



วารสารเทคโนโลยีชีวภาพ การผลิตปศุสัตว์

JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY
IN LIVESTOCK PRODUCTION

ปีที่ 9 ฉบับพิเศษ พ.ศ. 2557-2561

Vol 9 : 2014-2018



สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์
กรมปศุสัตว์

BUREAU OF BIOTECHNOLOGY IN LIVESTOCK PRODUCTION
DEPARTMENT OF LIVESTOCK DEVELOPMENT

ISSN : 1905-6877

การศึกษาวิจัยเพื่อพัฒนาการผลิตปศุสัตว์ เพื่อนำองค์ความรู้ต่างๆ ที่เกิดจากการศึกษาวิจัยและเทคโนโลยีชีวภาพที่ทันสมัยมาประยุกต์ใช้ในการสนับสนุน ส่งเสริมให้วงการปศุสัตว์ไทยมีความเจริญก้าวหน้าทั้งด้านการเลี้ยงและการจัดการ ทำให้ประเทศไทยสามารถพึ่งพาตนเองได้เกิดการเกษตรที่ยั่งยืน เพิ่มโอกาสในการขยายธุรกิจการเลี้ยงและผลิตปศุสัตว์ของไทย รวมทั้งการเตรียมความพร้อมของอุตสาหกรรมปศุสัตว์ให้สามารถรองรับข้อตกลงการค้าเสรี (Free Trade Area: FTA) และ องค์การการค้าโลก (World Trade Organization; WTO) รวมทั้งเข้าแข่งขันประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน (ASEAN Economic Community, AEC) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

โคนมกรุปคอลไฮลสไตนี เป็นโคนมพันธุ์หลักของประเทศไทย ที่สร้างและพัฒนาโดยกรมปศุสัตว์ ก็เป็นอีกโครงการหนึ่งที่มุ่งเป้าหมายที่จะพัฒนา และสร้างพันธุ์โคนมที่เหมาะสมให้สอดคล้องกับระบบการผลิต ระบบการตลาดผลิตกันกินนม โครงสร้างประชากรโคนมของประเทศ และสามารถปรับตัวเข้ากับระบบการเลี้ยง การจัดการ และสภาพภูมิอากาศในเขตร้อนชื้นของประเทศไทยรวมทั้งประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยความร่วมมือของหน่วยงานภาครัฐและเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม ในการศึกษาวิจัย และนำเอาองค์ความรู้ในสาขาต่างๆ อาทิ เทคโนโลยีชีวภาพด้านการสืบพันธุ์ (การผสมเทียม การย้ายฝากตัวอ่อน การผลิตน้ำเชื้อ) การตรวจความผิดปกติของโครโมโซม การตรวจความเป็นพ่อแม่) เทคโนโลยีชีวภาพทางด้านอนุพันธุศาสตร์ (ระบบ) เทคโนโลยีสารสนเทศ (ลูก และการตรวจโรคทางพันธุกรรมฐานข้อมูลโคนม) และเทคโนโลยีด้านการปรับปรุงพันธุ์ (การประเมินค่าทางพันธุกรรม การคัดเลือก และการทดสอบ)ซึ่งคาดว่าจะจะเป็นอีกนวัตกรรมหนึ่งที่สามารถช่วยนำพาเกษตรกรไทยก้าวเข้าสู่อุตสาหกรรมผลิตโคนมในยุคการค้าเสรี ได้อย่างเข้มแข็ง

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์หวังเป็นอย่างยิ่งว่าวารสารฉบับนี้จะมีส่วนในการผลักดันให้เกิดปฏิกิริยาที่มีผลงานทางวิชาการ เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ให้เพิ่มยิ่งขึ้น ทั้งนี้เพื่อให้วิทยาการความรู้ทางด้านการผลิตปศุสัตว์ของประเทศไทยได้รับการถ่ายทอดและพัฒนาต่อยอดให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อเกษตรกรในการนำไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงปศุสัตว์ให้ได้ประสิทธิภาพและก้าวหน้ามากยิ่งขึ้น



(นายณรงค์ เลี้ยงเจริญ)

ผู้อำนวยการสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

วัตถุประสงค์

- ส่งเสริมการศึกษา ค้นคว้าและวิจัยด้านการผลิตและขยายพันธุ์สัตว์
- รวบรวม เผยแพร่ความรู้ด้านการผลิตและขยายพันธุ์สัตว์โดยเทคโนโลยีชีวภาพ
- ส่งเสริมความสัมพันธ์ และความร่วมมือระหว่างนักวิชาการและสถาบันต่างๆ

เจ้าของ

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

สำนักงาน

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี อ.เมือง

จ.ปทุมธานี 12000

โทร/โทรสาร 0-2501-2116

กำหนดออก

ปีละ 1 ฉบับ

คณะที่ปรึกษา

น.สพ. ไกรวรรณ หงส์ยंत्रชัย

น.สพ. จิรุตม์ รัตนเทพ

บรรณาธิการบริหาร

น.สพ. ณรงค์ เลี้ยงเจริญ

บรรณาธิการ

น.สพ. ศาโรช งามจำ

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

นางจตุพร พงษ์เพ็ง

กองบรรณาธิการ

สพ.ญ. สายใจ ชื่นสุข

น.สพ. อรุณ จันทร์กระจำ

น.สพ. ณัฐนันท์ ศิริรัตนัญญะกุล

น.สพ. พีระพงษ์ สำราญทรัพย์

ดร. สายัณห์ บัวบาน

ดร. มาลี อภิเมธีธำรง

นายสมศักดิ์ เปรมปรีดี

ผู้จัดการวารสาร

สพ.ญ. จรรยาพร รุ่งเรืองศักดิ์

สพ.ญ. มุขสุดา เรืองศรี

สพ.ญ. วิชญาณี ภูมิพิทักษ์กุล

น.สพ. สุรวีทย์ จินสุข

ข้อแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ เป็นวารสารทางวิชาการของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ กำหนดออก ปีละ 1 ฉบับ คือ เดือนกรกฎาคม วารสารนำลงบทความ ผลงานค้นคว้าวิจัยด้านการผลิตปศุสัตว์ ทั้งด้านการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ การจัดการอาหาร สุขภาพ และระบบสืบพันธุ์ ตลอดจนการขยายพันธุ์ และการใช้เทคโนโลยีชีวภาพที่ก้าวหน้า ในการปรับปรุงและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตปศุสัตว์ด้านต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้น คณะผู้จัดทำวารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ยินดีรับเรื่องจากทุกท่านที่ส่งมาเพื่อเผยแพร่ และเพื่อความสะดวกในการพิจารณา ขอเสนอแนะดังนี้

1. เรื่องที่จะนำลง

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

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

1.3 เรื่องอื่นๆ ที่คณะผู้จัดทำพิจารณาเห็นสมควร

2. ต้นฉบับ

2.1 ต้นฉบับที่ส่งมาพิมพ์ในวารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ไม่ควรเป็นเรื่องที่เคยพิมพ์ หรือ กำลังอยู่ระหว่างการพิจารณาเพื่อลงพิมพ์วารสารอื่น

2.2 ต้นฉบับเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ พิมพ์บนกระดาษ เอ 4 จำนวนไม่เกิน 12 หน้า โดย

จัดพิมพ์ด้วย Microsoft Word for Windows หรือใช้ชนิดและขนาดตัวอักษรตามที่กำหนด

2.3 ไม่มีการส่งคืนต้นฉบับ

3. การลำดับเรื่องในต้นฉบับ

เพื่อให้ขั้นตอนการพิจารณาผลงานวิชาการ และการดำเนินการจัดพิมพ์วารสารเป็นไปอย่างเรียบร้อยรวดเร็ว และถูกต้อง จึงจำเป็นต้องให้ผู้เขียนผลงานวิชาการปฏิบัติตามข้อกำหนดอย่างเคร่งครัด ดังนี้

3.1 ให้ส่งต้นฉบับผลงานวิชาการจำนวน 1 ชุด และยังไม่ต้องส่งแผ่นบันทึกข้อมูล (Diskette)

3.2 ต้นฉบับผลงานวิชาการที่ส่งมา ให้ตรวจความถูกต้องของตัวสะกด รูปแบบการจัดพิมพ์ ผลงานวิชาการให้ถูกต้องตามที่กำหนด

3.3 ส่งแผ่นบันทึกข้อมูลมาให้ เมื่อผลงานวิชาการนั้นได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการวิจัยสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ แล้วเท่านั้น โดยเลขคณะกรรมการวิจัยฯ จะแจ้งกลับไปยังเจ้าของผลงานวิชาการพร้อมส่งต้นฉบับเพื่อให้แก้ไขตามที่คณะกรรมการวิจัยสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ให้ข้อเสนอแนะ

บันทึกผลงานวิชาการที่แก้ไข ถูกต้องแล้วตามข้อแนะนำของคณะกรรมการวิจัยสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ลงใน Diskette ขนาด 3.5 นิ้ว หรือ CD-ROM ใช้โปรแกรม Microsoft Word for Windows โดยมีรายละเอียดบนสติ๊กเกอร์ติดหน้า Diskette หรือ CD-ROM ดังนี้

ชื่อผลงานวิชาการ.....
 ชื่อเจ้าของผลงาน.....
 ชื่อไฟล์.....
 ที่อยู่ เบอร์โทรศัพท์/E-Mail.....
 หรือส่งทาง Internet มายัง jureeratn@gmail.com

3.4 ต้นฉบับผลงานวิชาการที่ส่งให้คณะกรรมการวิจัย สทป. พิจารณา จะเป็นบทความที่จัดรูปแบบได้ถูกต้องตามที่กำหนดเท่านั้น หากผลงานวิชาการที่ส่งมาให้ไม่ถูกต้องตามข้อกำหนดจะจัดส่งคืนให้เจ้าของผลงานวิชาการกลับไปแก้ไขให้ถูกต้อง

3.5 ต้นฉบับที่จัดส่งมาต้องชัดเจน ทั้งเนื้อหาและรูปภาพประกอบผลงานวิชาการ โดยส่งมาที่

3.6 หรือติดต่อสอบถามได้ที่
 นางจตุพร พงษ์เพ็ง
 สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์
 ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี อ.เมือง
 จ. ปทุมธานี 12000
 โทรศัพท์ 02-967-9791 หรือ 02-967-9792
 โทรสาร. 02-5011386
 ข้อมูลรายละเอียดเกี่ยวกับข้อแนะนำสำหรับผู้เขียนผลงานที่ได้ <http://www.dld.go.th/biotech>

4. การลำดับเรื่อง

4.1 ชื่อเรื่อง (Title) ควรต้องชื่อให้สั้นและสื่อความหมายให้ดี และพิมพ์โดยใช้ขนาดตัวอักษร 18 และตัวหนา

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

4.3 บทคัดย่อ (Abstract) เขียนสั้นๆ ได้ เนื้อความคลุมวัตถุประสงค์ วิธีการ และผลการทดลอง ความยาวไม่ควรเกิน 3% ของตัวเรื่อง บทคัดย่อต้องมีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ แยกหน้าต่างหากจากกันส่ง บรรณาธิการวารสาร เทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี อ.เมือง จ.ปทุมธานี 12000

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

4.5 เนื้อหา (Text) สำหรับงานวิจัยประกอบด้วย

4.5.1 บทนำ (Introduction) อธิบายถึงปัญหาและวัตถุประสงค์และควรมีการตรวจเอกสาร (literature review)

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

4.5.3 ผล (Results) รายงานผลการทดลองเป็นคำบรรยาย ให้ละเอียดและเข้าใจง่าย โดยแบ่งเป็นหลายๆ ย่อหน้า และจัดข้อความที่มีเนื้อหาเดียวกันไว้ด้วยกัน หากเป็นไปได้ควรเสนอในรูปแบบของตารางหรือรูปภาพ หรือกราฟพร้อมทั้งบรรยายประกอบ ทั้งนี้ตาราง รูป หรือกราฟ ไม่ควรแสดงผลที่เหมือนกัน

- ตาราง (Tables) ควรพิมพ์ให้ชัดเจน
เหมาะกับหน้า ต้องมีความหมายในตัวเอง และมี
คำอธิบายตารางอยู่เหนือตารางนั้นๆ

- รูปภาพ (Figures) ควรเป็นภาพขาว –
ดำ ภาพสีหากจำเป็นผู้เขียนต้องเสียค่าใช้จ่ายเอง
อธิบายรายละเอียดไว้ใต้รูปนั้นๆ

4.5.4 วิจารณ์ (Discussion) เป็นการ
วิจารณ์ผลการทดลอง โดยมีจุดมุ่งหมายเพื่อให้ผู้อื่น
เห็นคล้อยถึงหลักการที่แสดงออกมาจากผลการ
ทดลอง หรือเพื่อสนับสนุน หรือคัดค้านทฤษฎีที่มีผู้
เสนอมาก่อน หรือเพื่อเปรียบเทียบกับผลการ
ทดลองและการตีความหมายของผู้อื่น ผู้เขียนควร
พยายามเน้นถึงปัญหาหรือข้อโต้แย้งในสาระสำคัญของ
เรื่องที่กำลังกล่าวถึง ตลอดจนข้อเสนอนี้เพื่อ
การวิจัยในอนาคตและดูทางที่จะนำไปใช้เป็น
ประโยชน์

4.5.5 สรุป (Conclusion) เขียนใจความที่
สำคัญและคุณค่าของงานเพื่อให้ผู้อ่านเข้าใจง่ายขึ้น

4.5.6 กิตติกรรมประกาศ
(Acknowledgement) ควรมีในกรณีที่ได้รับความ
ช่วยเหลือ หรือความร่วมมือที่สนับสนุนงาน
ค้นคว้าวิจัยนั้นๆ

4.5.7 เอกสารอ้างอิง (References)

ก. กรณีที่อ้างอิงในเนื้อเรื่อง ควรอ้างอิง
ดังนี้คือ

1. กรณีที่อ้างจากการตรวจเอกสาร โดย
ผู้อื่นๆ ให้ใช้คำว่าอ้างถึงโดย (cited by)
2. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นคนไทย เมื่อ
เป็นประธานของประโยค ใช้ “วิบูรณ์ และ จุริรัตน์
(2549), เลิศชัย และคณะ(2549) กล่าวว่า.....” หรือ
เมื่อรายงานอยู่กลาง หรือท้ายประโยค ใช้ (วิบูรณ์,
2549) หรือมีเอกสารอ้างอิงในเรื่องเดียวกันมากกว่า

1 ฉบับ ให้ใช้ (ถาวรและคณะ, 2547; นริศ และสิน
สมุทร, 2543)

3. กรณีผู้รายงานเอกสารเป็นชาว
ต่างประเทศ เมื่อเป็นประธานของประโยค
ใช้ “Rudbeck and Dissing (1998), Kashi *et al.*
(1990) กล่าวว่า.....” หรือเมื่อผู้รายงานอยู่ระหว่าง
กลางหรือท้ายประโยค ใช้ (Rudbeck and Dissing,
1998; Kashi *et al.*, 1990)

4. กรณีอ้างถึงบุคคลหรือเรื่องที่ไม่เคยลง
พิมพ์มาก่อน (personal communication) ให้อ้าง
เฉพาะในเนื้อเรื่องเท่านั้น ไม่ต้องนำไปลงในรายชื่อ
เอกสารอ้างอิง เช่นsimilar results (Walker, J.M.,
unpublished data),for other protocols
(Walker, J.M., personal communication)

ข. การเขียนเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่อง ควร
ขึ้นต้นเอกสารอ้างอิงภาษาไทยก่อน เขียนเรียง
ตามลำดับพยางค์ของชื่อผู้เขียน ถ้าเป็นภาษาอังกฤษ
ใช้ชื่อสกุลตามด้วยชื่อย่อของผู้แต่ง แล้วตามด้วยปี
ชื่อเรื่องชื่อหนังสือ หรือชื่อย่อวารสาร ปีที่ ฉบับที่
และหน้าที่อ้างอิง ดังตัวอย่าง

วิบูรณ์ ตูลารักษา และ จุริรัตน์ แสนโกษณ์. 2549.
การสกัด ดีเอ็นเอ เซลล์รากขนในโคนมไทย
โสดสไต้น. การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์
ครั้งที่ 2 “ก้าวทันสมัยกับปศุสัตว์ไทย” วันที่ 24
มกราคม 2549. โรงแรมโซฟิเทล ขอนแก่น.
หน้า 452-463.

เลิศชัย จินตพิทักษ์สกุล รพีพรรณ เอื้อเวชนิชกุล
และกัลยา เก่งวิทย์กรรม. 2549. การประเมินวิธี
สกัดแยกดีเอ็นเอจากเลือด น้ำเชื้อ และเซลล์
รากขนของพ่อพันธุ์โค. สัตวแพทย์สาร. 56 (3)
:68-79. Jason, R. H. and Callings, D.F. 1971.

Transplacental infection of piglets with a porcine parvovirus. Res. Vet. Sci. 12: 570-572.

กรณีอ้างอิงจากตำรา ให้ระบุชื่อผู้เขียน ปีที่ตีพิมพ์ ชื่อเรื่อง ชื่อตำรา (พิมพ์ครั้งที่เท่าใดและบรรณาธิการหากมี) สำนักพิมพ์ เมืองที่พิมพ์ หน้าแรกและหน้าสุดท้ายที่อ้างอิง ดังตัวอย่าง

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

Van Oirschot, J. T. 1986. Hog Cholera. In : Disease of Swine, 6 th ed. Leman, A. D. ed. Iowa state university Press. Iowa. 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 เป็นตุ้ม จุฑาพร ศรีวิวัฒน์ วรวิทย์ แสงสิงแก้ว และ พิงพิศ 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 สะดวกแก่การอ่านและใช้ตัวพิมพ์แบบเดียวกันทั้งฉบับ กรณีใช้เครื่องคอมพิวเตอร์พิมพ์เนื้อความให้ใช้ตัวอักษร

Angsana UPC 16 ตัวปกติเท่านั้น ยกเว้นหัวข้อใหญ่ เช่น ชื่อเรื่อง บทคัดย่อ บทนำ อุปกรณ์และวิธีการ ผล วิจารณ์ สรุป กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง พิมพ์โดยใช้ตัวอักษรแบบหนา (Bold) ขนาด 18 ส่วนหัวข้อย่อย เช่น ชื่อผู้วิจัยและคณะ คำสำคัญ ตาราง รูปภาพ เป็นต้น พิมพ์ใช้ตัวอักษรแบบหนา (Bold) ขนาด 16กระดาษที่ใช้พิมพ์ ให้ใช้กระดาษขาวไม่มีบรรทัด ขนาดมาตรฐาน A4 (210 X297 มม.) ใช้เพียงหน้าเดียว

การเว้นที่ว่างขอบกระดาษ

- ตั้งกั้นหน้าบนและซ้ายไว้ที่ 2.5 เซนติเมตร
- ด้านขวาและด้านล่างไว้ที่ 2.0 เซนติเมตร

การเว้นระยะในการพิมพ์

- การเว้นระยะระหว่างบรรทัดและการย่อ

หน้า ควรจัดตามความสวยงาม

- กรณีคำสุดท้ายไม่จบบรรทัดนั้นๆ ให้ยกคำนั้นทั้งคำไปพิมพ์ในบรรทัดต่อไป ไม่ควรตัดส่วยท้ายของ คำไปพิมพ์ในบรรทัดใหม่ เช่น กระบือปลัก ไม่ให้แยกเป็น กระบือ-ปลัก เป็นต้น

จุลชีพ เช่น *Escherichia coli* หรือพิมพ์ตัวเอน

Escherichia coli

- หลังเครื่องหมาย . และ , หรือ; เคาะ 1 เคาะพืช เช่น *Oryza sativa* หรือพิมพ์ตัวเอน *Oryza sativa*

- ระหว่างคำสุดท้าย กับเครื่องหมาย . และ , ไม่เว้นช่องว่าง

สัตว์ เช่น *Bos taurus* หรือ พิมพ์ด้วยตัวเอน *Bos taurus*

- ไม่ต้องเว้นช่องว่าง ระหว่างวงเล็บ และคำข้างในวงเล็บ เช่น (รพีพรรณ และคณะ)

การลำดับหน้า

- ลำดับหน้าโดยใช้หมายเลข 1,2,3.....ที่
กึ่งกลางหน้ากระดาษ

ตาราง รูปภาพ แผนภูมิ กราฟ

- ตารางประกอบด้วย เลขที่ของตาราง (table
number) ชื่อของตาราง (table title) หัวตาราง (table
heading) และที่มาของตาราง (ถ้ามี) โดยให้ทำเป็น
ภาษาอังกฤษหรือภาษาไทยทั้งตาราง พิมพ์อยู่ใน
หน้าเดียวกันทั้งหมด

- กรณีตารางมีความยาวมาก ไม่สามารถ
สิ้นสุดในหน้าเดียวได้ ให้พิมพ์ส่วนที่เหลือในหน้า
ถัดไปโดยพิมพ์เลขที่ตารางและตามด้วยคำว่า (ต่อ)

- กรณีรูปภาพ แผนที่ แผนภูมิ กราฟ ควรเป็น
ภาพขาวดำ และใช้แนวทางข้างต้น

การพิมพ์ชื่อวิทยาศาสตร์ของสิ่งมีชีวิต ให้ใช้
ตามประมวลนามศาสตร์สากล (International code
of nomenclature) คือ **ขีดเส้นใต้** หรือ **พิมพ์ด้วยตัว
เอน** ชื่อวิทยาศาสตร์เป็นไปตามการตั้งชื่อ

สารบัญ

	หน้า
การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสม (สายพันธุ์ บัวบาน จุรีรัตน์ แส่นโกชนัน มนต์ชัย ดวงจินดา)	1
ความสัมพันธ์ระหว่างค่าองค์ประกอบน้ำนมกับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โคนมลูกผสม โฮลสไตน์ฟรีเชียนในเขตภาคกลางของประเทศไทย (วิโรจน์ สัมพันธ์พร สมศักดิ์ เปรมปรีดิ์)	21
ผลกระทบของอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมต่อการให้ผลผลิตน้ำนมของโคนม ลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทย (สมศักดิ์ เปรมปรีดิ์ เรืองวุฒิ วรวุฒิ)	33
แนวโน้มทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะการให้ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนมของโคนม ลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทย (เรืองวุฒิ วรวุฒิ สมศักดิ์ เปรมปรีดิ์)	46
ประสิทธิภาพการผลิตตัวอ่อนโดยวิธีปฏิสนธิในอกร่างกายด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งโคברהห์มันแดง ที่มี motility ต่ำกว่า 40 เปอร์เซ็นต์ (มาลี อภิเมธีธารัง อนนท เทืองสันเทียะ สราวุธ ฉายประสาท ณรงค์ เลี้ยงเจริญ)	56
ผลของการเหนี่ยวนำการตกไข่โดยใช้ Progesterone และ PGF _{2α} ร่วมกับ GnRH หรือ hCG ในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาต่ออัตราการตั้งท้องของโคเนื้อลูกผสมพื้นเมืองไทย (ปกรณ์เกียรติ โมพา ณรงค์กร เกษมสุข)	64
ผลของสารละลาย Equex STM และระดับความเข้มข้นของน้ำเชื้อแช่แข็งต่ออัตราการผสมติด ในแพะพื้นเมืองลูกผสมในภาคใต้ของประเทศไทย (วิศิษฐ์ ทองเทียง ธวัชชัย โพธิ์คำ จตุพร พงษ์เพ็ง)	79
ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จของการผสมเทียมแพะในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉยเหนือ และภาคใต้ของประเทศไทย (จิตศักดิ์ เมืองเขียว สุรศักดิ์ เพชรรัตน์ วิโรจน์ สัมพันธ์พร)	90

ผลของการเหนี่ยวนำการเป็นสัดต่ออัตราการตั้งท้องในกระบือปลัก (กฤษฎากร ปาวงศ์ สมพิศ รักงาม อภิชัย พูนชัย วรวิชญ์ วราธิ์ศวปติ)	101
การพัฒนาการออกแบบไพรเมอร์เพื่อการตรวจสอบชนิดของสัตว์จากไมโทคอนเดรียลยีนด้วยวิธี Multiplex PCR (สายใจ ชื่นสุข อัจฉรวรรณ น้อยกล้า บุษงา จินดาพานิชสกุล)	110

การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมลูกผสม

สายัณห์ บัวบาน^{1/} จุรีรัตน์ แสนโกชนี^{2/} มนต์ชัย ดวงจินดา^{3/}

บทคัดย่อ

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม (ค่าอัตราพันธุกรรม ค่าอัตราซ้ำ และค่าสหสัมพันธ์) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่สำคัญด้วยโมเดลตัวสัตว์แบบวิเคราะห์ที่ละลักษณะและแบบวิเคราะห์ร่วมสองลักษณะทั้งโคสาวและแม่โคของประชากรโคนมลูกผสมในประเทศไทยและเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่มีข้อมูลไม่ต่อเนื่องด้วย Threshold animal model (TAM) กับ Linear animal model (LAM) โดยใช้ข้อมูลจากฐานข้อมูลโคนมของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ที่ได้รับการผสมเทียมและคลอดลูกในช่วงปี พ.ศ.2545-2558 ประกอบด้วยชุดข้อมูลความสมบูรณ์พันธุ์สำหรับวิเคราะห์ที่ละลักษณะ และวิเคราะห์ร่วมสองลักษณะพร้อมกันภายในโคสาวและแม่โคจำนวน 71,515 และ 82,633 ข้อมูล (1.81 ข้อมูลต่อแม่โค) ตามลำดับ และชุดข้อมูลสำหรับวิเคราะห์ร่วมสองลักษณะพร้อมกันของลักษณะเดียวกันในโคสาวและแม่โคจำนวน 148,269 ข้อมูลจากโค 50,804 ตัว ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่ศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ประกอบด้วย อายุเมื่อผสมเทียมครั้งแรก (AFS) อายุเมื่อคลอดลูกครั้งแรก (AFC) ช่วงห่างจากคลอดถึงการผสมเทียมครั้งแรก (DTFS) ช่วงห่างจากการผสมเทียมครั้งแรกถึงผสมติด (DFTC) ช่วงห่างจากคลอดถึงผสมติด (DO) ช่วงห่างการคลอดลูก (CI) จำนวนครั้งการผสมเทียมต่อการผสมติด (NSPC) การผสมติดครั้งแรก (FSC) การตั้งท้องภายใน 56 วันหลังผสมเทียมครั้งแรก (P56) และการตั้งท้องภายใน 90 วันหลังผสมเทียมครั้งแรก (P90) ผลการศึกษาพบว่าความสมบูรณ์พันธุ์ทุกลักษณะในโคสาวดีกว่าในแม่โคค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ส่วนมากมีค่า 0.07 หรือน้อยกว่า ยกเว้น AFS (0.18) และ AFC (0.17) สหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะที่ศึกษาภายในโคสาวและแม่โคมีค่าปานกลางถึงสูง ยกเว้น AFS หรือ AFC กับลักษณะอื่นๆ ที่มีค่าต่ำ ซึ่งให้เห็นว่าการคัดเลือกลักษณะ DFTC หรือ DO สำหรับโคสาว/แม่โคจะส่งผลทำให้ความสามารถในการผสมติดและตั้งท้องมีความก้าวหน้าทางพันธุกรรมมากที่สุด ดังนั้น DFTC หรือ DO สามารถใช้เป็นดัชนีสำหรับความสมบูรณ์พันธุ์โคสาว/แม่โคที่ดีที่สุด และร่วมกับลักษณะอื่นที่มีแตกต่างกันทางพันธุกรรม เช่น AFS (ในโคสาว) และ DTFS หรือ NSPC (ในแม่โค) ในรูปแบบของดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ (Fertility index) ซึ่งทำให้สามารถคัดเลือกลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ สหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์เดียวกันระหว่างโคสาวและแม่โคมีค่าตั้งแต่ต่ำถึงปานกลาง และมีค่าห่างไปจาก 1 ซึ่งให้เห็นว่าลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคสาวมีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในแม่โค ดังนั้นในการประเมินค่าทางพันธุกรรมจึงควรพิจารณาถึงลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคสาวและแม่โคเป็นลักษณะที่แตกต่างกันแต่มีความเกี่ยวข้องกัน

คำสำคัญ : พารามิเตอร์ทางพันธุกรรม ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์โคนมลูกผสม ประเทศไทย

เลขทะเบียนวิจัย : 54(1)-(54:03)0208-026

^{1/} สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ต. บางกะดี อ.เมือง จ.ปทุมธานี 12000

^{2/} กลุ่มพัฒนาวิชาการปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ พญาไท ราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

^{3/} ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002

Estimates of Genetic Parameters for Dairy Crossbred Female Fertility TraitsSayan Buaban^{1/} Jureeratn Sanpote^{2/} Monchai Duangjinda^{3/}**Abstract**

The objectives of this study were to estimate genetic parameters for various fertility traits on Thai dairy crossbred heifers and cows population using univariate and bivariate analysis with animal model and to compare the parameter estimates of fertility traits which are ordered categorical and binary traits with Threshold animal model (TAM) and Linear animal model (LAM). The data from the Bureau of Biotechnology and Animal production, DLD calving between 2002 and 2015 were used. The data for univariate and bivariate analysis consisted of 71,515 and 82,633 records (1.81 records per cow) on heifers and cows, respectively whereas the data for bivariate analysis for each trait in heifers and cows were 148,269 records from 50,804 heads. The investigated traits were: age at first service (AFS), age at first calving (AFC), days from calving to first service (DTFS), days from first service to conception (DFTC), days from calving to conception or days open (DO), calving interval (CI), number of services per conception (NSPC) and conception at first service (FSC), pregnancy within 56 days after first service (P56) and pregnancy within 90 days after first service (P90). Virgin heifers had better fertility performance than cows. Estimated heritabilities for the most of the fertility traits were 0.07 or less except for AFS (0.18) and AFC (0.17). Moreover, the estimated genetic correlations among fertility traits within parity indicated that selection for heifers/cows with shorten DFTC or DO would achieve the largest genetic progress in the ability to conceive and maintain pregnancy in both heifers and cows. Therefore, DFTC or DO could be used as one of the best indicators for heifer/cow fertility and could be complemented by more highly heritable other traits such as AFS (in heifers) and DTFS or NSPC (in cows) in term of fertility index that would enable efficient selection for better fertility. Additionally, genetic correlations for the same fertility traits between heifers and cows were low to moderate and far from 1. This indicated that fertility traits of heifers and cows were different. Therefore, they should be considered as different traits in genetic evaluation.

Keywords: genetic parameters, fertility traits, dairy crossbred, Thailand**Registered No. :** 54(1)-(54:03)0208-026

^{1/} Bureau of Biotechnology in Livestock Production, Department of Livestock Development, Bangkokdee, Pathumthani, 12000

^{2/} Livestock Academic Development Group, Department of Livestock Development, Payathai, Ratchathevi, Bangkok, 10400

^{3/} Department of Animal Science, KhonKaen University, Meaung, KhonKaen 40002

คำนำ

ในการเลี้ยงโคนมลักษณะที่กำหนดผลตอบแทนทางเศรษฐกิจนอกจากลักษณะการให้ผลผลิต และ ลักษณะรูปร่าง ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ก็เป็นอีกลักษณะหนึ่งที่หลายประเทศได้ให้ความสนใจกันมากขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อต้นทุนการผลิตและผลกำไรที่จะได้รับ โคนมที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ดีจะมีต้นทุนการผลิตน้ำนมที่ต่ำกว่าโคนมที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ด้อยกว่า (Groen *et al.*, 1998) เนื่องจากต้นทุนค่าน้ำเชื้อพันธุ์ที่ผสมซ้ำหลายครั้งต้นทุนค่ารักษาพยาบาล และต้นทุนที่เกิดการคัดทิ้งโคก่อนเวลาอันควรแบบไม่ได้ตั้งใจลดลง เกษตรกรมีรายได้จากการขายผลผลิตน้ำนมที่เพิ่มขึ้นจากจำนวนวันให้นมตลอดช่วงชีวิต และระยะเวลาของการให้นมของโคนมที่เพิ่มขึ้น (Dekkers, 1991)

โดยทั่วไปลักษณะที่ใช้ประเมินความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมจะเป็นลักษณะที่สะท้อนถึงความสามารถที่โคจะกลับมาเป็นสัดหลังคลอด: ช่วงห่างจากคลอดถึงการผสมเทียมครั้งแรก (Days from calving to first service, DTFS), ความสามารถในการตั้งท้อง: อัตราการไม่กลับสัดจากการผสมครั้งแรก (Non return rate, NR), ช่วงห่างระหว่างการผสมเทียมครั้งแรกและครั้งสุดท้าย (Days from first service to conception, DFTC), อัตราการผสมติด (Conception rate, CR), จำนวนครั้งการผสมเทียมต่อการผสมติด (Number of service per conception, NSPC) และเป็นการรวมกันของลักษณะข้างต้น: ช่วงห่างการคลอดลูก (Calving interval, CI) และช่วงห่างจากคลอดถึงผสมติด (Days from calving to conception or Days open, DO)

การปรับปรุงพันธุ์โคนมในประเทศไทยได้มีการพัฒนามาอย่างต่อเนื่องยาวนานมากกว่า 60 ปี โดยมุ่งเน้นการให้ผลผลิตน้ำนมเป็นหลัก ด้วยการนำพันธุกรรมโคนมสายพันธุ์ในเขตอบอุ่น เช่น เรดเดน บราวน์ สวิส เจอร์ซี่ และโฮลสไตน์ฟรีเชียน เป็นต้น มาผสมข้ามพันธุ์แบบยกระดืบสายเลือด (Up grading) กับแม่โคพันธุ์พื้นเมือง และลูกผสมบราห์มันพื้นเมือง โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธุกรรมของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนซึ่งมีความดีเลิศด้านการให้ผลผลิตน้ำนม และขนาดลำตัวใหญ่ การพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ได้ดำเนินการผ่านระบบการคัดเลือกพ่อพันธุ์ และการผสมพันธุ์ของประเทศเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน ทำให้ประชากรโคนมส่วนใหญ่มีสายเลือดโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนมากกว่า 87.50% ขึ้นไป (กรมปศุสัตว์, 2558)

อย่างไรก็ตามการคัดเลือกโดยการเพิ่มปริมาณน้ำนมเพียงอย่างเดียวอย่างต่อเนื่องส่งผลทำให้สมรรถภาพทางระบบสืบพันธุ์ลดลง (Pryce and Veerkamp, 2001) กล่าวคือ ทำให้แม่โคนมมีอัตราการผสมติดจากการผสมครั้งแรกลดต่ำลง และมีจำนวนครั้งต่อการผสมติดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ช่วงห่างการให้ลูกยาวขึ้น (Nebel and McGiliard, 1993; Bagnato and Oltenacu, 1994) ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะปริมาณน้ำนม และลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์มีสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในทางตรงกันข้าม (Roxstrom *et al.*, 2001; Liu *et al.*, 2008) การพิจารณารวมเอาลักษณะความสมบูรณ์ไว้ในเป้าหมายการปรับปรุงพันธุ์เพื่อที่จะทำให้การปรับปรุงทางพันธุกรรมโคนมที่เหมาะสมจึงมีความจำเป็น

แนวทางในการแก้ไขปัญหาความไม่สมบูรณ์พันธุ์สามารถดำเนินการได้โดยการปรับปรุงการจัดการเลี้ยงดูและสภาพแวดล้อม แต่การแก้ไขปัญหาอย่างยั่งยืนด้านหนึ่งคือการปรับปรุงทางด้านพันธุกรรมในประเทศไทยยังไม่มีมีการนำค่าทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์มาใช้ในการคัดเลือกอย่างชัดเจน อาจเป็นไปได้ว่าเครื่องมือหรือค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมที่ใช้ในการคัดเลือกของลักษณะนี้ยังมีไม่เพียงพอ หรือถ้ามีก็ดำเนินการในสถานีด้วยชุดข้อมูลขนาดเล็ก (วิชัย และคณะ, 2548; Pongpiachan *et al.*, 2003; König *et al.*, 2005; Sivichai and Chongkasikit, 2011)

การศึกษาค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม (ค่าอัตราพันธุกรรม ค่าอัตราซ้ำ และค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลักษณะ) สำหรับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมจะช่วยให้ทราบถึงลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรม ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะ และศักยภาพในการคัดเลือกทางพันธุกรรม เกษตรกรหรือผู้ผลิตเห็นถึงโอกาสในการพัฒนาทางพันธุกรรม ความสำคัญของการจัดเก็บข้อมูล และการประเมินสถานการณ์ทางพันธุกรรมเพื่อยกระดับความสัมฤทธิ์ผลทางธุรกิจการเลี้ยงโคนม การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม (ค่าอัตราพันธุกรรม ค่าอัตราซ้ำ และค่าสหสัมพันธ์) ของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่สำคัญด้วยโมเดลตัวสัตว์แบบวิเคราะห์ทีละลักษณะ (Univariate analysis) และแบบวิเคราะห์ร่วมสองลักษณะ (Bivariate analysis) ทั้งโคสาวและแม่โคของประชากรโคนมลูกผสมในประเทศไทยและเปรียบเทียบค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่มีข้อมูลไม่ต่อเนื่องด้วย Threshold animal model (TAM) กับ Linear animal model (LAM)

วิธีการศึกษา

ข้อมูลและการจัดการข้อมูล

ข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้านี้เป็นข้อมูลรายตัวของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนจากฟาร์มของเกษตรกรที่ได้รวบรวมไว้ในระบบฐานข้อมูลของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ซึ่งเป็นข้อมูลพันธุ์ประวัติ ข้อมูลผสมเทียมที่ได้จากการปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่ผสมเทียมทั่วประเทศเริ่มตั้งแต่ข้อมูลการผสมเทียม การตรวจท้อง และการติดตามลูกเกิด (การคลอดลูก) ในช่วงปี พ.ศ.2545-2558

ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่ศึกษาค้นคว้านี้ประกอบด้วย อายุเมื่อผสมเทียมครั้งแรก (Age at first service, AFS) อายุเมื่อคลอดลูกครั้งแรก (Age at first calving, AFC) การผสมติดครั้งแรก (conception at first service, FSC) การตั้งท้องภายใน 56 วันหลังผสมเทียมครั้งแรก (Pregnancy within 56d, P56) และการตั้งท้องภายใน 90 วันหลังผสมเทียมครั้งแรก (Pregnancy within 90d, P90), DTFS, DFTC, DO, CI และ NSPC

NSPC, FSC, P56 และ P90 เป็นลักษณะที่มีข้อมูลแบบกลุ่มหรือแบบลำดับขั้น ขณะที่ AFS, AFC, DTFS, DFTC, DO และ CI เป็นลักษณะที่มีข้อมูลแบบช่วงหรือแบบต่อเนื่อง ลักษณะที่บันทึกตั้งแต่เกิดถึง

คลอดครั้งแรกพิจารณาเป็นลักษณะของโคสาว (Heifers) และลักษณะของโคที่เคยให้ลูกมาแล้วจะพิจารณาเป็นลักษณะของแม่โค ดังนั้น AFS และ AFC จึงเป็นลักษณะของโคสาว ขณะที่ DTFS, DO และ CI เป็นลักษณะของแม่โค ส่วนลักษณะอื่นๆ (DFTC, FSC, NSPC, P56 และ P90) เป็นลักษณะของทั้งโคสาวและแม่โค

การจัดการข้อมูลการผสมเทียมเบื้องต้นจะประยุกต์ตามวิธีการของ Kadarmideen and Coffey (2001) ที่กำหนดให้ระยะเวลาการตั้งท้องอยู่ในช่วง 280 ± 15 วัน และตามการกระจายตัวแบบปกติของข้อมูล ($\text{means} \pm 3\text{SD}$) สำหรับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่มีข้อมูลต่อเนื่อง ส่วนข้อจำกัดและเกณฑ์ในการตรวจสอบความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของข้อมูลการผสมเทียมเพิ่มเติมได้มีข้อกำหนดดังนี้คือการตั้งท้องของโคสาวและแม่โคในแต่ละรอบการให้นมจะตัดสินใจจากวันคลอดถัดมา การผสมเทียมภายใน 10 วัน จากการผสมเทียมก่อนหน้านี้จะถือว่าเป็นการผสมซ้ำและจะถูกตัดทิ้ง โคที่มีข้อมูลสมบูรณ์จะนำเข้าวิเคราะห์ถ้ามีอย่างน้อย 1 ข้อมูลที่อยู่ในกลุ่มการจัดการเดียวกัน (ฝูง-ปีการผสมครั้งแรกสำหรับโคสาว และฝูง-ปีการคลอดสำหรับแม่โค) และข้อมูลที่เข้าวิเคราะห์ทั้งโคสาวและแม่โคจะต้องทราบพ่อพันธุ์

ดังนั้นจึงมีชุดข้อมูลความสมบูรณ์พันธุ์สำหรับวิเคราะห์ที่ละลักษณะ และวิเคราะห์ร่วมสองลักษณะพร้อมกันภายในโคสาวและแม่โคจำนวน 71,515 และ 82,633 ข้อมูลตามลำดับ และชุดข้อมูลสำหรับวิเคราะห์ร่วมสองลักษณะพร้อมกันของลักษณะเดียวกันในโคสาวและแม่โคจำนวน 148,269 ข้อมูลจากโค 50,804 ตัว ส่วนข้อมูลพันธุ์ประวัติสำหรับวิเคราะห์ที่ละลักษณะและวิเคราะห์หลายลักษณะพร้อมกันภายในโคสาวและแม่โคมีจำนวน 143,396 และ 94,817 ตัว สำหรับโคสาวและแม่โคตามลำดับ รวมถึงส่วนข้อมูลพันธุ์ประวัติสำหรับวิเคราะห์ร่วมสองลักษณะพร้อมกันระหว่างลักษณะเดียวกันในโคสาวและแม่โคมีจำนวน 110,218 ตัว

การวิเคราะห์ข้อมูลและโมเดลที่ใช้วิเคราะห์

การวิเคราะห์ที่ละลักษณะสำหรับข้อมูลต่อเนื่องด้วย LAM และข้อมูลต่อเนื่องด้วย TAM ใช้โมเดลวิเคราะห์ที่ประยุกต์จาก Abe *et al.* (2009) และ Tiezzi *et al.* (2012) ดังนี้

$$\text{สำหรับโคสาว: } y = X\beta + Z_{hy}hy + Z_a a + Z_{ss}ss + e$$

$$\text{สำหรับแม่โค: } y = X\beta + Z_{hy}hy + Z_a a + Z_{pe}pe + Z_{ss}ss + e$$

เมื่อ y คือเวกเตอร์ค่าสังเกตของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่เป็นข้อมูลต่อเนื่อง (AFS, AFC, DTFS, DFTC, DO และ CI) หรือเวกเตอร์ค่าสังเกตของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่เป็นข้อมูลไม่ต่อเนื่อง (NSPC, FSC, P56, P90)

β คือเวกเตอร์ของปัจจัยคงที่ systematic effects

$hy \sim N(0, I\sigma_{hy}^2)$ คือเวกเตอร์ของปัจจัยสุ่มของกลุ่มการจัดการในฟาร์ม $\times$ ปีเมื่อได้รับการผสมครั้งแรกสำหรับลักษณะโคสาว และเวกเตอร์ของปัจจัยสุ่มของกลุ่มการจัดการในฟาร์ม $\times$ ปีเมื่อคลอดลูกสำหรับลักษณะแม่โค

$a \sim N(0, A\sigma_a^2)$ คือเวกเตอร์ของปัจจัยสุ่มเนื่องจากอิทธิพลของพันธุกรรมจากยีนแบบบวกสะสมสำหรับสัตว์ทุกตัวในพันธุ์ประวัติ

$pe \sim N(0, I\sigma_{pe}^2)$ คือเวกเตอร์ของปัจจัยสุ่มเนื่องจากอิทธิพลของสภาพแวดล้อมถาวรสำหรับสัตว์ทุกตัวที่มีข้อมูล (สำหรับแม่โค)

$ss \sim N(0, I\sigma_{ss}^2)$ คือเวกเตอร์ของปัจจัยสุ่มเนื่องจากพ่อพันธุ์ที่ใช้ผสมเทียม (สำหรับ FSC, P56, P90)

$e \sim N(0, I\sigma_e^2)$ คือเวกเตอร์ของปัจจัยสุ่มเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

X คือเมตริกซ์ที่สัมพันธ์กับปัจจัยคงที่

Z_{hy}, Z_a, Z_{pe} และ Z_{ss} คือเมตริกซ์ที่สัมพันธ์กับปัจจัยสุ่ม

A คือเมตริกซ์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวสัตว์

I คือ Identity matrix

$\sigma_{hy}^2, \sigma_a^2, \sigma_{pe}^2, \sigma_{ss}^2$ และ σ_e^2 คือความแปรปรวนของ ผุ่-ปี เมื่อได้รับการผสมเทียมครั้งแรก หรือการคลอดครั้งแรก พันธุกรรมจากยีนแบบบวกสะสม สภาพแวดล้อมถาวร พ่อพันธุ์ที่ใช้ผสมเทียม และความคลาดเคลื่อนตามลำดับ

ปัจจัยคงที่ Systematic effects ในโคสาวสำหรับ AFS และ AFC ประกอบด้วย กลุ่มพันธุ์ (3 กลุ่ม) และ ปี-เดือนของการผสมเทียมครั้งแรก (185 กลุ่ม) ส่วน DFTC, FSC, และ NSPC ประกอบด้วย กลุ่มพันธุ์ (3 กลุ่ม) อายุเมื่อได้รับการผสมครั้งแรก (5 กลุ่ม) และ ปี-เดือนของการผสมเทียมครั้งแรก (185 กลุ่ม) ขณะที่ Systematic effects ในแม่โคประกอบด้วย กลุ่มพันธุ์ (3 กลุ่ม) อายุเมื่อคลอดลูก (7 กลุ่ม) ปี-เดือนของการคลอด (181 กลุ่ม) ลำดับการคลอด (5 กลุ่ม)

การวิเคราะห์ร่วมสองลักษณะพร้อมกันเพื่อที่จะหาค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่ต่างกันภายในโคสาวกับแม่โค และระหว่างลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์เดียวกันในโคสาวและแม่โคจะใช้ LAM-LAM, TAM-LAM, และ TAM-TAM สำหรับการวิเคราะห์ร่วมสองลักษณะภายในโคสาวและแม่โคโมเดลที่ใช้ในการวิเคราะห์จะใช้โมเดลเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ที่ละลักษณะ ยกเว้นการวิเคราะห์ระหว่าง AFC หรือ AFS กับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ของโคสาวอื่น (NSPC, FSC, DFTC, P56, P90) ที่อายุเมื่อผสมเทียมครั้งแรกจะไม่ได้ใส่ไว้ในโมเดล

การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม

วิเคราะห์หาองค์ประกอบความแปรปรวนและแปรปรวนร่วมของลักษณะที่ศึกษาจากทั้งการวิเคราะห์ที่ละลักษณะและการวิเคราะห์ร่วมสองลักษณะพร้อมกัน เพื่อนำค่าที่ได้ไปใช้ประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรม (ค่าอัตราพันธุกรรม ค่าอัตราซ้ำ ค่าอัตราความร่วมมือร่วมของฝูงค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และค่าสหสัมพันธ์ทางลักษณะปรากฏด้วยวิธี Restricted Maximum Likelihood, REML โดยใช้ Average Information (AI) algorithm จากโปรแกรมสำเร็จรูป AIREMLF90) และ Bayesian analysis via Gibbs sampling จากโปรแกรมสำเร็จรูป THRGIBBS1F90 (Tsuruta and Misztal, 2006) สำหรับการวิเคราะห์ด้วย AIREMLF90 ใช้เกณฑ์พิจารณาสำหรับการคำนวณสิ้นสุดเมื่อค่าความแปรปรวนที่ได้แต่ละซ้ำต่างกันน้อยกว่า 10^{-12} และจะเริ่มการวิเคราะห์อีกครั้งโดยการใช้ผลครั้งที่ผ่านมาเพื่อที่จะให้ได้ความน่าจะเป็นสูงสุดที่แท้จริง ส่วนการวิเคราะห์ด้วย THRGIBBS1F90 ข้อกำหนดสำคัญมีดังนี้ วิเคราะห์ Gibbs sample โดยใช้ Single chain จำนวน 250,000 รอบ และกำหนดให้ 50,000 รอบแรกเป็นส่วนของ burn-in ค่า convergence ของแต่ละค่าความแปรปรวนจะพิจารณาจากค่า Effective sample size รวมทั้งจากรูปกราฟที่ได้จากการทำ Plotting Gibbs samples ที่ Thinning interval กำหนดไว้ที่ 20

$$\text{ค่าอัตราพันธุกรรม (Heritability, } h^2) = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_p^2}$$

$$\text{ค่าอัตราความร่วมมือร่วมของฝูง (Herd contribution, } c^2) = \frac{\sigma_{hy}^2}{\sigma_p^2}$$

$$\text{ค่าอัตราซ้ำ (Repeatability, } t) = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_{pe}^2}{\sigma_p^2}$$

$$\text{ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Genetic correlation, } r_{g(xy)}) = \frac{\sigma_{g(xy)}}{\sqrt{\sigma_{g(x)}^2 * \sigma_{g(y)}^2}}$$

$$\text{ค่าสหสัมพันธ์ของลักษณะปรากฏ (Phenotypic correlation, } r_{p(xy)}) = \frac{\sigma_{p(xy)}}{\sqrt{\sigma_{p(x)}^2 * \sigma_{p(y)}^2}}$$

เมื่อ σ_a^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากพันธุกรรมแบบบวกสะสม

σ_{pe}^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากสภาพแวดล้อมถาวร

σ_{hy}^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากฝูง-ปี เมื่อได้รับการผสมเทียมครั้งแรก หรือการคลอด

σ_p^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากลักษณะปรากฏทั้งหมด

$\sigma_{p(xy)}$ = ความแปรปรวนร่วมของลักษณะปรากฏระหว่างลักษณะ X และ Y

$\sigma_{g(xy)}$ = ความแปรปรวนร่วมทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะ X และ Y

$\sigma_{p(x)}^2$ = ความแปรปรวนทั้งหมดของลักษณะ X

$\sigma_{p(y)}^2$ = ความแปรปรวนทั้งหมดของลักษณะ Y

$\sigma_{g(x)}^2$ = ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะ X

$\sigma_{g(y)}^2$ = ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของลักษณะ Y

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ประชากรโคนมที่ศึกษาครั้งนี้มีค่าเฉลี่ยของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ดังนี้ AFS 22.25 ± 5.54 เดือน AFC 32.39 ± 5.76 วัน DTFS 101.06 ± 44.88 วัน DFTC 41.55 ± 66.77 วัน DO 149.93 ± 78.60 วัน CI 428.36 ± 78.60 วัน NSPC 1.90 ± 1.37 ครั้ง FSC 54.96 ± 49.75 % P56 73.25 ± 44.26 % และ P90 82.17 ± 38.28 % (Table 1) โดยทั่วไปความสมบูรณ์พันธุ์ในโคสาวดีกว่าในแม่โคเช่น DFTC สั้นกว่า 15.78 วัน, NSPC น้อยกว่า 0.48 ครั้ง และ FSC, P56, P90 สูงกว่า 15.29 11.83 และ 8.23 % ตามลำดับค่าเฉลี่ยของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ของโคสาวและแม่โคที่วิเคราะห์ได้ในครั้งนี้ให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาในประชากรอื่น (Haile-Mariam *et al.*, 2003a; Jamrozik *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2008; Tiezzi *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2017) ทั้งนี้เป็นเพราะว่าในโคสาวยังไม่ได้มีผลกระทบเนื่องจากการคลอดและการให้นม (Buaban *et al.*, 2015) รวมถึงการเกิด Negative energy balance จากการที่แม่โคให้ผลผลิตน้ำนมสูง (Wiltbank *et al.*, 2006)

Table 1 Means $\pm$ standard deviation ($\bar{X} \pm SD$), Minimum and Maximum of fertility traits in Thai dairy population

Traits	Heifers	Cows	Total	Range	
	n=71,515	n=82,633	n=154,148		
	71,515 heads	45,487 heads	71,515 heads		
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	Min	Max
GL (d)	278.04 ± 5.40	278.43 ± 5.38	278.25 ± 5.39	265	295
AFS (m)	22.25 ± 5.54	-	22.25 ± 5.54	9	39
AFC (m)	32.39 ± 5.76	-	32.39 ± 5.76	18	48
NSPC (no)	1.64 ± 1.10	2.12 ± 1.53	1.90 ± 1.37	1	10
FSC (%)	63.16 ± 48.23	47.87 ± 49.96	54.96 ± 49.75	0	100
P56 (%)	79.60 ± 40.30	67.77 ± 46.74	73.25 ± 44.26	0	100
P90 (%)	86.58 ± 34.08	78.35 ± 41.18	82.17 ± 38.28	0	100
DFTC (d)	33.09 ± 63.73	48.87 ± 68.47	41.55 ± 66.77	0	400
DTFS (d)	-	101.06 ± 44.88	101.06 ± 44.88	20	250
DO (d)	-	149.93 ± 78.60	149.93 ± 78.60	20	400
CI (d)	-	428.36 ± 78.60	428.36 ± 78.60	291	690

AFS = age at first service; AFC = age at first calving; NSPC = number of service per conception; FSC = conception at first service; P56= pregnancy within 56 days after first service; P90 = pregnancy within 90 days after first service; DFTC = days from first service to conception; DTFS = days from calving to first service; DO = days from calving to conception or days open; CI = calving interval

ค่าอัตราพันธุกรรม

ค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคสาวและแม่โคจากการวิเคราะห์แบบที่ละลักษณะและสองลักษณะพร้อมกันได้แสดงไว้ใน **Table 2** พบว่าการวิเคราะห์ทั้งสองแบบได้ค่าใกล้เคียงกันในแม่โคมีค่าสูงกว่าในโคสาวเล็กน้อย และความสมบูรณ์พันธุ์ที่มีลักษณะข้อมูลแบบต่อเนื่องจะมีค่าอัตราพันธุกรรมสูงกว่าข้อมูลมีลักษณะไม่ต่อเนื่อง โดยทั่วไปค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่ศึกษาส่วนใหญ่มีค่าต่ำ (0.01-0.07) ยกเว้น AFS และ AFC มีค่าเท่ากับ 0.18

Table 2 Estimates of heritability and herd contribution (standard deviation in parenthesis) for various fertility traits in heifers and cows which analyzed by univariate and bivariate method

Parameter	Traits ^{1/}	Heifers		Cows	
		Univariate	Bivariate ^{2/}	Univariate	Bivariate ^{2/}
Heritability	AFS	0.18 (0.010)	0.18 (0.010)	-	-
	AFC	0.18 (0.010)	0.17 (0.009)	-	-
	NSPC	0.01 (0.003)	0.02 (0.001)	0.04 (0.006)	0.04 (0.004)
	FSC	0.01 (0.002)	0.01 (0.001)	0.01 (0.003)	0.02 (0.001)
	P56	0.01 (0.002)	0.01 (0.001)	0.02 (0.004)	0.02 (0.001)
	P90	0.01 (0.002)	0.01 (0.001)	0.02 (0.003)	0.03 (0.001)
	DFTC	0.01 (0.002)	0.01 (0.001)	0.02 (0.004)	0.03 (0.003)
	DTFS	-	-	0.07 (0.008)	0.07 (0.009)
	DO	-	-	0.07 (0.008)	0.07 (0.005)
	CI	-	-	0.07 (0.009)	0.09 (0.005)
Herd	AFS	0.39 (0.004)	0.39 (0.010)	-	-
Contribution	AFC	0.36 (0.005)	0.36 (0.009)	-	-
	NSPC	0.07 (0.003)	0.07 (0.001)	0.07 (0.003)	0.07 (0.002)
	FSC	0.06 (0.003)	0.06 (0.001)	0.04 (0.003)	0.04 (0.001)
	P56	0.06 (0.003)	0.06 (0.001)	0.04 (0.003)	0.04 (0.001)
	P90	0.06 (0.003)	0.05 (0.001)	0.03 (0.003)	0.03 (0.001)
	DFTC	0.07 (0.003)	0.07 (0.001)	0.05 (0.003)	0.05 (0.002)
	DTFS	-	-	0.11 (0.003)	0.11 (0.003)
	DO	-	-	0.05 (0.003)	0.05 (0.002)
	CI	-	-	0.05 (0.003)	0.05 (0.002)

^{1/}AFS = age at first service; AFC = age at first calving; NSPC = number of service per conception; FSC = conception at first service; P56= pregnancy within 56 days after first service; P90 = pregnancy within 90 days after first service; DFTC = days from first service to conception; DTFS = days from calving to first service; DO = days from calving to conception or days open; CI = calving interval

^{2/}average estimates

ค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคสาวและแม่โคจากการวิเคราะห์แบบทีละลักษณะและสองลักษณะพร้อมกันได้ค่าใกล้เคียงกันสอดคล้องกับการศึกษาของ Kadarmideen *et al.*, (2003) ค่าอัตราพันธุกรรมของ AFS และ AFC มีค่าเท่ากับ 0.18 โดยเฉพาะ AFS ซึ่งมีค่าใกล้เคียงหรือสูงกว่าที่ได้รายงานไว้สำหรับโคโฮลสไตน์ในประเทศแคนาดา (Jamrozik *et al.*, 2005) ญี่ปุ่น (Abe *et al.*, 2009) อิหร่าน (Eghbalsaid, 2011) เนเธอร์แลนด์ (De Haer *et al.*, 2013) และจีน (Guo *et al.*, 2014) แต่มีค่าต่ำกว่าโคบราวน์สวิสในเขตร้อนชื้นของเม็กซิโก (Estrada-León *et al.*, 2008) และโคนมลูกผสมของประเทศไทย (Buaban *et al.*, 2015) จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าการปรับปรุงทางพันธุกรรมของ AFS สามารถทำได้ด้วยการคัดเลือกสำหรับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์อื่นๆ ค่าอัตราพันธุกรรมมีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.07 ซึ่งต่ำกว่าในโคโฮลสไตน์ของแคนาดา (Jamrozik *et al.*, 2005) และโคโฮลสไตน์ของญี่ปุ่น (Abe *et al.*, 2009) แต่เท่ากับหรือสูงกว่าเล็กน้อยตามการศึกษาของ Veerkamp and Beerda (2007) และตามที่ได้รายงานในโคนมไทย (König *et al.*, 2005; Buaban *et al.*, 2015)

ค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในแม่โคที่มีค่าอยู่ระหว่าง 0.01-0.07 ยังพบในโคโฮลสไตน์ในประเทศคิวบา (Buxadera and Dempfle, 1997) โคโฮลสไตน์ในประเทศเคนยา (Ojango and Pollott, 2001) โคนมในประเทศเอธิโอเปีย (Demeke *et al.*, 2004) โคบราวน์สวิสในเขตร้อนชื้นของเม็กซิโก (Estrada-León *et al.*, 2008; Utrera *et al.*, 2010) และโคโฮลสไตน์ในประเทศโคลัมเบีย (Zanbrano and Echeverri, 2014) ด้วย

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าค่าอัตราทางพันธุกรรมที่ต่ำชี้ให้เห็นว่าการปรับปรุงลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคสาวและแม่โคสามารถทำได้โดยการปรับปรุงการจัดการทางระบบสืบพันธุ์ เช่น การจับสัด การผสมเทียมในเวลาที่เหมาะสม การจัดการให้อาหารสำหรับโคที่กำลังเจริญเติบโตและโคหลังคลอด อย่างไรก็ตามความผันแปรของค่าอัตราพันธุกรรมระหว่างแต่ละงานวิจัยเป็นผลเนื่องมาจากโมเดลและวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์

เมื่อวิเคราะห์ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่มีข้อมูลไม่ต่อเนื่อง (NSPC, FSC, P56, P90) ด้วย TAM โดยใช้ Bayesian approach via Gibbs sampling และ LAM โดยใช้ Restricted maximum likelihood method ทั้งในโคสาว และแม่โค (Table 3) พบว่าค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะที่ศึกษาจากการวิเคราะห์ด้วย TAM มีค่าอยู่ระหว่าง 0.01-0.04 มีค่าใกล้เคียงหรือไม่แตกต่างจากการวิเคราะห์ด้วย LAM ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Silvestre *et al.* (2007) แต่ต่างจากการศึกษาของ Kadarmideen *et al.* (2000), Kuhn *et al.* (2006) และ Teizzi *et al.* (2012) ที่พบว่าค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์จากการวิเคราะห์ด้วย TAM มีค่าอัตราพันธุกรรมสูงกว่าการวิเคราะห์ด้วย LAM อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยหลายงานที่ได้รายงานข้อที่ดีและเหมาะสมกว่าที่ใช้ใน TAM ประมาณค่าทางพันธุกรรมของลักษณะไม่ต่อเนื่อง (Gianola and Foulley, 1983; Sun and Su, 2010) โดยเฉพาะลักษณะ Binary

Table 3 Estimates of heritability and herd contribution (standard deviation in parenthesis) for various fertility traits with discontinuity data in heifers and cows which analyzed by Linear animal model (LAM) with REML and Threshold animal model (TAM) with Bayesian approach via Gibbs sampling

Parameter	Traits ^{1/}	Heifers		Cows	
		LAM	TAM	LAM	TAM
Heritability	NSPC	0.01 (0.003)	0.02 (0.005)	0.04 (0.006)	0.03 (0.009)
	FSC	0.01 (0.002)	0.01 (0.003)	0.01 (0.003)	0.01 (0.002)
	P56	0.01 (0.002)	0.01 (0.002)	0.02 (0.004)	0.02 (0.005)
	P90	0.01 (0.002)	0.02 (0.005)	0.02 (0.003)	0.02 (0.006)
Herd	NSPC	0.07 (0.003)	0.10 (0.005)	0.07 (0.003)	0.08 (0.005)
Contribution	FSC	0.06 (0.003)	0.15 (0.006)	0.04 (0.003)	0.06 (0.004)
	P56	0.06 (0.003)	0.22 (0.007)	0.04 (0.003)	0.07 (0.005)
	P90	0.06 (0.003)	0.26 (0.009)	0.03 (0.003)	0.07 (0.006)
Repeatability	NSPC	-	-	0.15 (0.005)	0.13 (0.015)
	FSC	-	-	0.07 (0.005)	0.09 (0.007)
	P56	-	-	0.08 (0.005)	0.11 (0.009)
	P90	-	-	0.08 (0.005)	0.13 (0.011)

^{1/} NSPC = number of service per conception; FSC = conception at first service; P56= pregnancy within 56 days after first service; P90 = pregnancy within 90 days after first service

ค่าอัตราการมีส่วนร่วมของฝูง

ค่าอัตราการมีส่วนร่วมของฝูงจะมีค่าสูงกว่าค่าอัตราพันธุกรรมเกือบทุกลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ (Table 2) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.03 (P90 ในแม่โค) 0.39 (AFS ในโคสาว) สอดคล้องกับการศึกษาของ Buaban *et al.* (2015) ยกเว้น DO และ CI ที่ค่าอัตราการมีส่วนร่วมของฝูงสูงกว่าค่าอัตราพันธุกรรม Jamrozik *et al.* (2005) และ Abe *et al.* (2009) ได้รายงานค่าอัตราการมีส่วนร่วมของฝูงสำหรับ AFS และ AFC ในโคโฮลสไตน์ (0.48 และ 0.50 ตามลำดับ) ค่าอัตราการมีส่วนร่วมของฝูงที่ได้สูงใน AFS และ AFC อาจเนื่องมาจากการให้อาหารที่แตกต่างกัน และการตัดสินใจของเกษตรกรหรือเจ้าหน้าที่ในการกำหนดอายุของโคในการผสมเทียมของแต่ละฟาร์มที่แตกต่างกัน ค่าอัตราการมีส่วนร่วมของฝูงที่ได้สูงใน DTFS (0.11) สำหรับแม่โคได้ผลเหมือนกับที่รายงานโดย Jamrozik *et al.* (2005), Abe *et al.* (2009) และ Tiezzi *et al.* (2012) ค่าอัตราการมีส่วนร่วมของฝูงสำหรับ NSPC, FSC, DTFC, DO และ CI ที่ต่ำ อาจเป็นผลมาจากความผันแปรที่ต่ำกว่าของประสิทธิภาพการสืบพันธุ์โดยเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม ฝูง-ปี สำหรับอัตราส่วนของความแปรปรวนเนื่องจากพ่อพันธุ์ที่ใช้ผสมเทียมกับความผันแปรทั้งหมดสำหรับ FSC, P56 และ P90 มีค่าเท่ากับ 0.01 หรือ ต่ำกว่าทั้งในโคสาวและแม่โค (ไม่ได้แสดง) ค่าความแปรปรวนที่น้อยมากของพ่อพันธุ์ที่ใช้ผสมเทียมได้มีการรายงานไว้ในระบบการเลี้ยงแบบปราณีต (Jamrozik *et al.*, 2005; Kuhn and

Hutchinson, 2008; Tiezzi *et al.*, 2013) อย่างไรก็ตามเมื่อมีการวิเคราะห์ด้วย TAM พบว่า ค่าอัตราการมีส่วนรวมของฝูงที่วิเคราะห์ได้ให้ค่าสูงกว่าการวิเคราะห์ด้วย LAM ทั้งโคสาวและแม่โค

ค่าอัตราซ้ำ

ค่าอัตราซ้ำของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์สำหรับแม่โค (ไม่ได้แสดงทั้งหมด ยกเว้น NSPC, FSC, P56 และ P60) มีค่าระหว่าง 0.07 (FSC) ถึง 0.15 (NSPC) (Table 3) ค่าที่ได้อยู่ในช่วงที่ได้รายงานไว้สำหรับโคนมที่อยู่ในสภาพแวดล้อมแบบร้อนชื้น (Ojango and Pollott, 2001; Demeke *et al.*, 2004; Estrada-León *et al.*, 2008) ค่าอัตราซ้ำนี้จะมีค่าเฉพาะตัวสำหรับสัตว์ฝูงใดฝูงหนึ่ง และมักจะมีค่าสูงกว่าค่าอัตราพันธุกรรมในลักษณะเดียวกันเสมอเนื่องจากค่าอัตราซ้ำเป็นการรวมเอาค่าพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมถาวรเข้าไว้ด้วยกัน สามารถแบ่งได้เป็น 3 ระดับคือ ระดับต่ำ (<0.2) ระดับปานกลางกลาง (0.2-0.4) และระดับสูง (>0.4) หากค่าอัตราซ้ำอยู่ในระดับสูง บันทึกแรกของสัตว์จะสามารถนำมาใช้เป็นตัวบ่งชี้ที่ดีสำหรับบันทึกครั้งถัดไปได้ แต่หากค่าอัตราซ้ำอยู่ในระดับต่ำ บันทึกแรกจะไม่สามารถนำไปใช้เป็นตัวบ่งชี้สำหรับบันทึกครั้งถัดไปได้

สหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคสาวและแม่โค

Table 4 และ Table 5 แสดงสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและสหสัมพันธ์ทางลักษณะปรากฏระหว่างลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคสาวและแม่โค

ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและทางลักษณะปรากฏในโคสาวระหว่าง AFS และ AFC มีค่าเท่ากับ 1 และ 0.93 ตามลำดับ แต่ระหว่าง AFS หรือ AFC กับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์อื่นๆ (NSPC, DFTC, FSC, P56 และ P90) มีค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมค่อนข้างต่ำ ซึ่งอยู่ในช่วงจาก 0.01 (ความสัมพันธ์ทางลบระหว่าง AFS และ NSPC) ถึง 0.11 (ความสัมพันธ์ทางบวกระหว่าง AFS และ P90) และค่าสหสัมพันธ์ทางลักษณะปรากฏระหว่าง AFS หรือ AFC กับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์อื่นๆมีค่าต่ำเช่นกันซึ่งอยู่ในช่วงจาก 0.03 (ความสัมพันธ์ทางบวกระหว่าง AFS และ FSC, AFS และ P56, AFS และ P90) ถึง 0.32 (ความสัมพันธ์ทางบวกระหว่าง AFC และ DFTC) เมื่อพิจารณาเฉพาะลักษณะอื่นๆ นอกจาก AFS และ AFC พบว่าลักษณะ DFTC ในโคสาวมีสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับลักษณะอื่นๆค่อนข้างสูง (NSPC (0.93), FSC (-0.76), P56 (-0.99) และ P90 (-0.99)) ซึ่งมีความสัมพันธ์เช่นเดียวกับในแม่โคที่ลักษณะ DFTC มีสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับลักษณะอื่นๆค่อนข้างสูง (NSPC (0.95), FSC (-0.93), P56 (-0.99), P90 (-0.99), DO (0.90) และ CI (0.89)) ยกเว้นสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับ DTFS (0.63) ที่มีค่าปานกลาง

Table 4 Estimates of genetic correlations (above diagonal)^{1/} and phenotypic correlations (below diagonal)^{2/} among heifer fertility traits

Traits ^{3/}	AFS	AFC	NSPC	DFTC	FSC	P56	P90
AFS	-	1.00	-0.01	-0.03	-0.02	0.02	0.11
AFC	0.93	-	0.09	0.040	-0.08	-0.04	0.07
NSPC	-0.04	0.24	-	0.93	-0.65	-0.63	-0.61
DFTC	-0.04	0.32	0.78	-	-0.76	-0.99	-0.99
FSC	0.03	-0.21	-0.76	-0.68	-	0.73	0.59
P56	0.03	-0.27	-0.72	-0.83	0.65	-	0.83
P90	0.03	-0.28	-0.66	-0.86	0.51	0.78	-

^{1/}SD of genetic correlations ranged from 0.001 to 0.150^{2/}SD of phenotypic correlations ranged from 0.001 to 0.004^{3/}AFS = age at first service; AFC = age at first calving; NSPC = number of service per conception; FSC = conception at first service; P56= pregnancy within 56 days after first service; P90 = pregnancy within 90 days after first service; DFTC = days from first service to conception**Table 5** Estimates of genetic correlations (above diagonal)^{1/} and phenotypic correlations (below diagonal)^{2/} among cow fertility traits

Traits ^{3/}	NSPC	FSC	P56	P90	DFTC	DTFS	DO	CI
NSPC	-	-0.80	-0.77	-0.76	0.95	0.36	0.64	0.63
FSC	-0.69	-	0.59	0.51	-0.93	-0.58	-0.93	-0.85
P56	-0.73	0.65	-	0.71	-0.99	-0.54	-0.80	-0.95
P90	-0.71	0.50	0.76	-	-0.99	-0.64	-0.53	-0.96
DFTC	0.84	-0.68	-0.83	-0.85	-	0.63	0.90	0.89
DTFS	-0.10	0.07	0.06	0.06	-0.89	-	0.91	0.91
DO	0.67	-0.56	-0.08	-0.09	0.82			1.00
CI	0.67	-0.55	-0.70	-0.72	0.82	0.49	1.00	-

^{1/}SD of genetic correlations ranged from 0.000 to 0.099^{2/}SD of phenotypic correlations ranged from 0.000 to 0.004^{3/}NSPC = number of service per conception; FSC = conception at first service; P56= pregnancy within 56 days after first service; P90 = pregnancy within 90 days after first service; DFTC = days from first service to conception; DTFS = days from calving to first service; DO = days from calving to conception or days open; CI = calving interval

อย่างไรก็ตามในแม่โคหากพิจารณาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะ DO กับลักษณะอื่นๆมีค่าค่อนข้างสูงคือ DTFS (0.91), DFTC (0.90), CI (1.00), FSC (-0.93) และ P56 (-0.95) ยกเว้นสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับ NSPC (0.64) และ P90 (-0.53) ที่มีค่าปานกลาง

สหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมและทางลักษณะปรากฏปรากฏระหว่างลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคสาว และ แม่โคสามารถจัดลักษณะต่างๆได้เป็น 4 กลุ่มตามลักษณะทางชีววิทยาของระบบสืบพันธุ์ที่สอดคล้องกันสูงกับรูปแบบสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม กลุ่มที่ 1 เป็นลักษณะที่วัดความสามารถของโคสาวที่ผสมติดและตั้งท้อง ประกอบด้วย DTFC, NSPC, FSC, P56 และ P90 มีสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะมีค่าปานกลางถึงสูงอยู่ในช่วงจาก 0.59 (ความสัมพันธ์ทางบวก) ถึง 0.99 (ความสัมพันธ์ทางลบ) กลุ่มที่ 2 เป็นลักษณะแม่โคที่กลับมาเป็นสัดหลังคลอดแสดงโดย DTFS กลุ่มที่ 3 เป็นลักษณะแม่โคที่ผสมติดและตั้งท้องประกอบด้วย DTFC, NSPC, FSC, P56 และ P90 มีสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะมีค่าปานกลางถึงสูงอยู่ในช่วงจาก 0.51 (ความสัมพันธ์ทางบวก) ถึง 0.99 (ความสัมพันธ์ทางลบ) คล้ายกับในโคสาว กลุ่มที่ 4 เป็นลักษณะที่วัดความสามารถรวมกันของแม่โคที่กลับมาเป็นสัดหลังคลอด การผสมติดและการตั้งท้อง เช่น DO, CI มีสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะมีค่าเท่ากับ 1

ค่าสหสัมพันธ์ในโคสาว (ระหว่าง AFS และ AFC) และ ในโคแม่โค (ระหว่าง DO และ CI, ระหว่าง DTFC และ P56, ระหว่าง DTFC และ P90) มีค่าเข้าใกล้ 1 หรือเท่ากับ 1 สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ (Jamrozik *et al.*, 2005; Abe *et al.*, 2009; Eghbalsaid, 2011; Guo *et al.*, 2014) ซึ่งแนะนำว่าลักษณะที่มีสหสัมพันธ์เหล่านี้เป็นดัชนีของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ที่เหมือนกัน และอาจมาจากจุดกำเนิดของแหล่งทางพันธุกรรมเดียวกัน อย่างไรก็ตามสหสัมพันธ์ระหว่าง DO และ CI ขึ้นอยู่กับคำจำกัดความของ DO ว่าคิดบนพื้นฐานอะไร เช่น จากวันคลอดถัดมา จากการไม่กลับมาเป็นสัดภายใน 90 วันหลังจากวันผสมครั้งสุดท้าย หรือจากการตรวจการตั้งท้อง DO ที่คิดมาจากการไม่กลับมาเป็นสัดภายใน 90 วัน หรือจากการตรวจการตั้งท้องเป็นลักษณะที่น่าสนใจมากกว่า แม้ว่าจะมีความถูกต้องน้อยกว่าที่คิดจากวันคลอดถัดมา เพราะจะสามารถประเมินพันธุกรรมของพ่อพันธุ์ในการพิสูจน์ครั้งแรกและแม่โคได้เร็วขึ้นอย่างน้อย 6 เดือน

ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมต่ำที่พบระหว่าง AFS หรือ AFC และ NSPC, DTFC, FSC, P56 และ P90 ชี้ให้เห็นว่าการคัดเลือกสำหรับให้ได้ AFS หรือ AFC ต่ำ จะมีผลตอบแทนที่เกี่ยวข้องต่อ NSPC, DTFC, FSC, P56 และ P90 ในโคสาวเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ AFS และ AFC เป็นผลสะท้อนมาจากการเจริญเติบโตของร่างกายของโคสาวมากกว่าความสมบูรณ์พันธุ์ ดังนั้นขนาดของร่างกายของโคสาวจึงเป็นสิ่งที่สำคัญที่เกษตรกรหรือเจ้าหน้าที่ผสมเทียมจะใช้พิจารณาในการตัดสินใจผสมเทียม ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมต่ำระหว่าง AFC กับ ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์อื่นๆ ในโคสาวได้มีรายงานไว้เหมือนกันในระบบการเลี้ยงแบบปราณีต (Jamrozik *et al.*, 2005; Abe *et al.*, 2009; Eghbalsaid, 2011)

ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่ได้ระหว่างลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ต่างๆที่ศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการคัดเลือกลักษณะ DTFC หรือ DO สำหรับโคสาวและแม่โคจะส่งผลทำให้ความสามารถในการผสมติดและตั้งท้องมีความก้าวหน้าทางพันธุกรรมมากที่สุดซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Liu *et al.* (2017) ที่

ศึกษาในประชากรโคนมโฮลสไตน์ในประเทศจีน ดังนั้น DFTC หรือ DO สามารถใช้เป็นดัชนีสำหรับวัดความสมบูรณ์พันธุ์โคสาวหรือแม่โคที่เหมาะสมร่วมกับลักษณะอื่นที่พิจารณาว่าเป็นลักษณะที่แตกต่างกันทางพันธุกรรม เช่น AFS (ในโคสาว) และ DTFS หรือ NSPC (ในแม่โค) ในรูปแบบของดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ (Fertility index) จะทำให้สามารถคัดเลือกลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพทั้งนี้ จะเลือกใช้ DFTC หรือ DO ให้พิจารณาจากการได้มาของข้อมูลว่าลักษณะไหนจะได้ข้อมูลมาได้ง่ายกว่าหรือถูกต้องมากกว่ากัน

สหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างโคสาวและแม่โค

ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ (DFTC, NSPC, FSC, P56 และ P90) ระหว่างโคสาวและแม่โคจากการวิเคราะห์ด้วย LAM และ TAM มีค่าห่างจาก 1 อยู่ระหว่าง 0.46 (P90, ความสัมพันธ์ทางบวก) ถึง 0.91 (NSPC, ความสัมพันธ์ทางบวก) และ 0.04 (P90, ความสัมพันธ์ทางบวก) ถึง 0.87 (DFTC, ความสัมพันธ์ทางบวก) ตามลำดับ (Table 6)

ผลการวิเคราะห์ที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ในโคนมลูกผสม (สายพันธุ์ และคณะ, 2015) ในโคพันธุ์โฮลสไตน์ (Haile-Mariam *et al.*, 2003b; Jamrozik *et al.*, 2005; Abe *et al.*, 2009) และในโคพันธุ์บราวน์สวิส (Tiezzi *et al.*, 2012) ค่าสหสัมพันธ์ที่มีค่าตั้งแต่ต่ำถึงปานกลาง และมีค่าห่างไปจาก 1 ชี้ให้เห็นว่าลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคสาวมีความแตกต่างทางพันธุกรรมจากลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในแม่โค ทั้งนี้อาจเนื่องจากความสามารถในการเผาผลาญอาหารระหว่างโคสาวและแม่โคให้นมแตกต่างกัน ดังนั้นในการประเมินทางพันธุกรรมเพื่อคัดเลือกปรับปรุงประสิทธิภาพลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ของโคสาวและแม่โค ควรจะพิจารณาว่าเป็นลักษณะที่แตกต่างกันแต่มีความเกี่ยวข้องกันทางพันธุกรรม และในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ลักษณะของทั้งโคสาวและแม่โคควรได้รับการพิจารณา โดยเฉพาะการวิเคราะห์แบบหลายลักษณะพร้อมกันแล้วพัฒนาเป็นดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์

Table 6 Estimates of genetic correlations (standard deviation in parenthesis) among fertility traits treated as different trait across parities which analyzed by Linear animal model (LAM) and Threshold animal model (TAM)

Traits ^{1/}	LAM	TAM
NSPC	0.91 (0.001)	0.35 (0.040)
FSC	0.67 (0.001)	0.51 (0.212)
P56	0.48 (0.002)	0.27 (0.120)
P90	0.46 (0.002)	0.04 (0.106)
DFTC	0.84 (0.048)	0.87 (0.062)

^{1/} NSPC = number of service per conception; FSC = conception at first service; P56= pregnancy within 56 days after first service; P90 = pregnancy within 90 days after first service; DFTC = days from first service to conception

สรุป

พารามิเตอร์ที่ประมาณได้จากการศึกษาครั้งนี้จะช่วยในการพัฒนาระบบการประเมินพันธุ์กรรมสำหรับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์เพื่อการปรับปรุงความสามารถของความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมเพศเมียของประเทศไทย โดยทั่วไปค่าอัตราพันธุ์กรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมเพศเมียจะมีค่าต่ำ แต่การคัดเลือกความสมบูรณ์พันธุ์ก็มีโอกาสเป็นไปได้เนื่องจากความแตกต่างทางพันธุกรรมแบบบวกลบของลักษณะเหล่านี้ถือว่าเพียงพอที่จะพิจารณาปรับปรุงโดยอาศัยการคัดเลือกอย่างมีประสิทธิภาพ การคัดเลือกลักษณะ DFTC หรือ DO สำหรับโคสาวและแม่โคจะส่งผลทำให้ความสามารถในการผสมติดและตั้งท้องมีความก้าวหน้าทางพันธุกรรมมากที่สุด ดังนั้น DFTC หรือ DO สามารถใช้เป็นดัชนีสำหรับความสมบูรณ์พันธุ์โคสาวและแม่โคที่ดีที่สุด และร่วมกับลักษณะอื่นที่พิจารณาว่าเป็นลักษณะที่แตกต่างกันทางพันธุกรรม เช่น AFS (ในโคสาว) และ DTFS หรือ NSPC (ในแม่โค) ในรูปแบบของดัชนีความสมบูรณ์พันธุ์ (Fertility index) ซึ่งจะทำให้สามารถคัดเลือกลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การแสดงออกของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคสาวและแม่โคมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางพันธุกรรม และควรพิจารณาว่าเป็นลักษณะที่แตกต่างกัน แต่มีความเกี่ยวข้องกันในการประเมินทางพันธุกรรม

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ผสมเทียม และเจ้าหน้าที่ส่วนงานสารสนเทศของศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพทุกท่านที่ทำหน้าที่เก็บรวบรวมและบันทึกข้อมูลการผสมเทียมเข้าสู่ระบบสารสนเทศโคนมของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์รวมถึงเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการจัดเก็บข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. 2558. รายงานสรุปภาพรวมของโคที่ทำทะเบียนแยกตามสายพันธุ์. สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. แหล่งที่มา <http://164.115.24.111:8088/dairy/main.php?event=report>
- วิชัย ทิพย์วงศ์, มนต์ชัย ดวงจินดา, เทวินทร์ วงษ์พระลับ, วิโรจน์ ภัทรจินดา, และจินตนา วงศ์นากนากร. 2548. การประมาณค่าพารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมด้วยวิธีวิเคราะห์ร่วมหลายลักษณะ. สัมมนาวิชาการเกษตร ประจำปี 2548; 24-25 ม.ค. 2548; คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น: 2548. หน้า 99-100.
- Abe, H., Y. Masuda, and M. Suzuki. 2009. Relationships between reproductive traits of heifers and cows and yield traits for Holsteins in Japan. J. Dairy Sci. 92:4055–4062.

- Bagnato, A., and P. A. Oltenacu. 1994. Phenotypic evaluation of fertility traits and their association with milk production of Italian Friesian cattle. *J. Dairy Sci.* 77: 874–882.
- Buaban, S., M. Duangjinda, M. Suzuki, Y. Masuda, J. Sanpote, and K. Kuchida. 2015. Short communication: Genetic analysis for fertility traits of heifers and cows from smallholder dairy farms in a tropical environment. *J. Dairy Sci.* 98:4990 - 4998.
- Buxadera, A. M., and L. Dempfle. 1997. Genetic and environmental factors affecting some reproductive traits of Holstein cows in Cuba. *Genet. Sel. Evol.* 29:469–482.
- De Haer, L. C. M., G. de Jong, and P. J. A. Vessies. 2013. Estimate of genetic parameters of fertility traits, for virgin heifers in the Netherlands. *Interbull Bull.* 47:143–146.
- Dekkers, J. C. M. 1991. Estimation of economic values for dairy cattle breeding goals: Bias due to sub-optimal management policies. *Livest. Prod. Sci.* 29: 131–149.
- Demeke, S., F. W. C. Naser, and S. J. Schoeman. 2004. Estimates of genetic parameters for Boran, Friesian and crosses of Friesian and Jersey with the Boran cattle in the tropical highlands of Ethiopia: Reproduction traits. *J. Anim. Breed. Genet.* 121:57–65.
- Eghbalsaiid, S. 2011. Estimation of genetic parameters for 13 female fertility indices in Holstein dairy cows. *Trop. Anim. Health Prod.* 43:811–816.
- Estrada-León, R. J., J. G. Magana, and J. C. Segura-Correa. 2008. Genetic parameters for reproductive traits of Brown Swiss cows in the tropics of Mexico. *J. Anim. Vet. Adv.* 7:124–129.
- Gianola, D., and J. L. Foulley. 1983. Sire evaluation for ordered categorical data with a threshold model. *Genet. Sel. Evol.* 15:201–223.
- Groen, A. F., J. Aumann, V. Ducrocq, N. Gengler, J. Soelkner, and E. Strandberg. 1998. Genetic improvement of functional traits in cattle (GIFT). *Interbull Bull.* 17:81–82.
- Guo, G., X. Guo, Y. Wang, X. Zhang, S. Zhang, X. Li, L. Liu, W. Shi, T. Usman, X. Wang, L. Du, and Q. Zhang. 2014. Estimation of genetic parameters of fertility traits in Chinese Holstein cattle. *Can. J. Anim. Sci.* 94:281–285.
- Haile-Mariam M., J. M. Morton, and M. E. Goddard. 2003a. Estimates of genetic parameters for fertility traits of Australian Holstein-Friesian cattle. *Anim Sci.* 2003. 76:35–42.

- Haile-Mariam, M., P. J. Bowman, and M. E. Goddard. 2003b. Genetic and environmental relationship among calving interval, survival, persistency of milk yield and somatic cell count in dairy cattle. *Livest. Prod. Sci.* 80:189–200.
- Jamrozik, J., J. Fatehi, G. J. Kistemaker, and L. R. Schaeffer. 2005. Estimates of genetic parameters for Canadian Holstein female reproduction traits. *J. Dairy Sci.* 88:2199–2208.
- Kadarmideen H. N., R. Thompson, and G. Simm. 2000. Linear and threshold model genetic parameters for disease, fertility and milk production in dairy cattle. *Anim. Sci.* 71: 411-419.
- Kadarmideen, H. N., and M. P. Coffey. 2001. Quality and validation of insemination data for national genetic evaluations for dairy cow fertility in the United Kingdom. Pages 133–138 in *Interbull Bull.* No. 27.
- Kadarmideen, H. N., R. Thompson, M. P. Coffey, and M. A. Kossaibati. 2003. Genetic parameters and evaluations from single- and multiple trait analysis of dairy cow fertility and milk production. *Livest. Prod. Sci.* 81:183–195.
- König, S., N. Chongkasikit, and H. J. Langholz. 2005. Estimation of variance components for production and fertility traits in Northern Thai dairy cattle to define optimal breeding strategies. *Arch. Tierz.* 48:233–246.
- Kuhn, M. T., and J. L. Hutchinson. 2008. Prediction of dairy bull fertility from field data: Use of multiple services and identification and utilization of factors affecting bull fertility. *J. Dairy Sci.* 91:2481–2492.
- Kuhn, M. T., J. L. Hutchison, and G. R. Wiggins. 2006. Characterization of Holstein Heifer Fertility in the United States. *J. Dairy Sci.* 89:4907-4920.
- Liu A., S. L. Mogens, W. Yachun, G. Gang, D. Ganghui, M. Per, and S. Guosheng. 2017. Variance components and correlations of female fertility traits in Chinese Holstein population. *Anim. Sci. and Biotech.* 8:56.
- Liu, Z., J. Jaitner, F. Reinhardt, E. Pasman, S. Rensing, and R. Reents. 2008. Genetic evaluation of fertility traits of dairy cattle using a multiple-trait animal model. *J. Dairy Sci.* 91:4333–4343.
- Nebel, R. L., and M. L. McGilliard. 1993. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 76:3257–3268.

- Ojango, J. M., and G. E. Pollott. 2001. Genetics of milk yield and fertility traits in Holstein-Friesian cattle on large-scale Kenyan farms. *J. Anim. Sci.* 79:1742–1750.
- Pongpiachan, P., P. Rodtian, and K. Ota. 2003. Reproduction of cross and purebred Friesian cattle in Northern Thailand with special reference to their milk production. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 16:1093–1101.
- Pryce, J.E., and R.F. Veerkamp. 2001. The incorporation of fertility indices in genetic improvement programs. Pages 223–236 in *Fertility in the High-Producing Dairy Cow*. M. G. Diskin, ed. Br. Soc. Anim. Sci. Occ. Publ. No. 26. Edinburgh, UK.
- Roxstrom, A., E. Strandberg, B. Berglun, U. Emanuelson, and J. Phillipsson. 2001. Genetic and environmental correlations among female fertility traits and milk production in different parities of Swedish Red and White dairy cattle. *Acta Agric. Scand.* 51:7–14.
- Silvestre, A. M., M. M. D. Ginja, A. J. A. Ferreira, and J. Colaco. 2007. Comparison of estimates of hip dysplasia genetic parameters in Estrela Mountain Dog using linear and threshold models. *J. Anim. Sci.* 85:1880–1884.
- Sivichai, A., and N. Chongkasikit. 2011. Genetic parameter and factors affecting fertility traits of crossbred Holstein Friesian cattle in the dairy cattle farm of Chiang Mai University. *J. Agri. Res. Ext.* 28:26-34.
- Sun, C., and G. Su. 2010. Comparison on models for genetic evaluation of non-return rate and success in first insemination of the Danish Holstein cows. *Livest Sci.* 127:205–210.
- Tiezzi, F., C. Maltecca, A. Cecchinato, M. Penasa, A. Cecchinato, and G. Bittante. 2013. Genetic analysis of dairy bull fertility from field data of Brown Swiss cattle. *J. Dairy Sci.* 96:7325–7328.
- Tiezzi, F., C. Maltecca, A. Cecchinato, M. Penasa, and G. Bittante. 2012. Genetic parameters for fertility of dairy heifers and cows at different parities and relationships with production traits in first lactation. *J. Dairy Sci.* 95:7355–7362.
- Tsuruta, S., and I. Misztal. 2006. THRGIBBS1F90 for estimation of variance components with threshold and linear models. *J. Dairy Sci.* 89 (Suppl. 1):15–18.
- Utrera, A. R., R. C. C. Robles, J. V. R. Fernandez, and J. L. Lagunes. 2010. Estimation of genetic parameters for fertility traits in Brown Swiss cattle under subtropical conditions of Mexico. *Veterinaria (Mex)* 41:117–129.

- Veerkamp, R. F., and B. Beerda. 2007. Genetics and genomics to improve fertility in high producing dairy cows. *Theriogenology*. 68:S266–S73.
- Wiltbank M., H. Lopez, R. Sartori, S. Sangsritavong, and A. Gumen. 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*. 65:17–29.
- Zambrano, J. C., and J. Echeverri. 2014. Genetic and environmental variance and covariance parameters for some reproductive traits of Holstein and Jersey cattle in Antioquia (Colombia). *Rev. Bras. Zootec.* 43:132–139.

ความสัมพันธ์ระหว่างค่าองค์ประกอบน้ำหนักกับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โคนม ลูกผสมโฮลสไตน์ในเขตภาคกลางของประเทศไทย¹

วิโรจน์ สัมพันธ์พร² สมศักดิ์ เปรมปรีดิ์²

บทคัดย่อ

ข้อมูลอัตราการผสมติดครั้งแรก (FSC) จำนวนครั้งต่อการผสมติด (NSPC) ระยะเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงผสมครั้งแรก (DTFS) และระยะเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงผสมติด (DO) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ จำนวน 2,988 ตัว ที่คลอดลูกและให้ผลผลิตระหว่างปี พ.ศ. 2540 ถึง 2560 ในฟาร์มเกษตรกรจำนวน 464 ราย ในเขตภาคกลางของประเทศไทย ถูกนำมาประเมินปัจจัยด้านสภาพแวดล้อม การจัดการเลี้ยงดู และค่าองค์ประกอบน้ำหนักของโคนมรายตัวในช่วง 120 วันหลังคลอด ที่มีผลต่อความผันแปรของลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ ซึ่งหุ่นจำลองทางสถิติที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ประกอบด้วยอิทธิพลของกลุ่มการจัดการฟาร์มในปีและฤดูกาลที่ได้รับการผสม เฮทเทอโรซิส กลุ่มพันธุกรรม ลำดับการคลอดลูก อายุเมื่อคลอดลูก เพอร์เซ็นต์ไขมัน (PFAT) เพอร์เซ็นต์โปรตีน (PPRO) สัดส่วนของเพอร์เซ็นต์ไขมันต่อเพอร์เซ็นต์โปรตีนในน้ำนม (FP Ratio) และความผันแปรของโคนมที่ได้รับการผสม โดยปัจจัยที่ปรากฏในหุ่นจำลองทางสถิติ ถูกทดสอบความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $\alpha = 0.05$ และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยแบบลีสแควร์ของปัจจัยที่ศึกษาด้วยวิธี t-test พบว่าประชากรโคนมที่ศึกษาครั้งนี้ มี FSC เฉลี่ย 0.37 ± 0.42 เพอร์เซ็นต์ มี NSPC เฉลี่ย 2.53 ± 1.93 ครั้ง มี DTFS เฉลี่ย 97.08 ± 36.94 วัน และมี DO เฉลี่ย 172.09 ± 87.50 วัน อิทธิพลของการจัดการฟาร์มในปีและฤดูกาลที่โคนมได้รับการผสมมีผลต่อความผันแปรของทุกลักษณะที่ทำการศึกษา ขณะที่อิทธิพลของกลุ่มพันธุกรรม ลำดับการคลอดลูก และอายุเมื่อคลอดลูกจะมีผลต่อความผันแปรของลักษณะ DTFS และ DO เท่านั้น โดยพบว่า ลักษณะ DTFS และ DO ของโคนมมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ และอายุเมื่อคลอดลูกเพิ่มขึ้น ขณะที่ DTFS และ DO มีค่าลดลงเมื่อลำดับการคลอดลูกเพิ่มขึ้น สำหรับลักษณะค่าองค์ประกอบน้ำหนักพบว่า ไม่มีผลต่อความผันแปรของทุกลักษณะที่ทำการศึกษา และเมื่อพิจารณาถึงความเป็นไปได้ในการนำค่าองค์ประกอบน้ำหนักมาใช้เป็นเครื่องมือในการบ่งชี้ถึงความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมภายในฟาร์ม พบว่า ไม่สามารถนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมได้

คำสำคัญ: โคนมลูกผสม องค์ประกอบน้ำหนัก ลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์

¹ทะเบียนผลงานวิจัยเลขที่ : 61(2)-0208-033

²สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ จ.ปทุมธานี 12000

Relationship between Milk Composition and Reproductive Traits of Holstein Crossbred Dairy Cows in Central Part of Thailand¹

Wiroch Sampanporn² Somsak Prempre²

Abstract

The data of first service conception rate (FSC), number of service per conception (NSPC), days from calving to first service (DTFS), and day open (DO) were collected from 2,988 Holstein crossbred cows that calved and milked from 1997 to 2017. All cows were in 464 farms located in the central part of Thailand. Effects of environmental factors, farm management and milk composition from calving to 120 postpartum on reproductive traits were studied. The statistical model in this study were used an interaction effect between herd, year and season of insemination, genetic group, heterosis, lactation number, age at calving, fat percentage (PFAT), protein percentage (PPRO), fat-protein ratio (FP Ratio), and the variation of inseminated cows. The parameters in the statistical model were test at the level of significant of $\alpha = 0.05$ and compared the least square means of the studied factors by t-test. The results showed that FSC was 0.37 ± 0.42 %, NSPC was 2.53 ± 1.93 times, DTFS was 97.08 ± 36.94 days, and DO was 172.09 ± 87.50 days. The interaction effect between herd, year and season of insemination had an effect on the variation of all traits in this study. However, genetic group, lactation number, and age at calving affected only the variation of DTFS and DO. In addition, the increasing of DTFS and DO was observed in high fraction of Holstein breed and age at calving. On other hand, decreasing of DTFS and DO was determined in cows with high lactation number. Additionally, the milk composition, it did not have any effect on all traits in this study. This indicated that the application of milk composition as an indicator was not suitable for evaluating reproductive performance of Holstein crossbred dairy cows.

Key words: Dairy Crossbred, Milk Composition, Reproductive Traits

¹Registered No. : 61(2)-0208-033

²Bureau of Biotechnology in Livestock Production, Department of Livestock Development, Patumthani, 12000

คำนำ

ระบบการผลิตโคนมในปัจจุบันได้ให้ความสำคัญกับการเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำนม โดยการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุกรรมโคนมภายในฟาร์มให้มีความดีเด่นด้านการให้ผลผลิตน้ำนม ร่วมกับการปรับปรุงรูปแบบการเลี้ยงการจัดการ การให้อาหารที่มีความเหมาะสม เพื่อให้โคนมสามารถแสดงศักยภาพทางพันธุกรรมออกมาได้อย่างเต็มที่ อย่างไรก็ตามพบว่า การเพิ่มขึ้นของปริมาณผลผลิตน้ำนมกลับส่งผลให้โคนมมีความสมบูรณ์พันธุ์ที่ลดลง (Lucy, 2001) ทั้งนี้พบว่า ปัญหาการลดลงของความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมมีผลกระทบต่อยาได้และผลกำไรของเกษตรกรทั้งทางตรงและทางอ้อม กล่าวคือ โคนมมีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ มักมีจำนวนครั้งของการผสมเพิ่มขึ้น มีต้นทุนค่ารักษาพยาบาลเพิ่มขึ้น จำนวนวันให้นมตลอดช่วงชีวิตที่ลดลง ระยะของการให้นมลดลง และมีอัตราการคัตทิ้งเพิ่มขึ้น ซึ่งล้วนแต่ส่งผลต่อยาได้และผลกำไรของเกษตรกรทั้งสิ้น (Hodel et al., 1995; Inchaisri et al., 2010)

อย่างไรก็ตาม การพัฒนาและปรับปรุงความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมภายในฟาร์มโดยใช้วิธีการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุกรรมเป็นหลักนั้นสามารถทำได้ยาก เนื่องจาก ต้องใช้เวลานานในการเก็บรวบรวมข้อมูล (จำนวนวันท้องว่าง ช่วงห่างการให้ลูก) ประกอบกับเป็นลักษณะมีค่าอัตราพันธุกรรมต่ำ (0.01 ถึง 0.05; Veerkamp and Beerda, 2007) ซึ่งมีผลกระทบโดยตรงกับความแม่นยำในการคัดเลือก ดังนั้น การคัดเลือกโดยพิจารณาจากข้อมูลลักษณะอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง อาจเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการปรับปรุงความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมภายในฟาร์ม de Vries and Veerkamp (2000) และ Rukkwamsuk (2010) พบว่า สภาวะสมดุลพลังงาน (energy balance; EB) เป็นสาเหตุหลักที่สำคัญที่มีผลกระทบต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์โคนม โดย โคนมที่มีสภาวะขาดแคลนสมดุลพลังงาน (negative energy balance; NEB) จะมีความสมบูรณ์พันธุ์ลดลง โดยเฉพาะช่วงต้นของการให้นม (ช่วง 120 วันหลังคลอด) ซึ่งมักพบการเกิดภาวะ NEB ในแม่โค เนื่องจาก เป็นระยะที่แม่โคให้ผลผลิตน้ำนมสูง แต่แม่โคกลับสามารถกินอาหารได้น้อย ส่งผลให้ปริมาณสารอาหารที่ได้รับไม่เพียงพอกับปริมาณที่ใช้ในการให้ผลผลิตน้ำนม (Collard et al., 2000) ทั้งนี้ การพิจารณาภาวะ EB สามารถทำได้ โดยการพิจารณาคะแนนความสมบูรณ์ของร่างกาย (body condition score) น้ำหนักตัว ปริมาณของสารเคมีและฮอร์โมนในกระแสเลือด และค่าองค์ประกอบน้ำนม (de Vries and Veerkamp, 2000; Berry et al., 2003; Friggens et al., 2007; Rukkwamsuk, 2010) โดยเฉพาะการใช้ค่าองค์ประกอบน้ำนมในการประเมินสภาวะ EB ซึ่งมีความสะดวก รวดเร็ว และสามารถเก็บรวบรวมข้อมูลได้ง่าย จึงอาจเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการพัฒนาและปรับปรุงความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมภายในฟาร์ม

ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ หาความสัมพันธ์ระหว่างค่าองค์ประกอบน้ำนมกับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียน และพิจารณาแนวทางในการนำค่าองค์ประกอบน้ำนมมาใช้เป็นเครื่องมือในการบ่งชี้ถึงความสมบูรณ์พันธุ์ในแม่โคภายในฟาร์ม

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ข้อมูลลักษณะองค์ประกอบน้ำนมที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย เปอร์เซนต์ไขมัน (PFAT) เปอร์เซนต์โปรตีน (PPRO) และสัดส่วนของเปอร์เซนต์ไขมันต่อเปอร์เซนต์โปรตีนในน้ำนม (FP Ratio) ของ

โคนมรายตัวในช่วง 120 วันหลังคลอด และข้อมูลลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ ประกอบด้วย อัตราการผสมติดครั้งแรก (FSC) จำนวนครั้งต่อการผสมติด (NSPC) ระยะเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงผสมครั้งแรก (DTFS) และระยะเวลาตั้งแต่คลอดจนถึงผสมติด (DO) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน จำนวน 2,988 ตัว ที่คลอดลูกและให้ผลผลิตระหว่างปี พ.ศ. 2540 ถึง 2560 ที่ได้รับการเลี้ยงดูในฟาร์มเกษตรกรจำนวน 464 ราย ในพื้นที่จังหวัดสระบุรี และลพบุรี ที่ถูกรวบรวมไว้ในระบบฐานข้อมูลของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

Table 1 Descriptive statistics for fat percentage (PFAT; %), protein percentage (PPRO; %), fat-protein ratio (FP Ratio), first service conception rate (FSC; %), number of service per conception (NSPC; times), day to first service (DFS; days) and day open (DO; days) of Holstein crossbred dairy cows in central part of Thailand

Traits	No. Cows	No. Records	Mean $\pm$ SD	Min	Max
Milk Composition					
PFAT (%)	2,988	4,932	5.73 $\pm$ 0.58	1.60	5.84
PPRO (%)	2,988	4,932	2.97 $\pm$ 0.21	2.20	4.30
FP Ratio	2,988	4,932	1.26 $\pm$ 0.20	0.52	2.13
Reproductive					
FSC (%)	2,988	4,932	0.37 $\pm$ 0.42	0	1
NSPC (times)	2,705	4,463	2.53 $\pm$ 1.93	1	10
DTFS (days)	2,255	3,605	97.08 $\pm$ 36.94	30	195
DO (days)	2,160	3,405	172.09 $\pm$ 87.50	45	400

กลุ่มพันธุกรรมของโคนมที่ปรากฏในประชากรที่ศึกษา ถูกจำแนกออกเป็นกลุ่ม 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มพันธุกรรมโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ (Holstein; H) และกลุ่มพันธุกรรมโคนมพันธุ์อื่นๆ (other breed; O) โดยสัดส่วนทางพันธุกรรมของโคนมแต่ละตัว ถูกพิจารณาในรูปของ H ที่เบี่ยงเบนออกไปจาก O ซึ่งมีค่าระหว่าง 0 (0 %H; 100 %O) ถึง 1 (100 %H; 0 %O) และระดับของเฮเทอโรซิส (heterosis; Het) จะมีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 1 ซึ่งสามารถคำนวณได้ดังสมการ

$$\text{Het} = \frac{(\text{SH} \times \text{DO}) + (\text{DH} \times \text{SO})}{(256 \times 256)}$$

โดย

SH = ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ของโคพ่อพันธุ์
 SO = ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์อื่นๆของโคพ่อพันธุ์

DH	=	ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ของโคแม่พันธุ์
DO	=	ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์อื่นของโคแม่พันธุ์
256	=	ผลรวมของสัดส่วนทางพันธุกรรมของโคแต่ละตัว

ลำดับการคลอดลูกได้จำแนกเป็นกลุ่มตามลำดับการคลอดลูก จำนวน 5 กลุ่ม ซึ่งโคนมที่มีลำดับการคลอดลูกเกินกว่า 4 ครั้ง จะถูกรวมไว้ในกลุ่มเดียวกัน อายุเมื่อคลอดลูกจะถูกจำแนกตามจำนวนปีของอายุ โดยโคนมที่มีอายุเมื่อคลอดลูกน้อยกว่า 2 ปี จะถูกตัดออกจากชุดข้อมูล

ฤดูกาลถูกจำแนกเป็นฤดูร้อน (เดือนมีนาคมถึงมิถุนายน) ฤดูฝน (เดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม) และ ฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์) และโคที่ได้รับการผสมในฟาร์ม ปี และฤดูกาลเดียวกันถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบ (contemporary group) เดียวกัน

ข้อมูลค่าองค์ประกอบไขมัน (PFAT PPRO และ FP Ratio) และข้อมูลลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ (FSC NSPC DTFS และ DO) จะถูกตรวจสอบความสมบูรณ์ข้อมูล และนำมาพิจารณาในเชิงสถิติพรรณนา (descriptive statistics) เพื่อพิจารณาการกระจายตัวของข้อมูลและค่าที่ผิดปกติ (outlier) เมื่อพบค่าที่ผิดปกติให้ตัดข้อมูลนั้นออก

หุ่นจำลองทางสถิติที่ใช้ในการศึกษามีลักษณะเป็นหุ่นจำลองแบบผสม (mixed model) โดยมีกลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบ กลุ่มพันธุกรรม เฮทเทอโรซิส ลำดับการคลอดลูก PFAT PPRO FP Ratio และอายุเมื่อคลอดลูก เป็นปัจจัยกำหนด (fixed effects) และมีความผันแปรของโคนมที่ได้รับการผสมเป็นปัจจัยสุ่ม (random effects) โดยสามารถเขียนอธิบายได้ดังนี้

$$y = \text{HYSm} + b(\text{hBF}) + b(\text{Het}) + \text{Lact} + b(\text{PFAT}) + b(\text{PPRO}) + b(\text{FP Ratio}) + b(\text{AGEc}) + \text{COW} + e$$

เมื่อ y	=	ค่าสังเกตสำหรับลักษณะ FSC NSPC DTFS และ DO ของโคนมแต่ละตัว
HYSm	=	อิทธิพลของกลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบ (ฟาร์ม $\times$ ปี $\times$ ฤดูกาล เมื่อได้รับการผสม)
$b(\text{hBF})$	=	สัมประสิทธิ์การถดถอยสำหรับอิทธิพลของกลุ่มพันธุกรรม
$b(\text{Het})$	=	สัมประสิทธิ์การถดถอยสำหรับอิทธิพลของเฮทเทอโรซิส
Lact	=	อิทธิพลของลำดับการคลอดลูก
$b(\text{PFAT})$	=	สัมประสิทธิ์การถดถอยสำหรับอิทธิพลของ PFAT
$b(\text{PPRO})$	=	สัมประสิทธิ์การถดถอยสำหรับอิทธิพลของ PPRO
$b(\text{FP Ratio})$	=	สัมประสิทธิ์การถดถอยสำหรับอิทธิพลของ FP Ratio
$b(\text{AGEc})$	=	สัมประสิทธิ์การถดถอยสำหรับอิทธิพลอายุเมื่อคลอดลูก
COW	=	อิทธิพลแบบสุ่มของโคนมที่ได้รับการผสมเทียม
e	=	ความคลาดเคลื่อนจากปัจจัยอื่น, $\text{NID} \sim (0, \sigma_e^2)$

ปัจจัยแต่ละปัจจัยที่ปรากฏในหุ่นจำลองทางสถิติ ถูกทดสอบความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $\alpha = 0.05$ และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยแบบสัณฐานของปัจจัยที่ศึกษาด้วยวิธี t-test การวิเคราะห์ค่าทางสถิติทั้งหมดดำเนินการโดยใช้ชุดคำสั่งใน SAS (SAS, 2003)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ประชากรโคนมที่ศึกษาครั้งนี้ มี FSC เฉลี่ย 0.37 ± 0.42 เปอร์เซ็นต์ มี NSPC เฉลี่ย 2.53 ± 1.93 ครั้ง มี DTFS เฉลี่ย 97.08 ± 36.94 วัน และมี DO เฉลี่ย 172.09 ± 87.50 วัน (Table 1) โดยอิทธิพลของการจัดการฟาร์มในปีและฤดูกาลที่ โคนมได้รับการผสมมีผลต่อความผันแปรของทุกลักษณะที่ทำการศึกษา ในขณะที่อิทธิพลของกลุ่มพันธุ์กรรม ลำดับการคลอดลูก และอายุเมื่อคลอดลูกจะมีผลต่อความผันแปรของลักษณะ DTFS และ DO เท่านั้น

อิทธิพลของการจัดการฟาร์มในปีและฤดูกาลที่โคนมได้รับการผสม

ความแตกต่างของการเลี้ยงการจัดการและสภาพแวดล้อมที่เกิดขึ้นในแต่ละปีและฤดูกาลที่ได้รับการผสม มีอิทธิพลต่อความผันแปรของลักษณะ FSC, NSPC, DTFS และ DO อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า โคนมของเกษตรกรแต่ละฟาร์มที่ได้รับการผสมในปีและฤดูกาลที่แตกต่างกัน จะมีความสมบูรณ์พันธุ์ที่แตกต่างกัน โดยไม่พบแนวโน้มของแตกต่างกันในลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมที่ได้รับการผสมในฟาร์ม ปีและฤดูกาลที่แตกต่างกัน กล่าวคือ ไม่มีฤดูกาลใดในแต่ละปีที่โคนมในฟาร์มจะมีความสมบูรณ์พันธุ์ดีกว่าฤดูกาลอื่นๆ ในทุกปี ลักษณะดังกล่าวอาจเป็นผลเนื่องมาจากความผันแปรของสภาพภูมิอากาศ ทั้งด้านอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ในแต่ละปีและฤดูกาลที่โคนมได้รับการผสม ซึ่งอาจก่อให้เกิดสภาวะความเครียดเนื่องจากอากาศร้อน (heat stress) ทำให้โคนมกินอาหารได้น้อย และส่งผลกระทบต่อกระบวนการพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ และตัวอ่อน จึงส่งผลให้โคนมมีความสมบูรณ์พันธุ์ที่ต่ำลง (Rensis and Scaramuzzi, 2003; Hansen, 2009) นอกจากนี้ยังอาจเป็นผลมาจากการปรับเปลี่ยนการจัดการเลี้ยงดูโคนมภายในฟาร์มของเกษตรกร ให้เหมาะสมกับสภาพภูมิอากาศและสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละปี และฤดูกาล (Chanvijit, 2006)

อิทธิพลของกลุ่มพันธุ์กรรม

ความผันแปรของระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์มีอิทธิพลต่อความแตกต่างของลักษณะ DTFS และ DO อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในขณะที่ไม่พบอิทธิพลดังกล่าวสำหรับลักษณะ FSC และ NSPC ($p > 0.05$) โดยพบว่า เมื่อระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้สัมประสิทธิ์การถดถอยสำหรับลักษณะ DTFS และ DO ของโคนมมีค่าเพิ่มขึ้น (Table 2) ลักษณะดังกล่าวชี้ให้เห็นถึงการลดลงของความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมเมื่อระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับรายงานการศึกษาความสมบูรณ์พันธุ์ที่ผ่านมาของประชากรโคนมในประเทศไทย ที่รายงานว่า เมื่อระดับสายเลือดโฮลสไตน์เพิ่มขึ้น โคนมจะมีความสมบูรณ์พันธุ์ลดลง (สดใส และคณะ, 2549; สายัณห์ และคณะ, 2559; Leelasiri *et al.*, 2006) ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก เมื่อระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์เพิ่มขึ้น โคน

นมจะมีแนวโน้มที่จะให้ผลผลิตน้ำนมเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (สดใส และคณะ, 2549) ประกอบกับเกษตรกรไม่สามารถจัดการอาหารสำหรับโคนมหลังคลอดได้อย่างเหมาะสม (Rukkwamsuk, 2011) จึงส่งผลให้โคนมมีโอกาสเกิดภาวะสมดุลพลังงานขาดแคลนหลังคลอด (negative energy balance; Beerda *et al.*, 2007) ทำให้แม่โคมีระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์สูง จึงมีความสมบูรณ์พันธุ์ลดลง

อิทธิพลของเฮเทอโรซีตัส

สำหรับระดับของเฮเทอโรซีตัส พบว่า ไม่มีอิทธิพลต่อความผันแปรของลักษณะ FSC, NSPC, DTFS, และ DO ($p > 0.05$) ทั้งนี้ ผลการตอบสนองต่ออิทธิพลของระดับเฮเทอโรซีตัสต่ำ ที่พบในการศึกษาค้างนี้ อาจเป็นผลมาจาก รูปแบบการเลี้ยงการจัดการโคนมของเกษตรกรในพื้นที่สระบุรีและลพบุรี เป็นการเลี้ยงแบบปล่อยในโรงเรือนและเน้นการให้อาหารข้นเป็นหลัก ลักษณะดังกล่าวส่งผลให้พันธุกรรมแบบบวกสะสมของ โคนมแต่ละตัวสามารถแสดงอิทธิพลออกมาได้อย่างเต็มที่ ทำให้การแสดงอิทธิพลของระดับเฮเทอโรซีตัสลดลง กล่าวคือ การแสดงอิทธิพลของระดับของเฮเทอโรซีตัสจะมีความสัมพันธ์กับสภาพแวดล้อมและรูปแบบการเลี้ยงการจัดการที่โคนมได้รับ) โดยโคนมจะได้รับอิทธิพลจากระดับเฮเทอโรซีตัสในระดับที่สูง เมื่อได้รับการเลี้ยงดูภายใต้สภาพแวดล้อมที่ก่อให้เกิดความเครียด (อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์สูง) หรือรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูโคนมแบบปล่อยแปลงที่เน้นการให้อาหารหยาบเป็นหลัก (pasture-based diet; Barlow, 1981)

Table 2 Regression coefficient and standard error of genetic group (hBF), heterosis (Het) and age at calving (AGEc) for first service conception rate (FSC; %), number of service per conception (NSPC; times), day to first service (DFS; days) and day open (DO; days)

Traits	hBF	Het	AGEc
FSC (%)	- 0.03 ± 0.08 (p = 0.68)	- 0.01 ± 0.05 (p = 0.95)	- 0.01 ± 0.01 (p = 0.15)
NSPC (times)	0.05 ± 0.04 (p = 0.25)	0.02 ± 0.02 (p = 0.46)	0.01 ± 0.01 (p = 0.34)
DFS (days)	1.19 ± 0.66 (p = 0.02)	0.60 ± 0.40 (p = 0.14)	0.30 ± 0.12 (p = 0.01)
DO (days)	4.74 ± 2.18 (p = 0.03)	2.37 ± 1.31 (p = 0.07)	0.63 ± 0.33 (p = 0.04)

อิทธิพลของลำดับการคลอดลูก

ความแตกต่างของลำดับการคลอดลูกส่งผลให้ DTFS และ DO มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยพบว่า ค่าเฉลี่ยแบบลีสแควร์สำหรับลักษณะ DTFS และ DO มีค่าลดลงเมื่อลำดับการคลอดลูกเพิ่มขึ้น (Table 3) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของสายันห์ และคณะ (2559) และ Leelasiri *et al.*

(2006) ที่พบว่า โคนมที่คลอดลูกครั้งแรกมีค่า DTFS และ DO สูงกว่า โคนมที่คลอดลูกมาแล้วหลายครั้ง ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก โคนมที่คลอดลูกครั้งแรกยังเจริญเติบโตไม่เต็มที่ และมีการสูญเสียน้ำหนักหลังคลอดมาก ในขณะที่มีความต้องการพลังงานไปใช้ในการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตน้ำนมมาก (Lucy, 2001; Punyapornwithaya and Teepatimakorn, 2004)

Table 3 Least square mean and standard error for first service conception rate (FSC; %), number of service per conception (NSPC; times), day to first service (DFS; days) and day open (DO; days) by lactation number (Lact)

Lactation number	FSC (%)	NSPC (times)	DFS (days)	DO (days)
Lact 1	0.33 ± 0.02	2.59 ± 0.10	104.28 ± 2.06 ^c	196.52 ± 5.92 ^b
Lact 2	0.39 ± 0.02	2.49 ± 0.07	101.44 ± 1.60 ^c	189.58 ± 4.44 ^b
Lact 3	0.41 ± 0.03	2.43 ± 0.14	93.89 ± 2.66 ^b	169.87 ± 7.38 ^a
Lact 4	0.47 ± 0.06	2.33 ± 0.23	87.55 ± 4.33 ^{ab}	165.61 ± 6.99 ^a
Lact 5	0.49 ± 0.09	2.17 ± 0.36	80.06 ± 6.81 ^a	152.23 ± 9.13 ^a
p - value	p = 0.39	p = 0.93	p = 0.03	p = 0.04

a, b, c Least square mean with the same superscripts letters within row differ significantly at $p < 0.05$

สำหรับ FSC และ NSPC ถึงแม้ว่า ความแตกต่างของลำดับการคลอดลูกจะไม่มีอิทธิพลต่อความผันแปรของลักษณะดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ก็ตาม แต่เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยแบบลีสแควร์ที่ประมาณได้ดังแสดงใน Table 3 พบว่า FSC มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อโคนมมีลำดับการคลอดที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ NSPC มีแนวโน้มลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ วรกร และจิรวรรณ (2554) ในลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน 75% (Thai Milking Zebu; TMZ) ที่ผสมรักษาระดับสายเลือดในชั่วอายุที่ 2 ที่พบการลดลงของ NSPC เมื่อโคนมมีลำดับการคลอดลูกเพิ่มขึ้น

อิทธิพลของอายุเมื่อคลอดลูก

อายุเมื่อได้คลอดลูกที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อความผันแปรของ DTFS และ DO อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยพบว่า โคนมจะมี DTFS และ DO เพิ่มขึ้น เมื่อโคนมมีอายุเมื่อคลอดลูกเพิ่มขึ้น (Table 2) สอดคล้องกับรายงานลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ของประเทศไทย ที่รายงานแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของ DTFS และ DO เมื่อโคนมมีอายุเมื่อคลอดลูกเพิ่มขึ้น (สายพันธุ์ และคณะ, 2559) และได้ผลเป็นในทิศทางเดียวกับผลการศึกษาของ Zavadilova and Stipkova (2013) ที่พบว่า เมื่อโคนมมีอายุเมื่อคลอดลูกเพิ่มขึ้น จะมี DTFS และ DO เพิ่มขึ้น ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของ DTFS และ DO เมื่อแม่โคนมมีอายุเพิ่มขึ้น อาจเป็นผลมาจาก เมื่อแม่โคนมมีอายุมากขึ้นก็มักจะประสบปัญหาด้านโรคทางระบบสืบพันธุ์ ความเครียดจากการให้ผลผลิตน้ำนมสูง ตลอดจนการตัดสินใจไม่ผสมพันธุ์แม่โคในขณะที่ยังให้ผลผลิตน้ำนมสูงของเกษตรกร (Marti and Funk, 1994)

สำหรับลักษณะ FSC และ NSPC พบว่า อิทธิพลของอายุเมื่อคลอดลูกไม่มีผลต่อความผันแปรของลักษณะดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยที่ประมาณได้ดัง Table 2 พบว่า FSC มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อโคนมมีอายุเมื่อคลอดลูกเพิ่มขึ้น ในขณะที่ NSPC มีแนวโน้มลดลง สอดคล้องกับการศึกษาของ สายัณห์ และคณะ (2559) ที่พบการเพิ่มขึ้นของ FSC เมื่อโคนมมีอายุเมื่อคลอดลูกเพิ่มขึ้น และพบการลดลงของ NSPC ซึ่งอาจเป็นผลมาจาก เมื่อโคนมที่มีอายุเมื่อคลอดลูกเพิ่มขึ้น จะมีความต้องการพลังงานไปเพื่อการพัฒนาโครงสร้างที่นอกเหนือจากพลังงานที่ใช้ในการผลิตน้ำมน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับโคนมที่มีอายุเมื่อคลอดลูกน้อย ทำให้โคนมที่มีอายุเมื่อคลอดลูกมากจึงได้รับพลังงานเพียงพอ ส่งผลให้มีความสมบูรณ์พันธุ์สูงกว่าโคนมที่มีอายุเมื่อคลอดลูกน้อย (Punyapornwithaya and Teepatimakorn, 2004)

อิทธิพลของค่าองค์ประกอบน้ำนม

ความผันแปรของค่าองค์ประกอบน้ำนม (PFAT PPRO และ FP Ratio) ไม่มีผลกระทบต่อความผันแปรของลักษณะ FSC NSPC DTFS และ DO อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ลักษณะดังกล่าวชี้ให้เห็นถึงความไม่เหมาะสมในการนำค่าองค์ประกอบน้ำนมมาใช้เป็นเครื่องมือในการบ่งชี้ถึงความสำเร็จของวัฏจักรการผสมพันธุ์ในโคนมภายในฟาร์ม ประกอบกับความแม่นยำในการประเมินสภาวะ EB ซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่สำคัญที่มีผลกระทบต่อลักษณะความสำเร็จของวัฏจักรการผสมพันธุ์ในโคนม โดยใช้ลักษณะค่าองค์ประกอบน้ำนมมีความแม่นยำต่ำ เนื่องจากค่าองค์ประกอบน้ำนมเป็นลักษณะที่มีความผันแปรในแต่ละช่วงเวลาสูง และปรับเปลี่ยนไปตลอดเวลา ทั้งนี้ เพื่อเพิ่มความแม่นยำในการประเมินสภาวะ EB ด้วยค่าองค์ประกอบน้ำนม จึงจำเป็นต้องเพิ่มจำนวนครั้งของการเก็บตัวอย่างน้ำนมในแต่ละช่วงการให้นม (Lovendahl *et al.*, 2010) นอกจากนี้ ยังพบว่า ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างค่าองค์ประกอบน้ำนมกับสภาวะ EB ช่วงต้นของการให้นม (0 ถึง 100 วัน) มีค่าต่ำกว่าช่วงกลางของการให้นม (100 ถึง 200 วัน) และในช่วงท้ายของการให้นม (200 ถึง 305 วัน; Alphonsus *et al.*, 2015) ส่งผลให้ การใช้ค่าองค์ประกอบน้ำนมเพื่อเป็นตัวชี้วัดความสำเร็จของวัฏจักรการผสมพันธุ์ของโคนมในช่วงต้นของการให้นม จึงไม่มีความแม่นยำ

Table 4 Regression coefficient and standard error of milk composition (PFAT, PPRO, and FP Ratio) for first service conception rate (FSC; %), number of service per conception (NSPC; times), day to first service (DFS; days) and day open (DO; days)

Traits	PFAT	PPRO	FP Ratio
FSC (%)	- 0.11 ± 0.24 (p = 0.66)	0.04 ± 0.30 (p = 0.88)	- 0.32 ± 0.71 (p = 0.88)
NSPC (times)	0.54 ± 1.03 (p = 0.60)	- 0.21 ± 1.30 (p = 0.87)	1.63 ± 3.03 (p = 0.59)
DFS (days)	18.44 ± 19.65 (p = 0.34)	- 22.06 ± 24.59 (p = 0.37)	51.47 ± 57.60 (p = 0.37)
DO (days)	9.71 ± 55.11 (p = 0.86)	- 43.11 ± 69.18 (p = 0.53)	40.52 ± 161.22 (p = 0.80)

ผลการศึกษารังนี้ ชัดแจ้งกับการศึกษาอิทธิพลของค่าองค์ประกอบน้ำนมที่มีต่อลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ในโคนมที่ผ่านมา ที่รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงของ PFAT และ FP Ratio มีผลกระทบต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนม กล่าวคือ โคนมจะมีอัตราการผสมติดลดลง มี DTFS และ DO เพิ่มขึ้น เมื่อ PFAT และ FP Ratio เพิ่มขึ้นหลังคลอด .ในขณะที่พบผลในเชิงบวกของการเพิ่มขึ้นของ PPRO กับลักษณะความสมบูรณ์พันธุ์ โดยโคนมจะมีอัตราการผสมติดเพิ่มขึ้น เมื่อ PPRO ในระยะหลังคลอดเพิ่มขึ้น และมี DO ที่ลดลง (Loeffler *et al.*, 1999; Fahey *et al.*, 2003; Patton *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2009; Negussie *et al.*, 2013)

สรุปผลการทดลอง

อิทธิพลของการจัดการฟาร์มในปีและฤดูกาลที่โคนมได้รับการผสมมีผลต่อความผันแปรของทุกลักษณะที่ทำการศึกษา ในขณะที่อิทธิพลของกลุ่มพันธุ์กรรม ลำดับการคลอดลูก และอายุเมื่อคลอดลูกจะมีผลต่อความผันแปรของลักษณะ DTFS และ DO เท่านั้น โดยพบว่า ลักษณะ DTFS และ DO ของโคนมมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับอายุเมื่อคลอดลูก ที่พบการเพิ่มขึ้นของลักษณะ DTFS และ DO เมื่อโคนมมีอายุเมื่อคลอดลูกเพิ่มขึ้น ขณะที่พบว่า DTFS และ DO มีค่าลดลงเมื่อลำดับการคลอดลูกเพิ่มขึ้น สำหรับลักษณะค่าองค์ประกอบน้ำนมพบว่า ไม่มีผลต่อความผันแปรของทุกลักษณะที่ทำการศึกษา และเมื่อพิจารณาถึงความเป็นไปได้ในการนำค่าองค์ประกอบน้ำนมมาใช้เป็นเครื่องมือในการบ่งชี้ถึงความสามารถพันธุ์ในโคนมภายในฟาร์ม พบว่า ไม่สามารถค่าองค์ประกอบน้ำมนนำมาใช้เป็นตัวชี้วัดความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.สายัณห์ บัวบาน ที่ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษารังนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่เก็บ และบันทึกข้อมูลสถิติผลผลิตน้ำนมศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพสระบุรี ตลอดจนเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมในพื้นที่จังหวัดสระบุรี และลพบุรีทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการได้มาซึ่งข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัย

เอกสารอ้างอิง

วรกร อินทแพทย์ และจิรวรรณ จัวยัดเลา. 2554. การให้ผลผลิตน้ำนมและความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมพันธุ์ TMZ ที่ผสมรักษาระดับสายเลือดในชั่วอายุที่ 2. รายงานผลงานการวิจัยการปศุสัตว์ สาขาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์และการจัดการฟาร์ม ประจำปี 2554. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. สดใส ยิ่งสง่า, ยอด ศรีสันต์ และจินตนา วงศ์นากนกร. 2549. สมรรถภาพการสืบพันธุ์ของโคนมที่เอฟ โคนมที่เอ็มแซด และโคฟริบราห์. รายงานผลงานการวิจัยการปศุสัตว์ สาขาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์และการจัดการฟาร์ม ประจำปี 2549. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ
สายัณห์ บัวบาน จุรีรัตน์ แสนโกษณ์ และสมศักดิ์ เปรมปรีดี. 2559. ปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่มีผลกระทบต่อลักษณะความสมบูรณ์ของโคนมลูกผสมในประเทศไทย. ใน การประชุมวิชาการปศุสัตว์แห่งชาติ ประจำปี 2559. โรงแรมเดอะกรีนเนอรี่ รีสอร์ท เขาใหญ่, นครราชสีมา.

- Alphonsus, C., G. N. Akpa, B. I. Nwagu, M. Orunmuyi, and P. P. Barje. 2015. Milk composition measures as indicators of energy balance in crossbred dairy cows. *J. Anim. Sci. Adv.* 5(9): 1398 - 1404.
- Barlow, R. 1981. Experimental evidence for interaction between heterosis and environment in animal. *Anim. Breed. Abstr.* 49: 715 - 737.
- Beerda, B., W. Ouweltjes, L. B. J. Sebek, J. J. Windig and R. F. Veerkamp. 2007. Effects of genotype by environment interactions on milk yield, energy balance and protein balance. *J. Dairy Sci.* 90: 219 - 228.
- Berry, D.P., F. Buckley, P. Dillon, R.D. Evans, M. Rath, and R.F. Veerkamp. 2003. Genetic relationships among body condition score, body weight, milk yield, and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86: 2193 - 2204.
- Chanvijit, K. 2006. Genetic estimation of milk production by model including effects of genetic $\times$ environment interaction in purebred and crossbred Holstein Friesian. Ph.D. Thesis, Khon Kaen University.
- Collard, B.L., P.J. Boettcher, J.C.M. Dekkers, D. Petitclerc, and L.R. Schaeffer. 2000. Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. *J. Dairy Sci.* 83: 2683 - 2690.
- de Vries, M.J., and R.F. Veerkamp. 2000. Energy balance of dairy cattle in relation to milk production variables and fertility. *J. Dairy Sci.* 83: 62 - 69.
- Fahey, J., J. Morton, and K.L. MacMillan. 2003. Relationships between milk protein percentage and reproductive performance in Australian dairy cows. *In Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production Vol.* 63: 82 - 86.
- Friggens, N.C., C. Ridder, and P. Lovendakl. 2007. On the use of milk composition measures to predict the energy balance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90: 5453 - 5467.
- Hansen, P. J. 2009. Effect of heat stress on mammalian reproduction. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 364: 3341 - 3350.
- Hodel, F., J. Moll, and N. Kuenzi. 1995. Analysis of fertility in Swiss Simmental cattle genetic and environment effects on female fertility. *Livest. Prod. Sci.* 41: 95 - 103.
- Inchaisri, C., R. Jorritsmaa, P. L. A. M. Vosa, G. C. van der Weijdena and H. Hogeveen. 2010. Economic consequences of reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology* 74: 835 - 846.
- Leelasiri, C., S. Buaban and J. Sanpote. 2006. Reproductive performance of different dairy cross breeds under smallholder conditions in Thailand. *J. Biotec. Liv. Prod.* 1: 48 - 57.

- Loeffler, S. H., M. J. de Vries, and Y. H. Schukken. 1999. The effects of time of disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82: 2589 - 2604.
- Lovendahl, P., C. Ridder, and N. C. Friggens. 2010. Limits of prediction of energy balance from milk composition measures at individual cow level. *J. Dairy Sci.* 93: 1998 - 2006.
- Lucy, M.C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end?. *J. Dairy Sci.* 84: 1277 - 1293.
- Marti, C. F., and D. A. Funk. 1994. Relationship between production and days open at different levels of herd production. *J. Dairy Sci.* 77: 1682 - 1690.
- Negussie, E., I. Strandén, and E.A. Mantysaari. 2013. Genetic associations of test-day fat:protein ratio with milk yield, fertility, and udder health traits in Nordic Red cattle. *J. Dairy Sci.* 96: 1237 - 1250.
- Patton, J., D.A. Kenny, S. McNamara, J.F. Mee, F.P. O'Mara, M.G. Diskin, and J.J. Murphy. 2007. Relationships among milk production, energy balance, plasma analytes, and reproduction in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.* 90: 649 - 658.
- Punyapornwithaya, V. and S. Teepatimakorn. 2004. Reproductive Efficiency of Dairy Cattle in the Northern Part of Thailand. *Changmai Vet. J.* 2: 3 - 8.
- Rensisa, F. D. and R. J. Scaramuzzi. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow - a review. *Theriogenology* 60: 1139 - 1151.
- Rukkwamsuk, T. 2010. A field study on negative energy balance in periparturient dairy cows kept in small-holder farms: Effect on milk production and reproduction. *Afr. J. Agric. Res.* 23: 3157 - 3163.
- Rukkwamsuk, T. 2011. Effect of nutrition on reproductive performance of postparturient dairy cows in the tropics: A review. *Thai. J. Vet. Med. Suppl.* 41: 103 - 107.
- SAS, 2003. SAS OnlineDoc 9.1.3. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Touchberry, R. W. 1992. Crossbreeding effects in dairy cattle: The Illinois experiment, 1949 to 1969. *J. Dairy Sci.* 75: 640 - 667.
- Veerkamp, V.F., and B. Beerda. 2007. Genetics and genomics to improve fertility in high producing dairy cows. *Theriogenology* 68S: S266 - S273.
- Yang, L., N. Lopez-Villalobos, D.P. Berry, and T. Parkinson. 2009. Phenotypic relationship between milk protein percentage and reproductive performance in three stains of Holstein Friesian cows in Ireland. *In Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* Vol. 70: 29 - 32.
- Zavadiлова, L. and M. Stipkova. 2013. Effect of age at first calving on longevity and fertility traits for Holstein cattle. *Czech J. Anim. Sci.* 58 (2): 47 - 57.

ผลกระทบของอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมต่อการให้ผลผลิตน้ำนมของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทย

สมศักดิ์ เปรมปรีดี¹ เรืองวุฒิ วรวุฒิ²

บทคัดย่อ

ข้อมูลพันธุ์ประวัติ และข้อมูลลักษณะปรากฏของโคนมจำนวน 3,110 ตัว ที่คลอดลูกครั้งแรกระหว่างปี พ.ศ.2543 ถึง 2559 ในฟาร์มเกษตรกรจำนวน 428 ฟาร์ม ในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทย ถูกนำมาทดสอบอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมต่อปริมาณผลผลิตน้ำนมรวมที่ 305 วัน (M305) กลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบเป็นฟาร์ม-ปี-ฤดูกาลที่คลอดลูกซึ่งมีความสัมพันธ์กันผ่านทางพ่อพันธุ์ ลักษณะ M305 ที่ปรากฏภายใต้สภาพภูมิประเทศ และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูที่แตกต่างกันจะถูกพิจารณาเป็นลักษณะที่แตกต่างกัน โดยลักษณะภูมิประเทศ ประกอบด้วยที่ราบลุ่ม (FP) ที่ราบเชิงเขา (PM) และที่ราบชายฝั่งทะเล (CP) สำหรับรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู แบ่งเป็นแบบปล่อย (FS) และแบบผูกยืนโรง (TS) หุ่นจำลองทางพันธุกรรมที่ใช้ในการศึกษา คือ multiple-traits sire model โดยพิจารณา อายุเมื่อคลอดลูก กลุ่มพันธุ์ และระดับของเฮเทอโรซีสเป็นปัจจัยกำหนด และมีกลุ่มการจัดการ พ่อพันธุ์แต่ละตัว และ residual effect เป็นปัจจัยร่วมค่าองค์ประกอบความแปรปรวนจะถูกประมาณค่าด้วยวิธี AI-REML และนำมาประมาณค่าอัตราพันธุกรรมและค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม การเกิดขึ้นของอิทธิพลร่วมและระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมนั้นพิจารณาจากค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่มีค่าน้อยกว่า 0.85 ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลำดับของสเปียร์แมนถูกนำมาใช้ในการพิจารณาผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถทางพันธุกรรม (มีค่าสหสัมพันธ์มากกว่าหรือเท่ากับ 0.7) และการเปลี่ยนแปลงลำดับ (มีค่าสหสัมพันธ์น้อยกว่า 0.7) ค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับ M305 มีความแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ (0.003 ± 0.001 ใน CP ถึง 0.195 ± 0.034 ใน FP) และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู (0.090 ± 0.041 สำหรับ FS ถึง 0.136 ± 0.060 สำหรับ TS) ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะพื้นที่ที่มีค่าระหว่าง - 0.99 (FP-CP) ถึง 0.99 (PM-CP) และมีค่า 0.19 (FS-TS) สำหรับรูปแบบการเลี้ยงดู การเกิดขึ้นของอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมส่งผลกระทบต่อทั้งการเปลี่ยนแปลงค่าและลำดับของพ่อพันธุ์ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นถึงความจำเป็นในการประเมินและพิจารณาความสามารถทางพันธุกรรมที่มีความจำเพาะต่อการใช้ประโยชน์ในแต่ละพื้นที่ และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู ของพ่อพันธุ์แต่ละตัว

คำสำคัญ: โคนม อิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อม การให้ผลผลิตน้ำนม ประเทศไทย

เลขทะเบียนผลงานวิชาการ: 60(2)-0208-037

¹ สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ จ.ปทุมธานี 12000

² ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพราชบุรี ต.หนองโฝ อ.โพธาราม จ.ราชบุรี 70120

Impact of Interaction between Genetic and Environmental Effects on Milk Production of Holstein Friesian Crossbred Dairy Cattle in Western Part of Thailand

Somsak Prempre¹ Roengwut Worawut²

Abstract

Pedigree and phenotypic records of 3,110 cows that had first calving between 2000 to 2016 in 428 farm located in western part of Thailand were tested the interaction effect of genetic and environmental factors on accumulated 305 day milk yields (M305). Contemporary groups were define as herd-year-season of calving subclass and they were connected through common sire. M305 that present in different topography or group of farm management are assumed to be different. The topography were classified as Flat Plain (FP), Piedmont (PM), and Coastal Pain (CP). For farm management were define as Free-Stall (FS) and Tie-Stall (TS). The multiple-traits sire model considered regression on age of calving, breed groups and regression on heterosis as fixed effect, and the random effects were contemporary group subclasses, sire, and residual effect. Variance components were estimated using AI-REML procedure and then effect between genetic and environment was assumed if genetic correlation estimates were less than 0.85. Spearman's rank correlation coefficients were estimated between sire rankings. If the rank correlation value equal to or higher than 0.70, the interaction had effect on EBV scaling, otherwise it has effect re-ranking. Heritability of M305 were differed among three topography (ranged from 0.003 ± 0.001 in CP to 0.195 ± 0.034 in FP) and farm management (ranged from 0.090 ± 0.041 for FS to 0.136 ± 0.060 for TS). Genetic correlation estimates ranged from - 0.99 (FP-CP) to 0.99 (PM-CP) for topography and 0.19 (FS-TS) for farm management. The existence of interaction between genetic and environmental effects was found in both changing EBV scale and rank of sires. These results imply the need to evaluate and consider sire for their genetic ability (EBV) in the particular environments they were used

Keywords: dairy cattle, interaction effect between genetic and environment, milk production, Thailand

Registered No. : 60(2)-0208-037

¹ Bureau of Biotechnology in Livestock Production, Department of Livestock Development, Patumthani, 12000

² Ratchaburi Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Nongpho, Photharam, Ratchaburi, 70120

คำนำ

ปัจจุบันการผสมเทียมได้เข้ามามีบทบาทสำคัญในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์โคนม ส่งผลให้เกษตรกรสามารถนำพันธุ์กรรมที่ดีเด่นของโคนมพันธุ์ต่างๆ เช่น เรดเดน (Red Dane) บราวน์สวิส (Brown Swiss) เจอร์ซี่ (Jersey) โดยเฉพาะโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเซียน (Holstein Friesian) จากแหล่งพันธุ์กรรมต่างๆ เช่น สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย และญี่ปุ่น เป็นต้น มาใช้ประโยชน์ในการผสมพันธุ์กับโคนมเพศเมียภายในฟาร์ม เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำนมของโคนมภายในฟาร์ม พบว่า ความสามารถในการให้ผลผลิตน้ำนมของลูกสาวที่เกิดจากพ่อพันธุ์จากแหล่งพันธุ์กรรมต่างๆ มีความแตกต่างกัน (ศกร และคณะ, 2540) และเมื่อพิจารณาค่าความสามารถทางพันธุ์กรรมของพ่อพันธุ์เป็นรายตัวพบว่า พ่อพันธุ์โคนมจากต่างประเทศมีทั้งที่มีความสามารถทางพันธุ์กรรมดีกว่า และด้อยกว่าพ่อพันธุ์โคนมในประเทศไทย (Koonawootrittriron, 2003) ลักษณะดังกล่าวชี้ให้เห็นถึง ความสามารถในการปรับตัวของพ่อพันธุ์โคนมจากแต่ละแหล่งพันธุ์กรรมให้เข้ากับสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศ (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2550) ปริมาณและคุณภาพของพืชอาหารสัตว์ รวมถึงวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร (เทพณรงค์ และคณะ, 2552) และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูของเกษตรกรที่แตกต่างกัน ส่งผลให้การแสดงออกทางพันธุ์กรรมที่น่าพอใจในรูปแบบการจัดการหนึ่ง อาจให้แสดงออกในทิศทางที่ต่างกันออกไปในอีกรูปแบบการจัดการหนึ่ง (เกิดอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์กรรมกับสิ่งแวดล้อม; Lin and Togashi., 2002; Hammami et al., 2008)

ทั้งนี้เนื่องจาก ภาคตะวันตกของประเทศไทยจัดเป็นแหล่งพันธุ์กรรมโคนมที่มีขนาดใหญ่ของประเทศไทย โดยมีปริมาณแม่โครีดนมสูงถึง 84,363 ตัว คิดเป็น 29.46 % ของปริมาณแม่โครีดนมทั้งประเทศ (กรมปศุสัตว์, 2558) และมีลักษณะภูมิประเทศที่หลากหลาย กล่าวคือ มีลักษณะเป็นที่ราบลุ่มอยู่ทางตอนบนของภูมิภาค ขณะที่ทางตอนล่างจะมีลักษณะเป็นที่ราบชายฝั่งทะเล และมีแนวเทือกเขาอยู่ทางด้านตะวันตกของภูมิภาค มีภูมิอากาศเป็นแบบร้อนชื้นสลับกับฤดูแล้ง มีฝนตกน้อยกว่าภาคอื่น เนื่องจากมีภูเขาสูงชันจึงเป็นพื้นที่อับฝน จึงส่งผลให้รูปแบบการจัดการเลี้ยงดูของเกษตรกรมีการปรับเปลี่ยนไปตามสภาพภูมิประเทศ ชนิด ปริมาณ และคุณภาพของพืชอาหารสัตว์ และวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร ลักษณะดังกล่าวจึงอาจส่งผลให้การใช้ประโยชน์จากพันธุ์กรรมของพ่อพันธุ์โคนมตัวใดตัวหนึ่งผสมพันธุ์กับแม่พันธุ์โคนมที่มีคุณสมบัติเหมือนกัน แต่ถูกเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันจึงอาจให้ผลสัมฤทธิ์ที่ต่างกันได้ ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุ์กรรมกับสิ่งแวดล้อมต่อสำหรับลักษณะการให้ผลผลิตน้ำนมของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียนในภาคตะวันตกของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ข้อมูลลักษณะการให้ผลผลิตน้ำนมที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นข้อมูลปริมาณผลผลิตน้ำนมรวมที่ 305 วัน ที่ผ่านการตรวจสอบความสมบูรณ์ของข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ พันธุ์ประวัติ วันเกิด ระดับสายเลือด พ่อพันธุ์ วันคลอด และความเชื่อมโยงระหว่างกลุ่มพันธุ์กรรมที่ใช้ในการเปรียบเทียบของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียน จำนวน 3,110 ตัว ที่คลอดลูกและให้ผลผลิตระหว่างปี พ.ศ. 2543 ถึง 2559 ที่ได้รับการเลี้ยงดูในฟาร์มเกษตรกรจำนวน 428 ราย ในพื้นที่จังหวัดราชบุรี, กาญจนบุรี, นครปฐม, เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ (Table 1) ที่รวบรวมไว้ในระบบฐานข้อมูลของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

กรมปศุสัตว์ ฤดูกาลถูกจำแนกเป็นฤดูร้อน (เดือนมีนาคมถึงมิถุนายน) ฤดูฝน (เดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม) และฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์) และโคที่คลอดลูกในฟาร์ม ปี และฤดูกาลเดียวกันถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบ (contemporary group) เดียวกัน

Table 1 Descriptive statistics for M305 of first lactation cows by topography and farm management in western part of Thailand

	No. Cows	Mean $\pm$ SD	Min	Max
Topography				
- Flat Plain	2,113	4,033.96 $\pm$ 916.05	1,529.50	7,375.60
- Piedmont	654	4,373.70 $\pm$ 1,078.14	1,671.04	7,307.70
- Coastal Plain	343	4,431.85 $\pm$ 1,003.62	2,026.75	7,176.50
Farm management				
- Tie-Stall	1,766	3,895.11 $\pm$ 757.08	1,614.95	7,357.50
- Free-Stall	1,344	4,453.91 $\pm$ 1,106.66	1,529.50	7,375.60
All data	3,110	4,149.29 $\pm$ 976.44	1,529.50	7,375.60

กลุ่มพันธุ์ (breed group; BG) ถูกจำแนกตามระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ ((Holstein's breed fraction; H) จำนวน 4 กลุ่ม ประกอบด้วย BG1 ($HF < 81.25\%$), BG2 ($81.25 \leq HF < 87.5\%$), BG3 ($87.5 \leq HF < 93.75\%$), และ BG4 ($HF \geq 93.75\%$) ระดับของเฮเทอโรซิส (heterosis; Het) จะมีค่าตั้งแต่ 0.00 ถึง 1.00 สามารถคำนวณได้จากสัดส่วนทางพันธุกรรมของพ่อและแม่โคนมแต่ละตัว ดังสมการ

$$\text{Het} = \frac{(\text{SH} \times \text{DO}) + (\text{DH} \times \text{SO})}{256 \times 256}$$

โดย

SH	=	ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ของโคพ่อพันธุ์
SO	=	ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์อื่นของโคพ่อพันธุ์
DH	=	ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ของโคแม่พันธุ์
DO	=	ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์อื่นของโคแม่พันธุ์
256	=	ผลรวมของสัดส่วนทางพันธุกรรมของโคแต่ละตัว

ลักษณะภูมิประเทศ ภูมิอากาศ และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูที่ปรากฏในข้อมูลที่ศึกษาประกอบด้วย **1) ลักษณะภูมิประเทศแบบที่ราบลุ่ม** ประกอบด้วย จังหวัดราชบุรี และนครปฐม มีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 18.30 ถึง 39.00 องศาเซลเซียส และมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยประมาณ 1,102.50 มิลลิเมตร/ปี **2) ลักษณะภูมิประเทศแบบที่ราบเชิงเขา** ประกอบด้วย จังหวัดกาญจนบุรี มีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 13.10 ถึง 40.90 องศาเซลเซียส และมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยประมาณ 1,496.20 มิลลิเมตร/ปี **3) ลักษณะ**

ภูมิประเทศแบบที่ราบชายฝั่งทะเล ประกอบด้วย จังหวัดเพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 16.00 ถึง 37.00 องศาเซลเซียส และมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยประมาณ 853.30 มิลลิเมตร/ปี รูปแบบการจัดการเลี้ยงดูแบ่งเป็น การจัดการแบบผูกยืนโรง และการจัดการแบบปล่อย

หุ่นจำลองทางพันธุกรรมที่ใช้ในการศึกษามีลักษณะเป็น multiple-traits sire model โดยมีอายุเมื่อคลอดลูก (เดือน) กลุ่มพันธุ์ และเฮทเทอโรซิส เป็นปัจจัยกำหนด (fixed effects) และมีกลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบ พันธุกรรมแบบบวกสะสมของสัตว์แต่ละตัว และ residual effect เป็นปัจจัยสุ่ม (random effects) โดยสามารถเขียนอธิบายได้ดังนี้

$$y = Xb + Qh_{cg} + Z_{gb}g_b + Z_{gn}g_n + Z_s a_s + e$$

เมื่อ

- y = เวกเตอร์ของ M305 ของแม่โคนมแต่ละตัว
- b = เวกเตอร์ของอายุเมื่อคลอดลูก
- h_{cg} = เวกเตอร์ของกลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบ
- g_b = เวกเตอร์ของกลุ่มพันธุ์
- g_n = เวกเตอร์ของเฮทเทอโรซิส
- a_s = เวกเตอร์ของอิทธิพลจาก additive genetic effect ของพ่อพันธุ์แต่ละตัว
- e = เวกเตอร์ของความคลาดเคลื่อนสุ่ม (residual effect)
- X = เมทริกซ์ที่เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเวกเตอร์ y ไปยังปัจจัยต่างๆ ในเวกเตอร์ b ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์แต่ละตัว
- Q = เมทริกซ์ที่เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเวกเตอร์ y ไปยังปัจจัยต่างๆ ในเวกเตอร์ h_{cg} ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์แต่ละตัว
- Z_{gb} = เมทริกซ์ที่เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเวกเตอร์ y ไปยังปัจจัยต่างๆ ในเวกเตอร์ g_b ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์แต่ละตัว
- Z_{gn} = เมทริกซ์ที่เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเวกเตอร์ y ไปยังปัจจัยต่างๆ ในเวกเตอร์ g_n ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์แต่ละตัว
- Z_s = เมทริกซ์ที่เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเวกเตอร์ y ไปยังปัจจัยต่างๆ ในเวกเตอร์ a_s ที่เกี่ยวข้องกับพ่อพันธุ์แต่ละตัว

ทั้งนี้ กำหนดให้

$$\begin{bmatrix} y \\ h_{cg} \\ a_s \\ e \end{bmatrix} \sim \text{MVN} \left(\begin{bmatrix} x\beta \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} Z_a G_a Z_a' + H + R & H & Z_s G_s & R \\ H & H & 0 & 0 \\ G_s Z_s' & 0 & G_s & 0 \\ R & 0 & 0 & R \end{bmatrix} \right)$$

เมื่อ $H = H_0 \otimes I$ เมื่อ H_0 เมทริกซ์ความแปรปรวนของกลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบ (Ugarte *et al.*, 1991) และ $\otimes$ เป็นการคำนวณแบบ direct product ระหว่างเมทริกซ์ (Searle, 1982)

$G_s = G_s \otimes A$ เมื่อ G_s เป็นเมทริกซ์ความแปรปรวนร่วมทางพันธุกรรมแบบบวกสะสม, A เป็นเมทริกซ์ความสัมพันธ์ทางเครือญาติของสัตว์ทุกตัวในประชากร (Henderson, 1975)

$R = R_0 \otimes I$ เมื่อ R_0 เมทริกซ์ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนสุ่ม

ค่าองค์ประกอบความแปรปรวนสำหรับลักษณะ M305 ของโคนมในแต่ละกลุ่มการจัดการจะถูกประมาณค่าด้วยวิธี Restricted Maximum Likelihood procedure (REML) ที่ใช้กลวิธีการคำนวณค่าแบบ Average Information (AI) โดยโปรแกรม ASREML (Gilmour *et al.*, 2001) จากนั้นองค์ประกอบความแปรปรวนที่ประมาณค่าได้จะถูกนำมาคำนวณค่าอัตราพันธุกรรม (heritability; h^2) และสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic correlation; r_g) ค่าความสามารถทางพันธุกรรม (Estimated Breeding Value; EBV) สามารถคำนวณค่าได้จากผลรวมระหว่างค่าเฉลี่ยของค่าความสามารถทางพันธุกรรมของโคนมในกลุ่มพันธุกรรมเดียวกัน และค่าเบี่ยงเบนของความสามารถทางพันธุกรรมของโคนมที่ถูกพิจารณา (Westell *et al.*, 1988)

การพิจารณาอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมจะพิจารณาจากค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสำหรับ M305 ของแต่ละกลุ่มการจัดการ จากนั้นจึงใช้ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลำดับของสเปียร์แมน (Spearman's rank-order correlation coefficient; Page, 1963) ในการเปรียบเทียบลำดับของฟอปันธุ์ในแต่ละกลุ่มการจัดการ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับลักษณะ M305 (Table 2) ของโคนมที่ได้รับการเลี้ยงดูในพื้นที่ราบลุ่ม (FP) ของภาคตะวันตกมีค่า 0.195 ± 0.034 ขณะที่ในพื้นที่ราบเชิงเขา (PM) มีค่า 0.080 ± 0.038 และในพื้นที่ชายฝั่งทะเล (CP) มีค่า 0.003 ± 0.031 และเมื่อพิจารณาตามรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู พบว่า ค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับลักษณะ M305 ของโคนมที่ได้รับการเลี้ยงแบบปล่อย (FS) มีค่า 0.090 ± 0.041 ส่วนการเลี้ยงแบบผูกยืนโรง (TS) มีค่า 0.136 ± 0.060 ทั้งนี้ค่าอัตราพันธุกรรมที่มีค่าแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูของภาคตะวันตก ชี้ให้เห็นถึงความแตกต่างกันของความผันแปรทางพันธุกรรมของฟอปันธุ์โคนมที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในแต่ละพื้นที่ และกลุ่มรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู (Table 2) ซึ่งเมื่อนำมาพิจารณาสัดส่วนความผันแปรทางพันธุกรรมต่อความผันแปรของลักษณะปรากฏของโคนมในแต่ละพื้นที่ และกลุ่มรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู จึงส่งผลให้มีค่าอัตราพันธุกรรมที่แตกต่างกัน

Table 2 Genetic variance (Var_{sire}), contemporary group variance (Var_{cg}), residual variance (Var_{res}) and heritability (h^2) for M305 in the clusters of topography and farm management in western part of Thailand

	Topography			Farm management	
	FP	PM	CP	FS	TS
Var_{sire}	38,560.50	21,949.25	782.94	50,7000.00	163,200.00
	(6,344.66)	(9,664.03)	(0.00)	(23,660.00)	(72,750.00)
Var_{cg}	304,194.00	714,772.50	621,763.00	337,985.00	577,416.00
	(26,590.29)	(79,022.81)	(96,472.02)	(25,073.07)	(55,897.00)
Var_{res}	447,677.50	362,760.50	410,332.00	219,948.00	580,627.00
	(17,272.22)	(27,217.95)	(42,676.22)	(10,225.38)	(28,901.29)
h^2	0.195	0.080	0.003	0.090	0.136
	(0.034)	(0.038)	(0.001)	(0.041)	(0.060)

อย่างไรก็ตาม ค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับ M305 ของโคนมในพื้นที่ราบลุ่ม และโคนมที่ได้รับการจัดการเลี้ยงดูแบบผูกยืนโรง มีค่าอยู่ในช่วงของค่าอัตราพันธุกรรมที่ถูกรายงานไว้ในประชากรโคนมอื่นๆ (0.01 ถึง 0.40; ทวี และสมเพชร, 2544; อามีนา และศกร, 2551; Kadarmideen et al., 2003; Perez-Cabal et al., 2006) ทั้งนี้การที่สัดส่วนความผันแปรทางพันธุกรรมต่อความผันแปรของลักษณะปรากฏของโคนมในพื้นที่ราบเชิงเขา และพื้นที่ราบชายฝั่งทะเล รวมถึงกลุ่มการจัดการเลี้ยงดูแบบปล่อยมีค่าน้อยมาก อาจเป็นผลมาจากความคล้ายคลึงกันของค่าความสามารถทางพันธุกรรมของพ่อพันธุ์โคนมที่ได้รับการคัดเลือก และนำมาใช้ประโยชน์โดยเกษตรกร เนื่องจากการพิจารณาเลือกใช้น้ำเชื้อแช่แข็งของพ่อพันธุ์โคนมของเกษตรกร จะมุ่งเน้นด้านปริมาณผลผลิตน้ำนมเป็นหลักจึงส่งผลให้ความผันแปรทางพันธุกรรมของพ่อพันธุ์โคนมในพื้นที่ราบเชิงเขา พื้นที่ราบชายฝั่งทะเล และกลุ่มการจัดการเลี้ยงดูแบบปล่อยมีค่าต่ำ (Table 2)

