

บทที่ 1

บทนำ

การผลิตโคนมนอกจากต้องคำนึงถึงการจัดการทางด้านอาหาร การปรับปรุงพันธุ์ การปรับปรุงสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม และการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำนมแล้ว การปรับปรุงประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์นับได้ว่าเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องคำนึงถึง การจัดการโคนมเพื่อให้มีประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ที่เหมาะสม การสังเกตอาการเป็นสัดให้แน่นอนและถูกต้องเป็นวิธีการควบคุมความสมบูรณ์พันธุ์ทั้งายในทางทฤษฎี แต่ในทางปฏิบัติค่อนข้างยาก เนื่องจากประกอบด้วยปัจจัยหลายอย่างมาเกี่ยวข้อง หรือส่งผลกระทบต่อทำให้การควบคุมความสมบูรณ์พันธุ์ของโคนมไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร

ในสภาวะปัจจุบัน เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมส่วนใหญ่ประสบปัญหาในเรื่องของประสิทธิภาพการสืบพันธุ์เพศเมีย เช่น ความไม่สมบูรณ์พันธุ์ (infertility) การล้มเหลวในการผสมพันธุ์โค มีสาเหตุทั้งจากการจัดการไม่เหมาะสม ความผิดปกติทางสรีระของตัวโคหรือการเป็นโรค ซึ่งโดยปกติแล้ว การจัดการที่มีประสิทธิภาพอัตราการจับสัดควรสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ถ้าการจัดการระบบสืบพันธุ์ไม่ดีพอ ทำให้ช่วงการให้ลูกยาวนานออกไปถึง 390 – 400 วัน (สุวิชัย และคณะ, 2538) จึงต้องแก้ไขประสิทธิภาพการจับสัดและผสมพันธุ์ในช่วงเหมาะสม ทั้งนี้ขึ้นกับความสมบูรณ์พันธุ์ของระบบสืบพันธุ์ของโคแต่ละตัวด้วย ดังนั้น การผสมแม่โคให้ติดภายในระยะเวลาที่เหมาะสม หลังคลอด เป็นเรื่องที่มีความสำคัญอย่างยิ่งในฟาร์มโคนม เพราะจะมีผลต่อปริมาณน้ำนมดิบที่ผลิตได้ในแต่ละวัน ซึ่งหมายถึงผลกำไรที่เจ้าของฟาร์มจะได้รับ

นอกจากระดับของฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับความสมบูรณ์พันธุ์ และการสังเกตอาการเป็นสัดจะเป็นสิ่งจำเป็นต่อประสิทธิภาพโคนมแล้ว สภาวะแวดล้อมจัดว่ามีผลต่อระบบสืบพันธุ์ของสัตว์ โดยเฉพาะประเทศไทยที่มักประสบปัญหาด้านอุณหภูมิและความชื้นสูง จึงก่อให้เกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน (heat stress, HS) โดยจะมีผลโดยตรงต่อระบบต่อมไร้ท่อ ที่ผลิตฮอร์โมนที่เกี่ยวข้องกับระบบสืบพันธุ์เป็นหลัก ซึ่งผลกระทบที่เห็นชัด คือ ผลของ HS ต่อความสมบูรณ์พันธุ์ ผลของ HS ก่อให้เกิดปัญหาได้หลายประการ และภายใต้สภาวะความร้อนเช่นนี้โคจะแสดงพฤติกรรมออกมา เช่น หายใจถี่ขึ้น หาที่ร่ม หรือมีน้ำลายมากขึ้น หลังจากนั้นการกินอาหาร

จะลดลง และประสิทธิภาพการใช้อาหารจะลดลงส่งผลต่อผลผลิตน้ำนม สุกท้ายจะมีผลต่อสมดุลของฮอร์โมนและหน้าที่ของฮอร์โมนทำให้เกิดผลโดยตรงต่อระบบสืบพันธุ์ ในโคที่อยู่ในสภาพ HS การไหลเวียนภายในร่างกายจะหมุนเวียนออกสู่บริเวณผิวหนังเพื่อช่วยลดระดับอุณหภูมิของร่างกายที่เพิ่มสูงขึ้น การที่ร่างกายได้สัมผัสกับสภาพ HS เป็นเวลานาน จะก่อให้เกิดความผิดปกติกับรอบการเป็นสัด โคไม่แสดงอาการเป็นสัด (anestrous) จะมีมากขึ้น หรือแสดงอาการเป็นสัดในช่วงระยะเวลาสั้น ๆ หรืออาจไม่แสดงอาการยืนนิ่งยอมผสม (standing heat) นอกจากนั้นประสิทธิภาพของระบบสืบพันธุ์อื่น ๆ ก็ลดลง เช่น อัตราการผสมติด อัตราการตั้งท้อง จำนวนครั้งที่ผสมเพิ่มขึ้น หรืออัตราการตายของตัวอ่อนในระยะแรกเพิ่มขึ้น เป็นต้น (Willson *et al.*, 1998) นอกจากนั้น สาเหตุอีกประการหนึ่งมาจากคุณภาพของโคนมแต่ละสายพันธุ์ ที่มีความสามารถในการทนทานต่อสภาพแวดล้อมและโรค รวมไปถึงปริมาณน้ำนมที่ให้ต่างกัน การจัดการฟาร์มโคนมจำเป็นต้องควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ให้เหมาะสม เพื่อควบคุมการผลิตปริมาณน้ำนมให้เพียงพอ เช่น โคนมสายพันธุ์โฮสไตน์ฟรีเซียน เป็นสายพันธุ์ที่ให้น้ำนมในปริมาณสูง แต่ไม่ค่อยทนต่อสภาพแวดล้อม จึงทำให้เกิดปัญหาในด้านสุขภาพการสืบพันธุ์ โดยเฉพาะการผสมติดและการตกไข่ เนื่องจากปัญหาเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นผลมาจากความผิดปกติทางด้านร่างกายและระบบฮอร์โมน

สุวิชัย และคณะ (2538) ได้กล่าวว่าปริมาณการผลิตน้ำนมมีส่วนสัมพันธ์ต่อระบบสืบพันธุ์ในโคนม โดยการให้น้ำนมจะมีผลต่อการไม่เป็นสัดหลังคลอด คือ โคที่ให้ลูกดูนมจะมีการหลั่งลูทีไนซิง ฮอร์โมน (luteinizing hormone, LH) ลดลง อันมีผลทำให้รังไข่ไม่ทำงานและโคไม่เป็นสัด โคที่มีการหลั่งน้ำนมมาก ๆ จะมีระดับของฮอร์โมนคอร์ติซอลและโปรแลคติน สูงกว่าโคที่ให้น้ำมน้อย และผลของฮอร์โมนทั้งสองชนิดนี้ทำให้มีการสร้างและหลั่งฮอร์โมน gonadotrophin releasing hormone และ LH ลดลง อันมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของ follicle และการทำงานของรังไข่ เช่นเดียวกับรายงานของ Nebel and McGilliard (1993)

ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (Progesterone, P_4) เป็นฮอร์โมนที่ผลิตจากรังไข่ รก และต่อมหมวกไต (Adrenal cortex) ทำหน้าที่หลักคือ มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเตรียมความพร้อมของมดลูกเพื่อการฝังตัวของตัวอ่อน และการคงสภาพการตั้งท้อง ในวงรอบการเป็นสัดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน จะมีการเปลี่ยนแปลงแบบผกผันกับฮอร์โมนเอสโตรเจน ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในคอร์ปัสลูเทียม (corpus luteum, CL) จะสัมพันธ์กับการเจริญและฝ่อตัวของคอร์ปัสลูเทียม ดังนั้นฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน จะมีระดับต่ำในช่วงของ follicular phase และจะเพิ่มในช่วง luteal phase และจะมีระดับสูงสุดตลอดระยะเวลาการตั้งท้อง ในโคนมที่มีการตั้งท้องระดับของฮอร์โมน

