# การล้างเก็บและถ่ายฝากตัวอ่อนโดยวิธีนิรศัลยกรรมในโคนม*

# NON-SURGICAL EMBRYO RECOVERY AND TRANSFER IN DAIRY CATTLE

สมพร ดวนใหญ่
**Somporn Duan-yai**

ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
**Department of Animal Husbandry, Kasetsart University**

## บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพการล้างเก็บและการถ่ายฝากตัวอ่อนโดยวิธีนิรศัลยกรรมในโคนม แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรก ศึกษาประสิทธิภาพของการล้างเก็บตัวอ่อนจากโคตัวให้ โดยใช้โคนมลูกผสมจำนวน 7 ตัว เป็นโคตัวให้ เหนี่ยวนำให้ตกไข่ครั้งละหลาย ๆ ฟองด้วยฮอร์โมน FSH ในวันที่ 10 หลังจากการเป็นสัด แล้วจึงทำการผสมพันธุ์เมื่อเป็นสัดอีกครั้งด้วยน้ำเชื้อแช่แข็ง ล้างเก็บตัวอ่อนด้วยวิธี Rüsch two-way Foley catheter โดยแบ่งโคตัวให้ออกเป็น 3 กลุ่มตามอายุของตัวอ่อน คือ ล้างเก็บในวันที่ 5, 7 และ 9 หลังจากวันผสมพันธุ์ เก็บตัวอ่อนได้ทั้งหมด 31, 10 และ 22 ตัว คิดเป็น 40.3%, 23.8% และ 40% ตามลำดับ ได้ตัวอ่อนคุณภาพดี 17 ตัว (81%), 7 ตัว(70%) และ 11 ตัว(58%) คุณภาพพอใช้ 1 ตัว(5%), 3 ตัว(30%) และ 4 ตัว (21%) คุณภาพเลว 3 ตัว(14%), 0 และ 4 ตัว(21%) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าโคตัวให้ที่เป็นโคสาวและโคที่เคยมีลูกมาแล้ว 4 ครั้งไม่สามารถล้างเก็บตัวอ่อนได้ ในขณะที่โคตัวให้ที่มีลูกมาแล้ว 2 และ 3 ครั้งล้างเก็บตัวอ่อนได้เฉลี่ย 5.4 และ 7.2 ตัว ตามลำดับ ส่วนขั้นตอนที่ 2 ศึกษาการถ่ายฝากตัวอ่อนให้กับโคตัวรับโดยวิธีนิรศัลยกรรมด้วยการฉีด $PGF_{2\alpha}$ให้แก่โคตัวรับ 4 กลุ่มก่อนโคตัวให้ 12 ชม. เพื่อให้โคตัวรับเป็นสัดสอดคล้องกับโคตัวให้ โดยแบ่งกลุ่มโคตัวรับตามระยะเวลาหลังจากเป็นสัดแล้ว 6–9 วัน, 10–12 วัน, 13–16 วัน และกลุ่มที่ไม่ทราบระยะเวลาแน่นอน แต่มีคอร์ปัสลูเทียม จำนวน 19, 18, 13 และ 6 ตัว ปรากฏว่าโคตัวรับเป็นสัดในวันเดียวกับโคตัวให้จำนวน 14 ตัว(73.7%), 14 ตัว(77.8%), 10 ตัว(76.9%) และ 3 ตัว(50%) ตาม

---

* ได้รับทุนสนับสนุนจาก ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและการพลังงาน

ลำดับ คัดเลือกตัวอ่อนคุณภาพดีและพอใช้ อายุ 5, 7 และ 9 วัน จำนวน 12, 8 และ 5 ตัว ถ่าย-ฝากให้แก่โคตัวรับที่มีการเป็นสัดสอดคล้องกับโคตัวให้ จำนวน 10, 8 และ 5 ตัว ตามลำดับ ปรากฏว่าโคตัวรับตั้งท้อง 1 ตัว จากการถ่ายฝากตัวอ่อนคุณภาพดีอายุ 5 วัน มีการเจริญระยะ compact morula ทั้งนี้จะเห็นได้ว่าความสำเร็จในการล้างเก็บและถ่ายฝากตัวอ่อนขึ้นอยู่กับประสบการณ์และความชำนาญของผู้ปฏิบัติงานโดยเฉพาะ


## ABSTRACT

*Two experiments were conducted to investigate non-surgical embryo recovery and transfer in dairy cattle. In experiment 1, six Holstein Friesian crossbred and one Brownswiss, aged 5-9 years, were utilized as donors. The administrative schedules of FSH were started on day 10 after estrus twice daily in declining dose for 5 days. Embryos were collected non-surgically with Rüsch two-way Foley catheter from animals grouping by the age of embryos. Total numbers of embryo recovery were 31, 10 and 22 or 40.3%, 23.8% and 40% at the age 5, 7 and 9 days respectively. The evaluation of embryonic quality indicated that the number (%) of good embryos were 17(81%), 7(70%) and 11(58%), fair embryos were 1(5%), 3(30%) and 4(21%), and poor embryos were 3(14%), 0 and 4(21%) respectively. It was noted that no embryo was collected from heifer and 4-calved cows, while 2 and 3-calved cows gave the average of 5.4 and 7.2 embryos per cow respectively. In experiment 2, the recipients were classified by days after estrus as follows : group 1, day 6-9; group 2, day 10-12; group 3, day 13-16 and group 4 with unknown stages of the cycle. All recipients received $PGF_{2\alpha}$ 12h before the donors. Numbers of animal in each group were 19, 18, 13 and 6 respectively. The numbers and percentages of recipients that showed synchronized estrus as donors were 73.7%, 77.8%, 76.9% and 50% respectively. Twelve, eight and five embryos from the 3 groups of experiment 1 at the qualities of good and fair were transfered non-surgically using the Cassou AI gun to the recipients. The number of recipients for receiving those 3 groups of embryos were 10, 8 and 5. The results indicated that one recipient receiving a 5 days old, good quality, compact morula embryo was found pregnant. From the experiments, many factors especially experience and skill of the performer are involved in the success of non-surgical transfer.*

## คำนำ

ความก้าวหน้าทางวิทยาการใหม่ ๆ สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์หรือเพิ่มผลผลิตสัตว์ให้สูงขึ้นได้ เช่น การผสมเทียม ทำให้สามารถใช้พ่อพันธุ์ที่ดีขยายพันธุ์ได้มากกว่าการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ สำหรับแม่พันธุ์ที่ดีนั้น วิธีการที่จะช่วยทำให้แม่พันธุ์สามารถขยายพันธุ์ได้มากขึ้นกว่าปกติวิธีหนึ่งก็คือการถ่ายฝากตัวอ่อน โดยอาศัยหลักการง่าย ๆ คือ ทำให้แม่พันธุ์มีการตกไข่ครั้งละหลาย ๆ ฟอง แล้วผสมพันธุ์ด้วยน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์ที่ดี ล้างเก็บตัวอ่อน แล้วนำไปถ่ายฝากให้กับสัตว์เพศเมียที่พันธุ์ไม่ดี วิธีการดังกล่าวจะทำให้ได้ลูกที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่ดีครั้งละหลายตัวโดยเฉพาะอย่างยิ่ง โค กระบือ ซึ่งปกติให้ลูกเพียงปีละตัวสามารถให้ลูกได้หลายตัวในหนึ่งปี ถึงแม้จะใช้หลักการที่ไม่สลับซับซ้อน แต่ในทางปฏิบัติจำเป็นต้องใช้เทคนิคและวิธีการที่รัดกุมจึงจะประสบผลสำเร็จ ในประเทศไทยได้มีการศึกษาและทดลองทำการถ่ายฝากตัวอ่อนในโคและกระบือตั้งแต่ปี 2524 จนถึงปัจจุบัน ปรากฏว่ามีรายงานการคลอดของโคที่เกิดจากการถ่าย-ฝากตัวอ่อนแช่แข็งโดยวิธีศัลยกรรม 1 ตัว[1] และตั้งท้องจากการถ่ายฝากตัวอ่อนสดและตัวอ่อนแช่แข็งโดยวิธีนิรศัลยกรรมเพียง 5 ตัว[2] ซึ่งจะเห็นได้ว่าไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร ดังนั้น จึงควรที่จะทำการศึกษาเทคนิคและวิธีการถ่ายฝากตัวอ่อนให้มากขึ้น เพื่อนำมาใช้ในการผลิตสัตว์โดยเฉพาะอย่างยิ่งโคนม เพื่อเพิ่มผลผลิตให้สูงขึ้นในอนาคต

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

1. สัตว์ทดลอง

โคตัวให้ ใช้โคนมลูกผสม 5–9 ปี จำนวน 7 ตัว ดังนี้

- ลูกผสมพันธุ์ 50% โฮลสไตน์ฟรีเชียน × 50% เฮียร์ฟอร์ด 2 ตัว (50%H × 50%Hereford)
- ลูกผสมพันธุ์ 50% โฮลสไตน์ฟรีเชียน × 50% พื้นเมือง 2 ตัว (50%H × 50%N)
- ลูกผสมพันธุ์ 50% โฮลสไตน์ฟรีเชียน × 50% บราห์มัน 2 ตัว (50%H × 50%AB)
- ลูกผสมพันธุ์บราวน์สวิสเลือดสูง 96.9% (Br) 1 ตัว

โคตัวรับ ใช้โคจำนวน 24 ตัว ดังนี้

- โคสาวลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน อายุ 1 – $2\frac{1}{2}$ ปี 12 ตัว
- โคสาวพันธุ์พื้นเมือง อายุ 5 ปี 3 ตัว

- โคสาวลูกผสมพันธุ์บราห์มัน อายุ 5 ปี 5 ตัว
- แม่โคลูกผสมพันธุ์บราห์มัน อายุ 4–8 ปี 3 ตัว
- แม่โคลูกผสมพันธุ์โฮลสไตน์ฟรีเชียน อายุ 6 ปี 1 ตัว

2. โรงเรือนทดลอง

โรงเรือนโคตัวให้ มีลักษณะโปร่ง หลังคามุงกระเบื้อง พื้นซีเมนต์ แบ่งเป็นซองทดลองขนาด 1.30×3.00 ม.เรียงกัน แต่ละซองมีโซ่ล่ามประจำที่ ด้านหน้ามีรางอาหารเฉพาะซองและรางน้ำซึ่งปิด เปิดน้ำโดยอัตโนมัติ

โรงเรือนโคตัวรับ มีลักษณะโปร่ง หลังคาเหล็กอาบสังกะสี พื้นซีเมนต์ แบ่งเป็นซองทดลองขนาด 1.10×1.50 ม.เรียงกัน มีอุปกรณ์เหมือนโรงเรือนโคตัวให้ยกเว้นรางน้ำ ใช้ถังซีเมนต์ขนาด 20 ล.

3. อาหารสัตว์ อาหารหยาบ ใช้หญ้าสด ข้าวฟ่างหมัก หรือฟาง ขึ้นอยู่กับฤดูกาล อาหารข้นใช้อาหารที่มีโปรตีนประมาณ 15–18%

4. ฮอร์โมนที่ใช้ในการเหนี่ยวนำให้ตกไข่ครั้งละหลายฟองและควบคุมการเป็นสัด คือ
- FSH-P (Lot 588 c84, Schering)
- $PGF_{2\alpha}$ (Lutalyse® , Upjohn)

5. อุปกรณ์ในการล้างเก็บตัวอ่อน
- cervix dilator เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 มม. ยาว 50 ซม.
- speculum
- Rüsch Foley catheter (no. 18 ยาว 67.4 ซม. ปลายห่างจาก cuff 4.8 ซม. มีรูให้น้ำผ่านเข้าออก 4 รู)
- สายยางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางภายนอก 6 มม. ภายใน 4 มม. สำหรับเป็นท่อให้น้ำยาไหลเข้าออก
- Three-way stopcock
- กระบอกฉีดยาอัตโนมัติ ใช้กระบอกฉีดยาพลาสติกขนาด 50 ลบ.ซม.ต่อเข้ากับ two-way valve ปลายข้างหนึ่งของ two-way valve ต่อเข้ากับท่อยางสำหรับดูดน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนจากขวด
- กระบอกตวงขนาด 500 ลบ.ซม.
- น้ำยาล้างเก็บตัวอ่อน PBS+2% FCS (Gibco Cat # 230-6140)
- ยาชา (xylocaine hydrochloride 2%) ยาฆ่าเชื้อโรค (Dettol) และยาปฏิชีวนะ
- ซองบังคับสัตว์ที่ยกพื้นด้านหน้าขึ้นสูงประมาณ 25 ซม.
- คีมหนีบ กรรไกรและถุงมือสำหรับผสมเทียม

6. อุปกรณ์ในการตรวจหาและประเมินคุณภาพตัวอ่อน
   - หลอดดูดตัวอ่อน ใช้หลอดพลาสติกที่เก็บน้ำเชื้อผสมเทียมแบบแช่แข็ง (straw) ขนาด 0.25 ลบ.ซม. ต่อเข้ากับเข็มเบอร์ 16 ปลายตัดและกระบอกฉีดยาทูเบอร์คิวลินขนาด 1 ลบ.ซม.
   - น้ำยาที่ใช้ขณะประเมินคุณภาพและเก็บตัวอ่อนก่อนการถ่ายฝากคือ PBS + 20% FCS

7. อุปกรณ์ในการถ่ายฝากตัวอ่อน
   - Cassou AI gun
   - sterile plastic sheath
   - หลอดพลาสติกขนาด 0.25 ลบ.ซม.

**วิธีการ**

ก่อนเริ่มการทดลอง โคจะได้รับการถ่ายพยาธิภายใน ฉีดวัคซีน ตรวจโรคแท้งติดต่อ ตรวจวงรอบการเป็นสัด แล้วล่ามโซ่ไว้ตลอดเวลา ให้อาหารข้นตอนเช้าวันละ 1–2 กก. วันละ 1 ครั้ง ให้อาหารหยาบตอนบ่าย วันละ 1 ครั้ง พยายามให้กินอย่างเต็มที่ และพ่นยากำจัดพยาธิภายนอกเป็นครั้งคราว

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนคือ

**ขั้นตอนที่ 1 ศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพการล้างเก็บตัวอ่อนจากโคตัวให้หลังจากผสมพันธุ์แล้ว 5, 7 และ 9 วัน**

1. โคตัวให้ 7 ตัว จะได้รับการเหนี่ยวนำให้ตกไข่ครั้งละหลายฟองโดยเหนี่ยวนำครั้งที่ 1, 2 และ 3 จากโคตัวให้จำนวน 7, 6 และ 1 ตัวตามลำดับ ล้างเก็บตัวอ่อนโดยวิธีนิรศัลยกรรมวันที่ 5, 7 และ 9 จากโคตัวให้จำนวน 6, 4 และ 4 ตัว ตามลำดับ

2. เหนี่ยวนำโคให้ตกไข่ครั้งละหลายฟองและควบคุมการเป็นสัดของโคตัวให้และโคตัวรับให้สอดคล้องกัน โดยวิธีการของสัมพันธ์[1] เริ่มฉีด FSH ในโคตัวให้วันที่ 10 หลังจากเป็นสัดในขนาด 7, 6, 5, 4 และ 3 มก. วันละ 2 ครั้ง เช้า–เย็น นาน 5 วัน ฉีด $PGF_{2\alpha}$ ให้แก่โคตัวให้ 25 มก. หลังฉีด FSH แล้ว 72 ชม. และฉีด $PGF_{2\alpha}$ ให้แก่โคตัวรับก่อนโคตัวให้ 12 ชม.

3. ตรวจการเป็นสัดวันละ 2 ครั้ง เช้า–เย็น โดยตรวจอวัยวะเพศและตรวจ tone ของมดลูก ผสมพันธุ์โคตัวให้ด้วยน้ำเชื้อแช่แข็งที่ตรวจคุณภาพแล้ว 3 ครั้ง ห่างกันช่วงละประมาณ 12 ชม. ครั้งแรกผสมเมื่อเป็นสัดแล้วประมาณ 12 ชม. โดยใช้ขนาด 2, 2 และ 2 ในการผสมครั้งที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

4. การล้างเก็บตัวอ่อน ดัดแปลงจากวิธีการของ Jillella[15] ซึ่งมีขั้นตอนต่าง ๆ ดังนี้
   - นำโคตัวให้เข้าซอง บังคับให้ยืนขาหน้าสูงกว่าขาหลังเล็กน้อย เพื่อความสะดวกในการล้างเก็บตัวอ่อน
   - ทำความสะอาดบริเวณบั้นท้ายและหางด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อโรคหลาย ๆ ครั้ง
   - ฉีดยาชา (xylocaine hydrochloride 2%) เข้าช่องไขกระดูกสันหลัง ตรวจความรู้สึก แล้วใช้เชือกมัดปลายหางไปผูกไว้กับคอโค
   - ใช้ speculum ตรวจสภาพของปากคอมดลูก และช่องคลอดส่วนลึก
   - ล้วงมูลโคออกจากช่องทวารหนักให้หมด คลำนับปริมาณคอร์ปัสลูเทียมในรังไข่แต่ละข้าง
   - ใช้ cervix dilator ถ่างคอมดลูก
   - สอด catheter ที่มี stilette อยู่ภายในเข้าไปยังปีกมดลูกทีละข้าง โดยใช้มือที่ล้วงผ่านทวารหนักช่วย เมื่อปลาย catheter ถึงบริเวณ bifurcation แล้วดึง stilette ออกประมาณ 5–10 ซม. จากนั้นดัน catheter เข้าไปเบา ๆ เพื่อให้ปลายของ catheter สอดไปตามลักษณะของปีกมดลูกที่โค้งงอ ใช้กระบอกฉีดยาฉีดลมเข้า cuff ประมาณ 15–20 ลบ.ซม. ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของปีกมดลูก เพื่อตรึง catheter ให้อยู่กับที่ cuff จะอยู่บริเวณ bifurcation จากนั้นดึง stilette ออก
   - ปลายข้างหนึ่งของท่อน้ำยาเข้า–ออกและกระบอกฉีดยาอัตโนมัติต่อเข้ากับ three-way stopcock จากนั้นต่อปลายของท่อน้ำยาเข้ากับ catheter ปลายของท่อน้ำยาออกใส่ไว้ในกระบอกตวงขนาด 500 ลบ.ซม. ที่วางอยู่บนพื้น และปลายท่อดูดของกระบอกฉีดยาอัตโนมัติต่อกับขวดน้ำยาที่เตรียมไว้
   - ไล่อากาศออกจากท่อน้ำยาเข้าตอนบนให้หมด ก่อนต่อเข้ากับ catheter ฉีดน้ำยาเข้าปีกมดลูกช้า ๆ ประมาณ 30–50 ลบ.ซม. ขณะที่ฉีดน้ำยาเข้า มือที่อยู่ในช่องทวาร–หนักจะช้อนใต้ปีกมดลูกข้างที่กำลังล้างเก็บตัวอ่อนและบีบบริเวณ uterotubal junction (UTJ) ไว้ ใช้การบังคับที่ three-way stopcock ไปทางกระบอกฉีดยาอัตโนมัติ ยกปลายมดลูกให้สูงขึ้นเล็กน้อย น้ำยาจะไหลมาทางท่อน้ำยาออกลงกระบอกตวง
   - ปล่อยน้ำยาให้ไหลเข้าและออกจากปีกมดลูกเช่นนี้หลาย ๆ ครั้ง ใช้น้ำยาประมาณ 500 ลบ.ซม. จากนั้นปล่อยลมออกจาก cuff ดึง catheter ออกจากปีกมดลูก ทำเช่นเดียวกันทั้ง 2 ปีกมดลูก
   - เมื่อเสร็จจากการชะล้างตัวอ่อนออกจากมดลูกแล้ว ใส่ยาปฏิชีวนะเข้ามดลูก และฉีด $PGF_{2\alpha}$ เข้ากล้ามเนื้อ

5. การตรวจหาและประเมินคุณภาพตัวอ่อน นำกระบอกตวงที่มีน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนแต่ละข้างวางทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที–1 ชม. ทำกาลักน้ำน้ำยาส่วนบนออกให้เหลือน้ำยาประมาณ 50–100 ลบ.ซม. แกว่งกระบอกตวงเบา ๆ เทแบ่งน้ำยาใส่จานเลี้ยงเชื้อที่ขีดตารางไว้

ใช้น้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนล้างกระบอกตวงอีกครั้งแล้วเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ นำไปตรวจหาตัวอ่อนจากจานเลี้ยงเชื้อแต่ละใบจำนวน 3 ครั้ง ด้วยกล้องสเตริโอสโคป กำลังขยาย 10–20 เท่า ถ้าไม่พบตัวอ่อน นำน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนที่ทำกาลักน้ำออกในครั้งแรกมาทำกาลักน้ำซ้ำอีก แล้วเทแบ่งใส่จานเลี้ยงเชื้อไปตรวจหาเช่นเดิม เมื่อพบแล้วแยกตัวอ่อนเก็บไว้ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำยา PBS + 20% FCS อยู่

การประเมินคุณภาพ ดูดตัวอ่อนใส่สไลด์หลุม นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100–200 เท่า ตามวิธีการของ Linder และ Wright[19] จะแบ่งคุณภาพตัวอ่อนออกเป็น 4 ระดับ คือ

- คุณภาพดีเลิศ (excellent) ได้แก่ตัวอ่อนที่มีลักษณะกลม blastomere มีลักษณะและสีสม่ำเสมอ
- คุณภาพดี (good) ได้แก่ตัวอ่อนที่มี blastomere ยื่นออกมาเล็กน้อย รูปร่างไม่ค่อยสม่ำเสมอ
- คุณภาพพอใช้ (fair) ได้แก่ตัวอ่อนที่มี blastomere ยื่นออกมาเป็นถุง มีบางเซลล์ฝ่อไป
- คุณภาพเลว (poor) ได้แก่ตัวอ่อนที่มี blastomere ยื่นออกมาจำนวนมาก บางเซลล์ฝ่อไป ขนาดของเซลล์เปลี่ยนแปลงไปมาก มีถุงน้ำ (vesicle) จำนวนมาก แต่ยังมีลักษณะ viable appearing embryo mass อยู่

นอกจากนี้ ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ยังสามารถจัดแบ่งเป็นกลุ่ม ตามระยะการเจริญของตัวอ่อนโดยมาตรฐานของ Linder และ Wright[19] ดังนี้

- ตัวอ่อนที่มีระยะการเจริญตรงตามอายุ ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้จากโคตัวให้หลังผสมพันธุ์แล้ว 5 วัน ได้แก่ตัวอ่อนที่อยู่ในระยะตั้งแต่ 16-cell ถึงระยะ compact morula หลังผสมพันธุ์แล้ว 7 วันอยู่ในระยะ morula ถึงระยะ hatched blastocyst และหลังผสมพันธุ์แล้ว 9 วันอยู่ในระยะ early blastocyst ถึงระยะ hatched blastocyst
- ตัวอ่อนที่มีระยะการเจริญช้ากว่าปกติ ตัวอ่อนที่ล้างเก็บจากโคตัวให้หลังผสมพันธุ์แล้ว 5 วัน ได้แก่ตัวอ่อนที่อยู่ในระยะ 2-cell ถึงระยะ 8-cell หลังผสมพันธุ์แล้ว 7 วันอยู่ในระยะ 2-cell ถึงระยะ 16-cell และหลังผสมพันธุ์แล้ว 9 วันอยู่ในระยะ 2-cell ถึงระยะ compact morula

เมื่อประเมินคุณภาพตัวอ่อนแล้วเก็บตัวอ่อนไว้ในน้ำยา PBS + 20% FCS จนกว่าจะถ่ายฝากให้แก่โคตัวรับต่อไป

6. การเก็บข้อมูล

ตรวจสภาพของโคตัวให้ตามรายละเอียดดังนี้
- จำนวนคอร์ปัสลูเทียมในรังไข่แต่ละข้างในวันที่ล้างเก็บตัวอ่อน
- จำนวน ระยะ และคุณภาพตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้
- ปริมาณน้ำยาล้างเก็บตัวอ่อนที่ไหลกลับคืน
- ระยะเวลาที่โคตัวให้แสดงอาการเป็นสัดหลังจากล้างเก็บตัวอ่อน
- น้ำหนักตัววันที่เริ่มฉีด FSH

**ขั้นตอนที่ 2 ศึกษาและเปรียบเทียบผลการถ่ายฝากตัวอ่อนอายุ 5, 7 และ 9 วัน โดยวิธีนิรศัลยกรรม**

1. การเตรียมโคตัวรับ จัดแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ
กลุ่มที่ 1 ฉีด $PGF_{2\alpha}$ 25 มก./ตัว ในวันที่ 6–9 หลังจากการเป็นสัดครั้งก่อน
กลุ่มที่ 2 ฉีด $PGF_{2\alpha}$ 25 มก./ตัว ในวันที่ 10–12
กลุ่มที่ 3 ฉีด $PGF_{2\alpha}$ 25 มก./ตัว ในวันที่ 13–16
กลุ่มที่ 4 ฉีด $PGF_{2\alpha}$ 25 มก./ตัว ในวันที่มีคอร์ปัสลูเทียมโดยไม่ทราบวันเป็นสัดที่แน่นอน

เพื่อควบคุมการเป็นสัดของโคตัวรับทั้ง 4 กลุ่มให้สอดคล้องกับโคตัวให้จึงฉีด $PGF_{2\alpha}$ ก่อนโคตัวให้ 12 ชม. โคตัวรับที่ได้รับการถ่ายฝากตัวอ่อนแล้วหากแสดงอาการเป็นสัดหรือไม่ตั้งท้องก็นำมาเตรียมเป็นโคตัวรับในครั้งต่อไป

2. การถ่ายฝากตัวอ่อน ตัวอ่อนอายุ 5, 7 และ 9 วัน จำนวน 12, 8 และ 5 ตัว นำไปถ่ายฝากให้แก่โคตัวรับที่มีการเป็นสัดสอดคล้องกับโคตัวให้ จำนวน 10, 8 และ 5 ตัวตามลำดับ โดยโคตัวรับ 2 ตัว จาก 10 ตัวที่รับฝากตัวอ่อนอายุ 5 วัน ได้รับตัวอ่อนตัวละ 2 ตัว (ที่ปีกมดลูกข้างเดียวกัน 1 ตัว และปีกมดลูกทั้ง 2 ข้าง 1 ตัว) การถ่ายฝากตัวอ่อนดัดแปลงจากวิธีการของ Jillella[15] ดังนี้

- ดูดตัวอ่อนที่จะถ่ายฝากเข้าหลอดพลาสติกขนาด 0.25 ลบ.ซม. โดยให้ตัวอ่อนอยู่ระหว่างฟองอากาศทั้งสองข้าง
- บรรจุหลอดพลาสติกที่มีตัวอ่อนอยู่เข้ากับ Cassou AI gun และหุ้มด้วย sterile plastic sheath
- ล้วงมูลออกจากช่องทวารหนักโคตัวรับให้หมด ตรวจดูคอร์ปัสลูเทียมว่าอยู่ที่รังไข่ด้านใด

– ใช้กระดาษชำระเช็ดบริเวณปากช่องคลอดให้สะอาด ให้ผู้ช่วยใช้มือเปิดปากช่องคลอด สอด AI gun เข้าไปยังปีกมดลูกข้างที่มีคอร์ปัสลูเทียมอยู่ พยายามสอดให้เข้าลึกที่สุด โดยใช้มือที่ล้วงอยู่ในช่องทวารหนักช่วยวางลูกอ่อนในที่ที่เหมาะสม แล้วดึง AI gun ออก

3. ตรวจการตั้งท้องในโคตัวรับ ตรวจผลการกลับเป็นสัดของโคตัวรับวันละ 2 ครั้ง เช้า–เย็น หากไม่แสดงอาการเป็นสัดตรวจผลการตั้งท้องหลังจากถ่ายฝากตัวอ่อนแล้ว 90 วัน

## ผลและวิจารณ์

### ประสิทธิภาพการล้างเก็บตัวอ่อนและช่วงระยะเวลาหลังจากวันที่ล้างเก็บตัวอ่อนถึงวันที่เป็นสัด

1. จำนวนและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้

จำนวนและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่เก็บได้ในวันที่ 5 และ 9 สูงกว่าวันที่ 7 คือ 5.16 ± 3.43 ตัว(40.3%), 5.5 ± 6.86 ตัว(40%) และ 2.5 ± 5 ตัว(23.8%) ตามลำดับ (ตารางที่ 1) จำนวนและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่เก็บได้ในวันที่ 7 และ 9 ในครั้งนี้ค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับรายงานที่ได้ศึกษามาแล้ว คือ การล้างเก็บตัวอ่อนวันที่ 6–8 ได้ตัวอ่อน 2.7–10.2 ตัว(35–72.9%)[4,6,25,30,31] การที่จำนวนตัวอ่อนและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่เก็บได้ต่ำน่าจะเกิดจากโคตัวให้ ในการล้างเก็บตัวอ่อนจากโคตัวให้หมายเลข 107 และ 994 ปรากฏว่าล้างเก็บตัวอ่อนไม่ได้เลยแม้ว่าจะมีจำนวนไข่ตกค่อนข้างสูงก็ตาม เพราะว่าโคตัวให้หมายเลข 994 จะนอนตลอดเวลา ทำการล้างเก็บตัวอ่อนลำบากแม้จะแก้ไขโดยใช้เชือกพยุงไว้แล้วก็ตาม จากรายงานที่ผ่านมาพบว่า ประสบการณ์ของผู้ปฏิบัติงานเป็นปัจจัยสำคัญในการล้างเก็บตัวอ่อนได้มากหรือน้อย[10,30,33] และการนับจำนวนคอร์ปัสลูเทียมโดยวิธีคลำผ่านทวารหนักก็อาจคลาดเคลื่อนได้[4,10] ซึ่ง Lindsell และคณะ[20] รายงานว่าการนับจำนวนคอร์ปัสลูเทียมในโคตัวให้โดยการคลำผ่านทวารหนัก จะน้อยกว่าที่นับได้จากรังไข่เมื่อสัตว์ตายแล้วถึงสองเท่า

2. ระยะการเจริญของตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้

ตัวอ่อนที่เก็บได้เมื่อจัดแบ่งกลุ่มตามมาตรฐานของ Linder และ Wright ปรากฏว่าตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้จากวันที่ 5 ทั้งสิ้น 31 ตัว เจริญตรงตามอายุ 18 ตัว(58%) เจริญช้ากว่าปกติ 3ตัว(10%) และไข่ผสมไม่ติด 10 ฟอง (32%) ตัวอ่อนวันที่ 7 เจริญตรงตามอายุ 10 ตัว (100%) และตัวอ่อนวันที่ 9 ทั้งสิ้น 22 ตัว เจริญตรงตามอายุ 16 ตัว(72%) เจริญช้ากว่าปกติ 3 ตัว (14%) และไข่ผสมไม่ติด 3 ฟอง(14%) ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ในวันที่ 5 ผสมไม่ติดและเจริญช้ากว่าปกติค่อนข้างสูงประมาณ 42% อาจมีสาเหตุมาจากสุขภาพของโคตัวให้ เช่นโคตัวให้หมายเลข 57 ล้างเก็บตัวอ่อนวันที่ 5 เก็บไข่ที่ผสมไม่ติดได้ถึง 78% และตัวอ่อนที่ตายในระยะแรกถึง 22%

ซึ่ง Elsden และคณะ[11] รายงานว่าเมื่อเก็บตัวอ่อนจากมดลูกหรือท่อนำไข่หลังจากผสมพันธุ์แล้ว 4–5 วัน สามารถเก็บไข่ที่ผสมไม่ติดได้ 64–67% จากโคที่ไม่สมบูรณ์พันธุ์ที่ทราบและไม่ทราบสาเหตุ และมีไข่ที่ผสมไม่ติดเนื่องจากกำหนดระยะเวลาการผสมพันธุ์ผิดพลาดเพียง 39% การที่ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้วันที่ 7 ไม่พบไข่ที่ผสมไม่ติดเลย ขัดแย้งกับ Baker และ Jillella[4] ซึ่งรายงานว่าตัวอ่อนที่ล้างเก็บวันที่ 6–7 มีไข่ที่ผสมไม่ติด 14–26% ส่วนตัวอ่อนที่เก็บได้วันที่ 9 มีจำนวนไข่ที่ผสมไม่ติด 14% ใกล้เคียงกับรายงานของ Chung และคณะ[8] ซึ่งรายงานว่า เมื่อล้างเก็บตัวอ่อนโดยวิธีนิรศัลยกรรมจากตัวให้วันที่ 8–9 เก็บไข่ที่ผสมไม่ติดได้ 13.4%

3. คุณภาพของตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้

คุณภาพของตัวอ่อนที่ได้วันที่ 5 มีคุณภาพดีสูงกว่าวันที่ 7 และ 9 (81%, 70% และ 58%) ตัวอ่อนคุณภาพพอใช้วันที่ 7 สูงกว่าวันที่ 5 และ 9 (30%, 5% และ 21%) และตัวอ่อนคุณภาพเลววันที่ 9 สูงกว่าวันที่ 5 และ 7 (21%, 14% และ 0) ทั้ง 3 กลุ่มที่มีการล้างเก็บตัวอ่อนไม่พบตัวอ่อนคุณภาพดีเลิศเลย ขัดแย้งกับ Chung และคณะ[8] ซึ่งรายงานว่าเมื่อเก็บตัวอ่อนวันที่ 8–9 พบตัวอ่อนคุณภาพดีเลิศ 27.1% ตัวอ่อนคุณภาพดี พอใช้และเลว เท่ากับ 28.4%, 38.1% และ 6.4% ตามลำดับ การที่ตัวอ่อนคุณภาพดีและพอใช้ สูงในวันที่ 5 และ 7 และลดลงในวันที่ 9 สอดคล้องกับ du Mensil du Buisson และคณะ[23] ซึ่งรายงานว่าคุณภาพตัวอ่อนจะลดลงเรื่อย ๆ ตามวันที่ล้างเก็บ กล่าวคือเก็บวันที่ 5, 6, 7, 8 และ 9 จะได้ตัวอ่อนที่รูปร่างปกติ 73.6%, 67.2%, 46.6%, 41.6% และ 41.7% ตามลำดับ แต่ขัดแย้งกับ Kim และคณะ[17] ที่รายงานว่าคุณภาพตัวอ่อนที่ปกติสูงขึ้นเรื่อย ๆ ตามวันที่ล้างเก็บคือเท่ากับ 65%, 79% และ 84% เมื่อล้างเก็บวันที่ 6, 7 และ 8 ตามลำดับ

4. การไหลกลับของน้ำยาที่ใช้ล้างเก็บตัวอ่อน

ปริมาณการไหลกลับของน้ำยาในกลุ่มที่ล้างเก็บตัวอ่อนวันที่ 5 สูงกว่าวันที่ 7 และ 9 คือเท่ากับ 91.7%, 80.6% และ 80.8% ตามลำดับ ปริมาณการไหลกลับของน้ำยาต่ำเมื่อเทียบกับรายงานที่มีว่าการล้างเก็บตัวอ่อนโดยวิธีนิรศัลยกรรมมีปริมาณการไหลกลับของน้ำยาเท่ากับ 90–98%[5,7,27] เมื่อพิจารณาปริมาณการไหลกลับของน้ำยากับจำนวนตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ปรากฏว่าวันที่ 5 ปริมาณสูงที่สุด ทำให้ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้มีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าวันที่ 7 และ 9 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Chung และคณะ[7] ที่ว่าการเพิ่มปริมาณการไหลกลับของน้ำยาช่วยเพิ่มการล้างเก็บตัวอ่อนได้ดีขึ้นด้วย แต่ในโคตัวให้หมายเลข 170 ปริมาณการไหลกลับของน้ำยาจะต่ำเพียง 52.1% ก็ยังล้างเก็บตัวอ่อนได้ 14.3% ขณะที่โคตัวให้หมายเลข 107 และ 994 ซึ่งมีปริมาณการไหลกลับของน้ำยาสูงถึง 73–89% แต่ไม่สามารถเก็บตัวอ่อนได้ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากลักษณะของโคตัวให้ เป็นที่น่าสังเกตว่า ขณะล้างเก็บตัวอ่อนหากฉีดน้ำยาเข้าไปในปีกมดลูกมากเกินไปจะทำให้น้ำยาไหลเข้าสู่ช่องท้องทางท่อนำไข่ปริมาณการไหลกลับของน้ำยาจะลดลงและตัวอ่อนที่เก็บได้ก็ลดลงตามไปด้วย

5. ช่วงระยะเวลาจากวันที่ล้างเก็บตัวอ่อนถึงวันที่เป็นสัด

กลุ่มโคตัวให้ที่ล้างเก็บตัวอ่อนวันที่ 5 มีระยะเวลาการกลับเป็นสัดยาวกว่ากลุ่มที่ล้างเก็บวันที่ 7 และ 9 คือ 13.5±4.37, 8.25±3.09 และ 7±2.45 วัน ตามลำดับ ระยะเวลาดังกล่าวยาวกว่าที่มีรายงานไว้คือ 4–6 วัน[22] และระยะเวลาการกลับคืนเป็นสัดนับจากการเหนี่ยวนำให้ตกไข่ครั้งก่อน ถึงวันที่เป็นสัดหลังจากล้างเก็บตัวอ่อนค่อนข้างสั้น เมื่อเทียบกับที่มีรายงานว่าช่วงเวลาการกลับคืนเป็นสัดห่างกันสั้นที่สุด 29 วันเมื่อล้างเก็บตัวอ่อนวันที่ 6, 20–28 วัน และ 23.8 ±0.9 วันเมื่อล้างเก็บตัวอ่อนวันที่ 10, 12 ตามลำดับ[22,26,27] การที่ระยะเวลาการกลับคืนเป็นสัดสั้นอาจเนื่องมาจากผลของการให้ $PGF_{2\alpha}$ หลังจากล้างเก็บตัวอ่อนแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Looney และคณะ[21] ที่ว่าตัวให้ที่ล้างเก็บตัวอ่อนวันที่ 7–7.5 กลับคืนเป็นสัดภายใน 22.5±2.3, 11.0±0.9, 11.3±1.4 และ 9.5±0.9 วัน หากล้างเก็บตัวอ่อนแล้วไม่ให้ $PGF_{2\alpha}$ หรือให้ $PGF_{2\alpha}$ 25 มก., 35 มก. และ 45 มก.ตามลำดับ โดยกลุ่มที่ให้ $PGF_{2\alpha}$ ระยะเวลาสั้นกว่ากลุ่มที่ไม่ให้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่ในกลุ่มที่ให้ $PGF_{2\alpha}$ ทั้ง 3 ระดับ ระยะเวลาแตกต่างกันแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

**ปัจจัยที่มีผลต่อการล้างเก็บตัวอ่อน**

1. การเหนี่ยวนำให้ตกไข่ครั้งละหลายฟองต่อเนื่องกัน

เหนี่ยวนำโคตัวให้ 7 ตัว ให้ตกไข่ 2 ครั้งต่อเนื่องกัน 5 ตัว 3 ครั้งต่อเนื่องกัน 1 ตัว และครั้งเดียว 1 ตัว จำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่เก็บได้ จำนวนและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่เหมาะสมในการถ่ายฝากจากการเหนี่ยวนำให้ตกไข่ครั้งที่ 1 และ 2 (ตารางที่ 2) จะแตกต่างกันแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ในครั้งที่ 2 ต่ำกว่าครั้งที่ 1 อาจมีสาเหตุมาจากความแตกต่างในประสบการณ์ของผู้ปฏิบัติงาน และการสลับวันที่ทำการล้างเก็บตัวอ่อนในโคตัวให้แต่ละตัว สำหรับโคตัวให้ที่เหนี่ยวนำให้ตกไข่ต่อเนื่องกัน 3 ครั้งพบว่ามีจำนวนคอร์ปัสลูเทียมครั้งที่ 1, 2 และ 3 เท่ากับ 19, 23 และ 20 ฟอง ตามลำดับ แต่ปริมาณและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ครั้งที่ 2 และ 3 สูงกว่าครั้งที่ 1 คือเท่ากับ 10 ตัว(43%) 10 ตัว(50%) และ 3 ตัว(16%) จำนวนตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้เพิ่มขึ้นจากการล้างเก็บตัวอ่อนในวันเดียวกันโดยผู้ปฏิบัติงานคนเดียวกัน (วันที่ 5 ในครั้งที่ 1 และ 3) อาจเป็นเพราะความชำนาญของผู้ปฏิบัติงานมีมากขึ้น จำนวนคอร์ปัสลูเทียมจากการเหนี่ยวนำให้ตกไข่ต่อเนื่องกันแตกต่างกันแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับรายงานของ Lubbadeh และคณะ[22] ที่รายงานว่าจำนวนคอร์ปัสลูเทียมและตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้จากการเหนี่ยวนำให้ตกไข่ต่อเนื่องกัน 4 ครั้ง จะลดลงและแตกต่างกันแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

2. การควบคุมการเป็นสัดในโคตัวให้ก่อนเหนี่ยวนำให้ตกไข่

เหนี่ยวนำโคตัวให้ 7 ตัว 2 ครั้ง ครั้งแรกควบคุมการเป็นสัดด้วยการฉีด $PGF_{2\alpha}$ ก่อนฉีด FSH และครั้งที่ 2 ไม่ฉีด $PGF_{2\alpha}$ ก่อนฉีด FSH พบว่า จำนวนคอร์ปัสลูเทียมในกลุ่มที่ฉีด $PGF_{2\alpha}$ ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีด คือ $11 \pm 5.7$ ฟอง และ $13.8 \pm 6.51$ ฟอง ตามลำดับ ซึ่งขัดแย้งกับ Avery และคณะ[3] ที่รายงานว่ากลุ่มที่ควบคุมการเป็นสัดด้วยโปรเจนเตอโรนก่อนฉีด FSH มีจำนวนคอร์-ปัสลูเทียมมากกว่ากลุ่มที่ไม่ควบคุมการเป็นสัด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จำนวนและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ในกลุ่มที่ฉีด $PGF_{2\alpha}$ เท่ากับ $5 \pm 5.48$ ตัว(45.45%) มากกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีดคือ $4 \pm 4.35$ ตัว (28.86%) ส่วนจำนวนและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่เหมาะสมในการถ่ายฝากในกลุ่มที่ฉีด $PGF_{2\alpha}$ คือ $3.7 \pm 4.07$ ตัว(74.28%) มากกว่ากลุ่มที่ไม่ฉีด คือ $2.4 \pm 3.82$ ตัว(60.71%) ซึ่งขัด-แย้งกับ Laster[18] ที่รายงานว่ากลุ่มที่ควบคุมการเป็นสัดให้เปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่เก็บได้ต่ำกว่ากลุ่มที่ไม่ควบคุมการเป็นสัด คือ 86.4% และ 88.9% ตามลำดับ แต่จากการทดลองนี้กลุ่มที่ฉีด $PGF_{2\alpha}$ ไม่ทำให้จำนวนตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ต่ำลง จึงควรควบคุมการเป็นสัดด้วย $PGF_{2\alpha}$ ก่อนฉีด FSH

3. จำนวนลูกที่เคยมีมาก่อน

โคตัวให้ที่เคยให้ลูกมาแล้ว 2 ตัว มีจำนวนคอร์ปัสลูเทียม จำนวนและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่เหมาะสมในการถ่ายฝากสูงกว่าในกลุ่มอื่น ๆ ขณะที่จำนวนและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่เก็บได้สูงในโคตัวให้ที่เคยให้ลูกมาแล้ว 3 ตัว ขัดแย้งกับ Kim และคณะ[16] ที่รายงานว่าโคสาวจะมีจำนวนไข่ตกสูงกว่าโคที่เคยให้ลูกมาแล้ว 1, 2, 3 และมากกว่า 4 ตัว ตามลำดับ ส่วน Brand และคณะ[6] รายงานว่าเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่เก็บได้จะสูงในโคสาวหรือโคตัวให้ที่มีอวัยวะของระบบสืบพันธุ์ค่อนข้างเล็ก สาเหตุที่มีผลต่อการตกไข่และจำนวนตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้อาจมาจากความผันแปรเฉพาะตัวของโคตัวให้ เช่นโคตัวให้หมายเลข 994 ซึ่งเป็นโคสาวมีการตกไข่น้อยกว่าโคตัวให้หมายเลข 107 ซึ่งเป็นโคที่เคยให้ลูกมาแล้ว 4 ตัว ($5.5 \pm 0.70$ ฟอง และ $12 \pm 5.66$ ฟอง) และโคตัวให้ทั้ง 2 ตัว ไม่สามารถล้างเก็บตัวอ่อนได้เลยแม้จะล้างเก็บตัวอ่อนตัวละ 2 ครั้งก็ตาม

## การถ่ายฝากตัวอ่อนอายุ 5, 7 และ 9 วัน โดยวิธีนิรศัลยกรรม

### ปัจจัยที่มีผลต่อการถ่ายฝากตัวอ่อน

1. อายุตัวอ่อนที่ทำการถ่ายฝาก

นำตัวอ่อนอายุ 5, 7 และ 9 วัน จำนวน 12, 8 และ 5 ตัว ไปถ่ายฝากให้โคตัวรับที่มีการเป็นสัดสอดคล้องกับโคตัวให้จำนวน 10, 8 และ 5 ตัว ตามลำดับ ปรากฏว่าโคตัวรับ 1 ตัว ที่ได้รับการถ่ายฝากตัวอ่อนอายุ 5 วันตั้งท้อง ซึ่งผลการตั้งท้องค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับรายงานของ Greve* ที่ว่าเมื่อถ่ายฝากตัวอ่อนอายุ 5 วันมีการตั้งท้อง 32% ส่วน Brand และ Drost[5] รายงานว่า เมื่อถ่ายฝากตัวอ่อนอายุ 3–5 วัน และ 5–6 วันจะมีการตั้งท้อง 0–25% และ 8–43% ตาม

* อ้างโดย Schneider, U.and Hahn, J. 1979.[29]

ลำดับ และเมื่อถ่ายฝากตัวอ่อนอายุ 5 วัน ให้โคตัวรับที่ผ่านการผสมพันธุ์มาแล้ว 5 วัน ให้ผลการตั้งท้องเท่ากับ 54–68% โดยตัวอ่อนที่ถ่ายฝากมีชีวิตรอด 12–14%[5] สำหรับตัวอ่อนอายุ 7 วัน เมื่อถ่ายฝากให้โคตัวรับการตั้งท้องเท่ากับ 14–63%[29] และตัวอ่อนอายุ 9 วัน ให้ผลการตั้งท้องเท่ากับ 50–60%[29]

การที่โคตัวรับได้รับการถ่ายฝากตัวอ่อนอายุ 5 วันมีอัตราการตั้งท้องต่ำอาจเนื่องมาจากการถ่ายฝากให้โคตัวรับเร็วเกินไป เพราะระยะ 3–5 วันแรกหลังจากเป็นสัดยังคงมีการบีบรัดตัวของกล้ามเนื้อมดลูก (spontaneous myometrial activity) ซึ่งมีผลทำให้การตั้งท้องของโคตัวรับต่ำ[5] ส่วนช่วงเวลาที่เหมาะสำหรับการถ่ายฝากตัวอ่อนโดยวิธีนิรศัลยกรรมคือวันที่ 6–9 หลังจากการเป็นสัด[5] สำหรับโคตัวรับที่ได้รับการถ่ายฝากตัวอ่อนอายุ 7 และ 9 วัน ไม่ตั้งท้องอาจเป็นเพราะตำแหน่งที่ปล่อยวางตัวอ่อนไม่เหมาะสม Jillella[14] รายงานว่าการปล่อยวางตัวอ่อนบริเวณปลายปีกมดลูกทำให้การตั้งท้องดีกว่าบริเวณโคนปีกมดลูก ส่วน Brand และ Drost[5] รายงานว่าสามารถสอดหลอดฉีดเชื้อเข้าปีกมดลูกได้ไกลสุดแค่กึ่งกลางปีกมดลูก อย่างไรก็ตาม Rowe และคณะ[28] รายงานว่าการปล่อยวางตัวอ่อนอายุ 7 วันที่บริเวณโคนปีกมดลูกโดยวิธีนิรศัลยกรรมให้ผลการตั้งท้องดีเช่นเดียวกับการปล่อยวางตัวอ่อนบริเวณปลายปีกมดลูกโดยวิธีศัลยกรรม และดีกว่าบริเวณโคนปีกมดลูกโดยวิธีศัลยกรรม (75%, 60% และ 45%) ดังนั้น ตำแหน่งการปล่อยวางตัวอ่อนจึงไม่จำเป็นจะต้องวางบริเวณปลายปีกมดลูก เนื่องจากการสอดหลอดฉีดเชื้อลึกเกินไปอาจทำให้เกิดบาดแผลบริเวณปีกมดลูก ซึ่งจะขัดขวางการเจริญของตัวอ่อน และทำให้การตั้งท้องต่ำได้[5,29,33]

2. ระยะและคุณภาพของตัวอ่อนที่ใช้ถ่ายฝาก

ตัวอ่อนที่ใช้ถ่ายฝากอยู่ในระยะ morula 7 ตัว compact morula 7 ตัว early blastocyst 5 ตัว blastocyst 3 ตัวและ expanded blastocyst 1 ตัว คุณภาพตัวอ่อนที่ใช้ถ่ายฝากเป็นตัวอ่อนคุณภาพดี 19 ตัว และคุณภาพพอใช้ 4 ตัว โคตัวรับมีการตั้งท้อง 1 ตัว จากการถ่ายฝากตัวอ่อนระยะ compact morula คุณภาพดี ผลการตั้งท้องค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับที่มีรายงานว่าการถ่ายฝากตัวอ่อนระยะ morula, compact morula, early blastocyst, blastocyst และ expanded blastocyst ซึ่งได้ผลการตั้งท้องเท่ากับ 14–38%, 35%, 38–65%, 22–38% และ 30–45% ตามลำดับ[12,13,19] เมื่อพิจารณาถึงคุณภาพตัวอ่อน มีรายงานว่าตัวอ่อนคุณภาพดีและคุณภาพพอใช้จะให้ผลการตั้งท้องเท่ากับ 44–52% และ 27–34% ตามลำดับ[19,24] ดังนั้นสาเหตุของการตั้งท้องต่ำอาจเนื่องมาจากผู้ปฏิบัติงานมีประสบการณ์และความชำนาญไม่เพียงพอ

3. การสอดคล้องของการเป็นสัดระหว่างโคตัวให้และโคตัวรับ

จำนวนโคตัวรับที่ได้รับการถ่ายฝากตัวอ่อนมีการเป็นสัดวันเดียวกับโคตัวให้ (0) 18 ตัว หลังโคตัวให้ 1 วัน (–1) 2 ตัว ก่อนและหลังโคตัวให้ 2 วัน (±2) 1 และ 2 ตัว ปรากฏว่าโคตัวรับที่มีการเป็นสัดวันเดียวกับโคตัวให้มีการตั้งท้อง 1 ตัว อัตราการตั้งท้องต่ำเมื่อเทียบกับที่

Linder และ Wright[19] รายงานว่าการถ่ายฝากตัวอ่อนโดยวิธีนิรศัลยกรรมให้โคตัวรับที่มีการเป็นสัดสอดคล้องกับโคตัวให้ 0, ±1, ±2 วัน จะให้ผลการตั้งท้องเท่ากับ 41%, 47%, 49%, 41% และ 41% ตามลำดับ ส่วนคุณภาพของตัวอ่อนมีรายงานว่าการถ่ายฝากตัวอ่อนที่มีคุณภาพดีเลิศและพอใช้ให้กับโคตัวรับที่มีการเป็นสัดสอดคล้องกับตัวให้ 0, ±0.5–1, ±1.5–2 วัน ผลการตั้งท้องไม่แตกต่างกันทางสถิติ[24] ดังนั้นการที่โคตัวรับไม่ตั้งท้องอาจมีสาเหตุมาจากผู้ปฏิบัติงานมีประสบการณ์และความชำนาญไม่เพียงพอ

**ผลของการเตรียมโคตัวรับให้เป็นสัดสอดคล้องกับโคตัวให้ด้วย $PGF_{2\alpha}$**

การทดลองนี้ได้แบ่งโคตัวรับออกเป็น 4 กลุ่ม ผลปรากฏว่าโคตัวรับกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีการเป็นสัดวันเดียวกับโคตัวให้สูงกว่ากลุ่มที่ 4 (73.7%, 77.8%, 76.9% และ 50% ตามลำดับ) (ตารางที่ 3) เปอร์เซ็นต์การเป็นสัดของโคตัวรับวันเดียวกับโคตัวให้เฉลี่ย 73.2% สูงกว่าเมื่อเทียบกับรายงานของ Chung และคณะ[9] ซึ่งรายงานว่าการเตรียมโคตัวรับที่ผ่านการเป็นสัดแล้ว 6–12 วัน ให้มีการเป็นสัดสอดคล้องกับโคตัวให้โดยการฉีด $PGF_{2\alpha}$ พร้อมกับโคตัวให้ มีการแสดงการเป็นสัดวันเดียวกับโคตัวให้เพียง 66.0% การแสดงการเป็นสัดของโคตัวรับในกลุ่มที่ 1 สูงกว่ากลุ่มที่ 2, 3 และ 4 (100%, 88.8%, 84.6% และ 83.8% ตามลำดับ) และช่วงระยะเวลาจากวันที่ฉีด $PGF_{2\alpha}$ ถึงวันที่เป็นสัดในทั้ง 4 กลุ่มใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง 63.8–67.7 ชม. หลังฉีด $PGF_{2\alpha}$ ผลการทดลองขัดแย้งกับ Tanabe และ Hann[32] ซึ่งรายงานว่าช่วงระยะเวลาหลังจากฉีด $PGF_{2\alpha}$ ถึงวันที่เป็นสัดจะสั้นในกลุ่มที่ฉีด $PGF_{2\alpha}$ ในวันที่ 7 เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ฉีดในวันที่ 15 และวันที่ 11 หลังจากเป็นสัด (43.9, 53.0 และ 71.5 ชม. ตามลำดับ) ส่วนในกลุ่มที่ไม่ทราบวงรอบการเป็นสัดแน่นอนจะมีช่วงระยะเวลาหลังจากฉีด $PGF_{2\alpha}$ ถึงวันที่เป็นสัดเท่ากับ 65.7± 2.1 ชม.

## สรุป

การศึกษาประสิทธิภาพและผลการล้างเก็บตัวอ่อนจากโคตัวให้ในวันที่ 5, 7 และ 9 นับจากวันผสมพันธุ์ปรากฏว่าการล้างเก็บตัวอ่อนมีเปอร์เซ็นต์โคตัวให้ที่สามารถล้างเก็บได้ในวันที่ 5 สูงกว่าโคตัวให้ที่ล้างเก็บในวันที่ 9 และวันที่ 7 ส่วนปริมาณและเปอร์เซ็นต์ตัวอ่อนที่เก็บได้จากโคตัวให้วันที่ 9 และวันที่ 5 สูงกว่าวันที่ 7 และตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้วันที่ 7 มีการเจริญเติบโตอยู่ในระยะตรงตามอายุสูงกว่าตัวอ่อนจากวันที่ 9 และวันที่ 5 ด้านคุณภาพ ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้จากทั้ง 3 กลุ่มไม่พบว่ามีคุณภาพดีเลิศ พบแต่ตัวอ่อนคุณภาพดีและพอใช้ จากการล้างเก็บวันที่ 7 สูงกว่าวันที่ 5 และวันที่ 9 สำหรับปริมาณของน้ำยาที่ไหลกลับจากการล้างเก็บตัวอ่อนในวันที่ 5 มีเปอร์เซ็นต์สูงกว่าวันที่ 7 และวันที่ 9 ส่วนช่วงระยะเวลานับจากการล้างเก็บตัวอ่อนจนถึงวันที่แสดงอาการเป็นสัดของกลุ่มที่ล้างเก็บในวันที่ 5 ยาวกว่าในวันที่ 7 และ 9

เมื่อพิจารณาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการล้างเก็บตัวอ่อนปรากฏว่าคุณสมบัติของโคตัวให้มีความสัมพันธ์กับการประสบผลสำเร็จ จากการทดลองนี้พบว่าโคตัวให้ที่เป็นโคสาว และโคที่เคยให้ลูกมาแล้ว 4 ตัว ไม่สามารถล้างเก็บตัวอ่อนได้เลย

การศึกษาผลการถ่ายฝากตัวอ่อนอายุ 5, 7 และ 9 วัน โดยวิธีนิรศัลยกรรม ปรากฏว่าจากการถ่ายฝากตัวอ่อนคุณภาพดีอายุ 5 วัน ระยะ compact morula สามารถทำให้โคตัวรับตั้งท้อง 1 ตัว และในการเตรียมโคตัวรับให้เป็นสัดสอดคล้องกับโคตัวให้ด้วยการฉีด $PGF_{2\alpha}$ แก่โคตัวรับก่อนฉีดโคตัวให้ 12 ชม. ในกลุ่มโคตัวรับที่อยู่ในระยะ 10–12 วันหลังการเป็นสัดมีเปอร์เซ็นต์การแสดงการเป็นสัดวันเดียวกับโคตัวให้สูงกว่าในกลุ่มโคตัวรับที่อยู่ในระหว่าง 6–9, 13–16 วันหลังการเป็นสัดและไม่ทราบวันเป็นสัดแน่นอนแต่มีคอร์ปัสลูเทียมในวันที่ฉีด $PGF_{2\alpha}$ การทดลองทั้งสองนี้สรุปได้ว่า ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการล้างเก็บและถ่ายฝากตัวอ่อนโดยวิธีนิรศัลยกรรมมากที่สุดคือ ประสบการณ์และความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน

## คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์จำเนียร สัตยาพันธุ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรรณดา สุจริต รองศาสตราจารย์ ดร.กฤษณ์ มงคลปัญญา และรองศาสตราจารย์ ดร.ดำรง พฤกษราช ที่ได้ให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดจนภาควิชาสัตวบาล ที่ช่วยเหลือด้านอุปกรณ์การทดลอง และขอขอบคุณนายสัตวแพทย์สัมพันธ์ สิงหจันทร์ นายอุดม วังตาล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัญจนะ มากวิจิตร อาจารย์อุไรวรรณ ชีวเจริญ นายปรีชา อินนุรักษ์ นายสุพจน์ สัจจาพิทักษ์ และนายสิทธิชัย แก้วสุวรรณ ที่ได้ให้ความสะดวกในระหว่างการทดลอง

## เอกสารอ้างอิง

1. สิงหจันทร์, สัมพันธ์. สถานภาพของเทคโนโลยีการย้ายตัวอ่อนในประเทศไทย. เอกสารประกอบการสัมมนาเชิงปฏิบัติการเรื่อง การย้ายตัวอ่อนในโคนมในประเทศไทย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร, 2528.
2. สุจริต, วรรณดา. การย้ายตัวอ่อนในโคนม. เอกสารประกอบคำบรรยายการสัมมนาทางวิชาการของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและการพลังงาน, กรุงเทพมหานคร, 2529.
3. Avery, T.L., Fahning, M.L. and Graham, E.F. Investigations Associated with the Transplantation of Bovine Ova. II Superovulation. *J. Reprod. Fertility*, 1962, **3**, 212-217.
4. Baker, A.A. and Jillella, D. Techniques of Surgical and Non-surgical Ova Collection of Superovulated Cows. *Vet. Rec.*, 1978, **103**, 558-562.

5. Brand, A. and Drost, M. Embryo Collection by Non-surgical Methods. In Betteridge, K.J. (ed.). Embryo Transfer in Farm Animals. Monograph No. 16, Canada Department of Agriculture, Ottawa, 1977, 16-19.
6. Brand, A., Trounson, A.O., Aarts, M.H. and Drost, M. Superovulation and Non-surgical Embryo Recovery in the Lactating Dairy Cow. *Animal Prod.*, 1978, **26**, 55-60.
7. Chung, K.S., Lee, H.T., Park, H.D., Chung, B.H. and Yoo, S.H. Twin Induction by Embryo Transfer in Cattle. III. Non-surgical Recovery of Embryo. *Korean J. Animal Sci.*, 1983, **25**(5), 408-412.
8. Chung, K.S., Chung, B.H., Rho, H.C., Yoon, J.S. and Chung, T.Y. Twin Induction by Embryo Transfer in Cattle. IV. Morphological Characteristic of Recovered Ova. *Korean J. Animal Sci.*, 1983, **25**(5), 413-417.
9. Chung, K.S., Rho, H.C., Chung, T.Y. and Na, J.S. Twin Induction by Embryo Transfer in Cattle. V. Synchronization between the Estrus Cycle of Donor and Recipient Cattle. *Korean J. Animal Sci.*, 1983, **25**(5), 418-423.
10. Donaldson, L.E. Embryo Production in Superovulated Cows : Transferable Embryos Correlated with Total Embryos. *Theriogenology*, 1984, **21**(4), 517-524.
11. Elsden, R.P., Nelson, L.D. and Seidel, G.E.Jr. Embryo Transfer in Fertile and Infertile Cows. *Theriogenology*, 1979, **11**(1), 17-25.
12. Hahn, J. and Hahn, R. Experiences with Ova Transfer in Cattle. *World Rev. Animal Prod.*, 1976, **12**(4), 51-58.
13. Halley, S.M., Rhodes III, R.C., Mc. Kellar, L.D. and Randell, R.D. Successful Superovulation, Non-surgical Collection and Transfer of Embryos from Brahman Cows. *Theriogenology*, 1979, **12**(2), 97-108.
14. Jillella, D. Embryo Transfer Technology and Its Application in Developing Countries. A Monograph Developed for National Seminars to be Conducted in India, Indonesia, Malaysia, Philippines, Sri Lanka and Thailand during October, 1982, America's Development Foundation, Washington, D.C., 1982, 60.
15. Jillella, D. Embryo Transfer Technology and Its Application in the Asia Region. *Asia Livestock*, 1983, **8**, 108-111.
16. Kim, H.S., Kim, Y.J., Lee, J.M., Lee, K.S. and Chung, K.S. Studies on the Factors Affecting Superovulating Induction in Cattle. *Korean J. Animal Sci.*, 1985, **27**(1), 201-205.
17. Kim, H.S., Oh, S.J., Yang, B.S., Lee, K.S. and Chung, K.S. Studies on the Non-surgical Embryo Recovery and Transfer in Cattle. *Korean J. Animal Sci.*, 1985, **27**(4), 206-210.
18. Laster, D.B. Ovulation, Fertility and Prenatal Mortality in Heifer Treated with PMSG or Porcine FSH. *J. Reprod. Fertility*, 1973, **33**, 275-282.
19. Linder, G.M. and Wright, R.W. Jr. Bovine Embryo Morphology and Evaluation. *Theriogenology*, 1983, **20**(4), 407-416.
20. Lindsell, C.E., Pawlyshyn, V., Bielanski, A. and Mapletoft, R.J. Superovulation of Heifer with FSH-P Beginning on Four Different Days of the Cycle. *Theriogenology*, 1985, **23**(1), 203.
21. Looney, C.R., Voelkel, S.A., Schieve, M.C., Thompson, D.L. Jr. and Godke, R.A. Comparison of Post-Collection Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) Treatments for Luteolysis in Superovulated Donor Cattle. *Theriogenology*, 1982, **17**(1), 98.
22. Lubbadeh, W.F., Graves, C.N. and Spahr, S.L. Effect of Repeated Superovulation on Ovulatory Response of Dairy Cows. *J. Animal Sci.*, 1980, **50**(1), 124-127.
23. du Mensil du Buisson, F., Renard, J.P. and Levasseur, M.C. Factors Influencing the Quality of Ova and Embryo. In Betteridge, K.J. (ed.). Embryo Transfer in Farm Animals. Monograph No. 16, Canada Department of Agriculture, Ottawa, 1977, 24-26.
24. Nelson, L.D., Seidel, G.E. Jr. and Elsden R.P. Effect of Synchrony between Estrus Cycles of Donors and Recipients on Pregnancy Rates in Cattle. *Theriogenology*, 1982, **17**, 101.
25. Newcomb, R., Rowson, L.E.A. and Trounson, A.O. The Sacrewell Project. An on Farm Demonstration of the Potential of Egg Transfer. *Vet. Rec.*, 1978, **130**, 415-418.
26. Niemann, H., Schilling, E., Sacher, B. and Smidt, D. Embryo Transfer in Cattle, Current Scientific Problems. *Animal Res. Develop.*, 1982, **16**, 116-125.

27. Ozil, J.P., Heyman, Y. and Renard, J.P. An Instrument for Trancervical Recovery of Embryos from Heifers. *Theriogenology*, 1979, **11**, 173-183.
28. Rowe, R.F., Crister, J.K. and Ginter, O.J. Non-surgical Embryo in Cattle. *Theriogenology*, 1979, **11**(1), 107.
29. Schneider, U. and Hahn, J. Bovine Embryo Transfer in Germany. *Theriogenology*, 1979, **11**(1), 63-80.
30. Shelton, J.N., Heath, T.D., Old, K.G. and Turnbull, G.E. Non-surgical Recovery of Eggs from Single-ovulating Bovines. *Theriogenology*, 1979, **11**, 149-152.
31. Takahashi, Y. and Kanagawa, H. Inductions of Superovulation Using Several FSH Regimens in Holstein-Friesian Heifers. *Japan. J. Vet. Res.*, 1985, **33**, 45-50.
32. Tanabe, T.Y. and Hann, R.C. Synchronized Estrus and Subsequent Conception in Dairy Heifers Treated with Prostaglandin $F_{2\alpha}$ I. Influence of Stage of Cycle at the Treatment. *J. Animal Sci.*, 1984, **58**(4), 809-811.
33. Wilmut, I. Embryo Transfer in Cattle Breeding. *World Animal Rev.*, 1980, **35**, 30-35.

ตารางที่ 1. แสดงผลการล้างเก็บตัวอ่อนจากโคตัวให้วันที่ 5, 7 และ 9 หลังจากวันผสมพันธุ์

| ข้อมูล | วันที่ล้างเก็บตัวอ่อน | | |
|---|---|---|---|
| | วันที่ 5 | วันที่ 7 | วันที่ 9 |
| หมายเลขตัวให้ | 134*, 147*, 170*<br>57**, 82**, 147*** | 107*, 994*<br>147**, 994** | 57*, 82*<br>107**, 170** |
| คอร์ปัสลูเทียม (ฟอง) | | | |
| ทั้งหมด (พิสัย) | 77 (6–20) | 42 (5–23) | 55 (7–18) |
| $\bar{X} \pm SD$ | 12.8 ± 5.91 | 10.5 ± 8.43 | 13.8 ± 4.79 |
| ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้ (ตัว) | | | |
| ทั้งหมด (พิสัย) | 31 (2–10) | 10 (0–10) | 22 (0–15) |
| $\bar{X} \pm SD$ | 5.16 ± 3.43 | 2.5 ± 5 | 5.5 ± 6.85 |
| เปอร์เซ็นต์ | 40.3 | 23.8 | 40 |
| ตัวให้ที่เก็บตัวอ่อนได้ (%) | 6 ตัว (100%) | 1 ตัว (25%) | 3 ตัว (75%) |
| ตัวอ่อนที่เหมาะสมในการถ่ายฝาก(%)**** | 18 ตัว (58.1%) | 10 ตัว (100%) | 15 ตัว (68.2%) |
| น้ำยาที่ใช้ล้างเก็บตัวอ่อน (มล.) | | | |
| น้ำยาเข้า | 1,000–1,050 | 950–1,000 | 900–1,170 |
| น้ำยาออก | 835–1,010 | 700–880 | 610–925 |
| การไหลกลับของน้ำยา (%) | 91.7 | 80.6 | 80.8 |
| ช่วงเวลาการกลับคืนเป็นสัด (วัน) | | | |
| พิสัย | 11–20 | 4–10 | 5–10 |
| $\bar{X} \pm SD$ | 13.5 ± 4.37 | 8.25 ± 3.09 | 7 ± 2.45 |

* การล้างเก็บตัวอ่อนเมื่อเหนี่ยวนำให้ตกไข่ครั้งละหลายฟองครั้งที่ 1

** การล้างเก็บตัวอ่อนเมื่อเหนี่ยวนำให้ตกไข่ครั้งละหลายฟองครั้งที่ 2

*** การล้างเก็บตัวอ่อนเมื่อเหนี่ยวนำให้ตกไข่ครั้งละหลายฟองครั้งที่ 3

**** ตัวอ่อนที่มีคุณภาพพอใช้และคุณภาพดี

ตารางที่ 2. ตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้เมื่อทำการเหนี่ยวนำให้ตกไข่ครั้งละหลายฟองต่อเนื่องกัน 2 ครั้ง

| ข้อมูล | ครั้งที่ทำการเหนี่ยวนำให้ตกไข่ | |
|---|---|---|
| | 1 | 2 |
| หมายเลขโคตัวให้ | 57, 82, 107, 147, 170, 994 | 57, 82, 107, 147, 170, 994 |
| คอร์ปัสลูเทียม* (ฟอง) | | |
| ทั้งหมด | 71 | 72 |
| พิสัย | 5–19 | 6–23 |
| $\bar{X} \pm SD$ | 11.8 ± 5.98 | 12 ± 6.89 |
| จำนวนตัวอ่อนที่ล้างเก็บได้* (ตัว) | | |
| ทั้งหมด | 27 | 22 |
| พิสัย | 0–15 | 0–10 |
| $\bar{X} \pm SD$ | 4.5 ± 5.61 | 3.7 ± 4.59 |
| เปอร์เซ็นต์ | 38.02 | 30.5 |
| ตัวอ่อนที่เหมาะสมในการถ่ายฝาก* (ตัว) | | |
| ทั้งหมด | 17 | 13 |
| พิสัย | 0–9 | 0–10 |
| $\bar{X} \pm SD$ | 2.83 ± 3.54 | 2.2 ± 3.92 |
| เปอร์เซ็นต์ | 62.96 | 59.1 |
| ระยะเวลาจากการเหนี่ยวนำให้ตกไข่ครั้งก่อน (วัน) | | |
| $\bar{X} \pm SD$ | – | 73.33 ± 14.0 |
| พิสัย | – | 55–90 |

* แตกต่างกันแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$)

ตารางที่ 3. ผลการเตรียมโคตัวรับให้มีการเป็นสัดสอดคล้องกับโคตัวให้ด้วย $PGF_{2\alpha}$

| กลุ่มที่ | ระยะหลังจากเป็นสัด | จำนวนสัตว์ | จำนวนโคตัวรับที่เป็นสัดสอดคล้องกับโคตัวให้ (%) | | | ไม่ตอบสนอง |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 0 | −1 | −2 | |
| 1 | วันที่ 6–9 | 19 | 14 (73.7%) | 2 (15.8%) | 2 (10.5%) | – |
| 2 | วันที่ 10–12 | 18 | 14 (77.8%) | 2 (11.1%) | – | 2 (11.1%) |
| 3 | วันที่ 13–16 | 13 | 10 (76.9%) | – | 1 (7.7%) | 2 (15.4%) |
| 4 | ? | 6 | 3 (50%) | 2 (33.3%) | – | 1 (16.4%) |
| รวม | | 56 | 41 (73.2%) | 7 (12.5%) | 3 (5.4%) | 5 (8.9%) |