ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์)

ปริญญา

การผลิตสัตว์ | สัตวบาล

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในระดับที่แตกต่างกันในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน

Superovulation with Different Doses of Follicle Stimulating Hormone in Kamphaeng Saen Beef Cattle

นามผู้วิจัย นายพีรยุทธ นิลชื่น

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(รองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย, วท.ม.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์สุกัญญา รัตนทับทิมทอง, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์เสกสม อาตมางกูร, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในระดับที่แตกต่างกัน ในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน

Superovulation with Different Doses of Follicle Stimulating Hormone in Kamphaeng Saen Beef Cattle

โดย

นายพีรยุทธ นิลชื่น

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์)
พ.ศ. 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พีรยุทธ นิลชื่น 2554: การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในระดับที่แตกต่างกันในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การผลิตสัตว์) สาขาการผลิตสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย, วท.ม. 79 หน้า

การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในระดับที่แตกต่างกันที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน โดยใช้โคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนที่เป็นแม่โคจำนวน 4 ตัวและโคสาวจำนวน 4 ตัว และโคทุกตัวได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนครบทั้ง 2 ระดับคือ 200 และ 250 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) ภายใต้แผนการทดลองแบบเปลี่ยนสลับ โดยทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่าขนาด 500 ไมโครกรัม เมื่อโคแสดงอาการเป็นสัดนับเป็นวันที่ 0 และในวันที่ 9 หลังจากที่โคแสดงอาการเป็นสัด โคได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนเข้าทางกล้ามเนื้อแบบลดขนาดติดต่อกันเป็นเวลา 4 วัน วันละ 2 ครั้งห่างกัน 12 ชั่วโมง (เช้าและเย็น) และในช่วงเย็นของวันที่ 3 ในโปรแกรมที่โคได้รับ ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนนั้น โคได้รับฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดิน-เอฟทูอัลฟ่าขนาด 500 ไมโครกรัมเข้าทางกล้ามเนื้อร่วมด้วย และผสมเทียมโคทันทีเมื่อสังเกตพบอาการเป็นสัด โดยผสมเทียม 3 ครั้งๆ ละ 2 หลอดห่างกัน 12 ชั่วโมง ซึ่งใช้น้ำเชื้อแช่แข็งของพ่อโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน และโคทุกตัวได้รับโกนาโดโทรปินรีลีสซิ่งฮอร์โมนขนาด 10 ไมโครกรัมในการผสมเทียมครั้งแรก และทำการนับจำนวนคอร์ปัสลูเทียม โดยล้วงผ่านทางทวารหนัก และล้างเก็บตัวอ่อนในวันที่ 7 หลังจากที่โคแสดงอาการเป็นสัด พบว่าแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม มีจำนวนคอร์ปัสลูเทียม เปอร์เซ็นต์จำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ เปอร์เซ็นต์คุณภาพของตัวอ่อน และเปอร์เซ็นต์การพัฒนาของตัวอ่อนในระยะต่างๆ แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัม และโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม มีจำนวนคอร์ปัสลูเทียม เปอร์เซ็นต์จำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ เปอร์เซ็นต์คุณภาพของตัวอ่อน และเปอร์เซ็นต์การพัฒนาของตัวอ่อนในระยะต่างๆ แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัม

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Peerayut Nilchuen 2011: Superovulation with Different Doses of Follicle Stimulating Hormone in Kamphaeng Saen Beef Cattle. Master of Science (Animal Production), Major Field: Animal Production, Department of Animal Science. Thesis Advisor: Associate Professor Srisuwan Chomchai, M.S. 79 pages.

The experiment was conducted to investigate the effect of different doses of follicle stimulating hormone (FSH) using in superovulation program on numbers of corpora lutea, total ova/embryos and transferable embryos in Kamphaeng Saen beef cattle. Cyclic cows (n=4) and heifers (n=4) of Kamphaeng Saen beef breed were assigned for two levels of FSH (200 and 250 mg. NIH-FSH-P1) in Change-over Design by which two change over treatments were studied over two periods in all animals. Cows and heifers were estrous synchronized by Cloprostenol (500 μg). Estrus detection was performed by teaser bull (Day 0 = day of the onset of standing estrus). On day 9 after the onset of standing estrus, all animals were treated with FSH twice daily decreasing doses over 4 days. On day 3 of FSH injection, each animal was treated with Cloprostenol (500 μg). At the first standing estrus, all animals were artificially inseminated three times with 12 h interval, two straws of frozen-thawed semen of Kamphaeng Saen bull were used per insemination. All animals were treated with gonadotropin releasing hormone (10 μg of Buserelin) at first insemination. Numbers of corpora lutea were determined by rectal palpation and embryos were flushed seven days after the onset of standing estrus and classified according to the development stage and quality. The results showed that numbers of corpora lutea, percentages of total ova/embryos and percentages of transferable embryos and stages of embryo development were not significantly different ($P>0.05$) between treatments (FSH: 200 versus 250 mg) in cow and heifer.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ศรีสุวรรณ ชมชัย อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และอาจารย์ ดร.สุกัญญา รัตนทับทิมทอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำในด้านการศึกษา และการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ และขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สมิต ยิ้มมงคล ประธานการสอบ และศาสตราจารย์ปรารถนา พฤกษะศรี ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาให้คำแนะนำ และแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อน สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ที่ฝึกอบรมและให้ความรู้ทางด้านการย้ายฝากตัวอ่อน ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยและฝึกอบรมการเลี้ยงสุกรแห่งชาติ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน และศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโค ที่เอื้อเฟื้อสัตว์ทดลองและสถานที่ทำการทดลอง ขอบคุณเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานในศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโคทุกท่าน รวมถึงเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ นิสิตปริญญาโทและปริญญาตรีที่เป็นกำลังใจ และให้ความช่วยเหลือในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณคุณพ่อปัญญา และคุณแม่พยุง และครอบครัวตระกูลนิลชื่น และครอบครัวคุณป้าลำยองที่คอยช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่ดีเสมอมา รวมถึงเป็นแบบอย่างการดำเนินชีวิต ความพยายาม และความอดทน ตลอดจนคณาจารย์ทุกๆ ท่านที่ให้ความรู้ สั่งสอน อบรม จนสำเร็จการศึกษา คุณค่า และประโยชน์จากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ ขอมอบแด่บิดา มารดา ครูอาจารย์ และผู้มีพระคุณทุกท่าน

พีรยุทธ นิลชื่น

ตุลาคม 2554

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	32
อุปกรณ์	32
วิธีการ	33
ผลและวิจารณ์	42
ผล	42
วิจารณ์	49
สรุปและข้อเสนอแนะ	54
สรุป	54
ข้อเสนอแนะ	54
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	55
ภาคผนวก	65
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	79

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะมาตรฐานความเป็นเลิศของโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน	6
2	การให้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่มีผลต่อการตอบสนองในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ของโคเนื้อในประเทศต่างๆ	30
3	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ของโคเนื้อในประเทศไทย	31
4	แผนผังการทดลองแบบเปลี่ยนสลับ	34
5	การประเมินคุณภาพของตัวอ่อนของโค	38
6	การจำแนกตัวอ่อนของโคตามระยะการเจริญเติบโต	39
7	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด และคุณภาพของตัวอ่อนในแม่โค	45
8	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด และคุณภาพของตัวอ่อนในโคสาว	46
9	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในแม่โค	47
10	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในโคสาว	48

ตารางผนวกที่

1	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด และคุณภาพของตัวอ่อนในแม่โคแต่ละตัว	66

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
2	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด และคุณภาพของตัวอ่อนในโคสาวแต่ละตัว	66
3	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด และคุณภาพของตัวอ่อนในแม่โคแต่ละตัว	67
4	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด และคุณภาพของตัวอ่อนในโคสาวแต่ละตัว	67
5	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในแม่โคแต่ละตัว	68
6	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในโคสาวแต่ละตัว	68
7	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในแม่โคแต่ละตัว	69
8	ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในโคสาวแต่ละตัว	69
9	สวนประกอบของน้ำยาลางเก็บตัวออน (mDPBS)	75

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนผสมพันธุ์เพื่อสร้างโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน	4
2	แผนผังแสดงการผสมพันธุ์เพื่อให้เกิดพันธุ์แท้	7
3	การเจริญเติบโตและพัฒนาของฟอลลิเคิลจนเกิดการตกไข่	9
4	กลไกในการควบคุมการเจริญของฟอลลิเคิล	9
5	กลไกของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของฟอลลิเคิล	11
6	การเจริญของฟอลลิเคิลในระหว่างวงรอบการเป็นสัดที่ระยะต่างๆ ของโค	14
7	การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนในวงรอบการเป็นสัด	16
8	ตัวรับสัญญาณของฮอร์โมนโกนาโดโทรปินในการควบคุมการเจริญของฟอลลิเคิล	17
9	สรุปการเจริญพร้อมปฏิสนธิในระดับนิวเคลียส	18
10	กระบวนการตกไข่ของฟอลลิเคิล	20
11	การเจริญและพัฒนาของตัวอ่อนในระยะต่างๆ ในโค	21
12	การพัฒนาและการเคลื่อนที่เข้าสู่ปีกมดลูกของตัวอ่อน	22
13	โปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่	35
14	วิธีการล้างเก็บตัวอ่อนแบบไม่ผ่าตัด	37
15	วิธีการตรวจหาตัวอ่อน	38

ภาพผนวกที่

1	คุณภาพของตัวอ่อนระยะมอรูล่า	70
2	คุณภาพของตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า	71
3	คุณภาพของตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น	72
4	คุณภาพของตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส	73
5	คุณภาพของตัวอ่อนที่เสื่อมคุณภาพและตัวอ่อนที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ	74
6	ด้านหน้าฉลากคู่มือการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (Folltrophine®-V)	77
7	ด้านหลังฉลากคู่มือการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (Folltrophine®-V)	78

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในระดับที่แตกต่างกันในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน

Superovulation with Different Doses of Follicle Stimulating Hormone in Kamphaeng Saen Beef Cattle

คำนำ

ในอดีตประเทศไทยยังไม่มีโคพันธุเนื้อที่สามารถเลี้ยงเปนโคขุนในเชิงธุรกิจเหมือนโคเนื้อพันธุ์ต่างประเทศ เชน ยุโรป และอเมริกา สวนโคพื้นเมืองของประเทศไทย แม้วามีคุณสมบัติเดนหลายประการ แตก็มีขนาดเล็กและโตช้า จึงได้มีการพัฒนาโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนขึ้นมา เพื่อเป็นพันธุ์โคที่มีคุณสมบัติเป็นโคเนื้อที่ดีครบถ้วนสำหรับเลี้ยงในสภาพทั่วไปของประเทศไทย โดยได้รับการปรับปรุงพันธุ์มาจากโคพื้นเมืองกับโคพันธุ์บราห์มัน และโคพันธุ์ชาโรเลส์ แต่เนื่องจากการพัฒนาสายพันธุ์โคให้เป็นสายพันธุ์แท้นั้น จำเป็นต้องใช้ระยะเวลานานในการปรับปรุง และขยายพันธุ์ จึงได้มีการนำเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อน (embryo transfer) เข้ามาประยุกต์ใช้ ซึ่งเป็นเทคโนโลยีทางด้านการสืบพันธุ์ที่มีประโยชน์อย่างมากในการพัฒนาสายพันธุ์โคให้รวดเร็วยิ่งขึ้นกว่าวิธีตามธรรมชาติ (Barati *et al.*, 2006) โดยเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนมีขั้นตอนหลักๆ คือ การผลิตตัวอ่อน และการย้ายฝากตัวอ่อน ซึ่งการผลิตตัวอ่อนนั้นนับว่ามีความสำคัญเป็นอย่างมาก โดยจะมีขั้นตอนที่สำคัญที่มีผลต่อการผลิตตัวอ่อนให้มีคุณภาพดี และมีจำนวนมากคือ การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ซึ่งจะต้องนำฮอร์โมนจากภายนอกมากระตุ้นแก่ตัวสัตว์ เพื่อให้ฟอลลิเคิลมีการเจริญครั้งละหลายๆใบบนรังไข่ และเมื่อมีการตกไข่ก็จะได้ไข่หลายๆ ใบ (Jillella, 1982) ดังนั้นการเลือกและใช้ฮอร์โมนที่ระดับเหมาะสมจึงเป็นสิ่งที่สำคัญอย่างยิ่งในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ สำหรับฮอร์โมนที่นิยมใช้คือ ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน โดยมีรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคแต่ละสายพันธุ์ของแต่ละประเทศ ซึ่งพบว่าโคสายพันธุ์ตระกูลอินเดียมีความไวต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนและสามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ได้ดีกว่าโคสายพันธุ์ตระกูลยุโรป (Baruselli *et al*., 2006) และโคสายพันธุ์ตระกูลอินเดียสามารถใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในระดับที่ต่ำกว่าโคสายพันธุ์ตระกูลยุโรป (Lewis, 1992)

อย่างไรก็ตามยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาถึงการตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนในประเทศไทย ดังนั้นการทดลองครั้งนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับต่างๆ ที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ตลอดจนความสามารถของโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนในการผลิตตัวอ่อน เพื่อเป็นแนวทางหรือพื้นฐานในการนำไปประยุกต์ใช้เทคโนโลยีชีวภาพทางด้านการสืบพันธุ์ในการปรับปรุง และขยายพันธุ์โคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียมในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน

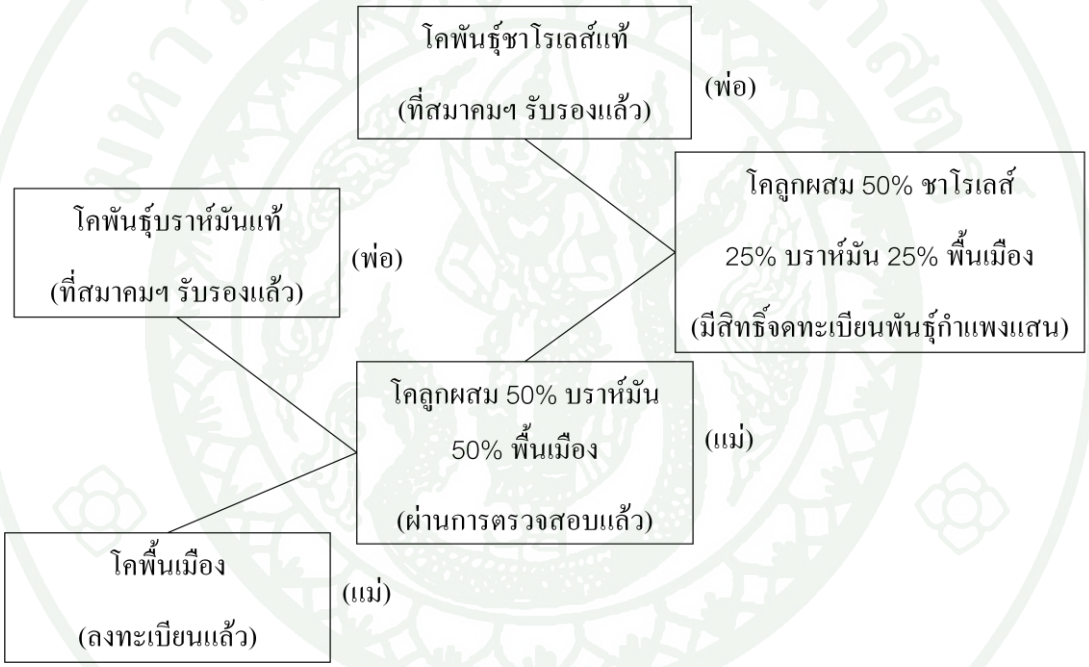
2. เพื่อศึกษาผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ต่อจำนวนและคุณภาพของตัวอ่อนในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตรวจเอกสาร

โคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน

โคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน เป็นโคเนื้อที่มีพันธุกรรมของโคสายพันธุ์ชาโรเลส์ 50 เปอร์เซ็นต์ โคพันธุ์บราห์มัน 25 เปอร์เซ็นต์ และโคพื้นเมือง 25 เปอร์เซ็นต์ (ดังภาพที่ 1) มีสีขาวครีม-เหลือง ทั้งตัวและผ่านการตรวจสอบจากเจ้าหน้าที่ของสมาคมโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนว่ามีคุณภาพลักษณะตามกำหนด (ปรารถนา, 2548)



ภาพที่ 1 แผนผสมพันธุ์เพื่อสร้างโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน
ที่มา: ปรารถนา (2548)

ประวัติโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน

การสร้างโคพันธุ์ “กำแพงแสน” เป็นการปรับปรุงโคพื้นเมืองของไทย คุณสมบัติที่ดีเลิศของโคพื้นเมืองที่ไม่มีโคพันธุ์ใดเทียบได้ คือความสมบูรณ์พันธุ์ ได้แก่ เป็นสัดเร็ว ผสมติดง่าย ถึงแม้ว่าได้รับอาหารไม่ค่อยสมบูรณ์แต่สามารถให้ลูกทุกปี แต่เนื่องจากโคพื้นเมืองไม่สามารถนำมาเลี้ยงเป็นโคขุนในระบบธุรกิจได้ ทั้งนี้เพราะมีขนาดตัวเล็ก และเจริญเติบโตช้า จึงได้มีการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปรับปรุงโคพื้นเมือง โดยการนำโคพันธุ์บราห์มันมาผสมเพื่อให้ได้ลูกที่มีขนาดใหญ่และโตเร็วขึ้น แต่เป็นที่ทราบกันทั่วโลกว่า โคสายพันธุ์ตระกูลอินเดีย (พันธุ์บราห์มันและพันธุ์ฮินดูบราซิล) มีข้อด้อยเรื่องความสมบูรณ์พันธุ์ การยกระดับพันธุกรรมของโคพันธุ์บราห์มันให้สูงขึ้นจะมีปัญหาเรื่องการผสมติดยากมากขึ้น ยิ่งถ้าหากได้รับอาหารที่ไม่สมบูรณ์แล้วโคจะไม่ยอมเป็นแสดงอาการเป็นสัด นอกจากนี้คุณภาพของเนื้อโคพันธุ์บราห์มันก็ด้อยกว่าโคสายพันธุ์ตระกูลยุโรป ดังนั้นทางโครงการปรับปรุงพันธุ์โคเนื้อ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จึงพยายามรักษาพันธุกรรมของโคพื้นเมืองไว้ 25 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้คงข้อดีของความสมบูรณ์พันธุ์ และจำกัดพันธุกรรมของโคพันธุ์บราห์มันไว้เพียง 25 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้โครงร่างใหญ่ขึ้น แล้วนำโคพันธุ์ชาโรเลส์มาปรับปรุงเรื่องการให้เนื้อ และการเจริญเติบโต แต่โคพันธุ์ชาโรเลส์เป็นโคสายพันธุ์ตระกูลยุโรป ซึ่งไม่สามารถทนต่ออากาศร้อนของประเทศไทยได้ จึงจำกัดพันธุกรรมของโคพันธุ์ชาโรเลส์ไว้เพียง 50 เปอร์เซ็นต์ โดยสรุปคือ การสร้างโคพันธุ์ “กำแพงแสน” ก็เพื่อให้ได้พันธุ์โคที่มีคุณสมบัติเป็นโคเนื้อที่ดีครบถ้วนสำหรับเลี้ยงในสภาพทั่วไปของประเทศไทย โดยใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ (โคพื้นเมือง) เป็นพันธุ์พื้นฐาน (ปรารถนา, 2548)

มาตรฐานความเป็นเลิศของโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน

ในการสร้างและพัฒนาโคพันธุ์ต่างๆ ที่มีอยู่ในโลกนั้น ในระยะแรกๆ คุณลักษณะของโคพันธุ์นั้นๆ อาจจะยังไม่ดีนัก แต่ได้มีการตั้งคุณลักษณะของโคในอุดมคติที่ต้องการไว้ แล้วพยายามทำทุกวิถีทางเพื่อให้ได้โคที่มีคุณลักษณะตรงตามที่ตั้งไว้ โคที่สมาคมโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนจะจดทะเบียนรับรองพันธุ์ให้ก็ต้องมีลักษณะตรงกับลักษณะในอุดมคติดังกล่าวนี้ ในการคัดเลือกโคไว้เป็นพ่อแม่พันธุ์ และในการประกวดโคก็จะอิงลักษณะและคุณสมบัติที่ตั้งไว้นี้เป็นเกณฑ์ในการตัดสิน ลักษณะในอุดมคติดังกล่าวนี้เรียกกันตามหลักสากลว่า มาตรฐานความเป็นเลิศ (standard of exellence) สำหรับมาตรฐานความเป็นเลิศของโคพันธุ์กำแพงแสน (ดังตารางที่ 1) ได้มีการกำหนดและปรับปรุงครั้งสุดท้ายในที่ประชุมกรรมการบริหารสมาคมโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนเมื่อวันที่ 30 กันยายน 2552 (สมาคมโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน, 2552)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 1 ลักษณะมาตรฐานความเป็นเลิศของโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน

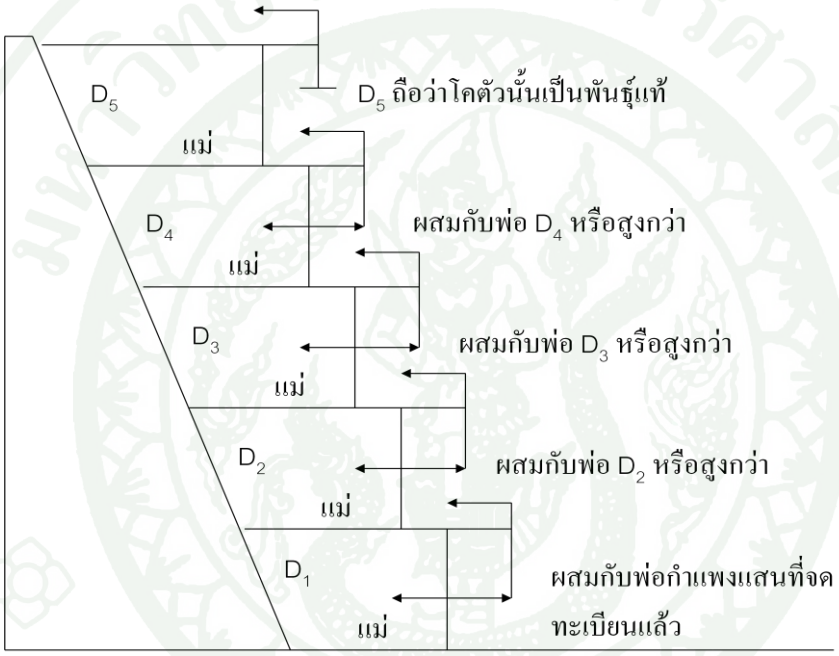
ลักษณะ	ที่ต้องการ	พอยอมรับได้	ยอมรับไม่ได้
-ระดับสายเลือด	พื้นเมือง 25% บราห์มัน 25% ชาโรเลส์ 50%	แตกต่างจากนี้เล็กน้อย	ไม่มีพันธุกรรมของโคพื้นเมืองเลย หรือโคพันธุ์ชาโรเลส์เกิน 50%
-สี	ขาวครีม-เหลืองทอง	เฉพาะเพศเมีย อนุโลมให้สีแดง-น้ำตาล-น้ำตาลไหม้ มีด่างขาวหรือจุดประเล็กน้อย	ดำ หรือด่างมาก หรือสีอื่นๆ
-หัว	ไม่มีเขา จมูกและริมฝีปากกว้าง	-	หัวยาวแคบ ขากรรไกรหดสั้น จมูกบิด
-ขนาดโครงร่าง	น้ำหนักขั้นต่ำตัวผู้โตเต็มวัย 750 กก. ตัวเมียโตเต็มวัย 450 กก.	เบากว่ามาตรฐานเล็กน้อย	โครงร่างเล็กเกินไป
-รูปทรงลำตัว	ลำตัวยาว กระดูกซี่โครงกางพอสมควร แนวสันหลังตรงแข็งแรง ลำตัวลึกพอควรแต่มากเกินไป	-	ลำตัวสั้น หรือแคบเกินไป หรือท้องคอดกิ่วเหมือนท้องม้าหรือก้นกระดกขึ้น
-การให้เนื้อ	กล้ามเนื้อมากมีไขมันหุ้มเพียงบางๆ สะโพกหนาและลึก สันหลังกว้าง	กล้ามเนื้อไม่มากนักในกรณีที่ให้นมมาก	ไขมันมากเกินไป ที่เห็นได้ชัดคือ เสือร้องไห้อุมนุนมากเกินไป
-กระดูก	ขนาดปานกลาง	ขนาดค่อนข้างเล็กหรือใหญ่	ขนาดเล็กหรือใหญ่เกินไป
-ขนและหนัง	ขนสั้น นุ่ม และเป็นมัน หนังหยุ่นและหลวม พอควร	-	ขนยาว หนังหลวมหรือตึงเกินไป
-ขา	ยาวพอสมควร แข็งแรงและมั่นคง เดินกระฉับกระเฉง ข้อเท้าสั้นและแข็งแรง	-	ขายาวหรือสั้นเกินไป เดินไม่ปกติ ข้อเท้าอ่อนแอ ส่วนเข่าโค้งหรือตรงเกินไป
-ลูกอัณฑะ	มี 2 ลูกขนาดเท่ากันและห้อยยานพอเหมาะพอควรเท่าๆกัน	ลูกอัณฑะ 2 ลูก ห้อยออกมาแต่ไม่เห็นขั้ว	ไม่เห็นลูกอัณฑะห้อยออกมา หรือห้อย
-เต้านม	พัฒนาดี มีหัวนมขนาดปานกลางและกระจายสม่ำเสมอ	-	เต้านมยานโตงเตง หรือหัวนมขนาดใหญ่
-ใต้ท้อง	หนังหุ้มลึงค์ หรือสะดือห้อยยานไม่มากนัก	-	หนังหุ้มลึงค์ หรือสะดือห้อยยานเกินไป
-อารมณ์	เชื่องแต่สดชื่น ร่าเริง	-	ดุ เปรียว

ที่มา: สมาคมโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน (2552)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แผนผสมพันธุ์เพื่อให้เกิดพันธุ์แท้

เมื่อมีการสร้างพันธุ์ใหม่จากการเอาโคพันธุ์ดั้งเดิม 2 พันธุ์ หรือมากกว่ามารวมกัน ลูกที่เกิดมาในช่วงแรกๆ จะมีความผันแปรในเรื่องรูปร่างและสี แต่ลักษณะหลักๆ ทางเศรษฐกิจ เช่น อัตราการเจริญเติบโต และน้ำหนักเมื่อหย่านมมีความผันแปรน้อยมาก เพราะลักษณะเหล่านี้ถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ อย่างไรก็ตามถ้าจะให้คุณสมบัติทุกๆ อย่างคงที่ต้องเอาสัตว์ที่เหมือนกันผสมกับสัตว์ที่เหมือนกันหลายๆ ชั่วก็จะได้สัตว์ที่มีลักษณะคงที่



ภาพที่ 2 แผนผังแสดงการผสมพันธุ์เพื่อให้เกิดโคพันธุ์แท้
ที่มา: ปรารถนา (2548)

ทางศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโค มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และสมาคมโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน ได้ตั้งกฎหรือแผนผสมพันธุ์เพื่อให้เกิดพันธุ์แท้ขึ้น ทำนองเดียวกับที่ใช้ในพันธุ์เดราท์มาสเตอร์ และพันธุ์แบรงกัส โดยเริ่มจากโคเพศเมียที่มีลักษณะตรงตามมาตรฐานพันธุ์กำแพงแสน จะได้รับการจดทะเบียนพันธุ์กำแพงแสน D_1 เมื่อได้ D_1 เพศเมียผสมพันธุ์กับพ่อพันธุ์กำแพงแสนที่จดทะเบียนแล้ว ลูกที่ได้จะสามารถจดทะเบียนเป็น D_2 เมื่อทำการผสมยกระดับจนกระทั่งถึง D_5 ก็ให้ถือเป็นโคกำแพงแสนพันธุ์แท้ (ดังภาพที่ 2)

