

การเปรียบเทียบขนาดของฮอร์โมน FSH ที่มีผลต่อการเพิ่มการตกไข่ จำนวนและคุณภาพตัวอ่อนในโคพื้นเมืองสายภาคอีสานและสายภาคกลาง

Comparison of FSH Doses on Superovulatory Response, the Number and Quality of Embryos in Northeastern and Central Region Thai Native Cattle

วรวิทย์ วราอัสวปติ^{1*}, สิริลักษณ์ วงศ์พิเชษฐ² และมณฑิชา พุทษาคำ²
Worawich Wara-aswapati^{1*}, Sirilag Wongpichet², and Monticha Putsakum²

บทคัดย่อ: การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบขนาดของฮอร์โมน FSH (Follitropin V[®]) 4 ระดับ คือ 130 150 200 และ 220 มิลลิกรัม ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ และจำนวนและคุณภาพของตัวอ่อนของโคพื้นเมืองสายภาคอีสานและโคพื้นเมืองสายภาคกลาง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และจัดทรีทเมนต์แบบ 2x4 แฟคทอเรียล โดยใช้พันธุ์โคพื้นเมือง 2 สายพันธุ์ ประกอบด้วย โคพื้นเมืองสายภาคอีสานและโคพื้นเมืองสายภาคกลาง และขนาดความเข้มข้นของฮอร์โมน FSH จำนวน 4 ระดับ คือ 130 150 200 และ 220 มิลลิกรัม ตรวจนับจำนวน CL ด้วยเครื่อง Ultrasound นับจำนวนและจำแนกคุณภาพตัวอ่อนด้วยกล้องจุลทรรศน์เตอริโอ ผลการวิจัยพบว่า โคทั้งสองสายพันธุ์ตอบสนองต่อฮอร์โมน FSH แตกต่างกัน โดยมีจำนวน CL และจำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ของโคพื้นเมืองสายภาคอีสานมีค่าสูงกว่าโคสายภาคกลางอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่โคพื้นเมืองสายภาคอีสานมีจำนวนตัวอ่อนเกรด A 2.06 ± 0.63 ตัว ซึ่งมากกว่าโคพื้นเมืองสายภาคกลางที่มีจำนวนตัวอ่อนเกรด A เพียง 0.44 ± 0.16 ตัว ($P<0.05$) สำหรับขนาดฮอร์โมน FSH ที่ใช้กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ พบว่า การใช้ฮอร์โมนที่ระดับ 220 มิลลิกรัม ให้ผลกระตุ้นการตกไข่สูงสุด คือ มีจำนวน CL เป็น 9.63 ± 0.60 แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเทียบกับการใช้ฮอร์โมนที่ระดับ 130 มิลลิกรัมซึ่งให้จำนวน CL เป็น 7.63 ± 0.63 อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาถึงอัตราการเก็บตัวอ่อนและตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ จะพบว่า การใช้ฮอร์โมนที่ระดับต่ำให้ผลตอบสนองสูงสุด โดยที่ระดับ 130 มิลลิกรัมให้อัตราการเก็บตัวอ่อน (ร้อยละ 66.85 ± 7.21) และจำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ (2.63 ± 0.63) สูงสุด รองลงมา คือ การใช้ฮอร์โมนในขนาด 150 และ 200 มิลลิกรัม ในขณะที่การใช้ฮอร์โมนระดับสูงที่ 220 มิลลิกรัม มีอัตราการเก็บตัวอ่อน (ร้อยละ 49.44 ± 8.26) และจำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ (1.88 ± 0.77) ต่ำสุด ดังนั้น จึงสรุปได้ว่า โคพื้นเมืองสายภาคอีสานมีการตอบสนองต่อฮอร์โมน FSH ได้ดีกว่าโคพื้นเมืองสายภาคกลาง และฮอร์โมน FSH 130 มิลลิกรัมเป็นขนาดที่เหมาะสมในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในโคพื้นเมืองสายภาคอีสานและสายภาคกลาง

คำสำคัญ โคพื้นเมือง ฮอร์โมนเอฟ เอส เอช เพิ่มการตกไข่ จำนวนและคุณภาพของตัวอ่อน

Abstract: This research was conducted with the objective of comparing 4 doses of FSH (Follitropin V[®]) at 130, 150, 200 and 220 mg on the induction of superovulation and the number and quality of embryos in Northeastern and Central native cattle. The research was carried out in a 2x4 Factorial Experiment in Complete Randomized Design by using 2 Thai native lines of Northeastern and Central native cattle, and 4 doses of FSH at 130, 150, 200, and 220 mg. Number of CL was detected by ultrasound, and number and quality of embryos was examined by stereomicroscope. The results showed that the cattle of both groups responded to FSH differently. Number of CL, as an indicator for the number of ovulation events and transferable embryos, was higher in the Northeastern native cattle than in the Central native cattle but without statistical significance

