

การศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดจากการใช้ อุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดในโคนม

Plasma progesterone profile after synchronization of estrus with intravaginal device in dairy cattle

ณรงค์พัชร น้าใจสุข¹, จตุพงษ์ ปัทมะ¹, ณัฐวุฒิ อภิชัย¹, เพทาย พงษ์เพียจันทร์² และ วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์^{1*}

Narongpatchara Numjaisuk¹, Jatupong Pattama¹, Nuttawut Apichai¹,
Petai Pongpiachan² and Wiwat Pattanavong^{1*}

บทคัดย่อ: การทดลองนี้เป็นการศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดโคนมจากการใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้าเปรียบเทียบกับอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้นร่วมกับการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนในโคนม โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 ใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้าที่มีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 1.9 กรัม (Control) กลุ่มที่ 2 ใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้นบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 1.5 กรัม (MJID1) และกลุ่มที่ 3 ใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้นบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 2 กรัม (MJID2) โดยกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่มจะใช้ร่วมกับโปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมน คือวันที่เริ่มสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคนมเป็นเวลา 10 วันนับตั้งแต่วันที่เริ่มสอดอุปกรณ์ เพื่อทำการวัดปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดปลดปล่อยออกมาในกระแสเลือด ด้วยเทคนิค ELISA แล้วนำผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคทั้ง 3 กลุ่มไปคำนวณความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณโปรเจสเตอโรนที่พบในเลือดของโคกลุ่ม Control น้อยกว่าโคกลุ่ม MJID1 และ MJID2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

คำสำคัญ: โคนม, การเหนี่ยวนำการเป็นสัด, อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอด

ABSTRACT: The experiment is a study on plasma progesterone profile after synchronization of estrus with intravaginal device in dairy cattle. The estrus synchronization device of commercial vagina inserting type was used for comparing with that of the invented one. The experiment consisted of 3 groups: 1) using of CIDR[®] (Control: n=3). groups: 2) using of the invented vagina inserting device add progesterone 1.5g (MJID1: n=3) groups: 3) using of the invented vagina inserting device add progesterone 2g (MJID2: n=3). The dairy cattle blood sample was collected for 10 days after the first day of inserting the device. This was aimed measure the amount of progesterone hormone in blood circulation by using ELISA technique. Results plasma progesterone concentration among of the three groups was computed based on statistical difference. It was found there progesterone concentration in control group less than MJID1 and MJID2 ($p<0.05$)

Keyword: dairy cattle, estrus synchronization, intravaginal device for estrus synchronization

¹ คณะสัตวศาสตร์ และ เทคโนโลยีมหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

Faculty of Animal Science and Technology, Maejo University, Chiang Mai 50290

² ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

Department of Animal and Aquatic Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University 50200

* Corresponding author: Wiwat-p@mju.ac.th

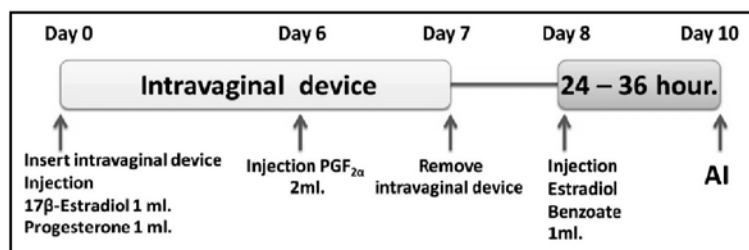
บทนำ

ปัจจุบันการเลี้ยงโคนมในประเทศไทยทั้งหมดใช้วิธีผสมเทียม ปัญหาที่สำคัญในด้านการผลิตคือปัญหาด้านความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โค จึงส่งผลให้แม่โคจำนวนมากจึงพลาดโอกาสได้รับการผสมเทียมและตั้งท้อง วิธีการแก้ไขปัญหารูปแบบหนึ่งคือ ใช้ฮอร์โมนเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ระดับฝูงของโค อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดมีประโยชน์อย่างมากเมื่อใช้ในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (fixed-time AI) การสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่บรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนปริมาณ 1.9 กรัม จะทำการหลั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนออกมาอย่างสม่ำเสมอซึ่งเป็นการเลียนแบบการทำงานของคอร์ปัสลูเทียม ซึ่งในธรรมชาติระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่สูง จะกีดการหลั่งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและทำให้ฟอลลิเคิลไม่เจริญจนถึงตกไข่ได้ จนเมื่อหยุดการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน จะมีการหลั่งฟอลลิเคิลสติมูลเรติงฮอร์โมน (FSH) จากต่อมใต้สมอง และการเจริญเต็มที่ของฟอลลิเคิลจึงมีการหลั่งของลูทีไนซิง ฮอร์โมน (LH) ในระดับสูงและเกิดการตกไข่ตามมา (Mihm et al., 2002; Ball and Peter, 2004) ซึ่งพบว่าการใช้วิธีนี้มีผลให้อัตราการเหนี่ยวนำให้เป็นสัดพร้อมกันสูงและอัตราการผสมติดดีเป็นที่พอใจ (O'Rourke et al., 2000) แต่อย่างไรก็ตามอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดดังกล่าวยังต้องมีการนำเข้ามาจากต่างประเทศและมีราคาสูง ทำให้เกษตรกรมีต้นทุนที่สูงขึ้นหากต้องการนำเทคโนโลยีดังกล่าวมาใช้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองนี้คือศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคจากการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้า

เปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้นเอง

วิธีการศึกษา

ใช้โคนมพันธุ์ลูกผสมโฮลส์ไตน์ฟรีเซียนที่เป็นโคสาวที่มีอายุเฉลี่ย 15 เดือนซึ่งไม่เคยได้รับการผสมจำนวน 9 ตัวจากฟาร์มโคนมของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ โดยทำการสุ่มโคทั้งหมดโดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มกลุ่มแรกทำการสอดอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้า (Control) จำนวน 3 ตัว กลุ่มที่ 2 ใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้นมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 1.5 กรัม (MJID1) จำนวน 3 ตัว และกลุ่มที่ 3 ใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้นมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 2 กรัม (MJID2) จำนวน 3 ตัว โดยแบ่งโคทั้งหมดอยู่ในคอกๆ ละ 1 ตัว จากนั้นทำการสอดอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดกลุ่ม Control, MJID 1 และ MJID 2 ร่วมกับการใช้โปรแกรมโปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมน โดยในวันที่เริ่มสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด (วันที่ 0) จะทำการฉีดฮอร์โมน 17β Estradiol ความเข้มข้น 1 มก./มล. ปริมาตร 1 มล. และ Progesterone ความเข้มข้น 1 มก./มล. ปริมาตร 1 มล. ในวันที่ 6 ทำการฉีด PGF_{2α} (lutalyse®) ปริมาตร 2 มล. ในวันที่ 7 จึงทำการถอดอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอด และในวันที่ 8 จะทำการฉีด Estradiol Benzoate ความเข้มข้น 1 มก./มล. ปริมาตร 1 มล. โดยจะทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคติดต่อกัน 11 วัน นับตั้งแต่วันที่เริ่มสอดอุปกรณ์ เพื่อทำการวัดปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดปลดปล่อยออกมาในกระแสเลือด ดังแสดงใน Figures 1



Figures 1 Estrous synchronization protocols using the intravaginal device for dairy cattle. Sangsritavong et al. (2002)

การเก็บตัวอย่างเลือด

ทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคทดลองตั้งแต่วันที่ เริ่มสอดอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอด (วันที่ 0) ไปจนถึงวันที่ 10 โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคทดลองจากเส้นเลือดดำบริเวณหาง ปริมาณ 10 มล. โดยเก็บในหลอดทดลองขนาด 15 มล. ที่มีการเติมสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) หลังจากนั้นนำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปทำการปั่นเหวี่ยง ด้วยเครื่องด้วยเครื่องปั่นแยกที่ความเร็ว 1,500 rpm นาน 20 นาที ทำการเก็บส่วนที่เป็นพลาสมาใส่ในหลอดไมโครทิวป์ (Micro tube) ขนาด 1.9 มล. และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอการวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณโปรเจสเตอโรนในพลาสมา โดยวิธี Indirect ELISA

เคลือบเพลท 96 หลุม ด้วย P4-HSA ซึ่งเป็น Antigen ที่มีความเข้มข้น 1:100 ปริมาตร 100 µl ต่อ หลุม บ่มที่อุณหภูมิ 4°C นาน 16 ชั่วโมง ล้างด้วยเพลท ด้วยสารละลายสำหรับการล้างจากนั้นเติมสารละลาย เจลาตินความเข้มข้น 1% ปริมาตร 200 µl ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ระหว่างนั้นทำการเติม โพลีโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อฮอร์โมน โปรเจสเตอโรน (PAb-P4) ที่มีความเข้มข้น 1:5,000 ปริมาตร 100 µl รวมกับตัวอย่างพลาสมาที่จะทำการ วิเคราะห์ปริมาตร 100 µl บ่มรวมกันในไมโครทิวป์ที่ อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลท หลังจากนั้นทำการเติมตัวอย่างพลาสมาที่บ่มรวมกับ PAb-P4 ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C

นาน 60 นาที ล้างเพลทแล้วเติมเอนไซม์ Goat anti Rabbit IgG-HRP ปริมาตร 10 µl บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลท แล้วเติมสารละลายยี่ห้อ ทำให้เกิดสีปริมาตร 100 µl ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มีเป็นเวลา 20 นาที และทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย 4NH₂SO₄ ปริมาตร 100 µl ต่อหลุม นำไปอ่านค่าการ ดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่าง สมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสังคมศาสตร์ รุ่น 16.0 สำหรับวินโดวส์. (Statistics Package for the Social Science: SPSS 16.0 For Windows) ลิขสิทธิ์สำนัก หอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

วันที่ 1 เมษายน พ.ศ. 2554 ถึง วันที่ 30 พฤษภาคม พ.ศ. 2554

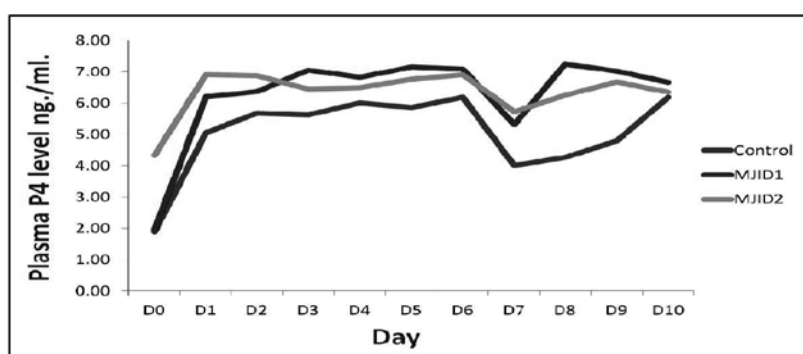
ผลการศึกษา

โคทดลองที่ได้รับการสอดอุปกรณ์การเหนี่ยวนำ การเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดรวมกับการใช้โปรแกรม เหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนทั้ง 3 กลุ่ม (Control, MJID1 และ MJID2) มีการตอบสนองต่อโปรแกรม การเหนี่ยวนำการเป็นสัดอย่างเห็นได้ชัด กล่าวคือ

แม่โคแสดงอาการเป็นสัดหลังจากได้รับการฉีด Estradiol Benzoate ในวันที่ 8 ทุกตัว (n=9) โดยปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดของที่วัดได้ โคทั้ง 3 กลุ่มตั้งแต่วันที่เริ่มทำการสอดอุปกรณ์จนถึงวันที่ 10 ดังแสดงใน Figures 2

ซึ่งเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของโคทั้ง 3 กลุ่มพบว่ามีระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูงขึ้นเรื่อยๆจากวันที่ทำการสอด

อุปกรณ์และจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดหลังจากได้รับการฉีด PGF_{2α} ในวันที่ 6 หนึ่งวันและหลังจากนั้นปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจึงค่อยๆไต่ระดับสูงขึ้นอีกเล็กน้อย เมื่อนำข้อมูลมาทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคทั้ง 3 กลุ่มพบว่าปริมาณโปรเจสเตอโรนที่พบในเลือดของโคกลุ่ม Control น้อยกว่าโคกลุ่ม MJID1 และ MJID2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงใน Table 1



Figures 2 Plasma progesterone profile 10 days after insertion intravaginal device in dairy cattle.

Table 1 Plasma progesterone profile of dairy cattle in 3 groups (Control, MJID1 and MJID2) measured on a daily basis.

Day	Progesterone concentrations ng/ml (Mean $\pm$ SE)		
	Control (n=3)	MJID 1 (n=3)	MJID 2 (n=3)
0	1.89 $\pm$ 0.66 ^a	1.97 $\pm$ 0.66 ^a	4.34 $\pm$ 0.66 ^b
1	5.04 $\pm$ 0.57 ^a	6.21 $\pm$ 0.57 ^{ab}	6.91 $\pm$ 0.57 ^b
2	5.68 $\pm$ 0.52 ^a	6.36 $\pm$ 0.52 ^a	6.87 $\pm$ 0.52 ^a
3	5.62 $\pm$ 0.27 ^a	7.04 $\pm$ 0.27 ^b	6.44 $\pm$ 0.27 ^b
4	6.00 $\pm$ 0.44 ^a	6.82 $\pm$ 0.44 ^a	6.50 $\pm$ 0.44 ^a
5	5.85 $\pm$ 0.83 ^a	7.15 $\pm$ 0.38 ^b	6.76 $\pm$ 0.38 ^{ab}
6	6.18 $\pm$ 0.27 ^a	7.09 $\pm$ 0.27 ^b	6.91 $\pm$ 0.27 ^b
7	4.00 $\pm$ 1.01 ^a	5.32 $\pm$ 1.01 ^a	5.72 $\pm$ 1.01 ^a
8	4.26 $\pm$ 0.97 ^a	7.25 $\pm$ 0.97 ^b	6.24 $\pm$ 0.97 ^{ab}
9	4.79 $\pm$ 0.70 ^a	7.02 $\pm$ 0.70 ^b	6.68 $\pm$ 0.70 ^b
10	6.19 $\pm$ 0.28 ^a	6.65 $\pm$ 0.28 ^a	6.34 $\pm$ 0.28 ^a

^{a,b} described the significantly different value in row at $P<0.05$

วิจารณ์

การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการใช้อุปกรณ์ปล่อยโปรเจสเตอร์โตนภายในช่องคลอด จะเป็นการจำลองภาวะที่เหมือนกับที่สัตว์มีคอร์ปัสลูเทียม โดยฮอร์โมนโปรเจสเตอร์โตนจะกีดการทำงานของสมองส่วนไฮโปทาลามัสไวัระยะหนึ่ง หลังจากนั้นเมื่อมีการนำฮอร์โมนโปรเจสเตอร์โตนออกโคจะเริ่มมีการพัฒนาวงจรของการเป็นสัดตามมา การใช้โปรเจสเตอร์โตนแบบสอดช่องคลอด จะสามารถใช้ได้ทั้งในกรณีที่โคมีการเป็นสัดที่ปกติหรือในภาวะที่โคไม่มีการพัฒนาของรังไข่ หรือภาวะที่รังไข่ไม่ทำงาน (Ball and Peter, 2004) ในการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโวลในวันแรกก่อนสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด มีจุดประสงค์เพื่อจذبรอบการเป็นสัดให้ได้ดีขึ้น (Mashak and Rahimi, 2009) ฮอร์โมน PGF_{2α} (lutalyse®) ที่ฉีดให้กับโคมีหน้าที่ในการสลายคอร์ปัสลูเทียมโดยคอร์ปัสลูเทียมซึ่งมีหน้าที่ในการผลิตฮอร์โมนโปรเจสเตอร์โตน ซึ่งหลังจากการฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์กลอนดินเอฟทูแอลฟา จะส่งผลให้ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอร์โตนในร่างกายโคลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงนี้จะเข้าสู่วงจรการเป็นสัดในรอบใหม่ ส่งผลให้ปริมาณฮอร์โมนลูทีไนซิง (LH) ซึ่งหลังจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าเพิ่มสูงขึ้น หลังจากนั้นฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมน (FSH) ซึ่งหลังจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าทำให้ปริมาณเอสโตรเจน (estradiol) เพิ่มขึ้นจนทำให้เกิดการตกไข่ตามมา (Bearden and Fuquay, 1997., Mihm et al., 2002) จากผลการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอร์โตนหลังโคแสดงอาการเป็นสัดในวันที่ 7 ค่อยๆมีระดับเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลอันเนื่องมาจากรังไข่ของแม่โคจะมีการสร้างคอร์ปัสลูเทียมซึ่งในระยะนี้เรียกว่าระยะหลังการเป็นสัด (Met estrus) (Bearden and Fuquay, 1997)

สรุป

อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดแบบ MJID1 และ MJID2 ที่ผลิตขึ้น สามารถใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดอย่างได้ผลอีกทั้งยังมีประสิทธิภาพเทียบเท่าอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้าซึ่งนำเข้าจากต่างประเทศได้ ในอนาคตหากประเทศไทยสามารถผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่มีราคาถูกและมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าที่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งสามารถใช้แก้ปัญหาทางด้านระบบสืบพันธุ์ของโคนมทั้งประเทศได้สัก 70% ก็จะมีผลให้ในอนาคตปริมาณน้ำนมรวมของประเทศก็จะเพิ่มสูงขึ้นเกษตรกรก็จะมียาได้มากขึ้นตามไปด้วย

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ศิวะ สังข์ศรีทวงศ์. 2548. การสาธิตการใช้ฮอร์โมนเหนี่ยวนำการตกไข่เพื่อแก้ไขปัญหาหมัดติดยากและการกระตุ้นการผลิตน้ำนมก่อนการตั้งท้องของโคนม. กรุงเทพฯ: สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
- Ball, P.J.H. and A.R. Peter. 2004. Reproduction in Cattle. Academic Press, Great Britain. 238 p.
- Bearden H.J., J.W.Fuquay.1997. Applied Animal Reproduction 4th ed. Mississippi State University. 351 p.
- Mashak and Rahimi.2009. A. Mashak and A. Rahimi, Silicone Polymers in Controlled Drug Delivery Systems: A Review. Iranian Polymer J. 18 (2009), pp. 279-295.
- Mihm, M., M.A. Knight, and E.J. Austin., 2002. Follicle wave growth in cattle. Repro. Domest. Anim.37:191-200.
- O'Rourke, M., M. Diskin, J.M. Greenan and J.R. Roche., 2000. The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentration of oestradiol and FSH in long-term ovariectomized heifer. J. Anim. Reprod Sci. 59:1-12.