

ผลของการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียม ต่อการตั้งท้องในโครีดนมที่มีปัญหาการผสมซ้ำ

Effects of Post-insemination Progesterone Supplementation on Pregnancy in Repeat-breeder Lactating Dairy Cows

อิทธิพล สักลอ¹ วาที คงบรรทัด² อานนท์ ปะเสระกัง¹ วรณลักษณ์ ถาวร¹ และ วิวัฒน์ พัฒนาวงค์^{1*}
Ittipol Saklo¹, Watee Kongbuntad², Anon Paserakung¹, Wannaluk Thaworn¹ and Wiwat Pattanawong^{1*}

¹คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ 50290

¹Faculty of Animal Science and Technology, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

²คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ 50290

²Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

*Corresponding author: Email: Wpattanawong@gmail.com

(Received: 7 April 2022; Accepted: 28 September 2022)

Abstract: The aim of this study was to determine the effect of post-insemination supplementation with using plaster synthetic progesterone (P-Sync) on pregnancy in repeat-breeder lactating dairy cows. Experiment was divided into 2 groups. Group 1 cows did not receive progesterone (P-Sync) after artificial insemination (AI) (n = 27). Group 2 cows received progesterone (P-Sync) after AI (n = 23). After that, record milk yields and lactation number all of repeat - breeder lactating dairy cows and pregnancy was diagnosed at 60 days after AI with ultrasound. The result found that cows at first lactation with progesterone (P-Sync) supplementation after AI had the highly pregnancy (risk ratio, i.e., RR = 5.00) (95 % CI = 0.767, 32.574) ($P < 0.05$). Effect of supplemented progesterone after AI on repeat-breeder lactating dairy cows shown that among cows with days in milk (191 - 400) in combination with progesterone supplementation after AI tended to be the highly pregnancy (risk ratio, i.e. RR = 3.14) (95 % CI = 0.769, 12.850) ($P = 0.10$). The results of this study demonstrate that the group of repeat-breeder lactating dairy cows with first lactation with progesterone supplementation after AI can increase the pregnancy rate per AI.

Keywords: Repeat-breeder, dairy cow, progesterone, post-insemination, pregnancy rate

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสังเคราะห์ในรูปแบบพลาสเตอร์ (P-Sync) หลังการผสมเทียมต่อการตั้งท้องในโครีดนมที่มีปัญหาการผสมซ้ำ ซึ่งแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 แม่โคไม่ได้รับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P-Sync) หลังการผสมเทียม ($n = 27$) กลุ่มที่ 2 แม่โครีดนมได้รับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (P-Sync) หลังการผสมเทียม ($n=23$) หลังจากนั้นบันทึกข้อมูลการให้น้ำนมและจำนวนระยะการให้นมของแม่โครีดนมที่มีปัญหาการผสมซ้ำทุกตัว และตรวจการตั้งท้องโดยใช้เครื่องอัลตราซาวด์ในวันที่ 60 หลังการผสมเทียม พบว่า โคที่อยู่ใน lactation number ที่ 1 ร่วมกับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน P-Sync หลังการผสมเทียม มีการตั้งท้องสูงสุด (risk ratio, i.e. $RR = 5.00$) ($95\% \text{ CI} = 0.767, 32.574$) ($P < 0.05$) และอิทธิพลของ days in milk ต่อผลของการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียมต่อการตั้งท้องแสดงให้เห็นว่า กลุ่มโคที่มี days in milk (191 - 400) ร่วมกับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียม มีแนวโน้มของการตั้งท้องสูงสุด (risk ratio, i.e. $RR = 3.14$) ($95\% \text{ CI} = 0.769, 12.850$) ($P = 0.10$) ผลการศึกษาค้นนี้แสดงให้เห็นว่า ในกลุ่มโครีดนมที่มีปัญหาการผสมซ้ำซึ่งอยู่ใน lactation ที่ 1 เมื่อทำการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน หลังการผสมเทียมสามารถเพิ่มอัตราการตั้งท้องต่อการผสมเทียมได้

คำสำคัญ: ปัญหาการผสมซ้ำ โครีดนม ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน หลังการผสมเทียม อัตราการตั้งท้อง

