

ผลของการใช้น้ำเชื้อแยกเพศต่ออัตราการผสมติดและสัดส่วนเพศของลูกโคนม
(Effect of Sexed Semen on the Conception Rate and Sex Ratio in Dairy Calves)

สุภาวดี ทุนพุดธา
Supawadee Thunphuttha

ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

บทคัดย่อ

สัมมนาฉบับนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำเชื้อแยกเพศต่ออัตราการผสมติดและสัดส่วนเพศของลูกโค ได้ทำการศึกษาจากเอกสารงานวิชาการจำนวน 7 ฉบับ ปีที่พิมพ์ระหว่าง พ.ศ. 2552-2562 ซึ่งทำการทดลองในโคสาวและโคนางพันธุ์โฮลสไตน์ จำนวน 227 ตัว-12ล้านตัว พบว่าการใช้น้ำเชื้อแยกเพศอสุจิ X ในโคนมมีสัดส่วนลูกโคเพศเมีย (63.1-91.1%) สูงกว่าการใช้น้ำเชื้อธรรมดา (47.1-51.3%) อย่างไรก็ตามน้ำเชื้อแยกเพศมีอัตราการผสมติด (33-48.3%) ต่ำกว่าน้ำเชื้อธรรมดา (45-68.3%) ในขณะที่ยอดตายของลูกแรกเกิดเมื่อใช้น้ำเชื้อแยกเพศสูงกว่าการใช้น้ำเชื้อธรรมดา ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากเกิดความเสียหายต่อตัวอสุจิที่ผ่านกระบวนการคัดแยกเพศ และปริมาณตัวอสุจิน้อยกว่าน้ำเชื้อธรรมดา ส่วนอัตราการเกิดแฝด น้ำหนักแรกเกิดของลูก และระยะเวลาในการตั้งท้อง เมื่อผสมด้วยน้ำเชื้อแยกเพศและน้ำเชื้อธรรมดาไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้น้ำเชื้อแยกเพศทำให้ได้เพศลูกโคตามต้องการ แต่กระทบต่ออัตราการผสมติดและอัตราการตายของตัวอ่อน

คำสำคัญ : น้ำเชื้อแยกเพศ อัตราการผสมติด อัตราการตายของลูกก่อนคลอด เพศของลูกโค

บทนำ

การเลี้ยงโคนมเกิดขึ้นทั่วทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยในปี 2560 มีโคนมจำนวน 645,261 ตัว และในปี 2561 มีโคนมจำนวน 660,155 ตัว เพิ่มขึ้นจากปี 2560 ร้อยละ 2.31 (สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, 2019) ทั้งนี้เป็นผลอันเนื่องมาจากการสนับสนุนและส่งเสริมให้ประชาชนบริโภคน้ำนมที่ผลิตได้ภายในประเทศมากยิ่งขึ้นของรัฐบาล (มัทนียา และคณะ, 2020) เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมส่วนใหญ่ต้องการได้ลูกโคนมเพศเมีย เนื่องจากสามารถให้ผลผลิตน้ำนมได้ ส่วนลูกโคนมเพศผู้ไม่เป็นที่ต้องการจึงมีราคาถูก แต่โดยหลักธรรมชาติของอัตราการเกิดลูกเพศเมียต่อเพศผู้ประมาณ 50:50 เพื่อให้ได้ลูกโคตามที่ต้องการจึงได้มีการนำเทคโนโลยีการแยกเพศอสุจิ (Sperm sexing) เข้ามาใช้กำหนดเพศของลูกโคนม เพศของลูกโคถูกกำหนดโดยโครโมโซมเพศของอสุจิ โดยอสุจิที่เป็นโครโมโซม X จะให้ลูกที่เป็นเพศเมีย ส่วนอสุจิที่เป็น Y จะให้ลูกที่เป็นเพศผู้ โดยอาศัยคุณสมบัติที่แตกต่างกันของอสุจิ X และ Y ความแตกต่างของความเร็วของการว่ายอสุจิแต่ละเพศ (Swimming speed) ซึ่งอสุจิ Y มีความเร็วในการเคลื่อนที่มากกว่าอสุจิ X ความแตกต่างของปริมาณดีเอ็นเอ (DNA Content) ซึ่งอสุจิ X มีปริมาณ DNA มากกว่าอสุจิ Y ความแตกต่างของประจุผิวของอสุจิ (Surface charge) ซึ่งอสุจิ X มีประจุลบ ขณะที่อสุจิ Y มีประจุเป็นบวก ความแตกต่างของการมีแอนติเจนเอชวาย (H-Y antigen content) กระบวนการแยกเพศอสุจิมียหลายวิธี ได้แก่ Flow cytometry, Percoll gradient, Centrifugal counter current distribution, Free flow electrophoresis, H-Y antigen และยังมีการใช้สารเคมี HeiferPlus เพื่อกระตุ้นการเคลื่อนที่ของอสุจิ X ให้เคลื่อนที่เร็วกว่าอสุจิ Y จึงทำให้อสุจิที่มีโครโมโซม X เคลื่อนที่เข้าถึงไข่ได้เร็วกว่าทำให้ออกาสในการปฏิสนธิมากกว่าอสุจิที่มีโครโมโซม Y ทำให้มีโอกาสดูแลลูกเพศเมีย 75% (Momo et al, 2019) แต่ทางบริษัทไม่ได้เปิดเผยองค์ประกอบทางเคมีของสารเคมีดังกล่าว ซึ่งวิธีที่เป็นที่นิยมใช้ในปัจจุบัน คือ Flow cytometry เนื่องจากมีความแม่นยำในการแยกเพศอสุจิสูง (90-95%) โดยหลักการของวิธีนี้ คือ การใช้ความแตกต่างของปริมาณ DNA ซึ่งอสุจิ X มีปริมาณ DNA มากกว่าอสุจิ Y เมื่อทำการย้อมสีตัวอสุจิด้วยสีฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent) ทำให้ความเข้มข้นของการเรืองแสงแตกต่างกัน ทำการแยกเซลล์อสุจิโดยการแยกตามความเข้มข้นของการติดสีที่ต่างกัน ตัวอสุจิแต่ละตัวจะถูกฉายแสงด้วยเครื่องยิงลำแสงเลเซอร์และถูกส่งสัญญาณไปยังไมโครโปรเซสเซอร์ ตัวอสุจิที่ถูกแยกแล้วจะวิ่งผ่านแผ่นโลหะกระแสไฟฟ้าสูง อสุจิที่มีโครโมโซม X จะวิ่งเข้าหาประจุบวก ส่วนอสุจิที่มีโครโมโซม Y จะวิ่งเข้าหาประจุลบ (Yadav et al, 2018) อย่างไรก็ตามกระบวนการแยกเพศอสุจิอาจสร้างความเสียหายให้กับเซลล์อสุจิ ประกอบกับในหลอดน้ำเชื้อที่ใช้ผสมเทียมของอสุจิแยกเพศมีปริมาณอสุจิเพียง 2 ล้านตัวต่อโดส จึงอาจมีผลต่ออัตราการผสมติดหรือความผิดปกติของลูกโคได้ ซึ่งประเด็นดังกล่าวยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน ดังนั้นสมมติฐานนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้น้ำเชื้อแยกเพศต่ออัตราการผสมติดและสัดส่วนเพศของลูกโค

ผลของการใช้น้ำเชื้อแยกเพศต่ออัตราการผสมติดและสัดส่วนเพศของลูกโค

อัตราการผสมติด (Conception rate)

Joezy-Shekalgorabi et al. (2017) ได้ศึกษาประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ ในโคสาวโฮลสไตน์ในภูมิภาคกึ่งแห้งแล้งของอิหร่าน โดยการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแยกเพศและน้ำเชื้อธรรมดา จำนวน 3,573 ตัว ใน 4 จังหวัดของอิหร่าน ทำการบันทึกข้อมูลการผสมเทียม ชนิดของน้ำเชื้อ รูปแบบการคลอด อายุที่คลอดลูก การคลอดยาก รูปแบบการเกิดของลูกโค เพศของลูกโคและน้ำหนักแรกเกิด ซึ่งในน้ำเชื้อแยกเพศมีปริมาณอสุจิ 2×10^6 sperm/dose และในน้ำเชื้อธรรมดามีปริมาณอสุจิ 20×10^6 sperm/dose ทำการผสมเทียมหลังเป็นสัดยืนนิ่ง 12-14 ชั่วโมง พบว่าการใช้น้ำเชื้อแยกเพศมีอัตราการผสมติดร้อยละ 48.3 ซึ่งต่ำกว่าน้ำเชื้อธรรมดาที่มีอัตราการผสมติดร้อยละ 63.8 (Table 1) และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Healy et al. (2013) ที่ได้ศึกษาข้อมูลภาคสนาม การผสมเทียมเกี่ยวกับการใช้น้ำเชื้อแยกเพศและน้ำเชื้อธรรมดาในโคสาวพันธุ์โฮลสไตน์ จำนวน 9,870 ตัว ในตอนกลางของรัฐนิวเซาท์เวลส์ โคได้รับอาหารชั้น 0.8-1.0 กิโลกรัม/วัน ตั้งแต่เริ่มผสมและกระตุ้นการเป็นสัดโดยการฉีด PGF_{2α} ทำการผสมเทียมหลังจากนั้น 14 วัน ใช้น้ำเชื้อที่แยกเพศโดยวิธี Flow cytometry พบว่าโดยเฉลี่ยแล้วอัตราการผสมติดของน้ำเชื้อธรรมดาสูงกว่าน้ำเชื้อแยกเพศ ซึ่งอัตราการผสมติดของน้ำเชื้อทั้งสองประเภทสูงสุดในการผสมครั้งแรก และลดลงตามการผสมเทียมในครั้งต่อไป (Figure 1)

Table 1. Effect of sexed and conventional semen on reproductive traits.

Parameter	Conventional semen	Sexed semen
Female calf sex, %	51.3	91.1
Conception rate, %	63.8	48.3
Female twining rate, %	50	70
Male twining rate, %	10	20
Female calf birth weight, kg	38.13±0.94	37.12±1.32
Male calf birth weight, kg	38.36±1.12	38.13±0.83
Female gestation length, days	274.1±7.9	273.8±8.4
Male gestation length, days	275.63±8.1	276.2±8.4
Female Abortion, %	4.7	5.8
Male Abortion, %	7.2	12.1
Female Stillbirth, %	4.2	5.2
Male Stillbirth, %	5.4	6.8

Source: Joezy-Shekalgorabi et al. (2017)

สอดคล้องกับการศึกษาของ Norman et al. (2010) ได้ทำการศึกษาในสหรัฐอเมริกาโดยการผสมพันธุ์โคในปี 2006 ถึง ปี 2008 โดยใช้ข้อมูลบันทึกการผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อแยกเพศและน้ำเชื้อธรรมดา ในโคสาวจำนวน 1.5 ล้านตัว และในโคนางจำนวน 12.1 ล้านตัว ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้จากศูนย์น้ำนมดิบ 3 แห่ง พบว่าอัตราการการผสมติดในโคที่ใช้น้ำเชื้อแยกเพศต่ำกว่าการใช้น้ำเชื้อธรรมดาในทุกกลุ่ม Parity และในทุกกลุ่มจำนวนครั้งในการผสมเทียม (Table 4) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากเกิดความเสียหายของตัวอสุจิ โดย Norman et al. (2010) รายงานว่าในการผสมพันธุ์ด้วยน้ำเชื้อแยกเพศ มีอัตราการผสมติดต่ำซึ่งได้รับผลกระทบในขั้นตอนการแยกเพศ

Table 2. Effect of semen type and herd on interval from first AI to calving, calving difficulty, proportion of female calves born, stillbirths, incidence of retained fetal membranes and metritis

Parameter	Herd A		Herd B		P-value		
	CS	SX	CS	SX	TRT	Herb	TRT x Herb
Gestation length, ($\pm$ SEM)	275.8 $\pm$ 0.9	276.8 $\pm$ 1.2	275.9 $\pm$ 0.3	277.4 $\pm$ 1.0	0.22	0.62	0.79
Female calves, %	47.1	63.1	51.6	65.7	<0.01	0.6	0.5
Calving difficulty ($\pm$ SEM)	1.61 $\pm$ 0.09	1.46 $\pm$ 0.08	1.44 $\pm$ 0.03	1.42 $\pm$ 0.07	0.42	0.34	0.53
Heifers with calving difficulty, %	65.9	70.9	69.2	70.7	0.38	0.37	0.43
calves born dead,%	4.7	10.7	3.8	7.1	<0.01	0.32	0.78
Live female calves,%	47.1	56.3	50.5	62.9	<0.01	0.41	1
Incidence of retained fetal membranes,%	3.5	4.9	3.2	5	0.21	0.93	0.87
Incidence of metritis,%	30.6	27.2	45.9	50	0.39	<0.01	0.23

CS: Conventional minimum of 20×10^6 cells/inseminating dose; SX: Sexed semen minimum of 2×10^6 cells/inseminating dose

Source: Chebel et al. (2010)

Table 3. Empirical incidence (%) of stillbirths for calves born to sexed and conventional semen

Semen type	Calf sex	Born (no.)	Stillborn (%)	Stillborn by semen type (%)
Sexed	Female	472	12.9	13.3
	Male	76	15.8	
Conventional	Female	1037	9.1	11.65
	Male	1104	14	

Source: Healy et al. (2013)

อสุจิที่น้อยกว่าน้ำเชื้อธรรมดา ซึ่ง Steele et al. (2020) ได้วัดการเคลื่อนที่ของอสุจิด้วยเครื่อง Computer assisted semen analysis (CASA) พบว่าการเคลื่อนที่ไปข้างหน้า (Progressively motility) ของอสุจิลดลง และเปอร์เซ็นต์อสุจิไม่เคลื่อนที่ (immotile sperm) ที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับน้ำเชื้อธรรมดา ซึ่งหมายถึงความสามารถในการเคลื่อนที่เข้าไปปฏิสนธิกับเซลล์ไข่ลดลง

เพศของลูกโค (Calf sex)

Joezy-Shekalgorabi et al. (2017) พบว่าการใช้น้ำเชื้อแยกเพศได้ลูกโคเพศเมีย 91.1% ในขณะที่การใช้น้ำเชื้อธรรมดาได้ลูกโคเพศเมีย 51.3% (Table 1) สอดคล้องกับ Chebel et al. (2010) ที่ได้ศึกษาการใช้

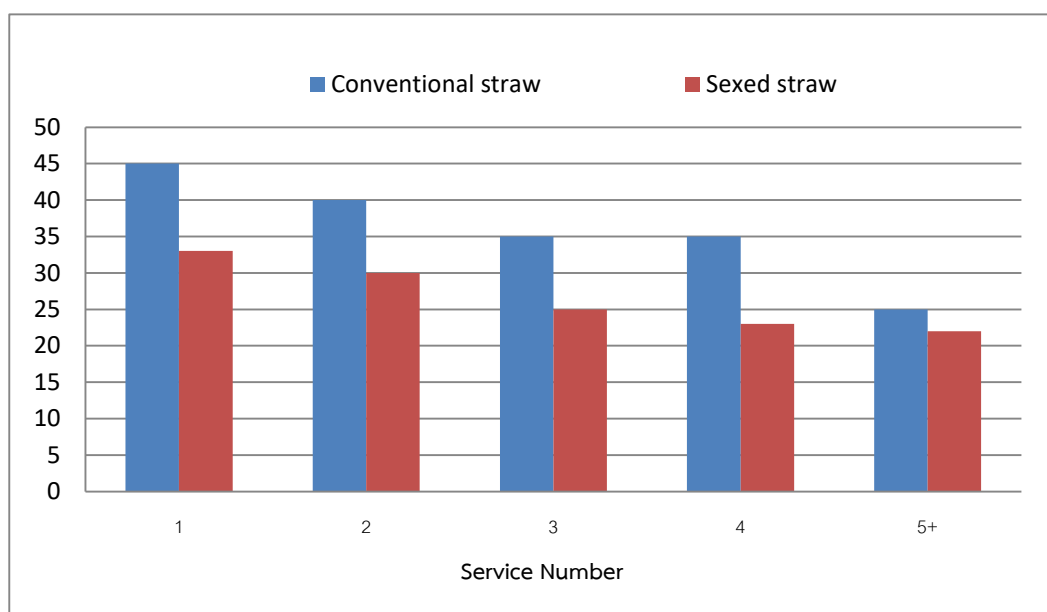


Figure 1. Empirical conception rates for sexed and conventional semen by service number

Source: Healy et al. (2013)

น้ำเชื้อแยกเพศในโคสาวโฮลสไตน์ จำนวน 2 ฟุง ในแคลิฟอร์เนีย (ฟุง A=227 ตัว, ฟุง B=1,144 ตัว) ซึ่งได้รับการกระตุ้นการเป็นสัดโดยฉีด PGF_{2α} และผสมเทียมด้วยน้ำเชื้อธรรมดาที่มีอสุจิ 20x10⁶ sperm/dose และน้ำเชื้อแยกเพศที่มีอสุจิ 2x10⁶ sperm/dose พบว่าการเกิดลูกเพศเมียของน้ำเชื้อแยกเพศมากกว่าของน้ำเชื้อธรรมดามากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ทั้ง 2 ฟุง (Table 2) สอดคล้องกับการศึกษาของ Healy et al. (2013) ที่พบว่าอัตราการตายในน้ำเชื้อแยกเพศและน้ำเชื้อธรรมดามีสัดส่วนเพศของลูกโคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังแสดงใน (Table 3) สอดคล้องกับการศึกษาของ Norman et al. (2010) ที่จากการใช้เทคโนโลยีและกระบวนการในการแยกเพศ รวมทั้งในการผสมเทียมโดยน้ำเชื้อแยกเพศมีปริมาณ พบว่าการใช้น้ำเชื้อแยกเพศ มีการเกิดลูกเพศเมียสูงกว่าลูกเพศผู้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่การใช้น้ำเชื้อธรรมดามีสัดส่วนลูกเพศผู้และเมียไม่แตกต่างกัน ซึ่งผลเหมือนกันทั้งในโคสาวและโคนาง

(Table 5) จากผลของการทดลองทั้ง 3 ฉบับ สามารถสรุปได้ว่าการใช้น้ำเชื้อแยกเพศให้ลูกเพศเมียตามต้องการซึ่งเป็นไปตามที่คาดหวัง

การตายของลูกแรกเกิดและการแท้งลูก (Stillbirth and abortion)

Joezy-Shekalgorabi et al. (2017) พบว่าการตายของลูกแรกเกิดมีค่าใกล้เคียงกัน ระหว่างการผสมเทียมน้ำเชื้อแยกเพศและน้ำเชื้อธรรมดา แต่อัตราการแท้งลูกจะมากกว่าเมื่อผสมด้วยน้ำเชื้อแยกเพศโดยเฉพาะเมื่อ ลูกเป็นเพศผู้ (7.2 และ 12.1%) (Table 1) สอดคล้องกับการศึกษาของ Chebel et al. (2010) ที่พบว่าการตายของลูกแรกเกิดในโคที่ได้รับการผสมเทียมจากน้ำเชื้อแยกเพศสูงกว่าน้ำเชื้อธรรมดาในทั้ง 2 ฝูง (Table 2)

Table 4. Mean conception rates (%) for US Holstein cow breeding in DHI herds from 2006 through 2008 by service number, parity, and semen type

Sementype	Service no.	Parity					All
		1	2	3	4	5	
Conventional	1	35	31	29	28	26	32
	2	33	31	30	28	27	31
	3	31	30	29	28	27	30
	4	28	28	28	26	26	28
	≥5	25	25	24	24	24	25
	All	32	30	29	27	26	30
Sexed	1	28	24	21	22	20	26
	2	25	23	22	19	24	24
	3	24	22	27	13	20	23
	4	21	16	18	22	23	20
	≥5	21	16	12	19	23	18
	All	27	23	21	20	21	25

Source: Norman et al. (2010)

สอดคล้องกับ การศึกษาของ Healy et al. (2013) ที่พบว่าการตายของลูกแรกเกิดเมื่อผสมด้วยน้ำเชื้อแยกเพศ (13.3%) สูงกว่าน้ำเชื้อธรรมดา (11.65%) (Table 3) ในขณะที่การศึกษาของ Norman et al. (2010) พบว่าโคสาวมีการตายของลูกแรกเกิดในลูกเพศเมีย เพศผู้ และแฝดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.05$) โดยโคสาวที่ใช้น้ำเชื้อธรรมดามีการตายของลูกแรกเกิดมากกว่าโคนาง ส่วนในโคนางพบว่า มีลูกเพศเมียและเพศผู้ของน้ำเชื้อทั้งสองประเภทไม่ต่างกัน (Table 5) อย่างไรก็ตามการตายของลูกแรกเกิด

Table 5. Percentages of births with reported calf sex, dystocia or stillbirth for US Holstein heifer and cow breeding in DHI herds from 2006 through 2008 by calf sex, multiple-birth status, and semen type

Trait	Calf birth status	Heifer breeding,%		Cow breeding,%	
		Conventional	Sexed	Conventional	Sexed
Calf sex	Single female	50.5	90.2	45.4	85.1
	Single male	48.5	8.9	49.2	10.2
	Twins	1.1	0.9	5.5	4.6
Dystocia	Single female	3.8 ^a	3.8 ^a	1.8 ^a	0.9 ^a
	Single male	8.0 ^b	8.8 ^b	3.3 ^b	1.2 ^b
	Twins	6.5 ^c	4.4 ^c	4.7 ^c	1.3 ^b
Stillbirth	Single female	9.7 ^a	10.8 ^a	3.6 ^a	2.7 ^a
	Single male	10.8 ^b	15.6 ^b	3.6 ^a	2.6 ^a
	Twins	12.5 ^c	10.4 ^c	7.5 ^b	5.8 ^b

^{a-c}Percentage within a column with different superscripts differ ($P=0.05$)

Source: Norman et al. (2010)

เมื่อใช้น้ำเชื้อธรรมดาไม่แตกต่างกัน การทำงานวิจัยส่วนใหญ่พบว่าการใช้น้ำเชื้อแยกเพศมีการตายของลูกแรกเกิดมากกว่าการใช้ น้ำเชื้อธรรมดา อาจเป็นผลมาจากการพัฒนาของตัวอ่อนที่อาจได้รับผลกระทบจากสภาพเซลล์ของอสุจิที่ผ่านกระบวนการแยกเพศโดย Steele et al. (2020) รายงานว่า อัตราการปฏิสนธิลดลงหลังจากมีการแยกเพศ เกิดจากการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของอสุจิ ลดโอกาสที่ตัวอสุจิจะไปถึงเซลล์ไข่เพื่อปฏิสนธิและการพัฒนาตัวอ่อนระยะเริ่มต้น นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอ่อนที่ได้รับการผสมเทียมด้วยน้ำอสุจิแยกเพศมีชีวิตรอดลดลง

การเกิดลูกแฝดและระยะการตั้งครรภ์ (Twinning and gestation length)

Joezy-Shekalgorabi et al. (2017) พบว่าน้ำเชื้อแยกเพศและน้ำเชื้อธรรมดาให้ผลไม่แตกต่างกัน ในด้าน การเกิดลูกแฝด น้ำหนักแรกเกิดของลูก ระยะเวลาการตั้งครรภ์ การแท้งลูกและการตายของลูกแรกเกิด (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Norman et al. (2010) ที่พบว่าการเกิดลูกแฝดทั้งในโคสาวและโคนาง ระหว่างน้ำเชื้อแยกเพศและน้ำเชื้อธรรมดาให้ผลไม่แตกต่างกัน (Table 5) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Chebel et al. (2010) ที่พบว่า ระยะเวลาการตั้งครรภ์ การคลอดยาก ลูกโคที่คลอดมาตายลูกโคเพศเมียมีชีวิต รกค้างและมดลูกอักเสบ ให้ผลไม่แตกต่างกัน (Table 2) จากผลการทดลองทั้ง 3 ฉบับ สามารถสรุปได้ว่าการใช้น้ำเชื้อแยกเพศและน้ำเชื้อธรรมดาให้ผลไม่แตกต่างกันในประเด็นดังกล่าว

สรุป

จากการศึกษาเอกสารวิจัยจำนวน 7 ฉบับที่เกี่ยวกับการใช้น้ำเชื้อแยกเพศ โดยสามารถสรุปได้ว่าการใช้น้ำเชื้อแยกเพศในโคนมมีสัดส่วนลูกโคเพศเมียสูงกว่าการใช้น้ำเชื้อธรรมดา อย่างไรก็ตามน้ำเชื้อแยกเพศมีอัตราการผสมติดต่ำกว่าน้ำเชื้อธรรมดา ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากเกิดความเสียหายต่อตัวสpermที่ผ่านกระบวนการคัดแยกเพศ และปริมาณของตัวสpermที่น้อยกว่าน้ำเชื้อธรรมดา ส่วนอัตราการเกิดแฝด น้ำหนักแรกเกิดของลูก และระยะเวลาในการตั้งท้อง ไม่มีความแตกต่างกัน ในขณะที่การตายของลูกแรกเกิดเมื่อใช้น้ำเชื้อแยกเพศสูงกว่าการใช้น้ำเชื้อธรรมดา

เอกสารอ้างอิง

- มัทนียา สารกุล, ศกร คุณวุฒิจิธริน, ธนาทิพย์ สุวรรณโสภี, ธรรมบุญ ทองประไพ และอภิญา หิรัญวงษ์. 2563. สถานภาพการผลิตและการคัดเลือกพ่อพันธุ์ของเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมในประเทศไทย. GPOGenetic พันธุกรรมสำหรับโคนมเขตร้อน. <http://www.dpogenetics.com>. 26 พฤศจิกายน สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร. 2562. สถานการณ์โคนมโลก&ไทย ปี 2562. Dairy Development Program. <http://dairydevelopmentprogram.weebly.com>. 27 พฤศจิกายน
- Chebel, R.C., Fetrow, J.P., Guagnini, F.S., Lima, J.R. and Santos, J.E.P. 2010. "Sex-sorted semen for dairy heifers: Effect on reproductive and lactational performances". **J.Dairy Sci.** 93: 2496-2507.
- Healy, A.A., House, J.K. and Thomson, P.C. 2010. "Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers". **J.Dairy Sci.** 96: 1905-1914.
- Joezy-Shekalgorabi, S., Maghsoudi, A. and Mansourian, M.R. 2017. "Reproductive performance of sexed versus conventional semen in Holstein heifers in various semiarid regions of Iran". **Italian Journal of Animal Science.** 16 (4): 666-672.
- Momo, C. M. M., Ferdinand, N., Wilington, B. O., Augustave, K., Emmanuel, M., Narcisse, V. B. and Joseph, T. 2019. "Effects of Semen Sexing Agent (Heiferplus) on Sperm Characteristics and Fertility in Cows". **EC veterinary Science.** 4.9. 42-52.
- Norman, H.D., Hutchison, J.L. and Miller, R.H. 2010. "Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States". **J.Dairy Sci.** 93 : 3880-3890.
- Steele, H., Makri, D., Moaalouf W.E., Reese S., and kplle, S., 2020. "Bovine Sperm Sexing Alters Sperm Morphokinetics and Subsequent Early Embryonic Development". **Scientific Reports.** (10): 6255 1-13.

Yadav, H.P., Sahu, S.K., Lone, S.A., Shah, N., Singh, A., Verma, U.K., Baithalu, R.K. and Mohanty, T.K. 2018. "Advances in sperm sexing in bovines". **J. Exp. Zool. India.** 21 (1): 1-9.