

อัตราการตั้งท้องจากการย้ายฝากตัวอ่อนในโคโดยวิธีผ่าตัดและไม่ผ่าตัด

Pregnancy Rate after Surgical and Transcervical Transfer

of Frozen Bovine Embryos

ยันต์ สุขวงศ์ วิบูลย์ เยี่ยงวิศวกุล มาลี อภิเมธีธำรง และ จุรีย์รัตน์ สำเร็จประสงค์

Yant Sukwongs, Viboon Yiengvisavakul, Malee Apimeteetumrong, and Jureerat Sumretprasong

บทคัดย่อ

การนำตัวอ่อนแช่แข็งของโคพันธุ์ดีจากต่างประเทศ เข้ามาทำการย้ายฝากตัวอ่อนให้โคตัวรับภายในประเทศ เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้เร่งการปรับปรุงสายพันธุ์โคในประเทศ วิธีการปฏิบัติการย้ายฝากตัวอ่อนที่ปฏิบัติกันมี 2 วิธี คือ วิธีผ่าตัด และไม่ผ่าตัด การศึกษาครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อ วิเคราะห์เปรียบเทียบอัตราการตั้งท้องในโคตัวรับ ที่ทำการย้ายฝากตัวอ่อนในแต่ละวิธี จากการย้ายฝากตัวอ่อนแช่แข็งโคพันธุ์เอ เอฟ เอส จำนวน 433 ตัวอ่อน ให้กับโคตัวรับในสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์ 3 สถานี ผลการวิเคราะห์พบว่าการย้ายฝากตัวอ่อนแบบผ่าตัดให้ผลดีกว่าแบบ ไม่ผ่าตัด ที่สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์พิษณุโลก(34.7% vs. 14.3%) และที่สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์จันทบุรี(36.0% vs. 14.8 %) $P < 0.01$

ABSTRACT

The transfer of frozen embryo is the technique that allows us to rapid increase the genetic improvement of the herd especially in the dairy industry. Two methods of transferring of embryo, surgical and transcervical transfer, are commonly used. This study was aimed to compare the conception rate after the transfer of frozen-thawed embryos surgically and non surgically. Four hundred thirty three(433) frozen-thawed embryos have been transferred to recipient cows at 3 different breeding stations. The results showed highly significant different in pregnancy rates of surgical and non-surgical transfer methods at Pitsanulok and Chantaburi Breeding Station, 34.7% vs 14.3% and 36.0% vs 14.8% ($p < 0.01$), respectively.

คำนำ

ปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีการย้ายฝากตัวอ่อนมาใช้เพื่อปรับปรุงพันธุ์โค โดยเฉพาะอย่างยิ่งในโคนม การนำเข้าตัวอ่อนแช่แข็งของโคนมสายพันธุ์ดีจากต่างประเทศมาย้ายฝากให้แก่แม่โคตัวรับภายในประเทศ เป็นวิธีหนึ่งที่มีการนำมาใช้ปรับปรุงสายพันธุ์ของโคในประเทศ อย่างไรก็ตามก็ตามมีผู้ถกเถียงกันถึงความคุ้มค่าในการผลิตลูกโคโดยวิธีนี้ เนื่องจากผลการตั้งท้องจากการย้ายฝากตัวอ่อนมีความแปรผันในการปฏิบัติงานในแต่ละครั้ง ทั้งนี้เนื่องมาจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องมากมาย ทั้งที่สามารถควบคุมได้และที่ไม่อาจควบคุมได้ ตามที่ ยนต์ สุขวงศ์ และคณะ (2536) เคยรายงานไว้แล้ว วิธีการย้ายฝากตัวอ่อนก็เป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่มีอิทธิพลต่ออัตราการตั้งท้องจากการย้ายฝากตัวอ่อน มีผู้ยืนยันผลการย้ายฝากตัวอ่อนโดยวิธีการผ่าตัดว่าให้อัตราการตั้งท้องสูงกว่าการฝากโดยสอดกระบอกลิดตัวอ่อนผ่านทางช่องคลอด (Schneider and Hahn, 1979; Schneider et. al., 1980; Elsdon and Seidel, 1984 และ Sreenan and Diskin, 1987) ถึงแม้จะมีผู้รายงานอัตราการตั้งท้องจากวิธีการย้ายฝากตัวอ่อน แบบผ่าตัดและไม่ผ่าตัด ว่าให้ผลการตั้งท้องไม่แตกต่างกัน (Newcomb, 1979; Lewis, 1992) แต่อัตราความสำเร็จขึ้นกับความชำนาญของผู้ปฏิบัติเป็นปัจจัยหลัก ในการทดลองครั้งนี้ เป็นการย้ายฝากตัวอ่อนที่มีพันธุกรรมดี นำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์โคนม วิธีการย้ายฝากตัวอ่อนแบบผ่าตัดที่คาดว่าจะให้ผลการตั้งท้องสูงกว่าจึงถูกนำมาพิจารณาให้เป็นทางเลือกในการปฏิบัติงานอีกวิธีหนึ่ง เพื่อให้ได้ผลสูงสุด

