EFFICIENCY OF OVULATION SYNCHRONIZATION AND FIXED-TIME ARTIFICIAL INSEMINATION PROGRAM IN SWAMP BUFFALO IN SMALL HOLDER FARMS

Ms. Thuchadaporn Chaikhun

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Theriogenology
Department of Obstetrics Gynaecology and Reproduction
Faculty of Veterinary Science
Chulalongkorn University
Academic year 2008
Copyright of Chulalongkorn University

ประสิทธิภาพของโปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา ในกระบือปลักในฟาร์มเกษตรกรรายย่อย

นางสาวธัชฎาพร ไชยคุณ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์
คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2551
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ประสิทธิภาพของโปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในกระบือปลักในฟาร์มเกษตรกรรายย่อย
โดย	นางสาว ธัชฎาพร ไชยคุณ
สาขาวิชา	วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. มงคล เตชะกำพุ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	น.สพ. ดร. ธีรวัฒน์ ธาราศานิต

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์
(ศาสตราจารย์ น.สพ. ดร.อรรณพ คุณาวงษ์กฤต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. วิชัย ทันตศุภารักษ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. มงคล เตชะกำพุ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(น.สพ. ดร. ธีรวัฒน์ ธาราศานิต)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ น.สพ. ดร. ปราจีน วีรกุล)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ น.สพ. สมชาย จันทร์ผ่องแสง)

นางสาว ธัชฎาพร ไชยคุณ : ประสิทธิภาพของโปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในกระบือปลักในฟาร์มเกษตรกรรายย่อย. (EFFICIENCY OF OVULATION SYNCHRONIZATION AND FIXED-TIME ARTIFICIAL INSEMINATION PROGRAM IN SWAMP BUFFALO IN SMALL HOLDER FARMS) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : ศ. น.สพ.ดร. มงคล เตชะกำพุ, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: น.สพ. ดร. ธีรวัฒน์ ธาราศานิต 52หน้า.

ปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกระบือปลักด้วยการผสมเทียมคือการจับสัดยาก การเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (Ovsynch-TAI) นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในโคและกระบือแม่น้ำ แต่ยังไม่มีการศึกษาดังกล่าวในกระบือปลัก วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของโปรแกรม Ovsynch-TAI โดยคัดเลือกกระบือปลักไทยเพศเมียจำนวน 95 ตัวในฟาร์มเกษตรกรรายย่อยเขตพื้นที่จังหวัดชลบุรี ซึ่งผ่านการตรวจว่ามีวงรอบการเป็นสัดและมีอวัยวะสืบพันธุ์ที่ปกติ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง กลุ่มควบคุมเป็นกระบือที่ได้รับการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ (n=43 ตัว) และกลุ่มทดลองเป็นกระบือที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI โดยคัดเลือกกระบือที่มีฟอลลิเคิลขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ณ วันเริ่มต้นโปรแกรม (n=52 ตัว) ฉีด GnRH 10 ไมโครกรัม โดยกำหนดให้เป็นวันที่ 0 หลังจากนั้นฉีดฮอร์โมน PGF2α 500 ไมโครกรัม ในวันที่ 7 และฉีด GnRH อีกครั้งในขนาดเดิมหลังจากฉีด ฮอร์โมน PGF2α 48 ชั่วโมง กำหนดเวลาผสมเทียม ในชั่วโมงที่ 12±4 และ 24±4 หลังฉีด GnRH ครั้งที่ 2 จากผลการล้วงตรวจท้องผ่านทางทวารหนักหลังผสม 60 วัน พบว่าอัตราการผสมติดของกระบือกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง คือ 34.9% (15/43) และ 34.6% (18/52) ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(p = 0.98)* ประสิทธิภาพของโปรแกรม Ovsynch-TAI ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัด เท่ากับ 100% (52/52) และอัตราการผสมติดในกระบือนาง (17.6%; 3/17) มีค่าสูงกว่าอัตราการผสมติดในกระบือสาว (42.9%; 15/35) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ *(p = 0.07)* จากการตรวจระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในซีรัมและการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนักพบว่าอัตราการตายของตัวอ่อนระหว่าง 22 ถึง 60 วันหลังผสมมีค่าเท่ากับ 7.9% (3/38) และอัตราการคลอดของกระบือกลุ่มทดลอง Ovsynch-TAI มีค่าเท่ากับ 100% (18/18) นอกจากนี้ระยะห่างระหว่างการคลอดถึงผสมติดมีความสัมพันธ์กับอัตราการผสมติด (p = 0.03) จากการศึกษานี้ สรุปได้ว่าโปรแกรม Ovsynch-TAI มีประสิทธิภาพสามารถใช้กับกระบือปลักไทย ซึ่งให้ผลของอัตราการผสมติดไม่แตกต่างจากการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ โดยไม่ต้องจับสัด และมีแนวโน้มของอัตราการผสมติดในกระบือนางสูงกว่ากระบือสาวในกลุ่มที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI

ภาควิชา สูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา วิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ลายมือชื่ออ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา 2551 ลายมือชื่ออ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

4875578731 : MAJOR THERIOGENOLOGY
KEY WORD: SWAMP BUFFALO / OVSYNCH / ARTIFICIAL INSEMINATION / CONCEPTION RATE
THUCHADAPORN CHAIKHUN : (EFFICIENCY OF OVULATION SYNCHRONIZATION AND FIXED-TIME ARTIFICIAL INSEMINATION PROGRAM IN SWAMP BUFFALO IN SMALL HOLDER FARMS. THESIS PRINCIPAL ADVISOR : PROF.MONGKOL TECHAKUMPHU, Ph.D., THESIS COADVISOR : THEERAWAT THARASANIT, Ph.D., 52 pp.

The artificial insemination in swamp buffalo is rarely applied due to a poor heat detection. Ovulation synchronization (Ovsynch) program combined with fixed-time insemination was widely used in cattle and riverine buffalo, not in swamp buffalo. The objective of the study was to investigate the efficiency of Ovsynch-TAI program in swamp buffaloes. Ninety-five female Thai swamp buffaloes were selected from small farms in Chonburi province by the criteria of their cyclicity and normal reproductive tract through rectal palpation. The buffaloes were divided into 2 groups as control and treated groups. The control animals were inseminated by AI at natural heat (n=43) while the treated buffaloes were applied Ovsynch-TAI program in animals with $\geq$10 mm follicle on the day of starting the program (n=52). The treatment buffaloes received 10 μg of GnRH at day of treatment assigned as day 0, followed by 500 μg of PGF2α 7 days later. A second-treatment of the same regimen of GnRH was given 48 h after PGF2α and AI was performed at 12 and 24 h after the second-GnRH treatment. The animals were rectal palpated and ultrasonographed on 60 days after fixed-time AI. The results showed that the conception rate of control group and treatment group were 34.9% (15/43) and 34.6% (18/52), respectively, which no statistical difference *(p*=0.98*)*. The efficiency rate of Ovsynch-TAI program to induce estrus was 100% (52/52). The conception rate of cows (17.6%; 3/17) were higher than that of heifers (49.9%; 15/35), but not statistically significant *(p*=0.07*)*. According to progesterone and ultrasonographic assay, the embryonic mortality rate between 22 and 60 days after artificial insemination was 7.9% (3/38) and the calving rate of Ovsynch-TAI group was 100% (18/18). The calving to conception interval associated on the conception rate (*p*=0.03). It was concluded that Ovsynch-TAI program without estrous detection can be successfully applied in Thai swamp buffaloes whose the conception rate did not differ from AI at natural heat. While there are no difference of conception rate of heifers and the cows , but it trends to be higher in cows.

Department : Obstetrics Gynaecology and Reproduction Student'signature……
Field of study : Theriogenology Principal Advisor's signature……
Academic year : 2008 Co-advisor's signature……..

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

GnRH	หมายถึง	ฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีลิซซิง
PGF2α	หมายถึง	ฮอร์โมนพลอสตาแกรนดิน เอฟ ทู อัลฟา
Ovsynch-TAI	หมายถึง	วิธีการหรือโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญตาราง..... ฌ
สารบัญภาพ..... ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ..... ฏ
บทที่

1 บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1
คำถามของการวิจัย..... 2
วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2
สมมติฐานของการวิจัย..... 3
ขอบเขตของการวิจัย..... 3
คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย..... 4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 5

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี..... 6
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง
1. ข้อมูลพื้นฐานทางชีววิทยาของกระบือ..... 6
2. ข้อมูลพื้นฐานทางระบบสืบพันธุ์ในกระบือ..... 7
3. การเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ในกระบือ..... 10
4. การใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียม
แบบกำหนดเวลาในโค.....14
5. การตรวจการตั้งท้องในกระบือ.....15

3 วิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัย..... 18
ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย..... 18

หน้า

สถานที่ทำการวิจัย..... 18
ประชากร..... 19
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย..... 20
การวัดผล..... 24
การวิเคราะห์ข้อมูล..... 26

4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล..... 27
5 อภิปรายผลการวิจัย..... 32
6 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย..... 38
ข้อจำกัดของการวิจัย..... 39
ข้อเสนอแนะ..... 39
ประโยชน์ในทางประยุกต์ผลงานวิจัยที่ได้..... 39

รายการอ้างอิง..... 40
ภาคผนวก
ภาคผนวก ก ผลิตภัณฑ์ สารเคมี และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย..... 51

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 52

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
1	การเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องในกระบือภายหลังการใช้โปรแกรมฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินในรูปแบบต่างๆ	11
2	การเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องในกระบือภายหลังการใช้โปรแกรมสารฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในรูปแบบต่างๆ	12
3	การเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องในกระบือภายหลังการใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ในรูปแบบต่างๆ	14
4	การเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องในโคภายหลังการใช้โปรแกรมOvsynch-TAIในรูปแบบต่างๆ	15
5	ผลการเปรียบเทียบอัตราการผสมติดระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วยการทดสอบทางสถิติไค-สแควร์	27
6	ผลการเปรียบเทียบอัตราการผสมติดระหว่างกระบือสาวและกระบือนางในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	28
7	ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติถึงปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับอัตราการผสมติดในกลุ่มกระบือที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI (logistic regression analysis)	31

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ หน้า

1	กราฟแสดงจำนวนประชากรกระบือของประเทศไทยระหว่างปีพ.ศ. 2539 –2548……	1
2	ระยะต่าง ๆของวงรอบการเป็นสัดในกระบือปลัก.....	10
3	พื้นที่ทำการศึกษาในเขตจังหวัดชลบุรี……..	20
4	ขั้นตอนการตรวจคัดเลือกกระบือด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์แบบเคลื่อนที่……	21
5	ลักษณะฟอลลิเคิลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง มากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร จากการตรวจด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์……..……	22
6	โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา(Ovsynch-TAI)…..	22
7	ผลิตภัณฑ์ฮอร์โมนที่ใช้ในโปรแกรม Ovsynch-TAI……..……	23
8	ลักษณะอาการเป็นสัดที่สามารถสังเกตเห็นขณะผสมเทียม ได้แก่ อวัยวะเพศบวมแดง……..……..	23
9	การเจาะเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำบริเวณคอกระบือ.....	25
10	ผลการตรวจท้องด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์ในกระบือหลังการผสมประมาณ 2 เดือน……..	25
11	จำนวนกระบือท้องและไม่ท้องของกระบือทั้ง 2 กลุ่ม แยกระหว่างกระบือสาวและกระบือนาง……	29
12	ตัวอย่างลูกกระบือที่คลอดจากแม่กระบือที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI (ก)และลูกกระบือที่คลอดจากแม่กระบือที่ผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ (ข)…..	30

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ น.สพ.อยุทธ หรินทรานนท์ ผู้อำนวยการสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ และน.สพ.จิรุตม์ รัตนเทพ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพชลบุรี ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการวางแผนประสานงานกับเจ้าหน้าที่ในพื้นที่และสนับสนุนฮอร์โมนบางส่วนในการศึกษา คุณชาญชัย อัศฤกษ์ คุณสุวัฒน์ ศรีคำม่วม คุณอุเทน ลีประโคน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการประสานงานกับเกษตรกรผู้เลี้ยงกระบือในเขตจังหวัดชลบุรีและช่วยเหลือในการปฏิบัติงานภาคสนาม รวมถึงเจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยการผสมเทียมและเทคโนโลยีชีวภาพชลบุรีทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงาน ขอบคุณศูนย์อนุรักษ์และพัฒนาควายไทย เครือเจริญโภคภัณฑ์ ที่ให้การสนับสนุนน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์กระบือปลักชั้นเยี่ยม รวมถึงคุณสมนึก เอกนาวากิจ และคุณโชคชัย เสมอ เจ้าหน้าที่สนับสนุนการปฏิบัติงานภาคสนาม ขอขอบคุณเจ้าของกระบือทุกตัวที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดียิ่ง เจ้าหน้าที่ภาควิชาสูติศาสตร์ฯ ทุกท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือและประสานงานในงานวิจัยให้ลุล่วงไปได้ด้วยดี อ. น.สพ. ดร.เอกชาติ พรหมดิเรก อ. น.สพ. ดร. จำลอง มิตรชาวไทย และอ. สพ.ญ. ดร. อภิรดี อินทรพักตร์ ที่ให้คำปรึกษาในการค้นคว้าและให้ข้อคิดเห็นเพื่อเขียนวิทยานิพนธ์ ตลอดทั้งคณะกรรมการสอบที่ให้เกียรติในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณผู้สนับสนุนเงินทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภายใต้โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ทุน 90 ปี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จากกองทุนรัชดาภิเษกสมโภช รวมไปถึงทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์สำหรับอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2550

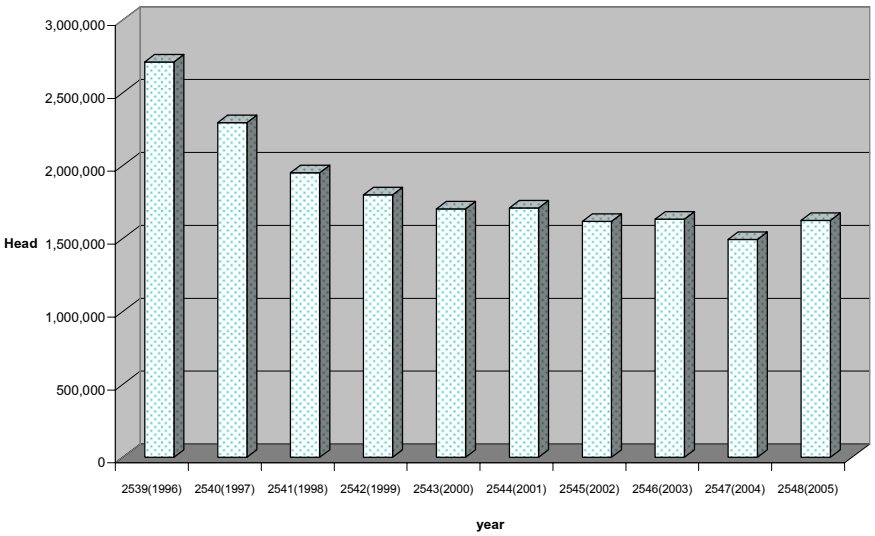
ขอบพระคุณ คุณพิษณุชัย ไชยคุณ และคุณสิรินทิพย์ ถิรกมล บิดาและมารดาผู้ที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนในการศึกษาทุกระดับ ตลอดทั้งคุณชลกร โพธิ์ทอง และคุณปราณต์ รายะนคร ที่เป็นกำลังใจตลอดมา และในส่วนสุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ ศ. น.สพ.ดร. มงคล เตชะกำพุ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่ให้คำปรึกษาทั้งด้านการศึกษาและการดำเนินชีวิต อ.น.สพ.ดร.ธีรวัฒน์ ธาราศานิต อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำแนะนำและกำลังใจเสมอมา

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การลดจำนวนกระบือปลักไทยเป็นปัญหาสำคัญที่นำไปสู่การสูญเสียพันธุกรรม ที่จำเป็นที่จะต้องให้ความสนใจอย่างยิ่ง จากรายงานของกรมปศุสัตว์พบว่ามีจำนวนกระบือปลักไทยมีจำนวนลดลงถึง 60% ในระยะเวลาเพียง 10 ปี เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลสถิติย้อนหลังไปในปี พ.ศ. 2539 กระบือปลักไทยมีประมาณ 2.7 ล้านตัว แต่ต่อมาในปีพ.ศ. 2548 มีเหลือเพียง 1.6 ล้านตัว ดังแสดงดังรูปที่ 1 เนื่องจากมีการฆ่ามาบริโภคมากกว่าการทดแทน รวมไปถึงค่านิยมการตอนกระบือเพศผู้เพื่อต้องการขุนขายเนื้อทำให้ขาดพ่อพันธุ์กระบือปลักไทยพันธุ์ดีในฝูง ส่งผลให้เกิดปัญหาการผสมเลือดชิดภายในฝูง ลูกที่เกิดมามีขนาดเล็ก มีอัตราเจริญเติบโตต่ำตามมา รวมทั้งคุณลักษณะเฉพาะตัวของกระบือปลักในด้านประสิทธิภาพระบบสืบพันธุ์ยังเป็นข้อจำกัดที่สำคัญ ได้แก่ ช่วงอายุเข้าสู่วัยสมบูรณ์พันธุ์ที่ล่าช้า และระยะห่างการคลอดลูกแต่ละตัวยาวนาน ซึ่งทำให้จำนวนการผลิตลูกในช่วงอายุขัยมีจำนวนน้อยกว่าที่คาดหมายไว้



รูปที่ 1 กราฟแสดงจำนวนประชากรกระบือของประเทศไทยระหว่างปีพ.ศ. 2539 – 2548 (กรมปศุสัตว์, 2551)

การเพิ่มจำนวนกระบือสามารถทำได้โดยการลดการทำลาย หรือการเพิ่มจำนวนการผลิต แต่อย่างไรก็ตามการผลิตกระบือปลักไทยไม่มีการผลิตในลักษณะเป็นฟาร์มขนาดใหญ่ การเพิ่มจำนวนจึงทำได้ยาก การนำเอาเทคโนโลยีชีวภาพด้านการผสมเทียมไม่ใช่เป็นวิธีที่จะเพิ่มจำนวนกระบือได้เร็ว เนื่องจากกระบือมีข้อจำกัดในด้านประสิทธิภาพการผลิตด้วยตัวมันเอง แต่การผสมเทียมเป็นเทคโนโลยีชีวภาพสามารถพัฒนาพันธุกรรมของฝูงได้อย่างรวดเร็วและสะดวกในการปฏิบัติ ในประเทศไทยนั้นการผสมเทียมกระบือแม้ว่าได้มีการพัฒนามาไม่น้อยกว่า 50 ปี แต่ยังไม่เป็นที่นิยมมากนัก เนื่องจากมีอุปสรรคของการผสมเทียมในกระบือที่สำคัญที่สุดคือ ปัญหาที่แม่กระบือไม่แสดงอาการเป็นสัดชัดเจน ทำให้การกำหนดเวลาผสมเป็นไปได้ยาก

ได้มีการศึกษาวิจัยนำเทคโนโลยีชีวภาพอื่นๆมาใช้ร่วมกับการผสมเทียมเพื่อเพิ่มผลผลิตกระบือในหลายๆประเทศ โดยเฉพาะเทคนิคการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่โดยใช้ฮอร์โมนลอกเลียนแบบวงรอบการเป็นสัดด้วยฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน และฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน หรือโปรแกรมที่เรียกว่า “การกระตุ้นให้มีการตกไข่พร้อม ๆ กัน (ovulation synchronization, Ovsynch)” เป็นโปรแกรมที่สามารถกำหนดเวลาผสมเทียมได้อย่างแน่นอนโดยไม่ต้องอาศัยการจับสัด มีรายงานผลการศึกษาโปรแกรม Ovsynch ในโคและกระบือแม่น้ำอย่างแพร่หลายซึ่งให้ผลอัตราการผสมติดที่ดีมาก แต่ยังไม่มีรายงานการศึกษานี้ในประเทศไทยเลย โดยหากโปรแกรมดังกล่าวได้ผลดีจะสามารถนำมาเป็นโปรแกรมต้นแบบและสามารถประยุกต์ใช้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงกระบือปลักในประเทศไทย รวมทั้งนำไปเพื่ออนุรักษ์กระบือปลักไทยที่มีพันธุกรรมดี สอดคล้องกับนโยบายของประเทศที่ส่งเสริมการสร้างอาชีพตามแนวพระราชดำริเศรษฐกิจพอเพียง

คำถามของการวิจัย

1.โปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในฟาร์มกระบือปลักของเกษตรกรรายย่อยได้หรือไม่

2.ปัจจัยของกระบือที่ยังไม่เคยมีลูกและกระบือที่เคยมีลูกมีความสัมพันธ์ต่ออัตราการผสมติดด้วยวิธีการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในฟาร์มกระบือปลักของเกษตรกร รายย่อยหรือไม่

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของวิธีเหนี่ยวนำการตกไข่ และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในกระบือปลักในฟาร์มเกษตรกรรายย่อย และศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยกรณีกระบือที่ยังไม่

เคยมีลูกและกระบือที่เคยมีลูกต่ออัตราการผสมติดด้วยวิธีเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา

สมมติฐานของการวิจัย

1.โปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาสามารถประยุกต์ใช้ในฟาร์มกระบือปลักของเกษตรกรรายย่อยได้

2.กระบือที่เคยมีลูกมีอัตราการผสมติดแตกต่างจากกระบือที่ไม่เคยมีลูกเมื่อใช้วิธีการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา

ขอบเขตของการวิจัย

ทำการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีเหนี่ยวนำการตกไข่ และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในกระบือปลักในฟาร์มเกษตรกรรายย่อย เขตจังหวัดชลบุรี ซึ่งคัดเลือกกระบือปลักเพศเมียท้องว่างทั้งหมดจำนวน 95 ตัว โดยกระบือแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มควบคุม เป็นกลุ่มกระบือที่ได้รับการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ และกลุ่มทดลองซึ่งเป็นกลุ่มที่เข้าสู่โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา จากนั้นทำการเปรียบเทียบอัตราการผสมติดระหว่างกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง ศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยกรณีกระบือสาวและกระบือนางต่ออัตราการผสมติดด้วยวิธีเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา และศึกษาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่ออัตราการผสมติดหลังใช้โปรแกรมนี้ อาทิเช่น จำนวนวันท้องว่าง อายุ ลำดับท้อง สถานภาพกระบือ และการสอดผ่านของปืนผสมเทียม

ข้อตกลงเบื้องต้น

1. กระบือที่ใช้ในงานวิจัย เป็นกระบือปลักไทยเพศเมีย ของเกษตรกรรายย่อย เขตพื้นที่จังหวัดชลบุรี ที่ได้รับทราบการประชาสัมพันธ์ และได้ทำความเข้าใจถึงวิธีการวิจัยกับตัวสัตว์จากคณะผู้ทำงานวิจัย และยินยอมที่จะเข้าร่วมงานวิจัยโดยไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆทั้งสิ้น

2. กระบือที่ได้รับคัดเลือกและได้เข้าสู่การวิจัยบางส่วนที่ถูกเคลื่อนย้ายออกนอกเขตพื้นที่ คัดทิ้ง และตาย จะไม่นำเข้าสู่การวิเคราะห์ และรายงานผลการวิจัย

3. รูปแบบวิจัยเป็นการศึกษาทางคลินิก (clinical study) ในฟาร์มเกษตรกรรายย่อย ซึ่งรูปแบบการเลี้ยงในส่วนปลีกย่อยอาจมีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามได้กำหนดหลักเกณฑ์คุณสมบัติของฟาร์มและกระบือที่จะทำการคัดเลือกให้เหมือนกันมากที่สุด

คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

1. กระบือสาว หมายถึง กระบือที่ยังไม่เคยได้รับการผสมและมีลูก

2. กระบือนาง หมายถึง กระบือที่เคยได้รับการผสมและเคยคลอดลูกแล้ว

3. กระบือมีวงรอบการเป็นสัด หมายถึง กระบือเพศเมียที่ตรวจด้วยการล้วงตรวจและ/หรือตรวจด้วยคลื่นความถี่สูง พบว่ามีคอร์ปัส ลูเตียม และ/หรือฟอลลิเคิล ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่หรือเท่ากับ 5 มิลลิเมตรขึ้นไป ไม่ว่าจะเป็นการตรวจพบในครั้งแรกหรือครั้งที่ 2 ห่างกันอย่างน้อย 1 สัปดาห์

4. อัตราการผสมติด หมายถึง สัดส่วนระหว่างจำนวนกระบือที่ตั้งท้องและจำนวนกระบือที่ได้รับการผสมเทียมทั้งหมด

5. อัตราการเป็นสัด หมายถึง สัดส่วนระหว่างจำนวนกระบือที่เป็นสัดและจำนวนกระบือที่ได้รับคัดเลือกทั้งหมด

6. กลุ่มควบคุม หมายถึง กลุ่มของกระบือเพศเมียที่ผ่านการคัดเลือกและได้รับการแจ้งผสมเทียมจากการเป็นสัดธรรมชาติในสถานที่ทำการทดลองเดียวกัน

7. กลุ่มทดลอง หมายถึง กลุ่มของกระบือเพศเมียที่ได้รับการคัดเลือกและเข้าสู่โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในสถานที่ทำการทดลอง

8. GnRH หมายถึง ฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน รีลิซซิง (Gonadotropin Releasing Hormone)

9. PGF2α หมายถึง ฮอร์โมนพรอสตาแกรนดิน เอฟ ทู อัลฟา (Prostaglandin F 2 alpha)

10. Ovsynch-TAI หมายถึง วิธีการหรือโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (Ovulation synchronization-Time Artificial Inseminination)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นการนำโปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลามาใช้กับกระบือในประเทศไทย
2. ลดการใช้แรงงานและเวลาในการจับสัดเพื่อผสมเทียม
3. สามารถนำข้อมูลที่ได้และโปรแกรมต้นแบบนี้ไปประยุกต์ใช้ในพื้นที่เลี้ยงกระบือในเขตอื่นได้
4. เป็นการอนุรักษ์พันธุ์กระบือปลักไทยลักษณะดีให้มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น
5. เป็นการช่วยเหลือเกษตรกรผู้เลี้ยงกระบือในการผลิตกระบือคุณภาพดี และเพิ่มจำนวนประชากรกระบือภายในประเทศ
6. เกษตรกรใช้น้ำเชื้อจากพ่อกระบือพันธุ์ดีและทำให้พันธุกรรมของฝูงกระบือไทยมีลักษณะที่ดี
7. สามารถใช้ร่วมกับการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อพันธุ์กระบือได้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แนวคิดและทฤษฎี

ประสิทธิภาพในการให้ผลผลิตในกระบือเพศเมียที่จำกัดเป็นปัญหาสำคัญที่ทำให้จำนวนประชากรกระบือในโลกมีจำนวนลดลง ซึ่งมักเกิดจากลักษณะทางระบบสืบพันธุ์ของสัตว์ชนิดนี้เอง เช่น อายุช่วงเข้าสู่วัยสมบูรณ์พันธุ์ที่ล่าช้า การแสดงอาการเป็นสัดไม่ชัดเจน ระยะห่างการคลอดลูกแต่ละตัวยาวนาน อัตราการผสมติดขึ้นอยู่กับฤดูกาล การทำงานของรังไข่ที่ลดลงในช่วงฤดูร้อน ปัญหาการจับสัดที่ด้อยประสิทธิภาพ ระยะเวลาที่เป็นสัดที่ไม่แน่นอน ส่งผลให้กำหนดเวลาตกไข่และผสมเทียมยาก (Madam and Raina, 1984.; Madam, 1998; De Araujo Berber *et al*., 2002; Neglia *et al*., 2003; Presicce *et al*., 2004; Campanile *et al*., 2005; De Rensis *et al*., 2005; Paul and Prakash, 2005; Lohachit *et al*., 2006) ปัญหาดังกล่าวส่งผลให้มีการวิจัยคิดค้นหาวิธีการหรือเทคโนโลยีที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพทางระบบสืบพันธุ์กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ การศึกษาวงรอบการเป็นสัดของกระบือ การนำเทคโนโลยีชีวภาพมาประยุกต์ใช้ เช่น การผสมเทียม การเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ การย้ายฝากตัวอ่อน การปฏิสนธิภายนอกร่างกาย และการโคลนนิง เป็นต้น อย่างไรก็ตามสำหรับในประเทศไทย ได้มีการศึกษาในเรื่องดังกล่าวมากว่า 30 ปี แต่การนำไปใช้กับเกษตรกรในพื้นที่จริงค่อนข้างมีจำกัด โดยเฉพาะการศึกษาข้อมูลของวิธีการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ในกระบือปลักไทยซึ่งมีข้อมูลงานวิจัยน้อยมากเมื่อเทียบกับงานวิจัยในโค

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ข้อมูลพื้นฐานทางชีววิทยาของกระบือ

กระบือเป็นสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ในตระกูล Bovidae ซึ่งเป็นพวกสัตว์เคี้ยวเอื้องที่มีกีบคู่ การแบ่งชนิดและสายพันธุ์ เป็นการแบ่งตามลักษณะภูมิศาสตร์และสถานที่ โดยอาศัยลักษณะรูปร่างภายนอกคร่าว ๆ และมักเรียกชื่อตามภาษาท้องถิ่นอยู่นั้น ๆ โดยไม่มีมาตรฐานที่แน่นอน กระบือในโลกนี้จึงสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1.1 <u>กระบือแอฟริกา</u> เป็นกระบือป่าซึ่งมีเพียงชนิดเดียว คือ *Syncerus caffer*

1.2 <u>กระบือเอเชีย</u> จัดอยู่ใน *Bubalus spp.* มีทั้งหมด 3 ชนิด ได้แก่

1.2.1 กระบือเซเลเบส

1.2.2 กระบือมินโดโร

1.2.3 กระบือป่าอินเดีย

กระบือป่าอินเดีย เป็นกระบือชนิดเดียวเท่านั้นที่ได้นำมาเป็นสัตว์เลี้ยงหรือกระบือบ้าน จึงได้มีการเปลี่ยนชื่อทางวิทยาศาสตร์ เป็น *Bubalus bubalis* และแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ กระบือแม่น้ำ (river buffalo) เป็นกระบือที่พบในประเทศอินเดีย ปากีสถาน อียิปต์ และยุโรปตอนใต้ มีจำนวนโครโมโซม 2n = 50 นิยมเลี้ยงไว้เพื่อผลิตน้ำนมซึ่งให้น้ำนมมากถึงวันละ 5 ลิตร จึงนิยมเรียกกันอีกชื่อหนึ่งว่า กระบือนม มีลักษณะนิสัยชอบแช่ตัวในน้ำสะอาด ส่วนกระบืออีกชนิดหนึ่งคือ กระบือปลัก (swamp buffalo) พบได้ในประเทศแถบทวีปเอเชียตะวันออกและตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ จีน ไทย ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย อินโดนีเซีย พม่า เวียดนาม กัมพูชา และลาว มีจำนวนโครโมโซม 2n = 48 นิยมเลี้ยงไว้เพื่อใช้งานทางการเกษตร ชอบอยู่ตามปลักในท้องนาเพื่อป้องกันแสงแดดและแมลงรบกวน (Mahadevan, 1992)

กระบือปลักไทยมีลักษณะ ขนาด และสี คล้ายกระบือในพม่า กัมพูชา ลาว มาเลเซีย ซึ่งมีสี 2 สี คือ สีเทาเข้มเกือบดำและอีกสี คือสีเผือก-ผิวหนังสีชมพู ส่วนใหญ่รูปร่างอ้วนเตี้ย ลำตัวสั้น ท้องกางกลม แข้งขาสั้น เขากางยาว ปลายเขาโค้งเป็นวงคล้ายพระจันทร์เสี้ยว

2. ข้อมูลพื้นฐานทางระบบสืบพันธุ์ในกระบือปลัก

2.1 <u>วัยเจริญพันธุ์ (puberty)</u>

จากการศึกษาระบบสืบพันธุ์ในกระบือ พบว่ามีความคล้ายคลึงกับโคทั้งทางกายวิภาคและสรีรวิทยา (Jainudeen, 1983; Bodhipaksha, 1985) กระบือปลักเพศเมียจะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์พร้อมผสมพันธุ์ที่อายุ 1.6-4 ปี (Chantalakhana, 1981) น้ำหนักเฉลี่ย 378.0 ± 38.0 กิโลกรัม (Intaramongkol *et al*., 1990) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการเลี้ยงและอาหารเป็นสำคัญ (Arora,1979) Intramongkol และคณะ (1990) แนะนำว่ากระบือเพศเมียที่มีอายุประมาณ 2 ปี และมีน้ำหนักมากกว่า 300 กิโลกรัม สามารถรับการผสมครั้งแรกได้โดยไม่เป็นอันตรายใดต่อตัวสัตว์ และมีรายงานการศึกษาในกระบือปลักในประเทศไทยพบว่ากระบือคลอดลูกตัวแรกที่อายุ

ระหว่าง 3.5-6.68 ปี (Chantalakhana, 1981; Intramongkol *et al*., 1990) ส่วนเพศผู้จะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์เมื่ออายุประมาณ 2 ปี (Chantaraprateep *et al*., 1985)

2.2 วงรอบการเป็นสัด

ประเทศไทยได้มีการศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ในวงรอบการเป็นสัดในกระบือปลักครั้งแรกในปี ค.ศ. 1974 (Bodhipaksha *et al*., 1978) โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงของรังไข่ด้วยการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนักและตรวจระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 17- ไฮดรอกซีโปรเจสเตอโรน และฮอร์โมนเอสตราไดออล 17-เบตา ในกระบือท้องว่างจำนวน 10 ตัว ระยะเวลา 120 วัน พบว่าวงรอบการเป็นสัดมีค่าเฉลี่ย 22.1 วัน Chantalakhana (1981) ศึกษาวงรอบการเป็นสัดในกระบือปลักไทยเช่นกัน พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 20-34 วัน และ 20 วัน จากรายงานของ Wetchrutpimon and Mongkonpunya (1978) ส่วนความแตกต่างและความผันแปรของระยะวงรอบการเป็นสัดของกระบือนั้นเกิดจากการพัฒนาของฟอลลิเคิลที่มีลักษณะเป็นคลื่น (follicular wave) ที่แตกต่างกันในกระบือแต่ละตัว การศึกษาในกระบือส่วนใหญ่มีรายงานในกระบือแม่น้ำ (river buffalo) ซึ่งมีการศึกษาทั้งในลูกกระบือและแม่กระบือ แต่ก็ยังมีการศึกษาน้อยมากเมื่อเทียบกับโค (Techakumphu *et al*., 2006) อย่างไรก็ตาม Presicce et al. (2003) ได้ทำการศึกษาในกระบือเมดิเตอร์เรเนียน อายุ 5-9 เดือน พบว่าการพัฒนาของฟอลลิเคิลในกระบือมีรูปแบบเช่นเดียวกันกับโค Baruselli และคณะ (1997) ศึกษาคลื่นฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัดในกระบือพันธุ์เมดิเตอร์เรเนียนจำนวน 30 ตัว พบว่ามีคลื่นฟอลลิเคิล 1-3 คลื่น ซึ่งส่วนใหญ่ (63.3%) จะมี 2 คลื่น และพบว่าจำนวนคลื่นมีความสัมพันธ์กับระยะลูเตียลและระยะเวลาของวงรอบการเป็นสัด โดยวงรอบการเป็นสัดที่มี 2 คลื่นฟอลลิเคิลจะมีระยะสั้นกว่า 3 คลื่น คือ 21 วัน และ 24 วัน ตามลำดับ สอดคล้องกับการรายงานของ De Rensis and Löpez-Gatius (2006) พบว่าโดยปกติกระบือจะมี 1-2 คลื่นฟอลลิเคิลที่ไม่มีการตกไข่ ตามด้วยคลื่นหลังที่เกิดการตกไข่ ในแม่กระบือส่วนใหญ่จะมี 1-2 คลื่น ส่วนในกระบือสาวจะพบว่ามี 2 คลื่น มีรายงานการศึกษาการพัฒนาของฟอลลิเคิลด้วยการใช้เครื่องอัลตราซาวนด์ (ultrasounography) ในกระบือปลักครั้งแรกในประเทศไทยโดย เอกชาติ (2548) โดยทำการศึกษาในกระบือปลัก ช่วงฤดูร้อนและฤดูหนาวทุก ๆวัน พบว่ามีคลื่นฟอลลิเคิล 1-2 คลื่น ซึ่งส่วนมากจะเป็นรูปแบบ 2 คลื่น

จากการศึกษาการพัฒนาของฟอลลิเคิลในแม่กระบือปลักไทยหลังคลอดจำนวน 16 ตัว ของ Yindee และคณะ (2005) พบว่าแม่กระบือมีการตกไข่ครั้งแรกเฉลี่ย 39 ± 13.5 วันหลังคลอด (อยู่ในช่วง 21-59 วัน) อย่างไรก็ตามการตกไข่ครั้งแรกจะไม่สามารถสังเกตอาการเป็นสัดได้ อาจเนื่องจากระดับฮอร์โมนที่ไม่คงที่หลังคลอด และแนะนำให้มีการผสมได้ในช่วงตกไข่ครั้งที่ 2 หรือภายใน 1-2 เดือนหลังคลอด ทั้งนี้ต้องมีการจัดการอภิบาลอย่างดี

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาสามารถแบ่งระยะต่างๆของวงรอบการเป็นสัดในกระบือออกเป็น 4 ระยะ ดังแสดงในรูปที่ 2 (พีระศักดิ์ และคณะ, 2523b, ประสบ, 2527) และมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.2.1 ระยะก่อนเป็นสัด (proestrus)