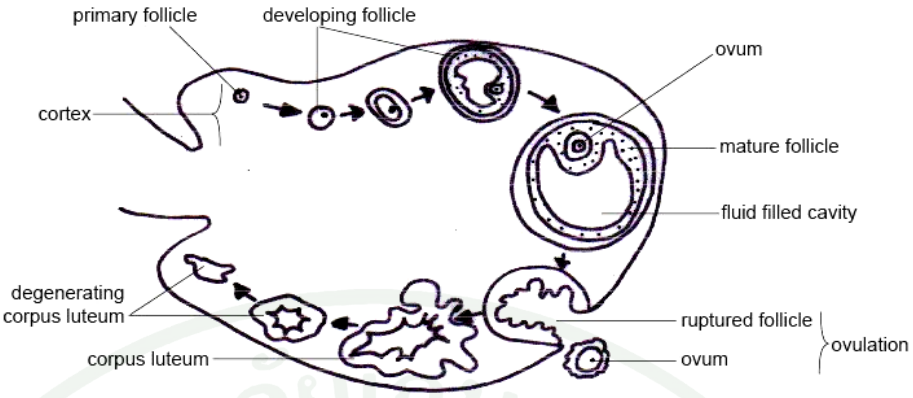
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โดยสรุปของการเลื่อนระดับ D คือ D ของลูกจะสูงกว่าพ่อหรือแม่ที่ระดับ D ต่ำกว่า 1 ระดับ เช่น พ่อ D_4 ผสมกับแม่ D_1 ลูกจะเป็น D_2 เป็นต้น (ปรารถนา, 2548)

การเจริญเติบโต และพัฒนาของฟอลลิเคิลบนรังไข่ในโค

การเจริญเติบโต และพัฒนาของฟอลลิเคิล (folliculogenesis) เป็นกระบวนการเจริญเติบโตและพัฒนาจากฟอลลิเคิล ซึ่งภายในฟอลลิเคิลมีโอโอไซต์หรือไข่อ่อนอยู่เพียง 1 ใบเท่านั้น โดยการเจริญเติบโตและพัฒนาของฟอลลิเคิลในระดับเนื้อเยื่อหรือเซลล์มีการพัฒนาดังนี้ คือไพรมอเดียลฟอลลิเคิล (primordial follicle) จะขยายขนาดเป็นไพรแมรีฟอลลิเคิล (primary follicle) ซึ่งไพรแมรีฟอลลิเคิลจะหุ้มรอบไข่อ่อนโดยเซลล์แบนๆเพียง 1 ชั้น ต่อมาไข่อ่อนที่อยู่ภายในไพรแมรีฟอลลิเคิลจะมีการเจริญโดยมีการขยายขนาดมากขึ้น และเซลล์ที่หุ้มรอบไข่อ่อนจะเปลี่ยนไปจากเซลล์แบนๆ เป็นเซลล์แกรนูโลซา (granulosal cell) จากนั้นเซลล์แกรนูโลซาจะมีการเจริญโดยมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวน ทำให้เซลล์ที่หุ้มรอบไข่อ่อนมีจำนวนมากขึ้นและมีมากชั้นยิ่งขึ้นกลายเป็นเซกันดารีฟอลลิเคิล (secondary follicle) จากนั้นเซลล์ที่หุ้มรอบไข่อ่อนนี้จะมีการหลั่งสารประกอบจำพวกโปรตีนมาล้อมรอบไข่อ่อนกลายเป็นชั้นโซนาเพลลูซิด้า (zona pellucida) ซึ่งมีประโยชน์ในการป้องกันไข่อ่อนและในการเข้าผสมของอสุจิ ขณะเดียวกันเซลล์ที่หุ้มรอบไข่อ่อนนี้จะมีการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้นจนเกิดเป็นช่องว่างระหว่างเซลล์ (antrum) ภายในช่องว่างจะมีของเหลวที่ผลิตจากเซลล์แกรนูโลซาบรรจุอยู่ ซึ่งเป็นฟอลลิเคิลระยะโกอิ้งฟอลลิเคิล หรือ ดีเวลลอปปิ้งฟอลลิเคิล (growing follicle หรือ developing follicle) เมื่อเซลล์ที่ล้อมรอบไข่อ่อนมีการเจริญมากขึ้น และช่องว่างมีขนาดใหญ่ขึ้นจะดันไข่อ่อนให้ไปอยู่บริเวณขอบ ทำให้เห็นเหมือนเป็นติ่งยื่น (germ hill) ออกมาท่ามกลางถุงที่ประกอบไปด้วยของเหลว ซึ่งเป็นฟอลลิเคิลระยะเมททัวฟอลลิเคิล หรือ กราเฟียนฟอลลิเคิล (mature follicle หรือ graafian follicle) เป็นฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่ (dominant follicle) และเป็นระยะที่พร้อมจะมีการตกไข่ บริเวณที่เป็นเจิมฮิลล์จะประกอบด้วยไข่ซึ่งล้อมรอบด้วยชั้นโซน่าเพลลูซิด้า และล้อมรอบด้วยเซลล์ชั้นโคโรน่าเรดิเอต้า (corona radiate) อีกชั้นหนึ่ง (Spicer and Echternkamp, 1986) (ดังภาพที่ 3) โดยตั้งแต่ลูกโคเกิดขึ้นมาจะมีไพรมอเดียลฟอลลิเคิลประมาณ 150,000 ใบ และจะค่อยๆ ฝ่อสลายไป เมื่อลูกโคมีอายุมากขึ้นจนเหลือเพียงไม่กี่ร้อยใบที่สามารถเจริญจนเกิดการตกไข่ (มงคล, 2534)

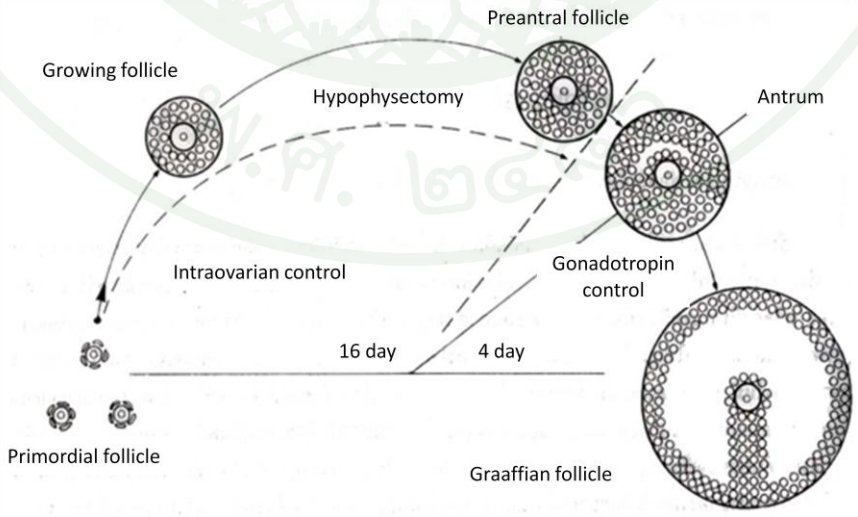
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 3 การเจริญเติบโตและพัฒนาของฟอลลิเคิลจนเกิดการตกไข่
ที่มา: Ruth (2008)

กลไกในการควบคุมการเจริญของฟอลลิเคิล

การเจริญของฟอลลิเคิลนั้นถูกควบคุมโดยกลไก 2 ขั้นคือ ขั้นที่ 1 ตั้งแต่ไพรมอเดียลฟอลลิเคิลเจริญถึงฟอลลิเคิลขนาดเล็กในระยะก่อนการสร้างช่องว่างแอนทรัม ช่วงนี้กลไกในการควบคุมไม่ได้อยู่ใต้อิทธิพลของฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน แต่เกิดจากการควบคุมภายในรังไข่เอง (intraovarian regulation) โดยฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่แล้วจะไปยับยั้งการเจริญของไพรมอเดียลฟอลลิเคิลที่สะสมอยู่บนรังไข่ และขั้นที่ 2 ตั้งแต่การสร้างแอนทรัมของแอนทรัมฟอลลิเคิล (antral follicle) ถึงฟอลลิเคิลขนาดตกไข่ ระยะนี้จะถูกควบคุมโดยฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน (gonadotropic regulation) (มงคล, 2534) (ดังภาพที่ 4)



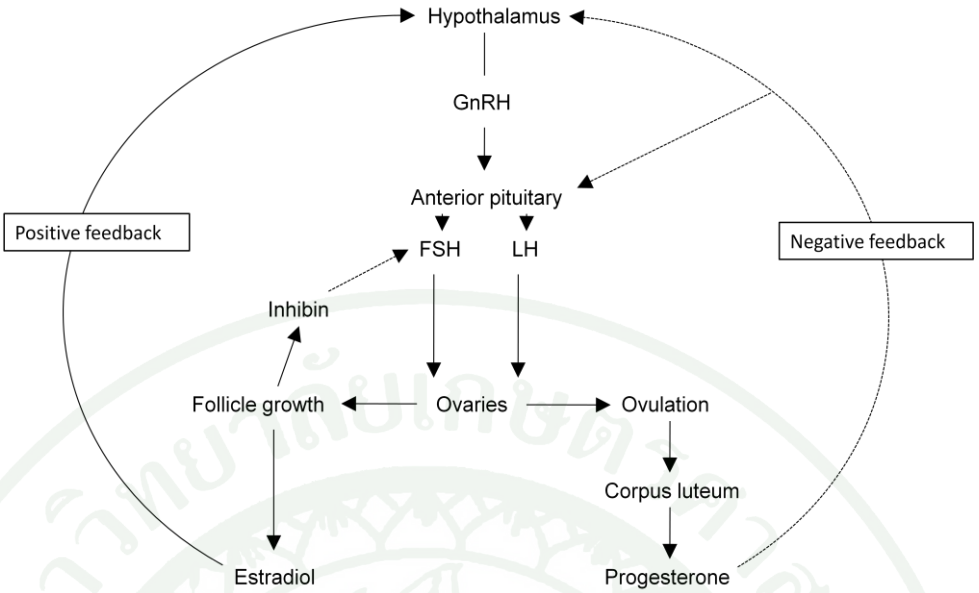
ภาพที่ 4 กลไกในการควบคุมการเจริญของฟอลลิเคิล
ที่มา: Thibault and Levasseur (1979) อ้างโดย มงคล (2534)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กลไกของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของฟอลลิเคิล

เริ่มจากสมองส่วนไฮโปธารามัส (hypothalamus) สร้าง และหลั่งโกนาโดโทรปินรีลีสซิ่งฮอร์โมน (gonadotropin releasing hormone: GnRH) ซึ่งเป็นฮอร์โมนโปรตีน (decapeptide) โดยโกนาโดโทรปินรีลีสซิ่งฮอร์โมนจะไปกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้า (anterior pituitary) ในส่วนของเซลล์กลุ่มโกนาโดโทรบ (gonadotropes) สร้างฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (follicle stimulating hormone: FSH) และลูทีไนซิ้งฮอร์โมน (luteinizing hormone: LH) ซึ่งฮอร์โมนทั้งสองเป็นไกลโคโปรตีน (glycoproteins) โดยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลบนรังไข่ แล้วเกิดสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) และสารแอคติวิน (activin) ซึ่งฮอร์โมนเอสโตรเจนที่เริ่มเกิดขึ้นในปริมาณน้อยๆ รวมกับสารแอคติวินจะช่วยกระตุ้นให้ฟอลลิเคิลเองมีจำนวนเซลล์มากขึ้น ฟอลลิเคิลจึงเจริญเติบโตเร็วขึ้น เมื่อฟอลลิเคิลเจริญเติบโตได้ระดับหนึ่งจะเกิดสารอินฮิบิน (inhibin) ซึ่งสร้างจากฟอลลิเคิลเอง มายับยั้งฟอลลิเคิลใบเล็กๆ ไม่ให้เจริญเติบโตและฝ่อสลายไป ส่วนฟอลลิเคิลที่เจริญเติบโตมากแล้วจะไม่ถูกยับยั้งและพัฒนาต่อไปจนกลายเป็นโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล หากฟอลลิเคิลมีขนาดใหญ่ก็จะมีการสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนในปริมาณที่มาก ซึ่งจะไปยับยั้ง (negative feedback) ต่อมใต้สมองส่วนหน้า ทำให้การสร้างและหลั่งฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนลดลง เมื่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนลดลง ฟอลลิเคิลจึงหยุดการพัฒนา หากมีการหลั่งลูทีไนซิ้งฮอร์โมนในความถี่สูงๆ จากต่อมใต้สมองส่วนหน้า ฟอลลิเคิลจะแตกเกิดการตกไข่ (ovulation) เพราะลูทีไนซิ้งฮอร์โมนเป็นฮอร์โมนที่มีหน้าที่ทำให้ฟอลลิเคิลแตกให้เกิดการตกไข่ แล้วเกิดการสร้างก้อนเนื้อเหลืองหรือคอร์ปัสลูเทียมบนรังไข่ (corpus luteum: CL) ซึ่งทำหน้าที่สร้างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone) ซึ่งจะไประงับหรือขัดขวางการหลั่งลูทีไนซิ้งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (ดังภาพที่ 5)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 5 กลไกของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของฟอลลิเคิล
ที่มา: ดัดแปลงจาก Bearden and Funquay (1992)

ถ้าไข่ที่ตกจากรังไข่มีสภาพสมบูรณ์ได้ผสมกับตัวอสุจิ (sperm) ที่แข็งแรงเกิดการปฏิสนธิ ตัวอ่อนก็จะเคลื่อนตัวจากท่อนำไข่มาฝังตัวที่ปีกมดลูกเกิดการตั้งท้อง เมื่อตัวอ่อนมีการฝังตัวที่ปีกมดลูก โดยผนังของตัวมดลูกและปีกมดลูกจะเป็นกล้ามเนื้อเรียบ (smooth muscle) และด้านในของตัวมดลูกและปีกมดลูกมีลักษณะเป็นโพรงบุด้วยชั้นของเนื้อเยื่อที่เรียกว่า เยื่อบุด้านในมดลูก (endometrium) ซึ่งพอครบวงรอบการเป็นสัด เยื่อบุด้านในของมดลูกจะไม่มีการลอกสลาย จึงทำให้ไม่เกิดการสร้างฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่า ($PGF_{2\alpha}$) ขึ้นมา ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่มีหน้าที่สลายคอร์ปัสลูเทียม เมื่อไม่เกิดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่า คอร์ปัสลูเทียมก็จะคงอยู่ต่อไป และสร้างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนตลอดการตั้งท้อง แต่ถ้าไข่ที่ตกลงไปที่ท่อนำไข่ไม่ได้รับการผสม หรือผสมไม่ติด พอครบวงรอบการเป็นสัด เยื่อบุด้านในของมดลูกจะลอกสลาย เกิดการสร้างฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่าขึ้นมา แล้วไปสลายคอร์ปัสลูเทียมให้เสื่อมลง ทำให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดลงตามด้วย ซึ่งมีผลทำให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้าไม่ถูกขัดขวางการหลั่งลูทีไนซิ้งฮอร์โมนออกมา เมื่อลูทีไนซิ้งฮอร์โมนหลั่งหากมีฟอลเคิลที่มีการเจริญที่เต็มที่ในรอบต่อๆ มา จะทำให้เกิดการตกไข่ (ศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผสมเทียม, 2546)

ในการเจริญของฟอลลิเคิลนั้น นอกจากจะมีฮอร์โมนเข้ามามีอิทธิพลทำให้เกิดการเจริญแล้ว ยังมีโกรทแฟคเตอร์ (growth factor) มีส่วนสำคัญต่อการเจริญของฟอลลิเคิลในแง่ของการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปรับเปลี่ยน (modulation) การเพิ่มจำนวน (proliferation) และการเปลี่ยนสภาพ (differentiation) ของเซลล์แกรนูโลซาและเซลล์ทีก้าในฟอลลิเคิล ซึ่งแบ่งเป็น 2 ช่วงคือ 1) อินสุลินไลค์โกรทแฟคเตอร์ (insulin-like growth factor: IGF) ควบคุมการพัฒนาของฟอลลิเคิลขนาดเล็กให้เจริญเป็นแอนทรัมฟอลลิเคิล โดยร่วมกับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการเกิดคลื่นฟอลลิเคิล และ 2) อินสุลินไลค์โกรทแฟคเตอร์มีบทบาทต่อการเจริญในขั้นสุดท้าย ด้วยการช่วยในการคัดเลือกฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่ที่สุด โดยเพิ่มความไวต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนของเซลล์แกรนูโลซาของฟอลลิเคิล โดยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนและลูทีไนซิ้งฮอร์โมนจะกระตุ้นให้ฟอลลิเคิลมีการเจริญ พร้อมทั้งกับเพิ่มการสังเคราะอินสุลินไลค์โกรทแฟคเตอร์ เมื่ออินสุลินไลค์โกรทแฟคเตอร์มีปริมาณสูงขึ้น อินสุลินไลค์โกรทแฟคเตอร์จะไปลดระดับฮอร์โมนทั้งฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนและลูทีไนซิ้งฮอร์โมนทำให้การเจริญของฟอลลิเคิลสิ้นสุดลง (มงคล, 2534)

วงรอบการเป็นสัดของโค

การเป็นสัด (estrus) คือ ช่วงเวลาที่สัตว์เพศเมียยอมรับการผสมพันธุ์จากตัวผู้แล้วมีการตกไข่ โดยพฤติกรรมการเป็นสัดอยู่ภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมนชนิดต่างๆ โดยปกติโคจะมีวงรอบการเป็นสัดเฉลี่ย 20 ถึง 21 วัน (18 ถึง 24 วัน) โดยการแสดงอาการการเป็นสัดในโคแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ 1) อาการเป็นสัดแท้จริง (primary estrus sign) คือการยืนนิ่งหากมีโคเพศผู้หรือเพศเมียตัวอื่นขึ้นปีน เป็นการแสดงการยอมรับการผสม (sexual receptivity) และ 2) อาการเป็นสัดร่วม (secondary estrus signs) ได้แก่ อาการตื่นเต้น (excitement) การส่งเสียงร้อง (vocalization) การบวม (vulva edema) และมีสีแดงของอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอก (vulva reddening) และมีสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดที่เป็นลักษณะเมือกเหนียวใสไหลยาวไม่ขาดง่าย (transparent mucus genital discharge) (มงคล, 2543)

คลื่นฟอลลิเคิลของวงรอบการเป็นสัด

ระหว่างวงรอบการเป็นสัดปกติ ฟอลลิเคิลบนรังไข่ของโคเพศเมียจะเปลี่ยนแปลงในรูปแบบชุดของฟอลลิเคิล มีลักษณะเป็นแบบคลื่น ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วย 2 คลื่นฟอลลิเคิล และ 3 คลื่นฟอลลิเคิล (Kornmatitsuk *et al.*, 2007) ลำดับคลื่นฟอลลิเคิลแรกจะเริ่มประมาณวันที่ 1 ถึง 5 ลำดับคลื่นฟอลลิเคิลที่ 2 ประมาณวันที่ 9 ถึง 12 และลำดับคลื่นฟอลลิเคิลที่ 3 ประมาณวันที่ 17 ถึง 19 ของวงรอบการเป็นสัด โดยการเจริญและการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล (follicular dynamic) ในวงรอบการเป็นสัดสามารถแบ่ง ได้เป็น 3 ระยะ (ดังภาพที่ 6) คือ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

1. ช่วงระยะจากเจริญของไพรมอเดียลฟอลลิเคิลเป็นฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่ขึ้น เป็นระยะที่ฟอลลิเคิลเกิดการปรากฏพร้อมกันระหว่างลำดับคลื่น (recruitment phase)

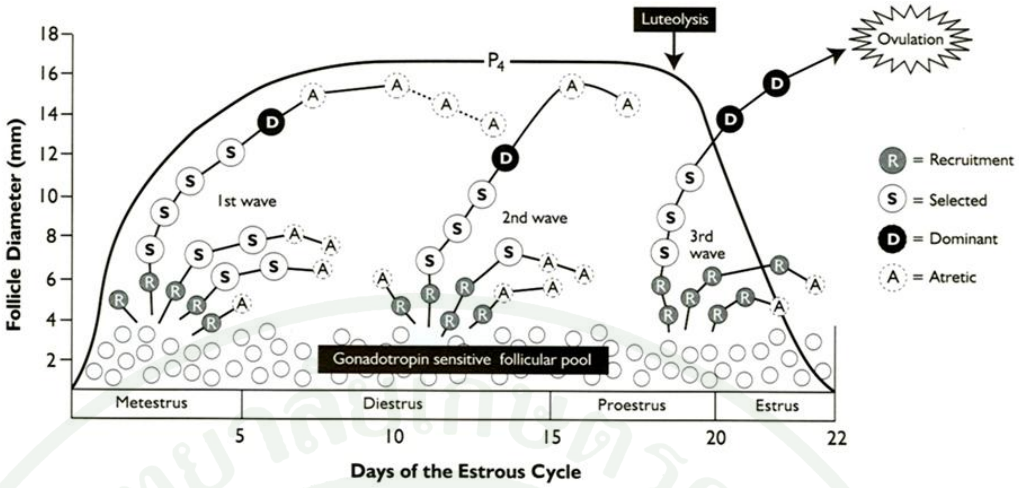
2. ช่วงระยะที่เกิดการคัดเลือกฟอลลิเคิลให้เหลือฟอลลิเคิลเพียงใบเดียว (selection phase) โดยในสัตว์ที่มีการตกไข่เพียงใบเดียวหรือตกไข่หลายใบอาจมีมากกว่าหนึ่งใบที่มีขนาดใหญ่

3. ช่วงระยะที่มีฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ (dominance phase) และเรียกฟอลลิเคิลขนาดใหญ่นี้ว่า โดมิแนนท์ฟอลลิเคิล ระยะนี้มีฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ ซึ่งสมบูรณ์พร้อมที่จะมีการตกไข่ หากอยู่ใกล้ระยะที่คอร์ปัสลูเทียมสลาย ฟอลลิเคิลนี้จะมีการตกไข่ แต่หากไม่อยู่ใกล้ระยะที่คอร์ปัสลูเทียมสลาย ฟอลลิเคิลจะฝ่อสลายไป และวงรอบการเป็นสัดแบ่งเป็น 2 ระยะตามการพบฟอลลิเคิลและคอร์ปัสลูเทียม (ดังภาพที่ 6) คือ

1) ระยะที่ฟอลลิเคิลเจริญทำงานมากเรียกว่า ระยะฟอลลิคิวลาเฟส (follicular phase) ประกอบด้วย ระยะก่อนการเป็นสัด (proesturs) คือวันที่ 17 ถึง 20 หลังการเป็นสัด เป็นระยะที่โคเข้าสู่การเป็นสัดรอบใหม่ ระบบสืบพันธุ์มีการเปลี่ยนแปลงฟอลลิเคิลเจริญอย่างรวดเร็วและคอร์ปัสลูเทียมจากการเป็นสัดในรอบที่แล้วฝ่ออย่างรวดเร็ว และระยะเป็นสัด (esturs) คือ วันที่ 0 ของการเป็นสัดเป็นระยะที่ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ มีการเจริญเติบโตเต็มที่และเกิดการตกไข่ตามมา โคจะแสดงการเป็นสัดโดยเฉลี่ยประมาณ 4 ถึง 24 ชั่วโมง ในระยะนี้ระดับลูทีไนซิ้งฮอร์โมนจะเพิ่มขึ้นสูงมากก่อนที่จะตกไข่ตามมาหลังจากที่แสดงอาการเป็นสัดประมาณ 30 ชั่วโมง

2) ระยะที่มีคอร์ปัสลูเทียมทำงานเรียกว่า ระยะลูเทียลเฟส (luteal phase) ประกอบด้วย ระยะหลังการเป็นสัด (metoesturs) คือวันที่ 2 ถึง 4 ของการเป็นสัด ในระยะนี้โคจะหยุดแสดงอาการเป็นสัดและรังไข่มีการสร้างคอร์ปัสลูเทียม และเริ่มมีการแสดงฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และระยะไม่เป็นสัดในวงรอบ (dioesturs) คือ วันที่ 5 ถึง 17 หลังจากการเป็นสัดเป็นระยะที่มีคอร์ปัสลูเทียมเจริญเติบโตเต็มที่มดลูกพร้อมรับการตั้งท้องมีระดับโปรเจสเตอโรนสูง คอมดลูกปิดมีเมือกเหนียวปิดอยู่ เยื่อเมือกช่องคลอดค่อนข้างซีด ในช่วงท้ายของระยะนี้ถ้าโคไม่มีการตั้งท้องเกิดขึ้นก็จะมีการสร้างฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่าจากมดลูกมาสลายคอร์ปัสลูเทียม หลังจากนั้นก็จะมีการเริ่มขบวนการเป็นสัด (estrous cycle) ในรอบใหม่ (มงคล, 2543)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 6 การเจริญของฟอลลิเคิลในระหว่างวงรอบการเป็นสัดที่ระยะต่างๆ ของโค
ที่มา: Lucy *et al.* (1992)

การเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนชนิดต่างๆในวงรอบการเป็นสัดที่มีผลต่อการเจริญของฟอลลิเคิล

ในวงรอบการเป็นสัดปกตินั้นการเจริญของฟอลลิเคิลเป็นกระบวนการต่อเนื่องที่เกิดจากระดับที่ผันแปรของระดับฮอร์โมนโกนาโดโทรปินทั้งที่เป็นฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน ลูทีไนซิ้งฮอร์โมนและฮอร์โมนสเตอรอยด์ชนิดอื่นๆ

ระดับฮอร์โมนเอสโตรเจน

ระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนในโคขึ้นอยู่กับการปรากฏของฟอลลิเคิลชนิดขนาดใหญ่ที่เกิดขึ้นและสลายไป ในช่วงปลายของช่วงระยะลูเทียลจะพบฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ที่พร้อมจะตกไข่ซึ่งจะผลิตฮอร์โมนเอสโตรเจน ทำให้ระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนสูงขึ้นก่อนการตกไข่ หลังจากที่ฟอลลิเคิลแตกแล้วระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนจะลดลง ต่อมาช่วงระยะฟอลลิคูล่า (วันที่เป็นสัด) จะมีฟอลลิเคิลกลุ่มใหม่เจริญขึ้น โดยระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนก็จะสูงขึ้นตามมา หลังจากนั้นในวันที่ 3 ถึง 4 ของวงรอบการเป็นสัดระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนก็จะสูงขึ้นเรื่อยๆ สอดคล้องกับฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่ แต่ฟอลลิเคิลที่เจริญในช่วงที่ไม่ตรงกับเวลาการตกไข่ดังกล่าวจะคงอยู่ในระยะเวลาหนึ่งแล้วสลายไป และระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนก็จะลดลง ดังนั้นระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนจึงขึ้นอยู่กับปริมาณและขนาดของฟอลลิเคิลที่เจริญในระหว่างวงรอบการเป็นสัด (มงคล, 2534) (ดังภาพที่ 7)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