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอ่อนแช่แข็ง

การดำเนินงานใช้ตัวอ่อนแช่แข็งโคพันธุ์ เอ เอฟ เอส จากประเทศออสเตรเลีย ซึ่งมีคุณภาพ ก่อนการแช่แข็งได้

อยู่ระดับดีเยี่ยม (A) และดี (B) มีระยะการเจริญเติบโตใน ระยะต่างๆ ได้แก่ คอมแพคมอรูล่า (Compact Morula-CM) บลาสโตซิสต์ระยะต้น(Early Blastocyst-EB)บลาสโตซิสต์(Blastocyst-B)และบลาสโตซิสต์ระยะท้าย(Expanded Blastocyst-ExB) จำนวน 433 ตัวอ่อน ตัวอ่อนระยะต่างๆ แสดงในภาพที่ 1

โคตัวรับ ใช้โคตัวรับในสถานีนำรุงพันธุ์สัตว์ 3 แห่ง

- สถานีนำรุงพันธุ์สัตว์พิษณุโลก เป็นโคตัวรับ พันธุ์บราห์มันจากประเทศออสเตรเลีย จำนวน 107 ตัว
- สถานีนำรุงพันธุ์สัตว์สระแก้ว เป็นโคตัวรับ พันธุ์เรดซินดี้ จำนวน 274
- สถานีนำรุงพันธุ์สัตว์จันทบุรี เป็นโคตัวรับ พันธุ์บราห์มันจากประเทศออสเตรเลีย จำนวน 52 ตัว

การเหนี่ยวนำการเป็นสัดในโคตัวรับ

เหนี่ยวนำการเป็นสัดโคตัวรับ โดยใช้แท่งโปรเจสเตอโรน (Progesterone Intravaginal Device¹) สอดใส่ในช่องคลอด พร้อมแคปซูลยาเอสตราไดโอดอล เบนโซเอท (Estradiol Benzoate) ขนาด 10 มก. โดยใส่ไว้ 10 วัน แล้วฉีดสารโปรสเตอโรนดินสังเคราะห์ (Cloprostenol²) ขนาด 500 ไมโครกรัม เข้ากล้ามเนื้อ 1 วันก่อนถอดแท่งโปรเจสเตอโรนออก ตรวจอาการสัดในโคตัวรับหลังถอดแท่งโปรเจสเตอโรนออกฝากตัวอ่อนให้กับตัวรับหลังอาการสัด 7 วัน

วิธีการฝากตัวอ่อน

นำตัวอ่อนแช่แข็งหลังการทำละลาย โดยการดองสารกลีเซอรอลออกจากเซลล์ 3 ขั้นตอน มาฝากให้กับตัวรับที่ได้รับการตรวจคุณภาพของคอร์ปัสลูเทียมว่ามีคุณภาพดีแล้ว โดยให้การผ่าตัดใส่ตัวอ่อนในปีกมดลูกข้างเดียวกับรังไข่ที่มีคอร์ปัสลูเทียม (ภาพที่ 2) หรือโดยวิธีไม่ผ่าตัดแต่ใช้กระบอกลิดตัวอ่อน (ภาพที่ 3) ซึ่งมีลักษณะคล้ายกระบอกลิดน้ำเชื้อ

1 CIDR-B - Carter Holt Harvey Plastic Products, Hamilton, New Zealand.

2 Estrumate - Mallinckrodt Veterinary Limited, NSW, Australia.

ใช้ในงานผสมเทียม สอดผ่านปากช่องคลอดแล้วนำตัวอ่อนไปปล่อยที่ในปีกมดลูกข้างเดียวกับรังไข่ที่มีคอร์ปัสลูเทียมตามวิธีที่ได้รายงานแล้ว (ยันต์ สุขวงศ์ และคณะ, 2536)

