:95–101.

Snyder, D.A., D.D. Turner, K.F. Miller, M.C. Garcia and R.H.F. Hunter. 2003.

Physiology of the Graafian follicle and ovulation. Cambridge University Press. Cambridge, UK.

Townson, D.H. and O.J. Ginther. 1989a. Size and shape changes in the preovulatory follicle in mares based on digital analysis of ultrasonic images. **Anim. Reprod. Sci.** 21: 63-71.

Townson, D.H. and O.J. Ginther. 1989b. Ultrasonic characterization of follicular evacuation during ovulation and the fate of the discharged follicular fluid in mares. **Anim. Reprod. Sci.** 20:131-141.

Tunón, A.M., H. Rodriguez-Martinez, A. Haglund, A. Albiñ, U. Magnusson and S. Einarsson. 1995. Ultrastructure of the secretory endometrium during oestrus in young maiden and foaled mares. **Equine Vet. J.** 27:382-388.

Van Niekerk, C.H., J.C. Morgenthal and W.H. Gerneke. 1975. Relationship between the morphology of and progesterone production by the corpus luteum in the mare. **J. Reprod. Fertil. Suppl.** 23: 171-175

Vivo, R.R. and S.M. Vinuesa. 1993. Diameter of the preovulatory follicle and early embryonic vesicle in Arab and Spanish Thoroughbreds. **Arch. Zootec.** 42: 263-267.

Watson, E.D. and M.O. Al-zi'abi. 2002. Characterization of morphology and angiogenesis in follicles of mares during spring transition and the breeding season. **Reproduction.** 124: 227-234.

Watson, E.D., R. Thomassen, M. Steele, M. Heald, R. Leask, N.P. Groome and S.C. Riley. 2002a. Concentrations of inhibin, progesterone and oestradiol in fluid from dominant and subordinate follicles from mares during spring transition and the breeding season. **Anim. Reprod. Sci.** 74:55-67.

- Watson, E.D., M. Heald, A. Tsigos, R. Leask, M. Steele, N.P. Groome and S.C. Riley. 2002b. Plasma FSH, inhibin A and inhibin isoforms containing pro- and -alphaC during winter anoestrus, spring transition and the breeding season in mares. **Reproduction**. 123:535–542.
- Watson, E.D., S.E. Bae, R. Thomassen, S.R. Thomson, K. Woad and D.G. Armstrong. 2004a. Insulin-like growth factors-I and -II and insulin-like growth factor-binding protein-2 in dominant equine follicles during spring transition and the ovulatory season. **Reproduction**. 128: 321–329.
- Watson, E.D., S.E. Bae, M.O. Al-zi'abi, C.O. Hogg and D.G. Armstrong. 2005. Expression of mRNA encoding insulin-like growth factor binding protein-2 (IGFBP-2) during induced and natural regression of equine corpora lutea. **Theriogenology**. 64: 1371–1380.
- Weedman, B.J., S.S. King, K.R. Neumann and L.G. Nequin. 1993. Comparison of circulating estradiol-17beta and folliculogenesis during the breeding season, autumn transition and anestrus in the mare. **J. Equine Vet. Sci.** 13: 502–505.
- Wesson, J.A. and O.J. Ginther. 1981. Puberty in the female pony: reproductive behavior, ovulation, and plasma gonadotropin concentrations. **Biol. Reprod.** 24:977-986.



ภาคผนวก





ภาคผนวก ข

ระดับคะแนนของการบวมน้ำของเยื่อหุ้มดลูก และการจับสัด

ภาคผนวก ข

ระดับคะแนนของการบวมน้ำของเยื่อบุมดลูก (endometrial echotexture score)



ภาพผนวกที่ ข1 คะแนนการบวมน้ำของเยื่อบุมดลูกระดับ 0

หมายเหตุ ระดับที่ 0 ไม่มีการบวมน้ำ มดลูกมีสีเทาลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันโดยตลอด



ภาพผนวกที่ ข2 คะแนนการบวมน้ำของเยื่อบุมดลูกระดับ 1

หมายเหตุ ระดับที่ 1 การบวมน้ำเล็กน้อย สามารถแยกออกได้ว่ามีแถบสีเทา(echogenic band) สลับกับแถบสีดำ(anechoic band) โดยที่แถบสีเทามีขนาดใหญ่กว่าแถบสีดำ ความกว้างของแถบสีเทาเป็นสองเท่าของแถบสีดำโดยประมาณ



ภาพผนวกที่ ข3 คะแนนการบวมน้ำของเยื่อBUMDLU ระดับ 2

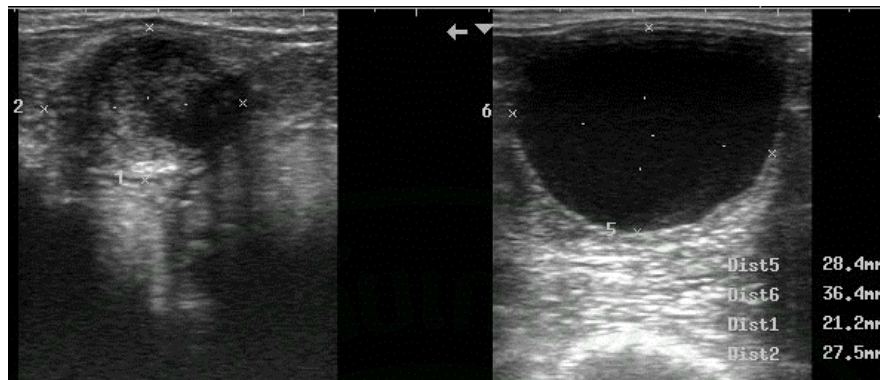
หมายเหตุ ระดับที่ 2 การบวมน้ำปานกลาง สามารถแยกแอสีเทากับแอสีดำออกได้อย่างชัดเจน โดยที่แอสีดำมีขนาดใหญ่กว่าแอสีเทา ความกว้างของแอสีดำเป็นสองเท่าของแอสีเทาโดยประมาณ



ภาพผนวกที่ ข4 คะแนนการบวมน้ำของเยื่อBUMDLU ระดับ 3

หมายเหตุ ระดับที่ 3 การบวมน้ำมาก สามารถแยกแอสีเทากับแอสีดำออกได้อย่างชัดเจนมาก โดยที่แอสีดำมีขนาดใหญ่กว่าแอสีเทามากกว่า 2 เท่าขึ้นไป

Ovarian Ultrasonography



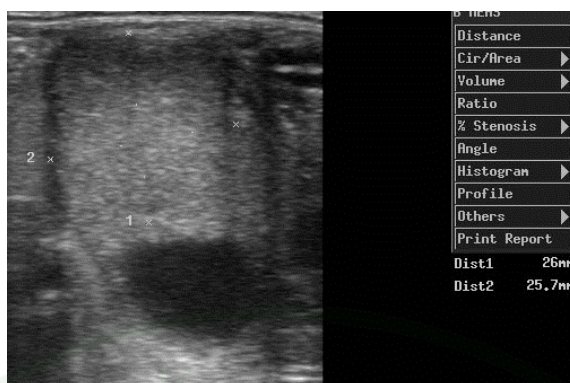
ภาพผนวกที่ ข5 ภาพอัลตราซาวด์ของรังไข่

หมายเหตุ ด้านซ้าย เป็นภาพตัวอย่างรังไข่แม่ม้าพื้นเมืองไทยที่มี ความกว้าง x ความยาว เท่ากับ 21.2x27.5 mm.2.ด้านขวาเป็นdominant follicle (Hypoechoic area มีสีดำ)มีความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางที่ขนานกับ ovulation fossa เท่ากับ 36.4 มม.