เป็นระยะที่ฟอลลิเคิลถูกกระตุ้นด้วยอิทธิพลของฮอร์โมนฟอลลิเคิล สติมูเลติง ให้เปลี่ยนเป็นฟอลลิเคิลที่เจริญเต็มที่ (graafian follicle) ซึ่งภายในจะมีของเหลวและมีฮอร์โมนเอสโตรเจนจำนวนมาก ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ โดยจะมีเลือดมาเลี้ยงมากขึ้นที่เยื่อบุด้านในมดลูก ช่องคลอด และเยื่อบุช่องคลอด ทำให้มีความหนาบวมขึ้น ปากมดลูกเริ่มหย่อน อาจมีของเหลวค่อนข้างใสหรือขาวขุ่นเป็นเมือกไหลออกมา ระยะนี้กระบือจะเริ่มแสดงอาการเป็นสัดเป็นเวลานาน 11 – 28 ชั่วโมง (Kanai and Shimizu, 1983)

2.2.2 ระยะเป็นสัด (estrus)

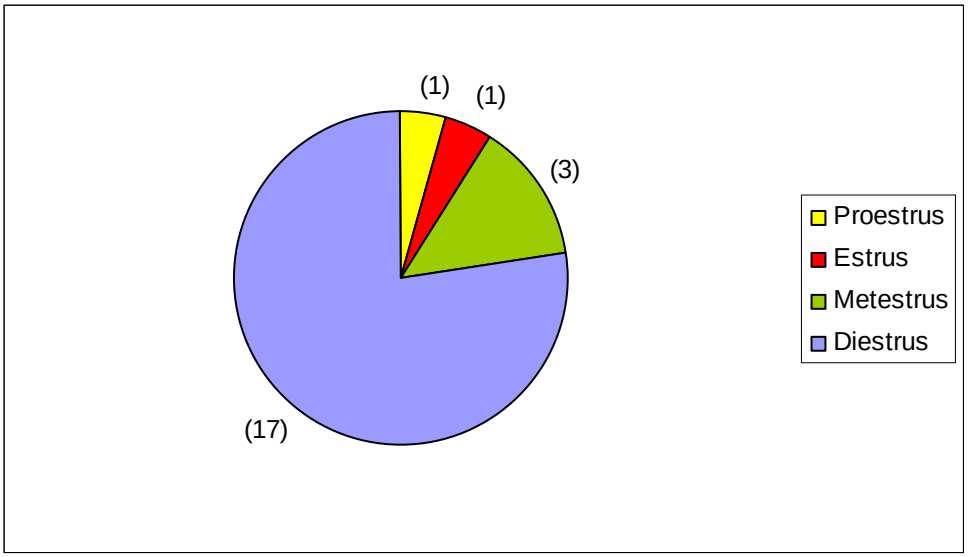
เป็นระยะที่สัตว์แสดงออกถึงการยอมรับการผสมจากเพศผู้ แต่กระบือมีความแตกต่างจากโค โดยกระบือจะไม่ค่อยแสดงอาการสัดต่างๆให้เห็นเด่นชัด มักเป็นสัดเงียบ (silent heat) ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 28 ชั่วโมง จากการรายงานของ Chantalakhana (1992) พบว่าช่วงระยะการเป็นสัดในกระบือปลักอยู่ระหว่าง 12-36 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามการศึกษาส่วนใหญ่รายงานว่าอยู่ในช่วง 24-36 ชั่วโมง และมีการตกไข่ 6-21 ชั่วโมงหลังสิ้นสุดการเป็นสัด (เฉลี่ย 13.3 ชั่วโมง) (Kanai and Shimizu, 1983)

2.2.3 ระยะหลังเป็นสัด (metestrus)

เป็นระยะที่เกิดหลังเป็นสัด ซึ่งคอร์ปัส ลูเตียมจะเจริญอย่างรวดเร็ว และสร้างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ระยะนี้ยาวนานประมาณ 3 วัน หลังจากระยะเป็นสัด (Fischer and Bodhipaksha, 1992)

2.2.4 ระยะสิ้นสุดการเป็นสัด (diestrus)

เป็นระยะที่นานที่สุดของวงรอบการเป็นสัดประมาณ 17 วัน (Fischer and Bodhipaksha, 1992) โดยคอร์ปัส ลูเตียม จะเจริญและสร้างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมากขึ้น เยื่อบุมดลูกหนาตัวขึ้น เพื่อเตรียมรับการฝังตัวของไข่ที่ได้รับการผสม ในตอนท้ายของระยะนี้คอร์ปัส ลูเตียม จะฝ่อตัวไป และเริ่มมีการเจริญของฟอลลิเคิลขึ้นมาใหม่



รูปที่ 2 ระยะต่างๆของวงรอบการเป็นสัดในกระบือปลัก (จำนวนวัน)

3. การเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ในกระบือ

โปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่นั้นเกี่ยวข้องกับการควบคุมปัจจัยที่สำคัญ 2 ประการ คือ การควบคุมการทำงานของคอร์ปัส ลูเตียมภายในรังไข่ และการเหนี่ยวนำการเจริญและพัฒนาของฟอลลิเคิลและการตกไข่ ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

3.1 <u>การควบคุมการทำงานของคอร์ปัส ลูเตียม ภายในรังไข่</u>

สามารถทำได้โดยใช้โปรแกรมฮอร์โมน 2 รูปแบบ (De Rensis and Löpez-Gatius, 2006) คือ

3.1.1 การฉีดฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน เอฟ ทู แอลฟา (PGF2α) หรือสารสังเคราะห์ในกลุ่มเดียวกัน เช่น คลอโปรสตินอล (cloprostenol), ลูโปรสตีนอล (luprostenol) และไทอะพรอส (tiaprost) (Kornmatitsuk and Kornmatitsuk, 2006) ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้วิธีการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ นอกจากนี้พบว่าสามารถฉีดฮอร์โมนในปริมาณที่ลดต่ำลงบริเวณใต้เยื่อเมือกปากช่องคลอด (intravulvo submucosa) ข้างเดียวกับที่ปรากฏคอร์ปัส ลูเตียม ซึ่งให้ผลดีเช่นเดียวกันกับการฉีดเข้ากล้ามเนื้อ (Rao, 1988; Subramaniam et al., 1989.) ผลการใช้ฮอร์โมนดังกล่าวในกระบือมีลักษณะเช่นเดียวกันกับในโค ซึ่งออกฤทธิ์ทำให้คอร์ปัส ลูเตียม ที่สมบูรณ์เกิดการสลายตัว (luteolysis) ส่งผลให้ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนลดต่ำลงภายใน 24 ชั่วโมง หลังฉีด (De Rensis and Löpez-Gatius, 2006) การหลั่งของฮอร์โมนแอลเอช (LH ; luteinizing hormone) ที่มีความถี่เพิ่มสูงขึ้นกระตุ้นให้มีการพัฒนาของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ (dominant follicle) ก่อนที่จะเกิดการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนแอลเอชอย่างฉับพลัน (LH surge) เป็นผลให้เกิดการตกไข่ ในขณะเดียวกันฮอร์โมนเอสโตรเจนภายใน

ฟอลลิเคิลจะออกฤทธิ์กระตุ้นให้แสดงพฤติกรรมการเป็นสัด (Mihm *et al*., 2002) ประสิทธิภาพของการเหนี่ยวนำการเป็นสัดขึ้นอยู่กับระยะของคอร์ปัส ลูเตียม ในวงรอบการเป็นสัด และระยะการพัฒนาของฟอลลิเคิลขณะที่เริ่มโปรแกรมการเหนี่ยวนำ (Chantaraprateep, 1987; Peters, 2005; De Rensis and Löpez-Gatius, 2006) ซึ่งพบว่าควรใช้ในระยะ 5 วันหลังเป็นสัดถึง 5 วัน ก่อนการเป็นสัดครั้งต่อไป (Chantaraprateep, 1987) จากการศึกษาการฉีดฮอร์โมน PGF2α ครั้งเดียว (single dose) สามารถเหนี่ยวนำการเป็นสัดภายใน 48-144 ชั่วโมงหลังฉีด (Brito *et al*., 2002) ส่วนการฉีดฮอร์โมน PGF2α 2 ครั้ง (double dose) ระยะห่างกัน 11-14 วัน พบว่าสามารถเหนี่ยวนำการตกไข่ภายใน 4-5 วันหลังฉีดฮอร์โมนครั้งที่ 2 (Williams *et al*., 1984) และอาจใช้การผสมเทียมแบบกำหนดเวลาร่วมด้วยได้ (Chantaraprateep, 1987) อย่างไรก็ตามการรายงานของ Peters (2005) พบว่าการผสมเทียมที่สังเกตพบอาการเป็นสัดหลังฉีดฮอร์โมน PGF2α ให้ผลอัตราการตั้งท้องดีกว่าการผสมเทียมแบบกำหนดเวลาหลังการฉีดฮอร์โมน PGF2α 2 ครั้ง ผลของอัตราการตั้งท้องจากการใช้โปรแกรมนี้จากการศึกษาในกระบือ แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องในกระบือภายหลังการใช้โปรแกรมฮอร์โมนพรอสตาแกลนดินในรูปแบบต่างๆ

โปรแกรม	อัตราการตั้งท้อง	เอกสารอ้างอิง
Single or double PGF2α treatment	25-81.2%	Chantaraprateep, 1987
	41.2% (n=17)	Demakarn *et al*.,1990
	50% (n=24)	Wei and Jea, 2006
	45-50%	De Rensis *et al*., 2005
	25% in non-breeding season	
Double PGF2α plus GnRH treatment	48%	De Rensis *et al*., 2005

3.1.2 การใช้โปรแกรมการใช้สารโปรเจสเตอโรนหรือโปรเจสตาเจน ซึ่งมีอยู่หลายรูปแบบ เช่น ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด ซึ่งมี 2 แบบ คือ PRID (Progesterone-Releasing Intravaginal Device) และ CIDR (Controlled Internal Drug Release) สารนอร์เจสโทเมท (norgestomet) ชนิดฝังใต้ผิวหนังบริเวณใบหู และสารมีเลนเจสทรอล อะซิเตท (melengestrol acetate; MGA) ชนิดให้กินผสมในอาหาร โดยในแต่ละรูปแบบมีความแตกต่างกันในแง่ของความสะดวกในการใช้และประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำ

การเป็นสัดและตกไข่ (Kornmatitsuk and Kornmatitsuk, 2006) อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ในกระบือค่อนข้างจำกัดเมื่อเทียบกับโปรแกรมที่ใช้ฮอร์โมน PGF2α (De Rensis and Löpez-Gatius, 2006) จากการศึกษาของ Revah and Butler (1996) พบว่าโดยปกติแล้วการให้สารโปรเจสเตอโรนในโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดมีระยะเวลาประมาณ 7-9 วัน หรือไม่เกิน 10-12 วัน เนื่องจากการให้สารดังกล่าวในระยะนาน 14-16 วัน อาจเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะการคงอยู่ของฟอลลิเคิล (persistent follicle) ส่งผลทำให้ไข่ (oocyte) ภายในฟอลลิเคิลมีคุณภาพลดต่ำลง จึงมีการใช้ฮอร์โมนชนิดอื่นร่วมในโปรแกรมด้วย อาทิเช่น ฮอร์โมนเอสตราไดออล เบนโซเอท ฮอร์โมนเอสตราไดออล วาลิเรท ฮอร์โมนเอสตราไดออล ไซพิโอเนต ฮอร์โมนเพรกเนนท์ แมร์ ซีรัม โกนาโดโทรปิน (Pregnant Mare Serum Gonadotropin; PMSG) และ ฮอร์โมน PGF2α เป็นต้น สามารถเหนี่ยวนำให้แสดงอาการเป็นสัดและเกิดการตกไข่หลังจากถอดสารโปรเจสเตอโรนประมาณ 43-117 ชั่วโมง (Rao and Sreemannarayanan, 1982) และ 40-96 ชั่วโมง (De Rensis and Löpez-Gatius, 2006)ตามลำดับ และอัตราการเหนี่ยวนำการเป็นสัดอยู่ระหว่าง 80-93% (Rao and Sreemannarayanan, 1982; Rajamahendran and Thamotharam, 1983; Barile *et al*., 2001) ขึ้นอยู่กับความแตกต่างในรายละเอียดของโปรแกรมต่างๆที่เลือกใช้ อัตราการตั้งท้องของโปรแกรมการใช้สารโปรเจสเตอโรนในรูปแบบต่างๆ แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องในกระบือภายหลังการใช้โปรแกรมสารฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในรูปแบบต่างๆ

โปรแกรม	อัตราการตั้งท้อง	เอกสารอ้างอิง
PRID®	27.8%	Chantaraprateep, 1987
PRID®+PMSG	48.5%	Chantaraprateep, 1987
	70.5% (n=17)	Presicce *et al*., 2005
PRID®+PGf2α+ PMSG	28.2% (n=117)	Neglia *et al*., 2003
CRESTAR®+PMSG	38.89% (n=36)	Vadhanakul *et al*., 1988
	37.68% (n=69)	Virakul *et al*., 1992

3.2 <u>การเหนี่ยวนำการเจริญและพัฒนาของฟอลลิเคิลและการตกไข่</u>

นิยมใช้ฮอร์โมนหลายชนิดร่วมกัน (De Rensis and Löpez-Gatius, 2006) แต่ที่นิยมมากที่สุดคือการใช้ GnRH ร่วมกับฮอร์โมน PGF2α จากข้อมูลการใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ในโคที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย De Araujo Berber และคณะ (2002) ได้นำมาใช้ศึกษาในกระบือลูกผสมระหว่างพันธุ์มูร่าห์กับพันธุ์เมดิเตอร์เรเนียนในประเทศบราซิล จำนวน 15 ตัว พบว่าอัตราการตกไข่มีค่า 93.3% ระยะห่างระหว่างฉีดฮอร์โมน GnRH ครั้งที่ 2 จนกระทั่งตกไข่เท่ากับ 26.5±9.6 ชั่วโมง โดยสังเกตการตกไข่ด้วยวิธีอัลตราซาวน์ทุก 6 ชั่วโมง หลังจากฉีดฮอร์โมน GnRH ครั้งที่ 2 จนกระทั่งไข่ตก ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับการศึกษาของ Paul and Prakash (2005) ในกระบือพันธุ์มูราห์ในประเทศอินเดียจำนวน 10 ตัว แล้วทำการล้วงตรวจคลำรังไข่หลังฉีด GnRH ครั้งที่ 2 ทุก 2 ชั่วโมง จนกระทั่งไข่ตกหรือครบ 96 ชั่วโมงหลังจากนั้น พบว่าอัตราการตกไข่และระยะห่างระหว่างฉีด GnRH ครั้งที่ 2 จนกระทั่งตกไข่เท่ากับ 90% และ 23±1.3 ชั่วโมง ตามลำดับ ปริมาณฮอร์โมนแอลเอชในกระแสเลือดสูงสุดที่ 1.2-3.0 ชั่วโมงหลังฉีด GnRH ครั้งที่ 2 สำหรับผลอัตราการตั้งท้องจากการใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ในแต่ละการศึกษาแสดงในตารางที่ 3 สิ่งสำคัญที่ทำให้การใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ประสบความสำเร็จคือการปรากฏฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ (dominant follicle ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร) ในเวลาเริ่มต้นฉีด GnRH ครั้งแรก (Vasconcelos *et al*., 1999; Thatcher *et al*., 2001; De Rensis *et al*., 2005) ซึ่งสามารถตรวจสอบโดยการอัลตราซาวนด์รังไข่ (De Rensis *et al*., 2005) หรือใช้การฉีดฮอร์โมน PGF2α 2 ครั้ง (double dose) ก่อนเข้าสู่โปรแกรมที่เรียกว่า “Co-synch” (Moreira *et al*., 2001) นอกจากนี้จากรายงานของ De Rensis and Löpez-Gatius (2006) ยังพบว่าลำดับท้อง (parity) เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการใช้โปรแกรมดังกล่าว ซึ่งพบว่าแม่กระบือที่มีลำดับท้องมากให้ผลดีกว่าแม่กระบือท้องแรก (51% และ 35% ตามลำดับ) อัตราการตั้งท้องหลังใช้โปรแกรม Ovsynch ทั้งการผสมเทียมด้วยการจับสัดและผสมเทียมแบบกำหนดเวลาไม่มีความแตกต่างกัน คือ 30% และ 33% ตามลำดับ (Paul *et al*., 2005) และจากการศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลการใช้โปรแกรม Ovsynch ระหว่างโคและกระบือของ De Rensis and Löpez-Gatius (2006) ได้แนะนำว่าควรผสมเทียมแบบกำหนดเวลา ในช่วงระหว่างชั่วโมงที่ 12-24 หลังจากฉีด GnRH ครั้งที่ 2

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องในกระบือภายหลังการใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ในรูปแบบต่างๆ

โปรแกรม	อัตราการตั้งท้อง	เอกสารอ้างอิง
GnRH+ PGF2α+ GnRH	36.0% (n=111) (3 mts)	Neglia *et al*., 2003
	40.9% (n=44) (25-30d)	Presicce *et al*., 2005
	34.0% (n= 243) (40d)	Campanile *et al*., 2005
	56.5% (n=154) (30d)	De Araujo Berber *et al*., 2002
GnRH+ PGf2α+ LH	64.2% (n=151) (30d)	De Araujo Berber *et al*., 2002

4. การใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในโค

ได้มีรายงานการศึกษาการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา(Ovsynch-TAI) ในโคจากหลายพื้นที่ในโลกเป็นจำนวนมาก ซึ่งมีวัตถุประสงค์การใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI หลายประการ ได้แก่ การแก้ไขปัญหาโคไม่เป็นสัดหลังคลอด การลดระยะวันท้องว่าง (days open) และระยะห่างระหว่างการคลอด (calving interval) การรักษาภาวะถุงน้ำในรังไข่ (cystic ovary) การลดปัญหาแรงงานในการจับสัดเพื่อผสมเทียม การจัดการผสมเทียมและประสิทธิภาพทางระบบสืบพันธุ์ของฝูงในฤดูกาลที่พบว่ามีอัตราการผสมติดต่ำ เป็นต้น (Mialot *et al*., 1999; De Jarnette and Marshall, 2003; Baruselli *et al*., 2004; Crane *et al*., 2006; Sakase *et al*., 2007) ในโคพบว่าโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่รูปแบบนี้ได้รับการพัฒนาอย่างมาก มีการใช้ในหลายรูปแบบ ให้ผลดี และได้รับการยอมรับสูง โดยโปรแกรม Ovsynch-TAI เป็นโปรแกรมพื้นฐานที่นิยมใช้ในโค (Kornmatitsuk and Kornmatitsuk, 2006) เริ่มจากการฉีด GnRH ครั้งแรก ซึ่งส่งผลให้ฮอร์โมนแอลเอชสูงขึ้นเพื่อทำให้เกิดการตกไข่ของฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ และเหนี่ยวนำให้เกิดการเจริญพัฒนาของฟอลลิเคิลชุดใหม่พร้อมกัน (Thatcher *et al*., 1989; Thatcher *et al*., 1993; Wolfenson *et al*., 1994; Xu *et al*., 2000b) หลังจากนั้น 7 วัน จึงฉีดฮอร์โมน PGF2α เพื่อสลายคอร์ปัส ลูเตียมที่อยู่ตามธรรมชาติ หรือคอร์ปัส ลูเตียม ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วย GnRH ในครั้งแรก จากนั้น 48 ชั่วโมงต่อมาจะฉีด GnRH ครั้งที่ 2 เพื่อเหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ที่ระยะ 24-32 ชั่วโมงถัดมา ทำให้สามารถทำการผสมเทียมที่ 16 ชั่วโมงหลังฉีด GnRH ครั้งที่ 2 โดยไม่จำเป็นต้องสังเกตอาการเป็นสัด (Pursley *et al*.,1995) อย่างไรก็ตามการศึกษาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในแม่โคที่เคยให้ลูกซึ่งพบว่าได้ผลดี แตกต่างจากโคสาวซึ่งพบว่าประสิทธิภาพของโปรแกรม Ovsynch-TAI ค่อนข้างต่ำมาก (Pursley *et al*., 1995; Schmitt *et al*., 1996) ส่วนการศึกษาของ Tenhagen และคณะ (2004) ถึงอัตราการตั้งท้องของโคนมที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ใน

ประเทศเยอรมัน พบว่าอัตราการผสมติดจากการผสมครั้งแรกหลังคลอดในแม่โคให้ลูกตัวแรกสูงกว่าแม่โคให้ลูกหลายตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ 37.9% และ 31.6% ตามลำดับ การเปรียบเทียบผลการตรวจการตั้งท้องของแม่โคนมที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ในประเทศอุรุกวัย โดยตรวจหาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำนมของวันที่ 20 หลังจากผสมเทียม เทียบกับการตรวจท้องจากการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก 45 วันหลังผสมเทียม พบว่ามีความแตกต่างของอัตราการตั้งท้องเป็น 33.3% และ 20% ตามลำดับ ซึ่งอาจมีการตายของตัวอ่อนในระยะแรกเกิดขึ้นได้ (Cavestany *et al*., 2003) อัตราการตั้งท้องของการใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI รูปแบบต่างๆในโค แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องในโคภายหลังการใช้โปรแกรม Ovsynch-TAIในรูปแบบต่างๆ

โปรแกรม	อัตราการตั้งท้อง	เอกสารอ้างอิง
GnRH+ PGF2α+ GnRH	36.1% (n=97) (50 d)	Mialot *et al*., 1999
	48.6% (n=35) (45 d)	Sakase *et al*., 2005
	28.1% (n=231) (100d)	Cavestany *et al*., 2003
	30.0% (n= 30)	วีระศักดิ์ และปราจีน, 2543
	29% (n=175) (100d)	De Jarnette and Marshall, 2003
	15.0% (n=100)	Baruselli *et al*., 2004
	30.6% (n=186) (43 d)	Tenhagen *et al*., 2001
Ovsynch + CIDR	67.7% (n=31) (45 d)	Sakase *et al*., 2005

5. การตรวจการตั้งท้องในกระบือ

โดยปกติกระบือมีระยะการตั้งท้องประมาณ 300 – 340 วัน การวินิจฉัยการตั้งท้องนั้นสิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงคือ ต้องมีความแม่นยำสูง ราคาไม่แพง สามารถทำได้ง่ายและสะดวก ให้ผลการตรวจทันทีเพื่อหลีกเลี่ยงการตรวจซ้ำ และวิธีการที่ใช้ตรวจนั้นไม่ควรที่จะรบกวนขบวนการตั้งท้องเพราะอาจทำให้เกิดการแท้งได้ (Chantaraprateep, 1987) การตรวจท้องในกระบือมีหลายวิธี ได้แก่

5.1 การล้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก (rectal palpation)

สามารถตรวจได้หลังผสม 2 เดือนเป็นต้นไป ซึ่งปฏิบัติตามวิธีการที่ใช้กันทั่วไปเป็นลำดับขั้นตอน โดยเริ่มต้นจากการล้วงตรวจลักษณะปากมดลูก คอมดลูก ปีกมดลูกแต่ละข้างจนสุดปลาย เพื่อตรวจหาความแตกต่างของขนาดปีกมดลูกทั้งสองข้างในกรณีที่ตั้งท้องในระยะแรกๆ จากนั้นตรวจหาลักษณะ กระเพื่อมน้ำ (fluctuation) การเลื่อนหลุดของมดลูกและถุงหุ้มตัวอ่อน (slipping membrane) ปุ่มจากการเกาะระหว่างรกและมดลูก (placentomes) การเด้งกลับของลูก (foetal bump) คลำรังไข่แต่ละข้างเพื่อตรวจหาคอร์ปัส ลูเตียม ตลอดจนเส้นเลือดที่เลี้ยงมดลูก (middle uterine artery) ทั้งสองข้างเพื่อแยกความแตกต่างของด้านที่ตั้งท้องออกจากด้านที่ไม่ตั้งท้อง สำหรับการประมาณอายุของตัวอ่อนที่ 2 เดือน จะพบว่า รังไข่ด้านที่ท้องพบคอร์ปัส ลูเตียม ปีกมดลูกมีทั้งสองข้างมีขนาดไม่เท่ากัน ข้างที่ท้องจะมีขนาดเพิ่มขึ้น พบลักษณะกระเพื่อมน้ำ การเลื่อนหลุดของมดลูกและถุงหุ้มตัวอ่อน (พีระศักดิ์ และคณะ, 2523a; สุวรรณา และคณะ, 2526)

5.2 การตรวจวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (progesterone analysis)

มีรายงานการวิจัยตรวจหาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนด้วยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ (RIA) ในกระบือครั้งแรกในปี ค.ศ. 1976 (Kamonpatana *et al*., 1976) ซึ่งสามารถนำมาใช้ศึกษาสถานภาพของระบบสืบพันธุ์ของกระบือได้ จากการศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจท้องในระยะ 24 วันหลังผสมด้วยวิธีดังกล่าวพบว่า ระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาในกระบือไม่ท้องและกระบือท้องเท่ากับ <0.3 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ > 0.75 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากการศึกษาในโคพบว่าระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ลดลงต่ำกว่าระดับที่สามารถมีการคงอยู่ของการตั้งท้องได้นั้น เป็นสาเหตุหนึ่งที่บ่งบอกถึงการตายของตัวอ่อน (embryonic mortality) (Mann *et al*., 1998; Mann and Lamming, 1999; Mann and Lamming, 2001) สอดคล้องกับกระบือซึ่งมีการศึกษาในกระบือพันธุ์เมดิเตอร์เรเนียนประเทศอิตาลีจำนวน 243 ตัว เหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่ด้วยโปรแกรม Ovsynch-TAI และตรวจระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังผสมในวันที่ 10 และ 20 พบว่า กระบือที่ท้องจะมีระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูงกว่ากระบือที่มีการตายของตัวอ่อนในระยะดังกล่าว (Campanile *et al*., 2005) Leenauraksa และคณะ (1979) พบว่า ในวันที่ทำการผสมระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาจะอยู่ในระดับต่ำประมาณ 0.16±0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้น 24 วัน และ 30 วัน กระบือที่ผสมติดจะมีระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนโดยเฉลี่ย 1.81±0.92 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 2.05±1.08 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่ง Kamonpatana และคณะ (1980) ได้ทำการศึกษาในขณะที่กระบือตั้งท้องระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาจะคงที่อยู่ในระดับสูง โดยเฉลี่ย 1.47±0.23 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และลดลงทันทีในวันคลอดจนถึงระดับปกติ

5.3 การตรวจท้องด้วยคลื่นความถี่สูง (ultrasonography)

การนำเครื่องอัลตราซาวนด์มาใช้เกี่ยวกับระบบสืบพันธุ์ เริ่มมีการใช้ครั้งแรกในแกะโดยนำมาใช้ในการตรวจท้อง และนับจำนวนลูกอ่อน (Russel and Goddard, 1995) นิยมใช้เครื่องอัลตราซาวนด์ชนิดเรียลไทม์ บีโหมด ในการศึกษาระบบสืบพันธุ์ทางสัตวแพทย์ (Boyd and Omran, 1991) Boyd และคณะ (1990) รายงานว่าความแม่นยำในการตรวจในช่วงก่อน 20 วันแรกจะต่ำ ในกระบือ Pawshe และคณะ (1994) ได้ทำการตรวจท้องระยะแรก สามารถพบส่วนของลูกอ่อน (embryonic proper) ได้ในประมาณวันที่ 20 หลังการผสมและยังพบการเต้นของหัวใจได้ประมาณวันที่ 30 ถ้าพบขาหน้า ขาหลัง ประมาณได้ว่าตัวอ่อนนั้นมีอายุประมาณ 30-60 วัน ถ้าพบการเคลื่อนไหวของตัวอ่อนประมาณได้ว่าอายุของตัวอ่อนประมาณ 50 วัน หากพบกระดูกซี่โครงและกระดูกสันหลังประมาณได้ว่าตัวอ่อนมีอายุประมาณ 60 วัน

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

โครงการวิจัยนี้เป็นการร่วมมือกันจาก 3 หน่วยงาน คือ กรมปศุสัตว์ บริษัท เครือเจริญโภคภัณฑ์ จำกัด (มหาชน) และจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยมีหน้าที่รับผิดชอบดังนี้คือ

กรมปศุสัตว์ สนับสนุนเจ้าหน้าที่เพื่อติดต่อเกษตรกรและส่งเสริมโครงการวิจัย

บริษัท เครือเจริญโภคภัณฑ์ จำกัด (มหาชน) โครงการอนุรักษ์และพัฒนาควายไทยได้สนับสนุนพ่อกระบือปลักไทยพันธุ์ดีที่ชนะการประกวดพ่อพันธุ์กระบือปลักระดับประเทศ เพื่อรีดเก็บน้ำเชื้อและผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งสำหรับใช้ในโครงการและสนับสนุนเจ้าหน้าที่ส่งเสริมโครงการวิจัย

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ นิสิตปริญญาโท 1 คน รับผิดชอบการวางแผนโครงการวิจัย ทำการวิจัย ประสานงานแต่ละหน่วยงาน การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ รวบรวมข้อมูล และรายงานผล

รูปแบบการวิจัย

การศึกษาเชิงคลินิก (clinical study)

ระยะเวลาดำเนินงานวิจัย

12 เดือน

สถานที่ทำการวิจัย

1. ห้องปฏิบัติการภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
2. ศูนย์อนุรักษ์และพัฒนาควายไทย อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี
3. ฟาร์มเกษตรกรผู้เลี้ยงกระบือรายย่อยในเขตจังหวัดชลบุรี

ประชากร

คัดเลือกกระบือเพศเมียท้องว่าง จำนวน 95 ตัว จากกระบือที่ได้รับการสำรวจทั้งหมด 240 ตัว โดยการสุ่มตัวอย่าง จากฟาร์มเกษตรกรรายย่อยทั้งหมด 42 ราย ในเขตพื้นที่จังหวัดชลบุรี อำเภอบ้านบึง อำเภอพนัสนิคม อำเภอพานทอง และกิ่งอำเภอเกาะจันทร์ ดังแสดงในรูปที่ 3 ที่ให้ความร่วมมือในการวิจัย ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2549 ถึงเดือนพฤษภาคม 2550 ซึ่งมีรูปแบบการเลี้ยงโดยปล่อยแปลงหญ้าในท้องถิ่นร่วมกับการให้ฟางในช่วงกลางวัน และผูกในบริเวณบ้านหรือโรงเรือนในช่วงกลางคืน และต้องเป็นฟาร์มที่ไม่มีพ่อพันธุ์คุมฝูง โดยกำหนดให้มีคุณสมบัติก่อนคัดเลือกเข้าสู่กลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ดังนี้

1. กระบือสาวมีอายุตั้งแต่ 3 ปีขึ้นไป (ตรวจอายุด้วยการดูฟัน)
2. แม่กระบือหลังคลอดตั้งแต่ 60 วันขึ้นไป
3. คัดเลือกเฉพาะพันธุ์กระบือปลักไทย
4. สุขภาพสมบูรณ์แข็งแรงไม่มีประวัติป่วยหรือมีความผิดปกติทางระบบสืบพันธุ์
5. มีความสมบูรณ์พันธุ์และมีวงรอบการเป็นสัดโดยผ่านการตรวจความสมบูรณ์ของระบบสืบพันธุ์ด้วยการล้วงตรวจและอัลตราซาวน์ลักษณะมดลูกและรังไข่ก่อนคัดเลือกเข้าสู่การทดลองอย่างน้อย 1 สัปดาห์
6. บันทึกประวัติกระบือ ได้แก่ อายุ สถานภาพทางระบบสืบพันธุ์ จำนวนวันท้องว่าง ลำดับท้อง จำนวนกระบือที่เลี้ยงในฟาร์ม และลักษณะการเลี้ยง (เจ้าของเลี้ยงเองหรือจ้างเลี้ยง)

ในวันที่เข้าสำรวจฟาร์มครั้งแรก กระบือทุกตัวจะได้รับการดูแลสุขภาพโดยการถ่ายพยาธิ และให้วิตามินแร่ธาตุบำรุง เพื่อเตรียมสภาพร่างกายให้พร้อมก่อนทำการศึกษา

ทำการคัดเลือกกระบือเข้าสู่กลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง โดยมีหลักเกณฑ์ ดังนี้

(1) <u>กลุ่มควบคุม</u> สุ่มคัดเลือกกระบือเพศเมียที่ผ่านการกำหนดคุณสมบัติข้างต้นที่ได้รับการแจ้งผสมเทียมจากการเป็นสัดธรรมชาติ (conventional artificial insemination) ในช่วงระยะเวลาเดียวกันกับการศึกษาในกลุ่มทดลอง ผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อพันธุ์ตัวเดียวกับที่ใช้ในกลุ่มทดลอง พร้อมทั้งบันทึกข้อมูลอาการเป็นสัด

(2) <u>กลุ่มทดลอง</u> สุ่มคัดเลือกกระบือที่ตรวจพบฟอลลิเคิลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง มากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ด้วยเครื่องคลื่นความถี่สูง โดยไม่มีอาการเป็นสัด ณ วันเริ่มต้นโปรแกรม เข้าสู่โปรแกรม

รูปที่ 3 พื้นที่ทำการศึกษาในเขตจังหวัดชลบุรี

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. การตรวจอวัยวะสืบพันธุ์ด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์

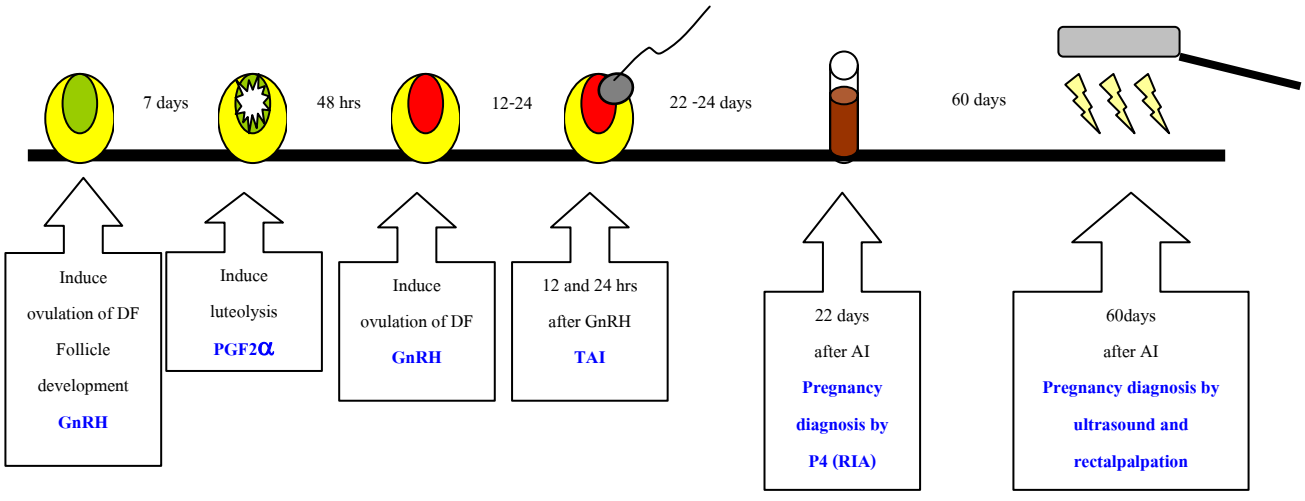
ทำการตรวจอวัยวะสืบพันธุ์ในกระบือปลักก่อนเข้าสู่โปรแกรมอย่างน้อย 1 สัปดาห์ และวันที่ 1 ของการเริ่มต้นโปรแกรม Ovsynch-TAI ด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์เคลื่อนที่ แบบเรียลไทม์ บี-โมด ความถี่ 7.5 เมกะเฮิร์ซ หัวโพรบชนิดไลเนียร์ (linear- array transducer) ดังรูปที่ 3 ด้วยผู้ตรวจคนเดียวกันตลอดการศึกษา บันทึกขนาดและลักษณะรังไข่ รวมถึงขนาดฟอลลิเคิล หรือคอร์ปัส ลูเตียม ในการตรวจครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 การศึกษานี้กระบือจะจัดว่ามีวงรอบการเป็นสัดต่อเมื่อพบว่ามีคอร์ปัส ลูเตียม และ/หรือฟอลลิเคิล ขนาด 5 มิลลิเมตรขึ้นไป ไม่ว่าจะเป็นครั้งแรกหรือครั้งที่ 2 ห่างกันอย่างน้อย 1 สัปดาห์ และหากพบฟอลลิเคิลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ในการตรวจครั้งที่ 2 จะจัดเข้าสู่กลุ่มทดลองเพื่อเข้าสู่โปรแกรม Ovsynch-TAI ส่วนกระบือตัวใดที่ยังไม่พบฟอลลิเคิลตามเกณฑ์ดังกล่าวจะจัดอยู่ในกลุ่มควบคุมเพื่อรอให้เป็นสัดธรรมชาติ และเจ้าของกระบือจะทำการแจ้งเจ้าหน้าที่เพื่อผสมเทียม

รูปที่ 4 การตรวจคัดเลือกกระบือในภาคสนามด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์แบบเคลื่อนที่เพื่อตรวจอวัยวะสืบพันธุ์

2. การเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในกลุ่มทดลอง

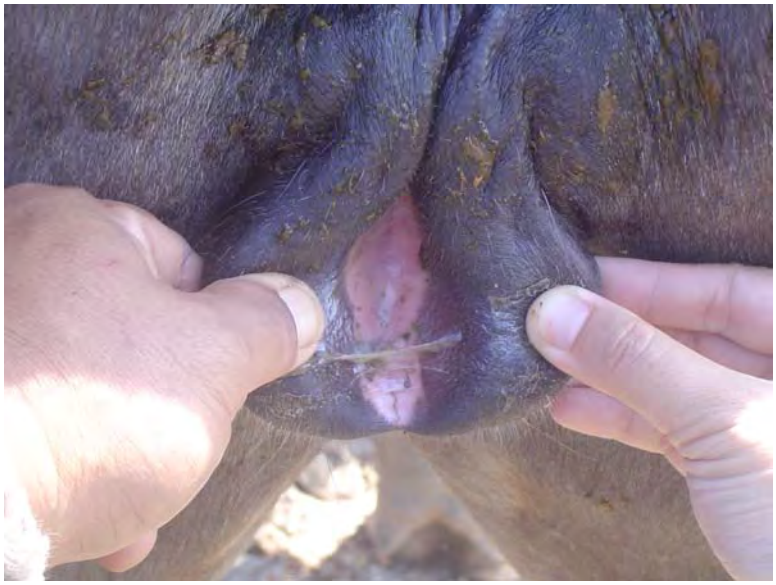
คัดเลือกกระบือที่ตรวจพบฟอลลิเคิลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง มากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร โดยไม่มีอาการเป็นสัด ณ วันเริ่มต้นโปรแกรม ดังรูปที่ 4 จะถูกจัดเข้าสู่โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (Ovsynch-TAI) ดังรูปที่ 5 โดยฉีด GnRH 10 ไมโครกรัม (buserelin acetate) ในวันที่ 0 และ 9 ฉีดฮอร์โมน PGF2α 500 ไมโครกรัม (cloprostenol) ในวันที่ 7 โดยผลิตภัณฑ์ฮอร์โมนที่ใช้แสดงในรูปที่ 6 จากนั้นกระบือทุกตัวจะได้รับการผสม ในชั่วโมงที่ 12±4 และ 24±4 หลังฉีด GnRH ครั้งที่ 2 ในกลุ่มทดลอง ด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งคุณภาพดีซึ่งมีอัตราการเคลื่อนที่รายตัวหลังจากแช่แข็ง (individual motility) 60% จากพ่อพันธุ์ตัวเดียวกัน โดยเป็นพ่อพันธุ์ที่ได้เลี้ยงไว้ที่ศูนย์อนุรักษ์และพัฒนาควายไทย เครือเจริญโภคภัณฑ์ จังหวัดชลบุรี และทำการผสมเทียม ทำการจดบันทึกเวลาและผู้ปฏิบัติงานทุกขั้นตอนของโปรแกรม และสังเกตพร้อมกับจดบันทึกลักษณะอาการเป็นสัดขณะผสมเทียม ได้แก่ อวัยวะเพศบวมแดง มีเมือกใสไหลจากช่องคลอด สัตว์ยืนนิ่ง มดลูกหดเกร็ง และสามารถสอดปืนผสมเทียมผ่านเข้าบริเวณปากมดลูกได้ (cervix) แสดงดังรูปที่ 7

รูปที่ 5 ลักษณะฟอลลิเคิลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง มากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร จากการตรวจด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์



รูปที่ 6 โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (Ovsynch-TAI) ดัดแปลงจาก Paul, V. and Prakash, 2005 และ De Rensis and Löpez-Gatius, 2006

รูปที่ 7 ผลิตภัณฑ์ฮอร์โมนที่ใช้ในโปรแกรม Ovsynch-TAI



รูปที่ 8 ลักษณะอาการเป็นสัดที่สามารถสังเกตเห็นขณะผสมเทียม ได้แก่ อวัยวะเพศบวมแดง มีเมือกใสบริเวณปากช่องคลอด

3. การจับสัดและการผสมเทียมจากการเป็นสัดธรรมชาติในกลุ่มควบคุม

กระบือเพศเมียที่ไม่ได้ถูกคัดเลือกให้อยู่ในกลุ่มทดลองจะรอให้เป็นสัดตามธรรมชาติ ซึ่งเจ้าของจะแจ้งต่อเจ้าหน้าที่ผสมเทียมเมื่อสังเกตพบว่ากระบือเป็นสัด โดยลักษณะอาการเป็นสัด

ในกระบือแต่ละตัวจะแตกต่างกันออกไป ซึ่งเจ้าของหรือผู้เลี้ยงจะสามารถสังเกตได้ด้วยตัวเอง ยกตัวอย่างเช่น กระบือกระวนกระวาย ไม่ค่อยกินอาหาร ถูกตัวอื่นปีนและยืนนิ่ง มีเมือกใสไหลออกมาจากช่องคลอด และอวัยวะเพศบวมแดง เจ้าหน้าที่ผสมเทียมจะเข้าฟาร์มเพื่อให้บริการผสมเทียมหลังจากได้รับแจ้งประมาณ 12 ชั่วโมง ตามรูปแบบที่กรมปศุสัตว์กำหนดไว้ ด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งพ่อพันธุ์กระบือปลักไทยตัวเดียวกันตลอดการศึกษา พร้อมสังเกตอาการเป็นสัดดังที่กล่าวมาในข้างต้น

อนึ่ง เจ้าหน้าที่ผสมเทียมที่ให้บริการในการศึกษาครั้งนี้มีจำนวนทั้งหมด 5 คน ซึ่งได้ผ่านการอบรมตามหลักสูตรการผสมเทียมของกรมปศุสัตว์และมีประสบการณ์ผสมเทียมมากกว่า 3 ปี

การวัดผล

พิจารณาจากผลของอัตราการผสมติดด้วยการตรวจหาระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน การตรวจด้วยเครื่องคลื่นความถี่สูง และการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

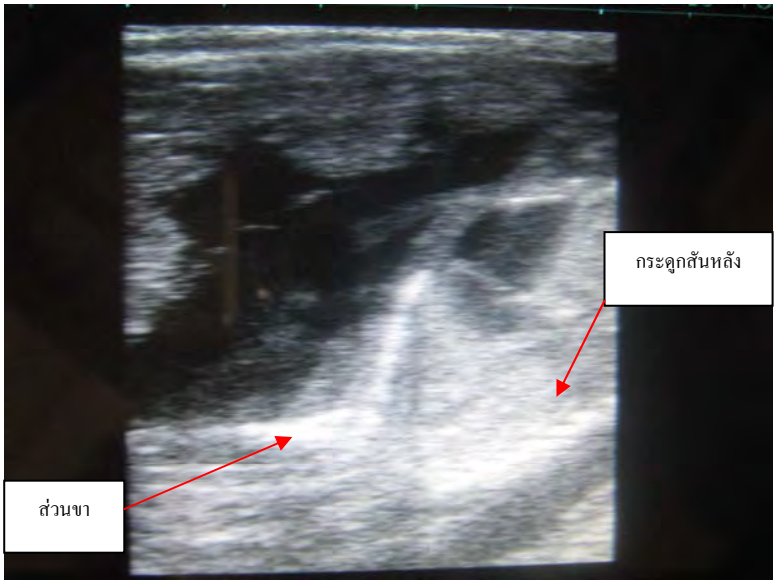
1. การตรวจวิเคราะห์ระดับโปรเจสเตอโรน

ทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมวันที่ 22-24 หลังผสม โดยเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณคอ (jugular vein) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ด้วยหลอดเก็บซีรัม (Monovette®) ดังรูปที่ 8 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 ชั่วโมง และแยกซีรัมด้วยเครื่องปั่นความเร็วสูง 3,000 รอบ 5 นาที เก็บซีรัมปริมาตร 1 มิลลิลิตร ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปแช่แข็งรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนด้วยวิธีเรดิโออิมมูโนเอสเสย์ ด้วยชุดตรวจระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสำเร็จรูป (Hegstad, 1992) ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กระบือที่คาดว่ามีการตั้งท้องจะมีระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในซีรัมมากกว่า 1.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงว่ามีคอร์ปัส ลูเตียม ในรังไข่ โดยการตรวจทางห้องปฏิบัติการในการศึกษานี้มีค่าความไว (sensitivity) 0.02 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าความจำเพาะ (specitivity) 100% และ Intra assay เท่ากับ 6.2%

2. การตรวจท้อง

ทำการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนักหลังผสมประมาณ 60 วัน และยืนยันผลการตรวจท้องด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์ ดังรูปที่ 9

รูปที่ 9 การเจาะเก็บตัวอย่างเลือดจากหลอดเลือดดำบริเวณคอกระบือ



รูปที่ 10 ผลการตรวจท้องด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์ในกระบือหลังการผสมประมาณ 2 เดือน พบปีกมดลูกมีช่องว่างสีดำซึ่งเป็นถุงน้ำหุ้มตัวลูก กระดูกสันหลัง และขาของลูก

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์อัตราการผสมติดจากการตรวจท้องด้วยวิธีการตรวจระดับโปรเจสเตอโรน การตรวจท้องด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ และ/หรือการตรวจท้องด้วยการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก ด้วยการหาค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบอัตราการผสมติดระหว่างกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุม และอัตราการผสมติดระหว่างกระบือสาวกับกระบือนาง ด้วยการทดสอบไค สแควร์ (χ^2- test) วิเคราะห์ข้อมูลกระบือในกลุ่มทดลองเพื่อหาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับอัตราการผสมติดด้วย วิธีโลจิสติก รีเกรสชัน (logistic regression analysis) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05) ด้วยโปรแกรม SPSS® โดยแบ่งระดับของปัจจัยต่างๆ ดังนี้

1. อายุ
   - ระดับ 1 หมายถึง อายุน้อยกว่า 5 ปี
   - ระดับ 2 หมายถึง อายุระหว่าง 5 – 10 ปี
   - ระดับ 3 หมายถึง อายุระหว่าง 10 – 15 ปี
2. ลำดับท้อง
   - ระดับ 1 หมายถึง ลำดับท้องที่ 0 (heifer)
   - ระดับ 2 หมายถึง ลำดับท้องที่ 1 (primiparus)
   - ระดับ 3 หมายถึง ลำดับท้องที่ 2 – 8 (multiparus)
3. ลักษณะการเลี้ยง
   - ระดับ 1 หมายถึง เจ้าของเลี้ยงเอง
   - ระดับ 2 หมายถึง จ้างคนเลี้ยง
4. สถานภาพ
   - ระดับ 1 หมายถึง แม่เลี้ยงลูก (suckling)
   - ระดับ 2 หมายถึง แม่หย่านมหรือกระบือสาว
5. การสอดผ่านของปืนผสมเทียมขณะผสม
   - ระดับ 1 หมายถึง สอดผ่านถึง internal os
   - ระดับ 2 หมายถึง สอดไม่ผ่านถึง internal os
6. จำนวนวันท้องว่าง
   - ระดับ 1 หมายถึง จำนวนวันท้องว่าง 2 - 6 เดือน
   - ระดับ 2 หมายถึง จำนวนวันท้องว่าง 6 - 12 เดือน
   - ระดับ 3 หมายถึง จำนวนวันท้องว่าง 12 - 24 เดือน

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

จากตารางที่ 5 แสดงถึงอัตราการผสมติดของกระบือกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง คือ 34.9% (15/43) และ 34.6% (18/52) ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.98)

ตารางที่ 5 ผลการเปรียบเทียบอัตราการผสมติดระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลองด้วยการทดสอบทางสถิติไค-สแควร์

กลุ่ม	จำนวนทั้งหมด (ตัว)	อัตราการผสมติด (ตัว)	ค่าการทดสอบไคสแควร์	*p*-value
กลุ่มควบคุม	43	34.9% (15)		
กลุ่มทดลอง	52	34.6% (18)	0.00	0.98

จากตารางที่ 6 แสดงผลการผสมเทียมในกระบือนางและกระบือสาวพบว่ามีการตั้งท้องหลังผสมเทียม 60 วัน ที่ตรวจด้วยการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนักและ/หรือยืนยันด้วยการตรวจด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์ พบว่ากระบือตั้งท้องจำนวน 15 ตัว (34.9%) โดยเป็นกระบือสาวจำนวน 6 ตัว (31.6%) และกระบือนางจำนวน 9 ตัว (37.5%) เมื่อทำการทดสอบถึงความสัมพันธ์หรือความแตกต่างระหว่างอัตราการผสมติดในกระบือสาวและกระบือนางในกลุ่มควบคุม พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.69) ดังแสดงในตารางที่ ในขณะที่ในกลุ่มทดลองพบว่าอัตราการเป็นสัดต่อโปรแกรม Ovsynch-TAI เท่ากับ 100% (43/43) ส่วนอัตราการผสมติดเท่ากับ 34.6% (18/52) เมื่อทดสอบความสัมพันธ์หรือความแตกต่างของอัตราการผสมติดระหว่างกระบือสาวและกระบือนางพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.07) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 17.6% (3/17) และ 42.9% (15/35) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่ามีแนวโน้มของความแตกต่างของอัตราการผสมติดในกระบือสาว

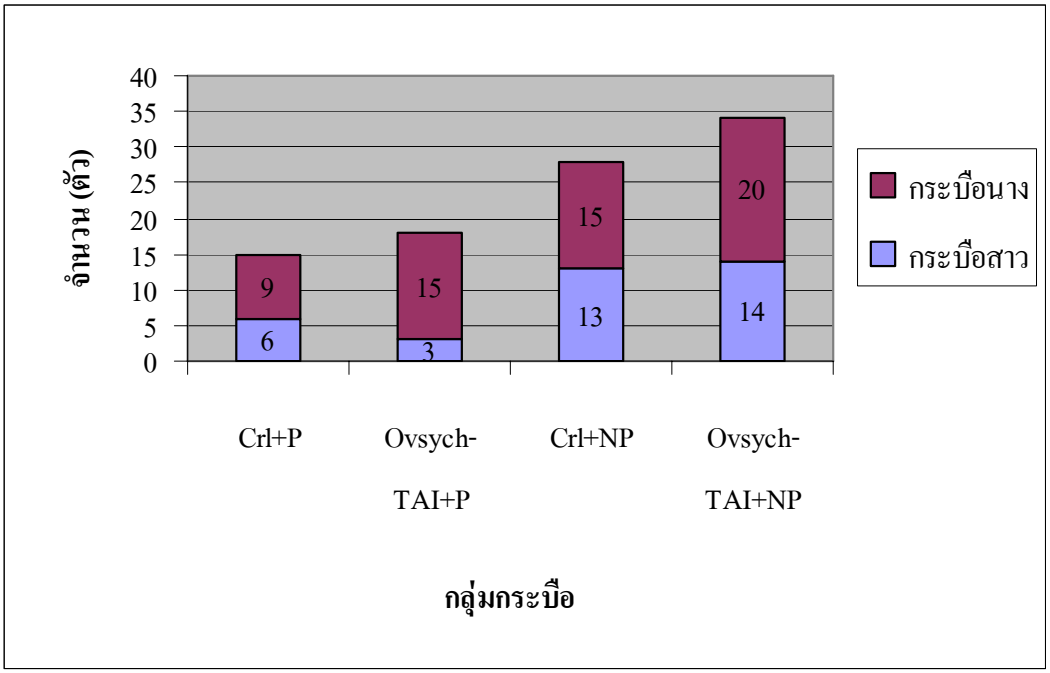
และกระบือนาง และรูปที่ 10 แสดงถึงอัตราการผสมติดของกลุ่มกระบือทั้ง 2 กลุ่มแยกระหว่างกระบือสาวและกระบือนาง พบว่าอัตราการผสมติดของกระบือนางมีแนวโน้มสูงกว่ากระบือสาวในกลุ่มกระบือทั้ง 2 กลุ่ม

ตารางที่ 6 ผลการเปรียบเทียบอัตราการผสมติดระหว่างกระบือสาวและกระบือนางในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง

กลุ่ม	จำนวนทั้งหมด (ตัว)	อัตราการผสมติด (ตัว)	ค่าการทดสอบไคสแควร์	*p*-value
กลุ่มควบคุม				
กระบือสาว	19	31.6% (6)	1.16	0.69
กระบือนาง	24	37.5% (9)		
กลุ่มทดลอง				
กระบือสาว	17	17.6% (3)	3.21	0.07
กระบือนาง	35	42.9% (15)		

ผลตรวจการตั้งท้องของกระบือกลุ่ม Ovsynch-TAI จำนวน 38 ตัว ที่สามารถเก็บตัวอย่างซีรัมได้ เมื่อตรวจด้วยระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจากซีรัม หลังการผสม 22-24 วัน พบว่ามีกระบือที่มีระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในซีรัม มากกว่า 1.0 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 12 ตัว โดยค่าเฉลี่ยของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในซีรัมเท่ากับ 2.0±0.9 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อตรวจด้วยวิธีล้วงตรวจผ่านทางทวารหนักและ/หรือเครื่องอัลตราซาวนด์ที่ 60 วันหลังผสม พบว่าการตายของตัวอ่อนเท่ากับ 7.9% (3/38) ส่วนกลุ่มควบคุมที่ตรวจพบว่าตั้งท้องจากกการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนักและ/หรือเครื่องอัลตราซาวนด์ไม่สามารถเก็บตัวอย่างเลือดหลังผสม 22-24 วันได้ เนื่องจากอุปสรรคในการติดต่อประสานงานระหว่างผู้ปฏิบัติงานและเจ้าของกระบือ

อัตราการคลอดของกระบือกลุ่มทดลอง Ovsynch-TAI มีค่าเท่ากับ 100% (18/18) เช่นเดียวกันกับอัตราการคลอดของกลุ่มควบคุม ที่มีค่าเท่ากับ 100% (15/15) โดยตัวอย่างลูกกระบือที่คลอดจากแม่กระบือที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI และลูกกระบือที่คลอดจากแม่กระบือที่ผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ แสดงดังรูปที่ 11



รูปที่ 11 จำนวนกระบือท้องและไม่ท้องของกระบือทั้ง 2 กลุ่ม แยกระหว่างกระบือสาวและกระบือนาง

Crl+P หมายถึง กระบือกลุ่มควบคุมและท้อง

Ovsynch-TAI+P หมายถึง กระบือกลุ่มทดลองและท้อง

Crl+NP หมายถึง กระบือกลุ่มควบคุมและไม่ท้อง

Ovsynch-TAI+NP หมายถึง กระบือกลุ่มทดลองและไม่ท้อง

รูปที่ 12ตัวอย่างลูกกระบือที่คลอดจากแม่กระบือที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI (ก) และลูกกระบือที่คลอดจากแม่กระบือที่ผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ (ข)

ข้อมูลต่างๆ ของกระบือ ได้แก่ จำนวนวันท้องว่าง อายุ ลำดับท้อง ลักษณะการเลี้ยง สถานะแม่กระบือ และการสอดผ่านของปืนผสมเทียม เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ระยะห่างระหว่างคลอดถึงผสม เป็นปัจจัยหนึ่งที่สัมพันธ์ต่ออัตราการผสมติดของกระบือที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (p=0.03) ซึ่งหากกระบือมีระยะห่างระหว่างคลอดถึงผสมที่นานขึ้นจะส่งผลให้อัตราการผสมติดเพิ่มขึ้น (OR = 1.13) ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติถึงปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับอัตราการผสมติดในกลุ่มกระบือที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI (logistic regression analysis)

ปัจจัย	*p*-value	Odd ratio	95% C.I. for OR	
			Lower	Upper
จำนวนวันท้องว่าง	0.03	1.13	1.01	1.27
การสอดผ่านของปืนผสมเทียม	0.15	4.96	0.56	44.10
สถานะแม่กระบือ	0.12	0.26	0.05	1.44
ลักษณะการเลี้ยง	0.28	1.99	0.58	6.86
อายุ	0.50	1.36	0.56	3.33
ลำดับท้อง	0.24	0.76	0.49	1.20

บทที่ 5

อภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้พบว่าอัตราการผสมติดของกระบือกลุ่มทดลองโปรแกรม Ovsynch-TAI เท่ากับ 34.6% (18/52) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุมที่ได้ทำการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติซึ่งมีค่าเท่ากับ 34.9% (15/43) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Paul และ Prakash (2005) ได้ทำการศึกษาในกระบือมูราห์ประเทศอินเดีย พบว่าอัตราการตั้งท้องของกระบือที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ไม่แตกต่างจากกระบือผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 33.3% (5/15) และ 30.7% (23/75) (p=0.84) อย่างไรก็ตาม Warriach และคณะ (2008) ได้รายงานการศึกษาในกระบือนิลิ-ราวิ ซึ่งเป็นกระบือนมในประเทศปากีสถาน พบว่าอัตราการตั้งท้องในช่วงฤดูกาลผสมพันธุ์ในกลุ่มกระบือที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI เท่ากับ 36.3% (8/22) และกลุ่มกระบือที่ผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ เท่ากับ 62.5% (25/40) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (p<0.05) สอดคล้องกับการศึกษาในโคในบางรายงาน พบว่าอัตราการตั้งท้องของโปรแกรม Ovsynch-TAI ต่ำกว่าอัตราการตั้งท้องในโคที่ได้รับการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ (Ryan *et al*., 1995; Xu *et al*., 2000a)

ถึงแม้ว่าประเทศไทยจะมีการส่งเสริมให้มีการผสมเทียมในกระบือมานานกว่า 50 ปีแต่ยังไม่มีรายงานข้อมูลสถิติอัตราการผสมติดจากการผสมเทียมของกระบือในประเทศไทย สาเหตุอาจเนื่องมาจากลักษณะการเลี้ยงกระบือของเกษตรกรมักจะเลี้ยงปล่อยแปลงหญ้าตามทุ่งนาในช่วงเช้าและเย็นนอกเหนือจากเวลาการใช้งานในไร่นา ซึ่งเป็นโอกาสที่กระบือของเกษตรกรแต่ละฝูงได้มาพบกัน โดยฝูงที่มีพ่อกระบือคุมฝูงก็จะทำการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติซึ่งเป็นวิธีการที่ง่ายและสะดวกต่อเกษตรกร อีกทั้งยังทำให้มีอัตราการผสมติดที่สูงอีกด้วย โดยสังเกตได้จากจำนวนการให้ลูก 2 ตัวภายใน 3 ปี อย่างไรก็ตามในฝูงกระบือดังกล่าวพบว่ามีปัญหาการผสมเลือดชิดเกิดขึ้น ทำให้ลูกที่ได้แคระแกร็น ลักษณะรูปร่างผิดปกติ อีกทั้งเกษตรกรต้องรับภาระในการเลี้ยงดูพ่อพันธุ์กระบือซึ่งควบคุมยาก หากจะนำมาใช้แรงงานต้องทำการตอนก่อน จากผลการศึกษาในกลุ่มควบคุมที่ได้ทำการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติอยู่ในเกณฑ์ที่ค่อนข้างใกล้เคียงกับอัตราการผสมติดจากการผสมเทียมในโคนมภายในประเทศในปี พ.ศ. 2547 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 40.48% (สำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์, 2551) แต่การผสมเทียมจำเป็นต้องอาศัยการจับสัดและกำหนดเวลาผสมให้ถูกต้องแม่นยำที่สุด ดังนั้นการใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ในกระบือจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ให้อัตราการผสมติดไม่แตกต่างจาก

การผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติโดยไม่ต้องกังวลถึงการจับสัด สามารถกำหนดช่วงเวลาผสมในแต่ละปีได้อย่างที่เกษตรกรต้องการ อีกทั้งลดระยะห่างระหว่างคลอดจนถึงผสมและลดจำนวนวันท้องว่าง ทำให้กระบือสามารถผลิตลูกได้จำนวนที่มากขึ้นในช่วงชีวิต โดยการลงทุนใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ตามรูปแบบงานวิจัยนี้ เมื่อคิดต้นทุนฮอร์โมนทั้งหมด มีมูลค่าเท่ากับ 600 บาทต่อตัว เมื่อเปรียบเทียบกับประโยชน์ที่จะได้รับแล้วจัดว่ามีความคุ้มค่าในการลงทุนโปรแกรมดังกล่าวในฟาร์มเกษตรกร

อัตราการผสมติดของกระบือปลักไทยที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ของการศึกษานี้พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาลักษณะเดียวกันในกระบือแม่น้ำในประเทศต่างๆ ได้แก่ กระบือเมดิเตอร์เรเนียน ในประเทศอิตาลี ที่มีอัตราการตั้งท้องเท่ากับ 34% (Campanile *et al*., 2005) 35.7% (De Rensis *et al*., 2005) 36% (Neglia *et al*., 2003) และ 40.9% (Presicce *et al*., 2005) กระบือมูราห์ในประเทศอินเดีย มีอัตราการตั้งท้องเท่ากับ 33.3% (Paul และ Prakash, 2005) กระบือนิริ-ราวิ ในประเทศปากีสถานมีอัตราการตั้งท้องเท่ากับ 36.3% ในช่วงฤดูผสมพันธุ์ และ 30.4% นอกช่วงฤดูผสมพันธุ์ (Warriach *et al*., 2008) แตกต่างจากรายงานของ De Araujo Berber และคณะ (2002) ได้ศึกษาในกระบือเนื้อพันธุ์ผสมระหว่างพันธุ์เมดิเตอร์เรเนียนและพันธุ์มูราห์ พบว่ามีอัตราการผสมติดเท่ากับ 56.5% ซึ่งมีอัตราการผสมติดสูงกว่าการศึกษาในครั้งนี้

ก่อนหน้านี้ได้มีการศึกษาการใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ในโคกันอย่างแพร่หลาย มีรายงานการศึกษาในแม่โคนมหลังคลอดจำนวน 30 ตัว ในประเทศไทย พบว่าอัตราการผสมติดมีค่าเท่ากับ 30% (วีระศักดิ์ และปราจีน, 2543) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาในครั้งนี้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Mialot และคณะ (1999) พบว่าอัตราการตั้งท้องเท่ากับ 36.1% ในแม่โคนมประเทศฝรั่งเศส นอกจากนี้ยังมีรายงานอัตราการตั้งท้องที่มีค่าใกล้เคียงกันในโคนมจากการศึกษาอื่น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 28.1% และ 29% (Cavestany *et al*., 2003; De Jarnette and Marshall, 2003) อย่างไรก็ตามมีรายงานของ Sakase และคณะ (2005) ที่ศึกษาโปรแกรม Ovsynch-TAI ในโคเนื้อประเทศญี่ปุ่น พบว่ามีอัตราการผสมติดเท่ากับ 48.6% ซึ่งสูงกว่าอัตราการผสมติดในการศึกษาปัจจุบัน แตกต่างจากรายงานของ Baruselli และคณะ (2004) ได้ผลการศึกษาอัตราการตั้งท้องในแม่โคนมที่ต่ำกว่าการศึกษาอื่นๆ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 15%

มีรายงานการวิจัยหลายรายงานที่ปรับเปลี่ยนรูปแบบของโปรแกรม Ovsynch-TAI เพื่อให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอดหรือชนิดกินระหว่างวันที่เริ่มฉีด GnRH เข็มแรก จนกระทั่งถึงวันที่ฉีดฮอร์โมน PGF2α จึงถอดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนออกจากช่องคลอดหรือหยุดกิน ตัวอย่างรายงานการใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนร่วมกับโปรแกรม Ovsynch-TAI ได้แก่ งานวิจัยของ Cavestany และคณะ

(2003) ได้มีการใช้ Ovsynch-TAI ร่วมกับเมดรอกซีโปรเจสเตอโรน อะซิเตต ในโคที่ไม่แสดงอาการเป็นสัดหลังคลอด สามารถทำให้เพิ่มอัตราการตั้งท้องได้สูงกว่าโคที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (34.9% และ 11.1% ตามลำดับ) สอดคล้องกับการศึกษาของ De Rensis และคณะ (2005) ที่ได้นำ PRID® ซึ่งเป็นฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนอีกรูปแบบหนึ่ง มาศึกษาในกระบือเมดิเตอเรเนียนที่ไม่มีวงรอบการเป็นสัด พบว่าอัตราการผสมติดในกลุ่ม Ovsynch-TAI+PRID® มีค่าเท่ากับ 30% ซึ่งมีค่าสูงกว่ากลุ่ม Ovsynch-TAI (4.7%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p=0.04) แต่จากรายงานของการศึกษาทั้ง 2 รายงาน พบว่าไม่มีความแตกต่างของอัตราการตั้งท้องหรืออัตราการผสมติดของทั้ง 2 กลุ่มเมื่อนำมาใช้กับสัตว์ที่มีวงรอบเป็นปกติ

การศึกษาในครั้งนี้พบว่า อัตราการผสมติดในกระบือสาวและกระบือนางในกลุ่มที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีแนวโน้มว่าอัตราการผสมติดในกระบือนางค่อนข้างสูงกว่ากระบือสาว เช่นเดียวกับอัตราการผสมติดของกระบือสาวและกระบือนางในกลุ่มควบคุมที่ได้รับการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ก็มีแนวโน้มที่กระบือนางมีอัตราการผสมติดสูงกว่ากระบือสาว เหตุผลหนึ่งที่อาจเป็นสาเหตุซึ่งได้มาจากการสังเกตระหว่างการศึกษา คือ มีกระบือสาวที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI จำนวน 2 ตัว แสดงอาการเป็นสัด ณ เวลาผสมเทียม แต่สอดปืนผสมเทียมได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากอวัยวะสืบพันธุ์โดยเฉพาะปากมดลูกค่อนข้างเล็กมากซึ่งเป็นอุปสรรคสำคัญในการผสมเทียม สอดคล้องกับรายงานของ Lohachit และคณะ (1981) ซึ่งเปรียบเทียบขนาดอวัยวะระบบสืบพันธุ์ของกระบือปลักพบว่ามีขนาดเล็กกว่ากระบือมูราห์และโค สอดคล้องกับการศึกษาในโคซึ่งพบว่าประสิทธิภาพของโปรแกรม Ovsynch-TAI ค่อนข้างต่ำมากในโคสาว แต่ก็ยังไม่สามารถอธิบายได้อย่างชัดเจน (Pursley *et al*., 1995; Schmitt *et al*., 1996)

การศึกษานี้ได้คัดเลือกกระบือที่มีฟอลลิเคิลขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ1มิลลิเมตร ณ วันเริ่มต้นโปรแกรม Ovsynch-TAI ตามที่มีการศึกษาโปรแกรมดังกล่าวในกระบือก่อนหน้านี้ พบว่าสิ่งสำคัญที่ทำให้การใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ประสบความสำเร็จคือการปรากฏฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ (dominant follicle ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร) ในเวลาเริ่มต้นฉีด GnRH ครั้งแรก (Vasconcelos *et al*., 1999; Thatcher *et al*., 2001; De Rensis *et al*., 2005) เนื่องจาก GnRH ที่ฉีดในครั้งแรกจะไปทำหน้าที่กระตุ้นให้

ฟอลลิเคิลใหญ่เกิดการตกไข่ พร้อมทั้งกระตุ้นให้มีการเจริญของฟอลลิเคิลจากคลื่นฟอลลิเคิลคลื่นใหม่ (Thatcher *et al*., 1989; Thatcher *et al*., 1993; Wolfenson *et al*., 1994; Xu *et al*., 2000b) เช่นเดียวกันกับ Presicce และคณะ (2005) ที่ให้เหตุผลว่าความล้มเหลวของการตก

ไข่หลังจากฉีด GnRH ครั้งแรก และการลดระดับลงของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในขณะที่ฉีดฮอร์โมน PGF2α ร่วมกัน ส่งผลให้อัตราการเหนี่ยวนำการตกไข่และอัตราการผสมติดลดลงในกระบือ นอกจากนี้มีการศึกษาในโคนม พบว่าปัญหาการเป็นสัดก่อนเวลา (premature estrus) ระหว่างการให้ GnRH เข็มแรกถึงวันที่ให้ฮอร์โมน PGF2α ซึ่งตรวจพบได้ 5 – 11.8% รวมถึงปัญหาการสลายตัวที่ไม่สมบูรณ์ของคอร์ปัส ลูเตียม ที่เกิดจากฟอลลิเคิลใหญ่ในวันเริ่มต้นโปรแกรม (incomplete luteal regression) มีความสัมพันธ์ต่อการผสมติดที่ล้มเหลว (Kim *et al*., 2003) นอกจากนี้ Peters and Pursley (2003) ได้รายงานว่าระยะเวลาระหว่างช่วงการลดต่ำลงของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนถึงช่วงที่ฮอร์โมนแอลเอชสูงสุด (LH surge) ที่ยาวนานยิ่งทำให้เพิ่มอัตราการผสมติดมากขึ้น อาจเนื่องมาจากได้ช่วยให้อสุจิมีชีวิตรอดและเดินทางไปยังตำแหน่งปฏิสนธิได้ดีขึ้น

โปรแกรม Ovsynch-TAI ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ได้ดัดแปลงมาจากงานวิจัยที่ได้ศึกษาโปรแกรมดังกล่าวในกระบือนมในต่างประเทศ ได้แก่ Paul and Prakash (2005) และ De Rensis and Löpez-Gatius (2006) จากรายงานของ Paul and Prakash (2005) พบว่าสามารถเหนี่ยวนำการตกไข่ได้ 90% (9/10) ระยะเวลาการตกไข่อยู่ในช่วง 20 – 32 ชั่วโมง หรือเฉลี่ย 23.3 ± 1.3 ชั่วโมง (Mean ± S.E.M.) ส่วน De Rensis and Löpez-Gatius (2006) รายงานว่าอัตราเหนี่ยวนำการตกไข่อยู่ระหว่าง 60 – 86% ระยะเวลาตกไข่เท่ากับ 33 ± 8.3 ชั่วโมง หลังจากฉีด GnRH เข็มที่ 2 ซึ่งคาดการณ์ว่าจะสามารถนำมาทดลองใช้กับกระบือปลักไทยได้ และจากการศึกษาของ ธัชฎาพร และคณะ (2551; ข้อมูลยังไม่ได้ตีพิมพ์) ถึงการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของกระบือปลักไทยที่เหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยโปรแกรม Ovsynch-TAI รูปแบบเดียวกับการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า อัตราการตกไข่เท่ากับ 83.3% (10/12) ระยะเวลาตกไข่อยู่ในช่วง 18 – 38 ชั่วโมง หรือเฉลี่ยเท่ากับ 30.4 ± 1.47 ชั่วโมง (Mean ± S.E.M.) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาในกระบือนมพบว่าให้ผลค่อนข้างใกล้เคียงกัน และหากพิจารณาความสัมพันธ์ของเวลาตกไข่และเวลาผสม จากการกำหนดเวลาผสมเทียมในการศึกษาครั้งนี้จำนวน 2 ครั้ง คือ 12 และ 24 ชั่วโมง หลังจากฉีด GnRH เข็มที่ 2 คาดว่ายังคงเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมที่จะเกิดการปฏิสนธิระหว่างไข่และอสุจิ เนื่องจากระยะเวลามีชีวิตอยู่ของอสุจิภายในอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียยาวนานถึง 24 – 30 ชั่วโมงหลังผสม (Kasimanickam *et al*., 2008) และเป็นไปได้ว่าสามารถกำหนดเวลาผสมเป็น 24 ชั่วโมงหลังจากฉีด GnRH เข็มที่ 2 ได้ หากต้องการปรับเวลาผสมเทียมให้เหลือเพียง 1 ครั้ง เพื่อความสะดวกในการปฏิบัติงาน อย่างไรก็ตามการศึกษาของเวลาการตกไข่หลังการให้โปรแกรม Ovsynch ในกระบือปลักเป็นสิ่งที่สมควรศึกษาเพื่อยืนยันอีกครั้งหนึ่ง

ในส่วนของอัตราการตายของตัวอ่อน (embryonic mortality rate) ในกระบือที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI จากการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างผลการตรวจการตั้งท้องด้วยวิธี

ตรวจระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในซีรัมในวันที่ 22-24 หลังจากผสม และวิธีล้วงตรวจทางทวารหนัก หรือตรวจด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์หลังผสม 60 วัน พบว่าอัตราการตายของตัวอ่อนมีค่าเท่ากับ 7.9% สอดคล้องกับการศึกษาโดยตรวจหาระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำนมของวันที่ 20 หลังจากผสมเทียมเทียบกับการตรวจท้องจากการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก 45 วันหลังผสมเทียม พบว่ามีความแตกต่างของอัตราการตั้งท้องเป็น 33.3% และ 20% ตามลำดับ ซึ่งอาจเกิดการตายของตัวอ่อนเกิดขึ้นได้ (Cavestany *et al*., 2003) เช่นเดียวกับการศึกษาในโคเนื้อที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI พบมีอัตราการตายของตัวอ่อนระหว่างวันที่ 24- 45 วันหลังผสม 8.5%(Mialot *et al*., 2003) ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาในโคนมคือ 8-17.5% (Bartolome *et al*., 2005) และ 13.5% (Fricke *et al*., 1998) แตกต่างจากรายงานของ Campanile และคณะ (2007) ที่ศึกษาอัตราการตายของตัวอ่อนระยะท้ายในกระบือเมดิเตอร์เรเนียนมีค่าสูงถึง 22.9% สาเหตุที่ทำให้มีการตายของตัวอ่อนที่สำคัญคือ ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่ต่ำซึ่งอาจเนื่องมากจากขนาดฟอลลิเคิลที่เกิดการตกไข่มีขนาดเล็ก บางรายงานได้ทำการลดปัญหาดังกล่าวด้วยการเสริม GnRH และฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในช่วง 5 วันหลังจากผสมเพื่อกระตุ้นให้เกิดการสร้างคอร์ปัส ลูเตียมเสริม (accessory corpus luteum) ขึ้นมา (Bartolome *et al*., 2005; Howard *et al*., 2006; Lopes *et al*., 2007)

เมื่อนำข้อมูลต่างๆ ของกระบือ ได้แก่ ระยะห่างระหว่างคลอดถึงผสม อายุ ลำดับท้อง ลักษณะการเลี้ยง (เจ้าของเลี้ยงเองหรือจ้างเลี้ยง) สถานะแม่กระบือ (เลี้ยงลูกหรือหย่านม) และการสอดผ่านของปืนผสมเทียม มาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ระยะห่างระหว่างคลอดถึงผสมเป็นปัจจัยหนึ่งที่สัมพันธ์ต่ออัตราการผสมติดของกระบือที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI (p=0.03) เหตุผลอาจเนื่องมาจากกระบือที่มีระยะห่างระหว่างคลอดถึงผสมที่ยาวนานเป็นกระบือที่ระบบสืบพันธุ์อยู่ในสภาพสมบูรณ์แตกต่างจากระยะหลังคลอดในช่วงแรกๆ ซึ่งพบว่าการกลับสู่สภาพปกติของมดลูก (uterine involution) หลังคลอดใช้เวลาเฉลี่ย 32.7 ± 3.59 วัน มีการตกไข่ครั้งแรกเฉลี่ย 39 ± 13.5 วันหลังคลอด (ช่วง 21-59 วัน) อย่างไรก็ตามการตกไข่ครั้งแรกจะไม่สามารถสังเกตอาการเป็นสัดได้ อาจเนื่องจากระดับฮอร์โมนที่ไม่คงที่หลังคลอด (Yindee *et al*.,2005) ตลอดจนแม่กระบือที่มีระยะห่างระหว่างคลอดถึงผสมยาวนานมักเป็นกระบือที่หย่านมลูกแล้ว ซึ่งมีรายงานของการให้นมลูกหลังคลอดต่อผลการทำงานของรังไข่ โดยกระบือที่ให้นมลูกจะหลั่งฮอร์โมนโปรแลคตินซึ่งจะไปยับยั้งการหลั่ง GnRH จากสมองส่วนไฮโปทาลามัสทำให้ไม่มีการทำงานของรังไข่และไม่เป็นสัดเช่นเดียวกันกับการศึกษาของ วรรณวิภา (2537) ที่ไม่พบการตอบสนองของรังไข่ต่อ GnRH ระยะ 60 วันหลังคลอดในกระบือปลัก 20% (1/5) สอดคล้องกับรายงานของ Jainudeen และคณะ (1983) พบกระบือปลักที่มีผลกระทบลักษณะดังกล่าวสูงถึง 30-40% เมื่ออยู่ในระหว่างให้นมลูกจนกระทั่งหย่านมตามธรรมชาติหรือแยกลูกออกจากแม่ และเหตุผลอีกประการหนึ่งคือภาวะทุพโภชนาการ โดยเฉพาะความไม่สมดุลย์ของสารอาหารและพลังงานในช่วงหลังคลอด (negative energy balance) ซึ่งอาจเป็นอีกสาเหตุ

หนึ่งที่ส่งผลต่อการไม่เป็นสัดหลังคลอด และอัตราการผสมติดที่ต่ำ (Mahadevan, 1992) รวมไปถึงผลกระทบต่อเนื่องถึงคุณภาพไข่ในระยะยาวนานถึง 80 วันหลังคลอด (Tenhagen *et al*., 2003)

ถึงแม้ว่าการเพิ่มผลผลิตประชากรกระบือปลักโดยใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI จะเป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายของฮอร์โมนมากขึ้นเมื่อเทียบกับการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ ซึ่งไม่มีค่าใช้จ่ายก็ตาม แต่เมื่อพิจารณาถึงความคุ้มค่า การใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI สามารถลดระยะห่างระหว่างคลอดถึงผสมติด และลดจำนวนวันท้องว่าง ส่งผลให้ระยะห่างระหว่างการคลอดสั้นลง และสามารถผลิตลูกกระบือได้จำนวนมากขึ้นในหนึ่งช่วงอายุขัยของกระบือ รวมทั้งลดภาระค่าใช้จ่ายในการจับสัด ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาลักษณะที่คล้ายคลึงกันในโคที่พิจารณาจากค่าใช้จ่ายของฮอร์โมน ค่าน้ำเชื้อ ค่าแรงงาน และค่าความสูญเสียเนื่องจากวันท้องว่าง ซึ่งพบว่าการใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI มีค่าใช้จ่ายต่อการตั้งท้องต่ำกว่าการใช้ PGF2α และการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติ (วีระศักดิ์, 2543; Risco *et al*., 1998; Britt and Gaska, 1998)

หลังจากเสร็จสิ้นการศึกษากระบือในกลุ่มที่ใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI กระบือที่มีการกลับสัดหลังผสมเทียมรอบแรก จะได้รับการผสมเทียมจากการเป็นสัดธรรมชาติและพบว่ามีอัตราการผสมติดสูงถึง 60% (อยุทธ์, 2551) หากกระบือยังกลับสัดในรอบถัดมาจะทำการพิจารณาการใช้โปรแกรมฮอร์โมนตามลักษณะของรังไข่โดยตรวจด้วยการล้วงตรวจผ่านทางทวารหนักและ/หรืออัลตราซาวนด์ ได้แก่

กรณีตรวจพบฟอลลิเคิลบนรังไข่แต่ไม่พบคอร์ปัส ลูเตียม ใช้ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนชนิดสอดเข้าช่องคลอด PRID เป็นเวลา 12 วัน แล้วถอดออก และผสมเทียม 48 ชั่วโมงหลังจากถอดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

กรณีตรวจพบคอร์ปัส ลูเตียม ใช้ฮอร์โมน PGF2α ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ และรอจับสัดและผสมเทียมภายใน 5 วันหลังจากฉีด

นอกจากนี้จากการปฏิบัติงานภาคสนามของสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ยังพบว่ากระบือที่ได้รับการเตรียมสุขภาพโดยการถ่ายพยาธิ เสริมวิตามินและแร่ธาตุก่อนได้รับการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วยโปรแกรมฮอร์โมนในรูปแบบต่างๆ มีอัตราการผสมติดสูงกว่ากระบือที่ไม่ได้รับการเตรียมสุขภาพประมาณ 6% (อยุทธ์, 2551)

บทที่ 6

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยในครั้งนี้ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของโปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลาในกระบือปลักในฟาร์มเกษตรกรรายย่อย และศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยกรณีกระบือที่ยังไม่เคยมีลูกและกระบือที่เคยมีลูกต่ออัตราการผสมติดด้วยวิธีเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2549 ถึงเดือนพฤษภาคม 2550 โดยทำการคัดเลือกกระบือปลักไทยเพศเมียจำนวน 95 ตัว จากฟาร์มเกษตรกรรายย่อยในเขตพื้นที่จังหวัดชลบุรีที่มีวงรอบการเป็นสัดและระบบสืบพันธุ์เป็นปกติ แบ่งกระบือออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม ซึ่งเป็นกระบือที่ได้รับการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติจำนวน 43 ตัว และกลุ่มทดลองโปรแกรม Ovsynch-TAI ซึ่งอัลตราซาวนด์ตรวจพบฟอลลิเคิลขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร ณ วันเริ่มต้นโปรแกรม จำนวน 52 ตัว พบว่าอัตราการผสมติดของกระบือกลุ่มที่ผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติและกลุ่มทดลองโปรแกรม Ovsynch-TAI คือ 34.9% (15/43) และ 34.6% (18/52) ตามลำดับ ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.98) โดยมีแนวโน้มของความแตกต่างของอัตราการผสมติดในกระบือสาวและกระบือนางของกระบือกลุ่มทดลองโปรแกรม Ovsynch-TAI ซึ่งมีค่าเท่ากับ 17.6% (3/17) และ 42.9% (15/35) ตามลำดับ (p = 0.07) ส่วนอัตราการคลอดของกระบือกลุ่มทดลอง Ovsynch-TAI มีค่าเท่ากับ 100% (18/18) และมีอัตราการตายของตัวอ่อน 7.9% (3/38)

จากการศึกษานี้สรุปได้ว่า โปรแกรมเหนี่ยวนำการตกไข่และผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (Ovsynch-TAI) สามารถนำมาใช้กับกระบือปลักไทยในฟาร์มเกษตรกรรายย่อยได้ ซึ่งให้ประสิทธิภาพไม่แตกต่างจากการผสมเทียมจากการเป็นสัดตามธรรมชาติโดยไม่จำเป็นต้องจับสัด และความสัมพันธ์ของอัตราการผสมติดจากการใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI ระหว่างกระบือสาวและกระบือนางไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าอัตราการผสมติดในกระบือนางมีแนวโน้มสูงกว่ากระบือสาว

ข้อจำกัดของการวิจัย

1.การนำโปรแกรม Ovsynch-TAI ประยุกต์ใช้ในพื้นที่ จำเป็นต้องมีทักษะของการล้วงตรวจลักษณะรังไข่ หรือการใช้เครื่องอัลตราซาวนด์ เพื่อประเมินขนาดฟอลลิเคิล

2.โปรแกรม Ovsynch-TAI นี้ เป็นการศึกษาที่สามารถใช้ได้ในกระบือที่มีการทำงานของรังไข่ที่ปกติ และปรากฏฟอลลิเคิลที่มีขนาดมากกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิเมตร เท่านั้น

3.การปฏิบัติงานภาคสนามในการฉีดฮอร์โมนสำหรับโปรแกรม Ovsynch-TAI จำเป็นต้องปฏิบัติกับตัวสัตว์ถึง 3 ครั้ง อาจเป็นอุปสรรคในการนัดหมายกับเจ้าของสัตว์

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการศึกษาปัจจุบัน ไม่ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสรีระและลักษณะของรังไข่ที่เกิดขึ้นในกระบือกลุ่มทดลองใช้โปรแกรม Ovsynch-TAI เนื่องจากการศึกษาเป็นการศึกษาในพื้นที่จริงและไม่สะดวกต่อการปฏิบัติงานกับตัวสัตว์ได้อย่างเต็มที่ ดังนั้นจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจที่จะการศึกษาวิจัยถึงความแตกต่างทางสรีรวิทยาที่ตอบสนองต่อโปรแกรม Ovsynch-TAI ระหว่างกระบือสาวและกระบือนางพันธุ์ปลักไทยต่อไปในอนาคต และอาจมีการนำโปรแกรม Ovsynch-TAI ไปใช้กับกระบือปลักไทยในเขตพื้นที่จังหวัดอื่นๆ โดยเฉพาะภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีจำนวนประชากรกระบือปลักไทยมากที่สุด นอกจากนี้คุณภาพน้ำเชื้อแช่แข็งเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่ออัตราการผสมติด

ประโยชน์ในทางประยุกต์ผลงานวิจัยที่ได้

1. สามารถนำข้อมูลที่ได้และโปรแกรมต้นแบบนี้ไปประยุกต์ใช้ในพื้นที่เลี้ยงกระบือปลักไทยในเขตอื่นได้ลดการใช้แรงงานและเวลาในการจับสัดเพื่อผสมเทียม
2. เป็นการอนุรักษ์พันธุ์กระบือปลักไทยลักษณะดีให้มีจำนวนเพิ่มมากขึ้น
3. เป็นการช่วยเหลือเกษตรกรผู้เลี้ยงกระบือในการผลิตพ่อพันธุ์กระบือคุณภาพดี ตามโครงการผลิตกระบือพันธุ์ดีประจำหมู่บ้านเฉลิมพระเกียรติมหามงคลเฉลิมพระชนมพรรษา 80 พรรษา และเพิ่มจำนวนประชากรกระบือภายในประเทศ
4. เกษตรกรได้ใช้น้ำเชื้อจากพ่อกระบือพันธุ์ดีและทำให้พันธุกรรมของฝูงกระบือไทยมีลักษณะที่ดี
5. เป็นแนวทางส่งเสริมเทคโนโลยีการผสมเทียมกระบือให้แพร่หลายขึ้น

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ผลิตภัณฑ์ สารเคมี และเครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัย

GnRH	Receptal® Buserelin 10 ไมโครกรัม, Intervet, The Netherlands
PGF2α	Estoplan® Cloprostenol 500 ไมโครกรัม, Parnell Laboratory (AUST) PTY.Ltd., Australia
เครื่องอัลตราซาวนด์	รุ่น WED-3000V, Shenzhen Well. D Electronics Co., Ltd., China
หลอดเก็บซีรัม	Monovette®, SARSTEDT, Germany
ชุดตรวจระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน	Coat-a-Count®, Diagnostic Products; Los Angeles, CA, USA

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

ปศุสัตว์, กรม. 2551. ข้อมูลสถิติสัตว์. [Online]. Available: http//:www.dld.go.th

ประสบ บูรณมานัส. 2527. กระบือและการรักษา. ไทยวัฒนาพานิช: กรุงเทพมหานคร. 287 หน้า.

พีระศักดิ์ จันทรประทีป, สุรเชษฐ์ อุษณกรกุล, ปราจีน วีรกุล, ชัยณรงค์ โลหชิต, อรรณพ คุณาวงษ์กฤต และ ประสิทธิ์ โพธิปักษ์. 2523ก. การตรวจท้องควายปลัก. เวชชสารสัตวแพทย์. 10 (4) : 210-218.

พีระศักดิ์ จันทรประทีป และคณะ. 2523ข. การผสมพันธุ์ควายปลัก. กรุงเทพฯ: ภาควิชาสูติศาสตร์เธนุเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วรรณวิภา สุทธิไกร. 2537. การตอบสนองของรังไข่ต่อฮอร์โมนโกนาโดโทรพิน รีลิสซิ่ง ระยะหลังคลอดในกระบือปลัก. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สหสาขาวิชาสรีรวิทยาบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วินัย แก้วละมุล, กุลภัทร์ โพธิกนิษฐ, จันทร์เพ็ญ สุวิมลธีระบุตร, นิกร สางห้วยไพร และมงคล เตชะกำพุ. 2550. การใช้โปรแกรม Ovsynch ในการเหนี่ยวนำการตกไข่ในกระบือปลักที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ. ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 33 วันที่ 31 ตุลาคม – 2 พฤศจิกายน 2550, 179-180.

วีระศักดิ์ ปัญญาพรพิทยา. 2543. การเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์โดยการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่พร้อมกันในโคนม. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วีระศักดิ์ ปัญญาพรพิทยา และปราจีน วีรกุล. 2543. ผลของการใช้โปรแกรมเหนี่ยวนำการเป็นสัดและตกไข่พร้อมกันต่อประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในโคนม. ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการทางสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ ครั้งที่ 26 วันที่ 15- 17 พฤศจิกายน 2543, 12-13.

สุวรรณา จักราวรวุธ, ชัยณรงค์ โลหชิต และ พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป. 2526. ความสมบูรณ์พันธุ์ของกระบือในท้องที่จังหวัดบุรีรัมย์และสุรินทร์. สัตวแพทยสาร. 34 (3) : 251-257.

สำนักเทคโนโลยีการผลิตปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์. 2551. อัตราการผสมติดโคนมปี 2547. [Online]. Available:http://www.dld.go.th/biotech/Data/Rut/Statistics/AI/conceptionrate46_47.Htm

อยุทธ์ หรินทรานนท์. 22 กันยายน 2551. ผู้อำนวยการสำนักเทคโนโลยีชีวภาพการผลิตปศุสัตว์. สัมภาษณ์.

เอกชาติ พรหมดิเรก. 2548. คลื่นการเจริญของฟอลลิเคิล การเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธีโอพียู และการปฏิสนธินอกร่างกายในกระบือปลัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

Arora, R. C. 1979. Management and feeding of calve from birth, for early maturity. Buffalo Reproduction and Artificial insemination, FAO Animal Production and Health Paper No.13 FAO, Rome. 319-326.

Barile, V.L., Galasso, A., Marchiori, E., Pacelli, C., Montemurro, N. and Borghese A. 2001. Effect of PRID treatment on conception rate in mediterranean buffalo heifers. Liv Prod Sci. 68:283-287.

Bartolome, J. A., Melendeza, P., Kelbertc, D., Swiftc, K., McHalec, J., Hernandeza, J., Silvestreb, F., Riscoa, C. A., Artecheb, A. C. M., Thatcherb, W. W. and Archbald, L. F. 2005. Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. Theriogenology. 63: 1026–1037.

Baruselli, P. , Mucciolo, R. G., Visintin, J. A., Viana, W. G. Arruda, R. P., Madureira, E. H., Oliveira, C. A. and Molero-Fiho, J. R. 1997. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in buffalo (*Bubalus bubalis*). Theriogenology. 47: 1531-1547.

Baruselli, P. S., Reis, E. L., Marques, M. O., Nasser L. F. and Bób, G. A. 2004. The use of hormonal treatments to improve reproductive performance of anestrous beef cattle in tropical climates. Anim Reprod Sci. 82- 83: 479- 486.

Bodhipaksha, P. 1985. Physiology of female swamp buffalo reproduction. In the Frist International training Course in Swamp Buffalo Reproduction. April 1-27, 1985, Thailand. 53-60.

Bodhipaksha, P., Kamonpatana, M., Chantaraprateep, P., Kunawongkrit, A. and Luvira, Y. 1978. The study for improvement of reproduction of the Thai buffalo. Res. Proj. supported by Rachadapiseksompot Research Fund, Chulalongkorn

University, Bangkok, Thailand, 107. (In Thai).

Boyd, J.S., Omran, S.N. and Ayliffe, T.R. 1990. Evaluation of real time B-mode ultrasound scanning for detecting early pregnancy in cows. Vet Rec. 127: 14. 350-352.

Boyd, J.S. and Omran, S.N. 1991. Diagnostic ultrasonography of the bovine female reproductive tract. In Practice: 109-119.

Brito, L.F.C., Satrapa, R., Marson, E.P. and Kastelic, J.P. 2002. Efficacy of PGF2alpha to synchronize estrus in water buffalo cows (*Bubalus bubalis*) is dependent upon plasma progesterone concentration, corpus luteum size and ovarian follicular status before treatment. Anim Reprod Sci. 73:23-35.

Britt, J. H. and Gaska, J. 1998. Comparison of two estrus synchronization programs in a large confinement- housed dairy herd. JAVMA. 212 (2) : 210- 212.

Campanile, G., Di Palo, R., Neglia, G., Vecchio, D., Gasparrini, B., Prandi, A., Galiero, G. and D'Occhio, M. J. 2007. Corpus luteum function and embryonic mortality in buffaloestreated with a GnRH agonist, hCG and progesterone. Theriogenology. 67: 1393–1398.

Campanile, G., Neglia, G., Gesparrini, B., Galieno, G., Prandi, A. DiBlo, R. 2005. Embryonic mortality in buffaloes synchronized and mated by AI during the seasonal decline in reproductive function. Theriogenology. 63: 2334-2340.

Cavestany, D., Cibils, J., Freire, A., Sastre, A. and Stevenson, J. S. 2003. Evaluation of two different oestrus-synchronisation methods with timed artificial insemination and resynchronisation of returns to oestrus in lactating Holstein cows. Anim Reprod Sci. 77: 141- 155.

Chantalakhana, C. 1981. Comparative evaluation of swamp buffaloes in the SABRAO region. Proceedings of the 2nd SABRAO Workshop on Animal Genetic Resources, held in Kuala Lumpur 5-6 May 1981. 91-110.

Chantalakhana, C. 1992. Genetics and breeding of swamp buffaloes. In Buffalo Production. The Natherlands: Elsevies Science Publishers B.V.

Chantaraprateep, P. 1987. Oestrous synchronization in buffalo. Buffalo J. Supplement 1. 115-126.

Chantaraprateep, P., Kamonpatana, M., Luengthongkun, P., Usanakornku, S., Lohachit, C. and Ratanapany, R. 1985. Puberty of Thai Swamp Buffalo Bull. Proceeding of Buffalo Seminar. 29 April – 2 May. Bangkok. Thailand. 245-258.

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

De Araujo Berber, R.C., Madureira, E.H. and Baruselli, P.S. 2002. Comparison of two Ovsynch protocols (GnRH versus LH) for fixed timed insemination in buffalo (*Bubalus bubalis*). Theriogenology. 57: 1421-1430.

De Jarnette, J.M. and Marshall, C.E. 2003. Effects of pre-synchronization using combinations PGF2 and (or) GnRH on pregnancy rates of Ovsynch- and Cosynch-treated lactating Holstein cows. Anim Reprod Sci. 77: 51-60.

Demakarn, T., Chantaraprateep, P., Na Chiangmai, A., Srijumroom, S., Konanta, S. and Boarak, B. 1990. Estrous synchronization in swamp and Murrah-Swamp buffalo using prostaglandin F2 alpha : field trail. Proceeding of the 9th annual livestock conference 6-8 September. 1990.70- 74.

De Rensis, F., Ronci, G., Guarneri, P., Xuan Nguyen, B., Presicce, G.A. Huszenicza, G., and Scaramuzzi, R.J. 2005. Conception rate after fixed time insemination following ovsynch protocol with and without progesterone supplementation in cyclic and non-cyclic Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). Theriogenology. 63: 1824-1831.

De Rensis, F. and Löpez-Gatius, F. 2006. Protocols for synchronizing estrus and ovulation in buffalo (*Bubalus bubalis*): A review. Theriogenology. (in press).

Fischer, H. and Bodhipaksha, P. 1992. Distribution ecology and adaptation. In Tulloh, N. M. and Holmes, J. H. G., Buffalo production, p 153-169. The Netherlands : Elsevier Science Publishers B. V.

Fricke, P. M., Guenther, J. N. and Wiltbank, M. C. 1998. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. Theriogenology. 50: 1275-1284.

Hegstad, R. 1992. Plasma concentrationsof lutinizing hormone and adrenocorticotropic hormone in blood collected during the luteal and follicular phases of the estrous cycle in cows. Am J Vet Res. 53: 909-915.

Howard, J. M., Manzo, R., Dalton, J. D., Frago, F. and Ahmadzadeh, A. 2006. Conception rates and serum progesterone concentration in dairy cattle administered gonadotropin releasing hormone 5 days after artificial insemination. Anim Reprod Sci. 95: 224–233.

Intramongkol, J., Ratanapunna, P. and Intramongkol, S. 1990. Some reproductive trails of Thai swamp buffalo cows. Proceedings of The 9th Annual Livestock Conference. September 6-8, Thailand. 75-82.

Jainudeen, M. R. 1983. Reproductive biology of swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). Proceedings of The Preconference Symposium of The 5th World Conference on Animal Production. “Current development and problems in swamp buffalo production.” Tsukuba, Japan. 44-58.

Kamonpatana, M., Luvira, Y., Bodhipaksha, P. and Kunawongkrit, A. 1976. Serum progesterone, 17- Hydroxyprogesterone and 17- β oestradiol during estrous cycle in swamp buffalo in Thailand. On Nuclear Techniques in Animal Production and Health as Related to the Soil- plant System. IAEA. Vienna. 569- 578.

Kamonpatana, M., Virakul, P., Lohachit, C., Kunawongkrit, A., Ngamsuriyaroj, C. and Mathias, E. 1980. Plasma progesterone oestone sulphate and LH levels during pregnancy, parturition and post- partum in the swamp buffalo (Bubalus bubalis). Annual report of the National Buffalo Research and Development Center Project, Bangkok, Thailand. 26-38.

Kanai, Y. and Shimizu, H. 1983. Characteristics related to oestrous cycle in the swamp buffalo under temperate conditions. The 5th World Conference on Animal Production, Tokyo, Japan, Abstract. 87.

Kasimanickam, R., Hall, J. B., Currin, J. F. and Whittier, W. D. 2008. Sire effect on the pregnancy outcome in beef cows synchronized with progesterone based Ovsynch and CO-Synch protocols. Anim Reprod Sci. 104: 1–8.

Kim, I. H., Suh, G. H. and Son, D. S. 2003. A progesterone-based timed AI protocol more effectively prevents premature estrus and incomplete luteal regression than an Ovsynch protocol in lactating Holstein cows. Theriogenology. 60: 809–817.

Kornmatitsuk, B. and Kornmatisuk, S. 2006. Review article : Programmed breeding in postpartum dairy cattle. J Thai Vet Med Assoc. 57: 56-71.

Leenanuraksa, D., Usanakarnkul, S. and Kamonpatana, M. 1979. Plasma progesterone level during early pregnancy of villaged swamp buffalo in Thailand. National Conference on Agriculture and Biological Science. Febuary., 1979. Kasetsart University, Bangkok.

Lohachit, C., Bodhipaksha, P. and Tesaprateep, T. 1981. Studies on the biometry on the reproductive tract of Thai swamp buffalo. Proceeding of 2nd RCM on the use of nuclear techniques to improve domestic buffalo production in Asia. Chulalongkorn University, Thailand. 275-280.

Lohachit, C., Sirivaidyapong, S. and Techakumphu, M. 2006. Treands in swamp buffalo reproductive biotechnology. International course of buffalo reproduction and reproductive biotechnology. 3rd ed. Bangkok: Chulalongkorn University. 91-96.

Lopes, A. S., Butler, S. T., Gilbert, R. O. and Butler, W. R. 2007. Relationship of pre-ovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy outcome in dairy cows. Anim Reprod Sci. 99: 34–43.

Madam, M. L. 1998. Status of reproduction in female buffalo. Buffalo Production and Health: a compendium of lastest research information based on Indian studies. ICAR publication. New Delhi, India. 89-100.

Madam, M. L. and Raina, V. S. 1984. Fertility and performance of buffaloes under tropical conditions. In: 10th Int. Congr. on Anim. Reprod. and Artificial Insemination. Illinois. 2: 142.1-142.4.

Mahadevan, P. 1992. Distribution ecology and adaptation. In Tulloh, N. M. and Holmes, J. H. G., Buffalo production, p 1-12. The Netherlands : Elsevier Science Publishers B. V.

Mann, G.E., Lamming, G.E. and Payne, J.H. 1998 The role of early luteal phase progesterone in the control of the timing of the luteolytic signal in the cow. J Reprod Fert. 113: 47-51.

Mann, G.E. and Lamming, G.E. 1999. The influence of progesterone during early pregnancy in cattle. Reprod Dom Anim. 34: 269-274.

Mann, G.E. and Lamming, G.E. 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. Reproduction. 121: 175-180.

Mialot, J. P., Constant, F., Dezaux, P., Grimard, B., Deletang, F. and Ponter, A. A. 2003. Estrus synchronization in beef cows: comparison between GnRH + PGF2α + GnRH and PRID + PGF2α + eCG. Theriogenology. 60: 319–330.

Mialot, J. P., Laumonnier, G., Ponsart, C., Fauxpoint, H., Barassin, E., Ponter, A. A. and Deletang, F. 1999. Postpartum subestrus in dairy cows: comparison of treatment with prostaglandin F2α or GnRH + prostaglandin F2α + GnRH. Theriogenology. 52: 901- 911.

Mihm, M., Crow, M.A., Knight, P.G. and Austin, E.J. 2002. Follicle wave growth in cattle. Reprod Domest Anim. 37: 191-200.

Moreira, F.C., Orlandi, C.A., Risco, C.A., Mattos, R., Lopez, F. and Thatcher, W.W. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotophin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. J Dairy Sci. 84: 1646-1659.

Neglia, G., Gasparrini, B., Di Palo, R., De Rosa, C., Zicarelli, L. and Campanile, G. 2003.Comparison of prenancy rates with two oestrus synchronization protocols in Italian Mediterranean Buffalo cows. Theriogenology. 60: 125-133.

Paul, V. and Prakash, B. S. 2005. Efficacy of the Ovsynch protocol for synchronization of ovulation and fixed-time artificial insemination in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). Theriogenology. 64: 1049-1060.

Pawshe, C.H., Appa Rao, K.B.C. and Totey, S.M. 1994. Ultrasonographic imaging to monitor early pregnancy and embryonic development in the buffalo (*Bubalus bubalis*). Theriogenology. 41: 697-709.

Peters, A.R. 2005 Veterinary clinical application of GnRH-questions of efficacy. Anim Reprod Sci. 88: 155-167.

Peters, M. W. and Pursley, J. R. 2003. Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows. Theriogenology. 60: 1197–1204.

Presicce, G. A., Parmeggiani, A., Senatore, E. M., Stecco, R., Barile, V. L., De Mauro, G. J., De Santis, G. and Terzano, G. M. 2003. Hormonal dynamics and follicular turnover in prepubertal Mediteranian Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). Theriogenology. 60: 485-493.

Presicce, G.A., Senatore, E.M., Bella, A., De Santis, G., Barile, V.L., De Mauro, G.J. 2004. Ovarian follicular dynamics and hormonal profiles in heifer and mixed-

parity Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*) following an estrus synchronization protocol. Theriogenology. 61: 1343-1355.

Presicce, G.A., Senatore, E. M., De Santis, G. and Bella, A. 2005. Follicle turnover and pregnancy rate following estrus synchronization protocols in Mediterranean Italian buffaloes (*Bubalus bubalis*). Reprod Domest Anim. 40: 443-447.

Pursley, J. R., Mee, M. O. and Wiltbank, M. C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2α and GnRH. Theriogenology. 44: 915- 923.

Rajamahendran, R. and Thamotharam, M. 1983. Effect of progesterone releasing intravaginal device (PRID) on fertility in post-partum buffalo cow. Anim Reprod Sci. 6:111-118.

Rao, A.V.N. 1988. Luteolytic effect of a small dose of cloprostenol administered via intravulval route in riverine buffaloes. In: Proceedings of the 2nd World Buffalo Congress. 2: 159-161.

Rao, A.V. and Sreemannarayanan, O. 1982. Clinical analysis of reproductive failure among female buffaloes (*Bubalus bubalis*) under village management in Andhra Pradesh. Theriogenology. 18:403-411.

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

Risco, C. A., Moreira, F., De Lorenzo, M. and Thatcher, W. W. 1998. Timed artificial insemination in dairy cattle-part II. Compend Contin Educ Pract Vet. 20 (11) : 1284- 1289.

Russel, A. J. F. and Goddard, P.J. 1995. Small Ruminant Reproductive Ultrasonography. In Veterinary Ultrasonography. Goddard, P.J. Cambridge, U.K. 257-274.

Ryan, D. P., Snijders, S., Yaakub, H., O'Farrell, K.J., 1995. An evaluation of estrus synchronization programs in reproductive management of dairy herds. J. Anim. Sci. 73: 3687–3695.

Sakase, M., Kawate, N., Nakagawa, C., Fukushima, M., Noda, M., Takeda, K., Ueno, S., Inaba, T., Kida, K., Tamada, H. and Sawada, T. 2007. Preventive effects of CIDR-based protocols on premature ovulation before timed-AI in Ovsynch in cycling beef cows. The Veterinary Journal. 173: 691- 693.

Schmitt, E. J. P., Diaz, T., Drost, M. and Thatcher, W. W. 1996. Use of a Gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. J Anim Sci. 74 : 1084-1091.

Subramaniam, P.S., Sundarsingh, J.D.S. and Devarajan, K.P. 1989. Estrus synchronization with PGF2alpha in buffaloes. Ind Vet J. 66:538-540.

Techakumphu, M., Promdireg, A. and Yindee, M. 2006. Ovarian activity during estrous cycle and early postpartum. In : International course of buffalo reproduction and reproductive biotechnology. 3rd ed. Bangkok: Chulalongkorn University. 91-96.

Tenhagena, B. A.,, Drillich, M. and Heuwieser, W. 2001. Analysis of cow factors influencing conception rates after two timed breeding protocols. Theriogenology. 56: 631-638.

Tenhagen, B. A., Surholt, R., Wittke, M., Vogel, C., Drillich, M. and Heuwieser, W. 2004. Use of Ovsynch in dairy herds – differences between primiparous and multiparous cows. Anim Reprod Sci. 81: 1-11.

Tenhagen, B. A., Vogel, C., Drillich, M., Thiele, G. and Heuwieser, W. 2003. Influence of stage of lactation and milk production on conception rates after timed artificial insemination following Ovsynch. Theriogenology. 60: 1527–1537.

Thatcher, W.W., Drost, M.,Savio, J.D., Macmillan, K.L., Entwistle, K.W. and Schimitt, E.J. 1993. New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. Anim Reprod Sci. 33:27- 49.

Thatcher, W.W., Macmillan, K.L., Hansen, P.J. and Drost, M. 1989. Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. Theriogenology. 31: 149- 164.

Thatcher, W.W., Moreira, F., Santos, J.E.P. , Mattos, R., Lopez, F.L., Pancarci SM. 2001. Effects of hormonal treatment on reproductive performance and embryo production. Theriogenology. 55: 75- 89.

Vasconcelos, J.L.M., Silicox, R.W.,Rosa, G.J.M., Purley, J.R. and Wiltbank, M.C. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. Theriogenology. 52:1067- 1078.

Vadhanakul, N., Shanitwongse, M. and Sekasiddhi, P. 1988. Fertility of norgestomet treated buffaloes under field trial. J Thai Vet Med. Assoc. 33(1): 21- 27.

Virakul, P., Chanmtaraprateep, P., Lohachit, C. and Demakan, T. 1992. Twin pregnancy

in swamp buffalo after synchronization of estrous by using norgestomet and norgestomet plus PMSG. Thai J Vet Med. 22(4):205- 209.

Warriach, H. M., Channa, A. A. and Ahmad, N. 2008. Effect of oestrus synchronization methods on oestrus behaviour, timing of ovulation and pregnancy rate during the breeding and low breeding seasons in Nili- Ravi buffaloes. Anim Reprod Sci. 107: 62- 67.

Wei, L. Y. and Jea, Y. S. 2006. Conservation of Water buffalo in Taiwan: Cryopreservation of spermatozoa. Country paper presented in International Seminar on " The Artificial Reproductive Biotechnolofies for Buffaloes" held from August 28 September 1, 2006 at Bogor. Indonesia.

Wetchrutpimon, T. and Mongkonpunya, K. 1978. Heat detection in swamp buffaloes. The National Conference on Agricultural and Biological Sciences, Kasetsart Univ., Bangkok, Thailand, Febuary 3-5, Abstract, 34.

Williams, W.F., Shehala, S.H.M., Osman, A.M. and Gross, T.S. 1984. PGF2α induction of luteolysis and pedometer detected oestrus in Egyptian buffalo. Buffalo Bulletin. 3 (3) :14.

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 dairy cows. Theriogenology 42: 633- 644.

Xu, Z.Z., Burton, L.J., McDougall, S., Jolly, P.D., 2000a. Treatment of noncyclic lactating dairy cows with progesterone and estradiol or with progesterone, GnRH, prostaglandin F2 alpha and estradiol. J. Dairy Sci. 83, 464–470.

Xu, Z.Z., Verkerk, G.A., Mee, J.F., Morgan, S.R., Clark, B.A., Burke, C.R., and Burton, L.J. 2000b. Progesterone and follicular changes in postpartum noncylic cows after treatment with progesterone and estradiol or with progesterone, GnRH, PGF2 and estardiol. Theriogenology. 54: 273- 282.

Yindee, M., Lohachit, C., Sirivaidyapong, S., Na- Chaingmai, A., Colenbrander, B. and Techakumphu, M. 2005. Ovarian follicular dynamics in postpartum swamp buffaloes (*Bubalus bubalis*). Internal Asia Link Symposium " Reproductive Biotechnology for Improved Animal Breeding in Southeast Asia", 19-20 August, 2005. Univ of Udayan, Bukit Jimbarna, Denpasar, Bali, Indonesia. 15- 19.

.

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว ธัชฎาพร ไชยคุณ เกิดวันที่ 15 กรกฎาคม พุทธศักราช 2523 มีภูมิลำเนาอยู่ที่จังหวัดพะเยา สำเร็จการศึกษาสัตวแพทยศาตรบัณฑิต จากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อปีพุทธศักราช 2548 ผ่านประสบการณ์การทำงาน ตำแหน่ง ผู้ช่วยวิจัยโครงการการใช้เทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตโคเนื้อ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ระหว่างเดือนมีนาคม – พฤศจิกายน พุทธศักราช 2548 ต่อจากนั้นได้ทำงานในตำแหน่งนายสัตวแพทย์ ประจำบริษัทพัฒนาโคนมไทย จำกัด จนกระทั่งถึงเดือนเมษายน พุทธศักราช 2549 และได้สมัครเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาการสืบพันธุ์สัตว์ ภาควิชาสูติศาสตร์ เธนุเวศวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ ภาคปลาย ปีการศึกษา 2548 โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ภายใต้โครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี รวมไปถึงทุนอุดหนุนการทำวิทยานิพนธ์สำหรับอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ประจำปีงบประมาณ 2550 รายชื่อผลงานทางวิชาการที่ตีพิมพ์เผยแพร่ได้แก่

ธัชฎาพร ไชยคุณ, ศุภณิดา สุระวงศ์, ศุกลรัตน์ บุณยยาตรา และวิทยา สุริยาสถาพร. 2548. ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดเต้านมอักเสบแบบไม่แสดงอาการในแม่โครีดนมหลังคลอดในเขตพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร. 3: 3. 31-42.

ธัชฎาพร ไชยคุณ และชัยณรงค์ โลหะชิต. 2549. การเหนี่ยวนำการคลอดในสุนัข. วารสารสัตวแพทย์ผู้ประกอบการบำบัดโรคสัตว์ฯ. 18: 1. 13-20.

ธัชฎาพร ไชยคุณ, จันทร์เพ็ญ สุวิมลธีระบุตร, ชาญชัย อัศฤกษ์, จิรุตม์ รัตนเทพ และมงคล เตชะกำพุ. 2550. การสำรวจความสัมพันธ์และความสอดคล้องระหว่างความเข้มข้นของโปรเจสเตอโรนในซีรัมกับการแสดงออกของอาการเป็นสัดในกระบือปลักไทย (*Bubalus bubalis*): การศึกษาเบื้องต้น. ใน ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มทม. ครั้งที่ 1 ประจำปี 2550. 18 – 19 ตุลาคม 2550 ณ โรงแรมรามาการ์เดนท์. 73-79.

ปัจจุบันทำงานในตำแหน่งอาจารย์ประจำวิชาคลินิกสำหรับสูติศาสตร์ ไกเน่วิทยา แอนโดรวิทยา และการผสมเทียมของสัตว์เลี้ยง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร