การศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดจากการใช้อุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดในโคเนื้อ

จตุพงษ์ ปัทมะ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์

ชื่อเรื่อง

การศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดจากการใช้อุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดในโคเนื้อ

โดย

จตุพงษ์ ปัทมะ

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา .....

(อาจารย์ ดร.วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์)

วันที่ 28 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2555

กรรมการที่ปรึกษา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญชา พงศ์พิศาลธรรม)

วันที่ 28 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2555

กรรมการที่ปรึกษา .....

(อาจารย์ ดร.คำรง ลีนานุรักษ์)

วันที่ 28 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2555

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นรินทร์ ทองวิทยา)

วันที่ 28 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2555

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จำเนียร ยศราช)

ประธานกรรมการบัณฑิตศึกษา

วันที่ 29 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2555

ชื่อเรื่อง การศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดจากการใช้อุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดในโคเนื้อ

ชื่อผู้เขียน นายจตุพงษ์ ปัทมะ

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์

ประธานกรรมการที่ปรึกษา อาจารย์ ดร.วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์

บทคัดย่อ

การศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดโคเนื้อจากการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น เปรียบเทียบกับ อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้า ใช้โคเนื้อพันธุ์บราห์มันที่เป็นโคสาวอายุเฉลี่ย 18 เดือน จำนวน 9 ตัว ที่ได้จากฟาร์มโคนม-โคเนื้อ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 กลุ่มที่สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า (Control; P_4:1.9 g) จำนวน 3 ตัว กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ผลิตขึ้น (MJID; P_4:1.5 g) จำนวน 3 ตัว และ กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ผลิตขึ้น (MJID; P_4:2g) จำนวน 3 ตัว โดยกลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่มจะทำการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเข้าช่องคลอดเป็นเวลา 7 วัน โดยวันที่ 0 สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดพร้อมกับฉีด 100 mg/ml P_4 และ 2 mg/ml E_2 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร และ วันที่ 6 ฉีดฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ ปริมาณ 2 มิลลิลิตร วันที่ 7 ถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด และ วันที่ 8 ทำการฉีดฮอร์โมน Estradiol Benzoate 1mg/ml ปริมาณ 2 มิลลิลิตร โดยจะทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคเป็นเวลา 10 วัน นับตั้งแต่วันที่เริ่มสอดอุปกรณ์ เพื่อทำการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดด้วยเทคนิคอีไรซ่า (ELISA) และ ทำการตรวจการตกไข่ด้วยชุดตรวจสอบการตกไข่ทางการค้า (LH Ovulation Test) ผลการทดลองพบว่า โคเนื้อที่ใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น (MJID; P4:1.5 g) และ (MJID ; P4:2 g) มีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดสูงกว่ากลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้า ($P<0.05$) เมื่อวิเคราะห์ผลการตอบสนองต่อการตกไข่ จากการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเพื่อควบคุมการตกไข่ตามรูปแบบที่เสนอไว้ในการทดลองนี้ สามารถทำให้โคมีการตกไข่ในอัตราที่สามารถยอมรับได้ และมีระยะเวลาตกไข่ที่แม่นยำ พบว่า โคเนื้อที่ใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ผลิตขึ้นมีอัตราการตกไข่ 100% ส่วนโคเนื้อที่ใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า มีอัตราการตกไข่ 67% จากงานวิจัยครั้งนี้สรุปได้ว่า อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้นสามารถ

นำมาใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อได้จริง และ มีราคาถูกกว่าอุปกรณ์ทางการค้า อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองนี้มีชื่อว่า Meajo Intravaginal Devices (MJID)

Title	Plasma Progesterone Profile after Synehronization of Estrus with Intravaginal Device in Beef Cattle
Author	Mr. Jatupong Pattama
Degree of	Master of Science in Animal Science
Advisory Committee Chairperson	Dr. Wiwat Pattanawong

ABSTRACT

The study on the plasma progesterone profile of beef cattle after synchronization with estrus using fabricated intravaginal device was conducted in comparison with commercial intravaginal device during the entire production period of 9 Brahman beef of 18 years of age from the beef-cattle farm of Meajo University, Chiang Mai province. The animals were divided into 3 treatment groups with 3 animals each: (1) using commercial intravaginal device (control group with P4:1.9 g); (2) using man-made intravaginal device (MJID with P4:1.5 g); and (3) using man-made intravaginal device (MJID: with P4: 2.0 g). In these 3 groups, the intravaginal device was used during a 7-day period and at 0 day, the use of intravaginal device together with 100 mg/ml P4 and 2 mg/ml E2 and 2 ml. Then on day 6, 2 ml of $PGF_{2\alpha}$ hormone was injected and on day 7, the device was removed. Later on day 8, the animals were injected with 1 mg/ml Estradiol Benzoate hormone at 2 ml volume. Blood sample collection was done at day 10 from the first day of inserting the intravaginal device to measure the amount of plasma progesterone using the ELISA technique and ovulation using the LH Ovulation Test. Results of the study showed that the use of intravaginal device of MJID (P4:1.5 g) and MJID (P4:2.0 g) gave a higher amount of plasma progesterone than the commercial intravaginal device ($P<0.05$). Analysis of the reaction towards ovulation from the use of intravaginal device to controlled ovulation based on the form as recommendation by this study which enabled ovulation at an acceptable rate in a definite ovulation period, indicated that beef cattle treated with man-made intravaginal device gave a 100% ovulation as compared to a rate of 67% shown by beef cattle treated with commercial intravaginal device. From this study, it can be summarized that man-made intraveginal device could be actually used in beef cattle besides being cheaper than the commercial intravaginal device and this man-made intravaginal device is called the Meajo Intravaginal Devices (MJID).

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จเป็นรูปเล่มสมบูรณ์ได้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้แนวคิดและคำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย ตลอดจนการแก้ปัญหาต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญชา พงศ์พิศาลธรรม และ อาจารย์ ดร.ดำรง ลีนานุรักษ์ กรรมการที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ขอขอบพระคุณ อาจารย์อภิชาติ หมั่นวิชา และ เจ้าหน้าที่ประจำสาขาโคนม-โคเนื้อ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้กรุณาให้ความอนุเคราะห์สัตว์ทดลอง สถานที่ดำเนินงานทดลอง ตลอดจนเอื้อเฟื้อสนับสนุนเครื่องมืออุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องในการทำวิทยานิพนธ์นี้ และ ขอขอบพระคุณ คุณณัฐวุฒิ อภิชัย และ คุณณรงค์พัชร น้ำใจสุข ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการวิจัยในครั้งนี้ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องสมุดมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้ให้ความสะดวกในการศึกษาค้นคว้าข้อมูลเพิ่มเติม นอกจากนี้ ขอขอบคุณสำนักงานวิจัยแห่งชาติ (วช) ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัย และ ผู้ทำวิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา ที่ได้ให้การอบรมสั่งสอนให้เป็นคนดี มีความอดทน ขยันหมั่นเพียร ตลอดจนให้การสนับสนุนทางด้านการเรียนและคอยเป็นกำลังใจให้ตลอดระยะเวลาการศึกษา

สุดท้ายนี้ความดีที่พึงมีจากการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ ผู้เขียนขอมอบให้แด่คณาจารย์ที่ได้เคยอบรมสั่งสอนให้ความรู้ ทั้งในอดีตและปัจจุบัน และเหนือสิ่งอื่นใดข้าพเจ้าขอน้อมระลึกถึงคุณของบิดา มารดา ที่เป็นแรงบันดาลใจและช่วยเหลือสนับสนุนด้านทุนทรัพย์ในการศึกษาด้วยดีตลอดมา ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณทุกท่านมา ณ ที่นี้ด้วย

จตุพงษ์ ปัทมะ

พฤษภาคม 2555

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(6)
สารบัญ	(7)
สารบัญตาราง	(9)
สารบัญภาพ	(10)
สารบัญตารางภาคผนวก	(12)
อักษรย่อและสัญญาลักษณ์	(13)
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
ขอบเขตการศึกษา	5
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	6
ฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (Progesterone, P_4)	6
ฮอร์โมนที่ควบคุมวงรอบการเป็นสัด (Hormonal Control of the Estrus Cycle)	8
การตรวจวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนด้วยวิธี ELISA	11
การเป็นสัด (Heat or estrus)	14
วงรอบการเป็นสัด (Estrous cycle)	15
การเหนี่ยวนำการเป็นสัด (Estrus synchronization)	16
การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อ	22
บทที่ 3 วิธีการวิจัย	30
วิธีดำเนินการวิจัย	31
การทดลองที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*)	31
การทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง (*In vivo*)	47
การวิเคราะห์ผลการทดลอง	52

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 53
ผลการทดลองที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*) 53
ผลการทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง (*In vivo*) 57
วิจารณ์ผลการทดลอง 62
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 70
สรุปผลการทดลอง 70
ข้อเสนอแนะ 71
เอกสารอ้างอิง 72
ภาคผนวก 78
ภาคผนวก ก ตารางผนวก 79
ภาคผนวก ข 98
สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง 99
ต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง 103
ภาคผนวก ค ประวัติผู้วิจัย 105

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	แหล่งผลิตและหน้าที่ของฮอร์โมนที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ของสัตว์	8
2	แสดงข้อดีและข้อเสียของ Enzyme-linked immunosorbent assay system (ELISA)	13
3	แสดงผลการตอบสนองต่อการเป็นสัดและอัตราการผสมติดเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์สอดช่องคลอด	26
4	แสดงลักษณะทางกายภาพของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง	37
5	แสดงปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า เมื่อแช่อุปกรณ์ในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา10 วัน	56
6	แสดงปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า	58
7	แสดงพฤติกรรมการเป็นสัดหลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า	59
8	ผลการตกไข่หลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าร่วมกับโปรแกรมการตกไข่ในโคเนื้อ	60
9	ผลการตอบสนองต่อการตกไข่เมื่อใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์ทางการค้าในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อ	61

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1	เปรียบเทียบมูลค่าทางเศรษฐกิจที่เกิดขึ้นจากการใช้เทคโนโลยีเหนี่ยวนำการเป็นสัดมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตในฟาร์มโคเนื้อของประเทศไทย	3
2	ขั้นตอนการสังเคราะห์เสตียรอยด์ฮอร์โมนในรังไข่	7
3	แสดงกลไกฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับวงรอบการเป็นสัดและการตกไข่ในโคเนื้อ	9
4	แสดงการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนที่เกิดขึ้นในวงรอบของการเป็นสัด	10
5	แสดงการพัฒนารูปแบบ Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)	13
6	แสดงอาการเป็นสัดในโคเนื้อ	14
7	แสดงโปรแกรมกระตุ้นการเป็นสัด Select Synch ในโคเนื้อ	18
8	แสดงโปรแกรมกระตุ้นการเป็นสัด Co-Synch ในโคเนื้อ	18
9	แสดงโปรแกรมกระตุ้นการเป็นสัด OV-Synch ในโคเนื้อ	19
10	แสดงโปรแกรมกระตุ้นการเป็นสัด CIDR® ในโคเนื้อ	20
11	แสดงโปรแกรมกระตุ้นการเป็นสัด CIDR® ในโคเนื้อ	21
12	แสดงรายละเอียดโปรแกรมการเหนี่ยวการเป็นสัดและตกไข่ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด (CIDR®) ร่วมกับฮอร์โมนพรอสตราแกลนดินเอฟทูแอลฟ่า	22
13	แสดงค่าเฉลี่ยระดับโปรเจสเตอโรนในเลือดในแต่ละวันของโคที่ได้รับการประเมินประสิทธิภาพของอุปกรณ์การปล่อยโปรเจสเตอโรนภายในช่องคลอด Cue Mate® DIB®และ CIDR®	25
14	แสดงภาพตัดตามขวางของท่อแคปิลลารีที่ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	32
15	อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบที่ 1 เป็นทรงกระบอกบรรจุชานอ้อยไว้ภายใน (A) แบบที่ 2 เป็นรูปตัวที (T) โดยส่วนของปีกและลำตัวบรรจุด้วยชานอ้อย (B) แบบที่ 3เป็นรูปตัววาย (Y) โดยส่วนปีกทำจากซิลิโคนและส่วนลำตัวขึ้นรูปด้วยชานอ้อยอัดแท่ง (C)	33
16	แสดงอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดชนิดสอดช่องที่ผลิตขึ้น	36

ภาพ หน้า

17 ขั้นตอนในการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้นเพื่อใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโค 36
18 แสดงภาพการบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด 37
19 การแช่อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า (ขวา) อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เอง (ซ้าย) ในสารละลายน้ำเกลือเพื่อวัดปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในห้องปฏิบัติการ 38
20 การหาอัตราเจือจางที่เหมาะสมของ PAb-P_4 และ Goat anti rabbit IgG-HRP ด้วยวิธี ELISA 40
21 การหากราฟมาตรฐานการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนโดยวิธี Indirect ELISA 42
22 แสดงการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในน้ำเกลือโดยวิธี Indirect ELISA 44
23 แสดงการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาโดยวิธี Indirect ELISA 46
24 แสดงขั้นตอนในการทดลองการจัดการผสมพันธุ์โคภายหลังจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด 48
25 แสดงขั้นตอนในการสอด Meajo Intravaginal devices (MJID) เข้าช่องคลอดโค 49
26 การเก็บตัวอย่างเลือดจากการเจาะเลือดที่เส้นใต้โคนหางของโค 50
27 แสดงการตรวจการตกไข่ด้วยชุดตรวจสอบการตกไข่ทางการค้า (LH Ovulation Test) 51
28 เปรียบเทียบลักษณะท่อแคปิลลารีก่อนและหลังบรรจุสารละลายโปรเจสเทอโรน 53
29 พื้นผิวซิลิโคนของอุปภรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าที่เคลือบด้วยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน 53
30 กราฟมาตรฐานฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนโดยวิธี Indirect ELISA ที่ใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน 54
31 กราฟการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัตที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเมื่อแช่ในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา 10 วัน 55
32 ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า 58
33 ผลการตรวจการตกไข่ด้วยชุดตรวจสอบการตกไข่ทางการค้า (LH Ovulation Test) 61

สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวก **หน้า**

1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน ในน้ำเกลือของกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า 80

2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนใน น้ำเกลือของกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (MJID; P_4:1.5g) 81

3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนใน น้ำเกลือของกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (MJID; P_4:2 g) 82

4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนใน พลาสมาโคทดลองจำนวน 3 ตัว เมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์ เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า 83

5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนใน พลาสมาโคทดลองจำนวน 3 ตัว เมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำ การเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (MJID; P_4:1.5 g) 84

6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนใน พลาสมาโคทดลองจำนวน 3 ตัว เมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำ การเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (MJID; P_4:2 g) 85

7 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือกลุ่มทางการค้า 86

8 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือกลุ่ม MJID; P_4:1.5 g 88

9 ดารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือกลุ่ม MJID; P_4:2 g 90

10 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาโคกลุ่มทางการค้า 92

11 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาโค ของกลุ่ม MJID; P4:1.5 g 94

12 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาโค ของกลุ่ม MJID; P4:2 g 96

อักษรย่อและสัญญาลักษณ์

%	เปอร์เซ็นต์
Ab	Antibody
CIDR	Controlled internal drug release device
CL	Corpus luteum
E_2	Estradiol
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FGA	Fluorogestone acetate
LH	Luteinizing hormone
DNA	Deoxyribonucleic acid
MAb	Monoclonal antibody
MAP	methyl acetoxy progesterone
MGA	Melengestrol Acetate
ng	นาโนกรัม
P_4	Progesterone
PAb	Polyclonal antibody
$PGF_{2\alpha}$	Prostaglandin F2alpha
PRID	Progesterone-releasing intravaginal device
SMB	SynchroMate-B

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

การเลี้ยงโคเนื้อเป็นอาชีพทางการเกษตรที่สำคัญอาชีพหนึ่ง มีมูลค่าไม่ต่ำกว่า 7 หมื่นล้านบาท และเกี่ยวข้องกับเกษตรกรไม่น้อยกว่า 1.3 ล้านครอบครัว (กลุ่มงานเศรษฐกิจการปศุสัตว์, 2553) ในอดีตที่ผ่านมาการเลี้ยงโคเนื้อของเกษตรกรไทย มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้แรงงานทำการเกษตรเป็นหลัก เมื่อใช้งานหมดอายุจึงปลดจำหน่ายเป็นโคเนื้อ ปัจจุบันรูปแบบการเลี้ยงโคเนื้อได้เปลี่ยนมาเป็นการเลี้ยงเพื่อจำหน่ายเป็นโคเนื้อ เพื่อผลิตเนื้อโค ทั้งนี้เพราะความต้องการบริโภคเนื้อสัตว์เพิ่มขึ้น ทั้งจากความต้องการของประชากรในประเทศเอง และนักท่องเที่ยวจากต่างประเทศ ตลอดจนความต้องการของตลาดต่างประเทศ ลักษณะการเลี้ยงจะเป็นการเลี้ยงครั้งละหลายๆ ตัว และมีรูปแบบเป็นฟาร์มมากขึ้น จากสถิติกรมปศุสัตว์ปี 2553 ประเทศไทยมีโคเนื้อจำนวน 6.428 ล้านตัว เป็นโควัยเจริญพันธุ์ที่ผลิตลูกโคจำนวน 2.02 ล้านตัว สามารถผลิตลูกโคได้จำนวน 1.11 ล้านตัว หรือ 55% ของโควัยเจริญพันธุ์เท่านั้น ทั้งนี้เป็นเพราะเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อยังประสบปัญหาหลายอย่าง ได้แก่ ขาดความรู้ในด้านการจัดการการเลี้ยงดูโคเนื้อ ขาดแคลนพืชอาหารสัตว์ ทำให้โคได้รับสารอาหารไม่เพียงพอ การปรับปรุงพันธุ์ยังไม่ทั่วถึง ปัญหาโรคระบาดสัตว์ เช่น โรคปากเท้าเปื่อย และโรคพยาธิ เป็นผลทำให้การผลิตโคเนื้อยังไม่เพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศ โดยเฉพาะเนื้อโคคุณภาพสูงซึ่งประเทศไทยมีศักยภาพและความสามารถสูงเมื่อเปรียบเทียบกับประเทศต่างๆ ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีความสามารถจะผลิตโคพันธุ์และโคเนื้อส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศได้ ประกอบกับผลการจัดทำข้อตกลงเขตการค้าเสรีอาเซียน (AFTA) ซึ่งมีผลตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2553 ทำให้ประเทศไทยมีโอกาสส่งออกโคเนื้อไปต่างประเทศเพิ่มมากขึ้น จากสถิติกรมศุลกากรประเทศไทยมีการส่งออกโคมีชีวิตไปจำหน่ายต่างประเทศ จำนวน 74,480 ตัว มูลค่า 549.17 ล้านบาท ในปี 2551 เพิ่มเป็นจำนวน 185,732 ตัว มูลค่า 1,316.20 ล้านบาท ในปี 2552 สำหรับในปี 2553 ได้ส่งออกโคมีชีวิตไปจำหน่ายต่างประเทศจำนวน 67,107 ตัว มูลค่า 285.87 ล้านบาท ในขณะเดียวกันก็มีการนำเข้าเนื้อโคคุณภาพสูงจากต่างประเทศปีละประมาณ 2,000 ตัน ทำให้สูญเสียเงินตราออกไปต่างประเทศปีละประมาณ 380 ล้านบาท

โดยปัจจุบันสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรคาดการณ์ว่าปริมาณการผลิตโคเนื้อปี 2554 ลดลงจากปี 2553 จำนวน 13,000 ตัว หรือ ลดลง 1.11% เนื่องจากเกษตรกรส่วนใหญ่ประสบปัญหาทางเศรษฐกิจจึงจำเป็นต้องขายโคออกไป มีการเลิกเลี้ยงเป็นจำนวนมากเป็นผลจากพืช

เศรษฐกิจ เช่น ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มันสำปะหลัง ยางพารา มีราคาสูงขึ้น เกษตรกรจึงได้ปรับเปลี่ยนพื้นที่จากเดิมปลูกหญ้าเลี้ยงโคเป็นพื้นที่ปลูกพืชเศรษฐกิจแทนการเลี้ยงโค ส่งผลให้เกษตรกรขาดแรงจูงใจในการเลี้ยงจึงเลิกเลี้ยงโค และขายโคทิ้ง ทำให้แม่โคเนื้อถูกส่งเข้าโรงฆ่าสัตว์ และถูกส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ทำให้แม่พันธุ์โคเนื้อถูกทำลายอย่างรวดเร็ว ปริมาณโคเนื้อเพศเมียลดลงอย่างรุนแรง จากโคเนื้อเพศเมียวัยเจริญพันธุ์ที่ให้ลูกได้จำนวน 3.25 ล้านตัวในปี 2552 เหลือเพียงจำนวน 2.02 ล้านตัว ในปี 2553 คิดเป็นมูลค่าความเสียหายประมาณ 24,600 ล้านบาท

การพัฒนาการเลี้ยงโคเนื้อในประเทศไทยที่ผ่านมายังประสบปัญหา เนื่องจากปัญหาที่เกี่ยวกับความไม่สมบูรณ์พันธุ์หรือปัญหาผสมติดยากในโค และ การให้ผลผลิตต่ำ เป็นปัญหาที่สำคัญที่สุดในการเลี้ยงโคเนื้อ เนื่องจากเกษตรกรผู้เลี้ยงโคเนื้อในประเทศไทยเกือบทั้งหมดเลือกใช้วิธีการการผสมเทียมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์และปรับปรุงพันธุกรรมของแม่โคภายในฟาร์ม ดังนั้นการสังเกตอาการเป็นสัดของแม่โคจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งที่จะทำให้แม่โคได้รับการผสมเทียม และตั้งท้อง ปัญหาที่เกี่ยวข้องกับการสังเกตการเป็นสัดที่มักพบอยู่เสมอคือแม่โคเป็นสัดเงียบ (Silent heat) หรือ แสดงอาการเป็นสัดไม่ชัดเจนและแสดงอาการเป็นสัดเพียงระยะเวลาสั้นก่อให้เกิดปัญหาการผสมไม่ติด และ ปัญหาการกลับสัดมากขึ้น (Alnimer *et al*., 2002)

การผลิตโคเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดนั้น ความสำเร็จของการผสมพันธุ์เป็นปัจจัยหนึ่งที่บ่งชี้ประสิทธิภาพของการผลิต ซึ่งในการผสมพันธุ์โคนั้นโคจะต้องแสดงอาการเป็นสัดก่อน จากนั้นจึงจะผสมพันธุ์เพื่อให้ได้ผลผลิตตามที่ต้องการ ดังนั้นการจัดการเกี่ยวกับการเป็นสัดในโคจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่ง เช่น การเหนี่ยวนำการเป็นสัด และ การตรวจสอบการเป็นสัด เป็นต้น ปัจจุบันนิยมใช้การเหนี่ยวนำการเป็นสัด โดยใช้ฮอร์โมนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผสมพันธุ์ โดยเทคโนโลยีเหนี่ยวนำการเป็นสัดจะช่วยเพิ่มอัตราการจับสัดและอัตราการผสมติดมากขึ้น การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตในฟาร์มโคเนื้อด้วยเทคโนโลยีเหนี่ยวนำการเป็นสัด ส่งผลต่อการตรวจสัดได้แม่นยำถึง 75% และ อัตราการผสมติด 65% และอัตราการตั้งท้อง 49% แตกต่างจากไม่เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่การตรวจสัดได้แม่นยำ 33% และอัตราการตั้งท้อง 21% (DeJarnette., 2004)

แผนยุทธศาสตร์การพัฒนาโคเนื้อ ปี 2554 – 2557 โดยสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรคาดการณ์ว่าปริมาณการผลิตโคเนื้อปี 2554 ลดลงจากปี 2553 จำนวน 13,000 ตัว หรือลดลง 1.11 % โดยหากมีการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตในฟาร์มโคเนื้อด้วยเทคโนโลยีเหนี่ยวนำการเป็นสัดร่วมกับการจัดโปรแกรมผสมเทียมในฟาร์มโคเนื้อทั่วประเทศ คาดว่าจะสามารถผลิดลูกโคได้ จำนวน 1.515 ล้านตัว หรือ 75% ของโควัยเจริญพันธุ์ทั้งหมดในประเทศ ผลต่างจะสามารถ

เพิ่มจำนวนลูกโคที่ผลิตได้ 405, 000 ตัว โดยลูกโค 4 เดือนราคาตัวละ 5,000 บาท คิดเป็นผลต่างทางเศรษฐกิจมูลค่า 2,025,000,000 บาท ดังแสดงในภาพ 1

ภาพ 1 เปรียบเทียบมูลค่าทางเศรษฐกิจที่เกิดขึ้นจากการใช้เทคโนโลยีเหนี่ยวนำการเป็นสัดมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตในฟาร์มโคเนื้อของประเทศไทย

โจทย์วิจัยของโครงการนี้คือ หากสามารถกำหนดวันเป็นสัดและการตกไข่ของแม่โคได้ถูกต้อง และ แม่นยำ จะส่งผลให้แม่โคมีโอกาสได้รับการผสมเทียมและตั้งท้องได้ในระยะเวลาที่กำหนด เพื่อลดความสูญเสียจากระยะท้องว่าง และ เพื่อเพิ่มจำนวนผลผลิตลูกโคให้มากขึ้น โดยการกำหนดโปรแกรมฮอร์โมนในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ เพื่อแก้ปัญหาในด้านระบบสืบพันธุ์ของโคเนื้อ เช่น อัตราการเป็นสัดที่ไม่สม่ำเสมอ หรือ การเป็นสัดเงียบ โดยการนำเอาฮอร์โมนเข้ามาควบคุมหรือเหนี่ยวนำการเป็นสัดให้โคแสดงอาการเป็นสัดที่พร้อมกัน หรือในเวลาเดียวกัน ปัจจุบันอุปกรณ์ที่สามารถเหนี่ยวนำการเป็นสัดในเชิงการค้ามีขายอยู่แล้ว แต่เนื่องจากอุปกรณ์ดังกล่าวนี้ต้องนำเข้าจากต่างประเทศมีราคาค่อนข้างสูง จึงได้มีการพัฒนาอุปกรณ์ควบคุมหรือเหนี่ยวนำการเป็นสัดขึ้นใช้เองภายในประเทศเพื่อลดมูลค่าการนำเข้าเทคโนโลยีจากต่างประเทศ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่มีความเหมาะสมกับโคเนื้อในประเทศไทย เพื่อใช้ทดแทนและลดมูลค่าการนำเข้าเทคโนโลยีจากต่างประเทศ

2. เพื่อศึกษาการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อโดยวิเคราะห์ถึงระดับฮอร์โมนในกระแสเลือดเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า

3. เพื่อศึกษาการแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดและการตกไข่หลังสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. แก้ปัญหาในการดำเนินงานของหน่วยงานที่ทำการวิจัย ช่วยให้สามารถทำงานวิจัยเกี่ยวกับระบบบสืบพันธุ์ของโคเนื้อภายในฝูงได้สะดวกมากขึ้น เพราะอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดจะช่วยให้ทำการผสมพันธุ์ได้ง่ายขึ้น เนื่องจากโคเนื้อเป็นสัดในเวลาเดียวกันง่ายต่อการจัดการ ช่วยให้การผสมพันธุ์มีประสิทธิภาพมากขึ้น

2. เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป เนื่องจากการวิจัยนี้ผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดขึ้นเองเพื่อเหนี่ยวนำให้แม่พันธุ์โคเนื้อเพศเมียเป็นสัดพร้อมกัน ซึ่งมีความเหมาะสมต่อการทดลองโดยมีการพัฒนารูปแบบของตัวอุปกรณ์และตัววัสดุที่นำมาใช้ สามารถนำมาประยุกต์ใช้แทนอุปกรณ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศได้

3. ให้มีความรู้เกี่ยวกับเทคนิคการผลิตอุปกรณ์สอดช่องคลอด เพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดไว้ใช้เองภายในฟาร์มและสามารประยุกต์ใช้กับเทคนิคการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ขั้นสูงต่อไปได้

4. มีความรู้เกี่ยวกับการพัฒนาผลิตอุปกรณ์สอดช่องคลอด เพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดพร้อมกันในโคเนื้อหรือสัตว์อื่นๆทุกชนิดได้

5. ช่วยลดจำนวนการนำเข้าของเทคโนโลยี เนื่องจากวัสดุอุปกรณ์และสารเคมีสามารถหาได้ตามท้องถิ่นและภายในประเทศ

6. นำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์ โดยประโยชน์ที่ได้สามารถผลิตอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้โดยใช้วัตถุดิบภายในประเทศที่มีราคาถูก

ขอบเขตการวิจัย

1. พัฒนาอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด เพื่อใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดของโคเนื้อ โดยใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดมาใช้ในการจัดการโปรแกรมการผสมเทียม โดยการเตรียมให้โคแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดที่พร้อมกันภายในฝูง

2. ศึกษาการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดหลังสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อ

3. ศึกษาผลของการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ผลิตขึ้นต่อการแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดและการตกไข่ของโคเนื้อ

บทที่ 2

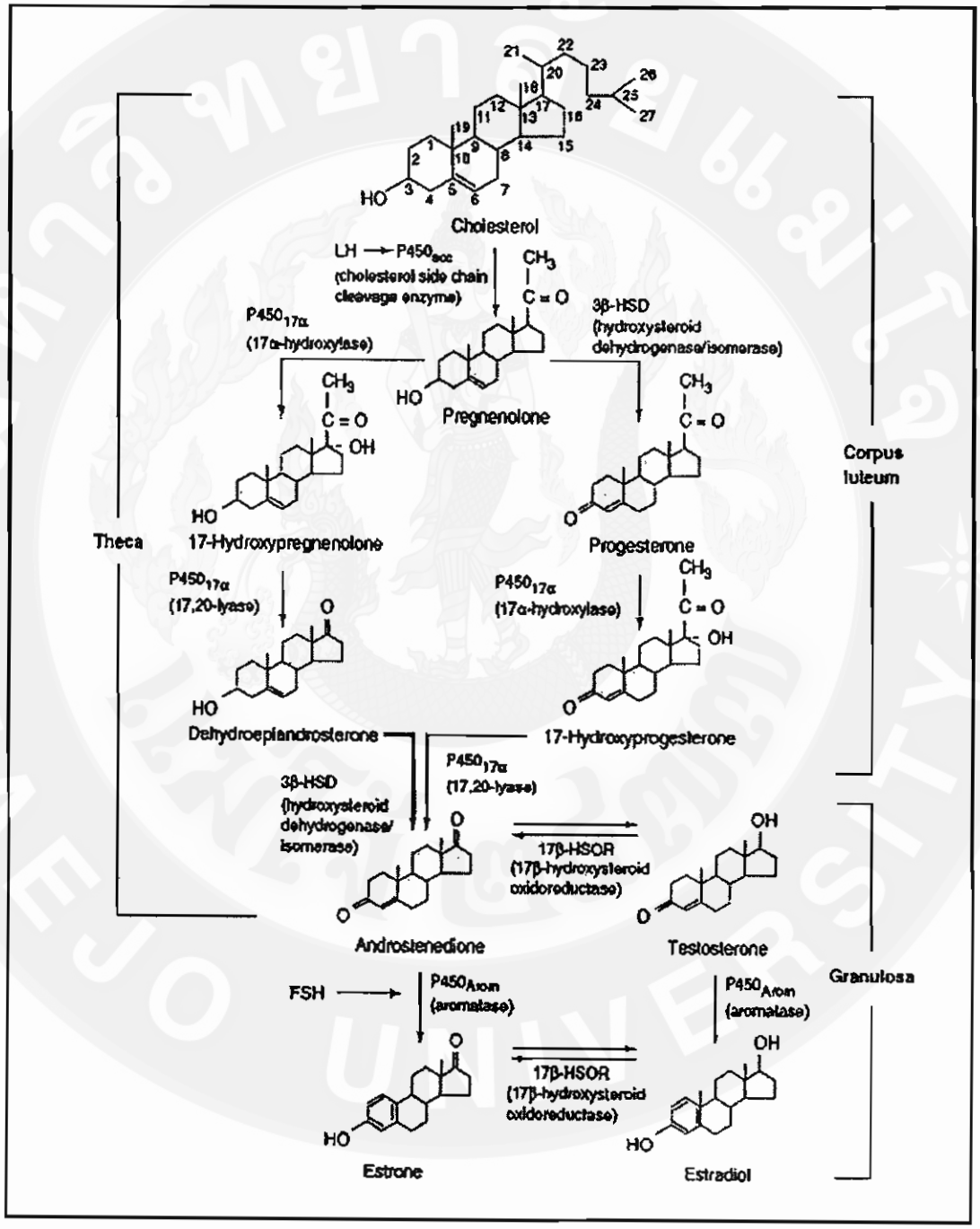
การตรวจเอกสาร

ฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (Progesterone; P_4)

