การสลายคอร์ปัส ลูเทียมและความเข้มข้นของฮอร์โมนเอสตราไดออลในช่วงก่อนการตกไข่ในโคนมสาวและโคบราห์มัน x พื้นเมืองที่ได้รับการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา

Luteolysis and Concentrations of Estradiol during Preovulatory Period in Dairy and Brahman x Native Heifers

ณัฐวุฒิ กกรัมย์ (Nattawut Kogram)* ดร.วิไลวรรณ ขันธุแสง (Dr.Vilaivan Khanthusaeng)**
ดร.ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์ (Dr.Chainarong Navanukraw)***

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 7-day และ 5-day Co-Synch ร่วมกับการฉีดฮอร์โมนโพรสตาแกลนดิน ($PGF_2\alpha$) 1 และ 2 ครั้ง ต่อการสลายคอร์ปัส ลูเทียม (luteolysis) และความเข้มข้นฮอร์โมนเอสตราไดออล (E2) ในช่วงก่อนการตกไข่ ใช้โคนมสาว (การทดลองที่ 1 จำนวน 60 ตัว) และโคสาวบราห์มัน x พื้นเมือง (การทดลองที่ 2 จำนวน 60 ตัว) สุ่มโคให้ได้รับการผสมเทียมดังนี้ (1) ฉีดฮอร์โมน GnRH และสอด CIDR เป็นเวลา 7 และ 5 วัน (2) ฉีดฮอร์โมน $PGF_2\alpha$ ในวันที่ถอน CIDR (3) ฉีดฮอร์โมน GnRH ในชั่วโมงที่ 54 และ 72 และ (4) ผสมเทียมโคทั้ง 2 การทดลอง เก็บตัวอย่างเลือดในวันที่ 0 7 หรือ 5 9 และวันที่ผสมเทียม เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของฮอร์โมน จากการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (P4) การสลายคอร์ปัส ลูเทียม ขนาดฟอลลิเคิลก่อนการตกไข่และอัตราการ ผสมติดไม่มีความแตกต่างกันทั้งในโคนมสาวและโคบราห์มัน x พื้นเมือง (P>0.05) อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของฮอร์โมน E2 ในวันที่ 9 ของโคนมสาวและโคบราห์มัน x พื้นเมืองที่ได้รับ 5-day Co-Synch สูงกว่า โคที่ได้รับ 7-day Co-Synch (6.4 vs. 4.7 pg/mL) และ (5.9 vs. 4.0 pg/mL, P<0.05) ดังนั้นการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 5-day Co-Synch ที่ฉีดฮอร์โมน $PGF_2\alpha$ 2 ครั้ง ส่งผลให้ความเข้มข้นของฮอร์โมน E2 สูงกว่า 7-day Co-Synch และสามารถเพิ่มอัตราการผสมติดในโคสาวได้

ABSTRACT

The objective of this study was to determine if there were different in luteolysis and circulating estradiol (E2) concentrations in 7-day or 5-day Co-Synch with one or two injections of prostaglandin ($PGF_2\alpha$). Holstein dairy heifers (experiment 1, n = 60) and Brahman x Native heifers (experiment 2, n = 60) were randomly assigned to receive 7-day and 5-day Co-Synch protocols. Animals received (1) GnRH and a CIDR insertion for 7 and 5 days, (2) injection of $PGF_2\alpha$ at CIDR removal, (3) GnRH at 54 and 72 h, and (4) fixed time AI for animals in both experiments. Blood samples were taken on day 0, 7 or 5 and 9 and at the AI time to analyze concentration of hormones. Concentrations of progesterone (P4), luteolysis, follicular size and conception rate in dairy and Brahman x Native heifers were not different (P>0.05). However, dairy and Brahman x Native heifers received 5-day Co-Synch have greater concentrations of E2 than heifers received 7-day Co-Synch (6.4 vs. 4.7 pg/mL and 5.9 vs. 4.0 pg/mL; P<0.05). These results provide evidence that 5-day Co-Synch with two injections of $PGF_2\alpha$ affects greater circulating E2 concentrations during preovulatory period and may increase conception success following a fixed time AI.

คำสำคัญ: การผสมเทียมแบบกำหนดเวลา การสลายคอร์ปัส ลูเทียม ฮอร์โมนเอสตราไดออล

Keywords: Fixed time AI, Luteolysis, Estradiol

** นักศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*
*** นักวิจัยหลังปริญญาเอก ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา*
**** รองศาสตราจารย์ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*

บทนำ

ปัจจัยที่มีผลต่อการตั้งท้องของโคมีหลายปัจจัย เช่น การผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (fixed-time artificial insemination, fixed-time AI) รวมทั้งการควบคุมการพัฒนาการของคลื่นฟอลลิเคิลและตกไข่ ความสามารถในการสังเคราะห์สเตียรอยด์ฮอร์โมนในช่วงก่อนการตกไข่ คุณภาพของโอโอไซต์ และหน้าที่ของคอร์ปัส ลูเทียม (corpus luteum, CL) ภายหลังการตกไข่ เป็นต้น จากปัจจัยทั้งหลายเหล่านี้ ทำให้นักวิจัยพัฒนาวิธีการผสมเทียมขึ้นมาใหม่ เช่น โปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัด และการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา เพื่อเหนี่ยวนำการตกไข่ ใช้ร่วมกับการสอดฮอร์โมน โปรเจสเทอโรน (progesterone, P4) สังเคราะห์แบบซิลิโคนสอดช่องคลอด (controlled intravaginal progesterone devices, CIDR) เพื่อเพิ่มการทำงานของรังไข่และอัตราการตั้งท้อง (Escalante et al., 2013) การผสมเทียมแบบกำหนดเวลาที่เรียกว่า Co-Synch ร่วมกับการสอด CIDR ยาวนานเป็นเวลา 7 วัน โดยฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่ง (Gonadotropin releasing hormone, GnRH) ในวันที่สอด CIDR และฉีดฮอร์โมนโพรสตาแกลนดิน เอฟ ทู อัลฟา (Prostaglandin F2alpha, $PGF_2\alpha$) ในวันที่ถอน CIDR แต่พบว่ายังคงมีอัตราการตั้งท้องที่ต่ำ (ประมาณ 40%) นักวิจัยจึงมีความพยายามในการปรับปรุงประสิทธิภาพอัตราการตั้งท้อง โดยการยืดระยะเวลาช่วงก่อนการเป็นสัด (proestrus) และความเข้มข้นของฮอร์โมน เอสตราไดออล (Estradiol, E2) ในช่วงก่อนการตกไข่ โดยการปรับเปลี่ยนโปรแกรมจาก 7 วัน ให้เป็น 5 วัน การใช้โปรแกรม 5-day โดยลดระยะเวลาการสอด CIDR ให้เหลือ 5 วัน แล้วฉีดฮอร์โมน $PGF_2\alpha$ และฉีดฮอร์โมน GnRH เข็มที่สองพร้อมกับทำการผสมเทียมในชั่วโมงที่ 60-66 (7-day) และ 72 (5-day) จากงานวิจัยของ Santos et al. (2010) พบว่า อัตราการตั้งท้องของโคนมที่ได้รับโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 5-day Co-Synch สูงกว่า 7-day Co-Synch และยังพบว่าใน โคเนื้อสามารถช่วยเพิ่มอัตราการตั้งท้องได้ถึง 10% ของโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 5-day Co-Synch เมื่อเปรียบเทียบกับ 7-day Co-Synch แต่อย่างไรก็ตาม Nasser et al. (1993) พบว่าแม่โคหลังคลอดมีสัดส่วนการแสดงอาการ เป็นสัด เมื่อได้รับโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 5-day Co-Synch น้อยกว่า 7-day Co-Synch ดังนั้นการฉีดฮอร์โมน $PGF_2\alpha$ 2 ครั้ง ของโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 5-day Co-Synch ภายหลังจากถอน CIDR อาจจะทำให้เกิดการสลาย CL (luteolysis) ที่สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น (Carvalho et al., 2008) ซึ่ง luteolysis หมายถึงกระบวนการการสลายของเนื้อเยื่อ luteal เพื่อสิ้นสภาพการทำงาน โดยมีสมมุติฐานว่าการใช้โปรแกรมดังกล่าวอาจส่งผลให้อัตราการผสมติดสูงขึ้นได้ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 7-day และ 5-day Co-Synch ร่วมกับการฉีดฮอร์โมน $PGF_2\alpha$ 1 และ 2 ครั้งต่อการสลาย CL และความเข้มข้นของฮอร์โมน E2 ในช่วงก่อนการตกไข่ใน โคนมสาวและโคบราห์มัน x พื้นเมือง

