

การเก็บตัวอย่างโดยวิธีนิรศัลยกรรมในกระบือปลัก (*Bubalus bubalis* Linn.)



นายอลงกลต แทนอมทอง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพันธุศาสตร์
ภาควิชาพฤกษศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2535

ISBN 974-581-820-8

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

019603

117106345

NON-SURGICAL EMBRYO RECOVERY
IN SWAMP BUFFALO (Bubalus bubalis Linn.)



Mr. Alongkoad Tanomtong

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science

Major Genetics

Department of Botany

Graduate School

Chulalongkorn University

1992

ISBN 974-581-820-8

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การเก็บตัวอย่างโดยวิธีนิรศัลยกรรมในกระป๋องปลัก (Bubalus bubalis Linn.)
โดย นายอลงกลต แทนอมทอง
สาขาวิชา พันธุศาสตร์
ภาควิชา พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ช่าง อากาศิตย์
ศาสตราจารย์ น.สพ.พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป



บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร.ถาวร วัชรารักษ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประชานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ นาฏนลวย หลายชูไทย)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ช่าง อากาศิตย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ศาสตราจารย์ น.สพ.พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ น.สพ. ดร.ชัยณรงค์ โกลหิต)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ พรรณี จิโนรัมย์)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

อลงกลต แทนอมทอง : การเก็บตัวอ่อนโดยวิธีนรีศัลยกรรมในกระบือปลัก
(Bubalus bubalis Linn.) NON-SURGICAL EMBRYO RECOVERY IN SWAMP
BUFFALO (Bubalus bubalis Linn.) อ.ที่ปรึกษา รศ. ชาญ อาภาสัคย์ และ
ศ.น.สพ.พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป, 61 หน้า. ISBN 974-581-820-8

ศึกษาประสิทธิภาพการล้างเก็บตัวอ่อนจากกระบือตัวให้ โดยการกระตุ้นการตกไข่ด้วย pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) สำหรับการทดลองที่ 1, PMSG ร่วมกับ human chorionic gonadotrophin (HCG) สำหรับการทดลองที่ 2 และ PMSG ร่วมกับ anti pregnant mare serum gonadotrophin (Anti-PMSG) สำหรับการทดลองที่ 3 ใช้แม่กระบือที่ผ่านการให้ลูกมาแล้ว อายุ 5-9 ปี จำนวน 22 ตัว และพ่อกระบือที่ได้ทำการเปียงเบนลิงค์ อายุ 7 ปี จำนวน 1 ตัว เพื่อใช้ในการตรวจสอบการเป็นสัดในกลุ่มตัวให้ ในกลุ่มตัวให้มีการกระตุ้นการตกไข่เพิ่มมากขึ้นโดยใช้ PMSG 2000 ถึง 3000 IU ต่อตัว อีก 48 ชั่วโมงต่อมาทำการเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย prostaglandin F₂ alpha (PGF₂ alpha) 2 cc. ภายใน 1-3 วัน ต่อมาตัวให้จะแสดงอาการเป็นสัด เริ่มผสมเทียมครั้งแรกหลัง standing heat 12 ชั่วโมง ผสม 3-4 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 12 ชั่วโมง ในการผสมเทียมครั้งแรกแม่กระบือตัวให้จะถูกฉีด HCG 2500 IU ต่อตัว สำหรับการทดลองที่ 2 และ Anti-PMSG 5 มิลลิลิตร สำหรับการทดลองที่ 3 เพื่อช่วยให้มีการตกไข่ดีขึ้น 6.0-6.5 วันต่อมาหลังจาก standing heat ทำการล้างเก็บตัวอ่อน

กระบือตัวให้ทั้ง 3 กลุ่ม ซึ่งกระตุ้นการตกไข่ด้วย PMSG, PMSG ร่วมกับ HCG และ PMSG ร่วมกับ Anti-PMSG ได้จำนวนตัวอ่อนทั้งหมด 4, 1 และ 0 ตัว เฉลี่ย 0.5 ± 1.07 , 0.12 ± 0.35 และ 0 ตัว คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ 12.5, 4.76 และ 0% ตามลำดับ

ระยะเวลาเจริญของตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้จากตัวให้ทั้ง 3 กลุ่ม อยู่ในระยะตรงตามอายุโดยอยู่ในระยะ compact morula 1 ตัว และ early blastocyst 4 ตัว ที่อายุ 6.0-6.5 วันหลังจาก standing heat

ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้จากกระบือตัวให้ทั้ง 3 กลุ่ม จากการกระตุ้นการตกไข่ด้วย PMSG, PMSG ร่วมกับ HCG และ PMSG ร่วมกับ Anti-PMSG ได้ตัวอ่อนที่มีคุณภาพดี (เกรด B) เท่ากับ 75, 100 และ 0% ตามลำดับ ตัวอ่อนที่มีคุณภาพพอใช้ได้ (เกรด C) เท่ากับ 25, 0 และ 0% ตามลำดับ



ภาควิชา พฤษศยศาสตร์
สาขาวิชา พันธุศาสตร์
ปีการศึกษา 2535

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C325555 : MAJOR GENETICS

KEY WORD: NON-SURGICAL / EMBRYO RECOVERY / SWAMP BUFFALO

ALONGKOAD TANOMTONG : NON-SURGICAL EMBRYO RECOVERY IN SWAMP BUFFALO (*Bubalus bubalis* Linn.). THESIS ADVISOR : ASSO.PROF. CHAN APASATAYA AND PROF. PEERASAK CHANTARAPRATEEP, 61 pp. ISBN 974-581-820-8

The efficiency of the embryo recovery by non-surgical method in swamp buffalo was studied. Three experiments were performed, the recovery of embryo from the donor was carried out by superovulation with pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG), PMSG and human chorionic gonadotrophin (HCG), and with PMSG and anti pregnant mare serum gonadotrophin (Anti-PMSG) for the first, second and third experiments respectively. Deviated penis bull was used for estrus detection of 22 donor cows aged 5-9 years old. Each buffalo was subjected to superovulation by using PMSG, 2000-3000 IU and PGF₂ alpha 15 mg. 48 hours later. Artificial insemination was done 12 hours after the standing heat, another 2 AI was carried out every 12 hours. For the first AI, animal will be given HCG 2500 IU (the second experiment) and Anti-PMSG 5 mg. (the third experiment). Embryo collection was performed on day 6.0-6.5 after standing heat.

Three groups of the donor using PMSG, PMSG and HCG, and with PMSG and Anti-PMSG were able to obtain 4, 1 and 0 embryo, average 0.5 ± 1.07 , 0.12 ± 0.35 and 0 or 12.5%, 4.76% and 0% respectively.

The period of the embryo development from three group of donor are 1 embryo in the compact morula and 4 embryos in the early blastocyst, 6.0-6.5 days after the standing heat.

The embryo from the three experiments, using PMSG, PMSG and HCG and with PMSG and Anti-PMSG are in the good quality (grade B) ; 75%, 100% and 0% and in the fair quality (grade C) ; 25%, 0% and 0% respectively.



ภาควิชา..... พศกษศาสตร์.....

สาขาวิชา..... พันธุศาสตร์.....

ปีการศึกษา..... 2535.....

ลายมือชื่อนิสิต..... *อนุชา วัฒน*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... *[Signature]*.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... *[Signature]*.....



สารบัญ

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฌ
สารบัญแผนภูมิ.....	ญ
คำอธิบายคำย่อ.....	ฎ
บทที่	
1. บทนำและการตรวจสอบเอกสาร.....	1
2. วัสดุอุปกรณ์.....	17
3. วิธีดำเนินการศึกษา.....	22
4. ผลการศึกษา.....	32
5. อภิปรายผลการศึกษา.....	45
6. สรุปผลการศึกษา.....	49
เอกสารอ้างอิง.....	50
ภาคผนวก.....	58
ประวัติผู้เขียน.....	61

คุนยวิทยทรรพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 1	หลักเกณฑ์สำหรับการกระตุ้นตกไข่ในแม่กระบือ.....	8
ตารางที่ 2	การพัฒนาตัวอ่อนของกระบือปลักในระยะเริ่มแรก.....	14
ตารางที่ 3	การใช้ PMSG กระตุ้นการตกไข่เพิ่มขึ้นในการทดลองที่ 1	23
ตารางที่ 4	การใช้ PMSG กระตุ้นการตกไข่เพิ่มขึ้นในการทดลองที่ 2.....	25
ตารางที่ 5	การใช้ PMSG กระตุ้นการตกไข่เพิ่มขึ้นในการทดลองที่ 3.....	27
ตารางที่ 6	รายละเอียดการเลี้ยงเก็บตัวอ่อนจากการกระตุ้นการตกไข่ด้วย PMSG.....	32
ตารางที่ 7	รายละเอียดการเลี้ยงเก็บตัวอ่อนจากการกระตุ้นการตกไข่ด้วย PMSG ร่วมกับ HCG.....	35
ตารางที่ 8	รายละเอียดการเลี้ยงเก็บตัวอ่อนจากการกระตุ้นการตกไข่ด้วย PMSG ร่วมกับ Anti-PMSG.....	38
ตารางที่ 9	ผลของการเลี้ยงเก็บตัวอ่อนจากแม่กระบือตัวให้.....	41
ตารางที่ 10	คุณภาพของตัวอ่อนที่เลี้ยงเก็บได้.....	41
ตารางที่ 11	ระยะการเจริญของตัวอ่อนที่เลี้ยงเก็บได้.....	42

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยความช่วยเหลือจากหลายฝ่ายด้วยกัน ผู้วิจัยขอ
ขอบพระคุณทุกท่านที่มีรายชื่อดังต่อไปนี้

รองศาสตราจารย์ ช่าง อภาสดี และศาสตราจารย์ น.สพ.พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งท่านได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ของการวิจัยมาด้วยดีตลอด

รองศาสตราจารย์ นาฏฉลวย หลายชูไทย และรองศาสตราจารย์ พรหม ชีโนรักษ์ ที่ได้
ให้คำแนะนำแก้ไขข้อบกพร่อง จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

เจ้าหน้าที่ของศูนย์ฝึกนิสิตคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดนครปฐม
ทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและความสะดวกในการทำวิจัย ผู้อำนวยการ ชำราชากร
เจ้าหน้าที่ และพนักงาน ของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ลาพญากลางกรมปศุสัตว์ ทุกท่าน ที่ได้ช่วย
เหลือและให้ความสะดวกในการทำวิจัย

โครงการพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อการพัฒนา สำนักงานคณะกรรมการพัฒนา
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่ได้ให้ทุนการสนับสนุนการทำวิจัย ขอขอบคุณภาควิชาสัตตศาสตร์
เขนุเวชวิทยาและวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้เอื้อเพื่อวัสดุ
อุปกรณ์ในการทำวิจัย และขอขอบคุณภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์
มหาวิทยาลัย ที่ให้การศึกษา และความรู้แก่ผู้วิจัย

รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.ชัยณรงค์ โลหชิต รองศาสตราจารย์ น.สพ.ดร. ปราบิน
วีรกุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.มงคล เตชะกาพ ที่ได้ช่วยเหลือและให้คำแนะนำที่เป็น
ประโยชน์ในการทำงานวิจัย

สารบัญภาพ

ภาพที่	ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 1	อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่าง.....	20
ภาพที่ 2	สภาพโรงเรือนที่ใช้เลี้ยงกระบือตัวให้.....	21
ภาพที่ 3	การตรวจการเป็นสัดโดยใช้ฟอกระบือ เบียงเบนลิ่งค์.....	29
ภาพที่ 4	แสดงการล้างเก็บตัวอย่าง.....	30
ภาพที่ 5	การตรวจหาและการประเมินคุณภาพตัวอย่าง.....	31
ภาพที่ 6	ตัวอย่างอายุ 6.0-6.5 วัน ที่ล้างเก็บได้.....	44

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่	หน้า
แผนภูมิที่ 1 แสดงโปรแกรมการกระตุ้นทำให้ตกไข่เพิ่มขึ้นโดยใช้ PMSG	24
แผนภูมิที่ 2 แสดงโปรแกรมการกระตุ้นทำให้ตกไข่เพิ่มขึ้นโดยใช้ PMSG ร่วมกับ HCG.....	26
แผนภูมิที่ 3 แสดงโปรแกรมการกระตุ้นทำให้ตกไข่เพิ่มขึ้นโดยใช้ PMSG ร่วมกับ Anti-PMSG..	28



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายคำย่อ

PMSG	=	pregnant mare serum gonadotrophin
Anti-PMSG	=	anti pregnant mare serum gonadotrophin
PGF ₂ alpha	=	prostaglandin F ₂ alpha
HCG	=	human chorionic gonadotrophin
FSH	=	follicle stimulating hormone
PBS	=	Dulbecco's phosphate buffer saline
AI	=	artificial insemination
CL	=	corpus luteum



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย