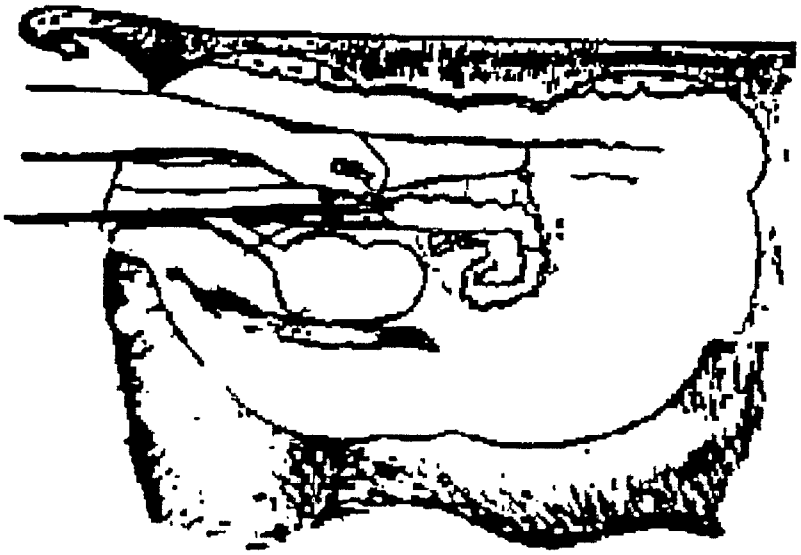
เอกสารประกอบการสอนปฏิบัติการ

วิชา 715542 การผสมเทียมและเทคโนโลยีการสืบพันธุ์



หน่วยวิทยาการสืบพันธุ์ ภาควิชาศัลยศาสตร์และ
วิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2547

แบบฟอร์มการมีส่วนร่วมในผลงานที่ขอกำหนดตำแหน่งเป็นระดับที่สูงขึ้น

☐ คู่มือ ☐ งานวิจัย ☐ สิ่งประดิษฐ์/การวิเคราะห์ระบบงาน/การพัฒนาคุณภาพงาน
☑ เอกสารประกอบการสอน ☐ บทความทางวิชาการ/งานแปล ☐ ผลงานทางวิชาการลักษณะอื่น

เรื่อง : ปฏิบัติการวิชา 715542 การผสมเทียมและเทคโนโลยีการสืบพันธุ์

☐ ทำคนเดียว

☑ ผู้ร่วมงาน จำนวน 4 คน แต่ละคนมีส่วนร่วมดังนี้

ชื่อผู้ร่วมงาน	สังกัดปัจจุบัน	ปริมาณงาน คิดเป็นร้อยละ
1. นายอดิศักดิ์ สังข์แก้ว	ภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	45
2. นายประยงค์ แสงศรีเรือง	ภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	25
3. ผศ.สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย	ภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	20
4. ผศ.ชัยวัฒน์ จรัสแสง	ภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	10

ขอรับรองว่าข้อความดังกล่าวข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

1. ลงชื่อ
(นายอดิศักดิ์ สังข์แก้ว)

2. ลงชื่อ
(นายประยงค์ แสงศรีเรือง)

3. ลงชื่อ
(ผศ.สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย)

4. ลงชื่อ
(ผศ.ชัยวัฒน์ จรัสแสง)

หนังสือรับรอง

ขอรับรองว่าปฏิบัติการวิชา 715542 การผสมเทียมและเทคโนโลยีการสืบพันธุ์ ได้นำมาปฏิบัติงานจริงในการเรียนวิชา 715542 การผสมเทียมและเทคโนโลยีการสืบพันธุ์ ภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการปฏิบัติงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ลงชื่อ

(นายอดิศักดิ์ สังข์แก้ว)

ลงชื่อ

(ผศ.ปรีณัน จิตะสมบัติ)

ผู้บังคับบัญชา

คำนำ

คู่มือประกอบการเรียนการสอนของวิชา 715542 การผสมเทียมและเทคโนโลยีการสืบพันธุ์ เล่มนี้ได้รวบรวมรายละเอียดในส่วนของการฝึกปฏิบัติในเทอมต้นของปีการศึกษา 2548 ซึ่งคณะผู้สอนคาดหวังว่าหนังสือเล่มนี้จะช่วยให้นักศึกษามีการเตรียมตัวก่อนการเรียนปฏิบัติการที่ดี ถ้าหากมีข้อบกพร่องประการใดคณะผู้จัดทำยินดีน้อมรับเพื่อที่จะปรับปรุงแก้ไขให้มีเนื้อหาที่สมบูรณ์มีคุณภาพยิ่งขึ้น จึงหวังว่าเอกสารนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้อ่านและนำไปใช้ประโยชน์ได้บ้างตามสมควร

หน่วยวิทยาการสืบพันธุ์
ภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์
คณะสัตวแพทยศาสตร์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สารบัญ

หน้า

คำนำ	ก
สารบัญ	ข
ปฏิบัติการที่1 การศึกษาอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย	1
ปฏิบัติการที่2 การฝึกผสมเทียม (มดลูกโค และหุ่นจำลอง)	8
ปฏิบัติการที่3 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับงานผสมเทียม	19
ปฏิบัติการที่4 การสาธิตการรีดน้ำเชื้อโค	32
ปฏิบัติการที่5 การเก็บเชื้อในระบบสืบพันธุ์โคเพศเมีย	35
ปฏิบัติการที่6 การผสมเทียมในโค	37
ปฏิบัติการที่7 การทำน้ำเชื้อโคแช่แข็งอย่างง่าย	47
ปฏิบัติการที่8 การรีดน้ำเชื้อและการผสมเทียมไก่	54
ปฏิบัติการที่9 การรีดน้ำเชื้อสุกร	62
ปฏิบัติการที่10 การฝึกเก็บไข่โค (อวัยวะจากโรงฆ่าสัตว์)	70

ปฏิบัติการที่ 1
การศึกษาอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย
(Study of Female Reproductive Organs)

ผศ. ชัยวัฒน์ จรัสแสง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาโครงสร้างและหน้าที่ของอวัยะสืบพันธุ์เพศเมียของ สุกร โค ม้า
2. เพื่อทราบถึงรูปร่างและขนาดของอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละระยะของการเป็นสัดใน สุกร โค ม้า
3. เพื่อศึกษาถึงตำแหน่งที่มีความสำคัญในการผสมเทียม

อุปกรณ์

1. อวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียในแต่ละระยะของการเป็นสัตว์ของ สุกร โค ม้า
2. ถาดรองอวัยวะ
3. ใบมีดผ่าตัด
4. คู่มือปฏิบัติการ
5. ไม้บรรทัด

วิธีการศึกษา

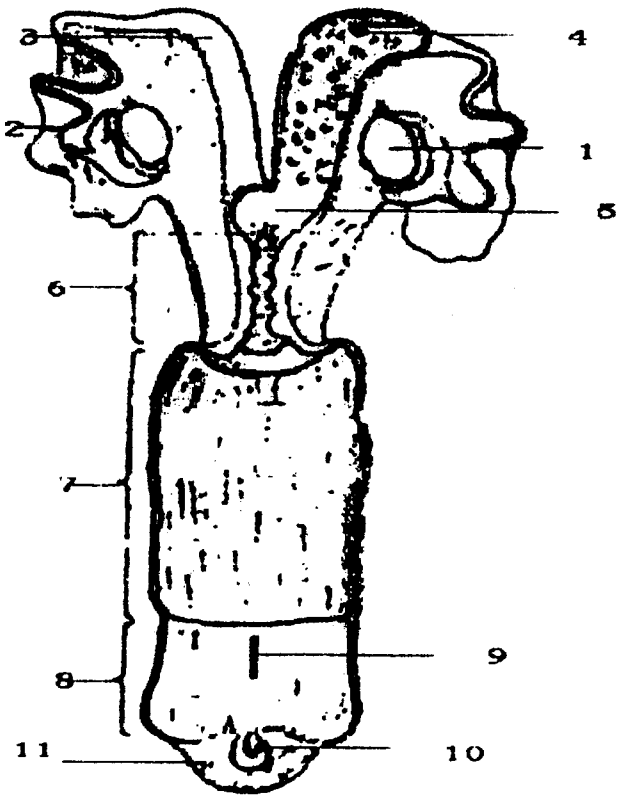
1. นำอวัยวะสืบพันธุ์เพศเมียของ สุกร โค ม้า วางบนถาดให้นักศึกษาใช้ไม้บรรทัดวัดขนาดของอวัยวะ ตามหมายเลขที่กำหนดและให้นักศึกษาเขียนชื่อและขนาดของอวัยวะสืบพันธุ์ลงในคู่มือปฏิบัติการ
2. เมื่อเสร็จแล้วให้นักศึกษาใช้ใบมีดผ่าตัดเปิดผ่ากลางอวัยวะต่อไปนี้
   - รังไข่
   - ปีกมดลูก
   - มดลูก
   - คอมดลูก
1. วาดรูปอวัยวะที่ผ่าลงในคู่มือการปฏิบัติการ

ชื่อ .....รหัส.....วันที่ .....

แบบรายงานปฏิบัติการที่ 1

การตรวจระบบสืบพันธุ์เพศเมีย

ระบบสืบพันธุ์ โค กระบือ



1. บอกชื่อและวัดขนาดของอวัยวะสืบพันธุ์

ชื่ออวัยวะ	ขนาด(ซม.)		ชื่ออวัยวะ	ขนาด(ซม.)	
	ซ้าย	ขวา		ซ้าย	ขวา
1.			6.		
2.			7.		
3.			8.		
4.			9.		
5.			10.		

2. วาดรูปร่างและบอกสิ่งที่พบในแต่ละอวัยวะ

Left Ovary

Right Ovary

Left Uterine horn

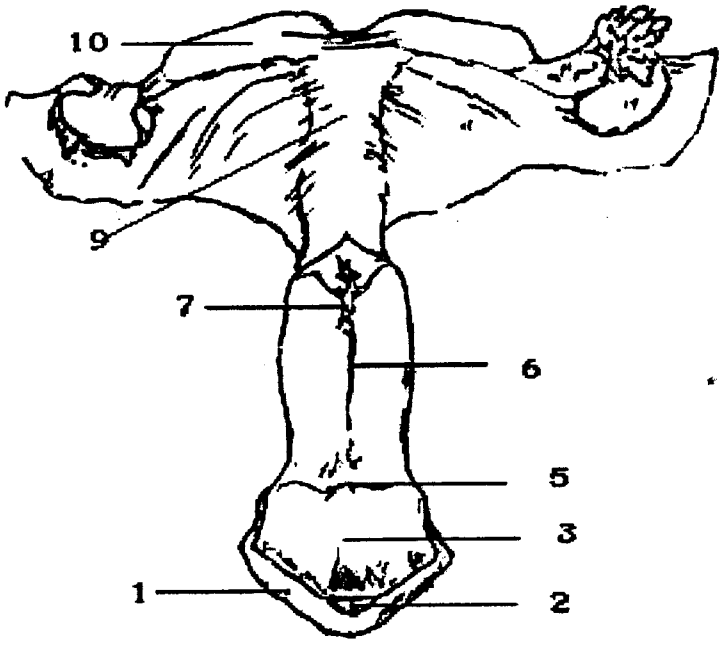
Right Uterine horn

Uterus

Cervix

การตรวจระบบสืบพันธุ์เพศเมีย

ระบบสืบพันธุ์ ม้า



1. บอกชื่อและวัดขนาดของอวัยวะสืบพันธุ์

ชื่ออวัยวะ	ขนาด(ซม.)		ชื่ออวัยวะ	ขนาด(ซม.)	
	ซ้าย	ขวา		ซ้าย	ขวา
1.			6.		
2.			7.		
3.			8.		
4.			9.		
5.			10.		

2. วาดรูปร่างและบอกสิ่งที่พบในแต่ละอวัยวะ

Left Ovary

Right Ovary

Left Uterine horn

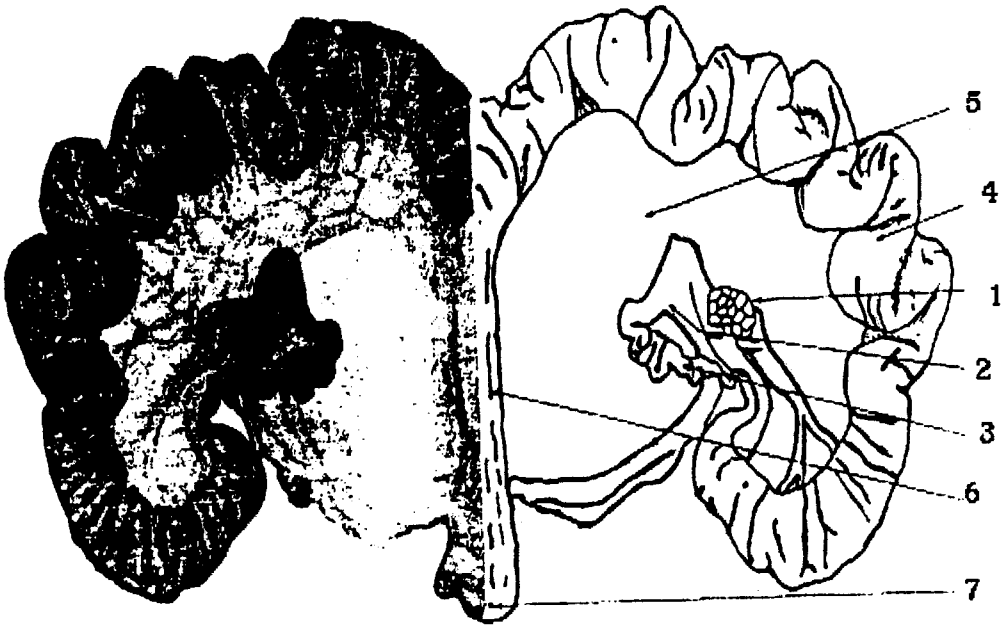
Right Uterine horn

Uterus

Cervix

การตรวจระบบสืบพันธุ์เพศเมีย

ระบบสืบพันธุ์สุกร



1. บอกชื่อและวัดขนาดของอวัยวะสืบพันธุ์

ชื่ออวัยวะ	ขนาด(ซม.)		ชื่ออวัยวะ	ขนาด(ซม.)	
	ซ้าย	ขวา		ซ้าย	ขวา
1.			6.		
2.			7.		
3.			8.		
4.			9.		
5.			10.		

2. วาดรูปร่างและบอกสิ่งที่พบในแต่ละอวัยวะ

Left Ovary

Right Ovary

Left Uterine horn

Right Uterine horn

Uterus

Cervix

ปฏิบัติการที่ 2

การฝึกผสมเทียม (มดลูกโค และหุ่นจำลอง)

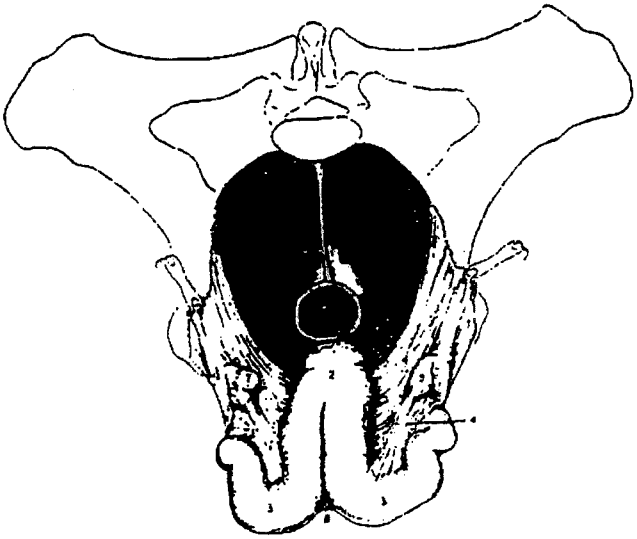
(Practice of Artificial Insemination in Animal Specimen and Model)

อดิศักดิ์ สังข์แก้ว
ประยงค์ แสงศรีเรือง

การทำความเข้าใจหรือทบทวนความรู้เกี่ยวกับอวัยวะสืบพันธุ์ของสัตว์ต่างๆ การฝึกผสมเทียมจากอวัยวะดังกล่าวที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์ และการฝึกในหุ่นจำลอง จะช่วยให้นักศึกษามีทักษะเป็นพื้นฐานที่จะฝึกปฏิบัติในสัตว์จริงต่อไป เทคนิคขั้นตอนต่างๆ ในการฝึกในปฏิบัติการนี้มีดังนี้

1. การฝึกผสมเทียมในมดลูกจากโรงฆ่าสัตว์

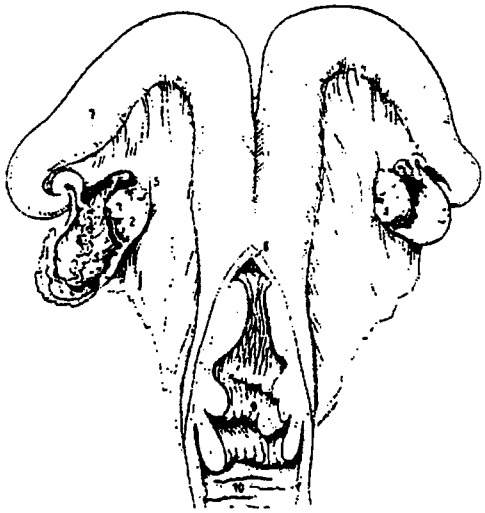
เป็นการฝึกสอดหลอดล้างมดลูกผ่านคอมดลูกโค (cervix) การฝึกให้ใช้มือซ้ายหรือมือด้านที่ไม่ถนัดจับคอมดลูก โดยนิ้วชี้และนิ้วกลางคีบตัวของคอมดลูก นิ้วหัวแม่มือสัมผัสบริเวณช่องเปิดภายนอกของคอมดลูก (external os) สอดหลอดล้างมดลูกเข้าทางช่องคลอดมายังช่องเปิดภายนอกของคอมดลูก และใช้นิ้วหัวแม่มือขยับนำทางหลอดล้างมดลูกเข้ารูเปิดของคอมดลูก หลังจากหลอดล้างมดลูกเข้าไปในคอมดลูกแล้ว เปลี่ยนการจับคอมดลูกเป็นใช้มือช้อนก้นคอมดลูกและช่วยขยับคอมดลูกให้หลอดล้างมดลูก ผ่านซอกหลืบในคอมดลูกไปยังตัวมดลูกโดยให้ผ่านรูเปิดด้านในของคอมดลูก (internal os) ประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร ซึ่งเป็นจุดที่ปล่อยน้ำเชื้อในการผสมเทียม



ภาพที่ 1 แสดงภาพมดลูกโค (cranial aspect)

1. cervix, 2. body of uterus, 3. horn of uterus, 4. oviduct, 5. ovaries,
6. ovarian ventricle, 7. corpus luteum, 8. intercornual ligament, 9. rectum

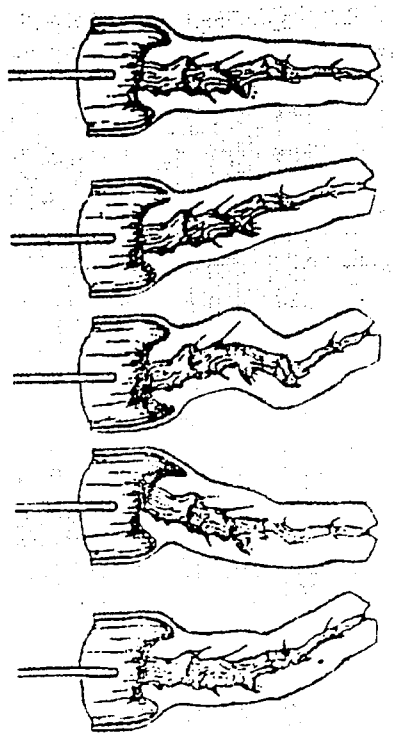
ที่มา : Robert, 1986.



ภาพที่ 2 แสดงภาพมดลูกโค (dorsal aspect)

1. ovarian bursa, 2. ovary, 3. corpus luteum, 4. follicle, 5. corpus albicans, 6. oviduct, 7. uterine horn, 8. uterine body, 9. cervix, 10.vagina.

ที่มา : Robert, 1986.



ภาพที่ 3 แสดงลักษณะของคอมดลูกแบบต่างๆ

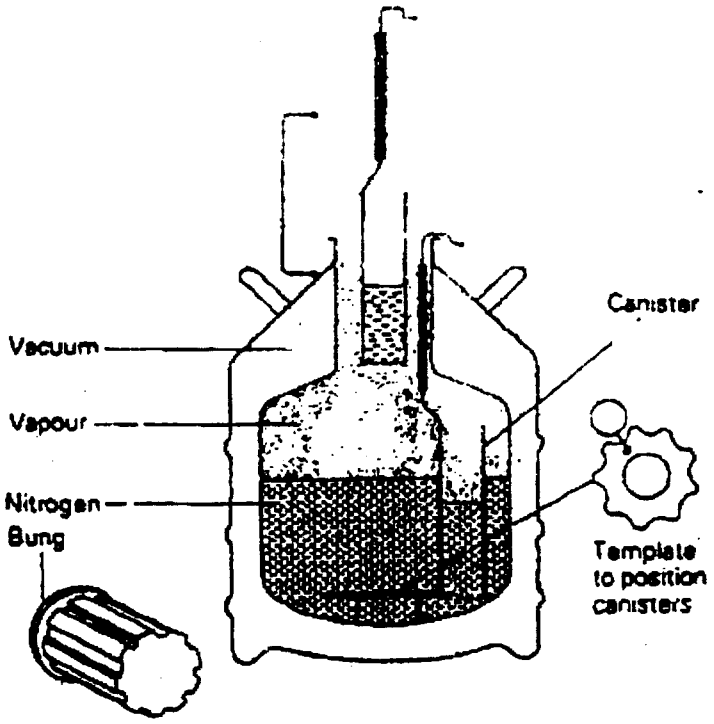
ที่มา : American Breeder Service, 1991.

ภาพที่ 4 แสดงภาพของหลอดล้างมดลูกในขณะที่สอดเข้าในคอมดลูก

2. การฝึกผสมเทียมในหุ่นจำลองโคเพศเมีย

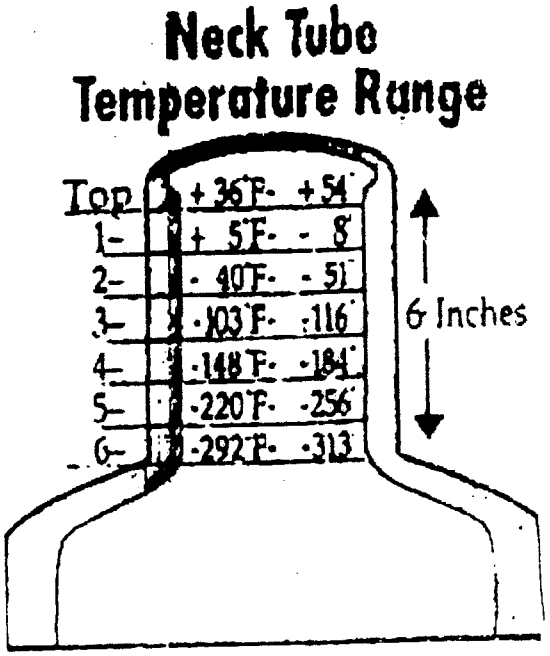
ฝึกสอดโดยใช้หลอดล้างมดลูกให้ใช้มือซ้ายหรือมือด้านที่ไม่ถนัดล้วงเข้าไปในทวารหนักของหุ่นจำลอง จับคอมดลูก (cervix) และทำการสอดปืนผสมเทียมผ่านช่องคลอด คอมดลูกเข้าไปยังตัวมดลูก (uterine body) โดยเทคนิคการสอดให้สอดเฉียงทับด้านบนทำมุมประมาณ 45 องศา ถ้าติดเพดานช่องคลอดให้ค่อยๆ เอนหลอดล้างมดลูกลงจนส่วนปลายมาถึงช่องเปิดภายนอกของคอมดลูกจากนั้นให้ปฏิบัติ เช่นเดียวกับการฝึกผสมเทียมในมดลูกโคที่สำคัญจะต้องฝึกสัมผัสอวัยวะต่างๆ ด้วยความระมัดระวัง นิ่มนวล ห้ามขูดจิก หรือบีบอย่างรุนแรง รวมทั้งการสอดหลอดล้างมดลูกก็เช่นเดียวกัน ไม่ดันรุนแรง ควรขยับคอมดลูกและค่อยๆ สอดจนผ่านถึงตัวมดลูก

ภาพที่ 5 แสดงหุ่นจำลองโคเพศเมียสำหรับการฝึกผสมเทียม



ภาพที่ 6 แสดงส่วนประกอบของถังเก็บไนโตรเจนเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็ง

ที่มา : Hunter, 1982.



ภาพที่ 7 แสดงอุณหภูมิที่ปากถังเก็บไนโตรเจนเหลวและน้ำเชื้อแช่แข็ง

ที่มา : Senger, 1986.

3. การฝึกเตรียมอุปกรณ์เครื่องมือเพื่อทำการผสมเทียมในโค

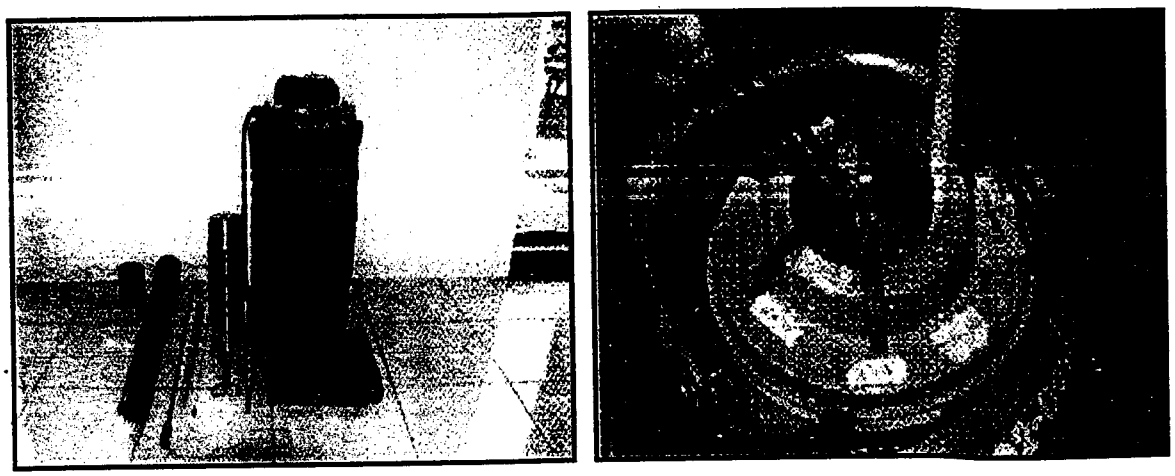
3.1 การเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งและการดูแลถังไนโตรเจนเหลว

น้ำเชื้อแช่แข็งจะเก็บรักษาไว้ในไนโตรเจนเหลว ซึ่งมีอุณหภูมิถึง -196 °C นักศึกษาควรระมัดระวัง เพราะหากไนโตรเจนเหลวสัมผัสผิวหนังแล้วจะทำให้เนื้อเยื่อบริเวณนั้นไหม้ได้ ถังสำหรับเก็บไนโตรเจนเหลวหรือเก็บน้ำเชื้อแช่แข็งนั้นจะเป็นถัง 2 ชั้น โดยระหว่างชั้นนอกและชั้นในจะมีใยแก้วสังเคราะห์ (super insulator) เป็นฉนวนกั้นความร้อน เพื่อกันความร้อนแผ่เข้าไปถึงถังชั้นใน และระหว่างถัง 2 ชั้นนี้จะเป็นสุญญากาศ ด้วยเหตุผลเดียวกัน ปากถังชั้นในและชั้นนอกจะเชื่อมถังถึงกันด้วยไฟเบอร์แข็ง (hard fiber) ดังนั้นการเคลื่อนย้ายถังจะต้องทำด้วยความระมัดระวัง ห้ามแกว่งไปมา เพราะจะทำให้ส่วนเชื่อมของคอถังหลุดหรือร้าวทำให้ถังชำรุดใช้การไม่ได้

ถังไนโตรเจนเหลวควรเก็บไว้ในที่ร่มอย่าให้โดนแดดหรือเก็บไว้ในที่ร้อนอากาศถ่ายเทไม่สะดวก เพราะจะทำให้ไนโตรเจนเหลวระเหยมากขึ้น ควรมีการตรวจเช็คระดับของไนโตรเจนเหลวและเติมไนโตรเจนเหลวให้เต็มถังทุกๆ สัปดาห์ ถ้าหากถังไนโตรเจนเหลวแห้งห้ามเติมไนโตรเจนเหลวลงไปทันที ควรตักไนโตรเจนเหลวใส่กระบอกเก็บน้ำเชื้อ (goblet) วางไว้ที่ก้นถังติดต่อกันประมาณ 6 ครั้ง เพื่อให้ถังปรับสภาพก่อนจึงค่อยเติมไนโตรเจนเหลวผ่านกรวยก้านยาวอย่าให้ไนโตรเจนเหลวกระทบกับคอถังโดยตรงจะทำให้คอถังร้าวเสียหายได้

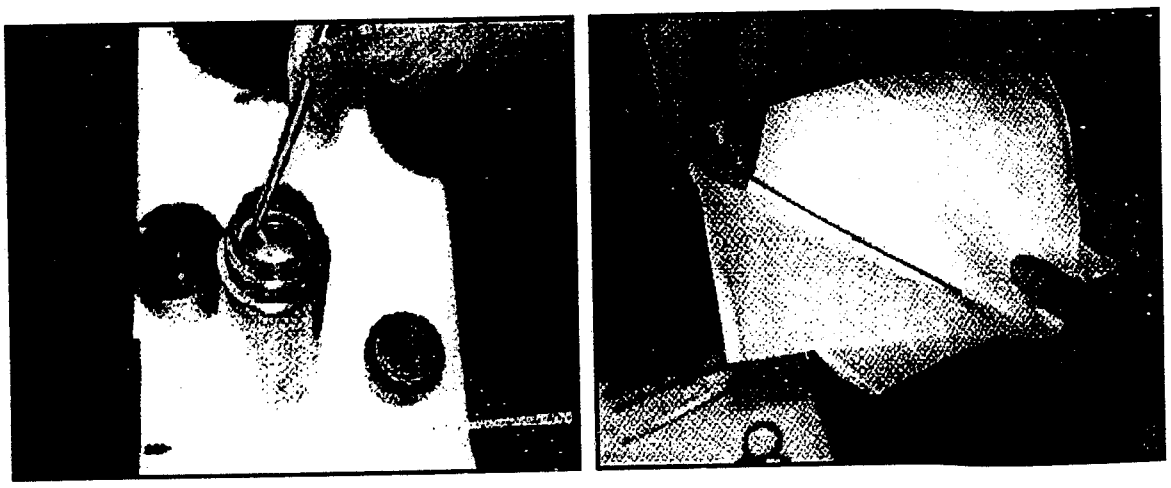
การเคลื่อนย้ายหลอดน้ำเชื้อแช่แข็ง ควรทำด้วยความระมัดระวัง เพราะการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิขณะที่ยกแคนนิสเตอร์ (canister) เพื่อเลือกหลอดน้ำเชื้อจากกระบอกเก็บน้ำเชื้อ การรักษาระดับของกระบอกให้อยู่ต่ำกว่าปากถังอย่างน้อย 1 ¼ นิ้ว และการยกขึ้นแต่ละครั้งไม่ควรเกิน 10 วินาที (นับ1-10) แล้วควรหย่อนกระบอกเก็บน้ำเชื้อนั้นกลับลงไปในถัง อย่างน้อย 10-15 วินาที ค่อยดึงกลับขึ้นมาใหม่ ถ้าหากไนโตรเจนเหลวเดือดเป็นควัน เมื่อหย่อนกระบอกเก็บน้ำเชื้อกลับลงไปแสดงว่ายกกระบอกน้ำเชื้อนั้นขึ้นมานานเกินไป การหยิบหรือจับหลอดน้ำเชื้อแช่แข็งนั้น ควรจะใช้ปากคีบ (forceps) สำหรับคีบหลอดน้ำเชื้อเท่านั้น ไม่ควรให้นิ้วมือจับหลอดน้ำเชื้อแช่แข็งโดยตรง เพื่อหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่หลอดน้ำเชื้อ ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อคุณภาพของน้ำเชื้อ การคีบหลอดควรคีบส่วนปลายสุดของหลอดเพื่อหลีกเลี่ยงการคีบส่วนที่มีน้ำเชื้ออยู่และการคีบหรือย้ายหลอดน้ำเชื้อ แต่ละครั้งต้องทำด้วยความรวดเร็วที่สุด

ข้อพึงระวัง ในการเปิดฝาถังเก็บน้ำเชื้อหรือไนโตรเจนเหลวนั้น จะต้องยกขึ้นลงตรง ๆ ห้ามหมุนโดยเด็ดขาดเพราะจะทำให้แกนของฝาแตกเสียหาย



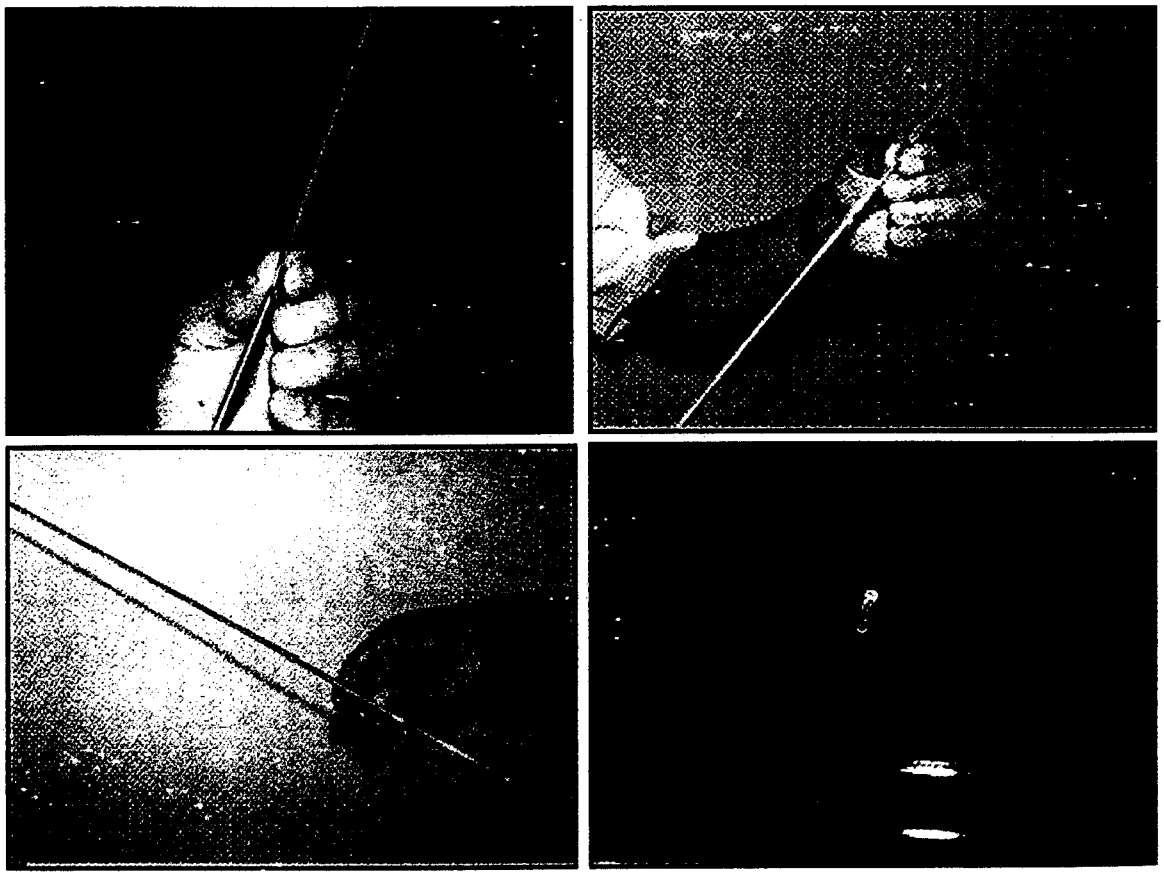
ภาพที่ 8 แสดงอุปกรณ์สำหรับการผสมเทียมโค (ภาพซ้าย) ได้แก่ หลอดพลาสติกสำหรับปืนผสมเทียมพร้อมกระบอกสำหรับเก็บ ปืนผสมเทียม เทอร์โมมิเตอร์ กรรไกร ปากคีบ ผ้าสะอาด กระติกละลายน้ำเชื้อ และถังน้ำเชื้อ ส่วนภาพขวาแสดงการเคลื่อนย้ายหลอดน้ำเชื้อแช่แข็งจากถังน้ำเชื้อ

3.2 การละลายน้ำเชื้อ ในปฏิบัติการนี้ให้ฝึกทำการละลายน้ำเชื้อโดยการเตรียมน้ำอุ่นอุณหภูมิ 37°C ในกระติกละลายน้ำเชื้อ คีบหลอดน้ำเชื้อจากถังน้ำเชื้อตามวิธีในข้อ3.1 ลงในกระติกละลายน้ำเชื้อโดยให้ด้านจุกอุดหลอดน้ำเชื้อ (PVA; polyvinyl alcohol) หรือหนีบปิดด้วยความร้อนอยู่ด้านบนและอยู่เหนือน้ำเล็กน้อยเพื่อป้องกันน้ำเข้าจากจุกอุดหลอดน้ำเชื้อหลุดหรือมีรอยรั่ว ทิ้งไว้นาน 30 วินาที จึงเอาหลอดน้ำเชื้อขึ้นมาเช็ดด้วยกระดาษชำระหรือผ้าสะอาดให้แห้ง



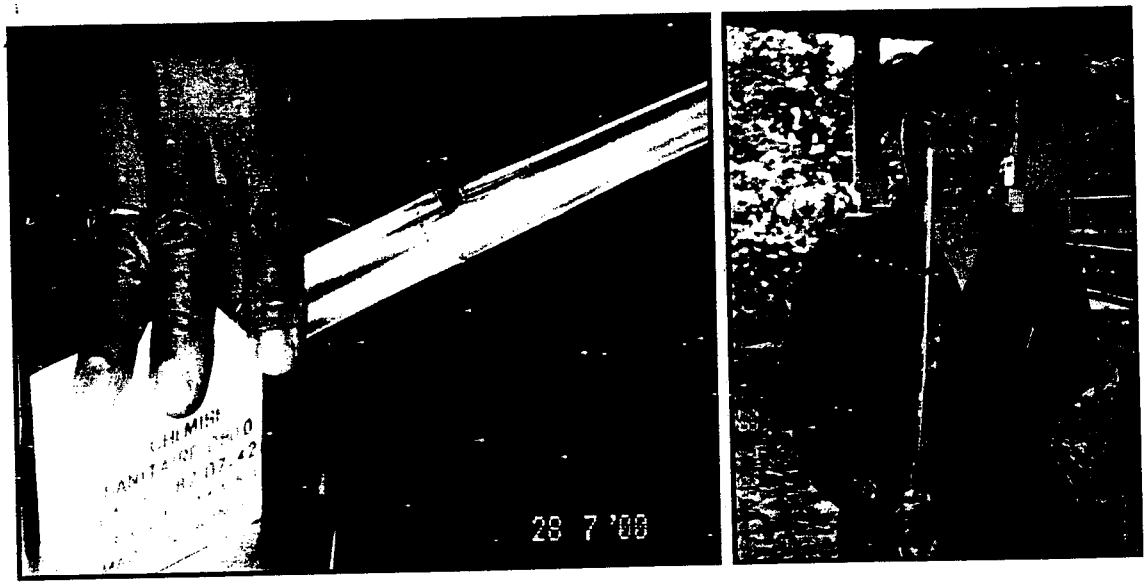
ภาพที่ 9 แสดงการละลายน้ำเชื้อหลอดน้ำเชื้อ และการเช็ดด้วยกระดาษชำระให้แห้ง

3.3 การบรรจุหลอดน้ำเชื้อ เลือกขนาดของปืนผสมเทียมให้เหมาะสมกับหลอดน้ำเชื้อ โดยทั่วไปหลอดน้ำเชื้อที่ใช้ในบ้านเรามี 2 ขนาดคือ 0.25 มล.และ 0.50 มล. ในส่วนของปืนผสมเทียมจะมีรูสำหรับหลอดทั้ง 2 ขนาด โดยอยู่คนละด้านกัน ทำการประกอบปืนผสมเทียมแล้วให้ถอยแกนปืนผสมเทียมลงมาประมาณ 5 นิ้ว บรรจุหลอดน้ำเชื้อลงในปืนผสมเทียม โดยให้ปลายด้านที่มีจุกดันน้ำเชื้อ (cotton wool) อยู่ด้านล่าง แล้วตัดปลายหลอดน้ำเชื้อที่ยื่นออกมานอกปืนผสมเทียมในบริเวณที่เป็นฟองอากาศ หรือต่ำกว่าจุกอุดหลอดน้ำเชื้อ ที่ใช้อุดหลอดน้ำเชื้อเล็กน้อย ด้วยกรรไกรที่สะอาด ให้กรรไกรทำมุมกับหลอดน้ำเชื้อ 90 องศา (ปลายที่ตัดไม่แหลมเพราะจะเกิดการสูญเสียน้ำเชื้อขณะผสมเทียมได้) สวมทับด้วยหลอดพลาสติกสำหรับปืนผสมเทียม (breeding sheet) ให้ปลายหลอดน้ำเชื้อเข้าไปในจุกพลาสติกของหลอดพลาสติก จึงดึงหลอดพลาสติกเบาๆ จนถึงโคนปืนผสมเทียม ในการสวมจะต้องระมัดระวังไม่จับหลอดพลาสติกสูงเกิน 1/3 ของความยาว และไม่ให้หลอดพลาสติกสัมผัสกับสิ่งใดๆ เพื่อป้องกันการติดเชื้อ จากนั้นดันแหวนโลหะ (metal taper) เข้าใต้หลอดพลาสติก (ส่วนท้ายของหลอดพลาสติกมีรอยผ่าเพื่อให้สะดวกในการดันแหวนโลหะสวมเข้า) และรัดทับด้วยแหวนพลาสติก (o ring) อีกชั้นหนึ่ง เสร็จแล้วทดลองดันปืนฉีดน้ำเชื้อเบาๆ ดูว่ามีน้ำเชื้อไหลเยิ้มออกหรือไม่ เป็นการตรวจว่าปืนฉีดน้ำเชื้อใช้งานได้ดีหรือไม่



ภาพที่ 10 แสดงการบรรจุหลอดน้ำเชื้อ และการทดสอบปืนฉีดน้ำเชื้อว่ามีน้ำเชื้อไหลเยิ้มออกมา

3.4 การสรวมถุงอนามัยสำหรับปืนผสมเทียม (double sheet) เมื่อประกอบปืนผสมเทียมเสร็จตามข้อ 3.3 แล้วให้ทำการสรวมถุงอนามัย (double sheet) โดยดึง double sheet ออกมาจากกล่อง ดึงตัดบริเวณรอยประ สอดปลายปืนผสมเทียมเข้าด้านท้ายที่เป็นรอยผ่า ดึง double sheet ลงมาคลุมปืนผสมเทียมเป็นอันเสร็จพร้อมที่จะทำการผสมเทียมได้ ควรจะต้องรักษาความสะอาดระมัดระวังไม่ให้สัมผัสกับสิ่งใดๆ เช่นเดียวกับหลอดพลาสติก



ภาพที่ 11 แสดงการสรวมถุงอนามัยสำหรับปืนผสมเทียม (double sheet) และลักษณะปืนผสมเทียมที่พร้อมใช้งาน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้นักศึกษาเรียนรู้วิธีการผสมเทียมโดยการฝึกผสมเทียมจากอวัยวะสืบพันธุ์สัตว์เพศเมียที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์
2. เพื่อให้นักศึกษาเรียนรู้วิธีการผสมเทียมโดยการฝึกผสมเทียมในหุ่นจำลอง
3. เพื่อให้นักศึกษาทราบและเข้าใจวิธีการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็ง

อุปกรณ์

1. อวัยวะสืบพันธุ์สัตว์เพศเมียที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์
2. หุ่นจำลองเพื่อฝึกผสมเทียม
3. หลอดพลาสติกสำหรับล้างมดลูก
4. ปืนผสมเทียม ด้วยหลอดพลาสติกสำหรับปืนผสมเทียม (breeding sheet) และถุงอนามัยสำหรับปืนผสมเทียม (double sheet)
5. ถุงมือล้วงผสมเทียม
6. กระติกน้ำร้อน เทอร์โมมิเตอร์ ถังน้ำเชื้อสนาม ปากคีบ กรรไกร ถังน้ำ ขันพลาสติก, ผ้าสะอาด
7. ถังเก็บน้ำเชื้อและไนโตรเจนเหลว และหลอดน้ำเชื้อสำหรับฝึกปฏิบัติ
8. ถังเก็บไนโตรเจนเหลว

วิธีการศึกษา

การศึกษานั้นจะแบ่งนักศึกษาเป็น 3 กลุ่มเท่าๆกัน โดยแต่ละกลุ่มจะทำการหมุนเวียนกันกลุ่มละประมาณ 30 นาทีเพื่อฝึกปฏิบัติดังนี้

1. **การฝึกผสมเทียมในมดลูกจากโรงฆ่าสัตว์** ให้นักศึกษาฝึกสอดหลอดล้างมดลูกในมดลูกจากโรงฆ่าสัตว์
2. **การฝึกผสมเทียมในหุ่นจำลองโคเพศเมีย** ให้นักศึกษาฝึกสอดหลอดล้างมดลูกในหุ่นจำลอง
3. **การฝึกเตรียมอุปกรณ์เครื่องมือเพื่อทำการผสมเทียมในโค** ให้นักศึกษาฝึกการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็งและการดูแลถังไนโตรเจนเหลว การเตรียมปืนผสมเทียมเพื่อการผสมเทียมในโค (การละลายน้ำเชื้อ และการบรรจุหลอดน้ำเชื้อ)

คำถาม

1. ในการฝึกผสมเทียมจากอวัยวะสืบพันธุ์สัตว์เพศเมียที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์ และการฝึกในหุ่นจำลอง มีความแตกต่างกันอย่างไรบ้าง ชนิดใดได้ผลในการฝึกดีที่สุด อธิบาย
2. ขั้นตอนใดที่มีผลต่อคุณภาพน้ำเชื้อมากที่สุดในการเก็บรักษาน้ำเชื้อแช่แข็ง

บรรณานุกรม

Bearden, H.J. and Fuquay, J.W. 1997. Applied Animal Reproduction. Prentice-Hall, Inc. USA. 351 p.

Hunter, R.H.F. 1982. Reproduction of Farm Animals. Longman Group Limited. England. 149 p.

Rasbech, N.O. 1993. Artificial insemination. In : Reproduction in Domestic Animals. G.J. King (ed). Elsevier Science publisher B.V. The Natherlands. pp. 365-386.

Setchell, B.P. 1987. Male reproduction organ and semen. In: Reproduction in Domestic Animals. P.T. Cupps (ed.). Academic Press, Inc. USA. pp. 221-250.

Senger, P.L. 1986. Principle and produces for storing and using frozen bovine semen. In: Current Therapy in Theriogenology 2. D.A. Morrow (ed). W.B. Saunders company. USA. pp. 162-174.

ชื่อ-สกุล.....รหัส.....กลุ่ม.....ว/ด/ป.....

แบบรายงานปฏิบัติการที่ 2

การฝึกผสมเทียม (มดลูกโค และหุ่นจำลอง)

การตรวจระบบสืบพันธุ์ (มดลูกโคจากโรงฆ่าสัตว์)

CERVIX : Diameter.....cm. Long: .....cm., Normal (Cylinder or Conical), Abnormal : .....

UTERUS : Symmestry .....Unsymmestry .....(R > L , L > R) Tone..... Edema .....

Consistency.....

Content.....

ผลการตรวจระบบสืบพันธุ์.....

.....

ผลการฝึกปฏิบัติ

1. การฝึกเตรียมอุปกรณ์เครื่องมือเพื่อทำการผสมเทียมในโค

.....

.....

.....

2. การฝึกผสมเทียมในมดลูกจากโรงฆ่าสัตว์

.....

.....

.....

3. การฝึกผสมเทียมในหุ่นจำลองโคเพศเมีย

.....

.....

.....

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ปฏิบัติการที่ 3
เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับงานผสมเทียม
(Equipment for Artificial Insemination)

อดิศักดิ์ สังข์แก้ว
ประยงค์ แสงศรีเรือง

เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับงานผสมเทียมและการย้ายฝากตัวอ่อน เป็นสิ่งที่นักศึกษาจะต้องเรียนรู้ให้เข้าใจลักษณะของเครื่องมืออุปกรณ์ต่างๆ ที่จะใช้ในการเรียนปฏิบัติการในวิชานี้ เพื่อที่นักศึกษาจะได้ทราบหลักการทำงานของเครื่องมือ วิธีการใช้งาน และการเก็บรักษาอย่างถูกต้อง

วัตถุประสงค์

1 เพื่อให้นักศึกษาทราบถึงลักษณะของเครื่องมืออุปกรณ์ต่างๆ ที่ใช้ในการเรียนปฏิบัติการ
2 เพื่อให้นักศึกษาสามารถบอกชื่อ ลักษณะ ของอุปกรณ์ได้ถูกต้อง
3 เพื่อให้นักศึกษาทราบวิธีการใช้งาน และการเก็บรักษาอย่างถูกต้อง

อุปกรณ์

1 เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการรีดน้ำเชื้อ
2 เครื่องมือ และอุปกรณ์ในงานย้ายฝากตัวอ่อน
3 เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการเก็บรักษาน้ำเชื้อและตัวอ่อน
4 เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการผสมเทียมและย้ายฝากตัวอ่อน

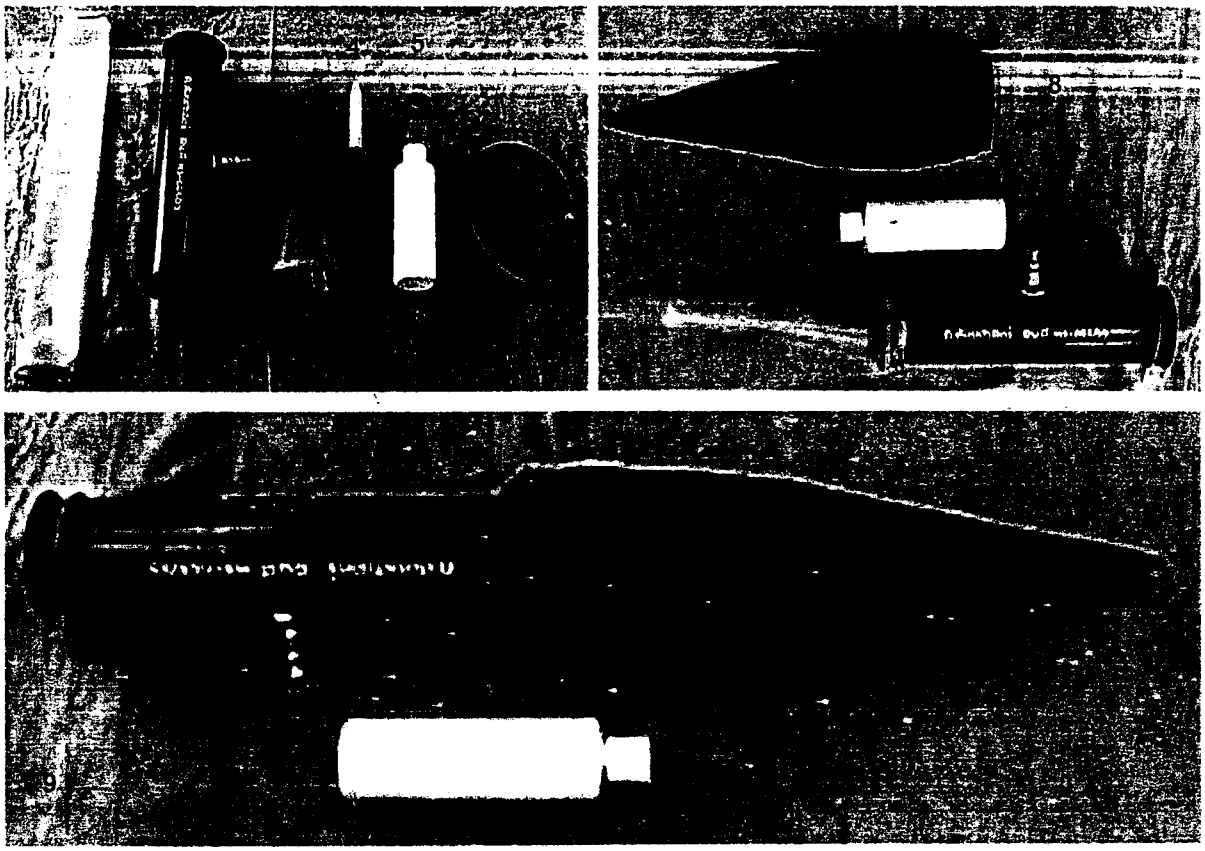
วิธีการศึกษา

ให้นักศึกษาศึกษาส่วนประกอบ วิธีการใช้งาน การดูแลรักษาเครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ ในงานด้านการผสมเทียมและการย้ายฝากตัวอ่อน ดังนี้

อุปกรณ์ในการรีดน้ำเชื้อ

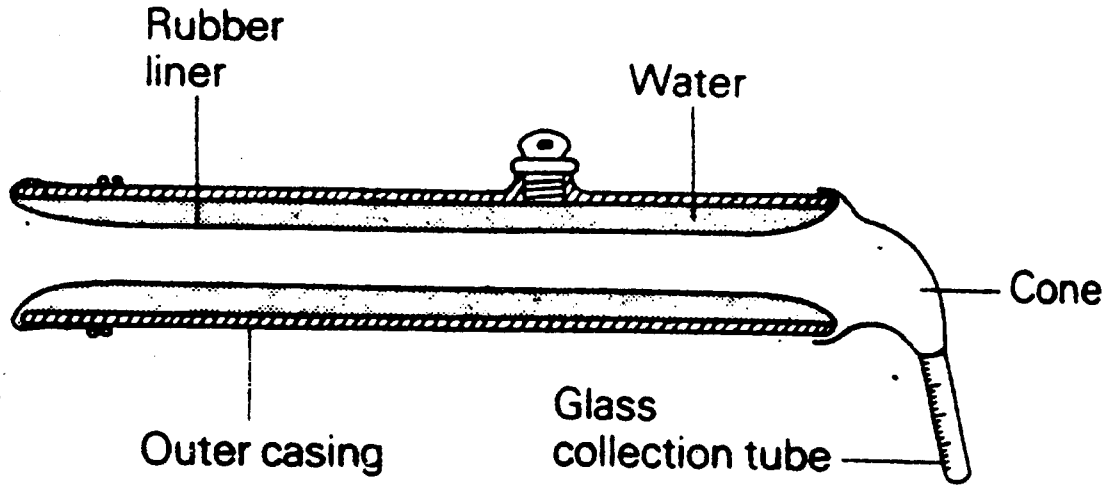
1 อุปกรณ์รีดน้ำเชื้อโค

1.1 ช่องคลอดประดิษฐ์ (artificial vagina; AV) และส่วนประกอบ



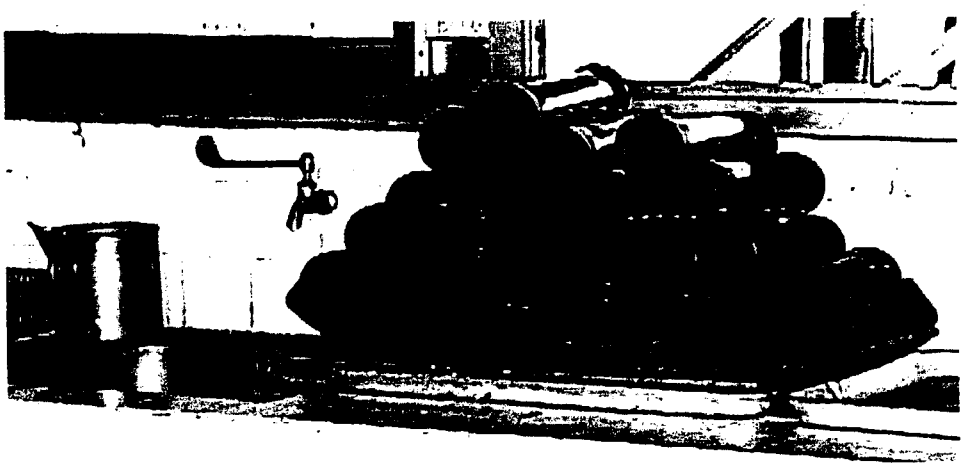
ภาพที่ 1 แสดงส่วนประกอบ และลักษณะพร้อมใช้งานของช่องคลอดประดิษฐ์สำหรับโค

1. ยางอ่อน (inner lines หรือ rubber linner)
2. ท่อยางแข็ง (Artificial vagina body หรือ outer casing) ขนาดความยาว 30 ซม. เส้นผ่าศูนย์กลาง 8 ซม.
3. กรวยยางสำหรับรองรับน้ำเชื้อ (cone)
4. หลอดบรรจุน้ำเชื้อ
5. ขวดน้ำยาสำหรับหล่อลื่น
6. เส้นยางสำหรับรัดยางอ่อนกับท่อยางแข็ง
7. ปั๊มลม
8. ถุงหุ้มกันแสง
9. ช่องคลอดประดิษฐ์สำหรับโคที่ประกอบเสร็จสมบูรณ์แล้วพร้อมที่จะใช้งาน



ภาพที่ 2 แสดงภาพตัดขวางของช่องคลอดประดิษฐ์สำหรับโค

ที่มา : Hunter, 1982.

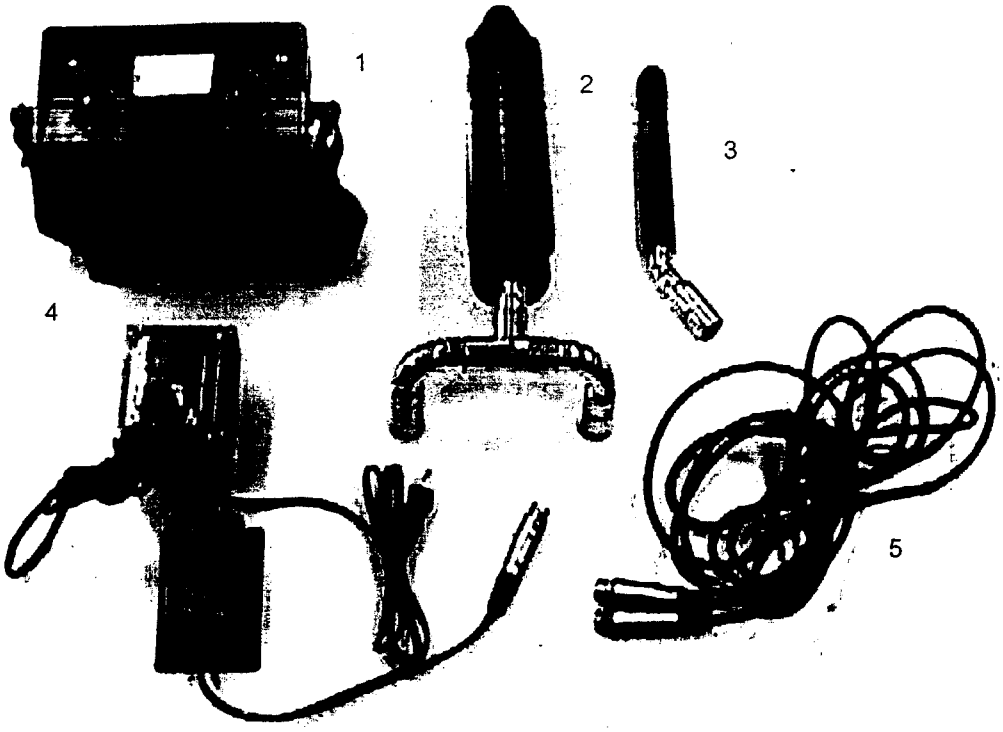


ภาพที่ 3 แสดงการเก็บอุปกรณ์รีดน้ำเชื้อของสถานีรีดน้ำเชื้อโค

ภาพบน ช่องคลอดประดิษฐ์สำหรับโคที่ประกอบยางอ่อนและท่อยางแข็งแล้ว

ภาพล่าง ถุงหุ้มกันแสง

1.2 เครื่องรีดน้ำเชื้อด้วยไฟฟ้า และส่วนประกอบ



ภาพที่ 4 แสดงส่วนประกอบเครื่องกระตุ้นการรีดน้ำเชื้อด้วยไฟฟ้า

1. **เครื่องควบคุมการปล่อยไฟฟ้า** (control unit) **เป็นเครื่องควบคุมความดันกระแสไฟฟ้าที่ปล่อยเข้าไปกระตุ้นการรีดน้ำเชื้อ**

2. **แท่งอิเล็กโทรด** (probe) **เป็นแท่งสอดชนิดมีขั้วอิเล็กโทรดวางตามยาวของแท่งสอด จำนวน 3 ขั้ว ในโคขนาดแท่งสอด เส้นผ่าศูนย์กลาง 6 ซม. ยาว 33 ซม. แท่งอิเลคโทรดแต่ละขั้วยาว 22 ซม. ในแพะ แกะ ขนาดของแท่งสอดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 ซม. ยาว 18.5 ซม. แท่งอิเลคโทรดแต่ละขั้วยาว 9 ซม.**

4 อุปกรณ์สำหรับชาร์ตแบตเตอรี่

5 สายไฟต่อระหว่าง control unit กับ probe

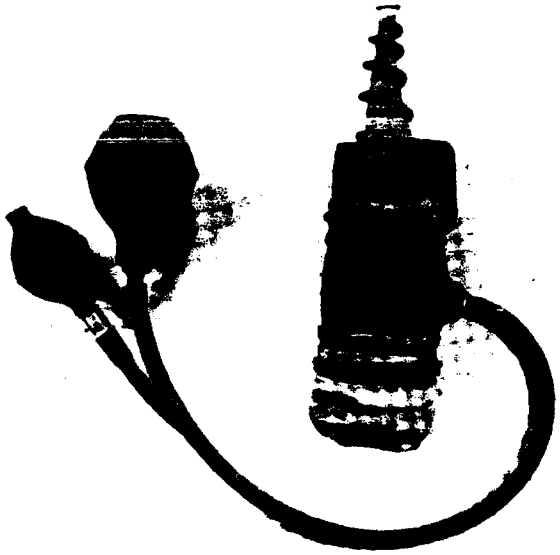
2 อุปกรณ์การรีดน้ำเชื้อสุกร วิธีการรีดน้ำเชื้อโดยทั่วไปมี 2 แบบ คือ

2.1 **การรีดน้ำเชื้อโดยใช้ช่องคลอดประดิษฐ์**

2.2 **การรีดน้ำเชื้อโดยใช้มือบีบนวดอวัยวะสืบพันธุ์ของเพศผู้**

ช่องคลอดประดิษฐ์ ของสุกรมีส่วนประกอบเหมือนกันกับในโคคือประกอบด้วยท่อยางแข็งยาว 10–15 ซม. ท่อยางอ่อน ปั๊มลม ยางรัด กรวย ขวดสำหรับเก็บน้ำเชื้อ (เนื่องจากสุกรมีปริมาณน้ำเชื้อในการหลั่ง

แต่ละครั้งสูงกว่าในโค) และถุงหุ้มกันแสง นอกจากนั้นช่องคลอดประดิษฐ์ ของสุกรบางรุ่นจะมีสปริงสำหรับล็อกปลายอวัยวะเพศของพ่อสุกรเลียนแบบลักษณะของคอมดลูกของสุกรเพศเมีย

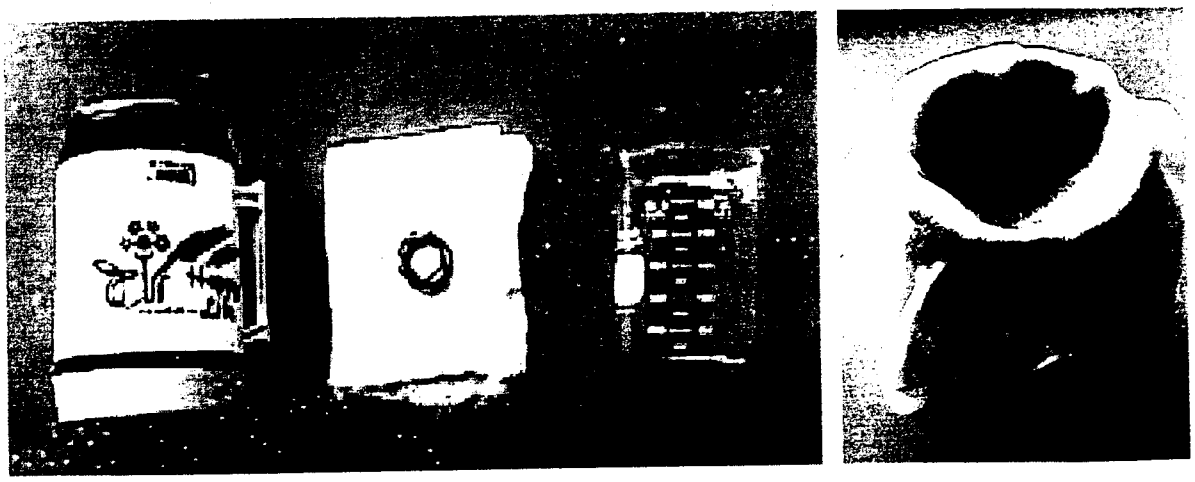


ภาพที่ 5 แสดงช่องคลอดประดิษฐ์ชนิดที่มีขดลวดสปริง

ที่มา : Arthur et al., 1982.

อุปกรณ์รีดน้ำเชื้อแบบใช้มือบีบนวดอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้

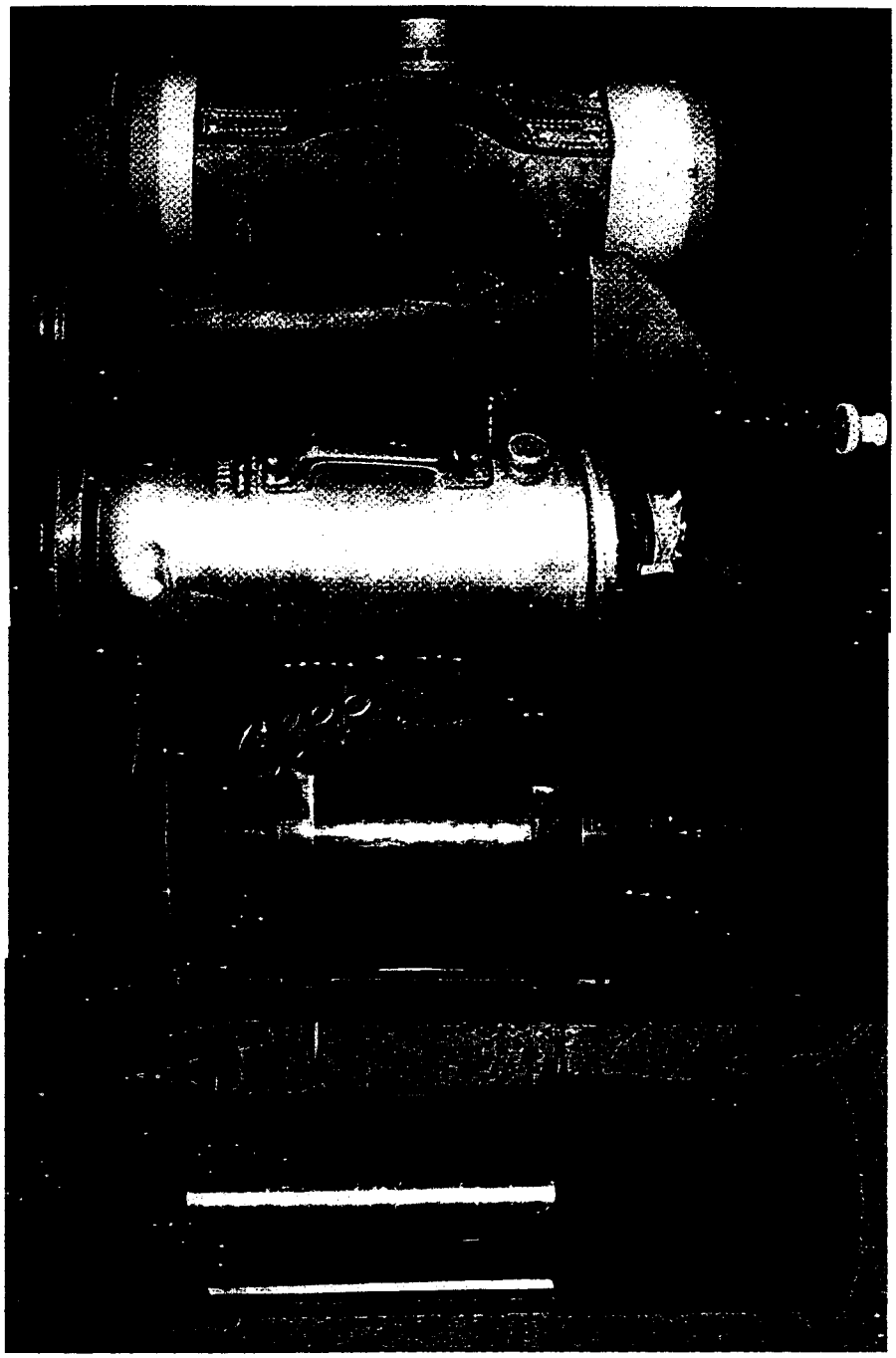
- ถุงมือยางสำหรับสวมรีดน้ำเชื้อ
- หุ่นสำหรับรีดน้ำเชื้อ (dummy)
- บีคเกอร์ หรือ เหยือกรองน้ำเชื้อ
- ผ้าขาวบาง
- ยางเส้น



ภาพที่ 6 แสดงส่วนประกอบอุปกรณ์รีดน้ำเชื้อสุกรด้วยมือ

3. อุปกรณ์รีดน้ำเชื้อม้า

อุปกรณ์ที่นิยมใช้ในการรีดน้ำเชื้อม้าได้แก่ช่องคลอดประดิษฐ์ โดยจะมีส่วนประกอบเหมือนกันกับในโคและสุกรแต่จะมีขนาดที่ใหญ่กว่า คือประกอบด้วยท่อด้านนอก อาจเป็นโลหะหรือยางแข็ง ท่อยางอ่อน ปั๊มลม ยางรัด กรวย ขวดสำหรับเก็บน้ำและถุงหุ้มกันแสง ช่องคลอดประดิษฐ์ ของม้าที่ใช้กันในปัจจุบันมีหลายชนิดเช่น Colorado model, Missouri model, Japanese model เป็นต้น



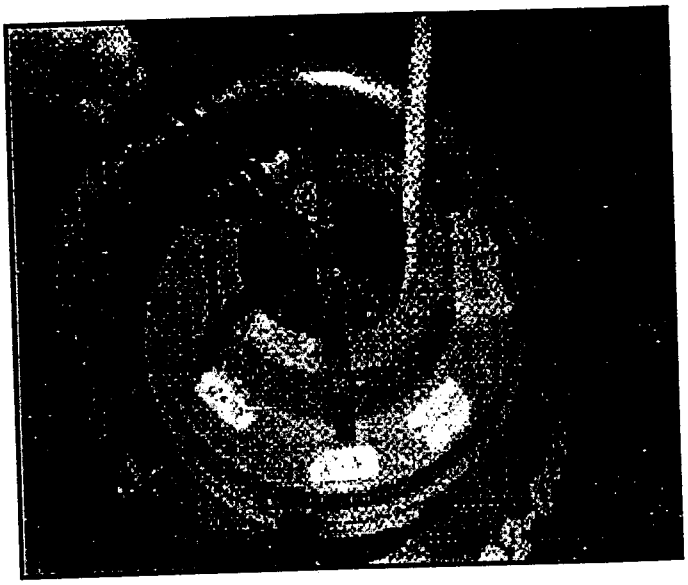
ภาพที่ 7 แสดงลักษณะของช่องคลอดประดิษฐ์สำหรับม้า จากบนลงล่าง Colorado model, Missouri model, Japanese model และสองอันด้านล่างเป็นรุ่นที่พัฒนาโดย ผศ.มงคล โปร่งเจริญ

ที่มา : ภาพบน Hafez and Hafez, 2000.

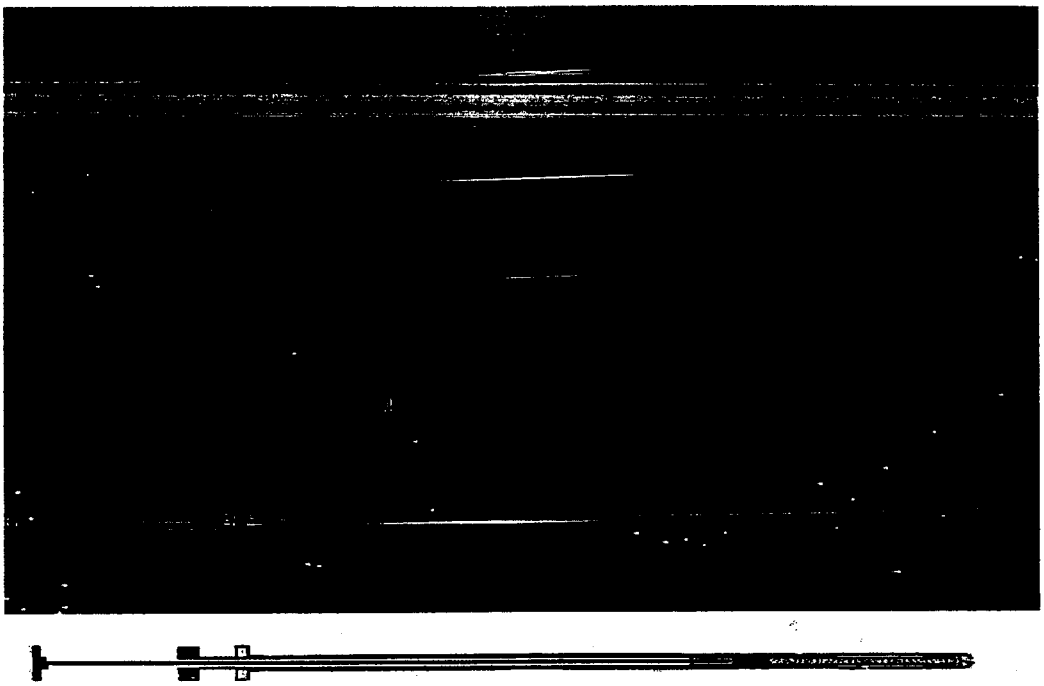
อุปกรณ์ผสมเทียม

1 อุปกรณ์ผสมเทียมโค

- ปืนผสมเทียม (breeding gun)
- พลาสติกสำหรับสวมปืนผสมเทียม (plastic sheet)
- ถุงอนามัยสำหรับผสมเทียม (double sheet)
- ถังบรรจุน้ำเชื้อแช่แข็งขนาด 1.5 ลิตร
- กระติกสำหรับละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง
- ปากคีบ
- กรรไกร
- ถุงมือล้วง
- เทอร์โมมิเตอร์
- น้ำยาฆ่าเชื้อ
- กระดาษชำระ
- กระบอก พี วี ซี สำหรับใส่พลาสติกสำหรับสวมปืนผสมเทียม และปืนผสมเทียม



ภาพที่ 8 ปากคีบสำหรับหยิบน้ำเชื้อ และการใช้ปากคีบหยิบน้ำเชื้อออกจากถัง



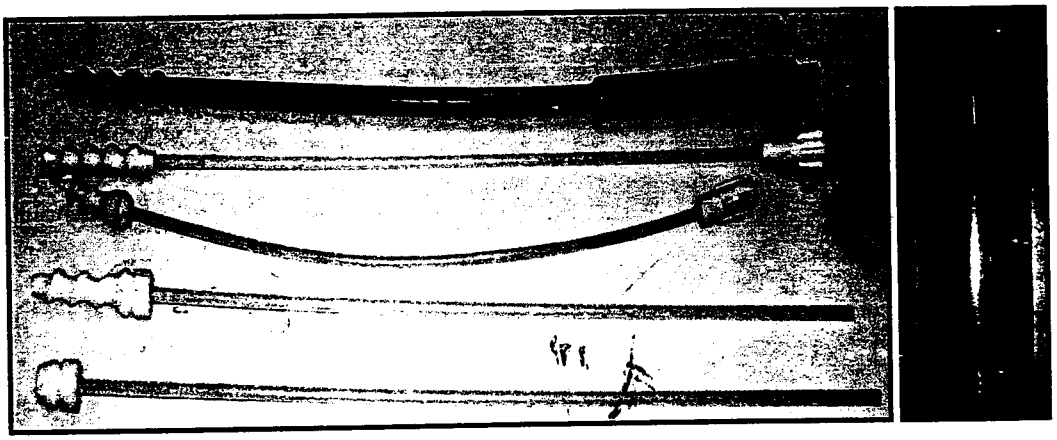
ภาพที่ 9 แสดงลักษณะและส่วนประกอบของปืนผสมเทียมสำหรับโค

ที่มา : ภาพล่าง Peter and Ball, 1995.

ภาพที่ 10 แสดงถังน้ำเชื้อสนามขนาด 1.5 ลิตร กระติกสำหรับละลายน้ำเชื้อแช่แข็ง

2 อุปกรณ์ผสมเทียมสุกร

- อวัยวะเพศผู้เทียม (cattheter)
- ขวดพลาสติกบรรจุน้ำเชื้อ
- พาราฟินเหลวหรือวาสลิน
- กระดาษชำระ
- ถุงพลาสติกหรือกระบอกสำหรับใส่อวัยวะเพศผู้เทียม
- กล่องโฟมหรือกระติกน้ำแข็งสำหรับใส่ขวดน้ำเชื้อ



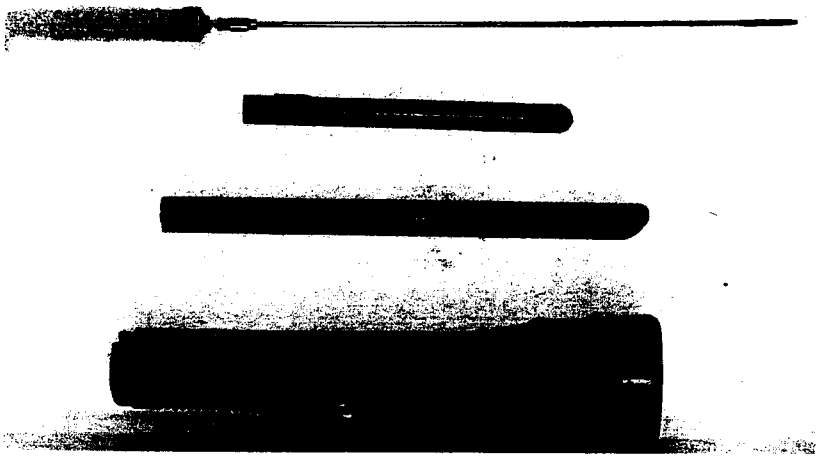
ภาพที่ 11 แสดงอุปกรณ์ผสมเทียมสุกร อวัยวะเพศผู้เทียมสุกรแบบต่างๆ และขวดน้ำเชื้อ

3 อุปกรณ์ผสมเทียมไก่

- บีคเกอร์ ใส่น้ำเชื้อขนาด 15 มล.
- ไซริงค์พลาสติก สำหรับฉีดน้ำเชื้อ ขนาด 1 ซีซี.

4 อุปกรณ์การผสมเทียมสุนัข

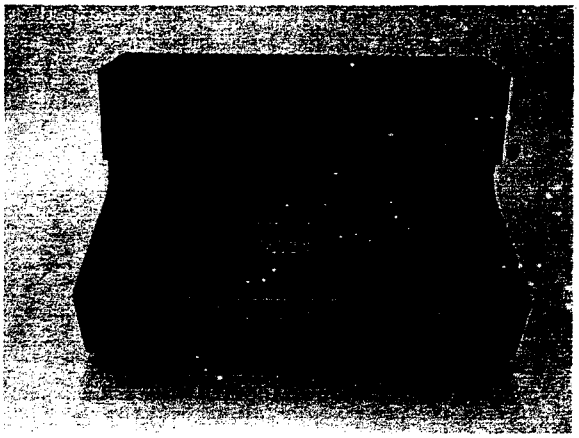
- Buld tip intrauterine insemination catheter
- Vaginoscope
- ไซริงค์ขนาด 5 มล.
- ไฟฉายส่องช่องคลอด



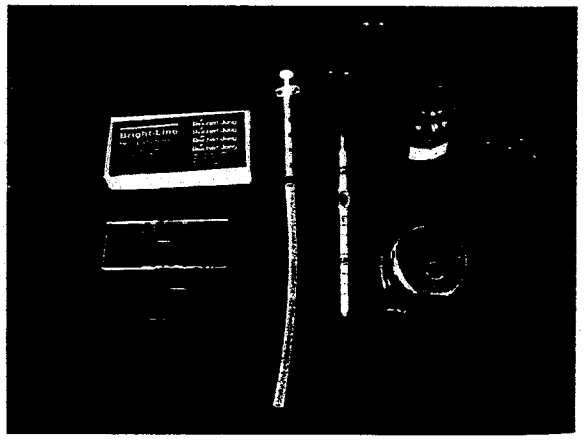
ภาพที่ 12 แสดงอุปกรณ์สำหรับการผสมเทียมสุนัข ไซริงค์ catheter vaginoscope และไฟ

อุปกรณ์ต่างๆ เกี่ยวกับงานทางด้านน้ำเชื้อ

- กล่องโฟม ขนาด 1 x 1.5 x 1 ล.บ.ฟุต ใช้แช่แข็งน้ำเชื้อ
- Counting chamber
- ปิเปตเม็ดเลือดแดง
- Spectrophotometer
- กระดาษวัดความเป็นกรดด่าง
- ถังไนโตรเจนเหลว ขนาด 50 ลิตร
- ถังไนโตรเจนเหลวสำหรับเก็บน้ำเชื้อ
- Thermocouple, thermometer.
- ตะแกรง ถาดวางน้ำเชื้อ (rack)

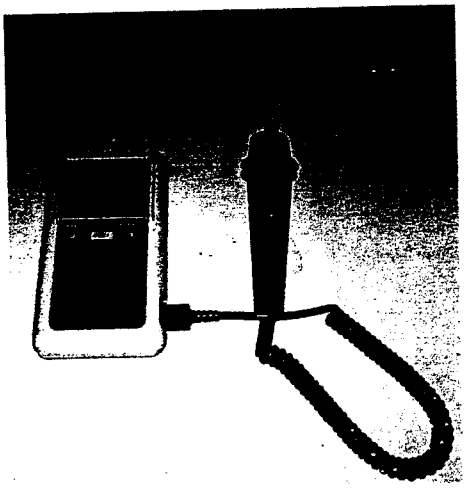


ภาพที่ 13 เครื่องมือวัดความเข้มข้นน้ำเชื้อ (Spectrophotometer)



ภาพที่ 14 เครื่องมือวัดเม็ดเลือดแดงที่ใช้วัดความเข้มข้นน้ำเชื้อ

ภาพที่ 15 ถังไนโตรเจนเหลวขนาดต่างๆ และลักษณะภายในของถังไนโตรเจนเหลว ที่ ใช้เก็บหลอดน้ำเชื้อแช่แข็ง



ภาพที่ 16 แสดงลักษณะของเครื่องวัดอุณหภูมิ (Thermocouple)

บรรณานุกรม

Arthur, G.H., Noakes, D.E. and Pearson, H. 1982. Veterinary Reproduction and Obstertrics. 5th edition. Bailliere Tindall. 501 p.

Hafez, E.S.E. amd Hafez, B. 2000. Anatomy of male reproduction. . In: Reproduction in Farm Animals. E.S.E Hafez and B. Hafez (eds.) Lippincott Williums & Walkins. USA. pp. 3-12.

Hunter, R.H.F. 1982. Reproduction of Farm Animals. Longman Group Limited. England. 149p.

Peter, A.R. and Ball, P.J.H. 1995. Reproduvtion in Cattle. Blackwell Science Ltd. London. 234 p.

ชื่อ-สกุล.....รหัส.....กลุ่ม.....ว/ด/ป.....

แบบรายงานปฏิบัติการที่ 3

เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับงานผสมเทียม

ผลการศึกษา

ชื่ออุปกรณ์	หลักการโดยทั่วไปในการใช้งาน และวิธีการเก็บรักษาอุปกรณ์

สรุปและวิจารณ์

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ปฏิบัติการที่ 4
การสาธิตการรีดน้ำเชื้อโค
(Demonstration of Semen Collection in Bull)

อ. สพ.ญ. ดร. สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย

การผสมเทียมโดยน้ำเชื้อแช่แข็งในโคนม โคเนื้อ กระบือ ทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศเป็นที่ยอมรับและนิยมใช้มาก เนื่องมีจากข้อดีมากมายคือ ในการคัดเลือกปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์ที่ดีที่ได้รับการพิสูจน์แล้วได้รวดเร็ว สามารถเลือกพ่อพันธุ์ที่ต้องการได้มาก สะดวกในการจัดการขนย้ายน้ำเชื้อแช่แข็งเพื่อไปบริการผสมเทียม ทำให้ค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงดูพ่อพันธุ์ขนย้ายพ่อพันธุ์ และที่มีคุณค่ามากคือการป้องกันการแพร่โรคที่ติดต่อโดยการผสม เช่น แท้งติดต่อ วิบริโอซิส ทริโคโมนิเอซัส ไอบีอาร์ พีวีดี ยูเรียพลาสม่า และโรคระบาดที่สามารถเกิดจากการเคลื่อนย้ายสัตว์ สามารผสมสัตว์ต่างขนาด จัดการผสมเป็นฤดู ซึ่งเป็นข้อดี ทำให้ผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งจากพ่อพันธุ์ที่พิสูจน์แล้วทำอย่างแพร่หลาย โดยทั่วไปมักอยู่ภายใต้การควบคุมดูแลโดยองค์กรของรัฐบาล เช่น ปศุสัตว์ อ.ส.ค. กรป.กลาง ในต่างประเทศ สหกรณ์และบริษัทเอกชน ลงทุนในการมีสถานีพ่อพันธุ์และผลิตน้ำเชื้อเองหลายแห่ง ซึ่งจะอยู่ภายใต้การควบคุมของรัฐบาลและการพิสูจน์พันธุ์จากองค์กรรัฐบาล โดยเกษตรกรมีอิสระในการเลือกใช้น้ำเชื้อพ่อพันธุ์ที่มีคุณภาพได้เอง ดังนั้นกิจการจำหน่ายน้ำเชื้อแช่แข็งโดยเฉพาะโคนมจึงมีการแข่งขันสูงมากจากทั่วโลก เช่น พันธุ์จากสหรัฐอเมริกา แคนาดา ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ เยอรมัน เนเธอร์แลนด์ สวีเดน ฝรั่งเศส มีการนำเข้าสู่ประเทศไทยในตลาดน้ำเชื้อโคนมมาโดยตลอด โดยกรมปศุสัตว์ในประเทศไทยเองมีการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็งโคนม โดยกรมปศุสัตว์ องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย กรป.กลาง (สำนักงานทหารพัฒนา กองอำนวยการรักษาความปลอดภัยแห่งชาติ) น้ำเชื้อโคเนื้อโดยกรมปศุสัตว์และกรป.กลาง น้ำเชื้อกระบือโดยกรมปศุสัตว์ ทำให้งานทางด้านการรีดน้ำเชื้อโคมีความสำคัญ ในปฏิบัติการนี้นักศึกษาจะได้ดูการรีดน้ำเชื้อโค โดยการใช้ช่องคลอดประดิษฐ์ (artificial vagina; A.V.) ซึ่งเป็นวิธีการที่นิยมใช้อยู่ทั่วไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้นักศึกษาเรียนรู้ขั้นตอนและวิธีการรีดน้ำเชื้อโค
2. เพื่อให้ทราบวิธีการเตรียมพ่อพันธุ์ เตรียม A.V. การประเมินคุณภาพน้ำเชื้อในสถานีพ่อพันธุ์และการนำน้ำเชื้อและขบวนการผลิต

อุปกรณ์

1. พ่อโค
2. ตัวล่อ
3. ช่องคลอดเทียม
4. ห้องปฏิบัติการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ (ดูการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ)
5. ห้องปฏิบัติการผลิตน้ำเชื้อแช่แข็ง (ดูการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง)

วิธีศึกษา

1. **การเตรียมช่องคลอดเทียม**

โดยทั่วไปจะเตรียมไว้ในห้องปฏิบัติการเตรียม A.V. ก่อนการรีดในวันที่จะทำการรีดน้ำเชื้อ

ส่วนประกอบหลัก ๆ ของ A.V. คือ

1.) **ท่อยางแข็ง** (artificial vagina body) **ขนาดยาวประมาณ 35 ซม.เส้นผ่าศูนย์กลาง 10 ซม. มีช่องเติมน้ำอุ่น และ อากาศ**

2.) **ยางอ่อน** (inner lines) **ในกระบอก A.V.**

3.) **กรวยยางใส่ปลายหนึ่งของ A.V. พร้อมหลอดแก้วสำหรับบรรจุน้ำเชื้อ**

4.) **ถุงหุ้มกระบอก A.V. กันแสง** (insulation shock)

5.) A.V. rack **สำหรับวาง A.V. รอเตรียมไปใช้**

การเตรียม A.V. ต้องเตรียมให้สะอาด คนเตรียมล้างมือสะอาดใส่เสื้อคลุมที่สะอาด อุปกรณ์ทุกชิ้นล้างสะอาดผ่านน้ำกลั่นและแอลกอฮอร์และทิ้งให้แห้งแล้วประกอบชิ้นส่วนของ A.V. แล้วใส่น้ำร้อน 60 องศาเซลเซียส ในช่องใส่น้ำ และเป่าลมให้พอเหมาะ เลียนแบบการบีบรัดที่อวัยวะตัวผู้ (penis) เหมือนสภาพในช่องสืบพันธุ์ของตัวเมีย ซึ่งขึ้นกับความชอบของพ่อโคคนละตัว คนรีดประจำ (collector) จะสังเกตและปรับ A.V. ทั้งความแน่นและอุณหภูมิความเหมาะสม ทำการหล่อลื่น (lubricant) ในปลายด้านที่จะสวมกับ penis นำเข้าตู้บ่มอุ่นเพื่อรักษาอุณหภูมิ ของ A.V. จนกว่าจะนำไปใช้

2. การรีดน้ำเชื้อ

2.1 เตรียมบริเวณรีดให้สะอาด สงบ พื้นไม่ลื่นหรือแข็งเกินไป เหมาะแก่การขึ้นทับตัวล่อขณะขึ้นรีด และอากาศเย็นสบาย มีโรงรีดที่โล่งโปร่ง ไม่อับทึบ

2.2 ทำความสะอาดพ่อโค และตัวล่อให้สะอาด

2.3 น้ำตัวล่อเข้าซอง

2.4 จูงพ่อพันธุ์วนรอบตัวล่อ และให้ mount false mount เพื่อกระตุ้นให้มีการหลั่งน้ำเชื้อได้ดี และมากที่สุด

2.5 จังหวะหลังน้ำเชื้อ (ejeculation) สรวม penis ให้เข้าในกระบอกรีดน้ำเชื้อ A.V. เพื่อรองน้ำเชื้อ อุณหภูมิของ A.V. ขณะรีดน้ำเชื้อควรอยู่ที่ 42-55 องศาเซลเซียส

2.6 เมื่อได้น้ำเชื้อ นำน้ำเชื้อเข้าสู่ขบวนการตรวจคุณภาพ และขบวนการแช่แข็งต่อไป

3. การหลั่งน้ำเชื้อ

โดยทั่วไปน้ำเชื้อจะมีประมาณ 4-6 มิลลิลิตร ซึ่งมีตัวอสุจิอยู่ประมาณ 6-8 พันล้านตัว ต่อ 1 ครั้งของการหลั่งน้ำเชื้อ น้ำเชื้อสีขาวขุ่นครีม

คำถาม

1. ท่านคิดว่าปัจจัยอะไรบ้างที่ทำให้พ่อโคปล่อยน้ำเชื้อออกมาได้มาก ตามธรรมชาติ
2. ท่านคิดว่าการให้ A.V. ให้ผลในทางปฏิบัติการรีดน้ำเชื้อพ่อโคดีหรือไม่

ปฏิบัติการที่ 5
การเก็บเชื้อในระบบสืบพันธุ์โคเพศเมีย
(Microorganism Sampling in Reproductive system of Cow)

อ. สพ.ญ. ดร. สุณีรัตน์ เอี่ยมละมัย

โรคทางการสืบพันธุ์หลายๆ โรค เชื้อจะอยู่ในบริเวณช่องคลอดและมดลูกของแม่โค ซึ่งมีผลต่อการผสมติด การแท้ง การไม่เป็นสัด และความไม่สมบูรณ์ในแม่โค ดังนั้นการตรวจแยกเชื้อที่เป็นสาเหตุ จึงมีความสำคัญที่จะช่วยในการควบคุมป้องกันเชื้อที่อยู่บริเวณทางสืบพันธุ์ มีหลายชนิดแต่ละชนิดมีลักษณะข้อจำกัดต่างไป ดังนั้นควรต้องศึกษาลักษณะเฉพาะของเชื้อแต่ละตัว อย่างไรก็ตามหลักการโดยทั่วไปในการเก็บเชื้อในทางเดินระบบสืบพันธุ์โดยเฉพาะช่องคลอดในโค เป็นสิ่งที่ควรทราบและได้ฝึกปฏิบัติ ในปฏิบัติการนี้ นักศึกษาจะได้เก็บเชื้อที่ช่องคลอดแม่โค

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้นักศึกษารู้วิธีเก็บเชื้อในช่องคลอดโคเพศเมีย
2. เพื่อให้นักศึกษา ฝึกการใช้อุปกรณ์นี้ และเข้าใจหลักการเก็บเชื้ออย่างถูกต้อง เพื่อลดการปนเปื้อน

อุปกรณ์

1. แม่โค
2. ที่ถ่างช่องคลอด (vaginoscope)
3. X-Y jelly
4. ถังน้ำ, ขันพลาสติก, ผ้าสะอาด
5. Tampon ที่ฆ่าเชื้อแล้ว
6. หลอดเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อ Transport Media
7. กระติกน้ำแข็ง
8. อุปกรณ์เพาะเชื้อแยกแบคทีเรียในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย

วิธีการศึกษา

1. ล้างส่วนท้าย โดยเฉพาะส่วนช่องคลอดของแม่โคให้สะอาด และล้างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ

2. เช็ดปากช่องคลอดให้แห้งด้วย ผ้าก๊อสฆ่าเชื้อ
3. เตรียมหลอดเก็บเชื้อที่ส่วนช่องคลอด
4. เปิดปากช่องคลอด สอดที่ถ่างช่องคลอดที่สะอาดปราศจากเชื้อ ไปถึงบริเวณหน้าคอมดลูก
5. สอดหลอดเก็บเชื้อผ่านช่องเปิดที่ถ่างช่องคลอด ถึงหน้าคอมดลูก
6. ดันแกนในให้ผ้าก๊อสที่ปลายหลอดเก็บเชื้อหลุดลงที่ตำแหน่งหน้าคอมดลูก ทิ้งไว้ 10 นาที
7. ดึงด้ายที่มัดกับผ้าก๊อส เพื่อให้ผ้าก๊อสกลับมาในหลอดเก็บเชื้อ
8. ถอยหลอดเก็บเชื้อออกจากช่องคลอด
9. ดันผ้าก๊อสลงในขวดอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีปราศจากเชื้อ
10. ใส่หลอดลงในกระติกน้ำแข็ง น้ำส่งพิสูจน์โดยเร็วที่สุด
11. ทำการเพาะแยกเชื้อแบคทีเรีย

สรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

ให้นักศึกษาสรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษาที่ได้ในแต่ละกลุ่ม

คำถาม

1. ข้อควรระวังในการเก็บเชื้อในช่องคลอดคืออะไร
2. เชื้อที่มีโอกาสพบได้น่าจะเป็นเชื้ออะไรบ้าง

ปฏิบัติการที่ 6
การผสมเทียมในโค
(Artificial Insemination in Cow)

อดิศักดิ์ สังข์แก้ว
ประยงค์ แสงศรีเรือง

เทคนิคการผสมเทียมเป็นสิ่งที่มีประโยชน์มากในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ในการที่จะขยายพันธุ์สัตว์พันธุ์ดีให้ได้อย่างรวดเร็ว การผสมเทียมยังเป็นเทคนิคพื้นฐานที่สำคัญสำหรับเทคโนโลยีหลายๆ อย่างทางด้านวิทยาการสืบพันธุ์ ไม่ว่าจะเป็นการย้ายฝากตัวอ่อน หรือการเก็บตัวอ่อนในโค ดังนั้นการฝึกปฏิบัติเทคนิคการผสมเทียมในโคนี้ถือว่าเป็นพื้นฐานที่สำคัญที่นักศึกษาทุกคนจะต้องเรียนรู้ เพื่อที่จะศึกษาหรือปฏิบัติงานด้านวิทยาการสืบพันธุ์ขั้นสูงต่อไป โดยเทคนิควิธีการที่จะต้องศึกษามีดังนี้

1. การตรวจโคก่อนทำการผสมเทียม

โคที่จะทำการผสมเทียมนั้นควรจะต้องมีการตรวจระบบสืบพันธุ์ก่อนการผสมทุกครั้ง เพื่อให้แน่ใจว่าโคนั้นเป็นสัดจริง ไม่ได้ตั้งท้องหรือมีความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์ เช่น ถุงน้ำในรังไข่ (cystic ovary) มดลูกอักเสบเป็นหนอง เป็นต้น

1.1 ตรวจสภาพภายนอก

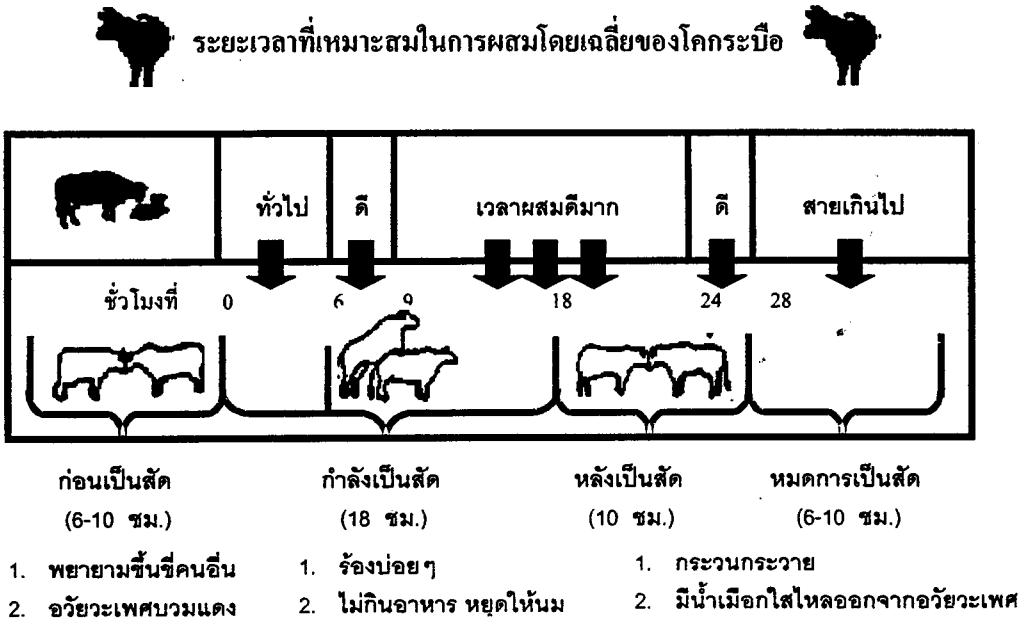
ให้นักศึกษาตรวจดูลักษณะของอวัยวะเพศ ถ้าโคที่อยู่ในระยะการเป็นสัดอวัยวะเพศภายนอก (vulva lips) จะบวมแดง มีน้ำเมือกใสไหลจากช่องคลอดและม่านตาดำขยายกว้าง โคจะมีพฤติกรรมส่งเสียงร้องบ่อยๆ ยืนนิ่งให้ตัวอื่นขึ้นขี่ กินอาหารน้อยลงและถ้าเป็นโครีดนมปริมาณน้ำนมที่รีดได้จะลดลง

1.2 ล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์ภายใน

โคที่อยู่ในระยะการเป็นสัด คอมดลูกจะเปิด การล้วงคลำบริเวณปากคอมดลูก (extemal os) จะพบลักษณะเป็นแอ่งบุ๋มลงและคอมดลูกชุ่มชื่น ปีกมดลูก (uterine horn) จะมีลักษณะแข็งตึง (tone ระดับ 3) เนื่องจากในช่วงนี้จะมีเลือดมาหล่อเลี้ยงมดลูกมากขึ้น และที่รังไข่ข้างใดข้างหนึ่งจะมีไข่สุก (graafian follicle) ขนาด 1-2.5 cm ซึ่งการล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์โคเพื่อการผสมเทียม ในการปฏิบัติจริงจะไม่แนะนำให้คลำรังไข่โคในระยะนี้ และควรล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์ด้วยความระมัดระวังนุ่มนวลเพราะว่าจะทำให้ไข่สุกแตกได้ง่าย

2. การเตรียมอุปกรณ์เครื่องมือเพื่อทำการผสมเทียมในโค

การละลายน้ำเชื้อ การบรรจุหลอดน้ำเชื้อ และการสวมถุงอนามัยสำหรับปืนผสมเทียม ปฏิบัติตามที่กล่าวไปแล้วในบทปฏิบัติการที่ 2 แต่จุดที่ต้องการให้นักศึกษาระมัดระวังเป็นพิเศษคือ จะต้องเตรียม และตรวจโคให้พร้อมก่อนที่จะทำการละลายและบรรจุหลอดน้ำเชื้อ และจะต้องรักษาความสะอาดในทุกๆ ขั้นตอนที่ปฏิบัติงาน



ภาพที่ 1 แสดงระยะของการเป็นสัดและเวลาที่เหมาะในการผสมเทียม

ที่มา : ดัดแปลงจาก Herman et al. (1994)

3. เทคนิคการผสมเทียม

การผสมเทียมโคในปฏิบัติการนี้เป็นการสอดปืนผสมเทียมโดยการล้วงคลำทางทวารหนักเพื่อช่วยในการสอดปืนผสมเทียมผ่านคอมดลูกไปยังจุดปล่อยน้ำเชื้อที่ตัวมดลูก ซึ่งวิธีนี้เรียกว่า การผสมเทียมโดยการคลำผ่านทวารหนัก (recto-vaginal insemination) ซึ่งเป็นวิธีการที่ได้ผลดีและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ขั้นตอนในการผสมเทียมควรปฏิบัติดังนี้

3.1 การบังคับโคเพื่อการผสมเทียม จะต้องบังคับให้อยู่ในสภาพนิ่ง โดยการนำโคเข้าซองบังคับ ขนาดของซองบังคับไม่ควรจะแน่นเกินไปให้โคสามารถยืนได้ในท่าปกติแต่ไม่สามารถเดินหน้าหรือถอยหลังได้ มีที่กันโคเตะ หรือกระโดด ถ้าพื้นซองลื่นอาจใช้วัสดุพวกฟางหญ้าแห้งหรือกระสอบป่านปูพื้นป้องกันโคลื่นล้ม หางโคผูกโยงติดกับคอโค โดยผูกเงื่อนที่กระตุกออกได้ง่ายหรือให้ผู้ช่วยจับหางไว้ในระหว่างการปฏิบัติงาน

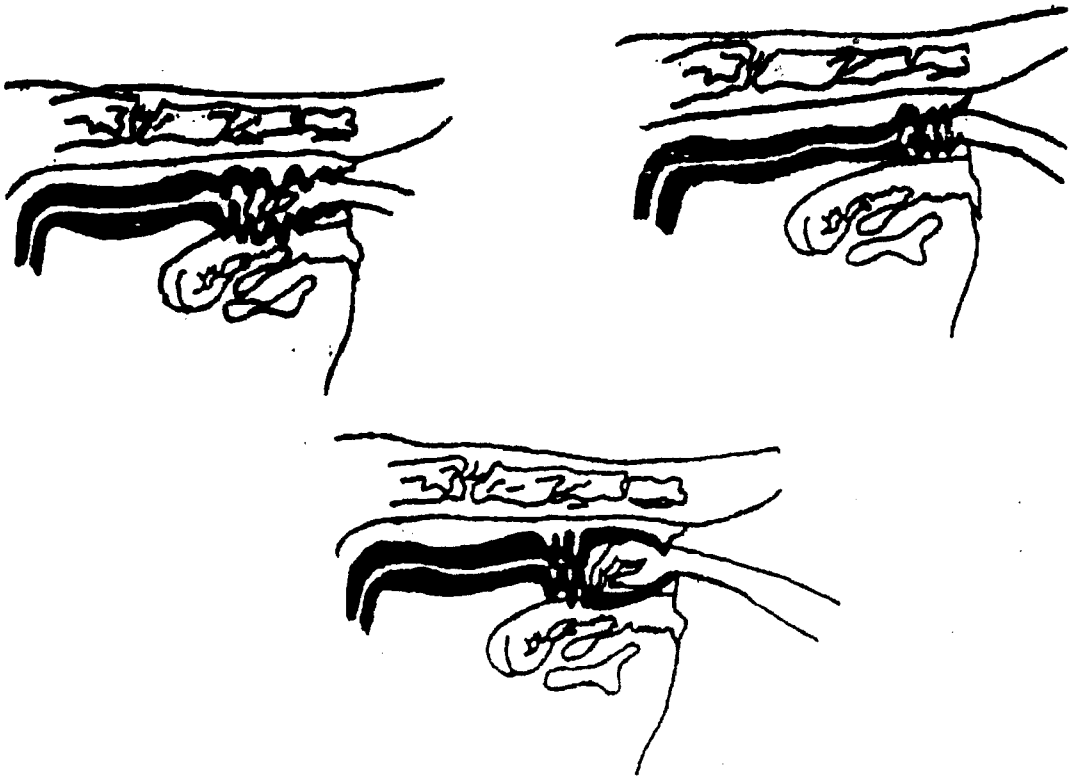
3.2 การแต่งกายในการผสมเทียม ผู้ฝึกการผสมเทียมจะต้องแต่งชุดกันเปื้อน สวมรองเท้าบู๊ท ต้องถอดแหวนและเครื่องประดับออกจากมือและแขนข้างที่จะทำการล้วง เล็บจะต้องตัดให้สั้นและตะไบลบคมเล็บให้หมด ล้างมือและแขนให้สะอาด สวมถุงมือและชะโลมด้วยสารหล่อลื่น (methyl cellulose gel)

3.3 การล้วงอุจจาระออกจากทวารหนัก การเข้าหาโคควรจะเอียงตัวเข้า ก้าวเท้าข้างเดียวกันกับมือที่จะใช้ล้วงออกไปข้างหน้าหาตัวโค ยืนห่างตัวโคพอเหมาะเพื่อเลี่ยงอันตรายจากการเตะของโค การเข้าหาโคนี้จะต้องระมัดระวัง ถึงแม้ว่าซองบังคับจะแข็งแรงหรือโคที่ใช้ฝึกจะเชื่องแต่ก็ไม่ควรประมาท

เทคนิคการล้วง ควรจะเอามือลูบบริเวณบั้นท้ายโคก่อน โดยเฉพาะบริเวณโคนหางตอนล่างซึ่งโคจะชอบ จะช่วยให้โคลดอาการตื่นตกใจ ใช้สารหล่อลื่นสำหรับการล้วงลูบบริเวณทวารหนัก หลังจากนั้นใช้นิ้วแหย่เข้าในช่องทวารหนักโดยทำมือจีบเข้าหากันเป็นรูปกรวยค่อยๆ แหย่ปลายนิ้วและหมุนมือไปมาและดันมือผ่านหูรูดของทวารหนักเข้าไป การออกแรงดันนั้นควรจะต้องทำเป็นจังหวะประสานกับการบีบตัวของทวารหนัก และการหดรัดตัวของหูรูดทวารหนัก โดยหยุดเมื่อมีการบีบรัดตัวให้ดันมือสอดแทรกเข้าไปเมื่อมีการคลายตัว การดันเข้าไปนี้บางครั้งอาจต้องใช้แรงจากน้ำหนักตัวของผู้ผสมเทียมโถมเข้าช่วย โคบางตัวเมื่อล้วงเข้าไปในช่องทวารหนักจะมีอาการบีบขับไล่ (contraction) ต่อต้านมาก ทำให้ล้วงคลำจับคอมดลูกได้ลำบากหรือไม่สามารถจับได้ การแก้ไขสามารถทำได้โดยเมื่อช่องทวารหนักโคมีอาการบีบไล่ดันมือที่ล้วงอยู่ให้ค่อยๆ ถูกแรงบีบดันออกมาทีละน้อย จนข้อมือมาอยู่ที่ปากทวารหนัก พยายามฝืนไว้อย่าให้หลุดออกมา ขณะเดียวกันก็ใช้สันมือหรือนิ้วมือ (นิ้วก้อยหรือนิ้วหัวแม่มือ) ยึดลงบนก้อนนูนพอควร แล้วยึดก้อนลูกฟูกนั้นให้คลายตัวออกจากกันโดยการฝืนบังคับไว้ ผนังทวารหนักก็จะหย่อนตัว สามารถคลำจับคอมดลูกได้ หรืออีกวิธีเมื่อเกิดการบีบขับไล่ขณะที่กำลังจับคอมดลูกอยู่ ให้ปล่อยคอมดลูกแล้วจิกนิ้วมือลงบนผนังทวารหนัก (ไม่ควรจิกแรงเกินไป) แล้วถอยนิ้วจากจุดเดิมประมาณ 2 เซนติเมตร จะพบว่าจุดนี้ไม่ตึงตัวสามารถจับคอมดลูกได้

การล้วงอุจจาระออกจากทวารหนักขณะที่มืออยู่ในทวารหนัก ควรสัมผัสอวัยวะภายในต่างๆ ด้วยความนิ่มนวล ห้ามขูดจิกหรือบีบรุนแรง ขณะล้วงให้คว่ำมือและสอดมือเข้าไปให้ลึกที่สุดแล้วค่อยๆ กวาดอุจจาระออกมาให้หมด โดยบีบไล่อุจจาระออกมานอกทวารหนักมาทางอุ้งมือ (ไล่จากนิ้วชี้มาทางนิ้วก้อย) ขณะที่ยังไล่อุจจาระออกมานี้อย่าดึงมือออกนอกทวารหนัก หรือกำอุจจาระออกมานอกทวารหนัก เพราะจะทำให้อากาศภายนอกแทรกเข้าไปขณะที่ดึงมือออกมา ทำให้ลำไส้ใหญ่ส่วนท้ายเกิดเป็นลักษณะคล้ายลูกโป่งหรือบอลลูน (balloon) ซึ่งจะทำให้ยากแก่การคลำมดลูกและทำให้ลำไส้ใหญ่ระบมได้ ลักษณะของบอลลูน จะเป็นลอนลูกฟูกของลำไส้ใหญ่ไป

จุกรวมกันในตอนลึกทำให้ผนังส่วนต่อมามีลักษณะเรียบและตึงตัวเกิดเป็นโพรง เมื่อเกิดลักษณะเช่นนี้แล้วห้ามฝืนกดนิ้วลงเป็นอันขาดเพราะจะทำให้ผนังช่องทวารหนักฉีกขาดเลือดออก ควรแก้ไขดังนี้คือ ให้ยืดลอนลูกฟูกตอนในด้วยนิ้วหัวแม่มือและนิ้วก้อย แล้วค่อยๆ ยืดลอนลูกฟูกให้คลายตัวกลับมาเข้าที่เป็นระยะประมาณ 2 นิ้ว และฝืนไว้เช่นนั้นผนังทวารหนักก็จะหย่อนตัวลง หรืออาจใช้วิธีการใช้นิ้วเกี่ยวเบาๆ ที่บริเวณที่ลำไส้ใหญ่บีบรัดตัวเป็นก้อนลูกฟูก จากนั้นดึงเบาๆ มาที่ทวารหนักเพื่อดันอากาศออกมา ผนังทวารหนักจะคลายตัวสามารถคลำจับคอมดลูกได้ นอกจากนั้นอีกวิธีหนึ่งให้หงายมือขึ้นและลูบผนังช่องทวารหนักด้านบนจากส่วนในมายังส่วนท้าย (ตามแนวกระดูกสันหลัง) เพื่อกระตุ้นระบบประสาทให้มีการบีบตัวของทวารหนัก ทำซ้ำกันหลายๆ ครั้ง จนทวารหนักบีบไล่ลมออกมาทำให้ลอนลูกฟูกคลายตัวกระจายออก ผนังทวารหนักก็จะหย่อนสามารถคลำจับคอมดลูกได้



1. ทวารหนักโคสภาพปกติ ลอนลูกฟูกจะกระจายสม่ำเสมอ
2. ทวารหนักโคสภาพขับไล่ ลอนลูกฟูกจะรวมตัวกันอยู่ใกล้ปากทวารหนัก
3. ทวารนักโคสภาพบอลลูน ลอนลูกฟูกรวมเป็นกระจุกอยู่ด้านใน

ภาพที่ 4 แสดงทวารหนักโคในสภาพต่าง ๆ

ที่มา : ปรีชา, 25--.