เมื่อพิจารณาค่าความสามารถทางพันธุกรรมสำหรับ M305 ของพ่อพันธุ์โคนมที่ถูกใช้ประโยชน์ในแต่ละพื้นที่ และกลุ่มการจัดการของภาคตะวันตก พบว่า ไม่มีพ่อพันธุ์โคนมตัวใดที่มีค่าความสามารถทางพันธุกรรมสำหรับ M305 ที่ดีเด่นกว่าพ่อพันธุ์ตัวอื่นๆ ในทุกพื้นที่ และทุกกลุ่มรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูของภาคตะวันตก (Figure 1) โดยพ่อพันธุ์ที่มีค่าความสามารถทางพันธุกรรมที่ดีเด่นในพื้นที่หนึ่ง อาจมีค่าความสามารถทางพันธุกรรมด้อยกว่าพ่อพันธุ์ตัวอื่นเมื่อถูกนำไปใช้ประโยชน์ในอีกพื้นที่หนึ่ง สอดคล้องกับการศึกษาของ Yodkew et al. (2013) และ สมศักดิ์ (2557) ที่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับค่าความสามารถทางพันธุกรรมของพ่อพันธุ์โคนมที่นำมาใช้ประโยชน์ในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทย ดังนั้นในการเลือกใช้ประโยชน์จากพ่อพันธุ์โคนมสำหรับการปรับปรุงพันธุกรรมโคนมภายในฟาร์ม เกษตรกรควรให้ความสำคัญในการพิจารณาข้อมูลพันธุกรรม (EBV) ของพ่อพันธุ์โคนม โดยควรพิจารณาคัดเลือกพ่อพันธุ์โคนมที่มีค่าความสามารถทางพันธุกรรมดีเด่นที่จำเพาะกับพื้นที่ และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูที่นำไปใช้ประโยชน์ เพื่อใช้โคโคนมทดแทนที่มีลักษณะตรงตามความต้องการ และช่วยลดความเสี่ยงจากการคัดเลือกพันธุ์ที่ผิดพลาด

สำหรับการประมาณค่าอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมสามารถพิจารณาจากค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างกลุ่มการจัดการที่แตกต่างกัน (ลักษณะภูมิประเทศ และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู) โดยเมื่อพิจารณาค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะ M305 ของโคนมระหว่างกลุ่มการจัดการที่แตกต่างกัน (Table 3) พบว่า โคนมในพื้นที่ราบลุ่มมีค่าสหสัมพันธ์เชิงบวกกับพื้นที่ราบเชิงเขา (0.81 ± 0.37) และมีค่าสหสัมพันธ์เชิงลบกับพื้นที่ราบชายฝั่งทะเล (-0.99 ± 0.00) ขณะที่โคนมในพื้นที่ราบเชิงเขามีค่าสหสัมพันธ์เชิงบวกกับพื้นที่ราบชายฝั่งทะเล (0.99 ± 0.00) สำหรับรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู พบว่า โคนมที่เลี้ยงแบบปล่อยมีค่าสหสัมพันธ์ในเชิงบวกกับการเลี้ยงแบบผูกยืนโรง (0.19 ± 0.38) โดยค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมที่มีค่าต่ำ (0.85) ซึ่งชี้ให้เห็นถึง การเกิดอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมขึ้นระหว่างกลุ่มการจัดการที่แตกต่างกัน (Lin and Togashi, 2002)

แม้ว่า โคนมในพื้นที่ราบลุ่มกับพื้นที่ราบชายฝั่งทะเลจึงมีค่าสูง (-0.99 ± 0.00) ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์กันมากของค่าความสามารถทางพันธุกรรมของโคนมในทั้งสองพื้นที่ แต่มีทิศทางตรงกันข้าม กล่าวคือ การเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถทางพันธุกรรมของโคนมในทั้งสองพื้นที่ที่มีทิศทางตรงกันข้ามกัน เมื่อพ่อพันธุ์โคนมที่ใช้ประโยชน์ในพื้นที่ราบลุ่มถูกนำไปใช้ประโยชน์ในพื้นที่ราบชายฝั่งทะเล จึงถือว่าการเกิดขึ้นของอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมาในประชากรโคนมลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ในประเทศไทย (สมศักดิ์ และคณะ, 2553; Chanvijit, 2006; Yodklaew et al., 2013) ที่พบว่า เกิดอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมในประชากรโคนมที่ได้รับการเลี้ยงดูในภูมิภาคที่แตกต่างกันของประเทศไทย ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างของลักษณะภูมิประเทศ และภูมิอากาศในแต่ละพื้นที่ของภาคตะวันตกของประเทศไทย (Stanton et al., 1991) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาค่าอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม สำหรับผลผลิตน้ำนมของพ่อพันธุ์โคนมพันธุ์โฮลสไตน์ที่ใช้ประโยชน์ในประเทศลักเซมเบิร์กและตูนิเซีย ที่พบว่า ความแตกต่างด้านสภาพภูมิอากาศ ปริมาณและคุณภาพของอาหารสัตว์ ส่งผลเกิดอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมของพ่อพันธุ์โคนมพันธุ์โฮลสไตน์ที่ใช้ประโยชน์ในประเทศลักเซมเบิร์ก และตูนิเซีย (Hammami et al., 2008)

Table 3 Genetic correlation (r_g) and Spearman's rank-order correlation coefficient (r_s) for M305 among the clusters of topography and farm management in western part of Thailand

	Topography			Farm management
	FP-PM	FP-CP	PM-CP	FS-TS
r_g	0.81 (0.37)	- 0.99 (0.00)	0.99 (0.00)	0.19 (0.38)
r_s	0.65 ($p < 0.01$)	- 0.64 ($p < 0.01$)	- 0.12 ($p = 0.44$)	0.22 ($p = 0.05$)

อิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมที่พบในประชากรโคนมภาคตะวันตกของประเทศไทย ชี้ให้เห็นถึงระดับการแสดงออกของค่าความสามารถทางพันธุกรรมสำหรับ M305 ของพ่อพันธุ์โคนมที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไปจากสภาพแวดล้อมหนึ่งไปสู่อีกสภาพแวดล้อมหนึ่ง

ลักษณะดังกล่าวเป็นผลเนื่องมาจาก ระดับการแสดงออกของยีนที่มีความแตกต่างกันเมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน (Rutherford and Linquist, 1998) หรือเกิดจากการแสดงออกของยีนที่ควบคุมในตำแหน่งที่ต่างกัน เมื่ออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน (Falconer and Mackey, 1996) ส่งผลให้พันธุกรรมของโคนมที่แสดงออกมาได้อย่างเป็นที่น่าสนใจในภูมิภาคหนึ่ง อาจแสดงออกมาได้แตกต่างกันในอีกภูมิภาคหนึ่งที่แตกต่างกันออกไป

การพิจารณารูปแบบของอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมที่เกิดขึ้นในประชากรโคนมภาคตะวันตกของประเทศไทย สามารถทำได้โดยพิจารณาจากค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลำดับของ สเปียร์แมน (Table 3) ร่วมกับกราฟค่าความสามารถทางพันธุกรรมสำหรับ M305 ของพ่อพันธุ์โคนมที่ถูกใช้ประโยชน์ในเขตพื้นที่ และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูของภาคตะวันตก (Figure 1) พบว่า ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลำดับของสเปียร์แมนของลำดับพ่อพันธุ์โคนมสำหรับ M305 ที่ใช้ประโยชน์ในพื้นที่ราบลุ่มกับพื้นที่ราบเชิงเขา และพื้นที่ราบลุ่มกับพื้นที่ราบชายฝั่งทะเล รวมถึงลำดับพ่อพันธุ์โคนมสำหรับ M305 ที่ใช้ประโยชน์ในฟาร์มที่เลี้ยงแบบปล่อยกับฟาร์มที่เลี้ยงแบบผูกยืนโรง มีค่าต่ำกว่า 0.70 (Cienfuegos-Rivas *et al.*, 1999) ซึ่งให้เห็นถึงการเกิดขึ้นของอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมแบบเกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับของพ่อพันธุ์โคนม (re-ranking effect) ในประชากรโคนมภาคตะวันตกของประเทศไทย สอดคล้องกับการรายงานของ Yodklaew *et al.* (2013) ที่พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงลำดับของพ่อพันธุ์โคนมไปเมื่อถูกนำไปใช้ประโยชน์ในภูมิภาคที่ต่างกัน

ทั้งนี้เมื่อพิจารณารูปแบบค่าความสามารถทางพันธุกรรมสำหรับ M305 (Figure 1) พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของค่าความสามารถทางพันธุกรรม และลำดับของพ่อพันธุ์โคนมที่ถูกใช้ประโยชน์ในแต่ละพื้นที่ และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูของเกษตรกรของภาคตะวันตก (Figure 2) และเมื่อพิจารณาเฉพาะพ่อพันธุ์ที่อยู่ใน 20 อันดับแรก ในพื้นที่ราบลุ่ม พบว่า มีพ่อพันธุ์จำนวน 14 ตัว และ 5 ตัว ที่อยู่ในลำดับพ่อพันธุ์ 20 อันดับแรก ของพื้นที่ราบเชิงเขา และพื้นที่ราบชายฝั่งทะเล สำหรับรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูของเกษตรกร พบว่า พ่อพันธุ์ที่อยู่ใน 20 อันดับแรก ในกลุ่มฟาร์มที่เลี้ยงแบบปล่อย จำนวน 9 ตัว อยู่ในลำดับพ่อพันธุ์ 20 อันดับแรก ของกลุ่มฟาร์มที่เลี้ยงแบบยืนโรง ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงลำดับของพ่อพันธุ์ ซึ่งให้เห็นถึงอิทธิพลของพ่อพันธุ์ที่มีต่อการให้ผลผลิตน้ำนมของลูกสาวในแต่ละพื้นที่ และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูที่แตกต่างกันของเกษตรกรของภาคตะวันตก สอดคล้องกับรายงานของ Chanvijit (2006) และ Yodklaew *et al.* (2013) ที่พบการเปลี่ยนแปลงของลำดับ และระดับการแสดงออกค่าความสามารถทางพันธุกรรมในประชากรโคนมที่ถูกเลี้ยงดูในภูมิภาคที่ต่างกันของประเทศไทย ดังนั้นการคัดเลือกพ่อพันธุ์โคนมที่มีความสามารถทางพันธุกรรมสำหรับ M305 ที่จำเพาะต่อเขตพื้นที่ และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูของเกษตรกรจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อช่วยให้เกษตรกรสามารถใช้ประโยชน์จากจากพันธุกรรมโคนมเพื่อการผลิตน้ำนมได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น และช่วยลดการสูญเสียโอกาสของเกษตรกรอันเป็นผลเนื่องมาจากการคัดเลือกโคนมพ่อพันธุ์ที่ผิดพลาด ดังนั้นการประเมินค่าความสามารถทางพันธุกรรมของพ่อพันธุ์โคนมสำหรับแต่ละภูมิภาคจึงเป็นสิ่งจำเป็น และสมควรได้รับการพิจารณาดำเนินการเพิ่มเติมจากเดิมที่ประเมินค่าความสามารถทางพันธุกรรมของพ่อพันธุ์โคนมในภาพรวมประเทศ เนื่องจากอิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมส่งผลให้ความแม่นยำ (accuracy of selection) และความเข้มข้นในการคัดเลือก

(selection intensity) ลดลง จึงส่งผลให้เกิดการลดลงของค่าความก้าวหน้าทางพันธุกรรม (genetic gain) ของโคนมภายใต้สภาพแวดล้อมที่พอพันธุ์ถูกนำไปใช้ประโยชน์ (Mulder and Bijma, 2005)

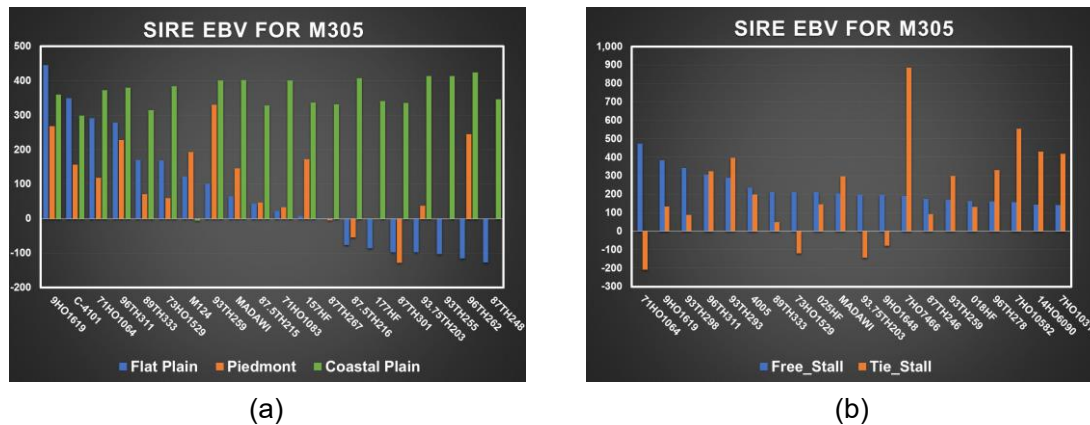


Figure 1 EBV for M305 of top 20 sires in the clusters of topography (a) and farm management (b) in western part of Thailand

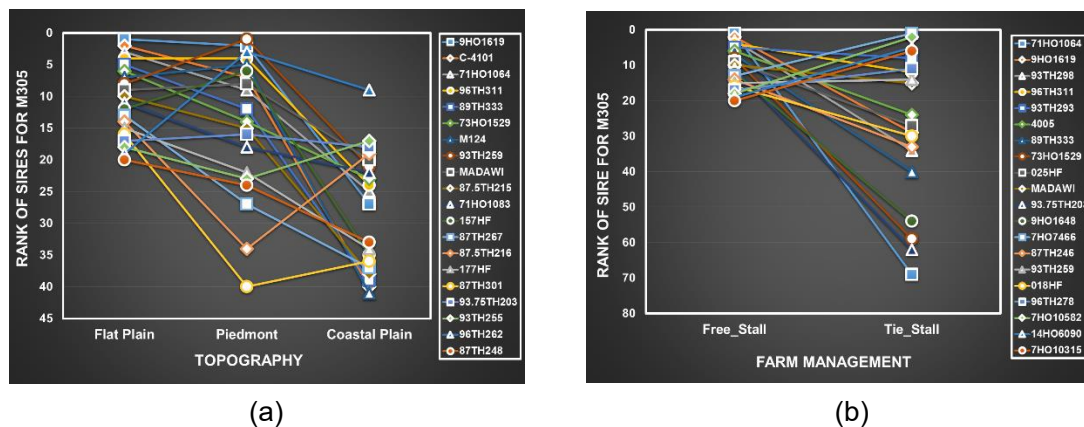


Figure 2 Ranking of top 20 sires for M305 in the clusters of topography (a) and farm management (b) in western part of Thailand

สรุปผลการทดลอง

อัตราพันธุกรรมสำหรับ M305 ของโคนมในพื้นที่ราบลุ่ม พื้นที่ราบเชิงเขา และพื้นที่ราบชายฝั่งทะเลของภาคตะวันตก มีค่า 0.195 ± 0.034 0.080 ± 0.038 และ 0.003 ± 0.031 ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาตามรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู พบว่า โคนมที่ได้รับการเลี้ยงแบบปล่อย และแบบผูกยืนโรงมีค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับลักษณะ M305 เท่ากับ 0.090 ± 0.041 และ 0.136 ± 0.060 และเมื่อพิจารณาค่าความสามารถทางพันธุกรรมสำหรับ M305 ของพ่อพันธุ์โคนมที่ใช้ประโยชน์ในแต่ละพื้นที่ และรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูของภาคตะวันตก พบว่า ไม่มีพ่อพันธุ์โคนมตัวใดที่มีค่าความสามารถทางพันธุกรรมที่ดีเด่นกว่าพ่อพันธุ์โคนมตัวอื่นๆ ในทุกพื้นที่ หรือทุกรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู สำหรับค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสำหรับ 305 ระหว่างโคนมในพื้นที่ราบลุ่ม พื้นที่ราบเชิงเขา และพื้นที่ราบชายฝั่งทะเล รวมถึงโคนมที่ได้รับการเลี้ยงแบบปล่อยและแบบผูกยืนโรง ชี้ให้เห็นถึง อิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม

ที่เกิดขึ้นในประชากรโคนมภาคตะวันตกของประเทศไทย และเมื่อพิจารณาค่า ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างลำดับของสเปียร์แมนร่วมกับกราฟค่าความสามารถทางพันธุกรรมสำหรับ M305 ของพ่อพันธุ์โคนมที่ถูกใช้ประโยชน์ในทุกพื้นที่ และทุกรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงของระดับการแสดงออกของค่าความสามารถทางพันธุกรรม และลำดับของพ่อพันธุ์ที่ถูกใช้ประโยชน์ในเขตพื้นที่ หรือรูปแบบการจัดการเลี้ยงดูที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรพิจารณาคัดเลือกพ่อพันธุ์โคนม และจับคู่ผสมพันธุ์พ่อพันธุ์และแม่พันธุ์โคนมที่มีค่าความสามารถทางพันธุกรรมจำเพาะกับพื้นที่ หรือรูปแบบการจัดการเลี้ยงดู เพื่อเป็นการใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมของพ่อพันธุ์โคนมได้อย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยลดความเสี่ยงจากการคัดเลือกพันธุ์ที่ผิดพลาด

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.สายัณห์ บัวบาน ที่ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษารังนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่เก็บ และบันทึกข้อมูลสถิติผลผลิตน้ำนมศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพราชบุรี ตลอดจนเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมในพื้นที่จังหวัดราชบุรี, กาญจนบุรี, นครปฐม, เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการได้มาซึ่งข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. 2558. ข้อมูลเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม รายเขตปศุสัตว์และรายภาค ปี 2558. แหล่งที่มา: http://ict.dld.go.th/th2/images/stories/stat_web/yearly/2558/3.milkcow_region.pdf, 30 มีนาคม 2560.
- กรมอุตุนิยมวิทยา. 2550. ภูมิอากาศประเทศไทย. แหล่งที่มา: <http://www.tmd.go.th/info/info.php?FileID=22>, 30 มีนาคม 2560.
- ทวี อบอุ่น และสมเพชร ตัญญาภิร. 2544. การประเมินคุณค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการให้นมในโคนมพันธุ์ เอ เอฟ เอส. รายงานผลงานการวิจัยการปศุสัตว์ สาขาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์และการจัดการฟาร์ม ประจำปี 2544. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- เทพณรงค์ นพกรวิเศษ, วิศรา ไชยสาส์, และนิธินันท์ อินทร. 2550. เทคโนโลยีชีวภาพกับโคนมไทย. ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.
- ศกร คุณวุฒิฤทธิธรณ, กัญจนะ มากวิจิตร, กฤษ พจนอารี, และสิทธิพงษ์ จันทสาร. 2540. การเปรียบเทียบสมรรถภาพการปรับตัวของศักยภาพทางพันธุกรรมของพ่อพันธุ์โคนม Thai Holstein Friesian กับแหล่งพันธุกรรมพ่อพันธุ์ต่างประเทศภายใต้สภาพการเลี้ยงของประเทศไทย. น.118 - 124. ใน รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- สมศักดิ์ เปรมปรีดิ์, ศกร คุณวุฒิฤทธิธรณ, M. A. Elzo, จูรีรัตน์ แสนโกชน และ บุญอ้อม โฉมที. 2553. สหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างการผลิตน้ำนมของโคนมใน 4 ภูมิภาคของประเทศไทย. น. 134 - 141. ใน รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สมศักดิ์ เปรมปรีดิ์. 2557. อิทธิพลร่วมระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมต่อการให้ผลผลิตน้ำนมและช่วงห่างการให้ลูกของโคนมในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อามีนา แสงจันทร์ และศกร คุณวุฒิฤทธิธรณ. 2551. ลักษณะการให้ผลผลิตน้ำนมในประชากรโคนมหลากหลายพันธุ์แห่งหนึ่งในเขตภาคกลางของประเทศไทย, น.170 - 178. ใน รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่.46 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- Chanvijit, K. 2006. Genetic Estimation of Milk Production by Model Including Effects of Genetic $\times$ Environment Interaction in Purebred and Crossbred Holstein Friesian. Ph.D. thesis, Khon Kaen University.
- Cienfuegos-Rivas, E. G., P. O Oltenacu, R. W. Blake, S. J. Schwager, H. Castillo-Juarez, and F. J. Ruiz. 1999. Interaction between milk yield of Holstein cows in Mexico and the United States. J. Dairy Sci. 82: 2218 - 2223.
- Falconer, D. S. and T. F. Mackay. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. 4th edition. Longman Group, Essex.
- Gilmour, A. R., B. R. Cullis, S. J. Welham, and R. Thompson. 2001. ASREML reference manual. NSW Agriculture, Australia.
- Hammami, H., B. Rekik, H. Soyeurt, C. Bastin, J. Stoll, and N. Gengler. 2008. Genotype $\times$ environment interaction for milk yield in Holstein using Luxembourg and Tunisian population. J. Dairy Sci. 91: 3661 - 3671.
- Henderson, C. R. 1975. Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. Biometrics. 31: 423 - 448.
- Kadarmideen, H. N., R. Thompson, M. P. Coffey and M. A Kossaibati. 2003. Genetic parameters and evaluations from single- and multiple- trait analysis of dairy cow fertility and milk production. Lives. Prod. Sci. 81: 183 - 195.
- Koonawootrittriron, S. 2003. Influence of sire on genetic improvement for 305-d milk yield of dairy cattle in a Thai multibreed dairy population. Animal Breeding Mimeo Series No.5, Kasetsart University, Bangkok, p 1 - 10.
- Lin, C. Y. and K. Togashi. 2002. Genetic improvement in the presence of genotype by environment interaction. Anim. Sci. J. 73: 3 - 11.

- Perez-Cabal, M. A., C. Garcia, O. Gonzalez-Recio and R. Alenda. 2006. Genetic and phenotypic relationships among locomotion type traits, profit, production, longevity and fertility in Spanish dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 89: 1776 - 1783.
- Page, E.B. 1963. Ordered hypotheses for multiple treatments: A significance test for linear ranks. *J. Amer. Stats. Associ.* 58 (301): 216 - 230.
- Rutherford, S. L. and S. Linquist. 1998. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature* 396: 336 - 342.
- Searle, S. R. 1982. *Matrix Algebra Useful for Statistics*. John Wiley & Sons Inc.
- Stanton, T. L., R. W. Blake and R. L. Quaas. 1991. Genotype by environment interaction for Holstein for milk yield in Columbia, Mexico and Puerto Rico. *J. Dairy Sci.* 74: 1700 - 1714.
- Ugarte, E., R. Alenda and M. J. Carabano. 1991. Fixed or random contemporary groups in genetic evaluations. *J. Dairy Sci.* 75: 269 - 278.
- Westell, R. A., R. L. Quaas, and D. Van Vleck. 1988. Genetic groups in an animal model. *J. Dairy Sci.* 71: 1310 - 1318.
- Yodklaew, P., S. Koonawootrittriron, M. A. Elzo and T. Suwanasopee. 2013. Impact of sire by region interaction on first-lactation traits of dairy cows raised under tropical conditions in Thailand. *J. Dairy Sci.* 96 (E-Suppl.1): 289.

แนวโน้มนำทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะการให้ผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนมของโคนมลูกผสม โฮลสไตน์ฟรีเชียนในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทย

เริงวุฒิ วรวุฒิ¹ สมศักดิ์ เปรมปรีดี²

บทคัดย่อ

ค่าอัตราพันธุกรรม และค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม สำหรับลักษณะปริมาณผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนม ถูกประมาณค่าโดยใช้ข้อมูลพันธุ์ประวัติ ปริมาณผลผลิตน้ำนมรวมที่ 305 วัน (M305) เปอร์เซ็นต์ไขมันนม (PFAT) เปอร์เซ็นต์โปรตีนนม (PPRO) และเปอร์เซ็นต์ธาตุนมรวม (PTS) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน จำนวน 3,110 ตัว ที่คลอดลูก และให้ผลผลิตระหว่างปี 2543 ถึง 2559 ในฟาร์มเกษตรกร 428 ราย ในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทย หุ่นจำลองทางพันธุกรรมที่ใช้ในการศึกษา คือ multiple-traits animal model with repeated traits โดยพิจารณา กลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบ (ฟาร์ม-ปี-ฤดูกาลเมื่อคลอด) ลำดับการให้ลูก อายุเมื่อคลอดลูก กลุ่มพันธุ์ และระดับของเฮเทอโรซิสเป็นปัจจัยกำหนด และมีตัวสัตว์ permanent environment และ residual effect เป็นปัจจัยสุ่ม ค่าองค์ประกอบความแปรปรวนจะถูกประมาณค่าด้วยวิธี AI-REML และนำมาประมาณค่าอัตราพันธุกรรมและค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะ M305, PFAT, PPRO, และ PTS ค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับลักษณะ M305, PFAT, PPRO, และ PTS มีค่าเท่ากับ 0.129, 0.041, 0.102 และ 0.079 ตามลำดับ ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างลักษณะปริมาณผลผลิตน้ำนม และค่าองค์ประกอบน้ำนมมีค่าอยู่ในช่วง - 0.219 สำหรับ M305-PTS ถึง -0.384 สำหรับ M305-PFAT และค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างค่าองค์ประกอบน้ำนมมีค่าอยู่ในช่วง 0.495 สำหรับ PFAT-PPRO ถึง 0.989 สำหรับ PFAT-PTS ค่าแนวโน้มนำทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะ M305 ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนในพื้นที่ภาคตะวันตก มีค่าเพิ่มในอัตรา 7.61 กิโลกรัมต่อปี ในขณะที่ลักษณะองค์ประกอบน้ำนมมีค่าเข้าใกล้ศูนย์ ซึ่งให้เห็นถึงแนวทางการปรับปรุงพันธุ์โดยพิจารณาคัดเลือกโคนมพ่อ-แม่พันธุ์ที่มีความดีเด่นด้านลักษณะปริมาณการให้ผลผลิตน้ำนมเพียงอย่างเดียว จะส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบน้ำนม ดังนั้นการสร้างดัชนีการคัดเลือกจึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมสำหรับการคัดเลือกโคนมพ่อ-แม่พันธุ์ที่พันธุกรรมดีเด่นด้านลักษณะปริมาณผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนมได้พร้อมกันอีกควบคู่ไปกับการปรับปรุงการจัดการเลี้ยงดู และการจัดการอาหารของเกษตรกร

คำสำคัญ: โคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน ค่าแนวโน้มนำทางพันธุกรรม ผลผลิตน้ำนม องค์ประกอบของ น้ำนม

เลขทะเบียนผลงานวิชาการ: 60(2)-0208-036

¹ ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพราชบุรี ต.หนองโพ อ.โพธาราม จ.ราชบุรี 70120

² สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ จ.ปทุมธานี 12000

Genetic Trend for Milk Yield and Milk Composition of Holstein Friesian Crossbred Dairy Cattle in Western Part of Thailand

Roengwut Worawut¹ Somsak Prempre²

Abstract

Heritability and genetic correlation for milk production and milk composition were estimated using accumulated data of 305 days milk yields (M305), milk fat percentage (PFAT), milk protein percentage (PPRO), and total solid percentage (PTS) from 3,110 Holstein Friesian crossbred cows that calved and milked between 2000 to 2016 in 428 farms located in western part of Thailand. The multiple-traits animal model with repeated traits considered contemporary group (herd-year-season of calving), lactation number, regression on calving age, breed groups, and regression on heterosis as fixed effects and the random effects were animal, permanent environment and residual. Variance components were estimated using AI-REML procedure. Heritability estimates for M305, PFAT, PPRO, PSNF and PTS were 0.129, 0.041, 0.102, and 0.079, respectively. Genetic correlation among milk yield and milk composition traits ranged from - 0.159 (M305-PSNF) to - 0.384 (M305-PFAT) and range from 0.495 (PFAT-PPRO) to 0.989 (PFAT-PTS) among milk composition traits. Genetic trend for M305 was 7.61 kg per year and genetic trend for milk composition were all nearly zero. Breeding program that base on outstanding in milk production dairy cattle will effect on milk composition. The selection index is recommended to be used for sire and dam selection to optimize genetic gain for multiple traits selection in western Thailand dairy cattle genetic improvement.

Key words : Holstein freesian crossbred, Genatic trend, Milk yield, Milk composition

Registered No. : 60(2)-0208-036

¹ Ratchaburi Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Nongpho, Photharam, Ratchaburi, 70120

² Bureau of Biotechnology in Livestock Production, Department of Livestock Development, Patumthani, 12000

คำนำ

ปัจจุบันเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมได้ให้ความสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมของโคนมภายในฟาร์ม ทั้งในด้านปริมาณผลผลิตน้ำนมและองค์ประกอบของน้ำนม โดยเฉพาะองค์ประกอบของน้ำนม เนื่องจากถูกนำมาใช้เป็นเงื่อนไข และกำหนดราคาในการรับซื้อผลผลิตน้ำนม โดยใช้มาตรฐานคุณภาพน้ำนมดิบที่กำหนดโดยกรมปศุสัตว์ (2546) และสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช., 2548) ทั้งนี้ในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมของโคนมภายในฟาร์ม นอกจากการปรับปรุงการจัดการเลี้ยงดู และการจัดการด้านอาหารแล้ว การปรับปรุงพันธุกรรมของแม่โคนมภายในฟาร์มก็เป็นอีกแนวทางหนึ่งในเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมทั้งด้านปริมาณผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบของน้ำนม โดยเกษตรกรได้มีการคัดเลือกพ่อพันธุ์โคนมที่มีพันธุกรรมดีเด่นทั้งด้านการให้ผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนมจากแหล่งพันธุกรรมต่าง ๆ มาใช้ในการปรับปรุงพันธุกรรมของโคนมภายในฟาร์ม ซึ่งจากการพัฒนาพันธุกรรมของแม่โคนมมาอย่างต่อเนื่อง จึงส่งผลให้โคนมในประเทศไทยมีปริมาณผลผลิตน้ำนมรวมที่ 305 วัน $3,927.38 \pm 1,023.18$ กิโลกรัม และให้ผลผลิตน้ำนมที่มีไขมันนม 3.54 ± 0.73 % และโปรตีนนม 3.12 ± 0.44 % (กรมปศุสัตว์, 2559)

ทั้งนี้เนื่องจากพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทย จัดเป็นพื้นที่ที่มีการเลี้ยงโคนมที่มีขนาดใหญ่อีกพื้นที่หนึ่งของประเทศไทย มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง และเป็นพื้นที่ที่มีการพัฒนาและปรับปรุงพันธุกรรมโคนมในพื้นที่มาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งการประเมินแนวโน้มทางพันธุกรรมถือเป็นดัชนีชี้วัดตัวหนึ่งที่ใช้ประกอบการวางแผนและประเมินผลการพัฒนาศักยภาพการผลิตที่แสดงออกทางพันธุกรรม (genetic ability) ของโคนมในประชากร รูปแบบของการเปลี่ยนแปลงในทางพันธุกรรมสำหรับการให้ผลผลิตสามารถชี้ให้เห็นถึงสภาวะการณ์ที่เป็นผลมาจากการคัดเลือกโคพ่อ-แม่พันธุ์เพื่อการผสมพันธุ์ในรุ่นก่อนหน้า (ศกรและคณะ, 2547) การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาค่าแนวโน้มทางพันธุกรรมสำหรับการให้ผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบของน้ำนมของประชากรโคนมที่ได้รับการเลี้ยงดูภายใต้สภาพแวดล้อมของภาคตะวันตกของประเทศไทย เพื่อให้สามารถวางแผน และกำหนดแนวทางการปรับปรุงพันธุกรรมได้อย่างเหมาะสม

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ข้อมูลพันธุ์ประวัติ ปริมาณผลผลิตน้ำนมรวมที่ 305 วัน (M305) เปอร์เซ็นต์ไขมันนม (PFAT) เปอร์เซ็นต์โปรตีนนม (PPRO) และเปอร์เซ็นต์ธาตุนมรวม (PTS) ที่ผ่านการตรวจสอบความสมบูรณ์ของข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาและความเชื่อมโยงระหว่างกลุ่มพันธุกรรมที่ใช้ในการเปรียบเทียบ ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียน จำนวน 3,110 ตัว ที่คลอดลูกและให้ผลผลิตระหว่างปี พ.ศ. 2543 ถึง 2559 ที่ได้รับการเลี้ยงดูในฟาร์มเกษตรกรจำนวน 428 ราย ในพื้นที่จังหวัดราชบุรี, กาญจนบุรี, นครปฐม, เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ (Table 1) ที่รวบรวมไว้ในระบบฐานข้อมูลของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ถูกกาลถูกจำแนกเป็นฤดูร้อน (เดือนมีนาคมถึงมิถุนายน) ฤดูฝน (เดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม) และฤดูหนาว (เดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์) และ โคที่คลอดลูกในฟาร์ม ปี และฤดูกาลเดียวกันถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบ (contemporary group) เดียวกัน

Table 1 Descriptive statistics for M305, PFAT, PPRO, and PTS of Holstein Friesian crossbred cows in western part of Thailand

Traits	No. Cows	No. Records	Mean $\pm$ SD	Min	Max
M305 (kg)	3,110	6,929	3,892.24 $\pm$ 966.36	1,037.56	7,697.05
PFAT (%)	3,090	6,876	3.55 $\pm$ 0.64	1.51	5.99
PPRO (%)	3,103	6,905	3.12 $\pm$ 0.25	2.51	4.00
PTS (%)	3,109	6,882	11.96 $\pm$ 0.76	9.60	14.38

ลำดับการให้ลูกได้จำแนกเป็นกลุ่มตามลำดับการให้ลูก จำนวน 3 กลุ่ม ซึ่งโคนมที่มีลำดับการให้ลูกเกินกว่า 3 ครั้ง จะถูกตัดออกจากชุดข้อมูลที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ อายุเมื่อคลอดลูกจะถูกจำแนกตามจำนวนปีของอายุ โดยโคนมที่มีอายุเมื่อคลอดลูกน้อยกว่า 2 ปี จะถูกตัดออกจากชุดข้อมูล

กลุ่มพันธุ์ (breed group; BG) ถูกจำแนกตามระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ (Holstein's breed fraction; H) จำนวน 4 กลุ่ม ประกอบด้วย BG1 ($HF < 81.25\%$), BG2 ($81.25 \leq HF < 87.5\%$), BG3 ($87.5 \leq HF < 93.75\%$), และ BG4 ($HF \geq 93.75\%$) ระดับของเฮเทอโรซิส (heterosis; Het) จะมีค่าตั้งแต่ 0.00 ถึง 1.00 สามารถคำนวณได้จากสัดส่วนทางพันธุกรรมของพ่อและแม่โคนมแต่ละตัว ดังสมการ

$$Het = \frac{(SH \times DO) + (DH \times SO)}{256 \times 256}$$

โดย

SH	=	ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ของโคพ่อพันธุ์
SO	=	ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์อื่นของโคพ่อพันธุ์
DH	=	ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์โฮลสไตน์ของโคแม่พันธุ์
DO	=	ระดับสายเลือดของโคนมพันธุ์อื่นของโคแม่พันธุ์
256	=	ผลรวมของสัดส่วนทางพันธุกรรมของโคแต่ละตัว

หุ่นจำลองทางพันธุกรรมที่ใช้ในการศึกษามีลักษณะเป็น multiple-traits animal model with repeated traits โดยมีกลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบ ลำดับการให้ลูก อายุเมื่อคลอดลูก (เดือน) กลุ่มพันธุ์ และระดับของเฮเทอโรซิส เป็นปัจจัยกำหนด (fixed effects) และมีพันธุกรรมแบบบวกสะสมของสัตว์แต่ละตัว permanent environment และ residual effect เป็นปัจจัยสุ่ม (random effects) โดยสามารถเขียนอธิบายได้ดังนี้

$$y = Xb + Z_{gb}g_b + Z_{gn}g_n + Z_ag_a + I_{ep}e_p + e$$

เมื่อ

y	=	เวคเตอร์ของ M305, PFAT, PPRO, PSNF และ PTS ของสัตว์แต่ละตัว
b	=	เวคเตอร์ของกลุ่มการจัดการที่ใช้ในการเปรียบเทียบ ลำดับการให้ลูก และอายุเมื่อคลอดลูก
g _b	=	เวคเตอร์ของกลุ่มพันธุ์
g _n	=	เวคเตอร์ของระดับเฮเทอโรซิส
g _a	=	เวคเตอร์ของอิทธิพลจาก additive genetic effect ของสัตว์แต่ละตัว
e _p	=	เวคเตอร์ของ permanent environment ของสัตว์แต่ละตัว
e	=	เวคเตอร์ของความคลาดเคลื่อนสุ่ม (residual effect)
X	=	เมทริกซ์ที่เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเวคเตอร์ y ไปยังปัจจัยต่างๆ ในเวคเตอร์ b ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์แต่ละตัว
Z _{gb}	=	เมทริกซ์ที่เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเวคเตอร์ y ไปยังปัจจัยต่างๆ ในเวคเตอร์ g _b ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์แต่ละตัว
Z _{gn}	=	เมทริกซ์ที่เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเวคเตอร์ y ไปยังปัจจัยต่างๆ ในเวคเตอร์ g _n ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์แต่ละตัว
Z _a	=	เมทริกซ์ที่เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเวคเตอร์ y ไปยังปัจจัยต่างๆ ในเวคเตอร์ g _a ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์แต่ละตัว
I _{ep}	=	เมทริกซ์ที่เชื่อมโยงความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลในเวคเตอร์ y ไปยังปัจจัยต่างๆ ในเวคเตอร์ e _p ที่เกี่ยวข้องกับสัตว์แต่ละตัว

ทั้งนี้ กำหนดให้

$$\begin{bmatrix} y \\ g_a \\ e_p \\ e \end{bmatrix} \sim \text{MVN} \left(\begin{bmatrix} x\beta \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} Z_a G_a Z_a' + E_p + R & Z_a G_a & E_p & R \\ & G_a Z_a' & G_a & 0 \\ & E_p & 0 & E_p \\ & R & 0 & 0 \end{bmatrix} \right)$$

เมื่อ	G _a	=	G ₀ ⊗ A เมื่อ G ₀ เป็นเมทริกซ์ความแปรปรวนร่วมทางพันธุกรรมแบบบวกสะสม, A เป็นเมทริกซ์ความสัมพันธ์ทางเครือญาติของสัตว์ในประชากร (Henderson, 1975) และ ⊗ เป็นการคำนวณแบบ direct product ระหว่างเมทริกซ์ (Searle, 1982)
ทุกตัว	E _p	=	E _{p0} ⊗ I เมื่อ E _{p0} เมทริกซ์ความแปรปรวนของ permanent environment
	R	=	R ₀ ⊗ I เมื่อ R ₀ เมทริกซ์ความแปรปรวนของความคลาดเคลื่อนสุ่ม

ค่าองค์ประกอบความแปรปรวน (พันธุกรรม และสิ่งแวดล้อม) สำหรับลักษณะ M305, PFAT, PPRO, และ PTS จะถูกประมาณค่าด้วยวิธี Restricted Maximum Likelihood procedure (REML) ที่ใช้กลวิธีการคำนวณค่าแบบ Average Information (AI) โดยโปรแกรม ASREML (Gilmour *et al.*, 2001) จากนั้นองค์ประกอบความแปรปรวนที่ประมาณค่าได้จะถูกนำมาคำนวณค่าอัตราพันธุกรรม (heritability; h^2) และสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (genetic correlation; r_g) ค่าความสามารถทางพันธุกรรม (Estimated Breeding Value; EBV) สามารถคำนวณค่าได้จากผลรวมระหว่างค่าเฉลี่ยของค่าความสามารถทางพันธุกรรมของโคนมในกลุ่มพันธุกรรมเดียวกัน และค่าเบี่ยงเบนของความสามารถทางพันธุกรรมของโคนมที่ถูกพิจารณา (Westell *et al.*, 1988)

ค่าความสามารถทางพันธุกรรมที่ถูกทำนายค่าลักษณะ M305, PFAT, PPRO, และ PTS ของแม่โครีดนมแต่ละตัวถูกนำมาคำนวณค่าเฉลี่ยแบบ Least Square จำแนกตามปีที่เกิด เพื่อนำมาคำนวณค่าสัมประสิทธิ์รีเกรสชัน (regression coefficient; b) สำหรับการพิจารณาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงในความสามารถที่แสดงออกทางพันธุกรรมในสมการเชิงถดถอย ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS (SAS, 2004)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับลักษณะ M305, PFAT, PPRO, และ PTS (Table 2) ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียนในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทย มีค่าเท่ากับ 0.129, 0.041, 0.102, 0.076 และ 0.079 ตามลำดับ โดยค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับลักษณะ M305 ที่คำนวณได้จากการศึกษาครั้งนี้มีค่าอยู่ในช่วงของค่าอัตราพันธุกรรมที่รายงานไว้ในประชากรโคนมอื่นๆ (0.10 ถึง 0.43; จินตนา และวิสุทธิ, 2541; ทวี และสมเพชร, 2544; Dematawewa and Berger, 1998; Kadarmideen and Wegmann, 2003) ในขณะที่พบว่า ลักษณะ PFAT, PPRO, และ PTS มีค่าอัตราพันธุกรรมกว่าช่วงของค่าอัตราพันธุกรรมที่รายงานไว้ในประชากรโคนมอื่นๆ (0.15 ถึง 0.60 สำหรับ PFAT, 0.15 ถึง 0.79 สำหรับ PPRO, และ 0.26 ถึง 0.58 สำหรับ PTS; กรมปศุสัตว์, 2559; Gacula Jr. *et al.*, 1968; Gaunt *et al.*, 1968; Castillo-Juarez *et al.*, 2002; Chongkasikit *et al.*, 2002; Koonawootrittriron *et al.*, 2009) ทั้งนี้เนื่องจากค่าอัตราพันธุกรรมสำหรับทุกลักษณะที่ทำการศึกษาในครั้งนี้มีค่าในระดับปานกลาง จนถึงระดับต่ำ ลักษณะดังกล่าวชี้ให้เห็นถึงสัดส่วนของความผันแปรทางพันธุกรรมที่มีค่าน้อยกว่าความผันแปรของลักษณะที่ปรากฏของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเซียนในพื้นที่ภาคตะวันตก ซึ่งอาจเป็นผลมาจากแนวทางการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ของเกษตรกร จะให้ความสำคัญกับการเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำนมเป็นหลัก ส่งผลให้พ่อพันธุ์ที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในฟาร์มส่วนใหญ่เป็นพ่อพันธุ์ที่มีความดีเด่นด้านการให้ผลผลิตน้ำนม ทำให้แม่โคนมในพื้นที่จึงมีความสามารถทางพันธุกรรมทางใกล้เคียงกัน

Table 2 Heritability (diagonal) and genetic correlation (above diagonal) of M305, PFAT, PPRO, and PTS of Holstein Friesian crossbred cows in western part of Thailand

Traits	M305	PFAT	PPRO	PTS
M305	0.129	- 0.384	- 0.369	- 0.219
PFAT		0.041	0.495	0.989
PPRO			0.102	0.932
PTS				0.079

ค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะ M305 (Table 2) มีค่าสหสัมพันธ์ในเชิงลบกับลักษณะ PFAT (-0.384), PPRO (- 0.369), และ PTS (- 0.219) โดยระดับของค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะปริมาณผลผลิตน้ำนม (M305) กับองค์ประกอบน้ำนม (PFAT, PPRO, และ PTS) จากการศึกษาก่อนหน้านี้มีค่าอยู่ในระดับปานกลาง และมีค่าใกล้เคียงกับค่าสหสัมพันธ์ที่รายงานไว้ในประชากรโคนมอื่นๆ (- 0.17 ถึง - 0.54; Gaunt et al., 1968; Moya et al., 1985; Chauhan and Hayes, 1991; Castillo-Juarez et al., 2002) ขณะที่ลักษณะ PFAT ค่าสหสัมพันธ์ในเชิงบวกกับลักษณะ PPRO (0.495), และ PTS (0.989) เช่นเดียวกับค่าสหสัมพันธ์สำหรับลักษณะ PPRO กับลักษณะ PTS (0.932) ซึ่งระดับของค่าสหสัมพันธ์สำหรับลักษณะองค์ประกอบน้ำนมแต่ละลักษณะมีค่าอยู่ในระดับที่สูง และมีค่าใกล้เคียงกับค่าสหสัมพันธ์ที่รายงานไว้ในประชากรโคนมอื่นๆ (0.63 ถึง 0.95; Moya et al., 1985; Chauhan and Hayes, 1991; Castillo-Juarez et al., 2002)

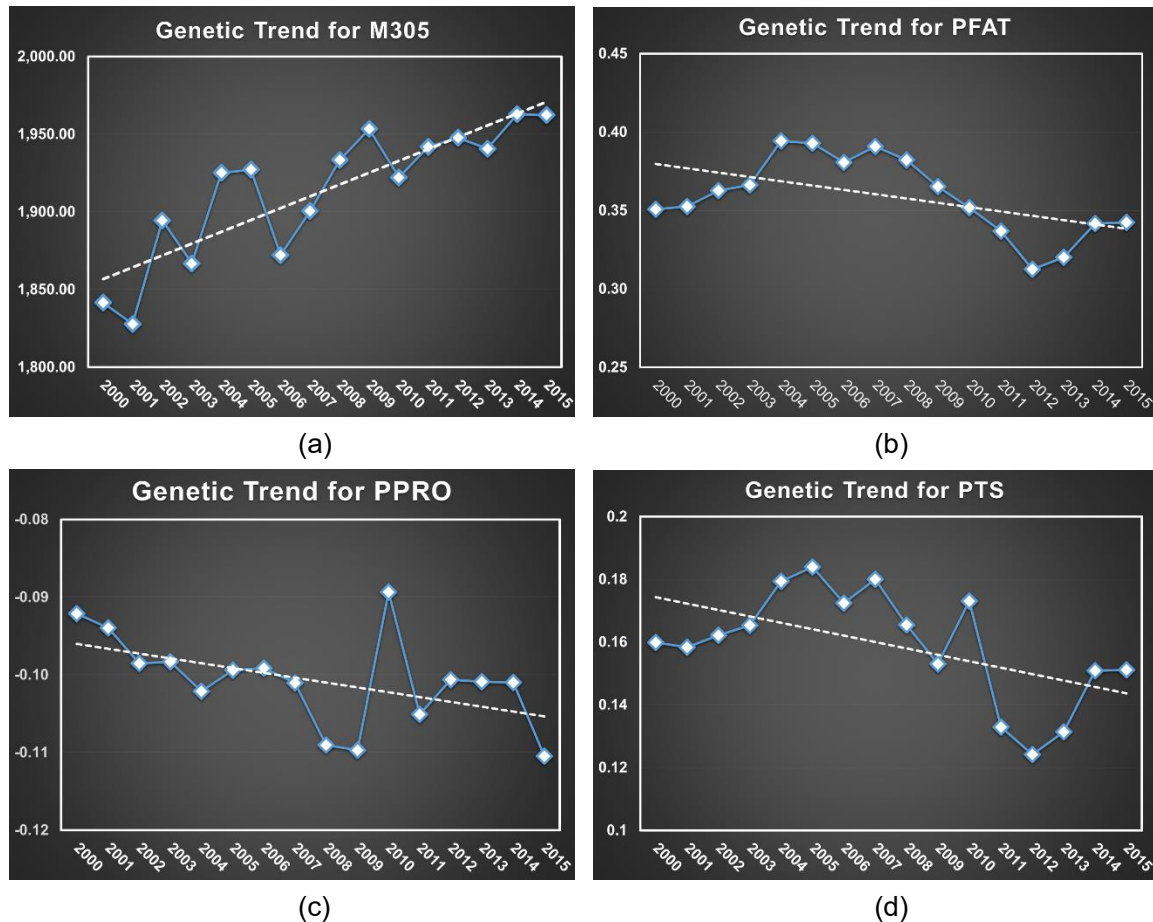


Figure 1 Genetic trend for M305 (a), PFAT (b), PPRO (c), and PTS (d) of Holstein Friesian crossbred cows in western part of Thailand

สำหรับค่าแนวโน้มทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะ M305 ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรียเซียนในพื้นที่ภาคตะวันตก มีค่าเพิ่มในอัตรา 7.61 กิโลกรัมต่อปี ($p < 0.01$) การเพิ่มขึ้นของค่าแนวโน้มทางพันธุกรรมสำหรับ M305 มีค่าใกล้เคียงกับรายงานค่าแนวโน้มทางพันธุกรรมสำหรับลักษณะปริมาณผลผลิตน้ำนมที่ 305 วัน โคนมในประเทศไทย (6.89 - 7.95 กิโลกรัมต่อปี; กรมปศุสัตว์, 2559; Koonawootrittriron *et al.*, 2009) ในขณะที่ลักษณะองค์ประกอบน้ำนม(PFAT, PPRO, and PTS) มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ (-0.003% , -0.001% , และ -0.002% ต่อปี ตามลำดับ; $p < 0.01$) สอดคล้องกับการศึกษาของ Koonawootrittriron *et al.* (2009) ในประชากรโคนมในพื้นที่ภาคกลางของประเทศไทยที่พบว่า ค่าแนวโน้มทางพันธุกรรมมีค่าเข้าใกล้ศูนย์สำหรับลักษณะเปอร์เซ็นต์ไขมันนม ซึ่งให้เห็นถึงรูปแบบการปรับปรุงพันธุ์โคนมในภาคตะวันตกที่ให้ความสำคัญกับการเลือกใช้พ่อพันธุ์ที่มีความดีเด่นด้านการให้ผลผลิตน้ำนม เพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตน้ำนมของโคนมภายในฟาร์มมากกว่าการพิจารณาเลือกใช้พ่อพันธุ์ที่มีความดีเด่นด้านองค์ประกอบน้ำนม ทั้งนี้ แนวทางการปรับปรุงพันธุ์โดยพิจารณาคัดเลือกโคนมพ่อ-แม่พันธุ์ที่มีความดีเด่นด้านลักษณะปริมาณการให้ผลผลิตน้ำนมเพียงอย่างเดียว เพื่อปรับปรุงพันธุกรรมโคนมภายในฟาร์มจะส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบน้ำนม ทั้งนี้ในปัจจุบันระบบการรับซื้อ น้ำนมดิบได้มีการนำองค์ประกอบน้ำนมมาร่วมในการพิจารณารับซื้อด้วย ดังนั้นการสร้างดัชนีการคัดเลือก (selection index) โดยใช้มูลค่าทางเศรษฐกิจของแต่ละลักษณะ

เป็นตัวถ่วงน้ำหนัก (economic weight) จึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมสำหรับการคัดเลือกโคนมฟอ-แม่พันธุ์ที่พันธุ์กรรมดีเด่นด้านลักษณะปริมาณผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนมได้พร้อมกัน

สรุปผลการทดลอง

ค่าอัตราพันธุ์กรรมสำหรับลักษณะ M305, PFAT, PPRO, PSNF และ PTS ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนในพื้นที่ภาคตะวันตกของประเทศไทย มีค่าเท่ากับ 0.129, 0.041, 0.102, 0.076 และ 0.079 ตามลำดับ ลักษณะปริมาณผลผลิตน้ำนมมีค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุ์กรรมในเชิงลบกับลักษณะค่าองค์ประกอบน้ำนม(- 0.159 ถึง -0.384) ขณะที่ลักษณะค่าองค์ประกอบน้ำนมแต่ละลักษณะมีค่าสหสัมพันธ์ทางพันธุ์กรรมในเชิงบวก (0.495 ถึง 0.989) ค่าแนวโน้มทางพันธุ์กรรมสำหรับลักษณะ M305 ของโคนมลูกผสมโฮลสไตน์ฟรีเชียนในพื้นที่ภาคตะวันตก มีค่าเพิ่มในอัตรา 7.61 กิโลกรัมต่อปี ในขณะที่ลักษณะองค์ประกอบน้ำนมมีค่าเข้าใกล้ศูนย์ ซึ่งให้เห็นถึงแนวทางการปรับปรุงพันธุ์โดยพิจารณาคัดเลือกโคนมฟอ-แม่พันธุ์ที่มีความดีเด่นด้านลักษณะปริมาณการให้ผลผลิตน้ำนมเพียงอย่างเดียว จะส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบน้ำนม ดังนั้นการสร้างดัชนีการคัดเลือก (selection index) โดยใช้มูลค่าทางเศรษฐกิจของแต่ละลักษณะเป็นตัวถ่วงน้ำหนัก (economic weight) จึงเป็นแนวทางที่เหมาะสมสำหรับการคัดเลือกโคนมฟอ-แม่พันธุ์ที่พันธุ์กรรมดีเด่นด้านลักษณะปริมาณผลผลิตน้ำนม และองค์ประกอบน้ำนมได้พร้อมกัน

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.สายัณห์ บัวบาน ที่ให้คำปรึกษาและข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษารั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่เก็บ และบันทึกข้อมูลสถิติผลผลิตน้ำนมศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพราชบุรี ตลอดจนเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมในพื้นที่จังหวัดราชบุรี, กาญจนบุรี, นครปฐม, เพชรบุรี และประจวบคีรีขันธ์ทุกท่านที่มีส่วนร่วมในการได้มาซึ่งข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. 2546. ระเบียบมาตรฐานฟาร์มโคนมและการผลิตน้ำนมดิบของประเทศไทย พ.ศ. 2542. ส่วนมาตรฐานการด้านปศุสัตว์ สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์. กรุงเทพฯ
- กรมปศุสัตว์. 2559. สมุดฟอพันธุ์โคนม 2558. สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์, กรุงเทพฯ
- จินตนา วงศ์นากนกร และวิสุทธิ์ หิมารัตน์. 2541. การประมาณค่าอัตราพันธุ์กรรมของลักษณะการให้ผลผลิตน้ำนมโคนมขาว - ดำ ที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์เชียงใหม่. รายงานผลงานการวิจัยการปศุสัตว์ สาขาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์และการจัดการฟาร์ม ประจำปี 2541. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- ทวี อบอุ่น และสมเพชร ตัญคำภีร์. 2544. การประเมินคุณค่าการผสมพันธุ์ของลักษณะการให้นมในโคนมพันธุ์เอ เอฟ เอส. รายงานผลงานการวิจัยการปศุสัตว์ สาขาการปรับปรุงพันธุ์สัตว์และการจัดการฟาร์ม ประจำปี 2544. กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

- ศกร คุณวุฒิฤทธิธรณ, M.A. Elzo, พรณวดี โสพรรณรัตน์, ศรเทพ รัชวาสร, ธรรมนุญ ทองประไพ, โชคชัย ชัยมงคล และโกวิทย์ นิธิชัย. 2547. กรณีศึกษา: แนวโน้มความสามารถภายนอกและทางพันธุกรรมสำหรับการให้ผลผลิตน้ำนมครั้งแรกของโคนมในประชากรหลากหลายพันธุ์แห่งหนึ่งของประเทศไทย. น. 41-46. ใน รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2548. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหาร น้ำนมดิบ. มกอช.6003-2548
- Castillo-Juarez, H., P. A. Oltenacub, and E. G. Cienfuegos-Rivas. 2002. Genetic and phenotypic relationships among milk production and composition traits in primiparous Holstein cows in two different herd environments. *Lives. Prod. Sci.* 78: 223-231.
- Chauhan, V. P. S., and J. F. Hayes. 1991. Genetic parameters for first lactation milk production and composition traits for Holsteins using multivariate restricted maximum likelihood. *J. Dairy Sci.* 74: 603-610.
- Chongkasikit, N., T. Vearasilp, and U. ter Meulen. 2002. Heritability estimates of protein %, fat %, lactose %, non fat solids and total solids of dairy cattle in northern Thailand. In Conference on International Agricultural Research for Development. 9-11 October 2002, Witzenhausen, Germany.
- Gacula Jr., M. C., S. N. Gaunt, and R. A. Damon Jr. 1968. Genetic and environmental parameters of milk constituents for five breeds. II. Some genetic parameters. *J. Dairy Sci.* 51: 438-444.
- Gaunt, S. N., C. J. Wilcox, B. R. Farthing, and N. R. Thompson. 1968. Genetic interrelationships of Holstein milk composition and yield. *J. Dairy Sci.* 51: 1396-1402.
- Gilmour, A. R., B. R. Cullis, S. J. Welham, and R. Thompson. 2001. ASREML reference manual. NSW Agriculture, Australia.
- Henderson, C. R. 1975. Best linear unbiased estimation and prediction under a selection model. *Biometrics.* 31: 423-448.
- Koonawootrittriron, S., M.A. Elzo, and T. Thongprapi. 2009. Genetic trends in a Holstein × other breeds multibreed dairy population in Central Thailand. *Livest. Sci.* 122: 186 - 192.
- Moya, J., C. J. Wilcox, K. C. Bahman, and F. G. Martin. 1985. Genetic trends in milk yield and composition in subtropical dairy herd. *Rev. Bras. Genet.* VII: 509-521.
- SAS. 2004. SAS 9.13 Help and documentation. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Searle, S. R. 1982. Matrix Algebra Useful for Statistics. John Wiley & Sons Inc.
- Westell, R. A., R. L. Quaas, and D. Van Vleck. 1988. Genetic groups in an animal model. *J. Dairy Sci.* 71: 1310 - 1318.

ประสิทธิภาพการผลิตตัวอ่อนโดยวิธีปฏิสนธินอกร่างกายด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งโคברהมันแดง
ที่มี motility ต่ำกว่า 40 เปอร์เซ็นต์

มาลี อภิเมธีธำรง^{1/} อนนท์ เทืองสันเทียะ^{1/} สราวุธ ฉายประสาท^{2/} ณรงค์ เลี้ยงเจริญ^{3/}

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการผลิตตัวอ่อนจากน้ำเชื้อแช่แข็งโคברהมันแดงที่มี motility ต่ำกว่า 40% โดยใช้วิธีปฏิสนธินอกร่างกายกับโอโอไซต์ที่เก็บจากแม่โคพันธุ์บราห์มันผ่านทางผนังช่องคลอดใช้น้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์โคברהมันแดง 2 ตัวคือ RAB 280 และ RAB 102 ที่มี motility หลังละลายต่ำกว่า 40% (5-35%) ผลผลิตที่ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อโคพันธุ์โครงการหลวงอินทนนท์ จ.เชียงใหม่ นำมาเข้ากระบวนการผลิตตัวอ่อนด้วยวิธีปฏิสนธินอกร่างกาย โดยก่อนผสมกับโอโอไซต์ที่เจริญพร้อมปฏิสนธิตรวจสอบคุณภาพด้านต่างๆของตัวอสุจีก่อนและหลัง swim-up เลี้ยงตัวอ่อนนาน 7-8 วัน บันทึกการเจริญของตัวอ่อนถึงระยะบลาสโตซิสต์ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบคุณภาพของน้ำเชื้อด้านต่างๆ ก่อนและหลัง swim-up ด้วยวิธี paired T-test แสดงข้อมูลเป็น % mean±S.E. พบว่าน้ำเชื้อแช่แข็งโคברהมันแดง RAB 280 มีค่าเฉลี่ย % motility (26.76 ± 2.18 % vs 47.65 ± 1.97 %) และตัวอสุจิมีชีวิต (31.45 ± 3.24 % vs 64.34 ± 3.26 %) หลัง swim-up สูงกว่าก่อน swim-up แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ความสมบูรณ์ของผนังเซลล์ตัวอสุจิ (26.87 ± 1.65 % vs 32.41 ± 1.99 %) และมีอะโครโซมปกติ (27.66 ± 1.37 % vs 41.82 ± 2.47 %) แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ความสมบูรณ์ของผนังเซลล์ตัวอสุจิและตัวอสุจิมียะโครโซมปกติก่อนและหลัง swim-up จากการทดลองปฏิสนธินอกร่างกาย 12 ครั้ง ได้ตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ 24 ตัวอ่อน สำหรับน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อโคברהมันแดง RAB 102 พบว่าค่าเฉลี่ย % motility (20.00 ± 5.77 % vs 36.67 ± 3.33 %) ตัวอสุจิมีชีวิต (21.72 ± 3.11 % vs 44.05 ± 5.25 %) ความสมบูรณ์ของผนังเซลล์ตัวอสุจิ (27.11 ± 2.01 % vs 34.89 ± 5.79 %) และมีอะโครโซมปกติ (25.83 ± 2.13 % vs 32.22 ± 2.22 %) ก่อนและหลัง swim-up แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) จากการทดลองปฏิสนธินอกร่างกาย 3 ครั้ง ไม่มีตัวอ่อนแบ่งตัวและเจริญถึงระยะบลาสโตซิสต์เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนของเชื้อโรคเมื่อเลี้ยงตัวอสุจิจร่วมกับโอโอไซต์ในขั้นตอนการปฏิสนธิทั้ง 3 ครั้ง ผลการศึกษาครั้งนี้ แสดงว่าน้ำเชื้อแช่แข็งโคברהมันแดงที่มี motility ต่ำกว่า 40 % ที่ใช้ในการทดลองนี้ มีประสิทธิภาพในการผลิตตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ด้วยวิธีปฏิสนธินอกร่างกายได้

คำสำคัญ : การปฏิสนธินอกร่างกาย โคพ่อพันธุ์ น้ำเชื้อแช่แข็ง ตัวอ่อน

เลขทะเบียนวิจัย : 52 (1)-0208-087

^{1/} ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการย้ายฝากตัวอ่อนและเซลล์สืบพันธุ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

^{2/} ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่

^{3/} สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ อ.เมือง จ.ปทุมธานี

***In vitro* embryo production by lower than 40% motility frozen Red American Brahman semen**Malee Apimeteetumrong^{1/} Anone Thuangsanthia^{1/} Sarawut Chayprasart^{2/} Narong Liengchareon^{3/}**Abstract**

The aim of this study was to evaluate the efficacy of lower than 40% motility frozen Red American Brahman (RAB) semen on embryo production following insemination *in vitro* with oocytes collected from live American Brahman donors by ovum pick up. Frozen semen samples from two RAB bulls (RAB 280 and RAB 102) with low (5-35%) motility, produced by Cattle Semen Production Center Inthanon Royal Project, were used in this study. Sperm quality parameters such as sperm motility, concentration, viability and acrosomal status were evaluated before and after sperm processing (swim-up) for *in vitro* fertilization (IVF). Embryos were cultured for 7-8 days and recorded the development until reached blastocyst stage. Differences were analyzed by SPSS. Data were expressed as % means $\pm$ S.E., before and after swim-up. For RAB 280 bull, the swim-up treatment significantly improved ($P < 0.05$) the proportions of motility (26.76 ± 2.18 % vs 47.65 ± 1.97 %, before and after swim-up) and live spermatozoa (31.45 ± 3.24 % vs 64.34 ± 3.26 %, before and after swim-up). The percentages of membrane integrity (26.87 ± 1.65 % vs 32.41 ± 1.99 %) and normal intacted acrosome (27.66 ± 1.37 % vs 41.82 ± 2.47 %) were not significantly different after swim-up ($P > 0.05$). After IVF, 24 blastocyst embryos were produced with this bull semen (12 replicates). For RAB 102 bull, the swim-up treatment increased but there was no significant difference in the proportions of all sperm quality parameters tested (20.00 ± 5.77 % vs 36.67 ± 3.33 % motility, 21.72 ± 3.11 % vs 44.05 ± 5.25 % live spermatozoa, 27.11 ± 2.01 % vs 34.89 ± 5.79 % membrane integrity and 25.83 ± 2.13 % vs 32.22 ± 2.22 % normal intacted acrosome), for before and after swim-up treatment. No cleaved and blastocyst embryo was produced from 3 experiments, due to contamination occurred during insemination process. Results from this study indicate that frozen Red American Brahman (RAB) semen with lower than 40% motility can produced blastocyst-stage embryos *in vitro*.

Keywords: *in vitro* fertilization, bull, frozen semen, embryos**Registered No. :** 52 (1)-0208-087^{1/} Embryo Transfer Technology and Animal Germplasm Research Center, Nakhon Ratchasima Province^{2/} Chiang Mai Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Chiang Mai Province^{3/} Bureau of Biotechnology in Livestock Production, Pathum Thani Province

คำนำ

กรมปศุสัตว์นับเป็นผู้ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งโครายใหญ่ที่สุดของประเทศ สำหรับให้บริการน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อพันธุ์ดีแก่เกษตรกร น้ำเชื้อแช่แข็งของโคเนื้อโดยเฉพาะโคברהมันแดง เป็นที่ต้องการของเกษตรกรมาก กรมปศุสัตว์ได้นำพ่อพันธุ์นี้เข้าจากต่างประเทศ 2 ตัว มูลค่าหลายล้านบาท เพื่อผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งแต่จะมีปัญหาคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งไม่สม่ำเสมอ ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งได้น้อยมีอัตราการเคลื่อนไปข้างหน้า (motility) หลังแช่แข็งต่ำกว่า 40% ซึ่งถือว่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานที่กำหนดสำหรับคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็งในการใช้ผสมเทียม จำเป็นต้องทำลายเป็นบางชุดๆ ละหลายร้อยตัวในกรณีที่ motility ต่ำมากๆ (ต่ำกว่า 30%) ซึ่งเป็นที่น่าเสียดายและนับเป็นความสูญเสียทั้งทางด้านงบประมาณและทรัพยากรที่มีคุณค่าทางพันธุกรรม สำหรับสาเหตุที่แท้จริงของการที่น้ำเชื้อแช่แข็งโคברהมันแดงมีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ ยังไม่ทราบแน่ชัด การผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อที่มี motility ต่ำจะมีผลต่ออัตราการผสมติด (Tanghe *et al.*, 2002) ในกระบวนการผลิตตัวอ่อนโดยวิธีปฏิสนธินอกร่างกาย การเตรียมน้ำเชื้อเพื่อปฏิสนธิกับโอโอไซต์ในหลอดทดลอง เป็นการคัดแยกเฉพาะตัวสpermที่แข็งแรง เคลื่อนที่ได้ออกจากตัวตายและไม่เคลื่อนไหว ทำให้ motility เพิ่มขึ้นเทียบกับหลังละลายน้ำเชื้อแช่แข็งทันที เมื่อนำตัวสpermดังกล่าวไปผสมกับโอโอไซต์ในหลอดทดลอง มีโอกาสที่จะเกิดเป็นตัวอ่อน (Somjai *et al.*, 2002) สามารถนำไปย้ายฝากให้เกิดลูกได้แทนการทำลายน้ำเชื้อนั้นทั้งเนื่องจากน้ำเชื้อแช่แข็งโคברהมันแดงเป็นน้ำเชื้อนำเข้ามาจากต่างประเทศ มีมูลค่าสูง ดังนั้นควรใช้ร่วมกับเทคโนโลยีเกี่ยวกับการผลิตลูกโคจากการเก็บเซลล์ไข่โดยการเจาะผ่านทางช่องคลอด ร่วมกับการใช้เครื่องอัลตราซาวด์ (ultrasound-guided transvaginal ovum pick-up: OPU) โดยมีรายงานความสำเร็จมาแล้วเกี่ยวกับการผลิตตัวอ่อนโดยใช้เทคนิคการปฏิสนธินอกร่างกายร่วมกับการเก็บเซลล์ไข่ผ่านทางช่องคลอดโดยไม่ใช้เครื่องอัลตราซาวด์ทั้งในโคนมและโคพันธุ์พื้นเมืองภาคใต้ (อนุชา และคณะ, 2545; ณรงค์ และคณะ, 2547; มาลี และคณะ, 2548)

วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการผลิตตัวอ่อนโดยวิธีปฏิสนธินอกร่างกายจากน้ำเชื้อแช่แข็งโคברהมันแดงที่มีค่า motility หลังละลายต่ำกว่า 40% โดยใช้โอโอไซต์ของโคברהมันเทาที่เก็บผ่านทางผนังช่องคลอด

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

แหล่งน้ำเชื้อแช่แข็งและโอโอไซต์

ใช้น้ำเชื้อแช่แข็งโคברהมันแดงจำนวน 2 ตัวคือ RAB 280 และ RAB 102 ที่มี motility หลังละลายต่ำกว่า 40% จากศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อโคพันธุ์โครงการหลวงอินทนนท์ จ.เชียงใหม่

โอโอไซต์ได้จากการเก็บผ่านทางผนังช่องคลอดของโคพันธุ์บราห์มันทำการเจาะเก็บโอโอไซต์ตามวิธีของ ณรงค์ และคณะ (2547) ด้วยเครื่องมือของฮิลล์ (Hill Aspirator, Mable Hill Embryos INC.) น้ำยาที่

ใช้เก็บโอโอไซต์ คือ PBS (Gibco, BRL, USA) เติมด้วย FSH 1% (v/v) ยาปฏิชีวนะ (penicillin-streptomycin) และสารกันเลือดแข็งตัว (heparin 50 unit/ml)

ตรวจหาเซลล์ไข่ที่เก็บได้และประเมินคุณภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ คัดเลือกโอโอไซต์ตามวิธีของ Hasler et al. (1995) เพาะเลี้ยงให้เจริญพร้อมปฏิสนธิตามวิธีของ มาลี และคณะ (2552) จากนั้นนำมาปฏิสนธินอกร่างกาย

การปฏิสนธินอกร่างกาย

การเตรียมตัวอสุจิใช้วิธี “swim-up” ตามวิธีของ Songsasen และ Apimeteetumrong (2002) ตรวจสอบคุณภาพด้านต่าง ๆ ของตัวอสุจิ ได้แก่ motility การมีชีวิต (Live) ความสมบูรณ์ของผนังเซลล์ (Host test) normal intacted acrosome ก่อนและหลัง “swim-up” นำตัวอสุจิหลังจากswim-upไปผสมกับโอโอไซต์ที่เลี้ยงให้เจริญพร้อมปฏิสนธิแล้ว ในน้ำยา TALP ที่มี PHE โดยปรับความเข้มข้นของตัวอสุจิเป็น 1x 10⁶ ตัว ต่อ 1 มล. เลี้ยงโอโอไซต์ร่วมกับตัวอสุจิ นาน 19-20 ชม. ในตู้เพาะเลี้ยงตัวอ่อนที่อุณหภูมิ 38.5 °C ในบรรยากาศ 5% CO₂ จากนั้นนำโอโอไซต์ไปเลี้ยงในน้ำยา SOF ร่วมกับเซลล์ Vero เสริมด้วย 10% FCS ในสภาวะเดียวกันเป็นเวลานาน 7-8 วัน ติดตามและบันทึกการเจริญของตัวอ่อน ทุก 24 ชั่วโมง จนตัวอ่อนเจริญถึงระยะบลาสโตซิสต์ (blastocyst stage)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบคุณภาพของน้ำเชื้อด้านต่างๆ ก่อนและหลัง swim- up ด้วยวิธี paired T-test

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีตัวอ่อน

ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการย้ายฝากตัวอ่อนและเซลล์สืบพันธุ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

ศูนย์ผลิตน้ำเชื้อพ่อโคพันธุ์โครงการหลวงอินทนนท์ จ.เชียงใหม่

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลเปรียบเทียบคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็งโคברהมันแดงหมายเลข RAB 280 และ RAB 102 ก่อนและหลังจาก swim-up แสดงใน **Table 1** สำหรับน้ำเชื้อโคברהมันแดง RAB 280 มีค่าเฉลี่ย % motility (26.76 ± 2.18 % vs 47.65 ± 1.97 %, $P = 0.003$) และ % Live (31.45 ± 3.24 % vs 64.34 ± 3.26 %, $P = 0.031$) หลัง swim-up สูงกว่าก่อนทำswim-up แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ความสมบูรณ์ของผนังเซลล์ (Host test) และ normal intacted acrosome แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) น้ำเชื้อแช่แข็งโคברהมันแดงหมายเลข RAB 102 มีค่าเฉลี่ยทั้ง 4 ลักษณะแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ แม้ว่า

จะมีค่าตัวเลขที่สูงขึ้นในทุกลักษณะ ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีตัวอย่างน้ำเชื้อจำนวนเพียง 3 ตัวอย่างทำให้ผลการคำนวณทางสถิติไม่สามารถบ่งบอกแนวโน้มได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามผลการทำ swim-up ครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Tanghe *et al.* (2002) เมื่อนำน้ำเชื้อที่ให้ผลการผสมติดต่ำมีค่าเฉลี่ย motility 39% มาผ่านกระบวนการเตรียมเพื่อปฏิสนธิ สามารถคัดกรองตัวอสุจิ ทำให้ motility สูงขึ้นเป็น 52% และ Live sperm ก็เพิ่มขึ้นจาก 64 % เป็น 85 % โดยที่ normal intacted acrosome ไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับ การงานทดลองของ Somfai *et al.* (2002) ที่ผลการ swim-up น้ำเชื้อโค ทำให้ได้ % Live sperm สูงขึ้นจาก 46% เป็น 69% การเตรียมตัวอสุจิเพื่อปฏิสนธิในกร่างกายเป็นขั้นตอนที่สำคัญในกระบวนการผลิตตัวอ่อน ด้วยวิธีปฏิสนธิในกร่างกาย เพราะมีผลต่อลักษณะทางกายภาพและคุณภาพของตัวอสุจิ ซึ่งส่งผลต่อไปถึง อัตราการแบ่งตัวและการเจริญถึงระยะบลาสโตซิสต์ (Samardzija *et al.*, 2006)

ผลการศึกษาประสิทธิภาพในการผลิตตัวอ่อนด้วยวิธีปฏิสนธิในกร่างกายโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็ง โคברהมันแดงหมายเลข RAB 280 และ RAB 102 ที่มี motility ต่ำกว่า 40% ปฏิสนธิกับโอโอไซด์ที่เจาะเก็บผ่านผนังช่องคลอด พบว่า สามารถเก็บโอโอไซด์จากโคברהมันเทา ได้รวม 364 ใบจากการทดลอง 37 ครั้งพบการปนเปื้อนในไข่ทดลอง 5 ครั้ง จากนั้นทำการปฏิสนธิด้วยน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ RAB 280 และได้ตัวอ่อนระยะ cleavage จำนวน 160 ตัวอ่อน คิดเป็นค่า cleavage rate 43.95% (160/364) และ ตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ จำนวน 24 ตัวอ่อน คิดเป็นค่า blastocyst rate 15 % (24/160)

Table 1 The proportion of different sperm characters before and after swim-up treatments

Bull no. RAB 280				
Sperm characters (%)	mean before $\pm$ S.E.	mean after $\pm$ S.E	P-value	n
Motility	26.76 $\pm$ 2.18	47.65 $\pm$ 1.97	0.003**	17
Live	31.45 $\pm$ 3.24	64.34 $\pm$ 3.26	0.031*	14
Host	26.87 $\pm$ 1.65	32.41 $\pm$ 1.99	0.908	15
Normal	27.66 $\pm$ 1.37	41.82 $\pm$ 2.47	0.806	15
Intacted acrosome				
Bull no. RAB 102				
Sperm characters (%)	mean before $\pm$ S.E.	mean after $\pm$ S.E	P-value	n
Motility	20.00 $\pm$ 5.77	36.67 $\pm$ 3.33	0.333	3
Live	21.72 $\pm$ 3.11	44.05 $\pm$ 5.25	0.056	3
Host	27.11 $\pm$ 2.01	34.89 $\pm$ 5.79	0.876	3
Normal	25.83 $\pm$ 2.13	32.22 $\pm$ 2.22	0.902	3
Intacted acrosome				

Data were expressed as means $\pm$ S.E., **, * means in the same row differ significantly (** P< 0.005, * P< 0.05)

เมื่อคำนวณจากจำนวนตัวอ่อนระยะแบ่งตัว 2-4 เซลล์ (cleaved embryos) ผลบลาสโตซิสต์ที่ได้ครั้งนี้ไม่แตกต่างจากรายงานในโคของ Reis *et al.* (2002) ที่ได้ blastocyst rate ประมาณ 12 % แต่ผลที่ได้ครั้งนี้ต่ำกว่ารายงานของ มาลี และคณะ (2552) ในโคขาวลำพูน ที่ได้blastocyst rate 27 % ทั้งนี้ความแตกต่างที่พบอาจเป็นผลเนื่องมาจากคุณภาพน้ำเชื้อและสายพันธุ์โคที่ต่างกัน Morrell (2006) รายงานว่า motility ของน้ำเชื้อแช่แข็งและความสามารถในการปฏิสนธิและการเจริญเป็นตัวอ่อนมีความสัมพันธ์กันเพียงเล็กน้อยเท่านั้น อย่างไรก็ตามนับได้ว่าน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อพันธุ์ RAB 280 ที่นำมาใช้ทดลองครั้งนี้ มีประสิทธิภาพในการปฏิสนธิกับโอโอไซต์นอกร่างกาย สามารถผลิตเป็นตัวอ่อนมีคุณภาพได้ เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับน้ำเชื้อที่จะถูกคัดออก ให้กลับมาใช้ประโยชน์ได้แทนการคัดทิ้งด้วยสาเหตุจากค่า motility ต่ำกว่า 40 % มีรายงานผลการผลิตตัวอ่อนตัวอ่อนโคด้วยวิธีปฏิสนธินอกร่างกายจากน้ำเชื้อแช่แข็งที่มี motility ต่ำกว่า 40 % น้อยมาก เนื่องจากเป็นเกณฑ์ที่ต่ำกว่ามาตรฐานการผลิตน้ำเชื้อเพื่อผสมเทียมซึ่งต้อง 40% ขึ้นไป เท่าที่พบมีรายงานในโคของ Tanghe *et al.* (2002) นำน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อพันธุ์ที่ให้ผลการผสมติดต่ำกว่า 30 % ซึ่งมี motility หลังละลายเฉลี่ย 39 % มาใช้ทดลอง โดยตรวจสอบเฉพาะการเกิดโปรนิวเคลียสของโอโอไซต์หลังจากทำ IVF โดยพบว่าสามารถนำอัตราการเกิดโปรนิวเคลียสมาใช้ทดสอบคุณภาพของน้ำเชื้อได้

สำหรับน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ RAB 102 เกิดการปนเปื้อนของน้ำเชื้อในขั้นตอนการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนสุจิรวมโอโอไซต์ที่พร้อมปฏิสนธิในทุกครั้งการทดลอง (ทดลอง 3 ครั้ง) และไม่มีการแบ่งตัวของตัวอ่อนเกิดขึ้นดังนั้นไม่ได้ตัวอ่อนจากน้ำเชื้อ RAB 102 สาเหตุของการเกิดปนเปื้อนยังไม่ทราบแน่ชัด

สรุปผลการทดลอง

น้ำเชื้อแช่แข็งโคברהมันแดง RAB 280 ที่มี motility ต่ำกว่า 40 % ที่ใช้ในการทดลองนี้ มีประสิทธิภาพในการผลิตตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ด้วยวิธีปฏิสนธินอกร่างกายกับโอโอไซต์ที่เจาะเก็บผ่านผนังช่องคลอด เป็นตัวอ่อนระยะที่นำไปย้ายฝากในโคตัวรับได้ โดยน้ำเชื้อแช่แข็งมีค่าเฉลี่ย % motility และ % Live หลัง swim-up สูงกว่าก่อนทำ swim-up อย่างมีนัยสำคัญ

ข้อเสนอแนะ

ผลจากการวิจัยครั้งนี้ น่าจะนำไปประยุกต์ใช้กับน้ำเชื้อโคที่มีคุณค่าทางพันธุกรรมสูง แต่มีค่า motility ต่ำเมื่อนำไปผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งการทดลองครั้งนี้ใช้วิธีเตรียมตัวสุจิเพื่อปฏิสนธิเพียงวิธีเดียว คือ swim-up method ยังมีวิธีเตรียมตัวสุจิอีกหลายวิธี เพื่อคัดกรองคัดแยกตัวสุจิที่ดีแข็งแรงออกจากกลุ่มตัวสุจิที่ไม่แข็งแรง มีความผิดปกติในลักษณะต่างๆ ควรนำมาพิจารณาศึกษาเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการแยกตัวสุจิ อันอาจส่งผลถึงประสิทธิภาพการผลิตตัวอ่อนถึงระยะบลาสโตซิสต์ จะเป็นการใช้ประโยชน์อย่างสูงสุดจากน้ำเชื้อแช่แข็งที่มี motility ต่ำและต้องถูกทำลายได้อย่างคุ้มค่า

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ นายสัตวแพทย์อุทัย หรินทรานนท์ อดีตอธิบดีกรมปศุสัตว์ อดีตผู้อำนวยการสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ ที่สนับสนุนการดำเนินงาน ขอบคุณนางสาวนิตยา วาปีกา นักวิทยาศาสตร์ ที่ช่วยปฏิบัติห้องทดลอง ขอขอบคุณพนักงานเลี้ยงโคทดลองของศูนย์วิจัยเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อน ที่ช่วยให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- ณรงค์ เลี้ยงเจริญ อนนท์ เทื่องสันเทียะ บุญชู ศรีสุข และมาลี อภิเมธีธำรง. 2547. การเก็บโอโอไซต์โคพื้นเมืองภาคใต้ผ่านทางผนังช่องคลอดโดยไม่ใช้เครื่องอัลตราซาวด์. ประชุมสัมมนาวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 19, วันที่ 26-30 พฤษภาคม 2547 ณ พิพิธภัณฑ์การเกษตรเฉลิมพระเกียรติ ปทุมธานี. ซีดีรอม.
- มาลี อภิเมธีธำรง ณรงค์ เลี้ยงเจริญ อนนท์ เทื่องสันเทียะ และจूरียรัตน์ สำเร็จประสงค์. 2548. ผลของขนาดฮอร์โมนเอฟเอสเอสต่อปริมาณและคุณภาพของโอโอไซต์โคที่เจาะเก็บได้ผ่านทางผนังช่องคลอดโดยไม่ใช้เครื่องอัลตราซาวด์. การประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 20 หน้า 34.
- มาลี อภิเมธีธำรง ณรงค์ เลี้ยงเจริญ อนนท์ เทื่องสันเทียะ วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกูร กิรติ ธิแจ้ และจूरียรัตน์ สำเร็จประสงค์. 2552. การผลิตตัวอ่อนโคขาวลำพูนพันธุ์แท้โดยการเก็บเซลล์ไข่จากรังไข่ผ่านทางผนังช่องคลอดและการปฏิสนธิในอกร่างกาย. ประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มข. ครั้งที่ 10 ประจำปี 2552 หัวข้อเรื่อง “วิกฤตเศรษฐกิจโลก : การปรับตัวของครัวไทยสู่ครัวโลก” ระหว่างวันที่ 3-4 มิถุนายน 2552 ณ ห้องประชุมใหญ่ อาคารพิเชษฐ ๒ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- อนุชา สรณรงค์ สุวิชัย โรจนเสถียร อภิชาติ โอพารัตนชัย จตุรงค์ จริยะนวิรัช กิรติ ธิแจ้ และจूरียรัตน์ สำเร็จประสงค์. 2545. การเก็บเซลล์ไข่โคผ่านทางผนังช่องคลอดโดยไม่ใช้เครื่องอัลตราซาวด์. ประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์. ครั้งที่ 28. วันที่ 9-11 ตุลาคม 2545. กรุงเทพมหานคร.
- Hasler, J.F., W.B. Henderson, P.J. Hurtgen, Z.Q. Jin, A.D. McCauley, S.A. Mower, B. Neely, L.S. Shuey, J.E. Stokes and S.A. Trimmer. 1995. Production, freezing and transfer of IVF embryos and subsequent calving results. Theriogenology 43: 141-152.
- Kittiyanant, Y., C. Tochalus, M. Areekijsee and K. Pavasuthipaisit. 1995. Swamp buffalo oocytes from transvaginal ultrasound-guide aspiration fertilized and co-cultured in vitro with bovine oviductal epithelial cells. Theriogenology 43: 250. (Abstract)
- Manik, R.S., S.K. Singla and P. Palta. 2003. Collection of oocytes through transvaginal ultrasound-guide aspiration of follicles in an Indian breed of cattle. Anim. Reprod. Sci. 76: 155-161.

- Morrell, J.M. 2006. Updates on semen technologies for animal breeding. *Reprod Dom Anim.* 41: 63-67.
- Pavasuthipaisit, K., R.G. Holyoak, C. Tochalus and Y. Kittiyant. 1995. Repeated transvaginal follicular aspiration in swamp buffalo. *Theriogenology* 43: 295. (Abstract)
- Reis, A., M.E.Staines, R.G.Watt, D.F. Dolman, and T.G. McEvoy, 2002. Embryo production using defined oocyte maturation and zygote culture media following repeated ovum pick-up (OPU) from FSH-stimulated Simmental heifers. *Anim. Reprod. Sci.* 72: 137-151.
- Samardzija, M., M.Karadjole, M. Matkovic, M. Cergolj, I.Getz, T.Dobranic, A.Tomaskovic, J.Petric, J.Surina, J. Grilzelj and T.Karadjole, 2006. A comparison of BoviPure® and Percoll® on bull sperm separation protocols for IVF. *Anim.Reprod.Sci.* 91: 237-247.
- Somfai, T., S.Bodo, S. Nagy, A.B. Papp, J.Ivacsics, B.Baranyai, E.Gocza and A. Kovacs. 2002. Effect of swim up and percoll treatment on viability and acrosome integrity of frozen-thawed bull spermatozoa. *Reprod. Dom.Anim.* 37: 285-290.
- Songsasen, N. and M. Apimeteetumrong. 2002. Effects of β -mercaptoethanol on formation of pronuclei and developmental competence of swamp buffalo oocytes. *Anim. Reprod. Sci.* 71: 193-202.
- Tanghe, S., A.Van Soom, V.Sterckx, D. Macs and de A. Kruif. 2002. Assessment of different sperm quality parameters to predict in vitro fertility of bulls. *Reprod Dom Anim.* 37: 127-132.
- Techakumphu, M., W. Tantasuparak and J. Singlor. 1996. Successful blastocyst production from Native Thai calf oocytes after in vitro fertilization. *Thai J.Vet.Med.* 26: 169-176.
- Ward, F., D. Rizos, M.P. Boland, and P. Lonergan. 2003. Effect of reducing sperm concentration during IVF on the ability to distinguish between bulls of high and low field fertility: work in progress. *Theriogenology* 59: 1575-1584.

**ผลของการเหนี่ยวนำการตกไข่โดยใช้ Progesterone และ PGF_{2α} ร่วมกับ GnRH หรือ hCG
ในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาต่ออัตราการตั้งท้องของโคเนื้อลูกผสมพื้นเมืองไทย**

ปรกรณ์เกียรติ โมพา^{1/} ณรงค์กร เกษมสุข^{1/}

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อดูผลของโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาที่ 48 ชั่วโมง โดยการใช้ Progesterone (CIDR®) ร่วมกับ PGF_{2α} และ GnRH หรือ hCG ในโคเนื้อสาวลูกผสมพื้นเมืองไทย จำนวน 30 ตัว (อายุ 15-24 เดือน) แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม โดยแต่ละกลุ่มใช้โคจำนวน 10 ตัว กลุ่มที่ 1 (Control): ใช้ CIDR®+PGF_{2α}+ น้ำกลั่น กลุ่มที่ 2 (GnRh): ใช้ CIDR®+PGF_{2α}+ GnRH กลุ่มที่ 3 (hCG): ใช้ CIDR®+PGF_{2α}+ hCG โคในแต่ละกลุ่มได้รับการทำเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้ Progesterone (CIDR®) แบบสอดช่องคลอดนาน 14 วัน ในวันที่ 14 ถอด CIDR® ออกและ ฉีด PGF_{2α} จากนั้นอีก 48 ชั่วโมงให้ทำการผสมเทียมและฉีดน้ำกลั่น หรือ GnRH หรือ hCG หลังจากทำการผสมเทียมครบเวลา 90 วัน ตรวจสอบการตั้งท้องโดยการล้วงตรวจผ่านทางทวาร ผลการวิจัยพบว่าอัตราการผสมติด และอัตราการตั้งท้องที่ใช้โปรเจสเทอโรนของโค กลุ่มที่ 1 กลุ่ม 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 20%, 40% และ 40% ตามลำดับ โดยโคกลุ่มที่ 2 และ 3 มีอัตราการตั้งท้องที่สูงกว่ากลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบโคกลุ่มที่ 2 กับโคกลุ่มที่ 3 พบว่ามีอัตราการตั้งท้องไม่แตกต่างกัน (40% vs 40%; $P>0.05$) จากการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้ฮอร์โมน Progesterone และ PGF_{2α} ร่วมกับฮอร์โมน GnRh หรือ hCG ทำให้มีอัตราการตั้งท้องที่สูงขึ้นในโคเนื้อลูกผสมพื้นเมืองไทย

คำสำคัญ: การเหนี่ยวนำการตกไข่ โปรเจสเทอโรน โคเนื้อ ประเทศไทย

เลขทะเบียนวิชาการ: 61(2)-0208-070

^{1/} ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพอุบลราชธานี อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000

Effect of Synchronized ovulation Using Progesterone with PGF_{2α} and GnRH or hCG**After fixed time AI on pregnancy rate in crossbred Thai-native beef cattle.**Pakornkiert Mola^{1/} Naronkoen Kasemsuk^{1/}**Abstracts**

The objectives of this study were to determine effect of synchronization of ovulation and artificial insemination (TAI) at 48 hour using Progesterone with PGF_{2α} and GnRH or hCG in 30 crossbred Thai-native beef heifers (15-24 months of age). The heifers were divided into 3 groups: Group 1 (Control): CIDR®+PGF_{2α} 10 heifers; Group 2 (GnRh): CIDR®+PGF_{2α}+GnRH 10 heifers; and Group 3 (hCG): CIDR®+PGF_{2α}+hCG 10 heifers. The heifers treated with progesterone insert vaginal 14 days, subsequently given PGF_{2α} at progesterone removal on and distill water or GnRH or hCG concurrent with fixed time artificial insemination (TAI) to synchronize ovulation 48 h later PGF_{2α} injection. The detection of pregnant heifer was confirmed by rectal palpation 90 d after AI. The results showed that pregnancy rate and conception rate in group 1, 2 and group 3 were as 20, 40 and 40% respectively. The pregnancy rate of group 2 and group 3 were significantly greater than group 1 (40%, 40% vs 20%; P<0.05). However, the pregnancy rate were not significantly different between group 2 and group3 (P>0.05). Thus, the results indicate that the synchronization of ovulation protocol using Progesterone with PGF_{2α} and GnRH or hCG improved the pregnancy rate in crossbred Thai-native beef cattle.

Keywords: synchronization, progesterone, beef cattle, Thailand

Registered No. : 61(2)-0208-070

^{1/} Ubonratchathani Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Maung District Ubon Province, Thailand 34000

คำนำ

ปัจจุบันประเทศไทยมีการเลี้ยงโคเนื้อกันเป็นจำนวนมาก ประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์นับเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตของการเลี้ยงโคเนื้อเกษตรกรผู้เลี้ยงโคจึงพยายามที่จะเพิ่มผลผลิตให้สูง และมีคุณภาพที่ดี โดยมีการใช้เทคโนโลยีการผสมเทียมเข้ามาช่วย ซึ่งการที่จะทำให้การผสมเทียมประสบความสำเร็จคือ การกำหนดวันเป็นสัดและการตกไข่ของแม่โคเนื้อให้ถูกต้องและแน่นอน แต่การเลี้ยงโคเนื้อมักประสบปัญหาในเรื่องของการจับสัด และระยะเวลาในการเป็นสัด ทำให้มีนักวิจัยทำการพัฒนาการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาขึ้นมา เพื่อประสานการตกไข่ในแม่โคให้อยู่ในระยะเวลาที่แน่นอน โดยทั่วไปแม่โคที่เริ่มเข้าสู่รอบของการเป็นสัดมักจะอยู่ในขั้นตอนต่าง ๆ ของวงจรการเป็นสัด ซึ่งโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาถูกออกแบบมาเพื่อ 1) ควบคุมการเปลี่ยนแปลงของคลื่นฟอลลิเคิล 2) ทำให้เกิดการสลายคอร์ปัสลูเทียม และ 3) ก่อให้เกิดการตกไข่จากฟอลลิเคิลที่มีความสมบูรณ์ พร้อมสำหรับการปฏิสนธิจากน้ำเชื้อที่ได้รับในการผสม (Busch *et al.*, 2007)

การพัฒนาการใช้ฮอร์โมนเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดเริ่มพัฒนาเป็นเวลากว่า 50 ปีมาแล้ว ทำให้ทราบถึงกระบวนการต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเหนี่ยวนำให้เกิดการเป็นสัดโดยขึ้นอยู่กับการควบคุมของระยะเวลาในช่วง estrous cycle ซึ่งมีการพัฒนาเลือกใช้ชนิดของฮอร์โมน ระยะเวลาการให้ รูปแบบการให้ หรือการใช้โปรแกรมฮอร์โมนต่างๆ นั้น มีการพัฒนามากันแล้วหลายวิธีและเป็นการพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อให้เกิดวิธีที่ดีของแต่ละฟาร์มโคเนื้อที่จะเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแม่โคและสามารถผสมเทียมในเวลาที่กำหนด เพื่อให้อัตราการตั้งท้องสูงขึ้นในแม่โคเนื้อ โดยไม่ต้องตรวจสอบการเป็นสัด ซึ่งโปรแกรมการใช้ฮอร์โมนที่มีประสิทธิภาพที่ดีวิธีหนึ่งในการทำให้อัตราการตั้งท้องสูงขึ้นในโคเนื้อก็คือการใช้ฮอร์โมน progesterone ร่วมกับ prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) และ gonadotropin-releasing hormone (GnRH) หรือ Human chorionic gonadotropin (hCG) (Bao B, 1998)

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. สัตว์ทดลอง

ในการทดลองนี้ได้คัดเลือกโคลูกผสมบราห์มัน-พื้นเมืองเพศเมียสายเลือด 50 เปอร์เซนต์ ที่ผ่านการสืบทะเบียนประวัติ จากฟาร์มเครือข่ายศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพอุบลราชธานี กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ จำนวน 30 ตัว มีอายุระหว่าง 15-24 เดือน น้ำหนักระหว่าง 280-300 กิโลกรัม มีคะแนนความสมบูรณ์ร่างกาย (BCS) อยู่ระหว่างคะแนน 2.5-3 ตามเกณฑ์การให้คะแนนของ Ferguson *et al.* (1994) เป็นโคเพศเมียมีระบบสืบพันธุ์ปกติและมีวงรอบการเป็นสัดสม่ำเสมอ โดยได้รับการตรวจความสมบูรณ์ของมดลูกและรังไข่

2. การเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดในวันที่ 14 (วันที่ถอด Progesterone ออก) และวันที่ 25 หลังการผสมเทียม เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาโดยวิธี ELISA ตามวิธีการของ Crane *et al.* (2006) และตรวจวัดอัตราการผสมติดจากโปรตีนจากรก และตรวจการกลับมาเป็นสัดของโคร่วมตัว

3. การวางแผนการทดลองและวิธีดำเนินการทดลอง

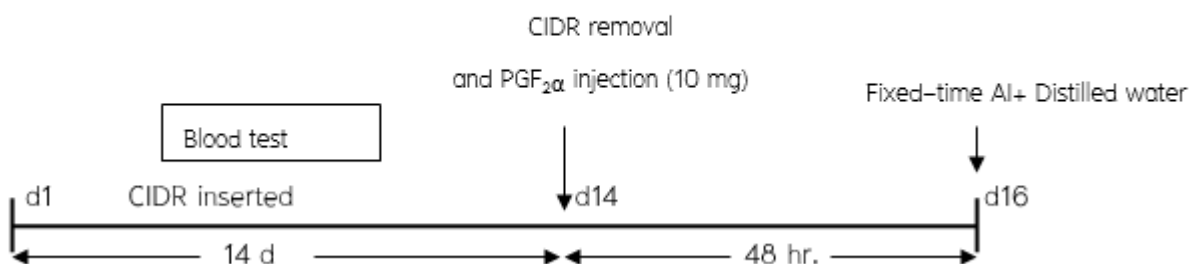
1. ใช้แผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว ดังนี้ ดังรูปภาพที่ 1

กลุ่มที่ 1 การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้โปรเจสเทอโรนสังเคราะห์แบบซิลิโคน (Eazi-BreedTM CIDR®, Pfizer, NY, USA) สอดช่องคลอดนาน 14 วัน และในวันที่ 14 ถอด CIDR® ออก และฉีด PGF_{2α} 10 mg/ตัว จากนั้นอีก 48 ชั่วโมงให้ทำการผสมเทียม และฉีดน้ำกลั่น 2.5 cc.

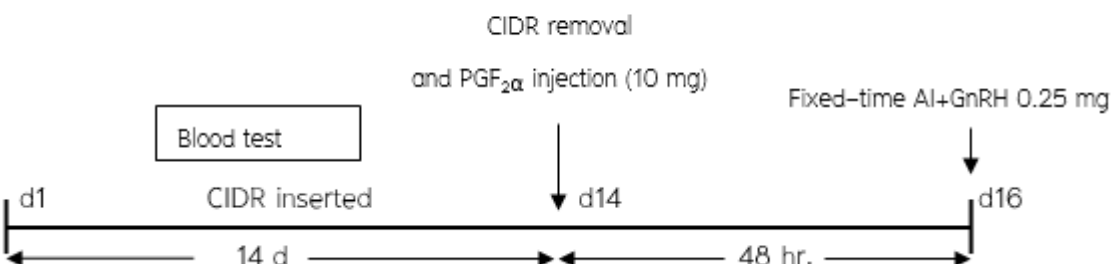
กลุ่มที่ 2 การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้โปรเจสเทอโรนสังเคราะห์แบบซิลิโคน (Eazi-BreedTM CIDR®, Pfizer, NY, USA) สอดช่องคลอดนาน 14 วัน และในวันที่ 14 ถอด CIDR® ออก และฉีด PGF_{2α} 10 mg/ตัว จากนั้นอีก 48 ชั่วโมงให้ทำการผสมเทียม และฉีดฮอร์โมน GnRH 0.25 mg/ตัว

กลุ่มที่ 3 การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้โปรเจสเทอโรนสังเคราะห์แบบซิลิโคน (Eazi-BreedTM CIDR®, Pfizer, NY, USA) สอดช่องคลอดนาน 14 วัน และในวันที่ 14 ถอด CIDR® ออก และฉีด PGF_{2α} 10 mg/ตัว จากนั้นอีก 48 ชั่วโมงให้ทำการผสมเทียม และฉีดฮอร์โมน hCG 1,500 iu/ตัว

Group 1 (Control)



Group 2 (GnRH)



Group 3 (hCG)

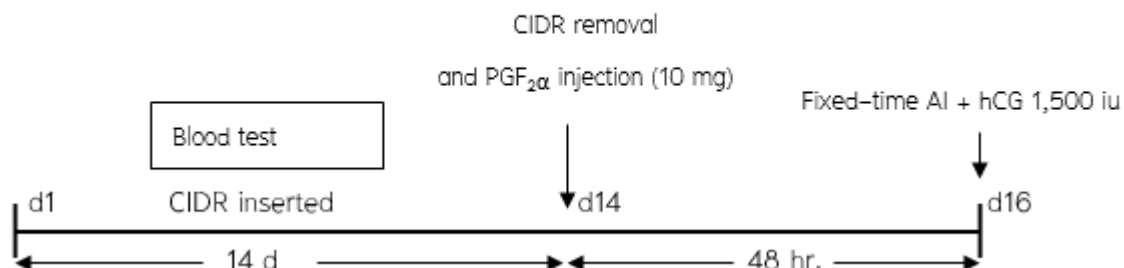


Fig.1 synchronization of estrus and ovulation and fixed time-AI protocol in crossbred Thai-native beef cattle.

2. ทำการตรวจการตั้งท้องวันที่ 90 หลังจากการผสมเทียมด้วยการล้วงตรวจจลผ่านทางทวารหนักที่ 90 วัน และใช้เครื่องอัลตราซาวด์รุ่น HS-2000 (HONDA ELECTRONICS, Japan) ที่ความถี่ 7.5 MHz และคำนวณอัตราการผสมติดและตั้งท้องดังนี้

$$\text{อัตราการผสมติด (Conception rate)} = \frac{\text{จำนวนโคที่ไม่กลับสัด}}{\text{จำนวนโคทั้งหมดที่ถูกผสมพันธุ์}} \times 100$$

$$\text{อัตราการตั้งท้อง (Pregnancy rate)} = \frac{\text{จำนวนโคที่ตั้งท้อง}}{\text{จำนวนโคทั้งหมดที่ถูกผสมพันธุ์}} \times 100$$

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลในการวิจัยประเภทข้อมูลต่อเนื่อง (continuous data) ได้แก่ น้ำหนักตัว (body weight) และสภาพความสมบูรณ์ของร่างกายโค (body condition score) รวมถึงระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P4) วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ (Analysis of variance; ANOVA) โดยใช้ Proc. GLM และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่ได้ โดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนข้อมูลจำแนกประเภท (categorical data) ได้แก่ อัตราการผสมติด อัตราการตั้งท้อง นำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี Proc. CATMOD และ Chi-square test

ผลการทดลองและวิจารณ์

ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในการศึกษาการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาโดยใช้ Progesterone ร่วมกับ PGF₂α และ GnRH หรือ hCG ในโคลูกผสมพื้นเมืองไทยนั้น ก่อนการทดลองได้ให้คะแนนสภาพ

ของร่างกาย โค (body condition score; BCS) โดยการใช้สเกลจากระดับคะแนน 1 ถึง 5 โดยคะแนน 1 มีสภาพร่างกายที่ผอมมากและคะแนน 5 มีสภาพร่างกายที่อ้วนมาก (Ferguson *et al.*, 1994) โดยคะแนนของสภาพร่างกายของโค กลุ่มที่ 1 (control) กลุ่ม 2 (GnRh) และกลุ่มที่ 3 (hCG) เมื่อเริ่มการทดลองสภาพร่างกายของโค พบว่า มีค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ 2.76 ± 0.07 2.98 ± 0.06 และ 2.85 ± 0.06 ตามลำดับ ($P > 0.05$) ส่วนน้ำหนักตัวเฉลี่ยของโคเมื่อเริ่มต้นการทดลองเท่ากับ 173.50 ± 3.22 177 ± 2.47 และ 174 ± 4.75 ตามลำดับ ($P > 0.05$) ดัง **Table 1**

Table 1 Show pregnancy rate from synchronization of estrus and ovulation and fixed time-AI protocol in crossbred Thai-native beef cattle.

Item	Group1 (n=10)	Group2 (n= 10)	Group3 (n= 10)	P-value
Shape score (kg)	2.76 ± 0.07	2.98 ± 0.06	2.85 ± 0.06	0.53
Initial weight (BSC)	173.50 ± 3.22	177.00 ± 2.47	174.00 ± 4.75	0.54
Rate of AI (%)	30 (3/10) ^b	60 (6/10) ^a	50 (5/10) ^a	0.04
Pregnancy rate (%)	20 (2/10) ^b	40 (4/10) ^a	40 (4/10) ^a	0.02

^{a,b} Different characters in the same row, This is statistically significant ($P < 0.05$)

การให้คะแนนร่างกายโคเป็นการประเมินทางอ้อมถึงระดับของพลังงานที่ร่างกายโคเก็บสะสมไว้ในรูปของไขมัน และกล้ามเนื้อโดยประเมินจากจุดต่างๆ ที่มีการสะสมไขมันกล้ามเนื้อที่สัมพันธ์กับการให้ผลผลิตและความสมบูรณ์พันธุ์ในการเลี้ยงโคนั้นเมื่อโคเพศเมียมีการเจริญเติบโตเข้าสู่วัยหนุ่มสาวพร้อมที่จะผสมพันธุ์จะต้องมีการให้คะแนนสภาพร่างกายโค (Body condition score, BCS) เพื่อเป็นตัววัดความสมบูรณ์ของร่างกาย เนื่องจากสภาพร่างกายที่ต่างกันจะส่งผลต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของโคเพศเมียไม่ว่าจะเป็นอัตราการผสมติดและอัตราการตั้งท้อง ในแม่โคสาวที่ให้ลูกตัวแรก พบว่าสภาพร่างกายของแม่โคมีความสำคัญมาก เนื่องจากแม่โคมีความเครียดสูงมาจากการคลอดลูก และการให้นมครั้งแรก แม่โคยังต้องการอาหารเพื่อเจริญเติบโตอีกด้วย เป็นผลทำให้แม่โคกลับเป็นสัตว์หลังคลอดล่าช้ากว่าปกติ โดย Bell *et al.* (1990) ทดลองในแม่โคสาวที่มีคะแนนร่างกายประมาณ 2.5 พบว่า แม่โคสาวที่มีคะแนนร่างกายต่ำกว่า 2.5 ถ้าได้รับที่มีพลังงานสูงก่อนคลอดจะผสมติดภายใน 120 วัน และตั้งท้องมากกว่าแม่โคที่ได้รับอาหารที่มีพลังงานปกติ และแม่โคสาวที่มีคะแนนร่างกายต่ำกว่า 2.5 เมื่อได้รับอาหารตามปกติก่อนคลอดจะมีอัตราการตั้งท้องหลังคลอดลูกแล้วน้อยกว่าแม่โคสาวที่มีคะแนนร่างกาย 2.5 หรือมากกว่า

Selk *et al.* (1988) พบว่าแม่โคที่มีคะแนนร่างกาย 2.5 หรือมากกว่าถ้าได้รับโภชนาการไม่เพียงพอ กับความต้องการจะมีผลให้อัตราการตั้งท้อง และอัตราการมีวงรอบการเป็นสัดปกติลดลง จากการประเมิน อิทธิพลของโภชนาการหลังคลอดเพื่อรักษาสภาพร่างกายโคหรือการสูญเสียน้ำหนักตัวหลังคลอด พบว่า ถ้าคะแนนร่างกายโคลดลง 1 คะแนนจะทำให้อัตราการผสมติดลดลง 21 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าถ้าคะแนน ร่างกายลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงช่วงฤดูผสมพันธุ์แม่โคอาจไม่แสดงการเป็นสัดเลย ฉะนั้นคะแนนร่างกายที่ เหมาะสมที่สุดของแม่โคที่มีผลดีต่อการสืบพันธุ์ของแม่โคมากที่สุดควรอยู่ในระดับ 2.5-3.0 ในขณะทำงาน ทดลองของ Moreira *et al.* (2000) ทำการศึกษาผลของสภาพของร่างกายต่อประสิทธิภาพในการสืบพันธุ์ใน โคนมที่มีการผสมเทียม เมื่อใช้โปรแกรมการเหี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ โดยมีการผสมเทียมแบบ กำหนดเวลาที่ 48 ชั่วโมง โคนมจำนวน 94 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่ม โคกลุ่มแรกมี BCS น้อยกว่า 2.5 คะแนน (ระบบการให้คะแนน 1-5) ส่วนโคกลุ่มที่ 2 มี BCS มากกว่า 2.5 คะแนน ผลการศึกษาพบว่า โคกลุ่มที่มี BCS น้อยกว่า 2.5 คะแนน มีอัตราการติด (conception rate) ที่มีการตรวจพบหลังจากผสมเทียม 27 วัน เท่ากับ 18.1 ± 6.1 เปอร์เซ็นต์ น้อยกว่าโคกลุ่มที่มี BCS มากกว่า 2.5 คะแนน ที่มีอัตราการผสมติดเท่ากับ 33.8 ± 4.5 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$) ส่วนอัตราการตั้งท้อง (pregnancy rate) หลังจากผสมเทียม 45 วันในโค กลุ่มที่มี BCS น้อยกว่า 2.5 คะแนน มีค่าเท่ากับ 11.1 ± 5.4 เปอร์เซ็นต์ น้อยกว่าโคกลุ่มที่มี BCS มากกว่า 2.5 คะแนน ที่มีอัตราการตั้งท้องเท่ากับ 25.6 ± 4.1 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$) ซึ่งจากงานทดลองของ Moreira *et al.* (2000) แสดงให้เห็นว่าสภาพความสมบูรณ์ของร่างกาย มีอิทธิพลระบบสืบพันธุ์ของโคเพศเมีย ทำให้ ส่งผลต่ออัตราการผสมติดและอัตราการตั้งท้องดังกล่าว ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ได้คัดเลือกโคเพศเมียที่มี สภาพความสมบูรณ์ของร่างกาย BCS อยู่ระหว่าง 2.5-3.00 คะแนน เพื่อลดผลกระทบของสภาพร่างกายต่อ สมรรถภาพทางการสืบพันธุ์ของโค

จากผลการทดลองพบว่าอัตราการผสมติด (conception rate) จากการเหี่ยวนำการตกไข่ต่อการ ผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในโคเนื้อลูกผสมพื้นเมืองไทย ซึ่งอัตราการผสมติดของโคตรวจสอบด้วยการ กลับมาเป็นสัดของโค ยืนยันด้วยระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและโปรตีนจากรกโดยอัตรา การผสมติดของโคกลุ่มที่ 1 (control) โคกลุ่มที่ 2 (GnRh) และกลุ่มที่ 3 (hCG) หลังจากการผสมเทียม 25 วัน มีค่าเท่ากับ 30 60 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่ากลุ่มที่ 2 และ 3 มีอัตราการผสมติดที่ไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบของโค ในกลุ่มที่ 2 และ 3 กับกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมพบว่าอัตราการผสมติดสูงกว่ากลุ่มที่ 1 อย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 1 ในการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด เพื่อเหี่ยวนำการเป็นสัดร่วมกับการฉีด $\text{PGF}_{2\alpha}$ และ GnRh หรือ hCG และกำหนดเวลาในการผสมเทียมที่ 48 ชั่วโมง ให้ผลอัตราการผสมติดที่สามารถยอมรับได้โคกลุ่มที่ 2 (GnRh) และกลุ่มที่ 3 (hCG) ส่วนโคกลุ่ม ที่ 1 (control) มีอัตราการผสมติดเพียง 30 เปอร์เซ็นต์ โดยโคกลุ่มนี้มีการกลับสัดมากถึง 70 เปอร์เซ็นต์

(3/10) สอดคล้องกับผลการยืนยันด้วยระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P4) ของโคทั้ง 7 ตัว ที่มีค่าอยู่ระหว่าง 0.79-1.15 นาโนกรัม/มิลลิลิตร โดยโคที่ผสมติดจำนวน 3 ตัว ไม่แสดงการเป็นสัดและมีค่าของ P4 อยู่ระหว่าง 2.35-3.87 นาโนกรัม/มิลลิลิตร แต่อย่างไรก็ตามการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดร่วมกับโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และการผสมเทียมแบบกำหนดระยะเวลาให้ผลการตอบสนองที่ดี ซึ่งโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดสามารถเหนี่ยวนำให้แม่โคแสดงอาการเป็นสัดสูงมากสอดคล้องกับรายงานของ Bo *et al.* (2002) พบว่าการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดให้อัตราการผสมติดสูงขึ้น

จากการทดลองในครั้งนี้พบว่าอัตราการตั้งท้อง (Pregnancy rate) ของโคซึ่งได้รับการยืนยันด้วยการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนักเมื่อครบ 90 วันหลังจากทำการผสมเทียม มีอัตราการตั้งท้องของโคกลุ่มที่ 1 กลุ่ม 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ 40 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบโคกลุ่มที่ 2 กับโคกลุ่มที่ 3 พบว่ามีอัตราการตั้งท้องไม่แตกต่างกัน (40 เปอร์เซ็นต์ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเปรียบเทียบโคกลุ่มที่ 2 และ 3 กับโคกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมกลับพบว่าโคกลุ่มที่ 2 และ 3 มีอัตราการตั้งท้องที่สูงกว่ากลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาโดย Lamb *et al.* (2006) ในโคเนื้อสาวที่พบว่าอัตราการตั้งท้องจากการใช้ CIDR-PG GnRH ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่โดยการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาที่ 48 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับงานทดลองของ Bartolome *et al.* (2005) ที่ 49 เปอร์เซ็นต์ (วันที่ 27 หลังการผสมเทียม) และ 44.4 เปอร์เซ็นต์ (วันที่ 55 หลังการผสมเทียม) แต่ในงานทดลองครั้งนี้มีอัตราการตั้งท้องที่ต่ำกว่าในงานทดลองของ สมชัย และคณะ (2551) ในการหาความสัมพันธ์ของการตั้งท้องและการใช้ Progesterone ร่วมกับ $PGF_{2\alpha}$ และ GnRH สังเคราะห์ GnRH ธรรมชาติหรือ hCG ในโคเนื้อสาวซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์กับจำนวนของการตั้งท้องในกลุ่มโคสาว ($p<0.05$) ที่มีการใช้ฮอร์โมน GnRH ธรรมชาติมีการตั้งท้องจำนวน 24 จากทั้งหมด 29 ตัวคิดเป็น 82.76 เปอร์เซ็นต์ ของกลุ่มและในแม่โคกลุ่มที่มีการใช้ฮอร์โมน hCG มีการตั้งท้องจำนวน 12 ตัว จากทั้งหมด 14 ตัวคิดเป็น 85.71 เปอร์เซ็นต์ ของกลุ่มเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่อย่างไรก็ตามในการเสริมด้วย GnRh หรือ hCG ในการทดลองครั้งนี้ช่วยทำให้มีอัตราการตั้งท้องดีกว่าการใช้เพียง Progesterone ร่วมกับ $PGF_{2\alpha}$ ซึ่ง Navanukraw *et al.* (2010) ให้เหตุผลว่าการประยุกต์วิธีการเหนี่ยวนำการตกไข่โดยการเสริมฮอร์โมน GnRh หรือ hCG ในวิธีการ Ovsynch หลังการผสมเทียมนั้นเพื่อสร้าง CL ให้เพิ่มขึ้น (accessory CL) เมื่อจำนวน CL เพิ่มขึ้นความเข้มข้นของฮอร์โมน Progesterone (P4) ก็เพิ่มขึ้นในวันที่ 12 ภายหลังการผสมเทียมระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 ที่สูงขึ้นส่งผลต่อสภาพแวดล้อมของมดลูกและการพัฒนาการของเอมบริโอในวันที่ 13-16 ของการตั้งท้อง

ในการทดลองครั้งนี้ได้ใช้โคที่มีวงรอบการเป็นสัดปกติ โดยระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาโคหลังจากการถอน CIDR® จากช่องคลอด และฉีด PGF_{2α} ในโคกลุ่มที่ 1 2 และกลุ่มที่ 3 พบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.75 ± 0.45 0.67 ± 0.048 และ 0.58 ± 0.43 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (แสดงใน Table 2) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยมีช่วงความเข้มข้นของ P4 ในระดับต่ำสุดถึงสูงสุดของโคกลุ่มที่ 1 2 และกลุ่มที่ 3 เท่ากับ $0.32-1.73$ $0.22-1.73$ และ $0.22-1.43$ นาโนกรัม/มิลลิลิตร โดยค่าเฉลี่ยของ P4 ของโคทั้ง 3 กลุ่ม อยู่ในระดับต่ำ (P4 ระดับต่ำ หมายถึงความเข้มข้นของ P4 ที่ต่ำกว่า 1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ในวันที่ 14 หลังจากการถอน CIDR® จากช่องคลอด และฉีด PGF_{2α} ดังกล่าว ซึ่งเป็นการยืนยันว่าโคทั้ง 3 กลุ่ม ส่วนมากอยู่ในระยะที่เป็นสัด (estrus) โดยเป็นไปตามทฤษฎีที่กล่าวถึงระดับ P4 ที่สูงในระบบหมุนเวียนโลหิตโลหิตที่มีผลต่อการยับยั้ง (negative feedback) การหลั่งฮอร์โมนโกนาโดโทรปินส์ (GnRh) จากต่อมใต้สมอง (Senger, 1997) และระดับ P4 ที่ลดลงจนต่ำกว่า 1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ส่งผลต่อการทำงานของฮอร์โมนโกนาโดโทรปินส์ (GnRh) โดยสัตว์จะแสดงการเป็นสัดและตกไข่ตามมา (Senger, 1997; Gordon, 1996) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ได้ใช้โคที่มีวงรอบการเป็นสัดปกติ (มีวงรอบการเป็นสัดเฉลี่ย 21.12 ± 2.51 วัน) และมีวงรอบการเป็นสัดต่อเนื่องกันอย่างน้อย 2 วงรอบ ซึ่งได้จากการจดบันทึกและสืบประวัติทะเบียนของโครายตัว ของฟาร์มเครือข่ายศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพ อุบลราชธานี ซึ่งเป็นไปได้ว่าโคที่เข้าทำการทดลองส่วนมากมีการตอบสนองต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด และฮอร์โมน PGF_{2α} ได้ดี

นอกจากนี้ในการวัดปริมาณโปรเจสเตอโรนในพลาสมาของโคยังสามารถบอกจำนวนวันในวงรอบการเป็นสัดได้ โดยใช้ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเป็นตัวชี้วัด (Menchaca and Rubianes, 2001) โดยปกติระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในช่วงเป็นสัด วันที่ 0 และ วันที่ 1-2 นั้นจะต่ำมากคือ มีค่าตั้งแต่วัดไม่ได้ จนถึงประมาณ 1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ค่าดังกล่าวจะขึ้นลงอยู่ 2-3 วัน จากนั้นจะสูงขึ้นจนมีระดับสูงสุดในรอบแรกของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน โดยจะพบมากในวันที่ 6 แต่ก็มียางที่จะพบตั้งแต่วันที่ 4 จนถึงวันที่ 8 ของค่าฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่วัดได้ที่วัดได้จากระดับสูงสุดในรอบแรกนั้นเปลี่ยนแปลงไปตามรูปแบบของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของแต่ละวงจร ซึ่งมีค่าได้ตั้งแต่มากกว่า 1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ไปจนถึงมากกว่า 10 นาโนกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นค่าฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่วัดได้จะขึ้นสูงสุด โดยจะยังคงสูงอยู่เช่นนั้น 7-10 วัน ซึ่งอยู่ในช่วง Luteal phase โดยมีระดับสูงสุดของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน อยู่ในช่วงนี้ 2-5 รอบ โดยแต่ละรอบจะมีค่ามากกว่า 2 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ไปจนถึงมากกว่า 10 นาโนกรัม/มิลลิลิตร และหลังจากนั้นระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะลดลงจนมีค่าต่ำมากอย่างรวดเร็ว ในวันที่ 17-19 และวันที่ 19-22 ซึ่งขึ้นอยู่กัวงจรของการเป็นสัด ซึ่งมีค่าต่ำมากคือน้อยกว่า 1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร (Larson *et al.*, 2006)

Table 2 Show Progesterone Levels (P4) of in crossbred Thai-native beef cattle. On the 14th and 41st (Day 25 after AI)

Item	Group1 (Control)	Group2 (GnRh)	Group3 (hCG)	P-value
P4 (ng/ml) D14	0.75±0.45 (n=10)	0.67±0.48(n=10)	0.58±0.43 (n=10)	0.35
P4 (ng/ml) D41	2.16±2.09 (n=10)	3.46±3.00 (n=10)	3.03±2.81 (n=10)	0.88
P4 (ng/ml) D41 Of pregnancy	0.95±0.36 (n=7)	0.54±0.16 (n=4)	0.65±0.15 (n=5)	0.07
P4 (ng/ml) D41 Of Non-pregnancy	4.64±1.97 (n=3)	5.41±2.36 (n=6)	5.42±2.06 (n=5)	0.48

note: P4 = Progesterone, D14 = Day 14, D41 = Day 41 or Day 25 after AI

ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาโคในวันวันที่ 41 หรือวันที่ 25 หลังการผสมเทียมในโคกลุ่มที่ 1 2 และกลุ่มที่ 3 พบว่ามีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.16 ± 1.98 3.46 ± 3.00 และ 3.03 ± 2.81 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ (**Picture 1**) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยมีช่วงความเข้มข้นของ P4 ในระดับต่ำสุดจนถึงสูงสุดของโคกลุ่มที่ 1 2 และกลุ่มที่ 3 เท่ากับ 0.58-6.76 0.34-8.57 และ 0.46-8.24 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ และจากตารางที่ 2 พบว่า โคที่ผสมไม่ติด (โคที่กลับสัด) ทั้ง 3 กลุ่มมีค่าเฉลี่ยของระดับ P4 ไม่ถึง 1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ในขณะที่โคผสมติด (โคที่ไม่กลับสัด) ทั้ง 3 กลุ่มมีค่าเฉลี่ยของระดับ P4 มากกว่า 1 นาโนกรัม/มิลลิลิตร

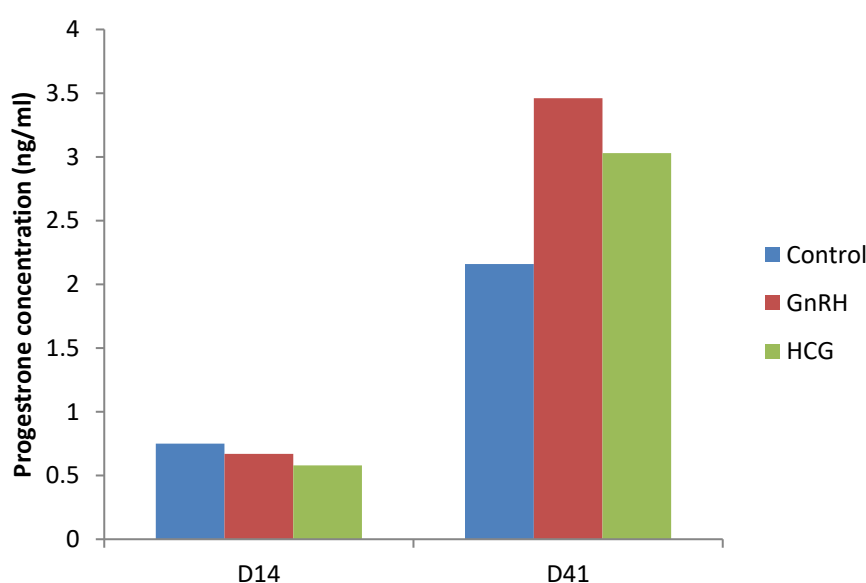


Fig.2 Progesterone Concentration level Average (P4) in crossbred Thai-native beef cattle on the 14th and 41st (Day 25 after AI)

จากผลการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นถึงหลักการที่สำคัญของโปรแกรมนี้คือ การนำฮอร์โมนที่สำคัญ 2 ชนิดคือ $\text{PGF}_{2\alpha}$ และ GnRH มาใช้เหนี่ยวนำการตกไข่และกำหนดเวลาผสมเทียมในโคโดย GnRH มีจุดประสงค์เพื่อกระตุ้นให้มีการพัฒนาของคลื่นฟอลลิเคิลและเกิดการตกไข่ และ $\text{PGF}_{2\alpha}$ เพื่อการสลายของ corpus luteum (Thatcher *et al.*, 2002) แต่โปรแกรม Ovsynch นี้ทำให้โคแสดงอาการเป็นสัดค่อนข้างต่ำประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ จึงทำให้มีปัญหาค้นหาการผสมเทียมและมีอัตราการตั้งท้องต่อการผสมเทียม (PA/AI) เพียง 37.3 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น (Navanukraw *et al.*, 2004) ซึ่งปกติการตกไข่จะเกิดขึ้นภายหลังจากฉีด GnRH เข็มประมาณ 1.6-2.5 วัน (Pursley *et al.*, 1995) แต่อย่างไรก็ตามการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ที่ใช้ในปัจจุบันก็ยังพบปัญหาด้านการผสมไม่ติดหรือมีอัตราการผสมติดต่ำ ทั้งนี้ Inskeep (2004) ได้พบว่าสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดปัญหาดังกล่าวเนื่องจากมีอัตราการตายของตัวอ่อนค่อนข้างสูง (high mortality rate) ในระยะแรกของการตั้งท้อง เนื่องจากในระยะดังกล่าวในโคมีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน P_4 ต่ำส่งผลทำให้ระดับความถี่ของจังหวะการหลั่งของฮอร์โมน LH เพิ่มขึ้นจึงไม่สามารถเกิด LH surge ได้และทำให้ dominant follicle นั้นไม่สามารถตกไข่ได้ แล้วจึงทำให้อายุของฟอลลิเคิลฟองนั้นยาวนานขึ้น กลายเป็น persistent dominant follicle ผลที่ตามมาคือเกิดการสร้างและหลั่งฮอร์โมน estradiol- 17β เพิ่มขึ้น จึงทำให้เกิดภาวะ aged oocyte ส่งผลทำให้ตัวอ่อนในระยะแรกของการตั้งท้องตาย (early embryonic death) เพิ่มขึ้นด้วยสาเหตุดังกล่าวจึงได้มีการศึกษาวิจัยสำหรับหาแนวทางในการเพิ่มอัตราการผสมติดในช่วงแรกของการตั้งท้องโดยการเสริมฮอร์โมนที่มีฤทธิ์ทั้งทางตรงและทางอ้อมเพื่อที่จะให้ระดับของฮอร์โมน P_4 เพิ่มขึ้นให้เพียงพอกับรักษาตัวอ่อนในระยะแรกของการตั้งท้องให้มีการรอดตายสูงขึ้น ซึ่งมีหลาย ๆ วิธีเช่นการเสริม progesterone หลังผสมเทียมโดยตรง หรือเสริม GnRH และ hCG เพื่อให้เกิดการตกไข่หลังผสมเทียมสำหรับใช้เป็น accessory CL เพิ่มระดับของฮอร์โมน P_4 ในช่วงแรกของการตั้งท้องของโคให้สูงขึ้น (Santos *et al.*, 2001) ดังเช่นรายงานการวิจัยของ Sterry *et al.* (2006) ที่มีการเสริม GnRH ในวันที่ 5 หลังผสมเทียมในโคเพื่อใช้เป็น accessory CL สำหรับเพิ่มระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน P_4 พบมีอัตราการตั้งท้องเพิ่มสูงขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริม แต่มีความแตกต่างกับรายงานของ Hittinger *et al.* (2004) ได้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของฮอร์โมน hCG ขนาด 1,500 อนุ/ตัว ให้แก่โคหลังผสมเทียมวันที่ 5-7 พบว่าวันที่ 12 หลังผสมเทียมระดับ progesterone เพิ่มขึ้นกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมใน แต่อัตราการผสมติดไม่มีความแตกต่าง ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับรายงานในปีต่อมาของ Howard *et al.* (2006) ได้ทำการเสริม GnRH ในวันที่ 5 หลังผสมเทียมในโคพบว่าระดับความเข้มข้นของ progesterone เพิ่มขึ้นในวันที่ 13 หลังผสมเทียมเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มไม่ได้เสริม GnRH แต่ไม่มีผลต่อ conception rates 26.75 เปอร์เซ็นต์ กับ 24.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ($P > 0.05$)

เมื่อเริ่มการทดลองพบว่าคะแนนสภาพร่างกายโคและน้ำหนักรีดโคมีค่าเฉลี่ย (Mean±SD) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) หลังจากการผสมเทียมในโคที่ไม่พบการกลับสัดจะตรวจยืนยันการตั้งท้องด้วย ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมา

อัตราการผสมติดยืนยันด้วยระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และโปรตีนจากรก ในวันที่ 14 อัตราการผสมติดของโคในกลุ่มที่ 1 กลุ่ม 2 และกลุ่มที่ 3 มีค่าเท่ากับ 30%, 60% และ 50% ตามลำดับ โดยพบว่ากลุ่มที่ 2 และ 3 มีอัตราการผสมติดที่ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่เมื่อทำการเปรียบเทียบของโคในกลุ่มที่ 2 และ 3 กับกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมพบว่ามีอัตราการผสมติดสูงกว่ากลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในการศึกษาการเสริม GnRH (Cystorelin) ในวันที่ 5 และ 11 หลังการผสมเทียมในโคสาวและโครีดนมที่เกิดความเครียดในช่วงฤดูร้อน เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการสืบพันธุ์พบว่ากลุ่มที่เสริม GnRH ในวันที่ 5 มีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมมากกว่ากลุ่มที่เสริมในวันที่ 11 หลังผสมและกลุ่มควบคุม อัตราการผสมติดในกลุ่มที่เสริมฮอร์โมนซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การตั้งท้องของโคได้รับการยืนยันด้วยการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนักเมื่อครบ 90 วันหลังจากทำการผสมเทียม ผลการวิจัยพบว่าอัตราการตั้งท้องของโคกลุ่มที่ 1 กลุ่ม 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 20 %, 40% และ 40% ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบโคกลุ่มที่ 2 กับโคกลุ่มที่ 3 พบว่ามีอัตราการตั้งท้องไม่แตกต่างกัน (40 % vs 40%; $P>0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อทำการเปรียบเทียบโคกลุ่มที่ 2 และ 3 กับโคกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมกลับพบว่าโคกลุ่มที่ 2 และ 3 มีอัตราการตั้งท้องที่สูงกว่ากลุ่มที่ 1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในการศึกษาหาความสัมพันธ์ของการตั้งท้องและการใช้ Progesterone ร่วมกับ $PGF_{2\alpha}$ และ GnRH สังเคราะห์ GnRH ธรรมชาติ หรือ hCG ในโคเนื้อสาว ซึ่งพบว่ามีความสัมพันธ์กับจำนวนของการตั้งท้องในกลุ่มโคสาว ($p<0.05$) ที่มีการใช้ฮอร์โมน GnRH ธรรมชาติ มีการตั้งท้องจำนวน 24 จากทั้งหมด 29 ตัวคิดเป็น 82.76% ของกลุ่ม และใน แม่โคกลุ่มที่มีการใช้ฮอร์โมน hCG มีการตั้งท้องจำนวน 12 จากทั้งหมด 14 ตัวคิดเป็น 85.71% ของกลุ่มเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จึงให้เหตุผลว่าการประยุกต์วิธีการเหนี่ยวนำการตกไข่โดยการเสริมฮอร์โมน GnRh หรือ hCG ในวิธีการ Ovsynch หลังการผสมเทียมนั้นเพื่อสร้าง CL ให้เพิ่มขึ้น (accessory CL) เมื่อจำนวน CL เพิ่มขึ้นความเข้มข้นของฮอร์โมน Progertone (P_4) ก็เพิ่มขึ้นในวันที่ 12 ภายหลังการผสมเทียมระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน P_4 ที่สูงขึ้นส่งผลต่อสภาพแวดล้อมของมดลูกและการพัฒนาการของเอ็มบริโอในวันที่ 13-16 ของการตั้งท้อง

สรุปผลการทดลอง

ผลจากการศึกษา ผลของโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาที่ 48 ชั่วโมง โดยการใช้ Progesterone ร่วมกับ $PGF_{2\alpha}$ และ GnRH หรือ hCG ในโคเนื้อลูกผสมพื้นเมืองไทย ใน

จังหวัดอุบลราชธานี ซึ่งให้เห็นว่าการใช้ฮอร์โมน Progesterone แบบสอดช่องคลอด และ PGF_{2α} ร่วมกับการเสริมฮอร์โมน GnRh หรือ hCG ทำให้มีอัตราการตั้งท้องที่สูงขึ้นในโคนเนื้อ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยกาฬสินธุ์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพอุบลราชธานี สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ คณะเจ้าหน้าที่จากกรมปศุสัตว์ทุกท่าน ที่เก็บรวบรวมบันทึกข้อมูล รวมถึงศูนย์วิจัยน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์ลำพญากลาง สถานีวิจัยทดสอบพันธุ์สัตว์อุบลราชธานี สำนักงานปศุสัตว์อำเภอเมืองอุบลราชธานี เกษตรกรฟาร์มเครือข่ายที่อนุเคราะห์สถานที่ที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- สมชัย สัจจาพิทักษ์, กนกพร วาณิชานุรักษ์, วรนิษฐา เก่งปฎิยุทธ์, พงษ์สันต์ โรจนปัญญากุล, พีรยุทธ เลาวเลิศ, ศิลา จิระสุขทวีกุล และ อติสร ยะวงศา. 2551. การศึกษาความสัมพันธ์ของการตั้งท้องและการใช้ Progesterone ร่วมกับ PGF_{2α} และ GnRH สังเคราะห์ GnRH ธรรมชาติ หรือ hCG ในโคนเนื้อสาว.ประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มข. ครั้งที่ 9 สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้ 11-12 มิถุนายน 2551 ณ ห้องประชุมใหญ่ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Bao, B. and HA. Garverick. 1998. Expression of steroidogenic enzyme and gonadotropin receptor genes in bovine follicles during ovarian follicular waves: a review. J Anim Sci, 76:1903-1921.
- Bartolome, J.A., P. Melendez, D. Kelbert, K. Swift, J. McHale, J. Hernandez, F. Silvestre, C.A. Risco, A.C.M. Artech, W.W. Thatcher and L.F. Archbald. 2005. Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. Theriogenology 63: 1026-1037.
- Bell, D., R.P. Wettemann, K.S. Lusby and D.K. Bishop. 1990. Effects of Body Condition Score at Calving and Postpartum Nutrition on Performance of Two-Year-Old Heifers. OSU Animal Science Research Report MP-129 pp 23-27.
- Bo, G.A., P.S. Baruselli, D. Moreno, L. Cutaia, M. Caccia, R. Tribulo, H. Tribulo and R. J. Mapletoft. 2002. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. Theriogenology 572.

- Crane, M.B., P. Melendez, J. Bartolome, A. de Vries, C. Risco and L.F. Archbald. 2006. Association between milk production and treatment response of ovarian cysts in lactating dairy cows using the Ovsynch protocol. *Theriogenology*, 66: 1243-1248.
- Ferguson, J.D., D.T. Galligan and N. Thomsen. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77: 2695-2703.
- Gordon, I. 1996. The cow's oestrous Cycle. In: Gordon I. *Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes*. Wallingford: CAB International., 123-125.
- Hittinger, M.A., J.D. Ambrose and J.P. Kastelic. 2004. Luteolysis, onset of estrus, and ovulation in Holstein heifers given prostaglandin F₂, concurrent with, or 24 hours prior to, removal of an intravaginal, progesterone-releasing device. *J. Vet. Res* 68: 283-287.
- Howard, J. M., R. Manzo, J. C. Dalton, F. Frago and A. Ahmadzadeh. 2006. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days after artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 95:224–233.
- Inskeep, E.K. 2004. Preovulatory, postovulatory, and post-maternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *J. Anim. Sci.* 82 (Supplability, Chromatinstructure, and field fertility. *Theriogenology*. 60:743-758
- Lamb, G. C., J. E. Larson, T. W. Geary, J. S. Stevenson, S. K. Johnson, M. L. Day, R. P. Ansotegui, D. J. Kesler, J. M. DeJarnette and D. G. Landblom. 2006. Synchronization of estrus and artificial insemination in replacement beef heifers using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F₂alpha, and progesterone. *J AnimSci* 8-1: 3000-3009.
- Larson, J. E., G. C. Lamb, J. S. Stevenson, S. K. Johnson, M. L. Day, T. W. Geary, D. J. Kesler, J. M. DeJarnette, F. N. Schrick, A. DiCostanzo and J. D. Arseneau. 2006. Synchronization of estrus in suckled beef cows for detected estrus and artificial insemination and timed artificial insemination using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F₂alpha, and progesterone. *J AnimSci* 2006; 84:332-342.
- Menchaca, A. and E. Rubianes. 2001. Effect of high progesterone concentration during the early luteal phase on the length of the ovulatory cycle of goats *Anim. Reprod.Sci* 68: 69-76.
- Moreira, F., C. Risco, M. F. A. Pires, J. D. Ambrose, M. Drost, M. DeLorenzo and W. W. Thatcher. 2000. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. *Theriogenology* .53(6):1305-19

- Navanukraw, C., D. A. Redmer, L. P. Reynolds, J. D. Kirsch, A. T. Grazul-Bilska and P. M. Fricke. 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87(5): 1551–1557.
- Navanukraw, C., T. Moonmanee, S. Guntaprom and K. Kaewprom. 2010. Strategy to improve conception rate and reduce incidence of ovarian cysts in lactating postpartum dairy cows under a tropical environment. *Reproduction in Domestic Ruminants VII.SRF*. 67:618. Nottingham University Press.
- Pursley, J.R., M.O. Mee and M.C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. reproductive performance of range beef cows. *J. Anim. Sci.* 66:3153–3159. *Theriogenology* 1995; 44: 915–923.
- Santos, J. E. P., J. T. Huber, C. B. Theurer, C. B. Nussio, L. G. Nussio, M. Tarazon and D. Fish. 2001. Effects of grain processing and bovine somatotropin on metabolism and ovarian activity of dairy cows during early lactation. *J Dairy Sci*, 83:1004-1015. score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77: 2695-2703.
- Selk, G. E., R. P. Wettemann, K. S. Lusby, J. W. Oltjen, S. L. Mobley, R. J. Rasby and J. C. Garmendia. 1988. Relationship among weight change, body condition and reproductive performance of range beef cows. *J. Anim. Sci.* 66:3153–3159.
- Senger, P.L. 1997. Pathways to Preganacy and Parturition. *Theringenology* 23:120-128.
- Smith and D. J. Patterson. 2007. Comparison of progestin-based estrus synchronization protocols before fixed-time artificial insemination on pregnancy rate in beef heifers. *Journal of Animal Science* 85(8): 1933-1939.
- Sterry, R.A., M.L. Welle and P.M. Fricke. 2006. Effect of interval from timed artificial insemination to initiation of resynchroniza-tion of ovulation on fertility of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 89:2099.
- Thatcher, W. W., F. Moreira, S. M. Pancarci, J. A. Bartolome and J. E. P. Santos. 2002. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *DomestAnimEndocrinol*; 23:243-54.

ผลของสารละลาย Equex STM และระดับความเข้มข้นของน้ำเชื้อแช่แข็ง ต่ออัตราการผสมติดในแพะพื้นเมืองลูกผสมในภาคใต้ของประเทศไทย

วิศิษฐ์ ทองเที่ยง^{1/} ธวัชชัย โพธิ์คำ^{2/} จตุพร พงษ์เพ็ง^{3/}

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมสารละลาย Equex STM ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อและระดับความเข้มข้นของน้ำเชื้อแช่แข็งต่ออัตราการผสมติดในแพะพื้นเมืองลูกผสมที่เลี้ยงในเขตพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทยโดยผลิตน้ำเชื้อจากแพะพ่อพันธุ์บอร์ จำนวน 2 ตัวอายุ 3-4 ปี รีดเก็บน้ำเชื้อด้วยช่องคลอดเทียม สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกัน 5 สัปดาห์ แบ่งน้ำเชื้อออกเป็น 4 กลุ่มทดลอง ดังนี้ กลุ่มที่ 1 และ 2 ผลิตน้ำเชื้อที่ความเข้มข้น 100 และ 150 ล้านตัวต่อโด๊ส และไม่เสริมสารละลาย Equex STM กลุ่มที่ 3 และ 4 ผลิตน้ำเชื้อที่ความเข้มข้น 100 และ 150 ล้านตัวต่อโด๊ส และเสริมสารละลาย Equex STM นำน้ำเชื้อแช่แข็งทั้ง 4 กลุ่มที่มีอัตราการเคลื่อนที่ภายหลังละลายไม่น้อยกว่า 40% ไปผสมเทียมให้กับแม่แพะจำนวน 160 ตัวที่ได้รับการเหนี่ยวนำการเป็นสัดผลการศึกษาพบว่า การเสริมสารละลาย Equex STM ทำให้อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า VAP VSL และ VCL ของอสุจิมียค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม ($P < 0.05$) ความเข้มข้นของอสุจิที่ระดับ 100 และ 150 ล้านตัวต่อโด๊ส มีคุณภาพไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) และความเข้มข้น 150 ล้านตัวต่อโด๊ส กลุ่มที่เสริมสารละลาย Equex STM ทำให้อัตราการผสมติด (47.50%) สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม (32.50%) ($P < 0.05$) จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่า การเสริมสารละลาย Equex STM ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสามารถช่วยเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งแพะและอัตราการผสมติดให้สูงขึ้น ส่วนน้ำเชื้อแช่แข็งที่ไม่เสริม Equex STM ความเข้มข้นของอสุจิที่ระดับ 100 และ 150 ล้านตัวต่อโด๊ส มีผลทำให้อัตราการผสมติดในแพะพื้นเมืองลูกผสมในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทยไม่แตกต่างกัน

คำสำคัญ : ความเข้มข้นน้ำเชื้อแช่แข็งแพะสารละลาย Equex STM อัตราการผสมติด

เลขทะเบียนวิจัย : 60(1)-0208-029

^{1/} ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพสงขลา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา

^{2/} ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพสระบุรี อ.แก่งคอย จ.สระบุรี

^{3/} ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพการย้ายฝากตัวอ่อนและเซลล์สืบพันธุ์สัตว์ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

**Effects of Equex STM and Concentration of Freezing Goat Semen on Conception Rate
in Thai Native Crossbred Goats in Southern Part of Thailand.**

Visid Thongtaeng^{1/} Twatchai Pocum^{2/} Jatuporn Pongpeng^{3/}

Abstract

The objective of this study was to investigate the effect of extender supplement Equex STM and sperm concentration on conception rate of Thai native crossbred goats raised in the southern part of Thailand. The semen was collected once a week for 5 consecutive week from two mature bucks (3-4 years). The semen samples were collected, using artificial vaginal method, on 5 consecutive weeks. The semen quality was assessed based on sperm motility and concentration. The semen was divided into that the sperm progressive motility, VAP, VSL, and VCL were greater in extender supplement 4 treatment groups (100 and 150 million sperms/dose with and without Equex STM supplement) and further performed the frozen semen processing. The frozen semen from each treatment with the post-thawed motility greater than 40% were used for fixed-time artificial insemination, total 160 does. Before insemination, all does were synchronized estrus. The results showed Equex STM treated group than those in non-supplement group. The semen concentration level of 100 and 150 million sperms/dose did not affect the quality of semen ($P>0.05$). However, the conception rate was upper in extender supplement Equex STM treated group (47.50%) than those in non-supplement group (32.50%). It could be concluded that the supplementation of Equex STM in semen could increase the quality of semen and conception rate. In addition, 100 and 150 million sperms/dose without Equex STM supplement did not affect the conception rate of Thai native crossbred goats in the Southern part of Thailand.

Keywords: Concentration, Freezing Goat Semen, Equex STM, Conception rate

Registered No. : 60(1)-0208-029

^{1/} Songkhla Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Hatyai, Songkhla.

^{2/} Saraburi Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Kangkoi, Saraburi.

^{3/} Embryo Transfer Technology and Animal Germplasm Research Center, Phakchong, Nakhonratchasima.

คำนำ

ปัจจุบัน การเลี้ยงแพะในพื้นที่ภาคใต้ นิยมเลี้ยงแพะเนื้อลูกผสมพันธุ์บอร์ โดยกรมปศุสัตว์ให้การส่งเสริมและสนับสนุน การปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง ที่ผลิตจากพ่อพันธุ์ของกรมปศุสัตว์ ส่งผลให้มีความต้องการในการรับบริการผสมเทียมเพิ่มมากขึ้น ทำให้ต้องใช้น้ำเชื้อแช่แข็งในปริมาณที่มากขึ้นเพื่อให้เพียงพอต่อความต้องการ แต่เนื่องจากพ่อพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกและทดสอบสำหรับใช้ในการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งมีจำนวนจำกัด จึงจำเป็นต้องผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งให้ได้ปริมาณเพิ่มมากขึ้นจากจำนวนพ่อพันธุ์แพะที่มีอยู่เท่าเดิมโดยยังคงคุณภาพและอัตราสมมติไม่ลดลงจากเดิม

กรมปศุสัตว์กำหนดให้น้ำเชื้อแช่แข็งแพะที่ผ่านการรับรองมาตรฐานต้องมีสุกมีชีวิตรอดภายหลังการละลายไม่ต่ำกว่า 40 ล้านตัวต่อโดส ซึ่งปัจจุบันศูนย์ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งแพะผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งที่ระดับความเข้มข้นของอสุจิ 150 ล้านตัวต่อโดส และมีอัตราการเคลื่อนที่ภายหลังการละลายไม่ต่ำกว่า 40% หรือคิดเป็น 60 ล้านตัวต่อโดส ซึ่งยังมีจำนวนอสุจิมีชีวิตมากกว่ามาตรฐานที่กรมปศุสัตว์กำหนดดังนั้นหากลดระดับความเข้มข้นของอสุจิลงเหลือ 100 ล้านตัวต่อโดส และยังสามารถคงคุณภาพให้ได้ตามมาตรฐานที่กรมปศุสัตว์กำหนด น่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสามารถเพิ่มปริมาณการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งแพะให้เพียงพอต่อความต้องการได้ มีรายงานการเติมสารละลายที่สามารถเพิ่มคุณภาพของน้ำเชื้อแช่แข็ง เช่น การเติมสารละลาย Equex STM ร่วมกับน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อไข่แดงเพื่อช่วยลดความเสียหายจากการแช่แข็ง (Loskutoff *et al.*, 2010)

ดังนั้นจึงทำการศึกษาผลของสารละลาย Equex STM ต่อคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งและระดับความเข้มข้นของน้ำเชื้อแช่แข็งต่ออัตราการสมมติในแพะพื้นเมืองลูกผสมในภาคใต้ของประเทศไทยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งแพะให้มีปริมาณเพียงพอกับความต้องการของเกษตรกร โดยยังคงคุณภาพและอัตราสมมติไม่ต่างจากเดิม

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง

รีดเก็บน้ำเชื้อจากแพะพ่อพันธุ์บอร์จำนวน 2 ตัว อายุประมาณ 3-4 ปี ด้วยวิธี artificial vaginal method สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ติดต่อกัน 5 สัปดาห์ โดยกำหนดให้น้ำเชื้อมีการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิไม่ต่ำกว่า 70% ความผิดปกติของตัวอสุจิส่วนหัวไม่เกิน 12% และส่วนหางไม่เกิน 25% ตามวิธีการผลิตน้ำเชื้อแพะของศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพสงขลากรมปศุสัตว์ วางแผนการทดลองแบบ 2x2 Factorial in RCBD กำหนดให้ปัจจัยที่ศึกษา (Factor) 2 ปัจจัย ได้แก่ปัจจัยที่ 1 การเสริมสารละลาย Equex STM ที่ระดับความเข้มข้น 0.5% (v/v) และไม่เสริม ปัจจัยที่ 2 ระดับความเข้มข้นน้ำเชื้อ 100 และ 150 ล้านตัวต่อโดส และกำหนดให้ พ่อพันธุ์ เป็นบล็อก (Table 1)

Table 1 Factorial in Randomized Complete Block Design.

Factor1	Egg yolk tris extender				Egg yolk tris extender supplement Equex STM			
Factor2	Concentration 100 million sperms/dose		Concentration 150 million sperms/dose		Concentration 100 million sperms/dose		Concentration 150 million sperms/dose	
Block	Buck1	Buck2	Buck1	Buck2	Buck1	Buck2	Buck1	Buck2

น้ำเชื้อที่รีดเก็บได้จากพ่อพันธุ์แพะนำมาปั่นล้างเซมินอลพลาสมา ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็ว 1,500 รอบ/นาที นาน 10 นาที แยกเอาสารละลายส่วนบนทิ้ง นำเอาเฉพาะอสุจิที่จับตัวกันอยู่ส่วนล่างมา แบ่งเป็น 4 ส่วนเท่าๆ กัน เจือจางด้วยน้ำยาเจือจาง และคำนวณความเข้มข้นของอสุจิตามกลุ่มทดลอง จากนั้นนำไปปั่นในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียสเพื่อให้ตัวอสุจิปรับสมดุลเป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นบรรจุน้ำเชื้อลงในหลอดน้ำเชื้อขนาด 0.25 มิลลิลิตรทำการแช่แข็งด้วยการอ้งหลอดบรรจุน้ำเชื้อ เหนือไอไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิ -120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และเก็บรักษาไว้ภายใต้ระดับ ไนโตรเจนเหลวในถังเก็บน้ำเชื้อ

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ

สุมน้ำเชื้อแช่แข็งแต่ละสัปดาห์ๆ ละ 3 หลอด เพื่อตรวจคุณภาพ ด้วยการละลายโดยแช่ในน้ำอุ่นที่ อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที จากนั้นตรวจคุณภาพน้ำเชื้อด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ คุณภาพน้ำเชื้อ CASA โปรแกรม CEROSII Animalbreeders, Hamilton Thorne USA.ดังนี้

1. อัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ (motility; %)
2. อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิ (progressive motility; %)
3. ความเร็วในการเคลื่อนที่ของอสุจิ (velocity) ได้แก่
 - Average path velocity; VAP ($\mu\text{m/s}$) หมายถึง ความเร็วในการเคลื่อนที่เฉลี่ยจากระยะทางจริง ใน 1 วินาที
 - Straight-line velocity; VSL ($\mu\text{m/s}$) หมายถึง ความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีตรง เป็นการคำนวณ จากจุดหนึ่งไปยังอีกจุดหนึ่งในแนวเส้นตรงในช่วงระยะเวลา 1 วินาที
 - Curvilinear velocity; VCL ($\mu\text{m/s}$) หมายถึงความเร็วในการเคลื่อนที่วิถีโค้งเป็นการคำนวณ แนวโน้มของการเคลื่อนที่เฉลี่ยใน 1 วินาที
4. ลักษณะการเคลื่อนที่ (kinetic movement) ได้แก่
 - Amplitude of lateral head displacement; ALH (μm) คือความกว้างของส่วนหัวของตัวอสุจิที่ ส่ายไปมา

- Beatcross frequency; BCF (Hz) คือความถี่ของการส่ายส่วนหัวของตัวสุจิ
- Straightness; STR (%) คือความตรงในการเคลื่อนที่ ซึ่งคำนวณจากอัตราส่วนความเร็วของการเคลื่อนที่ในวิถีตรงต่อความเร็วเฉลี่ยในการเคลื่อนที่คูณด้วยร้อย
- Linearity; LIN (%) คืออัตราส่วนความเร็วของการเคลื่อนที่ในวิถีตรงต่อความเร็วเฉลี่ยของการเคลื่อนที่วิถีโค้ง

การทดลองที่ 2 การผสมเทียม

คัดเลือกแม่แพะลูกผสมพื้นเมืองของเกษตรกร จำนวน 160 ตัว ที่เลี้ยงในพื้นที่ จังหวัด สงขลา ปัตตานี ยะลาและนราธิวาสทำการทดลองระหว่างเดือนตุลาคม 2559 ถึง กันยายน พ.ศ. 2560 โดยคัดเลือกฟาร์มที่มีการเลี้ยงแพะจำนวน 10-20 แม่ขึ้นไป น้ำหนัก 20-25 กิโลกรัมมีคะแนนร่างกาย 2.5-4 (จากเกณฑ์คะแนนตั้งแต่1-5) อายุ 15-24 เดือนเคยมีลูกมาแล้วอย่างน้อย 1 ตัวมีสุขภาพแข็งแรง มีการเลี้ยงดูแบบขังและปล่อยในทุ่งหญ้า

ทำการสุมน้ำเชื้อแช่แข็งทั้ง 4 กลุ่มทดลองที่มีอัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิภายหลังการละลายไม่ต่ำกว่า 40% โดยในแต่ละกลุ่มจะสุ่มจากพ่อพันธุ์ทั้ง 2 ตัวสลับกัน ผสมเทียมให้กับแม่แพะในจำนวนเฉลี่ยให้เท่าๆกันโดยใช้แม่แพะทั้งหมด160 ตัวผสมเทียมด้วยวิธีสอดผ่านช่องคลอด (Transcervical artificial insemination) แบบกำหนดเวลา (Fixed time) แม่แพะทั้งหมดทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัด โดยใช้โปรเจสเทอโรนชนิดสอดช่องคลอด (CIDR® type G, containing 0.3 g progesterone; Pfizer, Animal Health, New Zealand) และ ฉีด PGF_{2α} (Cloprostenol250ug/ml; Estrumate®, Intervet International B.V., Thailand) ขนาด 0.5 มิลลิลิตรเข้ากล้ามเนื้อและ PMSG (200IU/ml; Folligon®, Intervet International B.V., Thailand) ขนาด 0.75 มิลลิลิตรเข้ากล้ามเนื้อในวันที่ 15 ก่อนถอดฮอร์โมน CIDR® ในวันที่17 (**Figure 1**) และทำการผสมเทียม 2 ครั้ง ชั่วโมงที่ 48 และ72 หลังถอด CIDR® (นิวตัน และคณะ, 2550) ตรวจการตั้งท้องหลังผสมเทียม 40-45 วันด้วยเครื่องอัลตราซาวด์เก็บรวบรวมข้อมูล

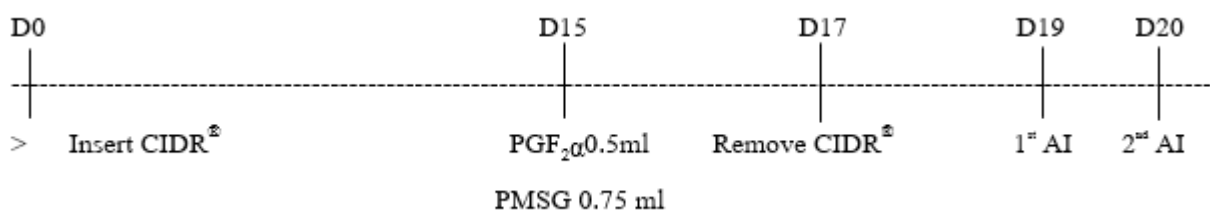


Figure 1 Estrous synchronization program in goat.

การวิเคราะห์และแปลผลค่าตัวชี้วัดของคุณภาพน้ำเชื้อ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วย Analysis of Variance วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test และอัตราการผสมติดด้วยการวิเคราะห์ความถี่ (Analysis of Frequency Data)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งแพะพบว่าปัจจัยการเสริมและไม่เสริมสารละลาย Equex STM กับระดับความเข้มข้นของอสุจิไม่มีอิทธิพลร่วมกัน จึงพิจารณาผลการทดลองที่ละปัจจัยพบว่าการเสริมสารละลาย Equex STM และความเข้มข้นของอสุจิไม่มีผลต่ออัตราการเคลื่อนที่ของอสุจิ ($P>0.05$) แต่การเสริมสารละลาย Equex STM มีผลทำให้อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า VAP VSL และ VCL ของอสุจิมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริมแต่ลักษณะการเคลื่อนที่ ALH STR และ LIN ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่ปัจจัยของความเข้มข้นของอสุจิที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 150 ล้านตัวต่อโด๊ส มีผลทำให้น้ำเชื้อแช่แข็งแพะมีคุณภาพไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (Table 2)

การเสริมสารละลาย Equex STM ในน้ำยาเจือจางสามารถเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งแพะโดยทำให้อัตราการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า และความเร็วในการเคลื่อนที่ VAP VSL และ VCL เพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงถึงอสุจิมีความสามารถในการเคลื่อนที่ได้ดีขึ้นในขณะที่ยังคงลักษณะการเคลื่อนที่ของอสุจิไว้ โดยประเมินจากค่า ALH STR และ LIN ที่ไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการเสริมสารละลาย Equex STM ในน้ำยาเจือจางสามารถช่วยลดความเสียหายจากการแช่แข็ง (Loskutoff *et al.*, 2010) ทำให้น้ำเชื้อแช่แข็งมีคุณภาพดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวิศิษฐ์และคณะ (2556) ที่ทำการศึกษาการเสริมสารละลาย Equex STM ที่ระดับ 0.5% (v/v) ในน้ำยาเจือจางชนิด Egg Yolk Tris พบว่าสามารถช่วยเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งแพะภายหลังละลายได้ดีที่สุด สอดคล้องกับ Anakkul *et al.* (2010) พบว่าการเสริมสารละลาย Equex STM ที่ระดับความเข้มข้น 1% ในน้ำยาเจือจางสามารถช่วยเพิ่มอัตราการรอดของอสุจิแพะในช่วง 2 ชั่วโมงภายหลังการละลาย นอกจากนี้การเสริมสารละลาย Equex STM ในน้ำยาเจือจางในสัตว์ชนิดอื่น ก็สามารถช่วยเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งให้ดีขึ้นเช่นกัน อาทิเช่น สุกร ที่ระดับความเข้มข้น 1.5% (Graham and Crabo, 1972) น้ำเชื้อสุนัขที่ระดับความเข้มข้น 0.5% (Rota *et al.*, 1997) น้ำเชื้อโคที่ระดับความเข้มข้น 0.375 % (Underwood *et al.*, 2009) และน้ำเชื้อหนูทดลองที่ระดับความเข้มข้น 0.5% (Devit *et al.*, 2000)

Table 2 Post-thawed sperm quality parameters were examined by CASA.

parameter	Egg yolk tris extender		Egg yolk trisextender supplement	
			Equex STM	
	100x10 ⁶ (sperms/dose)	150x10 ⁶ (sperms/dose)	100x10 ⁶ (sperms/dose)	150x10 ⁶ (sperms/dose)
Motility (%)	77.57±11.80	79.11±4.74	91.50±4.43	94.87±3.30
Progressive motility (%)	17.97 ^b ±0.35	14.63 ^b ±3.67	50.78 ^a ±9.30	53.83 ^a ±8.77
<u>Velocity movement</u>				
VAP (µm/s)	15.58 ^b ±2.99	20.15 ^b ±2.07	32.83 ^a ±3.35	37.50 ^a ±3.98
VSL (µm/s)	7.85 ^c ±2.57	14.31 ^{bc} ±1.73	24.73 ^{ab} ±3.95	28.45 ^a ±3.34
VCL (µm/s)	37.64 ^b ±4.07	44.50 ^{ab} ±20.04	59.28 ^{ab} ±5.68	69.64 ^a ±5.12
<u>Kinetic movement</u>				
ALH (µm)	3.21±1.57	2.53±0.25	3.78±0.36	3.64±0.34
BCF (Hz)	66.29 ^a ±23.91	32.27 ^b ±2.82	29.37 ^b ±2.41	26.13 ^b ±0.82
STR (%)	70.84±11.46	70.37±3.87	69.24±4.49	71.73±2.50
LIN (%)	46.81±5.12	40.27±3.22	40.97±4.47	39.41±2.76

^{abc} Different superscripts within the same row demonstrate significant differences (P<0.05)

Table 3 Conception rate from Artificial Insemination in Goat.

parameter	Egg yolk tris extender		Egg yolk tris extender Supplement Equex STM	
	100x10 ⁶ (sperms/dose)	150x10 ⁶ (sperms/dose)	100x10 ⁶ (sperms/dose)	150x10 ⁶ (sperms/dose)
Goat (n)	40	40	40	40
Pregnant(n)	12 ^b	13 ^b	14 ^b	19 ^a
Conception rate (%)	30.00 ^b	32.50 ^b	35.00 ^b	47.50 ^a

^{abc} Different superscripts within the same row demonstrate significant differences (P<0.05)

เมื่อนำน้ำเชื้อแช่แข็งแต่ละกลุ่มไปผสมเทียมให้กับแม่แพะในฟาร์มเกษตรกรพื้นที่ จังหวัด สงขลา บัตตานี ยะลาและนราธิวาส พบว่าอัตราการผสมติดจากการใช้น้ำเชื้อกลุ่มที่ผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง ความเข้มข้น 100 ล้านตัวต่อโดส การเสริมและไม่เสริมสารละลาย Equex STM มีผลทำให้อัตราการผสมติด ไม่แตกต่างกัน แต่น้ำเชื้อแช่แข็งความเข้มข้น 150 ล้านตัวต่อโดสกลุ่มที่เสริมสารละลาย Equex STM มีผล ทำให้อัตราการผสมติด (47.50%) สูงกว่ากลุ่มที่ไม่เสริม (32.50%) (**Table 3**) ปัจจุบันน้ำเชื้อแช่แข็งแพะของ กรมปศุสัตว์มีความเข้มข้น 150 ล้านตัวต่อโดส ซึ่งจากการทดลองในครั้งนี้การเสริมสารละลาย Equex STM

สามารถเพิ่มอัตราการผสมติดได้ดีขึ้นดังนั้นการเสริมสารละลาย Equex STM ในน้ำยาเจือจางจึงน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเพิ่มทั้งคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งและประสิทธิภาพการผสมติดในแพะ และเมื่อพิจารณาต้นทุนการผลิตในส่วนของน้ำยาเจือจางที่ไม่เสริมสารละลาย Equex STM มีราคา 60 บาท/โดส ในขณะที่น้ำยาเจือจางที่เสริมสารละลาย Equex STM มีราคา 60.15 บาท/โดส ซึ่งแตกต่างกันเล็กน้อย ถือว่าเป็นการเพิ่มต้นทุนการผลิตที่ต่ำมากเมื่อเทียบกับผลที่ได้รับจากการเพิ่มอัตราการผสมติดได้อีก 15%

ผลการศึกษาในกลุ่มที่ไม่เสริมสารละลาย Equex STM ความเข้มข้น 150 ล้านตัวต่อโดสและ 100 ล้านตัวต่อโดส พบว่าอัตราการผสมติดจากความเข้มข้นของน้ำเชื้อแช่แข็งทั้ง 2 ระดับไม่แตกต่างกัน โดยมีอัตราการผสมติดที่ 30-32.5% ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบการผสมเทียมแพะที่ผ่านมาส่วนใหญ่ใช้น้ำเชื้อแช่แข็งที่มีความเข้มข้น 200 ล้านตัวต่อโดส โดยในปี พ.ศ. 2550 มีการศึกษาเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแพะพันธุ์ชานเนน ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่วมกับ $\text{PGF}_{2\alpha}$ และ PMSG ในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีความเข้มข้น 200 ล้านตัวต่อโดส ในช่วงเวลาที่ 48 และชั่วโมงที่ 72 พบว่ามีอัตราการผสมติดที่ร้อยละ 52 (นิวตันและคณะ 2550) และปี พ.ศ. 2552 มีการทดลองเหนี่ยวนำการเป็นสัดและผสมเทียมแพะพันธุ์ชานเนน โดยการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมน PMSG ด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีความเข้มข้น 200 ล้านตัวต่อโดส พบว่าอัตราการผสมติดเท่ากับร้อยละ 47-50 (พีระพงษ์และคณะ 2552) ต่อมาในปี พ.ศ. 2553 พีระพงษ์และสาโรช (2553) ศึกษาผลของใช้ CIDR® และ Chornogest ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและผสมเทียมในแพะชานเนนด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีความเข้มข้น 200 ล้านตัวต่อโดส พบว่ามีอัตราการผสมติดเท่ากับร้อยละ 39.9-43.1 ในขณะที่ อภิชัยและคณะ (2553) รายงานการใช้ CIDR® และผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีความเข้มข้น 200 ล้านตัวต่อโดสมีอัตราการผสมติดร้อยละ 30 และในต่างประเทศ การผสมเทียมแพะก็ใช้น้ำเชื้อแช่แข็งที่มีความเข้มข้น 200 ล้านตัวต่อโดส ซึ่งมีอัตราการผสมติดใกล้เคียงกัน คือร้อยละ 58 (Holtz *et al.*, 2008) และ Arrebola *et al.* (2012) ผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อที่มีความเข้มข้น 200 ล้านตัวต่อโดส ครั้งเดียวที่ 46 ชั่วโมงภายหลังถอดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดฟองน้ำสอดช่องคลอดมีอัตราการผสมติดที่ 48.7%

ในขณะเดียวกัน มีการศึกษาลดความเข้มข้นของน้ำเชื้อแช่แข็งความเข้มข้น 150 ล้านตัวต่อโดส ซึ่งเป็นระดับที่ให้ผลการผสมติดไม่ต่างจากน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีความเข้มข้น 200 ล้านตัวต่อโดสโดย Dogan *et al.* (2004) ศึกษาเปรียบเทียบฮอร์โมนฟลูออโรเจสโตนและเมดดรอกซ์โปรเจสเตอโรนแบบฟองน้ำชนิดสอดช่องคลอดเหนี่ยวนำการเป็นสัดและผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อความเข้มข้น 150 ล้านตัว/โดส โดยผสมเทียมครั้งเดียวชั่วโมงที่ 48 หลังถอดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนพบว่ามีอัตราผสมติดร้อยละ 52.6 และ 50 ตามลำดับ ขณะที่พีระศักดิ์ (2548) ทำการผสมเทียมแพะด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่มีความเข้มข้น 100 ล้านตัวต่อโดส ผสมเทียมเพียงครั้งเดียวมีอัตราการผสมติดร้อยละ 60-65

อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาในครั้งนี้ การลดระดับความเข้มข้นของน้ำเชื้อจาก 150 เป็น 100 ล้านตัวต่อโด๊ส มีผลทำให้อัตราการผสมติดไม่แตกต่างกัน ดังนั้นการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งแพะจึงอาจลดระดับความเข้มข้นของน้ำเชื้อเป็น 100 ล้านตัวต่อโด๊ส แต่พบว่าอัตราการผสมติดยังค่อนข้างต่ำ ซึ่งเกิดจากสาเหตุหลายปัจจัยที่ส่งผลต่ออัตราการผสมติด ทั้งนี้สันนิษฐานว่าอาจเกิดจากปัจจัยในการเลี้ยงดูแม่แพะ ซึ่งในจังหวัดชายแดนภาคใต้ส่วนใหญ่เป็นเกษตรกรรายย่อยเลี้ยงแพะจำนวนไม่มาก ปลอ่ยหลังบ้านให้กินหญ้าและต้นพืชที่มีตามธรรมชาติ ซึ่งแตกต่างจากการเลี้ยงในสภาพฟาร์มที่มีการจัดการที่ดีกว่า จึงทำให้อัตราการผสมติดต่ำจำเป็นต้องหาแนวทางเพิ่มอัตราการผสมติดให้สูงขึ้นกว่านี้ซึ่งยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่อาจมีผลต่ออัตราการผสมติดจากการผสมเทียมด้วยวิธีนี้ เช่น ตำแหน่งที่ปลอ่ยน้ำเชื้อ การใช้เวลาผสมเทียม การจัดการอาหารสัตว์ เป็นต้น โดยมีรายงานการศึกษาของ Arrebola *et al.* (2012) รายงานว่าตำแหน่งที่ปลอ่ยน้ำเชื้อมีผลต่ออัตราการผสมติด การใช้เวลาผสมเทียมนานจะทำให้อัตราการผสมติดต่ำกว่าใช้เวลาสั้น (Houdeau *et al.*, 2008) และแพะที่ได้รับการเสริมอาหารจะแสดงพฤติกรรมการเป็นสัตว์และมียอัตราการตกไข่ การตั้งท้องดีกว่าแพะที่ไม่ได้รับการเสริมอาหาร (Fitz-Rodriguez *et al.*, 2009)

สรุปผลการทดลอง

การเสริมสารละลาย Equex STM ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสามารถช่วยเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งแพะและอัตราการผสมติดให้สูงขึ้นส่วนน้ำเชื้อแช่แข็งที่ไม่เสริม Equex STM ความเข้มข้นของอสุจิที่ระดับ 100 และ 150 ล้านตัวต่อโด๊ส มีผลทำให้อัตราการผสมติดในแพะพื้นเมืองลูกผสมในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทยไม่แตกต่างกัน

ข้อเสนอแนะ

ปัจจุบันการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งแพะของกรมปศุสัตว์มีความเข้มข้นของอสุจิที่ระดับ 150 ล้านตัวต่อโด๊ส ดังนั้นหากต้องการเพิ่มคุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งและอัตราการผสมติด ควรพิจารณาเสริมสารละลาย Equex STM ในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อและในกรณีที่ต้องการเพิ่มปริมาณการผลิตแต่ยังคงคุณภาพน้ำเชื้อและอัตราการผสมติดไม่แตกต่างจากเดิม อาจพิจารณาลดความเข้มข้นของอสุจิที่ระดับ 150 ล้านตัวต่อโด๊ส เป็นที่ระดับ 100 ล้านตัวต่อโด๊สเพื่อให้ได้ปริมาณเพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นายสัตวแพทย์กิตติศักดิ์ แสงสกุล และเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพสงขลา ที่ให้การช่วยเหลือและสนับสนุนให้สามารถดำเนินการวิจัยเป็นไปตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

- นิวัฒน์ ถาวระ อนนท์ เทื่องสันเทียะ และบรรลือ กล้าพล. 2550. การเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR® และ PGF_{2α} ร่วมกับ PMSG ต่อการผสมติดของแพะพันธุ์ชานเนน. วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 สิงหาคม 2550. หน้า 1-7.
- พีระพงษ์ สำราญทรัพย์ และสาโรช งามขำ. 2553. ผลของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดต่อการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและอัตราการผสมติดในแพะนม ประชุมวิชาการสัตวแพทยมหาวิทยาลัยขอนแก่น. ครั้งที่ 11 ประจำปี 2553 อาเซียนกับโอกาสธุรกิจปศุสัตว์ สัตว์เลี้ยงและสัตวแพทย์ไทย. วันที่ 10-11 มิถุนายน 2553.
- พีระพงษ์ สำราญทรัพย์ สาโรช งามขำ อนนท์ เทื่องสันเทียะ และณรงค์ เลี้ยงเจริญ. 2552. ประสิทธิภาพการลดฮอร์โมน PMSG ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งแพะ. วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. ปีที่ 4 ฉบับที่ 1 มิถุนายน 2552. หน้า 16-23.
- พระศักดิ์ สุทธิโยธิน. 2548. การแช่แข็งน้ำเชื้อแพะ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 2548. หน้า 100–106.
- วิศิษฐ์ ทองเที่ยง รัชชัย โพธิ์คำ และจตุพร พงษ์เพ็ง. 2556. การใช้ Equex STM ในน้ำยาสำเร็จรูปเจือจางน้ำเชื้อไข่แดงเพื่อแช่แข็งน้ำเชื้อแพะ. วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. ปีที่ 8 ฉบับที่ 1 พฤศจิกายน 2556. หน้า 42-48.
- อภิชัย พูนชัย อนนท์ เทื่องสันเทียะ ณรงค์ เลี้ยงเจริญ บันลือ กล้าพล และมาลี อภิเมธีธารง. 2553. การเหนี่ยวนำการเป็นสัดและผสมเทียมแพะด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง. วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. ปีที่ 5 ฉบับที่ 1 มิถุนายน 2553. หน้า 108-119.
- Anakkul, N., S. Khunmanee, P.Diloksumpan, K.Promthep, J.Suwimonteerabutr and M. Techakumphu. 2010. Cryopreservation of goat semen in extenders supplemented with different concentrations of Equex STM paste. Proc. 9thChulalongkorn. Veterinary Science Annual. Congress page 135.
- Arrebola, F.A., B. Pardo, M.Sanches, M.D. Lopez and C.C. Perez-Marin, 2012. Factor influencing the success of an artificial insemination program in Florida goats. Spanish Journal of Agricultural Research. 10(2): 338- 344.
- Devit, M., W.S. Marley and J.K. Graham. 2000. Fertilizing potential of mouse spermatozoa cryopreserved in a medium containing whole eggs. Cryobiology. 40: 36-45.

- Dogan,I.,Z.Nur,U. Gunay, M.K.Soylu and C. Sonmez.2004. Comparison of fluorgestone and medroxyprogesteroneintravaginal sponges for oestrus synchronization in Saanendoes during the transition period.South African Journal of Animal Science. 34(1): 18-22.
- Fitz-Rodriguez, G., M.A. Santiago-Miramontes (De), R.J. Scaramuzzi, B.Malpauxand J.A. Delgadillo. 2009. Nutritional supplementation improves ovulation and pregnancy rates in female goats managed under natural grazing conditions and exposed to the male effect. Animal Reproductive Science. 116(1-2): 85-94.
- Graham, E.F. and B.G. Crabo. 1972. Some factors influencing the freezing of boar spermatozoa. 7 th International congress of animal reproduction and artificial insemination.Munich, Germany.1627-1632.
- Holtz, W. H., H. Sohnrey, M. Gerland and M. A. Driancourt. 2008. Ovsynch synchronization and fixed-time insemination in goats.Theriogenology.69(7):785-792.
- Houdeau, E., V. Furstoss,Y. Forgerit, J.L.Bonneand B. Leboeuf. 2008. Short-duration insemination with frozen semen increases fertility in nulliparous dairy goats. Animal. 2 (10): 1496-1500.
- Loskutoff, N.M., J. Rohr, R.B. Lomneth, D.G.Woodand E. Crichton. 2010. Semen extender composition and methods for manufacturing and using. United States Patent. Patent No.: US 7,674,576 B2. Date of Patent: March 9, 2010. Page 14.
- Rota, A., B. Strom,CLinde-Forsberg and H. Rodriquez-Martinez. 1997. Effects of Equex STM paste in viability of frozen-thawed dog spermatozoa during in vitro incubation at 38 oC. Theriogenology. 47: 1093-1101.
- Underwood, SL., R. Bathgate,W.M.C. Maxwell and G. Evans.2009. Development of procedures for sex-sorting frozen–thawed bovine spermatozoa. Reproductive Domestic Animal. 44: 460-466.

ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จของการผสมเทียมแพะในพื้นที่ภาคกลาง
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ของประเทศไทย

จิตศักดิ์ เมืองเขียว^{1/} สุรศักดิ์ เพชรรัตน์^{2/} วิโรจน์ สัมพันธ์พร^{3/}

บทคัดย่อ

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จของการผสมเทียมแพะด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ของประเทศไทยโดยเก็บข้อมูลการผสมเทียมแพะด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งในพื้นที่ภาคกลาง (เขต 1 และ 7) ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (เขต 3 และ 4) และภาคใต้ (เขต 8 และ 9) ในปี พ.ศ.2553–2560 นำมาประเมินปัจจัยเสี่ยงของการผสมเทียมที่มีผลต่ออัตราการผสมติดตั้งท้องการศึกษาครั้งนี้ ประกอบด้วย อิทธิพลของเขตพื้นที่ เดือนสถานะของแม่แพะ พันธุ์พ่อแพะ การเป็นสัตว์ คะแนนความสมบูรณ์ของร่างกายแม่แพะ ระดับความลึกในการสอดป็นฉีดน้ำเชื้อเข้าไปในช่องคลอด เจ้าหน้าที่ที่ทำการผสมเทียมและปีที่ทำการผสมเทียม พบว่า ค่าเฉลี่ยของอัตราการผสมติดจากการผสมเทียม มีค่าร้อยละ 43.8 โดยแม่แพะที่ได้รับการผสมเทียมในพื้นที่ภาคใต้ มีค่าร้อยละ 40.2 มีอัตราการผสมติดต่ำกว่าภาคกลางที่มีค่าร้อยละ 47.3 ($p < 0.05$, odd ratio = 0.4496) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่มีร้อยละ 45.3 ($p < 0.05$, odd ratio = 0.0577) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าเฉลี่ยของอัตราการผสมติดจากการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งพบว่า ปัจจัยของช่วงเวลา สถานะของแม่แพะ พันธุ์พ่อแพะ การแสดงอาการเป็นสัตว์ ระดับความลึกในการสอดป็นฉีดน้ำเชื้อผ่านคอมดลูกมีค่าแตกต่างกับกลุ่มเปรียบเทียบ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

คำสำคัญ : การผสมเทียมแพะน้ำเชื้อแช่แข็งอัตราการผสมติด

เลขทะเบียนวิชาการ : 61(2)-0208-039

^{1/} ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพสุราษฎร์ธานี อ.พุนพิน จ.สุราษฎร์ธานี

^{2/} ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์สุราษฎร์ธานี อ.พุนพิน จ.สุราษฎร์ธานี

^{3/} สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ อ.เมือง จ.ปทุมธานี

**Factors affecting the kidding rate with artificial insemination of goat in the center,
northeast and southern of Thailand**

Jitthasak Maungkhio^{1/} Surasak Peacharatn^{2/} Wiroch Sumpunporn^{3/}

Abstract

The study of factors affecting the success of artificial insemination using frozen semen in goat was conducted in the center (1 and 7 regions), northeast (3 and 4 regions) and southern (8 and 9 regions) of Thailand since 2010 to 2017. The data was evaluated for the risk factors on kidding rate. Factors considered in this study were regions, month of AI, female goat status, breed of buck, heat signs and body condition score, the depth of trans-cervical insemination, technician and year of AI. The study found that the average of kidding rate is 43.8%. The kidding rate of southern area (40.2%) is significantly lower than that of center area (47.3%) ($p < 0.05$, odd ratio = 0.4496) and that of northeast area (45.3%) ($p < 0.05$, odd ratio = 0.0577). Apart from that, the other factors, which are months of the year, female goat status, breed of buck, heat signs and the depth of trans-cervical insemination, were significantly different from the control group ($p < 0.05$).

Keywords: artificial insemination of goat, frozen semen, kidding rate

Registered No. : 61(2)-0208-039

^{1/} Suratthani Artificial Insemination and Biotechnology Research Center. Suratthani

^{2/} Suratthani Animal Breeding and Research Center. Suratthani

^{3/} Bureau of Biotechnology in Livestock Production, Department of Livestock Development, Patumthani

คำนำ

ปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งของเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะคือการขาดแคลนแพะพันธุ์ดี เนื่องจากพ่อพันธุ์ที่ดี มีราคาค่อนข้างสูงเกษตรกรส่วนใหญ่จึงมักคัดเลือกพ่อพันธุ์ภายในฝูงมาใช้ ทำให้ปัญหาอีกอย่างก็ตามมาคือการผสมเลือดชิดการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ทำให้เกษตรกรสามารถเข้าถึงแพะพันธุ์ดีในราคาไม่แพง และสามารถกระจายพันธุ์กรรมได้อย่างกว้างขวาง และรวดเร็ว

การผสมเทียมแพะในประเทศไทย เริ่มมีบทบาทต่อการพัฒนาและปรับปรุงพัฒนาแพะมาตั้งแต่ปี พ.ศ.2550 ปัจจุบันได้รับความสนใจจากเกษตรกรเพิ่มสูงขึ้นเป็นลำดับ อย่างไรก็ตาม ผลการผสมเทียมแพะในแต่ละฟาร์ม แต่ละพื้นที่ มีอัตราการผสมติดแตกต่างกันมาก ตั้งแต่ร้อยละ 10.5 ถึง 66.7 (มาลี และคณะ, 2556; Jitthasak *et al.*, 2014)

การผสมเทียม (Artificial insemination) เป็นเทคโนโลยีชีวภาพทางการสืบพันธุ์ที่นำมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสัตว์และกระจายพันธุ์กรรมของสัตว์พันธุ์ดี เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ ความสำเร็จของการผสมเทียมขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ประกอบด้วย ปัจจัยของสภาพแวดล้อม ได้แก่ การจัดการฟาร์ม วัน เดือน ปี ที่ทำการผสมเทียม ปัจจัยของเทคนิคการผสมเทียม ได้แก่ โปรแกรมเหนี่ยวนำการเป็นสัด น้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์แต่ละตัว เทคนิคการเจาะจางน้ำเชื้อ เทคนิคการสอดปืนผสมเทียม และปัจจัยของความพร้อมของแม่แพะ ได้แก่ ความสมบูรณ์ร่างกาย ลำดับท้อง ช่วงห่างจากคลอดถึงผสมเทียม ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ในแต่ละพื้นที่อาจจะพบแตกต่างกันไป (Mellado *et al.*, 2006; Salvador *et al.*, 2005; Nunes and Salgueiro, 2011) ฟาร์ม (Paulenz *et al.*, 2005 และ Salvador *et al.*, 2005) ฤดูกาล พ่อแพะ (Arrebola *et al.*, 2012) ระบบการผลิตแพะ ปีที่ทำการผสมเทียม (Arrebola *et al.*, 2012) ตำแหน่งที่ใช้ในการฉีดน้ำเชื้อ (Arrebola *et al.*, 2012, Salvador *et al.*, 2005) นอกจากนี้ความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่แพะยังมีผลต่ออัตราการตั้งท้องและอัตราการให้ลูกในแม่แพะ (Paulenz *et al.*, 2005)

ดังนั้น การศึกษาข้อมูลปัจจัยพื้นฐานที่มีผลต่อความสำเร็จของการผสมเทียมแพะจึงมีความสำคัญที่จะช่วยให้สามารถควบคุมปัจจัยที่อาจจะมีผลต่อความสำเร็จจากการทำการผสมเทียมในฟาร์มเกษตรกรให้ดีขึ้นได้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ทำการเก็บข้อมูลการผสมเทียมแพะในฟาร์มของเกษตรกรด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งในพื้นที่ภาคกลาง (เขต 1,7) ภาคตะวันออกเฉยงเหนือ (เขต 3,4) และภาคใต้ (เขต 8,9) ระหว่างปี พ.ศ. 2553 – 2560 จำแนกประเภทปัจจัยที่ทำการศึกษาดังนี้

- พื้นที่ ประกอบด้วยภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉยงเหนือ และ ภาคใต้
- ช่วงเวลาที่ทำการผสมเทียม แบ่งเป็นรายเดือน

- น้ำเชื้อแช่แข็งจากพันธุ์พ่อแพะ 6 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์อัลไพน์, แองโกลนูเบียน, บอร์, คาลาฮารีเรด, ซาแนน และท็อกเกนเบิร์ก
- สถานะของแพะที่ได้รับการผสมเทียมออกเป็นแพะสาวจำนวน 2,129 ตัว และแพะนางจำนวน 7,098 ตัว
- ค่าคะแนนความสมบูรณ์ของร่างกายในวันที่ทำการผสมเทียม แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือแม่แพะผสม (มีค่าคะแนนความสมบูรณ์ของร่างกายเท่ากับ 2) แม่แพะที่มีความสมบูรณ์ของร่างกายขนาดพอดี (มีค่าคะแนนความสมบูรณ์ของร่างกายเท่ากับ 3) และแม่แพะอ้วน (มีค่าคะแนนความสมบูรณ์ของร่างกายเท่ากับ 4)
- ลักษณะการเป็นสัดของแม่แพะ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ แม่แพะที่ทำการเหนียวน้ำให้เกิดการเป็นสัดโดยใช้ฮอร์โมน และแม่แพะที่แสดงการเป็นสัดตามธรรมชาติ
- ลักษณะของเมือกโดยสังเกตได้ จำแนกออกเป็น 3กลุ่ม คือ ไม่มีเมือก เมือกที่มีลักษณะใส และเมือกขุ่น
- ระดับความลึกในการสอดป้อนฉีดน้ำเชื้อเข้าไปในคอมดลูกแบ่งออกเป็น 3 ระดับ คือ สอดได้ลึกน้อยกว่า 1.5, 1.5-3 และ มากกว่า 3 เซนติเมตร
- ปีที่ทำการศึกษา ได้แก่ ปี พ.ศ. 2553 2554 2555 2556 2557 2558 2559 2560
- ข้อมูลความสำเร็จจากการผสมเทียม ได้แก่ อัตราการผสมติดจากการตรวจท้องด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ (ท้อง และไม่ท้อง)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ปัจจัยเสี่ยงของการผสมเทียมที่มีผลต่ออัตราการผสมติดตั้งท้อง ในการศึกษาครั้งนี้ ประกอบด้วย อิทธิพลของเขตพื้นที่ เดือน สถานะของแม่แพะ พันธุ์พ่อแพะ การเป็นสัด คะแนนความสมบูรณ์ของร่างกายแม่แพะ ระดับความลึกในการสอดป้อนฉีดน้ำเชื้อเข้าไปในช่องคลอด เจ้าหน้าที่ที่ทำการผสมเทียมและปีที่ทำการผสมเทียม ถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้การถดถอยโลจิสติก (Logistic regression) โดยการทดสอบทางสถิติกำหนดระดับนัยสำคัญที่ $\alpha=0.05$ ซึ่งมีตัวแบบ (model) ในการทดสอบ ดังต่อไปนี้

$$\ln(p1-p) = \beta_0 + \beta_1 \text{region} + \beta_2 \text{mouth} + \beta_3 \text{status} + \beta_4 \text{buck} + \beta_5 \text{estrus} + \beta_6 \text{bcs} + \beta_7 \text{dept} + \beta_8 \text{year} + E$$

เมื่อ	p	=	โอกาสการให้ลูก
	β_0	=	ค่าคงที่
	β_i	=	สัมประสิทธิ์ของการถดถอยแต่ละปัจจัย
	region	=	ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้

mouth	=	เดือน 1 -12
status	=	สถานะของแม่แพะ (แพะสาว และแพะนาง)
buck	=	สายพันธุ์ของพ่อพันธุ์ (พันธุ์อัลไพน์, แองโกลนูเบียน, บอร์, คาลาฮารีเรด, ซาแนน และท็อกเกนเบิร์ก)
estrus	=	การเป็นสัด (เป็นสัดตามธรรมชาติ และการเหนี่ยวนำการเป็นสัด)
BCS	=	คะแนนความสมบูรณ์ของร่างกาย (ผอม =2, พอดี =3, และอ้วน =4)
dept	=	ระดับความลึกของการสอดป้อนน้ำเชื้อเข้าไปในคอมดลูก (< 1.5, 1.5 – 3, และ > 3 เซนติเมตร)
year	=	ปีที่ทำการผสมเทียม 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, และ 2017
ε	=	ค่าความคลาดเคลื่อน

ผลการทดลอง

จากการศึกษาครั้งนี้ เป็นการนำข้อมูลการผสมเทียมในแต่ละพื้นที่มาวิเคราะห์ หาปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลต่ออัตราการผสมติดโดยภาพรวมจากข้อมูลการผสมเทียมให้แม่แพะทั้งหมดจำนวน 9,227 ตัว ทำการตรวจท้องด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ หลังทำการผสมเทียม 40-60 วันพบว่าแม่แพะติดตั้งท้อง จำนวน 4,042 ตัว คิดเป็นอัตราการผสมติดตั้งท้องจากการผสมเทียมรวมทุกพื้นที่มีค่าร้อยละ 43.8 เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการให้ลูกของแม่แพะโดยวิธีการผสมเทียม ด้วยสมการถดถอยโลจิสติก พบว่าทุกปัจจัยที่ทำการศึกษามีผลทำให้ค่าอัตราการผสมติดจากการผสมเทียมแพะมีค่าแตกต่างจากกลุ่มเปรียบเทียบ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ยกเว้น คะแนนความสมบูรณ์ของร่างกายแพะขณะทำการผสมเทียม ($p > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 1

Table1 Regression coefficient and odd ratio of the risk factors on pregnancy rate

factors	No. of data	Pregnancy rate (%)	Odd ratio	Confident interval95%	p-value
Regions					
Central	4,044	47.3	0.4496	0.3218 - 0.5774	<0.0001
Northeast	1,846	42.6	0.0577	0.0237 – 0.0916	0.0009
Southern	3,377	40.2	Reference	-	-
Mouth					
January	688	47.4%	-0.0422	(-0.0936) – 0.0092	0.1072
February	1,177	43.8%	-0.0613	(-0.1067) – (-0.0159)	0.0081
March	950	41.7%	-0.1041	(-0.1514) – (-0.0568)	<.0001
April	694	41.8%	-0.0826	(-0.1333) – (-0.0318)	0.0014
May	691	42.5%	-0.0888	(-0.1396) – (-0.0381)	0.0006
June	899	44.9%	-0.0731	(-0.1206) – (-0.0255)	0.0025
July	786	41.5%	-0.0813	(-0.1308) – (-0.0319)	0.0013
August	665	40.9%	-0.0799	(-0.1310) – (-0.0288)	0.0022
September	502	40.4%	-0.0942	(-0.1495) – (-0.0389)	0.0008
October	589	48.6%	-0.0165	(-0.0696) -0.0365	0.5409
November	782	42.3%	-0.0684	(-0.1169) – (0.0199)	0.0057
December	804	49.6%	Reference	-	-
Breed of buck					
Alpine	297	48.3%	0.0761	0.0018-0.1503	0.0548
Anglo-nubian	1,471	46.1%	0.0274	(-0.0117) - 0.0666	0.1698
Boer	2,950	43.0%	-0.0355	(-0.0715) – 0.0004	0.0528
Kalahari red	2,020	42.8%	-0.0443	(-0.0813) – (-0.0073)	0.0190
Saanen	1,425	43.2%	-0.0255	(-0.0660) – 0.0150	0.2168
Toggenberg	1,064	46.1%	กลุ่มอ้างอิง	-	-
Status of doe					
Primiparous	2,129	34.5%	-0.1297	(-0.1575) – (-0.1019)	<.0001
Multiparous	7,098	46.6%	Reference	-	-

Table1 Regression coefficient and odd ratio of the risk factors on conception rate

factors	No. of data	Pregnancy rate (%)	Odd ratio	Confident interval95%	p-value
Body condition score					
2	107	44.8%	-0.0754	(-0.2110) -0.0603	0.2762
3	9,025	43.9%	0.0404	(-0.0591) -0.1398	0.4263
4	95	45.3%	Reference	-	-
Heat signs					
Natural	1,415	54.1%	0.1242	0.0936-0.1548	<.0001
Synchronization	7,812	41.9%	Reference	-	-
Depth of trans-cervical insemination					
<1.5	4,483	44.8%	-0.0973	(-0.1560) – (-0.0386)	0.0012
1.5-3	4,351	49.0%	-0.0127	(-0.0652) -0.0397	0.6347
>3	393	48.9%	Reference	-	-
Year of					
2010	319	42.0%	-0.0724	(-0.1608) -0.0159	0.1081
2011	870	37.1%	-0.1255	(-0.2014) – (-0.0495)	0.0012
2012	804	28.7%	-0.2457	(-0.3203) – (-0.1710)	<.0001
2013	991	42.3%	-0.1618	(-0.2316) – (-0.0919)	<.0001
2014	1,192	43.5%	-0.1514	(-0.2008) – (-0.1020)	<.0001
2015	1,954	45.9%	-0.1135	(-0.1501) – (-0.0768)	<.0001
2016	1,842	46.4%	-0.0735	(-0.1094) – (-0.0376)	<.0001
2017	1,255	53.1%	Reference	-	-

*significant 95 confidence interval

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากข้อมูลการผสมเทียมในแต่ละพื้นที่ เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลต่ออัตราการผสมติด โดยภาพรวมจากข้อมูลการผสมเทียมให้แม่แพะทั้งหมดจำนวน 9,227 ตัว พบว่ามีแม่แพะผสมติดตั้งท้องจำนวน 4,042 ตัว คิดเป็นอัตราการผสมติดตั้งท้องจากการผสมเทียมรวมทุกพื้นที่ร้อยละ 43.8 ซึ่งอัตราการผสมติดอยู่ในช่วงใกล้เคียงกับการศึกษาอื่น คืออยู่ในช่วงตั้งแต่ร้อยละ 10.5 ถึง 66.7 (มาลี และคณะ, 2556; อภิชัยและคณะ, 2553: นิวัฒน์และคณะ 2550)

เมื่อวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการให้ลูกของแม่แพะโดยวิธีการผสมเทียมด้วยสมการถดถอยโลจิสติก พบว่าทุกปัจจัยที่ทำการศึกษามีผลต่ออัตราการผสมติดและมีค่าแตกต่างจากกลุ่มเปรียบเทียบ ยกเว้นคะแนนความสมบูรณ์ของร่างกายแพะขณะทำการผสมเทียม ($p>0.05$) ได้แก่ ช่วงเดือนที่ทำการผสมน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อพันธุ์ที่ต่างกัน สถานะแม่พันธุ์ การเป็นสัตว์ธรรมชาติ หรือการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนลักษณะของเมือก รวมทั้งความลึกของปีนผสมเทียมที่สอดผ่านคอมดลูก และสายพันธุ์แพะในทำนองเดียวกับรายงานการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อความสำเร็จในการผสมเทียม ได้แก่ ฟาร์ม (Paulenz *et al.*, 2005 และ Salvador *et al.*, 2005) ฤดูกาล พ่อแพะ (Arrebola *et al.*, 2012) ระบบการผลิตแพะ ปีที่ทำการผสมเทียม (Arrebola *et al.*, 2012) และตำแหน่งที่ใช้ในการฉีดน้ำเชื้อ (Arrebola *et al.*, 2012 และ Salvador *et al.*, 2005) นอกจากนี้ความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่แพะเป็นลักษณะหนึ่งที่สำคัญต่ออัตราการตั้งท้อง (Paulenz *et al.*, 2005) ฟาร์ม อายุของแม่แพะ ขนาดของฝูง จำนวนลูกแพะที่แม่แพะคลอดก่อนทำการผสมเทียม และปริมาณน้ำนมที่แม่แพะผลิตก่อนทำการผสมเทียม (Arrebola *et al.*, 2013)

อิทธิพลของเดือนที่ทำการผสมเทียมมีผลต่ออัตราการผสมติดจากการผสมเทียมแพะด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งแตกต่าง กับกลุ่มเปรียบเทียบ (ธันวาคม) ยกเว้น เดือน มกราคม และ ตุลาคม ซึ่งอาจจะเป็นอิทธิพลของฤดูกาลที่แปรปรวน (Arrebola *et al.*, 2012) อาจเนื่องมาจากสภาพอากาศในส่วนของอุณหภูมิและความชื้นรวมทั้งแหล่งของอาหารและวัตถุดิบที่นำมาเลี้ยงแพะอย่างไรก็ตาม จากการศึกษาครั้งนี้สังเกตว่าค่าเฉลี่ยอัตราการผสมติดจากการผสมเทียมแพะในช่วงฤดูหนาว เดือน มกราคม และ มีค่าสูงกว่าเดือนอื่นๆ ทั้งนี้อาจพิจารณาปัจจัยอื่นในช่วงเวลาดังกล่าวที่อาจเหมาะสมและเอื้อต่อการผสมเทียมแพะมากกว่าเดือนอื่นๆ

อิทธิพลของน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ต่างสายพันธุ์ มีผลต่ออัตราการผสมติดที่แตกต่างกับกลุ่มเปรียบเทียบ (ท็อกเกนเบิร์ก) กล่าวคือน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อพันธุ์คาลาฮารี เรด มีค่าอัตราผสมติดต่ำกว่ากลุ่มเปรียบเทียบ Arrebola *et al.* (2012) รายงานว่าปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการผสมติดในแพะ เกิดจากปัจจัยของพ่อพันธุ์ และ ฤดูกาลซึ่งจากข้อมูลส่วนใหญ่พ่อพันธุ์คาลาฮารี เรด ถูกใช้ในการผสมเทียมพื้นที่ในโซนภาคใต้มากกว่าภูมิภาคอื่นจึงอาจมีปัจจัยร่วมของสภาพแวดล้อมของพื้นที่ที่ แตกต่างจากภูมิภาคอื่นด้วย เนื่องจากมีสภาพอากาศที่มีความชื้นสูงตลอดปี ต่างจากภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จึงส่งผลถึงอัตราการผสมติดของกลุ่มพ่อพันธุ์แต่ละสายพันธุ์ด้วย

อิทธิพลของสถานะของแม่พันธุ์มีผลต่ออัตราการผสมติดจากการผสมเทียมแพะด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งแตกต่าง โดยในกลุ่มแพะสาวมีอัตราการผสมติดตั้งท้องต่ำกว่าแพะนาง สันนิษฐานว่าแพะแต่ละตัวมีความแปรปรวนในส่วนของการเป็นสัตว์ครั้งแรก ขึ้นอยู่กับลักษณะสายพันธุ์ การเลี้ยงการจัดการและความสมบูรณ์ของระบบสืบพันธุ์ ในบางครั้งเกษตรกรคัดเลือกแพะสาวที่มีสภาพร่างกายสมบูรณ์แข็งแรง แต่อายุยังน้อยเกินไปอาจยังไม่สมบูรณ์พันธุ์เต็มที่มาเหนี่ยวนำการเป็นสัตว์ เพื่อทำผสมเทียมก่อนเวลาอันควรจึงอาจส่งผล

ต่ออัตราการผสมติดในขณะที่แพะนางเป็นแพะที่เคยให้ลูกมาแล้วและเป็นแพะที่มีระบบสืบพันธุ์ที่สมบูรณ์เต็มที่

อิทธิพลของความสมบูรณ์ร่างกายแม่พันธุ์ขณะทำผสมเทียมจากการศึกษาครั้งนี้ ความสมบูรณ์ร่างกายแม่พันธุ์ขณะทำผสมเทียม ไม่มีผลทำให้อัตราการผสมติดแตกต่างกัน สอดคล้อง ประชากรัก (2557) และ มาลี และคณะ (2556) พบว่าคะแนนร่างกายแพะไม่มีผลต่ออัตราการผสมติดตั้งท้องทั้งนี้

อิทธิพลของการแสดงอาการเป็นสัดในแพะที่เป็นสัตว์ธรรมชาติจะมีอัตราการผสมติดตั้งท้องสูงกว่าแพะที่เหนี่ยวนำการเป็นสัด มีค่าร้อยละ 41.9 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับอัตราการผสมติดกับการศึกษาอื่นที่ทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในแพะ มีการใช้ฮอร์โมนที่แตกต่างกันไป ที่อาจส่งผลต่ออัตราการผสมติดที่ต่างกัน เช่นการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่วมกับ $\text{PGF}_{2\alpha}$ และ PMSG ในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา พบว่ามีอัตราการผสมติดที่ร้อยละ 52 (นิวัฒน์และคณะ 2550) การใช้ CIDR® และ Chornogest ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและผสมเทียมในแพะพบว่ามีอัตราการผสมติดเท่ากับร้อยละ 39.9-43.1 ในขณะที่ อภิชัยและคณะ (2553) ในขณะที่แพะเป็นสัตว์ธรรมชาติมีอัตราการผสมติดสูงถึงร้อยละ 54.1 โดยทั่วไปการแสดงอาการเป็นสัดตามธรรมชาตินั้น ส่วนหนึ่งเป็นเพราะความสมบูรณ์ของแพะในวงจรการเป็นสัดในระดับหนึ่ง แต่ในแพะที่ใช้การเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนแพะที่แสดงอาการเป็นสัดเกิดจากอิทธิพลของฮอร์โมนซึ่งไม่ได้หมายความว่าแพะตัวดังกล่าวจะมีความพร้อมในการผสมพันธุ์ทั้งหมด แต่เนื่องจากเกษตรกรมีความประสงค์จะทำการผสมเทียมพร้อมกันครั้งละหลายตัว ทำให้แม่แพะบางตัวระบบสืบพันธุ์อาจจะยังไม่พร้อม จึงส่งผลให้อัตราการผสมติดตั้งท้องจากการศึกษาในครั้งนี้ ต่ำกว่าแม่แพะที่เป็นสัดตามธรรมชาติ แตกต่างจากการศึกษาของ Stanimir และคณะ 2016 ที่รายงานว่า แม่แพะที่ได้รับการเหนี่ยวนำการเป็นสัดมีอัตราการผสมติดสูงกว่าแม่แพะที่เป็นสัดตามธรรมชาติ (33.3 และ 58.3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) โดยให้เหตุผลว่า ระยะเวลาการเป็นสัดของแพะมีความผันแปรมาก จาก 24 ถึง 48 ชั่วโมง และเวลาตกไข่ก็สามารถเกิดขึ้นห่างกัน 9 ถึง 37 ชั่วโมง หลังแสดงการเป็นสัด ทำให้การผสมเทียมธรรมชาติ อาจจะไม่สัมพันธ์กับการตกไข่ ยกเว้น จะทำผสมเทียมหลายครั้งทุก 12 ชั่วโมงจนกว่าหมดสัด

อิทธิพลของระดับความลึกในการสอดป็นฉีดน้ำเชื้อเข้าคอมดลูกมีผลต่ออัตราการผสมติดจากการผสมเทียมแพะด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง โดยกลุ่มที่สอดป็นฉีดน้ำเชื้อเข้าคอมดลูกน้อยกว่า 1.5 เซนติเมตร มีอัตราการผสมติดตั้งท้องต่ำกว่ากลุ่มที่สอดป็นฉีดน้ำเชื้อเข้าคอมดลูกกลุ่มเปรียบเทียบ (มากกว่า 3 เซนติเมตร) ส่วนกลุ่มที่สอดป็นฉีดน้ำเชื้อเข้าคอมดลูก 1.5-3 เซนติเมตรไม่แตกต่างกับกลุ่มเปรียบเทียบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความลึกในการสอดป็นผสมเทียมเข้าไปในคอมดลูกมีผลทำให้การผสมติดตั้งท้องในการทำผสมเทียมดีขึ้น สอดคล้องกับ Salvador และคณะ (2005) ที่ทำการศึกษาในแพะพันธุ์ Murciano-Granadina (MG) พบว่า ความลึกในการสอดป็นเพื่อปล่อยน้ำเชื้อเข้าไปในคอมดลูกทำให้การผสมติดสูงขึ้น

อิทธิพลของปีที่ทำการผสมเทียมอิทธิพลมีผลต่ออัตราการผสมติดจากการผสมเทียมแพะด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนในแต่ละปี อิทธิพลของปีที่ทำการผสมเทียมมีผลต่ออัตราการตั้งท้องของแม่แพะด้วย (Arrebola *et al.*, 2012) ที่เป็นเช่นนั้นน่าจะเนื่องมาจากในแต่ละปีมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศ สภาพอาหาร และสภาพการจัดการที่แตกต่างกัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

ปัจจัยพื้นฐานที่มีผลต่อความสำเร็จของการผสมเทียมแพะ ได้แก่ เขตพื้นที่ให้บริการ ช่วงเดือนที่ทำการผสมปีที่ทำการผสมเทียม สถานะแม่พันธุ์ การเป็นสัตว์ธรรมชาติ หรือการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนลักษณะของเมือก รวมทั้งความลึกของปีนผสมเทียมที่สอดผ่านคอมดลูก และน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อพันธุ์ที่ต่างกัน

เอกสารอ้างอิง

- มาลี อภิเมธีธำรง จักรภพ จันทรสะอาด บรรจง จงรักษ์วัฒนา วิทยา ขจีรัมย์ อรุณ ชุมแก้ว และณรงค์ เลี้ยงเจริญ. 2556. อัตราการตั้งท้องหลังผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในแพะที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบโปรแกรมระยะสั้น. ว. วิทย. กษ. 44 (1, พิเศษ): 207-210.
- นิวัฒน์ ถาวระ อนนท์ เทืองสันเทียะ และบรรลือ กล้าพล. 2550. การเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR® และ PGF_{2α} ร่วมกับ PMSG ต่อการผสมติดของแพะพันธุ์ชาเนน. วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 สิงหาคม 2550. หน้า 1-7.
- ประจักษ์ รัตนโชติ. 2557. ผลของความสมบูรณ์ของร่างกายแพะที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดต่ออัตราการตั้งท้องโดยการผสมเทียม. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา. ปีที่ 7 ฉบับที่ 1 มกราคม - มิถุนายน 2557
- อภิชัย พูนชัย อนนท์ เทืองสันเทียะณรงค์ เลี้ยงเจริญ บรรลือ กล้าพล และมาลี อภิเมธีธำรง. 2553. การเหนี่ยวนำการเป็นสัดและผสมเทียมแพะด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง. วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. ปีที่ 5 ฉบับที่ 1 มิถุนายน 2553. หน้า 108-119.
- Arrebola, F.A, B. Pardo, M. Sanchez, M.D. Lopez and C.C. Perez-Marin. 2012. Factors influencing the success of an artificial insemination program in Florida goats. Spanish Journal of Agricultural Research 10(2): 338-344.
- Arrebola, F.A, O. González, R. Torres and J.A. Abecia. 2013. Artificial insemination in Payoya goats: factors affecting fertility. Animal Production Science. <http://dx.doi.org/10.1071/AN13138>

- Diskin M.G., D.R. Mackey, J.F. Roche and J.M. Sreenan. 2003. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. *Animal Reproduction Science* 78:345–370.
- Gearhart M.A., C.R. Curtis, H.N. Erb, R.D. Smith, C.J. Sniffen, L.E. Chase and M.D. Cooper 1990. Relationship of changes in condition score to cow health in Holsteins. *Journal of Dairy Science* 73: 3132–3140.
- Koyuncu, M. and S.O. Altınçekiç. 2013. Important of body condition score in dairy goats. *Macedonian Journal of Animal Science* 3(2): 167–173.
- Mellado, M., R. Valdez, L.M. Lara and J.E. Garcia. 2004. Risk factors involved in conception, abortion, and kidding rates of goats under extensive conditions. *Small Ruminant Research* 55: 191-198.
- Mellado, M., R. Valdez, J.E. Garcia, R. Lopez and A. Rodriguez. 2006. Factors affecting the reproductive performance of goats under intensive conditions in a hot arid environment. *Small Ruminant Research* 63: 110-118.
- Nunesa, J.F. and C.C.M. Salgueiro. 2011. Strategies to improve the reproductive efficiency of goats in Brazil. *Small Ruminant Research* 98: 176-184.
- Paulenza, H., L. Soderquist, T. Adnøy, K. Soltund, P.A. Sæthère, K.R. Fjellsøye and K. Andersen Berg. 2005. Effect of cervical and vaginal insemination with liquid semen stored at room temperature on fertility of goats. *Animal Reproduction Science* 86: 109-117.
- Rhind, S. M., S. McMillen, W.A.C. McKelvey, F.F. Rodriguez-Herrejon and A.S. McNeilly. 1989. Effect of the body condition of ewes on the secretion of LH and FSH and the pituitary response to gonadotropin-releasing hormone. *Journal of Endocrinology* 120: 497-502.
- Salvador, I., M.P. Viudes-de-Castro, J. Bernacer, E.A. Gomez and M.A. Silvestre. 2005. Factors affecting pregnancy rate in artificial insemination with frozen semen during non-breeding season in Murciano–Granadina goats: a field assay. *Repro Dom Anim* 40: 526-529.

ผลของการเหนี่ยวนำการเป็นสัดต่ออัตราการตั้งท้องในกระบือปลัก

กฤษฎากร ปาวงศ์¹ สมพิศ รักงาม^{1/} อภิชัย พูนชัย^{2/} วรวิทย์ วราอศวปติ^{3/}

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัดสองโปรแกรมระหว่างโปรแกรมที่ใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน CIDR-B ร่วมกับฮอร์โมน PGF_{2α} และโปรแกรม Ovsynch ใช้แม่กระบือปลักจำนวน 108 ตัว แบ่งแม่กระบือออกเป็นสองกลุ่ม กลุ่มที่ 1 (กลุ่ม CIDR-B) กระบือจำนวน 53 ตัว เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (CIDR-B) สอดไว้ในช่องคลอดเป็นเวลา 10 วัน ฉีดฮอร์โมน PGF_{2α} ขนาด 500 µg ก่อนถอดฮอร์โมน CIDR-B 1 วัน ผสมเทียมจำนวนสองครั้งในชั่วโมงที่ 60 และ 72 หลังถอดฮอร์โมน CIDR-B กลุ่มที่ 2 กระบือจำนวน 55 ตัว (กลุ่ม Ovsynch) เหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยฉีดฮอร์โมน GnRH ขนาด 10 µg ในวันแรก ฉีดฮอร์โมน PGF_{2α} ขนาด 500 µg ในวันที่ 7 และฉีดฮอร์โมน GnRH ขนาด 10 µg ในอีกสองวันถัดมา ผสมเทียมสองครั้งในชั่วโมงที่ 12 และ 24 หลังจากฉีดฮอร์โมน GnRH เข็มที่สอง ผลการทดลองพบว่ากลุ่มที่ CIDR-B มีอัตราการตั้งท้อง 20.75% (11/53) ต่ำกว่ากลุ่ม Ovsynch ที่มีอัตราการตั้งท้อง 41.82% (23/55) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) การศึกษานี้สรุปได้ว่าอัตราการตั้งท้องจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัดจากโปรแกรม Ovsynch มีค่าสูงกว่าโปรแกรม CIDR-B

คำสำคัญ : การเหนี่ยวนำการเป็นสัดกระบือปลักอัตราการตั้งท้อง

เลขทะเบียนวิจัย : 57(1) - 0208 - 024

^{1/} ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพนครราชสีมา สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

^{2/} ศูนย์วิจัยและผลิตน้ำเชื้อสุกรราชบุรี สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

^{3/} สำนักงานปศุสัตว์เขต 2 กรมปศุสัตว์

Effect of estrous synchronization on pregnancy rates in swamp buffaloes.

Krisdakorn Pawong^{1/} Sompit Ruk-ngam^{1/} Apichai Poonchai^{2/} Worawich Wara-aswapati^{3/}

Abstract

The objective of this study was to compare the effect of two estrus synchronization programs; CIDR-B plus PGF_{2α} and Ovsynch on pregnancy rate in swamp buffaloes. One hundred and eight buffalo cows were divided into two groups. CIDR-B group (n=53). CIDR-B were inserted into vagina for 10 days and 500 µg of PGF_{2α} was injected 1 day before CIDR-B removal. Artificial insemination (AI.) was performed at 60 hr and 72 hr after CIDR-B removal. In Ovsynch group (n=55), cows were injected with 10 µg GnRH on D0 and D9 then 500 µg of PGF_{2α} was injected on D7. AI. was performed at 12 hr and 24 hr after 2nd GnRH injection. The result showed that pregnancy rate in CIDR-B and Ovsynch groups were 20.75% (11/53) and 41.82% (23/55) respectively (p<0.05). In conclusion, Ovsynch program was provided better result in pregnancy rates than CIDR-B program.

Keywords: estrous synchronization, swamp buffaloes, pregnancy rate

Registered No. : 57(1) - 0208– 024

^{1/} Nakornratchasima Insemination and Biotechnology Research Center, Bureau of Biotechnology in Livestock Production

^{2/} Ratchaburi Boar Semen Production and Research Center, Bureau of Biotechnology in Livestock Production

^{3/} Regional Livestock 2nd Office, Department of Livestock Development

คำนำ

การเลี้ยงกระบือในประเทศไทยสามารถพบได้ทั่วไปในทุกภาคของประเทศ ส่วนใหญ่จะเลี้ยงกระบือปลัก ส่วนกระบือแม่ น้ำจะพบการเลี้ยงในบางพื้นที่เท่านั้น ปัจจุบันจำนวนกระบือภายใน ประเทศมีจำนวนลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับอดีต ทั้งนี้เนื่องจากกระบือถูกนำไปบริโภคมากกว่าการผลิต เกษตรกรบางส่วน เลิกเลี้ยงกระบือเพราะมีการใช้รถไถขนาดเล็กแทนแรงงานของกระบือ พื้นที่สำหรับใช้เลี้ยงกระบือมีจำนวนลดลง การขาดแคลนพ่อพันธุ์กระบือที่ดี เป็นต้น ในส่วนของการขยายพันธุ์กระบือนั้นมีทั้งการใช้พ่อพันธุ์ผสมและน้ำเชื้อพ่อพันธุ์ดีจากการผสมเทียม ซึ่งการผสมเทียมนีกรมปศุสัตว์ ใช้เป็นวิธีหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์กระบือในประเทศ (กรมปศุสัตว์, 2545) สามารถผสมเทียมกระบือได้ทั้งจากกระบือที่เป็นสัตว์เองโดยธรรมชาติและเป็นสัตว์จากการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมน เนื่องจากกระบือจะแสดงอาการเป็นสัดไม่ชัดเจนเหมือนโค การจับสัดทำได้ยาก ทำให้มีปัญหาเกี่ยวกับการกำหนดเวลาเพื่อผสมเทียมตามมา (EI-Wishy, 2007; Perera, 2011) จากปัญหาการเป็นสัดไม่ชัดเจนดังกล่าว จึงมีผู้พยายามศึกษาการใช้ฮอร์โมนโปรแกมต่างๆมาใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัดในกระบือ เพื่อให้การผสมเทียมกระบือมีประสิทธิภาพสูงขึ้น ซึ่งมีทั้งการใช้ฮอร์โมน GnRH ร่วมกับ PGF_{2α} ในโปรแกรม Ovsynch (รัชฎาพร, 2551) หรือโปรแกรมการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน CIDR-B สอดไว้ในช่องคลอดร่วมกับ PGF_{2α} เป็นต้น(Singh, 2003) ซึ่งพบว่าให้ผลอัตราการผสมติดที่แตกต่างกันไป อาทิเช่น อภิรักษ์และคณะ (2545) ได้ทดลองเหนี่ยวนำการเป็นสัดในกระบือปลักด้วยฮอร์โมน CIDR-B พบว่ากระบือมีอัตราการผสมติดเฉลี่ย 27.14% Gianluca et al. (2003) ใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในรูป PRID เหนี่ยวนำการเป็นสัดในกระบือแม่ น้ำและผสมเทียมในช่วงที่ 60 และช่วงที่ 84 หลังจากถอดฮอร์โมนพบว่าอัตราการผสมติด 30.3% รัชฎาพร (2551) ได้ใช้โปรแกรม Ovsynch เหนี่ยวนำการเป็นสัดในกระบือปลัก พบว่ามีอัตราการผสมติด 34.6% (18/52)

จากรายงานการศึกษาดังกล่าวข้างต้นพบว่าโปรแกรม Ovsynch และการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดสามารถใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัดในกระบือได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามจากการศึกษาเกี่ยวกับการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในกระบือปลักยังให้ผลที่แตกต่างกันและมีอัตราการตั้งท้องที่ยังไม่สูงมากนัก ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการเปรียบเทียบผลการตั้งท้องจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัดจากสองโปรแกรมในกระบือปลัก ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองจะนำไปใช้เป็นแนวทางในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในกระบือปลักของเกษตรกรในพื้นที่ต่อไป การศึกษารั้ครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัดสองโปรแกรมในกระบือปลัก ระหว่างโปรแกรมที่ใช้โปรเจสเตอโรน CIDR-B ร่วมกับฮอร์โมน PGF_{2α} และโปรแกรม Ovsynch

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

แผนการทดลอง

การทดลองนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองเพื่อหาแนวทางในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในกระบือปลักในพื้นที่ เปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องระหว่างโปรแกรมเหนี่ยวนำการเป็นสัดสองโปรแกรม โดยใช้สถิติ Chi Square test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

สัตว์ทดลอง

แม่กระบือปลักจำนวน 108 ตัว เคยมีลูกมาแล้วไม่เกิน 3 ตัว มีระบบสืบพันธุ์ปกติ สุขภาพสมบูรณ์ มีสภาพการจัดการเลี้ยงดูใกล้เคียงกัน เลี้ยงดูในเขตพื้นที่รับผิดชอบของศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพนครราชสีมา (จังหวัดนครราชสีมา ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และ สุรินทร์) ทำการศึกษาระหว่าง ตุลาคม 2556 - กันยายน 2558 แบ่งกระบือออกเป็นสองกลุ่ม เลือกหน่วยตัวอย่างโดยใช้ความน่าจะเป็นเท่ากัน (equal probability sampling) ในกระบือแต่ละพื้นที่ด้วยวิธีจับสลาก (simple random sampling) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 กระบือปลักจำนวน 53 ตัว เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนชนิดสอดช่องคลอด CIDR-B (Eazi-Breed™ CIDR® Cattle Device, Pfizer, New Zealand) เป็นฮอร์โมนชนิดสอดช่องคลอด มีลักษณะเป็นแท่งพลาสติกรูปตัววาย ภายนอกเคลือบด้วย natural progesterone hormone ขนาด 1.9 g

กลุ่มที่ 2 กระบือปลักจำนวน 55 ตัว เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยโปรแกรม Ovsynch ใช้ฮอร์โมน PGF_{2α} (Estrumate® Schering-Plough Animal Health, Australia) ประกอบด้วย Cloprostenol ความเข้มข้น 250 µg/ml ใช้ในขนาด 500 µg/ตัว ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ ฮอร์โมน GnRH (Buserelinacetate, Receptal®, Schering-Plough Animal Health, Germany) ใช้ในขนาด 10 µg/ตัว ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ

การผสมเทียมและน้ำเชื้อแช่แข็ง

ใช้น้ำเชื้อแช่แข็งกระบือปลักที่มีพ่อและชุดผลิตชุดเดียวกัน มีจำนวนอสุจิไม่น้อยกว่า 8 ล้านตัว/โดส ขนาดหลอด 0.25 ซีซี ผ่านการผลิตตามมาตรฐานของกรมปศุสัตว์ ทำการผสมเทียมโดยเจ้าหน้าที่ที่มีประสบการณ์การผสมเทียมกระบือมากกว่า 5 ปี

วิธีการทดลอง

1. เหนี่ยวนำการเป็นสัดและผสมเทียม

กลุ่มที่ 1 เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR-B สอดไว้ในช่องคลอดเป็นเวลา 10 วัน ฉีดฮอร์โมน PGF_{2α} ขนาด 500 µg /ตัว เข้ากล้ามเนื้อก่อนถอด CIDR-B 1 วัน ผสมเทียมจำนวน 2 ครั้ง ในชั่วโมงที่ 60 และ 72 (Figure 1)

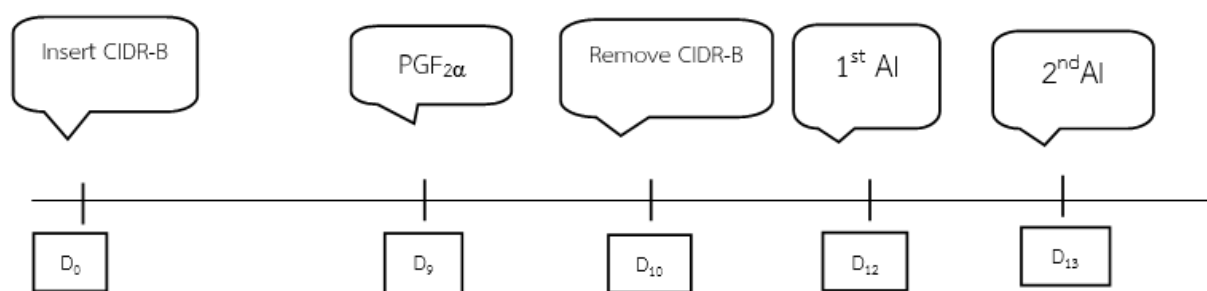


Figure 1 Hormonal and AI program for CIDR-B group

กลุ่มที่ 2 เหนียวนำการเป็นสัดด้วยโปรแกรม Ovsynch โดยฉีด GnRH ขนาด 10 µg/ตัว เข้ากล้ามเนื้อ ในวันแรก (D0) จากนั้นฉีด PGF_{2α} ขนาด 500 µg/ตัว เข้ากล้ามเนื้อในวันที่ 7 หลังจากการฉีด GnRH (D7) และฉีดฮอร์โมน GnRH ขนาด 10 µg/ตัว เข้ากล้ามเนื้อในวันที่ 9 ผสมเทียมสองครั้งในชั่วโมงที่ 12 และชั่วโมงที่ 24 หลังจากฉีดฮอร์โมน GnRH ครั้งที่สอง (**Figure 2**)

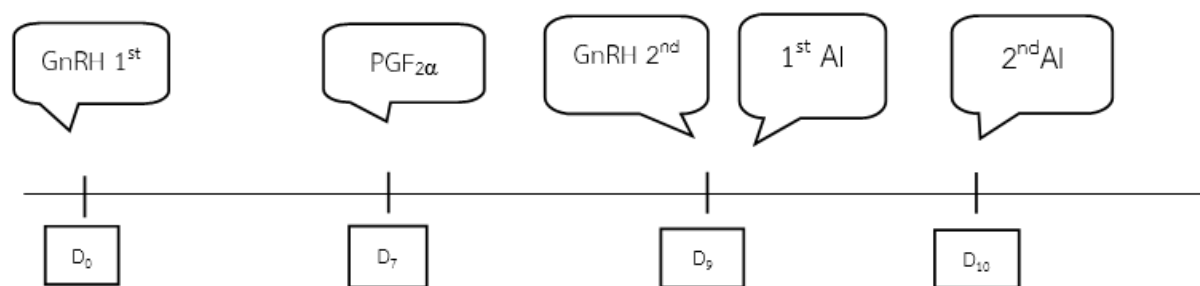


Figure 2 Hormonal and AI program for Ovsynch group

2. ล้างตรวจทางทวารหนักหลังจากผสมเทียมแล้ว 90 วัน บันทึกข้อมูลผลการตรวจท้อง
เปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องระหว่างสองโปรแกรม

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดสอบสมมติฐานเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องระหว่างโปรแกรมเหนียวนำการเป็นสัดสองโปรแกรม โดยใช้สถิติ Chi Square test พบว่ากลุ่มที่ใช้ CIDR-B มีอัตราการตั้งท้อง 20.75% ต่ำกว่ากลุ่ม Ovsynch ที่มีอัตราการตั้งท้อง 41.82% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กลุ่มที่ 1 CIDR-B หลังจากการเหนียวนำและผสมเทียมพบว่าตั้งท้องจำนวน 11 ตัว คิดเป็น 20.75% (11/53) กลุ่มที่ 2 Ovsynch พบว่าตั้งท้องจำนวน 23 ตัว คิดเป็น 41.81% (23/55) รายละเอียดตั้ง **Table 1**

Table 1 Pregnancy rate result of two estrus synchronization programs.

Experimental groups	n	Pregnant (n)	Pregnancy rate (%)
CIDR-B	53	11	20.75
Ovsynch	55	23	41.82

Chi-square statistic = 5.55

การทดลองนี้ พบว่ากลุ่มที่ใช้ CIDR-B มีอัตราการตั้งท้อง 20.75% (11/53) ซึ่งต่ำกว่าการศึกษาของ อภิรักษ์และคณะ (2545) ที่เหินยวนำการเป็นสัดในกระบือปลักด้วย CIDR-B พบว่า แม่กระบือมีอัตราผสมติด 30% (12/40) และ Carvalho *et al.* (2013) รายงานอัตราการตั้งท้องในกระบือแม่น้ำเมื่อใช้วิธีเดียวกัน โดยใส่ในช่องคลอดนาน 8 และ 9 วัน มีอัตราการตั้งท้องเป็น 42.7% (47/110) และ 50.6% (56/110) ตามลำดับ ขณะที่กลุ่มที่ใช้โปรแกรม Ovsynch มีอัตราการตั้งท้อง 41.82% (23/55) สูงกว่ากลุ่มที่ใช้ CIDR-B อย่างมีนัยสำคัญ ใกล้เคียงกับ Chaikhun *et al.* (2010) ที่เหินยวนำการเป็นสัดในแม่กระบือปลัก ด้วยวิธีเดียวกันพบว่าอัตราการตั้งท้อง 42.9% (15/35) จากผลการทดลองกลุ่มที่เหินยวนำด้วย CIDR-B มีอัตราการตั้งท้องที่ต่ำกว่ากลุ่มที่ใช้ Ovsynch นั้น อาจเนื่องมาจากฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน CIDR-B สามารถเหินยวนำให้กระบือแสดงอาการเป็นสัดแต่อาจไม่มีการตกไข่เกิดขึ้นก็เป็นไปได้ เทียบเคียงกับการศึกษาของ เอกชาติ และคณะ (2549) ที่พบว่ากระบือปลักที่เหินยวนำด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดฝังหุเป็น เวลา 10 วัน ร่วมกับฮอร์โมน PGF_{2α} มีการตกไข่เพียง 9.1% (1/11) ขณะที่โปรแกรม Ovsynch นั้นมีการใช้ GnRH ทำให้ฟอลลิเคิลมีการเจริญและมีการตกไข่เกิดขึ้น สามารถกำหนดเวลาผสมเทียมได้โดยไม่คำนึงว่า กระบือนั้นจะแสดงอาการเป็นสัดหรือไม่ก็ตาม ซึ่งโปรแกรม Ovsynch นี้ ดัดแปลงมาจากการศึกษาวิจัยใน โคนม (Wiltbank and Pursley, 2014) สอดคล้องกับรายงานของ รัชฎาพร และคณะ (2551) ที่ใช้โปรแกรม Ovsynch ในกระบือปลักพบว่า กระบือปลักจำนวน 7 ตัว (100%) ตกไข่ช่วงวันที่ 24-32 ใกล้เคียงกับ รายงานของวินัยและคณะ (2550) ที่ใช้โปรแกรม Ovsynch ในกระบือปลักที่มีความสมบูรณ์ต่ำ พบว่ากระบือ จำนวน 5 ตัวมีการตกไข่ 100% แสดงว่าการใช้โปรแกรม Ovsynch ในกระบือปลักในการศึกษาครั้งนี้มีผลให้กระบือมีการตกไข่ และเมื่อผสมในช่วงเวลาที่เหมาะสม น่าจะมีส่วนให้น้ำเชื้อสามารถปฏิสนธิกับไข่ที่ตกลงมาได้ จึงทำให้โปรแกรม Ovsynch มีอัตราการตั้งท้องสูงกว่ากลุ่มที่ใช้ CIDR-B นอกจากนี้ พบว่ามีหลาย ปัจจัยที่มีส่วนทำให้การเหินยวนำการเป็นสัดประสบผลสำเร็จ อาทิเช่น ควรทำการเหินยวนำกระบือในช่วง ฤดูกาลที่กระบือมีความสมบูรณ์พันธุ์ดี มีการจัดการที่เหมาะสม สุขภาพสมบูรณ์ แข็งแรง มีคะแนนร่างกาย ดี การเหินยวนำการเป็นสัดควรทำในแม่กระบือที่ผ่านการมีลูกมาแล้ว ผสมเทียมโดยเจ้าหน้าที่ที่มีความ ชำนาญกระบือควรมีฟอลลิเคิลที่มีการเจริญที่เหมาะสม ไม่มีขนาดเล็กเกินไปจะทำให้การพัฒนาไปเป็นคอร์ปัสคิวเลียมไม่สมบูรณ์ หรือหากฟอลลิเคิลมีอายุหลายวันแล้วตกไข่ ไข่ที่ได้ก็จะมีคุณภาพต่ำ ทำให้การ ปฏิสนธิหรือพัฒนาเป็นตัวอ่อนต่อไปไม่ดีนัก และก่อนการเหินยวนำควรมีการตรวจรังไข่ด้วยเครื่อง

อัลตราซาวด์โดยคัดเลือกกระบือที่มีฟอลลิเคิลขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ปัจจัยเหล่านี้มีส่วนสำคัญทำให้การผสมเทียมจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัดมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น (Thatcher *et al.*, 1999; Monika, 2002; Baruselli *et al.*, 2003; รัชฎาพร, 2551; Siritwat, 2011; Wiltbank and Pursley, 2014; Goshen *et al.*, 2015)

สรุปผลการทดลอง

ผลการศึกษาครั้งนี้ สรุปได้ว่า โปรแกรมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด CIDR-B ร่วมกับฮอร์โมน PGF_{2α} มีอัตราการตั้งท้องที่ต่ำกว่าโปรแกรม Ovsynch อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามเราสามารถใชโปรแกรมทั้งสองโปรแกรมมาใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัดในกระบือปลักได้

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากผลอัตราการตั้งท้องจากโปรแกรม CIDR-B ในการศึกษาครั้งนี้ยังไม่เป็นที่น่าพอใจนัก จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในรูปแบบอื่นที่เหมาะสม เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการด้านระบบสืบพันธุ์ในกระบือปลักของเกษตรกรในพื้นที่ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ เกษตรกรเจ้าของกระบือที่ให้ความร่วมมือในการศึกษา ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่หน่วยผสมเทียมในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา ชัยภูมิ บุรีรัมย์ และสุรินทร์ ที่ช่วยเหลือในการประสานงานและร่วมดำเนินการศึกษา ขอขอบคุณ คุณเหมชาติ ไชยสิทธิ์ เจ้าหน้าที่งานสัตวบาล ผู้ช่วยรวบรวมข้อมูล และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพนครราชสีมา ที่ให้ความร่วมมือกันดำเนินงานจนการศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. 2545. เอกสารคำแนะนำ การเลี้ยงกระบือ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พิมพ์ครั้งที่ 2 โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด. 39 หน้า.
- รัชฎาพร ไชยคุณ. 2551. ประสิทธิภาพของโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในกระบือปลักในฟาร์มเกษตรกรรายย่อย วิทยานิพนธ์ สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์ภาควิทยาศาสตร์ เชนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย Available source: thesis.grad.chula.ac.th/readfile1.php?fn=ab4875578731.doc, June 23, 2011.

- รัชฎาพร ไชยคุณ จตุพร กระจ่ายศรี และมงคล เตชะกำพุ. 2551. การเปลี่ยนแปลงของเซลล์ที่เก็บจากเมือกที่ปากมดลูกและเยื่อช่องคลอดในช่วงต่างๆของวงจรการเป็นสัดในแม่กระบือปลักไทย สัตวแพทยมหาสาร 3(2):13-23.
- วินัย แก้วละมุล กุลภัทร์ โพธิกนิษฐจันทร์เพ็ญ สุวิมล ชีระบุตร นิกกร สงฆ์ไพโร และมงคล เตชะกำพุ. 2550. การใช้โปรแกรม Ovsynch ในการเหนี่ยวนำการตกไข่ในกระบือปลักที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ครั้งที่ 33 โรงแรมโซฟิเทลเซ็นทาราแกรนด์กรุงเทพฯ 31 ตุลาคม – 2 พฤศจิกายน 2550 หน้า 179-180.
- อภิรักษ์ อุทธา กิติกรณ เจนไพบูลย์ พุทธิพงษ์ พรหมบุ และจิระเดช อัญชันภาติ. 2545. ผลของ CIDR-B ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในกระบือปลัก วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข.12(2):8-15.
- เอกชาติ พรหมดิเรกวิวัฒน์ปัญญกิจฉานัน วันวิสาข์ วัชรุม อิศวร เฉลิมนิชย์ และมงคล เตชะกำพุ. 2549. การหาระยะเวลาตกไข่ในกระบือปลักที่ปรับวงจรการเป็นสัด สัตวแพทยมหาสาร 1(1):65-74.
- Baruselli, P.S., E.D. Madureira, V.H. Banarbe, R.C. Barbabe and R.C.A. Berber. 2003. Evaluation of synchronization of ovulation fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*) Braz. J. Vet. Anim. Sci. 40(6):431-442.
- Carvalho, N.A.T., J.G. Soares, D.C. Souza, J.R.G. Maio, J.N.S. Sales, B. Martinsjunior, R.C. Macari and P.S.Barusellil. 2013. Use of Intravaginal Progesterone Devices during Eight or Nine Days in the Ovulation Synchronization Protocol for TAI in Buffaloes during the NonBreeding Season. Buffalo Bulletin. 32(2):532-536.
- Chaikhun, T., T. Thaeasani, J. Ratanatep, F. De Rensis and M.Techakumphu. 2010. Fertility of swamp buffalo following the synchronization of ovulation by the sequential administration of GnRH and PGF_{2α} combined with fixed-timed artificial insemination. Theriogenology. 74(8):1371-6.
- EI-Wishy, A.B. 2007. The postpartum buffalo.II. A cyclicity and anestrus. Anim Repro Sci. 97(3-4):216-236.
- Gianluca, N., G.I. Bianca, D.P. Rossella, D.R. Clemente, Z. Luigi and C. Giuseppe. 2003. Comparison of pregnancy rates with two estrus synchronization protocols in Italian Mediterranean Buffalo cows. Theriogenology. 60(1):125-133.
- Goshen, T.,K. Tsitrinand M. van Strsten.2015. Reproductive performance in dairy cows synchronized with the Ovsynch protocol at different stages of the estrus cycle.Israel J Vet Med .70(1):22-27.

- Monika, P.2002.Bovine Reproduction,Compodium of Animal Reproduction.7th edition.Intervet international.322 pp.
- Perera, B.M. 2011.Reproductive cycles of buffalo. AnimRepro Sci.124(3-4):194-199.
- Singh, C. 2003. Response of anestrus rural buffaloes (*Bubalus bubalis*) to intravaginal progesterone implant and PGF2 α injection in summer.Theriogenology.J.Vet Sci.4(2):137-41.
- Siriwat Suadaong. 2011. Control of oestrus and ovulation in cows.Thai J Vet Med Suppl.41:95-98.
- Thatcher, W.W.,F. Moreria and C.A. Risco.1999. New strategies to increase pregnancy rates. Department of Animal Sciences and Large Animal Clinical Sciences.University of Florida, Gainesville. National Association of Animal Breeders Electronic Resource Guide.Available source:<http://www.naab-css.org/education/thatcher.html>, August 11, 2016.
- Wiltbank, M.C. and J.R. Pursley. 2014. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation.Theriogenology.81:170-185.

การพัฒนาการออกแบบไพรเมอร์เพื่อการตรวจสอบชนิดของสัตว์จากไมโทคอนเดรียลยีน

ด้วยวิธี Multiplex PCR

สายใจ ชื่นสุข^{1/} อัจฉรวรรณ น้อยกล้า^{1/} บุญงา จินตวานิชสกุล^{1/}

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีนไซโตโครม บีในไมโทคอนเดรียของเซลล์สำหรับใช้ในการจำแนกชนิดของสัตว์ 6 ชนิดได้แก่ โค กระบือ แพะ แกะ สุกร และไก่ด้วยปฏิกิริยา Multiplex PCR โดยการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการสกัดดีเอ็นเอจากเนื้อสัตว์ทั้ง 6 ชนิดที่เก็บจากโรงฆ่าสัตว์และตัวอย่างของอาหารที่ระบุว่าเป็นเนื้อสัตว์ชนิดต่างๆจากท้องตลาดจำนวน 11 ตัวอย่าง ในการทดลองนี้ได้สร้างขึ้นส่วนของยีนไซโตโครม บี ของสัตว์แต่ละชนิดจากปฏิกิริยา PCR โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อสัตว์แต่ละชนิดและปรับสภาวะของปฏิกิริยาให้เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาเดียวกัน พบว่าชิ้นส่วนดีเอ็นเอมีขนาดแตกต่างกัน ได้แก่ 124 157 227 331 398 และ 472 คู่เบสในกระบือ แพะ ไก่ แกะ สุกรและโคตามลำดับ ทำให้สามารถแยกชนิดของสัตว์ทั้ง 6 ชนิดได้พร้อมกันในปฏิกิริยา PCR เดียวกันทั้งนี้ในการทดสอบที่มีการผสมดีเอ็นเอของสุกรและโค หรือสุกรและไก่ พบว่าสามารถตรวจแยกปริมาณดีเอ็นเอของสุกรที่น้อยที่สุดคือ 0.5 นาโนกรัมออกจากดีเอ็นเอของโคและไก่อีกจากการตรวจชนิดของสัตว์จากอาหารที่ระบุชนิดสัตว์จำนวน 11 ตัวอย่างจากไพรเมอร์และสภาวะของปฏิกิริยาเดียวกันพบว่าตัวอย่างที่มีชนิดของสัตว์ตรงตามกับที่ระบุจำนวน 5 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นสินค้าฮาลาล 1 ตัวอย่าง และพบอาหารที่มีชนิดสัตว์ไม่ตรงกับที่ระบุ 6 ตัวอย่าง จากการวิจัยพบว่าวิธี Multiplex PCR สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบชนิดของสัตว์ทั้ง 6 ชนิดได้เมื่อมีการออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อสัตว์นั้นๆ และปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยา

คำสำคัญ : การตรวจสอบย้อนกลับทางพันธุกรรม ชนิดของสัตว์ ยีนไซโตโครม บี ไมโทคอนเดรียลดีเอ็นเอ multiplex PCR

เลขทะเบียนวิจัย : 57(1)-0408-038

^{1/} สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์กรมปศุสัตว์ อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี ประเทศไทย

Developing Method of Primer Designation for Animal Species Identification of Mitochondrial Genes using Multiplex PCR Assay

Saijai Cheunsuk^{1/} Aucharawan noiklum^{1/} Bugna Jindavanichakul^{1/}

Abstract

The objective of this study was to develop the primer designing specific to *Cytochrome b* gene (*cyt b*) in Mitochondrial DNA in order to identify 6 animal species including cattle, buffalo, goat, sheep, pig and chicken using Multiplex PCR method. DNA of 6 animal species from slaughter houses and of meat-labeled food from vendors and supermarkets was extracted. The PCR reactions were performed using primers for *cyt b* specifically to each animal species under appropriate condition. These PCR reactions resulted in 6 different length fragments as 124, 157, 227, 331, 398 and 473 bp which belonged to buffalo, goat, chicken, sheep, pig and cattle, respectively. In the semi-quantification test of the mixtures of DNA between pig and cattle or pig and chicken, the study showed that the least concentration of pig DNA that could be detected in the mixtures was 0.5 ng in both mixtures. Moreover, for the 11 labeled food samples using the same primers and condition, the study demonstrated the DNA components in 5 samples were the same as labeling including 1Halal product whereas the other 6 samples were not contained animal DNA as labeling. The study showed that multiplex PCR using primer-specific to such animal and performed under appropriated condition represented a rapid and straightforward method for identification 6 animal species.

Keywords: Genetic traceability, animal species, cytochrome b gene, mitochondrialDNA, multiplex PCR

Registered No. : 57(1)-0408-038

^{1/} Bureau of Biotechnology in Livestock Production. Department of Livestock Development, Amphur Mueng, Pathumthani. Thailand.

Introduction

Species identification of animal product using molecular technology is currently an important issue for food authenticity since incorrect labeling of origin may have negative consequences such as food allergy, religion aspect, and illegal mixed cheaper meat to the products, etc. (Ghovvati *et al.*, 2009). Species detection is also involved in wildlife management in order to define the animal species (Li-Chin Tsai *et al.*, 2007) which endangered species are illegally killed. Both food authentication and protection of biodiversity require reliable and accurate methods for determining. Moreover, species identification is one of significant steps in the genetic traceability system of food process (Hobbs, 2004; Smith *et al.*, 2005; Schwagele, 2005). Recently, many studies focused on the development of DNA based technology to differentiate the species of the animals (Bottero *et al.*, 2003; Dalmaso *et al.*, 2004) including the advantage of Polymerase Chain Reaction (PCR) technology. PCR method can be used to amplify small amount of specific DNA target sequences in a short period of time faster than other methods such as polypeptide identification or protein analysis including electrophoretic, immunological, mass-spectrometric and chromatographic techniques since the protein will degrade rapidly after animal died or being cooked. (Gouli *et al.*, 1999). Among of selected genes, Cytochrome b (*cyt b*) gene, one of the most mitochondrial (mt) genes which differs five- to tenfold of DNA copies higher than nuclear genes, is used for identifying animal species. This gene is found in all vertebrates and does not undergo recombination, enables closely related species to be differentiated and identified (Matsuda *et al.*, 2005). Kocher *et al.* (1989) reported universal primers which could be used to amplify a wide range of vertebrate species. Although these researches had been done on several kinds of animals, there was no report of animal species identification using multiplex PCR technique that included the 6 animal species which were targeted in this study.

The purpose of this study is to develop a molecular method, based on *cyt b* gene, multiplex PCR technique to identify the 6 species of animals (cattle, buffalo, goat, sheep, chicken and pig) as mainly food source in Thailand.

Materials and Methods

Primer designation

Primers specific to each animal spp. were designed from published mitochondrial *cyt b* gene sequences of the National Center of Biotechnology Information (NCBI) (Anonymous) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). The expecting PCR primers were calculated using free Primer design program available from the internet, Primer3plus (Anonymous) (<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>).

Samples

In order to select primers specific for each animal species and to develop an appropriate multiplex PCR condition, 10 meat samples of each species of animal (cattle, buffalo, goat, sheep, chicken, and pig) were collected from the slaughter houses to ensure the species of animals as well as to quantify of multiplex PCR products (mixed DNA species). Also 11 samples from animal products or food including white pork sausage, pork sausage, pork ball, chicken sausage, chicken ball, beef ball, and beef stew were collected randomly from food shelves and vendors in the purpose of testing the adulteration of meat-labeled products. All samples were kept in -200°C until testing in the laboratory.

DNA extraction

DNA from all samples was extracted using QIAGEN Genomics DNA Extraction Kit (QIAGEN, USA) according to manufacturer. Microvolume Spectrophotometer (Nanodrop, DeNovix. USA) was used for checking the quality and quantity of each DNA sample based on an optical density (OD) ratio of 260/280 nm between 1.6 and 1.8.

PCR reactions

The PCR amplification was performed in a total of 20 µl with 20 ng of genomic DNA, 0.2 µM of each primer, 0.2 mM of each dNTP, 1.5 mM of MgCl₂, 1x PCR reaction buffer, and 1U of Platinum Taq DNA polymerase. Amplification conditions included an initial denaturation at 950°C for 2 min, followed by 40 cycles at 950°C for 45 sec, 620°C for 60 sec, and 720°C for 45 sec, then followed by a final extension at 72°C for 10 min. The PCR products were mixed with GelRed Loading Buffer (Biotium, USA) and separated by 2% (w/v) agarose gel electrophoresis. The gel was visualized and documented on Gel-Doc system (Alpha image 3400, USA).

Sequence analysis and identification of animal species

To obtain sequence information on *cyt b* gene of each animal species tested, the PCR products were purified using PCR purification kit (Macherey-Nagel, Germany) and sequenced the purified products using the automated dye-terminator cycle sequencing method with Ampli Taq DNA polymerase in ABI 3130 DNA Analysis Sequencer (ABI, USA). The products, then, were blasted to the sequencing information of GenBank (NCBI) using the BLAST Sequence Analysis program (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch#).

Quantification of multiplex PCR products

To quantify the mixed DNA from different animal spp., DNA samples of cattle, chicken and pig were diluted to the concentration of 20 ng/μl. These DNAs were mixed for using as the templates in 2 different PCR reactions. The first reaction was the mixture between cattle and pig's DNA and the second reaction was the mixture between chicken and pig's DNA. Both reaction were mixed in ratio of cattle or chicken's DNA to pig's DNA as 1:0, 1:1, 1:0.5, 1:0.25, 1:0.1, 1:0.05, 1:0.025, 1:0.01, and 0:1 (v/v) with 3replicationsfor each reaction in order to test for the efficiency of the tests.

Sampling food testing

Eleven meat-labeled products from food shelves and vendors including white pork sausage, pork sausage, pork ball, chicken sausage, chicken ball, beef ball, and beef stew were used for testing original species which were sampling randomly. DNA from all samples was extracted and PCR reactions were evaluated as described previously. The PCR products were illustrated on agarose gel compared with DNA from 6-known species.

Results

Nucleotide sequence analysis and prediction of primer specific of each spp. *cyt b* gene

To obtain sequence information on the *cyt b* gene of different potential animal species tested, the data from NCBI database. Sequence comparison among *cytb* amplified regions of 6 animal species: cattle (Accession no.NC006853), buffalo (Accession no.NC006295), sheep (Accession no. FR873152), goat (Accession no. EU130780), chicken (Accession no. EU839454) and pig (Accession no. AB015078) were used. Species-specific primers of mt *cyt b* band expecting PCR amplicon sizes

were shown in **Table 1**. Whereas alignment data of expected *cyt b* gene region in each animal species with primer positions were given in **Figure 1**.

Table1 Species-specific primers and expecting PCR amplicon (ordered from small to large) sizes

Animal spp.	PCR primers	product sizes (bp)
Buffalo	Forward: BuF1 5'-TCCTCATTCTCATGCCCTG -3' Reverse: ComR 5'-TGTCTCCAATTCATGTGAGTG -3'	124
Goat	Forward: ComF 5'-GACCTCCCAGCTCCATCAAACATCTCATCTTGATGAAA-3' Reverse: GoR2 5'-CTCGACAAATGTGAGTTACAGAGGGA -3'	157
Chicken	Forward: ComF 5' - GACCTCCCAGCTCCATCAAACATCTCATCTTGATGAAA -3' Reverse: ChR1 5'- AAGATACAGATGAAGAAGAATGAGGCG -3'	227
Sheep	Forward: ComF 5' - GACCTCCCAGCTCCATCAAACATCTCATCTTGATGAAA -3' Reverse: ShR2 5' -CTATGAATGCTGTGGCTATTGTGCGCA -3'	331
Pig	Forward: ComF 5' - GACCTCCCAGCTCCATCAAACATCTCATCTTGATGAAA -3' Reverse: PoR2 5' - GCTGATAGTAGATTTGTGATGACCGTA -3'	398
Cattle	Forward: BoF2 5' - TCCTTCCATTTATCATCATAGCAA -3' Reverse: ComR 5' - TGTCTCCAATTCATGTGAGTGT -3'	472

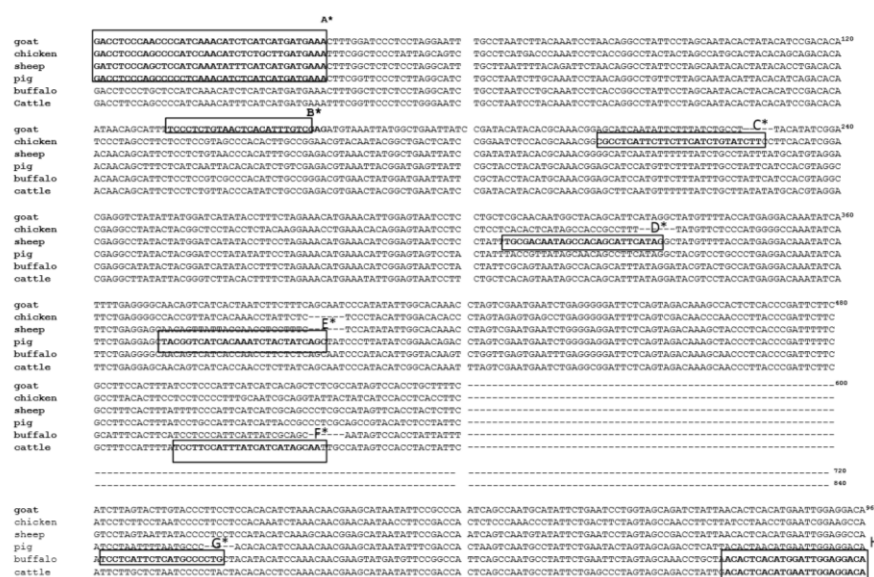


Figure 1 Alignment data of expected *cyt b* gene regions in each animal species with primer positions demonstrated in the opened boxes as followed (ordered by the position in the genome sequences):

Box A* represented ComF (forward primer for goat, chicken, sheep and pig in PCR reaction)

Box B* represented GoR2 (reverse primer for goat in PCR reaction)

Box C* represented ChR1 (reverse primer for chicken in PCR reaction)

Box D* represented ShR2 (reverse primer for sheep in PCR reaction)

Box E* represented PoR2 (reverse primer for pig in PCR reaction)

Box F* represented BoF2 (forward primer for cattle in PCR reaction)

Box G* represented BuF1 (forward primer for buffalo in PCR reaction)

Box H* represented ComR (reverse primer for goat in PCR reaction)

PCR amplification of *cyt b* fragments

The PCR reactions of DNA extracted from 6 animal species (cattle, buffalo, goat, sheep, chicken, and pig) using *cyt b* forward and reverse primers (**Table 1**) resulted in 6 different length fragments (**Figure 2**) from buffalo, goat, chicken, pig, sheep, and cattle as 124, 157, 227, 331, 398, and 473 bp, respectively. In order to distinguish if the primers were specific to testing samples, sequence analysis of the PCR products of all samples (10 samples from each species) was performed which the results revealed similarity of each spp. sequences in **Figure 1**. (Data not shown)

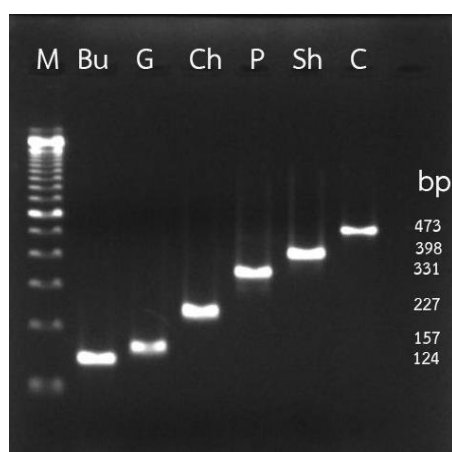


Figure 2 Agarose gel electrophoresis of PCR products amplified from the 6 species as followed Bu: buffalo; G: goat; Ch: chicken; P: pig; Sh: sheep; C: cattle, indicated PCR product sizes as 124, 157, 227, 331, 398, and 473 bp, respectively, and Lane M: 100 bp molecular DNA marker.

Quantification of mixed DNA

The amount of 20 ng/μl of DNA extracted from cattle, chicken, and pig was mixed for using as templates in 2 different PCR reactions which were the mixture of cattle and pig and the mixture of chicken and pig with the ratios of cattle/chicken's DNA to pig's DNA as 1:0, 1:1, 1:0.5, 1:0.25, 1:0.1, 1:0.05, 1:0.025, 1:0.01, and 0:1(v/v). Figure 3 demonstrated the PCR product bands of cattle and pig-specific fragments of 473 and 331 bp. Pig DNA fragments could be detected at the highest intensity at 1:1 DNA ratio (lane 3) then faded away as the pig DNA concentration decreased to the ratio of cattle: pig was 1:0.01 (v/v) which equivalent to the concentration of 20 ng of cattle DNA and

0.2 ng of pig DNA. Therefore, the least concentration of detectable pig DNA was 0.5ng (1:0.025 v/v ratio). The test had been performed in 3 replications (data not shown).

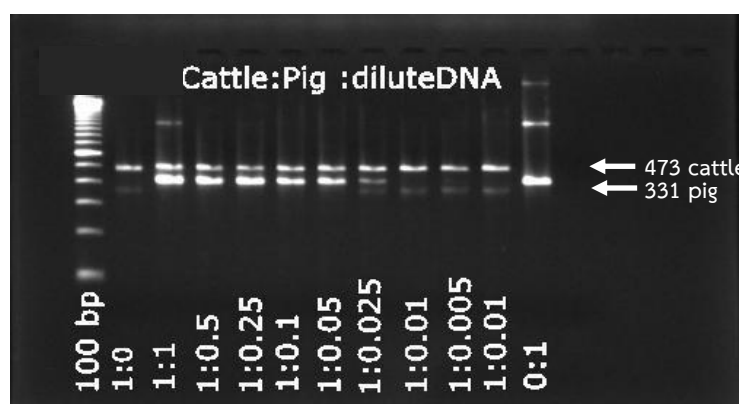


Figure 3 Agarose gel electrophoresis of Mixed DNA from cattle and pig in different dilutions

The similar PCR result occurred in the mixture of chicken and pig DNA. Figure 4 showed the PCR product bands of chicken and pig-specific fragments of 227 and 331 bp. Pig DNA fragment could be detected at the highest intensity at 1:1 DNA ratio (v/v) then faded away as the pig DNA concentration decreased to the ratio of chicken: pig was 1:0.01 (v/v) which equivalent to the concentration of 20 ng of chicken DNA and 0.2 ng of pig DNA. Therefore, the least concentration of detectable Pig DNA was 0.5 ng (1:0.025 v/v ratio). The test had been performed in 3 replications (data not shown).



Figure 4 Agarose gel electrophoresis of Mixed DNA from chicken and pig in different dilutions

Meat-labeled product analysis

Eleven samples of food products with specific animal spp. labeling, shown in **Table 2** and **Figure 5** including white pork sausage, pork sausage, pork ball, chicken sausage, chicken ball, beef

ball, and beef stew were tested using primers specific to all 6 species and PCR condition as previously.

Table 2 DNA testing for species evaluation of eleven food samples from vendors and supermarkets.

Samples	spp. Labeling	spp. Results
Lane 2- white pork sausage*	pig	pig
Lane 3- pork sausage**	pig	chicken
Lane 4- pork ball**	pig	pig and chicken
Lane 5- beef ball**	cattle	pig and chicken
Lane 6- pork sausage**	pig	chicken
Lane 7- pork sausage*	pig	pig
Lane 8- chicken sausage*	chicken	chicken
Lane 9- chicken sausage (Halal) *	chicken	chicken
Lane 10- pork ball*	pig	pig
Lane 11- beef ball**	cattle	pig
Lane 12- beef stew**	cattle	cattle and chicken

* represented matching spp.

** represented miss-matching spp.

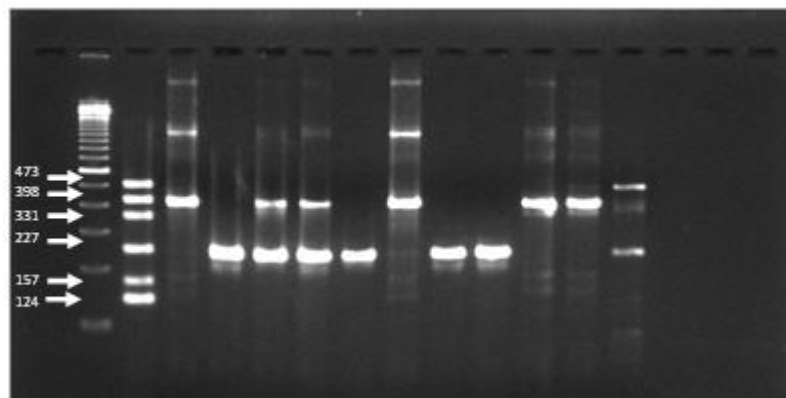


Figure 5 Agarose gel electrophoresis of PCR with specific primers of meat-labeled products compared with known species. M: 100bp molecular DNA marker; Lane 1: mixed DNA from 6 spp. (from top to bottom – cattle, 473 bp; sheep, 398bp; pig, 331 bp; chicken, 227 bp; goat, 157 bp; and buffalo, 124 bp); Lane 2: white pork sausage; Lane 3: pork sausage; Lane 4: pork ball; Lane 5: beef ball; Lane 6: pork sausage; Lane 7: porksausage; Lane 8: chicken sausage; Lane 9: chicken sausage; Lane 10: pork ball; Lane 11: beef ball; Lane 12: beef stew.

Discussion

A molecular genetic method makes it possible to identify mt DNA of animal origin. There were studies described the use of several mt DNA fragments such as cytochrome b genes (Cheunsuk *et al.*, 2012), ATP synthase subunits 6-8 (ATP6-8), 12s & 16s rDNA (Teletchea *et al.*, 2005), etc. PCR remains as sensitive, reliable, and rapid technique in detecting species-specific mt DNA fragments (Kesmen *et al.*, 2007). This study emphasized to develop a simple method for simultaneous identification the composition of desired 6 different meat species in both raw and cooked meat. Multiplex PCR testing, in which many primers are used in the same reaction, was used in the study which the principle of species-specific primers would create different sizes of PCR bands in the same reaction condition. In this study, the PCR reaction was able to share either the same forward primer (goat, chicken, sheep, and pig) or reverse primer (buffalo and cattle) that was helpful for setting an effective condition of the reaction (**Table 1**). The results indicated successful amplification of the target *cyt b* gene sequences with the expected amplicon sizes without fragment produced by non-specific amplification (**Figure 3**). In **Figure 4**, the semi-quantitative analysis for cattle and pig showed that the least concentration of pig's DNA that could be detected when mixed with cattle's DNA was 0.5 ng or cattle to pig ratio at 1:0.025 v/v which similar to those of mixed DNA between chicken and pig in **Figure 5**. These reactions had been performed in 3 replications to ensure the efficacy of the test (data not shown) with similar results. These finding should be useful for applying to food fraud detection. Thus, the study was designed a further test to detect the commercial product components. The results showed that only some not all products contained exactly animal meat as labeled. These products could not be able to determine by neither using naked eye nor tasting according to the label. However, DNA analysis could be able to report the true species regarding the listed sample products. In this study, only white pork sausage (sample #2), pork sausage (sample #7), chicken sausage (sample # 8 and 9), and pork ball (sample # 10) were matched with their labels while the others were not. Moreover, most products except sample #7, 8, 9, 10 were collected from the food vendors and local market which the origin of the products were not identified. Due to the price of the raw materials, some producers might add other meat to reduce the cost as well as the recipes of each food might either contain other animal parts such as fat or contaminate during the process of cooking. However, the samples # 7, 8, and 9 were collected from middle class supermarkets especially sample# 9 which indicated as a halal product showed

the correct meat species as label. This demonstrated that regulation of meat production could be strengthened in purpose of food safety, religious, and to prevent illegal fraud of meat product. The application of this method is not only for human consumption such as Halal authentication but also benefit for tracing animal feed adulteration. However, the analytical conditions might be improved for quantitative differentiation in fewer amounts of DNA as well as being able to identification more animal species.

Conclusion

Using multiplex PCR with specific primer design based on mt *cyt b* gene and appropriated reaction condition, meat from 6 species could be identified at the same time. Therefore, it should be a potential tool for routine analysis of meat species identification since it could be performed rapidly and quite sensitive.

References

- Anonymous. The National Center of Biotechnology Information (NCBI). Published mitochondrial *cyt b* gene sequences. Available source:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, Jan 12, 2016.
- Anonymous. Primer3plus. Primer design program. Available source:<http://www.bioinformatics.nl/cgi-bin/primer3plus/primer3plus.cgi>, Mar 10, 2016.
- Anonymous. The sequencing information of GenBank (NCBI) using program. The BLAST Sequence Analysis. Available source:https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE_TYPE=BlastSearch#, Jul 5, 2016.
- Bottero, M.T., A. Dalmaso, D. Nucera, R.M. Turi, S. Rosati, S. Squadrone, M. Gorla and T. Civera. 2003. Development of a PCR assay for the detection of animal tissues in ruminant feeds. *Journal of Food Prot.* 66(12):2307-12.
- Cheunsuk, S., N. Sarataphan and W. Tularuksa. 2016. Use of Cytochrome b Gene Variability in Ruminant Species Differentiation. *Proceeding in the National Livestock Conference*. August 23-25, 2016.
- Dalmaso, A., E. Fontanella, P. Piatti, T. Civera, S. Rosati and M.T. Bottero. 2004. A multiplex PCR assay for the identification of animal species in feedstuffs. *Molecular and Cellular Probes*. 18:81-87.

- Ghovvati, S., M.R. Nassiri, S.Z. Mirhoseini, A. Heravi Moussavi, and A. Javadmanesh. 2009. Fraud identification in industrial meat products by multiplex PCR assay. *Food Control* 20: 696-699.
- Gouli, Z., Z. Mingguang, Z. Zhijiang, O. Hongsheng, and L. Hongsheng. 1999. Establishment of a polymerase chain reaction for the identification of beef. *Meat Sci.* 48: 233-236.
- Hobbs, J., E. 2004. Traceability in the Canadian Red Meat Sector. Available source: http://www.agr.gc.ca/spb/rad-dra/publications/perfreprt/trace_e.pdf, Aug 5, 2016.
- Kesmen Z., F. Sahin, and H. Yetim. 2007. PCR assay for the identification of animal species in cooked sausages. *Meat Sci*, 77:649-653.
- Kocher, T.D. and W.K. Thomas. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. *Proc Natl Acad Sci.* 86:6196-6200.
- Li-Chin, T., H. Mei-Tzu, Hsiao. C.T, Lin. A.C.Y, Chen. S.J, Lee. J.C, and Hsieh H. 2007. Species identification of animal specimens by cytochrome b gene. *Forensic Sci. J.* 6 (1): 63-65.
- Matsuda, H., Y. Seo, E. Kakizaki, S. Kozawa, E. Muraoka, and N. Yukawa. 2005. Identification of DNA of human origin based on amplification of human-specific mitochondrial cytochrome b region. *Forensic Sci. int.* 1522-3: 109-114.
- Schwagele, F. 2005. Traceability from a European Perspective. *Meat Science*, (71):164-173.
- Smith, G. C., J. D. Tatum, K. E. Belk, J.A. Scanga, T. Grandin and J. N. Sofos. 2005. Traceability from a US Perspective *Meat Science*, 71:174-193.
- Teletchea, F., C. Maudet, and C. Hanni. 2005. Food and forensic molecular identification: update and challenges. *Trends in Biotech.* Vol 23 No. 7: 14-25.
- Tsai, L., M. Huang, C. Hsiao, A. C. Lin, S. Chen, J.C. Lee and H. Hsieh. 2007. Species identification of animal specimens by cytochrome b gene. *Forensic Science J.* 6(1): 63-6

สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์

BUREAU OF BIOTECHNOLOGY IN LIVESTOCK PRODUCTION
DEPARTMENT OF LIVESTOCK DEVELOPMENT

