



วัสดุที่ใช้ในการทดลอง

1. เครื่องวัดปริมาตร 1 ชุด รวมควมเข้มข้นของคลอรีนขนาด 1 ml. และ 10 ml.
2. Dof 100 : Cestradiol benzoate
(Sherring, Germany)
Testosterone propionate
(Mann, U.S.A.)
Progesterone
(Mann, U.S.A.)
3. Tripropazine (Stelazine) (สามัคคีเภสัช)
4. เครื่องมือในการทำ slides รวมค.ย.น้ำยาผสม Harris
Haematoxylin และ Eosin
5. Stage micrometer และกล้องจุลทรรศน์ ocular micrometer 1 ชุด

วิธีเตรียมสารละลายและสภาพที่ควรเตรียมตัวอย่างทดลอง

Progesterone

ชั่ง progesterone บางจำนวนหนึ่งด้วยเครื่องชั่งไมโครอย่างละเอียด นำมาใส่ในหลอดและเติมน้ำกลั่น จึงละลายในตัวละลาย 0.1 ml. ในหลอดนั้นอย่างช้าๆ โดย 0.1 microgram ต่อ 0.1 ml. ในหลอดรวมๆ ภายหลังเติมแอลกอฮอล์จนกลายเป็นขุ่นเล็กน้อย

Testosterone propionate

วิธีการเตรียมเช่นเดียวกับสารเตรียม progesterone แต่ละลายในตัวละลายความเข้มข้น 1 mc./0.1 ml.

Oestradiol benzoate

ผู้วิจัยถวาย oestradiol benzoate ที่มีความเข้มข้นเต็ม 5 mg/1 ml. ทางป้อนน้ำนมระลอก นรีผู้วิจัยที่ความเข้มข้น 0.1 mg. ต่อ 0.1 ml.

Stelazine

ผู้วิจัย Trifluoperazine HCl (Stelazine) ในจำนวนหนึ่งผสมเครื่องใช้ในฟาร์มทางละเอียด ผ่านกลีโกลทรงจนละเอียดดีแล้ว ละลายด้วย quartz distilled water ได้ให้ความเข้มข้น 1 mg. ต่อ 0.1 ml. เก็บไว้ในตู้เย็นจนถึงเวลาใช้

วิธีดำเนินการทดลอง

การเลี้ยงและตรวจรักษาหนูขาวที่ใช้ในการทดลอง

การทดลองที่ใช้หนูขาวพันธุ์ Wistar strain ที่เลี้ยงโดยนางสาวอรุณฉกาภาน เลี้ยงในกรง stainless steel ขนาด 1 x 1 x 2 1/2 ฟุต ในห้องปรับอากาศ อุณหภูมิ 25 ± 1°C ด้วยอุณหภูมิในกลางวัน 14 องศาเซลเซียส (ระหว่าง 06.00 - 20.00 น.) และในคืน 10 องศาเซลเซียส (ระหว่าง 20.00 - 06.00 น.) กินอาหารมาตรฐานและดื่มน้ำประปาธรรมดา ผู้วิจัยได้ตรวจวัด oestradiol benzoate อุณหภูมิร่างกายทางสารคัดหลั่งก่อนเพื่อป้องกันการกลบกลองสารเคมี (contamination)

การศึกษา Reproductive cycle ของหนูขาว

หนูขาวที่ใช้ในการทดลองได้รับการตรวจ reproductive cycle ทุกวันนับจากวันที่ vagina เริ่มมีสารคัดหลั่งของไข่ขาวมี pregnancy test lactation ได้แล้วเป็นเวลาและจดบันทึก cycle เป็นปกติ (4 - 5 วัน) เวลาที่ใช้ในการทดลอง ระยะต่าง ๆ ของ cycle ทำสมมติจากลักษณะของ cell ที่ปรากฏใน vaginal smear (Long and Evans, 1922)