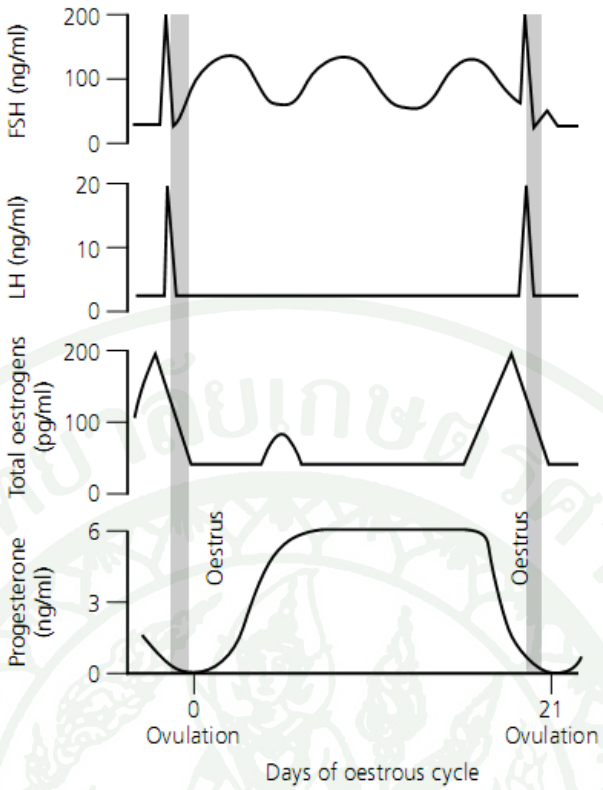
ระดับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน

ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนควบคุมการเจริญของฟอลลิเคิลขนาดเล็กเป็นขนาดกลางและขนาดใหญ่ โดยมีระดับเพิ่มขึ้น (FSH surge) หรือลดลงตามคลื่นฟอลลิเคิลคือ การเจริญของฟอลลิเคิลในคลื่นฟอลลิเคิลในช่วงแรกนั้นจะเริ่มขึ้นจากการตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่มีระดับสูงขึ้นในรอบที่ 2 (2^{nd} FSH surge) ที่เกิดขึ้นในวันที่ 1-3 ของวงรอบการเป็นสัด โดยระดับของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนนั้นจะมีลักษณะลดลงและเพิ่มขึ้นตลอดช่วงระยะลูเทียลที่เกิดจากการควบคุมแบบยับยั้ง (negative feedback) ของฮอร์โมนเอสโตรเจนที่เพิ่มขึ้นและลดลงที่สร้างมาจากฟอลลิเคิลที่เจริญขึ้นและเสื่อมลง เช่นระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนเพิ่มขึ้นในช่วงต้นของระยะลูเทียลก็จะไปกดให้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนมีระดับลดลง หรือในทางกลับกันเมื่อฟอลลิเคิลเสื่อมลงทำให้ระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนลดลง (มงคล, 2534) (ดังภาพที่ 7)

ระดับลูทีไนซิ้งฮอร์โมน

รูปแบบการหลั่งของลูทีไนซิ้งฮอร์โมนจะมีลักษณะเป็นช่วงๆ (LH pulse) โดยบางช่วงอาจมีความถี่ (frequency) ในการหลั่งมาก หรือบางช่วงมีความถี่น้อย โดยช่วงฟอลลิคูล่าเป็นช่วงที่ใกล้ตกไข่ คอร์ปัสลูเทียมจะสลายทำให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนอยู่ในระดับต่ำ ทำให้ลูทีไนซิ้งฮอร์โมนมีการหลั่งออกมาในลักษณะของความถี่สูงมาก (high frequency) ช่วยให้ฟอลลิเคิลเจริญและพัฒนาจนเกิดการตกไข่ นอกจากนี้ระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนที่สร้างจากฟอลลิเคิลที่มีขนาดเพิ่มขึ้นยังมีผลต่อการกระตุ้นให้เกิดการหลั่งของลูทีไนซิ้งฮอร์โมนในระดับที่มีลักษณะสูงต่ำสลับไปมาก่อนการตกไข่ (preovulatory LH pulse) ทำให้เกิดการตกไข่ และในช่วงระยะลูเทียลนั้นจะมีฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ที่ปรากฏบนรังไข่ขึ้นมา แต่ไม่สามารถเจริญและพัฒนาต่อไปได้จนเกิดการตกไข่ ทำให้เกิดการเสื่อมสภาพลง ซึ่งเนื่องมาจากไม่มีการหลั่งลูทีไนซิ้งฮอร์โมน ในความถี่ที่สูงเพียงพอ (low frequency) ที่จะกระตุ้น อันเนื่องมาจากฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่หลั่งมาจากคอร์ปัสลูเทียมมีระดับสูงในช่วงระยะลูเทียลนี้ไปลดความถี่ของการหลั่งลูทีไนซิ้งฮอร์โมน และการหลั่งโกนาโดโทรปินรีลีสซิ่งฮอร์โมน (GnRH pulse) (มงคล, 2534) (ดังภาพที่ 7)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

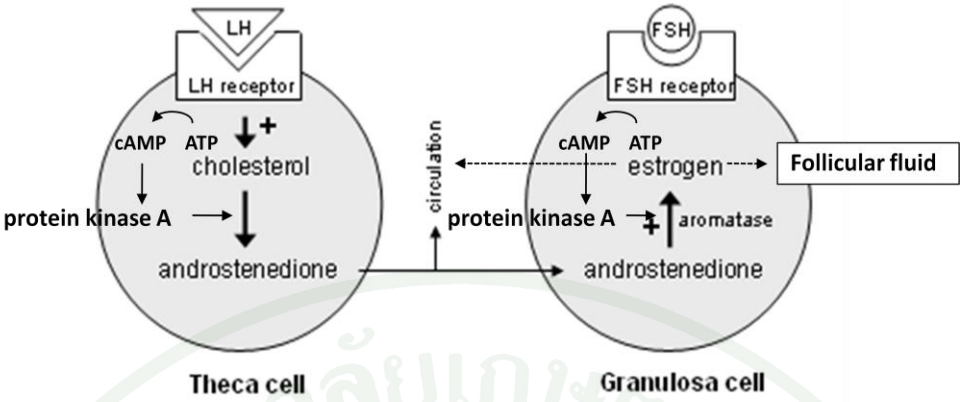


ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนในวงรอบการเป็นสัด
ที่มา: Noakes *et al*. (2001)

ตัวรับสัญญาณของฮอร์โมนโกนาโดโทรปินในการควบคุมการเจริญของฟอลลิเคิล

โดยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนจะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลบนรังไข่ โดยมีตัวรับสัญญาณ (receptor) เพื่อตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนอยู่ที่เซลล์แกรนูโลซาของแอนทรัลฟอลลิเคิล แล้วเกิดสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจน โดยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนจะไปกระตุ้นการเกิดกระบวนการอะโรมาไทเซชัน (aromatization) เปลี่ยนจากแอนโดรสตินิไดโอน (androstenedione) เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจน และลูทีไนซิ้งฮอร์โมนจะไปกระตุ้นการเปลี่ยนคอเลสเทอรอล (cholesterol) ให้เป็นแอนโดรสตินิไดโอน โดยมีตัวรับสัญญาณเพื่อตอบสนองต่อลูทีไนซิ้งฮอร์โมนอยู่ที่เซลล์ชั้นทีก้า (theca cell) ของกราเฟียนฟอลลิเคิล (ดังภาพที่ 8) ช่วยให้ลูทีไนซิ้งฮอร์โมนทำให้ฟอลลิเคิลแตกเกิดการตกไข่โดยง่าย อีกทั้งฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนและเอสโตรเจนจะช่วยสร้างตัวรับสัญญาณของลูทีไนซิ้งฮอร์โมนบนชั้นเซลล์แกรนูโลซา ช่วยให้ลูทีไนซิ้งฮอร์โมนกระตุ้นบริเวณที่เกิดการตกไข่สร้างเซลล์ลูเทียล (lutein cells) เพื่อเจริญไปเป็นคอร์ปัสลูเทียมต่อไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 8 ตัวรับสัญญาณของฮอร์โมนโกนาโดโทรปินในการควบคุมการเจริญของฟอลลิเคิล
ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Peter and Ball (2004)

โดยการทำงานของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนและลูทีไนซิ้งฮอร์โมนต่อการสังเคราะห์ฮอร์โมนสเตอรอยด์จะมีการส่งสัญญาณเพื่อไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์อะดีนิเลตไซเคลส (adenylate cyclase) ซึ่งมีผลทำให้เปลี่ยนสารที่ให้พลังสูงที่เรียกว่า อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate: ATP) ไปเป็นสารเคมีที่เรียกว่า ไซคลิกอะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต (cyclic adenosine monophosphate: cAMP) ซึ่งไซคลิกอะดีโนซีนโมโนฟอสเฟตจะไปกระตุ้นปฏิกิริยาเคมีต่างๆที่มีผลไปสู่การสร้างฮอร์โมนสเตอรอยด์ต่อไป (ดังภาพที่ 8)

การเจริญพร้อมปฏิสนธิของโอโอไซต์

กระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์เพศเมีย (oogenesis) เกิดขึ้นในช่วงสัปดาห์แรกๆ ของการพัฒนาของตัวฟีตัส (fetus) โดยการสร้างไข่ในสัตว์เริ่มต้นที่เซลล์ดิพลอยด์ (diploid primordial cell) หรือ เซลล์โอโอโกเนีย (oogonia) ภายในรังไข่ โดยเซลล์โอโอโกเนียจะมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส (mitosis) และมีการเจริญเติบโตและเปลี่ยนแปลงไปเป็นไพรแมรีโอโอไซต์ (primary oocyte) จากนั้นก็จะเจริญต่อไปจนถึงระยะโปรเฟส (prophase) ของการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสระยะที่หนึ่ง (1^{st} meiosis) ซึ่งจะเรียกเซลล์เหล่านี้ว่า โอโอไซต์ โดยมีฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าเป็นตัวกำหนดจำนวนของโอโอไซต์ และในช่วงปลายของการสร้างโอโอไซต์ก่อนคลอดเพียงเล็กน้อย โอโอไซต์จะผ่านจากระยะโปรเฟสของการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสระยะที่หนึ่งเข้าสู่ระยะเลปโททีน ไซโกทีน ปาคีทีน และดีปโลทีน หรือระยะที่เรียกว่าระยะดิกตีเอท (dictyate stage) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมก่อนคลอดโอโอไซต์จะหยุดการแบ่งเซลล์ที่ระยะนี้ของโปรเฟสของการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส เรียกว่า การหยุดแบ่งตัวแบบไมโอซิสระยะที่

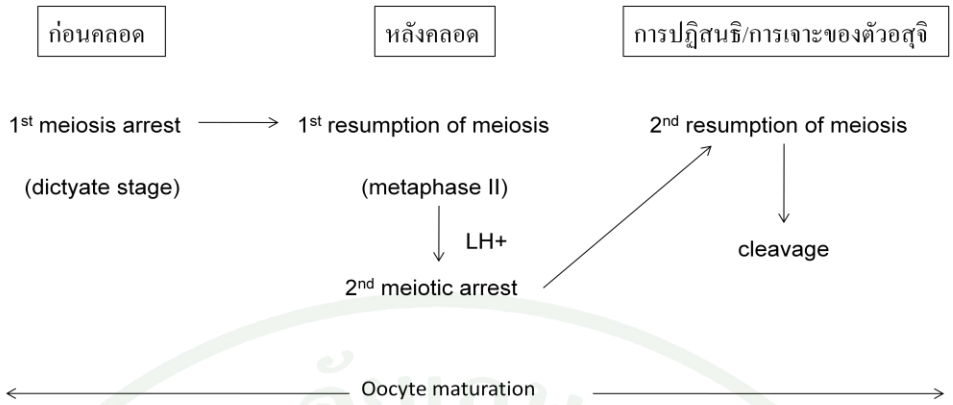
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

หนึ่ง (1st meiosis arrest) นิวเคลียสของโอโอไซต์มีขนาดใหญ่ที่เรียกว่า เจอร์มินัลเวสิเคิล (germinal vesical: GV) (มงคล, 2543) (ดังภาพที่ 9)

ช่วงหลังคลอดจนถึงการเจริญเติบโตจนเข้าสู่วัยสาว โอโอไซต์ก็จะเตรียมตัวเพื่อให้พร้อมที่จะปฏิสนธิด้วยการลดจำนวนโครโมโซมลง โดยเกิดขึ้นประมาณ 2 ถึง 3 ชั่วโมงก่อนการตกไข่เท่านั้น โดยโครโมโซมของโอโอไซต์จะแบ่งตัวต่อจากระยะหยุดพักตัวที่ระยะดิกตีเอท (1st resumption of meiosis) ซึ่งจะมีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซีสครั้งที่หนึ่งจนสมบูรณ์ ทำให้ได้เซลล์ 2 ชนิด ที่มีขนาดไม่เท่ากัน 2 เซลล์ เนื่องจากการแบ่งไซโทพลาสซึมไม่เท่ากันแต่ละเซลล์มีจำนวนโครโมโซมเป็นแฮพลอยด์ (n) เซลล์ที่มีขนาดใหญ่เรียกว่า เซกันดารีโอโอไซต์ (secondary oocyte) ส่วนเซลล์ที่มีขนาดเล็กเรียกว่า ไพรแมรีโพลาร์บอดี (primary polar body) ซึ่งทั้ง 2 เซลล์ยังคงอยู่ในเปลือกของโอโอไซต์ (มงคล, 2543)

ซึ่งก่อนที่จะมีการตกไข่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมนั้น โอโอไซต์จะเกิดการหลุดจากการติดต่อกับเซลล์แกรนูโลซาภายในฟอลลิเคิลหรือแตกจากฟอลลิเคิลเมื่อมีการตกไข่ แล้วจะเกิดการแบ่งตัวแบบไมโอซิสต่อไปเอง (spontaneous) โดยผนังของนิวเคลียสของโอโอไซต์จะหายไป (germinal vesical breakdown) ซึ่งเป็นลักษณะอย่างหนึ่งที่บ่งชี้ถึงสภาพของการเจริญพร้อมปฏิสนธิของโอโอไซต์ โดยการเปลี่ยนแปลงนี้พบก่อนหน้าการตกไข่เล็กน้อยด้วยอิทธิพลของลูทีไนซิ้งฮอร์โมนที่มีระดับสูงขึ้นเพื่อการตกไข่ การแบ่งตัวก็จะเริ่มขึ้นอีก จนกระทั่งมาหยุดตัวอีกครั้งหนึ่งที่ระยะเมทาเฟสทู (metaphase II) ซึ่งจะเกิดการหยุดตัวครั้งที่สอง (2nd meiotic arrest) โดยในช่วงนี้โอโอไซต์จะมีการสังเคราะห์ไรโบนิวคลีอิกแอซิด (RNA) และโปรตีนเป็นจำนวนมากเพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการแบ่งเซลล์ของตัวอ่อนหลังเกิดการปฏิสนธิ จนกระทั่งเกิดการปฏิสนธิก็จะมีการแบ่งตัวครั้งที่สอง (2nd resumption of meiosis) กระบวนการของการแบ่งตัวของโครโมโซมทั้งหมดนี้เรียกว่า การเจริญพร้อมปฏิสนธิของโอโอไซต์ (oocyte maturation) (ดังภาพที่ 9)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 9 สรุปการเจริญพร้อมปฏิสนธิในระดับนิวเคลียส
ที่มา: ดัดแปลงมาจากมงคล (2534)

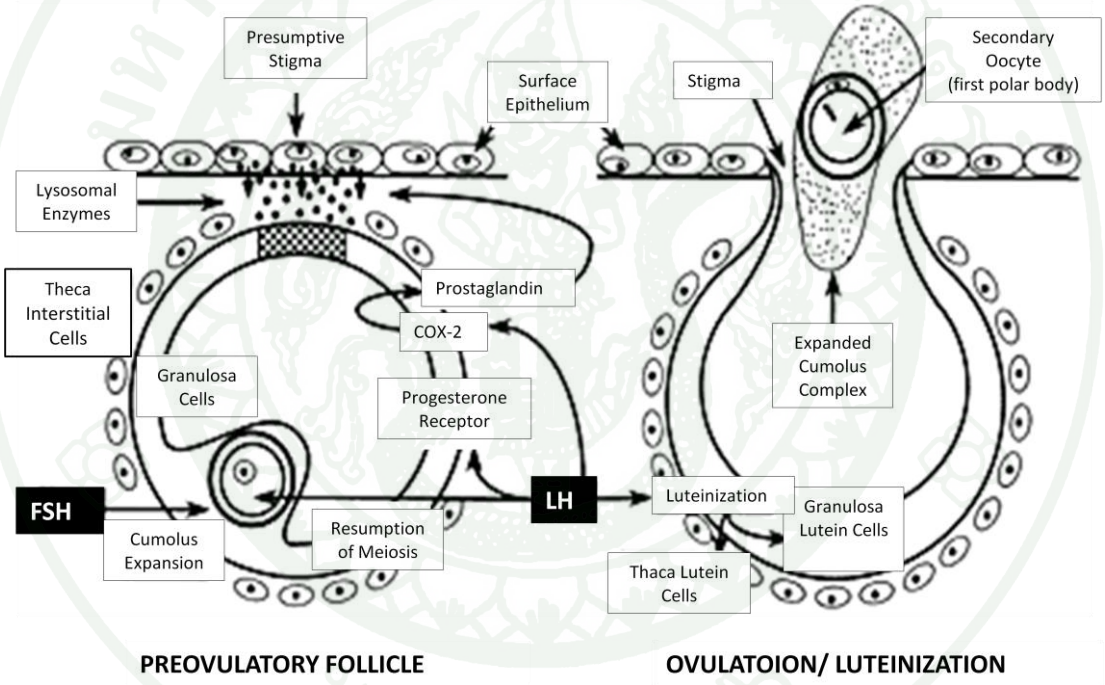
เมื่อมีการตกไข่ เซกันดารีโอโอไซต์ และไพรแมรีโพลาร์บอดี ซึ่งมีเปลือกของโอโอไซต์และโคโรนาเรดิเอต้าห่อหุ้มก็จะเคลื่อนผ่านไปตามท่อนำไข่ และเมื่อได้รับการผสมกับอสุจิ การแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสครั้งที่สอง ก็เกิดขึ้นทันทีกลายเป็นไข่ที่สมบูรณ์ (mature ovum) และเซกันดารีโพลาร์บอดี้ (secondary polar body) แล้วเกิดการแบ่งตัวกลายไปเป็นตัวอ่อน แต่กรณีที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิเซกันดารีโอโอไซต์ก็จะไม่มีการแบ่งเซลล์และสลายตัวภายในท่อนำไข่ แล้วต่อมาไพรแมรีโอโอไซต์กลุ่มใหม่ในรังไข่ก็จะมีการสร้างเซลล์ไข่ใบใหม่ต่อไป (มงคล, 2543)

การตกไข่

การตกไข่คือ การที่ผนังของฟอลลิเคิลบนรังไข่แตกออก จากนั้นเซลล์ไข่จะถูกขับตกลงไปยังส่วนที่มีลักษณะปากแตร (fimbria) ของท่อนำไข่ (oviduct) โดยก่อนที่จะเกิดการตกไข่จะมีระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนสูงขึ้น (estrogen surge) ไปกระตุ้นให้ระดับลูทีไนซิ้งฮอร์โมนสูงขึ้นด้วย (LH surge) ซึ่งจะมีเลือดมาเลี้ยงที่รังไข่เพิ่มมากขึ้น และเกิดการบวมน้ำภายในฟอลลิเคิลเป็นสาเหตุให้เกิดแรงดันภายในฟอลลิเคิลมากขึ้นหลังจากระดับลูทีไนซิ้งฮอร์โมนสูง โดยเกิดจากผลของฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่า และฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินอีทู (PGE_2) ที่ถูกสร้างและหลั่งมาจากรังไข่ ซึ่งฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่าทำให้มีการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบของรังไข่และฟอลลิเคิล และส่งผลให้ความดันภายในฟอลลิเคิลเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนั้นฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่ามีผลทำให้ไลโซโซมแตกและปล่อยเอนไซม์ออกมา ซึ่งจะไปทำลายชั้นเยื่อบุผิวของผนังฟอลลิเคิล ส่วนฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินอีทูจะกระตุ้นการสร้างพลาสมิน (plasmin) จากพลาสมิโนเจน (plasminogen) ซึ่งพลาสมินนี้จะเป็นตัวเร่ง (activator) ของเอนไซม์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ช่วยย่อยต่างๆ และมีผลในการเพิ่มกระแสเลือดไปเลี้ยงที่รังไข่ และฟอลลิเคิลชนิดขนาดใหญ่มากขึ้น ส่งผลให้ฟอลลิเคิลบวมน้ำ นอกจากนั้นแล้วการที่ระดับลูทีไนซิ้งฮอร์โมนพุ่งสูงยังส่งผลให้ทีก้าเซลล์ชั้นในเริ่มสร้างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ซึ่งมีบทบาททำให้ทีก้าเซลล์ชั้นในสร้างและหลั่งเอนไซม์คอลลาจีเนส (collagenase) ที่ช่วยย่อยคอลลาเจนไฟเบอร์ (collagen fiber) ของฟอลลิเคิลทำให้ผนังหุ้มฟอลลิเคิลแตกได้ โดยบริเวณผิวของฟอลลิเคิลจะเริ่มแตกออกบริเวณจุดจำเพาะที่บางกว่า และมีเลือดมาเลี้ยงน้อยกว่าบริเวณอื่น (stigma) ในที่สุดฟอลลิเคิลก็จะแตกออกแล้วปล่อยเซลล์ไข่ออกมา และหลังจากเซลล์ไข่หลุดออกมาจากฟอลลิเคิลแล้วเซลล์แกรนูโลซาของฟอลลิเคิลจะเกิดการเปลี่ยนเป็นเซลล์ลูเทียลเพื่อพัฒนากลายมาเป็นคอร์ปัสลูเทียม (luteinization) มีหน้าที่สร้างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในช่วงลูเทียลหรือช่วงตั้งท้องต่อไป (มงคล, 2534) (ดังภาพที่ 10)



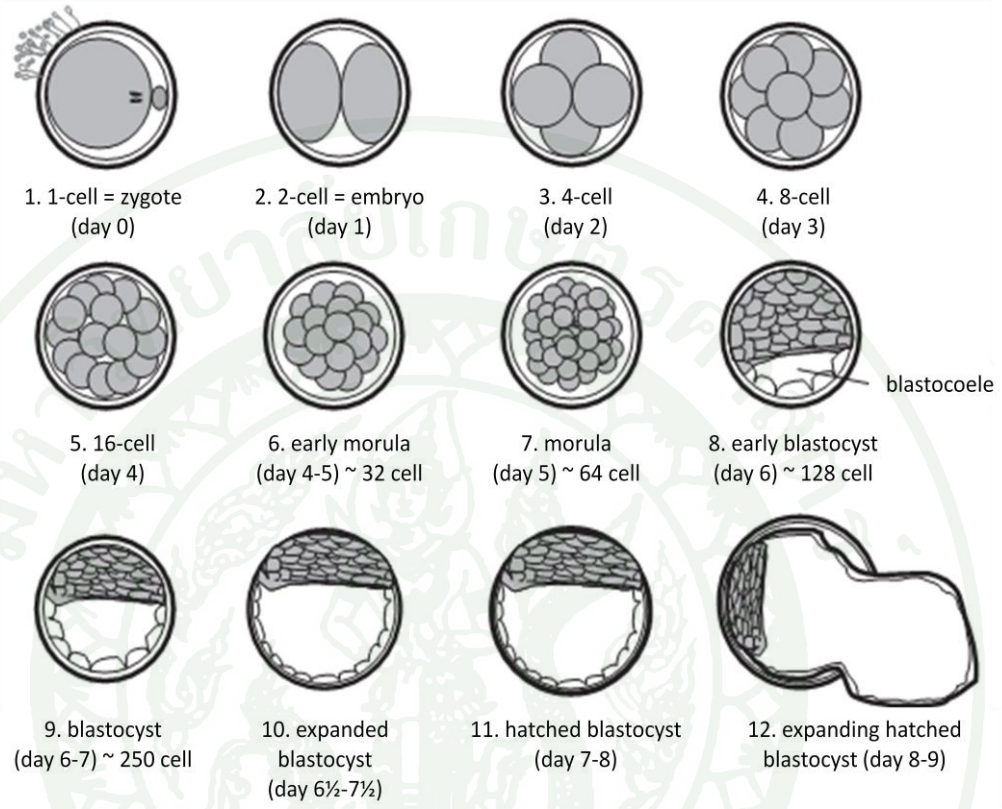
ภาพที่ 10 กระบวนการตกไข่ของฟอลลิเคิล
ที่มา: ดัดแปลงจาก Felig *et al.* (1995)

การแบ่งตัวและการพัฒนาของตัวอ่อน

เมื่อไข่เกิดการตก และมีการปฏิสนธิเกิดขึ้น ซึ่งอยู่บริเวณที่เป็นส่วนแอมพูลล่าของท่อนำไข่ จากนั้นไข่ที่ได้รับการปฏิสนธิแล้ว หรือตัวอ่อนก็จะเคลื่อนมาอยู่ในส่วนอิสท์มัสของท่อนำไข่ และผ่านส่วนต่อระหว่างท่อนำไข่และปีกมดลูก (utero-tubal junction) แล้วจึงเข้าสู่ส่วนต้นของปีก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มดลูกตามลำดับ ซึ่งขณะที่ตัวอ่อนเคลื่อนที่ลงมาก็จะมีการแบ่งตัวและพัฒนาการตามระยะต่าง ๆ คือ

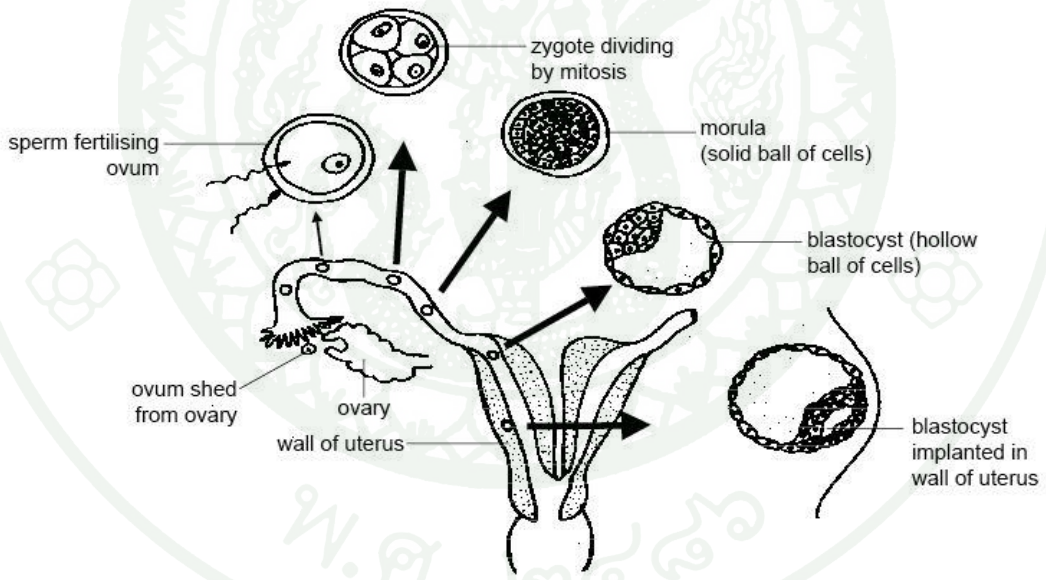


ภาพที่ 11 การเจริญและพัฒนาของตัวอ่อนในระยะต่างๆในโค
ที่มา: ดัดแปลงจาก Hafez (1987)

