



موسسه تحقیقات علوم دینی



سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی

استفاده از فناوری‌های تولید مثلی در پرورش گوسفند

جلد دوم
تلقیح مصنوعی

نویسندگان

رضا مسعودی - فاطمه زارعی - نادر اسدزاده

۱۴۰۰

سرشناسه	: مسعودی، رضا، ۱۳۶۴.
عنوان و نام پدیدآور	: استفاده از فناوری‌های تولیدمثلی در پرورش گوسفند/ نویسندگان رضا مسعودی، فاطمه زارعی، نادر اسدزاده، همکار مجید توکلی؛ تهیه‌شده در موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، دفتر شبکه دانش و رسانه‌های ترویجی.
مشخصات نشر	: تهران: سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، معاونت آموزش و ترویج کشاورزی، نشر آموزش کشاورزی، ۱۴۰۰.
مشخصات ظاهری	: ج۴: مصور (بخشی‌رنگی)، جدول، نمودار.
شابک	: ج۱: ۹۷۸-۶۲۲-۷۹۴۹-۵۸-۲؛ ج۲: ۹۷۸-۶۲۲-۷۹۴۹-۵۵-۱؛ ج۳: ۹۷۸-۶۲۲-۷۹۴۹-۵۷-۵؛ ج۴: ۹۷۸-۶۲۲-۷۹۴۹-۵۶-۸.
وضعیت فهرست نویسی	: فیبا
یادداشت	: کتابنامه
مندرجات	: ج۱: همزمان‌سازی فحلی و تخم‌کریزی. ج۲: تلقیح مصنوعی. ج۳: سونوگرافی. ج۴: انجماد و ارزیابی کیفیت اسپرم.
موضوع	: گوسفندها — تولید مثل
موضوع	: Sheep — Reproduction
شناسه افزوده	: زارعی، فاطمه، ۱۳۶۳.
شناسه افزوده	: اسدزاده، نادر، ۱۳۴۸.
شناسه افزوده	: توکلی، مجید، ۱۳۵۷. همکار
شناسه افزوده	: موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، دفتر شبکه دانش و رسانه‌های ترویجی
شناسه افزوده	: سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، معاونت آموزش و ترویج کشاورزی.
رده‌بندی کنگره	: SF ۷۶۸/۲
رده‌بندی دیویی	: ۶۳۶/۳۰۸۹۲۶
شماره کتابشناسی ملی	: ۸۷۶۵۴۶۹
اطلاعات رکورد کتابشناسی	: فیبا

شابک: ۹۷۸-۶۲۲-۷۹۴۹-۵۵-۱

ISBN:978-622-7949-55-1

عنوان: استفاده از فناوری‌های تولیدمثلی در پرورش گوسفند

جلد دوم تلقیح مصنوعی

نویسندگان: رضا مسعودی، فاطمه زارعی و نادر اسدزاده

صفحه‌آرایی: استودیو آرنگ

مدیر داخلی: ویدا همتی

تهیه شده در: مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور- دفتر شبکه دانش و رسانه‌های ترویجی

ناشر: نشر آموزش کشاورزی

شمارگان: ۱۰۰۰

نوبت چاپ: اول/ ۱۴۰۰

قیمت: ۱۰۰۰۰ تومان

مسئولیت صحت مطالب با نویسندگان است.

شماره ثبت در مرکز فن آوری اطلاعات و اطلاع رسانی کشاورزی ۵۹۳۴۶ به تاریخ ۱۴۰۰/۰۱/۱۵ است.

نشانی: تهران، بزرگراه شهید چمران، خیابان یمن، پلاک ۱ و ۲، معاونت ترویج،

صندوق پستی: ۱۱۱۳ - ۱۹۳۹۵، تلفکس: ۲۲۴۱۳۹۲۳ - ۰۲۱



تقدیم بہ روح آسمانی استاد فرہیختہ

دکتر حمید کرام

کہ الفبای علم فیزیولوژی تولید مثل را از او آموختیم

فهرست مطالب

۷.....	مقدمه
۹.....	فصل اول: تاریخچه تلقیح مصنوعی، مزایا و محدودیت‌ها
۱۹.....	فصل دوم: آناتومی و فیزیولوژی دستگاه تولید مثل نر
۵۳.....	فصل سوم: جمع‌آوری، ارزیابی و فراوری منی
۹۵.....	فصل چهارم: روش‌های تلقیح مصنوعی
۱۳۵.....	منابع



پرورش گوسفند در ایران دارای قدمت تاریخی بسیار طولانی می‌باشد. اما محدودیت مراتع و شرایط آب و هوایی در ایران از یک سو و بازده پایین تولید مثلی و عدم استفاده بهینه از فناوری‌های تولید مثلی و تولیدی در صنعت پرورش گوسفند از سوی دیگر، موجب کاهش صرفه اقتصادی پرورش گوسفند شده است. بهبود بازده تولید مثل توسط به‌کارگیری فناوری‌های تولید مثلی یکی از موثرترین راهکارهای افزایش بهره‌وری در پرورش دام است. از جمله مهم‌ترین فناوری‌ها جهت افزایش کارایی تولید مثل تلقیح مصنوعی است. تلقیح مصنوعی شامل جمع‌آوری و ارزیابی منی، ذخیره کوتاه و یا طولانی مدت آن و در نهایت تلقیح منی است. از مزایای تلقیح مصنوعی می‌توان به بهداشت بهتر گله، بهبود ایمنی در گله، کاهش هزینه‌های نگهداری حیوانات نر، آسان‌تر شدن ورود ژنوم جدید، افزایش امکان دورگ‌گیری برای تغییر نوع تولید حیوانات، افزایش سرعت پیشرفت ژنتیکی در گله و افزایش تولید حیواناتی با توان تولیدی بالاتر اشاره کرد. تلقیح مصنوعی تنها راه حصول بیشینه‌ی بازده ژنتیکی و کاهش بیماری‌های تولیدمثلی است و در کوتاه مدت و بلند مدت بر افزایش تولید پشم، شیر، گوشت و کیفیت لاشه تاثیرگذار است. با اینکه این

تکنیک در کوتاه مدت باعث برگشت سریع سرمایه می شود، اما برگشت حقیقی سرمایه فقط در دراز مدت میسر خواهد بود. در عین حال تلقیح مصنوعی در گوسفند با مشکلاتی نیز همراه است که مانع از بازدهی مناسب استفاده از این فناوری شده است. بنابراین دامدارانی که به استفاده از تلقیح مصنوعی علاقه مند هستند باید از اصول کلی آناتومی و فیزیولوژی تولید مثل حیوان نر و ماده، اهداف، قابلیت ها، مخارج و روش های مختلف تلقیح مصنوعی به خوبی آگاه باشند. بر این اساس در این دستنامه سعی شده است به صورت مختصر و مفید اصول کلی تلقیح مصنوعی شرح داده شود تا خوانندگان با آگاهی از این اصول به نتایج مطلوب در پیشبرد و توسعه اهداف تولیدی خود دست یابند.

The background features an abstract geometric design. At the top, there are large red triangular shapes. A grey diamond shape is positioned in the upper center, outlined in white. A red line extends from the top left towards the center. In the bottom left corner, there is a large red triangular shape. The text is located in the middle right area of the page.

فصل اول

تاریخچه تلقیح مصنوعی، مزایا و
محدودیت‌ها



تاریخچه تلقیح مصنوعی

تلقیح مصنوعی یک روش تولید مثلی است که در بسیاری از حیوانات، از زنبور عسل تا فیل قابل اجراست. در این روش اسپرم گرفته شده از حیوان نر با ابزاری ویژه به حیوان ماده منتقل می‌شود. تلقیح مصنوعی تقریباً تنها تکنیک مهم اختراع شده جهت بهبود ژنتیکی حیوانات است؛ زیرا با انتخاب چند حیوان نر، اسپرم کافی برای تلقیح هزاران حیوان ماده در هر سال فراهم می‌شود. اولین و دقیق‌ترین تلقیح مصنوعی توسط یک فیزیولوژیست ایتالیایی به نام اسپالانزایی در سال ۱۷۸۰ انجام گرفت که به تولد توله سگ‌های نژاد بیگل منجر شد. گزارش‌های دیگری در قرن ۱۹ در این خصوص وجود دارد اما در آن‌ها تلقیح مصنوعی مطرح نبوده است؛ تا اینکه در سال ۱۹۰۰ تحقیقات وسیعی روی حیوانات مزرعه در روسیه و بعد از مدت کوتاهی در ژاپن شروع شد. ایوانوف روسی بررسی امکان انجام تلقیح مصنوعی مادیان را در سال ۱۹۱۲ میلادی آغاز کرد. او اولین کسی بود که تلقیح مصنوعی در گاو و گوسفند را با موفقیت اجرا کرد. پروفسور امالنتا فیزیولوژیست دانشگاه رم در سال ۱۹۱۴ اولین واژن مصنوعی را برای سگ طراحی کرد. سپس دانشمندان روسی با الگوبرداری از این اختراع اقدام به تولید واژن مصنوعی برای گاو، گوسفند و اسب

نمودند که منجر به پیشرفت تکنولوژی تلقیح مصنوعی در حیوانات مزرعه ای شد، اما همچنان یک محدودیت بزرگ برای این روش وجود داشت و آن لزوم استفاده از اسپرم تازه در همان روز اسپرم گیری بود. بنابراین در انتهای دهه ۱۹۳۰ پژوهشگران محلول های رقیق کننده منی را ابداع نمودند. این محلول ها با دارا بودن مواد غذایی مورد نیاز اسپرم و ویژگی بافری خود موجب زنده و بارور ماندن اسپرم به مدت ۳-۴ روز می شدند. تا اواخر دهه ۱۹۴۰ منی به صورت سرد شده تهیه می شد، اما در این زمان دو دانشمند به نام های پارک و پولگ روشی را برای یخ زدن اسپرم و نگهداری آن به شکل منجمد ایجاد کردند و از سال ۱۹۵۷ استفاده از نیتروژن مایع برای منجمد کردن اسپرم رایج و منجر به بهبود کیفیت و نتایج حاصل از تلقیح مصنوعی شد. در جدول ۱ رخدادهای مرتبط با تلقیح مصنوعی به طور مختصر شرح داده شده است.

جدول ۱- تاریخ نگاری مهم‌ترین وقایع مرتبط با تلفیج مصنوعی

محققان	رخداد
آنتون وان لیوونهوک (۱۶۷۷)	کشف اسپرم به کمک ذره بین
اسپالاتزایی (۱۷۸۰)	انجام تلفیج مصنوعی بر روی یک سگ ماده و تولد توله‌ها در ۶۲ روز بعد
اسپالاتزایی (۱۷۸۰)	انجماد اسپرم بریان در برف و مشاهده توان حرکتی آن‌ها بعد از گرم کردن
ریپکوت (۱۸۹۰)	اولین تلفیج مصنوعی اسب در فرانسه
ایوانوف (۱۹۱۲)	دستیابی به میزان باروری مشابه جنفگیری طبیعی در اسب با تلفیج مصنوعی اجرای تلفیج مصنوعی در گاو و گوسفند به طور وسیع
امالنتا (۱۹۱۴)	استفاده از واژن مصنوعی برای جمع‌آوری منی در سگ
میلوانوف (۱۹۳۰-۱۹۲۰)	استفاده از واژن مصنوعی در گاو، گوسفند و اسب و به‌کارگیری اولین رفیق‌کننده‌های منی
آرتور والتون (۱۹۳۶)	انتقال منی قوچ از انگلستان به هلند، تلفیج مصنوعی این منی و تولد بچه
گلن سالیسبری (۱۹۴۱)	استفاده از رفیق‌کننده منی بر اساس سیرتات و زرده تخم مرغ در گاو
آلمکست (۱۹۴۶)	استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها برای مقابله با عوامل میکروبی داخل منی
کریس پالچ (۱۹۴۹)	گسترش روش‌های انجماد در گونه‌های مختلف
کریس پالچ و تیم رابسون (۱۹۵۲)	تولد اولین گوساله (Frosty 1) با استفاده از اسپرم یخ‌گشایی‌شده در انگلستان
بسیاری از محققان (۱۹۶۰)	استفاده گسترده از اسپرم منجمدشده با نیتروژن مایع در سراسر جهان

مزایای تلقیح مصنوعی

تلقیح مصنوعی مانند هر فناوری دیگری مزایا و معایبی دارد. هر چند که مشکلات مربوط به فحلیابی تا حدودی از بازده کامل آن کاسته است، اما برخی از مهم ترین مزایای این روش به شرح زیر است:

پیشرفت ژنتیکی: تلقیح مصنوعی امکان گسترش ژن های برتر را بین گله های گوناگون تسهیل و تسریع می نماید. معمولا دامداران برای بهبود صفات گله خود به دنبال انتخاب حیوانات برتر هستند و از آنجا که حیوان نر در مقایسه با حیوان ماده نتایج بیشتری تولید می کند، بر انتخاب و استفاده از نرهای برتر تاکید بیشتری می شود. بر این اساس، تلقیح مصنوعی می تواند تعداد نتایج سالانه به ازای هر پدر را به طور موثری افزایش دهد. هر حیوان نر در سال فقط با ۵۰-۳۰ حیوان ماده آمیزش می کند، در حالی که اگر از اسپرم رقیق شده مایع استفاده شود در یک دوره ۲-۳ هفته ای می توان هزار راس حیوان ماده را بارور نمود.

انتقال مواد ژنی: متخصصان اصلاح نژاد همواره درصدد ژن های جدیدی به گله وارد نمایند و چون انتقال اسپرم اغلب از انتقال خود حیوان ارزان تر است و از گسترش بیماری نیز جلوگیری می کند ترجیح می دهند این منابع ژنی را توسط تلقیح مصنوعی به گله ها انتقال دهند. با استفاده از این

تکنیک می‌توان بهترین نر را در یک مرکز، نگهداری و اسپرم آن را در گله‌های تحت پوشش توزیع کرد.

افزایش کارایی تولید مثلی: با تلقیح مصنوعی می‌توان از آمیزش ماده‌ها مطمئن شد؛ زیرا در آمیزش طبیعی ممکن است قوچ، برخی میش‌ها را در گله ترجیح دهد و به این شکل باعث کاهش بازده لقاح و باروری می‌شود.

پیشگیری و کنترل بیماری‌ها: تلقیح مصنوعی از تماس مستقیم حیوان نر و ماده جلوگیری می‌کند و بدین ترتیب شیوع بیماری‌های مقاربتی کنترل می‌شود. بنابراین این تکنیک یکی از عوامل کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها محسوب می‌شود. غالباً بین دامداری‌های کوچک این سنت وجود دارد که از دام‌های نر یکدیگر برای باروری دام‌های ماده استفاده می‌نمایند و این امر امکان اشاعه آلودگی از واحدی به واحد دیگر را افزایش می‌دهد. در مراکز تولید و توزیع اسپرم‌های منجمد برای تلقیح مصنوعی، ضمن انجام اقدامات شدید بهداشتی برای بررسی سلامت دام‌های نر و با رعایت کامل مسائل بهداشتی در زمان فراوری اسپرم، احتمال انتقال این امراض مسری را به حداقل ممکن کاهش می‌دهند.

استفاده از نرهایی که قادر به آمیزش طبیعی نیستند: گاه عواملی مانند مشکل در پرش یا سن زیاد در نرهای با ارزش مانع از آمیزش آن‌ها می‌شود؛ اما تلقیح مصنوعی این

امکان را فراهم می آورد که اسپرم چنین نرهایی را استحصال کرده و از خصوصیات ژنتیکی آن ها استفاده نمود.

صرفه اقتصادی با کاهش یا حذف نرها در مزرعه:

نگهداری دام های نر صرفا برای جفتگیری در گله از جهات مختلف مقرون به صرفه نیست. در درجه اول باید خاطرنشان کرد که برای یک دامدار هیچ تضمینی وجود ندارد که دام نر خریداری شده یا تولید شده در گله دارای باروری مناسب و محتوای ژنتیکی برتر باشد و اثبات این موضوع نیز نیازمند آزمون نتاج و گذشت زمان است. از سویی نگهداری و تغذیه این دام ها با توجه به مقطعی بودن استفاده از آن ها برای جفتگیری و تفاوت در نیازهای نگهداری در گله، دشوار و نیازمند صرف هزینه و نیروی کار مضاعف است. تولیدکنندگان کوچک در صورتی که بتوانند اسپرم مورد نیاز خود را تامین کنند نیازی به نگهداری حیوان نر در گله نخواهند داشت و هزینه و مشکلات نگهداری نرها از نظر جایگاه و تغذیه نیز کمتر خواهد شد.

امنیت کارکنان و گله: یکی از دلایل رواج تلقیح

مصنوعی عدم لزوم مواجه با خطرات ناشی از حضور یک دام نر مهاجم در گله برای دامدار و دیگر اعضای گله است. البته خصوصیت تهاجمی دام ها از نژادی به نژاد دیگر متفاوت است، با این حال در هر شرایطی کار کردن با یک دام نر

می‌تواند بسیار خطرناک باشد و تقبل این خطر با توجه به امکان حذف آن با استفاده از سازوکار تلقیح مصنوعی غالباً غیرقابل توجیه است.

مدیریت باروری: با استفاده از روش تلقیح مصنوعی، زمان هر تلقیح را می‌توان کنترل و ثبت نمود. با دانستن زمان هر تلقیح می‌توان در وقت مناسب اقدام به تشخیص آبستنی کرد و از سویی نیازهای غذایی و نگهداری هر دام را بر حسب مرحله فیزیولوژیکی که در آن قرار دارد پیش‌بینی و تامین نمود.

مشکلات تلقیح مصنوعی گوسفند

توسعه تلقیح مصنوعی روشی مناسب برای افزایش تولیدات دامی از طریق بهبود ژنتیکی می‌باشد. در حال حاضر از تلقیح مصنوعی به عنوان یک روش علمی برای پیشرفت اهداف تولید مثلی و اصلاح نژادی در صنعت گاوداری استفاده می‌شود؛ ولی در زمینه پرورش گوسفند چندان رایج نشده است. به نظر می‌رسد عدم استفاده وسیع از تلقیح مصنوعی در پرورش گوسفند ناشی از عوامل زیر باشد:

- ۱- نگهداری قوچ مولد آسان‌تر و کم هزینه‌تر از گاو است.
- ۲- برای کاهش هزینه‌های تلقیح مصنوعی در گوسفند لازم است اقدام به همزمان‌سازی فحلی و استفاده از حداقل ۴-۵

درصد فحلیاب نمود؛ ولی در گاو تشخیص فحلی آسان بوده و جز در موارد دلخواه نیازی به همزمان سازی فحلی در ماده گاو نیست.

۳- تلقیح مصنوعی در گوسفند به نیرو و هزینه بیشتری نیاز دارد و در اغلب موارد هزینه های آن از نظر اقتصادی قابل توجیه نیست.

۴- ذخیره اسپرم در گوسفند به صورت منجمد مشکل بوده و باروری ناشی از اسپرم منجمد بسیار کم و حدود ۲۰-۳۰ درصد است.

۵- تنش ناشی از مقید کردن گوسفند در زمان تلقیح سبب کاهش باروری می شود.

۶- تلقیح مصنوعی در گوسفند مانند گاو به روش رکتوواژینال انجام نمی شود؛ بنابراین تخلیه منی در ابتدای سرویکس یک عامل کاهش باروری است. در این شرایط بهترین میزان باروری ناشی از تلقیح مصنوعی با استفاده از روش تلقیح داخل رحمی (لاپاراسکوپی) حاصل می شود (حدود ۷۰ درصد)؛ اما این روش نیازمند صرف هزینه، استفاده از نیروی متخصص و انجام عمل جراحی است.

فصل دوم

آناتومی و فیزیولوژی دستگاه تولید
مثل نر



آناتومی دستگاه تولید مثلی قوچ

بخش‌های اصلی دستگاه تولید مثل نر از یک جفت بیضه^۱، لوله‌های تناسلی (شامل اپیدیدیم^۲، وازدفران^۳ و آلت تناسلی^۴) و غدد ضمیمه جنسی^۵ (شامل غدد وزیکول‌سمینال^۶، پروستات^۷ و کوپر^۸) تشکیل شده است. وظیفه اصلی دستگاه تناسلی نر تولید اسپرم است که بیضه‌ها آن را به عهده دارند. تکامل، ذخیره‌سازی و انتقال اسپرم را لوله‌های تناسلی و در نهایت، انتقال و قرار دادن منی در دستگاه تناسلی ماده را نیز آلت تناسلی به عهده دارد. تولید هورمون‌های جنسی نیز از وظایف دیگر دستگاه تناسلی است. در شکل ۱ بخش‌های مختلف دستگاه تولید مثل قوچ مشاهده می‌شود.

بیضه‌ها

بیضه‌ها اعضای جنسی اصلی در دام نر هستند که به صورت جفت در خارج از محوطه شکمی و در ناحیه اینگوینال (ناحیه کشاله ران و بین پاهای عقب) قرار گرفته‌اند (شکل ۲). عمل اصلی بیضه‌ها تولید سلول جنسی نر (اسپرم) و همچنین هورمون جنسی نر (تستوسترون) می‌باشد و از آنجا که تولید اسپرم به تولید تستوسترون وابسته است، در واقع این دو عمل مکمل یکدیگر هستند. بافت اصلی بیضه شامل دو بخش کپسول بیضه و بافت پارانشیم بیضه است.

1- Testicle

2- Epididymis

3- Vas deferens

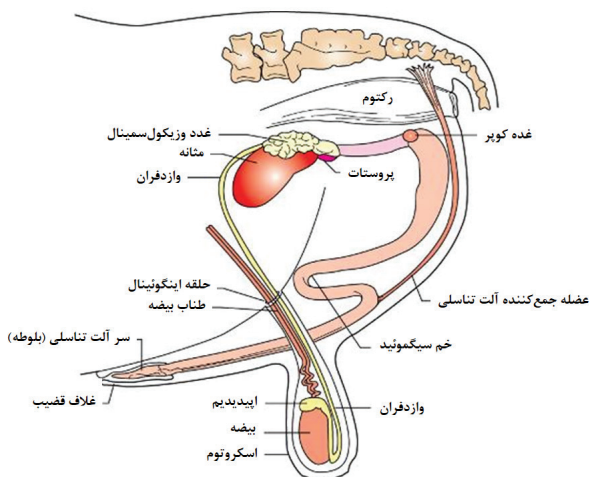
4- Penis

5- Accessory sex glands

6- Seminal vesicles

7- Prostate

8- Cowper's gland



شکل ۱- بخش های مختلف دستگاه تولید مثل قوچ

کپسول بیضه

کپسول بیضه یک بافت فیبری است که از دولایه تونیکا آلبوژینه^۱ و لایه درونی تونیکا واژینالیس تشکیل شده است. تونیکا آلبوژینه لایه درونی کپسول بیضه است و از آن دیواره هایی به درون بیضه وارد می شود که پارانشیم بیضه را به بخش های کوچکی (لوب) تقسیم می کند. سطح درونی تونیکا آلبوژینه و دیواره های آن رگ های خونی فراوانی دارد و تونیکا واسکولوزا نامیده می شود. کپسول بیضه دارای تارهای ماهیچه ای صاف است که در پاسخ به هورمون ها و نوروترانسمیترهایی مانند استیل کولین و نوراپی نفرین منقبض

1- Tunica albugina

می‌شوند. انقباض و انبساط منظم کپسول بیضه به انتقال اسپرم به درون لوله‌های تناسلی کمک می‌کند.

بافت پارانشیم بیضه

در قسمت زیرین کپسول بیضه، بافت پارانشیم بیضه قرار دارد که متشکل از چندین لوب است. هر لوب دربرگیرنده لوله‌های مارپیچی به نام لوله‌های اسپرم‌ساز^۱ و بافت بینابینی^۲ است که بین لوله‌های اسپرم‌ساز قرار دارد. بافت بینابینی شامل بافت پیوندی، رگ‌های خونی، رگ‌های لنفاوی، اعصاب و سلول‌های ویژه‌ای به نام لایدیگ است که وظیفه تولید تستوسترون را به عهده دارند. لوله‌های اسپرم‌ساز، لوله‌هایی بسیار نازک و پیچیده هستند که بیش از ۹۰ درصد حجم بیضه را تشکیل می‌دهند. هر یک از لب‌های بیضه، یک یا چند لوله اسپرم‌ساز را در خود جای می‌دهند (شکل ۳). طول این لوله‌ها در قوچ ۴ هزار متر، در گاو نر ۵ هزار متر و در انسان ۲۵۰ متر است. درون لوله‌های اسپرم‌ساز انواع رده‌های سلولی اسپرم و سلول‌های سرتولی قرار دارد (شکل ۴).

مهم‌ترین سلول‌های بافت بیضه

سلول‌های سرتولی^۳: سلول‌های سرتولی تنها سلول‌های غیر جنسی درون لوله‌های اسپرم‌ساز هستند که به غشا پایه لوله‌ها چسبیده‌اند و سلول‌های جنسی را دربرگرفته‌اند. این

1- Seminiferous tubules

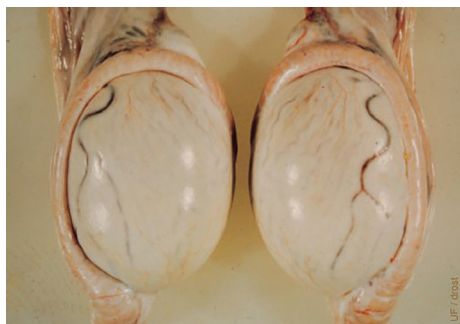
2- Interstitial tissue

3- Sertoli cell

سلول ها تنظیم کننده فرایند اسپرم سازی هستند و علاوه بر محافظت و تغذیه سلول های جنسی، ذرات سلولی ناشی از تقسیم سلولی را نیز فاگوسیتوز می کنند.

سلول های لایدیگ (سلول های بینابینی)^۱: این سلول ها در بافت بینابینی بیضه قرار دارند و هورمون تستوسترون را می سازند که به خون و سلول های سرتولی منتقل می شود. بعضی اعمال تستوسترون در بیضه موضعی است؛ اما بخش عمده هورمون تولیدی از طریق رگ های خونی وارد جریان خون می شود.

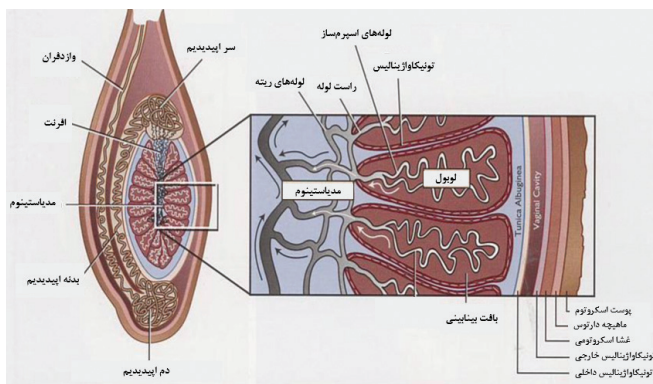
سلول های مایوئید^۲: سلول های مایوئید نوعی سلول انقباضی هستند که در اطراف لوله های اسپرم ساز قرار دارند. انقباض این سلول ها به همراه حرکت مایع ساخته شده در لوله های اسپرم ساز موجب جابجایی اسپرم ها و فرستادن آن ها به لوله های افرنت می شود (شکل ۴).



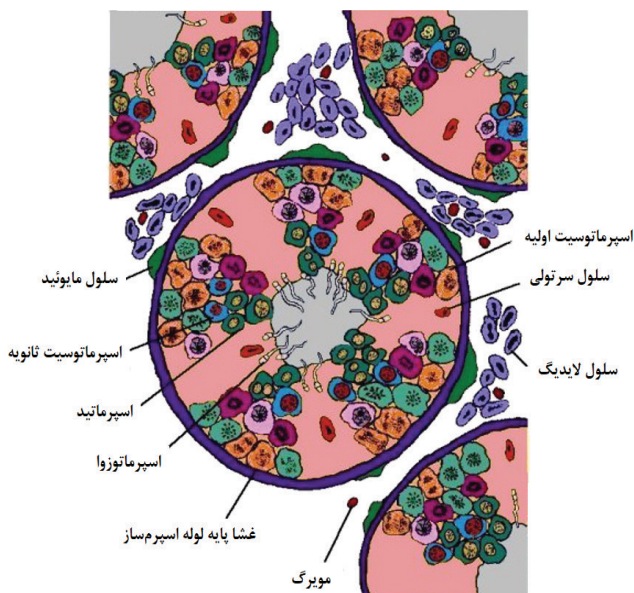
شکل ۲- بیضه های طبیعی و متقارن یک قوچ بالغ

1- Leydig cell (Interstitial cell)

2- Myoid cell



شکل ۳- بافت بیضه و غشاهای پوشاننده آن



شکل ۴- اجزا بافت پارانشیم بیضه. برش عرضی لوله‌های اسپرم‌ساز و بافت بینابینی اطراف لوله‌ها

کیسه بیضه (اسکروتوم)

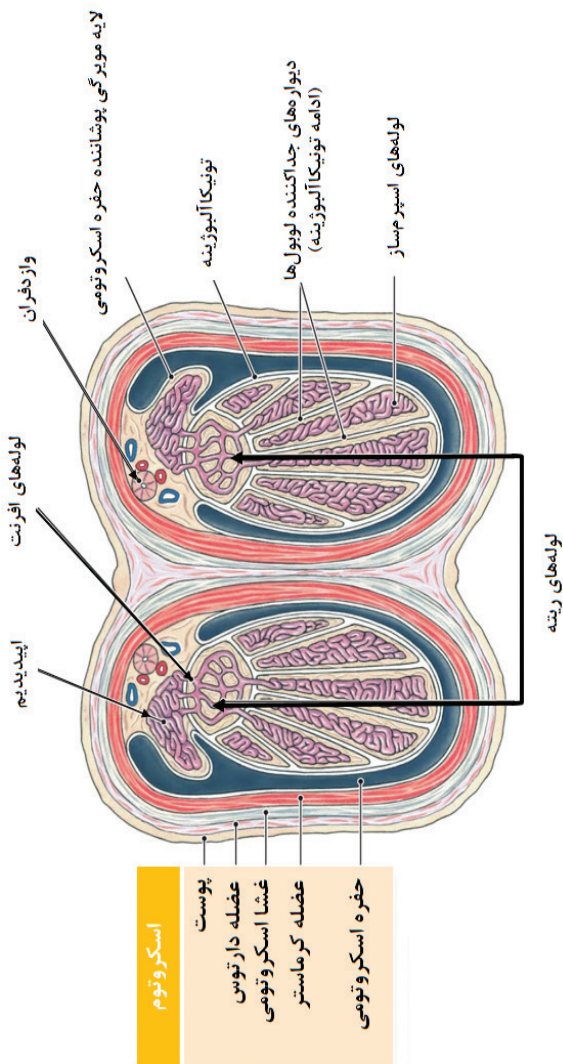
در بسیاری از گونه های پستانداران، بیضه ها در حفره ای بیرون از بدن قرار دارند که به این حفره، کیسه بیضه یا اسکروتوم^۱ می گویند. اسکروتوم کیسه ای پوستی است که بوسیله دیواره کوتاهی (دیواره اسکروتومی) به دو حفره تقسیم می شود و هر یک از بیضه ها در یکی از حفره ها قرار می گیرند. این کیسه بوسیله بافت خاص خود که متشکل از غدد عرق و چربی، اعصاب سمپاتیک و ماهیچه هاست، علاوه بر آنکه بیضه را از آسیب های فیزیکی حفاظت می نماید، در تنظیم دمای بهینه اسپرم سازی نیز موثر است. اسکروتوم دارای ۳ لایه اصلی پوست، ماهیچه دارتوس و تونیکا واژینالیس است. پوست: لایه بیرونی اسکروتوم و ادامه پوست بدن است؛ اما از پوست سایر نقاط بدن نازک تر بوده و با پشم یا مو پوشیده شده است. پوست دارای غدد عرق و چربی فراوانی می باشد. ماهیچه دارتوس^۲: دارتوس غشایی ماهیچه ای، نازک و غیرمقاوم است که کاملاً به پوست چسبیده است.

تونیکا واژینالیس^۳: تونیکا واژینالیس در زیر غشا دارتوس قرار دارد و دارای دو لایه درونی و بیرونی است که بیضه و اپیدیدیم را در بر می گیرد. حفره واژینال (حفره اسکروتومی) دو لایه تونیکا واژینالیس را از هم جدا کرده و موجب لغزندگی بیضه درون اسکروتوم می شود (شکل ۵ و ۶).

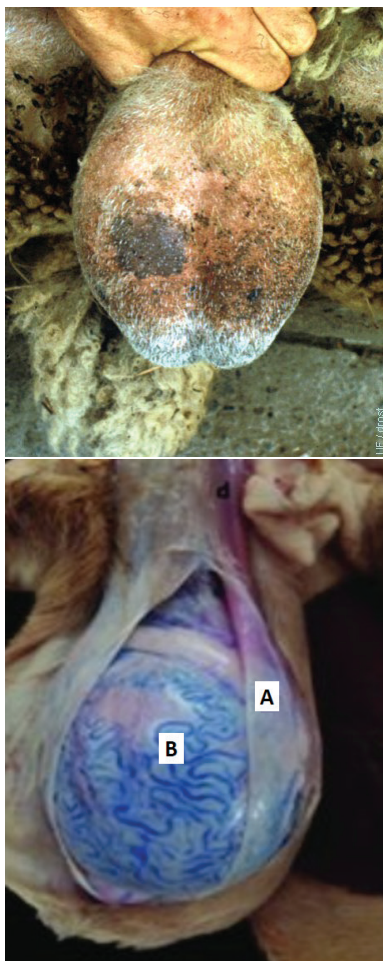
1- Scrotum

2- Tunica dartos

3- Tunica vaginalis



شکل ۵- برش طولی بیضه و اسکر و توم



شکل ۶- بالا: اسکروتوم طبیعی قوچ بالغ: اسکروتوم طبیعی کاملاً متقارن بوده و پوشیده از ترشحات لانولین است. پایین: A: لایه بیرونی تونیکا واژینالیس، B: لایه درونی تونیکا واژینالیس. فضای بین این دو لایه حفره واژینال (حفره اسکروتومی) است که موجب لغزندگی بیضه درون اسکروتوم می شود.

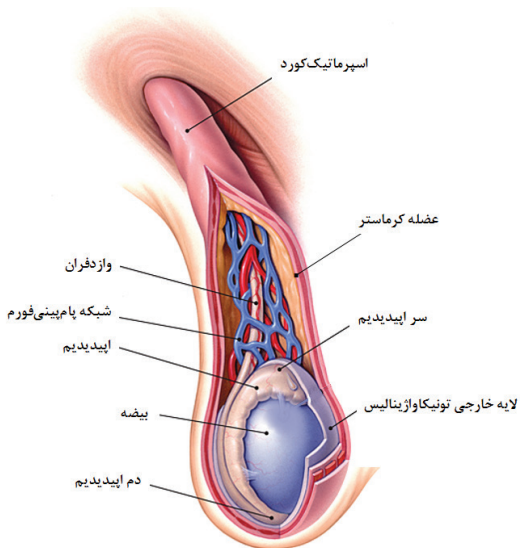
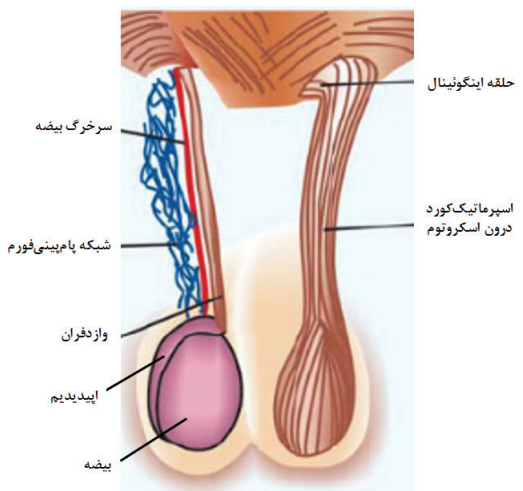
طناب بیضه‌ای (اسپرماتیک کورد)

اسپرماتیک کورد بیضه‌ها را درون اسکروتوم و در امتداد حلقه اینگوئینال^۱ (گذرگاهی بین حفره شکم و اسکروتوم) معلق نگه می‌دارد و از این حلقه تا سطح بیضه ادامه می‌یابد. این بخش از لوله تناسلی مسیر گذشتن رگ‌های خونی، رگ‌های لنفاوی و اعصاب است. همچنین دو لوله واژدفران، ماهیچه کرماستر^۲ و شبکه پامپینی فورم^۳ در آن جای دارند. اسپرماتیک کورد در گونه‌هایی مانند قوچ و گاو کاملاً توسعه یافته است؛ به گونه‌ای که اسکروتوم حالتی آونگی یا پاندولی دارد. در شبکه پامپینی فورم، سیاهرگ بیضه به شکل گسترده‌ای اطراف سرخرگ بیضه را در برگرفته و راهکاری برای مبادله گرما بین سرخرگ و سیاهرگ ایجاد شده است. ماهیچه کرماستر که درون اسپرماتیک کورد قرار دارد، ماهیچه‌ای راه راه و ادامه ماهیچه مورب درونی دیواره شکم است. این ماهیچه سبب آویزان نگه‌داشتن بیضه‌ها و تنظیم دمای آن‌ها می‌شود. انقباض و انبساط ماهیچه کرماستر بوسیله سیستم عصبی کنترل می‌شود (شکل ۷).

1- Inguinal

2- Cremaster muscle

3- Pampiniform plexus



شکل ۷- اسپرمتیک کورد و اجزا سازنده آن

لوله‌های تناسلی

لوله‌های تناسلی شامل لوله‌های آوران (افرنت)^۱، اپیدیدیم^۲، لوله وبران (وازدفران)^۳، میزراه^۴ و آلت تناسلی^۵ است. به طور خلاصه، اسپرم تولیدی در لوله‌های اسپرم‌ساز توسط لوله‌های مستقیم^۶ به شبکه‌ای از کانال‌ها در بخش میانی بیضه به نام شبکه بیضه‌ای (لوله‌های ریته^۷) منتقل می‌شود. سپس لوله‌های ریته اسپرم را به درون لوله‌های افرنت تخلیه می‌نمایند. لوله‌های افرنت به یکدیگر پیوسته و سر اپیدیدیم را تشکیل می‌دهند. اسپرم پس از عبور از اپیدیدیم وارد لوله وازدفران شده و از میزراه لگنی که درون آلت تناسلی قرار دارد به بیرون منتقل می‌شود (شکل ۸).

۱-لوله‌های آوران (افرنت): این لوله‌ها ۱۵-۱۲ مجرای کوچک هستند که اسپرم‌های نابالغ را از لوله‌های ریته در درون بیضه به اپیدیدیم منتقل می‌کنند.

۲-اپیدیدیم: لوله‌ای نسبتاً دراز و باریک است که به شکل پیچیده و خمیده‌ای در امتداد محور طولی بیضه و به آن چسبیده است. اپیدیدیم از نظر آناتومیک از سه بخش سر^۸، بدنه^۹ و دم^{۱۰} تشکیل شده است. سر اپیدیدیم به بالای بیضه و دم آن به پایین بیضه چسبیده و از دیواره اسکروتوم قابل

1- Effèrent duct

2- Epididymis

3- Vas deference

4- Urethra

5- Penis

6- Straight Tubules

7- Rete testis

8- Caput

9- Corpus

10- Cauda

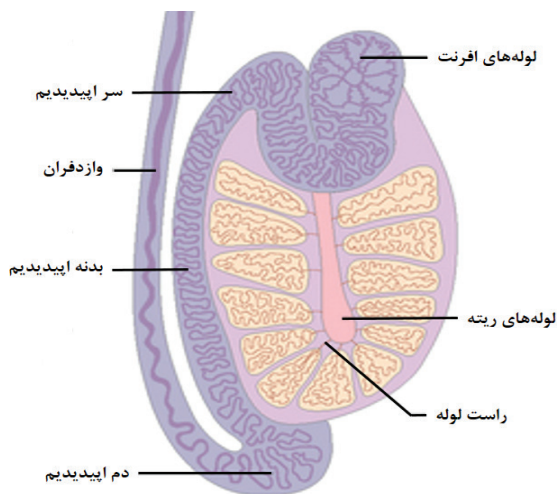
لمس است. طول اپیدیدیم تفاوت گونه ای دارد و در گوسفند به ۱۵۰ متر می رسد. اسپرم تولید شده در لوله های اسپرم ساز همراه با تراوشات این لوله ها پس از گذشتن از لوله های ریته و لوله های افرنت به اپیدیدیم می رسد. اپیدیدیم به طور پیوسته سبب بیرون راندن اسپرم از دستگاه تولید مثل می شود؛ زیرا دیواره اپیدیدیم دارای ماهیچه صاف است که با حرکات منظم سبب جابجایی اسپرم در این لوله می شود. در قوچی که فعالیت جنسی مناسب دارد انتقال اسپرم در اپیدیدیم حدود ۱۵-۱۳ روز طول می کشد (شکل ۹).

۳- لوله وایبران (وازدفران): به دو مجرایی که اسپرم را از هر کدام از بیضه ها به میزراه^۱ یا مجرای مرکزی آلت تناسلی انتقال می دهند وازدفران گفته می شود. طول این لوله در گوسفند ۷۵ سانتی متر است. دیواره وازدفران سفت است و در ناحیه بالای اسکروتوم به راحتی لمس می شود. این لوله دیواره ماهیچه ای صاف دارد که افزایش حرکات دودی آن در زمان انزال سبب انتقال اسپرم به میزراه می شود.

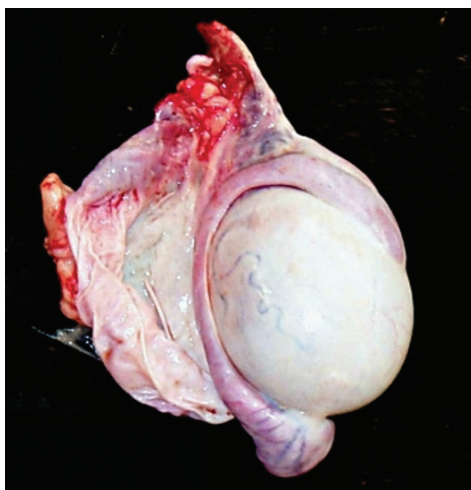
۴- میزراه: میزراه مجرای منفردی است که قسمتی از آن در ناحیه لگنی و در تماس با ترشحات غدد ضمیمه جنسی و ادرار تخلیه شده از مثانه^۲ قرار دارد و قسمتی دیگر از آن نیز مجرای آلت تناسلی را تشکیل می دهد. بنابراین میزراه، مجرای مشترک تخلیه منی و ادرار است. سوراخ خروجی میزراه در انتهای آزاد آلت تناسلی قرار دارد.