บทนำ

ปัญหาการผสมซ้ำในโครีดนม (repeat breeder) เป็นปัญหาที่สำคัญในการเลี้ยงแม่โครีดนม ไม่ว่าจะเป็นในต่างประเทศหรือในประเทศไทย โดยผลที่ตามมาจากปัญหาดังกล่าว คือ ความสูญเสียจากระยะท้องว่าง และเพิ่มอัตราการคัดทิ้งจากปัญหาระบบสืบพันธุ์ โดยสาเหตุของปัญหาการผสมซ้ำในโครีดนม อาจเกิดจากฤดูกาลที่แม่โคคลอด แม่โคที่คลอดในฤดูร้อนมีอุบัติการณ์ผสมซ้ำสูงกว่าแม่โคที่คลอดช่วงฤดูฝน ($P < 0.0001$) (Punyapornwithaya *et al.*, 2006) และการตายของตัวอ่อน (embryonic mortality) มีส่วนทำให้เกิดปัญหาการผสมซ้ำในโครีดนม (Villarreal *et al.*, 2004) ปัจจุบันการเลี้ยงโครีดนมเป็นหนึ่งในอาชีพที่สร้างรายได้ และเป็นอาชีพที่สำคัญต่อเกษตรกรไทย การเลี้ยงโครีดนมให้ประสบความสำเร็จนั้นจะต้องมีการจัดการผสมพันธุ์แม่โคที่ดี เพื่อแก้ไขปัญหาการผสมซ้ำในโครีดนม โดยความผิดพลาดในการตรวจการเป็นสัดและการผสมเทียม ก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การผสมติดลดลงและถือได้ว่าเป็นปัญหาหลักที่พบได้สม่ำเสมอภายในฟาร์มโครีดนม ในขณะที่โปรแกรมการจัดการระบบสืบพันธุ์เป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยในการแก้ไขหรือบรรเทาปัญหาเหล่านี้ ทั้งในแง่ของการจัดการระดับฝูงและการจัดการรายตัวได้ (Yohkma, 2006)

การใช้โปรแกรมการจัดการระบบสืบพันธุ์ร่วมกับเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียมนั้น มีแนวโน้มที่จะปรับปรุงอัตราการตั้งท้องต่อการผสมเทียมให้สูงขึ้นได้ (44.4 % vs. 38.1 % สำหรับกลุ่มที่เสริม P4 vs. กลุ่มที่ไม่ได้เสริม P4) ($P = 0.08$) (Forro *et al.*, 2012) โดย Bilby *et al.* (2013) พบว่า การเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในโปรแกรมเหนี่ยวนำการเป็นสัด สามารถเพิ่มอัตราการตั้งท้องต่อการผสมเทียมได้ ซึ่งการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียมสามารถเพิ่มอัตราการตั้งท้องได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้เสริม ($P < 0.01$) โดยการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียมจะเป็นประโยชน์อย่างมากในกลุ่มโคที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ (lower fertility) เพิ่มโอกาสในการตั้งท้องให้สูงขึ้น (Yan *et al.*, 2016) การเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนให้ถึงระดับ 2.65 ng/ml สามารถฟื้นฟูความสมบูรณ์พันธุ์ในโคที่ขาด Corpus luteum ในวันที่ทำการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (timed AI protocol) (Bisinotto *et al.*, 2012) อีกทั้งไม่มีผลต่อการสูญเสียต่ออัตราการตั้งท้องระหว่างเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียมอีกด้วย (Lima *et al.*, 2009) และการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในช่วงก่อนระยะลูเทียลเฟส (luteal phase) สามารถเพิ่มอัตราการเกิดลูกแฝดได้ (twin pregnancy rate) (Garcia-Ispuerto

and Lopez-Gatius, 2017) ซึ่ง Pattanawong and Thaworn (2014) ได้ทำการเปรียบเทียบ ความสามารถในการปลดปล่อยฮอร์โมนโพรเจสเตอโรน เข้าสู่กระแสเลือด ระหว่างฮอร์โมนโพรเจสเตอโรนสังเคราะห์ในรูปแบบ สอดช่องคลอด (CIDR) และฮอร์โมนโพรเจสเตอโรนสังเคราะห์ในรูปแบบพลาสติก (P-Sync) พบว่า มีประสิทธิภาพในการปลดปล่อยฮอร์โมนโพรเจสเตอโรนได้ไม่แตกต่างกัน

ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของการเสริมฮอร์โมนโพรเจสเตอโรนสังเคราะห์ในรูปแบบพลาสติก (P-Sync) หลังการผสมเทียมต่อการตั้งท้องในโคนมที่มีปัญหาการผสมซ้ำในโคนมและเพิ่มอัตราการตั้งท้องต่อการผสมเทียมให้สูงขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

สถานที่และสัตว์ทดลอง

ในการศึกษานี้ได้รับอนุมัติภายใต้การพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (Approval No. MACUC 043A/2561) โดยใช้โคพันธุ์ทรอปิคอลโฮลสไตน์ (tropical Holstein, TH) ที่มีปัญหาผสมซ้ำ ซึ่งมีจำนวนครั้งการผสมเทียม 3 ครั้งขึ้นไป โดยมีอายุอยู่ในช่วง 2 - 5 ปี มีระยะการให้นมเฉลี่ยอยู่ที่ lactation ที่ 3 โดยแบ่งเป็น lactation ที่ 1 จำนวน 14 ตัว, lactation ที่ 2 จำนวน 15 ตัว และ lactation ที่ 3+ จำนวน 21 ตัว มีคะแนนร่างกาย (body condition score) เฉลี่ยอยู่ที่ 4 คะแนน มีจำนวนวันท้องว่างหลังคลอดเฉลี่ย 150 วัน และมีปริมาณน้ำนมเฉลี่ย 25 กิโลกรัมต่อวัน ทำการล้างตรวจระบบสืบพันธุ์เพื่อดูความสมบูรณ์ของรังไข่ หากตัวไหนมีความผิดปกติ อาทิเช่น เป็นถุงน้ำบนรังไข่ จะทำการแยกรักษา และไม่คัดเข้าทำการทดลอง โดยทำการทดลองที่บริษัทเชียงใหม่เฟรชมิลค์ฟาร์ม (Chiangmai Freshmilk Farm Co., Ltd) ซึ่งตั้งอยู่ในพื้นที่อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน ซึ่งเป็นฟาร์มที่ได้รับมาตรฐานฟาร์มโคนมและการผลิตน้ำนมดิบของประเทศไทย จากกรมปศุสัตว์

อาหารและโรงเรือน

แม่โคทุกตัวได้รับอาหารแบบ TMR (total mix ration) โดยมีข้าวโพดสับละเอียด หญ้าเนเปียร์ และหญ้าลูซี่ เป็นแหล่งอาหารหยาบคุณภาพสูง อีกทั้งมีกากถั่วเหลือง สับปะรดอัดก้อน มัน+ข้าวโพดหมักยีสต์ และมันเส้น เป็นแหล่งอาหารข้น โดยมีสัดส่วนอาหารข้นต่ออาหารหยาบอยู่ที่ 60 : 40 ในส่วนของโรงเรือนของแม่โค แม่โคถูกเลี้ยงดูในโรงเรือนมาตรฐานแบบหน้าจั่ว 2 ชั้น พื้นคอกเทด้วยคอนกรีต มีช่องนอนให้แม่โคแต่ละตัว โดยมีแผ่นยางเป็นวัสดุรองพื้นของ ภายในโรงเรือนมีอุปกรณ์กวาดมูลอัตโนมัติทำงาน 24 ชั่วโมง มีแปรงเกาหลังแม่โคอัตโนมัติ (happy cow) สำหรับให้แม่โคได้คลายเครียดและผ่อนคลายไปในตัว ในส่วนของรางอาหารนั้นมีความยาวตลอดโรงเรือน ส่วนภายในโรงเรือนมีรางระบายมูล (gutter) อยู่ถัดจากช่องมาด้านหลัง เพื่อรองรับน้ำปัสสาวะ อีกทั้งมีทางเดินหลัง (service passage) ใช้เป็นเส้นทางสำหรับลำเลียงมูล และการจัดการอื่น ๆ ออกจากโรงเรือน ในส่วนของอุปกรณ์ให้น้ำ ให้อาหารเป็นอ่างน้ำอัตโนมัติสามารถเติมน้ำได้เองและมีเพียงพอต่อแม่โคทุกตัว

การตรวจการตั้งท้อง

ทำการตรวจการตั้งท้องหลังจากผสมเทียมไปแล้ว 60 วัน ด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ (เครื่องอัลตราซาวด์ยี่ห้อ CARELIFE รุ่น HV - 5 ความถี่ 7.5 MH) โดยทำการล้างผ่านทางทวารหนัก และใช้เครื่องอัลตราซาวด์สแกนผ่านผนังลำไส้ใหญ่เพื่อหาตัวอ่อนเป็นการยืนยันผลการผสมติด และทำการคำนวณอัตราการตั้งท้องต่อการผสมเทียม

การเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการเสริมฮอร์โมนโพรเจสเตอโรน

โคทดลองในการศึกษานี้ในวันแรกที่แรกของการทดลอง (day 0) ทำการล้างตรวจความสมบูรณ์ของมดลูก รังไข่ เสริม Catosal® 25 มิลลิกรัม Vitamin AD3E® 8 มิลลิกรัม โดยทำการฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณคอ และทำการเสริมฮอร์โมนโพรเจสเตอโรนสังเคราะห์ในรูปแบบสอดช่องคลอด (CIDR) เข้าบริเวณช่องคลอด

เพื่อเริ่มกระบวนการเหนี่ยวนำการเป็นสัด หลังจากนั้นในวันที่ 6 (day 6) ทำการฉีด cloprostenal, Estrumate® 2 มิลลิกรัม เข้ากล้ามเนื้อบริเวณคอ ในวันที่ถัดมา (day 7) ทำการถอดฮอร์โมนโพเรเจสเทอโรนสังเคราะห์ในรูปแบบสอดช่องคลอด (CIDR) ออกจากช่องคลอด หลังจากนั้นอีก 48 - 60 ชั่วโมง จึงทำการผสมเทียม หลังจากการผสมเทียมทำการเสริม buserelin, Receptal® 1 มิลลิกรัม โดยฉีดเข้าบริเวณช่องคลอด ดังแสดงใน Figure 1

หลังจากนั้นแบ่งโคเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม เป็นกลุ่มที่ไม่ได้รับการเสริมฮอร์โมนโพเรเจสเทอโรนหลังการผสมเทียมและกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ทำการเสริมฮอร์โมนโพเรเจสเทอโรนหลังการผสมเทียม โดยทำการเสริมวันที่ 3 - 18 หลังการผสมเทียม โดยมีขั้นตอนดังนี้

ในกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ทำการเสริมฮอร์โมนโพเรเจสเทอโรนหลังการผสมเทียม โดยหลังจากทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัดและผสมเทียมเสร็จสิ้น หลังจากนั้นอีก 3 วัน (day 12) ทำการเสริมฮอร์โมนโพเรเจสเทอโรนสังเคราะห์ในรูปแบบพลาสติก (P-Sync) โดยทำการพันไว้บริเวณโคนหางของโคและทำการถอดแผ่นฮอร์โมนโพเรเจสเทอโรนสังเคราะห์ ออกในวันที่ 18 หลังการผสมเทียม ดังแสดงใน Figure 2

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์หาค่า relative risk ของ 2 กลุ่มการทดลอง โดยใช้ confidence interval ของ relative risk ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยการใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 28 หาก 95 % CI ของ relative risk ไม่มีค่า 1 รวมอยู่ด้วย หมายความว่าค่า relative risk ที่วิเคราะห์หามาได้มีค่าแตกต่างจาก 1 อย่างมีนัยสำคัญ นั่นคือ ตัวแปรทั้งสองมี association กัน ส่วนการอธิบายหรือนำค่า relative risk ที่ได้จากการวิเคราะห์ไปใช้ จะพิจารณาดังนี้

1. เมื่อ $RR = 1$ สัดส่วนของ outcome ใน exposed และ unexposed ไม่แตกต่างกัน หรือไม่มี association ระหว่างตัวแปรทั้งสอง หรือความเสี่ยงของ outcome ในกลุ่มตัวอย่างไม่ว่าจะเป็น exposed group หรือ unexposed group ไม่แตกต่างกัน

2. เมื่อ $RR > 1$ สัดส่วนของ outcome ใน exposed และ unexposed แตกต่างกัน หรือมี association เชิงบวกระหว่างตัวแปรทั้งสอง หรืออาจกล่าวได้อย่างใดอย่างหนึ่ง ดังนี้

- ในกลุ่มตัวอย่างที่เป็น exposed group มีโอกาส (หรือมีความเสี่ยง) เกิด outcome คิดเป็น RR เท่า เมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่เป็น unexposed group



Figure 1. Program synchronization supplementation none Progesterone after AI in group 1 (non P4 group)

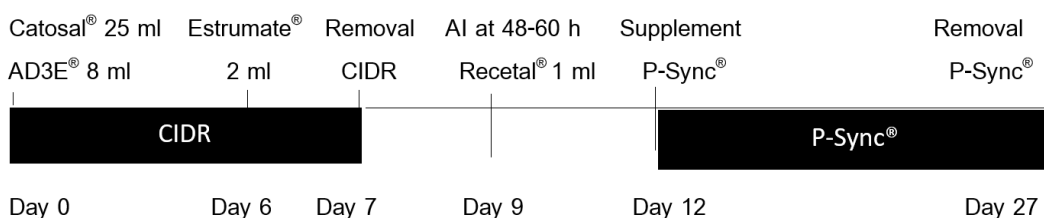


Figure 2. Program synchronization supplementation Progesterone after AI in group 2 (P4 group)

- ในกลุ่มตัวอย่างที่เป็น exposed group มีโอกาส (หรือมีความเสี่ยง) เกิด outcome เพิ่มขึ้น $(1 - RR) \times 100$ เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่เป็น unexposed group

3. เมื่อ $RR < 1$ สัดส่วนของ outcome ใน exposed และ unexposed แตกต่างกัน หรือมี association เชิงลบระหว่างตัวแปรทั้งสอง หรืออาจกล่าวได้อย่างใดอย่างหนึ่ง ดังนี้

- ในกลุ่มตัวอย่างที่เป็น exposed group มีโอกาส (หรือมีความเสี่ยง) เกิด outcome คิดเป็น RR เท่า เมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่เป็น unexposed group

- ในกลุ่มตัวอย่างที่เป็น exposed group มีโอกาส (หรือมีความเสี่ยง) เกิด outcome ลดลง $(1 - RR) \times 100$ เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่เป็น unexposed group

การคำนวณหาขนาดตัวอย่าง (sample size) ของ 2 กลุ่มการทดลอง ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป G*Power ซึ่งเป็นโปรแกรมที่ช่วยคำนวณขนาดตัวอย่าง โดยการใช้งานประกอบด้วย การใส่ข้อมูลกลุ่มของสถิติ (test family) สถิติที่ใช้งาน (statistics) และการระบุ type of power analysis โดยในการคำนวณหาขนาดตัวอย่าง (sample size) ในครั้งนี้ใช้ข้อมูลกลุ่มของสถิติ (test family) แบบ t-test ในส่วนของการใส่ค่าพารามิเตอร์ (input parameters) ประกอบด้วย ค่าขนาดอิทธิพล (effect size) ซึ่งการประมาณค่าขนาดอิทธิพลได้กำหนดเป็นค่าพื้นฐานไว้ 3 ระดับ คือ ขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ โดยค่าอำนาจการทดสอบ (power test) ซึ่งได้จากการคำนวณโดยใช้ค่า type II error (type II error หรือ β เรียกว่าเบต้า/Beta ค่า power = $1 - \beta$) ซึ่งนิยมกำหนดค่า β ร้อยละ 20 จึงได้ค่า Power ร้อยละ 80 ระดับนัยสำคัญ โดยกำหนดค่าอัลฟา/alpha หรือ α ไว้ที่ 0.05 ซึ่งเป็นค่าเริ่มต้น (default)

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาในโครีดที่มีปัญหาการผสมซ้ำ จำนวน 50 ตัว ซึ่งแบ่งการทดลองออกเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยโครีดนมที่เสริมฮอร์โมน

โปรเจสเตอโรน P-sync หลังการผสมเทียม จำนวน 23 ตัว และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยโครีดนมที่ไม่เสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียม จำนวน 27 ตัว โดยทั้ง 2 กลุ่ม ได้จำแนกโคตามตัวแปรดังนี้ lactation number, milk production, No. of AI และ days in milk ดังแสดงใน Table 1

ผลของการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียมต่อการตั้งท้อง เมื่อจำแนกโคออกเป็น lactation number พบว่า ในกลุ่มโคใน lactation number ที่ 1 ร่วมกับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียม มีอัตราการตั้งท้องสูงสุด (risk ratio, i.e. $RR = 5.00$) (95 % CI = 0.767, 32.574) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มโคที่ไม่ได้รับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียม และในกลุ่มโคที่อยู่ใน lactation number ที่ 2 และ 3 ขึ้นไป ร่วมกับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียม มีอัตราการตั้งท้องที่ไม่แตกต่างกัน ในทางสถิติ (risk ratio, i.e. $RR = 0.89$) (95 % CI = 0.301, 2.626), (risk ratio, i.e. $RR = 5.00$) (95 % CI = 0.767, 32.574) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มโคที่ไม่ได้รับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียม ($P > 0.05$) ดังแสดงใน Table 2

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า กลุ่มโคที่อยู่ใน lactation number ที่ 1 ร่วมกับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน หลังการผสมเทียม มีอัตราการตั้งท้องสูงสุด (risk ratio, i.e. $RR = 5.00$) (95 % CI = 0.767, 32.574) ($P < 0.05$) เนื่องจากโคนมที่ให้ลูกครั้งเดียว (primiparous cows) มีการพัฒนาของฟอลลิเคิลในลักษณะเป็นคลื่นฟอลลิเคิล (wave-like pattern) ซึ่งระยะเวลาที่เกิดคลื่นฟอลลิเคิลในแต่ละคลื่นในโคนมที่ให้ลูกครั้งเดียว (primiparous cows) มีระยะเวลายาวนานกว่าโคนมที่ให้ลูกหลายครั้ง (multiparous cows) (17.2 ± 2.3 วัน vs. 11.9 ± 0.7 วัน) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Guntaprom, 2006) ซึ่งจากระยะเวลาที่เกิดคลื่นฟอลลิเคิลที่มีระยะเวลายาวนานกว่า ทำให้โคนมที่ให้ลูกครั้งเดียว (primiparous cows) หรือโคที่อยู่ใน lactation number ที่ 1 มีโอกาสสูงกว่าที่จะพบฟอลลิเคิลบางฟองที่มี

Table 1. Distribution of cows by studying variables and outcome (n = 50) for evaluation of the effect of progesterone supplementation in repeat-breeder lactating dairy cows after insemination

Variable	level	No. of cows in P-Sync group	No. of cows in control group
Lactation number	1	7	7
	2	9	6
	3+	7	14
Milk production (kg)	7.8 - 15.3	9	7
	15.4 - 20.5	9	8
	20.6 - 32.0	5	12
No. of AI	3 - 11	19	22
	12 - 19	2	3
	20 - 27	2	2
Days in milk	63 - 120	10	12
	121 - 190	6	4
	191 - 400	7	11
Outcome	Pregnancy	14	10
	Open	9	17
Total number of cows		23	27

Table 2. Effect of progesterone supplementation on pregnancy in repeat-breeder lactating dairy cows after insemination stratified by lactation number

Lactation	Outcome	P-Sync	Control	Relative risk of pregnancy 95 % CI (lower limit, upper limit)	P-value
1	Pregnancy	5	1	5.00 (0.767, 32.574)	0.03
	Open	2	6		
2	Pregnancy	4	3	0.89 (0.301, 2.626)	0.62
	Open	5	3		
3+	Pregnancy	5	3	3.33 (1.102, 10.085)	0.06
	Open	2	11		
Total number of cows		23	27		

ขนาดใหญ่ (dominant follicle) ที่สามารถเกิดการตกไข่ได้ ซึ่งการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียมทำให้มีเลือดไหลเข้าสู่บริเวณเยื่อบุมดลูกมากขึ้น ทำให้มีลักษณะบวม สรุปได้ว่าผลของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนทำหน้าที่เตรียมเยื่อบุมดลูกสำหรับให้ไข่ที่ผสมกับน้ำเชื้ออสุจิแล้วเกิดการฝังตัว (implantation) ได้ง่ายขึ้นและสามารถเจริญต่อไปได้ สอดคล้องกับ Villarroel *et al.* (2004) ได้ศึกษาผลของการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน PRID หลังการผสมเทียมในโคที่มีปัญหาการผสมซ้ำพบว่า การเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน PRID หลังการผสมเทียมสามารถปรับปรุงอัตราการตั้งครรภ์ให้ดีขึ้นในในกลุ่มโคที่อยู่ใน lactation number ที่ 1 ซึ่งได้รับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน PRID จำนวน 18 วัน หลังการผสมเทียม โดย Garcia-Ispuerto and Lopez-Gatius (2017) ได้ศึกษาการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียมเพื่อเพิ่มอัตราการผสมติดในโคที่ให้ผลผลิตสูง พบว่า กลุ่มโค primiparous มีอัตราการตั้งครรภ์ที่สูงกว่า กลุ่มโค multiparous (52.1 % vs. 31.2 %) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.0001$)

เมื่อศึกษาถึงอิทธิพลของ days in milk ต่อผลของการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน P-Sync หลังการผสมเทียมต่อการตั้งครรภ์ พบว่า กลุ่มโคที่มี days in milk (63 - 120), days in milk (121 - 190) และ days in milk (191 - 400) ร่วมกับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียม มีอัตราการตั้งครรภ์ที่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ (risk ratio, i.e., RR = 2.40) (95 % CI = 0.797, 7.231), (risk ratio, i.e. RR = 1.33) (95 % CI = 0.430, 4.134), (risk ratio, i.e., RR = 3.14) (95 % CI = 0.769, 12.850) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มโคที่ไม่เสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียม ($P > 0.05$) ดังแสดงใน Table 3