Reproductive cycle ของหนูขาว แบ่งออกได้เป็น 4 ระยะ คือ

1. Proestrus เป็นระยะก่อนที่จะมีการตกไข่ follicles บางอันในรังไข่เจริญเติบโตเต็มที่เกือบพร้อมที่จะตกไข่ ตรวจทำ vaginal smear ในระยะนี้จะพบเซลล์ขนาดใหญ่กลวงกลม และมี nucleus เหมือนกันโดยตลอด (nucleated cell) ช่วงเวลาของระยะนี้ประมาณ 12 ชั่วโมง ระหว่างนี้ยังไม่มีการผสม

2. Oestrus เป็นระยะต่อจาก Proestrus ระยะนี้สุนัขตัวเมีย heat และชอบรับการผสมจากตัวผู้ ในการทำ vaginal smear จะพบ nucleated cells จะหายไป มีเซลล์ขนาดใหญ่โปร่งแสงไม่มี nucleus ซึ่งเรียก cornified cells แทน ตอนปลายของระยะนี้จะมีการตกไข่ (ovulation) หลังจากนี้ follicles ที่ตกไข่แล้วจะเปลี่ยนแปรไปเป็น corpora lutea ช่วงเวลาของระยะนี้ประมาณ 30 ชั่วโมง

3. Metaoestrus เป็นระยะสั้น ๆ ระหว่าง Oestrus กับ Dioestrus ตรวจทำ vaginal smear ในระยะนี้ จะพบเซลล์ขนาดเล็กที่เป็น leucocyte cells จำนวนมาก และมี cornified cells ปะปนอยู่ด้วยเล็กน้อย ช่วงเวลาของระยะนี้ประมาณ 6 ชั่วโมง

4. Dioestrus เป็นระยะต่อจาก metaoestrus ช่วงเวลาของระยะนี้ประมาณ 48 ชั่วโมง ตรวจทำ vaginal smear ในระยะนี้จะพบ leucocyte cells เป็นส่วนใหญ่บางครั้งอาจพบมี nucleated cells หรือ cornified cells หรือทั้งสองอย่างปนอยู่ด้วยเป็นจำนวนน้อย

การตั้งครรภ์และการเลี้ยงลูกอ่อน

สุนัขตัวเมียเลี้ยงลูกอยู่ในระยะ Proestrus จึงมี reproductive cycle เป็นปกติถูกตั้งไว้กับหมู่เซลล์สืบพันธุ์ fertility แล้วลดคืน แล้วตรวจดูในเทววันคลอดอาจพบ sperm plug หรือ spermatozoa ในการทำ vaginal smear นับเป็นวันที่ 0 (00) ของการตั้งครรภ์ วันถัดมาเป็น L₁, L₂,... ตามลำดับ เมื่อพบ sperm plug หรือ spermatozoa เท่านั้นที่ใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับการตั้งครรภ์

หนูขาวจะคลอดลูกประมาณ L₂₁ หรือ L₂₂ นับวันที่คลอดลูกเป็นวันที่ 0 ของการเลี้ยง
ลูกจน วันต่อมาเป็นวันที่ 1, 2.... ตามลำดับ

การผ่าตัด

การผ่าตัดทุกครั้งจะกระทำในขณะที่หนูถูกดมยาสลบ (Ether) เครื่องมือที่ใช้
การผ่าตัดทำขึ้นด้วยความนำเขาาเชื้อ 2.5% Dettol solution ก่อนใช้

1. การถักรังไข่ (Ovariectomy)

ให้หนูดมยาสลบแล้วใช้ปัตตาเคียนให้เข้าใกล้จนบริเวณตามหางลำตัวเยื้องไป
ทางด้านบน (dorso - lateral) ห่างจากชายโครงเล็กน้อย ทำหน้ายาวเข้าเข็มบริเวณที่
โดนขนเรียบรอยแล้ว ใช้กรรไกรปลายตรงตัดหนังและกล้ามเนื้อให้เปิดเป็นช่องเล็ก ๆ
เอาปากคีมดึงไขมันที่ติดอยู่กับรังไข่ขึ้นมา รังไข่จะติดขึ้นมาด้วย สอดปลายจางหนึ่งของกรร
ไกรปลายโค้งทะลุไขมันเข้าใกล้หลอดน้ำใจ ตัดเอารังไข่ออกตรงส่วนคอระหว่างรังไข่กับ
หน้าหลอดนทน้ำใจได้เมื่อเยื่อรังไข่ในสภาพพืด เสร็จแล้วใส่ส่วนอื่น ๆ กลับเข้าไปโดยของ
ทอง โดยใจปากคีมจับขึ้นของกล้ามเนื้อให้ปากคีมคั้นช่องกว้างพร้อมกันยกขึ้นเล็กน้อย
ไขมันและรังไข่จะเลื่อนลงสู่ช่องคีมดึงไขมันให้เขยิบคลายเชื้อไฟคีมคีม แล้วเอียงคีม
ขึ้นนอกอีกครึ่งหนึ่ง

2. การตัดอัณฑะ (Orchidectomy)

ให้หนูดมยาสลบใช้หน้ายาวเข็มขาบริเวณถุงอัณฑะ ใช้กรรไกรปลายตรงมา
เปิดถุงอัณฑะออก ดึงเอาอัณฑะออกมาจากถุง ใช้กรรไกรปลายโค้งตัดเอาอัณฑะออกทั้งสอง
ข้างแล้วใช้ไหมเย็บถุงอัณฑะปิดไว้โดยเดียว

3. การเปิดหน้าท้อง (Laparotomy)

ให้หนูดมยาสลบแล้วหน้ายาวเข้าเข็มบริเวณท้องด้านข้างเหนือของกระดูกซี่
โครง ใช้กรรไกรปลายตรงตัดหนังและกล้ามเนื้อจนถึงกลางลำตัว (Mid - ventral
line) ให้เปิดออกเป็นช่องยาวราว 1 ซม. เอาปากคีมดึงไขมันที่ติดอยู่รอบ ๆ และ
ขึ้นมา มดลูกจะติดขึ้นมาด้วยตรวจดูการฝังตัวของตัวอ่อนในมดลูก เสร็จแล้วใส่ส่วนต่าง ๆ



ก่อนนำมารองสลับกล้องจุลทรรศน์ ใช้กล้องจุลทรรศน์แบบส่องสว่าง สดสี

4. การทำ slide

ใช้หมูที่สงสัยว่าจะฆ่าด้วยแก๊สพิษตลอดเวลาของการฆ่าตัวตาย
เพื่อศึกษาอย่างจำกัดบริเวณเฉพาะที่การฆ่าตัวตาย โดยใช้กรงทดลองขนาดใหญ่ตั้งสูงเสียดฟ้า
หลังไปจนเกือบถึงโถงหู ส่วนชั้นเนื้อเยื่อเปิดจากเนื้อเยื่อข้างตั้งไว้จนถึงกระดูกชายโครง
ใช้เข็มเย็บขนาดเบอร์ ๐๐๐ เย็บชั้นเนื้อเยื่อ ใช้เข็มเย็บต่างชนิดตลอดการ เย็บชั้นเนื้อเยื่อ
ในทรวงอกภายในหน้าประตูดับ นอกจากนี้ยังเห็นกระดูกซี่โครง (Scapular) และกระดูก
ซี่โครงในบริเวณที่เกี่ยวข้องกับหัวใจด้วย เสร็จแล้วจึงเย็บชั้นเนื้อเยื่อใหม่เป็นแนวเหนือหัวใจ
การเย็บตามข้อนี้

หมูที่ใช้ในการผ่า จะต้องตายแก่ก่อนและจากแม่ให้เวลานั้น

5. Autopsy

ใช้วิธีดังกล่าวเพื่อตรวจสอบความผิดปกติในทรวงอกทันที แล้วเปิดหน้าทรวงอก
เป็นช่องว่าง ตรวจสอบลักษณะและขนาดของรังไข่ ตัดเอารังไข่ไว้ศึกษาลักษณะโครงสร้าง
ภายใน (Histology)

การศึกษาลักษณะโครงสร้างของรังไข่จาก serial sections

วิธีทำ serial sections

ตัดรังไข่ fix ไว้ในน้ำยา Lillie's A/F (85 ml. ethyl alc.,
5 ml. glacial acetic acid, 10 ml. formaldehyde) ประมาณ 24 ชั่วโมง
หลังจากนั้นเปลี่ยนเอาไปแช่ใน 70% alcohol อีก 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาก
dehydrate โดยเปลี่ยนไป 70% alcohol, 80% alcohol, 95% alcohol,
95% alcohol + Butyl, Butyl, Butyl + Xylol, Xylol-1, Xylol-2 ตามลำดับ
ใช้เวลาชั้นละ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำ tissue ไปใส่ใน paraplast (Arthur H
Thomas) หลอมเหลวหน้าเตาอุณหภูมิสูงกว่าจุดหลอมประมาณ ๑๕°C เพื่อให้ paraplast
เหลวขึ้นแล้วนำเนื้อรังไข่ที่แช่ใน ๙๕% alcohol ไปแช่ใน paraplast 2 ชั่วโมง หรือจะประมาณ 2 ชั่วโมง
หลังจากนั้นนำ tissue มา embed ใน paraplast แล้วตัด serial sections

หน้า 6 ขอบด้วยสี Harris Haematoxylin และ Eosin นำไปตรวจดูด้วย กล้องจุลทรรศน์ สีลักษณะ ขนาด และจำนวนของ polyovular follicles ทุกอัน ที่พบ และลักษณะทั่วไปของรังไข่ในภาวะต่าง ๆ

การศึกษาเนื้อเยื่อรังไข่

เนื้อเยื่อที่พบแบ่งออกตามลักษณะดังต่อไปนี้

- Primary follicles หมายถึง follicle ใด ๆ ที่มีไซโตพลาซึมเล็ก และมี epithelial cells หุ้มรอบนอกเพียงชั้นเดียว
- Secondary follicles หมายถึง follicle ใด ๆ ที่มี epithelial (granulosa) cells หุ้มไว้มากกว่าหนึ่งชั้นขึ้นไปจนถึงระยะที่มีการสร้าง antrum
- Graafian follicles หมายถึง follicle ใด ๆ ที่มีขนาดใหญ่ของว่างภายในกว้าง และมี cumulus oophorus ช่รวมกันให้เห็นชัดเจน
- Cystic follicles หมายถึง follicle ใด ๆ ที่มีขนาดใหญ่กว่าปรกติมาก ใ้มี antrum กว้าง และมี granulosa cells นอกหรือไม่มีเลย
- Corpora lutea หมายถึงโครงสร้างที่เปลี่ยนแปลงมาจาก follicles ภายหลังจากการตกไข่

Poliovular follicles หลายใบ follicles ใบ ๆ ที่มีมากกว่าหนึ่ง
 ovum เมฆเซลล์ในภาวะแนวโค้ง follicles
 เช่น biovular, triovular.....

Polynuclear ovum หลายใบ ovum ใบ ๆ ที่มีมากกว่าหนึ่ง nucleus
 เมฆเซลล์ในภาวะแนวโค้ง nuclei เช่น
 binuclear, trinuclear.....

รายละเอียด ลักษณะของ follicles ที่ศึกษา ได้เพิ่มเติมลักษณะ ของ
 ที่อธิบายโดย Pederson and Peters (1963)

การวัดขนาดของ Follicles

วัดขนาดของ follicles ใน section ที่มีเส้นมาตรฐานกลางของ
 follicle น. ๆ ในที่วัดด้วย ocular micrometer เปรียบเป็นขนาดกับ
 stage micrometer ใต้วัดเป็นสองขนาดซึ่งต่างกัน จอตาของ theca
 externa ด้านหนึ่งไปยังอีกด้านหนึ่ง ขนาดที่ใดมาเฉลี่ยกันเป็นขนาดของเส้นมาตรฐาน
 ของของ follicles ที่วัด

การทดลอง

การทดลองนี้ใช้หนูขาวเพศเมียทั้งหมด 54 ตัว และเพศผู้ 7 ตัว ของคา
ทดลองออกเป็น 9 ชุด ดังต่อไปนี้

I. ผลของอายุต่อการปรากฏของ Polyovular follicles

พิจารณาถึงอายุ สัปดาห์ และจำนวน polyovular follicles
ปรากฏในหนูขาวเพศเมียอายุต่าง ๆ ตั้งแต่ 2 - 95 วันหลังคลอด โฉมหนู 10 ตัว ใน
อายุเป็นระยะต่าง ๆ ดังนี้

1. อายุ 2 วัน	จำนวน	2	ตัว
2. อายุ 12 วัน	จำนวน	2	ตัว
3. อายุ 22 วัน (วัย รก(รกแดง))	จำนวน	2	ตัว
4. อายุ 39 - 42 วัน (วัย รก(รกแดง)แก่)	จำนวน	2	ตัว
5. อายุ 53 - 55 วัน (มี oestrus cycle เป็น รก(รกดำ))	จำนวน	4	ตัว

004720

แบ่งผลทดลองเป็นระยะ

- ก. Proestrus 1 ตัว
- ข. Oestrus 1 ตัว
- ค. First day diestrus 1 ตัว
- ง. Second day diestrus 1 ตัว
6. อายุ 70 - 72 วัน (mature) จำนวน 4 ตัว แบ่งออกเป็นระยะ
ต่าง ๆ เช่นเดียวกับทดลองอายุ 53 - 55 วัน
- ฉ. Proestrus 1 ตัว

1. Oestrus ๓ วัน
๒. First day dioestrus ๑ วัน
๓. Secondary dioestrus 1 วัน
๔. อายุ ๑๑ ปี จำนวน 2 ตัว

ตัดเฉพาะรังไข่ ทำ serial sections และทำภาพกล้องจุลทรรศน์

II. ผลของฮอร์โมนเพศภาวะภายนอก Polyovular follicles

1. Oestrogen ที่ใช้คือ oestrogen ซึ่งทำการศึกษาผลต่อ polyovular follicles โดยใช้ oestradiol benzoate 1.๐๐๐ ๐.๐๑๕ มก. เข้าในเนื้อเยื่อของช่องคลอดของหนูขาว ลงเข็มเข้าในช่องคลอดแล้ว สัปดาห์ถัดมา เมื่อเวลา ๗ วัน ตรวจดูผลของ oestrogen ด้วยการผ่า vaginal smear ทำ autopsy ในวัย ๘ ปี ทำรังไข่ ทำ serial sections และทำภาพกล้องจุลทรรศน์ จำนวน ๒ ตัว

2. Testosterone ที่ใช้คือ testosterone ด้วยการฉีด testosterone propionate ด้วยเข็ม 10 มล. เข้าในช่องท้องของหนูขาว ๒ วัน สัปดาห์ถัดมา ทำ vaginal smear ในช่วง ๑ วัน ของ ๓ วันแรกของวัฏจักร reproductive cycle ซึ่งหนูขาวตัวนี้พบผลของฮอร์โมนเพศภาวะ vaginal smear ที่ cycle ๗ วัน พบ antioestrus เป็นระยะสั้น ๆ ดังนี้

1. อายุ ๒๒ วัน จำนวน ๒ ตัว
๒. วันแรกที่มีผลของฮอร์โมนเพศภาวะ จำนวน ๓ ตัว
๓. อายุ ๕๓ - ๕๕ วัน จำนวน ๒ ตัว
๔. อายุ ๗๐ - ๗๒ วัน จำนวน ๒ ตัว

ตัดเฉพาะรังไข่ ทำ serial sections และทำภาพกล้องจุลทรรศน์

III. ผลของการตั้งครรภ์จากการปรากฏของ Polyovular follicles

หนูขาวเพศเมียที่เริ่มมี cycle เป็นปกติอายุระหว่าง 46 - 48 วัน autopsy ในวันที่ 7 (L.) ของการตั้งครรภ์ ตัดเอารังไข่ของหนูที่ implanta- tion มาทำ serial sections จำนวนมากถึงขนาดนำไปเปรียบเทียบผลที่ อายุ 53 - 55 วัน ไขหนู 2 ตัว

IV. ผลของการเลี้ยงลูกอ่อนต่อผลการปรากฏของ Polyovular follicles

หนูขาวเพศเมีย 2 ตัว ที่ได้รับการผสมแล้วระหว่างอายุ 46 - 48 วัน ปล่อยให้วางไข่จนคลอด ปล่อยให้เลี้ยงลูกอยู่ 5 วัน autopsy ในวันที่ 6 ของการเลี้ยงลูก อ่อน ตัดเอารังไข่มาทำ serial sections ศึกษาเปรียบเทียบผลการปรากฏของ polyovular follicles ในรังไข่ทั้งสองตัว ที่อายุใกล้เคียงกัน

V. ผลของการนำรังไข่ของหนูขาวของ Polyovular follicles

หนูขาวเพศเมียชุดที่จำนวน 4 ตัว ซึ่งวางไข่ภายหลังการผสมที่ อายุ 46-48 วัน นำมาช่วยดำเนินการนำรังไข่ของหนูขาวของชุดนี้ ไปศึกษาถึงผลของการนำรังไข่ของหนูขาวของชุดนี้ ไปศึกษาถึงผลของการปรากฏของ polyovular follicles เปรียบเทียบกับชุดที่ 1 ของหนูขาวที่ ควบคุมไว้เมื่ออายุได้ 47 วัน ซึ่งวางไข่ตามปกติเป็น 2 ตัว

พวกที่ 1 จำนวน 2 ตัว ปล่อยให้ไข่ไม่ treat ด้วยอะโรเรอราล จากความนำรังไข่ของหนูขาวของชุดนี้ ไปศึกษาหาผลและนำมาทำ autopsy ในวันที่ 8 หลังการนำรังไข่ ตัดเอารังไข่มาทำ serial section เพื่อศึกษาในชั้นต่อไป

พวกที่ 2 จำนวน 2 ตัว หลังการนำรังไข่ของหนูขาวของชุดนี้ มาวาง estradiol benzoate ที่ลดทอนเป็นเวลา 7 วัน วันละ $0.05 \mu\text{g}$. autopsy ในวันที่ 8 หลังการนำรังไข่ ตัดเอารังไข่มาทำ serial sections เพื่อศึกษาในชั้นต่อไป

หนูชุดที่ 3 จำนวน 2 ตัว ได้รับการวางรังไข่ในระหว่าง autopsy แล้วนำไปศึกษาต่อผลของรังไข่ของหนูขาววางตามปกติ

VI. ผลของการรั้งไข่ออกข้างหนึ่งต่อการปรากฏของ polyovular follicles

ศึกษาผลของ compensatory hypertrophy ซึ่งเกิดจากการรั้งไข่ รั้งไข่ออกไปเพียงข้างหนึ่งต่อการปรากฏของ polyovular follicles โดยทำการรั้ง รั้งไข่ของหนูเพศเมียออกในวันที่แรกที่ของลลอคเบ็ด ตรวจดู reproductive cycle ตรวจการผ่า vaginal smear ทุกวัน ได้ศพทั้งหมด 4 ตัว autopsy เป็น 2 ระยะ

ระยะที่ 1 หนูเพศเมียอายุ 55 วัน จำนวน 2 ตัว รั้งไข่ข้างหนึ่งเหลือ ของหนูทั้ง 4 ตัวทำ serial sections ศึกษาการปรากฏของ polyovular follicles เปรียบเทียบผลกับหนูทดลองรุ่นอื่น ๆ ที่ใกล้เคียงกัน

VII. ผลของการใช้ Tranquillizer ชนิด Trifluoperazine ในระยะของการตั้งครรภต่อการปรากฏของ Polyovular follicles

ศึกษารับผลของยาคลายประสาทที่รั้งไข่ของหนูเพศเมียในระยะเวลาตั้ง ครรภ จำนวน 2 ตัว โดยผสมยูเรียและโพแทสเซียม 46 - 48 วัน ในเวลาวันที่ 2 ของ การตั้งครภ ฉีด stelazine จำนวน 2.0 mg. ต่อวันน้ำหนักตัว 100 gm. ยาโลโก้ เคมีมีบริเวณหลังถ่านหิน ละ 1.5 mg. ต่อวันน้ำหนักตัว 100 gm. ในวันที่ 7 ของการตั้ง ครรภ 6 ของการตั้งครภ laparotomy ในวันที่ 9 ของการตั้งครภตรวจดูผลของ stelazine ด้วยการดูว่ายังไม่เกิด implantation ในมดลูกของหนูทดลองนี้ รั้ง รั้งไข่ผ่า serial sections แล้วศึกษาเปรียบเทียบการปรากฏของ polyovular follicle กับหนูทดลองรุ่นอื่นที่มีอายุใกล้เคียงกัน

หนูที่โหลทดลองได้รับการให้ฮอร์โมนตั้งครภขนาดรวมแล้ว 0.1 mg. estradiol benzoate กับ progesterone วันละ 4 mg. หลังจากทำ laparotomy เปรียบผลหนูตัว autopsy ในวันที่ 10 ของการตั้งครภตรวจดู implantation ในมดลูก พบการ implantation ในระยะนี้เท่านั้นที่ใช้ในการทดลองหนูนี้

VIII. ผลของแสงสว่างต่อการปรากฏของ Polyovular follicles

ศึกษายูเรียและโพแทสเซียมจำนวน 4 ตัว รั้งไข่ในแสงสว่างอยู่ตลอดเวลาโดยให้

แสงสว่างจากดวงอาทิตย์ตกกันเป็นระยะเวลายาวนาน เริ่มตั้งแต่วันที่หกของกรกฎาคม
 ทำ vaginal smear ทุกวัน ตรวจดูการเปลี่ยนแปลงของ reproductive cycle
 ที่ทางไม่ปรากฏว่ามีอัตราแสงสว่าง 14 ชั่วโมง มีค 10 ชั่วโมง และ autopsy เป็น
 2 ระยะ

ระยะที่ 1	เมื่ออายุ 55 วัน	จำนวน 2 ตัว
ระยะที่ 2	เมื่ออายุ 72 วัน	จำนวน 2 ตัว

ตัดเอารังไข่มาทำ serial section ศึกษาการปรากฏของ poly-
 ovular follicles เก็บเป็นชิ้นๆตามลำดับของชุดชั้น ๆ ที่อายุใกล้เคียงกัน

IX. การทดลองทำ Parabiosis การปรากฏของ Polyovular follicles.

ใช้หนูขาวเพศเมียอายุ 22 - 23 วัน ทำปัสสาวะ ขูดออกแล้วอายุเท่ากัน
 จากหนูตัวอื่น ซึ่งใกล้เคียงกัน ชุดละ 2 ตัวทำ parabiosis เมื่อทำการทดลองแล้ว เก็บเอา
 รังไข่และหลอดรังไข่ของหนูตัวหนึ่งมาตรวจดูการปรากฏของรังไข่ ศึกษาการปรากฏของ poly-
 ovular follicles การปรากฏเปลี่ยนแปลงของ reproductive cycle วันแรก
 ที่ทดลองตัดเปิด ทำ vaginal smear ทุกวัน ให้อายุถึงสัปดาห์ที่ 7 และ autopsy
 เป็น 3 ระยะ

ระยะที่ 1	วันที่แรกตัดลงหลอดเปิด	จำนวน 3 ตัว
ระยะที่ 2	เมื่ออายุ 55 วัน	จำนวน 2 ตัว
ระยะที่ 3	เมื่ออายุ 72 วัน	จำนวน 2 ตัว

serial section ศึกษาการปรากฏของ polyovular follicles เก็บเป็นชิ้น ๆ
 ำเป็นชุดของชุดชั้น ๆ ที่อายุใกล้เคียงกัน