

## اثر روش تلقیح مصنوعی بر بازده تولیدمثلی میش‌های زندی تلقیح شده با اسپرم تازه و منجمد

• رضا مسعودی

گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

• احمد زارع شحنه

گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

• آرمین توحیدی (نویسنده مسئول)

گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

• حمید کهرام

گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

• عباس اکبری شریف

ایستگاه پرورش و اصلاح نژاد گوسفند زندی، سازمان جهاد کشاورزی استان تهران، تهران، ایران

• محسن شرفی

گروه علوم طیور، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، قائم‌شهر، ایران

• دانیال آل داود

گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائم‌شهر

• ابوالحسن صادقی پناه

بخش مدیریت و پرورش دام، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴-۱۲-۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۰۱-۲۱

Email: atowhidi@ut.ac.ir



### چکیده

هدف از این مطالعه بررسی اثر روش تلقیح مصنوعی با اسپرم تازه و منجمد بر بازده تولیدمثلی میش‌های زندی بوده است. دویست و چهل رأس میش سه تا چهار ساله نژاد زندی با میانگین وزنی ۵۵ کیلوگرم به مدت ۱۲ روز سیدرگذاری شده و هنگام سیدربرداری ۴۰۰ واحد eCG دریافت و ۵۴ ساعت پس از سیدربرداری تلقیح شدند. گروه‌های اول تا سوم شامل ۱۲۰ رأس میش بوده که به سه گروه مساوی تقسیم شده و به ترتیب با روش‌های واژینال، لاپاراسکوپي و ترانس سرویکال با اسپرم تازه تلقیح شدند. گروه‌های چهارم تا ششم شامل ۱۲۰ رأس میش بوده که به سه گروه مساوی تقسیم شده و به ترتیب با روش‌های واژینال، لاپاراسکوپي و ترانس سرویکال با اسپرم منجمد تلقیح شدند. نتایج نشان داد در هنگام استفاده از اسپرم تازه اختلافی میان بازده تولیدمثلی روش‌های تلقیح مصنوعی وجود ندارد اما در هنگام استفاده از اسپرم منجمد بالاترین بازده تولیدمثلی مربوط به روش لاپاراسکوپي بوده است ( $P < 0.05$ ) و پس از آن بازده تولیدمثلی روش ترانس سرویکال بالاتر از روش واژینال بود ( $P < 0.05$ ). در نتیجه در صورت فراهم بودن شرایط برای تلقیح مصنوعی لاپاراسکوپي، این روش دارای بالاترین بازده می‌باشد ولی در صورت عدم فراهمی شرایط برای لاپاراسکوپي استفاده از روش تلقیح مصنوعی ترانس سرویکال با کمک هورمون اکسی‌توسین دارای پاسخی مناسب‌تری از روش واژینال می‌باشد.

کلمات کلیدی: اسپرم منجمد، بازده تولیدمثلی، تلقیح مصنوعی، میش زندی

• Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 114 pp: 127-131

Effect of artificial insemination methods on reproductive efficiency of Zandi ewes inseminated with fresh and frozen sperm

By: Masoudi, R., Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Shahneh, A. R., Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Towhidi, A., (Corresponding Author) Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Kohram, H., Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. Akbarisharif, A., The Breeding Station of Zandi Sheep, Pishwa, Varamin, Iran. Sharafi, M., Department of Poultry Science, Faculty of Agriculture, University of Tarbiat Modares, Tehran, Iran. Aledavoud, D., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Islamic Azad University, Ghaemshahr Branch, Ghaemshahr, Iran. Sadeghipanah, A., Animal Science Research Institute of Iran, Karaj, Iran.

Email: atowhidi@ut.ac.ir

Received: 2016-02-20 Accepted: 2016-04-10

The aim of this study was to determine the effect of artificial insemination methods on reproduction efficiency of Zandi ewes inseminated with fresh and frozen semen. Two hundred and forty Zandi ewes (three- to four-years old, 55 kg weight) received CIDR for 12 days and at the time of CIDR removal, received 400 IU of eCG and were artificially inseminated 54 h after CIDR removal. Groups one to three included 120 ewes that were assigned into three equal groups and inseminated vaginally, by laparoscopy and transcervically, respectively with fresh semen. Groups four to six included 120 ewes that were assigned into four equal groups and inseminated vaginally, by laparoscopy and transcervically, respectively with frozen semen. The results showed that during using fresh semen, differences between artificial insemination methods were not significant, but during using frozen semen, the fertility rate was higher in laparoscopy method than other methods ( $P < 0.05$ ). After laparoscopy, transcervical artificial insemination had higher efficiency than vaginal insemination method ( $P < 0.05$ ). It can be concluded that using frozen semen, highest efficiency will be obtained if laparoscopy condition is available, otherwise, transcervical artificial insemination via oxytocin will be better than the vaginal method.

Key words: Frozen semen, Reproduction efficiency, Artificial insemination, Zandi ewe

#### مقدمه

تلقیح مصنوعی در گوسفند به طور معمول با اسپرم تازه و از طریق سرویکس انجام می‌شود. درصد باروری در این روش حدود ۴۰ تا ۶۰ درصد است (۱،۶)، اما درصد آبستنی حاصل از تلقیح مصنوعی با اسپرم منجمد در تلقیح سرویکال پایین است (۱۰). باروری پایین اسپرم منجمد به دلیل مشکل اسپرم در عبور از سرویکس ناهموار میش و همچنین مشکل بودن نفوذ تفنگ تلقیح به مجرای سرویکس و در نتیجه عدم امکان تلقیح عمیق سرویکال است (۹). فقدان روش پر بازده تلقیح مصنوعی در گوسفند سبب محدود شدن استفاده از این تکنیک شده است. برای بهبود درصد آبستنی حاصل از تلقیح مصنوعی راه‌کارهای متفاوتی ارائه شده است. یکی از این روش‌ها تلقیح مصنوعی به روش لاپاراسکوپ است که موجب افزایش درصد آبستنی می‌شود. ولی این روش دارای معایبی مثل هزینه بالا، زمان‌بر بودن،

نیاز به تخصص و نیاز به استفاده از داروهای آرام‌بخش می‌باشد (۵). لذا ارائه روشی ارزان، سریع و کارآمد برای توسعه تلقیح مصنوعی در گوسفند اهمیت به‌سزایی دارد.

بر طبق مطالعات بافت‌شناسی، حلقه‌های داخلی سرویکس میش مانعی در برابر ورود پیپت تلقیح مصنوعی به رحم می‌باشد (۷). حلقه دوم سرویکس نسبت به دهانه سرویکس در یک خط مستقیم قرار ندارد و سبب ممانعت از نفوذ پیپت تلقیح مصنوعی به درون سرویکس و رحم می‌شود. راه‌کارهای مختلفی برای عبور از سد سرویکس ارائه شده است که ارزان‌ترین و آسان‌ترین آن‌ها استفاده از هورمون اکسی-توسین برای باز نمودن سرویکس بوده است (۱۵). اما نکته مهم در این زمینه این است که باز شدن سرویکس بهبود بازده تولیدمثلی میش را در پی داشته باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثر روش‌های تلقیح مصنوعی واژینال،

خط وسط پایین پستان وارد محوطه بطنی دام شد. بعد از ورود گاز دی اکسید کربن به داخل محوطه بطنی به منظور تسهیل در کار، لوله چشمی دستگاه لاپاراسکوپی از داخل یک تروکار وارد محوطه بطنی شده و رحم شناسایی شد. از تروکار دیگر تفنگ تلقیح وارد و اسپرم در داخل شاخ‌های رحم تخلیه شد (۴). در روش ترانس سرویکال ۲۰ دقیقه قبل از تلقیح به هر میش ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین (داروسازی ابوریحان، ۱۰ واحد اکسی‌توسین در هر میلی‌لیتر) تزریق شد تا سرویکس میش‌ها باز شود، سپس میش‌ها روی یک خاک قرار داده شدند، به طوری که اندام حرکتی عقبی بالاتر از سطح بدن قرار گرفت و سپس با استفاده از یک اسپیکولوم مجهز به منبع نور واژن میش باز شد تا دهانه سرویکس پیدا شود و با استفاده از تفنگ تلقیح مصنوعی میش‌ها به صورت ترانس سرویکال تلقیح شدند. نحوه تلقیح به این صورت بود که تفنگ به درون سرویکس رفته و تا جایی که در سرویکس به آسانی نفوذ می‌کرد وارد سرویکس شده و در همان محل اسپرم تخلیه شد.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