1- Urethra

2- Urinary bladder



شکل ۸- لوله‌های تناسلی



شکل ۹- نمای جانبی یک بیضه طبیعی. سر، بدنه و دم اپیدیدیم مشاهده می‌شود

۵- قزیب (آلت تناسلی): ساختار انتهایی و خارجی لوله‌های تولید مثلی دام نر، آلت تناسلی یا قزیب نام دارد که اندام مخصوص جفتگیری و دفع ادرار است. آلت تناسلی دارای سه بخش ریشه، بدنه و سر (بلوطه یا حشفه^۱) می‌باشد. بلوطه مخروطی شکل بوده و پایانه‌های عصبی حسی فراوانی دارد. تحریک این بخش مهم‌ترین عامل شروع فرآیند انزال است. آلت تناسلی گوسفند S شکل (سیگمویید^۲) است و توسط ماهیچه‌های جمع‌کننده آلت تناسلی^۳ مهار شده است، این حالت سبب می‌شود آلت تناسلی به درون بدن کشیده شود؛ بنابراین راست شدن آلت تناسلی در پی راست شدن این خمیدگی است. انتهایی‌ترین بخش آلت تناسلی زائده‌ای رشته‌ای^۴ به طول ۳-۴ سانتی‌متر است که به مجرای خروجی ادرار وصل می‌شود. در حین انزال با حرکت چرخشی سریع، اسپرم را به قسمت قدامی واژن حیوان ماده هدایت و پخش می‌کند (شکل ۱۰). راس یا بخش آزاد آلت تناسلی درون غلاف آلت تناسلی^۵ قرار دارد. غلاف آلت تناسلی در واقع حاصل در هم فرو رفتگی پوست است که حفاظت از آلت تناسلی را بر عهده دارد. به دلیل احتمال تجمع باکتری‌ها در این قسمت، قبل از

1- Glans

2- Sigmoid Flexure

3- Retractor Penis Muscles

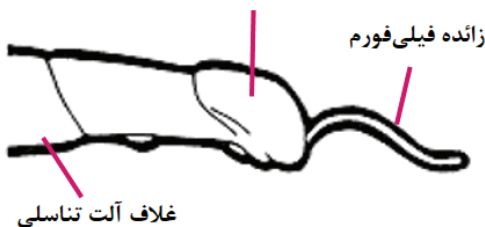
4- Filiform Appendage

5- Prepuce

جمع‌آوری اسپرم، این ناحیه باید کاملاً تمیز شود. در شرایط استراحت، آلت تناسلی توسط این غلاف احاطه می‌شود. در هنگام تحریکات جنسی و افزایش خون‌رسانی به بافت آلت تناسلی، سفت‌شدن و نعوظ^۱ آلت رخ می‌دهد. در این هنگام با بیرون آمدن آلت، غلاف نیز بیرون آمده و بر روی آلت تناسلی کشیده می‌شود (شکل ۱۱).



سر آلت تناسلی (بلوطه)



شکل ۱۰- سر آلت تناسلی طبیعی در قوچ به همراه زائده فیلی فورم که ادامه میزراه لگنی است

1- Erection



شکل ۱۱- آلت تناسلی قوچ در حالت نعوظ و غلاف آلت تناسلی در اطراف آن

غدد ضمیمه جنسی

غدد ضمیمه جنسی در نزدیک محل اتصال وازدفران به میزراه قرار دارند. این غدد شامل غده پروستات^۱، غدد وزیکول-سمینال^۲ و غدد کوپر^۳ (غدد پیازی-پیشابراهی) می باشند. آمپول^۴ نیز جایگاه موقتی برای نگهداری اسپرم است که در پشت غدد وزیکول-سمینال قرار دارد. ترشحات این غدد قسمت اعظم حجم مایع منی را تشکیل می دهند (شکل ۱۲).

غدد وزیکول-سمینال: این غدد در نشخوارکنندگان لوبوله و از نظر ظاهری شبیه خوشه انگور هستند. غدد

1- Prostate gland

2- Vesicular glands

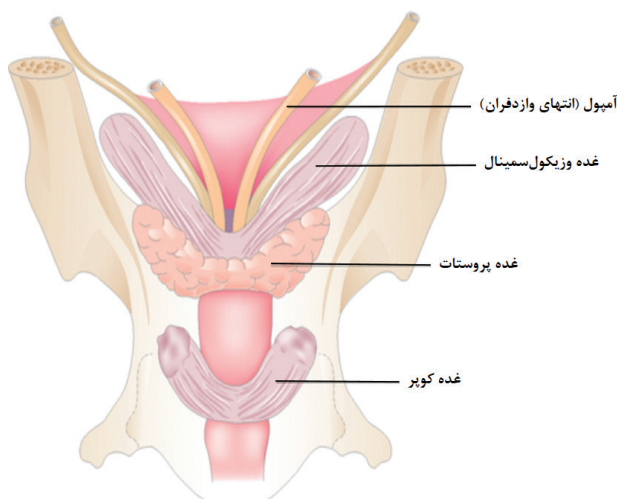
3- Cowper's gland (Bulbourethral gland)

4- Ampulla

وزیکول-سمینال در قوچ بسیار کوچک بوده و حدود ۴ سانتی-متر طول دارند؛ ولی به هر حال بزرگترین غدد ضمیمه جنسی در قوچ محسوب می-شوند. قسمت اعظم حجم منی از ترشحات این غدد می-باشد. از جمله این ترشحات می-توان به فروکتوز، سوربیتول، فسفات، کربنات و همچنین پروستاگلاندین اشاره نمود.

غده پروستات: پروستات غده منفردی است که مجرای ادراری را احاطه کرده و در عقب غدد وزیکول-سمینال قرار گرفته است. اسیدیته ترشحات پروستات حدود ۷/۵ است و بوی ویژه منی به خاطر این ترشحات قلیایی است. اسیدیته مایعات منی قبل از پروستات، اسیدی و در حدود ۴ می-باشد و از آنجا که اسپرم در شرایط اسیدی غیر فعال می-شود، وظیفه اصلی ترشحات قلیایی پروستات ایجاد تعادل در اسیدیته منی (حدود ۶/۵) و حفظ فعالیت اسپرم-هاست.

غدد کوپر (پیازی-پیشابراهی): یک جفت غده کروی در اطراف مجرای ادراری و نزدیک محل خروج این مجرا از محوطه لگنی قرار است. این غدد در هنگام تحریک جنسی دام نر مایع موکوسی لزجی ترشح می-کنند که موجب لغزنده و تمیز شدن میزراه از قطرات ادرار می-شود؛ اما در ماندگاری اسپرم نقشی ندارد. این ترشحات بلافاصله قبل از جفتگیری به صورت قطره قطره از غلاف آلت تناسلی خارج می-شوند.



شکل ۱۲- ترتیب قرارگیری غدد ضمیمه جنسی

فیزیولوژی تولید مثل در قوچ

منی

منی^۱ شامل یک بخش مایع به نام پلاسمای منی و بخش اسپرمهاست. پلاسمای منی آمیزه‌ای از تراوشات مختلف در دستگاه تناسلی است که بخش عمده آن را ترشحات غدد وزیکول سمينال تشکیل می‌دهد و مقدار کمی نیز از اپیدیدیم، واژدفران، بیضه‌ها و سایر غدد ضمیمه تامین می‌شود. منی عامل انتقال اسپرم و فراهم‌کننده محیط بافری و غذایی برای کمک به حیات اسپرمهاست. در نشخوارکنندگان اغلب

1- Semen

حجم منی کم (۵-۲ میلی لیتر در هر انزال) و حاوی تعداد زیادی اسپرم (حدود یک میلیارد اسپرم در هر میلی لیتر) است. در این حیوانات نقش منی به عنوان حامل و محافظ اسپرم‌ها بسیار حیاتی است؛ زیرا در نشخوارکنندگان اسپرم درون واژن تخلیه می‌شود، اما در غیر نشخوارکنندگان مانند اسب و خوک که منی خود را به داخل رحم تخلیه می‌کنند منی از نقش حفاظتی کمتری برخوردار است. پلاسمای منی قوچ بر حسب میزان اسپرم‌های موجود در آن سفید یا کرم رنگ است. حدود ۷۵ درصد مایع منی را آب تشکیل می‌دهد؛ علاوه بر این دارای مواد معدنی (سدیم، پتاسیم، کلراید و ...) و مواد آلی (فروکتوز، سوربیتول، اینوزیتول، اسیدسیتریک، گلیسرول فسفوریل کولین، فسفولیپیدها و پروستاگلاندین‌ها) می‌باشد. فروکتوز منبع اصلی انرژی اسپرم در منی است. پروستاگلاندین در پلاسمای منی بسیاری از گونه‌ها وجود دارد، اما غلظت آن در منی قوچ و بز زیاد است. پروستاگلاندین قادر به انقباض شدید عضلات رحمی است و به انتقال اسپرم در دستگاه تولید مثل ماده کمک می‌کند. پلاسمای منی معمولاً ایزوتونیک و خنثی است که pH آن با سیستم بافری در حدود ۷ نگهداری می‌شود. خاصیت بافری پلاسمای منی مانع از تغییر ناگهانی pH و آسیب دیدن اسپرم‌ها می‌شود.

اسپرم (اسپرماتوزوئید)

اسپرم^۱ سلول جنسی دام نر است که توسط لوله های اسپرم ساز در بیضه تولید می شود و از دو قسمت سر و دم تشکیل شده است (شکل ۱۳). طول سلول اسپرم در قوچ حدود ۶۰ میکرومتر است. طول عمر اسپرم کم بوده و در رحم و اویداکت تنها برای ۱۲-۱۰ ساعت زنده می ماند؛ در صورتی که عمر اووسیت بیشتر و بین ۲۴-۱۲ ساعت می باشد.

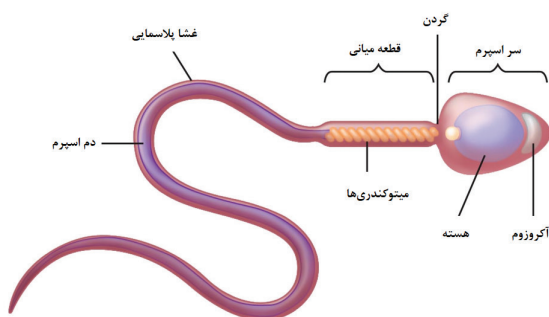
مورفولوژی اسپرم

۱- سر اسپرم: سر اسپرم در بیشتر گونه ها بیضی شکل و پهن است. قسمت اعظم سر را هسته تشکیل می دهد که حاوی کروماتین متراکم است. کروماتین از DNA ساخته شده است که با پروتئین های ویژه ای به نام پروتامین ترکیب پیچیده ای را تشکیل می دهند. قسمت انتهایی سر دارای پوششی است که آکروزوم نام دارد. آکروزوم یک غشادولایه حاوی آنزیم هایی مانند آکروزین، هیالورونیداز، زونالایزین، استرازها و هیدرولازهاست. این آنزیم ها بین غشاهای بیرونی و درونی آکروزوم قرار دارند و نقش آن ها هضم غشا اووسیت در زمان لقاح است.

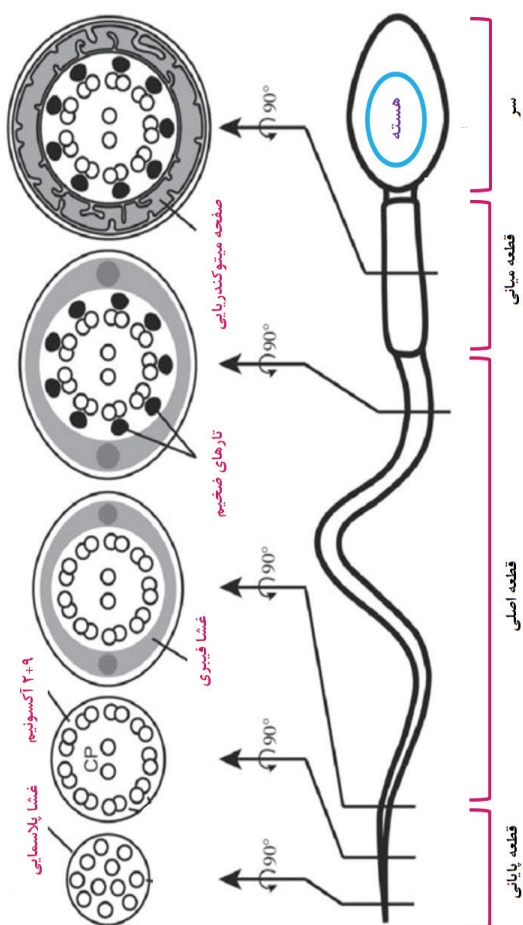
۲- فلاژلوم اسپرم (دم اسپرم): دم اسپرم دارای بخشی به نام گردن است که در فرورفتگی سطح پسین هسته قرار می گیرد و رابط بین سر و دم اسپرم است. بخش اول دم

1- Sperm

اسپرم، قطعه میانی نام دارد که مرکز آن را آکسونیم تشکیل می‌دهد. آکسونیم در سراسر دم ادامه می‌یابد و از ۹ جفت میکروتوبول تشکیل شده که اطراف دو فیلامنت مرکزی قرار دارند. میکروتوبول‌های بیرونی با ایجاد حرکت لغزشی بین میکروتوبول‌های مجاور سبب خم شدن دم می‌شوند. علاوه بر این، تارهای ضخیم و طولی هم در بیرون آکسونیم قرار دارند. میتوکندری‌های اسپرم در اطراف این تارهای طولی به حالتی مارپیچی قرار دارند و انرژی مورد نیاز اسپرم را تامین می‌کنند. بخش دوم دم، قطعه اصلی نام دارد و دارای آکسونیم و تارهای ضخیم است. قطعه میانی و قطعه اصلی دم توسط غشایی فیبری احاطه شده که سبب پایداری اجزای انقباضی اسپرم می‌شود. قطعه پایانی دم اسپرم از جایی آغاز می‌شود که غشا فیبری پایان می‌یابد و تنها دارای اکسونیم مرکزی است که روی آن را غشا پلاسمایی اسپرم می‌پوشاند (شکل ۱۴).



شکل ۱۳- بخش‌های اسپرم



شکل ۱۴- تصویر شماتیک اسپرم با اجزا اصلی آن و تغییرات ساختار تازک در امتداد دم. آکسونیم در سراسر دم امتداد دارد. قطعه میانی محل تمرکز میوتوکندری هاست. قطعه اصلی دارای آکسونیم، تارهای ضخیم و غشا فیبری است. قطعه پایانی تنها دارای آکسونیم مرکزی است و روی آن غشا پلاسمایی قرار دارد.

اسپرم سازی (اسپرماتوژنز)

فرایند اسپرم سازی در لوله های اسپرم ساز بیضه ها انجام می شود و دربرگیرنده تقسیمات سلولی میتوز و میوز، تغییر شکل سلول ها به اسپرم و سرانجام رها شدن اسپرم به درون حفره لوله های اسپرم ساز است. آغاز مرحله اسپرماتوژنز در دوره جنینی است. در مراحل اولیه زندگی درون رحمی رویان نر، سلول های جنسی ویژه ای به نام سلول های جنسی آغازین از کیسه زرده رویان به گوناد اولیه منتقل می شوند. این سلول ها پس از رسیدن به گوناد چندین بار تقسیم می شوند و سلول های فراوانی را بوجود می آورند که به آن ها گونوسایت یا سلول های پایه اسپرماتوگونی^۱ گفته می شود. گونوسایت ها تا مرحله بلوغ به صورت غیرفعال باقی مانده و بعد از آن با از سرگیری تقسیمات، اسپرم بالغ را تولید می نمایند. در واقع تولید اسپرم پرتحرک و دارای قدرت باروری، از زمان بلوغ جنسی در حیوان نر شروع می شود. طول دوره اسپرم سازی در گوسفند (فعال شدن سلول های پایه تا رها شدن اسپرم ها به درون حفره لوله های اسپرم ساز) نزدیک به ۴۹ روز است.

مراحل مختلف اسپرم سازی

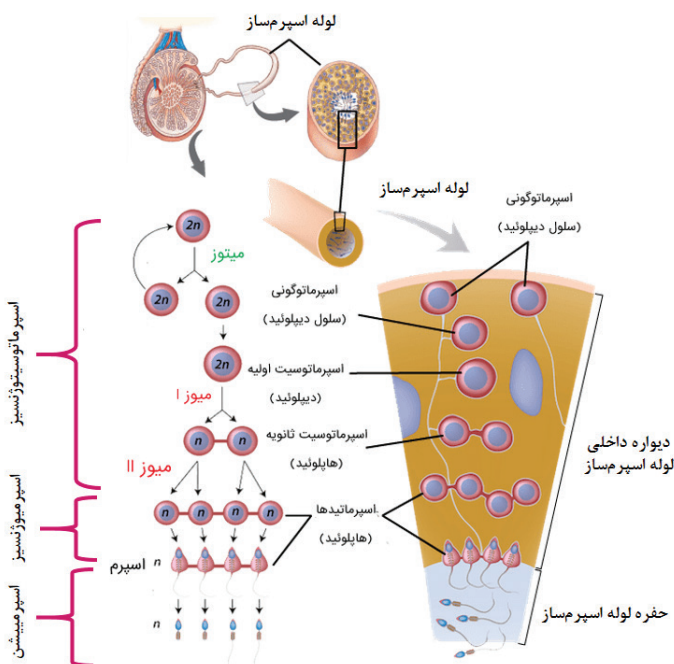
۱- اسپرماتوسیتوژنسیز^۲: مرحله اول اسپرم سازی است که از اسپرماتوگونی A1 تا تشکیل اسپرماتوسیت اولیه را دربرمی گیرد (تقسیمات میتوز بدون تغییر شکل در سلول ها) (شکل ۱۵).

1- Stem-cell sprmatogonia (SCS)

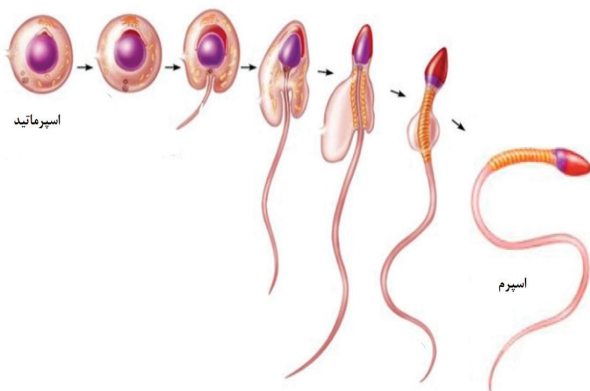
2- Spermatocytogenesis

۲- اسپرمیوژنسیز^۱: این مرحله پس از تشکیل اسپرماتیدها آغاز می‌شود که با تغییر اساسی در ساختار سلول‌ها همراه است و به تشکیل اسپرم می‌انجامد (شکل ۱۵ و ۱۶).

۳- اسپرمییشن^۲: سرانجام اسپرم‌ها در فرایند اسپرم‌ریزی از یکدیگر و نیز از دیواره سلول‌های سرتولی جدا و به درون حفره لوله‌های اسپرم‌ساز رها می‌شوند و از آنجا با ترشحات سلول‌های سرتولی به لوله‌های ریشه رانده می‌شوند (شکل ۱۵).



شکل ۱۵- مراحل مختلف اسپرم‌سازی



شکل ۱۶- مراحل اسپرمیوژنسسز: تبدیل اسپرماتید گرد به سلول اسپرم کشیده

نرخ اسپرم‌سازی

در نشخوارکنندگان مزرعه‌ای معمولاً اندازه و وزن بیضه‌ها با پتانسیل تولید اسپرم و منی رابطه مستقیم دارد؛ یعنی بیضه‌های بزرگتر تعداد بیشتری اسپرم می‌سازند. تولید روزانه اسپرم در هر دو بیضه قوچ بین ۱-۲۵ میلیارد است که نشان‌دهنده تولید ۲۹۰-۳۵ هزار اسپرم در ثانیه است. در حیواناتی که تولید مثل فصلی دارند، اندازه بیضه‌ها با توجه به فصل تولید مثل تغییر می‌کند. در پایان فصل غیر تولید مثلی بیضه‌ها سنگین و متورم مشاهده می‌شوند و در اواسط فصل تولید مثلی به حداکثر وزن خود می‌رسند. بیضه‌های

قوچ بزرگ بوده و در حیوان بالغ و سالم وزن هر کدام به ۳۰۰-۱۰۰ گرم می‌رسد. تعیین وزن بیضه در حیوان زنده ممکن نیست؛ اما بین وزن بیضه و اندازه‌های آن همبستگی مثبت و بالایی وجود دارد. اندازه‌گیری محیط بیضه‌ها درون اسکروتوم^۱ نشان‌دهنده تغییرات وزن بیضه‌هاست و با اندازه‌گیری آن می‌توان برآوردی از توان اسپرم‌سازی بیضه‌ها به دست آورد (شکل ۱۷).



شکل ۱۷- اندازه‌گیری محیط اسکروتوم: محیط اسکروتوم نشان‌دهنده اندازه بیضه‌هاست و اندازه بیضه‌ها ارتباط مستقیم با مقدار اسپرم تولیدی حیوان دارد. در یک قوچ بالغ محیط اسکروتوم بیش از ۳۶ سانتی‌متر است. در طول فصل غیر تولید مثلی محیط اسکروتوم ۲-۳ سانتی‌متر کوچک‌تر می‌شود.

1- Scrotal circumference

تنظیم هورمونی تولید مثل در حیوانات

هورمون‌های تولید مثلی ترکیباتی هستند که توسط غدد مرتبط تولید شده و بوسیله گردش خون انتقال می‌یابند و موجب ارتباط بخش‌های مختلف دستگاه تولید مثل می‌شوند. برخی از هورمون‌ها توسط هیپوتالاموس و هیپوفیز ترشح می‌شوند و نقش کنترل گونادها (بیضه و تخمدان) را بر عهده دارند. در مقابل گونادها نیز هورمون‌هایی تولید می‌کنند که توسط مکانیسم بازخورد (فیدبک)، فعالیت هیپوتالاموس و هیپوفیز را تنظیم می‌کنند. این مسیر کنترل هورمونی، محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گوناد^۱ (محور HPG) نام دارد که در ادامه به طور مختصر شرح داده می‌شود (شکل ۱۸).

هیپوتالاموس: مهم‌ترین هورمون هیپوتالاموس در ارتباط با تولید مثل، هورمون آزادکننده گونادوتروپین‌ها^۲ (GnRH) یا گونادولیبیرین^۳ است. این هورمون بعد از ساخت، در بخش میانی هیپوتالاموس ذخیره شده و در واکنش به تحریکات عصبی به داخل سیستم باب هیپوفیزی آزاد می‌شود و ترشح گونادوتروپین‌های FSH و LH از هیپوفیز قدامی را تحریک می‌کند.

1- Hypothalamic-pituitary-gonadal axis (HPG- axis)

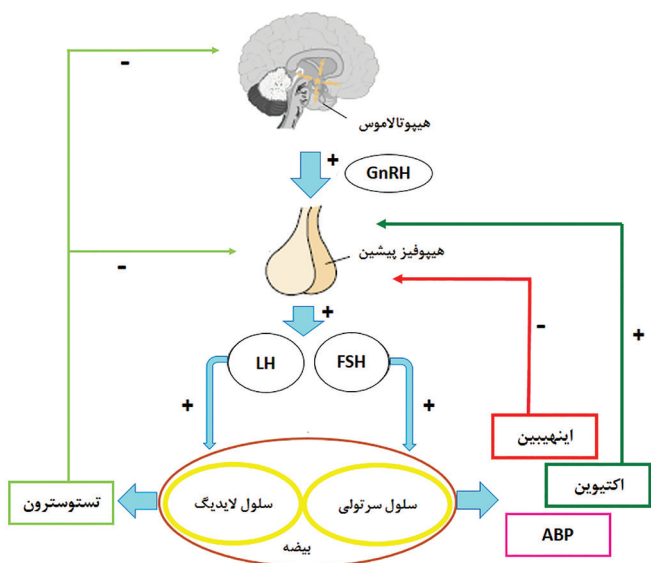
2- Gonadotropin Releasing Hormone

3- Gonadoliberein

غده هیپوفیز: غده هیپوفیز غده ای کوچک است که در استخوان زین ترکی در حفره استخوانی قاعده مغز قرار دارد و بوسیله ساقه هیپوفیز به هیپوتالاموس متصل شده است. هورمون های مترشحه از این غده مستقیماً روی غدد مرتبط با تولید مثل اثر می گذارند. گونادوتروپین ها (LH و FSH) که در سلول های گونادوتروپ آدنوهیپوفیز ساخته می شوند، مهم ترین هورمون های کنترل فعالیت گونادها و در نتیجه تولید مثل هستند. بدون این هورمون ها تولید اسپرم و تستوسترون مختل خواهد شد. تراوش گونادوتروپین های هیپوفیزی تحت کنترل GnRH هیپوتالاموسی است. هورمون FSH فعالیت سلول های سرتولی در بیضه ها را کنترل می کند و سبب رشد لوله های اسپرم ساز و تحریک ساخت اسپرم در این لوله ها می شود. هورمون LH با اثر بر سلول های لایدیگ موجب ترشح تستوسترون از آن ها می گردد.

بیضه (گوناد نر): گونادوتروپین ها سبب تنظیم فعالیت بیضه ها می شوند. سلول های لایدیگ در اثر LH، تستوسترون تولید می کنند که به درون لوله های اسپرم ساز و خون انتشار می یابد. غلظت های بالای تستوسترون توسط مکانیسم بازخورد منفی سبب کاهش تراوش هورمون های GnRH، FSH و LH می شود و در مقابل با کم شدن غلظت

تستوسترون، تراوش این هورمون‌ها افزایش می‌یابد. بنابراین تستوسترون برای تنظیم فعالیت‌های تولید مثلی اهمیت بسزایی دارد. وجود غلظت بالای تستوسترون در لوله‌های اسپرم‌ساز برای اسپرم‌سازی نرمال ضروری است. تستوسترون به خون محیطی منتقل شده و سبب تنظیم فعالیت ماهیچه دارتوس، اپیدیدیم، غده‌های تناسلی پیوست، بروز صفات ثانویه جنسی، رفتارهای جنسی و تولید فرمون‌ها می‌شود.

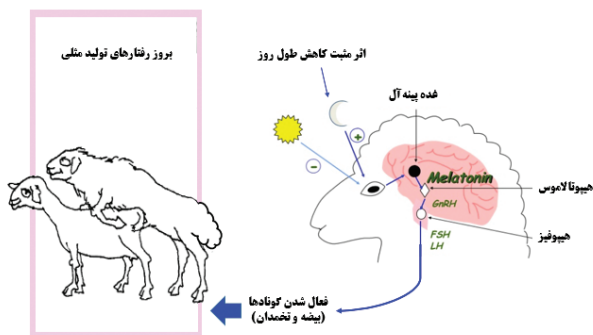


شکل ۱۸- محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-گوناد (بیضه) (محور HPG)

اثر نور (فتوپریود) بر فعالیت تولید مثلی

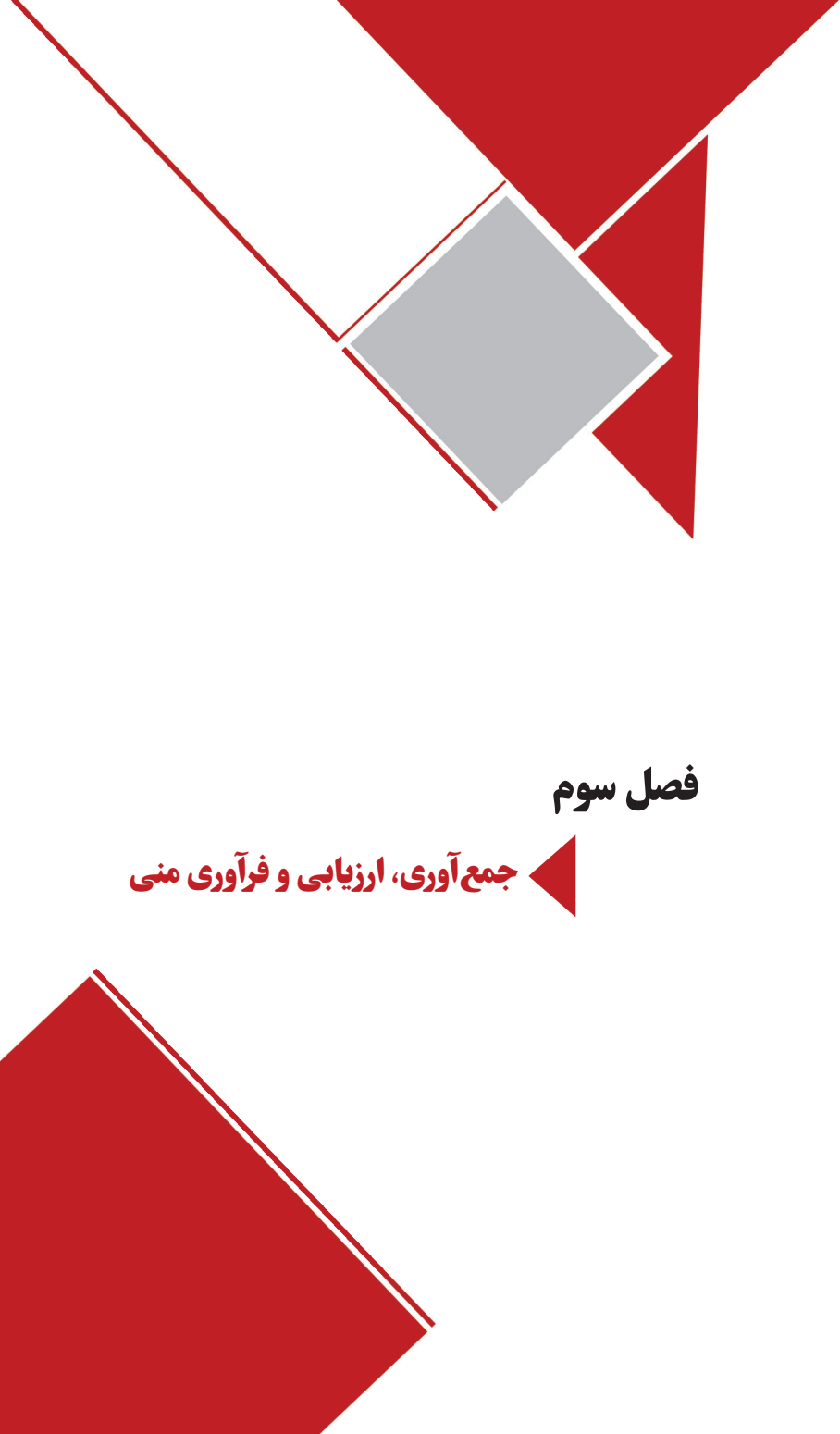
فعالیت تولیدمثلی گوسفند در طول سال تابع عامل فتوپریود و طول روشنایی روز است. در واقع طول روز مهم ترین محرک محیطی است که روی ترشح گونادوتروپین ها اثر می گذارد. در این رابطه، ترشح و غلظت هورمون ملاتونین بیشترین نقش را دارا می باشد. این هورمون از غده پینه آل (صنوبری یا اپی فیز) که در پشت هیپوتالاموس و بین دو نیم کره مغز قرار دارد ترشح می شود. تراوش ملاتونین در شب بیشتر و در روز کمتر است. در واقع با کوتاه شدن طول روز و افزایش طول مدت تاریکی غلظت آن به تدریج افزایش یافته و در این زمان است که فعالیت جنسی گوسفند شروع می گردد؛ به این صورت که نور از راه چشم و گذر از مسیرهای عصبی در مغز به این غده می رسد و موجب تراوش ملاتونین می شود. ملاتونین موجب تراوش گونادوتروپین ها و شروع فعالیت تولید مثلی فصلی می شود. براین اساس تغییر طول روز در خارج از فصل تولید مثلی می تواند باعث کاهش ترشح گونادوتروپین ها شود؛ باین حال ترشح پایه این هورمون ها همچنان ادامه دارد و موجب تداوم تولید اسپرم و تستوسترون در مقادیر حداقلی می شود. بنابراین قوچ در خارج از فصل تولید مثل عقیم نیست، اما بیضه ها کوچک می شود و میزان تولید اسپرم و قدرت باروری آن کاهش می یابد. علاوه بر نور

عوامل دیگری مانند دما، تغذیه، بیماری‌ها و تنش هم اعمال هیپوفیز را تغییر می‌دهند (شکل ۱۹).



شکل ۱۹- اثر طول روز بر فعالیت تولید مثلی گوسفند



An abstract geometric design featuring a large red triangle at the top right, a grey diamond shape in the center, and a red triangle at the bottom left. The shapes are outlined in white and red.

فصل سوم

جمع آوری، ارزیابی و فرآوری منی



پیش‌نیازهای اجرای تلقیح مصنوعی

از جمله مهم‌ترین عوامل موثر در اجرای موفق برنامه تلقیح مصنوعی می‌توان به روش‌های مناسب همزمان‌سازی فحلی، کیفیت منی مصرفی، وضعیت فیزیولوژیک، سن، وزن و نژاد دام، مهارت فرد تلقیح‌گر، زمان و فصل تلقیح اشاره کرد. در واقع تلقیح کردن منی آخرین مرحله تکنولوژی تلقیح مصنوعی است که در آن اسپرم به دستگاه تولید مثلی ماده منتقل می‌شود. پیش از این مرحله باید فرآیندهای همزمان‌سازی فحلی، اسپرم‌گیری، ارزیابی نمونه منی و آماده‌سازی اسپرم برای تلقیح انجام شود. در ادامه به طور مختصر مراحل فوق را مورد بررسی قرار می‌دهیم.

همزمان‌سازی فحلی

همزمان‌سازی فحلی یکی از مهم‌ترین فناوری‌های تولید مثلی به منظور افزایش بهره‌وری اقتصادی در صنعت دام سبک است. با استفاده از برنامه‌های همزمان‌سازی فحلی و ایجاد تغییرات بر روی هورمون‌های مترشحه از غدد می‌توان تولید مثل دام را مدیریت نمود. همزمان‌سازی فحلی به دو روش مصنوعی (هورمونی) و روش طبیعی (تغییر شدت نور

و معرفی دام نر به گله) صورت می‌گیرد. از آنجا که فعالیت دستگاه تولید مثل گوسفند تحت کنترل هورمون‌هاست، می‌توان با به‌کارگیری هورمون‌های سنتتیک فرآیند تولید مثل را کنترل نمود. استفاده از هورمون پروژسترون یکی از کاربردی‌ترین روش‌های همزمان‌سازی فحلی است که به اشکال مختلف از جمله مصرف خوراکی، تزریق، کاشت ایمپلنت و ابزارهای واژنی آزادکننده هورمون مانند سیدر، دیکو و اسفنج مورد استفاده قرار می‌گیرد. تمام روش‌های همزمان‌سازی فحلی در جلد اول این مجموعه (استفاده از فناوری‌های تولید مثلی در پرورش گوسفند) تحت عنوان همزمان‌سازی فحلی و تخم‌ریزی به طور کامل مورد بررسی قرار گرفته است.

درمیان روش‌های مختلف همزمان‌سازی فحلی در گوسفند، استفاده از اسفنج پروژسترونی از جمله ارزان‌ترین، ساده‌ترین و پربازده‌ترین روش‌ها محسوب می‌شود؛ اما وجود تحریم‌های اقتصادی و همچنین افزایش قیمت ارز در سال‌های اخیر، واردات این محصول را با مشکلات جدی مواجه نموده است؛ به طوری که خرید و کاربرد اسفنج پروژسترونی خارجی قیمت تمام‌شده هر کیلو گوشت تولیدی را افزایش داده که موجب تحمیل بار مالی بیشتر بر

واحدهای تولیدی و عدم صرفه اقتصادی پرورش دام شده است. وجود چنین چالشی در صنعت پرورش دام سبک، پژوهشگران کشور را به طراحی و ساخت نمونه داخلی اسفنج پروژسترونی ترغیب نمود. در این راستا شرکت آراین فناوران فاریاب با بهره‌گیری از توان علمی و فنی متخصصان خود موفق به ساخت اولین اسفنج پروژسترونی واژینال مخصوص دام سبک با نام تجاری آرپروسینکرو در کشور شده است. این محصول مراحل آزمایش و تایید را در مراکز تحقیقاتی تحت نظارت موسسه تحقیقات علوم دامی کشور پشت سر نهاده و نتایج نشان‌دهنده موفقیت‌آمیز بودن همزمان‌سازی فحلی توسط این اسفنج و کیفیت بالای آن در مقایسه با نمونه‌های خارجی بوده است. از آنجا که این محصول دانش‌بنیان در داخل کشور تولید می‌شود، قیمت تمام‌شده آن برای مصرف‌کننده داخلی تا ۵۰ درصد کمتر از نمونه خارجی است و همچنین مانع ارزیابی به دلیل واردات نمونه‌های خارجی می‌شود. بنابراین در وضعیت اقتصادی موجود استفاده از یک محصول داخلی با کیفیت و ارزان قیمت راهی مناسب برای بهبود عملکرد واحدهای تولیدی می‌باشد (شکل ۲۰).



شکل ۲۰- اسفنج پروژسترونی آرپروسینکرو

جمع آوری منی

وقتی نرهای جوان به خوبی تغذیه و مدیریت شوند می توان در سن مناسب منی آنها را با موفقیت جمع آوری نمود. این سن در گوسفند ۷-۸ ماهگی است. بخش اصلی برنامه تلقیح مصنوعی جمع آوری درست منی می باشد. بر اساس الگوی انزال حیوانات مختلف، روش های جمع آوری

اسپرم نیز متفاوت است. در تمامی مراحل جمع‌آوری منی تا تلقیح آن باید سلامت حیوان و بهداشت منی گرفته شده به شدت تحت کنترل باشد؛ زیرا آلودگی میکروبی منی موجب کاهش قدرت بقا اسپرم‌ها شده و همچنین امکان انتقال آلودگی به دام ماده را نیز فراهم خواهد کرد. به این دلیل تمیز نمودن بافت‌های اطراف آلت تناسلی در تمامی روش‌های اسپرم‌گیری بسیار مهم است. یکی دیگر از پیش‌نیازهای اساسی برای جمع‌آوری منی با کیفیت، به حداقل رساندن استرس‌های وارد شده بر دام نر است. محیط شلوغ و پر سر و صدا و یا استرس‌های ناشی از شاخ‌بری و تیمارهای درمانی درصد اسپرم‌های غیر طبیعی را در نمونه منی افزایش می‌دهد. روش‌های مختلفی برای جمع‌آوری منی ابداع شده که با توجه به امکانات موجود می‌توان از آن‌ها استفاده کرد. دو روش متداول برای جمع‌آوری منی در قوچ، استفاده از واژن مصنوعی^۱ و اسپرم‌گیری با تحریک الکتریکی^۲ است.

اسپرم‌گیری با استفاده از واژن مصنوعی

سریع‌ترین و بهداشتی‌ترین روش جمع‌آوری منی، اسپرم‌گیری با واژن مصنوعی است که امکان منی‌گیری مکرر در یک روز را میسر می‌سازد. این روش در واقع شرایطی

1- Artificial vagina

2- Electro-ejaculation

مانند جفتگیری طبیعی را شبیه سازی می نماید. شکل ۲۱ ساختمان واژن مصنوعی و اجزای سازنده آن را نشان می دهد. واژن مصنوعی دارای یک بدنه استوانه ای توخالی است که غالباً از جنس پلاستیک فشرده یا کائوچو ساخته می شود و برای گوسفند معمولاً ۱۰-۱۲ سانتی متر طول و ۵ سانتی متر قطر دارد. یک لوله لاستیکی و انعطاف پذیر استوانه ای به صورت یک آستر داخل بدنه قرار داده می شود و لبه های آن روی دو انتهای بدنه کائوچویی برگردانده شده و توسط نوارهای لاستیکی محکم می شود. در بدنه کائوچویی واژن، یک شیر قرار دارد که توسط آن آب گرم وارد فضای بین بدنه و آستر می شود و دمای مورد نیاز برای انزال را تامین می کند. این سیستم باید کاملاً عاری از هرگونه نشست آب به لوله جمع آوری اسپرم باشد؛ زیرا اسپرم ها با کوچکترین تماس با آب از بین خواهند رفت. بخش دیگر واژن مصنوعی یک قسمت قیف مانند از جنس پلاستیک شفاف و انعطاف پذیر است که سمت پهن آن به بدنه واژن و انتهای باریک آن به لوله جمع آوری منی متصل می شود (شکل ۲۲). برای ایجاد محیطی مشابه واژن طبیعی دام، باید انتهای آزاد استوانه و آستر را تا ۳ سانتی متری لبه آن با ژل لغزنده کننده^۱ به خوبی آغشته نمود. این کار موجب

1- Lubricant

می‌شود دخول آلت تناسلی تسهیل شده و از آسیب‌های احتمالی پیشگیری شود. علاوه بر این، محفظه داخلی واژن مصنوعی را تا نیمه با آب ۳۷-۴۵ درجه سانتی‌گراد پر نموده تا علاوه بر تامین دمای مطلوب، حس انعطاف‌پذیری واژن طبیعی را به آلت تناسلی دام نر القا نماید. همچنین از یک دمنده هوا برای انبساط قسمت آستر استفاده می‌شود (شکل ۲۳). میزان انبساط ایده‌آل زمانی حاصل می‌شود که یکی از انگشتان فرد عامل که آغشته به ژل لغزنده‌کننده است به راحتی و با اندکی فشار به داخل فضای واژن مصنوعی وارد شود.



شکل ۲۱- واژن مصنوعی و اجزای سازنده آن



شکل ۲۲- محافظ چرمی واژن مصنوعی و لوله جمع آوری منی



شکل ۲۳- دمنده هوا به درون واژن مصنوعی

برای انجام اسپرم گیری، دام ماده در جایگاه مخصوص اسپرم گیری مهار می شود و دام نر به محل مقید کردن دام ماده یا مانکن انتقال داده می شود. باید توجه نمود که حیوان نباید دارای پشم بلند و کثیف به خصوص در ناحیه پشت باشد. شخص عامل واژن مصنوعی را در دست گرفته و به

صورت خم شدن و یا زانو زدن در طرف راست دام ماده قرار می‌گیرد؛ سپس واژن مصنوعی را به موازات پهلوی دام به نحوی نگه می‌دارد که دهانه باز آن با زاویه ۴۵ درجه رو به پایین و به طرف دام نر قرار گیرد. وقتی دام نر به دام ماده نزدیک می‌شود فرد عامل باید آمادگی لازم را داشته باشد؛ زیرا قوچ به سرعت بر روی میش پرش می‌نماید. لذا تجربه عامل او را قادر به مهار کردن آلت تناسلی می‌نماید. فرد عامل باید دست آزاد خود را در حوالی ناحیه بیرون آمدن آلت تناسلی و غلاف آن بدون آنکه با آلت تماس پیدا کند قرار دهد. با خارج شدن آلت تناسلی و پرش دام، فرد عامل از دست چپ استفاده کرده و به آرامی غلاف آلت را گرفته و آن را با دهانه واژن مصنوعی در یک راستا قرار داده و اجازه می‌دهد آلت تناسلی وارد واژن مصنوعی شود. غالباً زمان انزال در نشخوارکنندگان بسیار کوتاه است و بر حسب نوع دام چند ثانیه بیشتر به طول نمی‌انجامد و با فرود دام نر از روی دام ماده یا مانکن، آلت به حالت سیگموئیدی خود در می‌آید و به داخل پوشش پوستی خود باز می‌گردد و بدین ترتیب از واژن مصنوعی خارج می‌شود (شکل ۲۴). بلافاصله بعد از اسپرم‌گیری باید حدود ۱۵-۱۰ ثانیه واژن مصنوعی را به صورت عمودی نگه داشت تا حداکثر منی ممکن که بر روی دیواره کیف پلاستیکی چسبیده به لوله جمع‌آوری منی

منتقل شود. در پایان لوله حاوی منی را جدا نموده و در حمام آب گرم ۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده می شود. منی بدست آمده را تحت شرایط عایق دمایی، رطوبتی و نوری برای طی مراحل ارزیابی و فرآوری به محل مورد نظر منتقل می نمایند. تعداد دفعات اسپرم گیری تابع سن، شرایط و رفتار دام است. قوچ توانایی ۱۵-۱۰ نوبت پرش و انزال در روز را دارد. البته با افزایش تعداد دفعات اسپرم گیری، حجم و غلظت منی و در نتیجه تعداد اسپرم به ازای هر انزال کاهش می یابد. معمولاً در قوچ ها اسپرم گیری به مدت ۴-۵ روز (۵-۳ نوبت در هر روز) و یک استراحت ۳-۲ روزه به عنوان یک برنامه ایده آل توصیه می شود. برای داشتن انزال هایی با حجم و غلظت مناسب در اسپرم گیری های متوالی باید فاصله زمانی ۱-۵/۰ ساعت را بین دو اسپرم گیری رعایت نمود. برای استحصال منی با کیفیت توجه به نکات زیر ضروری است:

- برای هر انزال باید از یک واژن مصنوعی تمیز و استریل استفاده کرد؛ زیرا استفاده چند باره از یک واژن در یک روز امکان آلودگی و کاهش کیفیت منی را افزایش خواهد داد.
- قبل از شروع جمع آوری منی با واژن مصنوعی بهتر است از تمیز و استریل بودن آن اطمینان حاصل کرد. برای این منظور باید اجزای واژن مصنوعی با آب مقطر شستشو و پس از خشک شدن با الکل ۷۰ درصد استریل شود.

- بهتر است قبل از اجازه پرش به دام نر و اسپرم‌گیری اقدام به تحریک دام نر نمود تا کمیت و کیفیت منی استحصالی بهبود یابد. برای این منظور می‌توان چند بار به دام نر اجازه نزدیک شدن و پرش بر روی دام مہار شده یا مانکن را داد، اما قبل از سوار شدن کامل مانع از پرش حیوان شد.

- چنانچه از یک دام نر چندین بار در یک دوره زمانی محدود اسپرم‌گیری شود ممکن است اشتیاق او برای پرش کاهش یابد. در این حالت می‌توان با دام‌های تحریک‌کننده جدید و یا نزدیکی یک دام نر دیگر و یا حتی تغییر مکان اسپرم‌گیری موجب تحریک هر چه بیشتر این دام نر شد.



شکل ۲۴- اسپرم‌گیری توسط واژن مصنوعی

اسپرم گیری با استفاده از تحریک الکتریکی

این روش برای اولین بار توسط گان در سال ۱۹۳۶ بر روی گوسفند اجرا گردید. از تحریک الکتریکی زمانی استفاده می شود که حیوان نر برای استفاده از واژن مصنوعی آمادگی نداشته باشد یا به علت جثه کوچک یا مشکلات اندام های حرکتی نتواند روی حیوان ماده پرش کند. وسیله مورد استفاده برای این کار دستگاه تحریک الکتریکی انزال (الکترواجکولاتور^۱) نام دارد. انواع مختلف دستگاه تحریک الکتریکی وجود دارد (شکل ۲۵). این دستگاه شامل یک الکتروود دو قطبی و یک پراب (میله) متصل به باتری است. باتری ۱۵-۱۰ ولت نیرو تولید می کند. برای اسپرم گیری، قوچ را به پهلو و روی سطحی مناسب مهار می کنند؛ به طوری که ناحیه مقعد و آلت تناسلی آن در دسترس فرد عامل قرار گیرد. قبل از شروع عمل باید پشم و موهای زائد اطراف آلت تناسلی به خوبی چیده شود و ناحیه اطراف آن با آب و صابون یا الکل استریل گردد. قبل از وارد کردن میله دستگاه به مقعد دام، باید راست روده را با انگشت آغشته به ژل لغزنده کننده از مدفوع تخلیه کرد. سپس مقداری ژل لغزنده کننده به اطراف میله دستگاه مالیده و بدون ایجاد ناراحتی برای دام، میله را تا عمق ۲۰-۱۵ سانتی متری وارد رکتوم نمود. آلت تناسلی را با کشیدن پیچش S مانند آن کشیده و خارج می نمایند؛ به نحوی که بتوان پشت بلوطه

1- Electroejaculator (EEJ)

آلت تناسلی را بوسیله یک پارچه تمیز نگه داشته و آلت را از غلاف آن خارج نمود. سپس برای جمع‌آوری منی، بلوطه و زائده فیلی فورم آن وارد یک لوله آزمایش تمیز و استریل می‌شود. باید قطر لوله جمع‌آوری منی متناسب با اندازه آلت تناسلی حیوان باشد. بهتر است آلت تناسلی و لوله آزمایش را در یک دست گرفته و دست دیگر برای ماساژ دادن آلت تناسلی به سمت جلو در فواصل تحریکات الکتریکی آزاد باشد. در گام بعدی دستگاه به کمک فرد دیگر روشن شده و میله آن که در رکتوم قرار دارد به سمت کف لگن فشار داده می‌شود. سپس به فاصله ۲۰-۱۵ ثانیه حدود ۸-۳ تحریک کوتاه انجام می‌شود؛ به این صورت که شاسی دستگاه را به مدت ۵-۳ ثانیه نگه داشته تا ولتاژ لازم برای تحریک دام نر تامین گردد و سپس برای ۱۰-۵ ثانیه شاسی را رها کرده و این عمل تکرار می‌شود. معمولاً پس از چند تحریک ترشحات غدد ضمیمه جنسی و در ادامه مایع منی خارج می‌شود. برای این منظور ابتدا با ولتاژ کم شروع کرده و به تدریج ولتاژ زیاد می‌شود؛ چرا که افزایش ناگهانی ولتاژ موجب انزال بدون نعوظ می‌گردد. پاسخ دام‌های نر به تحریکات الکتریکی متفاوت است، با این حال اکثر آن‌ها بعد از ۵-۳ تحریک موثر انزال می‌نمایند. در صورتی که حداکثر غلظت اسپرم در مایع منی مد نظر باشد، می‌توان تا پایان انزال و عقب کشیدن آلت تناسلی توسط دام نر تحریکات را ادامه داد. توصیه می‌شود که هنگام جمع‌آوری

منی با این روش از چند لوله جمع آوری منی استفاده گردد؛ زیرا در ابتدای امر مایعات ترشح شده از غدد ضمیمه جنسی و یا ادرار خارج می شود و در صورت مخلوط شدن با منی در مرحله بعدی می تواند کیفیت و غلظت اسپرم ها را کاهش دهد. این روش به دلیل انقباضات مکرر برای دام بسیار ناراحت کننده است و باعث بروز استرس زیادی برای قوچ می شود، بنابراین باید فقط در موارد محدود استفاده شود. به همین دلیل بهترین روش جمع آوری منی استفاده از واژن مصنوعی می باشد، زیرا تعداد انزال و حجم پلاسمای منی آن بیشتر است.



شکل ۲۵- انواع مختلف دستگاه تحریک الکتریکی انزال

مراحل مختلف اسپرم‌گیری با دستگاه تحریرک الکتریکی انزال



۱- آلت تناسلی با کشیدن پیچش S مانند آن کشیده شده و بلوطه را با دست گرفته و آلت از غلاف خارج شود، سپس پشت بلوطه را بوسیله یک پارچه تمیز ببندید.



۲- لوله (پراب) دستگاه را به ژل لغزنده کننده آغشته کرده و لوله را تا عمق ۱۵-۲۰ سانتی متری وارد رکتوم نمایید.



۳- بلوطه و زائده فیلی فورم آن وارد یک لوله آزمایش استریل شده و منی جمع آوری می شود.

ارزیابی منی



پس از جمع آوری منی و قبل از استفاده از آن در تلقیح مصنوعی، باید کمیت و کیفیت آن مورد ارزیابی قرار گیرد. زندهمانی اسپرم پس از جمع آوری به شدت تحت تاثیر عوامل محیطی قرار دارد؛ بنابراین برای حفظ کیفیت مطلوب اسپرم باید در زمان جمع آوری و بعد از آن اقدامات مناسبی انجام گیرد. از جمله می توان به تمیز و سرپوشیده بودن محل آزمایش و بررسی اسپرم، وجود فضای کافی برای لوازمی مانند میکروسکوپ و حمام آب گرم (بن ماری) و اطمینان از استریل، خشک و گرم بودن (۳۷ درجه سانتی گراد) تمام ظروف مورد استفاده برای جمع آوری و ارزیابی منی اشاره کرد. منی تا زمان بررسی در محفظه ای عایق در برابر رطوبت، نور و هوا و در دمای ۳۰-۳۵ درجه سانتی گراد نگهداری می شود؛ زیرا هرگونه افزایش دما بالاتر از ۳۷ درجه سانتی گراد میزان متابولیسم اسپرم را افزایش

داده و در نتیجه طول عمر اسپرم کوتاه می‌گردد. هرچند هیچ آزمایشی به تنهایی قادر به تخمین دقیق باروری یک نمونه منی نمی‌باشد، با این وجود با آزمایش خصوصیات فیزیکی مختلف منی می‌توان تا حدی به توانایی باروری آن پی‌برد. انزال در قوچ‌ها از نظر کمیت و کیفیت متفاوت است. کمیت منی را تعداد اسپرم در هر انزال تعیین می‌کند و تعداد اسپرم هم وابسته به حجم و غلظت منی است. حرکت و شکل اسپرم (مورفولوژی) از خصوصیات کیفی منی است. این ویژگی‌ها به همراه رنگ و بوی منی بلافاصله بعد از اسپرم‌گیری مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. به طور کلی نمونه‌ای با بیش از ۷۵ درصد اسپرم متحرک و کمتر از ۱۰ درصد مورفولوژی غیر طبیعی از کیفیت بالایی برخوردار است. در ادامه روش‌های بررسی کمی و کیفی منی به طور مختصر شرح داده می‌شود.

رنگ و بوی منی

رنگ منی بلافاصله بعد از جمع‌آوری و در لوله ذخیره منی بررسی می‌شود. رنگ طبیعی منی در قوچ، سفید شیری یا کرم خامه‌ای می‌باشد. در صورت وجود خون در منی رنگ آن صورتی می‌شود که معمولاً به علت صدمات وارده به آلت تناسلی در ضمن جمع‌آوری منی می‌باشد. رنگ خاکستری

یا قهوه ای منی بیانگر وجود آلودگی یا عفونت در مجرای تناسلی است. آلوده بودن منی با ادرار از طریق وجود بو و رنگ ادرار در منی تشخیص داده می شود. در این مرحله می توان منی را برای وجود ناخالصی های دیگر مانند مو، پشم، مدفوع و غیره بررسی کرد.

حجم منی

حجم منی انزال شده با لوله مدرج اندازه گیری می شود. به طور کلی حجم انزال در قوچ های بالغ ۲-۰/۵ میلی لیتر و در قوچ های جوان ۷/۰-۰/۵ میلی لیتر متغیر است. حجم منی انزال شده تحت تاثیر سن و شرایط جسمانی قوچ، فصل، مهارت فرد جمع آوری کننده منی و دفعات اسپرم گیری در یک دوره زمانی متغیر می باشد. حجم هر انزال با افزایش تعداد دفعات اسپرم گیری در یک یا چند روز متوالی کاهش می یابد. زمانیکه از قوچ بیش از ۳ بار در روز و یا برای مدت طولانی اسپرم گیری شود حجم انزال کاهش می یابد.

غلظت منی

غلظت منی به صورت تعداد اسپرم در هر میلی لیتر منی بیان می شود. از آنجا که مقدار رقیق سازی منی به غلظت (تعداد اسپرم در واحد حجم) آن بستگی دارد، برآورد دقیق غلظت منی بسیار مهم است. با شمارش دقیق تعداد اسپرم ها و

تعیین حجم نهایی انزال می‌توان تعداد ماده‌های قابل تلقیح را محاسبه نمود. منی با کیفیت قوچ دارای $10^9 \times 6/5 - 3$ اسپرم در هر میلی‌لیتر است. انواعی از روش‌ها از قبیل استفاده از شکل ظاهری و میزان غلظت، هموسایتومتر^۱، اسپکتروفوتومتر^۲، آنالیز کامپیوتری اسپرم^۳ (CASA) و دستگاه الکترونیکی سلول‌شمار برای سنجش دقیق غلظت اسپرم استفاده می‌شود. در شرایط مزرعه می‌توان از طریق مشاهده رنگ و بافت نمونه منی تا حدی به غلظت هر نمونه منی پی برد. هرچند روش چندان دقیقی نیست؛ اما روشی ساده و سریع برای تخمین غلظت اسپرم است. در این روش غلظت اسپرم قوچ به درجاتی تقسیم می‌شود که در جدول ۲ نشان داده شده است. بر این اساس نمونه‌های منی با درجه ۲-۰ نباید مورد استفاده قرار گیرند. روش دیگر سنجش غلظت، استفاده از لام هموسایتومتر است که وسیله‌ای برای شمارش گلبول قرمز و اسپرم است. لام از دو محفظه با ورودی ۷ شکل تشکیل شده است که هر محفظه دارای خانه‌ای شطرنجی شکل با ابعاد 3×3 میلی‌متر است. ابتدا نمونه منی با محلول تثبیت‌کننده رقیق شده و مقداری از آن روی لام پخش می‌شود. این محلول با کشتن اسپرم‌ها مانع حرکت آن‌ها هنگام شمارش می‌شود. سپس تعداد اسپرم‌های موجود در هر محفظه شمارش می‌شود (شکل ۲۶).

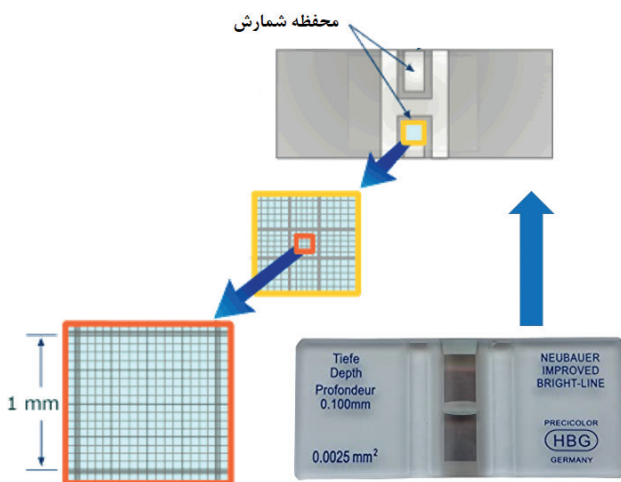
1- Hemocytometer

2- Spectrophotometer

3- Computer assisted sperm analysis (CASA)

جدول ۲- غلظت منی قوچ بر مبنای تراکم اسپرم

تعداد اسپرم ($\times 10^6$)			
درجه	قوام	میانگین	دامنه
۵	خامه‌ای (کرمی) غلیظ	۵	۴/۵ - ۶
۴	خامه‌ای (کرمی)	۴	۳/۵ - ۴/۵
۳	خامه‌ای (کرمی) رقیق	۳	۲/۵ - ۳/۵
۲	شیری	۲	۱ - ۲/۵
۱	ابری	۰/۷	۰/۳ - ۱
۰	روشن (آبکی)	غیر معنی‌دار	کم

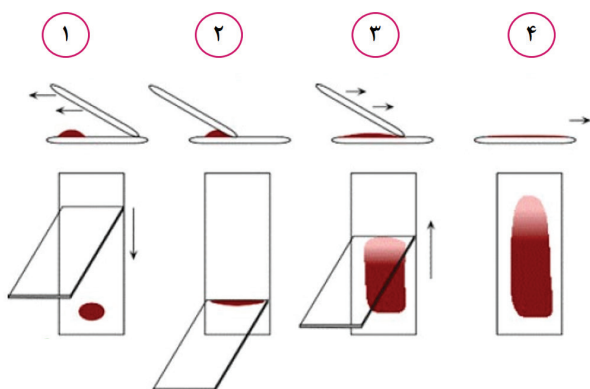


شکل ۲۶- لام هموسایتومتر (نئوبار) و نمایی از محل شمارش سلول‌ها بر روی لام

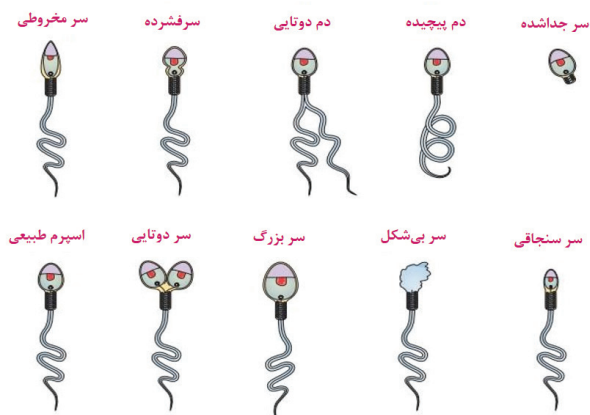
مورفولوژی اسپرم

بررسی مورفولوژی اسپرم آزمایش دقیقی برای سنجش کیفیت اسپرم است. تمام نمونه‌های منی حاوی تعدادی اسپرم غیر طبیعی هستند. همبستگی مثبتی بین ظاهر طبیعی اسپرم و تحرک آن وجود دارد. علاوه بر این ناهنجاری‌های مورفولوژی اسپرم بیشترین ارتباط را با باروری حیوانات اهلی دارند. زمانی که تعداد اسپرم غیر طبیعی به ۲۰ درصد یا بیشتر برسد باروری قوچ مورد تردید قرار می‌گیرد. منی با بیش از ۱۵ درصد اسپرم غیر طبیعی نباید برای تلقیح مصنوعی استفاده شود. برای بررسی مورفولوژی اسپرم، یک قطره محلول ۲/۹ درصد سیترات سدیم در گوشه لام گرم قرار داده می‌شود و یک قطره منی رقیق‌شده به آن اضافه می‌شود. با انتهای یک میله شیشه‌ای به آرامی این دو قطره را مخلوط کرده و سپس به کمک یک لام دیگر این ترکیب به صورت یک لایه بسیار نازک روی لام اول پخش می‌شود. بعد از خشک شدن گسترش تهیه شده، لام‌ها با استفاده از میکروسکوپ ارزیابی می‌گردند. شکل ۲۷ مراحل آماده‌سازی لام برای ارزیابی ناهنجاری‌های مورفولوژی اسپرم را نشان می‌دهد. اصولاً اشکال غیر طبیعی در اسپرم به دو دسته ناهنجاری‌های اولیه و ثانویه تقسیم می‌شود. منشا ناهنجاری‌های اولیه بیضه است و در اثر بروز اختلال در فرایند اسپرم‌سازی بروز می‌کند. این ناهنجاری قابل جبران نیست. ناهنجاری‌های ثانویه طی

عبور اسپرم از مجاری تناسلی و ذخیره سازی آن در اپیدیدیم و همچنین طی مراحل فراآوری منی بروز می کند. در شکل ۲۸ برخی ناهنجاری های اولیه و ثانویه مشاهده می شود.



شکل ۲۷- چگونگی تهیه گسترش منی برای ارزیابی ناهنجاری های مورفولوژی اسپرم



شکل ۲۸- برخی ناهنجاری های مورفولوژی اسپرم

تحرک اسپرم

منظور از تحرک^۱ اسپرم، درصدی از اسپرم‌های موجود در نمونه است که توانایی حرکت و جابجا شدن در محیط را دارند. تحرک پیش‌رونده، شامل حرکت از نقطه‌ای به نقطه دیگر و تقریباً در یک خط راست است. تحرک اسپرم یکی از مهم‌ترین نشانه‌های کیفیت و سلامت منی است. برای ارزیابی تحرک اسپرم از دو روش حرکت موجی و حرکت انفرادی (پیش‌رونده) استفاده می‌شود.

حرکت موجی: بررسی حرکت موجی منی اولین بار در سال ۱۹۴۲ توسط بلوم مطرح شد. برای انجام این روش، یک قطره منی تازه بر روی یک لام تمیز (بدون لامل) و گرم (۳۷ درجه سانتی‌گراد) قرار می‌دهند و با میکروسکوپ نوری حرکت موجی را مشاهده می‌کنند. آنچه مشاهده می‌شود حرکت گردابی و توده‌ای اسپرم‌هاست که بر اساس سرعت حرکت اسپرم از ۵-۰ امتیازبندی می‌شود. توصیه می‌شود از نمونه‌هایی که امتیاز ۲ یا کمتر را کسب می‌نمایند در تلقیح مصنوعی استفاده نگردد. در جدول ۳ معیارهایی برای ارزیابی حرکت موجی اسپرم‌ها ذکر شده است.

حرکت انفرادی (حرکت پیش‌رونده^۲): هرچه حرکت پیش‌رونده اسپرم بیشتر باشد نمونه منی برای تلقیح

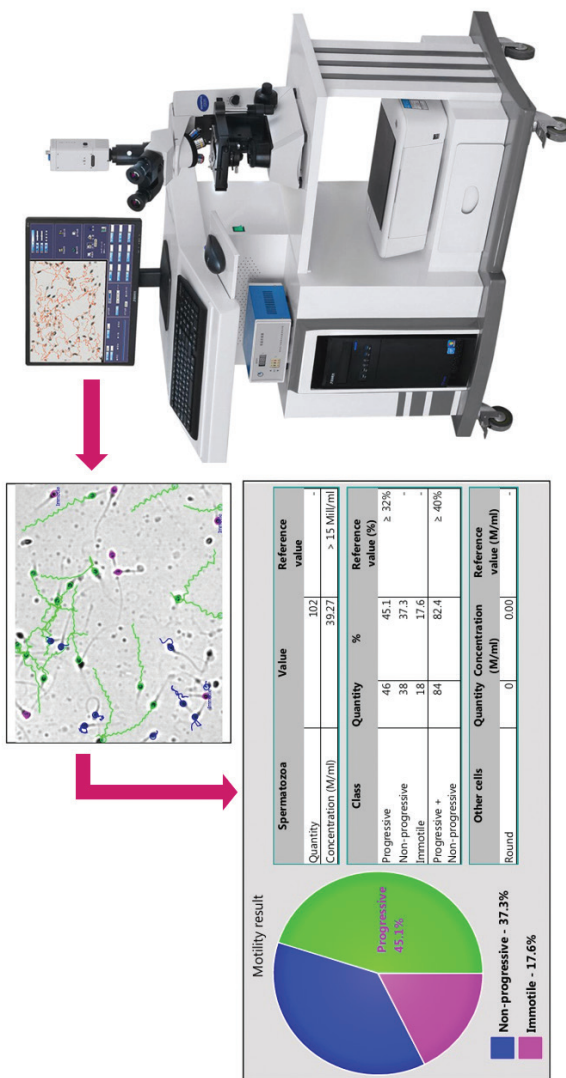
1- Motility

2- Progressive motility

مناسب تر است. برای بررسی این نوع تحرک باید از غلظت منی کاسته شود تا بتوان به بررسی انفرادی اسپرم ها پرداخت. برای این منظور از یک رقیق کننده ایزوتونیک مانند سرم فیزیولوژی یا سیترات سدیم ۲/۹ درصد استفاده می شود. سپس نمونه رقیق شده روی یک لام شیشه ای قرار داده شده و با لام دیگر، نمونه گسترش داده می شود. سپس با استفاده از یک میکروسکوپ دارای صفحه گرم حرکت اسپرم ها ارزیابی می گردد. در این روش اسپرم هایی که دارای حرکت مستقیم و روبه جلو هستند مورد بررسی قرار می گیرند. علاوه بر این می توان از روش ارزیابی کامپیوتری نمونه منی (CASA) هم استفاده نمود. با استفاده از این سیستم علاوه بر امکان بررسی ویژگی های مختلف حرکتی اسپرم، می توان شاخص های سرعت را هم مورد ارزیابی قرار داد. با آنکه این سیستم گران قیمت بوده و کار با آن دشوار است، اما تمامی انواع CASA دارای درجه صحت و اطمینان بالایی در گزارش ویژگی های مختلف اسپرم هستند (شکل ۲۹).

جدول ۳ - سیستم درجه بندی حرکت موجی اسپرم‌ها

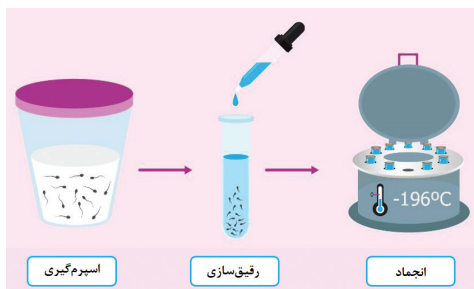
امتیاز	کیفیت	ویژگی منی
۵	خیلی خوب	حرکات موجی بسیار متراکم و سریع است، به طوری که اسپرم‌ها به طور انفرادی قابل مشاهده نیستند. اسپرم‌ها بیش از ۹۰ درصد فعال هستند.
۴	خوب	با وجود حرکات شدید در نمونه، گرداب‌های موجی مثل امتیاز ۵ وجود ندارد. ۷۰-۹۰ درصد اسپرم‌ها فعال هستند.
۳	متوسط	حرکات موجی اندک و آرامی وجود دارد و می‌توان اسپرم‌ها را به صورت انفرادی تشخیص داد. ۴۵-۶۰ درصد اسپرم‌ها فعال هستند.
۲	ضعیف	هیچ حرکت موجی مشاهده نمی‌شود، با این حال برخی حرکات اسپرم‌ها قابل مشاهده است. ۲۰-۴۰ درصد اسپرم‌ها فعال هستند.
۱	خیلی ضعیف	کمتر از ۱۰ درصد اسپرم‌ها فعال هستند و حرکات لغزشی ضعیفی در آن‌ها مشاهده می‌شود.
۰	مرده	هیچ تحرکی در اسپرم‌ها مشاهده نمی‌شود.



شکل ۲۹- سیستم آنالیز کامپیوتری (CASA) و نمایشی از اسپرم های دارای تحرک و نحوه گزارش آنالیز

فرآوری منی

فرآوری منی شامل مراحل رقیق‌سازی با رقیق‌کننده مناسب، سردسازی، انجماد و ذخیره اسپرم می‌باشد که در ادامه به طور مختصر شرح داده می‌شود.



رقیق‌سازی منی

یکی از دلایل استفاده از تلقیح مصنوعی به جای آمیزش طبیعی، استفاده بهینه از حیوان نر با ارزش ژنتیکی بالا برای بارور کردن تعداد زیادی حیوان ماده است، به طوری که تعداد اسپرم مورد نیاز برای هر بار تلقیح در حجمی معین تامین شود. به این فرایند رقیق‌سازی منی گفته می‌شود. میزان تحرک اسپرم و غلظت منی تعیین‌کننده میزان رقیق‌کننده لازم برای منی خواهد بود. منی با نمره ۵ در هر دو معیار تحرک و غلظت ممکن است بیش از نسبت ۴ به ۱ رقیق‌سازی شود. اما اغلب انزال‌ها به نسبت ۲ به ۱ رقیق‌سازی می‌شوند. منی با نمره ۲ نباید رقیق شود و فقط باید به صورت تازه و غیر رقیق‌شده استفاده شود.

برای رقیق سازی منی انواع رقیق کننده های مصنوعی و طبیعی مورد استفاده قرار می گیرد. یک رقیق کننده مناسب، شامل ترکیباتی است که مواد غذایی مورد نیاز اسپرم را در مدت نگهداری تامین کند، در مقابل تغییرات pH مانند یک بافر عمل نماید، محیطی ایزوتونیک فراهم آورد و اسپرم را در مقابل سرمای ناگهانی محافظت کند. به طور کلی یک محلول رقیق کننده حاوی ترکیباتی است تا اهداف اصلی به کارگیری آن را تامین نماید، از جمله تریس و سیترات که دارای خاصیت بافری هستند، گلوکز و فروکتوز که منبع انرژی هستند و زرده تخم مرغ که برای محافظت از غشا پلاسمایی اسپرم در برابر شوک سرمایی کاربرد دارد. در مزرعه معمولاً شیر گاو در دسترس است و به عنوان یک رقیق کننده طبیعی کاربرد دارد. از شیر گاو به صورت پس چرخ نیز استفاده می شود. در این صورت ابتدا باید شیر را به مدت ۱۰-۸ دقیقه تا دمای ۹۵-۹۲ درجه سانتی گراد حرارت داد و بعد از سرد شدن و رسیدن به دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به منی اضافه نمود.

اصلی ترین وظایف رقیق کننده منی

۱- رقیق سازی: یک ماده رقیق کننده به عنوان محیطی حامل برای سایر اجزای محلول رقیق کننده عمل نموده و منی تازه با نسبتی مشخص با آن رقیق می گردد. این مایع

غالباً آب دوبار تقطیر و شیر استریل شده در دماهای فوق بالا^۱ (UHT) است.

۲- محافظت در برابر شوک سرمایی: رقیق‌کننده باید اسپرم را در خلال سرد شدن (تا ۵ درجه سانتی‌گراد) در برابر شوک سرمایی محافظت کند. زرده تخم، شیر و لسی‌تین برای به حداقل رساندن شوک سرمایی استفاده می‌شوند.

۳- محافظت در برابر انجماد: چنانچه اسپرم‌ها در برابر انجماد محافظت نشده باشند با تشکیل کریستال‌های یخ در خلال فرایند انجماد دچار آسیب‌های ساختاری و نهایتاً مرگ خواهند شد. ترکیباتی مانند گلیسرول، دی‌متیل‌سولفوکساید و پروپاندیول با اتصال به مولکول‌های آب درون سلولی، اسپرم را آب‌گیری نموده موجب کاهش تشکیل کریستال‌های یخ می‌شوند.

۴- منبع انرژی: برای تامین نیازهای متابولیک اسپرم باید مواد مغذی مانند قندهای ساده (فروکتوز و گلوکز) زرده تخم مرغ و شیر به رقیق‌کننده اضافه شود.

۵- حفظ فشار اسمزی: غلظت اجزا تشکیل‌دهنده رقیق‌کننده منی مانند قندها و نمک‌ها باید به گونه‌ای تنظیم گردد که محیط اطراف اسپرم دارای اسمولاریته مشابهی با داخل سلول اسپرم باشد. به عبارت دیگر باید

1- Ultra high temperature (UHT)

محیط رقیق کننده ایزوتونیک باشد؛ زیرا در صورت کاهش فشار اسمزی محیط اطراف اسپرم و افزایش فشار اسمزی داخل سلول نسبت به خارج، مایعات وارد سلول شده و سلول متلاشی می گردد. محلول ۲/۹ درصد سیترات سدیم و محلول ۰/۲ مولار تریس برای این منظور به کار می روند.

۶- محافظت در برابر میکروارگانیزم ها: با اضافه نمودن انواعی از آنتی بیوتیک های موثر می توان از رشد و انتشار برخی عوامل بیماری زا و غیر بیماری زا در منی جلوگیری کرد. عوامل غیر بیماری زا موجب بیماری نمی شوند؛ با این حال با سلول های اسپرم برای استفاده از مواد مغذی محیط رقابت می کنند و به این صورت دارای اثرات منفی بر بقا اسپرم هستند. برخی از رایج ترین آنتی بیوتیک های مصرفی در رقیق کننده های منی عبارتند از: پنی سیلین، استرپتومایسین، جنتامایسین و تایلوزین.

۷- دارای خاصیت بافری: یکی از عوامل مهم که بقا اسپرم را متاثر می سازد میزان اسیدیته (pH) محیط پیرامون آن است. برای خنثی سازی اسیدلاکتیک حاصل از متابولیسم اسپرم و ثابت نگه داشتن pH از مواد بافر مانند سیترات سدیم، تریس و شیر استفاده می شود. در جدول ۴ و ۵ انواع ترکیب رقیق کننده منی گوسفند و در شکل ۳۰ نمونه هایی از رقیق کننده تجاری منی که بر پایه مواد طبیعی و مصنوعی ساخته شده اند نشان داده شده است.

جدول ۴- ترکیب چند رقیق کننده برای اسبوم گوسفند (منی مایع)

شیر (گرمادیده)		زده- گلوکز- سیرات		زده- تریس- فروکتوز	
مقدار	ترکیب	مقدار	ترکیب	مقدار	ترکیب
۱۰۰ میلی گرم	شیر هموئیزه	۲/۳۷ گرم	سدیم-سیرات	۳/۶۳۴ گرم	تریس آمینومتان
۱۰۰ میلی گرم	شیر پس چرخ	۰/۸ گرم	گلوکز	۰/۵ گرم	فروکتوز
		۲۰ میلی گرم	زده تخم مرغ	۱/۹۹ گرم	اسیدسیتریک
		۱۰۰ میلی لیتر	آب مقطر	۱۴ میلی گرم	زده تخم مرغ
				۱۰۰ میلی لیتر	آب مقطر

به ازای هر میلی لیتر رقیق کننده، ۱۰۰ واحد بین المللی پنی سیلین و ۱ میلی گرم استرپتومایسین یا ۳۰۰ میکروگرم لینکومایسین و ۶۰۰ میلی گرم اسپکتینومایسین افزوده می شود

جدول ۵- ترکیب رقیق کننده رایج برای انجماد اسپرم گوسفند

ترکیب	مقدار
تریس آمینومتان	۲۴/۲ گرم
اسیدسیتریک	۱۳/۶ گرم
فروکتوز	۱۰ گرم
گلیسرول	۶۴ میلی گرم
زرده تخم مرغ	۲۰۰ میلی گرم
آب مقطر	یک لیتر

به ازای هر میلی لیتر رقیق کننده، ۱۰۰ واحد بین المللی

پنی سیلین و ۱ میلی گرم استرپتومايسين يا

۳۰۰ میکروگرم لینکومايسين و ۶۰۰ میلی گرم اسپیکتینومايسين افزوده می شود.



شکل ۳۰- نمونه هایی از انواع رقیق کننده تجاری اسپرم

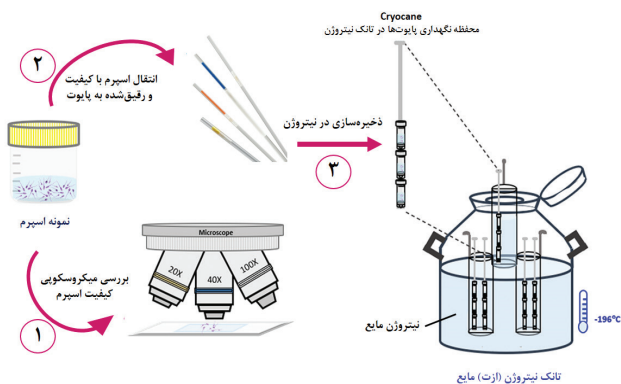
روش‌های ذخیره‌سازی اسپرم

اسپرم مورد استفاده در تلقیح مصنوعی شامل اسپرم تازه بدون مواد افزودنی، اسپرم تازه رقیق‌شده و اسپرم منجمد می‌باشد. اسپرم تازه بدون مواد افزودنی بلافاصله قبل از تلقیح مصنوعی از قوچ گرفته می‌شود و لازم است این اسپرم خیلی زود مورد استفاده قرار گیرد، در غیر این صورت شمار اسپرم‌های مرده افزایش یافته و درصد باروری کاهش می‌یابد. تلقیح مصنوعی با اسپرم تازه با محدودیت‌هایی از قبیل کمبود قوچ با ویژگی‌های ژنتیکی برتر در گله، مشکل در هم‌زمانی گرفتن اسپرم و تلقیح در گله، عدم امکان استفاده مفید از قوچ‌های برتر در سطح وسیع‌تر و محدودیت در حمل و نقل اسپرم مواجه است. برای تهیه اسپرم رقیق‌شده، منی را با نسبت‌های مختلف با رقیق‌کننده رقیق می‌کنند. منی تازه که در شرایط آزمایشگاهی رقیق می‌شود، صرف نظر از نوع رقیق‌کننده برای یک دوره ۵-۳ روزه در دمای اتاق قدرت باروری خود را حفظ خواهد نمود. در حالی که اسپرم در دم اپیدیدیم در همین محدوده دمایی تا هفته‌ها باروری خود را حفظ می‌نماید. از آنجا که هدف از ذخیره اسپرم، طولانی کردن ظرفیت باروری آن با کاهش یا متوقف ساختن تحرک و متابولیسم اسپرم

است، محققان در تلاش برای بازسازی این شرایط در آزمایشگاه، انواع مختلفی از روش ها و دماهای نگهداری را بررسی نموده اند. به طور کلی ذخیره اسپرم در گوسفند به دو روش مایع و منجمد انجام می شود. **ذخیره به صورت منجمد:** اسپرم منجمد به اسپرمی اطلاق می شود که در دمای ۷۹- درجه سانتی گراد (یخ خشک، الکل و سردخانه های مکانیکی) و یا دمای ۱۹۶- درجه سانتی گراد نیتروژن (ازت) مایع منجمد شده و در نهایت در مخزن حاوی نیتروژن مایع نگهداری می شود. این اسپرم به شکل یخ زده در اختیار دامدار قرار می گیرد تا در زمان تلقیح آن را یخ گشایی کرده و تلقیح انجام شود (شکل ۳۱). برای ذخیره منی باید سه عمل رقیق سازی، کاهش دما و پر کردن پایوت با منی انجام شود. رقیق سازی منی بلافاصله بعد از اسپرم گیری و ارزیابی اولیه آن انجام می شود. در مرحله بعد منی رقیق شده به پایوت های ۰/۲۵ یا ۰/۵ میلی لیتری منتقل می شود (شکل ۳۲). با انجام مکش، منی رقیق شده وارد پایوت شده و انتهای باز آن با پودر پلی وینیل الکل مسدود می شود. پایوت های محتوی منی به داخل ظروف آب ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل می گردد. سپس در مرحله سردسازی برای کاهش فعالیت متابولیکی اسپرم رقیق شده، این مجموعه را به یخچال منتقل کرده

تا دمای آن به ۵ درجه سانتی گراد برسد. دمای نمونه باید به تدریج و طی ۴-۱ ساعت از ۳۰ درجه سانتی گراد تا ۱۵ و یا اغلب تا ۵ درجه سانتی گراد کاهش یابد. پس از اتمام دوره سردسازی پایوت‌های حاوی منی رقیق شده را بر روی یک سطح پایه‌دار شناورکننده (رک^۱) به صورت افقی چیده و آن را به گونه‌ای روی ظرف حاوی نیتروژن مایع قرار می‌دهند که فاصله پایوت‌ها از سطح نیتروژن مایع ۴-۶ سانتی‌متر باشد (شکل ۳۳). بعد از ۱۰-۸ دقیقه قرارگیری در بخار نیتروژن مایع دمای پایوت‌ها به ۸۰- تا ۱۰۰- درجه سانتی‌گراد می‌رسد. سپس پایوت‌های منجمد شده به تانک نیتروژن مایع منتقل می‌شوند (شکل ۳۴). برای استفاده از منی منجمد شده برای تلقیح مصنوعی باید پایوت حاوی اسپرم گرم (یخ‌گشایی) شود. گرم کردن اسپرم منجمد برای تلقیح، کار بسیار حساسی است. اگر گرم کردن در حرارت مناسب صورت نگیرد موجب مرگ اسپرم‌ها می‌شود. به این منظور بعد از بیرون آوردن پایوت از تانک نیتروژن مایع، به مدت ۴۰-۳۰ ثانیه در آب ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شوند. سپس پایوت را خشک کرده و لبه پرس شده آن را با قیچی بریده و در داخل تفنگ تلقیح قرار می‌دهند.

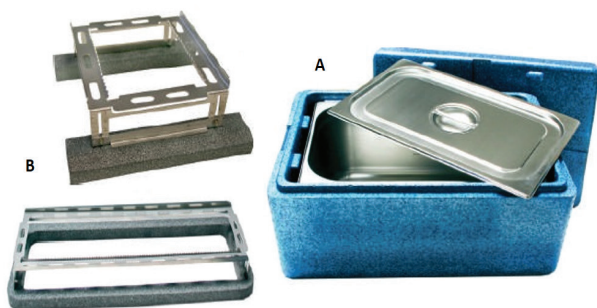
1- Rack



شکل ۳۱- تصویر شماتیک فرآیند انجماد اسپرم



شکل ۳۲- پایوت (نی) ذخیره سازی اسپرم



شکل ۳۳ - A: جعبه مخصوص انجماد اسپرم. بدنه از جنس فوم پلی استایرن و محفظه داخلی استیل و B: رک مخصوص شناورسازی پایوت در نیتروژن مایع. داخل جعبه با نیتروژن مایع پر شده و رک در آن قرار می گیرد. پایوت‌ها بر روی رک چیده شده و ارتفاع آن‌ها از سطح نیتروژن مایع قابل کنترل است. پس از انجماد در بخار نیتروژن مایع، پایوت‌ها را به صورت دستی در نیتروژن مایع غوطه‌ور می کنند.



شکل ۳۴ - تانک نیتروژن مایع در اندازه‌های مختلف

ذخیره به صورت مایع: منی مایع، منی رقیق شده ای است که از زمان آماده سازی تا تلقیح به حالت مایع می ماند. در این حالت رقیق کننده باید بتواند ویژگی های منی را برای ۲-۴ روز حفظ نماید. برای ذخیره منی مایع هم باید سه عمل رقیق سازی، کاهش دما و پر کردن پایوت با منی انجام شود. مراحل رقیق سازی و سردسازی مطابق روش منی منجمد است. پس از مرحله سردسازی و رسیدن دمای منی به ۵ درجه سانتی گراد، پایوت ها تا زمان مصرف در این دما نگهداری شوند. برای تلقیح مصنوعی، پایوت های محتوی منی را در تفنگ تلقیح قرار داده و تلقیح را انجام می دهند. حداکثر مدت نگهداری برای بدست آوردن باروری مناسب در قوچ ۲۴ ساعت می باشد؛ زیرا اسپرم سرد شده توان تحرک کافی برای رسیدن به محل لقاح را ندارد، بنابراین بهتر است منی سرد شده تا ۵ درجه سانتی گراد را در فاصله ۶-۱۲ ساعت استفاده نمود. اما اگر این اسپرم با روش لاپاراسکوپی در نزدیک محل لقاح تخلیه شود حتی تا روز ششم ذخیره سازی هم قدرت باروری مناسبی نشان می دهد.

The background features abstract geometric shapes. In the top right, there are red triangles and a grey diamond. In the bottom left, there is a large red triangle. The text is centered in the middle of the page.

فصل چهارم

روش‌های تلقیح مصنوعی



ساختار سرویکس گوسفند

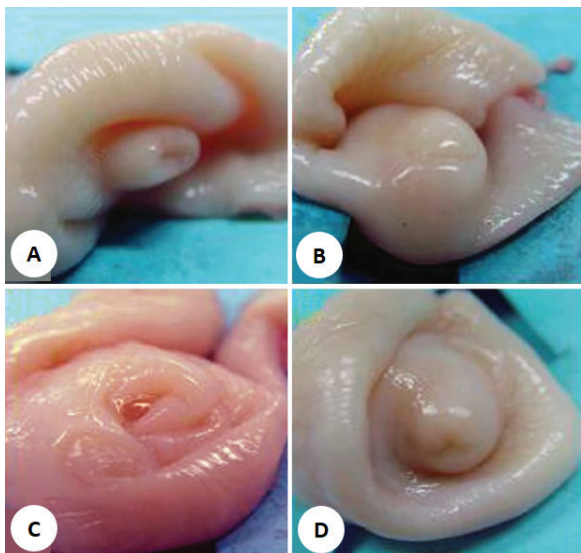
ساختار آناتومیک سرویکس در گوسفند دارای یک ویژگی منحصر به فرد است که به طور معمول مانع از تلقیح مصنوعی از طریق سرویکس می‌شود. براساس مطالعات بافت‌شناسی، بخش داخلی سرویکس از ۷-۴ حلقه تشکیل شده است که به عنوان سدی در برابر ورود عوامل خارجی عمل می‌کنند. معمولاً امتداد حلقه دوم یا سوم برخلاف مسیر حلقه اول است. علاوه بر این، مجرای سرویکس در سه حلقه اول سطوح باریکی دارد و تفنگ تلقیح مصنوعی به ندرت بیش از یک سانتی‌متر در آن نفوذ می‌کند. بنابراین حلقه‌های داخل سرویکس مهم‌ترین مانع در برابر انجام تلقیح مصنوعی هستند. اندازه سرویکس گوسفند نسبت به بقیه نشخوارکنندگان بزرگتر و پیچیده‌تر می‌باشد. طول سرویکس تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند جثه، نژاد، تعداد زایش، سن و شرایط فیزیولوژیک حیوان قرار دارد. با افزایش سن و تعداد زایش طول و قطر سرویکس افزایش می‌یابد و در نژادهای کوچک جثه، طول سرویکس کوتاه‌تر است. میانگین طول کانال سرویکس ۷/۷-۶/۵ سانتی‌متر می‌باشد. اگرچه طول سرویکس در دامنه ۱۰-۵ سانتی‌متر است که

نشان‌دهنده وجود تفاوت بسیار میان میش‌ها و در فصول مختلف است. محققان دهانه سرویکس را بر اساس شکل ظاهری به چند دسته تقسیم کرده‌اند که در شکل ۳۵ نشان داده شده است. در میش‌های بالغ نوع رز و در بره‌ها نوع پاپیلا متداول است. علاوه بر این عمق نفوذ به سرویکس تحت تاثیر آناتومی سرویکس است. سرویکس‌ها بر اساس میزان نفوذ به سه دسته تقسیم می‌شوند (شکل ۳۶).

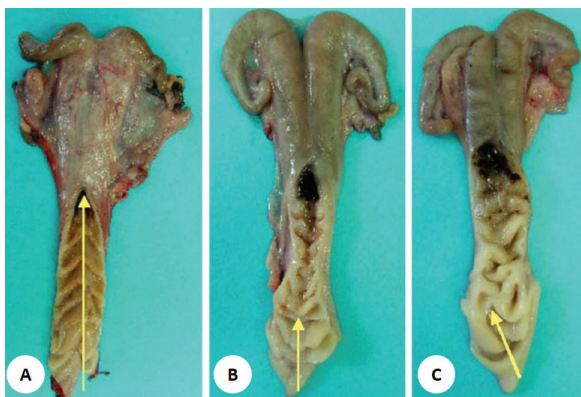
سرویکس نوع A: دارای حلقه‌های کامل در امتداد بدنه سرویکس بوده و حلقه‌ها هیچ‌گونه تداخلی با هم نداشته و مسیر سرویکس باز است. در این نوع سرویکس عبور تفنگ تلقیح به راحتی صورت می‌گیرد و بیشترین نفوذ به سرویکس مربوط به این دسته است.

سرویکس نوع B: این نوع سرویکس ترکیبی از حلقه‌های کامل و ناقص است که با هم تداخل دارند و در برخی نقاط منجر به مسدود شدن مسیر سرویکس می‌شود.

سرویکس نوع C: در این نوع سرویکس حلقه‌ها کاملاً از نوع ناقص بوده و تمام مسیر سرویکس مسدود شده است. در نوع B و C عبور تفنگ تلقیح تقریباً غیرممکن است.



شکل ۳۵- اشکال مختلف دهانه سرویکس گوسفند، A: دوکی، B: شکاف دار، C: رز، D: پاپیلا



شکل ۳۶- دسته‌بندی انواع سرویکس بر اساس میزان نفوذ به آن

عبور از سد سرویکس

همان طور که گفته شد، اغلب حلقه دوم یا سوم سرویکس نسبت به دهانه سرویکس در یک خط مستقیم قرار ندارند و سبب ممانعت از نفوذ تفنگ تلقیح مصنوعی به درون سرویکس و رحم می شود. در هر صورت برای حل این مشکل باید از سد سرویکس عبور نمود. سه روش برای کاهش اثرات سد سرویکس برای تلقیح مصنوعی میش معرفی شده است:

روش اول: روش فیزیکی است که اساس آن عبور از سرویکس با اعمال نیروی فیزیکی است.

روش دوم: روش مکانیکی است که اساس آن طراحی انواع تفنگ تلقیح مصنوعی ترانس سرویکال است. تحریک سرویکس و استفاده از تفنگ های سفت و غیر منعطف برای تلقیح ممکن است سبب ایجاد زخم در سرویکس و رحم شود و در نتیجه اثراتی منفی بر اسپرم اعمال می شود. ایجاد تنش در سرویکس سبب تولید مواد ضد اسپرم و ضد رویان شده و در نتیجه باروری کاهش می یابد، هرچند تحریکی که منجر به ایجاد زخم نشود مضر نیست.

روش سوم: روش شیمیایی است که در آن برای باز کردن سرویکس از هورمون‌ها و مواد بازکننده سرویکس استفاده می‌شود. استفاده از مواد بازکننده سبب کاهش زخم شدن سرویکس در هنگام تلقیح مصنوعی ترانس سرویکال می‌شود و سرعت عمل را در هنگام تلقیح افزایش می‌دهد. از طرفی به راحتی، با سرعت بالا و بدون نیاز به جراحی می‌توان تلقیح درون رحمی را در گوسفند انجام داد.

روش‌های تلقیح مصنوعی در گوسفند

امروزه تلقیح مصنوعی گوسفند در سرتاسر جهان به صورت گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش‌های مختلفی برای تلقیح مصنوعی در میش معرفی شده‌اند که شامل تلقیح مصنوعی به روش‌های واژینال^۱، ترانس سرویکال^۲ و لاپاراسکوپی^۳ می‌باشند که بسته به شرایط موجود مثل نوع اسپرم، دارای بازده تولید مثلی متفاوتی می‌باشند. در جدول ۶ به طور مختصر مزایا و معایب روش‌های مختلف تلقیح مصنوعی مقایسه شده است. در ادامه به معرفی روش‌های مختلف تلقیح مصنوعی در گوسفند می‌پردازیم.

1- Vaginal artificial insemination

2- Transcervical artificial insemination

3- Laparoscopic artificial insemination

جدول ۶- مقایسه روش های تلقیح مصنوعی

درصد باروری		معایب	مزایا	روش تلقیح
اسپرم تازه		اسپرم منجمد		
۵	۴۵-۶۵	- بازده پایین در کاربرد منی منجمد	- عدم نیاز به تجهیزات ویژه و نیروی متخصص	تلقیح واژینال
		- نرخ آبستنی پایین	- عملیات سریع و کم هزینه	
۲۰-۳۰	۵۰-۶۵	- نیاز به تجهیزات و نیروی متخصص	- امکان استفاده از منی سرد شده و منجمد	تلقیح سرویکال
		- نیاز به تجهیزات و نیروی متخصص	- نیاز به مقادیر کمتر منی نسبت به روش واژینال	
۲۰-۵۰	۴۵-۷۰	- نیاز به تجهیزات و نیروی متخصص	- نرخ آبستنی بالاتر نسبت به روش واژینال	تلقیح لاپار اسکوپي
		- عملیات وقت گیر	- امکان استفاده از منی منجمد	
		- ایجاد تنش در دام	- نرخ آبستنی بالا	

تلقیح مصنوعی به روش واژینال

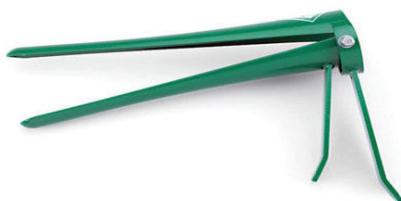
تلقیح واژینال اولین روش تلقیح مصنوعی در گوسفند است. در این روش تمام اسپرم درون واژن و نزدیک دهانه سرویکس تخلیه می‌شود و به همین علت درصد باروری اسپرم منجمد در این روش پایین است. اما هنگام استفاده از اسپرم تازه و رقیق شده درصد باروری خوبی دارد. علت درصد باروری پایین اسپرم منجمد، نرسیدن اسپرم کافی به محل لقاح است. اسپرم باید از سد سرویکس عبور کند و چون سرویکس در اینجا به منزله یک مانع عمل می‌کند، درصد اسپرم رسیده به محل لقاح کاهش می‌یابد. علاوه بر این غشا اسپرم هنگام انجماد آسیب می‌بیند و باعث کاهش تحرک اسپرم و همچنین کاهش درصد اسپرم زنده می‌شود. در نتیجه اسپرم کمی قادر به رسیدن به محل لقاح است، بنابراین درصد لقاح و باروری کاهش می‌یابد. در هنگام تلقیح به روش واژینال ابتدا با استفاده از چهارپایه‌ای به نام خرک، میش در موقعیتی قرار داده می‌شود که قسمت تحتانی بدن بالاتر قرار گیرد. یعنی میش را از ناحیه کمر بلند کرده و از خرک رد می‌نمایند، به طوری که اندام حرکتی عقبی و اندام تناسلی میش در یک طرف و در موقعیت بالاتر از بقیه بدن قرار گیرند (شکل ۳۷). سپس با استفاده از ابزاری به نام اسپکولوم که دارای یک قسمت ثابت و یک قسمت متحرک است دهانه واژن باز می‌شود (شکل ۳۸). برای این کار ابتدا

اسپکولوم به مواد لغزنده کننده آغشته می شود تا ورود آن به واژن آسان تر شود. پس از ورود اسپکولوم به واژن، با فشار دادن قسمت متحرک آن واژن باز می شود و محیط درونش مشخص می شود. برای داشتن دید بهتر، منبع نوری به اسپکولوم متصل می شود و با نور تابیده شده از آن، محیط درون واژن بهتر مشاهده می شود. باز کردن واژن به منظور پیدا کردن دهانه سرویکس می باشد که به صورت یک برجستگی در انتهای واژن قرار دارد (شکل ۳۹). پس از پیدا کردن دهانه سرویکس تفنگ تلقیح وارد واژن می شود و اسپرم در ابتدای دهانه سرویکس تخلیه می شود. انواع مختلف تفنگ تلقیح در شکل ۴۰ نمایش داده شده است.

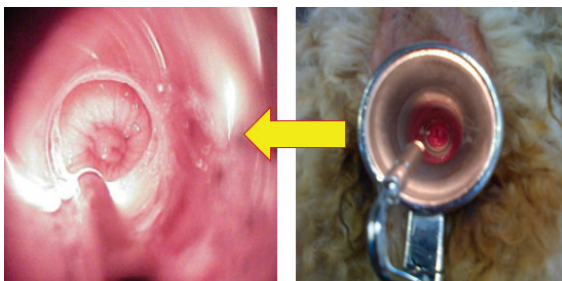
این روش در مقایسه با سایر روش ها به مقدار بیشتری منی نیاز دارد؛ زیرا محیط واژن چندان برای بقا اسپرم ها مساعد نیست. بر این اساس چنانچه از منی تازه استفاده می شود باید از حجم بیشتری از منی برای تلقیح استفاده کرد. این محدودیت برای منی منجمد که اسپرم ها در آن به طور طبیعی دارای قدرت بقا و تحرک کمتری نسبت به منی تازه هستند شدیدتر است. بر این اساس میزان باروری حاصل از این روش کاملاً متغیر است. معمولاً اجرای این روش توصیه نمی شود، ولی در مواردی که زمان و امکانات از عوامل محدود کننده هستند می توان از آن استفاده نمود. مقدار منی مورد نیاز در این روش ۰/۵-۰/۳ میلی لیتر می باشد.



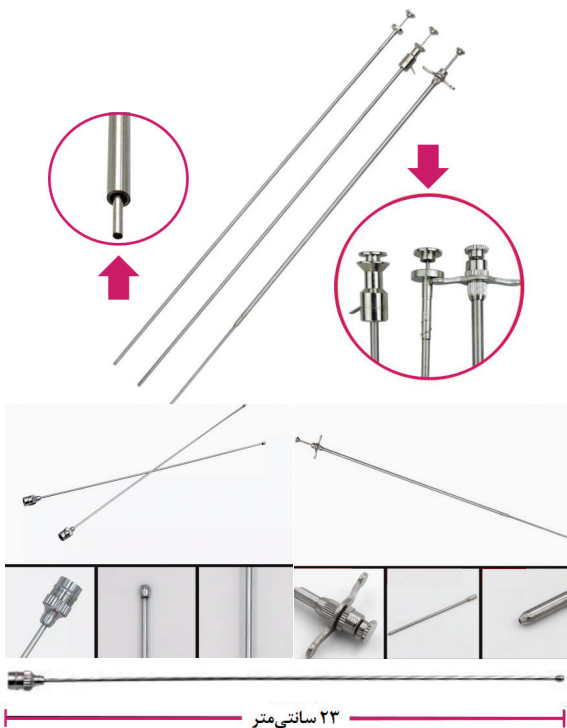
شکل ۳۷- نحوه اجرای تلقیح واژینال



شکل ۳۸- اسپکولوم



شکل ۳۹- اسپیکولوم در واژن و نمایی از دهانه سرویکس از درون اسپیکولوم



شکل ۴۰- انواع تفنگ تلقیح مصنوعی در گوسفند

تلقیح مصنوعی به روش ترانس سرویکال

در این روش نیز با استفاده از اسپکولوم دهانه واژن باز می‌شود و محیط داخل واژن معاینه می‌شود. پس از پیدا کردن دهانه سرویکس تفنگ مخصوص تلقیح را از راه واژن وارد سرویکس کرده و اسپرم در میانه سرویکس یا ابتدای رحم تخلیه می‌شود. در میش نفوذ تفنگ به درون سرویکس بیش از ۱-۲ سانتی‌متر امکان‌پذیر نمی‌باشد. بنابراین این روش در هنگام استفاده از منی تازه رقیق‌شده یا رقیق‌نشده توصیه می‌شود. تلقیح داخل سرویکس با منی تازه اگر به طور صحیح انجام شود دارای باروری رضایت‌بخشی است، اما میزان موفقیت تلقیح داخل سرویکس با استفاده از منی منجمد کم و در حدود ۳۰-۵۰ درصد است.

در این روش میش بر روی یک جایگاه مهار می‌گردد. به طوری که تهیگاه دام در مقابل فرد تلقیح‌کننده قرار می‌گیرد (شکل ۴۱). در این حالت از یک اسپکولوم با منبع نوری برای مشاهده مسیر حرکت تفنگ تلقیح و ورودی سرویکس استفاده می‌شود. برای این منظور اسپکولوم را تا عمق حدود ۱۲ سانتی‌متری به داخل واژن دام وارد می‌کنند و سپس آن را ۹۰ درجه می‌چرخانند و دهانه آن را باز می‌نمایند. با مشخص شدن منفذ سرویکس که غالباً به سمت خارج برجستگی دارد، تفنگ تلقیح را تا آنجا که مقاومتی قوی در

برابر آن حس نشود وارد منفذ سرویکس می نمایند. سپس اسپکولوم خارج می شود تا بعد از تخلیه منی، باز بودن ناحیه واژنی موجب برگشت منی و خروج آن از واژن نگردد. در برخی موارد ممکن است منفذ سرویکس در ناحیه ای قرار گرفته باشد که قابل مشاهده نباشد یا با ترشحات واژنی پوشیده شده باشد. در این حالت می توان با کمی تغییر موقعیت ناحیه خلفی دام این منفذ را مشاهده کرد. لازم به ذکر است چنانچه قبل از انجام تلقیح، دام ادرار نماید باید ادرار را از داخل واژن تخلیه کرد و واژن را با محلول نمکی یا شیر مورد شستشو قرار داده و خشک نمود (شکل ۴۲).



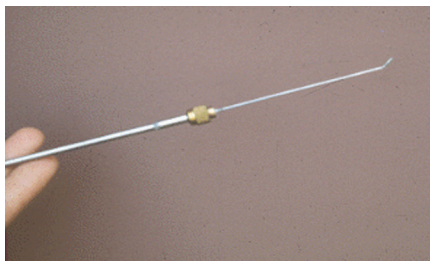
شکل ۴۱- تخت مخصوص تلقیح ترانس سرویکال: میش فحل به حالت خوابیده به پشت روی تخت مقید می شود.



شکل ۴۲- تلقیح ترانس سرویکال: اسپکولوم درون واژن قرار داده می‌شود. بوسیله پنس حلقه دهانه سرویکس گرفته و کشیده می‌شود. در این حالت کانال سرویکس مستقیم شده و اجازه عبور تفنگ تلقیح را می‌دهد.

دو روش تلقیح واژینال و ترانس سرویکال شباهت‌های زیادی با هم دارند و فقط در محل تخلیه اسپرم با هم تفاوت دارند. در روش ترانس سرویکال اسپرم در سرویکس تخلیه می‌شود، در نتیجه نسبت به روش واژینال اسپرم بیشتری به جایگاه لقاح می‌رسد. با این حال اجرای روش ترانس سرویکال نسبت به روش واژینال مشکل‌تر است؛ زیرا ساختار آناتومیک سرویکس گوسفند به گونه‌ای است که عبور تفنگ تلقیح از سرویکس را مشکل کرده و حتی ممکن است حین تلقیح مصنوعی به سرویکس آسیب برسد. برای غلبه بر این مشکل دو راهکار وجود دارد که عبارتند از:

۱. کاربرد بعضی داروها مانند هورمون اکسی توسین که تزریق آن باعث باز شدن سرویکس می شود.
۲. کاربرد نوع خاصی از تفنگ تلقیح مصنوعی که انعطاف پذیر است و راحت تر به درون سرویکس هدایت می شود. تفنگ تلقیح مصنوعی گولف در سال ۱۹۸۰ و در دانشگاه گولف^۱ کانادا به منظور تسهیل در تلقیح ترانس سرویکال طراحی شد. این تفنگ تلقیح به دلیل نازک بودن و خمیدگی در سر، دارای توانایی ورود به سرویکس می باشد. طول تفنگ ۹ سانتی متر است و ۸ میلی متر از سر آن دارای یک خمیدگی با زاویه ۴۵ درجه می باشد که به علت داشتن این خمیدگی نفوذ به سرویکس آسان تر می شود. نفوذ به سرویکس با تفنگ دارای خمیدگی نسبت به تفنگ مستقیم بیشتر بوده و این حرکت باعث رسیدن اسپرم بیشتر به منطقه لقاح و در نتیجه بالا رفتن درصد باروری می شود (شکل ۴۳). برای استفاده از تفنگ تلقیح مصنوعی گولف از یک تخت مخصوص استفاده می شود که گوسفند روی آن به صورت وارونه قرار می گیرد. با انجام این کار دسترسی به سرویکس و انجام تلقیح راحت تر می شود. سپس توسط اسپیکولوم دهانه سرویکس را پیدا کرده و با تفنگ مخصوص گولف تلقیح انجام می شود (شکل ۴۴).



شکل ۴۳- تفنگ تلقیح ترانس سرویکال (تفنگ گولف)

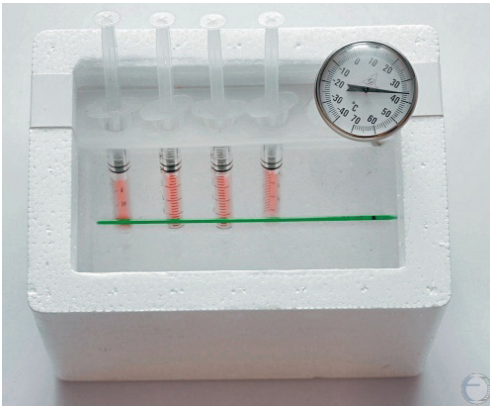


شکل ۴۴- تلقیح مصنوعی به روش ترانس سرویکال

تلقیح مصنوعی ترانس سرویکال به روش RamGo



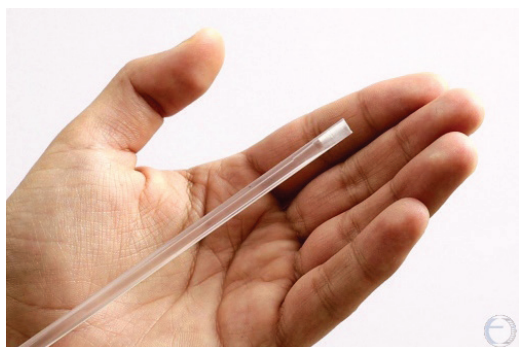
۱- ابزار تلقیح مصنوعی ترانس سرویکال از بالا به پایین شامل: جعبه یخ گشایی از جنس فوم پلی استایرن، اسپکولوم (واژینوسکوپ)، تفنگ مخصوص، پایوت ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی لیتری. پیت سرماریچی. سرنگ ۴ میلی لیتری حاوی محلول فعال کننده منی.



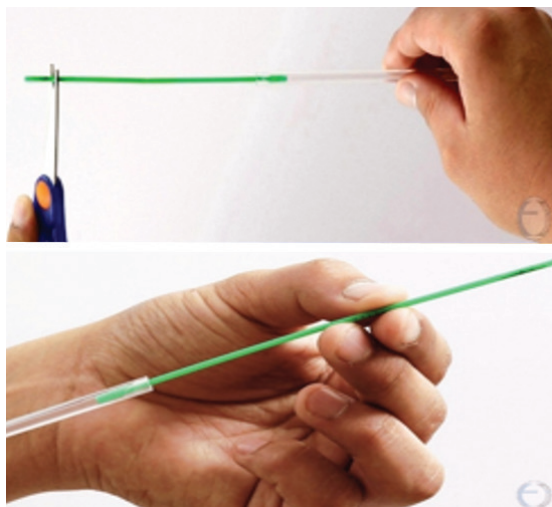
۲- سرنگ محتوی محلول فعال کننده به همراه پایوت منی منجمد به مدت ۲-۳ دقیقه در آب گرم ۳۵-۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده می شوند. مهم است که هر دو محلول در زمان تلقیح هم دما باشند.



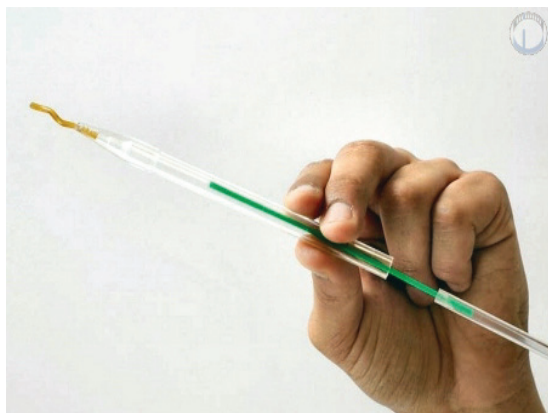
۳- سرنگ محتوی محلول فعال کننده از آب گرم خارج شده و خشک می شود. کلاهک سرنگ را برداشته و تفنگ تلقیح به آن متصل می شود. تفنگ در قفل لوئر سرنگ قرار گرفته و با چرخاندن آن محکم می شود.



۴- محلول فعال کننده به آرامی از درون سرنگ به داخل تفنگ تلقیح و تا ۲/۵ سانتی متری لبه انتهایی آن تخلیه می شود. مراقب باشید محلول از تفنگ سرریز نشود.



۵- انتهای بسته شده پایوت اسپرم یخ گشایی شده را با قیچی ببرید و سپس پایوت را به تفنگ تلقیح متصل کنید.



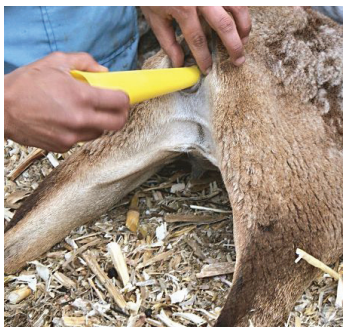
۶- پیپت سرماریچی را بر روی پایوت منی قرار دهید.



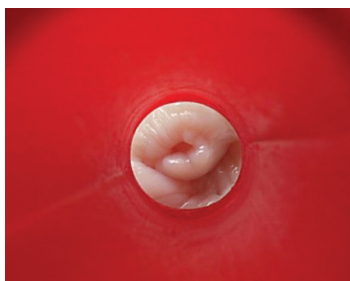
۷- پیت سر ماریچی به طور کامل روی پایوت محکم می‌شود، به‌طوری که محل اتصال پایوت و تفنگ تلقیح را کاملاً پوشش می‌دهد.



۸- تفنگ تلقیح ابداعی آماده است.



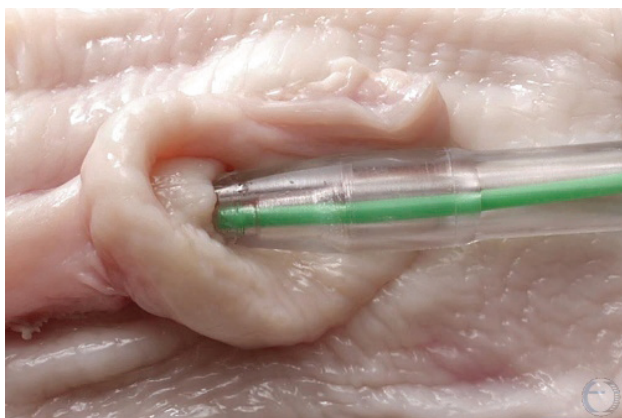
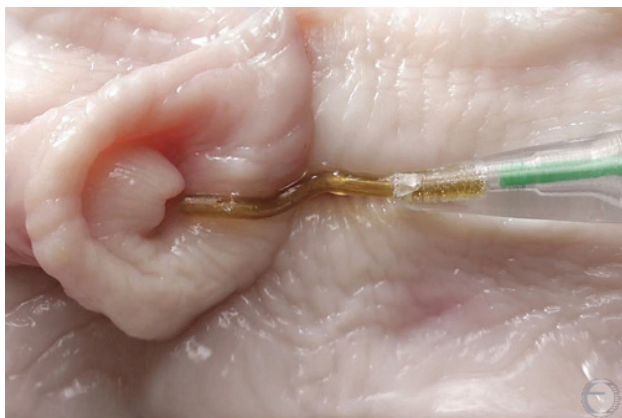
۹- میش فحل به حالت خوابیده روی سینه قرار گرفته و پاهای عقب باز می شود. اسپکولوم آغشته به ژل لوبریکنت وارد واژن می شود.



۱۰- نمایی از دهانه ورودی سرویکس از درون اسپکولوم.



۱۱- تفنگک تلقیح مصنوعی از راه اسپکولوم به درون واژن هدایت شده و در دهانه سرویکس قرار می گیرد.



۱۲- نوک پیت مارپیچی به داخل دهانه سرویکس فشرده می شود و با پیچاندن و چرخاندن آن به درون سرویکس پیشروی انجام می شود. ورود به داخل سرویکس تا زمانی ادامه می یابد که تفنگ تلقیح به سدی که مانع حرکت شود برخورد نماید.



۱۳- محلول فعال کننده درون سرنگ را به آرامی به داخل تفنگ تخلیه کرده تا بوسیله فشاری که این محلول وارد می کند اسپرم درون پایوت به داخل سرویکس تخلیه شود. ۵-۱۰ ثانیه منتظر شده و بعد اقدام به خارج کردن تفنگ تلقیح از درون واژن می نمایند.

اسپکولوم دیجیتال مجهز به دوربین و صفحه نمایش



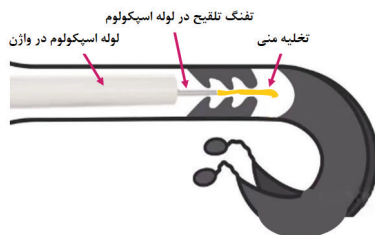
روش کار با اسپکولوم دیجیتال



۱- لوله اسپکولوم وارد واژن می شود و توسط صفحه نمایش محل سرویکس شناسایی می شود.



۲- تفنگ تلقیح وارد لوله اسپکولوم می شود و به داخل سرویکس هدایت می شود.



۳- اسپرم به درون سرویکس تلقیح می شود.

تلقیح مصنوعی به روش لاپاراسکوپی

تلقیح لاپاراسکوپی روشی جدید و پربازده برای تلقیح مصنوعی در گوسفند است که به وسیله جراحی، اسپرم درون شاخ‌های رحم تخلیه می‌شود. استفاده از تلقیح داخل رحمی به روش لاپاراسکوپی و استفاده از منی یخ‌گشایی شده موجب دستیابی به میزان لقاح قابل قبولی گردیده است. در تلقیح مصنوعی به روش لاپاراسکوپی برای دسترسی به رحم و نیز خالی بودن شکمبه در حین عمل، در حدود ۲۴-۳۶ ساعت قبل از تلقیح به گوسفندان گرسنگی داده و ۱۲-۱۸ ساعت نیز از خوردن آب جلوگیری می‌شود. در این صورت با کاهش محتویات اندام‌های گوارشی حجم شکمبه و به دنبال آن میزان نشخوار کردن دام کاهش می‌یابد. وقتی گوسفند به صورت وارونه بر روی تخت قرار می‌گیرد، در صورت پر بودن شکمبه امکان برگشت مواد غذایی از شکمبه و احتمال خفگی و مرگ حیوان وجود دارد. گوسفند را به پشت روی تخت مخصوص تلقیح مصنوعی خوابانده و دست‌ها و پاها بسته می‌شود تا گوسفند بر روی تخت ثابت شود. این تخت قابلیت این را دارد که از یک طرف بالا می‌آید و در نتیجه سر گوسفند با یک زاویه ۷۰-۶۰ درجه پایین‌تر از بدن قرار می‌گیرد. لازم است حداقل دو تخت مخصوص جراحی فراهم شود؛

زیرا زمانی که فرد عامل، تلقیح یک میش را انجام می‌دهد باید میش‌های دیگر آماده شوند تا سرعت کار افزایش یابد. پس از بستن گوسفند به تخت با ماشین اصلاح، پشم‌های اطراف پستان گوسفند و ۱۰-۱۲ سانتی‌متر ابتدای ناحیه پایین شکم تراشیده می‌شود. چرک و چربی پوست در ناحیه پشم‌چینی شده باید با صابون شسته شده و با مواد ضدعفونی‌کننده نظیر بتادین یا الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شود تا از عفونت‌های احتمالی جلوگیری نماید.

برای کاهش احساس درد و آرامش عمومی گوسفند به مدت ۳۰-۴۵ دقیقه، داروهای آرامش‌بخش نظیر زایلازین^۱ یا آسپرومازین^۲ به صورت ماهیچه‌ای تزریق می‌شود تا به هنگام جراحی گوسفند آرام بماند و با انجام حرکات اضافی کار را مشکل نکند. میزان مصرف دارو بر اساس دوز مجاز مصرفی آن است که به صورت معمول در برگه شناسایی دارو درج شده است. در این مرحله تخت جراحی به صورت عمودی و با زاویه ۴۵ درجه نسبت به زمین قرار داده می‌شود، به طوری که سر دام به طرف زمین باشد. در این وضعیت اندام‌های شکمی در ناحیه قدامی قرار دارد و امکان مشاهده مثانه، راست‌روده و رحم بهتر میسر می‌شود (شکل ۴۵).

1- Xylazine

2- Acepromazine



شکل ۴۵- تخت مخصوص لاپاراسکوپی

برای انجام لاپاراسکوپی و ورود تروکار^۱، شکم از دو ناحیه سوراخ می‌شود. محل سوراخ اول حدود ۸ سانتی‌متر زیرپستان چپ و محل سوراخ دوم حدود ۵ سانتی‌متر در سمت راست سوراخ اول می‌باشد. این دو ناحیه با اسکالپر علامت‌گذاری می‌شود. سپس داروی بی‌حسی موضعی مانند هیدروکلرید لیگنوکائین ۲ درصد به میزان ۴-۲ میلی‌لیتر به صورت زیرجلدی در دو نقطه علامت‌گذاری‌شده تزریق می‌شود. در زمان تزریق باید از نزدیکی به رگ‌های خونی اصلی جدا خودداری نمود. سپس توسط تروکار سوراخ‌ها ایجاد می‌شوند. تروکار گاز^۲ از طریق یکی از سوراخ‌ها وارد شده و گاز دی‌اکسید کربن در محوطه شکمی تزریق

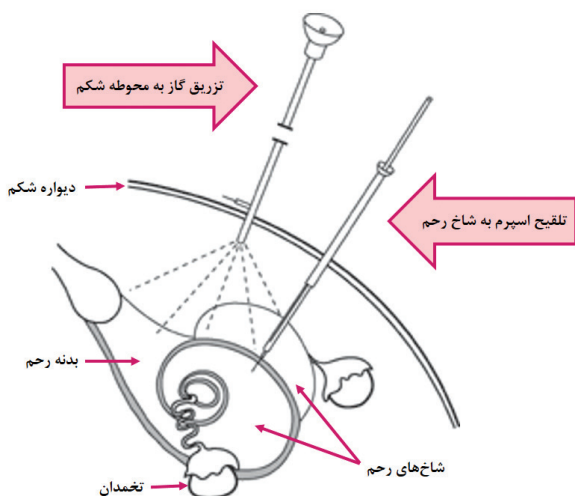
1- Trocar

2- Gas trocar

می شود. حفره صفاقی باید به دقت با گاز باد شود؛ زیرا برای دیدن محتویات شکم به مقدار کمی هوا نیاز می باشد. باد کردن بیش از حد شکم سبب ناراحتی دام می شود. بعد از این مراحل هر دو تروکار خارج شده و چشمی لاپاراسکوپی از طریق یکی از سوراخ ها وارد محوطه شکمی می شود. این چشمی دارای فیبر نوری متصل به منبع نور می باشد و با استفاده از آن محل استقرار اندام های داخلی بررسی شده و شاخ رحم پیدا می شود (شکل ۴۶). رحم غالباً در ناحیه زیرین مثانه قرار دارد. بعد از آنکه موقعیت رحم مشخص شد، از سوراخ دیگر تفنگ تلقیح وارد شده و سوزن آن وارد شاخ رحم می شود و نیمی از اسپرم تخلیه می شود. سپس شاخ بعدی را پیدا کرده و باقیمانده اسپرم در آن شاخ تخلیه می شود. بعد از تلقیح، تفنگ تلقیح و سپس لاپاراسکوپ خارج می شود و با خارج شدن گازهای شکمی، ناحیه عمل بخیه زده می شود و برای جلوگیری از ابتلا به عفونت از آنتی بیوتیک استفاده می شود. مقدار منی برای تلقیح داخل رحمی ۰/۲۵ میلی لیتر به ازای هر شاخ رحم توصیه می شود. یک گروه با تجربه و مجهز قادر خواهند بود با این روش روزانه بیش از ۳۰۰ راس گوسفند را تلقیح نمایند. تصویر شماتیک وقایع تلقیح لاپاراسکوپی در شکل ۴۷ نشان داده شده است.



شکل ۴۶- دستگاه لاپاراسکوپی و اجزای آن



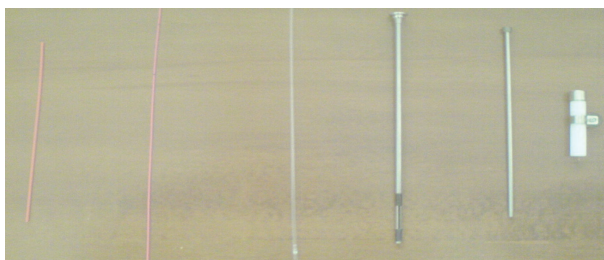
شکل ۴۷- تصویر شماتیک وقایع تلقیح لاپاراسکوپی

انواع تفنگ تلقیح در لاپاراسکوپی

تفنگ تلقیح اولیه: این تفنگ از لوله باریکی تشکیل شده که یک سمت آن سوزن (کانولای تزریق) و سمت دیگر آن متصل به سرنگ می‌باشد. منی یخ‌گشایی شده، به یک لوله آزمایش منتقل شده و در حمام آب گرم ۳۸ درجه سانتی‌گراد برای مدت محدودی بین ۱۰-۱ دقیقه نگه‌داری می‌شود. سوزن تفنگ در لوله آزمایش فرو برده می‌شود و با سرنگ به میزان لازم اسپرم آسپیره می‌گردد. آسپیره کردن به صورتی است که اول کمی هوا آسپیره می‌شود. بعد کمی اسپرم، دوباره هوا و باز نیم دیگر اسپرم آسپیره می‌شود. در این صورت اسپرم در لوله تفنگ به دو قسمت تقسیم می‌شود که در میان دو قسمت مقداری هوا قرار می‌گیرد و در هنگام تلقیح با فشار سرنگ نیمی از اسپرم در یک شاخ و نیم دیگر در شاخ مجاور تخلیه می‌شود.

تفنگ تلقیح فرانسوی: این تفنگ ابزار جدیدتری است که محصول شرکت IMV می‌باشد. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود پایوت اسپرم مستقیماً در داخل لوله باریک پلاستیکی قرار می‌گیرد که در انتها به یک سوزن تخلیه متصل شده است. پایوت اسپرم در این لوله قرار می‌گیرد و با حرکت دادن غلتک تفنگ و فرو رفتن لوله مخصوص در پایوت، اسپرم تخلیه می‌شود. در این روش اسپرم از

پایوت مستقیماً وارد شاخ‌های رحم می‌شود و در نتیجه از آلودگی‌های احتمالی جلوگیری می‌شود (شکل ۴۸).



تفنگ لاپاراسکوپی محصول شرکت IMV قبل از آماده شدن



تفنگ لاپاراسکوپی IMV آماده



تفنگ ساده لاپاراسکوپی



کانولای تزریق در تفنگ لاپاراسکوپی

شکل ۴۸- انواع تفنگ تلقیح لاپاراسکوپی

مراحل تلقیح مصنوعی به روش لاپاراسکوپی



۱- بستن گوسفند به تخت لاپاراسکوپی



۲- پشم چینی و ضد عفونی کردن محل جراحی



۳- ایجاد بی حسی موضعی با تزریق مواد بی حس کننده



۴- علامت گذاری با اسکالپر



۵- سوراخ کردن دیواره شکم توسط تروکار در دو محل علامت گذاری



۶- تزریق گاز به محوطه شکم از طریق یکی از سوراخها



۷- بررسی محل قرارگیری رحم توسط چشمی لاپاراسکوپ و تلقیح
اسپرم به درون شاخ رحم



۸- مشاهده شاخ های رحم توسط چشمی لاپاراسکوپ



۹- تخلیه اسپرم به درون شاخ رحم توسط تفنگ لاپاراسکوپی

زمان تلقیح

برای موفقیت در تلقیح مصنوعی باید از طول فحلی، زمان تخمک‌ریزی و تنظیم زمان مناسب تلقیح آگاه بود. زمان تلقیح مصنوعی با توجه به روش تلقیح متفاوت است. زمانی که همزمان‌سازی فحلی در گله وجود دارد، دیگر نیازی به تشخیص فحلی با قوچ فحل‌یاب نیست و تلقیح در زمانی مشخص بعد از همزمان‌سازی صورت می‌گیرد. البته زمان تخمک‌ریزی در بین افراد گله با توجه به فصل و استفاده از ECG یا اثر نر در تحریک فحلی و تخمک‌ریزی متفاوت است. در مجموع تخمک‌ریزی در محدوده زمانی کوتاهی برای اغلب حیوانات اتفاق می‌افتد.

زمانی که از ترکیب پروژسترون و ECG و قوچ فحل‌یاب به تعداد ۱۰-۵ درصد گله برای همزمان‌سازی فحلی استفاده می‌شود، اکثر میش‌ها ۳۶-۴۸ ساعت بعد از بیرون کشیدن اسفنج پروژسترونی فحل می‌شوند و تخمک‌ریزی هم ۶۰ ساعت بعد رخ می‌دهد. در روش‌های مختلف تلقیح، زمان تلقیح متفاوت است. مناسب‌ترین زمان برای تلقیح واژینال و سرویکال ۴۸-۵۷ ساعت بعد از بیرون کشیدن اسفنج پروژسترونی است. اگر قرار است میش‌ها برای دومین بار تلقیح شوند، اولین تلقیح باید ۴۸ ساعت پس از برداشتن اسفنج و تلقیح بعدی باید ۱۲ ساعت بعد از آن

صورت گیرد. نتیجه عمومی تلقیح مضاعف افزایش ۱۰-۵ درصدی میزان آبستنی و افزایش قابلیت تکثیر می باشد. توصیه می شود تلقیح بره میش ها ۵۰ ساعت بعد از برداشت اسفنجه صورت گیرد؛ زیرا بره میش ها زودتر از میش های بالغ وارد فحلی می شوند. اگر اسفنجه بدون تزریق eCG برای همزمان سازی فحلی استفاده شود، تلقیح ۴۸-۵۷ ساعت بعد از اسفنجه برداری صورت می گیرد. در تلقیح به روش لاپاراسکوپی، مناسب ترین زمان برای تلقیح ۶۶-۶۰ ساعت بعد از برداشتن اسفنجه پروژسترونی است.

- ۱) خالداری، مجید. (۱۳۸۴). اصول پرورش گوسفند و بز. انتشارات جهاد دانشگاهی.
- ۲) دقیق کیا، حسین. غلامعلی مقدم. غلامرضا وفاپی سیاح. (۱۳۹۱). فیزیولوژی تولید مثل در حیوانات مزرعه‌ای. انتشارات دانشگاه تبریز.
- ۳) دیدار خواه، مسعود. (۱۳۹۶). مروری اجمالی بر روش‌های مختلف همزمان‌سازی فحلی و تحریک تخمک‌ریزی در نشخوارکنندگان. مجله ایمنی زیستی. دوره ۱۰. شماره ۴.
- ۴) زارع شحنه، احمد. حسن صادقی پناه. (۱۳۸۸). آناتومی و فیزیولوژی حیوانات اهلی. نشر آبیژ.
- ۵) صفدریان، مظاهر. (۱۳۸۵). تلقیح مصنوعی گوسفند و بز. موسسه آموزش عالی علمی- کاربردی جهاد کشاورزی.
- ۶) ضمیری، محمدجواد. (۱۳۸۵). فیزیولوژی تولید مثل. انتشارات حق شناس.
- ۷) علوی شوشتری، سید مرتضی. (۱۳۹۶). مامایی و بیماری‌های تولید مثل گوسفند و بز. انتشارات معتبر.
- ۸) قزوينيان، خسرو. عباس جواهری وایقان. مهرداد ایرانی. (۱۳۷۹). فیزیولوژی تولید مثل و تلقیح مصنوعی کاربردی در گوسفند و بز. انتشارات دانشگاه سمنان.
- ۹) کرمی شبانکاره، حامد. محمدحامد شهنساری. (۱۳۹۲). فناوری‌های تولید مثلی در نشخوارکنندگان مزرعه‌ای. انتشارات دانشگاه رازی.
- ۱۰) نیاورانی، احمد. محمد رخشان. (۱۳۸۵). فیزیولوژی پزشکی گایتون. نشر سمات.
- 11) Anel, L., Kaabi, M., Abroug, B., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, J.C., Fuente, L.F.d.l., Paz, P.d. (2005). Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. Theriogenology 63, 1235-1247.
- 12) DeRossi, R., Carneiro, R.P.B., Ossuna, M.R., Zanenga, N.F., Alves, O.D., Jorge, T.P., Costa-e-Silva, E.V., Vasconcelos, J. (2009). Sub-arachnoid ketamine administration combined with or without misoprostol/oxytocin to facilitate cervical dilation in ewes: A case study. Small Rumin Res 83, 74-78.

- 13) Donovan, A., Hanrahan, J.P., Kummen, E., Duffy, P., Boland, M.P. (2004). Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed semen at a natural or synchronised oestrus. *Anim Reprod Sci* 84, 359-368.
- 14) Fair, S., Hanrahan, J.P., O'Meara, C.M., Duffy, P., Rizos, D., Wade, M., Donovan, A., Boland, M.P., Lonergan, P., Evans, A.C.O. (2005). Differences between Belclare and Suffolk ewes in fertilization rate, embryo quality and accessory sperm number after cervical or laparoscopic artificial insemination. *Theriogenology* 63, 1995-2005.
- 15) Kaabi, M., Alvarez, M., Anel, E., Chamorro, C.A., Boixo, J.C., de Paz, P., Anel, L. (2006). Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: A postmortem study. *Theriogenology* 66, 1876-1883.
- 16) Kershaw, C.M., Khalid, M., McGowan, M.R., Ingram, K., Leet-hongdee, S., Wax, G., Scaramuzzi, R.J. (2005). The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology* 64, 1225-1235.
- 17) Maxwell, W.M., Evans, G., Mortimer, S.T., Gillan, L., Gellatly, E.S., McPhie, C.A. (1999). Normal fertility in ewes after cervical insemination with frozen-thawed spermatozoa supplemented with seminal plasma. *Reprod Fertil Dev* 11, 123-126.
- 18) Naqvi, S.M., Pandey, G.K., Gautam, K.K., Joshi, A., Geethalakshmi, V., Mittal, J.P. (2005). Evaluation of gross anatomical features of cervix of tropical sheep using cervical silicone moulds. *Anim Reprod Sci* 85, 337-344.
- 19) Wulster-Radcliffe, M.C., Wang, S., Lewis, G.S. (2004). Trans-cervical artificial insemination in sheep: effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rates. *Theriogenology* 62, 990-1002.