

# 外源激性腺素對荷蘭乳牛活體取卵之影響<sup>(1)</sup>

楊德威<sup>(2)(4)</sup> 陳裕信<sup>(3)</sup> 曲鳳翔<sup>(3)</sup> 謝昭賢<sup>(2)</sup> 蕭宗法<sup>(2)</sup>

收件日期：104 年 9 月 22 日；接受日期：105 年 6 月 21 日

## 摘 要

本試驗目的在探討荷蘭乳牛活體取卵時，以外源激濾泡素 (follicle-stimulating hormone, FSH) 處理對於抽取濾泡數、回收卵母細胞數及培養後胚發育之影響。試驗以 8 頭乾乳牛逢機分成 2 組，連續進行 8 週，每週活體取卵一次，由全程抽取濾泡數、收集卵母細胞數及發育至囊胚率，以評估處理的差異。在牛隻沒有施打激濾泡素的組別中，計抽取濾泡數 101 個及回收卵母細胞 26 個，平均每頭每次抽取濾泡數為  $3.1 \pm 1.3$ ；回收卵母細胞數為  $0.8 \pm 0.6$ 。經培養後其卵裂率為 46.15% (12/26)，發育至囊胚率為 0% (0/12)。相較於牛隻經施打激濾泡素的組別中，於抽除優勢濾泡之後的 36 小時，注射激濾泡素 20 A.U. (8 A.U., I.M. 及 12 A.U., S.C.)，並於注射激濾泡素後 48 小時進行活體取卵 (ovum pick-up, OPU)，計抽取濾泡數 284 個及回收卵母細胞數 87 個，平均每頭每次抽取濾泡數為  $8.6 \pm 3.6$ ；回收卵母細胞數為  $2.7 \pm 1.8$ 。經培養後其卵裂率為 47.13% (41/87)，發育至囊胚率為 5/41 (12.20%)。上述試驗結果顯示，牛隻經外源性激濾泡素誘發濾泡成熟，每週進行活體取卵一次，無論是抽取濾泡數、卵母細胞回收數、培養後之卵裂率與發育至囊胚率，均顯著優於未經外源性激濾泡素處理者 ( $P < 0.05$ )。

關鍵詞：乾乳牛、激濾泡素、活體取卵。

## 緒 言

利用超音波掃描進行抽取濾泡之活體取卵的技術，可從活牛重複取得來源可靠的卵母細胞，結合活體取卵與體外胚生產 (*in vitro* production, IVP) 的技術，已明顯改變傳統胚的生產模式。有效率的開發利用雌性配子及縮短世代間距，以提升母畜繁殖效率之技術，是現代畜牧業很重要的一個目標。體外胚生產透過胚移置應用於產業上，正快速的發展。其中活體取卵 (OPU) 技術，自高遺傳性能雌性牛以溫和方式重複操作以回收卵母細胞，是發展 IVP 一個重要的方法之一 (Galli *et al.*, 2001)。活體取卵的技術應用層面廣，不僅可以應用在經產牛、早期懷孕及一些對荷爾蒙刺激反應不佳者，亦可應用在繁殖障礙的母牛 (Looney *et al.*, 1994)、仔牛及發身前的女牛 (Majerus *et al.*, 1999)。活體取卵的操作模式，可以設計不同的時間抽取濾泡，其中有以動情週期不同天數來操作 OPU，如：動情週期後的第 3—4 天、9—10 天或 15—16 天 (Pieterse *et al.*, 1991)；或活體取卵後不同的間隔時間再取卵，有每週一次 (Goodhand *et al.*, 1999) 或每週二次 (Gibbons *et al.*, 1994)。以每週二次，間隔 3—4 天 OPU 是最多被採用的方式 (Gibbons *et al.*, 1994)。乾乳牛相較於泌乳牛，無論激濾泡素處理與否，由乾乳牛收集之卵母細胞，有較高比例的囊胚發育及生產較多的可移置胚 (Vieira *et al.*, 2014)。一般而言，每週二次的 OPU，雖然回收卵母細胞數量較多；但是，亦發現牛隻出現一些不嚴重的症狀，即每週二次連續性之 OPU 操作，會影響內分泌功能及濾泡生長情形，導致牛隻不規則的發情或不發情 (Galli *et al.*, 2001)。研究顯示，過於頻繁的抽取濾泡，可能導致黃體無法形成或黃體功能下降，造成助孕酮的濃度不足的現象 (Petyim *et al.*, 2001)。本試驗連續進行 8 週，每週進行活體取卵一次，期瞭解荷蘭乳牛重複取卵，對於牛隻可抽取濾泡數、回收卵母細胞數及胚發育之影響。