โปรเจสเทอโรนในน้ำนม จะมีค่าประมาณ 6 – 15 ng/ml การเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน ช่วยในการทำนายรอบการเป็นสัดได้เช่นกัน William and Esslemont (1993) ใช้การทดสอบฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน ในน้ำนมร่วมกับใช้โปรแกรม Management of insemination through routine analysis (MOIRA) พบว่าจำนวนของโคที่ไม่เป็นสัด และไม่ตั้งท้องลดลงจาก 29 % เป็น 15.3 % ซึ่งเป็นผลจากการตรวจการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน โดยในวันที่ 3 ของการลดลงของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน จะเป็นวันที่เหมาะสมต่อการผสมและมีอัตราการตั้งท้องสูงที่สุด

ดังนั้นจึงมีการใช้เทคนิคการตรวจสัดโดยใช้ฮอร์โมนซึ่งเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันมาก สามารถวัดได้ทั้งในพลาสมาและน้ำนม ส่วนใหญ่จะนิยมวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน เนื่องจากการเพิ่มขึ้นและลดลงของระดับฮอร์โมนจะเป็นตัวบ่งชี้สภาพของรังไข่ นอกจากนี้ยังสามารถทราบผลได้อย่างรวดเร็ว คือตรวจพบการทำงานครั้งแรกของรังไข่ได้เร็วกว่าการสังเกตอาการเป็นสัดด้วยสายตา นอกจากนั้นการจดบันทึกวันที่แสดงอาการเป็นสัด วันที่ทำการผสมเทียม วันท้องว่างเฉลี่ย และจำนวนครั้งของการผสมเทียมจนถึงวันที่ผสมติดอย่างสม่ำเสมอ จะทำให้ค้นหาสาเหตุต่างๆ ได้ง่ายยิ่งขึ้น อันเป็นวิธีแก้ไขปัญหาคือดีที่สุด อย่างไรก็ตามการตรวจการตั้งท้องโดยตรวจสอบระดับของฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน ในน้ำนม ก็จะช่วยให้การตรวจการตั้งท้องสามารถทำได้เร็วขึ้น และนำไปใช้เป็นข้อมูลเพื่อใช้ในการจัดการโคเหล่านั้นต่อไป โดยเฉพาะสามารถบอกเวลาผสมเทียมได้อย่างถูกต้องและแม่นยำที่สุด

วิธีการในการวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน สามารถทำได้หลายวิธี วิธีที่นิยมมากคือ เรดิโออิมูโนแอสเซซ (radioimmunoassay, RIA) และเอนไซม์อิมมูโนแอสเซซ (enzyme immunoassay, EIA) ข้อดีของทั้งสองวิธีคือ ความแม่นยำ รวดเร็ว และความถูกต้องสูง แต่ข้อเสียของวิธี RIA คือ สารกัมมันตรังสี และปัญหาในการกำจัดสารกัมมันตรังสี นอกจากนั้นยังยากต่อการนำไปใช้จริงในฟาร์ม ดังนั้นวิธี EIA จึงเป็นวิธีที่ง่ายต่อการจัดการและมีราคาถูกกว่า RIA เพราะอาศัยคุณสมบัติระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี โดยใช้เอนไซม์เป็นตัวบ่งชี้ (marker) (Wimpy *et al.*, 1986) เอนไซม์ที่นิยมใช้ เช่น อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส (alkaline phosphase) และเปอร์รอกซิเดส (peroxidase) มีผู้นิยมนำเอาเทคนิคนี้ไปใช้จริงในฟาร์ม โดยการผลิตเป็นชุดสำเร็จ (ELISA test kit) โดยแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันไปตามวิธีการวิเคราะห์ Nebel *et al.* (1987) ได้รวบรวมชุดตรวจสำเร็จรูปสำหรับตรวจวัดฮอร์โมนโปรเจสเทอโรน ของบริษัทต่าง ๆ โดยชุดตรวจของแต่ละบริษัทจะมีคุณสมบัติการวิเคราะห์ และความไวแตกต่างกันออกไป ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อความไว

ของวิธีการ ELISA คือแอนติบอดี และที่นิยมใช้กันมากคือ โพลีโคลนอลแอนติบอดี และโมโนโคลนอลแอนติบอดี และอีกปัจจัยหนึ่งคือชนิดของพื้นผิว (phase) ที่ใช้ในการวิเคราะห์

Phase คือ ส่วนที่ใช้ยึดติดตัวแอนติบอดี หรือแอนติเจน มีอยู่สองชนิดคือ liquid phase และ solid phase ที่นิยมใช้มากคือ solid phase มีหลายชนิดเช่น polystyrene micro titer plate, filter paper plasticized, cellulose acetate membrane หรือ nitrocellulose membrane เป็นต้น solid phase แต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติต่างกันไป ข้อเสียของ micro titer plate คือไม่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ และไม่สามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้ สำหรับกระดาษกรอง หรือเมมเบรนต่าง ๆ สามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้ เพราะมีขนาดเล็ก และสามารถใส่สารซับสเตรทที่ทำให้เกิดสีแบบแข็งได้ (insoluble substrate) ซึ่งสามารถอ่านผลได้ด้วยตาเปล่าจากสีที่เกิดขึ้น นักวิจัยจึงนิยมนำมาผลิตเป็น dip-stick หรือ Strip ELISA เพื่อใช้ในภาคสนาม (สุรวิชาติ, 2546)

สำหรับการศึกษารุ่นนี้ได้ใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่มีความเฉพาะเจาะจงสูง เนื่องจากเซลล์ลูกผสม (hybridoma) ที่เกิดจากการเชื่อม (fusion) ระหว่างเซลล์ไมอีโลมา (myeloma) ซึ่งมีความสามารถในการแบ่งตัวได้เป็นจำนวนมากกับเซลล์ลิมโฟไซต์ ชนิดบี (B lymphocyte) จากม้ามของสัตว์ที่ทำหน้าที่ผลิตแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในนํ้านมโค รวมทั้งศึกษาถึงผลของสภาพอากาศที่มีต่อระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และระบบสืบพันธุ์ของโคนม

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อใช้วิธี Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Competitive ELISA) ในการวิเคราะห์ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน สำหรับเป็นดัชนีชี้วัดการทำงานของรังไข่ครั้งแรกหลังคลอด
2. เพื่อเปรียบเทียบผลของฤดูกาลต่อการผลิตฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังคลอดระหว่างโคนมพันธุ์แท้พรีเชียนและ โคนมลูกผสมพรีเชียน
3. เพื่อเปรียบเทียบผลของฤดูกาลต่อการทำงานของรังไข่ครั้งแรกหลังคลอดระหว่างโคนมพันธุ์แท้พรีเชียนและ โคนมลูกผสมพรีเชียน
4. เพื่อเปรียบเทียบผลของการผลิตนํ้านมต่อการทำงานของรังไข่หลังคลอด

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย

1. สามารถนำโมโนโคลนอลแอนติบอดีไปใช้ในการตรวจวัดฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำนม ด้วยวิธีการ Competitive ELISA เพื่อประเมินประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของโคนม เช่น การทำงานของรังไข่ครั้งแรกหลังคลอดและสามารถตรวจการตั้งท้องของโคนมได้
2. สามารถใช้ระดับ โปรเจสเตอโรน เป็นเครื่องมือในการชี้วัดผลของความเครียดจากความร้อนต่อการทำงานของระบบสืบพันธุ์ที่เปลี่ยนแปลงไป หรือผลของอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณการกินได้
3. สามารถใช้ระดับ โปรเจสเตอโรน เป็นเครื่องมือในการเปรียบเทียบพันธุ์กรรมของโคนมที่เหมาะสมสำหรับภูมิอากาศในภาคเหนือ
4. ทำให้ทราบข้อมูลพื้นฐานสำหรับการจัดการ โคนมให้สามารถผลิตน้ำนมและมีระบบการสืบพันธุ์ที่ดีด้วย