

ดารีกา แพร์เกียร์ติเจริญ: ผลของการเติมเรสเวราทรอลในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนในหลอดแก้วต่อ อัตราการตั้งท้องของตัวรับหลังจากย้ายฝากตัวอ่อนโคที่ผ่านการแช่แข็งโดยวิธี vitrification และ slow freezing ซึ่งผลิตจากไข่ที่เจาะเก็บจากการทำ OPU (EFFECTS OF RESVERATROL SUPPLEMENTATION IN *IN VITRO* EMBRYO CULTURE MEDIUM ON PREGNANCY RATES AFTER TRANSFER VITRIFIED AND SLOW FREEZING BOVINE BLASTOCYSTS DERIVED FROM OPU OOCYTES) อาจารย์ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ ดร.รังสรรค์ พาลพ่าย, 91 หน้า.

คำสำคัญ: ตัวอ่อนในหลอดแก้ว/ย้ายฝากตัวอ่อน/การแช่แข็งตัวอ่อน/การตั้งท้องในโค/เรสเวราทรอล

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบผลการเติมเรสเวราทรอลในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนต่อการพัฒนาของตัวอ่อนและการตั้งท้องในโคหลังจากย้ายฝากตัวอ่อนที่ผ่านการแช่แข็งโดยวิธี vitrification และ slow freezing การทดลองนี้เก็บไข่จากแม่โคที่มีพันธุกรรมดีเยี่ยมทางช่องคลอดภายใต้การตรวจด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง ก่อนนำไปเลี้ยงต่อในน้ำยาให้พร้อมปฏิสนธิ หลังจากทำปฏิสนธิในหลอดแก้วนำตัวอ่อนเลี้ยงในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนในหลอดแก้วที่เติมและไม่เติมเรสเวราทรอลที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ จนครบ 7 วัน หลังจากนั้นตัวอ่อนระยะบลาสโตซิสต์ทั้งสองกลุ่มถูกแบ่งไปย้ายฝากตัวอ่อนสดและแช่แข็งด้วยวิธี vitrification และ slow freezing และตรวจการตั้งท้องด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงหลังการย้ายฝาก 23-30 วัน ผลการศึกษาพบว่าโคพันธุ์วากิวให้ไข่น้อยกว่าโคพันธุ์บราห์มันและปีพมาสเตอร์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ส่วนโคพันธุ์ปีพมาสเตอร์ให้ไข่น้อยที่สุดแต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับโคพันธุ์บราห์มัน ผลการเติมเรสเวราทรอลในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนพบว่าช่วยเพิ่มอัตราการแบ่งเซลล์ของตัวอ่อนโคพันธุ์บราห์มัน (-Res 59.16%, and +Res 69.29%) และปีพมาสเตอร์ (-Res 66.50%, and +Res 80.19%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แต่เพิ่มอัตราการแบ่งเซลล์ของ ตัวอ่อนโคพันธุ์วากิวเพียงเล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (-Res 60.39%, and +Res 67.73%,  $P > 0.05$ ) และสามารถเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตของตัวอ่อนไปเป็นระยะบลาสโตซิสต์ในโคพันธุ์บราห์มัน (-Res 33.99%, and +Res 40.32%) และปีพมาสเตอร์ (-Res 37.14%, and +Res 44.43%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของตัวอ่อนไปเป็นระยะบลาสโตซิสต์ในโคพันธุ์วากิว (-Res 26.12%, and +Res 26.36%,  $P > 0.05$ ) อัตราการตั้งท้องในกลุ่มตัวอ่อนสดที่เติมเรสเวราทรอลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (-Res Fresh 27.80% และ +Res Fresh 37.86%,  $P < 0.05$ ) ตัวอ่อนที่เติมเรสเวราทรอลและแช่แข็งด้วยวิธี vitrification (-Res Vit 26.87% และ +Res Vit 29.31%) และ slow freezing (-Res Slow 18.18% และ +Res Slow 21.56%) มีอัตราการตั้งท้องที่สูงขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) กับตัวอ่อนที่ไม่เติมเรสเวราทรอล การเติมเรสเวราทรอลในตัวอ่อนสดยังช่วยลดการสูญเสียการตั้งท้องอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (-Res

Fresh 21.23% และ +Res Fresh 10.75%,  $P < 0.05$ ) แต่ในตัวอ่อนที่เติมเรสเวอราทอลและไม่เติมเรสเวอราทอลและแช่แข็งด้วยวิธี vitrification (-Res Vit 16.66% และ +Res Vit 11.76%) และ slow freezing (-Res Slow 20.00% และ +Res Slow 18.18%) มีอัตราการสูญเสียการตั้งท้องไม่แตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) การแช่แข็งวิธี slow freezing ให้ผลทางลบต่ออัตราการตั้งท้อง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นๆ อิทธิพลจากความแตกต่างของสายพันธุ์แม่โคตัวให้และแม่โคตัวรับไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ต่ออัตราการตั้งท้องและการสูญเสียการตั้งท้อง การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าการเติมเรสเวอราทอลในน้ำยาเลี้ยงตัวอ่อนช่วยเพิ่มอัตราการแบ่งเซลล์ของตัวอ่อนและอัตราการเจริญเติบโตของตัวอ่อนไปเป็นระยะบลาสโตซิส และช่วยเพิ่มอัตราการตั้งท้องและลดการสูญเสียการตั้งท้อง อีกทั้งยังช่วยปรับปรุงคุณภาพของตัวอ่อนรวมถึงเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนหลังการแช่แข็ง นอกจากนี้ยังพบว่า การแช่แข็งด้วยวิธี vitrification เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากกว่าการแช่แข็งแบบ slow-freezing ในการเก็บรักษาตัวอ่อนให้มีชีวิต



มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ปีการศึกษา 2566

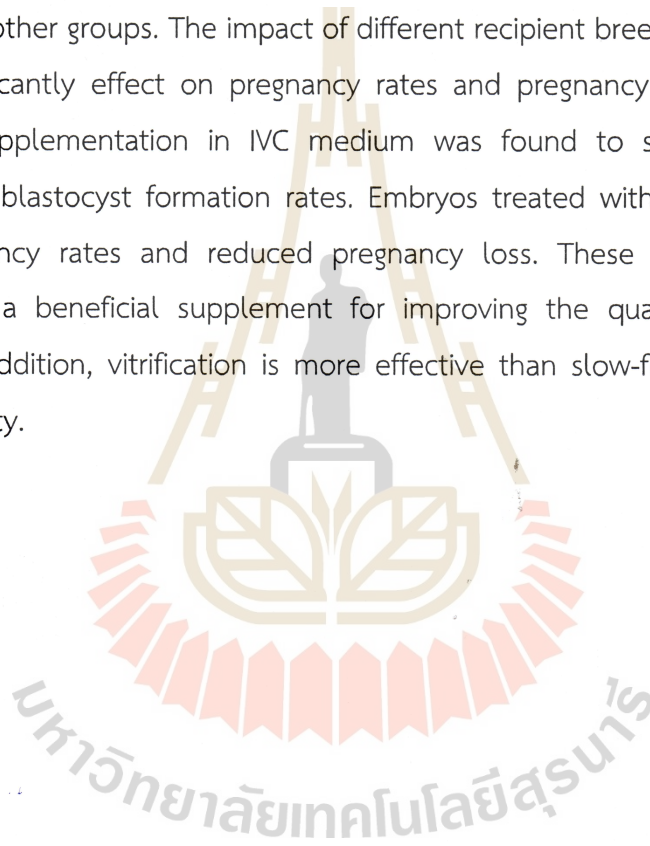
ลายมือชื่อนักศึกษา อรุณ  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา Dr. Any

DARIKA PAKIATCHALORN : EFFECTS OF RESVERATROL SUPPLEMENTATION IN *IN VITRO* EMBRYO CULTURE MEDIUM ON PREGNANCY RATES AFTER TRANSFER VITRIFIED AND SLOW FREEZING BOVINE BLASTOCYSTS DERIVED FROM OPU OOCYTES. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. RANGSUN PARNPAI, Ph.D., 91 PP.

Keyword: Bovine/*In vitro*/Slow freezing/Vitrification/Embryo transfer/ Pregnancy

This study aimed to examine the effects of resveratrol supplemented in culture medium on embryo development and pregnancy rate of vitrified and slow frozen bovine embryos. The oocytes were collected from elite genetics cattle using a transvaginal ultrasound-guided ovum pick-up (OPU) technique and cultured in *in vitro* maturation (IVM) medium. After *in vitro* fertilization (IVF), the embryos were cultured in *in vitro* culture (IVC) medium with (+Res) or without (-Res) 0.5  $\mu$ M resveratrol supplement for 7 days. Grade 1 blastocysts from both treatments were selected for fresh transfer and freezing using vitrification and slow freezing methods. The embryo transfer (ET) was conducted in recipients using vitrified blastocysts in comparison with fresh and slow frozen blastocysts. Then, pregnancy was examined at 23 to 30 days post-ET using a transrectal ultrasonography. Results showed that Brahman and Beefmaster cattle had a significantly higher ( $P < 0.05$ ) numbers of collected oocytes than Wagyu cattle. Moreover, Beefmaster cattle yielded the highest number of collected oocytes but not significantly different with Brahman cattle. Resveratrol supplementation in IVC medium resulted in a significant ( $P < 0.05$ ) increase of cleavage rate in Brahman (-Res 59.16%, and +Res 69.29%) and Beefmaster (-Res 66.50%, and +Res 80.19%) in comparison with those of untreated group. However, there was slightly higher effect on cleavage rate of Wagyu (-Res 60.39%, and +Res 67.73%,  $P > 0.05$ ). Similar to cleavage rate, resveratrol also significantly ( $P < 0.05$ ) increased blastocyst rate of Brahman (-Res 33.99%, and +Res 40.32%) and Beefmaster (-Res 37.14%, and +Res 44.43%) compared to the untreated group. However, there was no beneficial effect on blastocyst rate of Wagyu (-Res 26.12%, and +Res 26.36%,  $P > 0.05$ ). Pregnancy rates of fresh blastocysts with resveratrol supplement were significantly increased (-Res Fresh 27.80% and +Res Fresh 37.86%,  $P < 0.05$ ) over the untreated fresh blastocysts. Pregnancy rates of slow freezing (-Res Slow 18.18%, and +Res Slow 21.57%), and

vitrified blastocysts (-Res Vit 26.87%, and +Res Vit 29.31%) with resveratrol were slightly higher than those of untreated oocytes, but there was no significant difference ( $P>0.05$ ). Pregnancy losses significantly decreased in recipients receiving fresh embryos from +Res in comparison with -Res (-Res Fresh 21.23%, and +Res Fresh 10.75%,  $P<0.05$ ). However, pregnancy losses obtained from slow freezing embryos (-Res Slow 20.00%, and +Res Slow 18.18%,  $P>0.05$ ) and vitrified embryos (-Res Vit 16.66%, and +Res Vit 11.76%,  $P>0.05$ ) did not significantly differ. Furthermore, slow freezing had a more negative effect on pregnancy rate showed by a significantly lower pregnancy rate compared to other groups. The impact of different recipient breeds and donor breeds did not significantly effect on pregnancy rates and pregnancy loss. In conclusion, resveratrol supplementation in IVC medium was found to significantly enhance cleavage and blastocyst formation rates. Embryos treated with resveratrol showed higher pregnancy rates and reduced pregnancy loss. These results suggest that resveratrol is a beneficial supplement for improving the quality and viability of embryos. In addition, vitrification is more effective than slow-freezing in preserving embryo viability.



School of Biotechnology

Academic Year 2023

Student's Signature P. DarikaAdvisor's Signature [Signature]