^{1/} ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพนครราชสีมา อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30310

Nakhonratchasima Artificial Insemination and Biotechnology Research Center, Nakhonratchasima 30310, THAILAND

^{2/} แผนกวิชาการจัดการการเกษตร สาขาวิชาส่งเสริมการเกษตรและสหกรณ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช

Agricultural Management, School of Agricultural Extension and Cooperatives, Sukhothai Thammathirat Open University, Nonthaburi 11120, THAILAND

* Corresponding author: wich45@gmail.com

($P>0.05$). Upon considering the embryonic quality, number of grade A embryos in the Northeastern native cattle was 2.06 ± 0.63 , which was higher than that of only 0.44 ± 0.16 in the Central native cattle ($P<0.05$). For the FSH doses used to induce superovulation, the use of 220 mg FSH could induce the highest superovulation as measured at 9.63 ± 0.60 CL, but did not have statistical significance ($P>0.05$) when compared with the use of 130 mg FSH, measured at 5.25 ± 0.62 CL. Nevertheless, considering the rate of embryo collection and number of transferable embryos, it was found that the use of FSH at a low dose could yield the highest response. The use of FSH at 130 mg could yield the highest rate of embryo collection ($66.85\pm7.21\%$) and transferable embryos (2.63 ± 0.63), followed by the doses of 150 and 200 mg, while the use of high FSH dose at 220 mg could yield the lowest rate of the embryo collection ($49.44\pm8.26\%$) and transferable embryos (1.88 ± 0.77). Thus, it could be concluded that the Northeastern native cattle had a greater response to FSH than the Central native cattle and that at 130 mg would probably be the most appropriate FSH dose for superovulatory induction in Northeastern and Central native cattle.

Keywords: Thai native cattle, FSH, superovulation, number and quality of embryo

บทนำ

การอนุรักษ์สายพันธุ์โคพื้นเมืองไทย โดยเฉพาะโคพื้นเมืองไทยที่มีถิ่นกำเนิดในภาคอีสานและภาคกลางมีจำนวนลดลงอย่างรวดเร็ว การเพิ่มจำนวนตัวอ่อนให้ได้มากๆ ในเวลาอันสั้น เพื่อนำไปย้ายฝากในแม่โคตัวรับ ต้องอาศัยการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฮอร์โมน FSH เป็นขั้นตอนสำคัญอันดับแรก ซึ่งโคกลุ่ม *Bos indicus* ใช้ปริมาณ FSH ต่างกับโคกลุ่ม *Bos Taurus* ในปริมาณต่ำกว่าถึงร้อยละ 25-30 (Lewis, 1992) แม้กระทั่งโคพื้นเมืองไทยที่มีถิ่นกำเนิดต่างกันยังมีปริมาณการใช้ฮอร์โมน FSH แตกต่างกัน เช่น โคขาวลำพูนใช้ 150 มิลลิกรัม (ณรงค์ และคณะ, 2550) และในโคพื้นเมืองสายภาคใต้ใช้ 200 มิลลิกรัม (ชาญยุทธ และคณะ, 2552) สามารถกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ และจำนวนตัวอ่อนสูงสุด นอกจากนี้ยังมีแนวโน้มว่าการใช้ฮอร์โมนปริมาณสูงขึ้นจะสามารถเพิ่มการตกไข่และจำนวนตัวอ่อนได้มากขึ้นด้วย อย่างไรก็ตาม ข้อมูลผลการใช้ฮอร์โมน FSH ในโคพื้นเมืองไทยยังมีจำนวนจำกัด

การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณฮอร์โมน FSH ที่เหมาะสมสำหรับใช้กระตุ้นเพิ่มการตกไข่ รวมถึงจำนวนและคุณภาพของตัวอ่อนในโคพื้นเมืองไทยสายภาคอีสานและสายภาคกลาง

วิธีการศึกษา

สัตว์ทดลอง

ใช้แม่โคพื้นเมืองไทยสายภาคอีสานและสายภาคกลาง สายพันธุ์ละ 16 ตัว มีสุขภาพสมบูรณ์และวงจรการเป็นสัดปกติ ให้ลูกมาแล้วอย่างน้อย 1 ตัว อายุ 5-6 ปี น้ำหนัก 220-270 กิโลกรัม เลี้ยงดูภายใต้สภาพแวดล้อมของศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อน อ.ปากช่อง

จ.นครราชสีมา ศึกษาระหว่างเดือนตุลาคม 2552 ถึงกุมภาพันธ์ 2553

แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์และจัดหัตถ์เมนต์แบบ 2×4 แฟคทอเรียล โดยมีปัจจัยที่ศึกษาคือแม่โคพันธุ์พื้นเมืองไทยสายภาคอีสานและสายภาคกลาง และปริมาณฮอร์โมน FSH 4 ระดับ คือ 130 150 200 และ 220 มิลลิกรัม ทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัดโคทุกตัวโดยใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดในช่องคลอด (CIDR-B[®], Interag, New Zealand) เป็นเวลา 11 วัน จากนั้นจึงเริ่มฉีดฮอร์โมน FSH (Foltropin V[®], Vetrepahrm, Canada) เข้ากล้ามเนื้อเข้า-เย็น ห่างกัน 12 ชั่วโมง และฉีดต่อเนื่องแบบลดขนาดเป็นเวลา 3 วัน ในวันที่ 3 ของการฉีด FSH จะฉีด PGF_{2α} (Estrumate[®], New Zealand) ขนาด 2 ซีซี (500 ไมโครกรัม) ร่วมด้วย เมื่อโคแสดงอาการเป็นสัด ทำการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อพันธุ์ตัวเดียวกัน หลังจากนั้น 7 วันตรวจนับจำนวน CL โดยใช้เครื่อง Ultrasound (Aloka co, ltd., Japan รุ่น SSD-500 โพรปรุ่น UST-588U-5 ความถี่ 5 MHz) และเก็บตัวอ่อนโดยชะล้างตัวอ่อนออกจากปีกมดลูกทั้ง 2 ข้างตามวิธีของ Saito (1994) จากนั้นตรวจนับและจำแนกคุณภาพตัวอ่อนด้วยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ตามวิธีของ Linder and Wright (1983) จำแนกคุณภาพตัวอ่อนเป็นเกรด A B C D และ UFO (Unfertilized Oocytes) ทั้งนี้เฉพาะเกรด A B และ C เท่านั้นที่สามารถใช้ในการย้ายฝากได้ (Transferable embryos) ส่วนเกรด D และ UFO ถือว่าเป็นตัวอ่อนที่ไม่สามารถใช้ในการย้ายฝากได้ (Untransferable embryos) คำนวณอัตราการเก็บตัวอ่อน (Embryos recovery rate) โดยนำจำนวนตัวอ่อนที่เก็บได้ทั้งหมดมาหารด้วยจำนวน

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้รวบรวมได้แก่ จำนวน CL จำนวนตัวอ่อนเกรด A B C D และ UFO มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่วัดด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range test

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการศึกษาไม่พบปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์โคพื้นเมืองกับปริมาณฮอร์โมน FSH โดยโคทั้ง 2 สายพันธุ์ตอบสนองต่อปริมาณฮอร์โมน FSH ในลักษณะที่ทำให้มีจำนวน CL และตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้เฉพาะตัวอ่อนเกรด A เท่านั้นที่พบว่ามีความแตกต่างกัน โดยโคพื้นเมืองสายภาคอีสานมีจำนวนตัวอ่อนเกรด A 2.06 ± 0.63 ตัว ซึ่งมากกว่าโคพื้นเมืองสายภาคกลางที่มีจำนวน 0.44 ± 0.16 ตัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Table 1) ซึ่งอาจมีความแตกต่างระหว่างโคทั้งสองสายพันธุ์ที่ไม่สามารถระบุได้ เช่น ความสมบูรณ์พันธุ์ของสายพันธุ์โค เป็นต้น

การใช้ฮอร์โมน FSH 130 150 200 และ 220 มิลลิกรัม ทำให้โคมีจำนวน CL ต่างกัน โดยโคที่กระตุ้นด้วยฮอร์โมน FSH ปริมาณสูงสุด (220 มิลลิกรัม) มีจำนวน CL

เป็น 9.63 ± 0.60 ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) กับโคที่กระตุ้นด้วยปริมาณต่ำสุด (130 มิลลิกรัม) ที่มีจำนวน CL เป็น 7.63 ± 0.63 แต่มีจำนวนมากกว่าการกระตุ้นที่ปริมาณ 150 มิลลิกรัม ที่มีจำนวน CL เป็น 5.25 ± 0.62 และขนาด 200 มิลลิกรัมที่มีจำนวน CL เป็น 6.50 ± 1.56 ตามลำดับ การเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ใช้ฮอร์โมนขนาด 150 และ 200 มิลลิกรัมพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (Table 1)

ด้วยการศึกษาในครั้งนี้มีเป้าหมายคือตัวอ่อนที่สามารถนำไปย้ายฝากให้กับแม่โคตัวรับให้ได้มากที่สุด ดังนั้นจึงพิจารณาปริมาณของฮอร์โมน FSH ต่อจำนวนไข่ตก ร่วมกับอัตราการเก็บตัวอ่อน (Embryos recovery rate; ERR) รวมทั้งจำนวนตัวอ่อนที่สามารถย้ายฝากได้ (Transferable embryos) แม้ว่า การใช้ฮอร์โมน FSH ปริมาณสูงสุด (220 มิลลิกรัม) ทำให้โคมีจำนวนไข่ตกมากกว่าการใช้ขนาดต่ำกว่า แต่อัตราการเก็บตัวอ่อนและจำนวนตัวอ่อนที่สามารถนำไปย้ายฝากได้กลับมีจำนวนน้อยกว่ากลุ่มที่ใช้ 130 มิลลิกรัม (Table 1) อนึ่งการศึกษานี้มีความแตกต่างจากผลการศึกษาในโคพื้นเมืองสายภาคใต้ของชาญยุทธ และคณะ (2552) พบว่า ฮอร์โมน FSH 200 มิลลิกรัมทำให้มีจำนวนไข่ตกและตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้มากกว่า 150 มิลลิกรัม และมีผลไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาผลของฮอร์โมน FSH ขนาด

Table 1 Number of CL, number of transferable (grades A-C) and untransferable embryos (grade D and UFO), and embryos recovery rate (ERR) in response to FSH dosage regimens in Northeastern and Central native cattle

Factor (No.)	CL	Transferable embryos				Untransferable embryos			ERR
		Grade A	Grade B	Grade C	Total	Grade D	UFO	Total	
Native cattle									
Northeastern (16)	7.69	2.06 ^a	0.38	0.25	2.69	1.06	1.19	2.25	63.24
Central (16)	6.81	0.44 ^b	0.94	0.44	1.81	1.06	0.50	1.56	50.32
SEM	0.70	0.49	0.22	0.24	0.74	0.43	0.37	0.69	4.67
FSH doses									
130 mg (8)	7.63 ^{ab}	1.63	0.50	0.50	2.63	1.38	1.13	2.50	66.85
150 mg (8)	5.25 ^b	1.00	0.88	0.25	2.13	0.63	0.50	1.13	58.93
200 mg (8)	6.50 ^b	1.38	0.50	0.50	2.38	0.75	0.50	1.25	51.90
220 mg (8)	9.63 ^a	1.00	0.75	0.13	1.88	1.50	1.25	2.75	49.44
SEM	0.99	0.70	0.32	0.12	1.05	0.61	0.53	0.98	6.60

^{ab}Different means $\pm$ SE in each column are statistically significant ($P<0.05$)

150 และ 200 มิลลิกรัม ในโคขาวลำพูนโดย ณรงค์ และคณะ (2550) และในโคพื้นเมืองไทยที่ไม่ได้แยกสายพันธุ์โดย ชโลธร และเทวินทร์ (2551) ซึ่งทั้งสองกลุ่มวิจัยพบว่า การใช้ฮอร์โมนขนาดที่ต่ำกว่าจะทำให้ได้ตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้มากกว่าการใช้ฮอร์โมนในขนาดสูง ($P < 0.05$)

การใช้ฮอร์โมน FSH ในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ในปริมาณที่ต่างกัน ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนอื่นๆ ในระบบสืบพันธุ์ ทั้งนี้เนื่องจากฮอร์โมนแต่ละชนิดมีจำนวนและความเฉพาะเจาะจงของ receptor ต่อชนิดและปริมาณฮอร์โมน ดังนั้นเมื่อระดับฮอร์โมนสูงขึ้นหรือลดลงจากปกติความสามารถในการทำหน้าที่ของฮอร์โมนมีข้อจำกัด จึงมีจำนวนไข่ตกต่างกัน (Willmott et al., 1990) Baracaldo และคณะ (2000) พบว่าการให้ฮอร์โมน FSH ในปริมาณที่สูงเกินธรรมชาติ ทำให้สมดุลฮอร์โมนในระบบสืบพันธุ์เพศเมียเปลี่ยนไป เช่น การมีถุงไข่ที่ถูกกระตุ้นให้พัฒนาเป็น dominant follicle เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณฮอร์โมน estrogen เพิ่มขึ้นและรังไข่มีขนาดใหญ่ขึ้น ในขณะที่ท่อนำไข่และปีกมดลูกมีขนาดไม่ต่างจากเดิม แต่ได้รับผลกระทบต่อการทำงานของกล้ามเนื้อที่ทำหน้าที่ขนส่ง หรือการทำงานของเซลล์ที่ผลิตสารประกอบอื่น ๆ ในระบบสืบพันธุ์เสียสมดุลไปด้วย มีผลต่อการส่งผ่านไข่ อสุจิ และตัวอ่อน รวมทั้งการพัฒนาของตัวอ่อนในช่วงแรก

สรุป

โคพื้นเมืองสายภาคอีสานตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วยฮอร์โมน FSH ไม่แตกต่างกับโคพื้นเมืองสายภาคกลาง แต่โคพื้นเมืองสายภาคอีสานให้ตัวอ่อนเกรด A ซึ่งเป็นตัวอ่อนที่มีคุณภาพดีเยี่ยมมากกว่าโคพื้นเมืองสายภาคกลาง ในขณะที่โคกลุ่มที่ใช้ฮอร์โมน FSH ขนาด 130 มิลลิกรัม มีจำนวนตัวอ่อนที่ย้ายฝากได้และจำนวนตัวอ่อนเกรด A สูงกว่ากลุ่มที่ใช้ฮอร์โมน FSH ในปริมาณที่สูงกว่า

สรุปได้ว่า ฮอร์โมน FSH 130 มิลลิกรัมเหมาะสมในการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ ในโคพื้นเมืองสายภาคอีสานและสายภาคกลางมากที่สุด เนื่องจากมีจำนวนไข่ตกไม่ต่างกับการใช้ฮอร์โมนในปริมาณที่สูงกว่า แต่มีแนวโน้มให้อัตราการเก็บตัวอ่อน และจำนวนตัวอ่อนคุณภาพดีที่สามารถนำไปย้ายฝากได้สูงสุด และมีต้นทุนต่ำสุด

เอกสารอ้างอิง

- ชาญยุทธ กาฬ อนนท์ เทืองสันติเยะ ณรงค์ เลี้ยงเจริญ และมาลี อภิเมธีธำรง. 2552. ผลของขนาดฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ต่อการเพิ่มการตกไข่และจำนวนตัวอ่อนในโคพื้นเมืองภาคใต้. การประชุมวิชาการสัตวแพทย์ ม. ขอนแก่น ครั้งที่ 10.
- ชโลธร อัมพร และเทวินทร์ วงษ์พระลับ. 2551. ระดับของฮอร์โมน FSH ที่มีผลต่อการตอบสนองของการตกไข่ และคุณภาพของตัวอ่อนในโคพื้นเมืองไทย. การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 4 คณะเกษตรศาสตร์ ม. ขอนแก่น.
- ณรงค์ เลี้ยงเจริญ อนนท์ เทืองสันติเยะ วิบูลย์ เยี่ยงวิศวรร และมาลี อภิเมธีธำรง. 2550. ผลของขนาดฮอร์โมน เอฟ เอส เอช ต่อการเพิ่มการตกไข่และจำนวนตัวอ่อนในโคขาวลำพูน. วารสารเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. 2:24-31.
- Baracaldo, M. F., G. Martinez, P. Adams and R. J. Mapletoft. 2000. Superovulatory response following transvaginal follicle ablation in cattle. *Theriogenology* 53:1239-1250.
- Lewis, I. 1992. Programming donors and recipients. P.69-88. In: Embryo transfer and pregnancy diagnosis. NSW: Post Graduate Committee in Veterinary Science, University of Sydney.
- Linder, G. M. and R. W. Wright. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 20: 407-416.
- Saito, N. 1994. Manual of embryo transfer and in vitro fertilization in cattle. National Livestock Breeding Center, MAFF, Japan.
- Willmott, N., J. Saunders, G. A. Bo, A. Palasz, R. A. Peirson, and R. J. Mapletoft. 1990. The effect of FSH/LH ratio in pituitary extracts on superovulatory response in the cow. *Theriogenology* 33: 347.