บทคัดย่อ

การผลิตตัวอ่อนในหลอดแก้วจากไข่ที่เก็บจากโคนมโดยวิธี OPU แล้วนำตัวอ่อนไปย้ายฝากให้โคตัวรับจะสามารถผลิตลูกโคเกิดมามากกว่าการผสมเทียมได้ถึง 10-20 เท่า การวิจัยนี้แบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ทำการเจาะเก็บไข่ด้วยวิธี OPU ในโคนม 10 ตัว โดยทำทุก 7 วันติดต่อกัน 8 ครั้ง ฟอลลิเคิลเส้นผ่าศูนย์กลาง 3-8 mm. ที่ตรวจพบทั้งหมด 932 ใบ สามารถเจาะเก็บไข่ได้ไข่ทั้งหมด 657 ใบ (70.49%) ในกลุ่มที่ใช้น้ำเชื้อไม่แยกเพศ ได้ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสจากการทำปฏิสนธิในหลอดแก้ว 23.5% ซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ใช้น้ำเชื้อแยกเพศ (13.1%) ผลการนำตัวอ่อนระยะ บลาสโตซีสไปย้ายฝากให้โคตัวรับ กลุ่มที่ใช้น้ำเชื้อไม่แยกเพศมีอัตราการตั้งท้อง 41.6% (25/60) ซึ่งสูงกว่ากลุ่มที่ใช้น้ำเชื้อไม่แยกเพศเพียงเล็กน้อย (38.7%, 12/31) โดยกลุ่มที่ใช้น้ำเชื้อไม่แยกเพศมีลูกคลอด 96.0% (24/25) โดยมีตัวรับแท้งลูก 1 ตัว และเป็นลูกเพศผู้ 45.8% (11/24) และเพศเมีย 54.1% (13/24) กลุ่มที่ใช้น้ำเชื้อแยกเพศโคตัวรับทุกตัวคลอดลูกครบไม่มีการแท้ง ได้ลูกเพศผู้ 8.3% (1/12) และเพศเมีย 91.6% (11/12)

การทดลองที่ 2 มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการนำบลาสโตเมียร์ที่แยกเจากตัวอ่อนโคไปฝังลงในแท่งเจลแล้วนำไปเลี้ยง โดยเปรียบเทียบกับนำบลาสโตเมียร์ที่ไม่ฝังในแท่งเจลไปเลี้ยงในระบบ Well-of-Well (WOW) เพื่อหาข้อมูลการเจริญของตัวอ่อนและคุณภาพของตัวอ่อนระยะบลาสโตซีส เริ่มโดยนำตัวอ่อนระยะไซโกตไปฝังในแท่งเจล 1% agarose หรือ 1% calcium alginate ก่อนนำไปเลี้ยง ซึ่งได้อัตราการเจริญของตัวอ่อนไม่แตกต่างกันระหว่างกลุ่มที่ฝังในแท่งเจล และกลุ่มควบคุม คัดเลือกวิธีการฝังในแท่งเจล 1% calcium alginate ไปใช้ทำการทดลองต่อ พบว่ากลุ่มที่แยกบลาสโตเมียร์ได้ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสมากกว่าตัวอ่อนที่ไม่ได้แยกบลาสโตเมียร์ ในกลุ่มที่แยกบลาสโตเมียร์ (ระยะ 2 และ 8 เซลล์) WOW และ 1% calcium alginate ได้ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสไม่แตกต่างกัน ยกเว้นระหว่างระยะ 2 เซลล์ด้วยกันที่ฝังใน 1% calcium alginate และ WOW สำหรับไข่จากการทำ OPU แล้วนำมาผลิตตัวอ่อนแล้วแยกบลาสโตเมียร์ที่ระยะ 2 เซลล์ การเลี้ยงในระบบ WOW ได้ตัวอ่อนระยะบลาสโตซีสสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้แยกบลาสโตเมียร์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดลองนี้สรุปได้ว่าการฝังในเจลที่เป็น 1% calcium alginate สามารถทำให้บลาสโตเมียร์ที่แยกจากตัวอ่อนระยะ 2 และ 8 เซลล์ เจริญต่อไปได้ นอกจากนี้เทคนิคการฝังในเจลสามารถใช้ทดแทนการเลี้ยงบลาสโตเมียร์ในระบบการเลี้ยงแบบ WOW

Abstract

In vitro embryo production using oocytes collected by OPU and transfer embryos to recipients will produce calves born more than artificial insemination 10-20 times. This research divided into 2 experiments. Experiment 1, collected oocytes from 10 dairy cows every 7 days for 8 consecutive times. The total 932 follicle diameter 3-8 mm. could collect 657 oocytes (70.49%) by OPU. The blastocyst production rates were 23.5% in normal semen group which was non-significant different from sexed semen group (13.1%). The pregnancy rates after transfer embryos were 41.6% (25/60) in normal semen group and 38.7% (12/31) in sexed semen group. The calving rates were 24/25 (96.0%) in normal semen group and 100% (13/13) in sexed semen group. In normal semen group had male calves 45.8% (11/24) and female calves 54.1% (13/24). In sexed semen group had male calf 8.3% (1/12) and female calves 91.6% (11/12).

Experiment 2, this study aimed to examine how gel embedding compared with the Well-of-Well (WOW) system when culturing bovine separated blastomeres, in terms of developmental competence rates and blastocyst quality. We first optimized the gel-embedding method via culturing intact zygotes in either 1% agarose or 1% calcium alginate gel. Gel-embedded groups and control did not differ in development rates, but the 1% calcium alginate group was selected for subsequent experiments due to higher blastocyst recovery. The separated blastomeres group had higher potential for blastocyst production than the intact embryo group. Among separated blastomeres (2- and 8-cell), WOW and 1% calcium alginate did not differ in blastocyst formation rate, except between the 2-cell 1% calcium alginate and WOW groups, with the latter exhibiting the highest rate of blastocyst formation. Within the WOW system, the separated 2-cell embryo resulted in significantly higher rates of OPU (ovum pick-up)-derived blastocysts than the intact 2-cell embryo. In conclusion, the 1% calcium alginate gel can support cell growth of separated 2- and 8-cell bovine embryos during blastomere aggregation. Moreover, the gel-embedded technique is a suitable replacement for WOW in producing blastocysts from bovine separated blastomeres.