หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

กระบือ (*Bubalus bubalis Linn.*) จัดเป็นสัตว์เลี้ยงที่อยู่ในวงศ์ย่อย Bovinac เช่นเดียวกับโค *(Bos taurus)* ปัจจุบันทั่วโลกมีจำนวนประชากรกระบือประมาณ 150 ล้านตัว ซึ่งประมาณ 1 ใน 10 ของประชากรทั้งหมดจะกระจายตัวอยู่ในทวีปเอเชีย โดยเฉพาะประเทศในเขตร้อนชื้นหรือกึ่งร้อนชื้นที่มีรายได้หลักของประเทศมาจากการเกษตร กระบือได้ถูกจัดแบ่งออกเป็น 2 ชนิดตามลักษณะทางพันธุกรรม ลักษณะภายนอกและนิสัยในการนอนแช่ปลัก คือ กระบือแม่น้ำ (river buffalo) และกระบือปลัก (swamp buffalo) โดยกระบือปลักมีจำนวนโครโมโซม 48 แท่ง และกระบือแม่น้ำมีจำนวนโครโมโซม 50 แท่ง (Chuanchai, 1986) กระบือปลักเป็นกระบือที่เลี้ยงมากในประเทศจีนตอนใต้ ออสเตรเลีย และประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมถึงประเทศไทยด้วย (Cockrill,1974) ซึ่งเกษตรกรนอกจากจะเลี้ยงกระบือไว้ใช้งานแล้วยังเป็นรายได้หลักทดแทน เมื่อพืชผลทางการเกษตรได้รับความเสียหาย เพราะเนื้อกระบือเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญ เป็นโปรตีนที่ใช้ทำอาหารแปรรูป เช่น ไส้กรอก ลูกชิ้น ได้ดีกว่าเนื้อโค ความต้องการในการบริโภคเนื้อสัตว์ที่เพิ่มขึ้นตามจำนวนประชากรที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จึงเป็นเหตุจูงใจให้กิจการผลิตกระบือ ได้รับความสนใจจากผู้ลงทุนจากภาคอุตสาหกรรมเป็นอันมาก มีหน่วยงานและองค์กรเกิดขึ้น หลายแห่งทั้งภายในประเทศและระหว่างประเทศ องค์กรเหล่านี้ล้วนแล้วแต่เห็นความสำคัญ ที่จะให้ความสนใจศึกษาและวิจัย เพื่อเพิ่มผลผลิตกระบือทั้งในระดับฟาร์ม และระดับเกษตรกรรายย่อย (จรัญ จันทลักขณา,2527; Frish and Vercoe,1984; Mahadevan,1984; Kamonpatana et al,1989,) แต่วิทยาการด้านการผลิตกระบือก็ยังมีสิ่งที่ต้องค้นคว้าอีกมากทั้งนี้เนื่องจาก การเลี้ยงกระบือส่วนมากอยู่ในประเทศในทวีปเอเชีย ซึ่งเป็นประเทศเกษตรกรรมส่วนใหญ่ วิธีการเพาะเลี้ยงยังใช้เทคโนโลยีพื้นบ้าน ในการเพาะเลี้ยง จึงมีงานวิจัยด้านกระบือน้อยเมื่อเทียบกับงานโค เป็นผลให้การผลิตกระบืออยู่ในระดับต่ำ ซึ่งจากรายงานของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2535) ในช่วงปี พ.ศ.2504-2532 อัตราการเพิ่มของโคโดยเฉลี่ย 1.75 เปอร์เซนต์ ในขณะที่กระบือเพิ่มเพียง 0.34 เปอร์เซนต์ ดังนั้นถ้าจะใช้ระบบอุตสาหกรรมในการผลิตกระบือให้เทียบเท่ากับการผลิตโคก็จำเป็นจะต้อง

สร้างฐานของงานวิจัย และสร้างเทคโนโลยีที่เหมาะสม ด้วยเหตุผลข้างต้นที่กล่าวมา งานวิจัยเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกระบือ จึงได้รับความสนใจจากนักวิจัยระดับวิจัยอาวุโสในรอบสองทศวรรษที่แล้ว และมีผลต่อเนื่องในกิจการพัฒนาเทคโนโลยีชั้นสูงในการผลิตกระบือ ให้มีโอกาสไต่เต้าเข้าสู่ภาคอุตสาหกรรมมาเป็นลำดับ

จากการศึกษากระบวนการสืบพันธุ์ในกระบือ พบว่าจะมีความคล้ายคลึงกับโคทั้งทางด้านกายวิภาค และสรีรวิทยาของการสืบพันธุ์ (Jainudeen,1983a; Bodhipaksha 1985) กระบือปลักเพศเมียจะเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์ อายุโดยเฉลี่ย 3-4 ปี (Bodhipaksha et al,1978) ซึ่งช้ากว่าโคประมาณ 6 เดือน (ประสบ บูรณมนัส 2530) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการเลี้ยงดูและอาหารเป็นสำคัญ (Arora,1979) อายุที่ให้ลูกเฉลี่ย 5.26±0.94 ปี โดยอยู่ในช่วงระหว่าง 3.75-6.68 ปี (Usanakornkul et al,1979) ซึ่งโดยทั่วไปชาวบ้านเชื่อกันว่ากระบือควรมีอายุประมาณ 3 ปี จึงควรใช้สืบพันธุ์ เพราะกระบือสาวเมื่ออายุ 3 ปี จะมีน้ำหนัก 200-250 กิโลกรัม ซึ่งอยู่ในขนาดที่ให้ลูกได้สมบูรณ์เพียงพอ ถ้าใช้กระบือสาวขนาดเล็กเกินไปผสมพันธุ์ จะได้ลูกกระบือที่มีขนาดเล็กไม่ค่อยสมบูรณ์และมีผลกระทบต่อสุขภาพของแม่กระบือด้วย กระบือเมื่อเข้าสู่วัยเจริญพันธุ์จะมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา ซึ่งจากรายงานการศึกษาระยะต่าง ๆ ของวงจรการเป็นสัด (พีระศักดิ์ และคณะ 2523, ประสบ บูรณมานัส 2527) พบว่าแบ่งออกเป็น 4 ระยะด้วยกัน คือ

