บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อประยุกต์ใช้เทคโลยีการเก็บไข่ด้วยวิธี ovum pick up (OPU) ร่วมกับวิธีการและส่วนประกอบของน้ำยาที่ใช้แช่แข็งที่เหมาะสมในการผลิตตัวอ่อนกระบือปลักในหลอดทดลอง และการเกิดของลูกกระบือหลังการย้ายฝากตัวอ่อน การทดลองที่ 1 ใช้กระบือสาว 10 ตัว ซึ่งแบ่งออกเป็นสองกลุ่มคือ กระตุ้นรังไข่ด้วยฮอร์โมน FSH และไม่ได้กระตุ้นก่อนนำมาเจาะเก็บไข่โดย OPU พบว่ากระบือที่ถูกกระตุ้นรังไข่ด้วย FSH จำนวนไข่ต่อตัวที่เก็บได้มากกว่ากลุ่มของกระบือที่ไม่ได้ทำการกระตุ้นด้วย FSH (85.5% และ 76.8% ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากนั้นเมื่อนำไข่ที่เก็บโดย OPU จากกลุ่มกระบือที่ได้รับและไม่ได้รับการกระตุ้นด้วย FSH มาทำการปฏิสนธิในหลอดทดลอง โดยใช้ไข่ที่เก็บจากโรงฆ่าสัตว์ทำการทดลองเปรียบเทียบ ผลการทดลองพบว่าตัวอ่อนที่ผลิตจากไข่ที่เก็บโดย OPU จากกลุ่มกระบือที่ได้รับการกระตุ้นด้วย FSH มีอัตราการแบ่งตัวและเจริญถึงระยะบลาสโตซีสสูงกว่าตัวอ่อนในกลุ่มอื่นๆ (71.2% และ 25.5% ตามลำดับ) และไม่พบความแตกต่างของอัตราการแบ่งตัวและเจริญของตัวอ่อนถึงระยะบลาสโตซีสระหว่างตัวอ่อนที่ผลิตจากไข่ที่เก็บโดย OPU จากกลุ่มกระบือที่ไม่ได้กระตุ้นด้วย FSH และตัวอ่อนที่ผลิตจากไข่ที่เก็บจากโรงฆ่าสัตว์ การทดลองที่ 2 นำตัวอ่อนที่ผลิตได้จากไข่ที่เก็บโดย OPU จากกลุ่มกระบือที่ได้รับการกระตุ้นด้วย FSH และตัวอ่อนที่ผลิตได้จากไข่ที่เก็บจากโรงฆ่าสัตว์ในการทดลองที่ 1 มาทำแช่แข็งโดยวิธี vitrification โดยใช้ Cryotop ที่ใช้น้ำยาแช่แข็ง VA (CT-VA) และน้ำยาแช่แข็ง VB (CT-VB) และใช้ Microdrop ที่ใช้น้ำยาแช่แข็ง VA (Microdrop-VA) และน้ำยาแช่แข็ง VB (Mirodrop-VB) เพื่อศึกษาศักยภาพในการเจริญต่อไปได้ถึงระยะแฮชชิ่งบลาสโตซีสหลังการทำละลาย โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอ่อนสดที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง ผลการทดลองพบว่าวิธีการแช่แข็งและแหล่งของไข่ที่ใช้ในการผลิตตัวอ่อนไม่ส่งผลต่อศักยภาพในการเจริญต่อไปได้หลังการทำละลาย ในขณะที่น้ำยาแช่แข็ง VA มีประสิทธิภาพในการแช่แข็งตัวอ่อนสูงกว่าน้ำยาแช่แข็ง VB (CT-VA 87.5%, Microdrop-VA 87.5% และ CT-VB 75%, Microdrop-VB 75%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามอัตราการเจริญต่อไปได้หลังการทำละลายของกลุ่มตัวอ่อนแช่แข็งในทุกกลุ่มยังต่ำกว่าตัวอ่อนสดที่ไม่ผ่านการแช่แข็ง การทดลองที่ 3 ทำการย้ายฝากตัวอ่อนแช่แข็งจากกลุ่มต่างๆ ในการทดลองที่ 2 ให้แก่กระบือตัวรับ โดยใช้ตัวอ่อนสดเป็นกลุ่มควบคุม ในกลุ่มตัวอ่อนที่ผลิตจากไข่เก็บโดย OPU ตัวอ่อนที่ผ่านการแช่แข็งด้วยวิธี CT-VA ให้อัตราการเกิดของลูกกระบือเท่ากันกับการย้ายฝากตัวอ่อนสด ในขณะที่กลุ่มตัวอ่อนที่ผลิตได้จากไข่ที่เก็บจากโรงฆ่าสัตว์ที่ย้ายฝากตัวอ่อนสดพบอัตราการตั้งท้องและมีลูกกระบือเกิด ส่วนตัวอ่อนที่ผ่านการแช่แข็งด้วยวิธี CT-VA มีการตั้งท้องของกระบือตัวรับแต่แท้งภายหลัง

การทดลองนี้สรุปได้ว่าการแช่แข็งตัวอ่อนกระบือที่ผลิตจากลุ่ม FSH-OPU โดยวิธี vitrification โดยใช้ CT-VA ให้ประสิทธิภาพสูงจนทำให้ได้ลูกกระบือคลอดหลังการย้ายฝากตัวอ่อน อย่างไรก็ตามควรมีการทดลองต่อไปโดยเพิ่มจำนวนตัวอ่อนกระบือแช่แข็ง และย้ายฝากตัวอ่อนให้กระบือตัวรับจำนวนมากขึ้น

Abstract

The objective of this study was to apply the ovum pick up (OPU) technology, combined with the suitable condition of cooling system and vitrificatin solution for *in vitro* embryos production and subsequent live calf born after transfer embryos in swamp buffalo. In Experiment I, ten buffalo heifers (3-4 years) swamp buffaloes were assigned into two treatment groups: FSH treated before OPU and untreated group. The harvested oocytes of FSH treatment group were significant higher than untreated group (85.5% and 76.8%, respectively). Thereafter, oocytes derived form both OPU groups and the oocytes derived form slaughterhouse ovaries were fertilized *in vitro.* The cleavage and blastocyst rates in FSH treatment group (71.2% and 25.5%, respectively) was highest when compare with the other groups. Moreover, there was no difference in the cleavage and blastocyst rates between untreated and oocytes derived form slaughterhouse ovaries. In Experiment II, *in vitro*-produced derived from oocytes of FSH treatment before OPU and slaughterhouse ovaries blastocysts from Experiment I were vitrified using Cryotop with VA solution (CT-VA) or VB solution (CT-VB) and Microdrop with VA solution (Microdrop-VA) or VB solution (Microdrop-VB). The developmental competence after warming of vitrified blastocysts to hatching blastocyst state was not affected by the cooling systems (Cryotop or Microdrop) and source of oocytes (OPU or slaughterhouse). In addtion, the VA solution were significantly to improve development competence to hatching state after warming of vitrified buffalo embryos than VB solution (CT-VA 87.5%, Microdrop-VA 87.5% and CT-VB 75%, Microdrop-VB 75%); however, these rates were significantly lower ($P<0.05$) than fresh control group. In Experiment III, vitrified-warmed blastocysts from Experiment II were transferred into the recipients. Buffalo calves were born from both fresh and vitrified embryos (CT-VA group) that produced from FSH-OPU derived oocytes, whereas only the fresh embryos that produced from slaughterhouse derived oocytes was found to have a calvf born following embryo transfer. In CT-VA embryos group was found to have a pregnant recipient but aborted.

This study can be concluded that vitrification of buffalo embryos that produced from FSH-OPU derived oocytes, combined with CT-VA are effective to produce buffalo calves. However, more embryos for vitrification treatment and number of recipeints for embryos transfer need to be studied in the future.