การศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดจากการใช้อุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดในโคเนื้อ

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

จตุพงษ์ ปัทมะ[1], ณรงค์พัชร น้ำใจสุข[1], ณัฐวุฒิ อภิชัย[1], เพทาย พงษ์เพียจันทร์[2] และ วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์[1*]

Jatupong Pattama[1], Narongpatchara Numjaisuk[1], Nuttawut Apichai[1], Petai Pongpiachan[2] and Wiwat Pattanavong[1*]

บทคัดย่อ: การศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดโคเนื้อจากการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น (MJID) เปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้า โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 ใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้า (Control:n=3) กลุ่มที่ 2 ใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น (MJID1:n=3) และกลุ่มที่ 3 ใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น (MJID2:n=3) โดยกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่มจะทำการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเข้าช่องคลอดเป็นเวลา 7 วันพร้อมกับฉีด 100 mg/ml P_4 + 2 mg/ml E_2 และวันที่ 6 ฉีดฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ วันที่ 7 ถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด วันที่ 8 ทำการฉีดฮอร์โมน Estradiol Benzoate 1mg/ml สังเกตการเป็นสัดในช่วง 24-36 ชั่วโมง โดยจะทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคเป็นเวลา 10 วันนับตั้งแต่วันที่เริ่มสอดอุปกรณ์ เพื่อทำการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดด้วยเทคนิค ELISA ผลการทดลองพบว่า โคเนื้อที่ใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น MJID1และ MJID2 มีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดสูงกว่ากลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้า (Control) ($P<0.05$)

คำสำคัญ: โคเนื้อ, การเหนี่ยวนำการเป็นสัด, อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอด

ABSTRACT: The experiment is a study on plasma progesterone profile after synchronization of estrus with intravaginal device in beef 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 commercial device (Control: n=3). Groups: 2) using of the invented vagina inserting device (MJID1: n=3). Groups: 3) using of the invented vagina inserting device (MJID2: n=3). All of the experimented groups was used on the first day of being estrus (Day 0) 100 mg/ml P4+2mg/ml E_2 was injected. After that $PGF_{2\alpha}$ was injected on Day6. The vaginal inserting device was removed from the vagina on Day7 and Estradiol Benzoate 1 mg/ml was injected on Day8 and Estrus detected for 24-36 hours. The beef 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, the researcher device MJID1 and MJID2 gave a higher plasma progesterone concentration than that of the commercial device (Control) ($p<0.05$)

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

[1] คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ 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

ปัญหาความผิดพลาดในการตรวจการเป็นสัดและการผสมเทียม ถือได้ว่าเป็นปัญหาหลักที่พบได้สม่ำเสมอภายในฟาร์มโคเนื้อของประเทศไทย เนื่องจากเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อในประเทศไทยเกือบทั้งหมดเลือกใช้วิธีการการผสมเทียมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์และปรับปรุงพันธุกรรมของแม่โคภายในฟาร์ม ดังนั้นการสังเกตอาการเป็นสัดของโคจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งที่จะทำให้โคได้รับการผสมเทียม และตั้งท้อง ปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการสังเกตการเป็นสัดที่มักพบอยู่เสมอ คือ โคเป็นสัดเงียบ หรือ แสดงอาการเป็นสัดไม่ชัดเจนและแสดงอาการเป็นสัดเพียงระยะเวลาสั้นก่อให้เกิดปัญหาการผสมไม่ติด และปัญหาการกลับสัดมากขึ้น Alnimer et al.(2002) การผลิตโคเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดนั้น ความสำเร็จของการผสมพันธุ์เป็นปัจจัยหนึ่งที่บ่งชี้ประสิทธิภาพของการผลิต ซึ่งในการผสมพันธุ์โคนั้นโคจะต้องแสดงอาการเป็นสัดก่อน จากนั้นจึงจะผสมพันธุ์เพื่อให้ได้ผลผลิตตามที่ต้องการ ดังนั้น หากสามารถกำหนดวันเป็นสัดและการตกไข่ของแม่โคได้ถูกต้อง และ แม่นยำ จะส่งผลให้แม่โคมีโอกาสได้รับการผสมเทียมและตั้งท้องได้ในระยะเวลาที่กำหนด เพื่อลดความสูญเสียจากระยะท้องว่าง และเพื่อเพิ่มจำนวนผลผลิตลูกโคให้มากขึ้น โดยการกำหนดโปรแกรมฮอร์โมนในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ เพื่อแก้ปัญหาในด้านระบบสืบพันธุ์ของโคเนื้อ เช่น อัตราการเป็นสัดที่ไม่สม่ำเสมอ หรือการเป็นสัดเงียบ โดยการนำเอาฮอร์โมนเข้ามาควบคุมหรือเหนี่ยวนำการเป็นสัดให้โคแสดงอาการเป็นสัดที่พร้อมกันหรือในเวลาเดียวกัน ปัจจุบันอุปกรณ์ที่สามารถเหนี่ยวนำการเป็นสัดในเชิงการค้ามีขายอยู่แล้ว แต่เนื่องจากอุปกรณ์ดังกล่าวนี้ต้องนำเข้าจากต่างประเทศมีราคาค่อนข้างสูง จึงได้มีการพัฒนาอุปกรณ์ควบคุมหรือเหนี่ยวนำการเป็นสัดขึ้นใช้เองภายในประเทศเพื่อลดมูลค่าการนำเข้าเทคโนโลยีจากต่างประเทศ