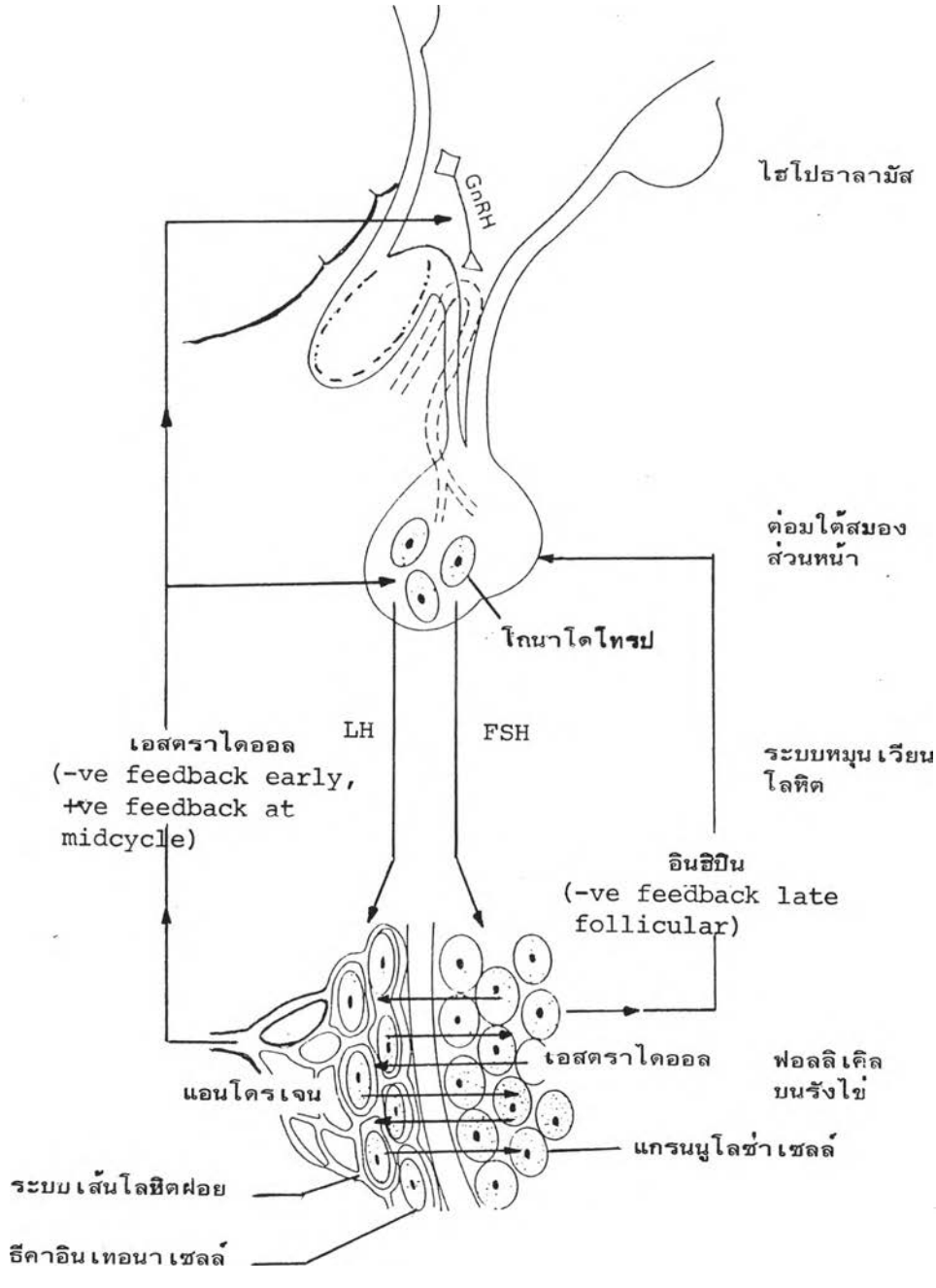
1. **ระยะก่อนเป็นสัด** (Proestrus) เป็นระยะที่ฟอลลิเคิลซึ่งมีไข่สุกขึ้นด้วยอิทธิพลของฟอลลิเคิลสติมูเลติง ฮอร์โมน (FSH) ซึ่งกระตุ้นให้มีการเจริญของฟอลลิเคิล ภายในฟอลลิเคิลที่เจริญเต็มที่ (Graafian follicle) นี้จะมีของเหลวภายในซึ่งมีฮอร์โมนเอสโตรเจน จำนวนมาก ทำให้เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงของอวัยวะสืบพันธุ์ โดยจะมีเลือดมาเลี้ยงมากขึ้นที่เยื่อบุด้านในมดลูก ช่องคลอด และเยื่อบุช่องคลอด ทำให้หนาบวมขึ้น ปากมดลูกเริ่มหย่อน อาจมีของเหลวค่อนข้างใสหรือขาวขุ่น เป็นเมือกหนืดไหลออกมา กระบือ จะเริ่มแสดงอาการเป็นสัด

2. **ระยะเป็นสัด** (Estrus) เป็นระยะที่สัตว์แสดงออกถึงการยอมรับการผสมจากเพศผู้ กระบือไม่ค่อยแสดงอาการสัดต่าง ๆ ให้เห็นเด่นชัด หรือเป็นสัดเงียบ (silent heat) ซึ่งแตกต่างจากโค โดยระยะนี้ใช้ประมาณ 28 ชั่วโมง

