

จารึก ฌฎฐากรฤต. 2554. การประยุกต์ใช้การเจริญเติบโตทดแทนและเทคโนโลยีช่วยการ

สืบพันธุ์ในแพะพื้นเมืองไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต

สาขาวิชาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รศ. ดร. ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์,
รศ. ดร. ฉลอง วชิราภากร,
ผศ. ดร. กวาดิ ภัคดี

บทคัดย่อ

วิทยานิพนธ์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา 1) รูปแบบการเจริญเติบโตของแพะระยะหลังหย่านมถึงระยะเข้าสู่วัยหนุ่มสาว 2) การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีช่วยในการสืบพันธุ์ในการเหนี่ยวนำและควบคุมการทำงานของรังไข่เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสืบพันธุ์ 3) การประยุกต์ใช้หลักการเจริญเติบโตทดแทนโดยวิธีการให้อาหารแบบขั้นบันไดเพื่อช่วยเพิ่มความสมบูรณ์พันธุ์ในการจัดการสืบพันธุ์ของแพะพื้นเมืองไทย ซึ่งประกอบด้วย 3 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 ใช้แพะพื้นเมืองไทยเพศเมียหลังหย่านม จำนวน 12 ตัว อายุเฉลี่ย 3 เดือน โดยแบ่งออกเป็น 2 ระยะ คือ ระยะที่ 1 หลังหย่านม (3-6 เดือน) และระยะที่ 2 ระยะเข้าสู่วัยหนุ่มสาว (อายุ 7-12 เดือน) ในระยะหลังหย่านมแพะมีน้ำหนักตัวเริ่มต้นเฉลี่ย 8.33 ± 0.17 กิโลกรัม ให้อาหารหยาบเต็มที่มี ส่วนอาหารชั้นมีระดับโปรตีน 16 เปอร์เซ็นต์ในช่วงเช้าและเย็น โดยให้อาหารชั้น 1.5 % ของน้ำหนักตัวเป็นระยะเวลา 3 เดือน และน้ำหนักตัวสุดท้ายเมื่อแพะมีอายุ 6 เดือนเฉลี่ย 12.36 ± 0.26 กิโลกรัม มีอัตราการเจริญเติบโต 46.16 ± 1.80 กรัม/ตัว/วัน ปริมาณการกินได้ทั้งหมดเฉลี่ย 353.21 ± 6.73 กรัม/ตัว/วัน และมี อัตราการเปลี่ยนอาหารเท่ากับ 7.75 ± 0.21 ระยะเข้าสู่วัยหนุ่มสาว (อายุ 7-12 เดือน) ใช้แพะพื้นเมืองไทย จำนวน 12 ตัว น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 12.78 ± 0.20 กิโลกรัม ให้อาหารชั้นและอาหารหยาบเช่นเดียวกับระยะหลังหย่านม ในระยะนี้แพะเพศเมียพื้นเมืองไทยทั้ง 12 ตัว ถูกตรวจสอบวงรอบการเป็นสัด โดยใช้แพะเพศผู้ที่ผ่าตัดท่อนำน้ำเชื้อแล้ว (vasectomized buck) จากนั้นแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 แพะแสดงการเป็นสัดครั้งแรกภายใน 60 เมื่อเริ่มงานทดลอง ($n=8$) กลุ่มที่ 2 แพะแสดงการเป็นสัดครั้งแรกล่าช้าหลังจาก 60 วัน ($n=2$) และกลุ่มที่ 3 แพะไม่แสดงการเป็นสัดจนสิ้นสุดการทดลอง ($n=2$) จากการศึกษาพบว่าอัตราการเจริญเติบโตในแพะกลุ่มที่ 1 เฉลี่ย 41.52 ± 1.56 กรัม/ตัว/วัน มากกว่า ($P < 0.05$) กลุ่มที่ 2 และ 3 ที่มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 24.16 ± 1.94 และ 20.83 ± 0.27 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ ส่วนการกินได้ทั้งหมดของแพะกลุ่มที่ 1 เฉลี่ย เท่ากับ 585.90 ± 7.27 กรัม/ตัว/วัน มากกว่า ($P < 0.05$) แพะกลุ่มที่ 2

และ 3 ที่มีการกินได้เฉลี่ย 484.62 ± 7.12 และ 449.12 ± 4.37 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ จากการตรวจสอบการเป็นสัดพบว่ามีแพะเพศเมียที่มีวงรอบการเป็นสัด จำนวน 10 ตัว (83.3%) แต่แพะอีก 2 ตัว (16.7%) ไม่พบวงรอบการเป็นสัดจนสิ้นสุดการทดลอง โดยในจำนวนแพะทั้ง 10 ตัวที่มีวงรอบการเป็นสัด พบว่า 8 ตัว (80%) ที่มีวงรอบปกติ (แพะกลุ่มที่ 1) โดยมีวงรอบการเป็นสัดเฉลี่ย 20.75 ± 0.4 วัน อีก 2 ตัว (20%) มีวงรอบการเป็นสัดที่ล่าช้า (แพะกลุ่มที่ 2) โดยมีวงรอบการเป็นสัดเฉลี่ย 15.17 ± 1.50 วัน ($P < 0.01$) อายุเมื่อเป็นสัดครั้งแรกของแพะกลุ่มที่ 1 เท่ากับ 228.12 ± 8.95 วัน เร็วกว่า แพะกลุ่มที่ 2 ที่มีค่าเท่ากับ 326.25 ± 24.56 วัน ($P < 0.05$) และพบว่าน้ำหนักตัวเมื่อเป็นสัดครั้งแรกในกลุ่มแพะที่ 1 มากกว่า ($P < 0.05$) แพะกลุ่มที่ 2 (16.63 ± 0.64 กับ 13.25 ± 0.25 กิโลกรัม/ตัว ตามลำดับ) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าน้ำหนักตัวของแพะส่งผลต่อพฤติกรรมการเป็นสัด

การทดลองที่ 2 ใช้แพะพื้นเมืองไทยสาวจำนวน 16 ตัว อายุเฉลี่ย 14 เดือน มีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 21 ± 0.60 กิโลกรัม แบ่งเป็น 2 กลุ่ม เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมน FSH ร่วมกับ hCG ต่อการพัฒนารูปร่างของฟอลลิเคิล และ อัตราการตกไข่คือ กลุ่มที่ให้ FSH (FSH-P; Folltropin-[®]) แบบ 2 วัน (2D-FSH; 18 mg) และ กลุ่มที่ให้ FSH แบบ 3 วัน (3D-FSH; 24 mg) ฉีดเข้ากล้ามเนื้อวันละ 2 ครั้ง เข้า-เย็น กลุ่มที่ฉีด 2 วัน เริ่มวันที่ 18, 19 และฉีด hCG (Chorulon[®]; 300 IU) เพียงในวันวันที่ 20 ของวงรอบการเป็นสัด กลุ่มที่ฉีด FSH 3 วัน เริ่มวันที่ 17, 18, 19 และ hCG วันที่ 20 หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง เปิดช่องท้องของแพะเพื่อตรวจนับ corpora hemorrhagica (CH) และที่ 72 ชั่วโมงเปิดช่องท้องอีกครั้งเพื่อนับจำนวนของ corpora lutea (CL) เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P4) ในวันที่ 17, 18, วันที่ 20, 21 (เปิดช่องท้องที่ 24 ชั่วโมง) และวันที่ 23 (เปิดช่องท้องที่ 72 ชั่วโมง) ผลการทดลองพบว่าจำนวนของฟอลลิเคิลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-3, 4-6 และ >7 มม. ที่นับได้เมื่อ 24 ชั่วโมงในกลุ่ม 2D-FSH และ กลุ่ม 3D-FSH ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่ที่เวลา 72 ชม. พบว่าจำนวนของฟอลลิเคิลขนาด 4-6 มม. ในกลุ่ม 2D-FSH มีมากกว่า ($P < 0.01$) กลุ่ม 3D-FSH (1.75 ± 0.47 และ 0.25 ± 0.25) ส่วนจำนวนของฟอลลิเคิลขนาด >7 มม. กลับพบว่าในกลุ่ม 2D-FSH มีน้อยกว่า ($P < 0.01$) กลุ่ม 3D-FSH ในส่วนของอัตราการตกไข่ ที่ 24 ชั่วโมงในกลุ่มของ 3D-FSH มีค่าเท่ากับ 56 เปอร์เซ็นต์ดีกว่ากลุ่ม 2D-FSH ที่มีอัตราการตกไข่เพียง 40 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.01$) ระดับความเข้มข้นของ P4 มีระดับสูงในวันที่ 17 หรือ 18 และลดลงต่ำในวันที่ 20, 21 และ 23 อย่างไรก็ตามระดับความเข้มข้นของ P4 ในแพะทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้ฮอร์โมน FSH แบบ 3 วัน ร่วมกับ hCG 300 IU มีประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำพัฒนารูปร่างของฟอลลิเคิลและการตกไข่ในแพะพื้นเมืองไทย

การทดลองที่ 3 ใช้แพะพื้นเมืองเทศเมียจำนวน 16 ตัว อายุ 8 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 17.00 ± 0.60 กิโลกรัม เป็นแพะที่มีวงรอบการเป็นสัดมาแล้วไม่น้อยกว่า 2 วงรอบ และใช้แพะเพศผู้ที่ผ่าตัดท่อน้ำเชื้อเพื่อตรวจสอบการเป็นสัดของแพะเทศเมียทุกวัน แพะเทศเมียแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (Control) ให้อาหารตามความต้องการโภชนะของแพะในระยะวัยเจริญพันธุ์ หรือคิดเป็น 100% โดยให้อาหารหยาบเป็นหญ้าหูกแห้ง 500 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับการให้อาหารชั้นที่มีโปรตีน 16% เสริมในปริมาณ 1% ของน้ำหนักตัว รวมอาหารที่ให้กิน 670 กรัม/ตัว/วัน มี metabolizable energy (ME) เท่ากับ 1.48 Mcal/วัน และโปรตีนที่ได้รับ 55 กรัม/ตัว/วัน ตลอดระยะเวลา 42 วัน กลุ่มที่ 2 ให้อาหารแบบขั้นบันได (Stair-step feeding) ประกอบด้วย 2 ระยะคือระยะแรก (วันที่ 1-21) ให้อาหารแบบจำกัด โดยการจำกัดอาหารที่ได้รับเหลือเพียง 70% ของกลุ่มควบคุม และระยะที่สอง (วันที่ 22-42) กลับมาให้อาหารเพิ่มขึ้นเป็น 130% ของปริมาณที่ให้จากกลุ่มควบคุม จากนั้นแพะทุกกลุ่มถูกผ่าตัดเปิดช่องท้องครั้งแรกในวันที่ 41 เพื่อศึกษาพัฒนาการของฟอลลิเคิล และครั้งที่สองในวันที่ 45 เพื่อเจาะดูฟอลลิเคิลของรังไข่ข้างหนึ่ง นำโอโอไซต์มาตรวจคุณภาพ จากผลการทดลองพบว่าปริมาณการกินได้ อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารของทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่าทางชีวเคมีพบว่าค่า glucose ของกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันได ในวงรอบการเป็นสัดครั้งที่ 2 ซึ่งเป็นระยะที่มีการเพิ่มการให้อาหารที่ 4 ชั่วโมงมีระดับที่สูงกว่า ($P < 0.05$) กลุ่มควบคุม ระดับของ Non esterified fatty acid (NEFA) ของแพะกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันได ในระยะวงรอบการเป็นสัดครั้งที่ 1 เมื่อมีการจำกัดอาหารมีค่าไม่แตกต่าง ($P > 0.05$) จากแพะกลุ่มควบคุม แต่ในวงรอบการเป็นสัดครั้งที่ 2 เมื่อให้อาหารเพิ่มขึ้นเป็น 130% พบว่าค่า NEFA ของแพะกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันได มีค่าน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) เช่นเดียวกับค่าของฮอร์โมน Insulin ที่พบว่าแพะกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดมีระดับที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ในส่วนของฟอลลิเคิลทั้งหมดที่นับได้ในกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันได มีจำนวนมากกว่า ($P < 0.01$) กลุ่มควบคุม จากการเจาะดูฟอลลิเคิลและเก็บโอโอไซต์มาประเมินคุณภาพ พบว่าจำนวนของโอโอไซต์ที่มีคุณภาพดีที่ได้จากฟอลลิเคิลขนาดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-3 และ 4-6 มม. ในกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดมีมากกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.01$) นอกจากนั้นแล้วค่าดัชนีในการแบ่งเซลล์ (% PCNA labeling index) ในเนื้อเยื่อชั้นกรานูโลซาและชั้นทีกาของรังไข่ในแพะที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดสูงกว่าในแพะกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) อีกทั้งในการวิเคราะห์ระดับ mRNA ของจีน Bcl-2 (โดยวิธี real time RT-PCR) ในเนื้อเยื่อชั้นกรานูโลซาและชั้นทีกาของฟอลลิเคิลขนาด 1-6 มม. ในกลุ่มแพะที่ให้อาหารแบบขั้นบันได พบว่ามีระดับสูงกว่าในแพะกลุ่มควบคุม ($P < 0.01$ และ $P < 0.05$ ตามลำดับ) ดังนั้นการให้อาหารแบบขั้นบันไดในระยะวงรอบการเป็นสัดส่งผลดีต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของแพะพื้นเมืองไทย