

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

วัสดุ และ อุปกรณ์

วัสดุ

1. สัตว์ทดลอง

1.1 แพะทดลองเพศเมีย จะจัดแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มแพะสาว ลูกผสมระหว่างพันธุ์พื้นเมืองไทยกับพันธุ์แองโกลนูเบีย อายุระหว่าง 1 ปี 8 เดือน ถึงอายุ 1 ปี 11 เดือน น้ำหนัก 20-28 กิโลกรัม จำนวน 13 ตัว (75% พื้นเมืองไทย 25% แองโกลนูเบีย 11 ตัว, 28.125% พื้นเมืองไทย 71.875% แองโกลนูเบีย 1 ตัว, 9.375% พื้นเมืองไทย 90.625% แองโกลนูเบีย 1 ตัว)

กลุ่มที่ 2 เป็นแพะนาง น้ำหนัก 25-35 กิโลกรัม จำนวน 14 ตัว มีรายละเอียดของแพะทดลองดังนี้

แพะนางพันธุ์พื้นเมืองไทย อายุ 5 ปี 7 เดือน ถึง 9 ปี 11 เดือน จำนวน 3 ตัว

แพะนางลูกผสมระหว่างพันธุ์พื้นเมืองของไทยกับพันธุ์แองโกลนูเบีย อายุ 2 ปี 9 เดือน ถึงอายุ 6 ปี 11 เดือน จำนวน 9 ตัว (50% พื้นเมืองไทย 50% แองโกลนูเบีย 4 ตัว, 56.25% พื้นเมืองไทย 43.75% แองโกลนูเบีย 1 ตัว, 31.25% พื้นเมืองไทย 68.75% แองโกลนูเบีย 2 ตัว, 25% พื้นเมืองไทย 75% แองโกลนูเบีย 1 ตัว, 12.5% พื้นเมืองไทย 87.5% แองโกลนูเบีย 1 ตัว)

แพะนางลูกผสม 3 สายเลือดระหว่างพันธุ์พื้นเมืองไทย พันธุ์แองโกลนูเบีย และพันธุ์ชาเนน อายุ 2 ปี 9 เดือน ถึงอายุ 4 ปี 11 เดือน จำนวน 2 ตัว (31.25% พื้นเมืองไทย 18.75% แองโกลนูเบีย 50% ชาเนน 1 ตัว, 43.75% พื้นเมืองไทย 31.25% แองโกลนูเบีย 25% ชาเนน 1 ตัว)

1.2 พ่อแพะที่ใช้ตรวจการเป็นสัด (teaser) เป็นพ่อแพะที่ผ่านการทำหมัน โดยการตัดบางส่วนของท่าน้ำเชื้อออก (vasectomized buck) โดยที่พ่อแพะทั้ง 3 ตัวจะมีแท่งสติดกับเอี้ยม (harness) ผูกติดไว้ที่บริเวณหน้าอก แล้วปล่อยให้คุ่มฝูงร่วมกับแพะทดลองเพศเมียตลอดการทดลอง

เมื่อพ่อแพะเป็นหับแม่แพะที่เป็นสัด สีสที่ติดไว้กับเอี่ยมที่หน้าอกจะติดสะโพกของแม่แพะ ทำให้สังเกตได้ว่าแม่แพะตัวใดเป็นสัด

1.3 พ่อแพะที่มีความสมบูรณ์พันธุ์ (fertile buck) จำนวน 6 ตัว ใช้สำหรับผสมพันธุ์กับแพะทดลองเพศเมียที่เป็นสัด โดยแพะจะถูกเลี้ยงแบบขังคอกรวมไว้บนโรงเรือน ตัดหญ้าสดให้กินเช้า-เย็น และเสริมด้วยอาหารชั้นประมาณ 200 กรัมต่อตัวต่อวัน มีน้ำและแร่ธาตุก้อนตั้งไว้ให้แพะกินได้ตามใจชอบ

2. อาหารชั้น และอาหารหยาบ

เลี้ยงปล่อยแพะทดลองให้ทะเล็มในแปลงหญ้าผสมถั่ว ซึ่งชนิดของหญ้าและถั่วที่ปลูกได้แก่ หญ้ารูซี่ หญ้าสตาร์ หญ้าเนเปียร์ และถั่วลาย แปลงหญ้าที่ใช้เลี้ยงแพะมี 4 แปลง พื้นที่รวมประมาณ 10 ไร่ โดยจัดให้แพะลงทะเล็มแบบหมุนเวียน ในวันที่ฝนตกแพะไม่สามารถออกไปทะเล็มในแปลงหญ้าได้ จะมีการตัดหญ้ามาวางไว้ให้กินหรือให้หญ้าแห้งเสริม มีน้ำและแร่ธาตุก้อนวางไว้ให้กินตลอดเวลา แพะทดลองทุกตัวจะได้รับการเสริมด้วยอาหารชั้นที่มีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 13 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 200 กรัมต่อตัวต่อวัน ส่วนประกอบของอาหารชั้นดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ส่วนประกอบของสูตรอาหารชั้น

วัตถุดิบอาหารสัตว์	จำนวนกิโลกรัม
ข้าวโพด	47.0
กากถั่วเหลือง	12.0
กากเนื้อในของเมล็ดปาล์ม	37.5
เปลือกหอยปน	1.0
ไคแคลเซียมฟอสเฟต	0.5
เกลือ	2.0
รวม	100.0

3. วัคซีน และยาที่ใช้ในการสุขาภิบาลป้องกันโรค

แพะทดลองทุกตัวจะได้รับการทำวัคซีน และถ่ายพยาธิตามโปรแกรมดังนี้

โปรแกรมการทำวัคซีน จะทำวัคซีนป้องกันโรคปากและเท้าเปื่อย (foot and mouth disease, FMD) แบบรวมทั้ง 3 type (O, A, Asia I) ของกรมปศุสัตว์ โดยทำ 6 เดือนต่อครั้ง

โปรแกรมการถ่ายพยาธิจะทำ 3 เดือนต่อครั้ง โดยใช้ Farmbazen[®] (Albendazone) ของบริษัท H.K. Pharmaceutical Co., Ltd. เป็นยาถ่ายพยาธิภายใน และ Asuntol 50[®] ของบริษัท ไบเออร์เลเวอร์เฮน เยอรมันนี่ เป็นยาถ่ายพยาธิภายนอก

4. ฮอร์โมน PGF_{2α} (prostavet[®], Gifavet Laboratorie)
5. ยาสลบ xylazine hydrochloride (Rompun[®], Bayer Vetchem Ltd.)
6. ยาปฏิชีวนะ (Pendistep L.A. INJ[®] Phenix Pharmaceutical Antwerp-Belgium)
7. ยาฆ่าเชื้อ chloroxylenol (Dettol[®], Colman Thailand Ltd.)
8. แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂)

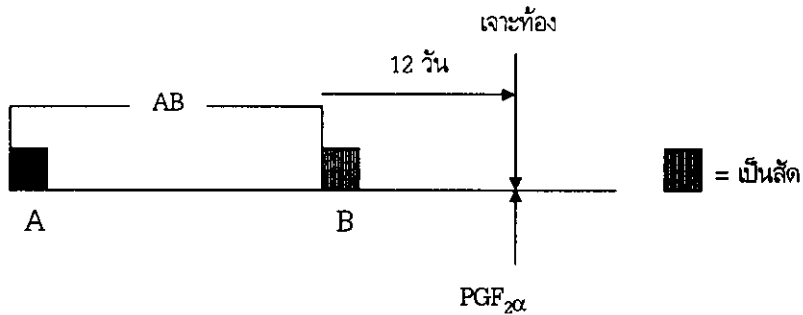
อุปกรณ์

1. เครื่องมือ Laparoscope ซึ่งประกอบด้วย
 - กล้อง laparoscope
 - สายเคเบิลนำแสง (fiber light transmitting cable)
 - เครื่องกำเนิดแสง (light projector)
 - ชุดแท่งโลหะปลายแหลมพร้อมท่อสำหรับเจาะท้อง (trocar-cannula) probe ซึ่งเป็นแท่งโลหะปลายมนยาวประมาณ 15 นิ้ว และส่วนปลายมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ใช้สำหรับเขี่ยทาร์ังไข่ และใช้ทาบบนรังไข่และ CL เพื่อกะประมาณขนาดของรังไข่ และ CL
2. ไขมีดผ่าตัดพร้อมด้ามมีด
3. กระบอกฉีดยาพลาสติกพร้อมเข็มฉีดยา
4. โต๊ะเหล็กสำหรับยึดตัวแพะ

วิธีการทดลอง

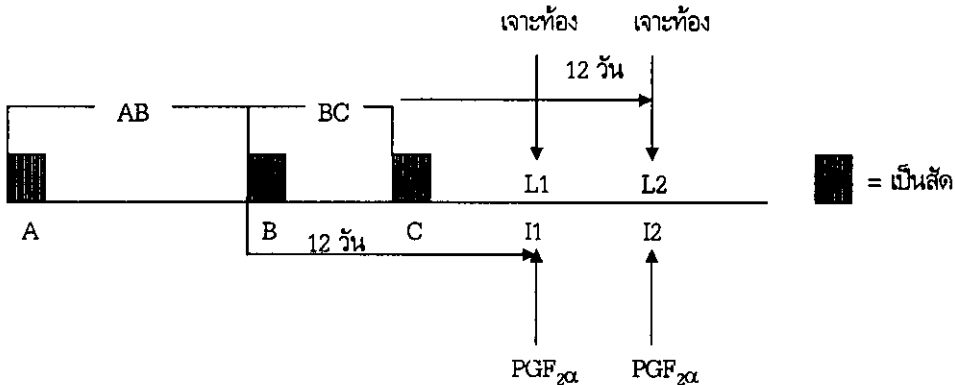
ในการทดลองชักนำการเป็นสัดครั้งนี้ใช้แพะทดลองจำนวน 27 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแพะสาว (13 ตัว) กลุ่มแพะนาง (14 ตัว) โดยก่อนฉีดฮอร์โมนชักนำการเป็นสัดได้ทำการศึกษาการเป็นสัดตามธรรมชาติและเก็บข้อมูลระยะต่างๆของวงรอบการเป็นสัดของแพะทดลองก่อนตัวละ 1 วงรอบ ซึ่งมีแพะตัวผู้ที่ทำหมันแล้ว (vasectomized buck) คุมฝูงเป็นตัวช่วยตรวจสัด (teaser) โดยเฝ้าสังเกตพฤติกรรมการเป็นสัดทุกๆ วัน วันละอย่างน้อย 2 ครั้ง (เช้าประมาณ 8.00 น.