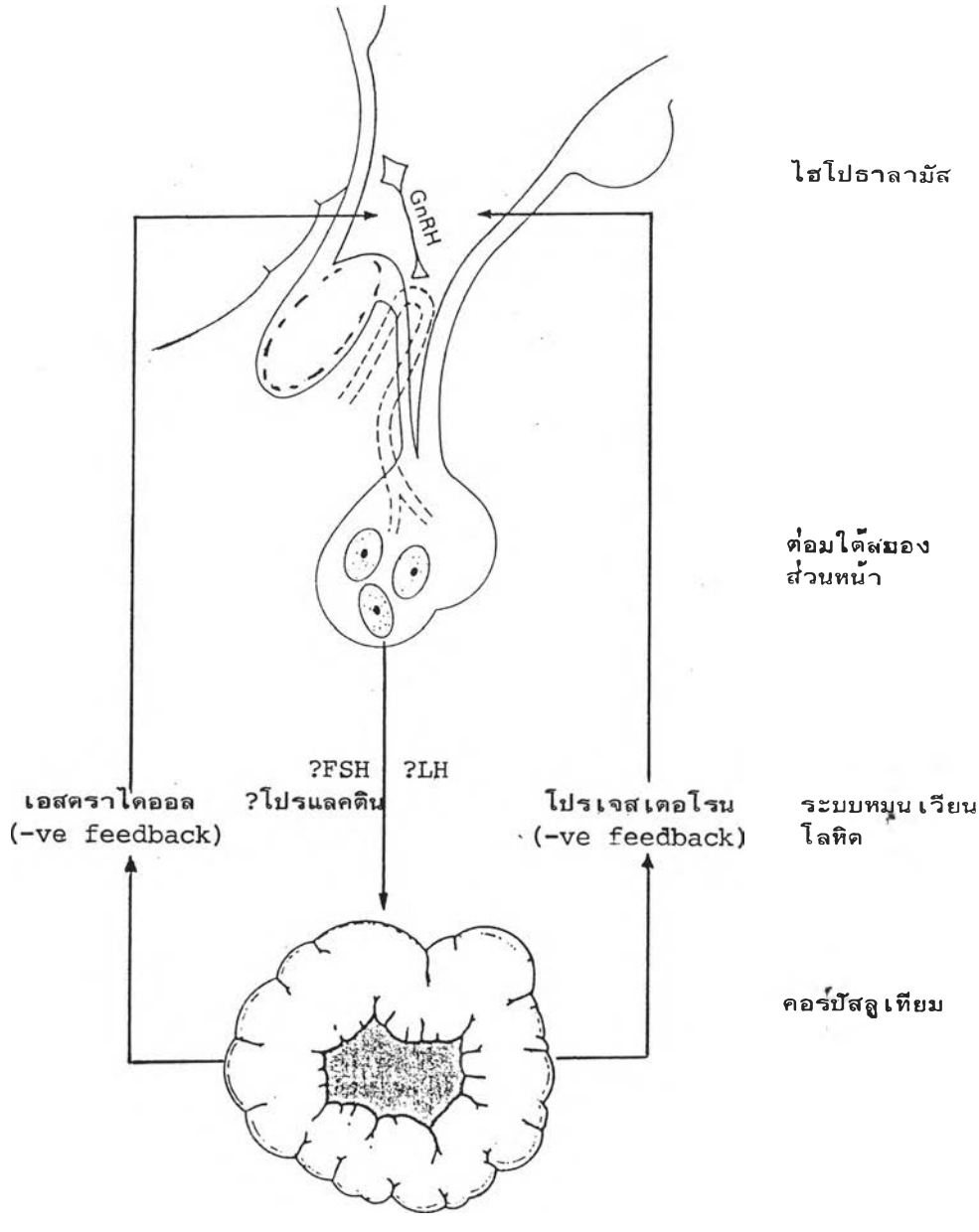
3. **ระยะหลังเป็นสัด** (Metestrus) เป็นระยะที่เกิดหลังเป็นสัด ในระยะนี้คอร์ปัสลูเทียมจะเจริญอย่างรวดเร็ว และสร้างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน โดยระยะนี้ใช้เวลา 19 ชั่วโมง

4. **ระยะสิ้นสุดการเป็นสัด** (Diestrus) เป็นระยะที่นานที่สุดของวงจรการเป็นสัด โดยคอร์ปัสลูเทียมจะเจริญและสร้างฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมากขึ้น เยื่อบุมดลูกจะหนาขึ้น เพื่อเตรียมที่จะรับการฝังตัวของไข่ที่ได้รับการผสม ในตอนท้ายของระยะนี้คอร์ปัสลูเทียมจะฝ่อตัวไป และเริ่มมีการเจริญของฟอลลิเคิลใบใหม่ขึ้นมา

การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในระยะต่าง ๆ ของวงจรการเป็นสัด เกิดขึ้นจากความสัมพันธ์ทางสรีรวิทยา และต่อมไร้ท่อที่ควบคุมขั้นตอนการสืบพันธุ์ โดยการทำงานร่วมกันระหว่างสมองในส่วนของไฮโปธาลามัส ต่อมใต้สมอง และรังไข่ ดังแสดงในรูปที่ 1.1 และ 1.2 โดยกลไกการควบคุมย้อนกลับแบบ positive และ negative ระหว่างรังไข่กับต่อมใต้สมอง และสมองในส่วนของไฮโปธาลามัส (Convey,1973; Gonzaleg-Padilla et al,1975; Schams et al,1977; Haresign et al,1983 ;Johnson and Everitt,1988) โดยสมองในส่วนของไฮโปธาลามัส โดยเฉพาะบริเวณ medial basal และ arcuate nucleus, จะมี neurosecretory neurons ซึ่งมีปลายประสาท axon มาสิ้นสุดที่ส่วนกลางของ median eminance เซลล์ประสาทเหล่านี้จะหลั่งโกนาโดโทรฟินรีลีสซิ่ง ฮอร์โมน (Gn-RH) ซึ่งเป็นโปรตีนฮอร์โมนที่ประกอบไปด้วยกรดอะมิโน 10 ตัว (Schally et al,1971) และการเรียงตัวของกรดอะมิโนในสูตรโครงสร้าง พบว่าประกอบไปด้วย Pyro-Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2 ดังแสดงในรูปที่ 1.3



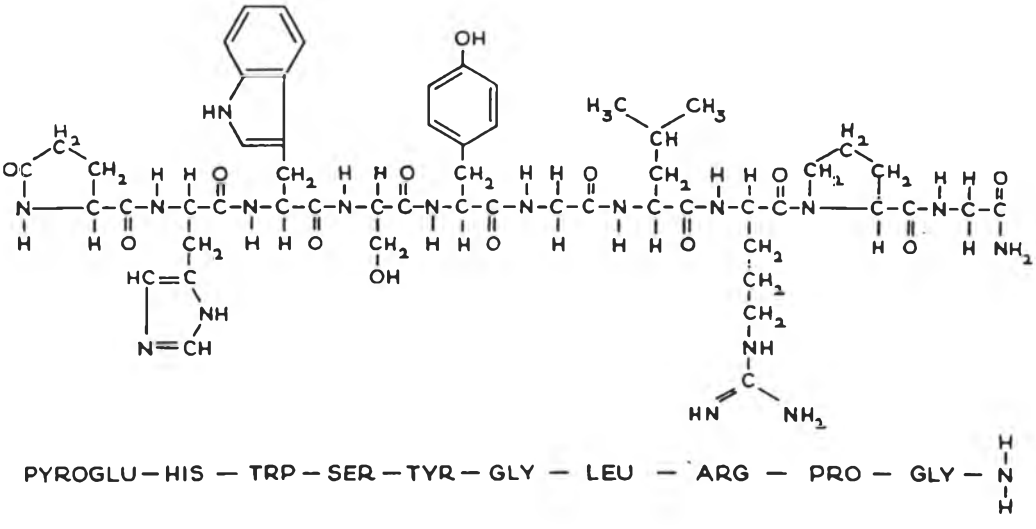
รูปที่ 1.1 แสดงการควบคุมซึ่งกันและกัน ระหว่างสมองในส่วนของไฮโปธาลามัส ต่อมใต้สมองส่วนหน้า และรังไข่ในระยะฟอลลิคูลาร์ (Johnson and Everitt, 1988)



รูปที่ 1.2 แสดงการควบคุมซึ่งกันและกัน ระหว่างสมองในส่วนของไฮโปธาลามัส ต่อมใต้สมองส่วนหน้า และรังไข่ในระยะลูเทียล (Johnson and Everitt, 1988)

โดย Gn-RH ที่หลั่งไปยังต่อมใต้สมองส่วนหน้าโดยผ่าน portal blood vessel จะไปมีผลกระตุ้นเซลล์โกนาโดโทรปจากต่อมใต้สมองส่วนหน้าให้หลั่ง LH และ FSH ซึ่งพบได้ทั้งในแกะ (Haresign et al,1975; Jenkin et al,1977; Mcleod et al,1982) โค (Kaltenbach et al,1974; Schams et al,1974 ; Karsch et al,1992) และกระบือ (Aboul-Ela et al,1983) โดยที่กลไกการควบคุมการหลั่ง Gn-RH จากสมองในส่วนของไฮโปธาลามัส Clarke (1987) ได้รายงานไว้ว่า เกิดจากการควบคุมย้อนกลับจากสเตอรอยด์ ฮอร์โมน จากรังไข่ ซึ่งก่อนหน้านี้ Clarke และคณะ (1982) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นหลังจากให้ฮอร์โมนเอสโตรเจนในแกะที่ทำการตัดรังไข่ พบว่า ผลที่เกิดขึ้นอันดับแรก ทันทีที่ให้ฮอร์โมนเอสโตรเจน คือ ทำให้ระดับ LH ในพลาสมาลดลงทันทีโดยเรียกการควบคุมย้อนกลับนี้ว่า short-term negative และหลังจากนั้นระดับ LH ในพลาสมาจะเพิ่มขึ้นมากกว่าระดับก่อนฉีด เรียกการควบคุมย้อนกลับแบบนี้ว่า positive ซึ่งก่อนหน้าที่ Dickman และ Malven (1973) ได้เคยรายงานไว้แล้วว่า ถ้าฉีดฮอร์โมนเอสโตรเจนต่อไปในแกะที่ตัดรังไข่ จะทำให้ระดับ LH ในพลาสมาลดต่ำลงกว่าสัตว์ที่ตัดรังไข่และไม่ฉีดฮอร์โมนเอสโตรเจน เรียกการควบคุมย้อนกลับแบบนี้ว่า long-term negative และจากรายงานการศึกษาการควบคุมการหลั่ง LH ของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในโคพบว่า เป็นฮอร์โมนหลักในการควบคุมย้อนกลับแบบ negative (convey et al, 1977) โดยขณะที่โคตั้งท้อง ฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในระดับสูงจะกดการหลั่ง Gn-RH จากสมองในส่วนของไฮโปธาลามัส มีผลทำให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้าได้รับการกระตุ้นให้หลั่ง LH ไม่เพียงพอ

Karsch และคณะ (1992) ได้รายงานการศึกษาในแกะพบว่า LH จะถูกเหนี่ยวนำให้หลั่ง โดยมีรูปแบบการหลั่งที่ขึ้นกับการหลั่งของ Gn-RH มาตาม portal blood vessel โดยการเปลี่ยนแปลงสูงขึ้น หรือการคงอยู่ของ Gn-RH นี้ ถูกกระตุ้นเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของฮอร์โมนเอสตราไดออลในกระแสเลือดที่หลั่งมาจากเวสิคิวล่าฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ถึงระยะใกล้สัตกไป ซึ่งกระบวนการควบคุมนี้รวมไปถึงสวิทช์ควบคุมรูปแบบการหลั่งขึ้น-ลงของ Gn-RH ที่เฉพาะเจาะจงในแต่ละช่วงของวงจรการเป็นสัดด้วย



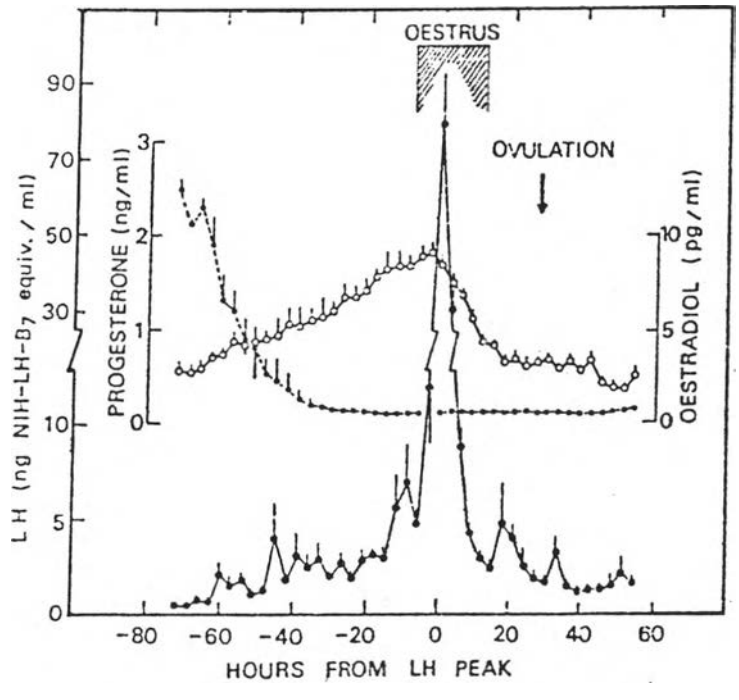
รูปที่ 1.3 แสดงการเรียงตัวของกรดอะมิโนของโกนาโดโทรพิน รีลีสชิ่ง ฮอร์โมน (gonadorelin) ที่สกัดจากสมองในส่วนของไฮโปธาลามัสของหมู (Schally et al, 1971)

Moenter และคณะ (1992) ได้รายงานการศึกษารูปแบบของการหลั่ง Gn-RH มาตาม portal blood vessel โดยทำการศึกษาในแกะหลังจากตัดรังไข่ โดยทำการศึกษาทันทีหลังจากตัด พบว่า pulse ของ Gn-RH จะเป็นแบบ square wave โดย pulse ที่มีขนาดใหญ่และใช้เวลานานเพียงพอ จึงจะทำให้การหลั่ง pulse ของ LH ที่มี amplitude สูงสุด