3.4 การผสมเทียม หลังจากที่ล้วงอุจจาระออกหมด และตรวจว่าโคเป็นสัดจริง เหมาะแก่การผสมเทียม จึงทำการละลายน้ำเชื้อเตรียมปืนผสมเทียม ก่อนผสมเทียมให้ใช้น้ำล้างทำความสะอาดบั้นท้ายของแม่โค บริเวณโคนหาง ปากทวารหนักและช่องคลอด เมื่อล้างสิ่งสกปรกออกหมดแล้วใช้ผ้าขนหนูผืนเล็กๆ ชุบน้ำยาฆ่าเชื้อเช็ดอีกครั้ง และซับน้ำบริเวณปากช่องคลอด (valva) ให้แห้ง

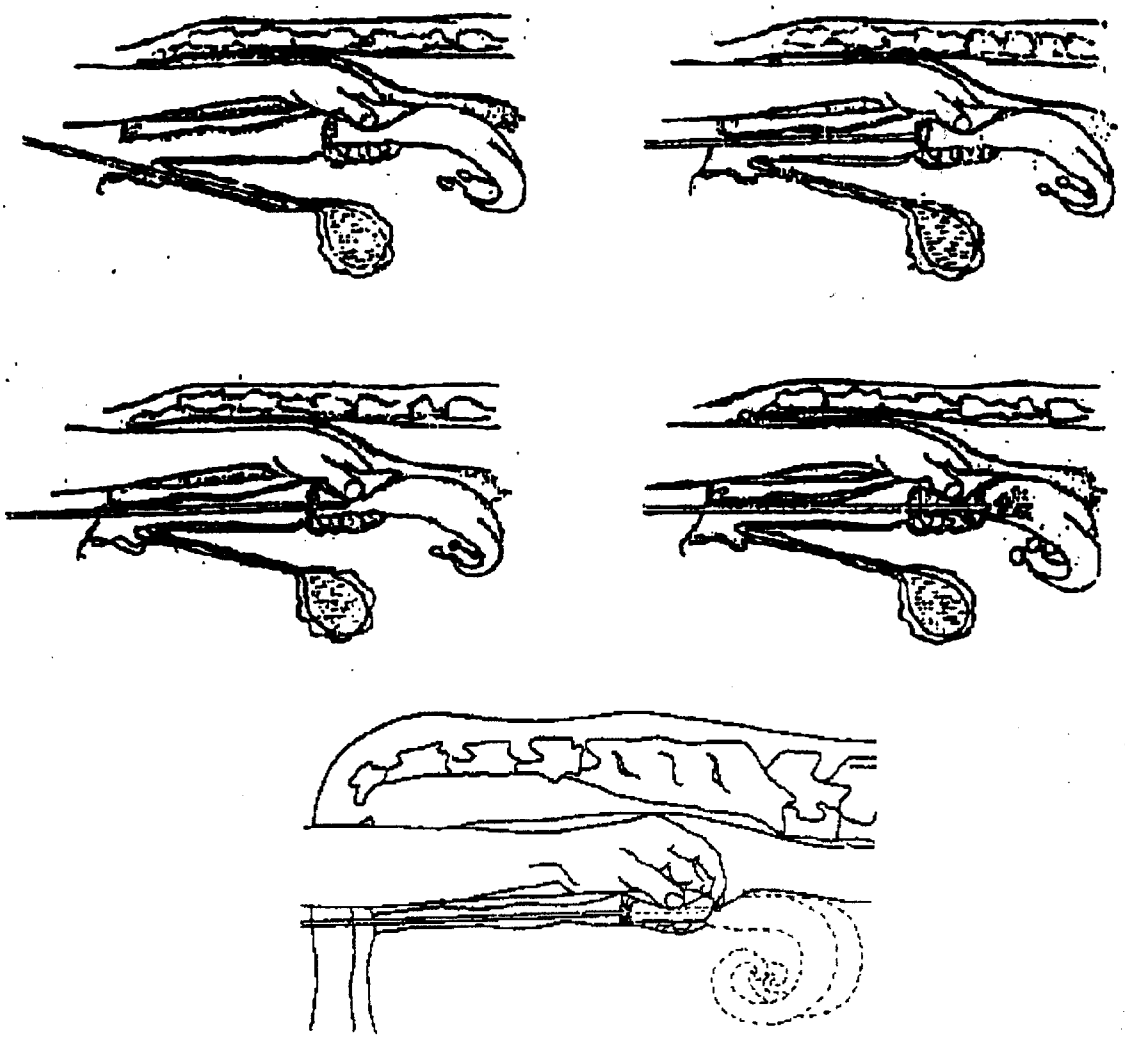
การสอดปืนผสมเทียมเข้าไปในช่องคลอด ให้เปิด valva (ผู้ช่วยเปิดให้หรือเปิดเองโดยใช้มือที่จะล้วง หรือล้วงแล้วจึงใช้มือดันให้ valva เปิด) สอดปืนผสมเทียมเฉียงขึ้นประมาณ 45 องศาจากระดับตัวโค เพื่อป้องกันไม่ให้สอดปืนผสมเทียมเข้าไปในกระเพาะปัสสาวะ (ถ้าสอดเข้าไปในท่อปัสสาวะ โคจะแสดงอาการหลังโก่ง มีน้ำปัสสาวะไหลออกมา) สอดปืนผสมเทียมให้สัมผัสผนังช่องคลอดด้านบน และค่อยๆ เอนปืนผสมเทียมลงมาแนวราบพร้อมๆ กับสอดให้ถึงบริเวณหน้าคอมดลูก ในขณะที่สอดอาจจะขยับปลายปืนผสมเทียมขึ้นลง เพื่อให้เกิดการขยับตัวของผนังช่องคลอดในจุดนั้นและค่อยๆ สอดดันหาช่องผ่านเข้าไป ซึ่งในระหว่างสอดเข้าไปนี้มือที่ล้วงเข้าไปในทวารหนักให้จับคอมดลูกยืดออกไปให้ตึง เพื่อไม่ให้เกิดรอยพับย่นของช่องคลอด จะทำให้ปลายปืนผสมเทียมผ่านไปถึงคอมดลูกง่ายขึ้น

เมื่อสอดปืนผสมเทียมถึงหน้าปากมดลูกแล้วใช้มือที่จับปืนผสมเทียมดึงกระตุก double sheet ให้ปลายของปืนผสมเทียมทะลุผ่านออกมา จากนั้นควรจับคอมดลูกโดยใช้นิ้วชี้และนิ้วกลางคีบคอมดลูก และใช้นิ้วหัวแม่มือคลำหาช่องเปิดคอมดลูก (external os) เมื่อพบแล้วใช้นิ้วหัวแม่มือแตะตรงนั้นไว้ ขยับปลายปืนผสมเทียมมาแตะที่ปลายเล็บนิ้วหัวแม่มือ จึงขยับนิ้วหัวแม่มือออกจากช่องเปิดคอมดลูกให้ปลายปืนผสมเทียมสอดเข้าไป จากนั้นเปลี่ยนการจับคอมดลูกจากนิ้วคีบจับมาเป็นช้อนจับคอมดลูก พยายามสอดปืนผสมเทียมให้ผ่านคอมดลูกเข้าไปยังตัวมดลูก (uterine body) โดยใช้มือที่จับคอมดลูกช่วยขยับหรือดัดคอมดลูกให้ปืนผสมเทียมผ่านเข้าไปได้ง่ายขึ้น บางครั้งปลายปืนผสมเทียมจะติดเปราะ (annular rings) ซึ่งมีลักษณะเป็นก้อนกล้ามเนื้อนูนออกมา ก็ให้ถอยออกมาประมาณ 0.5 ซม. แล้วพยายามสอดใหม่ ในกรณีที่คอมดลูกคด ให้ใช้มือที่ล้วงดัดคอมดลูกจะช่วยให้สอดผ่านได้ง่ายขึ้น ***สิ่งที่สำคัญการสอดปืนผสมเทียมต้องทำด้วยความนุ่มนวลให้กระทบกระทั่งสิ่งกีดขวางหรือเนื้อเยื่อต่างๆ ให้น้อยที่สุด*** เพื่อป้องกันความชอกช้ำที่จะเกิดแก่มดลูก

การฉีดน้ำเชื้อ เมื่อสอดปืนผสมเทียมผ่านคอมดลูกเข้ามายังตัวมดลูกแล้วตำแหน่งที่จะฉีดน้ำเชื้อนั้นให้ฉีดที่ตัวมดลูก โดยให้ปืนผสมเทียมโผล่ออกมาจากคอมดลูก ประมาณ 0.5 - 1 เซนติเมตร เมื่อผู้ผสมเทียมสอดปืนผสมเทียมผ่านคอมดลูกแล้วให้ใช้นิ้วมือคลำหาปลายปืนผสม

เทียมที่โผล่มาจากคอมดลูก หากเข้าลึกเกินไป ก็ให้ดึงถอยกลับเมื่อแน่ใจจึงค่อยๆ ฉีดน้ำเชื้อออก แล้วถอดปืนผสมเทียมออกมาอย่างนุ่มนวล

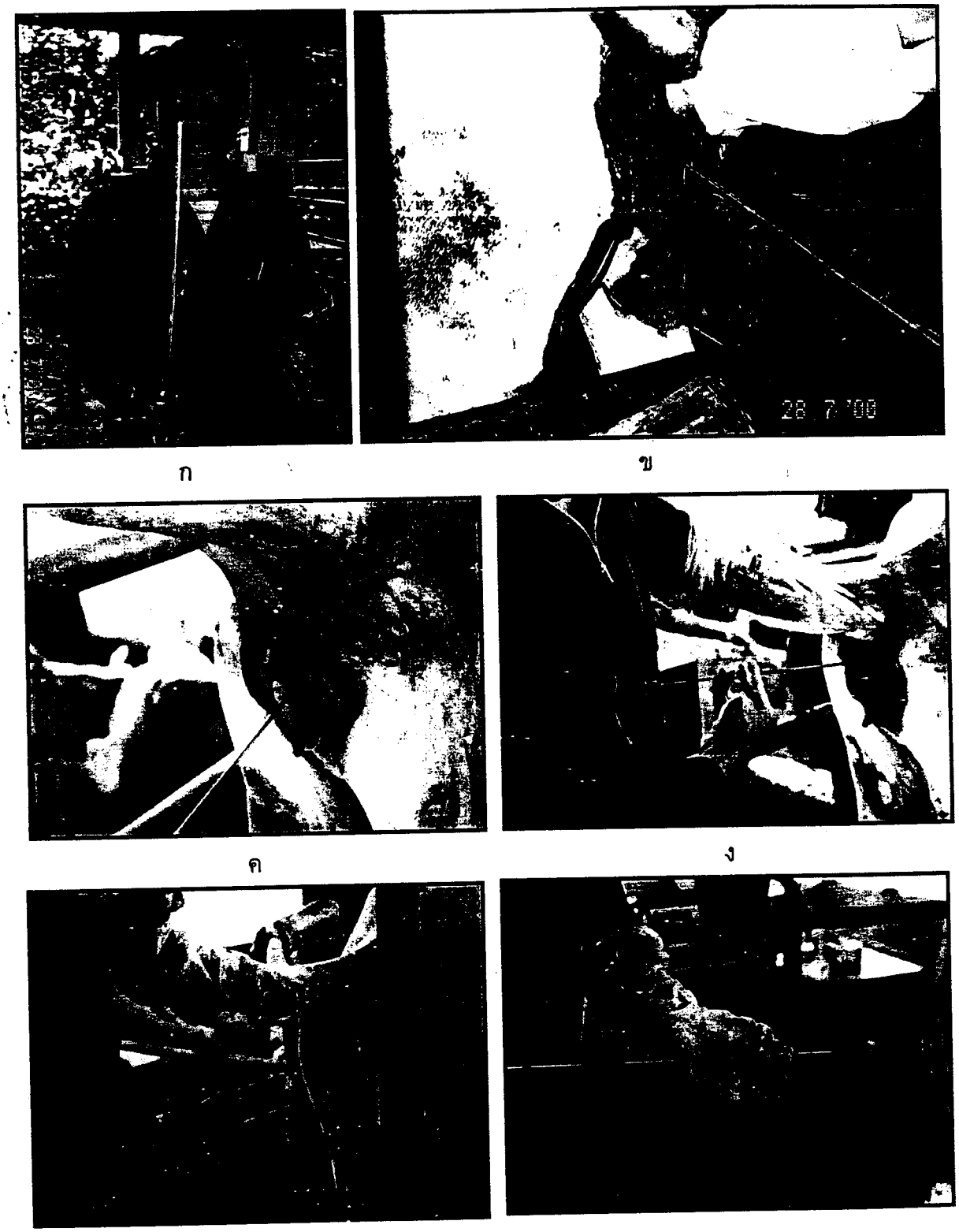
หลังจากผสมเทียม เมื่อถอด breeding sheet ออกจากปืนผสมเทียมแล้ว ควรทำการตรวจสอบหลอดน้ำเชื้ออีกครั้งและทำการบันทึกการผสมเทียม ก่อนถอดถุงมือผสมเทียมครอบ breeding sheet และหลอดน้ำเชื้อก่อนนำไปทิ้งขยะ และสิ่งสำคัญที่จะต้องทำคือ การทำความสะอาดปืนผสมเทียมและจัดเก็บให้เรียบร้อย



1. การสอดปืนผสมเทียมเข้ากระเพาะปัสสาวะ 2.การสอดปืนผสมเทียมเข้าถึงบริเวณปากมดลูก
3. การสอดปืนผสมเทียมเข้าถึงกลางคอมดลูก 4. การสอดปืนผสมเทียมถึงบริเวณตัวมดลูก
5 แสดงตำแหน่งที่เหมาะสมในการฉีดน้ำเชื้อ

ภาพที่ 5 แสดงการสอดปืนผสมเทียมเข้าสู่ตัวมดลูก

ที่มา : ดัดแปลงจาก ยันต์, 25--; ปริชา, 25--; และ Hunter, 1982.



ก ข

ค ง

จ ฉ

ภาพที่ 6 แสดงการผสมเทียมโค

(ก) ปืนผสมเทียมที่เตรียมเสร็จพร้อมผสม (ข) การเปิด valva โดยใช้มือล้วงดัน valva ให้เปิด และ(ค) การเปิด valva โดยผู้ช่วยเปิดให้ และทำการสอดปืนผสมเทียมเฉียงขึ้นด้านบน 45 องศา (ง) การฉีดน้ำเชื้อโดยใช้ลำตัวดันก้านปืนผสมเทียม และ (จ) การฉีดน้ำเชื้อโดยใช้นิ้วมือดันก้านปืนผสมเทียม (ฉ) การตรวจตรวจสอบหลอดน้ำเชื้อว่าถูกต้องและได้ฉีดผสม แล้ว

วัตถุประสงค์

เพื่อให้นักศึกษาเข้าใจเทคนิคและสามารถผสมเทียมโคได้อย่างถูกต้อง

อุปกรณ์

1. โคเพศเมีย
2. ซองบังคับโค
3. ปืนผสมเทียม (AI gun) กระติกละลายน้ำเชื้อ เทอร์โมมิเตอร์ ถังน้ำเชื้อสนาม ปากคีบกรรไกร ถังน้ำ ขันพลาสติก ผ้าสะอาด
4. หลอดพลาสติกสำหรับปืนผสมเทียม (breeding sheet)
5. ถุงอนามัยสำหรับปืนผสมเทียม (double sheet)
6. ถุงมือผสมเทียม
7. สารหล่อลื่น (methyl cellulose gel)
8. กระดาษชำระ (แผ่นใหญ่)
9. น้ำยาฆ่าเชื้อ

วิธีการศึกษา

1. ให้นักศึกษาช่วยกันนำโคสำหรับฝึกปฏิบัติเข้าซองบังคับให้เรียบร้อย พร้อมสำหรับการฝึกปฏิบัติ
2. ให้นักศึกษาจับคู่กัน 2 คน/โค 1 ตัว โดยผลัดเปลี่ยนกันเป็นผู้ฝึกปฏิบัติ และผู้ช่วยในการฝึกปฏิบัติ
3. ให้นักศึกษาตรวจสภาพภายนอก ล้วงตรวจระบบสืบพันธุ์โค ล้างทำความสะอาดบั้นท้าย vulva ให้พร้อมที่จะผสมเทียม
4. เตรียมอุปกรณ์เครื่องมือเพื่อทำการผสมเทียมในโค เช่น ละลายน้ำเชื้อ บรรจุหลอดน้ำเชื้อ และการสรวมถุงอนามัยสำหรับปืนผสมเทียม
5. ฝึกปฏิบัติการผสมเทียม
6. ให้นักศึกษาบันทึกผลการฝึกปฏิบัติ สรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

คำถาม

1. ถ้าเกษตรกรแจ้งท่านว่า โคของเขาเป็นสัดท่านจะตรวจสอบอย่างไร เพื่อให้แน่ใจว่าโคนั้นเป็นสัดจริงหรือไม่
2. ในการผสมเทียม ท่านคิดว่าขั้นตอนใดบ้างที่จะเป็นอันตรายกับโคได้ และวิธีการป้องกันและแก้ไข

บรรณานุกรม

ปรีชา อินนุรักษ์. 25--. เทคนิคการฝึกปฏิบัติการฉีดน้ำเชื้อผสมเทียมโค. วารสารโคกระบือ. หน้า 13-29.

ยันต์ สุขวงศ์. 25--. เทตนิคการผสมเทียมโค. ใน: คู่มือการฝึกผสมเทียมโค. กองผสมเทียม กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร. หน้า 34-43.

Bearden, H.J. and Fuquay, J.W. 1997. Applied Animal Reproduction. Prentice-Hall, Inc. USA. 351 p.

Garner, D.L. 1991. Artificial insemination. In: Reproduction in Domestic Animals. P.T. Cupps (ed). Academic Press, Inc. USA. pp 251-279.

Hunter, R.H.F. 1982. Reproduction of Farm Animals. Longman Group Limited. England. 149p.

Nebel, R.L. 1997. Technique for artificial insemination of cattle with frozen-thawed semen. In : Current Therapy in Large Animal Theriogenology. R.S. Youngguist (ed). W.B. Suander Company. USA. pp 251-256.

Noakes, D.E. 1986. Fertility and Obstetrics in Cattle. Blackwell Scienti fic Publication. Great - Britain. 139 p.

Rasbech, N.O. 1993. Artificial insemination. In : Reproduction in Domestic Animals. G.J. King (ed). Elsevier Science Publisher B.V. The Netherlands. pp. 365-386.

Seguin, B. 1986. Evaluating Artificial inseminator's placement of semen in cattle. In : Reproduction in Domestic Animals. P.T. Cupps (ed). Academic press, Inc. USA. pp 174-175.

Senger, P.L. 1986. Principle and produces for storing and using frozen bovine semen. In: Current Therapy in Theriogenology 2. D.A. Morrow (ed). W.B. Saunders Company. USA. pp 162-174.

ชื่อ-สกุล.....รหัส.....กลุ่ม.....ว/ด/ป.....

แบบรายงาน ปฏิบัติการที่ 6

การผสมเทียมในโค

เบอร์สัตว์ .... อายุ ..... พันธุ์ ..... น้ำหนัก ..... BSC .....

ประวัติโค

.....

.....

ตรวจสภาพภายนอก

.....

.....

.....

การตรวจระบบสืบพันธุ์

CERVIX : Diameter.....cm. Long: .....cm., Normal (Cylinder or Conical), Abnormal : .....

UTERUS : Symmestry .....Unsymmestry .....(R > L , L > R) Tone..... Edema .....

Consistency.....

Content.....

ผลการตรวจระบบสืบพันธุ์.....

ผลการผสมเทียม

.....

.....

.....

.....

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ปฏิบัติการที่ 7
การทำน้ำเชื้อโคแช่แข็งอย่างง่าย
(Freezing Bull Semen)

อดิศักดิ์ สังข์แก้ว
ประยงค์ แสงศรีเรือง

การทำน้ำเชื้อแช่แข็งเป็นวิธีการเก็บรักษาเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ไว้ได้อย่างยาวนานโดยยังคงความสามารถในการปฏิสนธิ ซึ่งจะทำให้เราสามารถเก็บรักษาน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์ไว้ได้ถึงแม้ว่าพ่อพันธุ์นั้นจะเสียชีวิตไปแล้วหลายปีก็ตาม น้ำเชื้อแช่แข็งนี้จะใช้ในการผสมเทียมแก่แม่พันธุ์ซึ่งจะมีความสะดวกในแง่การจัดการ การปรับปรุงพันธุ์ หรือใช้สำหรับเทคโนโลยีขั้นสูงทางด้านวิทยาการสืบพันธุ์ รวมทั้งใช้ในงานอนุรักษ์พันธุ์สัตว์ต่างๆ การทำน้ำเชื้อแช่แข็งอย่างง่ายนั้นสามารถทำได้โดยใช้อุปกรณ์และเครื่องมือที่หาได้ง่ายราคาไม่แพง สามารถจะทำน้ำเชื้อแช่แข็งใช้เองในฟาร์มหรือท้องที่ห่างไกล หรือในท้องที่ที่ไม่สามารถขนย้ายสัตว์มายังห้องปฏิบัติการได้เป็นอย่างดี โดยเทคนิควิธีการทำน้ำเชื้อแช่แข็งอย่างง่ายมีดังนี้

1. การเตรียมน้ำเชื้อ

นำน้ำเชื้อที่จะทำน้ำเชื้อแช่แข็งแช่น้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 35-37 °C ทันทีที่รีดออกจากพ่อโคเพื่อป้องกันความเสียหายจากการถูกแสงหรือการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ จากนั้นทำการตรวจคุณภาพอย่างรวดเร็ว โดยตรวจปริมาตร (volume) ความเป็นกรดด่าง (pH) สี (color) การเคลื่อนที่หมู่ (mass activity) การเคลื่อนที่รายตัว (motility) จำนวนอสุจิที่มีชีวิต (live sperm) และความเข้มข้นของน้ำเชื้อ (concentration) แล้วใช้ข้อมูลที่ได้ทำการคำนวณปริมาณน้ำเชื้อ และน้ำยาเจือจาง (extender) เพื่อที่จะทำการบรรจุในหลอดน้ำเชื้อขนาด 0.25 หรือ 0.50 มล. โดยให้มีอสุจิมีชีวิตที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าอย่างต่ำ จำนวน 30 ล้านตัว/หลอด

2. น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ (extender)

น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อที่ใช้ในปฏิบัติการนี้ใช้ Tris-egg yolk ซึ่งจะเตรียมไว้ให้ ก่อนใช้จะต้องแช่น้ำอุ่นไว้ที่อุณหภูมิเดียวกันกับน้ำเชื้อ (35-37 °C) เพื่อป้องกันน้ำเชื้อได้รับอันตรายจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว ในการทำน้ำเชื้อแช่แข็งอย่างง่ายนี้จะใช้วิธี one step dilution คือจะเติม glycerol ลงในน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อ และผสมกับน้ำเชื้อครั้งเดียวก่อนบรรจุหลอดน้ำเชื้อแล้วจึงนำไปลดอุณหภูมิ (cooling)

3. การบรรจุน้ำเชื้อ

ทำการบรรจุใส่หลอดน้ำเชื้อ (French ministraw) ขนาด 0.25 มล. หลังจากทำการเติมน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อแล้ว บรรจุโดยการใช้ tuberculin syringe ดูดด้านจุกดันน้ำเชื้อ (cotton wool) หรืออาจใช้ปากดูดแต่ต้องระมัดระวังเรื่องความสะอาด ดูดให้น้ำเชื้อเต็มหลอดแล้วใช้หวีเสียบหลอดน้ำเชื้อเสียบไล่น้ำเชื้อออกจากปลาย straw ให้เป็นช่องว่างยาวประมาณ 1 ซม. เช็ดน้ำที่ปลายหลอดให้แห้งด้วยผ้าสะอาด เพื่อป้องกันผง PVA (polyvinyl alcohol powder) ติดตามข้างหลอด แล้วกระแทรกด้านปลายบนผง PVA ซึ่งเตรียมไว้ใน pretidish ให้ผง PVA เข้าไปแทนที่ช่องว่าง ใช้ผ้าเช็ดผง PVA ที่ติดข้างหลอดออก เสร็จแล้ววางหลอดลงน้ำในกล่องโฟมสำหรับลดอุณหภูมิ ซึ่งเตรียมใส่น้ำอุ่นอุณหภูมิประมาณ 35 °C ไว้

4. การลดอุณหภูมิ (cooling)

ในปฏิบัติการนี้ลดอุณหภูมิโดยใช้น้ำแข็ง ค่อยๆหย่อนลงในกล่องลดอุณหภูมิ ซึ่งจะต้องมีเทอร์โมมิเตอร์จุ่มอยู่เพื่อตรวจสอบอุณหภูมิตลอดเวลา การลดอุณหภูมิลดในอัตรา 0.5 องศา/นาที โดยเริ่มจาก 35 °C ไปจนถึง 5 °C ในเวลา 1 ชม.

5. การบ่ม (equlibration)

ทำการบ่มโดยแช่หลอดน้ำเชื้อไว้ในกล่องโฟมหลังจากลดอุณหภูมิถึง 5 °C ไว้นาน 2-16 ชั่วโมง โดยรักษาอุณหภูมิของน้ำไว้ให้คงที่ไว้ที่ 5 °C ด้วยการหย่อนน้ำแข็งลงเป็นระยะๆ

6. การแช่แข็ง

6.1 การเตรียมกล่องโฟมสำหรับแช่แข็ง (freezing chamber) โดยใส่ไนโตรเจนเหลวให้สูงจากพื้นกล่องประมาณ 4 ซม.

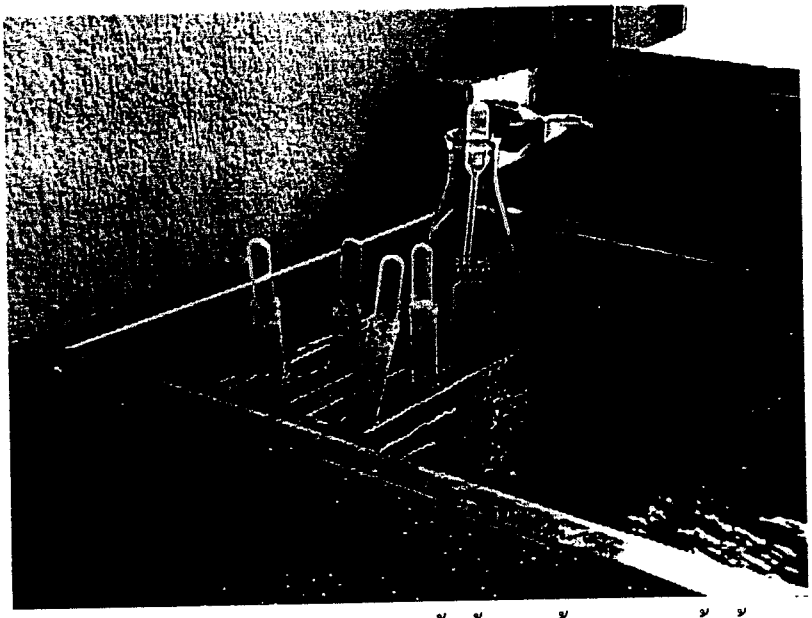
6.2 ขั้นตอนการแช่แข็ง โดยเอาหลอดน้ำเชื้อที่บ่มไว้จนครบตามเวลาขึ้นมาเช็ดให้แห้งด้วยผ้าขนหนูที่แห้งและสะอาด แล้วนำไปวางบนแร็กใส่หลอดทดลอง (ใช้แทนถาดวางหลอดน้ำเชื้อ) โดยเกลี่ยให้กระจายไม่ให้วางทับกัน (ขั้นตอนดังกล่าวทั้งหมดต้องทำอย่างรวดเร็วเพื่อลดความเสียหายของอสุจิจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ) วางแร็กลงในไนโตรเจนเหลวในกล่องโฟม ใช้ฝาปิดกล่องโฟมโบกให้ไอไนโตรเจนฟุ้งขึ้นก่อนปิดฝา (หลอดน้ำเชื้อจะสูงจากระดับไนโตรเจนเหลวประมาณ 5 ซม. จะทำให้ที่หลอดน้ำเชื้อมีอุณหภูมิประมาณ -120 °C) ทิ้งไว้นาน 10-15 นาที จึงใช้ปากคีบ (forcep) จุ่มไนโตรเจนเหลวแล้วใช้กวาดหลอดน้ำเชื้อทั้งหมดลงไนโตรเจนเหลวอย่างรวดเร็ว เสร็จแล้วใช้กระบอกเก็บน้ำเชื้อ (goblet) จุ่มลงในไนโตรเจนเหลวในกล่องโฟม ใช้ปากคีบจับหลอดน้ำเชื้อบรรจุเข้า goblet โดยให้ด้านด้านจุกดันน้ำเชื้ออยู่ด้านบน ขั้นตอนนี้ต้องให้หลอดน้ำเชื้ออยู่ในไนโตรเจนเหลวเท่านั้น ระวังอย่ายกหลอดน้ำเชื้อขึ้นโดนอากาศเพราะจะทำให้อุณหภูมิ

ของหลอดเปลี่ยนไป จะมีผลต่อคุณภาพของน้ำเชื้อได้ เสร็จแล้วนำ goblet ใส่ใน canister ลงเก็บในถังเก็บน้ำเชื้ออย่างรวดเร็ว

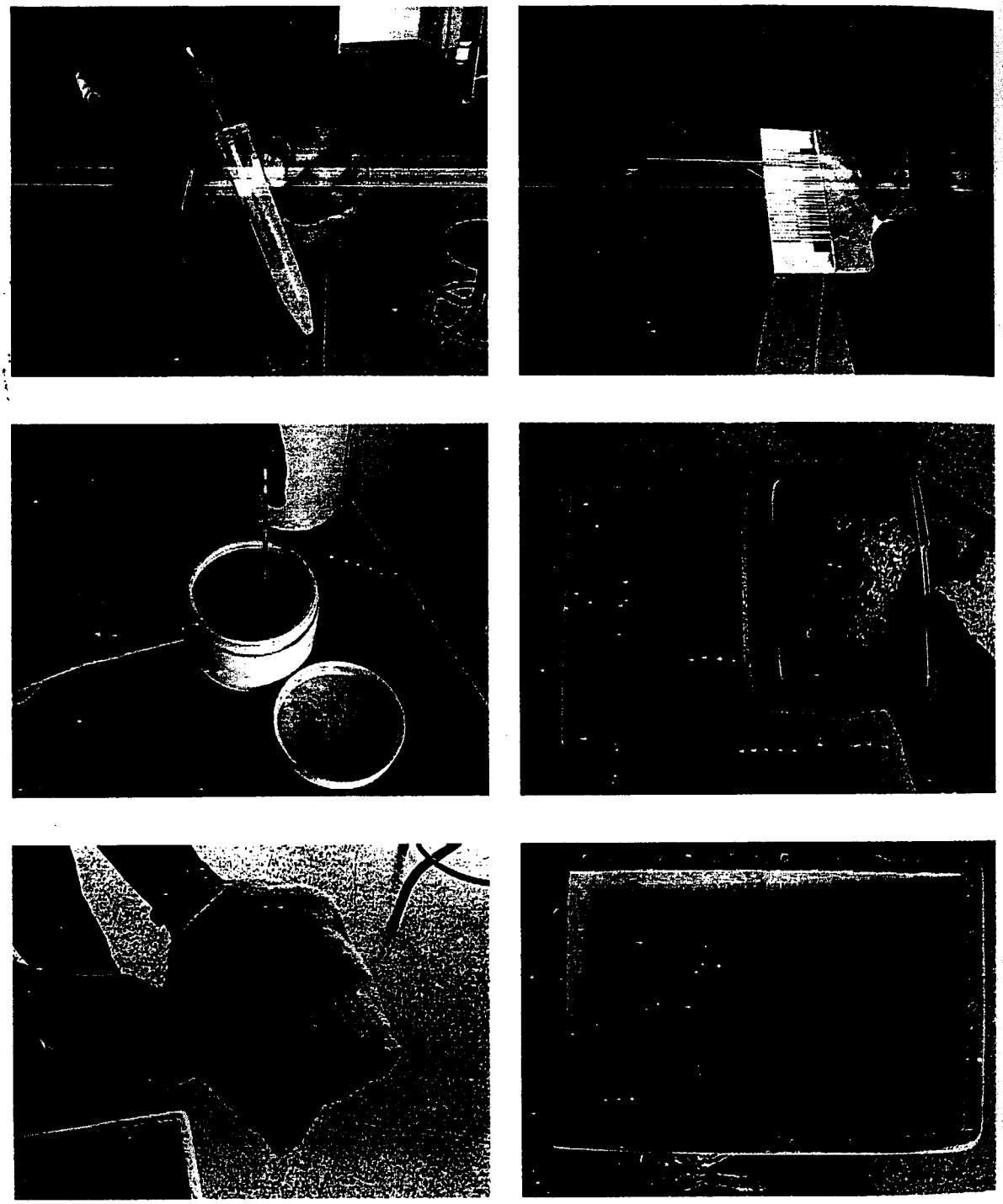
7. ตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อหลังการแช่แข็ง

ทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อหลังการแช่แข็งโดยตรวจการเคลื่อนที่รายตัว (motility) หลังการทำละลาย (thawing) หลังจากการแช่แข็งน้ำเชื้อควรจะมี motility ประมาณ 50%

ภาพที่ 1 แสดงอุปกรณ์ในการทำน้ำเชื้อแช่แข็งอย่างง่าย



ภาพที่ 2 แสดงการรักษาอุณหภูมิน้ำเชื้อและน้ำยาเจือจางน้ำเชื้อระหว่างตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ



ภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนการทำน้ำเชื้อแช่แข็งอย่างง่าย

ก. การบรรจุน้ำเชื้อที่เจือจางแล้วเข้าหลอดน้ำเชื้อ

ข. ใช้หวีเสียบหลอดน้ำเชื้อเสียบไล่น้ำเชื้อออกจากปลายหลอดน้ำเชื้อ

ค. การอุดหลอดน้ำเชื้อด้วยผง PVA ง. การลดอุณหภูมิโดยใช้น้ำแข็งในกล่องโฟม

จ. การเช็ดหลอดน้ำเชื้อให้แห้งก่อนการแช่แข็ง

ง. การแช่แข็งน้ำเชื้อในกล่องโฟมโดยใช้แร็กวางหลอดทดลองและไนโตรเจนเหลว

วัตถุประสงค์

เพื่อให้นักศึกษาเข้าใจขั้นตอนในการทำน้ำเชื้อแช่แข็งและสามรถทำน้ำเชื้อโคแช่แข็งอย่างง่ายได้

อุปกรณ์

1. น้ำเชื้อโค
2. ไนโตรเจนเหลว พร้อมถังเก็บน้ำเชื้อและไนโตรเจนเหลว
3. กล่องโฟม
4. แร็กสำหรับวางหลอดน้ำเชื้อ
5. หลอดน้ำเชื้อ (France ministraw) ขนาด 0.25 มล.
6. ผงอุดหลอดน้ำเชื้อ (polyvinyl alcohol, PVA)
7. หวี เสียบหลอดน้ำเชื้อ
8. เทอร์โมมิเตอร์
9. กระดาษชำระ ผ้าสะอาด
10. น้ำร้อน
11. กระติกละลายน้ำเชื้อ
12. น้ำยาเจือจางน้ำเชื้อสำหรับการแช่แข็ง (extender)
13. นาฬิกาจับเวลา
14. อุปกรณ์ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ
    - สี eosins nigrosin
    - สี William's strain
    - formal saline
    - น้ำเกลือ (normal saline)
    - กระดาษวัดความเป็นกรดด่าง(pH paper)
    - น้ำมันสำหรับกล้องจุลทรรศน์(emulsion oil)
    - กล้องจุลทรรศน์
    - เครื่องช่วยนับ(tally counter)
    - ปิเปตเม็ดเลือดแดงพร้อมปากดูด
    - กระจกแก้วและแผ่นปิดกระจกแก้ว(slide, cover slide)

วิธีการศึกษา

1. ให้นักศึกษาแบ่งกลุ่มสำหรับการฝึกปฏิบัติทั้งหมด 4 กลุ่ม
2. จัดเตรียมอุปกรณ์ต่างๆ ในการฝึกปฏิบัติ ตามหัวข้ออุปกรณ์
3. ให้นักศึกษาตรวจคุณภาพน้ำเชื้อก่อนการแช่แข็ง และทำการคำนวนปริมาณน้ำเชื้อและน้ำยาเจือจางที่จะใช้สำหรับการทำน้ำเชื้อแช่แข็งกลุ่มละ 8 หลอด ที่ความเข้มข้นของอสุจิมีชีวิตที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าจำนวน 30 ล้านตัว/หลอด
4. ให้นักศึกษาบรรจุน้ำเชื้อ และทำการลดอุณหภูมิในกล่องโฟมในอัตรา 0.5 °C/นาที โดยใช้น้ำแข็งก้อน และบ่มน้ำเชื้อที่ 5 °C นาน 1 ชั่วโมง
5. ให้นักศึกษาแช่แข็งตามวิธีที่กล่าวข้างต้น และทำการตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อหลังการแช่แข็งโดยการละลายในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 30 วินาที และตรวจการเคลื่อนที่ไปข้างหน้าของอสุจิ
6. ให้นักศึกษาบันทึกผลการฝึกปฏิบัติ สรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

คำถาม

1. ให้นักศึกษาสรุปหลักการของการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง
2. ให้นักศึกษาอธิบายถึงปัญหาและข้อผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นในการทำน้ำเชื้อแช่แข็งอย่างง่ายทุกขั้นตอน รวมทั้งแนวทางในการแก้ไข
3. ท่านคิดว่าขั้นตอนใดสำคัญที่สุดในการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง อธิบาย

บรรณานุกรม

Bearden, H.J. and Fuquay, J.W. 1997. Applied Animal Reproduction. Prentice-Hall, Inc. USA. 351 p.

Garner, D.L. 1991. Artificial insemination. In: Reproduction in Domestic Animals. P.T. Cupps (ed). Academic Press, Inc. USA. pp 251-279.

Rasbech, N.O. 1993. Artificial Insemination. In : Reproduction in Domestic Animals. G.J. King (ed). Elsevier Science publisher B.V. The Natherlands. Pp. 365-386.

ชื่อ-สกุล.....รหัส.....กลุ่ม.....ว/ด/ป.....

แบบรายงานปฏิบัติการที่ 7
การทำน้ำเชื้อโคแช่แข็งอย่างง่าย

ผลการศึกษา

หมายเลขพ่อพันธุ์	การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ									Motility (%)	
	ปริมาณ (มล.)	สี	pH	Mass activity	Motility (%)	Conc. (10^6ตัว /มล.)	Live sperm	ปริมาณน้ำเชื้อ /8 โดส	ปริมาณน้ำยาเจือจาง /8 โดส	ก่อนการแช่แข็ง	หลังการแช่แข็ง

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ปฏิบัติการที่ 8
การรีดน้ำเชื้อและการผสมเทียมไก่

(Semen Collection and Artificial Insemination in Chicken)

อดิศักดิ์ สังข์แก้ว
ประยงค์ แสงศรีเรือง

การรีดน้ำเชื้อและการผสมเทียมในไก่นั้นโดยหลักการแล้วจะคล้ายกับในโค หรือสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆ แต่ในแง่ของเทคนิควิธีการจะแตกต่างกันบ้าง เนื่องจากลักษณะทางสรีระที่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามการผสมเทียมในไก่เป็นสิ่งที่มีประโยชน์มากโดยเฉพาะในการปรับปรุงพันธุ์เช่นเดียวกับโคหรือสัตว์ชนิดอื่นๆ โดยเทคนิควิธีการรีดน้ำเชื้อและการผสมเทียมในไก่มีดังนี้

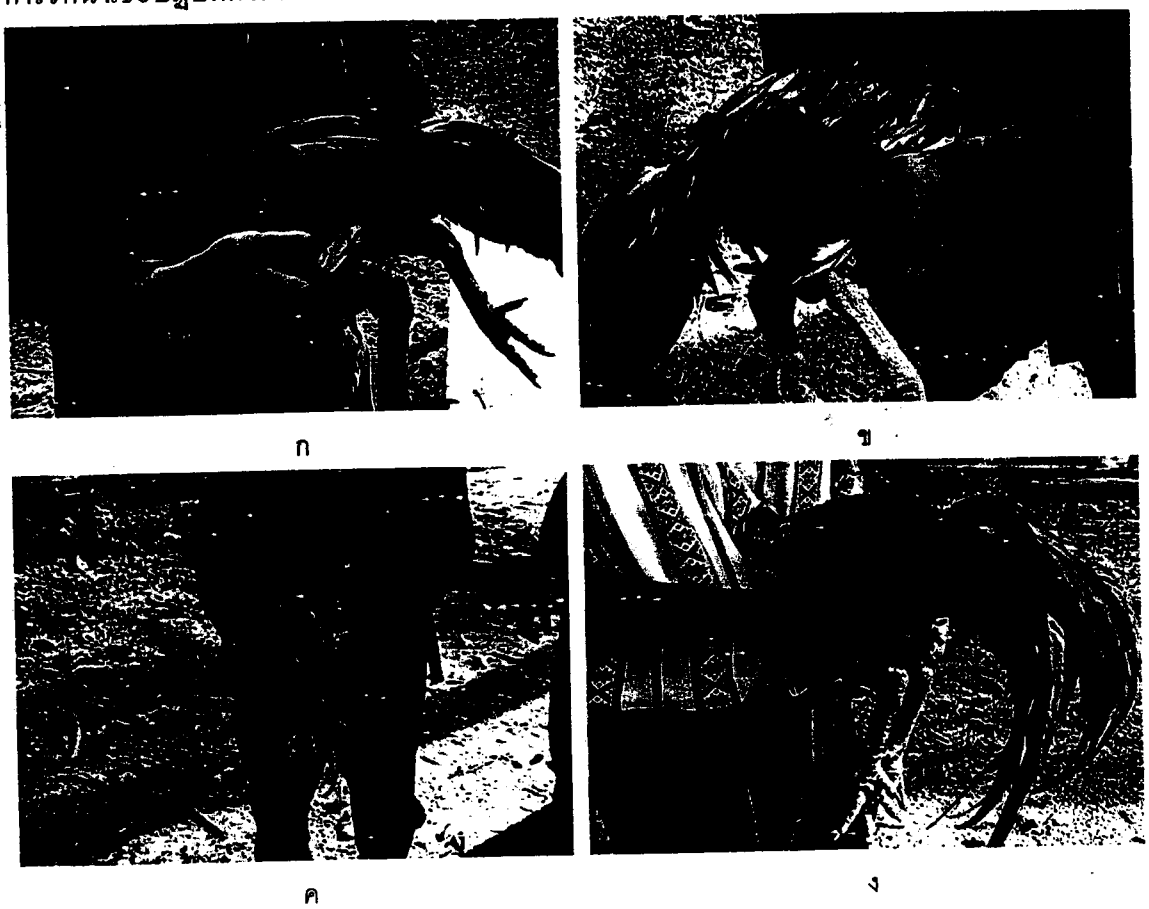
การรีดน้ำเชื้อ

1. การบังคับไก่สำหรับรีดน้ำเชื้อ

1.1 การจับไก่ออกจากคอกหรือออกจากกรง ในกรณีที่ไก่พ่อพันธุ์เลี้ยงปล่อยในคอก ทำการจับไก่โดยการใช้ตะขอเกี่ยวที่ขาแล้วจึงรวบขาขึ้นมาอุ้มโดยให้ไก่หันหน้าไปด้านหลัง หัวซุกในซอกแขนใช้มือด้านซ้ายช้อนที่หน้าอกและใช้มือขวากดหลังไว้เบาๆ ในกรณีที่เลี้ยงในกรงให้ใช้มือด้านที่ถนัดรวบจับที่ขา แล้วใช้มืออีกด้านเปิดประตูกรงให้กว้างก่อนดึงไก่ออกมาแล้วอุ้มไก่ไว้ตามวิธีที่กล่าวข้างต้น (ในกรณีที่จับไก่ในกรงตับนี้เมื่อจับขาไก่ได้แล้วไม่ควรใช้อีกมือเข้าไปช่วยจับปีกเพราะจะทำให้ไก่ดิ้นมากอาจทำให้ไก่บาดเจ็บได้)

ภาพที่1 แสดงการอุ้มบังคับไก่พ่อพันธุ์

1.2 การอุ้มบังคับไก่เพื่อรีดน้ำเชื้อ จากการบังคับไก่ในข้อ 1.1 ให้จับรวบขาไก่ทั้งสองข้างด้วยมือซ้าย ใช้มือขวารวบขนปีกไปจับรวมกับขาบริเวณเหนือข้อเข่า และทำเหมือนกันในอีกด้านที่เหลือ และให้หลังมือที่จับขาไก่แตะกันแต่ไม่ให้ขาไก่ชิดกัน ยกไก่ให้สูงในระดับที่ผู้ทำการรีดน้ำเชื้อปฏิบัติการงานได้สะดวก



ภาพที่2 แสดงการจับบังคับไก่พ่อพันธุ์เพื่อรีดน้ำเชื้อ
(ก ข) การรวบปลายปีกเข้ากับขาบริเวณเหนือข้อเข่าโดยทำทีละข้าง (ค ง) ให้หลังมือที่จับขาไก่แตะกันแต่ขาไก่ไม่ชิดกัน ยกไก่ให้สูงในระดับที่ผู้ทำการรีดน้ำเชื้อปฏิบัติการงานได้สะดวก

2. การรีดน้ำเชื้อ

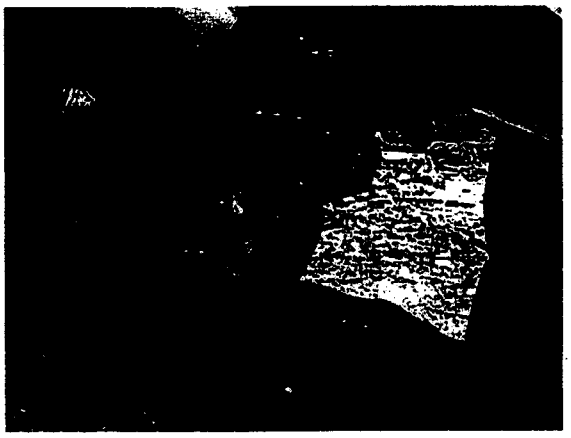
2.1 ผู้รีดน้ำเชื้อเตรียมหลอดเก็บน้ำเชื้อ บีกเกอร์ หรือกรวยสำหรับรองน้ำเชื้อ โดยถือด้วยมือข้างที่ไม่ถนัด (อยู่ด้านท้ายของตัวไก่) เข้าหาไก่ที่จะรีดน้ำเชื้อทางด้านที่ผู้จับไก่อุ้มไก่ไว้

2.2 จะต้องกระตุ้นให้พ่อไก่พร้อมที่จะหลั่งน้ำเชื้อ โดยการกางมือข้างที่ถนัดลูบจากไหล่พ่อพันธุ์ไปทางทวารหนักไปถึงส่วนก้น พ่อไก่จะตอบสนองการกระตุ้นโดยการกระดก

หางขึ้น ในขณะเดียวกันอวัยวะเพศจะยื่นออกมาเห็นเป็นติ่งที่ส่วนเปิดร่วมของทวารหนักและอวัยวะเพศ (cloaca) ให้ลูบกระตุ้นประมาณ 2-3 ครั้ง จึงรีบทำการตวัดเปิดหางไก่ขึ้นเพื่อนวด cloaca รีดน้ำเชื้อ หรือถ้าไก่ตัวไม่โตมากสามารถที่จะสอดนิ้วหัวแม่มือและนิ้วชี้อ้อมผ่านก้นของไก่มาจับกดบริเวณ cloaca เข้าไปแล้วบีบรีดน้ำเชื้อออกมา (การบีบรีดน้ำเชื้อจะต้องทำด้วยความนุ่มนวล เพราะถ้าทำรุนแรงจะทำให้เลือดออกได้ง่าย) ใช้หลอดเก็บน้ำเชื้อ กรวยแก้วหรือบีกเกอร์รองรับน้ำเชื้อที่ไหลออกมา ควรป้องกันอย่าให้ถูกแสงและรีบนำไปตรวจคุณภาพและจัดการต่างๆ ตามต้องการต่อไป (ปริมาณน้ำเชื้อของไก่โดยทั่วไปจะรีดได้ 0.2-0.8 มล. ขึ้นกับความถี่ในการรีด และความชำนาญในการรีดของผู้รีด)

ก

ข



ค

ง

ภาพที่3 แสดงการรีดน้ำเชื้อไก่พ่อพันธุ์

(ก ข) การกระตุ้นให้พ่อไก่พร้อมที่จะหลั่งน้ำเชื้อ โดยการลูบจากไหล่พ่อพันธุ์ไปทางทวารหนักไปถึงส่วนก้น (ค) การสอดนิ้วหัวแม่มือและนิ้วชี้อ้อมผ่านก้นของไก่มาจับกดบริเวณ cloaca เพื่อรีดน้ำเชื้อ (ง) ลักษณะของน้ำเชื้อไก่ที่รีดได้

3. การผสมเทียม

3.1 การเตรียมน้ำเชื้อสำหรับผสมเทียม

3.1.1 การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อสำหรับการผสมเทียมโดยใช้หลักการและวิธีการเดียวกับการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อโค ในการเรียนปฏิบัติการที่ผ่านมา

3.1.2 การเจือจางน้ำเชื้อ ในปฏิบัติการนี้ใช้น้ำเกลือร้อยละ 0.9 (0.9% NaCl) เจือจางให้มีอสุจิมีชีวิตที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าประมาณ 150 ล้านตัวต่อโดส ซึ่งในไก่จะฉีดประมาณ 0.1 มล. นั่นคือเจือจางให้มีความเข้มข้น 1500 ล้านตัว/มิลลิลิตร

3.2 การเตรียมแม่ไก่สำหรับผสมเทียม

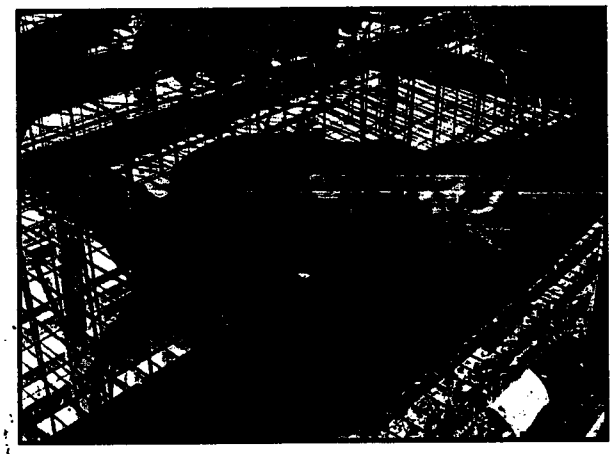
3.2.1 การจับบังคับแม่ไก่ เช่นเดียวกับการจับบังคับไก่พ่อพันธุ์

3.2.2 แม่ไก่จะต้องไม่มีไข่อยู่ในท่อนำไข่ตอนล่าง ดังนั้นเพื่อป้องกันอันตรายจากการปลิ้น cloaca ซึ่งอาจทำให้ไข่แตกได้ ดังนั้นการผสมเทียมจึงควรอยู่ในช่วง 15.00–18.00 น. ซึ่งเป็นเวลาที่แม่ไก่วางไข่แล้ว และควรจะคลำช่องท้องตรวจว่ามีไข่อยู่ในช่องท้องก่อนทำการปลิ้น cloaca ทุกครั้ง

3.3 การทำการผสมเทียม

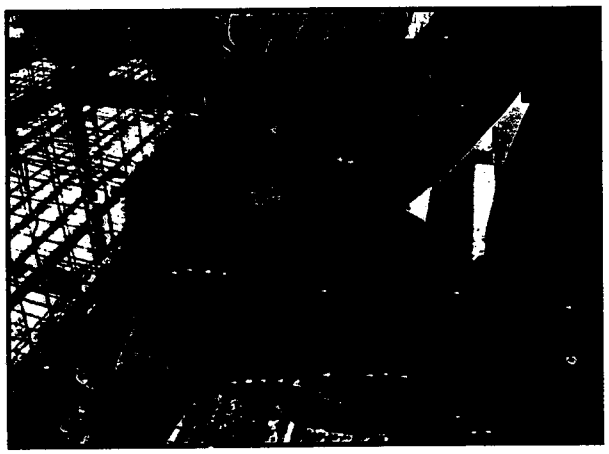
3.3.1 ผู้ที่ทำการบังคับแม่ไก่โดยใช้มือด้านที่ไม่ถนัดจับรวบขาไก่ทั้งสองข้างไว้ด้วยกันไว้ มือด้านที่เหลือทำการปลิ้นก้น โดยการใช้หัวแม่มือกดที่หลังไก่ นิ้วชี้กดที่เหนือ cloaca ใต้ก้นของไก่ ส่วนนิ้วกลาง นิ้วนาง และนิ้วก้อยกดที่ช่องท้องด้านล่าง cloaca ทุกส่วนออก แรงกดจะทำให้ส่วน cloaca ปลิ้นทะลักนูนออกมา จะเห็นรูเปิดของท่อนำไข่ 1 รู อยู่ทางด้านซ้ายของตัวไก่ ส่วนอีกรูจะเป็นท่อทวารหนัก การกดปลิ้น cloaca เพื่อผสมเทียมนี้จะต้องไม่กดแรงเกินไป เพราะจะทำให้การสอดไซริงค์ผสมเทียมยาก และน้ำเชื้อล้นออกมาได้ง่าย

3.3.2 ผู้ที่ทำการผสมเทียม ทำการผสมโดยใช้ไซริงค์ขนาด 1.0 มล. ดูดน้ำเชื้อที่เจือจางไว้ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร สอดเข้าไปในรูเปิดของท่อนำไข่ลึกประมาณ 1 นิ้ว แล้วค่อยๆ ฉีดน้ำเชื้อเข้าไปในขณะเดียวกับที่ผู้ที่ทำการปลิ้น cloaca ไก่ ก็จะต้องค่อยๆ คลายมือที่ปลิ้น cloaca ไก่ออกพร้อม ๆ กัน จนกระทั่งฉีดน้ำเชื้อหมดก็จะปล่อยการปลิ้นก้นเช่นกัน (น้ำเชื้อที่ผสมเทียมนั้นสามารถจะมีชีวิตและสามารถผสมกับไข่ได้นาน 2-3 วัน ดังนั้นจะทำการผสมเทียมไก่เพียง 2 ครั้ง/สัปดาห์ก็พอเพียง)



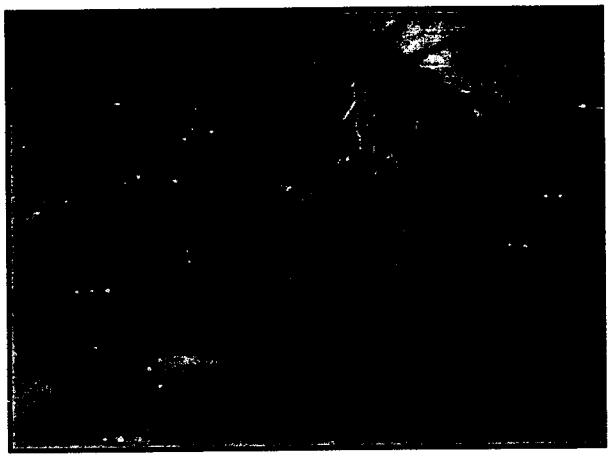
ก

ข



ค

ง



ค

ง

ภาพที่4 แสดงการผสมเทียมไก่

(ก) การจับบังคับแม่ไก่ออกจากกรง (ข) การจับบังคับแม่ไก่เพื่อผสมเทียมโดยการรวบขาและปลายปีก (ค ง จ) การปลิ้นก้นโดยใช้หัวแม่มือกดที่หลังไก่ นิ้วชี้กดที่เหนือ cloaca นิ้วที่เหลือกดที่ช่องท้องเมื่อกดจะทำให้ส่วน cloaca ปลิ้นทะลักนูนออกมา (ฉ) การผสมเทียมที่รูเปิดของท่อนำไข่

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้นักศึกษาสามารถรีดน้ำเชื้อไก่ได้อย่างถูกต้อง
2. เพื่อให้นักศึกษาสามารถผสมเทียมไก่ได้อย่างถูกต้อง

อุปกรณ์

1. ไก่พ่อ-แม่พันธุ์
2. บีกเกอร์ขนาด 25 มล. หรือหลอดทดลองขนาด 5- 15 มล.
3. กรวยแก้ว
4. น้ำเกลือ
5. ไซริงค์ขนาด 1 มล.
6. กระดาษชำระ
7. อุปกรณ์ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ
   - สี eosins nigrosin
   - สี William strain
   - formal saline
   - normal saline
   - pH paper
   - emulsion oil
   - กระดาษเช็ดเลนส์
   - กล้องจุลทรรศน์
   - tally counter
   - ปิเปตเม็ดเลือดแดงพร้อมปากดูด
   - slide และ cover slide

วิธีการศึกษา

1. ให้แบ่งนักศึกษาเป็น 4 กลุ่ม และให้จับคู่กัน 2 คน/ไก่ 1 ตัว โดยผลัดเปลี่ยนกันเป็นผู้ฝึกปฏิบัติ และผู้ช่วยในการฝึกปฏิบัติ
2. ให้นักศึกษาฝึกจับบังคับไก่พ่อพันธุ์ ทั้งการเอาออกจากกรง และการจับบังคับเพื่อรีดน้ำเชื้อ จากนั้นให้แต่ละกลุ่มรีดน้ำเชื้อ

3. ให้นักศึกษาแต่ละกลุ่มตรวจคุณภาพน้ำเชื้อโดยใช้หลักการและวิธีการเดียวกับการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อโค และเตรียมน้ำเชื้อสำหรับการผสมเทียมโดยเจือจางให้มีอสุจิมีชีวิต 1500 ล้านตัว/มล.

