ผลของการเสริมสารสกัดจากว่านหางจระเข้ต่อการพัฒนาการเจริญพร้อมปฏิสนธิของโดโอไซต์โคแบบนอกร่างกาย

สุจิรา ธรรมวัง*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษา ผลของการเสริมสารสกัดจากว่านหางจระเข้ในสูตรน้ำยาเพาะเลี้ยงโอโอไซต์โคแบบนอกร่างกายต่อการพัฒนาการเพาะเลี้ยงโอโอไซต์ ใช้รังไข่โคเนื้อเพศเมียที่เก็บจากโคที่ผ่านการฆ่าจากโรงฆ่าสัตว์ในจังหวัดขอนแก่น จำนวน 142 รังไข่ นำรังไข่ที่ได้กลับมายังห้องปฏิบัติการภายใน 1 ชั่วโมง การทดลองที่ 1 ทำการประเมินอิทธิพลของขนาดฟอลลิเคิลต่อความสามารถในการเก็บโอโอไซต์ โดยใช้โอโอไซต์จำนวน 176 โอโอไซต์ จากรังไข่โค 52 รังไข่ ใช้เข็มฉีดยาขนาด 18Gl ½ ทำการเจาะดูดโอโอไซต์จาก ฟอลลิเคิล ที่แย่งเป็น 2 กลุ่ม คือ <2 มิลลิเมตร และ 2-6 มิลลิเมตร ผลการศึกษาพบว่ามีมีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05) ของความสามารถในการเก็บโอโอไซต์ระหว่างกลุ่มฟอลลิเคิลขนาดเล็ก (<2 มิลลิเมตร) และกลุ่มฟอลลิเคิลขนาดกลาง (2-6 มิลลิเมตร) การทดลองที่ 2 ใช้ 860 โอโอไซต์ จาก 72 รังไข่ เพื่อทำการหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของการเสริมสารสกัดจากว่านหางจระเข้ ในสูตรน้ำยาเพาะเลี้ยงโอโอไซต์โคแบบนอกร่างกาย ทำการเจาะดูดโอโอไซต์จากฟอลลิเคิลที่มีขนาด 2-6 มิลลิเมตร นำโอโอไซต์ที่มีคิวมูลัสเซลล์ล้อมรอบ (COCs) เพาะเลี้ยงจำนวน 20 โอโอไซต์ใน 100 μl drop ของน้ำยากเพาะเลี้ยง (TCM-199 + 5% fetal calf serum + 0.025 IU follicle stimulating hormone) ร่วมด้วย 0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 และ 20% (vol/vol) ของสารสกัดจากว่านหางจระเข้ที่มีชื่อทางการค้า Certified plus™ *Aloe vera* (Aloecrop, Harlingen, TX, USA) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ 38.5 °C สภาวะออกซิเจนปกติ ที่ 5% CO_2 จากนั้นทำการประเมินคุณภาพโอโอไซต์ทางสัณฐานวิทยา จากจำนวน 1st polar body แผ่ขยายของชั้นคิวมูลัสเซลล์ และลักษณะไซโทพลาสซึม จากการศึกษาพบวาการเสริมว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้น 1.25% ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของ 1st 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 ทรีทเมนต์ (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±0.0049 0.1407±0.0042 และ 0.1369±0.0074 ไมโครกรัมต่อโอโอไซต์ ตามลำดับ) มากกว่า (P>0.05) ที่ 0 ชั่วโมง (0.1174±0.0052 0.1191±0.0047 และ 0.1141±0.0030 ไมโครกรัมต่อโอโอไซต์ ตามลำดับ) สัดส่วนระหว่างโปรตีนต่อดีเอ็นเอเพื่อวัดขนาดของเซลล์ที่เพิ่มขึ้น (hypertrophy) ที่ 0 และ 24 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างระหว่างกลุ่มและระหว่างทรีทเมนต์ (P>0.05) การเสริมสารสกัดจากว่านหางจระเข้ที่ระดับความเข้มข้น 1.25% ในสูตรน้ำยาเพาะเลี้ยงสามารถใช้เพื่อช่วยเพิ่มการเจริญพร้อมปฏิสนธิของโอโอไซต์โคแบบนอกร่างกาย

---

* วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สัตวศาสตร์) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 79 หน้า.

Effect of Extract Obtained from *Aloe vera* on In Vitro Bovine Oocyte Maturation Development

Sujira Thammawung*

Abstract

The objective of the 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 with in 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 differed (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 μl 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™ *Aloe vera* (Aloecrop, Harlingen, TX, USA) for 24 hours at 38.5 °C under the atmosphere of 5% CO_2. The oocytes were morphologically evaluated using 1st polar body numbers, cumulus cell expansion and cytoplasm as the criterion for oocyte quality. The percentage of 1st polar body revealed greatest in 1.25% *Aloe vera* supplement (P<0.305). 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 differed among groups (P>0.05). Supplementation of *Aloe vera* 0, 1.25 and 2.5% increased the protein content at 24 h (0.1396±0.0049 0.1407±0.0042 and 0.1369±0.0074 μg/oocyte, respectively) more than (P>0.05) 0 h (0.1174±0.0052 0.1191±0.0047 and 0.1141±0.0030 μg/oocyte, respectively). The ratio of protein per DNA as indicator of hypertrophy at 0 h and 24 h were not differed among groups and treatments (P>0.05). Supplementation of 1.25% *Aloe vera* in culture media enhanced the in vitro bovine oocyte maturation.

---

* Master of Science (Animal Science), Faculty of Agriculture, Khon Kaen University. 79 pages.