โดยที่การหลั่ง LH และ FSH จะไปมีผลต่อรังไข่ที่จะทำให้มีการเจริญของฟอลลิเคิลจนถึงมีการตกไข่ ซึ่งในแกะพบว่า LH และ FSH จะจับกับรีเซพเตอร์ที่ผนังเซลล์ของเซลล์ในฟอลลิเคิลของรังไข่ ซึ่งผนังเซลล์เหล่านี้จะเปลี่ยนแปลงไปเฉพาะตัว ขึ้นกับระยะของวงจรการเป็นสัด ในช่วงแรกของระยะฟอลลิคูลาร์ LH จับกับรีเซพเตอร์ที่ ธีคา อินเทอนาเซลล์ กระตุ้นการสร้างฮอร์โมนแอนโดรเจน จากอะซิเตท และโมเลสเตอรอล แต่ธีคา อินเทอนาเซลล์ เองไม่สามารถจะเปลี่ยนฮอร์โมนแอนโดรเจนเป็นฮอร์โมนเอสโตรเจนได้ ในระยะเดียวกันนี้ FSH จะจับกับรีเซพเตอร์ ที่แกรนนูโลซาเซลล์ กระตุ้นให้ฮอร์โมนแอนโดรเจนเปลี่ยนเป็น ฮอร์โมนเอสโตรเจนโดยการเกิด aromatization แต่เนื่องจากแกรนนูโลซาเซลล์ไม่สามารถสร้างฮอร์โมนแอนโดรเจนได้ด้วยตัวเอง จึงต้องอาศัยฮอร์โมนแอนโดรเจนที่ ธีคา อินเทอนาเซลล์ สร้างไว้โดยเฉพาะฮอร์โมนแอนโดรเจนชนิด ฮอร์โมนแอนโดรสตีนไดโอน และฮอร์โมนเอสโตรเจนตัวแรกที่สร้าง คือ ฮอร์โมนเอสตราไดออล ฮอร์โมนเอสตราไดออลนี้จะเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือดและเข้าสู่แอนทรัม และมีบทบาทสำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของแกรนนูโลซาเซลล์ ในช่วงท้ายของระยะฟอลลิคูลาร์ โดยจับกับรีเซพเตอร์ที่ไซโตพลาสซึมของแกรนนูโลซาเซลล์ กระตุ้นให้เกิดการแบ่งของเซลล์ และสร้างฮอร์โมนเอสตราไดออล และด้วยกลไกการควบคุมย้อนกลับแบบ positive ของฮอร์โมนเอสตราไดออล ต่อการสร้างฮอร์โมนเอสตราไดออล ในโคจะเกิดระยะกลางของวงจรการเป็นสัด (Ireland,1987 and Kinder et al,1987) ทำให้ฮอร์โมนเอสตราไดออลมีระดับสูงสุด และกระตุ้นการหลั่ง LH ช่วงท้ายของระยะฟอลลิคูลาร์ก่อนที่จะตกไข่

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมนเพศในวงจรการเป็นสัดของแม่กระบือ โดย Kamonpatana และคณะ (1979) ได้ทำการศึกษาโดยการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และฮอร์โมนเอสตราไดออล 17-เบต้า พบว่า วงจรการเป็นสัดปกติจะอยู่ช่วงระหว่าง 19-27 วัน และระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนก่อนการเป็นสัดจนถึงเป็นสัด โดยเฉลี่ย 9.7 นาโนกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร และค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้นประมาณ 7-10 วัน จนถึงระดับสูงสุดประมาณ 15-16 วันมีค่าเท่ากับ 38.8 นาโนกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร และจะลดระดับอย่างรวดเร็วจนถึงระดับปกติ ประมาณ 4-7 วัน

ก่อนวงจรการเป็นสัดถัดไป และระดับฮอร์โมนเอสตราไดออล 17-เบต้า จะมีระดับปกติน้อยกว่า 5.0 นาโนกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร และจะเข้าสู่ระดับสูงสุด 13.0 นาโนกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ก่อนการเป็นสัด เป็นเวลาประมาณ 4 วัน และจะลดลงอย่างรวดเร็วสู่ระดับปกติ 3.9 นาโนกรัมต่อ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร



รูปที่ 1.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (---·) เอสตราไดออล 17-เบต้า (-o-) และ LH (—·) ในพลาสมากระบือปลัก ในวงจรการเป็นสัด โดยมีความยาววงจรโดยเฉลี่ย 20 วัน (Kanai, 1987)

Kaker และคณะ (1980) ได้ทำการศึกษาระดับ LH พบว่า ในขณะที่กระบือเป็นสัด ระดับสูงสุดของ LH โดยเฉลี่ย 20.80±3.43 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในฤดูร้อน และโดยเฉลี่ย 21.24±0.98 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในฤดูหนาว โดยที่จะอยู่ในระดับสูงนี้เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และเข้าสู่ระดับปกติ ประมาณ 1-2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

Jainudeen และคณะ (1981)ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน พบว่า วงจรการเป็นสัดของกระบือจะประมาณ 22 วัน ในวันที่เป็นสัดคือวันที่ 0 ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน จะอยู่ในระดับต่ำโดยเฉลี่ย 0.24±0.12 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และจะเพิ่มสูงขึ้นเป็นระดับโดยเฉลี่ย 0.42±0.21 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากเป็นสัด 6 วัน และขึ้นสู่ระดับสูงสุดโดยเฉลี่ย 1.51±0.35 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 15 และลดลงสู่ระดับปกติ 0.2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 22

Avenell และ Fletcher (1982) ได้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และการแสดงอาการสัดของกระบือปลักในประเทศอินโดนีเซีย พบว่า ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะเปลี่ยนแปลงอยู่ระหว่างระดับปกติโดยเฉลี่ย 0.14±0.07 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และระดับสูงสุดโดยเฉลี่ย 2.60±0.12 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีช่วงการเป็นสัด โดยเฉลี่ย 22.4±0.3 วัน

Jainudeen (1983 b) ได้ทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และสภาพของรังไข่จากการส้วงตรวจผ่านทางทวารหนัก พบว่าในขณะที่ตรวจพบคอร์ปัสลูเทียม ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในพลาสมาโดยเฉลี่ย 1.49±0.78 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และขณะที่ไม่พบคอร์ปัสลูเทียมระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนโดยเฉลี่ย 0.14±0.09 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร

Kanai และ Shimizu (1984) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ในวงจรการเป็นสัด พบว่า สูงขึ้นหลังเป็นสัด 5 วัน และมีระดับสูงสุดวันที่ 10 และลดลงอย่างรวดเร็วก่อนเป็นสัด 5 วัน และตามด้วยการเพิ่มของระดับฮอร์โมนเอสตราไดออล 17-เบต้า ส่วนระดับ LH จะอยู่ในระดับต่ำปกติจนถึงตอนกลางของระยะลูเทียล และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ในระยะฟอลลิคูลาร์ ซึ่งการตกไข่จะเกิดขึ้นหลังจากนั้น 27-30 ชั่วโมง