ตัวอสุจิเมื่อเกิดการปฏิสนธิกับไข่ (fertilization) แล้วจะเกิดเป็นตัวอ่อนเริ่มแรก ซึ่งเป็นตัวอ่อนที่มี 1 เซลล์ที่เรียกว่า ไซโกต (zygote) ไซโกตจะมีการพัฒนาเป็นตัวอ่อน จากนั้นเซลล์ตัวอ่อนหรือ บลาสโตเมียร์ (blastomeres) จะแบ่งตัวเพิ่มจาก 1 เซลล์ เป็น 2 เซลล์ ซึ่งเรียกว่า ตัวอ่อน หรือ เอมบริโอ (embryo) จากนั้นจะแบ่งตัวเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จาก 2 เซลล์ เป็น 4 เซลล์ จาก 4 เซลล์ เป็น 8 เซลล์ จาก 8 เซลล์ เป็น 16 เซลล์ จาก 16 เซลล์ เป็น 32 เซลล์ ซึ่งตัวอ่อนระยะ 32 เซลล์นี้จะอัดแน่นกันจนมองเห็นคล้ายน้อยหน่า เรียกระยะนี้ว่า มอรูล่า (morula) หลังจากมีการแบ่งเซลล์ไปเรื่อยๆ จำนวนเซลล์ตัวอ่อนจะเพิ่มมากขึ้น (multiplication) จนเกิดกระบวนการรวมตัวกันเป็นก้อนกลม (compaction) ทำให้ขอบของตัวอ่อน และเซลล์แต่ละเซลล์ภายในมองเห็นไม่ชัดเจน จะเห็นได้แต่เพียงผิวเรียบของขอบของตัวอ่อน จึงเรียกตัวอ่อนระยะนี้ว่า คอมแพ็คมอรูล่า (compact morula) และหลังจากระยะนี้แล้ว ตัวอ่อนจะมีการเปลี่ยนแปลงเซลล์บลาสโตเมียร์ โดยเจริญเป็น 2 ชนิด คือ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มีการรวมกันเป็นเซลล์อัดกันเป็นกระจุกอยู่บริเวณขอบด้านใดด้านหนึ่งของเปลือก (zona pellucida) เรียกเซลล์เหล่านี้ว่า อินเนอร์เซลล์แมส (inner cell mass) ซึ่งจะเจริญเป็นอวัยวะภายในของตัวอ่อน และมีเซลล์ส่วนหนึ่งเรียงแถวเดี่ยวตามแนวขอบของเปลือกโซนาเพลลูซิด้า เรียกเซลล์เหล่านี้ว่า โทรโฟบลาส (trophoblast) ซึ่งจะเจริญเป็นผนังหุ้มตัวอ่อน (chorion) แอมเนียน (amnion) และรก (placenta) ซึ่งเรียกตัวอ่อนในระยะนี้ว่า บลาสโตซีส (blastocyst) หลังจากนั้นตัวอ่อนจะเริ่มมีการสะสมของเหลวภายในช่องว่าง (blastocoelic fluid) จึงทำให้ของเหลวภายในตัวอ่อนมีปริมาณเพิ่มขึ้นจึงเรียกระยะนี้ว่า เอ็กแพนด์บลาสโตซีส (expanded blastocyst) และมีการดันเปลือกหุ้มตัวอ่อนออกจนบางมาก เมื่อตัวอ่อนเจริญมาจนถึงระยะที่ดันเปลือกหุ้มตัวอ่อนจนแตกออกมา เรียกระยะนี้ว่า แฮทชิงบลาสโตซีส (hatching blastocyst) แต่ถ้าหากดันจนแตกออกมาแล้วเรียกว่า แฮทบลาสโตซีส (hatched blastocyst) และตัวอ่อนมีการขยายตัวของเซลล์อีก (hatched expanding blastocyst) จนเมื่อตัวอ่อนมีการเจริญของเซลล์ขยายยาวขึ้น (elongated blastocyst) เพื่อที่จะเตรียมฝังตัว (implantation) ลงผนังมดลูก (มงคล, 2543) (ดังภาพที่ 11)



ภาพที่ 12 การพัฒนาและการเคลื่อนที่เข้าสู่ปีกมดลูกของตัวอ่อน
ที่มา: Ruth (2008)

โดยทั่วไปตัวอ่อนตั้งแต่ระยะ 1 เซลล์ ถึง 32 เซลล์ยังอยู่ภายในท่อนำไข่ประมาณ 4 วัน หลังจากแสดงอาการเป็นสัด และตัวอ่อนจะเคลื่อนที่ผ่านเข้าสู่ส่วนของปีกมดลูกประมาณวันที่ 7 ถึง 8 ซึ่งเป็นระยะบลาสโตซีส (ดังภาพที่ 12)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่

การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่เป็นขั้นตอนที่นำฮอร์โมนภายนอก (exogenous hormone) มากระตุ้นแก่ตัวสัตว์ โดยฮอร์โมนจะช่วยทำให้ฟอลลิเคิลมีการเจริญครั้งละหลายๆใบบนรังไข่ และเมื่อมีการตกไข่ก็จะได้ไข่ที่ตกครั้งละหลายๆ ใบ (Jillella, 1982) ซึ่งการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่นั้นมีปัจจัยหลายๆอย่างที่มีอิทธิพลต่อการตอบสนองในการตกไข่ เช่น พันธุ์ อายุ ขนาดรูปร่างของสัตว์ การให้อาหาร ชนิดและระดับของฮอร์โมนที่ใช้กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ระยะของวงรอบการเป็นสัดและสภาพอากาศ เป็นต้น

ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่

1. พันธุ์ และอายุโค

Lerner *et al.* (1986) รายงานว่าอายุของแม่โคที่เพิ่มขึ้นจะตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ลดลง ไม่ว่าจะเป็นเรื่องของอัตราการล้างเก็บ จำนวนและคุณภาพของตัวอ่อน ซึ่งการที่โคที่มีอายุมากขึ้นแล้วมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ต่ำลงนั้น อาจเนื่องจากเมื่อโคอายุเพิ่มขึ้นจะมีจำนวนฟอลลิเคิลปรากฏบนรังไข่น้อยลง และมีอัตราการฝ่อของฟอลลิเคิลสูงขึ้น ทำให้มีจำนวนฟอลลิเคิลที่ตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนลดน้อยลงไปด้วย ดังนั้นจำนวนฟอลลิเคิลที่ถูกกระตุ้นจึงน้อยกว่าโคที่มีความสมบูรณ์พันธุ์เต็มที่ ซึ่งสอดคล้องกับ Donaldson (1984) รายงานว่าแม่โคที่มีอายุระหว่าง 3 ถึง 9 ปี จะตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ดีกว่าแม่โคที่มีอายุระหว่าง 10 ถึง 12 ปี และรายงานของ Nieman *et al.* (1982) พบว่าในโคที่มีอายุน้อยๆ มักตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ดีกว่าโคที่มีอายุมาก และยังพบว่าแม่โคแต่ละตัวจะมีความแปรปรวนและแตกต่างอย่างมากในการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ไม่ว่าจะเป็นเรื่องของอัตราการตกไข่ จำนวนตัวอ่อนทั้งหมด และจำนวนตัวอ่อนที่มีคุณภาพดี (Baruselli *et al.*, 2006)

ความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ต่อการตอบสนองการกระตุ้นการตกไข่ มีรายงานว่าโคนมมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ได้ดีกว่าโคที่ปล่อยเลี้ยงตามธรรมชาติหรือโคพื้นเมือง (Critser *et al.*, 1979) โดยเป็นที่ทราบดีว่าโคสายพันธุ์ตระกูลอินเดีย (*Bos indicus*) มีระบบสืบพันธุ์ที่มีลักษณะเฉพาะตัวและแตกต่างจากโคสายพันธุ์ตระกูลยุโรป (*Bos taurus*) และพบว่าโคสายพันธุ์ตระกูลอินเดียมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่และความสามารถในการผลิตตัวอ่อนที่มี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คุณภาพที่สามารถนำไปย้ายฝากได้ในอัตราส่วนที่ต่ำกว่าโคสายพันธุ์ตระกูลยุโรป (Greer *et al.*, 1992; Dominquez *et al.*, 1995) แต่รายงานของ Baruselli *et al.* (2006) พบว่าโคสายพันธุ์ตระกูลอินเดียมีความไวต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนและสามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ได้ดีกว่าโคสายพันธุ์ตระกูลยุโรป และความแตกต่างระหว่างระดับสายเลือด พบว่าโคสายพันธุ์ลูกผสมตอบสนองดีกว่าโคสายพันธุ์แท้ (Betteridge, 1977)

2. ฤดูกาล และการให้อาหาร

สำหรับอาหารมีผลกระทบต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ โดยรายงานของ Mantovani *et al.* (1993) พบว่าการจำกัดอาหารให้แก่โคเนื้อสาวในระยะที่มีการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ทำให้ได้จำนวนตัวอ่อนที่มีคุณภาพที่สามารถนำไปย้ายฝากได้ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับโคเนื้อสาวที่ได้รับอาหารข้นเต็มที่ตามความต้องการของร่างกาย ส่วนสรรเพชญ และคณะ (2546) ได้ทำการศึกษาผลของระดับโปรตีนในอาหารข้นที่มีผลต่อประสิทธิการผลิตตัวอ่อน พบว่า อาหารข้นที่มีระดับโปรตีน 16 ถึง 19 เปอร์เซ็นต์ สามารถส่งเสริมให้โคมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ได้ดี และผลิตตัวอ่อนที่มีคุณภาพสามารถย้ายฝากได้มากขึ้น อีกทั้งอาหารโปรตีนระดับสูงจะช่วยให้โคกลับสัดหลังคลอดได้เร็วขึ้น และสามารถช่วยให้ทำการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ซ้ำได้เร็วขึ้นด้วย

ฤดูกาลก็มีผลกระทบต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ โดยฤดูหนาวจะทำให้โคตัวให้มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ได้ดีกว่าฤดูร้อน และฤดูใบไม้ผลิ (Elsden and Seidel, 1984) และการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในช่วงฤดูร้อน มีอุณหภูมิสูง มีผลต่อการพัฒนาของตัวอ่อน โดยจะพบตัวอ่อนที่ผิดปกติจำนวนมาก (Putney *et al.*, 1988)

3. สรีรวิทยาของรังไข่ และความสมบูรณ์พันธุ์ของโค

สรีรวิทยาของรังไข่มีความสำคัญมากต่อการตอบสนองต่อการเพิ่มการตกไข่ เนื่องจากรังไข่ที่สมบูรณ์จะมีตัวรับสัญญาณที่จะจับกับฮอร์โมนจากภายนอก (exogenous hormone) จำนวนมาก อันเนื่องมาจากตัวรับสัญญาณนั้นอยู่ที่เซลล์แกรนูโลซาของฟอลลิเคิลและรังไข่ที่สมบูรณ์จะพบฟอลลิเคิลขนาดเล็กจำนวนมากมาย ทำให้มีตัวรับสัญญาณจำนวนมากต่อฮอร์โมนจากภายนอก (Dominquez *et al.*, 1995)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สหัส และเทวินทร์ (2549) รายงานว่าคะแนนสภาพรูปร่างความสมบูรณ์ (body condition score) ของสัตว์ตัวให้ที่เป็นโคนมมีผลต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ โดยพบว่าสภาพร่างกายสัตว์ตัวให้ที่มีระดับคะแนน 2.5 ถึง 3 และระดับคะแนนเท่ากับหรือมากกว่า 3.5 มีอัตราการตกไข่เฉลี่ยและจำนวนตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้เฉลี่ยไม่แตกต่างกัน แต่รายงานของ Siddiqui *et al.* (2002) ซึ่งพบว่าตัวให้ที่มีระดับคะแนนร่างกายสูงกว่า 4 คะแนนไม่ตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่และไม่สามารถเก็บรวบรวมตัวอ่อนได้

4. ระยะของวงจรการเป็นสัดของสัตว์ตัวให้

การฉีดฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ควรเริ่มฉีดช่วงกลางรอบของวงจรการเป็นสัด (mid cycle) ประมาณวันที่ 9 ถึง 14 ซึ่งให้ผลดีกว่าการเริ่มในช่วงต้นของรอบการเป็นสัด (early cycle) ประมาณวันที่ 3 ถึง 6 หรือช่วงปลายของรอบการเป็นสัด (late cycle) ตั้งแต่วันที่ 14 (มงคล, 2543) โดยผลของการตอบสนองจากการให้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในช่วงต่างๆ ของวงรอบการเป็นสัดนั้นเกี่ยวข้องกับการพัฒนาของฟอลลิเคิลของรังไข่ที่มีลักษณะเป็นคลื่น พบว่าหากอยู่ในช่วงที่รังไข่มีฟอลลิเคิลขนาดใหญ่อยู่ทำให้ผลการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ต่ำ และหากให้ในช่วงที่ไม่มีฟอลลิเคิลขนาดใหญ่อยู่บนรังไข่จะทำให้จำนวนตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า (Guilbault *et al.*, 1991) เนื่องจากในการปรากฏของฟอลลิเคิลชนิดโดมิแนนท์บนรังไข่ในช่วงการฉีดฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่นั้น ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ผลิตฮอร์โมนเอสโตเจน และสารอินฮีบินมายับยั้งการเจริญและพัฒนาของฟอลลิเคิลที่มีขนาดเล็ก ทำให้ฟอลลิเคิลที่มีขนาดเล็กสามารถตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนได้ จึงมีฟอลลเคิลที่พร้อมจะตกไข่น้อยลงในช่วงท้ายของการให้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (Ko *et al.*, 1991)

5. ชนิด และระดับของฮอร์โมน

ฮอร์โมนที่ใช้สำหรับการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ที่นิยมมีอยู่ 2 ชนิดคือฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน เป็นไกลโคโปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุล 25,000 ดาลตัน สร้างและหลั่งโดยเซลล์กลุ่มโกนาโดโทรบ (gonadotropes) ในต่อมใต้สมองส่วนหน้า ซึ่งฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่มีจำหน่ายในท้องตลาด จะเป็นฮอร์โมนที่สกัดมาจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของสัตว์ ทำให้บริสุทธิ์ บรรจุขวดแล้วนำไปทำให้แห้งโดยความเย็น โดยที่นิยมใช้คือยี่ห้อ Folltropin® (Porcine FSH, pFSH) สกัดมาจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของสุกร, ยี่ห้อ FSH-P® (Porcine FSH) สกัดมาจากต่อม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ใต้สมองส่วนหน้าของสุกร และยี่ห้อ Ovagen® (Ovine, oFSH) สกัดมาจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าของแกะ (Detterrer *et al.*, 1997) ปกติปริมาณการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโค คือยี่ห้อ FSH-P® อยู่ที่ช่วงระดับ 25 ถึง 30 มิลลิกรัม และส่วนยี่ห้อ Folltropin®-V พบว่าตามคำแนะนำจากฉลากคู่มือของการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (Folltropin®-V, Vetrepharm (A/Asia) Pty. Ltd., Australia) (ดังภาพผนวกที่ 6) แนะนำให้ใช้ที่ระดับ 400 มิลลิกรัม (National Institutes of Health (U.S.A.) reference standard NIH-FSH-P1) ซึ่งเป็นแบบใหม่ที่มีหน่วยเป็น NIH unit และเนื่องจากฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนเป็นฮอร์โมนที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและมีอายุครึ่งชีวิตสั้นประมาณ 2 ถึง 5 ชั่วโมง จึงจำเป็นต้องให้สองครั้งต่อวัน (เช้าและเย็น) และลดขนาดการใช้ไปเรื่อยๆ นานประมาณ 4 ถึง 5 วัน (มงคล, 2543) ข้อดีของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน คือ ไม่มีปัญหาเกี่ยวกับการเกิดถุงน้ำที่รังไข่ และการก่อตัวของแอนติ้บอดี้ในสัตว์ตัวให้ และสามารถทำการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ทำซ้ำหลายๆ ครั้งได้ และให้ผลตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ค่อนข้างดี (Jillella, 1982)

รายงานถึงขนาดการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (Folltropin®-V) สำหรับการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคสายพันธุ์ตระกูลอินเดียพบว่าระดับการใช้น้อยกว่าโคตระกูลยุโรป โดย Lewis (1992) แนะนำว่าขนาดการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (Folltropin®-V) สำหรับการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่อยู่ที่ระดับประมาณ 360 ถึง 400 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) สำหรับโคสายพันธุ์ตระกูลยุโรป ส่วนโคสายพันธุ์ตระกูลอินเดียนั้นระดับการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนจะต่ำกว่าประมาณ 25 ถึง30 เปอร์เซ็นต์ (ประมาณ 250 ถึง 280 มิลลิกรัม) และการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคพันธุ์บราห์มัน พบว่าขนาดการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนสำหรับโคสาวอยู่ที่ระดับ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) (Niasari-Naslaji, 1995) และแม่โคอยู่ที่ระดับ 240 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) (Krininger *et al.*, 2003)

แพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปิน (Pregnant mare serum gonadotropin: PMSG) เป็นฮอร์โมนที่ได้จากซีรั่มของแม่ม้าขณะตั้งท้อง ซึ่งขนาดของแพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปินที่ใช้อยู่ระหว่าง 1,500 ถึง 3,000 IU โดยฉีดเพียงครั้งเดียวต่อการเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ครั้งละหลายๆ ใบในแต่ละครั้ง ซึ่งจะฉีดเข้าทางกล้ามเนื้อ หรือใต้ผิวหนัง ข้อดีของแพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปินคือ ใช้ง่ายเพราะฉีดเพียงครั้งเดียวก็เพียงพอ เนื่องจากแพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปินมีอายุครึ่งชีวิตยาวนานประมาณ 2 ถึง 5 วัน (Heath, 1984; Moore, 1984) แต่มีปัญหาเกี่ยวกับการเกิดถุงน้ำที่รังไข่ และปัญหาเกี่ยวกับการก่อตัวของแอนติ้บอดี้ในสัตว์ตัวให้ ซึ่งเมื่อทำการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ซ้ำครั้งต่อไปได้ ร่างกายของตัวสัตว์จะมีการตอบสนองต่อการ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ที่ลดลง (Jillella, 1982) แต่ปัจจุบันได้มีการใช้แพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปิน ร่วมกับแอนติแพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปิน (anti-PMSG) ซึ่งเป็นแอนติบอดีต่อแพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปินมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของแพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปิน ทำให้ตัวอ่อนที่ผลิตได้มีคุณภาพดีขึ้น (Dieleman *et al.*, 1989)

6. คุณภาพของฮอร์โมนกระตุ้นเพิ่มการตกไข่

ปัญหาของการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นการตกไข่ คือมักมีการเจือปนของลูทีไนซิ้งฮอร์โมน จึงให้มีผลตอบสนองที่แตกต่างกัน และไม่ได้สะท้อนถึงฤทธิ์ของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนโดยตรง สัดส่วนของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน และลูทีไนซิ้งฮอร์โมน แม้จะเป็นชนิดเดียวกันก็จะแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับครั้งของการผลิต (batch) อันเป็นสาเหตุหนึ่งของความผันแปรของการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ โดยหากมีลูทีไนซิ้งฮอร์โมนเจือปนสูงจะให้ผลการตอบสนองต่ำและจำนวนตัวอ่อนที่ได้ต่ำด้วย (มงคล, 2543) โดย Donaldson (1994) ได้ทำการศึกษาสัดส่วนของปริมาณฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน และลูทีไนซิ้งฮอร์โมนจากฮอร์โมนก่อนฉีดและในตัวสัตว์หลังจากสัตว์ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (Folltrophine®-V) ซึ่งพบว่า มีสัดส่วนที่แตกต่างกันในแต่ละชุดการผลิต และพบว่าถ้ามีปริมาณของลูทีไนซิ้งฮอร์โมนมากกว่าฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน จะส่งผลต่ออัตราการเก็บรวบรวมตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ต่ำ แต่เพิ่มจำนวนตัวอ่อนผิดปกติสูงขึ้น อย่างไรก็ตาม สหัส และเทวินทร์ (2549) ได้ทำการศึกษาผลของชุดผลิตฮอร์โมนของโกนาโดโทรปินชนิดฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนจากยี่ห้อ Folltrophine®-V พบว่าชุดของการผลิตฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนทั้ง 2 ชุด ส่งผลให้อัตราการตกไข่ และอัตราการเก็บรวบรวมตัวอ่อนที่ใช้ย้ายฝากได้ไม่แตกต่างกัน และมีอัตราการเก็บรวบรวมตัวอ่อนที่มีคุณภาพที่สามารถใช้ย้ายฝากได้อยู่ในระดับมาตรฐาน

7. การปรากฏของโดมิแนนท์ฟอลลิเคิล

การที่มีโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลหรือฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่อยู่บนรังไข่ในช่วงที่ให้ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินเพื่อกระตุ้นเพิ่มการตกไข่นั้น จะลดการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่และจำนวนตัวอ่อนได้ โดยฮอร์โมนโกนาโดโทรปินที่ให้จะไปส่งผลให้โดมิแนนท์ฟอลลิเคิลผลิตฮอร์โมนเอสโตรเจนและสารอินฮิบิน ซึ่งมีผลไปยับยั้งการเจริญของฟอลลิเคิลที่มีขนาดเล็กอื่นๆ และการเกิดคลื่นฟอลลิเคิลในคลื่นถัดไปได้ (มงคล, 2543; Ko *et al.*, 1991)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่มีผลต่อการตอบสนองในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ของโค

รายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (NIH-FSH-P1) ในโคแต่ละสายพันธุ์ของแต่ละประเทศ พบว่าโคเนื้อพันธุ์ลูกผสมยุโรปสามารถตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ได้ (Adams *et al.*, 1994; Bo *et al.*, 1994; Bo *et al.*, 1996; Bo *et al.*, 2008; Hockley *et al.*, 1992; Kelly *et al.*, 1997; Nasser *et al.*, 1993) เช่นเดียวกับโคนมพันธุ์โฮสไตน์ (Kim *et al.*, 2001; Lovie, 1994; Rajamahendran and Calder, 1993) โคเนื้อพันธุ์แองกัส (Callejas *et al.*, 2008) และโคเนื้อพันธุ์ บราห์มัน (Bo *et al.*, 1991; D'occhio *et al.*, 1997) (ดังตารางที่ 2)

รายงานในโคพื้นเมืองของแต่ละประเทศ โดย Barati *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคเนื้อพื้นเมืองพันธุ์ Sistani ในประเทศอิหร่าน โดยใช้ที่ระดับ 120,160 และ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่าฮอร์โมนทั้ง 3 ระดับให้ผลไม่แตกต่างกันคือ ให้อัตราการตกไข่เฉลี่ย 8.2, 9.6 และ 9.4 ใบ ตามลำดับ และจำนวนไข่และตัวอ่อน 4.7, 5.6 และ 8.2 ใบ ตามลำดับ และจำนวนตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ 2.7, 3.4 และ 4.3 ใบ ตามลำดับ ซึ่งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมมีแนวโน้มที่ตอบสนองต่ออัตราการตกไข่ และจำนวนตัวอ่อนสูงที่สุด และ Baruselli *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคเนื้อพันธุ์ Nelore ในประเทศบราซิลโดยใช้ที่ระดับ 100, 133 และ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่า มีอัตราการตกไข่เฉลี่ย 13.0, 12.1 และ 14.9 ใบ ตามลำดับ และจำนวนไข่และตัวอ่อน 10.0, 9.9 และ 10.6 ใบ ตามลำดับ และจำนวนตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ 7.7, 5.6 และ 6.5 ใบ ตามลำดับ

สำหรับในประเทศไทย วิทวัส (2544) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคพื้นเมืองไทยที่เป็นโคสาว โดยใช้ที่ระดับ 50, 100 และ 150 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่ามีอัตราการตกไข่เฉลี่ย 3.0, 8.6 และ 6.25 ใบ ตามลำดับ ซึ่งฮอร์โมนที่ระดับ 100 มิลลิกรัม มีความเหมาะสมที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคพื้นเมืองไทย สอดคล้องกับรายงานของ เทวินทร์ และคณะ (2545) ได้ทำการศึกษาผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคพื้นเมืองไทย พบว่าฮอร์โมนที่ระดับ 100 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) มีความเหมาะสมสำหรับโคสาว และฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) มีความเหมาะสมสำหรับแม่โค และ ชโลธร (2551) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคพื้นเมืองอีสาน โดยใช้ที่ระดับ 100, 150 และ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่าฮอร์โมนทั้ง 3 ระดับให้ผลไม่แตกต่างกันคือ มีอัตราการตกไข่เฉลี่ย 8.67, 11.67 และ 10.17 ใบตามลำดับ และจำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด 5.67, 5.67 และ 5.83 ใบ ตามลำดับ และจำนวนตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ 4.33, 4.17 และ 4.33 ใบ ตามลำดับ และอนนท์ และคณะ (2547) ได้ทำการศึกษาผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคพื้นเมืองพันธุ์ขาวลำพูนที่ระดับ 260 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่ามีอัตราการตกไข่เฉลี่ย 9.31 ใบ และได้ตัวอ่อนคุณภาพดีเฉลี่ย 1.59 ใบ ต่อแม่โคตัวให้ 1 ตัว ต่อมา ณรงค์ และคณะ (2549) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคพื้นเมืองพันธุ์ขาวลำพูน โดยใช้ที่ระดับ 150 และ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่า มีอัตราการตกไข่เฉลี่ย 11.75 และ 10.71 ใบ ตามลำดับ และจำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด 5.32 และ 6.15 ใบตามลำดับ และได้ตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ 2.54 และ 1.82 ใบ ตามลำดับ และ ชาญยุทธ และคณะ (2552) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเล-ติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคพื้นเมืองภาคใต้ โดยใช้ที่ระดับ 150 และ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่ามีอัตราการตกไข่เฉลี่ย 5.94 และ 6.59 ใบ ตามลำดับ และจำนวนไข่และตัวอ่อนเฉลี่ย 2.94 และ 4.24 ใบ ตามลำดับ และได้ตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้เฉลี่ย 1.81 และ 2.59 ใบ ตามลำดับ และ Sumretprasong *et al.* (2008) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคนมลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเชี่ยน โดยใช้ที่ระดับ 260 และ 360 มิลลิกรัมพบว่า มีอัตราการตกไข่เฉลี่ย 15.4 และ 12.8 ใบ ตามลำดับและได้ตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้เฉลี่ย 4.3 และ 4.2ใบ ตามลำดับ (ดังตารางที่ 3)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 2 การให้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่มีผลต่อการตอบสนองในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ของโคเนื้อในประเทศต่างๆ

(มก.)	สายพันธุ์โค	จำนวน คอร์ปัสลูเทียม	จำนวน ตัวอ่อน (ใบ)	ตัวอ่อนที่สามารถ ย้ายฝากได้ (ใบ)	อ้างอิง
400	โคเนื้อพันธุ์แองกัส	7.7 ± 0.8	6.5 ± 0.1	5.2 ± 1.0	Callejas *et al.* (2008)
200	โคเนื้อลูกผสมประเทศแคนาดา	3.60 ± 1.4	1.8 ± 0.6	1.2 ± 0.5	Hockley *et al.* (1992)
400	โคเนื้อลูกผสมประเทศแคนาดา	23.3 ± 4.1	15.2 ± 3.3	9.5 ± 2.3	Hockley *et al.* (1992)
600	โคเนื้อลูกผสมประเทศแคนาดา	25.0 ± 6.6	12.8 ± 3.4	5.7 ± 1.5	Hockley *et al.* (1992)
800	โคเนื้อลูกผสมประเทศแคนาดา	13.9 ± 2.3	10.2 ± 2.6	5.3 ± 1.8	Hockley *et al.* (1992)
400	โคเนื้อลูกผสมประเทศแคนาดา	13.9 ± 2.3	11.30 ± 4.9	4.8 ± 2.4	Bo *et al.* (1994)
200	โคเนื้อสาวลูกผสมประเทศแคนาดา	7.3 ± 1.6	-	-	Nasser *et al.* (1993)
320	โคเนื้อสาวลูกผสมประเทศแคนาดา	14.1 ± 1.2	10.5 ± 2.3	4.9 ± 1.7	Bo *et al.* (2008)
200	โคเนื้อสาวลูกผสมเฮียฟอร์ดกับชาโรเลส์	8.1 ± 1.8	5.1 ± 0.8	3.0 ± 0.6	Adams *et al.* (1994)
400	โคเนื้อสาวลูกผสมเฮียฟอร์ดกับแองกัส	23.7 ± 3.7	14.1 ± 2.7	5.5 ± 1.7	Bo *et al.* (1996)
270	โคเนื้อสาวลูกผสมประเทศไอร์แลนด์	17.7 ± 2.1	12.2 ± 1.7	5.5 ± 1.2	Kelly *et al.* (1997)
400	โคนมพันธุ์โฮสไตน์	8.7 ± 2.0	5.0 ± 2.1	3.1 ± 1.4	Rajamahendran and Calder (1993)
400	โคนมพันธุ์โฮสไตน์	14.0 ± 3.0	7.7 ± 1.5	5.6 ± 1.2	Lovie (1994)
400	โคนมพันธุ์โฮสไตน์	6.1 ± 0.9	3.9 ± 1.0	2.3 ± 0.8	Kim *et al.* (2001)
400	โคเนื้อพันธุ์บราห์มัน	13.2 ± 1.6	5.6 ± 1.1	2.5 ± 0.6	Bo *et al.* (1991)
200	โคเนื้อพันธุ์บราห์มัน	25.8 ± 7.6	11.0 ± 2.8	5.8 ± 1.8	D'occhio *et al.* (1997)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 3 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ของโคเนื้อในประเทศไทย

ระดับ (มก.)	สายพันธุ์โค	จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	จำนวนตัวอ่อน (ใบ)	ตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ (ใบ)	อ้างอิง
260	พื้นเมืองขาวลำพูน	9.31 ± 0.84	6.65 ± 0.82	1.59 ± 0.39	อนนท์ และคณะ (2547)
150	พื้นเมืองขาวลำพูน	11.75 ± 0.97	5.32 ± 0.77	2.54 ± 0.57	ณรงค์ และคณะ (2549)
200	พื้นเมืองขาวลำพูน	10.71 ± 1.23	6.15 ± 0.50	1.82 ± 0.49	ณรงค์ และคณะ (2549)
100	พื้นเมืองอีสาน	8.67 ± 1.19	5.67 ± 1.26	4.33 ± 1.33	ชโลธร (2551)
150	พื้นเมืองอีสาน	11.67 ± 1.50	5.67 ± 1.12	4.17 ± 0.87	ชโลธร (2551)
200	พื้นเมืองอีสาน	10.17 ± 0.54	5.83 ± 0.95	4.33 ± 1.12	ชโลธร (2551)
150	พื้นเมืองภาคใต้	5.94 ± 0.95	2.94 ± 1.12	1.81 ± 0.62	ชาญยุทธ และคณะ (2552
200	พื้นเมืองภาคใต้	6.94 ± 0.80	4.24 ± 1.01	2.59 ± 0.69	ชาญยุทธ และคณะ (2552
260	ลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์	15.4 ± 1.0	-	4.30 ± 0.60	Sumretprasong *et al.* (2008)
360	ลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์	12.8 ± 0.90	-	4.20 ± 0.70	Sumretprasong *et al.* (2008

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

โคทดลองเป็นโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน (โคเนื้อที่มีพันธุกรรมโคพันธุ์ชาโรเลส์ 50 เปอร์เซ็นต์ โคพันธุ์บราห์มัน 25 เปอร์เซ็นต์ และโคพื้นเมือง 25 เปอร์เซ็นต์) โดยใช้แม่โคจำนวน 4 ตัว อายุเฉลี่ยประมาณ 6-7 ปี (เคยให้ลูกมาแล้วมากกว่า 1 ครั้ง) และมีน้ำหนักเฉลี่ย 400 ± 73.14 กิโลกรัม และโคสาวจำนวน 4 ตัว อายุเฉลี่ยประมาณ 2-3 ปี (ไม่เคยให้ลูกมาก่อน) และมีน้ำหนักเฉลี่ย 326 ± 17.97 กิโลกรัม โคทุกตัวมีสุขภาพและระบบสืบพันธุ์สมบูรณ์ รวมทั้งมีวงรอบการเป็นสัดปกติ

2. ฮอร์โมน สารเคมี และวัสดุอุปกรณ์สำหรับกระตุ้นการตกไข่

2.1 ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (Folltropin®-V)
2.2 ฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่า (Estrumate®)
2.3 โกนาโดโทรปินรีลีสซิ่งฮอร์โมน (Receptal®)
2.3 ถุงมือผสมเทียม
2.4 กระบอกฉีดยาขนาด 3 และ 5 มิลลิลิตร
2.4 เข็มฉีดยาขนาดเบอร์ 18 ยาว 1.5 นิ้ว
2.5 ปืนผสมเทียม (breeding gun) และปลอกพลาสติก
2.6 น้ำเชื้อแช่แข็งของพ่อโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน

3. สารเคมี และวัสดุอุปกรณ์สำหรับล้างเก็บตัวอ่อน

3.1 ท่อยางโฟเลย์แบบ 2 ทาง เบอร์ 16 หรือ 18 (two way foley catheter)
3.2 แกนสแตนเลสสำหรับสอดท่อยางโฟเลย์ (sterile stylette)
3.3 เข็มฉีดยาขนาดเบอร์ 18 และ 19 ยาว 1.5 นิ้ว
3.4 เหล็กนำขยายคอมดลูก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 มิลลิเมตร ยาว 50 เซนติเมตร
3.5 ยาปฏิชีวนะ (penicillin G sodium 1,000,000 IU และ streptomycin sulfate 1 กรัม)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.6 ยาชา (xylocain 2 เปอร์เซ็นต์)

3.7 น้ำยาชะล้างตัวอ่อน (modified Dulbecco's phosphate buffer saline; mDPBS)

3.8 กระบอกตวงพลาสติกปลอดเชื้อ (sterile cylinder) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร

3.9 กระบอกฉีดยาขนาด 3, 5, 10, 20 และ 50 มิลลิลิตร

3.10 ชุดสายยางสำหรับสวมท่อยางโฟเลย์ (flushing tube set)

3.11 ถ้วยกรองตัวอ่อน (miniflush)

3.12 ซีรั่มจากโคที่เป็นสัด (estrus cow serum; ECS)

4. สารเคมี และวัสดุอุปกรณ์สำหรับตรวจหา และประเมินคุณภาพตัวอ่อน

4.1 กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (stereomicroscope)

4.2 น้ำยาเก็บรักษาตัวอ่อน (mDPBS ที่มีซีรั่มจากโคที่เป็นสัด 20 เปอร์เซ็นต์)

4.3 ปิเปตแก้ว

4.4 ยาปฏิชีวนะ (penicillin G sodium 1,000,000 IU และ streptomycin sulfate 1 กรัม)

4.5 จานเลี้ยงเชื้อพลาสติก (petri dishes)

4.6 จานพลาสติกกลมปลอดเชื้อขนาด 35 x 10 มิลลิลิตร

วิธีการ

แม่โคพันธุ์กำแพงแสนจำนวน 4 ตัว และโคสาวพันธุ์กำแพงแสนจำนวน 4 ตัว ซึ่งโคทั้งหมดจะได้รับการจัดการทางด้านอาหารโดยได้รับอาหารข้นที่มีโปรตีน 16 เปอร์เซ็นต์ อาหารหยาบที่เป็นหญ้าขนสด และน้ำอย่างเต็มที่ รวมทั้งได้รับการเลี้ยงดูแบบเดียวกันโดยเลี้ยงรวมแบบขังคอกไว้ และโคทุกตัวได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่มีทั้งหมด 2 ระดับเปลี่ยนสลับกันในช่วงระยะเวลาการทดลองที่แบ่งออกเป็น 2 ช่วง (period) และแต่ละช่วงมีระยะพักห่างกันประมาณ 2 เดือน (ดังตารางที่ 4) และโคทุกตัวได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน โดยเริ่มในวันที่ 9 ของวงรอบการเป็นสัด ซึ่งโคได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนเข้าทางกล้ามเนื้อแบบลดขนาดติดต่อกันเป็นเวลา 4 วัน วันละ 2 ครั้งห่างกัน 12 ชั่วโมง (เช้าและเย็น) และในช่วงเย็นของวันที่ 3 ที่โคได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนนั้น โคได้รับฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่า ขนาด 500 ไมโครกรัมเข้าทางกล้ามเนื้อ (ดังภาพที่ 13) โดยรูปแบบการได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนมีดังนี้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ระดับที่ 1: โคได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) แบ่งออกคือ วันที่ 1 ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนทั้งหมด 80 มิลลิกรัม (เช้า: 40 / เย็น: 40 มิลลิกรัม), วันที่ 2 ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนทั้งหมด 60 มิลลิกรัม (เช้า: 30 / เย็น: 30 มิลลิกรัม), วันที่ 3 ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนทั้งหมด 40 มิลลิกรัม (เช้า: 20 / เย็น: 20 มิลลิกรัม) และวันที่ 4 ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนทั้งหมด 20 มิลลิกรัม (เช้า: 10 / เย็น: 10 มิลลิกรัม)

ระดับที่ 2: โคได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) แบ่งออกคือ วันที่ 1 ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนทั้งหมด 100 มิลลิกรัม (เช้า: 50 / เย็น: 50 มิลลิกรัม), วันที่ 2 ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนทั้งหมด 70 มิลลิกรัม (เช้า: 35 / เย็น: 35 มิลลิกรัม), วันที่ 3 ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนทั้งหมด 50 มิลลิกรัม (เช้า: 25 / เย็น: 25 มิลลิกรัม) และวันที่ 4 ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนทั้งหมด 30 มิลลิกรัม (เช้า: 15 / เย็น: 15 มิลลิกรัม)

ตารางที่ 4 แสดงแผนผังการทดลองแบบเปลี่ยนสลับ

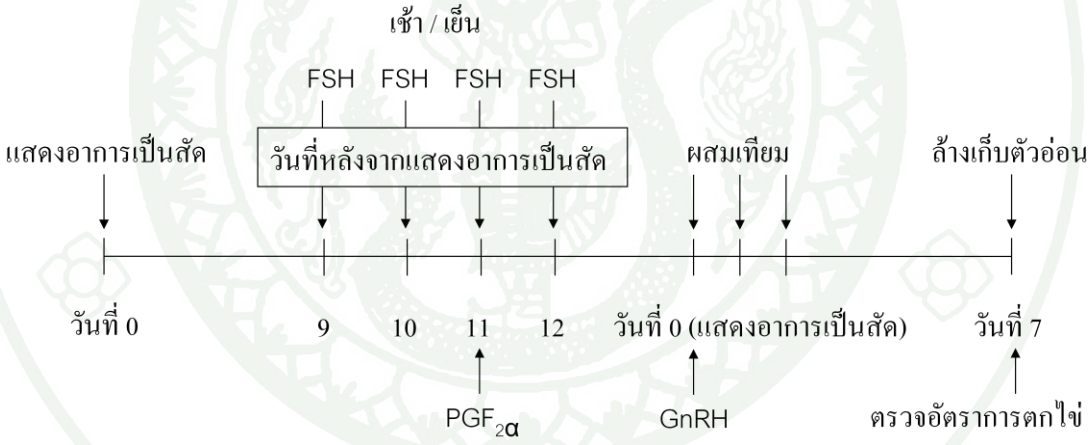
ช่วงเวลาการทดลอง	ประเภทสัตว์ทดลอง							
	แม่โค				โคสาว			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1	250	250	200	200	200	250	250	200
	ระยะพักประมาณ 2 เดือน							
2	200	200	250	250	250	200	200	250

1. การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่

การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ดัดแปลงจากวิธีการของ รังสรรค์ และสรรเพชญ (2530) โดยโคทั้งหมดถูกเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่าขนาด 500 ไมโครกรัม เข้ากล้ามเนื้อ จำนวน 2 ครั้งแต่ละครั้งห่างกันนาน 11 วัน และใช้โคตัวผู้ที่ถูกเบี่ยงเบนอวัยวะเพศแล้ว (teaser bull) ในการตรวจจับการเป็นสัดของโคเพศเมีย ซึ่งโคเพศเมียที่มีอาการเป็นสัดจะมีลักษณะยืนนิ่งเมื่อโคเพศผู้หรือเพศเมียตัวอื่นขึ้นปีน มีอาการตื่นเต้น มีการส่งเสียงร้อง มีการบวม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

และมีสีแดงของอวัยวะสืบพันธุ์ภายนอก และมีสิ่งคัดหลั่งจากช่องคลอดที่เป็นลักษณะเมือกเหนียวใสไหลยาวไม่ขาดง่าย (มงคล, 2543) เมื่อโคแสดงอาการเป็นสัดนับเป็นวันที่ 0 และวันที่ 9 หลังจากที่โคแสดงอาการเป็นสัดนั้น โคได้รับการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 หรือ 250 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) เข้าทางกล้ามเนื้อแบบลดขนาดติดต่อกันเป็นเวลา 4 วัน วันละ 2 ครั้งห่างกัน 12 ชั่วโมง (เช้าและเย็น) และในช่วงเย็นของวันที่ 3 ที่โคได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนนั้น โคได้รับฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่าขนาด 500 ไมโครกรัมเข้าทางกล้ามเนื้อ และผสมเทียมโคทันทีเมื่อสังเกตพบอาการเป็นสัด โดยผสมเทียม 3 ครั้งๆ ละ 2 หลอด (ความเข้มข้นของอสุจิ 3 x 10^9 ตัวต่อหลอด) ห่างกัน 12 ชั่วโมง ซึ่งใช้น้ำเชื้อแช่แข็งของพ่อโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน และฉีดโกนาโดโทรปินรีลีสซิ่งฮอร์โมน (buserelin) ขนาด 10 ไมโครกรัมเข้ากล้ามเนื้อในการผสมเทียมครั้งแรก และตรวจหาร่องรอยการตกไข่ โดยการนับจำนวนคอร์ปัสลูเทียมบนรังไข่ทั้งสองข้างด้วยวิธีการล้วงคลำผ่านทางทวารหนักในวันที่ 7 หลังจากที่โคแสดงอาการสัด (ดังภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 โปรแกรมการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่

2. การล้างเก็บตัวอ่อน

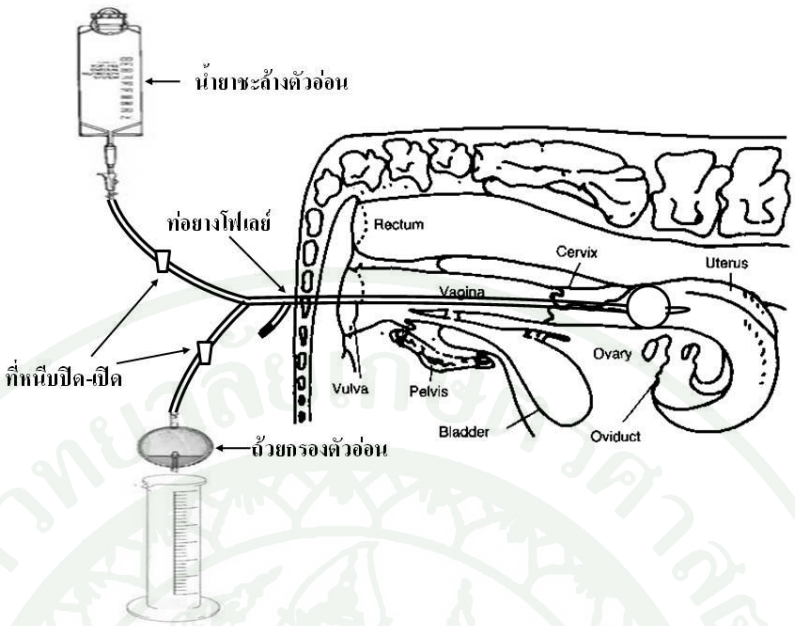
ทำการล้างเก็บตัวอ่อนด้วยวิธีแบบไม่ผ่าตัด (non-surgical method) ในวันที่ 7 หลังการแสดงอาการเป็นสัด โดยดัดแปลงจากวิธีของ Castro Neto *et al.* (2005) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้คือ

นำสัตว์เข้าซองบังคับที่มีพื้นลาดเอียงเล็กน้อย แล้วให้ยาชา (xylocain 2 เปอร์เซ็นต์) ขนาด 3 มิลลิลิตรเข้าช่องไขกระดูกสันหลัง (epidural anesthesia) แล้วใช้เชือกผูกหางไว้กับซองบังคับ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

แล้วล้วงมูลออกจากช่องทวารหนักให้หมด ทำความสะอาดปากช่องคลอดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อโรค แล้วทำการล้วงตรวจอวัยวะสืบพันธุ์โดยผ่านทางช่องทวารหนัก หลังจากนั้นใช้เหล็กนำ (cervical dilator) ถ่างคอมดลูกให้ขยายตัวออกประมาณ 5 นาที จากนั้นนำเหล็กนำที่ถ่างคอมดลูกออก แล้วสอดท่อยางโฟเลย์ (two way foley catheter) ที่มีแกนสแตนเลส (sterile stylette) อยู่ภายในเข้าไปยังตัวมดลูกและปลายของท่อยางโฟเลย์จะอยู่ที่ตำแหน่งบริเวณด้านท้ายจนถึงด้านทางออกของทางแยกของปีกมดลูกทั้งสองข้าง (caudal to external bifurcation of uterus) จากนั้นดึงแกนสแตนเลสออก แล้วใช้กระบอกฉีดยาอัดลมเข้าคัฟ (cuff) จนขนาดของ cuff พอดีกับขนาดของตัวมดลูก ทำการต่อชุดสายยาง (flushing tube set) เข้ากับปลายของท่อยางโฟเลย์ โดยทางหนึ่งเป็นท่อน้ำยาเข้า (inlet) และอีกทางหนึ่งเป็นท่อน้ำยาออก (outlet) ปลายข้างหนึ่งของท่อน้ำยาเข้าต่อกับขวดน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนที่แขวนให้สูงจากหลังสัตว์ประมาณ 1 เมตร และปลายของท่อน้ำยาออกต่อกับถ้วยกรองตัวอ่อน (miniflush) ที่อยู่บนกระบอกตวงที่ฆ่าเชื้อแล้ว (sterile cylinder) ขนาด 500 มิลลิลิตร โดยท่อน้ำยาเข้าและท่อน้ำยาออกสามารถควบคุมการไหลเข้าออกของน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนได้ด้วยกรรไกรหนีบ แล้วปล่อยน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อน (modified Dulbecco's phosphate buffer saline; mDPBS) ที่มีซีรั่มจากโคที่เป็นสัด 1 เปอร์เซ็นต์ เข้าตัวมดลูกจนกระทั่งเต็มปีกมดลูกทั้งสองข้าง โดยคลายกรรไกรหนีบท่อน้ำยาเข้า และใช้มือที่ล้วงผ่านช่องทวารหนักโอบปีกมดลูกเอาไว้ในขณะที่ปล่อยน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนเข้าไป หลังจากนั้นให้น้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนไหลพร้อมทั้งทำการนวดปีกมดลูกทั้งสองข้างเบาๆ ให้น้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนไหลออกจนหมด แล้วปิดท่อน้ำยาออก ทำการเปิดปิด ท่อให้น้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนไหลเข้าออกหลายๆครั้งจนกระทั่งน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนเข้าไปในมดลูกประมาณ 1,000 มิลลิลิตรจากนั้นทำการปล่อยน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนอีกครั้งจนกระทั่งเต็มปีกมดลูกทั้งสองข้าง แล้วใช้กระบอกฉีดยาขนาด 3 มิลลิลิตร แทงเข้าไปที่ปลายของท่อยางโฟเลย์เพื่อปิดทางไม่ให้น้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนไหลออก แล้วปล่อยให้น้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนค้างอยู่ในมดลูกนานประมาณ 30 นาที หลังจากนั้นทำการล้างเก็บตัวอ่อนตามวิธีการเดิม เมื่อเสร็จแล้วปล่อยลมออกจากคัฟ แล้วดึงท่อยางโฟเลย์ออก และเมื่อเสร็จสิ้นจากการล้างเก็บตัวอ่อนจากปีกมดลูกแล้ว ทำการฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูอัลฟ่าขนาด 500 ไมโครกรัม และให้ยาปฏิชีวนะเข้ากล้ามเนื้อของสัตว์ร่วมด้วย (ดังภาพที่ 14)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



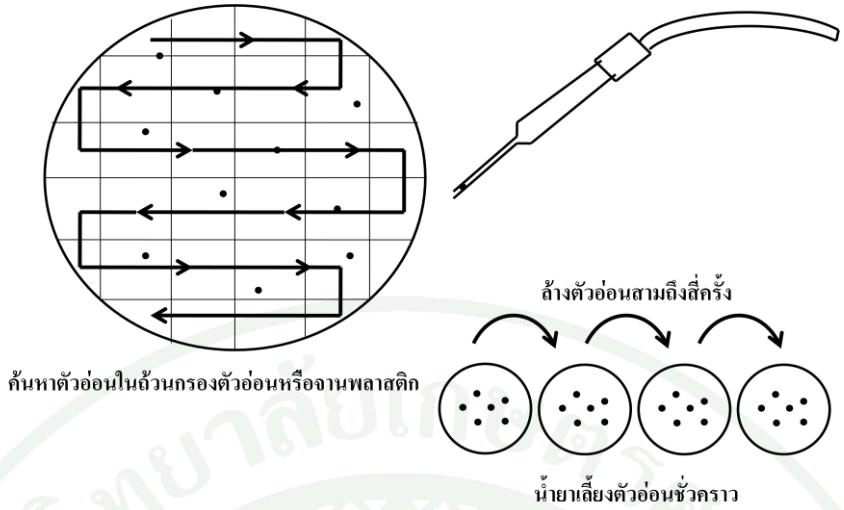
ภาพที่ 14 วิธีการล้างเก็บตัวอ่อนแบบไม่ผ่าตัด
ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Castro Neto *et al.* (2005)

3. การตรวจหาตัวอ่อน

ทำการตรวจหาตัวอ่อนที่ได้จากการล้างเก็บในวันที่ 7 หลังการแสดงอาการเป็นสัด โดยดัดแปลงวิธีการของรังสรรค์ และสรรเพชญ (2530) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้คือ

หลังจากล้างเก็บตัวอ่อนแล้ว นำถ้วยกรองตัวอ่อนมาเทน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนลงจานเลี้ยงเชื้อพลาสติก (petri dishes) 2 ถึง 3 ใบ นำจานเลี้ยงเชื้อพลาสติกที่มีน้ำยาไปตรวจหาตัวอ่อนด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ (stereo microscope) กำลังขยาย 10 ถึง 40 เท่า ตรวจหาตัวอ่อนจากจานเลี้ยงเชื้อแต่ละใบ 3 รอบ เมื่อตรวจพบตัวอ่อนให้ใช้ปิเปตแก้วที่ยืดปลายให้มีขนาดเล็กดูดตัวอ่อนลงในจานพลาสติกกลมปลอดเชื้อขนาด 35x10 มิลลิเมตร ที่มีน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อน (modified Dulbecco's phosphate buffer saline ร่วมด้วยซีรั่มจากโคที่เป็นสัด 20 เปอร์เซ็นต์) (ดังภาพที่ 15)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 15 วิธีการตรวจหาตัวอ่อน

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก รังสรรค์ และสรรเพชญ (2530)

4. การประเมินคุณภาพของตัวอ่อน

ทำการประเมินคุณภาพตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ในวันที่ 7 หลังการแสดงอาการเป็นสัด ด้วยการตรวจสภาพรูปร่างลักษณะ แบ่งคุณภาพของตัวอ่อนออกเป็น 4 เกรดโดยวิธีการตามหลักเกณฑ์ของ Lindner and Wright (1983) ดังตารางที่ 5 คือ

ตารางที่ 5 แสดงการประเมินคุณภาพของตัวอ่อนของโค

คุณภาพของตัวอ่อน	ลักษณะรูปร่างของตัวอ่อน
เกรด 1 (คุณภาพดีเยี่ยม)	ตัวอ่อนที่มีรูปร่างลักษณะสมบูรณ์ดีที่สุด โซน่าเพลลูซิดากลม ไม่บิดเบี้ยว ไม่ปรากฏเซลล์ที่ผิดปกติ
เกรด 2 (คุณภาพดี)	ตัวอ่อนมีลักษณะผิดปกติบางส่วน โซน่าเพลลูซิดาเริ่มเบี้ยว เซลล์บางเซลล์แตกกลุ่มออกมาจากพวก เริ่มมีเซลล์ที่มีลักษณะภายในโพรง
เกรด 3 (คุณภาพพอใช้)	ตัวอ่อนมีคุณภาพปานกลาง โซน่าเพลลูซิดาเบี้ยว มีเซลล์แตกกลุ่มออกมามากขึ้น มีเซลล์ที่มีลักษณะภายในโพรงเพิ่มขึ้น เซลล์บางเซลล์เริ่มสลายไป
เกรด 4 (คุณภาพแย่)	ตัวอ่อนมีลักษณะผิดปกติมาก ได้แก่ โซน่าเพลลูซิดาเบี้ยวหรือฉีกขาด เซลล์แตกกลุ่มมาก เซลล์ที่มีลักษณะภายในโพรงมาก มีเซลล์สลายตัวมาก

ที่มา: Lindner and Wright (1983)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

5. การจำแนกระยะการเจริญเติบโตของตัวอ่อน

ทำการจำแนกตัวอ่อนที่ได้จากการล้างเก็บในวันที่ 7 หลังการแสดงอาการเป็นสัด ตามระยะการเจริญเติบโตตามมาตรฐานจากวิธีการของ Lindner and Wright (1983) ดังตารางที่ 6 คือ

ตารางที่ 6 แสดงการจำแนกตัวอ่อนของโคตามระยะการเจริญเติบโต

ระยะการเจริญของตัวอ่อน	ลักษณะรูปร่างของตัวอ่อน
มอรูล่า (morula)	ตัวอ่อนประกอบด้วยเซลล์ที่อัดแน่นกันมากกว่า 16 ถึง 32 เซลล์ สังเกตเห็นขอบเขตของเซลล์ที่เกาะกลุ่มกันขรุขระ
คอมแพ็ค มอรูล่า (compact morula)	เซลล์ตัวอ่อนจะเพิ่มจำนวนจนรวมกันเป็นกลุ่มแน่นทำให้ขอบของตัวอ่อน และเซลล์แต่ละเซลล์ภายในมองเห็นไม่ชัดเจน จะเห็นได้แต่เพียงผิวเรียบของขอบของตัวอ่อน
บลาสโตซีสระยะต้น (early blastocyst)	ตัวอ่อนมีการสร้างช่องที่มีขนาดเล็กกว่าครึ่งหนึ่งของขนาดตัวอ่อนทั้งตัว ทำให้มีรูปร่างคล้ายแหวนสามารถมองเห็นความแตกต่างของส่วนโทรโฟบลาสและอินเนอร์เซลล์แมส
บลาสโตซีส (blastocyst)	ตัวอ่อนระยะนี้มีช่องว่างขนาดใหญ่ขึ้น ส่วนอินเนอร์เซลล์แมสมีการเกาะจับกันแน่นสามารถจำแนกความแตกต่างของชั้นโทรโฟบลาสและอินเนอร์เซลล์แมสได้

ที่มา: Lindner and Wright (1983)

6. การบันทึกข้อมูล

6.1 บันทึกจำนวนคอร์ปัสลูเทียมบนรังไข่ทั้งสองข้าง โดยการล้วงคลำผ่านทางทวารหนัก

6.2 บันทึกจำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้

6.3 บันทึกคุณภาพและระยะการเจริญเติบโตของตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองที่เป็นอัตราส่วน (ผลของระดับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่อจำนวน คุณภาพและการพัฒนาของตัวอ่อนในระยะต่างๆ) นำมาวิเคราะห์อัตราส่วนด้วยไค-สแควร์ (chi-square) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ $P<0.05$ โดยแสดงข้อมูลเป็นเปอร์เซ็นต์ (%)

