

วิธีดำเนินการศึกษา

การเตรียมสัตว์ทดลอง ก่อนเริ่มทำการทดลองจะต้องมีการตรวจรอบการเป็นสัตว์ทดลอง โดยจูงพ่อกระบือที่ทำการเบี่ยงเบนสิ่งค์เข้าตรวจสอบในตอนเช้าและเย็น ให้อาหารขึ้นในตอนเช้าตัวละ 2 กิโลกรัม วันละ 1 ครั้ง อาหารหยาบโดยการปล่อยกระบือหากินอิสระในทุ่งหญ้าช่วงฤดูฝน ส่วนในฤดูหนาวและร้อนให้หญ้าหมักหรือหญ้าแห้งเสริมในช่วงบ่าย 1 ครั้ง

การศึกษาครั้งนี้แบ่งออกเป็น 3 การทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 ศึกษาการกระตุ้นให้มีการตกไข่เพิ่มขึ้นโดยใช้ PMSG

วิธีทดลอง

1.1 แม่กระบือตัวให้ กระตุ้นให้มีการตกไข่ครั้งละหลายใบด้วย PMSG จำนวน 2000-3000 IU/ตัว ฉีดเข้ากล้ามเนื้อเพียงครั้งเดียวในช่วงวันที่ 9-13 ของวงรอบการเป็นสัตว์ โดยปริมาณของ PMSG ที่ให้จะขึ้นอยู่กับน้ำหนักของกระบือตัวให้ น้ำหนักของกระบือตัวให้ 1 กิโลกรัม ต้องการ PMSG 5 IU ขณะที่ PMSG 1ขวด มี PMSG 5000 IU (25 cc.) มีการกำหนดปริมาณการให้ดังนี้

น้ำหนักกระบือตัวให้ 400 กิโลกรัม ใช้ PMSG 2000 IU (10.00 cc.)

น้ำหนักกระบือตัวให้ 450 กิโลกรัม ใช้ PMSG 2250 IU (11.25 cc.)

น้ำหนักกระบือตัวให้ 500 กิโลกรัม ใช้ PMSG 2500 IU (12.50 cc.)

น้ำหนักกระบือตัวให้ 550 กิโลกรัม ใช้ PMSG 2750 IU (13.75 cc.)

น้ำหนักกระบือตัวให้ 600 กิโลกรัม ใช้ PMSG 3000 IU (15.00 cc.)

ตารางที่ 3 การใช้ PMSG กระตุ้นให้มีไข่ตกเพิ่มขึ้นในการทดลองที่ 1

หมายเลขของ กระบือตัวที่	วันของวงจร การเป็นสัด	น้ำหนัก (กก.)	ปริมาณ PMSG ที่ใช้	
			IU	cc.
40	10	446	2250	11.25
47	12	460	2250	11.25
79	13	485	2500	12.50
800	10	500	2500	12.50
818	13	495	2500	12.50
915	9	440	2250	11.25
953	13	500	2500	12.50
958	11	485	2500	12.50

1.2 อีก 48 ชั่วโมง ต่อมา ทำการเหนี่ยวนำให้เป็นสัดด้วย PGF₂ alpha จำนวน 2 cc. ฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณตะโพก

1.3 ภายใน 1-3 วัน ต่อมา แม่กระบือจะแสดงอาการเป็นสัด ทำการตรวจการเป็นสัด และผสมพันธุ์แม่กระบือตัวที่ โดยจูงพ่อกระบือที่ได้ทำการเบี่ยงเบนสิ่งค์แล้วตรวจการเป็นสัดวันละ 2 ครั้ง เข้าและยืนร่วมกับดูอาการประกอบการเป็นสัดเช่น มีน้ำเมือกใสไหลออกจากปากช่องคลอด กระวนกระวาย อ้วก เวศบวมแดง และล้างผ่านทวารหนักเพื่อตรวจ tone ของมดลูก ทำการผสมพันธุ์แม่กระบือตัวที่ด้วยวิธีการผสมเทียม ภายหลังแม่กระบือยืนนิ่งยอมรับการผสมพันธุ์จากพ่อกระบือ (standing heat) 12 ชั่วโมง ผสม 3 ครั้ง ห่างกันครั้งละ 12 ชั่วโมง

1.4 ภายหลังจากแม่กระบือยืนนิ่งยอมรับการผสมพันธุ์ จากพ่อกระบือในช่วงการเป็นสัด 6.0-6.5 วัน ทำการชะล้างตัวอ่อนตามวิธีการของ Chainarong Lohachitet al.(1987) อ้างโดย Peerasak Chantaraprteep et al. (1991) เสร็จแล้วทำการตรวจหาและประเมินคุณภาพตัวอ่อนด้วยกล้อง stereomicroscope



แผนภูมิที่ 1 แสดงโปรแกรมการกระตุ้นให้ตกไข่เพิ่มขึ้นโดยยี่ห้อ PMSG

การทดลองที่ 2 ศึกษาการกระตุ้นให้มีการตกไข่เพิ่มขึ้นโดยยี่ห้อ PMSG ร่วมกับ HCG

วิธีการทดลอง

2.1 แม่กระบือตัวที่ กระตุ้นให้ไข่ตกครั้งละหลายใบด้วย PMSG 2000-3000 IU/ตัว สีดเข้ากล้ำมเนื้อเพียงครั้งเดียว ในช่วงวันที่ 9-13 ของวงรอบการเป็นสัด โดยปริมาณ PMSG ที่ให้ จะขึ้นอยู่กับน้ำหนักของกระบือ การกำหนดเช่น 1.1

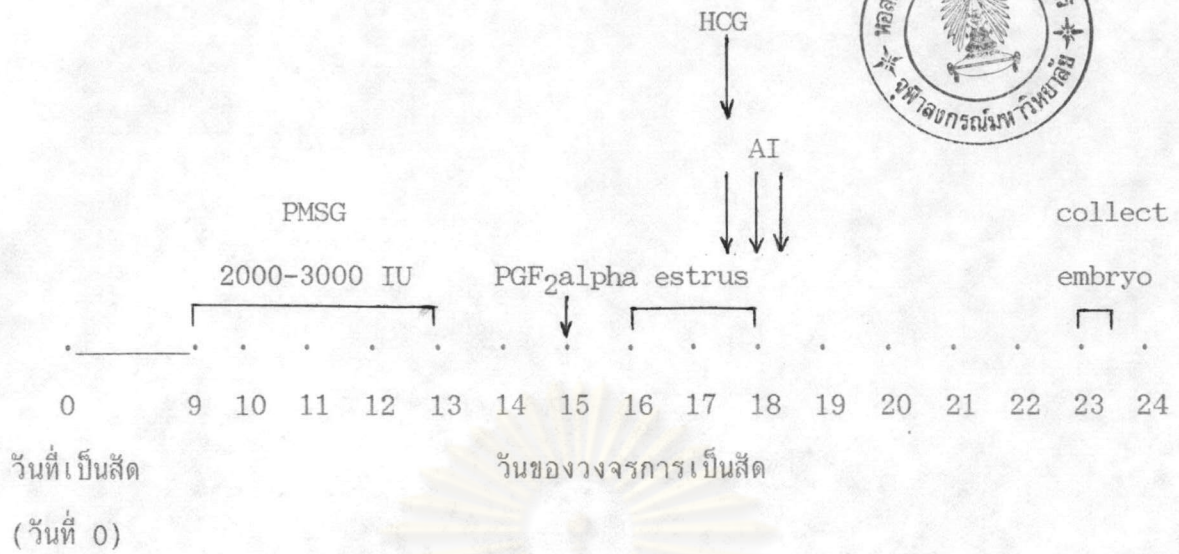
ตารางที่ 4 การใช้ PMSG กระตุ้นให้มีการตกไข่เพิ่มขึ้นในการทดลองที่ 2