วิธีการทดลอง

ใช้โคเนื้อพันธุ์บราห์มันที่เป็นโคสาวอายุเฉลี่ย 18 เดือนซึ่งไม่เคยได้รับการผสม จำนวน 9 ตัว ได้จากฟาร์มโคนม-โคเนื้อ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่มประกอบด้วย กลุ่มที่ 1 ใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้า (Control:n=3) กลุ่มที่ 2 ใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น (MJID1:n=3) และกลุ่มที่ 3 ใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น (MJID2:n=3) โดยกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่มจะทำการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำเป็นสัดเข้าช่องคลอดของโคทดลองเป็นเวลา 7 วัน โดยวันที่ 0 (D_0) สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดพร้อมกับฉีด 100 mg/ml P_4 + 2 mg/ml E_2 ปริมาณ 1ml และวันที่ 6 (D_6) ฉีดฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ 2ml และถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำเป็นสัดในวันที่ 7 (D_7) หลังจากถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดออกไปแล้ว 24 ชั่วโมง วันที่ 8 (D_8) ทำการฉีดฮอร์โมน Estradiol Benzoate 1mg/ml ปริมาณ 1ml สังเกตการเป็นสัดในช่วง 24-36 ชั่วโมง โดยทำการตรวจการเป็นสัดวันละ 2 ครั้งๆ ละ 2 ชั่วโมง และวันที่ 10 (D_{10}) ทำการผสมพันธุ์เมื่อพบว่าโคแสดงอาการเป็นสัด ดังแสดงใน **Figure 1** โดยจะทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคเป็นเวลา 10 วันนับตั้งแต่วันที่เริ่มสอดอุปกรณ์

การเก็บตัวอย่างเลือด

โดยเก็บเลือดทุกๆ วันตลอดที่ทำการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยทำการเก็บเลือดในช่วงเวลาเดียวกัน (เช้า) ทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคทดลองจากเส้นเลือดดำบริเวณคอปริมาณ 5 ml. โดยเก็บในหลอดทดลองขนาด 15 ml. ที่มีการเติมสารป้องกันเลือดแข็งตัว EDTA 500 ไมโครลิตร นำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปทำการปั่นเหวี่ยงความเร็ว 1,500 g นาน 20 นาที ทำการเก็บส่วนที่เป็นพลาสมาใส่ในหลอดไมโครทิวป์ (Micro tube) ขนาด 1.9 มิลลิลิตรและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

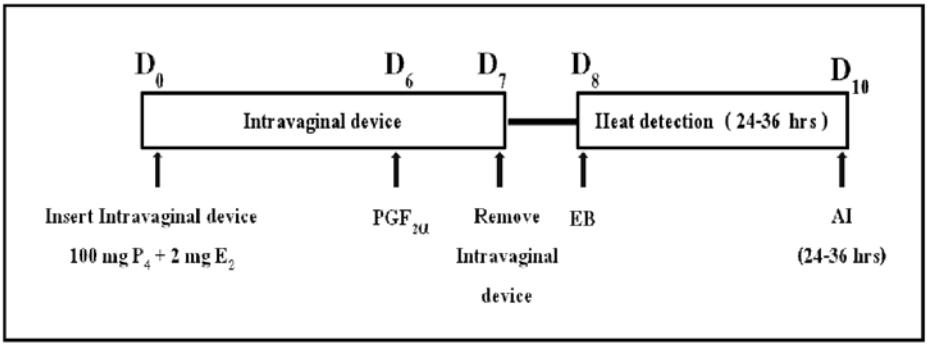

Figure 1 Estrous synchronization protocols using the intravaginal device for beef cattle.

การวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาโดยวิธี Indirect ELISA

เคลือบเพลท 96 หลุม ด้วย P4-HSA ซึ่งเป็น Antigen ที่มีความเข้มข้น 1:100 ปริมาตร 100 µl ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 4°C นาน 16 ชั่วโมง ล้างเพลทด้วยสารละลายสำหรับการล้างจากนั้นเติมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 1% ปริมาตร 200 µl ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ระหว่างนั้นทำการเติมโพลีโคลนอลแอนติบอดี้ที่มีความจำเพาะต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (PAb-P4) ที่มีความเข้มข้น 1:5,000 ปริมาตร 100 µl รวมกับตัวอย่างพลาสมาที่จะทำการวิเคราะห์ปริมาตร 100 µl บ่มรวมกันในไมโครทิวป์ที่อุณหภูมิ 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 ทำการล้างเพลทแล้วเติมสารละลายที่ทำให้เกิดสีปริมาตร 100 µl ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที และทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย $4NH_2SO_4$ ปริมาตร 100 µl ต่อหลุมนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสังคมศาสตร์ รุ่น 16.0 สำหรับวินโดว์. (Statistics Package for the Social Science: SPSS 16.0 For Windows) ลิขสิทธิ์สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

วันที่ 12 กรกฎาคม พ.ศ. 2554 ถึง วันที่ 30 กันยายน พ.ศ. 2554

ผลการทดลอง

เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของโคทั้ง 3 กลุ่มพบว่าหลังจากทำการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดมีผลทำให้ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดโคจะเพิ่มสูงขึ้นจนถึงระดับสูงสุดหลังจากทำการสอดอุปกรณ์ไว้เพียง 24 ชั่วโมงและจะคงที่อยู่ที่ระดับเดิมอยู่ประมาณ 7 วัน และเมื่อทำการถอดอุปกรณ์ออกพร้อมกับได้รับการฉีดฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดก็จะลดระดับลงอย่างรวดเร็ว แสดงใน Figure2 โดยพบว่า อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด MJID1และ MJID2 มีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในวันที่ 1 คือ 4.62±0.19 ng/ml และ 4.36±0.19 ng/ml สูงกว่าอุปกรณ์ทางการค้าคือ

3.97±0.19 ng/ml และในวันที่ 2 อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด MJID1 และ MJID2 มีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเท่ากับ 4.69±0.11 ng/ml และ 4.38±0.11 ng/ml ซึ่งสูงกว่าอุปกรณ์ทางการค้าคือ 4.04±0.11 ng/ml อุปกรณ์ทั้ง 3 กลุ่ม มีระดับโปรเจสเตอโรนลดลงจากวันที่ 6 หลังจากถอดอุปกรณ์จะค่อยๆ ลดระดับลงในวันที่ 7-10 เมื่อนำข้อมูลมาทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าโคเนื้อที่ใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น MJID1 และ MJID2 มีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดสูงกว่ากลุ่มอุปกรณ์ทางการค้า (Control) ($P<0.05$) แสดงใน **Table 1**

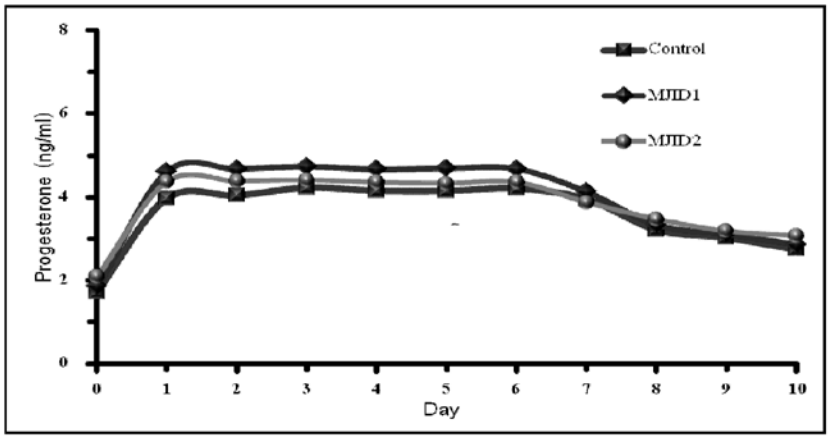

Figure 2 Plasma progesterone profile 10 days after insertion intravaginal device in beef cattle.

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

Day	Progesterone concentrations ng/ml (Mean ± SE (Min-Max, n))		
	Control (n=3)	MJID1 (n=3)	MJID2 (n=3)
0	2.12±0.18[a]	1.97±0.18[a]	2.08±0.18[a]
1	3.97±0.19[a]	4.62±0.19[ab]	4.36±0.19[b]
2	4.04±0.11[a]	4.69±0.11[b]	4.38±0.11[b]
3	4.22±0.04[a]	4.75±0.04[b]	4.41±0.04[b]
4	4.15±0.01[a]	4.68±0.01[b]	4.35±0.01[b]
5	4.15±0.08[a]	4.70±0.08[b]	4.32±0.08[a]
6	4.21±0.06[a]	4.69±0.06[b]	4.36±0.06[a]
7	3.95±0.22[a]	4.14±0.22[a]	3.87±0.22[a]
8	3.21±0.28[a]	3.34±0.28[a]	3.47±0.28[a]
9	3.02±0.29[a]	3.12±0.29[a]	3.18±0.29[a]
10	2.74±0.21[a]	2.87±0.21[a]	3.07±0.21[a]

[a,b] described the significantly different value in row at $p<0.05$

วิจารณ์ผลการทดลอง

การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัด เป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาประสิทธิภาพระบบสืบพันธ์และช่วยในด้านการจัดการผสมเทียมโดยฮอร์โมนนี้ใช้ได้ในโคที่มีวงรอบการเป็นสัดและไม่มีวงรอบการเป็นสัดก็ได้แต่การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดควรใช้ร่วมกับฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ และฮอร์โมน Estradiol Benzoate เพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่มากขึ้น (ศิวัช,2548;O'Rourke et al.2000) สอดคล้องกับการรายงานของ (Bo et al.2002; Rathbone et al. 2002;Martinez et al. 2005) พบว่าการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการฉีดฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมอย่างมากในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาซึ่งใช้ได้ผลทั้งในโคนมและโคเนื้อ สำหรับการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอด MJID1และ MJID2 ที่ผลิตขึ้นมีความสามารถในการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเข้าสู่กระแสเลือดและสามารถที่จะรักษาความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดให้เหมือนช่วง luteal phase ในวงรอบการเป็นสัดปกติได้ไม่แตกต่างกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้าซึ่งเป็นเทคโนโลยีของต่างประเทศซึ่งมีราคาสูง ดังนั้นการคิดค้นอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเพื่อใช้ทดแทนอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า จะช่วยลดมูลค่าการนำเข้าเทคโนโลยีจากต่างประเทศได้ และให้เกษตรกรได้มีโอกาสเข้าถึงเทคนิคการเหนี่ยวนำการเป็นสัดมากขึ้น รวมถึงจะช่วยให้ทำการผสมพันธุ์ได้ง่ายขึ้น เนื่องจากโคจะเป็นสัดในเวลาเดียวกัน ทำให้ง่ายต่อการจัดการ ช่วยให้การผสมพันธุ์มีประสิทธิภาพมากขึ้น และสามารถพัฒนาอุปกรณ์สำหรับการเหนี่ยวนำการเป็นสัดสำหรับนำไปประยุกต์ใช้กับการเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในฟาร์มโคนม และสัตว์อื่นๆ ต่อไป

สรุป

อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น MJID1และ MJID2 สามารถนำมาใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อได้จริง สามารถใช้ทดแทนและลดมูลค่าการนำเข้าอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้าที่เป็นเทคโนโลยีนำเข้าจากต่างประเทศได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

ศิวัช สังข์ศรีทวงษ์. 2548. การสาธิตการใช้ฮอร์โมนเหนี่ยวนำการตกไข่เพื่อแก้ไขปัญหาผสมติดยากและการกระตุ้นการผลิตน้ำนมก่อนการตั้งท้องของโคนม. กรุงเทพฯ: สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

Alnimer, M., De Rosa, G., Grasso, F., Napolitano, F. and Bordi, A. 2002. Effect of climate on the response to three estrous synchronization techniques in lactating dairy cows. Anim. Reprod.Sci. 71: 157-168.

Bo, G.A., Baruselli, P.S. and Martinez, M.F. 2003. Pattern and manipulation of follicular development in Bos indicus cattle. Anim Reprod Sci. 78: 307-326.

Martinez, M.F., J.P. Kastelic, G.A. Bo, M. Caccia and R.J. Mapletoft. 2005. Effect of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated Beef cattle. J. Anim. Reprod. Sci. 86:37-52

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.

Rathbone, M. J., C. R. Bunt, C.R. Ogle, S. Burggraaf, C. Ogle, K.L. Macmillan, C.R. Burke and K.L. Pickering. 2002. Reengineering of a commercially available bovine intravaginal insert (CIDR insert) containing progesterone. Journal of Controlled Release, 85, 105-115.