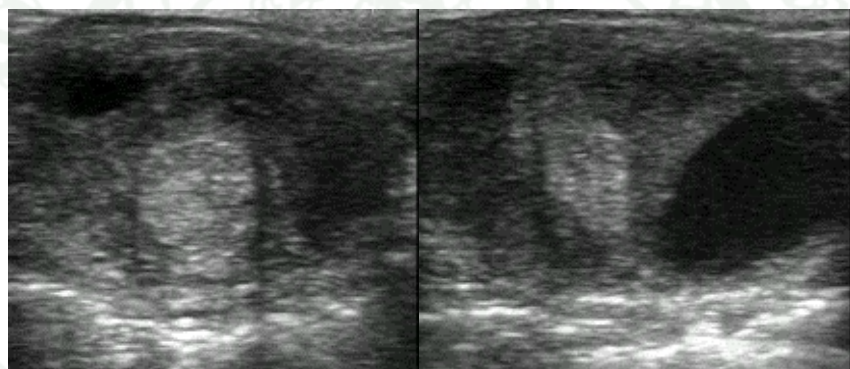
ภาพผนวกที่ ข6 ภาพอัลตราซาวด์ของ Corpus Hemorrhagicum

หมายเหตุ การหายไปของ dominant follicle และถูกทดแทนด้วยโครงสร้างที่สะท้อนคลื่นอัลตราซาวด์(hyperechoic tissue สีเทา) ที่เป็นลักษณะของ เนื้อเยื่อ luteal tissue ในวันต่อมาบ่งชี้ถึง การตกไข่ (declared ovulation)



ภาพผนวกที่ ข7 ภาพอัลตราซาวด์ของ Corpus Luteum ในช่วงต้น luteal phase

หมายเหตุ ของ Corpus Luteum ในช่วงต้น (early luteal phase) ขนาด 25.8 มม.



ภาพผนวกที่ ข8 ภาพอัลตราซาวด์ของ Corpus Luteum ในช่วงท้าย luteal phase

การจับสัด (Heat Detection)

ทำการจับสัด โดยใช้วิธีนำพอม้าเข้าใกล้และสังเกตอาการเป็นสัดของแม่ม้า ประมาณ 10 ถึง 15 นาที อาการเป็นสัดที่แม่ม้าแสดงออก ได้แก่ หยดยีน ให้ความสนใจพอม้า ยกหาง การบีบตัวของ Clitoris (winking of the clitoris) ขยับตัวและปล่อยปัสสาวะออกเป็นช่วงๆ ทีละน้อย การถ่ายปัสสาวะ ยืนนิ่ง ย่อตัวให้พอม้าปัสสาว (Crowell-Davis, 2007)

ประเมินการแสดงออกตลอดช่วงเวลาที่ทำการจับสัด ออกเป็น 4 ประเภท

1. แสดงอาการเป็นสัดและแสดงอาการยืนนิ่งยอมรับการปัสสาวของพอม้า
2. แสดงอาการเป็นสัดแต่ไม่แสดงอาการยืนนิ่งยอมรับการปัสสาวของพอม้า
3. แสดงอาการเป็นสัดไม่ชัดเจน
4. ไม่แสดงอาการเป็นสัด (Silent Heat)



ภาพผนวกที่ ข9 แสดงวิธีการจับสัด



ภาพผนวกที่ ข10 อาการเป็นสัด ยกหาง ขับปัสสาวะ

หมายเหตุ ย่อตัวและแยกขาหลังออก ยกเบี่ยงหางเปิดส่วน perineum ปล่อยปัสสาวะ ปริมาณ
น้อยๆออกมาบ่อยๆ จนกระทั่งถ่ายปัสสาวะ



ภาพผนวกที่ ข11 อาการเป็นสัด การบีบตัวของกล้ามเนื้อปมกระสัน และอาการยืนนิ่ง

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ -นามสกุล	นางสาวอารีย์ ไหลกุล
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 9 ตุลาคม 2511
สถานที่เกิด	อ่างทอง
ประวัติการศึกษา	สัตวแพทยศาสตร์บัณฑิต พ.ศ.2535 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	ทุนการศึกษาเพื่อเพิ่มคุณวุฒิแก่บุคลากร กองทุนพัฒนาคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	