4. การฝึกปฏิบัติการผสมเทียม ให้นักศึกษาฝึกจับบังคับไก่แม่พันธุ์ ทั้งการเอาออกจากกรง และการจับบังคับเพื่อฉีดน้ำเชื้อ จากนั้นให้แต่ละกลุ่มฝึกปฏิบัติการผสมเทียมโดยใช้ไซริงค์ขนาด 1 มล. โดยทำการผสม 0.1 มล./โดส

5. ให้นักศึกษาบันทึกผลการฝึกปฏิบัติ สรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

คำถาม

1. ท่านคิดว่าขั้นตอนใด เป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุดในการรีดน้ำเชื้อและผสมเทียมไก่
2. ให้บอกความผิดพลาดที่อาจเกิดในการรีดน้ำเชื้อและผสมเทียมไก่

บรรณานุกรม

สุจินต์ สิมารักษ์. 2532. สรีระวิทยาการสืบพันธุ์ของสัตว์ปีก. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 166 หน้า.

Etches, R.J. 1993. Reproduction in poultry. In : Reproduction in Domestic Animals. G.J. King (ed). Elsevier Science publisher B.V. The Natherlands. pp. 493-530.

Floman, D.P. 1995. Biology of semen productionand ejaculation. In: Proceedings First International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry. M.R. Bask and G.J. Wishart (ed). Poultry Science Association, Inc. USA. pp. 21-38.

Hunter, R.H.F.H. 1985. Reproduction of Farm Animals. Longman Group (FE) Limited. Hong Kong.

Michael, J.W. 1995. Management of broiler breeder for artificial insemination. In : Proceedings First International Symposium on the Artificial Insemination of Poultry. M.R. Bask and G.J. Wishart (ed). Poultry Science Association, Inc. USA. pp 59-65.

ชื่อ-สกุล.....รหัส.....กลุ่ม.....ว/ด/ป.....

แบบรายงานปฏิบัติการที่ 8
การรีดน้ำเชื้อและการผสมเทียมไก่

ผลการศึกษา

การตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ								
ปริมาณ (มล.)	สี	pH	Mass activity	Motility (%)	Conc. (10^6ตัว /มล.)	Live sperm	ปริมาณน้ำเชื้อ / โดส	ปริมาณน้ำยาเจือจาง / โดส

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ปฏิบัติการที่ 9
การรีดน้ำเชื้อสุกร
(Semen collection in Boar)

อดิศักดิ์ สังข์แก้ว
ประยงค์ แสงศรีเรือง

การผสมเทียมสุกรเป็นที่นิยมแพร่หลายในการผลิตสุกร เนื่องจากสามารถใช้พ่อพันธุ์ที่ดีได้อย่างคุ้มค่า เป็นการกระจายลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีทำให้ปรับปรุงพันธุ์ได้เร็วยิ่งขึ้น และประหยัดค่าใช้จ่ายในการเลี้ยงพ่อพันธุ์จำนวนมาก แต่วิธีการในการเก็บรักษาน้ำเชื้อสุกรนั้น ยังไม่พัฒนาเหมือนในโค-กระบือ โดยเฉพาะการทำน้ำเชื้อแช่แข็ง ดังนั้นสุกรจึงนิยมใช้น้ำเชื้อสดในการผสมเทียม ทำให้ต้องมีการรีดน้ำเชื้อบ่อยครั้งเพื่อให้มีน้ำเชื้อใช้ตลอดเวลา ในปฏิบัติการนี้นักศึกษาจะได้ทำการรีดน้ำเชื้อสุกรโดยวิธีการใช้มือบีบนวดซึ่งเป็นวิธีที่นิยมกันในปัจจุบัน โดยเทคนิควิธีการรีดน้ำเชื้อสุกรมีดังนี้

1. การเตรียมสัตว์

1.1 การตรวจระบบสืบพันธุ์ของพ่อสุกร

1.1.1 อวัยวะสืบพันธุ์ภายนอก

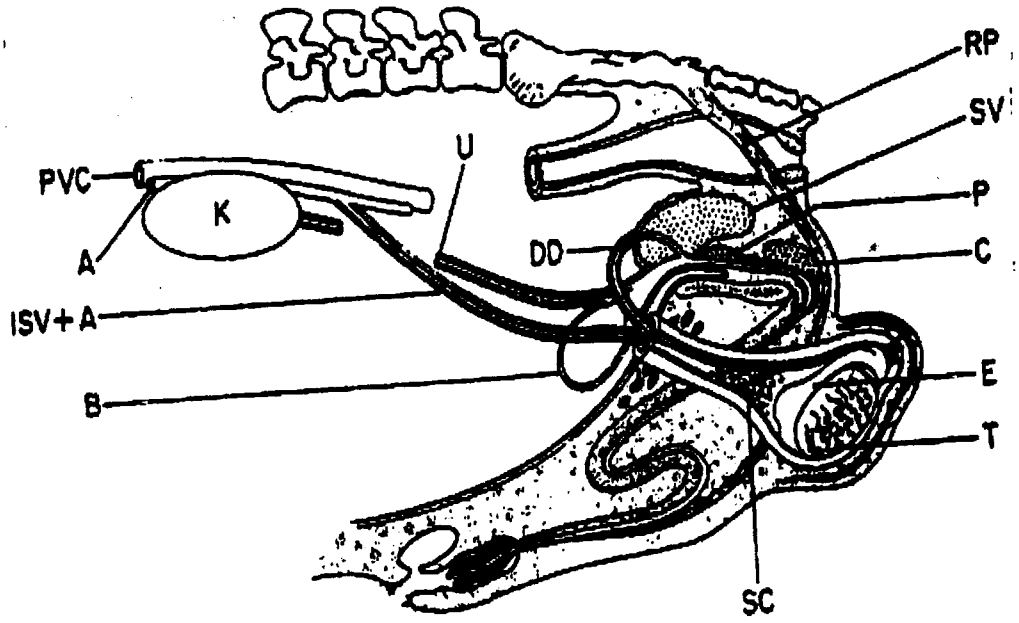
ลึงค์และหนังหุ้มลึงค์ (penis and prepuce) ให้นักศึกษาตรวจ prepuce ว่าเป็นปกติหรือไม่ ลักษณะของเนื้อเยื่อภายในว่ามีแผลเรื้อรัง หรือมีการคั่งของน้ำปัสสาวะ ให้คลำผิวด้านนอกจนถึงอัณฑะดูว่า penis มีขนาดและลักษณะปกติหรือไม่ สามารถยื่นออกมานอก prepuce ได้หรือไม่

อัณฑะและถุงหุ้ม (testis and scrotum) ตรวจดูว่าลักษณะของ scrotum ว่ามีลักษณะปกติมีตุ่ม ฝี แผล หรือไม่ ขนาดเล็กหรือใหญ่ สมส่วนกับตัวหรือไม่ ดันเลื่อนดูว่าเกิด adhesion หรือไม่ ปกติควรจะเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระภายใน scrotum ใช้มือกด testis ทั้ง 2 ข้างเปรียบเทียบกันว่ามีความคงตัวและยืดหยุ่นเหมือนกันหรือไม่ ถ้า testis แข็งอาจจะเป็นฝีภายใน ถ้านิ่มเหลวคล้ายวุ้น (hydrocle) แสดงว่า testis ไม่สามารถผลิตอสุจิได้

epididymis จะสามารถคลำส่วนหางของ epididymis (cauda epididymis) จะสามารถคลำได้ง่าย ซึ่งจะอยู่ทับบนของ testis ทั้ง 2 ข้าง ควรมีเนื้อแน่นและขนาดเท่า ๆ กัน ถ้าหากแข็งมากและใหญ่ผิดปกติ อาจจะเกิดจากการอักเสบ (epididymitis)

1.1.2 อวัยวะสืบพันธุ์ภายใน

ตรวจโดยการใช้มือล้วงคลำผ่านทางด้านทวารหนักแล้วคลำดูลักษณะของ bulbourethal gland ซึ่งจะล้วงคลำได้ง่าย เพราะต่อมนี้ในสุกรจะมีขนาดใหญ่วางตัวอยู่บนของ urethra ใกล้กับปลายกระดูกเชิงกราน (pubic) ถ้าต่อมมีขนาดเล็กแสดงว่าอาจจะยังเติบโตไม่เต็มที่ หรืออาจใช้ในการแยกสุกรที่ได้รับการตอนกับสุกรที่มี testis อยู่ในช่องท้อง จากการคลำขนาดของต่อม โดยสุกรที่มี testis ในช่องท้องต่อมนี้จะใหญ่กว่าในสุกรที่ตอน



ภาพที่ 1 ระบบสืบพันธุ์เพศผู้

ที่มา : Robert, 1986.

1.2 การทำความสะอาดพ่อสุกรก่อนรีดน้ำเชื้อ

ก่อนการรีดควรอาบน้ำทำความสะอาดตัวให้พ่อสุกรแล้วปล่อยให้ตัวแห้งก่อนจึงทำการรีด แต่ในปฏิบัติการนี้ให้นักศึกษาล้างหรือใช้ผ้าชุบน้ำเช็ดบริเวณ prepuce ให้สะอาด และตัดขนบริเวณรูเปิดของ prepuce เนื่องจากขณะรีดการจับ penis อาจรวบขนนี้เข้าไปด้วย จะทำให้พ่อสุกรเจ็บ ทำให้รีดไม่ประสบผลสำเร็จ

2. การเตรียมสถานที่รีด

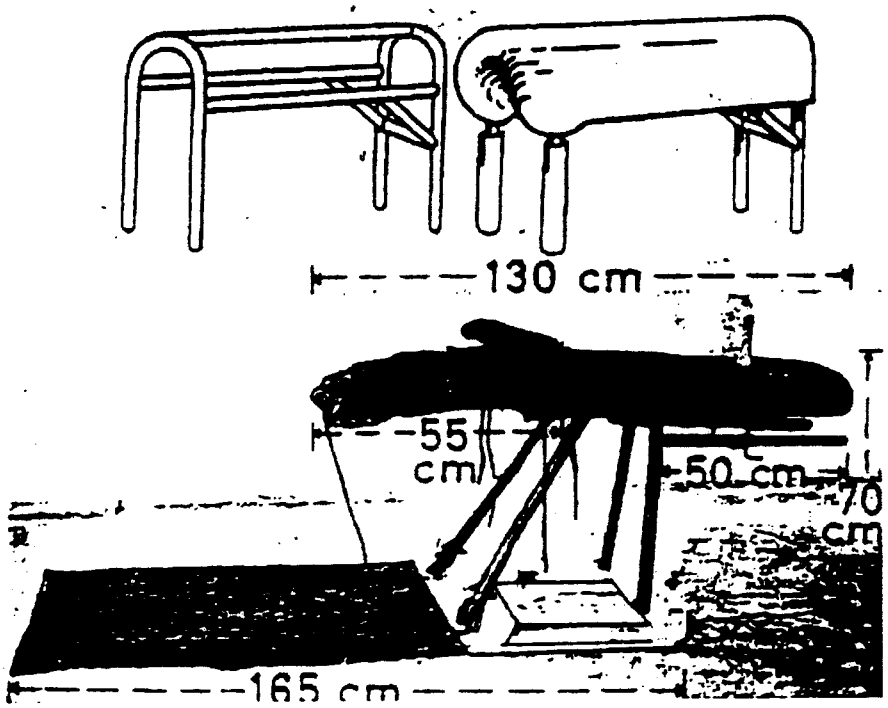
สถานที่ๆ ใช้ในการรีดน้ำเชื้อนั้นต้องแห้งไม่ลื่น มีการระบายอากาศดี อุณหภูมิพอเหมาะไม่สูงหรือต่ำเกินไปและไม่มีเสียงรบกวน สถานที่รีดอาจเป็นคอกที่ขังพ่อสุกรอยู่แล้วก็ได้

โดยการย้ายหุ่นสำหรับการรีดน้ำเชื้อ (dummy) เข้าไปในคอกแต่มีข้อเสียที่สุกรไม่ได้ออกจากคอกเลย สภาพภายในอาจทำให้สุกรไม่อยากขึ้น dummy ได้ ถ้าหากมีคอกรีดแยกต่างหากจะมีส่วนกระตุ้นให้พ่อสุกรมีควรความต้องการทางเพศมากขึ้น

3. การเตรียมอุปกรณ์

3.1 หุ่นสำหรับการรีดน้ำเชื้อ (dummy) สำหรับให้พ่อสุกรขึ้นทับรีดน้ำเชื้อ ขนาดของ dummy ควรเหมาะสมกับขนาดของพ่อสุกรที่จะรีดน้ำเชื้อ วัสดุที่ใช้ทำเป็นโครงอาจเป็นเหล็กหรือไม้ก็ได้ บริเวณตัว dummy ด้านบนควรนูนขึ้นคล้ายหลังเต่า และคลุมด้วยวัสดุไม่ลื่น อาจจะเป็นกระสอบป่านหรือผ้าใบก็ได้ ขนาดโดยทั่วไปจะสูงจากพื้นถึงหลังประมาณ 80 ซม. ยาว 120 เซนติเมตร และความกว้างของหลัง dummy ประมาณ 30 เซนติเมตร

dummy ที่มีการใช้งานเป็นประจำอยู่แล้ว จะสามารถใช้งานได้เลย เพราะจะมีกลิ่นของตัวผู้และกลิ่นน้ำเชื้อติดอยู่ กลิ่นเหล่านี้จะเป็นสิ่งกระตุ้นให้พ่อสุกรมีอารมณ์ทางเพศ แต่หากเป็น dummy ใหม่เราจำเป็นต้องนำกลิ่นสำหรับกระตุ้นมาทา dummy ซึ่งสิ่งที่นิยมใช้กันมีหลายอย่างเช่น น้ำปัสสาวะที่ค้างอยู่ในถุงหุ้มอวัยวะเพศของสุกรเพศผู้ น้ำเชื้อของสุกร น้ำปัสสาวะหรือน้ำเมือกจากอวัยวะเพศของสุกรเพศเมียที่เป็นสัด หรือไข่ขาว เป็นต้น



ภาพที่ 2 หุ่น (dummy) สำหรับให้พ่อสุกรขึ้นทับรีดน้ำเชื้อ

ที่มา : Hafez, 1974.

3.2 อุปกรณ์ที่จำเป็นต้องใช้ในการรีดน้ำเชื้อ ประกอบด้วย เหยือกรีดน้ำเชื้อควรเป็นวัสดุที่ไม่แตกง่าย สามารถป้องกันแสง และรักษาอุณหภูมิได้ดี ผ้าขาวบางหรือผ้าก๊อซสำหรับกรองเม็ดสาคูจากน้ำเชื้อ ยางยืด ถุงมือยาง และกระติกหรือกล่องโฟมสำหรับเก็บน้ำเชื้อ ต้องเตรียมน้ำอุ่นอุณหภูมิ 35-37 °C สำหรับแช่น้ำเชื้อที่รีดได้เพื่อนำไปจัดการตามขั้นตอนต่อไป

4. การรีดน้ำเชื้อ

4.1 ผู้รีดน้ำเชื้อ จะต้องแต่งกายรัดกุม มีผ้ากันเปื้อน สวมรองเท้าบู๊ตมือข้างที่จะใช้รีดน้ำเชื้อจะต้องถอดแหวนออก ตัดเล็บให้สั้น ตะไบลบคมให้หมดและล้างมือให้สะอาด เพื่อป้องกันการติดเชื้อแล้วจึงสวมถุงมือที่เตรียมไว้

4.2 นำพ่อสุกรที่ทำความสะอาดและตัวแห้งแล้ว ไปยังคอกรีดที่เตรียม dummy ไว้

4.3 ปล่อยให้พ่อสุกรเข้าไปดม dummy เมื่อพ่อสุกรได้กลิ่นกระตุ้นอารมณ์เพศแล้วบางตัวอาจดมไปรอบๆ dummy พร้อมกับเคี้ยวปาก ใช้จมูกงัด dummy เหมือนกับการกระตุ้นตัวเมียในการผสมจริง ผู้รีดอาจใช้เสียงตัวเองกระตุ้นให้พ่อสุกรขึ้นหุ่นเร็วขึ้นได้ เช่น คารผิวปาก หรือทำเสียงโทนต่ำๆ กระตุ้นไปเรื่อย ๆ จนกว่าพ่อสุกรจะปีน dummy ให้ผู้รีดเข้าด้านข้างของพ่อสุกรหันหน้าไปด้านหัวหรือท้ายของพ่อสุกรก็ได้

4.4 เมื่อสุกรขึ้น dummy อวัยวะเพศของพ่อสุกร (penis) จะหมุนตัวออกมาและสอดส่ายไปมาเพื่อหาช่องเปิดของอวัยวะเพศเมียพร้อมทั้งจะมีการขยับสะโพกเข้าออก ให้ผู้รีดเข้าด้านข้าง ใช้มือข้างที่ถนัดที่สุดจับ penis จะคว่ำหรือหงายมือก็ได้ตามถนัด แต่การจับโดยการคว่ำมือจะจับได้นานกว่า การจับให้เอามือจับล็อคที่เกลียวของปลาย penis ให้เกลียวเข้าพอดีกับร่องนิ้วมือล็อค penis ไว้ให้แน่นอย่างให้หลุด (ควรระวังอย่าจับที่ส่วนลำตัวของลึงค์ที่ไม่ใช่เกลียว เพราะจะทำให้พ่อสุกรเจ็บและลงจาก dummy ได้) แรงบีบรัดที่ส่วนเกลียวของ penis จะกระตุ้นให้พ่อสุกรยื่น penis ออกมาจนสุด โดยผู้รีดอาจใช้มือดึงช่วยเบาๆ จากนั้นพ่อสุกรจะหยุดการเคลื่อนไหวยืนนิ่งให้คลายมือออกเล็กน้อย แต่อย่าให้ penis หลุดได้ แล้วทำการกระตุ้นการหลั่งน้ำเชื้อ โดยการบีบมือเข้าออกเป็นจังหวะ และอาจใช้นิ้วเขี่ยเบาๆ ที่ปลาย penis ช่วยกระตุ้นอีกทางก็ได้

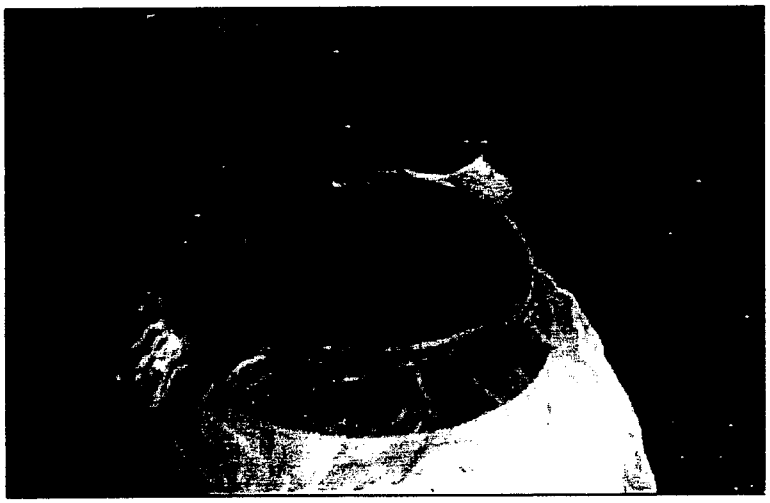
ในขณะที่หลั่งน้ำเชื้อพ่อสุกรจะอยู่นิ่งและจะใช้เวลาหลั่งนานประมาณ 3-15 นาที จะได้น้ำเชื้อประมาณ 80-300 ซีซี (ไม่รวมเม็ดสาคู) การหลั่งน้ำเชื้ออาจแบ่งออกเป็นระยะๆ คือ ระยะแรก จะเป็นน้ำเชื้อที่มีเม็ดสาคูและน้ำใสๆ ส่วนนี้จะทิ้งไป เพราะมีน้ำเชื้อน้อยและมีแบคทีเรียปนอยู่มาก ระยะที่ 2 จะเป็นสีขาวขุ่น ให้นำเหยือกที่เตรียมไว้ มารองเก็บเพราะเป็นส่วนที่มีน้ำเชื้อมาก ระยะที่ 3 เป็นของเหลวใสปนเม็ดสาคู ซึ่งการหลั่งน้ำเชื้อของพ่อสุกรจะหลั่งเป็นช่วง อาจเป็นน้ำใสสลับน้ำขุ่น น้ำใสเม็ดสาคู จนกว่าอวัยวะเพศของพ่อสุกรอ่อนตัวลงจึงคลายมือออก พ่อสุกรก็จะลง dummy เป็นอันว่าเสร็จสิ้นการรีดเก็บน้ำเชื้อ

น้ำเชื้อที่ได้ ให้นำไปเก็บในกระติกน้ำอุ่น เพื่อที่จะตรวจสอบคุณภาพและดำเนินการตามขั้นตอนต่อไป

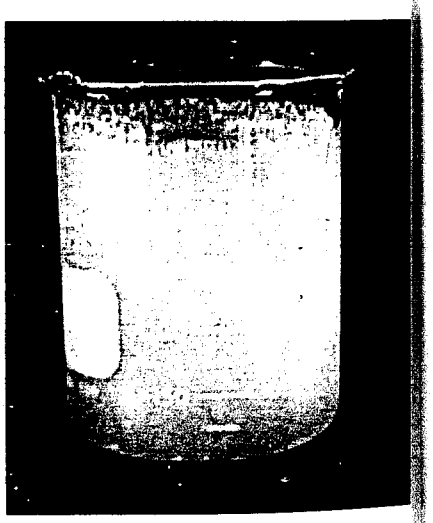
ในกรณีที่สุกรขาหลังไม่แข็งแรงจะทำให้ขึ้นปีนหุ่นไม่ได้นาน จำเป็นต้องมีผู้ช่วยดัน โดยให้เข้าด้านหลังสุกรใช้มือ 2 ข้างจับหางและใช้หน้าขาดันบั้นท้ายของพ่อพันธุ์ไว้ ถ้าหากสุกรจะหล่นลงด้านข้างของหุ่น จำเป็นต้องมีผู้ช่วยคอยดันไว้ด้วย

ก

ข



ค



ง

ภาพที่ 3 แสดงการรีดน้ำเชื้อสุกร

ก : การขึ้นปีนหุ่นของสุกรพ่อพันธุ์

ข : การจับล็อคที่เกลียวของปลาย penis

ค : การกระตุ้นการหลั่งน้ำเชื้อ โดยการบีบมือเข้าออกเป็นจังหวะ และใช้นิ้วเขี่ยเบาๆ ที่ปลาย penis

ง : น้ำเชื้อของสุกรพ่อพันธุ์ที่รีดได้

อุปกรณ์

1. สุกรพ่อพันธุ์
2. หุ่น (dummy)
3. กระติกรีดน้ำเชื้อสุกร และ ผ้าขาวบางพร้อมยางรัด
4. ถุงมือตรวจสอบ (Latex grove)
5. กระติกหรือกล่องโฟมสำหรับเก็บน้ำเชื้อ
6. อุปกรณ์ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อ
   - สี eosins nigrosin
   - สี William strain
   - formal saline
   - normal saline
   - pH paper
   - emulsion oil
   - กระดาษเช็ดเลนส์
   - กล้องจุลทรรศน์
   - tally counter
   - ปิเปตเม็ดเลือดแดงพร้อมปากดูด
   - slide และ cover slide

วิธีการศึกษา

1. แบ่งนักศึกษาเป็นกลุ่มตามจำนวนพ่อพันธุ์สุกรที่สามารถรีดน้ำเชื้อได้
2. ให้นักศึกษาแบ่งหน้าที่ในการปฏิบัติการรีดน้ำเชื้อ และทำการรีดน้ำเชื้อ
3. ให้นักศึกษาแต่ละกลุ่มตรวจคุณภาพน้ำเชื้อโดยใช้หลักการและวิธีการเดียวกับการตรวจคุณภาพน้ำเชื้อโค
4. ให้นักศึกษาบันทึกผลการฝึกปฏิบัติ สรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

คำถาม

1. ท่านคิดว่าอะไรบ้างที่จะทำให้การรีดน้ำเชื้อประสบความสำเร็จ
2. ท่านคิดว่าอะไรบ้างที่จะทำให้พ่อสุกรบาดเจ็บจากการรีดน้ำเชื้อ

บรรณานุกรม

พีรศักดิ์ สุทธิโยธิน. 2530. การผสมเทียม. โอเอพริ้นติ้งเฮาส์. กรุงเทพมหานคร.

ศรีสุวรรณ ชมชัย. 2531. คู่มือปฏิบัติการการผสมเทียมในสุกร. ไทยวัฒนาพานิช. กรุงเทพมหานคร.

Bearden, H.J. and Fuquay, J.W. 1997. Applied Animal Reproduction. Prentice-Hall, Inc. USA. 351 p.

Crabo, B.G. 1997. Reproductive Examination and Evaluation of the boar. In: Reproduction in Domestic Animals. P.T. Cupps (ed). Academic Press, Inc. USA. pp. 664-669.

Gibson, C.D. and Thacker B.J. 1986. Physical Examination of new boars introduced to the herd. In: Reproduction in Domestic Animals. P.T. Cupps (ed). Academic Press, Inc. USA. pp. 967-969.

Larsen, R.E. 1986. Semen Collection from the boar. In: Reproduction in Domestic Animals. P.T. Cupps (ed). Academic Press, Inc. USA. pp. 969-972.

Rasbech, N.O. 1993. Artificial insemination. In : Reproduction in Domestic Animals. G.J. King (ed). Elsevier Science Publisher B.V. The Natherlands. pp. 365-386.

Setchell, B.P. 1987. Male reproduction organ and semen. In: Reproduction in Domestic Animals. P.T. Cupps (ed.). Academic Press, Inc. USA. pp. 221-250.

ชื่อ-สกุล.....รหัส.....กลุ่ม.....ว/ด/ป.....

แบบรายงาน

ปฏิบัติการที่ 9 การรีดน้ำเชื้อสุกร

ผลการศึกษา

กลุ่ม (หมายเลขพ่อพันธุ์)	การตรวจคุณภาพ								
	ปริมาณ (มล.)	สี	pH	Mass activity	Motility (%)	Conc. (10^6ตัว/มล.)	Live sperm	ความผิดปกติส่วนหัว (%)	ความผิดปกติส่วนหาง (%)

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

ปฏิบัติการที่ 10

การฝึกเก็บและการย้ายฝากไข่โค (อวัยวะจากโรงฆ่าสัตว์)

(Practice of Collection Flushing and Embryo Transfer in Cattle Specimens)

อดิศักดิ์ สังข์แก้ว
ประยงค์ แสงศรีเรือง

การย้ายฝากตัวอ่อน เป็นเทคนิคการนำเอาตัวอ่อนในระยะก่อนที่จะฝังตัวกับมดลูกที่ได้จากพ่อแม่ที่ดี หรือตัวให้ (donor) ไปใส่ไว้ในปีกมดลูกของสัตว์อีกตัวหนึ่ง ซึ่งเรียกว่าตัวรับ (recipient) การย้ายฝากตัวอ่อน ประกอบด้วยเทคนิคที่เกี่ยวข้องได้แก่ การเพิ่มจำนวนการตกไข่ในตัวให้ การผสมพันธุ์ การเก็บตัวอ่อน การประเมินคุณภาพ การเก็บรักษา และการย้ายฝากตัวอ่อนแก่แม่ตัวรับ

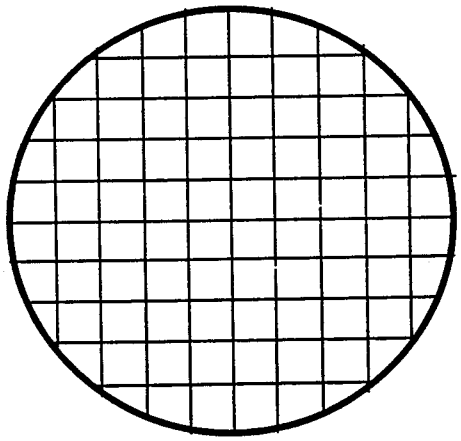
ในปฏิบัติการนี้จะเป็นการฝึกปฏิบัติในส่วนของเทคนิคการเก็บไข่ (oocyte) โคในรังไข่จากโรงฆ่าสัตว์ ทำการย้ายฝากไข่ในมดลูกจากโรงฆ่าสัตว์ และเก็บไข่ดังกล่าวโดยการชะล้างอีกครั้งหนึ่ง โดยเทคนิควิธีการปฏิบัติมีดังนี้มีดังนี้

1. **การเก็บโอโอไซท์จากรังไข่โคจากโรงฆ่าสัตว์** วิธีการโดยนำรังไข่โคมาตัดเอาะพังผืดออก ซับเลือดด้วยผ้าก็อส ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเกลือ 2-3 ครั้ง จากนั้นแช่ในน้ำเกลือเพื่อรอการเก็บโอโอไซท์ต่อไป ซึ่งวิธีการเก็บโอโอไซท์ที่จะฝึกปฏิบัติในปฏิบัติการนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้กันทั่วไปซึ่งมี 2 วิธีคือ

1.1 วิธีการเก็บโอโอไซท์โดยการกรีดรังไข่ ให้นักศึกษานำรังไข่ที่เตรียมไปใส่ในน้ำเกลือ (ผสมซีรั่มโค 20%)ในจานพลาสติก (petri disk) ใช้มีดผ่าตัดที่สะอาดกรีดรังไข่บางๆ (ไม่ควรหนาเกิน 1 มม.) แกว่งรังไข่เพื่อล้างโอโอไซท์ให้ออกมาอยู่ใน petri-disk (น้ำเกลือไม่ควรมากเกินไปจะทำให้การค้นหาโอโอไซท์ง่ายขึ้น) การค้นหาทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ และดูดเก็บโอโอไซท์ที่พบ ใน petri-disk อีกใบ (petri-disk สำหรับหาโอโอไซท์ เตรียมโดยการตีเส้นเป็นตารางสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดพื้นที่ประมาณ 1 ตร.ซม./ตาราง โดยการใช้ cutter กรีด เพื่อความสะดวกในการหาโอโอไซท์ ดังภาพที่ 1)

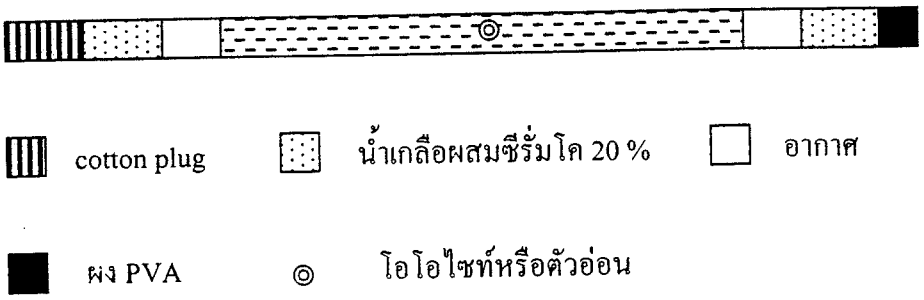
1.2 วิธีการเก็บโอโอไซท์โดยการใช้ไซริงค์ดูดจากรังไข่ ให้นักศึกษานำรังไข่ที่เตรียมไว้มาดูดเก็บโอโอไซท์ โดยการใช้ไซริงค์ขนาด 3-5 มล. และเข็มเบอร์ 18-20 ดูดน้ำเกลือผสมซีรั่มโค 20% ประมาณ 1-1.5 มล. แทงเข็มเข้าไปในเนื้อรังไข่ ดึงก้านไซริงค์เบาๆ เพื่อให้เกิดแรงดูด จากนั้นให้แทงเข็มไปหาฟอลลิเคิลเพื่อดูดโอโอไซท์ โดยขนาดฟอลลิเคิลที่เหมาะสำหรับการดูดเก็บโอโอไซท์เพื่อเพาะเลี้ยงควรมีขนาดระหว่าง 2-8 มม. เมื่อดูดของเหลวในฟอลลิเคิลได้ปริมาตร 3-4 มล.

ให้ถ่ายของเหลวนั้นลงใน petri disk ซึ่งจะต้องทำด้วยความระมัดระวังไม่ให้เซลล์คูมูลัส (cumulus cells)หลุด แล้วดูดน้ำเกลือเพื่อเก็บโอโอไซท์ต่อไป และทำการค้นหาโอโอไซท์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ และดูดเก็บโอโอไซท์ที่พบ ใน petri-disk อีกใบเช่นเดียวกับข้อ 1.1



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะตารางบน petri-disk สำหรับใช้ในการหาตัวอ่อน

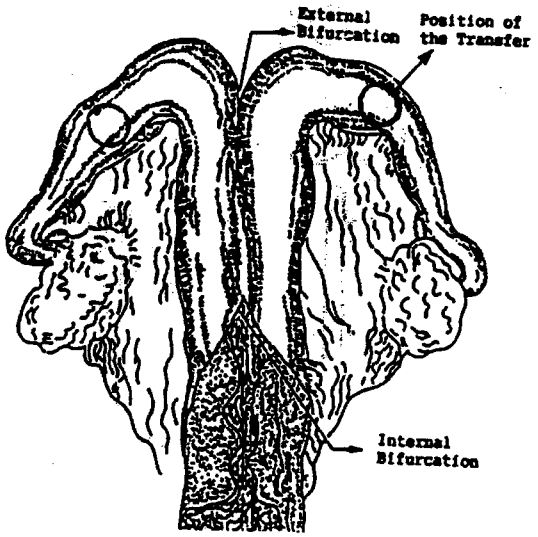
2. **การบรรจุใส่หลอดพลาสติก (French ministraw)** หลอดพลาสติกที่นิยมใช้ในการบรรจุตัวอ่อนมีขนาด 0.25 มล. โดยใช้ไซริงค์ขนาด 1 มล. (tuberculin syringe) ดูดบรรจุตามความยาวของหลอดตามลำดับดังนี้ น้ำเกลือผสมซีรั่มโค 20% ประมาณ 1.5 ซม. อากาศ 1 ซม. โอโอไซท์ 5-6 ซม. อากาศ 1 ซม. น้ำเกลือผสมซีรั่มโค 20% 1.5 ซม. และปิดหลอดด้วยผง PVA (polyvinyl alcohol powder) แล้วทำการตรวจสอบจำนวนโอโอไซท์ที่บรรจุในหลอดโดยกล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะการบรรจุโอโอไซท์ใส่หลอดพลาสติกสำหรับการย้ายฝาก

3. **การบรรจุหลอดโอโอไซท์ในปืนย้ายฝากตัวอ่อน** (ใช้ปืนผสมเทียมในการฝึก) โดยขั้นตอนและวิธีการเตรียมปฏิบัติเช่นเดียวกับการเตรียมปืนผสมเทียมในปฏิบัติการที่ผ่านมา

4. **การย้ายฝากโอโอไซท์** ทำการสอดปืนย้ายฝากตัวอ่อนผ่านคอมดลูกเช่นเดียวกับเทคนิคการสอดปืนผสมเทียม เมื่อผ่านถึงตัวมดลูกแล้วให้ใช้มือด้านที่ล้วงจับปีกมดลูกบริเวณ bifurcation ดัดบังคับให้ตรงเพื่อให้สะดวกในการสอดปืนย้ายฝากตัวอ่อน จะต้องใช้มือคลุมปีกมดลูกไว้ตลอดเวลา และใช้นิ้วสัมผัสเบาๆ ตรวจสอบตำแหน่งปลายปืนย้ายฝากตัวอ่อน เพื่อป้องกันการแทงทะลุมดลูก ทำการสอดลึกประมาณ 2 ใน 3 ของความยาวปีกมดลูกจึงค่อยๆ ปล่อยโอโอไซท์ แล้วถอดปืนย้ายฝากตัวอ่อนออก จากนั้นทำการย้ายฝากโอโอไซท์ในปีกมดลูกด้านที่เหลือ โดยการปฏิบัติเช่นเดียวกับการปฏิบัติในปีกแรก



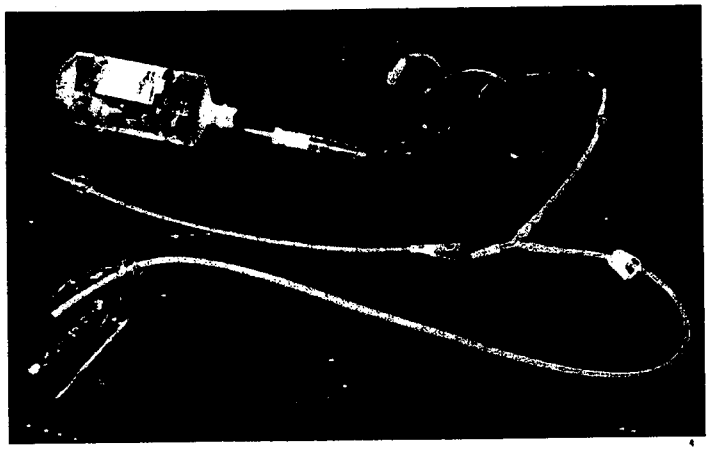
ภาพที่ 3 แสดงตำแหน่งในการการย้ายฝากตัวอ่อน

ที่มา : Japan Livestock Technology Association, 1995.

5. **การชะล้างเก็บโอโอไซท์ในมดลูกโคจากโรงฆ่าสัตว์** เป็นการฝึกการย้ายฝากในตำแหน่งที่เหมือนกับการปฏิบัติจริงใน recipient เพื่อฝึกทักษะ และเพื่อใช้ในการเก็บตัวอ่อนต่อไป

5.1 การ(ล้วง)ตรวจระบบสืบพันธุ์ เพื่อตรวจสอบขนาด และสภาพของมดลูกตลอดจนนับประมาณจำนวนของคอร์ปัสลูเตียม (corpus luteum; CL) หรือ follicle ที่ยังไม่ตกไข่

5.2 การขยายขนาดรูของคอมดลูก เพื่อให้การสอด flushing catheter ทำได้สะดวกอาจจำเป็นต้องขยายขนาดรูของคอมดลูก ซึ่งจะขึ้นกับมดลูกที่ใช้ การขยายทำได้โดยใช้ cervix dilator ที่จะมีหลายขนาดให้เลือกใช้ตามความเหมาะสม



ภาพที่ 4 แสดงระบบท่อต่างๆ ที่ใช้ในการชะล้างเก็บตัวอ่อน

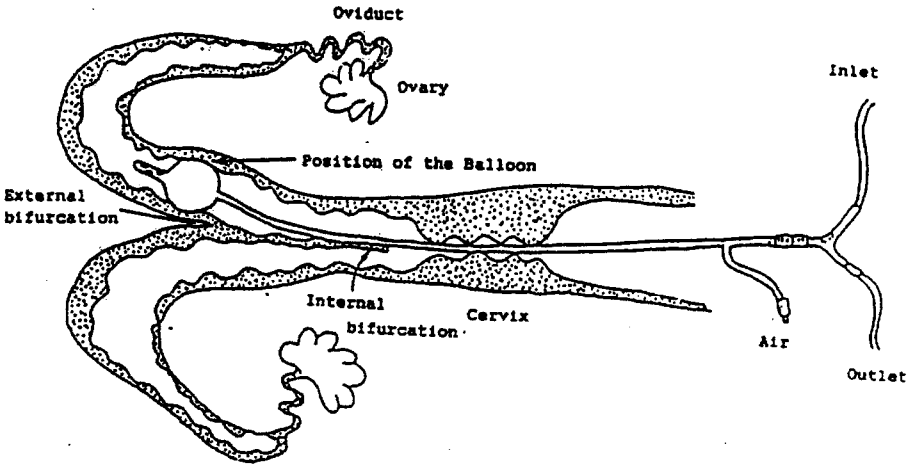
ที่มา : Japan Livestock Technology Association, 1995.

5.3 การเตรียม flushing catheter และอุปกรณ์อื่นๆ ทำการประกอบ flushing catheter กับก้านโลหะแข็ง (stylet) โดยการสอด stylet เข้าใน flushing catheter และควรหล่อลื่น flushing catheter ทั้งภายในและภายนอก ด้วยน้ำยาที่จะใช้ในการชะล้าง จะทำให้การใส่และการถอด stylet ในระหว่างปฏิบัติงานทำได้สะดวก จากนั้นสอด stylet ให้ถึงปลาย catheter ดึงให้ตึง แล้วหนีบด้านท้าย catheter กับ stylet ด้วย artery forceps ที่หุ้มด้วย latex tube เพื่อป้องกัน stylet โผล่ออกมานอก catheter ขณะทำการสอด (stylet บางรุ่นจะมีที่สำหรับยึด catheter โดยตรง)

5.4 การสอด flushing catheter เทคนิคการสอดเช่นเดียวกับการสอดปืนย้ายฝากตัวอ่อนตามข้อ 3 เทคนิคจะแตกต่างบ้างเล็กน้อย เนื่องจาก flushing catheter มีขนาดใหญ่ และอ่อนกว่าปืนย้ายฝากตัวอ่อน ดังนั้นเมื่อสอดผ่านไปประมาณ 1/3 ของปีก ให้ถอยแกน stylet ออกมาประมาณ 2 นิ้ว แล้วจึงดัน flushing catheter เลื่อนลงไปอีกตามความโค้งของปีกมดลูก ให้ปลายของ catheter เลย external bifurcation ประมาณ 1-2 นิ้ว ทำการ fix balloon โดยทั่วไปจะใช้อากาศประมาณ 10-16 มล. ในโคสาวจะใช้อากาศประมาณ 12-14 มล. แม่โค 14-16 มล. ขึ้นกับขนาดของปีกมดลูกและตำแหน่งของ balloon เทคนิคการ fix balloon จะให้ผู้ช่วยเติมลมครั้งแรก 10 มล.ก่อน แล้วค่อยๆ เติมลมเข้าไปอีกช้าๆ จน balloon ปิดท่อปีกมดลูกพอดี ตรวจสอบว่า balloon พอดีหรือไม่โดยการดึงเบาๆ ว่าตำแหน่งเลื่อนหรือไม่ จึงถอด stylet ออก

ภาพที่ 5 แสดงการสอด flushing catheter และการ fix balloon

ที่มา : Japan Livestock Technology Association, 1995.



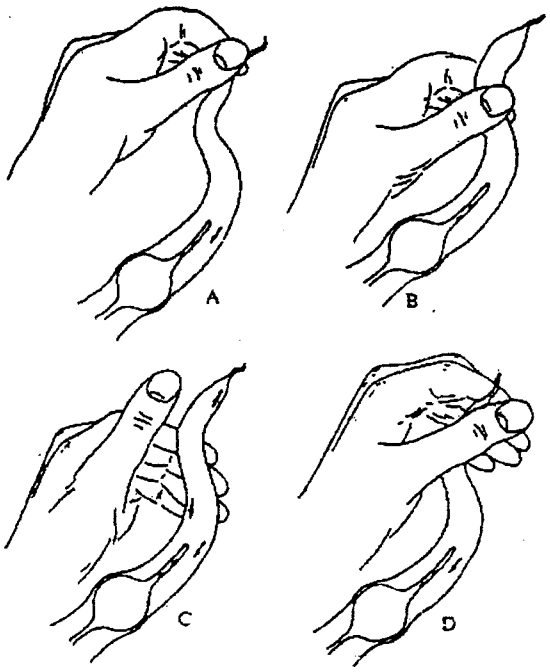
ภาพที่ 6 แสดงตำแหน่งในการ fix balloon

ที่มา : Japan Livestock Technology Association, 1995.

5.5 การชะล้างโอโอไซท์ ทำการฉีดน้ำยาชะล้างโอโอไซท์ เข้าไปในมดลูกโดยทั่วไปจะใช้น้ำยาประมาณ 20-50 มล. ในการชะล้างแต่ละครั้ง แต่ในครั้งแรกไม่ควรใส่น้ำยาเข้าไปมากนักจะทำให้มดลูกตึงเกินไป อาจจะดันโอโอไซท์ออกไปทางท่อนำไข่ (oviduct) ได้ ให้ใช้ประมาณ 15-30 มล. โดยขึ้นกับตำแหน่ง balloon และขนาดมดลูก ใช้มือจับปีกมดลูกจะจับเมื่อเปิดให้น้ำยา

ชะล้างไหลกลับ อาจจะจับส่วนปลายปีกมดลูกยกขึ้นและนวดไล่เบาๆ จากส่วนปลายของปีกมดลูกลงมา (รูปที่ 3) จากนั้นปล่อยให้น้ำยาไหลกลับออกมาลงขวดหรือกระบอกตวงที่เตรียมไว้ ทำการชะล้างโดยใช้น้ำยา 250 มล./ปีกมดลูก วัดปริมาตรน้ำยาที่เก็บได้ เสร็จแล้วทำเช่นเดียวกันในปีกมดลูกด้านที่เหลือ

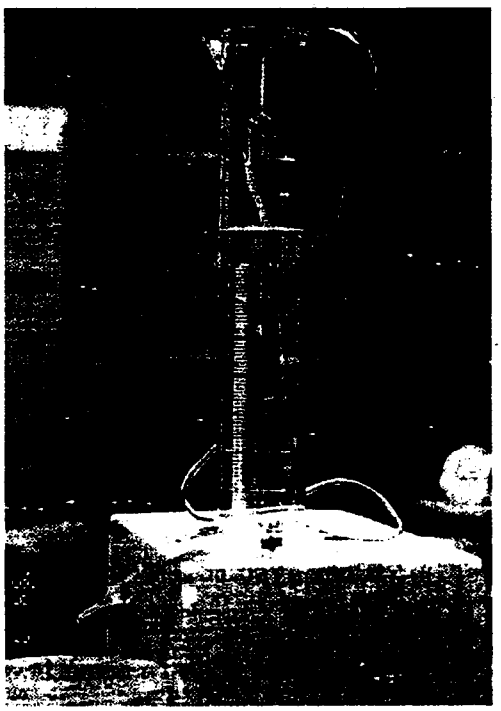
ภาพที่ 7 แสดงการชะล้างตัวอ่อนในโคนม
ที่มา : Japan Livestock Technology Association, 1995.



ภาพที่ 8 แสดงการจับปีกมดลูกในขณะที่ชะล้างเก็บตัวอ่อน
ที่มา : Japan Livestock Technology Association, 1995.

6. การตรวจหาโอโอไซท์

6.1 เตรียมน้ำยาชะล้างโอโอไซท์ที่ได้จากการชะล้างมดลูกโค โดยการนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้ตกตะกอนประมาณ 30 นาที แล้วทำการดูดน้ำส่วนบนนอก ให้เหลือน้ำยาประมาณ 40-50 มล. เทใส่ petri-disk ที่เตรียมไว้ และทำการชะล้างโอโอไซท์ที่อาจติดอยู่กับกระบอกตวงประมาณ 2-3 ครั้ง เทใส่ petri-disk เพื่อนำไปหาโอโอไซท์เช่นกัน



ภาพที่ 9 แสดงการตกตะกอนตัวอ่อนและการดูดน้ำส่วนบนนอก

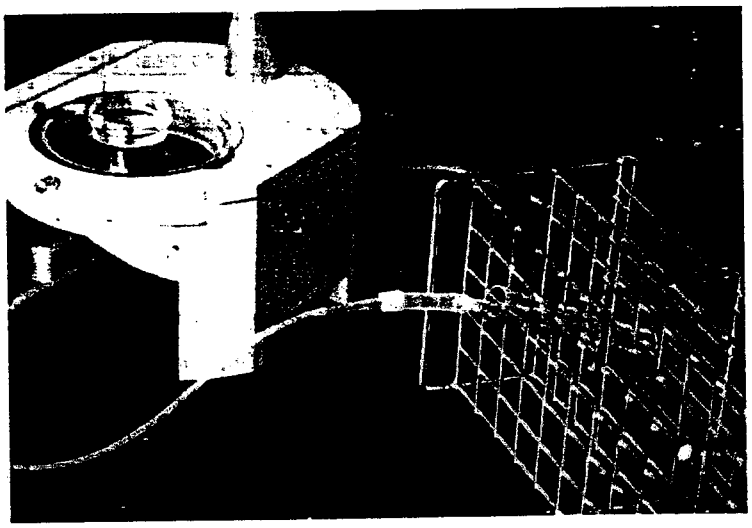
ที่มา : Japan Livestock Technology Association, 1995.

6.2 นำ petri-disk ไปค้นหาโอโอไซท์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ และดูดเก็บโอโอไซท์ที่พบ คำนวณหา % recovery ต่อไป

ในปฏิบัติการนี้จะฝึกปฏิบัติถึงเพียงขั้นนี้ ซึ่งในทางปฏิบัติจริงๆ จะมีการนำ embryos ไปประเมินคุณภาพและนำไปย้ายฝาก เก็บรักษา หรือใช้ในงานอื่นๆ ต่อไป

ภาพที่ 10 แสดงการหาตัวอ่อน

ที่มา : Japan Livestock Technology Association, 1995.



ภาพที่ 11 แสดงอุปกรณ์ ในการหาตัวอ่อน

ที่มา : Japan Livestock Technology Association, 1995.

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้นักศึกษาสามารถเก็บโอโอไซท์จากรังไข่โค
2. เพื่อให้นักศึกษาเข้าใจเทคนิคและสามารถการค้นหาโอโอไซท์หรือตัวอ่อน
3. เพื่อให้นักศึกษาเข้าใจเทคนิคและสามารถย้ายฝากและชะล้างเก็บโอโอไซท์หรือตัวอ่อน

อุปกรณ์

1. มดลูกโคเพศเมีย
2. AI gun, พลาสติกชีท
3. ถุงมือ
4. คาเทเตอร์สำหรับเก็บตัวอ่อน (flushing catheter)
5. กระดาษชำระ (แผ่นใหญ่)
6. ไซริงค์ 10, 50 มล.
7. หลอดพลาสติก (French mini straw)
8. กล้องจุลทรรศน์ชนิดสเตอริโอ
9. น้ำเกลือ (ผสมซีรั่มโค 20%)
10. กระบอกตวง หรือ ขวด ขนาด 250 – 1000 มล.
11. จานพลาสติก (petri disk)
12. ฟาสเจอร์ปิเปตที่ยืดปลาย พร้อมปากดูด
13. cervix dilator

วิธีการศึกษา

1. ให้แบ่งนักศึกษาเป็น 10 กลุ่ม และจัดเตรียมอุปกรณ์ในการศึกษาให้พร้อม
2. ให้นักศึกษาเก็บโอโอไซท์จากรังไข่โคที่จัดให้ โดยวิธีการเก็บจะใช้วิธีเจาะดูด หรือกรีดรังไข่ก็ได้) การค้นหาทำภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ และดูดเก็บโอโอไซท์ที่พบ ใน petri-disk อีกใบ บันทึกจำนวนโอโอไซท์ที่ได้
3. ให้นักศึกษาย้ายฝากโอโอไซท์ที่ได้โดยทำการบรรจุในหลอดขนาด 0.25 มล. จำนวน 2 หลอด ให้ย้ายฝากที่ปีกมดลูกปีกละหลอด และบันทึกจำนวนโอโอไซท์ที่ย้ายฝาก
4. ให้นักศึกษาฝึกการชะล้างเก็บโอโอไซท์ในมดลูกโคจากโรงฆ่าสัตว์ ตามขั้นตอนที่กล่าวไปข้างต้น บันทึกปริมาตรน้ำยาที่ใช้และที่ชะล้างออกมา

5. ให้นักศึกษาฝึกการตรวจหาโอโอไซท์จากการชะล้างจากมดลูกโคจากโรงฆ่าสัตว์ ตามขั้นตอนที่กล่าวไปข้างต้น บันทึกจำนวนโอโอไซท์ที่ค้นพบ
6. ให้นักศึกษาสรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

คำถาม

1. ให้นักศึกษาอธิบายว่าส่วนที่สำคัญที่สุดในขบวนการชะล้างและการหาตัวอ่อนโคคืออะไร
2. ให้นักศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของการฝึกปฏิบัติการชะล้างตัวอ่อนโคในปฏิบัติการนี้กับการปฏิบัติในสัตว์จริง

บรรณานุกรม

เทวินทร์ วงษ์พระลับ. 2542. การสืบพันธุ์ในสัตว์เลี้ยง. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. 329 หน้า.

สัมพันธ์ สิงหจันทร์ ธเนศร ทิพยรักษ์ และ สมพร ดวนใหญ่. 2535. การจดบันทึกและรวบรวมข้อมูลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์. ใน : การอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง เทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนโค. จำเนียน สัตยาพันธุ์ และ วรรณดา สุจริต บรรณาธิการ. 15-29 พฤษภาคม 2535 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม. หน้า 112-121.

Japan Livestock Technology Association. 1995. Manual of Bovine Embryo Transfer. Japan Livestock Technology Association. Japan. 432 p.

Nibart, M. 1992. Embryo transfer in cattle (some aspects in sheep-goat-pig). In: ANBAPH-Regional Training Course "Embryo Transfer and Culture in Cattle" . Vanda Sujarit and Chumnean Satayapant (Eds). 7-25 January 1992 Kasetsart University, Kumphaeng Sean Campus, Thailand. pp. 7-73.

Saito, N. 1994. Manual of Embryo Transfer & In Vitro Fertilization in Cattle. National Livertock Breeding Center , MAFF. Japan .132 p.

Satayapunt, C., Sujarit, V. and Sirivejabandhu, S. 1992. Embryo transfer technology in tropical and practical aspects. In: ANBAPH-Regional Training Course "Embryo Transfer and Culture in Cattle" . Vanda Sujarit and Chumnean Satayapant (Eds). 7-25 January 1992 Kasetsart University, Kumphaeng Sean Campus, Thailand. pp. 7-73.

Seidel, G. E. and Seidel, S. M. 1991. Trianning Manual for Embryo Transfer in Cattle. FAO. Rome, Italy. 164 p.

ชื่อ-สกุล.....รหัส.....กลุ่ม.....ว/ด/ป.....

แบบรายงานปฏิบัติการที่10

การฝึกเก็บและการย้ายฝากไข่โค (อวัยวะจากโรงฆ่าสัตว์)

ผลการศึกษา

	ปีกมดลูกด้านซ้าย	ปีกมดลูกด้านขวา
การเก็บ โอโอไซท์ (ใบ)		
จำนวนฟอลลิเคิลที่พบ		
จำนวนโอโอไซท์ที่ได้		
% การค้นพบ		
ปริมาณอากาศในบอลลูน (มล.)		
ปริมาตรน้ำยาชะล้าง (มล.)		
เข้า		
ออก		
% น้ำยาชะล้างที่ได้		
การฝากและชะล้าง โอโอไซท์ (ใบ)		
จำนวนโอโอไซท์ที่ฝาก		
จำนวนโอโอไซท์ที่ได้		
% การค้นพบ		
ข้อมูลการหาโอโอไซท์		
ความขุ่น		
เวลาในการตกตะกอน		
ปริมาตรน้ำยาที่เหลือ		
จำนวน petri disk ที่หา		
เวลาในการหา		

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

.....

.....

.....

.....

.....

.....