หมายเลขของ กระบือตัวให้	วันของวงรอบ การเป็นสัด	น้ำหนัก (กก.)	ปริมาณ PMSG ที่ใช้	
			IU	cc.
7	10	443	2250	11.25
28	11	465	2250	11.25
38	10	430	2250	11.25
41	12	445	2250	11.25
56	13	405	2000	10.00
800	11	491	2500	12.50
915	12	420	2250	11.25
953	9	471	2250	11.25

2.2 อีก 48 ชั่วโมง ต่อมา ทำการเหนี่ยวนำให้เป็นสัดด้วย PGF₂ alpha จำนวน 2 cc. ฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณตะโพก

2.3 ภายใน 1-3 วัน ต่อมา แม่กระบือจะแสดงอาการเป็นสัด ทำการตรวจการเป็นสัด และผสมพันธุ์แม่กระบือตัวให้ วิธีดำเนินการเช่น 1.3 แต่ในการผสมเทียมครั้งแรกจะให้ฮอร์โมน HCG จำนวน 2500 IU/ตัว ฉีดเข้ากล้ามเนื้อเพื่อช่วยให้มีการตกไข่ (ovulation) ดียิ่งขึ้น

2.4 รายละเอียดการเก็บตัวอย่างอ่อนและประเมินคุณภาพดำเนินการเช่น 1.4



แผนภูมิที่ 2 แสดงโปรแกรมกระตุ้นให้ไข่ตกเพิ่มขึ้น โดยใช้ PMSG ร่วมกับ HCG

การทดลองที่ 3 ศึกษาการกระตุ้นให้มีการตกไข่โดยใช้ PMSG ร่วมกับ Anti-PMSG

วิธีการทดลอง

3.1 แม่กระบือตัวให้ กระตุ้นให้ตกไข่ครั้งละหลายใบด้วย PMSG 2000-3000 IU/ตัว ฉีดเข้ากล้ามเนื้อเพียงครั้งเดียว ในช่วงวันที่ 9-13 ของวงรอบการเป็นสัด โดยปริมาณของ PMSG ที่ให้จะขึ้นอยู่กับน้ำหนักของกระบือ การกำหนดเช่น 1.1

วิทยาลัยสัตวแพทยศาสตร์
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

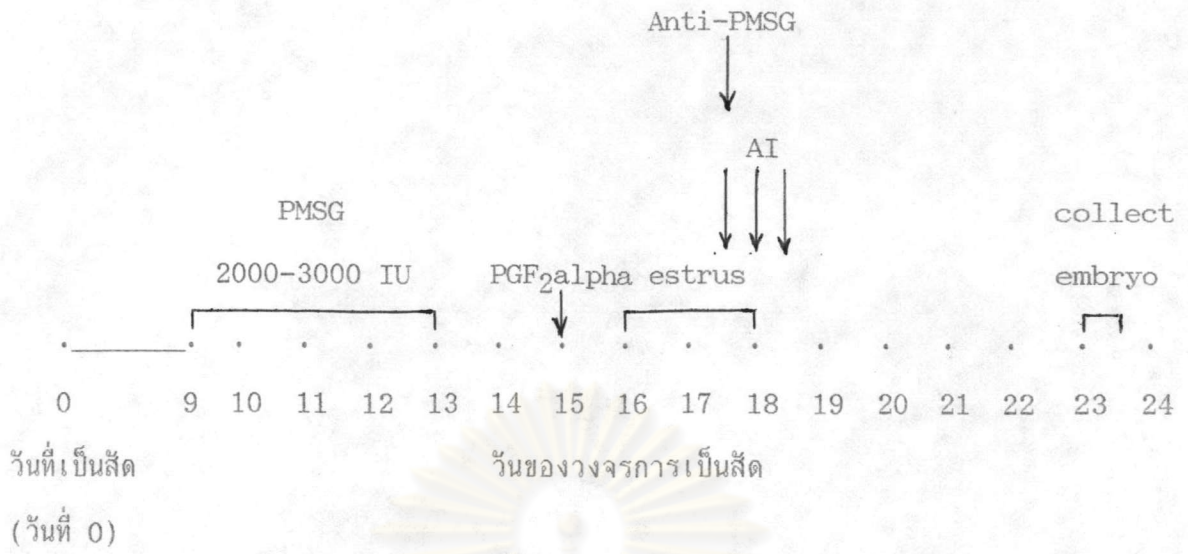
ตารางที่ 5 การารใช้ PMSG กระตุ้นน้ำนมมีการตกไข่เพิ่มขึ้นในการทดลองที่ 3