موردی که در این آزمایش ارزیابی شد عبارتند از: تشخیص آبستنی (تعداد میش آبستن نسبت به تعداد میش تلقیح شده) با آزمایش اولتراسونوگرافی که به وسیله یک دستگاه اولتراسوند مجهز به یک پراب سکتور ۳/۵ مگاهرتز، در روز ۵۰ پس از تلقیح انجام شد، درصد زایش (تعداد زایش نسبت به تعداد میش تلقیح شده  $\times 100$ )، بره‌زایی (تعداد بره نسبت به تعداد میش تلقیح شده  $\times 100$ ) و دوقلو زایی (تعداد دوقلو نسبت به تعداد میش تلقیح شده  $\times 100$ ). با توجه به تعداد میش تلقیح شده، تعداد میش زایش کرده و تعداد بره به دنیا آمده مشخص شد. داده‌های حاصل از درصد آبستنی، زایش، بره‌زایی و دوقلو زایی در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از رویه GENMOD نرم افزار SAS آنالیز شدند.

### نتایج

نتایج نشان داد که در هنگام استفاده از اسپرم تازه در میان سه روش تلقیح مصنوعی واژینال، لاپاراسکوپی و ترانس سرویکال اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). در این آزمایش درصد آبستنی حاصل از سه روش تلقیح مصنوعی واژینال، لاپاراسکوپی و ترانس سرویکال به ترتیب ۴۵، ۴۰ و ۴۲/۵ درصد بود. درصد زایش به ترتیب ۳۵، ۳۷/۵ و ۳۷/۵ درصد، درصد بره‌زایی به ترتیب ۳۷/۵، ۳۷/۵ و ۴۰ درصد و درصد دوقلو زایی به ترتیب ۲/۵، ۰ و ۲/۵ درصد بود.

در هنگام استفاده از اسپرم منجمد در میان سه روش تلقیح مصنوعی واژینال، لاپاراسکوپی و ترانس سرویکال اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0.05$ ). در این آزمایش درصد آبستنی حاصل از سه روش تلقیح مصنوعی واژینال، لاپاراسکوپی و ترانس سرویکال به ترتیب ۵، ۳۰ و ۲۰ درصد بود. درصد زایش به ترتیب ۲/۵، ۳۰ و ۱۷/۵ درصد، درصد بره‌زایی به ترتیب ۲/۵، ۳۰ و ۱۷/۵ درصد و درصد دوقلو زایی حاصل از هر سه روش صفر درصد بود.

در این آزمایش بالاترین بازده تولیدمثلی مربوط به روش لاپاراسکوپی بوده که دارای اختلاف معنی‌داری با دو روش ترانس سرویکال ( $P < 0.01$ ) و واژینال ( $P < 0.05$ ) بود. همچنین افزایش بازده تولیدمثلی در روش تلقیح

لاپاراسکوپی و ترانس سرویکال (با استفاده از هورمون اکسی‌توسین) بر بازده تولیدمثلی میش‌های زندی در خارج فصل تولیدمثل بوده است.

### مواد و روش‌ها

#### زمان آزمایش، حیوانات و تیمارهای آزمایشی

در خارج فصل تولیدمثل (اواسط اردیبهشت) ۲۴۰ رأس میش نژاد زندی برای ۱۲ روز سیدرگذاری (Eazi-Breed™, CIDR®, Progesterone) شده و هنگام سیدرگذاری ۴۰۰ واحد (Sanofi A nimal Health, eCG (Libourne Cedex, France) به صورت درون‌عضلانی دریافت کردند و ۵۴ ساعت پس از سیدرگذاری تلقیح شدند. این آزمایش با اسپرم منجمد و تازه انجام شد. برای تلقیح مصنوعی با اسپرم تازه، منی با استفاده از واژن مصنوعی از قوچ‌های نژاد زندی گرفته شده و سپس با استفاده از شیر کم‌چرب به نسبت ۱ به ۱ رقیق شد و با مکش وارد پایت اسپرم می‌شد. میزان جنبایی و حرکت پیش‌رونده اسپرم‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری سنجیده شد و نمونه‌هایی که کمتر از ۷۰ درصد جنبایی داشتند، حذف شدند. اسپرم منجمد برای تلقیح با استفاده از رقیق کننده حاوی زرده تخم مرغ تهیه شد. گروه بندی تیمارها عبارت بودند از:

گروه‌های اول تا سوم شامل ۱۲۰ رأس میش که به سه گروه مساوی تقسیم شده و به ترتیب با روش‌های واژینال، لاپاراسکوپی و ترانس سرویکال با اسپرم تازه تلقیح شدند و گروه‌های چهارم تا ششم شامل ۱۲۰ رأس میش که به سه گروه مساوی تقسیم شده و به ترتیب با روش‌های واژینال، لاپاراسکوپی و ترانس سرویکال با اسپرم منجمد تلقیح شدند.

