

## انتقال جنین با روش غیرجراحی در مادبان‌های آمیخته ترکمن در ایران

دکتر محمود بلورچی\*    دکتر فرامرز قراگوزلو\*    دکتر سیدمرتضی میرترابی\*\*  
دکتر پرویز هورشتی\*    دکتر عبدالمحمد حسنی طباطبائی\*    دکتر پرویز تاجیک\*

### خلاصه :

مطالعه حاضر برای راه‌اندازی تکنیک انتقال جنین مادبان و ارزیابی نقاط قوت و ضعف آن و نیز بررسی تأثیر فاصله زمانی اسپرم‌گیری تا تلقیح مصنوعی روی جمع‌آوری جنین و همچنین بررسی اثر فاصله زمانی جمع‌آوری جنین تا انتقال آن روی میزان آبستنی در مادبان‌های گیرنده انجام شد. جنین‌های ۷-۸ روزه مادبان‌های دهنده، در دو فصل تولیدمثلی متوالی (نیمه اول هر سال) به روش غیرجراحی جمع‌آوری گردید. تعداد ۱۲ رأس مادبان دهنده و ۲۳ رأس مادبان گیرنده از آمیخته‌های ترکمن متعلق به بخش پرورش اسب کشت و صنعت ورامین وابسته به سازمان اتکا مورد استفاده قرار گرفت. باروری مادبان‌های دهنده با استفاده از ۲ رأس نریان و از طریق جفت‌گیری طبیعی و تلقیح مصنوعی انجام شد. از ۱۲ رأس مادبان دهنده طی ۵۰ بار شستشوی رحمی مجموعاً ۳۰ جنین (R.R. = ۶۰٪) (Recovery Rate) به دست آمد که ۲۷ جنین قابل انتقال تشخیص داده شد و به گیرنده‌های مناسب منتقل گردید. هیچ‌کدام از گیرنده‌های فوق (P.R. = ۶۶/۶٪) (Pregnancy Rate) آبستن شدند. ارزیابی فاصله زمانی بین اسپرم‌گیری و تلقیح مصنوعی نشان داده که تلقیح مصنوعی تا ۷۰ دقیقه بعد از اسپرم‌گیری نیز باروری قابل قبولی دارد و همچنین فاصله زمانی جمع‌آوری جنین تا انتقال آن تا ۱۶۰ دقیقه اثر سوئی روی حیات جنین ندارد. این اولین گزارش از ایران در مورد انتقال جنین مادبان به روش غیرجراحی است که با موفقیت انجام شد.

### واژه‌های کلیدی : انتقال جنین، مادبان‌های آمیخته ترکمن، تلقیح مصنوعی

#### مقدمه :

مناسب منتقل نمود (۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۵ و ۲۵). همین‌طور با اخذ رویان از مادبان‌های پیر دارای ارزش ژنتیکی بالا و انتقال به گیرنده‌ها، خطرات ۱۱ ماه آبستنی و زایمان کاسته می‌شود (۹ و ۲۵). گرچه احتمال گرفتن رویان درجه یک از مادبان‌های پیر کمتر از مادبان‌های جوان می‌باشد (۴۸). از آنجا که آبستنی در مادبان‌های شرکت‌کننده

تکنیک انتقال جنین با افزایش راندمان تولیدمثلی، پتانسیل ژنتیکی مادبان‌های باارزش را به نتایج بیشتری منتقل می‌نماید (۲۵ و ۳۸). با این روش به راحتی می‌توان از مادبان‌های بارور (Fertile) و در مواردی نیز از مادبان‌هایی با باروری کم (Subfertile) (۲۴ و ۴۴) رویان گرفته و به مادبان‌های گیرنده

\* - گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

\*\* - کارشناس مرکز اصلاح نژاد دام کرج، کرج - ایران.

پروژسترون در بقای آبستنی مادیان (۳۴ و ۵۰) و نیز مطالعه بیولوژی تولیدمثل قاطر (۸) و تعیین نقش ژنوتیپ جنین در تشکیل آندومترال کاپس و تولید e.C.G از دیگر زمینه‌هایی هستند که می‌توان از این تکسینیک بهره گرفت (۳۶). این روش در حفظ گونه‌هایی که در معرض خطر نابودی هستند کاربرد خوبی پیدا کرده است (۲۹). مطالعه تأثیر گنجایش رحم روی میزان رشد جنین در مراحل داخل رحمی، موضوع بررسی محققین بسیاری بوده است (۴۶، ۴۷ و ۶۲). تشکیل بانک جنین‌های منجمد شده در مراکز اصلاح نژاد اسب نیز اقدامی در راستای بهبود ژنتیکی جمعیت اسب است که به واسطه این روش قابل اجرا می‌باشد، همین‌طور زمانی که جابجایی اسب، بین مناطق مختلف به علت بیماری‌های خاص مقدور نیست به راحتی می‌توان از این روش در جلوگیری از نقل و انتقال بیماری‌ها بهره برد (۲۸).

درمادیان تاکنون هورمون‌های به کار گرفته شده تأثیر بارزی در تخمک‌گذاری‌های چندتایی نداشته‌اند (۳ و ۴)، لذا در یک فصل تولیدمثلی می‌توان از یک مادیان، بین ۶ تا ۸ جنین انتظار داشت (۴۸).

اهداف انجام این تحقیق عبارتند از:

- ۱ - به‌کارگیری تکنیک انتقال جنین اسب در ایران و ارزیابی نقاط قوت و ضعف در اجرا.
- ۲ - به‌کارگیری امکانات داخلی موجود، در انجام این کار
- ۳ - تعیین درصد جنین‌های جمع‌آوری شده و نیز درصد آبستنی حاصل از انتقال جنین‌های ۷ و ۸ روزه.
- ۴ - بررسی تأثیر فاصله زمانی اسپرم‌گیری تا تلقیح

در مسابقات می‌تواند از عوامل محدودکننده به حساب آید، با گرفتن رویان از این مادیان‌ها و انتقال به گیرنده‌ها، می‌توان به هر دو مقصود رسید (۹، ۵۸ و ۶۶). بعضی از مادیان‌ها سقط جنین عادی (Habitual abortion) داشته و بارها کره‌های یک‌قلو یا دوقلوی خود را سقط می‌کنند که در صورت انجام انتقال رویان می‌توان از بروز چنین حوادثی کاست (۴۸).

در شرایط طبیعی، مادیان‌ها از سن سه سالگی برای تولیدمثل به کار گرفته می‌شوند ولی با استفاده از انتقال جنین مادیان‌های دو ساله نیز می‌توانند در برنامه تولیدمثلی قرار گیرند بدون اینکه لطمه‌ای به آنان وارد شود (۳۹ و ۵۶). مادیان‌های دهنده‌ای که در اواخر فصل تولیدمثلی زایمان می‌کنند می‌توانند یک جنین اضافی تولید نمایند (۳۰ و ۴۸).

جمع‌آوری رویان خود، در سایر زمینه‌های بیوتکنولوژی مانند Cloning، تعیین جنسیت جنین (Sexing) ارزیابی باروری اسپرم تازه (Fresh Semen) یا سرد شده (Cooled Semen) یا منجمد (Frozen Semen) نریان و همین‌طور در ارزیابی تأثیر انواع غنی‌کننده‌ها روی میزان باروری اسپرم راه‌گشاست (۴، ۷، ۱۴، ۳۱، ۴۸، ۵۵ و ۶۰). تعیین نقش اویدوکت و رحم درزنده ماندن یا مرگ جنین (۱۷ و ۵۳) یا مطالعه پاتوژنز کاهش باروری در مادیان‌های پیر نسبت به مادیان‌های جوان (۱۵)، مطالعه ایمنی مادری - جنینی از طریق انتقال جنین بین گونه‌ای (جنین الاغ به رحم مادیان و بالعکس) (۵ و ۶) و تولید کره‌های یکسان و چندقلو جهت کارهای پژوهشی (۶، ۹، ۲۶ و ۴۹)، مطالعه نقش و ارزش بعضی هورمون‌ها از جمله

مصنوعی بر موفقیت اخذ جنین از مادبان‌های دهنده.  
۵ - بررسی تأثیر فاصله زمانی شستشوی رحمی و اخذ جنین تا انتقال به گیرنده روی میزان آبستنی در گیرنده.