หมายเลขของ กระบือตัวให้	วันของวงรอบ การเป็นสัด	น้ำหนัก (กก.)	ปริมาณ PMSG ที่ใช้	
			IU	cc.
40	12	403	2000	10.00
47	10	411	2000	10.00
77	13	485	2500	12.50
109	12	505	2500	12.50
131	13	480	2500	12.50
196	12	560	2750	13.75
804	11	404	2000	10.00
818	11	456	2250	11.25

3.2 อีก 48 ชั่วโมง ต่อมา ทำการเหนี่ยวนำให้เป็นสัดด้วย PGF₂ alpha จำนวน 2 cc. ฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณตะโพก

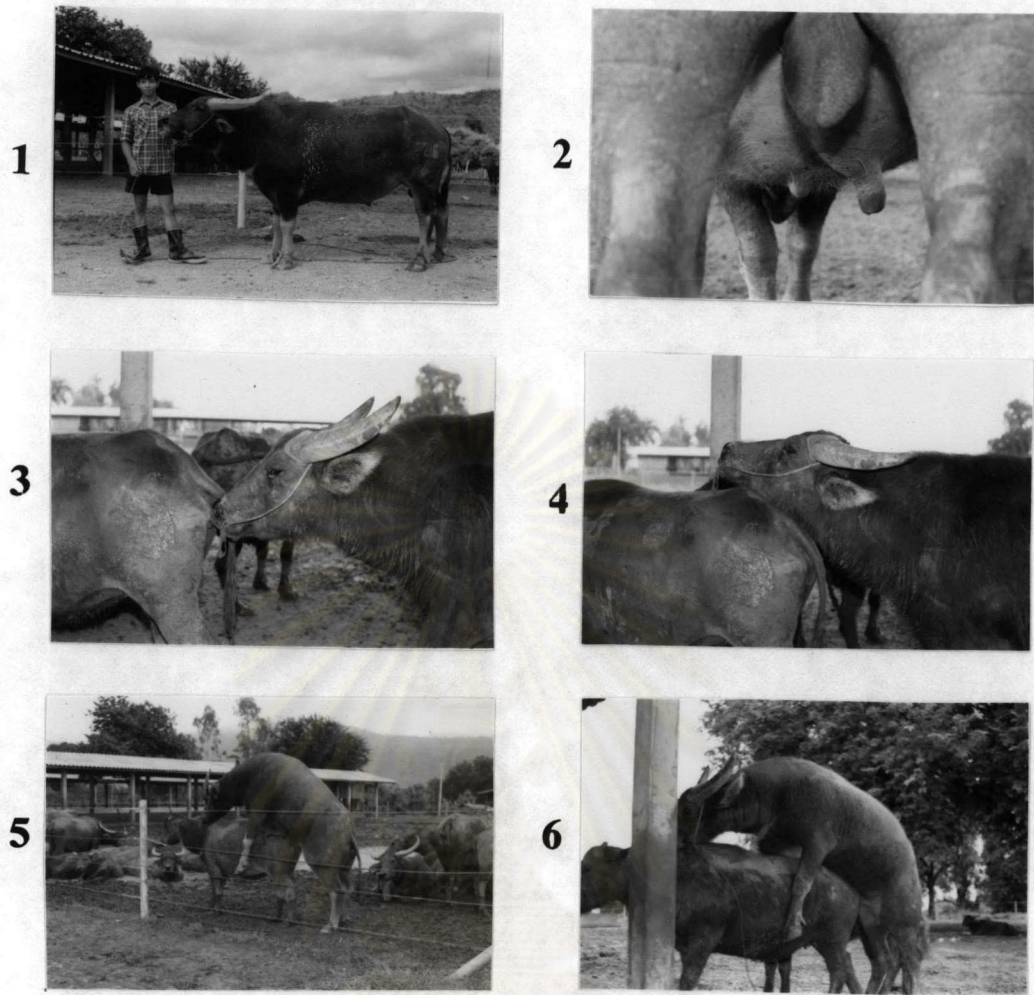
3.3 ภายใน 1-3 วันต่อมา แม่กระบือจะแสดงการเป็นสัด ทำการตรวจการเป็นสัดและผสมพันธุ์แม่กระบือตัวให้ วิธีดำเนินการเช่น 1.3 แต่ในการผสมเทียมครั้งแรกจะให้ฮอร์โมน Anti-PMSG จำนวน 5 มิลลิลิตร/ตัว ฉีดเข้ากล้ามเนื้อ เพื่อขจัดฤทธิ์ของ PMSG ที่เหลืออยู่

3.4 รายละเอียดการเก็บตัวอย่างอ่อนและประเมินคุณภาพดำเนินการเช่น 1.4



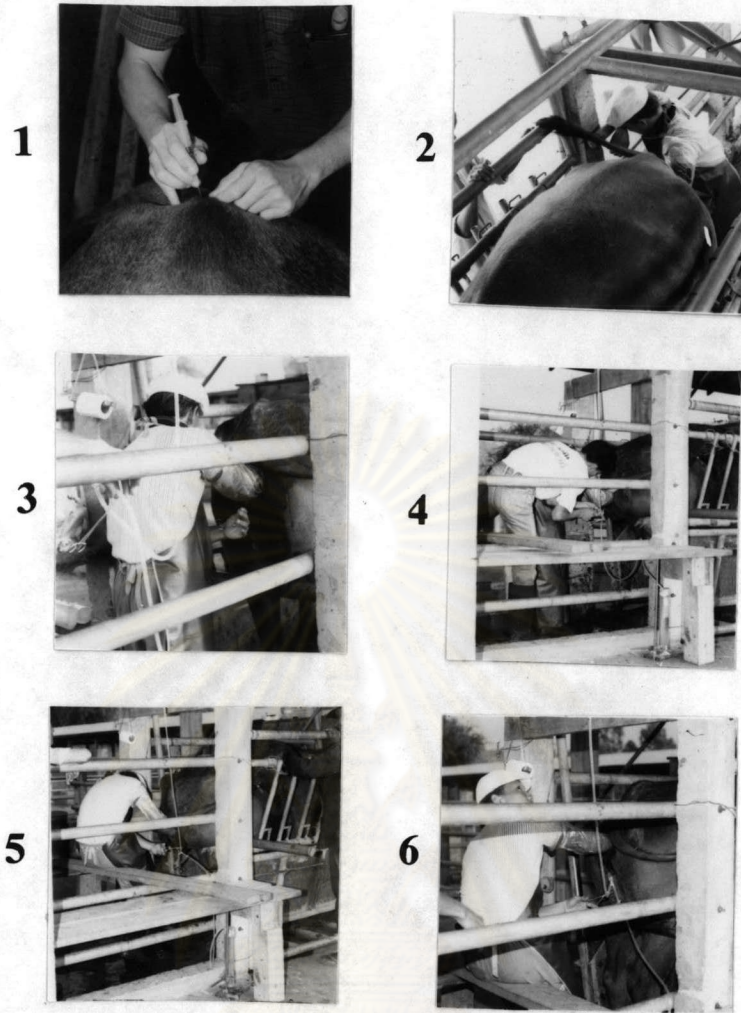
แผนภูมิที่ 3 แสดงโปรแกรมการกระตุ้นให้มีการตกไข่เพิ่มขึ้น โดยยาซี PMSG ร่วมกับ Anti-PMSG

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



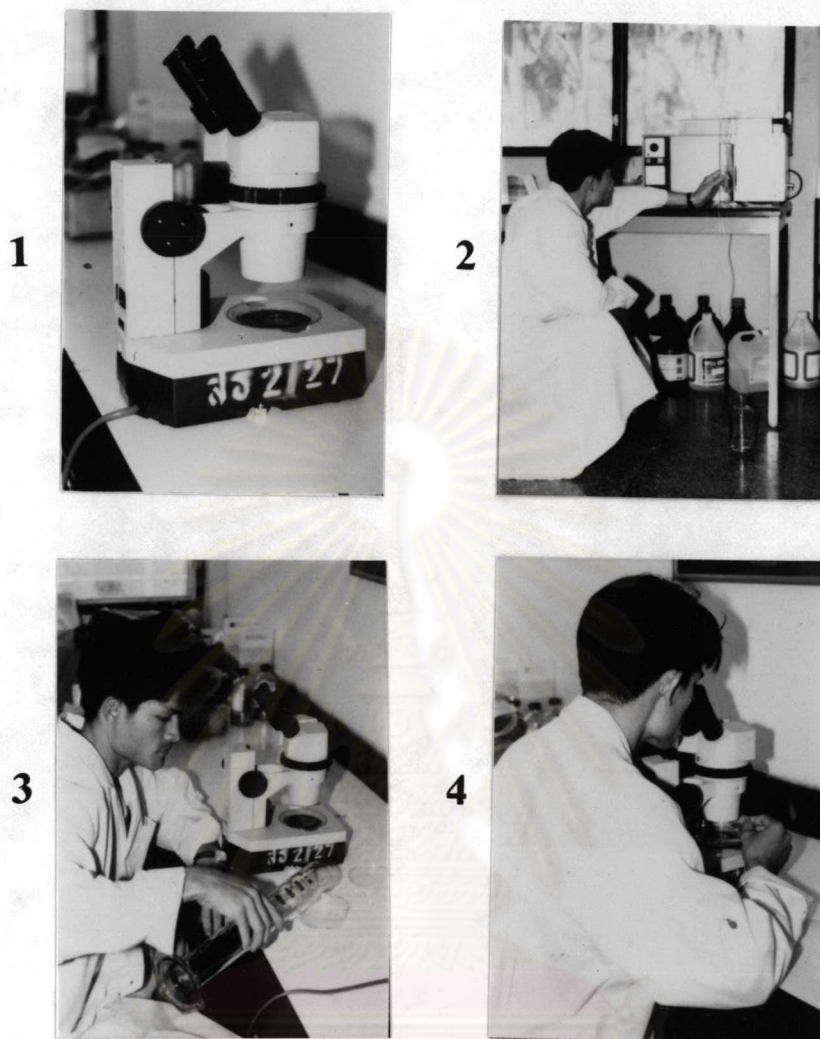
ภาพที่ 3 การตรวจการเป็นสัดโดยพ่อกระบือเบี่ยงเบนลึงค์

- 1> พ่อกระบือที่ใช้ในการตรวจสอบ
- 2> ลึงค์ที่เบี่ยงเบนจากการผ่าตัด
- 3> พ่อกระบือตรวจการเป็นสัดโดยการพิสูจน์กลิ่น
- 4> สองเอาคางเกยตักก่อนขึ้นทับ
- 5-6> การขึ้นทับของพ่อกระบือตรวจสอบ



ภาพที่ 4 แสดงการล้างเก็บตัวอ่อน

- 1> ฉีดยาชาเข้าไขสันหลัง
- 2> ล้างทางทวารหนักตรวจสภาพรังไข่
- 3> นำ cervical dilator สอดผ่าน cervix
- 4> ฉีดอากาศเข้าไปใน Foley catheter
- 5-6> ควบคุมการปล่อยน้ำยาเข้าออกมดลูก



ภาพภาคผนวกที่ 5 การตรวจหาและประเมินคุณภาพตัวอ่อน

- 1> กล้อง stereomicroscope สำหรับตรวจหาและประเมินคุณภาพตัวอ่อน
- 2> การทำกาลักน้ำ
- 3> เขย่า cylinder และเทน้ำยาล้างตัวอ่อนลงใน petri-dish
- 4> ตรวจหาและประเมินคุณภาพตัวอ่อน