#### آماده‌سازی رقیق کننده و انجماد اسپرم

یک رقیق کننده پایه بر پایه‌ی تریس حاوی (۲/۷ گرم تریس، ۱ گرم فروکتوز، ۱/۴ گرم سیتریک اسید در ۱۰۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر)، ۷ درصد گلیسرول و با  $PH = 7$  و اسمولاریته ۳۲۰ میلی اسمول، به عنوان رقیق کننده پایه منی استفاده شد. سپس به رقیق کننده حاوی لسیترین سویا، ۲۰ درصد (حجم/حجم) زرده تخم مرغ اضافه شد. منی رقیق شده به تدریج تا ۴ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۲ ساعت سرد و سپس به داخل پایوت‌های ۰/۲۵ میلی‌لیتر (IMV, France) کشیده شد. پایوت‌ها بلافاصله در فاصله‌ی پنج سانتی‌متری بخار نیتروژن مایع به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند و سپس به داخل نیتروژن مایع غوطه‌ور و تا زمان ذوب ذخیره شدند. بعد از ذخیره‌سازی، پایوت‌ها در حمام آب گرم (۳۷ درجه به مدت ۳۰ ثانیه) ذوب شدند.

#### تلقیح مصنوعی

روش تلقیح واژینال به این صورت بود که میش‌ها روی یک خاک قرار داده شدند، به طوری که اندام حرکتی عقبی بالاتر از سطح بدن قرار گرفت و سپس با استفاده از یک اسپیکولوم مجهز به منبع نور واژن میش باز شد تا دهانه سرویکس پیدا شد و سپس اسپرم در دهانه سرویکس تخلیه شد. در روش لاپاراسکوپی ابتدا میش‌ها بر روی تخت لاپاراسکوپی به پشت خوابانده و مهار شدند، سپس به همه میش‌ها ۰/۳ میلی‌گرم زایلازین قبل از شروع لاپاراسکوپی در جهت آرامش دام تزریق شد. سپس اطراف پستان ضد عفونی و دو تروکار در هشت و پنج سانتی‌متری پایین و دو طرف

مصنوعی ترانس سرویکال نسبت به روش واژینال معنی‌دار بوده است ( $P < 0.05$ ).

### بحث

در خارج فصل باروری، نتایج حاصل از سه روش تلقیح مصنوعی واژینال، لاپاراسکوپی و ترانس سرویکال با استفاده از اسپرم تازه نشان داد که در هنگام استفاده از اسپرم تازه میان روش‌های تلقیح مصنوعی نام برده از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. نتایج حاصل از این قسمت پژوهش در خصوص مقایسه بازده تولیدمثل حاصل از روش‌های مختلف تلقیح مصنوعی با اسپرم تازه با یافته‌های آرمسترانگ و ایوانز (۲) همخوانی داشته است و بیانگر این مطلب است که هنگام استفاده از اسپرم تازه مقدار کافی اسپرم با تحرک مناسب برای تلقیح مصنوعی موجود است که موجب افزایش درصد باروری در هنگام استفاده از روش‌های مختلف تلقیح مصنوعی می‌شود.

مزیت تلقیح مصنوعی، استفاده‌ی بیشتر از قوچ‌های برتر و کنترل بیماری‌های مسری در میان گله‌هاست. با استفاده از اسپرم منجمد می‌توان از توان ژنتیکی یک قوچ برتر برای سالیان متمادی استفاده نمود ولی به دلیل حساس بودن اسپرم قوچ به فرایند انجماد درصد زیادی از اسپرم‌های

موجود در منی طی فرایند انجماد آسیب می‌بینند و توانایی تحرک و رسیدن آن‌ها به محل لقاح و در نهایت درصد باروری حاصل از تلقیح مصنوعی با اسپرم منجمد کاهش می‌یابد (۱۰). با این اوصاف با تخلیه اسپرم منجمد در نزدیکی محل لقاح (رحم) می‌توان شانس لقاح را افزایش داد.

در هنگام استفاده از اسپرم منجمد برای تلقیح مصنوعی، بالاترین درصد باروری مربوط به تلقیح مصنوعی به روش لاپاراسکوپی بود، زیرا همانطور که گفته شد در این روش اسپرم در شاخ‌های رحم تخلیه می‌شود و شانس رسیدن آن به محل لقاح افزایش می‌یابد. در تلقیح مصنوعی واژینال به دلیل این‌که اسپرم در واژن و دهانه سرویکس تخلیه می‌شود و این موضوع که به دلیل تنش ناشی از انجماد-ذوب، جنبایی آن کاهش یافته است، سبب کاهش شانس رسیدن اسپرم به محل لقاح شده و درصد باروری کاهش می‌یابد. در تلقیح مصنوعی ترانس سرویکال با استفاده از اکسی‌توسین سرویکس باز شده و قابلیت عبور تفنگ تلقیح مصنوعی از کانال سرویکس و تخلیه اسپرم در انتهای سرویکس و یا در رحم فراهم می‌شود که این موضوع به نوبه خود موجب افزایش مقدار اسپرم موجود در محل لقاح می‌شود. از طرفی اکسی‌توسین می‌تواند سبب افزایش انتقال اسپرم از کانال سرویکس شود (۳) و در نتیجه نسبت به روش واژینال، اسپرم بیشتری به محل لقاح رسیده و شانس لقاح میان اسپرم و تخمک

جدول ۱- بررسی اثر روش‌های تلقیح مصنوعی بر بازده تولیدمثلی میش‌های با استفاده از اسپرم تازه

تلقیح مصنوعی	واژینال	لاپاراسکوپی	ترانس سرویکال
درصد آبستنی (تعداد)	۴۰ (۱۶/۴۰)	۴۵ (۱۸/۴۰)	۴۲/۵ (۱۷/۴۰)
درصد زایش (تعداد)	۳۵ (۱۴/۴۰)	۳۷/۵ (۱۵/۴۰)	۳۷/۵ (۱۵/۴۰)
درصد بره زایی (تعداد)	۳۵ (۱۵/۴۰)	۳۷/۵ (۱۵/۴۰)	۴۰ (۱۶/۴۰)
درصد دوقلوزایی (تعداد)	۲/۵ (۱/۴۰)	۰ (۰/۴۰)	۲/۵ (۱/۴۰)

عدد درون پرانتز نشان‌دهنده فراوانی در هر گروه می‌باشد.

جدول ۲- بررسی اثر روش تلقیح مصنوعی با اسپرم منجمد بر بازده تولیدمثلی میش‌های زندی در فصل تولید مثل

تلقیح مصنوعی	واژینال	لاپاراسکوپی	ترانس سرویکال
درصد آبستنی (تعداد)	۵ c (۲/۴۰)	۳۰ a (۱۲/۴۰)	۲۰ b (۸/۴۰)
درصد زایش (تعداد)	۲/۵ c (۱/۴۰)	۳۰ a (۱۲/۴۰)	۱۷/۵ b (۷/۴۰)
درصد بره زایی (تعداد)	۲/۵ c (۱/۴۰)	۳۰ a (۱۲/۴۰)	۱۷/۵ b (۷/۴۰)
درصد دوقلوزایی	۰	۰	۰

عدد درون پرانتز نشان‌دهنده فراوانی در هر گروه می‌باشد. حروف غیر مشترک نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار میان تیمارها در ردیف است ( $P < 0.01$ ).

E. Lemme, et al. 2003. Laparoscopic intrauterine insemination with different doses of fresh, conserved, and frozen semen for the production of ovine zygotes. *Theriogenology* 60: 777-787.

5. Evans, G. and W.M.C. Maxwell. 1987. Salmon's artificial insemination of sheep and goats. *Butterworths* 55-170.

6. Fair, S., J.P. Hanrahan, C.M. O'Meara, P. Duffy, D. Rizos, M. et al. 2005. Differences between Belclare and Suffolk ewes in fertilization rate, embryo quality and accessory sperm number after cervical or laparoscopic artificial insemination. *Theriogenology* 63: 1995-2005.

7. Kershaw, C.M., M. Khalid, M.R. McGowan, K. Ingram, S. Leet-hongdee, G. Wax. Et al. 2005. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology* 64: 1225-1235.

8. Khalifa, R.M., B.L. Sayre and G.S. Lewis. 1992. Exogenous oxytocin dilates the cervix in ewes. *Journal of Animal Science* 70: 38-42.

9. Lightfoot, R.J. and S. Salamon. 1970. Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. I. Transport and viability of spermatozoa within the genital tract of the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility* 22: 385-398.

10. Salamon, S. and W.M.C. Maxwell. 1995. Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Animal Reproduction Science* 37: 185-249.

11. Sayre, B.L. and G.S. Lewis. 1996. Cervical dilation with exogenous oxytocin does not affect sperm movement into the oviducts in ewes. *Theriogenology* 45: 1523-1533.

12. Sayre, B.L. and G.S. Lewis. 1997. Fertility and ovum fertilization rate after laparoscopic or transcervical intrauterine artificial insemination of oxytocin-treated ewes. *Theriogenology* 48: 267-275.

13. Stellflug, J.N., M.W. Wulster-Radcliffe, E.L. Hensley, E.A. Cowardin, R.C. Seals and G.S. Lewis. 2001. Oxytocin-induced cervical dilation and cervical manipulation in sheep: effects on laparoscopic artificial insemination. *Journal of Animal Science* 79: 568-573.

14. Verberckmoes, S., I. De Pauw, A. Van Soom, G. Vanroose, H. Laevens and A. De Kruif. 2001. Cervical insemination in sheep. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 70: 475-480.

15. Wulster-Radcliffe, M.C., B.A. Costine and G.S. Lewis. 1999. Estradiol-17 beta-oxytocin-induced cervical dilation in sheep: application to transcervical embryo transfer. *Journal of Animal Science* 77: 2587-2593.

افزایش می‌یابد (۸،۱۳،۱۵). با توجه به این موضوع که اکسی‌توسین فاقد اثر منفی در انتقال اسپرم به اویداکت می‌باشد و سبب افزایش انقباضات رحم و باز شدن سرویکس می‌گردد و همچنین فاقد اثر منفی بر باروری تخمک می‌باشد (۱۱،۱۲)، بدین ترتیب با افزایش شانس لقاح اسپرم و تخمک درصد باروری افزایش می‌یابد. هرچند بازده روش لاپاراسکوپی با اسپرم منجمد در این مطالعه از بازده روش ترانس سرویکال بیشتر بود، ولی استفاده از روش ترانس سرویکال سبب بهبود بازده تولیدمثل حاصل از تلقیح با اسپرم منجمد نسبت به روش واژینال شد. نتایج حاصل از روش تلقیح بر بازده تولیدمثلی با مطالعات آرمسترانگ و ایوانز (۲) و فیر و همکاران (۶)، و نتایج حاصل از تاثیر افزایش مقدار اسپرم در محل لقاح بر درصد باروری با مطالعات اهلینگ و همکاران (۴) و وربرخموس و همکاران (۱۴) همخوانی داشته است.

### نتیجه‌گیری نهایی

در هنگام استفاده از اسپرم منجمد تلقیح مصنوعی به روش لاپاراسکوپی بالاترین درصد باروری را در پی داشت و پس از آن بالاترین درصد باروری مربوط به روش تلقیح مصنوعی ترانس سرویکال حاصل از تزریق اکسی‌توسین بوده است. بدین ترتیب در صورت فراهم بودن شرایط برای تلقیح مصنوعی لاپاراسکوپی، این روش دارای بالاترین بازده می‌باشد، ولی در صورت عدم فراهمی شرایط برای لاپاراسکوپی استفاده از روش تلقیح مصنوعی ترانس سرویکال با کمک هورمون اکسی‌توسین دارای پاسخی مناسب‌تری از روش واژینال می‌باشد. در صورت استفاده از اسپرم تازه تفاوت چندان میان روش‌های مختلف تلقیح مصنوعی وجود ندارد و روش واژینال دارای بازده کافی است. با توجه به نتایج این مطالعه توصیه می‌شود، در صورت عدم امکان لاپاراسکوپی، ۲۰ دقیقه قبل از تلقیح مصنوعی به هر دام ۱۰۰ واحد اکسی‌توسین تزریق شود و منی از راه سرویکس در رحم تخلیه شود تا با عبور منی از سد سرویکس درصد آبستنی و بره‌زایی بهبود یابد.

### منابع مورد استفاده

1. Anel, L., M. Kaabi, B. Abroug, M. Alvarez, E. Anel, J.C. Boixo et al. 2005. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. *Theriogenology* 63: 1235-1247.

2. Armstrong, D.T. and G. Evans. 1984. Intrauterine insemination enhances fertility of frozen semen in superovulated ewes. *Journal of Reproduction and Fertility* 71: 89-94.

3. Ayad, V.J., S.T. Leung, T.J. Parkinson and D.C. Wathes. 2004. Coincident increases in oxytocin receptor expression and EMG responsiveness to oxytocin in the ovine cervix at oestrus. *Animal Reproduction Science* 80: 237-250.

4. Ehling, C., P. Wirth, L. Schindler, K.G. Haderler, H.H. Dopke,