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone; P_4) เป็นสเตอรอยด์ฮอร์โมนที่มีคาร์บอน 21 ตัว (C-21) มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่เป็นไขมัน มีขนาดโมเลกุลเล็ก ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลั่งมาจากคอร์ปัสลูเทียม (Corpus luteum;CL) โดยหลั่งจาก Granulosa Lutein cell เป็นส่วนใหญ่ Theca lutein cell เป็นส่วนน้อย และ รก โดยโปรเจสเตอโรนเป็นสารตัวกลางของการสังเคราะห์สเตียรอยด์ฮอร์โมนในรังไข่ โดยสเตียรอยด์ฮอร์โมนจะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และเข้าไปทำงานด้วยตัวของมันเองที่นิวเคลียสโดยตรง โดยจะไปจับกับ Plasma hormone reeepter เป็นตัวพาเข้าไปในเซลล์ มีโคเลสเตอรอล และ เพรกเนนโนโลนเป็นสารตั้งต้น (Tuckey. 2005) การสังเคราะห์โปรเจสเตอโรน ทั้งที่รังไข่ , รก และ ต่อมหมวกไตชั้นนอก ต่างก็ใช้วิถีเดียวกันคือ มีโคเลสเตอรอลเป็นสารตั้งต้นการเปลี่ยนเพรกเนนโนโลนไปเป็นโปรเจสเตอโรน และฮอร์โมนตัวอื่นๆต่อไป จนกระทั้งได้เอสตราไดออล หรือ เอสโตรเจน ดังแสดงในภาพ 2 (Senger. 1997)

กลไกการทำงานของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนภายในเซลล์ เนื่องจากฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเป็นสเตียรอยด์ฮอร์โมนไม่ละลายในน้ำ จึงไม่สามารถเดินทางได้ในรูปอิสระ การเดินทางขนส่งของ โปรเจสเตอโรน จึงต้องไปกับโมเลกุลหรือโปรตีนอื่นที่สามารถละลายในน้ำได้ ในลักษณะที่ไม่เจาะจง เพื่อไปยังเซลล์เป้าหมาย การเคลื่อนย้ายผ่านเซลล์เมมเบรน และไซโทพลาสซึม เมื่อฮอร์โมนและโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นตัวพาเดินทางมายังเซลล์เป้าหมาย ฮอร์โมนจะแยกตัวออกจากตัวพาและซึมผ่านพลาสมาเมมเบรนของเซลล์เป้าหมายและเข้าไปในนิวเคลียส การจับกันระหว่างฮอร์โมนและตัวรับในนิวเคลียส โดยฮอร์โมนจับกับตัวรับในนิวเคลียสกลายเป็นโครงสร้าง Hormone receptor complex จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในการถอดรหัส และการสังเคราะห์ mRNA เพื่อผลิตโปรตีนฮอร์โมน โดยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีผลต่ออวัยวะเป้าหมายคือไปมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุมดลูกที่ได้รับการกระตุ้นโดยเอสโตรเจนในช่วง Pro estrus เมื่อได้รับ ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะถูกกระตุ้นให้เข้าสู่ Secondary phase เพื่อพร้อมที่จะได้รับการฝังตัวของตัวอ่อน การที่ฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนจะออกฤทธิ์นั้นมักจะต้องอาศัยผลของการสร้างเอสโตรเจนอยู่ด้วยเสมออีกทั้ง ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไปมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปากมดลูกและช่องคลอด ทำให้ช่องคลอดซึ่งเจริญหนาขึ้นในระยะ Follicura phase และค่อยๆหลุดในระยะที่เอสโตรเจนสูงสุด ท่อนำไข่หดตัวแรงขึ้น ทำให้ไข่เคลื่อนที่ได้

สะดวกขึ้น และเพิ่มการขับไกลโคเจนเป็นอาหารสำหรับไข่ ที่อยู่ในไข่ท่อนำไข่ ร่วมกับ ฮอร์โมนเอสโตรเจน และ กลับไปยับยั้งการหลั่งของฟอลลิเคิลสตีมูเรทติงฮอร์โมน และ ลูทีไนท์ซิงฮอร์โมน จากต่อมใต้สมองทำให้ไม่มีการตกไข่ (Weiert Velle *et al.*,2002)



ภาพ 2 ขั้นตอนการสังเคราะห์เสตียรอยด์ฮอร์โมนในรังไข่

ที่มา: senger. (1997)

ฮอร์โมนที่ควบคุมวงรอบการเป็นสัด (Hormonal Control of the Estrus Cycle)

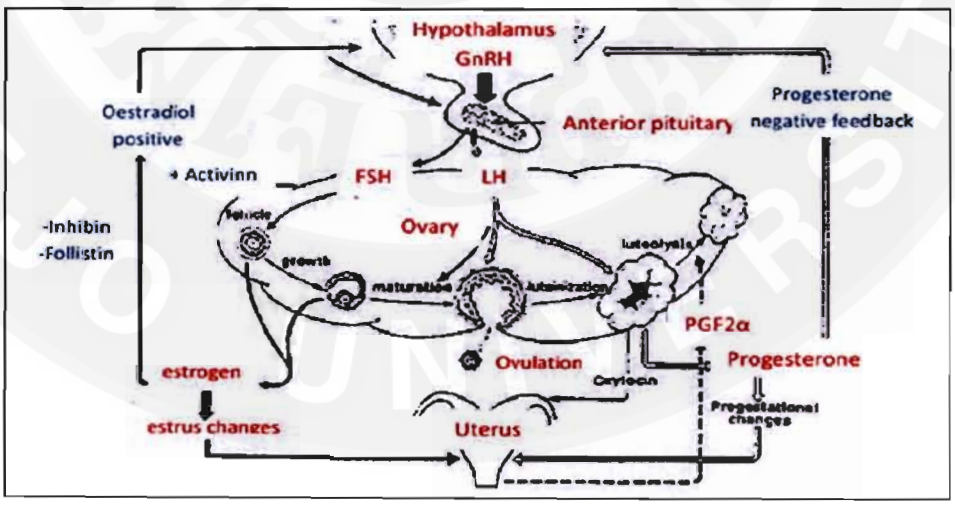
การเปลี่ยนแปลงในระบบสืบพันธุ์ช่วงวงรอบการเป็นสัดในโคนั้นจะถูกควบคุมโดยฮอร์โมนชนิดต่างๆ วงรอบการเป็นสัดที่เกิดขึ้นในสัตว์ทุกชนิดจะถูกควบคุมโดยส่วนสำคัญ 3 ส่วน คือ ระบบประสาทส่วนกลาง (Hypothalamus) ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Anterior pituitary gland) และฮอร์โมนจากรังไข่ (Ovary) ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์จะถูกสร้างมาจากอวัยวะหรือต่อมต่างๆเช่น สมองส่วนไฮโปธารามัส, ต่อมใต้สมอง, รก, มดลูก และรังไข่ ดังแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 แหล่งผลิตและหน้าที่ของฮอร์โมนที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ของสัตว์

แหล่งผลิต	ฮอร์โมน	อวัยวะเป้าหมาย	หน้าที่
ไฮโปธาลามัส	โกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมน (GnRH)	ต่อมใต้สมองส่วนหน้า	ผลิตและหลั่งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า FSH,LH และ Prolactin
	อ็อกซี่โตซิน (Oxytocin)	เต้านม,มดลูก	กระตุ้นการบีบตัวของมดลูก การคลอดและการหลั่งน้ำนม
ต่อมใต้สมองส่วนหน้า	ฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมน (FSH)	รังไข่และอัณฑะ	กระตุ้นการเจริญของถุงไข่การสร้างอสุจิและหลั่งเอสโตรเจน
	ลูทีไนซิ่งฮอร์โมน (LH)	รังไข่และอัณฑะ	กระตุ้นการตกไข่และรักษาสภาพของคอร์ปัสลูเทียม
	โปรแลคติน (Prolactin)	เต้านม	เกิดการหลั่งน้ำนมและหลังโปรเจสเตอร์โรนในสัตว์บางชนิด
	เอสโตรเจน (Estrogen)	มดลูก,รังไข่และอัณฑะ	แสดงอาการเป็นสัด,พัฒนาระบบสืบพันธุ์,การบีบของกล้ามเนื้อมดลูก
ต่อมเพศ	โปรเจสเตอร์โรน (Progesterone)	รังไข่และมดลูก	ทำงานร่วมกับเอสโตรเจนเตรียมความพร้อมของระบบสืบพันธุ์และการฝังตัวของตัวอ่อน รักษาสภาพการตั้งท้อง
รก	เอสโตรเจน (Estrogen) และโปรเจสเตอโรน (Progesterone)	รังไข่	เช่นเดียวกับต่อมเพศ
มดลูก	พรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา (Prostaglandin $F_{2\alpha}$)	รังไข่	สลายคอร์ปัสลูเทียม เพิ่มการบีบตัวของมดลูก

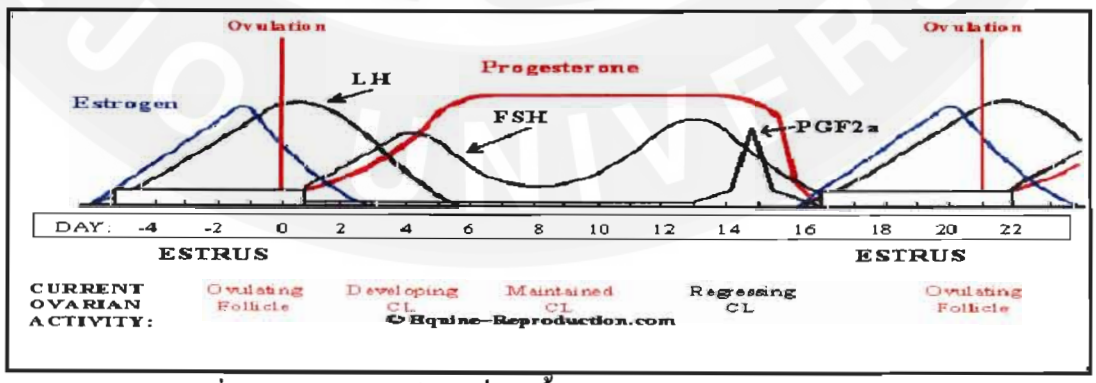
ที่มา: ดัดแปลงจาก (สมปอง, 2535)

การเปลี่ยนแปลงในระบบสืบพันธุ์ช่วงวงรอบการเป็นสัดในโคนั้นถูกควบคุมโดยฮอร์โมนชนิดต่างๆ ซึ่งเป็นผลมาจากการทำงานร่วมกันของระบบประสาทส่วนกลาง (Hypothalamus) ฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า (Anterior pituitary gland) และฮอร์โมนจากรังไข่ (Ovary) เริ่มจากสมองส่วนไฮโปทาลามัส จะสร้างและหลั่งโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมน (Gonadotropin-releasing hormone ;GnRH) ออกมาซึ่งจะไปกระตุ้นให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้า ให้มีการสร้างและหลั่งฟอลลิเคิลสตีมูเรทติงฮอร์โมน (Follicle stimulating hormone; FSH) และลูทีไนท์ซิงฮอร์โมน (Luteinizing hormone; LH) ไปมีผลต่อรังไข่ โดยกระตุ้นให้มีการเจริญของฟอลลิเคิล และมีการผลิตฮอร์โมนเอสโตรเจน (Estrogen; E_2) ออกมา ในระหว่างวันที่ 16-18 ของวงรอบการเป็นสัด โดยที่ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในกระแสเลือดจะลดลงพร้อม ๆ กัน นั้น ระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนในกระแสเลือดก็จะสูงขึ้น การเป็นสัดในโคจะอยู่ช่วง 25 ชั่วโมง ก่อนตกไข่ เมื่อตกไข่แล้ว รังไข่ส่วนที่เคยมีฟอลิเคิลอยู่จะเป็นแอ่งจากนั้นเซลล์จะเปลี่ยนเป็น Luteum cell ต่อมาเซลล์นี้จะเจริญมากขึ้นเรื่อย ๆ จนกลายเป็นคอร์ปัสลูเทียม (Corpus luteum; CL) เมื่อไม่ได้รับการผสมหรือผสมไม่ติดในประมาณวันที่ 16-18 ของวงรอบการเป็นสัด เยื่อบุด้านในของมดลูกจะสร้างฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา (Prostaglandin $F_{2\alpha}$; $PGF_{2\alpha}$) ไปสลายคอร์ปัสลูเทียมทำให้ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะลดลง สมองส่วนไฮโปทาลามัส ก็จะสร้างและหลั่ง โกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมนออกมาใหม่และมีผลต่อกระบวนการสร้างและการตกไข่ ดังแสดงในภาพ 3 ซึ่งจะวนเป็นวงรอบเช่นนี้เรื่อยไป เรียกว่า วงรอบการเป็นสัด (estrus cycle)



ภาพ 3 แสดงกลไกฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับวงรอบการเป็นสัดและการตกไข่ในโคเนื้อ
ที่มา: ดัดแปลงจาก (Bearden and Fuquay, 1997)

การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนในเลือดที่เปลี่ยนแปลงตามวงรอบของการเป็นสัด โดย จะเห็นได้ว่าระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจากการเป็นสัดในรอบที่ผ่านมาจะค่อยๆ ไต่ระดับสูงขึ้นซึ่งเป็นผลอันเนื่องมาจากการเจริญของคอร์ปัสลูเทียมซึ่งอยู่ในระยะไม่เป็นสัดในวงรอบ (Diestrus) เมื่อเริ่มเข้าถึงวันที่ 16 ถึงวันที่ 18 ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะค่อยๆ ลดลง ซึ่งเป็นผลอันเนื่องมาจากมดลูกมีการหลั่งฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา ออกมาทำการสลายคอร์ปัสลูเทียม ผลที่ตามมาหลังจากการลดลงของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนคือปริมาณของฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ค่อยๆเพิ่มสูงขึ้น แสดงให้ทราบว่าระยะดังกล่าวคือช่วงระยะปลายของระยะก่อนเป็นสัด (Proestrus) ส่วนปริมาณฟอลลิเคิลสตีมูเลติงฮอร์โมน และ ลูทีไนซิ่งฮอร์โมนที่เพิ่มสูงขึ้นแสดงให้ทราบว่าโคอยู่ในระยะเป็นสัด ซึ่งทำให้ทราบช่วงระยะเวลาการตกไข่ ส่วนระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอรโรนที่เพิ่มขึ้นสูงในระยะไม่เป็นสัดเริ่มมีการลดลงอย่างรวดเร็ว ก็สามารถคาดเดาได้ว่าสัตว์ตัวดังกล่าวกำลังใกล้เข้าสู่วงรอบการเป็นสัดในรอบใหม่ ปริมาณคลื่นขนาดเล็กของฮอร์โมนฟอลลิเคิลสตีมูลาติงฮอร์โมน และเอสโตรเจน ยังสามารถพบได้ในระยะหลังการเป็นสัดและช่วงกลางของระยะไม่เป็นสัดในวงรอบ ดังแสดงในภาพ 4 จากความรู้ในเรื่องของระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนชนิดต่างๆที่เกี่ยวข้องกับวงรอบการเป็นสัด ทำให้สามารถทำความเข้าใจในกลไกของการปลดปล่อยฮอร์โมนรวมถึงตัวรับฮอร์โมน ซึ่งทำให้มนุษย์สามารถควบคุมการทำงานและสามารถเลียนแบบการทำงานของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับวงรอบการเป็นสัดและช่วงระยะเวลาการตกไข่ได้ (Bearden and Fuquay, 1997) โดยในวงรอบการเป็นสัดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะมีการเปลี่ยนแปลงแบบผกผันกับฮอร์โมนเอสโตรเจน ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในคอร์ปัสลูเทียมจะสัมพันธ์กับการเจริญและฝ่อตัวของคอร์ปัสลูเทียม ดังนั้นฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะมีระดับต่ำในช่วงของ Follicular phase และจะเพิ่มในช่วง Luteal phase และจะมีระดับสูงสุดตลอดระยะเวลาการตั้งท้อง (Risto and Landgren, 2005)



ภาพ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนที่เกิดขึ้นในวงรอบของการเป็นสัด

ที่มา: ดัดแปลงจาก : (Bearden and Fuquay, 1997)

การตรวจวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนด้วยวิธีอีไลซ่า (Enzyme linked immunosorbent assay ; ELISA)

การตรวจวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนด้วยวิธี Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) สามารถนำไปใช้ในการบ่งชี้สถานภาพการทำงานของรังไข่ และการประเมินการทำงานของระบบสืบพันธุ์ ซึ่งเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพการจัดการระบบสืบพันธุ์และช่วยลดการสูญเสียโอกาสทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะในฝูงปศุสัตว์ในโคนม การตรวจวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน สามารถนำไปใช้ในการบ่งชี้สถานภาพการตั้งท้อง (Son et al., 1999) โดยในแม่โคตั้งท้องจะมีระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนคงที่อยู่ในระดับสูงมากกว่าหรือเท่ากับ 5 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถตรวจวัดได้จากตัวอย่างซีรั่มและน้ำนมในวันที่ 21-24 หลังการผสมเทียม โดยใช้หลักการของ Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) หรือ Enzyme immunoassay (EIA) หลักการคือใช้เอนไซม์เชื่อมต่อกับแอนติบอดี เอนไซม์จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนสับสเตรทที่ไม่มีสีเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสี (Chromomeric substrate) โดยเอนไซม์ต่างๆที่ใช้ใน ELISA ได้แก่ alkaline phosphatase, horseradish peroxidase, β galactosidase เป็นต้น การพัฒนา ELISA รูปแบบต่างๆทำให้สามารถใช้เทคนิคนี้ในการตรวจสอบทั้งเอนติเจนและแอนติบอดีในแง่คุณภาพหรือปริมาณได้ ดังแสดงในภาพ 5 วิธการทดสอบอาจทำได้ 4 แบบคือ direct ELISA , indirect ELISA , Competitive ELISA และ sandwich ELISA (ไพศาล, 2548)

1. Direct ELISA

หลักการของการทดสอบคือ เคลือบ solid phase ด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนที่ต้องการตรวจหาในสิ่งส่งตรวจ (ภาพ 5.1) เมื่อเติมสิ่งส่งตรวจที่มีแอนติเจน แอนติเจนจะจับกับแอนติบอดีดังกล่าว หลังจากที่ล้างส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกแล้ว เติมแอนติบอดีตัวที่สองซึ่งมีความจำเพาะต่อแอนติเจนที่ต้องการตรวจเช่นกันและได้ติดฉลากด้วยเอนไซม์แล้ว ลงไปในปริมาณมากเกินพอ conjugate นี้จะทำปฏิกิริยากับแอนติเจนที่จับอยู่กับแอนติบอดีตัวแรก เมื่อล้าง conjugate ส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกแล้วจึงเติมสับสเตรทลงไป การเปลี่ยนแปลงของสับสเตรทจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณแอนติเจนที่ตรวจหา วิธีการทดสอบนี้อาจเรียกว่า double antibody sandwich assay technique หรือ sandwich assay ก็ได้ (นภาธร,2536)

2. Indirect ELISA

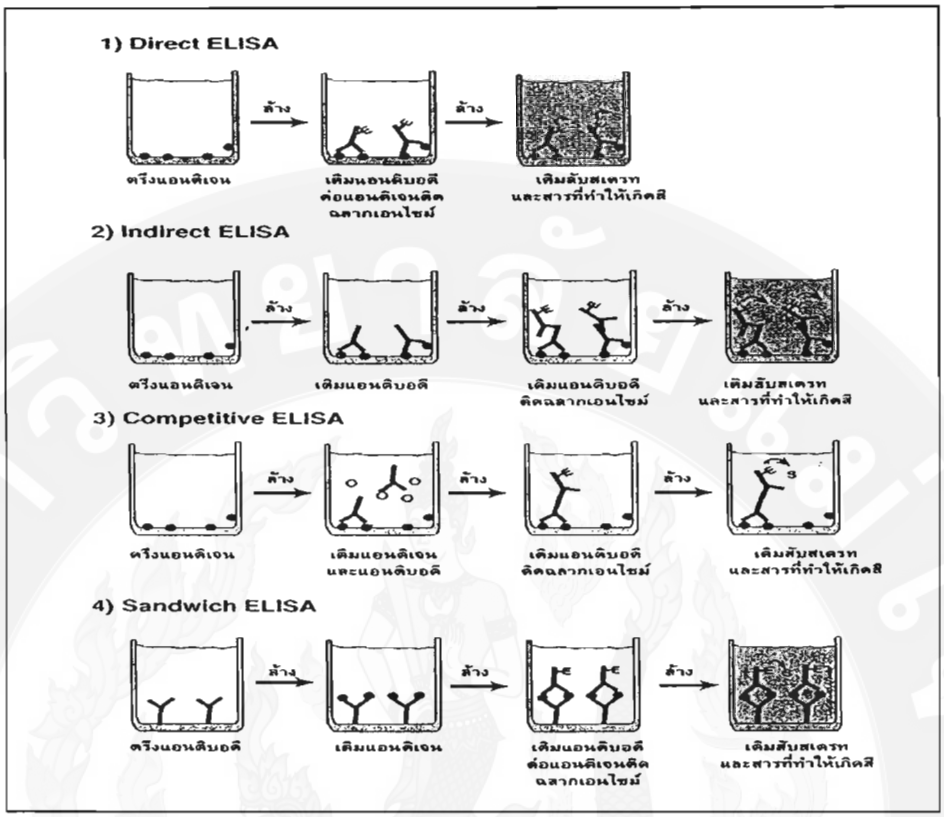
วิธีการนี้เป็นการทดสอบที่ดัดแปลงวิธี Direct ELISA ให้มีความสะดวกในการปฏิบัติมากขึ้น โดยใช้แอนติบอดีจำเพาะตัวที่สองที่ไม่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ และใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่ออิมมูโนโกลบูลินติดฉลากด้วยเอนไซม์ (ภาพ 5.2) เป็นตัวกระทำเพิ่มเติมในการทดสอบเพื่อวัดปริมาณของแอนติบอดีตัวที่สองซึ่งจับกับแอนติเจนที่ต้องการตรวจหา ซึ่งจะเป็นการวัดปริมาณของแอนติเจนในสิ่งส่งตรวจโดยทางอ้อม ในการทดสอบวิธีนี้ แอนติบอดีจำเพาะตัวแรกและแอนติบอดีจำเพาะตัวที่สอง จะต้องเป็นอิมมูโนโกลบูลินของสัตว์ต่างชนิดกัน ทั้งนี้เพื่อป้องกันมิให้เกิดการทำปฏิกิริยาโดยตรงระหว่าง conjugate กับแอนติบอดีตัวแรก (นภาธร,2536) ซึ่งจะทำให้เกิดผลบวกเท็จขึ้นการใช้วิธี indirect ELISA มีข้อได้เปรียบกว่าการใช้ direct ELISA เพื่อตรวจหาแอนติเจน เนื่องจากสามารถใช้ conjugate ชนิดเดียวสำหรับการตรวจหาแอนติเจนได้หลายๆชนิด โดยมีข้อแม้ว่าแอนติบอดีจำเพาะตัวที่สองในแต่ละระบบนั้นจะต้องได้มาจากสัตว์ชนิดเดียวกัน นอกจากนี้ ปกติแล้ว indirect ELISA จะมีความไวมากกว่า direct ELISA ในการตรวจหาแอนติเจนชนิดเดียวกัน ดังนั้นจึงเป็นการช่วยเพิ่มปริมาณโมเลกุลของเอนไซม์ต่อแอนติเจนหนึ่งโมเลกุล มีผลทำให้การทดสอบมีความไวมากขึ้น (ไพศาล, 2548)

3. Competitive ELISA

การทดสอบนี้อาศัยแอนติบอดีผสมกับตัวอย่างแอนติเจนมาตรฐานหรือตัวอย่างที่ต้องการตรวจ จากนั้นเติมลงในถาดหลุมที่เคลือบด้วยแอนติเจน (เหมือนกับกรณีของ Indirect ELISA) (ภาพ 5.3) ซึ่งถ้าเติมตัวอย่างมากแอนติบอดีที่จับกับแอนติเจนก้นหลุมมีน้อยลง ดังนั้นหลังจากการเติมแอนติบอดีตัวที่ 2 ที่เชื่อมด้วยเอนไซม์ และ มีความจะเพาะต่อแอนติบอดีตัวแรกเพื่อใช้ตรวจสอบปริมาณแอนติบอดีตัวแรกที่จับกับก้นหลุมคล้ายกับ Indirect ELISA แต่ในกรณีนี้ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของแอนติเจนสูงจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ต่ำ (สีจางลง) กว่าหลุมที่มีแอนติเจนความเข้มข้นต่ำ (ไพศาล, 2548)

4. Sandwich ELISA

แอนติเจนสามารถตรวจสอบและตรวจวัดโดยวิธี Sandwich ELISA (ภาพ5.4) วิธีนี้ใช้แอนติบอดีตรึงในถาดหลุม จากนั้นเติมตัวอย่างที่มีแอนติเจนที่ต้องการตรวจทิ้งให้ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่ตรึงอยู่หลังจากล้างเติมแอนติบอดีจำเพาะต่อแอนติเจนบริเวณที่แอนติบอดีตัวแรกจับอยู่และติดฉลากเอนไซม์หลังจากล้างแอนติบอดีอิสระเติมสับสเตรทและวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (ไพศาล, 2548)



ภาพ 5 แสดงการพัฒนารูปแบบ Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)
ดัดแปลงจาก: (ไพศาล, 2548)

ตาราง 2 แสดงข้อดีและข้อเสียของ Enzyme-linked immunosorbent assay system (ELISA)

ข้อดี	ข้อเสีย
- ความไวและความจำเพาะ สูง	- ค่าใช้จ่ายสูง
- วัดผลได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ	- เครื่องมือราคาแพง
- สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างต่อวันได้จำนวนมากตรวจได้คราวละมากๆไม่สะดวกในการตรวจทีละน้อยๆราย	- ต้องใช้แอนติบอดี ดังนั้นจึงต้องมีการสกัด แอนติบอดี จากซีรัมของสัตว์ทดลอง จึงจำเป็นต้องมีห้องทดลองที่เฉพาะเพื่อป้องกันการปนเปื้อน และเอนไซม์ที่นำมาใช้ต้องมีความจำเพาะกับ แอนติบอดี หรือ แอนติเจน เพื่อใช้ในการติดฉลาก

ที่มา: ดัดแปลงจาก (Marcobal *et al.*,2005)

การเป็นสัด (Heat or estrus)

การเป็นสัด หมายถึง ระยะที่สัตว์มีความกำหนัดและมีความต้องการทางเพศ และยอมรับการผสมจากโคเพศผู้ ซึ่งแม่โคบางตัวอาจจะแสดงอาการให้เห็นได้ชัดเจนแต่บางตัวอาจจะไม่แสดงอาการภายนอกออกมาให้เห็น การสังเกตการเป็นสัดจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องกระทำ โดยแบ่งตามอาการที่แสดงการเป็นสัด ดังนี้

1. อาการก่อนเป็นสัด ประมาณ 8 ชั่วโมง มีดังนี้
   (1) ไม่ชอบเดิน จะยืนและร้อง คมโคตัวอื่น
   (2) พยายามขึ้นขี่โคตัวอื่น แต่ไม่ยอมให้ตัวอื่นขี่
   (3) ปากอวัยวะเพศค่อนข้างบวมแดงกว่าปกติ ซึ่งสังเกตค่อนข้างยาก
   (4) จะมีน้ำเมือกใส ๆ ไหลจากปากช่องคลอด
2. อาการในระยะเป็นสัด มีดังนี้
   (1) ยืนนิ่งให้ตัวอื่นขึ้นขี่ ซึ่งเป็นอาการที่บอกได้ชัดเจนว่าโคกำลังเป็นสัด
   (2) ร้องบ่อยมาก แสดงอาการตื่นตกใจง่าย
   (3) ไม่สนใจอาหารและน้ำนมลด
   (4) คมและขึ้นขี่ตัวอื่น ๆ

แม่โคที่เป็นสัด แต่ไม่ได้แสดงอาการภายนอกให้เห็นมากนัก เรียกว่า "การเป็นสัดเงียบ" (Silent Heat) จึงจำเป็นต้องสังเกตหลาย ๆ อย่างรวมกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งจะต้องจำวันที่เป็นสัดครั้งที่ผ่านมา เพื่อสังเกตอาการของการเป็นสัดใหม่ในระยะเวลาประมาณ 21 วัน ระยะเวลาของการเป็นสัด(Duration of Estrus) ในโคเนื้อระยะนี้อยู่ในช่วง 10 – 26 ชั่วโมง เฉลี่ย 18 ชั่วโมง ระยะเวลาของการเป็นสัดแตกต่างกันเนื่องจากสาเหตุหลายอย่าง เช่น ชนิดของสัตว์ พันธุ์สัตว์ อายุ อาหาร ฤดูกาลและสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ (ยอดชาย, 2547)

ภาพ 6 อาการการเป็นสัด

ที่มา: ดัดแปลงจาก (ยอดชาย, 2547)

วงรอบการเป็นสัด (Estrous cycle)

วงรอบของการสืบพันธุ์หรือวงรอบการเป็นสัดของโคเนื้ออยู่ภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมนชนิดต่างๆหลายชนิด โดยวงรอบการเป็นสัดสามารถแบ่งเป็น 2 ระยะตามการพบฟอลลิเคิล และคอร์ปัสลูเทียม คือระยะที่ฟอลลิเคิลเจริญทำงานมากเรียกว่า ระยะฟอลิคิวลาเฟส (Follicular phase) เป็นช่วงที่รวมระยะก่อนเป็นสัดและระยะเป็นสัด ส่วนระยะที่มีคอร์ปัสลูเทียมทำงานเรียกว่า ระยะลูเทียลเฟส (Luteal phase) โดยรวมระยะหลังการเป็นสัดและระยะไม่เป็นสัดในวงรอบ โดยปกติโคจะมีวงรอบการเป็นสัดเฉลี่ย 21 วัน (ช่วง18-24 วัน) ในช่วงเวลานี้เป็นช่วงของการเจริญพันธุ์ในการเตรียมเป็นสัด หรือช่วงการเป็นสัด และการตกไข่ วงรอบการเป็นสัดแบ่งเป็น 4 ระยะ ตามลักษณะพฤติกรรม การเปลี่ยนแปลงอวัยวะสืบพันธุ์ และการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน ที่มีความสอดคล้องกัน โดยแบ่งออกเป็น 4 ระยะ คือ

1.ระยะก่อนการเป็นสัด (Pro-oesturs)

วันที่ 18-19: ของการเป็นสัด คอร์ปัสลูเทียมจากการเป็นสัดในรอบที่แล้วฝ่ออย่างรวดเร็วและมีการเพิ่มขึ้นของลูทีไนซิ่งฮอร์โมน และฟอลลิเคิลสตีมูลาติงฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองอย่างรวดเร็ว (Parker and Mathis, 2004)

วันที่ 19-20: ของการเป็นสัดมีการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนเอสโตรเจนสูงในเลือดและมีการเปลี่ยนแปลงของถุงไข่ เจริญอย่างรวดเร็วสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือด คอร์ปัสลูเทียม เสื่อมสลายไป ส่งผลให้ปริมาณของลูทีไนซิ่งฮอร์โมน เพิ่มอย่างรวดเร็ว (Parker and Mathis, 2004)

2.ระยะเป็นสัด (Oesturs)

วันที่ 0: ของการเป็นสัด เป็นระยะที่ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ มีการเจริญเติบโตเต็มที่ และเกิดการตกไข่ตามมาแสดงการเป็นสัด โคจะแสดงการยอมรับการผสม และยืนนิ่งเมื่อมีตัวอื่นปีน (Standing heat) มีการเพิ่มขึ้นของเอสโตรเจน และ ระดับลูทีไนซิ่งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง จะเพิ่มขึ้นสูงมาก โดยมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วก่อนที่จะตกไข่ตามมา (Parker and Mathis, 2004)

3.ระยะหลังการเป็นสัด (Metoesturs)

วันที่ 1-2: ของการเป็นสัด โดยเซลล์ของไข่มีการเปลี่ยนแปลงเป็น Luteal cells ของคอร์ปัสลูเทียม การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดจากอิทธิพลของลูทีไนซิ่งฮอร์โมน

ในระยะนี้โคจะหยุดแสดงอาการเป็นสัด และรังไข่มีการสร้างคอร์ปัสลูเทียม และ เริ่มมีการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Parker and Mathis, 2004)

วันที่ 2-5: ของการเป็นสัด คอร์ปัสลูเทียมมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ทั้งในด้านขนาดและหน้าที่ ซึ่งเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

4.ระยะไม่เป็นสัดในวงรอบ (Dioesturs)

วันที่ 5-16: ของการเป็นสัด เป็นระยะที่มีคอร์ปัสลูเทียม เจริญเติบโตเต็มที่และทำงานได้ดีที่สุดใน 15 หรือ 16 วัน มดลูกพร้อมรับการตั้งท้อง มีระดับของฮฮร์โมนโปรเจสเตอโรนสูง เพื่อยับยั้งการหลังของลูทีไนซิ่งฮอร์โมน จากต่อมใต้สมองในช่วงท้ายของระยะนี้ถ้าโคไม่มีการตั้งท้อง ก็จะมีการสร้างฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา จากมดลูกมาสลายคอร์ปัสลูเทียมหลังจากนั้นก็จะมีการเริ่มขบวนการเป็นสัดในรอบใหม่ (Parker and Mathis, 2004)

การเหนี่ยวนำการเป็นสัด (Estrus synchronization)

การเหนี่ยวนำการเป็นสัดคือการจัดการให้สัตว์หนึ่งตัว หรือหลายตัวเป็นสัดพร้อมกันในเวลาที่กำหนดไว้หรือในเวลาที่ต้องการ โดยทั่วไปใช้ฮอร์โมนที่สกัดจากธรรมชาติหรือสังเคราะห์มาให้สัตว์ โดยเลียนแบบการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนที่ควบคุมวงรอบการเป็นสัดตามธรรมชาติ (Ball and Peter, 2004) การควบคุมวงรอบการเป็นสัดขึ้นกับการจัดการฮอร์โมนที่มีการเปลี่ยนแปลงในวงรอบการเป็นสัดปกติ เช่น การควบคุมการเจริญของฟอลลิเคิลในสัตว์ที่มีวงรอบการเป็นสัด โดยมีกระบวนการหลัก คือ กระบวนการสลายคอร์ปัสลูเทียม หรือ กระบวนการลดการหลั่งของฮอร์โมน โปรเจสเตอโรน ซึ่งในธรรมชาติกระบวนการนี้จะเกิดขึ้นในวันที่ 17 และ 18 ของวงรอบการเป็นสัด ดังนั้นการทำให้ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดลงสามารถทำได้โดยการจัดการจากภายนอกตัวสัตว์ โดยการเลียนแบบการทำงานของคอร์ปัสลูเทียม โดยการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ติดต่อกันหลายวันแล้วหยุดให้ (Chenault *et al*., 2003) โดยมีรูปแบบการใช้ฮอร์โมนดังต่อไปนี้

1. โปรแกรมการใช้ฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟ่า ($PGF_{2\alpha}$)

เป็นโปรแกรมรูปแบบแรกที่ได้รับการพัฒนามาเพื่อควบคุมวงจรการเป็นสัดโดยฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟ่า สามารถออกฤทธิ์ทำให้คอร์ปัสลูเทียมที่สมบูรณ์ หรือคอร์ปัสลูเทียม ตั้งแต่วันที่ 6 ของวงจรการเป็นสัดเกิดการสลายตัวเป็นผลให้ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดต่ำลง การหลั่งของลูทีไนซิ่งฮอร์โมนที่มีความถี่เพิ่มสูงขึ้นกระตุ้นให้มีการพัฒนาของ

ฟอลลิเคิลชนิด dominant ก่อนที่จะเกิดการเพิ่มขึ้นของลูทีไนซิ่งฮอร์โมนอย่างฉับพลัน (LH surge) เกิดขบวนการตกไข่ (Mihm *et al.*, 2002) การกระตุ้นการเป็นสัดโดยการใช้ฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา ฉีดเพื่อสลายคอร์ปัสลูเทียม โดยโปรแกรมนี้จะได้ผลดีในโคที่ทราบแน่ชัดว่ามีวงรอบการเป็นสัดมาแล้ว เป็นการจัดการให้โคเป็นสัดพร้อมกันเป็นจำนวนมาก ฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟาที่มีจำหน่ายในท้องตลาดขณะนี้จะเป็นสังเคราะห์หรือจากธรรมชาติที่ออกฤทธิ์เหมือนฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา ในสัตว์ ซึ่งสามารถใช้ได้ 2 กรณี คือ

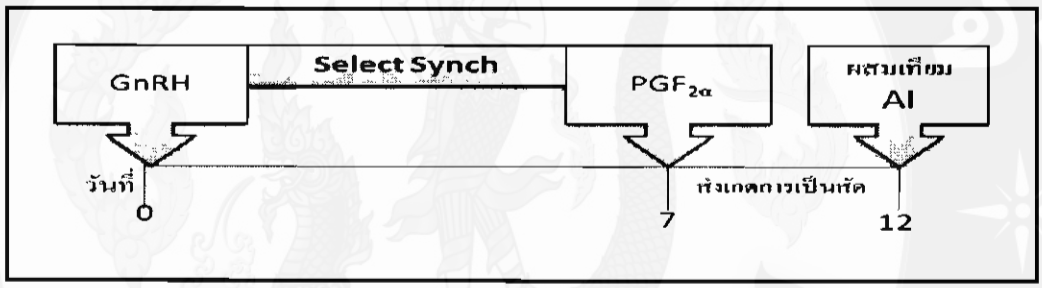
1.ในโคที่รู้วันเป็นสัดที่แน่นอนมาก่อนให้จัดโคที่เป็นสัดมาแล้ว 7-14 วัน ให้เป็นกลุ่มเดียวแล้วฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา เพียงครั้งเดียวโคที่ตอบสนองจะเป็นสัดภายใน 30-48 ชั่วโมงหลังจากฉีด โดยเฉลี่ยจะพบอาการเป็นสัดที่แท้จริงที่ 40 ชั่วโมงหลังการฉีด โดยถ้าสามารถล้วงตรวจคอร์ปัสลูเทียมโคในกลุ่มนี้ได้ และเลือกฉีดเฉพาะโคที่ตรวจพบคอร์ปัสลูเทียม จะได้ผลแม่นยำยิ่งขึ้น (สรรเพชญ, 2548)

2.ในโคที่มีวงรอบการเป็นสัด แต่ไม่ทราบวันที่แน่นอน จะใช้วิธีการฉีดฮอร์โมนโปรสตาแกลนดิน 2 ครั้ง ห่างกัน 11-14วัน เพื่อเป็นการลดค่าใช้จ่ายหลังจากฉีดครั้งแรก ภายใน 3 วัน ให้สังเกตการเป็นสัดโคตัวใดที่เป็นสัดก็สามารถผสมได้โดยไม่ต้องฉีดครั้งที่ 2 โคที่ตอบสนองจะแสดงอาการเป็นสัด ภายใน 30-48 ชั่วโมงแต่การใช้ฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟาจะมีโคตอบสนองเพียง 70 % Evans *et al.*, (2003) รายงานว่าการฉีดฮอร์โมนเอสตร้าไดออลเบนโซเอทในขนาด 0.5 มิลลิกรัม ที่ 24 ชั่วโมงภายหลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟาสามารถช่วยกำหนดและร่นระยะเวลาการเป็นสัดและตกไข่เช่นเดียวกับการฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา ในช่วงต้นของระยะ Diestrus ของวงจรการเป็นสัดเป็นผลให้แม่โคแสดงอาการเป็นสัดเร็วขึ้น นอกจากนั้นยังมีรายงานว่าการฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา 2 ครั้ง ห่างกัน 8 ชั่วโมง สามารถเหนี่ยวนำให้แม่โคที่พบว่ามีคอร์ปัสลูเทียมที่สมบูรณ์และมีฟอลลิเคิลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่น้อยกว่า 8 มิลลิเมตร ปรากฏอยู่ภายในรังไข่แสดงอาการเป็นสัดภายในระยะ 5 วัน และอัตราการผสมติดมีเปอร์เซ็นต์เพิ่มสูงขึ้น (Répési *et al.*, 2005) การผสมเทียมมักแนะนำให้ทำการผสมภายหลังที่สัตว์แสดงอาการเป็นสัดยืนนิ่ง 12 ชั่วโมง หรืออาจทำการผสมเทียมแบบกำหนดระยะเวลาครั้งเดียวระหว่าง 72-80 ชั่วโมง ภายหลังการฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟาในเข็มสุดท้ายกำหนดให้ผสมเทียม 2 ครั้ง ที่ 72 และ96 ชั่วโมง (Lucy *et al.*, 1986) อย่างไรก็ตาม พบว่าการผสมเทียมแบบกำหนดระยะเวลาให้อัตราการผสมติดต่ำกว่าการผสมเทียมเมื่อตรวจพบการเป็นสัด

2. โปรแกรมการใช้โกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมน (GnRH) ร่วมกับ ฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดิน เอฟทูแอลฟ่า ($PGF_{2\alpha}$)

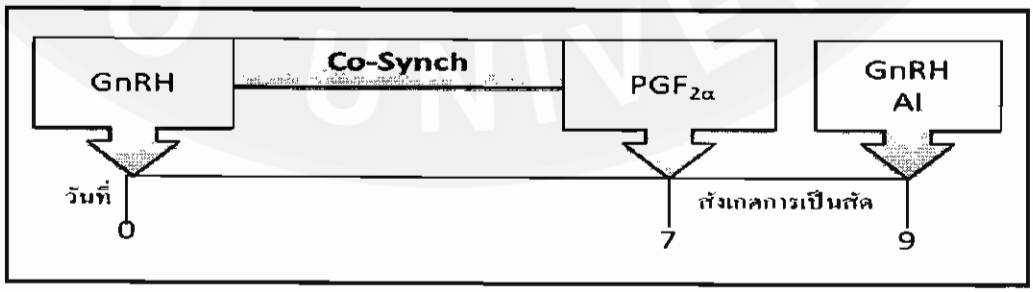
การกระตุ้นการเป็นสัดโดยการใช้โกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมน ร่วมกับการกระตุ้นการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา โดยมีวิธีการใช้หลายรูปแบบให้เลือกตามความเหมาะสมของเวลาและการจัดการดังนี้

1. Select Synch (ภาพ 7) เป็นการกระตุ้นให้มีการสร้างฟอลลิเคิล แล้วกระตุ้นให้เกิดการเป็นสัด เมื่อตรวจพบการเป็นสัดแล้วจึงทำการผสมเทียม โดยเริ่มฉีดโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมน (วันที่ 0) และอีก 7 วันต่อมา (วันที่ 7) ฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา แล้วคอยตรวจเช็คการเป็นสัด และผสม ซึ่งควรจะเสร็จสิ้นภายใน 5 วัน หลังจากการฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา (วันที่ 12) (สรรเพชญ, 2548)



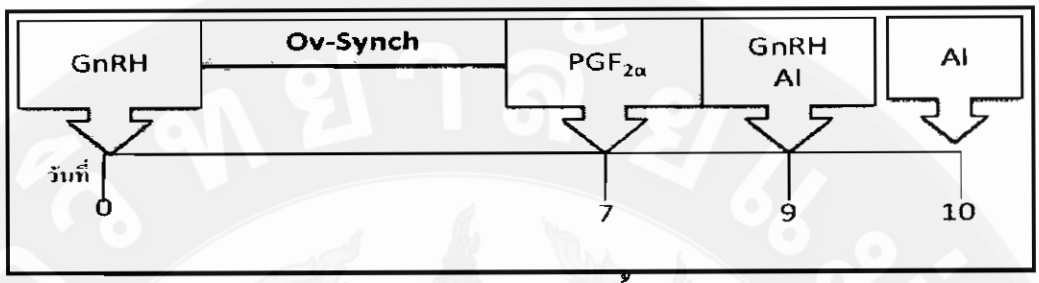
ภาพ 7 แสดงโปรแกรมกระตุ้นการเป็นสัด Select Synch ในโคเนื้อ
ที่มา: ดัดแปลงจาก (สรรเพชญ, 2548)

2. Co-Synch (ภาพ 8) เป็นการกระตุ้นเช่นเดียวกับ Select Synch แต่ 2 วันหลังจากการฉีด ฮอร์โมนโปรสตาแกลนดิน (วันที่ 9) จะทำการฉีดโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมน อีกครั้ง แล้วทำการผสมเทียมเลยซึ่งเป็นการกำหนดเวลาผสมเทียมไว้เลย (สรรเพชญ, 2548)



ภาพ 8 แสดงโปรแกรมกระตุ้นการเป็นสัด Co-Synch ในโคเนื้อ
ที่มา: ดัดแปลงจาก (สรรเพชญ, 2548)

3. Ov-Synch (ภาพ 9) คล้ายๆกับ Co-Synch แต่รอให้ตกไข่เสียก่อนแล้วจึงค่อยผสมเทียม เป็นการใช้โกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมน ฉีด 2 ครั้ง และมีการฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา คั่นกลาง 1 ครั้ง (สรรเพชญ, 2548)



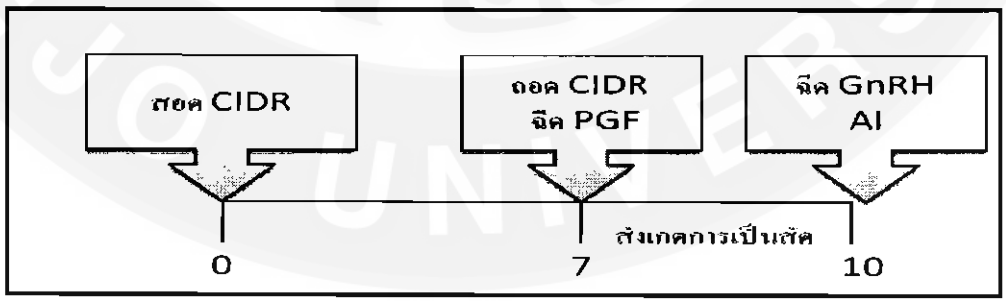
ภาพ 9 แสดงโปรแกรมกระตุ้นการเป็นสัด Ov-Synch ในโคเนื้อ
ที่มา: ดัดแปลงจาก (สรรเพชญ, 2548)

ปัจจุบันโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่รูปแบบนี้ ได้รับการพัฒนาอย่างมากมีการใช้ในหลายรูปแบบให้ผลดีและได้รับการยอมรับสูงโดยโปรแกรม Ovsynch เป็นโปรแกรมพื้นฐาน เริ่มจากการฉีดโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมนเข็มแรก เพื่อไปทำให้ฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่เกิดการตกไข่และเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญและพัฒนาของฟอลลิเคิลชุดใหม่พร้อมกัน (Xu *et al.*, 2000) หลังจากนั้นจึงมีการฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟ่า 7 วันถัดมา เพื่อสลายคอร์ปัสลูเทียมที่มีอยู่ตามธรรมชาติหรือคอร์ปัสลูเทียมที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมนในครั้งแรกก่อนที่จะฉีดโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมนในเข็มที่สอง ที่ 48 ชั่วโมง เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ที่ระยะ 24-32 ชั่วโมงถัดมา ทำให้สามารถทำการผสมเทียมที่ 16 ชั่วโมงภายหลังการฉีดโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมนครั้งที่สอง โดยไม่จำเป็นต้องทำการสังเกตการเป็นสัด (Pursley *et al.*, 1995) อย่างไรก็ตามพบว่าการผสมเทียมเมื่อสังเกตพบการเป็นสัดให้อัตราการผสมติดสูงกว่าเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับในกรณีที่ผสมเทียมแบบกำหนดระยะเวลา (Jordan *et al.*, 2002) สำหรับโปรแกรม Presynch โดยการฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟ่า 2 ครั้ง ห่างกัน14 วัน ก่อนเริ่มโปรแกรม Ovsynch ที่ 12 วัน หรือ 14 วันถัดมา (Presynch + Ovsynch) เป็นการควบคุมระยะเวลาการเริ่มโปรแกรม Ovsynch ให้อยู่ในช่วงระยะ Diestrus ของวงจรการเป็นสัด เนื่องจากมีรายงานว่าผลการตอบสนองของแม่โคต่อการเริ่มโปรแกรม Ovsynch ระยะต่างๆ ของวงจรการเป็นสัดมีความแตกต่างกัน โดยพบว่าการเริ่มโปรแกรม Ovsynch ในช่วงต้นของระยะ Diestrus (วันที่ 5-12) ของวงรอบการเป็นสัดหรือใกล้กับช่วงกลางของวงรอบการเป็นสัดให้ผลการตอบสนองดีกว่าระยะอื่น (Moreira *et al.*, 2000)

3. โปรแกรมการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่วมกับฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟ่า

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ใช้มีอยู่หลายรูปแบบ อาทิเช่น ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด ซึ่งมี 2 แบบ คือ แบบเกลียว (progesterone releasing intravaginal device;PRID®) และ การใช้ซีดาร์ (Controlled Intravaginal Drug Releasing Device ; CIDR®) สาร norgestomet ชนิดฝังใต้ผิวหนังบริเวณใบหู หรือ สาร melengestrol acetate (MGA) ชนิดให้กินผสมในอาหาร และ แบบฟองน้ำสอดช่องคลอด (Intravaginal Sponges) ซึ่งในแต่ละรูปแบบมีความแตกต่างกันในแง่ของความสะดวกในการใช้ และประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ ในปัจจุบันมีฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด CIDR® เท่านั้น ที่ได้รับความนิยม และมีประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่และสามารถใช้ร่วมกับการผสมเทียมแบบกำหนดระยะเวลาได้ โดยการใช้แท่งไนล่อนหุ้มด้วยซิลิโคนและเคลือบด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสอดเข้าไปในช่องคลอดเป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงถอดออกพร้อมกับฉีดฮอร์โมนโปรสตาแกลนดิน กระตุ้นการเป็นสัดให้พร้อมกันแล้วทำการผสมเทียม (สรรเพชญ, 2548) การกระตุ้นการเป็นสัดแบบนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อได้ในสถานการณ์ต่างๆกัน ดังนี้

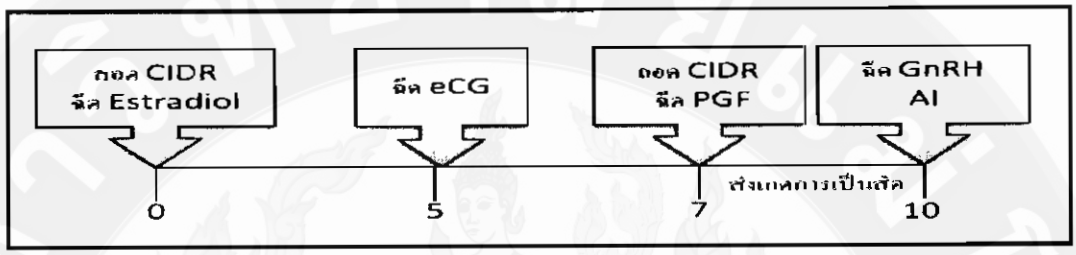
1.ในกรณีที่โคมีวงรอบการเป็นสัดปกติ ต้องการให้เป็นสัดพร้อมกันหลายๆตัว เมื่อตรวจพบการเป็นสัดแล้วจึงผสมเทียม (ภาพ 10) โดยทำการสอด CIDR® ไว้ในช่องคลอดเป็นเวลา 7 วัน แล้วถอด CIDR® ออก จากนั้นทำการฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟ่ากระตุ้นการเป็นสัด แล้วคอยตรวจเช็คการเป็นสัด และผสมซึ่งควรจะเสร็จสิ้นภายใน 72 ชั่วโมงหลังจากการฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟ่าในวันที่ 10 หากยังไม่เป็นสัดให้ทำการฉีดโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมน แล้วทำการผสมเทียมได้เลย (สรรเพชญ, 2548)



ภาพ 10 แสดงโปรแกรมกระตุ้นการเป็นสัด CIDR® ในโคเนื้อ

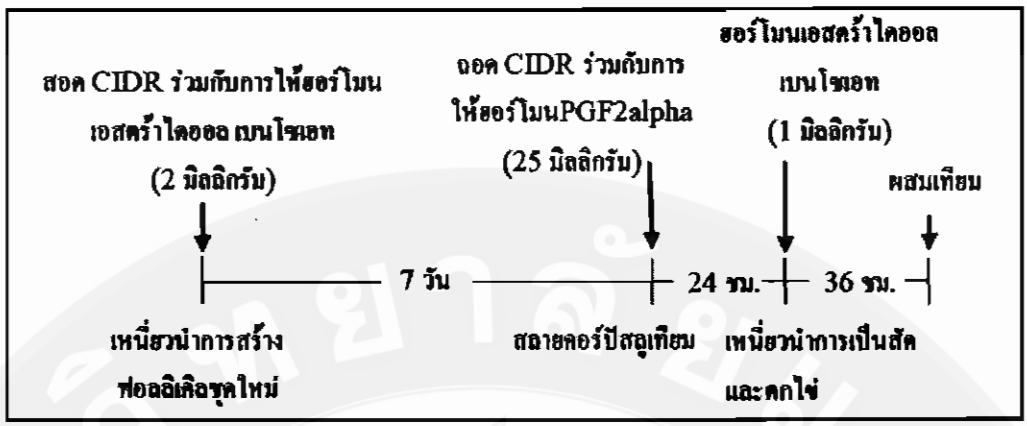
ที่มา: ดัดแปลงจาก (สรรเพชญ, 2548)

2.ในกรณีที่ไม่แน่ใจว่าโคมีวงรอบการเป็นสัดอยู่แล้วหรือโคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดมานาน (ภาพ 11) ฉีดฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท เพิ่มในวันที่สอด CIDR® และทำการฉีด eCG (equine Chorionic Gonadotropin) 48 ชั่วโมงก่อนถอด CIDR® และหลังจากถอด CIDR® ออก ทำการฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟ่าในวันที่ 7 แล้วทำการฉีดโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมน ทำการตรวจเช็คสัดและผสมเทียม (สรรเพชญ, 2548)



ภาพ 11 แสดงโปรแกรมกระตุ้นการเป็นสัด CIDR® ในโคเนื้อ
ที่มา: ดัดแปลงจาก (สรรเพชญ, 2548)

โดยปกติแล้วการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดในการเหนี่ยวนำการเป็นสัด มีระยะเวลาประมาณ 7-9 วัน หรือไม่เกิน 10-12 วัน เนื่องจากการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในระยะนาน 14-16 วัน อาจส่งผลทำให้ไข่ ภายในฟอลลิเคิลมีคุณภาพลดต่ำลง (Revah and Butler, 1996) ดังนั้นโปรแกรมการเหนี่ยวนำโดยใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด จึงให้อยู่ในระยะสั้น 7-8 วัน โดยจำเป็นต้องฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟ่าร่วมด้วยเสมอ เพื่อทำหน้าที่ในการสลายคอร์ปัสลูเทียมที่มีอยู่ตามธรรมชาติซึ่งอาจให้ในขณะที่ถอดเอาแท่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนออกจากช่องคลอด หรือ 1-2 วันก่อนถอด โดยพบว่าระยะเวลาที่ฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟ่า นั้นมีผลต่อการสลายของคอร์ปัสลูเทียม ระยะเวลาการเป็นสัด และระยะเวลาการตกไข่ (Hittinger *et al.*, 2004) เมื่อระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดต่ำลงเป็นผลให้ความถี่และระดับของลูทีไนท์ซิงฮอร์โมน เพิ่มสูงขึ้นฟอลลิเคิลชนิด dominant มีการพัฒนา แม่โคส่วนใหญ่หรือมากกว่า 85% แสดงอาการเป็นสัดในระยะเวลา 36-60 ชม. ถัดมา ขณะที่การให้ฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท ทั้งในรูปแบบที่เป็นแคปซูล10 มิลลิกรัม หรือแบบฉีด ขนาด 2 มิลลิกรัม ร่วมกับการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดสามารถเหนี่ยวนำให้ฟอลลิเคิลมีการพัฒนา และ มีการเพิ่มระดับขึ้นของฟอลิเคิล สตรีมูลาติ้งฮอร์โมน และเกิดการสร้างฟอลลิเคิลชุดใหม่ขึ้นในระยะ 3-5 วัน ขณะที่การให้ฮอร์โมนเอสตร้าไดออลเบนโซเอทในปริมาณที่มากขึ้นเป็นผลให้เกิดการเกิดความล่าช้าในการสร้างฟอลลิเคิลชุดใหม่ (Baruselli *et al.*,2003)



ภาพ 12 แสดงรายละเอียดโปรแกรมการเหนี่ยวการเป็นสัดและตกไข่ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด (CIDR®) ร่วมกับฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟ่า

ที่มา: ดัดแปลงจาก (สรรเพชญ, 2548)

การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อ

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดมีประโยชน์อย่างมากเมื่อใช้ในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา โดยที่ไม่ต้องมีการตรวจสัด ในปัจจุบันวงการปศุสัตว์ได้มีการนำเทคโนโลยีเข้ามาใช้ในการเพิ่มผลผลิตโดยเฉพาะการเพิ่มประสิทธิภาพด้านการผสมเทียมโคให้มีประสิทธิภาพการผลิตมากขึ้น โดยเฉพาะในโคเขตร้อนที่ประสพปัญหาอย่างมากในเรื่องของการจับสัดและระยะเวลาในการเป็นสัด จึงได้มีการคิดค้นวิธีการใช้ฮอร์โมนในการควบคุมการทำงานของคอร์ปัสลูเตียม ซึ่งทำให้สามารถกำหนดเวลาในการเป็นสัดและตกไข่ของโคได้ (Bo *et al.*, 2002) ซึ่งการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการใช้ฮอร์โมนเอสตาร์ไดออล์ เบนโซเอท เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมอย่างมากในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาซึ่งใช้ได้ผลทั้งในโคนมและโคเนื้อ ซึ่งฮอร์โมนเอสตาร์ไดออล์ เบนโซเอทมีคุณสมบัติในการชักนำให้เกิดคลื่นฟอลลิเคิล (follicular wave) ก่อนที่จะมีการตกไข่ได้ ซึ่งโดยทั่วไปจะมีการใช้ฮอร์โมนฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท หลังจากสิ้นสุดการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR® ซึ่งมีงานวิจัยยืนยันผลออกมาหลายงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอร์โรนแบบสอดช่องคลอด CIDR® ร่วมกับการการใช้ฮอร์โมนเอสตาร์ไดออล เบนโซเอทสามารถใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคนมและโคเนื้ออย่างได้ผลอีกทั้งยังมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของการเป็นสัดหรือการตกไข่ของโคที่มีปัญหาทางด้านระบบสืบพันธุ์ได้อีก พบว่าการใช้วิธีนี้มีผลทำให้การเหนี่ยวนำให้เป็นสัดพร้อมกันสูงและอัตราการผสมติดดีเป็นที่พอใจ การทดลองระยะเวลาที่ให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน พบว่า การให้ในระยะยาว (18-21 วัน) ให้ผลในการตั้งท้องที่ต่ำ ส่วนการ

ให้ในระยะเวลาที่สั้น (7-12 วัน) ให้ผลในการตั้งท้องที่สูงกว่าและยอมรับได้ (Ball and Peter, 2004) การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาประสิทธิภาพระบบสืบพันธ์และช่วยในด้านการจัดการผสมเทียมโดยฮอร์โมนนี้ใช้ได้ในโคที่มีวงรอบการเป็นสัดและไม่มีวงรอบการเป็นสัดก็ได้ แต่การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด CIDR® นี้ควรใช้ร่วมกับสารอื่น เช่น ฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา และฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท เพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่มากขึ้น

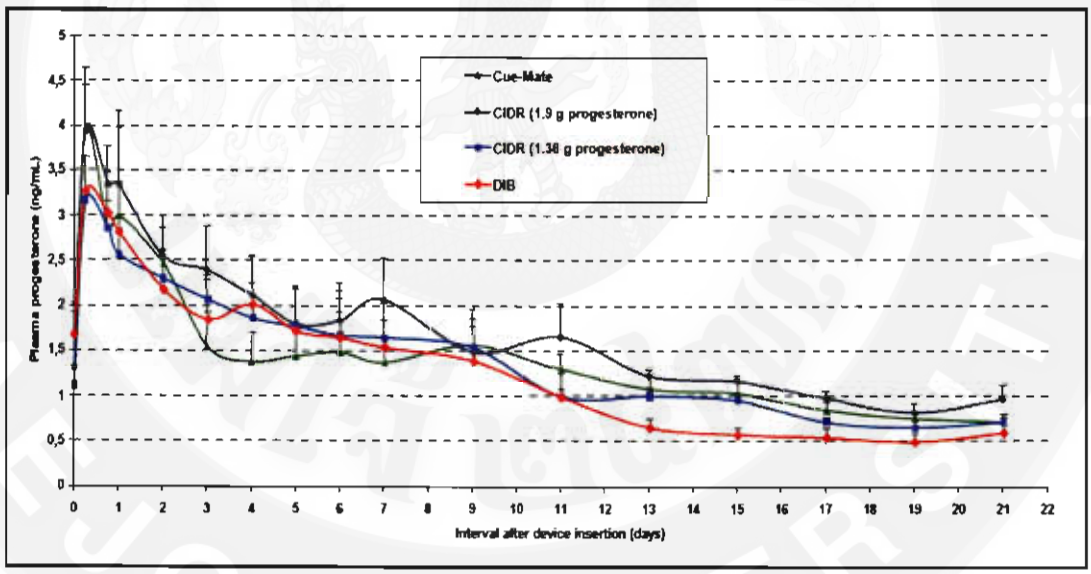
Martinez *et al.*,(2005) รายงานว่าเมื่อให้ฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท ขนาด 1 มิลลิกรัมหลังจากมีการเหนี่ยวนำด้วย CIDR® พบว่า 90% ของโคในฝูงเป็นสัดภายใน 24 ชั่วโมง เช่นเดียวกับ Cavalieri *et al.*,(2003) ซึ่งพบว่าฮอร์โมนอีสตราไดออลและฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสามารถนำมาใช้ในการควบคุมการเกิดคลื่นฟอลลิเคิล การเป็นสัดและการตกไข่ โดยการให้ฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท ระหว่างที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดในช่วงก่อนการเป็นสัดทำให้มีการตกไข่ในโคสาวและแม่โค สอดคล้องกับการรายงานของ O'Rourke *et al.*,(2000) พบว่าการใช้ฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท ในระยะก่อนการเป็นสัด ภายหลังจากมีการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟาช่วยลดระยะห่างของการเป็นสัด และการตกไข่ ซึ่งทำให้สามารถตรวจหาวันเพื่อทำการผสมเทียมได้ง่ายขึ้น การให้ฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอทขนาด 1 มิลลิกรัม ยังทำให้ความเข้มข้นของฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอทสูงสุดในพลาสม่าเหมือนกับที่เกิดขึ้นในวงรอบการเป็นสัดตามธรรมชาติด้วย

รายงานการศึกษาการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดในประเทศไทยโดย องอาจ และคณะ (2546) ได้ศึกษาอัตราการเป็นสัด และเปอร์เซ็นต์การเป็นสัดยืนนิ่ง ในโคที่ให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด CIDR®ที่ใช้แล้ว โดยใช้โคทดลอง 19 ตัว ซึ่งโคทุกตัวสอดด้วย CIDR® ที่ใช้แล้วเป็นเวลานาน 7 วัน และฉีดฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท ขนาด 1 มิลลิกรัม เข้ากล้ามเนื้อ 24-30 ชั่วโมงหลังจากถอด CIDR® ออก พบว่าอัตราการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและเปอร์เซ็นต์การเป็นสัดยืนนิ่ง มีค่า 94.74 % (n =18/19) และ 63.16% (n =12/19%) ตามลำดับ การศึกษานี้แสดงว่าฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดที่ใช้แล้วสามารถนำกลับมาใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้ สอดคล้องกับ นุศรา และคณะ (2548) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการใช้โปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด CIDR® ที่ผ่านการใช้แล้วสองครั้งในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโค 29 ตัว โดยทำการสอด CIDR® เข้าไปในช่องคลอดโคเป็นเวลา 7 วัน ในวันที่ถอด CIDR® ทำการฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา ขนาด 2 มิลลิลิตรเข้าที่แอ่งโคนหางตรงรอยต่อระหว่างกระดูกอิชเชียมและลำไส้ใหญ่ส่วนปลายสุด และทำการฉีดฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท เข้ากล้ามเนื้อภายหลังถอด CIDR® 24 ชั่วโมง

พบว่า อัตราการเหนี่ยวนำการเป็นสัดภายใน 60 ชั่วโมง หลังถอด CIDR® เท่ากับ 100%(29/29) แม่โคยืนนิ่งให้ตัวอื่นปีน 86%(25/29) และแม่โคส่วนใหญ่ 80%(20/25)แสดงอาการเป็นสัดยืนนิ่งที่ 48 ชั่วโมงหลังถอดอุปกรณ์ แม่โคที่ทำการสอด CIDR® ที่ใช้แล้วสองครั้งพบว่ามีการตกไข่ จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด CIDR® ที่ใช้แล้วสองครั้งสามารถนำกลับมาใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและสามารถทำให้เกิดการตกไข่ได้ ปัญหาส่วนใหญ่ที่พบเมื่อทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้โปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด CIDR®ที่ผ่านการใช้แล้วนั้น คือ มักพบปัญหาเมือกปนหนองบริเวณปากช่องคลอดในช่วงที่โคแสดงอาการเป็นสัดหลังถอดโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด CIDR® แต่ยังไม่มีรายงานถึงการติดโรคที่มีความสัมพันธ์กับการใช้โปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด CIDR® ที่ผ่านการใช้แล้ว ซึ่งสามารถแก้ปัญหานี้ได้ โดยการใช้วิธีการล้างทำความสะอาดแล้วนำไปอบนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องอบไอน้ำความร้อนสูงเป็นวิธีที่สามารถฆ่าแบคทีเรีย ไวรัส และสปอร์ของเชื้อราได้ ทั้งยังสามารถลดปัญหาเมือกปนหนองบริเวณปากช่องคลอด

สมชัย และ คณะ (2544) ศึกษาประสิทธิภาพการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาโดยการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิด CIDR® ร่วมกับฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟาทันทีหลังจากถอด CIDR® และการให้ฮอร์โมน Human chorionic gonadotropin (hCG) และโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมน รูปแบบต่างๆ ในการเหนี่ยวนำการตกไข่ ทำการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา 56 ชั่วโมงหลังจากการฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา ในแม่โคเนื้อสายพันธุ์ฮินดูบราซิล ลำดับที่ของการให้นมที่ 2 จำนวน 78 ตัว โดยแบ่งกลุ่มแม่โคเนื้อออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม จำนวน 11 ตัว กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา แบบสังเคราะห์ จำนวน 14 ตัว กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา แบบธรรมชาติ จำนวน 34 ตัว กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน Human chorionic gonadotropin จำนวน 19 ตัวตรวจเช็คการตั้งท้อง โดยการล้วงตรวจทางทวารหนัก ที่ 90 วันหลังทำการผสมเทียมพบว่ามีความสัมพันธ์กับจำนวนของการตั้งท้องในกลุ่มแม่โค ($P<0.05$) ที่มีการใช้โกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมนธรรมชาติ มีการตั้งท้องจำนวน 28 จากทั้งหมด 34 ตัวคิดเป็นร้อยละ 82.35 ของกลุ่ม และในแม่โคกลุ่มที่มีการใช้ฮอร์โมน Human chorionic gonadotropin มีการตั้งท้องจำนวน 16 ตัว จากทั้งหมด 19 ตัวคิดเป็นร้อยละ 84.21 โดยแม่โคที่มีการใช้โกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมนแบบสังเคราะห์ไม่มีอัตราการตั้งท้องที่สูงกว่ากลุ่มควบคุม โดยมีการตั้งท้องจำนวน 4 ตัวจากทั้งหมด 14 ตัว คิดเป็นร้อยละ 28.57 ดังนั้นจากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่าการตั้งท้องในแม่โคมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการได้รับการฉีดโกนาโดโทรปิน รีลิสซิ่งฮอร์โมนแบบธรรมชาติ และ ฮอร์โมน Human chorionic gonadotropin

Gabriel *et al.,* (2009) ได้ทำการศึกษาถึงการเพิ่มศักยภาพในการสืบพันธุ์ในฝูงโค โดยใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดคือ Cue Mate® ที่มีโปรเจสเตอโรน 1.56 กรัม, DIB® ที่มีโปรเจสเตอโรน 1.7 กรัม, CIDR® ที่มีโปรเจสเตอโรน 1.9 กรัม และ CIDR® ที่มีโปรเจสเตอโรน 1.38 กรัม อุปกรทั้งหมดทำการสอดเป็นเวลา 21 วัน โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดทุกๆ วัน เพื่อวัดระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือด โดยพบว่าอัตราการหลุดสูญหายของอุปกรณ์ไม่แตกต่างกัน ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือด ในช่วงแรกไม่แตกต่างกันคือ Cue-Mate®: 4.5+0.6 ng/ml , DIB®: 1.7+0.6 ng/ml, CIDR® (1.9 กรัม): 4.6+0.6 ng/ml และ CIDR® (1.38g): 3.7+0.4 ng/ml และ มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดในช่วง 11วัน ที่แตกต่างกัน คือ CIDR® (1.9 กรัม): 1.8+0.2 ng/ml, Cue-Mate: 1.4+0.2 ng/ml, CIDR® (1.38g): 1.2+0.1 ng/ml และ DIB®: 1.2+0.1 ng/ml และที่ 24 ชั่วโมงหลังการถอดอุปกรณ์ ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือด มีระดับต่ำกว่า 1 ng /ml ดังแสดงในภาพ 13 โดยที่ 24-48 ชั่วโมงหลังถอดอุปกรณ์ แม่โคจะเริ่มแสดงอาการเป็นสัด



ภาพ 13 แสดงค่าเฉลี่ยระดับโปรเจสเตอโรนในเลือดในแต่ละวันของโคที่ได้รับการประเมินประสิทธิภาพของอุปกรณ์การปล่อยโปรเจสเตอโรนภายในช่องคลอด Cue Mate®, DIB® และ CIDR®

ที่มา: ดัดแปลงจาก Gabriel *et al.,* (2009)

ตาราง 3 แสดงผลการตอบสนองต่อการเป็นสัดและอัตราการผสมติดเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์สอดช่องคลอด

ชนิด	เวลาทดลอง (วัน)	สิ่งทดลองร่วม	สัตว์ทดลอง (ตัว)	เป็นสัด %	ผสมติด %	ตั้งท้อง %	อ้างอิง
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR® ร่วมกับ 1 mg estradiol benzoate (EB) และ 100 mg progesterone	42	100	76	-	Marcelo *et al.* (2000)
		-ใช้อุปกรณ์ CIDR® ร่วมกับ GnRH 100 pg	42	83	48	-	
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR® ร่วมกับ GnRH 100 mg	102	65	-	-	Martinez *et al.*, (2002)
		- ใช้อุปกรณ์ CIDR® ร่วมกับ LH 12.5 mg	103	60.8	-	-	
		- ใช้อุปกรณ์ CIDR® ร่วมกับ1 mg estradiol benzoate (EB) และ 50 mg progesterone	52	92.3	-	-	
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR® ร่วมกับ GnRH 100 mg	24	66	8	-	Mapletoft *et al.*, (2003)
		- ใช้อุปกรณ์ CIDR® ร่วมกับ 5 mg estradiol benzoate (EB) และ 100 mg progesterone	22	83	88	-	
		- ใช้อุปกรณ์ CIDR® ร่วมกับ LH	22	61	83	-	

ตาราง 3 (ต่อ)

ชนิด	เวลาทดลอง (วัน)	สิ่งทดลองร่วม	สัตว์ทดลอง (ตัว)	เป็นสัด %	ผสมติด %	ตั้งท้อง %	อ้างอิง
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR® ร่วมกับ estradiol benzoate	56	-	67.9	62.3	Colazo *et al.*, (2004)
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR® ร่วมกับ estradiol benzoate	24	90	-	-	Martinez *et al.*, (2005)
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR ร่วมกับ GnRH และ $PGF_{2\alpha}$	42	63	57	87	Lamb *et al.*, (2006)
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR ร่วมกับ GnRH และ $PGF_{2\alpha}$	24	85.5	69	59	Richardson *et al.*, (2006)
		- ใช้อุปกรณ์ CIDR ร่วมกับ $PGF_{2\alpha}$	102	73.5	47.5	34.9	
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR ร่วมกับ $PGF_{2\alpha}$	54	64	42	-	Marcos *et al.*, (2006)
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR ร่วมกับ GnRH และ $PGF_{2\alpha}$	26	76	56.2	77.8	Kitsada *et al.*, (2007)

ตาราง 3 (ต่อ)

ชนิด	เวลาทดลอง (วัน)	สิ่งทดลองร่วม	สัตว์ทดลอง (ตัว)	เป็นสัด %	ผสมติด %	ตั้งท้อง %	อ้างอิง
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR ร่วมกับ $PGF_{2\alpha}$	76	81.6	59.7	48.7	Sa Filho *et al.*, (2010)
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR ร่วมกับ GnRH 100 mg	881	-	57.1	55.6	Whittier *et al.*, (2010)
		- ใช้อุปกรณ์ CIDR ร่วมกับ $PGF_{2\alpha}$ 25 mg	901	-	52.4	49.5	
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR – B ร่วมกับ 2 mg estradiol benzoate (EB)	143	-	68	44.2	Ramos *et al.*, (2010)
CIDR	7	- ใช้อุปกรณ์ CIDR – B ร่วมกับ GnRH 100 mg	210	52.2	47	35.5	Mckinniss *et al.*, (2011)
		- ใช้อุปกรณ์ CIDR ร่วมกับ $PGF_{2\alpha}$	200	41.9	31.3	24.8	

งานวิจัยที่ใช้ฮอร์โมนในการควบคมวงรอบของการเป็นสัด เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตโคมีการดำเนินการกันมาอย่างต่อเนื่องทั้งในและต่างประเทศ งานวิจัยเหล่านี้มีทั้งการใช้ฮอร์โมนชนิดเดียวเพื่อควบคุมการเป็นสัด และการใช้ฮอร์โมนหลายชนิดร่วมกันเพื่อควบคุมการตกไข่ นักวิจัยหลายกลุ่มได้ทำการศึกษาการใช้ฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟาร่วมกับฮอร์โมนชนิดอื่น เช่น โปรเจสเตอโรนเพื่อควบคุมวงรอบของการเป็นสัดพร้อมไปกับการรักษาความผิดปกติของรังไข่ เช่นถุงน้ำในรังไข่ หรือ การไม่มีพัฒนาการของรังไข่ และ ไม่มีวงรอบการเป็นสัด (Xu et al., 1997 และ Mapletoft et al., 2003) การใช้ฮอร์โมนในกลุ่มโปรเจสเตอโรนร่วมกับฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟาเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดจะให้ผลที่ดีกว่าการใช้ฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟาเพียงอย่างเดียว ทั้งในแง่ของอัตราการเป็นสัดหลังจากเหนี่ยวนำ และความสม่ำเสมอ ของการเป็นสัด นอกจากนี้อัตราการตั้งท้อง ของแม่โคที่ได้รับการผสมเทียมจากการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่วมกับฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา ก็สูงกว่าแม่โคเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟาเพียงอย่างเดียว (Mapletoft et al., 2003)

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัยตั้งแต่ เดือน มกราคม พ.ศ. 2554 ถึงเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2554 โดย

เริ่มดำเนินการทดลอง วันที่ 14 มกราคม พ.ศ. 2554

เสร็จสิ้นการทดลอง วันที่ 31 สิงหาคม พ.ศ. 2554

จัดทำรูปเล่มเสร็จสิ้น วันที่ 15 ธันวาคม พ.ศ. 2554

การศึกษาครั้งนี้จะใช้ระยะเวลา 12 เดือน เริ่มตั้งแต่การเตรียมอุปกรณ์จนถึงการนำเสนอรูปเล่มดังนี้

รายการ	ระยะเวลาในการทำวิจัย									
	ม.ค.-มี.ค.	เม.ย	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.
เตรียมอุปกรณ์	→									
ดำเนินการทดลอง		→	→	→	→	→				
เก็บข้อมูล					→	→	→			
วิเคราะห์ข้อมูล						→	→	→		
สรุปผลการวิจัย								→	→	
จัดทำฉบับสมบูรณ์									→	→

สถานที่ดำเนินการวิจัย

1. ทำการเลี้ยงโคทดลอง ณ ฟาร์มโคนม-โคเนื้อ สาขาโคนม-โคเนื้อ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

2. ทำการตรวจวิเคราะห์ทางเคมี ณ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทางเคมีทางระบบสืบพันธ์สัตว์ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

วิธีการดำเนินการวิจัย

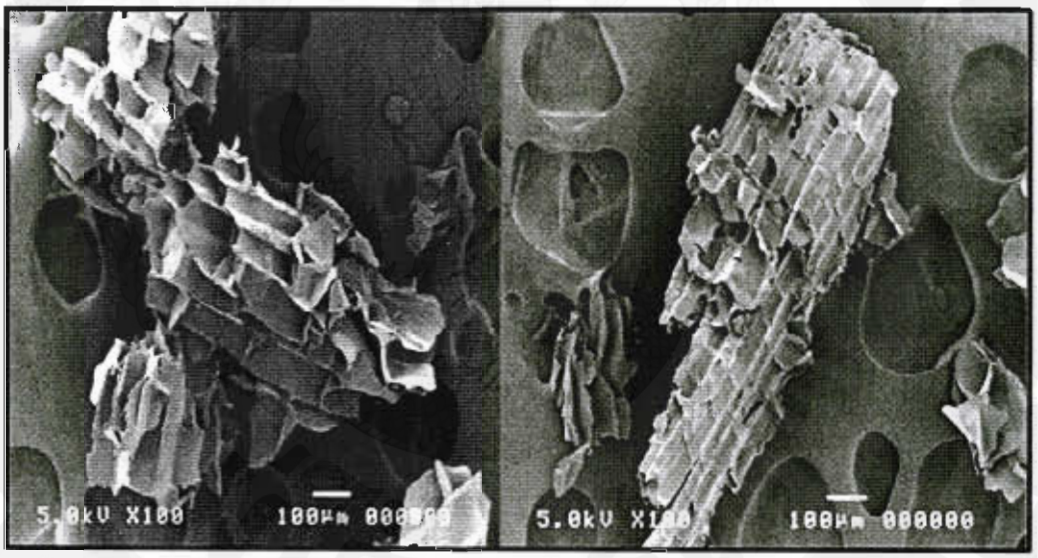
การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการพัฒนาอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดและตรวจวัดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดจากการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*) และ การทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง (*In vivo*)

การทดลองที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*)

ศึกษาถึงคุณลักษณะของชานอ้อย

ลำต้นอ้อยประกอบด้วยเปลือกและเนื้ออ้อย ในส่วนของเนื้ออ้อยประกอบด้วยท่อแคปิลลารีที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางท่อ 0.3-0.5 ไมครอนจำนวนมากเรียงขนานกันตามความยาวของลำต้นอ้อย แต่ละท่อแคปิลลารีประกอบด้วยส่วนที่เป็นข้อ และ ส่วนที่เป็นปล้อง เรียงสลับกันตลอดความยาวของท่อแคปิลลารี ท่อแคปิลลารีที่ขนานกันอาจมีข้อไม่อยู่ในแนวเดียวกัน ส่วนปล้องมีความยาว 400-700 ไมครอน ขึ้นกับพันธุ์อ้อย ดังแสดงในภาพที่14 ภายในปล้องของท่อแคปิลลารีแต่ละปล้อง มีน้ำอ้อยบรรจุอยู่ภายในและข้อจะปิดกั้นการติดต่อของของเหลวที่อยู่ในปล้องที่อยู่ติดกันท่อแคปิลลารีประกอบขึ้นจากสารประเภทเซลลูโลส ลิกนิน และ เฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ นอกนั้นเป็นส่วนประกอบอื่นๆ ในปริมาณเล็กน้อย (โดยที่ส่วนประกอบเฮมิเซลลูโลสมีอยู่ 30-35 % น้ำหนักของส่วนประกอบทั้งหมด) ลักษณะผนังท่อแคปิลลารีมีความยืดหยุ่น ทำให้มีความสามารถในการดูดซับของเหลวเข้าไปอยู่ภายในได้เป็นอย่างดี และสามารถปล่อยออกเมื่อมีแรงกด บีบหรืออัด เป็นต้น จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงได้นำชานอ้อยที่มีท่อแคปิลารีนี้มาใช้เป็นวัสดุดูดซับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในครั้งนี้ (วิรงรอง , 2551)

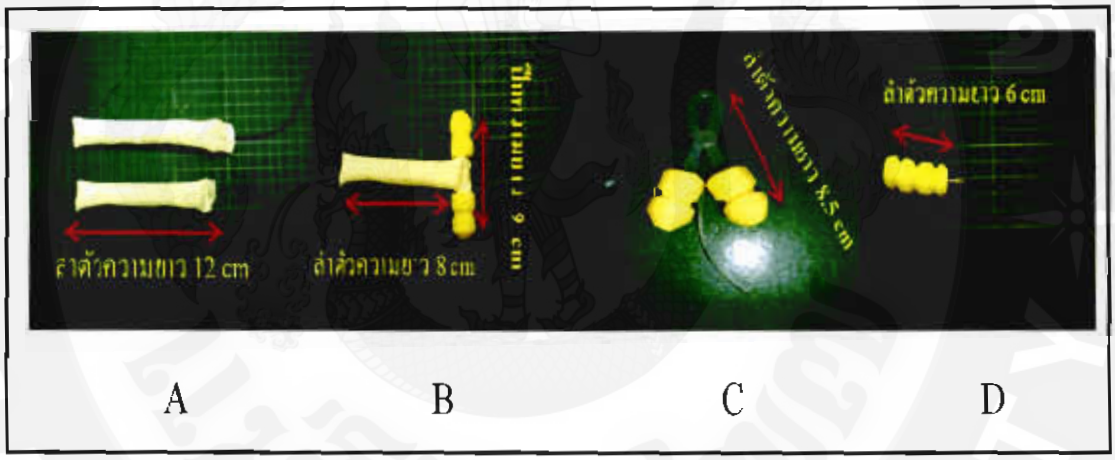
เมื่อนำชานอ้อยมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบภาพตัดตามขวางของท่อแคปิลลารีมีลักษณะเป็นรูปหกเหลี่ยม ดังแสดงในภาพ 14 ซึ่งประกอบด้วยท่อแคปิลลารีที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางท่อ 0.3-0.5 ไมครอนจำนวนมากเรียงขนานกันตามความยาวของลำต้นอ้อย ท่อแคปิลลารีประกอบขึ้นจากสารประเภทเซลลูโลส ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ นอกนั้นเป็นส่วนประกอบอื่นๆ ในปริมาณเล็กน้อย (โดยที่ส่วนประกอบเฮมิเซลลูโลสมีอยู่ 30-35 % น้ำหนักของส่วนประกอบทั้งหมด) ลักษณะผนังท่อแคปิลลารีมีความยืดหยุ่น ทำให้มีความสามารถในการดูดซับของเหลวเข้าไปอยู่ภายในได้เป็นอย่างดี และสามารถปล่อยออกเมื่อมีแรงกด บีบหรืออัด เป็นต้น จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงได้นำชานอ้อยที่มีท่อแคปิลารีนี้มาใช้เป็นวัสดุดูดซับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในครั้งนี้



ภาพ 14 แสดงภาพตัดตามขวางของท่อแคปิลลารีที่ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope; SEM)

การออกแบบและการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด

กรรมวิธีผลิตอุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโค มีลักษณะพิเศษที่ โดยใช้ชานอ้อยและใช้ฟองน้ำเนื้อละเอียดเป็นวัสดุดูดซับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ใช้เอ็นตกปลาเป็นส่วนหางและส่วนปีกทำจากฟองน้ำเนื้อละเอียดติดกับแท่งกาวที่มีความยืดหยุ่น เพื่อให้ปีกมีความแข็งแรงขึ้นและไม่ทำให้อุปกรณ์หลุดออกมาก่อนเวลาสิ้นสุดการทดลอง การศึกษาครั้งนี้ได้ออกแบบอุปกรณ์เป็น 4 แบบ คือ แบบที่ 1 เป็นทรงกระบอกบรรจุชานอ้อยไว้ภายใน (A) แบบที่ 2 เป็นรูปตัวทีโดยส่วนของปีกทำจากโฟมและลำตัวบรรจุด้วยชานอ้อย (B) แบบที่ 3 เป็นรูปตัววี โดยส่วนปีกทำจากฟองน้ำเนื้อละเอียดและส่วนลำตัวขึ้นรูปด้วยแท่งกาวยาง (C) และ แบบที่ 4 เป็นรูปทรงกระบอกใช้ฟองน้ำเนื้อละเอียดบรรจุโปรเจสเตอโรน (D) ดังภาพ 15



ภาพ 15 อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบที่ 1 เป็นทรงกระบอกบรรจุชานอ้อยไว้ภายใน (A) แบบที่ 2 เป็นรูปตัวทีโดยส่วนของปีกและลำตัวบรรจุด้วยชานอ้อย (B) แบบที่ 3 เป็นรูปตัววายโดยส่วนปีกทำจากฟองน้ำเนื้อละเอียดและส่วนลำตัวขึ้นรูปด้วยแท่งกาวยาง (C) และแบบที่ 4 เป็นรูปทรงกระบอกใช้ฟองน้ำเนื้อละเอียดบรรจุโปรเจสเตอโรน (D)

ขั้นตอนการออกแบบและการขึ้นรูปอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการออกแบบอุปกรณ์ แบ่งออกเป็น 4 แบบ ดังนี้

อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโค แบบที่ 1 กรรมวิธีผลิตอุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดพร้อมกันในโคเนื้อ มีลักษณะพิเศษที่การขึ้นรูปด้วยอุปกรณ์ด้วยผ้าซับใน (Organza) และใช้ชานอ้อยเป็นวัสดุดูดซับโปรเจสเตอโรนใช้ด้ายเป็นส่วนหาง ในขั้นตอนการออกแบบและการขึ้นรูปอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการออกแบบอุปกรณ์ให้มีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอก

อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อ แบบที่ 2 กรรมวิธีผลิตอุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดพร้อมกันในโค มีลักษณะพิเศษที่การขึ้นรูปด้วยอุปกรณ์ด้วยผ้าซับใน (Organza) และใช้ชานอ้อยเป็นวัสดุดูดซับโปรเจสเตอโรนใช้ด้ายเป็นส่วนหางและส่วนปีกทำจากแท่งกาวแข่งและยืดหยุ่นได้ดิดกับฟองน้ำเนื้อละเอียดเพื่อให้ปีกมีความแข็งแรงขึ้นและไม่ให้อุปกรณ์หลุดออกมาก่อนเวลาสิ้นสุดการทดลอง การศึกษาครั้งนี้ได้ออกแบบอุปกรณ์เป็นรูปตัวที (T) โดยส่วนปีกทำจากฟองน้ำเนื้อละเอียดดิดกับแท่งกาวยาง และส่วนลำตัวบรรจุด้วยชานอ้อย

อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโค แบบที่ 3 กรรมวิธีผลิตอุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดพร้อมกันในโคเนื้อ มีลักษณะพิเศษที่ส่วนหัวใช้ตัวฟองน้ำเป็นตัวดูดซับโปรเจสเตอโรน ใช้ด้ายเป็นส่วนหางและส่วนปีกใช้แท่งกาวเพื่อให้ปีกมีความแข็งแรงขึ้นมีความยืดหยุ่น อ่อนนุ่ม และไม่ให้อุปกรณ์หลุดออกมาก่อนเวลาสิ้นสุดการทดลอง การศึกษาครั้งนี้ได้ออกแบบอุปกรณ์เป็นรูปตัววาย (Y)

อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโค แบบที่ 4 กรรมวิธีผลิตอุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดพร้อมกันในโคเนื้อ มีลักษณะพิเศษที่ส่วนหัวใช้ตัวฟองน้ำเป็นตัวดูดซับโปรเจสเตอโรน ใช้ด้ายเป็นส่วนหาง ในขั้นตอนการออกแบบและการขึ้นรูปอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการออกแบบอุปกรณ์ให้มีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอก

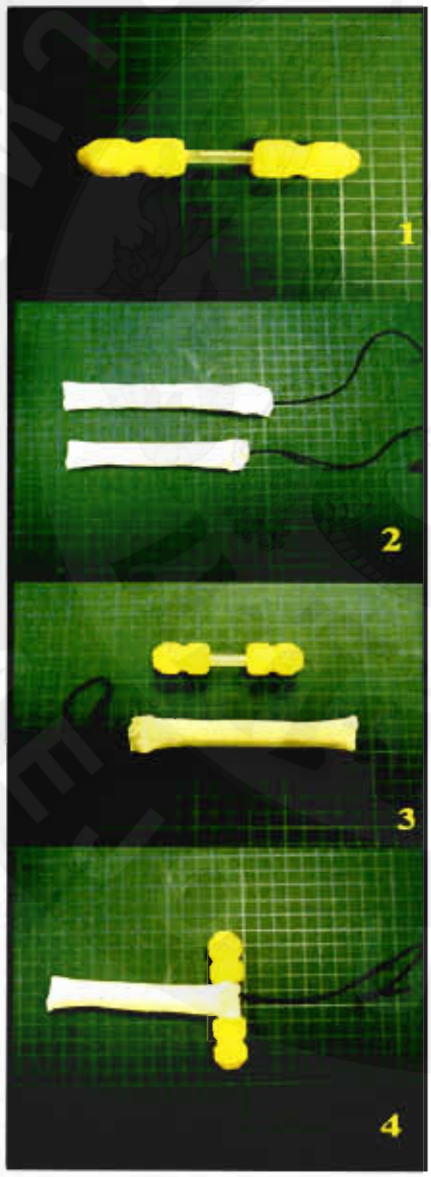
เมื่อได้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด 4 แบบ ที่ได้ประดิษฐ์เรียบร้อยแล้วได้นำไปทดลองสอดในช่องคลอดโคทดลองก่อน เพื่อทดสอบการคงอยู่ของอุปกรณ์เมื่อดอนสอดเข้าช่องคลอดเท่านั้น ผลจากการสอดอุปกรณ์ อุปกรณ์แบบที่ 1, แบบที่ 3 และ แบบที่ 4 ไม่สามารถคงอยู่ในช่องคลอดได้ครบตามจำนวนวันที่ต้องการทดลอง ส่วนอุปกรณ์แบบที่ 2 สามารถคงอยู่ในช่องคลอดได้ครบตามจำนวน เมื่อได้แบบอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่เหมาะสม (ความเหมาะสมดังกล่าวคือเมื่อสอดอุปกรณ์เข้าในช่องคลอดแล้วตัวอุปกรณ์สามารถคงอยู่ภายในช่องคลอดได้ตามเวลาที่ต้องการเหนี่ยวนำการเป็นสัด) คือ แบบที่ 2 แล้วจึงนำแบบที่ได้นี้มาทดลองในขั้นตอนต่อไป โดยมีขั้นตอนดังนี้

กรรมวิธีผลิตอุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดในโคเนื้อ ที่มีลักษณะพิเศษขึ้นรูปอุปกรณ์ด้วยผ้าซับใน (Organza) และใช้ชานอ้อยเป็นวัสดุดูดซับโปรเจสเตอโรน ใช้ด้ายเป็นส่วนหางและส่วนปีกทำจากแท่งกาวยางที่ยืดหยุ่นได้ประกอบติดกับหัวฟองน้ำที่มีลักษณะอ่อนนิ่ม เพื่อให้ส่วนของปีกมีความแข็งแรงขึ้นและไม่ให้อุปกรณ์หลุดออกมาก่อนเวลาสิ้นสุดการทดลอง การศึกษาครั้งนี้ได้ออกแบบอุปกรณ์เป็นรูปตัวที (T) โดยส่วนปีกทำจากหัวฟองน้ำประกอบติดกับแท่งกาวยางที่อ่อนนิ่มและยืดหยุ่นได้ดี และส่วนลำตัวบรรจุด้วยชานอ้อยเป็นวัสดุดูดซับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

ในขั้นตอนการออกแบบและการขึ้นรูปอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัต โดยการออกแบบอุปกรณ์ให้มีลักษณะเป็นรูปตัวที (T) ส่วนปีกมีความยาว 9 เซนติเมตร โดยวัดความยาวจากปีกซ้ายมาหาปีกขวา และลำตัวมีความยาว 8 เซนติเมตร (วัดความยาวจากปีกบนจนถึงลำตัวด้านล่าง) วาดแบบลำตัวให้เป็นรูปทรงกระบอกลงบนกระดาษแข็งแล้วร่างแบบที่ได้ลงบนเนื้อผ้าซับใน (Organza) ซึ่งเป็นผ้าที่มีผิวสัมผัสลื่นและเย็บส่วนปลายของผ้าที่ตัด โดยวัดให้มีความยาวจากส่วนท้ายขึ้นมา 1 เซนติเมตร เพื่อไว้ประกอบส่วนหางและเย็บตามแบบที่ร่างไว้ ในการเย็บตามแบบนี้จะเย็บเฉพาะส่วนลำตัวติดกับส่วนปีกด้านล่างทั้งซ้ายและขวา แต่ส่วนบนของปีกไม่ต้องเย็บเพื่อความสะดวกในการประกอบเข้ากับส่วงของปีก ส่วนท้ายสุดของลำตัวก็ไม่ต้องเย็บเพื่อที่จะบรรจุชานอ้อยเข้าไปในลำตัว หลังจากเย็บเสร็จแล้วกลับรอยเย็บเข้าด้านใน ดังแสดงในภาพ 17

สำหรับการออกแบบปีกโดยการใช้แท่งกาวที่มีความหนา 1 เซนติเมตร และยาว 8 เซนติเมตร แบ่งส่วนโดนไว้ประมาณ 1 เซนติเมตรแล้วแบ่งกลางตามยาวของแท่งกาวยางให้แยกออกจากกันและจัดเป็นรูปตัวที หลังจากนั้นนำส่วนปีกมาประกอบติดกับหัวฟองน้ำที่เป็นรูปทรงกระบอก เมื่อได้ส่วนปีกแล้วจึงนำมาเย็บประกอบเข้ากับส่วนของลำตัวและนำชานอ้อยเข้าบรรจุใส่ด้านในของลำตัว โดยอัดชานอ้อยจนเต็มซึ่งจะใช้ปริมาณชานอ้อยประมาณ 1.5 กรัม โดยชานอ้อยที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ผ่านการล่อนด้วยตะแกรงเบอร์ 16 ทำให้ได้ชานอ้อยที่มีขนาดใกล้เคียงกันและผ่านการฆ่าเชื้อโรค เมื่อบรรจุชานอ้อยจนเต็มแล้วให้เย็บปิด หลังจากนั้นนำด้ายที่มีความยาว 30 เซนติเมตร มาประกอบเข้ากับส่วนท้ายของลำตัวโดยการสอดเส้นด้ายเข้ากับรูที่เจาะไว้แล้วเย็บเส้นด้ายให้ติดอยู่กับตัวอุปกรณ์แล้วนำตัวอุปกรณ์ที่เสร็จสมบูรณ์แล้วไปนึ่งเพื่อฆ่าเชื้อโรคที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง โดยมีขั้นตอนในการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้นเพื่อใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโค ดังแสดงในภาพ 18 และลักษณะทางกายภาพของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นดังแสดงในตาราง 4

ภาพ 16 แสดงอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดชนิดสอดช่องที่ผลิตขึ้น



1. นำฟองน้ำเนื้อละเอียดและแท่งกาวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร ยาว 9 เซนติเมตรเพื่อทำเป็นส่วนของปีกนำฟองน้ำประกอบติดกับแท่งกาวจะได้เป็นส่วนของปีกที่มีความแข็งแรงและมีผิวสัมผัสที่อ่อนนุ่มต่อช่องคลอดเมื่อสัมผัสกับช่องคลอด

2. นำชานอ้อยที่ดูดซับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแล้วมาทำการอัดชานอ้อยใส่ลงในผ้าซับในรูปทรงกระบอกประกอบติดเข้ากับส่วนหาง

3. เย็บส่วนของลำตัวให้ติดกับส่วนของปีกให้ยึดติดเป็นตัวเดียวกันให้แน่น

4. นำส่วนของลำตัวติดเข้ากับส่วนของปีกและหางจะได้เป็นรูปตัวที (T) แบบกลับหัว

ภาพ 17 ขั้นตอนในการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้นเพื่อใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโค

ตาราง 4 แสดงลักษณะทางกายภาพของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง

คุณลักษณะของอุปกรณ์ที่ผลิตขึ้น	ปริมาตร
น้ำหนักชานอ้อย (กรัม)	1.5
น้ำหนักฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (กรัม)	2
น้ำหนักส่วนของฟองน้ำ+แท่งกาวยาง (กรัม)	8
ความยาวปีก (เซนติเมตร)	9
ความยาวลำตัว (เซนติเมตร)	8
ความยาวหาง (เซนติเมตร)	15
น้ำหนักรวมของอุปกรณ์ (กรัม)	11

การบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด

โดยชั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P_4) ปริมาณ 1.5 และ 2 กรัม ละลายในเอทานอล 70 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเตรียมชานอ้อยโดยชั่งชานอ้อยปริมาณ 1.5 กรัม โดยนำชานอ้อยที่เตรียมไว้แช่ในโปรเจสเตอโรนที่ละลายทิ้งไว้ เพื่อให้ชานอ้อยดูดซับโปรเจสเตอโรน โดยชานอ้อยจะมีการพองตัวขึ้น แสดงว่าชานอ้อยเริ่มมีการอิ่มตัวให้นำไปอบแห้งที่ตู้อบอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 12-24 ชั่วโมงแล้วนำชานอ้อยที่ดูดซับโปรเจสเตอโรนแล้วมาบรรจุในผ้าซับในทรงกระบอกอัดชานอ้อยให้แน่นลงในผ้าซับในดังแสดงในภาพ 18

ภาพ 18 แสดงภาพการบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด

การวัดปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในห้องปฏิบัติการ

การเก็บตัวอย่างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดปล่อยออกมาในห้องปฏิบัติการ

นำอุปกรณ์ที่บรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P_4) 1.5 และ 2 กรัม แล้วมาแช่ในสารละลายน้ำเกลือ 0.9% NaCl ปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร เพื่อเปรียบเทียบปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในห้องปฏิบัติการ โดยการจำลองสภาวะแวดล้อมให้คล้ายคลึงกับภายในช่องคลอดมากที่สุดโดยแช่อุปกรณ์ทั้งสองลงในสารละลายน้ำเกลือ ซึ่งให้สารละลายน้ำเกลือเป็นตัวแทนของของเหลวในร่างกายสัตว์ ปรับ pH ในสารละลายน้ำเกลือให้เท่ากับ pH ในน้ำปัสสาวะคือ pH 7.96 จากนั้นเก็บบีกเกอร์ที่แช่อุปกรณ์ไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ปรับอุณหภูมิไว้ 37 องศาเซลเซียสให้เท่ากับอุณหภูมิร่างกายสัตว์ และ ปั่นสารละลายให้เข้ากันก่อนเก็บตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นสารละลายที่ความเร็ว 100 รอบเป็นเวลา 30 นาที เพื่อจำลองการบีบหดตัวของผนังช่องคลอด โดยแบ่งเวลาในการเก็บสารละลาย P4 เป็นชั่วโมงที่ 1, 3, 6, 8 และ 10 ของการแช่อุปกรณ์ของทุกวัน เป็นระยะเวลา 10 วัน ดังแสดงในภาพ 19

ภาพที่ 19 การแช่อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า (ขวา) อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เอง (ซ้าย) ในสารละลายน้ำเกลือ เพื่อวัดปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

การหาอัตราเจือจางที่เหมาะสมของ P_4-HSA, PAb-P_4 และ Goat anti rabbit IgG-HRP โดยวิธี Indirect ELISA

เคลือบเพลท 96 หลุมด้วย P_4-HSA ซึ่งเป็นแอนติเจนที่มีความเข้มข้น 1:100, 1:110, 1:120, 1:130, 1:140, 1:150, 1:160, 1:170, 1:180, 1:190 และ 1:200 ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 4° C นาน 16 ชั่วโมง ล้างด้วยเพลทด้วยสารละลายสำหรับการล้างโดยใช้เครื่องล้าง Immunowash จากนั้นเติมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 2% ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 60 นาที ล้างเพลทเติม PAb-P_4 ที่มีความเข้มข้น 1:100, 1:110, 1:120, 1:130, 1:I40, 1:150, 1:160, 1:170, 1:180, 1:190 และ 1:200 ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 60 นาที ล้างเพลทเติม Goat anti rabbit IgG-HRP ที่มีความเข้มข้น 1:1,000 1: 2,000 1: 3,000 1: 4,000 และ 1: 5,000 ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที ล้างเพลทแล้วเติมสารละลายที่ทำให้เกิดสีปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที และทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย $4NH_2SO_4$ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader ดังแสดงในภาพ 20

เคลือบเพลทด้วย P_4-HSA 100 µl/well ที่ 4 °C นานข้ามคืน
ล้างเพลทด้วย Washing buffer

⇩

เติม 2 เปอร์เซ็นต์ Gelatin 200 µl/well บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1
ชั่วโมงล้างเพลทด้วย Washing buffer

⇩

เติม Goat anti rabbit IgG-HRP 10 µl/well บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน
1 ชั่วโมงล้างเพลทด้วย Washing buffer

⇩

เติม Substrate บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด รอปฏิกิริยาเกิดสี 20 นาที

⇩

เติม $4NH_2SO_4$ 10 µl/well เพื่อหยุดปฏิกิริยา

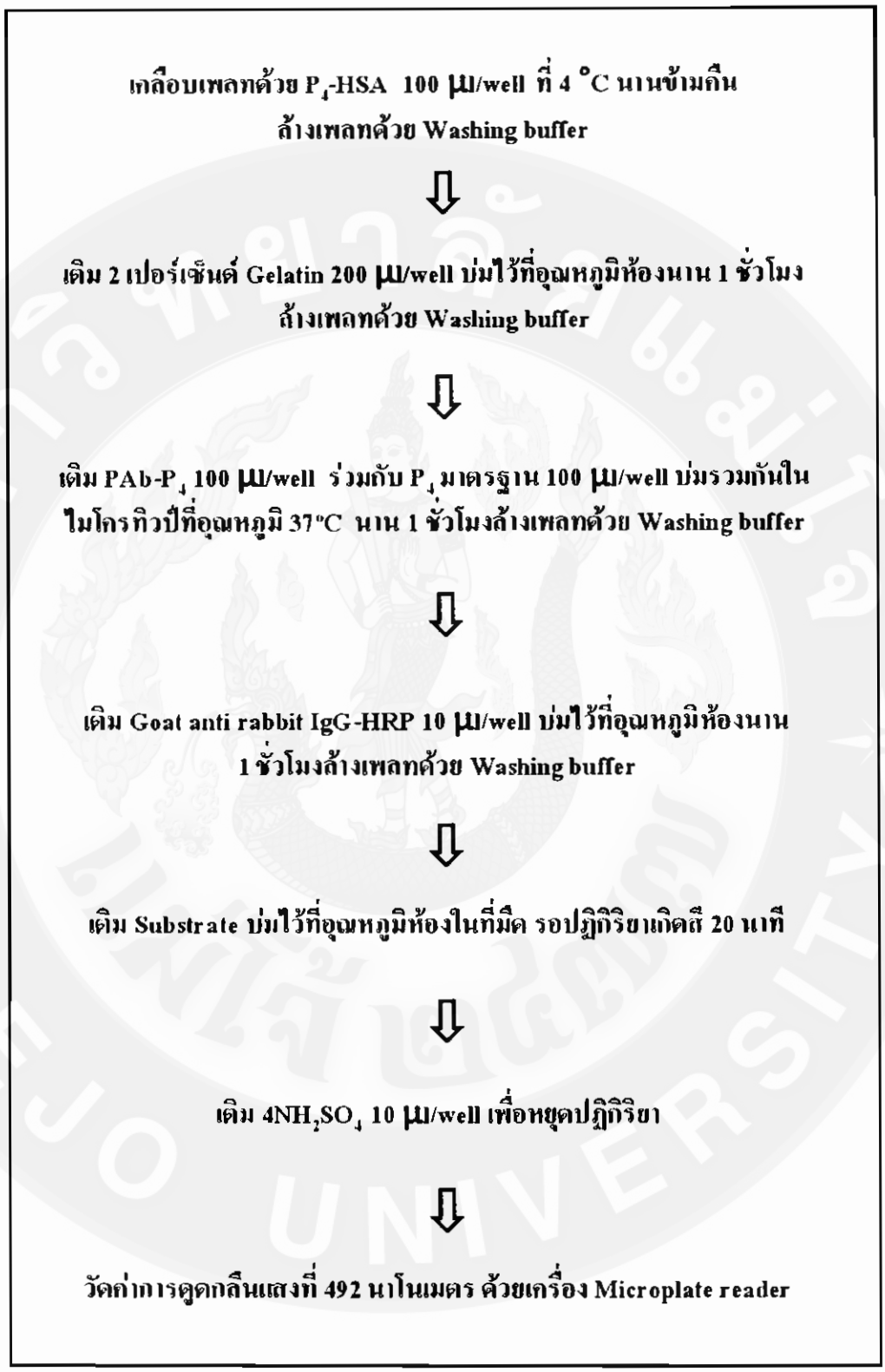
⇩

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

ภาพ 20 การหาอัตราเจือจางที่เหมาะสมของ PAb-P_4 และ Goat anti rabbit IgG-HRP ด้วยวิธี ELISA

การหากราฟมาตรฐานฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

เคลือบเพลท 96 หลุม ด้วย P_4-HSA ซึ่งเป็นแอนติเจนที่มีความเข้มข้น 1:100 ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 4°C นาน 16 ชั่วโมง ล้างด้วยเพลทด้วยสารละลายสำหรับการล้างโดยใช้เครื่องล้าง Immunowash จากนั้นเติมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 2% ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ระหว่างนั้นทำการเตรียมโพลีโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (PAb-P_4) ที่มีความเข้มข้น 1:5,000 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร รวมกับสารละลายมาตรฐานโปรเจสเตอโรนที่มีความเข้มข้น 0 , 1.25, 2.5, 5, 10, 25, 50 และ 100 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มรวมกันในไมโครทิวป์ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลท หลังจากนั้นทำการเติมตัวอย่างสารละลายมาตรฐานโปรเจสเตอโรนที่บ่มรวมกับ PAb-P_4 ปริมาตรา 100 ไมโครลิตรต่อหลุมลงในเพลท บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ล้างเพลทแล้วเติมเอนไซม์ Goat anti Rabbit IgG-HRP ความเข้มข้น 1:5,000 ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลทแล้วเติมสารละลายที่ทำให้เกิดสีปริมาตรา 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที และทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย $4NH_2SO_4$ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader ดังแสดงในภาพ 21



ภาพ 21 แสดงการหากราฟมาตรฐานการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนโดยวิธี Indirect ELISA

การวิเคราะห์ปริมาณโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือโดยวิธี Indirect ELISA

เคลือบเพลท 96 หลุม ด้วย P_4-HSA ซึ่งเป็นแอนติเจนที่มีความเข้มข้น 1:100 ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 4°C นาน 16 ชั่วโมง ล้างด้วยเพลทด้วยสารละลายสำหรับการล้าง จากนั้นเติมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 1% ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาทีระหว่างนั้นทำการเติม โพลีโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (PAb-P_4) ที่มีความเข้มข้น 1:5,000 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร รวมกับตัวอย่างน้ำเกลือที่จะทำการวิเคราะห์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มรวมกันในไมโครทิวป์ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลท หลังจากนั้นทำการเติมตัวอย่างน้ำเกลือที่บ่มรวมกับ PAb-P_4 ปริมาตรา 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ล้างเพลทแล้วเติมเอนไซม์ Goat anti Rabbit IgG-HRP ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลท แล้วเติมสารละลายที่ทำให้เกิดสี ปริมาตรา 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที และทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย $4NH_2SO_4$ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader ดังแสดงในภาพ 22

เคลือบเพลทด้วย P_4-HSA 100 µl/well ที่ 4 °C นานข้ามคืน
ล้างเพลทด้วย Washing buffer

⇩

เติม 2 เปอร์เซ็นต์ gelatin 200 µl/well บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง
ล้างเพลทด้วย Washing buffer

⇩

เติม PAb-P_4 100 µl/well ร่วมกับ ตัวอย่างน้ำเกลือ 100 µl/well บ่มรวมกัน
ในไมโครทิวบ์ ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 1 ชั่วโมง ล้างเพลทด้วย
Washing buffer

⇩

เติม Goat anti rabbit IgG-HRP 10 µl/well บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน
1 ชั่วโมงล้างเพลทด้วย Washing buffer

⇩

เติม Substrate บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด รอปฏิกิริยาเกิดสี 20 นาที

⇩

เติม $4NH_2SO_4$ 10 µl/well เพื่อหยุดปฏิกิริยา

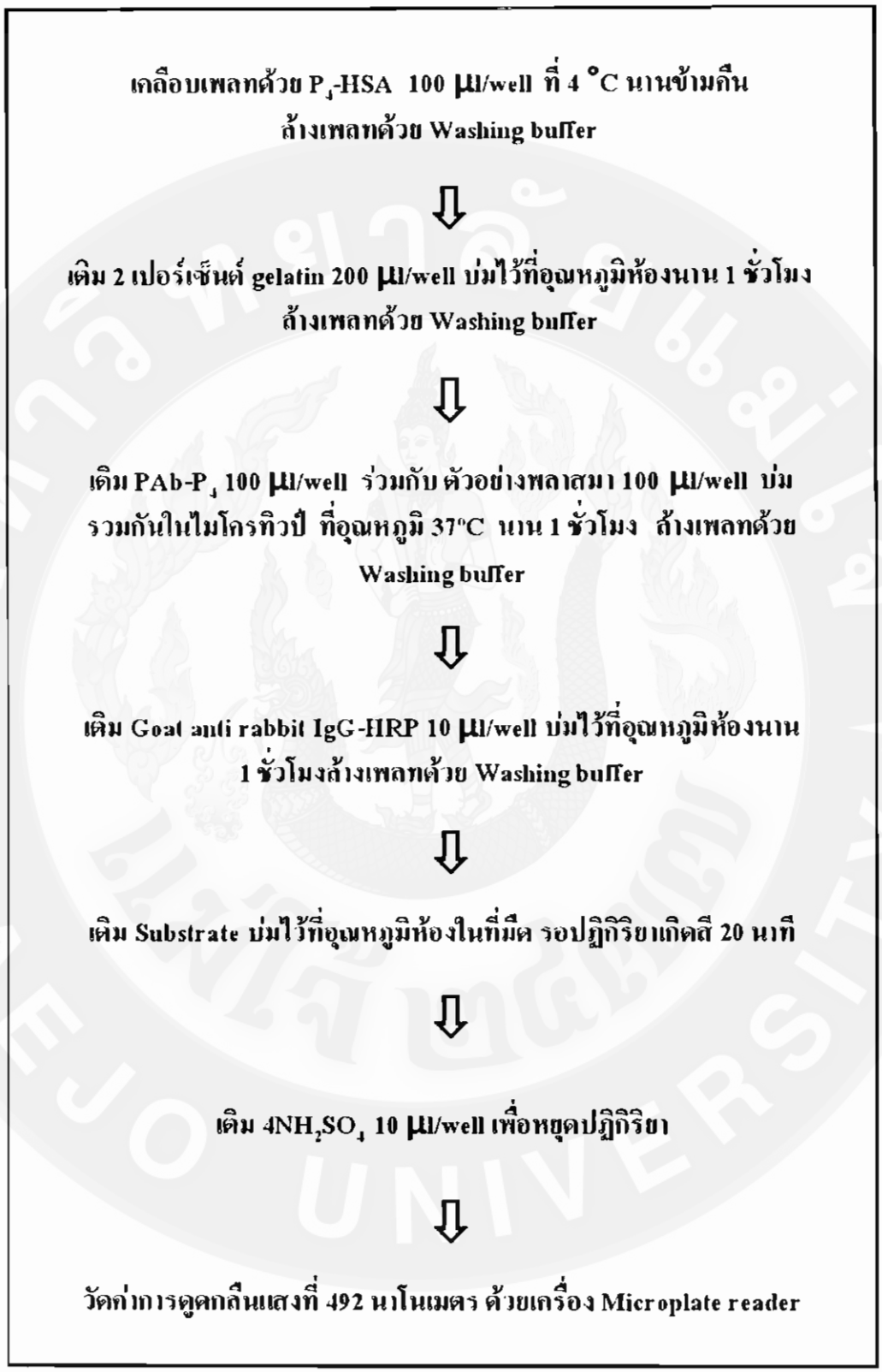
⇩

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

ภาพ 22 แสดงการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในตัวอย่างน้ำเกลือโดยวิธี Indirect ELISA

การวิเคราะห์ปริมาณโปรเจสเตอโรนในพลาสมาโดยวิธี Indirect ELISA

เคลือบเพลท 96 หลุม ด้วย P_4-HSA ซึ่งเป็นแอนติเจนที่มีความเข้มข้น 1:100 ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 4°C นาน 16 ชั่วโมง ล้างด้วยเพลทด้วยสารละลายสำหรับการล้าง จากนั้นเติมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 1% ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาทีระหว่างนั้นทำการเติม โพลีโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (PAb-P_4) ที่มีความเข้มข้น 1:5,000 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร รวมกับตัวอย่างพลาสมาที่จะทำการวิเคราะห์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มรวมกันในไมโครทิวป์ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลท หลังจากนั้นทำการเติมตัวอย่างพลาสมาที่บ่มรวมกับ PAb-P_4 ปริมาตรา 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ล้างเพลทแล้วเติมเอนไซม์ Goat anti Rabbit IgG-HRP ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลท แล้วเติมสารละลายที่ทำให้เกิดสีปริมาตรา 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที และทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย $4NH_2SO_4$ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader ดังแสดงในภาพ 23



ภาพ 23 แสดงการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในตัวอย่างพลาสมาโดยวิธี Indirect ELISA

การทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง (*In vivo*)

แผนการทดลอง

การทดลองนี้ใช้โคเนื้อพันธุ์บราห์มันที่เป็นโคสาวอายุเฉลี่ย 18 เดือนซึ่งไม่เคยได้รับการผสม จำนวน 9 ตัว ได้จากฟาร์มโคนม-โคเนื้อ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม ประกอบด้วย

กลุ่มที่ 1. กลุ่มที่สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า (Control; P_4:1.9 g)

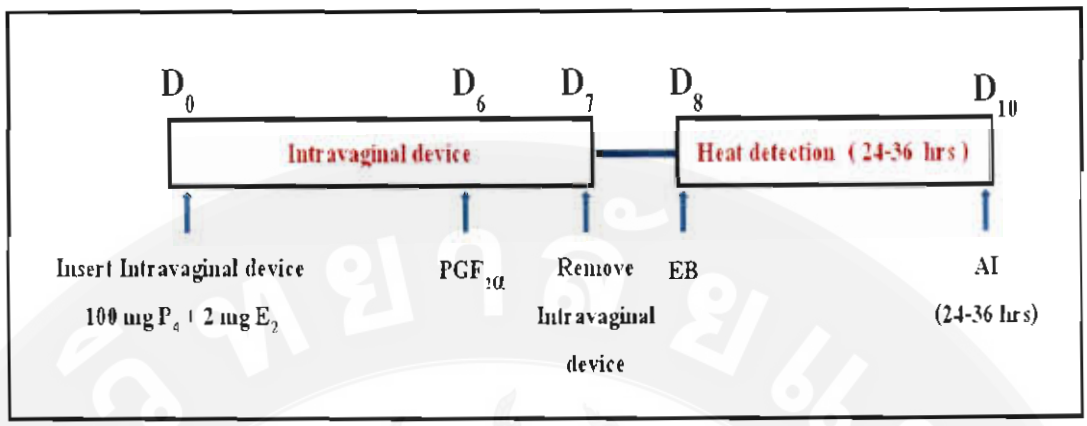
กลุ่มที่ 2. กลุ่มที่สอด Meajo Intravaginal devices (MJID; P_4:1.5 g)

กลุ่มที่ 3. กลุ่มที่สอด Meajo Intravaginal devices (MJID; P_4:2g)

โดยในการทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design ; CRD) ประกอบด้วย 3 กลุ่มทดลอง กลุ่มทดลองละ 3 ซ้ำ โคเนื้อทั้ง 9 ตัว ถูกสุ่มให้อยู่ใน กลุ่มที่ 1 จำนวน 3 ตัว กลุ่มที่ 2 จำนวน 3 ตัว และ กลุ่มที่ 3 จำนวน 3 ตัว โดยโคแต่ละตัวจำทำการแยกเลี้ยงในคอกเดี่ยวขนาดพื้นที่คอก 15 x 35 ตารางเมตร อาหารทดลองให้หญ้าสดและฟาง ให้กินแบบเต็มที่ วิเคราะห์ความแตกต่างของกลุ่มทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (Statistics Package for the Social Science; SPSS 16.0)

วิธีการทดลอง

1. การออกแบบการทดลองในการเหนี่ยวนำการตกไข่และการผสมเทียม ทำการแบ่งแม่โคเป็น 3 กลุ่มทดลอง กลุ่มที่ 1 กลุ่มที่สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า (Control; P_4:1.9 g) จำนวน 3 ตัว กลุ่มที่ 2 กลุ่มที่สอด Meajo Intravaginal devices (MJID; P_4:1.5 g) จำนวน 3 ตัว และ กลุ่มที่ 3 กลุ่มที่สอด Meajo Intravaginal devices (MJID; P_4:2g) จำนวน 3 ตัว โดยทุกกลุ่มจะทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัด โดยทำการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำเป็นสัดเข้าช่องคลอดของโคทดลองเป็นเวลา 7 วัน โดยทำการเก็บเลือดตลอดระยะเวลาที่มีการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดไว้ในช่องคลอดเป็นเวลา 10 วัน โดยวันที่ 0 (D_0) สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดพร้อมกับฉีด 100 mg P_4 + 2 mg E_2 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร และวันที่ 6 (D_6) ฉีดฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ทำการถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำเป็นสัดในวันที่ 7 (D_7) หลังจากถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดออกไปแล้ว 24 ชั่วโมงวันที่ 8 (D_8) ทำการฉีดฮอร์โมน Estradiol Benzoate 1mg/ml ปริมาณ 1 มิลลิลิตร เฝ้าสังเกตการเป็นสัดในช่วง 24-36 ชั่วโมง โดยทำการตรวจการเป็นสัดวันละ 2 ครั้งๆละ 2 ชั่วโมง และวันที่ 10 (D_{10}) ทำการผสมพันธุ์ เมื่อพบว่าโคแสดงอาการเป็นสัด โดยมีรายละเอียดดังแสดงในภาพ 24



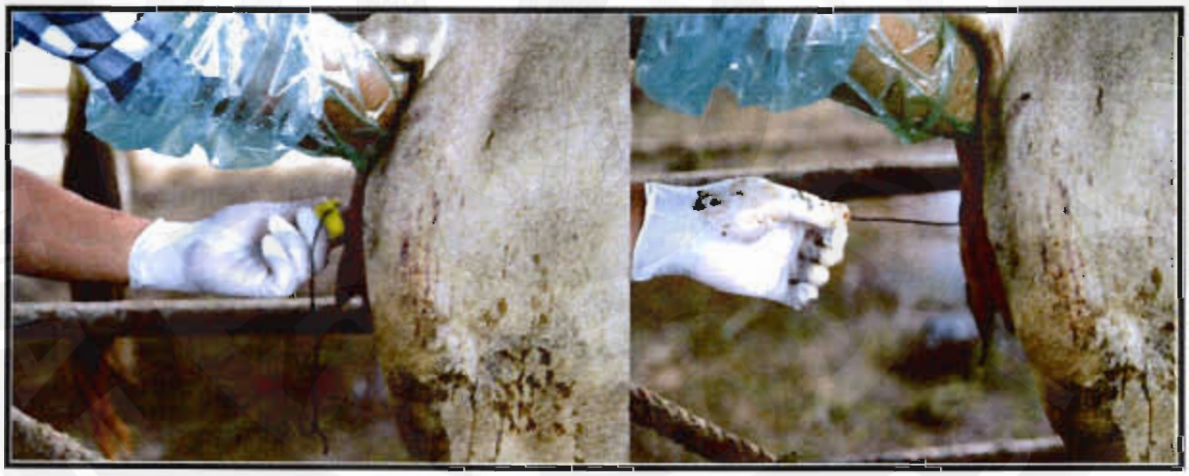
ภาพ 24 แสดงขั้นตอนในการทดลองการจัดการผสมพันธุ์โคภายหลังจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด

ที่มา: ดัดแปลงจาก: (ศิวัช, 2548)

2. ทำการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเข้าไปในช่องคลอดของโคทดลองในกลุ่มที่ 1 สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า (Control; P_4:1.9 g) กลุ่มที่ 2 สอดอุปกรณ์ Meajo Intravaginal devices (MJID; P_4:1.5 g) และ กลุ่มที่ 3 สอดอุปกรณ์ Meajo Intravaginal devices (MJID; P_4:2g) เป็นเวลานาน 7 วัน ขั้นตอนในการสอดอุปกรณ์ โดยต้องทำการฆ่าเชื้ออุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยด่างทับทิมและแช่ในน้ำยาฆ่าเชื้อก่อนนำไปใช้แล้วควรทำความสะอาดบริเวณปากช่องคลอดก่อนสอดอุปกรณ์ทุกครั้ง สำหรับการสอดอุปกรณ์จะต้องทำการทาเจลหล่อลื่น (K-Y gel) ที่ตัวอุปกรณ์และปากช่องคลอดต่อร่วมด้วย เพื่อช่วยในการเคลื่อนตัวของอุปกรณ์ขณะสอดเข้าช่องคลอดให้รวดเร็วขึ้น ต่อจากนั้นก็สอดอุปกรณ์เข้าไปในช่องคลอดและค่อย ๆ ดันตัวอุปกรณ์เข้าไปในช่องคลอดสังเกตการคงอยู่ของอุปกรณ์ได้จากสายที่ห้อยออกมาทางปากช่องคลอดและนอกจากนั้นสายที่ห้อยมานี้ยังเป็นที่สำหรับดึงอุปกรณ์ออกจากช่องคลอดเวลาที่สิ้นสุดการทดลอง ดังแสดงในภาพ 25

1. นำ Intravaginal Device ท่าด้วยเจลหล่อลื่น

2. สอด Intravaginal Device ส่งเข้าไปในช่องคลอดของโค



3. โดยทำการสอดอุปกรณ์ Intravaginal Device ให้เข้าภายในช่องคลอดเพื่อให้คงอยู่ในช่องคลอดโดยไม่หลุดออกมาก่อนสิ้นสุดการทดลองสังเกตได้จากส่วนหางของ Intravaginal Device หลุดออกมาภายนอกเพื่อให้สังเกตได้ว่าอุปกรณ์ไม่หลุดสูญหาย

ภาพ 25 แสดงขั้นตอนในการสอด Meajo Intravaginal devices (MJID) เข้าช่องคลอดโค

3. การเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจหาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคทุกตัว เป็นเวลา 10 วันหลังการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด เพื่อเปรียบเทียบหาความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์ของกลุ่มทดลอง โดยทำการเก็บเลือดจากตำแหน่งเส้นเลือดดำที่หาง ดังแสดงในภาพ 27 ตัวอย่างละ 5 มิลลิลิตร โดยทำการเก็บเลือดในช่วงเวลาเดียวกัน (เช้า) และนำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปวิเคราะห์ตรวจหาปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในห้องปฏิบัติการทั้งสิ้น 99 ตัวอย่าง ทำการเก็บตัวอย่างเลือดตามวิธีการและขั้นตอนดังนี้

1. บังคับให้โคยืนนิ่งเพื่อให้ง่ายต่อการเจาะเลือด
2. ทำความสะอาดบริเวณหางที่จะเจาะด้วยสำลีชุบแอลกอฮอร์
3. ใช้เข็มเบอร์ 20 หรือ 18 ขนาดยาว 1 นิ้ว แทงเข็มเข้าไปในร่องตรงกลางของหางโคเล็กน้อยจึงเริ่มดึงก้านกระบอกฉีดยาไปเรื่อยๆ ถ้าถูกเส้นเลือดจะมีเลือดไหลเข้ามาในกระบอกฉีดยาดูดเลือดมาจำนวน 5 มิลลิลิตรดังแสดงในภาพ 26
4. ถอนเข็มออกและใช้สำลีกดตำแหน่งที่ถอดเข็มออกชั่วขณะ เพื่อให้เลือดหยุด
5. ให้รีบนำเลือดที่เก็บใส่ในหลอดเก็บตัวอย่าง ที่มีการเติมสารป้องกันเลือดแข็งตัว (EDTA) ปริมาณ 500 ไมโครลิตร
6. นำเลือดที่ได้มาปั่นแยกพลาสมา (Plasma) ด้วยเครื่องปั่นแยกที่ความเร็ว 1,500 g นาน 20 นาที แยกเอาพลาสมาที่อยู่ส่วนบนใส่หลอดทดลองพลาสติกขนาด 1.9 มิลลิลิตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ภาพ 26 การเก็บตัวอย่างเลือดจากการเจาะเลือดที่เส้นใต้โคนหางของโค

4. วัดปริมาณปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาด้วยเทคนิค ELISA ดังแสดงในภาพ 23

5. การตรวจการเป็นสัดหลังจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัด ทำการเฝ้าสังเกตการเป็นสัดของโคหลังจากถอดอุปกรณ์ 2 วัน โดยทำการตรวจการเป็นสัดวันละ 2 ครั้ง ๆ ละ 2 ชั่วโมง คือ ช่วงเวลา 07:00 -09:00 น. และ 15:00-17:00 น.

6. การตรวจการตกไข่ด้วยชุดตรวจสอบการตกไข่ทางการค้า (LH Ovulation Test) โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. กำหนดวันเพื่อเริ่มต้นการทดสอบ
2. เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดทดลอง (Vial)
3. ฉีกซองและนำชุดทดสอบออกจากซอง
4. จุ่มชุดทดสอบลงในตัวอย่างเลือดโดยให้หัวลูกศรบนแท่งชี้ไปยังตัวอย่างเลือด ใช้เวลาประมาณ 10 -20 วินาทีระวังอย่าให้ตัวอย่างเลือดเกินเส้นสูงสุด (Max line) บนแท่ง มิฉะนั้นผลจะคลาดเคลื่อน
5. นำแท่งทดสอบออกจากตัวอย่างเลือด แล้ววางนอนกับพื้นที่เรียบ สะอาด แห้ง และไม่ดูดซับน้ำ สำหรับเวลาที่อ่านผลการทดสอบที่เหมาะสมที่สุดคือที่ 5 นาที
6. รอสีของเส้นทดสอบปรากฏ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของ LH ในเลือด โดยปกติผลเป็นบวกจะปรากฏผลในเวลาอันสั้น ประมาณ 40 วินาที อย่างไรก็ตาม การยืนยันผลการทดสอบที่เป็นลบใช้เวลาทำปฏิกิริยาอย่างสมบูรณ์ 10 นาทีทั้งนี้ไม่ควรอ่านผลหลังจากทำการทดสอบเกิน 30 นาที ดังแสดงในภาพที่ 27

ภาพ 27 แสดงการตรวจการตกไข่ด้วยชุดตรวจสอบการตกไข่ทางการค้า (LH Ovulation Test)

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

การทดลองนี้ใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ประกอบด้วย 3 กลุ่มทดลอง กลุ่มทดลองละ 3 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของกลุ่มทดลอง โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (Statistics Package for the Social Science: SPSS 16.0) โดยกำหนดความแตกต่างทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ ถ้าผลวิเคราะห์ระหว่างกลุ่มทดลองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จะทำการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลองโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test ส่วนดัชนีชี้วัดที่ใช้ตรวจวัดอัตราการเป็นสัดทั้งหมดคำนวณจากโคที่ที่แสดงการเป็นสัดหารด้วยจำนวนโคทั้งหมดที่ทำการทดลอง และ ดัชนีชี้วัดที่ใช้ตรวจวัดอัตราการตกไข่ทั้งหมดคำนวณจากโคที่ที่แสดงการตกไข่หารด้วยจำนวนโคทั้งหมดที่ทำการทดลอง โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel 2007 ในการคำนวณ

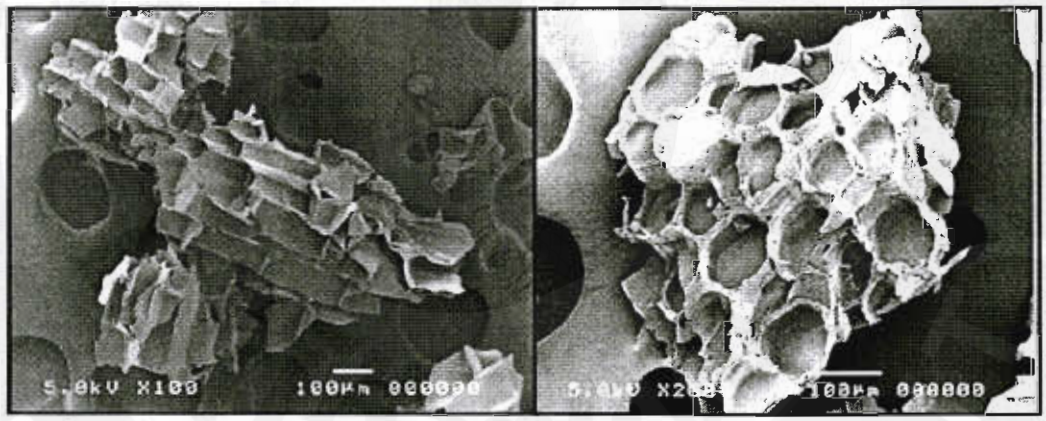
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*)

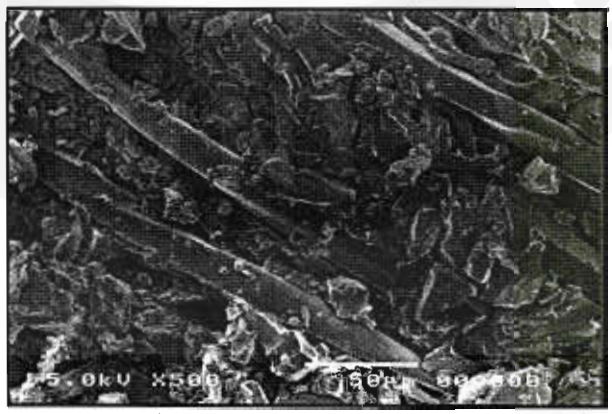
ผลของลักษณะชานอ้อยเมื่อบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน

เมื่อนำชานอ้อยที่บรรจุสารละลายโปรเจสเตอโรน (P_4)ไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าท่อแคปิลลารีมีลักษณะหนาขึ้นและมีผลึกสีขาวเกาะติดมากมายเมื่อเทียบกับท่อแคปิลลารีก่อนการบรรจุสารละลายโปรเจสเตอโรน ดังแสดงในภาพที่ 28 เพราะเนื่องจากสารละลายโปรเจสเตอโรนไปเคลือบอยู่ที่ผนังพื้นผิวท่อแคปิลลารีแต่ในอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าเมื่อตัดส่วนผิวด้านบนของอุปกรณ์ไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าบนผิวซิลิโคนมีโปรเจสเตอโรนเคลือบอยู่โดยลักษณะเป็นผลึกก้อนที่มีขนาดแตกต่างกันไป ดังแสดงในภาพ 29 แสดงให้เห็นว่าชานอ้อยสามารถดูดซับโปรเจสเตอโรนได้ดี



ลักษณะท่อแคปิลลารีก่อนบรรจุสารละลาย P_4 ลักษณะท่อแคปิลลารีหลังบรรจุสารละลาย P_4

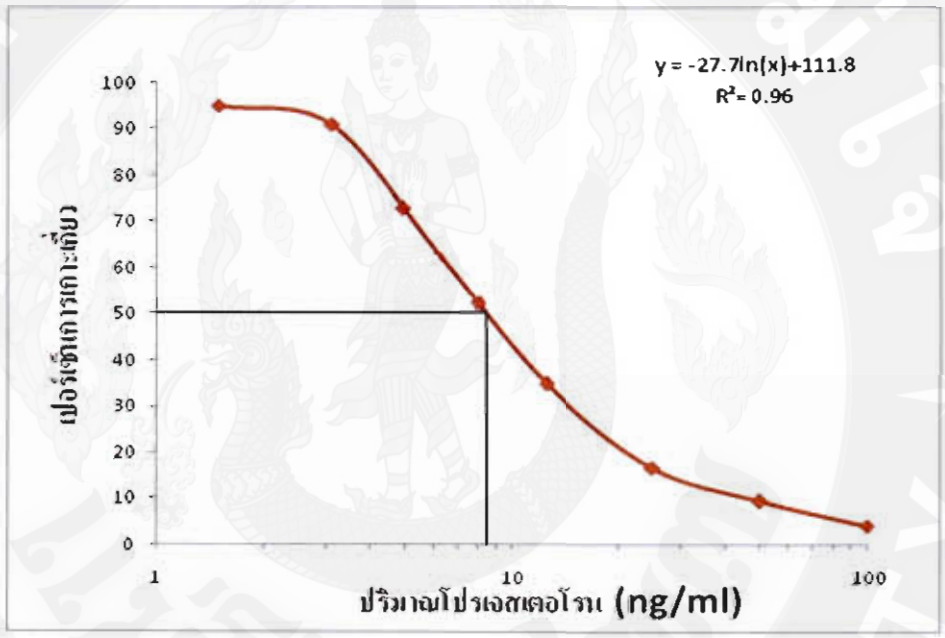
ภาพ 28 เปรียบเทียบลักษณะท่อแคปิลลารีก่อนและหลังบรรจุสารละลายโปรเจสเทอโรน



ภาพ 29 พื้นผิวซิลิโคนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าที่เคลือบด้วยโปรเจสเทอโรน

ผลการสร้างกราฟมาตรฐานของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

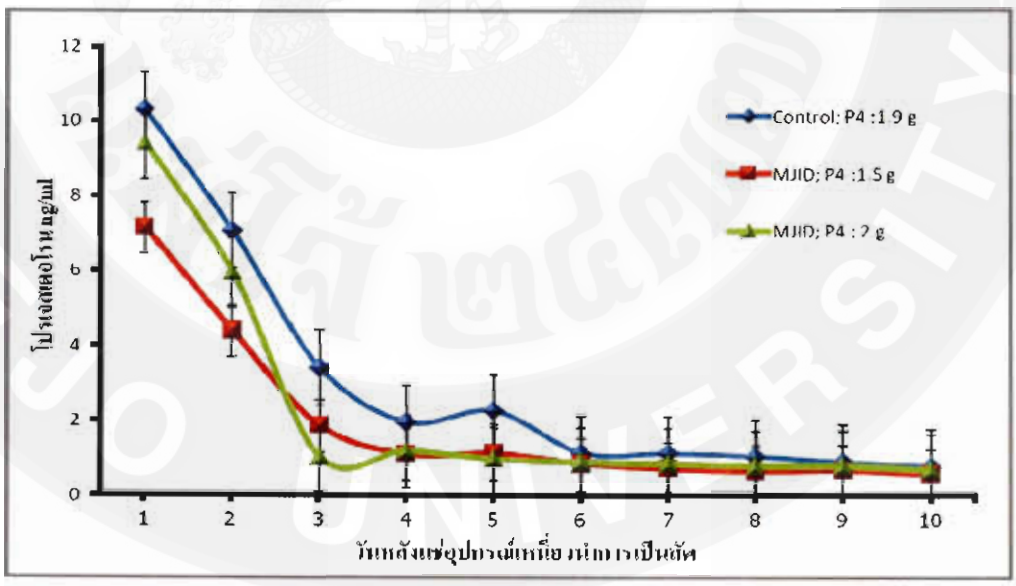
โดยการนำโพลีโคลนอลแอนติบอดีอัตราส่วนเจือจางที่ 1:5,000 และ IgG-HRP อัตราส่วนเจือจางที่ 1:5,000 มาใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังภาพที่ 30 พบว่าความไวของการทำปฏิกิริยาที่ 50 เปอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวได้ 8.78 นาโนกรัม (R^2 = 0.96) แสดงให้เห็นว่าแอนติบอดีที่ผลิตได้มีความไวสูงในการตรวจหาฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนได้อย่างแม่นยำ



ภาพ 30 กราฟมาตรฐานฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนโดยวิธี Indirect ELISA ที่ใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน

ผลของปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Indirect ELISA

จากการวัดปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เอง ซึ่งมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน คือ 1.5 และ 2 กรัม เมื่อแช่อุปกรณ์ในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา 10 วันแล้ว พบว่าปริมาณโปรเจสเตอโรน ในอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณใกล้เคียงอุปกรณ์ทางการค้า โดยแสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± SE คือ วันที่ 1 ของการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน กลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (MJID; P_4 :1.5 g) และ (MJID; P_4 :2 g) มีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเฉลี่ยเท่ากับ 9.41±0.26 ng/ml และ 7.16±0.26 ng/ml อุปกรณ์ทางการค้า (Control ; P_4 :1.9 g) เท่ากับ 10.41±0.26 ng/ml ซึ่งปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณใกล้เคียงกันอุปกรณ์ทางการค้าตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 5 และปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของทั้งสองอุปกรณ์มีปริมาณที่ใกล้เคียงกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 5 และ ในวันที่ 6 กลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เฉลี่ยเท่ากับ 0.88±0.26 ng/ml และ 083±0.26 ng/ml อุปกรณ์ทางการค้าเท่ากับ1.12±0.26 ng/ml และปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของอุปกรณ์ทั้งสองกลุ่มมีปริมาณค่อนข้างใกล้เคียงกันจนถึงวันที่ 10 ของการแช่อุปกรณ์ ดังแสดงผลในภาพ 31



ภาพ 31 กราฟการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเมื่อแช่ในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา 10 วัน

ตาราง 5 แสดงปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง เมื่อแช่อุปกรณ์ทั้งสองในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา10 วัน

วันที่	ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน ng/ml (ค่าเฉลี่ย ± SE)		
	Control ; P_4 :1.9 g	MJID ; P_4 :1.5 g	MJID ; P_4 :2 g
1	10.45±0.01[a]	7.15±0.01[a]	9.40±0.01[a]
2	7.06±0.03[a]	4.38±0.03[a]	5.94±0.03[a]
3	3.40±0.02[a]	1.84±0.02[ab]	1.014±0.02[b]
4	1.93±0.09[a]	1.07±0.09[b]	1.17±0.09[b]
5	2.23±0.01[a]	1.10±0.01[b]	0.95±0.01[b]
6	1.11±0.01[a]	0.82±0.01[a]	0.87±0.01[a]
7	1.10±0.07[a]	0.69±0.07[b]	0.84±0.07[b]
8	1.02±0.01[a]	0.62±0.01[b]	0.78±0.01[b]
9	0.87±0.01[a]	0.65±0.01[a]	0.77±0.01[a]
10	0.75±0.01[a]	0.54±0.01[a]	0.68±0.01[a]

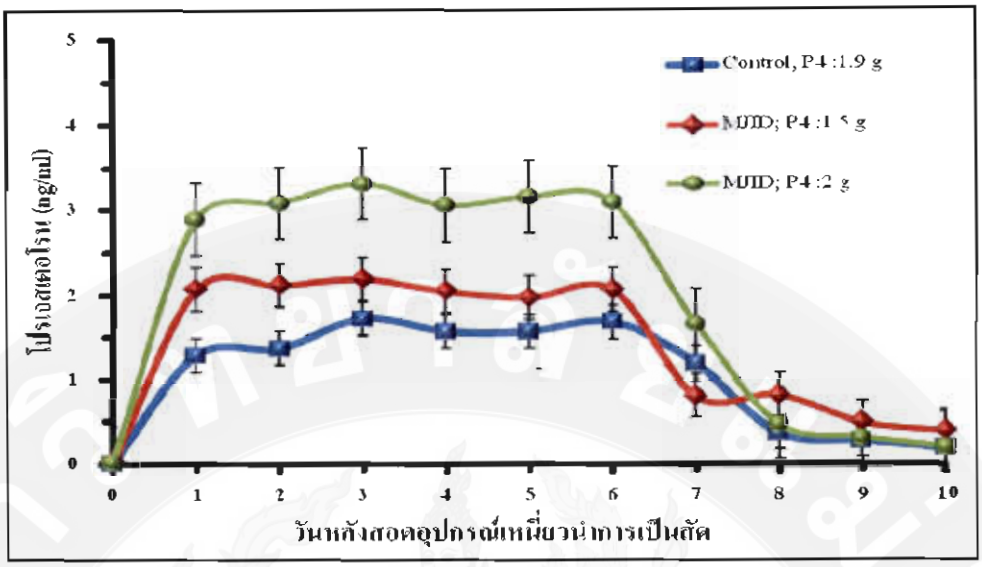
[a,b] คือค่าสถิติเปรียบเทียบระหว่างแถว (อักษรภาษาอังกฤษต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P< 0.05$)

เมื่อได้แบบอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่เหมาะสม (ความเหมาะสมดังกล่าวคือเมื่อสอดอุปกรณ์เข้าในช่องคลอดแล้วตัวอุปกรณ์สามารถคงอยู่ภายในช่องคลอดได้ตามเวลาที่ต้องการเหนี่ยวนำการเป็นสัด) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองกับอุปกรณ์ทางการค้าภายในห้องปฏิบัติการพบว่า ปริมาณการปล่อยฮอร์โมนที่ความเข้มข้น 1.5 และ 2 กรัม ใกล้เคียงกัน โดยอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองให้ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่เทียบเท่ากับอุปกรณ์ทางการค้าซึ่งมีการปล่อยโปรเจสเตอโรนไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อได้อุปกรณ์ที่สมบูรณ์แล้วจึงได้นำไปทดลองเหนี่ยวนำการเป็นสัดในสัตว์ทดลองจริง

ผลการทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง (*In vivo*)

ผลปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาโคเนื้อวัดโดยวิธี Competitive ELISA

จากตัวอย่างพลาสมาโคจำนวน 9 ตัวในกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง จากโคเนื้อจำนวน 6 ตัว ในกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าจากโคเนื้อ 3 ตัว เมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน พบว่าก่อนการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด (วันที่ 0) โคในกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองและกลุ่มอุปกรณ์ทางการค้ามีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไม่แตกต่างกัน วันที่1 ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (MJID ; P_4 :1.5 g) และ (MJID ; P_4 :2 g) มีปริมาณ 2.07±0.39 ng/ml และ 2.89±0.39ng/ml ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าอุปกรณ์ทางการค้า คือ 1.29±0.39ng/ml ดังแสดงในภาพ 32 โดยในวันที่ 2 ปริมาณ ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองยังคงมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่สูงกว่ากลุ่มอุปกรณ์ทางการค้าแตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในตาราง 6 เมื่อเข้าสู่วันที่ 3 ของการทดลองพบว่าปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในทั้งสองกลุ่มที่สอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนค่อยๆลดลงจนมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนค่อนข้างใกล้เคียงกัน คือ ในกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเท่ากับ 2.06±0.17ng/ml และ 3.09±0.17 ng/ml กลุ่มอุปกรณ์ทางการค้าคือ 1.68±0.17ng/ml อุปกรณ์ทั้ง 3 กลุ่ม มีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เพิ่มขึ้นจากวันที่ 2-5 เมื่อถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดออกในวันที่ 7 ปริมาณ ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในทั้งสองกลุ่มที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดลดลง โดยกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเท่ากับ 0.81±0.48ng/ml และ 1.66±0.48 ng/ml ตามลับ กลุ่มอุปกรณ์ทางการค้าเท่ากับ 1.19±0.48 ng/mlและในวันที่ 8 มีปริมาณ P_4 ลดต่ำอยู่เช่นนี้จนถึงวันที่ 10 ของการทดลอง โดยมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนน้อยกว่า 1 ng/ml



ภาพ 32 ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า

ตาราง 6 แสดงปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า

วันที่	ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน ng/ml (ค่าเฉลี่ย ± SE)		
	Control; P_4 :1.9 g	MJID ; P_4 :1.5 g	MJID ; P_4 :2 g
0	0.01±0.01[a]	0.03±0.01[a]	0.02±0.01[a]
1	1.29±0.39[a]	2.07±0.39[b]	2.89±0.39[c]
2	1.37±0.21[a]	2.12±0.21[b]	3.09±0.21[c]
3	1.73±0.11[a]	2.19±0.11[b]	3.31±0.11[c]
4	1.57±0.14[a]	2.05±0.14[b]	3.06±0.14[c]
5	1.57±0.19[a]	1.97±0.19[a]	3.16±0.19[b]
6	1.68±0.17[a]	2.06±0.17[a]	3.09±0.17[b]
7	1.19±0.48[a]	0.81±0.48[a]	1.66±0.48[a]
8	0.37±0.44[a]	0.82±0.44[a]	0.48±0.44[a]
9	0.28±0.26[a]	0.50±0.26[a]	0.32±0.26[a]
10	0.20±0.20[a]	0.39±0.20[a]	0.20±0.20[a]

[a,b,c] คือค่าสถิติเปรียบเทียบระหว่างแถว (อักษรภาษาอังกฤษต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ $p<0.05$)

ผลการตอบสนองต่อการเป็นสัดเมื่อใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์ทางการค้าในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อ

หลังจากถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดออกแล้ว (วันที่ 1 ก.ย 2554) ได้ทำการตรวจสัดเป็นที่ 24-48 ชั่วโมง หลังถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด หลังจากเหนี่ยวนำการเป็นสัดพบว่าโคในกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง เป็นสัดทุกตัว คิดเปอร์เซ็นต์การเป็นสัดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยโคในกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าเริ่มเป็นสัดครั้งแรกในวันที่ 4 ก.ย 2554 จำนวน 3 ตัว ซึ่งเท่ากับกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า ดังแสดงในตาราง 7

ตาราง 7 การแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดหลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าร่วมกับโปรแกรมการตกไข่ในโคเนื้อ

รายการ	อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง		อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า Control ; P_4 :1.9 g
	MJID ; P_4 :1.5 g	MJID ; P_4 :2 g	
สัตว์ทดลอง (ตัว)	3	3	3
วันที่สอดอุปกรณ์	25 มิ.ย 2554	25 มิ.2554	25 มิ.ย 2554
วันที่ถอดอุปกรณ์	1 ก.ย 2554	1 ก.ย 2554	1 ก.ย 2554
วันที่เป็นสัด	3 ก.ย 2554	3 ก.2554	3 ก.ย 2554
จำนวนที่เป็นสัด (ตัว)	3	3	3
เปอร์เซ็นต์การเป็นสัด	100	100	100

ผลการตอบสนองต่อการตกไข่เมื่อใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์ทางการค้าในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อ

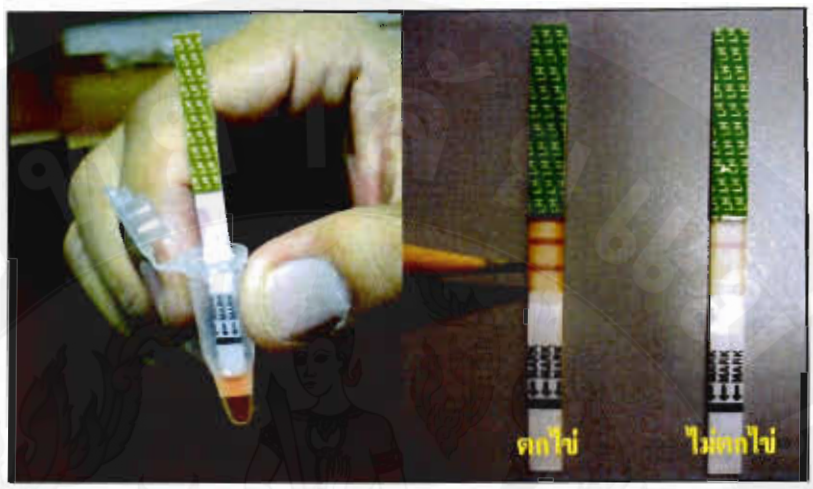
ผลการตรวจการตกไข่ด้วยชุดตรวจสอบการตกไข่ทางการค้า (LH Ovulation Test) โดยจากการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเพื่อควบคุมการตกไข่ตามรูปแบบที่เสนอไว้ในการทดลองนี้ สามารถทำให้โคมีการตกไข่ในอัตราที่สามารถยอมรับได้ และ มีระยะเวลาตกไข่ที่แม่นยำ ทำให้สามารถกำหนดเวลาในการผสมเทียมอย่างได้ผล โดยพบว่า แม่โคที่ได้รับฮอร์โมนเพื่อควบคุมการตกไข่และผสมเทียมตามระยะเวลาที่กำหนด มีอัตราการตกไข่ในกลุ่มอุปกรณ์ MJID; P_4:2 g มีอัตราการตกไข่ 100% ส่วนอุปกรณ์ MJID; P_4:1.5 g และ Control; P_4:1.9 g มีอัตราการตกไข่ 67% ดังแสดงในตาราง 8

ตาราง 8 ผลการตกไข่หลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองเปรียบเทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าร่วมกับโปรแกรมการตกไข่ในโคเนื้อ

รายการ	อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง		อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า
	MJID ; P_4 :1.5 g	MJID ; P_4 :2 g	Control ; P_4 :1.9 g
สัตว์ทดลอง (ตัว)	3	3	3
วันที่สอดอุปกรณ์	25 มิ.ย 2554	25 มิ.ย 2554	25 มิ.ย 2554
วันที่ถอดอุปกรณ์	1 ก.ย 2554	I ก.ย 2554	1 ก.ย 2554
วันที่เป็นสัต	3 ก.ย 2554	3 ก.ย 2554	3 ก.ย 2554
จำนวนที่ตกไข่ (ตัว)	2	3	2
เปอร์เซ็นต์การตกไข่	67	100	67

ผลการตรวจการตกไข่ด้วยชุดตรวจสอบการตกไข่ทางการค้า (LH Ovulation Test) เป็นการเปรียบเทียบการตรวจหาฮอร์โมน LH เพื่อหาวันตกไข่ โดยในวันที่ 0 ถึง วันที่ 7 ของการทดลอง ผลที่ได้จะเป็น Negative (-) คือตรวจไม่พบการตกไข่ วันที่ 8 - 9 พบว่าแถบ Teste Line (แถบล่าง) จะปรากฏสีเข้มมากขึ้น ตามปริมาณฮอร์โมน LH ที่สูงขึ้น จะเห็นว่าแถบ Teste Line มีสีเข้มใกล้เคียงกับ แถบ Control Line (แถบบน) คือ ตรวจพบปริมาณฮอร์โมน LH ที่สูงขึ้น จะมีการตกไข่ภายใน 24-48 ชั่วโมง โดยผลที่ได้จะเป็น Positive (+) ดังแสดงในภาพที่ 33 และ

วันที่ 10 พบว่าแถบ Teste Line จะปรากฏสีจางกว่าแถบ Control Line แสดงว่าเลยระยะไข่ตกไปแล้วเป็นช่วงเวลาหลังการตก ดังแสดงในตาราง 9



ภาพ 33 แสดงผลการตรวจการตกไข่ด้วยชุดตรวจสอบการตกไข่ทางการค้า (LH Ovulation Test)

ตาราง 9 ผลการตอบสนองต่อการดกไข่เมื่อใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง เปรียบเทียบกับอุปกรณ์ทางการค้าในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อ

กลุ่มทดลอง	วันที่		
	วันที่ 8	วันที่ 9	วันที่ 10
Control ; P_4 :1.9 g	-	-	-
	+	+	-
	-	+	-
	+	+	-
MJID ; P_4 :1.5 g	+	+	-
	-	-	-
	-	+	-
MJID ; P_4 :2 g	+	+	-
	+	+	-

หมายเหตุ: - คือ ตรวจไม่พบการตกไข่, + คือ ตรวจพบการตกไข่

วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองในห้องปฏิบัติการ (*In Vitro*)

จากวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อ เพื่อลดมูลค่าการนำเข้าเทคโนโลยี โดยออกแบบอุปกรณ์ 4 แบบ คือ แบบที่ 1 เป็นทรงกระบอกบรรจุชานอ้อยไว้ภายใน แบบที่ 2 เป็นรูปตัวที โดยส่วนของปีกและลำตัวบรรจุด้วยชานอ้อย แบบที่ 3 เป็นรูปตัววี โดยส่วนปีกทำจากฟองน้ำเนื้อละเอียดและส่วนลำตัวขึ้นรูปด้วยแท่งกาวยาง และ แบบที่ 4 เป็นรูปทรงกระบอกใช้ฟองน้ำเนื้อละเอียดบรรจุโปรเจสเตอโรน อุปกรณ์ทั้ง 4 แบบ ได้นำไปทดลองสอดในช่องคลอดโคทดลองก่อนเพื่อทดสอบการคงอยู่ของอุปกรณ์ ผลจากการสอดอุปกรณ์ อุปกรณ์แบบที่ 1, แบบที่ 3 และแบบที่ 4 ไม่สามารถคงอยู่ในช่องคลอดได้ครบตามเวลาที่กำหนด ส่วนอุปกรณ์แบบที่ 2 สามารถคงอยู่ในช่องคลอดได้ครบตามเวลาที่กำหนด โดยกรรมวิธีผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่มีลักษณะพิเศษขึ้นรูปอุปกรณ์ด้วยผ้าซับใน (Organza) และ ใช้ชานอ้อยเป็นวัสดุดูดซับโปรเจสเตอโรน ใช้ด้ายเป็นส่วนหางและส่วนปีกทำจากแท่งกาวยางที่ยืดหยุ่นได้ประกอบติดกับหัวฟองน้ำที่มีลักษณะอ่อนนิ่ม ในการผลิตอุปกรณ์นี้ใช้การขึ้นรูปอุปกรณ์ด้วยผ้าซับใน เนื่องจากเนื้อผ้ามีความลื่นและใยผ้ามีความเหนียว สามารถยืดขยายได้ โดยที่ตะเข็บรอยเย็บไม่ปริแตก ในการประดิษฐ์อุปกรณ์นี้ ใช้ชานอ้อยเป็นวัสดุดูดซับฮอร์โมนโปรเจสเตอโร เนื่องจากชานอ้อยมีท่อแคปิลลารีประกอบขึ้นจากสารประเภทเซลลูโลส, ลิกนินและเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ นอกนั้นเป็นส่วนประกอบอื่นๆในปริมาณเล็กน้อย (โดยที่ส่วนประกอบของเฮมิเซลลูโลสอยู่ 30-35% ของน้ำหนักส่วนประกอบทั้งหมด) รวมถึงผนังท่อแคปิลลารีมีความยืดหยุ่น ทำให้มีความสามารถในการดูดซับของเหลวเข้าไปอยู่ภายในได้เป็นอย่างดี และ สามารถปล่อยออกเมื่อมีแรงกด บีบหรืออัด เป็นต้น จากคุณสมบัติดังกล่าว จึงได้นำชานอ้อยที่มีท่อแคปิลลารีนี้มาใช้เป็นวัสดุดูดซับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน การผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในครั้งนี้ เมื่อได้แบบอุปกรณ์ที่เหมาะสม จึงนำอุปกรณ์มาบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนปริมาณ 1.5 และ 2 กรัม จากนั้นศึกษาการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในห้องปฏิบัติการเปรียบเทียบอุปกรณ์ที่ผลิตขึ้นเองกับอุปกรณ์ทางการค้า ผลการทดลองพบว่า ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนกลุ่มอุปกรณ์ที่ผลิตขึ้นเองมีปริมาณใกล้เคียงกับอุปกรณ์ทางการค้า แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ±SE คือ 9.41±0.26 ng/ml และ 10.41±0.26 ng/ml ตามลำดับซึ่งมีการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแตกต่างกันทางสถิติ

การทดลองในตัวสัตว์ (*In Vivo*)

จากการศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดจากการใช้อุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดในโคเนื้อพบว่า ค่าเฉลี่ยของปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดมีค่าเท่ากับ 4.21 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งสามารถให้เหตุผลได้ว่า ปริมาณการสังเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในอวัยวะแต่ละส่วนจะมีความแตกต่างกัน โดยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ถูกสร้างที่คอร์ปัสลูเทียมเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในคอร์ปัสลูเทียมจะเปลี่ยนไปในทิศทางเดียวกันกับการพัฒนาและการเปลี่ยนแปลงขนาดของคอร์ปัสลูเทียม โดยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์และเข้าไปทำงานด้วยตัวของมันเองที่นิวเคลียสโดยตรง โดยจะไปจับกับ Plasma hormone recepter เป็นตัวพา เข้าไปในเซลล์ การสังเคราะห์โปรเจสเตอโรน ทั้งที่รังไข่ รก และต่อมหมวกไตส่วนนอก ต่างก็ใช้วิถีเดียวกันคือ มีโคเลสเตอรอลเป็นสารตั้งต้น การเปลี่ยนเพรกเนนโนโลนไปเป็นฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Tuckey, 2005) ซึ่งปริมาณการสังเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในอวัยวะแต่ละส่วนจะมีความแตกต่างกัน ซึ่งสามารถให้เหตุผลได้ว่า ในสัตว์ที่ไม่ตั้งท้อง ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนส่วนใหญ่จะถูกสร้างจากคอร์ปัสลูเทียม ได้แก่ small luteal cell (SLC, มีประมาณ 19 %) และ large luteal cell (LLC, มีประมาณ 4 %) ส่วนที่เหลือประมาณ 7% เป็นเซลล์อื่นๆ (ไชยณรงค์,2551) ปริมาณการหลั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนช่วงระยะ Luteal phase ของวงรอบการเป็นสัต จะมีการหลั่งออกมาจำนวนมากคือประมาณ 20-40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เริ่มหลั่งหลังจากระยะตกไข่ และหลั่งมากขึ้นเรื่อยๆจนมีระดับสูงสุดประมาณวันที่ 16 ของรอบการเป็นสัดแล้วลดลงก่อนมีการตกไข่ 3-4 วัน ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะถูกดูดซึมอย่างรวดเร็ว หลังจากได้รับเข้าไปในร่างกาย โดยจะเคลื่อนที่ไปตามกระแสเลือดไปยังอวัยวะเป้าหมาย มากกว่า 90% จะถูกเมทาบอลิซึมที่ตับก่อน โดยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ไม่ถูกใช้ประโยชน์จะถูกดับทำการเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของ inactive form เป็น เพรกแนนโนโลน ซึ่งจะถูกคอนจูเกตและขับถ่ายออกทางอุจจาระประมาณร้อยละ 20 ของโปรเจสเตอโรนที่พบในเลือด และจะถูกขับออกทางปัสสาวะในรูปของ sodium pregnanediol gucuronide

เนื่องจากฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีความสำคัญต่อความสมบูรณ์พันธุ์ การฝังตัวและการมีชีวิตรอดของตัวอ่อน การพัฒนาฟอลลิเคิล การตกไข่และวงรอบการเป็นสัด ในการไหลเวียนเลือดเพื่อกำจัดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในตับ จึงมีความเกี่ยวข้องกับระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ไหลเวียนอยู่ในกระแสเลือด ซึ่งการให้ทางการกินจะได้ผลน้อยมากเมื่อเทียบกับการให้ที่ทางช่องคลอด Richardson et al.,(2002) การให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนผ่านทางช่องคลอดโดยตรงมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุโพรงมดลูกที่คล้ายคลึงกับที่เกิดในระยะ Luteal phase ของวงรอบการเป็นสัด แสดงให้เห็นว่าการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในช่องคลอด

โดยตรงจะช่วยให้การเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุภายในผนัง ของกระเปาะไข่และทำให้การพัฒนาของฟอลิเคิลเหมือนกับที่เกิดในวงรอบการเป็นสัดปกติ

การวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาซึ่งระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน สามารถบอกจำนวนวันในวงรอบการเป็นสัดได้ โดยใช้ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เป็นดัวชี้วัด (Manchaca and Rubianes, 2002) ปกติระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในช่วงเป็นสัด (วันที่ 0) และ วันที่ 1-2 นั้นจะต่ำมาก คือ มีค่าตั้งแต่วัดไม่ได้ จนถึงประมาณ 1 ng/ml ค่าดังกล่าวจะขึ้นลงอยู่ 2-3 วัน จากนั้นจะสูงขึ้นจนมีระดับสูงสุดในรอบแรกของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน โดยจะพบมากที่สุดใน วันที่ 6 แต่ก็มีบ้างที่จะพบดั้งแต่ วันที่ 4 จนถึง วันที่ 8 ค่าของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ที่วัดได้จากระดับสูงสุดในรอบแรกนั้นเปลี่ยนแปลงไปตามรูปแบบของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอ โรนของแต่ละวงจร ซึ่งมีค่าได้ดั้งแต่มากกว่า 1 ng/mlไปจนถึงมากกว่า 10 ng/ml จากนั้นค่าฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่วัดได้จะขึ้นสูงสุด โดยจะยังคงสูงอยู่เช่นนั้น 7-10 วัน ซึ่งจะอยู่ในช่วง Luteal phase โดยมีระดับสูงสุดของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในช่วงนี้ 2-5 รอบ โดยแต่ละรอบจะมีค่ามากกว่า 2 ng/ml ไปจนถึงมากกว่า 10 ng/ml หลังจากนั้นระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะลดลงจนมีค่าต่ำมากอย่างรวดเร็ว ในวันที่ 17 ถึง วันที่ 19 ขึ้นกับวงรอบการเป็นสัด โดยระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในวันที่ 19 ถึง วันที่ 22 ของวงรอบการเป็นสัด มีค่าต่ำมาก คือ น้อยกว่า 1 ng/ml (Larson and Randle,.2002) แต่หากเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดปริมาณระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่วัดได้จะไม่เท่ากับปริมาณระดับของฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนในธรรมชาติของตัวสัตว์ คือ เมื่อสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัตที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดโคจะเพิ่มขึ้นจนถึงระดับสูงสุดหลังจากทำการสอดอุปกรณ์ไว้เพียง 24 ชั่วโมงและจะคงที่อยู่ที่ระดับเดิมอยู่ประมาณ 7 วัน และเมื่อทำการถอดอุปกรณ์ ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดก็จะลดระดับลงอย่างรวดเร็ว

จากการศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดจากการใช้อุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดในโคเนื้อ พบว่า มีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในวันที่ 1 คือ 2.07±0.39 ng/ml และ 2.89±0.39 ng/ml ซึ่งสูงกว่าอุปกรณ์ทางการค้าเล็กน้อย คือ 1.29±0.39 ng/ml ในวันที่ 2 อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองพบว่ามีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเท่ากับ 2.12±0.21 ng/ml และ 3.09±0.21 ng/ml ซึ่งสูงกว่าอุปกรณ์ทางการค้า คือ 1.37±0.21 ng/ml อุปกรณ์ทั้ง 3 กลุ่ม มีระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเพิ่มสูงขึ้น ในวันที่ 8 -10 มีปริมาณ P_4 ลดต่ำอยู่โดยมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนน้อยกว่า 1 ng/mlโดยผลที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ

Gabriel *et al.*, (2009) ได้ทำการศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดจากการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด คือ Cue Mate® ที่มีโปรเจสเตอโรน 1.56 กรัม, PRID® ที่มีโปรเจสเตอโรน 1.7 กรัม, CIDR® ที่มี โปรเจสเตอโรน 1.9 กรัม และ CIDR® ที่มีโปรเจสเตอโรน 1.38 กรัม อุปกรณ์ทั้งหมดทำการสอดช่องคลอดเป็นเวลา 21 วัน โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดทุกๆ วัน เพื่อวัดระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือด โดยพบว่า ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือด ในวันที่ 1 ไม่แตกต่างกันคือ Cue-Mate®: 4.5±0.6 ng/ml , PRID®: 1.7±0.6 ng/ml, CIDR® (1.9 กรัม): 4.6±0.6ng/ml และ CIDR® (1.38g) : 3.7±0.4 ng/ml หลังจากนั้นระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะลดลงจนมีค่าต่ำมากอย่างรวดเร็ว ในวันที่ 11 คือ CIDR® (1.9 กรัม): 1.8±0.2 ng/ml, Cue-Mate: 1.4±0.2 ng/ml, CIDR® (1.38g): 1.2±0.1 ng/ml และ PRID®: 1.2±0.1 ng/ml และที่ 24 ชั่วโมงหลังการถอดอุปกรณ์ ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือด มีระดับต่ำกว่า 1 ng /ml สอดคล้องกับ Darrel and Kesler.,(2002) ที่ศึกษาปริมาณระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในพลาสมาโคที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าพบว่าวันแรกของการสอดอุปกรณ์ ปริมาณระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เท่ากับ 4.6 ng/ml และ วันที่ 2 มีปริมาณระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เท่ากับ 4.8 ng/ml เมื่อเข้าสู่ วันที่ 6 มีปริมาณระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เท่ากับ 2.2+0.2 ng/ml ซึ่งมีความสอดคล้องกับการรายงานของ Long *et al.*, (2008) โดยใช้อุปกรณ์สอดช่องเหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าในโคเนื้อที่ตัดรังไข่ พบว่า หลังจากทำการสอดอุปกรณ์ไว้เพียง 24 ชั่วโมง ปริมาณค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนในเลือดเท่ากับ 4.0±0.1 ng/ml หลังจากนั้นจะค่อยๆลดระดับลงเป็น 1.4 ±0.19 ng/ml แสดงให้เห็นว่าอุปกรณ์สอดช่องเหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าสามารถควบคุมการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดให้เหมือนช่วง Luteal phase ในวงรอบการเป็นสัดปกติได้ ถึงแม้จะไม่มีรังไข่ก็ตาม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Gabriel *et al.*, (2004) การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดเหนี่ยวนำการเป็นสัด พบว่า ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือด ในวันที่ 2-5 เฉลี่ย เท่ากับ 4.5+0.6 ng/ml ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือด มีระดับต่ำกว่า 1 ng /ml ที่ 24-48 ชั่วโมงหลังถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด สอดคล้องกับการรายงานของ Marcos *et al.*, (2006) โดยสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า ร่วมกับ ฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา โดยพบว่าระดับความเข้มข้นของโปรเจสเตอโรนในเลือด มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น 24 ชั่วโมง หลังจากการสอดอุปกรณ์ไว้ภายในช่องคลอด

การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ผลิตขึ้นสามารถนำมาใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้จริง โดยมีผลการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนใน

พลาสมา เมื่อสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด ใกล้เคียงกันกับอุปกรณ์ทางการค้า โดยอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองมีปริมาณโปรเจสเตอโรนสูงกว่าอุปกรณ์ทางการค้า และ เมื่อใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ผลิตขึ้นร่วมกับการใช้ฮอร์โมน เอสตราไดออลเบนโซลเอท และฮอร์โมนพรอสตาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา เพื่อควบคุมการเป็นสัดและตกไข่ในการทดลองนี้ สามารถทำให้โคสาวมีการตกไข่ในอัตราที่สามารถยอมรับได้ และมีระยะเวลาตกไข่ที่แม่นยำ ทำให้สามารถกำหนดเวลาในการผสมเทียมอย่างได้ผล เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเป็นสัดของกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองกับอุปกรณ์ทางการค้าให้ผลเปอร์เซ็นต์การเป็นสัด 100 % เท่ากันทั้งสองกลุ่ม สอดคล้องกับการรายงานของ ศิวัช. 2548 พบว่าการใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจน 1 mg/ml ที่ 24 ชั่วโมง หลังถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด มีผลทำให้เกิดการเหนี่ยวนำการเจริญของฟอลลิเคิลและทำให้เกิดการตกไข่ในเวลาใกล้เคียงกันทำให้อัตราการผสมติดสูงขึ้น การให้ฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท ที่ 24 ชั่วโมง หลังถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด จะทำให้เวลาในการตกไข่และเป็นสัดเร็วกว่าโคที่ไม่ได้ฉีดฮอร์โมนเอทตราไดออล เบนโซลเอท โดยโคที่ทำการฉีดฮอร์โมนเอทตราไดออล เบนโซลเอท ร่วมด้วยโคจะแสดงอาการเป็นสัดยืนนิ่งระหว่าง 48-60 ชั่วโมงหลังจากมีการให้เอสตร้าไดออลเบนโซเอท หากต้องการที่จะทำการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาก็ควรทำการผสมที่ 48 ชั่วโมงหลังถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเพื่อให้อัตราการผสมติดสูงขึ้น ส่วนการให้ฮอร์โมนพรอสต้าแกรนดิ้น เอฟทูแอลฟ่า นั้นให้ไปเพื่อสลายคอร์ปัสลูเทียมที่อาจจะค้างอยู่ในช่วงที่มีการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดไว้ สอดคล้องกับการรายงานของ Cavalicri et al.,(2003) พบว่า การให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนร่วมกับอุปกรณ์เหนี่ยวการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอด มีผลทำให้โคแสดงการเป็นสัดและมีการตกไข่ตามมา โดยการให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนมีผลทำให้ไปปรับระยะเวลาของการสร้างฟอลลิเคิลให้พร้อมๆกัน การให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนนั้นอาจให้พร้อมกับการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด หรือ การฉีดฮอร์โมนเอสโตรเจนในช่วงก่อนเริ่มต้นการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด โดยพบว่า หากให้ในวันที่ 1 หรือ 3 และก่อนวันที่ 6 ของช่วงที่ฟอลิเคิลกำลังพัฒนาจะมีผลไปเพิ่มการตกไข่ได้ เนื่องมาจาก การให้ฮอร์โมนเอสโตรเจน ทำให้กระเปาะไข่เจริญเต็มที่ เป็นผลให้ระดับของลูทีไนท์ซิงฮอร์โมนขึ้นสูงสุด ทำให้เกิดการตกไข่ภายใน 24 ชั่วโมง และมีผลทำให้โคแสดงพฤติกรรมการเป็นสัด

การใช้โปรแกรมฮอร์โมนเหนี่ยวนำการเป็นสัดตามรูปแบบที่เสนอไว้ในการทดลองนี้ ทำให้โคสาวมีเปอร์เซ็นต์การเป็นสัด 100 % และมีอัตราการตกไข่ 67% ทำให้สามารถกำหนดเวลาในการผสมเทียมอย่างได้ผล นอกจากนี้ยังสามารถลดต้นทุนการควบคุมการตกไข่ได้ สอดคล้องกับการรายงานของ Bo *et al.*, (2002) พบว่า การให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดฉีด 100 mg/ml สามารถเหนี่ยวนำให้ โดมิแนนท์ ฟอลลิเคิล มีการสลายตัว และ เพื่อให้แน่ใจว่าโคอยู่

ในช่วงของระยะ Luteal phase จริง ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับ Cavalieri *et al.*,(2003) พบว่า การฉีดฮอร์โมนเอสโตรเจนสามารถกระตุ้นการตกไข่ของโดมิแนนท์ฟอลลิเคิลได้ และมีผลเหนี่ยวนำให้เกิดการพัฒนาของฟอลลิเคิลชุดใหม่ สามารถนำมาใช้ร่วมกับโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด สอดคล้องกับการรายงานของ Xu and Burton.,(2000) พบว่า การฉีดฮอร์โมนเอสตร้าไดออล เบนโซเอท ขนาด 1 mg/ml ที่ 24 หรือ 48 ชั่วโมงภายหลังจากที่มีการหยุดให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดสามารถเหนี่ยวนำให้แม่โคแสดงอาการเป็นสัดชัดเจน โดยมากกว่า 90% ของแม่โคแสดงอาการเป็นสัดภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมงภายหลังการฉีดฮอร์โมนเอสตร้าไดออล เบนโซเอท สอดคล้องกับ Day *et al.*, (2000) พบว่า 24 ชั่วโมงภายหลังการฉีดฮอร์โมนเอสตร้าไดออล เบนโซเอท มีระยะเวลาตกไข่ ระหว่าง 60-80 ชม. ภายหลังจากที่มีการถอดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และ ให้อัตราการผสมติดอยู่ระหว่าง 40-60 % สอดคล้องกับ O'Rourke *et al.*, 2000 และ ศิวัช. 2548 พบว่า การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดควรใช้ร่วมกับฮอร์โมนพรอสตราแกลนดินเอฟทูแอลฟา และฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท มีผลทำให้การเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่มีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น สอดคล้องกับการรายงานของ Martinez *et al.*, (2005) พบว่า การใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการฉีดฮอร์โมนเอสโตรเจนเป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมอย่างมากในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา ใช้ได้ผลทั้งในโคนมและโคเนื้อ สอดคล้องกับการรายงานของ (นุศรา, 2548) พบว่า การใช้ฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดเป็นแนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาประสิทธิภาพระบบสืบพันธ์ และช่วยในด้านการจัดการผสมเทียม โดยฮอร์โมนนี้ใช้ได้ในโคที่มีวงรอบการเป็นสัดและไม่มีวงรอบการเป็นสัด แต่การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด CIDR® นี้ควรใช้ร่วมกับสารอื่น เช่น ฮอร์โมนพรอสคาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา และฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท เพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่มากขึ้น สอดคล้องกับการรายงานของ Martinez *et al.*, (2002) รายงานว่าการใช้อุปกรณ์อุปกรณ์สอดช่องคลอดเหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าร่วมกับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 50 mg/ml และ ฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท 1mg/ml โดยพบว่า การเป็นสัดในกลุ่มของโคที่ได้รับ การฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท มีอัตราการเป็นสัด 92.3% สอดคล้องกับการรายงานของ Colazo et al., (2004) ที่รายงานการใช้อุปกรณ์สอดช่องคลอดเหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า ร่วมกับฮอร์โมนพรอสคาร์แกลนดินเอฟทูแอลฟา และ ฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท 1 mg ร่วมกับการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 mg พบว่าอัตราการเป็นสัดสูงถึง 88% สอดคล้องกับการรายงานของ Marcelo *et al.*, (2000) การใช้อุปกรณ์สอดช่องคลอดเหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า ร่วมกับ ฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท 1 mg และ

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 mg โดยพบว่าอัตราการเป็นสัด 100 % , อัตราการผสมติด 76 % และอัตราการตั้งท้องสูงถึง 100% สอดคล้องกับ Martinez *et al.*, (2005) รายงานว่าเมื่อให้ฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท ขนาด 1 mg หลังจากมีการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดร่วมด้วย พบว่า 90% ของโคในฝูงเป็นสัดภายใน 24 ชั่วโมง เช่นเดียวกับ Cavalicri *et al.* (2003) ซึ่งพบว่าฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท และ อุปกรณ์สอดช่องคลอดเหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าสามารถนำมาใช้ในการควบคุมการเกิดคลื่นฟอลลิเคิล ควบคุมการเป็นสัดและการตกไข่ โดยการให้ฮอร์โมนอีสตราไดออล เบนโซเอท ระหว่างที่เหนี่ยวนำการเป็นสัดทำให้มีการตกไข่ในโคสาวและแม่โค สอดคล้องกับการรายงานของ O'Rourke *et al.*, (2000) พบว่าการใช้ฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท ในระยะก่อนการเป็นสัด ภายหลังจากมีการให้อุปกรณ์สอดช่องคลอดเหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าและฮอร์โมนพรอสตราแกลนดินเอฟทูแอลฟา ช่วยลดระยะห่างของการเป็นสัดและการตกไข่ ซึ่งทำให้สามารถตรวจหาวันเพื่อทำการผสมเทียมได้ง่ายขึ้น

การให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดในโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัด มักเพิ่มต้นทุนในการผลิตของฟาร์ม เนื่องจากอุปกรณ์ที่ใช้เป็นของต่างประเทศต้องนำเข้าในราคาแพง แต่อย่างไรก็ตามการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดเหนี่ยวนำการเป็นสัด ให้ผลอัตราการเป็นสัด และอัตราการตกไข่ ที่สามารถยอมรับได้ และมีระยะเวลาตกไข่ที่แม่นยำ ทำให้สามารถกำหนดเวลาในการผสมเทียมอย่างได้ผล สอดคล้องกับ Tenhagen *et al.*, (2004) รายงานว่าการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดร่วมกับโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่ และการผสมเทียมแบบกำหนดระยะเวลาให้ผลการตอบสนองที่ดี ซึ่งโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดสามารถเหนี่ยวนำให้แม่โคแสดงอาการเป็นสัดสูงมากกว่า 90% สอดคล้องกับการรายงานของ Bo *et al.*, (2002) พบว่า การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดเหนี่ยวนำการเป็นสัด ให้อัตราการผสมติดสูงขึ้นในแม่โคที่มีปัญหาไม่เป็นสัดและผสมไม่ติด ซึ่งข้อดีของการใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดร่วมกับโปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนสามารถฟื้นฟูระบบสืบพันธุ์ที่มีปัญหาของโคให้กลับมาเป็นสัดปกติได้ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Chenault *et al.*,(2003) รายงานว่ามีโคจำนวน 3.1% ที่ไม่มีการตอบสนองต่อการใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดร่วมกับโปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ อีกทั้งยังมีรายงานการใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้าร่วมกับการฉีดฮอร์โมนเอสโตรเจนหลังจากการถอดอุปกรณ์สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเป็นสัดและตกไข่ในโคได้อย่างได้ผล สอดคล้องกับการรายงานของ Derasota *et al.*, (1998) ที่มีการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้าร่วมกับการฉีดฮอร์โมนเอสโตรเจน ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์

อัตราการตั้งท้องของแม่โคเพิ่มสูงขึ้นให้ผลคุ้มค่าทางเศรษฐกิจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงฤดูร้อนที่มีผลทำให้เกิดภาวะเครียดในแม่โค

งานวิจัยชิ้นนี้มีจุดประสงค์หลักที่จะพัฒนาและทดสอบอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ผลิตขึ้น ที่นำมาใช้ในการควบคุมการเป็นสัดในโคเนื้อ โดยการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดร่วมกับฮอร์โมนเอสโตรเจน และฮอร์โมนพรอสตราแกลนดิน เอฟทูแอลฟ่าให้ได้รูปแบบการใช้ฮอร์โมนที่สามารถควบคุมการตกไข่ในแม่โคอย่างได้ผล มีระยะเวลาการตกไข่ที่แม่นยำ เพื่อให้ได้รูปแบบโปรแกรมเหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ใช้ได้ดีและเหมาะสมสำหรับใช้กับแม่โคที่เลี้ยงดูในประเทศไทย งานวิจัยนี้ยังมีวัตถุประสงค์ที่จะลดค่าใช้จ่ายของแท่งฮอร์โมนลง โดยออกแบบผลิตอุปกรณ์ขึ้นใช้เองภายในประเทศ ในขณะที่ยังสามารถควบคุมการตกไข่ได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีอัตราผสมติดเป็นที่ยอมรับได้เทียบเท่ากับอุปกรณ์ทางการค้า นอกจากนี้ผู้วิจัยยังมีสมมุติฐานต่อไปว่า ความแม่นยำ และความสามารถในการจับสัดที่ต่ำ เป็นสาเหตุหลักที่ทำให้อัตราการตั้งท้องของแม่โคต่ำกว่าที่ควรจะเป็นในฟาร์มโคเนื้อของประเทศไทย ดังนั้นการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ผลิตขึ้น ในการควบคุมการตกไข่ และผสมเทียมตามระยะเวลากำหนด จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสืบพันธุ์ของแม่โคในฟาร์มเหล่านี้ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังจะสามารถช่วยลดมูลค่าการนำเข้าเทคโนโลยีจากต่างประเทศและให้เกษตรกรได้มีโอกาสเข้าถึงเทคนิคการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในการเพิ่มจำนวนโคที่ตั้งท้องด้วยวิธีการเหนี่ยวนำการเป็นสัดนี้มากขึ้น โดยใช้องค์ความรู้ที่นำไปสู่การพัฒนาวิธีการในการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดและผสมเทียมตามระยะเวลากำหนดโดยไม่ต้องทำการสังเกตอาการเป็นสัด การเหนี่ยวนำให้ตกไข่ เพื่อผสมเทียมตามระยะเวลาที่กำหนด

สำหรับการศึกษาต่อไปประเด็นที่น่าสนใจคือ การพัฒนารูปแบบอุปกรณ์เพื่อให้มีความเหมาะสมสามารถที่จะนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์มากขึ้น เนื่องจากอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด ที่ผลิตขึ้นใช้วัตถุดิบภายในประเทศที่มีราคาถูก โดยทดสอบการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเปรียบเทียบกับชุดอุปกรณ์ทางการค้าในภาคสนามให้มากยิ่งขึ้น เพื่อให้ผลเป็นที่น่าเชื่อถือมากยิ่งขึ้น งานวิจัยต่อไปจึงควรมุ่งเน้นการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในภาคสนามเพื่อทดสอบการทำงานของรังไข่ การแสดงพฤติกรรมการเป็นสัด อัตราการผสมติด และ การตั้งท้องภายหลังการใช้ชุดอุปกรณ์ นอกจากนี้หากใช้เทคโนโลยีนี้ร่วมกับเทคโนโลยีการตรวจการตั้งท้องที่รวดเร็ว เช่น การตรวจท้องด้วยเครื่องอัลตราซาวน์ (30 วันหลังผสม) หรือการตรวจระดับโปรเจสเตอโรนหลังผสม ก็จะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการสืบพันธุ์ของแม่โคในฟาร์ม โดยการเพิ่มจำนวนแม่โคตั้งท้องในฟาร์มให้มากขึ้นได้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ผลิตขึ้น แสดงให้เห็นว่าอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดสามารถนำมาใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้จริง โดยมีผลการวัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาเมื่อสอดุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ใกล้เคียงกัน โดยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ผลิตขึ้น มีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูงกว่าอุปกรณ์ทางการค้า และตัวอุปกรณ์สามารถคงอยู่ได้จนครบตามจำนวนที่ต้องการเหนี่ยวนำการเป็นสัด และเมื่อใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ผลิตขึ้นร่วมกับการใช้ฮอร์โมนเอสตราไดออลเบนโซลเอทเพื่อควบคุมการเป็นสัดและตกไข่ในการทดลองนี้สามารถทำให้โคสาวมีการตกไข่ในอัตราที่สามารถยอมรับได้ และมีระยะเวลาตกไข่ที่แม่นยำ ทำให้สามารถกำหนดเวลาในการผสมเทียมอย่างได้ผล เมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การเป็นสัดของกลุ่มอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเองกับอุปกรณ์ทางการค้าให้ผลเปอร์เซ็นต์การเป็นสัด 100 % เท่ากันทั้งสองกลุ่ม ราคาของอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์เองยังมีราคาถูกกว่าอุปกรณ์ทางการค้าอีกด้วย ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น สามารถนำมาใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคเนื้อได้จริง สามารถใช้ทดแทนและลดมูลค่าการนำเข้าอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางการค้าที่เป็นเทคโนโลยีนำเข้าจากต่างประเทศได้ โดยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองนี้มีชื่อว่า Meajo Intravaginal Devices (MJID)

ข้อเสนอแนะ

1. ชานอ้อยที่จะนำมาใช้ควรล่อนด้วยตะแกรงก่อนเพื่อให้ได้ขนาดของชานอ้อยที่สม่ำเสมอกันเพราะขนาดของชานอ้อยมีผลต่อปริมาณการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

2. เมื่อบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในแท่งอุปกรณ์แล้วไม่ควรนำไปนึ่งฆ่าเชื้อเพราะจะทำให้น้ำจากการนึ่งจะไปเจือจางฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่แท่งอุปกรณ์ ทำให้ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไม่คงเดิม ควรใช้วิธีการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือ ฆ่าเชื้อด้วยด่างทับทิม แล้ว นำอุปกรณ์มาเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปใช้

3. ควรเพิ่มจำนวนโคในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดเพื่อทดสอบความคงที่ของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในแท่งอุปกรณ์และการเป็นสัดเมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัด

4. เกิดองค์ความรู้ใหม่ในการพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามามีส่วนร่วมในภาคปศุสัตว์ต่างๆ เช่นการนำไปประยุกต์ใช้กับ แกะ, แพะ และ กระบือ ต่อไป

5. งานวิจัยต่อไปควรมุ่งเน้นการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในภาคสนามเพื่อทดสอบการทำงานของรังไข่ การแสดงพฤติกรรมการเป็นสัด อัตราการผสมติด และ การตั้งท้องภายหลังการใช้ชุดอุปกรณ์ นอกจากนี้หากใช้เทคโนโลยีนี้ร่วมกับเทคโนโลยีการตรวจการตั้งท้องที่รวดเร็ว เช่น การตรวจท้องด้วยเครื่องอัลตราซาวน์ (30 วันหลังผสม) หรือ การตรวจระดับโปรเจสเตอโรนหลังผสม ก็จะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการสืบพันธุ์ของแม่โคในฟาร์ม โดยการเพิ่มจำนวนแม่โคตั้งท้องในฟาร์มให้มากขึ้นได้

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มงานเศรษฐกิจการปศุสัตว์. 2553. **ข้อมูลเศรษฐกิจการปศุสัตว์.** กรุงเทพฯ: กองส่งเสริมการปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. น. 7-11

กองวิจัยเศรษกิจการเกษตร. 2554. **การผลิตการตลาดโคเนื้อ.** กรุงเทพฯ: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. น. 1-21

นภาธร บานชื่น, สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ, วิบูลย์ศรี พิมลพันธุ์ และ สายสุนี วนดุรงค์วรรณ. 2522. **คู่มืออิมมูโนวิทยา.** กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยมหิดล. 419 น.

นุศรา ชำนาญหมอ. 2548. **ประสิทธิภาพการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด (CIDR) ที่ผ่านการใช้แล้วสองครั้งในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคนม.** เชียงใหม่: คณะสัตวแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. น. 1-15

ไชยณรงค์ นาวานุเคราะห์. 2551. **สรีรวิทยาการสืบพันธุ์ขั้นสูง.** ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 114 น.

ไพศาล สิทธิกรกุล. 2548. **วิทยาภูมิคุ้มกัน สำหรับการเรียนการสอนและการวิจัย.** กรุงเทพฯ: ศูนย์สื่อเสริม. 268 น.

ยอดชาย ทองไทยนันท์. 2539. **การส่งเสริมการเลี้ยงกระบือจากอดีตและแนวทางสู่อนาคต การพัฒนาปศุสัตว์จากกึ่งพุทธกาลถึงยุคโลกาภิวัตน์.** กรุงเทพฯ: สมาคมสัตวบาล. 216 น.

วิรงรอง กองแก้ว. 2551. **การพัฒนาอุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดพร้อมกันในแพะ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 154 น.

ศิวัช สังข์ศรีทวงษ์. 2548. **การสาธิตการใช้ฮอร์โมนเหนี่ยวนำการตกไข่เพื่อแก้ไขปัญหาผสมติดยากและการกระตุ้นการผลิตน้ำนมก่อนการตั้งท้องของโคนม.** กรุงเทพฯ: สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 95 น.

สมชัย สัจจาพิทักษ์, อดิศร ยะวงศา และ พิพัฒน์ อรุณวิภาส. 2554. **การศึกษาการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาโดยการใช้ Progesterone ร่วมกับ prostaglandin F2α และ hCG หรือ GnRH รูปแบบต่าง ๆ ในแม่โคเนื้อ.** นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. 112 น.

สมปอง สรวมศิริ. 2535. **เอกสารคำสอนวิชา คน 321 การสืบพันธุ์ของสัตว์.** เชียงใหม่: สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้. 184 น.

สรรเพชญ โสภณ. 2548. **โครงการการใช้นิวเคลียร์เทคโนโลยีเพื่อส่งเสริมกิจกรรมผสมเทียมโคเนื้อและกระบือปลัก.** กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 1-14

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

Bearden, H.J. and J.W. Fuquay. 1992. Applied Animal Reproduction. 3rd Edition. **Prentice Hall, Englewood Cliffs** 42: 177-193.

Bo, G.A., P.S., Baruselli. D. Moreno, L. Cutaia, M. Caccia, H. Tr´ıbulo and R.J. Mapletoft. 2002. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology** 57: 572.

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

Baruselli., P.S., E.L. Reis., M.O.Marques., L.F. Nasser and G.A. Bob. 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. **Anim. Reprod. Sci** 82: 479–486.

Ball, P. J.H and A.R.Peter. 2004. Reproduction in Cattle. **Academic press** 65: 238-242

Cavalieri, J., G. Hepworth, K.I. Parker, P.J. Wright and K.L. Macmilan. 2003. Effect of treatment With progesterone and estradiol when starting treatment with an intravaginal progesterone Releasing insert on ovarian follicular development and hormonal concentration in Holstein cow. **J. Anim. Reprod. Sci** 76: 177-193.

Chenault, J.R., J.F. Boucher, K.J. Dame, J.A. Meyer, and S.L. Wood-Follis. 2003. Intravaginal Progesterone insert to synchronize return to estrus of previously inseminated dairy cow. **J. Dairy Sci** 86: 2039-2049.

Colazo, M. G., J.P. Kastelic, M.F. Martínez, P.R. Whittaker, R. Wilde, J.D. Ambrose, R. Corbett, and R.J. Mapletoft. 2004. Fertility following fixed-time AI in CIDR-treated beef heifers given GnRH or estradiol cypionate and fed diets supplemented with flax seed or sunflower seed. **Theriogenology** 61: 1115–1124.

Day, M.L., Burke, C.R., Taufa, V.K., Day, A.M. and Macmillan, K.L. 2000. The strategic use of estradiol to enhance fertility and submission rates of progestin. J. Anim.Reprod. Sci 43: 147–153.

DeJarnette, J. M., M. L. Day, R. B. House, R. A. Wallace and C. E. Marshall. 2001. Effect of GnRH pretreatment on reproductive performance of postpartum beef cows following synchronization of estrus using GnRH and $PGF_2\alpha$. **J. Anim. Sci** 79: 1675–1682.

Evans, A.C.O., P. O'Keeffe, M. Mihm, J.F., Roche, K.L. Macmillan and M.P.Boland. 2003. Effect of oestradiol benzoate given after prostaglandin at two stages of follicle wave development onoestrus synchronization, the LH surge and ovulation in heifers. **Anim. Reprod. Sci** 76: 13-23.

Gabriel A. Ból, E. Lucas, Cutaia1, H. Alexandre, Souza and Pietro S. Baruselli. 2004. Systematic Reproductive Management in Dairy Herds. **Reprodução Animal** 82: 479-486.

Jordan, E.R., M.J. Schouten, J.W. Quast, A.P. Belschner and M.A. Tomaszewski. 2002. Comparison of two timed artificial insemination (TAI) protocols for management of first insemination postpartum. **J. Dairy Sci** 85: 1002-1008.

Hittinger, M.A., J.D. Ambrose and J.P. Kastelic. 2004. Luteolysis, onset of estrus, and ovulation in Holstein heifers given prostaglandin F2 , concurrent with, or 24 hours prior to, removal of an intravaginal, progesterone-releasing device. **J. Vet. Res** 68: 283-287.

Lamb G.C., Larson J.E., Geary T.W., Stevenson J.S., Johnson S.K., Day M.L., Ansotegui R.P., Kesler D.J., DeJarnette J.M., Landblom D.G. 2006. Synchronization of estrus and artificial insemination in replacement beef heifers using gonadotropin-releasing hormone, prostaglandin F2alpha, and progesterone. **J Anim Sci** 84: 3000-3009.

Lucy, M.C., J.S. Stevenson and E.P. Call. 1986. Controlling first service and calving interval by Prostaglandin F2, gonadotropin- releasing hormone and timed insemination. **J. Dairy Sci** 69: 2186-2194.

Long ST, Yoshida C, Nakao T. 2008. Plasma progesterone profile in ovariectomized beef cows after intra-vaginal insertion of new, once-used or twice-used CIDR. **Reprod Domest Anim** 80: 215-224

Marcobal, A., M. C. Polo, P. J. Martín-Álvarez and M. V. Moreno- Arribas. 2005. Biogenic amine content of red Spanish wines: comparison of a direct ELISA and an HPLC method for the determination of histamine in wines. **Food Res. Int** 38: 387-394.

Marcelo, F., Martinez, John P. Kastelic, Gregg P. Adams, Eugene Janzen, Duane H. McCartney, Reuben and J. Mapletoft. 2000. Estrus synchronization and pregnancy rates in beef cattle given CIDR-B, prostaglandin and estradiol, or GnRH. **Can .Vet .J** 41: 786-790.

Martinez, M.F., J.P. Kastelic, G.P. Adams, and R.J. Mapletoft. 2002. The use of progesterone Releasing device (CIDR-B) or malengestrol acetate with GnRH, LH or estradiol benzoatcFor fixed-time AI in beef heifers. **J. Anim Sci** 80: 1746-1751.

Mapletoft, R.J., M.F. Martinez, M.G. Colazo, and J.P. Kastelic. 2003. The use of controlled internal Drug release devices for the regulation of bovine reproduction. **J. Anim. Sci** 81: 2-28.

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.

Marcos. G., Colazo, John P. Kastelic, Hannah Davis, Mary D. Rutledge, Marcclo F. Martinez,Julie A. Small, Reuben and J. Mapletoft. 2006. Effects of plasma progesterone concentrations on LH Rclease and ovulation in beef cattle given GnRH. **Domestic Animal Endocrinology** 34: 109–117.

Masha, K. and J. Rahimi. 2009. Use of intravaginal progesterone relcasing inserts in a Synchronization protocol before timed AI and for synchronizing return to estrus in Holstein heifers. **J. Dairy Sci** 88: 957-968.

McKinniss. E.N. R.D. Esterman, S.A. Woodall, B.R. Austin, M.J. Hersom,W.W. Thatcher, and J.V. Yelich. 2011. Evaluation of two progestogcn-based estrous synchronization protocols in yearling heifers of Bos indicus x Bos taurus breeding. **Theriogenology** 88: 154-163

Menchaca, A., and E. Rubianes. 2001. Effect of high progesterone concentration during the early luteal phase on the length of the ovulatory cycle of goats. **Anim. Reprod. Sci** 68: 69-76.

Mihm, M., M.A. Knight, and E.J. Austin. 2002. Follicle wave growth in cattle. **Repro. Domest. Anim** 37: 191-200.

Moreira, F., R.L. de la Sota, T. Dia and W.W. Thatcher. 2000. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. **J. Anim. Sci** 78: 1568-1576.

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.

Parker, R. and C. Mathis. 2004. Reproductive tract anatomy and physiology. **The cow Guide** 212: 1-4.

Pursley, J.R., M.O.Mee and M.C. Wiltbank. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 and GnRH. **Theriogenology** 44: 915-923.

Ré pási, A., J.F. Beckers, J. Sulon, A. Karen, J. Reiczigel and O.Szenci. 2005. Effect of the type and number of prostaglandin treatment on corpus luteum, the largest follicle and progesterone concentration in dairy cows. **Reprod. Domest. Anim** 40: 436-442.

Revah, I. and W.R. Butler. 1996. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. **J. Reprod. Fert** 106: 39-47.

Risto, E. and B.M. Landgren. 2005. Role of progestins in contraception. **Acta Obstet Gynecol Scand** 84: 207-216.

Senger, P.L. 1997. Pathways to Preganacy and Parturition. **Theriogenology** 23: 120-128.

Son. D.S., C.Y. Choe., S.H. Choi., S.R. Cho., H.J. Kim., M.H. Han., I.S. Ryu., G.H. Suh., U.H. Kim., and I.H. Kim. 2007. Effect of estradiol benzoate or GnRH treatment prior to superstimulation in CIDR-treated, Korean native cows (Bos taurus). **Animal Reproduction Science** 100: 14–21.

Sá Filhoa.O.G., C.C. Diasa, G.C. Lambb, and J.L.M. Vasconcelosa. 2010. Progesterone-based estrous synchronization protocols in non-suckled and suckled primiparous Bos indicus beef cows. **Animal Reproduction Science** 119: 9–16.

Ramos.A.F, R. Rumpf, J.U. Câmara, M.R. Mollo, I. Pivato, A.P. Marques Jr , and R. Sartori. 2010. Effect of follicular wave synchronization on in vitro embryo production in heifers. **Animal Reproduction Science** 117: 201–207.

Tuckey, C.R. 2005. Progesterone synthesis by the human placenta. **Placenta** 26: 273-281.

Whittier. W.D., R.K. Whittier, J.F. Kasimanickam, Currin, H.H. Schramm, and M. Vlcek. 2010. Effect of timing of second prostaglandin F2α administration in a 5-day, progesterone-based CO-Synch protocol on AI pregnancy rates in beef cows. **Theriogenology** 74: 1002–1009.

Xu, Z.Z. and L.J. Burton. 2000. Estrus synchronization of lactating dairy cows with GnRH, Progesterone, and Prostaglandin F2. **J. Dairy Sci** 83: 471-476.

.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตารางผนวก

ตารางผนวก 1 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในน้ำเกลือของกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า

วันที่	ค่า O.D. ของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในน้ำเกลือกลุ่มอุปกรณ์ทางการค้า		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
1	0.139	0.105	0.112
2	0.151	0.147	0.197
3	0.212	0.192	0.230
4	0.247	0.26	0.251
5	0.293	0.225	0.221
6	0.289	0.311	0.299
7	0.303	0.311	0.308
8	0.3	0.292	0.314
9	0.313	0.341	0.305
10	0.339	0.332	0.321

ตารางผนวก 2 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในน้ำเกลือของกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (MJID; P_4:1.5 g)

วันที่	ค่า O.D. ของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในน้ำเกลือกลุ่ม MJID; P_4:1.5g		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
1	0.135	0.233	0.169
2	0.152	0.255	0.253
3	0.201	0.299	0.307
4	0.287	0.3	0.312
5	0.298	0.298	0.307
6	0.322	0.391	0.324
7	0.338	0.328	0.331
8	0.349	0.402	0.338
9	0.324	0.347	0.334
10	0.339	0.342	0.35

ตารางผนวก 3 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในน้ำเกลือของกลุ่มอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (MJID; P_4:2 g)

วันที่	ค่า O.D. ของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในน้ำเกลือกลุ่ม MJID; P_4:2 g		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
1	0.143	0.135	0.115
2	0.165	0.158	0.173
3	0.335	0.297	0.287
4	0.299	0.322	0.297
5	0.322	0.311	0.299
6	0.31	0.307	0.33
7	0.322	0.335	0.322
8	0.321	0.326	0.344
9	0.312	0.335	0.322
10	0.344	0.329	0.334

ตารางผนวก 4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาโคทดลองจำนวน 3 ตัว เมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า

วันที่	ค่า O.D. ของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาโคทดลอง		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	3.040	2.822	2.860
1	0.539	1.000	0.638
2	0.538	0.835	0.653
3	0.511	0.602	0.550
4	0.551	0.669	0.579
5	0.594	0.700	0.516
6	0.556	0.585	0.555
7	0.711	0.686	0.787
8	1.300	1.365	1.166
9	1.735	1.295	1.301
10	1.214	1.931	1.989

ตารางผนวก 5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาโคทดลองจำนวน 3 ตัว เมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (MJID; P_4:1.5 g)

วันที่	ค่า O.D. ของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาโคทดลอง		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	2.519	2.336	2.354
1	0.532	0.413	0.465
2	0.477	0.439	0.456
3	0.417	0.432	0.477
4	0.470	0.532	0.426
5	0.510	0.543	0.428
6	0.551	0.470	0.400
7	1.240	1.097	0.623
8	1.475	1.326	0.508
9	1.555	1.705	0.745
10	1.418	1.957	0.897

ตารางผนวก 6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาโคทดลองจำนวน 3 ตัว เมื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง (MJID; P_4:2 g)

วันที่	ค่า O.D. ของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนในพลาสมาโคทดลอง		
	ซ้ำที่ I	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
0	2.762	2.651	0.529
1	0.302	0.235	0.084
2	0.306	0.255	0.057
3	0.240	0.240	0.054
4	0.281	0.278	0.060
5	0.285	0.277	0.051
6	0.271	0.306	0.054
7	0.385	0.565	0.181
8	1.362	0.996	0.233
9	I.375	1.340	0.265
10	1.584	1.604	0.300

ตารางผนวก 7 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่มทางการค้า

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่มทางการค้า						
ซ้ำที่1	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณP_4 ด้วยสมการ y = -27.72ln(x) +111.81
	1	0.139	0.166	0.153	9.06	7.52
	2	0.151	0.169	0.160	9.51	6.82
	3	0.212	0.216	0.214	12.72	3.39
	4	0.247	0.258	0.253	15.00	2.06
	5	0.293	0.288	0.291	17.26	1.26
	6	0.289	0.298	0.294	17.44	1.21
	7	0.303	0.294	0.299	17.74	1.14
	8	0.3	0.314	0.307	18.24	1.02
	9	0.313	0.32	0.317	18.81	0.90
	10	0.339	0.347	0.343	20.38	0.64
ซ้ำที่2	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณP_4 ด้วยสมการ y = -27.72ln(x) +111.81
	1	0.139	0.105	0.122	7.25	11.16
	2	0.112	0.147	0.130	7.69	10.13
	3	0.208	0.192	0.200	11.88	4.07
	4	0.281	0.26	0.271	16.07	1.63
	5	0.261	0.225	0.243	14.44	2.33
	6	0.305	0.311	0.308	18.30	1.00
	7	0.282	0.311	0.297	17.62	1.17
	8	0.308	0.292	0.300	17.83	1.11
	9	0.337	0.341	0.339	20.14	0.67
	10	0.326	0.332	0.329	19.55	0.77

ตารางผนวก 7 (ต่อ)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่มทางการค้า						
ซ้ำที่3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	1	0.122	0.102	0.112	6.65	12.70
	2	0.191	0.202	0.197	11.68	4.25
	3	0.211	0.249	0.230	13.67	2.76
	4	0.241	0.26	0.251	14.88	2.11
	5	0.239	0.202	0.221	13.10	3.12
	6	0.301	0.296	0.299	17.74	1.14
	7	0.311	0.305	0.308	18.30	1.00
	8	0.325	0.302	0.314	18.63	0.94
	9	0.301	0.309	0.305	18.12	1.04
	10	0.319	0.323	0.321	19.07	0.85

ตารางผนวก 8 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID; P_4:1.5 g

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID; P_4:1.5 g						
ซ้ำที่1	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณP4 ด้วยสมการ y = -27.72ln(x) +111.81
	1	0.135	0.127	0.131	7.78	9.93
	2	0.152	0.145	0.149	8.82	7.92
	3	0.201	0.231	0.216	12.83	3.30
	4	0.287	0.299	0.293	17.41	1.22
	5	0.298	0.301	0.300	17.80	1.12
	6	0.322	0.288	0.305	18.12	1.04
	7	0.338	0.327	0.333	19.76	0.73
	8	0.349	0.335	0.342	20.32	0.65
	9	0.324	0.339	0.332	19.70	0.74
	10	0.339	0.424	0.382	22.67	0.39
ซ้ำที่2	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณP_4 ด้วยสมการ y = -27.72ln(x) +111.81
	1	0.144	0.233	0.189	11.20	4.72
	2	0.264	0.255	0.260	15.42	2.93
	3	0.305	0.299	0.302	17.94	2.60
	4	0.299	0.3	0.300	17.80	1.31
	5	0.302	0.298	0.300	17.83	1.07
	6	0.322	0.391	0.357	21.18	1.13
	7	0.341	0.328	0.335	19.88	0.78
	8	0.327	0.402	0.365	21.66	0.39
	9	0.355	0.347	0.351	20.86	0.70
	10	0.352	0.342	0.347	20.62	0.29

ตารางผนวก 8 (ต่อ)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID; P_4:1.5 g						
ซ้ำที่ 3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณP_4 ด้วยสมการ y = -27.72In(x) +111.81
	1	0.151	0.169	0.160	9.51	6.82
	2	0.177	0.253	0.215	12.77	3.35
	3	0.289	0.307	0.298	I7.7I	1.14
	4	0.322	0.312	0.317	18.84	0.89
	5	0.3	0.307	0.304	18.03	1.06
	6	0.309	0.324	0.317	18.81	0.90
	7	0.355	0.331	0.343	20.38	0.64
	8	0.322	0.338	0.330	19.61	0.76
	9	0.35	0.334	0.342	20.32	0.65
	10	0.339	0.35	0.345	20.47	0.63

ตารางผนวก 9 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID; P_4:2 g

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID; P_4:2 g						
ซ้ำที่1	Day	Rep.I	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณP_4 ด้วยสมการ y = -27.72ln(x) +111.81
	1	0.143	0.159	0.151	8.97	7.67
	2	0.165	0.179	0.172	10.22	5.84
	3	0.335	0.346	0.341	20.23	0.66
	4	0.299	0.301	0.300	17.83	1.11
	5	0.322	0.319	0.321	19.04	0.85
	6	0.31	0.324	0.317	18.84	0.89
	7	0.322	0.298	0.310	18.42	0.98
	8	0.321	0.315	0.318	18.89	0.88
	9	0.312	0.306	0.309	18.36	0.99
	10	0.344	0.311	0.328	19.46	0.78
ซ้ำที่2	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณP_4 ด้วยสมการ y = -27.72ln(x) +111.81
	1	0.147	0.135	0.141	8.38	8.73
	2	0.18	0.158	0.169	10.04	6.07
	3	0.292	0.297	0.295	17.50	1.20
	4	0.289	0.322	0.306	18.15	1.04
	5	0.308	0.311	0.310	18.39	0.99
	6	0.315	0.307	0.311	18.48	0.97
	7	0.341	0.335	0.338	20.08	0.68
	8	0.352	0.326	0.339	20.14	0.67
	9	0.359	0.335	0.347	20.62	0.61
	10	0.365	0.329	0.347	20.62	0.61

ตารางผนวก 9 (ต่อ)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID; P_4:2 g						
ซ้ำที่ 3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	1	0.115	0.12	0.118	6.98	11.83
	2	0.173	0.169	0.171	10.16	5.92
	3	0.287	0.303	0.295	17.53	1.19
	4	0.297	0.269	0.283	16.82	1.39
	5	0.299	0.315	0.307	18.24	1.02
	6	0.33	0.326	0.328	19.49	0.78
	7	0.322	0.317	0.320	18.98	0.87
	8	0.344	0.309	0.327	19.40	0.79
	9	0.322	0.344	0.333	19.79	0.73
	10	0.334	0.346	0.340	20.20	0.66

ตารางผนวก 10 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาโคของกลุ่มทางการค้า

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาของโคกลุ่มทางการค้า						
ซ้ำที่1	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ y = -27.72ln(x) +111.81
	1	3.15	2.93	3.040	180.63	0.01
	2	0.54	0.54	0.539	32.00	1.78
	3	0.55	0.53	0.538	31.97	1.78
	4	0.51	0.52	0.511	30.36	1.89
	5	0.54	0.57	0.551	32.74	1.73
	6	0.57	0.62	0.594	35.29	1.58
	7	0.55	0.56	0.556	33.04	1.71
	8	0.74	0.68	0.711	42.25	1.23
	9	1.30	1.30	1.300	77.21	0.35
	10	1.67	1.80	1.735	103.09	0.14
ซ้ำที่2	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ y = -27.72ln(x) +111.81
	1	2.97	2.67	2.822	167.68	0.01
	2	1.23	0.77	1.000	59.39	0.66
	3	1.05	0.63	0.835	49.61	0.94
	4	0.73	0.47	0.602	35.77	1.55
	5	0.75	0.59	0.669	39.72	1.35
	6	0.81	0.59	0.700	41.56	1.26
	7	0.65	0.52	0.585	34.76	1.61
	8	0.78	0.59	0.686	40.73	1.30
	9	1.30	1.43	1.365	81.11	0.30
	10	1.12	1.47	1.295	76.95	0.35

ตารางผนวก 10 (ต่อ)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาของโคกลุ่มทางการค้า						
ซ้ำที่3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	1	2.80	2.92	2.860	169.90	0.01
	2	0.65	0.63	0.638	37.91	1.44
	3	0.65	0.66	0.653	38.80	1.39
	4	0.54	0.56	0.550	32.65	1.74
	5	0.55	0.61	0.579	34.40	1.63
	6	0.50	0.54	0.516	30.66	1.87
	7	0.54	0.57	0.555	32.95	1.72
	8	0.70	0.87	0.787	46.73	1.05
	9	1.22	1.11	1.166	69.25	0.46
	10	1.39	1.21	1.301	77.27	0.35

ตารางผนวก 11 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาโคของกลุ่ม MJID; P4:1.5 g

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาของโคกลุ่ม MJID; P4:1.5 g						
ซ้ำที่1	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ y = -27.72ln(x) +111.81
	1	2.465	2.573	2.519	149.67	0.03
	2	0.543	0.52	0.532	31.58	1.81
	3	0.482	0.472	0.477	28.34	2.03
	4	0.439	0.395	0.417	24.78	2.31
	5	0.416	0.524	0.470	27.93	2.06
	6	0.568	0.451	0.510	30.27	1.89
	7	0.606	0.495	0.551	32.71	1.73
	8	1.141	1.339	1.240	73.68	0.40
	9	1.464	1.485	1.475	87.61	0.24
	10	1.607	1.502	1.555	92.36	0.20
ซ้ำที่2	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ y = -27.72ln(x) +111.81
	1	2.394	2.278	2.336	138.80	0.04
	2	0.45	0.376	0.413	24.54	2.33
	3	0.456	0.422	0.439	26.08	2.20
	4	0.44	0.424	0.432	25.67	2.24
	5	0.652	0.411	0.532	31.58	1.81
	6	0.491	0.595	0.543	32.26	1.76
	7	0.467	0.472	0.470	27.90	2.06
	8	1.291	0.903	1.097	65.18	0.54
	9	1.401	1.251	1.326	78.79	0.33
	10	1.797	1.612	1.705	101.28	0.15

ตารางผนวก 11 (ต่อ)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาของโคกลุ่ม MJID; P4:1.5 g						
ซ้ำที่ 3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	1	2.311	2.396	2.354	139.84	0.04
	2	0.411	0.518	0.465	27.60	2.09
	3	0.423	0.489	0.456	27.09	2.12
	4	0.38	0.574	0.477	28.34	2.03
	5	0.441	0.41	0.426	25.28	2.27
	6	0.389	0.467	0.428	25.43	2.26
	7	0.361	0.439	0.400	23.77	2.40
	8	0.714	0.531	0.623	36.99	1.49
	9	0.452	0.563	0.508	30.15	1.90
	10	0.788	0.702	0.745	44.27	1.14

ตารางผนวก 12 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาโคของกลุ่ม MJID; P4:2 g

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาของโคกลุ่ม (MJID; P4:2 g)						
ซ้ำที่1	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	1	2.963	2.56	2.762	164.08	0.02
	2	0.292	0.311	0.302	17.91	2.96
	3	0.352	0.259	0.306	18.15	2.93
	4	0.268	0.212	0.240	14.26	3.38
	5	0.236	0.325	0.281	16.67	3.09
	6	0.322	0.248	0.285	16.93	3.07
	7	0.292	0.249	0.271	16.07	3.16
	8	0.429	0.34	0.385	22.85	2.48
	9	1.421	1.302	1.362	80.90	0.31
	10	1.336	1.413	1.375	81.67	0.30
ซ้ำที่2	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	1	2.701	2.6	2.651	157.49	0.02
	2	0.224	0.245	0.235	13.93	3.42
	3	0.237	0.272	0.255	15.12	3.27
	4	0.246	0.234	0.240	14.26	3.38
	5	0.28	0.276	0.278	16.52	3.11
	6	0.277	0.277	0.277	16.46	3.12
	7	0.286	0.325	0.306	18.15	2.93
	8	0.913	0.217	0.565	33.57	1.68
	9	0.902	1.09	0.996	59.18	0.67
	10	1.39	1.29	1.340	79.62	0.32

ตารางผนวก 12 (ต่อ)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาของโคกลุ่ม (MJID; P4:2 g)						
ซ้ำที่ 3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	1	2.786	2.503	2.645	157.13	0.02
	2	0.357	0.478	0.418	24.81	2.31
	3	0.276	0.295	0.286	16.96	3.06
	4	0.266	0.269	0.268	15.89	3.18
	5	0.245	0.357	0.301	17.88	2.96
	6	0.223	0.283	0.253	15.03	3.28
	7	0.242	0.294	0.268	15.92	3.18
	8	0.851	0.955	0.903	53.65	0.81
	9	1.221	1.107	1.164	69.16	0.47
	10	1.325	1.322	1.324	78.64	0.33

ภาคผนวก ข
สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง
ต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี	Lot number	บริษัท
Citric acid	1575	BIO-RAD
Dehydrogenate phosphate, KH_2PO_4	Pipe man	Gilson
Disodium phosphate monohydrate, $Na_2HPO_4.12H_2O$	F1613786 015	EMSURE
Dehydrogenate phosphate, KH_2PO_4	-	-
Dimethyl sulfoxide, DMSO	802912	เอส.เค.เทรดดิ้ง
Ethanol 95%	-	-
Gelatin	1080-500G	LABCHEM
Glycine	G/0800/60	Fisher Scientific
Hydrochloric acid	AR1107-G2.5L	ACL Labscan
O-phynylene-diamine-HCl, OPD	-	-
Polyethylene sorbitan monolaurate, Tween 80	-	-
Potassium chloride, KCl	K 40373136946	MERCK
Progesterone (P4)	-	-
Estradiol benzoate (EB)	-	-
Sodium chloride, NaCl	10 07 0308	ACI Labscan
Sodium hydrogen carbonate, $NaHCO_3$	S/2880/60	Fisher Scientific
Sodium hydroxide	B0467298 008	EMSURE
Sulfuric acid, H_2SO_4	AR1193-G2.5L	ACI Labscan

การเตรียม Phosphate Buffer Saline (PBS) pH = 7.4

NaCl	8.0 กรัม
$Na_2HPO_4.12H2O$	2.8 กรัม
$NaHCO_3$	0.2 กรัม
KCl	0.2 กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH = 7.4 ด้วย 1 *N* NaOH หรือ 20% HCl เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียม Coating buffer pH = 9.6

Na_2CO_3	4.29 กรัม
$NaHCO_3$	2.93 กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH = 7.4 ด้วย 1 *N* NaOH หรือ 20% HCl เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลายบัฟเฟอร์สำหรับการล้าง (Washing buffer)

NaCl	45 กรัม
Tween 80	2.5 กรัม
น้ำกลั่น	5 ลิตร

ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

การเตรียมสารละลาย 2 % Gelatin

Gelatin	2 กรัม
Coating buffer	100 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลาย 3 % Gelatin

Gelatin	3 กรัม
Coating buffer	100 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลายสารตั้งต้น (Citrate phosphate buffer)

Citric acid (monohydrate)	10.30 กรัม
$Na_2HPO_4.12H_2O$	18.16 กรัม

เติมน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH = 5 ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลายตั้งต้นสำหรับพัฒนาสีของ ELISA

O-phenylenediamine acetate (OPD)	0.018 กรัม
Citrate phosphate buffer	12 มิลลิลิตร

ทำในหลอดทดลองที่หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์เพื่อกันแสง เขย่าโดยใช้ Vortex mixer เมื่อ OPD ละลายแล้วเติม 0.03 % ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 18 ไมโครลิตร (เตรียมเมื่อใช้)

การเตรียมสารละลายหยุดปฏิกิริยา (Stopping solution)

การเตรียม 4 N H_2SO_4 ประกอบด้วย H_2SO_4 (98%) 21.36 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลาย Binding buffer pH=7.0

$Na_2HPO_4.12H_2O$	3.6 กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH = 7.0 ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิ4 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลาย Elution buffer pH=2.7

Glycine	0.75 กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH = 2.7 ด้วย HCl เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลาย Neutralization buffer pH=9.0

Tris	157.6 กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH = 9.0 ด้วย HCl เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง

1. ฟองน้ำ

ใช้เดือยฟองน้ำผสมเทียมสุกร อันละ 10 บาท

ใช้จริง 2อัน/อุปกรณ์ 1 ชิ้น = 10 x 2

= 20 บาท/1ชิ้นอุปกรณ์

2.แท่งกาวยางแท่งละ 3 บาท

แท่งกาวยางแท่งละ 3 บาท

ใช้จริง ครึ่งอัน/อุปกรณ์ 1 ชิ้น = $\frac{3}{2}$

= 1.5 บาท /1ชิ้นอุปกรณ์

3. ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 1 กรัม ราคา 50 บาท

ใช้จริง 2 กรัม = 50 x 2

= 100 บาท/1ชิ้นอุปกรณ์

4. ผ้า Organza

ผ้า Organza 1 เมตร ราคา 30 บาท (สามารถเย็บอุปกรณ์ได้ ประมาน 50 ชิ้น)

อุปกรณ์ 50 ชิ้น ราคา 30 บาท

อุปกรณ์ 1 ชิ้น = $\frac{30 \times 1}{50}$

= 0.6 บาท/1ชิ้นอุปกรณ์

5. ชานอ้อย

ชานอ้อย 1 กิโลกรัม หรือ 1000 กรัม ราคา 220 บาท

ใช้จริง 1.5 กรัม = $\frac{220 \times 1.5}{1000}$

= 0.33 บาท/1ชิ้นอุปกรณ์

6. ด้ายและเข็มเย็บผ้า (จ่างเย็บ)

จ้างร้ายเย็บอุปกรณ์ 12 ชิ้น ใช้ด้ายราคา 20 บาท

ดังนั้น อุปกรณ์ 1 ชิ้นใช้ค่าใช้จ่าย = $\frac{12 \times 1}{20}$ = 0.33 บาท/1ชิ้นอุปกรณ์

ผลของต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์แบบสอดช่องคลอดเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัด

ภาพ แสดงอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดชนิดสอดช่องที่ผลิตขึ้น

อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองนี้มีชื่อว่า Meajo Intravaginal Devices (MJID) เป็นวัสดุที่สามารถย่อยสลายได้คือในส่วนของวัสดุดูดซับฮอร์โมนคือชานอ้อย และผ้า Organza ส่วนที่เป็นปีกซึ่งทำจากแท่งกาวยางประกอบติดกับหัวโฟม เพื่อให้เกิดความอ่อนนุ่ม และส่วนหางที่ทำจากเอ็นตกปลาเป็นส่วนที่ย่อยสลายยากจึงสามารถนำกลับมาประกอบใช้ใหม่ได้ เมื่อคิดต้นทุนการผลิตแล้วราคาชิ้นละ 102.93 บาท ซึ่งรายการส่วนประกอบและราคาแสดงในตาราง 5 เมื่อเปรียบเทียบราคาอุปกรณ์เหนี่ยวการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าแล้วอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีราคาถูกกว่าอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า คืออุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเองมีราคา 102.93 บาท/ชิ้น ส่วนอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้ามีราคา 400 บาท/ชิ้น

ตาราง 5 รวมต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด

รายการ	ราคา (บาท / 1 ชิ้นอุปกรณ์)
ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน	75
แท่งกาวยาง	1.5
หัวโฟม	20
ผ้าซับใน (Organza)	0.6
ชานอ้อย (Sugarcane Bagasse)	0.33
ด้ายและเข็มเย็บผ้า	1.5
ค่าไฟฟ้า	2
ค่าเสื่อมอุปกรณ์	2
รวมเป็นเงิน	102.93

ภาคผนวก ค

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล	นายจตุพงษ์ ปัทมะ
เกิดเมื่อ	3 สิงหาคม 2529
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2546 มัธยมปลาย โรงเรียนสตรีสิริเกศ จังหวัดศรีสะเกษ
	พ.ศ. 2548 ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่
ประวัติการฝึกงาน	พ.ศ. 2551 ผ่านการฝึกงาน ณ สวนสัตว์เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่
	พ.ศ. 2552 ผ่านการฝึกงานสหกิจศึกษา ณ โฆษิตฟาร์ม จังหวัดบุรีรัมย์
ประวัติการฝึกอบรม	พ.ศ. 2548 ผ่านการฝึกอบรม โครงการปัจฉิมนิเทศ หลักสูตร “การเขียนแผนธุรกิจ”
	พ.ศ. 2551 ผ่านโครงการฝึกอบรม “GMP และ HACCP ในอุตสาหกรรมอาหาร”
	พ.ศ. 2551 ผ่านการฝึกอบรม หลักสูตรผู้ประกอบการมาตรฐานฟาร์มเลี้ยงสุกร กรมปศุสัตว์
	พ.ศ. 2552 ผ่านการฝึกอบรม หลักสูตรผู้ประกอบการฟาร์มเลี้ยงสุกร (โครงการสุกรจ้างเลี้ยง บริษัทเบทาโกร)
	พ.ศ. 2552 ผ่านการฝึกอบรม หลักสูตรผู้ประกอบการฟาร์ม เลี้ยงไก่เนื้อ กรมปศุสัตว์
	พ.ศ. 2552 ผ่านการฝึกอบรม หลักสูตรผู้ประกอบการฟาร์มเลี้ยงไก่ไข่ กรมปศุสัตว์
	พ.ศ. 2553 เข้าร่วมการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง การใช้จุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด สำหรับงานวิจัยขั้นพื้นฐานและขั้นสูงทางด้านชีววิทยา
	พ.ศ. 2554 เข้าร่วมการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง การใช้ไมโครปิเปตและการสอบเทียบเบื้องต้น