در ایران اولین مطالعه در زمینه استخراج رویان مادبان به روش غیرجراحی در سال ۱۳۷۲ طی تحقیقی در رابطه با شستشوی رحم و جمع‌آوری رویان و ارتباط آن با وضعیت میکروسکوپیک آندومترיום مادبان در دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز انجام شد (۱)، لیکن تا قبل از تحقیق حاضر گزارشی از انتقال رویان مادبان به گیرنده و برقراری آبستنی و تولد کره به ثبت نرسیده است.

#### مواد و روش کار:

بخش اسب مجتمع کشت و صنعت ورامین وابسته به سازمان اتکا واقع در جلیل‌آباد ورامین برای اجرای برنامه انتخاب‌شده مادبان‌ها و نریان‌ها در باکس‌های انفرادی به مساحت ۷/۵ مترمربع نگهداری می‌شدند و با جیره مناسب شامل جو، یونجه و کاه تغذیه می‌شدند.

#### مواد - دام‌های ماده و نر

در این تحقیق از ۱۲ رأس مادبان دهنده و ۲۳ رأس مادبان گیرنده از آمیخته‌های ترکمن استفاده شد. ملاک انتخاب مادبان‌های دهنده که بین ۳ تا ۱۴ سال سن داشتند سلامت دستگاه تناسلی و سوابق تولیدمثلی در سال‌های گذشته بود. معاینه بالینی رحم و تخمدان‌ها و سرویکس و واژن و فرج انجام گرفته و ثبت می‌شد. مادبان‌های دهنده‌ای که از نظر وضع بدنی و سلامت جسمانی در حد قابل‌قبولی بودند جهت برنامه انتقال جنین انتخاب شدند. ملاک ارزیابی و انتخاب

مادبان‌های گیرنده که در محدوده سنی ۳ تا ۱۰ سال قرار داشتند نیز همانند مادبان‌های دهنده و بدون سوابق سوء تولیدمثلی بود و نیز معاینات دستگاه تناسلی آنها مطابق مادبان‌های دهنده انجام گرفته و ثبت می‌گردید. جهت باروری مادبان‌های دهنده از ۲ رأس نریان ۷ ساله و ۸ ساله استفاده شد که هر دو از آمیخته‌های ترکمن بودند. ارزیابی باروری نریان‌ها براساس سوابق جفتگیری‌های سال‌های گذشته و میزان کره‌زایی این جفتگیری‌ها انجام گردید.

#### داروها، مواد مصرفی و وسایل کار

نمک تروتامین پروستاگلاندین  $F2\alpha$  «لوتالیز» Upjohn Co. 5mg/ml، گنادوتروفین کوریونیک (h.c.G) «کـــورولون» Intervet 1000 IU/ml، گزایلازین «رامپون» Bayer، پنی‌سیلین G پتاسیم 1000,000 I.U شرکت داروسازی جابرابن حیوان، سولفات استرپترمایسین 1gr شرکت داروسازی جابرابن حیوان

واژن مصنوعی مدل میسوری، سیلندرهای یک لیتری مدرج، کاتترهای فلاش رحمی (ساخت کارخانه سوپا - ایران)، پیپت تلقیح مصنوعی مادبان (Arnold-Denmark)، ژل لوبریکنت استریل (K.Y)، پتری دیش ۱۰ و ۸ سانتیمتری استریل - یکبار مصرف، دستکش و لباس کار، اتوکلاو - انکوباتور - فور، ظروف شیشه‌ای یک لیتری حمل آب مقطر و محلول شستشوی رحمی، سرنگ انتقال جنین (I.M.V. France)، فیلتر ۰/۲۲ میکرون

محلول رقیق‌کننده و غنی‌کننده اسپرم (Extender) براساس توصیه (Kenny et al (1975) (۴۵) از

در زمان مصرف، محلول شماره یک و دو را در حرارت محیط آزمایشگاه به‌آهستگی در یک ظرف یک لیتری می‌ریزیم، pH محلول پس از اختلاط ۷/۲ می‌باشد. سپس به یک لیتر محلول فوق میزان ۲۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی پنی‌سیلین G پتاسیم، ۱۵۰۰۰۰ میکروگرم استرپتومایسین سولفات و ۱۰۰۰ میلی‌گرم گلوکز و ۳۶ میلی‌گرم پیرووات سدیم و ۴۰۰ میلی‌گرم B.S.A (Bovine Serum Albumine) اضافه می‌نمائیم. درجه حرارت مناسب هنگام مصرف ۳۶-۳۷ درجه سانتی‌گراد است.

محیط کشت : میزان ۱۰۰ سی‌سی از محلول شستشو را تهیه کرده و به آن ۴۰۰ میلی‌گرم B.S.A اضافه نموده و در موقع مصرف با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرون استریل و جهت شستشوی جنین و نگهداری کوتاه مدت آن مورد استفاده قرار می‌گرفت.

#### روش کار

برای اینکه در زمان اجرای برنامه از ماه اردیبهشت به بعد مادیان‌ها دوره ترانزیشنال را پشت سر گذاشته و حداقل ۲ سیکل منظم رانشان داده باشند، در این برنامه با استفاده از سیستم نوردهی مصنوعی سعی شد فصل تولیدمثلی مادیان‌های مورد نظر جلو انداخته شود. لذا از نیمه دوم دی ماه برنامه نوردهی مصنوعی با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی آغاز گردید و تا رسیدن به حد مطلوب با نور طبیعی ادامه یافت. شروع دوره نوری روز از طلوع آفتاب محاسبه می‌گردید و با استفاده از نور مصنوعی به ۱۶ ساعت روشنایی رسانده می‌شد.

غنی‌کننده شیرخشک و گلوکز به‌راحتی می‌توان برای رقیق کردن و نگهداری کوتاه مدت اسپرم اسب استفاده نمود برای تهیه ۱۰۰ سانتی‌متر مکعب غنی‌کننده اجزاء زیر به کار گرفته شد :

شیرخشک بدون چربی ۲/۴ گرم، پودر گلوکز ۴/۹ گرم، پنی‌سیلین G پتاسیم ۱۵۰۰۰۰ واحد بین‌المللی استرپتومایسین سولفات ۱۵۰۰۰۰ میکروگرم، آب مقطر ۲ بار تقطیر ۹۲ میلی‌لیتر، حجم کلی ۱۰۰ میلی‌لیتر

اجزاء محلول رقیق‌کننده و غنی‌کننده اسپرم به دقت در آزمایشگاه توزین و بعد از مخلوط نمودن در شیشه‌های در پیچی به حجم ۱۰۰ سانتی‌متر مکعب ریخته و تا موعد مصرف به صورت منجمد در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد.

محیط‌های جمع‌آوری و انتقال جنین : محلول مورد استفاده جهت شستشوی رحمی (Flushing) و جمع‌آوری جنین، فسفات بافر سالین P.B.S (Phosphate Buffered Saline) است که برای تهیه یک لیتر از مخلوط فوق مواد زیر رابه دقت توزین کرده و هریک را جداگانه در نیم‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر حل نموده و سپس به وسیله اتوکلاو و با فشار ۱/۵ اتمسفر و به مدت ۱۵ دقیقه استریل می‌شد.

ترکیب شماره یک ترکیب شماره دو

|  |  |
|--|--|
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 1000 mg | NaCl 8000 mg                                 |
| NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 150 mg  | KCL 200 mg                                   |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 200 mg   | MgCl <sub>2</sub> .6 H <sub>2</sub> O 100 mg |
|  | CaCl <sub>2</sub> water free 100 mg          |

جهت اطلاع از وضعیت دوره فعلی مادیان‌های دهنده و گیرنده علاوه بر معاینات بالینی و معاینه رکتال جهت تشخیص و تخمین اندازه فولیکول و میزان قوام سرویکس، هر روز به‌طور منظم نزدیک کردن مادیان و نریان و ثبت علائم استفاده می‌شد و در جداول هفتگی براساس عدم حضور یا حضور علائم از (-) یعنی عدم آمادگی برای جفت‌گیری تا (+++) یعنی اوج جفت‌پذیری درجه‌بندی می‌شد.

در شروع برنامه با توجه به تعداد مادیان‌های دهنده و گیرنده و تنوع وضعیت‌های مختلف سیکل استروس، مادیان‌های گیرنده مناسب جهت دریافت رویان از مادیان دهنده و براساس اطلاعات ثبت شده انتخاب می‌شدند. در مراحل بعد به علت محدودیت زمانی و محدودیت تعداد مادیان‌ها، استفاده از یک روش مناسب جهت همزمان کردن استروس ضروری بود. از آنجا که تجویز سیستمیک  $PGF_2\alpha$  از ۴ روز بعد از اوولاسیون به‌راحتی ایجاد لوتئولیز می‌کند (۲)، لذا روش دو تزریق متوالی  $PGF_2\alpha$  لوتالایز - آپجان میزان ۱۰ میلی‌گرم داخل عضلانی به فاصله ۱۴ روز به مادیان‌های دهنده و گیرنده به‌کار گرفته شد، بدین ترتیب سه روز بعد از دومین تزریق همزمانی قابل قبولی در شروع علائم استروس حاصل می‌شد.

جهت بارور کردن مادیان‌های دهنده از روش جفت‌گیری طبیعی و تلقیح مصنوعی براساس روش‌های استاندارد استفاده گردید (۳۲).

منی جمع‌آوری شده به آزمایشگاه منتقل شده و ابتدا حجم کلی انزال و بعد از جداسازی ژل توسط

فیلتر، حجم عاری از ژل که غنی از اسپرم است محاسبه و ثبت می‌گردید. علاوه بر ارزیابی اسپرم از جهت باروری در آزمایشگاه، درصد آبستنی به ازاء هر جفت‌گیری که یکی از دقیق‌ترین و حساس‌ترین معیارهای ارزیابی باروری نریان‌ها ذکر شده (۲۶) مدنظر قرار می‌گرفت. در بررسی آزمایشگاهی معیارهای مورد نظر تحرک پیشرونده اسپرم، تعداد اسپرم‌های مرده و زنده، تعداد و درصد اسپرم‌های غیرطبیعی و تراکم اسپرم در هر میلی‌لیتر انزال بود (۴۰ و ۴۳). در صورتی که تعداد اسپرم با حرکت پیشرونده به اندازه کافی باشد ( $10 \times 500$ )، حتی با حجم کم تلقیح نیز می‌توان باروری قابل قبولی به‌دست آورد. در این مورد Pickett et al 1975 (۵۴) توانسته‌اند با حجم ۱/۵ میلی‌لیتر اسپرم خام تا ۹۱/۷٪ آبستنی در مادیان‌ها به‌دست آورند. از طرفی در حجم‌های بالا و تراکم اسپرم در هر میلی‌لیتر (۲۵ میلیون اسپرم زنده و متحرک در حجم ۵۰ میلی‌لیتر) میزان جنین به‌دست آمده به‌طور معنی‌داری کاهش نشان داد (۴۰) لذا حجم تلقیح به تنهایی دارای ارزش نیست و بهتر است ابتدا تراکم اسپرم در هر میلی‌لیتر محاسبه شده و به تناسب از رقیق‌کننده استفاده کرد. همچنین توصیه شده است که در تمام موارد تلقیح مصنوعی از رقیق‌کننده‌های مناسب منی نریان استفاده شود (۴۲ و ۵۴). اسپرم‌غنی‌شده توسط رقیق‌کننده را می‌توان تا ۱۲ ساعت در شرایط آزمایشگاه نگهداری کرد (۳۰).

### جمع‌آوری جنین از مادیان دهنده

از آنجا که رویان مادیان به‌طور متوسط حدود

دیگر مایع برای بار دوم تکرار می‌شد. مایعاتی که بدین ترتیب از شستشوی رحمی در دو سیلندر جمع‌آوری شده بودند بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۸ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفتند. سپس مایعات توسط یک فیلتر با قطر روزنه کمتر از ۱۰۰ میکرون فیلتر می‌شد و مایعات باقی مانده در ته سیلندر به حجم ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌لیتر در ۲ تا ۳ بوات استریل تقسیم و در زیر میکروسکپ با درشت‌نمایی تا ۴۰ برابر مورد بررسی قرار می‌گرفت. پیدا کردن جنین به علت درشتی نسبی آن ساده بوده گاهی با چشم غیرمسلح نیز در مایعات قابل رؤیت بود. بعد از یافتن جنین بلافاصله توسط پیپت پاستور از مایع شستشودهنده خارج و به محیط کشت منتقل می‌گردید. سپس جنین حداقل ۵ بار در پتری‌های استریل حاوی محیط کشت شستشو می‌شد و برای هر بار شستشو پیپت پاستور جداگانه‌ای مورد استفاده قرار می‌گرفت. مرحله بعد ارزیابی جنین براساس یافته‌های میکروسکوپی و الگوهای در دسترس (۲۰) صورت گرفته و نتایج ثبت می‌گردید. نگهداری جنین خارج از بدن امری حساس است به طوری که اگر بیش از ۶ ساعت خارج از بدن باشد قدرت ادامه حیات خود را از دست می‌دهد (۲۳). مادیان‌های دهنده در زمان فلاشینگ از نظر قوام سرویکس به دو گروه دسته‌بندی می‌شدند: گروه یک ( $n = 13$ ) سرویکس نسبتاً سفت و گروه دو ( $n = 37$ ) سرویکس کاملاً سفت داشتند. در گروه یک بازکردن سرویکس برای عبور دادن کاتتر با ممانعت کمتری صورت می‌گرفت ولی در گروه دو سرویکس کاملاً بسته و محکم بود.

۵ روز بعد از اوولاسیون وارد شاخ رحم می‌گردد (۸ و ۱۱) که در مرحله مرولا یا بلاستوسیت اولیه است (۸، ۱۱ و ۱۸)، اقدام به جمع‌آوری جنین در روز پنجم و قبل از آن ممکن است بواسطه عدم رسیدن جنین به داخل شاخ رحم با شکست مواجه گردد و نیز اگر از روز ۸ به بعد اقدام به جمع‌آوری جنین گردد با توجه به سرعت رشد نسبتاً زیاد جنین مادیان و افزایش اندازه و صدمه‌پذیری آن در حین عملیات نقل و انتقال، باعث کاهش باروری حاصل از انتقال جنین می‌شود (۵۹) و انتقال جنین‌های ۹ و ۱۰ روز در یک گزارش منجر به آبستنی نشد (۶۴) لذا در این برنامه سعی شد عملیات شستشوی رحمی هرچه نزدیک‌تر به روز هفتم انجام گردد. برای این کار از دو لیتر مایع شستشو طبق فرمول ارائه شده استفاده شد. ابتدا ناحیه فرج و پرینه مادیان دهنده با بتادین اسکراب به خوبی شستشو و ضدعفونی می‌گردید و سپس عامل یک کاتتر پلاستیکی استریل با دو مجرا و به قطر داخلی یک سانتی‌متر و طول یک متر حاوی یک بادکنک در قسمت قدامی با گنجایش ۱۵۰ میلی‌لیتر را با دستکش پوشیده از طریق مهبل، با باز نمودن سرویکس توسط انگشت سبابه وارد رحم می‌نمود. بعد از آن بادکنک به حجم ۸۰ تا ۱۰۰ میلی‌لیتر بسته به تشخیص عامل، باد شده و بدین صورت مانع از خروج کاتتر و نیز نشت مایعات شستشو از طریق گردن رحم می‌گردید. با آماده شدن کاتتر، از طریق یک اریگاتور استریل در مرحله اول یک لیتر مایع شستشو با استفاده از قوه ثقل وارد رحم شده و سپس با سیفون کردن در سیلندرهای یک لیتری مدرج استریل جمع‌آوری می‌شد. این عمل با یک لیتر

## انتقال جنین به مادیا ن گیرنده

طبق مطالعات انجام شده اگر چه همزمانی بین مادیا ن دهنده و گیرنده می‌تواند نقش مؤثری در برقراری آبستنی داشته باشد (۲۰)، ولی اگر مادیا ن گیرنده در روز قبل تا ۳ روز بعد از مادیا ن دهنده اوولاسیون کرده باشد نیز می‌تواند پذیرای جنین باشد به طوری که در یک گزارش ۳- روز اختلاف بیشترین درصد آبستنی را به همراه داشته است (۶۴).

انتقال به روش غیرجراحی و از طریق واژن انجام گردید. با استفاده از یک سرنگ فلزی مخصوص انتقال جنین و پایت مخصوص ۰/۲۵ سی‌سی به همراه یک غلاف و یک روکش پلاستیکی، جنین مورد نظر مطابق تصویر زیر به داخل پایت کشیده شد و بعد از ضد عفونی ناحیه پرینه مادیا ن گیرنده با بتادین اسکراب از طریق واژن و سرویکس در بدنه رحم تخلیه می‌شد. مراقبت‌های بعد از انتقال از مادیا ن‌های گیرنده

از آنجا که ممکن است در مادیا ن‌هایی که آبستن شده باشند نیز علائم استروس در حین آبستنی حدود ۱۸ تا ۲۱ روز بعد از اوولاسیون به دلیل وجود فولیکول‌های بزرگتر از ۲۰ میلی‌متر دیده شود (۳۰) و جالب این که درصد بروز استروس در مادیا ن‌هایی که کره ماده در رحم دارند، به‌طور معنی‌داری بیش از

مادیا ن‌های آبستن دارای کره نر است (۳۳). لذا مادیا ن‌های گیرنده از یک هفته بعد از انتقال در برنامه فحلی‌یابی قرار می‌گرفتند تا در صورت بروز علائم مثبت متعاقباً مورد ارزیابی قرار گیرند. در مورد اثرات مثبت (۶۵) یا منفی (۱۶ و ۳۸) تجویز پروژسترون اضافی در کاهش مرگ زودرس جنین اختلاف نظر وجود دارد، لذا در این برنامه بعد از انتقال، هیچ نوع ترکیب هورمونی به مادیا ن‌های گیرنده تجویز نشد.

## تشخیص آبستنی

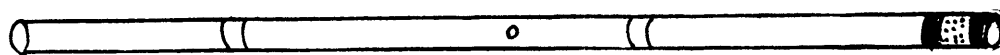
به‌طور متوسط حدود ۳۰ روز بعد از انتقال یا در واقع روز ۳۷ آبستنی، آزمایش آبستنی از طریق رکتال در مورد مادیا ن‌های گیرنده انجام گرفته و یافته‌های رکتال در پرونده مادیا ن مذکور ثبت می‌گردید.

## روش ارزیابی آماری

نتایج به‌دست آمده در این مطالعه با آزمون مربع‌کای (Chi-Square) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## نتایج :

در دو فصل تولیدمثلی متوالی از تعداد ۱۲ رأس مادیا ن دهنده طی ۵۰ بار شستشوی رحمی جمعاً ۳۰ جنین (R.R = ۶۰٪) به‌دست آمد. از این تعداد ۲۷ جنین قابل انتقال تشخیص داده شد و به گیرنده‌های مناسب منتقل گردید که ۱۸ رأس (R.R = ۶۶/۶٪)



پنبه - سپمان - پنبه محیط کشت حباب هوا محیط کشت جنین محیط کشت حباب هوا محیط کشت

وضع قرار گرفتن جنین در پایت انتقال

جدول ۱ - پراکندگی سنی مادبان‌های دهنده و میزان جمع‌آوری جنین از آنها

| سن مادبان‌های دهنده (سال) | تعداد فلاش | تعداد جنین (%) |
|---------------------------|------------|----------------|
| کمتر از ۳ سال             | ۱۰         | ۵(۵۰)          |
| ۳-۶ سال                   | ۱۵         | ۹(۶۰)          |
| ۶-۹ سال                   | ۱۷         | ۱۱(۶۵)         |
| بزرگتر از ۹ سال           | ۸          | ۵(۶۲/۵)        |
| جمع                       | ۵۰         | ۳۰             |

جدول ۲ - بررسی ارتباط قوام سرویکس در زمان تلقیح مصنوعی و جمع‌آوری جنین در روز ۷ و ۸ بعد از اوولاسیون

| تعداد مادبان | جمع‌آوری جنین (%) |          | گروه   |
|--------------|-------------------|----------|--------|
|              | *+                | *-       |        |
| ۱۵           | ۶(۴۰)             | ۹(۶۰)    | گروه ۱ |
| ۳۵           | ۲۴(۶۸/۵)          | ۱۱(۳۱/۵) | گروه ۲ |
| ۵۰           | ۳۰                | ۲۰       | جمع    |

گروه ۱ و ۲ اختلاف معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) وجود دارد.  
\* علامت مثبت به مفهوم جمع‌آوری و به‌دست آوردن جنین و علامت منفی به مفهوم عدم موفقیت در بدست آوردن جنین می‌باشد.

جدول ۳ - ارتباط بین تکرار فلاش رحمی و جمع‌آوری جنین

| تکرار فلاش | تعداد مادبان | جمع‌آوری جنین |    |
|------------|--------------|---------------|----|
|            |              | -             | +  |
| ۱          | ۱۵           | ۶             | ۹  |
| ۲          | ۱۲           | ۷             | ۵  |
| ۳          | ۹            | ۳             | ۶  |
| ۴          | ۷            | ۲             | ۵  |
| ۵          | ۴            | ۲             | ۲  |
| ۶          | ۲            | ۰             | ۲  |
| ۷          | ۱            | ۰             | ۱  |
| جمع        | ۵۰           | ۲۰            | ۳۰ |

آبستن شدند. از آنجا که بخشی از باروری مادبان‌های دهنده از طریق تلقیح مصنوعی صورت گرفته بود (۳۳ مورد از ۵۰ مورد) و تلقیح مصنوعی مادبان‌ها به ترتیب از ۱۰ دقیقه تا ۷۰ دقیقه بعد از اسپرم‌گیری و رقیق کردن آن در شرایط ذکر شده انجام می‌شد لذا تأثیر فاصله زمانی اسپرم‌گیری تا تلقیح مصنوعی در دو گروه مادبان‌های دهنده مقایسه شد. گروه اول مادبان‌هایی که تا ۳۵ دقیقه بعد از اسپرم‌گیری تلقیح شده بودند و گروه دوم مادبان‌هایی که از ۳۵ تا ۷۰ دقیقه بعد از اسپرم‌گیری تلقیح شده بودند.

ملاک ارزیابی این دو گروه میزان جنین‌های به‌دست آمده و مقایسه آماری نتایج بود. در گروه یک ( $n = 15$ ) از ۹ مادبان و در گروه دو ( $n = 18$ ) از ۱۱ رأس مادبان جنین اخذ گردید که اختلاف معنی‌داری بین دو گروه فوق در رابطه با جمع‌آوری جنین وجود نداشت لذا می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که کارایی تلقیح مصنوعی با استفاده از رقیق‌کننده تعریف شده شیر خشک و گلوکز تا ۷۰ دقیقه بعد از اسپرم‌گیری نیز می‌تواند قابل قبول باشد. از طرف دیگر مقایسه میزان جنین به‌دست آمده حاصل از تلقیح مصنوعی با جفت‌گیری طبیعی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. به‌طوری که از ۱۷ مورد شستشوی رحم مادبان‌هایی که با جفت‌گیری طبیعی بارور شده بودند ۱۰ جنین (۵۸/۸٪) به‌دست آمد و از ۳۳ مادبان که از طریق تلقیح مصنوعی بارور شده بودند ۲۰ جنین (۶۰/۱٪) حاصل شد. پراکندگی سنی مادبان‌های دهنده و میزان جمع‌آوری جنین از آنها مطابق جدول (۱) می‌باشد.



جدول ۵ - مقایسه میزان جمع آوری و انتقال جنین‌های ۷ و ۸ روزه

| تعداد آبتنی<br>(نسبت به انتقال) | تعداد جنین<br>قابل انتقال (%) | تعداد فلاش | روز فلاش |
|---------------------------------|-------------------------------|------------|----------|
| ۱۱ (۷۳/۳)                       | ۱۵ (۶۲/۵)                     | ۲۴         | ۷        |
| ۶ (۵۴/۵)                        | ۱۱ (۶۱/۱)                     | ۱۸         | ۸        |

اختلاف معنی‌دار وجود ندارد

### بحث:

اهمیت نقش سلامت دستگاه تناسلی مادبان‌های دهنده در رابطه با جمع آوری جنین به خوبی مشخص شده است (۵۹).

در این مطالعه نیز سلامت دستگاه تولیدمثل مادبان‌ها با توجه به سوابق سال‌های گذشته از نظر زایش و نیز وضعیت آنها در آزمایشات بالینی مختلف (ملامسه رکتال، واژینوسکوپی، هیستروسکوپی، کشت و بیوپسی رحم) ارزیابی شد. در اکثر مادبان‌هایی که در گروه سنی ۲ تا ۹ سال قرار داشتند مشکلات تولیدمثلی خاصی مشاهده نشد و تعداد جنین‌های به دست آمده از این گروه ۲۵ عدد بود. با افزایش سن، مواردی از ناباروری یا کم باروری در مادبان‌ها گزارش شده است (۲۱). در مطالعه حاضر نیز از یک رأس مادبان ۱۴ ساله در یک فصل تولیدمثلی دو جنین به دست آمد لیکن در فصل بعدی به علت ابتلا به آندومتريت و عدم پاسخ به درمان‌های رحمی از برنامه حذف گردید. گرچه با به کارگیری یک سری درمان‌های رحمی فشرده حتی از مادبان‌های مبتلا به آندومتريت نیز می‌توان جنین جمع آوری نمود (۱۰ و ۳۴). در اینگونه مادبان‌ها تلقیح مصنوعی در فاز استروس صورت

در ارتباط با ارزیابی قوام سرویکس در زمان تلقیح اختلاف تعداد جنین‌های حاصل از دو گروه [سرویکس نسبتاً شل (گروه یک) و سرویکس کاملاً شل (گروه دو)] از نظر آماری معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بود (جدول ۲).

در این تحقیق تعدادی از مادبان‌ها کراراً در برنامه قرار گرفته و برای جمع آوری جنین شستشوی رحمی شدند. در جدول شماره ۳ ارتباط بین تکرار شستشوی رحمی و اخذ رویان نشان دهنده آن است که تکرار شستشوی رحمی اثر سوئی در باروری و اخذ رویان ندارد. در زمان شستشوی رحم یکی از فاکتورهای مؤثر قوام سرویکس است. جدول شماره ۴ رابطه بین قوام سرویکس با اخذ جنین در دو گروه از نظر آماری بررسی شد. اختلاف تعداد جنین‌های حاصل از دو گروه از نظر آماری معنی‌دار ( $p < 0.005$ ) بود.

جدول ۴ - ارتباط بین قوام سرویکس در زمان فلاش

### و جمع آوری جنین

| تعداد مادبان | جمع آوری جنین (%) |         |
|--------------|-------------------|---------|
|              | *+                | *-      |
| گروه ۱       | ۳ (۲۳)            | ۱۰ (۷۷) |
| گروه ۲       | ۲۷ (۷۳)           | ۱۰ (۲۷) |
| جمع          | ۳۰                | ۲۰      |

گروه ۱ و ۲ اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.005$ ) وجود دارد

روزهای بعد از اوولاسیون و ارتباط آن با دو فاکتور اخذ جنین (Recovery Rate) و درصد آبتنی در گیرنده‌ها (Pregnancy Rate) از نظر آماری مقایسه گردید (جدول ۵).

نگرفت ولی مادیان‌های گیرنده بین ۳ تا ۱۰ ساله تفاوت معنی‌داری در میزان آبستنی حاصل از جنین‌های منتقله نشان ندادند به طوری که در گروه مادیان‌های ۳ تا ۴ ساله از ۸ انتقال ۶ آبستنی، در گروه مادیان‌های ۵ ساله یک انتقال و یک آبستنی، گروه مادیان‌های ۷ ساله یک انتقال بدون آبستنی، گروه مادیان‌های ۸ ساله یازده انتقال و شش آبستنی، گروه مادیان‌های ۹ ساله چهار انتقال و چهار آبستنی و گروه مادیان‌های ۱۰ ساله دو انتقال و یک آبستنی ایجاد شد. در این برنامه از دو رأس نریان استفاده گردید. برای اطمینان خاطر از باروری آنها براساس روش‌های پیشنهادی سایر محققین (۲۶) در شروع هر فصل تولیدمثلی، اسپرم‌گیری و ارزیابی اسپرم صورت گرفت و نتایج رضایت‌بخش بود. تنها تفاوتی که در انزال این دو نریان مشاهده شد وجود ژل در انزال نریان شماره ۲ بود که در نریان شماره یک مشاهده نمی‌شد. میزان جنین‌های به دست آمده از هر یک از این دو نریان از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌داد. در این مطالعه نشان داده شد که در زمان تلقیح قوام سرویکس‌دهنده‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است که باید مدنظر قرار گیرد.

مطالعات قبلی نشان داد که فاصله زمانی بین جمع‌آوری و انتقال رویان روی میزان باروری مؤثر بوده و جنین‌هایی که سریعاً منتقل شده بودند درصد آبستنی بالاتری در گیرنده‌ها ایجاد نمودند (۵۲ و ۵۹). در این مطالعه تعداد ۲۷ رویان قابل انتقال به دست آمده از مادیان‌های دهنده بین ۱۰ تا ۱۶۰ دقیقه بعد از جمع‌آوری به گیرنده‌های مناسب منتقل گردید. اکثر

می‌گیرد و سپس از روز دوم تا پنجم بعد از اوولاسیون، روزانه شستشوی رحم صورت گرفته و در روز هفتم نیز به منظور گرفتن جنین شستشو با محیط کشت انجام می‌گیرد. با وجود این احتمال به دست آوردن جنین درجه یک از این نوع مادیان‌ها کم است. دو رأس مادیان حدود ۱۳ ساله نیز در فصل تولیدمثلی دوم وارد برنامه انتقال جنین شدند ولی بعد از ۳ بار تکرار شستشوی رحمی جهت جمع‌آوری جنین، به علت آندومتریس مزمن که بعداً توسط هیسترسکوپی و بیوپسی و آزمایشات سیتولوژی به اثبات رسید از برنامه حذف شدند. این موارد با گزارش برینسکو و همکاران (۲۱) همخوانی دارد.

گزارش شده است که با وجود عدم تغییر محسوس فعالیت تخمدانی، با افزایش سن مادیان‌ها، انقباضات رحمی به طور معنی‌داری در مادیان‌های پیر کمتر از مادیان‌های جوان است (۲۲ و ۶۳). همچنین در مادیان‌های پیر اتصال جنین به آندومتریوم دیرتر انجام شده و نفوذ سلول‌های آماسی و تغییرات فیبروتیک آندومتریوم بیشتر است (۲۲).

از طرفی مادیان‌های کم‌بارور جنین‌های غیرطبیعی بیشتری داشته‌اند به طوری که فقط ۴۰٪ آنها عالی تا خوب بودند در حالی که ۸۵٪ از جنین‌های مربوط به مادیان‌های بارور عالی تا خوب ارزیابی شدند (۵۷) لذا می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش سن، درصد جنین با کیفیت بالا و همچنین درصد آبستنی کاهش می‌یابد.

در مطالعه حاضر اثر افزایش سن در باروری مادیان‌های پیر (۱۵ سال به بالا) مورد ارزیابی قرار

رحم فقط از یک مورد در مرحله دوم فلاش رحمی، جنین حاصل شد که نظرات دیگران را تأیید نمی‌کند. در مقایسه با حیواناتی که قابلیت سوپراوولاسیون خوبی در پاسخ به درمان‌های رایج دارند، در مادیان هنوز هورمون یا دارویی مؤثر و قابل اعتماد که بتواند پاسخ مطلوبی برای سوپراوولاسیون داشته باشد در دسترس نیست و اکثر تیم‌های انتقال جنین مادیان در مراکز پرورش اسب دنیا از هر مادیان دهنده انتظار اخذ یک جنین را دارند (۵۲). در مطالعه حاضر جهت افزایش تعداد موارد شستشوی رحم در فواصل بسیار کوتاهتر، با بهره‌گیری از ترکیبات لوتئولیتیک در زمان شستشوی رحمی، مادیان‌های دهنده‌ای که شستشو شده بودند تقریباً ۳ روز بعد علائم استروس را نشان داده و متعاقباً با برنامه‌ریزی برای تلقیح مصنوعی تقریباً به فاصله ۱۴ روز از تزریق  $PGF_2\alpha$  شستشوی بعدی رحم برای جمع‌آوری جنین ۷ روزه انجام می‌پذیرفت. در این برنامه تعدادی از مادیان‌ها کراً در برنامه قرار گرفته و برای جمع‌آوری جنین شستشوی رحمی شدند و مشخص گردید که تکرار فلاش رحمی اثر سوپی در باروری و اخذ جنین نداشته است که با یافته‌های سایرین مشابه است (۲۷) و همانطور که در جدول شماره ۳ آمده است در برنامه‌ریزی برای اجرای انتقال جنین مادیان می‌توان انتظار داشت تا هفت بار یک مادیان خاص را شستشوی رحمی نمود و جنین‌های قابل انتقال به دست آورد.

در زمان شستشوی رحم یکی از فاکتورهای مؤثر قوام سرویکس است. در این زمان هر چه

انتقال‌ها (۸۵٪) تا قبل از ۶۰ دقیقه صورت گرفت. علیرغم تأکید گزارش‌های موجود مبنی بر اینکه رویان با گذشت ۱۱۲ دقیقه از زمان جمع‌آوری قابلیت باروری خود را از دست می‌دهد (۵۱)، یک رویان که ۱۶۰ دقیقه بعد از جمع‌آوری به گیرنده منتقل گردید، منجر به آبستنی شد. به هرحال برای ارزیابی فاصله زمانی بحرانی بین جمع‌آوری جنین و انتقال آن به مطالعات بیشتری نیازمند است.

همزمانی استروس و تخمک‌گذاری بین مادیان‌های دهنده و گیرنده از جمله عوامل مهم انتقال جنین محسوب می‌گردد. اختلاف تخمک‌گذاری  $\pm 1$  روز بین دهنده و گیرنده اثر سوئی روی میزان آبستنی نداشته است (۵۹). در بررسی حاضر اختلاف زمانی روز تخمک‌گذاری بین دهنده و گیرنده مورد ارزیابی قرار گرفت و نشان داده شد که اختلاف تا  $\pm 2$  روز نیز افزایش سوئی روی آبستنی ندارد.

گزارش شده است که در اکثر موارد ۵۰ تا ۶۰ درصد شستشوی رحمی یک مادیان دهنده در روز ۶/۵ بعد از اوولاسیون حاوی جنین بوده است (۱۹). تحقیق دیگری که در این رابطه صورت گرفت نشان داد در صورتی که در شستشوی رحمی اینگونه مادیان‌ها با ۳ لیتر محیط کشت جنین اخذ نشد، بلافاصله یا بعد از گذشت ۲ ساعت از فلاش اول مجدداً با ۳ لیتر محیط کشت شستشوی رحم تکرار شود تا درصد جمع‌آوری جنین بهبود یابد (۳۵ و ۶۱). در مطالعه حاضر علیرغم استفاده از این روش، شستشوی مکرر رحم مادیان‌های دهنده‌ای که در مرحله اول جنین نداده بودند مثرمتر واقع نشد و از ۵۰ مورد شستشوی

اسب‌های ایرانی مثل ترکمن، عرب و اسبچه‌های خزر در معرض نابودی قرار دارد. اصلاح و احیای این نژادها می‌تواند کمک مؤثری جهت حفظ یکی از سرمایه‌های دامی باارزش کشور باشد. در این تحقیق تکنیک انتقال جنین با موفقیت در مادیان‌های آمیخته ترکمن در ایران انجام شد و با پی‌بردن به نقاط قوت و ضعف آن پیشنهاد می‌شود این روش به‌عنوان ابزاری که با مدیریت صحیح توانایی تسریع در امر اصلاح نژاد را چند برابر خواهد کرد به کار گرفته شود.

#### تشکر و قدردانی :

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه تهران که بودجه تحقیقاتی طرح را در اختیار قرار دادند، همچنین از همکاری‌های بیدریغ فرماندهی محترم کشت و صنعت ورامین جناب سرهنگ دکتر علی مظاهری و سرپرست و پرسنل گرامی بخش اسب ایلخی ورامین سپاسگزاری و قدردانی می‌شود.

سرویکس سفت‌تر باشد احتمال اخذ جنین بیشتر است. در سرویکس نیمه سفت احتمال نشت فلاش مدیا از کناره‌های سرویکس وجود دارد و ممکن است جنین از این طریق از دست برود (۲۷). در این مطالعه رابطه بین قوام سرویکس در دو گروه سرویکس نسبتاً سفت و سرویکس کاملاً سفت با اخذ جنین از نظر آماری معنی‌دار ( $p < 0.005$ ) که در جدول ۴ نشان داده شده است. مادیان‌های دهنده‌ای که در روز ۷ بعد از اوولاسیون، فلاشینگ شده بودند با مادیان‌های دهنده‌ای که روز ۸ بعد از اوولاسیون شستشوی رحمی شدند از لحاظ میزان جمع‌آوری جنین اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دادند (۶۲/۵٪ میزان استخراج جنین در روز ۷ نسبت به ۶۱٪ در روز ۸ بعد از اوولاسیون) و نیز درصد آبستنی حاصل از انتقال این جنین‌ها در گیرنده‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌داد (جدول ۵). در شرایط موجود مملکت ما نسل بسیاری از

- 56 - Savage, N.C., Woodcock, L.A. and de Gannes Use of two year old mares as embryo donors in a commercial embryo transfer program. *Eq. Vet. J. Suppl.* 8: 68-70, (1989).
- 57 - Schlafer, D.H., Dougherty, E.P. and Woods, G.L. Light and ultrastructural studies of morphological alterations in embryos collected from maiden and barren mares. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 35: 695, (1978).
- 58 - Seritich, P.L. Transcervical embryo transfer in performance mares. *JAVMA*195: 940-944, (1989).
- 59 - Squires, E.L., Imel, K.J., Iuliano, M.F. and Shideler, R.K. Factors affecting reproductive efficiency in an equine embryo transfer program. *J. Reprod. Fert. Suppl.* 32: 409-414, (1982).
- 60 - Squires, W.L. and Tarr, S. Advances in the transfer and manipulation of equine embryos. *J. Vet. Med.* 86: 626-631, (1991).
- 61 - Squires, E.L., Dippert, K.D., Farlin, M.E. and Jasko D.J. Attempt to improve embryo recovery from mares. *Theriogenology* 37: 302. Abst, (1992).
- 62 - Tischner, M. and Klimezak, M. The development of polish ponies born after embryo transfer to large recipients. *Eq. Vet. J. Suppl.* 8: 62-63, (1989).
- 63 - Vanderwall, D.K., Woods, G.L., Freeman, D.A., Weber, J.A., Rock, R.W., and Tester, D.F. Ovarian follicles, ovulation and progesterone concentrations in aged versus young mares. *Theriogenology* 40: 21-32, (1993).
- 64 - Vogelsang, S.G., Bondioli, K.R. and Massey, J.M. Commercial application of equine embryo transfer. *Eq. Vet. J. Supple* 3: 89-91, (1985).
- 65 - Wilker, C., Daels, P.F., Burns P.J. and Bal, B.A. Progesterone therapy during early pregnancy in the mare. *Proc. Ann. Conv. Am. Assoc. Equine. Prac.* 37: 161-172, (1991).
- 66 - Woods G.L. and Steiner, J.V. Embryo transfers from mares in athletic competition. *Cornell Vet.* 76: 149-155, (1986).

- 37 - Imel, K.J., Squires, E.L. and Shideler, R.K. A comparison of reproductive performance of fertile versus infertile donor mares. *Theriogenology* 15: 107 (Abst.), (1981)
- 38 - Invine, G.H.G., Sutton, P., Turner, J.E. and Mennik, P.E. Changes in plasma progesterone concentrations from days 17 to 42 of gestation in mares maintaining or losing their pregnancy. *Eq. Vet. J.* 23: 104-104, (1990).
- 39 - Iuliano, M.F. and Squires, E.L. Embryo transfer in two-year-old donor mares. *Theriogenology* 24: 647-654, (1985).
- 40 - Jasko, D.J., Lein, D.H. and Foote, R.H. Stallion spermatozoal morphology and its relationship to spermatozoal motility and fertility. *Proc. Ann. Conv. Am. Assoc. Eq. Prac.* (1991) 37: 211-221, (1991).
- 41 - Jasko, D.J., Martin, J. M. and Squires, E.L. Effect of insemination volume and concentration of spermatozoa on embryo recovery in mares. *Theriogenology* 37(6): 1233-1239, (1992).
- 42 - Jasko, D.J., Hathaway, J.A., Schaltenbrand, V.L., Simper, W.D. and Squires E.L. Effect of seminal plasma and egg yolk on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. *Theriogenology* 37(6): 1241-1252, (1992).
- 43 - Jasko, D.J., Little, T.V., Lein, D.H. and Foote, R.H. Comparison of spermatozoal movement and semen characteristics with fertility in stallions. *JAVMA*, 200: 979-985, (1992).
- 44 - Katila, T., Oijata, M., Kotilainen, T. and Vaisanen, K. Embryo transfer in subfertile mares. *Acta. Vet. Scand.* 30(3): 329-333, (1989).
- 45 - Kenney, R.M., Bergman, R.V., Cooper, W.L. and Morse, G.W. Minimal contamination techniques for breeding mares: Techniques and preliminary findings. *Proc. Am. Assoc. Equine Practitioners*, 327-336, (1975).
- 46 - Lagneaux, D. and Palmer, E. Are pony and larger mares similar as recipients for non-surgical transfer of Day 7 embryos. *Eq. Vet. J. Suppl.* 8: 64-67, (1989).
- 47 - McDowell, K.J., Powell, D.G. and Baker, C.B. Effect of book size and age of mare and stallion on foaling rates in thoroughbred horses. *J. Eq. Vet. Sci.* 12: 364-367. (1992).
- 48 - McKinnon, A.O., Squires, E.L. Voss, J.L. and Cook, V.M. Equine embryo transfer compendium. *Equine*, Vol. 10, 3: 343-355, (1988).
- 49 - McKinnon, A.O. and Squires, E.L. Morphologic assessment of the equine embryo. *JAVMA* Feb. 1, Vol. 192, 3: 401-406, (1988).
- 50 - McKinnon, A.O., Squires, E.L. and Carnevale, E.M. Ovariectomized steroid-treated mares as embryo transfer recipients and as model to study the role of progesterone in pregnancy maintenance. *Theriogenology* 29: 1055-1063, (1988).
- 51 - Oguri, N. and Tsutsumi, Y. Non-surgical egg transfer in mares. *J. Reprod. Fert.* 41: 313-320, (1974).
- 52 - Pasdcoe, D.R. Recent developments in embryo transfer. *Large anim. Vet. Report.* 3: 79, (1992).
- 53 - Peyrot, L.M., Little, T.V., Lowe, J.E., Weber, J.A. and Woods, G.L. Uterotransfer of day 4 embryos from oviduct to oviduct versus oviduct to uterus in the mare. *Theriogenology* 28: 699-708, (1987).
- 54 - Pickett, B.W., Burwash, L.D., Voss, J.L. and Back, D.G. Effect of seminal extender on equine fertility. *J. Anim. Sci.* 40: 1136-1143, (1975).
- 55 - Pool Anderson, K.F. and Sigler, D.H. Feasibility of producing full sibling research horses by embryo transfer (Abst.) *Eq. Vet. J. Suppl.* 8: 76, (1989).

- 17 - Bavister, B.D. Role of oviductal secretions in embryonic growth in vivo and in vitro. *Theriogenology* 29: 143-154, (1988).
- 18 - Bergfelt, D.R. and Ginther, O.J. Delayed follicular development and ovulation following inhibition of FSH with equine follicular in the mare. *Theriogenology* 24: 99-108, (1985).
- 19 - Betteridge, K.J. Embryo transfer in farm animals. Ottawa, Canada Dept. Agric. Monograph. 16, 92, (1977).
- 20 - Betteridge, K.J., Eaglesme, M.D., Mitchell, D. Flood, P.F. and Beriault, M. Development of horse embryos up to twenty two days after ovulation: Observations of fresh specimens. *J. Anat.* 135, 1: 191-209, (1982).
- 21 - Brinsko, S.P., Ball, P.A., Miller, P.G. and Thomas, P.G.A. In vitro development of day two embryos obtained from young, fertile mares or aged, subfertile mares. " *Theriogenology* 41: 169, (1994).
- 22 - Carnevale, E.M. and Ginther, O.J. Relationships of age to uterine function and reproductive efficiency in mares. *Theriogenology* 37: 1101-1115, (1992).
- 23 - Douglas, R.H. Some aspects of equine embryo transfer. *J. Reprod. Fert. Supple* 32: 405-408, (1982).
- 24 - Douglas, R.H., Burns, P.J. and Hershman, L. Physiological and commercial parameters for producing progeny from subfertile mares by embryo transfer. *Eq. Vet. J. Supple.* 3: 11-114, (1985).
- 25 - Douglas, R.H. 1986: " Equine embryo transfer " in " Current Therapy in Theriogenology " by D.A. Morrow. W.B. Saunders. London. pp: 70-73, (1986).
- 26 - Dowsett, K.F. and Pattie, W.A. Characteristics and fertility of stallion semen. *J. Reprod. Fert. Suppl* 32: 1-8, (1982).
- 27 - Dowsett, K.F., Woodward, R.A. and Boderio, D.A.V. A study of nonsurgical embryo transfer in the mare. *Theriogenology* 31: 631-642, (1989).
- 28 - Elizabeth, L.S. The disease control potential of embryos. *Theriogenology* 27: 9, (1989).
- 29 - Farinasso, A., Defaria, C., Mariante, A., da S. de Bem A.R. Embryo technology applied to the conservation of equides. " *Eq. Vet. J. Supple.* 8: 84-86, (1989).
- 30 - Ginther, O.J. Reproductive Biology of the mare: Basic and applied aspects. Published by the author. Department of Veterinary Science, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, (1992).
- 31 - Gordon, I.Lu.K.H. Production of embryos invitro and it's impact on livestock production. *Theriogenology* 33: 77, (1990).
- 32 - Hafez, E.S.E. " Artificial Insemination " in " Reproduction in farm animals " 6th Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, pp: 424-439, (1992).
- 33 - Hayes, K.E.N. and Ginther, O.J. Relationship between estrous behavior in pregnant mares and the presence of a female conceptus. *J. Eq. Vet. Sci.* 9: 316-318, (1989).
- 34 - Hinrichs, K., Sertich, P., Palmer, E. and Kenny, R. Establishment and maintenance of pregnancy after embryo transfer in ovariectomized mares treated with progestrone. *J. Reprod. Fert.* 80: 395-401, (1987).
- 35 - Hinrichs, H. A simple technique that may improve the rate of embryo recovery on uterine flushing in mares. *Theriogenology* 33: 937, (1990).
- 36 - Hoppen, H.O. The equine placenta and equine chorionic gonadotrophin - an overview. *J. Exp. Clin. Endocrinol.* 102: 235-243, (1994).

## منابع :

۱ - کامیابی، ب. « بررسی ارتباط موفقیت در استخراج رویان به روش غیرجراحی با وضعیت میکروسکوپیکی اندومترיום در مادبان « پایان‌نامه دکترای دامپزشکی دانشگاه شیراز، شماره ۴۰۷، سال تحصیلی ۷۳-۷۲ (۱۳۷۲)».

## References :

- 2 - Allen, W.R. and Rowson, L.E. Control of the mare's oestrus cycle by prostaglandins. *J. Reprod. Fert.* 33: 539-543, (1973).
- 3 - Allen, W.R. and Rowson, L.E. Surgical and non surgical embryo transfer in horses. *J. Reprod. Fert. Suppl* 23: 525-530, (1975).
- 4 - Allen, W.R. and Pashen, R.L. Production of monozygotic (Identical twins) by embryomicromanipulation. *J. Reprod. Fert.* 71, 607, (1984).
- 5 - Allen, W.R., Kydd, J., Boyle M.S. and Antczak, D.F. Between-Species transfer of horse and donkey embryos. A valuable research tool. *Eq. Vet. J. Suppl.* 3: 53-62, (1985).
- 6 - Allen, W.R., kydd, J.H., Boyle, M.S. and Antczak, D.F. Extraspecies donkey in-horse pregnancy as a model of early fetal death. *J. Reprod. Fert. Suppl* 35: 197-204, (1987).
- 7 - Anderson, G.B. Identification of embryonic sex by detection of H-Y antigen. *Theriogenology* 27: 81-97, (1987).
- 8 - Antezak, D.F., Davies, C.J., Kydd, J. and Allen, W.R. Immunological aspects of pregnancy in mules. *Eq. Vet. J. Suppl.* 3: 68-72, (1985).
- 9 - Arthur, G.H., Noakes, D.E. and Pearson, H. *Veterinary reproduction and obstetrics.* 6th Ed, Bailliere Tindall, London pp: 610-611, (1989).
- 10 - Ausbury, A.C. Uterine defense mechanisms in the mare: The use of intrauterine plasma in management of endometritis. *Theriogenology* 21: 387, (1984).
- 11 - Bader, H. An investigation of sperm migration into the oviducts of the mare. *J. Reprod. Fert. Supple.* 32: 59-64, (1982).
- 12 - Ball, B.A., Little, T.V., Hillman, R.B. and Woods, G.L. Pregnancy rates at days 2 and 14 and estimated embryonic loss rates prior to day 14 in normal and subfertile mares. *Theriogenology* 26: 611-619, (1986).
- 13 - Ball, B.A., Hillman, R.B. and Woods, G.L. Survival of equine embryos transferred to normal and subfertile mares. *Theriogenology* 28/2: 167-175, (1987).
- 14 - Ball, B.A., Altshul, M., Freeman, K.P. and Hillman, R.B. Culture of equine trophoblastic vesicles in vitro. *Theriogenology* 32: 401-412, (1989).
- 15 - Ball, B.A., Little, T.V., Weber, J.A. and Woods, G.L. Survival of day-4 embryos from young, normal mares and aged, subfertile mares after transfer to normal recipient mares. *J. Reprod. Fert.* 85 : 187-194, (1989).
- 16 - Ball, B.A., Miller, P.G. and Daels, P.F. 1992: Influence of exogenous progesterone on early embryonic development in the mare. *Theriogenology* 1992 38: 1055-1063, (1992).



## **Non surgical embryo transfer in Iranian Turkaman cross - bred mares**

**Bolourchi, M.\*    Gharagozloo, F.\*    Mirtorabi, S.M.\*\*    Hovareshti, P.\*  
Hassani Tabatabayi, A.M.\*    Tajik, P.\***

### **Summary :**

This study was conducted to establish embryo transfer in Turkaman cross - bred mares. The effects of semen collection to insemination interval on embryo recovery and embryo collection to transfer interval on pregnancy rate were also evaluated.

In two subsequent breeding seasons, 12 donor and 23 recipient mares were used. Seven to eight day embryos were collected nonsurgically. Donor mares were inseminated naturally or artificially using highly fertile stallions.

From 12 donor mares 30 embryos were recovered by 50 uterine flushings (Recovery Rate = 60%). Twenty seven embryos were transferable and 18 pregnancies were obtained (Pregnancy Rate = 66.6%).

Results showed that storage of the semen for 70 minutes in glucose skim milk extender had good fertility and the interval of 160 minutes from embryo recovery to transfer had no detrimental effect on embryo viability.

This is the first report of successful non surgical mare's embryo transfer in Iran.

**Key words :Embryo transfer, Iranian Turkman cross bred, Mare,**

---

\* - Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran - Iran.

\*\* - Expertee in Breeding and Milk Improvement Center Karaj, Karaj - Iran.