یکی از اماکن مدرن تکنیك انتقال جنین (ET)، واحدتکثیر دام درکمبریج انگلستان است که ریاست آنرا سرجان هاموند بعهده دارد. هاموند درضمن یك متخصّص مشهوراصلاح نژاد دامی است. هدف سرجان افزایش تراکم انتخاب نه تنهابراساس لاین پدر بلکه همچنین براساس لاین مادربود. به برکت کارتحقیقاتی مهمی که عمدتا" درایالات متحده آمریکاواروپا صورت پذیرفته پیشرفت قابل ملاحظه‌ای درانتقال جنین حاصل شده است.

تصورمیشود سالیانه بیش ازیکصدهزارانتقال جنین درایالات متحده وبیست وپنج تاسی هزارانتقال جنین دراروپا صورت می‌پذیرد. کارتحقیقاتی فقط روی گاومتمرکز نشده بلکه همچنین درخصوص اسبها، گوسفندان، بزها، خوکها وحیوانات باغ وحش باموفقیتهای متغیّیرانجام پذیرفته است.

حیوانات کوچك آزمایشگاهی مانند موشهای خانگی، موشهای صحرائی وخرگوشها که به تعداد زیادی قابل دسترسی می‌باشند جهت آزمایشات درسطح وسیع مورداستفاده قرار گرفت. دردهه گذشته طب انسانی به نحو فزاینده‌ای به تکنیك انتقال جنین علاقه‌مندی نشان داده وتوجه خودرابه تجربه طب دامپزشکی دراینمورد معطوف داشته است.

کنگره‌هائی درمورد انتقال جنین جهت تبادل تجربیات بین پزشکان طب انسانی ودامپزشکان تشکیل گردیده است. در۲۵ ژوئیه ۱۹۷۸ اولین نوزادی که داخل لوله آزمایشگاه باروروگشته وروند انتقال جنین درآن دنبال شده بود بدنیا آمد. مضافا" درجمهوری فدرال آلمان ازسال ۱۹۸۰ تا ۳۱ مارس ۱۹۸۵ تعداد ۱۰۲ موردتولد از ۱۳۱ مورد آبستنی حاصل شده است. البته میزان موفقیت آبستنی خیلی پائین بود. تنها در ۶/۱ ٪ ازانتقال جنینهای انجام شده میتوان انتظار یك آبستنی راداشت (Semm، ۱۹۸۵).

انتخاب دامهای دهنده جنین Donors

ازنقطه نظرفنی، هرگاو ماده بالغیسه باسیکل منظم میتواند باموفقیت‌به سوپر اوولاسیون پاسخ داده وبمنظور انتقال جنین مورداستفاده قرارگیرد. تجربه نشان داده است

که پاسخ تلیسه‌ها وماده‌گاوهای خیلی پیر معمولا" پائین است. درموارد بسیار خاصی ازگوساله‌های پیش ازمرحله بلوغ بعنوان دامهای دهنده استفاده شده است. دراین حالات نیزپاسخ به سوپراوولاسیون پائین بود. علاوه برآن مشکلاتی نیزبه هنگام فلاشینگ (شستشوی رحم جهت خارج سازی جنینهای تشکیل یافته) بروز نمود. یك ماده گاوایده‌آل باید ۴ تا ۹ ساله بوده دارای دستگاه تولیدمثل به اندازه طبیعی وفاقد هر گونه علائم آناتومیکی و واژینیت با یکدوره جنسی منظم، وضعیت تغذیه رضایت بخش ودوساله دهی نیزمنظم باشد.

طبق نظر Elsden و Seidel درسال ۱۹۸۵ انتخاب بایستی بر اساس سه معیارصورت پذیرد:

۱- برتری ارثی

۲- توانائی تولید مثل

۳- ارزش مارکتینگ آن

این امرممکن است برای ایالات متحده آمریکا صادق باشد لیکن درکشورهای درحال توسعه معیارهای دیگری نیزبایستی مدنظرباشد و" دهنده‌ها " برطبق آنها انتخاب گردند. بعنوان مثال برای مقاومت درمقابل گرماوبیماری، مقاومت درمقابل بیماری تریپانوزوم، توانائی کشش باروغیره . انتخاب دقیق از نقطه نظرژنتیکی وژنیکولوژیکی درحصول موفقیت ازاهمیت بالائی برخوردار است. علاوه براین بایستی دقت زیادی در اجرای کلیه کارهای مربوطه به آن بعمل آید، زیراکه انتقال جنین پرهزینه است. به هرصورت در موارد استثنائی گاوهای ماده‌ای که ازنظرژنتیکی مورده با لائی هستند ولی گوساله‌های زیادی بدنیا آورده ومجددا" آبستن نمیشوند میتوانند مورداستفاده قرار گیرند. دراین حالت تولید گوساله‌های بیشترازطریق انتقال جنین تاقبل ازذبح دام میسر میگردد.

سوپراوولاسیون

یکی ازقدمهای اساسی درانتقال جنین سوپراوولاسیون است. تنها پس ازسوپراوولاسیون موفقیت آمیزاست که میتوان تعدادرضایت بخشی ازجنین راجهت انتقال فراهم نمود. عمل سوپراوولاسیون بین روزهای هشت وچهارده سیکل جنسی شروع میشود، اگر

روز فحل راروزصفر بحساب آوریم (Betteridge 1977).

تاحدود سال ۱۹۷۸ تمام واحدهای انتقال جنین یك تزریق ۳۰۰۰ ـ ۱۵۰۰ واحدی از (Pregnant Mare Serum Gonadotropin) PMSG راجهت ایجادسوپراوولاسیون درگاوهای ماده مورداستفاده قرارمیدادند. بهرحال Elsden ، Nelson ، Seidel درسال ۱۹۷۸ گزارش دادند که امکان حصول به اوولاسیون های بیشتروبدست آوردن جنینهای بیشترباکیفیت بهتر ودرنتیجه آبستنهای فراوانتربا ایجاد سوپراوولاسیون بـــــــــــــــــــــــــــــا FSH (Follicle Stimulating Hormon) بصورت تزریق دوباردرروز بادوز پائینی بمدت ۵ روزوجوددارد. کل دوزها بین ۲۵ میلیگرم و ۵۰ میلیگرم درتغییراست. این ده تزریق بافواصل ۱۲ ساعته نیازمند کوشش بیشتری ازجانب دامپزشك یادامپروری است که تزریقات راانجام میدهد. تصورمیشود تنهاآسیب PMSG مدت نیمه عمرطولانی آن باشدکه به نحومنفی برمهاجرت سلول جنسی ومراحل اولیه نموجنین اثرمیگذارد.

درسال ۱۹۸۱ ضدسرمی برعلیه PMSG ابداع کردند که به هنگام فحلی مورد تجویز قرار میگرفت وبازده استفاده از PMSG رابهبود میبخشیدکه بااین عمل تعداد جنینهای قابل انتقال بعلت بهبودیافتن کیفیت آنها افزایش پیدا میکرد. بعضی ازگروههای انتقال جنین هنوز هم استفاده از PMSG رابه انگیزه سهولت دربکارگیری وارزانترتمام شدن آن درمقایسه با FSH ادامه میدهند. معمولا" یك دوزلوتئولیتیك از $PGF_{2}\alpha$ چهل وهشت ساعت پس ازشروع درمان تزریق میشود. پس ازمرحله فحلی که معمولا" پس از۴۸ ساعت صورت میپذیرد دوتاسه تلقیح انجام میگیرد. این تعداد تلقیح مصنوعی (AI) ضروری میباشد زیرانشان داده شده که اوولاسیون درگاوهای سوپر اوولـه شده درمدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت شروع میشود.

جدول شماره ۱ اقدامات لازم برای سوپراوولاسیون راکه توسط Mapletoft در سال ۱۹۸۲ پیشنهاد شده است ارائه می‌نماید.

متأسفانه‌پاسخ به ایجاد سوپراوولاسیون غیرقابل پیش گوئی بوده وبه نحو وسیعی متغیر است.

Chupin درسال۱۹۸۵ گزارش داد که پس ازعمل سوپراوولاسیون برروی ۵۶۸ گاو

ماده تلیسه یادوزاز ۳۲ تا ۵۰ میلیگرم دوبار درروز بمدت چهارده روز ، ۱۱/۱ درصدازکل مواردهیچگونه پاسخی دریافت نشد ۰ از ۷۲/۲ درصدازکل مواردبیش ازیک جنین بدست آمده وبیش ازیك جنین انتقال یافت ۰ تنها در ۴۴ درصد بیش از ۵ جنین قابل انتقال یافت شد ۰

جدول ۱ - ایجاد سوپراوولاسیون درگاوها

۱	۲	۳
روز ۱۰ صبح	۲۵۰۰ IU PMSG	۵ mgFSH
بعداظهر	۷ mgFSH	۵ mgFSH
روز ۱۱ صبح	۷ mgFSH	۵ mgFSH
بعداظهر	۶ mgFSH	۵ mgFSH
	۶ mgFSH	۵ mgFSH
	دریافت کننده‌ها PGF2α	
روز ۱۲ صبح	دامهای دهنده جنین PGF2α ۵mgFSH	۵mgFSH
بعداظهر	۵ mgFSH	۵ mgFSH
روز ۱۳ صبح	۴ mgFSH	۵ mgFSH
بعداظهر	۴ mgFSH	۵ mgFSH
روز ۱۴ صبح	ضد PMSG ۳ mgFSH	۵ mgFSH
بعداظهر	تلقیح مصنوعی	تلقیح مصنوعی
روز ۱۵ صبح	تلقیح مصنوعی	تلقیح مصنوعی
بعداظهر	تلقیح مصنوعی	تلقیح مصنوعی

شستشوی رحم وجمع آوری جنینها (فلاشینگ)

تا اوسط دهه ۱۹۷۰ اغلب جنینها ازطریق ایجادشکاف درخط وسط یاپهلو جمع آوری میشدند ۰ تکنیك شکاف خط وسط به گاوهای ماده جوان و محدود میشد ۰ هردوروش منجربه چسبندگی دستگاه تولیدمثل میگردید ولذا ازاین نظربرای گاوهای باارزش قابل توصیه نبود ۰ روشهای غیرجراحی خارج ساختن جنین توسط وهمکاران (درسال ۱۹۷۶

دراست، براندوآرتی (درسال ۱۹۷۶)، السیدن، هاسروسیدل (درسال۱۹۷۶) ولمپیتر (درسال۱۹۷۷) ارائه گردید.

جدول ۲- تنوع پاسخها به درمان سوپر اوولاسیون (٪)[۱]

فقدان پاسخ (0-1CL)	سوپراوولـه شده
۱۱/۱	۸۸/۹

۱ ≤ جنین یافت شد	۱ ≤ جنین یافت شد	۰ جنین یافت شد
۱ جنین انتقال یافت	۰ جنین منتقل شد	
۷۲/۲	۱۲/۳	۴/۴

انتقال یافته			
۱	۲-۴	۵ ≤	
۶/۷	۲۱/۵	۴۴/۰	

۱) ۳۳-۵۰ mgFSH	۴ روزدوباردرروز	n = ۵۶۸	منبع :Chupin 1985

امروزه بیشترواحدهای انتقال جنین ازکاتترهائیکه توسط این مولفین مشخص شده یا انواع دیگری ازآنهاتحت عنوان کاتترFoley دوطرفه یاسه طرفه شماره۱۸ استفاده میکنند. بطورمعمول جنینهادرروزهای ۶تا۸ پس ازبروزفحلی جمع آوری میگردند زیرا که قبل ازاین زمان امکان اینکه آنهاهنوزدراویدوکت باشند وجوددارد. دراغلب موارد هیچگونه درمان خاصی قبل ازجمع آوری موردنیازنمیباشد. گاودهنده (Donnor Cow) درداخل یك دستگاه مهارگذاشته میشودکه ترجیحا " پاهای جلوئی با لاآورده میشوند. میتوان یك بی‌حسی اپیدورال (Epidural) دادلیکن معمولا " ضروری نیست.

قبل ازجمع آوری،تخمدانها ازنظرجسم زرد لمس میشوند تامشخص گردد که سوپر اوولاسیون موفقیت آمیز بوده است یاخیر. جهت امکان عبورازگردن رحم کاتتربوسیله یك

استیلت تدزنگ محکم میشود. درموارد معدودی ممکن است نیازبه استفاده ازگشاد کننده گردن رحم جهت سهولت بخشیدن به عبورکاتتر ازگردن رحم باشد. میل بداخل یك شاخ رحم هدایت میشود، یادکنك جهت جلوگیری ازاتلاف مایع فلاشینگ پرازباد میشود محکم کننده پس کشیده میشود سپس خودفلاشنگ رامیتوان بارزش جریان مدارم مایع فلاشینگ(Contineous Flow) که بطور مداربسته صورت گرفته وتوسط السدن (درسال ۱۹۸۰) شرح داده شد و روی رنگهای مقطع که درسال ۱۹۸۰ توسط ماپلتفت توصیف شده انجام داد.

مایع فلاشینگ PBS(Phosphate Buffered-Saline)

همراه بایك درصدسرم گوساله که توسط حرارت غیرفعال شده است یا سرم جنینی گوساله دریك استوانه مدرج (۵۰۰ میلی لیتری) جمع آوری میشوند ودردرجه حرارت اطاق بمدت ۳۰ دقیقه نگهداری میشوند تاجنینها ته نشین شوند. مایع اضافی ازطریق لف صافی به بیرون هدایت میشودطوریکه فقط ۵۰ میلی لیتردرته سیلندر باقی نمانند. این مایع در بوآت دوپتری قرارداده شده وحداقل دوبار ازنظرجنین مورد وارسی قرارمیگیرد. جنینهای جمع آوری شده میبایستی حداقل دوبار در PBS تازه شسته داده شده وپس ازارزیابی مورفولوژیکی دربوآت دوپتریهای کوچکتر که حاوی PBS با FBS (سرم جنینی گوساله) بیست درصد (۲۰٪) یا BSA (آلبومین سرم گاوی) چهاردرصد ۴٪ میباشند قرارداده شوند.

ارزیابی ومورفولوژی جنین گاوی

بسته به فاصله زمانی بین اوولاسیون وفلاشینگ مراحل طبیعی سلولی بترتیب ذیل خواهند بود.

مرحله سلولی	سن تخمینی (به روز)
مورولا	

مورولای متراکـــم	۶
بلاستوسیت اولیـه	۷
بلاستوسیـت	۷
بلاستوسیت گسترش یافته	۸
بلاستوسیت تفریخ شده	۹

اکثرجنینهای جمع آوری شده دریك فلاشینگ بایستی دریکی ازمراحل فوق باشد.

ازآنجا که ارزیابی دقیق جنین بمنظور موفقیت درانتقال آن دارای اهمیت فراوانـــی میباشد، کوششهائی درجهت ارزیابی واقعی تردراستفاده اروشهای آزمایشگاهـــی صورت پذیرفته است نظیرآزمایش عدم جذب رنگ (کاردیمویچ ـ سال ۱۹۷۲) اندازه گیری فعالیت آنزیم (شیلینگ وهمکاران سال ۱۹۷۹)، میزان مصرف گلوکز (رنارد هیمـــن واوزیل درسال ۱۹۸۲) ورنگ آمیزی (شیلینگ وهمکاران سال۱۹۷۹) برای تمام این روشهـا تجهیزات پیچیده وکشت(Culture)آزمایشگاهی موردنیازاست بنابراین آزمایشـات فوق ارزش اندکی درانتقال جنین روزمره یاشرایط فارمی دارد. بنابراین هنوز بایستـی برارزیابی میکروسکوپیك که براساس تجربه میباشد اعتماد کرد. جنینها بطورتك تـك بادرشتنمائی ۵۰ موردآزمایش قرارگرفته وکیفیت آنها ازطریق مشخصات زیر که توسـط لیندزورایت درسال ۱۹۸۳ پیشنهاد گردیده تعیین میگردد.

عالـی ـ یك جنین ایده‌آل، کروی، متقارن، با سلولهای هم اندازه، یك رنگ ودارای بافـت یکنواخت.

خوب ـ نواقص جزئی مانند چند بلاستومر برآمده، شکل بی‌قاعده وبانعادی وزیکول.

قابل قبول ـ اشکالات مشخص ولی نه جدی ،وجود بلاستومرهای برآمده، شکل نامنظـم، تعادی وزیکول.

ضعیف ـ مشکلات جدی، تعداد زیادی بلاستومر برآمده سلولهای استحاله‌ای شده، سلولهای با اندازه های متفاوت وزیکولهای بزرگ متعدد، ولی دارای ظاهری قابل زیست.

همین مولفین ارزیابی میکروسکوپیك رابانتایج آزمایشی مقایسه کردند.

تعدادجنینهای انتقال یافته		تعدادآبستن
عالی	۲۲۰	(٪۴۵)
خوب	۱۷۰	۷۶(٪۴۵)
قابل قبول	۸۵	۲۱(٪۲۵)
ضعیف	۲۹	۴(٪۱۴)

دریك نشریه جدیدتر، هاسلروهمکاران (درسال۱۹۸۷) نتایج پس ازانتقال جنین ازطریق جراحی راگزارش کردند(جدول شماره۳) واضح است که بهترین نتایج با جنینهائی حاصل میشود که بعنوان عالی ویاخوب طبقه بندی شده ودرخصوص جنینهای موردقبول وضعیف کاهش قابل ملاحظه‌ای درنتایج وجود خواهد داشت.

جدول ۳- اثرکیفیت مورفولوژیك جنینی درمیزان آبستنی انجام شده بدنبال انتقال جنین

کیفیت جنین	تعداد انتقالها	تعدادآبستنی ها	درصد آبستنی
۱۹۸۳-۱۹۸۰			
خوب	۵۵۲۱	۴۰۳۷	۷۳۵
متوسط	۳۰۴	۱۸۱	۶۰
بد	۷۶	۳۱	۴۱
۱۹۸۶-۱۹۸۵			
۱	۵۴۲	۴۵۱	۸۳
۲	۴۰۸	۳۰۷	۷۵
۳	۲۱۴	۱۳۵	۶۳
۴	۱۳	۶	۴۶

انتخاب دریافت کنندهها وهمزمان کردن سیکل فحلی دردامهای دریافت کننده :

یك دریافت کننده ایده‌آل عبارت ازیك ماده گاویاگوساله جوانی است که عاری ازبیماری بوده ودارای سیکل جنسی منظمی باشد. نژاد دراین مورد اهمیتی ندارد. بهر صورت گزارش شده که حیوانات بانژاد مختلط (Cross-Bred) بطورمعمول

بارورترهستند(السدن وسیدل سال ۱۹۸۵) ۰ دامهابایستی دریك شرایط تغذیه‌ای خوب بوده وقادر به تولید گوساله‌ای دراندازه نژاد کاشته شده (Implanted) باشند. این امرمخصوصا " درموردکشورهای درحال توسعه صادق است جائیکه‌انتقال جنین ازگاوهای درسطح بالای ژنتیکی یاوارداتی به گاوبومی مجازاست۰

بهرحال مساله‌ای که درموفقیت انتقال جنین ازاهمیت زیادی‌برخورداراست همزمان کردن سیکل فحلی دامهای گیرنده‌دهنده است که نیازمند آگاهی ازدمای درجه حرارت دقیق بدن دریافت کننده است۰ همانطوریکه درجدول ۴ مشاهده میشود لیندزورایت (درسال ۱۹۸۳) نشان دادند که حتی همزمان کردن مرحله سلولی جنین دام گیرنده خیلی مهمتراست۰ السدن سال ۱۹۸۲ گزارش دادکه اعمال مدیریتهای درسطوح متغیر باعث تغییر میزان آبستنی بین ۴۰ تا ۹۱٪ دربین گروههای دریافت کننده جنین میگردد۰ که این امراهمیت انتخاب، توجه وآماده سازی دامهای گیرنده راموردتاکید قرارمیدهد۰

جدول ۴ـ همزمان کردن سیکل استروس درگاوهای گیرنده ـ دهنده جنین

همزمانی	همزمانی گیرنده ـ دهنده			همزمانی گیرنده ـ جنینی		
(روز)	تعداد	آبستنی	(٪)	تعداد	آبستنی	(٪)
۲+	۱۶	۶	(۳۸)	۵۳	۱۲	(۲۲)
۱+	۵۲	۲۶	(۵۰)	۹۲	۴۷	(۵۱)
۰	۱۰۰	۴۲	(۴۲)	۱۴۶	۷۷	(۵۳)
۱ـ	۱۱۸	۵۹	(۵۰)	۶۱	۳۱	(۵۱)
۲ـ	۱۰۴	۴۱	(۳۹)	۳۸	۷	(۱۸)

انتقـــال جنیـــــن :

به موازات جمع آوری جنینها ازطریق جراحی ، انتقال آنهانیز ازطریق جراحی باایجادشکاف درخط وسط (Mid-line) صورت گرفت . علاوه برمسائل متداول که درجراحی وبیهوشی باآن مواجه هستیم اینگونه روشهای جراحی نیازمند زمان زیاد وبکارگیری نیروهای انسانی فراوانی میباشد. درحال حاضر باکشف شدن روشهای انتقال جنین بطریقه غیرجراحی، کارانتقال به مرحله‌ای رسیده که تقریبا " تمام انتقالهـــا باستثنائات کمی (درصورت وجود برنامه‌های خاصی) به طریق غیرجراحی انجـــام میگیرند.

جنین دریك پیپت ۰/۲۵ سی سی قرارداده شده سپس آن رادریك ظپانچه تلقیح قرارمیدهند. سپس غلاف ظپانچه راکشیده وثابت میکنند، پیپت دیگری که یك سرآن باکاغـــذی باپوشش پلاستیکی یا لایه محافظ دیگری پوشیده شده به انتهای دیگرظپانچه متصـــل میشود. سپس دستگاه بداخل مهبل هدایت میشود. پس ازعبورانتهای ظپانچه ازحلقـــه غضروفی خارجی گردن رحم ،ظپانچه بااعمال فشارازطریق پیپت یا غلاف محافظ بآرامی بداخل شاخی ازرحم هدایت میشودکه تخمدان مربوطه دارای جسم زرد فعالی است.

(رایت ۱۹۸۱) جنین درحدامکان درعمیقترین نقطه رحم قرارداده میشود البته بایـــد ازآسیب رساندن به مخاط رحم احترازشود انتقال جنین غیرجراحـــــــــــــــی (non-surgical) نیازمندمهارت وتجربه مداوم جهت حصول به یك میـزان آبستنی رضایت بخش درحدود ۵۵ تا ۶۵ درصداست وقتی انتقال جنین بطریقه جراحـــی صورت میگیرد، میزان آبستنی ۶۰ تا ۷۰ درصدانتظارمیرود.

انجماد کامـــل جنینهـــا :

روش مثبتی که درجهت رفع موانع مربوطه درخصوص بکارگیری بیشترانتقـــال جنین درمقیاس با لاارائه شده روش انجمادکامل میباشد که مشکلات زمانی وفاصلـــه رامرتفع میسازد. انجمادکامل جنینهای گاوی وگوسفندی موفقیت آمیزبوده وتوســط بسیاری ازمولفین (ویلادسن، پولژوراوسون درسال ۱۹۷۸، لِهن‌یانسن در ۱۹۸۱، رنـــارد اوزیل وهمن درسال ۱۹۸۱) گزارش شده است . ازآن زمان کارهای تحقیقی بیشتری بمنظور بهبود تکنیك صورت گرفته است لیبو (Leibo)، وست وپری (درسال ۱۹۸۲) ولایبو

درسال ۱۹۸۴ باارائه روش رقیق سازی سهم مهمی درتکنیك انجماد کامل جنین رابخـــود اختصاص داده‌اند. درسایر تکنیك هانیازبه این بودکه جنینـها ازیك مایع محافظت کننده ازسرمابامولاریته فزاینده عبورداده شوند. لایبو(Leibo) درسال ۱۹۸۴ ثابت کـــرد که بایك دقت یك یك مرحله‌ای همین نتایج بدست میآید.

بدون درنظرگفتن تنوع روشهاهمگی آنهامفاهیم مشترکی دارند بشرح زیر:

ـ افزودن ماده DMSO بعنوان محافظت کننده سرما Cryoprotectant (دی متیل سولفوکسید) یاگلیسرول که درمراحل متعددی برای افزایش غلظت یادریك مرحلـه افزوده میشود(نیمان سال ۱۹۸۵).

ـ تقلیل حرارت دادن،سردکردن درجه حرارت اطاق به ۷ـ درجه سانتیگراد به ازاء یـــك درجه سانتیگراد دریك دقیقه.

ـ کاشتن تخم (Seeding) بطریق اتوماتیك یاباپنس سردشده.

ـ تقلیل حرارت از۷ـ درجه سانتیگراد به۲۸ـ سانتیگراد یا ۳۵ـ درجه سانتیگراد بـــازاء ۰/۳ درجه درهردقیقه.

ـ رساندن برودت به۳۷ ـ درجه سانتیگراد بازاء ۰/۱ درجه درهردقیقه پس ازده دقیقـــه دردرجه حرارت نهائی جنینها بداخـــل ازت مایع انداخته میشوند.

آب کردن (Thawing) بسرعت دریك وان آب دردرجه حرارت ۲۵ تا ۳۷ درجـه سانتیگراد صورت میپذیرد. ماده محافظت کننده سرمایاباید ازطریق مختلفی ازکاهـش مولاریته حذف شودیاچنانکه توسط Renard ، Heyman و Ori (۱۹۸۲) و Nieman وهمکاران (۱۹۸۲) نشان داده شد بایك مرحله بااستفاده‌ازمحلـــول سوکروز اینکارعملی گردد.

پس ازآب کردن (خروج ازحالت انجماد)، جنینها برای ساعتهاکشت شده وبطریـــق مورفولوژیکی ارزیابی میگردند یااینکه سریعا" بدامی دیگرمنتقل میشوند. زنده مانـدن جنینها به میزان ۸۰ درصدقابل انتظاراست که منجر به یك میزان آبستنی درحدود ۵۰ درصد باتغییرات وسیع میگردد این تغییرات بستگی به واحدانتقال جنین وشدت انتخاب پـــس ازخروج انجماد دارد.

طریق دیگرانجماد عمیق جنینها تحت عنوان Vitrification است که توسط Massif, Ectors, van der Zwalmen درسال ۱۹۸۷ شرح داده شد. ویتریفیکاسیـــون

جامدسازی مایع است که از افزایش فوق‌العاده‌ای ویسکوزیته درطول زمان سرد کردن حاصل میشود طوریکه گفته میشود مایع تبدیل به شیشه گردیده است. این امرنیازمند حضور غلظتهای بالائی ازماده محافظت کننده سرماوکاهش وافزایش زیاد حرارت دارد.

جراحی میکروسکوپیک Microsurgery ـ دونیم کردن جنینها :

درگذشته کارهای تحقیقاتی مهمی درزمینه جراحی میکروسکوپیک به منظور تولید دوقلوهای یکسان صورت پذیرفته است Steen Willadsen ازدانشگاه کمبریج انگلستان و (George Seidel) ازدانشگاه کلرادودرفورت کولینز ایالات متحده آمریکا؛

دراین زمینه شایان ذکرهستند. این محققین درعملی ساختن این تکنیک دربرنامه‌های عادی انتقال جنین نقش قابل ملاحظه‌ای داشته اند بصورت تقسیم جنینها حتی تحت شرایط عملی درفارم روشهای ساده‌ای بکاربرده میشود. مزیت دیگر بکارگیری این تکنیک آن است که تعداد جنینهای قابل انتقال بازاء هردام دهنده جنین (Donor) میتواند دوبرابر شود، درنتیجه تعدادگوساله‌های بیشتری به نسبت روشهای انتقال جنین قدیمی حاصل میشود. (Williams, Elsden & Seidel)

تعداد کل جنینهای دونیم شده	۷۲
تعداد نیمه جنینهای انتقال یافته	۱۴۴
تعداد آبستنی‌ها به تعداد نیمه جنین های انتقال یافته	۷۲/۱۴۴(٪۵۰)
تعداد آبستنی ها به تعداد جنینهای دونیم شده	۷۲/۷۲(٪۱۰۰)
تعداد جنینهای نیم شده منجربه دوآبستنی (دوقلو)	۱۸(٪۲۵)

Niemann وهمکاران درسال ۱۹۸۶ انجماد موفقیت آمیز نیمه جنینهای گرفته شده ازجنینهای گاوی هفت روزه را گزارش نمودند، شش آبستنی منجربه یک جفت دوقلوهای مشابه ازانتقال سیزده نیمه جنین خارج شده ازانجماد (٪۴۶/۲) بدست آمد که بعنوان عالی یاخوب طبقه بندی شدند. همچنین این تحقیق پیشنهاد نمود که انجماد جنینهای دونیمه شده بهتر ازدوتکه کردن جنینهای منجمدی است که از حالت انجماد خارج شده‌اند. این تکنیک همچنان نیازمند پیشرفت است لیکن درحال حاضر نمائش هیجان انگیزی دربرنامه‌های پرورش گاووتحقیق ارائه مینماید.

تعیین جنسیت Sexing :

گروههای تحقیقاتی متعددی دراین رشته کارکرده‌اند، زیرا این مسئله درتوسعه انتقال جنین دربرنامه‌های پرورش گاووصادرات جنینها مسئله مهمی تلقی میگردد. درآینده پیشرفت بیشتری درامرپرورش موردانتظار است صنعت تجارتی انتقال جنین سریعا" راه خودرادراستفاده ازیك روش قابل اعتماد، تجارتی وعملی برای شناسائی جنس جنینها پس ازانتقال بازمیکند. متاسفانه درحال حاضرروشی که جوابگوی این معیارها باشد وجودندارد(Anderson 1987) تکنیکهای زیر درحال حاضر مورداستفاده قرارمیگیرند :

۱ـ روشهای سلول شناسی (King 1984)

۲ـ محاسبه اختلافات (درفعالیت متابولیك بین جنینهای نرومادە) (Rieger 1984)

۳ـ اندازه گیری فعالیت گلوکز ـ شش ـ فسفات ـ د هیدروژناز (Williams 1987)

۴ـ تعیین جنسیت بااستفاده از DNA کروموزوم Y آزمایش(Leonard et al87)

۵ـ ردیابی آنتی ژن H-Y (Anderson 1987) تعیین جنسیت

جنینهاهنوز هم نیازمندتحقیق قابل توجه به منظوردست یابی به یك دقت قابل قبول، قبل ازبکارگیری آن درمقیاس بزرگتر است.

مانی پولاسیون میکروسکوپیك تخمها وجنینها وزمینه‌های وابسته به آن علاوه برتقسیم تخمها که قبلا" موردبحث قرارگرفته طرح مسئله دیگری دراین زمینه خارج ازحوصله این مقاله خواهد بود.

بهرصورت آنچه ذیلا" مطرح میشود بعضی ازمونوعاتی است که محققین برروی آنها کار کرده وتاکنون موفقیتهائی نیزبدست آورده‌اند.

۱ـ بلوغ گامتها واووسیت هادرلوله آزمایشگاهی

۲ـ باروری درلوله آزمایشگاهی

۳ـ کشت آزمایشگاهی جنینها

۴ـ تولید Chimaeras[1]

۵ـ تولیدحیوانات ترانس ژنیك

۶ـ تولید حیوانات خالص

۷ـ تولید کلونها

1حیوانی که سرشیر، بدن بز ودم ماراداشته باشد.

امکانات کاربردی درآینده انتقال جنین یك تکنیك اعجاب انگیز است که امکانات کاربردی زیادی را ارائه میدهد که بصورت خلاصه درزیر میآید :

۱ـ انتقال جنین پیشرفت ژنتیکی دربرنامه‌های پرورش گاو را تسریع میبخشد .

۲ـ انتقال جنین میتواند یك وسیله مهم تحقیقاتی درمطالعه نقائص ژنتیکی باشد .

۳ـ انتقال جنین میتواند درتحقیقات جهت مطالعه فیزیولوژیکی تولید مورداستفاده قرارگیرد، بعنوان مثال، باروری، جایگزینی وشناخت آستنی توسط مادر .

۴ـ انتقال جنین مزیتهای زیادی درمقابل حمل ونقل سنتی دام بین کشورها ارائه مینماید .

۵ـ خطرانتقال بیماری کاهش یافته واجازه میدهد که حیوان آلوده بعنوان دهنده درموارد مخصوصی بکاررود . اگرروش کارصحیح برده شده شستشو درست انجام گیرد و" منطقه شفاف تخم " آسیب ندیده باشد خطر انتقال جنین ازطریق جنین بسیار کاهش خواهد یافت (Sing 1987).

هنگامی که جنینهای حاصله ازگاوآلوده به ویروس لوسمی گاوی (BLV) ویروس بلوتانگ (BTV) یاویروس بیماری تب برفکی (FMDV) شسته شده وسپس به دریافت کننده‌های غیرآلوده، منتقل گردیدند هیچگونه انتقال مرضی مشاهده نشد . روشهای بیوتکنولوژیکی، مانند جراحی میکروسکوپیك ومانیپولاسیون میکروسکوپیك دوقلوزائی، تعیین جنسیت،تولید شیمراها ، دام ترانس ژنیك، دامهای خالص،کلونها میدان وسیعی جهت کاربردهای بیشتر پیش رومی‌گشاید .

فعالیتهای موفقیت آمیزانتقال جنین نیازمند پرسنل مجرب پرتحرك وسرمایه گذاری نسبتا" زیادبرای وسائل، تجهیزات وداروها وحیوانات آزمایشی می‌باشد .

دراغلب کشورهای خیلی پیشرفته که دارای برنامه‌های پرورشی پیچیده براساس پروژنی تست‌وثبت عمل کرد هستند پیشرفت اصلاح نژادی دامها خیلی بالاست . انتقال جنین میتواند این پیشرفت اصلاح نژادی را ازطریق افزایش شدت انتخاب دربین گاوهای نرسرعت بخشد . بهرصورت متخصصین ژنتیك ادعا میکنند که پیشرفت بیشتر دراصلاح نژادازطریق برنامه‌های استاندارد انتقال جنین درگاوشیری تنهادرحدود ۱۰٪ است وهرچه شدت انتخاب دربین گاوهای نردربرنامه‌های استاندارد اصلاح نژاد بالاتر باشد پیشرفت کمترخواهد بود .

شکی نیست که درتلقیح مصنوعی درحال حاضر هنوز روش موثرتری جهت افزایش پتانسیل ژنتیکی دراشل با لا ابداع میشود . این امرمخصوصا " برای کشورهائی که درآنها تلقیح مصنوعی هنوز هم درمراحل ابتدائی است وجائیکه رکوردشیر وپروژنی تست پایه گذاری شده است صادق است .

ازدانشکده‌های دامپزشکی وموسسات تحقیق دامپروری خواسته شده که باکارهای تحقیقاتی درزمینه افزایش تولیدسهیم شوند. آنهاهمچنین مسئول آموزش وتعلیم دانشجویان وآگاه ساختن آنها ازمشکلات مربوط به افزایش تولید هستند.

انتقال جنین بامراحل مختلف آن درهریك نیازمند توجه بخصوصی میباشد به تنهائی قادر به حل مشکلات مربوط به تولیدمثل نخواهند شد لیکن این امربطورحتم محققین ودانشمندان جوان رانسبت به مشکلات ویافتن راه حلهای مربوطه آگاهتر میسازد.

ضمنا " درك بهتری ازفیزیولوژی تولیدمثل بدست خواهدآمد ودرنتیجه این افراد قادر خواهند بود درخصوص حل مشکلات تولیدی درفارم کاربهتری انجام دهند.///

منبع: World Animal Review No 64

ترجمه : واحدتحقیقات کمیته امورداموآبزیان .