

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษา ผลของการเสริมสารสกัดจากว่านหางจระเข้ในสูตร น้ำยาเพาะเลี้ยงโอโอไซต์โคแบบนอกร่างกายต่อการพัฒนาการเพาะเลี้ยงโอโอไซต์ ใช้รังไข่โคนเนื้อ เพศเมียที่เก็บจากโคที่ผ่านการฆ่าจากโรงฆ่าสัตว์ในจังหวัดขอนแก่น จำนวน 124 รังไข่ นำรังไข่ที่ได้กลับมายังห้องปฏิบัติการภายใน 1 ชั่วโมง การทดลองที่ 1 ทำการประเมินอิทธิพลของขนาดฟอลลิเคิลต่อความสามารถในการเก็บโอโอไซต์ โดยใช้โอโอไซต์จำนวน 176 โอโอไซต์ จากรังไข่โค 52 รังไข่ ใช้เข็มฉีดยาขนาด 18G 1/2 ทำการเจาะดูดโอโอไซต์จาก ฟอลลิเคิล ที่แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ <2 มิลลิเมตร และ 2-6 มิลลิเมตร ผลการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $P>0.05$ ) ของความสามารถในการเก็บโอโอไซต์ ระหว่างกลุ่มฟอลลิเคิลขนาดเล็ก (<2 มิลลิเมตร) และกลุ่มฟอลลิเคิลขนาดกลาง (2-6 มิลลิเมตร) การทดลองที่ 2 ใช้ 860 โอโอไซต์ จาก 72 รังไข่ เพื่อทำการหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของการเสริมสารสกัดจากว่านหางจระเข้ ในสูตรน้ำยาเพาะเลี้ยงโอโอไซต์โคแบบนอกร่างกาย ทำการเจาะดูดโอโอไซต์จากฟอลลิเคิลที่มีขนาด 2-6 มิลลิเมตร นำโอโอไซต์ที่มีนิวเคลียสเซลล์ล้อมรอบ (COCs) เพาะเลี้ยงจำนวน 20 โอโอไซต์ใน 100  $\mu$ l drop ของน้ำยาเพาะเลี้ยง (TCM-199 + 5% fetal calf serum + 0.025 IU follicle stimulating hormone) รวมด้วย 0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 และ 20% (vol/vol) ของสารสกัดจากว่านหางจระเข้ที่มีชื่อทางการค้า Certified plus<sup>TM</sup> Aloe vera (Aloecrop, Harlingen, TX, USA) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ 38.5°C สภาวะออกซิเจนปกติ ที่ 5% CO<sub>2</sub> จากนั้นทำการประเมินคุณภาพโอโอไซต์ทางสัณฐานวิทยา จากจำนวน 1<sup>st</sup> polar body แผ่ขยายของชั้นนิวเคลียสเซลล์ และลักษณะไซโทพลาสซึม จากการศึกษาพบว่าการเสริมว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้น 1.25% ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของ 1<sup>st</sup> polar body อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น ( $P<0.05$ ) อย่างไรก็ตามการตอบสนองของการเสริมว่านหางจระเข้ไม่เป็นสมการเส้นตรง การเสริมที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 20% ส่งผลให้เกิดความผิดปกติของไซโทพลาสซึม การทดลองที่ 3 ทำการประเมินคุณภาพโอโอไซต์ในช่วงการเพาะเลี้ยง จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและดีเอ็นเอ (ตามวิธีการของ Bradford assay และ Diphenylamine assay ตามลำดับ) ใช้โอโอไซต์ที่มีความสมบูรณ์และคุณภาพดีจำนวน 240 โอโอไซต์แบ่งออกเป็น 3 ทริทเมนต์ (0, 1.25 และ 2.5% ของการเสริมว่านหางจระเข้) ผลการศึกษาปริมาณโปรตีนและดีเอ็นเอเพื่อวัดจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้น (hyperplasia) ที่ 0 ชั่วโมง (ก่อนการเพาะเลี้ยง) และ 24 ชั่วโมง (หลังการเพาะเลี้ยง) พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ( $P>0.05$ ) การเสริมว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1.25 และ 2.5% มีปริมาณโปรตีนที่ 24 ชั่วโมง ( $0.1396\pm0.0049$   $0.1407\pm0.0042$  และ  $0.1369\pm0.0074$  ไมโครกรัมต่อโอโอไซต์ ตามลำดับ) มากกว่า ( $P<0.05$ ) ที่ 0 ชั่วโมง ( $0.1174\pm0.0052$   $0.1191\pm0.0047$  และ  $0.1141\pm0.0030$  ไมโครกรัมต่อโอโอไซต์ ตามลำดับ) สัดส่วนระหว่างโปรตีนต่อดีเอ็นเอเพื่อวัดขนาดของเซลล์ที่เพิ่มขึ้น (hypertrophy) ที่ 0 และ 24 ชั่วโมงไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มและระหว่างทริทเมนต์ ( $P>0.05$ ) การเสริมสารสกัดจากว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้น 1.25% ในสูตรน้ำยาเพาะเลี้ยงสามารถใช้เพื่อช่วยเพิ่มการเจริญพร้อมปฏิสนธิของโอโอไซต์โคแบบนอกร่างกาย

The objective of this study was to determine the effect of *Aloe vera* supplement in culture media on bovine oocyte maturation development. One hundred and twenty four bovine ovaries were collected from local slaughterhouse in Khon Kaen province and transferred to the laboratories within 1 h. In experiment 1, 176 oocytes from 52 ovaries were used to determine the effect of follicular size on oocyte recovery. Aspirated oocytes from follicle were classified into 2 groups (<2 mm and 2-6 mm). The oocyte recovery rates were not significantly different ( $P>0.05$ ) between small (<2 mm) and medium (2-6 mm). In experiment 2, 860 oocytes from 72 ovaries, (2-6 mm diameter of follicle) and cumulus-oocyte complexes (COCs) were cultured in groups of 20 COCs per 100  $\mu$ l drop of maturation media (TCM-199 + 5% fetal calf serum + 0.025 IU follicle stimulating hormone) supplemented with 0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 and 20% (vol/vol) of Certified plus<sup>TM</sup> *Aloe vera* (Aloecrop, Harlingen, TX, USA) for 24 hours at 38.5°C under the atmosphere of 5% CO<sub>2</sub>. The oocytes were morphologically evaluated using 1<sup>st</sup> polar body numbers, cumulus cell expansion and cytoplasm as the criterion for oocyte quality. The percentage of 1<sup>st</sup> polar body revealed greatest in 1.25% *Aloe vera* supplement ( $P<0.05$ ). However, the dose response of *Aloe vera* supplement was not linearly increased. Furthermore, the concentration of 10 and 20% revealed detrimental effects on growth and development of bovine oocyte. In experiment 3, quantitative protein and DNA analyses (using Bradford assay and Diphenylamine assay, respectively) were used to determine the change during the maturation process. Two hundred and forty of good and healthy oocytes were randomly divided into 3 treatment groups (0, 1.25 and 2.5% *Aloe vera* supplement). It was found that the quantitative protein and DNA content as indicator of hyperplasia at 0 h (pre-culture) and 24 h (post-culture) of the oocytes were not different among groups ( $P>0.05$ ). Supplementation of *Aloe vera* 0, 1.25 and 2.5% increased the protein content at 24 h ( $0.1396\pm0.0049$ ,  $0.1407\pm0.0042$  and  $0.1369\pm0.0074$   $\mu$ g/oocyte, respectively) more than ( $P<0.05$ ) 0 h ( $0.1174\pm0.0052$ ,  $0.1191\pm0.0047$  and  $0.1141\pm0.0030$   $\mu$ g/oocyte, respectively). The ratio of protein per DNA as indicator of hypertrophy at 0 h and 24 h were not different among groups and treatments ( $P>0.05$ ). Supplementation of 1.25% *Aloe vera* in culture media enhanced the in vitro bovine oocyte maturation.