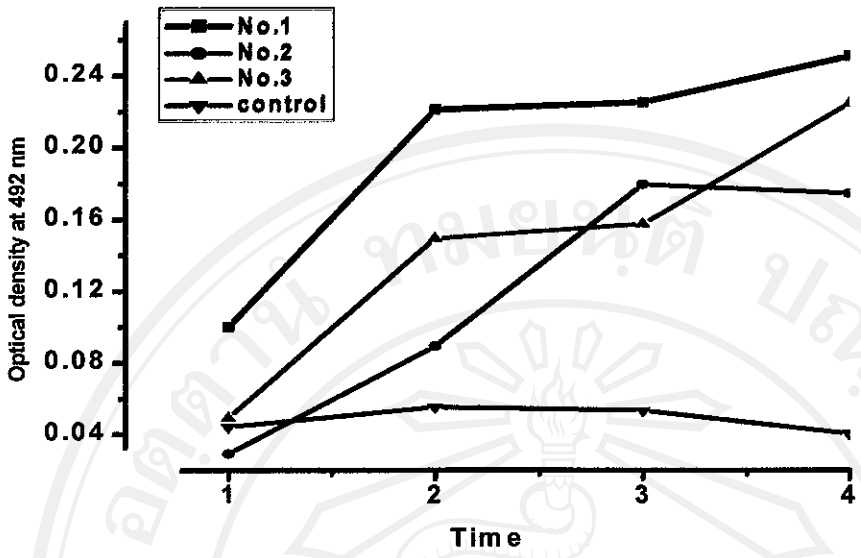
บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1. ผลการกระตุ้นสัตว์ทดลองและการผลิตไฮบริโดมา

จากภาพที่ 4-1 พบว่าสัตว์ทดลองสามารถสร้างแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนได้ไตเตอร์ที่ต้องการจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วย Progesterone-3CMO-BSA ครั้งที่ 4 หลังจากนั้นจึงคัดเลือกหนูที่สามารถสร้างแอนติบอดีต่อโปรเจสเตอโรนได้ดีที่สุดคือหนู BALB/c N0. 1 จึงได้สลบหนูและนำเซลล์ม้ามที่ได้หลอมรวมกับเซลล์ไมอิโลมา เลี้ยงในไมโครเพลท 96 หลุม ที่มี feeder cell เพื่อเป็นเซลล์พี่เลี้ยงสำหรับเลี้ยงเซลล์ลูกผสม ภายหลังจากเชื่อมเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ประมาณ 10-14 วัน เซลล์ไมอิโลมาที่ไม่ได้หลอมรวมกับเซลล์ม้าม จะตายไปจากฤทธิ์ของ aminopterin ที่อยู่ใน HAT medium นั้น ขณะเดียวกันเซลล์ม้ามที่ไม่ได้หลอมรวมกับเซลล์ไมอิโลมาจะตายไปเองตามอายุขัยของเซลล์ เซลล์ที่เหลือรอดใน HAT medium จะเป็นเซลล์ไฮบริโดมาเท่านั้น ซึ่งจะเจริญเติบโตและแบ่งตัวเป็น colony จากทั้งหมด 576 หลุม เกิดกลุ่มโคลนไฮบริโดมา 40 หลุม หรือ 168 โคลน คิดเป็น 6.9 % เมื่อนำกลุ่มโคลนที่ได้ทั้ง 40 หลุม ไปตรวจหาการผลิตแอนติบอดีต่อ P4 ด้วยวิธี Indirect ELISA ผลที่ได้คือมีกลุ่มโคลนที่สามารถให้ผลเป็นบวกเท่ากับ 37 หลุม หรือ 72 โคลน คิดเป็น 92.5 % จากกลุ่มโคลนทั้งหมด (ตารางที่ 4-1) และได้เลือกกลุ่มโคลนที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตรสูงที่สุด ได้แก่ 3C10, 4B2 และ 5H9 จากนั้นจึงนำไปสู่การแยกเป็นโคลนเดี่ยวโดยวิธี limiting dilution ต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



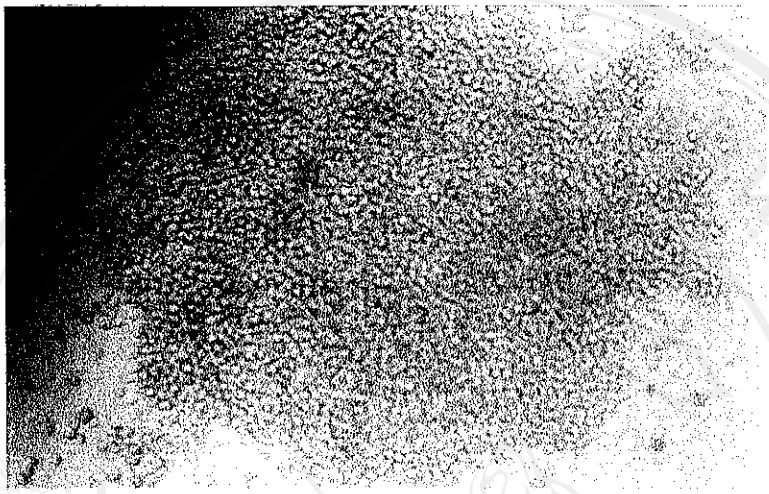
ภาพที่ 4-1. แสดงค่า Optical density (OD) จากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันหนูขาวตัวเล็กสายพันธุ์ BALB/c 3 ตัว ด้วย Progesterone-3CMO-BSA.