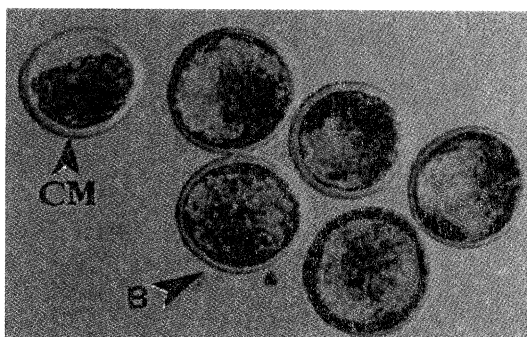
การวิเคราะห์ข้อมูล

ตรวจการตั้งท้อง โดยการล้วงคลำผ่านทางทวารหนักหลังการย้ายฝากอย่างน้อย 90 วัน วิเคราะห์ข้อมูลอัตราการตั้งท้อง ที่มีผลมาจากวิธีการฝาก และปัจจัยอื่นๆ โดยใช้การทดสอบ ไคสแควร์

ผลและวิจารณ์

การวิเคราะห์การทดลอง โดยการทดสอบแบบไคสแควร์ พบว่าอัตราการตั้งท้องจากการย้ายฝากตัวอ่อนแบบวิธีผ่าตัดและแบบไม่ผ่าตัด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์พิษณุโลก (34.7% และ 14.3%) และจันทบุรี (36.0% และ 14.8%) แต่ไม่พบความแตกต่างในสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สระแก้ว (ตารางที่ 1)

เมื่อเปรียบเทียบผลการตั้งท้องในโคตัวรับโดยรวมในแต่ละสถานที่(ตารางที่ 2) พบว่าอัตราการตั้งท้องในกลุ่มโคตัวรับที่สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์พิษณุโลก(25.0%) และจันทบุรี(28.0%) ไม่มีความแตกต่างกันแต่ผลการตั้งท้องของโคตัวรับทั้งที่สถานีบำรุงพันธุ์พิษณุโลกและจันทบุรี แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง กับผลการตั้งท้องของโคตัวรับ ที่สถานีบำรุง

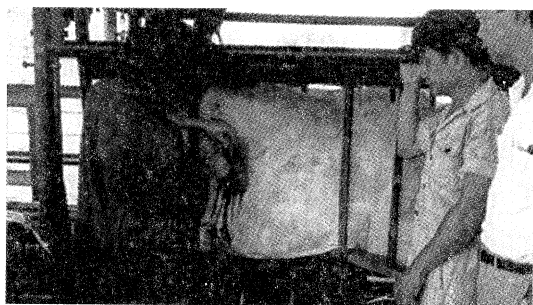


ภาพที่ 1 ตัวอ่อนโคระยะ Compact Morula(CM), Blastocyst(B) และ Expanded Blastocyst(ExP)

พันธุ์สัตว์สระแก้ว (14.2%, $P < 0.01$) ทั้งนี้เนื่องจากผลกระทบจากปัจจัยร่วมอื่นๆ ได้แก่ คุณภาพตัวอ่อน ระยะการเจริญของตัวอ่อน พันธุ์สัตว์ และอื่นๆ ที่มีอิทธิพลต่ออัตราการตั้งท้อง ดังที่กล่าวแล้ว โดยยันต์ สุขวงศ์และคณะ (2536)

เมื่อทดสอบการกระจายของปัจจัยอื่นที่มีอิทธิพลต่ออัตราการตั้งท้อง พบว่าการ กระจายของคุณภาพตัวอ่อนและระยะของตัวอ่อน ที่ให้ผลการตั้งท้องสูง มีมากกว่าในสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์พิษณุโลกและจันทบุรี เมื่อเปรียบเทียบกับที่สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สระแก้ว (ตารางที่ 3)

ถึงแม้การย้ายฝากตัวอ่อนแบบไม่ผ่าตัดจะดูเหมือนเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยาก แต่ให้ผลการตั้งท้องต่ำกว่าการย้ายฝาก



ภาพที่ 2 การฝากตัวอ่อนโดยวิธีผ่าตัด (Surgical Transfer)



ภาพที่ 3 การฝากตัวอ่อนโดยวิธีไม่ผ่าตัด (Transcervical Transfer)

ตารางที่ 1 อัตราการตั้งท้องจากการย้ายฝากตัวอ่อนแบบวิธีการผ่าตัดและไม่ผ่าตัด

สถานที่	วิธีทำ	จำนวนโคตัวรับ (ตัว)	จำนวนโคตั้งท้อง (ตัว)	อัตราการตั้งท้อง (%)
สบส.พิษณุโลก	ผ่าตัด	72	25	34.7 ^a
	ไม่ผ่าตัด	35	5	14.3 ^b
สบส.จันทบุรี	ผ่าตัด	25	9	36.0 ^c
	ไม่ผ่าตัด	27	4	14.8 ^d
สบส.สระแก้ว	ผ่าตัด	130	22	16.9
	ไม่ผ่าตัด	144	17	11.8

a และ b , c และ d แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.01$

ตารางที่ 2 อัตราการตั้งท้องจากการย้ายฝากตัวอ่อนแช่แข็งโคพันธุ์เอ เอฟ เอส ที่สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์พิษณุโลก สระแก้ว และ จันทบุรี

สถานที่	พันธุ์	จำนวนโคตัวรับ (ตัว)	จำนวนโคตั้งท้อง (ตัว)	อัตราการตั้งท้อง (%)
สบส.พิษณุโลก	บราห์มัน	107	30	25.0**
สบส.จันทบุรี	บราห์มัน	52	13	28.0**
สบส.สระแก้ว	เรดซินดี้	274	39	14.2

** $P < 0.01$

ตารางที่ 3 แสดงการกระจายของตัวอ่อนที่นำไปย้ายฝากให้ตัวรับในสถานีแต่ละแห่ง ในด้านคุณภาพหลังละลาย (After thaw quality) และระยะการเจริญเติบโต (Embryonic development)

สถานี	คุณภาพตัวอ่อน				ระยะการเจริญเติบโต				
	A	B	C	รวม	CM	B	EB	EDB	รวม
พิษณุโลก	29	74	4	107	42	31	34	-	107
	(27%)	(69%)	(4%)		(39%)	(29%)	(32%)		
จันทบุรี	15	36	1	52	25	7	19	1	52
	(29%)	(69%)	(2%)		(48%)	(13%)	(37%)	(2%)	
สระแก้ว	114	147	13	274	90	93	87	4	274
	(41.6%)	(53.65%)	(4.75%)		(33%)	(34%)	(32%)	(1%)	

ตัวอ่อนแบบผ่าตัด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากข้อผิดพลาดต่างๆ ในการปฏิบัติงาน ดังต่อไปนี้

1. ประสิทธิภาพของผู้ปฏิบัติในการย้ายฝากตัวอ่อน
2. ความชำนาญในการตรวจคุณภาพคอร์ปัสลูเทียมบนรังไข่ โดยการล้างคลำผ่านทางผนังลำไส้ใหญ่
3. ตำแหน่งที่วางตัวอ่อนในมดลูก
4. ความนุ่มนวลของผู้ปฏิบัติ ในขณะสอดกระบอกฉีดตัวอ่อนเข้าไปในปากมดลูก ตลอดจนการจับตัวมดลูก
5. ความสะอาดในการปฏิบัติงาน ตลอดจนภาวะความปลอดภัยในช่องคลอด และมดลูกโคตัวรับ
6. ความชำนาญในการตรวจสอบและยืนยันคุณภาพตัวอ่อนหลังการละลาย
7. ความสะอาดในกระบวนการปฏิบัติงานเกี่ยวกับตัวอ่อนทั้งหมด

Lewis (1992) กล่าวถึงความแปรปรวนในอัตราการจัดตั้งจากการย้ายฝากตัวอ่อนว่า การย้ายฝากโดยวิธีไม่ผ่าตัด มีความแปรปรวนจากผู้ปฏิบัติจากคนหนึ่งไปยังอีกคนหนึ่งมากกว่าแบบผ่าตัด เวลาในการปฏิบัติการย้ายฝากตัวอ่อนไม่แตกต่างกันในทั้ง 2 วิธี ในการทดลองของเราพบว่าเราสามารถย้ายฝากตัวอ่อนแบบผ่าตัดใช้เวลาน้อยที่สุดตั้งแต่เปิดปากแผล ใส่ตัวอ่อนในปีกมดลูก ตลอดจนเย็บปิดปากแผลเสร็จภายใน 10 นาที ซึ่งจะเห็นว่าใช้เวลาไม่ต่างจากการฝากแบบไม่ผ่าตัดโดยเฉลี่ยมากนัก สอดคล้องกับการรายงานของ Moore(1984) ซึ่งกล่าวว่าในการย้ายฝากแบบไม่ผ่าตัด ต้องการประสบการณ์และความชำนาญของผู้ปฏิบัติมากกว่าแบบผ่าตัดที่เป็นดังนี้เพราะอัตราการตั้งท้องขึ้นกับความแม่นยำของการวิเคราะห์คุณภาพคอร์ปัสลูเทียม ความแม่นยำของตำแหน่งที่จะวางตัวอ่อน ระยะเวลาที่ใช้ในการปฏิบัติงาน ตลอดจนความนุ่มนวลในการปฏิบัติการย้ายฝาก ตัวอ่อนอย่างมาก

ในการทดลองย้ายฝากตัวอ่อนแบบผ่าตัดทั้ง 227 ตัวอ่อนให้กับโคตัวรับในทั้ง 3 สถานี ไม่พบมีการติดเชื้อหรือมีผลกระทบที่เกิดเนื่องจากการผ่าตัดภายหลังเลย โคที่แสดงอาการกลับสัดหลังการย้ายฝากตัวอ่อน สามารถนำ

กลับเข้าสู่ผสมพันธุ์และคลอดลูกได้ตามปกติ โคตัวรับบางตัวได้รับการย้ายฝากตัวอ่อนซ้ำโดยวิธีผ่าตัดอีก ในวงจรการเป็นสัดต่อมา โดยไม่พบผลข้างเคียงจากการผ่าตัดครั้งก่อนไม่ว่าจะผ่าซ้ำข้างเดิม หรือผ่าอีกข้าง

สรุป

การย้ายฝากตัวอ่อนแบบวิธีผ่าตัดสามารถใช้เป็นทางเลือกในการปฏิบัติการย้ายฝากตัวอ่อน ที่มีราคาแพงหรือมีคุณค่าทางพันธุกรรมสูง เมื่อมีความคาดหวังผลการติดตั้งท้องสูง แต่อาจไม่เหมาะที่จะนำมาใช้ในทางปฏิบัติในบางสถานที่ที่ไม่มีความพร้อมในการเตรียมอุปกรณ์ที่เหมาะสม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสถานีบำรุงพันธุ์สัตว์พิษณุโลก สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์สัตวแก้ว สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์จันทบุรี กองบำรุงพันธุ์สัตว์ และกองผสมเทียม กรมปศุสัตว์, คุณกัลยา บุญญานุวัตรและเจ้าหน้าที่ที่ให้ความช่วยเหลือในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

- ยันต์ สุขวงศ์ จุริยรัตน์ เอี่ยมวิทย์กร มาลี อภิเมธีธำรง วิทยุสย์ เยี่ยงวิศวรรุ ประทุม อินทรโชติ และนิทัศน์ อ่อนหวาน 2536 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตั้งท้องของโคตัวรับที่ได้รับ การฝากตัวอ่อนแช่แข็ง ประมวลเรื่องการประชุมวิชาการปศุสัตว์ ครั้งที่ 12 21-24 กรกฎาคม 2536 โรงแรมเมเลีย อ.หัวหิน จ.ประจวบคีรีขันธ์ หน้า 90-98.
- Elsden, R. P. and G. E. Seidel Jr. 1984. Embryo transfer. In: Proceedings No. 70, Bovine Embryo Transfer Workshop. T.G. Hungerford (Ed.). Postgraduate Committee in Veterinary Science, University of Sydney, 6-10 August 1984, pp. 55-96.
- Schneider, U. and J. Hahn. 1979. Bovine embryo

- transfer in German. *Theriogenology* 11(1): 63-80.
- Moore, R. L. 1984. Surgical and non-surgical transfer of bovine embryos. In: *Proceedings No. 70, Bovine Embryo Transfer Workshop*. T.G. Hungerford (Ed.). Post-graduate Committee in Veterinary Science, University of Sydney, 6-10 August 1984, pp. 205- 213.
- Newcomb, R. 1979. Surgical and non-surgical transfer of bovine embryos. *Vet Rec.* 105:432.
- Lewis, I. 1992. Embryo transfer techniques. In: *Proceeding 189, Embryo transfer & Pregnancy Diagnosis*. D.I. Bryan (Ed.), Post Graduate Committee in Veterinary Science, University of Sydney, pp. 99-107.
- Scheider U. and J. Hahn. 1979. Bovine embryo transfer in Germany. *Theriogenology* 11(1) 63- 80.
- Schneider, H. J., Jr., Castleberry, R. S., and J. L. Griffin. 1980. Commercial aspects of bovine embryo transfer. *Theriogenology* 13: 73.
- Sreenan, J. M. and M. G. Diskin. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. *Theriogenology* 27(1): 99-113.