

การกระตุ้นการตกไข่เพิ่มและการย้ายฝากตัวอ่อนในกระบือปลัก (*Bubalus bubalis* Linn.)

นายเรืองวิทย์ บรรจงรัตน์



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาแพศยาศาสตร์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2539

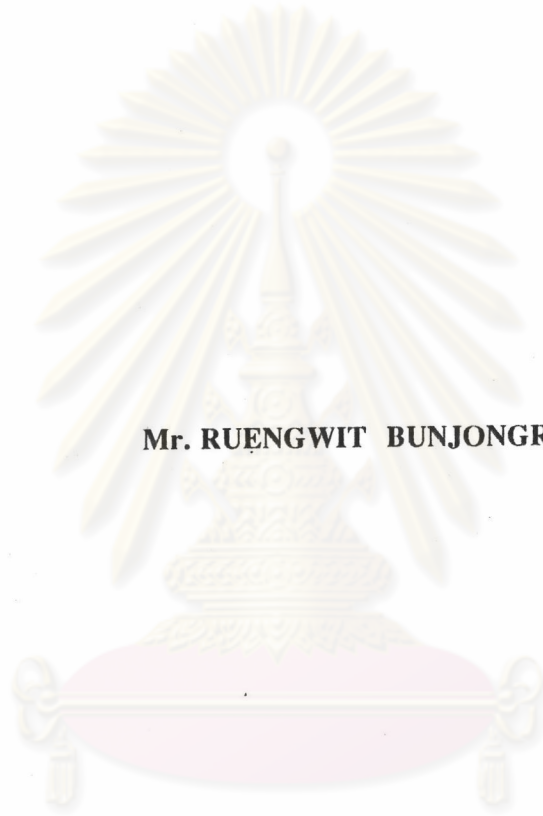
ISBN 974-633-447-6

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I17057046

**SUPEROVULATION AND EMBRYO TRANSFER IN SWAMP BUFFALO**

**(*Bubalus bubalis* Linn.)**



**Mr. RUENGWIT BUNJONGRAT**

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

**Department of Botany**

**Graduate School**

**Chulalongkorn University**

**1996**

**ISBN 974-633-447-6**

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การกระตุ้นการตกไข่เพิ่มและการย้ายฝากตัวอ่อนในกระบือปลัก

(*Bubalus bubalis* Linn.)

โดย

นายเรืองวิทย์ บรรจงรัตน์

ภาควิชา

พฤกษศาสตร์


อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ พรรณี ชิโนรักษ์

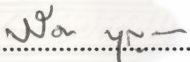
ศาสตราจารย์ น.สพ. พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป

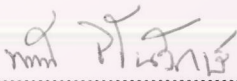


บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้บัณฑิตวิทยาลัยรับนี้เป็นส่วน  
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

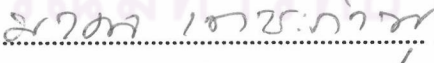
  
..... กณบดีบัณฑิตวิทยาลัย  
(รองศาสตราจารย์ ดร.สันติ ชุงสุวรรณ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

  
..... ประธานกรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ปริดา บุญ-หลง)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษา  
(รองศาสตราจารย์ พรรณี ชิโนรักษ์)

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

  
..... กรรมการ  
(รองศาสตราจารย์ น.สพ. ดร.มงคล เตชะกำพุ)

  
..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรวุฒิ จุฬาลักษณ์านุกุล)

## C625566 : MAJOR GENETICS

KEY WORD: SUPEROVULATION / EMBRYO TRANSFER / SWAMP BUFFALO

RUENGWIT BUNJONGRAT : SUPEROVULATION AND EMBRYO TRANSFER IN SWAMP BUFFALO (Bubalus bubalis Linn.). THESIS ADVISOR : ASSO. PROF. PANNEE CHINORAK AND PROF. PEERASAK CHANTARAPRATEEP, 69 pp. ISBN 974-633-447-6

Embryo transfer technique in swamp buffalo was tested in four experiments. The first two experiments were the comparison of the level of Pregnant Mare Serum Gonadotropin (PMSG); 2,000 and 2,500 I.U., for superovulation after natural estrus. Nine donor buffaloes were used for each experiment. The third and fourth experiment were done with 5 donor buffaloes for each to study the superovulation induced by 2,500 I.U. PMSG and 32 mg Follicle Stimulating Hormone (FSH) after estrus induction by Progesterone Releasing Intravaginal Device (PRID). The treatments of 2,000 I.U. and 2,500 I.U. PMSG after natural estrus showed no significant difference in ovulation induction, with the number of induced ovules of  $3.22 \pm 1.0$  and  $3.11 \pm 2.15$ , respectively ( $p > 0.05$ ). On the other hand, the treatments of 2,500 I.U. PMSG and 32 mg FSH after estrus induction by PRID indicated significant difference in ovulation level, with the number of ovules of  $2.20 \pm 1.30$  and  $3.80 \pm 0.84$ , respectively ( $p < 0.05$ ).

Embryo recovery from donor were done after donor's standing heat for 6.0-6.5 days. The number of embryo recovered from experiments 1 to 4, were 4, 0, 0 and 0 respectively. The collected embryos had normal development. Three of the embryos were in grade A quality one of them was in compact morula stage, while the other two were in early blastocyst stage. The fourth collected embryo was also in early blastocyst stage with grade B quality.

The frozen embryos were thawed and transplant to the recipient buffaloes, whose uteri were in the same development stage as the donor's. Ninety days after transplantation, no pregnant recipients were found as some embryonic cells were degenerated.

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา..... พฤษศาสตร์

สาขาวิชา..... พันธุศาสตร์

ปีการศึกษา..... 2538

ลายมือชื่อนิสิต..... ธีรวิทย์ บรรจงรัตน์

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... ดร. ปิยะการ

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..... ดร. อ.อ.

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมเพียงแผ่นเดียว



เรื่องวิทยุ บรรจงรัตน์ การกระตุ้นการตกไข่เพิ่มและการย้ายฝากตัวอ่อนในกระบือปลัก (*Bubalus bubalis* Linn.) (SUPEROVULATION AND EMBRYO TRANSFER IN SWAMP BUFFALO (*Bubalus bubalis* Linn.)) อ.ที่ปรึกษา รศ. พรรณี ชีโนรักษ์ และ ศ.น.สพ.พีระศักดิ์ จันทรประทีป, 69 หน้า. ISBN 974-633-447-6

จากการศึกษาเทคนิคการย้ายฝากตัวอ่อนในกระบือปลักจำนวน 18 ตัว โดยการกระตุ้นให้มีการตกไข่เพิ่มขึ้นมากกว่าสภาวะปกติหลังเป็นสัทธิธรรมชาติด้วยฮอร์โมน PMSG ที่ระดับ 2,000 I.U. (การทดลองที่ 1) และระดับ 2,500 I.U. (การทดลองที่ 2) ต่อตัว ใช้แม่กระบือจำนวน 9 ตัวในแต่ละการทดลอง และในแม่กระบือปลักอีก 10 ตัว ด้วยการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ด้วย PMSG ที่ระดับ 2,500 I.U. (การทดลองที่ 3) และ FSH ที่ระดับ 32mg (การทดลองที่ 4) หลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัทธิด้วยฮอร์โมน progesterone ชนิดสาคูเข้าช่องคลอดนาน 11 วัน ใช้แม่กระบือตัวให้ 5 ตัวในแต่ละการทดลอง พบว่าเมื่อกระตุ้นให้มีการตกไข่เพิ่มด้วย PMSG หลังการเป็นสัทธิธรรมชาติในการทดลองที่ 1 และ 2 ได้จำนวนการตกไข่เฉลี่ยเท่ากับ  $3.22 \pm 1.09$  และ  $3.11 \pm 2.15$  ใบ ตามลำดับ ( $p > 0.05$ ) และเมื่อกระตุ้นการตกไข่เพิ่มด้วย PMSG หรือ FSH ในการทดลองที่ 3 และ 4 หลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัทธิ พบว่าจำนวนการตกไข่ในกลุ่มที่ฉีดด้วย PMSG เฉลี่ย  $2.20 \pm 1.30$  ใบ และจำนวนการตกไข่ที่ฉีดด้วย FSH เฉลี่ย  $3.8 \pm 0.84$  ใบ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