## 材料與方法

### I. 試驗動物

試驗於涼季 1—3 月進行，選用經直腸觸診生殖系統正常荷蘭乾乳牛 8 頭，分為試驗組及對照組。試驗牛隻

(1) 行政院農業委員會畜產試驗所研究報告第 2465 號。

(2) 行政院農業委員會畜產試驗所產業組。

(3) 行政院農業委員會畜產試驗所生理組。

(4) 通訊作者，E-mail：dwyang@mail.tlri.gov.tw。

提供合於 NRC (2001) 標準之完全混合日糧與充足飲水，日糧組成為每頭牛每日青貯狼尾草 32 kg、盤固乾草 4 kg 及生長牛精料 1 kg。

## II. 儀器設備及取卵操作

母牛 OPU 前，進行尾椎麻醉，注射利都卡因 4 – 5 mL (Lidocaine 2%；臺裕化學製藥廠股份有限公司，臺灣新竹縣)。OPU 採用 7.5 MHz 超音波掃瞄儀 (100S Vet., Pie Medical, USA)，探頭附於長度 47 cm 取卵固定器 (OPU holder, Terumo Europe, Leuven, Belgium) 之內，套上 20 號拋棄式針頭 (NEOLUS<sup>®</sup>, 20G × 2", 0.9 mm × 40 mm, Terumo Europe, Leuven, Belgium)。將取卵固定器置於陰道中，以左手將卵巢固定於取卵固定器前端之超音波掃瞄儀探頭上；右手推進長針，控制長針刺入卵巢上的濾泡。並先啟動幫浦，在長針刺入濾泡的同時，將濾泡液抽出。抽取濾泡液的幫浦 (VMAR-5100, Fa. W. A. Cook, Australia)，真空度為 70 – 75 mm Hg、流速 15 – 18 mL/min，以回收沖洗液。

## III. 試驗牛隻處理

試驗牛隻逢機分為有或無外源性激濾泡素處理兩組，試驗期程連續進行 8 週，以評估全程 (4 cows × 8 weeks) 抽取濾泡數、收集卵母細胞數及體外受精發育至囊胚之比例。

- (i) 對照組 (OPU 1/w, no FSH)：每週 OPU 一次，每次 OPU 抽取經超音波掃瞄可見的濾泡。
- (ii) 試驗組 (DFR-FSH-OPU 1/w)：每週 OPU 一次。試驗牛隻先進行優勢濾泡抽除 (dominant follicle removal, DFR)，優勢濾泡抽除後的 36 小時，注射 20 A.U. 之 FSH (川崎製藥株式會社，日本)，FSH 每週施打一次。FSH 20 A.U. 其中 12 A.U. 採皮下注射；8 A.U. 採肌肉注射。注射 48 小時後進行 OPU (Chaubal *et al.*, 2006)。

## IV. 體外生產系統

### (i) 卵母細胞來源

卵母細胞來源，係以活體取卵方式由荷蘭乳牛取得。以 OPU 方式取得含卵母細胞之沖洗液，直接回收於離心管。試驗室中，離心管靜置 15 分鐘後，倒入直徑 6 cm 之滅菌培養皿中，置於低倍 (20 X) 立體解剖顯微鏡下，以適當口徑之微玻璃吸管 (Pasteur pipette) 吸取收集卵丘－卵母細胞複合體 (cumulus-oocyte complexes, COCs)。經 37°C 之成熟培養液清洗 3 – 5 次後，將卵母細胞複合體放入經平衡之體外成熟小滴，供後續體外成熟培養之用。

### (ii) 體外成熟培養 (*in vitro* maturation, IVM)

依據李等 (1997) 之牛卵體外成熟培養步驟，取一、二級 COCs，逢機將 8 – 12 個不等之 COCs，移入一直徑 35 mm 內含 80  $\mu$ L 成熟培養液之培養皿中。並且覆蓋輕級礦物油 (light mineral oil, Sigma M8410)，再置入恆溫培養箱 (38.5°C，5% CO<sub>2</sub>) 內，成熟培養 18 – 22 小時。

### (iii) 體外受精 (*in vitro* fertilization, IVF)

經體外成熟培養後之卵丘－卵母細胞複合體，利用適當口徑的微玻璃管，以吸放之機械方式，去除卵母細胞周圍之卵丘細胞，再以 TCM-199 培養液清洗 3 次。然後將 5 – 10 個卵母細胞置於 80  $\mu$ L 之受精小滴中，上層覆蓋 2.0 – 2.5 mL 之礦物油，置於 38.5°C、5% CO<sub>2</sub> 及 100% 相對濕度之培養箱中培養。精子與卵母細胞共同培養 18 – 22 小時後，卵母細胞以 39°C 之 M-199 培養液洗滌 3 次，去除附著於卵母細胞外圍殘留之卵丘細胞及未鑽入卵母細胞之精子。

### (iv) 體外培養 (*in vitro* culture, IVC)

將該卵母細胞置回已預先培育形成單層卵丘細胞 (cumulus cell monolayer) 之成熟培養液中，進行共培養 (co-culture)。卵母細胞在受精後 48 小時，評估受精卵之卵裂率。之後，每隔 24 小時觀察胚之發育情形。

## V. 資料分析

所有試驗數據以 mean  $\pm$  SE 表示，並且依據一般線性模式 (general linear model, GLM) 進行統計分析 (SAS, 2007)，當  $P < 0.05$  則為差異顯著性。

# 結果與討論

## I. 可抽取濾泡數及回收卵母細胞數

試驗結果顯示，無外源性激濾泡素處理的組別中，計抽取濾泡數 101 個及回收卵母細胞 26 個，平均每頭每次抽取濾泡數為  $3.1 \pm 1.3$ ；回收卵母細胞數為  $0.8 \pm 0.6$ 。經培養後其卵裂率為 46.15% (12/26)，發育至囊胚率為 0% (0/12)。試驗牛隻經外源性激濾泡素處理的組別中，計抽取濾泡數 284 個及回收卵母細胞數 87 個，試驗顯示經

FSH 處理之牛隻，誘發卵巢發育之濾泡數明顯增加，平均每頭每次抽取濾泡數為  $8.6 \pm 3.6$ ；回收卵母細胞數為  $2.7 \pm 1.8$ 。經培養後其卵裂率為 47.13% (41/87)，發育至囊胚率為 5/41 (12.20%)。上述試驗結果顯示，牛隻經外源性激濾泡素誘發濾泡成熟，每週進行活體取卵一次，無論是抽取濾泡數、卵母細胞回收數、培養後之卵裂率與發育至囊胚率，均顯著優於未經外源性激濾泡素處理者 ( $P < 0.05$ )。Chaubal *et al.* (2006) 研究結果，母牛抽除優勢濾泡之後，施打 FSH 誘發卵巢濾泡發育，每週進行 OPU 一次，在第一週抽取濾泡數及回收卵母細胞數較高，第二週起，兩者之數量卻有穩定逐漸下降的趨勢；雖然如此，整個 10 週試驗期程，抽取濾泡數及回收卵母細胞數仍然顯著高於未經 FSH 處理之牛隻。Vieira *et al.* (2014) 的試驗亦顯示，荷蘭乳牛經 FSH 處理之牛隻，有較高比例的中型濾泡，活體取卵所抽取濾泡數亦顯著高於未經 FSH 處理之牛隻。在整個試驗期程，試驗組牛隻，每頭每次平均抽取濾泡數及回收卵母細胞均較對照組牛隻顯著較高 ( $P < 0.05$ )，如表 1。

表 1. 乾乳牛有無激濾泡素處理經超音波掃描活體取卵抽取濾泡數及回收卵母細胞數情形

Table 1. Aspirated follicles and oocyte retrieved via ultrasound-guided ovum pick-up in dry cow treated with or without FSH

Treatment	Follicles aspirated	Oocytes retrieved
OPU/no FSH	$3.1 \pm 1.3^a$	$0.8 \pm 0.6^a$
OPU/ FSH	$8.6 \pm 3.6^b$	$2.7 \pm 1.8^b$

<sup>a, b</sup> Values (mean  $\pm$  SE) in the column without common superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

## II. 每週平均抽取濾泡數與回收卵母細胞數

兩組不同處理的試驗牛隻，整個試驗期程，每週平均抽取濾泡數，如圖 1 所示。試驗組每週平均抽取濾泡數均較對照組為多。

在具有 2 個濾泡波的牛隻，第一濾泡波開始於發情後期的初期，而於發情間期的中段達到高峰，當此波之優勢濾泡形成閉鎖後，而逐漸退化；在第一濾泡波開始退化時，第二濾泡波即開始發育，而於發情期達到高峰，其中的優勢濾泡進而形成排卵之濾泡 (Bearden and Fuquay, 2000)。Chaubal *et al.* (2006) 的試驗顯示，母牛於抽除優勢濾泡後，注射 FSH 誘發卵巢濾泡發育，再操作活體取卵之處理方法，無論是抽取濾泡數，或是回收卵母細胞數，均顯著高於未經 FSH 處理之牛隻的。其試驗結果顯示，牛隻經 FSH 處理所增加發育的濾泡數，主要是因牛隻進行優勢濾泡抽除 (DFR) 後約 1.5 日形成內源性 FSH 潮湧，而後的 2 日內啟動一個新的濾泡波 (Adams *et al.*, 1992)。Chaubal *et al.* (2006) 研究顯示，每間隔 3 — 4 天活體取卵一次，或 3 — 4 天抽除大型濾泡，如此將阻礙優勢濾泡形成及後續排卵；然而，牛隻經抽除優勢濾泡，並於 1.5 日後施打外源性 FSH 的處理，在其內源性 FSH 濃度持續增加和維持下，當與外源 FSH 的處理相重疊時，可能使新啟動的濾泡波的濾泡發育更快速而明顯。

本試驗組抽取濾泡數，第一週較低，第二週最高，第三週起，抽取濾泡數與回收卵母細胞數量有下降趨勢；而對照組每週平均抽取濾泡數較少且與回收卵母細胞數差異較小，回收卵母細胞數亦有類似之趨勢，如圖 2 所示。

卵子獲得發育的能力與濾泡的生長情形有關連，當濾泡繼續生長、直徑加大，以及 LH 潮湧出現，將明顯的提升卵子的發育能力 (Sirard, 2012)。Boni *et al.* (1997) 研究亦顯示，母牛每週 2 次抽取濾泡超過 6 個月，重複抽取大於 2 mm 之濾泡，將阻礙優勢濾泡形成及隨後的排卵，亦減少黃體的形成，且黃體壽命亦較短。另有報告指出，母牛每週 2 次抽取濾泡超過 4 個月，其黃體樣構造較小且壽命較短及產生助孕酮較少 (Petyim *et al.*, 2003)。在整個試驗期程，試驗組所抽取濾泡數與回收卵母細胞，數量上明顯高出對照組許多；然而，抽取濾泡數與回收卵母細胞數量卻有逐漸下降趨勢。Aller *et al.* (2010) 研究顯示，活體取卵之牛隻，經 FSH 重複處理，無論是抽取濾泡的數量，回收卵母細胞數量、品質及隨後的胚生產，均較未經 FSH 處理的牛隻為佳 ( $P < 0.05$ )。牛隻經重複抽取濾泡操作，在後續的繁殖性能表現，發現一些不良的影響，有因生殖器官傷害造成發情不規則 (Petyim *et al.*, 2000) 或延長動情週期的間隔 (Stubbings and Walton, 1995)。牛隻經重複抽取濾泡，相較於未經抽取濾泡之牛隻，配種後懷孕率較低 (Klossok *et al.*, 1997)。然而，亦有研究指出活體取卵技術，牛隻重複抽取濾泡、回收卵母細胞，引起卵巢沾粘或結痂，但不致於造成生殖能力的下降 (Lambert *et al.*, 1983)。

外源性 FSH 處理後，直到活體取卵抽取濾泡之間隔時間，建議間隔 48 小時，對於卵母細胞發育是最理想的；配合先前抽除優勢濾泡，使得這組卵母細胞發育至囊胚階段的比例最高 (Chaubal *et al.*, 2006)。卵巢濾泡發育，主要是受到 FSH 釋放的影响；而發育之抑制，則是受到成長中濾泡產生之動情素 (estradiol-17,  $E_2$ ) 及抑制素負迴饋的影响。抽取優勢濾泡可能的影响有：去除負迴饋作用，有利於 FSH 釋放，伴隨而來的是另一個新發育



濾泡波的形成 (Adams *et al.*, 1992)。這些卵母細胞很可能是由中小型濾泡群發育而來的，卵母細胞於濾泡內之微環境中，發育較長一段時間，將貯存較多的母體 mRNA 和蛋白質，增加其發育至囊胚階段的能力 (Vassena *et al.*, 2003)。

### III. 卵母細胞培養發育情形

活體取得之試驗組 87 個及對照組 26 個之卵母細胞，培養後發育之情形，試驗組之卵裂率為 41/87 (47.13%) 及對照組之卵裂率為 12/26 (46.15%)，發育至囊胚，試驗組為 5/41 (12.20%) 及對照組 0/12 (0%)。藉由活體取卵採集之卵母細胞於體外生產情形之試驗結果顯示，採集之卵母細胞經由體外成熟、受精及培養受精卵之發育率，並未達預期之效果，以活體取得之卵母細胞以一般體外生產進行，卵裂率及發育出囊胚比例明顯不佳。在間隔 7 天之每週連續進行活體取卵的方法中，間隔 7 天的時間，足以使優勢濾泡發育，而使次級濾泡對於卵母細胞的發育有不利的影響。報告指出這些卵母細胞品質較差，且發現到有些卵母細胞擴張或閉鎖的現象 (Galli *et al.*, 2001; Garcia and Salaheddine, 1998)。這可能是每週一次活體取卵 (OPU 1/w) 所回收之卵母細胞，經培養後，胚發育率較低的原因。

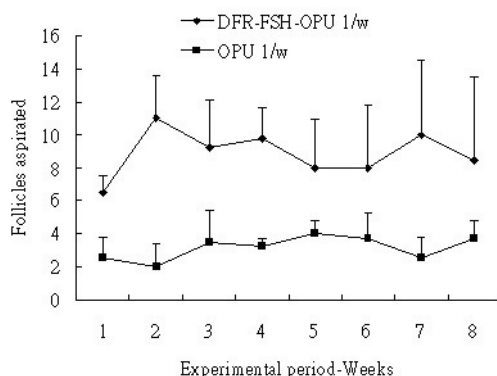


圖 1. 乾乳牛不同處理組連續八週活體取卵每牛每週平均抽取濾泡數。

Fig. 1. Average follicles aspirated per cow per week under different treatment protocols via ultrasound-guided ovum pick-up for 8 consecutive weeks in dry cow.

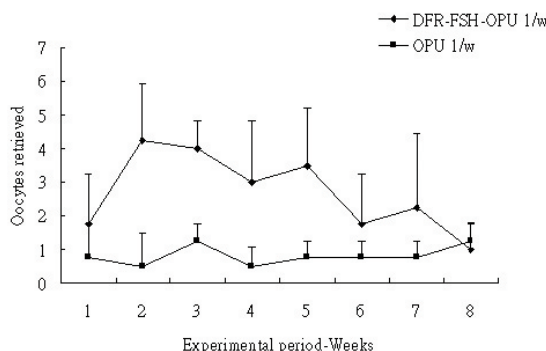


圖 2. 乾乳牛不同處理組連續八週活體取卵每牛每週平均回收卵母細胞數。

Fig. 2. Average oocytes retrieved per cow per week under different treatment protocols via ultrasound-guided ovum pick-up for 8 consecutive weeks in dry cow.

## 結 論

牛隻經外源性激濾泡素誘發濾泡發育，每週進行活體取卵一次，無論是抽取濾泡數、回收卵母細胞數，均較未經外源性激濾泡素處理的牛隻為多。卵母細胞培養發育情形不如預期，縮短 OPU 的間隔為後續試驗之參考。

## 參考文獻

- 李善男、劉振發、許義明。1997。經體外成熟和體外受精之牛卵母細胞與卵丘細胞共培養之發育率。中畜會誌 26(4)：429-438。
- Adams, G. P., R. L. Matteri, J. P. Kastelic, J. C. H. Ko and O. J. Ginther. 1992. Association between surges of follicle

- stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 94: 177-188.
- Aller, J. F., N. C. Mucci, G. G. Kaiser, G. Rios, S. S. Callejas and R. H. Alberio. 2010. Transvaginal follicular aspiration and embryo development in superstimulated early postpartum beef cows and subsequent fertility after artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 119: 1-8.
- Bearden, H. J. and J. W. Fuquay. 2000. *Applied Animal Reproduction*. 5<sup>th</sup> ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA. pp. 64-253.
- Boni, R., M. W. M. Roelofsen, M. C. Pieterse, J. Kogut and T. A. M. Kruip. 1997. Follicular dynamics, repetability and predictability of follicular recruitment in cows undergoing repeated follicular puncture. *Theriogenology* 48: 277-289.
- Chaubal, S. A., J. A. Molina, C. L. Ohlrichs, L. B. Ferre, D. C. Faber, P. E. J. Bols, J. W. Riesen, X. Tian and X. Yang. 2006. Comparison of different transvaginal ovum pick-up protocols to optimise oocyte retrieval and embryo production over a 10-week period in cows. *Theriogenology* 65: 1631-1648.
- Galli, C., G. Crotti, C. Notari, P. Turini, R. Duchi and G. Lazzari. 2001. Embryo production by ovum pick up from live donors. *Theriogenology* 55: 1341-1357.
- Garcia, A. and M. Salaheddine. 1998. Effects of repeated ultrasound-guided transvaginal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and subsequent follicular development. *Theriogenology* 50: 575-585.
- Gibbons, J. R., W. E. Beal, R. L. Krisher, E. G. Faber, R. E. Pearson and F. C. Gwazdauskas. 1994. Effects of once- versus twice-weekly transvaginal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and embryo development. *Theriogenology* 42: 405-419.
- Goodhand, K. L., R. G. Watt, M. E. Staines, J. S. M. Hutchinson and P. J. Broadbent. 1999. *In vivo* oocyte recovery and *in vitro* embryo production from bovine donors aspirated at different frequencies or following FSH treatment. *Theriogenology* 51: 951-961.
- Klossok, G., K. G. Haderer, E. Lemme, D. Rath, L. Schindler and H. Niemman. 1997. Estrus cyclicity and pregnancy establishment during ultrasound-guided follicular aspiration in dairy cows. *Theriogenology* 47: 160. (Abstr.)
- Lambert, R. D., C. Bernard, J. E. Rioux, R. Béland, D. D'Amours and A. Montreuil. 1983. Endoscopy in cattle by the paralumbar route: Technique for ovarian examination and follicular aspiration. *Theriogenology* 20: 149-161.
- Looney, C. R., B. R. Lindsey, C. L. Gonseth and D. L. Johnson. 1994. Commercial aspects of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization (IVF) for embryo production in problem cows. *Theriogenology* 41: 67-72.
- Majerus, V., R. De Roover, D. Etienne, S. Kaidi, A. Massip, F. Dessy and I. Donnay. 1999. Embryo production by ovum pick up in unstimulated calves before and after puberty. *Theriogenology* 52: 1167-1179.
- National Research Council. 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7<sup>th</sup> Rev. ed., Natl. Acad. Press, Washington. DC., USA.
- Petyim, S., R. Bage, M. Forsberg, H. Rodriguez-Martinez and B. Larsson. 2000. The effect of repeated follicular puncture on ovarian function in dairy heifers. *J. Vet. Med. A* 47: 627-640.
- Petyim, S., R. Båge, M. Forsberg, H. Rodriguez-Martinez and B. Larsson. 2001. Effects of repeated follicular puncture on ovarian morphology and endocrine parameters in dairy heifers. *J. Vet. Med. A* 48: 449-463.
- Petyim, S., R. Bage, T. Hallap, A. S. Bergqvist, H. Rodriguez-Martinez and B. Larsson. 2003. Two different schemes of twice weekly ovum pick-up in dairy heifers: effect on oocyte recovery and ovarian function. *Theriogenology* 60: 175-188.
- Pieterse, M. C., P. L. A. M. Vos, Th. A. M. Kruip, A. H. Willemse and M. A. M. Taverne. 1991. Characteristics of bovine estrous cycles during repeated transvaginal, ultrasound-guided puncturing of follicles for ovum pick-up. *Theriogenology* 35: 401-413.
- SAS. 2007. *Enterprise Guide 4.1*. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
- Sirard, M. A. 2012. Factors affecting oocyte and embryo transcriptomes. *Reprod. Domest. Anim.* 47: 148-155.
- Stubbings, R. B. and J. S. Walton. 1995. Effect of ultrasonically-guided follicle aspiration on estrous cycle and follicular dynamics in Holstein cows. *Theriogenology* 43: 705-712.
- Vassena, R., R. J. Mapletoft, S. Allodi, J. Singh and G. P. Adams. 2003. Morphology and developmental competence of bovine oocytes relative to follicular status. *Theriogenology* 60: 923-932.
- Vieira, L. M., C. A. Rodrigues, A. Castro Netto, B. M. Guerreiro, C. R. A. Silveira, R. J. C. Moreira, M. F. Sá Filho, G. A. Bó, R. J. Mapletoft and P. S. Baruselli. 2014. Superstimulation prior to the ovum pick-up to improve *in vitro* embryo production in lactating and non-lactating Holstein cows. *Theriogenology* 82: 318-324.

# Effects of exogenous gonadotropin on ovum picked-up of Holstein cows <sup>(1)</sup>

Der-Wei Yang <sup>(2) (4)</sup> Yu-Hsin Chen <sup>(3)</sup> Feng-Hsiang Chu <sup>(3)</sup>  
Chao-Hsien Hsieh <sup>(2)</sup> and Tzong-Faa Shiao <sup>(2)</sup>

Received: Sep. 22, 2015; Accepted: Jun. 21, 2016

## Abstract

Ovum pick-up (OPU) made available oocytes from living cows, presenting a novel opportunity to use germplasm of known origin. Subsequently, it became increasingly apparent that the combination of OPU and *in vitro* production (IVP) techniques could be a potential alternative to traditional embryo production. Two groups of dry cows (4 heads  $\times$  8 weeks in each group) were conducted to evaluate the numbers of follicle and oocyte collected and the development of blastocyst. In non-stimulated group, 101 follicles were aspirated and 26 oocytes were retrieved, in other words,  $3.1 \pm 1.3$  follicles and  $0.8 \pm 0.6$  oocytes were obtained per head per operation. After culturing, the cleavage rate was 46.15% (12/26) but blastocyst development rate was 0% (0/12). In hormone-stimulated group which received FSH (8 A.U., I.M. plus 12 A.U., S.C.) 36 hrs after previous dominant follicle aspiration then carried out OPU operation 48 hrs after FSH injection. There were 284 follicles aspirated and 87 oocytes retrieved, i.e.  $8.6 \pm 3.6$  follicles and  $2.7 \pm 1.8$  oocytes per head per operation. Cleavage rate was 47.13% (41/87) and blastocyst development rate was 12.20% (5/41). The results showed that there were significant increase on follicle aspiration, oocyte retrieval, cleavage rate and blastocyst development rate in FSH-stimulated group on the basis of one week interval ( $P < 0.05$ ).

Key words: Dry cow, Follicle-stimulating hormone, Ovum pick-up.

---

(1) Contribution No. 2465 from Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan.

(2) Division of Livestock Industry, COA-LRI, Hsinhua, Tainan, Taiwan, R.O.C.

(3) Division of Physiology, COA-LRI, Hsinhua, Tainan, Taiwan, R.O.C.

(4) Corresponding author, E-mail: dwyang@mail.tlri.gov.tw.