



ISSN 1905-6877

วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

Journal of Biotechnology in Livestock Production

ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 สิงหาคม 2550 Vol.2; No. 1; August 2007

www.dld.go.th/biotech

โครงการเฉลิมพระเกียรติพระชนมพรรษา ๘๐ พรรษา



โครงการเฉลิมพระเกียรติพระชนมพรรษา ๘๐ พรรษา



สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์
กรมปศุสัตว์

โครงการผลิตฟอกระป๋องพันธุ์ดีประจำหมู่บ้าน
เฉลิมพระเกียรติ มหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา ๘๐ พรรษา

ความเป็นมา

การเลี้ยงกระบือในประเทศไทย มีสถิติประชากรลดลงอย่างต่อเนื่อง อันเป็นผลมาจากเทคโนโลยีเครื่องจักรที่ก้าวหน้าทันสมัย มาทดแทนการใช้แรงงานจากกระบือในการประกอบอาชีพการเกษตร ทำให้ประเทศไทยมีการสูญเสียความหลากหลายทางชีวภาพ โดยเฉพาะการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมของกระบือที่มีลักษณะดีต่อไปยังกระบือรุ่นลูกหลาน ปัจจุบันมีปัญหาการขาดแคลนกระบือฟอพันธุ์ในหมู่บ้านต่างๆ สำหรับใช้ในการขยายพันธุ์กระบือในพื้นที่การเกษตร อีกทั้งสภาวะทางเศรษฐกิจที่แปรปรวน ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นจากการใช้เครื่องจักรและน้ำมันเชื้อเพลิง วิธีการการเกษตรเริ่มมีแนวโน้มที่จะหันกลับมาอนุรักษ์พันธุ์กระบือ เพื่อใช้ในการทำนาข้าว ลดการใช้พลังงานสิ้นเปลือง และรักษาสภาพแวดล้อมที่ดีให้คงอยู่อย่างยั่งยืน ซึ่งสอดคล้องกับทฤษฎีเศรษฐกิจพอเพียงของพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวฯ

กรมปศุสัตว์ โดย สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ จึงเห็นควรจัดทำ โครงการผลิตฟอกระบือพันธุ์ดีประจำหมู่บ้าน เพื่อเฉลิมพระเกียรติ เนื่องในโอกาสมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา ๘๐ พรรษา ๕ ธันวาคม ๒๕๕๐

วัตถุประสงค์

๑. เพื่อเพิ่มขยายพันธุ์ กระบือพันธุ์ดี ในหมู่บ้านการเกษตร
๒. เพื่ออนุรักษ์พันธุกรรมกระบือไทยพันธุ์ดีให้คงอยู่
๓. เพื่อรักษาเอกลักษณ์ของวิธีการทำนาแบบดั้งเดิม
๔. เพื่อสนองพระราชดำริ “ ทฤษฎีเศรษฐกิจพอเพียง ”

วิธีดำเนินการและเป้าหมาย

โครงการฯ ระยะที่ ๑ ผลิตลูกกระบือพันธุ์ดี (ปี พ.ศ. ๒๕๕๐)

ผลิตลูกกระบือพันธุ์ดี จากแม่พันธุ์กระบือในหมู่บ้านที่ผ่านการคัดเลือก โดยวิธีการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อฟอกระบือพันธุ์ดี ที่ชนะเลิศการประกวดระดับประเทศ เพื่อให้มีลูกกระบือเพศผู้ที่เกิดจากการผสมเทียมภายในปี ๒๕๕๐ ในพื้นที่ ๘๐ ตำบล จำนวน ๘๐๐ ตัว (จากลูกเกิดจำนวนประมาณ ๑,๖๐๐ ตัว)

แม่กระบือที่เข้าโครงการ จะได้รับการขึ้นทะเบียน ตรวจสุขภาพ และการบำรุงสุขภาพอย่างสม่ำเสมอ ตลอดระยะเวลาที่ผสมเทียม ตั้งท้อง และคลอดลูก

ลูกกระบือที่เกิด จะได้รับการขึ้นทะเบียน ตรวจสุขภาพ และการบำรุงสุขภาพอย่างสม่ำเสมอเป็นระยะๆ และต่อเนื่องในโครงการฯ ระยะที่ ๒

โครงการฯ ระยะที่ ๒ คัดเลือกและประกวดฟอกระปือ (ปี พ.ศ. ๒๕๕๑-๒๕๕๓)

เกษตรกรที่เป็นเจ้าของลูกกระปือเพศผู้ที่เกิดขึ้นในโครงการฯ และได้รับการขึ้นทะเบียนหมายเลขประจำตัวสัตว์แล้ว จะได้รับค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงดูลูกกระปือ การสนับสนุนการดูแลสุขภาพตามโปรแกรมสุขภาพที่กำหนด โดยมีสัญญาับกรมปศุสัตว์ยินยอมที่จะดูแลลูกกระปือเพศผู้ไว้กับตนเอง จนถึงเสร็จสิ้นการประกวดคัดเลือกลักษณะกระปือพ่อพันธุ์ดีประจำหมู่บ้านจากทางราชการแล้ว

กระปือเพศผู้ที่ผ่านการคัดเลือกให้เป็นพ่อกระปือประจำหมู่บ้าน เกษตรกรผู้เป็นเจ้าของจะได้รับการสนับสนุนค่าเลี้ยงดูกระปือพ่อพันธุ์ตลอดระยะเวลาที่ทำหน้าที่เป็นพ่อกระปือประจำหมู่บ้าน นอกจากนี้พ่อกระปือที่มีลักษณะดีจะได้รับการคัดเลือกเพื่อส่งเข้าประกวดแข่งขันในระดับภาคและระดับประเทศ พ่อพันธุ์กระปือที่ชนะเลิศการประกวดระดับประเทศ จะได้รับการขึ้นทะเบียนเป็นพ่อพันธุ์กระปือเพื่อการรีดเก็บน้ำเชื้อสำหรับการขยายพันธุ์กระปือในพื้นที่ต่างๆทั่วประเทศ

สำหรับกระปือเพศเมียที่เกิดขึ้นในหมู่บ้าน จะได้รับการสนับสนุนการดูแลสุขภาพตามโปรแกรมสุขภาพที่กำหนด และเป็นกระปือแม่พันธุ์ดีประจำหมู่บ้าน ต่อไป

งบประมาณดำเนินงาน

โครงการฯ ระยะที่ ๑ (ปีงบประมาณ ๒๕๕๐) ใช้งบประมาณ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ และงบตัดแขวนของกรมปศุสัตว์ จำนวน ๗,๐๐๐,๐๐๐ บาท

- ค่าดำเนินการผสมเทียม โดยวิธีเหนียวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนของแม่กระปือ ๕,๐๐๐ ตัวๆ ละ ๑,๒๐๐ บาท เป็นเงิน ๖,๐๐๐,๐๐๐ บาท
- ค่าติดตามดูแลสุขภาพแม่กระปือ ๕,๐๐๐ ตัวๆละ ๒๐๐ บาท เป็นเงิน ๑,๐๐๐,๐๐๐ บาท

โครงการฯ ระยะที่ ๒ (ปีงบประมาณ ๒๕๕๑-๒๕๕๓) ใช้งบประมาณจากแผนงานปกติจาก

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ และสำนักงานปศุสัตว์จังหวัดในพื้นที่โครงการฯ

๑. ค่าติดตามดูแลสุขภาพลูกกระปือเกิดใหม่ - กระปือรุ่น ๑,๖๐๐ ตัวๆละ ๓๐๐ บาท เป็นเงิน ๔๘๐,๐๐๐ บาท
๒. ค่าติดหมายเลขประจำตัวสัตว์ ชนิด RFID ในลูกกระปือเพศผู้ จำนวน ๘๐๐ ตัวๆละ ๒๐๐ บาท เป็นเงิน ๑๖๐,๐๐๐ บาท เครื่องอ่าน ๑๐ เครื่อง เป็นเงิน ๒๐๐,๐๐๐ บาท

กรมปศุสัตว์

๑. ค่าจัดทำเกียรติบัตรและรับรองประวัติพันธุ์ของกระปือเพศผู้ที่เกิดในโครงการฯ ที่มีสุขภาพและระบบสืบพันธุ์สมบูรณ์ เมื่อครบอายุ ๘ เดือน จำนวน ๘๐๐ ตัวๆละ ๑,๐๐๐ บาท (อัตราเบิกจ่าย จะขอตกลงกับกระทรวงการคลัง ตามระเบียบที่ถูกต้องต่อไป)

๒. ค่ารางวัลสมนาคุณ การประกวดฟอพันธุ์กระบืออายุ ๒ ปี ระดับหมู่บ้านหรือตำบล ในพื้นที่ ๘๐ ตำบล ครั้งละ ๕ รางวัล (ชนะเลิศ ๑ รางวัล รองชนะเลิศ ๒ รางวัล และชมเชย ๒ รางวัล) (อัตราเบิกจ่าย จะขอตกลงกับกระทรวงการคลัง ตามระเบียบที่ถูกต้องต่อไป)
๓. ค่าจัดการประกวดฟอพันธุ์กระบือในโครงการฯ ระดับภาค และระดับประเทศ (อัตราเบิกจ่าย จะขอตกลงกับกระทรวงการคลัง ตามระเบียบที่ถูกต้องต่อไป)

ผลที่คาดว่าจะได้รับ

๑. มีกระบือพันธุ์ดีเกิดขึ้นจากการผสมเทียมในหมู่บ้านเป้าหมาย ไม่น้อยกว่า ๑,๖๐๐ ตัว ในปี ๒๕๕๐
๒. มีฟอกระบือพันธุ์ดีประจำหมู่บ้าน ในพื้นที่ ๘๐ ตำบลเป้าหมาย ไม่น้อยกว่า ๘๐๐ ตัว ในปี ๒๕๕๑
๓. มีฟอพันธุ์กระบือที่ผ่านการคัดเลือกอย่างเป็นระบบ สำหรับการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งใช้ในประเทศ
๔. ส่งเสริมให้เกิดปรัชญา “เศรษฐกิจพอเพียง” ในหมู่บ้านการเกษตร

.....



วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

Journal of Biotechnology in Livestock Production

ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 สิงหาคม 2550 Volume 1; No. 1; August 2007

สารบัญจากบรรณาธิการบริหาร

ด้วยปีนี้เป็นปีมหามงคล ครบรอบเฉลิมพระชนม์ 80 พรรษาขององค์พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ของปวงชนชาวไทย กองบรรณาธิการจึงพร้อมใจกันสร้างควมดีถวายแด่องค์ในหลวงอันเป็นที่รักยิ่งของเรา โดยในการนี้กองบรรณาธิการเห็นว่าเราสามารถสนองพระราชนโยบาย “แนวทางเศรษฐกิจพอเพียง” ด้วยการจัดทำวารสารในรูปแบบ e-Journal ซึ่งนอกจากจะลดงบประมาณค่าใช้จ่ายในการจัดพิมพ์ และการจัดส่งเอกสารแล้ว ยังเป็นการลดการใช้กระดาษ ซึ่งแน่นอนว่าจะช่วยลดการตัดไม้ทำลายป่าลงได้อีกส่วนหนึ่ง ยิ่งไปกว่านั้นการนำบทความและความรู้ต่างๆ เผยแพร่ทาง internet จะทำให้ความรู้แพร่ไปได้อย่างกว้างขวางและทั่วถึงทุกที่ที่มีความจำเป็นต้องใช้ หรือต้องการเรียนรู้

ดังนั้นจึงขอเรียนให้สมาชิกทุกท่านทราบว่า นับจากนี้เป็นต้นไป วารสารเทคโนโลยีการผลิตปศุสัตว์ จะเผยแพร่ผ่านทาง Website ของสำนักฯ แต่เพียงช่องทางเดียว สมาชิกสามารถ download หรือพิมพ์เฉพาะเรื่องที่สนใจ และสามารถใช้เป็นเอกสารอ้างอิงได้ตามปกติ

สุดท้ายนี้ คณะผู้จัดทำวารสารฯ ยินดีรับพิจารณาผลงานวิจัย บทความวิชาการ จากทุกท่านที่ต้องการเผยแพร่ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวารสารฯ ฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่นักวิจัย นักวิชาการ ผู้ปฏิบัติงานในภาคสนาม ตลอดจนนิสิต นักศึกษา ได้นำความรู้ไปใช้ หรือประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ แก่การพัฒนาปศุสัตว์ของไทยต่อไป

(นายยุทธ หรินทรานนท์)

ผู้อำนวยการสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

วัตถุประสงค์:

- ส่งเสริมการศึกษา ค้นคว้าและวิจัยด้านการผลิตและขยายพันธุ์สัตว์
- รวบรวม เผยแพร่ความรู้ด้านการผลิตและขยายปรับปรุง และอนุรักษ์พันธุ์สัตว์โดยเทคโนโลยีชีวภาพ
- ส่งเสริมความสัมพันธ์ และความร่วมมือระหว่างนักวิชาการและสถาบันต่างๆ

เจ้าของ:

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

สำนักงาน:

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี อ.เมือง

จ.ปทุมธานี 12000

โทร/โทรสาร 0-2501-1386

กำหนดออก:

ปีละ 1 ฉบับ

ปีละ 1 ฉบับ

คณะที่ปรึกษา:

- ผศช.สพ.ญ. พรรณพิไล เสกสิทธิ์
- น.สพ.ดร. ณชัย สราทพันธ์
- ดร. มาลี อภิเมธีธำรง

บรรณาธิการบริหาร:

น.สพ.อุยर्थ หรินทรานนท์

บรรณาธิการ:

สพ.ญ. กัลยา เก่งวิทย์กรรม

ผู้ช่วยบรรณาธิการ:

น.สพ. วิษณุ ไพศาลรุ่งพนา

กองบรรณาธิการ:

น.สพ. ไกรวรรณ หงส์ยันตรชัย

น.สพ. สาโรช งามขำ

สพ.ญ. รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล

น.สพ. รัตน์ ฉายารัตนศิลป์

สพ.ญ. นุสสรา วัฒนกุล

น.สพ. วิบูลย์ เขียววิศวกูร

นางจุรีรัตน์ แสนโภชน์

นายสายัณห์ บัวบาน

ผู้จัดการวารสาร:

นางจุรีรัตน์ แสนโภชน์

น.สพ. วิบูลย์ เขียววิศวกูร

นางสาวทัศนีย์ พูนขำ

นางสาวอัมภาพันธุ์ ประจันสกุลณี

ข้อแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ เป็นวารสารทางวิชาการของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ กำหนดออกปีละ 1 ฉบับ คือเดือนสิงหาคม วารสารนำลงบทความผลงานค้นคว้าวิจัยด้านผลิตปศุสัตว์ ทั้งด้านการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ การจัดการอาหาร สุขภาพ และระบบสืบพันธุ์ ตลอดจนการขยายพันธุ์ และการใช้เทคโนโลยีชีวภาพที่ก้าวหน้าในการปรับปรุงและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตปศุสัตว์ ด้านต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้น คณะผู้จัดทำวารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ยินดีรับเรื่องจากทุกท่านที่ส่งมาเพื่อเผยแพร่ และเพิ่มความสะดวกในการพิจารณา ขอเสนอแนะดังนี้

1. เรื่องที่จะนำลง

1.1 งานทดลอง วิจัย ทางวิชาการ (Tech – nical / Research papers) หรือวิทยานิพนธ์ เป็นการเสนอผลการวิจัยที่ผู้เขียนได้ทำขึ้นเอง

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

1.3 เรื่องอื่นๆ ที่คณะผู้จัดทำพิจารณาเห็นสมควร

2. ต้นฉบับ

2.1 ต้นฉบับที่ส่งมาพิมพ์ในวารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ไม่ควรเป็นเรื่อง

ที่เคยพิมพ์ หรือกำลังอยู่ระหว่างการพิจารณาเพื่อลงพิมพ์วารสารอื่น

2.2 ต้นฉบับเป็นภาษาไทยหรือ

ภาษาอังกฤษพิมพ์บนกระดาษ เอ 4 จำนวนไม่เกิน 12 หน้า โดยจัดพิมพ์ด้วย Microsoft Word for Windows หรือใช้ชนิดและขนาดตัวอักษรตามที่กำหนด

2.3 ไม่มีการส่งคืนต้นฉบับ

3. การลำดับเรื่องในต้นฉบับ

เพื่อให้ขั้นตอนการพิจารณาผลงานวิชาการ และการดำเนินการจัดพิมพ์วารสารเป็นไปอย่างเรียบร้อย รวดเร็ว และถูกต้อง จึงจำเป็นต้องให้ผู้เขียนผลงานวิชาการปฏิบัติตามข้อกำหนดอย่างเคร่งครัด ดังนี้

3.1 ให้ส่งต้นฉบับผลงานวิชาการจำนวน 1 ชุด และยังไม่ต้องส่งแผ่นบันทึกข้อมูล (Diskette)

3.2 ต้นฉบับผลงานวิชาการที่ส่งมา ให้ตรวจความถูกต้องของตัวสะกด รูปแบบการจัดพิมพ์ผลงานวิชาการให้ถูกต้องตามที่กำหนด

3.3 ส่งแผ่นบันทึกข้อมูลมาให้ เมื่อผลงานวิชาการนั้นได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการวิจัยสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์แล้วเท่านั้น โดยเลขาคณะกรรมการวิจัยฯ จะแจ้งกลับไปยังเจ้าของผลงาน

วิชาการพร้อมส่งต้นฉบับเพื่อให้แก้ไขตามที่
คณะกรรมการวิจัยสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการ
ผลิตปศุสัตว์ให้ข้อเสนอแนะ

บันทึกผลงานวิชาการที่แก้ไข ถูกต้องแล้ว
ตามข้อแนะนำของคณะกรรมการวิจัยสำนัก

เทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ลงใน Diskette
ขนาด 3.5 นิ้ว หรือ CD-ROM ใช้โปรแกรม
Microsoft Word for Windows โดยมีรายละเอียด
บนสติกเกอร์ติดหน้า Diskette หรือ CD-ROM ดังนี้

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

หรือส่งตรงทาง Internet มายัง jureeratn@gmail.com

3.4 ต้นฉบับผลงานวิชาการที่ส่งให้
คณะกรรมการวิจัย สทป.พิจารณา จะเป็น
บทความที่จัดรูปแบบได้ถูกต้องตามที่กำหนด
เท่านั้น จะเป็นบทความที่จัดรูปแบบได้ถูกต้อง
ตามที่กำหนดเท่านั้น หากผลงานวิชาการที่ส่งมา

ให้ไม่ถูกต้องตามข้อกำหนด จัดจัดส่งคืนเจ้าของ
ผลงานวิชาการกลับไปแก้ไขให้ถูกต้อง

3.5 ต้นฉบับที่จัดส่งมาต้องชัดเจน ทั้ง
เนื้อหาและรูปภาพประกอบผลงานวิชาการ โดยส่ง
มาที่

ส่ง

ผู้จัดการวารสารสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์
สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

3.6 หรือติดต่อสอบถามได้ที่ นางจวีรัตน์
แสนโกชน์ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิต
ปศุสัตว์ ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี อ.เมือง จ.
ปทุมธานี 12000

โทรศัพท์ 0-2967-9791 หรือ 0-2501-2116

โทรสาร 0-2501-2116

ดูข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับข้อแนะนำสำหรับ

ผู้เขียนผลงานที่ได้ <http://www.dld.go.th/biotech>

4. การลำดับเรื่อง

4.1 **ชื่อเรื่อง** (Title) ควรตั้งชื่อให้สั้นและสื่อความหมายให้ดี และพิมพ์โดยใช้ขนาดตัวอักษร 18 และตัวหนา

4.2 **ชื่อผู้เขียนและผู้ร่วมงาน** (Aunthor and co-workers) เขียนชื่อนามสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ วางกึ่งกลางใต้ชื่อเรื่อง พร้อมทั้งสถานที่ทำงานที่ติดต่อได้สะดวกพิมพ์ไว้ใต้ชื่อคณะผู้วิจัยโดยใช้ขนาดตัวอักษร 16 และตัวปกติ

4.3 **บทคัดย่อ** (Abstract) เขียนสั้นๆ ได้ เนื้อหาความคลุมวัตถุประสงค์ วิธีการ และผลการทดลองความยาวไม่ควรเกิน 3% ของตัวเรื่อง บทคัดย่อต้องมีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ แยกหน้าต่างหากจากกัน

4.4 **คำสำคัญ** (Key word) เป็นคำหรือข้อความสั้นๆ ที่มีความหมายแสดงถึงความเป็นไปของการทดลองนั้นๆ รวมกันและไม่เกิน 5 คำ หากไม่สามารถแปลเป็นภาษาไทยได้ให้ใช้ภาษาอังกฤษแทน โดยพิมพ์อยู่ในใต้บทคัดย่อ (ขึ้นบรรทัดใหม่)

4.5 **เนื้อหา** (Text) สำหรับงานวิจัยประกอบด้วย

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

4.5.2 **อุปกรณ์และวิธีการ** (Materials and Methods) อธิบายเครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง วิธีการที่ใช้ ถ้าคิดค้นขึ้น ควรอธิบายอย่างละเอียดแต่ถ้าเป็นที่ทราบกัน

โดยทั่วไปให้เขียนในลักษณะอ้างอิงถึง ถ้าเป็นเครื่องหมายตราหรือชื่อการค้า ควรทำเป็น foot note ไว้ที่ด้านล่างของหน้านั้น

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

- **ตาราง** (Tables) ควรพิมพ์ให้ชัดเจน เหมาะกับหน้า ต้องมีความหมายในตัวเอง และมีคำอธิบายตารางอยู่เหนือตารางนั้นๆ

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

4.5.4 **วิจารณ์** (Discussion) เป็นการวิจารณ์ผลการทดลอง โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อให้ผู้อื่นเห็นคล้อยถึงหลักการที่แสดงออกมาจากผลการทดลองหรือเพื่อสนับสนุนหรือคัดค้านทฤษฎีที่มีผู้เสนอมาก่อน หรือเพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองและการตีความหมายของผู้อื่น ผู้เขียนควรพยายามเน้นถึงปัญหาหรือข้อโต้แย้งในสาระสำคัญของเรื่องที่กำลังกล่าวถึง ตลอดจนข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยในอนาคตและดูทางที่จะนำผลไปใช้เป็นประโยชน์

4.5.5 **สรุป** (Conolusion) เขียนใจความที่สำคัญและคุณค่าของงานเพื่อให้ผู้อ่านเข้าใจง่ายขึ้น

4.5.6 กิตติกรรมประกาศ (Acknow -

ledgement) ควรมีในกรณีที่ได้รับความช่วยเหลือหรือความร่วมมือที่สนับสนุนงานค้นคว้าวิจัยนั้นๆ

4.5.7 เอกสารอ้างอิง (References)

ก. กรณีที่อ้างอิงในเนื้อเรื่อง ควรอ้างอิงดังนี้คือ

1. กรณีที่อ้างอิงจากการตรวจเอกสารโดยผู้อื่นๆ ให้ใช้คำว่าอ้างถึงโดย (cited by)
2. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นคนไทยเมื่อเป็นประธานของประโยค ใช้ "วิบูลย์ และจรัสรัตน์ (2549), เลิศชัย และคณะ (2549) กล่าวว่า” หรือเมื่อรายงานอยู่กลาง หรือท้ายประโยคใช้ (วิบูลย์, 2549) หรือมีเอกสารอ้างอิงในเรื่องเดียวกันมากกว่า 1 ฉบับให้ใช้ (ถาวร และคณะ, 2547; นริศ หรือสินสมุทร, 2549.....)
3. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นชาวต่างประเทศ เมื่อเป็นประธานของประโยค ใช้ “Rudbeck and Dissing (1998), Kashi *et al.* (1990) กล่าวว่า.....” หรือเมื่อผู้รายงานอยู่ระหว่างกลางหรือท้ายประโยคใช้ (Rudbeck and Dissing, 1998; Kashi *et al.*, 1990.....)
4. กรณีอ้างถึงบุคคลหรือเรื่องที่ไม่เคยลงพิมพ์มาก่อน (personal communication) ให้อ้างเฉพาะในเนื้อเรื่องเท่านั้น ไม่ต้องนำไปลงในรายชื่อเอกสารอ้างอิง เช่นsimilar results (Walker, J.M., unpublished data), For other protocols (Walker, J.M., personal communication)

ข. การเขียนเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่อง

ควรขึ้นต้นเอกสารอ้างอิงภาษาไทยก่อน เขียนเรียงตามลำดับพยางค์ของผู้เขียน ถ้าเป็นภาษาอังกฤษใช้ชื่อสกุลตามด้วยชื่อย่อของผู้แต่ง แล้วตามด้วยปี ชื่อเรื่อง ชื่อหนังสือ หรือชื่อย่อวารสาร ปีที่ ฉบับที่ และหน้าที่ อ้างอิง ดังตัวอย่าง วิบูลย์ ตูลารักษ์ และจรัสรัตน์ แสนโกชน. 2549 การสกัด ดีเอ็นเอ เซลล์รากขนในโคนมไทย โยลสไตน์. การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 2 “ก้าวทันสมัยกับปศุสัตว์ไทย” วันที่ 24 มกราคม 2549. โรงแรมโซฟิเทลขอนแก่น. หน้า 452-463. เลิศชัย จินตพิทักษ์สกุล รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล และกัลยา เก่งวิทย์กรรม. 2549 . การประเมินวิธีสกัดแยกดีเอ็นเอจากเลือด น้ำเชื้อ และเซลล์รากขนของพ่อพันธุ์โค. สัตวแพทย์สาร. 56 (3) ; 68-79. Jason, R. H. and Callings, D.F. 1997. Transplacental infection of piglets with a porcine parvovirus. Res. Vet. Sci. 12: 570-572.

กรณีอ้างอิงจากตำรา ให้ระบุชื่อผู้เขียนปีที่ตีพิมพ์ 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. Oowa. P. 293-297.

กรณีอ้างอิงจากเว็บไซต์ (Online references)**ดังตัวอย่าง**

Weeden, N.F. 1993. Comparison of DNA extraction protocols. [Online]

<http://home.twony.rr.com/protocol.htm>

Access 29/10/2005.

จันทร์หา เป้นตุ้ม จุฑาพร ศรีวิพัฒน์ วรวิทย์ แสงสิงแก้ว และพีงพิศ ดุลยพัชร . 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 สะดวกแก่การอ่านใช้ตัวพิมพ์แบบเดียวกันทั้งฉบับ กรณีใช้เครื่องคอมพิวเตอร์พิมพ์เนื้อความให้ใช้ตัวอักษร Angsana UPC 16 ตัวปกติ เท่านั้น ยกเว้นหัวข้อใหญ่ เช่น ชื่อเรื่อง บทคัดย่อ บทนำ อุปกรณ์และวิธีการ ผล วิจารณ์ สรุป กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง พิมพ์โดยใช้ตัวอักษรแบบหนา (Bold) ขนาด 18 ส่วน หัวข้อย่อย เช่น ชื่อผู้วิจัย และคณะ คำสำคัญ ตารางรูปภาพ เป็นต้น พิมพ์โดยใช้ตัวอักษรแบบหนา (Bold) ขนาด 16

กระดาษที่ใช้พิมพ์ ให้ใช้กระดาษขาวไม่

มีบรรทัด ขนาดมาตรฐาน A4 (210 X297 มม.) ใช้เพียงหน้าเดียว

การเว้นที่ว่างขอบกระดาษ

- ตั้งกั้นหน้าบนและซ้ายไว้ที่ 2.5

เซนติเมตร

- ด้านขวาและด้านล่างไว้ที่ 2.0 เซนติเมตร

การเว้นระยะในการพิมพ์

- การเว้นระยะระหว่างบรรทัดและการย่อ

หน้า ควรจัดตามความสวยงาม

- กรณีคำสุดท้ายไม่จบบรรทัดนั้นๆ ให้ยกคำนั้นทั้งคำไปพิมพ์ในบรรทัดต่อไป ไม่ควรตัดส่วนท้ายของคำไปพิมพ์ในบรรทัดใหม่ 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 ให้พิมพ์ส่วนที่เหลือในหน้าถัดไปโดยพิมพ์เลขที่ตารางตามด้วยคำว่า (ต่อ)

- กรณีรูปภาพ แผนที่ แผนภูมิ กราฟ ควรเป็นภาพขาวดำ และใช้แนวทางข้างต้น

การพิมพ์ชื่อวิทยาศาสตร์ของสิ่งมีชีวิต
ให้ใช้ตามประมวลนามศาสตร์สากล (Internation code of nomenclature) คือ **ขีดเส้นใต้** หรือ

พิมพ์ด้วยตัวเอน ชื่อวิทยาศาสตร์เป็นไปตามการตั้งชื่อระบบทวินาม (Binomial nomenclature) คือ คำประกอบด้วยคำ 2 คำ คำแรกเป็นชื่อ Genus ขึ้นต้นด้วยอักษรตัวใหญ่ คำหลังเป็น specific epithet พิมพ์เว้นวรรคห่างจากคำแรกและขึ้นต้นด้วยอักษรตัวเล็ก ดังตัวอย่าง

จุลชีพ เช่น Escherichia coli หรือพิมพ์ด้วยตัวเอน *Escherichia coli*

พืช เช่น Oryza sativa หรือพิมพ์ด้วยตัวเอน *Oryza sativa*

สัตว์ เช่น Bos taurus หรือพิมพ์ด้วยตัวเอน *Bos taurus*

สารบัญ

- การเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR – G และ PGF_{2α} ร่วมกับ PMSG ต่อการผสมติดของแพะพันธุ์ซาเนน
นิวัฒน์ ถาวระ อนนท์ เทื่องสันเทียะ และ บรรลือ กล้าพูล 1

Effect of Estrous Synchronization with CIDR-G , PGF_{2α} and PMSG on Conception in Saanen Goat.
Niwat Thavara, Anone Thuangsanthia and Banlue Klampool
- การเปรียบเทียบจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดระหว่างแม่โคลำดับท้องแรก และลำดับท้อง 2 โดยใช้การ
วิเคราะห์แบบวัดซ้ำ 8

เอกพจน์ กระจับปี่ วัระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา และ ศร ธิปภิมากร

The Ccomparison of Ddays to Conception between First and Second Parity Dairy Cow using
Repeated Measurement analysis

Ekapoj Ra-ngubpit, Veerasak Punyapornwithaya and Sorn Teepatimakorn
- คุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งโคนมที่ใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Egg Yolk Tris Optidyl[®] และ Bioexcel[®] 15

สุดา จันทาสี และ จตุพร พงษ์เพ็ง

Quality of Dairy Bull Semen Frozen with Different Extender

Suda Chantasi and Jatuporn Pongpeng
- ผลของขนาดฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ต่อการเพิ่มการตกไข่และจำนวนตัวอ่อนในโคขาวลำพูน 24

ณรงค์ เลี้ยงเจริญ อนนท์ เทื่องสันเทียะ วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกูร และ มาลี อภิเมธีธำรง

Effect of FSH Doses on Superovulation Response and Embryo Yield in Kao Lum Poon Cattle

Narong Leangchareon, Anone Thuangsanthia, Viboon Yiengvisavakul and Malee Apimeteetumrong
- การจำแนกเชื้อเลปโตสไปราชนิดก่อโรคและชนิดไม่ก่อโรคด้วยวิธีโพลีเมอเรสเชนรีแอคชั่นเพื่อนำไปใช้ในการ
ควบคุมคุณภาพน้ำเชื้อโค 32

รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล ดวงใจ สุวรรณเจริญ ศุภจิต สระเพชร และ กนกพร ไตรวิทยากร

PCR-based Method for Identification of Pathogenic and Non-pathogenic *Leptospira* spp. for
Application in Quality Control of Cattle Semen

Rapiphan Uavechanichkul , Duangjai Suwanchareon, Supachit Sapeth and Kanokporn Triwitayakorn
- ความคิดรวบยอดเบื้องต้นและตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลแบ่งกลุ่มสำหรับข้อมูลการผสมเทียมและ
เทคโนโลยีชีวภาพ 45

วัระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา และ ศร ธิปภิมากร

Topics in Basic Concepts and Examples for Categorical Data Analysis for Artificial Insemination
and Biotechnology dData

Veerasak Punyapornwithaya and Sorn teepratimakorn

-
- ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อช่วงห่างการให้ลูกของโคพื้นเมือง และโคลูกผสมชาโลเลส์ ในพื้นที่ภาคใต้ตอนบนของประเทศไทย 57
จิตศักดิ์ เมืองเขียว, และ ชาญยุทธ กภาพล
Factors Affecting Calving Interval of Native and Charolais Crosses Cattle in the Upper Southern Part of Thailand
Jitsak Meungkhew and Chanyuth Kaphol
 - ผลของยาปฏิชีวนะต่อเยื่อหุ้มตัวอสุจิและอะโครโซมในน้ำเชื้อโคแช่แข็ง 66
กิตติศักดิ์ แสงสกุล, สราวุธ ฉายประสาธ, มุขดา รัตนภาสกร, รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล และ ภาณุพันธ์ พงษ์เพ็ง
Effects of Antibiotics on Spermatozoa Plasma Membrane and Acrosomal Membrane of Frozen Bull Semen
Kittisak Sangsakul, Sarawut Chaiprasart, Mukda Ratanapaskorn, Rapiphan Uavechnichkul and Phanuphan pongpeng
 - รูปแบบของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดในแม่โคนม : การศึกษาหลายพื้นที่ 73
ศร ธิปฏิมากร, วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา และ พัชรินทร์ ปิ่นทะนา
The Pattern of Days to Conception of Dairy Cows: a Multi Location Study
Sorn Teepatimakorn, Veerasak Punyapornwithaya and Patcharin Pintana
 - อิทธิพลของค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ออัตราการผสมติดของโคนมในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ 82
สุรัชย์ สุรฤทธิพงศ์ และ พัลลภ ลูกอินทร์
The Effect of Temperature-Humidity Index on Conception Rate of Dairy Cows in Amphur Mueng, Phetchabun Province
Surachai Surarittipong and Phanlop Loogin
 - ผลของเวลาที่ใช้ในการผสมเทียมต่ออัตราการเกิดเพศในโคเนื้อ 94
อมรรัตน์ สุวรรณรงค์ และ ณรงค์กร เกษมสุข
Effect of Insemination Time on Sex Determination in Beef Cattle
Amornrat Suwannarong and Narongkorn Kasemsuk

การเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR – G และ PGF₂α ร่วมกับ PMSG ต่อการผสมติดของแพะพันธุ์ ชาเนน

นิวัฒน์ ถาวระ¹, อนนท์ เทืองสันเทียะ² และ บรรลือ กล้าพล ²

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR-G และ PGF₂ ร่วมกับ PMSG (กลุ่ม 1) ต่อการผสมติดของแพะพันธุ์ชาเนน เปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ใช้ฮอร์โมน (กลุ่ม 2) โดยแบ่งแพะเพศเมีย 80 ตัว เป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีแม่แพะ 20 ตัวและแพะสาว 20 ตัว โดยในกลุ่ม 1 ทำการสอด CIDR-G เข้าในช่องคลอด แพะนาน 17 วัน และดึงออกในวันที่ 18 โดยฉีด PMSG 150 IU และ PGF₂ α 125 ไมโครกรัม เข้ากล้ามเนื้อ ในวันที่ 15 จากนั้นผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีจำนวนตัวอสุจิ 120 ล้านตัว/โดส หลังถอด CIDR-G ออก 48 และ 72 ชั่วโมง กลุ่ม 2 ให้แพะเป็นสัดตามธรรมชาติ และผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งหลังแพะแสดงอาการเป็นสัด 24 และ 48 ชั่วโมง ตรวจการเป็นสัดโดยใช้แพะเพศผู้ที่เปียงเบนลิงค์ และตรวจผลการติดตั้งท้องโดยใช้เครื่องอัลตราซาวด์ หลังจากการผสมเทียมไปแล้ว 45 วัน

ผลการทดลองพบว่า ไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) โดยกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 ให้อัตราการผสมติดร้อยละ 52 (21/40) และ 32 (13/40) ตามลำดับ รวมทั้งไม่พบความแตกต่างของอัตราการผสมติดระหว่างแม่แพะและแพะสาว ที่ได้ผลอัตราการผสมติดร้อยละ 50 (20/40) และ 35 (14/40) ตามลำดับ

คำสำคัญ: ไฮเดอริจี พีเอ็มเอสจี การผสมติด แพะพันธุ์ชาเนน

เลขทะเบียนงานวิชาการ 50(2)-0208-121

¹ ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพสระบุรี ต.ทับกวาง อ.แก่งคอย จ.สระบุรี

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อน อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

Effect of estrous synchronization with CIDR-G , $\text{PGF}_{2\alpha}$ and PMSG on conception in Saanen Goat.

Niwat Thavara ¹ , Anone Thuangsanthia ² and Banlue Klampool ²

Abstract

This study was under taken to determine the effect of estrous synchronization with CIDR-G, PGF_2 and PMSG compared to natural estrous on conception in Saanen goats. Eighty healthy female Saanen goats were randomly divided into 2 groups, 20 young does and 20 nannies in each group. Group1(Hormonal treated): all goats were implanted with CIDR-G intravaginally for 17 days and were removed on day 18. On day 15, PGF_2 (125 μg) and PMSG (150 IU) were intramuscularly injected. Artificial insemination (AI) was performed at 48 and 72 hours after CIDR-G removal. All female goats in group2 (without hormonal treatment) were AI at 24 and 48 hours after natural estrous. All female goats of both groups were heat detected by penile deviated bucks. Pregnancy check was conducted 45 days after AI.

The results showed no statistical significant difference ($P>0.05$) of conception rate between group 1 and group 2; 52(21/40) vs. 32 (13/40), respectively. There was also no significant difference of conception rate between nannies and young does, 50(20/40) vs. 35(14/40), respectively.

Key word: CIDR-G PMSG Conception Saanen goat

1 Saraburi Artificial insemination and Biotechnology research center

2 Embryo Transfer Technology Research center Pakchong Nakhonratchasima

คำนำ

แพะเป็นสัตว์เศรษฐกิจที่นิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายเพราะเลี้ยงง่าย โตเร็ว กินอาหารเก่งกินอาหารไม่เลือก ให้ลูกตก ให้ผลผลิตได้ทั้งเนื้อและนมในปัจจุบันนิยมเลี้ยงแพะเป็นขนาดใหญ่หรือฟาร์มที่ทำการค้า ดังนั้นการจัดการฟาร์มในด้านการผสมพันธุ์แพะมีความจำเป็นต้องจัดการเหี่ยวน้ำให้เกิดการเป็นสัดพร้อมกัน และใช้วิธีการผสมเทียมในระยะเวลาที่กำหนดไว้เพื่อประสิทธิภาพของการจัดการฟาร์มและมูลค่าของฟาร์มให้ได้รับผลตอบแทนที่คุ้มค่าและประหยัดเวลาค่าใช้จ่ายในการออกปฏิบัติงานการเหี่ยวน้ำให้แพะเป็นสัดพร้อมกันโดยใช้CIDR-G(controlled internal drug release devices - goat) ร่วมกับการฉีด PMSG (pregnanc mase serum gonadotropin)และ PGF₂ α (Prostaglandin F₂ α) CIDR-G คืออุปกรณ์หรือกลไกที่ใช้ควบคุมการเป็นสัดในแพะมีรูปร่างคล้ายตัวที (T) ปลายสุดของด้ามจะมีสายยาวสำหรับดึงออกจากช่องคลอด CIDR-G เป็นฮอร์โมน Progesterone และจะถูกสอดไว้ในช่องคลอดของแพะ Progesterone จะถูกปล่อยออกมาและซึมผ่านผนังช่องคลอดเข้าสู่กระแสโลหิตที่ละน้อยอย่างต่อเนื่องและช่วยเสริม Progesterone ที่มีอยู่แล้วในร่างกาย ทำให้ต่อมใต้สมองหยุดการหลั่งหรือสร้าง Gonadotropic hormone อันได้แก่ Follicle Stimulating hormone,Luteinzing hormone และ Prolactin เป็นผลให้การพัฒนารังไข่หยุดชะงักชั่วคราวและเมื่อถอด CIDR-G ออก Progesterone ในกระแสเลือดจะลดลงอย่างรวดเร็ว ต่อมใต้สมองก็จะเร่งผลิต Gonadotropic hormone ทันทีเป็นผลให้กระเปาะไข่มีการพัฒนาเต็มที่และผลิต Estrogen ออกมามาก ทำให้แพะแสดงอาการเป็นสัด ฟิรศักดิ์ (2548) กล่าวว่า การใช้ฟองน้ำที่มี Progesterone (fluorogestone acetate 45 มิลลิกรัม : FGA) สอดเข้าในช่องคลอดแพะเป็นเวลา 11 วันแล้วฉีด PMSG (Pregnanc mase serum gonadotropin) 400-600 IUและCloprostenol 50 มิลลิกรัม ก่อนจะถอดฟองน้ำ Progesterone ออก 48 ชั่วโมงและผสมเทียมแพะ 43-45 ชั่วโมงหลังถอดฟองน้ำออก โดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งมือสุจิ 100 ล้านเซลล์ ผสมเทียมเพียงครั้งเดียวมีอัตราการผสมติด 60-65 % อุดมและคณะ (2534) พบว่าผลของการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง หลังพบการเป็นสัด 10-14 ชั่วโมงและ 22-26 ชั่วโมง ให้ผลการผสมติดไม่ต่างกัน อัตราการผสมติดคิดเป็นร้อยละ 60 และ 66.67 ตามลำดับ Dauzier (1966) ทดลองการผสมเทียมแม่แพะที่เป็นสัดตามธรรมชาติ โดยใช้น้ำเชื้อสดพบว่า การผสมเทียมหลังพบการเป็นสัด 0-12 ชั่วโมง , 12-24 ชั่วโมง และมากกว่า 24 ชั่วโมง มีอัตราการตกลูกร้อยละ 70,63 และ 47 ตามลำดับ

การใช้ CIDR-G เพื่อปรับรอบการเป็นสัดของแพะให้เป็นสัดพร้อมกันและกำหนดระยะเวลาที่จะผสมเทียมเป็นสิ่งจำเป็นของฟาร์มขนาดใหญ่ที่มีแม่แพะหรือแพะที่พร้อมผสมพันธุ์เพื่อความสะดวกในการจัดการฟาร์มและการปรับปรุงพันธุ์ ขยายพันธุ์ให้รวดเร็ว รวมทั้งความสะดวก ความประหยัดเวลา ค่าใช้จ่ายของการเดินทางไปปฏิบัติงาน ฟิรศักดิ์ (2548) กล่าวว่า การใช้อุปกรณ์ควบคุมการปล่อยฮอร์โมน

Progesterone ออกมาที่ละน้อย (CIDR-G) เมื่อใช้ร่วมกับ PMSG นั้นได้ผลดีเท่ากับฟองน้ำและในปัจจุบันผลิตภัณฑ์ CIDR-G หาซื้อได้ง่าย วิธีใช้สะดวกราคาไม่สูง จึงเลือกใช้ CIDR-G ในการทดลองครั้งนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

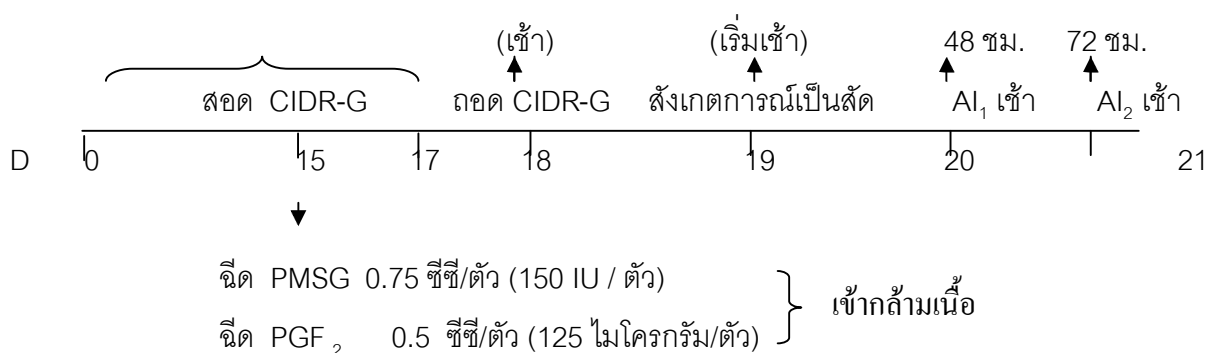
1. สัตว์ทดลอง ใช้แพะพันธุ์ชาเนนจำนวน 80 ตัว เป็นแพะสาว 40 ตัว แม่แพะ 40 ตัว จากฟาร์มของเกษตรกร อ.โคกสำโรง จ.ลพบุรี แบ่งเป็น 2 การทดลองคือ

- กลุ่ม 1 ควบคุมการเป็นสัดโดยใช้ CIDR-G สอดเข้าช่องคลอด ใช้แพะสาว 20 ตัว แม่แพะ 20 ตัว
- กลุ่ม 2 ให้แพะเป็นสัดตามธรรมชาติ ใช้แพะสาว 20 ตัว แม่แพะ 20 ตัว ดังตาราง

วิธีการ	แม่แพะ (ตัว)	แพะสาว (ตัว)
กลุ่ม 1	20	20
กลุ่ม 2	20	20

2. การเหนี่ยวนำการเป็นสัด

- กลุ่ม 1 สอด CIDR-G เข้าในช่องคลอดแพะนาน 17 วัน แล้วดึงออกในวันที่ 18 โดยฉีด PMSG 0.75 ซีซี (150 IU /ตัว) โดยฉีด PGF₂ α 125 ไมโครกรัม/ตัว เข้ากล้ามเนื้อในวันที่ 15 และผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีขนาดหลอด 0.25 ซีซี มีจำนวนตัวอสุจิ 120 ล้านตัว/โดส หลังถอด CIDR-G ออก 48 และ 72 ชั่วโมง (แพะจะแสดงอาการเป็นสัดหลังถอด CIDR-G 24 ชั่วโมง) ดังผังการทดลองดังนี้



- กลุ่ม 2 ให้แพะเป็นสัดตามธรรมชาติ และผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีขนาดหลอด 0.25 ซีซี มีจำนวนตัวอสุจิ 120 ล้านตัว/โดส หลังแพะแสดงอาการเป็นสัด 24 และ 48 ชั่วโมง

3. การตรวจการเป็นสัด ใช้แพะเพศผู้ที่เปียงเบนลำลึงค์และเป็นตัวตรวจการเป็นสัดของแพะเพศเมียทุกตัว แพะเพศเมียตัวใดเป็นสัด ตัวผู้ที่เปียงเบนลำลึงค์ก็จะขึ้นขี่ก็จะนับชั่วโมงเริ่มต้นเพื่อผสมเทียม

4. การผสมเทียม ล้างอวัยวะเพศด้านนอกให้สะอาดโดยน้ำยาฆ่าเชื้อ แล้วเช็ดให้แห้ง ละลายน้ำเชื้อด้วยน้ำอุ่น 35-37 องศาเซลเซียส ผสมเทียมผ่านทางช่องคลอดโดยใช้เครื่องถ่างช่องคลอด ปล่อยน้ำเชื้อที่บริเวณคอมดลูก
5. การตรวจการตั้งท้อง หลังจากการผสมเทียมไปแล้ว 45 วันจะตรวจการตั้งท้องด้วยเครื่องอัลตราซาวด์
6. การวิเคราะห์ทางสถิติ เปรียบเทียบอัตราการผสมติดโดยใช้ Chi-Square

ผลและวิจารณ์

ผลการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR-G ร่วมกับ PMSG และ $\text{PGF}_{2\alpha}$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ให้แพะเป็นสัดตามธรรมชาติและผสมเทียมหลังแสดงอาการเป็นสัด 24 และ 48 ชั่วโมง ต่ออัตราการผสมติดของแพะพันธุ์ซาเนน พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) โดยกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 ให้อัตราการผสมติดร้อยละ 52 (21/40) และ 32 (13/40) ตามลำดับ รวมทั้งไม่พบความแตกต่างของอัตราการผสมติดระหว่างแม่แพะและแพะสาว ที่ได้ผลอัตราการผสมติดร้อยละ 50 (20/40) และ 35 (14/40) ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ตารางที่ 1 แสดงร้อยละอัตราการผสมติดของแม่แพะและแพะสาว

วิธีการ	ร้อยละของอัตราการผสมติด		
	แม่แพะ	แพะสาว	ค่าเฉลี่ย
กลุ่มที่ 1	60 (12/20)	45 (9/20)	52 (21/40)
กลุ่มที่ 2	40 (8/20)	25 (5/20)	32 (13/40)
ค่าเฉลี่ย	50 (20/40)	35 (14/40)	

($P>0.05$)

การทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ ฟิรศักดิ์ (2548) ในการกระตุ้นให้เกิดการเป็นสัดด้วยฟองน้ำที่มี Progesterone (fluorogestone acetate 45 มิลลิกรัม : FGA) ร่วมกับ PMSG (Pregnant mare serum gonadotropin) 400-600 IU และ Cloprostenol 50 มิลลิกรัม และผสมเทียมเพียงครั้งเดียวด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีจำนวนตัวอสุจิ 100 ล้านเซลล์ 43-45 ชั่วโมงหลังถอดฟองน้ำออก มีอัตราการผสมติด 60-65 % และรายงานของอุดม และคณะ (2534) พบว่าการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งหลังแสดงอาการเป็นสัด 10-14 ชั่วโมง และ 22-26 ชั่วโมง มีอัตราการผสมติดคิดเป็นร้อยละ 60 และ 66.67 ตามลำดับ และผลการผสมเทียมไม่แตกต่างทางสถิติ จากการทดลองครั้งนี้ ถึงแม้ว่าอัตราการผสมติดของแพะสาวและแม่แพะที่ใช้ฮอร์โมนและไม่ใช้ฮอร์โมนให้ผลทางสถิติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญก็ตาม แต่การที่แพะตกูกในเวลาที่ใกล้เคียงกันนั้นเป็นผลดีในด้านการจัดการลูกแพะที่เกิดใหม่ ทำให้สะดวกต่อการเลี้ยงดู การให้อาหาร และการจัดฝูงผสมพันธุ์

การปรับปรุงพันธุ์ต่อไปในอนาคต สำหรับแพะที่คลอดลูกแล้วจะสะดวกในการจัดการแพะหลังคลอด เช่น การให้อาหารและการรีดน้ำนมแพะเพื่อส่งขาย อันจะได้รายได้เป็นกลุ่มก้อน และการให้ฮอร์โมนในการจัดการฝูงแพะให้เป็นสัตว์พร้อมกัน น่าจะเป็นวิธีการที่ให้ความสะดวกต่อเจ้าของฟาร์มและเจ้าหน้าที่ผสมเทียมที่จะทำให้แพะแสดงอาการเป็นสัดในคราวเดียวกันและผสมพร้อมกัน ไม่ต้องเสียเวลาคอยสังเกตอาการเป็นสัดของแพะทีละตัวและแจ้งเจ้าหน้าที่ผสมเทียมทีละตัว อันจะก่อให้เกิดความยุ่งยากในการจัดการฟาร์มและการปฏิบัติงาน

สรุป

การใช้ฮอร์โมน CIDR-G ร่วมกับ PMSG และ $\text{PGF}_{2\alpha}$ เพื่อเหนี่ยวนำให้แพะเป็นสัดพร้อมกันและผสมเทียมหลังจากถอดฮอร์โมนแล้ว 48 และ 72 ชั่วโมง ให้อัตราการผสมติดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) กับกลุ่มที่ไม่ใช้ฮอร์โมนทั้งแพะสาวและแม่แพะ แต่ในกลุ่มที่ใช้ฮอร์โมน แม้ว่าจะมีค่าใช้จ่ายเพิ่ม แต่สามารถควบคุมและจัดการฝูงแพะให้เป็นสัดในเวลาใกล้เคียงกัน ประหยัดเวลาในการสังเกตอาการเป็นสัดของแพะและเวลาในการปฏิบัติงานผสมเทียม เป็นการลดค่าใช้จ่ายของเจ้าหน้าที่ผสมเทียม รวมทั้งเอื้อประโยชน์ในด้านการจัดการฟาร์ม เช่น แพะเป็นสัด ตั้งท้อง คลอดลูก และแม่แพะเข้ารีดนมในเวลาใกล้เคียงกัน มีการจัดการลูกเกิดเหมือนกัน หย่านมพร้อมกัน และแพะที่เติบโตขึ้นมีอายุใกล้เคียงกัน ทำให้สามารถจัดการด้านผสมพันธุ์ ปรับปรุงพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณ นายสัตวแพทย์สุรจิต ทองสอดแสง ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัย คุณจารุสิทธิโชค วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีลพบุรี คุณสกล ฉายศรี สถานีวิจัยลพบุรีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน 2548 การแช่แข็งน้ำเชื้อแพะ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 2548: หน้า 100 – 106

อุดม ช่างสุพรรณ ประสิทธิ์ ถนอมคุณ บุญเสริม ชีวะอิสระกุล 2534 ผลของช่วงระยะเวลาผสมและชักนำ
การเป็นสัด ต่ออัตราการผลิตในแพะที่ผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง การประชุมทางวิชาการของ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 29 สาขาสัตว สัตวแพทยศาสตร์ประมง 4-7 ก.พ. 2534 หน้า
437-442

Dauzier, L. 1966. Artificial insemination in the goat Intern. En – cyclop. Vet. Med. Dalling et al.,
ed . W. Green and Son. Pp. 269 – 271

การเปรียบเทียบจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดระหว่างแม่โคลำดับท้องแรก และลำดับท้อง 2 โดยใช้การวิเคราะห์แบบวัดซ้ำ

เอกพจน์ ระเบียบพิศม¹ วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา² และ ศร ธิปปิมากร¹

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดระหว่างแม่โคลำดับท้องแรกกับแม่โคลำดับท้องที่ 2 โดยใช้การวัดซ้ำ ใช้ข้อมูลสมบูรณของระยะคลอดถึงผสมติดที่มาจากแม่โคตัวเดียวกันในลำดับท้องแรกและลำดับท้องที่ 2 ของแม่โคจำนวน 483 ตัว ของ 288 ฟาร์มรายย่อย จาก 5 หน่วยผสมเทียม ตัวแปรตาม ได้แก่ จำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติด ตัวแปรอิทธิพลคงที่ได้แก่ ลำดับท้อง ฤดูกาลที่แม่โคคลอด กลุ่มทางพันธุกรรมที่แบ่งตามสายเลือดไฮลส์ไดน์และพิจารณาถึงอิทธิพลร่วม 2 และ 3 ระดับของตัวแปรทั้งหมด กำหนดหน่วยผสมเทียมเป็นปัจจัยสุ่ม ใช้ตัวแบบเชิงเส้นผสมโดยทั่วไปที่มีปัจจัยสุ่มและมีการวัดซ้ำ (Proc Mixed; SAS 9.1.3) ในการวิเคราะห์ข้อมูล ผลการศึกษาพบว่าอิทธิพลร่วมระหว่างฤดูกาลที่คลอดกับลำดับท้องเป็นปัจจัยที่มีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แม่โคในลำดับท้องที่ 2 มีจำนวนวันหลังคลอดสั้นกว่าแม่โคในลำดับท้องที่ 1 เมื่อการคลอดเกิดขึ้นในฤดูหนาว การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการลดลงของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดจากลำดับท้องแรกถึงลำดับท้องที่ 2 มีความเกี่ยวข้องกับฤดูกาล

คำสำคัญ : จำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติด แม่โคลำดับท้องแรก แม่โคลำดับท้อง 2 การวัดซ้ำ

¹ ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50200

² คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ. เมือง จ.เชียงใหม่ 50100

The comparison of days to conception between first and second parity dairy cow using repeated measurement analysis

Ekapoj Ra-ngubpit¹, Veerasak Punyapornwithaya² and Sorn Teepatimakorn¹

Abstract

The objective of this study was to compare days to conception between first parity cows and second parity cows using repeated measurement. Complete days to conception data from the same cow in the first and second parity of 483 cows in 228 small holder farms from 5 AI units were used. The outcome variable was days to conception. Fixed effect factors were parity, season of calving, breeding group by level of Holstein. Two ways and three ways interaction were also examined. AI unit was treated as a random effect. The random effects generalized linear mixed model with repeated measurement (Proc Mixed; SAS 9.1.3) was carried out to analyze data. The result demonstrated that the interaction between season and parity was the significant factor ($p < 0.05$). The second parity cows had days to conception shorter than first parity cows when they calved during winter. This study demonstrated that the decreasing of days to conception from first to second parity was related to season of calving.

Key words: days to conception, first parity cow, second parity cow, repeated measurement

¹ ChiangMai Artificial Insemination Research and Biotechnology Center, Muang, ChiangMai 50300

² Faculty of Veterinary Medicine ChiangMai universities Muang Chiangmai 50100

Introduction

Numerous reports have shown that parity is one of major factors influenced on reproductive performance of dairy cows (Farim et al., 1994; Lucy et al., 2001). In Thailand, it has been reported that first parity cows had days to first service (Punyapornwithaya and Teepratimakorn, 2004) and days to conception (Punyapornwithaya and Teepratimakorn, 2004; Chantiratikul et al., 2001) longer than higher parity cows. However, most reports were cross sectional study since the analysis was base on the comparison between groups of cows without repeated measurements from the individual cow.

In this study, the aim was to determine whether days to conception between first and second parity from the same cow different. The completed data set obtained from the same individual cows was used in order to control the variations between cows and farms which might have a different level of managements. Since the outcome variable was measured at least twice, the design was a longitudinal study (Twisk, 2003).

The objective of this study was to compare days to conception between first parity cows and second parity cows using repeated measurement.

Materials and Methods

Data

The data included information on individual and reproduction records of dairy cows in small holder herds in the northern area of Thailand, which were collected by ChiangMai A.I. Research and Biotechnology Center. Data were edited and manipulated by Proc SQL (Prairie, 2005) in Statistical Analysis Systems software (SAS version 9.1.3). The following criteria were used to obtained data, 1) cows calved during year 2001 to 2003, 2) cows had the complete records of days to conception two consecutive lactation from first lactation to second lactation and 3) cows had days to conception lesser than 350 days. In final, data were consisted of days to conception data from 483 cows or 960 lactations of 288 small holder farms in 5 AI units.

Variables

Dependent variable was days to conception. Independent variables or factors were breed group (1=50.1-75% HF, 2= 75.1-87.5% HF, 3= >87.5% HF), parity (1= 1st parity; 2= 2nd parity) and season of calving (1= hot (March-June); 2= rainy (July-October), 3= winter (November-February)).

Statistical Analysis

Outcome variable was days to conception. Fixed effects factors were parity, breed group by level of Holstein, season and all two and three ways interaction. Random effect variable was an AI unit.

$$y_{ijklt} = \mu + \text{parity}_i + \text{breed}_j + \text{season}_k + \text{all interaction} + \text{aiu}_{k(t)} + \epsilon_{ijklt}$$

where y = observation of t^{th} cow which in j^{th} breed group and in i^{th} lactation in season k^{th} ; μ = overall means; parity = fixed effect from i^{th} parity; breed = fixed effect from j^{th} breed; all interaction = all 2 level interaction and 3 level interaction; $\text{aiu}_{k(t)}$ = random effect from k^{th} AI unit of t^{th} cow; ϵ = random error and $\epsilon \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$

The random mixed effect model (Proc mixed; SAS 9.1.3) (Littell et al., 1996) was used to analyze data. Cows nested in AI unit were defined as a repeated subject because they were measured for two times. The covariance structure was defined as unstructured covariance because the repeated measurement for individual subject was a small cluster. Multiple comparisons test was performed using PDIFF option in SAS. The level of significant was $\alpha = 0.05$.

Results

The interaction between parity and season was a significant factor for days to conception ($p < 0.01$). Figure 1 showed least square mean of days to conception by the interaction between parity and season. Also, table 1 showed least square means and standard error for the interaction groups. The result showed that first parity cows had days to conception longer than second parity cows ($p < 0.05$) when cows calved during winter season (table 2). The second parity cows calving during winter had the shortest days to conception compared with other groups (table 2).

Discussion

In the present study, the interaction between parity and season of calving influenced on days to conception. Second parity cows had days to conception shorter than first parity cows when they calved during winter season. However, if calving was occurred during hot season, first parity had days to conception shorter than second parity cows. This finding was supported our hypothesis that first parity cows had days to conception shorter than second parity. The possible reason is that first parity cows had the first experience in milking which caused cows stress from lactation (Lucy, 2001). Nevertheless, the effects from hot climate caused a heat stress (Badinga, et al., 1985; Oseni et al., 2003) to dairy cows. It was possible to state that the high impact of seasonal effects caused a high variation in conception. Therefore, cows calved during hot season may have short or long days to conception regardless to parity.

When examined on first parity, days to conception was decreased 15 days and increased 4 days from hot to rainy and from rainy to winter respectively. However, the different trend was found in second parity. It was showed that days to conception was decreased 36 days and 15 days from hot to rainy and from rainy to winter respectively. It was suggested that first parity cows did not show any pattern in days to conception as second parity cows. The factors associated with this phenomenon should be determined in the future study. Although the results from this study related with other reports in Thailand which demonstrated that parity (Chantiratikul et al, 2001) and season (Sondhipiroj et al., 1994) influence on days to conception. However, studies were different in term of location of study, number of animals, breed group of animals and study design. Hence, there were some difficulties in comparisons especially for study that was done in a different geographic area. The future study at each region may be a good source of information for the particular region.

This study showed that days to conception of second parity cows was shorter than first parity cows when they calved during winter season. In other word, the reproductive performance of the same cows improved from first to second lactation regarding to the season of calving.

References

- Badinga, L., Collier, R.J., Thatcher, W.W. and Wilcox, C.J. 1985. Effects of climate and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropic environment. J Dairy Sci. 68:78-85

- Chantiratikul, A., Champavadee, S., Duengpattra, S. and Kham-art, C. 2001. Reproductive performance of dairy cows in Amphur Kantarawichai, Mahasarakham province. Proceedings of 2nd Annual Conference of veterinary medicine Faculty of Veterinary Medicine Khon Khean University, 25-27 January 2001. Khon Khean : Khonkhean University :64-72
- Farim PW, Slenning BD, Correa MT, Britt JH. 1994. Effect of calving seasons and milk yield on pregnancy risk and income in North Carolina Holstein cows. J Dairy Sci. 77:1848-55
- Littell, R.C., Miliken, G.A., Srroup, W.W. and Wolfinger, R.D. 1996. SAS system for mixed models. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA
- Lucy, M.C., 2001. ADSA foundation scholar award. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? J. Dairy Sci. 84: 1277–1293.
- Oseni, S., Misztal, I., Tsuruta, S. and Rekaya, R. 2003. Seasonality of days open in US Holsteins. J Dairy Sci 86:3718-3725
- Prairie K. 2005. The essential PROC SQL handbook for SAS users. SAS institute Inc., Cary, NC, USA.
- Punyapornwithaya, V. and Teepratimakorn, S. 2004. Reproductive efficiency of dairy cows in the northern part of Thailand. ChiangMai Veterinary Journal. 2: 3-8
- Sondhipipoj, P., Subrod, S. ,Mahinchai, P. 1999. Reproduction and production performances of imported Holstein cows from Canada. The proceedings of 37th Kasetsart University Annual Conference. 4-7 February 1999. Bangkok: Kasetsart University. 237-248
- Twisk, 2003. Applied longitudinal data analysis for epidemiology. Cambridge university press, Cambridge, UK 301

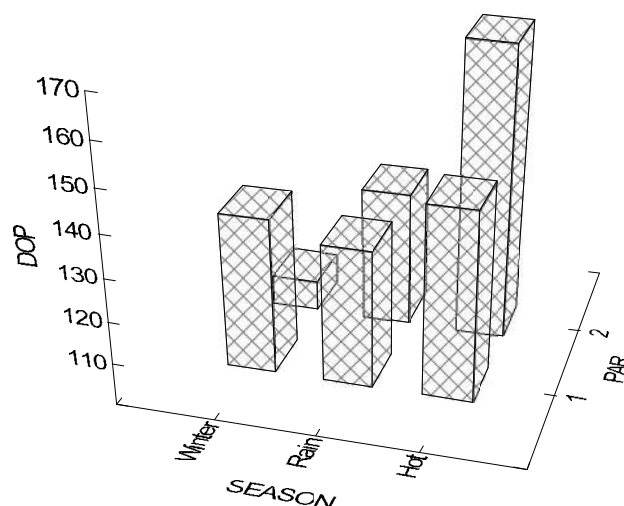


Figure 1. The trend of least square means of days to conception by season and parity

Table 1. Least square means and standard error of days to conception by the interaction between season and parity

Effect	Days to conception (lsem $\pm$ S.E)
Hot * parity 1	144.75 $\pm$ 8.90
Hot * parity 2	168.71 $\pm$ 8.24
Rainy * parity 1	132.57 $\pm$ 9.47
Rainy * parity 2	132.15 $\pm$ 8.72
Winter* parity 1	136.78 $\pm$ 10.55
Winter* parity 2	107.33 $\pm$ 9.12

Table 2. The difference in least square mean of days to conception between groups

		Hot*parity1	Hot*parity2	Rain *parity1	Rain *parity2	Win*parity1	Win*parity2	
*								p<0.05,
p	Hot*parity 1	-	**	ns	ns	ns	*	<0.01,***p
<0.001	Hot*parity 2	**	-	**	**	**	***	and ns =
non	Rain * parity1	ns	**	-	ns	ns	*	significant
	Rain * parity2	ns	**	ns	-	ns	*	
	Win* parity1	ns	**	ns	ns	-	*	
Quality	Win* parity2	***	***	*	*	*	-	of Dairy

คุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งโคนมที่ใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ

สุดา จันทาสี¹ และ จตุพร พงษ์เพ็ง¹

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งโคนมพันธุ์โฮลส์ไตน์-ฟรีเซียนจำนวน 3 ตัว โดยใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ 3 ชนิด คือ Optidyl[®] (ไข่แดงเป็นองค์ประกอบพื้นฐาน) Bioexcel[®] (สารสกัดจากถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบ) และ Egg Yolk Tris (ไข่แดงสดเป็นองค์ประกอบ) ทำการรีดเก็บน้ำเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกัน 5 สัปดาห์ พบว่าน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Optidyl[®] Bioexcel[®] และ Egg Yolk Tris ให้คุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังนี้ คือ ค่าการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (43.0 ± 1.27 , 40.7 ± 1.07 , $39.3\pm1.53\%$) เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของโครโมโซมของตัวอสุจิ (41.2 ± 0.82 , 38.9 ± 1.08 , $38.9\pm0.79\%$) เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตตรวจวิธี ORT (24.9 ± 2.00 , 21.7 ± 2.32 , $28.7\pm2.35\%$) เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตตรวจวิธี Eosin-Nigrosin (74.8 ± 2.34 , 73.1 ± 2.08 , $68.3\pm1.98\%$) สรุปได้ว่าน้ำยาเจือจางทั้ง 3 ชนิด ให้คุณภาพน้ำเชื้อก่อนแช่แข็งและหลังละลายไม่แตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มว่า Optidyl[®] และ Egg Yolk Tris ให้คุณภาพน้ำเชื้อก่อนแช่แข็งและหลังละลายดีกว่า Bioexcel[®]

คำสำคัญ: น้ำเชื้อแช่แข็งโคนม น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Egg Yolk Tris Optidyl[®] Bioexcel[®]

ผลงานวิชาการทะเบียนเลขที่ 49(3)-0208-205

¹ ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ผสมเทียม อ. ลำสนธิ จ. ลพบุรี 15190

Bull Semen Frozen with Different Extender.**Suda Chantasi¹ and Jatuporn Pongpeng¹*****Abstract***

Semen quality of three Holstein Friesian bull were compared in three extenders: Optidyl[®] with egg yolk based, Bioexcel[®] with soybean extract based and Egg Yolk Tris using fresh egg yolk. Semen was collected once per week for five consecutive weeks. The results demonstrated no significant differences ($P>0.05$) among the parameters studied: sperm motility (43.0 ± 1.27 , 40.7 ± 1.07 , $39.3\pm1.53\%$), abnormal acrosome (41.2 ± 0.82 , 38.9 ± 1.08 , $38.9\pm0.79\%$), sperm viability either examined by osmotic resistance test (24.9 ± 2.00 , 21.7 ± 2.32 , $28.7\pm2.35\%$) or eosin-nigrosin staining (74.8 ± 2.34 , 73.1 ± 2.08 , $68.3\pm1.98\%$). We concluded that three extenders were not significantly different though egg yolk based extenders revealed a higher trend.

Keyword: dairy bull, frozen semen, extenders

ผลงานวิชาการทะเบียนเลขที่ 49(3)-0208-205

¹ Lamphayaklang Livestock Semen Production Center, Lamsonthi, Lopburi, 15190

บทนำ

การแช่แข็งน้ำเชื้อพ่อพันธุ์โคนมนั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มจำนวนโคนมพันธุ์ดี และสามารถกระจายพันธุ์กรรมที่มีลักษณะดีถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกหลานที่ห่างไกลได้ โดยอาศัยน้ำเชื้อแช่แข็งในการผสมเทียม ซึ่งการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งให้มีคุณภาพดีนั้นส่วนประกอบที่สำคัญนอกจากน้ำเชื้อสดจากพ่อพันธุ์โคนมแล้ว สิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ

ปัจจุบันน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อมีหลายชนิดที่ผลิตออกมาในรูปแบบน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสำเร็จรูป ซึ่งมีส่วนประกอบแตกต่างกันไปโดยเฉพาะสารลดการเสียหายของตัวอสุจิขณะลดอุณหภูมิถึงจุดเยือกแข็งที่นิยมและใช้กันแพร่หลายมาเป็นเวลานานคือไข่แดง ซึ่งเป็นส่วนผสมประมาณ 25 % ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ (Ahmad and Foote, 1984) จึงเรียกน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อชนิดนี้ว่า Egg Yolk Tris ซึ่งมีไข่แดง และ glycerol ช่วยลดความเสียหายหรือการตายของตัวอสุจิในขณะลดอุณหภูมิไปยังจุดเยือกแข็ง (Gil et al., 1999) แต่ปัจจุบันมีการคิดค้นและดัดแปลงวิธีการ โดยการนำไข่แดงมาผ่านขบวนการไอออนไนเซชัน (ionization) ซึ่งเป็นขบวนการทำให้สารประกอบขนาดใหญ่แตกตัวออกเป็นสารประกอบขนาดเล็กและช่วยลดความเสียหายของตัวอสุจิขณะทำการแช่แข็งน้ำเชื้อ (F Macro-Jiménez et al., 2004) และยังช่วยลดการปนเปื้อนของ bacteria บางชนิดที่ติดมากับไข่แดงสดที่ใช้เป็นส่วนผสมในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่เตรียมขึ้นเอง นอกจากนี้ยังมีการใช้สารประกอบจากพืชมาเป็นส่วนผสมในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อด้วย สารดังกล่าว ได้แก่ lecithin ในถั่วเหลืองซึ่งน่าจะมีคุณสมบัติเป็นสารลดการเสียหายของอสุจิขณะลดอุณหภูมิถึงจุดเยือกแข็งได้อีกตัวหนึ่ง เนื่องจาก lecithin จัดอยู่ในกลุ่ม lipoprotein เช่นเดียวกับไข่แดง แต่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ง่ายกว่าไข่แดง (Viviana et al., 2003)

การศึกษครั้งนี้เพื่อเปรียบเทียบชนิดของน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อโคได้แก่ Egg Yolk Tris ที่มีไข่แดงเป็นส่วนประกอบพื้นฐาน น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสำเร็จรูปที่มีชื่อการค้าว่า Optidyl® (Bio-vet, France) ซึ่งมีไข่แดงที่ผ่านขบวนการ ionization เป็นส่วนผสมและ Bioexcel® (IMV, France) ที่มีถั่วเหลืองเป็นส่วนผสม สำหรับใช้เป็นทางเลือกในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งโคนมให้มีคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งที่ดีเพื่อนำไปใช้ในการผสมเทียมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. พอ์พันธุ์โคนมโฮลสไตน์-ฟรีเชียน จำนวน 3 ตัว นำมารีดเก็บน้ำเชื้อโดยใช้กระบอกรีดเก็บน้ำเชื้อ Artificial Vagina ตัวละ 1 ครั้ง/สัปดาห์ ติดต่อกัน 5 สัปดาห์

2. แบ่งน้ำเชื้อที่รีดเก็บได้เป็น 3 ส่วน เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแต่ละชนิด ให้มีความเข้มข้น 80 ล้านตัว/มล. ดังนี้

ส่วนที่ 1 ผสมด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Egg Yolk Tris (tris 30.28g, citric acid 17.00g, fructose 12.50g, demineralised water 920ml, glycerol 80ml, egg yolk 20%) และยาปฏิชีวนะที่ใช้ผสมในน้ำยาเจือจาง Egg Yolk Tris คือ penicillin G sodium 4,000,000 IU, streptomycin sulfate 4g (ชาลี, 2544)

ส่วนที่ 2 ผสมด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Optidyl[®] (tris diluent with ionized egg yolk, penicillin, streptomycin , spectinomycin, lincomycin)

ส่วนที่ 3 ผสมด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Bioexcel[®]

3. นำน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแต่ละชนิดจากพอ์โคแต่ละตัวมาทำการตรวจดังนี้

3.1 ตรวจค่าการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (motility) โดยวิธีประเมินด้วยสายตา (Lagerlof N, 1962)

3.2 ตรวจเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตด้วยวิธี Osmotic resistance test (ORT) 100 mOsmol/L (sodium citrate 7.35 g, fructose 13.51 g, distilled water 1500 ml) (IAEA, 2005) โดยนับจำนวนตัวอสุจิที่หางออกจากจำนวนตัวอสุจิที่นับทั้งหมด 200 ตัว และคำนวณเป็นร้อยละของจำนวนตัวอสุจิที่นับทั้งหมด ทำ 3 ซ้ำ (Revell and Mrode, 1994)

3.3 ตรวจเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตด้วยวิธี Eosin-nigrosin นับจำนวนตัวอสุจิมีชีวิตจากจำนวนตัวอสุจิที่นับทั้งหมด 200 ตัว และคำนวณเป็นร้อยละของจำนวนตัวอสุจิที่นับทั้งหมด ทำ 3 ซ้ำ (Salisbury et al., 1978)

3.4 ตรวจนับความผิดปกติของโครโมโซมของตัวอสุจิ ตามวิธีของ Way et al (1995)

4. นำน้ำเชื้อหลังผสมน้ำยาละลายแต่ละชนิดมาบ่มในตู้ (equilibrate) ที่อุณหภูมิ 5°C นาน 4 ชั่วโมง

5. หลังบ่มแล้วนำน้ำเชื้อที่ผสมด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแต่ละชนิดของพอ์โคแต่ละตัวมาบรรจุหลอดขนาด 0.25 มล. (French ministraw) ด้วยเครื่องบรรจุอัตโนมัติ เรียงบนแท่นเรียงหลอดน้ำเชื้อ แล้วแช่แข็งในไอของไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -140°C เวลา 6 นาที เก็บหลอดน้ำเชื้อในถังเก็บน้ำเชื้อที่มีไนโตรเจนเหลวอุณหภูมิ -196°C

6. สุ่มน้ำเชื้อแช่แข็งจำนวน 3 หลอด จากพอ์โคแต่ละตัว และจากน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแต่ละชนิด มาตรวจคุณภาพ โดยแช่ในน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37 ± 1 °C 30 วินาที เช็ดหลอดให้แห้ง ตัดปลายให้น้ำเชื้อหยดลงใน

หลอดแก้ว ตรวจค่าการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิโดยวิธีประเมินด้วยสายตา เพอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตตรวจด้วยวิธี ORT และวิธี Eosin-nigrosin และความผิดปกติของโครโซม

วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS) รุ่น 6.12 วิเคราะห์ข้อมูลและความแปรปรวน (ANOVA) แบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ผลการทดลอง

ค่าการเคลื่อนที่ของตัวอสุจีก่อนแช่แข็งและหลังละลาย จากการศึกษาน้ำเชื้อพ่อพันธุ์โคนมครั้งนี้พบว่า เมื่อนำน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Optidyl[®] Bioexcel[®] และ Egg Yolk Tris ได้ค่าการเคลื่อนที่ของตัวอสุจีก่อนแช่แข็งและหลังละลายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิในน้ำเชื้อโคนมก่อนและหลังการแช่แข็งในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสามชนิด

น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ	จำนวน ตัวอย่าง (N)	ค่าเฉลี่ยการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (Motility)	
		ก่อนการแช่แข็งน้ำเชื้อ (%) ($\bar{x} \pm SE$)	หลังการแช่แข็งน้ำเชื้อ (%) ($\bar{x} \pm SE$)
Optidyl [®]	15	74.3 $\pm$ 0.82	43.0 $\pm$ 1.27
Bioexcel [®]	15	75.0 $\pm$ 0.84	40.7 $\pm$ 1.07
Egg Yolk Tris	15	73.0 $\pm$ 0.81	39.3 $\pm$ 1.53

เพอร์เซ็นต์ความผิดปกติของโครโซมของตัวอสุจิ น้ำเชื้อพ่อพันธุ์โคนมที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อทั้งสามชนิดให้ค่าความผิดปกติของโครโซมทั้งก่อนแช่แข็งและหลังแช่แข็งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของอโครโซมของตัวอสุจิในน้ำเชื้อโคนมก่อนและหลังการแช่แข็งในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสามชนิด

น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ	จำนวน ตัวอย่าง (N)	เปอร์เซ็นต์ความผิดปกติของอโครโซม	
		ก่อนการแช่แข็งน้ำเชื้อ (%) ($\bar{x} \pm SE$)	หลังการแช่แข็งน้ำเชื้อ (%) ($\bar{x} \pm SE$)
Optidyl [®]	15	17.6 $\pm$ 0.75	41.2 $\pm$ 0.82
Bioexcel [®]	15	18.0 $\pm$ 0.53	38.9 $\pm$ 1.08
Egg Yolk Tris	15	16.7 $\pm$ 0.51	38.9 $\pm$ 0.79

เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตก่อนการแช่แข็งและหลังการแช่แข็งน้ำเชื้อตรวจด้วยวิธี ORT ในน้ำเชื้อที่ใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Optidyl[®] และ Egg Yolk Tris ได้เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตก่อนการแช่แข็งและหลังแช่แข็งสูงกว่าน้ำเชื้อที่ใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Bioexcel แต่ไม่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตในน้ำเชื้อโคนมก่อนและหลังการแช่แข็งในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสามชนิดตรวจด้วยวิธี ORT

น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ	จำนวน ตัวอย่าง (N)	เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิต (Sperm Viability)	
		ก่อนการแช่แข็งน้ำเชื้อ (%) ($\bar{x} \pm SE$)	หลังการแช่แข็งน้ำเชื้อ (%) ($\bar{x} \pm SE$)
Optidyl [®]	15	68.5 $\pm$ 2.25	24.9 $\pm$ 2.00
Bioexcel [®]	15	64.3 $\pm$ 2.23	21.7 $\pm$ 2.32
Egg Yolk Tris	15	65.1 $\pm$ 2.25	28.7 $\pm$ 2.35

เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตก่อนการแช่แข็งและหลังการแช่แข็งน้ำเชื้อตรวจด้วยวิธี Eosin-nigrosin น้ำเชื้อฟอพันธุโคที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อทั้งสามชนิดให้เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตก่อนการแช่แข็งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมีชีวิตหลังการแช่แข็งน้ำเชื้อนั้นน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Optidyl[®] และ Bioexcel[®] ให้ค่าสูงกว่าน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Egg Yolk Tris แต่ไม่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมิชีวิตในน้ำเชื้อโคนมก่อนและหลังการแช่แข็งในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสามชนิด ตรวจด้วยวิธี Eosin-nigrosin

น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ	จำนวน ตัวอย่าง (N)	เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมิชีวิต (Sperm Viability)	
		ก่อนการแช่แข็งน้ำเชื้อ (%) ($\bar{x} \pm SE$)	หลังการแช่แข็งน้ำเชื้อ (%) ($\bar{x} \pm SE$)
Optidyl [®]	15	90.5 $\pm$ 1.01	74.8 $\pm$ 2.34
Bioexcel [®]	15	91.2 $\pm$ 1.43	73.1 $\pm$ 2.08
Egg Yolk Tris	15	92.1 $\pm$ 0.82	68.3 $\pm$ 1.98

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาคณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งพ่วงพันธุ์โคนมที่ใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ 3 ชนิด ในการทดลองครั้งนี้พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่มีแนวโน้มว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางที่มีไข่แดงเป็นองค์ประกอบ (Optidyl[®], Egg Yolk Tris) มีคุณภาพ (ค่าการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิหลังการแช่แข็ง และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมิชีวิตตรวจ) ดีกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารสกัดจากถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบ (Bioexcel[®]) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Thun et al., (2002) ที่พบว่าคุณภาพน้ำเชื้อโคแช่แข็งที่ใช้น้ำยาเจือจาง Egg Yolk Tris ดีกว่าน้ำเชื้อที่เจือจางด้วยสารสกัดจากถั่วเหลืองและการศึกษาของศักดิ์ชัยและคณะ (2548) ที่พบว่าน้ำเชื้อกระบือแช่แข็งที่มีไข่แดงเป็นองค์ประกอบ ให้ค่าการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิหลังการแช่แข็ง และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมิชีวิตสูงกว่าน้ำเชื้อกระบือแช่แข็งที่มีสารสกัดถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบ ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Gil J. et al. (1999) ที่พบว่า Biociphos-Plus[®] (สารสกัดจากถั่วเหลืองเป็นองค์ประกอบ) มีค่าการเคลื่อนที่ที่ดีกว่า Trilady[®] (ไข่แดงเป็นองค์ประกอบ) แต่อัตราการผสมติดไม่แตกต่างกันเช่นเดียวกับรายงานของ Bousseau et al. (1998) ที่พบว่าการใช้ Egg Yolk Tris และสารสกัดจากถั่วเหลืองเป็นน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ ไม่ทำให้อัตราการผสมติดแตกต่างกัน

การศึกษานี้พบว่า น้ำเชื้อที่เจือจางด้วยน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Optidyl[®] Bioexcel[®] และ Egg Yolk Tris ค่าการเคลื่อนที่ของอสุจิหลังละลาย และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิมิชีวิต ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) ดังนั้นหากต้องการผลิตน้ำเชื้อเพื่อการผสมเทียม สามารถใช้น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ โดยทำให้คุณภาพน้ำเชื้อภายหลังละลายมีคุณภาพไม่แตกต่างกัน แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถของผู้ใช้ ซึ่ง Optidyl[®] และ Bioexcel[®] เป็นน้ำยาเจือจางสำเร็จรูปที่ง่ายต่อการเตรียมและนำไปใช้ แต่มีราคาค่อนข้างสูงและมีข้อจำกัดเกี่ยวกับระยะเวลาในการเก็บรักษาค่อนข้างสั้น ส่วนน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Egg Yolk Tris เหมาะ

สำหรับห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องมือและอุปกรณ์พร้อม ซึ่งมีราคาต้นทุนการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งต่ำกว่าน้ำยาเจือจางสำเร็จรูปทั้งสองชนิด

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ น.สพ. ภาณุพันธ์ พงษ์เพ็ง น.สพ. สิ้นชัย วิโรจน์วุฒิกุล ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษา และอนุเคราะห์วัสดุอุปกรณ์ในการศึกษาวิจัย สพ.ญ. รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล คุณจรัรัตน์ แสนโภชน ที่กรุณาให้คำแนะนำในการศึกษาวิจัย คุณนรินทร์ จาริ คุณสายแก้ว แก้วเกิด และเจ้าหน้าที่ของศูนย์ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ผสมเทียมลำพญากลาง ทุกท่านที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- ชาลี ลีละสิริ, 2544. รายงานเบื้องต้นของการใช้ยาปฏิชีวนะ Penicillin & Streptomycin 4 เท่าของขนาดปกติในน้ำยาเจือจาง เพื่อควบคุมเชื้อ *Leptospira* spp. เอกสารการประชุมของผสมเทียม 10 กันยายน 2544.
- ศักดิ์ชัย พยุงวิวัฒนกุล, และอภิรักษ์ อุทธา, 2548. ผลการใช้สารละลายน้ำเชื้อที่มีส่วนผสมของไข่แดงกับสารละลายน้ำเชื้อที่มีส่วนผสมของสารสกัดตัวเหลืองต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์กระบือปลัก.วารสารปศุสัตว์เขต4. 20:26-30.
- Ahmad, K., & Foote, R.H. 1984. Motility and fertility of froze bull spermatozoa in tris-yolk and milk extenders containing amikacin sulfate. J. Dairy Sci. 68: 2083-2086.
- Bousseau, S., Brillard, J.P., Marquant-Le, G.B., Guerin, B., Camus, A. and Lechat, M. 1998. Comparison of bacteriological qualities of various egg yolk sources and the in vitro and in vivo fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or lecithin based diluents. Theriogenology.50:699-706.
- F Marco-Jiménez, S Puchades,E Mocé, MP viudes-de-Cartro, JS Vicente and M Rodríguez. 2004. Use of Powdered Egg Yolk vs Fresh Egg Yolk for the Cryopreservation of Ovine Semen. Reproduction in Domestic Animals39:438.(Abstract)
- Gil, j., a. Januskauskas, M. Ch. Haard, M.G.M. Haard, A. Johannisson, L. Soderquist and H Rodriguez-Martinez. 1999. Functional sperm parameters and fertility of bull semen extended in Biociphos-Plus[®] and Triladyl[®]. Evaluation of post-thaw sperm quality in the bull and ram with special emphasis on semen processing. Uppsala. Swedish .

- IAEA. 2005. Improving artificial breeding of cattle and buffalo in Asia Guidelines and recommendation. 51.
- Lagerlof N.,1962.Thiry years experiences with a sperm laboratory for domestic animals. Zooet.e Vet. 17:343-348.
- Revell, S.G., and Mrode, R.A. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. Animal Reproduction Science. 36:77-86.
- Salisbury, G.W., N.L. Vandemark and J.R. Lodge.1978. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle. University of Illinois, U.S.A.
- Thun R., Hurtado M. and Janett F. Comparison of Biociphos-Plus[®] and This-egg yolk extender for cryopreservation of bull semen. Theriogenology.57:1087-1094.
- Viviana, A.A.,K. Hinsch, F. Mueller-Schloesser, K. Bogner, S. Mueller-Schloesser and E.Hinsch 2003. In vitro and in vivo comparison of egg yolk – based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. Theriogenology 60:269-279.
- Way, A.L., M.A. Henault and G.L. Killian.1995. Comparison of four staining methods for evaluating acrosome status and viability of efacutated and cauda epididymal bull spermatozoa. Theriogenology 43:1301-1316.

ผลของขนาดฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ต่อการเพิ่มการตกไข่และจำนวนตัวอ่อน ในโคขาวลำพูน

ณรงค์ เลี้ยงเจริญ^{1*} อนนท เทืองสันเทียะ¹ วิบูลย์ เยี่ยงวิศวรร² และ มาลี อภิเมธีธำรง²

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อการศึกษา ผลของฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ขนาด 150 และ 200 มก. ต่อการเพิ่มการตกไข่และจำนวนตัวอ่อนในโคขาวลำพูน แม่โคขาวลำพูน 56 ตัว ถูกแบ่งแบบสุ่มเป็น 2 กลุ่มๆ ละ 28 ตัว คือ กลุ่มที่ 1: FSH 150 มก. และกลุ่มที่ 2: FSH 200 มก. โคทั้ง 2 กลุ่ม ได้รับการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR-B และ PGF_{2α} และกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วย FSH (Folltropin[®]-V) ตามขนาดที่กำหนด ผสมเทียมเมื่อเป็นสัดด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งโคขาวลำพูน ทำการนับ CL และเก็บตัวอ่อน วันที่ 7 หลังเป็นสัด ผลการศึกษพบว่า จำนวน CL ในกลุ่มที่ 1 (150 มก.) 11.75 ± 0.97 และ กลุ่มที่ 2 (200 มก.) 10.71 ± 1.23 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) นอกจากนี้จำนวนตัวอ่อนของทั้งสองกลุ่มที่คุณภาพ A, C, D+UFO และ Transferable (1.0 ± 0.97 , 0.93 ± 0.26 ; 0.46 ± 0.15 , 0.36 ± 0.19 ; 2.79 ± 0.75 , 3.32 ± 0.88 ; 2.54 ± 0.57 , 1.82 ± 0.49 ; ตามลำดับ) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) แต่ตัวอ่อนคุณภาพ B ของกลุ่ม 1 และ 2 มีจำนวนที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (1.07 ± 0.32 และ 0.54 ± 0.17 ; $P < 0.05$)

การศึกษานี้พบว่าฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ขนาด 150 และ 200 มก. ให้ผลไม่แตกต่างต่อการเพิ่มการตกไข่และจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ในโคขาวลำพูน

คำสำคัญ: โคขาวลำพูน, ตัวอ่อนคุณภาพดี, ฮอร์โมน เอฟ เอส เอช

^{1*} ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อน ปากช่อง นครราชสีมา กรมปศุสัตว์

² สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

* ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ

Effect of FSH Doses on Superovulation Response and Embryo Yield in Kao Lum Poon Cattle

Narong Leangchareon^{1*}, Anone Thuangsanthia¹
Viboon Yiengvisavakul² and Malee Apimeteetumrong²

Abstract

The objective of this study was to investigate the effect of FSH doses on superovulatory responses in Kao Lum Poon, a Thai native cattle (*Bos indicus*). Cyclic Kao Lum Poon cows (n=56) were assigned randomly into 2 groups (n=28 in each group). Group1: treated with 150 mg. FSH and Group2: treated with 200 mg. FSH. All cows were estrous synchronized with CIDR-B[®] and Prostaglandin F_{2α}. On day 9 of CIDR-B[®] implantation, both groups were injected with Folltropin[®]-V (FSH) twice daily for 3 days in decreasing doses according to its dose assignment, 150 or 200mg. On the last day of FSH injection, PGF_{2α} was given and CIDR-B[®] was removed. On standing heat, cows were artificial inseminated with same semen batch of a Kao Lum Poon bull. Corpus luteum were determined by rectal palpation and embryos were collected on day 7 after estrous. Result showed non significant difference of CL numbers in group 1 and 2 (11.75±0.99 and 10.71±1.23; P>0.05). Numbers of embryo grade A,C,D+UFO and Transferable were also not significantly different in group1 and 2 (1.0±0.3, 0.46±0.15, 2.79±0.76 ,2.54±0.57 and 0.93±0.26, 0.36±0.19, 3.32±0.88, 1.82±0.5, respectively; P>0.05). However, numbers of grade B embryo were significantly different between group 1 and 2 (1.07±0.32 and 0.54±0.17; P<0.05). This study revealed that 150 and 200mg. of FSH did not give different results in numbers of CL and transferable embryos in Kao Lum Poon cattle.

Keyword: Kao Lum Poon Cattle, transferable embryo, FSH

¹ Embryo Transfer Technology Research Center, Pakchong, Nakhonrachasima, Department of Livestock Development.

² Bureau of Biotechnology in Livestock Production, Department of Livestock Development.

* Corresponding author

บทนำ

โคชาวลำพูนเป็นโคพื้นเมืองไทย ที่มีถิ่นเฉพาะในภาคเหนือของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตจังหวัดลำพูนและเชียงใหม่ โคชาวลำพูนเป็นโคที่มีลักษณะสวยงามใช้ในพระราชพิธีพืชมงคล ซึ่งมีความสำคัญต่อวัฒนธรรมและประเพณีของประเทศไทย โคชาวลำพูนจัดเป็น *Bos indicus* (Fischer, 1975) ที่มีความต้านทานต่อโรค, แมลง และทนสภาวะแห้งแล้งในเขตร้อนชื้นของประเทศไทย (ชวนิศนดากร, 2509) แต่ด้วยการเปลี่ยนแปลงทางเศรษฐกิจและสังคม ปัจจุบันจำนวนโคชาวลำพูนลดลงอย่างมากและควรได้รับการอนุรักษ์พันธุ์กรรม (Yiengvisavakul, 1997) รวมทั้งเพิ่มจำนวนเพื่อประโยชน์ในด้านอื่นๆ

เทคโนโลยีการเพิ่มการตกไข่ด้วยฮอร์โมน การย้ายฝากตัวอ่อน และการแช่แข็งตัวอ่อน จะเป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มจำนวนโคชาวลำพูน รวมทั้งอนุรักษ์พันธุ์กรรม การเพิ่มการตกไข่ด้วยฮอร์โมน เอฟ เอส เอช (Follicle Stimulating Hormone; FSH) มีการดำเนินการอย่างแพร่หลายในโคนม ซึ่งเป็น *Bos taurus* มีรายงานว่า *Bos indicus* มีการตอบสนองต่อฮอร์โมน เอฟ เอส เอช มากกว่า *Bos taurus* ซึ่ง Lewis, 1992 รายงานว่าสามารถให้ฮอร์โมนในขนาดที่น้อยกว่าที่ใช้ใน *Bos taurus* 25-30% อนนท์และคณะ, 2547 รายงานว่าฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ที่ขนาด 260 มก. กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคชาวลำพูนและได้ตัวอ่อนคุณภาพดี (Transferable quality) เฉลี่ย 1.59 ตัวอ่อนต่อแม่โคตัวให้ 1 ตัว และตัวอ่อนที่นำไปแช่แข็งได้เฉลี่ย 1.11 ตัวอ่อนต่อแม่โคตัวให้ 1 ตัว วิบูลย์และคณะ (ข้อมูลยังไม่ได้ตีพิมพ์) ศึกษาพบว่าฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ขนาด 200 มก. กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคชาวลำพูนและได้ตัวอ่อนคุณภาพดีเฉลี่ย 2.20 ตัวอ่อนต่อโคตัวให้ 1 ตัว และตัวอ่อนที่นำไปแช่แข็งได้เฉลี่ย 1.20 ตัวอ่อนต่อโคตัวให้ 1 ตัว มีแนวโน้มว่าขนาดของฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ที่น้อยกว่า 260 มก. อาจจะให้ผลที่ดีต่อการตอบสนองของการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่และจำนวนตัวอ่อนคุณภาพดี เช่นโคชาวลำพูน

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อเปรียบเทียบฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ขนาด 150 และ 200 มก. ที่มีผลต่อการเพิ่มการตกไข่ในโคชาวลำพูน

อุปกรณ์และวิธีการ

แม่โคชาวลำพูนจำนวน 56 ตัว อายุ 4-8 ปี น้ำหนัก 250-350 กก. มีสุขภาพและระบบสืบพันธุ์สมบูรณ์ รวมทั้งมีวงจรการเป็นสัดปกติ แม่โคทั้งหมดได้รับการจัดการด้านอาหารและการเลี้ยงแบบเดียวกัน แบ่งแม่โค 56 ตัวนี้แบบสุ่มเป็น 2 กลุ่มๆละ 28 ตัว คือ

กลุ่มที่ 1 : จะได้รับฮอร์โมน เอฟ เอส เอช 150 มก. (Folltropin®-V, Bioniche Animal Health (A/Asia) Pty.Ltd., Australia)

กลุ่มที่ 2 : จะได้รับฮอร์โมนเอฟ เอส เอช 200 มก.(Folltropin®-V, Bioniche Animal Health (A/Asia) Pty.Ltd., Australia)

แม่โคทั้งหมดถูกเหนี่ยวนำการเป็นสัดและฉีดฮอร์โมนเพิ่มการตกไข่วิธีเดียวกัน ตามแบบวิธี อนันท์และคณะ, 2547 กล่าวโดยย่อคือ แม่โคจะได้รับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ชนิดสอดช่องคลอด (CIDR-B®, InterAg, New Zealand) และในวันที่ 9 หลังสอด CIDR-B®

กลุ่มที่ 1: ได้รับฮอร์โมน เอฟ เอส เอช 150 มก. ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ 2 ครั้ง เข้า – เย็น ห่างกัน 12 ชม. แบบลดขนาด 3 วัน (35 , 25 และ 15 mg)

กลุ่มที่ 2: ได้รับฮอร์โมน เอฟ เอส เอช 200 มก. ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ 2 ครั้ง เข้า – เย็น ห่างกัน 12 ชม. แบบลดขนาด 3 วัน (50 , 30 และ 20 mg)

ในเช้าวันที่ 11 หลังสอด CIDR-B® ทำการฉีด Synthetic Prostaglandin F_{2α} 500 µg.(Extrumate®, 250 µg/ml Cloprostenol, Schering-Plough Animal Health, NSW, Australia) เข้ากล้ามเนื้อทั้ง 2 กลุ่ม และทำการดึง CIDR-B® ออกในช่วงบ่าย สังเกตการเป็นสัด และผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งโคขาวลำพูนจากพ่อโคตัวเดียวกันและ ทำการแช่แข็งครั้งเดียวกัน ผสมเทียม 3 ครั้ง ห่างกัน 10 ชั่วโมง พร้อมทั้งฉีดฮอร์โมน Gonadotrophic releasing hormone (Receptal®, Intervet International B.V., Holland) 5 มล. เข้ากล้ามเนื้อหลังผสมเทียมครั้งแรก ดำเนินการนับ Corpusluteum (CL) บนรังไข่ และเก็บตัวอ่อน ในวันที่ 7 หลังแม่โคเป็นสัด ซึ่งดำเนินการโดยเจ้าหน้าที่คนเดียวกัน ทั้ง 2 กลุ่ม

เพื่อให้ดำเนินการแบบเดียวกันนี้วันละ 8 ตัว โคกลุ่มที่ 1 และ 2 กลุ่มละ 4 ตัว รวม 8 ตัวจะถูกเหนี่ยวนำการเป็นสัดและเพิ่มการตกไข่ด้วยฮอร์โมนในแต่ละครั้งที่ดำเนินการ ดังนั้นจึงมีการดำเนินการ 7 ครั้ง (ครั้งละ 8 ตัว) ทำการนับ CL และเก็บตัวอ่อนตามวิธี อนันท์ และคณะ, 2547 โดยดำเนินการสลับกันระหว่างกลุ่ม 1 และ 2 จนครบทั้ง 8 ตัว ใน 1 วัน ทำการนับจำนวน CL บนรังไข่ทั้ง 2 รัง โดยการสังเกตทางทวาร ถ้ามี CL น้อยกว่า 3 ถือว่ารังไข่ไม่มีการตอบสนอง ทำการประเมินคุณภาพตัวอ่อนที่เก็บได้โดยวิธี Linder และ Wrigth, 1983 โดยย่อคือ

เกรด A: ตัวอ่อนคุณภาพดีมาก มีพัฒนาการปกติ ลักษณะของเซลล์ตัวอ่อนหรือบลาสโตเมียร์ ต้องเป็นทรงกลมเกาะกันแน่น ไม่มีเซลล์แตก

เกรด B: ตัวอ่อนคุณภาพดี มีพัฒนาการปกติ ลักษณะของตัวอ่อนเป็นทรงกลม มีบางเซลล์แยกออกจากมวลกลุ่มเซลล์ 10-20 % ของเซลล์ทั้งหมด

เกรด C: ตัวอ่อนคุณภาพพอใช้ ตัวอ่อนอาจมีรูปร่างไม่เป็นทรงกลม มีการเสื่อมของเซลล์ประมาณ 30-40%

เกรด D: เป็นตัวอ่อนที่มีการเสื่อมของเซลล์มาก มีเซลล์ที่ยังเกาะกันแน่นต่ำกว่า 40%

UFO: (unfertilized oocyte) คือไข่ที่ไม่ปฏิสนธิ

เกรด Transferable: เป็นตัวอ่อนคุณภาพดีที่สามารถนำไปฝากให้ตัวรับได้ (Transferable quality) ซึ่งเป็นตัวอ่อนที่มีคุณภาพ A ถึง C ส่วนตัวอ่อนเกรด A และ B เป็นตัวอ่อนที่นำไปแช่แข็งได้

รวบรวมผลการศึกษาและวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ Student's t-test.

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการศึกษานี้พบว่า จำนวน CL ของกลุ่ม 150 มก. คือ 11.75 ± 0.97 และกลุ่ม 200 มก. คือ 10.70 ± 1.23 (ตารางที่ 1) ไม่แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ในการศึกษาของ Barati et al., 2006 ที่ศึกษาผลของขนาด FSH (Folltropin® -V) ที่ 120, 160 และ 200 มก. ในโค Iranian *Bos indicus* beef cattle (Sistani) ต่อจำนวน CL ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของทั้ง 3 ขนาด FSH. Nasser et al., 2003 พบว่า Folltropin® -V ขนาด 133 มก. ให้ผลดีในการตอบสนองของรังไข่ในโค Nelore (*B.indicus*) ในขณะที่ Barros et al., 2003 รายงานว่าที่ 200 มก. ได้ผลดีในโคพันธุ์นี้ มีการศึกษาในโคบราห์มัน แสดงให้เห็นว่า Folltropin® -V ขนาด 200 มก. ได้ผลตอบสนองดีในโคสาว (heifer) (Niasari-Naslaji, A., 1995) และในแม่โค (COW) ที่ 240 มก. (Krininger et al., 2003) จากรายงานการศึกษาต่างๆ ดังกล่าวพบว่าผลของขนาด FSH (Folltropin® -V) ที่ประมาณ 200 ± 60 mg. ต่อการตอบสนองของรังไข่ในโค *Bos indicus* แสดงให้เห็นว่า FSH ขนาดน้อยกว่าที่ใช้ในโค *Bos taurus* 25-30% ก็ให้ผลการตอบสนองที่ดีของรังไข่ในโค *Bos indicus*

นอกจากนี้ อนนท์และคณะ 2547 ทดลองใช้ Folltropin® -V ขนาด 260 มก. ในโคขาวลำพูน ได้ตัวอ่อนคุณภาพดีเฉลี่ย 1.59 ตัวอ่อนต่อ 1 โคตัวให้ ในขณะที่วิบูลย์ และคณะ (ผลการศึกษายังไม่เผยแพร่) พบว่าที่ 200 มก. สามารถเก็บตัวอ่อนคุณภาพดีได้เฉลี่ย 2.20 ตัวอ่อนต่อ 1 โคตัวให้ อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาที่ยังไม่เผยแพร่ของ Barati et al., สังเกตว่า Folltropin® -V ขนาด 250 มก. ทำให้รังไข่ได้รับการกระตุ้นมากเกินไปและมีจำนวนฟอลลิเคิลที่ไม่ตกไข่มาก เป็นที่น่าสังเกตในการศึกษานี้คือ แม้จะใช้ FSH ขนาด 150 และ 200 มก. ซึ่งเป็นขนาดที่ไม่สูง แต่แม่โคตัวทั้งหมดให้การตอบสนองที่ดีคือมี $CL \geq 4$

จำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ ซึ่งแยกตามคุณภาพของตัวอ่อนคือ A,B,C, D+UFO (ไม่มีการปฏิสนธิ) และ Transferable (ตัวอ่อนคุณภาพย้ายฝากได้) แสดงในตารางที่ 1 ซึ่งจะเห็นว่า จำนวนตัวอ่อนในกลุ่มคุณภาพ A,C และ D+UFO ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง กลุ่มที่ 1 และ 2 (150 และ 200 มก.) คือ 1.0 ± 0.3 , 0.93 ± 0.26 ; 0.46 ± 0.15 , 0.36 ± 0.19 ; 2.79 ± 0.75 , 3.32 ± 0.88 ; 2.54 ± 0.57 , 1.82 ± 0.49 ; ตามลำดับ ($P > 0.05$) แต่จำนวนตัวอ่อนคุณภาพ B มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ระหว่างกลุ่มที่ 1 และ 2 (1.07 ± 0.32 และ 0.54 ± 0.17 ; $P < 0.05$) อย่างไรก็ตามจำนวนตัวอ่อน Transferable ซึ่งมีคุณภาพ A ถึง C ของกลุ่มที่ 1 และ 2 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (2.56 ± 0.57 และ 1.82 ± 0.47 ; $P > 0.05$)

Barati et al., 2006 รายงานว่า Folltropin ขนาด 120, 160 และ 200 มก. ไม่ก่อให้เกิดความแตกต่างของจำนวนตัวอ่อนคุณภาพ D+UFO แต่พบว่าแม่โค (*B. indicus*) ที่ได้รับ FSH 200 มก. และแสดงอาการสัดที่ 8.00 น. (ตามแผนการทดลอง) มีจำนวนตัวอ่อนมากกว่าแม่โคกลุ่ม 120 และ 160 มก. อย่างมีนัยสำคัญ

ความแตกต่างในการตอบสนองการกระตุ้นการตกไข่ในโคเป็นอุปสรรคสำคัญในวงการผลิตปศุสัตว์ แม้จะมีการศึกษามากมายของปัญหานี้ แต่ก็ยังตอบปัญหาได้น้อยกว่า 40% จึงนำไปสู่สมมุติฐานที่ว่า อาจเป็นลักษณะทางชีววิทยาที่เกี่ยวข้องกับลักษณะคัดเลือกตามธรรมชาติ (Hahn, J., 1992) Peixoto et al., 2004 รายงานว่า ค่าทางพันธุกรรมในโคนม มีผลต่อการตอบสนองต่อการกระตุ้นการตกไข่และผลิตตัวอ่อน การศึกษาปัญหานี้มีกาดำเนินการมากในโคนม แต่ในโคเนื้อโดยเฉพาะอย่างยิ่งโคพื้นเมืองไทยยังมีน้อย และความแตกต่างในการตอบสนองการกระตุ้นการตกไข่ในโคเนื้อ และ *Bos indicus* ก็น่าจะเป็นปัญหาหนึ่งเช่นกัน จึงควรต้องมีการศึกษาเพิ่มขึ้นในเรื่องความแตกต่างในการตอบสนองการกระตุ้นการตกไข่ในโคเนื้อ และ *Bos indicus*

จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า FSH ที่ขนาด 150 และ 200 มก. ให้ผลที่ไม่แตกต่างในการกระตุ้นการตกไข่ในโคขาวลำพูน เห็นได้จากจำนวน CL จำนวนของตัวอ่อนคุณภาพย้ายฝากได้ (Transferable) และจำนวนตัวอ่อนคุณภาพไม่ดี ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ จะเห็นได้ว่าผลการศึกษานี้และการศึกษาทำนองเดียวกันที่กล่าวแล้วแสดงผลในทางเดียวกันและเนื่องจากฮอร์โมนกระตุ้นเพิ่มการตกไข่มีราคาแพงดังนั้นการศึกษานี้อาจเป็นประโยชน์ในการใช้พิจารณาแผนการใช้ฮอร์โมนกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคเนื้อ *Bos indicus* แต่อย่างไรก็ดีควรมีการศึกษาเพิ่มขึ้นในเรื่องการตอบสนองการกระตุ้นการตกไข่ในโคเนื้อ และ *Bos indicus*

ตารางที่ 1: ผลของ เอฟ เอส เอช (150 และ 200 มก.) ต่อจำนวน CL จำนวนและคุณภาพตัวอ่อนโค ขาวลำพูน

กลุ่มที่	เอฟ เอส เอช มก.	จำนวน CL	จำนวนและคุณภาพตัวอ่อน ^{1/}				
			A	B	C	D+UFO	Transferable
1	150 (n = 28)	11.75±0.97 ^a	1.0±0.30 ^a	1.07±0.32 ^a	0.46±0.15 ^a	2.79±0.7 ^{5a}	2.54±0.57 ^a
2	200 (n = 28)	10.71±1.2 ^{3a}	0.93±0.26 ^a	0.54±0.17 ^b	0.36±0.19 ^a	3.32±0.8 ^{8a}	1.82±0.49 ^a

^{1/} ตัวอักษรที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันไม่มีความแตกต่างกันที่ความเชื่อมั่น 95%

UFO : unfertilized oocyte

Transferable: ตัวอ่อนที่มีคุณภาพ A ถึง C

เอกสารอ้างอิง

- ชวนิศนดากร วรวรรณ ม.ร.ว: 2509 วัวไทยสำหรับใช้เป็นวัวเนื้อ วารสารสัตวบาล 17,589.
- อนนท์ เทื่องสันเทียะ, วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกร, ณรงค์ เลี้ยงเจริญ, กิรติ ธิแจ้, บุญชู ศรีสุข และจรัรัตน์ สำเร็จ ประสงค์. 2547. การตอบสนองของโคพันธุ์ขาวลำพูนต่อการกระตุ้นการตกไข่. การประชุมวิชาการสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 30. วันที่ 10-12 พฤศจิกายน 2547. กรุงเทพมหานคร.
- Barati,F; Niasari_Naslaji,A; Bolourchi,M; Sarhaddi,F; Razavi,K; Naghzali,E and Thatcher,WW. 2006. Superovulatory response of Sistani cattle to three different doses of FSH during winter and summer. *Theriogenology*;66:1149-1155.
- Barros CM; Porto,LPC; Noguera MFG. 2003. Does-responsetrial in Bos Taurus vs. Bos indicus cows superovulated with FSH, associated with controlled LH surge and fixed time artificial insemination. *Theriogenology* 59:524 (abstr.).
- Hahn,J. 1992. Attempts to explain and reduce variability of superovulation. *Theriogenology* 38:269-275.
- Krininger III CE; Block,J; Al-Katanani YM; Rivera, RM; Chase Jr,CC; Hansen,PJ. 2003. Differences between Brahman and Holstein cows in response to estrous synchronization, superovulation and resistanceof embryos to heat shock. *Anim.Reprod.Sci.* 78:13-24.
- Lewis,I.1996. Programming donors and recipients. In:Embryo transfer and pregnancy diagnosis. NSW: Post Graduate Committee in Veterinary Science, University of Sydney. Pp.69-88.
- Linder,GM and Wright,RW.1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*;20:407-416.
- Nasser,LF; Bo,GA;Reis,LE; Menegati,JA; Marques,MO. Mapletoft,RJ.et al.2003. Superovulatory response during the first follicular wave in Nelore (*Bos Indicus*) donors. *Theriogenology*;59:530(abstr.).
- Niasari-Naslaji,A.1995. Studies on estrous synchronization and superovulation following controlled ovarian follicular development in dairy and beef cattle, Ph.D. Thesis. Brisbane, Australia: University of Queensland.
- Peixoto, M.G.C.D; Pereira,CS; Bergmann,JAG; Penna,VM; and Fonseca,CG. 2004. Genetic parameters of multiple ovulation traits in Nelore females. *Theriogenology*.62(8):1459-1464.

Yiengvisavakul,V.1997. Proceeding of the Third Regional Training Workshop on the Conservation of Domestic Animal Diversity and the Fourth National Coordinators'Meeting.22-31 July 1997, Bangkok,Thailand.pp.75-77.

การจำแนกเชื้อเลปโตสไปราชนิดก่อโรคและชนิดไม่ก่อโรคด้วยวิธีโพลีเมอเรสเซนรีแอกชันเพื่อนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพน้ำเชื้อโค

รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล¹ ดวงใจ สุวรรณเจริญ² ศุภจิต สระเพชร³ และ กนกพร ไตรวิทยากร³

บทคัดย่อ

การทดลองเพื่อจำแนกเชื้อเลปโตสไปราชนิดก่อโรค *Leptospira interrogans* (*L. interrogans*) และชนิดที่ไม่ก่อโรคคือ *Leptospira biflexa* (*L. biflexa*) ด้วยวิธีโพลีเมอเรสเซนรีแอกชันเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจหาเชื้อเลปโตสไปราในน้ำเชื้อโค โดยใช้ตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปรากลุ่มที่ก่อโรค (pathogenic group) จำนวน 22 ซีโรวาร์ และกลุ่มที่ไม่ก่อโรค (non-pathogenic group) จำนวน 3 ซีโรวาร์ สกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปราด้วย Aqua Pure Genomic DNA Kit ตรวจสอบเชื้อเลปโตสไปราด้วยเทคนิคโพลีเมอเรสเซนรีแอกชันโดยใช้ primer ซึ่งมีความจำเพาะต่อ 16S rRNA คือ G1/G2, S3a/S3b, S4a/S4b, L3/L4, Lepat1/Lepat2, Sapro1/Sapro2, patoc1/patoc2, spe1/spe2 และ lepto1/lepto2 เมื่อแยกผลผลิต PCR พบว่า lepto1/lepto2 (F1: GTCAAACGGGTAGCAATACC R:GTCCGCCTACACACCCTTTAC) สามารถตรวจสอบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างของเชื้อเลปโตสไปรากลุ่มที่ก่อโรคและไม่ก่อโรคได้แต่ 1% agarose gel ให้ผลไม่ชัดเจนเท่า 5% denaturing polyacrylamide gel ซึ่งพบว่าเชื้อเลปโตสไปรากลุ่มที่ก่อโรคปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 503bp กลุ่มที่ไม่ก่อโรคปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 493bp ในขณะที่ *L. ranarum* พบแถบดีเอ็นเอ 2 แถบ ที่มีขนาด 503bp และ 493bp เมื่อหาลำดับเบสของแถบดีเอ็นเอพบว่าแถบขนาด 503bp และ 493bp ที่พบใน *L. ranarum* มีลำดับเบสที่เหมือนกับแถบดีเอ็นเอจากเชื้อเลปโตสไปรากลุ่มที่ก่อโรคและกลุ่มที่ไม่ก่อโรคตามลำดับ อย่างไรก็ตามการใช้ polyacrylamide gel ในการวิเคราะห์นั้นมีความยุ่งยากมากกว่าการใช้ agarose gel ดังนั้นการศึกษาในขั้นตอนต่อไปคือการพัฒนา primers ที่สามารถจำแนกผลผลิต PCR จากเชื้อเลปโตสไปรากลุ่มที่ก่อโรคและกลุ่มที่ไม่ก่อโรคได้อย่างชัดเจนบน agarose gel

คำสำคัญ: เชื้อเลปโตสไปรา โพลีเมอเรสเซนรีแอกชัน ก่อโรค ไม่ก่อโรค

¹สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี

²กลุ่มงานเลปโตสไปโรซิส สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ บางเขน กทม.

³สถาบันอณูชีววิทยา และพันธุศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ตำบลศาลายา อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม

PCR-based Method for Identification of Pathogenic and Non-pathogenic *Leptospira* spp. for
Application in Quality Control of Cattle Semen

Rapiphan Uavechanichkul¹ Duangjai Suwanchareon² Supachit Sapeth³ and Kanokporn
Triwitayakorn³

Abstract

In this project, PCR (Polymerase Chain Reaction) technique was applied to differentiate pathogenic and non-pathogenic leptospires. The reference 25 *Leptospira* spp. consisting of 22 pathogenic and 3 non-pathogenic serovars were isolated using Aqua Pure Genomic DNA Kit. Genomic DNA samples were then subjected to the PCR reactions. The reactions performed using 16S rRNA specific primers; G1/G2, S3a/S3b, S4a/S4b, L3/L4, Lepat1/Lepat2, Sapro1/Sapro2, patoc1/patoc2, spe1/spe2 and lepto1/lepto2 and analyzed on 1% agarose gel electrophoresis. The results showed different patterns of PCR products of the pathogenic and the non-pathogenic *Leptospira* spp. using the lepto1/lepto2 primers (F1: GTCAAACGGGTAGCAA TACC R:GTCCGCCTACACACCCTTTAC). However, the differences of the DNA patterns on 1% agarose gels are difficult to be observed when compare to the use of 5% denaturing polyacrylamide gels. On 5% denaturing polyacrylamide gels, non-pathogenic *Leptospira* spp. showed 493bp DNA fragment, while those pathogenic showed 503bp DNA fragment, except the *L. ranarum* that had both of 493 and 503bp fragments. However, using acrylamide gel is more complicated comparing with the agarose gel. Therefore, the next step of this project is to develop a new primer that can be well differentiated the pathogenic and the non-pathogenic *Leptospira* spp. on agarose gel.

Key Words : *Leptospira* Polymerase Chain Reaction Pathogenic Non-pathogenic

¹ Bureau of Biotechnology in Animal Production, Department of Livestock Development, Tiwanond rd. Bangkadi, Pathumthani 12000

² National Institute of Animal Health. Department of Livestock Development, Bangkaen, Bangkok.

³ Institute of Molecular Biology and Genetics. Mahidol University, Salaya, Nakhonpathom 73170

คำนำ

โรคเลปโตสไปโรซิสเป็นโรคติดต่อจากสัตว์สู่คน สาเหตุของโรคเกิดจากแบคทีเรียชนิด สไปโรชีต จีโนสเลปโตสไปรา (*Leptospira*) ซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่มโดยอาศัยคุณสมบัติทางอิมมูโนวิทยา คือกลุ่มที่ก่อโรค *Leptospira interrogans* (*L. interrogans*) และกลุ่มที่ไม่ก่อโรคคือ *Leptospira biflexa* (*L. biflexa*) สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเป็นแหล่งรังโรคที่สำคัญ สัตว์ที่เป็นพาหะอาจไม่แสดงอาการแต่เชื้อจะอยู่ที่ท่อไต (renal tubule) และปนเปื้อนออกมากับปัสสาวะได้เป็นเวลานาน เชื้อสามารถไชเข้าสู่ร่างกายทางผิวหนังหรือโดยการกินอาหารและน้ำที่มีเชื้อปนเปื้อน สัตว์ที่ดื่มทั้งอาจแท้ง ลูกตายคลอด ผสมติดยากและผลผลิตน้ำนมลด โคเพศผู้ที่เป็นพาหะสามารถปล่อยเชื้อออกมาในน้ำเชื้อโดยไม่แสดงอาการ เชื้อสามารถอยู่ในน้ำเชื้อแช่แข็งที่ใช้ผสมเทียมทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการแพร่โรคไปยังโคตัวเมีย

การตรวจซีรัมพอกโคเพื่อหาแอนติบอดีต่อโรคโรคเลปโตสไปโรซิสด้วยวิธี Microscopic agglutination test (MAT) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานโดยใช้แอนติเจนเชื้อเลปโตสไปรา 23 ซีโรวาร์ (panel antigen) นั้น ผู้ตรวจต้องมีความชำนาญเฉพาะต้องใช้เวลาและสายตาย่างมากจากการตรวจผ่านกล้องจุลทรรศน์เพื่อให้ทราบว่ามีแอนติบอดีที่พบบนอยู่ในกลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคหรือไม่ แล้วจึงยืนยันผลการตรวจด้วยวิธีเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้ออีกครั้งซึ่งต้องใช้เวลาแรมเดือนและโดยมากจะมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นทำให้ไม่สามารถทราบผลการตรวจได้แน่นอน

ปัจจุบันจึงมีการใช้เทคนิคการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของเชื้อหรือวิธี PCR (Polymerase Chain Reaction) ซึ่งมีความแม่นยำและรวดเร็วมาช่วยในการตรวจหาเชื้อเลปโตสไปรา โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อ 16S rRNA (Faber et al., 2000) 23S rRNA (Woo et al., 1997) และ repetitive elements (Zuerner et al., 1997) ทำให้แยกความแตกต่างระหว่างเชื้อเลปโตสไปราในกลุ่มที่ก่อโรคและไม่ก่อโรคได้ (Shukla et al., 2003) ในตัวอย่างต่างๆ เช่น ปัสสาวะ (Brown et al., 1995) เลือด (Merien et al., 1992) นม (Zanini et al., 1998) และน้ำเชื้อโค (Heinemann et al., 1999) การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์และจำแนกเชื้อเลปโตสไปราก่อนก่อโรคและไม่ก่อโรคด้วยเทคนิค PCR เพื่อที่จะนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาเชื้อเลปโตสไปราในน้ำเชื้อพอกโคที่จะใช้สำหรับการผสมเทียมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปรา ตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปราที่ใช้ในการศึกษารังนี้ได้จากสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ โดยแบ่ง เป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ก่อโรค (pathogenic group) และกลุ่มที่ไม่ก่อโรค (non-pathogenic group) (ตารางที่ 1) ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 28°C และมีจำนวนเชื้อเลปโตสไปราประมาณ 10^8 cells/ml

การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปรา ดีเอ็นเอตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปราถูกสกัดโดยการ ใช้ Aqua Pure Genomic DNA Kit โดยนำตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปราปริมาณ 3ml บั่นด้วยความเร็วรอบ 10,000 rpm ที่ส่วนบนและละลายส่วนตะกอนด้วย 300µl genomic DNA lysis แล้ว บ่มที่ 80°C นาน 5 นาที จากนั้นเติม 4 µl RNase A (10 mg/ml) เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่ 37°C นาน 45 นาที และเติม 100 µl protein precipitation solution ผสมให้เข้ากัน นำไปบั่นที่ความเร็วรอบ 13,000 rpm นาน 3 นาที แยกส่วนของสารละลายกับตะกอนออกจากกัน โดยดูดส่วนของสารละลายไว้ในหลอดขนาด 1.5ml ตกตะกอนดีเอ็นเอโดยการเติม 300µl 100% isopropanol ผสมให้เข้ากันโดยการพลิกหลอดไปมาและวางไว้ที่อุณหภูมิ -20°C นาน 30 นาที จากนั้นบั่นด้วยความเร็วรอบ 13,000 rpm นาน 1 นาที เทส่วนสารละลายใสทิ้งและล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 300µl 70% ethanol แล้วบั่นให้ตกตะกอนด้วยความเร็วรอบ 10,000 rpm เป็นเวลา 1 นาที เทสารละลายใสทิ้งและวางตะกอนดีเอ็นเอไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ ethanol ระเหยประมาณ 15 นาที จากนั้นจึงละลายตะกอนดีเอ็นเอด้วย DNA hydration buffer หรือ double distilled water แล้วเก็บไว้ที่ -20°C

การตรวจสอบเชื้อเลปโตสไปราด้วยเทคนิค PCR การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วย primer ซึ่งมีความจำเพาะต่อ 16S rRNA (ตารางที่ 2) โดยปฏิกิริยา PCR ในปริมาณ 20µl ประกอบด้วย 20 ng genomic DNA 2.5 pmole primer 1.5 mM MgCl₂ 200 µM dNTPs 50 mM KCl 10 mM Tris-HCl 0.1% Triton X-100 และ 1U Taq DNA polymerase และใช้ PCR cycle ดังนี้ 1) denaturation 94°C 1 นาที และตามด้วย 35 รอบของ denaturation 94°C 1 นาที annealing (แสดงในตารางที่ 2) 1 นาที และ extension 72°C 2 นาที และ final extension ที่ 72°C 10 นาที นำผลผลิต PCR ที่ได้มาแยกบน 1% agarose gel และย้อมด้วย ethidium bromide หรือแยกบน 5% denaturing polyacrylamide gel ย้อมด้วย silver nitrate เพื่อเปรียบเทียบขนาดของผลผลิต PCR

ตารางที่ 1 แสดงตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปราที่ใช้ในการศึกษา

Classification	Species	Serovar
Pathogenic groups	<i>L. interrogans</i>	autumnalis
		bataviae
		bratislava
		canicola
		djasiman
		hebdomadis
		icterohaemorrhagiae
		pyrogenes
	<i>L. borgpetersenii</i>	javanica
		ballum
		mini
		tarassovi
		sejroe
	<i>L. santrosai</i>	shermani
	<i>L. kirschneri</i>	grippotyphosa
		cynopteri
	<i>L. weilii</i>	celledoni
		sarmin
	<i>L. meyeri</i>	ranarum
	<i>L. noguchii</i>	louisiana
		panama
Non-pathogenic groups	<i>L. biflexa</i>	patoc
		andamana
		maintenon

ตารางที่ 2 แสดงลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษา

Name	Sequence (5'-3')	Tm (°C)	Size (bp.)
G1 ^a	F: CTGAATCGCTGTATAAAAGT	51	285
G2 ^a	R: GAAGGCTGGTAAACAAAAGG		
S3a ^b	F: GCGGATATGGGAAGCTTAGAACT	66	253
S3b ^b	R: CCGAACTGTAGCCGAAGAAGAA		
S4a ^b	F: TCCTTTTGGCGATTTAGCAGAA	57	152
S4b ^b	R: CGTGTCCGGAGTAGAAGTGAATGT		
L3 ^c	F: TGAGGGTTAAAACCCCCAAC	57	660
L4 ^c	R: GAT(CTG)T(GTA)(CT)(GA)GGTAAAGATT(CT)ATT		
Lepat1 ^c	F: GAGTCTGGGATAACTTT	48	370
Lepat2 ^c	R: TCACATCG(Y)TGCTTATTTT		
Sapro1 ^c	F: AGAAATTTGTGCTAATACCGAATGT	63	240
Sapro2 ^c	R: TGAGGGTTAAAACCCCCAAC		
Patoc1 ^d	F: GGCGAACGGGTGAGTAAGAT	55	454
Patoc2 ^d	R: CTAGCGATTCCGACTTCATGG		
Spe1 ^d	F: CGCTGGCGGCGCGTCTTAAA	54	631
Spe2 ^d	R: TTCACCGCTACACCTGGAA		
Lepto1 ^d	F1: GTCAAACGGGTAGCAATACC	53	503
Lepto2 ^d	R: GTCCGCCTACACACCCTTTAC		

a: Marluce et al., 2003

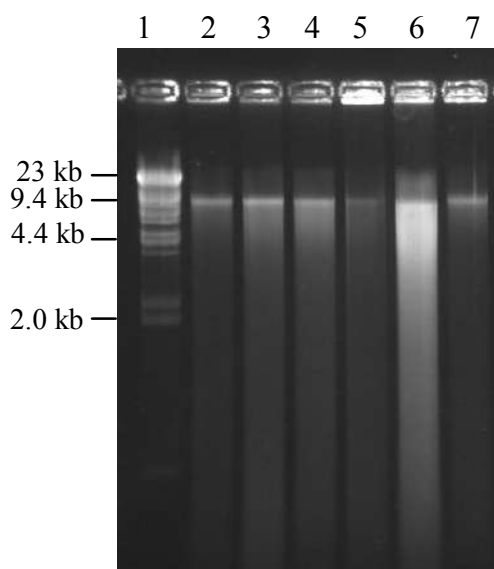
b: Paula et al., 2002

c: Murgia et al. 1997

d: Shukla et al. 2003

ผล

การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปรา จากการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปรา โดยใช้ AquaPure Genomic DNA kit และนำดีเอ็นเอที่ได้มาวัดความเข้มข้นด้วยเครื่อง Spectrophotometer คำนวณโดยใช้สูตร $DNA = 50 \times OD_{260} \times 50$ (dilution factor) ตรวจสอบคุณภาพโดยการวิเคราะห์บน 1% agarose gel พบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีความเข้มข้นประมาณ 2 - 0.2 $\mu g/\mu l$ และมีคุณภาพดี ดังแสดงในรูปที่ 1 และตารางที่ 3



รูปที่ 1 แสดงตัวอย่าง genomic DNA ของเชื้อเลปโตสไปราบน 1% agarose gel

เลนที่ 1 คือ λ /HindIII DNA marker

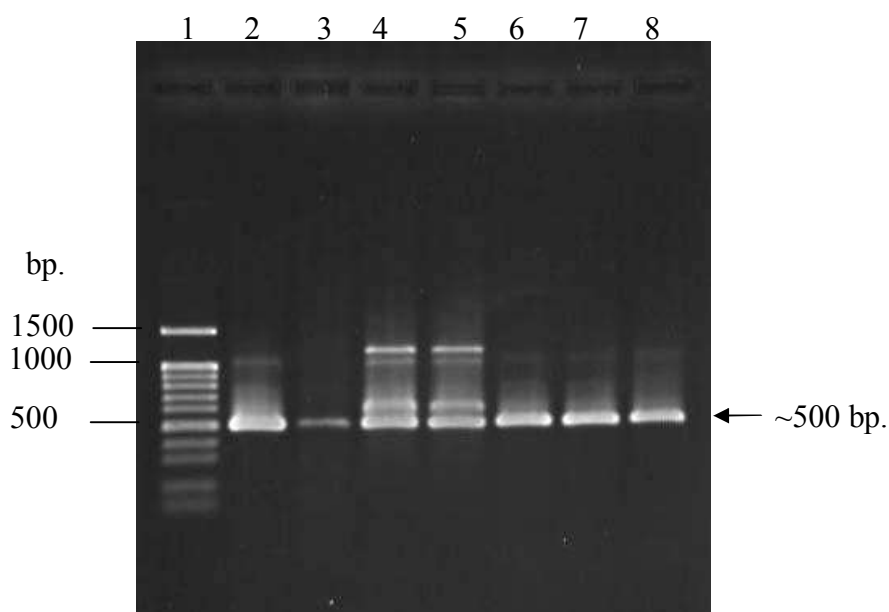
เลนที่ 2 ถึง 7 คือ genomic DNA ของ *L. autumnalis*, *L. bataviae*, *L. djasiman*,

L. hebdomadis, *L. tarassovi* และ *L. shermani*

ตารางที่ 3 แสดงความเข้มข้นของ genomic DNA ที่สกัดจากตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปรา

Species	Serovar	DNA concentration (ng/μl)
<i>L. interrogans</i>	autumnalis	512.5
	bataviae	1315.0
	bratislava	307.5
	canicola	955.0
	djasiman	717.5
	hebdomadis	512.5
	icterohaemorrhagiae	240.0
	pomona	517.5
	pyrogenes	417.5
<i>L. borgpetersenii</i>	javanica	1037.5
	ballum	1410.0
	mini	922.5
	tarassovi	2012.5
	sejroe	1515.0
<i>L. santrosai</i>	shermani	860.0
<i>L. kirschneri</i>	grippotyphosa	805.0
	cynopteri	692.5
<i>L. weilii</i>	celledoni	1835.0
	sarmin	11075.5
<i>L. meyeri</i>	ranarum	2072.5
<i>L. noguchii</i>	louisiana	1140.0
	panama	390.0
<i>L. biflexa</i>	patoc	1082.5
	andamana	1036.1
	maintenon	980.6

การตรวจสอบเชื้อเลปโตสไปราด้วยเทคนิค PCR เมื่อนำดีเอ็นเอของเชื้อเลปโตสไปราไปเพิ่มจำนวนด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ primers G1/G2, S3a/S3b, S4a/S4b, L3/L4, Lepat1/Lepat2, Sapro1/Sapro2, patoc1/patoc2, spe1/spe2 และ lepto1/lepto2 ที่จำเพาะต่อ 16S rRNA และนำผลผลิต PCR ที่ได้มาแยกขนาดชิ้นส่วนดีเอ็นเอบน 1% agarose gel ย้อมด้วย ethidium bromide พบว่า primer lepto1/lepto2 สามารถตรวจสอบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างของเชื้อเลปโตสไปราในกลุ่มที่ก่อโรคและไม่ก่อโรคบน 1% agarose gel ได้แต่ยังไม่ชัดเจนนัก โดยเชื้อเลปโตสไปราในกลุ่มที่ไม่ก่อโรค (*L. patoc*, *L. andamana* และ *L. maintainon*) ปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 500 bp ซึ่งมีขนาดใกล้เคียงกับแถบดีเอ็นเอของตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปราในกลุ่มที่ก่อโรค (*L. interrogans*) แต่อยู่ในตำแหน่งที่ต่ำกว่าเล็กน้อยดังแสดงในรูปที่ 2



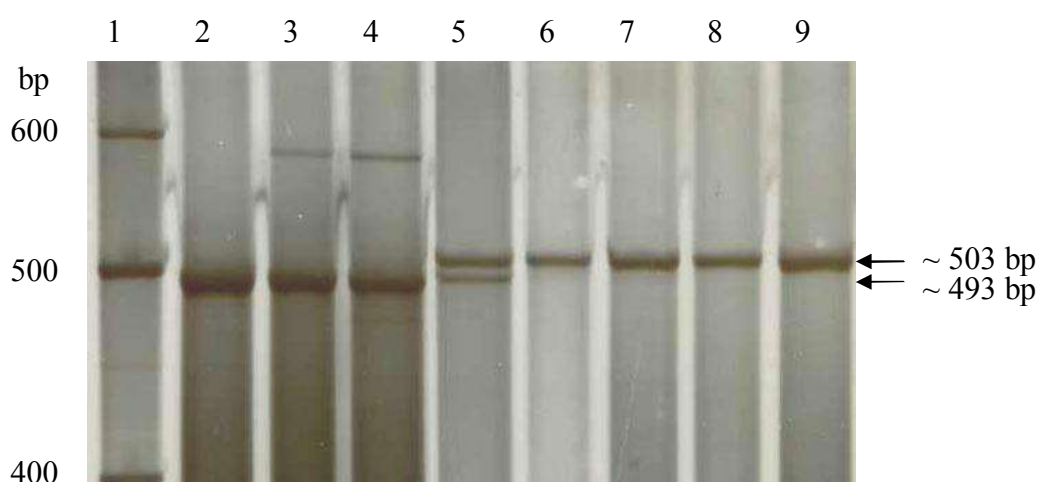
รูปที่ 2 แสดงผลผลิตของ PCR บน 1% agarose gel โดยใช้ primer lepto1/2

เลนที่ 1 คือ 100 bp + 1.5 kb DNA marker

เลนที่ 2 ถึง 8 คือ เชื้อเลปโตสไปรา *L. patoc*, *L. ranarum*, *L. andamana*, *L. maintainon*,

L. ballum, *L. javanica* และ *L. grippotyphosa*

เพื่อแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอระหว่างตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปร่าในกลุ่มที่ก่อโรค และไม่ก่อโรคให้ชัดเจนขึ้น จึงนำผลผลิต PCR ไปแยกขนาดบน 5% denaturing polyacrylamide gel แล้วย้อมด้วย silver พบว่าสามารถมองเห็นความแตกต่างระหว่างตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปร่ากลุ่มที่ก่อโรคและกลุ่มที่ไม่ก่อโรคได้อย่างชัดเจน (รูปที่ 3 และตารางที่ 4) โดยเชื้อเลปโตสไปร่ากลุ่มที่ไม่ก่อโรคปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 493bp (เลนที่ 2, 3 และ 4) ส่วนในกลุ่มที่ก่อโรคปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 503bp. (เลนที่ 6, 7, 8 และ 9) ในขณะที่ในเชื้อเลปโตสไปร่า *L. ranarum* พบแถบดีเอ็นเอ 2 แถบ ที่มีขนาด 503 bp และ 493 bp (เลนที่ 5) เมื่อหาลำดับเบสของแถบดีเอ็นเอพบว่าแถบขนาด 493 bp และ 503 bp ที่พบในเชื้อเลปโตสไปร่า *L. ranarum* มีลำดับเบสที่เหมือนกับแถบดีเอ็นเอจากเชื้อเลปโตสไปร่าในกลุ่มที่ก่อโรคและกลุ่มที่ไม่ก่อโรคตามลำดับ



รูปที่ 3. แสดงผลผลิตของ PCR บน 5% denaturing polyacrylamide gel เมื่อใช้ primer leptot1/leptot2

เลนที่ 1 คือ 100 bp. + 1.5 kb DNA marker

เลนที่ 2 ถึง 4 คือ เชื้อเลปโตสไปร่ากลุ่มที่ไม่ก่อโรค *L. patoc*, *L. andamana*, *L. maintainon*

เลนที่ 5 ถึง 9 คือ เชื้อเลปโตสไปร่ากลุ่มที่ก่อโรค *L. ranarum*, *L. louisiana*, *L. panama*, *L. bratislava* และ *L. autumnalis*

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอระหว่างตัวอย่างเชื้อเลปโตสไปรากกลุ่มที่ก่อโรคและไม่ก่อโรค

Species	Serovar	16S rRNA gene PCR	
		503 bp.	493 bp.
<i>L. interrogans</i>	autumnalis	+	-
	bataviae	+	-
	bratislava	+	-
	canicola	+	-
	djasiman	+	-
	hebdomadis	+	-
	icterohaemorrhagiae	+	-
	pomona	+	-
	pyrogenes	+	-
<i>L. borgpetersenii</i>	javanica	+	-
	ballum	+	-
	mini	+	-
	tarassovi	+	-
	sejroe	+	-
<i>L. santrosai</i>	shermani	+	-
<i>L. kirschneri</i>	grippotyphosa	+	-
	cynopteri	+	-
<i>L. weilii</i>	celledoni	+	-
	sarmin	+	-
<i>L. meyeri</i>	ranarum	+	+
<i>L. noguchii</i>	louisiana	+	-
	panama	+	-
<i>L. biflexa</i>	patoc	-	+
	andamana	-	+
	maintenon	-	+

วิจารณ์และสรุป

การตรวจสอบเชื้อเลปโตสไปราด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อ 16S rRNA เพื่อแยกความแตกต่างระหว่างเชื้อเลปโตสไปรากลุ่มที่ก่อโรคและกลุ่มที่ไม่ก่อโรค พบว่าไพรเมอร์ Lepto1/Lepto2 ที่ได้จากการทดลองนี้สามารถแยกความแตกต่างระหว่างเชื้อเลปโตสไปราทั้งสองกลุ่มได้บน 5% denaturing polyacrylamide gel ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการตรวจหาเชื้อเลปโตสไปราในน้ำเชื้อโค แต่อย่างไรก็ตามขั้นตอนในการแยกขนาดของผลผลิตดีเอ็นเอจาก PCR บน 1% acrylamide gel มีความยุ่งยากและความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอมีเพียง 10 ลำดับเบส ดังนั้น แผนการดำเนินงานขั้นต่อไปจะทำการศึกษาเพื่อพัฒนาไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะสามารถจำแนกเชื้อเลปโตสไปราทั้งสองกลุ่มโดยการการแยกขนาดผลผลิตดีเอ็นเอจาก PCR บน 1% agarose gel ให้ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ทั้งนี้เพื่อให้สะดวกต่อการนำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ในงานประจำและมีต้นทุนต่ำกว่าการใช้ polyacrylamide gel นอกจากนี้จะทำการศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการประยุกต์ผลการศึกษาที่ได้จากการวิจัยนี้ไปใช้เพื่อพัฒนาชุดตรวจจำแนกเชื้อเลปโตสไปรากลุ่มที่ก่อโรคและไม่ก่อโรคในน้ำเชื้อโคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Brown, P.D., Gravekamp, C., Carrington, D.G., Van de Kemp, H., Hartskeerl, R.A., Edwards, C.N., Everard, C.O.R., Terpstra, W.J., Levett, P.N. 1995. Evaluation of the polymerase chain reaction for early diagnosis of *leptospirosis*. J. Med. Microbiol. 43:110-114.
- Faber, N.A., Crawford, M., LeFebvre, R.B., Buyukmihci, N.C., Madigan, J.E., Willits, N.H. 2000. Detection of *Leptospira* spp. in the aqueous humor of horses with naturally acquired recurrent uveitis. J. Clin. Microbiol. 38(7):2731-2733.
- Heinemann, M. B., Garcia, J. F., Mines, C.M., Morais, Z. M., Gregori, F., Cortez, A., Vasconcellos, S. A., Visintin, J. A., Richtzenhain, L.J. 1999. Detection of leptospires in bovine semen by polymerase chain reaction. Aust. Vet. J. 77(1):32-34.
- Merien, F., Amouriaux, P., Perolat, P., Baranton, G., Saint Girons, I. 1992. Polymerase Chain Reaction for detection of *Leptospira* spp. in clinical samples. J. Clin. Microbio. 30:2219-2224.
- Shukla, J., Tuteja, U., Batre, H.V. 2003. 16S rRNA PCR for Differentiation of pathogenic and nonpathogenic and *Leptospira* isolation. Indian J. Med. Microbiol. 21(1):25-30.

- Woo, T.H.S., Smythe, L.D., Symonds, M.L., Norris, M.A., Dohnt, M.F., Patel, B.K.C. 1997. Rapid distinction between *Leptospira interrogans* and *Leptospira biflexa* by PCR amplification of 23S ribosomal DNA. FEMS Microbiol. Lett. 150:9-18.
- Zanini, M.S., Moreira, E.C., Lopes, M.T.P., Mota, P., Salas, C.E. 1998. Detection of *Mycobacterium bovis* in milk by polymerase chain reaction. J. Vet. Med. B. 45:473- 479.
- Zuerner, R. L., Bolin, C. A. 1997. Differentiation of *Leptospira interrogans* isolates by IS1500 hybridization and PCR assays. J. Clin. Microbiol. 35:2612–2617.

บทความ : ความคิดรวบยอดเบื้องต้นและตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลแบ่งกลุ่มสำหรับ ข้อมูลการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพ

วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา^{1*} และ ศร อภิปฏิมากร²

บทคัดย่อ

การวัดจำนวนมากในงานผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเป็นข้อมูลเชิงกลุ่ม ตัวอย่างเช่น อัตราผสมติด อัตราการคลอด หรือ อัตราการเจริญพร้อมปฏิสนธิ บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อแสดงการใช้วิธีการทางสถิติบางวิธีที่เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงกลุ่มในการวิเคราะห์ข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับงานผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพพร้อมทั้งตัวอย่าง บทความนี้อธิบายถึงวิธีการในการทดสอบหาความสัมพันธ์จากตารางการจลน์แบบ 2x2 เช่น วิธีการไคว์สแคว, วิธีการไคว์สแควของ เยท, วิธีการทดสอบเอ็กแซกของฟิชเชอร์ และวิธีการใหม่ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลที่มีจำนวนไม่มากนักอย่าง เอ็กแซก โลจิสติก รีเกรสชัน ซึ่งมีประโยชน์สำหรับข้อมูลเชิงกลุ่มที่มีค่า 2 ค่าที่มีจำนวนข้อมูลไม่มากนัก นอกจากนี้ยังนำเสนอถึงวิธีการสร้างตัวแบบแบบต่างๆ สำหรับการอธิบายผลจากการวัดที่เป็นข้อมูลเชิงกลุ่มและกลุ่มตัวแปรอิสระที่ใช้ในการอธิบาย เช่น การสร้างตัวแบบความถดถอยโลจิสติกและการสร้างตัวแบบเจนเนอรัลไรซ์ เอสดีเมตติง อีควชัน ตัวอย่างที่ใช้ทั้งหมดวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมทางสถิติหรือระบาดวิทยาที่เป็นที่นิยมได้แก่ SAS, Statistix, Systat และ LogXact โดยโปรแกรมบางโปรแกรมสามารถนำมาใช้ได้ในลักษณะการทดลองใช้แบบเต็มความสามารถ

คำสำคัญ: การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงกลุ่ม ข้อมูลการผสมเทียม การวิเคราะห์ทางสถิติ

¹ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ. เมือง จ.เชียงใหม่ 50100

² ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50300

*ผู้รับผิดชอบบทความ Email: pveerasak@yahoo.com

Topics in Basic concepts and examples for categorical data analysis for artificial insemination
and biotechnology data

Veerasak Punyapornwithaya^{1*} and Sorn teepratimakorn²

Abstract

Many measurements in artificial insemination (AI) and biotechnology works are categorical data. The common examples are conception rate, calving rate or maturation rate. This article aims to demonstrate the using some statistical methods in categorical analysis to analyze AI and biotechnology data with examples. This article discusses procedures for testing the association in 2x2 tables such as Chi-Square test, Yate's Chi-square test, Fishers's exact test and a recent available method as Exact logistic regression which is useful for analyzing small binary data. It also presents various modeling method for explanation a categorical outcome and a set of dependent variables such as logistic regression model and generalized estimating equation (GEE) model. All examples was analyzed by various well known statistical software including SAS, Statistix, Systat and LogXact and some of these are available to use as trial programs with full functions.

Key words: Categorical data analysis, artificial insemination data, statistical analysis

¹ Faculty of Veterinary Medicine, ChiangMai University, Muang, Chiangmai 50100

² ChiangMai Artificial Insemination Research and Biotechnology Center, Muang, ChiangMai 50200

*Corresponding author: Email: pveerasak@yahoo.com

บทนำ

ปัจจุบันโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติได้มีการพัฒนาไปอย่างมาก เนื่องจากการพัฒนาความสามารถของอุปกรณ์คอมพิวเตอร์ ทำให้การคำนวณหรือการประเมินทางสถิติที่ซับซ้อนสามารถทำได้ง่ายขึ้น เช่น การคำนวณ ความถดถอยโลจิสติกแบบบิโทธิพลผสม หรือ การคำนวณ Exact logistic ที่ต้องใช้ความสามารถของคอมพิวเตอร์อย่างมาก ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีทางเลือกในการวิเคราะห์ข้อมูลมากขึ้น สามารถเลือกใช้ได้อย่างเหมาะสมและสะดวกมากขึ้น

ข้อมูลในงานผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพ (AI-Bio) จำนวนไม่น้อยที่มีลักษณะเป็นข้อมูลเชิงกลุ่ม (categorical data) เช่น อัตราผสมติด อัตราการกลับสัด หรือ อัตราการอยู่รอดของตัวอ่อน เป็นต้น ในอดีตการวิเคราะห์ข้อมูลประเภทนี้โดยส่วนใหญ่ใช้การวิเคราะห์แบบ ไคสแควร์ (chi-square test) ซึ่งในปัจจุบันก็ยังมีรายงานในประเทศไทยไม่น้อยที่ใช้วิธีการนี้ในการวิเคราะห์ข้อมูล AI-Bio ซึ่งบางครั้งพบว่านำไปวิเคราะห์ข้อมูลที่มีลักษณะไม่ตรงกับข้อกำหนด (assumption) ดังนั้นการทบทวนถึงข้อกำหนดในการใช้การทดสอบทางสถิติวิธีการต่างๆจึงเป็นสิ่งสำคัญเพื่อให้การประเมินทางสถิติเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้บทความนี้ได้นำเสนอการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงกลุ่มด้วยวิธีอื่นๆ โดยเฉพาะการวิเคราะห์ในกรณีที่ข้อมูลไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของไคสแควร์ รวมถึงการสร้างหรือประเมินตัวแบบด้วยความถดถอยโลจิสติกซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ที่เป็นพื้นฐานสำหรับข้อมูลเชิงกลุ่มที่มีตัวแปรอิสระหลายตัวแปร (Allison, 1999) เนื่องจากบทความนี้เน้นในทางปฏิบัติดังนั้นจึงไม่ได้นำเสนอสูตรทางคณิตศาสตร์และเน้นไปที่ตัวอย่างซึ่งเกี่ยวข้องกับงาน AI-Bio

จุดประสงค์ของบทความนี้เพื่อแสดงความคิดรวบยอดเบื้องต้นและแสดงตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงกลุ่มทางด้านการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพ

การวิเคราะห์ข้อมูลแบบตาราง 2x2

1. การวิเคราะห์ด้วยวิธีไคสแควร์

บทนำ โดยทั่วไปการวิเคราะห์ไคสแควร์ใช้เพื่อสำหรับการเปรียบเทียบสัดส่วน (proportion) จากข้อมูลเชิงกลุ่มที่มีค่า 2 ค่า (binary outcome) จำนวน 2 กลุ่ม (Agresti, 2002) ในงาน AI-Bio ข้อมูลลักษณะนี้จะเป็นข้อมูลประเภท อัตรา (rate) เช่น อัตราผสมติด อัตราการคลอด หรือ อัตราการกลับสัด และพบได้บ่อยในข้อมูลประเภทการเปรียบเทียบระหว่างการให้ฮอร์โมนกับการไม่ใช้ต่ออารมณ์ผสมติดหรือการเป็นสัด ตัวอย่างอื่นๆได้แก่ การเปรียบเทียบการชะล้างมดลูกด้วยน้ำเกลือกับการไม่ใช้ต่ออัตราผสมติด

การนำไปใช้ ในการใช้การทดสอบไคสแควร์ ข้อมูลต้องมีคุณสมบัติเป็นไปตามข้อกำหนดการกระจายตัวแบบ 2 ทาง (binomial distribution) ที่ปกติ หรือในทางปฏิบัติการศึกษานั้นๆต้องมีจำนวนกลุ่มตัวอย่างมากพอโดยทั่วไปกำหนดไว้ไม่ต่ำกว่า 20 ตัวอย่าง และมีข้อกำหนดว่าจำนวนความถี่ (frequency) ของข้อมูลใน

เซลล์ใดเซลล์หนึ่งของตาราง 2X2 ต้องไม่น้อยกว่า 5 และต้องไม่มีเซลล์ใดที่มีความถี่ของข้อมูลเท่ากับศูนย์ นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ต้องมาจากตัวอย่างจากการสุ่ม (random sample data) หากไม่เป็นไปตามข้อกำหนดนี้ การใช้ Fisher's exact test จะเป็นทางเลือกที่เหมาะสมกว่า (Stokes et al., 2000) แต่อย่างไรก็ตามพบว่ารายงานจำนวนหลายรายงานในประเทศไทยได้ละเลยข้อกำหนดและใช้การทดสอบไคสแควร์โดยที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดจึงทำให้การประเมินมีความคลาดเคลื่อน

ตัวอย่าง ผู้วิจัยต้องการเปรียบเทียบผลการฉีดฮอร์โมนจีเอ็นอาร์เอชกับการไม่ฉีดต่อการผสมติดในแม่โคนมท้องแรกในระยะ 60-90 วันหลังคลอด ซึ่งแม่โคทั้งสองกลุ่มได้รับการจัดการที่ไม่แตกต่างกัน ได้รับการผสมจากผู้ผสมคนเดียวกันและน้ำเชื้อชุดเดียวกัน ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ข้อมูลในลักษณะตาราง 2X2

	จำนวนแม่โคที่ผสมติด	จำนวนแม่โคที่ผสมไม่ติด
กลุ่มฉีดฮอร์โมน	25	15
กลุ่มฉีดน้ำกลั่น	16	24

การวิเคราะห์ ตัวอย่างนี้ทำการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม statistix ซึ่งสามารถดาวน์โหลดเพื่อทดลองใช้นาน 30 วันโดยใช้ได้เต็มความสามารถจาก โปรแกรมนี้เป็นแบบมีเมนูในเลือก ให้ไปที่ Statistics/Association test/ two by two tables จากนั้นจะเห็นตาราง 2X2 ให้ทำการกรอกข้อมูลในตาราง จากนั้นคลิกตกลง ผลที่ได้แสดงดังภาพที่ 1 จากผลการวิเคราะห์สรุปได้ว่าการใช้ฮอร์โมนมีความสัมพันธ์กับการผสมติด หรือ กล่าวได้ว่าแม่โคในกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมนมีอัตราผสมติดดีกว่าแม่โคที่ไม่ได้ฉีดฮอร์โมน

Fisher Exact Tests: Lower Tail 0.0365 Upper Tail 0.0365 Two Tailed 0.0729			
Pearson's Chi-Square	4.05	Yule's Q	0.43
P (Pearson's)	0.0441	SE (Q)	0.1874
Yates' Corrected Chi-Sq	3.20	SE (H0: Q = 0)	0.2237
P (Yates)	0.0735	Yule's Y	0.23

ภาพที่ 1 ผลจากการวิเคราะห์ไคสแควร์ (Pearson's Chi-Square)

หมายเหตุ

ในการวิเคราะห์ไคสแควร์ ยังมีอีกวิธีหนึ่งที่ได้มีการใช้ ซึ่งได้แก่ การวิเคราะห์ด้วยวิธี yate's chi-square เป็นวิธีการที่ใช้สำหรับการปรับความต่อเนื่อง (continuity) โดยการนำ 0.5 ไปลบออกจากจำนวนความถี่ของค่าสังเกตในตาราง 2x2 วิธีการนี้มักจะใช้ในกรณีที่เซลล์ในตาราง 2x2 ที่มีจำนวนความถี่ของ

ข้อมูลน้อยกว่า 5 อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานมากนักเกี่ยวกับการใช้วิธีนี้ในการวิเคราะห์ข้อมูลด้านการผสมเทียม โปรแกรม statistix จะแสดงค่าที่ได้จาก yate's chi-square โดยอัตโนมัติจากการเลือกการวิเคราะห์แบบตาราง 2x2

2.การวิเคราะห์ด้วยวิธีการของฟิชเชอร์

บทนำ Fisher's exact test เป็นวิธีการที่ไม่ใช้พารามเมตริก เนื่องจากไม่ได้คำนึงถึงข้อกำหนดของการกระจายตัวของข้อมูล

การนำไปใช้ การวิเคราะห์ Fisher's exact test ใช้ในกรณีที่ข้อมูลในตารางไม่เป็นไปตามเงื่อนไขของไคสแควร์ ซึ่งได้แก่ ขนาดตัวอย่างไม่มาก หรือมีเซลล์ในตาราง 2x2 ที่มีความถี่น้อยกว่า 5

ตัวอย่าง ผู้วิจัยต้องการเปรียบเทียบว่าอัตราเจริญพร้อมปฏิสนธิ (maturation rate) ของเซลล์ไข่ (oocyte) ที่ได้จากแม่โคที่ได้รับการฉีดฮอร์โมน FSH เพียงอย่างเดียว กับ การฉีดฮอร์โมน FSH ร่วมกับ hCG ว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่ ผู้วิจัยได้แสดงข้อมูลดังตารางที่ 3 ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีจำนวนความถี่ในเซลล์ของตาราง 2X2 บางเซลล์มีค่าน้อยกว่า 5

ตารางที่ 3 ข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์ Fisher's exact test

	จำนวนเซลล์ไข่ที่มีการเจริญพร้อมปฏิสนธิ	จำนวนเซลล์ไข่ที่ไม่พบว่ามี การเจริญพร้อมปฏิสนธิ
กลุ่มฉีดฮอร์โมน FSH	2	9
กลุ่มฉีดฮอร์โมน FSH ร่วมกับ hCG	6	4

การวิเคราะห์ ใช้โปรแกรม systat ซึ่งสามารถดาวน์โหลดเพื่อทดลองใช้ได้นาน 30 วันโดยใช้ได้เต็มความสามารถจาก www.systat.com โปรแกรมนี้ไม่มีตาราง 2X2 ให้เลือกผู้วิจัยต้องกรอกข้อมูลเป็นแม่โคเป็นรายตัวในโปรแกรม หรือสามารถเรียกเข้าสู่โปรแกรมได้หากผู้วิจัยได้กรอกข้อมูลในโปรแกรมประเภทสเปรดชีต เช่น เอ็กเซล มาก่อน

ผลจากการวิเคราะห์แสดงในภาพที่ 2 โดยพบว่าค่า p-value จาก Fisher exact test มีค่า 0.08 และพบค่าเตือนว่ามีจำนวนที่มีความถี่น้อยกว่า 5 ซึ่งจะมีผลต่อการประเมินทางสถิติ ซึ่งคำเตือนนี้เป็นคำเตือนสำหรับการทดสอบไคสแควร์ ดังจะกล่าวโดยละเอียดในหัวข้อถัดไป

WARNING: More than one-fifth of fitted cells are sparse (frequency < 5).
Significance tests computed on this table are suspect.

Test statistic	Value	df	Prob
Pearson Chi-square	3.884	1.000	0.049
Yates corrected Chi-square	2.313	1.000	0.128
Fisher exact test (two-tail)			0.080

ภาพที่ 2 ผลจากการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม systat

3.การวิเคราะห์ด้วย Exact logistic regression

บทนำ เนื่องจากการพัฒนาของอุปกรณ์และโปรแกรมทางคอมพิวเตอร์ ทำให้การคำนวณที่ซับซ้อนของ algorithm และใช้หน่วยความจำอย่างมากของการประเมินด้วย Exact logistic สามารถทำได้ในปัจจุบัน และเป็นวิธีการที่ได้รับการยอมรับอย่างมาก (Mehta and Patel, 1995; Agresti, 2002) โดยพบว่าวารสารในต่างประเทศจำนวนมากกำหนดให้ใช้การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้หากข้อมูลไม่เป็นไปตามข้อกำหนดของไคสแควร์

การนำไปใช้ ใช้ในกรณีที่จำนวนตัวอย่างมีไม่มากนักหรือมีจำนวนความถี่ในเซลล์ใดเซลล์หนึ่งน้อยกว่า 5

ตัวอย่าง ใช้ตัวอย่างจากตารางที่ 3

การวิเคราะห์ สำหรับตัวอย่างนี้ใช้โปรแกรม Statistical Analysis System (SAS) และ LogXact โดยที่สามารถดาวน์โหลดได้จาก www.cytel.com

จากการวิเคราะห์จะเห็นได้ว่าการใช้การทดสอบไคสแควร์ (ภาพที่ 3) ซึ่งดูจาก Chi-Square Prob = 0.04 จะสรุปว่าการฉีดฮอร์โมนทั้งสองแบบให้ผลที่แตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามจะเห็นค่าเตือนที่ระบุว่าจำนวนเซลล์ความถี่ที่น้อยกว่า 5 การใช้ไคสแควร์ อาจจะเป็นวิธีที่ไม่แม่นยำ

Statistics for Table of trt by outcome

Statistic	DF	Value	Prob
Chi-Square	1	3.8843	0.0487
Likelihood Ratio Chi-Square	1	4.0189	0.0450
Continuity Adj. Chi-Square	1	2.3134	0.1283
Mantel-Haenszel Chi-Square	1	3.6993	0.0544
Phi Coefficient		-0.4301	
Contingency Coefficient		0.3951	
Cramer's V		-0.4301	

WARNING: 50% of the cells have expected counts less than 5. Chi-Square may not be a valid test.

ภาพที่ 3 ผลการทดสอบไคสแควร์

ดังนั้นจึงทำการทดสอบด้วยวิธีของฟิชเชอร์ (ภาพที่ 4) ซึ่งพบว่าค่า p-value มีค่าเท่ากับ 0.056

Fisher's Exact Test	
Cell (1,1) Frequency (F)	2
Left-sided Pr <= F	0.0635
Right-sided Pr >= F	0.9933
Table Probability (P)	0.0568
Two-sided Pr <= P	0.0805
Sample Size = 21	

ภาพที่ 4 ผลการทดสอบด้วยวิธีของฟิชเชอร์

และการทดสอบด้วยวิธี Exact logistic regression (ภาพที่ 5) พบว่าค่า p-value มีค่าเท่ากับ 0.12 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการฉีดฮอร์โมนทั้งสองชนิดให้ผลต่อการของโอโอไซด์ไม่แตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ $\alpha=0.05$

Exact Parameter Estimates				
Parameter	Estimate	95% Confidence Limits		p-Value
trt control	-0.9031	-2.2414	0.1848	0.1269

ภาพที่ 5 ผลการทดสอบด้วยวิธี Exact logistic regression จากโปรแกรม SAS

และเมื่อใช้โปรแกรม LogXact ในการวิเคราะห์ ก็ให้ผลเช่นเดียวกันโดย p-value จากการทดสอบด้วยวิธี Exact logistic มีค่าเท่ากับ 0.12 (ภาพที่ 6) ดังนั้นผู้วิจัยมีโอกาที่จะสรุปผลการทดลองที่ผิดพลาดได้ หากใช้การทดสอบที่ไม่ตรงกับข้อกำหนด

Point Estimate				Confidence Interval and P-Value for Beta			
				95	%CI	2*1-sided	
Model Term	Type	Beta	SE(Beta)	Type	Lower	Upper	P-Value
%Const MLE	-3.008	1.74	Asymptotic		-6.419	0.4023	0.08385
Var2 MLE	1.91	1.014	Asymptotic		-0.07746	3.897	0.05962
CMLE	1.806	0.9797	Exact		-0.3695	4.483	0.1269

ภาพที่ 6 ผลการทดสอบด้วยวิธี Exact logistic regression จากโปรแกรม LogXact

การวิเคราะห์ข้อมูลที่มีตัวแปรอิสระหลายๆตัว

ในบางครั้งผู้วิจัยมีความประสงค์ที่จะศึกษาโดยมีตัวแปรอิสระ หรือ ตัวแปรต้น (X variable) หลายๆ ตัว เพื่อหาว่าตัวแปรต้น นั้นมีอิทธิพลต่อตัวแปรตาม (Y variable) หรือไม่ การศึกษาลักษณะนี้จะเป็นการศึกษาเพื่อเป็นการยืนยัน (confirmatory) ซึ่งพบในกรณีที่ผู้วิจัยทราบว่าตัวแปรต้นนั้นมีอิทธิพลต่อตัวแปรตามจากการศึกษาในเบื้องต้นหรือจากรายงานก่อนๆ หรือ เป็นการศึกษาเพื่อคัดเลือกตัวแบบ (model selection) ที่เหมาะสมหากว่ามีจำนวนตัวแปรต้นจำนวนมาก วิธีการที่ได้รับความนิยมอย่างมาก คือ การวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติก (logistic regression) และในกรณีที่มีการวัดซ้ำ (repeated measurement) หรือ มีการวัดค่า y หลายๆ ครั้ง การทดสอบจะใช้วิธี Generalized Estimating Equation (GEE) (Agresti, 2002)

1. การวิเคราะห์ด้วยวิธีความถดถอยโลจิสติก

บทนำ เป็นวิธีการในการสร้างหรือทดสอบตัวแบบ (Allison, 1999) โดยทั่วไปการทดสอบโลจิสติกใช้สำหรับในกรณีที่ตัวแปรต้นหลายๆตัว และตัวแปรต้นนั้นสามารถเป็นตัวแปรแบบแบ่งกลุ่มหรือตัวแปรแบบต่อเนื่องก็ได้ ตัวอย่างเช่น การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนองการเป็นสัดในการแก้ไขปัญหามะโคที่มีปัญหาไม่เป็นสัด (anestrus) โดยปัจจัยที่ศึกษาประกอบด้วย ชนิดของฮอร์โมนที่ใช้ ลำดับท้อง สายพันธุ์ ระยะเวลารีดนมหลังคลอด (days in milk)

การนำไปใช้ โดยทั่วไปใช้ในกรณีที่ผลการวัดหรือตัวแปรตามเป็นแบบ 2 ทาง เช่น การผสมติด (1=ผสมติด, 2= ผสมไม่ติด) การเป็นสัด (1=เป็นสัด, 2= ไม่เป็นสัด) โดยตัวแปรต้นจะมีตั้งแต่ 1 ตัวขึ้นไป และจะมีการกำหนดกลุ่มเปรียบเทียบ (reference group) ในแต่ละปัจจัยในกรณีที่เป็นปัจจัยแบบแบ่งกลุ่ม เช่น ปัจจัยฤดูกาลเป็นปัจจัยแบบแบ่งกลุ่ม ผู้วิจัยสามารถกำหนดให้ฤดูกาลใดฤดูกาลหนึ่งเป็นกลุ่มเปรียบเทียบได้ เช่น กำหนดให้ฤดูร้อนเป็นกลุ่มเปรียบเทียบ ในการประเมินค่าพารามิเตอร์ ค่าที่ได้จะเป็นค่าสัมประสิทธิ์ หรือ ค่า β (coefficient) ซึ่งเมื่อนำค่า β แทนค่าด้วย exponential ค่าที่ได้จะเป็นค่า odd ratio ผู้วิจัยสามารถนำค่า odd ratio ไปใช้ในการอธิบายหากว่าปัจจัยนั้นเป็นปัจจัยที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ค่า odd ratio ที่มากกว่า 1 แสดงว่ากลุ่มที่เราศึกษา (ตัวอย่างเช่น ฤดูหนาว) นั้นมีผลต่อการเกิดเหตุการณ์ y (การผสมติด) มากกว่ากลุ่มเปรียบเทียบ (ฤดูร้อน) ในขณะที่ odd ratio ที่น้อยกว่า 1 แสดงว่ากลุ่มที่เราสนใจนั้นมีผลต่อการเกิดเหตุการณ์ y น้อยกว่ากลุ่มเปรียบเทียบ

ตัวอย่าง

ผู้วิจัยต้องการทดสอบว่าปัจจัยที่ผู้วิจัยสนใจมีอิทธิพลต่อการผสมติดจากการผสมครั้งแรกหรือไม่ โดยปัจจัยที่ศึกษาประกอบด้วย ลำดับท้อง ฤดูกาลที่ผสม สายพันธุ์และอิทธิพลร่วมทั้งหมดซึ่งได้แก่ อิทธิพล

ร่วมระหว่างลำดับท้องกับฤดูกาลที่ผสม อิทธิพลร่วมระหว่างลำดับท้องกับสายพันธุ์ อิทธิพลร่วมระหว่างฤดูกาลที่ผสมกับสายพันธุ์และอิทธิพลร่วมระหว่างฤดูกาลที่ผสมกับลำดับท้องและสายพันธุ์ ตัวอย่างข้อมูล 5 ตัวอย่างแรก แสดงในตารางที่ 5

Id_cow	parity	Breed group	season	Pregnancy result
1000	2	2	hot	1
1239	4	2	rain	1
1432	5	1	win	0
8901	2	3	rain	1
1765	1	1	win	0
.....	...			..

การวิเคราะห์

ทำการวิเคราะห์โดยใช้ SAS ซึ่งมีตัวอย่างชุดคำสั่งของดังนี้

```
proc logistic data=firstserv para=ref;
```

```
class parity season breed;
```

```
model y = parity season breed parity*season parity*breed season*breed
```

```
parity*season*breed;
```

```
run;
```

** คำอธิบายโดยย่อจากชุดคำสั่งของ SAS มีดังนี้ คำสั่ง proc logistic เป็นการเรียกใช้การทำงานของ procedure logistic และ data = firstserv เป็นการระบุชื่อไฟล์ข้อมูลที่เราต้องการวิเคราะห์ในที่นี้ ชื่อ firstserv คำสั่ง para = ref เป็นการระบุว่าในการประเมินค่า β จะเป็นการเปรียบเทียบกับกลุ่มเปรียบเทียบ คำสั่ง class เป็นการระบุว่าตัวแปรใดเป็นตัวแปรแบบแบ่งกลุ่ม model เป็นการเขียนตัวแบบที่เราต้องการวิเคราะห์ โดย y เป็นตัวแปรตาม และตามด้วยชุดของ x ซึ่งเป็นตัวแปรต้น คำสั่ง run เป็นการสั่งให้โปรแกรมเริ่มทำงาน ข้อพึงระวังคือ การกำหนดค่าให้กับ y เนื่องจาก SAS จะกำหนดให้ค่าที่น้อยที่สุดเป็นเหตุการณ์ที่เราสนใจเสมอ ดังนั้นหากกำหนดให้ การผสมติดมีไคด์ = 1 และการผสมไม่ติดมีไคด์ = 0 การประเมินจะเป็นการทดสอบตัวแบบเพื่อหาว่าปัจจัยในตัวแบบตัวใดมีผลต่อการผสมไม่ติด ซึ่งไม่ใช่คำถามของผู้วิจัย เนื่องจากผู้วิจัยต้องการทราบว่าปัจจัยใดมีผลต่อการผสมติด ดังนั้นวิธีการแก้ไข คือ 1) การสลับให้การผสมติดมีไคด์ = 0 และการผสมไม่ติดมีไคด์ = 1 หรือ 2) ระบุคำสั่ง descending หลัง proc logistic ดังตัวอย่าง proc logistic data=firstserv descending para=ref; หรือ 3) ในกรณีใช้ SAS เวอร์ชัน 8 ขึ้นไปสามารถระบุหลังค่า y ได้ว่าเหตุการณ์ที่เราสนใจคือ เหตุการณ์ใด ดังตัวอย่าง y (event = '0')

ผลจากการวิเคราะห์ความถดถอยโลจิสติกบางส่วนแสดงดังนี้

Type 3 Analysis of Effects							
Effect		DF		Wald Chi-Square		Pr > ChiSq	
newlact		2		1.5101		0.4700	
newseason		2		6.9076		0.0316	
newlact*newseason		4		4.0973		0.3930	
newhf		1		0.0252		0.8738	
newlact*newhf		2		1.4761		0.4780	
newseason*newhf		2		1.7714		0.4124	
newlact*newseason*newhf		4		2.6458		0.6187	

Analysis of Maximum Likelihood Estimates							
Parameter		DF	Estimate	Standard Error	Wald Chi-Square	Pr > ChiSq	Exp(Est)
Intercept		1	0.1886	0.1857	1.0311	0.3099	1.208
newlact	1	1	-0.2877	0.2724	1.1155	0.2909	0.750
newlact	2	1	0.0291	0.2885	0.0102	0.9196	1.030
newseason	1	1	-0.6333	0.3164	4.0050	0.0454	0.531
newseason	2	1	-0.6696	0.2865	5.4614	0.0194	0.512
newlact*newseason	1 1	1	0.5681	0.4157	1.8670	0.1718	1.765
newlact*newseason	1 2	1	0.1054	0.3892	0.0733	0.7865	1.111
newlact*newseason	2 1	1	0.0672	0.4690	0.0206	0.8860	1.070
newlact*newseason	2 2	1	-0.5587	0.4648	1.4446	0.2294	0.572
newhf	1	1	0.0346	0.2176	0.0252	0.8738	1.035
newlact*newhf	1 1	1	-0.1114	0.3499	0.1013	0.7503	0.895
newlact*newhf	2 1	1	-0.4266	0.3540	1.4524	0.2282	0.653
newseason*newhf	1 1	1	0.4201	0.3645	1.3279	0.2492	1.522

จากผลแสดงให้เห็นว่าฤดูกาลเป็นปัจจัยที่มีผลต่ออัตราผสมติดจากการผสมครั้งแรก (ค่า p-value= 0.03) ค่า Exp (Est) เป็นค่าของ odd ratio ซึ่งในที่นี้มีค่า 0.53 และ 0.51 ซึ่งสรุปได้ว่าแม่โคที่ผสมในฤดูร้อนและฤดูฝนมีอัตราผสมติดต่ำกว่าแม่โคที่ผสมในฤดูหนาวเท่ากับ 0.53 และ 0.51 เท่าตามลำดับ หรือกล่าวได้ว่ามีอัตราผสมติดต่ำกว่าแม่โคที่ผสมในฤดูหนาวเท่ากับ 47 % ($1-0.53 = 47$) และ 49 % ($1-0.51=49$) ตามลำดับ ตัวอย่างการใช้ความถดถอยโลจิสติกในการวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับ AI-Bio ได้แก่การศึกษาของ ธนุและคณะ (2545) ที่ได้ทำการศึกษาหาปัจจัยทางด้านสิ่งแวดล้อมต่ออัตราผสมติดในโคนม

2. การวิเคราะห์ด้วยวิธี Generalized Estimating Equation

บทนำ การใช้และข้อกำหนด

วิธีนี้คล้ายคลึงกับ logistic regression เพียงแต่ใช้กับข้อมูลที่มีการวัดซ้ำ เช่น การศึกษาระยะยาว (longitudinal study) ของอัตราผสมติดในแม่โคในช่วง 3 ปีซ้อนหลัง ในกรณีนี้แม่โคจะถูกวัดซ้ำไม่ต่ำกว่า 1 ครั้งหากแม่โคมีการคลอดอย่างต่ำ 2 ครั้งในช่วงที่ทำการศึกษา การใช้ GEE ในการวิเคราะห์จะมีการคำนึงถึงอิทธิพลของการวัดซ้ำ (Molenberghs and Verbeke, 2005)

ตัวอย่าง ไม่นำเสนอตัวอย่าง เนื่องจากต้องการนำเสนอในส่วนของความคิดรวบยอดเท่านั้น ผู้สนใจสามารถหาตัวอย่างได้จากรายงานการศึกษาในต่างประเทศ สำหรับรายงานในประเทศไทย ตัวอย่างการใช้

GEE ในการวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับ AI-Bio ได้แก่การศึกษาของวีระศักดิ์และคณะ () ที่ได้ทำการศึกษาอิทธิพลของสภาพอากาศต่ออัตราสมมติจากการผสมครั้งแรก

3. การวิเคราะห์ด้วยวิธีอื่นๆ

ยังมีวิธีการอีกหลายวิธีที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลประเภทแบ่งกลุ่ม เช่น random effect logistic model, การวิเคราะห์โดยใช้วิธี Monte Carlo ซึ่งเป็นวิธีการที่มีความซับซ้อน แต่ได้รับการยอมรับและมีการใช้อย่างแพร่หลายในต่างประเทศ

สรุป

1. การวิเคราะห์แบบตาราง 2*2 หากกลุ่มตัวอย่างมีจำนวนมาก ใช้การทดสอบไคสแควร์ แต่ถ้าหากกลุ่มตัวอย่างมีจำนวนไม่มากหรือมีเซลล์ใดเซลล์หนึ่งที่มีจำนวนความถี่น้อยกว่า 5 ให้ใช้การทดสอบฟิชเชอร์ หรือ ใช้ Exact logistic
2. หากมีจำนวนตัวแปรต้นมากกว่า 2 ตัวขึ้นไป ใช้การทดสอบความถดถอยโลจิสติก
3. หากมีจำนวนตัวแปรต้นมากกว่า 2 ตัวขึ้นไปและมีการวัดซ้ำในหน่วยทดลองเดียวกันให้ใช้ GEE

เอกสารอ้างอิง

- ธนู ภิบุญญมิมินทร์ เกียรติศักดิ์ ตันเจริญ และ วิทยา สุริยาสถาพร .2545. ปัจจัยแวดล้อมการผลิตที่มีผลต่ออัตราการตั้งท้องระดับฝูงในฟาร์มโคนมไทย การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40 สาขาสัตวแพทย์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2545 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 390-397
- วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา ศร ธิปปิมากร ขวัญชาย เครือสุคนธ์ วิทยา สุริยาสถาพร .2548.ผลของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ออัตราสมมติของฟาร์มโคนมรายย่อยในจังหวัดเชียงใหม่ เวชสารสัตวแพทย์ 35(4): 73-79

Agresti, A. 2002. Categorical data analysis. Wiley Interscience, New Jersey, USA

Allison, P.1999. Logistic regression using the SAS system: Theory and Application. Cary, NC, SAS institute Inc. 288 p

Molenberghs, G. and Verbeke, G. 2005. Models for discrete longitudinal data. Springer Science Business Media, Inc. New York .USA

Stokes, M.E., Maura, E., Charles, S.D. and Gary, G.K. 2000. Categorical data analysis using the SAS system, second edition, Cary ,NC:SAS Institute Inc.

Mehta, C.R. and Patel, N.R. 1995. Exact logistic regression: theory and examples. Stat Med. 19: 2143-2160

ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อช่วงห่างการให้ลูกของโคพื้นเมือง และโคลูกผสมชาโรเลส์ ในพื้นที่ภาคใต้ ตอนบนของประเทศไทย

จิตศักดิ์ เมืองเขียว¹ และ ชาญยุทธ กาวล¹

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินปัจจัยทางด้านสายพันธุ์ และสภาพแวดล้อม ที่มีผลต่อช่วงห่างการให้ลูกของแม่โคพื้นเมือง และโคลูกผสมชาโรเลส์ในเขตพื้นที่ภาคใต้ตอนบนดำเนินการโดยใช้ข้อมูลจากฟาร์มเกษตรกรรายย่อยในเขตจังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช และพังงา ที่คลอดลูกในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2542 - 2546 มาวิเคราะห์ ข้อมูลช่วงห่างการให้ลูกทั้งหมด 517 บันทึกจากแม่โคเนื้อจำนวน 263 ตัวโดยใช้ mixed procedure ของโปรแกรมสำเร็จรูป SAS ผลการศึกษาพบว่าปัจจัยกลุ่มพันธุ์และฤดูกาลคลอดมีผลกระทบต่อช่วงห่างการให้ลูกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยโคพื้นเมืองมีช่วงห่างการให้ลูกสั้นกว่าโคลูกผสมชาโรเลส์ และโคที่คลอดลูกในฤดูแล้ง (ธันวาคม-เมษายน) มีช่วงห่างการให้ลูกสั้นกว่าโคที่คลอดลูกในฤดูฝน (พฤษภาคม-พฤศจิกายน) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

คำสำคัญ : โคพื้นเมือง, โคลูกผสมชาโรเลส์, ช่วงห่างการให้ลูก, ปัจจัยสภาพแวดล้อม

ทะเบียนผลงานวิชาการ : 50(2)-0208-142

¹ ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพสุราษฎร์ธานี อ.พุนพิน จ.สุราษฎร์ธานี 84130

Factors Affecting Calving Interval of Native and Charolais Crosses Cattle in the Upper Southern Part of Thailand

Jitsak Meungkhew¹ and Chanyuth Kaphol¹

ABTRACT

The objective of this study is to retrospectively evaluate the importance of factors effecting calving interval of native and Charolais crosses. Five hundred and seventeen calving interval records of 263 cows calved between 1999 and 2003 from small farm holders in the upper southern part of Thailand were analyzed using the mixed procedure of SAS software. The results revealed that breed groups and calving season significantly affected calving interval ($p < 0.05$). Thai native cattle showed significantly shorter average calving interval ($p < 0.05$) and the average calving interval of the cows calved in dry season (December-April) was significantly shorter than that calved in rainy season (May-November) ($p < 0.05$).

Keywords: native cattle, Charolais crosses, calving interval, environment factor

¹ Suratthani A.I. Biotechnology Research Center, Punpin, Suratthani , 84130

บทนำ

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมากรมปศุสัตว์ได้มีการส่งเสริมการเลี้ยงโคเนื้อเพื่อการส่งออกเพื่อเป็นรายได้เสริมแก่เกษตรกร โดยใช้โคพื้นเมืองไทยเป็นแม่พันธุ์ และใช้น้ำเชื้อพ่อพันธุ์ต่างประเทศผสมโดยวิธีการผสมเทียมเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ ประกอบกับโคพื้นเมืองทางภาคใต้มีคุณค่าต่อวิถีชีวิตและวัฒนธรรมของคนทางภาคใต้มากพอสมควร ทั้งในแง่การเลี้ยงเพื่อการค้า และการเลี้ยงเพื่อการกีฬา ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์และการเพิ่มประสิทธิภาพทางการผลิตของโคพื้นเมือง ตลอดจนการอนุรักษ์พันธุ์กรรมโคพื้นเมืองทางภาคใต้จึงมีความสำคัญในภูมิภาคนี้ สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์เป็นดัชนีบ่งชี้ประสิทธิภาพของการผลิต เช่น ช่วงห่างการให้ลูก ระยะเวลาหลังคลอดถึงผสมครั้งแรก ระยะเวลาหลังคลอดจนผสมติด ระยะเวลาการอุ้มท้อง อัตราการผสมติดจากการผสมครั้งแรกและอัตราการผสมติด เป็นต้น (Weaver, 1986) โดยเฉพาะอย่างยิ่งช่วงห่างการให้ลูก (Calving interval) ซึ่งหมายถึง ระยะห่างของการคลอดลูกแต่ละตัวของแม่โค (Payne, 1970) โดยมีวงรอบเริ่มตั้งแต่ เป็นสัด ผสมเทียม ตั้งท้องและคลอดลูกตัวต่อไป ช่วงห่างการให้ลูกเป็นผลรวมของระยะเวลา 3 ช่วง คือระยะเวลาตั้งแต่แม่โคคลอดลูกจนถึงระยะเวลากลับเป็นสัดหรือผสมเทียมครั้งแรก ระยะเวลาเริ่มเป็นสัดจนถึงผสมเทียม และระยะเวลาอุ้มท้อง Linares และ Plasse (1966) กล่าวว่า ช่วงห่างการให้ลูกมีบทบาทสำคัญในการวัดความสามารถทางการผลิตโคเนื้อ และเป็นตัวชี้วัดที่ดีที่สุดสำหรับประเมินประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ของฝูง จากการศึกษาของ ศิริชัยและคณะ (2545) พบว่าช่วงห่างการให้ลูกของแม่โคพื้นเมืองภาคใต้มีค่าเท่ากับ 489 วัน ซึ่งมากกว่ารายงานการศึกษาของกองบำรุงพันธุ์ (2542) ที่รายงานช่วงห่างการให้ลูกของโคพื้นเมืองมีค่า 382 วัน ส่วนโคพันธุ์ชาโรเลส์จากการศึกษาของ Michael et al (1988) มีช่วงห่างการให้ลูก 363 วัน อย่างไรก็ตาม การจัดการเลี้ยงตลอดจนปัจจัยสภาพแวดล้อมเช่น ปี และฤดูที่คลอด ยังมีผลกระทบโดยตรงต่อช่วงห่างการให้ลูกนอกเหนือจากอิทธิพลของสายพันธุ์ด้วยกัน ประกอบกับข้อมูลของโคพื้นเมืองทางด้านสมรรถภาพการสืบพันธุ์มีผู้ทำการศึกษาเอาไว้ไม่มากนัก ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งเพื่อจะใช้เป็นแหล่งข้อมูลในการปรับปรุงการจัดการด้านการผสมพันธุ์ และการปรับปรุงพันธุ์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตโคพื้นเมืองและโคลูกผสมในภูมิภาคนี้ต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

ข้อมูลและการจัดการของข้อมูล

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นข้อมูลช่วงห่างการให้ลูกของโคพื้นเมือง และโคลูกผสมชาโรเลส์ (50 %ชาโรเลส์-50%พื้นเมือง) จากฟาร์มเกษตรกรรายย่อยในเขตพื้นที่ภาคใต้ตอนบน (จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช และพังงา) ที่มีแม่โค 2-10 ตัว โดยการเลี้ยงแบบผูกล่ามให้โคแทะเล็มในแปลง

หมู่บ้านธรรมชาติ ใช้บริการผสมเทียมกับหน่วยผสมเทียม ในรัศมีไม่เกิน 20 กิโลเมตร สังเกตการเป็นสัดอย่างน้อยวันละ ๒ ครั้ง คือตอนเช้าก่อนนำโคออกไปผูกล่ามในแปลงหญ้าและตอนเย็นหลังจากนำโคกลับคอก เมื่อเกษตรกรตรวจพบการเป็นสัดจะแจ้งขอรับบริการผสมเทียม หลังจากนั้นเจ้าหน้าที่ผสมเทียมเป็นผู้ติดตามตรวจท้องและลูกเกิด จดบันทึกข้อมูลลงในแบบบันทึกผสมเทียม รวมข้อมูลช่วงห่างการให้ลูกทั้งหมด 517 บันทึกจากแม่โคเนื้อจำนวน 263 ตัว โดยจำแนกปัจจัยหลักเป็นกลุ่มดังนี้

- กลุ่มพันธุ์ จำแนกออกเป็น 2 กลุ่มคือ โคพื้นเมือง (100%พื้นเมือง) และ ลูกผสมชาร์โลเลส์ (50%ชาร์โลเลส์ -50%พื้นเมือง)
- จำนวนลูกตัว จำแนกออกเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่ให้ลูกตัวที่1 และมากกว่าตัวที่1
- ปีที่คลอดลูก จำนวน 5 ปี ได้แก่ ปีพ.ศ. 2542 2543 2544 2545 และ 2546
- ฤดูกาลคลอดลูก แบ่งออกเป็น 2 ช่วงโดยจำแนกตามปริมาณน้ำฝนดังแสดงในตาราง ที่ 1 คือ ฤดูฝน (พฤษภาคม-พฤศจิกายน) และ ฤดูแล้ง (ธันวาคม-เมษายน)

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยรายเดือนของปริมาณน้ำฝน, อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในเขตภาคใต้ตอนบน ระหว่างปี 2542-2546

month	Rainfall(mm)			Temperature(°C)		Relative humidity (%)	
	Mean min.	Mean max.	Mean	Mean min.	Mean max.	Mean min.	Mean max.
January	10.1	125.3	52.1	19.0	35.7	42	96
February	12.2	93.8	23.3	19.4	34.1	40	96
March	69.1	239.9	137.7	20.3	35.1	39	96
April	63.1	315.9	164.7	21.7	35.6	44	97
May	154.9	392.6	256.6	22.6	35.7	47	96
June	99.6	408.0	248.2	22.6	35.4	48	97
July	89.2	410.1	235.4	22.5	34.9	49	96
August	99.3	681.1	359.3	22.4	34.9	48	97
September	165.1	553.2	349.4	22.4	34.5	53	96
October	229.5	717.5	420.0	22.5	34.2	52	97
November	121.1	332.8	241.9	21.7	34.0	50	97
December	28.2	185.7	107.5	21.0	33.4	49	96

ดัดแปลงมาจาก : เว็บไซต์ สำนักงานสถิติแห่งชาติ กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ประเมินผลกระทบของปัจจัยทางสภาพแวดล้อมและการจัดการที่มีอิทธิพลต่อช่วงห่างการให้ลูกของโคพื้นเมืองและโคพื้นเมืองลูกผสมในพื้นที่ภาคใต้ตอนบนของประเทศไทย โดยใช้คำสั่ง PROC MIXED ของโปรแกรมสำเร็จรูป statistical analysis system (SAS, 1998) ที่มีตัวแบบดังต่อไปนี้

$$Y_{ijklm} = \mu + B_i + L_j + Y_k + S_l + (BL)_{ij} + (BY)_{ik} + (BS)_{il} + (LY)_{jk} + (LS)_{jl} + (YS)_{kl} + C_m + e_{ijklm}$$

เมื่อ

Y_{ijklm}	=	ช่วงห่างการให้ลูกของแม่โค m พันธุ์ i ให้จำนวนลูกตัวที่ j ที่คลอดลูกในปี k ในฤดูกาล l
μ	=	ค่าเฉลี่ย
B_i	=	ปัจจัยคงที่ของกลุ่มพันธุ์ของแม่โค i (i = 1,2)
L_j	=	ปัจจัยคงที่ของจำนวนลูกตัวที่ j (j = 1,2)
Y_k	=	ปัจจัยคงที่ของปีที่คลอดลูก k (k = 1,2,3,4,5)
S_l	=	ปัจจัยคงที่ของฤดูกาลคลอด l (l = 1,2)
$(BL)_{ij}$	=	ปัจจัยคงที่ของการปฏิสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มพันธุ์ i กับจำนวนลูกตัวที่ j
$(BY)_{ik}$	=	ปัจจัยคงที่ของการปฏิสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มพันธุ์ i กับปีที่คลอด k
$(BS)_{il}$	=	ปัจจัยคงที่ของการปฏิสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มพันธุ์ i กับฤดูกาลคลอด l
$(LY)_{jk}$	=	ปัจจัยคงที่ของการปฏิสัมพันธ์ระหว่างจำนวนลูกตัวที่ j กับปีที่คลอด k
$(LS)_{jl}$	=	ปัจจัยคงที่ของการปฏิสัมพันธ์ระหว่างจำนวนลูกตัวที่ j กับฤดูกาลคลอด l
$(YS)_{kl}$	=	ปัจจัยคงที่ของการปฏิสัมพันธ์ระหว่างปีที่คลอด k กับฤดูกาลคลอด l
C_m	=	ปัจจัยสุ่มของแม่โค m (m = 1-263)
e_{ijklm}	=	Random residual effect

ผลและวิจารณ์

จากการวิเคราะห์ปัจจัยคงที่และปัจจัยสุ่มที่มีผลกระทบต่อลักษณะช่วงห่างการให้ลูกนั้นพบว่ามีเพียงกลุ่มพันธุ์ และฤดูกาลที่แม่โคคลอดเท่านั้นที่มีผลต่อช่วงห่างการให้ลูกของโคในพื้นที่นี้ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ของปัจจัยคงที่ และปัจจัยสุ่มที่มีผลกระทบต่อช่วงห่างการให้ลูก

ปัจจัย	ระดับนัยสำคัญทางสถิติ
ปัจจัยสุ่ม	
แม่โค (C)	$P < 0.05$
ปัจจัยคงที่	
กลุ่มพันธุ์ของแม่โค (B)	$P < 0.05$
จำนวนลูกตัวที่ (L)	NS
ปีที่คลอดลูก (Y)	NS
ฤดูกาลคลอดลูก (S)	$P < 0.05$
B * L	NS
B * Y	NS
B * S	NS
L * Y	NS
L * S	NS
Y * S	NS

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยกำลังสองน้อยที่สุดเฉพาะปัจจัยหลักที่เป็นกลุ่มและมีผลกระทบต่อช่วงห่างการให้ลูก (ตารางที่ 2) พบว่าแม่โคพื้นเมืองจะมีช่วงห่างการให้ลูกสั้นกว่าแม่โคลูกผสมชาโรเลส์ และแม่โคที่คลอดลูกในฤดูฝนจะมีช่วงห่างการให้ลูกยาวกว่าโคที่คลอดลูกในฤดูแล้ง

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยกำลังสองน้อยที่สุด (Least square means, LSM) และ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของช่วงทางการให้ลูกสำหรับปัจจัยคงที่

ปัจจัย	ค่าเฉลี่ยกำลังสองน้อยที่สุด ^{1/} ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
กลุ่มพันธุ์	
โคพื้นเมือง	401.61±6.49 ^a
ลูกผสมชาร์โรเลส์	424.58±8.96 ^b
จำนวนลูกตัวที่	
1	405.42±8.23 ^a
>1	420.76±6.26 ^a
ปีคลอด	
พ.ศ. 2542 (1999)	407.18±16.23 ^a
พ.ศ. 2543 (2000)	432.71±10.62 ^a
พ.ศ. 2544 (2001)	409.62±10.33 ^a
พ.ศ. 2545 (2002)	421.19±7.69 ^a
พ.ศ. 2546 (2003)	394.74±11.74 ^a
ฤดูกาลคลอด	
ฤดูฝน (พ.ค.- พ.ย.)	424.90±7.44 ^a
ฤดูแล้ง (ธ.ค.- เม.ย.)	401.28±7.24 ^b

^{1/} ค่าเฉลี่ยกำลังสองน้อยที่สุดที่มีตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

กลุ่มพันธุ์ จากผลการวิเคราะห์พบว่ากลุ่มพันธุ์มีผลต่อช่วงทางการให้ลูก โดยที่โคพื้นเมืองมีช่วงทางการให้ลูกสั้นกว่าโคลูกผสมพื้นเมืองชาร์โรเลส์ สอดคล้องกับผลการศึกษาของยุทธชัย (2543) ซึ่งพบว่าช่วงทางการให้ลูกของโคพื้นเมืองสั้นกว่าโคลูกผสมเมืองหนาวที่เลี้ยงในเมืองไทย เนื่องจากโคพันธุ์เมืองหนาว จะมีความสมบูรณ์ดีเยี่ยมในสภาพเขตอบอุ่น ซึ่งมีสภาพการจัดการเลี้ยงดูที่ดี แต่ความกดดันจากสภาพแวดล้อมในเขตร้อนและวิธีการเลี้ยงการให้อาหารของเกษตรกร เช่นการปล่อยทุ่งแทะเล็มหญ้าที่ขึ้นเองตามธรรมชาติ มีผลทำให้โคเหล่านี้ได้รับโภชนาการไม่เพียงพอ ทำให้น้ำหนักลดลง และผลที่ตามมาคือความสมบูรณ์พันธุ์ลดลง (อิโรชิ, 2541)

ฤดูกาลคลอดลูก เป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่าฤดูกาลซึ่งมีสภาพภูมิอากาศ เช่น ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ ความชื้น ที่แตกต่างกัน ส่งผลต่อปริมาณและคุณภาพของอาหารโดยเฉพาะอาหารหยาบทำให้มีความแตกต่างกันทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสัตว์ทั้งทางตรงและทางอ้อม จะเห็น

ได้ว่าการศึกษานี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาของ วิทยา และคณะ(2543) ที่รายงานว่าโคที่ให้ลูกในฤดูร้อนมีระยะเวลาท้องว่างสั้นกว่าโคที่ให้ลูกในฤดูหนาวและฤดูฝน เมื่อพิจารณาในพื้นที่ภาคใต้ตอนบน มีฤดูฝนที่ยาวนานและมีค่าความชื้นสัมพัทธ์สูง จากการศึกษาปราจีนและคณะ(2544) ค่าดัชนีความเครียดจากอุณหภูมิและความชื้น พบว่า ที่ค่าเฉลี่ยความชื้นสัมพัทธ์ 79 – 89 เปอร์เซ็นต์ แม่โคได้รับความเครียดมากทำให้อัตราการผสมติดต่ำ

สรุปผล

จากการศึกษาข้อมูลปัจจัยทางสภาพแวดล้อม กลุ่มพันธุ์ และช่วงทางการให้ลูก ของโคพันธุ์พื้นเมืองและพันธุ์ลูกผสมชาร์โลเล่ส์จากฟาร์มเกษตรกรรายย่อยในเขตพื้นที่ภาคใต้ตอนบนในช่วงปี พ.ศ. 2542-2547 พบว่าช่วงทางการให้ลูกได้รับผลกระทบจากกลุ่มพันธุ์ และฤดูคลอด

ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษาที่พบ เห็นควรแนะนำให้เกษตรกรผสมพันธุ์โคเนื้อทั้งโคพันธุ์พื้นเมือง และลูกผสมชาร์โลเล่ส์เพื่อให้คลอดลูกในช่วงฤดูแล้ง (Seasonal breeding) ซึ่งนอกจากทำให้ช่วงห่างของการให้ลูกสั้นลง ทำให้แม่โคให้ลูกจำนวนมากกว่า ใน 1 ชั่วชีวิตของแม่โค (Productive life) แล้ว ยังง่ายต่อการจัดการเลี้ยงดูลูกโคที่จะเกิดมาพร้อมๆกันให้มีโคขนาดเดียวกันพร้อมขายจำนวนมาก เพื่อช่วยเพิ่มอำนาจต่อรองแก่เกษตรกรต่อพ่อค้าคนกลางด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคุณทวีศิลป์ จินด่าง ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานีที่ให้คำแนะนำในการเก็บข้อมูล คุณสายัณห์ บัวบาน ที่ให้คำแนะนำในการวิเคราะห์ข้อมูลและคุณจรีรัตน์ แสนโกชน์ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ที่ให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

กองบำรุงพันธุ์สัตว์. 2542. รายงานประจำปี 2541. กรุงเทพฯ : กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
ปราจีน วีรกุล ปาริฉัตร สุขโต สุรจิต ทองสอดแสง อยู่ฤทธิ์ หรินทรานนท์ กิตติ มหาวิทยาลัยพรชัย สุวรรณภริมา โปโรจน์ อัมพวันวงศ์ สาโรจน์ งามขำ ไกรวรรณ หงส์ยันตรชัย วินัย กระแสสินธุโกมล สันติ ประสิทธิผล นวเพ็ญ ภูติภินันท์ ศิริวัฒน์ ทรวอดทองและจันทร์เพ็ญ สุวิมลธิระบุตร. 2544. การศึกษาและแก้ไขปัญหาการสูญเสียคัพภะ ระยะต้นในโคนม. รายงานวิจัยฉบับ

- สมบูรณการศึกษาแก้ไขปัญหการผสมติดยากและการสูญเสียคัพภะระยะต้นในโคนม.โครงการ
สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย. หน้า 169
- วิทยา สุริยาสถาพร ชัยวัฒน์ จรัสแสง สุณิรัตน์ เอี่ยมลมัย เขียวชาญ กระจำงโพธิ์ และอรรณู จันทร์สุน.
2543. ระยะท้องว่างหลังคลอดลดลงในโคนมให้ลูกในฤดูร้อน:ผลการวิเคราะห์จากโมเดล ของ Cox.
ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 26 ณ โรงแรมมิราเคิลแก
รนด์ คอนเวนชั่น 15 – 17 พฤศจิกายน 2543.หน้า 14-23
- ศิริชัย ศรีพงศ์พันธุ์ นิทัศน์ สองศรี อภิชาติ หล่อเพชร และวัล วงศ์สวัสดิ์. 2545. การเปลี่ยนแปลงขนาดรอ
บอกตามอายุของโคพื้นเมืองไทยภาคใต้เพศเมีย.การประชุมทางวิชาการสัตว-ศาสตร์ภาคใต้ ครั้งที่
2 ณ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ 9-18 สิงหาคม 2545 .หน้า 204-212
- ยุทธชัย นุชาญรัมย์ . 2543. การศึกษาลักษณะทางเศรษฐกิจของโคพื้นเมือง. ภาควิชาสัตวศาสตร์คณะ
เกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
- สำนักงานสถิติแห่งชาติ กระทรวงเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร <http://webhost.nso.go.th>
อิโรชิ นิชิมุระ . 2541 . เทคโนโลยีในการผลิตโคเนื้อเขตร้อน.กองพัฒนาการปศุสัตว์.สำนักอุตสาหกรรมปศ
สัตว์.กระทรวงเกษตรและสหกรณ์การเกษตร.หน้า 70
- Linares, T. and D. ,Plasse. 1966 . Reproductive behaviour of Bos Indicus females in a
subtropical environment m calving intervals from first exposure to conception and
intervals from parturition to conception. Journal of Animal Science. 27:105
- Michael, J. D. and J. F., Richard. 1998. A comparison of Charolais and beef x friesian suckler
cows. Irish Journal of Agricultural and Food Research, <http://www.teagasc.ie/research/> .
- Payne, W.J.A. 1970. Cattle Production in the Tropics. London : Longman group Ltd.
- SAS. 1998. SAS User's Guide. Version 6.12. SAS. Inst., Inc., Cary, NC.
- Weaver, L.D. 1986. Evaluation of reproductive performance in dairy herds. Compend Contin
Educ.8(5) S 274-S254.

ผลของยาปฏิชีวนะต่อเยื่อหุ้มตัวอสุจิและอะโครโซมในน้ำเชื้อโคแช่แข็ง

กิตติศักดิ์ แสงสกุล^a สราวุธ ฉายประสาท^b มุขดา รัตนภาสกร^c

รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล^c และ ภาณุพันธ์ พงษ์เพ็ง^d

บทคัดย่อ

น้ำเชื้อแช่แข็งที่ผลิตจากพ่อโคพันธุ์ขาวดำจำนวน 14 ตัว ใช้ Egg Yolk Tris ที่มีส่วนประกอบของไข่แดง 20 % glycerol 7 % เป็นน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ และใช้ยาปฏิชีวนะ 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 คือ GTLS (gentamycin 250 µg /ml, Tylosin 50 µg /ml และ Linco-Spectin 150/300 µg /ml, Sigma^R) และ กลุ่มที่ 2 คือ GTLSS₄ เป็นยาปฏิชีวนะชนิดใช้ฉีดรักษาสัตว์ ได้แก่ gentamycin (Gentalvet^R) 250 µg /ml , Linco-Spectin 150/300 µg/ml (Pharmacia^R) และ Tylosin (Tylovet^R) 50 µg /ml ร่วมกับ streptomycin 4,000 µg /ml (Merck^R) เพื่อเปรียบเทียบผลของยาปฏิชีวนะต่อเยื่อหุ้มตัวอสุจิและอะโครโซมในน้ำเชื้อแช่แข็งโค ทำการตรวจคุณภาพตัวอสุจิในน้ำเชื้อหลังจากแช่แข็งอย่างน้อย 24 ชั่วโมง โดยละลายน้ำเชื้อแช่แข็งที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 30 วินาที แล้วจึงย้อมตัวอสุจิทันทีด้วยสี FITC-PNA (Fluorescein isothiocyanate-conjugated peanut agglutinin, marker for acrosome damage) เพื่อการตรวจความผิดปกติของอะโครโซมและย้อมด้วยสี PI (Proidium iodide, marker for membrane damage) เพื่อตรวจความผิดปกติของเยื่อหุ้มตัวอสุจิ จากนั้นนำไปตรวจนับความผิดปกติด้วยเครื่อง Flow Cytometer ตัวอสุจิที่มีความผิดปกติของเยื่อหุ้มตัวอสุจิและอะโครโซมจะติดสีแดงและสีเขียวตามลำดับ สำหรับตัวอสุจิที่ไม่มีความผิดปกติจะไม่ติดสี วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Paired t-test ผลการตรวจพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทั้งค่าความผิดปกติของเยื่อหุ้มตัวอสุจิและอะโครโซมของน้ำเชื้อแช่แข็งที่ใช้ยาปฏิชีวนะทั้งสองกลุ่ม (P>.05) โดยพบค่าเฉลี่ยร้อยละของความผิดปกติของเยื่อหุ้มตัวอสุจิและอะโครโซมในน้ำเชื้อแช่แข็งที่ใช้ยาปฏิชีวนะ GTLS (Sigma^R) และ GTLSS₄ ชนิดฉีด เป็น 51.61, 50.97 และ 25.12 , 26.59 ตามลำดับ

คำสำคัญ : ยาปฏิชีวนะ น้ำเชื้อแช่แข็งโค เยื่อหุ้มตัวอสุจิ อะโครโซม

-
- a ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพชลบุรี อ.บ้านบึง จ. ชลบุรี 20170
b ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อโคพันธุ์โครงการหลวงอินทนนท์ ต. ห้วยแก้ว อ. เมือง จ. เชียงใหม่ 50300
c กลุ่มวิจัยและผลิตน้ำเชื้อ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ อ. เมือง จ. ปทุมธานี 12000
d ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ผสมเทียมลำพญากลาง อ. ลำสนธิ จ. ลพบุรี 15190

Effects of Antibiotics on Spermatozoa plasma membrane and acrosomal membrane of frozen bull semen

Kittisak Sangsakul^a, Sarawut Chaiprasart^b, Mukda Ratanapaskorn^c

Rapiphan Uavechnichkul^d and Phanuphan pongpeng^d,

Abstract

Semen samples from 14 bulls were treated with 2 types of extender. Extender 1: Egg Yolk Tris (20% egg yolk, glycerol 7%) and GLTS, gentamycin 250µg/ml Tylosin 50 µg/ml and Linco-Spectin 150/300 µg/ml (Sigma[®]). Extender 2: Egg Yolk Tris and GTLSS₄, injectable antibiotics in veterinary practice, gentamycin (Gentalvet[®]) 250µg/ml, Tylosin (Tylovet[®]) 50 µg/ml and Linco-Spectin (Pharmacia[®]) 150/300 µg/ml and 4,000µg/ml Streptomycin (Merk[®]). The effects of the antibiotics in both extenders on spermatozoa plasma membrane and acrosomal membrane of frozen bull semen were determined. After 24 hours of cryopreservation, semen samples were thawed at 37° C, 30 seconds then immediately stained with FITC-PNA (Fluorescein isothiocyanate-conjugated peanut agglutinin, marker) for acrosome damage. For spermatozoa plasma membrane test, PI (Proidium iodide, marker for membrane damage) was used. After staining, the samples were tested in Flow Cytometer. Damaged spermatozoa plasma membrane and acrosomal membrane stained red and green, respectively. The intact ones remained colorless. Results showed no statistical significance of effects of both antibiotic groups on spermatozoa plasma membrane and acrosomal membrane ($P>0.05$). The average percentage of damaged spermatozoa plasma membrane and acrosomal membrane in GLTS (Sigma[®]) and GTLSS₄ were 51.61, 50.97 and 25.12, 26.59, respectively.

Keywords: antibiotics, frozen semen, plasma membrane, acrosomal membrane.

- a Chonburi Biotechnology and AI Research Center. , Bureau of Biotechnology for Animal Production Banbung, Chonburi. 20170
- b Doi Inthanon Royal Project's Livestock Semen Production Center, Huaykaew, Muang, Chiangmai, 50300
- c Semen Research and Production sub-Division , Bureau of Biotechnology for Animal Production, Muang, Pathumthani, 12000
- d Lamphayaklang Livestock Semen Production Center, Lamsonthi, Lopburi, 15190

คำนำ

คุณภาพและชนิดของยาปฏิชีวนะที่ใส่ในน้ำยาเชื้อจางน้ำเชื้อเป็นปัจจัยที่สำคัญ โดยยาปฏิชีวนะที่ใช้ นอกจากจะต้องสามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนมาในน้ำเชื้อที่วัดได้จากฟอแพนธุ์แล้ว ยังต้องเป็นยาที่ปลอดภัยสำหรับตัวอสุจิด้วย ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับน้ำเชื้อนั้น เป็นสาเหตุสำคัญประการหนึ่งที่ทำให้เกิดปัญหาการผสมไม่ติด มดลูกอักเสบ และแท้งลูก การใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่ม Gentamycin, Lincomycin, Spectinomycin และ Tylosin (GTLS- Sigma^R) พบว่าสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียรวมทั้งเชื้อ mycoplasma และ ureaplasma ได้เป็นอย่างดี และไม่มีผลร้ายต่อตัวอสุจิ (มุขดาและคณะ, 2539) แต่เนื่องจากยาปฏิชีวนะกลุ่มดังกล่าวมีราคาแพง จึงทำการทดลองใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่มเดิมแต่เป็นชนิดยาฉีดที่มีราคาถูกกว่าแทน สิ้นชัยและคณะ (2547) พบว่ายาปฏิชีวนะกลุ่ม GTLS (Sigma^R) และ GTLS₄ สามารถหยุดการเจริญของเชื้อ ureaplasma , mycoplasma ได้ 100% และกลุ่ม GTLS₄ สามารถหยุดการเจริญของเชื้อ Leptospire ได้ 100% รวมทั้งสามารถควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียจาก plate count agar ได้ดี สามารถลดค่าการปนเปื้อนที่สูงกว่า 30,000 โคโลนี/มล.เหลือต่ำกว่า 1,000 โคโลนี/มล. การทดลองนี้เป็นการศึกษาต่อเนื่องโดยต้องการเปรียบเทียบผลของยาปฏิชีวนะระหว่างกลุ่ม GTLS (Sigma^R) และ GTLS₄ ชนิดฉีดที่มีราคาถูก เมื่อนำมาใช้ในขบวนการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งจะมีผลดีหรือผลเสียต่อตัวอสุจิในน้ำเชื้อแช่แข็งอย่างไร โดยวัดจากความผิดปกติของเยื่อหุ้มตัวอสุจิ (plasma membrane) และอะโครโซม (acrosome) เนื่องจากความเสียหายของเยื่อหุ้มตัวอสุจิแสดงว่าตัวอสุจิดังกล่าวตายแล้ว และอะโครโซมที่ผิดปกติก็ไม่สามารถปฏิสนธิกับไข่ของแม่โคได้ (Nagy et al., 2003)

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อด้วยการย้อมตัวอสุจิด้วยสี FITC-PNA (Fluorescein isothiocyanate-conjugated peanut agglutinin, marker for acrosome damage) และ PI (Propidium iodide, marker for membrane damage) แล้วตรวจด้วยเครื่อง Flow Cytometer นั้น ให้ผลแม่นยำมากเนื่องจากเป็นการตรวจแบบรูปธรรมสามารถวัดค่าจริงได้ (objective) และสามารถตรวจตัวอสุจิได้นับหมื่นตัวต่อวินาที ทำให้ได้รวดเร็วและผลแม่นยำ (Nikorn, et.al.,2004) จึงนำวิธีตรวจด้วยเครื่อง Flow Cytometer มาใช้ในงานทดลองนี้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เก็บตัวอย่างน้ำเชื้อฟอแพนธุ์โคนมพันธุ์ขาวดำจำนวน 14 ตัว จากศูนย์ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งฟอแพนธุ์ผสมเทียมลำพูนกลาง จ. ลำพูน โดยใช้ Artificial Vagina

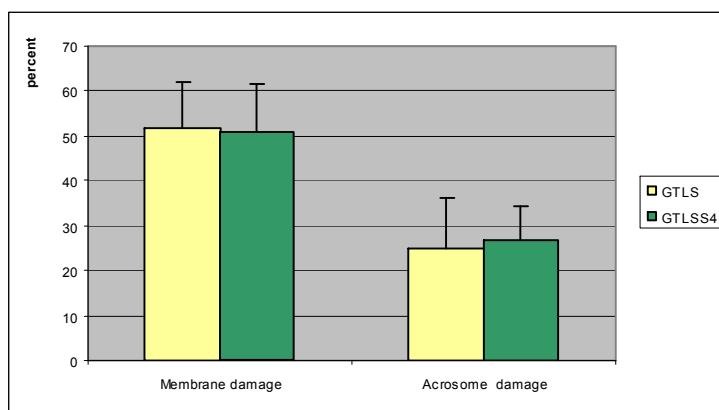
2. ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อทางด้านชีวภาพตามวิธีของ Largerlof, (1962) ดังนี้ mass activity, sperm motility,
 3. ตรวจตัวอสุจิมีชีวิตด้วยสี nigrosin-eosin ก่อนทำการแช่แข็ง โดยน้ำเชื้อที่จะนำมาทำการแช่แข็งต้องมีตัวอสุจิมีชีวิตไม่น้อยกว่าร้อยละ 70
 4. แบ่งน้ำเชื้อเป็น 2 ส่วน นำไปผสมใน Egg Yolk Tris (ที่มีส่วนผสมของไข่แดง 20 % glycerol 7 %) ใช้ยาปฏิชีวนะ ต่างกัน 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ใช้ gentamycin 250 µg /ml, Tylosin 50 µg /ml, Lincomycin 150 µg /ml และ Spectinomycin 300 µg /ml (GTLS) ทั้งหมดเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Sigma^R กลุ่มที่ 2 ใช้ยาปฏิชีวนะชนิดใช้ฉีดรักษาสัตว์ได้แก่ gentamycin 250 µg /ml (Gentalvet^R), Lincomycin 150 µg /ml และ Spectinomycin 300 µg /ml (Pharmacia^R) และ Tylosin 50 µg /ml (Tylovet^R) และ streptomycin 4,000 µg /ml (Merck^R) (GTLSS₄)
 5. นำน้ำเชื้อทั้ง 2 ส่วนมาทำการแช่แข็งโดยวิธี Paillete technique (Van Dierten, 1976)
 6. ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อหลังจากแช่แข็งอย่างน้อย 24 ชั่วโมง โดยตรวจร้อยละของความผิดปกติของเยื่อหุ้มตัวอสุจิและอะโครโซมในน้ำเชื้อแช่แข็งโดยใช้เครื่อง Flow Cytometer การตรวจความผิดปกติของอะโครโซมจะย้อมด้วยสี FITC-PNA และการตรวจความผิดปกติเยื่อหุ้มตัวอสุจิจะย้อมด้วยสี PI โดยทำการละลายน้ำเชื้อแช่แข็งที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 30 วินาที แล้วเจือจางทันทีด้วย Hepes-buffered modified Tyrode medium (SP-TALP; 2.0 mM CaCl₂, 3.1 mM KCl, 0.4 mM MgCl₂, 100.0 mM NaCl, 25.0 mM NaHCO₃, 0.3 mM NaH₂PO₄, 1.0 mM sodium pyruvate, 21.6 mM sodium lactate, 10.0 mM Hepes, and 6 mg/ml BSA) ปริมาตร 10 เท่าของน้ำเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C และกรองผ่าน 41 µm nylon mesh (Spectrum, Los Angeles, CA) หรือคำนวณให้มีความเข้มข้นของตัวอสุจิ 50×10⁶ cells/ml. จากนั้นย้อมด้วยสี FITC-PNA ใช้น้ำเชื้อปริมาตร 440-µl aliquot ผสมกับสี FITC-PNA ปริมาตร 50 µl (10 µg/ml.) ปั่นตัวอย่างที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 30 นาที จากนั้นย้อมด้วยสี PI ก่อนนำไปตรวจด้วยเครื่อง Flow Cytometer
 7. การวิเคราะห์ข้อมูล
- คุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็ง เปรียบเทียบร้อยละของความผิดปกติอะโครโซมและเยื่อหุ้มตัวอสุจิในน้ำเชื้อแช่แข็งที่ใช้ยาปฏิชีวนะ 2 ชนิด โดยใช้ paired t- test

ผล

จากการตรวจคุณภาพตัวอสุจิในน้ำเชื้อแช่แข็งที่ผลิตจากพ่อโคจำนวน 14 ตัว ใช้ Egg Yolk Tris เป็นน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ และใช้ยาปฏิชีวนะ 2 กลุ่ม คือ GTLS และ GTLSS₄ เพื่อเปรียบเทียบผลของยาปฏิชีวนะต่อเยื่อหุ้มตัวอสุจิและอะโครโซมในน้ำเชื้อโค ด้วยการย้อมตัวอสุจิด้วยสี FITC-PNA และ PI ซึ่งเป็น

สี fluorescent แล้วตรวจด้วยเครื่อง Flow Cytometer นั้น ตัวอสุจิที่อะโครโซมเสียหายจะติดสีเขียว และตัวอสุจิที่ตายหรือเยื่อหุ้มเซลล์เสียหายจะติดสีแดง สำหรับตัวอสุจิที่มีชีวิตจะไม่ติดสี

ผลการใช้ยาปฏิชีวนะทั้ง 2 กลุ่ม ในขบวนการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งโคต่อคุณภาพตัวอสุจิ แสดงดังรูปที่ 1 โดยพบว่ายาปฏิชีวนะ GTLS และ GTLSS₄ มีผลต่อความเสียหายของเยื่อหุ้มตัวอสุจิและอะโครโซมไม่แตกต่างกัน ($P>.05$)



รูปที่ 1 แสดงภาพร้อยละของความผิดปกติของเยื่อหุ้มตัวอสุจิ (Membrane damage) และ ความผิดปกติของอะโครโซม (Acrosome damage)

ค่าเฉลี่ยร้อยละของความผิดปกติของเยื่อหุ้มตัวอสุจิในน้ำเชื้อแช่แข็งที่ใช้ยาปฏิชีวนะ GTLS (Sigma^R) และ GTLSS₄ ชนิดฉีด เป็น 51.61 และ 50.97 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) แสดงว่าหลังการแช่แข็งน้ำเชื้อด้วยยาปฏิชีวนะทั้งสองกลุ่มแล้วมีตัวอสุจิที่มีชีวิตร้อยละ 48.39 และ 49.03 ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % แสดงว่าการใช้ยาปฏิชีวนะทั้งสองกลุ่มในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งให้ผลต่อการรอดของตัวอสุจิไม่ต่างกัน

ตารางที่ 1 ร้อยละของความผิดปกติของเยื่อหุ้มตัวอสุจิและของอะโครโซมในน้ำเชื้อแช่แข็งที่ใช้ยาปฏิชีวนะ GTLS (Sigma^R) และ GTLSS₄ ชนิดฉีด

กลุ่มยาปฏิชีวนะ	จำนวน (ตัว)	ร้อยละของความผิดปกติของเยื่อหุ้มตัวอสุจิ		ร้อยละความผิดปกติของอะโครโซม	
		ค่าเฉลี่ย	SD	ค่าเฉลี่ย	SD
GTLS	14	51.61	10.34	25.12	11.02
GTLSS ₄ ชนิดฉีด	14	50.97	10.59	26.59	7.61

($P>.05$)

ความสมบูรณ์ของอะโครโซมมีความจำเป็นต่อความสามารถในการปฏิสนธิของตัวอสุจิ ผลจากตารางที่ 1 พบว่าค่าเฉลี่ยร้อยละของความผิดปกติของอะโครโซมตัวอสุจิในน้ำเชื้อแช่แข็งที่ใช้ยาปฏิชีวนะ GTLS (Sigma^R) และ GTLSS₄ ชนิดฉีดไม่แตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 25.12 และ 26.59 ตามลำดับ

วิจารณ์

เนื่องจากเปอร์เซ็นต์ความเสียหายของอะโครโซมและเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิหลังการแช่แข็งน้ำเชื้อเป็นดัชนีที่บ่งชี้ถึงความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อแช่แข็ง น้ำเชื้อที่มีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่มีความสมบูรณ์ของอะโครโซมและเยื่อหุ้มเซลล์สูง จะมีโอกาสผสมติดได้มาก ขบวนการแช่แข็งทำให้เกิดความเสียหายต่ออะโครโซมและเยื่อหุ้มเซลล์ตัวอสุจิในน้ำเชื้อได้ (Nagy, et al., 2003) การตรวจ ความเสียหายของอะโครโซมและเยื่อหุ้มเซลล์ของตัวอสุจิ ด้วยเครื่อง Flow Cytometer ซึ่งเป็นเครื่องตรวจที่ให้ความแม่นยำสูงเนื่องจากตรวจตัวอสุจิได้จำนวนมาก เกินกว่า 10,000 ตัว ในระยะเวลาสั้นนับเป็นวินาที ผลที่ได้จากค่าร้อยละของความผิดปกติของเยื่อหุ้มตัวอสุจิและของ อะโครโซมในน้ำเชื้อแช่แข็งที่ผลิตโดยใช้ยาปฏิชีวนะทั้ง 2 กลุ่ม ที่มีผลไม่ต่างกัน ($P>.05$) ทั้งนี้เนื่องจากการขึ้นทะเบียนยาต้องคำนึงถึงคุณภาพและความปลอดภัยของเภสัชเคมีภัณฑ์รวมทั้งการผลิตต้องมีมาตรฐาน GMP และเภสัชเคมีภัณฑ์ที่นำมาผลิตเป็นยาสำหรับสัตว์อย่างน้อยต้องเป็น pharmaceutical grade (พรบ.ยา พ.ศ. 2510, ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม) ดังนั้นยาปฏิชีวนะที่ใช้ผลิตเป็นยาฉีดกลุ่มที่ 2 จึงน่าจะมีความบริสุทธิ์เพียงพอที่จะนำมาใช้ในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งโค การที่ยาฉีดกลุ่มที่ 2 มีราคาสูงกว่ามากอาจเนื่องจากการผลิตต่อครั้งเป็นจำนวนมากกว่ายาฉีดกลุ่มที่ 1 จึงมีราคาสูงกว่า ถ้านำมาใช้ในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งโคจะลดต้นทุนการผลิตได้เป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตามเนื่องจากการเปลี่ยนยาปฏิชีวนะในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งนับเป็นเรื่องสำคัญ จึงควรทำการทดลองนำน้ำเชื้อแช่แข็งนี้ไปทดสอบอัตราการผสมติดตามสภาพจริงในภาคสนามเพื่อให้เกิดความมั่นใจยิ่งขึ้น

สรุป

การใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่ม GTLS(Sigma^R) หรือ GTLSS₄ ร่วมกับน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ Egg-Yolk Tris ที่มีส่วนประกอบของไข่แดง 20% และ glycerol 7% ในการผลิตน้ำเชื้อโคแช่แข็ง พบว่ามีผลต่อคุณภาพของเยื่อหุ้มตัวอสุจิและอะโครโซมของตัวอสุจิไม่ต่างกัน ($P>.05$)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ดร. ยินดี กิตติยพันธ์ ดร.จำเนียร สายขุน สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหิดลที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจวัดอสุจิด้วยเครื่อง Flow Cytometer

เอกสารอ้างอิง

พรบ.ยา พ.ศ. 2510, ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

[HTTP://www.FDA.MOPH.go.th./](http://www.FDA.MOPH.go.th/)

มุขดา รัตนภาสกร รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล จันทรเพ็ญ สุวิมลธีรบุตร ปราจีน วีรกุล (2539) ชนิดของแบคทีเรียในน้ำเชื้อสดและยาปฏิชีวนะในน้ำเชื้อแช่แข็ง เวชสารสัตวแพทย์ ปีที่ 26 (4) p 369-378

สินชัย วิโรจน์ภูมิกุล มุขดา รัตนภาสกร อยู่ทนต์ หรินทรานนท์ (2547) การใช้ยาปฏิชีวนะชนิด commercial grade แทนชนิด Laboratory grade ในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง ในรายงานการประชุมสัมมนาวิชาการปศุสัตว์ครั้งที่ 19 ประจำปี 2547 วันที่ 26-30 พ.ค. 2547 พิพิธภัณฑ์การเกษตรแห่งชาติ อ. คลองหลวง จ. ปทุมธานี

Lagerlof N. 1962. Thirty years' experiences with a sperm laboratory for domestic animals.

Zootec.e Vet.17:343-348.

Nagy, S., Jansen,J., Topper,E.K and Gadella, B.M. (2003) A Tripple-Stain Flow Cytometric Method to Assess Plasma- and Acrosome Membrane Integrity of Cryopreserved Bovine Sperm Immediately after Thawing in Presence of Egg-Yolk Particles. Biol. Reprod., 68:1828-1835.

Nikorn Thongtip, Jumnian Saikhun, Mangkorn Damyang, Sittidet Mahasawangkul, Piyawan Suthunmapinata, Manoch Yindee, Apisek Kongsila, Tawepoke Angkawanish, Sarun Jansittiwate, Waroot Wongkalasin, Worawidh Wajjwalkul, Yindee Kitiyanant, Kanok Pavasuthipaisit and Anuchai Pinyopummin. (2004) Evaluation of post-thaw Asian elephant (*Elephas maximus*) spermatozoa using flow cytometry: the effects of extender and cryoprotectant., [Theriogenology](#). 62: 3-4, p748-760 .

Van Dieten, (1976) Deep Frozen Semen. In: Livestock improvement by means of artificial insemination. N.J. Phillips Gloeilampenfabrieken Eindhoven, The Netherlands.

รูปแบบของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดในแม่โคนม : การศึกษาหลายพื้นที่

ศร ธิปภิมากร¹ วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา² และ พัทธรินทร์ ปิ่นทะนา³

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อหารูปแบบของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดในแม่โคนมจากหน่วยผสมเทียมหลายแห่ง ที่มีจำนวนรวมแม่โคที่คลอดในช่วงเวลาที่ศึกษามากเป็น 5 อันดับแรก ใช้ข้อมูลจากการเก็บรวบรวมโดยศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่ซึ่งประกอบด้วยแม่โคจำนวน 3,677 ตัว ที่อยู่ในฟาร์มรายย่อย 684 ฟาร์ม จาก 5 หน่วยผสมเทียม ปัจจัยหลักได้แก่ฤดูกาลที่แม่โคคลอด ปัจจัยอื่นที่รวมอยู่ในตัวแบบทางสถิติได้แก่ หน่วยผสมเทียม ลำดับท้องและกลุ่มทางพันธุกรรมที่แบ่งตามระดับสายเลือดไฮลอสไตร์ กำหนดให้ฤดูกาลของการคลอด หมายถึง สัดส่วนของการคลอดในเดือนที่มีการคลอดน้อยที่สุดต่อเดือนที่มีการคลอดมากที่สุดในระยะเวลา 12 เดือน ใช้ตัวแบบเชิงเส้นแบบผสมโดยทั่วไป (Proc Mixed; SAS 9.1.3) ในการวิเคราะห์ทางสถิติ ผลการศึกษาพบว่าฤดูกาลที่แม่โคคลอดและลำดับท้องมีผลต่อจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติด ($p < 0.0001$) เมื่อพิจารณาโดยเรียงลำดับจากฤดูร้อน ฤดูฝนและฤดูหนาว แม่โคที่คลอดในช่วงฤดูร้อนมีจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดนานที่สุด แม่โคที่คลอดในฤดูฝนมีจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดสั้นกว่าแม่โคที่คลอดในฤดูร้อน ในขณะที่แม่โคคลอดในฤดูหนาวมีจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดสั้นที่สุด ค่าของฤดูกาลของการคลอดมีค่ามากกว่า 50 เปอร์เซนต์ในทุกหน่วยผสมเทียมซึ่งหมายถึงการมีฤดูกาลของการผสมพันธุ์และฤดูกาลของการคลอด การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงรูปแบบของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดในแม่โคนมที่มีความเกี่ยวข้องกับฤดูกาล

คำสำคัญ : วันหลังคลอดถึงผสมติด ฤดูกาล รูปแบบ โคนม

¹ ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50300

² คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อ. เมือง จ.เชียงใหม่ 50100

³ บริษัทล้ามนาสุขภาพสัตว์ จำกัด อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100

The Pattern of Days to Conception of Dairy Cows: A Multi Location Study

Sorn Teepatimakorn¹, Veerasak Punyapornwithaya² and Patcharin Pintana³

Abstract

The objective of this study was to determine the pattern of days to conception of dairy cows from different AI units that were top five in number of calving cows during study period. Data collected by AI ChiangMai and Biotechnology Centers consisted of 3,677 cows in 684 small holder farms from 5 AI units were used. Main factor was season of calving. Other factors included in the statistical model were AI units, parity and breeding group by level of Holstein. Seasonality of calving (SOC) was defined as the ratio of the fewest to the most calving in 12 months. Statistical analysis was conducted using generalized linear mixed model (Proc Mixed; SAS 9.1.3). The result indicated that season of calving and parity affected on days to conception ($p < 0.0001$). Considering to the sequence from hot, rainy and winter, cows calved during hot season had the longest days to conception. Cows calved during rainy had days to conception shorter than cows calved in hot season while cows calved during winter season had the shortest days to conception. Overall SOC was 0.7 indicating that season of breeding and calving occurred. This study showed a pattern of days to conception of dairy cows related with season of calving.

Key words: days to conception, season, pattern, dairy cows

¹ ChiangMai Artificial Insemination Research and Biotechnology Center, Muang, ChiangMai 50300

² Faculty of Veterinary Medicine ChiangMai University Muang Chiangmai 50100

³ Lanna Animal Healths, Muang, ChiangMai 50200

บทนำ

รายงานจำนวนหลายรายงานในประเทศไทยแสดงให้เห็นว่าฤดูกาลเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของโคนม (กัลยาและคณะ, 2540; จินตนาและคณะ, 2541; ปราชญ์และคณะ, 2544; ธนูและคณะ, 2545) แต่รายงานส่วนใหญ่เป็นการรายงานถึงค่าอัตราผสมติด (conception rate) มีรายงานไม่มากนักที่ศึกษาจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติด (days to conception) กับฤดูกาลและยังไม่พบรายงานที่ได้เน้นการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับรูปแบบ (pattern) ของจำนวนวันหลังคลอดกับฤดูกาลโดยตรง

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษารูปแบบของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดกับฤดูกาลที่แม่โคคลอดโดยมีการทดสอบและพิจารณาเป็นขั้นตอนโดยสังเขป ดังนี้ ทำการทดสอบทางสถิติว่าจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดมีความแตกต่างกันตามฤดูกาลหรือไม่ จากนั้นทำการคำนวณค่า Seasonality of calving (SOC) เพื่อแสดงว่าการคลอดของแม่โคมีลักษณะเป็นฤดูกาลหรือไม่ซึ่งค่า SOC นี้จะเป็นค่าพิจารณาร่วมและทำการคำนวณค่าเฉลี่ยกำลังสองน้อยที่สุด (least square mean) ของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดตามเดือนที่แม่โคคลอดเพื่อนำมาแสดงในรูปแผนภูมิ หากพบว่าฤดูกาลมีผลต่อจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดและค่า SOC มีค่าสูงและพบว่ามีรูปแบบของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดตามเดือนที่แม่โคคลอดจากแผนภูมิ ผลที่ได้นี้จะสนับสนุนว่าจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดมีรูปแบบที่เกี่ยวข้องกับฤดูกาล ซึ่งแนวทางในการประเมินนี้ได้มีรายงานในต่างประเทศโดย Oseni และคณะ (2003)

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาในระดับเบื้องต้นโดยศึกษาจากแม่โคนมในฟาร์มโคนมเกษตรกรรายย่อยที่ขึ้นกับหน่วยผสมเทียมจำนวน 5 แห่งในเขตภาคเหนือตอนบนที่มีจำนวนแม่โคที่คลอดในช่วงที่ศึกษามากเป็น 5 อันดับแรก ผลที่ได้จากการศึกษานี้จะนำไปสู่การศึกษาในระดับภาคและระดับประเทศต่อไป เพื่อแสดงให้เห็นถึงผลของฤดูกาลต่อระบบสืบพันธุ์โคนม อันจะนำไปสู่แนวทางในการเพิ่มศักยภาพและใช้ในงานส่งเสริมการเลี้ยงโคนมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. โครงสร้างของข้อมูลและการจัดการข้อมูล

ใช้ข้อมูลรายตัวและการผสมเทียมจากแม่โคนมของฟาร์มโคนมเกษตรกรรายย่อยที่อยู่ในฐานข้อมูลการผสมเทียมของศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่ โดยคัดเลือกแม่โคที่อยู่ในลำดับท้องที่ 1 ถึง 6 และการคลอดเกิดขึ้นในช่วง พ.ศ. 2547 ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วยหมายเลขแม่โค วันที่แม่โคคลอดครั้งล่าสุด ลำดับท้อง สายพันธุ์ วันที่แม่โคได้รับการผสม ผลการตรวจการตั้งท้อง ใช้ชุดคำสั่ง (procedure:PROC) ในโปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Analysis System เวอร์ชัน 9.1.3

(SAS, 2005) ในการจัดข้อมูล ทำการคัดเลือก สอบถาม (query) จัดการและตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลด้วย PROC SQL (Prairie,2005)

2. ตัวแปรและการแสดงข้อมูล

ผลที่ต้องการวัดหรือตัวแปรตาม คือ จำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติด ปัจจัยหลักหรือตัวแปรต้นที่ศึกษา ได้แก่ ฤดูกาลที่คลอด ปัจจัยอื่นๆที่นำมาศึกษาร่วมด้วย ได้แก่ ระดับสายเลือดไฮลสไตร์น และ ลำดับท้อง ปัจจัยที่ศึกษาทุกตัวเป็นปัจจัยแบบแบ่งกลุ่ม โดยมีรายละเอียดในการแบ่งดังต่อไปนี้ ระดับสายเลือดไฮลสไตร์นแบ่งออกเป็น 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) จำนวนแม่โคที่ใช้ในการศึกษาภายหลังจากการจัดการข้อมูลประกอบด้วย แม่โคจำนวน 3,677 ตัวจาก 648 ฟาร์ม จากหน่วยผสมเทียม 5 หน่วย จำนวนแม่โคที่คลอดโดยเรียงตามฤดูกาลจากร้อน ฝนและหนาวมี 1,092 1,313 1,272 ตัวและหน่วยผสมเทียม 501200, 501300, 501400, 502100, 502300 มีจำนวนแม่โคที่คลอด 226, 919, 434, 1251 และ 847 ตัวตามลำดับ

ทำการคำนวณค่า SOC จากสมการดังต่อไปนี้

$$SOC = 1 - (\text{จำนวนการคลอดในเดือนที่มีการคลอดน้อยที่สุด} / \text{จำนวนการคลอดในเดือนที่มีการคลอดมากที่สุด})$$

ค่า SOC นั้นใช้ในการประเมินว่ามีรูปแบบของการคลอดเป็นฤดูกาลหรือไม่ ค่า SOC ที่มีค่าสูงแสดงให้เห็นว่ามีรูปแบบของการคลอดในลักษณะเป็นฤดูกาลอย่างชัดเจน

ทำการสร้างกราฟเพื่อแสดงค่าเฉลี่ยกำลังสองน้อยที่สุดของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดตามฤดูกาลในภาพรวมของทุกหน่วยผสมเทียมและแยกตามหน่วยผสมเทียมเพื่อแสดงแนวโน้มของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดตามฤดูกาล

3. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดมีความแตกต่างกันตามกลุ่มของฤดูกาล การทดสอบเขียนตัวแบบได้ดังนี้

$$Y_{ijklm} = \mu + \text{season}_j + \text{lact}_k + \text{breed}_l + \text{ai unit}_m + \epsilon_{ijklm}$$

เมื่อ y = จำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดของแม่โคลำดับที่ i ที่มีระดับสายเลือด l

ลำดับท้องที่ k ที่อยู่ในฟาร์มลำดับที่ m เมื่อคลอดในฤดูกาลลำดับที่ j

($i = 1$ ถึง 3,677)

μ = ค่าเฉลี่ยของค่าสังเกตทั้งหมด (overall means)

lact = อิทธิพลคงที่จากลำดับท้องที่ k ($k = 1$ ถึง 3)

breed = อิทธิพลคงที่ของกลุ่มสายเลือดลำดับที่ l ($l = 1$ ถึง 3)

ai unit = อิทธิพลคงที่จากหน่วยผสมเทียมลำดับที่ m ($m = 1$ ถึง 5)

ϵ = ค่าความคลาดเคลื่อนแบบสุ่ม ที่มีคุณสมบัติ $\epsilon \sim \text{NID}(\mu, \sigma^2)$

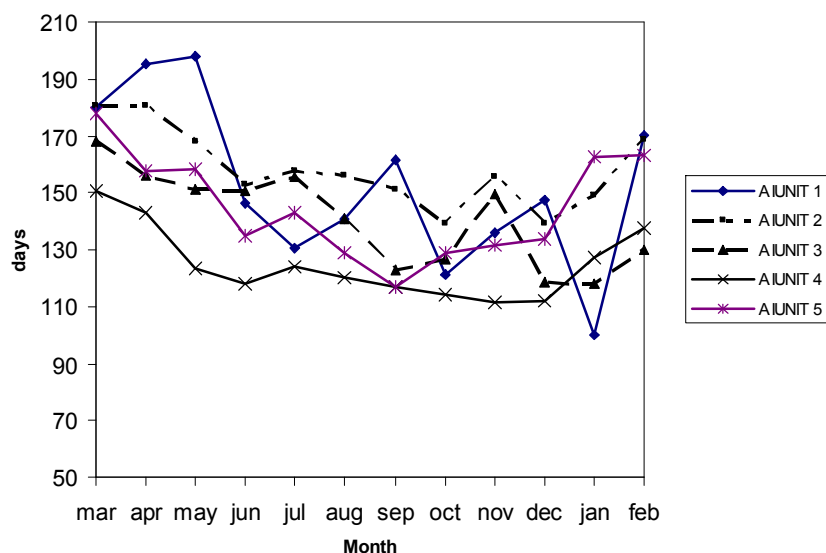
ใช้ชุดคำสั่งใน Proc Mixed ของโปรแกรม SAS (Littell et al., 1996) ในการวิเคราะห์ความแปรปรวน โดยกำหนดเป็นแบบ type 3 กำหนดระดับนัยสำคัญที่ $\alpha = 0.05$ ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยกำลังสองน้อยที่สุดตามกลุ่มฤดูกาล (multiple comparison) โดยวิธีของ tukey

ผล

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าฤดูกาลที่แม่โคคลอดมีผลต่อจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติด ($p < 0.0001$) แม่โคที่คลอดในฤดูร้อนมีจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดยาวนานที่สุด และค่า SOC รวมของหน่วยผสมเทียมทั้งหมดมีค่า 0.7 หรือ 70% ($1 - \{243/811\} = 0.7$)

ตารางที่ 1 ปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติด

Effect	Num DF	Den		Pr > F
		DF	F Value	
Season	2	3666	32.90	<.0001
Ai Unit	4	3666	33.69	<.0001
Parity	2	3666	4.15	0.0159
Breed group	2	3666	1.15	0.3177



แผนภาพที่ 1 แสดงจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดเฉลี่ยของแม่โคที่คลอดในแต่ละเดือนโดยเรียงตามฤดูกาลตามลำดับดังนี้ ฤดูร้อน (mar-jun) ฤดูฝน (jul-oct) และฤดูหนาว (nov-feb)

วิจารณ์

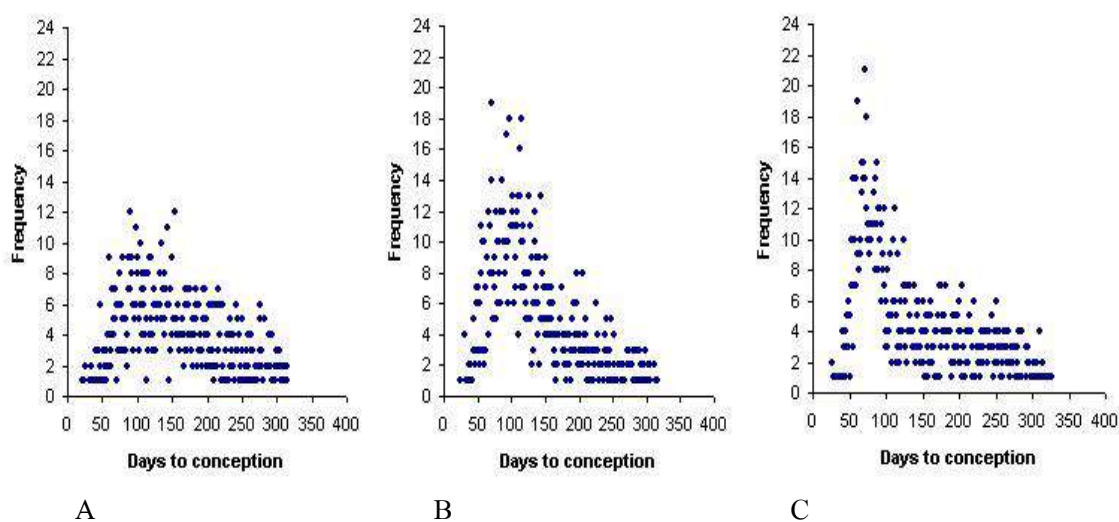
ปัจจัยหลักที่ใช้ในการทดสอบอิทธิพลต่อจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดในแม่โคนมของการศึกษาครั้งนี้ คือ ฤดูกาล โดยมีการปรับอิทธิพลจากลำดับท้อง หน่วยผสมเทียมและระดับสายเลือดไฮลส์ไทรน์

การประเมินได้พิจารณาจากการทดสอบความแปรปรวนโดยพิจารณาร่วมกับรูปแบบที่แสดงโดยแผนภูมิและจากค่า SOC ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าฤดูกาลที่แม่โคคลอดมีความเกี่ยวข้องกับจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติด เมื่อพิจารณาจากหน่วยผสมเทียมที่ 2 ถึง 5 ดังแสดงในแผนภาพที่ 1 พบว่ารูปแบบของกราฟมีรูปแบบที่ใกล้เคียงกัน โดยในช่วงตั้งแต่เดือนมีนาคมซึ่งเป็นช่วงต้นของฤดูร้อนจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดมีแนวโน้มลดลงมาเรื่อยๆ ในช่วงฤดูฝน (เดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม) จนถึงเดือนธันวาคมหรือช่วงต้นฤดูหนาวและมีแนวโน้มค่อยๆ สูงขึ้นในช่วงเดือนมกราคมและสูงที่สุดในช่วงเดือนมีนาคมและเมษายน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแม่โคที่คลอดในฤดูร้อนมีจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดที่ยาวนาน แม่โคที่คลอดในฤดูฝนและแม่โคที่คลอดในฤดูหนาวมีแนวโน้มที่จำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดสั้นกว่า ซึ่งรูปแบบที่ได้จากกราฟสอดคล้องกับการทดสอบทางสถิติโดยพบว่าแม่โคที่คลอดในฤดูร้อนมีจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดยาวนานที่สุด ในขณะที่แม่โคที่คลอดในฤดูฝนและฤดูหนาวมีจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดสั้นกว่า สำหรับหน่วยผสมเทียมที่ 1 นั้นถึงแม้ว่ากราฟมีการขึ้นลงหรือมีความเบี่ยงเบนค่อนข้างมาก แต่อย่างไรก็ตามก็ยังให้ผลที่สอดคล้องโดยที่จำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดมีค่าสูงในช่วงเดือนมีนาคมและเมษายน การที่หน่วยผสมเทียมที่ 1 มีลักษณะข้อมูลที่สูงขึ้นนั้นเป็นไปได้ว่าจำนวนแม่โคที่อยู่ในหน่วยนี้มีจำนวนน้อยที่สุด

เมื่อเทียบกับหน่วยผสมเทียมอื่นๆ ดังนั้นจึงเกิดความเบี่ยงเบนได้ค่อนข้างมาก ดังนั้นการศึกษาต่อไปควรทำการศึกษาถึงขนาดฟาร์มหรือหน่วยผสมเทียมต่อรูปแบบของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดตามฤดูกาล

กราฟแสดงความถี่ในแผนภาพที่ 2 ช่วยสนับสนุนให้เห็นว่ามีความแตกต่างของจำนวนแม่โคที่ผสมติดตามจำนวนวันหลังคลอด โดยจะเห็นได้ว่าแม่โคที่คลอดในฤดูหนาวมีจำนวนแม่โคที่ผสมติดในช่วง 50-100 วันโดยประมาณจำนวนมาก ส่วนแม่โคที่คลอดในฤดูฝนแม่โคส่วนใหญ่มีการผสมติดที่ 50-120 วัน แต่แม่โคที่คลอดในฤดูร้อนการผสมติดค่อนข้างแปรปรวนโดยการผสมติดส่วนใหญ่เกิดขึ้นในช่วงประมาณ 70-200 วัน

เมื่อพิจารณาถึงค่า SOC จากการรวมข้อมูลทั้งหมดพบว่ามีค่าสูงถึง 0.7 ซึ่งหมายถึงมีลักษณะการคลอดที่เป็นฤดูกาลอย่างชัดเจนและลักษณะการคลอดที่เป็นฤดูกาลนั้นมีความเกี่ยวข้องกับการผสมติดที่เป็นฤดูกาล



แผนภาพที่ 2 ค่าความถี่ของจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติด

เมื่อประเมินโดยใช้เงื่อนไขที่กำหนดไว้ข้างต้น จากการทดสอบความแปรปรวนที่พบว่าฤดูกาลที่คลอดมีผลต่อจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติด จากกราฟพบแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลและจากการที่ค่า SOC มีค่าสูง ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดของกลุ่มแม่โคที่ทำการศึกษานี้มีรูปแบบที่เกี่ยวข้องกับฤดูกาล

มีรายงานที่สอดคล้องกับผลการศึกษานี้ โดยเป็นรายงานที่แสดงถึงการผสมติดของแม่โคที่มีความสัมพันธ์กับฤดูกาลจากการวิเคราะห์ความอยู่รอด (survival analysis) ของสัดส่วนแม่โคที่ผสมติดภายใน 120 วันหลังคลอด (วีระศักดิ์และคณะ, 2549) พบว่าแม่โคที่คลอดในฤดูร้อนมีสัดส่วนของการตั้งท้อง

ภายใน 120 วันต่ำกว่าแม่โคที่คลอดในฤดูฝนและฤดูหนาว ซึ่งหมายถึงว่าจำนวนแม่โคที่คลอดในฤดูร้อนมีแนวโน้มที่มีจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดที่ต่ำกว่า 120 เป็นจำนวนมาก ทั้งนี้การที่แม่โคคลอดในฤดูร้อนโดยส่วนใหญ่จะมีการผสมในฤดูฝน (พัชรินทร์และคณะ, 2540) การที่แม่โคผสมในฤดูฝนถือเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญเนื่องจากเป็นช่วงฤดูที่มีการผสมติดที่ต่ำที่สุด

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าจำนวนวันหลังคลอดถึงผสมติดมีลักษณะของความเป็นฤดูกาลและแสดงให้เห็นว่าการคลอดของแม่โคในช่วงฤดูร้อนมีผลทำให้แม่โคมีสมรรถภาพการสืบพันธุ์ที่ต่ำ การพิจารณาการวางแผนการผสมพันธุ์เพื่อหลีกเลี่ยงการคลอดในฤดูร้อนหรือการเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการดูแลแม่โคที่คลอดในช่วงฤดูร้อนอย่างเป็นพิเศษจึงน่าจะเป็นแนวทางในการแนะนำหรือส่งเสริมการเลี้ยงโคนมสำหรับเกษตรกร

เอกสารอ้างอิง

- กัลยา บุญญานุวัตร อุดมศรี อินทรโชติ เฉลิมพล บุญเจือ .2540. อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นของสิ่งแวดล้อมต่อการผลิตนม และความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โคนมเอฟเอส (เอฟเพนดิกซ์ 3). การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 สาขาสัตว 3-5 กุมภาพันธ์ 2540 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 498-505
- จินตนา วงศ์นากนกร ธวัชชัย อินทรตุล และ กัลยา บุญญานุวัตร .2541. อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นของอากาศต่อการผลิตนมและความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โคนมลูกผสมขาวดำ. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36 3-5 กุมภาพันธ์ 2541 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 87-98
- ปราจีน วีรกุล 2544 การศึกษาและแก้ไขปัญหาการสูญเสียตัวอ่อนระยะต้นในโคนม ใน รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการการศึกษาแก้ไขปัญหาการผสมติดยากและการสูญเสียตัวอ่อนระยะต้นในโคนม สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย กรุงเทพฯ
- ธนู ภิญโญภูมิมินทร์ เกียรติศักดิ์ ต้นเจริญ และ วิทยา สุริยาสถาพร 2545 ปัจจัยแวดล้อมการผลิตที่มีผลต่ออัตราการตั้งท้องระดับฝูงในฟาร์มโคนมไทยการประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 40 สาขาสัตวแพทย์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2540 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 390-397
- วีระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา ศร ธิปปิฎาการ เอกพจน์ ระเบียบพิศม์ .2549. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการตั้งท้องในช่วง 120 วันหลังคลอดในแม่โคนมลูกผสมไฮลส์ไดน์ ฟรีเซียนโดยใช้สมการถดถอยของ Cox. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 4(1) : 3-10

พัชรินทร์ สนั่นไพโรจน์ สหัทธยา ทวีทรัพย์รอดและ ประภาส มหินชัย. 2542. สมรรถนะความสมบูรณ์พันธุ์และ การให้ผลผลิตของโคพันธุ์ไฮลสไตนี่ที่นำเข้าจากประเทศแคนาดา. การประชุมวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37 สาขาสัตว-สัตวแพทยศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2542 . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 237-248

Littell, C., Milliken, G.A., Stroup, W.W. and Wolfinger, R.D. 1996. SAS system for mixed models. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina. USA

Oseni, S., Misztal, I., Tsuruta, S. and Rekaya, R. 2003. Seasonality of days open in US Holsteins. J Dairy Sci 86:3718-3725

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

อิทธิพลของค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ออัตราการผสมติดของโคนมในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

สุรัชย์ สุรฤทธิพงศ์¹ และ พัลลภ ลูกอินทร์²

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อหาผลกระทบของค่าดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์ต่ออัตราการผสมติด และหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์และอัตราการผสมติดของแม่โคนมในพื้นที่อำเภอเมืองเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาประกอบด้วยข้อมูลการสืบพันธุ์จากแม่โคนมที่เคยให้ลูกมาแล้วทั้งหมด 1,591 ตัว ซึ่งมีทั้งผสมติด (705 ตัว) และผสมไม่ติด (886 ตัว) และข้อมูลสภาพอากาศ (ค่าเฉลี่ยรายเดือนของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์) ที่ได้จากรายงานของสถานีอุตุนิยมวิทยาที่อยู่บริเวณใกล้เคียง ในช่วงระหว่างเดือนมกราคม 2546 ถึงธันวาคม 2547 และสามารถแบ่งระดับความเครียดตามค่าดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์ได้เป็น 3 ระดับคือไม่มีความเครียด (THI < 72) มีความเครียดน้อย (THI = 72-79) มีความเครียดปานกลาง (THI = 79-86) ความสัมพันธ์และแนวโน้มของดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ออัตราการผสมติดวิเคราะห์ทางสถิติด้วยการทดสอบไคว์ สแควร์ จากโปรแกรมสำเร็จรูป SAS ผลการศึกษาพบว่าอัตราการผสมติดได้รับผลกระทบจากค่าดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.01$) และค่าดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์มีความสัมพันธ์เชิงลบกับอัตราการผสมติดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) การศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของค่าดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์จะทำให้อัตราการผสมติดในแม่โคนมลดลง

คำสำคัญ : ค่าดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์ อัตราการผสมติด แม่โคนม

ทะเบียนผลงานวิชาการเลขที่ 50(2)-0208-154

¹ ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพพิษณุโลก อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

² สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ 67000

The Effect of Temperature-Humidity Index on Conception Rate of Dairy Cows in Amphur Mueng, Phetchabun Province

Surachai Surarittipong¹ and Phanlop Loogin²

Abstracts

The objective of this study was to investigate the effect of temperature- humidity index (THI) on conception rate and to examine the relationship between THI and conception rate of dairy cows in Amphur Mueng, Phetchabun province. Reproductive data consisted of 1,591 multiparous dairy cows from 2003-2004. Climatic data, including average monthly both temperature and humidity, were obtained from reports prepared at the nearby weather station. The heat stress can be divided as THI into 3 level such as no stress (THI<72), mild stress (THI=72-79) and medium stress (THI=79-86) respectively. Relationship and trend of THI on conception rate were analyzed statistically using the chi squared test procedure of SAS software. The result showed that the cows inseminated in high THI had highly significant lower conception rates ($p<0.01$) than cows inseminated in low THI. Moreover, THI were negatively related to conception rates ($p<0.01$). This study indicated that an increase in THI resulted in decreased conception rates in dairy cows.

Key Words: temperature- humidity index, conception rate, dairy cows

¹ Pitsanuloke Artificial insemination and Biotechnology Research Center., Mueng Phitsanulok Province 65000

² Phetchabun Provincial Livestock Office., Mueng Phetchabun Province 67000

บทนำ

อุณหภูมิและความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมในประเทศไทย เนื่องจากโคนมที่เลี้ยงในประเทศไทยเป็นโคนมเลือดผสมระหว่างโคนมสายพันธุ์ต่างประเทศ (ส่วนมากเป็นพันธุ์โฮลสไตน์ ฟรีเซียน) กับโคพื้นเมือง ซึ่งปกติโคนมที่มีสายเลือดจากโคต่างประเทศมักจะไม่ทนความร้อน เมื่อใดก็ตามที่อุณหภูมิสูงโคนมก็จะใช้พลังงานขับความร้อนส่วนเกินออกจากร่างกาย แต่ถ้าในบรรยากาศมีความชื้นสูงโคนมไม่สามารถระบายความร้อนออกจากร่างกายได้จะทำให้โคเกิดสภาวะความเครียดเนื่องจากความร้อน (Barash et al., 2001; Ray et al., 1992) ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการผลิตและการสืบพันธุ์ (Kadzere et al., 2002) โดยระบบระบบเผาผลาญอาหาร และระบบฮอร์โมนต่างๆของร่างกาย

Armstrong (1994) ได้รายงานว่าการกินอาหารลดลง การกินน้ำเพิ่มขึ้น อุณหภูมิร่างกายเพิ่มขึ้น และการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของฮอร์โมนในเลือด สามารถเกิดขึ้นได้ในโคที่เกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน ยิ่งเป็นแม่โคที่ให้ลูกมาแล้วมากกว่า 1 ตัวและให้น้ำนมมากก็ยิ่งจะมีความรู้สึกอ่อนไหวต่อความเครียดเนื่องจากความร้อนมากขึ้น

ความเครียดเนื่องจากความร้อนลดความเข้มข้นและช่วงของการเป็นสัด และเพิ่มการไม่เป็นสัดและการตกไข่เสีย ผลที่ตามมาของการเปลี่ยนแปลงนี้เป็นการเพิ่มจำนวนครั้งของการผสมเทียม และลดสัดส่วนของผลการผสมเทียมในเรื่องของการตั้งท้อง (Cavestany et al., 1985; Lewis et al., 1984; White et al., 2002)

วิธีหนึ่งของการวัดระดับความรุนแรงของความเครียดเนื่องจากความร้อนในโคคือดูที่ค่าดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature-Humidity Index: THI) ซึ่งคำนวณได้จากฟังก์ชันของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่ล้อมรอบอยู่ (Armstrong, 1994; Cartmill et al., 2001) โดยทั่วไปค่าดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 72 จะเป็นตัวชี้บ่งว่าโคนมตกอยู่ในสภาวะเครียดเนื่องจากความร้อน

จังหวัดเพชรบูรณ์ เป็นจังหวัดที่ตั้งอยู่ในภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทยตลอดทั้งปีมีอุณหภูมิเฉลี่ย 24 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ 74 %

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อต้องการหาความสัมพันธ์และแนวโน้มของดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ออัตราการผสมติดของโคนมของเกษตรกรรายย่อยในพื้นที่อำเภอเมืองเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์

วัสดุและวิธีการ

ข้อมูลและการจัดการข้อมูล

ใช้ข้อมูลการสืบพันธุ์ของแม่โคนมจากฟาร์มโคนมเกษตรกรรายย่อยในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัด เพชรบูรณ์ ที่ได้รับการผสมเทียมระหว่างเดือนมกราคม พ.ศ. 2546 ถึง เดือนธันวาคม พ.ศ. 2547 ในระบบสารสนเทศโคนมของศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพพิษณุโลก แม่โคทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้เป็นแม่โคที่เคยให้ลูกมาแล้วอย่างน้อย 1 ตัว และมีรูปแบบการเลี้ยงส่วนใหญ่เป็นแบบผูกยืนโรง หรือมีบริเวณแคบๆ ในคอกสำหรับปล่อย ใช้การตัดพืชอาหารหยาบตามแหล่งธรรมชาติและให้อาหารสำเร็จรูป รีดนมวันละ 2 ครั้ง เข้า-เย็น การตรวจการเป็นสัดทำโดยเจ้าของฟาร์ม ผสมเทียมและตรวจการตั้งท้องโดยเจ้าหน้าที่ผสมเทียมกรมปศุสัตว์ การตรวจท้องจะดำเนินการในช่วง 2-3 เดือนหลังผสม ดังนั้นจึงมีข้อมูลการสืบพันธุ์จากแม่โคนมทั้งหมด 1,591 ตัว ซึ่งมีทั้งผสมติด (705 ตัว) และผสมไม่ติด (886 ตัว)

อัตราการผสมติดที่ใช้ศึกษาค้างนี้เป็นอัตราการผสมติดจากการผสมเทียมทั้งหมดโดยใช้สูตรในการคำนวณดังนี้

$$\text{อัตราการผสมติด (\%)} = \frac{\text{จำนวนโคที่ผสมติด (ตัว)} \times 100}{\text{จำนวนโคที่ผสมทั้งหมด (ตัว)}}$$

การคำนวณดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์

ข้อมูลสภาพอากาศที่ได้จากรายงานในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2546 ถึง เดือนธันวาคม พ.ศ. 2547 ของสถานีอุตุนิยมวิทยาเพชรบูรณ์ ประกอบด้วยข้อมูลอุณหภูมิ ($^{\circ}\text{C}$) และความชื้นสัมพัทธ์ (%) เฉลี่ยในแต่ละเดือน (ที่ได้มาจากการตรวจวัดอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ของแต่ละวันในเดือนนั้นๆ) นำไปคำนวณหาดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ โดยใช้สูตรตามวิธีการของ Ravagnolo และคณะ (2000) ดังนี้

$$THI = (9/5t + 32) - (0.55 - 0.55h) \times (9/5t - 26)$$

THI = ค่าดัชนีอุณหภูมิความชื้นสัมพัทธ์ (Temperature-humidity index)

t = อุณหภูมิเฉลี่ย ($^{\circ}\text{C}$) ในแต่ละเดือน

h = ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยในแต่ละเดือนมีค่าเป็นจุดทศนิยมสองตำแหน่ง

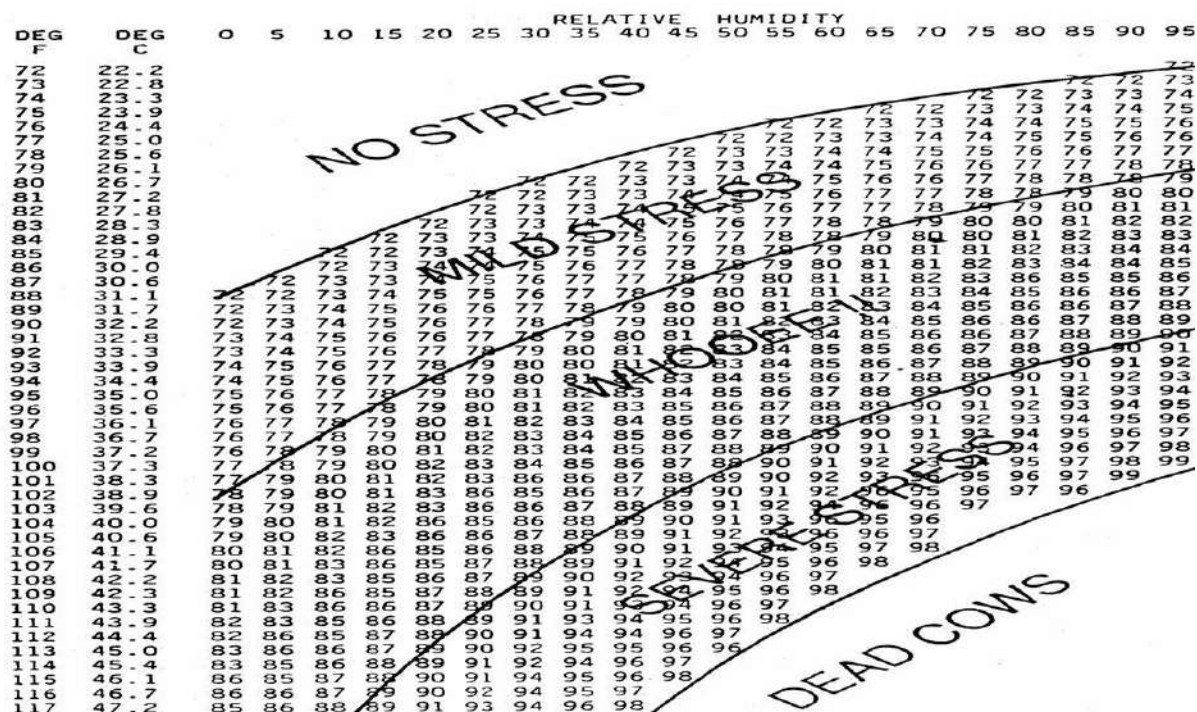
(0.55 เป็นค่าคงที่ของอุณหภูมิและความชื้นที่ทำให้ความสามารถในการรับเอาไอน้ำของบรรยากาศลดลง 1 หน่วย)

ค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ เป็นตัวบ่งชี้ระดับความเครียดของโคที่เกิดจากความร้อนชื้น ซึ่งแบ่งระดับความเครียดที่ได้พัฒนาโดย Wiersma (1990) แสดงดังตารางที่ 1 และ รูปที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงระดับความเครียดตามดัชนีของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (THI)

ระดับ	THI	ระดับความเครียด
1	< 72	ไม่มีความเครียด (No stress)
2	72 – 79	มีความเครียดน้อย (Mild stress)
3	79 – 86	มีความเครียดปานกลาง (Medium stress)
4	86 – 98	มีความเครียดรุนแรงมาก (Severe stress)
5	> 98	ทำให้โคตาย (Deadly stress)

รูปที่ 1 แสดงระดับความเครียดตามดัชนีของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ที่พัฒนา Wiersma (1990)



DEG F = อุณหภูมิสภาพแวดล้อม หน่วยเป็นองศาฟาเรนไฮต์

DEG C = อุณหภูมิสภาพแวดล้อม หน่วยเป็นองศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลทั้งหมดจะนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SAS (1999) โดยหาความสัมพันธ์ และแนวโน้มของดัชนีของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์กับผลการผสมติดของแม่โค โดยใช้การทดสอบ Chi-square

ผล

ข้อมูลสภาพอากาศ (อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์) ในช่วงเดือนมกราคม 2546 ถึง เดือนธันวาคม 2547 ในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้สรุปไว้ในตารางที่ 2 ซึ่งมีความผันแปรของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละเดือน ค่าเฉลี่ยรายเดือนของอุณหภูมิมีพิสัยจาก 24.24 ถึง 30.71 และ ค่าเฉลี่ยของความชื้นสัมพัทธ์ มีพิสัยจาก 62.27 ถึง 86.45 และเมื่อพิจารณาค่า THI พบว่าเกือบทุกเดือนยกเว้นเดือนธันวาคมมีค่า THI มากกว่า 72 ซึ่งหมายถึงโคนมจะมีสภาวะเครียด โดยจะมีระดับความเครียดน้อยอยู่ในช่วงเดือนมกราคม-มีนาคม และตุลาคม-พฤศจิกายน และระดับความเครียดปานกลางอยู่ในช่วงเดือนเมษายน-กันยายน

จากข้อมูลที่มีการผสมเทียมในช่วงปี เดือนมกราคม 2546 ถึง ธันวาคม 2547 ในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ทั้งหมด 1,591 ตัว มีการผสมติดทั้งหมด 705 ตัว คิดเป็นอัตราการผสมติดทั้งหมด 44.32% โดยอัตราการผสมติดแต่ละเดือนในขณะที่ทำการศึกษได้แสดงไว้ในรูปที่ 2 ในช่วงเดือน ธันวาคม มกราคม และ กุมภาพันธ์ มีอัตราการผสมติดเฉลี่ยทั้ง 2 ปีมากกว่า 45% ในขณะที่เดือน พฤษภาคม และมิถุนายน ปี 2546 มีอัตราการผสมติดเฉลี่ยน้อยกว่า 30% และ เดือนมีนาคม และเมษายน 2547 มีอัตราการผสมติดเฉลี่ยน้อยกว่า 40%

จากการศึกษาอิทธิพลของดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ออัตราการผสมติดของโคนมในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ที่แบ่งออกได้เป็น 3 ระดับคือ ไม่มีความเครียด ความเครียดเล็กน้อย และความเครียดปานกลางพบว่าอิทธิพลเนื่องจากระดับความเครียดมีผลต่อการผสมติดอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) และเมื่อทดสอบแนวโน้มด้วย Manti-Haenszel Chi-square พบว่าการเพิ่มค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์มีแนวโน้มในการลดอัตราผสมติดอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 3

นอกจากนี้ยังได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มขึ้นของ THI และการลดลงของอัตราการผสมติดในรูปที่ 2 ซึ่งพบว่าแม่โคที่ผสมเทียมทั้ง 2 ปีในช่วงเดือน ธันวาคม-กุมภาพันธ์ มีอัตราการผสมติดสูงกว่าช่วงอื่นๆ แต่การผสมเทียมในปี 2546 ช่วงเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน และในปี 2547 ช่วงเดือนมีนาคม-เมษายน มีอัตราการผสมติดต่ำกว่าช่วงอื่นๆ

ตารางที่ 2 แสดงค่าเฉลี่ยอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และค่าดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ในช่วงเวลา ปี 2546-2547

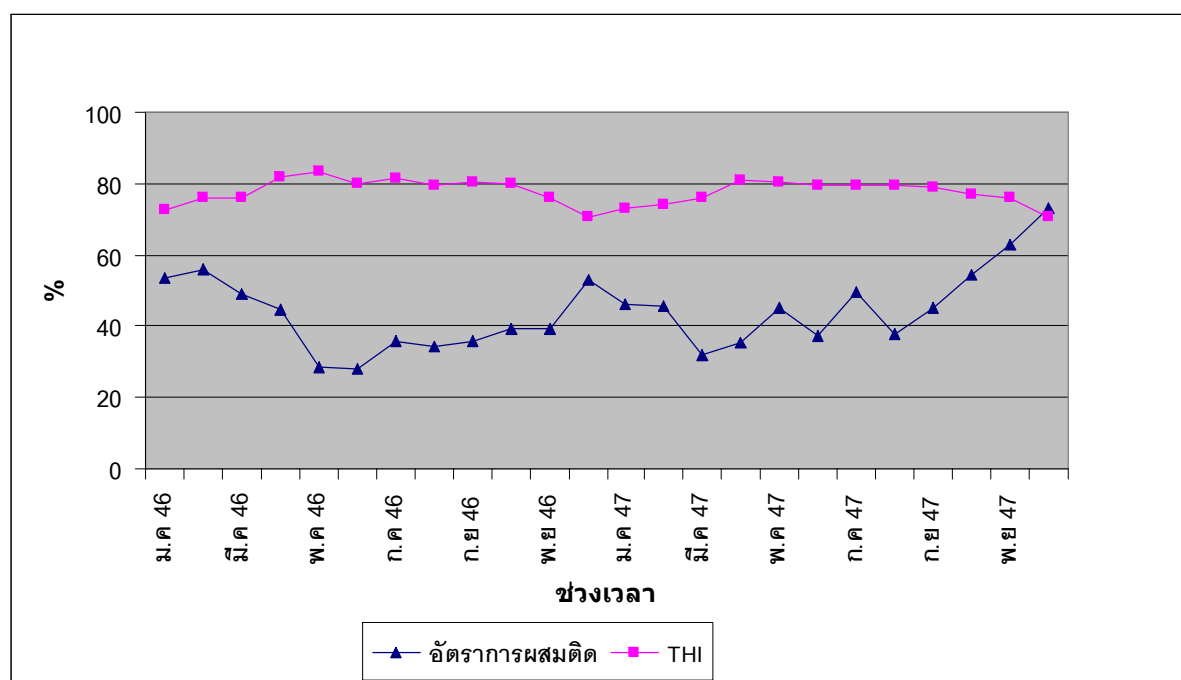
ปี-เดือน	2546			2547		
	อุณหภูมิ(°C)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	THI	อุณหภูมิ(°C)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	THI
มกราคม	24.24	67.85	72.51	24.55	67.41	72.93
กุมภาพันธ์	26.61	67.14	75.94	25.01	70.56	73.94
มีนาคม	26.54	68.10	75.95	26.95	62.27	75.84
เมษายน	30.10	71.97	81.84	30.57	62.42	81.03
พฤษภาคม	30.71	75.63	83.35	28.56	79.70	80.57
มิถุนายน	28.14	79.48	79.87	27.58	83.68	79.52
กรกฎาคม	28.98	81.08	81.44	27.66	82.72	79.53
สิงหาคม	27.56	84.37	79.58	27.65	83.46	79.61
กันยายน	27.99	86.45	80.56	27.30	82.60	78.93
ตุลาคม	28.72	74.26	80.06	26.95	72.99	77.17
พฤศจิกายน	26.53	69.34	76.09	26.49	70.06	76.11
ธันวาคม	23.18	62.70	70.50	23.07	64.04	70.46
เฉลี่ย	27.44	74.03	78.14	26.86	73.49	77.13

ที่มา: ข้อมูลจากสถานีอุตุนิยมวิทยาเพชรบูรณ์

ตารางที่ 3 แสดงผลของค่าดัชนีอุณหภูมิ และความชื้นต่ออัตราการผสมติดของแม่โคนมในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

ระดับ THI	อัตราการผสมติด ^{1/}
ไม่มีความเครียด (< 72)	62.76 ^a (91/145)
มีความเครียดน้อย (72-79)	48.69 ^b (297/610)
มีความเครียดปานกลาง (79-86)	37.92 ^c (317/836)

^{1/} ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (p<0.01)



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้น และ อัตราการผสมติดของแม่โคนมในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

วิจารณ์

ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ มีค่าเฉลี่ยของดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์ตลอดทั้งปีอยู่ระหว่าง 77-78 ซึ่งสูงกว่าระดับที่แม่โคนมจะอยู่ได้อย่างสบาย (ดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์น้อยกว่า 72) สามารถจัดได้ว่ามีความเครียดอยู่ในระดับเล็กน้อยถึงปานกลาง ซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่เป็นเหตุให้สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของโคนมลดลง (Ingraham et al., 1974)

จากผลการศึกษาพบว่าอิทธิพลของดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์มีผลต่ออัตราการผสมติดในโคนม ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ (ตารางที่ 3) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาอื่นๆ แม้ว่าจะศึกษาในพื้นที่ที่แตกต่างกัน โดยอัตราการผสมติดมีแนวโน้มลดลง เมื่อดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มขึ้น (ศิริวัฒน์และคณะ, 2544; วีรศักดิ์และคณะ, 2548; เพทาย และคณะ, 2537; กัลยาและคณะ, 2540;

จินตนาและคณะ, 2541; อำนาจ และคณะ, 2535) เช่นเดียวกับรายงานจากต่างประเทศที่ได้แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์โดยเฉพาะความเครียดเนื่องจากความร้อนมีผลทำให้ความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมลดลง (Lewis et al., 1984; Cavestany et al., 1985; Bagnato and Oltenacu, 1994; Thomson et al., 1996; Drost et al., 1999; Alnimer et al., 2002; White et al., 2002) สภาพอากาศที่มีดัชนีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์สูงมีผลกระทบชัดเจนต่อตัวโคทำให้โคนมอยู่ในสภาวะการสะสมความ

ร้อนในร่างกาย (West, 2003) เกิดความเครียดเนื่องจากความร้อนทำให้มีผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์อาจจะเป็นผลโดยตรงของรังไข่ และมดลูกที่มีอุณหภูมิสูงซึ่งไปยับยั้งการพัฒนาของตัวอ่อนหรือทำให้มีการสูญเสียตัวอ่อนในระยะแรกเพิ่มขึ้น (Al Katanami et al., 2002; Badinga et al., 1993; Satori et al., 2002) หรือสภาวะที่โคไม่สบายตัวหรือเครียดอยู่ตลอดเวลาทำให้แสดงการเป็นสัดน้อยลง ระยะเวลาการเป็นสัดสั้น (Younas et al., 1993) การหลังฮอร์โมนแอล เอช ลดลง (Wise et al., 1998)

ความสัมพันธ์ระหว่างการเพิ่มขึ้นของดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละเดือนและการลดลงของอัตราการผสมติด (รูปที่ 2) สอดคล้องกับการศึกษาของศิริวัฒน์และคณะ (2544) ที่พบว่าค่าเฉลี่ยดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละเดือนมีความสัมพันธ์เชิงลบสูงกับอัตราการผสมติด แม้โคที่ได้รับการผสมพันธุ์ในช่วงเดือนธันวาคม-กุมภาพันธ์ มีอัตราการผสมติดสูงกว่าช่วงอื่นๆ เนื่องจากช่วงนี้มีค่าเฉลี่ยดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ (น้อยกว่า 76) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเดือนธันวาคมมีค่าเฉลี่ย ดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์ น้อยกว่า 72 ซึ่งไม่มีความเครียดเนื่องจากความร้อน

การแก้ปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้นเนื่องจากสภาพภูมิอากาศ สามารถทำได้โดยการดูแลจัดการที่เหมาะสมเพื่อลดผลกระทบต่างๆที่จะเกิดขึ้นกับตัวสัตว์ ดังนั้นการจัดการต่างๆที่จะช่วยลดผลของความร้อนในโคนมจะช่วยลดผลกระทบลงได้ เช่น การจัดที่กำบังแดดหรือเพิ่มร่มเงา การใช้สปริงเกอร์ฉีดน้ำเป็นฝอย หรือการใช้พัดลม จะช่วยลดความร้อนให้กับโคนมได้ และเพิ่มประสิทธิภาพการผสมติดได้ (เมธา, 2533; Kadzere et al., 2002)

สรุป

การศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่ามีการลดลงของอัตราการผสมติดของแม่โคนมในฟาร์มเกษตรกรรายย่อยในพื้นที่ในอำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ขณะที่ดัชนีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์เพิ่มสูงขึ้น หรือมีระดับความเครียดเนื่องจากความร้อนเพิ่มขึ้น ดังนั้นในการวางแผนจัดการระบบสืบพันธุ์ หรือวางแผนผสมพันธุ์โคนมในพื้นที่ที่มีสภาพภูมิอากาศที่มีอุณหภูมิ-ความชื้นสัมพัทธ์ที่ทำให้เกิดสภาวะความเครียดเนื่องจากความร้อนให้มีอัตราการผสมติดดีขึ้น จำเป็นต้องเพิ่มการจัดการเพื่อที่จะลดความเครียดจากความร้อนให้ได้มากที่สุดเท่าที่เป็นไปได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถานี่อุตุนิยมวิทยาเพชรบูรณ์ที่เอื้อเฟื้อข้อมูลและขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพพิษณุโลกที่ช่วยในการเก็บข้อมูลในการทำงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กัลยา บุญญานุวัตร อุดมศรี อินทรโชติ และเฉลิมพล บุญเจือ. 2540(1997). อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นของสิ่งแวดล้อมต่อการผลิตนม และความสัมพันธ์พันธุ์ของแม่โคนมเอ เอฟ เอส (ภาคผนวก 3). การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 สาขาสัตว 3 – 5 กุมภาพันธ์ 2540 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ หน้า 498 – 505
- จินตนา วงศ์นากนกร ธวัชชัย อินทรตุล และกัลยา บุญญานุวัตร. 2541(1998). อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นของอากาศต่อการผลิตนมและความสัมพันธ์พันธุ์ของแม่โคนมลูกผสมขาวดำ. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36 3 – 5 กุมภาพันธ์ 2541 หน้า 87 – 98
- เพทาย พงษ์เพียจันทร์, สมเพชร ต้อยคัมภีร์, นุชา สิมะสาธิตกุล และอดิสร ขุนทอง. 2537(1994). ผลของลำดับคลอด อุณหภูมิและความชื้นต่อการทำงานของรังไข่ และประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของโคนมพันธุ์แท้อีสไตร์นฟริเซียนในจังหวัดเชียงใหม่. ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการสัตวแพทยสมาคม ครั้งที่ 21 : 80-86.
- เมธา วรณพัฒน์. 2533(1990). โภชนศาสตร์สัตว์เคี้ยวเอื้อง. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น. 473 น.
- วิระศักดิ์ ปัญญาพรวิทยา ศร ธิปภูมิกร ขวัญชาย เครือสุคนธ์ และวิทยา สุรียาสถาพร. 2548(2005). ผลของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ออัตราผสมติดของฟาร์มโคนมรายย่อยในจังหวัดเชียงใหม่. เวชชสารสัตวแพทย์. ปีที่35 ฉบับที่ 4, 73-79
- ศิริวัฒน์ ทรวงทอง นวเพ็ญ ภูติภินันท์ ปราจีน วีรกุล และจันเพ็ญ สุวิมลธีรบุตร. 2544(2001). การศึกษาปัญหาการสูญเสียตัวอ่อนของการตั้งท้องระยะต้นในโคนม. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการการศึกษาแก้ไขปัญหาการผสมติดยากและการสูญเสียตัวอ่อนระยะต้นในโคนม. 169-182.
- อำนาจ เกตุใหม่ ปัญญา ศรีเดช สุวิช บุญโปร่ง และกัลยา บุญญานุวัตร. 2535(1992). อิทธิพลของอุณหภูมิและความชื้นต่ออัตราการตั้งท้องในโคนม ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการด้านปศุสัตว์ ครั้งที่ 11, 16 – 19 กันยายน 2535 (เล่ม 2) หน้า 131 – 140
- Al Katanami, Y.M., Drost, M., Monson, R.L., Rutledge, J.J., Krininger, C.E. and Block, J. 2002. Pregnancy rates following timed embryo transfer with fresh or vitrified in vitro produced embryos in lactating dairy cows under heat stress condition. Theriogenology 58: 171 – 182
- Alnimer, M., De Rosa, G., Grasso, F., Napolitano, F., and Bordi, A. 2002. Effect of temperature and humidity on the response to three oestrus synchronization techniques in lactating dairy cows. Anim. Reprod. Sci. 71: 157 – 168

- Armstrong, D.V.: Heat stress interaction with shade and cooling. 1994. Review. J. Dairy Sci. 77: 2044-2050.
- Badinga, L., Thatcher, W.W., Diaz, T., Drost, M., and Wolfenson, D. 1993. Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein cows. Theriogenology 39: 797 – 810
- Bagnato, A. and Oltenacu, P. A. 1994. Phenotypic evaluation of fertility traits and their association with milk production of Italian cattle. J. Dairy Sci. 77: 874 – 882
- Barash, H., Silanikove, N., Shamay, A., and Ezra, E. 2001. Interrelationship among ambient temperature, day length, and milk yield in dairy cows under a Mediterranean temperature and humidity. J. Dairy Sci. 84: 2314 – 2320
- Cartmill, J.A., El-Zarkouny, S.Z., Hensley, B.A., Rozell, T.G., Smith, J.F., Stevenson, J.S. 2001. An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperature before or after calving or both. J. Dairy Sci. 84: 799-806.
- Cavestany, D., El-Whishy, A.B., Foot, R.H. 1985. Effect of season and high environmental temperature on fertility of Holstein cattle. J. Dairy Sci. 68: 1471-1478.
- Drost, M., Ambrose, J.D., Thatcher, M.J., Cantrell, C.K., Wolfsdorf, K.E., Hasler, J.F., Thatcher, W.W. 1999. Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in Florida. Theriogenology. 52: 1161-1167.
- Ingraham, R.H., Gillete, D.D., Wagner, W.D. 1974. Relationship of temperature and humidity to conception rate of Holstein cows in subtropical climate. J. Dairy Sci. 57: 476-482.
- Kadzere, C.T., Murphy, M.R., Silanikove, N. and Maltz, E. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. Livestock Prod. Sci. 77: 59 – 91
- Lewis, G.S., Thatcher, W.W., Bliss, E.L., Drost, M., Collier, R.J. 1984. Effect of heat stress during pregnancy on postpartum reproductive changes in Holstein cows. J. Anim. Sci. 58: 174-186.
- Ravagnolo, O., I. Misztal, and G. Hoogenboom. 2000. Genetic and component of heat stress in Dairy cattle, development of heat index function. J. Dairy Sci. 83: 2120-2125.
- Ray, D.E., Halbach, T.J. and Armstrong, D.V. 1992. Season and lactation number effects on milk production and reproduction of dairy cattle in Arizona. J. Dairy Sci. 75(11): 976 – 2983

- Sartori, R., Bergfelt, R.S., Mertens, S.A., Guenther, J.N., Parrish, J.J., Wiltbank, M.C. 2002. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. J. Dairy Sci. 85: 2803-2812.
- SAS.1999.SAS/STAT User's guide in SAS online doc version eight. SAS institute, Inc.,Carry, NC
- Thompson, A., Magee, D.D., Tomaszewski, M.A., Wilks, D.L. and Fourdraine, R.H. 1996. Management of summer infertility in texas Holstein dairy cows. Theriogenology. 46: 547 – 558
- West, J.W. 2003. Effect of heat stress on production in dairy cattle. J. Dairy Sci. 86: 2131 – 2144
- White, F.J., Wettemann, R.P., Looper, M.L., Prado, T.M., Morgan, G.L. 2002. Seasonal effects on estrous behavior and time of ovulation in nonlactating beef cows. J. Anim. Sci. 80: 3053-3059.
- Wiersma, F. 1990. Department of Agriculture Engineering, University of Arizona, Tucson.
- Wise, M.E., Armstrong, D.V., Huber, J.T., Hunter, R. and Wiersma, F. 1998. Hormonal alterations in lactating dairy cows in response to thermal stress. J. Dairy Sci. 72: 2480 – 2485
- Younas, M., Fuquay, J.W., Smith, A.E. and Moore, A.B. 1993. Estrus and endocrine responses of lactating Holsteins to forced ventilation during summer. J. Dairy Sci. 76: 430 – 434

ผลของเวลาที่ใช้ในการผสมเทียมต่ออัตราการเกิดเพศในโคเนื้อ

อมรรัตน์ สุวรรณรงค์^{1*} และ ณรงค์กร เกษมสุข¹

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อหาช่วงเวลาในการผสมเทียมหลังแม่โคแสดงอาการเป็นสัด (แม่โคยืนนิ่ง) ต่ออัตราการเกิดเพศของลูกโคเพื่อให้ได้เพศของลูกโคตรงตามวัตถุประสงค์ของการเลี้ยง แม่โคที่ใช้ในการศึกษา เป็นแม่โคของสถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์อุบลราชธานี และแม่โคของฟาร์มเกษตรกร โดยแบ่งการทดลองเป็น 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีแม่โคจำนวน 40 ตัว เหนี่ยวนาการเป็นสัดโดยในวันที่ 0 สอดแท่งฮอร์โมน CIDR – B ร่วมกับฉีด GnRH เข็มที่ 1, วันที่ 7 ฉีด PG ขนาด 250 มิลลิกรัม วันที่ 8 ถอด CIDR – B วันที่ 9 ฉีด GnRH เข็มที่ 2 และสังเกตอาการเป็นสัด 4 ครั้งต่อวัน คือ เวลา 06.00 น., 13.00 น., 18.00 น. และ 22.00 น. ในการสังเกตแต่ละครั้งใช้เวลาสังเกตประมาณ 30 นาที โดยกลุ่มที่ 1 ทำการผสมเทียมช่วงเวลาที่ 24 หลังแม่โคยืนนิ่ง (หรือ 8 ชั่วโมงก่อนตกไข่) กลุ่มที่ 2 ทำการผสมเทียมช่วงเวลาที่ 12 หลังแม่โคยืนนิ่ง (หรือ 20 ชั่วโมงก่อนตกไข่) อีก 21 วัน ทำการตรวจการกลับสัด และตรวจท้อง 60 วันหลังผสม เมื่อครบกำหนดคลอด ทำทะเบียนประวัติ (ผท.1) ผลการศึกษาพบว่า จำนวนของลูกโคเพศเมียในกลุ่มที่ 1 จำนวน 27 ตัว คิดเป็นร้อยละ 67.50 ลูกโคเพศผู้ 13 ตัว คิดเป็นร้อยละ 32.50 ในกลุ่มที่ 2 จำนวนลูกโคเพศเมีย 18 ตัว คิดเป็นร้อยละ 45.00 ลูกโคเพศผู้ 22 ตัว คิดเป็นร้อยละ 55.00 ซึ่งทั้งสองกลุ่มมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

คำสำคัญ : เวลา การผสมเทียม เพศ

¹ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพอุบลราชธานี อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000

*ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ: tacha0309@hotmail.com

Effect of Insemination Time on Sex Determination in Beef Cattle

Amornrat Suwannarong^{1*} and Narongkorn Kasemsuk¹

Abstract

The objective of this study was to determine the duration time after cattle were in estrus (standing heat) to inseminate in order to get desirable sex of calf. Eighty cattle belong to Ubonratchathani Livestock Research Station and the farmers were used in this study. All cattle were divided in two groups, each group had 40 heads. Cattle were induced to estrus by progesterone (CIDR) inserted for 8 days. On day 7th and 9th cattle were injected with GnRH. Estrus detection was done four times per day at 6.00 AM., 13.00 PM., 18.00 PM. and 22.00 PM. It took 30 minutes per time. Group I, cattle were inseminated at twenty four hours after they were in standing heat (eight hours before ovulation) and group II was inseminated at twelve hours after standing heat (twenty hours before ovulation). 21 Days after insemination cattle were detected for estrus. Pregnancy diagnosis was done on day 60th after service. After calving, all calves were registered. The results showed that the number of female calf and male calf of group I and II were 27(67.50%), 13(32.50%) and 18(45.00%), 22(55.00%), respectively. The ratio of calf between group I and group II was significantly different ($p < 0.05$).

Keywords : time, artificial insemination, sex

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

* Corresponding Author: tacha0309@hotmail.com

บทนำ

ตามหลักพันธุศาสตร์ ในขบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในโคเพศผู้ อสุจิจะมีโครโมโซมจำนวนครึ่งหนึ่งเป็นโครโมโซม x และอีกครึ่งหนึ่งเป็นโครโมโซม y หากอสุจิตัวที่มีโครโมโซมเพศเป็น x เมื่อปฏิสนธิกับไข่ จะให้ไซโกต ที่มีโครโมโซม xx ซึ่งเจริญเป็นลูกโคเพศเมีย ถ้าอสุจิมีโครโมโซมเพศเป็นโครโมโซม y เมื่อปฏิสนธิกับไข่จะให้ไซโกตที่มีโครโมโซม xy ซึ่งเจริญเป็นลูกโคเพศผู้ อสุจิที่มีโครโมโซม x และอสุจิที่มีโครโมโซม y มีความแตกต่างที่สำคัญ คือ ความแตกต่างของชนิดโครโมโซม ซึ่งเป็นความแตกต่างของ DNA และจำนวนยีนส์ ซึ่งมีผลต่อลักษณะที่แสดงออกทางพันธุกรรม

การผสมพันธุ์ในโค ที่นิยมมี 2 วิธี คือ การผสมโดยใช้พ่อพันธุ์หรือการผสมจริง และการผสมเทียม การผสมจริง อสุจิจะถูกปล่อยที่ตำแหน่งช่องคลอด แต่การผสมเทียม อสุจิจะถูกปล่อยที่มดลูก อสุจิจะว่ายจากตำแหน่งที่ถูกปล่อยสู่ท่อนำไข่ เพื่อรอการตกไข่และปฏิสนธิต่อไป ซึ่งมีอสุจิเพียงบางส่วนเท่านั้นที่สามารถปรับตัวและอยู่รอดเพื่อรอการตกไข่ เนื่องจากในท่อนำไข่มีการหลังของเหลว เม็ดเลือดขาว มีผลทำให้อสุจิบางส่วนถูกทำลาย สอดคล้องกับการศึกษาของ Scott (2000) Suarez (1997, 2002) พบว่า อสุจิจำนวนเล็กน้อยเท่านั้นที่เข้าถึงตำแหน่งที่จะเกิดการปฏิสนธิ เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงที่ซับซ้อนตลอดเวลาในขบวนการลำเลียงอสุจิ จากตำแหน่งที่ทำการผสมถึงตำแหน่งที่เกิดการปฏิสนธิ ซึ่งขบวนการลำเลียงอสุจิมี 2 ระยะด้วยกัน ระยะแรก คือระยะการเคลื่อนที่เร็ว (Rapid transport phase) และระยะที่ 2 คือ ระยะการเคลื่อนที่นาน (Prolonged transport phase) (Scott, 2000) ในระยะการเคลื่อนที่เร็ว อสุจิจะเคลื่อนที่ถึงท่อนำไข่เพียงไม่กี่นาที และอสุจิในกลุ่มนี้จะถูกทำลายและตาย (Scott, 2000) แต่ในระยะการเคลื่อนที่นาน อสุจิจะเคลื่อนที่ถึงท่อนำไข่ประมาณชั่วโมงที่ 6 ถึงชั่วโมงที่ 12 (Scott, 2000; Hunter, 1974) เมื่อเกิดการตกไข่ จะมีอสุจิเพียงแค่อสุจิตัวเดียวที่สามารถเจาะไข่ได้ และเกิดขบวนการปฏิสนธิ

จากการศึกษาของ Wehner et al. (1997) พบว่า เวลาในการผสมพันธุ์ มีอิทธิพลต่อจำนวนของการเกิดเพศ เมื่อทำการผสมเทียมในชั่วโมงที่ 10 หรือชั่วโมงที่ 20 ก่อนการตกไข่ ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Pursley et al. (1998) ได้ทำการศึกษาโดยกำหนดเวลาในการผสมเทียมในชั่วโมงที่ 0, 8, 16, 24 และ 32 หลังได้รับการฉีดฮอร์โมน GnRH เข็มที่ 2 การศึกษาพบว่า กลุ่มที่ได้รับการผสมเทียมในชั่วโมงที่ 0 และชั่วโมงที่ 32 ให้อัตราส่วนลูกโคเพศเมียต่อเพศผู้เป็นร้อยละ 61:39 และ 65:35 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่สำหรับการผสมในชั่วโมงที่ 8, 16 และ 24 ให้ผลไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้เพราะว่า เมื่อทำการผสมเร็ว (ชั่วโมงที่ 0 หลังฉีดฮอร์โมน GnRH เข็มที่ 2) ของเหลวหรือน้ำเมือกในระบบสืบพันธุ์ของโคเพศเมีย มีกระบวนการไหลที่สลับซับซ้อน ซึ่ง Sarker et al. (1984) พบว่า อสุจิ x สามารถปรับตัว และปรับเปลี่ยนการเคลื่อนไหวเป็นการว่ายตรงได้ดีกว่าอสุจิ y จึงมีโอกาสเจอกับไข่มากกว่า และ Melissa Macfarlane et al. (2006) พบว่า อสุจิ x เมื่ออยู่ในท่อนำไข่ สามารถปรับตัวเพื่อความอยู่รอดได้ดี

จึงมีชีวิตได้นานกว่าอสุจิ y เพื่อรอการตกไข่ และตรงกับการศึกษาของ Lechniak et al. (2003) พบว่า อสุจิ x มีขบวนการคาปาซิเตชันช้ากว่าอสุจิ y จึงมีชีวิตยาวกว่าอสุจิ y และเมื่อทำการผสมช้า (ชั่วโมงที่ 32 หลังฉีดฮอร์โมน GnRH เข็มที่ 2 หรือ 0 ชั่วโมงก่อนตกไข่) โอโอไซต์มีการเจริญเติบโตเต็มที่ และมีการหลุดออกของโพลาไรบอดี จึงได้ลูกโคเพศเมียมากกว่าเพศผู้ (Gutierrez – Adan et al, 1998) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Martinez et al. (2004) พบว่า เมื่อทำการผสมเทียมในชั่วโมงที่ 8 – 18 (เร็ว) หลังโคแสดงอาการเป็นสัด ให้ลูกโคเพศเมียสูงถึงร้อยละ 73.05 และลดลงร้อยละ 1.85 ทุกๆชั่วโมงที่ผ่านไป และเมื่อทำการผสมในชั่วโมงที่ 30 ขึ้นไป หลังโคแสดงอาการเป็นสัด มีความน่าจะเป็นที่จะให้ลูกโคเพศผู้สูง ถึงร้อยละ 72.06

จากการศึกษาในครั้งนี้ ได้กำหนดช่วงเวลาในการผสมเทียม 2 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมีช่วงเวลาห่างกัน 16 ชั่วโมง เพื่อแสดงให้เห็นว่าเวลาในการผสมเทียมมีผลต่อจำนวนการเกิดเพศของลูกโค ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ สามารถนำมาใช้เพื่อการผลิตลูกโคให้ได้เพศตรงตามวัตถุประสงค์ของการเลี้ยง เพื่อประโยชน์สูงสุดทางเศรษฐกิจของเกษตรกร

อุปกรณ์และวิธีการ

แม่โคที่ทำการศึกษา แบ่งเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นแม่โคของสถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์อุบลราชธานี จำนวน 20 ตัว และโคของเกษตรกรอีก 20 ตัว เป็นแม่โคพันธุ์บราห์มัน อายุประมาณ 3 – 5 ปี คะแนนความสมบูรณ์ของร่างกาย ประมาณ 3 – 4 และกลุ่มที่ 2 เป็นแม่โคของฟาร์มเกษตรกร จำนวน 40 ตัว เป็นแม่โคลูกผสมบราห์มัน และพื้นเมือง (50AB 50NA) อายุประมาณ 3 – 6 ปี คะแนนความสมบูรณ์ของร่างกายประมาณ 2.5 – 3.5 กำหนดวิธีการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อพ่อพันธุ์ต่างๆ ของกรมปศุสัตว์แบบสุ่มได้แก่ น้ำเชื้อหมายเลข RAB61/45, RAB64/45, ABSK231 และ ABTP40/38 โดยทั้งสองกลุ่มได้รับการเหนี่ยวนำให้เป็นสัดโดยใช้ฮอร์โมน GnRH ร่วมด้วยการสอด CIDR – B ในวันที่ 0 และฉีด PG ขนาด 250 มิลลิกรัม ในวันที่ 7 ถอด CIDR – B ในวันที่ 8 และฉีด GnRH เข็มที่ 2 ในวันที่ 9 และสังเกตอาการเป็นสัด

การสังเกตการเป็นสัดจำนวน 4 ครั้งต่อวัน คือ เวลา 06.00 น., 13.00 น., 18.00 น., และ 22.00 น. ในการสังเกตแต่ละครั้งใช้เวลาประมาณ 30 นาที (Orkun Demriral et al. 2007) โดย

กลุ่มที่ 1 นับเวลาที่แม่โคยืนนิ่งเป็นชั่วโมงที่ 0 และทำการผสมเทียมชั่วโมงที่ 24 (หรือ 8 ชั่วโมงก่อนตกไข่)

กลุ่มที่ 2 นับเวลาที่แม่โคยืนนิ่งเป็นชั่วโมงที่ 0 และทำการผสมเทียมชั่วโมงที่ 12 (หรือ 20 ชั่วโมงก่อนตกไข่)

ตรวจการกลับสัดอีก 21 วัน และตรวจท้อง 60 วันหลังผสม เมื่อครบกำหนดคลอด ทำการขึ้นทะเบียนประวัติลูกโค (ผท.1)

ข้อมูลทั้งหมดนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ Chi – square test โดยเปรียบเทียบจำนวนลูกโคเพศเมียกับเพศผู้ระหว่างกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2

ผลการทดลอง

การศึกษารั้งนี้ ได้นำแม่โคเข้ามาใช้ในการทดลอง จำนวน 80 ตัว จากการสังเกตผ่านทางทวารหนักไม่พบความผิดปกติของอวัยวะสืบพันธุ์ แม่โคมีรอบการเป็นสัดปกติ

ตาราง 1 จำนวนลูกโคเนื้อเพศเมีย และเพศผู้ของโคเนื้อที่ได้รับการผสมเทียมในช่วงเวลาที่ต่างกัน

กลุ่มที่	จำนวนแม่โค ตัว (ร้อยละ)	จำนวนลูกโคเพศเมีย ตัว (ร้อยละ)	จำนวนลูกโคเพศผู้ ตัว (ร้อยละ)
1	40 (100)	27 (67.50)	13 (32.50)
2	40 (100)	18 (45.00)	22 (55.00)

จากตาราง 1 โคกลุ่มที่ 1 ทำการผสมเทียมชั่วโมงที่ 24 หลังแม่โคยืนนิ่ง หรือ 8 ชั่วโมงก่อนตกไข่ ให้จำนวนลูกโคเพศเมีย 27 ตัว(ร้อยละ 67.50) เพศผู้ 13 ตัว (ร้อยละ 32.50) โคกลุ่มที่ 2 ทำการผสมเทียมชั่วโมงที่ 12 หลังแม่โคยืนนิ่ง หรือ 20 ชั่วโมงก่อนตกไข่ ให้จำนวนลูกโคเพศเมีย 18 ตัว (ร้อยละ 45.00)เพศผู้ 22 ตัว (ร้อยละ 55.00) ซึ่งจำนวนลูกโคเพศเมียและเพศผู้ในกลุ่มที่ 1 มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $P < 0.05$

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

จากผลการศึกษาข้างต้น พบว่า เวลาที่ใช้ในการผสมเทียม มีผลต่อจำนวนการเกิดเพศของลูกโค โดยพบว่าเมื่อทำการผสมเทียมในช่วงเวลาที่ 24 หลังแม่โคแสดงอาการเป็นสัด (ยืนนิ่ง) หรือ 8 ชั่วโมงก่อนตกไข่ ให้ลูกโคเพศเมีย จำนวน 27 ตัว หรือร้อยละ 67.50 เพศผู้ 13 ตัว หรือร้อยละ 32.50 และเมื่อทำการผสมเทียมในช่วงเวลาที่ 12 หลังแม่โคแสดงอาการเป็นสัด (ยืนนิ่ง) หรือ 20 ชั่วโมงก่อนตกไข่ ให้ลูกโคเพศเมียจำนวน 18 ตัว หรือร้อยละ 45.00 เพศผู้ 22 ตัว หรือร้อยละ 55.00 ร้อยละของการเกิดเพศในกลุ่มที่ 1 มีความแตกต่างจากกลุ่มที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

Melissa Macfarlane et al., (2006) พบว่า เวลาในการผสมเทียมมีผลต่อสัดส่วนการเกิดเพศ เนื่องจากความซับซ้อนของขบวนการลำเลียงของอสุจิในระบบสืบพันธุ์เพศเมีย และความแตกต่างของระยะเวลาในขบวนการคาปาซิเตชัน หรือระยะเวลาการมีชีวิตอยู่ของอสุจิ x และอสุจิ y ซึ่งเหตุผลทั้ง 2 อย่าง เป็นขบวนการคัดเลือกอสุจิ หรือเป็นการคัดเลือกเพศของตัวอ่อนโดยธรรมชาติ

Pursley et al. (1998) รายงานว่าอายุของอสุจิและไข่มีผลต่อการเกิดเพศโดย Gutierrez – Adan et al. (1998) พบว่า เมื่อทำการผสมซ้ำ โอเอสตีมีการเจริญเติบโตเต็มที่ จะได้ลูกโคเพศเมียมากกว่าเพศผู้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองกลุ่มที่ 1 ทำการผสมซ้ำ (8 ชั่วโมงก่อนตกไข่) ให้ลูกโคเพศเมียสูงถึงร้อยละ 67.50 แต่ Rorie et al., (1997) และ Glenn et al. (1997) พบว่า เมื่อทำการผสมเร็ว (20 + 3 ชั่วโมง) ก่อนตกไข่ จะให้ลูกโคเพศเมียสูงกว่าเพศผู้ ทั้งนี้เพราะอสุจิ y เกิดขบวนการคาปาซิเตชันเร็ว (3 – 4 ชั่วโมงหลังผสม) ทำให้อสุจิ y ตายก่อน เหลือแต่อสุจิ x ที่เกิดขบวนการคาปาซิเตชันช้า มีชีวิตอยู่รอการตกไข่ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ MSU Department of Animal Science เมื่อทำการผสมเร็ว มีความน่าจะเป็นในการเกิดลูกโคเพศเมียในอัตราที่สูงกว่า โดยเมื่อทำการผสมในช่วงเวลาที่ 32 ก่อนตกไข่ ให้อัตราส่วนลูกโคเพศเมียต่อเพศผู้ ร้อยละ 65:35 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่มีข้อด้อย คือ มีอัตราของผสมติดเพียงร้อยละ 37 (Pursley et al, 1998) ซึ่งขัดแย้งกับการทดลองกลุ่มที่ 2 โดยทำการผสม 20 ชั่วโมงก่อนตกไข่ ให้อัตราส่วนเพศเมียเพียงร้อยละ 45 แต่สอดคล้องกับการศึกษาของ Steven Berry et al., (1997) พบว่า เมื่อผสมช่วงเวลาที่ 24 ถึง 32 ก่อนตกไข่ ให้อัตราส่วนลูกโคเพศเมียร้อยละ 47 เท่านั้น

จากการทดลองทั้งสองกลุ่มดังกล่าวข้างต้น พบว่า เวลาในการผสมเทียมมีผลต่อร้อยละของการเกิดเพศ เนื่องจากผลของอายุอสุจิและไข่ แต่อย่างไรก็ตามอาจยังมีปัจจัยที่สำคัญอื่นๆที่มีอิทธิพลต่อการเกิดเพศ อาทิเช่น อายุของแม่โค ลำดับท้องของแม่โค อาหาร ปัจจัยความเครียด อุณหภูมิ ลักษณะเด่นของพ่อแม่ (Orkun Demiral et al., 2007) เพราะยังมีการทดลองอื่นที่ขัดแย้งกัน

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า เมื่อทำการผสมข้าม (8 ชั่วโมงก่อนตกไข่) ให้อัตราส่วนเพศเมียสูงกว่าเพศผู้ และสูงกว่าเมื่อทำการผสมเร็ว (24 ชั่วโมงก่อนตกไข่) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งนักวิชาการ เจ้าหน้าที่ผสมเทียมสามารถนำผลการทดลองนี้ไปประยุกต์ใช้ในภาคสนามเพื่อให้เหมาะสมกับรูปแบบการเลี้ยงเพื่อประโยชน์สูงสุดของเกษตรกรต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้มีส่วนร่วมในการศึกษาวิจัย เจ้าหน้าที่สถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์อุบลราชธานี ที่อนุเคราะห์โคทดลอง รวมทั้งเจ้าหน้าที่ผสมเทียมในสังกัดศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพอุบลราชธานี ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านปฏิบัติการการเก็บข้อมูล และอำนวยความสะดวกต่างๆ ในพื้นที่ที่รับผิดชอบ ทำให้การศึกษาวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Hunter, R.H.F. and J.P. Hall. 1974. Capacitation of boar spermatozoa: Synergism between uterine and tubal environments. *Journal exp. Zool.* P. 188 – 203.
- Glenn, R., Wood, C., Tague, A., Barker, D., Hubert, H. 1997. Efficiency of the OVATEC unit for estrus detection and calf sex control in beef cows. *Journal Animal Reproductive Science.* 46: 27-34.
- Gutierrez – Adan, A., Perez – Garnelo, Garnados, J., Garde, J.J., Perez – Guzman, M., Pintado, B. and De La Fuente, J. 1999. Relationship between sex ratio and time of insemination according to both time of ovulation and maturational state of oocyte. *The biology of gametes and early embryos: Cambridge Journal.* 7:37 – 43.
- Lechniak, D., Strabel, T., Bousquet, D., King, A.W. 2003. Sperm Pre – Incubation Prior to insemination affects the Sex Ratio of Bovine Embryos Produced in vitro. *Reproduction in Domestic Animal.*, June 38.
- Martinez, F., Kaabi, M., Martinez – Pastor, F., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, J.C., De Paz, P., Anel, L. 2004. Effect of the interval between estrus onset and artificial insemination on sex ratio and fertility in cattle: a field study. *Theriogenology.* 62: 1264 – 70.
- Melissa Macfarlane, Angela Maschari, Richard Pursley. “Influencing sex ratio of offspring in Dairy Cattle,” Kentucky Dairy Conference., 2006, [on - line], URL: http://www.uky.edu/Ay/AnimalScience/dairy/dairy_conference/de_19. pdf.
- Orkun demiral, Mustafa UN, Murat Abay, Tayfur bekyurek. 2007. The effect of artificial insemination timing on the sex ratio of offspring and fertility in dairy cows. *Turk. Journal Veterinary Animal Science.* 31(1): 21 – 24.
- Pursley, J.R., Silcox, R.W., Witbank, M.C. 1998. Effect of time of artificial insemination on Pregnancy Rates Calving Rates Pregnancy loss and Gender Ratio after synchronization of ovulation in lactating Dairy cows. . *Journal Dairy Science.* 81: 2139 – 2144.

- Scott, MA. 2000. A glimpse at sperm function in vivo: sperm transport and epithelial interaction in the female reproductive tract. *Journal Animal Reproduction Science*. July 2; 60 – 61: 337 – 448.
- Suarez, SS., Brockman, K., Lefebvre, R. 1997. Distribution of mucus and sperm in bovine uterine tubes after artificial insemination: the physical environment of the uterine tubeal sperm reservoir. *Biology of Reproduction*. 56: 447 – 453.
- Suarez, SS. 2002. Formation of a sperm reservoir in the uterine tube. *Reproduction in Domestic Animal*. 37: 140 – 143.
- Wehner, G.R., Wood, C., Teague Barker, D., Hubert, H. 1997. Efficiency of the ovatec unit for estrus detection and calf sex control in beef cows. *Journal Animal Reproduction Science*. 46: 27 – 34.

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