ข้อมูลที่เป็นผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่ออัตราการตกไข่ นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ด้วยแผนการทดลองแบบเปลี่ยนสลับ (change-over design) โดยแสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (means ± standard error of the mean) และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์โดยวิธี Student's t-test ที่มีแบบหุ่นจำลองทางสถิติดังนี้

$$\mathbf{Y_{ijk}} = \mu + \mathbf{T}_i + \mathbf{P}_j + \mathbf{I}_k + \varepsilon_{ijk}$$

เมื่อ $\mathbf{Y_{ijk}}$ = ค่าสังเกตที่ได้จากโคตัวที่ k ช่วงระยะที่ j และอิทธิพลของระดับฮอร์โมนที่ i

μ = ค่าเฉลี่ยทั้งหมดในการทดลอง

T_i = อิทธิพลของระดับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ i เมื่อ i = 1, 2

P_j = อิทธิพลของช่วงระยะที่ j เมื่อ j = 1, 2

I_k = อิทธิพลของความแตกต่างเนื่องจากโคตัวที่ k เมื่อ k = 1, 2, 3, 4

ε_{ijk} = ค่าความคลาดเคลื่อนของการทดลอง

8. สถานที่ทำการวิจัย

8.1 ทำการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่และล้างเก็บตัวอ่อนโคทดลอง ที่คอกทดลองศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโค สถาบันสุวรรณวาจกกสิกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

8.2 ทำการตรวจหาตัวอ่อนเพื่อจำแนกระยะการเจริญเติบโต และประเมินคุณภาพของตัวอ่อน ที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

9. ระยะเวลาในการทำวิจัย

เริ่มทำการทดลอง : เดือนธันวาคม พ.ศ. 2552
สิ้นสุดการทดลอง : เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2553

10. แหล่งทุนสนับสนุน

ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์เพื่อตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ จากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

ผล

1. ผลของระดับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม

จากการนับจำนวนคอร์ปัสลูเทียมโดยวิธีการล้วงคลำรังไข่ผ่านทางทวารหนัก เพื่อหาอัตราการตกไข่ภายหลังจากการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน เปรียบเทียบการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน 2 ระดับคือ 200 และ 250 มิลลิกรัมในแม่โคและโคสาว พบว่าแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม มีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 15.00 ± 4.28 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมที่มีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 7.25 ± 4.28 (ดังตารางที่ 7) และโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม มีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 15.50 ± 3.40 ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมที่มีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 13.50 ± 3.40 (ดังตารางที่ 8)

2. ผลของระดับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่อจำนวนและคุณภาพของตัวอ่อน

เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่อเปอร์เซ็นต์จำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ (ดังภาพผนวกที่ 1-5) (อัตราส่วนของจำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมดต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม) พบว่าแม่โคที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม มีจำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ประมาณ 88.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมที่มีจำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ประมาณ 72.41 เปอร์เซ็นต์ (ดังตารางที่ 7) และโคสาวที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม มีจำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ประมาณ 91.94 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมที่มีจำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ประมาณ 87.04 เปอร์เซ็นต์ (ดังตารางที่ 8)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่อคุณภาพของตัวอ่อน (อัตราส่วนของจำนวนตัวอ่อนที่มีคุณภาพต่างๆต่อจำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ทั้งหมด) พบว่าแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม มีจำนวนตัวอ่อนที่มีคุณภาพเกรด 1 เกรด 2 เกรด 3 เกรด 4 ตัวอ่อนเสื่อมคุณภาพหรือไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ และตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ (ตัวอ่อนเกรด 1 และเกรด 2) เท่ากับ 30.19, 33.96, 9.43, 1.89, 24.53 และ 64.15 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมที่มีจำนวนตัวอ่อนที่มีคุณภาพเกรด 1 เกรด 2 เกรด 3 เกรด 4 ตัวอ่อนเสื่อมคุณภาพหรือไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ และตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้เท่ากับ 42.86, 23.81, 9.52, 4.76, 19.05 และ 66.67 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ดังตารางที่ 7) และโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม มีจำนวนตัวอ่อนที่มีคุณภาพเกรด 1 เกรด 2 เกรด 3 เกรด 4 ตัวอ่อนเสื่อมคุณภาพหรือไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ และตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้เท่ากับ 43.86, 24.56, 7.02, 1.75, 22.81 และ 68.42 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมที่มีจำนวนตัวอ่อนที่มีคุณภาพเกรด 1 เกรด 2 เกรด 3 เกรด 4 ตัวอ่อนเสื่อมคุณภาพหรือไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ และตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้เท่ากับ 34.04, 31.91, 4.26, 6.38, 23.40 และ 65.96 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ดังตารางที่ 8)

3. ผลของระดับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่อการพัฒนาของตัวอ่อนในระยะต่างๆ

เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่อการพัฒนาของตัวอ่อนในระยะต่างๆ (ดังภาพผนวกที่ 1-5) (อัตราส่วนของจำนวนตัวอ่อนที่มีระยะการพัฒนาต่างๆต่อจำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ทั้งหมด) พบว่าแม่โคที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม มีจำนวนตัวอ่อนระยะมอรูล่า ระยะคอมแพ็คมอรูล่า ระยะบลาสโตซีสระยะต้น และระยะบลาสโตซีสเท่ากับ 16.98, 16.98, 15.09 และ 26.42 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมที่มีจำนวนตัวอ่อนระยะมอรูล่า ระยะคอมแพ็คมอรูล่า ระยะบลาสโตซีสระยะต้น และระยะบลาสโตซีสเท่ากับ 14.29, 14.29, 19.05 และ 33.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ดังตารางที่ 9) และโคสาวที่ได้รับฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม มีจำนวนตัวอ่อนระยะมอรูล่า ระยะคอมแพ็คมอรูล่า ระยะบลาสโตซีสระยะต้น และระยะบลาสโตซีสเท่ากับ 7.02, 7.02, 21.05 และ 42.11 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมที่มีจำนวนตัวอ่อน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ระยะมอรูล่า ระยะคอมแพ็คมอรูล่า ระยะบลาสโตซีสระยะต้น และระยะบลาสโตซีสเท่ากับ 17.02, 6.38, 17.02 และ 34.04 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ดังตารางที่ 10)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 7 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมดและคุณภาพของตัวอ่อนในแม่โค

ลักษณะการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่	ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (มิลลิกรัม)	
	200	**250**
จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	15.00 ± 4.28 (6-34)	7.25 ± 4.28 (4-12)
จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด (ใบ) *	13.25 ± 4.30 (4-33)	5.25 ± 4.30 (2-10)
	88.33 %	72.41 %
คุณภาพของตัวอ่อน		
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 1 (ใบ) **	4.00 ± 2.22 (0-11)	2.25 ± 2.22 (0-8)
	30.19 %	42.86 %
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 2 (ใบ) **	4.50 ± 1.29 (1-11)	1.25 ± 1.29 (0-2)
	33.96 %	23.81 %
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 3 (ใบ) **	1.25 ± 0.64 (0-4)	0.50 ± 0.64 (0-1)
	9.43 %	9.52 %
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 4 (ใบ) **	0.25 ± 0.25 (0-1)	0.25 ± 0.25 (0-1)
	1.89 %	4.76 %
ตัวอ่อนเสื่อมคุณภาพหรือไข่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ (ใบ) **	3.25 ± 0.95 (0-7)	1.00 ± 0.95 (0-2)
	24.53 %	19.05 %
ตัวอ่อนคุณภาพที่สามารถย้ายฝากได้ (ใบ) **	8.50 ± 3.48 (3-22)	3.50 ± 3.48 (0-10)
	64.15 %	66.67 %

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (ค่าพิสัย)

* ค่าที่เป็นเปอร์เซ็นต์ (%) ของจำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมดคือ (จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด / จำนวนคอร์ปัสลูเทียม) x 100

** ค่าที่เป็นเปอร์เซ็นต์ (%) ของคุณภาพตัวอ่อนคือ (จำนวนตัวอ่อนที่มีคุณภาพต่างๆ / จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด) x 100

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 8 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด และคุณภาพของตัวอ่อนในโคสาว

ลักษณะการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่	ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (มิลลิกรัม)	
	200	**250**
จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	15.50 ± 3.40 (7-31)	13.50 ± 3.40 (11-16)
จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด (ใบ) *	14.25 ± 3.61 (6-30)	11.75 ± 3.61 (9-15)
	91.94 %	87.04 %
คุณภาพของตัวอ่อน		
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 1 (ใบ) **	6.25 ± 2.46 (1-14)	4.00 ± 2.46 (1-7)
	43.86 %	34.04 %
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 2 (ใบ) **	3.50 ± 0.73 (0-8)	3.75 ± 0.73 (0-7)
	24.56 %	31.91 %
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 3 (ใบ) **	1.00 ± 0.50 (0-2)	0.50 ± 0.50 (0-1)
	7.02 %	4.26 %
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 4 (ใบ) **	0.25 ± 0.50 (0-1)	0.75 ± 0.50 (0-2)
	1.75 %	6.38 %
ตัวอ่อนเสื่อมคุณภาพหรือไข่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ (ใบ) **	3.25 ± 1.75 (0-6)	2.75 ± 1.75 (1-8)
	22.81 %	23.40 %
ตัวอ่อนคุณภาพที่สามารถย้ายฝากได้ (ใบ) **	9.75 ± 3.01 (1-22)	7.75 ± 3.01 (1-12)
	68.42 %	65.96 %

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย (ค่าพิสัย)

* ค่าที่เป็นเปอร์เซ็นต์ (%) ของจำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมดคือ (จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด / จำนวนคอร์ปัสลูเทียม) x 100

** ค่าที่เป็นเปอร์เซ็นต์ (%) ของคุณภาพตัวอ่อนคือ (จำนวนตัวอ่อนที่มีคุณภาพต่างๆ / จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด) x 100

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 9 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในแม่โค

ระยะการพัฒนาของตัวอ่อน*	ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (มิลลิกรัม)	
	200	**250**
ตัวอ่อนระยะมอรูล่า (ใบ)	2.25 ± 0.56	0.75 ± 0.56
	(16.98 %)	(14.29 %)
ตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า (ใบ)	2.25 ± 0.79	0.75 ± 0.79
	(16.98 %)	(14.29 %)
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น (ใบ)	2.00 ± 1.58	1.00 ± 1.58
	(15.09 %)	(19.05 %)
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส (ใบ)	3.50 ± 1.29	1.75 ± 1.29
	(26.42 %)	(33.33 %)

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย

* ค่าที่เป็นเปอร์เซ็นต์ (%) ของระยะการพัฒนาของตัวอ่อนคือ (จำนวนตัวอ่อนที่มีระยะการพัฒนาต่างๆ / จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด) x 100

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางที่ 10 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในโคสาว

ระยะการพัฒนาของตัวอ่อน*	ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (มิลลิกรัม)	
	200	**250**
ตัวอ่อนระยะมอรูล่า (ใบ)	1.00 ± 0.75	2.00 ± 0.75
	(7.02 %)	(17.02 %)
ตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า (ใบ)	1.0 0± 0.18	0.75 ± 0.18
	(7.02 %)	(6.38 %)
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น (ใบ)	3.00 ± 1.00	2.00 ± 1.00
	(21.05 %)	(17.02 %)
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส (ใบ)	6.00 ± 2.24	4.00 ± 2.24
	(42.11 %)	(34.04 %)

หมายเหตุ ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนของค่าเฉลี่ย

* ค่าที่เป็นเปอร์เซ็นต์ (%) ของระยะการพัฒนาของตัวอ่อนคือ (จำนวนตัวอ่อนที่มีระยะการพัฒนาต่างๆ / จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด) x 100

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิจารณ์

1. ผลของระดับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม

การทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาระดับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน ทั้งที่เป็นแม่โคและโคสาว ผลจากการศึกษาพบว่าโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนที่เป็นโคเนื้อที่มีพันธุกรรมของโคพันธุ์ชาโรเลส์ 50 เปอร์เซ็นต์ โคพันธุ์บราห์มัน 25 เปอร์เซ็นต์ และโคพื้นเมือง 25 เปอร์เซ็นต์สามารถตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ โดยมีการตกไข่มากกว่าหนึ่งใบ ซึ่งการตกไข่ในวงรอบการเป็นสัดปกติตามธรรมชาติของโคนั้นมีการตกไข่เพียงหนึ่งใบเท่านั้น (มงคล, 2543) โดยแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมมีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 15.00 ± 4.28 ใบ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัม ที่มีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 7.25 ± 4.28 ใบ และโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมมีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 15.5 ± 3.40 ใบ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัม ที่มีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 13.5 ± 3.40 ใบ โดยโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนทั้งที่เป็นแม่โคและโคสาวเมื่อได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมนั้นไม่มีผลตอบสนองทำให้การตกไข่เพิ่มมากขึ้นกว่าแม่โคและโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัม อาจเป็นไปได้ว่ารังไข่นั้นมีตัวรับสัญญาณเพื่อตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนอยู่ที่เซลล์แกรนูโลซาของแอนทรัลฟอลลิเคิลในการเพิ่มการตกไข่ โดยมีตัวรับสัญญาณที่มีจำนวนจำกัด และเมื่อโคได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับต่ำ ทำให้รังไข่ยังมีตัวรับสัญญาณมากเพียงพอในการตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน และยังคงมีตัวรับสัญญาณเหลืออยู่ แต่เมื่อให้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับสูงขึ้นในระดับหนึ่ง รังไข่จึงมีการตอบสนองต่อการตกไข่ที่คงที่ไม่ทำให้มีการตอบสนองต่อการตกไข่เพิ่มขึ้น (Gonzalez *et al.*, 1990; Hockley *et al.*, 1992; Mishra *et al.*, 1990) สอดคล้องกับรายงานของ Barati *et al.* (2006) ที่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคเนื้อพื้นเมืองพันธุ์ Sistani ในประเทศอิหร่าน โดยใช้ฮอร์โมนที่ระดับ 120, 160 และ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่ามีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 8.2, 9.6 และ 9.4 ใบ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) สอดคล้องกับรายงานของ Baruselli *et al.* (2006) ที่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคเนื้อพันธุ์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Nelore ในประเทศบราซิลโดยใช้ฮอร์โมนที่ระดับ 100, 133 และ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่ามีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 13.0, 12.1 และ14.9 ใบ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และสอดคล้องกับรายงานในประเทศไทยของ ชโลธร (2551) ที่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคพื้นเมืองอีสาน โดยใช้ฮอร์โมนที่ระดับ 100, 150 และ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่ามีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 8.67, 11.67 และ 10.17 ใบ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เช่นเดียวกับรายงานของ ฉรงค์ และคณะ (2549) ที่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคพื้นเมืองขาวลำพูน โดยใช้ฮอร์โมนที่ระดับ 150 และ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่ามีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 11.75 และ 10.71 ใบ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และเช่นเดียวกับรายงานของชาญยุทธ และคณะ (2552) ที่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคพื้นเมืองภาคใต้ โดยใช้ฮอร์โมนที่ระดับ 150 และ 200 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่ามีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 5.94 และ 6.59 ใบ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และสอดคล้องกับรายงาน Sumretprasong *et al.* (2008) ที่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคนมลูกผสมพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเชี่ยน โดยใช้ฮอร์โมนที่ระดับ 260 และ 360 มิลลิกรัม (NIH-FSH-P1) พบว่ามีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ยเท่ากับ 15.4 และ 12.8 ใบ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) และสอดคล้องกับรายงานของ Hockley *et al.* (1992) ที่ทำการเปรียบเทียบผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (NIH-FSH-P1) ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในแม่โคเนื้อลูกผสมประเทศแคนาดา พบว่าแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมมีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมเฉลี่ย (3.60 ใบ) ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 400, 600 และ 800 มิลลิกรัม (23.3, 25.0 และ13.9 ใบ ตามลำดับ) และแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 400 มิลลิกรัมมีจำนวนฟอลลิเคิลที่ไม่ตกไข่เฉลี่ยเท่ากับ 1.9 และ 3.3ใบตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับแม่โคที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 600 และ 800 มิลลิกรัม (8.0 และ 11.1 ใบ ตามลำดับ)

การศึกษาการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนครั้งนี้ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์จำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้เฉลี่ยทั้งในแม่โค (83.15 เปอร์เซ็นต์) และโคสาว (89.66 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการล้างเก็บไข่และตัวอ่อนไม่สามารถล้างเก็บได้ทั้งหมด อาจเป็น

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพราะว่าในวันที่ 7 หลังจากการแสดงอาการเป็นสัดที่ทำการล้างเก็บตัวอ่อนนั้น ตัวอ่อนส่วนใหญ่ ประมาณ 92 เปอร์เซ็นต์ จะเคลื่อนตัวมาอยู่ที่ปีกมดลูก และตัวอ่อนอีก 8 เปอร์เซ็นต์ยังคงอยู่ที่ท่อนำไข่ ซึ่งไม่สามารถทำการล้างเก็บตัวอ่อนทั้งหมดได้จากการล้างเก็บตัวอ่อนแบบวิธีไม่ผ่าตัด นอกจากนั้นความสูญเสียตัวอ่อนอาจมาจากการที่รังไข่ได้รับการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่นั้น เมื่อเกิดการตกไข่จากฟอลลิเคิลแล้ว ไข่อาจไม่ตกลงในปากแตรของท่อนำไข่ทั้งหมด หรือเกิดจากการที่ตัวอ่อนมีการเกาะอยู่หรือหลบซ่อนอยู่ตามผนังของมดลูกที่มีลักษณะพับซ่อนกัน หรือตัวอ่อนอาจกลับเข้าไปยังท่อนำไข่ด้วยแรงดันของน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อน ซึ่งก็อาจเป็นไปได้ว่าการที่นับจำนวนคอร์ปัสลูเทียมได้มากกว่าจำนวนตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ (Alvarez *et al.*, 1999; Betteridge *et al.*, 1980; Newcomb *et al.*, 1978)

2. ผลของระดับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่อคุณภาพของตัวอ่อน

เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัมทั้งในแม่โคและโคสาวต่อคุณภาพของตัวอ่อน พบว่าแม่โคและโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนทั้งที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัม มีเปอร์เซ็นต์คุณภาพของตัวอ่อนเกรด 1 เกรด 2 เกรด 3 เกรด 4 ตัวอ่อนเสื่อมคุณภาพหรือไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ และตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ (ตัวอ่อนเกรด 1และเกรด 2) แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อาจเป็นเพราะว่าปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพตัวอ่อนนั้นคือความสมบูรณ์พันธุ์ของร่างกายสัตว์ ซึ่งสภาพความสมบูรณ์ของร่างกายสัตว์สามารถพิจารณาได้จากคะแนนรูปร่างของสัตว์ โดยสามารถบ่งบอกถึงสภาวะโภชนาการที่สัตว์ได้รับ (Nicholson and Butterworth, 1986) ซึ่งโภชนะอาหารที่ร่างกายสัตว์ได้รับมีผลต่อระบบต่อมไร้ท่อ และการแปลงสัญญาณในการทำงานของระบบสืบพันธุ์ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญและพัฒนาของฟอลลิเคิล การแบ่งเซลล์ของตัวอ่อนที่สมบูรณ์ (Santos *et al.*, 2008) และ Armstrong *et al.* (2001) รายงานว่า โภชนะอาหารในส่วนของพลังงานและโปรตีนที่โคได้รับเข้าไปมีผลโดยตรงต่อระบบอินสุลินไลค์โกรทแฟคเตอร์ของรังไข่ ซึ่งระดับความเข้มข้นของอินสุลินไลค์โกรทแฟคเตอร์มีผลทั้งในการกระตุ้น การเพิ่มจำนวน (proliferation) และการเปลี่ยนแปลง (differentiation) ของเซลล์แกรนูโลซาในกระบวนการเจริญและพัฒนาของฟอลลิเคิลโดยตรง (มงคล, 2543; Ryan *et al.*, 1994) อีกทั้งอินสุลินไลค์โกรทแฟคเตอร์ยังมีผลทำให้เซลล์แกรนูโลซาเพิ่มความไวในการตอบสนองต่อฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนของฟอลลิเคิล (มงคล, 2543) โดยการทดลองครั้งนี้ได้ทำการจัดการทางด้านอาหารแก่สัตว์ทดลองคือ สัตว์ทุกตัวจะได้รับอาหารข้นที่มีปริมาณโปรตีน 16 เปอร์เซ็นต์ และได้รับอาหารหยาบ (หญ้าขน) ปริมาณเต็มที่ ซึ่งสอดคล้องกับ สรรเพชญ และคณะ (2546) รายงานว่าโภชนะของอาหารจะมีผลต่อการกระตุ้นเพิ่ม

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การตกไข่ โดยพบว่าโคที่ได้รับอาหารข้นที่มีระดับโปรตีนพอเหมาะ (ระดับโปรตีน 16 ถึง 19 เปอร์เซ็นต์) สามารถทำให้รังไข่มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ได้ดี และผลิตตัวอ่อนที่มีคุณภาพสามารถย้ายฝากได้มากขึ้น แต่เมื่อโคได้รับอาหารโปรตีนสูงมาก จะทำให้ผลผลิตตัวอ่อนที่มีคุณภาพสามารถย้ายฝากได้ลดน้อยกว่า ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าการให้อาหารที่มีระดับของโปรตีนที่ย่อยสลายได้สูง จะทำให้ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียในพลาสมาสูงขึ้น และทำให้เพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียในของเหลวในฟอลลิเคิลด้วย ซึ่งจะทำให้มีผลต่อรูปแบบการเจริญของฟอลลิเคิล และลดทั้งจำนวนของไข่ที่แบ่งตัวหลังจากการผสม และสัดส่วนของเอ็มบริโอที่จะเจริญถึงระยะบลาสโตซิส (Sinclair *et al.*, 2001) ส่วนรายงานของ Mantovani *et al.* (1993) พบว่าการจำกัดอาหารให้แก่โคเนื้อสาวในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ จะทำให้ได้จำนวนตัวอ่อนที่มีคุณภาพที่สามารถนำไปย้ายฝากได้ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับโคเนื้อสาวที่ได้รับอาหารข้นเต็มที่ตามความต้องการของร่างกาย

3. ผลของระดับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่อการพัฒนาของตัวอ่อนในระยะต่างๆ

เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนต่อการพัฒนาของตัวอ่อนในระยะต่างๆ โดยทำการล้างเก็บตัวอ่อนแบบวิธีไม่ผ่าตัดในวันที่ 7 หลังจากการแสดงอาการเป็นสัด พบว่าตัวอ่อนที่ทำการล้างเก็บได้ส่วนใหญ่อยู่ที่ระยะมอรูล่า ระยะคอมแพ็คมอรูล่า ระยะ บลาสโตซีสระยะต้น และระยะบลาสโตซีส และพบว่าแม่โคและโคสาวที่ได้รับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนทั้งที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัม มีเปอร์เซ็นต์ของตัวอ่อนระยะมอรูล่า ระยะคอมแพ็คมอรูล่า ระยะบลาสโตซีสระยะต้น และระยะบลาสโตซีสแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งอาจเป็นเพราะว่าฟอลลิเคิลบนรังไข่ที่เกิดจากการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนนั้นมีจำนวนมากทำให้ฟอลลิเคิลทั้งหมดมีการตกไข่ไม่พร้อมกัน สอดคล้องกับรายงานของ Kishida *et al.* (2004) พบว่าโคที่ถูกกระตุ้นให้มีการตกไข่หลายใบจะมีช่วงระยะเวลาของการตกไข่ของฟอลลิเคิลโดยเฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 24 ถึง 30 ชั่วโมงหลังจากการแสดงอาการเป็นสัด และการตกไข่ทั้งหมดจะเกิดขึ้นโดยเฉลี่ยจะอยู่ที่ช่วงระยะเวลาประมาณ 11 ชั่วโมงหลังจากการตกไข่ครั้งแรก ซึ่งทำให้ไข่เมื่อตกลงมาจากฟอลลิเคิลเกิดการปฏิสนธิกับอสุจิไม่พร้อมกันทั้งหมด อีกทั้งไข่แต่ละใบจะมีความสามารถในการพัฒนาในอัตราที่แตกต่างกัน จึงทำให้เกิดการพัฒนาเป็นตัวอ่อนที่ระยะแตกต่างกันออกไป แต่จะมีการพัฒนาที่ระยะ ที่แตกต่างกันประมาณ 24 ถึง 48 ชั่วโมง (Lindner and Wright, 1983) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Saito (1994) และ Triveni *et al.* (1995) กล่าวว่าการล้างเก็บตัวอ่อนแบบวิธีไม่ผ่าตัดในวันที่ 7 ถึง 8 หลังจากการแสดงอาการเป็นสัดจะพบตัวอ่อนระยะมอรูล่าถึงระยะบลาสโตซีสเป็นส่วนใหญ่ โดยการแบ่งเซลล์

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ของตัวอ่อนในโคปกติจะมีการแบ่งเซลล์จนพัฒนาไปสู่ระยะมอรูล่าในวันที่ 5 ถึง 6 และเข้าสู่ระยะระยะบลาสโตซีสในวันที่ 7 ถึง 9 ภายหลังจากการตกไข่และปฏิสนธิ (Saito, 1994)

จากการทดลองครั้งนี้เห็นได้ว่าการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนที่เป็นโคลูกผสมระหว่างสายพันธุ์ตระกูลอินเดียและสายพันธุ์ตระกูลยุโรป พบว่า สามารถใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมทั้งในแม่โคและโคสาว โดยเป็นระดับที่ลดลงต่ำประมาณ 40 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ กว่าระดับปกติที่แนะนำจากฉลากคู่มือของการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (Folltropin®-V, Vetrepharm (A/Asia) Pty. Ltd., Australia) (ดังภาพผนวกที่ 6) ที่แนะนำให้ใช้ที่ระดับ 400 มิลลิกรัม (National institutes of Health (U.S.A.) reference standard NIH-FSH-P1) หรือตามรายงานของ Lewis (1992) ที่แนะนำว่าระดับฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ที่เหมาะสมสำหรับโคสายพันธุ์ตระกูลยุโรปอยู่ที่ระดับประมาณ 360 ถึง 400 มิลลิกรัม ส่วนโคสายพันธุ์ตระกูลอินเดียนั้น ระดับการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนจะต่ำกว่าประมาณ 25 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ (ประมาณ 250 ถึง 280 มิลลิกรัม) และจากผลการทดลองครั้งนี้ยังพบว่ามีแม่โค 1 ตัว และโคสาว 1 ตัวเมื่อถูกกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมนั้นมีการตอบสนองโดยมีอัตราการตกไข่ที่สูงมากถึง 30 ใบ แสดงว่าโคพันธุ์กำแพงแสนนั้นมีความผันแปรในการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน สอดคล้องกับรายงานของ Hahn (1992) และ Baruselli *et al.* (2006) ว่าโคแต่ละตัวและแต่ละสายพันธุ์นั้นจะมีลักษณะเฉพาะตัว ทำให้โคแต่ละสายพันธุ์นั้นมีความผันแปรในการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน ไม่ว่าจะเป็นเรื่องของอัตราการตกไข่ จำนวนตัวอ่อนทั้งหมดและจำนวนตัวอ่อนที่มีคุณภาพดี

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผล

1. จากการศึกษาการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัม สามารถเพิ่มการตกไข่ได้ในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนทั้งที่เป็นแม่โคและโคสาว

2. การใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัมในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่นั้น ให้ผลการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ โดยมีเปอร์เซ็นต์จำนวนไข่และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ เปอร์เซ็นต์ของตัวอ่อนที่มีคุณภาพต่างๆ และเปอร์เซ็นต์ของตัวอ่อนที่ระยะการพัฒนาต่างๆ ไม่แตกต่างกันในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนทั้งที่เป็นแม่โคและโคสาว

ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่สามารถใช้ได้ทั้งที่ระดับ 200 และ 250 มิลลิกรัมในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสนทั้งที่เป็นแม่โคและโคสาว ทั้งนี้การใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนควรคำนึงถึงความเหมาะสมในแง่ของต้นทุนและประสิทธิภาพในการผลิตตัวอ่อนให้มีประสิทธิภาพสูงสุด เนื่องจากฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่นั้นต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาแพง

2. ควรมีการศึกษาวิจัยต่อไปถึงระดับที่เหมาะสมที่สุดของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ใช้ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดในการผลิตตัวอ่อน

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

จุรีรัตน์ สำเร็จประสงค์, มาลี อภิเมธีธำรง, ณรงค์ เลี้ยงเจริญ, อนนท์ เทืองสันเทียะ และกีรติ ธิแจ้. 2549. **การผลิตตัวอ่อนโคในระดับฟาร์ม**. เอกสารเพิ่มเติมในหนังสือ 50 ปี งานผสมเทียมในประเทศไทย ในการประชุมสัมมนา Enhancement of Reproductive Efficiency and Production of Livestock in Thailand. 14 ธันวาคม 2549. โรงแรมเชียงใหม่ฮิลล์ จังหวัดเชียงใหม่.

ชโรธร อัมพร. 2551. **ระดับของฮอร์โมน FSH ที่มีผลต่อการตอบสนองการตกไข่ และคุณภาพของตัวอ่อนในโคพื้นเมืองไทย**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ชาญยุทธ กลพล, อนนท์ เทืองสันเทียะ, ณรงค์ เลี้ยงเจริญ และมาลี อภิเมธีธำรง. 2552. **ผลของขนาดฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ต่อการเพิ่มการตกไข่และจำนวนตัวอ่อนในโคพื้นเมืองภาคใต้**. การประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ครั้งที่ 10. วันที่ 3-4 มิถุนายน 2552. หน้า 162-167.

ณรงค์ เลี้ยงเจริญ, อนนท์ เทืองสันเทียะ, วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกูร และมาลี อภิเมธีธำรง. 2549. **ผลของขนาดฮอร์โมนเอฟเอสเอชต่อการเพิ่มการตกไข่และจำนวนตัวอ่อนในโคขาวลำพูน**. เอกสารเพิ่มเติมในหนังสือ 50 ปี งานผสมเทียมในประเทศไทย ในการประชุมสัมมนา Enhancement of Reproductive Efficiency and Production of Livestock in Thailand 14 ธันวาคม 2549. โรงแรมเชียงใหม่ฮิลล์ จังหวัดเชียงใหม่.

เทวินทร์ วงษ์พระลับ, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา, พิทักษ์ เผ่าผา, อดิศักดิ์ สังข์แก้ว, มังกร วงศ์ศรี และมานิตย์ สนธิไชย. 2545. **การเก็บน้ำเชื้อ และคัพภะโคพื้นเมืองโดยวิธีแช่แข็ง**. รายงานการวิจัยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภททุนอุดหนุนทั่วไป งบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีงบประมาณ 2542.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปรารถนา พฤกษะศรี. 2548. **โคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน**. ศูนย์วิจัยและพัฒนาการผลิตกระบือและโค สถาบันสุวรรณวาจกกสิกิจเพื่อการค้นคว้าและพัฒนาปศุสัตว์และผลิตภัณฑ์สัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม.

มงคล เตชะกำพุ. 2543. **เทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ในปศุสัตว์**. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 681 หน้า

รังสรรค์ พาลพ่าย และสรรเพชญ โสภณ. 2530. เทคนิคการย้ายฝากตัวอ่อนในโคนมโดยไม่ผ่าตัด. มณีวรรณ กมลพัฒนะ (บรรณาธิการ). **การปฏิสนธิในหลอดแก้วและการย้ายฝากตัวอ่อน**. โรงพิมพ์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. หน้า 133-157.

วิทวัส เวชกูล. 2544. **การเพิ่มการตกไข่ในโคพื้นเมืองไทยโดยใช้ Follicle Stimulating Hormone และ Pregnant Mare serum Gonadotrophin**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาสัตวศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สหัส นุชนารถ และเทวินทร์ วงษ์พระลับ. 2549. **ผลของสภาพคะแนนรูปร่างของโคนมสาวตัวให้และชุดฮอร์โมนชนิดเอฟเอสเฮช (Folltrophine® P) ที่ผลิตต่ออัตราการตกไข่ และอัตราการเก็บรวบรวมตัวอ่อน**. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 วันที่ 31 มกราคม 2549. หน้า 185-190.

สรรเพชญ โสภณ, เกรียงศักดิ์ ทาศรีภู และราตรี จินตนา. 2546. **การย้ายฝากตัวอ่อนในโคบราห์มัน: ผลของระดับโปรตีนในอาหารข้นที่มีต่อประสิทธิภาพการผลิตตัวอ่อน**. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41 วันที่ 3-7 กุมภาพันธ์ 2546. หน้า 96-102.

สมาคมโคเนื้อพันธุ์กำแพงแสน. 2552. **จดหมายข่าวฉบับพิเศษ** เดือนพฤศจิกายน. 35 หน้า

ศูนย์ถ่ายทอดเทคโนโลยีการผสมเทียม สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. 2546. **โคนม โคเนื้อ และการผสมเทียม เล่มที่ 6**. 869 หน้า

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อนนท์ เทืองสันเทียะ, วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกูร, ณรงค์ เลี้ยงเจริญ, กีรติ ธิแจ้, บุญชู ศรีสุข และจุรีรัตน์ สำเร็จประสงค์. 2547. **การตอบสนองของโคพันธุ์ขาวลำพูนต่อการกระตุ้นการตกไข่**. การประชุมวิชาการสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 30. วันที่ 10-12 พฤศจิกายน 2547. กรุงเทพมหานคร.

Alvarez, R.H., Carvalho, J.B.P. and Carvalho, M.I.A.A.B. 1999. Embryos retained in the oviduct as a factor of variation on the final recovery rate after uterus flushing in superovulated cows. **Boletim. De. Ind. Anim**. 56: 89–93.

Adams, G.P., Nasser, L.F., Bo G.A., Mapletof, R.J., Garcia, A. and Del Campo, M.R. 1994. Superstimulatory response of ovarian follicles of wave 1 versus wave 2 in heifers. **Theriogenology**. 42: 1103–1113.

Armstrong, D.G., McEvoy, T.G., Baxter, G., Robinson, J.J., Hogg, C.O., Woad, K.J., Webb, R. and Sinclair, K.D. 2001. Effect of Dietary Energy and Protein on Bovine Follicular Dynamics and Embryo Production In Vitro: Associations with the Ovarian Insulin-Like Growth Factor System. **Biol. Reprod**. 64: 1624–1632.

Betteridge, K.J. 1977. Superovulation. In K.J. Betteridge (ed.). **Embryo transfer in farm animal**. Monograph No. 16. Canada Deparment of Agriculture, Ottawa.

Bearden, J.H. and Funquay, J.W. 1992. **Applied animal reproduction**. Third Edition. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New, New Jersey.

Betteridge, K.L., Eaglesome, M.D. and Randal, G.C. 1980. Collection, description and transfer of embryos fromcattle 10–16 days after estrus. **J. Reprod. Fertil**. 59: 205–216.

Bo, G.A., Guerrero, D.C. and Adams, G.P. 2008. Alternative approaches to setting up donor cows for superstimulation. **Theriogenology**. 69: 81–87.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Bo, G.A., Adams, G.P., Pierson, R.A. and Mapletoft, R.J. 1996. Effect of progestogen plus estradlol-17p treatment on superovulatory response in beef cattle. **Theriogenology**. 45: 897-910.

Bo, G.A., Hockley, D.K., Nasser, L.F. and Mapletoft, R.J. 1994. Superovulatory response to a single subcutaneous ejection of folltropin-v in beef cattle. **Theriogenology**. 42:963-975.

Barati, F., Niasari_Naslaji, A.; Bolourchi, M., Sarhaddi, F., Razavi, K., Naghzali, E. and Thatcher, W.W. 2006. Superovulatory response of Sistani cattle to three different doses of FSH during winter and summer. **Theriogenology**. 66: 1149-1155.

Baruselli, P.S., Sa Filho, M.F., Martins, C.M., Nasser, L.F., Nogueria, M.F.G., Barros, C.M. and Bo, G.A. 2006. Superovulation and embryo transfer in Bos indicus cattle. **Theriogenology**. 65: 77-88.

Bo, G.A., Hockley, D., Tribulo H., Jofre, F., Tribulo, R., Busso, N., Barth, A.D. and Mapletoft, R.J. 1991. The effect of dose schedule and route of administration on superovulatory response to Folltropin in the cow. **Theriogenology**. 35: 186 (Abstract).

Critser, J.K., Gunsett, F.C. and Winch, R.P. 1979. Factors affecting ova transfer in Limousin, Maine-anjou and Simmental cattle. **Theriogenology**. 11: 95 (Abstract).

Castro Neto, A.S., Sanches, B.V., Binelli, M., Seneda, M.M., Perri, S.H. and Garcia, J.F. 2005. Improvement in embryo recovery using double uterine flushing. **Theriogenology**. 63: 1249–1255.

Callejas, S., Alberio, R., Cabodevila, J., Aller J., Catalano, R., Teruel, M. and Dulout, F. 2008. Effect of progesterone administration on the ovarian response to superovulatory treatments in cattle. **Anim. Reprod. Sci**. 107: 9–19.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Donaldson, L.E. 1984. Effect of age of the donor cows on embryo production. **Theriogenology**. 21: 963.

_____, L.E. 1994. The development of Supper-OV® from FSH-pTM. **Embryo Transfer Newsletter**. 12: 17-25.

Dominquez, M.M. 1995. Effect of body condition, reproductive status and bred follicular population and oocyte quality in cow. **Theriogenology**. 43: 1405-1418.

Detterer, J., Schmidt, T. and Harlizius, B. 1997. Factors influencing the variability in superovulation result in German Holstein cattle. **Theriogenology**. 47: 169 (Abstract).

Dieleman, S.J., Bevers, M.M., Wurth, Y.A., Gielen, J.T. and Willemse, A.H. 1989. Improved embryo yield and condition of donor ovaries in cows after PMAG superovulation with monoclonal anti-PMSG administered shortly after the preovulatory LH peak. **Theriogenology**. 31: 473-487.

D'Occhio, M.J., Sunda, G., Jillella, D., Whyte, T., Maclellan, L.J., Walsh, J., Trigg, T.E. and Miller, D. 1997. Use of a GnRH agonist to prevent the endogenous surge and injection of exogenous to induce ovulation in heifers superstimulated with FSH: a new model for superovulation. **Thenogenology**. 47: 601-613.

Elsden, R.P. and Seidel, G.E.Jr. 1984. **Embryo transfer Procedures for cattle**. In Proceeding No. 70. Bovine embryo transfer workshop. The University of Sydney, Sydney.

Felig, P., Baxter, J.D., Broadus, A.E. and Froman, L.A. (eds). 1995. **Endocrinology and Metabolism**, 3rd edition. New York, McGraw Hill.

Greer, R.C., Staigmiller, R.B. and Parrish, J.J. 1992. Female traits, ovary and follicle characteristics and the conditional probablility of normal oocyte development after superovulation of beef cows. **J. Anim. Sci**. 70: 263-272.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Guilbault, L.A., Grasso, F., Lussier, J.G., Rouiller, P. and Matton, P. 1991. Decreased superovulatory responses in heifers superovulated in the presence of dominant follicle. **J. Reprod. Fert**. 91: 81-89.

Gonzalez, A., Lussier, J.G., Camtthers, T.D., Murphy, B.D. and Mapletoft, R.J. 1990. Superovulation of beef heifers with Folltropin: a new preparation containing reduced LH activity. **Theriogenology**. 33: 519-529.

Hafez, E.S.E. 1987. **Reproduction in farm animals**. 5th edition, Lea and Febiger, USA.

Heath, T.D. 1984. **Superovulation, Breed comparison and Drug comparisons**. In Proceeding No. 70. Bovine embryo transfer workshop. The University of Sydney, Sydney.

Hahn, J. 1992. Attempts to explain and reduce variability of superovulation. **Theriogenology**. 38: 269-275.

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

Jillella, D. 1982. **Embryo transfer Technology and its application in developing countries**. A monograph developed for national seminars to be conducted in India, Indonesia, Malaysia, Phillippines, Sri Lanka and Thailand during Dec. 59 pp.

Kornmatitsuk, S., Chantaraprateep, P., Kornmatitsuk, B. and Larsson, B. 2007. Characteristics of oestrous cycles in Indigenous-Holstein cross-bred dairy heifer: A discovery of a "spontaneous" delayed post-ovulatory progesterone rise. Trop. **Anim. Health. Prod**. (submitted).

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Kelly, P., Duffy, P., Roche, J.F. and Boland, M.P. 1997. Superovulation in cattle: effect of FSH type and method of administration on follicular growth, ovulatory response and endocrine patterns. **Theriogenolog**y. 46: 1–14.

Ko, J.C.H., Kastelic, J.P., Campo, D.M.R. and Ginther, O.J. 1991. Effect of follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in the heifer**. J. Reprod. Fertil**. 91: 511-519.

Kishida, K., Nishisouzu, T., Iwata, M., Dochi, O. and Koyama, H. 2004. The onset and duration of ovulation in dairy cows superovulated following synchronization of follicle wave with CIDR and estradiol benzoate. **Reprod. Fertil. Dev**. 16: 288-289.

Krininger, III C.E., Block, J., Al-Katanani, Y.M., Rivera, R.M., Chase, Jr.C.C. and Hansen, P.J. 2003. Differences between Brahman and Holstein cows in response to estrous synchronization, superovulation and resistance of embryos to heatshock. **Anim. Reprod. Sci**. 78: 13–24.

Kim, I.H., Son, D.S., Yeon, S.H., Choi, S.W., Park, S.B., Ryu, I.S., Suh, G.H., Lee, D. W., Lee, C.S., Lee, H.J. and Yoon, J.T. 2001. Effect of dominant follicle removal before superstimulation on follicular growth, ovulation and embryo production in Holstein cows. **Theriogenology**. 55: 937–945.

Lewis, I. 1992. P**rogramming donors and recipients. In: Embryo transfer and pregnancy diagnosis**. NSW: Post Graduate Committee in VeterinaryScience, University of Sydney. pp. 69–88.

Lindner, G.M. and Wright, R.W. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. **Theriogenology**. 20: 407-416.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Lovie, M., Garcla, A., Hackett, A. and Mapletoft, R.J. 1994. The effect of dose schedule and route of administration on superovulatory response to folltropin in holstein cows. **Theriogenology**. 41: 241 (Abstract).

Lucy, M.C., Savio, J.D,. Banding, L. and De lasota, R.L. 1992. Factors that effect ovarian follicular dynamics in cattle. **J. Anim. Sci**. 70: 3615–3626.

Lerner, S.P., Thayne, W.V., Baker, R.D., Henschen, T., Meredith, S., Inskeep, E.K., Dailey, R.A., Lewis, P.E. and Butcher, R.L. 1986. Age, Dose of FSH and other factors affecting superovulation in Holstein cow. **J. Anim. Sci**. 63: 176-183.

Moor, M.W. 1984. Embryo transfer in cattle. In Proceeding No. 70. **Bovine embryo transfer workshop**. The University of Sydney, Sydney.

Mishra, U.K., Mishra, O.P. and Khahj, J.R. 1996. Estrus synchronization, superovulation and non-surgicel embryo transfer in Sahiwal cows (Bos indicus). **Indian. J. Anim. Sci**. 66: 1271-1273.

Mantovani, R., Enright, W.J., Keane, M.G., Roche, J.F. and Boland, M.P. 1993. **Effect of nutrition and dose of follicle stimulating hormone (FSH) on superovulatory response in beef heifers**. Proc. 9th Meet Assoc Europ de Transfert Embryon Lyon, 234 (Abstract).

Niasari-Naslaji, A. 1995. Studies **on estrous synchronization and super-Ovulation following controlled ovarian follicular development in Dairy and beef cattle**. PhD thesis. Brisbane, Australia: University Of Queensland.

Nicholson, M.J. and Butterworth, M.H. 1986. **A guide to condition scoring of zebu cattle.** International Livestock centre for Africa. Addis Ababa. Ethiopia.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Newcomb, R., Christie, W.B. and Rowson, L.E. 1978. **Non-surgical recovery of bovine embryos**. Vet Rec. 102: 414–417.

Noakes, D.E., Parkinson, T.J. and England, G.C. 2001. **Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics**. Eighth Edition. W.B. Saunders.

Nasser, L.F., Adams, G.P., Bo, G.A. and, Mapletoft, R.J. 1993. Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. **Theriogenology**. 40: 713–724.

Nieman, H., Schilling, E., Sacher, B. and Smidt, D. 1982. Embryo transfer in cattle current scientific problems. **Anim. Res. Devel**. 16: 116-125.

Peter, P.J.H. and Ball, A.R. 2004. **Reproductive in Cattle**. Third Edition. Butterworth & Co. Ltd.

Putney, D.J., Drost, M. and Thatcher, W.W. 1988. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between days 1–7 post insemination. **Theriogenology**. 30: 195–209.

Ruth, L. 2008. Available Source: http://www.en.wikibooks.org/wiki/**Anatomy and Physiology of Animals/Reproductive System**, June 20, 2009.

Rajamahendran, R. and Calder, M.D. 1993. Superovulatory responses in dairy cow following ovulation of the dominant follicle of the first wave. **Theriogenology.** 40: 99-109.

Ryan, D.P., Spoon, R.A., Griffith, M.K. and Williams, G.L. 1994. Ovarin follicular recruitment, granulose cell steroidogenic protential and growth hormone/in sulin-like growth factor-I relationship insuckler beef cows consuming high Lipid diets: effect of graded difference in body condition maintained during the puerperium. **Dom. Anim. Endocind.** 11: 161-174.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Saito, N. 1994. **Manual of embryo transfer and in vitro fertilization in cattle**. National Livestock Breeding Center, MAFF, Japan, September. 132 pp.

Spicer, L.J. and Echternkamp, S.E. 1986. Ovarian follicular growth, function and turnover in cattle: A review. **J. Anim. Sci**. 62: 428-451.

Santos, J.E.P., Cerri, R.L.A. and Sartori, R. 2008. Nutritional management of the donor cow. **Theriogenology**. 69: 88–97.

Sumretprasong, J., Leangcharuen, N., Thuangsanthia, A. and Thijae, K. 2008. **Dose response to superovulation in thai dairy cattle proceedings**. The 15 Congress of FAVA 27-30 October FAVA-OIE Joint Symposium on Emerging Diseases Bangkok, Thailand.

Sinclair, K.D., Kuran, M., Gebbie, F.E., Webb, R. and McEvoy, T.G. 2001. Nitrogen metabolism and fertilility in cattle: II. Development of oocytes recovered from heifers offered diets differing in their rate of nitrogen re-lease in the rumen. **J. Anim. Sci**. 78: 2670–2680.

Siddiqui, MA.R, Shamjuddin, M., Bhuigan, M.M.U., Akbar, M.A. and Kamaruddin, K.M. 2002. Effect of feeding and body condition score on multiple ovulation and embryo production in zebu cows. **Reprod. Dom. Anim.** 37: 37-41.

Triveni, D., Kharche, S.D., Ansari, M.R. and Tanesja, V.K. 1995. Superovulation with folltropin, estrus synchronization/ induction using intravulvo-submucosal administration of luprostiol and embryo transfer in crossbred cows. **Indian J. Anim. Sci**. 65: 990-992.

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 1 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมดและคุณภาพของตัวอ่อนในแม่โคแต่ละตัว

ลักษณะการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่	ตัวที่ 1[D1]	ตัวที่ 2[D2]	ตัวที่ 3[D3]	ตัวที่ 4[D3]
จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	34	9	6	11
จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด (ใบ)	33	8	4	8
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 1 (ใบ)	11	0	2	3
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 2 (ใบ)	11	5	1	1
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 3 (ใบ)	4	0	1	0
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 4 (ใบ)	0	0	0	1
ตัวอ่อนเสื่อมคุณภาพหรือไม่ได้รับการปฏิสนธิ (ใบ)	7	3	0	3
ตัวอ่อนคุณภาพที่สามารถย้ายฝากได้ (ใบ)	22	5	3	4

หมายเหตุ [D1, D2, D3 และ D4] คือการพัฒนาพันธุ์ระดับ 1, 2, 3 และ 4

ตารางผนวกที่ 2 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมดและคุณภาพของตัวอ่อนในโคสาวแต่ละตัว

ลักษณะการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่	ตัวที่ 1[D1]	ตัวที่ 2[D1]	ตัวที่ 3[D4]	ตัวที่ 4[D1]
จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	11	31	13	7
จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด (ใบ)	9	30	12	6
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 1 (ใบ)	2	14	8	1
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 2 (ใบ)	2	8	4	0
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 3 (ใบ)	2	2	0	0
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 4 (ใบ)	0	0	0	1
ตัวอ่อนเสื่อมคุณภาพหรือไม่ได้รับการปฏิสนธิ (ใบ)	3	6	0	4
ตัวอ่อนคุณภาพที่สามารถย้ายฝากได้ (ใบ)	4	22	12	1

หมายเหตุ [D1, D2, D3 และ D4] คือการพัฒนาพันธุ์ระดับ 1, 2, 3 และ 4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 3 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมดและคุณภาพของตัวอ่อนในแม่โคแต่ละตัว

ลักษณะการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่	ตัวที่ 1[D1]	ตัวที่ 2[D2]	ตัวที่ 3[D3]	ตัวที่ 4[D3]
จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	7	6	4	12
จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด (ใบ)	5	4	2	10
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 1 (ใบ)	1	1	0	7
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 2 (ใบ)	1	2	0	2
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 3 (ใบ)	1	0	0	1
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 4 (ใบ)	0	1	0	0
ตัวอ่อนเสื่อมคุณภาพหรือไม่ได้รับการปฏิสนธิ (ใบ)	2	0	2	0
ตัวอ่อนคุณภาพที่สามารถย้ายฝากได้ (ใบ)	2	3	0	9

หมายเหตุ [D1, D2, D3 และ D4] คือการพัฒนาพันธุ์ระดับ 1, 2, 3 และ 4

ตารางผนวกที่ 4 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมต่อจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมดและคุณภาพของตัวอ่อนในโคสาวแต่ละตัว

ลักษณะการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่	ตัวที่ 1[D1]	ตัวที่ 2[D1]	ตัวที่ 3[D4]	ตัวที่ 4[D1]
จำนวนคอร์ปัสลูเทียม	12	15	16	11
จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด (ใบ)	9	13	15	10
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 1 (ใบ)	1	3	5	7
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 2 (ใบ)	0	6	7	2
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 3 (ใบ)	0	1	1	0
ตัวอ่อนคุณภาพเกรด 4 (ใบ)	1	2	0	0
ตัวอ่อนเสื่อมคุณภาพหรือไม่ได้รับการปฏิสนธิ (ใบ)	7	1	2	1
ตัวอ่อนคุณภาพที่สามารถย้ายฝากได้ (ใบ)	1	9	12	9

หมายเหตุ [D1, D2, D3 และ D4] คือการพัฒนาพันธุ์ระดับ 1, 2, 3 และ 4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 5 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในแม่โคแต่ละตัว

ระยะการพัฒนาของตัวอ่อน	ตัวที่ 1[D1]	ตัวที่ 2[D2]	ตัวที่ 3[D3]	ตัวที่ 4[D3]
จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด	33	8	4	8
ตัวอ่อนระยะมอรูล่า	6	1	1	1
ตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า	5	2	1	1
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น	8	0	0	0
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส	7	2	2	3

หมายเหตุ [D1, D2, D3 และ D4] คือการพัฒนาพันธุ์ระดับ 1, 2, 3 และ 4

ตารางผนวกที่ 6 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในโคสาวแต่ละตัว

ระยะการพัฒนาของตัวอ่อน	ตัวที่ 1[D1]	ตัวที่ 2[D1]	ตัวที่ 3[D4]	ตัวที่ 4[D1]
จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด	9	30	12	6
ตัวอ่อนระยะมอรูล่า	2	1	0	1
ตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า	1	3	0	0
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น	2	8	1	1
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส	1	12	11	0

หมายเหตุ [D1, D2, D3 และ D4] คือการพัฒนาพันธุ์ระดับ 1, 2, 3 และ 4

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตารางผนวกที่ 7 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในแม่โคแต่ละตัว

ระยะการพัฒนาของตัวอ่อน	ตัวที่ 1[D1]	ตัวที่ 2[D2]	ตัวที่ 3[D3]	ตัวที่ 4[D3]
จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด	5	4	2	10
ตัวอ่อนระยะมอรูล่า	2	0	0	1
ตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า	0	1	0	2
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น	0	0	0	4
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส	1	3	0	3

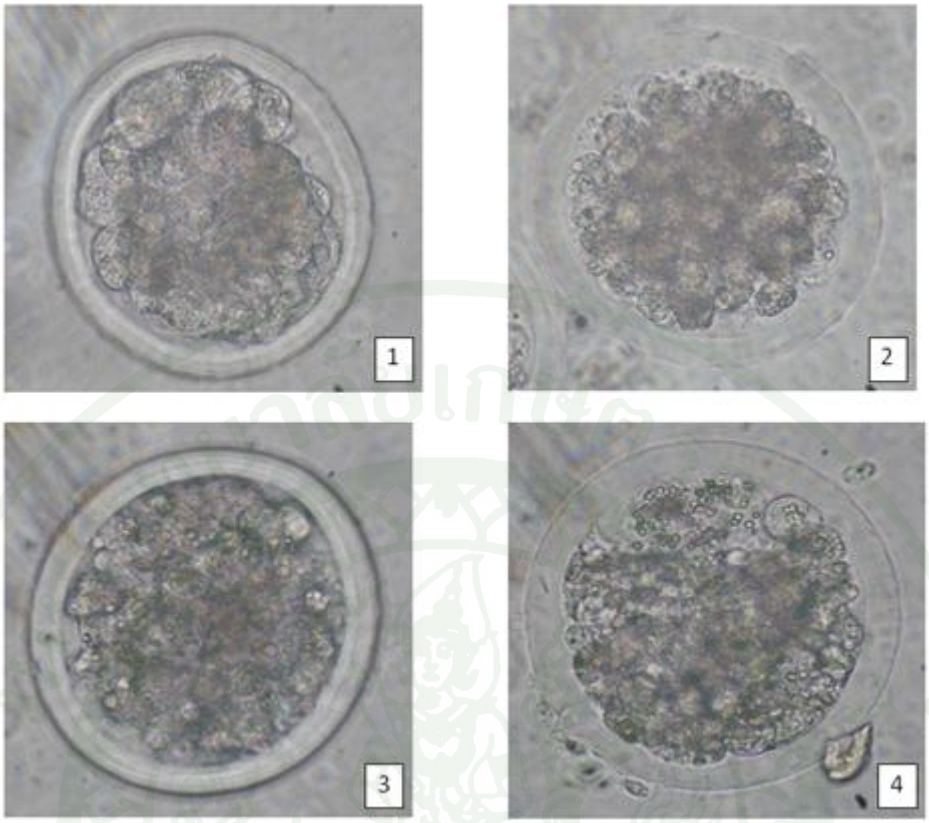
หมายเหตุ [D1, D2, D3 และ D4] คือการพัฒนาพันธุ์ระดับ 1, 2, 3 และ 4

ตารางผนวกที่ 8 ผลของฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมนที่ระดับ 250 มิลลิกรัมต่อระยะการพัฒนาของตัวอ่อนในโคสาวแต่ละตัว

ระยะการพัฒนาของตัวอ่อน	ตัวที่ 1[D1]	ตัวที่ 2[D1]	ตัวที่ 3[D4]	ตัวที่ 4[D1]
จำนวนไข่และตัวอ่อนทั้งหมด	9	13	15	10
ตัวอ่อนระยะมอรูล่า	0	5	1	2
ตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า	0	3	0	0
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น	1	3	0	4
ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส	0	1	12	3

หมายเหตุ [D1, D2, D3 และ D4] คือการพัฒนาพันธุ์ระดับ 1, 2, 3 และ 4

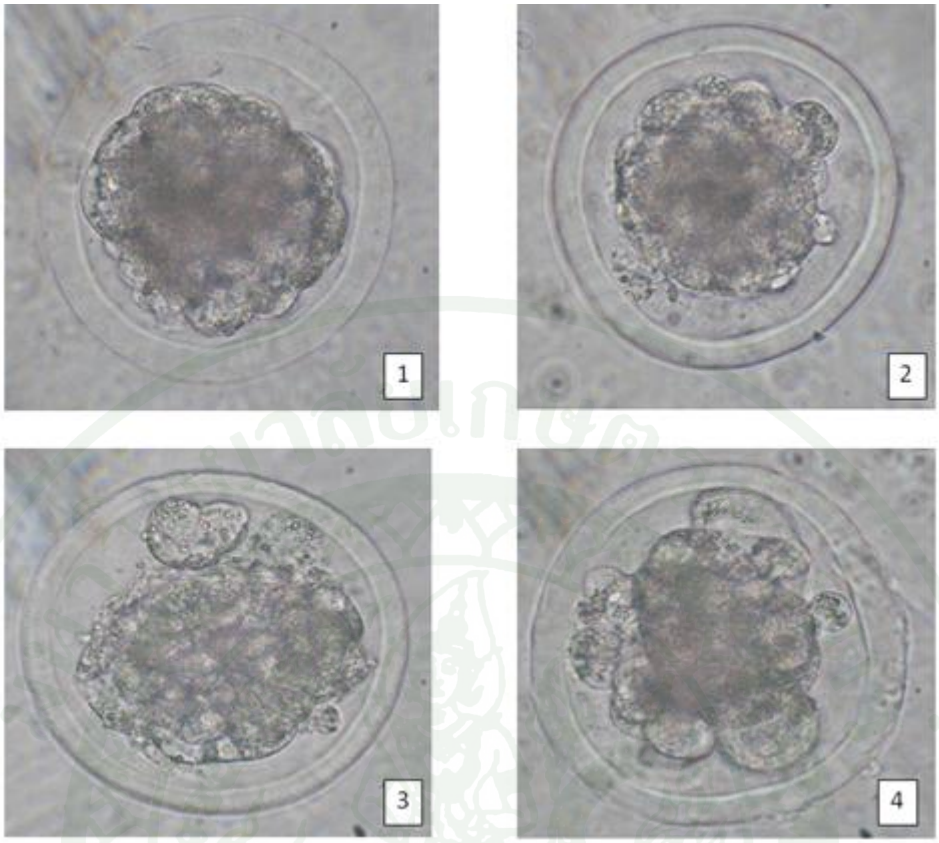
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 1 คุณภาพของตัวอ่อนระยะมอรูล่า (กำลังขยาย 400 เท่า)

1. ตัวอ่อนระยะมอรูล่า คุณภาพดีเยี่ยม (เกรด 1)
2. ตัวอ่อนระยะมอรูล่า คุณภาพดี (เกรด 2)
3. ตัวอ่อนระยะมอรูล่า คุณภาพพอใช้ (เกรด 3)
4. ตัวอ่อนระยะมอรูล่า คุณภาพแย่ (เกรด 4)

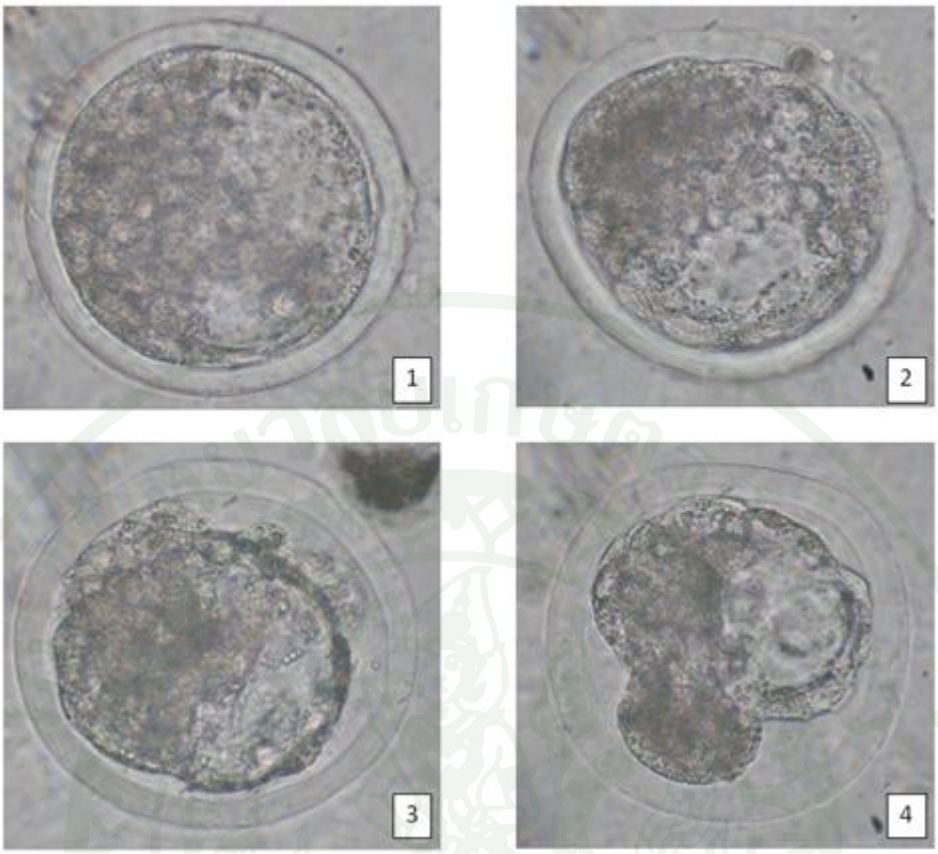
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 2 คุณภาพของตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า (กำลังขยาย 400 เท่า)

1. ตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า คุณภาพดีเยี่ยม (เกรด 1)
2. ตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า คุณภาพดี (เกรด 2)
3. ตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า คุณภาพพอใช้ (เกรด 3)
4. ตัวอ่อนระยะคอมแพ็คมอรูล่า คุณภาพแย่ (เกรด 4)

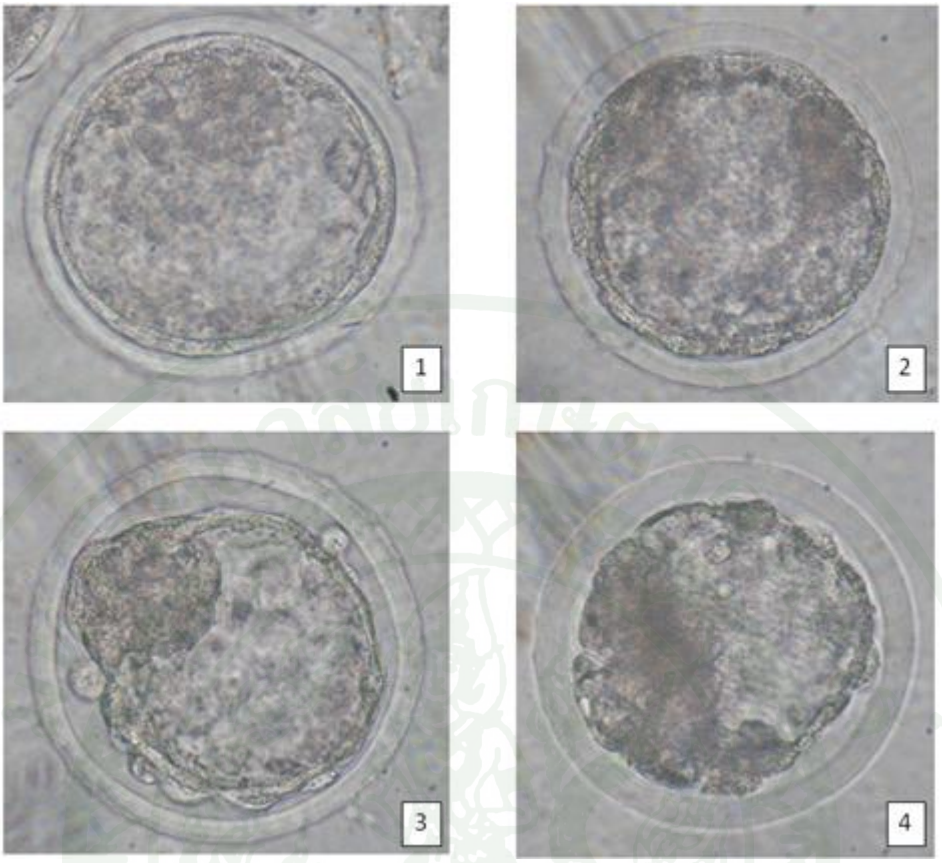
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 3 คุณภาพของตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น (กำลังขยาย 400 เท่า)

1. ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น คุณภาพดีเยี่ยม (เกรด 1)
2. ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น คุณภาพดี (เกรด 2)
3. ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น คุณภาพพอใช้ (เกรด 3)
4. ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสระยะต้น คุณภาพแย่ (เกรด 4)

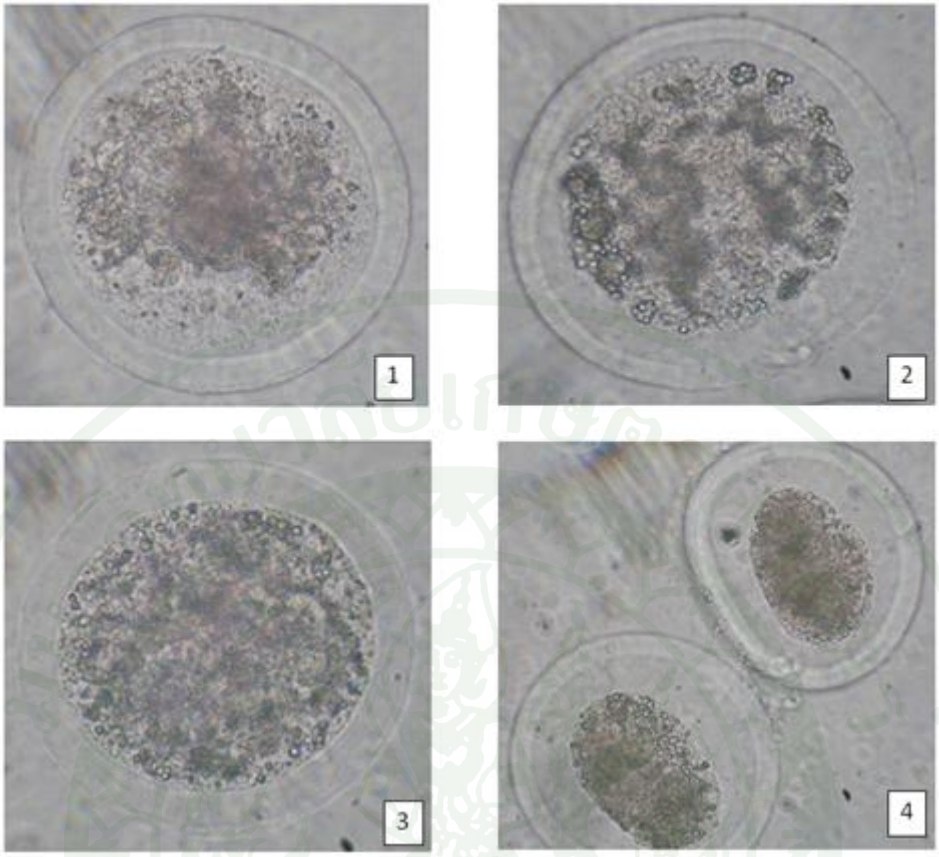
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 4 คุณภาพของตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส (กำลังขยาย 400 เท่า)

1. ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส คุณภาพดีเยี่ยม (เกรด 1)
2. ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส คุณภาพดี (เกรด 2)
3. ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส คุณภาพพอใช้ (เกรด 3)
4. ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส คุณภาพแย่ (เกรด 4)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพผนวกที่ 5 คุณภาพตัวอ่อนที่เสื่อมคุณภาพและไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ (กำลังขยาย 400 เท่า)

1. ตัวอ่อนที่เสื่อมคุณภาพ
2. ตัวอ่อนที่เสื่อมคุณภาพ
3. ไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ
4. ไข่ที่ไม่ได้รับการปฏิสนธิ

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การเตรียมน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อน

น้ำยาที่ใช้คือ น้ำยาล้างเก็บตัวอ่อน (modified Dulbecco's phosphate buffer saline) ซึ่งใน 1 ลิตรประกอบด้วย

ตารางผนวกที่ 9 แสดงสวนประกอบของน้ำยาลางเก็บตัวออน (mDPBS)

สวนประกอบ	สูตรโครงสราง	ปริมาณ (กรัม/ลิตร)
sodium chloride	NaCl	8.00
potassium chloride	KCl	0.20
sodium phosphate, dibasic	Na_2HPO_4	1.15
potassium phosphate, monobasic	KH_2PO_4	0.20
calcium chloride	$CaCl_2$	0.10
magnesium chloride	$MgCl_2.6H_2O$	0.10
glucose	$C_2H_{12}O_6$	1.00
sodium pyruvate	$CH_3COCOONa$	0.036
penicillin-G,sodium salt		0.050
steptomycin sulphate		0.025

โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมสารละลาย NaCl, KCl, Na_2HPO_4 และ KH_2PO_4 ซึ่งเมื่อได้สารละลายที่ต้องการแล้วละลายในน้ำกลั่น 500 ลูกบาศก์เซนติเมตร ในบีคเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร (เป็นสารละลายเอ)

2. เตรียมสารละลาย CaC_{l2} และ $MgCl_2.6H_2O$ ซึ่งเมื่อได้สารละลายที่ต้องการแล้วละลายในน้ำกลั่น 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ในบีคเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร (เป็นสารละลายบี)

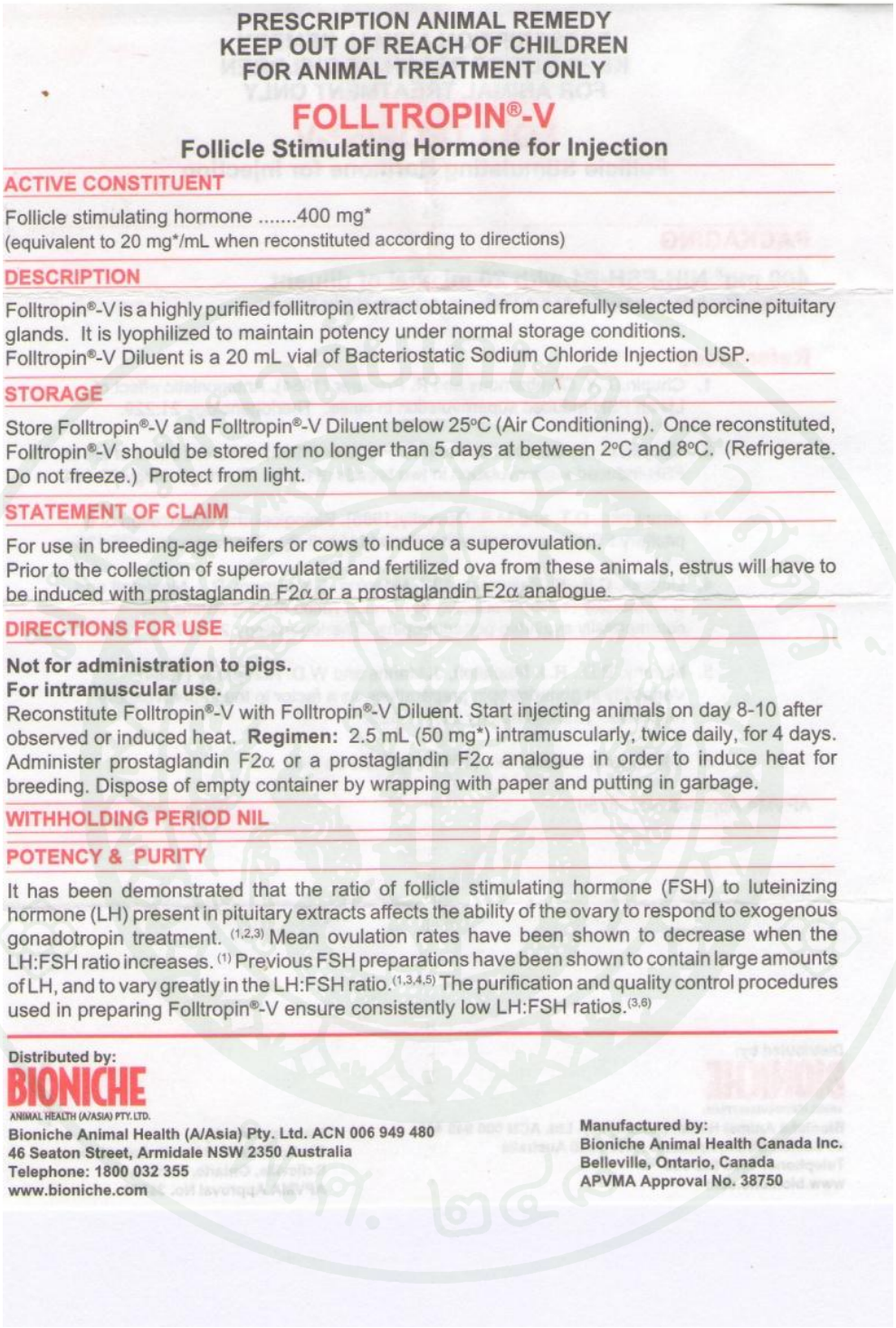
ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3 .เตรียมสารละลาย $C_2H_{12}O_6$ และ $CH_3COCOONa$ ซึ่งเมื่อได้สารละลายที่ต้องการแล้ว ละลายในน้ำกลั่น 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ในบีคเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร (เป็นสารละลายซี)

4. จากนั้นเทสารละลายเอรวมกับสารละลายบีอย่างช้าๆ และเทสารละลายซีรวมกับสารละลายที่ผสมกันระหว่างเอและบีอย่างช้าๆ แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันให้ดี

5. แล้ววัดค่า pH ของน้ำยาซึ่งจะมีค่า pH อยู่ระหว่าง 7.2-7.4 และทำการฆ่าเชื้อน้ำยาโดยใช้วิธีการกรองด้วย millipore filters ขนาด 0.45 ไมครอน แล้วเก็บน้ำยาที่ฆ่าเชื้อแล้วในขวดน้ำเกลือขนาด 1,000 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และเก็บน้ำยาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่ควรเก็บนานกว่า 4 สัปดาห์ ก่อนนำไปใช้ล้างเก็บตัวอ่อนต้องเติมยาปฏิชีวนะ และซีรั่มจากโคที่ปีนสัดที่ผ่านการทำลายความเป็นพิษแล้ว (ECS) ลงไป

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



PRESCRIPTION ANIMAL REMEDY
KEEP OUT OF REACH OF CHILDREN
FOR ANIMAL TREATMENT ONLY

FOLLTROPIN®-V

Follicle Stimulating Hormone for Injection

ACTIVE CONSTITUENT

Follicle stimulating hormone .....400 mg*
(equivalent to 20 mg*/mL when reconstituted according to directions)

DESCRIPTION

Folltropin®-V is a highly purified follitropin extract obtained from carefully selected porcine pituitary glands. It is lyophilized to maintain potency under normal storage conditions.
Folltropin®-V Diluent is a 20 mL vial of Bacteriostatic Sodium Chloride Injection USP.

STORAGE

Store Folltropin®-V and Folltropin®-V Diluent below 25°C (Air Conditioning). Once reconstituted, Folltropin®-V should be stored for no longer than 5 days at between 2°C and 8°C. (Refrigerate. Do not freeze.) Protect from light.

STATEMENT OF CLAIM

For use in breeding-age heifers or cows to induce a superovulation.
Prior to the collection of superovulated and fertilized ova from these animals, estrus will have to be induced with prostaglandin F2α or a prostaglandin F2α analogue.

DIRECTIONS FOR USE

Not for administration to pigs.
For intramuscular use.
Reconstitute Folltropin®-V with Folltropin®-V Diluent. Start injecting animals on day 8-10 after observed or induced heat. **Regimen:** 2.5 mL (50 mg*) intramuscularly, twice daily, for 4 days. Administer prostaglandin F2α or a prostaglandin F2α analogue in order to induce heat for breeding. Dispose of empty container by wrapping with paper and putting in garbage.

WITHHOLDING PERIOD NIL

POTENCY & PURITY

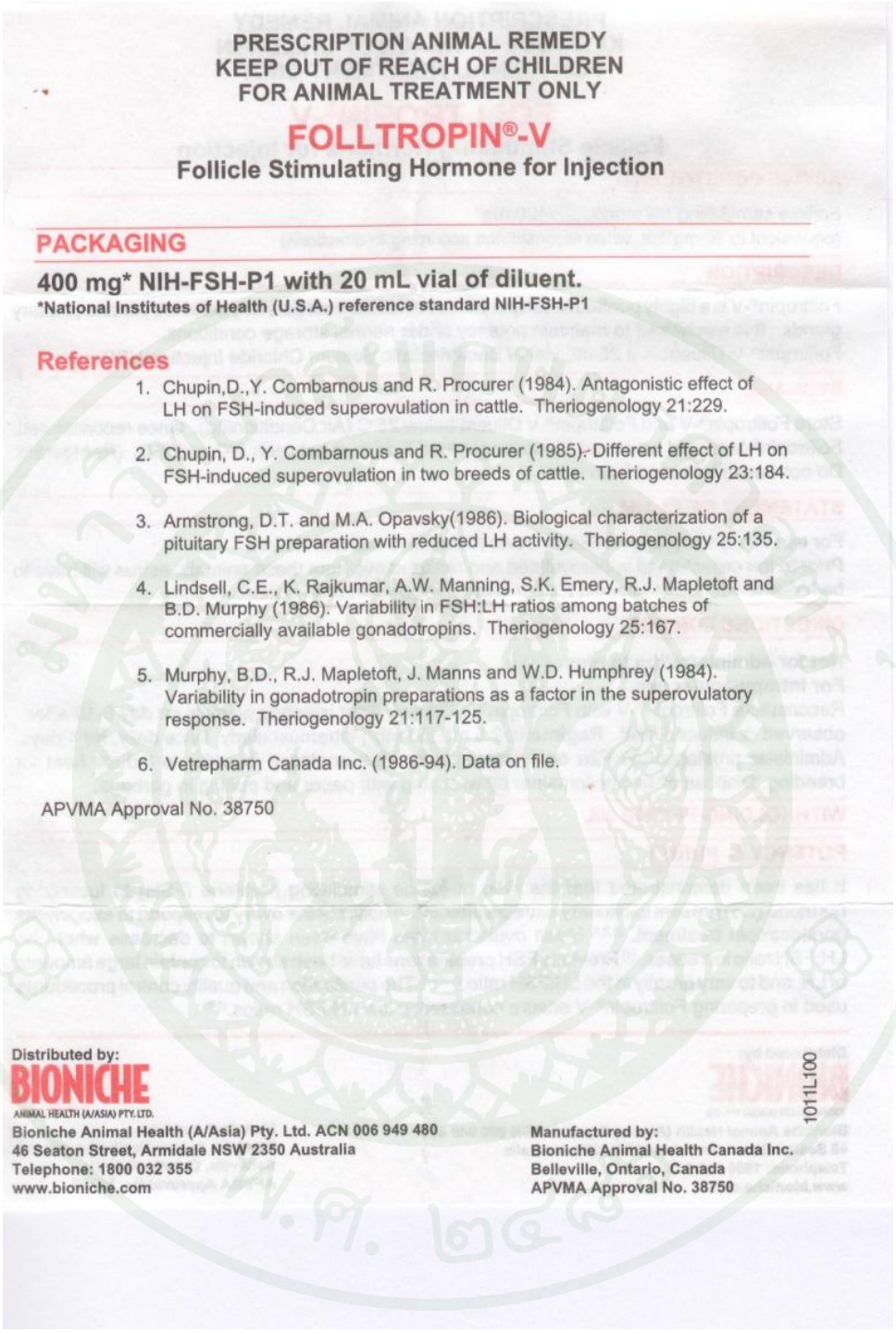
It has been demonstrated that the ratio of follicle stimulating hormone (FSH) to luteinizing hormone (LH) present in pituitary extracts affects the ability of the ovary to respond to exogenous gonadotropin treatment. [1,2,3] Mean ovulation rates have been shown to decrease when the LH:FSH ratio increases. [1] Previous FSH preparations have been shown to contain large amounts of LH, and to vary greatly in the LH:FSH ratio.[1,3,4,5] The purification and quality control procedures used in preparing Folltropin®-V ensure consistently low LH:FSH ratios.[3,6]

Distributed by:
BIONICHE
ANIMAL HEALTH (A/ASIA) PTY. LTD.
Bioniche Animal Health (A/Asia) Pty. Ltd. ACN 006 949 480
46 Seaton Street, Armidale NSW 2350 Australia
Telephone: 1800 032 355
www.bioniche.com

Manufactured by:
Bioniche Animal Health Canada Inc.
Belleville, Ontario, Canada
APVMA Approval No. 38750

ภาพผนวกที่ 6 ด้านหน้าฉลากคู่มือการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (Folltrophine®-V)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



PRESCRIPTION ANIMAL REMEDY
KEEP OUT OF REACH OF CHILDREN
FOR ANIMAL TREATMENT ONLY

FOLLTROPIN®-V

Follicle Stimulating Hormone for Injection

PACKAGING

400 mg* NIH-FSH-P1 with 20 mL vial of diluent.

*National Institutes of Health (U.S.A.) reference standard NIH-FSH-P1

References

1. Chupin,D.,Y. Combarnous and R. Procurer (1984). Antagonistic effect of LH on FSH-induced superovulation in cattle. Theriogenology 21:229.
2. Chupin, D., Y. Combarnous and R. Procurer (1985). Different effect of LH on FSH-induced superovulation in two breeds of cattle. Theriogenology 23:184.
3. Armstrong, D.T. and M.A. Opavsky(1986). Biological characterization of a pituitary FSH preparation with reduced LH activity. Theriogenology 25:135.
4. Lindsell, C.E., K. Rajkumar, A.W. Manning, S.K. Emery, R.J. Mapletoft and B.D. Murphy (1986). Variability in FSH:LH ratios among batches of commercially available gonadotropins. Theriogenology 25:167.
5. Murphy, B.D., R.J. Mapletoft, J. Manns and W.D. Humphrey (1984). Variability in gonadotropin preparations as a factor in the superovulatory response. Theriogenology 21:117-125.
6. Vetrepharm Canada Inc. (1986-94). Data on file.

APVMA Approval No. 38750

Distributed by:
BIONICHE
ANIMAL HEALTH (A/ASIA) PTY. LTD.
Bioniche Animal Health (A/Asia) Pty. Ltd. ACN 006 949 480
46 Seaton Street, Armidale NSW 2350 Australia
Telephone: 1800 032 355
www.bioniche.com

Manufactured by:
Bioniche Animal Health Canada Inc.
Belleville, Ontario, Canada
APVMA Approval No. 38750

1011L100

ภาพผนวกที่ 7 ด้านหลังฉลากคู่มือการใช้ฟอลลิเคิลสติมูเลติ้งฮอร์โมน (Folltrophine® -V)

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ–นามสกุล	นายพีรยุทธ นิลชื่น
วัน เดือน ปี ที่เกิด	27 มกราคม 2529
สถานที่เกิด	จังหวัดนครราชสีมา
ประวัติการศึกษา	วท.บ. (สัตวศาสตร์)
	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พ.ศ. 2551

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์