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 7-day และ 5-day Co-Synch ร่วมกับการฉีดฮอร์โมน $PGF_2\alpha$ 1 และ 2 ครั้ง ต่อการสลาย CL และความเข้มข้นของฮอร์โมน E2 ในช่วงก่อนการตกไข่ในโคนมสาวและโคบราห์มัน x พื้นเมือง

วิธีการวิจัย

การทดลองทั้ง 2 การทดลอง ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลองของมหาวิทยาลัยขอนแก่น ใบอนุญาตเลขที่ ศธ 0514.75/12 และใบอนุญาตใช้สัตว์เลขที่ U1-04051-2559

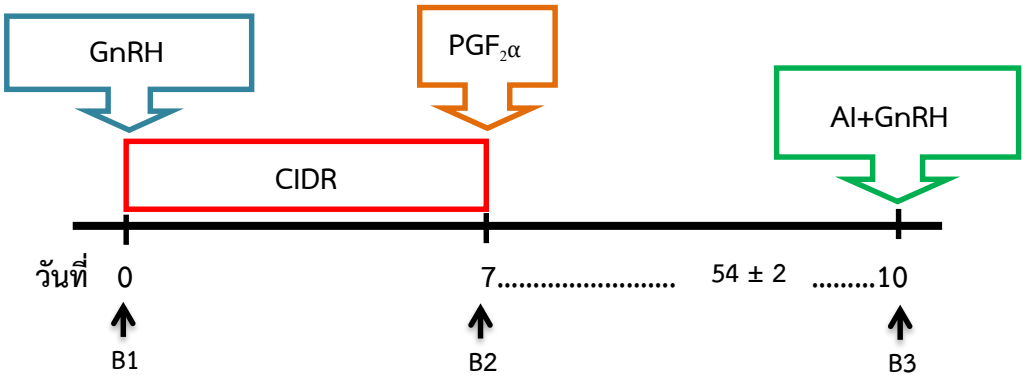
การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 7-day และ 5-day Co-Synch + CIDR ในโคนมสาวต่อการสลายคอร์ปัส ลูเทียมและความเข้มข้นของฮอร์โมน E2 ในช่วงก่อนการตกไข่

สัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

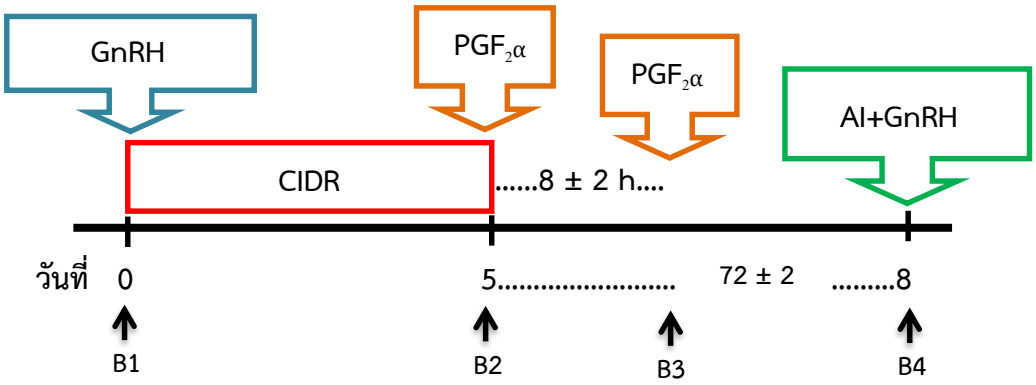
ใช้โคนมสาวพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน จำนวน 60 ตัว อายุเฉลี่ย 24 เดือน มีน้ำหนักเฉลี่ย 300-350 กิโลกรัม โคทดลองได้รับอาหารหยาบอย่างเต็มที่และได้รับอาหารข้นเสริมในอัตราวันละ 1 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และถูกเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งเลี้ยงโดยเกษตรกรในสหกรณ์โคนมขอนแก่น จำกัด สุ่มโคทดลองให้ได้รับทรีทเมนต์ดังต่อไปนี้

ทรีทเมนต์ที่ 1 โคสาวได้รับโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (7-day Co-Synch + CIDR) ดังแสดงในรูปที่ 1 สอด CIDR ในวันที่ 0 ร่วมกับการฉีด GnRH (Receptal®, Intervet, Auckland, New Zealand) ขนาด 100 ไมโครกรัม หลังจากนั้นในวันที่ 7 ถอน CIDR และฉีด $PGF_{2}\alpha$ (Lutalyse®) ขนาด 25 มิลลิกรัม 1 ครั้ง และผสมเทียมในชั่วโมงที่ 54 ± 2 ร่วมกับฉีด GnRH ครั้งที่ 2 ขนาด 100 ไมโครกรัม

ทรีทเมนต์ที่ 2 โคสาวได้รับโปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (5-day Co-Synch + CIDR) ดังแสดงในรูปที่ 2 โดยสอด CIDR ในวันที่ 0 ร่วมกับฉีด GnRH ขนาด 100 μg หลังจากนั้นในวันที่ 5 ทำการถอน CIDR และฉีด $PGF_{2}\alpha$ ขนาด 25 มิลลิกรัม จากนั้นในชั่วโมงที่ 8 ± 2 ฉีด $PGF_{2}\alpha$ ขนาด 25 มิลลิกรัม (ครั้งที่ 2) และผสมเทียมในชั่วโมงที่ 72 ± 2 ร่วมกับการฉีด GnRH ครั้งที่ 2 ขนาด 100 ไมโครกรัม โคทดลองทั้ง 2 ทรีทเมนต์ได้รับการผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งจากโคพ่อพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียนที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ในการผลิตรุ่นเดียวกัน (ผลิตจากกรมปศุสัตว์)



รูปที่ 1 โปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (7-day Co-Synch + CIDR) ร่วมกับการฉีดฮอร์โมน $PGF_{2}\alpha$ 1 ครั้ง



รูปที่ 2 โปรแกรมการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (5-day Co-Synch + CIDR) ร่วมกับการฉีดฮอร์โมน $PGF_{2}\alpha$ 2 ครั้ง

การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 7-day และ 5-day Co-Synch + CIDR ในโคสาวบราห์มัน x พื้นเมืองต่อการสลายคอร์ปัส ลูเทียมและความเข้มข้นของฮอร์โมน E2 ในช่วงก่อนการตกไข่

สัตว์ทดลองและแผนการทดลอง

ใช้โคสาวบราห์มัน x พื้นเมือง มีระดับสายเลือด 50-75% จำนวน 60 ตัว อายุเฉลี่ย 24 เดือน มีน้ำหนักเฉลี่ย 250-300 กิโลกรัม แสดงอาการเป็นสัดไม่น้อยกว่า 1 วงรอบ โคทดลองได้รับอาหารหยาบอย่างเต็มที่และได้รับอาหารข้นเสริมในอัตราวันละ 0.5 กิโลกรัมต่อตัวต่อวัน และถูกเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งเป็นโคเนื้อที่เลี้ยงโดยเกษตรกรในจังหวัดขอนแก่น สุ่มโคทดลองให้ได้รับทรีทเมนต์เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 และโคทดลองทั้ง 2 ทรีทเมนต์ได้รับการ ผสมเทียมโดยใช้น้ำเชื้อแช่แข็งจากโคพ่อพันธุ์บราห์มันที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ในการผลิตรุ่นเดียวกัน (ผลิตจากกรมปศุสัตว์)

การเก็บข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลในการทดลองที่ 1 และ 2

(1) สุ่มเก็บตัวอย่างน้ำเชื้อที่ใช้ในการผสมเทียม เพื่อประเมินคุณภาพน้ำเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

(2) การทำงานของรังไข่ (ovarian function) โดยการใช้เครื่องอัลตราซาวนด์ (Real-time, B-mode, 5-7.5 MHz transrectal transducer (linear array), HS-2000, Honda electronics, Japan) โดยสอด transducer ผ่านทวารหนัก เพื่อติดตามการพัฒนาและการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลบนรังไข่ และโครงสร้างอื่นๆ ที่ปรากฏ รวมทั้งระยะเวลาการตกไข่ ในช่วงที่โคทดลองได้รับโปรแกรมฮอร์โมนและกำหนดเวลาผสมเทียม

(3) เก็บตัวอย่างเลือด เพื่อวัดความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 และ E2 ในวันที่โคทดลองได้รับโปรแกรมฮอร์โมนและวันที่ผสมเทียม โดยเก็บตัวอย่างเลือดจาก coccygeal vein จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วนำตัวอย่างเลือดเก็บที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C นาน 24 ชั่วโมง เพื่อให้เลือดแข็งตัว แล้วจึงนำไปปั่นเหวี่ยงโดยเครื่อง centrifuge ด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที (Navanukraw et al., 2004) แล้วนำซีรั่มที่อยู่ด้านส่วนด้านบน (supernatant) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 ^{o}C จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของฮอร์โมน E2 ด้วยวิธี ELISA Kit และฮอร์โมน P4 ด้วยวิธี competitive ELISA (Crane et al., 2006)

3.1) การเก็บตัวอย่างเลือดโคทดลองที่ได้รับโปรแกรม 7-day CO-Synch + CIDR แบ่งออกเป็น 3 ช่วง คือ

B1 หมายถึงการเก็บเลือดก่อนที่โคทดลองจะได้รับฮอร์โมน เพื่อให้ทราบสถานะของโคทดลองว่าอยู่ในระยะไหนของวงรอบการเป็นสัด (ระยะ follicular phase หรือ luteal phase) ซึ่งดูได้จากความเข้มข้นของสเตียรอยด์ฮอร์โมน P4 และ E2

B2 หมายถึงการเก็บเลือดในวันที่ถอนฮอร์โมน เพื่อประเมินประสิทธิภาพการใช้ฮอร์โมนว่าส่งผลให้ความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 สูงขึ้นหรือไม่

B3 หมายถึงการเก็บเลือดก่อนที่จะทำการผสมเทียม เพื่อประเมินความเข้มข้นของสเตียรอยด์ฮอร์โมนก่อนการผสมเทียม ซึ่งความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 ควรอยู่ในระดับที่ต่ำมาก

3.2) การเก็บตัวอย่างเลือดโคทดลองที่ได้รับโปรแกรม 5-day CO-Synch + CIDR แบ่งออกเป็น 4 ช่วง คือ

B1 หมายถึงการเก็บเลือดก่อนที่โคทดลองจะได้รับฮอร์โมน เพื่อให้ทราบสถานะของโคทดลองว่าอยู่ในระยะไหนของวงรอบการเป็นสัด (ระยะ follicular phase หรือ luteal phase) ซึ่งดูได้จากความเข้มข้นของสเตียรอยด์ฮอร์โมน P4 และ E2

B2 หมายถึงการเก็บเลือดในวันที่ถอนฮอร์โมน เพื่อประเมินประสิทธิภาพการใช้ฮอร์โมนว่าส่งผลให้ความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 สูงขึ้นหรือไม่

B3 หมายถึงการเก็บเลือดก่อนการฉีด $PGF_2\alpha$ เข็มที่สอง เพื่อประเมินความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 หลังจากถอนฮอร์โมนและได้รับการฉีด $PGF_2\alpha$ เข็มแรกไปแล้ว ซึ่งความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 ควรลดต่ำลงเมื่อเทียบกับ B2

B4 หมายถึงการเก็บเลือดก่อนที่จะทำการผสมเทียม เพื่อประเมินความเข้มข้นของสเตียรอยด์ฮอร์โมนก่อนการผสมเทียม ซึ่งความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 ควรอยู่ในระดับที่ต่ำมาก

(4) บันทึกข้อมูลการกลับสัดในวันที่ 21 หลังการผสมเทียม (return cyclic) และตรวจการตั้งท้องในวันที่ 42 หลังการผสมเทียม (Navanukraw et al., 2004) โดยการใช้เครื่องอัลตราซาวนด์ (real-time, B-mode, 5-7.5 MHz transrectal transducer (linear array), HS-2000, Honda electronics, Japan) ในการตรวจการตั้งท้อง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติในการทดลองที่ 1 และ 2

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์โดย GLM procedures (SAS Inst. Inc., Cary, NC) และทดสอบความแตกต่างโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ PROC GLM (SAS, 2001) และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่ได้โดยวิธี Student's *t*-test และ Chi-square (Steel et al., 1997)

ผลการวิจัย

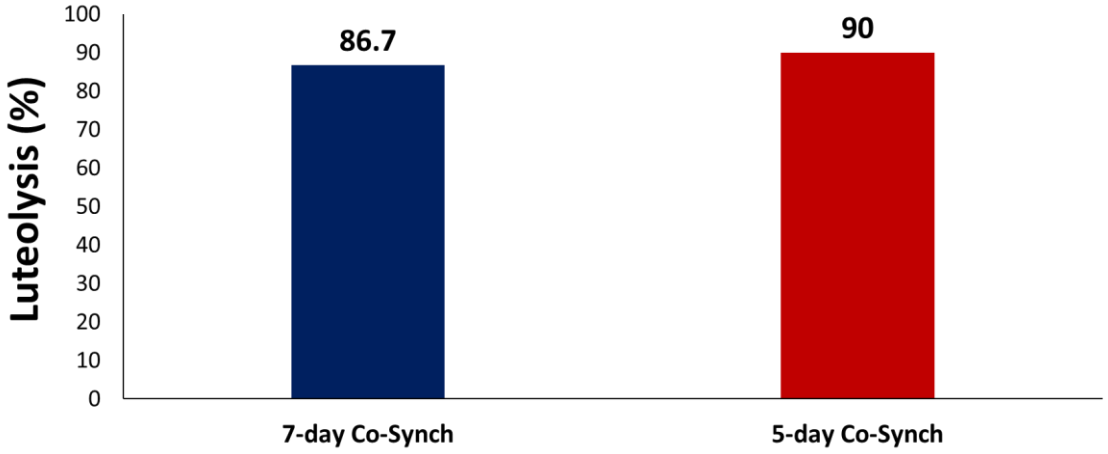
ผลการทดลองที่ 1

จากตารางที่ 1 ความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 ในโคนมสาวทั้งสองทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) อย่างไรก็ตาม โคนมสาวที่ได้รับโปรแกรม 5-day Co-Synch + CIDR มีความเข้มข้นของฮอร์โมน E2 ในวันที่ 9 หรือช่วงก่อนการตกไข่สูงกว่าโคสาวที่ได้รับโปรแกรม 7-day Co-Synch + CIDR (6.4 และ 4.7 pg/mL; P<0.05) ขนาดของฟอลลิเคิลขณะที่ฉีด GnRH เข็มที่สองและอัตราการผสมติดทั้งในโคสาวไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) นอกจากนั้น พบว่าการสลาย CL ของโคทั้งสองทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (86.7% (26/30 ตัว) และ 90.0% (27/30 ตัว); P>0.05; รูปที่ 3)

ตารางที่ 1 ผลของโปรแกรมการกำหนดเวลาผสมเทียมแบบ 7-day และ 5-day Co-Synch + CIDR ในโคนมสาว

Measurement	7-day Co-Synch	5-day Co-Synch
Number of heifers (n)	30	30
Plasma progesterone concentrations at the second GnRH injection (ng/mL)	<1	<1
Plasma estradiol concentrations at the second GnRH injection (pg/mL)	4.7^{a}	6.4^{b}
Size of follicle at the second GnRH injection (mm)	12.7	13.2
Conception rate (%)	53.3 (16/30)	60.0 (18/30)

หมายเหตุ : $^{a\,b}$ Values with different superscripts differed (P<0.05) between 7-day Co-Synch and 5-day Co-Synch groups.



รูปที่ 3 การสลาย CL (luteolysis) ในโคนมสาวที่ได้รับการฉีดฮอร์โมน $PGF_2\alpha$ 1 ครั้ง (7-day Co-Synch) และ 2 ครั้ง (5-day Co-Synch)

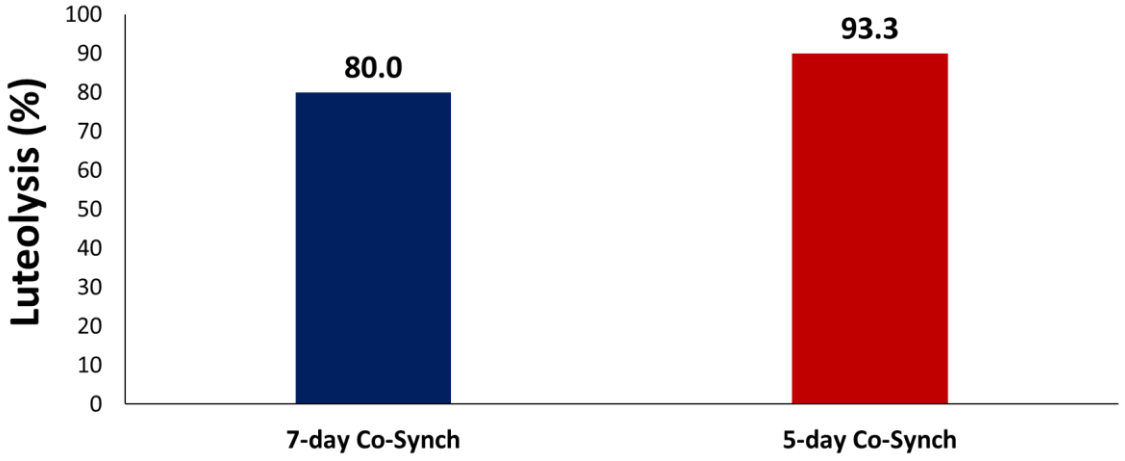
ผลการทดลองที่ 2

จากตารางที่ 2 ความเข้มข้นของฮอร์โมน P4 ในโคเนื้อทั้งสองทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) อย่างไร ก็ตาม โคทดลองที่ได้รับโปรแกรม 5-day Co-Synch + CIDR มีความเข้มข้นของฮอร์โมน E2 ในวันที่ 9 หรือช่วงก่อนการตกไข่สูงกว่าโคทดลองที่ได้รับโปรแกรม 7-day Co-Synch + CIDR (5.9 และ 4.0 pg/mL; P<0.05) ขนาดของฟอลลิเคิลขณะที่ฉีด GnRH เข็มที่สองและอัตราการผสมติดทั้งในโคทดลองไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) นอกจากนั้น พบว่าการสลาย CL ของโคทดลองทั้งสองทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (80.0% (24/30 ตัว) และ 93.3% (28/30 ตัว); P>0.05; รูปที่ 4)

ตารางที่ 2 ผลของการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 7-day และ 5-day Co-Synch + CIDR ในโคสาวบราห์มัน x พื้นเมือง

Measurement	7-day Co-Synch	5-day Co-Synch
Number of heifers (n)	30	30
Plasma progesterone concentrations at the second GnRH injection (ng/mL)	<1	<1
Plasma estradiol concentrations at the second GnRH injection (pg/mL)	4.0^{a}	5.9^{b}
Size of follicle at the second GnRH injection (mm)	11.2	12.4
Conception rate (%)	56.6 (17/30)	63.3 (19/30)

หมายเหตุ : [a b] Values with different superscripts differed (P<0.05) between 7-day Co-Synch and 5-day Co-Synch groups.



รูปที่ 4 การสลายของ CL (luteolysis) ในโคสาวบราห์มัน x พื้นเมืองที่ได้รับการฉีดฮอร์โมน $PGF_2\alpha$ 1 ครั้ง (7-day Co-Synch) และ 2 ครั้ง (5-day Co-Synch)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาวิจัยพบว่า การผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (fixed-time AI) โดยการใช้โปรแกรม 5-day Co-Synch ร่วมกับการฉีดฮอร์โมน $PGF_2\alpha$ 2 ครั้ง ในโคนมสาวและโคบราห์มัน x พื้นเมือง ส่งผลให้ความเข้มข้นของฮอร์โมน E2 สูงในช่วงก่อนการตกไข่และสามารถเพิ่มอัตราการผสมติดภายหลังการผสมเทียมได้ เนื่องจากการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาโดยโปรแกรม 5-day Co-Synch (ฉีดฮอร์โมน $PGF_2\alpha$ สองครั้ง) สามารถสลาย CL ได้อย่างสมบูรณ์และมีช่วงระยะเวลา proestrus ที่ยาวนานกว่าโปรแกรม 7-day Co-Synch (ฉีดฮอร์โมน $PGF_2\alpha$ ครั้งเดียว) ที่ถูกเลี้ยงในสภาพแวดล้อมที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Bridges et al. (2014) และ Whittier et al. (2013) พบว่าความเข้มข้นของฮอร์โมน E2 ในช่วงก่อนการตกไข่ และอัตราการผสมติดภายหลังผสมเทียมของโคที่ได้รับโปรแกรม 5-day Co-Synch สูงกว่ากลุ่ม 7-day Co-Synch โดยการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ ทำให้ฟอลลิเคิลมีปริมาณฮอร์โมน E2 สูงในช่วงเวลาดังกล่าวและสามารถผสมเทียมแบบกำหนดเวลาได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นวิธีการทั้ง 2 จึงเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มอัตราการสลาย CL และอัตราการผสมติด นอกจากนี้ยังช่วยให้การบริการผสมเทียมของเจ้าหน้าที่สะดวกและมีความแม่นยำมากยิ่งขึ้นส่งผลต่อความยากง่ายในการจัดการการผสมพันธุ์โคเนื้อและโคนมภายในฟาร์มเกษตรกร

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาที่ให้ทุนสนับสนุนผู้ช่วยนักวิจัย นอกจากนี้ขอขอบคุณเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อและโคนมที่มีส่วนร่วมในการดำเนินงานโครงการวิจัย ได้แก่ มิตรเชียงยืนฟาร์ม พีเจฟาร์ม และสหกรณ์โคนมขอนแก่น จำกัด ที่เอื้อเฟื้อสัตว์ทดลองและสถานที่ทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Bridges GA, Mussard ML, Helser LA, Day ML. Comparison of follicular dynamics and hormone concentrations between the 7-day and 5-day CO-Synch + CIDR program in primiparous beef cows. Theriogenology 81: 632-638; 2014.

Carvalho JBP, Carvalho NAT, Reis EL, Nichi M, Souza AH, Baruselli PS. Effect of early luteolysis in progesterone-based timed AI protocols in *Bos indicus*, *Bos indicus x Bos taurus*, and *Bos taurus* heifers. Theriogenology 69: 167-175; 2008.

Crane MB, Bartolome J, Melendez P, de Vries A, Risco C, Archbald LF. Comparison of synchronization of ovulation with timed insemination and exogenous progesterone as therapeutic strategies for ovarian cysts in lactating dairy cows. Theriogenology 65: 1563-1574; 2006.

Escalante RC, Poock SE, Lucy MC. Follicular populations and luteal function in dairy heifers treated with a controlled internal drug release insert for 14 days as a method to synchronize the estrous cycle before prostaglandin $F_{2}\alpha$ treatment and artificial insemination. J. Dairy Sci. 96: 3806-3815; 2013.

Nasser LF, Adams GP, Bo GA, Mapletoft RJ. Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. Theriogenology 40: 713-724; 1993.

Navanukraw C, Redmer DA, Reynolds LP, Kirsch JD, Grazul-Bilska AT, Fricke PM. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 87: 1551-1557; 2004.

Santos JE, Narciso CD, Rivera F, Thatcher WW, Chebel RC. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. J. Dairy Sci. 93: 2976-2988; 2010.

SAS Institute Inc. SAS System (Release 8.2), Cary: NC; 2001.

Steel RGD, Torrie JH, Dickey D. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach, third ed., McGraw-Hill, New York.; 1997.

Whittier WD, Currin JF, Schramm H, Holland S, Kasimanickam RK. Fertility in Angus cross beef cows following 5-day CO-Synch + CIDR or 7-day CO-Synch + CIDR estrus synchronization and timed artificial insemination. Theriogenology 80: 963-969; 2013.