ISSN 1905-6877

วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

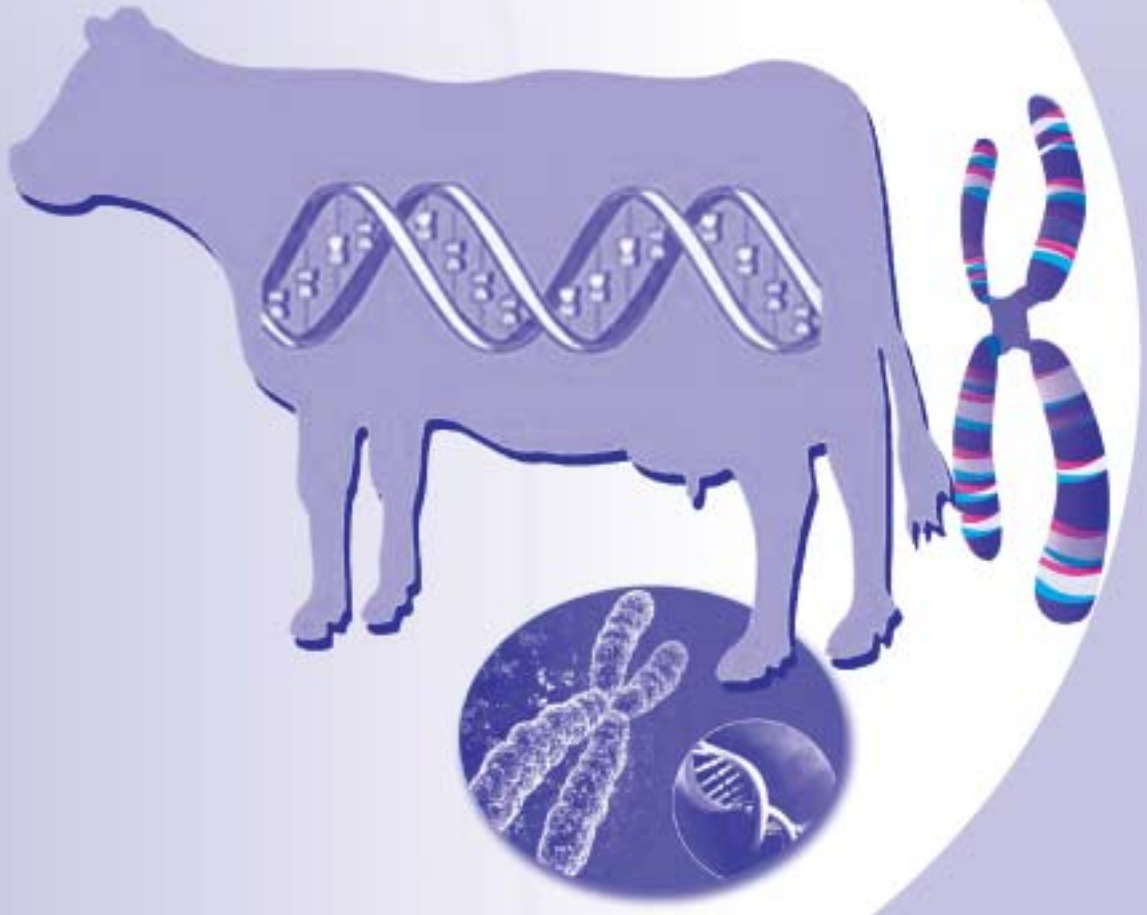
Journal of Biotechnology in Livestock Production

ปีที่ 1 ฉบับที่1 สิงหาคม 2549 Vol.1; No. 1; August 2006

www.dld.go.th/biotech

ผสมเทียม 50 ปี

สู่เทคโนโลยีชีวภาพ พัฒนาปศุสัตว์ไทย



ผสมเทียม 50 ปี

สู่เทคโนโลยีชีวภาพ พัฒนาปศุสัตว์ไทย

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์
กรมปศุสัตว์

วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์
Journal of Biotechnology in Livestock Production
ปีที่ 1 ฉบับที่ 1 สิงหาคม 2549 Volume 1; No. 1; August 2006

สาส์นจากบรรณาธิการบริหาร

วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ฉบับนี้เป็นวารสารฉบับแรกหลังจากกองผสมเทียมได้รับการปรับฐานะเป็นสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์มีหน้าที่รับผิดชอบการพัฒนาปศุสัตว์โดยการศึกษา ค้นคว้าวิจัยด้านการผลิตปศุสัตว์ ได้แก่ การอนุรักษ์ พัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ปศุสัตว์ การวิจัยด้านสุขภาพระบบสืบพันธุ์ ตลอดจนการขยายพันธุ์และการใช้เทคโนโลยีชีวภาพที่ก้าวหน้าในการปรับปรุงและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตปศุสัตว์

สำนักฯเล็งเห็นความจำเป็น และประโยชน์ในการเผยแพร่ความรู้จากผลงานวิจัย ทั้งที่เป็นของนักวิชาการภายในสำนักฯ และผลงานวิจัยจากนักวิชาการในหน่วยงานอื่น ๆ เพื่อขยายขอบเขตการเรียนรู้ การนำไปใช้ประโยชน์ และแลกเปลี่ยนประสบการณ์ ความคิดเห็นเพื่อพัฒนาและนำความรู้ด้านเทคโนโลยีชีวภาพไปใช้ให้เกิดประสิทธิภาพในการผลิตสัตว์ เพื่อให้ทันกับการเปลี่ยนแปลงของสภาพทางธุรกิจ ที่จะเปิดกว้างและการเปิดเสรีทางการค้าระหว่างประเทศต่าง ๆ จึงได้จัดพิมพ์วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์สำหรับเป็นช่องทางหนึ่งในการเผยแพร่และถ่ายทอดความรู้ และงานวิจัยที่ค้นพบใหม่สู่ผู้สนใจ ให้สามารถศึกษาเพิ่มเติม หรือประยุกต์ใช้ต่อไปได้ โดยมีกำหนดตีพิมพ์ ปีละ 1 ฉบับ ในเดือนสิงหาคม นอกจากนี้ผู้สนใจยังสามารถเยี่ยมชมและศึกษาผ่าน Website ของสำนักฯ ได้ที่ www.dld.go.th/biotech

คณะผู้จัดทำวารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ยินดีรับพิจารณาผลงานวิจัยและบทความวิชาการ จากทุกท่านที่ส่งมาเพื่อเผยแพร่ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวารสารฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อนักศึกษา นักวิจัย และเกษตรกรผู้ผลิตปศุสัตว์ทุกท่าน

อนึ่ง วารสารฉบับนี้นอกจากเป็นฉบับปฐมฤกษ์แล้วยังเป็นฉบับพิเศษเนื่องในโอกาสครบรอบ 50 ปีของการผสมเทียมประเทศไทย ที่มีการบริการผสมเทียมครั้งแรกเมื่อ 9 กันยายน 2499

น.สพ. อยุทธ์ หรินทรานนท์
บรรณาธิการบริหาร

บรรณาธิการแถลง

จากเดิมจุลสารผสมเทียมฉบับที่ 2 ปีที่ 11 ซึ่งเป็นฉบับท้ายสุด ได้มีความเปลี่ยนแปลงไปสู่ก้าวใหม่ เป็นการนำเสนอวารสารฉบับใหม่ คือวารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ปีที่ 1 ฉบับที่ 1 เพื่อสนองนโยบายของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ (เดิมคือกองผสมเทียม) และนโยบายของกรมปศุสัตว์ ในการนำเสนอผลงานวิจัย บทความ เทคนิคการตรวจวินิจฉัยโรค ของนักวิชาการทั้งจากกรมปศุสัตว์ และจากมหาวิทยาลัย สู่สายตาประชาชน

วารสารมีเนื้อหาสาระ ในทุกด้านของเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ในอนาคตคาดว่าจะมีผลงานวิจัย เช่น การปรับปรุงพัฒนาพันธุ์ปศุสัตว์ ให้เกิดโคนมพันธุ์ใหม่ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อม พร้อมทั้งให้ผลผลิตน้ำนมสูง โคเนื้อพันธุ์ใหม่พร้อมด้วยคุณภาพเนื้อสูงขึ้น มีความนุ่ม และมีไขมันแทรก งานวิจัยด้านการย้ายฝากตัวอ่อน และการโคลนนิ่งปศุสัตว์ที่ได้รับการพัฒนาคัดสรรพันธุ์มาแล้วว่าให้ผลผลิตดี รวมทั้งการอนุรักษ์สัตว์ที่ใกล้สูญพันธุ์ ด้านชีวโมเลกุล มีการตรวจลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อพิสูจน์พ่อ แม่ ลูก และการพิสูจน์จำแนกพ่อพันธุ์จากน้ำเชื้อแช่แข็ง การตรวจค้นหายีนที่ควบคุมการให้น้ำนม การให้คุณภาพเนื้อสูง หรือการต้านทานโรค งานวิจัยด้านการผสมเทียม เพื่อเพิ่มอัตราการผสมติด ค้นหาสาเหตุการผสมซ้ำในโคนม โคเนื้อ กระบือ งานวิจัยด้านการผลิตน้ำเชื้อ เพื่อเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อ ให้ปลอดจากการปนเปื้อนจากเชื้อโรค และการแก้ไขปัญหาความสมบูรณ์พันธุ์ ที่มีสาเหตุมาจากปัจจัยต่างๆ เช่น ความไม่สมดุลของฮอร์โมน ความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ ฯลฯ

ขอเชิญชวนนักวิจัยที่มีผลงานทางวิชาการในแนวทางที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ส่งผลงานวิจัยมาลงในวารสาร เพื่อให้ผลงานของท่านเป็นที่รู้จัก และถูกนำไปใช้พัฒนาการผลิตปศุสัตว์ เพื่อประโยชน์ของประเทศชาติต่อไป

สพ.ญ. กัลยา เก่งวิกย์กรรม
บรรณาธิการ

วัตถุประสงค์

: ส่งเสริมการศึกษา ค้นคว้าและวิจัยด้านการผลิตและขยายพันธุ์สัตว์

: รวบรวม เผยแพร่ความรู้ด้านการผลิตและขยาย ปรับปรุง และอนุรักษ์พันธุ์สัตว์โดยเทคโนโลยีชีวภาพ

: ส่งเสริมความสัมพันธ์ และความร่วมมือระหว่างนักวิชาการและสถาบันต่าง ๆ

เจ้าของ

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์, กรมปศุสัตว์

สำนักงาน

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์
ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี อ. เมือง
จ. ปทุมธานี 12000
โทร/โทรสาร 0-2501-1386

กำหนดออก

ปีละ 1 ฉบับ

คณะที่ปรึกษา

ผชช.สพ.ญ พรรณพิไล เสกสิทธิ์
น.สพ.ดร. ณชัย สราทพันธ์
ดร. มาลี อภิเมธีธำรง

บรรณาธิการบริหาร

น.สพ. อยุทธ์ หรินทรานนท์

บรรณาธิการ

สพ.ญ. กัลยา เก่งวิกย์กรรม

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

น.สพ. วิษณุ ไพศาลรุ่งธนา

กองบรรณาธิการ

น.สพ. ไกรวรรณ หงส์ยันตรชัย
น.สพ. สาโรช งามขำ
สพ.ญ. รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล
น.สพ.รัตน์ ฉายารัตนศิลป์
สพ.ญ. นุสสรา วัฒนกุล
น.สพ. วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกูร
นางจุรีรัตน์ แสนโภชน์
นายสายัณห์ บัวบาน

ผู้จัดการวารสาร

นางจุรีรัตน์ แสนโภชน์
น.สพ.วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกูร
นางสาวทัศนีย์ พูนขำ

ข้อแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์เป็นวารสารทางวิชาการของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ กำหนดออกปีละ 1 ฉบับ คือ เดือนสิงหาคม วารสารนำลงบทความ ผลงานค้นคว้าวิจัยด้านการผลิตปศุสัตว์ ทั้งด้านการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ การจัดการอาหาร สุขภาพ และระบบสืบพันธุ์ ตลอดจนการขยายพันธุ์ และการใช้เทคโนโลยีชีวภาพที่ก้าวหน้าในการปรับปรุงและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตปศุสัตว์ด้านต่างๆที่กล่าวมาข้างต้น คณะผู้จัดทำวารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ยินดีรับเรื่องจากทุกท่านที่ส่งมาเพื่อเผยแพร่ และเพื่อความสะดวกในการพิจารณา ขอเสนอแนะดังนี้

1. เรื่องที่จะนำลง

1.1 งานทดลอง วิจัย ทางวิชาการ (Technical/ Research papers) หรือวิทยานิพนธ์ เป็นการเสนอผลการวิจัยที่ผู้เขียนได้ทำขึ้นเอง

1.2 บทความ (Articles) และย่อเอกสาร (Literature reviewed) ทางวิชาการ ที่รวบรวมข้อมูลความคิดเห็นและประสบการณ์ของผู้เขียน

1.3 เรื่องอื่นๆ ที่คณะผู้จัดทำพิจารณาเห็นสมควร

2. ต้นฉบับ

2.1 ต้นฉบับที่ส่งมาพิมพ์ในวารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ไม่ควรเป็นเรื่องที่เคยพิมพ์ หรือกำลังอยู่ระหว่างการพิจารณาเพื่อลงพิมพ์วารสารอื่น

2.2 ต้นฉบับเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษพิมพ์บนกระดาษ เอ 4 จำนวนไม่เกิน 12 หน้า โดยจัดพิมพ์ด้วย Microsoft Word for Windows หรือใช้ชนิดและขนาดตัวอักษรตามที่กำหนด

2.3 ไม่มีการส่งคืนต้นฉบับ

3. การลำดับเรื่องในต้นฉบับ

เพื่อให้ขบวนการการพิจารณาผลงานวิชาการและการดำเนินการจัดพิมพ์วารสารเป็นไปอย่างเรียบร้อย รวดเร็ว และถูกต้อง จึงจำเป็นต้องให้ผู้เขียนผลงานวิชาการปฏิบัติตามข้อกำหนดอย่างเคร่งครัด ดังนี้

3.1 ให้ส่งต้นฉบับผลงานวิชาการจำนวน 1 ชุด และยังไม่ต้องส่งแผ่นบันทึกข้อมูล (Diskette)

3.2 ต้นฉบับผลงานวิชาการที่ส่งมา ให้ตรวจความถูกต้องของตัวสะกด รูปแบบการจัดพิมพ์ผลงานวิชาการให้ถูกต้องตามที่กำหนด

3.3 ส่งแผ่นบันทึกข้อมูลมาให้ เมื่อผลงานวิชาการนั้นได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการวิจัยสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ แล้วเท่านั้น โดยเลขาคณะกรรมการวิจัยฯ จะแจ้งกลับไปยังเจ้าของผลงานวิชาการพร้อมส่งต้นฉบับเพื่อให้แก้ไขตามที่คณะกรรมการวิจัยสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ให้ข้อเสนอแนะ

บันทึกผลงานวิชาการที่แก้ไข ถูกต้องแล้วตามข้อแนะนำของ คณะกรรมการวิจัยสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ลงใน Diskette ขนาด 3.5 นิ้ว หรือ CD-ROM ใช้โปรแกรม Microsoft Word for Windows โดยมีรายละเอียดบนสติกเกอร์ติดหน้า Diskette หรือ CD-ROM ดังนี้

ชื่อผลงานวิชาการ.....
ชื่อเจ้าของผลงาน.....
ชื่อไฟล์.....
ที่อยู่ เบอร์โทรศัพท์/E-Mail.....

หรือส่งตรงทาง Internet มายัง jureeratn@gmail.com

3.4 ต้นฉบับผลงานวิชาการที่ส่งให้คณะกรรมการวิจัย สทป. พิจารณา จะเป็นบทความที่จัดรูปแบบได้ถูกต้องตามที่กำหนดเท่านั้น หากผลงานวิชาการที่ส่งมาให้ไม่ถูกต้องตามข้อกำหนด จะจัดส่งคืนให้เจ้าของผลงานวิชาการกลับไปแก้ไขให้ถูกต้อง

3.5 ต้นฉบับที่จัดส่งมาต้องชัดเจน ทั้งเนื้อหาและรูปภาพประกอบผลงานวิชาการ โดยส่งมาที่

ส่ง
ผู้จัดการวารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์
สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์
ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี อ.เมือง
จ. ปทุมธานี 12000

3.6 หรือติดต่อสอบถามได้ที่

นางจุรีรัตน์ แสนโภชน์

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี อ.เมือง จ. ปทุมธานี 12000

โทรศัพท์ 0-2967-9791 หรือ 0-2501-2116

โทรสาร. 0-2501-2116

ดูข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับข้อแนะนำสำหรับผู้เขียนผลงานที่ได้ http://www.dld.go.th/biotech

4. การลำดับเรื่อง

4.1 **ชื่อเรื่อง** (Title) ควรต้องชื่อให้สั้นและสื่อความหมายให้ดี และพิมพ์โดยใช้ขนาดตัวอักษร 18 และ ตัวหนา

4.2 **ชื่อผู้เขียนและผู้ร่วมงาน** (Author and co - workers) เขียนชื่อนามสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ วางกึ่งกลางใต้ชื่อเรื่อง พร้อมทั้งสถานที่ทำงานที่ติดต่อได้สะดวกพิมพ์ไว้ใต้ชื่อคณะผู้วิจัย โดยใช้ขนาดตัวอักษร 16 และตัวปกติ

4.3 **บทคัดย่อ** (Abstract) เขียนสั้นๆได้เนื้อความคลุมวัตถุประสงค์ วิธีการ และผลการทดลอง ความยาวไม่ควรเกิน 3% ของตัวเรื่อง บทคัดย่อต้องมีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ แยกหน้าต่างหากจากกัน

4.4 **คำสำคัญ** (Key words) เป็นคำหรือข้อความสั้นๆ ที่มีความหมายแสดงถึงความเป็นไปของการทดลองนั้นๆ รวมกันแล้วไม่เกิน 5 คำ หากไม่สามารถแปลเป็นภาษาไทยได้ให้ใช้ภาษาอังกฤษแทน โดยการพิมพ์อยู่ใต้บทคัดย่อ (ขึ้นบรรทัดใหม่)

4.5 **เนื้อหา** (Text) สำหรับงานวิจัยประกอบด้วย

4.5.1 **บทนำ** (Introduction) อธิบายถึงปัญหาและวัตถุประสงค์และควรมีการตรวจเอกสาร (literature review)

4.5.2 **อุปกรณ์และวิธีการ** (Materials and Methods) อธิบายเครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง วิธีการที่ใช้ ถ้าคิดค้นขึ้นควรอธิบายอย่างละเอียด แต่ถ้าเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปให้เขียนในลักษณะอ้างอิงถึง ถ้าเป็นเครื่องหมายตราหรือชื่อการค้า ควรทำเป็น foot note ไว้ที่ด้านล่างของหน้านั้น

4.5.3 **ผล** (Results) รายงานผลการทดลองเป็นคำบรรยาย ให้ละเอียดและเข้าใจง่าย โดยแบ่งเป็นหลายๆ ย่อหน้า และจัดข้อความที่มีเนื้อหาเดียวกันไว้ด้วยกัน หากเป็นไปได้ควรเสนอในรูปของตาราง หรือรูปภาพ หรือกราฟพร้อมทั้งบรรยายประกอบ ทั้งนี้ตาราง รูป หรือกราฟ ไม่ควรแสดงผลที่เหมือนกัน

- **ตาราง** (Tables) ควรพิมพ์ให้ชัดเจนเหมาะกับหน้า ต้องมีความหมายในตัวเอง และมีคำอธิบายตารางอยู่เหนือตารางนั้นๆ

- **รูปภาพ** (Figures) ควรเป็นภาพขาว - ดำ ภาพสีหากจำเป็นผู้เขียนต้องเสียค่าใช้จ่ายเอง อธิบายรายละเอียดไว้ใต้รูปนั้นๆ

4.5.4 **วิจารณ์** (Discussion) เป็นการวิจารณ์ผลการทดลอง โดยมีจุดมุ่งหมาย เพื่อให้ผู้อื่นเห็นคล้อยถึงหลักการที่แสดงออกมาจากผลการทดลอง หรือเพื่อสนับสนุน หรือคัดค้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน หรือเพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองและการตีความหมายของผู้อื่น ผู้เขียนควรพยายามเน้นถึงปัญหาหรือข้อโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่กำลังกล่าวถึง ตลอดจนข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยในอนาคตและลู่ทางที่จะนำผลไปใช้เป็นประโยชน์

4.5.5 **สรุป** (Conclusion) เขียนใจความที่สำคัญและคุณค่าของงานเพื่อให้ผู้อ่านเข้าใจง่ายขึ้น

4.5.6 **กิตติกรรมประกาศ** (Acknowledgement) ควรมีในกรณีที่ได้รับความช่วยเหลือ หรือความร่วมมือที่สนับสนุนงานค้นคว้าวิจัยนั้นๆ

4.5.7 **เอกสารอ้างอิง** (References)

ก. กรณีที่อ้างอิงในเนื้อเรื่อง ควรอ้างอิงดังนี้คือ

1. กรณีที่อ้างจากการตรวจเอกสารโดยผู้อื่นๆ ให้ใช้คำว่าอ้างถึงโดย (cited by)

2. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นคนไทย เมื่อเป็นประธานของประโยค ใช้ "วิบูรณ์ และจุรีรัตน์ (2549), เลิศชัย และคณะ(2549) กล่าวว่า....." หรือเมื่อรายงานอยู่กลาง หรือท้ายประโยค ใช้ (วิบูรณ์, 2549) หรือมีเอกสารอ้างอิงในเรื่องเดียวกันมากกว่า 1 ฉบับ ให้ใช้ (ถาวร และคณะ, 2547; นริศ และสินสมุทร, 2543 .....)

3. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นชาวต่างประเทศ เมื่อเป็นประธานของประโยค ใช้ "Rudbeck and Dissing (1998), Kashi *et al.* (1990) กล่าวว่า..... " หรือเมื่อผู้รายงานอยู่ระหว่างกลางหรือท้ายประโยค ใช้ (Rudbeck and Dissing, 1998; Kashi *et al.*, 1990 .....)

4. กรณีอ้างถึงบุคคลหรือเรื่องที่ไม่เคยลงพิมพ์มาก่อน (personal communication) ให้อ้างเฉพาะในเนื้อเรื่องเท่านั้น ไม่ต้องนำไปลงในรายชื่อเอกสารอ้างอิง เช่น ....similar results (Walker,J.M., unpublished data), ...for other protocols (Walker,J.M., personal communication)

ข. การเขียนเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่อง ควรขึ้นต้นเอกสารอ้างอิงภาษาไทยก่อน เขียนเรียงตามลำดับพยัญชนะของผู้เขียน ถ้าเป็นภาษาอังกฤษใช้ชื่อสกุลตามด้วยชื่อย่อของผู้แต่ง แล้วตามด้วยปี ชื่อเรื่อง ชื่อหนังสือ หรือชื่อย่อวารสาร ปีที่ ฉบับที่ และหน้าที่อ้างอิง ดังตัวอย่าง

วิบูรณ์ ตุลารักษา และ จุรีรัตน์ แสนโภชน์. 2549. การสกัด ดีเอ็นเอ เซลล์รากขนในโคนมไทยโฮลสไตน์. การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 2 "ก้าวทันสมัยกับปศุสัตว์ไทย" วันที่ 24 มกราคม 2549. โรงแรมโซฟิเทล ขอนแก่น. หน้า 452-463.

เลิศชัย จินตพิทักษ์สกุล รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล และกัลยา เก่งวิกย์กรรม. 2549. การประเมินวิธีสกัดแยกดีเอ็นเอจากเลือด น้ำเชื้อ และเซลล์รากขนของพ่อพันธุ์โค. สัตวแพทย์สาร. 56 (3):68-79.

Jason, R. H. and Callings, D.F. 1971. Transplacental infection of piglets with a porcine parvovirus. Res. Vet. Sci. 12: 570-572.

กรณีอ้างอิงจากตำรา ให้ระบุชื่อผู้เขียน ปีที่ตีพิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อตำรา (พิมพ์ครั้งที่เท่าใด และบรรณาธิการหากมี) สำนักพิมพ์ เมืองที่พิมพ์ หน้าแรกและหน้าสุดท้ายที่อ้างถึง ดังตัวอย่าง

Allison, P.D.2005. Survival analysis using SAS: A practical guide 8th edition. SAS institute Inc., Cary, NC, USA. 292 pp.

Van Oirschot, J. T. 1986. Hog Cholera. In : Disease of Swine, 6th ed. Leman, A. D. ed.Iowa state university Press. lowa. p. 293-297.

กรณีอ้างอิงจากเวบไซต์ (Online references) ดังตัวอย่าง

Weeden, N.F. 1993. Comparison of DNA ex-

traction protocols. [Online] http://home.twony.rr.com/protocol.htm Access 29/10/2005.

จันทรา แป้นตุ้ม จุฑาพร ศรีวิพัฒน์ วรวิทย์ แสงสิงแก้ว และพึ่งพิศ ดุลยพัชร์ . 2541 . อาหารจากข้าวโพด. คู่มือการส่งเสริมการเกษตรที่ 43. แหล่งที่มา: http://www.ku.ac.th/agri/cornn/corn.htm. 27 มีนาคม 2541.

5. การพิมพ์ผลงานทางวิชาการ

ตัวพิมพ์ ให้พิมพ์ดีด หรือใช้เครื่องพิมพ์ (Printer) หมึกพิมพ์ต้องเป็นสีดำ คมชัด สะดวกแก่การอ่านและใช้ตัวพิมพ์แบบเดียวกันทั้งฉบับ กรณีใช้เครื่องคอมพิวเตอร์พิมพ์เนื้อความให้ใช้ตัวอักษร Angsana UPC 16 ตัวปกติ เท่านั้น ยกเว้นหัวข้อใหญ่ เช่น ชื่อเรื่อง บทคัดย่อ บทนำ อุปกรณ์และวิธีการ ผล วิจารณ์ สรุป กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง พิมพ์โดยใช้ตัวอักษรแบบหนา (Bold) ขนาด 18 ส่วนหัวข้อย่อย เช่น ชื่อผู้วิจัยและคณะ คำสำคัญ ตาราง รูปภาพ เป็นต้น พิมพ์โดยใช้ตัวอักษรแบบหนา (Bold) ขนาด 16

กระดาษที่ใช้พิมพ์ ให้ใช้กระดาษขาวไม่มีบรรทัด ขนาดมาตรฐาน A4 (210 X 297 มม.) ใช้เพียงหน้าเดียว

การเว้นที่ว่างขอบกระดาษ

- ตั้งกั้นหน้าบนและซ้ายไว้ที่ 2.5 เซนติเมตร
- ด้านขวาและด้านล่างไว้ที่ 2.0 เซนติเมตร

การเว้นระยะในการพิมพ์

- การเว้นระยะระหว่างบรรทัดและการย่อหน้า ควรจัดตามความสวยงาม
- กรณีคำสุดท้ายไม่จบบรรทัดนั้นๆ ให้ยกคำนั้นทั้งคำไปพิมพ์ในบรรทัดต่อไป ไม่ควรตัดส่วยท้ายของคำไปพิมพ์ในบรรทัดใหม่ เช่น กระบือปลัก ไม่ให้แยกเป็น กระบือ-ปลัก เป็นต้น
- หลังเครื่องหมาย . และ , หรือ ; เคาะ 1 เคาะ
- ระหว่างคำสุดท้าย กับเครื่องหมาย . และ , ไม่เว้นช่องว่าง
- ไม่ต้องเว้นช่องว่าง ระหว่างวงเล็บ และคำข้างในวงเล็บ เช่น (รพีพรรณ และคณะ)

การลำดับหน้า

- ลำดับหน้าโดยใช้หมายเลข 1,2,3.....ที่กึ่งกลางหน้ากระดาษ

ตาราง รูปภาพ และแผนภูมิ กราฟ

- ตารางประกอบด้วย เลขที่ของตาราง (table number) ชื่อตาราง (table title) หัวตาราง (table heading) และที่มาของตาราง (ถ้ามี) โดยให้ทำเป็นภาษาอังกฤษหรือภาษาไทยทั้งตาราง พิมพ์อยู่ในหน้าเดียวกันทั้งหมด
- กรณีตารางมีความยาวมาก ไม่สามารถสิ้นสุดในหน้าเดียวได้ ให้พิมพ์ส่วนที่เหลือในหน้าถัดไปโดยพิมพ์เลขที่ตารางและตามด้วยคำว่า (ต่อ)
- กรณีรูปภาพ แผนที่ แผนภูมิ กราฟ ควรเป็นภาพขาวดำ และใช้แนวทางข้างต้น

การพิมพ์ชื่อวิทยาศาสตร์ของสิ่งมีชีวิต ให้ใช้ตามประมวลนามศาสตร์สากล (International code of nomenculture) คือ **ขีดเส้นใต้** หรือ *พิมพ์ด้วยตัวเอน* ชื่อวิทยาศาสตร์เป็นไปตามการตั้งชื่อระบบทวินาม (Binomial nomenculture) คือประกอบด้วยคำ 2 คำ คำแรกเป็นชื่อ Genus ขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่ คำหลังเป็น specific epithet พิมพ์เว้นวรรคห่างจากคำแรก และขึ้นต้นด้วยอักษรตัวเล็ก ดังตัวอย่าง

จุลชีพ เช่น Escherichia coli หรือพิมพ์ด้วยตัวเอน *Escherichia coli*

พืช เช่น Oryza sativa หรือพิมพ์ตัวเอน *Oryza sativa*

สัตว์ เช่น Bos taurus หรือพิมพ์ตัวเอน *Bos taurus*

สารบัญ

- Effect of different heparin concentrations on *in vitro* fertilization rate in Thai swamp buffalo *(Bubalus bubalis).* 1
  Viboon Yiengvisavakul Narongkorn Kasemsuk and Wiboon Tularaksa
- ความเข้มข้นของ Heparin ต่ออัตราปฏิสนธินอกร่างกายในกระบือปลักไทย
  วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกูร ณรงค์กร เกษมสุข และ วิบูรณ์ ตุลารักษา

- Superovulatory response in Thai swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) treated with recombinant bovine somatotropin (rBST) and FSH. 9
  Viboon Yiengvisavakul and Charlie Leelasiri
- ผลของ Recombinant Bovine Somatotropin (rBST) ต่อการเพิ่มการตกไข่ด้วย เอฟ เอส เอช ในกระบือปลักไทย *(Bubalus bubalis)*
  วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกูร และ ชาลี ลีละสิริ

- Sperm Transport after Deep Intra Uterine Insemination Compared with Conventional Artificial Insemination in Pig. 18
  Padet Tummaruk Peerapong Sumransap Mongkol Techakumphu and Annop Kunavongkrit
- การกระจายของตัวอสุจิภายหลังการผสมเทียมแบบการสอดท่อเข้าปีกมดลูก เปรียบเทียบกับการผสมเทียมตามปกติในแม่สุกร
  เผด็จ ธรรมรักษ์ พีระพงษ์ สำราญทรัพย์ มงคล เตชะกำพุ และ อรรณพ คุณาวงษ์กฤต

- ผลการใช้ฮอร์โมน GnRH ต่ออัตราการผสมติดในโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำ 29
  พีระพงษ์ สำราญทรัพย์ สาโรช งามขำ และ นุสสรา วัฒนกุล
- GnRH Application for Improving Pregnancy Rate in Repeat Breeding Dairy Cows.
  Peerapong Sumransap Saroch Ngamkhum and Nussara Vadhanakul

- ปัจจัยที่มีผลต่อสัดส่วนการได้รับการผสมครั้งแรกของแม่โคภายหลังคลอดในโคนมลูกผสม 40
  เอกพจน์ ระงับพิศม์ วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา และ สุรชัย สุรฤทธิพงศ์
- Factors affecting on the proportion of first serviced cows in crossbred dairy cows.
  Ekaphot Ra-ngabpit Veerasak Punyapornwithaya and Surachai Surarittipong.

สารบัญ

- Reproductive performance of different dairy cross breeds under smallholder conditions in Thailand 48
  Chalie Leelasiri Sayan Buaban and Jureeratn Sanpote
- สมรรถภาพการสืบพันธุ์โคนมลูกผสมระดับสายเลือดต่างๆ ของเกษตรกรรายย่อยในประเทศไทย
  ชาลี ลีละสิริ สายัณห์ บัวบาน และ จุรีรัตน์ แสนโภชน์
- ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของโคนมลูกผสมเพศเมียก่อนหย่านม 58
  สุนทร นาดี
- Factors Affecting Pre-weaning Growth Performances of Female Crossbred Dairy Calves
  Soontorn Nadee
- ผลของการยกหลอดน้ำเชื้อขึ้นเหนือระดับไนโตรเจนเหลวต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ 66
  สราวุธ ฉายประสาท วิญญู เบ็ญจกุล อภิชาติ ชาติเชื้อ พิชิตดวง เจิมปลั่ง
  และ วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา
- Effect of semen straw lifting over liquid nitrogen on sperm progressive motility.
  Sarawuth Chaiprasat Winyou Benjaku Apichart Chartchue Phichitduang Joemplang
  and Veerasak Punyapornwithaya
- ผลของวิธีการละลายน้ำเชื้อต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ 73
  สราวุธ ฉายประสาท วิญญู เบ็ญจกุล อภิชาติ ชาติเชื้อ พิชิตดวง เจิมปลั่ง และ วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา
- Effect of semen thawing methods on sperm progressive motility.
  Sarawuth Chaiprasat Winyou Benjaku Apichart Chartchue Phichitduang Joemplang
  Veerasak Punyapornwithaya

Effect of different heparin concentrations on *in vitro* fertilization rate in Thai swamp buffalo *(Bubalus bubalis)*

Viboon Yiengvisavakul[1,*] Narongkorn Kasemsuk[2] and Wiboon Tularaksa[1]

[1]Bureau of Biotechnology in Animal Production, Department of Livestock Development, Tiwanon Road, Pathum thani 12000, THAILAND.

[2]Saraburi Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Saraburi, THAILAND.

[*]Corresponding author: viboony@yahoo.com

Abstract

This study was undertaken to determine the effect of different heparin concentrations on *in vitro* fertilization (IVF) rate in Thai swamp buffalo. IVF media with 4 different heparin concentrations, 0,10,20 and 40 µg/ml. respectively, were tested for fertilization rate of *in vitro* matured oocytes and frozen-thawed semen of Thai swamp buffalo at 38.5°C, 5%CO_2. After 18 hours of IVF, the presumptive zygotes were stained then fertilization rate was evaluated. The means of fertilization rate of Total(T), Normal(N), Polyspermic(PS), and Abnormal(AB) in the groups treated with heparin at 10,20 and 40 µg/ml showed no significant difference *($p>0.05$)*. However, there were significant differences ($p<0.05$) of T (46.6±7.9, 51.0±8.7, 56.2±8.3, and 3.9±2.1) and N (20.8±4.7, 27.7±4.5, 30.8 ±5.8, and 0.0) between the groups of 10,20 and 40 µg/ml and the group of 0 µg/ml, respectively. This study indicated that heparin was crucial for IVF and heparin concentrations at 10,20 and 40 µg/ml. did not show significant differences in IVF rate in Thai swamp buffalo.

Keywords: swamp buffalo, *in vitro* fertilization, heparin

Introduction

In mammals, freshly ejaculated sperm are incapable of fertilizing the oocyte. They gain this ability through a process called capacitation. They are capacitated *in vivo* during their transit through the female reproductive tract toward the site of fertilization or *in vitro* in defined conditions (Chang,1951; Yanagimachi,1981; Yanagimachi, 1994). The mechanism of capacitation is poorly understood, but it involves many biochemical changes. These include the removal of adsorbed components from the sperm surface, a change in membrane lipid composition, increased permeability to certain ions such as Ca^{2+}, a change in internal pH, and increase in plasma membrane fluidity and in metabolism (Yanagimachi,1994; Go and Wolf, 1983; Lane *et al.*1999; Meizel,1985; Oliphant *et al.*1985; Langlais and Roberts, 1985; Handrow *et al.*1989; Parrish *et al.*1993). Many studies have shown that heparin (Manjunath and Therien,2002; Cormier and Bailey, 2003.) and heparin-like glycosaminoglycans (GAGs) (Bergqvist, Ann-Sofi. and Heriberto,Rodriguez-Martinez,2006) found in follicular fluid and oviduct play a role in capacitaion of bovine sperm (Langlais and Roberts,1985; Handrow *et al.*1989; Parrish *et al.*1993; Park *et al.*1990). There are many studies on *in vitro* fertilization (IVF) in buffalo, however, very few studies on effect of different heparin concentrations on capacitation and IVF rate in buffalo have been reported. This study was aimed to determine the effect of different heparin concentrations on *in vitro* fertilization (IVF) rate in Thai swamp buffalo.

Materials and Methods

Thai swamp buffalo ovaries were collected at slaughterhouses and transported to the laboratory within 2-3 hours in saline (0.9% w/v NaCl, 35°C). The collection of cumulus-oocyte complexes(COC) and *in vitro* maturation (IVM) were performed according to Songsasen and Malee,2002. The matured oocytes were used for IVF as was described by Xu *et al*,1992. Heparin (Porcine intestinal mucosa) (Sigma Chemical Co.,St.Louis,Mo.,USA.) at concentrations of 0,10,20 and 40 µg/ml. respectively, was prepared in IVF-TALP medium (Life Technologies., Grand Island, NY.,USA.). After Thai swamp buffalo frozen semen was thawed, sperm were selected using "swim-up" technique according to Xu *et al*,1992. $1x10^6$sperm/ml were added to each 100 µl fertilization droplet containing 20 matured oocytes then they were cocultured in 5%CO_2, 38.5°C, 18 hours (Xu *et al*,1992). The IVF media were IVF-TALP with heparin concentrations at 0,10,20 and 40 µg/ml, respectively. Ten replications of IVF with those mentioned 4 different heparin concentrations in IVF media were tested. After 18 hours, presumptive zygotes or penetrated oocytes were fixed and stained using method of King *et al.*1979. The presumptive zygotes were evaluated for fertilization rate. Oocytes were considered penetrated when at least one spermatozoon was detected in the ooplasm. Penetrated oocytes were classified as follows (Martino *et al.*1996): Normal(N) - an oocyte with 2 fully developed, synchronous pronuclei and a sperm tail clearly visible in the ooplasm; Polyspermic(PS) - an oocyte penetrated by 2 or more spermatozoa; Abnormal(AB) - an oocyte pen-

etrated by a single spermatozoon showing any abnormality in the male or female pronucleus (lack of decondensation of the sperm head or lack of female pronucleus formation, delay or blockage of pronucleus formation, asynchronous development of the two pronuclei); Total(T) - all of the above.

Statistical analyses were performed by General Linear Procedures Model of the SAS, Statistical Analysis System (SAS Institute Inc.,1998). Percentage of fertilization rate of Normal(N), Polyspermic(PS), Abnormal(AB) and Total(T) in 4 different heparin concentrations, 0,10,20 and 40 µg/ml., respectively were compared by one-way ANOVA following arcsine transformation of the proportional data. Differences were considered significant when $p<0.05$. Means fertilization rate of each different heparin concentrations groups were tested using Duncan New Multiples Range Test (DNMR test).

Results

From 10 replications of IVF with different heparin concentrations (0,10,20 and 40 µg/ml., respectively) in IVF media, the study yielded 671 presumptive zygotes (Table 1). The means fertilization rate of Normal(N), Polyspermic(PS), Abnormal(AB) and Total(T) of the groups at heparin concentration of 0,10,20 and 40 µg/ml. respectively, did not show significant differences ($p<0.05$) as showing in Table 1. However, the Normal(N) and Total(T) means fertilization rate of groups 10,20 and 40 µg/ml. were significantly different ($p<0.05$) from group 0 µg/ml. While Polyspermic(PS) fertilization rate of group 0 µg/ml. showed significant difference from group 20 µg/ml.(1.6±1.1 VS 13.2±3.7,respectively). In contrast, it was not significantly different ($p<0.05$) from groups 10 and 40 µg/ml. Group 0 µg/ml. also had significant difference ($p<0.05$) of Abnormal(AB) fertilization rate from groups 10 and 40 µg/ml.(2.3±1.3 VS 17.9±4.5 and 19.2±6.2, respectively). But it was not significant different ($p<0.05$) from group 20 µg/ml. (2.3±1.3 VS 10.1± 2.2, respectively).

Table 1. Effect of different heparin concentrations on *in vitro* fertilization (IVF) rate.

Heparin concentration µg/ml	Total presumptive zygotes	Fertilization rate (mean ± SE)			
		Normal (N)	Polyspermic (PS)	Abnormal (AB)	Total (T)
0	152	0.0^{b}	1.6 ± 1.1^{b}	2.3 ± 1.3^{b}	3.9 ± 2.1^{b}
10	161	20.8 ± 4.7^{a}	7.9 ± 2.3^{ab}	17.9 ± 4.5^{a}	46.6 ± 7.9^{a}
20	174	27.7 ± 4.5^{a}	13.2 ± 3.7^{a}	10.1 ± 2.2^{ab}	51.0 ± 8.8^{a}
40	184	30.8 ± 5.8^{a}	6.3 ± 2.1^{ab}	19.2 ± 6.2^{a}	56.2 ± 8.3^{a}

[a, b] with in the same column shows significant differences ($p<0.05$)

From this study we also found that groups 10, 20 and 40 µg/ml. had higher Normal(N) fertilization rate than Polyspermic(PS) and Abnormal(AB) fertilization rate. It also showed that there was no Normal(N) fertilization occurred in group 0 µg/ml.

Discussion

The results obtained from this study showed no significant differences of Normal(N), Polyspermic(PS), Abnormal(AB) and Total(T) fertilization rate among groups 10,20 and 40 µg/ml. but these 3 groups had significant differences of Normal(N), Polyspermic(PS), Abnormal(AB) and Total(T) fertilization rate from group 0 µg/ml. There was also no Normal(N) fertilization found in group 0 µg/ml. This information indicated that heparin was crucial in *in vitro* fertilization and, as reported in many studies, in capacitation. This finding was in line with previous studies indicated that heparin or heparin-like GAG played an important role in capacitation and fertilization (Langlais and Roberts,1985; Handrow *et al.*1989; Parrish *et al.*1993; Park *et al.*1990). This study found groups 10, 20 and 40 µg/ml. had higher Normal(N) fertilization rate than Polyspermic(PS) and Abnormal(AB) fertilization rate. The result could be implied that at these heparin concentrations, capacitation and fertilization could normally occur in buffalo. Totey *et al.*1993. did an experiment by using 100 µg/ml. heparin for IVF in buffalo and obtained a result of decreased fertilization rate. This result might be affected by too high of the heparin concentration as being compared to 10,20 and 40 µg/ml. heparin used in our study.

Ejaculated sperm acquire fertilization ability by interacting with capacitation factors present in the female genital tract. Several studies have shown that incubation with heparin or heparin-like GAG promotes capacitation in bovine sperm (Handrow *et al.*1982; Lenz *et al.*1983; Lenz *et al.*1982 and Lee *et al.*1985; Bergqvist,Ann-Sofi. and Heriberto,Rodriguez-Martinez, 2006; Cormier and Bailey, 2003). The precise mechanism of capacitation remains poorly understood but it involves changes in sperm intracellular ion concentrations, plasma membrane fluidity, metabolism and motility (Yanagimachi,1994; Go and Wolf,1983; Lane *et al.*1999; Meizel,1985; Oliphant *et al.*1985; Langlais and Roberts,1985; Handrow *et al.*1989; Parrish *et al.*1993). The putative mechanism of heparin or heparin-like (GAG) functions has been postulated that heparin or GAG modulates capacitating by binding to proteins of the sperm membrane (Miller *et al.*1990; Therien *et al.*1995; Cormier and Bailey, 2003). This heparin or GAG, which is bound to spermatzoa, appears to stimulate 1) the intracellular elevation of calcium, pH and cAMP, which seem to be necessary to initiate the signaling pathway concomitant with capacitation (Galantino-Homer *et al.*1997; Parrish *et al*1988[a]; Parrish *et al*1994; Visconti *et al.*1998) and 2) the removal of seminal plasma proteins adsorbed to the plasma membrane, which are considered to be inhibitors of capacitation (Miller *et al.*1990; Therien *et al.* 1995). The transmembrane and intracellular signaling events that regulate sperm capacitation appear to be common among mammalian sperm. In cattle, heparin binds to sperm (Parrish *et*

al. 1988[b]) and induces changes in the intracellular environment of the sperm for example Ca^{2+} uptake and an increase in intracellular free calcium and intracellular pH (Handrow *et al.*1989; Parrish *et al.*1993), increase in protein phosphorylation (Galantino-Homer *et al.*1997;Cormier and Bailey, 2003). All of these changes as well as many other still unknown factors and events allow the spermatozoa to undergo capacitation and acrosome reaction following interaction with the zona pellucida which will lead to fertilization (Lane *et al.*1999).

This study demonstrated that heparin was necessary in *in vitro* fertilization and at concentrations of 10, 20 and 40 µg/ml., fertilization could happen. Buffaloes are renowned for difficulties in the implementation of assisted reproductive technologies (Tatham *et al.*2003), yet there have been few information about *in vitro* fertilization on this species. This study's result is only a piece in jigsaw puzzle of mysterious buffalo reproductive biology. Further investigations in the field of *in vitro* fertilization in buffalo are necessary to elucidate the obstacles in the path leads to better results in buffalo production.

References

Bergqvist,Ann-Sofi and Heriberto,Rodriguez-Martinez.2006. Sulphated glycosaminoglycans (S-GAGs) and syndecans in the bovine oviduct. Ani.Reprod.Sci.93:46-60.

Chang,M.C.1951. Fertilization capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes. Nature(London) 168:697-698.

Cormier,N. and Bailey,J.L.2003. A differential mechanism is involved during heparin- and cryopreservation-induced capacitation of bovine spermatozoa. Biol.Reprod.69:177-185.

Galantino-Homer,H.L., Visconti,P.E., Kopf,G.S. 1997. Regulation of protein tyrosine phosphorylation during bovine sperm capacitation by a cyclic adenosine 3'5'-monophosphate-dependent pathway. Boil.Reprod.56:707-719.

Go,K.J. and Wolf,D.P.1983. The role of sterols in sperm capacitation. Adv.Lipid.Res.20, 317-330.

Handrow,R.R.,First,N.L.and Parrish,J.J.1989. Calcium requirement and increased association with bovine sperm during capacitation by heparin. J.Exp.Zool. 252:174-182.

Handrow,R.R., Lenz,R.W. and Ax,R.L.1982. Structural comparisons among glycosamino glycans to promote acrosome reaction in bovine spermatozoa. Biochem.Biophys. Commun. 107:1326-1332.

King,W.A., Linares,T., Gustavsson,I. And Bane,A. 1979. A method for preparation of chromosomes from bovine zygotes and blastocysts. Vet.Sci.Commun.3:51-56.

Lane,M.-E., Therien,I., Moreau,R. and Manjunath,P.1999. Heparin and high-density lipoprotein mediate bovine sperm capacitation by different mechanisms. Biol.Reprod. 60:169-175.

Langlais,J. and Roberts,K.D. 1985. A molecular membrane model of sperm capacitation and the acrosome reaction of mammalian spermatozoa. Gamete Res.12:183-224.

Lee,C.N. ,Handrow,R.R., Lenz,R.W. and Ax,R.L.1985. Interactions of seminal plasma and glycosami-

noglycans on acrosome reaction in bovine spermatozoa in vitro. Gamete.Res. 12:345-355.

Lenz,R.W., Ax,R.L., Grimmek,H.J. and First,N.L.1982. Proteoglycan from bovine follicular fluid enhances an acrosome reaction in bovine spermatozoa. Biochem.Biophys.Res. Commun. 106: 1092-1098.

Lenz,R.W., Ball,G.D., Lohse,J.K., First,N.L. and Ax,R.L.1983. Chondroitin sulfate facilitates an acrosome reaction in bovine spermatozoa as evidenced by light microscopy, electron microscopy and in vitro fertilization. Biol.Reprod.28:683-690.

Manjunath,P. and Therien,I.2002. Role of seminal plasma phospholipids-binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. J.Reprod.Immun.53: 109-119.

Martino,A., N.Songsasen and S.P.Leibo. 1996. Development into Blastocysts of Bovine Oocytes Cryopreserved by Ultra-Rapid Cooling. Biol.Reprod.54:1059-1069.

Meizel,S. 1985. Molecules that initiate or help stimulate the acrosome reaction by their interaction with the mammalian sperm surface. Am.J.Anat.174:285-302.

Miller,D.J., Winer,M.A. and Ax,R.L.1990. Heparin-binding proteins from seminal plasma bind to bovine spermatozoa and modulate capacitation by heparin. Biol.Reprod.42:899-915.

Oliphant,G., Reynolds,A.B. and Thomas,T.S. 1985. Sperm surface components involved in the control of the acrosome reaction. Am.J.Anat. 174,269-283.

Parks, J.E., Ehrenwald,E. 1990. Cholesterol efflux from mammalian sperm and its potential role in capacitation. In:Fertilization in Mammals. Edited by Bavister,B.D.,Ummin.and Roldan,E.R.S. Serono Symposia.155-167.

Parrish,J.J., Susko-Parrish, J.L.,Winer,M.A. and N.L. First.1988[a]. Capacitation of bovine sperm by heparin. Biol.Reprod.38:1171-1180.

Parrish,J.J., Susko-Parrish,J.L. and N.L. First.1988[b]. Capacitation of bovine sperm by heparin is correlated with 3H-heparin binding and is blocked by protamine sulfate. Biol.Reprod. 38(suppl 1):59.

Parrish,J.J., Susko-Parrish,J.L. and N.L. First.1989. Capacitation of bovine sperm by heparin: inhibitory effect of glucose and role of intracellular pH. Biol.Reprod. 41: 683-699.

Parrish,J.J., Susko-Parrish,J.L., C.Uguz and N.L. First. 1994. Differences in the role of cyclic Adenosine3'-5'monophosphate during capacitation of bovine sperm by heparin of oviduct fluid. Biol.Reprod.51:1099-1108.

Parrish,J.J., Vrendenburgn,W.L.and Lavin,C.A. 1993. Increases in bovine sperm intracellular calcium(Cai) and pH(pHi) during capacitation. Biol.Reprod.48(suppl 1):106.

Songsasen, N. and M.Apimeteetumrong. 2002. Effect of ß-mercaptoethanol on formation of pronuclei and developmental competence of swamp buffalo oocytes. J.Ani.Reprod. Sci. 71:193-202.

Tatham,B.G., Feehan,T. And Pashen,R. 2003. Buffalo and cattle hybrid embryo development is decreased by caffeine treatment during in vitro fertilization. Theriogenology.59:709-717.

Therien,I.,Bleau,G. and Manjunath,J. 1995. Phosphatidylcholine-binding proteins of bovine seminal plasma

modulate capacitation of spermatozoa by heparin. Biol.Repord.52: 1372-1379.

Totey,S.M., Pawshe,C.H. and Singh,G.P.1993. Effects of bull and heparin and sperm concentrations on *in vitro* fertilization of buffalo (Bubalus bubalis) oocytes matured in vitro. Theriogenology.39:887-898.

Visconti,P.E., Galantino-Homer,H.L., Moore,G.D., Bailey,J.L., Ning,X., Fornes,M. and Kopf,G.S.1998. The molecular basis of sperm capacitation. J.Androl.19:242-248.

Xu.K.P., B.R.Yadar, R.W.Rorie, L.Plunet, K.J.Betteridge and W.A.King. 1992. Development and viability of bovine embryos derived from oocytes matured and fertilized in vitro and co-cultured with bovine oviductal epithelial cells. J.Reprod. Fertile. 94:33-43

Yanagimachi,R.1981. Mechanisms of fertilization in mammals. In:Fertilization and Embryo nic Development *In Vitro.* Edited by Mastroianni,L. and Biggers,J. New York: Plenum Publishers. p.81-182.

Yangimachi,R.1994. Mammalian fertilization. In:The Physiology of Reproduction. 2nd ed. Edited by Knobil E. and Neil,J.D. Raven Press, New York. p.189-317.

ความเข้มข้นของ Heparin ต่ออัตราปฏิสนธินอกร่างกายในกระบือปลักไทย

วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกูร[1,*] ณรงค์กร เกษมสุข[2] วิบูรณ์ ตุลารักษา[1]

[1,*] สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี ปทุมธานี 12000
[2] ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพสระบุรี สระบุรี
[*] ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ : viboony@yahoo.com

บทคัดย่อ

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของ Heparin ในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่ออัตราปฏิสนธิในการปฏิสนธินอกร่างกาย (IVF) ระหว่างอสุจิและไข่กระบือปลัก นำอสุจิขนาด 1x 10^6 sperm/ml เข้าปฏิสนธิกับไข่ที่เจริญถึงขั้นปฏิสนธิในสารละลาย IVF ที่มี Heparin ที่ความเข้มข้น 0, 10, 20 และ 40 µg/ml ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 38.5 °C, 5.0% CO_2 และความชื้นสัมพัทธ์สูง นาน 18 ชั่วโมง จากนั้นนำไข่มาย้อมสีเพื่อตรวจอัตราปฏิสนธิ โดยแบ่งเป็น 4 แบบ 1. ปกติ (N), 2. Polyspermic (PS), 3. ผิดปกติ (AB) และ 4.ทั้งหมด (T) ซึ่งพบว่า ในกลุ่ม Heparin ที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 40µg/ml มีอัตราการปฏิสนธิแบบปกติ (N), Polyspermic (PS), ผิดปกติ (AB) และทั้งหมด (T) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แต่ในกลุ่ม Heparin 10, 20 และ 40µg/ml มีอัตราปฏิสนธิ T และ N แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่ม 0 µg/ml ($p<0.05$) คือ อัตราปฏิสนธิ T เท่ากับ 46.6 ± 7.9, 51.0 ± 8.7, 56.2 ± 8.3 และ 3.9 ± 2.1 ตามลำดับ และมีอัตราปฏิสนธิ N เท่ากับ 20.8 ± 4.7, 27.7 ± 4.5, 30.8 ± 5.8 และ 0.0 ตามลำดับ จากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า Heparin มีความจำเป็นในการปฏิสนธินอกร่างกายของอสุจิและไข่กระบือปลัก Heparin ที่ความเข้มข้น 10, 20 และ 40 µg/ml ทำให้เกิดการปฏิสนธินอกร่างกายกระบือปลักไทยได้

คำสำคัญ: กระบือ, ปฏิสนธินอกร่างกาย, heparin

Superovulatory response in Thai swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) treated with recombinant bovine somatotropin (rBST) and FSH

Viboon Yiengvisavakul[1,*] and Charlie Leelasiri[1]

[1] Bureau of Biotechnology in Animal Production, Department of Livestock Development, Tiwanon Road, Pathum thani 12000, THAILAND

[*] Corresponding author : viboony@yahoo.com

Abstract

This study was aimed to determine the effect of treating recombinant bovine somatotropin (rBST) and follicle stimulating hormone (FSH) on superovulatory response in Thai swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). Sixteen buffalo cows were estrous synchronized by intravaginal administration of progesterone (CIDR-B) and estradiol benzoate. Then the cows were randomly divided into 2 groups. Group1: treated with rBST and FSH. Group2: treated only with FSH. On day 4 after CIDR-B implantation, Group1 received rBST 250mg then between days 9-11, both groups were treated with a superovulatory regimen of twice daily injections of FSH for 3.5 days, a total of 260 mg.,i/m. The cows were bred naturally (at standing heat). After mating 6 days, they were slaughtered, then ovaries and uteri were collected. The numbers of corpus lutea(CL) and follicles(F) were counted. Embryos were collected from uterine horns. Results showed no significant differences between Group1 and Group2 for the mean numbers (±SEM) of CL (6.0±2.2 vs 4.3±1.1), F (15.9±4.1 vs 19.8±2.9), or total embryos recovered per collection (4.5±1.6 vs 2.3±1.0). However, there were significant differences between Group 1 and Group 2 for the numbers of transferable embryos per collection (3.0±1.0 vs 0.8±0.3; $p < 0.05$) and the overall proportion of transferable embryos (75 vs 33%;$p < 0.01$).

The results obtained from this study indicated that Thai swamp buffalo treated with rBST in superovulatory regimen enhanced the numbers of transferable embryos.

Keywords: swamp buffalo, somatotropin, superovulation, FSH.

Introduction

Buffalo are renowned for difficulties in the implementation of assisted reproductive technologies (Tatham *et al.*, 2003). There have been many studies in buffalo embryo transfer that showed low numbers of transferable embryos collected from a single buffalo cow, an average of 1 embryo for swamp buffalo (Chantaraprateep *et al.*, 1988; Chantaraprateep *et al.*, 1989; Misra *et al.*, 1994; Techakumphu *et al.*, 1998[a]; Techakumphu *et al.*, 1998[b]) and 1-2 embryos for river buffalo (Cruz, 1996; Misra *et al.*, 1994). This is probably due to the low superovulatory response to the treatment (Beg *et al.*, 1997; Chantaraprateep *et al.*, 1988; Cruz, 1996; Misra *et al.*, 1994; Sophon *et al.*, 1989). As has been confirmed by several reports that show lower number of follicles (Le Van *et al.*, 1989) and higher follicular atresia rate in buffalo than in cattle (Cruz, 1996; Ocampo *et al.*, 1994).

Recombinant human somatotropin reduces the incidence of anovulation and significantly improves follicular development in women (Blumenfeld and Lumenfeld, 1989). Several reports of rBST have shown improvement of superovulatory response in cattle and Mediterranean buffalo (Zicarelli, 1994; Gong *et al.*, 199; 1993[b]; Herrker *et al.*, 1994; Kuehner *et al.*,.1993; Rieger *et al.*, 1991). Gong *et al.* (1997) reported that number of ovarian follicles <5mm in diameter was increased in response to rBST treatment. Development of such follicles to preovulatory follicles is dependent on the amount of gonadotrophin in the circulation (Fortune, 1994). It is possible that an increase in number of follicles at the time of gonado trophin treatment is responsible to increasing of superovulatory responses in rBST-treated cattle (Gong *et al.*, 1992; 1997; Herrler *et al.*, 1994).

There are not many studies of the effect of somatotropin on superovulatory response in buffalo, howevermany reports of rBST effect on superovulatory response in cattle have been reported. Hence, the objective of this study was to determine the effect of rBST and FSH on superovulatory response in Thai swamp buffalo.

Materials and Methods

Sixteen fertility proven Thai swamp buffalo cows were estrous synchronized by intravaginal insertion of 1.9 g. progesterone coated silicone elastomer (EAZI-BREED CIDR-B®, InterAg, Hamilton, New Zealand.) and 10 mg. estradiol benzoate (CIDIROL® capsule, InterAg, Hamilton, New Zealand). Then the cows were randomly divided into 2 groups, 8 cows in each group. Group 1 : cows were treated with follicle stimulating hormone (FSH, Folltropin-V®, Vetrepharm, Victoria, Australia) and recombinant bovine somatotropin (rBST) (Boostin-250®,LG Chemical Ltd.,Dae Jeon, South Korea). Group 2 : cows were treated with only FSH. On day 4 after CIDR-B implantation, cows in group 1 received rBST, s/c in

caudal fold area. Between day 9-11, cows in both groups were given FSH, i/m twice daily in decreasing dose, for 3.5 days (48-44,40-40,32-32 and 24 mg., respectively, 260 mg. in total). On the morning of day 3 of superovulatory treatment (FSH injections), 500 mg. synthetic prostaglandin $F_{2\alpha}$ (Estrumate®, Coopers Animal Health Ltd., Berkhamsted, England) was injected intramuscularly and in the afternoon of the same day, CIDR-B were removed. When cows showed standing heat, they were bred by fertility proven bulls. Six days after mating, the cows were sent to an abattoir, then their ovaries and uteri were collected and brought to the laboratory.

Numbers of corpus lutea on both ovaries of each cow were counted to determine the ovulation rate. Numbers of follicles on both ovaries of each cow were also recorded according to 4 categories : < 2mm., 2-6 mm.,6-10 mm. and >10 mm. Embryos were flushed out from uterine horns and collected according to Techakumphu *et al.*1998[a]. They were evaluated according to morphological criteria (Lindner and Wright, 1983). Embryos classified as excellent, good and fair were considered to be transferable.

Statistical Analysis:

All of the data are presented as mean ±SEM unless otherwise specified. Comparisons between group 1 and group 2 for the number of cows with no response were performed by Fisher's exact probability test. Statistical differences between the 2 groups for the numbers of corpus lutea(CL), follicles (F) in each size category, and total and transferable numbers of embryos were analyzed by Student's t-test. Comparison between group 1 and group 2 for the percentage of transferable embryos per collection were performed using Student's t-test following arcsine transformation of the proportional data. Chi-square analysis was used to compare to the overall percentage of transferable embryos between the 2 groups. Differences were considered significant at $p<0.05$.

Results

The results obtained from this study showed no significant differences of the numbers of follicles between group 1 and group 2. as in Table 1. Most of the follicles (6 days after estrus) found on both ovaries of each cows in both groups were 2 to 6 mm. in diameter (Table1). Table 2 shows the numbers of buffalo cows that did not respond to superovulation and the mean of CL. The results also indicated that rBST had no significant effect on the number of cows with a good response to superovulatory treatment. Although the mean number of CL is greater in group 1, the rBST group, than in the group 2., (6.0 vs 4.3), the difference is not statistically significant. Numbers of embryos recovered from the cows of both groups are shown in Table 3. It also seems to be that rBST had no significant effect on the total number of collected embryos, however, it significantly increased the number of transferable embryos (range 0 to 8 vs 0 to 2, $p<0.05$) and the overall percentage of transferable embryos (75 vs 33%, $p<0.01$).

Table 1. Number of follicles (F) in Group 1(FSH+ rBST) and Group 2(FSH).

Treatment	No. of follicles(F)				
	Total	< 2 mm	2-6 mm	6-10 mm	>10 mm
Group 1 : FSH+rBST	15.9 ± 4.1	2.8 ± 2.0	6.3 ± 2.0	3.8 ± 1.4	4.1 ± 1.0
Group 2 : FSH	19.8 ± 2.9	0.1 ± 0.1	10.0 ± 1.8	6.3 ± 1.7	3.4 ± 0.8

Table 2. Number of buffalo cows that did not respond to superovulation, and the mean number of corpora lutea (CL).

Treatment	No.of donors	No. of donors with no response[a]	No. of corpora lutea[b] (CL)
Group 1 : FSH + rBST	8	1	6.0 ± 2.2
Group 2 : FSH	8	2	4.3 ± 1.1

[a] **Cows that had less than 2 corpora lutea**

[b] **Corpora lutea from cows with no responses were included into the calculation**

Table 3. Number of total and transferable embryos, percentage of transferable per collection, and the overall percentage of transferable embryos collected from superovulated buffalo cows.

Treatment	Total no. of embryos	No. of transferable embryos	Percentage of Transferable Embryos per Collection [e]	Overall no. of % transferable embryos[f]
Group 1 : FSH + rBST	4.5 ± 1.6	3.0 ± 1.0[a]	77.0 ± 8.9	75.0 (24/32)[c]
Group 2 : FSH	2.3 ± 1.0	0.8 ± 0.3[b]	53.3 ± 17.0	33.3 (6/18)[d]

[a,b] **$p<0.05$**

[c,d] **$p< 0.01$**

[e] **Mean percentage per cow.**

[f] **Percentage of transferable embryos obtained from each group. Numbers in parentheses are transferable/total embryos collected from each group.**

Discussion

The results of this study demonstrated that treatment of rBST in superovulatory regimen significantly increased the number of transferable embryos recovered from Thai swamp buffalo. Never the less, rBST administration did not increase the number of buffalo cows that responded to superovulatory treatment, the ovulation rate, or the total number of CL, follicles and embryos recovered. The superovulation response of swamp buffalo has been reported to be very low, and has limited the efficiency of embryo transfer because of the transferable embryos collected from swamp buffalo following superovulation is 0.5 to 1 embryo per cow (Chantaraprateep *et al.*, 1988; Chantaraprateep *et al.*, 1989; Misra *et al.*, 1994; Techakumphu *et al.*, 1998[a]; Techakumphu *et al.*, 1998[b]) which is only 10 to 20% of that expected for that of cattle (Bo *et al.*, 1995; Boni, 1994). It has been suggested that a low oocyte population (Le Van *et al.*, 1989; Madan *et al.*, 1994) and a high frequency of follicular atresia (Cruz, 1996, Ocampo *et al.*, 1994) could contribute to the poor response to superovulation in thses animals.

Several studies on the effect of rBST on superovulatory response in women and cattle have given divergent results (Blumenfeld *et al.*, 1989; Gong *et al.*, 1992; Gong *et al.*, 1993[b]; Herrler *et al.*, 1994; Kuehner *et al.*, 1993; Rieger *et al.*, 1991). However, treatment with rBST in a superovulatory regimen has been reported to increase the proportion of cows that responded to superovulatory treatment as well as the mean number of transferable embryos (Gong *et al.*, 1992; Gong *et al.*, 1993[b]; Kuehner *et al.*, 1993; Gong *et al.*, 1997,). Studies on Mediterranean buffalo have shown that the treatment of cows with rBST decreases the percentage of superovulated cows with ovarian cysts and increases the mean numbers of collected and transferable embryos (Zicarelli, 1994). The increasing effect of rBST on the superovulatory response of swamp buffalo observed in this study is in line with the results previously reported in cattle and Mediterranean buffalo(Zicarelli, 1994). Treatment with rBST in superovulation program clearly increases the mean number of transferable embryos (3.0 vs 0.8 embryos/cow) and the overall percentage of transferable embryos. Although the differences were not statistically significant, group 1., or rBST-treated cows, yielded an average of approximately 2 more CL (6.0 vs 4.3) and recovered embryos (4.5 vs 2.3) than group 2 cows.

Several studies have demonstrated that rBST increases the recruitment of small ovarian follicles in cattle rather than increasing the growth rate or reducing the rate of follicular atresia responses of cattle and Mediterranean buffalo. Gong *et al.* (1993[c],1997) demonstrated that the stimulatory effect of rBST treatment on ovarian follicle development was mediated by increased serum concentration of IGF-1 and insulin. Increases in IGF-1 enhances proliferation of granulosa cells, especially those of small follicle (< 5 mm. in diameter). This results in an increased number of follicles being presented on the day of superovulation treatment. Uoc *et al.* (1992) demonstrated that pretreatment of estradiol prior to adminis tration of gonadotrophin improved superovulatory response in swamp buffalo.

Enhancement of proliferation of granulosa cells in rBST-treated cows may affect the amounts of estrogen secreted into the circulation. This might explain the increasing effect of rBST on the superovulatory response in this study. It has been shown that granulosa cells play an important role in regulation of oocyte growth. They regulate oocyte metabolic process that is essential for the growth, development and maturation of mammalian oocytes (Eppig, 1991; Gordon, 1994; Wassarman *et al.*, 1994). This essential role of granulosa cells may affect the quality of oocytes in rBST-treated buffalo, resulting in the significant increase in number of transferable embryos observed in this study.

Although the results obtained from this study show no significant differences between the rBST-treated group and non treated group in superovulatory treatment for the mean number of CL, F and total embryos recovered per collection, treatment with rBST in superovulation regimen increases the number of transferable embryos. Further studies of rBST or other factors on superovulatory regimen are needed in order to elucidate the obstacles of getting better results in buffalo production.

References

Beg, M.A., Sanwal, P.C. and Yadav, M.C. 1997. Ovarian response and endocrine changes in buffalo superovulation at midluteal and late stage of the estrous cycle: a preliminary report. Theriogenology. 47:423-432.

Blumenfeld, Z. and Lumenfeld, B. 1989. The potential effect of growth hormone on follicular stimulation with human menopausal gonadotropin in a panhypopituitary patient. Fertil. Steril. 82:328-331.

Bo, G.A., Adams, G.P., Pierson,R.A. and Mapletoft, R.J. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. Theriogenology. 43:31-40.

Boni, R. 1994. In vivo collection of oocytes and embryos in bovine and buffalo species. Buffalo J. 2(suppl2):161-171.

Chantaraprateep, P., Lohachit, C., Techakumphu, M., Kobayashi, G., Virakul, P., Kynauongkrit, A., Prateep, P. and limskul, A. 1989. Early embryonic development in Thai swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). Theriogenology. 31:1131-1139.

Chantaraprateep, P., Lohachit, C., Virakul, P., Kobayashi, G., Techakumphu, M., Kynauongkrit, A. and Prateep, P. 1988. Ovarian responses to gonadotrophin stimulation in swamp buffalo. Buffalo Bulletin. 7:82-86.

Cruz, L.C. 1996. Embryo transfer in water buffaloes. Proc 8th AAAP Animal.Sci.Congr. p.142-152.

Eppig, J.J. 1991. Intercommunication between mammalian oocytes and companion somatic cells. Bio Essays. 13:569-574.

Fortune, J.E. 1994. Ovarian follicular growth and development in mammals. Biol. Reprod. 50: 225-232.

Gong, J.G., Bramley, T.A. and Webb, R. 1991. The effect of recombinant bovine somatotropin on ovarian in heifers: follicular populations and peripheral hormones. Biol. Reprod. 45:941-949.

Gong, J.G., Bramley, T.A. and Webb, R. 1993[a]. Effects of recombinant bovine somatotropin on ovarian follicular growth and development in heifers. J. Reprod. Fertl. 97:247-254.

Gong, J.G., Bramley, T.A., Wilmut, I. and Webb, R. 1993[b]. Effects of recombinant bovine somatotropin on the superovulatory response to pregnant mare serum gonadotropin in heifers. Biol. Reprod. 48:1141-1149.

Gong, J.G., McBride, D., Bramley, T.A. and Webb, R. 1993[c]. Effects of recombinant bovine somatotropin, insulin-like growth factor-I and insulin on the proligeration of bovine granulose cells *in vitro.* J. Endocrinol. 139:67-75.

Gong, J.G., Wilmut, I., Bramley, T.A. and Webb, R. 1992. Effects of recombinant bovine somatotropin (BST) on superovulatory response in heifers. Proc.12thInt. Congr. Anim. Reprod. p.214-216.

Gordon, I. 1994. Laboratory Production of Cattle Embryos. Oxon: CAB International. p.116-121.

Herrler, A.,Einspanier, R., Schams, D.and Niemann, H. 1994. Effect of recombinant bovine somatotropin (rBST) on follicular IGF-I content and the ovarian response following superovulatory treatment in dairy cows: a preliminary study. Theriogenology. 41:601-611.

Kuehner, L.F., Rieger, D., Walton, J.S., Zhao, X. and Johnson, W.H. 1993. The effect of a depot injection of recombinant somatotropin on follicular development and embryo yield in superovulated Holstein heifers. Theriogenology. 40:1003-1013.

Le Van, T.Y., Chupin, D. and Driancourt, M.A. 1989. Bovine embryo follicular population in buffaloes and cows. Animal. Reprod. Sci. 19:171-178.

Lindner, G.M. and Wright, R.W. 1989. Bovine embryo morphology and evaluation. Therioge nology. 20:407-416.

Madan, M.L., Singla, S.K., Chauhan, M.B., Manik, R.S. 1994. In vitro production and transfer of embryos in buffaloes. Theriogenology. 41:139-143.

Misra, A.K., Kasiraj, R., Mutha Rao, M., Ranga reddy, N.S. and Joshi, B.V. 1994. Embryo transfer in buffalo in India: progress in the last five years. Proc.4th World Buffalo Congr, 3: 501-504.

Ocampo, M.B., De Asis, A.T., Ocampo, L.C. and Kanagawa, H. 1994. Histological observation of follicular atresia in swamp buffalo. Buffalo Bulletin. 13:51-55.

Riegr, D., Walton, J.S., Goodwin, M.L. and Johnson, W.H. 1991. The effect of co-treatment with recombinant bovine somatotropin on plasma progesterone concentration and number of embryos collected from superovulated Holstein heifers. Theriogenology. 35: 863-868.

Sophon, S., Panpai, R. and Kamonpatana, M. 1989. Multiple ovulation leading to embryo transfer in buffalo, using PMSG and FSH under oestrous regulation by norgestomet. Buffalo J. 5: 85-98.

Tatham, B.G., Feehan, T. And Pashen, R. 2003. Buffalo and cattle hybrid embryo development is decreased by caffeine treatment during *in vitro* fertilization. Theriogenology. 59:709-717.

Techakumphu, M., Sukwong, Y., Apimethithumrong, M., Intaramongkol, S., Intaramongkol, J., Phari, S., Lohachit, C. and Chantaraprateep, P. 1998[a]. Use of pregnant mare serum gonadotropin and follicle stimulating hormone for superovulation in Thai swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). Proc.24[th]Thai Vet. Med. Assoc. p.88-96.

Techakumphu, M., Sukwong, Y., Intaramongkol, J., Phari, S. and Boontarath, B. 1998[b]. Effect of gonadotropin releasing hormone in superovulation program in swamp buffalo. Proc.24[th]Thai Vet. Med. Assoc. p.81-87.

Uoc, N.T., Nguten, B.X., TY, L.V. and Chupin, D., Beckers, J.F. and Renard, J.P. 1992. Effect of estradiol supplementation on superovulation in swamp buffalo. Theriogenology. 38:471-478.

Wassarman, P.M. and Albertini, D.F. 1994. The mammalian oum. In:Knobil, E., Neil, J.D. (eds). The Physiology of Reproduction. New York: Raven Press. p.79-122

Zicarelli, L. 1994. Embryo transfer in Mediterranean buffaloes. Buffalo J. 2(Suppl2):87-101.

ผลของ Recombinant Bovine Somatotropin (rBST) ต่อการเพิ่มการตกไข่ด้วย เอฟ เอส เอช ในกระบือปลักไทย (Bubalus bubalis)

วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกูร [1,*] และ ชาลี ลีละศิริ [1]

[1] สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี ปทุมธานี 12000

[*] ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ : viboony@yahoo.com

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมน recombinant bovine somatotropin (rBST) ร่วมกับฮอร์โมน follicle stimulating hormone (FSH) ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในกระบือปลักไทย กระบือเพศเมีย 16 ตัว ได้รับการเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการสอด CIDR-B ซึ่งเป็นแท่งซิลิโคนเคลือบด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนขนาด 1.9 กรัม ร่วมกับ estradiol benzoate ชนิดแคปซูลขนาด 10 มก. เข้าทางช่องคลอด แล้วแบ่งกระบือแบบสุ่มเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ได้รับ FSH และ rBST ส่วน กลุ่มที่ 2 ได้รับ FSH อย่างเดียว ในวันที่ 4 หลังสอด CIDR-B กลุ่มที่ 1 รับการฉีด rBST ขนาด 250 มก. ใต้ผิวหนังที่โคนหาง วันที่ 9-11 หลังสอด CIDR-B ทั้ง 2 กลุ่ม รับการฉีด FSH รวม 260 มก. แบบลดขนาด เช้า-เย็น คือ 48-44, 40-40, 32-2 และ 24 มก. ตามลำดับ รวม 3.5 วัน ในเช้าวันที่ 3 ของการฉีด FSH ทั้ง 2 กลุ่ม รับการฉีดพรอสต้าแกลนดิน ขนาด 500 ไมโครกรัม และดึง CIDR-B ออกในบ่ายวันนั้น เมื่อแม่กระบือเป็นสัดและรับการผสมพันธุ์โดยกระบือพ่อพันธุ์แล้ว 6 วัน แม่กระบือจะถูกส่งเข้าโรงฆ่าสัตว์ ตัวอ่อนจะถูกเก็บจากมดลูก พร้อมกับนับจำนวน คอร์ปัสลูเทียม (CL) และฟอลลิเคิล (F) บนรังไข่ ผลการศึกษาพบว่าในกลุ่ม 1 และ 2 มีค่าเฉลี่ย CLคือ 6.0 $\pm$ 2.2 vs 4.3 $\pm$ 1.1 และ F คือ 15.9 $\pm$ 4.1 vs 19.8 $\pm$ 2.9 ตามลำดับ ส่วนจำนวนตัวอ่อนและตัวอ่อนคุณภาพดีเป็น 4.5 $\pm$ 1.6 vs 3.0 $\pm$ 1.0 และ 2.3 $\pm$ 1.0 และ 2.3 $\pm$ 1.0 vs 0.8 $\pm$ 0.3 ตามลำดับ จำนวนตัวอ่อนคุณภาพดีจากกลุ่ม 1 มีมากกว่า กลุ่ม 2 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า ในการเพิ่มการตกไข่ด้วย rBST และ FSH มีผลเพิ่มจำนวนตัวอ่อนคุณภาพดีของกระบือปลักไทย

คำสำคัญ: กระบือ, somatotropin, การเพิ่มการตกไข่, เอฟ เอส เอช.

J.Biotec.Liv.Prod.
Vol. 1; No. 1; August 2006

Sperm transport after deep intra uterine insemination compared with conventional artificial insemination in pig

Padet Tummaruk[1,*] Peerapong Sumransap[2] Mongkol Techakumphu[1] and Annop Kunavongkrit[1]

[1] Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330 Thailand,

[2] Ratchaburi Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Photaram, Ratchaburi, 70120, Thailand

[*] Corresponding author: Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330 Thailand,

Abstract

The present study was performed to investigate the number of either the spermatozoa in the reproductive tracts of sows after unilateral, deep, intra uterine insemination (DIUI). Ten sows were used in the experiment. Transrectal ultrasonography was used to examine the time when ovulation took place in relation to oestrus behaviour. The sows were inseminated with a single dose of diluted fresh semen 6-8 h prior to expected ovulation, during the second oestrus after weaning. In this experiment 5 sows were inseminated by a conventional artificial insemination (AI) technique using 100 mL of diluted fresh semen, containing $3{,}000 \times 10^6$ motile spermatozoa and 5 sows were inseminated by the DIUI technique with 5 mL of diluted fresh semen, containing 150×10^6 motile spermatozoa. The sows were anesthetized and ovario-hysterectomized about 24 h after insemination. The oviducts and the uterine horns on each side of the reproductive tracts were divided into seven parts, namely ampulla, cranial isthmus, caudal isthmus, utero-tubal junction (UTJ), cranial uterine horn, middle uterine horn and caudal uterine horn. Each part of the reproductive tracts was flushed with Beltsville thawing solution (BTS) through the lumen. The total number of spermatozoa in the flushing from each part was determined. It was revealed that the spermatozoa were recovered from both sides of the reproductive tract in the AI-group, and from unilateral side of the reproductive tract in the DIUI-group (3 sows from the left and 2 sows from the right sides). The number of spermatozoa recovered from the reproductive tracts was higher in the AI- than the DIUI-group ($p<0.001$).

Keywords: pig, reproduction, artificial insemination, spermatozoa

Introduction

Artificial insemination (AI) in the pig has been developed since 1926 and nowadays is widely used in the pig industry all over the world (Johnson *et al.*, 2000, Tummaruk *et al.*, 2000, Tummaruk *et al.*, 2004). In practice, $3{,}000 \times 10^6$ motile spermatozoa in a volume of 80-100 ml are inseminated into the sow 2-4 times during standing oestrus. The AI catheter is inserted through the vagina, placed in the cervix of the sows, and the semen is released at the distal part of cervix. Fertilization takes place at the ampullatory-isthmic junction in the oviduct of the sows soon after ovulation. Less than 1% of the sperm are discovered at the fertilization site during the peri-and post-ovulation period (Mburu *et al.*, 1996). Krueger *et al.* (1999) found that 10 million spermatozoa per insemination are sufficient for successful insemination surgically placed into the tip of the uterine horns in gilts.

Deep intra-uterine insemination (DIUI) has recently been developed for non-surgical insemination using a specially designed catheter, 180 cm in length with an outer diameter of 4 mm and a working channel 1.8 mm wide (Martinez *et al.*, 2001, Vazquez *et al.*, 2005). The catheter could be inserted through the uterine horn and semen deposited in one horn, at it's proximal third, close to the sperm reservoir. Using the DIUI technique, a 20-fold reduction in the number of spermatozoa per insemination was possible without any significant effect on the farrowing rate and litter size (Martinez *et al.*, 2002). The success of the DIUI technique under farm conditions would allow a more efficient use of semen from genetically superior boars. Earlier studies have shown that a flexible catheter could be passed through the cervix completely in 90-95% of multiparous sows (parities 2-6, n=147) taking about 4 min/insemination (Martinez *et al.* 2001, 2002). The technique is also applicable for some advanced biotechnology procedures such as frozen-thawed semen, sex sorted sperm and embryo transfer (Roca *et al.*, 2003; Vazquez *et al.*, 2003; Martinez *et al.*, 2004). Spermatozoa after being frozen-thawed or flowcytometry sorted have a shorter life span than fresh spermatozoa. These spermatozoa need to be deposited close to the site of fertilization to avoid premature death, that might occur during transport from the cervix to the sperm reservoir.

Up to date, data concerning sperm transport and fertilization after DIUI using a small volume of semen is still limited. Martinez *et al.* (2002) demonstrated that the embryos were found in both side of the tip of the uterine horn 2 days after DIUI in 5 sows. Investigation on sperm distribution and the fertilization process after the DIUI technique is important if wish to know more about the mechanism of successful DIUI in the pig.

The present study was performed to investigate the number of spermatozoa in the female reproductive tract 24 h after DIUI using a low number of spermatozoa per dose as compared with conventional AI.

Materials and methods

Ten crossbred (Landrace x Yorkshire) multiparous sows (LY) were used in experiment. On the day of weaning, they were brought from commercial farms to the Department of Obstetrics, Gynaecology and Reproduction, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University and were allocated to individual pens adjacent to adult boars. The sows were fed 3 kg per day (twice a day) with a commercial feed (Starfeed176® BP Feed Co. Ltd, Saraburi, Thailand) containing 15% protein, 2% fat and 10% fiber. Water was provided ad libitum. The sows were observed for pro-oestrus twice a day (am/pm). In experimental I, the sows were randomly assigned to 2 groups according to ear tag, a control group (conventional AI, n=5) and a DIUI group (n=5).

After the sows showed signs of pro-oestrus, the sows were examined for the onset of standing oestrus every 6 h by using a back pressure test in the presence of a mature boar. The onset of oestrus was defined as being 3 h before the onset of the standing response. The end of oestrus was defined as 3 h after the last standing response. Transrectal ultrasonography was performed every 4 h using a 5 MHz probe to examine the time when ovulation took place in all sows. The time of ovulation was defined as being 2 h after the last detection of follicles in the ovaries. Previous studies have shown that the interval from the onset of oestrus to ovulation during the first two cycles after weaning was not significantly different and repeated ultrasonographic examination can predict the time of ovulation during the subsequent oestrus (Mburu *et al.*, 1995). In the present study, the time of ovulation in each individual sow was used to estimate the time of insemination during the subsequence oestrus cycle. The ultrasonographic examination was not performed after insemination, so as to not disturb the sows and the process of sperm and/or oocyte transport.

The semen was collected from an adult proven boar by the gloved-hand method. Semen was examined for quality before further processing i.e., motility, concentration and morphology. Semen with a motility of ≥70%, a concentration of ≥150 spermatozoa/ml and with normal sperm ≥85%, was diluted, using Beltsville thawing solution (BTS) diluent (Pursel and Johnson, 1976) at 35°C. The sperm dose contained 3,000 x 10^6 spermatozoa in 100 mL for conventional AI and 150x106 spermatozoa in 5 mL for DIUI. The diluted semen was used immediately or kept refrigerated at 18°C for no longer than 2 days before insemination. The refrigerated dilute semen was warmed in water bath at 35°C for 15 min and was checked for motility before being used. For all inseminations, the pre-insemination diluted semen had to have a motility ≥60%.

The sows were inseminated with a single dose of the diluted semen during the second oestrus after weaning. The time of ovulation (determined by ultrasonography) duing the first oestrus was used to

determine the timing of insemination, which was carried out at 6-8 h prior to the expected time of ovulation. In this experiment, the sows were inseminated by conventional AI (n=5) or the DIUI (n=5). The DIUI technique has been described by Martinez *et al.* (2001). Briefly, the oestrous sows were inseminated in the gestation crates. After cleaning the perineal area of the sows, a commercial AI catheter (Goldenpig®, Minitube, Germany) was inserted through the vagina into the cervix. The long flexible catheter (1.8 m) was inserted through the conventional AI catheter. The long catheter was moved forward along one uterine horn (unknown side) for it's full length. The diluted fresh semen with 150×10^6 motile sperm in 5.0 mL was deposited in the proximal third of one side of the uterine horn. Subsequently, a warm BTS, 2.5 ml in volume was used to flush the semen into the uterine horn after insemination.

For recover of spermatozoa, the sows were anesthetized and ovario-hysterectomized about 24 h after insemination (Table 1). The method of sperm recovery was a modification of a similar method used in gilts and described by Kunavongkrit *et al.* (2003). General anesthesia was induced by azaperone (Stressnil®), 2 mg/kg, intramuscularly and 30 min later thio-pental sodium, 10 mg/kg, was given intravenously. After ovario-hysterectomy (OVH), the reproductive organs were removed and immediately transferred to the laboratory. The number of corpora lutea were recorded. The oviducts and the uterine horns on each side of the reproductive tracts were divided into seven parts as described below.

Part 1. Ampulla (2/3 of ampulla next to cranial isthmus)

Part 2. Cranial isthmus (1/2 of isthmus next to ampulla)

Part 3. Caudal isthmus (1/2 of isthmus next to cranial isthmus)

Part 4. Utero-tubal junction (UTJ) (1 cm of the tip of uterine horn and 1 cm of isthmus)

Part 5. Cranial uterine horn (1/3 of uterine horn next to the UTJ)

Part 6. Middle uterine horn (1/3 of uterine horn next to the cranial uterine horn)

Part 7. Caudal uterine horn (1/3 of uterine horn next to the middle uterine horn)

To recover spermatozoa in the isthmus and UTJ, the tracts were flushed with 0.5 ml of BTS through the lumen. Each segment was flushed twice into separate plastic vials. The ampulla part was flushed twice with 1 ml of BTS. Each part of the uterine horn was flushed with 20 ml of BTS, twice, into a flask. The total number of spermatozoa in the flushing from each part was determined using Neubauer

haemocytometer. If spermatozoa were not found in the counting chamber, the flushing media was centrifuged to remove supernatant and the total number of spermatozoa was recounted.

Data were analysed using SAS software (Statistical Analysis System, SAS Inst. V. 9.0, Cary, NC USA). Descriptive statistics including the mean and the standard deviations (SD) of parity number, wean-to-oestrus interval (WOI), oestrus-to-ovulation interval (EOI), oestrus interval, the interval from insemination to operation, the number of corpora lutea (CL) and the length of the uterine horn were calculated. The number of corpora lutea was compared between groups by the student t-test. The number of corpora lutea and the number of spermatozoa were compared between the left and the right sides by the pair t-test. The numbers of spermatozoa were log transformed and were compared between groups and between parts using the general linear model (GLM) procedure of SAS. The number of spermatozoa recovered from the cranial, middle and caudal parts of the uterine horn were pooled in the analyses. The statistical model included the groups (AI versus DIUI), parts of the reproductive tracts (ampulla, cranial isthmus, caudal isthmus, UTJ and the uterine horn) and the interaction between the group and the parts. Least-square means were obtained from each class of the variables and were compared by using the student t-test.

Results

The number of ovulations in the sows in the AI-group and the DIUI-group were not significantly different (17.4 versus 17.2, P=0.93). Ovulation occurred on the left side more than on the right side of the ovaries in both groups (+1.7, P=0.13). For the conventional AI-group, the spermatozoa could be recovered from both sides of the reproductive tract in all sows (5/5) (Table 2). The number of spermatozoa in the left and the right side of the conventional AI-group did not differ significantly in all parts of the reproductive tract (P>0.05). In the DIUI-group, the spermatozoa were recovered from only one side of the reproductive tract (3 sows from the left and 2 sows from the right side) (Table 3). On average, the number of spermatozoa in the AI-group were significantly higher than in the DIUI-group (p<0.001). In both groups, the number of spermatozoa in the UTJ and the uterine horns were higher than those found in the ampulla, cranial isthmus and caudal isthmus (p<0.001) (Fig 1). The number of spermatozoa in the ampulla, cranial isthmus, caudal isthmus, UTJ and uterine horns in the AI-group were significantly higher than those in the DIUI-group (p<0.001) (Fig 1).

Table 1 Descriptive statistics (number of observations and means?standard deviation) of parity number, wean-to-oestrus interval (WOI), oestrus-to-ovulation interval (EOI), oestrus interval, interval from insemination to operation, number of corpora lutea (CL) and length of the uterine horn of sows

Parameters	Group	
	AI (n=5)	DIUI (n=5)
Parity number	8.6±1.1	6.7±1.8
Wean-to-oestrus interval (d)	6.±1.8	5.3±1.5
Oestrus-to-ovulation interval (h)	30.2±9.1	43.5±12.5
Oestrus interval (h)	52.8±26.9	60.0±12.1
Interval from insemination to operation (h)	26.0±3.4	24.8±1.8
Number of CL	17.4±5.1	17.2±1.6
Length of the uterine horn (left/right) (cm)	121/125	125/131

Table 2 The number of spermatozoa recovered from different parts of the reproductive tract at about 24 h after conventional artificial insemination with diluted fresh semen, containing 3,000x106 motile spermatozoa in 5 multiparous sows

Sow reproductive	1		2		3		4		5	
tract	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R
Ampulla	12	28	50	70	35	18	100	50	14	51
Cr. isthmus	50	120	110	150	50	68	120	150	750	150
Ca. isthmus	710	520	390	420	610	525	1000	800	1600	1000
UTJ (x103)	55	50	130	70	80	70	60	40	145	60
Uterus (x103)	110	105	200	130	110	75	60	56	149	115

L=Left, R=Right, Cr.=Cranial, Ca.=Caudal, UTJ=Uterotubal junction

Table 3 The number of spermatozoa recovered from different parts of the reproductive tract at about 24 h after unilateral, deep intra-uterine insemination using diluted fresh semen, containing 150x106 motile spermatozoa in 5 multiparous sows

Sow reproductive	1		2		3		4		5	
tract	L	R	L	R	L	R	L	R	L	R
Ampulla	22	0	35	0	0	44	0	15	11	0
Cr. isthmus	150	0	60	0	0	80	0	60	30	0
Ca. isthmus	420	0	250	0	0	250	0	360	140	0
UTJ (x103)	22	0	15.5	0	0	25	0	35	20	0
Uterus (x103)	29	0	46	0	0	28	0	41	13	0

L=Left, R=Right, Cr.=Cranial, Ca.=Caudal, UTJ=Uterotubal junction

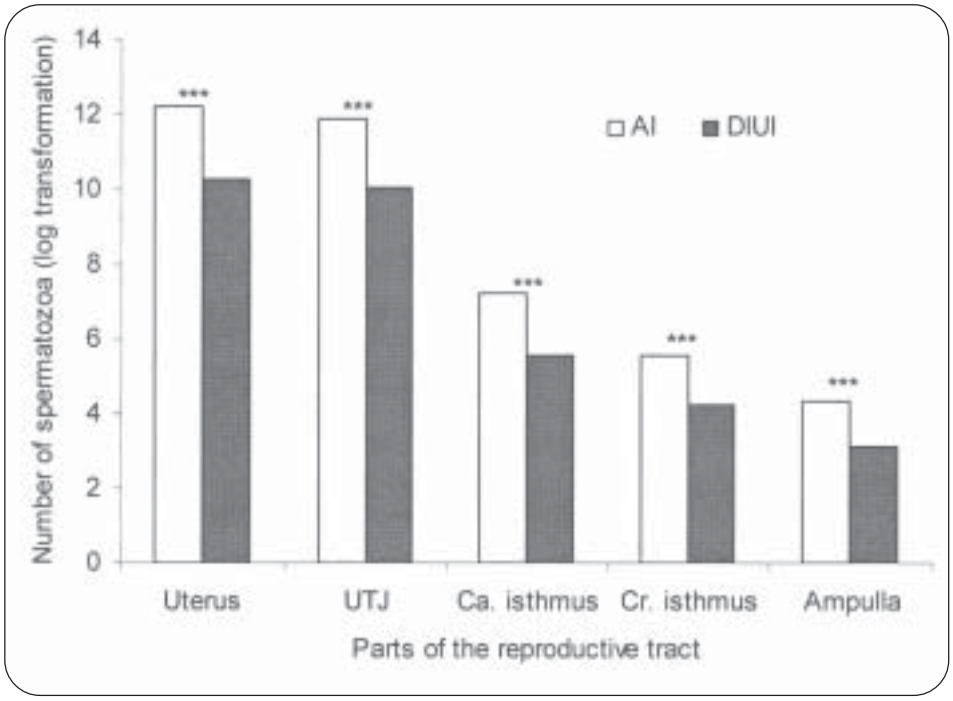


Fig. 1 The number of spermatozoa (log transformation) recovered from different parts of the reproductive tract of sows after conventional artificial insemination (AI, n=6) and unilateral, deep intra-uterine insemination (DIUI, n=5), UTJ: uterotubal junction, Ca: caudal, Cr: cranial, *** indicates significant differences between the groups (p<0.001).

Discussion

For conventional AI in the pig, 25% of the spermatozoa inseminated are lost due to semen backflow within a few hours of insemination (Steverink *et al.*, 1998). The rest of the spermatozoa are transported through the uterine horn before reaching the sperm reservoir in the caudal part of the oviducts. It is found that less than 1% of sperm that were inseminated are recovered in both sides of the sperm reservoir (Mburu *et al.*, 1996). Most of the spermatozoa are lost due to uterine phagocytosis by polymorphonuclear leucocytes (Rozeboom *et al.*, 1998; Kaeoket *et al.*, 2003). The DIUI technique for pigs was developed to reduce such losses of spermatozoa and ensure optimal fertilization (Martinez *et al.*, 2001). Similar techniques have already been reported in cattle (Seidel *et al.*, 1997; Hunter, 2003; Verberckmoes *et al.*, 2004), horses (Nie *et al.*, 2003), dogs (Tsutsiu *et al.*, 1989) and cats (Tsutsui *et al.*, 2000) and goats (Sohnrey and Holtz, 2005). The present study demonstrated that when using this technique in pigs, the spermatozoa are found in only one side of the uterine horn during the first 24 h after insemination, while the other side of the sperm reservoir (caudal isthmus and UTJ) was free of spermatozoa in all sows. However, in other experiment, embryos were found in both sides of the uterine horn in all of the pregnant sows. This finding is in agreement with Martinez *et al.*, (2002), who demonstrated that embryos were found in both sides of the tip of the uterine horn 2 days after DIUI in 5 sows. These findings indicated that the spermatozoa might be transported from one horn to the other sometime between 24 and 48 h after insemination. It might be that the spermatozoa migrated from one side of the sperm reservoir to the other side by some signal from the ovulation event. The mechanism for such sperm transport and fertilization may need further investigation in sows. However, trans-peritoneal migration of spermatozoa has already been reported in heifers (Larsson, 1986).

In conclusion, DIUI in multiparous sows resulted in a significantly lower number of spermatozoa in the female reproductive tract 24 h after insemination, compared with conventional AI, and the spermatozoa were recovered from only one side of the sperm reservoir.

Acknowledgement

This study was financed by the Research and Development Center for Livestock Production Technology, Chulalongkorn University. Our thanks to Mrs. Wanpen Adulyanubap and Mr. Jinda Singlor for technical support. Thanks to Prof. Heriberto Rodriquez-Matinez for helpful collaboration between Thailand and Sweden. We also very much appreciated Prof. Juan M. Vazquez for providing the DIUI catheter for the experiment. We would like to thanks Dr. Terry W. Heard for linguistic scrutinizing.

References

Hunter, R.H.F. 2003. Advance in deep uterine insemination: a fruitful way forward to exploit new sperm technology in cattle. Anim. Reprod. Sci. 79 :157-170.

Johnson, L.A., Weitze, K.F., Fiser, P. and Maxwell, W.M.C. 2000. Storage of boar semen. Anim. Reprod. Sci. 62:143-172.

Kaeoket, K., Persson, E. and Dalin, A.M. 2003. Influence of pre-ovulatory insemination and early pregnancy on the infiltration by cells of the immune system in the sow endometrium. Anim. Reprod. Sci. 75:55-71.

Krueger, C., Rath, D. and Johnson, L.A 1999. Low dose insemination in synchronized gilts. Theriogenology. 52:1363-1373.

Kunavongkrit, A., Sang-Gasanee, K., Phumratanaprapin, C., Tantasuparuk, W. and Einarsson, S. 2003. A study on the number of recovered spermatozoa in the uterine horns and oviducts of gilts, after fractionated or non-fractionated insemination. J. Vet. Med. Sci. 65: 63-67.

Larsson, 1986. Transperitoneal migration of spermatozoa in heifers. Zentralbl. Veterinarmed. A. 33:714-718.

Martinez, E.A., Vazquez, J.M., Roca, J., Lucas, X., Gil, M.A., Parrilla. I., Vazquez, J.L. and Day, B.N. 2002. Minimum number of spermatozoa required for normal fertility after deep intrauterine insemination in non-sedated sows. Reproduction. 123:163-170.

Martinez, E.A., Caamano, J.N., Gil, M.A., Rieke, A., McCauley, T.C., Cantley, T.C., Vazquez, J.M., Roca, J., Vazquez, J.L., Didion, B.A., Murphy, C.N., Prather, R.S. and Day, B.N. 2004. Successful nonsurgical deep uterine embryo transfer in pigs. Theriogenology. 61:137-146.

Martinez, E.A., Vazquez, J.M., Parrilla, I., Cuello, C., Gil, M.A., Rodriquez-Matinez, H., Roca, J. and Vazquez, J,L. 2006. Incidence of Unilateral Fertilizations after Low Dose Deep Intrauterine Insemination in Spontaneously Ovulating Sows under Field Conditions. Reprod. Dom. Anim. 41:41-47.

Martinez,E.A., Vazquez, J.M., Roca, J., Lucas, X., Gil, M.A., Parrilla, I., Vazquez, J.L. and Day, B.N. 2001. Successful non-surgical deep intrauterine insemination with small number of spermatozoa in sows. Reproduction. 122:289-296.

Mburu, J.N., Einarsson, S., Dalin, A-M. and Rodigrez-Martinez, H., 1995. Ovulation as determined by transrectal ultrasonography in multiparous sows: Relationships with oestrous symptoms and hormonal profiles. J. Vet. Med. 42:285-292.

Mburu, J.N., Einarsson, S., Lundeheim, N. and Rodriguez-Martinez, H. 1996. Distribution, number and membrane integrity of spermatozoa in pig oviduct in relation to spontaneous ovulation. Anim. Reprod. Sci. 45:109-121.

Nie, G.J., Johnson, K.E. and Wenzel, J.G.W. 2003. Pregnancy outcome in mares following insemination deep in the uterine horn with low numbers of sperm selected by glass wool/Sephadex filtra-

tion, Percoll separation or absolute number. Anim. Reprod. Sci. 79:103-109.

Pursel, V.G. and Johnson, L.A. 1976. Frozen boar spermatozoa: methods for thawing. J. Anim. Sci. 42:927-932.

Roca, J., Carvajal, G., Lucas, X., Vazquez, J.M. and Martinez, E.A. 2003. Fertility of weaned sows after deep intrauterine insemination with a reduced number of frozen-thawed spermatozoa. Theriogenology. 60:77-87.

Rozeboom, K.J., Troedsson, M.H.T. and Crabo, B.G. 1998 Characterization of uterine leukocyte infiltration in gilts after artificial insemination. J. Reprod. Fertil. 114 :195-199.

SAS Institute Inc. 1996. SAS User's guide. Statistics version 9.0 Cary, NC. USA.

Seidal, G.E. Jr., Allen, C.H., Johnson, L.A., Holland, M.D., Brink, Z., Welch, G.R., Graham, J.K. and Cattell , M.B. 1997. Uterine horn insemination of heifers with very low number of non-frozen and sexed spermatozoa. Theriogenology 48:1255-1264.

Sohnrey, B. and Holtz, W. 2005. Technical note: Transcervical deep corneal insemination in goats. J. Anim. Sci. 83:1543-1548.

Steverink, D.W.B., Soede, N.M., Bouwman, E.G. and Kemp, B. 1998. Semen backflow after insemination and its effect on fertilization in sows. Anim. Reprod. Sci. 54 :109-119.

Tsutsu,i T., Shimizu, T, Ohara, N., Shiba, Y., Hironaka ,T., Orima, H. and Ogasa, A. 1989. Relationship between the number of sperms and the rate of implantation in bitches inseminated into unilateral uterine horn. Jpn. J. Vet. Sci. 51:257-263.

Tsutsui, T., Tanaka, A., Takagi, Y., Nakagawa, K., Fujimoto, Y., Murai, M., Anzai, M. and Hori, T. 2000. Unilateral intrauterine horn insemination of fresh semen in cat. J. Vet. Med. Sci. 62:1241-1245.

Tummaruk, P., Lundeheim, N., Einarsson, S. and Dalin, A-M. 2000. Reproductive performance of purebred Swedish Landrace and Swedish Yorkshire sows: II. Effect of mating type, weaning-to-first-service interval and lactation length. Acta Agri. Scand., sect. A, Animal Sci. 50:217-224.

Tummaruk, P., Tantasuparuk, W., Techakumphu, M. and Kunavongkrit, A. 2004. Effect of season and outdoor climate on litter size at birth in purebred Landrace and Yorkshire sows in Thailand. J. Vet. Med. Sci. 66:477-482.

Vazquez, J.M., Martinez, E.A., Parrilla, I., Roca, J., Gil, M.A. and Vazquez, J.L. 2003. Birth of piglets after deep intrauterine insemination with flow cytometrically sorted boar spermatozoa. Theriogenology. 59:1605-1614.

Vazquez, J.M., Martinez, E.A., Roca, J., Gil, M.A., Parrilla, I., Cuello, C., Carvajal, G., Luca,s X. and Vazquez, J.L. 2005. Improving the efficacy of sperm technologies in pig: the value of deep intrauterine insemination. Theriogenology 63:536-547.

Verberckmoes, S., van Soom, A., de Pauw, I., Dewulf, J., Vervaet , C. and de Kruif, A. 2004. Assessment of a new utero-tubal junction insemination device in daily cattle. Theriogenology 61:103-115.

การกระจายของตัวอสุจิภายหลังการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าปีกมดลูกเปรียบเทียบกับการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าบริเวณคอมดลูกในสุกร

เผด็จ ธรรมรักษ์[1*] พีระพงษ์ สำราญทรัพย์[2] มงคล เตชะกำพุ[1] และ อรรณพ คุณาวงษ์กฤต[1]

[1] ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิชาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ 10330

[2] ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพราชบุรี ราชบุรี 70120

[*] ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิชาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพ 10330

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจนับจำนวนตัวอสุจิที่อยู่ในส่วนต่าง ๆของท่อนำไข่ และปีกมดลูกภายหลังการผสมเทียมด้วยวิธีการสอดท่อเข้าปีกมดลูก (deep intrauterine insemination,DIUI) เปรียบเทียบกับการผสมเทียมโดยการสอดท่อเข้าบริเวณคอมดลูกแบบปกติ (conventional artificial insemination, AI) แม่สุกรพันธุ์ผสมจำนวน 10 ตัวถูกใช้ในการทดลอง แม่สุกรได้รับการตรวจการตกไข่ด้วยเครื่องอัลตร้าซาวด์ เพื่อหาความสัมพันธ์กับพฤติกรรมการเป็นสัด แม่สุกรได้รับการผสมเทียมได้รับการผสมเทียม 1 ครั้งในรอบที่ 2 ของการเป็นสัด ด้วยน้ำเชื้อสดก่อนเวลาที่คาดว่าจะตกไข่ประมาณ 6-8 ชั่วโมง แม่สุกรถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 (5 ตัว) ได้รับการผสมเทียมแบบปกติ ด้วยน้ำเชื้อ 1 โด๊ส ที่มีจำนวนอสุจิ 3 พันล้านตัว ปริมาตร 100 มิลลิลิตร กลุ่มที่ 2 (5 ตัว) ได้รับการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าปีกมดลูกโดยใช้น้ำเชื้อ ที่มีจำนวนตัวอสุจิ 150 ล้านตัว ปริมาตร 5 มิลลิลิตร หลังการผสมเทียม 24 ชั่วโมง แม่สุกรได้รับการผ่าตัดเพื่อนำรังไข่ ท่อนำไข่ และปีกมดลูก ออกมาและแบ่งเป็นส่วนต่าง ๆ 7 ส่วน ได้แก่ ปีกมดลูกส่วนปลาย ส่วนกลางและส่วนต้น ยูทีเจ อิสมัสส่วนปลายและส่วนต้น และแอมพูล่า นำทุกส่วนไปชะล้างด้วยสารละลายบีทีเอส และนับจำนวนตัวอสุจิ ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์ ผลการศึกษาจะพบตัวอสุจิทั้งสองด้านของท่อทางเดินระบบสืบพันธุ์ ในสุกรกลุ่มที่ได้รับการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าบริเวณคอมดลูกตามปกติ แต่พบตัวอสุจิเพียงด้านใดด้านหนึ่งในสุกรกลุ่มที่ได้รับการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าปีกมดลูก (พบตัวอสุจิที่ด้านขวาในแม่สุกร 3 ตัว และอีก 2 ตัว พบทางด้านซ้าย) จำนวนตัวอสุจิที่พบในท่อทางเดินอวัยวะระบบสืบพันธุ์ของสุกร ที่ได้รับการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าบริเวณคอมดลูกตามปกติจะสูงกว่าสุกรในกลุ่มที่ได้รับการผสมเทียมแบบสอดท่อเข้าปีกมดลูก ($p<0.001$)

คำสำคัญ: สุกร ระบบสืบพันธุ์ การผสมเทียม ตัวอสุจิ

ผลการใช้ฮอร์โมน GnRH ต่ออัตราการผสมติดในโคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำ

พีระพงษ์ สำราญทรัพย์ [1,*] สาโรช งามขำ[1] และ นุสสรา วัฒนกุล[2]

[1] ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพราชบุรี สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์
[2] สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์
[*] ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ: psumransap@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อแก้ไขปัญหาการผสมซ้ำในโคนมโดยการใช้ฮอร์โมน GnRH ฉีดหลังผสมเทียม ทำการคัดเลือกแม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ที่มีประวัติผสมซ้ำ จำนวน 80 ตัว ซึ่งไม่พบความผิดปกติใดๆ ของอวัยวะระบบสืบพันธุ์จากการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก แบ่งกลุ่มแม่โคออกเป็น 2 กลุ่มๆละ 40 ตัว โดยการสุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ผสมเทียมตามรอบการเป็นสัดปกติ และกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มศึกษา ผสมเทียมตามรอบการเป็นสัดปกติ และฉีด GnRH เข้ากล้ามเนื้อ ให้แก่แม่โคหลังจากทำการผสมเทียม 12 วัน ผลการศึกษา พบว่าอัตราการผสมติดจากการผสมเทียมครั้งแรกของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองเป็น 27.5% และ 45% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เช่นเดียวกับอัตราการผสมติดจากการผสมทั้งหมดของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองเป็น (57.5% VS 42.5%, $p<0.05$) โดยที่จำนวนครั้งที่ผสมเทียมต่อการผสมติดของกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนจะต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (1.47 ± 1.03, 1.94 ± 1.47, $p<0.05$) ดังนั้นการฉีดฮอร์โมนจีเอนอาร์เอช ในวันที่ 12 หลังผสมเทียม มีแนวโน้มเพิ่มอัตราการผสมติดในโคที่มีปัญหาการผสมซ้ำ

คำสำคัญ: อัตราการผสมติด ฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน โคนม

บทนำ

ปัญหาการผสมซ้ำในโคนมเป็นปัญหาคู่กับโคนมเช่นเดียวกับโรคเต้านมอักเสบ ซึ่งปัญหาทั้งสองนี้เป็นปัญหาหลักที่นำความสูญเสียมาให้แก่ธุรกิจโคนมมากที่สุด อุบัติการณ์ของปัญหาโคผสมซ้ำที่มีรายงานอยู่ในหลาย ๆ การศึกษาพบว่าอยู่ในช่วง 10 -18 % (Kaim *et al.*, 2003) ปัญหาโคผสมซ้ำสามารถจำแนกออกตามสาเหตุอย่างคร่าว ๆ ได้ คือ เกิดจากพันธุกรรม ความผิดปกติของไข่ หรือตัวอสุจิ และตัวอ่อน การติดเชื้อหรือกระบวนการอักเสบของระบบสืบพันธุ์ (Lopez - Gatius *et al.*, 1996) ความไม่สมดุลของฮอร์โมน การขาดสารอาหาร (Butler, 2000) ความเครียดจากปัจจัยต่าง ๆ (Armstrong, 1994; ศิริวัฒน์ และคณะ 2544) และสาเหตุอื่น ๆ ที่มีผลทำให้ตัวอ่อนตาย หรือเกิดการแท้งขึ้น (Maurer and Echternkamp, 1985) Zemjanis (1980) รายงานไว้ว่า อัตราการผสมติดจาการผสมเทียมของโคนมในฝูง (Total conception rate) ควรอยู่ระหว่าง 50 - 55% ขณะที่ ปราจีน และคณะ (2544) พบว่าอัตราการผสมติดเฉลี่ยของโคนมในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศไทยเป็น 37.4 - 45.5 %

การให้โกนาโดโทรปิน รีลีสซิ่งฮอร์โมน (Gonadotropin releasing hormone, GnRH) เป็นแนวทางหนึ่งที่นำมาใช้ในการแก้ไขปัญหาโคนมผสมซ้ำในท้องที่ เนื่องจาก โกนาโดโทรปิน รีลีสซิ่ง ฮอร์โมน (GnRH) สามารถทำให้กระเปาะไข่ (follicle) ชนิด dominant ที่มีขนาดตั้งแต่ 10 มม. เกิดการตกไข่ได้ และหลังเกิดการตกไข่แล้ว follicular wave ของรอบถัดไปจะเกิดขึ้นภายใน 1-3 วัน (Ryan *et al.*, 1998). การใช้ฮอร์โมน GnRH ในการแก้ปัญหาผสมซ้ำสามารถทำได้หลายแบบ ที่นิยมมากคือ การให้ GnRH พร้อมกับการผสมเทียม เพื่อกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ ในช่วงเวลาที่เหมาะสมกับการผสมเทียม และกระตุ้นการเกิดลูทีไนเซชั่น (Luteinization) โดย Stevenson และคณะ 1990 พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการผสมติดขึ้น 18 % เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ทำการฉีดฮอร์โมน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mee *et al.* (1990) และ Morgan and Lean (1993) สุรจิต และคณะ (2531) และ วิษณุ และนิวัฒน์ (2544) ในขณะที่นิวัฒน์ และวิษณุ (2545) และ เจษฎา และพิพรรธพงศ์ (2547) ได้รายงานการศึกษาด้วยวิธีเดียวกันนี้ในแม่โคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำมากกว่า 3 ครั้งขึ้นไป แต่ไม่มีความผิดปกติอื่นของระบบสืบพันธุ์ และพบว่ากลุ่มที่ได้รับการฉีดฮอร์โมนมีอัตราการผสมติดที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ

นอกจากนี้การให้ GnRH หลังการผสมเทียมด้วยจุดประสงค์เพื่อลดการสูญเสียของตัวอ่อน และเพิ่มอัตราการผสมติด ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่น่าสนใจ เนื่องจากในโคนมมีการเจริญของกระเปาะไข่ (follicular dynamic) เป็น 2 หรือ 3 follicular wave (Webb *et al.*, 1992) โดยจะพบการเจริญของคลื่นของกระเปาะไข่ (follicular wave) ในวันที่ 0 และวันที่ 10 สำหรับโคนมกลุ่มที่มี 2 wave cycle ในขณะกลุ่มที่มี 3 wave cycle จะพบการเจริญของคลื่นกระเปาะไข่ในวันที่ 0, 9 และ 16 (Nosier, 2003) และกระเปาะไข่ของแต่ละคลื่น (วันที่ 10 สำหรับกลุ่ม 2 wave cycle และวันที่ 9 สำหรับกลุ่ม 3 wave cycle) จะเจริญต่อไปจนเป็นกระเปาะไข่ขนาดใหญ่ (dominant follicle) ซึ่งจะสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ไปมีผลในการยับยั้ง (negative correlation) ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนซึ่งสร้างจากคอร์ปัสลูเตียมที่เกิดหลังการตกไข่ ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่จำเป็นต่อการตั้งท้อง (Nosier, 2003) ดังนั้นการให้ฮอร์โมน GnRH ในระยะเริ่มต้นของลูเตียลเฟสหลังการผสมเทียม จะทำให้เกิด LH surge ขึ้น ซึ่งมีผลทำให้เกิดการตกไข่ของ dominant follicle ที่มีอยู่ในขณะนั้นและเกิด luteinization ตามมา ซึ่งเป็นการเพิ่มการเกิดเนื้อเยื่อคอร์ปัสลูเตียมขึ้น (accessory corpus luteum) (Schmitt *et al.*, 1996; Willard *et al.*, 2003; Howard *et al.*, 2005) อันจะมีผลทำให้มีระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูงขึ้นหลังการผสมเทียม ซึ่งเป็นกลไกสำคัญในการตั้งท้อง นอกจากนี้ยังมีผลไปลดการสร้างฮอร์โมน estradiol 17 β ด้วย (Mann

et al., 1995) โดยการศึกษาของ Mann and Lamming (2001) และ Santos *et al.* (2004) พบว่า luteal deficiency ในช่วง 3 อาทิตย์แรกของการตั้งท้อง จะเป็นสาเหตุที่สำคัญสาเหตุหนึ่ง ในการทำให้เกิดการสูญเสียของตัวอ่อนในระยะแรกได้ โดย Peters (1996) และ Lucy (2001) รายงานว่าประมาณ 25% ของตัวอ่อนโคจะตายในระยะ 3 อาทิตย์แรกของการตั้งท้อง ดังนั้นการกระตุ้นให้เกิด accessory corpus luteum ซึ่งจะทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนตามมา จะช่วยลดอัตราการตายของตัวอ่อนในระยะแรกของการตั้งท้อง (early embryonic death) ได้ โดย Lopez - Gatius *et al.* (2002) ยังได้รายงานไว้ด้วยว่า โคที่พบการเพิ่มขึ้นของ accessory corpus luteum จะมีโอกาสเกิดการตายของตัวอ่อนในระยะแรกของการตั้งท้องน้อยกว่าแม่โคที่มีเพียงคอร์ปัสลูเตียมปกติถึง 8 เท่า

จากฐานข้อมูลระบบสารสนเทศโคนม ของศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพราชบุรี ในปี 2547 พบว่าโคนมที่มีปัญหาการผสมซ้ำ (ตั้งแต่ 3 ครั้งขึ้นไป) โดยไม่พบความผิดปกติอื่นใดของระบบสืบพันธุ์ ในเขตอำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี มีจำนวน 818 ตัว โดยมีอัตราการผสมติดเพียง 36.3 % เท่านั้น

จุดประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อให้ทราบถึงผลของการใช้ฮอร์โมน GnRH หลังการผสมเทียมต่ออัตราการผสมติดในแม่โคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำ ในพื้นที่อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี เพื่อประโยชน์ในอันที่จะสามารถนำไปใช้ในการลดปัญหาการผสมซ้ำ อันเกิดจากการสูญเสียตัวอ่อนในระยะแรกของการตั้งท้อง และช่วยเพิ่มอัตราการผสมติดของโคนมในพื้นที่ได้

อุปกรณ์และวิธีการ

แม่โคนมของฟาร์มเกษตรกรในโครงการพระราชดำริห้วยทราย อ. ชะอำ จ. เพชรบุรี ที่มีปัญหาผสมซ้ำ (ผสมเทียม > 3 ครั้ง) จำนวน 80 ตัว แม่โคทั้งหมดเป็นโครีดนม ที่มีอายุใกล้เคียงกัน คือระหว่าง 3 - 7 ปี มีสภาพร่างกายสมบูรณ์ คะแนนความสมบูรณ์ของร่างกาย (BCS) ประมาณ 2.5 - 3 และมีสายเลือดโฮลสไตน์ฟรีเชียน ใกล้เคียงกันคือไม่เกิน 93.75% และโคอยู่ในภาพการเลี้ยงดูและการให้อาหารที่ใกล้เคียงกัน แม่โคทั้งหมดมีรอบการเป็นสัดปกติ และจากการตรวจอวัยวะของระบบสืบพันธุ์ด้วยการล้วงตรวจทางทวารหนัก (per rectum) พบว่ารังไข่อยู่ในสภาพทำงาน (active) คือตรวจพบกระเปาะไข่ หรือเนื้อเยื่อคอร์ปัสลูเตียม และไม่พบความผิดปกติอื่นใดของอวัยวะระบบสืบพันธุ์ เช่น การลีบเล็กของรังไข่ ถุงน้ำบนรังไข่ ท่อนำไข่มีการตีบตันหรือมีพังผืดยึดเกาะ มดลูกปกติไม่พบการอักเสบของมดลูก หรือมีหนองอยู่ภายในมดลูก

แบ่งกลุ่มแม่โคนมที่มีปัญหาผสมซ้ำเหล่านี้เป็น 2 กลุ่ม โดยการสุ่ม (simple random sampling)

กลุ่มที่ 1 (กลุ่มควบคุม) แม่โคนม จำนวน 40 ตัว เมื่อสังเกตพบอาการเป็นสัด แม่โคได้รับการผสมเทียมตามปกติ

กลุ่มที่ 2 (กลุ่มทดลอง) แม่โคนม จำนวน 40 ตัว ทำการผสมเทียม หลังจากตรวจพบแม่โคแสดงการเป็นสัด และฉีดโกนาโดโทรปิน รีลีสซิ่ง ฮอร์โมน จำนวน 0.01 มิลลิกรัม ภายหลังจากทำการผสมเทียมแล้ว 12 วัน

การผสมเทียมทำโดยเจ้าหน้าที่เพียงคนเดียว น้ำเชื้อที่ใช้เป็นพ่อพันธุ์ตัวเดียวกัน รวมทั้งชุดผลิตเดียวกันด้วย จดบันทึกข้อมูลการผสม ภายหลังการผสมเทียม ถ้าแม่โคทั้ง 2 กลุ่ม ไม่กลับสัดภายใน 60 วัน จะตรวจการตั้งท้องของแม่โค และจดบันทึกไว้ ถ้าโคไม่ท้องให้ผสมเทียมต่อตามปกติเมื่อโคเป็นสัด และจดบันทึกไว้

ข้อมูลทั้งหมดจะนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม เอส เอ เอส (SAS: Statistical Analysis System, SAS Inst. V. 6.12, Cary, NC USA) โดยเปรียบเทียบอัตราการผสมติดจากการผสมเทียมครั้งแรก (first service conception rate) อัตราการผสมติดจากการผสมเทียมทั้งหมด (total conception rate) และจำนวนครั้งของการผสมเทียมต่อการผสมติด (number of inseminations/ conception) ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ด้วย chi-square และ t-test

ผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ได้นำแม่โคเข้ามาใช้ในการทดลองจำนวน 80 ตัว จากการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก ไม่พบความผิดปกติของอวัยวะระบบสืบพันธุ์ แม่โคมีรอบการเป็นสัดปกติ

แม่โคนมที่นำมาศึกษาค่าเฉลี่ยของสายเลือดโฮลสไตน์เท่ากับ 84.6 เปอร์เซ็นต์ โดยกลุ่มควบคุม มีสายเลือดค่าเฉลี่ยของสายเลือดโฮลสไตน์ 86.2 เปอร์เซ็นต์ (75.0-93.7เปอร์เซ็นต์) กลุ่มทดลองมีสายเลือดค่าเฉลี่ยของสายเลือดโฮลสไตน์ 83.1 เปอร์เซ็นต์ (62.5-93.7เปอร์เซ็นต์)

ตารางที่ 1 อัตราการผสมติด และจำนวนครั้งในการผสมเทียมต่อการผสมติด ของโคนมกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน

กลุ่ม	จำนวนแม่โค	อัตราการผสมติดจากการผสมเทียมครั้งแรก		อัตราการผสมติดจากการผสมเทียมทั้งหมด		จำนวนครั้ง/การผสมติด
	(ตัว)	ตัวที่ผสมติด/ตัวที่ผสมทั้งหมด	%	ตัวที่ผสมติด/ตัวที่ผสมทั้งหมด	%	($\bar{X} \pm$ SD) (ครั้ง)
กลุ่มควบคุม	40	11/40	27.5[a]	17/40	42.5[a]	1.94±1.47
กลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน	40	18/40	45[b]	23/40	57.5[b]	1.47±1.03

หมายเหตุ : [ab] อักษรต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 1 จะเห็นว่าโคกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน GnRH จำนวน 40 ตัว ในวันที่ 12 ภายหลังการผสมเทียม มี 18 ตัว ผสมติดจากการผสมเทียมครั้งแรก (first service conception rate) และอัตราการผสมติดจากการผสมทั้งหมด (total conception rate) สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และมีจำนวนครั้งที่ผสมเทียมต่อการผสมติดน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

นอกจากนี้ ในการศึกษานี้ยังพบว่า อัตราการผสมติดจากการผสมทั้งหมด ในโคกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน ยังสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญด้วย ($p<0.05$) ในขณะที่จำนวนครั้งที่ผสมต่อการผสมติด ในโคกลุ่มที่ไม่ได้รับฮอร์โมนก็ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าการให้ GnRH ในวันที่ 12 หลังการผสมเทียม สามารถเพิ่มอัตราการผสมติด เพิ่มประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ ของโคนมที่ได้รับฮอร์โมนด้วย

วิจารณ์

จากผลการศึกษาข้างต้นพบว่าอัตราการผสมติดจากากรผสมเทียมครั้งแรก ของกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน GnRH หลังการผสมเทียมสามารถในวันที่ 12 สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ จากการศึกษาของ MacMilan *et al.* (1986) Sheldon and Dobson (1993) Drew and Peters (1994) และ Peters *et al.* (2000) พบว่าการให้ฮอร์โมน GnRH ในระว่างวันที่ 11 - 14 หลังการผสมเทียมสามารถเพิ่มอัตราการตั้งท้องของโคนมได้ นอกจากนี้ Rettmen *et al.* (1992) ยังได้รายงานการเพิ่มขึ้นของอัตราการตั้งท้องในกลุ่มคเนื้อที่ได้รับฮอร์โมน GnRH ในระหว่างวันที่ 11 - 14 หลังการผสมเทียมด้วย ในขณะที่ การศึกษาของ Jubb *et al.* (1990) Drost and Thatcher (1992) และ Ryan *et al.* (1994) พบว่าอัตราการตั้งท้องระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน GnRH ไม่แตกต่างกัน และ Stevenson *et al.* (1993) ก็พบอัตราการตั้งท้องที่ไม่แน่นอนในโคแต่ละกลุ่มที่ศึกษา แม้จะพบว่าระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการฉีดสูงขึ้นในทุกกลุ่มที่ศึกษาก็ตาม การให้ฮอร์โมน GnRH ในระยะต้นของลูเตียลเฟสหลังการผสมเทียม มีการศึกษาการให้ในช่วงวันต่าง ๆกัน โดยให้ผลที่แตกต่างกัน Leslie *et al.* (1986) Peters *et al.* (1992) และ Howard *et al.* (2005) พบว่าการให้ฮอร์โมน GnRH ในวันที่ 5 หลังการผสมเทียมจะให้อัตราการผสมติดที่ไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนและกลุ่มควบคุม แม้จะพบว่ามีการเกิด accessory corpus luteum และมีระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่สูงขึ้นก็ตาม ในขณะที่ Willard *et al.* (2003) รายงานการศึกษาในแม่โคนมที่มีความเครียดจากความร้อน (heat stress dairy cows) โดยให้ฮอร์โมน GnRH ในวันที่ 5 หลังการผสมเทียมเช่นเดียวกัน และพบว่าสามารถเพิ่มอัตราการตั้งท้องได้ ในขณะที่ ฤทธิชัย และคณะ (2547) ก็รายงานการศึกษาในโคสาวในช่วงฤดูร้อนของประเทศไทย และพบว่ากลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน GnRH ในวันที่ 5 หลังการผสมเทียม มีระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และมีแนวโน้มในการเพิ่มอัตราการผสมติดแม้จะไม่มีนัยสำคัญก็ตาม

Peters (2005) รายงานไว้ว่าช่วงเวลาในการให้ฮอร์โมน GnRH หลังการผสมเทียมเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีความสำคัญ โดยพบว่า การให้ GnRH ในช่วงวันที่ 11-14 หลังการผสมเทียมน่าจะให้ผลที่ดีที่สุด เนื่องจากตรงกับช่วงของการเกิด maternal recognition of pregnancy ของแม่โค โดยตัวอ่อนจะผลิตสาร interferon T ซึ่งเป็น antiluteolytic factor ซึ่งจะไปยับยั้งการหลั่งของโปรสตาแกลนดินจากผนังมดลูก อันจะมีผลทำให้การตั้งท้องดำเนินต่อไปได้ ซึ่งการให้ GnRH ในช่วงนี้ ก็จะไปมีส่วนร่วม โดยทำให้ dominant follicle ที่มีอยู่ในขณะนั้นเกิด ovulation และตามด้วยการเกิด luteinization ซึ่งจะช่วยเพิ่มระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนให้สูงขึ้น และยังช่วยลดระดับของฮอร์โมนเอสตราไดออล 17 เบต้า อันจะไปมีผลในการยับยั้งการทำงานของ oxytocin receptor และไปยับยั้งการหลั่งของ โปรสต้าแกลนดินจากผนังมดลูกเช่นเดียวกัน ทำให้ตัวอ่อนมีโอกาสที่จะเจริญอยู่ต่อไป

นอกจากนี้การเจริญของกระเปาะไข่ (follicular dynamic) ในโคนมซึ่งอาจเป็นแบบ 2 หรือ 3 follicular wave cycle ก็เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งของการกำหนดเวลาในการให้ฮอร์โมน GnRH เพื่อให้ได้รับผลในการ

ตอบสนองที่น่าพอใจ เนื่องจากในโคนมที่มีการเจริญของกระเปาะไข่เป็นแบบ 3 wave cycle การให้ฮอร์โมน GnRH ในระหว่างวันที่ 11-14 จะตรงกับ peak ของ second follicular wave ซึ่งจะมีระดับของฮอร์โมนเอสตราไดออลที่สูง (Webb *et al.*, 1992) ในขณะที่โคนมที่มีการเจริญของกระเปาะไขเป็นแบบ 2 wave cycle การให้ GnRH ในระยะนี้จะเป็นช่วงที่มีระดับของเอสตราไดออลต่ำ ซึ่งอาจให้ผลการตอบสนองที่ต่างกันไป ดังการศึกษาต่าง ๆที่กล่างมาข้างต้น นอกจากนี้การตอบสนองต่อการให้ฮอร์โมน GnRH ยังแตกต่างกันไปขึ้นกับปัจจัยอื่น ๆ ด้วย เช่น ชนิดของโค (โคเนื้อ, โคนม) ลำดับการคลอดลูก (parity) และวิธีการเหนี่ยวนำให้เกิดการเป็นสัด เป็นต้น (Peters 2005) นอกจากนี้การให้ ฮอร์โมน GnRH หลังการผสมเทียมแล้ว ยังมีการศึกษาการให้ฮอร์โมนตัวอื่นที่มีฤทธิ์ใกล้เคียงกันด้วย เช่น Human chorionic gonadotropin (HCG) ซึ่งพบว่าสามารถเพิ่มจำนวนของ accessory corpus luteum และระดับของโปรเจสเตอโรนได้เช่นเดียวกัน แต่อัตราการผสมติดที่ได้ค่อนข้างผันแปรในการทดลองต่าง ๆ (Schmith *et al.*, 1996; Diaz *et al.*, 1998; Santos *et al.*, 2004; ฤทธิชัย, 2547)

การให้ฮอร์โมน GnRH ในระยะต้นของลูเทียลเฟส จะมีประโยชน์ในการลดการผสมซ้ำของโคนมที่เกิดจากการสูญเสียตัวอ่อนในระยะต้นหลังการผสมเทียม เนื่องจากทำให้เกิดการตกไข่ของ dominant follicle ของคลื่นแรก และทำให้เกิดคอร์ปัสลูเตียมเพิ่มขึ้นและยังมีแนวโน้มในการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ของโคนมที่ได้รับฮอร์โมนด้วย นอกจากนี้ยังน่าจะมีประโยชน์ในการนำมาช่วยในโคนมที่มีความเครียด จากสาเหตุต่าง ๆ เช่น สภาวะแวดล้อม หรือการให้ผลผลิตน้ำนมสูง ซึ่งจะไปมีผลกระทบต่อระบบต่อมไร้ท่อ (endocrine system) โดยอาจไปยับยั้งหรือลดการหลั่งของฮอร์โมน GnRH จากไฮโปธาลามัสได้ (Ryan *et al.*, 1991)

อย่างไรก็ตาม การที่จะทำให้ได้รับผลการตอบสนองที่ดีจากการใช้ฮอร์โมนชนิดใด ๆก็ตาม การทราบถึง follicular wave cycle ของโคนั้น ๆ ก็เป็นปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในโคที่มีความไม่สม่ำเสมอของวงรอบอันเนื่องมาจากสาเหตุต่าง ๆ เพื่อให้สามารถกำหนดช่วงเวลาในการให้ฮอร์โมนได้เหมาะสม อันจะทำให้โคสามารถให้ผลตอบสนองที่น่าพอใจได้

สรุป

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินมีแนวโน้มในการช่วยแก้ปัญหาหรือเพิ่มประสิทธิภาพการผสมเทียมในแม่โคนมที่มีปัญหาการผสมซ้ำ ทำให้แม่โคมีอัตราการตั้งท้องที่สูงขึ้น แต่ในการทดลองครั้งนี้ไม่ได้มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ ทั้งขนาดและจำนวนของคอร์ปัสลูเตียมภายหลังได้รับฮอร์โมนโกนาโดโทรปินและระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งควรจะต้องมีการศึกษาต่อไป เพื่อให้สามารถยืนยันผลการตอบสนองได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้มีส่วนร่วมในการศึกษาวิจัย รวมทั้งเจ้าหน้าที่ผสมเทียมในสังกัดศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพราชบุรี ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านการปฏิบัติการ การเก็บข้อมูล และการอำนวยความสะดวกต่าง ๆ ในพื้นที่ที่รับผิดชอบ ทำให้การศึกษาวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สุรจิตร ทองสอดแสง มานิตย์ ชนิตรวงศ์ และพัฒนา นุศรีจันทร์. 2531. อิทธิพลของโกนาโดโทรปินรีลิสซิ่งฮอร์โมนต่อการผสมเทียมโค. รายงานผลงานวิจัย สาขาผลิตปศุสัตว์ ประจำปี 2531 กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 187-193.

วิษณุ ไพศาลรุ่งพนา และนิวัฒน์ ถาวระ. 2544. อิทธิพลของโกนาโดโทรปินรีลิสซิ่งฮอร์โมนต่ออัตราการผสมติดในโคสาวลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเซียน. รวมผลงานวิจัยที่สำคัญ ประจำปี 2544 เล่มที่1 กองผสมเทียม กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 1-9.

นิวัฒน์ ถาวระ และวิษณุ ไพศาลรุ่งพนา. 2545. ผลของน้ำยาโพวิโดน และโกนาโดโทรปินรีลิสซิ่งฮอร์โมนต่อปัญหาการผสมซ้ำในโคนม. รวมผลงานวิจัยที่สำคัญ ประจำปี 2545 เล่มที่1 กองผสมเทียม กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 1-10.

เจษฎา ศรีพันดอน และพิพรรธพงศ์ พูดเพราะ. 2547. การใช้ GnRHแก้ไขปัญหาการผสมติดยากในโคนมจังหวัดสกลนคร. วารสารวิชาการสำนักสุขศาสตร์สัตว์และสุขอนามัยที่ 4 ปีที่ 8 ฉบับที่ 19 ประจำเดือนกันยายน 2547. หน้า 17-22

ฤทธิชัย พิลาไชย สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย วีระศักดิ์ วงศ์ศรีแก้ว ศักดิ์ศรี ศรีเสถียร. 2547. ประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 30 10-12 พฤศจิกายน 2547 ห้องคอนเวนชั่น โรงแรมโซฟิเทล เซ็นทรัล ลาดพร้าว.

ศิริวัฒน์ ทรวดทรง, นวเพ็ญ ภูติกนิษฐ์, ปราจีน วีรกุล และจันทร์เพ็ญ สุวิมลธีระบุตร. 2544. การศึกษาปัญหาการสูญเสียตัวอ่อนของการตั้งท้องระยะต้นในโคนม. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 27 โรงแรมโซฟิเทล เซนทรัลพลาซา, กรุงเทพมหานคร. 24-26 ตุลาคม 2544. หน้า 39-40.

ปราจีน วีรกุล, สุรจิต ทองสอดแสง, วินัย กระแสนสินธุโกมล, กิตติ มหาวิรุฬห์, สาโรช งามขำ, อยุทธ์ หรินทรานนท์, ไกรวรรณ หงษ์ยันตรชัย, พรชัย สุวรรณาภิรมย์ และไพโรจน์ อัมพวันวงศ์. 2544. ผลการสำรวจสถานภาพและปัญหาระบบสืบพันธุ์ในโคนม. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการโคนมและผลิตภัณฑ์ครั้งที่ 4 ทำวิจัยได้-ใช้ประโยชน์จริง โรงแรมโซลทวินทาวเวอร์, กรุงเทพมหานคร.13-14 ธันวาคม 2544. หน้า 24.

Armstrong, D.V. 1994. Heat stress interaction with shade and cooling. J. Dairy Sci. 77:2044-2050.

Butler, W.R. 2000. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. Anim. Reprod. Sci. 60/61:449-457.

Diaz, T., Schmitt, EJ-P., De La Sota, R.L., Thatcher, M.J. and Thatcher, W.W. 1998. Human chorionic gonadotropin induced alterations in ovarian follicular dynamics durings the estrous cycle of heifers. J. Anim. Sci. 76:1929-1936.

Drew, S.B. and Peters, A.R. 1994. Effect of buselerin on pregnancy rate in dairy cows. Vet. Rec. 134:267-269.

Drost, M. and Thatcher, W. W. 1992. Application of gonadotropin releasing hormone as therapeutic agent in animal reproduction. Anim. Reprod. Sci. 28:11-19.

Howard, J. M., Manzo, R., Dalton, J. C., Frago, F. and Ahmadzadeh, A. 2005. Conception rates and serum progesterone concentrationin dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days

after artificial insemination. Anim. Reprod. Sci. Article In Press.

Jubb, T. F., Abhayaratne, D., Malmo, J. and Anderson, G. A. 1990. Failure of an intramuscular injection of an analogue of GnRH 11 to 13 days after insemination to increase pregnancy rate in dairy cattle. Aust. Vet. J. 67:359-361.

Kaim, M. Bloch, A. Wolfenson, D. Braw-Tal, R. Rosenberg, M. Voet, H and Folman, Y. 2003. Effect of GnRH administered to cows at the onset of estrus on timing of ovulation, endocrine responses and conception. J. Dairy Sci. 86:2012-2021.

Leslie, K.E., Bosu, W.T. Lissemore, K., and Kelton, D. 1986. The effect ofgonadotropin releasing hormone administration four days after insemination on first service conception rate and corpus luteum function in dairy cows. Can. J. Vet. Res. 50:184-187.

Lopez-Gatius, F., Labèrnia, J., Santolaria, P., Lopez-Béjar, M. and Rutllant, J. 1996. Effect of reproductive disorders previous to conception on pregnancy attrition in dairy cows.Theriogenology. 46:643-648.

Lopez-Gatius, F., Santolaria, P., Yaniz, J.L., Rutllant, J. and Lopez-Béjar, M. 2002. Facrors affecting pregnancy loss from gestation Day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd.Theriogenology. 57:1251-1261.

Lucy, M.C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle : where will it end ? J. Dairy Sci. 84:1277-1293.

Mann, G.E. and Lamming, G.E. 2001. Relationship between maternal endrocrine environment early embryo development and inhibition of the luteoltic mechanism in coes. Reproduction. 121: 175-186.

Mann, G.E., Lamming, G.E. and Fray, M. D. 1995. Plasma Oestradiol and progesterone during early pregnancy in the cow and the effects of treatment with buserelin. Anim. Reprod. Sci. 37:121-131.

Maurer, R. R. and Echternkamp, S. E. 1985. Repeat breeder females in beef cattle: influences and causes. J. Anim. Sci. 61:624.

Morgan, W. F. and Lean, I. J. 1993. Gonadotrophin-releasing hormone treatment in cattle: a meta-analysis of the effects on conception at the time of insemination. Aust. Vet. J. 70, 205 209.

McMillan, W.H., K.L., Taufa, V.K. and Day, A.M. 1986. Effect of an agonist of GnRH(Buserelin) in cattle . III. Pregnancy rates after a post insemination injection during Metoestrous or dioestrus. Anim. Reprod. Sci. 11:1-10.

Mee, M. O. Stevenson, J. S., Scoby, R. K. and Folman, Y. 1990. Influence of gonadotropin releasing hormone and timing of insemination relative to estrus on pregnancy rates of dairy cattle at first service. J. Dairy. Sci. 73:1500-1507.

Morgan, M. F. and Lean, I. J. 1993. Gonadotropin releasing hormone treatment in cattle: a meta analysis of the effects on conception at the time of insemination. Aus. Vet J. 70:205-209.

Nosier, W.N.B. 2003. Ovarian follicular activity and hormonal profile during estous cycle in cows: The development of 2 versus 3 waves. Reprod. Bio. and Endoc. 1(50):1477-1486.

Peters, A. R. 1996. Embryo mortality in the cow. Anim. Breeding. Abstracts 64:587-598.

Peters, A. R. 2005. Veterinary clinical application of GnRH - questions of efficacy. Anim. Reprod. Sci. 88:155-167.

Peters, A.R., Drew, S.B., Mann, G.E., Lamming, G.E. and Beck, N.F. 1992. Experimental and practical approaches to the establishment and maintenance of pregnancy. J. Physiol. Pharmacol. 43 (Suppl.):143-152.

Peters, A.R., Martinez, T.A. and Cook, A.J. 2000. A Meta-analysis of studies of the effect of GnRH 11-14 days after insemination on pregnancy rate in cattle. Theriogenology. 54:1317-1326.

Rettmer, Z., Stevenson, J, S. and Corah, L, R. 1992. Pregnancy rate in beef cattle after administering a GnRH agonist 11 to 14 days after insemination. J. Anim. Sci. 70:7-12.

Ryan, D.P., Snijders, S., Condon, T., Grealy, M., Sreenan, J. and Ó Farrell, K. J. 1994. Endocrine and ovarian responses and pregnanacy rate in dairy cows following the administration of a gonadotropin releasing hormone analogue at the time of artificial insemination or at mid-cycle post insemination. Anim. Reprod. Sci. 34:179-191.

Ryan, D.P., Kopel, E., Boland, M.P. and Godke, R.A. 1991. Pregnancy rate in dairy cows following the administration of a GnRH analogue at the time of artificial insemination or at mid cycle post insemination. Theriogenology. 36(3):367-377.

Ryan, M., Mihm, M. and Roche, J. F. 1998. Effect of GnRH given before or after dominance on gonadotrophin response and fate of that follicle wave in postpartum dairy cows. J. Reprod. Fertil. Abstract series 21:61.

Santos, J.E., Thatcher, W.W., Chebel, R.C., Cerri, R.L. and Galvano, K.N. 2004. The effect of embryonic death rate in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. Anim. Reprod. Sci. 82/83:513-535.

Schmitt, E.J., Diaz,T., Barros, C.M., Dela Sota, R.L., Drost, M., Fredriksson, EW., Staples, C.R., Thorner,R. and Thatcher, W.W. 1996. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin releasing hormone. J. Anim. Sci. 74:1074-1083.

Schmitt, EJ-P. Barros, C.M. Fields, P.A. Fields, M.J. Diaz, T. and Kluge, J.M. 1996. A cellualar and endocrine characteruzation of the original and induced CL after administration of a gonadotropin releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day 5 of the estrous cycle. J. Anm. Sci. 74:1915-1929.

Sheldom, I.M. and Dobson, H. 1993. Effects of GnRH administered 1 days after insemination on the pregnanacy rates of cattle to the first and later services. Vet. Rec. 133:160-163.

Stevenson, J. S., Phatak, A. P., Rettmer, I. and Stewart, R. E. 1993. Post insemination administration of

receptal: Follicular dynamics, Duration of cycle, Hormonal response and pregnancy rate. J. Dairy Sci. 76:2536-2547.

Stevenson, J. S., Call, P. E. and Scoby, R. K. 1990. Double insemination and Gonadotrpin releasing hormone treatment of repeat breeding dairy cattle. J. Dairy Sci. 73:1766-1772

Webb, R., Gong, J.G., Law, A.S. and Rusbridge, S.M. 1992. Control of ovarian function in cattle. J. Reprod. Fert. Supplyment 45:141-156.

Willard, S., Gandy, S., Bowers, S., Graves, K., Elios, E. and Whisnant, C. 2003. The effect of GnRH administration post insemination on serum concentration of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle expose to mild summer heat stress. Theriogenology 59(8):1799-1810.

Zemjanis, R. 1980. “Repeat-breeding” or conception failure in cattle. In Morrow, D.A. (ed.). Current Therapy in Theriogenology. Philadelphia, PA. W.B. Saunders Co. p. 281.

GnRH application for improving pregnancy rate in repeat breeding dairy cows

Peerapong Sumransap[1,*] Saroch Ngamkhum[1] and Nussara Vadhanakul[2]

1 Ratchaburi artificial insemination and biotechnology research center, Bureau of biotechnology in livestock production

2 Bureau of biotechnology in livestock production

* Corresponding Author: psumransap@hotmail.com

Abstract

The aim of this study was to improve conception rate of repeat breeding cows by using GnRH treatment at day 12 post insemination. Eighty Holstein crossbred repeat breeding cows having no abnormality of reproductive organs (rectal palpation,) were selected for the study. All cows were randomly divided into two groups. Group I (n=40) was a control group, cows were inseminated when they were in estrus. Group II (n=40) was a treatment group, cows were also inseminated when they were in estrus and later injected by GnRH at day 12 post insemination. Pregnancy diagnosis was made in two months after insemination. The results showed that first service conception rate of the control and treatment groups were 27.5% and 45%, respectively, which were significantly different ($p<0.05$). The same significantly difference between total conception rate of the control and treatment groups were also found (57.5% VS 42.5%, $p<0.05$). Number of inseminations per conception of the treatment group was significantly lower than those of the control group (1.47 ± 1.03, 1.94 ± 1.47, $p<0.05$). It can be concluded that GnRH administration at day 12 post insemination can improved conception in repeat breeding cows.

Keywords: conception rate, gonadotropin releasing hormone, dairy cow

ปัจจัยที่มีผลต่อสัดส่วนการได้รับการผสมครั้งแรกของแม่โคภายหลังคลอดในโคนมลูกผสม

เอกพจน์ ระงับพิศม์[1,*] วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา[2] และ สุรชัย สุรฤทธิพงศ์[3]

[1] ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่, 50300
[2] สาขาวิชาคลินิกสัตว์เคี้ยวเอื้อง, คณะสัตวแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 50100
[3] ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพพิษณุโลก อ.เมือง จ.พิษณุโลก, 65000
[*] ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ โทร. 0-5322-4671 โทรสาร 0-5322-1027

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่าระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับสัดส่วนของการได้รับการผสมครั้งแรกในแม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ ฟรีเชียนของเกษตรกรรายย่อย ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วยข้อมูลรายตัวและข้อมูลการผสมของแม่โคนม 3,260 ตัว ในฟาร์มโคนม 583 ฟาร์มซึ่งเก็บข้อมูลโดยศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่ ปัจจัยที่ทำการศึกษาประกอบด้วย กลุ่มระดับสายเลือดโฮลสไตน์ ลำดับท้อง และฤดูกาลที่แม่โคคลอด ใช้การวิเคราะห์ความถดถอยของ Cox , SAS 9.0 เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนแม่โคที่ได้รับการผสมครั้งแรกภายหลังคลอดกับปัจจัยที่ศึกษา ผลการวิเคราะห์พบว่าแม่โคระดับสายเลือด 75-87.5%HF มีสัดส่วนการได้รับการผสมมากกว่าแม่โคนมระดับสายเลือดสูงกว่า 87.5%HF (hazard ratio = 1.23 , $p < 0.01$) แม่โคนมในลำดับท้องที่ 3 ขึ้นไปมีสัดส่วนการได้รับการผสมสูงกว่าแม่โคท้องแรก (hazard ratio = 1.14 , $p < 0.05$) แม่โคที่คลอดในช่วงฤดูร้อนเป็นแม่โคมีสัดส่วนที่ได้รับการผสมครั้งแรกต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแม่โคที่คลอดในฤดูหนาว (hazard ratio = 0.85, $p<0.01$) การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าแม่โคนมระดับสายเลือดสูง แม่โคนมท้องแรกและแม่โคนมที่คลอดในฤดูร้อนเป็นปัจจัยที่มีผลทำให้สัดส่วนของการได้รับการผสมครั้งแรกต่ำ

คำสำคัญ : โคนม, ระยะคลอดถึงผสมครั้งแรก, สัดส่วนแม่โคที่ได้รับการผสมครั้งแรก

บทนำ

ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์มีความสำคัญต่อประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมดิบในระบบการเลี้ยงโคนม โดยพบว่าหากแม่โคนมมีระยะห่างการคลอด 12-13 เดือน จะส่งผลให้ประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมดีที่สุด (Weaver, 1986) และมีความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจสูง (Plaizier *et al*, 1997) อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของฝูงเป็นผลมาจากสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของโคภายในฝูง

ในการที่จะให้ระยะห่างการคลอดอยู่ในช่วง 12-13 เดือน แม่โคควรผสมติดในช่วง 3-4 เดือนหลังคลอด โดยมีระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกในช่วงประมาณ 2 เดือนหลังคลอด ระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกเป็นค่าดัชนีที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกสูงมากกับระยะคลอดถึงผสมติด กล่าวคือ เมื่อเปรียบเทียบกลุ่มแม่โคที่มีระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกสั้นกว่ากับแม่โคที่มีระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกยาวนานกว่า แม่โคที่มีระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกสั้นกว่าจะมีระยะคลอดถึงผสมติดสั้นกว่า (Weaver, 1986) ดังนั้นระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกจึงเป็นตัวชี้บ่งที่สำคัญ และเป็นค่าที่มีแนวโน้มจะเกิดขึ้นก่อนระยะคลอดถึงผสมติด ดังนั้นจึงใช้เป็นค่าเฝ้าระวังในการจัดการดูแลระบบสืบพันธุ์ได้เป็นอย่างดี (ปรียพันธ์, 2537)

จากรายงานในประเทศไทย รายงานเกี่ยวกับค่าระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกค่อนข้างมีจำนวนน้อย โดยมีรายงานระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกในโคนมเท่ากับ 60 วัน (อุดมศรีและคณะ, 2540) สำหรับข้อมูลจากฟาร์มโคนมของหน่วยงานราชการ และ 98 วันสำหรับข้อมูลที่ได้จากฟาร์มโคนมเกษตรกรรายย่อย (Veerasak and Sorn, 2547)

การศึกษาครั้งนี้มีความแตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมา เนื่องจากการศึกษาในครั้งนี้จะใช้การวิเคราะห์ survival analysis ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในปัจจุบันสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลด้านผลผลิต การสืบพันธุ์ หรือ พันธุกรรมในโคนม และเป็นรายงานที่ศึกษาถึงปัจจัยและระดับย่อยของปัจจัยที่มีผลต่อสัดส่วนของการได้รับการผสมครั้งแรกภายหลังคลอดตามระยะเวลาที่กำหนด ซึ่งรายงานในลักษณะนี้มีค่อนข้างจำกัดในประเทศไทย และเป็นรายงานแรกที่ศึกษาในโคนมลูก ผสมของฟาร์มโคนมเกษตรกรรายย่อย

อุปกรณ์และวิธีการ

ข้อมูลและการจัดการข้อมูล

ใช้ข้อมูลจากแม่โคนมของฟาร์มโคนมเกษตรกรรายย่อยจากระบบสารสนเทศโคนมของศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่ ซึ่งประกอบด้วย หมายเลขฟาร์ม หมายเลขโค ระดับสายเลือดโฮลสไตน์ฟรีเชียน ลำดับท้อง วันคลอด วันผสมเทียม ทำการจัดเรียง คัดเลือกและสอบถามข้อมูลโดยใช้ PROC SQL (Prairie,2005) ในโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS) version 9.0 โดยให้คัดเลือกข้อมูลจากแม่โคนมที่มีประวัติการคลอดในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2544 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2545 และเป็นแม่โคลำดับท้องตั้งแต่ลำดับท้องที่ 1 ถึงลำดับท้องที่ 6 จากนั้นทำการแยกจำนวนข้อมูลตามระดับย่อยของปัจจัยที่ศึกษา ภายหลังจากจัดข้อมูลแม่โคทั้งหมดที่ศึกษาประกอบด้วยแม่โคจำนวน 3,260 ตัว จากฟาร์มโคนมของเกษตรกรรายย่อยจำนวน 583 ฟาร์ม รายละเอียดและโครงสร้างของข้อมูลได้แสดงใน Table 1

ตัวแปรตามและตัวแปรอิสระ

ตัวแปรตาม (dependent variable) คือ การได้รับการผสมครั้งแรกภายหลังคลอด โดยแบ่งออกเป็น 2 กรณี คือ ได้รับการผสม หรือ ไม่ได้รับการผสม การได้รับการผสมจัดเป็น event case และไม่ได้รับการผสมจัดเป็น censored case โดยกำหนดให้ survival time คือ ค่าเปอร์เซ็นต์ไทด์ที่ 90 ของระยะวันหลังคลอด (Suriyasathaporn *et al.*, 1998)

ตัวแปรอิสระ หรือ ปัจจัยที่ทำการศึกษา ประกอบด้วย ระดับสายเลือดโฮลสไตน์ ลำดับท้อง และ ฤดูกาลที่แม่โคนมคลอด ตัวแปรทั้งหมดเป็นตัวแปรแบบแบ่งกลุ่ม (Class variable) โดยมีรายละเอียด ดังต่อไปนี้ ระดับสายเลือดโฮลสไตน์แบ่งออกเป็น ระดับสายเลือดต่ำกว่า 75% (<75%HF) ระดับสายเลือด 75 % ถึง 87.5% (75-87.5%HF) และระดับสายเลือดสูงกว่า 87.5% (>87.5%HF) ลำดับท้องแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ลำดับท้องที่ 1, ลำดับท้องที่ 2 และลำดับท้องตั้งแต่ 3 ขึ้นไป ส่วนฤดูกาลแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ฤดูร้อน (มีนาคม-มิถุนายน) ฤดูฝน (กรกฎาคม-ตุลาคม) และฤดูหนาว (พฤศจิกายน-กุมภาพันธ์)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

หาค่าสถิติพื้นฐานและทดสอบการกระจายตัวของระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกด้วย PROC UNIVARIATE ทำการเปรียบเทียบสัดส่วนของแม่โคนมที่ได้รับการผสม โดยใช้โมเดลของ Cox (Cox's proportional hazard model) จาก PROC PHREG (Allison, 2005) โดยมีตัวแบบ (model) ดังต่อไปนี้

$$h(t) = h_0(t) \exp(BR + PAR + SS)$$

เมื่อ

$h(t)$ = hazard function ซึ่งแสดงถึง risk ของการผสมครั้งแรกหลังจาก t วันภายหลังคลอด

$h0(t)$ = baseline hazard function

BR= ปัจจัยคงที่และไม่เปลี่ยนแปลงตามเวลาของสายพันธุ์ (time independent effect of breed) โดยแบ่งออกเป็น 3 ระดับ (<75%HF, 75-87.5%HF และ >87.5%HF)

PAR = ปัจจัยคงที่และไม่เปลี่ยนแปลงตามเวลาของลำดับท้อง (time independent fixed parity effect) โดยแบ่งออกเป็น 3 ระดับ (ลำดับท้องที่ 1, 2 และ 3)

SS= ปัจจัยคงที่และไม่เปลี่ยนแปลงตามเวลาของฤดูกาลคลอด (time independent effect of calving season) โดยแบ่งออกเป็น 3 ระดับ (ฤดูร้อน, ฤดูฝน และฤดูหนาว)

โดยกำหนดให้ ลำดับท้องที่ 1, ระดับสายเลือดโฮลสไตน์สูงกว่า 87.5 % และ ฤดูหนาว เป็นกลุ่มเปรียบเทียบ (reference group)

ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ คือ ค่า Hazard ratio (HR) หากค่า HR ในกลุ่มที่เราศึกษามีค่ามากกว่า 1 แสดงว่ากลุ่มที่สนใจมีสัดส่วนแม่โคที่ได้รับการผสมมากกว่ากลุ่มเปรียบเทียบและในทางตรงกันข้ามหาก HR มีค่าน้อยกว่า 1 แสดงว่ากลุ่มที่สนใจมีสัดส่วนโคที่ได้รับการผสมน้อยกว่ากลุ่มเปรียบเทียบ การทดสอบใช้ระดับนัยสำคัญที่ α = 0.05 วิธีการต่าง ๆ (procedure=PROC) เป็นวิธีการวิเคราะห์ในโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ Statistical Analysis System (SAS) เวอร์ชัน 9.0

Table 1 Data structure and percent of serviced cow for each level of variables

Variable	Total number of serviced cows [a]	Total number of cows in class [b]	Percents of serviced cows
Breed			
<75%HF	254	277	91.70
75-87.5%HF	1,802	1,987	90.69
>87.5%HF	921	1,044	88.22
Parity			
1	919	1,057	86.94
2	712	786	90.59
≥3	1,346	1,465	91.88
Season of calving			
Hot	843	999	84.38
Rainy	1,269	1,323	95.92
Winter	865	986	87.73

ผล

ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกมีค่า 93.86±41.65 วัน มีค่ามัธยฐาน 84 วัน และค่าฐานนิยม 68 วัน และจากการทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลด้วยการทดสอบ Anderson-Darling และพิจารณาจาก normality plot พบว่าการกระจายตัวของข้อมูลไม่เป็นการกระจายตัวแบบปกติ ค่าของระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกที่เปอร์เซ็นต์ไทด์ที่ 90 มีค่า 155 วัน ดังนั้น survival time ในการวิเคราะห์ survival analysis จึงกำหนดที่ 155 วันภายหลังคลอด จำนวนแม่โคที่ได้รับการผสม (event case) และจำนวนแม่โคที่ไม่ได้รับการผสม (censored case) มีจำนวน 2,977 ข้อมูล และ 331 ข้อมูล ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์จากสมการถดถอยของ Cox พบว่าแม่โคระดับสายเลือด 75 % ถึง 87.5% มีสัดส่วนแม่โคที่ได้รับการผสมสูงกว่าแม่โคระดับสายเลือดสูงกว่า 87.5% แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างแม่โคระดับสายเลือด สูงกว่า 87.5% กับแม่โคระดับสายเลือดต่ำกว่า 75% แม่โคลำดับท้องที่ 2 และแม่โคลำดับท้องตั้งแต่ 3 ขึ้นไปมีสัดส่วนแม่โคที่ได้รับการผสมภายใน 155 วันสูงกว่าแม่โคลำดับท้องแรก 1.11 เท่า และ 1.14 เท่า ตามลำดับฤดูกาลคลอดมีผลต่อระยะการผสมครั้งแรก แม่โคที่คลอดในฤดูร้อนมีสัดส่วนต่ำกว่า (HR = 0.85) ในขณะที่แม่โคที่คลอดในฤดูฝนมีสัดส่วนแม่โคที่ได้รับการผสมสูงกว่า (HR=1.32) แม่โคที่คลอดในฤดูหนาวซึ่งเป็นลำดับชั้นเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์แสดงรายละเอียดใน Table 2

Table 2 Factors associated with the proportion of inseminated cows

Variable	Parameter Estimate	Standard Error	Hazard ratio	P-value
Breed				
>87.5%HF		reference class		
75-87.5%HF	0.20	0.07	1.23	<0.01
<75%HF	0.067	0.04	1.07	>0.05
Parity				
1		reference class		
2	0.103	0.050	1.11	<0.05
≥3	0.132	0.044	1.14	<0.01
Season of calving				
Winter		reference class		
Rainy	0.279	0.044	1.32	<0.0001
Hot	-0.157	0.048	0.85	<0.01

วิจารณ์

ปัญหาระบบสืบพันธุ์เป็นปัญหาที่สำคัญปัญหาหนึ่งของการเลี้ยงโคนมในประเทศไทย ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์สามารถแสดงโดยค่าดัชนีวัดประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ ค่าดัชนีที่มีความสำคัญ ได้แก่ ระยะเวลาคลอดถึงผสมครั้งแรก ระยะคลอดถึงผสมติด ระยะห่างการคลอด และอัตราผสมติด เป็นต้น (Weaver, 1986) ปัญหาใดๆก็ตามที่ส่งผลให้ค่าดัชนีเหล่านี้มีค่าต่ำลงจะกระทบต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์โดยรวม การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกซึ่งเป็นดัชนีที่มีความสำคัญในการประเมินประสิทธิภาพการสืบพันธุ์

ค่าเฉลี่ยระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกในการศึกษานี้มีระยะสั้นกว่ารายงานของ สุณีรัตน์ (2546)ที่พบว่าแม่โคนมมีระยะคลอดถึงผสมครั้งแรก 106 วัน แต่ใกล้เคียงกับรายงานของ Veerasak and Sorn (2004) อย่างไรก็ตาม

ค่าระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกนี้มีค่าเกินค่ามาตรฐานที่ได้แนะนำไว้ว่าแม่โคควรได้รับการผสมประมาณ 45-60 วันหลัง คลอด (Weaver, 1986) จากข้อมูลที่ได้นี้แสดงว่าแม่โคส่วนใหญ่ที่มีการเลี้ยงและการจัดการในรูปแบบฟาร์มเกษตรกรรายย่อยมีระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกที่ยาวนานกว่าปกติ

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าแม่โคที่มีระดับสายเลือดสูง (>87.5%HF) มีสัดส่วนแม่โคที่ได้รับการผสมน้อยกว่าแม่โคระดับสายเลือด 75% ถึง 87.5% (75-87.5%HF) ทั้งนี้เป็นไปได้ว่าแม่โคระดับสายเลือดสูงจะมีความคงทนต่อภาวะแวดล้อมน้อยกว่าแม่โคระดับสายเลือดต่ำกว่า ดังนั้นเกษตรกรควรต้องเอาใจใส่ในการเลี้ยงและการจัดการเป็นอย่างดีสำหรับการเลี้ยงแม่โคนมระดับสายเลือดสูง และการศึกษาถึงชนิดของปัญหาและความรุนแรงของปัญหาสำหรับแม่กลุ่มนี้จึงเป็นประเด็นที่น่าศึกษาสำหรับงานทางระบาดวิทยาในขั้นต่อไป เช่น ปัญหาด้านการแสดงการเป็นสัด ปัญหาระบบสืบพันธุ์ภายหลังคลอด เป็นต้น

ลำดับท้องเป็นปัจจัยที่มีนัยสำคัญต่อการได้รับการผสม แม่โคท้องแรกเป็นแม่โคที่มีสัดส่วนการได้รับการผสมน้อยกว่าแม่โคลำดับท้องที่สูงกว่า โดยมีสัดส่วนการได้รับการผสมน้อยกว่ากลุ่มแม่โคลำดับท้องที่ 2 และกลุ่มแม่โคตั้งแต่ลำดับท้องที่ 3 ขึ้นไป 11% และ 14 % ตามลำดับ ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานในต่างประเทศที่พบว่าแม่โคท้องแรกมีประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับแม่โคลำดับท้องที่สูงกว่า (Kinsel and Etherington, 1998)

มีรายงานจำนวนหลายรายงานที่แสดงให้เห็นว่าฤดูกาลเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์(อุดมศรีและคณะ, 2540; ปราจีน, 2544) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าหากแม่โคคลอดในฤดูร้อนจะมีสัดส่วนแม่โคที่ได้รับการผสมที่ต่ำกว่าแม่โคที่คลอดในฤดูหนาว ทั้งนี้เป็นไปได้เนื่องจากระยะที่แม่โคอยู่ในช่วงของการผสมอยู่ในช่วงที่สภาพอากาศที่มีผลต่อภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน เนื่องจากผลการศึกษาของ Veerasak and Sorn (2004) พบว่าระยะคลอดถึงผสมครั้งแรกของแม่โคนมที่เลี้ยงโดยเกษตรกรรายย่อยจำนวน 6,880 ตัว มีค่า 98 วัน ดังนั้นแม่โคนมที่คลอดในฤดูร้อนช่วงของการได้รับการผสมของแม่โคกลุ่มนี้จะเป็นช่วงปลายฤดูร้อนและต้นฤดูฝน ซึ่งทำให้แม่โคกลุ่มนี้ต้องพบกับภาวะอุณหภูมิสูงในฤดูร้อนและภาวะความชื้นสัมพัทธ์สูงในฤดูฝนดังนั้นแม่โคกลุ่มมีโอกาสที่ได้รับผลกระทบจากสภาพอากาศโดยทำให้การเป็นสัดลดลง (Rodtein *et al.*, 1996) แม่โคที่คลอดในฤดูฝนจะมีสัดส่วนการได้รับการผสมมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ พัชรินทร์และคณะ (2542) ที่พบว่าแม่โคที่คลอดในฤดูฝนจะมีการผสมและมีระยะท้องว่างสั้นกว่าแม่โคที่คลอดในฤดูอื่น

ข้อได้เปรียบของการวิเคราะห์ Survival analysis ในการศึกษานี้ คือ เป็นการวิเคราะห์โดยใช้ข้อมูลจากแม่โคที่ได้รับการผสมและไม่ได้รับการผสม ในขณะที่การวิเคราะห์เปรียบเทียบโดยใช้ความแปรปรวน (analysis of variance) กลุ่มแม่โคที่ศึกษาจะมาจากแม่โคเพียงกลุ่มเดียว คือ กลุ่มแม่โคที่ได้รับการผสมเท่านั้น อย่างไรก็ตาม การวิเคราะห์โดยวิธีนี้ยังมีข้อจำกัดคือ กลุ่มย่อยในแต่ละปัจจัยไม่สามารถเปรียบเทียบกันได้โดยตรงทั้งหมด จะเปรียบเทียบได้เฉพาะกับ reference class เท่านั้น

การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าแม่โคระดับสายเลือดสูง แม่โคท้องแรกและแม่โคที่คลอดในฤดูร้อน เป็นกลุ่มแม่โคที่มีความเสี่ยงต่อการได้รับการผสมครั้งแรกภายหลังคลอดที่ล่าช้า

เอกสารอ้างอิง

ปราจีน วีรกุล 2544. การศึกษาและแก้ไขปัญหาการสูญเสียตัวอ่อนระยะต้นในโคนม ในรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการการศึกษาแก้ไขปัญหาการผสมติดยากและการสูญเสียคัพภะระยะต้นในโคนม. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. 192 หน้า.

ปรียพันธุ์ อุดมประเสริฐ 2537. การจัดการสุขภาพและผลผลิตในฟาร์มโคนม ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. โรงพิมพ์สารมวลชน. กรุงเทพฯ.

สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย 2546. โรคติดต่อทางการสืบพันธุ์ในโคนมไทย : สถานการณ์ปัจจุบันและแผนรองรับในอนาคต เอกสารสรุปการประชุมวิชาการโคนม “น้ำนมโคคุณภาพสู่ผู้บริโภค” วันที่ 23-24 มกราคม 2546. โรงแรมเจริญธานี ปริ๊นเซส. หน้า 55-67.

พัชรินทร์ สนธิ์ไพโรจน์ สหัทยา ทรัพย์รอด และ ประภาส มหินชัย. 2542. สมรรถนะความสมบูรณ์พันธุ์ และการให้ผลผลิตของโคพันธุ์โฮลสไตน์ที่นำเข้าจากประเทศแคนาดา. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37 สาขาสัตว์ สาขาสัตวแพทยศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2542. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. หน้า 237-248.

อุดมศรี อินทรโชติ ประชุม อินทรโชติ และ จินตนา วงศ์นากนากร. 2540. สมรรถภาพการสืบพันธุ์และการให้ผลผลิตของโคพันธุ์เอเอฟเอส แอพเพนดิกซ์ 3 ของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ทับกวาง. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 สาขาสัตว์ สัตวแพทยศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2540. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. หน้า 486-497.

Allison, P.D.2005. Survival analysis using SAS: A practical guide 8 th edition. SAS institute Inc., Cary, NC, USA 292 pp.

Kinsel, M.L. and Etherington WG. 1998. Factors affecting reproductive performance in Ontario dairy herds. Theriogenology 50:1221-1238.

Plaizier, J.C.B., King, G.K., Dekkers, J.C.M and Lissemore, K. 1997. Estimation of economic values for reproductive performance in dairy herds using computer simulation. J Dairy Sci. 80:2275-2783 .

Prairie, K. 2005. The essential PROC SQL handbook for SAS users. SAS institute Inc., Cary, NC,USA. 572 pp.

Rodtian, P., G. King, S. Subrod and P. Pongpiachan. 1996. Oestrous behaviour of Holstein cows during cooler and hotter tropical seasons. Anim. Reprod. Sci. 45:47-58.

Suriyasathaporn, w., Nielen, M., Dieleman, S.J., Brand, A., Noordhuizen Stassen, E.N. and Schukken, Y.H. 1998. A Cox proportional-hazards model with time-dependent covariates to evaluate the relationship between body-condition score and the risks of first insemination and pregnancy in a high-producing dairy herd. Prev Vet Med. 1.37 (1-4):159-72.

Veerasak Punyapornwithaya and Sorn Teepatimakorn. 2004. Reproductive efficiency in dairy cows in northern part of Thailand. Chiangmai Veterinary Journal. 2 :3-8

Weaver, L.D. 1986. Evaluation of reproductive performance in dairy herds. Compend Contin Educ.8(5). S274-S254.

Factors affecting on the proportion of first serviced cows in crossbred dairy cows

Ekaphot Ra-ngabpit[1*] Veerasak Punyapornwithaya[2] and Surachai Surarittipong[3]

[1] Chiangmai Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Chiangmai, 50300
[2] Department of Ruminant Clinics, Faculty of Veterinary Medicine, Chiangmai University, Chiangmai, 50100
[3] Pisanulok Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Pisanulok , 65000
[*] Corresponding person Tel. 0-5322-4671, Fax. 0-5322-1027

Abstract

The aim of this study was to determine days to first service and the association between factors and the proportion of first service cows in Holstein crossbred dairy cows in small holder farms. Data consisted of individual status and first insemination data of 3,260 dairy cows from 583 dairy farms collected by Chiangmai Artificial Insemination and Biotechnology Research Center. Factors were Holstein breed group, parity and season of calving. Cox's regression analysis, SAS 9.0 was performed to test the relationship between the proportion of first inseminated cows and interesting factors. The result showed that the proportion of pregnancy for cows in 87.5%HF breed group was not higher than cows in 75-87.5%HF breed group (hazard ratio = 1.23, $p < 0.01$). Cows in parity 3 or more were more likely to be inseminated than first parity cows (hazard ratio = 1.14, $p < 0.05$). Cows calving during hot season had a lower proportion of first insemination when compared with cows calving during winter season (hazard ratio = 0.85, $p < 0.01$). This study indicated that high level of Holsteins breed, first parity and hot season calving influenced on the low proportion of days to first service.

Keywords: dairy cows, days to first service, proportion of first serviced cows.

Reproductive performance of different dairy cross breeds under smallholder conditions in Thailand

Charlie Leelasiri[1*] Sayan Buaban[1] and Jureeratn Sanpote[1]

[1] The Bureau of Biotechnology in Livestock Production, Department of Livestock Development, Muang, Patumthani, 12000 THAILAND

[*] Corresponding author. Tel. +66-2967-9798 E-mail address: chaleel@dld.go.th

Abstract

The 79,478 records of reproductive data from 66,127 cows in Thailand from the year 2001 to 2005 were selectively analyzed. Cows were divided in two groups of Primiparous and Multiparous Groups. Breed Groups were divided in four groups; <62.50%HF, 62.50-75.00%HF, 75.01-87.50%HF and 87.51-100%HF. The reproductive performance indices used were days from parturition to first service (PTF), days from first service to conception (FTC), day open (DO), service per conception (SPC), gestation length (GL) and calving interval (CI). The means performance of PTF, FTC, DO, SPC, GL and CI were 86.50±0.12 days, 23.33±0.02 days, 127.99±0.23 days, 1.89±0.00, 282.15±0.02 days and 410.14±0.23 days, respectively. Primiparous cows were inferior to Multiparous cows in term of reproductive performance. All breed groups were significantly different for all reproductive performance indices studied ($p<0.01$), except GL ($p>0.05$). The higher HF breed group yielded greater values for PTF, FTC, DO, SPC and CI. The 87.51 - 100% HF group had the highest reproductive performance values. In conclusion, the breed group with lower percentage of HF blood had better reproductive performance under farming condition in Thailand. The crossbred HF cows with less than 62.50% HF were the best reproductive performer.

Keywords: crossbred dairy cows, reproductive performances, smallholder, Thailand

Introduction

With an area of 513,115 square kilometers, Thailand situated in the hot and humid climate zone in South East Asia (SEA). There are three seasons: winter (November to February), summer season (March to June), and rainy season (July to October). The annual rainfall is about 1500 mm/year. Most of the dairy farms in Thailand are small holders that retain small numbers of cows (averagely less than 20). Most of dairy cows are crossbreds of various degrees of Bos *taurus* such as Red Dane, Brown Swiss, Jersey and Holstein Friesian (HF) with varieties of Bos *indicus* origin like native breed, Brahman, Sahiwal and Red Sindhi. The predominant Bos *Taurus* breed was HF. The majority of cows is 75% HF and up. Cow productivity differs around the country. The central region is considered to be more productive than the other region. The actual average 305-d milk yield is now 3,965 kg (Buaban *et al.*, 2004).

The reproductive performances of a dairy herd (days to age at first calving, days from parturition to first service, days from first service to conception, day open, services per conception, estrus detection rate, conception rate, pregnancy rate and calving interval) have significant effects on the profitability of the herd. The more frequently a dairy cow calves, the greater is the amount of milk produced in her lifetime (Raheja *et al.*, 1989). The calving interval should not be longer than 1 year for obtaining lower cost, profitability and optimum viability of dairy enterprise (Makuza and McDaniel, 1996). Many authors have reported reproductive performance characteristics such as age at first service, days open, days from first service to conception, services per conception, calving interval. For example Tippayawongse *et al.* (2006) analyzed the data collect in Thailand from year 1992 to 2002. They found average number of service per conception, day open and calving interval to be 1.82, 171 days and 451 days, respectively. Punyapornwithaya and Teepatimakorn (2004) have studied reproductive indices of dairy cows in the northern part of Thailand and found that days to first service, days to conception, service per conception, first service conception, percent cow pregnant in 90 days and in 120 days to be 97 days, 131 days, 1.87, 47%, 48% and 51%, respectively. However, most of researchers in Thailand have studied characteristic reproductive performance of dairy cows using small data sets from each region or each farm only.

The objectives of this study are, therefore, to compare the reproductive performance of diffe rent breed groups and to recommend dairy farmers of the breed groups which are suitable in smallholder condition of Thailand.

Material and Methods

Data collection

Reproductive records of dairy cattle used in this study were obtained from smallholder herd distributed all over the country which were gathered by the Bureau of Biotechnology in Animal Production,

Department of Livestock Development (DLD) of calving year between 2001 and 2005. This data set was collected from cows in the small holder farms that pregnancy check were done by palpation in 90 days. In data editing, the records with calving interval less than and equal 9 months, pregnancy length less than 260 days, service per conception more than 10 and number of lactation more than 6 were excluded. These comprised of 79,478 records on 66,127 cows. Genetic group of cows were divided by the level of HF into 4 groups as follows; 87.60-100%HF, 75.01-87.50%HF, 62.50-75.00%HF and less than 62.50%HF. Season of calving were defined into 3 seasons: summer (March to June), rainy (July to October), and winter (November to February).Cow groups were classified as Primiparous and Multiparous. The following parameters were used to measure the reproductive performance of different dairy crossbred: days from parturition to first service (PTF), days from first service to conception (FTC), day open (DO), service per conception (SPC), gestation length (GL) and calving interval (CI). The animals were generally reared indoors and fed a ration made up of roughage and concentrate.

Statistical analysis

The collected data were analyzed by the least squares technique using PROC GLM in Statistical Analysis System (SAS, 1998) as illustrated in the model below.

$$Y_{ijklm} = \mu + b(CA)_i + HYS_j + BG_k + CG_l + (BGxCG)_{kl} + E_{ijklm} \quad \text{..... (1)}$$

Where: $Y_{ijklmno}$ = dependent variable (PTF, FTC, DO, SPC, GL and CI)

μ = generalized least squares means

$b(CA)_i$ = partial regression of Y_{ijklm} on age at calving (mo.)

HYS_i = fixed effect of herd-year-season of calving

BG_k = fixed effect of breed group of cows

CG_l = fixed effect of cow group

$(BGxCG)_{kl}$ = interaction between breed group of cows and cow group, and

E_{ijklm} = random error

Results

Mean Performance

The overall arithmetic means and least square means of reproductive performance in different breed groups and cow groups raised in smallholder in Thailand are shown in Table 1-6. The arithmetic means of PTF, FTC, DO, SPC, GL and CI were 86.50±0.12 days, 23.33±0.02 days, 127.99±0.23 days, 1.89±0.00, 282.15±0.02 days and 410.14±0.23 days, respectively.

Breed group, Cow group and Breed group by Cow group Interactions

Breed group of cows had a statistically significant effect ($p<0.01$) on all studied reproductive performance except GL. The more increased the fraction of HF, the greater days from PTF, days from FTC, DO, SPC, and CI. Breed group with 87.60-100% had the highest studied reproductive performance index values. Cow group effect were significant ($p<0.01$) for only days from PTF, DO and CI. Multiparous cows had better reproductive performance than primiparous. For breed group by cow group interactions, only days from PTF, days from FTC, SPC, was significant ($p<0.05$).

Table 1 Least square means and standard error for PTF in different breed groups and cow groups

Breed groups	Cow group		Overall
	Primiparous	Multiparous	
<62.50%HF	$82.01\pm2.04^{a,A}$	$81.47\pm1.20^{a,A}$	81.74 ± 1.21^{a}
62.50-75.00%HF	$86.87\pm1.11^{b,A}$	$80.48\pm0.68^{a,B}$	83.67 ± 0.70^{a}
75.01-87.50%HF	$87.16\pm0.67^{b,A}$	$83.99\pm0.45^{b,B}$	85.57 ± 0.46^{b}
87.51-100%HF	$88.11\pm0.47^{b,A}$	$85.17\pm0.39^{c,B}$	86.64 ± 0.39^{c}
Overall	86.04 ± 0.70^{A}	82.78 ± 0.48^{B}	$86.50\pm0.12^{*}$

[a,b,c,d] Least square means with different letters within the column are significantly different ($p<0.05$).
[A,B] Least square means with different letters within the row are significantly different ($p<0.05$). *Arithmetic mean.

Table 2 Least square means and standard error for FTC in different breed groups and cow groups

Breed group	Cow group		Overall
	Primiparous	Multiparous	
<62.50%HF	$16.96\pm0.25^{a,A}$	$18.63\pm0.15^{a,A}$	17.78 ± 0.15^{a}
62.50-75.00%HF	$20.39\pm0.14^{ab,A}$	$20.26\pm0.08^{ab,A}$	20.32 ± 0.09^{a}
75.01-87.50%HF	$22.20\pm0.08^{b,A}$	$21.45\pm0.06^{b,A}$	21.83 ± 0.06^{b}
87.51-100%HF	$25.04\pm0.06^{c,A}$	$22.40\pm0.05^{c,B}$	23.70 ± 0.05^{c}
Overall	21.04 ± 0.09^{A}	20.66 ± 0.06^{A}	$23.33\pm0.02^{*}$

[a,b,c,d] Least square means with different letters within the column are significantly different ($p<0.05$).
[A,B] least square means with different letters within the row are significantly different ($p<0.05$). *Arithmetic mean.

Table 3 Least square means and standard error for DO in different breed groups and cow groups

Breed group	Cow group		Overall
	Primiparous	Multiparous	
<62.50%HF	116.30±3.64^{a,A}	116.98±21.5^{a,A}	116.64±2.16^{a}
62.50-75.00%HF	126.13±1.99^{b,A}	118.82±1.22^{a,B}	122.47±1.25^{b}
75.01-87.50%HF	128.32±1.21^{b,A}	123.40±0.81^{b,B}	125.86±0.83^{c}
87.51-100%HF	133.07±0.85^{c,A}	126.31±0.71^{c,B}	129.69±0.70^{d}
Overall	125.96±1.25^{A}	121.38±0.86^{B}	127.99±0.23*

^{a,b,c,d} **Least square means with different letters within the column are significantly different (p<0.05).**

^{A,B} **Least square means with different letters within the row are significantly different (p<0.05).** * **Arithmetic mean.**

Table 4 Least square means and standard error for SPC in different breed groups and cow groups

Breed group	Cow group		Overall
	Primiparous	Multiparous	
<62.50%HF	1.67±0.03^{a,A}	1.73±0.01^{a,A}	1.70±0.01^{a}
62.50-75.00%HF	1.78±0.01^{ab,A}	1.79±0.01^{a,A}	1.78±0.01^{a}
75.01-87.50%HF	1.85±0.01^{b,A}	1.84±0.01^{b,A}	1.84±0.01^{b}
87.51-100%HF	1.94±0.01^{c,A}	1.87±0.00^{c,A}	1.90±0.01^{c}
Overall	1.81±0.01^{A}	1.81±0.01^{A}	1.89±0.00*

^{a,b,c,d} **Least square means with different letters within the column are significantly different (p<0.05).**

^{A,B} **Least square means with different letters within the row are significantly different (p<0.05).** ***Arithmetic mean.**

Table 5 Least square means and standard error for GL in different breed groups and cow groups

Breed group	Cow group		Overall
	Primiparous	Multiparous	
<62.50%HF	282.29±0.36^{a,A}	283.04±0.22^{a,A}	282.67±0.22^{a}
62.50-75.00%HF	282.80±0.20^{a,A}	282.60±0.12^{ab,A}	282.70±0.13^{a}

Breed group	Cow group		Overall
	Primiparous	Multiparous	
75.01-87.50%HF	282.44±0.12[a,A]	282.58±0.08[b,A]	282.51±0.08[a]
87.51-100%HF	282.53±0.09[a,A]	282.52±0.07[b,A]	282.52±0.07[a]
Overall	282.51±0.13[A]	282.69±0.09[A]	282.15±0.02[*]

[a,b,c,d] **Least square means with different letters within the column are significantly different (p<0.05).**
[A,B] **Least square means with different letters within the row are significantly different (p<0.05). *Arithmetic mean.**

Table 6 Least square means and standard error for CI in different breed groups and cow groups

Breed group	Cow group		Overall
	Primiparous	Multiparous	
<62.50%HF	398.60±3.67[a,A]	400.02±2.16[a,A]	399.31±2.17[a]
62.50-75.00%HF	408.93±2.00[b,A]	401.42±1.23[a,B]	405.17±1.25[b]
75.01-87.50%HF	410.76±1.21[bc,A]	405.98±0.81[b,B]	408.37±0.83[c]
87.51-100%HF	415.60±0.85[d,A]	408.82±0.71[c,B]	412.21±0.70[d]
Overall	408.47±1.25[A]	404.06±0.86[B]	410.14±0.23[*]

[a,b,c,d] **Least square means with different letters within the column are significantly different (p<0.05).**
[A,B] **Least square means with different letters within the row are significantly different (p<0.05). *Arithmetic mean.**

Discussion

The reproductive performance indices as analyzed in this report are useful as indicators of dairy farming efficiency (Varner *et al.*, 2006). They also suggested the optimal value for each index. In this study, after excluded all extreme error from data such as calving interval less than or equal 9 months, pregnancy length less than 260 days and service per conception more than 10, the results were in acceptable values as described by Varner *et al.* (2006). All indices here are only on the reproductive performance aspect. So the discussion follows will be pretty much on the reproductive efficiency of cow breeds and cow groups.

The PTF indices were not significantly different among first two breed groups (p>0.05) however, they were significantly different (p<0.05) when percentage of Holstein breed more than 75% and

highest at 87.51-100%HF breed group. The other indices in this study FTC, DO, SPC and CI were also in agreement with this result except GL. This means that cows with any percentage of HF blood will have the same pregnancy length of average 285.15±0.02 days but high breed cows will take more time to conceive. This suggested that having high or pure breed HF in the farm can cost the owner more money than dairy cow with lower HF blood. Pongpiachan *et al.* (2002) found this index was not significantly different among cross breed (50% and 75% HF) and purebred dairy cows in the northern part of Thailand. However, the value from the pure breed was still the highest compared to the other two groups (83.7±5.9 days VS 56.8±17.8 and 68.2±4.9 days). Still purebred Holstein looked inferior to cross breed cows.

The FTC indices suggested that these cows of our study still have got a problem of first service conception rate. This seemed to be affected cow group of 87.51-100% HF after first pregnancy the most. As primiparous cows will have some factors associated with lower energy balance because they still need energy for growth in addition to lactation (Lucy, 2001). The results seemed to be in agreement with the report from Pongpiachan *et al.* (2002). They found that dairy cows in the northern part of Thailand also had number of days to conception were significantly different ($p<0.05$) between purebred compared to 50% and 75% cross breed Holstein. These results may be affected from estrous detection error or cows would not be in heat as they seem to be (Smith, 2006). This again showed the inferior of purebred to crossbred Holstein, in term of breeding efficiency, when these cows were in Thai environment.

Furthermore, the DO trended to be highest at the highest percentage breed (129.69 ± 0.23 $p<0.05$) and lowest at the lowest percentage breed group (116.64±2.16 $p<0.05$). However, almost all average were still lower than 130 days but primiparous 87.60-100% HF at 133±0.85 days, which indicated only slight problem for the most herd (Varner *et al.*, 2006). This also showed that we are having very little problem with this index indication. This index reported from Turkey was 114.5 days from pure bred Holstein (Turkyilmaz, 2005). The figure was in the optimum range for most herds (Varner *et al.*, 2006). But the SPC was average at 2.01. It may imply that they might recommend to inseminate the cows at first estrous after 60 days postpartum. Thus, if we could shorten this period by recommend dairy farmer to inseminate their cows after 60 days postpartum instead of 90 days presently, the farmer would eliminate their economical lost of having non-productive cows at longer period.

Theoretically, the SPC value under 1.75 is a good level and the range between 1.76 and 2.00 is adequate level (Varner *et al.*, 2006). The results from this study were concluded that all breed and cow groups were at adequate level. The best was obtained from primiparous cows at under 62.50% HF and the worst from primiparous cows at 87.51-100% HF ($p<0.05$), even though, there were no significant different of means of SPC between cow groups at any breed percentage ($p>0.05$). The results pointed that the lower HF blood level cow group had better breeding performance.

All GL average value were not significantly different ($p>0.05$), only Multiparous cows of breed group under 62.50%HF yielded the longest range ($p<0.05$). All breed and cow groups yielded the GL with in the normal range. This was no surprise as normal GL range of cattle is between 275 to 285 days. Report conducted in Turkey by Turkyilmaz (2005) also found GL from purebred Holstein was at 278.7 days.

Last but not least, CI average value of any breed groups were all significantly different ($p<0.05$). The 87.50-100% HF breed group had the longest day of CI at 412.21 ± 0.70 days and breed group under 62.5% HF was the shortest at 399 ± 2.17 days. This was in agreement with report by Pongpiachan *et al.* (2003) who found that the CI value among breed groups of cows in northern part of Thailand (50, 75 and 100%) were significantly different. The 100% HF yielded the longest period at 524 days while 75% HF was shortest at 401 days. Thus, in Thailand the reproductive performance of pure breed HF was inferior to cross breed.

Conclusion

In term of reproductive performance of dairy cow revealed from this study, we should recommend Thai dairy farmers to have only crossbreed HF in their farm. The percentage of HF blood should be kept at 62.5% and not more than 75%. This recommendation consolidates our policy on keeping our dairy cow blood at 75% HF. However, further investigation of these indices analyzed with other factors such as milk production must be done to find optimum dairy breed. This will be one of very important factors to Thailand economy.

Reference

Buaban, S., Chayaratanasilp, R. and Muangsomboonkul, W. 2004. DLD Dairy Sire Summary 2004. Department of Livestock Development, Thailand. 53 pp.

Lucy, M.C. 2001. Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where will it end? *J. Dairy Sci.* 84: 1277-1293.

Makuza, S.M. and McDaniel , B.T. 1996. Effects of days dry, previous days open and current days open on milk yields of cows in Zimbabwe and North Carolina. *J. Dairy Sci.* 79: 702-709.

Pongpiachan, P., Rodtian, P. and Ota, K. 2003. Reproduction of Cross- and Purebred Friesian Cattle in Northern Thailand with Special Reference to Their Milk Production. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 8: 1093-1101.

Punyapornwithaya, V and Teepatimakorn, S. 2004. Reproductive Efficiency of Dairy Cows in The Northern Part of Thailand. *Chieng Mai Vet.* J. 2:3-8.

Raheja, K.L., Burnside, E.B. and Schaeffer, L.R. 1989. Relationship between fertility and production in Holstein dairy cattle in different lactations. *J. Dairy Sci.*, 72: 2670-2678.

Smith, J.F., 2006. The reproductive Status of Your Dairy Herd. Guide D-302. New Maxico State U. [online] www.wvu.edu/~agexten/forglvst/Dairy/**dirm10**.pdf Access 25/07/2006.

Tippayawongse, W., Duangchinda, M., Wongpralup, T., Patarachinda, V. and Wongnaknakorn, C. 2006. Genetic Parameter Estimation of Fertility Traits in Dairy Cattle by Multivalate Analysis. [online] www.dld.go.th/lssr_srk/paper/Paper1.doc Access 25/07/2006.

Turkyilmaz, M.K. 2005. Reproductive Characteristics of Holstein Cattle Reared in a Private Dairy Cattle Enterprise in Aydin. *Turk J. Vet. Anim. Sci.* **29:** 1049-1052

Verner, M.A., Majeskie, J.L. and Garlichs, S.C. 2006. Interpreting Reproductive Efficiency Indexes. In 'Dairy Integrated Reproductive Management'. [online] www.wvu.edu/~agexten/forglvst/Dairy/**dirm5.**pdf Access 25/07/2006.

สมรรถภาพการสืบพันธุ์โคนมลูกผสมระดับสายเลือดต่าง ๆ ของเกษตรกรรายย่อยในประเทศไทย

ชาลี ลีละสิริ[1*] สายัณห์ บัวบาน[1] และ จุรีรัตน์ แสนโภชน์[1]

[1] สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ดิวานนท์ ปทุมธานี 12000

[*] ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ โทร. 0-2967-9798 อีเมลล์: chaleel@dld.go.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการวิเคราะห์ข้อมูล ซึ่งเป็นข้อมูลทางการสืบพันธุ์ของโคนมในประเทศไทยที่เก็บไว้ในฐานข้อมูล ระหว่างปี พ.ศ. 2544 - 2545 จากโค 66,127 ตัว เป็นข้อมูลจำนวน 79,478 ชุด และเลือกเฉพาะโคที่เลี้ยงในฟาร์มเกษตรกรรายย่อย (จำนวนโคนม = 20 ตัว) แบ่งโคออกเป็น 2 กลุ่ม คือ Primiparous และ Multiparous และแบ่งระดับสายเลือดเป็น 4 กลุ่ม คือ <62.50%HF, 62.50-75.00%HF, 75.01-87.50%HF และ87.60-100%HF ใช้ตัวชี้วัดสมรรถภาพการสืบพันธุ์ในการวิเคราะห์การสืบพันธุ์ ดังนี้ จำนวนวันจากวันคลอดถึงผสมครั้งแรก (PTF), จำนวนวันจากการผสมครั้งแรกถึงผสมติดตั้งท้อง (FTC), วันท้องว่าง (DO), อัตราการผสมติด (SPC), ระยะเวลาตั้งท้อง (GL) และช่วงห่างการคลอดลูก (CI) ซึ่งได้ค่าเฉลี่ยของ PTF, FTC, DO, SPC, GL และ CI เป็นดังนี้ 86.50±0.12 วัน, 23.33±0.02 วัน, 127.99±0.23 วัน, 1.89±0.00, 282.15±0.02 วัน และ 410.14±0.23 วัน ตามลำดับ โคในกลุ่ม Primiparous มีประสิทธิภาพการสืบพันธุ์โดยเฉลี่ยต่ำกว่ากลุ่ม Multiparous ค่าเฉลี่ยของตัวชี้วัดสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของโคเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มสายพันธุ์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทุก ๆค่า ($p<0.01$) ยกเว้น GL ($p>0.05$) กลุ่มโคที่มีสายเลือดสูงกว่าจะให้ผลการวิเคราะห์ตัวชี้วัดของ PTF, FTC, DO, SPC และ CI สูงกว่ากลุ่มโคที่มีเปอร์เซ็นต์สายเลือดต่ำกว่า โดยเฉพาะกลุ่ม 87.51 - 100% HF จะให้ค่าเฉลี่ยของตัวชี้วัดเหล่านี้สูงสุด ผลการวิเคราะห์สรุปได้ว่า กลุ่มโคที่มีสายเลือดของ HF ต่ำกว่า จะมีความสามารถทางการสืบพันธุ์ที่สูงกว่าพวกสายเลือดสูง เมื่อมีการเลี้ยงดูภายใต้สิ่งแวดล้อมของประเทศไทย กลุ่มสายเลือด HF ที่น้อยกว่า 62.50% มีประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์สูงที่สุด

คำสำคัญ: โคนมพันธุ์ผสม สมรรถภาพการสืบพันธุ์ เกษตรกรรายย่อย ประเทศไทย

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของโคนมลูกผสมเพศเมียก่อนหย่านม

สุนทร นาดี[1*]

[1] กลุ่มวิจัยการผสมเทียมและความสมบูรณ์พันธุ์ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

[*] ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ โทรศัพท์ 036-451012 , โทรสาร 036- 425712

บทคัดย่อ

จุดประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อประเมินปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตก่อนหย่านมของลูกโคนมเพศเมีย (น้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านม และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน) โดยใช้ข้อมูลสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนมพันธุ์ลูกผสมโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยนเพศเมีย จากฟาร์มของศูนย์พัฒนาบุคลากรด้านเทคโนโลยีการปศุสัตว์ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ที่เกิดอยู่ในช่วงระหว่างปี 2544 - 2547 จำนวน 90 ตัว มาวิเคราะห์โดยการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS จากการศึกษา พบว่าลูกโคมีน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านม ที่55 วัน และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ก่อนหย่านมเฉลี่ยเท่ากับ 31.25 $\pm$ 4.82 70.26 $\pm$ 7.58 และ 0.71 $\pm$ 0.13 กิโลกรัม ตามลำดับ และทุกปัจจัยที่ศึกษาไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตก่อนหย่านมของลูกโคนมเพศเมีย ($p > 0.05$)

คำสำคัญ : โคนมลูกผสมเพศเมีย สมรรถภาพการเจริญเติบโตก่อนหย่านม ปัจจัยสภาพแวดล้อม

บทนำ

สมรรถภาพการเจริญเติบโตก่อนหย่านม(pre-weaning growth performance)ของโคนมนับว่าเป็นลักษณะที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอย่างหนึ่งที่ผู้เลี้ยงโคนมควรได้พิจารณาถึงเพราะลูกโคนมที่เติบโตเร็วจะทำให้มีน้ำหนักหย่านมสูง และมีอายุเป็นหนุ่มสาวเร็ว สามารถผสมพันธุ์ ให้ลูกได้เร็วขึ้น การเลี้ยงโคนมทดแทนให้มีน้ำหนักและอัตราการเจริญเติบโตอย่างเหมาะสม ตั้งแต่ลูกโค โครุ่นโคสาว โดยมีเป้าหมายเพื่อให้คลอดลูกตัวแรกที่อายุเหมาะสมคือประมาณ 24 เดือน (Hoffman *et. al.*, 1996)มีน้ำหนักประมาณ 550-570 กิโลกรัม (Keown and Everett, 1986) การหย่านมของลูกโคนมลูกผสม 75 % HF โฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยน เมื่ออายุ 3 เดือน ดีที่สุด แต่ถ้าหย่านมเมื่ออายุ 2 เดือน จะมีต้นทุนต่ำสุด (กัลยาและคณะ, 2531) และการหย่านมลูกที่อายุยังน้อยทำให้ลดต้นทุนทางด้านอาหาร และแรงงาน และลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรค นอกจากนี้ยังช่วยให้ลูกโคเคี้ยวเอื้องได้เร็วขึ้น (Little and Kay. 1979; Sejren, 1978) การเจริญเติบโตก่อนหย่านมของโคนมขึ้นอยู่กับปัจจัยทางพันธุกรรมที่ได้รับมาจากพ่อและแม่ และปัจจัยสภาพแวดล้อม เช่น อาหาร การจัดการ โรคและแมลง ข้อมูลจากสถาบันพัฒนาฝึกอบรมและวิจัยโคนมแห่งชาติ กรมปศุสัตว์(2538)ได้รายงานว่าน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านมและอัตราการเจริญเติบโตก่อนหย่านมสำหรับโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 33.6 กก. 107.4 กก. และ 619 กรัม/วัน ตามลำดับและสำหรับโคนมโฮลสไตน์ฟรีเชียนแท้มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 37 กก. 118กก. และ912 กรัม/วัน ตามลำดับ ดังนั้นเพื่อช่วยให้การวางแผนการจัดการเลี้ยงดูลูกโคนมให้มีความสมบูรณ์ที่จะเติบโตไปเป็นโคสาวทดแทนฝูงต่อไป จึงจำเป็นต้องศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตก่อนหย่านมของลูกโคนมเพศเมีย

อุปกรณ์และวิธีการ

ข้อมูลและการจัดการข้อมูล

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนมพันธุ์ลูกผสมโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยนเพศเมีย จากฟาร์มของศูนย์พัฒนาบุคลากรด้านเทคโนโลยีการปศุสัตว์สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ที่คลอดลูกอยู่ในช่วงระหว่างปี 2544-2547 โดยมีการเลี้ยงและการจัดการโดยทั่วไปดังนี้คือ หลังจากที่แม่โคคลอดลูกแล้ว ลูกโคจะถูกแยกออกจากแม่โคทันที มีการจุ่มฆ่าเชื้อที่สายสะดือด้วยทิงเจอร์ไอโอดีน ทำการชั่งน้ำหนักแรกเกิด แล้วนำไปเลี้ยงในกรงขังเดี่ยวขนาด 1 x 1.20 เมตร ยกพื้นรองด้วยฟาง จนถึงวันที่ 55 (วันที่หย่านม)

อาหารที่ใช้เลี้ยงลูกโคนมแรกคลอดจะให้กินน้ำนมเหลืองทันทีจำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว ต่อวัน หลังจากนั้นจึงเลี้ยงต่อด้วยนมแม่วันละ 4 กิโลกรัม/ตัว/วันโดยแบ่งให้ 2 มื้อ เช้า และ เย็น จนถึงหย่านมที่ 55 วัน พร้อมทั้งมีอาหารข้น(กากถั่วเหลืองผสมมันเส้นบด ในอัตราส่วน1:1)น้ำสะอาด หญ้าแพงโกล่าแห้ง และหญ้าสด ตั้งไว้ให้กินตลอดเวลา ลูกโคทุกตัวมีการจดบันทึกตั้งแต่ประวัติของพ่อ และของแม่ พันธุ์ประวัติของลูก วันคลอด น้ำหนักแรกคลอด น้ำหนักหย่านมวันที่หย่านม นำไปคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน มีข้อมูลที่นำเข้าวิเคราะห์ จากลูกโคเพศเมียทั้งหมด 90 ตัว โดยจำแนกปัจจัยหลักที่เป็นกลุ่มได้ดังนี้

- ลำดับของลูกโคที่เกิด(parity) แบ่งกลุ่มเป็น 2 กลุ่ม คือ คลอดครั้งแรก และคลอดครั้งที่ 2 ขึ้นไป

- ฤดูกาลที่ลูกโคเกิด ในแต่ละปีแบ่งเป็น 3 ช่วง คือ ฤดูร้อน(มีนาคม-มิถุนายน) ฤดูฝน(กรกฎาคม-ตุลาคม)และฤดูหนาว(พฤศจิกายน-กุมภาพันธ์)
- ปีที่ลูกโคเกิด มีทั้งหมด 4 ปี คือ 2544 2545 2546 และ 2547
- กลุ่มพันธุ์ของลูกโคจำแนกเป็น 2 กลุ่ม คือพันธุ์ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 87.5 %HF และมากกว่า 87.5% HF

วิธีการวิเคราะห์

ทำการวิเคราะห์หาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนมพันธุ์ลูกผสมโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยนเพศเมียโดยการใช้คำสั่ง PROC GLM ของโปรแกรมสำเร็จรูป statistical analysis system (SAS, 1998) ที่มีตัวแบบดังต่อไปนี้

$$Y_{ijklmn} = \mu + bA_i + D_j + I_k + R_i + T_m + e_{ijklmn}$$

เมื่อ

Y_{ijklm} = ลักษณะสมรรถภาพการเจริญเติบโตก่อนหย่านมของลูกโคเพศเมีย n ที่มีอายุแม่ของลูกโค i ที่เกิดในปี j ฤดูกาลที่เกิด k และเป็นพันธุ์ l

μ = ค่าเฉลี่ย

bA_i = สัมประสิทธิ์การถดถอยเชิงเส้นตรงของอายุแม่ของลูกโค (เดือน)

D_j = ปัจจัยคงที่ของปีเกิดของลูกโค j (j = 1, 2, 3,4)

I_k = ปัจจัยคงที่ของลำดับของลูกโคที่เกิด (parity) (K = 1,2)

R_i = ปัจจัยคงที่ของฤดูกาลเกิดของลูกโค l (l = 1, 2,3)

T_m = ปัจจัยคงที่ของกลุ่มพันธุ์ของลูกโค m (m = 1, 2)

e_{ijklmn} = Random residual effect

ผล

การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนมพันธุ์ลูกผสมโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยนเพศเมียก่อนหย่านม พบว่ามีการเจริญเติบโต(0.71 กก./วัน)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกโคเพศเมียก่อนหย่านม

สมรรถภาพการเจริญเติบโต	จำนวนข้อมูล	ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
น้ำหนักแรกเกิด (กก.)	90	31.25 ± 4.82
น้ำหนักหย่านม (กก.)	90	70.26 ± 7.58
อัตราการเจริญเติบโต (กก./ วัน)	90	0.71 ± 0.13

จากการวิเคราะห์หาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนมพันธุ์ลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนเพศเมียก่อนหย่านมที่อายุ 55 วัน นั้นพบว่าทุกปัจจัยที่ศึกษาไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยกำลังสองน้อยที่สุด (Least square means, LSM) และค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานสำหรับปัจจัยหลักที่เป็นกลุ่มของสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกโคเพศเมียก่อนหย่านม

ปัจจัย	ค่าเฉลี่ยกำลังสองน้อยที่สุด ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน		
	น้ำหนักแรกเกิด (กก.)	น้ำหนักหย่านม (กก.)	อัตราการเจริญเติบโต / วัน (กก.)
<u>กลุ่มพันธุ์ลูกโค</u>			
87.5 %	30.84 ± 1.01	69.87 ± 1.60	0.71 ± 0.02
> 87.5 %	31.02 ± 0.96	70.45 ± 1.51	0.71 ± 0.03
<u>ปีเกิดของลูกโค</u>			
พ.ศ.2544	30.34 ±1.36	65.72 ± 2.57	0.64 ± 0.04
พ.ศ.2545	32.63 ± 1.56	73.59 ± 2.46	0.74 ± 0.04
พ.ศ.2546	30.31 ± 1.02	71.57 ± 1.61	0.74 ± 0.02
พ.ศ.2547	30.42 ± 0.97	69.73 ± 1.53	0.71 ± 0.02
<u>ฤดูเกิดของลูกโค</u>			
ฤดูร้อน	29.14 ± 1.10	69.82 ± 1.73	0.73 ± 0.02
ฤดูฝน	31.70 ± 1.03	71.77 ± 1.61	0.73 ± 0.02
ฤดูหนาว	31.94 ± 1.31	68 .87 ± 2.05	0.66 ± 0.03
<u>ลำดับที่ลูกโคกิด</u>			
คลอดลูกครั้งแรก	30.03 ± 1.52	70.67 ± 2.40	0.73 ± 0.03
คลอดครั้งที่สองขึ้นไป	31.82 ± 0.67	69.64 ± 1.05	0.68 ± 0.01

เมื่อพิจารณาตามปัจจัยหลักที่ศึกษาในตารางที่ 2 พบว่ากลุ่มพันธุ์ของลูกโคนมที่มีระดับเลือดโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยน 87.5% และมากกว่า 87.5 % มีน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านม และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ที่แสดงค่าเฉลี่ยกำลังสองน้อยที่สุดมีค่าใกล้เคียงกัน โดยกลุ่มพันธุ์มากกว่า 87.5 % มีแนวโน้มให้ค่าเฉลี่ยกำลังสองสูงกว่ากลุ่มพันธุ์ 87.5 % คือ 30.84 และ 31.02 กก. 69.87 และ 70.45 กก. และ0.71 และ.0.71 กก./วัน ตามลำดับ

ลูกโคที่เกิดในปี2545 มีค่าเฉลี่ยกำลังสองของน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านม และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันสูงกว่าปีอื่นๆ คือ 32.63 กก. 73.59 กก. และ 0.74 กก./วัน ตามลำดับ

ฤดูกาลเกิดของลูกโคทั้ง 3 ฤดู ไม่มีผลต่อน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านม และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าลูกโคเพศเมียที่เกิดในฤดูฝนมีค่าเฉลี่ยกำลังสองของทุกลักษณะดีกว่าลูกโคที่เกิดในฤดูร้อน และ ฤดูหนาว

ลูกโคเกิดที่คลอดลำดับแรก (ลูกตัวแรก) มีแนวโน้มให้น้ำหนักแรกเกิดน้อยกว่าคลอดครั้งที่สองขึ้นไป แต่มีแนวโน้มให้น้ำหนักหย่านม และ อัตราการเจริญเติบโตต่อวันมากกว่า ลูกโคที่คลอดในท้องสองขึ้นไป

วิจารณ์

การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสำหรับสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนมพันธุ์ลูกผสมโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยนเพศเมีย พบว่าอัตราการเจริญเติบโต(0.71 กก./วัน)สูงกว่า ข้อมูลจากสถาบันพัฒนาฝึกอบรมและวิจัยโคนมแห่งชาติ กรมปศุสัตว์(2538)(0.62 กก./วัน)แต่จะมีค่าต่ำกว่าลูกโคนมพันธุ์แท้ (0.91 กก./วัน) ทั้งนี้เนื่องจากอายุหย่านมแตกต่างกัน ดังแสดงไว้ในตารางที่1

จากการวิเคราะห์หาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของลูกโคนมพันธุ์ลูกผสมโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยนเพศเมียก่อนหย่านมที่อายุ55วัน นั้นพบว่าทุกปัจจัยที่ศึกษาไม่มีผลกระทบต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโต($p > 0.05$) ทั้งนี้อาจเกิดจากการจัดการที่ดีตั้งแต่แม่โคอุ้มท้องซึ่งทางศูนย์พัฒนาบุคลากรด้านเทคโนโลยีการปศุสัตว์ มีการปฏิบัติตามโปรแกรมการจัดการด้านสุขภาพและการจัดการด้านอาหารอย่างสม่ำเสมอ มีผลตั้งแต่แม่โคอุ้มท้องจนถึงลูกโคเกิดและหย่านมที่เลี้ยงภายใต้การดูแลที่เท่าเทียมกัน มีอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน ทำให้การหย่านมได้เร็วขึ้นและแข็งแรงทุกตัว สามารถเผยแพร่ให้เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมนำไปปฏิบัติได้ เพื่อเป็นการประหยัดเวลาและลดต้นทุนในการเลี้ยงลูกโคนม

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยกำลังสองน้อยที่สุดตามปัจจัยหลักที่ศึกษาในตารางที่2 พบว่ากลุ่มพันธุ์ของลูกโคนมที่มีระดับเลือดโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยน เท่ากับ 87.5% และมากกว่า 87.5 % มีน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านม และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ใกล้เคียงกัน ซึ่งมีค่าน้ำหนักแรกเกิดสูงกว่าการศึกษาของถาวร และคณะ(2547) ที่รายงานว่าโคนมลูกผสมระดับเลือดโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยน 87.5% และสูงกว่า 87.5% มีน้ำหนักแรกเกิด 25.29$\pm$ 0.69 และ 21.19$\pm$1.44 กิโลกรัม ตามลำดับ และน้ำหนักหย่านมสูงกว่าการศึกษาของดรุณี (2544) น้ำหนักหย่านมลูกโคโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยนที่เลี้ยงในฟาร์มของคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่มีน้ำหนักเพียง 60.97-62.06 กิโลกรัมเท่านั้น ส่วนอัตราการเจริญเติบโตของลูกโคในช่วงอายุแรกเกิด-หย่านมที่ 55วัน อยู่ในช่วงมาตรฐานตามรายงานของ Hoffman et.al.,

(1996) ที่กำหนดให้ลูกโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยน ควรมีอัตราการเจริญเติบโตระยะก่อนหย่านมวันละ 682 - 816 กรัม และสูงกว่าการศึกษาของดรุณี (2544) (425 - 455 กรัม)

ลูกโคที่เกิดในปี 2545 มีน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านม และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน สูงกว่าปีอื่นๆ

ฤดูกาลเกิดของลูกโคทั้ง 3 ฤดู ไม่มีผลต่อน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านม และอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ซึ่งต่างจากการศึกษาของ สหัทยาและสมเพชร(2547) ที่รายงานว่าฤดูกาลที่ลูกโคเกิดมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของลูกโคในระยะ 0-1 เดือน และ 1-2 เดือน ลูกโคที่เกิดในฤดูหนาวมีแนวโน้มให้อัตราให้อัตราการเจริญเติบโตน้อยที่สุด เนื่องจากลูกโคที่คลอดในฤดูหนาวมีอากาศหนาวเย็นกว่าฤดูอื่นซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Milligan and Chrihtison (1973) ในฤดูหนาวของประเทศแคนาดาลูกโคหลังหย่านมมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง 30% และประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง 33% เมื่อเปรียบเทียบกับฤดูอื่นๆ

ลำดับของลูกโคเกิดที่คลอดครั้งแรกมีแนวโน้มให้น้ำหนักแรกเกิดน้อยกว่าคลอดครั้งที่สองขึ้นไป แต่มีแนวโน้มให้น้ำหนักหย่านม และ อัตราการเจริญเติบโตต่อวันมากกว่า สหัทยาและสมเพชร(2547) รายงานว่าแม่โคที่คลอดลูกตัวที่1-2 ยังเจริญเติบโตไม่เต็มที่ต้องใช้อาหารในการดำรงชีพ ผลิตน้ำนมและการเจริญเติบโต ทำให้ลูกโคที่คลอดมีน้ำหนักน้อย สอดคล้องกับ(Hoffman et.al., 1996) ในระยะแรกลูกโคกินอาหารข้นได้น้อยทำให้ได้รับโภชนะอาหารไม่เพียงพอจากน้ำนม ต่อมาเมื่อมีการเจริญเติบโตทดแทนภายหลัง ทำให้ลูกโคมีน้ำหนักและอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น

สรุป

จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่าลูกโคพันธุ์ลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชี่ยนเพศเมีย ที่มีระดับเลือด 87.5 % และสูงกว่า 87.5 % มีค่าเฉลี่ย น้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านม และอัตราการเจริญเติบโตในแต่ละวันใกล้เคียงกัน ในสภาพการดูแลของศูนย์พัฒนาบุคลากรด้านเทคโนโลยีการปศุสัตว์ ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันได้มาตรฐาน โดยโคนมลูกผสมระดับเลือด 87.5 % และโคนมลูกผสมระดับเลือดสูงกว่า87.5 % มีค่าเฉลี่ย (LSMEAN) น้ำหนักแรกเกิด, น้ำหนักหย่านม 55วัน และอัตราการเจริญ เติบโต / วัน เท่ากับ 30.84 $\pm$1.01, 69.87 $\pm$ 1.60, 0.70 $\pm$ 0.13 กก.และ 31.02 $\pm$ 0.96 ,70.45 $\pm$ 1.51,0.71 $\pm$ 0.03 กก. ตามลำดับ และปัจจัยสภาพแวดล้อมต่างๆ ไม่มีอิทธิพลต่อน้ำหนักแรกเกิด น้ำหนักหย่านม และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยน ภายใต้สภาพการเลี้ยงดู และการจัดการของศูนย์พัฒนาบุคลากรด้านเทคโนโลยีการปศุสัตว์จังหวัดลพบุรี

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ นายสัตวแพทย์วิษณุ ไพศาลรุ่งพนา หัวหน้าศูนย์พัฒนาบุคลากรด้านเทคโนโลยีการปศุสัตว์ ที่ให้การสนับสนุนในด้านข้อมูลการวิจัยครั้งนี้ คุณสายัณห์ บัวบาน นักวิชาการสัตวบาล 8 สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ที่ให้คำแนะนำและช่วยในการวิเคราะห์ข้อมูล และเจ้าหน้าที่ของศูนย์พัฒนาบุคลากรด้านเทคโนโลยีการปศุสัตว์ทุกคน

เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2535. คู่มือประกอบการฝึกอบรมหลักสูตรการเลี้ยงโคนม. หน้า 82.

กัลยา บุญญานุวัตร สัมฤทธิ์ แสนบัว และ อุดมศรี อินทรโชติ. 2531. การหย่านมลูกโคนม 75 % โฮลสไตน์ ฟรีเชี่ยน ในระยะ 2 3 และ 4 เดือน. ประมวลเรื่องการประชุมทางวิชาการด้าน ปศุสัตว์ ครั้งที่ 7 วันที่ 2-4 พฤษภาคม 2531. หน้า 159 - 165.

ดรุณี ศรีชนะ. 2544. อิทธิพลของระดับโปรตีนในอาหารต่อการเจริญเติบโตของลูกโคก่อนหย่านม. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำเดือน ก.ค.- ธ.ค. 2544. หน้า 51 - 57.

ถาวร ถมมาลี ธำรง ทองจำรูญ และดำรัส ชาตรีวงศ์ . 2547. การเจริญเติบโตของโคนมลูกผสมที่มีเลือดพันธุ์ขาว-ดำ ระดับต่าง ๆซึ่งเลี้ยงใน ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ยะลา. ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ยะลา กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ .

ผลการปฏิบัติงานโคนมปี 2545. 2545. กลุ่มวิจัยและพัฒนาโคนม กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ กรุงเทพฯ.

สถาบันพัฒนาฝึกอบรมและวิจัยโคนมแห่งชาติ กรมปศุสัตว์. 2538. การผลิตโคนมให้ผลผลิตเหมาะ สมสำหรับประเทศไทย (TF). หน้า 1-4 .

สหัทยา ทรัพย์รอด และสมเพชร ตุ้ยคัมภีร์. 2547. สมรรถนะการเจริญเติบโตของลูกโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนระยะก่อนหย่านม เลี้ยงด้วยนมน้ำเหลืองที่มีภูมิคุ้มกันสูง. ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ทับกวาง กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์.

Hoffman, P . C., Brehm, N. M., Price, S. G. and Prill-Adams, A. 1996. Effect of accelerated post puberty growth and early calving on lactation performance of primiparous Holstein cows. J.Dairy.Sci. 79:2024.

Keown, J.F. and Everett, R. W. 1986. Effects of days carried calf, days dry, and weight of first calf Heifers on yield. J. Dairy Sci. 69:1891.

Little, W. and Kay, R.M.1979.The effects of rapid rearing and early calving on the subsequent Performance of dairy heifers. Anim. Prod. 29:294.

Milligan, J.D. and Christison,G.I. 1973.The influence of rinter on the productivity of feed lot steers. 185th Ann. Stockman Day Rep., University of Saskatchewen, Canada.

SAS. 1998. SAS User Guide.Version 6.12. SAS.Inst., Cary , NC, USA.

Sejrsen, K. 1978. Mammary development and milk yield in relation to growth rate in dairy and dual-purpose heifers. Acta Agric. Scand. 28:41.

Factors affecting pre-weaning growth performances of female crossbred dairy calves

Soontorn Nadee[1,*]

[1] Artificial Insemination and Fertility Research Section, Bureau of Biotechnology for Animal Production

[*] Corresponding person Tel. 036-451012 Fax. 036-425712

Abstract

The objective of this study was to evaluate the environmental factors on pre-weaning growth performance of female dairy crossbred calves (i.e. birth weight, weaning weight and average dairy gain). Pre-weaning growth performance of 90 female crossbred dairy calves data tested in the year 2544-2547 from Biotechnology Personal Development Center ,the Bureau of Biotechnology in Animal Production, Department of Livestock Development, were analyzed using the SAS software. The results showed that birth weight, 55 day weaning weight and average daily gain of pre - weaning calves were 31.25 $\pm$ 4.82, 70.26 $\pm$ 7.58 and 0.71 $\pm$ 0.13 kg., respectively. All studied environment and factors did not significantly affect pre-weaning growth performance of female crossbred dairy calves ($p>0.05$)

Keywords : female crossbred dairy, pre-weaning growth performance, environmental factors

ผลของการยกหลอดน้ำเชื้อขึ้นเหนือระดับไนโตรเจนเหลวต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ

สราวุธ ฉายประสาท[1*] วิญญู เบ็ญจกุล[2] อภิชาติ ชาติเชื้อ[1] พิชิตดวง เจิมปลั่ง[1] และ วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา[3]

[1] ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อโคพันธุ์ โครงการหลวงอินทนนท์ อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่
[2] ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์เชียงใหม่ อ.เมือง จ. เชียงใหม่ 50300
[3] สาขาวิชาคลินิกสัตว์เคี้ยวเอื้อง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50100
ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ: inthanonbc@yahoo.com

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของจำนวนครั้งที่ใช้ในการยกน้ำเชื้อและเวลาที่ใช้ในการยกน้ำเชื้อต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ น้ำเชื้อแช่แข็งจำนวน 90 หลอดจากพ่อพันธุ์โคถูกแบ่งออกโดยการสุ่มจำนวน 10 หลอดต่อกลุ่มตามจำนวนครั้งของการยก (No=3, 6 และ 9 ครั้ง) และเวลาที่ใช้ในการยก (T=3, 5 และ 7 วินาที) ในแผนการทดลอง 3x3 แฟคทอเรียลในการสุ่มแบบสมบูรณ์ ทำการละลายน้ำเชื้อและประเมินเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยโปรแกรม SAS ด้วยคำสั่ง PROC GLM เพื่อหาความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในแต่ละกลุ่ม ผลการศึกษาพบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างจำนวนครั้งที่ยกและเวลาที่ยกมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิมีค่าสูงในกลุ่ม No3T3 (ยก 3 ครั้ง ครั้งละ 3 วินาที) No6T3 และ No3T5 ซึ่งมีค่า 50.00±0.00%, 48.83±2.15% และ 49.66±1.26 % ตามลำดับ ส่วนเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิมีค่าต่ำในกลุ่ม No9T7, No9T5 และ No6T7 ซึ่งมีค่า 28.33±2.39%, 33.80±4.44% และ 33.33±4.01% ตามลำดับ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิต่ำลงเมื่อจำนวนครั้งและระยะเวลาที่ใช้ในการยกมากขึ้น

คำสำคัญ: จำนวนครั้งการยก ระยะเวลาที่ยก น้ำเชื้อ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ

คำนำ

การผสมเทียมได้ทำให้มีการพัฒนาและเกิดความก้าวหน้าในการเลี้ยงโคนมเป็นอย่างมาก คุณค่าของการผสมเทียม คือ การกระจายพันธุกรรมที่ดีออกไปได้อย่างกว้างขวาง (Vishwanath, 2003)

ความสำเร็จของการผสมเทียมขึ้นกับปัจจัยหลายประการ ปัจจัยที่มีสำคัญปัจจัยหนึ่ง คือ คุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็ง ดังนั้นในกระบวนการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งจึงได้มีขั้นตอนและการควบคุมคุณภาพทั้งในขั้นตอนการเก็บน้ำเชื้อจากพ่อโคพันธุ์รวมถึงในห้องปฏิบัติการอย่างเป็นระบบ(Rodriguez-Martinez, 2003) ตั้งแต่กระบวนการตรวจสอบปริมาณ ความเข้มข้น เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ การเคลื่อนที่หมู่ จนกระทั่งกระบวนการละลายน้ำเชื้อและแช่แข็ง (Christensen *et al.* ,1999) หลังจากผ่านขั้นตอนขบวนการแช่แข็ง การตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อก่อนนำจ่ายน้ำเชื้อไปตามศูนย์หรือหน่วยผสมเทียมเป็นขั้นตอนที่สำคัญอีกขั้นตอนหนึ่ง สำหรับห้องปฏิบัติการในประเทศไทยภายหลังจากน้ำเชื้อผ่านการแช่แข็งเป็นเวลา 24 ชั่วโมง น้ำเชื้อจะถูกนำมาอุ่น เพื่อตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ หากมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิน้อยกว่า 40% น้ำเชื้อชุดนั้นจะถูกทำลายทิ้ง (ศกร และคณะ, 2541) ส่วนน้ำเชื้อที่ผ่านการตรวจสอบดังกล่าวจะถูกนำไปใช้ต่อไป

ในการปฏิบัติงานในภาคสนามโดยทั่วไป ในการออกปฏิบัติงานผสมเทียมในแต่ละครั้ง เจ้าหน้าที่ผสมเทียมจะต้องเตรียมอุปกรณ์ต่าง ๆในการใช้ในแต่ละครั้งเท่านั้นได้แก่การเตรียมหลอดน้ำเชื้อแช่แข็งเฉพาะที่จะผสมเทียมในฟาร์มนั้น แต่ในการปฏิบัติงานจริงพบว่ามีการผสมเทียมในหลายฟาร์มในเวลาหรือพื้นที่ใกล้เคียงกันทำให้เจ้าหน้าที่ผสมเทียมต้องเตรียมน้ำเชื้อแช่แข็งสำหรับปฏิบัติงานทั้งวันหรือหลาย ๆวันเพื่อความสะดวกในการปฏิบัติงาน ทำให้พบว่าภายในถังสนามส่วนใหญ่จะเก็บหลอดน้ำเชื้อแช่แข็งของพ่อพันธุ์หลาย ๆตัวไว้ด้วยกัน โดยเฉพาะน้ำเชื้อแช่แข็งที่มาจากพ่อพันธุ์สายพันธุ์เดียวกันจะมีสีหลอดเหมือนกัน ทำให้เจ้าหน้าที่ผสมเทียมต้องคีบหลอดออกมาจากถังสนามเพื่อทำการอ่านหมายเลขที่ข้างหลอด รวมถึงการเบิกจ่ายน้ำเชื้อแช่แข็งที่ต้องมีการย้ายหลอดน้ำเชื้อจากถังหนึ่งสู่ถังหนึ่ง เป็นเหตุให้หลอดน้ำเชื้อแช่แข็งสัมผัสกับอุณหภูมิภายนอกบ่อยครั้ง จากการที่หลอดน้ำเชื้อสัมผัสกับอุณหภูมิภายนอกโดยไม่ได้ทำการละลายที่อุณหภูมิเหมาะสมจะทำให้เกิดความเสียหายต่อตัวอสุจิและคุณภาพของน้ำเชื้อหลังจากการละลาย (Holt and North, 1994) ด้วยเหตุนี้ระยะเวลาที่ใช้การยกแต่ละครั้งและจำนวนครั้งที่ยกนั้นย่อมมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ภายหลังจากการละลายน้ำเชื้อ (sperm progressive motility) ซึ่งค่าดัชนีนี้มีความสัมพันธ์กับความสมบูรณ์พันธุ์เมื่อนำน้ำเชื้อไปใช้ในภาคสนาม (Nadir *et al.*, 1993)

แนวทางการปฏิบัติที่ถูกต้องตามคู่มือการผสมเทียมของเจ้าหน้าที่ผสมเทียมของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ในการออกปฏิบัติงานและการเตรียมการละลายน้ำเชื้อเพื่อการผสมเทียมนั้น ได้แนะนำให้เจ้าหน้าที่ที่ทำการผสมเทียมต้องเตรียมน้ำเชื้อแช่แข็งเพื่อใช้กับแม่โคตัวเดียวในแต่ละครั้ง แต่ปัญหาอยู่ที่เจ้าหน้าที่ละเลยไม่ปฏิบัติตามคำแนะนำ

ดังนั้นการศึกษาผลกระทบจากปัจจัยดังกล่าวจึงน่าเป็นประโยชน์สำหรับการวางแนวทางในการดูแล รักษาและควบคุมคุณภาพน้ำเชื้อในภาคสนาม

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของอิทธิพลร่วมกันของระยะเวลาที่ใช้เมื่อยกน้ำเชื้อและจำนวนครั้งที่ยกน้ำเชื้อออกจากถังบรรจุไนโตรเจนเหลวต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ

อุปกรณ์และวิธีการ

การวางแผนการทดลอง

น้ำเชื้อแช่แข็งบรรจุหลอดจากพ่อโคที่ใช้รีดเก็บน้ำเชื้อเพื่อทำน้ำเชื้อแช่แข็งของศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อโคพันธุ์โครงการหลวงอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่ หมายเลข ITN019 HF พันธ์แท้โฮลสไตน์ ฟรีเชียน ซึ่งบรรจุในหลอดบรรจุน้ำเชื้อขนาด 0.25 ซีซี มีความเข้มข้นของอสุจิภายในหลอด 30 ล้านตัว จำนวน 90 หลอด ผลิตชุดน้ำเชื้อเดียวกันมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ เท่ากับ 50% ถูกนำมาใช้ในการศึกษา โดยใช้แบบแผนการทดลองแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (3x3 Factorial in CRD) ซึ่งมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลร่วมของเวลาที่ใช้ยกและจำนวนครั้งการยกต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ โดยเวลาที่ใช้ในการยกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ 3 วินาที (T3), 5 วินาที (T5) และ 7 วินาที (T7) วินาที ส่วนการยกแบ่งออกเป็นจำนวน 3 ครั้ง (No3), 6 ครั้ง (No6) และ 9 ครั้ง (No9) ดังนั้นจึงมีกลุ่มทดลองทั้งหมด 9 กลุ่ม ซึ่งได้แก่ T3No3, T3No6, T3No9, T5No3, T5No6, T5No9, T7No3, T7No6 และ T7No9 โดยมีจำนวนซ้ำ (replication) หรือจำนวนน้ำเชื้อในแต่ละกลุ่มเท่ากับ 10 หลอด

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ

ทำการละลาย (thawing) น้ำเชื้อแช่แข็งทีละหลอดในกลุ่มทดลองต่าง ๆ ในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ตัดปลายหลอดน้ำเชื้อและหยดน้ำเชื้อ 1 หยดบนสไลด์ปิดด้วยสไลด์บาง (cover slide) นำไปวางบน slide warmer plate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปส่งด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า เพื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (sperm progressive motility) ภายหลังการละลายโดยผู้ตรวจเพียงคนเดียวที่ได้รับการฝึกปฏิบัติและมีประสบการณ์ในการตรวจเป็นอย่างดี บันทึกค่าที่ได้จากการตรวจ คือ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ

การวิเคราะห์สถิติ

ทดสอบความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้ PROC GLM ในโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 9.00 หากพบว่ามีนัยสำคัญจากการทดสอบ F-test ของ Type III ใช้การทดสอบ Duncan's New Multiple Range Test ในเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มเป็นขั้นตอนต่อมา กำหนดระดับนัยสำคัญไว้ที่ α = 0.05

การทดสอบเขียนตัวแบบ (model) ได้ดังต่อไปนี้

$$“Y = Ai + Bj + ABij + e”$$

เมื่อ Y คือ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ , A คือ อิทธิพลของระยะเวลาที่ยก B คือ อิทธิพลของจำนวนครั้งที่ยก และ AB คือ อิทธิพลร่วมของระยะเวลาที่ยกกับจำนวนครั้งที่ยก e คือ ค่าความคลาดเคลื่อนแบบสุ่ม (random error) ที่มีการกระจายตัวแบบ NID (0,?2) (Montogomery, 2001)

ผลการทดลอง

อิทธิพลร่วมกันระหว่างเวลาที่ยกน้ำเชื้อและจำนวนครั้งที่ยกน้ำเชื้อมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และผลการเปรียบเทียบความแตกต่างเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในกลุ่มต่าง ๆ ได้แสดงในตารางที่ 1 โดยพบว่ากลุ่ม T3No3, T3No6 และ T5No3 เป็นกลุ่มที่มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ ในขณะที่ T7No9 เป็นกลุ่มที่มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิต่ำที่สุด

Table 1 Mean and Standard deviation of percent of sperm progressive motility in experimental groups

Group	Sperm progressive motility (%) (mean±SD)
T3No3	50.00±0.00 [a *]
T3No6	48.83±2.15 [a]
T3No9	41.00±3.05 [c]
T5No3	49.66±1.26 [a]
T5No6	43.33±3.03 [b]
T5No9	33.80±4.44 [d]
T7No3	42.16±3.63 [cb]
T7No6	33.33±4.01 [d]
T7No9	28.33±2.39 [e]

[*] Different superscripts within the same column indicate significance ($P<0.05$)

วิจารณ์

การดูแลรักษาคุณภาพน้ำเชื้อเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการปฏิบัติงานด้านการผสมเทียม เนื่องจากการที่น้ำเชื้อสัมผัสกับอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไม่ว่าจะเป็นการสัมผัสที่อุณหภูมิบริเวณส่วนคอของถังบรรจุไนโตรเจนเหลวหรือสัมผัสกับอุณหภูมิภายนอกมีผลต่อความสมบูรณ์พันธ์ของน้ำเชื้อ (Nebel, 1991)

ในการศึกษานี้ อสุจิยังคงมีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในระดับปกติหากใช้เวลาในการยกยกน้ำเชื้อไม่เกิน 3 วินาที ไม่ว่าจะยกจำนวน 3 ครั้งหรือ 6 ครั้ง (T3No3 หรือ T3No6) ส่วนการยกน้ำเชื้อ 5 วินาที 9 ครั้ง (T5No9) และการยกน้ำเชื้อ 7 วินาที 6 ครั้ง (T7No6) จะส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิมีค่าต่ำกว่า 35%

และกลุ่มที่ยกหลอดน้ำเชื้อ 7 วินาที จำนวน 9 ครั้ง (T7No9) จะมีคุณภาพน้ำเชื้อต่ำที่สุด ในขณะที่ระดับน้ำเชื้อที่มีเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิประมาณ 40% จะเป็นการยก 3 วินาทีจำนวน 9 ครั้ง(T3No9) การยก 7 วินาทีนาน 3 ครั้ง (T7No3) กลไกที่สามารถนำมาอธิบายผลที่ได้จากการศึกษา คือ กระบวนการเปลี่ยนแปลงของของเหลวภายในเซลล์ของอสุจิ การยกหลอดน้ำเชื้อที่สัมผัสกับอุณหภูมิข้างนอกเป็นเวลานานโดยไม่ได้ทำการละลายด้วยน้ำอุ่นในอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมจะทำให้เกิดขบวนการสร้างผลึกน้ำแข็ง (re-crystallization) ของโมเลกุลของน้ำซึ่งผลตามมา คือเซลล์เมมเบรนของอสุจิจะถูกทำลาย (Vishwanath and Shannon, 2000) และเมื่อนำหลอดน้ำเชื้อนั้นกลับคืนสู่ถังไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิของหลอดน้ำเชื้อจะเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วส่งผลเกิดความเสียหายของอสุจิอีกครั้งซึ่งเป็นกระบวนการเกิดในลักษณะเดียวกับการเกิดภาวะช็อคเนื่องจากความเย็น (cold shock) (Holt, 2000)

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการยกหลอดน้ำเชื้อในระยะเวลานานและการยกหลอดน้ำเชื้อขึ้นบ่อย ๆ จะเป็นการทำให้คุณภาพน้ำเชื้อลดลง อันจะส่งผลให้ความสำเร็จในการผสมเทียมต่ำลง ผลการศึกษานี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ คือ การวางแนวทางในการปฏิบัติงานสำหรับการย้ายหลอดน้ำเชื้อหรือการยกหลอดน้ำเชื้อในกรณีที่ทำการผสมเทียม การยกหลอดน้ำเชื้อควรจะใช้เวลาในการยกไม่เกิน 3 วินาที ซึ่งการยกเพียง 3 วินาทีนี้จะทำให้คุณภาพน้ำเชื้อยังดีอยู่แม้ว่าจะถูกยกถึง 6 ครั้งก็ตาม ดังนั้นเจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานผสมเทียมในภาคสนามหากจำเป็นต้องยกหลอดน้ำเชื้อจำนวนหลายครั้งควรต้องใช้เวลาให้น้อยที่สุด ซึ่งในทางปฏิบัติการยกหลอดน้ำเชื้อประมาณ 3 วินาทีจะเหมาะสำหรับการยกเพื่อดูสีหลอดน้ำเชื้อหรือถ่ายน้ำเชื้อจากถังไปสู่อีกถังหนึ่ง แต่ถ้าหากต้องดูหมายเลขเพื่อเลือกน้ำเชื้อสำหรับการผสมเทียมเจ้าหน้าที่ผสมเทียมจะใช้เวลาประมาณ 5 วินาที หรือ มากกว่า ซึ่งแม้ว่าจะใช้เวลาดูเพียง 5 วินาที ถ้ายกเกิน 3 ครั้งคุณภาพน้ำเชื้อก็จะลดลง ดังนั้นการจัดหลอดน้ำเชื้อในถังสนามเพื่อให้ง่ายต่อการค้นหาจึงเป็นสิ่งที่จำเป็น แต่ตามคำแนะนำของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิปศุสัตว์นั้นแนะนำให้เตรียมน้ำเชื้อให้เพียงพอในการผสมเทียมในแต่ละครั้งจึงจะทำให้เกิดประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตาม ในการยกหลอดน้ำเชื้อขึ้นบ่อย ๆนั้นเจ้าหน้าที่ของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์จำเป็นต้องมีแนวทางในการปฏิบัติด้วย เพราะขั้นตอนการยกน้ำเชื้อแช่แข็งนั้นได้เริ่มมาตั้งแต่ ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อที่ทำการส่งน้ำเชื้อแช่แข็งมาที่ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อพันธุ์ผสมเทียมลำพญากลางเพื่อรวบรวมน้ำเชื้อแช่แข็งที่ผลิตทั้งหมดจากนั้นนำจ่ายให้ศูนย์ผสมเทียมในแต่ละพื้นที่ และนำจ่ายออกสู่ถังเก็บของหน่วยผสมเทียมในพื้นที่ต่าง ๆก่อนจะลงสู่ถังสนามของเจ้าหน้าที่ผสมเทียม ซึ่งจะเห็นว่ามีขั้นตอนต่าง ๆที่ต้องทำการยกน้ำเชื้อแช่แข็งอยู่ทุกขั้นตอน ดังนั้นความสำคัญของระยะเวลาในการยกหลอดน้ำเชื้อแช่แข็งจึงมีความสำคัญมากต่อคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็งในการผสมเทียม นอกจากนี้การดูแลระดับไนโตรเจนในถังบรรจุน้ำเชื้อตามศูนย์หรือหน่วยต่าง ๆ เป็นสิ่งที่จะละเลยไม่ได้ (บรรจง และคณะ, 2539) แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้เป็นการศึกษาโดยเน้นในภาคปฏิบัติที่ใช้ได้จริงและมีอุปกรณ์ที่จำกัด ดังนั้นจึงประเมินคุณภาพน้ำเชื้อจากเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ โดยยังไม่ได้ทำการตรวจคุณภาพในส่วนอื่น ๆ เช่น จำนวนของอสุจิ เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติ หรือ ความผิดในส่วนรูปร่าง ซึ่งในการศึกษาต่อไปควรได้เพิ่มเติมในส่วนดังกล่าว

การศึกษาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่าเวลาที่ใช้ในการยกหลอดน้ำเชื้อและจำนวนครั้งที่ยกมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ ผลที่ได้จากการศึกษาสามารถนำไปเป็นแนวทางสำหรับการดูแลและจัดการน้ำเชื้อที่บรรจุหลอดแล้วอันจะเป็นการรักษาสภาพน้ำเชื้อบรรจุหลอดให้มีคุณภาพดีสำหรับการปฏิบัติการในภาคสนาม

เอกสารอ้างอิง

บรรจง จงรักษ์วัฒนา พรชัย สุวรรณาภิรมย์ พนม สุขราษฎร์. 2539. คุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็งโคที่เก็บรักษาในไนโตรเจนเหลวที่หน่วยผสมเทียมเขต 9 ประมวลเรื่องประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 15 ประจำปี 2539 4-6 กันยายน 2539 โรงแรมเอเชีย ราชเทวี กรุงเทพ หน้า 208-215

ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ กัญจนะ มากวิจิตร? บัณฑิต ธานินทร์ธราธาร ศรเทพ ธัมวาสร และอนันต์ชัย เขื่อนธรรม..2541. การประเมินโคนมเพศผู?เพื่อการผสมเทียมในด้านสมรรถภาพทางการเจริญเติบโตและการสืบพันธุ์ ณ ศูนย์วิจัยการผสมเทียมปทุมธานี 1. เปรียบเทียบสมรรถภาพเป็นรายตัว การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36 สาขาสัตว์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2541 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ หน้า 58 (บทคัดย่อ)

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์.2547 . คู่มือการผสมเทียม การเลี้ยงและการจัดการโคนม-โคเนื้อ.กรมปศุสัตว์.

Christensen, P., Brockhoff, P.B. and Lehn-Jensen, H. 1999. The relationship between semen quality and the nonreturn rate of bulls. Reprod Dom Anim. 34: 503-507.

Holt, W.V. and North, R.D. 1994. Effects of temperature and restoration of osmotic equilibrium during thawing on the induction of plasma membrane damage in cryopreserved ram spermatozoa. Biol Reprod. 51:414-424.

Holt, W.V. 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. Anim Reprod Sci. 62: 3-22.

Montogomery, D.C. 2001. Design and analysis of experiments 5thed. John Wiley & Sons Inc. New York. 684 p.

Nadir, S., Saacke, R.G., Bame, J., Mullins, J. and Degelos, S. 1993. Effect of freezing semen and dosage of sperm on number of accessory sperm, fertility, and embryo quality in artificially inseminated cattle. J. Anim Sci. 71:199-204.

Nebel, R.L. 1991. Techniques for artificial insemination of cattle with frozen-thawed semen: In current veterinary therapy in large animal theriogenology. R.S. Yongquist(ed). W.B Saunders Company, Philadelphia . pp. 251-256.

Rodriguez-Martinez, H. 2003. Laboratory semen assessment and prediction of fertility:still utopia ?. Reprod Dom Anim . 38: 312-318 .

SAS.2004. SAS/STAT User's guide in SAS 9.1 .SAS institute, Inc., Cary, NC .5121 p

Vishwanath, R. 2003. Artificail insemination : the state of the art. Theriogenology 59 : 571-584

Vishwanath, R. and Shannon, P.2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state Animal Reproduction Science. 62: 23-53

J.Biotec.Liv.Prod.
Vol. 1; No. 1; August 2006

Effect of semen straw lifting over liquid nitrogen on sperm progressive motility

Sarawuth Chaiprasat[1] Winyou Benjaku[2] Apichart Chartchue[1]
Phichitduang Joemplang[1] and Veerasak Punyapornwithaya[3]

[1] Livestock Semen Production Center- Inthanon Royal Project Maewang ChiangMai
[2] ChiangMai Biotechnology and Artificial Insemination Research Center ChiangMai 50300
[3] Faculty of Veterinary Medicine. ChiangMai University .ChiangMai 50100
[*] Corresponding author: inthanonbc@yahoo.com

Abstract

The objective of this study was to examine the effect of number of lifting lifting period semen progressive motility. Ninety frozen semen straws from one bull were randomly allocated to nine groups (n=10 per group) according to number of elevating (No=3, 6 and 9 times) and elevating period (T=3, 5 and 7 seconds) in 3x3 factorial in completely random design. Semen straw was thawed and evaluated for progressive motility of sperm. The difference of sperm progressive motility between treatment groups was analyzed by analysis of variance with SAS(PROC GLM)program. The result presented that the interaction of number of elevating and elevating period influenced on sperm progressive motility ($p<0.05$).High sperm progressive motility rate was founded in No3T3 (3 times and 3 second), No6T3 and No3T5 groups (50.00±0.00%, 48.83±2.15% and 49.66±1.26 % respectively). Low progressive motility was showed in No9T7, No9T5 and No6T7 group (28.33±2.39%, 33.80±4.44%, 33.33±4.01% respectively). This study presented that progressive motility was lower when number of elevating and elevating time increase.

Keywords: number of lifting, lifting period, semen progressive motility

ผลของวิธีการละลายน้ำเชื้อต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ

สราวุธ ฉายประสาท[1*] วิญญู เบ็ญจกุล[2] อภิชาติ ชาติเชื้อ[1] พิชิตดวง เจิมปลั่ง[1] และ วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา[3]

[1] ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อโคพันธุ์ โครงการหลวงอินทนนท์ อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่
[2] ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์เชียงใหม่ อ.เมือง จ. เชียงใหม่ 50300
[3] สาขาวิชาคลินิกสัตว์เคี้ยวเอื้อง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50100
[*] ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ: inthanonbc@yahoo.com

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพิจารณาอิทธิพลของการละลายน้ำเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ น้ำเชื้อแช่แข็งจำนวน 96 หลอดจากพ่อพันธุ์โคถูกแบ่งออกโดยการสุ่มเข้าสู่กลุ่มทดลอง 4 กลุ่ม กลุ่มละ 24 หลอด ในแผนการทดลองการสุ่มแบบสมบูรณ์ กลุ่มทดลองได้แก่ การละลายน้ำเชื้อด้วยน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37 ^{o}C นาน 30 วินาที (กลุ่ม1) อุณหภูมิ 30 ^{o}C นาน 30 วินาที (กลุ่ม2) อุณหภูมิ 25 ^{o}C นาน 30 วินาที (กลุ่ม3) และ การละลายโดยใช้การสัมผัสกับอุ้งมือ นาน 30 วินาที (กลุ่ม4) ทำการประเมินเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในหลอดน้ำเชื้อแต่ละหลอดภายหลังการละลาย ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยโปรแกรม SAS ด้วยคำสั่ง PROC GLM เพื่อหาความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในแต่ละกลุ่ม ผลการศึกษาพบว่าวิธีการละลายน้ำเชื้อมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิอย่างมีนัยสำคัญ($p<0.05$) เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในน้ำเชื้อกลุ่มที่1, 2, 3 และ 4 มีค่า 51.04$\pm$12.33, 40.41$\pm$7.50, 39.79$\pm$10.26 และ 10.00$\pm$8.20 ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิมีค่าสูงสุดและต่ำสุดในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 4 ตามลำดับ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวิธีการละลายน้ำเชื้อมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ

คำสำคัญ: น้ำเชื้อ การละลายน้ำเชื้อ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ

คำนำ

การผสมเทียมได้ทำให้เกิดการพัฒนาการเลี้ยงโคนม โดยเป็นการกระจายพันธุกรรมที่ดีไปในแหล่งต่าง ๆ ทำให้มีการปรับปรุงพันธุ์โคนม ความสำเร็จของการผสมเทียมขึ้นกับปัจจัยหลายปัจจัยและปัจจัยที่มีความสำคัญปัจจัยหนึ่ง คือ คุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็ง

การละลายน้ำเชื้อ (thawing) เป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญในการผสมเทียม โดยปกติจากการปฏิบัติงานในภาคสนาม การละลายน้ำเชื้อจะใช้การละลายด้วยน้ำอุ่นอุณหภูมิ 35-37 ^{o}C นาน 30วินาที (กรมปศุสัตว์., 2547) แต่อย่างไรก็ตามในการปฏิบัติงานในพื้นที่ เจ้าหน้าที่ผสมเทียมต้องทำงานตลอดทั้งวัน และเปิด-ปิดกระติกน้ำอุ่นหลาย ๆครั้ง ทำให้อุณหภูมิลดลง จึงศึกษาเพื่อให้เห็นผลชัดเจน พบว่ามีการละลายน้ำเชื้อด้วยวิธีที่แตกต่างจากวิธีการข้างต้น ด้วยเหตุนี้การศึกษาถึงคุณภาพน้ำเชื้อภายหลังจากการละลายจึงเป็นแนวทางในการแสดงถึงคุณภาพน้ำเชื้อที่ผ่านการละลายด้วยวิธีต่าง ๆ กับการละลายน้ำเชื้อที่ได้ปฏิบัติกันโดยทั่วไป เพื่อที่จะทำให้เกิดความรู้ ความเข้าใจ อย่างถูกต้องและใช้ในการแนะนำส่งเสริมต่อไป

การศึกษานี้ใช้การตรวจเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ(Sperm progressive motility) เป็นตัวชี้วัดคุณภาพของน้ำเชื้อภายหลังการละลาย เนื่องจากการตรวจด้วยวิธีการนี้ไม่ต้องการอุปกรณ์และเครื่องมือที่ยุ่งยากหรือราคาแพงและมีความสะดวกในการนำไปใช้ในระดับหน่วยหรือพื้นที่ ทั้งนี้ค่าดัชนีดังกล่าวมีรายงานชัดเจนว่าเป็นตัวชี้วัดที่สำคัญต่อความสมบูรณ์พันธุ์ในการผสมเทียมกับตัวโคในภาคสนาม (Nadir, S.,1993) และประกอบกับรายงานในลักษณะนี้ในประเทศไทยยังมีค่อนข้างจำกัด

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาผลของการละลายน้ำเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ

อุปกรณ์และวิธีการ

แผนการทดลอง

น้ำเชื้อแช่แข็งบรรจุหลอดจากพ่อโคที่ใช้รีดเก็บน้ำเชื้อเพื่อทำน้ำเชื้อแช่แข็งของศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อโคพันธุ์โครงการหลวงอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่ หมายเลข ITN019 XF พันธุ์แท้โฮลสไตน์ ฟรีเชียน ผลิตชุดน้ำเชื้อเดียวกัน ซึ่งบรรจุในหลอดบรรจุน้ำเชื้อขนาด 0.25 ซีซี มีความเข้มข้นของอสุจิภายในหลอด 30 ล้านตัว จำนวน 96 หลอด ถูกนำมาใช้ในการศึกษาโดยใช้แบบแผนการทดลองสุ่มสมบูรณ์ (Random Complete Design) ซึ่งแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ละลายด้วยน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37 ^{o}C นาน 30 วินาที (GR1) กลุ่มที่ละลายด้วยน้ำอุ่นอุณหภูมิ 30 ^{o}C นาน 30 วินาที (GR2) กลุ่มที่ละลายด้วยน้ำอุ่นอุณหภูมิ 25 ^{o}C นาน 30 วินาที (GR3) และกลุ่มละลายด้วยอุ้งมือหรือการปั่นน้ำเชื้อด้วยอุ้งมือเป็นเวลานาน 30 วินาที (GR4)

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ

หลังจากทำการละลาย (thawing) น้ำเชื้อแช่แข็งแต่ละหลอดตามวิธีการละลายในแต่ละกลุ่มทดลอง ทำการตัดปลายหลอดน้ำเชื้อและหยดน้ำเชื้อ 1 หยดบนสไลด์ปิดด้วยสไลด์บาง (cover slide) นำไปวางบน slide warmer plate ที่อุณหภูมิ 37 °C จากนั้นนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (sperm progressive motility) ภายหลังการละลายโดยผู้ตรวจเพียงคนเดียวที่ได้รับการฝึกปฏิบัติและมีประสบการณ์ในการตรวจเป็นอย่างดีเพื่อตรวจเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ

การวิเคราะห์สถิติ

ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้ PROC GLM ในโปรแกรมสำเร็จรูป SAS version 9.00 หากพบว่ามีความแตกต่างกันจากการทดสอบ F-test ของ Type III ใช้การทดสอบ Duncan's New Multiple Range Test ในการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มเป็นขั้นตอนต่อมา การทดสอบกำหนดระดับนัยสำคัญไว้ที่ $\alpha = 0.05$

การทดสอบเขียนตัวแบบ ได้ดังต่อไปนี้

$$\text{“}Y = Ai + e\text{”}$$

เมื่อ Y คือ ค่าสังเกต , A คือ อิทธิพลของทรีทเมนต์ และ e คือ ค่าความคลาดเคลื่อนแบบสุ่ม (random error) ที่มีการกระจายตัวแบบ NID (0,Ó²) (Montogomery, 2001)

ผลการทดลอง

เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละวิธีของการละลายน้ำเชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในกลุ่มที่ละลายน้ำเชื้อด้วยน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37 °C มีค่าสูงกว่ากลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และกลุ่มละลายน้ำเชื้อด้วยการปั่นในอากาศมีค่าต่ำที่สุด ส่วนการละลายน้ำเชื้อด้วยน้ำอุ่น 30 และ 25 °C ไม่มีความแตกต่างกัน

Table 1 Sperm progressive motility from various thawing method

Thawing method	Sperm progressive motility (%)
Water temp. 37 °C	$51.04 \pm 12.33^{a*}$
Water temp. 30 °C	40.41 ± 7.50^{b}
Water temp. 25 °C	39.79 ± 10.26^{b}
Hand surface temp.	10.00 ± 8.20^{c}

* Different superscripts within the same column indicate significance ($p<0.05$)

วิจารณ์

ขั้นตอนและวิธีการละลายน้ำเชื้อเป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างสำคัญต่อน้ำเชื้อแช่แข็ง โดยไปมีผลต่อการเกิดผลึกน้ำแข็งของโมเลกุลของเหลวและการเปลี่ยนแปลงภายในเซลเมมเบรนของอสุจิ ในการปฏิบัติโดยทั่วไปจะใช้การละลายน้ำเชื้อด้วยน้ำอุ่น เนื่องจากวิธีการนี้สามารถลดความเสียหายอันเกิดจากการกระบวนการสร้างผลึกน้ำแข็งขึ้นใหม่ (Re-crystallization) ของโมเลกุลน้ำ ซึ่งเกิดในขณะที่อุณหภูมิภายในหลอดน้ำเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ พร้อมกับการเกิดความเสียหายและถูกทำลายในส่วนเซลเมมเบรนของอสุจิ ผลที่ตามมา คือ ความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อต่ำลง (Vishwanath and Shannon, 2000) โดยรายงานในต่างประเทศจำนวนหลายรายงานได้แสดงให้เห็นว่าการละลายน้ำเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ มีผลต่ออัตราการผสมติดและอัตราการไม่กลับสัดหลังผสมในโคนม (Brow, *et al.*, 1982)

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าวิธีการละลายน้ำเชื้อมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิอย่างมีนัยสำคัญ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิยังคงมีค่ามากที่สุดเมื่อทำการละลายน้ำเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ส่วนการละลายน้ำเชื้อด้วยน้ำอุ่น 30 และ 25 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ให้ผลไม่แตกต่างกันซึ่งอาจจะไปได้ว่าอุณหภูมิของน้ำที่ใช้ในการละลายไม่แตกต่างกันมาก ในขณะที่การละลายน้ำเชื้อด้วยอุ้งมือมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิลดลงเหลือเพียง 10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ทั้งนี้การละลายด้วยอุ้งมือมีความแตกต่างจากการละลายด้วยน้ำอุ่น เนื่องจากการสัมผัสบริเวณพื้นผิวของหลอดน้ำเชื้อกับอุ้งมือแตกต่างกับการสัมผัสระหว่างน้ำกับหลอดน้ำเชื้อ เปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิที่ต่ำน่าจะมีผลต่อการผสมติดเมื่อนำไปผสมเทียมในภาคสนาม โดยมีรายงานในประเทศไทยที่แสดงให้เห็นว่าการละลายน้ำเชื้อที่อุณหภูมิ นาน 30 วินาที มีแนวโน้มผสมติดดีกว่าในขณะที่การละลายน้ำเชื้อด้วยอุ้งมือมีแนวโน้มผสมติดต่ำกว่าเมื่อเทียบกับการละลายด้วยวิธีอื่น ๆ โดยวัดผลจากการนำน้ำเชื้อที่ผ่านการละลายวิธีต่าง ๆไปผสมเทียมกับแม่โคในภาคสนาม (วิชัย และคณะ, 2532)

ผลที่ได้จากการศึกษานี้มีความสอดคล้องกับการแนะนำและส่งเสริมโดยกรมปศุสัตว์ที่กำหนดให้ทำการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที ก่อนที่จะทำการผสมเทียม (กรมปศุสัตว์, 2547) และใกล้เคียงกับข้อกำหนดของ NAAB (National Association of Animal Breeders) ได้กำหนดวิธีการละลายน้ำเชื้อที่ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 วินาที (Nebel, 1991) ดังนั้นการละลายน้ำเชื้อด้วยวิธีการดังกล่าวจึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมในการปฏิบัติงานด้านผสมเทียมในภาคสนามการละลายน้ำเชื้อส่วนการปั่นหลอดน้ำเชื้อด้วยมือเป็นวิธีการที่ไม่ควรปฏิบัติเนื่องจากคุณภาพน้ำเชื้อต่ำลงอย่างเห็นได้ชัดซึ่งจะกระทบต่ออัตราการผสมติดตามมา ถึงแม้ว่าเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิจะมีความสัมพันธ์สูงมากกับอัตราผสมติด แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้เป็นการตรวจเพียงลักษณะเดียว ดังนั้นการวัดคุณภาพของน้ำเชื้อโดยใช้การตรวจทางด้านคุณภาพด้วยวิธีอื่น ๆและการประเมินจากการนำน้ำเชื้อที่ผ่านการละลายด้วยวิธีต่าง ๆไปผสมเทียมกับแม่โคจึงเป็นงานที่น่าศึกษาในโอกาสต่อไป

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าวิธีการละลายน้ำเชื้อมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ การละลายน้ำเชื้ออย่างถูกวิธีจึงเป็นแนวทางที่ควรปฏิบัติและได้รับการส่งเสริม

เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2547. การผสมเทียมโค. [online] .http://www.dld.go.th/biotech/Source%20 Docs/From%20Dr%20Chirut/ AI_Article/E-1_AI.htm Access 25/07/2005.

วิชัย ชนาธินาถ สัมพันธ์ สิงหจันทร์ ปาริฉัตร สุขโต และ บุญญวัฒน์ สนิทวงศ์ .2532. การทำให้น้ำเชื้อแช่แข็งละลายด้วยวิธีต่าง ๆต่ออัตราการผสมติดของโค ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการด้านปศุสัตว์ครั้งที่ 8 วันที่ 7-9 มิถุนายน 2532 หน้า 148-152

Brow, J.L., Senger, P.L. and Hillers, J.K. 1982. Influence of thawing time and post-thaw temperature on acrosomal maintenance and motility of bovine spermatozoa frozen in 0.5 ml-French straws. J Anim Sci. 54:938-944.

Montogomery, D.C. 2001. Design and analysis of experiments 5th ed. John Wiley &Sons Inc. New York. 684 p.

Nadir, S., Saacke, R.G., Bame, J., Mullins, J. and Degelos, S. 1993. Effect of freezing semen and dosage of sperm on number of accessory sperm, fertility, and embryo quality in artificially inseminated cattle. J. Anim Sci. 71:199-204.

Nebel, R.L. 1991. Techniques for artificial insemination of cattle with frozen-thawed semen: In current veterinary therapy in large animal. Theriogenology. R.S. Yongquist(ed). W.B Saunders Company, Philadelphia .pp. 251-256.

SAS. 2004. SAS/STAT User's guide in SAS 9.1. SAS institute, Inc., Cary, NC .5121 p.

Vishwanath, R. and Shannon, P. 2000. Storage of bovine semen in liquid and frozen state Animal Livestock Reprod. Sci. 62: 23-53.

J.Biotec.Liv.Prod.
Vol. 1; No. 1; August 2006

Effect of semen thawing methods on sperm progressive motility

Sarawuth Chaiprasat[1] Winyou Benjaku[2] Apichart Chartchue[1]
Phichitduang Joemplang[1] and Veerasak Punyapornwithaya[3]

[1] Livestock Semen Production Center- Inthanon Royal Project Maewang ChiangMai
[2] ChiangMai Biotechnology and Artificial Insemination Research Center ChiangMai 50300
[3] Faculty of Veterinary Medicine. ChiangMai University .ChiangMai 50100
[*] Corresponding author: inthanonbc@yahoo.com

Abstract

The objective of this study was to examine the effect of semen thawing method on sperm progressive motility rate. Ninety six frozen semen straws from one bull were allocated to four treatment groups (n= 24 per group) in completely random design. Treatments were thawing in warm water at 37 °C for 30 seconds (GR1), 30°C for 30 seconds (GR2), 25°C for 30 seconds (GR3) and hand surface temperature for 30 seconds (GR4). Each semen straw was evaluated for progressive motility of sperm after thawing. The difference of sperm progressive motility rate between treatment groups was analyzed by analysis of variance with SAS(PROC GLM)program. The result presented that thawing methods significantly influenced on sperm progressive motility rate($p<0.05$). Semen straws in GR1, GR2, GR3, and GR4 had the rate of sperm progressive motility 51.04 ± 12.33, 40.41 ± 7.50, 39.79 ± 10.26 and 10.00 ± 8.20 respectively. Highest and Lowest sperm progressive motility rate was founded in GR1 and GR4 respectively . This study presented thawing methods had an evidence effect on sperm progressive motility.

Keywords : semen, thawing method, semen progressive motility