ตารางที่ 4-1. แสดงผลของการเชื่อมกันระหว่างเซลล์ไมอิโลมาชนิด X63Ag8.653 กับเซลล์ม้ามจากหนูขาวตัวเล็กสายพันธุ์ BALB/c ที่ถูกกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อต้าน Progesterone-3CMO-BSA

จำนวนไฮบริโดมาโคลน	40 หลุม (168 โคลน)
จำนวนไฮบริโดมาโคลนที่ให้ผลเป็นบวกเมื่อทำการวัดการเกิดแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในการวัดด้วยวิธี ELISA	37 หลุม (72 โคลน)
จำนวนไฮบริโดมาโคลนที่ผลิต MAb ต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนมากที่สุด	3 หลุม ได้แก่ 5H9 , 4B2 และ 3C10

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากภาพที่ 4-2 แสดงถึงกลุ่มโคลนเดี่ยวหลังจากการทำ limiting dilution ได้ประมาณ 10 วันโดยพบว่ากลุ่มโคลน 5H9 เกิดโคลนเดี่ยว 11 หลุม กลุ่มโคลน 3C10 เกิดโคลนเดี่ยว 9 หลุม และกลุ่มโคลน 4B2 เกิดโคลนเดี่ยว 5 หลุม



ภาพที่ 4-2. แสดงโคลนของไฮบริโดมาของหนู BALB/c ต่อ Progesterone-3CMO-BSA.

4.2. ผลการตรวจสอบ Isotype ของแอนติบอดี

โมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ผลิตโดยไฮบริโดมามีความจำเป็นต้องตรวจสอบ isotype เพื่อที่จะได้ทราบธรรมชาติของแอนติบอดีที่ได้ ซึ่งบางครั้งอาจมีผลต่อการใช้ในการทดสอบรูปแบบต่างๆ เช่น IgM มักเป็นแอนติบอดีที่มี affinity ต่ำกว่า IgG และอาจมีประสิทธิภาพต่ำในการตรวจวินิจฉัยแอนติเจน

นอกจากนี้ในการทำให้โมโนโคลนอลแอนติบอดีบริสุทธิ์โดยใช้ affinity column จำเป็นต้องทราบ subisotype ของ IgG เนื่องจาก subisotype ต่างๆ ของ IgG มีความสามารถในการจับกับ Protein A หรือ Protein G ด้วย affinity ต่างกันเพื่อที่จะสามารถเลือกชนิดของคอลัมน์ได้อย่างเหมาะสม (ไพศาล, 2548) ซึ่งจากการทดลองพบว่าไฮบริโดมาสามารถให้โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ที่มีคุณลักษณะเป็น isotype ชนิด IgG และมี subisotype เป็นชนิด IgG1 ที่มีความเหมาะสมกับ Protein G ในการทำให้ โมโนโคลนอลแอนติบอดี มีความบริสุทธิ์ ดังตารางที่ 4-2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

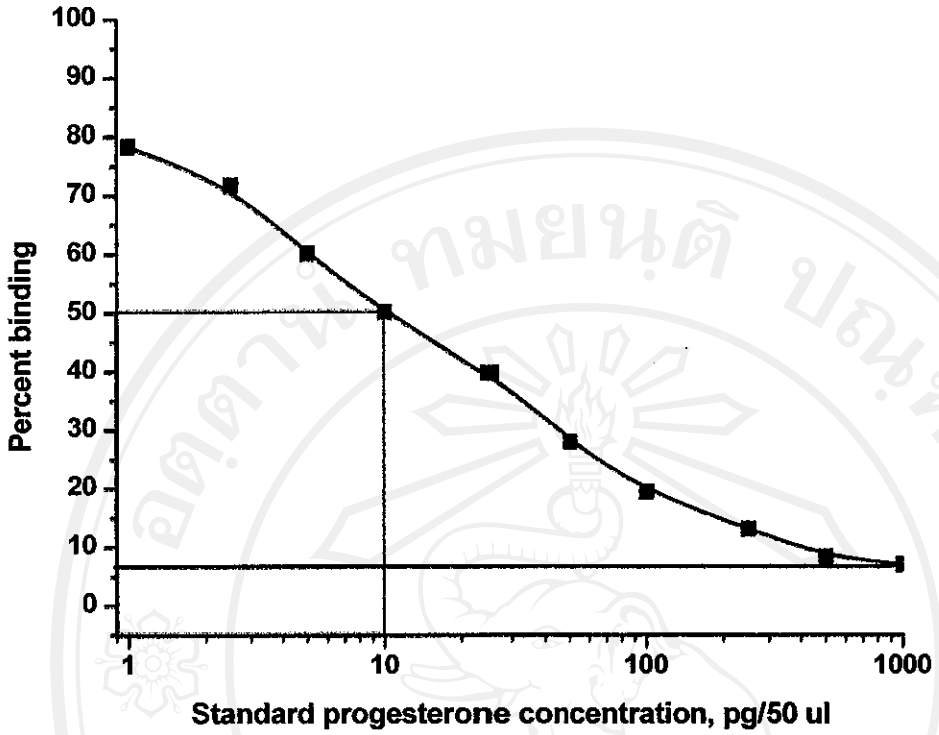
ตารางที่ 4-2. แสดงค่า Optical density (OD) จากการตรวจสอบ Isotype แอนติบอดีจากไฮบริโดมาโคลน 4B2 ที่ทำปฏิกิริยากับ Progesterone - 3CMO-BSA และ BSA

Isotype / subisotype	หลุมที่เคลือบด้วย		ความแตกต่างของค่า O.D.
	P_4-3CMO-BSA	BSA	(P_4-3CMO-BSA)-BSA
IgG1	**2.142**	**0.095**	**2.047**
IgG2a	0.086	0.081	0.005
IgG2b	0.091	0.082	0.003
IgM	0.191	0.179	0.002

4.3. การสร้างกราฟมาตรฐานของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน

ในการนำโมโนโคลนอลแอนติบอดีที่ได้จากกลุ่มเซลล์ 4B2 ในอัตราส่วนเจือจางที่ 1:150 เพื่อใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนพบว่า เมื่อนำแอนติบอดีมาทำปฏิกิริยากับสารละลายฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ และนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ 4-3) พบว่าความไว (sensitivity) ของการทำปฏิกิริยา (50% binding) ได้ที่ 10 พิโคกรัม/50 ไมโครลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4-3. แสดงเส้นกราฟมาตรฐานของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจากปฏิกิริยา Competitive ELISA เมื่อใช้ โมโนโคลนอลแอนติบอดีจากโคลน 4B2 ที่มีอัตราการเจือจาง 1/150 ใช้เส้นกึ่งกลางระหว่าง % binding สูงสุดกับ base line ของกราฟวัดความไว (sensitivity)ได้ที่ 10 พิโคกรัม/50 ไมโครลิตร.

4.4. การวัดปฏิกิริยาการเกาะเกี่ยวของโมโนโคลนอลแอนติบอดี

เมื่อนำแอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนทำปฏิกิริยากับสเตียรอยด์ชนิดอื่น ๆ ได้แก่ 17β-Estradiol, Testosterone, Androstenedione, Pregnenolone, Hydrocortisone, 11α-hydroxyprogesterone และ 17α-hydroxyprogesterone ให้ผลดังตารางที่ 4-4 พบว่า แอนติบอดีต่อฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน มีเปอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวกับ 17-hydroxyprogesterone และ 11-hydroxyprogesterone มากที่สุด เนื่องจากมีโครงสร้างของฮอร์โมนที่ใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 4-3)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

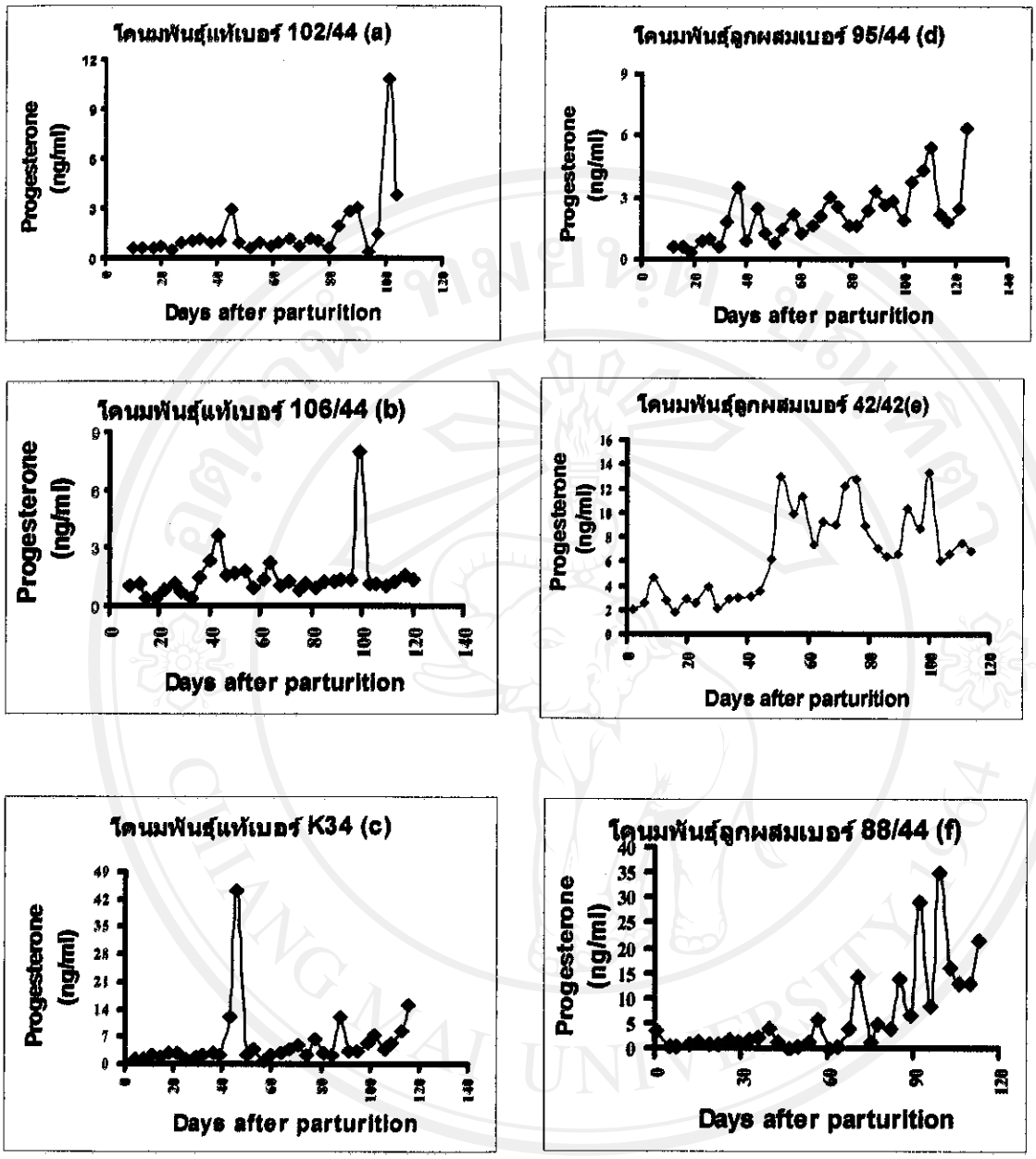
ตารางที่ 4-3. แสดงค่า % cross reactivity ของแอนติบอดีจากไฮบริโดมาโคลน 4B2 ต่อสเตียรอยด์ฮอร์โมนชนิดอื่น

Steroids hormone	ค่า % Cross reactivity ที่ 50 % displacement Hybridoma clone 4B2
Progesterone	100
17-hydroxyprogesterone	0.009
11-hydroxyprogesterone	0.008
Hydrocortisone	0.001
Pregnenolone	0.001
Androstenedione	0.001
Estradiol	0.007
Testosterone	0.001

4.5. การหา Inter และ Intra coefficient assay

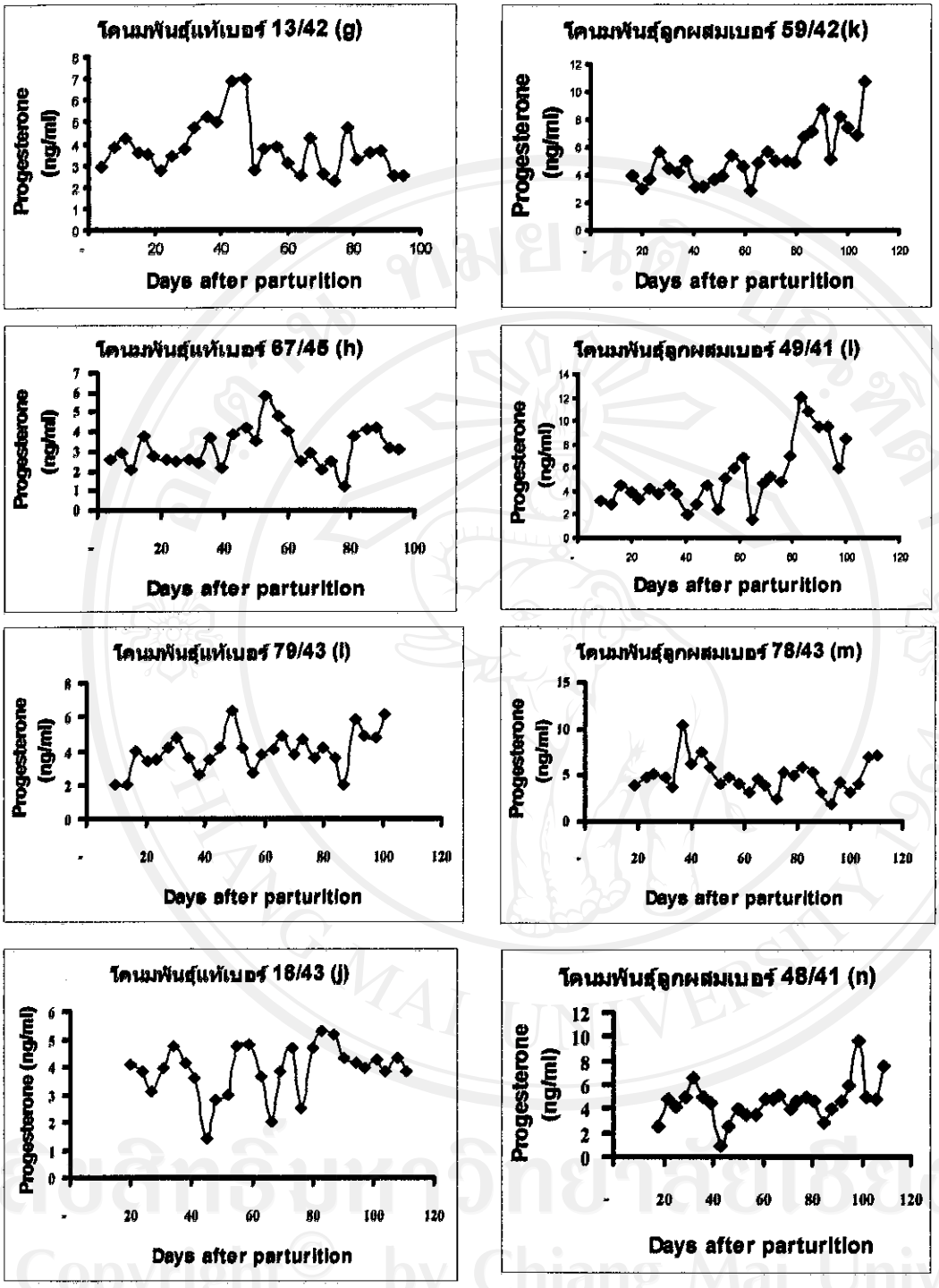
การหา Inter coefficient assay คือนำตัวอย่างเดียวกันมาทำการวิเคราะห์ภายในเพลทเดียวกันพบว่ามีค่าสูง, กลาง และต่ำ เท่ากับ 8.23, 9.64 และ 10.11 % ตามลำดับ สำหรับ Intra coefficient assay ซึ่งเป็นตัวอย่างเดียวกันแต่ทำคนละเพลท พบว่ามีค่าสูง, กลาง และต่ำ เท่ากับ 11.05, 11.89 และ 10.09 % ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4-4. แสดงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำนมของโคนมแต่ละตัวในฤดูร้อน (n = 6) พันธุ์แท้ 3 ตัว (a - c) และพันธุ์ลูกผสม 3 ตัว (d - f)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 4-4. (ต่อ) แสดงระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนในน้ำนมของโคนมแต่ละตัวในฤดูหนาว (n = 8) พันธุ์แท้ 4 ตัว (g - j) และพันธุ์ลูกผสม 4 ตัว (k - n).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6. การตรวจปริมาณโปรเจสเตอโรนในน้ำนมโดยวิธี Competitive ELISA

จากภาพที่ 4-4 เมื่อเปรียบเทียบระหว่างโคนมพันธุ์แท้ (a-c) และโคนมลูกผสม (d-f) ในฤดูร้อน พบว่า แนวโน้มการทำงานของรังไข่ครั้งแรกหลังคลอดโดยสังเกตได้จากการเกิดคลื่นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของโคนมพันธุ์แท้มีความล่าช้ากว่าโคนมลูกผสม และมีรูปแบบของคลื่นฮอร์โมนที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน แต่มีโคนมเบอร์ 88/44 ในกลุ่มโคนมลูกผสม ที่มีลักษณะของคลื่นคล้ายฮอร์โมนพันธุ์แท้ และเมื่อเปรียบเทียบสายพันธุ์โคในฤดูหนาวพบว่าแนวโน้มการทำงานของรังไข่ครั้งแรกหลังคลอดของโคนมพันธุ์แท้ (g - j) ไม่มีความแตกต่างกันกับโคนมลูกผสม (k - n) และลักษณะแอมพริจูดของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนของโคนมที่เลี้ยงในฤดูร้อนจะมีระดับที่สูงกว่าโคนมที่เลี้ยงในฤดูหนาว โดยเฉพาะโคนมพันธุ์ลูกผสมเบอร์ 88/44 และโคนมพันธุ์แท้เบอร์ 34

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.7. การทำงานของรังไข่ครั้งแรกหลังคลอดในฤดูร้อนและหนาวเปรียบเทียบระหว่างโคนมพันธุ์แท้และลูกผสม

จากการศึกษาปัจจัยเนื่องจากฤดูกาลต่อวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด (Day to first postpartum ovarian activity) พบว่าเมื่อรวมกลุ่มโคนมที่คลอดลูกในฤดูร้อนโดยไม่คำนึงถึงสายพันธุ์จะพบว่าโคมีวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด (ค่าเฉลี่ย ± SE) (43.50 ± 10.75 วัน) ยาวนานกว่ากลุ่มโคนมที่คลอดลูกในฤดูหนาว (15.83 ± 1.74 วัน) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูร้อน พบว่า โคนมลูกผสมมีวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด (40.00 ± 15.50 วัน) ในขณะที่โคนมพันธุ์แท้ (47.00 ± 18.02 วัน) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูหนาว พบว่า โคนมลูกผสมมีวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด (18.25 ± 1.44 วัน) ไม่แตกต่างจากโคนมพันธุ์แท้ (15.47 ± 1.02 วัน) (ตารางที่ 4-4)

ตารางที่ 4-4. ผลของการทำงานของรังไข่ครั้งแรกหลังคลอด (Day to first ovarian activity postpartum) ในฤดูร้อนและหนาวระหว่างโคนมพันธุ์แท้และลูกผสม

พันธุ์โคนม	การทำงานของรังไข่ครั้งแรกหลังคลอด (วัน)	
	ฤดูร้อน	ฤดูหนาว
โคนมลูกผสม	40.00 ± 15.50[a] (n=3)	18.25 ± 1.44[a] (n=4)
โคนมพันธุ์แท้	47.00 ± 18.02[a] (n=3)	15.47 ± 1.02[a] (n=4)
ทั้งสองสายพันธุ์	43.50 ± 10.75[a] (n=6)	15.83 ±1.74[b] (n=8)

[a, b] อักษรต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, $P < 0.05$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.8. ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอดในฤดูร้อนและหนาวเปรียบเทียบระหว่างโคนมพันธุ์แท้และลูกผสม

จากการศึกษาปัจจัยระหว่างฤดูกาลที่มีผลต่อปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด เมื่อรวมกลุ่มโคนมที่คลอดลูกในฤดูร้อนโดยไม่คำนึงถึงสายพันธุ์จะพบว่าโคนมที่คลอดลูกในฤดูร้อนจะมีปริมาณโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (ค่าเฉลี่ย ± SE) น้อยกว่า (306.70 ± 95.63 ng) โคนมที่คลอดลูกในฤดูหนาว (447.82 ± 117.02 ng) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูร้อน พบว่า โคนมลูกผสมมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (345.67 ± 217.30 ng) ไม่แตกต่างกันกับโคนมพันธุ์แท้ (322.33 ± 133.51 ng) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูหนาว พบว่าโคนมลูกผสมมีปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (431.50 ± 97.59 ng) ไม่แตกต่างจากโคนมพันธุ์แท้ (350.25 ± 146.09 ng) เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4-5)

ตารางที่ 4-5. ผลของปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอดในฤดูร้อนและหนาวเปรียบเทียบระหว่างโคนมพันธุ์แท้และลูกผสม

พันธุ์โคนม	ปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (ng)	
	ฤดูร้อน	ฤดูหนาว
โคนมลูกผสม	345.67 ± 217.30[a] (n=3)	431.50 ± 97.59[a] (n=4)
โคนมพันธุ์แท้	322.33 ± 133.51[a] (n=3)	350.25 ± 146.09[a] (n=4)
ทั้งสองสายพันธุ์	306.70 ± 95.63[a] (n=6)	447.82 ± 117.02[b] (n=8)

[a, b] อักษรต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, $P < 0.05$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.9. คลื่นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (Progesterone profile) ในฤดูร้อนและหนาวเปรียบเทียบระหว่างโคนมพันธุ์แท้และลูกผสม

จากการศึกษาปัจจัยจากเนื่องจากฤดูกาลที่มีต่อคลื่นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (Progesterone profile) เมื่อรวมกลุ่มโคนมที่คลอดลูกในฤดูร้อนโดยไม่คำนึงถึงสายพันธุ์ พบว่ากลุ่มโคนมที่คลอดลูกในฤดูร้อนจะมีคลื่นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (ค่าเฉลี่ย ± SE) (2.67 ± 0.61 คลื่น) น้อยกว่ากลุ่มโคนมที่คลอดลูกในฤดูหนาว (3.63 ± 0.31 คลื่น) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูร้อน พบว่า โคนมลูกผสมมีคลื่นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (2.75 ± 1.03 คลื่น) ไม่แตกต่างกันกับโคนมพันธุ์แท้สายเลือด 100% (1.25 ± 0.63 คลื่น) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูหนาว พบว่าโคนมลูกผสมมีคลื่นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (3.75 ± 0.49 คลื่น) ไม่แตกต่างจากโคนมพันธุ์แท้ (3.51 ± 0.29 คลื่น) เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4-6)

ตารางที่ 4-6. ผลของคลื่นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (Progesterone profile) ในฤดูร้อนและหนาวเปรียบเทียบระหว่างโคนมพันธุ์แท้และลูกผสม

พันธุ์โคนม	คลื่นของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (คลื่น)	
	ฤดูร้อน	ฤดูหนาว
โคนมลูกผสม	2.75 ± 1.03^{a} (n=3)	3.75 ± 0.49^{a} (n=4)
โคนมพันธุ์แท้	1.25 ± 0.63^{a} (n=3)	3.51 ± 0.29^{a} (n=4)
ทั้งสองสายพันธุ์	2.67 ± 0.61^{a} (n=6)	3.63 ± 0.31^{a} (n=8)

^{a,b} อักษรต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, $P < 0.05$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.9. แอมพริจูด (Amplitude) ของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอดในฤดูร้อนและหนาว เปรียบเทียบระหว่างโคนมพันธุ์แท้และลูกผสม

จากการศึกษาปัจจัยเนื่องจากฤดูกาลแอมพริจูดของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด เมื่อรวมกลุ่มโคนมที่คลอดลูกในฤดูร้อนโดยไม่คำนึงถึงสายพันธุ์ พบว่าโคนมที่คลอดลูกในฤดูร้อนจะมีแอมพริจูดของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (ค่าเฉลี่ย ± SE) (12.30 ± 6.6 ng) ที่สูงกว่ากลุ่มโคนมที่คลอดลูกในฤดูหนาว (8.30 ± 0.90 ng) โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูร้อน พบว่า โคนมลูกผสมมีแอมพริจูดของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (15.75 ± 9.98 ng) ไม่แตกต่างกันกับโคนมพันธุ์แท้ (13.25 ± 7.41 ng) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูหนาว พบว่าโคนมลูกผสมมีแอมพริจูดของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอด (10.75 ± 0.48 ng) ไม่แตกต่างจากโคนมพันธุ์แท้ (6.25 ± 0.25 ng) เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4-7)

ตารางที่ 4-7. ผลของแอมพริจูดของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันหลังคลอดในฤดูร้อนและหนาวเปรียบเทียบระหว่างโคนมพันธุ์แท้และลูกผสม

พันธุ์โคนม	แอมพริจูดของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน (ng)	
	ฤดูร้อน	ฤดูหนาว
โคนมลูกผสม	15.75 ± 9.98[a] (n=4)	10.75 ± 0.48[a] (n=3)
โคนมพันธุ์แท้	13.25 ± 7.41[a] (n=4)	6.25 ± 0.25[a] (n=3)
ทั้งสองสายพันธุ์	12.30 ± 6.60[a] (n=8)	8.30 ± 0.90[a] (n=6)

[a, b] อักษรต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, $P < 0.05$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.10. จำนวนครั้งในการผสมเทียมต่อการผสมติดในฤดูร้อนและหนาวเปรียบเทียบระหว่างโคนมพันธุ์แท้และลูกผสม

จากการศึกษาปัจจัยเนื่องจากฤดูกาลที่มีผลต่อจำนวนครั้งในการผสมเทียมต่อการผสมติดโดยไม่คำนึงถึงสายพันธุ์ พบว่าโคนมที่คลอดลูกในฤดูร้อน พบว่าโคนมที่คลอดลูกในฤดูร้อนจะมีจำนวนครั้งในการผสมเทียมต่อการผสมติด (ค่าเฉลี่ย ± SE) (5.03 ± 0.93 ครั้ง) มากกว่ากลุ่มโคนมที่คลอดลูกในฤดูหนาว (3.57 ± 1.16 ครั้ง) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูร้อน พบว่าโคนมลูกผสมมีจำนวนครั้งในการผสมเทียมต่อการผสมติด (3.33 ± 1.21 ครั้ง) ไม่แตกต่างกันกับโคนมพันธุ์แท้ (6.00 ± 1.72 ครั้ง) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์ที่คลอดลูกในฤดูหนาว พบว่าโคนมลูกผสมมีจำนวนครั้งในการผสมเทียมต่อการผสมติด (1.75 ± 0.25 ครั้ง) ไม่แตกต่างจากโคนมพันธุ์ (5.25 ± 1.38 ครั้ง) เช่นเดียวกัน (ตารางที่ 4-8)

ตารางที่ 4-8. จำนวนครั้งในการผสมเทียมต่อการผสมติดในฤดูร้อนและหนาวเปรียบเทียบระหว่างโคนมพันธุ์แท้และลูกผสม

พันธุ์โคนม	จำนวนครั้งในการผสมเทียมต่อการผสมติด (ครั้ง)	
	ฤดูร้อน	ฤดูหนาว
โคนมลูกผสม	3.33 ± 1.21[a] (n=3)	1.75 ± 0.25[a] (n=4)
โคนมพันธุ์แท้	6.00 ± 1.72[a] (n=3)	5.25 ± 1.38[a] (n=4)
ทั้งสองสายพันธุ์	5.03 ± 0.93[a] (n=6)	3.57 ± 1.16[b] (n=8)

[a, b] อักษรต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, $P < 0.05$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.12. ปริมาณการผลิตน้ำนม 100 วันแรกหลังคลอดของโคนมพันธุ์แท้และลูกผสมต่อปริมาณโปรเจสเตอโรน 100 วันแรกหลังคลอด

การจัดกลุ่มปริมาณน้ำนมคำนวณจากปริมาณน้ำนมทั้งหมด 100 วัน สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ให้ปริมาณน้ำนมต่ำ เป็นกลุ่มที่ให้ปริมาณน้ำนมต่ำกว่าค่าเฉลี่ย และกลุ่มที่ให้ปริมาณน้ำนมสูงเป็นกลุ่มที่ให้ปริมาณน้ำนมสูงกว่าค่าเฉลี่ย โดยกลุ่มที่ให้ปริมาณน้ำนมสูงมีปริมาณน้ำนมเฉลี่ย 1493.38 ±18.04 กก. ต่อ 100 วันการให้นม กลุ่มที่ให้ปริมาณน้ำนมต่ำมีปริมาณน้ำนมเฉลี่ย 1274 ± 38.34 กก. ต่อ 100 วันการให้นม

การศึกษาปัจจัยเนื่องจากปริมาณน้ำนมภายใน 100 วัน จากกลุ่มโคที่ให้ปริมาณน้ำนมสูงและต่ำที่มีผลต่อปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนทั้งหมด 100 วันหลังคลอด พบว่ากลุ่มโคนมให้น้ำนมในปริมาณต่ำโดยไม่คำนึงถึงสายพันธุ์จะมีปริมาณของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูงกว่า (415 ± 152.41 ng) กลุ่มโคนมที่ให้ปริมาณน้ำนมสูง (340.05 ± 121.64 ng) อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4-9)

ตารางที่ 4-9. แสดงปริมาณการผลิตน้ำนม 100 วันแรกหลังคลอดของโคนมพันธุ์แท้และลูกผสมต่อปริมาณฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน 100 วันแรกหลังคลอด

	ปริมาณโปรเจสเตอโรนทั้งหมด 100 วันหลังคลอด (ng)	
ปริมาณน้ำนม 100 วันแรกหลังคลอด (กก.)	ปริมาณน้ำนมต่ำ 1274 ± 38.34	ปริมาณน้ำนมสูง 1493.38 ± 18.04
โคนมลูกผสม	445.67 ± 117.30 [a] (n=3)	331.50 ± 97.59 [a] (n=3)
โคนมพันธุ์แท้	422.33 ± 133.51 [a] (n=4)	350.25 ± 146.09 [a] (n=4)
ทั้งสองสายพันธุ์	415.50 ± 152.4 [a] (n=7)	340.05 ± 121.64 [b] (n=7)

[a, b] อักษรต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, $P < 0.05$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.13. ปริมาณการผลิตน้ำนม 100 วันแรกหลังคลอดโคนมพันธุ์แท้และลูกผสมต่อวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด

การศึกษาปัจจัยเนื่องจากปริมาณน้ำนมภายใน 100 วัน (100 days in milk) จากกลุ่มโคที่ให้ปริมาณน้ำนมสูงและต่ำที่มีผลต่อวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด (Day to first ovarian activity postpartum) พบว่ากลุ่มโคนมให้น้ำนมในปริมาณต่ำโดยไม่คำนึงถึงสายพันธุ์จะมีวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด (17.00 ± 1.40 วัน) สั้นกว่ากลุ่มโคนมที่ให้ปริมาณน้ำนมสูง (39.30 ± 10.10 วัน) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) (ตารางที่ 4-10)

ตารางที่ 4-10. ปริมาณการผลิตน้ำนม 100 วันแรกหลังคลอดต่อปริมาณโปรเจสเตอโรนของโคนมพันธุ์แท้และลูกผสมต่อวันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด

	วันที่รังไข่ทำงานครั้งแรกหลังคลอด (วัน)	
ปริมาณน้ำนม 100 วันแรกหลังคลอด (กก.)	ปริมาณน้ำนมต่ำ 1274 ± 38.34	ปริมาณน้ำนมสูง 1493.38 ± 18.04
โคนมลูกผสม	18.25 ± 1.44[a] (n=3)	40.25 ± 1.44[a] (n=3)
โคนมพันธุ์แท้	15.47 ± 1.02[a] (n=4)	38.47 ± 1.02[a] (n=4)
ทั้งสองสายพันธุ์	17.00 ± 1.40[a] (n=7)	39.30 ± 1.10[b] (n=7)

[a, b] อักษรต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ, $P < 0.01$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved