

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตั้งท้องของโคตัวรับที่ได้รับการฝากตัวอ่อนแช่แข็ง

ยันต์ สุวงศ์¹ จุริย์รัตน์ เอี่ยมวิทยากร¹ มาลี อภิเมธีธำรง¹
วิบูลย์ เอี่ยมวิศวรร¹ ประชุม อินทรโชติ² นิต์ศน์ อ่อนหวาน³

บทคัดย่อ

ในประเทศไทยมีผู้รายงานการนำเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนและการฝากตัวอ่อนแช่แข็งมาใช้ในการผลิตปศุสัตว์ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2527 แต่ผลสำเร็จยังอยู่ในระดับที่ไม่น่าพอใจนัก ทั้งนี้ก็เนื่องมาจากปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการตั้งท้องของตัวรับ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบถึงปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความสำเร็จในการฝากตัวอ่อนแช่แข็ง จากผลการตรวจท้องหลังการฝากตัวอ่อนแช่แข็งให้กับแม่โคตัวรับต่างพันธุ์ที่มีวงจรการเป็นสัดสม่ำเสมอ จำนวน 112 ตัว ประมาณ 90 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติของอัตราการตั้งท้องระหว่างโคตัวรับต่างพันธุ์กัน ถึงแม้ว่าโคลูกผสมพันธุ์เรดซินดีจะมีแนวโน้มที่จะให้อัตราการตั้งท้องสูงกว่าพันธุ์ราห์มันและพันธุ์ขาวดำ วิธีการฝากแบบผ่าตัด และแบบไม่ผ่าตัดให้ผลการตั้งท้องในโคตัวรับต่างกันอย่างไรไม่มีนัยสำคัญ (27.7 ± 5.7 และ $6.6 \pm 17.5\%$ ตามลำดับ) ระยะเวลาเจริญเติบโตของตัวอ่อนเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการตั้งท้องของโคตัวรับ โดยการฝากตัวอ่อนที่อยู่ในระยะบลาสโตซิสต์ จะให้อัตราการตั้งท้อง ($28.2 \pm 9.2\%$) สูงกว่าการฝากตัวอ่อนในระยะมอรูล่า ($6.1 \pm 12.1\%$) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แม่โคตัวรับที่มีอายุน้อยกว่า 10 ปี มีอัตราการตั้งท้องสูงกว่าแม่โคที่มีอายุมากกว่า 10 ปี อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของการตั้งท้อง $28.0 \pm 9.4\%$ และ $6.3 \pm 11.9\%$ ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยของอัตราการตั้งท้องของโคตัวรับในการทดลองทั้งหมด 34.8%

1 ศูนย์ผสมเทียมปทุมธานี อ.บางกะดี จ.ปทุมธานี

2 ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ห้วยขวาง อ.แก่งคอย จ.สระบุรี

3 ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ลำพูนากลาง อ.สีคิ้ว จ.นครราชสีมา

FACTORS AFFECTING PREGNANCY RATE FOLLOWING TRANSFER OF FROZEN-THAWED BOVINE EMBRYOS

Yan Sukwong ¹ Jureerat Eiamvitayakorn ¹ Malee Apimethethumrong ¹
Viboon Yiengvisavakul ¹ Prachoom Intarachote ² Nitas Onwan ³

Abstract

The technique of embryo transfer and the transfer of frozen embryos have been used in Thailand since 1984 with a limit number of success. Many events affect pregnancy rates of transferred frozen-thawed embryos. This study was conducted to determine the factors affecting the success rate following the transfer of frozen-thawed bovine embryos. One hundred and twenty frozen embryos were transferred to 112 heads of normal cycling cows of three different breeds using both surgical and non-surgical method of transfer. Pregnancy diagnosis was done by rectal palpation at 90 days or more after the transfer. The result shows that there was no significant difference in the pregnancy rate among the three different breeds of recipient. Surgical and non-surgical transfer resulted in a pregnancy rate of 27.7 and 6.6%, the difference between the two methods being non-significant. Stage of development of embryos has a significant effect ($p < 0.05$) on the pregnancy rate. Transfer of embryo of blastocyst stage resulted in a higher pregnancy rate than that of morula stage with the mean \pm SE of 28.2 \pm 9.2 vs 6.1 \pm 12.1% respectively. The pregnancy rate was also higher in cows of lesser than 10 years of age (28.0 \pm 9.4%) than that of over 10 years (6.3 \pm 11.9%), $p < 0.05$. The overall mean of pregnancy rate was 34.8%.

1 Pathum Thani AI Center

2 Tapkyang Livestock Research and Breeding Center

3 Lamphyaklang Livestock Research and Breeding Center

คำนำ

การนำตัวอ่อนแช่แข็งของโคพันธุ์ดีจากต่างประเทศเข้ามาฝากให้โคตัวรับพื้นเมือง เป็นวิธีหนึ่งในการใช้เทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนมาเร่งเพิ่มผลผลิตและปรับปรุงพันธุ์สัตว์ในประเทศ วิธีนี้นอกจากจะประหยัดค่าใช้จ่ายในการขนส่งเมื่อเทียบกับค่าใช้จ่ายในการขนส่งสัตว์พ่อพันธุ์หรือแม่พันธุ์พันธุ์ดีตัวหนึ่งๆ เข้ามาในประเทศ การขนย้ายตัวอ่อนยังสามารถทำได้ครั้งละจำนวนมาก ลูกโคที่เกิดจากการฝากตัวอ่อนในตัวรับพื้นเมืองมีโอกาสปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในประเทศได้ดีกว่าโคที่นำเข้าเมื่อโตแล้ว นอกจากนี้การขนย้ายตัวอ่อนยังช่วยลดปัญหาในการควบคุมโรคติดต่อที่อาจเกิดจากการนำเข้าสัตว์มีชีวิต

ในประเทศไทยมีผู้รายงานการนำตัวอ่อนแช่แข็งของโคพันธุ์ดีจากต่างประเทศเข้ามาฝากให้โคตัวรับพื้นเมือง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2527 จนถึงปัจจุบันนี้ผลสำเร็จจากการฝากตัวอ่อนแช่แข็งดังกล่าว ยังอยู่ในระดับที่ไม่น่าพอใจนัก (Singhajan และคณะ, 1988) ถึงแม้จะมีการศึกษากันอย่างต่อเนื่องเกี่ยวกับการย้ายฝากตัวอ่อนและการฝากตัวอ่อนแช่แข็ง แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จของการฝากตัวอ่อนแช่แข็งในสภาพแวดล้อมในประเทศไทย

การศึกษารุ่นนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อให้ทราบถึงปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตั้งท้องของโคตัวรับที่ได้รับการฝากตัวอ่อนแช่แข็งโคพันธุ์เอเอฟเอสที่นำเข้าจากต่างประเทศออสเตรเลีย เพื่อใช้ในโครงการพัฒนาโคนมของกรมปศุสัตว์โดยวิธีการย้ายฝากตัวอ่อน ซึ่งผลจากการศึกษานี้จะมีประโยชน์ต่อการพัฒนางานในโครงการการใช้เทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนเพื่อปรับปรุงพันธุ์สัตว์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การคัดเลือกแม่โคตัวรับ

- ใช้โคลูกผสมต่างสายพันธุ์ จากศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ห้วยขวางและลำพูนกลาง จำนวน 112 ตัว เป็นแม่โคตัวรับ คัดเลือกโดยดูจากประวัติ เป็นแม่โคท้องว่าง มีอายุตั้งแต่ 3 ปีขึ้นไป เคยมีลูกมาแล้วอย่างน้อยหนึ่งตัว และมีประวัติการเป็นสัตว์แม่สม่ำเสมอ
- ทำการล้างตรวจอวัยวะสืบพันธุ์ โดยการล้างคลำผ่านทางทวารหนัก เพื่อดูความสมบูรณ์ของรังไข่ และระบบสืบพันธุ์ ก่อนนำเข้ากำหนดการย้ายฝากตัวอ่อน
- สังเกตอาการสัดและจดบันทึกอย่างละเอียดอย่างน้อย 1 เดือนก่อนทำการฝากตัวอ่อน
- ฉีดสารโปรสตาแกรนดิน (Lutalyse[®] Upjohn Co) ขนาด 25 มก.ต่อตัว เข้ากล้ามเนื้อในแม่โคตัวรับที่มีช่วงวงจรการเป็นสัด อยู่ในระหว่างวันที่ 5-17 หลังอาการสัด สังเกตอาการสัดหลังฉีดยา
- ทำการฝากตัวอ่อนในวันที่ 7 หลังพบอาการสัดในตัวรับ

ตัวอ่อนแช่แข็ง

ใช้ตัวอ่อนแช่แข็งโคพันธุ์เอเอฟเอส นำเข้าจากประเทศออสเตรเลีย จำนวน 120 ตัว คุณภาพก่อนการแช่แข็งอยู่ในระดับดีและดีเยี่ยม (เกรด A และ B) มีระยะการเจริญเติบโตอยู่ในระยะบลาสโตซิสต์ (Blastocyst) หรือคอมแพคตมอรูล่า (Compact Morula) ทำการชะล้างและเก็บตัวอ่อนจากโคตัวให้ในวันที่ 7 หลังผสม ทราบประวัติสายพันธุ์ของทั้งพ่อและแม่ตัวให้ไข่ ทำการแช่แข็งโดยใช้น้ำยาพีบีเอส (PBS) ที่มีส่วนผสมของ 20% Fetal calf serum และกลีเซอรอลขนาดความเข้มข้น 1.5 M บรรจุในหลอดบรรจุตัวอ่อนขนาด 0.25 มล. เก็บโดยแช่ในไนโตรเจนเหลว

การทำละลายตัวอ่อนแช่แข็ง

นำหลอดบรรจุตัวอ่อนออกจากถังไนโตรเจนเหลว ทิ้งไว้ในอากาศที่อุณหภูมิห้อง 15 วินาที จากนั้นจุ่มหลอดบรรจุตัวอ่อนลงในน้ำอุ่น อุณหภูมิ 37 °C นาน 20 วินาที นำขึ้นมาใช้กระดาษซับน้ำข้างหลอดให้แห้ง ดึงจุกอุดหลอดออก ตัดปลายอีกด้านของหลอด เพื่อให้ตัวอ่อนไหลลงในจานเลี้ยงตัวอ่อน นำตัวอ่อนมาล้างเอาน้ำยากลีเซอรอลออก โดยการลดความเข้มข้นของกลีเซอรอลลงตามลำดับ ในน้ำยาที่มีส่วนผสมของกลีเซอรอล และซูโครสในความเข้มข้นต่างๆ กัน ดังนี้

	กลีเซอโรล(M)	ซูโครส(M)
น้ำยาล้างที่ 1	0.75	0.4
น้ำยาล้างที่ 2	0.35	0.4
น้ำยาล้างที่ 3	-	0.5

จากนั้นนำตัวอ่อนไปเลี้ยงในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนอีกครั้ง ประเมินคุณภาพตัวอ่อนหลังการทำละลาย จัดบันทึกคุณภาพตัวอ่อน บรรจุตัวอ่อนในหลอดเพื่อรอการฝากให้ตัวรับ

การฝากตัวอ่อนให้โคตัวรับ

คัดเลือกโคตัวรับที่มีอาการสัดแบบยืนนิ่ง (standing heat) ก่อนวันทำการฝาก 7 วัน มาเข้าคอกคัดเพื่อล้างตรวจดูคุณภาพของ CL บนรังไข่ (Corpus Luteum) โดยล้างผ่านทางทวารหนัก คัดเลือกโคตัวรับเฉพาะที่มี CL คุณภาพดีเหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวรับในการฝากตัวอ่อน ทำเครื่องหมายที่สะโพกข้างที่มี CL อยู่บนรังไข่

การฝากโดยวิธีผ่าตัด (Surgical transfer)

- นำโคตัวรับเข้าของบังคับสำหรับผ่าตัด ฉีดยากล่อมประสาท AcepromazineR ขนาด 10 มก. เข้ากล้ามเนื้อ
- เตรียมโกนขน ทำความสะอาด บริเวณขอบหลังของสวาทข้างที่มี CL อยู่ ตามวิธีทางศัลยกรรม
- เปิดผ่าชั้นผิวหนังโดยใช้ flank knife จากแนวต่ำจากกระดูกสะโพก Tuber coxae โดยเปิดแผลยาวประมาณ 10-12 ซม. ขนานไปตามแนวกล้ามเนื้อ แหวกกล้ามเนื้อจนถึงชั้นเยื่อช่องท้อง ใช้นิ้วมือเจาะทะลุ เยื่อช่องท้อง ล้วงมือลงไปตรวจรังไข่เพื่อยืนยันว่ามี CL ที่มีคุณภาพคืออยู่บนรังไข่ข้างดังกล่าวจริง

3. ดึงปลายปีกมดลูกข้างเดียวกับรังไข่ที่มี CL อยู่ ขึ้นมาที่ปากแผล ใช้เข็มเบอร์ 18 ที่ทำการลบคมแล้วเจาะนำเพื่อให้เกิดรูก่อนที่จะนำหลอดบรรจุตัวอ่อนชนิด Tom Cat Catheter สอดเข้าไป ฉีดตัวอ่อนเข้าในปีกมดลูก ปลดอมดลูกกลับเข้าที่

- เย็บปิดกล้ามเนื้อ และผิวหนังตามวิธีทางศัลยกรรม

การฝากโดยวิธีไม่ผ่าตัด (Non-surgical transfer)

ใช้กระบอกลอกตัวอ่อนซึ่งมีลักษณะคล้ายกระบอกลมผสมเทียม บรรจุหลอดตัวอ่อนเข้าในกระบอกลอก ทำวิธีการเช่นเดียวกับการผสมเทียม โดยสอดผ่านปากมดลูกเข้าไป ปลดตัวอ่อนในปีกมดลูกข้างที่มี CL อยู่บนรังไข่

ตรวจการตั้งท้อง

สังเกตอาการสัดหลังการฝากตัวอ่อน เพื่อดูการกลับสัด ตรวจการตั้งท้องโดยการล้วงคลำผ่านทางทวารหนัก หลังการฝากอย่างน้อย 90 วัน

วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธี Least-square Analysis

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการตรวจการตั้งท้องในโคตัวรับ จำนวน 112 ตัว ที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์หีบถาวร และลำพญากลาง พบว่ามีอัตราการตั้งท้องเฉลี่ย 34.8% ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจการตั้งท้องในโคตัวรับที่ได้รับการฝากตัวอ่อนแช่แข็ง

สถานที่	จำนวนโคตัวรับ(ตัว)	จำนวนโคตั้งท้อง(ตัว)	อัตราการตั้งท้อง(%)
ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์หีบถาวร	72	26	36.1
ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ลำพญากลาง	40	13	32.5
รวม	112	39	34.8

เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานความสำเร็จของการฝากตัวอ่อนแช่แข็งในประเทศไทย ตามรายงานของ Singhajan และคณะ, (1988) ตารางที่ 2 และรายงานอัตราการตั้งท้องในโคตัวรับจากการฝากตัวอ่อนแช่แข็ง ที่มีผู้รายงานในต่างประเทศ ตามตารางที่ 3 พบว่าการทำการฝากตัวอ่อนแช่แข็งครั้งนี้ให้ผลเป็นที่น่าพอใจ ถึงแม้จะมีปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความสำเร็จของการฝากตัวอ่อนที่ไม่อาจควบคุมได้หลายประการ

ตารางที่ 2 สรุปความสำเร็จของการย้ายฝากตัวอ่อนแช่แข็งของโคในประเทศไทย

ปี (ค.ศ.)	จำนวนครั้งที่ทำ (ครั้ง)	จำนวนลูกเกิด (ตัว)	อัตราลูกเกิด (%)	รายละเอียด
1984	12	1	8.3	ตัวอ่อนแช่แข็งจากบริษัท Genetic Carnation ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำที่ฟาร์มโชคชัย จ.สระบุรี โดยวิธีผ่าตัด
1985	14	1	7.1	ตัวอ่อนแช่แข็งจากสหรัฐอเมริกา ที่อุดมฟาร์ม บ้านโป่ง ราชบุรี ทำโดยวิธีไม่ผ่าตัด
1986	24	2	8.3	ตัวอ่อนแช่แข็งจากนิวซีแลนด์ ที่อุดมฟาร์ม บ้านโป่ง ราชบุรี ทำโดยวิธีไม่ผ่าตัด
1987	34	10	29.4	ตัวอ่อนแช่แข็งจากสหรัฐอเมริกา ที่อุดมฟาร์ม บ้านโป่ง ราชบุรี ทำโดยวิธีไม่ผ่าตัด

ตารางที่ 3 รายงานอัตราการตั้งท้องของโคตัวรับที่ได้รับการฝากตัวอ่อน ในต่างประเทศ

ปี ค.ศ.	อัตราการตั้งท้องในโคตัวรับ (%)		เอกสารอ้างอิง
	ตัวอ่อนแช่แข็ง	ตัวอ่อนสด	
1984	35-40	-	Elsden, R.P., 1984
1984	35-40	-	Ferguson, A.B., 1984
1987-1988	44.0	54.8	Sydow, J. and Oesterreich, D., 1990
1988	41	64	Holzman, U., 1990
1989	50	65	Holzman, U., 1990
1989	50	-	Seidel, G.E.Jr. and Elsden, P.R., 1989
1990	49.0	65.4	Falge, et al., 1990
1990	55.0	65.2	Silva A-da and Zanenga, C.A., 1991

ปัจจัยที่อาจมีผลต่อการตั้งท้องของโคตัวรับ จากผลการวิจัยครั้งนี้ ได้แก่

คุณภาพของตัวอ่อน

Seidel และ Elsden (1989) ลงความเห็นว่า การแช่แข็งและการละลายตัวอ่อนแช่แข็งทำให้ตัวอ่อนเสียหายได้ Lehn-Jensen (1984) พบว่าความแข็งแรงของตัวอ่อนลดลงหลังผ่านขบวนการแช่แข็งและการละลายตัวอ่อน 7% จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า จากจำนวนตัวอ่อน 120 ตัวที่มีคุณภาพก่อนการแช่แข็งอยู่ในระดับดีเยี่ยม (เกรด A) และดี (เกรด B) เมื่อผ่านขบวนการแช่แข็งและละลายตัวอ่อนแล้วมีตัวอ่อนเสียหายจากขบวนการดังกล่าว 11 ตัว (9.2%) ความเสียหายที่พบได้แก่ มีการแตกของเปลือก (Zona pellucida) มีการสูญเสียของ

เซลล์จำนวนมากจนอยู่ในสภาพไม่สามารถนำไปฝากได้ หรือตัวอ่อนตาย (เกรด D หรือ Degenerated egg) พบตัวอ่อน 7 ใน 120 ตัวมีคุณภาพต่ำลงจากเดิมคือจากคุณภาพก่อนการแช่แข็งอยู่ในเกรดดีและดีเยี่ยมเมื่อผ่านขบวนการแช่แข็งและละลายแล้วคุณภาพอยู่ในระดับพอใช้ได้ (เกรด C) คิดเป็นร้อยละ 5.8 นอกนั้นจัดเป็นตัวอ่อนคุณภาพดีเหมาะสมที่จะใช้ในการฝากให้ตัวรับ จำนวน 102 ตัว (85%)

ความสมบูรณ์ของตัวรับ

ความสมบูรณ์พันธุ์ (fertility) ความสมบูรณ์ทางด้านโภชนาการ (nutritional status) ตลอดจนด้านสุขภาพของตัวรับ ทั้งนี้ขึ้นกับการดูแลจัดการที่ดีก่อนและหลังการฝากตัวอ่อน Newcomb (1979) พบว่าอัตราการตั้งท้องของตัวรับที่มีสภาพร่างกายสมบูรณ์ โดยดูจากสภาพภายนอก (tailhead score) ดีกว่ากลุ่มที่มีร่างกายซูบผอม Hill และคณะ (1970) พบว่าการให้อาหารในระดับที่ต่ำกว่าระดับความต้องการของร่างกาย (submaintenance diet) จะมีผลทำให้ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ซึ่งเป็นฮอร์โมนสำคัญในการตั้งท้อง ลดลงภายใน 5 วัน Dunn (1980) แนะนำให้มีการควบคุมโภชนาการในกลุ่มโคตัวรับอย่างใกล้ชิด ตั้งแต่ตัวรับเริ่มแสดงอาการสัด จนถึง 40 วัน หลังอาการสัด หรือหลังการฝากตัวอ่อน และดูแลโคตัวรับตั้งท้องให้ได้รับอาหารเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของลูกและการยังชีพของแม่ จนถึงกำหนดคลอด ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าในสภาพการเลี้ยงดูที่คล้ายคลึงกัน โคลูกผสมพันธุ์เรดซินดี มีแนวโน้มที่จะให้อัตราการตั้งท้องสูงกว่าพันธุ์บราห์มัน และพันธุ์ขาวดำ โดยมีค่าเฉลี่ยของอัตราการตั้งท้อง 29.8 ± 10.9 เมื่อเทียบกับ 13.2 ± 11.9 และ 8.4 ± 11.9 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ต่างกันในโคต่างสายพันธุ์ และพบว่าโคตัวรับที่มีอายุมากกว่า 10 ปีให้อัตราการตั้งท้องต่ำกว่า ($6.3 \pm 11.9\%$) เมื่อเทียบกับโคที่มีอายุน้อยกว่า 10 ปี ($28.0 \pm 9.4\%$) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

วิธีการฝากตัวอ่อน

การฝากโดยวิธีผ่าตัดให้อัตราการตั้งท้องในโคตัวรับดีกว่าวิธีไม่ผ่าตัด อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (27.7 ± 5.7 เทียบกับ $6.6 \pm 17.5\%$) ผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Newcomb (1979) Seidel และ Elsden (1989) และ Almeida-Filho (1990) ในปี 1980 Schneider และคณะรายงานการตั้งท้องจากการฝากโดยวิธีผ่าตัดสูงกว่าวิธีไม่ผ่าตัด (66 vs 44%) โดยให้เหตุผลว่าตำแหน่งที่ใส่ตัวอ่อนในปีกมดลูกมีอิทธิพลต่อการมีชีวิตรอดของตัวอ่อนในแม่ตัวรับ การฝากแบบผ่าตัดจะช่วยให้สามารถนำตัวอ่อนไปใส่บริเวณปลายปีกมดลูกซึ่งเป็นบริเวณที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนอายุ 6-7 วัน เช่นเดียวกับรายงานยืนยันความสำคัญของตำแหน่งที่ฝากตัวอ่อนของ Newcomb และ Rowson (1980) และ Christie และคณะ (1980) การฝากตัวอ่อนโดยใช้กระบอกฝากตัวอ่อนสอดผ่านทางปากมดลูกอาจให้อัตราการตั้งท้องสูงขึ้นถ้าใช้ตัวอ่อนที่มีอายุมากขึ้น ทั้งนี้ไม่ว่าจะเป็นการฝากวิธีใด อัตราความสำเร็จยังขึ้นกับความชำนาญของผู้ทำด้วย (Halley และคณะ, 1979, Schneider และคณะ 1980, Moore, 1984 และ Seidel และ Elsden 1989)

ระยะเวลาเจริญเติบโตของตัวอ่อน

พบว่าตัวอ่อนที่อยู่ในระยะบลาสโตซิสต์ (Blastocyst) จะให้อัตราการตั้งท้องสูงกว่าตัวอ่อนระยะมอรูล่า (Morula) โดยมีค่าเฉลี่ยของการตั้งท้อง 28.2 ± 9.2 เมื่อเทียบกับ $6.1 \pm 12.1\%$ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับรายงานของ Heyman และคณะ, 1978, Newcomb, 1979, Hally และคณะ, 1979, Schneider และคณะ, 1980 และ Holy และคณะ, 1990

ปัจจัยอื่นๆ ที่จะต้องทำการศึกษาต่อไป ได้แก่ ช่วงเวลาเป็นสัดที่ตรงกันของตัวรับและตัวให้ Newcomb และ Rowson (1975) และ Almeida-Filho (1990) พบว่าตัวรับที่แสดงอาการสัดเร็วหรือช้ากว่าตัวให้เพียง 1 วัน มีผลให้อัตราการตั้งท้องต่ำกว่ากลุ่มที่ตัวรับแสดงอาการสัดตรงกับตัวให้อย่างเห็นได้ชัด Elsden (1984) กล่าวถึงคุณภาพของตัวอ่อน วิธีการแช่แข็งตัวอ่อนและวิธีละลายตัวอ่อน ความชำนาญและระดับความระมัดระวังของคณะผู้ทำในทุกขั้นตอน นอกจากนั้นชนิดและคุณภาพของน้ำยาละลายที่ใช้ยังมีผลต่อความสำเร็จในการฝากตัวอ่อนด้วย (Newcomb, 1982) การสูญเสียตัวอ่อนจากการแท้งหลังการฝาก ขณะที่ตัวอ่อนมีอายุ 8-20 วัน มีได้ถึง 20% เช่นเดียวกับที่เกิดในการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ หรือในการทำผสมเทียม (Elsden และ Seidel, 1984 และ Peter และ Ball, 1987)

ข้อเสนอแนะ

จะเห็นว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความสำเร็จในการฝากตัวอ่อนมีมากมายดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น และความล้มเหลวอาจเกิดจากความผิดพลาดในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของขบวนการที่เกี่ยวข้อง ฉะนั้นการทำการฝากตัวอ่อนจะสำเร็จหรือไม่ ไม่ได้ขึ้นกับบุคคลเพียงคน

เดียว จำเป็นต้องมีการสร้างทีมงาน มีการเตรียมบุคลากรที่มีความรู้ ความเข้าใจในเทคโนโลยีเป็นอย่างดี และสามารถนำเทคโนโลยีนี้มาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ดำเนินงานทดลอง ขอขอบคุณ คุณกัลยา บุญญานวัตร ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านการวิเคราะห์ข้อมูล นักวิชาการและเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ทับกวาง และลำพญากลางที่ความสะดวกและให้ความช่วยเหลือในการเลี้ยงดูสัตว์ทดลอง ตลอดจนการสังเกตอาการสัตว์ของโคตัวรับจนเสร็จการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

- Almeida-Filho, A.P. 1990. Surgical and non-surgical transfer of frozen cattle embryo. Factors affecting final results. *Animal Breeding Abstract* 058-07214.
- Christie, W.B., Newcomb, R. and Rowson, L.E.A. 1980. Non-surgical transfer of bovine eggs : investigation of some factors affecting embryo survival. *Vet. Rec.* 106:190.
- Dunn, T.G. 1980. Relationship of nutrition to successful embryo transplantation. *Theriogenology* 13:27.
- Elsden, R.P. 1984. Success rates with cryopreserved bovine embryos. Proc. No. 70 Bovine Embryo Transfer Workshop. Univ. of Sydney, Australia, pp. 191-197.
- Elsden, R.P. and Seidel, G.E.Jr. 1984. Embryo transfer. Proc. No.70. Bovine Embryo Transfer Workshop. Univ. of Sydney, Australia, pp.55-79.
- Falge, R., Rommel, P., Oesterreich, D., Seifert, F., Muller, H., Freymann, U. and Draheim, B. 1990. *Archiv-fur-experimentelle-veterinarmedizin* 44 (1):127-134 (abst).
- Ferguson, A.B. 1984. Freezing and thawing. Proc No.70, Embryos Transfer Workshop, Univ. of Sydney, Australia, 215-225.
- Halley, S.M., Rhodes, R.C., McKellar, L.D. and Randel, R.D. 1979. Successful superovulation, non-surgical collection and transfer of embryos from Brahman cows. *Theriogenology* 12:97.
- Heyman, Y., Renard, J.P., Ozil, J.P. and du Mesnil du Buisson, F. 1978. Cervical embryo transfer at different stages in cattle. In: *Control of Reproduction in Cow*, Sreenan, J.M. (ed.), Martinius Nyhoff, The Hague 330 p.
- Hill, J.R., Jr., Lamond, D.R., Henricks, D.M., Dickey, J.F. and Niswender, G.D. 1970. The effects of undernutrition on ovarian function and fertility in beef heifers. *Bio Reprod.* 2:78.
- Holly, L., Lopatarova, M. and Krontorad, P. 1990. The quality and stage of development of cattle embryos in relation to their survival in vivo following an ipsilateral non-surgical transfer. *Ani. Breeding Abst.* 058-02016.
- Holzmann, U. 1990. Unexpected development of embryo transfer. *Ani. Breeding Abst.* 058-05084.
- Lehn-Jensen, H. 1984. Deep freezing of cattle embryo. Proc. 10th Int Con on Ani Reprod and AI Vol 4, pp.1-12.
- Moore, R.L. 1984. Surgical and non-surgical transfer of bovine embryos. Proc. No.70 Bovine Embryos Transfer Workshop, Univ. of Sydney, Australia, pp. 203-204.
- Newcomb, R. and Rowson, L.E.A. 1975. Conception rate after uterine transfer of cow eggs in relation to synchronization of estrus and age of eggs. *J.Reprod Fert.* 43:539.
- Newcomb, R. 1979. Surgical and non-surgical transfer of bovine embryos. *Vet. Rec.* 105:432.
- Newcomb, R. and Rowson, L.E.A. 1980. Investigation of physiological factors affecting non-surgical transfer. *Theriogenology* 13:41.
- Newcomb, R. 1982. Egg recovery and transfer in cattle. In: *Mammalian Egg Transfer*, Cyril, E.Adams (ed.), CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. pp. 81-118.
- Peter, A.R. and Ball, P.J.H. 1987. Fertilization, conception, pregnancy and its detection. In : *Reproduction in Cattle*. Butterworths, London, pp. 91-107.
- Seidel, G.E., Jr. and Elsden, P.R. 1989. Embryo transfer in dairy cattle. W.D. Hoard & Sons Co. 101p.
- Schneider, H.J., Jr., Castleberry, R.S. and Griffin, J.L. 1980. Commercial aspects of bovine embryos transfer. *Theriogenology* 13:73.
- Silva, A-da and Zanenga, C.A. 1991. Pregnancy rate following transfer of embryos to recipients in spontaneous or synchronized estrus. *Index Veterinarius* 059-00001.
- Singhajan, S., Sujarit, V., Satayapunt, Ch. and Sirivejapandu, S. 1988. Embryo transfer technology in cattle: Experiences in

Thailand. Proc. Regional Workshop on Biotechnology in Animal Production and Health in Asia, Bangkok, Thailand, pp. 149-152.

Sophon, S and Kamonpatana, M. 1989. Cryopreservation of cattle and buffalos : prospects of potential uses in Thailand. Proc 1st Symposium on Ruminant Reproduction and Parasitology. Chiangmai, Thailand, pp. 53-62.

Sydow, J. and Oesterreich, D. 1990. Embryo transfer in cattle:management of recipients indoors and on pasture. Ani. Breeding Abst. 058-04290.