การชะล้างเก็บตัวอ่อนจากแม่กระบือตัวให้หลังย่นนิ่งยอมรับการผสมพันธุ์ 6.0-6.5 วัน ได้ตัวอ่อน 4, 0, 0 และ 0 ตัว ในการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ ตัวอ่อนที่เก็บได้มีการพัฒนาตรงตามระยะ มีคุณภาพอยู่ระดับเกรด A 3 ตัว โดยอยู่ในระยะ compact morula 1 ตัว และ early blastocysts 2 ตัว และเกรด B 1 ตัว อยู่ในระยะ early blastocyst

เมื่อนำตัวอ่อนที่แช่แข็งมาละลายแล้วนำไปย้ายฝากในแม่ตัวรับที่มีระยะการพัฒนาของมดลูกตรงกับระยะการเจริญของตัวอ่อน หลังถ่ายฝาก 90 วัน พบว่าแม่ตัวรับไม่มีการตั้งท้องเกิดขึ้นเพราะเซลล์ของตัวอ่อนมีการฝ่อสลายไปบางส่วน

ศูนย์วิทยุทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา..... พฤษศาสตร์  
สาขาวิชา..... พันธุศาสตร์  
ปีการศึกษา..... 2538

ลายมือชื่อนิสิต..... บรรจงรัตน์  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..... พรรณี ชีโนรักษ์  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....



## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี เนื่องจากความช่วยเหลือจากบุคคลหลายฝ่าย ซึ่งผู้วิจัยขอขอบพระคุณมา ณ.ที่นี้ด้วย

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ พรรณี ชิโนรักษ์ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้ความดูแลเอาใจใส่ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา นอกจากนี้ยังให้คำแนะนำ แก้ไขข้อบกพร่อง จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์ครั้งนี้ และขอคิดในการทำงานวิจัย ตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ปรีดา บุญ-หลง หัวหน้าภาควิชาพฤกษศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำ แก้ไขข้อบกพร่อง จนวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ดร. มงคล เตชะกำพูน และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรวิมล จุฬาลักษณ์านุกูล ที่ได้ให้คำแนะนำในการทำงานวิจัย และคำแนะนำแก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์มาด้วยดีตลอด

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้การศึกษาคู่มือแก่ผู้วิจัยมาด้วยดีตลอด และขอขอบพระคุณ คุณวันเพ็ญศรีอรันต์ คุณจินดา สิงห์ล่อ และเจ้าหน้าที่ศูนย์ฝึกนิสิตคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือและความสะดวกในการทำงานวิจัยจนสำเร็จผล และขอขอบคุณภาควิชาสัตวศาสตร์เช่นเวชวิทยา และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้เอื้อเฟื้อวัสดุอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบพระคุณคุณศิริวัฒน์ อินทรมงคล คุณจินตนา อินทรมงคล ผู้อำนวยการสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สุรินทร์ ที่ได้ให้คำแนะนำและความสะดวกในการทำงานวิจัยจนสำเร็จผล และขอขอบพระคุณคุณสุพรชัย ฟ้ารี นายสัตวแพทย์บังกาล บุญดารายณ์ ข้าราชการสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สุรินทร์ ที่ได้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัย ตลอดจนข้าราชการ เจ้าหน้าที่ คนงาน ของสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สุรินทร์ทุกท่าน

ขอขอบคุณสมาคมนิสิตเก่าจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ฝ่ายวิชาการ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนการศึกษามาโดยตลอด

ขอขอบคุณพี่ เพื่อน และรุ่นน้อง ของผู้วิจัยทุกคน ที่ให้กำลังใจมาด้วยดีตลอดเวลา

ขอขอบพระคุณคุณพ่อและคุณแม่ ที่ให้โอกาสทางการศึกษา และให้กำลังใจตลอดเวลา จนสำเร็จการศึกษา

สารบัญ



หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญภาพ.....	ฅ
สารบัญแผนภูมิ.....	ญ
คำอธิบายคำย่อ.....	ฐ
บทที่	
1. บทนำ และการตรวจเอกสาร.....	1
2. วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการศึกษา.....	17
3. ผลการศึกษา.....	27
4. อภิปรายผลการศึกษา.....	39
5. สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ.....	43
รายการอ้างอิง.....	45
ภาคผนวก.....	54
ประวัติผู้เขียน.....	69

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 1	สถิติจำนวนปลูสัตว์และสัตว์พาหนะของไทย.....	2
ตารางที่ 2	สรุปผลสำเร็จในการย้ายฝากตัวอ่อนกระบือในโลก.....	4
ตารางที่ 3	โปรแกรมการเร่งการตกไข่ในแม่กระบือด้วย PMSG และ FSH.....	9
ตารางที่ 4	เปรียบเทียบระยะการพัฒนาของตัวอ่อนระยะแรก ระหว่างกระบือปลักและโค.....	13
ตารางที่ 5	แสดงระดับความเข้มข้นของสารป้องกันการแช่แข็งตัวอ่อน.....	15
ตารางที่ 6	แสดงผลการทดลองที่ 1.....	27
ตารางที่ 7	แสดงผลการทดลองที่ 2.....	29
ตารางที่ 8	แสดงผลการทดลองที่ 3.....	31
ตารางที่ 9	แสดงผลการทดลองที่ 4.....	33
ตารางที่ 10	สรุปผลการตอบสนองของรังไข่ต่อฮอร์โมนโกนาโดโทรปิน.....	35
ตารางที่ 11	แสดงผลการตอบสนองของฮอร์โมนที่ใช้เหนี่ยวนำการเป็นสัด.....	35
ตารางที่ 12	แสดงระยะการเจริญเติบโตและคุณภาพของตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้.....	36
ตารางที่ 13	แสดงคุณภาพของตัวอ่อนหลังจากการแช่แข็งที่ระยะการเจริญต่าง ๆ กัน และผลการถ่ายฝาก.....	37

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

ภาพที่ 1 การตรวจเช็คการเป็นสัด, การชะล้างเก็บตัวอ่อน และตัวอ่อนกระบือปลัด.....38



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่	หน้า
แผนภูมิที่ 1	แสดงโปรแกรมการกระตุ้นให้ไขตกเพิ่มขึ้นในการทดลองที่ 1.....21
แผนภูมิที่ 2	แสดงโปรแกรมการกระตุ้นให้ไขตกเพิ่มขึ้นในการทดลองที่ 2.....22
แผนภูมิที่ 3	แสดงโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัคคัวย PRID และกระตุ้นให้ไขตกมากกว่าสภาวะปกติในการทดลองที่ 3.....24
แผนภูมิที่ 4	แสดงโปรแกรมการเหนี่ยวนำการเป็นสัคคัวย PRID และกระตุ้นให้ไขตกมากกว่าสภาวะปกติในการทดลองที่ 4.....26



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**คำอธิบายคำย่อ**

PMSG	=	pregnant mare serum gonadotropin
anti-PMSG	=	anti pregnant mare serum gonadotropin
FSH	=	follicle stimulating hormone
PGF <sub>2</sub> alpha	=	prostaglandin F <sub>2</sub> alpha
PRID	=	progesterone releasing intra vaginal device
PBS	=	Dulbecco's phosphate buffer saline
FCS	=	fetal calf serum
AI	=	artificial insemination



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย