



การศึกษาระดับสอร์โคโนโปรเจคเตอร์โนในกระแสดิจิทัลจากการใช้
อุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดในโคนม

ณรงค์พัชร น้าใจสุข

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์
สำนักบริหารและพัฒนวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2555

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์

ชื่อเรื่อง

การศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแตเห็ดจากการใช้
อุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัตว์ในโคนม

โดย

ณรงค์พัชร น้าใจสุข

พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร.วิวัฒน์ พัฒนาวงค์)

วันที่ 28 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2555

กรรมการที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญา พงศ์พิศาลธรรม)

วันที่ 28 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2555

กรรมการที่ปรึกษา

(อาจารย์ ดร.ดำรง สีนานุรักษ์)

วันที่ 28 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2555

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นรินทร์ ทองวิทยา)

วันที่ 28 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2555

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จำเนียร ขสราข)

ประธานกรรมการบัณฑิตศึกษา

วันที่ 29 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2555

ชื่อเรื่อง	การศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดจากการใช้อุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดในโคนม
ชื่อผู้เขียน	นายณรงค์พัชร น้าใจสุข
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาสัตวศาสตร์
ประธานกรรมการที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์

บทคัดย่อ

การทดลองนี้เป็นการศึกษาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดของโคนม จากการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดทางการค้า เปรียบเทียบกับการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดแบบMeajoIntravaginal devices (MJID)ที่ผลิตขึ้น ร่วมกับการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนในโคนม โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 ใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดทางการค้า(Control) กลุ่มที่ 2 ใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น บรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 1.5 กรัม (MJID-1) และกลุ่มที่ 3 ใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดที่ผลิตขึ้น บรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 2 กรัม (MJID-2) โดยการทดลองนี้จะทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคนมเป็นเวลา 11 วัน นับตั้งแต่วันที่เริ่มสอดอุปกรณ์ เพื่อทำการวัดปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดปลดปล่อยออกมาในกระแสเลือดของโคทดลอง ด้วยเทคนิคอีไลซ่า (ELISA) จากการทดลองพบว่าปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดของโคทดลองกลุ่ม MJID-1 และ MJID-2 มีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเฉลี่ยในเลือดมากกว่าโคทดลองกลุ่ม Control ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในส่วนของการตอบสนองต่อการเหนี่ยวนำการเป็นสัดจากการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนของโคทดลองทั้ง 3 กลุ่มพบว่าโคทดลองทุกตัวมีการแสดงอาการเป็นสัดในวันที่ 8 หลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออลเบนโซเอทซึ่งคิดเป็น 100% จากผลการทดลองสามารถสรุปผลการทดลองได้ว่าการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดแบบ MJID-1 และ MJID-2 ร่วมกับการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วย

ฮอร์โมนมีประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำให้โคนมแสดงอาการเป็นสัดได้เทียบเท่ากับการใช้อุปกรณ์
เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดทางการค้า



Title	Plasma Progesterone Profile after Synchronization of Estrus with Intravaginal Device in Dairy Cow
Author	Mr. Narongpatchara Numjaisuk
Degree of	Master of Science in Animal Science
Advisory Committee	Dr. Wiwat Pattanawong

ABSTRACT

This experiment was a study on progesterone profile in plasma of dairy cows after synchronization with estrus using commercial intravaginal device in comparison with the use of fabricated MaejoIntravaginal Device (MJID) together with ovulation induction program in dairy cows. In this study, the dairy cows were divided into 3 treatment groups: 1) use of commercial intravaginal device (control); 2) fabricated 1.5 g MJID-1; and, 3) fabricated 2.0 g MJID-2. Blood plasma was collected 11 days after synchronization to measure the amount of progesterone that the intravaginal device was able to release in the plasma through the ELISA technique. Results of the study showed that average progesterone concentration in blood plasma in cows experimented with MJID-1 and MJID-2 was much higher than in cows in the control group with a highly significant difference ($P < 0.05$). As for the reaction test on synchronization of estrus and induction of ovulation using intravaginal device in the treatment groups, results showed that each animal showed estrus signs at 8 days after being injected with estradiol benzoate hormone (100%) In summary, use of intravaginal device for estrus synchronization including hormonal induction of ovulation was efficient in causing dairy cows to show estrus and ovulation signs in comparison with intravaginal device (control) during the entire gestation period.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จเป็นรูปเล่มสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาในการให้คำปรึกษา แนะนำและช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก อาจารย์ ดร.วิวัฒน์ พัฒนาวงศ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.บัญชา พงศ์พิศาลธรรม อาจารย์ ดร.ดำรง ถินานุรักษ์ กรรมการที่ปรึกษา ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง และขอขอบพระคุณ คุณอภิชาติ หมั่นวิชานักวิชาการสัตวบาลฟาร์มโคนม-โคเนื้อและพนักงานประจำฟาร์มโคนม-โคเนื้อ ที่ได้กรุณาให้ความอนุเคราะห์สัตว์ทดลอง สถานที่ดำเนินงานทดลอง ตลอดจนเอื้อเฟื้อสนับสนุนเครื่องมือ อุปกรณ์รวมถึงให้ความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์นี้ขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

นอกจากนี้ ผู้ทำวิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา-มารดา ตลอดจนคุณลุง-คุณป้า ที่ได้ให้การอบรมสั่งสอนให้ข้าพเจ้าเป็นคนดี มีความอดทน ขยันหมั่นเพียร รวมถึงให้การสนับสนุนทางด้านการเรียนและคอยเป็นกำลังใจให้เสมอมา

ณรงค์พัชร น้ำใจสุข

พฤษภาคม 2555

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
บทคัดย่อ	(6)
สารบัญ	(7)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(12)
สารบัญตารางภาคผนวก	(15)
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	5
ขอบเขตการศึกษา	6
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	7
การตรวจวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนด้วยวิธีอิมมูโน	7
ปัญหาระบบสืบพันธุ์โคนม	10
การเป็นสัดในโค	11
วงจรการเป็นสัด (Estrous cycle)	11
ฮอร์โมนที่ควบคุมวงจรการเป็นสัด (Hormonal Control of the Estrus Cycle)	13
การเหนี่ยวนำการเป็นสัด (Estrus synchronization)	16
การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในการควบคุมวงจรการเป็นสัด	16
โปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่	17
อุปกรณ์การปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด	21
การศึกษาการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดร่วมกับ	
โปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมน	25

บทที่ 3 วิธีการวิจัย	42
สถานที่ดำเนินการวิจัย	43
แผนการดำเนินการวิจัย	43
การทดลองที่ 1 การทดลองในห้องปฏิบัติการ (<i>In vitro</i>)	44
ขานอ้อย (Sugarcane Bagasse)	44
คุณลักษณะของขานอ้อย	45
การออกแบบและการประดิษฐ์อุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัด	46
การเก็บตัวอย่างฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนที่อุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัดปล่อย	
ออกมาในห้องปฏิบัติการ	50
การวัดปริมาณการปล่อยฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนในห้องปฏิบัติการ	51
การหาอัตราเงาจากที่เหมาะสมของ P4-HSA, PAb-P4 และ Goat anti rabbit	
IgG-HRP โดยวิธี Indirect ELISA	51
การหากราฟมาตรฐาน	53
การวิเคราะห์ปริมาณโปรเจสเตอโรนในสารละลายน้ำเกลือและพลาสมา	
โดยวิธี Indirect ELISA	55
การทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง (<i>In vivo</i>)	57
แผนการทดลอง	57
วิธีการทดลอง	57
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	59
การทดลองที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ (<i>In vitro</i>)	59
การทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง (<i>In vivo</i>)	63
วิจารณ์ผลการทดลอง	65
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	73
ข้อเสนอแนะ	75
บรรณานุกรม	76

(9)

หน้า

ภาคผนวก

86

ภาคผนวก ก ตารางผนวก

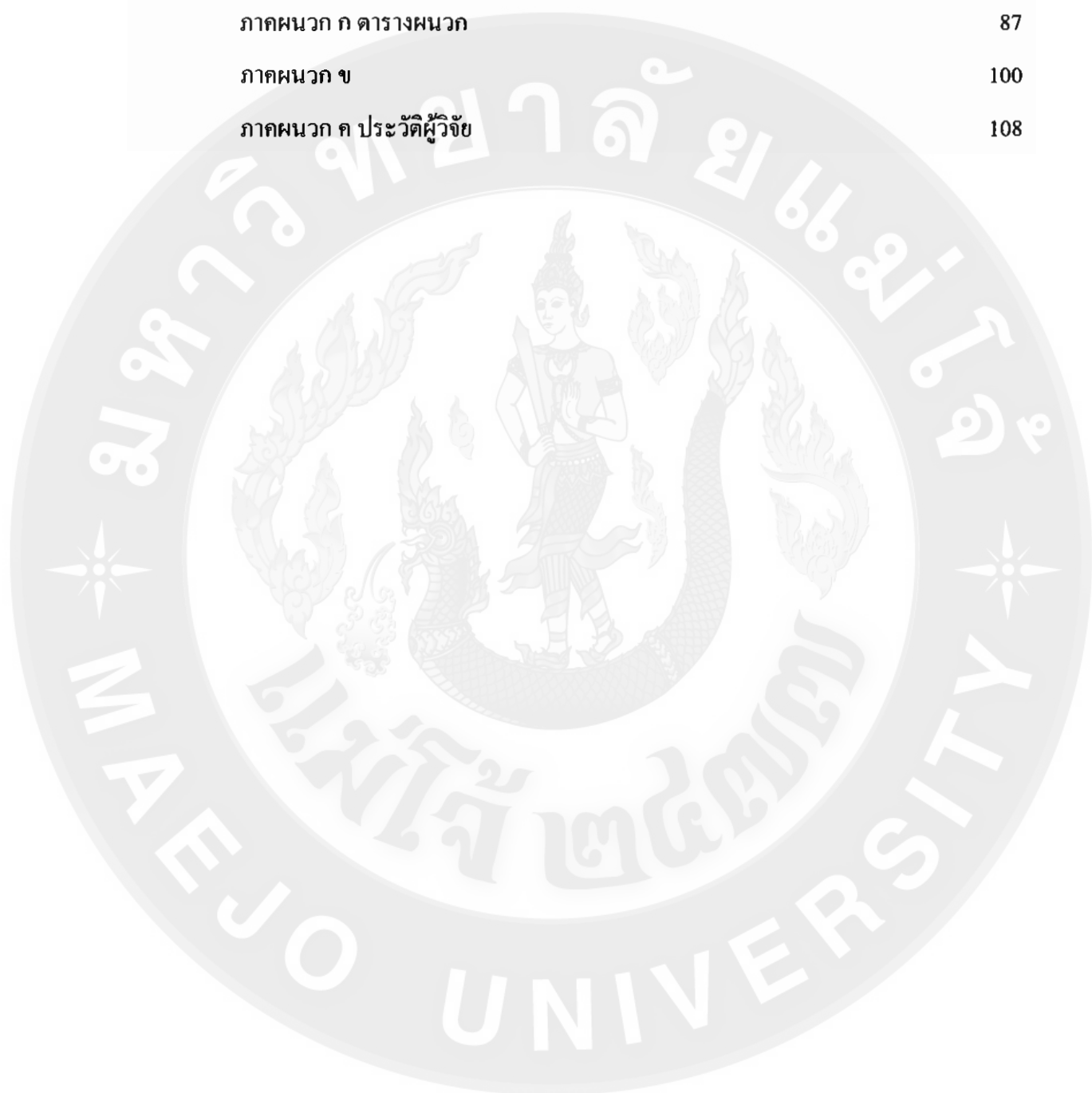
87

ภาคผนวก ข

100

ภาคผนวก ค ประวัติผู้วิจัย

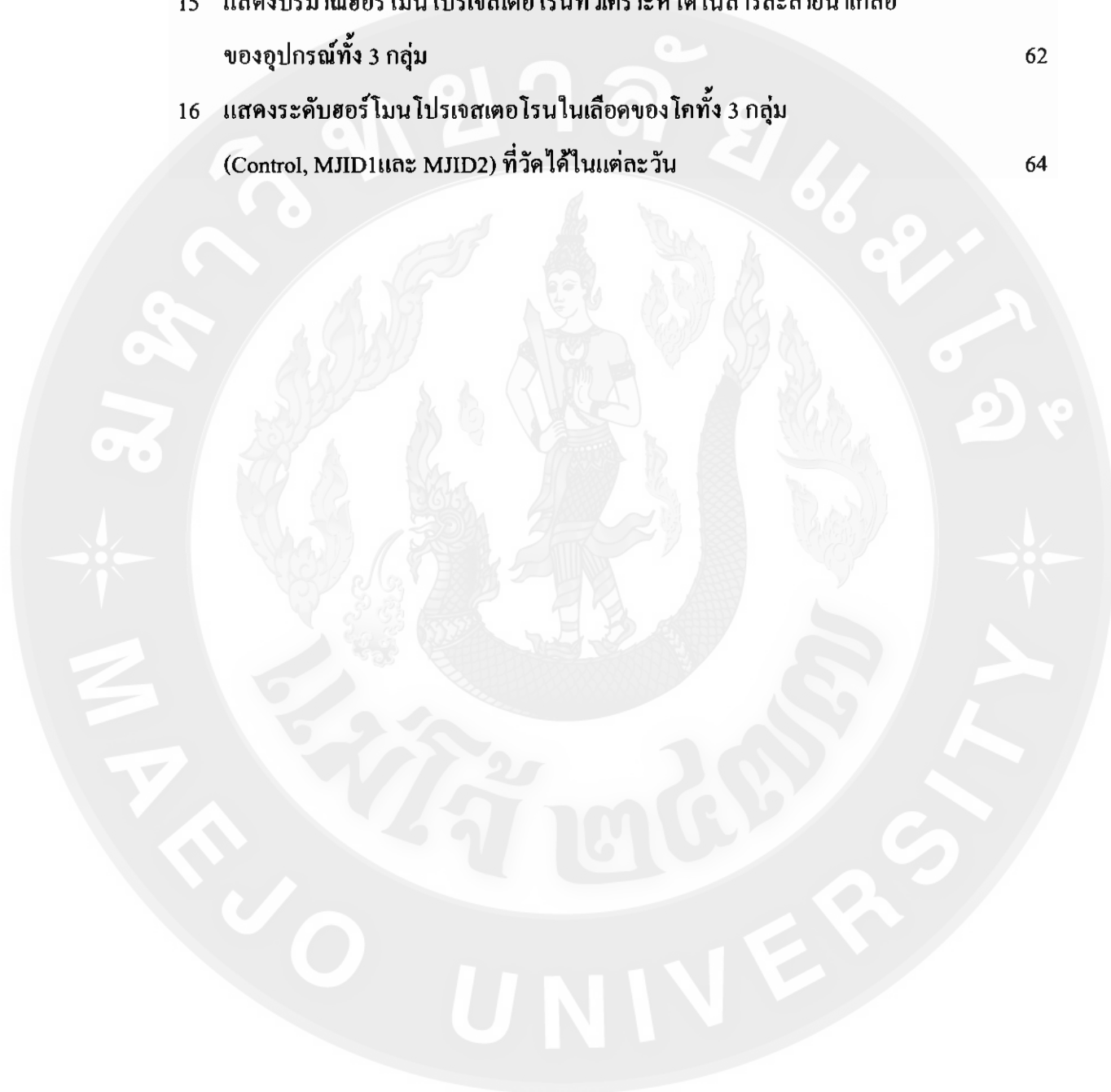
108



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 แสดงรายได้น้ำนมต่อปีของจำนวนโครีดตามจริงและจำนวนโครีดที่พยากรณ์อัตราการผสมติดที่ 70%	4
2 แสดงข้อดีและข้อเสียของ Enzyme-linked immunosorbent assay system (ELISA)	10
3 แหล่งผลิตและหน้าที่ของฮอร์โมนที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์ของสัตว์	14
4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิลและคอร์ปัสลูเทียมหลังจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน	27
5 เปรียบเทียบอัตราการเป็นสัดและอัตราการตั้งท้องของโคนมและโคเนื้อจากการใช้โปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน GnRH + PGF _{2α} และ Progesterone + PGF _{2α}	28
6 ผลของวันในการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอดัล เบนโซเอท ต่ออัตราการตั้งท้องของโคในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา	32
7 ผลการเปรียบเทียบระหว่างการฉีด EB + P4 และ GnRH ในโคนม ขณะที่ทำการสอด CIDR®	33
8 แสดงผลของระยะเวลาในการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอดัล เบนโซเอท ที่เวลา 0 และ 24 ชั่วโมงหลังจากการสอด CIDR®	34
9 แสดงการเปรียบเทียบสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของโคทดลองทั้ง 3 กลุ่ม	35
10 แสดงผลเปรียบเทียบของโคทดลองทั้ง 3 กลุ่ม (กลุ่มควบคุม, ฉีดเอสตราไดโอดัล เบนโซเอท, ฉีดโกนาโดโทรปิน รีลีสซิงฮอร์โมน)	38
II แสดงการเปรียบเทียบระบบสืบพันธุ์ใน โคที่ไม่มีคอร์ปัสลูเทียมและมีคอร์ปัสลูเทียม	39
12 แสดงผลของ Pre-synchronization ต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของแม่โค	40
13 แสดงผลของการเหนี่ยวนำการเป็นสัดก่อนและหลังโดยการกำหนดเวลาต่ออัตราการตั้งท้องของแม่โค	41

14	แสดงลักษณะทางกายภาพของอุปกรณ์เหนียวนำการเป็นสัตว์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง	48
15	แสดงปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่วิเคราะห์ได้ในสารละลายน้ำเกลือ ของอุปกรณ์ทั้ง 3 กลุ่ม	62
16	แสดงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคทั้ง 3 กลุ่ม (Control, MJID1 และ MJID2) ที่วัดได้ในแต่ละวัน	64



สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
1 แสดงจำนวนประชากร โคนมเพศเมียทั้งหมดและแม่โครีดนมของประเทศไทย พ.ศ.2551-2553	2
2 แสดงจำนวนแม่โครีดนมตามจำนวนจริงเปรียบเทียบกับจำนวนแม่โคที่มีมีการพยากรณ์อัตราการผสมติดที่ 70%	3
3 แสดงการพัฒนารูปแบบ Enzyme linked immunosorbent assay; ELISA	9
4 แสดงความเข้มข้นของฮอร์โมนในพลาสมาที่เปลี่ยนแปลงตามวงจรการเป็นสัดของโค	15
5 แสดงรายละเอียดโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด (CIDR [®]) ร่วมกับฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา	20
6 แสดงรูปแบบเทคโนโลยีการควบคุมการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนภายในช่อง คลอด: (a) PRID [®] , (b) CIDR [®] , (c) CIDR - B [®] , และ (d) Cue Mate [®]	22
7 แสดงส่วนประกอบของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด หรือ CIDR [®]	23
8 แสดงโปรแกรมกระตุ้นการเป็นสัดแบบ OvSynch	26
9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผสมติดกับระยะเวลาที่จะผสมเทียมหลังจากโคแสดงอาการเป็นสัด	29
10 แสดงโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบกำหนดเวลาโดยใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการใช้ฮอร์โมนเอสตราไดโอดัลเบนโซเอท	30
11 แสดงเปอร์เซ็นต์ของกลุ่มทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ค่อยระยะเวลาในการตกไข่หลังจากถอด CIDR [®]	31
12 แสดงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคกลุ่มต่างๆ	34
13 แสดงการใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการใช้โปรแกรมโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมน	36

14	โครงสร้างของท่อแคปิลลารี ที่ประกอบด้วยข้อและปล้องที่เรียง สลับกันตามความยาวของท่อ	44
15	แสดงภาพตัดตามขวางของท่อแคปิลลารีที่ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	45
16	อุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัดแบบที่ 1 เป็นทรงกระบอกบรรจุขานอ้อยไว้ภายใน (A) แบบที่เป็นรูปตัวทีโดยส่วนของปีกและลำตัวบรรจุด้วยขานอ้อย (B) แบบที่ 3 เป็นรูปตัววีโดยส่วนปีกทำจากฟองน้ำเนื้อละเอียดและส่วนลำตัวขึ้นรูป ด้วยแท่งกาวยาง (C) และแบบที่ 4 เป็นรูปทรงกระบอกใช้ฟองน้ำเนื้อละเอียด บรรจุโปรเจสเดอโรน (D)	47
17	อุปกรณ์ในการประดิษฐ์อุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดแบบที่ 2	49
18	การใช้อุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า (CIDR) และอุปกรณ์เหี่ยวนำการ เป็นสัดที่ประดิษฐ์เองในสารละลายน้ำเกลือเพื่อวัดปริมาณการปล่อยฮอร์โมน โปรเจสเดอโรนในห้องปฏิบัติการ	50
19	แสดงการหาอัตราเจือจางที่เหมาะสมของ P ₄ -HSA, PAb-P ₄ และ Goat anti rabbit IgG-HRP โดยวิธี Indirect ELISA	52
20	แสดงการหากราฟมาตรฐาน	54
21	การวิเคราะห์ปริมาณโปรเจสเดอโรนในพลาสมาโดยวิธี Indirect ELISA	56
22	แสดงการใช้อุปกรณ์การเหี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการใช้ โปรแกรมโปรแกรมเหี่ยวนำการคักไข่ด้วยฮอร์โมน	58
23	เปรียบเทียบลักษณะท่อแคปิลลารีก่อน (A) และหลังบรรจุสารละลาย โปรเจสเดอโรน (B)	59
24	แสดงกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโปรเจสเดอโรนกับ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 492 นาโนเมตร	60
25	แสดงปริมาณการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเดอโรนในสารละลายของอุปกรณ์ เหี่ยวนำการเป็นสัดทั้ง 3 กลุ่มตั้งแต่วันที่ 1-10	61

26 แสดงปริมาณสารโบนโปรเจสต่อโรนในเลือดโคที่วัดได้ตั้งแต่วันที่ 0-10
ของโคทดลองแต่ละกลุ่ม



สารบัญตารางผนวก

ตาราง	หน้า
1 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม CIDR ($P_4=1.9g$)	88
2 ตารางผนวก 1 (ต่อ)	89
3 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID1 ($P_4=1.5g$)	90
4 ตารางผนวก 2 (ต่อ)	91
5 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID2 ($P_4=2g$)	92
6 ตารางผนวก 3 (ต่อ)	93
7 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคกลุ่ม CIDR	94
8 ตารางผนวก 4 (ต่อ)	95
9 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคกลุ่ม MJID1	96
10 ตารางผนวก 5 (ต่อ)	97
11 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคกลุ่ม MJID2	98
12 ตารางผนวก 6 (ต่อ)	99
13 อุปกรณ์การทดลอง	100
14 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง	101

บทที่ 1

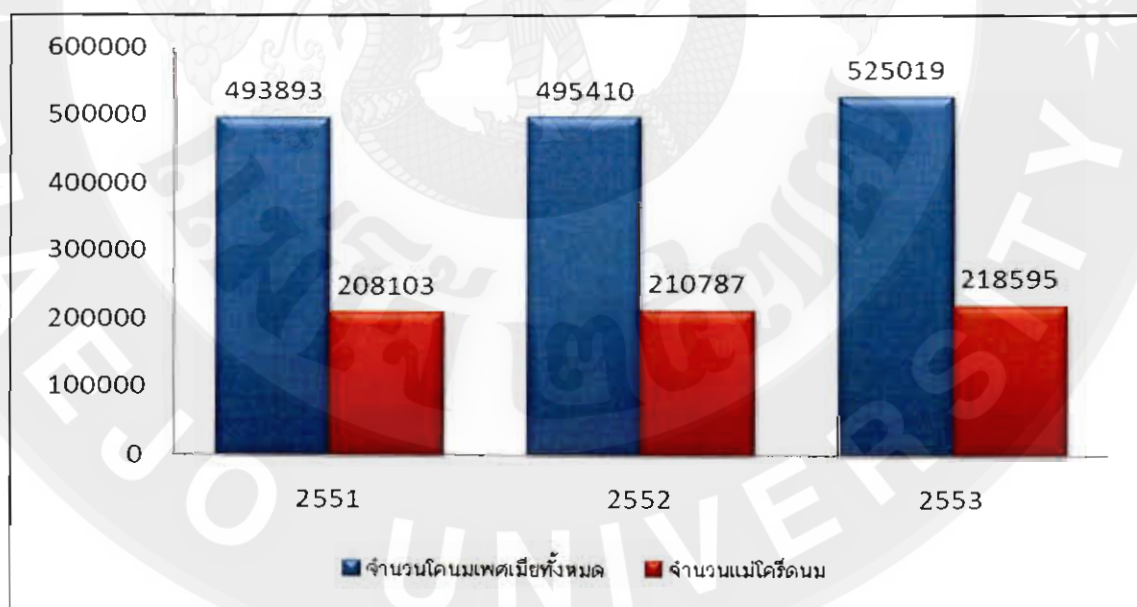
บทนำ

การเลี้ยงโคนมเป็นอาชีพที่สร้างงานและรายได้ให้กับเกษตรกรไทยมาช้านาน แต่เนื่องจากการเลี้ยงโคนมในประเทศไทยมีปัญหาที่สำคัญคือ ความสมบูรณ์พันธุ์ของแม่โคในฟาร์ม การเลี้ยงโคนมในประเทศทั้งหมดใช้วิธีผสมเทียมเพื่อปรับปรุงพันธุ์กรรมของแม่โคและลดภาระการเลี้ยงดูพ่อพันธุ์โค แต่ปัญหาที่แม่โคไม่แสดงอาการเป็นสัด รวมทั้งปัญหาทางด้านการสืบพันธุ์ จึงส่งผลให้แม่โคจำนวนมากจึงพลาดโอกาสได้รับการผสมเทียมและตั้งท้อง วิธีการแก้ไขปัญหารูปแบบหนึ่งคือ ใช้ฮอร์โมนเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่และพร้อมสำหรับการผสมเทียมตามระยะเวลาที่กำหนด ดังนั้นการเพิ่มประสิทธิภาพทางการสืบพันธุ์ระดับฝูงของโคนมจึงมีความเกี่ยวข้องโดยตรงต่อประสิทธิภาพการผลิตของฟาร์ม โดยสามารถอธิบายได้จากจำนวนแม่โคตั้งท้องที่เพิ่มมากขึ้นภายในฝูง จึงส่งผลให้สัดส่วนของแม่โคที่คลอดในอนาคตเพิ่มสูงขึ้นส่งผลทำให้ประสิทธิภาพการผลิตของฟาร์มเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย จากรายงานการวิจัยของคำรง, 2550 กล่าวว่า เป้าหมายสูงสุดของการเลี้ยงโคนมในสภาพไร้อุปกรณ์ คือ จัดการให้ฝูงแม่โคตกูกปีละ 1 ตัว โดยแม่โคเหล่านั้นต้องได้รับการผสม ผสมติดและตั้งท้อง ภายในระยะเวลาไม่เกินกว่า 90 วันหลังคลอด ซึ่งถือว่าเป็นค่ามาตรฐานที่ให้ประสิทธิภาพทางการผลิต

ปัจจุบันอุปกรณ์หรือฮอร์โมนที่สามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการเป็นสัดทางการค้ำนั้น มีการผลิตและจำหน่ายอยู่แล้ว แต่เนื่องจากอุปกรณ์ดังกล่าวต้องนำเข้าจากต่างประเทศจึงมีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นในการศึกษาทดลองนี้จึงได้มีการพัฒนารูปแบบและผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดขึ้นเองเพื่อใช้ในประเทศ อีกทั้งยังเป็นการช่วยลดมูลค่าการนำเข้าเทคโนโลยีจากต่างประเทศ ซึ่งจะส่งผลให้เกษตรกรรายย่อยได้มีโอกาสเข้าถึงเทคนิคการเหนี่ยวนำการเป็นสัดมากขึ้น โดยวิธีการดังกล่าวสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์และแก้ปัญหาด้านระบบสืบพันธุ์ของโคนมได้

สถานการณ์การผลิตโคนมในปัจจุบัน

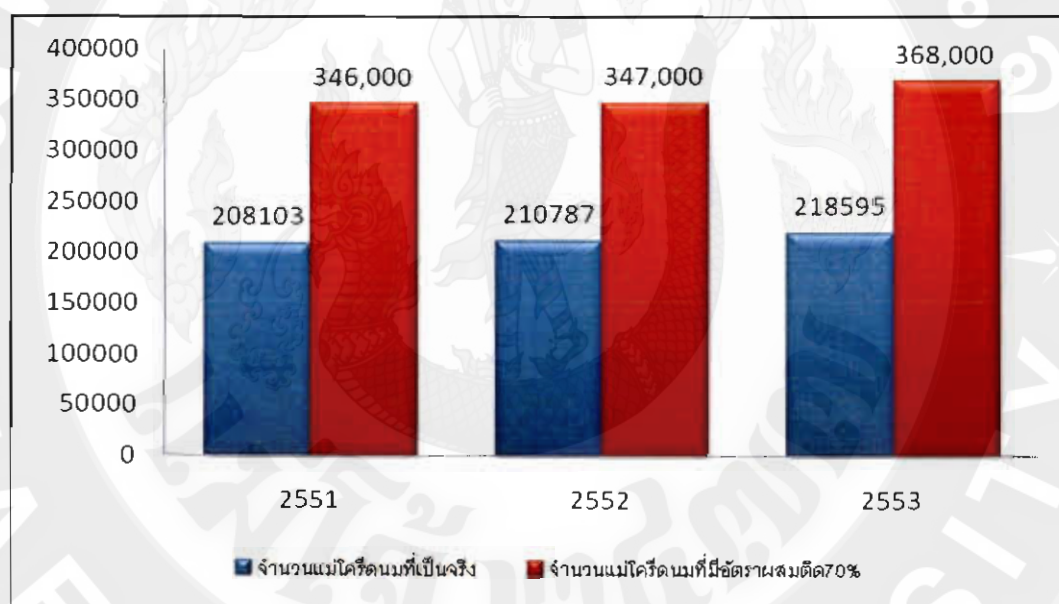
จากข้อมูลจำนวนประชากรโคนมเพศเมียของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรในปี พ.ศ. 2551-2553 แสดงให้เห็นว่าในปี พ.ศ.2551 จำนวนประชากรโคนมเพศเมียของประเทศไทยมีจำนวนทั้งสิ้น 493,893 ตัว ซึ่งเป็นแม่โครีดนมจำนวน 208,103 ตัว ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 42.13 ของจำนวนประชากรโคนมเพศเมียทั้งประเทศ ในปี พ.ศ.2552 พบว่าจำนวนประชากรโคนมเพศเมียของประเทศไทยมีจำนวนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยคือ 495,410 ตัว ซึ่งเป็นแม่โครีดนมจำนวน 210,787 ตัว ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 42.54 ของจำนวนประชากรโคนมเพศเมียทั้งประเทศซึ่งเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2551 ประมาณ 0.4% แต่ในปี พ.ศ.2553 ที่ผ่านมาพบว่าจำนวนประชากรโคนมเพศเมียทั้งประเทศมีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็น 525,019 ตัว แต่กลับมีจำนวนประชากรแม่โครีดนมจำนวนเพียง 218,595 ตัว ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 41.63% ของจำนวนประชากรโคนมเพศเมียทั้งประเทศ ซึ่งลดลงจากปี พ.ศ.2551 และพ.ศ.2552 ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความสมบูรณ์พันธุ์ที่ต่ำของโคสาวและอัตราการเป็นสัตว์และผลผลิตของแม่โคที่ลดลง ดังแสดงในภาพ 1



ภาพ 1 แสดงจำนวนประชากรโคนมเพศเมียทั้งหมดและแม่โครีดนมของประเทศไทย พ.ศ.2551-2553

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร

ปัญหาด้านระบบสืบพันธุ์ของโคนมเกิดจากหลายปัจจัยทั้งในด้านตัวโคเอง, ปัจจัยด้านอาหารหรือปัจจัยจากผู้เลี้ยง ซึ่งปัญหาดังกล่าวทำให้แม่โคมีอัตราการเป็นสัตว์ที่ไม่แน่นอน และส่งผลให้มีอัตราการผสมติดต่ำ ซึ่งส่งผลกระทบถึงปริมาณน้ำนมที่เกษตรกรจะได้รับซึ่งถือว่าเป็นปัญหาที่ใหญ่ที่สุดในการเลี้ยงโคนม ซึ่งปัญหาด้านระบบสืบพันธุ์ของโคนมสามารถแก้ปัญหาได้โดยการใช้โปรแกรมหนึ่งขว่นการเป็นสัตว์ด้วยฮอร์โมน ซึ่งวิธีดังกล่าวสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการเป็นสัตว์ของโคนมได้ถึง 70% และเมื่อทำการสมมุติสถานการณ์การเป็นสัตว์และผสมติดของแม่โคในประเทศไทยของปี พ.ศ.2551-2553 เพิ่มขึ้นจากข้อมูลจริงเป็น 70% ก็จะมีจำนวนแม่โครีดนมเพิ่มขึ้นจากเดิมดังนี้คือ พ.ศ.2551 จากเดิมมีแม่โครีดนมจำนวน 208,103 ตัว ก็จะเพิ่มเป็น 346,000 ตัว ส่วนในปี พ.ศ.2552 จากเดิมมีแม่โครีดนมจำนวน 210,787 ตัว ก็จะเพิ่มเป็น 347,000 ตัว และในปี พ.ศ.2553 จากเดิมมีแม่โครีดนมจำนวน 218,595 ตัว ก็จะเพิ่มเป็น 368,000 ตัว ดังแสดงในภาพ 2



ภาพ 2 แสดงจำนวนแม่โครีดนมตามจำนวนจริงเปรียบเทียบกับจำนวนแม่โคที่มีการพยากรณ์อัตราการผสมติดที่ 70%

จากจำนวนแม่โครีดที่เพิ่มขึ้นในแต่ละปีก็จะส่งผลถึงปริมาณน้ำนมรวมของประเทศที่เพิ่มขึ้นด้วย สมมุติว่าแม่โคตัวหนึ่งๆสามารถผลิตน้ำนมได้ 20 กก./ตัว/วัน ใน 1 ปีแม่โคให้นมประมาณ 270 วัน แม่โค 1 ตัวก็จะสามารถผลิตน้ำนมได้ 5,400 กก./ปี และถ้าราคาน้ำนมดิบ 1 กก. เท่ากับ 20 บาท ใน 1 ปีก็จะได้รับรายได้จากการขายน้ำนมเท่ากับ 108,000 บาท/ตัว/ปี ซึ่งเมื่อนำแม่โครีดนมตามจำนวนที่เป็นจริงของปี พ.ศ.2551-2553 มาคำนวณหารายได้จากน้ำนมก็จะได้ดังแสดงในตาราง 1 ก็จะเห็นได้ว่าจำนวนเม็ดเงินที่เพิ่มขึ้นมาจากจำนวนแม่โคที่ตั้งท้องและให้น้ำนมเพิ่มขึ้นจะเห็นได้ว่ามีส่วนต่างของเม็ดเงินมีมูลค่ามหาศาล

ตาราง 1 แสดงรายได้จากน้ำมันต่อปีของจำนวน โครีคตามจริงและจำนวน โครีคที่พยากรณ์อัตราการ
ผสมติดที่ 70%

รายได้	2551	2552	2553
แม่โครีคตามจำนวนจริง (บาท)	22,475,124,000	22,764,996,000	23,608,260,000
แม่โครีคตามที่มีอัตราผสมติด 70% (บาท)	37,368,000,000	37,476,000,000	39,744,000,000
ผลต่างทางเศรษฐกิจ (บาท)	14,892,876,000	14,711,004,000	16,135,740,000

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนารูปแบบอุปกรณ์การเหี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดให้มีความเหมาะสมกับสรีรวิทยาภายในช่องคลอดของโคนม
2. ศึกษาระดับฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดหลังการใช้อุปกรณ์การเหี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้นเปรียบเทียบกับอุปกรณ์การเหี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า
3. เพื่อศึกษาถึงการแสดงพฤติกรรมการเป็นสัดและการตกไข่ของโคนมหลังสอดอุปกรณ์การเหี่ยวนำการเป็นสัด

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. แก้ปัญหาในการดำเนินงาน ช่วยให้สามารถทำงานวิจัยเกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ของโคนมได้สะดวกมากขึ้น เพราะอุปกรณ์การเหี่ยวนำการเป็นสัดจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผสมเทียมได้มากขึ้น เนื่องจากสามารถจัดการให้โคนมเพศเมียเป็นสัดในเวลาเดียวกันและในเวลาที่เหมาะสมซึ่งง่ายต่อการจัดการ และช่วยให้การผสมเทียมมีประสิทธิภาพมากขึ้น
2. เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป เนื่องจากการวิจัยนี้ได้ผลิตอุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัดขึ้นเอง เพื่อเหี่ยวนำให้โคนมเพศเมียเป็นสัดพร้อมกัน โดยมีการพัฒนารูปแบบของตัวอุปกรณ์และตัววัสดุที่นำมาใช้ มีความจำเพาะต่อช่องคลอดของโคนม โคนี้อและกระบือ ซึ่งในอนาคตคาดว่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้กับสัตว์อื่นได้
3. บริการความรู้แก่ประชาชน โดยเกษตรกรกลุ่มผู้เลี้ยงโคนมรายย่อยและรายใหญ่ ให้มีความรู้เกี่ยวกับเทคนิคการผลิตอุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อเหี่ยวนำการเป็นสัดไว้ใช้เองภายในฟาร์ม
4. ช่วยลดจำนวนการนำเข้าของเทคโนโลยี เนื่องจากวัสดุ อุปกรณ์สามารถหาได้ตามท้องถิ่นและภายในประเทศเพื่อนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์ โดยประโยชน์ที่ได้สามารถผลิตอุปกรณ์การเหี่ยวนำการเป็นสัดได้โดยใช้วัตถุดิบภายในประเทศที่มีราคาถูก

ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาและพัฒนาอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดสำหรับการผสมเทียมในโคนม เพื่อจัดโปรแกรมการผสมเทียมโดยการเตรียมให้โคนมแสดงอาการเป็นสัดที่พร้อมกันภายในฝูง, แก้ไขปัญหาการเป็นสัดเจ็บและแก้ปัญหาคความไม่สมบูรณ์พันธุ์ของแม่โค



บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

การวัดปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนด้วยเทคนิคอีไลซ่า (Enzyme linked immunosorbent assay ; ELISA)

เป็นวิธีการตรวจสอบปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนโดยใช้เอนไซม์เป็นตัวบ่งชี้แทนการใช้สารกัมมันตภาพรังสีหรือสารเรืองแสง วิธีนี้สามารถใช้ตรวจหาแอนติบอดีและแอนติเจนได้อย่างจำเพาะเจาะจง มีความไวสูง ง่าย และรวดเร็ว การทดสอบโดยทั่วไปมักใช้วัสดุประเภท Solid phase เป็นตัวดูดซับแอนติเจนหรือแอนติบอดีไว้ก่อนและเมื่อปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีและแอนติเจนเกิดขึ้นแล้ว ส่วนของแอนติบอดีหรือแอนติเจนส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกจึงทำให้สะดวกเพราะแอนติบอดีและแอนติเจนที่ทำปฏิกิริยากันจะติดอยู่กับวัสดุ จากนั้นจึงเติมแอนติบอดีที่จำเพาะที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ลงไปซึ่งสามารถตรวจสอบได้จากการเปลี่ยนแปลงของซับสเตรทที่ใส่ลงไปภายหลัง ทำให้เกิดสารที่มีสีขึ้นจึงเรียกการทดสอบนี้ว่า Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) โดยหลักการของ Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) หรือ Enzyme immunoassay (EIA) โดยการใช้เอนไซม์เชื่อมต่อกับแอนติบอดี เอนไซม์จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเปลี่ยนซับสเตรทที่ไม่มีสีเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสี (Chromomeric substrate) โดยเอนไซม์ต่างๆที่ใช้ใน ELISA ได้แก่ alkaline phosphatase, horseradish peroxidase, β -galactosidase เป็นต้น การพัฒนา ELISA รูปแบบต่างๆทำให้สามารถใช้เทคนิคนี้ในการตรวจสอบทั้งแอนติเจนและแอนติบอดีในแง่คุณภาพหรือปริมาณได้ วิธีการทดสอบอาจทำได้ 4 แบบคือ direct ELISA , indirect ELISA , Competitive ELISA และ sandwich ELISA (ไพศาล, 2548)

1 Direct ELISA

หลักการของการทดสอบคือ เคลือบ solid phase ด้วยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนที่ต้องการตรวจหาในสิ่งส่งตรวจ เมื่อเติมสิ่งส่งตรวจที่มีแอนติเจน แอนติเจนจะจับกับแอนติบอดีดังกล่าว หลังจากที่ยึดส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกแล้ว เติมแอนติบอดีตัวที่สองซึ่งมีความจำเพาะต่อแอนติเจนที่ต้องการตรวจเช่นกันและได้ติดฉลากด้วยเอนไซม์แล้ว ลงไปในปริมาณมากเกินพอ conjugate นี้จะทำปฏิกิริยากับแอนติเจนที่จับอยู่กับแอนติบอดีตัวแรก เมื่อทำการล้าง conjugate ส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกแล้วจึงเติมซับสเตรทลงไป การเปลี่ยนแปลงของซับสเตรทจะเป็นสัดส่วน โดยตรงกับปริมาณแอนติเจนที่ตรวจหา วิธีการทดสอบนี้อาจเรียกว่า double antibody sandwich assay technique หรือ sandwich assay ก็ได้ (นภาพร, 2536)

2 Indirect ELISA

วิธีการนี้เป็นการทดสอบที่ดัดแปลงวิธี Direct ELISA ให้มีความสะดวกในการปฏิบัติมากขึ้น โดยใช้แอนติบอดีจำเพาะตัวที่สองที่ไม่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ และใช้แอนติบอดีที่จำเพาะต่ออิมมูโนโกลบูลินติดฉลากด้วยเอนไซม์ เป็นตัวกระทำเพิ่มเติมในการทดสอบ เพื่อวัดปริมาณของแอนติบอดีตัวที่สองซึ่งจับกับแอนติเจนที่ต้องการตรวจหา ซึ่งจะเป็นการวัดปริมาณของแอนติเจนในสิ่งส่งตรวจโดยทางอ้อม การทดสอบนี้อาจเรียกว่า double antibody sandwich antiglobulin ELISA ในการทดสอบวิธีนี้ แอนติบอดีจำเพาะตัวแรกและแอนติบอดีจำเพาะตัวที่สองจะต้องเป็นอิมมูโนโกลบูลินของสัตว์ต่างชนิดกัน ทั้งนี้เพื่อป้องกันมิให้เกิดการทำปฏิกิริยาโดยตรงระหว่าง conjugate กับแอนติบอดีตัวแรก (นภทร, 2536) ซึ่งจะทำให้เกิดผลบวกเท็จขึ้น การใช้วิธี indirect ELISA มีข้อได้เปรียบกว่าการใช้ direct ELISA เพื่อตรวจหาแอนติเจน เนื่องจากสามารถใช้ conjugate ชนิดเดียวสำหรับการตรวจหาแอนติเจนได้หลายๆชนิด โดยมีข้อแม้ว่าแอนติบอดีจำเพาะตัวที่สองในแต่ละระบบนั้นจะต้องได้มาจากสัตว์ชนิดเดียวกัน นอกจากนี้ ปกติแล้ว indirect ELISA จะมีความไวมากกว่า direct ELISA ในการตรวจหาแอนติเจนชนิดเดียวกัน การที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากแอนติบอดีตัวที่สอง หนึ่ง โมเลกุลสามารถทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีต่ออิมมูโนโกลบูลินที่ใช้ทำ conjugate นั้นได้หลายโมเลกุล ดังนั้นจึงเป็นการช่วยเพิ่มปริมาณโมเลกุลของเอนไซม์ต่อแอนติเจนหนึ่ง โมเลกุล มีผลทำให้การทดสอบมีความไวมากขึ้น (ไพศาล, 2548)

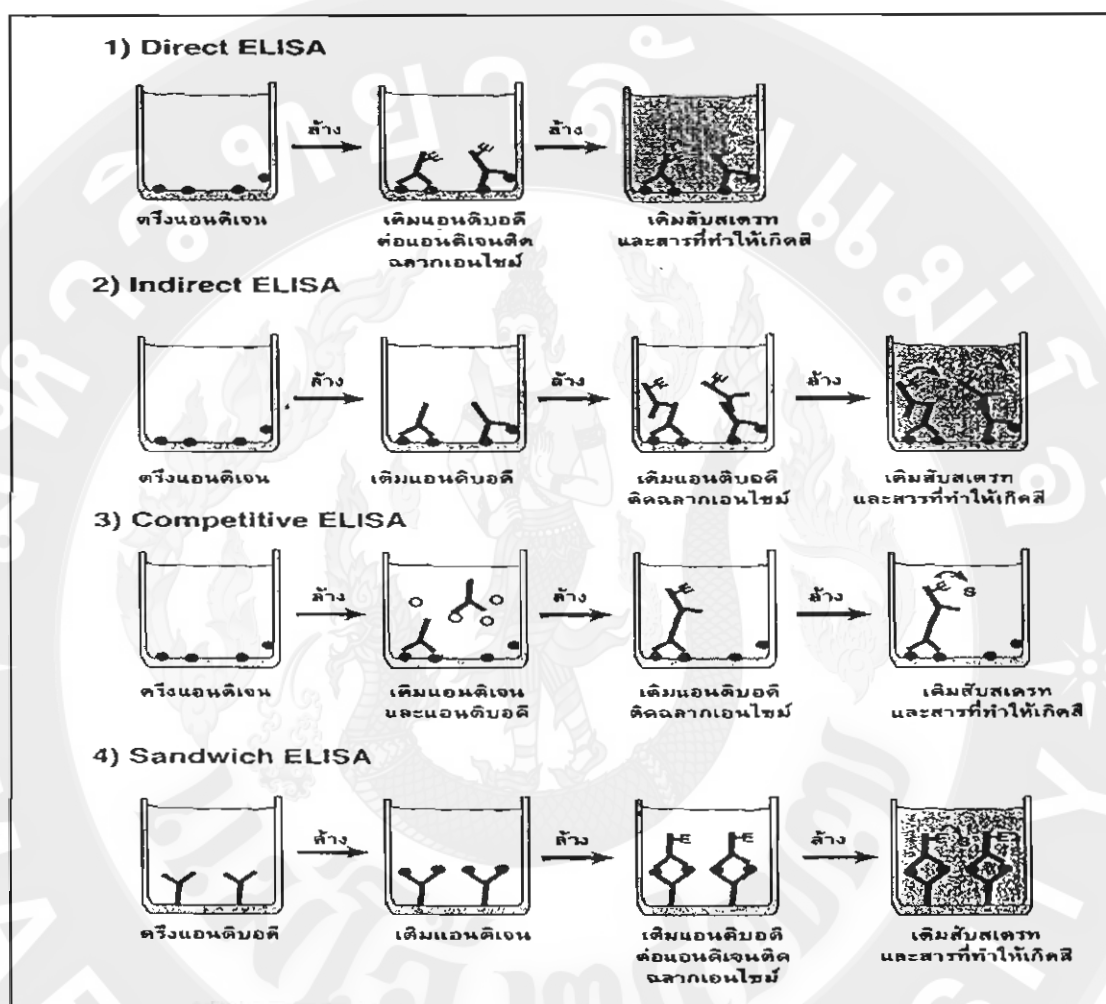
3 Competitive ELISA

การทดสอบนี้อาศัยแอนติบอดีผสมกับตัวอย่างแอนติเจนมาตรฐานหรือตัวอย่างที่ต้องการตรวจ จากนั้นเติมลงในภาชนะที่เคลือบด้วยแอนติเจน (เหมือนกับกรณีของ Indirect ELISA) ซึ่งถ้าเติมตัวอย่างมากแอนติบอดีที่จับกับแอนติเจนกันหลุมมีน้อยลง ดังนั้นหลังจากการเติมแอนติบอดีตัวที่ 2 ที่เชื่อมด้วยเอนไซม์ และ มีความจะเพาะต่อแอนติบอดีตัวแรกเพื่อใช้ตรวจสอบปริมาณแอนติบอดีตัวแรกที่จับกับกันหลุมคล้ายกับ Indirect ELISA แต่ในกรณีนี้ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นของแอนติเจนสูงจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ต่ำ (สีจางลง) กว่าหลุมที่มีแอนติเจนความเข้มข้นต่ำ (ไพศาล, 2548)

4 Sandwich ELISA

แอนติเจนสามารถตรวจสอบและตรวจวัดโดยวิธี Sandwich ELISA วิธีนี้ใช้แอนติบอดีตรึงลงในภาชนะ จากนั้นเติมตัวอย่างที่มีแอนติเจนที่ต้องการตรวจซึ่งให้ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่ตรึงอยู่หลังจากล้างแอนติบอดีจำเพาะต่ออีพิโทปของแอนติเจนบริเวณที่ต่างจากอีพิโทปที่แอนติบอดีตัวแรกจับอยู่และติดฉลากเอนไซม์หลังจากล้างแอนติบอดีอิสระ

เดิมซับซ้อนและวัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ซึ่งกรณีนี้อาจดัดแปลงเป็นเป็นแบบวิธีทางอ้อมได้โดยใช้แอนติบอดีติดฉลากเอนไซม์ที่จำเพาะต่อแอนติบอดีตัวที่ สอง แต่กรณีนี้แอนติบอดีตัวที่หนึ่งและแอนติบอดีตัวที่สองต้องมาจากสัตว์ต่างชนิดกัน (ไพศาล, 2548)



ภาพ 3 แสดงการพัฒนาแบบ Enzyme linked immunosorbent assay; ELISA (ไพศาล, 2548)

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

ข้อดี	ข้อเสีย
- ความไวและความจำเพาะ สูง - วัดผลได้อย่างรวดเร็ว แม่นยำ - สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างต่อวันได้จำนวนมากตรวจได้คราวละหลายๆ ไม่สะดวกในการตรวจทีละน้อยๆ าราย	- ค่าใช้จ่ายสูง - เครื่องมือราคาแพง - ต้องใช้ แอนติบอดี ดังนั้นจึงต้องมีการสกัด แอนติบอดี จากซีรัมของสัตว์ทดลองจึงจำเป็นต้องมีห้องทดลองที่เฉพาะเพื่อป้องกันการปนเปื้อน และเอนไซม์ที่นำมาใช้ต้องมีความจำเพาะกับ แอนติบอดี หรือ แอนติเจน เพื่อใช้ในการติดฉลาก

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

ปัญหาระบบสืบพันธุ์ของโคนม

ปัญหาในด้านประสิทธิภาพระบบสืบพันธุ์ต่ำในโคนม มีความรุนแรงมากน้อยแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ ตามสภาพแวดล้อม ตามความพร้อมของเกษตรกร ซึ่งปัญหาทางระบบสืบพันธุ์ที่พบในพื้นที่ส่วนใหญ่คือ ปัญหาผสมติดยาก ปัญหาโคไม่เป็นสัดหลังคลอด และปัญหาการเลี้ยงและการจัดการโคสาวทำให้โคสาวผสมติดและคลอดลูกตัวแรกช้า ซึ่งส่งผลให้ตัวชีวิตประสิทธิภาพระบบสืบพันธุ์ของโคนมต่ำ เช่น ระยะเวลาหลังคลอดถึงผสมติด, จำนวนครั้งต่อการผสมติด และอายุโคสาวเมื่อคลอดลูกตัวแรก ต่ำกว่าค่ามาตรฐาน ดังนั้น จึงได้มีการศึกษาโปรแกรมการจัดการระบบสืบพันธุ์ของโคนม เพื่อช่วยในการแก้ไขปัญหาด้านระบบสืบพันธุ์ในโคนมของเกษตรกร เพื่อให้ตัวชีวิตประสิทธิภาพระบบสืบพันธุ์ใกล้เคียงกับค่ามาตรฐาน ซึ่งปัญหาด้านระบบสืบพันธุ์ที่เกิดขึ้นในโคนมจะส่งผลถึงปริมาณน้ำนมที่แม่โคสามารถผลิตได้ในแต่ละปี โดยปัญหาทางการสืบพันธุ์เป็นอีกปัจจัยที่ทำให้ต้นทุนการผลิตของฟาร์มสูง การจัดการที่ถูกต้องเพื่อป้องกันและการเข้าไขปัญหาแล้วทำการแก้ไขให้เร็วจะช่วยลดความสูญเสียได้ (ดำรง, 2550)

การเป็นสัดในโค (Bovine Estrous Cycle)

การเป็นสัด (Heat or estrus) หมายถึง ระยะที่สัตว์มีกำหนดและมีความ ต้องการทางเพศและยอมรับการผสมจากโคเพศผู้แม่โคบางตัวอาจจะแสดงอาการให้เห็น ได้ชัดเจนแต่บางตัวอาจจะไม่แสดงอาการภายนอกออกมาให้เห็น การสังเกตการเป็นสัดจึงเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องกระทำ

อาการก่อนเป็นสัด ประมาณ 8 ชั่วโมง มีดังนี้

1. ไม่ชอบเดิน จะยืนและร้อง แสดงพฤติกรรมคมโคตัวอื่น
2. พยายามขึ้นขี่โคตัวอื่น แต่ไม่ยอมให้ตัวอื่นขี่
3. บริเวณอวัยวะเพศมีอาการบวมแดงกว่าปกติ ซึ่งสังเกตค่อนข้างยาก
4. จะมีน้ำเมือกใสๆ ไหลจากปากช่องคลอด

อาการในระยะเป็นสัด มีดังนี้

1. ยืนนิ่งให้ตัวอื่นขึ้นขี่ ซึ่งเป็นอาการที่บอกได้ชัดเจนที่สุดว่าโคกำลังเป็นสัด
2. มีอาการร้องบ่อยมาก แสดงอาการตื่นตกใจง่าย
3. ไม่ค่อยกินอาหารและปริมาณน้ำนมลด
4. แสดงอาการคมและขึ้นขี่โคตัวอื่น ๆ

แม่โคที่เป็นสัด แต่ไม่ได้แสดงอาการภายนอกให้เห็นอย่างชัดเจน เรียกว่า “การเป็นสัดเงียบ” (Silent Heat) จึงจำเป็นต้องอาศัยการสังเกตหลายๆปัจจัยร่วมกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งจะต้องมีการจดบันทึกวันที่เป็นสัดครั้งที่ผ่านมา เพื่อคอยเฝ้าสังเกตอาการของการเป็นสัดครั้งใหม่ ในช่วงระยะเวลาประมาณ 21 วัน ระยะเวลาของการเป็นสัด (Duration Of Estrus) ในโคระยะนี้ อยู่ในช่วง 10 – 26 ชั่วโมง เฉลี่ย 18 ชั่วโมง ระยะเวลาของการเป็นสัดแตกต่างกันเนื่องจากสาเหตุหลายอย่าง เช่นชนิดของสัตว์, พันธุ์สัตว์, อายุ, อาหาร, ฤดูกาลและสิ่งแวดล้อมอื่นๆ (ยอดชาย, 2547)

วงจรการเป็นสัดของโค

วงจรการเป็นสัดโดยปกติของโคจะมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 21 วัน (อาจอยู่ในช่วง 18 – 24 วัน) หลังจากการเป็นสัดในรอบที่ผ่านมา ซึ่งในการเป็นสัดของโคแสดงให้เห็นทราบว่าโคเพศเมียมีการตกไข่ และพร้อมยอมรับการผสมพันธุ์จากตัวผู้ ซึ่งพฤติกรรมการเป็นสัดของโคจะอยู่ภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมนชนิดต่างๆหลายชนิด (Bearden and Fuquay, 1997) วงจรการเป็นสัดสามารถแบ่งเป็น 2 ระยะตามการพบฟอลลิเคิล และคอร์ปัสลูเทียม (Corpus luteum) คือระยะที่ฟอลลิเคิลเจริญทำงานมากเรียกว่า ระยะฟอลลิคูลาเฟส (Follicular phase) เป็นช่วงที่รวม

ระยะก่อนเป็นสัดและระยะเป็นสัด ส่วนระยะที่มีคอร์ปัสลูเทียมทำงานเรียกว่า ระยะลูเทียลเฟส (luteal phase) โดยรวมระยะหลังการเป็นสัดและระยะไม่เป็นสัดในวงรอบ ระยะของการเป็นสัดในโคออกเป็น 4 ระยะคือ

1 ระยะก่อนเป็นสัด (Pro-estrus)

คือช่วงระยะเวลา 1-3 วันก่อนการเป็นสัดและตกไข่ ในระยะนี้คอร์ปัสลูเทียม (Corpus luteum) จะมีการสลายตัวเนื่องจากฮอร์โมนพรัสตาแกลนดิน ($\text{PGF}_{2\alpha}$) จากมดลูก (Uterus) ซึ่งส่งผลให้ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P_4) ในเลือดลดต่ำลง ฟอลลิเคิล (follicle) มีการเจริญอย่างรวดเร็ว มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณฮอร์โมนเอสโตรเจน (E_2) (Bearden and Fuquay, 1997)

2 ระยะเป็นสัด (Estrus)

ในช่วงระยะนี้เป็นระยะที่โคเพศเมียมีความพร้อมที่จะรับการผสมพันธุ์ ซึ่งในโคจะใช้เวลาแสดงอาการเป็นสัดเฉลี่ยอยู่ที่ 12-18 ชั่วโมง ซึ่งระยะเวลาที่โคจะแสดงอาการเป็นสัดจะขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมด้วยเช่นกัน คือ หากสภาพอากาศร้อน โคจะแสดงอาการเป็นสัดอยู่ที่ประมาณ 10-12 ชั่วโมง หากสภาพอากาศเย็น โคจะแสดงอาการเป็นสัดอยู่ที่ประมาณ 18 ชั่วโมง ซึ่งแม้โคจะมีการตกไข่ตามมาหลังจากสิ้นสุดการแสดงอาการเป็นสัดเฉลี่ยที่ 10-12 ชั่วโมง (Bearden and Fuquay, 1997)

3 ระยะหลังการเป็นสัด (Met estrus)

คือระยะเวลาประมาณ 3 วันหลังการเป็นสัด ในระยะนี้รังไข่ของแม่โคจะมีการสร้างคอร์ปัสลูเทียม (Corpus luteum) ซึ่งในช่วงปลายของระยะเป็นสัดและระยะหลังเป็นสัด ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนเอสโตรเจนในเลือดมีระดับสูงขึ้น และจะถึงจุดสูงสุดหลังจากที่แม่โคสิ้นสุดการเป็นสัด 1 วัน (Bearden and Fuquay, 1997)

4 ระยะไม่เป็นสัดในวงรอบ (Diestrus)

คือระยะที่คอร์ปัสลูเทียม (Corpus luteum) มีการเจริญอย่างเต็มที่ ส่งผลให้ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว มดลูกพร้อมรับการตั้งท้อง (Bearden and Fuquay, 1997)

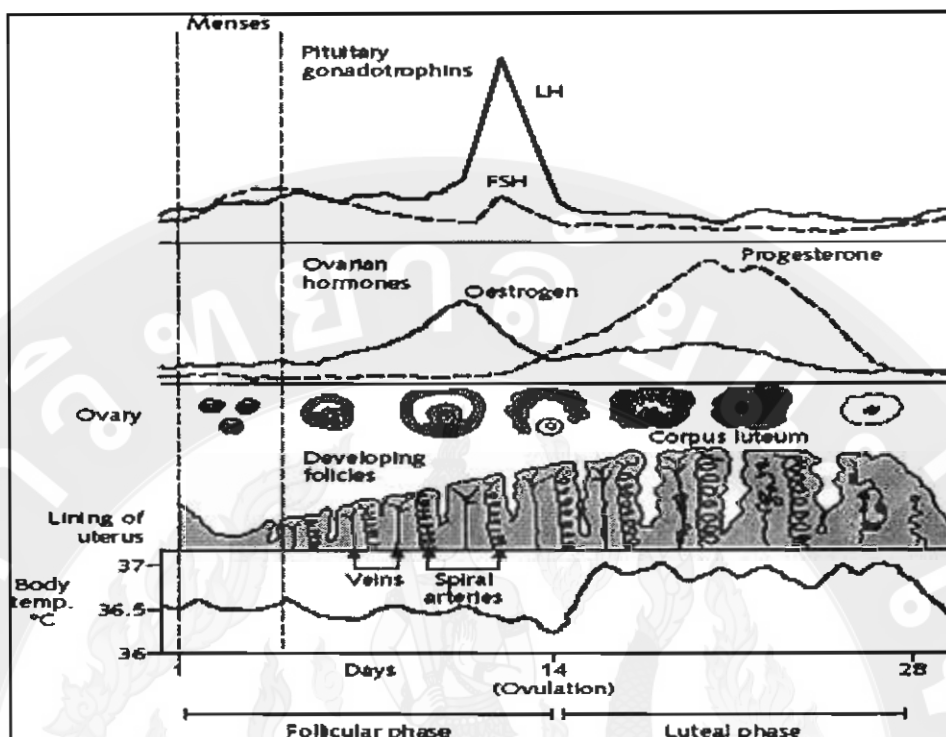
ฮอร์โมนที่ควบคุมวงจรรอบการเป็นสัด (Hormonal Control of the Estrus Cycle)

ฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์จะถูกสร้างมาจากอวัยวะหรือต่อมต่างๆ เช่น สมองส่วนไฮโปธาลามัส (hypothalamus), ต่อมใต้สมองส่วนหน้า (anterior pituitary gland), ต่อมเพศ (Gonad), รก (placenta), มดลูก (uterus) และรังไข่ (ovaries) เป็นต้น ฮอร์โมนที่ผลิตจากมดลูกคือ ฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา ($\text{PGF}_{2\alpha}$) ที่มีหน้าที่ในการสลายคอร์ปัสลูเทียม โดยคอร์ปัสลูเทียมมีหน้าที่ในการผลิตฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน โดยทั่วไปนั้นระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน (gonadotropins) และฮอร์โมนสเตอรอยด์จากรังไข่ (ovarian steroids) ยังสามารถใช้ทำนายการเกิดวงจรรอบการเป็นสัดได้เช่นกัน ส่วนระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่เพิ่มขึ้นสูงในระยะไม่เป็นสัด เริ่มมีการลดลงอย่างรวดเร็วก็สามารถคาดเดาได้ว่าสัตว์ตัวดังกล่าวกำลังใกล้เข้าสู่วงจรรอบการเป็นสัดในรอบใหม่ ปริมาณเล็กน้อยเล็กน้อยของฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมน (Follicle Stimulating Hormone ; FSH) และเอสโตรเจน (E_2) ยังสามารถพบได้ในระยะระยะหลังการเป็นสัด (Metestrus) และช่วงกลางของระยะไม่เป็นสัดในรอบ (Diestrus) ส่วนฮอร์โมนโปรแลคติน (Prolactin) นั้นสามารถพบได้ในระยะสุดท้ายของการเป็นสัด จากความรู้ในเรื่องของระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนชนิดต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับวงจรรอบการเป็นสัด ทำให้สามารถทำความเข้าใจในกลไกของการปลดปล่อยฮอร์โมนรวมถึงตัวรับฮอร์โมน ซึ่งทำให้มนุษย์สามารถควบคุมการทำงานและสามารถเลียนแบบการทำงานของฮอร์โมนที่ที่เกี่ยวข้องกับวงจรรอบการเป็นสัดได้ (Bearden and Fuquay, 1997)

ตาราง 3 แหล่งผลิตและหน้าที่ของฮอร์โมนที่สำคัญที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์

แหล่งผลิต	ฮอร์โมน	อวัยวะเป้าหมาย	หน้าที่
ไฮโปทาลามัส	โกนาโดโทรปิน รีลีสซิงฮอร์โมน (GnRH)	ต่อมใต้สมองส่วนหน้า	ผลิตและหลั่งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่วนหน้า เช่น FSH, LH และ Prolactin
	ออกซิโตซิน (Oxytocin)	เต้านม, มดลูก	กระตุ้นการบีบตัวของมดลูก การคลอดและการหลั่งน้ำนม
ต่อมใต้สมองส่วนหน้า	ฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมน (FSH)	รังไข่และอัณฑะ	กระตุ้นการเจริญของถุงไข่ การสร้างอสุจิและหลังเอสโตรเจน
	ลูทีไนซิงฮอร์โมน (LH)	รังไข่และอัณฑะ	กระตุ้นการตกไข่และรักษาสภาพของคอร์ปัสลูเทียม
	โปรแลคติน (Prolactin)	เต้านม	เกิดการหลั่งน้ำนมและหลังโปรเจสเตอโรนในสัตว์บางชนิด
	เอสโตรเจน (Estrogen)	มดลูก, รังไข่และอัณฑะ	แสดงอาการเป็นสัด, พัฒนาระบบสืบพันธุ์, การบีบของกล้ามเนื้อมดลูก
ต่อมเพศ	โปรเจสเตอโรน (Progesterone)	รังไข่และมดลูก	ทำงานร่วมกับเอสโตรเจนเพิ่มความพร้อมของระบบสืบพันธุ์และการฝังตัวของตัวอ่อน รักษาสภาพการตั้งครรภ์
รก	เอสโตรเจน (Estrogen) และโปรเจสเตอโรน (Progesterone)	รังไข่	เช่นเดียวกับต่อมเพศ
มดลูก	พรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา (Prostaglandin F _{2α})	รังไข่	สลายคอร์ปัสลูเทียม เพิ่มการบีบตัวของมดลูก

ที่มา: คัดแปลงจาก สมปอง (2535)



ภาพ 4 แสดงความเข้มข้นของฮอร์โมนในพลาสมาที่เปลี่ยนแปลงตามวงจรการเป็นสัดของโค (Bearden and Fuquay, 1997)

จากภาพ 4 แสดงให้เห็นถึงระดับฮอร์โมนในพลาสมาที่เปลี่ยนแปลงตามวงจรของการเป็นสัด โดยจะเห็นได้ว่าระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจากการเป็นสัดในรอบที่ผ่านมาจะค่อยๆ ไต่ระดับสูงขึ้นซึ่งเป็นผลอันเนื่องมาจากการเจริญของคอร์ปัสลูเทียมซึ่งอยู่ในระยะไม่เป็นสัดในวงจร (Diestrus) และเมื่อเริ่มเข้าถึงวันวันที่ 16 ถึงวันที่ 18 ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะค่อยๆ ลดลง ซึ่งเป็นผลอันเนื่องมาจากมดลูกมีการหลั่งฮอร์โมนพรอสตาร์แกนดินเอฟทูแอลฟาออกมาทำการสลายคอร์ปัสลูเทียม ผลที่ตามมาหลังจากการลดลงของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน คือปริมาณของฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ค่อยๆ เพิ่มขึ้น แสดงให้ทราบว่าระยะดังกล่าวคือช่วงระยะปลายของระยะก่อนเป็นสัด (Pro-Estrus) ส่วนปริมาณฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลตติ้งฮอร์โมน (Follicle Stimulating Hormone ; FSH) และลูทีไนซิงฮอร์โมน (Luteinizing hormone ; LH) ที่เพิ่มสูงขึ้นแสดงให้ทราบว่าโคอยู่ในระยะเป็นสัด (Estrus) และระดับฮอร์โมนโปรแลคติน (Prolactin) ที่เพิ่มสูงขึ้นแสดงให้ทราบว่าโคอยู่ในระยะเป็นสัดตอนปลาย (Late Estrus) และกำลังเข้าสู่ระยะหลังการเป็นสัด (Metestrus) (Bearden and Fuquay, 1997)

การเหนี่ยวนำการเป็นสัด

การเหนี่ยวนำการเป็นสัดคือการจัดการให้สัตว์หนึ่งตัว หรือหลายตัวเป็นสัดพร้อมกันในเวลาที่กำหนดไว้หรือในเวลาที่ต้องการ โดยทั่วไปจะใช้ฮอร์โมนที่สกัดจากธรรมชาติ หรือฮอร์โมนสังเคราะห์ โดยจะทำการเลียนแบบการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนที่ควบคุมวงจรการเป็นสัดตามธรรมชาติของโค (Ball and Peter, 2004) การควบคุมวงจรการเป็นสัดของโคเป็นการจัดการกำหนดปริมาณฮอร์โมนเพื่อให้มีการเปลี่ยนแปลงตามวงจรการเป็นสัดตามปกติ เช่น การควบคุมการเจริญของฟอลลิเคิลที่จะตกไข่ในสัตว์ที่มีวงจรการเป็นสัด โดยมีกระบวนการหลักคือ กระบวนการสลายคอร์ปัสลูเทียมหรือกระบวนการลดการหลั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ซึ่งในธรรมชาติกระบวนการนี้จะเกิดขึ้นในวันที่ 17 และ 18 ของวงจรการเป็นสัด ดังนั้นการทำให้ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดของสัตว์ลดลงสามารถทำได้โดยการจัดการจากภายนอกตัวสัตว์ ซึ่งจะเป็นการเลียนแบบการทำงานของคอร์ปัสลูเทียม โดยทำการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแก่สัตว์ติดต่อกันหลายวันแล้วหยุดให้ (Mihm *et al.*, 2002)

การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในการควบคุมวงจรการเป็นสัด

การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในการควบคุมวงจรการเป็นสัดคือการเลียนแบบการทำงานของคอร์ปัสลูเทียมโดยการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจากภายนอก ซึ่งในธรรมชาติระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่สูงจะกีดการหลั่งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและทำให้ฟอลลิเคิลไม่เจริญจนถึงระยะตกไข่ได้ และเมื่อหยุดการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่างกายของสัตว์จะมีการหลั่งฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองส่งผลให้มีการเจริญเต็มที่ของฟอลลิเคิล หลังจากนั้นจึงมีการหลั่งของฮอร์โมนลูทีไนซิงฮอร์โมนในระดับสูงจนส่งผลให้สัตว์เกิดการตกไข่ตามมา (Mihm *et al.*, 2002) การเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคนั้นมีด้วยกันหลายวิธี คือ

1. แบบเสริมในอาหาร (Melengestrol Acetate ; MGA)
2. แบบฝังใต้ผิวหนังบริเวณใบหู (Norgestomet)
3. แบบฟองน้ำสอดช่องคลอด (Intravaginal Sponges)

โปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ (Synchronization of estrus and ovulation)

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเป็นฮอร์โมนที่ผลิตจากรังไข่, รก และต่อมหมวกไต (adrenal cortex) ซึ่งหน้าที่หลักของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนคือ มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเตรียมความพร้อมของมดลูกเพื่อรองรับการฝังตัวของตัวอ่อนและการคงสภาพการตั้งครรภ์ ในวงจรการเป็นสัดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะมีการเปลี่ยนแปลงแบบผกผันกับฮอร์โมนเอสโตรเจน ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในคอร์ปัสลูเทียม จะสัมพันธ์กับการเจริญและฝ่อตัวของคอร์ปัสลูเทียม ดังนั้นฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดของสัตว์จะมีระดับต่ำในช่วงฟอลลิคูล่าเฟส และจะเพิ่มสูงขึ้นในช่วงลูทีลเฟส และจะมีระดับสูงสุดตลอดระยะเวลาการตั้งครรภ์ (Risto and Landgren, 2005) การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในการควบคุมวงจรการเป็นสัดในโค คือ การเลียนแบบการทำงานของคอร์ปัสลูเทียม ซึ่งในธรรมชาติระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่เพิ่มสูงขึ้น จะกดการหลั่งฮอร์โมนจากต่อมใต้สมองและจะส่งผลให้ฟอลลิเคิลไม่เกิดการพัฒนาย่นถึงระยะตกไข่ได้ แต่เมื่อใดก็ตามที่หยุดการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแก่แม่โค จะส่งผลให้แม่โคมีการหลั่งฟอลลิเคิลสติมูเลตติงฮอร์โมนจากต่อมใต้สมอง ซึ่งจะส่งผลให้ฟอลลิเคิลมีการพัฒนาเต็มที่ หลังจากนั้นจะมีการหลั่งของลูทีไนซิงฮอร์โมนในระดับสูงจนส่งผลให้แม่โคเกิดการตกไข่ตามมา (Mihm *et al.*, 2002) เมื่อ 30 ปีก่อนเริ่มมีการนำโปรเจสเตอโรนหรือสารสังเคราะห์โปรเจสเตอโรนมาใช้เพื่อควบคุมการเป็นสัดในรูป MGA (melengesterol acetate) โดยการให้โคกินในระยะเวลาที่ยาวมากคือ 14 ถึง 20 หรืออาจถึง 25 วันติดต่อกัน แต่พบว่าโคตอบสนองการเป็นสัดได้ไม่ดีนัก อัตราการผสมติดและตั้งท้องต่ำมาก อาจเป็นผลมาจากการกำหนดปริมาณยาในอาหารที่ไม่แน่นอนและทำได้ลำบาก หรืออาจเป็นเพราะการดูดซึมทางระบบอาหารสู่กระแสเลือดสู่อวัยวะเป้าหมายไม่ดีพอ รวมทั้งผลตกค้างในน้ำนมเป็นสิ่งที่ไม่ต้องการ การให้ฮอร์โมนอีกวิธีหนึ่งคือการฉีดโดยทำการฉีดฮอร์โมนทุกวันและติดต่อกันเป็นเวลานาน ซึ่งวิธีนี้ทำให้ไม่ทราบอัตราการดูดซึมที่แน่นอน (Martinez *et al.*, 2002) ต่อมาจึงได้มีการพัฒนาจากรูปแบบการกินมาเป็นแบบสอดเข้าช่องคลอดโดยเริ่มแรกเป็นแบบฟองน้ำ (vaginal sponges) โดยใส่ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเข้ากับฟองน้ำและสอดเข้าที่ช่องคลอดของโค แต่รูปแบบฟองน้ำนี้ไม่สามารถรักษาหรือคงระยะการเป็นสัดของโคเอาไว้ได้ (Scanlon *et al.*, 1972) ทำให้มีการพัฒนารูปแบบการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเพื่อใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัดให้ดีขึ้นโดยจะมีการให้ฮอร์โมนเอสโตรเจน

ร่วมด้วยเพื่อช่วยในการสลาย คอรัปัสลูเทียมที่อยู่ในรังไข่ ในปัจจุบันมีใช้หลายรูปแบบ เช่น แบบเป็นเกลียว (PRID®; Progesterone releasing intravaginal device) หรือเป็นห่วงตัวที่ (CIDR®; Controlled internal drug release device) สอดเข้าไปในช่องคลอดโค และแบบเป็นแท่งฝังใต้ผิวหนังบริเวณหลังใบหู (Norgestomet® ที่มีใช้ยี่ห้อคือ Synchomate-B®, SMB® และ Crestar®)

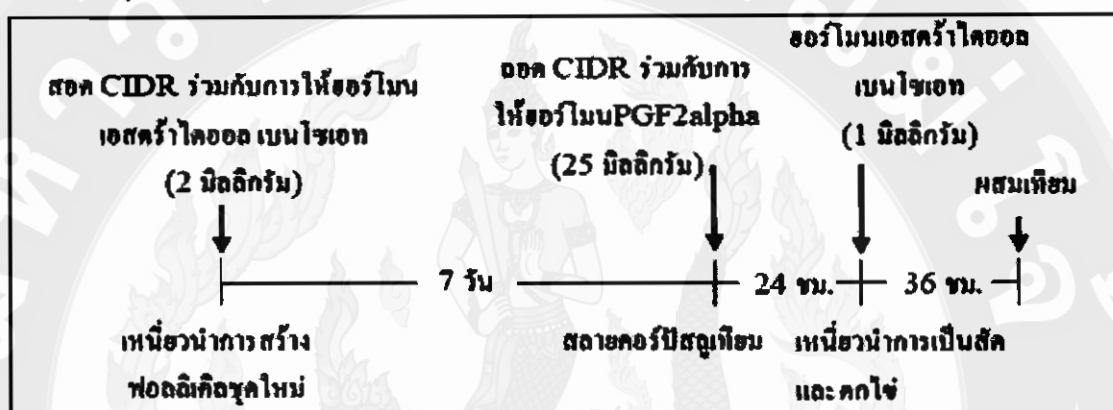
โปรแกรมการใช้ฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีริชชิงฮอร์โมน ร่วมกับฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟา

ปัจจุบันโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่รูปแบบนี้ ได้รับการพัฒนาอย่างมากมีการใช้ในหลายรูปแบบให้ผลดีและได้รับการยอมรับสูง โดยโปรแกรม Ovsynch เป็นโปรแกรมพื้นฐานเริ่มจากการฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีริชชิงฮอร์โมน เข็มแรกเพื่อไปกระตุ้นให้ฟอลลิเคิลที่มีขนาดใหญ่เกิดการตกไข่และเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญและพัฒนาของฟอลลิเคิลชุดใหม่พร้อมกัน (Xu *et al.*, 2000) หลังจากนั้นจึงมีการฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟา ใน 7 วันถัดมา เพื่อทำการสลายคอรัปัสลูเทียม หลังจากนั้น 48 ชั่วโมงจะทำการฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีริชชิงฮอร์โมนเข็มที่สอง เพื่อเหนี่ยวนำให้แม่โคเกิดการตกไข่ภายใน 24-32 ชั่วโมงถัดมา จึงทำให้สามารถทำการผสมเทียมภายใน 16 ชั่วโมง หลังการฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีริชชิงฮอร์โมนเข็มที่สองโดยไม่จำเป็นต้องทำการสังเกตการเป็นสัด (Pursley *et al.*, 1995) อย่างไรก็ตามพบว่า การผสมเทียมในกรณีที่แม่โคแสดงอาการเป็นสัดจะทำให้มีอัตราการผสมติดสูงกว่าแม่โคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดอยู่เล็กน้อย สำหรับโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบ Pre-synch จะทำการฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟา 2 ครั้ง ห่างกัน 14 วัน ก่อนเริ่มทำโปรแกรม Ovsynch ที่ 12 วัน หรือ 14 วันถัดมา (Presynch + Ovsynch) ซึ่งจะเป็นการกำหนดวงจรการเป็นสัดของแม่โคก่อนทำการเริ่มโปรแกรม Ovsynch ให้อยู่ในช่วงระยะ diestrus ของวงจรการเป็นสัด เนื่องจากมีรายงานว่าผลการตอบสนองของแม่โคต่อการเริ่มโปรแกรม Ovsynch ระยะต่างๆ ของวงจรการเป็นสัดมีความแตกต่างกัน โดยพบว่าการเริ่มโปรแกรม Ovsyneh ในช่วงต้นของระยะ diestrus (วันที่ 5-12) หรือใกล้กับช่วงกลางของวงจรการเป็นสัด (Midcycle) ให้ผลการตอบสนองดีกว่าระยะอื่น (Moreira *et al.*, 2000) ขณะเดียวกันมีรายงานว่าสามารถลดปัญหาแม่โคแสดงอาการเป็นสัดก่อนการสิ้นสุดโปรแกรม ที่อาจสูงถึง 20% ก่อนการฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีริชชิงฮอร์โมนในเข็มที่สอง (DeJarnette *et al.*, 2003) ลดการเกิดการสลายของคอรัปัสลูเทียมที่ไม่สมบูรณ์และเพิ่มเปอร์เซ็นต์การตกไข่ต่อการฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีริชชิงฮอร์โมนเข็มที่สอง (Navanukraw *et al.*, 2004) ซึ่งเป็นผลให้อัตราการผสมติดในแม่โคเพิ่มขึ้นมากกว่าโปรแกรมปกติ

โปรแกรมการใช้ฮอร์โมนโปรเจสตोजินร่วมกับฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟา

สารในกลุ่มโปรเจสตोजินที่ใช้ในปัจจุบันมีอยู่หลายรูปแบบด้วยกัน อาทิเช่น ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด ซึ่งมี 2 แบบ คือ PRID® (progesterone-releasing intravaginal device) และ CIDR® (controlled internal drug release) สาร Norgestomet ชนิดฝังใต้ผิวหนังบริเวณใบหู หรือสาร Melengestrol Acetate (MGA) ชนิดให้กินผสมในอาหาร และแบบฟองน้ำสอดช่องคลอด (Intravaginal Sponges) ซึ่งในแต่ละรูปแบบมีความแตกต่างกันในแง่ของความสะดวกในการใช้และประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ ในปัจจุบันมีฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดแบบ CIDR® เท่านั้นที่ได้รับความนิยมและมีประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่สูง และสามารถใช้ร่วมกับการผสมเทียมแบบกำหนดระยะเวลา (timed artificial insemination, TAI) ได้ ซึ่งสามารถทำได้โดยใช้ CIDR® สอดเข้าไปในช่องคลอดเป็นเวลา 7 วัน แล้วจึงถอดออกพร้อมกับฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟาเพื่อกระตุ้นการเป็นสัดให้พร้อมกันแล้วทำการผสมเทียม (สรพรเพชญ, 2548) โดยปกติแล้วการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด CIDR® เพื่อการเหนี่ยวนำการเป็นสัดมีระยะเวลาประมาณ 7-9 วัน หรือไม่เกิน 10-12 วัน เนื่องจากการให้สารโปรเจสตोजินในระยนาน 14-16 วันอาจเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะ Persistent Follicles ส่งผลทำให้ไข่ (oocyte) ภายในฟอลลิเคิลมีคุณภาพลดลง (Revah and Butler, 1996) ดังนั้นโปรแกรมการเหนี่ยวนำโดยใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดจึงนิยมใช้ในระยะสั้นประมาณ 7-8 วัน โดยจำเป็นต้องฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟาร่วมด้วยเสมอ เพื่อทำหน้าที่ในการสลายคอร์ปัสลูเทียมที่มีอยู่ตามธรรมชาติ ซึ่งอาจให้ในขณะที่ยอดเอาแท่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนออกจากช่องคลอด หรือ 1-2 วันก่อนถอด โดยพบว่าระยะเวลาที่ฉีดฮอร์โมนพรอสต้าแกลนดินเอฟทูแอลฟานั้น ไม่มีผลต่อการสลายของคอร์ปัสลูเทียม ระยะเวลาการเป็นสัดและระยะเวลาการตกไข่ (Hittinger et al., 2004) ทั้งนี้เมื่อระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดต่ำลงเป็นผลให้ระดับของฮอร์โมนลูทีไนซิงฮอร์โมนเพิ่มสูงขึ้น ฟอลลิเคิลชนิดโดมิแนนท์มีการพัฒนาซึ่งแม้โคมากกว่า 85% จะแสดงอาการเป็นสัดในระยะเวลา 36-60 ชั่วโมงถัดมาขณะที่การให้ฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอท ทั้งในรูปแบบที่เป็นแคปซูล 10 มิลลิกรัม หรือแบบฉีด ขนาด 2 มิลลิกรัม ร่วมกับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ชนิดสอดเข้าช่องคลอดสามารถเหนี่ยวนำให้ฟอลลิเคิล

ชนิดโดมิแนนท์เกิดการสลายตัว (atresia) อีกทั้งยังส่งผลให้ระดับของฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมนเพิ่มสูงขึ้น และเกิดการสร้างฟอลลิเคิลชุดใหม่ขึ้นในระยะ 3-5 วัน ภายหลังจากนั้น ขณะที่การให้ฮอร์โมนเอสตราไดโอดเบนโซเอทในปริมาณที่มากขึ้นเป็นผลให้เกิดการเกิดความล่าช้าในการสร้างฟอลลิเคิลชุดใหม่ (Burke *et al.*, 2003) ส่วนการให้อนุพันธ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจนตัวอื่นนั้น อาทิเช่น estradiol cypionate ได้มีรายงานการใช้เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างฟอลลิเคิลชุดใหม่เช่นกัน (Bo *et al.*, 1995)



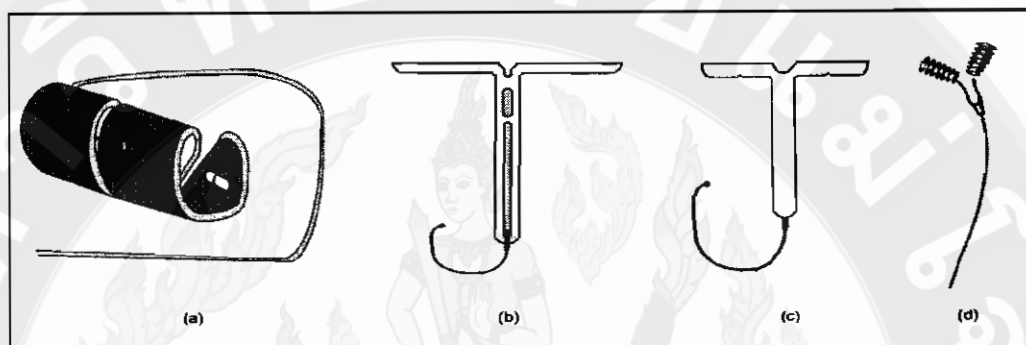
ภาพ 5 แสดงรายละเอียดโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและดักไข่ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด (CIDR®) ร่วมกับฮอร์โมนโปรสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา (Revah and Butler, 1996)

การฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีรีสซึ่งฮอร์โมนสามารถกระตุ้นการตกไข่ของฟอลลิเคิลชนิดโดมิแนนท์ ซึ่งเป็นการเหนี่ยวนำให้เกิดการพัฒนาของฟอลลิเคิลชุดใหม่ โดยสามารถนำมาใช้ร่วมกับโปรแกรมการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด (Rhodes *et al.*, 2002) สำหรับการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอท ขนาด 1 มิลลิกรัม ที่ 24 หรือ 48 ชั่วโมงภายหลังจากที่มีการหยดให้สารโปรเจสเตอโรน สามารถเหนี่ยวนำให้แม่โคแสดงอาการเป็นสัดชัดเจนขึ้น โดยมากกว่า 90% ของแม่โคแสดงอาการเป็นสัดภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมงภายหลังการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอท โดยมีระยะเวลาคักไข่ระหว่าง 60-80 ชั่วโมง ภายหลังจากที่มีการถอดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนออก โดยให้อัตราการผสมติดอยู่ระหว่าง 40% ถึง 60% ขึ้นอยู่กับความแตกต่างในรายละเอียดของโปรแกรมต่างๆ ที่เลือกใช้

อุปกรณ์การปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอด (Intravaginal Progesterone Releasing Devices)

อุปกรณ์การปล่อยโปรเจสเตอโรนภายในช่องคลอด (controlled internal drug release, CIDR[®]) มีลักษณะเป็นรูปตัวที (T) โดยตรงส่วนปลายด้านบนจะมีปีกกางออก 2 ด้าน ทำจากซิลิโคนมีลักษณะยืดหยุ่นเพื่อช่วยในการบิดเกาะกับช่องคลอดโดยถูกออกแบบมาให้ความนุ่มนวลต่อช่องคลอด ส่วนของลำตัวซึ่งเป็นแท่งซิลิโคนชนิดแข็งซึ่งจะมีการฉาบผิวด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนซึ่งมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 1.9 กรัม ตรงส่วนปลายด้านล่างจะมีเชือกไนลอนร้อยอยู่เพื่อความสะดวกในการถอด CIDR[®] ออกจากช่องคลอด การสอด CIDR[®] มีผลทำให้ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว (Rathbone *et al.*, 2002) ซึ่งในปัจจุบันได้มีการพัฒนาเป็น 2 ชนิด คือ CIDR[®] (ภาพ 6b) และ CIDR-B[®] (B=Estradiol Benzoate) (ภาพ 6c) โดยฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอลในวันแรก เพื่อจذبการเป็นสัดให้ได้มากขึ้น และก่อนที่จะมีการนำ CIDR[®] ออกจากช่องคลอดจะต้องฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์กลอนดินเอฟทูแอลฟา เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีคอร์ปัสลูเทียมตกค้างอยู่และสามารถเหนี่ยวนำการเป็นสัดได้ตามกำหนดที่ต้องการ (Mashak and Rahimi, 2009) การพัฒนารูปแบบการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเพื่อใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัดในปัจจุบันมีหลายรูปแบบ เช่น แบบเป็นเกลียว (PRID[®]; Progesterone releasing intravaginal device) (ภาพ 6a) หรือเป็นห่วงตัววาย Cue Mate[®] (ภาพ 6d) โดยมีหลักการคือแบบแท่งหรือแบบเกลียวนี้จะมีฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนอยู่และมีการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนอยู่อย่างสม่ำเสมอในระดับสูงตลอดเวลาที่สอดอยู่ในช่องคลอดโดยจะทำหน้าที่เสมือนเป็นคอร์ปัสลูเทียม เมื่อทำการสอดอุปกรณ์ไว้ในช่องคลอด ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะถูกปล่อยออกมาและซึมผ่านผนังช่องคลอดเข้าสู่กระแสเลือดที่ละน้อยอย่างต่อเนื่องและช่วยเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่มีอยู่แล้วในร่างกาย ทำให้ต่อมได้สมองหยุดการหลั่งหรือสร้างโกนาโดโทรปินฮอร์โมน อันได้แก่ฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมนและลูทีไนซิงฮอร์โมน เป็นผลให้การพัฒนารังไข่หยุดชะงักชั่วคราวและเมื่อถอดอุปกรณ์ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดจะลดลงอย่างรวดเร็วต่อมได้สมองก็จะเร่งผลิตโกนาโดโทรปินรีริซซิงฮอร์โมนทันที ส่งผลให้กระเปาะไข่มีการพัฒนาเต็มที่และผลิตฮอร์โมนเอสโตรเจนออกมามาก ทำให้แม่โคแสดงอาการเป็นสัด การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการใช้อุปกรณ์การปล่อย

โปรเจสเคโรนภายในช่องคลอด โดยการจำลองภาวะที่เหมือนกันการที่สัต์วีมีคอร์ปัสลูเทียมปกติ โดยฮอร์โมนโปรเจสเคโรนจะกีดการทำงานของสมองส่วน ไฮโปธาลามัสไว้ระยะหนึ่ง หลังจากนั้นเมื่อมีการนำฮอร์โมนโปรเจสเคโรนออกโคจะเริ่มมีการพัฒนาของรอบของการเป็นสัต์ ตามมา การใช้โปรเจสเคโรนแบบสอดช่องคลอด จะสามารถใช้ได้ทั้งในกรณีที่โคมีการเป็นสัต์ ที่ปกติหรือในภาวะที่โคไม่มีการพัฒนาของรังไข่ หรือภาวะที่รังไข่ไม่ทำงาน (Ball and Peter, 2004)



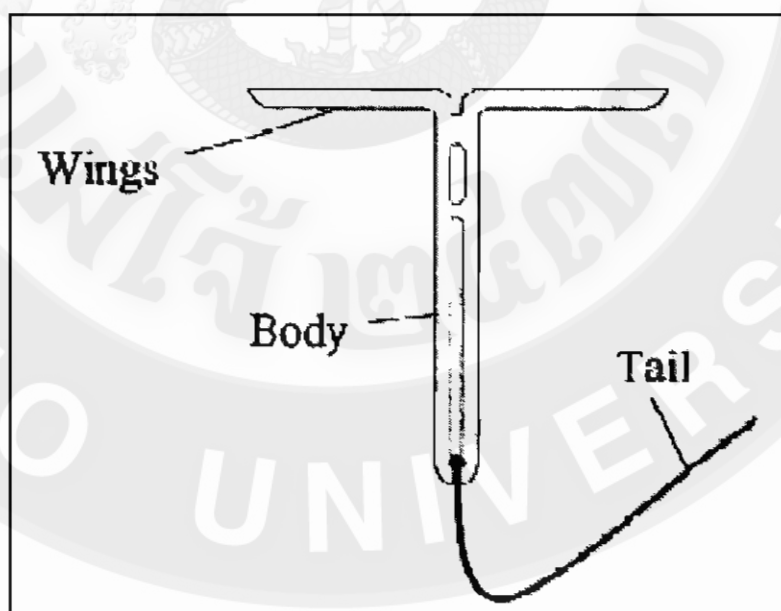
ภาพ 6 แสดงรูปแบบเทคโนโลยีการควบคุมการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเคโรนภายในช่องคลอด: (a) PRID[®], (b) CIDR[®], (c) CIDR - B[®], และ (d) Cue Mate[®]

ที่มา: ดัดแปลงจาก Mashak and Rahimi. (2009)

อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัต์ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเคโรนแบบสอดช่องคลอดแบบซีดา (Controlled internal drug release, CIDR[®])

อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัต์ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเคโรนแบบสอดช่องคลอด หรือ CIDR[®] (อ่านออกเสียง:ซีดา) เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ฮอร์โมนโปรเจสเคโรนในการเหนี่ยวนำการเป็นสัต์ซึ่งถูกคิดค้นและพัฒนาขึ้นครั้งแรกจากประเทศนิวซีแลนด์ ซึ่ง CIDR[®] ถูกใช้อย่างแพร่หลายในวงการผลิตสัตว์โดยเฉพาะในโค อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัต์ด้วยฮอร์โมนโปรเจสเคโรนแบบสอดช่องคลอด หรือ CIDR[®] มีลักษณะเป็นรูปตัวที (T) โดยตรงส่วนปลายด้านบนจะมีปีกกางออก 2 ด้าน ซึ่งทำจากซิลิโคนมีลักษณะยืดหยุ่นเพื่อช่วยในการยึดเกาะกับช่องคลอดโดยถูกออกแบบมาให้มีความนุ่มนวลต่อช่องคลอด ส่วนของลำตัวเป็นแท่งซิลิโคนชนิดแข็งซึ่งจะมีการฉาบผิวด้วยฮอร์โมนโปรเจสเคโรน โดยมีปริมาณการบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเคโรน 1.9 กรัม ในบริเวณส่วนปลายด้านล่างของ CIDR[®] จะมีเชือกไนลอนร้อยอยู่เพื่อความสะดวกในการถอด CIDR[®] ออกจากช่องคลอด การสอด CIDR[®] จะส่งผลทำให้ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเคโรนในกระแสเลือดของแม่โคเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยมีหลักการคือ แท่ง CIDR[®] จะทำการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเคโรนอยู่อย่างสม่ำเสมอในระดับสูงตลอดเวลาที่สอดอยู่ใน

ตัวโค โดยจะทำหน้าที่เสมือนเป็นคอร์ปัสลูเทียม ด้วยระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่มีอยู่สูงตลอดเวลานี้มีผลไปยับยั้งการหลั่งของฟอลลิเคิลสติมูเลตติงฮอร์โมน ทำให้ไม่มีการพัฒนาของฟอลลิเคิล และมีผลไปยับยั้งการหลั่งของลูทีไนซิงฮอร์โมนซึ่งมีผลทำให้ไม่เกิดการตกไข่จากการศึกษาของมหาวิทยาลัยทางสัตวศาสตร์มินนิโซต้า (University of Minnesota animal scientist) ได้รายงานไว้ว่าระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดโคจะเพิ่มขึ้นจนถึงระดับสูงสุดหลังจากทำการสอด CIDR® ไว้เพียง 1 ชั่วโมงและจะคงที่อยู่ที่ระดับเดิมอยู่ประมาณ 7 วัน และเมื่อทำการถอด CIDR® ออกปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดก็จะลดระดับลงอย่างรวดเร็ว โดยทั่วไปจะมีการสอด CIDR® ไว้ในช่องคลอดของโคไม่เกิน 7 วันเนื่องจากเกินความจำเป็น โดย CIDR® กว่า 97% สามารถเก็บไว้ใช้ในครั้งต่อไปได้อีกครั้ง แต่การใช้ CIDR® ซ้ำถือเป็นเพิ่มความเสี่ยงในการติดเชื้อในช่องคลอดของโค โดยในโคบางรายอาจเกิดกรณีที่ช่องคลอดเกิดการระคายเคือง ซึ่งจะมีเมือกลักษณะใสหรือข้นสีเหลืองไหลออกจากช่องคลอดหรือปนมากับปัสสาวะหลังจากทำการถอด CIDR® ออก ซึ่งเหตุการณ์ดังกล่าวไม่ใช่เรื่องผิดปกติและไม่ส่งผลใดๆต่อประสิทธิภาพการปล่อยฮอร์โมนของ CIDR® (National Association of Animal Breeders, UNDERSTANDING CIDR, 2006. [Online] Available: http://beefmagazine.com/mag/beef_understanding_cidr/ .14 October 2010)



ภาพ 7 แสดงส่วนประกอบของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด หรือ CIDR®

(Rathbone *et al.*, 2002)

การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด (CIDR®)

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด หรือ CIDR® มีประโยชน์อย่างมากเมื่อใช้ในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (fixed-time AI) โดยที่ไม่ต้องมีการตรวจสัด โดยทำการสอด CIDR® ที่บรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนอยู่ ซึ่งมีการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนอย่างสม่ำเสมอในระดับสูงตลอดเวลาที่ฝังหรือสอดอยู่ในตัวโค โดยจะทำให้หน้าท้องที่เหมือนเป็นคอร์ปัสลูเทียม ด้วยระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่มีอยู่สูงตลอดเวลานี้มีผลไปยับยั้งการหลั่งของฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมน ทำให้ไม่มีการเจริญของฟอลลิเคิลและยับยั้งการหลั่งลูทีไนซิงฮอร์โมน มีผลทำให้ไม่มีการตกไข่ เมื่อถอดแท่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนออก ค่อมได้สมองส่วนหน้าจะหลั่งฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมนที่ถูกยับยั้งเมื่อมีฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนฝังอยู่ เมื่อมีการเจริญของฟอลลิเคิลจะทำให้โคกลับมาเป็นสัดใน 24-36 ชั่วโมงหลังการถอด CIDR® และมีการตกไข่ตามมา ซึ่งพบว่าการใช้วิธีนี้มีผลให้อัตราการเหนี่ยวนำให้เป็นสัดพร้อมกันสูงและอัตราการผสมคิดดีเป็นที่พอใจ มีการทดลองระยะเวลาที่ให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน พบว่าการให้ในระยะยาว (18-21 วัน) ให้ผลในการตั้งท้องที่ต่ำ ส่วนการให้ในระยะเวลาที่สั้น (7-12 วัน) ให้ผลในการตั้งท้องที่สูงกว่าและยอมรับได้ (Ball and Peter, 2004) จากการศึกษาของ O'Rourke *et al.* (2000) พบว่าการใช้ฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท ในระยะก่อนการเป็นสัด ภายหลังจากมีการให้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และฮอร์โมนพรอสตราแกรนดิน ช่วยลดระยะห่างของการเป็นสัด และการตกไข่ และทำให้สามารถตรวจหาวันเพื่อทำการผสมเทียมได้ง่ายขึ้น การให้ฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอทขนาด 1 มิลลิกรัม ยังทำให้ความเข้มข้นของฮอร์โมนเอสตราไดออลสูงสุดในพลาสมาเหมือนกับที่เกิดขึ้นในวงจรการเป็นสัดตามธรรมชาติด้วย

ประโยชน์ของ CIDR® ในด้านการสืบพันธุ์ของโค

- ลดข้อผิดพลาดในการจับสัด
- สามารถใช้กับแม่โคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดได้
- สามารถจัดการและกำหนดวงจรการเป็นสัดของแม่โคและโคสาวได้

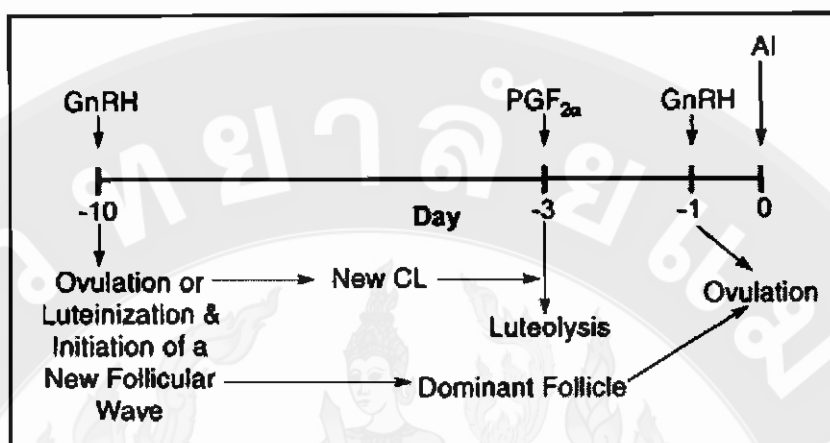
(National Association of Animal Breeders. UNDERSTANDING CIDR. 2006. [Online] Available: http://beefmagazine.com/mag/beef_understanding_cidr/. 14 July 2010)

การศึกษาการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดร่วมกับโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมน

การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดร่วมกับโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่แบบโอวซิงค์ (Ovsynch)

เป็นการใช้ ฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีริสซิงฮอร์โมน (GnRH) ฉีด 2 ครั้ง โดยมีการฉีดฮอร์โมน พรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟาคั่นกลาง 1 ครั้ง เหตุผลในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการใช้โปรแกรม Ovsynch โดยการใช้ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีริสซิงฮอร์โมนก่อน เพราะปกติจะไม่ทราบว่าโคอยู่ในระยะใดของการเป็นสัด การฉีด ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีริสซิงฮอร์โมนจะทำให้มั่นใจได้ว่ามี คอรัปัสลูเทียมมีการตอบสนองต่อการฉีด พรอสตาแกลนดิน ในอีก 7 วันต่อมา การฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีริสซิงฮอร์โมนครั้งที่ 2 หลังจากการให้พรอสตาแกลนดิน ในระยะ 50-60 ชั่วโมง จะทำให้มีการพัฒนาของกระเปาะไข่ต่อมาและสามารถผสมเทียมได้โดยไม่ต้องแสดงการเป็นสัด (สรรเพชญ, 2530) ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้ฮอร์โมนฮอร์โมน โกนาโดโทรปินรีริสซิงฮอร์โมนมีจุดประสงค์เพื่อเร่งการเจริญของฟอลลิเคิล ส่วนฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟานั้นมีจุดประสงค์เพื่อเร่งการมีจุดประสงค์เพื่อเร่งการฟ่อตัวของคอรัปัสลูเทียม ซึ่งการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน 2 ชนิดนี้ถูกใช้กันอย่างแพร่หลาย ทั้งในโคนมและโคเนื้อซึ่งสะดวกในการจัดการด้านระบบสืบพันธุ์ระดับฝูง (Thatcher *et al.*, 1993; Wolfenson *et al.*, 1994) โปรแกรม Ovsynch สามารถใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคนมได้ผล (Pursely *et al.*, 1994; Schmitt *et al.*, 1996) ซึ่งโปรแกรม Ovsynch นั้นจะเป็นโปรแกรมเหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ใช้ฮอร์โมนด้วยกันทั้งหมด 2 ชนิด คือพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟาและโกนาโดโทรปินรีริสซิงฮอร์โมน โดยในภาพ 8 จะแสดงให้เห็นถึงวิธีการฉีดฮอร์โมน คือหลังจากแม่โคหมดวงจรรอบของการเป็นสัดในรอบที่แล้วจะทำการฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีริสซิงฮอร์โมนเข็มแรก และหลังจากนั้นจะทำการเว้นระยะเป็นเวลา 10 วันแล้วจึงทำการฉีดฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟาเพื่อทำการสลายคอรัปัสลูเทียม หลังจากนั้นจะทำการเว้นระยะไปอีก 3 วัน จึงจะทำการฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีริสซิงฮอร์โมนเข็มที่ 2 หลังจากทำการฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีริสซิงฮอร์โมนเข็มที่ 2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมงก็จะสามารถทำการผสมเทียมได้โดยแม่โคไม่จำเป็นต้องแสดงอาการเป็นสัด ซึ่งในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้

ฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟาและโกนาโดโทรปินรีริสซึ่งฮอร์โมนจะมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของการเป็นสัดหรือการตกไข่ (Vasconcelos *et al.*, 1999; Geary and Whittier., 1997)



ภาพ 8 แสดงกลไกการทำงานของโปรแกรม Ovsynch (GEARY and Whittier., 1997)

จากภาพ 8 จะแสดงให้เห็นว่าภายหลังจากที่ทำการฉีดโกนาโดโทรปินรีริสซึ่งฮอร์โมนเข็มแรกในวันที่แม่โคตกไข่ในรอบที่ผ่านมา ร่างกายจะมีการพัฒนาคอร์ปัสลูเทียมขึ้นมาใหม่เพื่อเพิ่มระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และเมื่อมีการฉีดฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟาก็จะส่งผลให้คอร์ปัสลูเทียมเกิดการสลายตัวเริ่มพัฒนาในรอบการเป็นสัดในรอบใหม่ และหลังจากการฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีริสซึ่งฮอร์โมนเข็มที่ 2 แม่โคจะเกิดการตกไข่ตามมา ในปัจจุบันวงการปศุสัตว์ได้มีการนำเทคโนโลยีเข้ามาใช้ในการเพิ่มผลผลิต โดยเฉพาะการเพิ่มประสิทธิภาพด้านการผสมเทียมโคให้มีประสิทธิภาพการผลิตมากขึ้น โดยเฉพาะในโคเขตร้อน (*Bos indicus*) ที่ประสบปัญหาอย่างมากในเรื่องของการจับสัดและระยะเวลาในการเป็นสัดที่สั้นซึ่งเป็นเหตุให้โคจำนวนมากพลาดโอกาสในการผสมเทียม (Baruselli *et al.*, 2004) จากปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการคิดค้นวิธีการใช้ฮอร์โมนในการควบคุมการทำงานของคอร์ปัสลูเทียมและการพัฒนาของฟอลลิเคิล ซึ่งทำให้สามารถกำหนดเวลาในการเป็นสัดและตกไข่ของโคได้ (B'ó *et al.*, 2002) ซึ่งการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการใช้ฮอร์โมนเอสตาโรไดคอล เบนโซเอท เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมอย่างมากในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาซึ่งใช้ได้ผลทั้งในโคนมและโคเนื้อ (Macmillan and Peterson, 1993; Macmillan and Burke, 1996; B'ó *et al.*, 2002)

จากการทดลองของ Pursley *et al.*, 1995 แสดงให้เห็นว่าเมื่อทำการฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีริสซิงฮอร์โมนเข็มแรก โคนางและโคนางมีการตอบสนองต่อฮอร์โมนใกล้เคียงกันโดยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของฟอลลิเคิลของโคนางอยู่ที่ประมาณ 14.21 ± 0.75 มิลลิเมตร ส่วนในโคนางจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของฟอลลิเคิล อยู่ที่ 15.2 ± 0.87 มิลลิเมตร และเมื่อทำการฉีดฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา จะเห็นได้ว่าคอร์ปัสลูเทียมของโคทั้งสองกลุ่มจะมีการฝ่อตัวอย่างรวดเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับขนาดของ คอร์ปัสลูเทียมก่อนและหลังการฉีดฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา และเมื่อทำการฉีดฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีริสซิงฮอร์โมนเข็มสุดท้ายมีผลทำให้ขนาดของฟอลลิเคิลและอัตราการเจริญของฟอลลิเคิลของโคทั้งสองกลุ่มเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกันอย่างเห็นได้ชัด ดังแสดงในตาราง 4

ตาราง 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงของฟอลลิเคิลและคอร์ปัสลูเทียมหลังจากการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน

ฉีด GnRH เข็มที่ 1	โคนาง	โคนาง	P-value
จำนวนโคที่ตกไข่	18/20	13/24	< 0.01
ขนาดของ follicle ขณะที่ทำการฉีดฮอร์โมน (mm)	14.2 ± 0.44	15.2 ± 0.87	0.39
จำนวนของ follicular wave ใหม่	20/20	18/24	< 0.025
ฉีด PGF _{2α}			
จำนวนของคอร์ปัสลูเทียมที่ฝ่อตัวลง	20/20	18/24	< 0.025
ขนาดของ CL ที่ยังไม่ถูกกระตุ้น (mm)	27.6 ± 1.75	24.5 ± 0.99	-
ขนาดของ CL ที่ถูกกระตุ้น (mm)	17.7 ± 0.33	17.8 ± 1.25	< 0.001
ฉีด GnRH เข็มที่ 2			
ขนาดของ follicle ในวันที่ทำการฉีดฮอร์โมน (mm)	13.9 ± 0.51	15.5 ± 0.62	0.05
อัตราการเจริญของ follicle ในวันที่ฉีด (mm/d)	1.34 ± 0.09	1.53 ± 0.06	0.06
ขนาดใหญ่ที่สุดของ follicle (mm)	15.7 ± 0.48	16.7 ± 0.55	0.13
ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่เพิ่มขึ้นจนมีขนาดที่ใหญ่ที่สุด (mm/d)	1.8 ± 0.25	1.3 ± 0.44	0.34

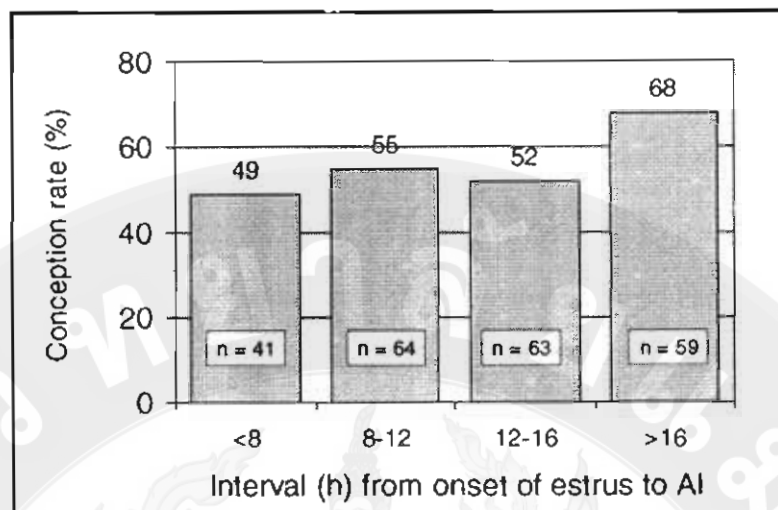
ที่มา: คัดแปลงจาก Pursley *et al.*, (1995)

จากข้อมูลการศึกษาของ Richardson *et al.*, 2002 ดังแสดงในตาราง 5 แสดงให้เห็นว่าอัตราการเป็นสัดของโคในกลุ่มที่ใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่วมกับฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟาในโคนม ดีกว่าอัตราการเป็นสัดในกลุ่มที่ใช้ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีรีสซึ่งฮอร์โมนร่วมกับฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา ในส่วนของอัตราการผสมติดและอัตราการตั้งท้อง จะเห็นได้ว่าโคนมกลุ่มที่ใช้ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีรีสซึ่งฮอร์โมนร่วมกับฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา จะมีอัตราการผสมติดและอัตราการตั้งท้องที่ดีกว่าโคนมกลุ่มที่ใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่วมกับฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา ซึ่งอัตราการผสมติดจะมีมากหรือน้อยยังขึ้นอยู่กับปัจจัยเรื่องของระยะเวลาในการผสมเทียมด้วย เนื่องจากอัตราการผสมติดจะมีค่าเพิ่มขึ้น 0.9 ± 0.7 % ต่อชั่วโมงหลังจากแม่โคเกิดอาการเป็นสัดที่ 2-28 ชั่วโมงดังแสดงในภาพ 9 โดยจะเห็นได้ว่าระยะเวลาที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพมากที่สุดในการผสมเทียมคือประมาณ 16 ชั่วโมงหลังจากที่แม่โคแสดงอาการเป็นสัด

ตาราง 5 เปรียบเทียบอัตราการเป็นสัดและอัตราการตั้งท้องของโคนมจากการใช้โปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน GnRH + PGF_{2α} และ Progesterone + PGF_{2α}

รายการ	กลุ่ม	ฮอร์โมนที่ใช้ในการทดลอง	
		GnRH+ PGF _{2α}	Progesterone+ PGF _{2α}
อัตราการแสดงอาการเป็นสัด	โคนม	83.1 (65)	89.1 (64)
อัตราการผสม	โคนม	59.3 (54)	45.6 (57)
อัตราการตั้งท้อง	โคนม	49.2 (65)	40.6 (64)

ที่มา: ดัดแปลงจาก Richardson *et al.*, (2002)



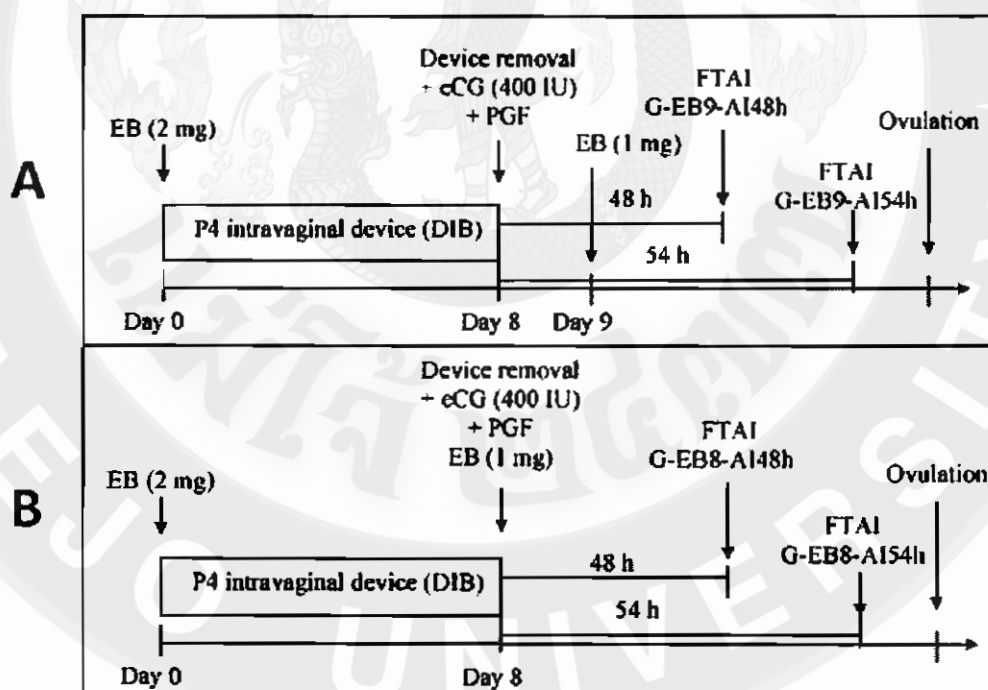
ภาพ 9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการผสมติดกับระยะเวลาที่จะผสมเทียมหลังจากโคแสดงอาการเป็นสัด (Richardson *et al.*, 2002)

ผลการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดร่วมกับโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่แบบโอวีซิงค์ (Ovsynch)

โปรแกรมการ Ovsynch เป็นการให้ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีลีซซิงฮอร์โมนชนิด 2 ครั้ง โดยมีการฉีดฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟาคั่นกลาง 1 ครั้ง ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้ฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีลีซซิงฮอร์โมน มีจุดประสงค์เพื่อเร่งการเจริญของฟอลลิเคิล ส่วนฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา มีจุดประสงค์เพื่อเร่งการฝ่อตัวของคอร์ปัสลูเทียม ซึ่งการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน 2 ชนิดนี้ถูกใช้กันอย่างแพร่หลาย ทั้งในโคนมและโคเนื้อซึ่งสะดวกในการจัดการด้านระบบสืบพันธุ์ระดับฝูง (Thatcher *et al.*, 1993; Wolfenson *et al.*, 1994; Twagiramungu *et al.*, 1995) ซึ่งมีงานวิจัยยืนยันผลออกมาหลายงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้โปรแกรม Ovsynch ซึ่งสามารถใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคนมได้ผล (Pursely *et al.*, 1994 ; Schmitt *et al.*, 1996) อีกทั้งยังมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของการเป็นสัดหรือการตกไข่ของโคที่มีปัญหาทางด้านระบบสืบพันธุ์ได้อีกด้วย (Vasconcelos *et al.*, 1999; Geary *et al.*, 2000)

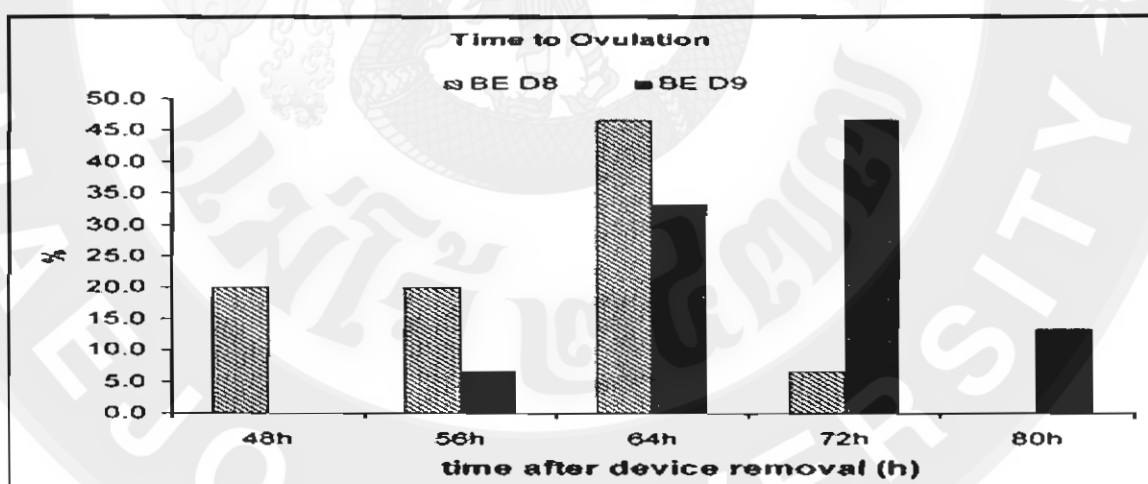
การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดร่วมกับโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนเอสตราไดโอดเบนโซเอท

จากการศึกษาของ Ayres *et al.*, 2007 แสดงให้เห็นถึงการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคนมแบบกำหนดเวลา ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มการทดลองคือ การทดลองแรก (ภาพ 10A) จะมีการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอท 2 เข็ม โดยเข็มแรกจะทำการฉีดในวันที่เริ่มมีการสอด CIDR® และจะมีการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอท 2 มิลลิกรัม ส่วนในเข็มที่ 2 จะฉีด 1 มิลลิกรัม หลังจากถอด CIDR® ในวันที่ 8 ได้ 1 วัน (Day9) ส่วนในกลุ่มที่ 2 (ภาพ 10B) จะมีการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอท 2 เข็ม โดยเข็มแรกจะทำการฉีดในวันที่เริ่มมีการสอด CIDR® และจะมีการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอท 2 มิลลิกรัม ส่วนในเข็มที่ 2 จะฉีด 1 มิลลิกรัม พร้อมกับทำการถอด CIDR® ในวันที่แปด โดยโคที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดจะไม่ทราบว่ายู่ในระยะใดของการเป็นสัด



ภาพ 10 แสดงโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบกำหนดเวลาโดยการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการใช้ฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอท (Ayres *et al.*, 2007)

จากการทดลองพบว่าโคในกลุ่มที่มีการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท ในวันที่ 8 (BE D8) จะมีอัตราการตกไข่ในชั่วโมงที่ 48, 56, 64 และ 72 หลังการถอด CIDR® ตามลำดับ ส่วนโคในกลุ่มที่มีการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอทในวันที่ 9 จะมีอัตราการตกไข่ในชั่วโมงที่ 56, 64, 72 และ 80 หลังการถอด CIDR® ตามลำดับดังแสดงในภาพ 11 ซึ่งโคในกลุ่มที่มีการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอทในวันที่ 8 จะมีอัตราการตกไข่สูงสุดในชั่วโมงที่ 64 หลังการถอด CIDR® ส่วนโคในกลุ่มที่มีการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท ในวันที่ 9 (BE D9) จะมีอัตราการตกไข่สูงสุดในชั่วโมงที่ 72 ส่วนในเรื่องของผลของวันในการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท ต่ออัตราการตั้งท้องของโคในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาผลที่ได้คือ ค่าเฉลี่ยการตั้งท้องของโคกลุ่มที่ทำการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอทในวันที่ 8 และทำการผสมเทียมที่เวลา 48 และ 54 ชั่วโมงหลังจากถอด CIDR® มีค่าเท่ากับ 58.8% และ 34.3% ตามลำดับซึ่งมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่าโคในกลุ่มที่ทำการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอทในวันที่ 9 และทำการผสมเทียมที่เวลา 48 และ 54 ชั่วโมงหลังจากถอด CIDR® มีค่าเท่ากับ 58.7% และ 63.2% ดังแสดงในตาราง 6



ภาพ 11 แสดงเปอร์เซ็นต์ของกลุ่มทดลองทั้ง 2 กลุ่ม ต่อระยะเวลาในการตกไข่หลังจากถอด CIDR®

(Ayres *et al.*, 2007)

ตาราง 6 ผลของวันในการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท ต่ออัตราการตั้งท้องของโค
ในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา

วันที่ฉีด EB	FTAI	จำนวน	อัตราการตั้งท้อง %
วันที่ 8	48 ชั่วโมง	119	58.8 (70/119)
	54 ชั่วโมง	134	34.3 (46/134)
วันที่ 9	48 ชั่วโมง	126	58.7 (74/126)
	54 ชั่วโมง	125	63.2 (79/125)

FTAI = Fixed Time AI.

ที่มา: (Ayres *et al.*, 2007)

จากการศึกษาเปรียบเทียบการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคพันธุ์พื้นเมืองของประเทศเกาหลีของ Kim และ Kim ได้ทำการศึกษาค้นคว้าด้วยฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท 2 มิลลิกรัมร่วมกับการฉีดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 50 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับการฉีดโกนาโดโทรปิน รีลีสซิงฮอร์โมน 100 ไมโครกรัม ในวันที่มีการสอด CIDR® แสดงให้เห็นว่าการเกิดคลื่นฟอลลิเคิลจากการทดลองของโคทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของฟอลลิเคิลของทั้ง 2 กลุ่มมีขนาดเล็กใกล้เคียงกันในกลุ่มของโคที่ฉีด ฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท + ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน จะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของฟอลลิเคิลเล็กกว่าโคในกลุ่มที่ฉีด GnRH แต่อย่างไรก็ตามเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของโคทั้ง 2 กลุ่มก็มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่ต่ำกว่า 12 มิลลิเมตรในวันที่ 9 ของการทดลอง สุดท้ายคือความสามารถในการเหนี่ยวนำการตกไข่และอัตราการตั้งท้องหลังจากได้รับการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา ไม่มีความแตกต่างกันในโคทั้ง 2 กลุ่ม ดังแสดงในตาราง 7

ตาราง 7 ผลการเปรียบเทียบระหว่างการฉีด EB + P₄ และ GnRH ในโคนมขณะทำการ
สอด CIDR®

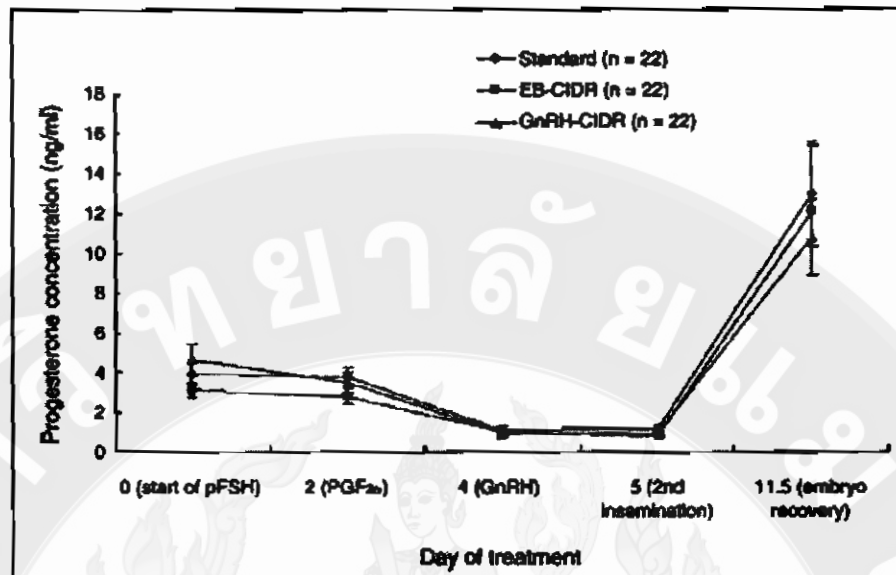
Variables	ทรีทเมนต์	
	EB + P ₄	GnRH
จำนวนของการเกิดคลื่นฟอลลิเคิล	12/15 ^a	14/15 ^b
ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของฟอลลิเคิลในวันที่ 7 (ม.ม.)	11.5±0.8 ^c	13.8±0.6 ^d
ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยก่อนตกไข่ของฟอลลิเคิลในวันที่ 9 (ม.ม.)	14.7±0.6	16.2±0.5
จำนวนของโคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยก่อนตกไข่ของ ฟอลลิเคิลมากกว่า 12 ม.ม. ในวันที่ 9	14/15	15/15
สัดส่วนของโคที่ตอบสนองต่อการเหนี่ยวนำการตกไข่	13/15	14/15
อัตราการจัดตั้งท้อง	11/30	16/30

^{a,b} คือ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.01$

^{c,d} คือ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P < 0.05$

ที่มา: คัดแปลงจาก Kim and Kim (2007)

จากการศึกษาเปรียบเทียบการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคพันธุ์พื้นเมือง
ของประเทศเกาหลีโดย Son และคณะในปี 2006 ซึ่งการทดลองถูกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มทดลอง โดย
กลุ่มการทดลองแรกจะเป็นกลุ่มควบคุม ซึ่งโคในกลุ่มนี้จะถูกสอด CIDR® เพียงอย่างเดียว ในกลุ่ม
การทดลองที่ 2 จะทำการศึกษาด้วยการฉีดฮอร์โมนเอสตาเรโคออล เบนโซเอท 2 มิลลิกรัม
หลังการสอด CIDR® 1 วัน ส่วนในกลุ่มการทดลองสุดท้ายจะทำการฉีดโกนาโดโทรปิน
รีลีสซิงฮอร์โมน 100 ไมโครกรัม หลังการสอด CIDR® 1 วัน โดยผลของการเจาะเลือดเพื่อตรวจหา
ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในระหว่างที่มีการสอด CIDR® ในทั้ง 3 กลุ่มการ
ทดลองปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($P < 0.05$) ดังแสดงในภาพ 12



ภาพ 12 แสดงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคกลุ่มต่างๆ (Son *et al.*, 2007)

จากการศึกษาอิทธิพลระยะเวลาในการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอดอล เบนโซเอท ที่เวลา 0 และ 24 ชั่วโมงหลังจากการถอด CIDR® โดย Ross *et al.*, 2004 ที่ส่งผลต่อการตกไข่และการสร้างคอร์ปัสลูเทียมในแม่โคที่อยู่ในระยะให้นมโดย Ross และคณะในปี 2004 ได้รายงานผลการศึกษาไว้ว่า อัตราการตกไข่, ระยะเวลาในการตกไข่, เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของฟอลลิเคิล, อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของฟอลลิเคิล และอัตราการสลายตัวของคอร์ปัสลูเทียมต่อเปอร์เซ็นต์การตกไข่ ในโคทั้ง 2 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ($P < 0.05$) ดังแสดงในตาราง 8

ตาราง 8 แสดงผลของระยะเวลาในการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอดอล เบนโซเอท ที่เวลา 0 และ 2 ชั่วโมงหลังจากการถอด CIDR®

Variables	EB-0	EB-24	P-value
อัตราการตกไข่ (%)	7/9 (77.8)	9/11 (81.8)	0.82
ระยะเวลาในการตกไข่ (วัน)	3 (0)	3 (2)	0.64
เส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยของฟอลลิเคิล (มม.)	10.9 ± 0.5	12.1 ± 0.8	0.26
อัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยของฟอลลิเคิล (มม./วัน)	1.0 ± 0.2	1.2 ± 0.3	0.71
อัตราการสลายตัวของคอร์ปัสลูเทียมต่อเปอร์เซ็นต์การตกไข่ (%)	2/7 (28.6)	2/9 (22.2)	0.77

ที่มา: Ross *et al.*, (2004)

จากการศึกษาของ Martinez *et al.*, 2002 ซึ่งทำการเปรียบเทียบการใช้ฮอร์โมน 3 ชนิดคือ โกนาโดโทรปิน รีลีสซิงฮอร์โมน 100 ไมโครกรัม , พร็อกซิน ลูทีไนซซิงฮอร์โมน (pLH) 12.5 มิลลิกรัม และเอสตาโรไดคอล เบนโซเอท 2 มิลลิกรัม หลังจากการถอด CIDR® เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในโคเนื้อลูกผสมระหว่างพันธุ์แองกัส+ซิมเมนทอล โดย Martinez และคณะในปี 2002 แสดงให้เห็นว่าเปอร์เซ็นต์การเป็นสัดในกลุ่มของโคที่ได้รับการฉีดฮอร์โมน เอสตาโรไดคอล เบนโซเอท มีอัตราการเป็นสัดสูงที่สุดอย่างเห็นได้ชัด ($P<0.01$) ส่วนอัตราการตั้งท้องในโคกลุ่มที่ได้รับการฉีดฮอร์โมนพร็อกซิน ลูทีไนซซิงฮอร์โมน มีอัตราการตั้งท้องต่ำสุด ดังแสดงในตาราง 9

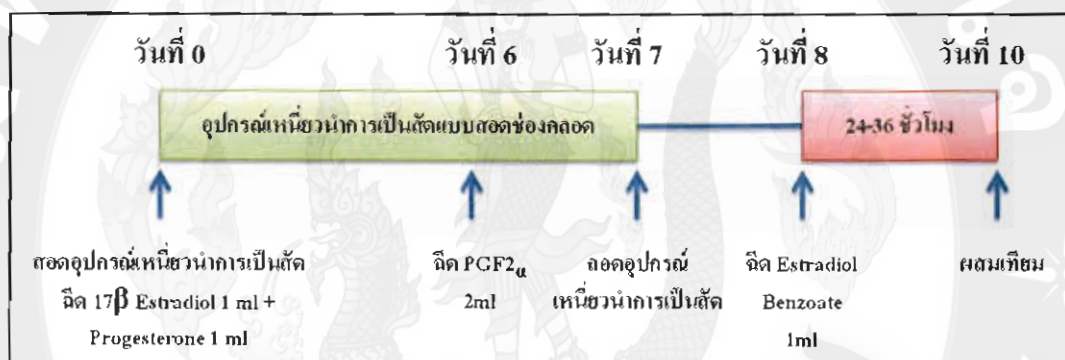
ตาราง 9 แสดงการเปรียบเทียบสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของโคทดลองทั้ง 3 กลุ่ม

Variables	CIDR®		
	GnRH	pLH	EB
จำนวนโคสาว	103	102	52
เปอร์เซ็นต์การเป็นสัด (%)	65	60.8	92
อัตราการตั้งท้อง (%)	65	55.9	61.5
ค่าเฉลี่ยของโคที่แสดงอาการเป็นสัด	67.2	61.3	62.5
ค่าเฉลี่ยของโคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัด	61.1	47.5	50
อัตราการคลอดลูก (%)	75.7	77.4	78.8

ที่มา: ดัดแปลงจาก Martinez *et al.* (2002)

จากการทดลองของ ศิวัช (2548) ที่ทำการศึกษาในภาคสนามเพื่อทดสอบถึงอัตราการผสมติดของแม่โคที่ได้รับสเตียรอยด์ฮอร์โมนเพื่อควบคุมอัตราการตกไข่ และผสมเทียม ในระยะเวลาที่กำหนด ในฟาร์มโคนมขนาดใหญ่ 2 แห่ง และฟาร์มโคนมของเกษตรกรรายย่อย 182 ฟาร์ม โดยแม่โคที่ใช้ในการทดลองได้รับการจัดการด้านอาหารและระบบสืบพันธุ์แตกต่างกันมาก และเพื่อทดสอบสมมุติฐานที่ว่าแม่โคที่ผสมติดยากส่วนมากเกิดจากปัญหาความผิดปกติในการจับสัด ซึ่งการเหนี่ยวนำให้ตกไข่เพื่อผสมเทียมตามระยะเวลาที่กำหนดจะสามารถแก้ไข ปัญหาเหล่านี้ได้ ซึ่งโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนที่ใช้มีโปรแกรมนี้นี้คือ ใน วันแรก (วันที่ 0) ทำการสอดอุปกรณ์การเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่แบบสอดช่องคลอด (CIDR-B®)

พร้อมกับการฉีด สอร์โมน 17 β -เอสตราไดออล (17 β -Estradiol) 2 mg./ml. และฉีด โปรเจสเตอโรน 50 mg./ml. จากนั้นในวันที่ 6 จึงทำการฉีดสอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา 2 ml. ในวันที่ 7 จึงทำการถอดอุปกรณ์การเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่แบบสอดช่องคลอด (CIDR-B[®]) และในวันที่ 8 ทำการฉีดสอร์โมนเอสตราไดออลเบนโซเอท 1 mg./ml. ซึ่งหลังจากการฉีดสอร์โมนเอสตราไดออลเบนโซเอท เป็นเวลา 36 ชั่วโมงจึงทำการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาดังแสดงในภาพ 13 ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าแม่โคที่ได้รับสเตียรอยด์สอร์โมนเพื่อควบคุมอัตราการตกไข่และผสมเทียมตามระยะเวลาที่กำหนดมีอัตราการเป็นสัดและผสมติดมากกว่าแม่โคที่ได้รับการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพ 13 แสดงการใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการใช้โปรแกรมโปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยสอร์โมน (ศิริวัช. 2548)

ผลการใช้สอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดร่วมกับโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยสอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท

สอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด หรือ CIDR[®] มีประโยชน์อย่างมากเมื่อใช้ในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (fixed-time AI) โดยที่ไม่ต้องมีการตรวจสัด ในปัจจุบันวงการปศุสัตว์ได้มีการนำเทคโนโลยีเข้ามาใช้ในการเพิ่มผลผลิตโดยเฉพาะการเพิ่มประสิทธิภาพด้านการผสมเทียมโคให้มีประสิทธิภาพการผลิตมากขึ้น โดยเฉพาะในโคเขตร้อน (*Bos indicus*) ที่ประสบปัญหาอย่างมากในเรื่องของการจับสัดและระยะเวลาในการเป็นสัด จึงได้มีการคิดค้นวิธีการใช้สอร์โมนในการควบคุมการทำงานของคอร์ปัสลูเตียมและการพัฒนาของสัณซึ่งเป็นเหตุให้โคจำนวนมากพลาดโอกาสในการผสมเทียม (Baruselli *et al.*, 2004) จากปัญหาดังกล่าวพลลึงค์จึงทำให้สามารถกำหนดเวลาในการเป็นสัดและตกไข่ของโคได้ (B'o *et al.*, 2002)

ซึ่งการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการใช้ฮอร์โมนเอสตราไดออกัลเบนโซเอท เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมอย่างมากในการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาซึ่งใช้ได้ผลทั้งในโคนมและโคเนื้อ (Macmillan and Peterson, 1993; Macmillan and Burke, 1996; B'o *et al.*, 2002) ซึ่งฮอร์โมนเอสตราไดออกัลเบนโซเอทมีคุณสมบัติในการชักนำให้เกิดคลื่นฟอลลิเคิล (follicular wave) ก่อนที่จะมีการตกไข่ได้ ซึ่งโดยทั่วไปจะมีการใช้ฮอร์โมนเอสตราไดออกัลเบนโซเอทหลังจากสิ้นสุดการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR® ซึ่งมีงานวิจัยยืนยันผลออกมาหลายงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด หรือ CIDR® ร่วมกับการใช้ฮอร์โมนเอสตราไดออกัลเบนโซเอทสามารถใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคนมและโคเนื้ออย่างได้ผลอีกทั้งยังมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของการเป็นสัดหรือการตกไข่ของโคที่มีปัญหาทางด้านระบบสืบพันธุ์ได้อีกด้วย (Bo *et al.*, 1995; Yaakub *et al.*, 1998)

การใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดร่วมกับโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่แบบดับเบิลซิงค์ (Double Synch)

จากการศึกษาของ Son *et al.*, 2007 ซึ่งผลการทดลองเปรียบเทียบการเหนี่ยวนำการเป็นคอกไข่แบบดับเบิลซิงค์ (Double Synch) หลังจากทำการถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอด (CIDR®) ในแม่โค หลังจากนั้นจึงทำการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนเอสตราไดออกัลเบนโซเอทในแม่โค 2 ครั้ง หรือการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีริซซิงฮอร์โมน 2 ครั้งเพื่อศึกษาเปรียบเทียบขนาดของโคมิแนนท์ฟอลลิเคิล รวมถึงขนาดของคอร์ปัสลูเทียมในแม่โคทดลอง ในการทดลองนี้ได้ทำการแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม คือกลุ่มควบคุม (ไม่ใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมน), กลุ่ม EB (ใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนเอสตราไดออกัลเบนโซเอท 2 ครั้ง) และกลุ่ม GnRH (ใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีริซซิงฮอร์โมน 2 ครั้ง) จากการทดลองพบว่าโคทดลองทั้ง 3 กลุ่มมีจำนวนของฟอลลิเคิลชุดแรกที่แม่โคสร้างขึ้นหลังจากการถูกกระตุ้นการตกไข่ไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนจำนวนของฟอลลิเคิลชุดที่สองที่ถูกสร้างขึ้นหลังจากการถูกกระตุ้นการตกไข่ พบว่าแม่โคในกลุ่มควบคุมจะมีการสร้างฟอลลิเคิลมากกว่าโคกลุ่มทดลองที่ได้รับการฉีดเอสตราไดออกัลเบนโซเอท และโคกลุ่มทดลองที่ได้รับการฉีดโกนาโดโทรปิน รีริซซิงฮอร์โมน ในส่วนของขนาดของคอร์ปัสลูเทียมในระยะเวลาที่เกิดการฝังตัวของตัวอ่อนไม่มีความแตกต่างกันในโคทั้ง 3 กลุ่ม และยังพบว่าอัตราการตายของตัวอ่อนในโค

กลุ่มควบคุมและโคกลุ่มที่ได้รับการฉีดเอสตราไดโอดัล เบนโซเอท มีอัตราการตายของตัวอ่อนมากกว่าโคกลุ่มที่ได้รับการฉีดโกนาโดโทรปิน รีลีสซิงฮอร์โมน ($P < 0.05$) ดังแสดงในตาราง 10

ตาราง 10 แสดงผลเปรียบเทียบของโคทดลองทั้ง 3 กลุ่ม (กลุ่มควบคุม, ฉีดเอสตราไดโอดัล เบนโซเอท, ฉีดโกนาโดโทรปิน รีลีสซิงฮอร์โมน)

Variables	ทรีทเมนต์			P-value
	ควบคุม	EB+CIDR®	GnRH+CIDR®	
จำนวนของฟอลลิเคิลที่ยังไม่พร้อมสำหรับการตกไข่ หลังจากการถูกกระตุ้นการตกไข่	28.2±2.4	24.9±3.0	22.9±2.7	0.26
จำนวนของฟอลลิเคิลที่ถูกสร้างขึ้นหลังจากการถูก กระตุ้นการตกไข่	21.7 ± 2.4	18.3 ± 2.3	17.6 ± 2.3	0.33
จำนวนของคอร์ปัสลูเทียมในระยะเวลาที่เกิดการฝัง ตัวของตัวอ่อน	17.9 ± 1.0	16.7 ± 1.8	15.9 ± 2.0	0.17
จำนวนการตายของตัวอ่อน	1.8 ± 0.4	1.7 ± 0.6	1.1 ± 0.3	0.38

ที่มา: คัดแปลงจาก Son *et al.*, (2007)

Cerri *et al.*, (2008) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับผลของการคงอยู่ของคอร์ปัสลูเทียม (CL) ต่อประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนในแม่โคหลังคลอดที่ 50 และ 84 วัน ซึ่งผลที่ได้คืออัตราการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา, เอสตราไดโอดัล โพรพิโอเนท และฮอร์โมนโกนาโดโทรปินรีลีสซิงฮอร์โมน ทั้งในโคที่มีคอร์ปัสลูเทียมและไม่มีคอร์ปัสลูเทียมแตกต่างกัน โดยในโคที่ไม่มีคอร์ปัสลูเทียมจะมีอัตราการเป็นสัดน้อยกว่าโคที่มีคอร์ปัสลูเทียมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (30.0 % และ 72.7 % ตามลำดับ, $P < 0.05$) อีกทั้งอัตราการตั้งท้องของโคที่มีคอร์ปัสลูเทียมยังมีค่าสูงกว่าโคที่ไม่มีคอร์ปัสลูเทียม (40.9 % และ 10.0 % ตามลำดับ, $P = 0.08$) ดังแสดงในตาราง 11

ตาราง 11 แสดงการเปรียบเทียบระบบสืบพันธุ์ในโคที่ไม่มีคอร์ปัสลูเทียมและมิกอร์ปัสลูเทียม

รายการ	โคที่ไม่มีCL	โคที่มีCL	P-value
อัตราการเป็นสัดโดยธรรมชาติ (%)	30	72.7	0.023
อัตราการเหนียวน้ำเป็นสัด (%)	57.1	60	>0.05
อัตราการตกไข่ทั้งหมด (%)	70	68.2	>0.05
อัตราการตั้งท้อง (%)	10	40.9	0.08
ขนาดของฟอลลิเคิลในวันที่ฉีด GnRH (mm)	13.2±3.80	15.1±3.55	>0.05

ที่มา: ดัดแปลงจาก Cermi *et al.*, (2008)

เปอร์เซ็นต์โดยรวมของแม่โคที่แสดงอาการเป็นสัดก่อนได้รับการผสมเทียมครั้งแรกเกิดจากอิทธิพลของกลุ่มการทดลองและฤดูกาล ซึ่งในกลุ่มการทดลองที่ใช้ฮอร์โมนโปรสตาแกรนดิน เอฟทูแอลฟา จะพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การผสมติดมากกว่ากลุ่มการทดลองที่ใช้ฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีริสซิงฮอร์โมน (65%และ49% ตามลำดับ ; $P<0.05$) แต่จากข้อมูลในตาราง 12 แสดงให้เห็นว่าในส่วนของกลุ่มการทดลองไม่มีผลต่ออัตราผสมติดในการผสมเทียมครั้งแรก ในส่วนของอัตราการตั้งท้องที่ 150 วันพบว่าในส่วนของกลุ่มการทดลองไม่ได้มีผลต่ออัตราการตั้งท้องที่ 150 วันหลังคลอดด้วยเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์การตั้งท้องที่ 150 วันของทั้งสองกลุ่มการทดลองจะมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อแม่โคแสดงอาการเป็นสัดก่อนได้รับการผสมเทียมครั้งแรก (72%) ส่วน แม่โคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดก่อนได้รับการผสมเทียมครั้งแรก จะมีเปอร์เซ็นต์การตั้งท้อง ที่ 48 % ตามลำดับ ($P<0.01$)

ตาราง 12 แสดงผลของ Pre-synchronization ต่อสมรรถภาพการสืบพันธุ์ของแม่โค

ทรีทเมนต์การเตรียมเหนี่ยวนำการเป็นสัด	เป็นสัด	อัตราผสมติดในการผสมเทียมครั้ง					
		แรก			อัตราการตั้งท้องที่ 150 วัน		
		การเป็นสัดก่อนผสมครั้งแรก			การเป็นสัดก่อนผสมครั้งแรก		
		ผสมติด	ผสมไม่ติด	รวม	ตั้งท้อง	ไม่ตั้งท้อง	รวม
PGF _{2α}	75	49	26	75	49	26	75
GnRH	84	41	43	84	41	43	85
รวม	159	90	69	159	90	69	159

ที่มา: คัดแปลงจาก DeJarnette and Marshall, (2003)

จากข้อมูลการศึกษาของ DeJarnette and Marshall, 2003 ดังแสดงในตาราง 13 แสดงให้เห็นว่าโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในช่วงของ Post-synchronization มีความแตกต่างกันโดยอัตราการตั้งท้องที่ 100 วันของแม่โคในกลุ่มที่ใช้โปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบ Ovsynch จะมีอัตราการตั้งท้องที่ 100 วันที่สูงกว่าแม่โคที่ใช้โปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบ Cosynch ซึ่งเป็นผลอันเนื่องมาจากการกำหนดระยะเวลาในการผสมเทียมหลังจากการฉีดฮอร์โมน สอร์โมนโกนาโดโทรปินรีริสซิ่งฮอร์โมน กระตุ้นในเข็มสุดท้ายของโปรแกรม Ovsynch จะมีการทิ้งระยะห่างประมาณ 24 ชั่วโมงเพื่อให้ฟอลลิเคิลเจริญเต็มที่จึงทำการผสมเทียม แต่ในโปรแกรม Cosynch คือหลังจากฉีดฮอร์โมน สอร์โมนโกนาโดโทรปินรีริสซิ่งฮอร์โมน กระตุ้นในเข็มสุดท้ายก็จะทำการผสมเทียมทันทีจึงมีโอกาสมผสมติดได้น้อยเนื่องจากฟอลลิเคิลยังเจริญไม่เต็มที่

ตาราง 13 แสดงผลของการเหนี่ยวนำการเป็นสัดก่อนและหลังโดยการกำหนดเวลาต่ออัตราการจัด
ท้องของแม่โค

Pre-synchronization	Post-synchronization		
	Ovsynch	Cosynch	รวม
PGF _{2α} –PGF _{2α}	25 (86)	19 (82)	44 (168)
PGF _{2α} –GnRH	25 (89)	19 (91)	44 (180)
รวม	50 (175)	38 (173)	88 (348)

ที่มา: คัดแปลงจาก DeJarnette and Marshall, (2003)

ผลผลการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดช่องคลอดร่วมกับโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่ แบบดับเบิลซิงค์ (Double Synch)

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการใช้โปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่แบบ Double Synch ในโคนมสามารถกระตุ้นให้แม่โคเกิดการตกไข่ได้ แต่อย่างไรก็ตามจากข้อมูลของทั้ง 2 การทดลองสามารถบอกให้ทราบว่า การใช้โปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่แบบ Double Synch ในโคนมจะมีประสิทธิภาพเพิ่มสูงขึ้นก็ต่อเมื่อแม่โคที่จะทำการใช้โปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่แบบ Double Synch จะต้องมีประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์ที่ดี (DeJarnette and Marshall, 2003) กล่าวคือแม่โคจะต้องมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโดมินันท์ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ ซึ่งจะทำให้อัตราการตกไข่, อัตราการตั้งท้องขอแม่โคสูงกว่าในแม่โคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโดมินันท์ฟอลลิเคิลขนาดเล็ก (Ceri *et al.*, 2008)

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัยตั้งแต่เดือน 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 ห้องปฏิบัติการทางระบบสืบพันธุ์สัตว์ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่

แผนการดำเนินงาน

การศึกษานี้ได้ทำการพัฒนาอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคนม โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองคือ

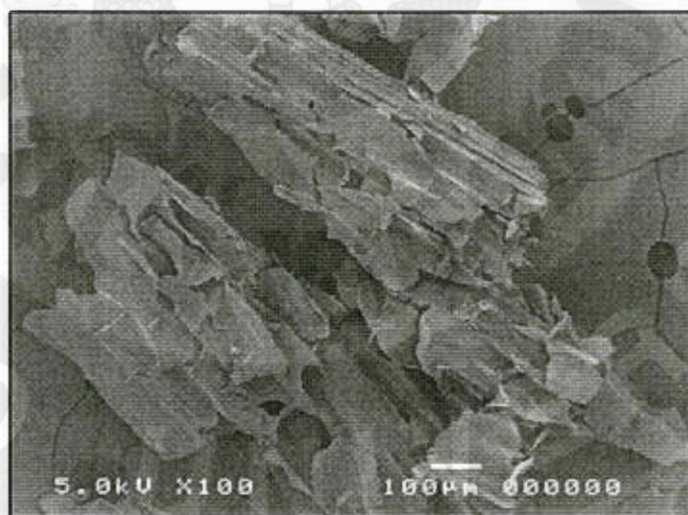
การทดลองที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*)

การทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง (*In vivo*)

การทดลองที่ 1 การทดลองในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*)

ขานอ้อย (Sugarcane Bagasse)

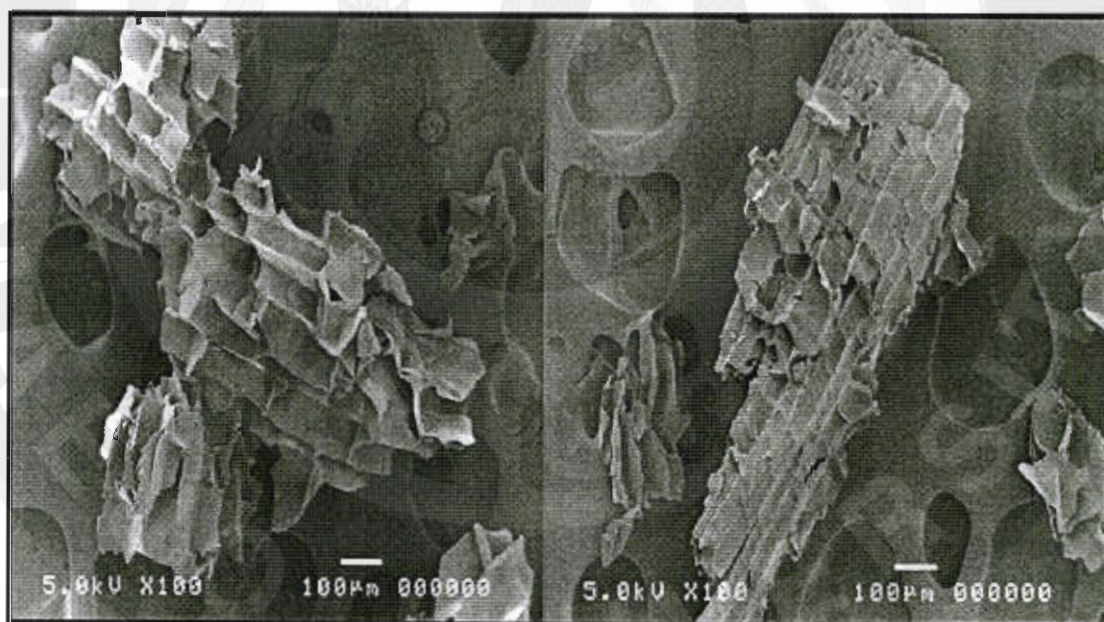
ลำต้นอ้อยประกอบด้วยเปลือกและเนื้ออ้อย ในส่วนของเนื้ออ้อยประกอบด้วยท่อแคปิลลารีที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางท่อ 0.3-0.5 ไมครอน (ขึ้นอยู่กับพันธุ์อ้อย) จำนวนมากเรียงขนานกันตามความยาวของลำต้นอ้อย แต่ละท่อแคปิลลารีประกอบด้วยส่วนที่เป็นข้อและส่วนที่เป็นปล้องเรียงสลับกันตลอดความยาวของท่อแคปิลลารี ดังแสดงในภาพที่ 2-8 ท่อแคปิลลารีที่ขนานกันอาจมีข้อไม่อยู่ในแนวเดียวกัน ส่วนปล้องมีความยาว 400-700 ไมครอน ขึ้นกับพันธุ์อ้อย ภายในปล้องของท่อแคปิลลารีแต่ละปล้อง มีน้ำอ้อยบรรจุอยู่ภายใน และข้อจะปิดกั้นการติดต่อของของเหลวที่อยู่ในปล้องที่อยู่ติดกันท่อแคปิลลารีประกอบขึ้นจากสารประเภทเซลลูโลส ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ นอกนั้นเป็นส่วนประกอบอื่นๆ ในปริมาณเล็กน้อย (โดยที่ส่วนประกอบเฮมิเซลลูโลสมีอยู่ 30-35 % น้ำหนักของส่วนประกอบทั้งหมด) ลักษณะผนังท่อแคปิลลารีมีความยืดหยุ่น ทำให้มีความสามารถในการดูดซับของเหลวเข้าไปอยู่ภายในได้เป็นอย่างดี และสามารถปล่อยออกเมื่อมีแรงกด บีบหรืออัด เป็นต้น



ภาพ 14 โครงสร้างของท่อแคปิลลารี ที่ประกอบด้วยข้อและปล้องที่เรียงสลับกันตามความยาวของท่อ โดยส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope; SEM)

คุณลักษณะของชานอ้อย

เมื่อนำชานอ้อยมาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบภาพตัดตามขวางของท่อแคปิลลารีมีลักษณะเป็นรูปหกเหลี่ยม (ภาพ 15) ซึ่งประกอบด้วยท่อแคปิลลารีที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางท่อ 0.3-0.5 ไมครอนจำนวนมากเรียงขนานกันตามความยาวของลำต้นอ้อย ท่อแคปิลลารีประกอบขึ้นจากสารประเภทเซลลูโลส ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนใหญ่ นอกนั้นเป็นส่วนประกอบอื่นๆ ในปริมาณเล็กน้อย โดยที่ส่วนประกอบเฮมิเซลลูโลสมีอยู่ 30-35 % น้ำหนักของส่วนประกอบทั้งหมด) ลักษณะผนังท่อแคปิลลารีมีความยืดหยุ่น ทำให้มีความสามารถในการดูดซับของเหลวเข้าไปอยู่ภายในได้เป็นอย่างดี และสามารถปล่อยออกเมื่อมีแรงกด บีบหรืออัด เป็นต้น (วิรงรอง, 2551) จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงได้นำชานอ้อยที่มีท่อแคปิลลารีนี้มาใช้เป็นวัสดุดูดซับฮอโมนโปรเจสเตอโรนในการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนียวน้ำ การเป็นสัดในครั้งนี้



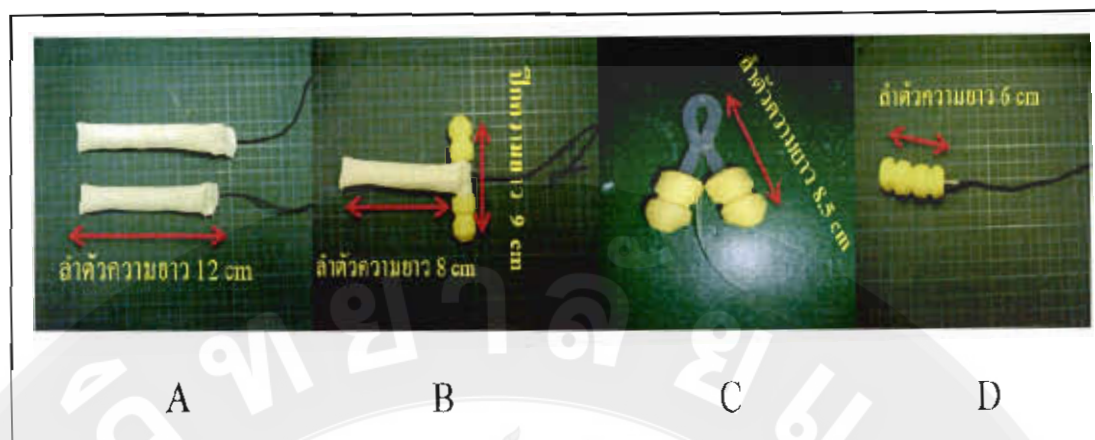
ภาพ 15 แสดงภาพตัดตามขวางของท่อแคปิลลารีที่ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (Scanning electron microscope; SEM)

การออกแบบและการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด

การศึกษารั้วนี้ได้ทำการออกแบบอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดออกเป็น 4 แบบ คือ

1. เป็นทรงกระบอกบรรจุขานอ้อยที่ดูดซับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไว้ภายใน (ภาพ 16A)
2. เป็นรูปตัวทีโดยส่วนของปีกทำจากเคือยโฟมผสมเทียมสุกร ส่วนลำตัวบรรจุขานอ้อยที่ดูดซับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไว้ภายใน (ภาพ 16B)
3. เป็นรูปตัววีโดยส่วนปีกทำจากเคือยโฟมผสมเทียมสุกรซึ่งทำการบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไว้ภายในและส่วนลำตัวขึ้นรูปด้วยแท่งกาวยาง (ภาพ 16C)
4. เป็นรูปทรงกระบอกทำจากเคือยโฟมผสมเทียมสุกรซึ่งทำการบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไว้ภายใน (ภาพ 16D)

จากการทดลองสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดเข้าไปบริเวณช่องคลอดของโคนมเพื่อทดสอบความเหมาะสมต่อสรีรวิทยาภายในช่องคลอดของโคพบว่า อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดแบบที่ 2 มีความเหมาะสมต่อสรีรวิทยาภายในช่องคลอดของโคนม และสามารถคงอยู่ภายในช่องคลอดของโคนมได้ตลอดระยะเวลาการทดลองโดยไม่มีการหลุดออกจากช่องคลอดของแม่โค จากเหตุผลดังกล่าวจึงได้ทำการเลือกอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดแบบที่ 2 มาใช้ในการทดลองขั้นต่อไปโดยทำการตั้งชื่ออุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดแบบที่ 2 ว่า Meajo Intravaginal devices (MJID)



ภาพ 16 อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบที่ 1 เป็นทรงกระบอกบรรจุขานอ้อยที่ดูดซับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไว้ภายในภายใน (A) แบบที่ 2 เป็นรูปตัวทีโดยส่วนของปีกทำจากเดือยโฟมผสมเทียมสุก ส่วนลำตัวบรรจุด้วยขานอ้อยที่ดูดซับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไว้ภายใน (B) แบบที่ 3 เป็นรูปตัววีโดยส่วนปีกทำจากเดือยโฟมผสมเทียมสุกซึ่งทำการบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไว้ภายในและส่วนลำตัวขึ้นรูปด้วยแท่งกาวยาง (C) และแบบที่ 4 เป็นรูปทรงกระบอกทำจากเดือยโฟมผสมเทียมสุกซึ่งทำการบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนไว้ภายใน (D)

ขั้นตอนการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบ Meajo Intravaginal devices (MJID)

ขั้นตอนการออกแบบและการขึ้นรูปอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด โดยการออกแบบอุปกรณ์ แบ่งออกเป็น 3 แบบ ดังนี้ กรรมวิธีผลิตอุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อควบคุมการเป็นสัดพร้อมกันในโคนม มีลักษณะพิเศษที่การขึ้นรูปด้วยอุปกรณ์ด้วยผ้าซับใน (Organza) และใช้ขานอ้อยเป็นวัสดุดูดซับโปรเจสเตอโรนใช้ด้ายเป็นส่วนหางและส่วนปีกทำจากแท่งกาวแข็งและยึดหยุ่นได้ติดกับฟองน้ำเนื้อละเอียดเพื่อให้ปีกมีความแข็งแรงขึ้นและไม่ให้อุปกรณ์หลุดออกมาก่อนเวลาสิ้นสุดการทดลอง การศึกษาครั้งนี้ได้ออกแบบอุปกรณ์เป็นรูปตัวที (T) โดยส่วนปีกทำจากฟองน้ำเนื้อละเอียดติดกับแท่งกาวยาง และส่วนลำตัวบรรจุด้วยขานอ้อย

ในขั้นตอนการออกแบบและการขึ้นรูปอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการออกแบบอุปกรณ์ให้มีลักษณะเหมือนตัวที (T) ส่วนปีกมีความยาว 9 เซนติเมตรโดยวัดความยาวจากปีกซ้ายมาหาปีกขวา และลำตัวมีความยาว 8 เซนติเมตร (วัดความยาวจากปีกบนจนถึงลำตัวด้านล่าง) วาดแบบตัววางลงบนกระดาษแข็งแล้วร่างแบบที่ได้ลงบนเนื้อผ้าซับใน (Organza) ซึ่งเป็นผ้าที่มีผิวสัมผัสลื่นและเจาะส่วนปลายของตัววางโดยวัดให้มีความยาวจากส่วนท้ายขึ้นมา

1 เซนติเมตรเพื่อให้ประกอบส่วนหางและเย็บตามแบบที่ร่างไว้ ในการเย็บตามแบบนี้จะเย็บเฉพาะส่วนลำตัวและปีกด้านล่างทั้งซ้ายและขวา แต่ส่วนบนของปีกไม่ต้องเย็บเพื่อความสะดวกในการประกอบเข้ากับ ส่วนของปีก ส่วนท้ายสุดของลำตัวก็ไม่ต้องเย็บเพื่อที่จะบรรจุขนอ้อยเข้าไปในลำตัว หลังจากเย็บเสร็จแล้วกลับรอยเย็บเข้าด้านใน

สำหรับการออกแบบปีกโดยการใช้แท่งกาวที่มีความหนา 1 เซนติเมตรและยาว 8 เซนติเมตร แบ่งส่วนโคนไว้ประมาณ 1 เซนติเมตรแล้วแบ่งกลางตามยาวของซิลิโคนให้แยกออกจากกันและจัดเป็นรูปตัวที หลังจากนั้นนำส่วนปีกมาประกอบติดกับฟองน้ำเนื้อละเอียดที่เป็นรูปทรงกระบอก เมื่อได้ส่วนปีกแล้วจึงนำมาเย็บประกอบเข้ากับส่วนของลำตัวและนำขนอ้อยบรรจุใส่ด้านในของลำตัว โดยอัดขนอ้อยจนเต็มซึ่งจะใช้ปริมาณขนอ้อยประมาณ 1.5 กรัม โดยขนอ้อยที่นำมาใช้ในการทดลองนี้ผ่านการล่อนด้วยตะแกรงเบอร์ 16 ทำให้ได้ขนอ้อยที่มีขนาดใกล้เคียงกัน เมื่อบรรจุขนอ้อยจนเต็มแล้วให้เย็บปิด หลังจากนั้นนำค้ำที่มีความยาว 30 เซนติเมตรมาประกอบเข้ากับส่วนท้ายของลำตัวโดยการสอดเส้นค้ำเข้ากับรูที่เจาะไว้แล้วเย็บเส้นค้ำให้ติดอยู่กับตัวอุปกรณ์แล้วนำตัวอุปกรณ์ที่เสร็จสมบูรณ์แล้วไปรมก๊าซฟอร์มาลดีไฮด์เพื่อฆ่าเชื้อโรคนาน 24 ชั่วโมง

ตาราง 14 แสดงลักษณะทางกายภาพของอุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัตว์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเอง

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



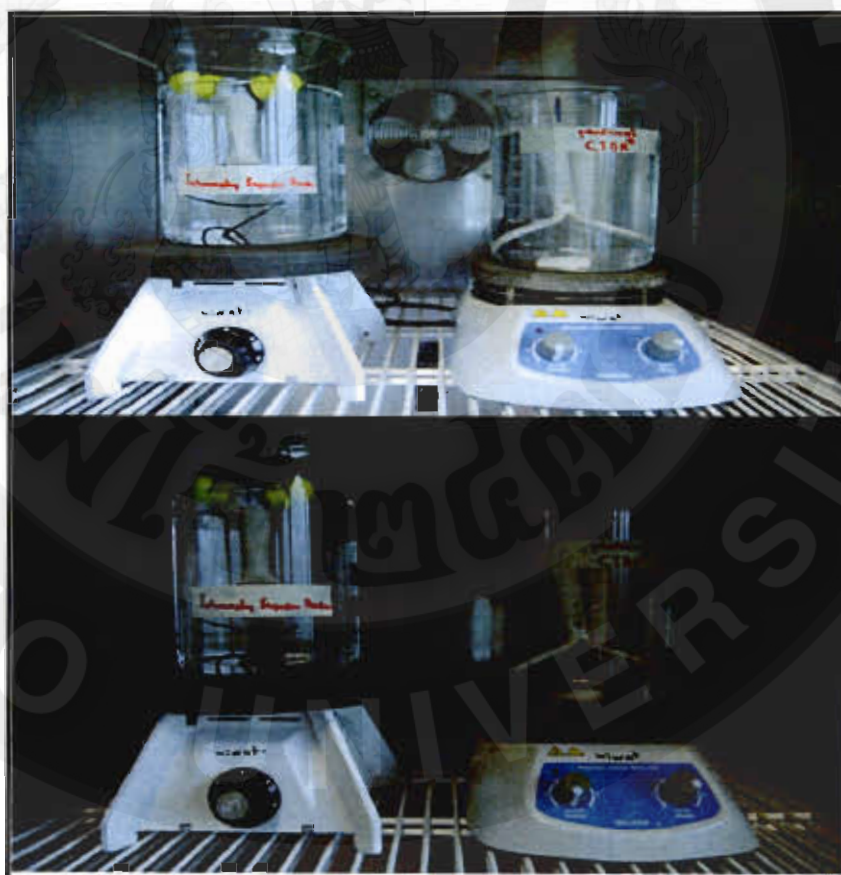
ภาพ 17 อุปกรณ์ในการประดิษฐ์อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดแบบที่ 2

การบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด

ทำการชั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนปริมาณ 1.5 และ 2 กรัม ละลายในเอทานอล 70 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเตรียมขานอ้อยโดยชั่งขานอ้อยปริมาณ 1.5 กรัม โดยนำขานอ้อยที่เตรียมไว้แช่ในสารละลายโปรเจสเตอโรนที่ละลายทิ้งไว้เพื่อให้ขานอ้อยดูดซับโปรเจสเตอโรน โดยขานอ้อยจะมีการพองตัวขึ้นแสดงว่าขานอ้อยเริ่มมีการอิมตัวให้นำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมงแล้วนำขานอ้อยที่ดูดซับโปรเจสเตอโรนแล้วมาบรรจุในผ้าซับในทรงกระบอก อัดขานอ้อยให้แน่นลงในผ้าซับใน

การเก็บตัวอย่างสารโพรเจสเทอโรนที่อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดปล่อยออกมาใน ห้องปฏิบัติการ

นำอุปกรณ์ที่บรรจุสารโพรเจสเทอโรน 1.5 และ 2 กรัม แล้วนำมา
แช่ในสารละลายน้ำเกลือ 0.9% NaCl 1,000 มิลลิลิตรควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น
นั้นทำการปั่นสารละลายให้เข้ากันก่อนเก็บตัวอย่างด้วยเครื่อง Stirrer ที่ความเร็ว 100 rpm เป็นเวลา
10 นาที เก็บสารละลายสารโพรเจสเทอโรนวันละ 2 ครั้งๆ 10 มิลลิลิตร โดยทำการเก็บ
สารละลายสารโพรเจสเทอโรน ที่ชั่วโมงที่ 1 และชั่วโมงที่ 24 ของการแช่อุปกรณ์ของทุกวัน
เป็นเวลา 10 วัน โดยเปลี่ยนสารละลายวันละ 5 ครั้ง คือชั่วโมงที่ 1, 3, 6, 8 และ 10 โดยทำการ
เปลี่ยนสารละลายครั้งละ 2,000 มิลลิลิตร

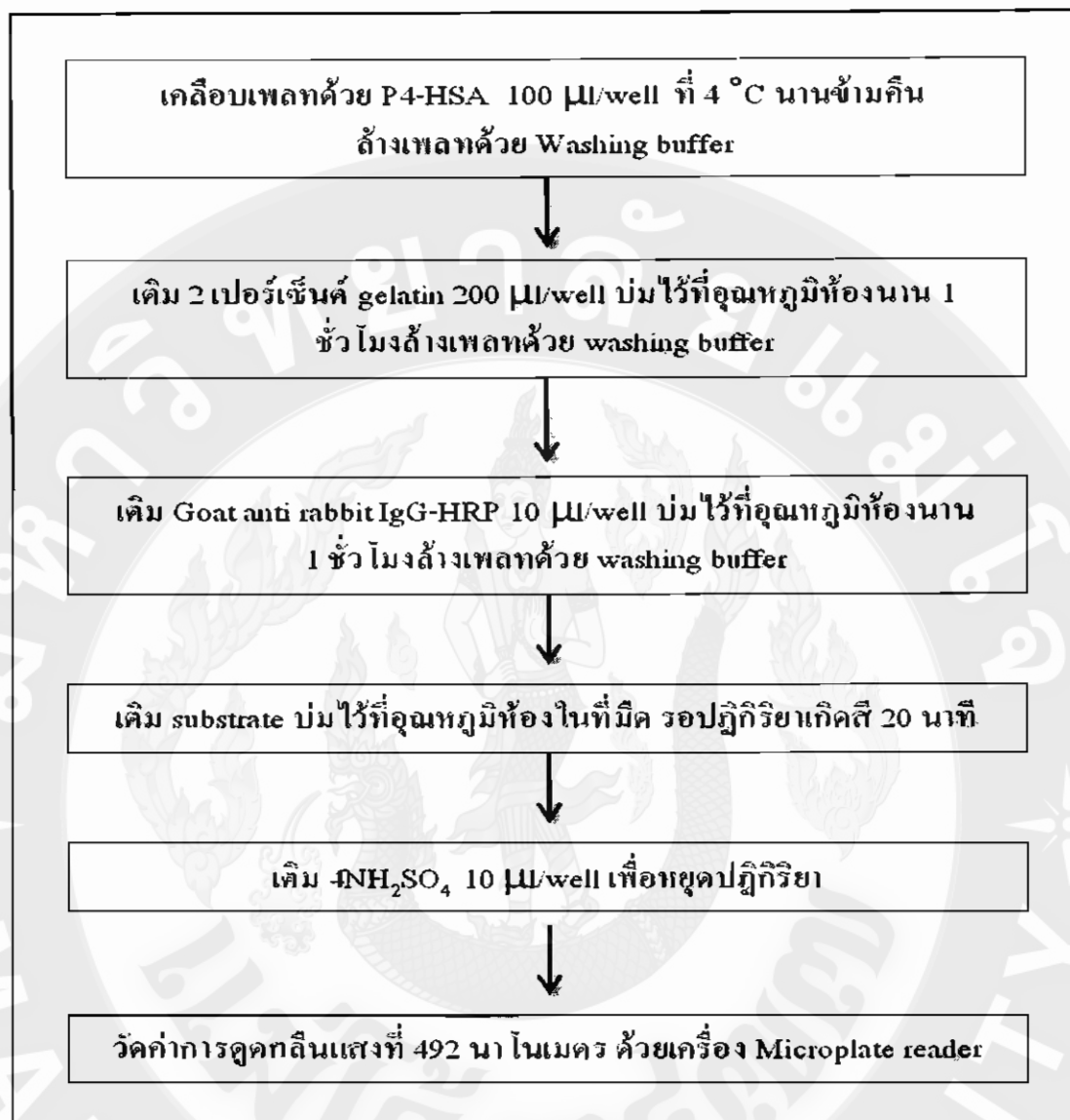


ภาพ 18 การแช่อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า (CIDR[®]) และอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด
ที่ประดิษฐ์เองในสารละลายน้ำเกลือเพื่อวัดปริมาณการปล่อยสารโพรเจสเทอโรน
ในห้องปฏิบัติการ

การวัดปริมาณการปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในห้องปฏิบัติการ

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

เคลือบเพลท 96 หลุมด้วย P_4 -HSA ซึ่งเป็นแอนติเจน (Antigen) ที่มีความเข้มข้น 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 ล้างด้วยเพลทด้วยสารละลายสำหรับการล้างจากนั้นเติมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 2% ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 60 นาที ล้างเพลทเติมโพลีโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (PAb- P_4) ที่มีความเข้มข้น 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 บ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 60 นาที ล้างเพลทเติมเอนไซม์ 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 ล้างเพลทแล้วเติมสารละลายที่ทำให้เกิดสี (OPD) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มีดเป็นเวลา 20 นาที และทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย 4NH₂SO₄ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader

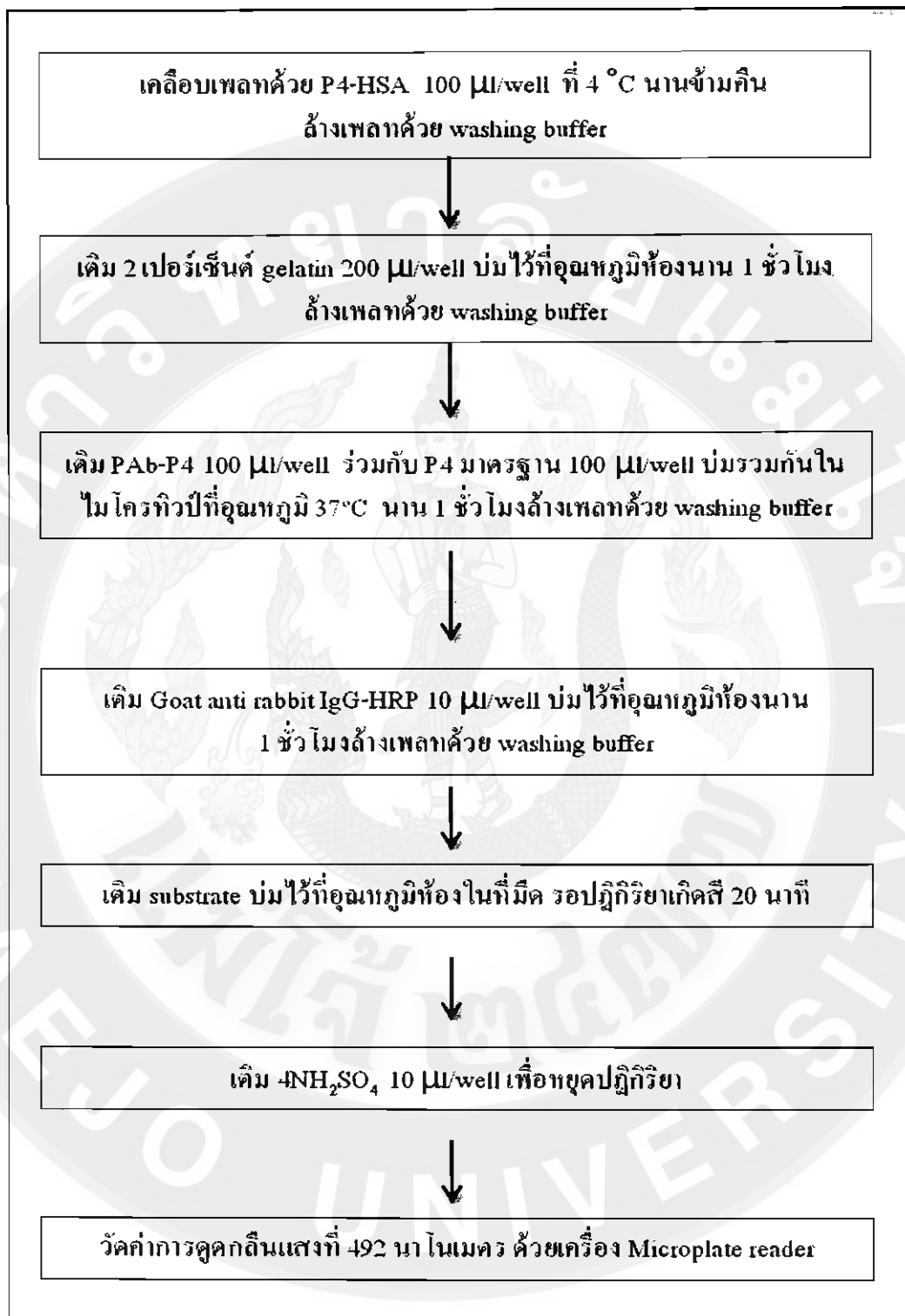


ภาพ 19 แสดงการหาอัตราเจือจางที่เหมาะสมของ P₄-HSA, PAb-P₄ และ Goat anti rabbit IgG-HRP

โดยวิธี Indirect ELISA

การหากราฟมาตรฐาน

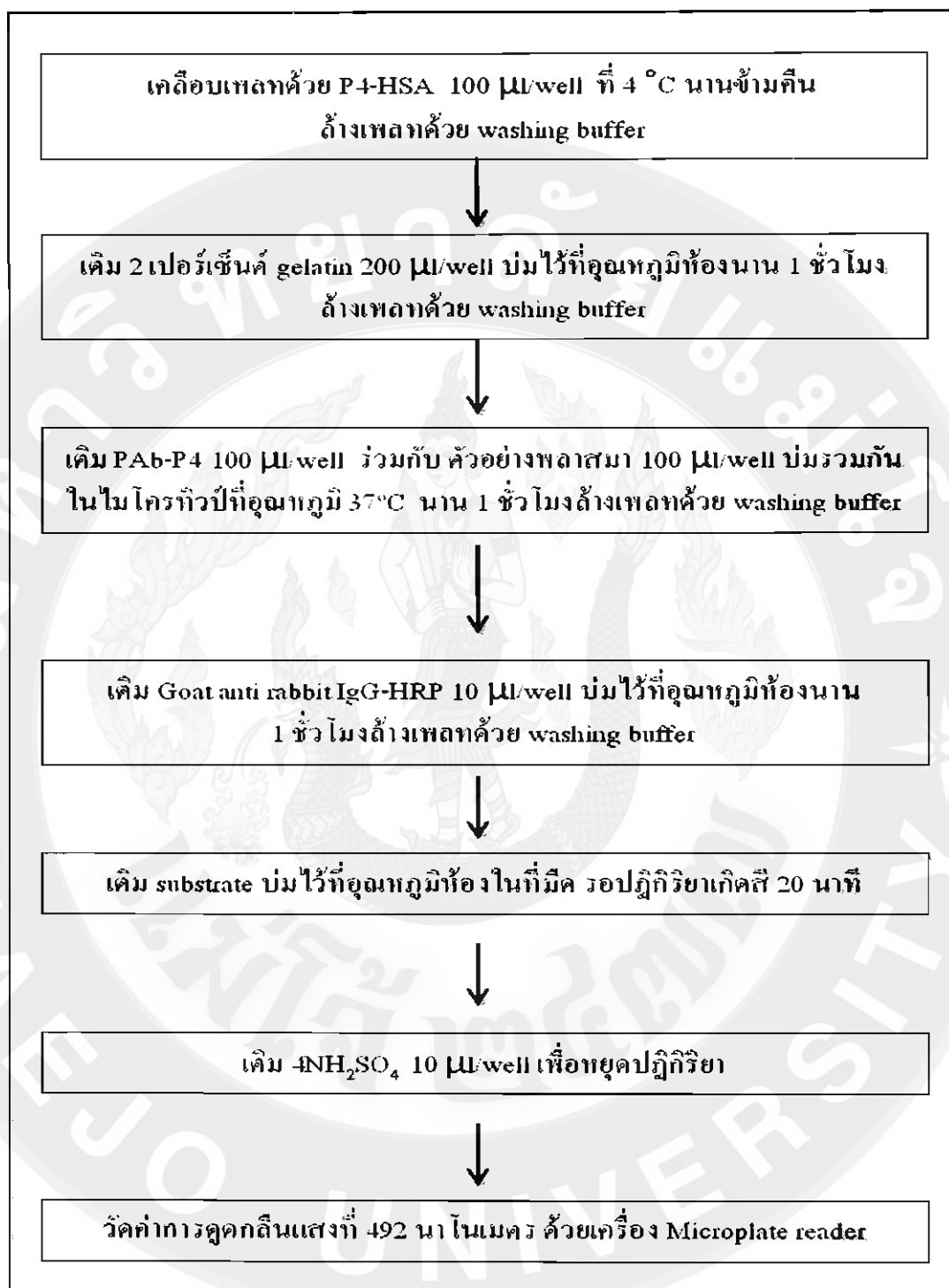
เคลือบเพลท 96 หลุม ด้วย P₄-HSA ซึ่งเป็นแอนติเจน (Antigen) ที่มีความเข้มข้น 1:100 ปริมาตร 100 μ l ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 4°C นาน 16 ชั่วโมง ล้างด้วยเพลทด้วยสารละลาย สำหรับการล้างจากนั้นเติมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 2% ปริมาตร 200 μ l ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ระหว่างนั้นทำการเติม โพลีโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะ ต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (PAb-P₄) ที่มีความเข้มข้น 1:5,000 ปริมาตร 100 μ l รวมกับ สารละลายมาตรฐานโปรเจสเตอโรนที่มีความเข้มข้น 0 , 0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40 และ 80 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 μ l บ่มรวมกันในไมโครทิวปที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลท หลังจากนั้นทำการเติมตัวอย่างสารละลายมาตรฐานโปรเจสเตอโรน ที่บ่มรวมกับ PAb-P₄ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุมลงในเพลท บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ล้างเพลทแล้วเติมเอนไซม์ Goat anti Rabbit IgG-HRP ความเข้มข้น 1:5,000 ปริมาตร 100 μ l บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลท แล้วเติมสารละลายที่ทำให้เกิดสี (OPD) ปริมาตร 100 μ l ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที และทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย 4NH₂SO₄ ปริมาตร 100 μ l ต่อหลุม นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader



ภาพ 20 แสดงการหากราฟมาตรฐาน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรเจสเทอโรนในสารละลายน้ำเกลือและพลาสมาโดยวิธี Indirect ELISA

เคลือบเพลท 96 หลุม ด้วย P₄-HSA ซึ่งเป็นแอนติเจน (Antigen) ที่มีความเข้มข้น 1:100 ปริมาตร 100 μ l ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 4°C นาน 16 ชั่วโมง ล้างด้วยเพลทด้วยสารละลาย สำหรับการล้างจากนั้นเติมสารละลายเจลาตินความเข้มข้น 1% ปริมาตร 200 μ l ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาทีระหว่างนั้นทำการเติม โพลีโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน (PAb-P₄) ที่มีความเข้มข้น 1:5,000 ปริมาตร 100 μ l รวมกับตัวอย่างพลาสมาที่จะทำการวิเคราะห์ปริมาตร 100 μ l บ่มรวมกันในไมโครทิวป์ที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลท หลังจากนั้นทำการเติมตัวอย่างพลาสมาที่บ่มรวมกับ PAb-P₄ ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ล้างเพลทแล้วเติมเอนไซม์ Goat anti Rabbit IgG-HRP ปริมาตร 10 μ l บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 60 นาที ทำการล้างเพลทแล้วเติมสารละลายที่ทำให้เกิดสีปริมาตร 100 μ l ต่อหลุม บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 20 นาที และทำการหยุดปฏิกิริยาด้วย 4NH₂SO₄ ปริมาตร 100 μ l ต่อหลุม นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader



ภาพ 21 การวิเคราะห์ปริมาณโปรเจสเดอโรนในพลาสมาโดยวิธี Indirect ELISA

การทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง (*In vivo*)

แผนการทดลอง

ใช้โคนมลูกผสมโฮลส์ไตน์ฟรีเชียน จำนวน 9 ตัว ในการทดลองนี้ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่มประกอบด้วย

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

กลุ่มที่ 2. กลุ่มที่สอด Meajo Intravaginal devices (MJID-1; P_4 :1.5 g)

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

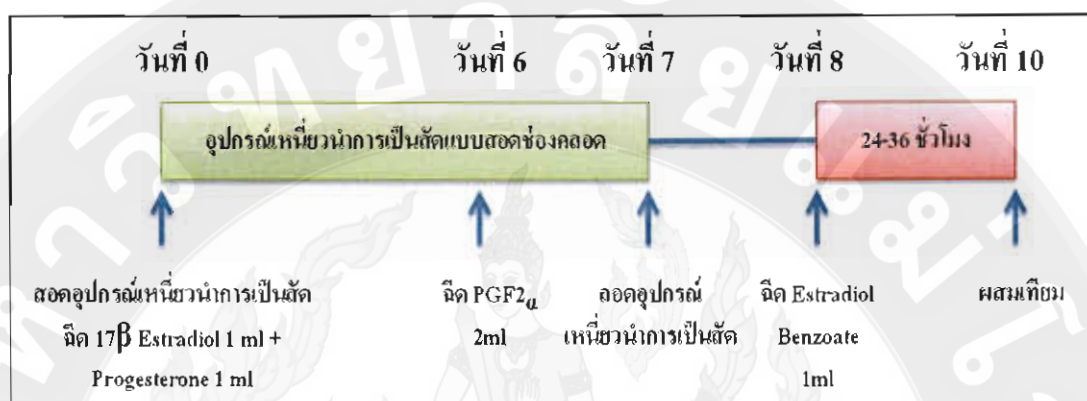
โดยโคนมทั้ง 9 ตัวถูกสุ่มให้อยู่ในในกลุ่มที่ 1 จำนวน 3 ตัว กลุ่มที่ 2 จำนวน 3 ตัว และ กลุ่มที่ 3 จำนวน 3 ตัว และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน โดยใช้ด้วยโปรแกรมคำนวณสถิติสำเร็จรูปทางสังคมศาสตร์ รุ่น 16.0 สำหรับวินโดวส์ (Statistics Package for the Social Science: SPSS 16.0 For Windows) ลิขสิทธิ์สำนักหอสมุดมหาวิทยาลัยแม่โจ้

วิธีการทดลอง

1. ทำการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดเข้าไปในช่องคลอดของโคทดลองในกลุ่มที่ 1, กลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 3 เป็นเวลานาน 7 วัน ขึ้นต่อก่อนทำการสอดอุปกรณ์เข้าไปในช่องคลอดของโคคือทำการฆ่าเชื้ออุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยการต้มด้วยก๊าซฟอรั่มัลดีไฮด์เป็นเวลา 1 วันก่อนนำไปใช้ และทำการทำความสะอาดบริเวณปากช่องคลอดทุกครั้งก่อนทำการสอดอุปกรณ์ จากนั้นจึงทำการทาเจลหล่อลื่นที่ตัวอุปกรณ์ต่อจากนั้นก็สอดอุปกรณ์เข้าไปในบริเวณช่องคลอดของโคและค่อยๆ ดันตัวอุปกรณ์เข้าไปในช่องคลอดสังเกตการคงอยู่ของอุปกรณ์ได้จากเชือกที่ห้อยออกมาทางปากช่องคลอด

2. ทำการสอดอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดกลุ่ม Control, MJID-1 และ MJID-2 ร่วมกับการใช้โปรแกรมโปรแกรมนเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมน ทำโดยในวันที่เริ่มสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด (วันที่ 0) จะทำการฉีดฮอร์โมน 17β -เอสตราไดออลความเข้มข้น 1mg/ml ปริมาตร 1 ml และฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนความเข้มข้น 1mg/ml ปริมาตร 1 ml ในวันที่ 6 ทำการฉีดฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา ปริมาตร 2ml ในวันที่ 7 จึงทำการถอดอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอด และในวันที่ 8 จะทำการฉีดฮอร์โมน

เอสตราไดออลเบนโซเอทความเข้มข้น 1mg/ml ปริมาตร 1 ml โดยจะทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคเป็นเวลา 10 วันนับตั้งแต่วันที่เริ่มสอดอุปกรณ์ เพื่อทำการวัดปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ที่อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดปลดปล่อยออกมาในกระแสเลือด ดังแสดงในภาพ 22



ภาพ 22 แสดงการใช้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการใช้โปรแกรมโปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมน (สิ่วช. 2548)

3. ทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคทดลองตั้งแต่วันที่เริ่มสอดอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอด (วันที่ 0) ไปจนถึงวันที่ 10 โดยทำการเก็บตัวอย่างเลือดโคทดลองจากหลอดเลือดดำบริเวณหาง (Coccygeal Vein) ปริมาณ 10 ml โดยเก็บในหลอดทดลองขนาด 15 ml. ที่มีการเติมสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) หลังจากนั้นนำตัวอย่างเลือดที่ได้ไปทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องด้วยเครื่องปั่นแยกที่ความเร็ว 1,500 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที ทำการเก็บส่วนที่เป็นพลาสมาใส่ในหลอดไมโครทิวป์ (Micro tube) ขนาด 1.9 มิลลิลิตรและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอการวิเคราะห์

4. วัดปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาด้วยเทคนิคอีไลซ่า (ELISA)

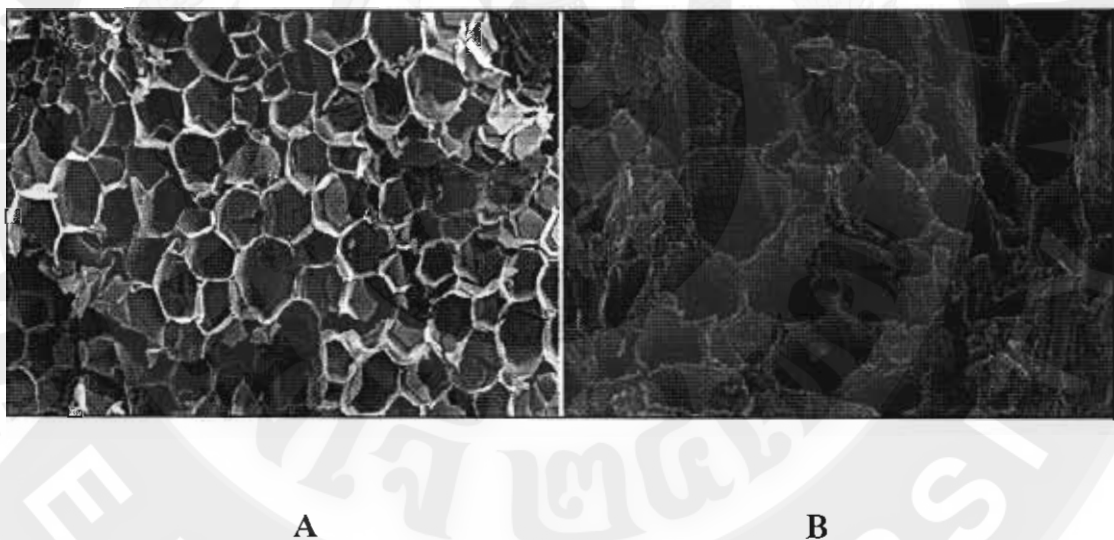
บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 ในห้องปฏิบัติการ (*In vitro*)

ลักษณะขานอ้อยเมื่อบรรจุฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

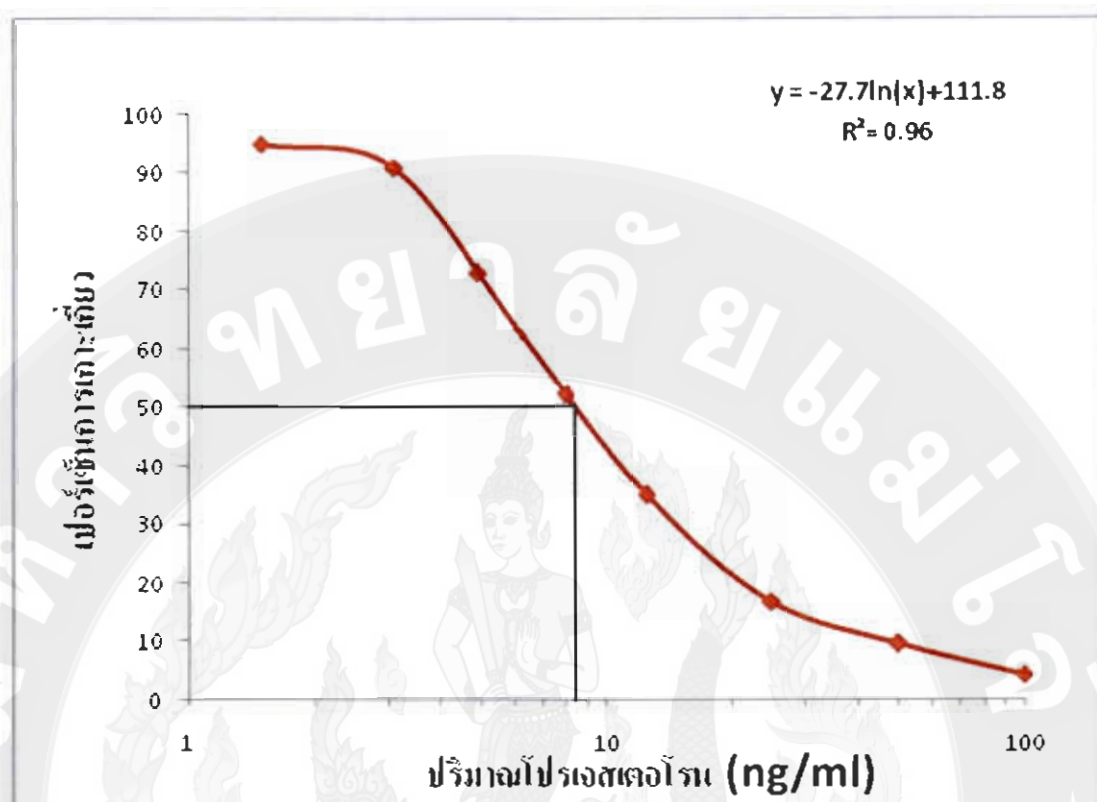
เมื่อนำขานอ้อยที่บรรจุสารละลายโปรเจสเตอโรน นำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าท่อแคปปีลารีมีลักษณะหนาขึ้นเมื่อเทียบกับท่อแคปปีลารีก่อนการบรรจุสารละลายโปรเจสเตอโรน อีกทั้งยังพบว่าขานอ้อยที่ทำการบรรจุสารละลายโปรเจสเตอโรนจะมีผลึกของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเกาะอยู่ภายในช่องว่างและผนังของท่อแคปปีลารี ดังแสดงในภาพ 23



ภาพ 23 เปรียบเทียบลักษณะท่อแคปปีลารีก่อน (A) และหลังบรรจุสารละลายโปรเจสเตอโรน (B)

ผลการสร้างกราฟมาตรฐาน

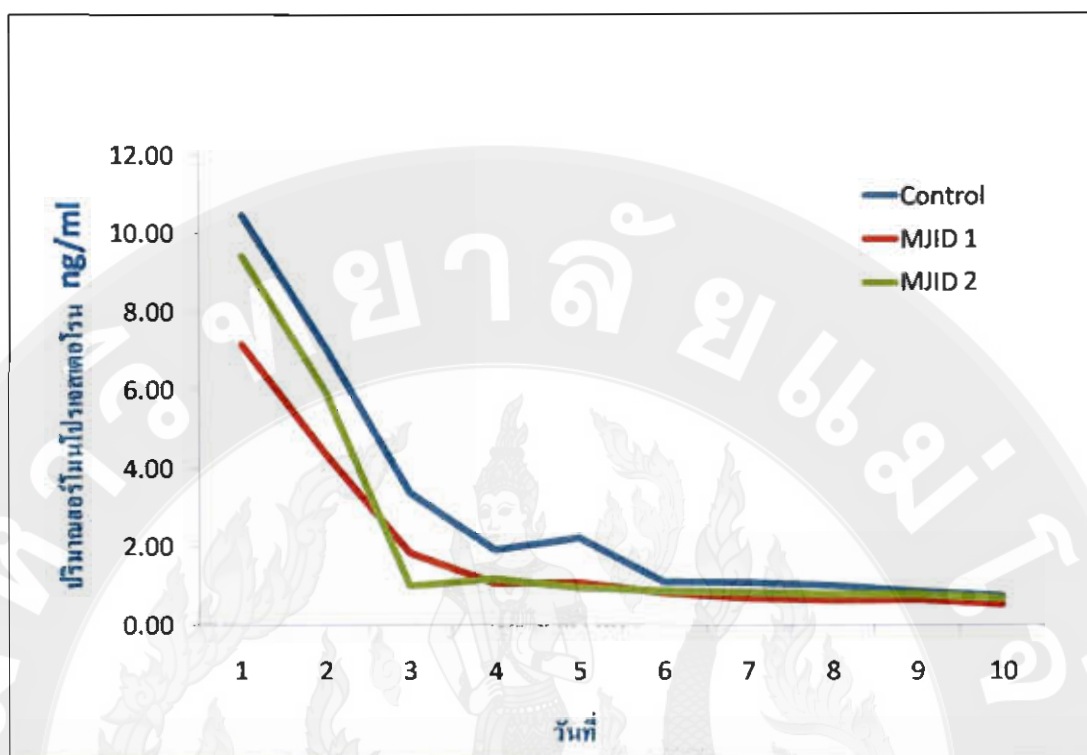
จากการสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารละลายมาตรฐานโปรเจสเตอโรนที่มีความเข้มข้น 0, 0.15, 3.125, 6.25, 12.5, 5, 25 และ 50 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถเขียนกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโปรเจสเตอโรนกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 492 นาโนเมตรได้ดังแสดงในภาพ 24



ภาพ 24 แสดงกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของโปรเจสเตอโรนกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 492 นาโนเมตร

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในห้องปฏิบัติการโดยวิธี Indirect ELISA

จากการวัดปริมาณการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า (control) เทียบกับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เองคือ MJID-1 และ MJID-2 ซึ่งมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนคือ 1.5 และ 2 กรัมตามลำดับ พบว่าหลังจากทำการแช่อุปกรณ์ในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา 10 วัน ปริมาณการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทั้ง 3 กลุ่มมีปริมาณใกล้เคียงกันดังแสดงในภาพ 25 ซึ่งพบว่าปริมาณการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเฉลี่ยทั้ง 10 วันที่อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าปลดปล่อยออกมาในสารละลายมีปริมาณเฉลี่ยมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม MJID-1 และ MJID-2 คือ 2.99 ± 7.49 , 1.89 ± 7.49 และ 2.24 ± 7.49 ng/ml. ตามลำดับ



ภาพ 25 แสดงปริมาณการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในสารละลายของอุปกรณ์
เหนี่ยวนำการเป็นสัดทั้ง 3 กลุ่มตั้งแต่วันที่ 1-10

เมื่อนำข้อมูลปริมาณการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในแต่ละวันของ
อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทั้ง 3 กลุ่มมาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณ
ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลายของทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่าง
ทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงในตาราง 15

ตาราง 15 แสดงปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่วิเคราะห์ได้ในสารละลายน้ำเกลือของอุปกรณ์
ทั้ง 3 กลุ่ม

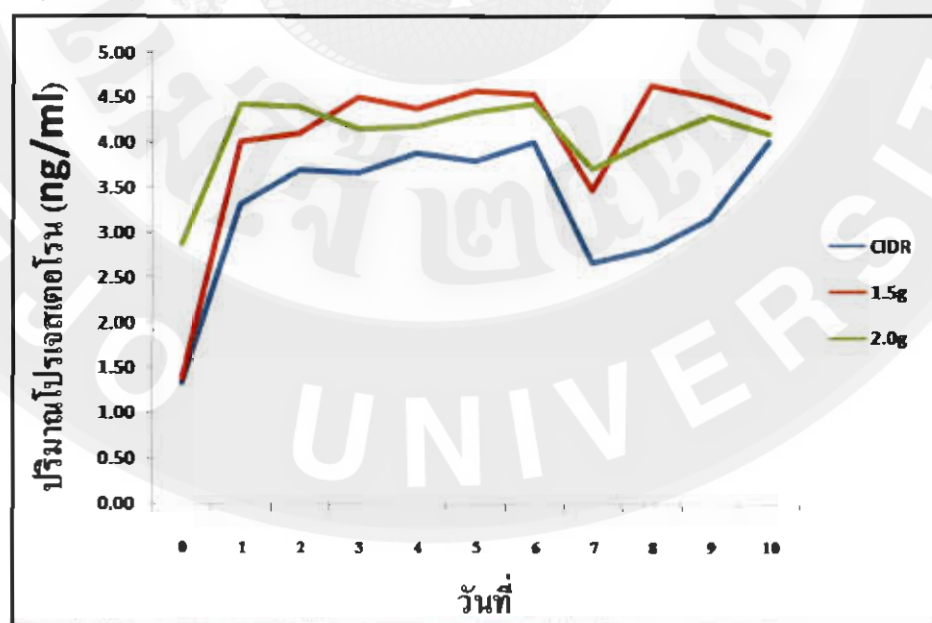
วัน	ค่าเฉลี่ยของปริมาณP ₄ ในสารละลาย (ng/ml)			S.E.	P-value
	Control	MJID-1	MJID-2		
1	10.45 ^a	7.15 ^a	9.41 ^a	2.03	0.368
2	7.06 ^a	4.38 ^a	5.94 ^a	2.03	0.463
3	3.40 ^b	1.84 ^{ab}	1.01 ^a	6.86	0.034
4	1.93 ^b	1.07 ^a	1.17 ^b	1.71	0.005
5	2.23 ^b	1.10 ^a	0.95 ^a	4.41	0.052
6	1.11 ^a	0.82 ^a	0.87 ^a	1.4	0.166
7	1.10 ^b	0.69 ^a	0.84 ^a	84.77	0.009
8	1.02 ^b	0.62 ^a	0.78 ^a	91.71	0.015
9	0.87 ^a	0.65 ^a	0.77 ^a	1.34	0.339
10	0.75 ^a	0.54 ^a	0.68 ^a	90.15	0.138

^{aหรือb} คือค่าสถิติเปรียบเทียบระหว่างแถว (อักษรภาษาอังกฤษต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$))

4.2 การทดลองที่ 2 ในสัตว์ทดลอง (*In vivo*)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดโดยวิธี Indirect ELISA

โคทดลองที่ได้รับการสอดคุปกรรมการณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอด ร่วมกับการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนทั้ง 3 กลุ่ม (Control, MJID-1 และ MJID-2) มีการตอบสนองต่อโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดอย่างเห็นได้ชัด กล่าวคือแม่โคแสดงอาการเป็นสัดอย่างชัดเจนในช่วงเวลาที่ 24-36 ชั่วโมงที่ได้รับการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอบลเบนโซเอท ในวันที่ 8 คิคเปอร์เซ็นต์การเป็นสัดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในกระแสเลือดของที่วัดได้โคทั้ง 3 กลุ่มตั้งแต่วันที่เริ่มทำการสอดคุปกรรมณ์จนถึงวันที่ 10 ดังแสดงในภาพ 26 และเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของโคทั้ง 3 กลุ่ม พบว่ามีระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูงขึ้นเรื่อยๆจากวันที่ทำการสอดคุปกรรมณ์ และจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดหลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมนพรอสตรากลอนดินเอฟทูแอลฟา ในวันที่ 6 และถอดคุปกรรมณ์ในวันที่ 7 หลังจากนั้นปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจึงค่อยๆได้ระดับสูงขึ้นอีกเล็กน้อย เมื่อนำข้อมูลมาทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าโคกลุ่ม Control มีปริมาณโปรเจสเตอโรนเฉลี่ยในเลือดน้อยกว่าโคกลุ่ม MJID-1 และ MJID-2 ดังนี้ 3.29 ± 0.32 , 4.02 ± 0.32 และ 4.08 ± 0.32 (ng/ml) ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตาราง 16



ภาพ 26 แสดงปริมาณฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดของโคทดลองทั้ง 3 กลุ่มที่วัดได้ ตั้งแต่วันที่ 0-10 ของการทดลอง

ตาราง 16 แสดงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคทั้ง 3 กลุ่ม (Control, MJID-1 และ MJID-2) ที่วัดได้ในแต่ละวัน

วันที่	ค่าเฉลี่ยของปริมาณP4ในพลาสมา (ng/ml)			S.E.	P-value
	Control (n=3)	MJID-1 (n=3)	MJID-2 (n=3)		
0	1.33 ^a	1.38 ^a	2.87 ^b	0.41	0.017
1	3.30 ^a	4.00 ^{ab}	4.43 ^b	0.34	0.048
2	3.69 ^a	4.10 ^a	4.40 ^a	0.31	0.156
3	3.66 ^a	4.50 ^b	4.15 ^b	0.12	0.006
4	3.88 ^a	4.37 ^a	4.18 ^a	0.26	0.252
5	3.79 ^a	4.57 ^b	4.34 ^{ab}	0.22	0.036
6	3.99 ^a	4.53 ^b	4.42 ^b	0.16	0.038
7	2.66 ^a	3.46 ^a	3.71 ^a	0.61	0.281
8	2.82 ^a	4.63 ^b	4.03 ^{ab}	0.59	0.056
9	3.15 ^a	4.49 ^b	4.29 ^b	0.43	0.042
10	4.00 ^a	4.27 ^a	4.09 ^a	0.17	0.320

^aหรือ^b คือค่าสถิติเปรียบเทียบระหว่างแถว (อักษรภาษาอังกฤษต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$))

4.3 วิจัยรณผลการทดลอง

การทดลองในหองปฏิบัติการ (*In Vitro*)

จากการวัดปริมาณการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของอุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า (control) เทียบกับอุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์เองคือ MJID-1 และ MJID-2 ซึ่งมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนคือ 1.5 และ 2 กรัมตามลำดับ พบว่าหลังจากทำการแช่อุปกรณ์ในสารละลายน้ำเกลือเป็นเวลา 10 วัน ปริมาณการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ของอุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัดทั้ง 3 กลุ่ม มีปริมาณใกล้เคียงกัน ดังแสดงในภาพที่ 33 ซึ่งพบว่าปริมาณการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเฉลี่ยทั้ง 10 วัน ที่อุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าปลดปล่อยออกมาในสารละลายมีปริมาณเฉลี่ยมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม MJID-1 และ MJID-2 คือ 2.99 ± 7.49 , 1.89 ± 7.49 และ 2.24 ± 7.49 ng/ml. ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่าปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลายของทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) สามารถสรุปได้ว่าอุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัดที่ประดิษฐ์ขึ้น (MJID-1 และ MJID-2) มีความสามารถในการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนได้เท่าเทียมกับอุปกรณ์การเหี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้า ซึ่งในปัจจุบันอุปกรณ์การเหี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาที่สูง ทำให้เกษตรกรส่วนใหญ่ไม่สามารถเข้าถึงเทคโนโลยีดังกล่าว และจะมีต้นทุนที่สูงขึ้น หากต้องการนำเทคโนโลยีดังกล่าวมาใช้

การทดลองในตัวสัตว์ (*In Vivo*)

ในการศึกษาทดลองครั้งนี้ได้ทำการศึกษาระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในกระแสเลือดของโคนมจากใช้อุปกรณ์การเหี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอดทางร่วมกับการใช้โปรแกรมเหี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนในโคนมซึ่งโปรแกรมการเหี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนในการทดลองนี้จะทำการใช้ฮอร์โมน 17 β -เอสตราไดออล ความเข้มข้น 1mg/ml ปริมาตร 1 ml และฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ความเข้มข้น 1mg/ml ปริมาตร 1 ml ฉีดเข้าใต้ผิวหนังของโคนในวันที่ทำการสอดอุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัด และจะทำการฉีดฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน เอฟทูแอลฟา ปริมาตร 2ml. ในวันที่ 6 หลังการสอดอุปกรณ์เหี่ยวนำการเป็นสัด หลังจากนั้นจะทำการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออลเบนโซเอท ความเข้มข้น 1mg/ml ปริมาตร 1 ml จากการทดลองพบว่าปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดของโค

ทดลองกลุ่ม MJID-1 และ MJID-2 มีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเฉลี่ยในเลือดมากกว่าโคทดลองกลุ่ม Control ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในส่วนของการตอบสนองต่อการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่จากการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดร่วมกับการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนของโคทดลองทั้ง 3 กลุ่มพบว่าโคทดลองที่ 3 กลุ่ม ทุกตัวมีการแสดงอาการเป็นสัดในวันที่ 8 หลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออลเบนโซเอท ซึ่งคิดเป็น 100%

จากการทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้องกับการทดลองทำให้ทราบว่า ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในการทดลองนี้มีคุณสมบัติเป็นสเตอรอยด์ฮอร์โมนที่มีคาร์บอน 21 ตัว มีโครงสร้างคล้ายกับฮอร์โมนกลุ่มเอสโตรเจนและแอนโดรเจนในสัตว์ที่ไม่ตั้งท้องฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนส่วนใหญ่จะถูกสร้างจากคอร์ปิสุลุมเทียม ส่วนในสัตว์ที่ตั้งท้องฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนบางส่วนจะถูกสร้างขึ้นจากรก (ชุมพลและคณะ, 2545) ในปัจจุบันการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการทำงานของคอร์ปิสุลุมเทียมและปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคนมในช่วงหลังคลอดได้รับการสนใจศึกษาอย่างมาก ซึ่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีบทบาทที่สำคัญในการปฏิสนธิ, การเคลื่อนย้ายตัวอ่อน รวมถึงการอยู่รอดของตัวอ่อนทั้งในครรภ์และในหลอดแก้ว (Garcia-Winder *et al.*, 1986; Ashworth *et al.*, 1989; Diskin and Niswender, 1989; Mee *et al.*, 1991; Taylor and Rajamahendran, 1994) ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนนอกจากจะมีผลในการเป็นฮอร์โมนเพศหญิงแล้วยังทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้น (Precursor) ที่สำคัญ ในการสังเคราะห์สเตอรอยด์ฮอร์โมนชนิดอื่นๆอีกหลายชนิดโดยจะทำการสังเคราะห์สเตอรอยด์ฮอร์โมนที่ต่อมหมวกไต (นทีทิพย์, 2538) ซึ่งการศึกษาส่วนใหญ่จะทำการมุ่งเน้นศึกษาเกี่ยวกับการควบคุมการหลัง, ควบคุมการไหลเวียน และปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสโตรเจนจากรังไข่ จากการศึกษาวิจัยจำนวนมากพบว่าสามารถพบปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจากหลอดเลือดดำของรังไข่ (ovarian vein) มากกว่าหลอดเลือดดำบริเวณอื่นถึง 1000-10000 เท่า (Wise *et al.*, 1982; Hooper *et al.*, 1986; Rabiee *et al.*, 1997a,b) ปริมาณการหลังฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนช่วงกึ่งกลางของระยะลูเทียลเฟสจะมีการหลั่งออกมาจำนวนมาก คือประมาณ 20-40 mg./ml. ซึ่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่หลั่งออกมาจะจับอยู่กับโปรตีน Corticosteroid Binding Globulin; CBG และ Albumin และจะเคลื่อนที่

ไปตามกระแสเลือดไปยังอวัยวะเป้าหมาย (อุตม, 2526) โดยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ไม่ถูกใช้ประโยชน์จะถูกตับเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของ inactive form เป็น Pregnanediol ซึ่งจะถูกลำเลียงออกจากร่างกายให้อยู่ในรูปของ Sulphates และ Glucuronides โดยจะสะสมอยู่ในเนื้อเยื่อไขมัน และขับถ่ายออกทางอุจจาระและน้ำดีประมาณร้อยละ 10 ของโปรเจสเตอโรนที่พบในเลือด และจะถูกขับออกทางปัสสาวะในรูปของ Sodium Pregnanediol Glucuronide ประมาณร้อยละ 50-60 (วารุณี, 2540) อีกทั้งยังพบว่าฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนที่หลั่งออกมาในช่วงเริ่มต้นของการตั้งครรภ์มีผลทำให้ส่วนของมดลูกมีการสังเคราะห์ Ribonucleic Acid (RNA) และ Deoxyribonucleic Acid (DNA) มากขึ้น (Yochim, 1984) จากการศึกษากระบวนการ catabolism ของเซลล์มดลูกของหนูที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการ พบว่าเซลล์มดลูกของหนูที่เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการมีความสามารถในการ catabolize ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนได้แต่ไม่สมบูรณ์ (Armstrong and King, 1971; Howard and Wiest, 1972; Saffran *et al.*, 1974) แต่อย่างไรก็ตามยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนในเลือดรวมถึงกระบวนการ catabolism ของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนน้อยมาก ซึ่งกลไกการสลายตัวแบบครึ่งชีวิต (half-life) ของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะใช้เวลาประมาณ 3 - 90 นาที โดยจะคิดเป็นสัดส่วนของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่สูญเสียไปในร่างกายประมาณ 40 - 50% ซึ่งการเปลี่ยนรูปหรือการสลายฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเพื่อขับออกจากร่างกายของสัตว์มีผลทำให้ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในร่างกายสัตว์ลดลง (Parr, 1992) จากการศึกษาของ Little *et al.* (1966) และ Bedford *et al.* (1974) พบว่าเนื้อเยื่อ splanchnic ในม้าเป็นเนื้อเยื่อหลักในการสลายฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน อีกทั้งยังมีการศึกษาที่พบว่าเอนไซม์ cytochrome enzyme complexes ในเซลล์ microsomes ของตับมีหน้าที่ในการเมตาบอลิซึมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสโตรเจน (Estabrook *et al.*, 1975; Cheng and Schnkman, 1984; Payne *et al.*, 1991; Kaddouri *et al.*, 1992) จากการศึกษาของ Schwarzenberger *et al.* (1996a) ได้ทำการศึกษาระบวนการเมตาบอลิซึมของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนด้วยวิธี radioactively labeled steroids ในสัตว์หลากหลายสายพันธุ์โดยทำการศึกษาในมดและปัสสาวะ จากการศึกษาของ Franco *et al.* (1999) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจากตับและสมองในโคสาว ซึ่งจากการศึกษาพบว่าตับเป็นอวัยวะที่สำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ซึ่งพบว่าฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

ในกระแสเลือดที่ไหลผ่านเข้ามายังตับผ่าน portal vein จะถูกเซลล์ตับทำการสลายให้กลายเป็นสารชนิดอื่นเป็นจำนวนมากโดยสังเกตได้จากปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ไหลออกจากตับทาง hepatic vein มีปริมาณลดลง ซึ่งสามารถสรุปได้ว่าฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะถูกเมตาบอลิซึมโดยตับถึง 88% และจะถูกเมตาบอลิซึมโดยสมอง 11% ของปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ร่างกายสร้างขึ้นจากการศึกษาของ Conley and Ford. (1987) พบว่าสามารถพบปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ของโคกลุ่มที่ไม่ได้ฉีดฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟาที่หลอดเลือดแดงบริเวณต้นขา (femoral artery) และหลอดเลือดแดงบริเวณหัว (caruncular artery) จะมีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมากกว่าโคกลุ่มที่ฉีดฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา เนื่องจาก ผลของฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟาทำให้ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่พบในบริเวณหลอดเลือดดำบริเวณหัว (caruncular vein) มีปริมาณลดลง ซึ่งจากการทดลองสามารถสรุปได้ว่ากระบวนการสลายคอร์ปีสลูเตียม (luteolysis) และกระบวนการเมตาบอลิซึมของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในบริเวณ caruncular zones มีผลทำให้ปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดลดลง เนื่องจากเนื้อเยื่อบางแห่งมีการตอบสนองต่อฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟา ทำให้เนื้อเยื่อดังกล่าวทำการเปลี่ยนโปรเจสเตอโรนให้กลายเป็น Pregnenolone เพื่อกระบวนการสังเคราะห์สารสเตอรอยด์ตัวอื่นต่อไป

จากการศึกษาของ Sangsritavong *et al.* (2001) ที่ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณอาหารที่กินที่มีความสัมพันธ์ต่อปริมาณของเลือดที่ไหลเวียนไปยังตับและกระบวนการเมตาบอลิซึมของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสโตรเจนในโคนมได้กล่าวไว้ว่า อัตราการเผาผลาญของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสโตรเจนจะขึ้นอยู่กับปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนที่เข้าสู่ร่างกายอย่างต่อเนื่อง ซึ่งอัตราการเผาผลาญของฮอร์โมนสามารถทำการตรวจสอบได้โดยการศึกษาอัตราครึ่งชีวิต (half-life) ของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสโตรเจนที่ทำการฉีดเข้าไปในตัวโค เพื่อศึกษาการคงอยู่ในร่างกายของโค โดยในการศึกษานี้ได้ทำให้อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบสอดช่องคลอด (CIDR®) เพื่อทำการศึกษการปลดปล่อยฮอร์โมนอย่างต่อเนื่องของแท่งอุปกรณ์และทำการเก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณลำคอ (jugular vein) ก่อนและหลังการฉีดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสโตรเจน พบว่าในหลอดเลือดดำบริเวณลำคอ (jugular vein)

และหลอดเลือดแดง (carotid artery) สามารถตรวจพบปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนได้ใกล้เคียงกันคือประมาณ 40%

จากการศึกษาของ Rabiee *et al.* (2001) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของโคนมโดยทำการเปรียบเทียบปริมาณอาหารที่กินจากการศึกษาพบว่า การลดปริมาณอาหารที่โคกินลงส่งผลให้ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดสูงขึ้น ซึ่งคล้ายคลึงกับการทดลองของ Vasconcelos *et al.* (1998) ที่พบว่า ลูกโคที่กินนม 4 ครั้ง/วัน จะมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดและในมูตต่ำกว่าลูกโคที่กินนม 2 ครั้ง/วัน จากการศึกษาดังกล่าวพบว่าการลดปริมาณอาหารที่กินกับปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่พบในเลือดมีสหสัมพันธ์เป็นลบ (Williams and Cumming, 1982; Parr *et al.*, 1987, 1993; Parr, 1992; Adams *et al.*, 1994) กล่าวคือหากแกะมีอัตราการกินได้ต่ำก็จะมีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดสูงและถ้าหากแกะมีอัตราการกินได้สูงก็จะมีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดต่ำ (Williams and Cumming, 1982; Parr *et al.*, 1993) การที่สัตว์ได้รับอาหารที่คิดเป็นสัดส่วนของวัตถุดิบเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้อัตราการเผาผลาญของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเพิ่มสูงขึ้นด้วย (Parr *et al.*, 1993; Miller *et al.*, 1999)

จากการศึกษาของ Wen *et al.* (2010) ที่ทำการศึกษาปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน, เอสโตรเจน และ เทสโทสเตอโรน จากของเหลวในรังไข่ของคนพบว่า ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนต่ำสุดที่ตรวจพบในขณะที่ไม่มีการตกไข่มีค่าเฉลี่ยต่ำสุดอยู่ที่ 5 nmols/L และมีค่าเฉลี่ยสูงสุดอยู่ที่ 80 nmols/L ซึ่งจะพบฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่อยู่ในรูปของ 17 α -Hydroxyprogesterone น้อยกว่า 0.5% และในรูปของ Pregnenolone น้อยกว่า 0.3% และกล่าวว่าในส่วนของ theca cells ซึ่งเป็นส่วนที่มีผนังเซลล์บางที่สุดมีความสามารถในการเมตาบอลิซึม Pregnenolone หรือ Progesterone ที่อยู่ในรูปของ 17-OH-Pregnenolone และ 17-OH-Progesterone ได้ดี โดยจะทำการเปลี่ยนฮอร์โมนดังกล่าวไปเป็นฮอร์โมนแอนโดรเจน หลังจากนั้นจึงทำการส่งฮอร์โมนแอนโดรเจนไปยังส่วนของ basal lamina ที่อยู่ใน granulosa cells เพื่อทำการสังเคราะห์เป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนต่อไป

โดยทั่วไปใช้ฮอร์โมนที่สกัดจากธรรมชาติหรือสังเคราะห์มาให้สัตว์ โดยเลียนแบบการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนที่ควบคุมวงจรการเป็นสัดตามธรรมชาติ (Ball and Peter, 2004) การควบคุมวงจรการเป็นสัดขึ้นกับการจัดการฮอร์โมนที่มีการเปลี่ยนแปลงในวงจรการเป็นสัดปกติเช่นการควบคุมการเจริญของฟอลลิเคิลที่จะตกในสัตว์ที่มีวงจรการเป็นสัด โดยมีกระบวนการหลักคือ กระบวนการสลาย คอรัปัสลูเทียม หรือกระบวนการลดการหลั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ซึ่งในธรรมชาติกระบวนการนี้จะเกิดขึ้นในวันที่ 17 และ 18 ของวงจรการเป็นสัด การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยการใช้อุปกรณ์การปล่อยโปรเจสเตอโรนภายในช่องคลอด โดยการจำลองภาวะที่เหมือนกันการที่สัตว์มีคอรัปัสลูเทียมปกติโดยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน จะลดการทำงานของสมองส่วน ไฮโปทาลามัสไวัระยะหนึ่งหลังจากนั้นเมื่อมีการนำฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนออกโคจะเริ่มมีการพัฒนาวงจรของการเป็นสัดตามมา การใช้โปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด จะสามารถใช้ได้ทั้งในกรณีที่โคมีการเป็นสัดที่ปกติหรือในภาวะที่โคไม่มีการพัฒนาของรังไข่ หรือภาวะที่รังไข่ไม่ทำงาน (Ball and Peter, 2004) ในการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอดในวันแรกก่อนสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด มีจุดประสงค์เพื่อจذبการเป็นสัดให้ได้ดีมากขึ้น (Mashak and Rahimi, 2009) ฮอร์โมนฮอร์โมนพรอสตาร์แกแลนดินเอฟทูแอลฟา ที่ฉีดให้กับโคมีหน้าที่ในการสลายคอรัปัสลูเทียม โดยคอรัปัสลูเทียมมีหน้าที่ในการผลิตฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ซึ่งหลังจากการฉีดฮอร์โมนพรอสตาร์แกแลนดินเอฟทูแอลฟา จะส่งผลให้ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในร่างกายโคลดลงอย่างรวดเร็ว โดยในช่วงนี้โคจะเข้าสู่วงจรการเป็นสัดในรอบใหม่ ส่งผลให้ปริมาณฮอร์โมนลูทีไนซิ่ง ซึ่งหลังจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าเพิ่มสูงขึ้น หลังจากนั้นฮอร์โมนฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมน ซึ่งหลังจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าและเอสโตรเจน ก็จะเพิ่มสูงขึ้นจนทำให้เกิดการตกไข่ตามมา (Bearden and Fuquay, 1997., Mihm *et al.*, 2002) ฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอทมีคุณสมบัติในการชักนำให้เกิดคลื่นฟอลลิเคิล (follicular wave) ก่อนที่จะมีการตกไข่ได้ ซึ่งโดยทั่วไปจะมีการใช้ฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอทหลังจากสิ้นสุดการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย CIDR® การใช้ฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอท ร่วมกับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ชนิดสอดเข้าช่องคลอดสามารถเหนี่ยวนำให้ฟอลลิเคิลชนิด dominant สลายตัว (atresia) มีการเพิ่มระดับขึ้นของฮอร์โมนเอฟเอสเอส และเกิดการสร้างฟอลลิเคิลชุดใหม่ขึ้นในระยะ 3-5 วันภายหลังจากนั้น ขณะที่การใช้ฮอร์โมนเอสตราไดโอด เบนโซเอทในปริมาณที่มากขึ้นเป็นผลให้เกิดการเกิดความล่าช้าในการสร้างฟอลลิเคิลชุดใหม่ (Burke *et al.*, 2003) ส่วนการให้อินซูลินของฮอร์โมนเอสโตรเจนตัวอื่นนั้น อาทิเช่น estradiol cypionate ได้มีรายงานการใช้เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการสร้างฟอลลิเคิลชุดใหม่เช่นกัน (Bo *et al.*, 1995) จากการศึกษาของ Ayres *et al.* (2007) พบว่าโคในกลุ่มที่มีการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอด

เบนโซเอทในวันที่ 8 จะมีอัตราการตกไข่สูงสุดในชั่วโมงที่ 64 หลังการถอด CIDR® และยังพบว่า โคที่ได้รับการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอทในวันที่ 8 และทำการผสมเทียมที่เวลา 48 และ 54 ชั่วโมงหลังจากถอด CIDR® จะมีอัตราการตั้งท้องที่ 58.8% และ 34.3% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่าโคในกลุ่มที่ทำการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอทในวันที่ 9 และทำการผสมเทียมที่เวลา 48 และ 54 ชั่วโมงหลังจากถอด CIDR® จะมีอัตราการตั้งท้องที่ 58.7% และ 63.2% จากการศึกษาของ Kim and Kim (2007) และ Son *et al.*, (2007) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการใช้ฮอร์โมนเอสตราไดออลเบนโซเอท กับโกนาโดโทรปิน รีลีสซิงฮอร์โมน พบว่าไม่มีความแตกต่างของขนาดฟอลลิเคิลและเปอร์เซ็นต์การตั้งท้อง จากการศึกษาของ Martinez *et al.*, (2002) ซึ่งทำการเปรียบเทียบการใช้ฮอร์โมน 3 ชนิดคือ โกนาโดโทรปิน รีลีสซิงฮอร์โมน พร็อกซิน ลูทีไนซซิงฮอร์โมน และเอสตราไดออล เบนโซเอท หลังจากการถอด CIDR® เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในโคแสดงให้ทราบว่าเปอร์เซ็นต์การเป็นสัดในกลุ่มของโคที่ได้รับการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท มีอัตราการเป็นสัดสูงที่สุดอย่างเห็นได้ชัด ($P < 0.01$) ในส่วนอัตราการตั้งท้องในโคกลุ่มที่ได้รับการฉีดฮอร์โมนพร็อกซิน ลูทีไนซซิงฮอร์โมน มีอัตราการตั้งท้องและผสมติดต่ำที่สุด ซึ่งมีงานวิจัยยืนยันผลออกมาหลายงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด หรือ CIDR® ร่วมกับการการใช้ฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอทสามารถใช้ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคนมและโคเนื้ออย่างได้ผลอีกทั้งยังมีส่วนช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพของการเป็นสัดหรือการตกไข่ของโคที่มีปัญหาทางด้านระบบสืบพันธุ์ได้อีกด้วย (Bo *et al.*, 1995; Yaakub *et al.*, 1998)

จากการทบทวนวรรณกรรมทั้งหมดสามารถได้ข้อสรุปว่าเหตุผลที่ใช้โปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมน 17 β -เอสตราไดออล และโปรเจสเตอโรน ซึ่งฉีดเข้าใต้ผิวหนังของโคในวันที่ทำการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด และจะทำการฉีดพรอสตราแกลนดินเอฟทูแอลฟา ในวันที่ 6 หลังการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดและจะทำการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออลเบนโซเอทในวันที่ 8 จากการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดออลและโปรเจสเตอโรนในวันแรกก่อนสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัด มีจุดประสงค์เพื่อจذبการเป็นสัดให้ได้ดีมากขึ้น ซึ่งในช่วง 7 วันที่มีการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในตัววัวจะอยู่ในระดับที่สูงและค่อนข้างคงที่ ซึ่งจะคล้ายกับโคที่มีการตั้งท้อง ซึ่งในวันที่ 6 จะมีการฉีดฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินเอฟทูแอลฟาเพื่อทำการสลายคอร์ปัสลูเทียมที่อยู่บนรังไข่ และจึงทำการถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดในวันที่ 7 ซึ่งหลังจากการถอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในร่างกายโคลดลงอย่างรวดเร็วจึงส่งผลให้คอมได้สมองส่วนหน้าทำการหลั่งฟอลลิเคิลสติมูเลติงฮอร์โมนออกมาเพื่อกระตุ้นการพัฒนาของ

กราฟเพ็ชฟอลลิเคิล ในระยะนี้ระดับของฮอร์โมนเอสโตรเจนจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น หลังจาก นั้นต่อมาได้สมองส่วนหน้าทำการหลั่งลูทีไนซิงฮอร์โมนเพื่อกระตุ้นให้รังไข่เกิดการตกไข่ จากการฉีดฮอร์โมน Estradiol Benzoate ในวันที่ 8 มีจุดประสงค์เพื่อชักนำให้เกิดคลื่นฟอลลิเคิล และทำให้เกิดการตกไข่ตามมาในระยะเวลา 24-36 ชั่วโมงหลังการฉีด ด้วยเหตุนี้เองจึงนิยมใช้ อุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดร่วมกับการใช้โปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมน ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการทดลองนี้คือศึกษาและผลิตอุปกรณ์การเหนี่ยวนำการเป็นสัดแบบ สอดคล้องคลอดที่มีต้นทุนต่ำซึ่งจะทำให้เกษตรกรรายย่อยมีโอกาสได้เข้าถึงเทคโนโลยีดังกล่าว มากขึ้น ซึ่งเทคโนโลยีนี้จะเป็ผลดีกับเกษตรกรที่ประสบปัญหาผสมติดยาก ปัญหาโคไม่เป็นสัด หลังคลอด และปัญหาการเลี้ยงและการจัดการ โคสาวทำให้โคสาวผสมติดและคลอดลูกตัวแรกช้า ซึ่งปัญหาดังกล่าวจะส่งผลให้ปริมาณน้ำนมรวมของฟาร์มที่ลดลงด้วย ในอนาคตหากประเทศไทย สามารถผลิตอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดที่มีราคาถูกและมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับอุปกรณ์ เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้าที่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งสามารถใช้แก้ปัญหาทางด้าน ระบบสืบพันธุ์ของโคนมได้สัก 70% ก็จะส่งผลให้ในอนาคตปริมาณน้ำนมรวมของประเทศ ก็จะเพิ่มสูงขึ้นเกษตรกรก็จะมีรายได้มากขึ้นตามไปด้วย

จากการทบทวนวรรณกรรมทั้งหมดสามารถได้ข้อสรุปว่าเหตุผลที่ปริมาณ ฮอร์โมน โปรเจสเตอโรนที่ตรวจพบในกระแสเลือดมีปริมาณที่น้อยมากเมื่อเทียบกับปริมาณ ของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ฉีดเข้าไปในตัวสัตว์รวมถึงฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่อยู่ในอุปกรณ์ เหนี่ยวนำการเป็นสัดซึ่งฮอร์โมนที่สัตว์ได้รับเข้าไปจะถูกร่างกายของโค และจะถูกเมตาบอลิซึม ที่เซลล์ของอวัยวะต่างๆทั่วร่างกาย ซึ่งอวัยวะที่สำคัญในการเปลี่ยนรูปของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน คือเซลล์ม้ามและตับ ซึ่งจะทำการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนให้ไปอยู่ในรูปของ สารสเตอรอยด์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารตั้งต้น เพื่อใช้ในกระบวนการสังเคราะห์สเตอรอยด์ฮอร์โมน ตัวอื่นๆ อีกทั้งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมีการสลายตัวแบบครึ่งชีวิต ซึ่งใช้เวลาประมาณ 3-90 นาที โดยจะคิดเป็นสัดส่วนของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่สูญเสียไปในร่างกายประมาณ 40-50% และ อีกปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อระดับปริมาณความเข้มข้นของโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดคือปริมาณ การกินของโค กล่าวคือหากโคมีปริมาณการกินลดลง ก็จะส่งผลให้ปริมาณความเข้มข้นของ ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดสูงขึ้นเนื่องจากมีปริมาณเลือดเข้าสู่ตับน้อยลง และหากโคมี ปริมาณการกินที่สูงขึ้นก็จะมีปริมาณเลือดเข้าสู่ตับเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณความเข้มข้นของ ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดลดลง

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในห้องปฏิบัติการ จากอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดทางการค้า เปรียบเทียบกับการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดแบบ MJID ที่ผลิตขึ้น โดยทำการทดสอบการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในสารละลายน้ำเกลือ 0.9% เป็นเวลา 10 วันพบว่าอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทางการค้ามีการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนออกมาในสารละลายมีปริมาณเฉลี่ยมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม MJID-1 และ MJID-2 คือ 2.99 ± 7.49 , 1.89 ± 7.49 และ 2.24 ± 7.49 (ng/ml.) ตามลำดับ แต่เมื่อนำข้อมูลปริมาณการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในแต่ละวันของอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดทั้ง 3 กลุ่มมาทำการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่าปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ปลดปล่อยออกมาในสารละลายของอุปกรณ์ทั้ง 3 กลุ่มไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P < 0.05$) ดังนั้นจึงสามารถสรุปผลการทดลองในห้องปฏิบัติการได้ว่า อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดแบบ MJID ที่ผลิตขึ้นมีความสามารถในการปลดปล่อยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในสารละลายเทียบเท่ากับอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดทางการค้า จากข้อสรุปนี้ทำให้สามารถดำเนินแผนการทดลองในสัตว์ตัวต่อไปได้ จากการทดลองการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดทางการค้าร่วมกับการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมน เปรียบเทียบกับการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดแบบ MJID ที่ผลิตขึ้นร่วมกับการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนในโคนมสาว พบว่าปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระแสเลือดของโคทดลองกลุ่ม MJID-1 และ MJID-2 มีปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเฉลี่ยในเลือดมากกว่าโคทดลองกลุ่ม Control ดังนี้ 3.29 ± 0.32 , 4.02 ± 0.32 และ 4.08 ± 0.32 (ng/ml) ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในส่วนของการตอบสนองต่อการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่จากการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมน

โปรเจสเคโรนแบบสอดช่องคลอด้ร่วมกับการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนของโคทคลองทั้ง 3 กลุ่มพบว่าโคทคลองที่ 3 กลุ่ม ทุกตัวมีการแสดงอาการเป็นสัดในวันที่ 8 หลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมนเอสตราไดโอบลเบนโซเอท ซึ่งคิดเป็น 100% จากผลการทดลองในตัวสัตว์พบว่าการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเคโรนแบบสอดช่องคลอด้แบบ MJID ร่วมกับการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยฮอร์โมนมีประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำให้โคนมแสดงอาการเป็นสัดและเกิดการตกไข่ได้เทียบเท่ากับการใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเคโรนแบบสอดช่องคลอด้ทางการค้า ด้วยเหตุนี้จึงควรมีการศึกษาและพัฒนาตัวอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเคโรนแบบสอดช่องคลอด้แบบ MJID ให้ได้มาตรฐานตรงตามพ.ร.บ.ยาสำหรับใช้ในสัตว์ เพื่อที่จะสามารถทำการผลิตในเชิงอุตสาหกรรมและจำหน่ายในราคาถูกแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม และเพื่อให้เกษตรกรรายย่อยได้มีโอกาสเข้าถึงเทคโนโลยีดังกล่าว อีกทั้งยังเป็นการลดการนำเข้าอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโปรเจสเคโรนแบบสอดช่องคลอด้ทางการค้าจากต่างประเทศได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรเก็บรักษาอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัปดาห์ด้วยสอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดควรเก็บให้พ้นแสงแดด และเก็บในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา
2. ควรมีกระบวนการฆ่าเชื้ออุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัปดาห์ด้วยสอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดที่มีประสิทธิภาพ เพื่อลดการติดเชื้อและลดการอักเสบภายในช่องคลอดของโคนม
3. ระหว่างการใช้งานอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัปดาห์ด้วยสอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดผู้ใช้ควรรักษาความสะอาดของมือโดยการล้างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อรวมถึงสวมถุงมือเพื่อลดการติดเชื้อและลดการอักเสบภายในช่องคลอดของโคนม
4. ผู้ใช้ควรมีความรู้และประสบการณ์ในการสังเกตทางทวารหนักโคพอสมควร เพื่อที่จะลดความผิดพลาดในการสอดอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัปดาห์ด้วยสอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอด
5. ควรใช้อุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัปดาห์ด้วยสอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดเพียงครั้งเดียวเท่านั้น เพื่อลดการติดเชื้อและลดการอักเสบภายในช่องคลอดของโคนม
6. ควรทิ้งอุปกรณ์เหนี่ยวนำการเป็นสัปดาห์ด้วยสอร์โมนโปรเจสเตอโรนแบบสอดช่องคลอดที่ใส่แล้วให้ถูกสุขลักษณะ เพื่อลดการแพร่กระจายของเชื้อโรคที่อาจเป็นอันตรายแก่แม่โค
7. ควรเพิ่มจำนวนซ้ำของโคนมในการทดลองขึ้น เพื่อที่จะทำให้สามารถประมาณค่าความคลาดเคลื่อนของหน่วยทดลองได้ อีกทั้งยังส่งผลให้ผลการทดลองมีความเที่ยงตรงมากขึ้นโดยทำให้ค่า Standard error ของค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์ลดลง

เอกสารอ้างอิง

ชุมพล ผลประมูล, ไถ่ถอน ชินชนเศ. 2545. ศรีรวิทยา. กรุงเทพฯ: ภาควิชาศรีรวิทยา คณะ
วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 462 น.

ดำรง ถินนารักษ์. 2550. การสังเคราะห์โอกาสการทำธุรกิจโคนมและความสามารถในการแข่งขัน
ของไทยกับประเทศในกลุ่มแม่น้ำโขง (GMS). เชียงใหม่: โรงพิมพ์เชียงใหม่ชนบรรณการ
พิมพ์. 250 น.

นทีทิพย์ ฤกษ์งามระ. 2538. สอริโมน กลไกและการออกฤทธิ์ร่วม. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ไทยวัฒนา
พานิช. 321 น.

นภธร บานชื่น. 2536. ELISA ทฤษฎีและปฏิบัติ. กรุงเทพฯ: คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
มหาวิทยาลัยมหิดล. 196 น.

ไพศาล สิทธิกรกุล. 2548. วิทยานิพนธ์ร่วมกัน สำหรับการเรียนการสอนและการวิจัย. กรุงเทพฯ:
ศูนย์สื่อเสริม. 268 น.

วิรงรอง กองแก้ว. 2551. การพัฒนาอุปกรณ์สอดช่องคลอดเพื่อเหนี่ยวนำการเป็นสัดพร้อมกัน
ในแพะ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 154 น.

วารุณี เกียรติศิริกุล. 2540. สอริโมนเพศ. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์
มหาวิทยาลัยมหิดล. 58 น.

ยอดชาย ทองไทยนันท์. 2539. การส่งเสริมการเลี้ยงกระบือจากอดีตและแนวทางสู่อนาคต
การพัฒนาไปสู่สัตว์จากทุ่งพศกาลถึงยุคโลกาภิวัตน์. กรุงเทพฯ: สมาคมสัตว์บาล
แห่งประเทศไทย. น. 100 – 106.

ศิวัช สังข์ศรีทวงษ์. 2548. การหาวิธีการใช้สอริโมนเหนี่ยวนำการตกไข่เพื่อแก้ไขปัญหาคอสมิต
ยากและการกระตุ้นการผลิตน้ำนมก่อนการตั้งท้องของโคนม. กรุงเทพฯ: สำนักงานพัฒนา
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 95 น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. สถานการณ์การผลิตน้ำนมดิบปี 2551-2553. 2554.

[ระบบออนไลน์] แหล่งที่มา: <http://www.oae.go.th/main.php?filename=index>.

(20 ตุลาคม 2554).

สุทธิพันธ์ สารสมบัติ, วิบูลย์ศรี พิมพ์พันธุ์, สายสุณี วนดุรงค์วรรณ, นภาพร บานชื่น. 2522.

คู่มืออินทรีโนวิทยา. กรุงเทพฯ: 419 น.

สมปอง สรวมศิริ. 2535. เอกสารคำสอนวิชา คน 321 การสืบพันธุ์ของสัตว์. เชียงใหม่: ภาควิชา

เทคโนโลยีทางสัตว์ คณะผลิตกรรมการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้. 184 น.

สรพรเพชญ์ โสภณ. 2530. การย้ายฝากตัวอ่อนในปลูสัตว์ อดีต ปัจจุบันและอนาคต. กรุงเทพฯ:

โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. น. 21-40.

อุดม บุญขรรพ. 2526. สรีรวิทยา ระบบฮอร์โมน. เชียงใหม่: ภาควิชาสรีรวิทยา

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 320 น.

Adams, N.R., Abordi, J.A., Briegel, J.R. and Sanders, M.R. 1994. Effect of diet on the clearance of estradiol-17 in the ewe. **Biology of Reproduction** 51: 668-674.

Armstrong, D.T. and King, E.R. 1971. Uterine progesterone metabolism and progestational response: effect of estrogens and prolactin. **Endocrinology** 89: 191-97.

Ashworth, C.J., Sales, D.I. and Wilmuth, I. 1989. Evidence of an association between the survival of embryos and preovulatory plasma progesterone concentrations in the ewe.

Journal of Reproduction and Fertility 87: 23-32.

Ayres H., Martin, C.M., Ferreira, R.M., Mello, J.E., Dominguez, J.H., Souza, A.H., Valentin, R., Santos, I.C.C. and Baruselli, P.S. 2007. Effect of timing of estradiol benzoate administration upon synchronization of ovulation in suckling Nelore cows (*Bos indicus*) treated with a progesterone-releasing intravaginal device. **Animal Reproduction Science** 109: 77-87.

Ball, P.J.H. and Peter, A.R. 2004. Reproduction in Cattle. **Academic Press** 238 p.

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

Bearden, H.J. and Fuquay, J.W. 1997. **Applied Animal Reproduction** 4th ed. Mississippi State University. 351 P.

- Bedford, C.A., Harrison, F.A. and Heap, R.B. 1974. Splanchnic, uterine, ovarian and adrenal uptake of progesterone and 20-dihydroprogesterone in the pregnant and non-pregnant sheep. **Endocrinology** 62: 277–290.
- B'ó, G., Baruselli, A., Moreno, P.S., Cutaia, D., Caccia, L., Tribulo, M., Tribulo, R. and Mapletoft, H. 2002. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. **Theriogenology** 57: 572
- Burke, C.J., DePoy, D.L., Gaudi, B.S., Marshall, J.L. and Pogge, R.W. 2003. In ASP Conf. Ser. 294, **Scientific Frontiers in Research on Extrasolar Planets** 379 p.
- Cerri, R.L., Santos, J.E.P., Juchem, S.O., Galvao, K.N. and Chebel, R.C. 2004. Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high-producing dairy cows. **Journal of Dairy Science** 87: 3704–3715.
- Cheng, K.C. and Schnkman, J.B. 1984. Metabolism of progesterone and oestradiol by microsomes and purified cytochrome P-4560 RLM3 and RLM5. **Drug Metabolism and Disposition** 12: 222–234.
- Conley, A.J. and Ford, S.P. 1987. Effect Of ProstaglandinF2 α -Induced luteolysis on invivo and invitro progesterone product by individual pracentomes of cow. **Journal of Animal Science** 65: 500-507.
- DeJarnette, J.M. and Marshall, C.E. 2003. Effects of pre-synchronization using combinations PGF2 α and (or) GnRH on pregnancy rates of Ovsynch- and Cosynch-treated lactating Holstein cows. **Animal Reproduction Science** 77: 51–60.
- Diskin, M.G. and Niswender, G.D. 1989. Effect of progesterone supplementation on pregnancy and embryo survival in ewes. **Journal of Animal Science** 67: 1559–1563.
- Evans, A.C.O., Duffy, P., Crosby, T.F., Hawken, P.A.R., Boland, M.P. & Beard, A.P. 2003. Effect of ram exposure at the end of progestagen treatment on estrus synchronization and fertility during the breeding season in ewes. **Animal Reproduction Science** 84: 349-358.

- Estabrook, R.W., Martincz-Zedillo, G., Young, S., Peterson, J.A. and McCarthy, J. 1975. The interaction of steroids with liver microsomal cytochrome P-450: a general hypothesis. **Journal of Steroid Biochemistry** 6: 419–425.
- Franco, J.Q., Severriano, H.J. and, Zanella, E. 1999. **Progesterone metabolism by the liver and brain during the estrus cycle of heifers**. Nebraska Beef Cattle Reports. University of Nebraska – Lincoln 204 p.
- Garcia-Winder, M., Lewis, P.E., Deaver, D.R., Smith, V.G., Lewis, G.S. and Inskeep, E.K. 1986. Endocrine profiles associated with lifespan of induced corpora lutea in postpartum beef cows. **Journal of Animal Science** 62: 1353–1362.
- Geary, T.W. and Whittier, J.C. 1997. Modifications of the Ovsynch estrous synchronization protocol for use in beef cows. **Journal of Animal Science** 75(Suppl.1): 236.
- Graves, W.M. **Improving Dairy Heifer Reproductive Management**. 2008. [Online] Available: <http://pubs.caes.uga.edu/caespubs/pubcd/B1235/B1235.html>. (14 July 2010).
- Jordan, B.A., Fernholz, B.D., Boussac, M., Xu, C., Grigorean, G., Ziff, E.B. and Neubert, T.A. 2002. Identification and verification of no velrodent postsynaptic density proteins. **Molecular & Cellular Proteomics** Sep;3(9): 857-71.
- Hittinger, C. T., Rokas, A., and Carroll, S. B. 2004. Parallel inactivation of multiple GAL pathway genes and ecological diversification in yeasts. **Proceedings of the National Academy of Sciences of USA** 101: 14144–14149.
- Howard P.D. and Wiest W.G. 1972. Progesterone metabolism by uterine tissue of pregnant rats. **Steroids** 19: 35-46.
- Hooper, S.B., Walker, D.W. and Thorburn, G.D. 1986. Cannulation of the utero-ovarian vein in intact ewes: hormone concentration and blood levels during the oestrous cycle and early pregnancy. **Acta Endocrinologica** 112: 253–262.
- Kaddouri, M., Brassat, N., Alvinerie, M., Eechoutte, C., Bonfils, C., Derancourt, J. and Galtier, P. 1992. Ontogenic development of liver progesterone metabolism in female sheep. Contribution of cytochrome P4502B and P4503A subfamilies. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology** 42: 499–508.

- Kim, I.H. and Kim, U.H. 2007. Comparison of the effect of estradiol benzoate plus progesterone and GnRH on the follicular wave emergence and subsequent follicular development in CIDR-treated, lactating dairy cows with follicular cysts. **Animal Reproduction Science** 98: 197–203.
- Little, B., Tait, J.F., Tait, S.A.S. and Erlenmeyer, F. 1966. The metabolic clearance rate of progesterone in males and ovariectomised females. **Journal of Clinical Investigation** 45: 901–912.
- Lucy M.C., Stevenson, J.S., and Call, E.P. 1986. Controlling first service and calving interval by prostaglandin F_{2α} gonadotropin-releasing hormone and timed insemination. **Journal of Dairy Science** 69: 2186.
- Macmillan, K.L. and Burke, C.R. 1996. Effects of estrus cycle control on reproductive efficiency. **Animal Reproduction Science** 42: 307–320.
- Macmillan, K.L. and Peterson, A.J. 1993. A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrous synchronisation, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. **Animal Reproduction Science** 33: 1.
- Marcobal A., de las Rivas, B., Moreno-Arribas, M.V., and Muñoz, R. 2005. Multiplex-PCR method for the Simultaneous Detection of Acid Lactic Bacteria Producing Histamine, Tyramine and Putrescine. Three Major Biogenic Amines. **Journal of Food Protection** 68: 874-878.
- Martinez, M. F., Kastelic, J.P., Adams, G.P., and Mapletoft, R.J. 2002. The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. **Journal of Animal Science** 80: 1746-1751.
- Mashak, A., and Rahimi, A. 2009. Silicone Polymers in Controlled Drug Delivery Systems: A Review. **Iranian Polymer Journal** 18: 279–295.

- Mee, M.O., Stevenson, J.S. and Minton, J.E. 1991. First postpartum luteal function in dairy cows after ovulation induced by progesterone and gonadotropin-releasing hormone. **Journal of Dairy Science** 74: 1573–1581.
- Mihm, M., Knight, M.A., and Austin, E.J. 2002. Follicle wave growth in cattle. **Reproduction in Domestic Animals** 37: 191–200.
- Miller, H. M., Foxcroft, G. R., Squires, J., and Aherne, F. X. 1999. The effects of feed intake and body fatness on progesterone metabolism in ovariectomized gilts. **Journal of Animal Science** 77: 3253–3261.
- Moreira, F., de la Sota, R. L., Diaz, T., and Thatcher, W. W. 2000. Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. **Journal of Animal Science** 78: 1568–1576.
- Navanukraw, C., Redmer, D.A., Reynolds, L.P., Kirsch, J. D., Grazul-Bilska, A.T., and Fricke, P.M. 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** 87: 1551–1557.
- National Association of Animal Breeders. **UNDERSTANDING CIDR**, 2006. [Online]
Available: http://beefmagazine.com/mag/beef_understanding_cidr/. (14 July 2010).
- O'Rourke, M., Diskin, M., Greenan, J.M. and Roche, J.R. 2000. The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentration of oestradiol and FSH in long-term ovariectomized heifer. **Animal Reproduction Science** 59: 1–12.
- Parr, R.A., Davis, I.F., Fairclough, R.J. and Miles, M.A. 1987. Overfeeding during early pregnancy reduces peripheral progesterone concentration and pregnancy rate in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility** 80: 317–320.
- Parr, R.A. 1992. Nutrition–progesterone interactions during early pregnancy in sheep. **Journal of Reproduction and Fertility** 4: 297–300.
- Parr, R.A., Davis, I.F., Miles, M.A. and Squires, T.J. 1993. Liver blood flow and metabolic clearance rate of progesterone in sheep. **Research in Veterinary Science** 55: 311–316.

- Payne, E., Smith, J.F., Cope, B.C. and McGoawn, L.T. 1991. Studies on the role of liver cytochrome P-₄₅₀ and oestradiol metabolism in the effects of nutrition and phenobarbital on ovulation rate in the ewe. **Journal of Reproduction and Fertility** 3: 725–736.
- Pursley J.R., Meez, M.O., and Wiltbank, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂, and GnRH, WI 53706. **Theriogenology** 44: 915-923.
- Pursely J.R., M.R. Kosorok, and M.C. Wiltbank. 1994. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. **Journal of Dairy Science** 77: 69.
- Rabiee, A.R., Macmillan, K.L., Rathbone and Schwarzenberger, F. 2006. Progesterone metabolism in ovariectomised non-lactating Holstein–Friesian cows treated with progesterone with two levels of feed intake. Aust. Soc. **Reproductive Biology** 35-46.
- Rabiee, A.R., Macmillan, K.L. and Rathbone, M.J. 1999. Effect of feeding management of progesterone release from CIDR devices in ovariectmised dairy cows. Proc. Aust. Soc. **Reproductive Biology** 30: 120.
- Rabiee, A.R., Lean, I.J., Gooden, J.G., Miller, B.G. and Scaramuzzi, R.J. 1997a. An evaluation of transovarian uptake of metabolites using arterio–venous difference methods in dairy cows. **Animal Reproduction Science** 48: 9–25.
- Rathbone M.J., Bunt, C.R., Ogle, C.R., Burggraaf, S., Macmillan, K.L., and Pickering, K. 2002. Development of an injection molded poly (ε-caprolactone) intravaginal insert for the delivery of progesterone to cattle. **Journal of Controlled Release** 85: 61–71.
- Rcvah, F., Mermillod, P., Peynot, N., Renard, J.P. and Heyman, Y. 1995. Low developmental capacity of in vitro matured and fertilized oocytes from calves compared with that of cows. **Journal of Reproduction and Fertility** 103: 115-120.
- Richardson A.M., Hensley, B.A., Marple, T.J., Johnson, S.K., and Stevenson, J.S. 2002. Characteristics of estrus before and after first insemination and fertility of heifers after synchronized estrus using GnRH, PGF_{2α} and progesterone. **Journal of Animal Science** 80: 2792–2800.
- Risto, E. and Landgren, B.M. 2005. Role of progestins in contraception. **Acta Obstet Gynecol Scand** 84: 207-216.

- Rhodes, G., Proffitt, F., Grady, J.M., and Sumich, A. 2002. Facial symmetry and the perception of beauty. **Psychonomic Bulletin & Review** 5: 659-669.
- Ross, P.J., Aller, J.F., Callejas, S.S., Butler, H., and Alberio, R.H. 2004. Estradiol benzoate given 0 or 24 h after the end of a progestagen treatment in postpartum suckled beef cows. **Theriogenology** 62: 265-273.
- Saffran, J., Loeser, B.K., Haas, B.M. and Stavely, H.E. 1974. Metabolism of progesterone in subcellular fractions of rat uterus. **Steroids** 24: 839-847.
- Sangsritavong, S., Comb, D.K., Satori, R., Armantano, L.E. and Wiltbank, M.C. 2001. High Feed Intake Increases Liver Blood Flow and Metabolism of Progesterone and Estradiol-17 β in Dairy Cattle. **Journal of Dairy Science** 85: 2831-2842.
- Scanlon, P.F., J. Sreenan and I. Gordon. 1972. Observations on the retention of intravaginal sponge Pessaries by cattle. **Veterinary Record** 90: 437.
- Schmitt, E.J.P., Diaz, T., Drost, M., and Thatcher, W.W. 1996. Use of gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. **Journal of Animal Science** 74: 1084-1091.
- Schwarzenberger, F., Möstl, E., Palme, R. and Bamberg, E. 1996a. Faecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. **Animal Reproduction Science** 42: 515-526.
- Son, D.S., Choe, C.Y., Choi, S.H., Cho, S.R., Kim, H.J., Han, M.H., Ryu, I.S., Suh, G.H., Kim, U.H., and Kim, I.H. 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.
- Taylor, C., and Rajamahendran, R. 1994. Effect of mid-lutal phase progesterone levels on the first wave dominant follicle in cattle. **Can. Journal of Animal Science** 74: 281-285.
- Tenhagen, B.A., Surholt, R., Wittke, M., Vogel, C., Drillich, M. and Heuwieser, W. 2000. Use of Ovsynch in dairy herds—differences between primiparous and multiparous cows. **Animal Reproduction Science** 81: 1-11.

- Thatcher, W.W., Drost, M., Savio, J.D., Macmillan, K.L., Entwistle, K.W., Schmitt, E.J., De la Sota, R.L. and Morris, G.R. 1993. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. **Animal Reproduction Science** 33: 27–49.
- Umut Cirit, Suleyman B., Muzaffer, T., Kamber, D., Ahmet, B., Kemal, A. and Irfan, K. Ileri. 2007. Evaluation of short estrus synchronization methods in dairy cows. **Journal of Dairy Science** 73: 1834-1842.
- Vasconcelos, J.L.M., Silcox, R.W., Rosa, G.J., Pursley, J.R., and Wiltbank, M.C. 1997. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and conception rate after synchronization of ovulation with GnRH on different days of the estrous cycle. **Journal of Dairy Science** 80: 178.
- Vasconcelos, J.L.M., Bungert, K.A., Tsai, S.J., Wechsler, F.S. and Wiltbank, M.C. 1998. Acute reduction in serum progesterone concentrations due to feed intake in pregnant lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science** 56(Suppl1): 140.
- Wen, X., Li, D., Tozer, A.J., Dochert, S.M. and Lles, R.K. 2010. Estradiol, progesterone, testosterone profiles in human follicular fluid and cultured granulosa cells from luteinized pre-ovulatory follicles. **Reproductive Biology and Endocrinology** 8: 117.
- Wildeus, S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: sheep and goats. **Journal of Animal Science** 77: 1-14.
- Williams, A.H. and Cumming, I.A. 1982. Inverse relationship between concentration of progesterone and nutrition in ewes. **Journal of Agricultural Science** 98: 517–522.
- Wise, T.H., Caton, D., Thatcher, W.W., Barron, D.H. and Fields, M.J. 1982. Ovarian function during the estrous cycle of the cow: ovarian blood flow and progesterone release rate. **Journal of Animal Science** 55: 627–638.
- Wolfenson D., Thatcher, W.W., Savio, J.D., Badinga, L., and Lucy, M.C. 1994. The effect of a GnRH analogue on the dynamics of follicular development and synchronization of estrus in lactating cyclic dairy cows. **Theriogenology** 42: 633-644.

Xu, H., Lee, S.J., Suzuki, E., Dugan, K.D., Stoddard, A., Li, H.S., Chodosh, L.A. and Montell, C.

2000. A lysosomal tetraspanin associated with retinal degeneration identified via a genome-wide screen. **EMBO Journal** 23: 811-822.

Yaakub, H., O'Callaghan, D. and Boland, M. P. 1999. Effect of type and quantity of concentrates on superovulation and embryo yield in beef heifers. **Theriogenology** 51: 1259-1266.

Yochim JM. 1984. Modulation of uterine sensitivity to decidual induction in the rat by nicotinamide: challenge and extension of a model of progestational differentiation. **Biology of Reproduction** 30: 637-45.





ภาคผนวก ก

ตารางผนวก

ตารางผนวก 1 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม CIDR
($P_4=1.9g$)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม CIDR						
ซ้ำที่1	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -4.59\ln(x) + 28.89$
1	1	0.139	0.166	0.153	9.06	7.52
2	2	0.151	0.169	0.160	9.51	6.82
3	3	0.212	0.216	0.214	12.72	3.39
4	4	0.247	0.258	0.253	15.00	2.06
5	5	0.293	0.288	0.291	17.26	1.26
6	6	0.289	0.298	0.294	17.44	1.21
7	7	0.303	0.294	0.299	17.74	1.14
8	8	0.3	0.314	0.307	18.24	1.02
9	9	0.313	0.32	0.317	18.81	0.90
10	10	0.339	0.347	0.343	20.38	0.64
ซ้ำที่2	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -4.59\ln(x) + 28.89$
1	1	0.139	0.105	0.122	7.25	11.16
2	2	0.112	0.147	0.130	7.69	10.13
3	3	0.208	0.192	0.200	11.88	4.07
4	4	0.281	0.26	0.271	16.07	1.63
5	5	0.261	0.225	0.243	14.44	2.33
6	6	0.305	0.311	0.308	18.30	1.00
7	7	0.282	0.311	0.297	17.62	1.17
8	8	0.308	0.292	0.300	17.83	1.11
9	9	0.337	0.341	0.339	20.14	0.67
10	10	0.326	0.332	0.329	19.55	0.77

ตารางผนวก 1 (ต่อ)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม CIDR						
ซ้ำที่3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -4.59\ln(x) + 28.89$
1	1	0.122	0.102	0.112	6.65	12.70
2	2	0.191	0.202	0.197	11.68	4.25
3	3	0.211	0.249	0.230	13.67	2.76
4	4	0.241	0.26	0.251	14.88	2.11
5	5	0.239	0.202	0.221	13.10	3.12
6	6	0.301	0.296	0.299	17.74	1.14
7	7	0.311	0.305	0.308	18.30	1.00
8	8	0.325	0.302	0.314	18.63	0.94
9	9	0.301	0.309	0.305	18.12	1.04
10	10	0.319	0.323	0.321	19.07	0.85

ตารางผนวก 2 ตารางวิเคราะห์ปริมาณสอร์บอนโปรเจสเทอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID1
($P_4=1.5g$)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณสอร์บอนโปรเจสเทอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID-1 (P_4 1.5g)						
ซ้ำที่1	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -4.59\ln(x) + 28.89$
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	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -4.59\ln(x) + 28.89$
1		0.144	0.233	0.189	11.20	4.72
2		0.264	0.255	0.260	15.42	1881.93
3		0.305	0.299	0.302	17.94	1085.60
4		0.299	0.3	0.300	17.80	1121.31
5		0.302	0.298	0.300	17.83	1114.07
6		0.322	0.391	0.357	21.18	536.13
7		0.341	0.328	0.335	19.88	712.78
8		0.327	0.402	0.365	21.66	483.39
9		0.355	0.347	0.351	20.86	575.70
10		0.352	0.342	0.347	20.62	606.29

ตารางผนวก 2 (ต่อ)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID-1 (P ₄ 1.5g)						
ซ้ำที่ 3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P ₄ ด้วยสมการ $y = -4.59\ln(x) + 28.89$
	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	17.71	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 3 ตารางวิเคราะห์ปริมาณสารโพรเจสเทอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID2 ($P_4=2g$)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณสารโพรเจสเทอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID-2 (P_4 1.5g)						
ซ้ำที่1	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -4.59\ln(x) + 28.89$
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	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -4.59\ln(x) + 28.89$
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 3 (ต่อ)

ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำเกลือของกลุ่ม MJID-2 (P4 1.5g)						
ซ้ำที่ 3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -4.59\ln(x) + 28.89$
	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 4 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคกลุ่ม CIDR

โคนมตัวที่ 1	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	0	0.737	0.313	0.525	31.19	1.83
	1	0.379	0.211	0.295	17.53	3.00
	2	0.27	0.168	0.219	13.01	3.53
	3	0.31	0.133	0.222	13.16	3.51
	4	0.279	0.158	0.219	12.98	3.53
	5	0.209	0.179	0.194	11.53	3.73
	6	0.13	0.156	0.143	8.5	4.16
	7	0.564	0.34	0.452	26.86	2.14
	8	0.48	0.33	0.405	24.06	2.37
	9	0.526	0.34	0.433	25.73	2.23
	10	0.123	0.193	0.158	9.39	4.02
โคนมตัวที่ 2	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ $y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	0	0.934	0.638	0.786	46.70	1.05
	1	0.183	0.168	0.176	10.43	3.88
	2	0.21	0.188	0.199	11.82	3.69
	3	0.198	0.218	0.208	12.36	3.62
	4	0.154	0.149	0.152	9.00	4.08
	5	0.183	0.156	0.170	10.07	3.93
	6	0.144	0.157	0.151	8.94	4.09
	7	0.36	0.153	0.257	15.24	3.26
	8	0.129	0.166	0.148	8.76	4.12
	9	0.145	0.184	0.165	9.77	3.97
	10	0.136	0.171	0.154	9.12	4.06

ตารางผนวก 4 (ต่อ)

โคนมตัวที่ 3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ
						$y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	0	0.641	0.877	0.759	45.10	1.11
	1	0.313	0.266	0.290	17.20	3.04
	2	0.167	0.189	0.178	10.58	3.86
	3	0.182	0.177	0.180	10.67	3.84
	4	0.17	0.145	0.158	9.36	4.03
	5	0.199	0.188	0.194	11.50	3.73
	6	0.159	0.227	0.193	11.47	3.73
	7	0.262	0.467	0.365	21.66	2.58
	8	0.688	0.299	0.494	29.32	1.96
	9	0.366	0.152	0.259	15.39	3.24
	10	0.234	0.111	0.173	10.25	3.90

ตารางผนวก 5 ตารางวิเคราะห์ปริมาณสารโพรเจสเทอโรนในเลือดของโคกลุ่ม MJID-1

โคนมตัวที่ 1	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ
						$y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	0	0.531	0.71	0.621	36.87	1.49
	1	0.321	0.12	0.221	13.10	3.52
	2	0.365	0.112	0.239	14.17	3.39
	3	0.16	0.121	0.141	8.35	4.18
	4	0.23	0.114	0.172	10.22	3.91
	5	0.152	0.092	0.122	7.25	4.35
	6	0.084	0.091	0.088	5.20	4.68
	7	0.307	0.198	0.253	15.00	3.29
	8	0.084	0.091	0.088	5.20	4.68
	9	0.091	0.092	0.092	5.44	4.64
	10	0.092	0.103	0.098	5.79	4.58
โคนมตัวที่ 2	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ
						$y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	0	0.978	0.587	0.783	46.49	1.06
	1	0.165	0.143	0.154	9.15	4.06
	2	0.089	0.11	0.100	5.91	4.56
	3	0.084	0.088	0.086	5.11	4.70
	4	0.116	0.093	0.105	6.21	4.51
	5	0.078	0.091	0.085	5.02	4.71
	6	0.073	0.105	0.089	5.29	4.67
	7	0.41	0.288	0.349	20.74	2.67
	8	0.093	0.086	0.090	5.32	4.66
	9	0.125	0.136	0.131	7.75	4.27
	10	0.129	0.132	0.131	7.75	4.27

ตารางผนวก 5 (ต่อ)

โคนมตัวที่ 3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ
						$y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	0	0.691	0.488	0.590	35.03	1.60
	1	0.109	0.116	0.113	6.68	4.44
	2	0.092	0.153	0.123	7.28	4.34
	3	0.099	0.084	0.092	5.44	4.64
	4	0.089	0.084	0.087	5.14	4.69
	5	0.084	0.097	0.091	5.38	4.65
	6	0.154	0.111	0.133	7.87	4.25
	7	0.108	0.117	0.113	6.68	4.44
	8	0.099	0.103	0.101	6.00	4.55
	9	0.09	0.107	0.099	5.85	4.57
	10	0.243	0.086	0.165	9.77	3.97

ตารางผนวก 6 ตารางวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในเลือดของโคกลุ่ม MJID-2

โคนมตัวที่ 1	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ
						$y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	0	0.299	0.391	0.345	20.50	2.70
	1	0.082	0.105	0.094	5.56	4.62
	2	0.087	0.13	0.109	6.45	4.47
	3	0.142	0.142	0.142	8.44	4.16
	4	0.108	0.157	0.133	7.87	4.25
	5	0.08	0.102	0.091	5.41	4.65
	6	0.091	0.138	0.115	6.80	4.42
	7	0.105	0.328	0.217	12.86	3.55
	8	0.094	0.119	0.107	6.33	4.49
	9	0.122	0.118	0.120	7.13	4.37
	10	0.187	0.131	0.159	9.45	4.02
โคนมตัวที่ 2	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ
						$y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	0	0.21	0.195	0.203	12.03	3.66
	1	0.102	0.096	0.099	5.88	4.57
	2	0.129	0.084	0.107	6.33	4.49
	3	0.227	0.086	0.157	9.30	4.04
	4	0.147	0.092	0.120	7.10	4.37
	5	0.105	0.253	0.179	10.64	3.85
	6	0.122	0.126	0.124	7.37	4.33
	7	0.381	0.201	0.291	17.29	3.03
	8	0.177	0.117	0.147	8.73	4.12
	9	0.192	0.113	0.153	9.06	4.07
	10	0.129	0.204	0.167	9.89	3.95

ตารางผนวก 6 (ต่อ)

โคนมตัวที่ 3	Day	Rep.1	Rep.2	Average	% Binding	คำนวณ P_4 ด้วยสมการ
						$y = -27.72\ln(x) + 111.81$
	0	0.551	0.306	0.429	25.46	2.25
	1	0.214	0.087	0.151	8.94	4.09
	2	0.148	0.121	0.135	7.99	4.23
	3	0.142	0.126	0.134	7.96	4.24
	4	0.156	0.184	0.170	10.10	3.92
	5	0.102	0.107	0.105	6.21	4.51
	6	0.103	0.103	0.103	6.12	4.53
	7	0.107	0.094	0.101	5.97	4.55
	8	0.258	0.197	0.228	13.52	3.47
	9	0.114	0.114	0.114	6.77	4.42
	10	0.118	0.138	0.128	7.61	4.29



ภาคผนวก ข
การเตรียมอุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์การทดลอง

อุปกรณ์และเครื่องมือ	โมเดล	บริษัท	ประเทศ
Immunowash	1575	BIO-RAD	ฝรั่งเศส
Micropipet (20, 100, 200, 1000 ml)	Pipeman	Gilson	ฝรั่งเศส
Microplate 96 wells	Nunc-immune [®]	Nalge Nunc	เดนมาร์ก
Microplate reader	2010	Anthos	ออสเตรีย
PH meter	678	EP/K	สวิสเซอร์แลนด์
Refrigerated centrifuge	6930	Kubota	ญี่ปุ่น
Vortex mixer K-500	GE	Labinco	อเมริกา
Hotplate Stirrer	LMS-1003	Lab Tech	เกาหลี
เครื่องชั่งไฟฟ้า (ความละเอียด 3	-	-	-
ตำแหน่ง)	-	Milwards	ไทย
เข็มเย็บผ้า	-	Barbarian Head	ไทย
กรรไกรตัดผ้า	-	-	ไทย
ด้ายเย็บผ้า	-	-	ไทย
เชือกเอ็น	-	-	ไทย
ผ้า Organza	-	-	ไทย
หัวโฟมรูปทรงกระบอก	-	-	ไทย
กาวยางแท่ง	-	-	-

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

สารเคมี	Lot number	บริษัท
Citric acid	1575	BIO-RAD
Dehydrogenate phosphate, KH_2PO_4	Pipe man	Gilson
Disodium phosphate monohydrate, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	F1613786 015	EMSURE
Dehydrogenate phosphate, KH_2PO_4	-	-
Dimethyl sulfoxide, DMSO	802912	เอส.เค.เทรคคิง
Ethanol 95%	-	-
Gelatin	1080-500G	LABCHEM
Glycine	G/0800/60	Fisher Scientific
Hydrochloric acid	AR1107-G2.5L	ACI Labscan
O-phenylene-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

การเตรียมสารเคมี

การเตรียม Phosphate Buffer Saline (PBS) pH = 7.4

NaCl	8.0 กรัม
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	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 ₂ CO 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
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	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

ทำในหลอดทดลองที่หุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์เพื่อกันแสง 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

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	3.6 กรัม
--	----------

ละลายในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH = 7.0 ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บที่อุณหภูมิ 4 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

ต้นทุนในการผลิตอุปกรณ์หนึ่งชิ้นจากการเป็นสัตแบบ MJID

1. ฟองน้ำ

ใช้เคียบฟองน้ำผสมเทียมสุกร อันละ 10 บาท

$$\begin{aligned}\text{ใช้จริง 2 อัน/อุปกรณ์ 1 ชิ้น} &= 10 \times 2 \\ &= 20 \text{ บาท/1ชิ้นอุปกรณ์}\end{aligned}$$

2. แท่งกาวยาง

แท่งกาวยางแท่งละ 3 บาท

$$\begin{aligned}\text{ใช้จริง ครึ่งอัน/อุปกรณ์ 1 ชิ้น} &= \frac{3}{2} \\ &= 1.5 \text{ บาท/1ชิ้นอุปกรณ์}\end{aligned}$$

3. สอร์โมนโปรเจสเทอโรน

สอร์โมนโปรเจสเทอโรน 1 กรัม ราคา 50 บาท

$$\begin{aligned}\text{ใช้จริง 2 กรัม} &= 50 \times 2 \\ &= 100 \text{ บาท/1ชิ้นอุปกรณ์}\end{aligned}$$

4. ผ้า Organza

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

อุปกรณ์ 50 ชิ้น ราคา 30 บาท

$$\begin{aligned}\text{อุปกรณ์ 1 ชิ้น} &= \frac{30 \times 1}{50} \\ &= 0.6 \text{ บาท/1ชิ้นอุปกรณ์}\end{aligned}$$

5. ชานอ้อย

ชานอ้อย 1 กิโลกรัม หรือ 1000 กรัม ราคา 220 บาท

$$\begin{aligned} \text{ใช้จริง 1.5 กรัม} &= \frac{220 \times 1.5}{1000} \\ &= 0.33 \text{ บาท/1จั่นอุปกรณ์} \end{aligned}$$

6. ด้ายและเข็มเย็บผ้า

จ้างร้านเย็บอุปกรณ์ 12 จั่น ใช้ด้ายราคา 20 บาท

$$\begin{aligned} \text{ดังนั้น อุปกรณ์ 1 จั่นใช้ค่าใช้จ่าย} &= \frac{12 \times 20}{12} \\ &= 0.33 \text{ บาท/1จั่นอุปกรณ์} \end{aligned}$$



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล	นายณรงค์พัชร น้ำใจสุข
เกิดเมื่อ	13 กรกฎาคม 2530
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2546 มัธยมศึกษา โรงเรียนแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ พ.ศ. 2548 ปริญญาตรี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่
ประวัติการฝึกงาน	พ.ศ. 2551 ผ่านการฝึกงาน ณ สวนสัตว์เชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่ พ.ศ. 2552 ผ่านการฝึกงานหลักสูตรสหกิจศึกษา ณ สหกรณ์ การเกษตรคุ้มเจริญ จังหวัดนครราชสีมา
ประวัติการฝึกอบรบ	พ.ศ. 2548 ผ่านการฝึกอบรบ โครงการปัจฉิมนิเทศ หลักสูตร “การเขียนแผนธุรกิจ” พ.ศ. 2551 ผ่านโครงการฝึกอบรบ “GMP และ HACCP ในอุตสาหกรรมอาหาร” พ.ศ. 2551 ผ่านการฝึกอบรบ หลักสูตรผู้ประกอบการมาตรฐาน ฟาร์มโคนม และการผลิตนํ้านมดิบ พ.ศ. 2552 ผ่านการฝึกอบรบ หลักสูตรผู้ประกอบการฟาร์ม เลี้ยงไก่ไข่ พ.ศ. 2552 ผ่านการฝึกอบรบ หลักสูตรผู้ประกอบการฟาร์ม เลี้ยงไก่เนื้อ พ.ศ. 2553 เข้าร่วมการฝึกอบรบเชิงปฏิบัติการเรื่องการใช้ จุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด สำหรับงานวิจัย ขั้นพื้นฐานและขั้นสูงทางด้านชีววิทยา พ.ศ. 2554 เข้าร่วมการฝึกอบรบเชิงปฏิบัติการเรื่อง การใช้ไมโคร ไปเปิดและการสอบเทียบเบื่องค์ พ.ศ. 2554 เข้าร่วมการฝึกอบรบการใช้เครื่อง Spray Dryer พ.ศ. 2555 เข้าร่วมการฝึกอบรบเชิงปฏิบัติการเรื่องความ ปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