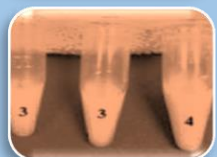




تلقیح مصنوعی در ماکیان



نویسندگان

نادر اسدزاده علی هاتفی رضا مسعودی

عنوان: تلقیح مصنوعی در ماکیان

نویسندگان: نادر اسدزاده، علی هاتفی، رضا مسعودی

نویسنده مسئول: رضا مسعودی

صفحه آرا: علی هاتفی

مدیر داخلی: ویدا همتی

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

ناشر: نشر آموزش کشاورزی

شمارگان: ۱۰۰۰

نوبت چاپ: اول / ۱۴۰۴

قیمت: ۱۰۰۰۰۰ تومان

مسئولیت صحت مطالب با نویسندگان است

شماره ثبت در مرکز نوآوری و اطلاع رسانی کشاورزی ۶۷۷۰۰ در تاریخ ۱۴۰۴/۶/۵ است.

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

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



خلاصه

این تحقیق مروری بر انجام تلقیح مصنوعی در پرندگان می‌باشد. تلقیح مصنوعی بیشتر در مرغ‌های مادر گوشتی و بوقلمون‌ها انجام می‌شود. انجام این کار به پیشرفت کارهای اصلاح نژادی بسیار کمک می‌کند. منی طیور نسبت به منی گاو سریع‌تر از بین می‌رود، بنابراین، ذخیره آن به صورت منجمد مقرون صرفه‌تر است. با این وجود، اسپرم پرندگان نسبت به فرایند انجماد بسیار حساس است. مراحل تلقیح مصنوعی شامل اسپرم‌گیری، ارزیابی نمونه، نگهداری و تلقیح است و نگهداری منی مهمترین مرحله در تلقیح مصنوعی است. اولین بار، اسپرم‌گیری از خروس به روش غیر تهاجمی در سال ۱۹۳۷ توسط کوئین و باروس مورد بررسی و پژوهش قرار گرفت. برای ذخیره اسپرم از رقیق کننده‌ها استفاده می‌شود. pH از خصوصیات مهم رقیق کننده است. رقیق کننده‌ها بر اساس غلظت بالای گلوتامات ساخته می‌شوند. منی را بر اساس رنگ، تحرک اسپرم، تعداد اسپرم و سایر ویژگی‌ها ارزیابی می‌کنند. برای باروری بهینه در ماکیان تعداد ۱۰۰ میلیون اسپرم در هر نمونه در نظر گرفته می‌شود. از عوامل مهم در موفقیت تلقیح مصنوعی، زمان تلقیح است. برای نگهداری منی به صورت منجمد از رقیق کننده‌های فراوانی استفاده می‌شود که پرکاربردترین آن‌ها گلیسرول می‌باشد. فرایند انجماد زنده‌مانی و قدرت باروری اسپرم را کاهش می‌دهد اما نسبت به نگه داشتن پرندۀ نر، هزینه کمتری دارد.

کلمات کلیدی

خروس، بوقلمون، اسپرم، منی، رقیق کننده، انجماد، جنیندگی، قابلیت زنده‌مانی، تلقیح مصنوعی



فهرست مطالب

۵.....	مقدمه
۹.....	جمع‌آوری اسپرم در طیور
۱۳.....	رقیق کننده‌های منی
۱۸.....	نتایج استفاده از رقیق کننده‌ها توسط محقق
۱۹.....	ارزیابی اسپرم جمع‌آوری شده
۲۰.....	• رنگ منی
۲۱.....	• تحرک اسپرم
۲۴.....	• تعداد اسپرم
۲۸.....	• زنده‌مانی اسپرم
۳۱.....	تعداد و حجم اسپرم برای هر بار تلقیح
۳۴.....	زمان تلقیح
۳۷.....	تلقیح مصنوعی
۴۰.....	• تلقیح مصنوعی برای پرندگان شرطی نشده
۴۱.....	• تلقیح مصنوعی در پرندگان شرطی شده
۴۲.....	ذخیره اسپرم به صورت مایع
۴۴.....	نگهداری اسپرم به صورت منجمد
۴۸.....	• روش‌های انجماد
۵۰.....	• تحقیق انجام شده در ایران بر تأثیر رقیق کننده‌ها بر اسپرم خروس‌های بومی فارس
۵۲.....	نتایج اقتصادی تلقیح مصنوعی
۵۸.....	پیشنهادهای:
۶۰.....	منابع



مقدمه

تلقیح مصنوعی^۱ به عنوان یک راهکار مؤثر در استفاده از اسپرم جنس نر را به حساب می‌آید (۳). اولین بار، ایوانف تلقیح مصنوعی را در پرندگان اهلی انجام داد (۷). در اغلب موارد تلقیح مصنوعی به صورت تجاری برای مرغ‌های مادر با ژن کوتولگی و در بوقلمون‌ها انجام می‌شود و به ندرت برای سایر مرغ‌های مادر که در قفس پرورش پیدا می‌کنند استفاده می‌شوند. تلقیح مصنوعی به طور معمول در گله‌های لاین خالص استفاده می‌شود. این روش در گله‌های تخم‌گذار به دلیل عدم امتیاز در افزایش میزان باروری استفاده‌ای ندارند و به آمیزش طبیعی اکتفا می‌شود (۲).

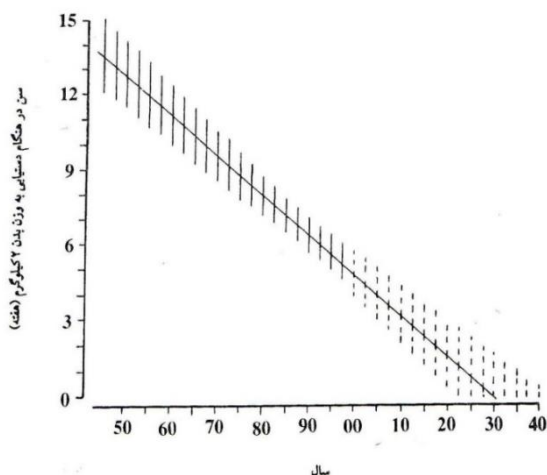
یکی از مزایای تلقیح مصنوعی استفاده بیشتر از خروس‌های ممتاز و باروری بهتر است، به علاوه در چنین شرایطی مقدار مصرف خوراک کاهش یافته و تخم‌مرغ تمیزتر و با کیفیت‌تری تولید می‌شود (۴). از معایب تلقیح مصنوعی در شرایط پرورش تجاری و در مقیاس وسیع حفظ راندمان تلقیح و نیروی کار لازم برای تلقیح است، در حالی که پرورش مرغ‌های سنگین در قفس مشکلات دیگری از جمله جراحات کف پا و اختصاص مقدار خوراک را به همراه دارد (۴).

در روند اصلاح نژاد بوقلمون‌ها که بر اساس وسعت و حجم سینه انتخاب می‌شوند، بوقلمون‌هایی تولید شدند که بسیار سنگین وزن شدند (در نژادهای سفید بزرگ که می‌تواند

¹ Artificial insemination



متجاوز از ۳۳ کیلوگرم باشد) (۷). میزان باروری در این بوقلمون‌های سینه پهن اصلاح شده بسیار کاهش یافت، و در نتیجه از تلقیح مصنوعی در این پرنده‌ها به صورت تجاری استفاده شد (۷). تلقیح مصنوعی به صورت گسترده در مرغ مادر گوشتی و بوقلمون‌ها انجام می‌شود و در سایر گونه‌های اهلی استفاده چندانی ندارد. همچنین گزارش شده است که این روش در پرنده‌های وحشی مانند مرغ ماهی‌خوار، باز پرگرین، کرکس کالیفرنیا، و درنای فریادکش سودمند بوده است (۵). با توجه به انجام برنامه‌های اصلاح نژادی و پیشرفت در زمینه علوم تغذیه‌ای در مرغ مادر گوشتی، افزایش وزن بدن آن‌ها باعث کاهش میزان جفت‌گیری و باروری شده است (نگاره ۱). لذا تلقیح مصنوعی باعث افزایش بازدهی تولید مثل در گله‌های مرغ مادر می‌شود (۲).

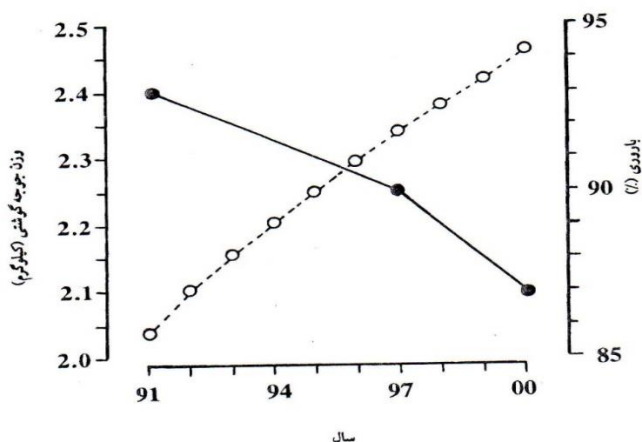


نگاره ۱- مدت زمان مورد نیاز برای تولید یک جوجه گوشتی به وزن دو کیلوگرم، از حدود ۱۲ هفته در سال ۱۹۵۰ به کمتر از ۶ هفته در سال ۱۹۹۵ کاهش یافته است. پیش‌بینی می‌گردد که در سال ۲۰۲۵، جوجه‌ها در روز پس از خروج از تخم، با وزن دو کیلوگرم به بازار عرضه خواهند شد. خطوط ممتد و منقطع به ترتیب میانگین محدوده تاریخی و پیش‌بینی شده را نشان می‌دهند (اقتباس از منبع ۱).



با این حال تکنیک پیچیده و هزینه زیاد تا کنون مانع از گسترش کاربرد تلقیح مصنوعی گردیده است. یکی دیگر از موانع گسترش این روش در گذشته تخریب سریع و کاهش باروری اسپرم به هنگام ذخیره سازی بوده است. امروزه با استفاده از روش های پیشرفته که طی آن اسپرم به مدت ۲۴ ساعت بدون کاهش قدرت باروری ذخیره می شود به ترویج استفاده از تلقیح مصنوعی در زنجیره تولید طیور کمک نموده است. در حال حاضر، مراکزی در جهان وجود دارد که اسپرم را به نقاطی که فاصله آن ها از مراکز مزبور کمتر از ۲۴ ساعت می باشد، منتقل می کنند (۱). لذا دارندگان مزارع پرورش مرغ مادر و اجداد گوشتی، می توانند به جای نگهداری یا انتقال خطوط نرهای مولد، از مراکز فوق اسپرم تهیه کنند. در نتیجه هزینه ها کاهش می یابند و کارهای اصلاح نژادی با دقت بیشتری انجام می شود (۲). در دیگر گونه ها نیز تلقیح مصنوعی باعث شده است برخی از مشکلات اقتصادی کاهش یابد. مثلاً در پرورش مرغ شاخ دار به طور طبیعی هر پرنده نر با تعداد کمی از پرندگان ماده و حدود ۲ الی ۳ پرنده ارتباط دارد. پس برای کاهش هزینه های نگهداری پرندگان نر در واحدهای تجاری از تلقیح مصنوعی استفاده می شود. در مزارع پرورش اردک نیز که از اردک نژاد Muscovy و اردک های معمولی استفاده می شود برای هر ۷ الی ۱۰ پرنده ماده یک پرنده نر اختصاص داده می شود که نتیجه آن کاهش باروری است. چنانچه تعداد پرنده ماده به ۴ قطعه کاهش یابد، میزان باروری حدود ۴۰ درصد افزایش می یابد ولی هزینه ها بسیار افزایش می یابد، بنابراین برای کاهش هزینه و افزایش باروری می توان از روش هایی چون تلقیح مصنوعی استفاده کرد (نگاره ۲).

²-Guinea fowl



نگاره ۲ - این نمودار، افزایش پیش‌بینی شده در وزن جوجه‌های گوشتی در سن شش‌هفتگی (خط منقطع) و کاهش مرتبط در میزان باروری خروس‌های گله مادر گوشتی (خط ممتد) را نشان می‌دهد. رابطه منفی بین میزان باروری و وزن بدن، موجب کاهش باروری از ۹۳ به درصد در فاصله سال‌های ۱۹۹۱ و ۲۰۰۰ گردید، با این حال با استفاده از برنامه‌های به‌گزینی که سبب تعادل بین اشتیاق جهت دستیابی به رشد سریع با نیاز به حفظ سطوح بالای باروری می‌شوند، می‌توان میزان کاهش در امر باروری را به حداقل رساند (اقتباس از منبع ۲).

مراحل تلقیح مصنوعی شامل اسپرم‌گیری، ارزیابی نمونه، نگهداری و تلقیح است و استفاده از روش مناسب و دقت در انجام هر یک از مراحل، نقش بسزایی در کارایی تلقیح مصنوعی دارد (۳). نگهداری منی مهمترین مرحله در تلقیح مصنوعی است. با توجه به فاصله زمانی بین اسپرم‌گیری و تلقیح، داشتن یک محیط مناسب برای نگهداری اسپرم‌ها، با استفاده از رقیق‌کننده‌ها، امکان‌پذیر می‌باشد (۷).

از دهه ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰، پیشرفت‌های فراوانی برای نگهداری منی و رقیق‌کننده‌ها حاصل شده است، اما روش‌های پایه‌ای در دهه ۱۹۳۰ پایه‌گذاری شد (۵). رقیق‌کننده‌ها، محلول‌های



نمکی بافری هستند که برای افزایش حجم منیتقسیم آسان نمونه برای تلقیح، آسان شدن ارزیابی، حمل و نقل، زنده نگهداشتن اسپرم بیرون از بدن، و افزایش تعداد تلقیح استفاده می شود (۵).

جمع آوری اسپرم در طیور

بر خلاف این که عملیات اسپرم گیری مصنوعی شباهتی به حالت طبیعی ندارد مشخص نیست چرا پرنده های نر با این روش اسپرم دهی می کنند (۴). جمع آوری اسپرم از پرندگان نر در گونه هایی مانند ماکیان، بوقلمون، مرغ شاخدار، قرقاول و بلدرچین با ماساژ دادن ناحیه شکمی امکان پذیر است. اسپرم گیری از خروس به روش غیر تهاجمی در سال ۱۹۳۷ توسط کوئین و باروس تشریح شد (۵). به این صورت که خروس را مهار کرده و سینه اش را روی یک سطح (میز یا زانوی شخص اسپرم گیرنده) قرار می دهند. سپس خیلی آرام با یک دست حفره بطنی ماساژ داده می شود و با دست دیگر ناحیه پشت به سمت کلوک با سرعت ثابت ماساژ داده می شود (۳). با توجه به تفاوت بین خروس های مختلف بعد از ۳ تا ۶ مرحله ماساژ دادن برجستگی جنسی بزرگ شده و در این زمان شخص اسپرم گیرنده با انگشت سبابه و شست طرفین کلوک را فشار ملایمی می دهد (۷). این فشار ملایم باعث خروج اسپرم از کانال دفران می شود و به صورت مایع شفاف از میان چین خوردگی های فالیک به بیرون جاری می شود و منی با مکش در داخل لوله ای در بسته جمع آوری می شود (۱).



نگاره ۳- نحوه مهار کردن خروس جهت جمع‌آوری منی

در بوقلمون نیز برای اسپرم‌گیری علاوه بر موارد فوق اطراف کلواک هم باید ماساژ داده شود (۵).



نگاره ۴- جهت جمع‌آوری منی از بوقلمون



در پرندگان نری که تمرین قبلی داشته‌اند، چین خوردگی‌های فالیک با دو یا سه بار ماساژ بیرون آمده و در اکثر اوقات برای خروج اسپرم کافی است. معمولاً در آغاز باید در خلال ۷ الی ۱۰ روز ۳ الی ۴ بار تمرین و اسپرم جمع‌آوری شود تا از تولید منی عاری از آلودگی به ادرار و مدفوع مطمئن شد (۲).

در اردک Muscovy استفاده از مهبل مصنوعی نتایج بهتری را ارائه داد (۹). در واقع در اردک و غاز به هنگام جفت‌گیری طبیعی از واژن مصنوعی استفاده می‌شود (۲).



نگاره ۵- نحوه مهار کردن اردک جهت جمع‌آوری منی

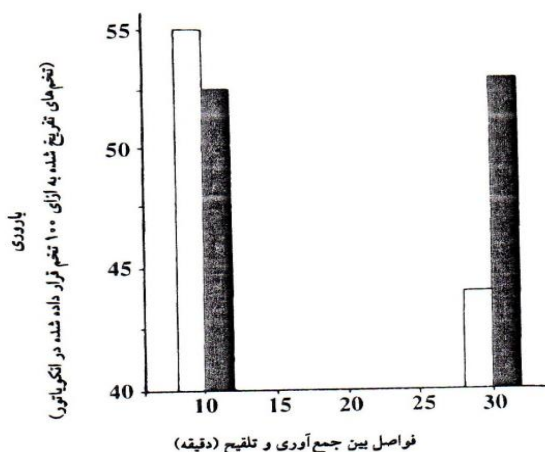
برای پرندگانی که حجم منی تولیدی آن‌ها کم است، شخص اسپرم گیرنده باید فالوس را برگرداند و از ابزار مکش برای جلوگیری از بین رفتن منی در سطح فالوس استفاده شود (۹).



اگر اسپرم بلافاصله به درون آمپول‌هایی که حاوی رقیق کننده لازم هستند و دمای آن ۱۵ درجه سانتی‌گراد است اسپیره شود، ۳ مزیت را دارا می‌باشد (۴):

۱- اسپرم بلافاصله وارد رقیق کننده‌ای می‌شود که دارای درجه حرارت ثابت است و با سطح سرد ظرف جمع‌آوری تماس پیدا نمی‌کند (۸).

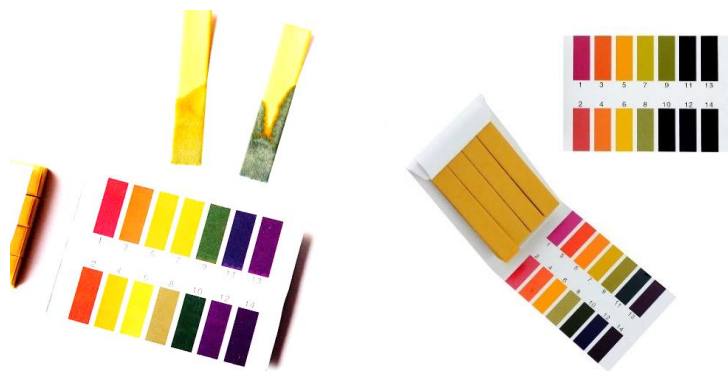
۲- رقیق کننده دارای ترکیبی است که تولیدات اسیدی ناشی از متابولیسم اسپرم را خنثی می‌کند. محیط اسیدی برای اسپرم طیور سمی است و رقیق کننده نقش بافری دارد (نگاره ۶).



نگاره ۶- این نمودار تناسب بین جنین‌های تفریخ شده از تخم‌هایی را که به دنبال تلقیح با مایع منی رقیق شده (ستون پر) و خالص (ستون خالی) مورد انکوباسیون قرار گرفته بودند، در مرغ شاخدار را نشان می‌دهد. مایع منی بعد از جمع‌آوری، رقیق شده و در مدت ۱۰ دقیقه یا پس از ۳۰ دقیقه، تلقیح گردید (اقتباس از منبع ۲).



۳- حجم اسپرم پرندگان بسیار کم است. لذا حجم اسپرم رقیق شده برای حداکثر کردن باروری مناسب می باشد.



نگاره ۷- سنجش pH توسط روش رنگ سنجی

رقیق کننده های منی

رقیق کننده ها محلول های نمکی بافری هستند که برای افزایش حجم منی، نگهداری اسپرم ها در آزمایشگاه و افزایش تعداد تلقیح استفاده می شوند (۷). در سال های اخیر، پیشرفت های زیادی در زمینه تولید رقیق کننده های منی و روش های نگهداری منی ماکیان انجام شده است. اما روش اصلی جمع آوری منی، همان روش مالش شکمی است که در سال ۱۹۳۰ ابداع شد (۵).

در ساخت رقیق کننده ها و پیشرفت روش های نگهداری برای منی ماکیان، تفاوت های فیزیولوژیکی و نیازهای متابولیکی اسپرم گونه های مختلف اهمیت دارد. مثلاً اسپرم ها بوقلمون برای زنده ماندن به سطوح بالاتری از اکسیژن نیاز دارد (۵).



اساس ساختن رقیق‌کننده‌ها، ترکیب بیوشیمیایی اسپرم است (۸). اسید گلوتامیک مهم‌ترین جزء آنیونیک پلاسمای منی طیور است (۶) و بر همین اساس اکثر رقیق‌کننده‌ها با اقباس از غلظت بالای گلوتامات و تراکم پایین ال کارنیتین در پلاسمای منی تهیه شده‌اند (۲). در چنین رقیق‌کننده‌هایی سرعت کاهش باروری اسپرم نسبت به اسپرم‌هایی که رقیق نشده‌اند بسیار کمتر است (۸).

منع انرژی برای اسپرم‌های ماکیان و بوقلمون فروکتوز و گلوکز است، بنابراین، دو قند نامبرده در رقیق‌کننده‌ها برای مدت ۴۸ ساعت در نظر گرفته می‌شوند (۲).

برای کاهش و متعادل نمودن یون هیدروژن در اطراف اسپرم از بافرهایی مانند^۳TES و^۴BES و نمک‌های فسفات که در pH های بین ۶/۸ و ۷/۵ عمل می‌کند، در سطح بسیار وسیع استفاده می‌شود (جدول ۱ و ۲) (۳).

^۳- N-Tris (hydroxymethyl) methyl-2-amino ethanesulphonic acid

^۴ - N, N-bis (2-hydroxymethyl)-2-aminoethanesulphonic acid



جدول ۱- فرمول ترکیب محلول‌های رقیق کننده مایع منی برای بهینه کردن باروری در ماکیان (اقتباس از منبع ۱)

محلول رقیق کننده پراساس پیشنهاد				ترکیب
Chaudhuri و Lake ۲ (۱۹۸۸)	Sexton (۱۹۷۷)	Lake و Ravie (۱۹۷۹)	Van Wambeke ۱ (۱۹۷۲)	
-	-	-	۷/۷	سیترات سدیم با ۲ مولکول آب (گرم)
-	-	-	۱/۳	اسیدسیتریک (گرم)
-	۸/۶۷	۱۵/۲	۲۰/۱	گلوکزامات سدیم با ۱ مولکول آب (گرم)
۶/۰	-	۶/۰	۲۰/۱	گلرکزیا با ۱ مولکول آب (گرم)
-	-	-	۲۰۰	شیر بدون چربی (میلی لیتر)
-	-	-	۱۵۰	سفیده تخم مرغ (میلی لیتر)
-	۰/۶۴	۱/۲۸	-	سیترات پتاسیم با ۱ مولکول آب (گرم)
-	-	۳۰/۵	-	BES ^۳ (گرم)
-	-	۰/۸	-	استات منیزیم با ۴ ملکول آب (گرم)
۲۷/۵	-	۵۸	-	سود ۱ مولار (میلی لیتر)
-	۴/۳۰	-	-	استات سدیم با ۳ ملکول آب (گرم)
-	۰/۳۴	-	-	کلرومنیزیم با ۶ ملکول آب (گرم)
-	۱۲/۷	-	-	هیدروژن فسفات پتاسیم دی‌بازیک (گرم)
-	۰/۶۵	-	-	هیدروژن فسفات پتاسیم منویازیک (گرم)
-	۵/۱۰	-	-	فروکتوز با ۱ ملکول آب (گرم)
۱۳/۷۴	۱/۹۵	-	-	TES ^۴ (گرم)
۸/۰	-	-	-	کلور سدیم (گرم)
۱/۰	-	-	-	مخلوط آنتی‌بیوتیک ^۵ (میلی لیتر)
۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	حجم کل (میلی لیتر)
۷/۴	۷/۵	۷/۰۵	۶/۳	PH
۳۸۲	۳۳۳	۴۱۱	۴۶۰	فشار اسمزی

- (۱) این رقیق کننده را می‌توان متجمد و خشک نمود و سپس در صورت نیاز، دوباره ترکیب کرد.
- (۲) فرمول این رقیق کننده برای نگهداری و ذخیره مایع منی در دمای ۴۰- تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد.
- (۳) N-۲N- بیس (۲- هیدروکسی اتیل) -۲- آمینواتان سولفونیک اسید.
- (۴) N-تریس (هیدروکسی متیل) متیل -۲- آمینواتان سولفونیک اسید.
- (۵) ۰/۲۵ گرم استرپتومایسین و ۰/۳ پتی سیلین حل شده در ۵ میلی لیتر.



جدول ۲ - فرمول ترکیب محلول‌های رقیق کننده برای بهینه کردن باروری در بوقلمون (اقتباس از منبع ۱)

محلول رقیق کننده براساس پیشنهاد				
ترکیب	Van Wambeke (۱۹۷۲)	Lake و Ravie (۱۹۸۲)	Sexton (۱۹۸۰)	Lake و همکاران (۱۹۸۴)
سیرات سدیم با ۲ مولکول آب (گرم)	۷/۷	-	-	-
اسیدسیتریک (گرم)	۱/۳	-	-	-
گلوتامات سدیم با ۱ مولکول آب (گرم)	۲۰/۱	۱۹/۲	۹/۶۳	۱۱/۰
گلوتکزیا ۱ ملکول آب (گرم)	۲۰/۱	۳/۶	-	۳/۶
شیر بدون چربی (میلی لیتر)	۲۰۰	-	-	-
سفیده تخم مرغ (میلی لیتر)	۱۵۰	-	-	-
سیرات پتاسیم با ۱ مولکول آب (گرم)	-	۲/۲	۰/۷۱	۱/۲۸
BES ^۱	-	۱۸/۹	-	۳۰/۵
استات سدیم بدون آب (گرم)	-	۲/۰	-	۱/۴۶
استات منیزیم با ۴ مولکول آب (گرم)	-	۱/۰۵	-	۰/۸
سود ۱ مولار (میلی لیتر)	-	۳۶/۰	-	۵۶/۰
استات سدیم با ۳ مولکول آب (گرم)	-	-	۴/۷۸	-
کلرومنیزیم با ۶ مولکول آب (گرم)	-	-	۰/۳۸	-
هیدروژن فسفات پتاسیم دی‌بازیک (گرم)	-	-	۱۴/۱	-
هیدروژن فسفات پتاسیم متوایزیک (گرم)	-	-	۰/۷۲	-
فروکتوز با ۱ مولکول آب	-	-	۵/۵۵	-
هیدروژن فسفات سدیم دی‌بازیک (بدون آب) (گرم)	-	-	-	۱/۳۶
حجم کل (میلی لیتر)	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
PH	۶/۳	۷/۱۳	۷/۵	۷/۱
نشار اسمزی	۴۶۰	۲۰۶	۳۶۶	۴۰۲

(۱) N, N- بیس (۲) هیدروکسی اتیل) -۲- آمینواتان سولفونیک اسید.

متابولیسم هوازی اسپرم، مستلزم هوادهی مناسب به منی است که به وسیله قرار دادن منی رقیق شده در فلاکس انجام می‌شود. برای افزایش نسبت سطح به حجم برای اکسیژن دهی فلاکس را روی یک قسمت چرخنده و لیزان قرار می‌دهند (۶). و یا این که ظرف مورد نظر به صورتی است که دارای سطح وسیعی باشد (۲). با به هم زدن فلاکس اکسیژن به قسمت‌های زیرین هم می‌رسد. در حال حاضر، روش‌های دیگری برای افزایش



و کنترل اکسیژن دهی به منی در حال بررسی است که شامل افزودن ترکیبات شیمیایی بر پایه فلور، ترکیبات کیلات اکسیژن و توسعه کپسول‌های کنترل محیطی است که این کپسول‌ها غلظت و دمای اکسیژن را تنظیم می‌کند (۹).

یکی از عوامل مهم در تعیین کیفیت رقیق کننده‌ها، pH رقیق کننده است. pH می‌تواند روی درجه متابولیسم و قدرت حرکت اسپرم‌ها اثر بگذارد. بافرها ترکیبی از یک اسید و مشتقات آن است که درون رقیق کننده فرموله می‌شود تا از تغییرات pH جلوگیری شود (۹). بافرها در رقیق کننده‌های منی طیور معمولاً شامل مخلوط فسفات، سیتрат و یا ترکیباتی مانند TES^۵ و BES^۶ است. اسپرم بوقلمون و خروس می‌تواند pH ۶ تا ۸ را تحمل کند (۷).

همان طور که گفته شد pH رقیق کننده نرخ متابولیسم و میزان تحرک اسپرم‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. مثلاً pH کم، تحرک، تولید اسید لاکتیک و اکسیژن‌گیری را در اسپرم‌های طیور کاهش می‌دهد. این در حالی است که pH بالا نرخ متابولیسم را در آزمایشگاه افزایش می‌دهد (۳). برای نگهداری ۲۴ ساعته منی خروس pH ۶/۸ و ۷/۱ نسبت به ۵/۸ و ۷/۴ برای زنده‌مانی اسپرم مناسب‌تر است (۸).

همچنین زمانی که اسپرم بوقلمون برای ۶ ساعت در آزمایشگاه نگهداری می‌شود، میزان باروری بیشتری در pH ۶/۵ نسبت به pH ۷/۵ گزارش شده است (۷).

عامل دیگر در تعیین کیفیت رقیق کننده‌ها فشار اسمزی است. اسپرم‌های طیور در محلول‌هایی با اسمالاریته ۴۶۰-۲۵۰ میلی‌اسمتیک بر کیلوگرم آب حفظ می‌شود (۷). که مقدار مناسب آن برای خروس ۴۰۰ میلی‌اسمتیک بر کیلوگرم آب است (۳). زمانی که اسپرم‌های در محلولی با اسمالاریته

^۵- N-Tris (hydroxymethyl) methyl-2-amino ethanesulphonic acid

^۶- N, N-bis (2-hydroxymethyl)-2-aminoethanesulphonic acid



کم قرار گیرد آب جذب می‌کند و متورم می‌شود و همچنین در محلول‌هایی با اسمالاریته بالا آب خود را از دست داده و جمع می‌شود (۶). در محلول‌های فشار اسمزی پایین، در اسپرم‌های بوقلمون و ماکیان ضایعه‌ای رخ می‌دهد که نسبت منفی با باروری دارد (۵). اسپرم‌های بوقلمون در شرایطی که بیش از ۱۸ ساعت نگهداری شود آب جذب می‌کند و می‌ترکد. در شرایط محلول-های متراکم نتیجه عکس خواهد شد و شرایط زنده ماندن در آزمایشگاه فراهم می‌شود (۶).

نتایج استفاده از رقیق‌کننده‌ها توسط محقق

ساخت رقیق‌کننده‌های جدید برای نگهداری طولانی مدت اسپرم موجب افزایش و بهبود کارایی روش‌های منی در ماکیان می‌شود (۸). نخستین بار نشان داده شد که از یک محیط دارای بافر فسفات و زرده تخم‌مرغ، برای رقیق کردن منی استفاده کردند که در آن باروری اسپرم برای چند روز حفظ شد. باروری بالای ۸۳ درصد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۹۱ درصد درصد در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد برای اسپرم خروس رقیق شده با رقیق‌کننده بلتسویل در مدت زمان ۳۰ دقیقه نگهداری گزارش شد (۳). سکستون و فیولاس نشان دادند که باروری منی رقیق شده خروس با رقیق‌کننده بلتسویل، پس از صفر، ۴ و ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد، به ترتیب ۸۸ درصد، ۸۸ درصد و ۴۸ درصد بود (۳). از طرفی مطالعات نشان دادند که باروری منی رقیق شده خروس در رقیق‌کننده بلتسویل را پس از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ۷۲ درصد گزارش کردند (۱).



نشان داده شده است که از رقیق‌کننده‌های بلتسویل، لیک و MEM^۷ برای نگهداری منی در دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد استفاده کرد. پس از ۶ ساعت نگهداری، باروری نمونه دارای MEM (۹۰/۳ در صد) بسیار بالاتر از نمونه‌های نگهداری شده با رقیق‌کننده‌های بلتسویل (۳/۵ در صد) و لیک (۱/۹ در صد) بود، اما تفاوتی روی در صد جوجه‌دهی مشاهده نشد (۳). یافت‌های برخی از پژوهشگران به این نتیجه دست یافتند که تفاوتی در باروری منی رقیق شده با رقیق‌کننده بلتسویل، در زمان‌های صفر، ۴ و ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۵ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد مشاهده نکرد، اما باروری پس از ۲۴ ساعت به طور معنی‌داری کمتر از گروه شاهد بود. تنفس اسپرم به دما وابسته است و با افزایش دما افزایش می‌یابد. برخی دیگر از مطالعات نشان دادند که کمترین میزان جنبایی اسپرم در منی رقیق‌شده خروس و بوقلمون با رقیق‌کننده بلتسویل را در دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد مشاهده کردند (۷). در بررسی‌های پژوهشگران دیده شد که کاربرد رقیق‌کننده‌های بلتسویل و لیک، برای نگهداری منی خروس در دمای ۵-۰ درجه سانتی‌گراد با موفقیت همراه بود و اما این رقیق‌کننده‌ها، توان حفظ باروری را در دمای ۴۱ درجه سانتی‌گراد نداشتند (۳).

ارزیابی اسپرم جمع‌آوری شده

- ارزیابی اسپرم و تعیین ماندگاری اسپرم‌ها بعد از ذخیره آن به چند دلیل مهم است:
- ارزیابی قدرت باروری اسپرم پرندگان نری که بالغ شده‌اند و حذف پرندگانی که فاقد کفایت لازم هستند (۲). اگر اسپرم کم کیفیت باشد باروری را کاهش داده و تلفات رویانی را زیاد می‌کند (۷) و به مرغ فشار وارد می‌کند که از اسپرم‌های تلقیح قبلی استفاده کند.

^۷ -Minimum essential medium



- بررسی تراکم اسپرم‌ها در منی به منظور تعیین حجم رقیق‌کننده لازم برای به دست آوردن ۱۰۰ میلیون اسپرم در هر واحد اسپرم مورد نیاز جهت هر بار تلقیح از اهمیت بارزی برخوردار است (۲).

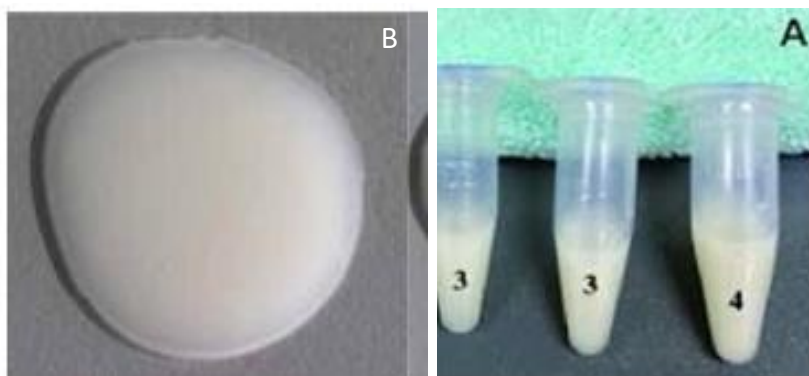
اگرچه هدف از ارزیابی نهایی اسپرم تعیین ظرفیت باروری است، ولی آزمایش‌هایی که نوعاً مورفولوژی و یا فعالیت‌های متابولیکی اسپرم را مشخص می‌کنند، کمتر به ظرفیت باروری اسپرم وابسته است، با این حال اسپرم‌هایی که در همین آزمایش‌ها به طور واضح غیرطبیعی هستند، ظرفیت باروری کمتری دارند. همچنین دیده شده است که گاهی اسپرم‌هایی که بر اساس معیارهای یادشده از نظر متابولیک و ساختمان طبیعی به نظر می‌رسند، فاقد کفایت لازم بوده و به ویژه چنانچه قبلاً دستکاری‌هایی شده و منجمد و مجدداً از حالت انجماد خارج شده باشند و یا مدت زمان طولانی ذخیره شده باشند قابل اعتماد نبوده و قدرت باروری در آن‌ها کم است (۸). کاهش باروری اسپرم‌ها ذخیره شده ممکن است به علت اثرات اسپرم‌های مرده و صدمه دیده بر اسپرم‌های سالم باشد (۷). بیشتر روش‌های رایج ارزیابی منی شامل تعیین تعداد و تراکم اسپرم، رنگ، غلظت، حرکت، ماندگاری و ریخت‌شناسی اسپرم است (۵). هنگامی که اسپرم تازه ارزیابی می‌شود، بیشتر این روش‌ها وابسته به ظرفیت باروری اسپرم‌ها (۵) و همچنین به فعالیت متابولیکی آنها وابسته است.

• رنگ منی

یکی از شیوه‌های ارزیابی، رنگ منی است. رنگ منی باید مانند مروارید سفید رنگ باشد و لذا هرگونه تغییر رنگ نشان‌دهنده آلودگی است. مثلاً زرد بودن نشان‌دهنده آلودگی



به مدفوع است. در برخی از بوقلمون‌ها، اسپرم به طور طبیعی دارای رگه‌هایی از رنگ قرمز و زرد است که دلیل آن مشخص نبوده ولی دارای ظرفیت باروری کمتری هستند (۱).



نگاره ۸- رنگ عادی منی خروس (A) و بوقلمون (B)

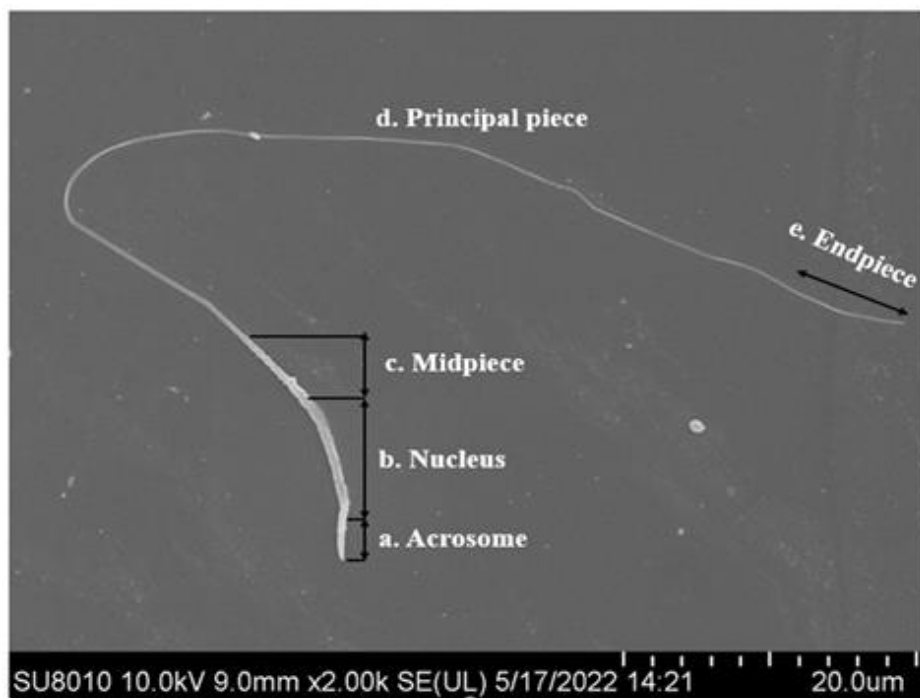
حضور رنگدانه‌های قرمز و زرد نشان‌دهنده خون و گلبول قرمز است. اگرچه هر یک از آلوده‌کننده‌ها، ظرفیت باروری را کم می‌کند ولی در مجموع ظرفیت باروری به عواملی مانند، میزان و غلظت آلوده‌کننده‌ها، فاصله زمانی بین اسپرم‌گیری و تلقیح مصنوعی و تعداد سلول‌های اسپرم در هر بار تلقیح وابسته است. اگرچه بسیار مشکل است میزان تأثیر رنگ‌های غیرطبیعی را در میزان باروری تخمین زد، ولی این نکته مسلم است که بالاترین ظرفیت باروری مربوط به اسپرم‌هایی است که دارای رنگ سفید مرواریدی است (۲).

• تحرک اسپرم

تحرک اسپرم معیاری از توانایی زنده‌مانی و قدرت باروری اسپرم است که به سادگی با بزرگ‌نمایی ۵۰ برابر قابل ملاحظه است (۱). و لذا اسپرم را از این نظر از ۱ الی ۵ یا ۱ الی



۱۰ طبقه‌بندی می‌کنند (۴). صفر نشان‌دهنده عدم تحرک و اعداد بالاتر نشان‌دهنده تحرک بالاتر هستند.



نگاره ۹- ریخت‌شناسی سلول اسپرم خروس شامل بخش‌های کیسه اکروزوم (a)، هسته (b)، قطعه

میانی دم (c)، قطعه اصلی دم (d)، و قطعه پایانی دم (e)

گرچه اسپرم‌هایی که دارای تحرک بالا هستند نیز گاهی از نظر باروری ضعیف هستند ولی در مورد اسپرم‌هایی که فاقد تحرک بوده یا از این لحاظ ضعیف می‌باشند تردیدی نیست که قابلیت باروری کمتری دارند (۷).



تمامی اسپرم‌ها با گذشت زمان کم تحرک می‌شوند، بنابراین رعایت یک زمان استاندارد از زمان جمع‌آوری منی تا مشاهده در زیر میکروسکوپ ضروری می‌باشد (۱). حرکت موجی اسپرم در زیر میکروسکوپ نشان دهنده تحرک خوب است (۲). برای بررسی و مشاهده جهت بررسی حرکت اسپرم، معمولاً منی را به نسبت یک سوم یا یک چهارم رقیق می‌کنند. البته از منی رقیق‌نشده هم می‌توان استفاده کرد. میزان تحرک اسپرم با استفاده از دستگاه ویژه جریان سلولی متصل به اسپکتروفتومتر را می‌توان به دست آورد، اسپرم برخلاف جریان شنا می‌کند و در این عمل اسپرم زنده در یک ردیف برخلاف جریان قرار می‌گیرد. به دلیل این‌که اسپرم‌ها، بلند و نازک هستند در یک جهت قرار گرفته و بر میزان عبور نور تأثیر می‌گذارند. با افزایش درصد اسپرم‌های زنده میزان عبور نور کاهش می‌یابد (۴).

همچنین میزان تحرک و سوخت و ساز اسپرم را می‌توان به روش رنگ سنجی تعیین نمود. در این روش یک نمونه از اسپرم و رنگ ترازولین برای ۱۰ دقیقه داخل انکوباتور قرار می‌گیرد (۷). در طی این مدت اسپرم قادر به تولید ترکیبات شیمیایی است که بر روی رنگ تأثیر می‌گذارد. تغییر رنگ را می‌توان به وسیله چشم و یا بعد از سانتیفریوژ به وسیله اسپکتروفتومتر تخمین زد، این روش اغلب برای درجه‌بندی خروس‌ها به کار می‌رود (۳).

از رنگ‌آمیزی بافتی و فلورستی برای زنده بودن و میزان فعالیت و سوخت و ساز اسپرم استفاده می‌شود (۸). اخیراً، ارزیابی اسپرم بر اساس توانایی نفوذ اسپرم به غشای پری‌ویتلین که از تخم‌مرغ با پوسته استخراج شده است، انجام می‌شود. غشای پری‌ویتلین به دقت از اطراف زرده به ابعاد 0.5×0.5 سانتی‌متر مربع جدا شده و با تعداد 10^7 اسپرم برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای 40°C درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرد. در بررسی میکروسکوپی منافذ نفوذ اسپرم به طور وضوح قابل دیدن هستند، تعداد منافذ همبستگی مستقیم با تحرک و سوخت و ساز اسپرم و باروری دارد. در ناحیه صفحه رویانی ممکن است 40 تا 60 منفذ در میلی‌متر



مربع موجود باشد در حالی که در نواحی دیگر تنها ۵ تا ۱۰ منفذ در میلی متر مربع مشاهده می شود (۷).

• تعداد اسپرم

کمترین شمار اسپرم مورد نیاز برای دستیابی به باروری بهینه، به سن خروس، روش اسپرم گیری فاصله بین اسپرم گیری و تلقیح، مهارت فنی تلقیح کننده و سازه های دیگری بستگی دارد (۳).

سطح بالای باروری با تلقیح ۵۰ میلیون اسپرم، به دست آمده، هر چند که تجربه های پژوهشی و کاربردهای صنعتی تلقیح مصنوعی روی هم رفته، با استفاده از ۱۰۰ میلیون اسپرم در هر بار تلقیح پرندگان اهلی انجام گرفته است (۹).

حجم اسپرمی که در یک بار تلقیح به کار می رود باید ۵۰ میکرولیتر باشد (۲). لذا در ارزیابی های اولیه اطلاع از حجم اسپرم برای مشخص نمودن میزان دقت و مقدار رقیق کننده لازم بسیار مهم است. مقدار اسپرمی که توسط هر پرنده تولید می شود بسیار کم است (جدول ۳)، از این رو با تعیین حجم اسپرم هر پرنده در هر بار انزال و در نظر گرفتن متوسط تراکم اسپرم (که برابر با ۱ میلی گرم بر میکرولیتر است) می توان به نوعی دیگر آن را ارزیابی نمود. اگرچه بالا بودن حجم اسپرم حاصل از یک پرنده در تلقیح مصنوعی مقرون به صرفه است، ولی هیچ گونه تأثیر مثبت یا منفی در میزان قابلیت باروری اسپرم ندارد. به هر صورت در گله های مادر در پرندگان نری که سلول های اسپرم آن ها طبیعی است و غلظت اسپرم تولید شده نیز در حد معمولی می باشد بالا بودن حجم اسپرم امتیاز مهمی تلقی می شود. تراکم سلول های اسپرم در مایع منی را با روش های متعددی به دست می آورند. در روش شمارش مستقیم در زیر میکروسکوپ، از یک رقیق کننده و محفظه ای که حجم آن



مشخص بوده و برای این منظور ساخته شده است به کار گرفته می شود که ساده ترین و ارزان ترین روش به حساب می آید. تعیین غلظت اسپرم در این روش به وسیله هموسایتومتر می باشد که برای شمارش سلول های خونی ابداع شده است. مایع رقیق شده را روی هموسایتومتر پخش می کنند و در زیر میکروسکوپ اسپرم ها را می شمارند. مایع رقیق کننده مورد استفاده در این حالت باید اسپرم ها را بکشد تا در حین شمارش حرکت نکنند. محلول ۲ درصد انوزین برای این منظور مناسب است و از سویی با رنگ کردن سر اسپرم ها، شمارش آن ها نیز آسان می شود. این روش کاملاً دقیق نیست و هنگامی می توان به نتایج آن اعتماد کرد که تعداد نمونه های ارزیابی شده در هر انزال بالا باشد (جدول ۴).



نگاره ۱۰- دستگاه آنالیز ویژگی های اسپرم شامل بررسی تعداد، تحرک، زنده ماندن، ریخت شناسی، واکنش آکروزوم، و شکستگی DNA



تلقیح مصنوعی در ماکیان

جدول ۳ - حجم مایع منی، غلظت اسپرم‌ها و تعداد دفعات تلقیح به ازای هر انزال برای برخی از گونه‌ها یا انواع طیور (اقتباس از منبع ۱)

گونه یا نوع	حجم (میلی لیتر)		غلظت		تعداد دفعات تلقیح به ازای هر انزال*
	میانگین	محدوده	میانگین	محدوده	
مرغ مادر گوشتی	۰/۳۵	۰/۱-۰/۹	۵/۷	۳/۰-۸/۰	۲۰
مرغ تخمگذار سبک وزن	۰/۱۵	۰/۱۵-۰/۳	۵/۰	۵/۰-۷/۵	۷/۵
مرغ تخمگذار میان وزن	۰/۲	۰/۰۸-۰/۵	۵/۰	۳/۵-۶/۰	۱۰
بوقلسون سبک وزن	۰/۱۵	۰/۰۸-۰/۳	۹/۰	۸/۰-۱۴/۰	۱۳/۵
بوقلسون سنگین وزن	۰/۲	۰/۱-۰/۳۳	۹/۵	۹/۰-۱۳/۵	۱۹
مرغ شاخدار	۰/۰۷۵	۰/۵-۰/۱۵	۶/۰	۴/۰-۸/۰	۴/۵
اردک پکنی	۰/۲۳	۰/۱-۱/۰	۴/۰	۰/۰۲-۶/۰	۹/۲
اردک مسکوی	۱/۱	۱/۰-۱/۵	۱/۸	-	۲۰

* با فرض $10^6 \times 100$ سلول به ازای هر تلقیح

جدول ۴ - ضرایب ثابت، شیب، و ضرایب همبستگی بین تعیین غلظت اسپرم در نمونه‌های خالص و رقیق شده منی (به دست آمده با استفاده از هموسایتومتر، اسپکتروفتومتر، کولتوکاتر و اسپرمانوکریت) و ضرایب پراکندگی (C.V.) تخمین‌های مربوطه (اقتباس از منبع ۲)

وسيله	متغير غيروايسته	متغير وابسته	C.V. (%)	وقت	a	b	r
هموستومتر	10^9 سلول در هر میلی لیتر		۱۷/۹				
اسپکتروفتومتر		واحدهای مستقل	۲/۲۴	خالص	۰/۲۱۶	۰/۰۵۰	۰/۸۶
				۱ به ۱	۰/۱۱۳	۰/۰۵۱	۰/۷۸
				۳ به ۱	۰/۰۵۲	۰/۰۵۸	۰/۹۳
شمارشگر Coulter	10^9 سلول در هر میلی لیتر		۱/۵۷	خالص	۲/۰۳۹	۰/۶۵۳	۰/۸۹
				۱ به ۱	۱/۰۳۳	۰/۷۱۵	۰/۸۸
				۳ به ۱	۰/۲۵۳	۰/۷۶۳	۰/۹۳
اسپرمانوکریت	10^6 (ارتفاع ستون اسپرم) ارتفاع ستون مایع منی		۹/۹۵	خالص	۵/۴۱۳	۲/۲۶۰	۰/۸۳
				۱ به ۱	۱/۹۶۹	۱/۵۶۷	۰/۷۷
				۳ به ۱	۲/۴۴۰	۳/۸۹۵	۰/۳۵

C.V.: ضریب پراکندگی

a: ضریب ثابت معادله رگرسیون خطی یا انگر ارتباط بین متغیرهای وابسته و غیروابسته.

b: شیب معادله رگرسیون خطی یا انکته رابطه بین متغیرهای وابسته و غیروابسته.

r: ضریب همبستگی یا انکته ارتباط بین متغیرهای وابسته و غیروابسته.



این روش تنها روشی است که برای کنترل سایر روش‌های غیر مستقیم استفاده می‌شود (۱). روش‌های غیر مستقیم عبارتند از تعیین درصد حجمی اسپرم، رنگ سنجی و شفافیت که کلیه این روش‌ها نیاز به تصحیح و تبدیل سیستم به روش کاربردی دارند (۶).

امروزه در موسسات پژوهشی و تجاری روش‌های دیگری وجود دارد. در روش‌های جدید اسپرم رقیق شده از لوله‌های باریک دستگاه شمارش کننده اتوماتیک عبور و تعداد سلول‌های اسپرم موجود در محلول توسط آن ثبت می‌گردد ولی علیرغم دقیق و سریع بودن، به دلیل گران بودن تجهیزات این روش در همه جا معمول نیست (۲).

در بسیاری از آزمایشگاه‌ها نشان داده شده است که نتایج حاصل از اسپرماتوکریت که طی آن حجم سلول‌های اسپرم ضمن سانتریفیوژ شدن در لوله‌های مؤین به دست می‌آید، بسیار شبیه به نتایج حاصل از روش شمارش مستقیم است (۱). علیرغم این‌که در صورت پایین بودن میزان تراکم اسپرم‌ها نتایج چندان دقیقی به دست نخواهد آمد. این روش به دلیل ارزان بودن و در دسترس بودن وسایل که در اصل برای شمارش و تعیین تراکم گلبول‌های قرمز خون طراحی شده است، زیاد متداول شده است (۲).

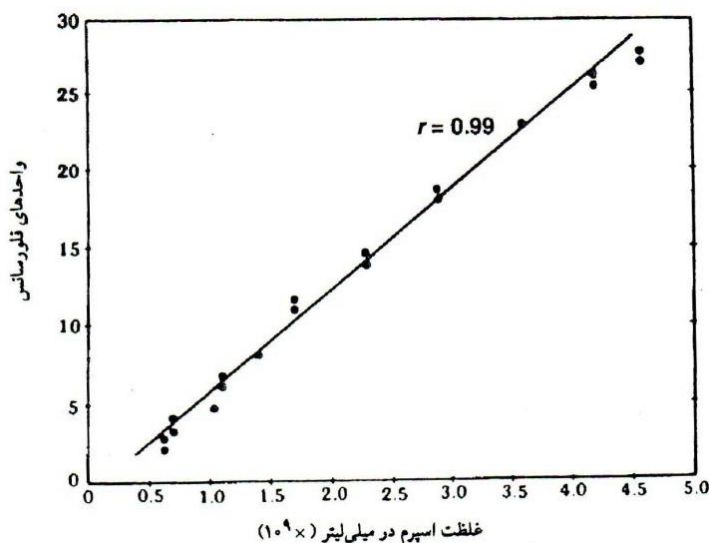
روش دیگر، استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر است. میزان نوری که از محلول اسپرم عبور می‌کند با مقدار تراکم اسپرم‌ها مرتبط بوده و نتایج حاصل از این روش با روش شمارش مستقیم قابل تطبیق است. میزان عبور نور با اسکپتروفتومتر اندازه گرفته می‌شود (۱).

با وجود پیشرفت‌های موجود در هر یک از مراحل جمع‌آوری و ارزیابی اسپرم، توصیه می‌شود در هر آشیانه از هر روشی که استفاده می‌گردد یک منحنی استاندارد ویژه به دست آمده و بر اساس آن اسپرم حاصل از گله را ارزیابی نمایند (۳).



• زنده‌مانی اسپرم

تعداد اسپرم‌های مرده یا غیرطبیعی در یک نمونه باید کمتر از ۱۰ درصد باشد (۴). با استفاده از روش‌های مختلف در تشخیص سلامت غشای سلول‌های اسپرم، نسبت تعداد سلول‌های زنده به سلول‌های مرده در هر انزال مشخص می‌گردد (۷). رنگ آمیزی سلول‌های مرده یا زنده هر دو مقدور بوده و لذا می‌توان از رنگ‌هایی استفاده کرد که جذب غشاهای دست نخورده شده و سلول زنده را مشخص می‌کند و یا بالعکس رنگی به کاربرد که تنها تو سط جدار سلول‌های مرده قابل جذب بوده و تعداد سلول‌های مرده را نمایان می‌سازد. معمولاً مخلوطی از رنگ‌های اتوزین نیگروزین یا اتوزین و آنیلین‌بلو برای این منظور خوب است به طوری که اتوزین سلول‌های مرده و دارای غشای غیرطبیعی را به رنگ صورتی درآورده و سلول‌های زنده بدون رنگ و در زمینه‌ای سیاه یا آبی که توسط نیگروزین و آنیلین‌بلو ایجاد شده باقی می‌مانند. با توجه به کوچک بودن اسپرم در پرندگان استفاده از روغن ایمرسیون و عدسی‌هایی که بزرگ‌نمایی آن‌ها ۱۰۰۰ برابر است، تشخیص بین سلول‌های رنگی و غیررنگی ساده‌تر می‌شود. از روش‌های فلورسنت نیز که با اضافه نمودن اتیدیوم برومید و ترکیب آن با رشته‌های DNA میسر می‌گردد و می‌توان برای تشخیص سلول‌های زنده استفاده کرد. در این روش با اضافه نمودن دی‌ژیتونین به اسپرم و پاره نمودن جداره سلول‌ها در یک نمونه آزمایشی نسبت بین سلول‌های زنده و مرده با استفاده از روش‌های فلورسانس به صورت یک منحنی خطی رسم گردیده و نمونه‌های بعدی با آن سنجیده می‌شوند (نگاره ۱۱).



نگاره ۱۱- رابطه بین غلظت مایع منی و واحدهای فلورسانس (اقتباس منبع ۲)

اسپرم طبیعی پرنده‌ها در زیر میکروسکوپ کرم مانند، با جسم باریک قرینه منتهی به دم کوتاه و باریک (۱۵ تا ۲۰ درصد از طول) است. اسپرم زنده خمیدگی ملایمی دارد. خمیدگی شدید در ناحیه سر، میانی یا دم از خصوصیات بیشتر اسپرم‌های غیرطبیعی است (۳). در سال ۱۹۹۱ تست فشار پایین اسمزی انجام شد که تفاوتی در زنده‌مانی اسپرم‌های زنده و اسپرم‌های که به وسیله اتیدیوم برومید در شرایط ایزواسمتیک رنگ‌آمیزی شده بود، مشاهده نشد (۷).

در پلاسمای منی طیور یک سری مواد آلی و معدنی وجود دارد که برای اسپرم‌ها در مدت نگهداری مضر است البته فاکتورهای دیگری نیز مانند اسپرمیوفازها، یا قطعاتی از خود اسپرم‌ها مانند پروتئازهای فعال منی و لیپید پرکساید هم برای سلامتی اسپرم‌ها مضر است (۸).



اسپرمیوفاژها سلول‌هایی با پاسخ ایمنی هستند و در منی یافت می‌شوند که باعث بروز سندرم منی زرد در بوقلمون می‌شود. آنتی‌بادی‌های مونوکلونال نسبت به اسپرمیوفاژها به وسیله مونوسایت خون و ماکروفاژهای صفاقی واکنش متقاطع نشان می‌دهند (۷). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که افزودن اسپرمیوفاژها به منی طبیعی بوقلمون تأثیری بر ظرفیت باروری، تفریح و تلفات رویانی برای منی تازه تلقیح شده و یا منی که ۶ ساعت در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده، ندارد (۵). همچنین تأثیر اسپرمیوفاژ بر اسپرم ذخیره شده در ۲۴ ساعت و یا بیشتر شناخته نشده است.

آنزیم‌هایی که ممکن است بر ماندگاری اسپرم‌ها در طی ۲۴ ساعت ذخیره، حاوی آکروزین می‌باشند و پروتئازهای پلاسمای منی را فعال می‌کنند، که این باعث هیدرولیز غشای پلاسمای اسپرم و گلیکوپروتئین می‌شود. بر اساس چند مطالعه انجام شده، سطح گلیکوپروتئین اسپرم‌ها خروس بر ظرفیت باروری مؤثر است (۵).

اسپرم‌ها و منی ذخیره شده بوقلمون به دلیل نیازهای متابولیکی و ترکیب فیزیولوژیکی برای پراکسیداسیون لیپید بسیار مستعد می‌باشد (۶). اسپرم‌ها بوقلمون و مرغ محتوی مقدار زیادی از چربی با پیوند غیراشباع است (با گروه اسیل) و در منی ذخیره شده آن‌ها پراکسیداسیون به صورت خود به خود اتفاق می‌افتد (۵). در منی ذخیره شده بوقلمون مقدار مالونالدئید^۸ (MAL) که در طی پراکسیداسیون تولید می‌شود افزایش می‌یابد (۷).

منی بوقلمون در مقایسه با منی خروس فعالیت سوپراکسید دیسموتاز کمتری دارد در نتیجه اسپرم‌های بوقلمون در محیط آزمایشگاه مستعد مسمومیت اکسیژنی طی ذخیره‌سازی است (۵). تشکیل پراکسید لیپید در خروس‌های مختلف بر اساس سن فرق می‌کند به طوری که در خروس‌های مسن‌تر که میزان زیاد تشکیل پراکسید لیپید در منی را دارند، منی

^۸ malonaldehyde



ذخیره شده به مدت ۵ ساعت هیچ تخم باروری را تولید نکرد (۶). تولید MAL در بوقلمون‌های نری که به مدت ۲۶ هفته منی تولید کرده بودند، در مقایسه با بوقلمون‌هایی که دو هفته منی تولید کرده بودند، ۱۰ برابر بیشتر بود (۵).

افزودن آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند ویتامین E به منی ذخیره شده بوقلمون، باعث حفظ یکپارچگی غشاء اسپرم و تحرک ۵ برابر بیشتر در مقایسه با حالتی که ۴۸ ساعت بدون آنتی‌اکسیدان ذخیره شده باشد، داشت (با توجه به تولید پراکسید لیپید) (۵). همچنین افزودن ویتامین E به منی خروس باعث افزایش باروری منی ۲۴ ساعت ذخیره شده، گشت.

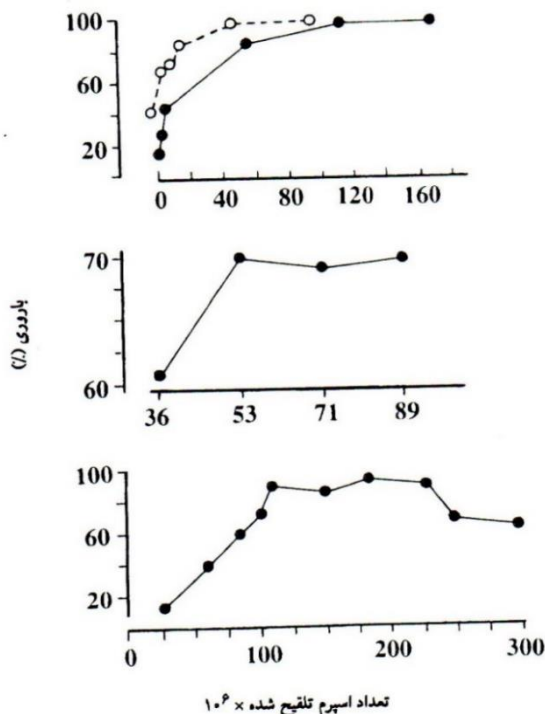
قبل از ذخیره سازی منی بوقلمون و برای افزایش سیستم دفاعی در برابر سوپراکسید لیپید باید بوقلمون‌هایی که پراکسید لیپید زیادی تولید می‌کنند، ارزیابی و حذف شوند. این کار دارای اهمیت عملی برای توسعه نگهداری منی بوقلمون به صورت مایع می‌باشد (۷).

تعداد و حجم اسپرم برای هر بار تلقیح

حداقل تعداد اسپرم مورد نیاز برای داشتن متوسط باروری به عواملی همچون سن خروس، سن مرغ، روش جمع آوری اسپرم، فاصله بین دو جمع آوری، تلقیح، مهارت افراد عامل، و سایر عواملی که ممکن است در میزان قدرت باروری سلول‌های اسپرم دخالت کند، وابسته است (۷). اگرچه در عمل برای تلقیح هر پرنده ماده ۱۰۰ میلیون اسپرم در نظر



گرفته می شود ولی دیده شده است که با تعداد ۵۰ میلیون اسپرم نیز می توان به باروری نسبتاً بالایی رسید (۳).



نگاره ۱۲- رابطه بین تعداد سلول های اسپرم تلقیح شده و باروری در ماکیان (نمودار بالا، به ترتیب خطوط ممتد و منقطع)، در مرغ شاخدار (نمودار وسط) و در بوقلمون (نمودار پائین). میزان باروری ماکیان و بوقلمون ها با روش نوربینی تخمین زده شد. میزان باروری مرغ شاخدار برحسب درصد جوجه های تفریخ شده از تعداد تخم هایی که انکوباسیون شدند، تخمین زده شد (اقتباس از منبع ۱).

علی رغم این که از نظر تئوری تلقیح ۱۰۰ میلیون اسپرم برای ماکیان، دو برابر تعداد مورد نیاز است، در صنعت تولید بوقلمون به تجربه ثابت شده که برای داشتن باروری خوب



حدود ۲۰۰ میلیون اسپرم به ازای هر تلقیح در هفته قبل از شروع تخم گذاری و در مرحله دوم تخم گذاری که به طور طبیعی قدرت باروری تقلیل پیدا می کند، باید تخصیص داده شود (۱).

افزایش تعداد اسپرمها برای تلقیح در هفته قبل از شروع تخم گذاری در بوقلمون نقش بسیار مهمی در حفظ باروری بالا پس از شروع تخم گذاری ایفا می کند. با آماده شدن اسپرمی که از یک یا چند انزال جمع آوری و رقیق گردیده، باید قبل از هرکاری تعداد دفعاتی که ممکن است با آن عمل تلقیح را انجام داد و همچنین حجم اسپرم لازم در هر تلقیح کاملاً مشخص شود. تعداد دفعات تلقیح (N) را می توان از طریق معادله زیر به دست آورد.

$$N = \frac{(\text{تعداد سلول در هر میلی لیتر}) \times (\text{تراکم} \times \text{حجم (میلی لیتر)})}{100 \text{ میلیون سلول در هر بار تلقیح}}$$

به طور متوسط در بیشتر گونه های پرندگان اهلی اسپرم حاصل از یک بار انزال برای تلقیح ۵ الی ۲۰ پرنده ماده کافی است (۱).

چنانچه تعداد سلول اسپرم را برای هر پرنده به نصف تقلیل دهیم، طبیعتاً برای دو برابر تعداد مذکور کفایت می کند. در هر هفته از هر پرنده نر ۴ الی ۵ بار اسپرم می گیرند، بنابراین یک پرنده نر برای باروری ۴۰ الی ۲۰۰ پرنده ماده مناسب است. چنانچه حجم اسپرم در هر بار تلقیح زیاد باشد از واژن خارج شده و تلقیح مقادیر کم نیز بسیار مشکل است. حدود ۰/۰۵ میلی لیتر برای هر تلقیح مناسب است. بر این اساس، استاندارد مجموع حجم (V) اسپرم رقیق شده از طریق معادله زیر حساب می شود (۲):

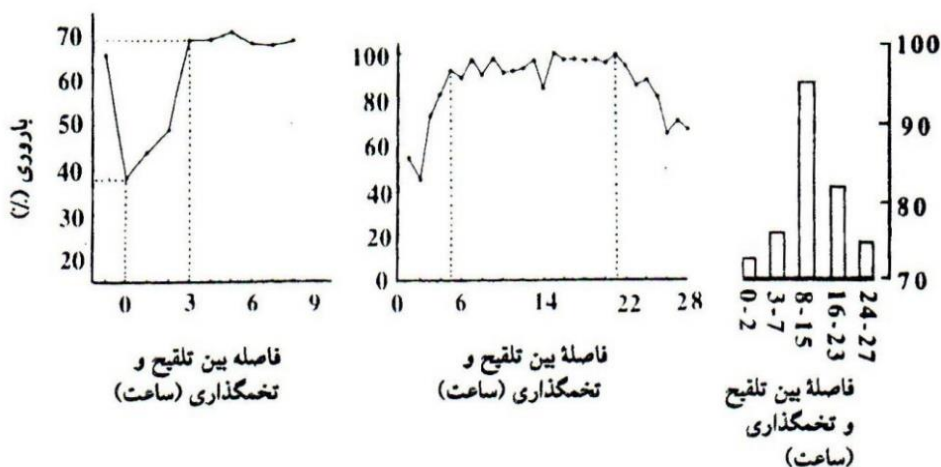
$$V = \frac{(\text{تعداد سلول در هر میلی لیتر}) \times (\text{غلظت سلولها} \times \text{حجم اسپرم رقیق نشده (میلی لیتر)})}{\text{تعداد سلول در هر تلقیح}} \text{ ml} \times (0/50)$$



ساخت پیپت‌های مخصوصی که می‌تواند برای مقادیر متعدد تنظیم شده و تعداد اسپرم مورد نظر برای هر بار تلقیح را بر اساس تغییر حجم آن به دست آورد، به این امر کمک بسیاری نموده است (۲).

زمان تلقیح

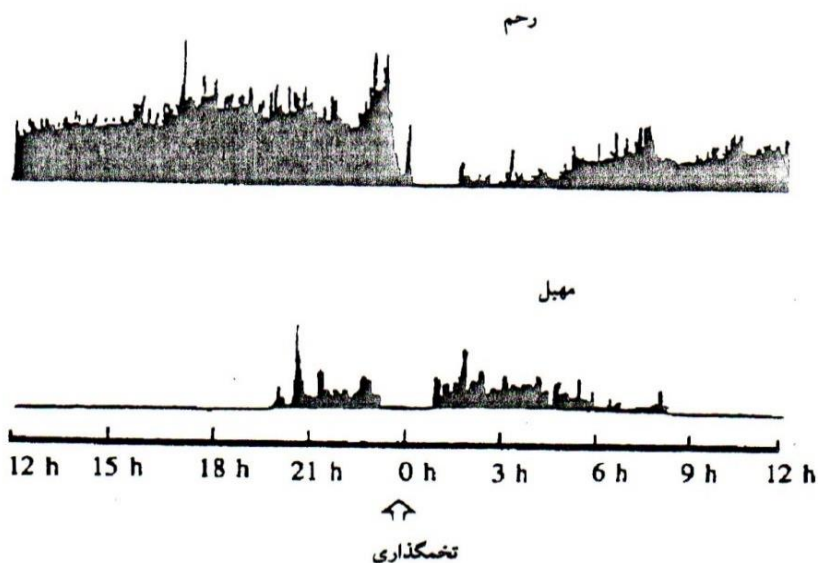
با توجه به نحوه شکل‌گیری تخم‌مرغ، انتخاب زمان تلقیح نقش مهمی در میزان موفقیت در باروری ایفا می‌کند. مثلاً چنانچه ۲ ساعت بعد از تخم‌گذاری عمل تلقیح انجام شود میزان باروری ۲۰-۴۰ درصد کمتر از سایر اوقات شکل‌گیری تخم‌مرغ خواهد شد (نگاره ۱۳).



نگاره ۱۳- رابطه بین زمان تلقیح و باروری در مرغ شاخدار (چپ)، ماکیان (وسط) و بوقلمون (راست).
باروری در ماکیان با روش نوربینی تخمین زده شد. باروری در مرغ شاخدار برحسب درصد جوجه‌های تفریخ شده از تخم‌هایی که انکوباسیون شدند، تخمین زده شد (اقتباس از منبع ۱).



این امر ناشی از عواملی می باشد که مانع از صعود اسپرمها در اویدکت و استقرار آن در لوله های ذخیره اسپرم می گردد. احتمالاً انقباضات غیرمتناوب و ضعیف واژن و رحم در ۳-۱ ساعت اول شکل گیری تخم مرغ برای انتقال اسپرم تلقیح شده به بخش های فوقانی مجرای تولید مثل کافی نیست (نگاره ۱۴). بهترین زمان تلقیح در هنگامی است که اکثر پرندگان یک گله تخم گذاری کرده باشند.



نگاره ۱۴ - فعالیت الکتریکی عضله غدد پوسه مهب را در مرغ ها در خلال چرخه تخمکریزی نشان می دهد. در طی مدت اولین تا سومین ساعت پس از تخم گذاری، تناوب و شدت انقباضات، پائین هستند و هنگامی که اسپرم در این زمان تلقیح می گردد، به درون لوله های محل ذخیره اسپرم منتقل نمی شوند (اقتباس از منبع ۲).



و در این زمان تخم جدید در ناحیه مگنوم یا ایستموس بوده و اسپرمی که بالا می‌رود، نمی‌تواند آن را بارور کند، لذا در بیشتر پرندگان اولین تخم بارور در دومین روز پس از تلقیح به دست می‌آید. هر بار تلقیح مصنوعی در ماکیان به مدت ۷ روز و در بوقلمون به مدت ۱۴ روز تخم بارور تولید نموده و لذا برای حفظ حداکثر باروری در گله باید بر این اساس برنامه‌ریزی شود و فاصله زمانی بین دو تلقیح در نظر گرفته شود (۳).

با توجه به سایر عوامل مانند کیفیت اسپرم، سن پرند، نر و ماده و مهارت شخص تلقیح کننده که به طور وسیعی در میزان موفقیت هر تلقیح و در نتیجه فاصله زمانی بین دو تلقیح مؤثر است بیان رقم دقیق مشکل بوده ولی برای ماکیان ۵ روز و برای بوقلمون ۷ روز در نظر گرفته می‌شود (۲). بهترین شیوه برای تعیین فاصله زمان، توجه به درصد باروری پس از هر بار تلقیح مصنوعی است، به طوری که هر زمان از میزان باروری تخم مرغ‌ها کاسته شود، فاصله زمانی بین دو تلقیح می‌بایست کوتاه‌تر شود (۲). معمولاً در ماکیان تلقیح در اواخر بعد از ظهر انجام می‌شود تا تولید تخم مرغ با پوسته ضخیم کاهش یابد (۵). بوقلمونها عموماً قبل از شروع تولید تخم تلقیح می‌شوند و معمولاً ۱۴ تا ۱۷ روز بعد از افزایش نور برای تحریک تولید تخم تلقیح می‌شوند. در ماکیان تلقیح زمانی انجام می‌شود که ۱۵ تا ۲۰ درصد مرغ‌ها در تولید هستند (۴).

زمان تلقیح روی باروری مؤثر است. نتایج تحقیقات (۴) نشان دهنده کاهش باروری در مرغ‌هایی است که در ساعات اولیه صبح تلقیح شده‌اند، که نشان دهنده تأثیر زمان تلقیح مصنوعی به دلیل همزمان شدن با خروج تخم مرغ است (جدول ۵). اگر در زمان تلقیح تخم مرغ در قسمت بالایی مجرای تخمدان وجود داشته باشد باروری را به شدت کاهش می‌دهد. بنابراین، به نظر می‌رسد بهترین زمان تلقیح بعد از ظهر یا اوایل عصر باشد. این ساعات زمانی است که بازده نیروی کار در مزرعه کاهش یافته و گرفتن مرغ در این ساعات



که پوسته تخم مرغ تشکیل می شود (بعد از ظهر) موجب فرو رفتگی پوسته تخم مرغ و کاهش منافذ پوسته آن می شود، و زمینه را برای کاهش باروری تخم مرغ فراهم می کند (۷).

جدول ۵- تأثیر زمان های مختلف تلقیح نسبت به زمان تخم گذاری بر روی باروری مرغ های مادر (اقتباس از منبع ۴).

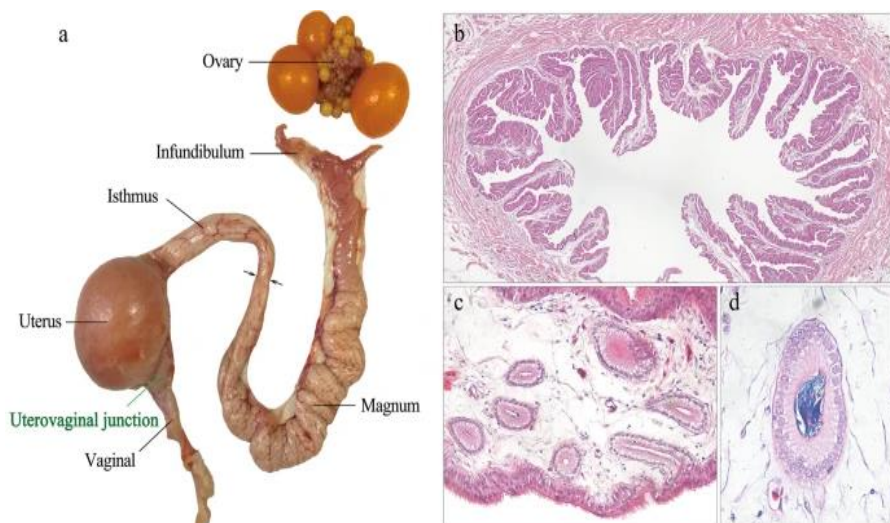
زمان تخمگذاری (ساعات پس از تلقیح مصنوعی)	درصد باروری
۱	۶۲/۹d
۲	۷۴/۷c
۳	۸۴/۹bc
۴	۹۵/۲ab
۵	۹۱/۳ab
۶	۹۶/۸a
۷	۹۶/۱ab
۸	۹۷/۲a
اقتباس از (McDaniel and Sexton 1980)	

تلقیح مصنوعی

برای انجام عمل تلقیح باید با فشار دادن اطراف کلوک و بخش های عقبی بدن پرنده ماده، ناحیه واژن را آشکار و با وارد کردن پیپت حاوی اسپرم، سلول اسپرم را در محل نزدیک به لوله های ذخیره اسپرم تخلیه کرد. در ماکیان آشکار نمودن واژن با فشار انگشت های شصت و سبابه دست راست و راندن کلوک به سمت جلو در حالی که پرنده در سمت چپ قرار گرفته است و دم توسط همان دست به عقب زده می شود، عملی است. پیپت تلقیح مصنوعی باید توسط شخص دیگری تا عمق ۳ سانتی متری وارد واژن شده و در



این حال فشاری که توسط دست‌ها به ناحیه شکم وارد می‌گردید قطع شود تا ناحیه کلواک به حالت طبیعی خود برگردد. پس از بازگشت به حالت طبیعی اسپرم تخلیه و پیپت به ملایمت خارج می‌شود. در صورتی که تعداد ۱۵۰-۱۰۰ میلیون سلول اسپرم در ماکیان تلقیح شود، حدود ۷-۵ میلیون آن ظرف چند ساعت در لوله‌های ذخیره اسپرم انبار می‌شود (۵).



نگاره ۱۵- (a) تخمدان و بخش‌های مختلف اوویدکت در مرغ، (b) اتصال رحمی-واژنی (UVJ) به عنوان محل ذخیره اسپرم، (c) لوله‌های ذخیره اسپرم (SSTs) در بخش موکوسی (UVJ)، نمایی از یک SST حاوی اسپرم.

در تلقیح بوقلمون‌هایی که هنوز تخم‌گذاری را آغاز نکرده‌اند نسبت به گروه‌های که شروع کرده‌اند، تعداد بیشتری اسپرم ذخیره می‌گردد که به دلیل بالا بودن فوق‌العاده قدرت باروری پرنده قبل از شروع تخم‌گذاری است. اسپرم تلقیح شده، هرچه به محل ذخیره اسپرم نزدیک‌تر باشد، دارای شانس بیشتری برای ذخیره شدن است. در ماکیان و مرغ



شاخدار چنانچه پیپت حدود ۳ سانتی متر وارد کلواک شود. بیشترین بازدهی به دست می آید ولی در بوقلمون باید ۶ سانتی متر باشد.

در سال های اخیر وسایل اتوماتیک متعددی برای تلقیح مصنوعی ساخته شده است که ضمن تسهیل عمل و کاهش میزان کار، تعداد افراد مورد نیاز را به حداقل رسانده است. یکی از این وسایل که در ابتدا برای پرورش مرغ شاخدار به کار رفت، پیپت ثابت با حجم تخلیه قابل تنظیم بود. در این روش، شخص اپراتور پیپت را به کلواک نزدیک می کند و پس از ورود پیپت به درون واژن با ناحیه ساعد به قسمت تخلیه کننده فشار آورده و نسبت به تلقیح اسپرم اقدام می کند. این وسیله بعدها برای مرغ های مادر گوشتی و بوقلمون نیز به کار گرفته شد. خوشبختانه، انتقال بیماری از این طریق اندک است ولی به هر حال از نقاط ضعف این روش به شمار می رود (۲).



نگاره ۱۶- نمایی از تلقیح مصنوعی مرغ



• تلقیح مصنوعی برای پرندگان شرطی نشده

این پرنده‌ها را برای کاهش استرس وارد قفس می‌کنند. فرد اپراتور پرنده ماده را از عقب نزدیک می‌کند و پاها و بال‌های کناری را محکم می‌کند که شرایط جفت‌گیری طبیعی برای پرنده را فراهم کند. سر پرنده را برای کاهش استرس و گاز گرفتن با حوله می‌پوشانند در گونه‌های گردن دراز و بزرگ، مانند کرکس، سر پرنده به سمت عقب فرد عامل هدایت می‌شود. توصیه می‌شود پرنده هنگام تلقیح بایستد. می‌توانیم از یک میز کوچک برای تکیه قفسه سینه پرنده به آن و راحتی کار استفاده کنیم. در این حالت اگر پرنده بایستد ادرار در urodeum (بخش انتهایی لوله گوارش، واژن و لوله ادراری و محل خروج تخم‌مرغ) حفظ شده و در نتیجه به اسپرم آسیب نمی‌رساند. در تلقیح این پرنده‌های وحشی باید جایگاه مناسب تلقیح را دانست که ۳ حالت دارد، تلقیح درون کلوک، تلقیح درون واژن، و تلقیح درون مگنوم.

تلقیح درون کلوک از همه ساده‌تر و راحت‌تر بوده و استرس کمتری دارد. اما تلقیح در واژن میزان باروری را ۴ برابر افزایش می‌دهد (۵).

اغلب در پرندگان از روش داخل واژنی استفاده می‌شود. دو روش برای شناسایی لوله تخمدان وجود دارد: مشاهده ساده برگرداندن مجرای تخم‌بر در کلوک روش دوم برای جابه‌جایی حجم زیاد منی سودمند است. این روش در رده گنجشکیان استفاده می‌شود و برای پرندگان وحشی استرس‌زا است (۷).

در پرندگان بزرگتر که تخم پوسته سخت در رحم وجود داشته باشند، برگرداندن مجرای تخم‌بر سخت است. برگرداندن مجرای تخم‌بر در پرندگان کوچکتر حتی با حضور تخم در رحم راحت‌تر است. پرنده در این حالت با برگرداندن شدن مجرای تخم‌بر، دمش را بالا برده و پره‌های دمش را پراکنده می‌کند و پره‌های شکمی را پایین می‌برد. در نهایت باید کلوک به سمت چپ تثبیت شود و با فشار مستمری که به زیر شکم وارد می‌شود مجرا



برگردانده شود. برای پرندگان بزرگتر، این کار نیاز به دو نفر دارد. یکی برای این که مجرا را برگرداند و دیگری تلقیح کند (۶). در روش تلقیح داخل واژنی، اسپیکولوم (پس از برگردانده شدن مجرای تخم‌بر) وارد کلوک شده و به سمت چپ هدایت می‌شود. این روش در کرکس و عقاب استفاده می‌شود (۵).

در روش تلقیح مصنوعی داخل مگنوم، پرنده بیهوش می‌شود، اما اخیراً بدون بیهوشی هم می‌توان با اندوسکوپ این کار را کرد. پرنده به پشت خوابانده می‌شود. طول ورود اسپیکولوم به دستگاه تناسلی، برای هرگونه پرنده منحصر به فرد است و نشان دهنده ورود اسپرم‌ها به موقعیت صحیح دستگاه تناسلی است. مزیت این روش این است که تعداد کل اسپرم مورد نیاز، کاهش می‌یابد. ولی نیازمند دانش و تخصص فرد اپراتور است. این شیوه برای پرنده می‌تواند استرس‌زا باشد. با این حال، این روش مانع رقابت شدید اسپرم‌ها در واژن می‌شود. در نتیجه مدت زمان باروری بیشتر از ۴۸ ساعت طول نمی‌کشد. با این وجود، به نسبت سایر روش‌ها تلقیح مصنوعی، در این روش احتمال بروز بیماری‌های تناسلی بیشتر می‌شود که نیازمند مراقبت ویژه و کاربرد مواد ضد عفونی است (۵). برای تلقیح ماکیان سوندهای تجاری مخصوصی ساخته شده که برای پرندگان وحشی کاربرد کمی دارد و معمولاً برای آن‌ها استفاده نمی‌شود.

• تلقیح مصنوعی در پرندگان شرطی شده

ممکن است ماده‌ها طوری تعلیم داده شوند که به هنگام تلقیح رفتار آمیزشی‌شان تحریک شود و مجرای تخم‌بر به طور خود به خود برگردانده شود. در این روش استرس وجود ندارد و با فشار دست بر پشت پرنده باعث انعکاس آمیزشی می‌شود. معمولاً فرد عامل از یک دست برای هدایت پره‌های دم و از دست دیگر برای داخل کردن ابزار تلقیح مصنوعی به مجرای برگردانده شده استفاده می‌کند. محدودیت این روش، مدت زمانی است



که برای تعلیم پرندگان در پذیرفتن شیوه صرف می‌شود. اما وقتی پرنده این روش را آموخت، بقیه طول عمر تولید مثلیاش را این گونه می‌گذرانند. مزیت این روش این است که تخم‌گذاری و تولید تخم بارور در گونه‌هایی مانند عقاب طلایی و باز تحریک می‌شود. در نتیجه، ماده‌ها تحت تأثیر قرار گرفته شروع به تخم‌گذاری زودرس می‌کنند و تخم بیشتر با باروری بالاتری تولید می‌کنند. این روش، همچنین برای کرکس‌ها و پرندگان آبی موفقیت‌آمیز بوده است (۵).

ذخیره اسپرم به صورت مایع

در صورتی که شرایط ذخیره اسپرم فراهم نباشد، باید حداکثر تا ۳۰ دقیقه مصرف شود. برای حفظ قدرت باروری اسپرم طیور به مدت ۴۸ ساعت، اکسیژن کافی و رقیق کننده حاوی فروکتوز و یا گلوکز برای تولید انرژی، با ظرفیت بافری کافی که بتواند pH را ثابت نگه دارد، مورد نیاز است. درجه حرارت محیط ذخیره نیز باید ۵ تا ۷ درجه سانتی‌گراد باشد. برای تأمین اکسیژن می‌توان از هوا استفاده کرد که نحوه آن در قسمت‌های قبلی توضیح داده شده است.

بیشتر رقیق‌کننده‌هایی که در جداول ۱ و ۲ نام برده شده می‌تواند نیازهای اسپرم را از لحاظ انرژی و ظرفیت بافری تأمین‌کنند. چنانچه شرایط فوق‌الذکر فراهم نشود، اسپرم بوقلمون می‌تواند ۲۴ ساعت بدون هیچ‌گونه کاهش در ظرفیت بافری و مدت ۴۸ ساعت با مختصر کاهش در قدرت باروری ذخیره شود. البته حرارت محیط باید ۵ درجه سانتی‌گراد باشد (جدول ۶).



جول بر میزان باوری ملای منی بوقلمون که تا ۴۸ ساعت در دمای ۷ تا ۵ درجه سانتی گراد ذخیره شده و با استفاده از تأمین اکسیژن به روش تکنان دادن تهیه گردید. باوروی بر حسب درصد تخم‌هایی که رشد چنین در آن‌ها آغاز شده بود بیان می‌گردد. به استثناء داده‌های اقیباس شده از: Sexton و Giesen (۱۹۸۲) که در آن‌ها باوروی به ترتیب برای هفته‌های ۱۵-۱ و ۲۶-۱۶ نشان داده می‌شد، در سایر موارد، باوروی در خلال هفته‌های ۷-۱ و ۱۴-۸ به ترتیب در سمت چپ و راست علامت (/) نشان داده می‌شوند (اقتباس از منبع ۲).

مأخذ	مدت ذخیره سازی (ساعت)				تعداد اسپرم تلفیح شده $\times 10^6$	محلول رقیق کننده
	۴۸	۲۴	۱۸	۶		
(۱۹۸۴) همکاران Huyghebaert	-/-	۹۸/۹۴	-/-	۹۸/۹۸	۱۴۰	(۱۹۷۲) Van Wambeke
(۱۹۸۳) Huyghebaert و de Groote	-/-	-/-	-/-	۹۹/۹۹	۱۲۵	(۱۹۸۲) Ravie و Lake
(۱۹۸۳) Huyghebaert و de Groote	-/-	-/-	-/-	۹۸/۹۸	۱۲۵	(۱۹۸۰) Sexton
(۱۹۸۳) Huyghebaert و de Groote	-/-	-/-	-/-	۹۹/۹۹	۱۲۵	(۱۹۷۲) Van Wambeke
(۱۹۸۴) همکاران Lake	۸۵/۸۶	۹۲/۹۳	-/-	-/-	۶۰-۱۸۰	(۱۹۸۴) همکاران Lake
(۱۹۸۳) Giesen و Sexton	-/-	-/-	۸۴/۸۳	-/-	۲۵۰	(۱۹۸۰) Sexton
(۱۹۸۸) Sexton	-/-	۷۷	-/-	-/-	۲۰۰	(۱۹۸۰) Sexton
(۱۹۸۸) Sexton	-/-	-/-	۸۲/۹۵	-/-	۲۵۰	(۱۹۸۲) (A&W) Giesen و Sexton
(۱۹۸۸) Sexton	-/-	-/-	۸۵/۷۵	-/-	۲۵۰	(۱۹۸۲) (S&S) Giesen و Sexton

A&W: تلفیح در ماه‌های پاییز و زمستان; (S&S): تلفیح در ماه‌های بهار و تابستان



کاهش ذکر شده مربوط به لقاح و ارزیابی در ۱۵ هفته اول تولید است و لذا هرگونه کاهش قدرت باروری در سنین بعد از ۱۵ هفته با ذخیره اسپرم بی ارتباط بوده و مربوط به پیری است (۲). بیشترین سطح باروری در طی یک دوره تخمک‌ریزی، هنگامی به دست می‌آید که از اسپرم‌های ذخیره شده به مدت ۶ ساعت در سراسر دوره تولید و تمامی فصول سال استفاده شود (۳). اسپرم‌های خروس را می‌توان در شرایط هوایی به مدت ۴۸ ساعت بدون هیچ‌گونه تغییر در قابلیت ذخیره کرد.

جدول ۷ - نسبت تخم‌های بارور گذاشته شده به وسیله مرغ‌های تلقیح شده با مایع منی ذخیره شده به مدت ۴۸ ساعت در محلول‌های رقیق کننده در دمای ۲ تا ۵ درجه سانتی‌گراد (اقتباس از منبع ۲)

ماخذ	مدت ذخیره‌سازی (ساعت)				اسپرم تلقیح شده ×۱۰۶	محلول رقیق‌کننده
	۴۸	۲۴	۲	۰		
(۱۹۶۷) Van Wambeke	-	۹۳	-	-	۲۲۰۰	(۱۹۶۷) Van Wambeke
(۱۹۸۷) Mestagh و Van Wambeke	۹۳	۹۵	-	-	۲۵۰	(۱۹۷۲) Van Wambeke
(۱۹۷۸) Sexton	-	۸۸	۸۲	۸۷	۵۰	(۱۹۷۷) Sexton
(۱۹۷۹) Ravie و Lake	-	۹۲	-	-	۱۵۰	(۱۹۷۹) Ravie و Lake
(۱۹۸۱) Wishart	۹۲	-	-	۹۹	۱۶۰	(۱۹۷۹) Ravie و Lake

به طور کلی، با توجه به شواهد موجود برای استفاده از تلقیح مصنوعی در صنعت پرورش ماکیان و بوقلمون هیچ‌گونه محدودیت یا کمبودی از نظر فناوری موجود نبوده و به راحتی قابل توصیه است.

نگهداری اسپرم به صورت منجمد

فرایند انجماد باعث کاهش توان حیاتی اسپرم‌ها می‌شود، چه در حالتی که بلافاصله پس از اسپرم‌گیری منجمد شود و چه در حالتی که پس از عمل آوری منجمد شوند (۵). اما در هر حال، منجمد کردن اسپرم از نگهداری پرنده نر بسیار اقتصادی‌تر و باصرفه‌تر است (۳). به طور کلی، اگر در اسپرم‌گیری تعداد سلول‌های اسپرم به دست آمده فراوان باشد، عمل

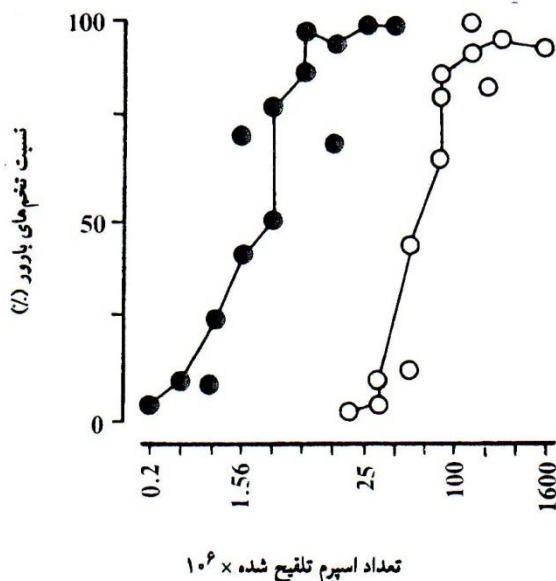


انجماد تأثیر چندانی در نتیجه کار ندارد، ولی چنانچه تعداد سلول‌ها کم باشد، نتیجه منفی بوده و کاری بی‌فایده است (۲). انجماد و ذوب کردن منی، باعث آسیب به لایه آکروزوم می‌شود.

ماکیان، اولین حیواناتی بودند که از اسپرم منجمد شده در حضور گلیسرول در سال ۱۹۵۱ تولید شدند (۶). در ابتدا انتظار می‌رفت که در دهه‌های بعد این سیستم در تولیدات صنعتی زیاد استفاده شود، ولی اینگونه نشد. علت آن توانایی باروری محدود به دست آمده از اسپرم ذوب شده ماکسانی بود که حتی تکنولوژی بسیار پیشرفته‌ای در آن‌ها استفاده شده بود (۳).

توانایی اندک باروری اسپرم‌های پرندگان در مقایسه با پستانداران، ممکن است ناشی از حساسیت بیشتر اسپرم پرندگان به فرایند ذوب و انجماد باشد. اما به احتمال زیاد، علت آن کاربرد سیستم انتقال اسپرم و ذخیره‌سازی در دستگاه تناسلی مرغ است. اسپرم‌های طیور در قسمت پایینی واژن تلقیح می‌شوند و فقط ۲-۱ درصد آن‌ها قادر به ورود به لوله‌های نگهدارنده اسپرم در محل اتصال واژن - رحم هستند. اسپرم‌ها روزها و یا هفته‌ها قبل از باروری در این محل نگهداری می‌شوند (۸). البته عوامل دیگری مانند دوز تلقیح، تعداد تلقیح، عمق تلقیح و غیره نیز روی باروری مؤثرند، که تا کنون تأثیر هر کدام از آنها به طور دقیق مشخص نشده است.

با استفاده از فناوری و روش‌های معمولی، چنانچه اسپرم پرند منجمد و مجدداً از حالت انجماد خارج شود ۹۸-۹۹ درصد از اسپرم‌ها از بین خواهند رفت اما، در صورتی که با گلیسرول عمل‌آوری شود ۱۸ درصد کاهش خواهد داشت (۳). لذا، ضروری است برای ذخیره‌سازی اسپرم پرندگان به صورت منجمد از روش‌های پیشرفته‌تری که با طبیعت اسپرم پرند تطبیق داده شده است، استفاده شود (نگاره ۱۶).



نگاره ۱۶ - رابطه بین توان بارورسازی و تعداد اسپرم تلقیح شده، هنگامی که مایع منی رقیق شده و بدون منجمد شدن مورد استفاده قرار گرفت (دایره‌های پر) یا مایع منی منجمد شده و قبل از تلقیح، از حالت انجماد خارج گردید (دایره‌های خالی). توان بارورسازی به صورت نسبت تخم‌های بارور گذاشته شده به وسیله مرغ‌ها در فاصله روزهای دوم و هشتم بعد از تلقیح با ۱ تا ۵۰ میلیون سلول اسپرم، تخمین زده شده در حالی که برای بارور کردن ۵۰ درصد تخم‌های حاصل از مرغ‌های تلقیح شده با مایع منی تازه تقریباً به $10^6 \times 1/5$ سلول نیاز است، جهت بارور کردن ۵۰ درصد تخم‌های گذاشته شده توسط مرغ‌های تلقیح شده با مایع منی منجمد، تقریباً $10^6 \times 100$ سلول مورد نیاز می‌باشد (اقتباس از منبع ۲).

تعداد اسپرم‌های ذوب شده که در لایه پری‌ویتلین یافت می‌شود ۲/۲ درصد تعداد اسپرم‌هایی است که منجمد نشده‌اند (۶).

ذخیره اسپرم به صورت منجمد ممکن است در گله‌های لاین و خالص قابل توجیه باشد، ولی در گله‌های اجداد و مرغ مادر با توجه به سهولت و منافع استفاده از اسپرم تازه



توصیه نمی‌شود (۲). به عنوان مثال، توزیع اسپرم‌های دارای توان ژنتیکی بالا که یکی از اهداف تلقیح مصنوعی است، با انجماد اسپرم و محروم شدن تعداد زیادی سلول اسپرم بی‌ثمر مانده و نتیجه‌ای نخواهد داد. لذا، برای توفیق در انتقال صفات ژنتیکی مورد نظر، باید تعداد پرنده نر و میزان اسپرم تولید شده را افزایش داد. در یک مقایسه معلوم شده است تعداد پرنده لازم برای استفاده از اسپرم منجمد برای تلقیح مصنوعی در یک گله مشخص ۵ برابر بیشتر از زمانی است که از اسپرم تازه استفاده می‌شود. در نتیجه، امروزه برای تلقیح مصنوعی ماکیان روش انجماد منسوخ و اسپرم تازه ظرف ۲۴ ساعت باید استفاده شود. برای تلقیح بوقلمون نیز همین‌طور است (۲).

ترکیبات سرما محافظ^۹ معمولاً شامل گلیسرول، دی متیل سولفوکسید (DMSO)، دی متیل استامید (DMA)، اتیلن گلیکول (EG)، دی متیل فرمالدهید و پروپیلن گلیسرول می‌باشد. فقط این ۴ مورد یاد شده کاربرد فراوانی دارند (۷).

در رابطه با حفاظت یا مسمومیت اسپرم ماکیان در برابر انجماد باید چند عامل را مد نظر داشت: غلظت و میزان سرما محافظ‌ها، موازنه دما، موازنه زمان، میزان و شیوه انجماد (۵). کم کاربردترین ماده نگهدارنده DMSO می‌باشد و پرکاربردترین آن‌ها گلیسرول است. گلیسرول عاملی دارد که در ماکیان که به صورت داخل واژنی تلقیح می‌شوند، باروری را کاهش می‌دهد (۷).

در دمای اتاق، اسپرم در مقابل گلیسرول به تحرک خود ادامه می‌دهد. اما توانایی باروری اسپرم منجمد شده با گلیسرول کم است. محل نگهداری اسپرم در دستگاه تولید مثلی ماده دورتر از محل تلقیح است و اسپرم حتی با حضور گلیسرول در دمای فیزیولوژیکی بدن آسیب می‌بیند. بنابراین، تأثیر عامل ضد باروری ممکن است رابطه متقابل گلیسرول و اسپرم

⁹ Cryoprotectants

¹ intravaginal



در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد باشد (دمای محل نگهداری اسپرم) (۷). این رابطه متقابل ممکن است ناشی از آسیب اسمزی و یا تغییر در پروتئین‌های مربوط به سطح اسپرم باشد.

• روش‌های انجماد

برای انجماد اسپرم، اسپرم جمع‌آوری شده را به میزان ۵ برابر با گلیسرول یا محلول DMSO رقیق و وارد ویال‌های مخصوص ذخیره می‌کند. برای نفوذ مایع رقیق‌کننده یا همان نگهدارنده به درون اسپرم، ویال‌های حاوی اسپرم را به مدت ۲ ساعت در حرارت ۱۵-۵ درجه سانتی‌گراد قرار می‌دهند. پس از آن با کاهش تدریجی درجه حرارت محیط به میزان ۱ درجه سانتی‌گراد در دقیقه و رسیدن به درجه حرارت ۳۵- یا ۴۰- درجه سانتی‌گراد، ویال‌ها را تا زمان مصرف درون ازت مایع ذخیره می‌کنند. هنگام استفاده از اسپرم نیز چنانچه رقیق‌کننده DMSO باشد، ویال‌های حاوی اسپرم منجمد را درون حمام ۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده و در صورتی که گلیسرول باشد، علاوه بر حمام قبل از مصرف به منظور جلوگیری از کاهش بیشتر قدرت باروری، مجدداً آن‌ها را رقیق می‌کنند. اگرچه DMSO برای اسپرم‌ها قدری سمی است ولی چون حذف گلیسرین و جدا کردن اسپرم‌ها به وسیله سانتریفیوژ در درجه حرارت ۵ درجه سانتی‌گراد مشکل است و دقت خاصی لازم دارد در عمل DMSO ترجیح داده می‌شود در نهایت سلول‌های به دست آمده پس از سانتریفیوژ مجدداً با یک رقیق‌کننده مخلوط و آماده تلقیح می‌شوند (۱).



جدول ۸ - فرمول ترکیب محلول‌های رقیق کننده برای بهینه‌سازی روشن محافظت اسپرم حاصل از ماکیان با سرما (اقتباس از منبع ۱)

ترکیب	محلول رقیق‌کننده Stwerat و Lake (۱۹۷۸)	BPSE Sexton) (۱۹۷۷)	محلول رقیق‌کننده Tajima و همکاران (۱۹۸۹)
دی‌متیل سولفوکسید (میلی‌لیتر)	-	۴۰	-
گلیسرول (گرم)	۱۳۶/۴	-	۸۰
استات پتاسیم (گرم)	۵/۰	-	۲/۱
گلو تامات پتاسیم (گرم)	-	-	۲/۱
سیترات پتاسیم با ۱ مولکول آب (گرم)	-	۰/۶۴	۰/۵
استات منیزیم با ۲ مولکول آب (گرم)	۰/۸	-	-
سولفات منیزیم (گرم)	-	-	۰/۳۵
گلو تامات سدیم با ۱ مولکول آب (گرم)	۱۹/۲	۸/۶۷	۶/۰
استات سدیم (گرم)	-	-	۲/۵
استات سدیم با ۳ مولکول آب (گرم)	-	۴/۳۰	-
کلرو منیزیم با ۶ مولکول آب (گرم)	-	۰/۳۴	-
هیدروژن فسفات پتاسیم دی‌بازیک با ۳ مولکول آب (گرم)	-	۱۲/۷	-
هیدروژن فسفات پتاسیم دی‌بازیک (گرم)	-	-	۷/۰
هیدروژن فسفات پتاسیم ستریازیک (گرم)	-	۱/۶۵	۱/۶
هیدروژن فسفات سدیم دی‌بازیک (گرم)	-	-	۰/۸
هیدروکسید پتاسیم (گرم)	-	-	۱/۰
فروکتوز با یک مولکول آب (گرم)	۸/۰	۵/۰۰	-
گلوکز (گرم)	-	-	۱۰/۰
سوربیتول (گرم)	-	-	۰/۷
TES ^۱ (گرم)	-	۱/۹۵	۴/۰
Hepes ^۲ (گرم)	-	-	۴/۰
BES ^۳ (گرم)	-	-	۳/۰
پلی وینیل پیرولیدون (۱۰۰۰۰، MW) (گرم)	۳/۰	-	-
حجم کل (میلی‌لیتر)	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰

۱) N-تریس (هیدروکسی متیل) متیل -۲- آمینواتان سولفونیک اسید.

۲) N-۲- هیدروکسی اتیل پی‌پرازین -۲- اتان سولفونیک اسید.

۳) N-۲- بیس (۲- هیدروکسی اتیل) -۲- آمینواتان سولفونیک اسید.



صرف نظر از روش انجماد، از آنجا که منجمد نمودن و خروج از حالت انجماد اسپرم، با کاهش تعداد زیادی اسپرم سالم همراه است، برای داشتن باروری معقول در گله باید ۳ روز متوالی و هر روز حداقل ۳ میلی لیتر اسپرم خالص تلقیح کرد (جدول ۹)، تا نتیجه قابل قبول به دست آید. با این حال زمانی که از DMSO به عنوان رقیق کننده استفاده شود درصد باروری تخم مرغ‌های حاصل از تلقیح مصنوعی بسیار پایین است.

جدول ۹- نسبت تخم‌های پژوهش‌های بارور گذشته توسط بوقلمون‌ها و ماکیان تلقیح شده با مایع منی که در حضور دی متیل سولفوکسید DMSO منجمد شده و قبل از تلقیح از حالت انجماد خارج گردید.

گونه‌ها	ماخذ	باروری (%)
ماکیان	Sexton (۱۹۷۶)	۶۱
ماکیان	Williamson و همکاران (۱۹۸۱)	۷۱-۴۲
ماکیان	Sexton و Duplaix (۱۹۸۴)	۵۰-۲۰
بوقلمون	Graham و همکاران (۱۹۸۲)	۴۰-۳۰
بوقلمون	Sexton (۱۹۸۱)	۶۱

• تحقیق انجام شده در ایران بر تأثیر رقیق کننده‌ها بر منی خروس‌های

بومی فارس (۳):

در این تحقیق که در استان فارس انجام شده است، از ۱۶۰ مرغ و ۲۰ خروس ۷ ماهه بومی استفاده شده است. این حیوانات به صورت تصادفی در گله‌های مطالعاتی استان فارس انتخاب شدند. برای سازگار کردن خروس‌ها به برنامه اسپرم‌گیری، یک دوره ۳ هفته‌ای



اسپرم‌گیری در نظر گرفته شد. برای اطمینان از نبود اسپرم زنده در دستگاه تولید مثلی، مرغ‌ها پس از ۶ هفته وارد آزمایش شدند. مرغ‌ها به صورت تصادفی به ۱۶ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند؛ فاکتورهای دما، نوع رقیق کننده و زمان نگهداری در این آزمایش در نظر گرفته شد.

ترکیب شیمایی رقیق کننده‌ها در این آزمایش از اتچز (۲) برگرفته شد که شامل:

- 1) Lake and Ravie (1979)
- 2) Van Wam bekec (1972)
- 3) Sexton (1977)
- 4) Chavdhuri and lake (1988)

دمای مورد استفاده در این آزمایش، دمای یخچال ۵-۴ درجه سانتی‌گراد و دمای اتاق ۲۴-۱۹ درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد و زمان‌های ۰، ۶ و ۲۴ ساعت نگهداری در نظر گرفته شد

در این آزمایش نشان داده شد که همه رقیق‌کننده‌های بررسی شده برای رقیق کردن منی خروس‌های بومی و تلقیح مصنوعی فوری، مناسب بود؛ و دامنه تغییرات باروری آن‌ها بین ۹۱ تا ۹۹ درصد بود. بیشترین درصد باروری اسپرم‌های نگهداری شده در دمای ۴ تا ۵ درجه سانتی‌گراد برای ۶ ساعت (۷۷ درصد) و ۲۴ ساعت (۴۱ درصد) با رقیق کننده Sexton به دست آمد. نگهداری اسپرم در سکستون برای ۶ ساعت و در دمای ۱۹-۲۴ درجه سانتی‌گراد، موجب حفظ باروری به میزان ۵۰ درصد شد. (۳) هیچ یک از رقیق کننده‌ها برای نگهداری اسپرم در دمای ۱۹-۲۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت، مناسب نبودند. در این شرایط، میزان باروری برای رقیق کننده چادهوری ۱/۲ درصد بود. لذا با توجه به همبستگی بالای باروری با میزان جنبایی اسپرم و نیز با درصد اسپرم‌های زنده می‌توان برای ارزیابی باروری خروس‌های بومی، از میزان تحرک و یا درصد اسپرم‌های زنده، بهره گرفت.



نتایج اقتصادی تلقیح مصنوعی

آمار جهانی نشان می‌دهد که فقط در حدود ۰/۵ درصد از مرغ‌های مادر گوشتی که در قفس نگهداری می‌شوند، به وسیله تلقیح مصنوعی بارور می‌شوند. این گله‌های تجاری شامل مرغ‌های مادر گوشتی کوتوله هستند که اکثراً در اروپای شرقی یافت می‌شوند. در زیر مزایا و معایب استفاده از تلقیح مصنوعی آورده شده است (۴):

مزایا:

- تخم مرغ‌های تمیزتر
- باروری بهتر
- کاهش مصرف خوراک
- خروس کمتر
- استفاده بیشتر از خروس‌های ممتاز
- حذف مرغ‌های غیر تخمگذار
- افزایش تعداد پرند در هر متر مربع نسبت به فضای بستر
- استفاده مؤثر از مرغ‌های کوتوله

معایب:

- هزینه اولیه بالا
- هزینه نیروی کار بالا
- آموزش تکنسین تلقیح مصنوعی
- مشکلات تخصیص خوراک در پی مرگ و میر
- جراحات کف پا

بی‌شک مرغ‌های مادر کوتوله مناسب‌ترین پرند برای محیط قفس هستند. میزان خوراک تخصیص یافته برای این مرغ‌های مادر کوتوله تقریباً معادل اشتتهای آزاد آنها است. از



این‌رو، تخصیص خوراک برای این پرنده‌های کوچک از اهمیت کمتری برخوردار است. مشکل عمده با سیستم‌های قفس برای مرغ‌های مادر گوشتی، تخصیص خوراک می‌باشد که معمولاً خوراک آن‌ها با استفاده از هاپر مکانیکی به مقداری که از قبل بر اساس ارتفاع دان مقابل هر قفس تعیین شده است، توزیع می‌شود. ارتفاع دان در داخل دانخوری بر اساس مقدار خوراک هر قفس تنظیم شده است. اگر در هر قفس ۳ مرغ موجود باشد، در زمان اوج تولید، مقدار دان مصرفی هر قفس ۴۵۰ گرم می‌باشد. اگر یک پرنده تلف شود، خوراک تخصیصی برای ۲ پرنده باقی مانده تا ۵۰ درصد افزایش می‌یابد. راه حل این قضیه جابه‌جایی دائم پرنده‌ها برای حفظ تراکم قفس‌ها می‌باشد. اگرچه این عمل موجب تغییر سلسله مراتب اجتماعی در گروه‌های کوچک قفس و نهایتاً کاهش تولید تخم مرغ می‌گردد. همچنین، به علت این‌که مرغ‌های مادر گوشتی باید با توجه به میزان تولید تخم مرغ، خوراک مصرف کنند بنابراین، عملکرد متفاوت بین قفس‌ها منجر به تغذیه بیش از حد پرنده‌های کم



تولید می‌گردد. واضح است که وضعیت مشابهی در پرنده‌های روی بستر اتفاق می‌افتد، اما چنین اثری به علت اندازه بزرگ جمعیت، حداقل می‌باشد.



نگاره ۱۷- روش پرورش مرغ مادر در قفس

جراحات کف پا مسئله دیگر مرغ‌های پرورش یافته در قفس و به ویژه مرغ‌های مادر معمولی می‌باشد. بعد از ۱۵ تا ۲۰ هفته پرورش در قفس، در تعداد زیادی از پرنده‌ها جراحات کف پا ایجاد می‌شود. کنترل چنین جراحاتی با تغییر مواد مغذی محتوی خوراک غیر ممکن است و شدت جراحات به نوع قفس و به ویژه به طراحی کف و مواد کف قفس بستگی دارد. مرغ‌ها با جراحات کف پا دچار افت تولید تخم مرغ می‌شوند. مزیت دیگر مرغ‌های مادر گوشتی پرورش یافته در قفس، کاهش نیاز خوراک به علت کاهش خوراک مورد نیاز برای نگهداری می‌باشد. مقدار کاهش مصرف خوراک، بسته به دمای محیط حدود ۱۵ تا ۲۰ درصد است.



مشکل دیگر، تلقیح مرغ‌های غیر تخمگذار است، زیرا معمولاً تا زمانی که گله به حدود ۲۵ درصد تولید نرسد، تلقیح مصنوعی آغاز نمی‌شود. دو هفته پیش از تلقیح مصنوعی، برای تضمین تولید منی به اندازه کافی، باید ۲ بار در هفته از خروس‌ها اسپرم‌گیری شود. مرغ‌ها معمولاً در هفته اول ۲ بار تلقیح می‌شوند و سپس به صورت یک هفته در میان با حدود ۰/۰۵ میلی‌لیتر منی تازه یا منی رقیق شده که حاوی حدود ۱۵۰ تا ۲۰۰ میلیون اسپرم می‌باشد تلقیح می‌شوند. بسته به میزان منی مورد نیاز، می‌توان هر هفته ۲ تا ۳ دفعه از خروس‌ها اسپرم‌گیری نمود. هر وعده جمع‌آوری، حاوی ۰/۲ تا ۰/۵ میلی‌لیتر با میانگین حدود ۰/۳۵ میلی‌لیتر منی خواهد بود. اگر منی رقیق نشده استفاده شود بنابراین، هر ۰/۳۵ میلی‌لیتر منی جمع‌آوری شده برای ۷ بار تلقیح کافی می‌باشد و اگر از خروس‌ها در هفته ۳ بار اسپرم‌گیری شود، تقریباً معادل جفت‌گیری ۱ به ۲۰ می‌باشد.

بر اساس نوع قفس، جهت تلقیح مصنوعی نیازی به خارج کردن مرغ‌ها از قفس نیست، اما، پاهای آن‌ها می‌بایست به سمت خارج قرار گیرد تا مخرج آن‌ها در دسترس باشد. با استفاده از وسایل مکانیکی مقید کننده، عمل تلقیح مصنوعی توسط یک نفر قابل اجرا است. اما بعضاً ۲ نفر برای انجام این کار مورد نیاز است که در این صورت ۳۲۰۰ مرغ را در یک روز می‌توان تلقیح نمود. با احتساب ۵ روز تلقیح در هفته، ۲ نفر قادر به تلقیح یک گله مادر ۱۵ هزار قطعه‌ای می‌باشند. یکی از تلاش‌ها در این زمینه ایجاد انگیزه و تحرک است بنابراین، مطلوب است از ۳ نفر به صورت چرخشی استفاده نمود که یکی از این افراد مسئول اسپرم‌گیری از خروس‌ها می‌باشد. بهترین زمان تلقیح بعد از ظهر است و ایده آل این است که منی تازه رقیق نشده طی ۱ تا ۲ ساعت استفاده شود. برای منی رقیق شده زمان تلقیح می‌تواند بیشتر از ۶ ساعت باشد (۵).

مرغ‌ها و خروس‌های با عملکرد پائین را می‌توان بعد از ۳۰ هفته حذف کرد. خروس‌هایی که منی با کیفیت پائین تولید می‌کنند، قبل از این زمان باید حتماً حذف شوند.



زیرا ندرتاً وضعیت تولید مثل آن‌ها بهبود می‌یابد. حذف مرغ‌ها بر اساس ظاهر کلوآک و سایر مشکلات از قبیل پر ریزی، چاقی یا جراحات کف پا می‌باشد.

بر اساس یک بررسی در سال ۱۹۹۴ هزینه مرغ‌های مادر گوشتی تجاری با تلقیح مصنوعی در مقایسه با جفتگیری طبیعی، حدود ۴ سنت افزایش خواهد یافت. بیشتر این هزینه‌ها مربوط به هزینه سرمایه اولیه قفس و نیروی کار تلقیح مصنوعی می‌باشد. هزینه کارگر برای تلقیح مصنوعی تنها در حدود ۲ سنت برای هر جوجه (۳ نفر، ۵ روز کار در هفته، به ازای ۱۵ هزار قطعه مرغ) است. در مقابل ایجاد این هزینه همان‌گونه که قبلاً توضیح داده شد، مصرف خوراک ۱۵ درصد کاهش می‌یابد. با احتساب ۴۵ کیلوگرم دان برای یک مرغ مادر، ۶/۷۵ کیلوگرم خوراک کمتری مصرف می‌شود اگر قیمت هر کیلوگرم خوراک ۲۰ سنت باشد، بنابراین ۱/۳۵ دلار برای هر مرغ یا یک سنت به ازای هر جوجه صرفه‌جویی می‌شود. بنابراین، صرفه‌جویی در خوراک حدود ۵۰ درصد هزینه تلقیح مصنوعی را جبران می‌کند. در نهایت، استفاده از تلقیح مصنوعی بستگی به توانایی حفظ باروری دارد که بازتابی از چگونگی عملکرد پرسنل می‌باشد (۴).

منافع اقتصادی تلقیح مصنوعی در گله‌های بوقلمون که به لحاظ وضعیت جسمی میزان آمیزش طبیعی در آن‌ها بسیار کم است، کاملاً مشخص می‌باشد. در گله‌های مرغ مادر گوشتی نیز که با افزایش سن و وزن، درصد باروری آن‌ها کم شده، تنها راه جبران آن تلقیح مصنوعی است. بیشترین بازده اقتصادی تلقیح مصنوعی در مرغ‌های مادر گوشتی هنگامی است که پرندگان نر و ماده گله مادر هر دو در قفس نگهداری می‌شوند. در روش قفس، کنترل وزن انفرادی پرندگان نر به راحتی انجام گرفته، از جنگیدن پرندگان نر مهاجم با یکدیگر جلوگیری می‌شود. لذا، با اعمال رفاه بیشتر و بهبود مدیریت میزان تلفات نرها از ۱۳ درصد به ۲ درصد تقلیل می‌یابد. از طرف دیگر تعداد پرند نر لازم برای گله از یک‌پنجم تا یک‌دهم کاهش یافته و از آن‌ها که دارای توان ژنتیکی بالایی هستند، به مراتب بیشتر



استفاده می شود. از آنجا که در تلقیح مصنوعی رفتار جنسی مطرح نیست، انتخاب پرنده نر برتر کاملاً بر اساس افزایش وزن بدن و کیفیت رشد انجام می گیرد. تجربه نشان داده است که مرغ های مادر گوشتی کوتاه و کم رشد حدود ۳۰ درصد کمتر غذا مصرف می نمایند. لذا با انتخاب مرغ های مزبور قیمت تمام شده جوجه یکروزه که ۶۰ درصد آن مربوط به غذاست، به حداقل خود تقلیل می یابد. در سیستم قفس، مرغ های مادر زودتر به بلوغ جنسی رسیده از این رو به تعداد تخم مرغ بارور و تعداد جوجه نیز افزوده می شود. به دلیل آنکه انرژی لازم جهت نگهداری در قفس کمتر از بستر است، میزان غذای مصرفی هر پرنده کاهش یافته و با کنترل وزن در نهایت میزان غذای مصرف شده به ازای هر جوجه تولیدی تقلیل می یابد. میزان باروری در روش قفس مشابه باروری در گله های بسیار خوب در روش بستر است، ولی در مقایسه با گله های معمولی در روش بستر، میزان آن بسیار بالاتر می باشد. تنها نقطه ضعفی که در انتخاب مرغ های کوتاه و کم رشد به چشم می خورد، تقلیل کیفیت جوجه های هتروزیگوت حاصل از آنها می باشد. این نکته کاملاً روشن است که مرغ های مادر سنگین و بزرگ جثه، در لقاح طبیعی دارای مشکل بوده و بازدهی کمی دارند (جدول ۱۰)، لذا چنانچه برای باروری تخم مرغ ها از تلقیح مصنوعی استفاده شود، اشکالات ناشی از سنگینی وزن مرتفع می شود و به بازدهی گله های سنگین نیز افزوده می شود. از این رو، اگر در انتخاب مرغ های مادر پرندگان بزرگ جثه بر پرندگان کم رشد ترجیح داده شوند، نتیجه آن افزایش کیفیت جوجه های حاصله بوده و نقطه ضعف ناشی از به کارگیری مرغ های کم رشد نیز مرتفع می گردد. مطالعات نشان داده است که وزن پرنده در شش هفتگی به وزن جوجه در یکروزگی ارتباط داشته و وزن جوجه یکروزه نیز به وزن و اندازه تخم مرغ مربوط است (۲).



جدول ۱۰- میزان تولید تخم مرغ، مصرف غذا، باروری، جوجه درآوری و عملکرد نتایج حاصل از جفت‌گیری نرهای سالم با ماده‌های کوتوله از طریق روش تلقیح مصنوعی در قفس و روش جفت‌گیری طبیعی در سطح بستر (اقتباس از منبع ۲).

ماده‌های کوتوله در قفس ^۱	ماده‌های سالم در سطح بستر ^۲	ماده‌های کوتوله در قفس ^۲	ماده‌های سالم در سطح بستر ^۲
-	-	۱۷۱	۱۸۵
۱۶۳	۱۶۸	۱۷۱	۱۵۹
۹۶	۹۲	۹۵	۹۵
۶۰/۲	۶۲/۲	۶۰/۷	۶۳/۶
۱۱۱	۱۲۳	۱۱۸	۱۳۷
-	-	۳/۱۲	۳/۹۶
-	-	۲۳۲	۳۰۱
۲۵۲۰	۵۰۳۰	-	-
۲۵۹۰	۲۳۳۰	۲۷۹۸	۳۸۵۹
۲	۱۳	-	-
۶/۶	۶/۵	۴/۴	۵/۰
۳۹۳	۴۸۶	۳۹۸	۳۹۸
۹۳	۹۳	۸۸	۸۷
-	-	۱۸۲۳	۱۹۲۳
-	-	۱۶۸۰	۱۷۵۹
-	-	۱/۹۲	۱/۹۰
-	-	۱/۰۳	۲/۱۰

(۱) اقتباس از: de Revers (۱۹۸۸)

(۲) اقتباس از: Van Wambeke و همکاران، (۱۹۸۶)

(۳) به روش تلقیح مصنوعی

(۴) به روش جفت‌گیری طبیعی

پیشنهادهای

مدیریت پرورش طیور برای کسب حداکثر سود اقتصادی، نقش عمده‌ای دارد. اعمال مدیریت همه جانبه مستلزم دارا بودن علم و فن است. با به کارگیری تلقیح مصنوعی



می‌توان بسیاری از هزینه‌ها را کاهش داد. به عنوان مثال، تلقیح مصنوعی از انتقال بعضی از بیماری‌ها جلوگیری می‌کند و همچنین به کارهای اصلاح نژادی کمک شایانی می‌کند. هزینه انجام تلقیح مصنوعی در مقایسه با هزینه نگهداری جنس نر بسیار کمتر و با صرفه‌تر است و با کاهش تعداد پرنده نر، مدیریت راحت‌تر اعمال می‌شود.

از طرف دیگر، اشتغال‌زایی از اهداف مهم گسترش علوم دامی است، پس با ترویج تلقیح مصنوعی می‌توان به ایجاد اشتغال کمک کرد. همچنین، با انجام تلقیح مصنوعی می‌توان نابودی طیور در حال انقراض را کاهش داد و از ذخایر ژنی کشور محافظت کرد. ذخیره منی از مراحل مهم تلقیح مصنوعی است. باید اثر انواع رقیق‌کننده‌ها را، بر منی گونه‌های اهلی بررسی کرده و رقیق‌کننده مناسب را انتخاب کرد. با این کار هم می‌توان از ذخایر ژنی محافظت کرد و هم از توانایی‌های ژنتیکی طیور بومی استفاده نمود. همچنین به دلیل آن‌که تلقیح مصنوعی حق انتخاب را از جنس نر می‌گیرد، می‌تواند مانع از بین رفتن ژن‌های مطلوب شود. . امیداست متخصصین علوم دامی با یادگیری و ترویج علم و فن تلقیح مصنوعی طیور، به پیشبرد اهداف علمی و اقتصادی کشور کمک نمایند.



منابع

۱. اتجز، رابرت. ج ۱۳۸۰. تولید مثل در پرندگان اهلی (برگرداننده: محمدجواد ضمیری). انتشارات دانشگاه شیراز، ص ۳۰۱-۳۳۶.
۲. اتجز، رابرت. ج ۱۳۸۰. تولید مثل در طیور (برگرداننده: محمد مهدی کیایی و مهرداد مدیر صناعی). انتشارات دانشگاه تهران، ص ۲۸۹-۳۲۲.
۳. ضمیری، م.، م. هاشمی و ع. بوستانی. ۱۳۸۴. ارزیابی چندین رقیق کننده برای نگهداری اسپرم خروس‌های بومی فارس در دمای ۴-۵ و ۱۹-۲۴ درجه سانتی‌گراد. مجله علوم کشاورزی ایران، جلد ۳۶، شماره ۳، ص ۶۱۱-۶۰۴.
۴. لیسون، اس و جی. دی، سامرز. ۱۳۸۸. پرورش مرغ مادر گوشتی (برگرداننده: مجتبی زاغری و علیرضا جعفری‌اروری). انتشارات لاهیجی، ص ۵۱-۴۳.
5. Blanco, J.M., D.E. Wildt, U. Hofle, W. Voelker and A.M. Donoghue. 2009. Implementing artificial insemination as an effective tool for ex situ conservation of endangered avian species. *Theriogenology* 71:200-213.
6. Cole, K., A.M. Donoghue, P.J. Blore, J.S. Holliman, N.A. Cox, M.T. Musgrove and D.J. Donoghue. 2004. Effect of aeration and storage temperature on campylobacter concentration in poultry semen. *Poultry Science* 83: 1734-1738.
7. Donoghue, A.M. and G.J. Wishart. 2000. Storage of poultry semen. *Animal Reproduction Science* 62: 213-232.
8. Long, J.V. 2006. Avian semen cryopreservation: what are the biological challenges? *Poultry Science* 85:232-236.
9. Ronald, J., R.J. Thurston, R. Thomas, T.R. Scott, N.Korn, A. Debra and D.A. Barnes. 1998. Effect of aeration on fertilizing capacity of semen diluted with perfluorochemical emulsion and stored for twenty-four hours. *Poultry Science* 77:1051-1055.



یادداشت



Artificial Insemination in Poultry



Authors

Nader Asadzadeh

Ali Hatefi

Reza Masoudi

2025