การทดลองครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการเก็บรักษาตัวอ่อนสุกรพื้นเมืองสาวที่ผ่านการผ่าแบ่งเซลล์ตัวอ่อนเพื่อจำแนกเพศและแช่แข็งแบบ vitrification ทำการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่สุกรสาวด้วยฮอร์โมน PMSG ระดับ 1000 ไอยู และ hCG ระดับ 750 ไอยู ที่ 80 ชั่วโมงต่อมา เมื่อสุกรแสดงการเป็นสัดใช้พ่อพันธุ์ผสมจริงและเก็บตัวอ่อนระยะ morula ถึง blastocyst หลังผสม 6 วัน โดยการชะล้างตัวอ่อนจากระบบสืบพันธุ์ ด้วยน้ำยา mDPBS ที่เสริมซีรั่มจากลูกโคในระดับ 3 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงตัวอ่อนจนถึงระยะ expanded blastocyst แบ่งตัวอ่อนเป็น 4 กลุ่มคือ กลุ่มที่1) กลุ่มควบคุม จำนวน 46 ตัว, กลุ่มที่2) ตัวอ่อนผ่าแบ่งด้วยเครื่องไมโครเมนิพูเลเตอร์ จำนวน 46 ตัว, กลุ่มที่3) ตัวอ่อนแช่แข็งแบบ vitrification ด้วยน้ำยาแช่แข็งสูตร VS3a (6.5 M glycerol, โบวาย ซีรั่ม อัลบูมิน 60 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ใน mDPBS) จำนวน 41 ตัว และกลุ่มที่4) ตัวอ่อนผ่าแบ่งด้วยเครื่องไมโครเมนิพูเลเตอร์ และแช่แข็งแบบ vitrification ด้วยน้ำยาแช่แข็งสูตร VS3a จำนวน 40 ตัว จากการทดลองพบว่าตัวอ่อนกลุ่มควบคุมภายหลังการเลี้ยงที่ 12 ชั่วโมง มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดคือ 100 เปอร์เซ็นต์ (46/46) รองลงมาคือกลุ่มตัวอ่อนผ่าแบ่ง มีอัตราการรอดชีวิตที่ 12 ชั่วโมง เท่ากับ 89.13 เปอร์เซ็นต์ (41/46) และรองลงมาคือกลุ่มตัวอ่อนแช่แข็งมีอัตราการรอดชีวิตภายหลังการละลายที่ 12 ชั่วโมง เท่ากับ 73.17 เปอร์เซ็นต์ (30/41) โดยกลุ่มที่มีอัตราการรอดชีวิตต่ำที่สุดคือตัวอ่อนกลุ่มผ่าแบ่งและแช่แข็ง ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตภายหลังการละลายที่ 12 ชั่วโมง เท่ากับ 45 เปอร์เซ็นต์ (18/40) อัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนทุกกลุ่มมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การทดลองครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการผ่าแบ่งและแช่แข็งแบบ vitrification ส่งผลให้ตัวอ่อนมีอัตราการรอดชีวิตลดลง ($p<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม การจำแนกเพศตัวอ่อนสุกรพื้นเมืองด้วยเทคนิค duplex PCR พบว่าไม่สามารถพบแถบดีเอ็นเอของตัวอ่อนสุกรพื้นเมืองภายหลังการทำ PCR

240050

The objective of this experiment was to evaluate effect of biopsy for sexing and vitrification methods on viability of native pig embryo. Gilts were superovulated with 1000 IU PMSG and followed by 750 IU hCG 80 h later. Gilts observed in estrus were mated with boar and six days later embryos at morula through blastocyst stage were collected by flushed from reproductive tracts with mDPBS medium + 3% fetal bovine serum. Embryos at expanded blastocyst were allocated to four experiment groups 1) control group (n = 46) 2) biopsy by micromanipulator (n = 46) 3) cryopreserved by vitrification with VS3a (6.5 M glycerol + BSA 60 mg/ml in mDPBS) (n = 41) and 4) biopsy by micromanipulator and cryopreserved by vitrification with VS3a (n = 40). The embryos were in vitro cultured for 12 h and survival rate was determined. The survival rates were 100% (46/46), 89.13% (41/46), 73.17% (30/40) and 45% (18/40) in group 1, 2, 3 and 4 respectively. Survival rates in all group were significantly different ($p<0.05$). The present experiment indicated that, biopsy and vitrification methods affect the viability of embryos ($p<0.01$) as compare with control group. Sex determination of native pig embryos by duplex PCR was unsuccessful in the present study.