Kanai (1987) ได้ทำการศึกษาวงจรการเป็นสัดของกระบือ พบว่า วงรอบปกติจะอยู่ในช่วงระหว่าง 17-26 วัน หรือโดยเฉลี่ย 21.5±5.3 วัน โดยมีความเป็นไปได้ตั้งแต่ 9-38 วัน และการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนเอสตราไดออล 17-เบต้า จะเพิ่มจาก 2.9 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันก่อนที่มี LH ระดับสูงสุด 4 วัน ถึง 9.1 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในวันที่เป็นสัด และคงที่อยู่ที่ 3 พิโครกรัมต่อมิลลิลิตรในระยะลูเทียล ส่วนระดับ LH จะมีระดับสูงสุดในวันที่เป็นสัด จะสูงถึง 16.7 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 0.8-3.4 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในช่วงก่อนและหลังเป็นสัด 1 วัน จนเข้าสู่ระดับปกติในระยะฟอลลิคูลาร์ คือ ในช่วงก่อนและหลังเป็นสัด 6 วัน ซึ่งวัดได้ 0.8-1.2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และก่อนเป็นสัด 5 วัน จะเพิ่มจาก 1.19 เป็น 3.34 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยที่การตกไข่จะเกิดหลังจากเป็นสัด 13.9 ชั่วโมง

นอกจากการที่กระบือมีวงจรการเป็นสัดไม่สม่ำเสมอแล้ว คือมีความเป็นไปได้ตั้งแต่ช่วงระหว่าง 9-38 วัน (Kanai, 1987) ช่วงเวลาของการเป็นสัดมีความแปรปรวนสูง คือ 24-72 ชั่วโมง ทำให้มีการศึกษาถึงเวลาที่เหมาะสมในการผสมพันธุ์

โดยที่ Leenanuraksa และคณะ (1979) พบว่า ในวันที่ทำการผสม ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะอยู่ในระดับต่ำเท่ากับ 0.16±0.20 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้น 24 วัน และ 30 วัน กระบือที่ผสมติดจะมีระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน โดยเฉลี่ย 1.81±0.92 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และ 2.05±1.08 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่ง Kamonpatana และคณะ (1980) ได้ทำการศึกษาในขณะที่กระบือตั้งท้องระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะคงที่อยู่ในระดับสูง โดยเฉลี่ย 1.47±0.23 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และลดลงทันทีในวันคลอดจนถึงระดับปกติ ส่วนระดับ LH จะอยู่ในระดับปกติจนถึงการเป็นสัดครั้งแรก

สภาวะการสืบพันธุ์หลังคลอด เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์กระบือ (Perera,1981) ซึ่งช่วงการตกลูกก็คือ เวลาที่นับจากวันคลอดลูกครั้งสุดท้ายจนถึงวันคลอดลูกครั้งต่อมา จึงประกอบไปด้วยระยะจากวันคลอดจนถึงการผสมติดหรือที่เรียกว่าระยะเปิด (open period) และระยะการตั้งท้อง ซึ่งโดยปกติจะอยู่ในช่วงระหว่าง 310-330 วัน (Dobson and Kamonpatana,1986) ซึ่งมีรายงานการศึกษาแม่กระบือปลักในประเทศไทย พบว่า ช่วงห่างการตกลูกจะอยู่ระหว่าง 380-1,080 วัน โดยเฉลี่ย 587 วัน (Chantalakana et al,1981) หรือ 514 วัน (Perera,1981) ซึ่งต่างจากช่วงห่างการตกลูกของโคที่อยู่ระหว่าง 400-471 วัน (มณีวรรณ กมลพัฒนะ และคณะ 2531) ได้มีผู้ทำการศึกษาการเริ่มทำงานของรังไข่หลังคลอด ในกระบือ โดย Jainudeen และคณะ (1981) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และสภาพของรังไข่จากการส่วงตรวจรังไข่ผ่านทางทวารหนักในช่วง 150 วันหลังคลอด พบว่า สามารถแบ่งการทำงานของรังไข่ได้ 3 แบบ คือ พบคอร์ปัสลูเทียม และแสดงอาการสัด 21 เปอร์เซนต์ พบคอร์ปัสลูเทียมแต่ไม่แสดงอาการสัด 42 เปอร์เซนต์ และไม่แสดงอาการสัดเลย 37 เปอร์เซนต์ เช่นเดียวกับที่ Barkawi และคณะ (1986)ได้ทำการศึกษาในแม่กระบือหลังคลอด พบว่า กระบือที่รังไข่ทำงานสม่ำเสมอมีเพียง 45.5 เปอร์เซนต์ และรังไข่ที่ทำงานไม่สม่ำเสมอ พบซีสที่รังไข่หรือคอร์ปัสลูเทียมค้าง 20.9 เปอร์เซนต์ และรังไข่ไม่ทำงานถึง 13.6 เปอร์เซนต์

นอกจากนี้ช่วงการทำงานของรังไข่หลังคลอดซึ่ง Kamonpatana และคณะ (1980) ได้ทำการศึกษาของการเปลี่ยนแปลงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในกระบือ 5 ตัว พบว่า จะเปลี่ยนแปลงจากระดับปกติเพิ่มสูงขึ้นหลังคลอด 23 61 64 85 และ 138 วัน ตามลำดับ ซึ่งคล้ายกับที่ Jainudeen (1984a) ได้ศึกษาไว้ถึงการตกไข่ครั้งแรกจะอยู่ช่วงระหว่าง 52-140 วัน Jainudeen และคณะ (1984b) ได้ทำการศึกษาพบว่า กระบือที่ให้นมลูกจะเป็นสัดหลังคลอดโดยเฉลี่ย 88±26 วัน และมีการเพิ่มสูงของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนโดยเฉลี่ย 96±22 วัน ซึ่งคล้ายกับที่ Wongsrikeao และคณะ (1990) พบว่ารังไข่ทำงานหลังคลอดโดยเฉลี่ย 80.57±7.23 วัน

จากการศึกษาความพร้อมของอวัยวะสืบพันธุ์หลังคลอด พบว่า มีรายงานการกลับสู่สภาพปกติของมดลูก (uterine involution) หลังคลอดโดยเฉลี่ย 32.7±3.59 วัน หรือ 28.0±6.0 วัน (Jainudeen et al,1983c) และการตกไข่หลังคลอด จากการส่วงตรวจรังไข่ผ่านทางทวารหนักพบคอร์ปัสลูเทียม ในช่วงหลังคลอด 30-90 วัน (Jainudeen et al,1983c) หรือ 67.0±13.26 วัน (Wongsrikeao et al, 1990) และมีการศึกษาพบว่า การให้นมลูกหลังคลอดก็มีผลต่อการทำงานของรังไข่ ด้วย Jainudeen et al, 1983c,1984b; Nasir Hussain et al,1986; Wongsrikeao et al,1990) เช่นเดียวกับที่พบในโค (Carter et al,1980; Lamming et al,1981; Short et al,1989 ; Williams,1990) ดังมีรายงานการศึกษาของ Jainudeen และคณะ (1984b) โดยศึกษาผลของการให้นมลูกต่อการทำงานของรังไข่และต่อมใต้สมองส่วนหน้าจะพบว่า กระบือกลุ่มที่ให้นมลูกจะมีจำนวนการไม่เป็นสัดหลังคลอดสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ให้นมลูก และการหย่านมหลังคลอด 30 วัน รังไข่จะทำงานหลังคลอดภายใน 60 วัน โดยศึกษาจากการตอบสนองของต่อมใต้สมองส่วนหน้าในการหลั่ง LH ตอบสนองต่อ Gn-RH ในกระบือหลังคลอด พบว่า กลุ่มที่ไม่ให้นมลูกจะตอบสนองอยู่ในช่วง 21-24 วัน กลุ่มที่ให้นมลูกจะตอบสนองอยู่ในช่วง 30-39 วัน และกลุ่มที่ไม่เป็นสัดจะตอบสนองอยู่ในช่วง 69-181 วัน โดยที่การให้นมลูกจะยับยั้งการทำงานของรังไข่ โดยการยับยั้งการหลั่ง Gn-RH จากสมองส่วนไฮโปธาลามัส (Jainudeen et al,1984b)

จากการศึกษาผลของ Gn-RH ในโคพบว่า เมื่อฉีด Gn-RH จะกระตุ้นให้หลั่งทั้ง LH และ FSH (Kittok et al,1973; Kaltenbach et al,1974; Schams et al; 1974; Fernandes et al,1978; Foster,1978; Zaied et al,1980) ซึ่งการตอบสนอง ของต่อมใต้สมองส่วนหน้าต่อ Gn-RH ในการหลั่ง LH ระดับสูงสุดที่จะทำให้มีการตกไข่ได้ในโคนมจะประมาณ 10 วัน (Fernandes et al,1978; Foster et al,1980) และมากกว่า 20 วันในโคที่ให้นมลูก (Webb et al,1977) และปริมาณของ Gn-RH ที่นำมาใช้ Schams และคณะ (1974) พบว่า การฉีด Gn-RH ในโคเมื่อเพิ่มปริมาณของ Gn-RH จะให้ระดับ LH เพิ่มขึ้นตามกันแบบเส้นตรง (linear) และระดับ FSH จะเพิ่มแบบเส้นโค้ง (Curvilinear) โดยที่ระดับฮอร์โมนทั้งสองจะมีระดับสูงสุดภายใน 30-60 นาที และลดลงสู่ระดับปกติภายใน 4 ชั่วโมง (Webb et al,1977)

จากการศึกษาการฉีด Gn-RH ในแม่โคหลังคลอดระยะแรก พบว่าจะทำให้ระดับ LH และ FSH เพิ่มขึ้นทันทีหลังฉีด (Etherington et al,1984; Gillian et al, 1981) และขึ้นสู่ระดับสูงสุดภายใน 15-30 นาที (Rodger and Stormshak,1986) นอกจากนี้การฉีด Gn-RH เพียงครั้งเดียวในปริมาณสูงไม่สามารถที่จะทำให้มีการหลั่งฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน เพียงพอที่จะทำให้เกิดวงรอบปกติได้ (Webb et al,1977; Lishman et al,1979)

ต่อมา Lofstedt และคณะ (1981) ได้ทำการศึกษาโดยการให้สารละลาย Gn-RH 15 ไมโครกรัมต่อชั่วโมงเข้าเส้นเลือดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ในโคเนื้อหลังคลอดทำให้หลั่ง LH ในปริมาณสูงในระดับที่ทำให้มีการตกไข่ได้ในโคทุกตัว โดยจะหลั่ง Gn-RH หลังจากให้ 30 นาที แต่มีเพียง 4 ตัว จากโค 14 ตัว ที่มีการตกไข่ได้ ซึ่ง Edwards และคณะ (1983) ได้อธิบายว่า การที่ให้ Gn-RH เป็นจังหวะที่ปริมาณและความถี่ต่าง ๆ กัน ไม่สามารถทำให้โคทุกตัว ตอบสนองจนมีการตกไข่ได้ พบว่าขึ้นกับขนาดของไข่ในรังไข่ในขณะที่ทำการฉีด Gn-RH ด้วย โดยที่จังหวะของการหลั่งLH ตอบสนองต่อการกระตุ้นของ Gn-RH ทำให้โคมีการตกไข่ และมีวงจรการเป็นสัดปกติได้ (Peter et al,1985;Jagger et al, 1987; Lamming and Mcleod,1988)

เนื่องจากการที่กระบือถูกเลี้ยงมาเพื่อวัตถุประสงค์ในการใช้แรงงาน และเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญ ดังนั้นวิธีการหนึ่งที่จะทำให้กระบือมีประสิทธิภาพในการสืบพันธุ์สูงขึ้น ซึ่งตามปกติกระบือควรจะให้ลูก 2 ตัวในระยะเวลา 3 ปี แต่พบว่าช่วงห่างการตกลูกของกระบือมีความเป็นไปได้ตั้งแต่ 380-1,080 วัน หรือโดยเฉลี่ย 587 วัน โดยมีช่วงการตั้งท้องอยู่ระหว่าง 310-330 วัน และมดลูกทำงานได้ปกติหลังคลอด 30 วัน ฉะนั้นตั้งแต่หลังคลอด 30 วันเป็นต้นไป กระบือควรจะมีวงจรการสืบพันธุ์ได้ตามปกติ แต่มีปัจจัยที่ทำให้กระบือไม่ประสบผลสำเร็จในการสืบพันธุ์มีทั้ง ตัวสัตว์เอง และสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะในช่วงหลังคลอด การให้นมลูกก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การทำงานของรังไข่ช้ากว่าปกติ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดจะนำ Gn-RH มากระตุ้นการทำงานของรังไข่หลังคลอด โดยพบว่าการฉีด Gn-RH ในโคและกระบือ สามารถกระตุ้นต่อมใต้สมองส่วนหน้าให้หลั่งทั้ง LH และ FSH และประสบผลสำเร็จในการนำมาเพิ่มประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ในโค และจากรายงานการนำ Gn-RH มาใช้ในกระบือ ดังมีรายงานการศึกษาดังนี้

Singh และคณะ (1984) ได้ศึกษาการนำ Gn-RH ขนาด 250 ไมโครกรัม (Receptal) เพื่อเหนี่ยวนำในการมีการตกไข่และเพิ่มความสมบูรณ์พันธุ์ ในกระบือมูราห์ 25 ตัว ที่รังไข่ยังไม่ทำงานตามปกติ พบว่า แสดงอาการสัด 14 เปอร์เซนต์ Rao และ Rao (1984) ได้ศึกษาการนำ Gn-RH ขนาด 250 ไมโครกรัม (Receptal) ในกระบือมูราห์ เพื่อเพิ่มอัตราการผสมติด โดยการฉีดให้ในวันที่ทำการผสม พบว่า ทำให้อัตราผสมติดสูงขึ้น Aboul-Ela และคณะ (1985) ได้ทำการศึกษาผลของ Gn-RH (Receptal) ขนาด 6 หรือ 12 ไมโครกรัม โดยฉีดในกระบือหลังคลอด 15 วัน พบว่า ลดช่วงเวลาหลังคลอดจนถึงมีการเพิ่มสูงขึ้นของระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน และช่วงหลังฉีดจนถึงมีการเพิ่มสูงขึ้นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน สั้นกว่าเมื่อใช้ Gn-RH ขนาด 12 ไมโครกรัม Pattabiraman และคณะ (1986) ได้ทำการศึกษาการใช้ Gn-RH (Receptal) ขนาด 500 ไมโครกรัม ในกระบือที่รังไข่ไม่ทำงาน และแม่กระบือหลังคลอด 20 25 และ 30 วัน พบว่า กระบือมีวงจรการเป็นสัดหลังฉีด 80 เปอร์เซนต์ อยู่ในช่วงระหว่าง 11-30 วัน โดยที่กระบือหลังคลอด 16.7 เปอร์เซนต์ มีวงจรการเป็นสัดอยู่ในช่วง 10-22 วัน Barkawi และ

Aboul-Ela (1987) ได้ทำการศึกษาผลของ Gn-RH (Receptal) ขนาด 10 ไมโครกรัม ในแม่กระบือที่รังไข่ไม่ทำงาน และระยะฟอลลิคูลาร์ของวงจรการเป็นสัด พบว่า ทำให้ไข่ตกหลังฉีดโดยเฉลี่ย 1.4±0.4 วัน โดยมีการตกไข่ต่อจำนวนกระบือในกลุ่มที่ทดลอง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่รังไข่ทำงานตามปกติอยู่ในระยะต่างๆ กันของวงจรการเป็นสัดเท่ากับ 2.3 ต่อ 1.7 แต่กลุ่มที่รังไข่ไม่ทำงานแล้วแสดงอาการสัดมากกว่า

Nasir Hussain และคณะ (1990) ได้ทำการศึกษาการฉีด Gn-RH (Fertagyl) ในกระบือหลังคลอด 14 วัน ด้วยขนาด 100 และ 250 ไมโครกรัม พบว่า ทำให้มดลูกทำงานปกติเร็วขึ้น รังไข่ทำงานเร็วขึ้น และอัตราการผสมครั้งเดียวติดเพิ่มขึ้น โดยที่ขนาด Gn-RH ให้ผลไม่แตกต่างกัน

ซึ่ง Receptal ที่นำมาใช้ในโคและกระบือนี้เป็น Gn-RH สังเคราะห์ อยู่ในสถานะสารละลายพร้อมฉีด มีผลทำให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้าหลั่งฮอร์โมน LH และ FSH โดยใน 1 มิลลิลิตร ของ Receptal มีปริมาณ Buserelin 0.004 มิลลิกรัม ส่วน Fertagyl เป็นสารละลาย gonadorelin (Gn-RH สังเคราะห์) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์มีคุณสมบัติเทียบได้กับ Gn-RH ที่หลั่งจากสมองในส่วนของไฮโปธาลามัส โดยจะมีผลทำให้ต่อมใต้สมองส่วนหน้าหลั่ง LH และ FSH ในเวลาโดยรวดเร็วหลังฉีด โดยปริมาณ 250 ไมโครกรัม ที่ใช้ในโคและกระบือ เป็นปริมาณที่ทำให้เกิดการหลั่ง LH และ FSH ได้ในปริมาณสูงสุดที่จะทำให้เกิดการตกไข่และกระตุ้นการทำงานของรังไข่หลังคลอด

จากการศึกษาที่กล่าวมา การนำ Gn-RH มาใช้ในกระบือที่รังไข่ไม่ทำงาน และหลังคลอด สามารถกระตุ้นให้รังไข่ทำงานได้ ด้วยการฉีดเพียงครั้งเดียว แต่ปริมาณที่ใช้ที่แตกต่างกันไป ตั้งแต่ 10-500 ไมโครกรัม ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดว่า น่าจะมีการศึกษาถึงการใช้ Gn-RH (Fertagyl) ในปริมาณที่กระตุ้นให้รังไข่ทำงานได้ แต่โดยการฉีด 3 ครั้งห่างกัน 6 และ 18 ชั่วโมง และศึกษาการตอบสนอง โดยการตรวจวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

เอสตราไดออล 17-เบต้า และ LH ในพลาสมา โดยยังไม่มีผู้ทำการศึกษานี้ในกระบือมาก่อน พร้อมกับการตรวจสภาพของรังไข่โดยการส่องตรวจรังไข่ผ่านทางทวารหนัก พร้อมกับการตรวจวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนหลังคลอด 45-150 วัน

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาการทำงานของรังไข่ เนื่องจากอิทธิพลของฮอร์โมน Gn-RH ที่ใช้กระตุ้นจากภายนอก ในระยะหลังคลอดก่อนกลับสัด
2. เพื่อตรวจสอบการทำงานของรังไข่หลังกระตุ้นด้วยฮอร์โมน Gn-RH ด้วยการวัดระดับโปรเจสเตอโรน เอสตราไดออล 17-เบต้า และ LH ในพลาสมา
3. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ และเชื่อมโยงระหว่างฮอร์โมนทั้งสามตัวในข้อ 2 ถึงกลไกการออกฤทธิ์ และระยะเวลาการตกไข่