และเย็นประมาณ 16.00 น.) ครั้งละอย่างน้อยหนึ่งชั่วโมง ในวันที่ 12 ของวงรอบซึ่งถัดจากวงรอบธรรมชาติที่เก็บข้อมูลแล้วนั้นนำแพะมาทำการเจาะท้อง (laparoscopy) เพื่อศึกษาและเก็บข้อมูลรังไข่ CL และ follicle ดังแสดงผังแผนงานไว้ในภาพที่ 2 ในกรณีที่แพะเกิดการเป็นสัดก่อนที่จะถึงกำหนดเจาะท้องต้องเริ่มเก็บข้อมูลในวงรอบธรรมชาติใหม่ทุกครั้ง ดังผังแผนงานในภาพที่ 3



หมายเหตุ ความยาววงรอบการเป็นสัดใช้วงรอบ AB และระยะต่างๆ ของการเป็นสัด คือ ระยะ proestrus estrus และ metestrus ใช้ของการเป็นสัดครั้งที่ A ส่วนระยะ diestrus นับตั้งแต่หมดระยะ metestrus ของการเป็นสัดครั้งที่ A ไปถึงเริ่มระยะ proestrus ของการเป็นสัดครั้งที่ B

ภาพที่ 2 ผังแผนงานในการเก็บข้อมูลของการเป็นสัดในวงรอบธรรมชาติ และกำหนดการเจาะท้อง รวมทั้งการฉีด $PGF_{2\alpha}$ ชักนำการเป็นสัด



หมายเหตุ ความยาววงรอบการเป็นสัดใช้วงรอบ BC และระยะต่างๆ ของวงรอบการเป็นสัด คือ ระยะ proestrus estrus และ metestrus ใช้ของการเป็นสัดครั้งที่ B ส่วนระยะ diestrus นับตั้งแต่หมดระยะ metestrus ของการเป็นสัดครั้งที่ B ถึงเริ่มระยะ proestrus ของการเป็นสัดครั้งที่ C ส่วนการเจาะท้องและการฉีด $PGF_{2\alpha}$ ตามกำหนดเดิมที่ L1 และ I1 จะไม่ทำโดยเลื่อนไปทำที่ L2 และ I2

ภาพที่ 3 ผังแผนงานการเก็บข้อมูลการเป็นสัดในวงรอบธรรมชาติ กำหนดการในการเจาะท้องและฉีด $PGF_{2\alpha}$ (ในกรณีที่แพะเกิดการเป็นสัดขึ้นก่อนที่จะถึงกำหนดเจาะท้องและฉีด $PGF_{2\alpha}$ ตามที่กำหนดไว้แต่เดิม)

ก่อนที่ทำการเจาะท้องได้อุดอาหารแพะก่อน 24 ชั่วโมง และทำให้แพะสลบ โดยฉีด Rompun[®] เข้ากล้ามเนื้อบริเวณคอในปริมาณ 0.1 ซีซี. ต่อน้ำหนักตัว 10 กิโลกรัม หลังจากทำการเจาะท้องเสร็จแล้วจึงฉีดฮอร์โมน PGF_{2α} ให้กับแพะ ในปริมาณ 2.5 มิลลิกรัมต่อตัว โดยการฉีดเข้ากล้ามเนื้อบริเวณคอ เพื่อชักนำการเป็นสัด และทำการฉีดยาปฏิชีวนะ (Pendistrep L.A.[®]) เพื่อป้องกันการอักเสบด้วยปริมาณ 1 ซีซี. ต่อน้ำหนักตัว 20 กิโลกรัม (ใน 1 ซีซี. ประกอบด้วยโปรเคน เพนนิซิลลินจี 120,000 ยูนิต, เบนซาธิน เพนนิซิลลิน 80,000 ยูนิต และ ไฮโดร สเตอริปโตมัยซิน ซัลเฟต 200 มิลลิกรัม) ก่อนปล่อยแพะกลับลงฝูงในแปลงหญ้าได้ให้น้ำให้อาหารและให้แพะได้พักบนโรงเรือนระยะหนึ่ง หลังจากนั้นเฝ้าติดตามสังเกตการเป็นสัดหลังชักนำอย่างใกล้ชิดเป็นพิเศษโดยเฉพาะในช่วง 4 วัน หลังจากฉีดฮอร์โมน

เมื่อแพะแสดงการเป็นสัดหลังฉีดฮอร์โมนชักนำ ทำการเก็บข้อมูลต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเป็นสัด เช่น ระยะเวลาหลังฉีดฮอร์โมนถึงเวลาที่แพะเริ่มเป็นสัด ระยะเวลาของระยะต่างๆ ในวงจรการเป็นสัด และพฤติกรรมในการเป็นสัด และในวันที่พบแพะแสดงการเป็นสัดนี้จะแยกแพะออกจากฝูงแล้วนำมาผสมกับพ่อพันธุ์สมบูรณ์พันธุ์วันละ 2 ครั้ง (เช้าเวลาประมาณ 9.00 น. เย็นเวลาประมาณ 15.00 น.) โดยในการผสมแต่ละครั้งคงใช้พ่อพันธุ์ตัวเดิม และปล่อยให้พ่อแพะได้อยู่ผสมกับแม่แพะนานประมาณ 30 นาที เมื่อผสมเสร็จในแต่ละครั้งได้ปล่อยให้แพะกลับเข้าฝูงเดิมตามปกติ ทำเช่นนี้จนกว่าแพะตัวเมียจะไม่ยอมรับการผสมอีกต่อไป นับจากที่แพะได้รับการผสมไปอีก 12 วัน นำแพะมาทำการเจาะท้องอีกครั้งหนึ่ง เพื่อศึกษาและเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ของรังไข่ CL และกระเปาะไข่ ในกรณีที่แพะเกิดกลับสัดก่อนที่จะถึงกำหนดเจาะท้องหรือเกิดเป็นสัดในวันที่ทำการเจาะท้องก็ยังคงทำการเจาะท้องตามกำหนดเดิม (วันที่ 12 หลังจากผสม) เพราะเป็นไปได้ว่าแพะที่กลับสัดนี้อาจจะเป็นสัดระหว่างตั้งท้อง ซึ่งจากรายงานของศิริชัย (2542) ที่ทำการศึกษาการเป็นสัดระหว่างตั้งท้องในแพะพันธุ์พื้นเมือง และลูกผสมระหว่างพันธุ์พื้นเมืองไทยกับแองโกลนูเมียน พบว่ามีการเป็นสัดระหว่างตั้งท้องเกิดขึ้นถึง 22.60 เปอร์เซ็นต์ของการตั้งท้องทั้งหมด และการเป็นสัดระหว่างตั้งท้องพบเกิดขึ้นในช่วงระยะเวลาของการตั้งท้องที่น้อยกว่า 17 วัน ถึง 34.38 เปอร์เซ็นต์ และอีกเหตุผลหนึ่งที่ทำกรเจาะท้องแพะพวกนี้ (แพะที่กลับสัดก่อนถึงกำหนดเจาะท้อง) คือ จากรายงานของจรรยา (2540) ที่ทำการเจาะท้องศึกษาการตกไข่ของแพะที่เป็นสัดติดต่อกัน 2 ยก และมีวงจรสัดของ 2 ยกนี้ น้อยกว่า 8 วัน พบว่าจากแพะทดลอง 5 ตัว มีแพะ 4 ตัว ที่มีการตกไข่หลังจากเป็นสัดยกแรกแต่ไม่มีการตกไข่หลังจากเป็นสัดในยกที่ 2 และแพะที่เหลืออีก 1 ตัว ไม่มีการตกไข่หลังจากเป็นสัดยกแรก แต่ตกไข่หลังจากเป็นสัดในยกที่ 2

สำหรับในกรณีที่แพะไม่เกิดเป็นสัตว์หลังชักนำก็ทำการเจาะท้องเช่นกัน โดยทำการเจาะในวันที่ 16 นับหลังจากที่ได้รับการฉีดฮอร์โมน และติดตามการเป็นสัตว์ของแพะกลุ่มนี้ต่อไปอีกเป็นระยะเวลา 5 เดือน (นับหลังจากที่ได้รับการฉีดฮอร์โมน) แพะทดลองทุกตัวที่ได้รับการผสมถูกติดตามพฤติกรรมต่างๆ โดยแพะที่อยู่ในระยะอุ้มท้องยังคงปล่อยให้อยู่ร่วมกับฝูงเดิมจนกระทั่งก่อนครบกำหนดคลอด 10 วัน นำแพะมาแยกขังบนโรงเรือนเพื่อเตรียมคลอด เมื่อแพะคลอดลูกได้เก็บบันทึกข้อมูลต่างๆ เกี่ยวกับการคลอด เช่น ระยะเวลาในการอุ้มท้อง จำนวนลูกแรกคลอด เพศของลูกที่คลอด น้ำหนักแรกคลอด จำนวนลูกมีชีวิต และจำนวนลูกที่ตายแรกคลอด น้ำหนักรก หลังจากคลอด 2 วัน แยกลูกแพะจากแม่ไปเลี้ยงต่างหาก โดยรีดนมจากแม่แพะและแม่แพะตัวอื่นใส่ขวดป้อนให้กินวันละ 2 ครั้ง (เข้าเวลาประมาณ 8.30 น. เย็นเวลาประมาณ 15.30 น.) แม่แพะหลังจากคลอดปล่อยให้อยู่ร่วมกับฝูงเดิมและติดตามข้อมูลเกี่ยวกับการกลับสัตว์หลังคลอดต่อไป

การตรวจการเป็นสัตว์ สังเกตจากอาการและพฤติกรรมของแม่แพะที่แสดงการกระดิกหางบ่อยๆ ปัสสาวะบ่อยๆ อวัยวะเพศภายนอกบวมแดง มีเมือกออกมาจากอวัยวะเพศภายนอก แม่แพะกระวนกระวายไม่ยอมพักผ่อน ชอบป็นตัวเมียด้วยกัน หรือยอมให้ตัวเมียอื่น หรือพ่อ teaser ปืนทับ ประกอบกับการดูจากสีที่ติดบริเวณสะโพกของแม่แพะ ซึ่งเกิดจากการป็นทับของพ่อ teaser ที่มีแท่งสีติดกับเอี่ยมผูกไว้ที่หน้าอก

ระดับสีที่ติดบริเวณสะโพกจะแบ่งออกเป็น 4 ระดับ คือ

ระดับที่ 1 พบสีติดบริเวณสะโพกเพียงเล็กน้อย สีไม่ชัด หรืออาจเป็นรอยขีด หรือสภาพที่พิจารณาแล้วไม่น่าจะเกิดจากการป็นทับของพ่อ teaser และอาจเกิดจากสาเหตุอื่นๆ โดยบังเอิญ กรณีนี้พื้นที่ติดสีไม่ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่สะโพกทั้งหมด

ระดับที่ 2 พบสีติดบริเวณสะโพกพื้นที่ติดสีมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่สะโพกทั้งหมด

ระดับที่ 3 พบสีติดบริเวณสะโพกตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป แต่ไม่ถึง 75 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่สะโพกทั้งหมด

ระดับที่ 4 พบสีติดบริเวณสะโพก ตั้งแต่ 75 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่สะโพกทั้งหมดจนถึงเต็มสะโพก

ระดับที่ถือว่าแม่แพะแสดงอาการเป็นสัตว์ที่ชัดเจน คือ ระดับสีตั้งแต่ 2-4 สำหรับระดับที่ 1 ต้องดูอาการอย่างอื่นประกอบด้วย เช่น ลักษณะการให้ความสนใจของ teaser การบวมแดงของอวัยวะเพศภายนอก การมีเมือก เป็นต้น ถ้าแม่แพะไม่มีอาการเหล่านี้ประกอบด้วย จะไม่ถือว่าเป็นสัตว์

เพราะสิ่งที่ติดอาจเกิดจากเหตุบังเอิญอื่น ๆ ที่ไม่ใช่การยอมรับการป็นทับของ teaser เช่น การเดินเบียดกันแท่งสไปโดนสะโพกหรือการแย่งกันกินอาหารทำให้แพะสาวตัวเล็กอาจไปโดนแท่งสไปโดนจากพ่อตัวผู้ได้

การนับและการจำแนกวรอบการเป็นสัด จะเริ่มนับความยาวของวรอบการเป็นสัด ตั้งแต่ว่าแม่แพะแสดงอาการเป็นสัดอย่างชัดเจนในระยะ estrus คือ ยอมให้ teaser ป็นทับไปจนถึงเริ่มระยะเดียวกันนี้ในการแสดงการเป็นสัดของแม่แพะในครั้งถัดไป ส่วนการจำแนกวรอบการเป็นสัดจะใช้หลักเกณฑ์การจำแนกตามระบบที่ 2 ของ จรวย (2540) ซึ่งจำแนกลักษณะวรอบการเป็นสัดออกเป็น 4 ชนิด ตามระยะเวลาของวรอบการเป็นสัด (cycle length) คือ วรอบพักยก (split cycle) มีความยาวของวรอบน้อยกว่า 8 วัน วรอบสั้นมีความยาวของวรอบตั้งแต่ 8 วัน ถึงน้อยกว่า 17 วัน วรอบปกติมีความยาวของวรอบตั้งแต่ 17 วัน ถึง 25 วัน และวรอบยาวมีความยาวของวรอบมากกว่า 25 วัน

การนับเวลาของระยะต่างๆ ของการเป็นสัด วรอบการเป็นสัดแต่ละวรอบจะถูกแบ่งออกเป็น 4 ระยะตาม Bearden และ Fuquay (1984) เรียงตามลำดับดังนี้

ระยะที่ 1 proestrus จะเริ่มนับระยะเวลาตั้งแต่ที่เห็นแม่แพะเริ่มแสดงการเป็นสัดพ่อ teaser ให้ความสนใจเดินตามกระตุ้น พยายามที่จะป็นทับ แต่แม่แพะไม่อยู่นิ่งจะเดินหนีไม่ยอมให้ป็น อาจประกอบกับการสังเกตอวัยวะเพศภายนอกเริ่มบวม หรืออาจมีเมือกออกมาจากอวัยวะเพศร่วมด้วย

ระยะที่ 2 estrus นับเวลาจากที่แม่แพะยินยอมให้พ่อ teaser ป็นทับไปจนถึงกระทั่งแม่แพะเริ่มไม่ยอม และสังเกตจากลักษณะอื่นๆ ประกอบด้วย เช่น อาจดูที่บริเวณอวัยวะเพศภายนอก บวมแดง และขยายขนาดขึ้น มีเมือกออกมา เป็นต้น

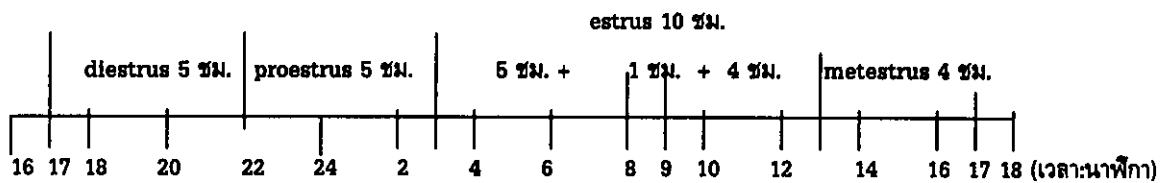
ระยะที่ 3 metestrus เริ่มตั้งแต่เวลาที่แม่แพะไม่ยอมให้พ่อ teaser ป็นทับไปจนถึงเวลาที่แม่แพะสิ้นสุดอาการเป็นสัด พ่อ teaser ไม่ให้ความสนใจอีกต่อไป และอาจดูจากอวัยวะเพศที่มีสีซีดลงและมีเมือกออกมาน้อยลงร่วมด้วย

ระยะที่ 4 diestrus นับตั้งแต่แพะหยุดแสดงการเป็นสัด พ่อ teaser ไม่สนใจไปจนถึงที่แม่แพะเริ่มแสดงการเป็นสัดในระยะ proestrus ของวรอบถัดไป

การนับระยะเวลาหลังฉีดฮอร์โมนถึงเวลาที่แพะเป็นสัด จะเริ่มนับตั้งแต่ทำการฉีด $PGF_{2\alpha}$ จนถึงแม่แพะเริ่มแสดงการเป็นสัดในระยะ estrus

การนับเวลาของแต่ละระยะใช้วิธีที่ดัดแปลงมาจากจรวย (2540) โดยจะไม่นับเฉพาะตรงจุดเวลาที่สังเกตเห็นพฤติกรรมของระยะหนึ่งไปชนกับจุดเวลาที่สังเกตเห็นพฤติกรรมของอีกระยะหนึ่ง แต่จะใช้การคำนวณโดยถือเกณฑ์ แบ่งเวลาออกเป็นส่วน ๆ ตามเหตุการณ์ที่เกิดขึ้น หรือน่าจะเกิดต่อเนื่องกัน เช่น ตอนเย็นวันที่ 1 มาเช็คลัดแพะเวลา 16.00-17.00 น. พบว่า แพะไม่มีอาการเป็นสัด

(อยู่ในระยะ diestrus ของวงรอบที่ผ่านมา) ตอนเช้าของวันที่ 2 มาเช็คแพะเวลา 08.00-09.00 น. พบว่า แพะอยู่ในระยะ estrus ตอนเย็นเช็คแพะเวลา 17.00-18.00 น. พบว่า แพะอยู่ในระยะ metestrus แล้ว ดังนั้นจึงแบ่งระยะเวลาระหว่าง 17.00 ของวันที่ 1 จนถึง 08.00 น. ของวันที่ 2 (15 ชม.) ออกเป็น 3 ส่วนๆ ละ 5 ชั่วโมง โดย 5 ชั่วโมงแรกแบ่งไปนับรวมเป็นเวลาของระยะ diestrus ของวงรอบที่ผ่านมา 5 ชั่วโมงถัดมาเป็นเวลาของระยะ proestrus ของวงรอบใหม่ และ 5 ชั่วโมงสุดท้ายนับไปรวมเวลาให้กับระยะ estrus ของวงรอบใหม่ และแบ่งเวลาระหว่าง 09.00-17.00 น. ของวันที่ 2 (8 ชม.) ออกเป็น 2 ส่วนๆ ละ 4 ชั่วโมงเท่าๆ กัน โดย 4 ชั่วโมงแรก แบ่งไปนับรวมเป็นเวลาของระยะ estrus และ 4 ชั่วโมงหลังนับไปรวมเป็นเวลาให้แก่ระยะ metestrus การคิดเวลาของแต่ละระยะการเป็นสัดได้ถือเกณฑ์การคำนวณทำนองเดียวกับที่ได้ยกเป็นตัวอย่างมาแล้วทั้งหมด ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ตัวอย่างการนับระยะเวลาของระยะต่างๆ ในวงรอบสัด

การเจาะท้องโดยวิธี laparoscopy

1. งดให้อาหารแพะก่อนการเจาะท้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แต่มีน้ำให้กินตลอดเวลา
2. ทำให้แพะสลบโดยฉีดยาสลบ Rompun[®] (xylazine hydrochloride) ให้ในปริมาณ 0.10 มิลลิลิตรต่อน้ำหนักตัว 10 กิโลกรัม เข้าบริเวณกล้ามเนื้อคอ
3. เมื่อแพะสลบทำการโกนขนบริเวณท้องตั้งแต่บริเวณใต้เต้านมจนเกือบถึงแนวของกระดูกซี่โครง โกนขนเป็นบริเวณกว้างประมาณ 15x20 ตารางเซนติเมตร แล้วล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ
4. ยกแพะขึ้นโต๊ะเหล็กสำหรับยึดตัวแพะ ซึ่งสามารถปรับระดับได้ จัดให้แพะนอนหงาย ห้อยหัวลงส่วนท้ายยกเอียงขึ้นให้ตัวแพะทำมุมประมาณ 60 องศากับระดับพื้น โดยตรงขาทั้ง 4 ไว้กับโต๊ะ (ดังแสดงในภาพที่ 5) เช็ดฆ่าเชื้อบริเวณที่โกนขนด้วยทิงเจอร์ไอโอดีน

5. ใช้ trocar-cannula เจาะท้องด้านขวาในตำแหน่งที่ต่ำลงมาจากเต้านม ประมาณ 2 นิ้ว และห่างจากแนวแกนกลางลำตัวประมาณ 1.5 นิ้ว

6. ใช้ trocar-cannula ซึ่งมีท่อสำหรับใส่แก๊สอยู่เจาะท้องด้านซ้ายในตำแหน่งเดียวกับด้านขวา (ในกรณีที่มีคนเจาะหน้าตัดซ้ายเพื่อความสะดวกในการปฏิบัติควรมายาเจาะในตำแหน่งด้านขวาแทน และการเจาะท้องตามข้อ 5 ก็ย้ายมาเจาะในตำแหน่งด้านซ้ายแทน)

7. ดึง trocar ออกจาก cannula ทั้งสองข้างแล้วเอา probe และกล้อง laparoscope ใส่เข้าไปทางด้านขวาและด้านซ้าย ตามลำดับ

8. ต่อสาย fiber light transmitting cable กับกล้อง laparoscope และเครื่องกำเนิดแสงแล้วใช้กล้อง laparoscope ส่องดูภายในว่าเจาะผ่านชั้นไขมันเข้าไปในช่องท้องแล้วหรือไม่ โดยสังเกตุ หากเจาะผ่านชั้นไขมันเข้าไปแล้วจะเจอกระเพาะปัสสาวะหรือส่องไปทางด้านข้างเจอมัดกลุ้มเนื้อตรงโคนขา หลังจากนั้นจึงทำการต่อท่ออย่างจากดึงแก๊สเข้ากับท่อใส่แก๊สที่ cannula แล้วปล่อยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เข้าไปในช่องท้องพอในระดับที่พอเหมาะ เพื่อให้ช่องท้องโป่งพองขึ้นเกิดช่องว่างในช่องท้องทำให้ปฏิบัติงานได้สะดวก

9. ใช้กล้อง laparoscope และ probe ช่วยในการเขี่ยหารังไข่เพื่อดูจำนวน ขนาด ลักษณะของ CL และกระเปาะไข่ บนรังไข่ข้างซ้ายและข้างขวา

หมายเหตุ : อุปกรณ์ทุกชนิดก่อนใช้เจาะท้องแพะได้ทำการฆ่าเชื้อโรคโดยแช่ไว้ในน้ำยาฆ่าเชื้อ



ภาพที่ 5 การผูกตรึงขาแพะทดลองไว้กับโต๊ะเหล็กและการจัดท่านอนของแพะ

5. การเก็บข้อมูล

แม่แพะ

จำนวนแพะที่แสดงการเป็นสัด

จำนวนแพะที่มีการตกไข่

จำนวนแพะที่ได้รับการผสม

จำนวนแพะที่กลับสัดหลังผสมพันธุ์

จำนวนแพะที่เข้าคลอด

จำนวนลูกที่คลอด น้ำหนักแรกคลอด น้ำหนักรก และเพศของลูกที่คลอด

ระยะเวลาในการกลับมาเป็นสัดหลังคลอด

การเป็นสัด

วงรอบการเป็นสัดของแพะ

ระยะเวลาของระยะต่างๆ ของวงรอบการเป็นสัด

ระยะเวลานับจากฉีดฮอร์โมนถึงเวลาที่แพะเริ่มแสดงการเป็นสัดระยะ estrus

พฤติกรรมการเป็นสัดของแพะ และข้อมูลอื่นๆ

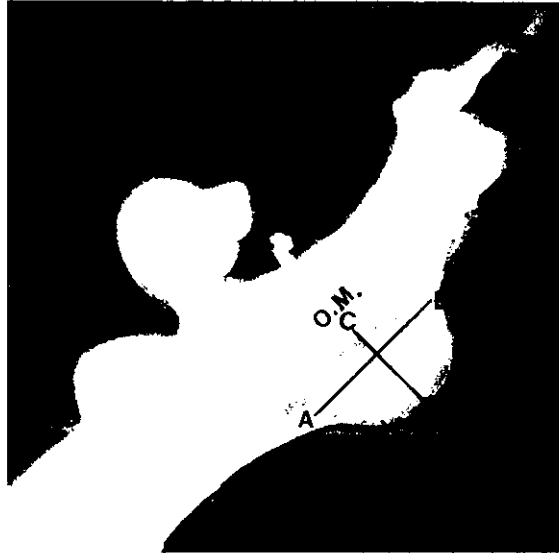
รังไข่และคอร์ปัสลูเทียม (CL)

ลักษณะและขนาด (ความกว้างและความยาว) ของรังไข่ทั้ง 2 ข้าง โดยประมาณ โดยความยาวของรังไข่วัดจากจุดกึ่งกลางของปลายด้านหนึ่งไปยังจุดกึ่งกลางของปลายอีกด้านหนึ่งขนานไปตามแนว ovarian mesentery ส่วนความกว้างวัดจากจุดกึ่งกลางของรังไข่จากด้านที่มี ovarian mesentery ไปยังจุดกึ่งกลางของด้านตรงข้าม (ดังแสดงในภาพที่ 6)

จำนวนของ CL บนรังไข่ทั้งซ้ายและขวา

ขนาดของ CL โดยประมาณ

สี และลักษณะรูปทรงของ CL



- A ————— B คือ ส่วนของความยาว
 C ————— D คือ ส่วนความกว้าง
 O.M. หมายถึง ovarian mesentery

ภาพที่ 6 วิธีการวัดขนาดความกว้างและความยาวของรังไข่

กระเปาะไข่ (follicle) เฉพาะที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางโดยประมาณ 0.2 เซนติเมตรขึ้นไป

จำนวนและขนาดของกระเปาะไข่บนรังไข่ทั้ง 2 ข้างโดยแบ่งออกเป็น 3 ขนาดตามขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโดยประมาณ คือ ขนาดเล็ก (ประมาณ 0.2- < 0.4 ซม.) ขนาดกลาง (ประมาณ 0.4- 0.5 ซม.) และขนาดใหญ่ (ประมาณ ใหญ่กว่า 0.5 ซม.)

การประมาณขนาดของรังไข่ CL และกระเปาะไข่จะประมาณโดยการใช้ปลาย probe (แท่งโลหะปลายมนที่ใช้สำหรับเขี่ยหารังไข่) ซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร จิ้มแตะไปบนรังไข่แล้วจะประมาณขนาดของรังไข่ CL หรือกระเปาะไข่ โดยเทียบเคียงกับขนาดของปลาย probe

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ระยะเวลานับจากฉีดฮอร์โมนถึงเวลาที่เพาะเริ่มแสดงการเป็นสัด ระยะเวลาของระยะต่างๆ ของวงรอบการเป็นสัด จำนวนและขนาดของ CL จำนวนกระเปาะไข่ ขนาดของรังไข่ น้ำหนักแรก

คลอดของลูกแพะ น้ำหนักรก ขนาดครอก ระยะเวลาในการอุ้มท้อง และระยะเวลาในการกลับมาเป็น สัตหลังคลอด แสดงในรูปค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\bar{X} \pm SD$)

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของระยะเวลานับจากฉีดฮอร์โมนถึงเวลาที่แพะเริ่ม แสดงการเป็นสัดระหว่างกลุ่มแพะสาวกับแพะนาง โดยใช้ student t-test เปรียบเทียบความแตกต่าง ของจำนวนกระเปาะไข่บนรังไข่ระหว่างรังไข่ข้างซ้ายและข้างขวาในแต่ละชนิดการเป็นสัด (ธรรมชาติหรือ ชักนำ) ของทั้งกลุ่มแพะสาวและแพะนางโดยวิธีเปรียบเทียบแบบการจับคู่ (pair comparison)

อัตราการเป็นสัดหลังฉีดฮอร์โมนชักนำ อัตราการคลอดลูกของแพะทดลอง (แพะที่ได้รับการ ผสมพันธุ์แล้วมีตัวที่คลอด) อัตราไข่ที่ผสมติดและสามารถพัฒนาจนคลอด (จากจำนวนไข่ที่ตกไข่ทั้ง หมดหลังการผสมพันธุ์แล้วได้ลูกแพะก็ตัว) ชนิดของวงรอบการเป็นสัด แสดงค่าเป็นจำนวนและ เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบสัดส่วนของจำนวนกระเปาะไข่ระหว่างวงรอบการเป็นสัดของแพะสาวและแพะ นาง เปรียบเทียบอัตราการเป็นสัดหลังฉีดฮอร์โมนชักนำระหว่างกลุ่มแพะทดลอง โดยใช้ Chi-Square

เปรียบเทียบความยาวของวงรอบการเป็นสัด ระยะเวลาของระยะต่างๆ ของวงรอบการเป็น สัด ขนาดของ CL ชนิดต่างๆ ความกว้างและความยาวของรังไข่ โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) แบบแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด Completely randomized design (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

7. สถานที่และระยะเวลาในการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้ดำเนินการที่หมวดแพะและแกะ และห้องปฏิบัติการของ ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ สงขลา

ระยะเวลาทำการทดลอง เริ่มต้น : พฤศจิกายน 2542 สิ้นสุด : ธันวาคม 2543