

ผลของวิธีการให้อาหารแบบขั้นบันไดในระยะวงรอบการเป็นสัดต่อการพัฒนาฟอลลิเคิลและคุณภาพของโอโอไซต์ของแม่แพะพื้นเมืองไทย

Effect of stair-step feeding regimen during estrous cycle on follicular development and oocyte quality of Thai-native does

จารึก ญัฐฐากรกุล¹, ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์^{1*}, ภาวดี ภักดี¹, ฉลอง วชิราภกร¹
และ กฤติยา เลิศขุนหะเกียรติ¹

Jaruk Nutthakornkul¹, Chainarong Navanukraw^{1*}, Parwadee Pakdee¹,
Chalong Wachirapakorn¹ and Krittiya Lertchunhakiat¹

บทคัดย่อ: เพื่อศึกษาผลของวิธีการให้อาหารแบบขั้นบันไดในระยะวงรอบการเป็นสัดต่อการพัฒนาการของฟอลลิเคิลและคุณภาพของโอโอไซต์ ใช้แพะพื้นเมืองเพศเมียน้ำหนักเฉลี่ย 17 ± 0.6 กก. อายุ 8 เดือน จำนวน 16 ตัว เป็นแพะที่มีวงรอบการเป็นสัดมาแล้วไม่น้อยกว่า 2 วงรอบ และใช้แพะเพศผู้ที่ผ่าตัดท่อนำน้ำเชื้อเพื่อตรวจสอบการเป็นสัดของแพะเพศเมียทุกวัน แพะเพศเมียแบ่งเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มควบคุม (Control) ให้อาหารตามความต้องการโภชนะของแพะในระยะวัยเจริญพันธุ์ หรือคิดเป็น 100% โดยให้หญ้าหั่นแห้ง 500 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับอาหารข้นที่มีโปรตีน 16% เสริมในระดับ 1% ของน้ำหนักตัว รวมอาหารที่กิน 670 กรัม/ตัว/วัน มีพลังงานใช้ประโยชน์ (metabolizable energy, ME) เท่ากับ 1.48 เมกะแคลอรีต่อกิโลกรัม และโปรตีนที่ได้รับ 55 กรัม/ตัว/วัน ตลอดระยะเวลา 42 วัน กลุ่มที่ 2 ให้อาหารแบบขั้นบันได (Stair-step feeding) ประกอบด้วย 2 ระยะคือ ระยะแรก(วันที่ 1-21) ให้อาหารแพะแบบจำกัด โดยได้รับอาหารเพียง 70% ของกลุ่มควบคุม ระยะที่สอง (วันที่ 22-42) ให้อาหารเพิ่มขึ้นเป็น 130% ของปริมาณที่ให้จากกลุ่มควบคุม จากนั้นแพะทุกกลุ่มถูกผ่าตัดเปิดช่องท้องครั้งแรกในวันที่ 41 เพื่อศึกษาพัฒนาการของฟอลลิเคิล และครั้งที่สอง (หลังจากแพะแสดงอาการเป็นสัด 3 วัน) เพื่อเจาะดูดฟอลลิเคิลขนาด 2 มม. และเก็บโอโอไซต์ไปประเมินคุณภาพ จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณการกินได้ อัตราการเจริญเติบโต และอัตราการเปลี่ยนอาหารของแพะทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ($P > 0.05$) ส่วนค่าทางชีวเคมีพบว่า ค่าเฉลี่ยกลูโคส ที่ 4 ชั่วโมงหลังการกินอาหารของกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดในวงรอบการเป็นสัดครั้งที่ 2 ซึ่งเป็นระยะที่มีการเพิ่มการให้อาหารที่ 4 ชั่วโมงมีระดับที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ระดับของกรดไขมันอิสระในซีรัม (NEFA) ของแพะที่ให้อาหารแบบขั้นบันได ในระยะวงรอบการเป็นสัดครั้งที่ 1 เมื่อมีการจำกัดอาหารมีค่าไม่แตกต่างจากแพะกลุ่มควบคุม แต่ในวงรอบการเป็นสัดครั้งที่ 2 เมื่อให้อาหารเพิ่มขึ้นเป็น 130% พบว่ากรดไขมันอิสระในซีรัมของแพะกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันได มีระดับลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ระดับของฮอร์โมนอินซูลินในแพะกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันได มีระดับที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) ในส่วนของฟอลลิเคิลทั้งหมดที่นับได้ในกลุ่ม ที่ให้อาหารแบบขั้นบันได มีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$) จากการเจาะดูดฟอลลิเคิลและเก็บโอโอไซต์มาประเมินคุณภาพ พบว่าจำนวนของโอโอไซต์ที่มีคุณภาพดีที่ได้จากฟอลลิเคิลขนาดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-3, 4-6 และ ≥ 7 มม. ในกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันได มีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) นอกจากนั้นแล้วค่าดัชนีในการแบ่งเซลล์ (% PCNA labeling index) ในเนื้อเยื่อชั้นกรนูโลซาและชั้นที่กาของ

¹ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

* Corresponding author: chanav@kku.ac.th

รังไข่ในแพะที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดสูงกว่าในแพะกลุ่มควบคุม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้นการให้อาหารแบบขั้นบันไดในระยะรอบการเป็นสัตว์ผสมพันธุ์ต่อการพัฒนาการฟอลลิเคิลของแพะพื้นเมืองไทย

คำสำคัญ: การให้อาหารแบบขั้นบันได, ฟอลลิเคิล, โอเอสโตร, แพะพื้นเมืองไทย

ABSTRACT: The objective of this study was to determine the effect of stair-step feeding regimen during estrous cycle on follicular development and oocytes quality. Sixteen Thai-native non pregnant goats were used with the average age and body weight of 8 months and 17 ± 0.6 kg, respectively. The does exhibited at least 2 normal estrous cycle and were housed in 1 m^2 steel cages. Heat detection was daily recorded using a vasectomized buck. The does were randomly assigned into two groups: Control and Stair-step feeding group. In the control group, does were fed 100% of nutrients requirement for growth in puberty periods. Does consumed Ruzi grass hay, DM = 500 g/head/d and concentrate supplemented at 1% of body weight. Total feed intake was 670 g/head/d, (ME = 1.48 Mcal/kg/d, TP = 55 g/head/d during day 1-42). In the Stair-step feeding group, treatment was divided in two phases: feed restriction and realimentation. In the first phase, does were fed roughage and concentrate 70% of the average consumption of control group during day 1-21 (1st estrous cycle). In the second phase, goats were offered 130% of the average consumption of control group during day 22-42 (2nd estrous cycle). Does were scheduled to determine follicular growth and number, as well as oocyte quality by surgical laparotomy. The results showed that average total feed intake, average daily gain and feed conversion ratio were not statistically different between stair-step and control group ($P > 0.05$). Serum glucose concentrations at 4 h was during realiment phase were greater than control group ($P < 0.05$). Numbers of total follicles in stair-step group were greater than control group ($P < 0.05$). Moreover, Oocyte quality of the treatment group was better ($P < 0.01$) than that of control group in follicular size of 1-3, 4-6 and ≥ 7 mm. Proliferation cell nuclear antigen (PCNA) was used to establish cell labeling techniques for investigating cell proliferation. In this study was observe differences among regions of the granulosa and theca cell layer. Difference of follicular size (1-3, 4-6, ≥ 7 mm) between treatment and control group were compared. The results found that the labeling index in granulosa and theca layer of all follicular size 1-3, 4-6 and ≥ 7 mm were statistically different between stair-step feeding and control group ($P < 0.05$). These results indicate that stair-step feeding regimen affects fertility improvement in Thai-native does.

Keywords: Stair-step feeding regimen, follicle, oocyte, Thai-native goats

บทนำ

แพะเป็นสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็กที่มีสำคัญสำหรับเกษตรกรในภาคใต้ของประเทศไทย ซึ่งกรมปศุสัตว์ (2552) รายงานว่าจำนวนแพะที่เลี้ยงในประเทศไทยปี 2552 มีจำนวน 383,796 ตัว เป็นแพะที่อยู่ในภาคใต้มากถึงร้อยละ 73 ของแพะทั้งประเทศ เนื่องจากแพะเป็นสัตว์ที่เลี้ยงง่ายสามารถกินอาหารได้หลากหลายชนิด ใช้พื้นที่ในการเลี้ยงน้อย มีระยะเวลาในการตั้งท้องสั้น มีโอกาสเกิดลูกแฝดได้มาก อย่างไรก็ตามถึงแม้แพะเป็นสัตว์ที่ให้ลูกได้ปีละ 2 ครั้ง และมีโอกาสในการเกิดแฝด 2 หรือ 3 ได้ แต่เมื่อพิจารณาจากภาพรวมแล้วกลับพบว่า มีอัตราการตายของลูกแพะในระหว่างการจัดตั้งท้องและหลังคลอดสูงถึงร้อยละ 30 (สุรศักดิ์และคณะ, 2536; ภาวดีและคณะ, 2551; กรมปศุสัตว์, 2552) เนื่องจากเกษตรกรยังขาดความรู้ ความเข้าใจในการจัดการ

การสืบพันธุ์ของแพะในด้านต่างๆ เช่น การจัดการให้อาหาร การจัดการการสืบพันธุ์ในระยะก่อนการตั้งท้อง โดยปล่อยให้แพะผสมพันธุ์กันเองตั้งแต่อายุน้อย มีผลทำขาดความสมบูรณ์พันธุ์ในระยะก่อนการผสมพันธุ์ ส่งผลต่อการตั้งท้อง และอัตราการมีชีวิตรอดของลูกแพะ ข้อจำกัดต่างๆ เหล่านี้ส่งผลกระทบต่อการผลิตแพะพื้นเมืองไทย ดังนั้นหากมีงานวิจัยที่สามารถช่วยเพิ่มความสามารถพันธุ์ในแพะพื้นเมืองไทย จะมีส่วนช่วยลดอัตราการตายของลูกแพะลงได้ ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์โดยตรงต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงแพะ

ความสามารถในการให้ผลผลิตของสัตว์เลี้ยงในฟาร์มขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ในสัตว์เลี้ยงทั้งโดยตรงและโดยอ้อม ประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ถือได้ว่าเป็นปัจจัยหลักที่มีความสำคัญสำหรับความสามารถในการให้ผลผลิตของแพะ (Pralomkarn et al., 1996) ซึ่งช่วงเข้าสู่วัยหนุ่มสาวถือได้ว่าเป็นช่วงที่มีความสำคัญมากต่อการสืบพันธุ์

เนื่องจากการพัฒนาเข้าสู่วัยหนุ่มสาวที่เป็นไปอย่างปกติและเหมาะสมก็จะส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในแพะเป็นไปได้อย่างปกติ การเข้าสู่วัยหนุ่มสาวมีความเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ระหว่างอายุและน้ำหนักตัวเมื่อเป็นสัดครั้งแรก รวมทั้งมีความเกี่ยวข้องกับเหมาะสมของปริมาณ คุณภาพ และรูปแบบการให้อาหารอีกด้วย (Shelton, 1978) ดังนั้นหากมีการเอาใจใส่ดูแล และมีการจัดการที่ดีก็จะทำให้แพะเจริญเข้าสู่วัยหนุ่มสาวได้อย่างปกติ (Shelton, 1978; Agrawal et al., 1992) ในขณะที่ Saithanoo et al. (1991) รายงานว่า 60% ของแพะในประเทศไทย มักจะได้รับการผสมพันธุ์ก่อนอายุ 7 เดือน เป็นสาเหตุให้เกิดการตั้งท้องก่อนถึงอายุโตเต็มวัย ซึ่งจากข้อมูลที่ได้กล่าวมาข้างต้นนี้เป็นสาเหตุของสุขภาพของลูกแพะที่ทำให้ระยะเวลาการตั้งท้องสั้นกว่าปกติหรือเกิดอุบัติเหตุการแท้งในอัตราที่สูง และส่งผลต่อการลดการเจริญของรกและตัวอ่อนตามมา (Wallace et al., 2006)

จากความพยายามของนักวิจัยในการพัฒนาวิธีการให้อาหารเพื่อให้สัตว์สามารถให้ผลผลิตได้ดี โดยเฉพาะในช่วงที่สัตว์กำลังเจริญเติบโต ระยะเวลาวัยหนุ่มสาว หรือ ช่วงที่ตั้งท้อง โดยการให้อาหารที่มีความเข้มข้นสูง (high feeding intensity) แก่สัตว์ในระยะดังกล่าวพบว่ามีทั้งผลดี (Park et al., 1998) และผลเสีย (Johnson, 1988) ต่อการเจริญเติบโต ความสมบูรณ์พันธุ์ และการให้น้ำนมของสัตว์ (Choi et al., 1997) ในระยะต่อมามีการพัฒนาการใช้รูปแบบการให้อาหารแบบขั้นบันได (stair-step feeding regimen) โดยมีรูปแบบที่รวมเอาวิธีการจำกัดอาหารพลังงาน (dietary energy restriction) และการกลับมาให้อาหารพลังงานในระดับปกติ (realimentation or refeeding) เพื่อกระตุ้นให้ร่างกายมีการเจริญเติบโตทดแทน (compensatory growth) ในช่วงเวลาที่ฮอริโมนในร่างกายมีความไวต่อการตอบสนองต่อการพัฒนาของร่างกายในช่วงระยะต่างๆ เช่น ระยะก่อนเข้าสู่วัยสาว ระยะสาว จนถึงระยะตั้งท้อง (Ford and Park, 2001) ซึ่งในการให้โภชนาการเพื่อกระตุ้นในช่วงที่มีการพัฒนาของร่างกายแต่ละช่วงแตกต่างกัน ก่อนที่จะมีการ

ตั้งท้องครั้งแรกนั้น ทำให้เกิดผลดีต่อการพัฒนาการของระบบต่างๆในร่างกาย รวมทั้งการพัฒนาการของระบบสืบพันธุ์

จากข้อมูลดังกล่าวในเบื้องต้นจึงเป็นที่มาของประเด็นวิจัย โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีการให้อาหารแบบขั้นบันไดในระยะวงรอบการเป็นสัดต่อการพัฒนาการของฟอลลิเคิล และคุณภาพของโอเอสโตรเจนของแม่แพะพื้นเมืองไทย

วิธีการศึกษา

ในการทดลองครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้คำนึงถึงจรรยาบรรณในการใช้สัตว์ทดลอง โดยมีการเลี้ยงดูสัตว์และมีการปฏิบัติต่อสัตว์ทดลองอย่างเคร่งครัด ซึ่งได้ผ่านการพิจารณาของคณะกรรมการด้านจรรยาบรรณและมาตรฐานในการใช้สัตว์ทดลอง มหาวิทยาลัยขอนแก่นแล้ว ตามหนังสือลำดับที่: จส.มข.39/2552 เลขที่: ศธ 0514.1.12.2/47 และได้ดำเนินการดังนี้

สัตว์ทดลอง

การศึกษานี้ทำการทดลองที่ฟาร์มเลี้ยงสัตว์ทดลอง หมอวัดโคเนื้อและห้องปฏิบัติการสัตววิทยาภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในช่วงเดือนตุลาคม 2552 ถึง มกราคม 2553 โดยใช้แพะพื้นเมืองไทยเพศเมียวัยสาวมีน้ำหนักเฉลี่ย 17 ± 0.6 กก. อายุประมาณ 8 เดือน จำนวน 16 ตัว เป็นแพะที่มีการจัดการวงรอบการเป็นสัดก่อนเข้างานทดลองมาแล้ว โดยมีวงรอบการเป็นสัดเฉลี่ย 21 วัน และมีวงรอบมาแล้วไม่น้อยกว่า 2 วงรอบ และใช้พ่อพันธุ์แพะพื้นเมืองไทยที่ผ่าตัดท่อน้ำเชื้อแล้ว (vasectomized buck) 1 ตัว อายุประมาณ 2 ปี เพื่อใช้ตรวจทดสอบการเป็นสัดของแพะเพศเมียทุกวันในเวลาเช้าและเย็น โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 8 ตัว คือกลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (Control) ให้อาหารตามความต้องการโภชนาการของแพะในระยะวัยเจริญพันธุ์ (NRC, 1981) หรือคิดเป็น 100% โดยการคำนวณให้อาหารหยาบเป็นหน่วยรูซึ่งในที่นี้โภชนาการย่อยได้รวม

(TDN) 51% และโปรตีนรวม 8% มีน้ำหนักแห้ง (DM) เท่ากับ 500 กรัม/ตัว/วัน ร่วมกับการให้อาหารชั้นที่มีโปรตีน 16% เสริมในอัตรา 1.0% ของน้ำหนักตัว หรือ 170 กรัม/ตัว/วัน รวมอาหารที่ให้อิน 670 กรัม/ตัว/วัน มีพลังงานใช้ประโยชน์ (metabolizable energy, ME) เท่ากับ 1.48 เมกะแคลอรีต่อกิโลกรัม และโปรตีนที่ได้รับ 50-55 กรัม/ตัว/วัน โดยให้ตลอดระยะเวลา 42 วัน (2 วงรอบการเป็นสัด) กลุ่มที่ 2 ให้อาหารแบบขั้นบันได (Stair-step feeding regimen) ประกอบด้วย 2 ระยะ คือ ระยะแรกให้อาหารแพะแบบจำกัด (restriction) โดยการจำกัดอาหารที่ได้รับเหลือเพียง 70% ของกลุ่มควบคุม (Kim and Park; 2004) ในระยะวันที่ 1-21 (วงรอบแรกของการเป็นสัด) ระยะที่สองกลับมาให้อาหารเพิ่มขึ้นเป็น 130% ของปริมาณที่ให้จากกลุ่มควบคุมในระยะวันที่ 22-42 (วงรอบที่สองของการเป็นสัด) จากนั้นแพะทุกกลุ่มจะถูกเปิดช่องท้อง (laparotomy) ในวันที่ 41 หรือก่อนแสดงอาการเป็นสัด 1 วัน (กำหนดวันได้จากการบันทึกการจัดการวงรอบการเป็นสัดก่อนเข้างานทดลอง) เพื่อดูพัฒนาการของฟอลลิเคิล และประเมินคุณภาพของโอเอสโตรเจนในวันที่ 45

ก่อนการทดลองแพะทุกตัวได้รับยาถ่ายพยาธิภายในอัลเบนดาโซล (Albendazole®) และยาถ่ายพยาธิภายนอกเนกูวอน (Neguvon®) หลังจากนั้นทำวัคซีนป้องกันปากและเท้าเปื่อย และวัคซีนป้องกันโรคแท้งติดต่อของกรมปศุสัตว์ จัดการให้อาหารและน้ำกินแบบเต็มเพื่อปรับสภาพของร่างกายนาน 30 วันก่อนการทดลอง

การเก็บข้อมูล

1. น้ำหนักตัวและ สภาพร่างกายของแพะ (body condition score) โดยชั่งน้ำหนักแพะก่อนที่จะเข้าทำการทดลอง และให้คะแนนสภาพของร่างกายใช้สเกลจากระดับคะแนน 1 ถึง 5 (Ferguson et al., 1994)

2. หาปริมาณการกินได้ของอาหารหยาบและอาหารชั้นของสัตว์ทดลองแต่ละตัว โดยบันทึกปริมาณอาหารที่ให้และเหลือทุกๆ วัน การเก็บข้อมูลทำได้โดยการชั่งน้ำหนักแพะทุกวัน บันทึกปริมาณอาหาร

ที่กินในแต่ละวัน เพื่อนำไปคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโต/วัน และค่าแสดงอัตราการเปลี่ยนอาหาร

3. เก็บตัวอย่างเลือดจาก jugular vein ที่คอแพะ ปริมาณ 5 มล. ทั้งสองกลุ่ม โดยเก็บก่อนการให้อาหารในตอนเช้า (ที่ 0 ชม.) และหลังจากกินอาหารแล้ว 4 ชั่วโมง ในวันที่ 0 ก่อนเริ่มการให้ treatment, วันที่ 6, 12, 18, 21, 27, 33, 41, และวันที่ 45 ก่อนเปิดช่องท้องครั้งที่ 2 เพื่อนำไปวิเคราะห์หา กลูโคส, คาร์บอไฮดรอนอิสระในเลือด (non esterified fatty acid, NEFA), ยูเรียไนโตรเจน (Blood Urea Nitrogen, BUN) การวิเคราะห์ค่าชีวเคมีในเลือดใช้ชุดทดสอบทางเคมีด้วยวิธี Enzymatic spectrophotometry สำหรับการตรวจความเข้มข้นของกลูโคส (Biotech test kit RA-122-11, BIOTECH, Thailand) ยูเรียไนโตรเจน (Biotech test kit RA-115-22, BIOTECH, Thailand) และคาร์บอไฮดรอนอิสระ (Randox test kit FA115, RANDOX Laboratories Ltd., United Kingdom) สำหรับการวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของอินซูลิน (Insulin) ใช้ RIA kit (Eiken Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan) สถานที่วิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการสถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

4. ผ่าตัดเปิดช่องท้องแพะ ในวันที่ 41 ของการทดลองเพื่อนับจำนวนและขนาดของฟอลลิเคิลที่ปรากฏบนรังไข่ (preovulatory follicle) โดยมีการแบ่งกลุ่มของฟอลลิเคิลเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ขนาดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-3, 4-6 และ ≥ 7 mm (Gonzalez-Bulnes et al., 2003) และวันต่อมา (วันที่ 42) สังเกตและบันทึกพฤติกรรมการเป็นสัดโดยใช้แพะเพศผู้ตรวจสอบเมื่อแพะเป็นสัดให้นับเป็นวันที่ 0 (day 0) จากนั้นเปิดช่องท้องแพะเป็นครั้งที่ 2 ในวันที่ 3 ภายหลังการเป็นสัด (day 3) เพื่อสุ่มเจาะดูฟอลลิเคิลโดยใช้ไซริงค์ขนาด 1 มล. และเข็มเบอร์ 25 ยาว 5/8" เจาะดูฟอลลิเคิลขนาดตั้งแต่ 2 มม. ขึ้นไปเพื่อเก็บโอเอสโตรเจนคุณภาพทางสัณฐานวิทยา (morphology) โดยการใช้กล้องจุลทรรศน์ส่องดู ตามวิธีการของ Gordon (1997) โดยแบ่งคุณภาพของโอเอสโตรเจนเป็น 2 เกรด คือ คุณภาพดี (good quality) และ คุณภาพไม่ดี

(poor quality) ตามวิธีการของ Islam et al. (2007) หลังจากนั้นจึงตัดรังไข่ข้างที่ไม่ได้เจาะดูดฟอลลิเคิลเอาไว้ (Ovariectomy) เสร็จแล้วจึงเย็บปิดช่องท้อง

5. รังไข่ที่เก็บได้จากการทำ Ovariectomy นำมาเพื่อตรวจวัด Proliferative cell nuclear antigen (PCNA) โดยใช้วิธี Immunohistochemistry ซึ่งเป็นตัวชี้วัดถึงการเพิ่มจำนวนของเซลล์จากฟอลลิเคิลที่ปรากฏใน labeling index โดยเริ่มจากการ Paraffin-embedded sections (4 μ m) ของรังไข่ แล้วใช้ specific monoclonal antibody (MAB24R, Chemicon International, Temecula, CA) หลังจากนั้นจึงนำ granulosa cell labeling index และ thecal cell labeling index มาดูลักษณะแล้วคำนวณด้วยวิธี Image analysis system (Motic Images Plus 2.0, Olympus, JA) ตามวิธีของ Grazul-Bilska et al. (2007) โดยเนื้อเยื่อของฟอลลิเคิลแต่ละตัวอย่างสุ่มเลือกพื้นที่ขนาด 0.05 มม.² จำนวน 8 จุด แต่ละจุดนับจำนวน PCNA ซึ่งมีน้ำตาลต่างจากเซลล์อื่นๆ ที่เห็นเป็นสีฟ้า ข้อมูลที่ได้แสดงออกเป็นค่าเฉลี่ยของร้อยละ (percentage $\pm$ SEM) ของพื้นที่ทั้งหมดในแต่ละเนื้อเยื่อฟอลลิเคิล

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์โดย GLM procedures เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่ได้ โดยวิธี Student t-test. (SAS, 2001)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของวิธีการให้อาหารแบบขั้นบันไดต่อการเจริญเติบโตของแพะพื้นเมืองไทย

คะแนนของร่างกายของแพะกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดเมื่อเริ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (2.87 ± 0.07 vs 2.93 ± 0.06 ตามลำดับ, $P>0.05$) จากการทดลองพบว่าแพะในกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันได มีปริมาณการกินได้และอัตราการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม (622.84 ± 12.9 และ 52.81 ± 2.58 กรัม/ตัว/วัน vs 653.6 ± 6.68 และ 46.2 ± 3.21 กรัม/ตัว/วัน ตามลำดับ, $P>0.05$) (Table 1) อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณการกินได้ทั้งหมดของแพะกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดมีแนวโน้มกินอาหารน้อยกว่า กลุ่มควบคุม (622.84 ± 12.90 vs 653.62 ± 6.68 , $P=0.08$) เนื่องจากในช่วงต่อระยะที่มีการจำกัดอาหาร (ได้รับ 70% จากกลุ่มควบคุม)แล้วเปลี่ยนมาเพิ่มอาหารขึ้นเป็น 130% จากกลุ่มควบคุม ในระยะ 4-5 วันแรกหลังจากที่เพิ่มการให้อาหาร แพะในกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดกินอาหารไม่หมด โดยเฉพาะอาหารหยากที่ให้เป็นหญ้าแห้ง หลังจากนั้นจึงเริ่มปรับตัวกินหญ้าแห้งได้มากขึ้น ทำให้ส่งผลต่อปริมาณการกินได้ทั้งหมดให้น้อยลงด้วย

Table 1 Effect of stair-step feeding regimen on growth performance of does during estrous cycle.

Data	Control	Stair-step	P-value
No. of goats treated	8	8	
Body condition score	2.87 ± 0.07	2.93 ± 0.06	0.53
Initial weight (kg)	16.50 ± 0.22	16.37 ± 0.47	0.54
Final weight (kg)	18.35 ± 0.28	18.48 ± 0.38	0.25
Weight gain (kg)	1.88 ± 0.12	2.10 ± 0.10	0.21
Total feed intake (g/d)	653.62 ± 6.68	622.84 ± 12.90	0.08
Concentrate (g/d)	172.30 ± 2.03	167.81 ± 4.33	0.95
Roughage (g/d)	482.02 ± 4.72	455.03 ± 8.60	0.06
Average daily gain (g/d)	46.25 ± 3.21	52.81 ± 2.58	0.09
Feed conversion ratio	14.43 ± 0.90	12.71 ± 0.91	0.11

ผลของวิธีการให้อาหารแบบขั้นบันไดต่อการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาของแพะพื้นเมืองไทย

การเปลี่ยนแปลงเมทาบอลิท์ (metabolite) ของโภชนะมีผลต่อการสืบพันธุ์ในสัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็ก (Rondina et al., 2005) ซึ่งกลูโคสจัดเป็นสารเมทาบอลิท์ที่มีความสำคัญต่อการทำงานของระบบสืบพันธุ์ โดยเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของระบบประสาทส่วนกลาง หากมีปริมาณไม่พอเพียงส่งผลต่อการหลั่งฮอร์โมน GnRH (Hunter et al., 2004) การเพิ่มการสังเคราะห์กลูโคสจึงมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพการเป็นพลังงาน หากมีพลังงานไม่เพียงพอจะมีการสลายเนื้อเยื่ออะดิโพส (adipose tissue) ทำให้ปริมาณของกรดไขมันอิสระ (NEFA) ในพลาสมาเพิ่มสูงขึ้นก่อให้เกิดการสะสมคีโตน (ketone) การจำกัดการสังเคราะห์กลูโคส ส่งผลต่อการลดการหลั่งของฮอร์โมน LH จากต่อมใต้สมองด้วย (Hunter et al., 2004) ส่วนค่ายูเรียไนโตรเจนในพลาสมาเป็นเมทาบอลิท์ที่บ่งชี้ปริมาณโปรตีนที่สัตว์ได้รับ (Kaneko et al., 1989; Kanyinji et al., 2009) และเป็นตัวชี้วัดการทำหน้าที่ของไตร่วมกับครีตินิน (creatinine) ซึ่งยูเรียไนโตรเจนเป็นสารตั้งต้นที่จะเปลี่ยนเป็นครีตินินในกล้ามเนื้อและถูกกรองที่ไต ส่วนยูเรียไนโตรเจนที่เหลือจะถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะ (Stockham and Scott, 2002) ในการทดลองครั้งนี้พบว่าระดับค่ากลูโคส ของกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดในวงจรการเป็นสัดครั้งที่ 2 ซึ่งเป็นระยะที่มีการเพิ่มการให้อาหารที่ 4 ชั่วโมงมีระดับที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) ส่วนค่ายูเรียไนโตรเจนในซีรัม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$;

Table 2) โดยค่ากลูโคส และยูเรียไนโตรเจน ของแพะทั้งสองกลุ่มอยู่ในช่วงระดับปกติ โดยสอดคล้องกับรายงานของ Kanyinji et al. (2009) ที่รายงานว่าค่าของกลูโคสและยูเรียไนโตรเจน ระดับปกติในแพะอยู่ในช่วง 40-85 mg/dl และ 10-20 mg/dl ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาค่ากลูโคสและยูเรีย ที่มีการเปลี่ยนแปลงจากชั่วโมงที่ 0 หลังจากกินอาหาร จนถึง ชั่วโมงที่ 4 ในกลุ่มแพะที่ให้อาหารแบบขั้นบันได พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทั้งในวงจรการเป็นสัดครั้งที่ 1 และ 2

ระดับของกรดไขมันอิสระในซีรัม (NEFA) เป็นตัวบ่งชี้สภาวะโภชนาการในสัตว์เคี้ยวเอื้องได้เป็นอย่างดี (Peris et al., 1997) ระดับของกรดไขมันอิสระในซีรัมของแพะที่มีภาวะโภชนาการที่ปกติที่รายงานโดย Kaneko (1989) มีระดับไม่เกิน 0.45 mmol/L ระดับของกรดไขมันอิสระที่สูงขึ้นในช่วงที่ถูกจำกัดอาหารเป็นเวลานานบ่งบอกถึงการขาดอาหารเกิดสมดุลพลังงานที่เป็นลบ (negative energy balance) ในการทดลองครั้งนี้พบว่า ระดับของกรดไขมันอิสระที่ของแพะกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดในระยะวงจรการเป็นสัดครั้งที่ 1 เมื่อมีการจำกัดอาหารมีค่าไม่แตกต่างจากแพะกลุ่มควบคุม (0.29 ± 0.03 vs 0.23 ± 0.02 mmol/L ตามลำดับ, $P>0.05$) โดยที่น้ำหนักตัวไม่ได้ลดลง แต่ในระยะวงจรการเป็นสัดครั้งที่ 2 เมื่อมีการให้อาหารเพิ่มขึ้นเป็น 130% พบว่าค่ากรดไขมันอิสระในซีรัมของแพะกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดมีระดับที่ต่ำกว่าแพะกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

Table 2 Effect of stair-step feeding regimen on glucose and BUN concentration.

	Glucose (mg/dl)				BUN (mg/dl)			
	1 st estrous cycle		2 nd estrous cycle ^{1/}		1 st estrous cycle		2 nd estrous cycle	
	0 h	4 h	0 h	4 h	0 h	4 h	0 h	4 h
Control	51.0±4.7	56.0±1.7	52.0±2.5	55.3±2.8a	13.2±2.0	15.5±3.5	14.7±1.8	18.3±2.4
Stair-step	47.6±2.0	60.37±0.8	52.5±3.1	69.7±2.2b	12.0±1.1	15.7±1.2	15.8±1.1	20.0±1.0

^{1/} a,b Means ± SE differ within column, $P<0.05$

ฮอร์โมนอินซูลินเป็นฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมเมแทบอลิซึม ความเข้มข้นที่เปลี่ยนแปลงมีผลต่อสถานะทางเมทาบอลิซึม (metabolic status) ของสัตว์ มีรายงานการวิจัยพบว่าอินซูลินเป็นฮอร์โมนที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการส่งสัญญาณผลของโภชนะต่อการพัฒนาการและการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิล (follicular dynamics) ในโค (Gong et al., 1994) ในแกะ (Scaramuzzi et al., 2006) และแพะ (Selvaraju et al., 2003; Tanaka et al., 2004) นอกจากนี้ยังทำหน้าที่ร่วมกับกลูโคสในการกระตุ้นการหลั่ง GnRH จากไฮโปทาลามัส อีกทั้งอินซูลินมีผลต่อการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการสังเคราะห์สเตียรอยด์ที่รังไข่ (Diskin et al., 2003) โดยในการทดลองพบว่าแพะกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดมีระดับที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($P < 0.05$, Table 3) ซึ่งจากการรายงานของ Tanaka et al. (2004) ในการวิเคราะห์หาระดับของ

ฮอร์โมนอินซูลินในซีรัมของแพะพันธุ์ Shiba เพศเมีย ในภาวะที่ได้รับอาหารปกติต่อการทำงานของรังไข่พบว่ามีความระดับของอินซูลินอยู่ระหว่าง 5-25 $\mu\text{U/ml}$.

ผลของวิธีการให้อาหารแบบขั้นบันไดต่อการพัฒนาการของฟอลลิเคิลและคุณภาพของโอโอไซต์

จากการผ่าตัดเปิดช่องท้องแพะครั้งที่ 1 เพื่อดูพัฒนาการของฟอลลิเคิล โดยการนับจำนวนและดูขนาดของฟอลลิเคิลที่ปรากฏบนรังไข่ พบว่าจำนวนของฟอลลิเคิลทั้งหมดที่นับได้ในกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดมีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบจำนวนของฟอลลิเคิลในกลุ่มที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-3, 4-6 และ ≥ 7 มม. ของแพะที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดกับกลุ่มควบคุมพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$; Table 4)

Table 3 Effect of stair-step feeding regimen on NEFA and Insulin concentration.

	NEFA (mmol/L)		Insulin($\mu\text{U/ml}$)	
	1 st estrous cycle	2 nd estrous cycle ^{1/}	1 st estrous cycle	2 nd estrous cycle
Control	0.22 $\pm$ 0.02	0.26 $\pm$ 0.03a	8.00 $\pm$ 1.10	8.73 $\pm$ 1.21a
Stair-step	0.28 $\pm$ 0.03	0.16 $\pm$ 0.02b	6.68 $\pm$ 1.47	15.57 $\pm$ 1.57b

^{1/} a,b Means $\pm$ SE differ within column, $P < 0.05$

Table 4 Effect of stair-step feeding regimen on number of preovulatory follicles.

Items	Control	Stair-step	P-value
Follicular size 1-3 mm	6.66 $\pm$ 0.61	8.33 $\pm$ 1.35	0.28
Follicular size 4-6 mm	2.82 $\pm$ 0.30	5.33 $\pm$ 1.40	0.13
Follicular size ≥ 7 mm	1.33 $\pm$ 0.33	2.16 $\pm$ 0.79	0.35
Total ^{1/}	10.83 $\pm$ 0.79a	15.38 $\pm$ 2.08b	0.04

^{1/} a,b Means $\pm$ SE differ within row, $P < 0.05$

Table 5 Effect of stair-step feeding regimen on oocyte quality.

Items	Control	Stair-step	P-value
Percentage of good quality (follicular size 1-3 mm)	8/13 (61.5%) a	10/11 (91.0%) b	< 0.01
Percentage of good quality (follicular size 4-6 mm)	5/8 (62.5%) a	9/11 (82.0%) b	< 0.01
Percentage of good quality (follicular size ≥ 7 mm)	2/3 (67.0%) c	4/5 (80.0%) d	0.03

a, b, c, d Percentages of oocyte quality differ within row, $p < 0.01$ and $p < 0.05$ (Chi-square test)

Table 6 Proliferative cell nuclear antigen (PCNA) of follicular size 1-3, 4-6 and ≥ 7 mm.

Items	Follicular size 1-3 mm		Follicular size 4-6 mm		Follicular size ≥ 7 mm	
	Granulosa cell labeling index ^{1/} (%)	Thecal labeling index (%)	Granulosa Cell labeling index (%)	Thecal labeling index (%)	Granulosa cell labeling index (%)	Thecal Labeling index (%)
Control	27.12 $\pm$ 1.43 a (n=5)	24.52 $\pm$ 2.58 c (n=5)	26.47 $\pm$ 2.51 c (n=4)	25.12 $\pm$ 2.27 c (n=4)	24.73 $\pm$ 1.02 a (n=3)	23.76 $\pm$ 1.36 c (n=3)
Stair-step	38.95 $\pm$ 1.70 b (n=6)	33.26 $\pm$ 2.44 d (n=6)	34.55 $\pm$ 1.92 d (n=6)	36.73 $\pm$ 3.59 d (n=6)	33.60 $\pm$ 0.62 b (n=4)	30.27 $\pm$ 0.55 d (n=4)

^{1/} Labeling index = number of proliferating cells expressed as a proportion of the total number of cells.

ab Within a column, means with different superscripts differ ($P < 0.01$)

cd Within a column, means with different superscripts differ ($P < 0.05$)

จำนวนของโอโอไซต์ที่มีคุณภาพดีที่ได้จาก فولลิเคิลขนาดที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-3, 4-6 และ ≥ 7 มม. ในกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดมีจำนวนมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$ ของ follicular size 1-6 มม. และ $P < 0.05$ ของ follicular size ≥ 7 มม.) แสดงให้เห็นว่าวิธีการให้อาหารแบบขั้นบันไดส่งผลต่อคุณภาพของโอโอไซต์ในวงจรของการเป็นสัดและส่งผลทำให้เกิดความสมบูรณ์พันธุ์ ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานของ Amal et al. (2008) ในการให้อาหารแบบจำกัด และเพิ่มการให้อาหาร ต่อลักษณะการสืบพันธุ์ในแพะเพศเมียพื้นเมืองฮิปปิตซึ่งพบว่าส่งผลต่อการเป็นสัดและมีอัตราการตกไข่เพิ่มขึ้น 40%

จากการนำชิ้นเนื้อของรังไข่แพะมาตรวจวัด Proliferative cell nuclear antigen (PCNA) ซึ่งเป็นตัวชี้วัดถึงการเพิ่มจำนวนของเซลล์จาก فولลิเคิลที่ปรากฏใน labeling index ผลการศึกษาพบว่า فولลิเคิลขนาด 1-3, 4-6 และ ≥ 7 มม. ของแพะกลุ่มที่ให้อาหารแบบขั้นบันได มีการปรากฏของ PCNA มากกว่า فولลิเคิลของแพะกลุ่มควบคุม ทั้งในชั้น granulosa cell และชั้น theca cell อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 6)

สรุป

ผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าอัตราการเจริญเติบโต การกินได้ และอัตราการเปลี่ยนอาหารของแพะที่ให้อาหารแบบขั้นบันไดไม่ต่างจากการให้อาหารปกติ อย่างไรก็ตามจากการทดลองพบว่า การให้อาหารแบบขั้นบันไดทำให้มีจำนวนของ فولลิเคิลทั้งหมดเพิ่มขึ้นและได้โอโอไซต์ที่มีคุณภาพดีมากกว่าการให้อาหารแบบปกติ นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนของเซลล์ใน فولลิเคิลด้วย แสดงให้เห็นว่าวิธีการให้อาหารแบบขั้นบันไดสามารถกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตทดแทนส่งผลต่อคุณภาพของโอโอไซต์ และการพัฒนาการของ فولลิเคิลในวงจรของการเป็นสัด ดังนั้นผลการศึกษานี้มีส่วนสำคัญต่อความเข้าใจในการประยุกต์ใช้การเจริญเติบโตทดแทนในแพะพื้นเมืองไทย ในการทำให้เกิดการพัฒนาการของ فولลิเคิลโดยวิธีการให้อาหารแบบขั้นบันไดโดยการจำกัดอาหาร 70% และกลับมาให้อาหารเพิ่มขึ้นเป็น 130% จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในแพะเพศเมียในระยะก่อนการตั้งท้องเพิ่มขึ้น

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณอย่างสูงต่อมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุน หมวดเงินอุดหนุนทั่วไป ปีงบประมาณ 2552 ขอขอบคุณภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. 2552. ข้อมูลเศรษฐกิจการปศุสัตว์ประจำปี 2552. กลุ่มงานเศรษฐกิจการปศุสัตว์ กองส่งเสริมการปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์การเกษตร.
- ภาวดี ภักดี, ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์, จารึก ญัฎฐากรกุล และ กฤติยา เลิศชุมเหะเกียรติ. 2551. ผลของวิธีการให้อาหารแบบขึ้นบันไดต่อการเจริญเติบโตทดแทนสุขภาพและสมรรถภาพพันธุ์ของแพะพันธุ์พื้นเมืองไทย: รูปแบบการเจริญเติบโตของแพะระยะหลังหย่านมถึงระยะหลังจากเข้าสู่วัยหนุ่มสาว. รายงานผลการวิจัย ชุดโครงการการวิจัยนำร่องของการใช้สัตว์เคี้ยวเอื้องขนาดเล็กเป็นแบบจำลองในการศึกษาการตกไข่ การตั้งท้อง และการแสดงออกของจีน. หมวดเงินอุดหนุนทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีงบประมาณ 2551.
- สุรศักดิ์ คชภักดี, สมเกียรติ สายธนู, วินัย ประถมกาญจน์ และ สุรพล ชลดำรงกุล. 2536. อัตราการตายของลูกแพะก่อนหย่านมที่เลี้ยงในสภาพการจัดการอย่างดี. ว.สงขลานครินทร์ 15: 131-135.
- Agrawal, K. P., N. K. Sinha, and A. K. Goel. 1992. Reproduction behavior in Indian goats. P. 82-93. In: Research in Goats Indian Experience. Central Institute for Research on Goats. Makhdoom.
- Amal M. A., M. M. Mansour, O. H. Ezzo, and A. M. Haman. 2008. Some reproductive and metabolic response to food restriction and re-feeding in Egyptian Native Goats. Global Veterinaria 5: 225-232.
- Choi, Y. J., I. K. Han, J. H. Woo, H. J. Lee, K. Jang, K. H. Myung, and Y. S. Kim. 1997. Compensatory growth in Dairy heifers. J. Dairy Sci. 55: 519-524.
- Diskin, M. G., D. R. Mackey, J. F. Roche, and J. M. Sreenam. 2003. Effect of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle. Anim. Reprod. Sci. 78: 345-370.
- 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.
- Ford, J. A. Jr., and C. S. Park. 2001. Nutritionally directed compensatory growth enhance heifer development and lactation potential. J. Dairy Sci. 84: 1669-1678.
- Gong, J. G., D. McBride, T. A. Bramley, and R. Webb. 1994. Effects of recombinant bovine somatotrophin, insulin-like growth factor-I and insulin on bovine granulosa cell steroidogenesis in vitro. J. Reprod. Fertil. 110: 611-622.
- Gonzalez-Bulnes, A., J. A. Carrizosa, C. Diaz-Delfa, R. M. Garcia-Garcia, B. Urrutia, J. Santiago-Moreno, M. J. Cocero, and A. Lopez-Sebastian. 2003. Effects of ovarian follicular status on superovulatory response of dairy goats to FSH treatment. Small Ruminant Research 48: 9-14.
- Gordon, I., 1997. Controlled Reproduction in Sheep and Goats. CAB International, NY.
- Grazul-Bilska, A. T., C. Navanukraw, M. L. Johnson, K. A. Vonnahme, S. P. Ford, L. P. Reynolds, and D. A. Redmer. 2007. Vascularity and expression of angiogenic factors in bovine dominant follicles of the first follicular wave. J. Anim. Sci. 85: 1914-1922.
- Hunter, M. G., R. S. Robinson, G. E. Mann, and R. Webb. 2004. Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. Anim. Reprod. Sci. 83: 461-477.
- Islam, M. R., M. A. M. Y. Khandoker, S. Afroz, M. G. M. Rahman, and R. I. KHAN. 2007. Qualitative and quantitative analysis of goat ovaries, follicles and oocytes in view of in vitro production of embryos. J. Zhejiang Univ Sci. B. 7: 465-469.
- Johnsson, I. D. 1988. The effect of prepubertal nutrition on lactation performance by dairy cow. Nutrition and Lactation in the Dairy Cow. P. C. Garnsworthy, ed. Butterworths, London, England.
- Kanyinji, F., H. Kumagai, T. Maedaa, S. Kaneshima, and D. Yokoic. 2009. Effects of supplementary inosine on nutrient digestibility, ruminal fermentation and nitrogen balance in goats fed high amount of concentrate. Anim Feed Sci. Technol. 12: 12-20.
- Kaneko, J. J. 1989. Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 4th Ed. Academic Press, New York, NY, USA.
- Kim, S. H., and C. S. Park. 2004. A compensatory nutrition regimen during gestation stimulates mammary development and lactation potential in rats. J. Nutrition. 134: 756-761.
- NRC. 1981. Nutrient requirements of goats: angora, dairy and meat goats in temperate and tropical countries. National Academy Press. Washington DC.

- Park, C. S., R. B. Danielson, B. S. Kreft, S. H. Kim, Y. S. Moon, and W. L. Keller. 1998. Nutritionally directed compensatory growth and effects on lactation potential of developing heifers. *J. Dairy Sci.* 81: 243-249.
- Park, C. S., 2005. Role of compensatory mammary growth in epigenetic control of gene expression. *The FASEB Journal*. 19: 1586-1591.
- Peris, F., Y. Saco, C. Gafo, and A. Bassols. 1997. Comparison of two commercial kits for the enzymatic determination of nonesterified fatty acids in goat serum. *Small Rumin. Res.* 26: 1-7.
- Pralomkarn, W., S. Saithanoo, W. Ngampongsai, C. Suwanrut, and J. T. B. Milton. 1996. Growth and puberty traits of Thai native (TN) and TN x Anglo-Nubian does, *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 9: 591-597.
- Rondina, D., V. J. F. Freitas, M. Spinaci, and G. Galeati. 2005. Effect of nutrition on plasma progesterone levels, metabolic parameters and small follicle development in unstimulated goats reared constant photoperiod regimen. *Reprod Dom. Anim.* 40: 548-552.
- Saithanoo, S., B. Cheva-Isaraku, and K. Pichairongkram. 1991. Goat production in Thailand. P. 30-39. In: *Proceedings of an International Seminar. Held in Thailand, 28-31 May 1991.*
- SAS Institute Inc. 2001. *SAS System (Release 8.2)*, Cary, NC.
- Scaramuzzi, R. J., B. K. Campbell, J. A. Downing, N. R. Kendall, M. Khalid, and A. Somchit. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod. Nutr. Dev.* 46: 339-354.
- Selvaraju, S., S. K. Agarwal, S. D. Karche, and A. C. Majumder. 2003. Ovarian response, embryo production and hormonal profiles in superovulated goats treated with insulin. *Theriogenology* 59: 1459-1468.
- Shelton, W. L. 1978. Fate of the follicular epithelium in *Dorosoma petenense* (Pices: Clupeidae). *Copeia* 1978: 239-246.
- Stockham, S. L., and M. A. Scott. 2002. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. Iowa State University Press, Ames, IA.
- Tanaka, T., T. Yamaguchi, and Y. Kaneda, Y., 2004. Ovarian and hormonal responses to a progesterone-releasing controlled internal drug releasing treatment in dietary-restricted goats. *J. Anim. Reprod. Sci.* 84: 135-146.
- Wallace J. M., J. S. Luther, J. S. Milne, R. P. Aitken and D. A. Redmer. 2006. Nutritional modulation of adolescent pregnancy outcome: A review article. *Placenta*. 27: 1-8.