อิทธิพลของ days in milk ต่อผลของการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียมต่อการตั้งครรภ์ พบว่า กลุ่มโคที่มี days in milk (191-400) ร่วมกับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน P-Sync หลังการผสมเทียม มีแนวโน้มของการตั้งครรภ์สูงสุด (risk ratio, i.e. RR = 3.14) (95 % CI = 0.769, 12.850) ($P = 0.10$) โดยกลุ่ม

โคที่มี days in milk (191-400) ในช่วง Peak ของการให้ผลผลิตน้ำนมมีค่าเฉลี่ยน้ำนมต่อตัวต่อวันอยู่ที่ 38 กิโลกรัม ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มที่ให้ผลผลิตน้ำนมมากของฝูง หลังจากผ่านช่วง Peak ของการให้ผลผลิตน้ำนมกลุ่มโคที่มี days in milk (191-400) ร่วมกับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน P-Sync หลังการผสมเทียม มีอัตราการตั้งครรภ์ที่ดีที่สุด เนื่องจากการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน P-Sync หลังการผสมเทียม ช่วยเพิ่มความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนให้สูงขึ้นกระตุ้นให้ผนังมดลูกเจริญหนาตัวขึ้น ทั้ง myometrium และ endometrium เพื่อเตรียมพร้อมสำหรับการฝังตัวของตัวอ่อน ช่วยเพิ่มอัตราการรอดตายของตัวอ่อน (embryo survival rate) ให้สูงขึ้น (Ball and Peters, 2004) สอดคล้องกับ Villarroel *et al.* (2004) ได้รายงานไว้ว่า อิทธิพลของ days in milk ต่อผลของการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน PRID หลังการผสมเทียมในโคที่มีปัญหาการผสมซ้ำ กลุ่มโคที่มี days in milk (185 - 407) มีอัตราการตั้งครรภ์ที่สูงที่สุด (risk ratio, i.e. RR = 1.64) โดยการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนระยะเวลา 2 สัปดาห์หลังการผสมเทียมนั้นทำให้ความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่เพิ่มขึ้นซ้ำในช่วงสัปดาห์แรกหลังการผสมเทียมนั้นครอบคลุมช่วงวิกฤติก่อนการตั้งครรภ์ เพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตของตัวอ่อน และเพื่อให้แน่ใจว่าความเข้มข้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะเพียงพอต่อการกระตุ้นให้ผนังมดลูกเจริญตัวหนาขึ้น ส่งผลให้การฝังตัวของตัวอ่อนดีขึ้น และ Larson *et al.* (2007) ได้รายงานเสริมว่า กลุ่มโครีดนมที่เสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังการผสมเทียม และมี days in milk (126 ± 17) มีอัตราการตั้งครรภ์ที่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มโครีดนมที่ไม่เสริม โดยการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในวันที่ 4 หลังการผสมเทียม เป็นประโยชน์ต่อการเพิ่มอัตราการตั้งครรภ์ของโคนม ซึ่งได้รับการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (Monteriro *et al.*, 2014)

Table 3. Effect of progesterone supplementation on pregnancy repeat-breeder lactating dairy cows after insemination stratified by stage of lactation

Day in milk	Outcome	P-Sync	Control	Relative risk of pregnancy 95 % CI (lower limit, upper limit)	P-value
63 - 120	Pregnancy	6	3	2.40 (0.797, 7.231)	0.11
	Open	4	9		
121 - 190	Pregnancy	4	2	1.33 (0.430, 4.134)	0.54
	Open	2	2		
191 - 400	Pregnancy	4	2	3.14 (0.769, 12.850)	0.10
	Open	3	9		
Total number of cows		23	27		

สรุป

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า กลุ่มโคที่อยู่ใน lactation number ที่ 1 ร่วมกับการเสริมฮอร์โมนโปรเจส-เทอโรนหลังการผสมเทียม มีการตั้งท้องสูงสุด (risk ratio, i.e. RR = 5.00) (95 % CI = 0.767, 32.574) ($P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มไม่เสริม และพบว่า อิทธิพลของ Days in milk ต่อผลของการเสริมฮอร์โมนโปรเจส-เทอโรนหลังการผสมเทียมต่อการตั้งท้องพบว่า กลุ่มโคที่มี days in milk 191 - 400 day ร่วมกับการเสริมฮอร์โมนโปรเจสเทอโรนหลังการผสมเทียม มีแนวโน้มของการตั้งท้องสูงสุด (risk ratio, i.e. RR = 3.14) (95 % CI = 0.769, 12.850) ($P = 0.10$)

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.บัลลกุลพ์ ทิพย์เนตร กรรมการผู้จัดการบริษัท เชียงใหม่เฟรชมิลค์ จำกัด ที่ให้การสนับสนุนสถานที่ในการทดลอง สัตว์ทดลอง ข้อมูลประวัติโค และข้อมูลด้านการผสมเทียม จึงทำให้ได้ข้อมูลมาเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ผล ทำให้การวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Ball, P.J.H. and A.R. Peters. 2004. Reproduction in Cattle. 3rd ed. Blackwell Publishing Ltd, Oxford. 242 p.
- Bilby, T.R., R.G.S. Bruno, K.J. Lager, R.C. Chebel, J.G.N. Moraes, P.M. Fricke, G. Lopes, J.O. Giordanoo, J.E.P. Santos, F.S. Lima, J.S. Stevenson and S.L. Pulley. 2013. Supplemental progesterone and timing of resynchronization on pregnancy outcomes in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science 96(11): 7032-7042.
- Bisinotto, R.S., E.S. Ribeiro, F.S. Lima, N. Martinez, L.F. Greco, L.F.S.P. Barbosa, P.P. Bueno, L.F.S. Scagion, W.W. Thatcher and J.E.P. Santos. 2012. Targeted progesterone supplementation improves fertility in lactating dairy cows without a corpus luteum at initiation of the timed artificial insemination protocol. Journal of Dairy Science 96(4): 2214-2225.
- Forro, A., G. Tsousis, N. Beindorff, R. Sharifi, L. Jakel and H. Bollwein. 2012. Combined

- use of Ovsynch and progesterone supplementation after artificial insemination in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 95(8): 4372-4381.
- Garcia-Ispuerto, I. and F. Lopez-Gatius. 2017. Progesterone supplementation in the early luteal phase after artificial insemination improves conception rates in high-producing dairy cows. *Theriogenology* 90: 20-24.
- Guntaprom, S. 2006. Follicular development and enhancing the efficiency of synchronization of ovulation in early postpartum dairy cows. M.S. Thesis. Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen. 119 p. (in Thai)
- Larson, S.F., W.R. Butler and W.B. Currie. 2007. Pregnancy rates in lactating dairy cattle following supplementation of progesterone after artificial insemination. *Animal Reproduction Science* 102(1-2): 172-179.
- Lima, J.R., F.A. Rivera, C.D. Narcisco, R. Oliveira, R.C. Chebel and J.E.P. Santos. 2009. Effect of increasing amounts of supplemental progesterone in a timed artificial insemination protocol on fertility of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92(11): 5436-5446.
- Monteriro, P.L.J., E.S. Ribeiro, R.P. Maciel, A.L.G. Dias, E. Sole, F.S. Lima, R.S. Bisinotto, W.W. Thatcher, R. Sartori and J.E.P. Santos. 2014. Effect of supplemental progesterone after artificial insemination on expression of interferon-stimulated genes and fertility in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 97(8): 4907-4921.
- Pattanawong, W. and W. Thaworn. 2014. Development of estrus synchronization equipment for fixed-timed artificial insemination. *Thai Journal of Animal Science* 1(Suppl. 2): 87-90. (in Thai)
- Punyapornwithaya, V., S. Teepatimakorn and S. Chaiprasat. 2006. The study of factors effects on the incidence of repeat breeder in cross bred dairy cows using log-linear model. *Journal of the Thai Veterinary Medical Association Under Royal Patronage* 57(1): 36-45. (in Thai)
- Villarroel, A., A. Martino, R.H. BonDurant, F. Deletang and W.M. Sischo. 2004. Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows. *Theriogenology* 61(7-8): 1513-1520.
- Yan, L., R. Robinson, Z. Shi and G. Mann. 2016. Efficacy of progesterone supplementation during early pregnancy in cows: A meta-analysis. *Theriogenology* 85(8): 1390-1398.
- Yohkma, W. 2006. Artificial Insemination in Cattle. Kaset Sarn Publishing, Bangkok. 112 p. (in Thai)