

٢-١ - مخففات السائل المنوي للكباش Semen diluents in rams

الهدف الأساسي من تخفيف السائل المنوي عند استخدامه في التلقيح الاصطناعي هو زيادة حجمه واستخدامه في تلقيح اكبر عدد ممكن من النعاج ، وهو يجهز النطف بمصدر الطاقة اللازمة لها ويحميها من الصدمة الحرارية والتغيير الحاصل في درجة الحموضة (pH) ونمو البكتريا ويحافظ على حيوية النطف لأطول مدة ممكنة ، كما إن حفظ السائل المنوي سواء بالتبريد او بالتجميد فإن العمليتين كليهما تتطلبان إستخدام المخففات لاكمال الاجراءات لحفظ السائل المنوي وبكلا الطريقتين السابقتين (Foote ، 1999 و Maxwell و Salamno ، ١٩٩٣ و Salamon و Maxwell ، ٢٠٠٠).

يعتمد نجاح تقانات التلقيح الاصطناعي على خصوبة الكباش بدرجة رئيسة وعلى كفاءة عملية جمع وتخفيف السائل المنوي وحفظه بالتبريد أو تجميده لإستعماله في المواسم القادمة (Amoah و Gelaye ، ١٩٩٧) ومن الشروط المهمة والواجب إتباعها عند إجراء التخفيف بالمخففات للسائل المنوي هو أن يكون كلا من المخفف المستخدم والسائل المنوي بدرجة حرارة ٣٧ م° وتعتمد نسبة التخفيف على حجم السائل المنوي المستحصل وعلى معدل تركيز النطف في القذفة ولغرض معرفة الكفاءة التناسلية للكباش وقابلية الإخصاب فانه غالباً ما يقيم السائل المنوي سريعاً بعد عملية الجمع و بعد التخفيف (Bretzlaff و Scarfe ، 1989) ، وهناك مواد تضاف إلى مخففات السائل المنوي ، والهدف الرئيس منها هو لتحسين نوعيته وحفظ النطف بحيوية عالية لأطول مدة زمنية ممكنة ، من هذه المواد :

أ - المضادات الحيوية وتعمل على القضاء على البكتريا التي من المحتمل أن تكون متواجدة في السائل المنوي فضلاً عن إحتمال حصول التلوث بها خلال عملية الجمع (Salisbury وزملاؤه 1978 و Foote ، ١٩٩٨).

ب - عوامل منع أو التقليل من حالات التأكسد التي تحدث للنطف بسبب العمليات الايضية لها خلال عملية التقييم أو عند الحفظ وبعد التخفيف وعند التجميد والإذابة (خليفة، 2001) .

ج - استخدام بعض المركبات التي تحافظ على الغشاء الخلوي للحيمن أثناء عمليات التجميد والإسالة اللاحقة للسائل المنوي ومن هذه المواد هو Trehalose مركبات سكرية معقدة (Gil، 2001).

على العموم فعند إختيار أي مخفف يجب أن يأخذ بنظر الإعتبار ما يأتي:

١. أن يعمل المخفف على المحافظة على الضغط الازموزي للسائل المنوي.
٢. إحتوائه على البروتينات الدهنية (Lipoprotein) أوالمواد ذات الأوزان الجزيئية العالية لتقليل ، أو منع الصدمة الحرارية عند انخفاض درجات الحرارة بالتبريد، مثل صفار البيض أو الحليب أو الليسثين (Lecithin).
٣. أن يحتوي على مصدر للطاقة اللازمة للنطف.
٤. إحتوائه على الإنزيمات ومضادات البكتريا ، والفطريات وبعض المضادات الحيوية (Gordon ، 2005).

٢-١-١ - طرائق جمع السائل المنوي:

١. طريقة التحفيز الكهربائي :

اخترعها الباحث Gunn (1936) ، وطبقت على العديد من أنواع الحيوانات الزراعية Dziuk وزملاؤه (١٩٥٤)

٢. طريقة التدليك:

وتستخدم في الجمع من الكباش غير القادرة على الوثب وهي طريقة تعتبر محدودة الاستخدام.

٣. طريقة المهبل الاصطناعي :

يعد الباحث Giuseppe Amantea من جامعة روما وفي العام 1914 أول من ابتكر هذه الطريقة (Enos، ١٩٦٨) ، في هذه الحالة يجب ألعناء بالمهبل الاصطناعي لتسهيل عملية الجمع حيث تفكك أجزاؤه ، وتغسل بالماء ثم بالكحول 70% ثم بالماء المقطر، بعد الجمع يجب الإسراع بنقل السائل المنوي إلى حمام مائي بدرجة حرارة 37 م° وتجنب التعرض للهواء ، أو الإضاءة الساطعة والإسراع في عملية التقويم والتخفيف (Foote، 1999) وكما موضحة طريقة جمع السائل المنوي من الكباش في صورة (١).



صورة (١) الطريقة الأكثر انتشار لجمع السائل المنوي باستخدام المهبل الاصطناعي.

٢ - ١ - ٢ - مخففات السائل المنوي المستخدمة في الكباش:

هنالك العديد من المخففات المستخدمة في تخفيف و حفظ السائل المنوي في الكباش أهمها:

١. مخفف السترات Citrate-sugar-based diluents

(Anubrata وزملاؤه ، 1985 و Salamon و Maxwell ، ٢٠٠٠)

٢. مخفف اللاكتوز: Lactose-based diluents

٣. مخفف الرافينوز: Raffinose-based diluents

٤. مخفف السكروز: Saccharose-based diluents

٥. مخفف الترس: Tris-based diluents

(Salamon و Maxwell ، ٢٠٠٠)

٦. مخفف الحليب Milk diluents

(Chemineau وزملاؤه ، 1991 و Salamon و Maxwell ، ٢٠٠٠)

٧. مخفف جامعة كور نيل (CUE) Cornell University Extender
(Foote وزملاؤه، 1960).

٨. مخفف جامعة الينويز (IVT) Illinois variable temperature
(Foote وزملاؤه ، 1960)

يعد مخفف (Hydroxymethyl Aminoethane) Tris من المخففات المستخدمة على نطاق واسع في تخفيف السائل المنوي لأغلب الحيوانات الزراعية كالثيران والاكباش والتيوس والخنزير ، لكونه من المخففات غير السامة للحيوانات المنوية ويساعد في المحافظة على الضغط الازموزي لها (Melachlan و Gorham ، 1961 و Visser، 1975) ، فضلا عن نفوذه داخل الخلية ، إذ يعمل كمنظم داخلي للحفاظ على الأس الهيدروجيني (pH) خلال مدة الحفظ ، و يساعد على زيادة قدرة النطف على تحمل الزيادة في الكيتونات الأحادية التكافؤ التي تحدث داخل الخلية ، ويعمل على زيادة حركة النطف (Salamon و Maxwell ، 2000) ، قبل سنة ١٩٤٠ كان المخفف الرئيس لحفظ السائل المنوي للكبش في الاتحاد السوفيتي السابق يتكون من (Glucose-Phosphate-Phospholipid) بعد ذلك إستبدل بمخفف آخر وهو مخفف الترس ، سترات ، صفار البيض (Tris-citrate-egg yolk) الذي قبل على أساس كونه مخففاً جيداً لحفظ السائل المنوي للكبش (Milovanov ، ١٩٦٢) وقد أوصى عدد غير قليل من الباحثين بأهمية إستخدام هذا المخفف في عمليات تخفيف السائل المنوي للكبش ، وحفظه بالتبريد اوالخرن بالتجميد لاستخدامه ببرامج التلقيح الاصطناعي (Salamon ، ١٩٧٦ و Evans و Maxwell ، ١٩٨٧).

تعد الكربوهيدرات مصدراً لطاقة النطف خلال مدة حفظه في المخفف ، وعلى الرغم من إن سكر الفركتوز هو المصدر الكربوهيدراتي الوحيد الموجود في السائل المنوي للكبش فإن النطف بإمكانها الاستفادة من سكر الكلوكوز ، وسكر المانوز في حال وجودها في المخففات ولا توجد سكريات أخرى بالإمكان إستخدامها مصادر للطاقة في مخففات السائل المنوي ويعتمد مدى إستخدام المخففات بدرجة رئيسة على قدرة هذه المخففات على المحافظة على حركة وحيوية الحيامن وأكثر الباحثين قد إستخدم سكر الكلوكوز، وسكر المانوز في تحضير مخففات السائل المنوي (Salamon و Maxwell ، 2000) ويعد سكر الكلوكوز من السكريات الواسعة الاستعمال في

تحضير المخففات بسبب انخفاض كلفته وسرعة نفوذه إلى غشاء خلية الحيامن (Hafez، 2000) .

وقد وجد الباحث Fischer (١٩٩٠) إن مخفف الترس والحاوي على صفار البيض بنسبة ٢ % كان أفضل المخففات في الحفاظ على حركة الحيامن وسلامتها وزيادة قابلية الإخصاب في السائل المنوي للأكباش.

وفي دراسة للباحث كاظم (198٩) عن استخدام عدة أنواع من المخففات وتأثير إضافة هذه المخففات على حيوية السائل المنوي في الكباش وجد أن مخفف (CUE-Coronell University Extender) يأتي بعد مخفف الترس في أفضليته من حيث محافظته على حيوية الحيامن في الأكباش ، ونسبة أقل من التشوهات ونسبة الحيامن الميتة خلال مدة الحفظ ولمدة 120 ساعة وفي درجة حرارة 5 م° ونسبة تخفيف 10:1، وهذا ما أكدته كل من الباحث Kathem و Taha (١991) .

وفي دراسة أجراها Azawi وزملاؤه (1993) لمعرفة تأثير استخدام ستة أنواع من المخففات من ضمنها مخفف الترس الذي تفوق معنوياً على بقية المخففات الأخرى في حركة النطف ، ونسبة التشوهات ونسبة الحيامن الحية والميتة عند درجة حرارة 4 م° ولمدة 120 ساعة ، إذ لوحظ مقاومة الحيامن للحفظ والتخفيف العالي في درجة حرارة 5 م° ولمدة 120 ساعة وفي درجة حرارة الغرفة ولمدة 6 ساعات (Azawi ، 1994).

ولاحظ Roca وزملاؤه (1997) إن حركة الحيامن وقدرتها على الإخصاب خلال حفظها في 5 م° ولمدة 96 ساعة بعد تخفيفها بمخفف الترس-كلوكوز - صفار البيض كانت مرتفعة خلال الموسم التناسلي وخارجه.

وأشار Shamsuddin وزملاؤه (2000) إلى أن حركة النطف الطبيعية كانت مرتفعة في مخفف الترس مما هو عليه عند استخدام مخفف السترات ومخفف الحليب ، وفي درجة حرارة (4 - 7 م°) ولمدة 96 ساعة في حين لم يلاحظ الباحث Anuberta وزملاؤه (1985) أي تأثير معنوي لمخفف الترس على حركة الحيامن ونسبة الحيامن الحية حيث تفوق مخفف الحليب عليه خلال خزن السائل المنوي بدرجة حرارة 4 م° ولمدة 96 ساعة.

ولاحظ الباحث Ulgen وزملاؤه (2006) إن إضافة البلازما المنوية للثيران إلى مخففات السائل المنوي للكباش له تأثير مهم ومساند للمخفف في حفظ السائل المنوي

وتحسين معدل الخصوبة فعند إضافة ٢٠% من البلازما المنوية للثيران إلى مخفف الترس ومقارنته مع الترس بدون الإضافة كان المعدل العام للحركة الجماعية ومعدل تحطم الغشاء الاكروسومي وتشوهات النطف هو بحدود (٨٢,٥ ، ٧٩,٤) و (٤,٥ ، ٥,٦) و (١٥,٥ ، ٥,٥) وكانت أيضاً النسبة المئوية لعدم العودة للشياع 31.8 و ٢٨,٦ % لتلقيح الأغنام بسائل منوي مخفف بالتلس الحاوي على البلازما المنوية وغير الحاوي عليه على التوالي.

يُعد مخفف Illinois variable temperature IVT من أهم المخففات التي استعملها عدد من الباحثين منذ مدة ليست بالقصيرة (Foote و Dunn ، 1962) ومن مميزات هذا المخفف إن له القابلية على المحافظة على التغيرات الحاصلة في درجات الحرارة وأنه يعد مناسباً للاستخدام عند إجراء التلقيح الاصطناعي في الظروف الحقلية. وتوصل الباحث Azawi وزملاؤه (1993) إلى أن مخفف IVT قد تفوق على بقية المخففات في تخفيف السائل المنوي للماعز الشامي، إذ أن ببيكاربونات الصوديوم من المكونات الدائرة (Buffer) في تركيب مخفف IVT إذ يعمل على تقليل استهلاك النطف للفركتوز والأوكسجين ويقلل من تكوين حامض اللبنيك مما يحافظ على حامضية المخفف والسائل المنوي خلال مدة الحفظ ومن ثم المحافظة على حيوية النطف (Bhela وزملاؤه ، 1981) ، تعد ببيكاربونات الصوديوم إحدى مكونات مخفف IVT ومن المحاليل الالكتروليتيّة التي تحيط بغشاء خلية الحيمن وتحافظ على الضغط الازموزي للحيامن وتعمل على موازنة الأملاح في المخفف ، أما كلوريد البوتاسيوم فهو من الأيونات الداخلة في تركيب المخفف والذي يكون له دور مهم في المحافظة على حركة الحيامن والأفعال الحيوية لها (Pandey وزملاؤه ، 1985).

وقد وجد الباحث Gil (2001) إن إضافة تراكيز مختلفة من مادة (Trehalose) 25، 50، 75، 100 % إلى مخففات السائل المنوي لها تأثير معنوي على معدل الحركة الفردية والحركة التقدمية للحيامن بعد إذابة السائل المنوي ، وقد أظهرت النتائج فروق معنوية في معدل الحركة الفردية ومعدل الحركة التقدمية للمعاملات المضاف لها مادة Trehalose مقارنة بعينات السيطرة التي لم يضيف لها Trehalose إذ كان معدل الحركة الفردية للحيامن بعد مرور 3 ساعات من إذابة السائل المنوي المخزون بالتجميد ٤٧,٠ ، ٤٩,٤ ، ٥٣,٥ ، ٥٨,٥ و ٤٤,٥ % لتراكيز Trehalose المضافة

إلى مخففات السائل المنوي ومجموعة السيطرة على التوالي ، وكان معدل الحركة التقدمية للحيامن ٤١,٤ ، ٤٣,٠٠ ، ٤٥,٣ ، ٤٩,٢ ، و ٣٩,٤ % للترتيب السابق نفسه.

٢-٢ التوقيت والحث على الشياح:

Synchronization and Induction of Estrus:

تتطلب إدارة القطعان التجارية الكبيرة السيطرة التامة على الدورة التناسلية أما من خلال توقيت الشياح في الموسم التناسلي (Synchronization) أو الحث على حدوث الشياح خارج الموسم التناسلي (Induction) ، وتعتبر المعاملات الهرمونية مهمة للسيطرة على الدورة التناسلية بحيث يمكن توقع مدة حدوث الشياح وتحديد وقت حدوث الإباضة بشكل تقريبي ، والذي قد يؤدي الى زيادة نسبة الإخصاب .

ان دورة الشبق هي الفترة المحصورة بين اليوم الاول من بدء الشبق وحتى بداية الشبق التالي (Camp وزملاؤه ، ١٩٨٣) ، تمتاز الاغنام بدورات شبق منتظمة حيث يبلغ طولها ما بين ١٥ - ٢٠ يوماً وبمعدل ١٧ يوماً اما فترة الشبق فيبلغ طولها ما بين ٢٤ - ٣٠ ساعة وبمتوسط ٢٧ ساعة ، ولا تظهر خلالها علامات شبق واضحة لدى النعاج (Bearden وزملاؤه ، ٢٠٠٤) ، إن توحيد الشياح هي عملية هرمونية بواسطتها يمكن جعل مجموعة من النعاج تدخل في الشياح بوقت متقارب ومن ثم يمكن تلقيحها طبيعياً او صناعياً (Grazul-Bilska وزملاؤه ، ٢٠٠٣) ، وهناك عدة طرق مستخدمة لتوحيد الشياح في النعاج منها الطريقة الطبيعية (تأثير الكبش) والطرق الهرمونية مثل استخدام هرمون البروجستيرون وهي الأكثر استخداماً ، أو البروستوكلاندين والميلاتونين (Loi وزملاؤه ، ١٩٩٨) ، عند المعاملة بالإسفنجات المهبلية المشبعة بهرمون البروجسترون يعمل الهرمون كجسم أصفر صناعي وإن إرتفاع تركيزه في الدم يؤدي إلى تثبيط الإفراز النبضي لهرمون (Gonadotropin Releasing Hormone - GnRH) ، ويسبب إنخفاضاً في إفراز الهرمون المحفز لنمو الحويصلات (Follicle Stimulating Hormone - FSH) وهرمون الإباضة (Luteinizing Hormone - LH) من الفص الأمامي للغدة النخامية ، وعند انتهاء المعاملة بهرمون البروجسترون فإن تأثيره المثبط

ينتهي وعند ذلك تبدأ الدورة التناسلية بانتظام لجميع الحيوانات المعاملة وفي وقت موحد تقريباً (Robinson وزملاؤه ، ١٩٨٧) .

يعد الباحث Robinson (١٩٦٥) أول من استخدم الإسفنجات المهبلية المشبعة بهرمون البروجسترون ، إذ أشار إلى أنها تؤدي إلى توقيت الشياح في الأغنام والماعز من خلال إطالة مدة بقاء الجسم الأصفر إذ يعمل هرمون البروجسترون كجسم أصفر صناعي ، وتؤدي الى حدوث الشياح بنسبة أعلى من ٧٠% ، وفي المقابل فقد أشار كل من Evans و Robinson (١٩٨٠) و Robinson وزملاؤه (١٩٨٧) الى ان هنالك ارتباطاً وراثياً عالياً بين ظهور الشياح و حدوث الاباضة داخل السلالة الواحدة عند المعاملة بالاسفنجات المهبلية ، ومن الامور الواجب معرفتها والاهتمام بها عند استخدام الإسفنجات المهبلية لتوقيت الشياح إنخفاض قابلية النطف على الحركة داخل الجهاز التناسلي الأنثوي بسبب الإفرازات المهبلية الحاوية على هرمون البروجسترون التي غالباً ما تكون ذات لزوجة عالية بحيث تعيق حركة النطف ، لذلك يلجأ الباحثون الى عدم التلقيح في هذه الدورة واللجوء الى التلقيح في الدورة الثانية بعد رفع الاسفنجات أو تقليل مدة بقاء الإسفنجات المهبلية لمدة ١١ يوماً فقط واستعمال تقانة التلقيح الإصطناعي بوقت ثابت بعد سحب الإسفنجات (Quinlivan و Robinson ، ١٩٦٩) ، وتؤدي زيادة عدد مرات المعاملة الهرمونية الى التغيرات الكبيرة في وقت ظهور الشياح بعد المعاملة بالبروجسترون ، لذا فإن التأخر في ظهور علامات الشياح يؤدي الى التأخر في ارتفاع هورمون الإباضة لأعلى قمة له قبل حدوث الإباضة (Greyling وزملاؤه ، 1997) مما يؤدي الى تأخر وقت حدوث الإباضة (Godfrey وزملاؤه ، ١٩٩٩) ، ومن الممكن استعمال البروستوكلاندين ($\text{Prostaglandin F}_2 \alpha$) في السيطرة على الدورة التناسلية في المجترات بشكل عام والذي يعمل على إضمحلال الجسم الأصفر الموجود على المبيض بميكانيكية خاصة ، لذلك فإنه يستعمل فقط خلال الموسم التناسلي ، أما خارج الموسم التناسلي فإن استعماله لايجدي نفعاً لعدم وجود جسم أصفر ويعد استخدامه محدود مقارنة بالإسفنجات المهبلية (Romano وزملاؤه ، ١٩٩٦).

ومن العوامل الأخرى المؤثرة أيضاً في حدوث الشياح للنعاج هو التعريض المفاجئ للذكور وإن مقدار الإستجابة لهذا التعريض يعتمد على الموسم والتغذية

(Restall, 1992) ، ويؤثر إنخفاض المدة الضوئية (Light regime) في احداث الشياخ في المجترات الصغيرة أو باستخدام هرمون الـ Melatonin الذي يفرز من الغدة الصنوبرية عندما تقل ساعات النهار من خلال الزرع تحت الجلد والذي بدوره يؤثر على افراز GnRH من تحت المهاد Hypothalamus ومن ثم الفص الامامي للغدة النخامية لافراز LH وFSH (Mcphee وزملاؤه ، 1987 و Chemineau وزملاؤه ، 1991).

ومن الجدير بالذكر ان هنالك ثلاثة من المشابهات الصناعية لهورمون البروجسترون وهي Fluorogestone acetate, FGA والآخر هو MAP Medroxy progesterone acetate, MGA والـ Melengesterol acetate , (Boland وزملاؤه ، 1981 و Smith وزملاؤه ، 1981 و Jabber وزملاؤه ، 1994 و Powell وزملاؤه ، 1996) ، وتشير البحوث الى ان استعمال FGA يعد أكثر فعالية من الـ MAP ، إذ يستعمل بتركيز 30-40 ملغم أما الـ MAP فيستعمل بتركيز 60 ملغم ، وعلى الرغم من ان تركيز الـ FGA قليل إلا ان ظهور الشياخ بعد سحب الاسفنجيات يحصل بعد $41,0 \pm 8,0$ ساعة ، بينما عند استخدام الـ MAP فان الشياخ يظهر بعد $53,0 \pm 14,9$ ساعة من سحب الإسفنجيات المهبلية (Romano وزملاؤه ، 1996) ولاحظت الباحثة Husain (1987) أن استعمال الإسفنجيات المهبلية المشبعة بهرمون البروجسترون الصناعي ولمدة 9 ايام مع حقن PMSG بجرعة 500 I.U مباشرة بعد سحب الاسفنجيات حقق نسب حمل وتوائم 100 و 50 % على التوالي ، كما لاحظ الباحث سهلب (1998) أن استخدام الإسفنجيات المهبلية المشبعة بهرمون البروجسترون الصناعي ولمدة 12 ايام وبجرعة 60 ملغرام Medroxy progesterone acetate أحدث الشبق في 90 % من النعاج.

Artificial insemination

٢-٣- التلقيح الاصطناعي

يعتبر العالم Spalanzani أول من استخدم التلقيح الاصطناعي عندما نجح في تلقيح مجموعة من الكلاب صناعياً على الرغم من ان العرب قد سبقوا هذا العالم بفترة طويلة جدا حيث إنهم كانوا يجمعون السائل المنوي من مهبل الفرس الملقحة طبيعياً وينقلونه الى مهبل فرس أخرى (Sorensen ، 1997) ، لقد انتشرت تقانة التلقيح

الإصطناعي في الاغنام بصورة عملية وواسعة في معظم بلدان العالم في بداية القرن العشرين (Milovanov وزملاؤه، ١٩٦٢) إذ تعد طريقة كفوّة لنشر التراكيب الوراثية المرغوبة على نطاق واسع وسريع ايضاً (Ritar، 1993) مما يوفر فرصة كبيرة لتحسين التراكيب الوراثية وتؤدي السيطرة على دورة الشّيع أو توقيت الشّيع (Synchronization of estrus) والحث على التبويض (Inductive of ovulation) والتوقيت الملائم للتلقيح (Proper time of Insemination) إلى زيادة الأداء التناسلي للحيوانات الزراعية (Gordon، 2005)، ومن الجدير بالذكر إن التشريح النسيجي المعقد لعنق الرحم في الأغنام الذي يتميز بزيادة عدد الثنايا أو الطيات وتداخلها فيما بينها يجعلها تعيق إجراء عملية التلقيح الاصطناعي بشكل أكبر مما هي عليه بالمقارنة مع بقية حيوانات المزرعة، هذا فضلاً عن المشاكل الأخرى مثل طرق حفظ السائل المنوي (Halbert وزملاؤه، 1990 و Daily، ٢٠٠٥).

وإستخدام السائل المنوي للذكور المنتخبة مصدراً وراثياً، وتنفيذ برامج التلقيح الاصطناعي بصورة كفوة وجيدة إذ يؤدي إلى زيادة الفارق الانتخابي فيزداد التحسين الوراثي (Amoah و Gelaye، 1990)، هنالك تقانات عديدة مستخدمة في التلقيح الاصطناعي للأغنام تختلف فيما بينها في موقع إيداع الحيامن داخل الجهاز التناسلي الأنثوي وكذلك تركيز الحيامن المستخدمة و الوقت المناسب للتلقيح وسهولة تطبيقها في الحقول ونسبة الخصوبة المستحصل عليها من كل تقانة من التقانات المستخدمة في التلقيح الاصطناعي وهي كما يأتي :

٢-٣-١- التلقيح الاصطناعي في المهبل Vaginal artificial insemination

هي الطريقة الأبسط والأسهل من طرائق التلقيح الاصطناعي في الأغنام التي تتمثل بعملية إيداع أو لفظ السائل المنوي المخفف أو المجمد وبتركيز معين ووقت محدد أيضاً بعد سحب الاسفنجيات المهبلية إلى داخل المهبل من دون الوصول إلى فتحة عنق الرحم (Donovan وزملاؤه، 2001) إذ يتم لفظ السائل المنوي من خلال قسطرة خاصة وبهدوء ودقة عالية ويكون تركيز النطف المستخدم بهذه التقنية ٢٢٥ - ٢٥٠ × ١٠^٦ و ٤٠٠ - ٥٠٠ × ١٠^٦ نطفة ١ تلقّحه لنوعي السائل المنوي المخفف والمجمد على التوالي (Ritar و Ball، ١٩٩٣) ونسبة الخصوبة المستحصل عليها بهذه الطريقة

تكون بين 40-50 و 10-20% للسائل المنوي المخفف والمجمد على التوالي ، وتعد هذه النسبة جيدة بالمقارنة مع سهولة التطبيق الحقلي وبساطة المعدات المستخدمة في العملية وإمكانية تطبيقها لدى المربين (Buckrell ، ٢٠٠١) ، وتتأثر نسبة الإخصاب المتحققة بهذه الطريقة بدرجة كبيرة في موعد إجراء التلقيح الاصطناعي بعد سحب الإسفنجات المهبليّة ، ففي تجربة للباحث Baril وزملاؤه (١٩٩٣) حول تحديد الوقت المناسب للتلقيح الاصطناعي في المهيبل في الماعز بعد سحب الإسفنجات وجدوا إن أعلى نسبة خصوبة كانت لدى تلقيح الإناث بعد مرور ٤٣-٥٨ ساعة من سحب الاسفنجات ، ووجدوا انخفاض مستوى الخصوبة عند تلقيح الإناث بعد مرور ٣٥ ساعة من سحب الاسفنجات ، ويعد توقيت التلقيح اعتمادا على موعد التبويض مهما الحصول على الخصوبة العالية لذلك غالباً ما يتم حقن هرمون مصل دم الفرس الحامل (PMSG Pregnant mare serum gonadotrophin-) مباشرة بعد سحب الاسفنجات المهبليّة المشبعة بالبروجسترون للحث على فرط الإباضة (Super ovulation) مما يؤدي الى زيادة نسبة الإخصاب و الولادات (Ritter و Salamon ، ١٩٨٣).

٢-٣-٢ - التلقيح الاصطناعي في عنق الرحم:

Cervical artificial insemination

تعد هذه الطريقة أسهل وأبسط نسبياً من طرائق التلقيح الاصطناعي في الرحم كما وتعد من الطرائق الجيدة نسبياً والمنتشرة عملياً وتتطلب معدات بسيطة للتطبيق تتمثل بفاتح المهبل (Speculum) ومصدر ضوء خاص وقسطرة خاصة للتلقيح وبسبب الصفة التشريحية لعنق الرحم المعقدة وعدم اتساعه بصورة جيدة حتى خلال فترة الشياح لذلك يفضل دفع السائل المنوي إلى الحلقة الأولى من طيات عنق الرحم وتجنب إدخالها لعمق أكثر لضمان عدم حصول إي تلف للأنسجة الداخلية لعنق الرحم (Donovan وزملاؤه ، ٢٠٠١) ، مما قد يكون له تأثيراً سلبياً على نجاح التلقيح الاصطناعي ونسبة الإخصاب أو الضرر بالجهاز التناسلي للإناث الملقحة (Anderson وزملاؤه ، ١٩٧٣ و Maxwell وزملاؤه ، 1996) وتكون نسبة الخصوبة المتحققة للتلقيح بهذه الطريقة ٦٥-٧٠% للسائل المنوي المخفف وهي نسبة جيدة ومقبولة وحوالي ١٠-٣٠% للسائل

المنوي المجمد وتعد هذه النسبة قليلة أو غير مقبولة على العموم (Donovan وزملاؤه ٢٠٠١).

وقد ذكر الباحث Tervit وزملاؤه (١٩٨٤) إن نسبة الولادات للتلقيح الاصطناعي في عنق الرحم بلغت ٥٥,٣ ، ١٧,٠ % للسائل المنوي المخفف والمجمد على التوالي وهي نسبة مقاربة لما وجدها Maxwell و Hewitt (١٩٨٦) ووجد الباحث Salamon و Maxwell (١٩٩٥) إن معدل الحمل لنعاج ملقحة اصطناعياً بسائل منوي مجمد في عنق الرحم بلغت ١٣% فقط ، وفي دراسات لباحثين في النرويج بلغت نسبة الحمل للنعاج الملقحة اصطناعياً بعنق الرحم وبسائل منوي مجمد حوالي ٦٠ % وهي نسبة جيدة عموماً ومقبولة قياساً بالنتائج الأخرى (Olesen ١٩٩٣ و Donovan وزملاؤه ١٩٩٧).

ويمكن الاستدلال من البحوث المذكورة أنفاً بأن لنوعية السائل المنوي سواء كان مخففاً أو مجمداً تأثير مهم على نسبة الخصوبة المتوقعة لطريقة التلقيح الاصطناعي في عنق الرحم ، وفي دراسة للباحثين Ritar و Ball (1993) عن عدد مرات التلقيح وعلاقتها بالإخصاب فقد وجد إن إجراء التلقيح لمرتين بهذه الطريقة بدلاً من مرة واحدة قد أدى إلى حدوث انخفاض في معدل الخصوبة إذ بلغت نسبة الولادات ٢٥,٧ و ٣٩,٥ % لكل من التلقيح لمرتين ومرة واحدة على التوالي ، وقد أكد الباحثون السبب في ذلك قد يعود إلى الضرر الذي يحصل لأنسجة الجهاز التناسلي لا سيما عنق الرحم أو الإجهاد الذي قد يحصل للإناث من تكرار عملية التلقيح.

أما فيما يخص أفضل وقت للتلقيح بعد سحب الإسفنجيات وتأثيره على معدل الخصوبة والولادات فقد أجرى الباحث Karagiannidis وزملاؤه (٢٠٠١) تجربة حيث قاموا بتلقيح النعاج لمرتين على ثلاث أوقات ٤٨ و ٦٠ أو ٦٠ و ٧٢ أو ٤٨ و ٧٢ ساعة بعد سحب الإسفنجيات المهبليّة إذ بلغت نسبة الولادات الناتجة (٣٨,٣ ، ٥٤,٥ ، ٦٣,٧ %) للمدد المذكورة أعلاه على التوالي مما يدل على إن أفضل وقت هو بعد مرور ٤٨ و ٧٢ ساعة من سحب الإسفنجيات.

وأوضح الشعراوي (2005) أن تطبيق تقانة التلقيح الاصطناعي بعنق الرحم حصل فيها على نسبة خصوبة ٤١,٧ % لتلقيح النعاج بعنق الرحم وباستخدام سائل منوي مجمد ، وبصورة عامة فإن انخفاض معدل الخصوبة لطريقتي التلقيح الاصطناعي في المهبّل

وعنق الرحم تعود إلى سرعة حركة ونقل النطف في الجهاز التناسلي الأنثوي ، وإلى نوعية وسرعة حركة البويضات (Evan و Armstrong ، ١٩٨٤ و Moore وزملاؤه ، ١٩٨٥ و Cognie وزملاؤه ، 2003) ، وتعد صعوبة اختراق عنق الرحم عاملاً رئيسياً محدداً لكفاءة التلقيح الاصطناعي في عنق الرحم Mckusick وزملاؤه (1998) وذكر عدد من الباحثين أسباب أخرى لانخفاض الخصوبة في التلقيح الاصطناعي في هذه التقنية ، مثل انخفاض كفاءة السائل المنوي أو إلى موقع التلقيح بالنسبة لعنق الرحم أو إلى نوع سلالة وعمر الحيوان (Haresign ، 1992 و Windsor ، ١٩٩٥ و Husein وزملاؤه ، ١٩٩٨).

٢-٣-٣ - التلقيح الاصطناعي في الرحم من خلال عنق الرحم

Intrauterine artificial insemination by Transcervical

خلال عملية التسفيد الطبيعي في الأغنام يودع السائل المنوي في نهاية المهبل وتقدر إعداد النطف الموضوعة بالملايين إلا أنه لا يصل إلى موضع الإخصاب إلا إعداد قليلة من هذه النطف حوالي 1 % ، لذلك دعت الحاجة إلى استخدام تقنيات التلقيح الاصطناعي لغرض إيداع السائل المنوي المخفف أو المجمد وبتركيز منخفضة إلى داخل الرحم (Gordon ، 2005) ، هذا من جهة ومن جهة أخرى وبما إن عنق الرحم يعتبر الممر الوحيد ، والرئيس للنطف وصولاً إلى قناة البيض لاتمام عملية التلقيح وهو المكان الذي تفرز فيه النطف النشطة عن غيرها (Salamon و Lightfoot ، ١٩٧٠) ونظراً للصفة التشريحية المعقدة لعنق الرحم في الأغنام فهو مختلف عن كافة حيوانات المزرعة إذ يبلغ طوله حوالي 8-9 سم ويحتوي على ٥ ثنايا دائرية تشبه الحلقات والتي تكون مصطفة بشكل غير منتظم وهي تمتلك فتحة صغيرة وضيقة جداً تشبه الندبة مما يعيق ويمنع دفع السائل المنوي إلى داخل الرحم ويجعل مرور قسطة التلقيح الاصطناعي داخله صعباً (Donovan وزملاؤه ، 2001 و Arther وزملاؤه ، ٢٠٠١).

وبين الباحث Eppleston (1993) إن لكل اختراق في عمق عضلة عنق الرحم بمقدار 1 سم هنالك زيادة في معدل الخصوبة تكون بين 7-12 % كما ذكر نفس الباحث السابق إن نوعية ولزوجة السوائل التي يفرزها عنق الرحم تختلف حسب المرحلة من دورة الشياح وهي تزداد كمية و لزوجة كلما اقتربت النعجة من مدة الشياح.

إن أول من طور وإستخدم هذه التقنية من تقانات التلقيح الاصطناعي في الرحم من خلال عنق الرحم هو Halbert وزملاؤه (1990a) والتي سميت بعد ذلك (-GST) Guelph system for transcervical artificial insemination AI واختراق التشريح المعقد لعضلة عنق الرحم ومن ثم زيادة معدل الخصوبة (Mckusick) وزملاؤه ، (1998) وقد كانت نسبة الإخصاب المتحققة من اتباع هذه الطريقة بين 32-64 % (Windsor وزملاؤه ، 1994 و Smith وزملاؤه ، 1995) ، تعد هذه التقنية من تقانات التلقيح الاصطناعي طريقة واسعة الانتشار لا سيما في بلدان الاتحاد الأوروبي ومنها بريطانيا وإيطاليا وكذلك في كندا وأستراليا (Halbert وزملاؤه ، 1990 a,b) و Mckelvey ، 1994 و Windsor وزملاؤه ، 1994 و Falaschi وزملاؤه (1995)، وهي تتضمن فتح المهبل بوساطة فاتح المهبل (Speculum) والذي يوفر مصدر خاص للضوء وملاحظة فتحة عنق الرحم ومحاولة سحبها إلى داخل المهبل بوساطة ماسك خاص لغرض السماح لإدخال قسطرة التلقيح الخاصة إلى داخل الرحم عن طريق فتحة عنق الرحم وتتطلب هذه التقنية درجة عالية من المهارة والدقة والحذر لأن أي ضرر قد يكون له تأثير سلبي على قابلية للنجاح التناسلية في المواسم القادمة (Mckelvey ، 1994 و Camphell وزملاؤه ، 1996 و Donovan وزملاؤه ، 2001) ، أما عند المقارنة بين هذه التقنية و التلقيح الاصطناعي بالناظور الداخلي ، فقد بين الباحث Windsor وزملاؤه (1994) أنه لا يوجد إختلاف في معدل الخصوبة بين الطريقتين ولم يلاحظ أي تأثير على الحالة التناسلية للنجاح ومعدل الخصوبة في المواسم اللاحقة وقد بينت الدراسات ان نسبة الاخصاب المتحققة من اتباع هذه الطريقة ترتفع خلال الموسم التناسلي مقارنة مع خارج الموسم التناسلي (Buckrell وزملاؤه ، 1994b).

أما بالنسبة لأفضل وقت للتلقيح بإستخدام هذه التقنية بعد سحب الإسفنجات فقد أجرى الباحث (Menchaca وزملاؤه ، 2005) تجربة للتلقيح الإصطناعي في الرحم من خلال عنق الرحم وبإستعمال سائل منوي مخفف وبأوقات مختلفة وهي عند الكشف عن الشياح مباشرة ، أو بعد مرور 48 ساعة أو 54 ساعة أو 48 و 54 ساعة من سحب الاسفنجات المهبليّة إذ بلغت نسب الحمل 34.7 ، 34.7 ، 10.6 و 23.4 % للأوقات المذكورة أعلاه على التوالي ، ويلاحظ من خلال النتائج إن التلقيح الإصطناعي بعد

مرور 48 ساعة من سحب الإسفنجات أعطى معدل حمل مطابق لما هو مسجل بالتلقيح عند الكشف عن الشياح مباشرة.

ومن الجدير بالذكر إن الصعوبة في إختراق عضلة عنق الرحم تعد العامل الرئيس المحدد لتطبيق تقانة التلقيح الاصطناعي في الرحم من خلال عنق الرحم في الأغنام والأذى الذي قد يحصل لعضلة عنق الرحم والذي قد يؤدي إلى انخفاض في معدل الخصوبة بعد التلقيح بهذه التقانة (Stellflug وزملاؤه ، 2001) ، كما ويعد الشكل الخارجي والقناة الداخلية لعنق الرحم من الموانع الرئيسة أيضا لإستخدام هذه التقنية (Anderson وزملاؤه ، 1973 و Halbert وزملاؤه ، 1990) ، لذلك لجأ الباحثون إلى إستخدام بعض المعاملات الهرمونية لغرض تسهيل عملية التلقيح ومن ضمن هذه الهرمونات ألووكسي توسين (Oxytocin) إذ تعد المعاملة بهذا الهرمون مهمة لتوسيع عضلة عنق الرحم ومن ثم يقلل من الصعوبة في إدخال قسطرة التلقيح الخاصة إلى داخل الرحم من خلال إحداث إسترخاء لعضلة عنق الرحم (Khalifa وزملاؤه ، 1992 و Sayre و Lewis ، 1997) ، إذ تبين إن هناك زيادة معنوية في معدل الإخصاب عند إستخدام هرمون ألووكسي توسين فقد بلغت 66.7 و 45.5 % عند عدم إستخدام الهرمون (Khalifa وزملاؤه ، 1992).

وفي دراسة للباحث Devonish وزملاؤه (1994) عن تقييم فعالية Oxytocin لتسهيل تطبيق تقنية التلقيح الاصطناعي في الرحم عن طريق عنق الرحم في أغنام Barbados Blockbelly إذ قسم 30 نعجة إلى مجموعتين 15 لكل مجموعة وقام بتوقيت الشياح باستخدام الأسفنجات المهبليّة المشبعة بالبروجسترون لمدة 13 يوماً وحقنت المجموعة الثانية بهرمون ألووكسي توسين بمعدل 200 وحدة دولية \ نعجة قبل نصف ساعة من التلقيح بإستخدام سائل منوي مخفف ، وكانت نسبة ظهور الشياح 100 % للمجموعتين أما بالنسبة لحالة إختراق عضلة عنق الرحم فقد كانت 100 و 20 % للمجموعة المعاملة بهرمون ألووكسي توسين وغير المعاملة على التوالي ، وبلغت نسبة الحمل كذلك 73% ، 53% للمجموعتين على التوالي .

وفي دراسة للباحث Naqvi وزملاؤه (1997) عن تقييم كفاءة تقنية التلقيح الاصطناعي في الرحم عن طريق عنق الرحم في الأغنام الاستوائية حيث وزعت ٤٧ نعجة إلى مجموعتين 24 ، 23 لكل مجموعة تركت النعاج لتظهر الشياح طبيعيا خلال

الموسم التناسلي وحصلت عملية التلقيح بسائل منوي مجمد بعد مرور 6 ، 18 ساعة من ظهور الشياح وقد بلغت نسبة اختراق فتحة عنق الرحم 46.1 و 42.8 % لكلا المجموعتين على التوالي ، وبلغت نسبة الحمل التي حصل عليها الباحث 28.5 و 22.7 % للنجاح التي حدث فيها اختراق لعضلة عنق الرحم والتي لم يحدث فيها اختراق على التوالي.

وفي تجربة للباحث Donovan وزملاؤه (2001) حول تأثير نوع ومصدر السائل المنوي وتوقيت الشياح على نسبة الخصوبة لخمس سلالات من الأغنام الأوربية الملقحة إصطناعياً في عنق الرحم في النرويج بإستخدام سائل منوي مخفف من النرويج ومجمد من أيرلندا والنرويج حيث قسموا 297 نعجة إلى مجموعتين ووقت الشياح في واحدة منها بإستخدام الاسفنجات المهبلية وحقنت ب 500 وحدة دولية من هرمون مصل الدم للفرس الحامل PMSG عند سحب الاسفنجات المهبلية ، وأخرى تركت بدون أي تدخل هرموني أظهرت الشبق طبيعياً ولقحت كلا المجموعتين بسائل منوي مخفف ومجمد ، ولوحظ من خلال النتائج تفوق معنوي في نسبة الخصوبة للمجموعة الملقحة بسائل منوي مخفف بالمقارنة مع الأخرى الملقحة بسائل منوي مجمد ، في حين لم تلاحظ فروق معنوية في معدل الخصوبة بين المجاميع الملقحة بسائل منوي مجمد من أيرلندا ، أو من النرويج حيث كانت النسبة المئوية للخصوبة للمجموعة الملقحة بسائل منوي مخفف 70 ، 82 % لمجموعة توقيت الشياح ومجموعة الشياح الطبيعي على التوالي ونسبة الخصوبة للتلقيح بسائل منوي مجمد في أيرلندا 52 ، 40 % للمجموعتين على التوالي ونسبة الخصوبة للتلقيح بسائل منوي مجمد في النرويج 37 % ، 34 % للمجموعتين على التوالي.

وفي تجربة للباحث Heiko وزملاؤه (2003) عن تأثير إستخدام نوعين من المخففات هما مخفف الترس ومخفف الحليب الفرز على الخصوبة في نعاك النرويجية المضربة إذ قاموا بتقسيم 561 نعجة من 37 مزرعة إلى أربع مجموعات متساوية مستندة على المخففين والتلقيح الاصطناعي في المهبل لمرة واحدة أو مرتين 2×2 ، المزارعون أنفسهم قاموا بعملية التلقيح باستخدام سائل منوي مخفف في المدة ما بين 12-24 ساعة من كشف الشياح الطبيعي حيث تركت النعاك لتظهر الشياح طبيعياً و ظهر من خلال النتائج تفوق معنوي للتلقيح الاصطناعي في المهبل ولمرة واحدة بسائل منوي مخفف بالحليب حيث كانت نسبة الخصوبة بالمقارنة مع السائل المخفف بالترس 66 - 40 %

، أما في النسبة المئوية للحمل فقد اظهر التلقيح المضاعف بالسائل المنوي المخفف بالترس تفوق معنوي بالمقارنة مع بقية الطرائق.

وفي تجربة للباحث Mami hiwasa وزملاؤه (2009) لدراسة تأثير استخدام سائل منوي مخفف ومجمد التلقيح الاصطناعي في عنق الرحم عند الكشف عن الشياخ مباشرة والتلقيح بالناظور الداخلي (laparoscopic) بسائل منوي مجمد بعد مرور ٤٨ -٥٦ ساعة بعد سحب الاسفنجيات ، إذ عوملت 80 نعجة بالاسفنجيات المهبليّة وقسمت إلى مجموعتين وحقنت المجموعة الأولى 26 نعجة ب 20 ملغرام من Follicle FSH stimulating hormone و 250 وحدة دولية \ نعجة من Equine eCG قبل chorionic gonodotrophine يومين ويوم واحد من سحب الاسفنجيات على التوالي وحقنت المجموعة الثانية 54 نعجة ب 500 وحدة دولية \ نعجة من eCG قبل يوم من سحب الاسفنجيات وقد بلغت نسبة الإخصاب عند التلقيح بالناظور الداخلي (٨٠-٧٢%) للمجموعة الأولى والثانية على التوالي على التوالي، وبلغت نسبة الإخصاب عند التلقيح بعنق الرحم وبسائل منوي مخفف (٢٥,٥-٥٥,٥%) للمجموعتين على التوالي، أما عند التلقيح بعنق الرحم وبسائل منوي مجمد فقد كانت نسبة الإخصاب (٣,٥- ٠,٠%) للمجموعتين حسب الترتيب السابق على التوالي.

Pregnancy diagnoses

٢-٤- تشخيص الحمل

يعد الكشف الدقيق والمبكر للحمل من الأمور الأكثر أهمية من الناحية الاقتصادية في تربية وإدارة قطعان الأغنام التجارية (Karen وزملاؤه، 2001) وان فصل قطيع الأغنام إلى النعاج الحوامل وغير الحوامل قد يخفض من الحالات التناسلية والإنتاجية غير المرغوب فيها ، والمتمثلة بالإجهاض والهلاكات الجنينية المبكرة وإنتاج المواليد الضعيفة فالنعاج غير الحوامل قد يعاد تلقيحها مرة ثانية أو إن يتم معالجة النعاج التي لديها مشاكل تناسلية مما يؤدي إلى التقليل من الكلف الإنتاجية للمزارع (Gearhart وزملاؤه، 1988) والتنبؤ بعدد الأجنة يسمح للمربي بالرعاية التغذوية الجيدة والملائمة للنعاج الحوامل خاصة في المدة الأخيرة من الحمل مما يقلل أو يمنع

حالات تسم الحمل (Ford، 1983)، ويحسن من الوزن عند الميلاد والوزن عند الفطام والقابلية على البقاء للحملان و التقليل من حالات عسر الولادة للأمهات (Gearhart وزملاؤه، 1988) وإن دقة المعلومات حول مرحلة أو مدة الحمل تكون مفيدة لغرض تجفيف الإناث في المدة الكافية ومراقبة الإناث في الموعد المحدد والمتوقع فيه للولادة (Doize وزملاؤه، 1997).

الأهداف الأساسية لاستخدام أي طريقة لتشخيص الحمل هي أن تكون ذات دقة عالية وأن يكون التشخيص في وقت مبكر مما يساعد على معرفة حالة الجنين لتوفير العناية التغذوية اللازمة للنجاح الحوامل خلال مدة الحمل وتساعد في اتخاذ القرارات بشأن النعاج غير الحوامل فيما أن تستبعد أو تعالج بطريقة ملائمة ، وتقليل الجهد والوقت الضائعين في برامج التحسين الوراثي التي غالباً ما تستخدم معاملات هرمونية باهظة الثمن (Jainudeen و Hafez، 2000).

هنالك طرائق عديدة لتشخيص الحمل في الحيوانات الزراعية ويعتمد اختيار أي من الطرائق على نوع الحيوان ، مرحلة الحمل ، الكلفة والدقة في التشخيص وأن تكون عملية وأمينية للعامل والحيوان في الوقت نفسه (Karen وزملاؤه، ٢٠٠١) وفي المجترات الصغيرة بصورة خاصة هنالك طرائق متعددة منها طريقة عدم العودة للشبق (Non – return to estrus) (Bazer، 1992) ، وطريقة الجس الخارجي (Hulet، ١٩٧٢ و Plant، ١٩٨١) وطريقة التشخيص بالأشعة السينية (Ford وزملاؤه، ١٩٦٣) والطريقة الجراحية وطريقة المسح المهبلي (Richardson، ١٩٧٢) ، وطريقة قياس الهرمون ولاسيما هرمون البروجسترون (Thimonier وزملاؤه، ١٩٧٧) وطريقة الفحص بالناظور الداخلي (Roberts، ١٩٦٨ و phillippo و Rhind، ١٩٨١) ، وطريقة الفحص بالأمواج فوق الصوتية (Wani، ١٩٨١ ؛ Buckrell، ١٩٨٨)

وفيما يلي شرح موجز لبعض هذه الطرق :

Non – return to estrus

٢-٤-١- عدم العودة إلى الشبق:

تعد من أسهل الطرائق وأبسطها لتشخيص الحمل ، وتعتمد على إن الحمل يمنع النعاج من العودة للشبق نتيجة لإدامة عمل الجسم الصفير وزيادة إفراز هرمون البروجسترون (Bazer، 1992).

Radiography

٢-٤-٢- الفحص بالأشعة السينية

الباحث Ford وزملاؤه (1963) أجرى فحصاً على 322 نعجة بهذه الطريقة وسجل دقة في الفحص 100 و 90 % لكل من تشخيص الحمل وتحديد عدد الأجنة على التوالي كذلك الباحث Grace وزملاؤه (1989) سجل دقة فحص تراوحت بين 90-100 % لتحديد عدد الأجنة في 13 قطيع من الأغنام ، فضلاً عن الدقة العالية فإن هذه الطريقة تعتبر سريعة أيضاً حيث يمكن فحص 400 - 600 نعجة يومياً تحت ظروف المزرعة (Karen وزملاؤه ، 2001) ، ولكن الكلفة العالية للأجهزة المستخدمة والخطر الصحي الذي قد يصيب العاملين تعد من الأسباب الرئيسة المحددة لاستخدام مثل هكذا طريقة (West ، 1986) .

٢-٤-٣ - الجس المستقيمي البطني:- Rectal abdominal palpation:

تتمثل هذه الطريقة بإدخال قضيب زجاجي مزيت قطره 1.5 سم وطوله 50 سم داخل مستقيم النعجة وهي مستلقية على الجهة الظهرية حيث توضع إحدى اليدين على الجهة الخارجية البطنية بينما يحرك القضيب الزجاجي داخل مستقيم النعجة لملاحظة وتحسس حركة الجنين (Hulet ، 1972) تكون دقة تشخيص الحمل بهذه الطريقة منخفضة في المراحل الأولى من الحمل وتزداد لتصل إلى 100 % عند ٨٥ - ١٠٩ يوم من الحمل (Hulet ، 1972 و chauhان و Waziri ، 1991) كذلك وجد الباحثين Trapp و Slyter (1983) إنخفاضاً في دقة تشخيص النعاج الحوامل والنعاج غير الحوامل بعد مرور ٦٠ - ٩٠ يوماً من الحمل حيث بلغت النسبة ٥٩ و ٦٠ % للنعاج الحوامل و غير الحوامل على التوالي ، وتعد هذه الطريقة بسيطة وغير مكلفة وسريعة أيضاً حيث بالإمكان فحص ما يقارب 150 نعجة / ساعة ولكن أيضاً تعد هذه الطريقة غير دقيقة في كشف عدد الأجنة وذات خطورة من ناحية الضرر بالمستقيم (Tyrrell و Plant ، ١٩٧٩) وقد تسبب الإجهاض في بعض الأحيان (Turner و Hind son ، ١٩٧٥ و Ishwar ، 1995).

Hormonal Assays

٢-٤-٤- الطرائق الهرمونية:

٢-٤-٤-١- قياس هرمون البروجسترون: Assessment of progesterone

يعد قياس هرمون البروجسترون في الدم مؤشراً جيداً لوظيفة الجسم الأصفر خلال مدة الحمل ويكون بالإمكان قياس هرمون البروجسترون في اليوم ١٨ بعد التلقيح

وبطريقة التحليل الإشعاعي المناعي (Radio immuno assay- RIA) و الإنزيمي المناعي (Enzyme linked immuno sorbinat assay-ELISA) ، تعد هذه الطريقة ذات دقة عالية في تشخيص النعاج الحوامل ، ولكن دقتها تنخفض في تشخيص النعاج غير الحوامل (Amezcuca ، ١٩٨٨ و Susmel و Piasentier ، ١٩٩٢ و Gvozdic و Ivkov ، ١٩٩٤) ولكن في دراسة أخرى كانت دقة تشخيص النعاج غير الحوامل ١٠٠% بطريقة ELISA في اليوم ١٦ بعد التلقيح (Mcphee وزملاؤه ، ١٩٨٧) وكذلك في اليوم ٢١ بعد التلقيح وبطريقة RIA (Zarkawi وزملاؤه ، ١٩٩٩)

أن الهلاكات الجنينية المبكرة والحالة الصحية للمبيض والرحم تعد المصدر الرئيس للنتائج الايجابية الخاطئة ، وفي اليوم 100 ± 9 بعد التلقيح دقة تشخيص الحمل بهذه الطريقة ٩٨ % في النعاج الفطائم و ٩٩ % في النعاج البالغة (Schneider و Hallford ، ١٩٩٦) ، كذلك فان مستوى هرمون البروجستيرون يختلف معنويا في النعاج الحوامل بأجنة ثنائية وثلاثية بالمقارنة مع النعاج ذات الحمل المفرد ، فقد كانت نسبته (٢٩,٩ ، ١٩,٢ ، ٩,٢) نانوغرام / مللتر للنعاج ذات الحمل الثلاثي و الثنائي والمفردة على التوالي (Chauhan و Waziri ، ١٩٩١) ، مما يعني أن هنالك ارتباط موجب عالي المعنوية ($P < 0.01$) بين عدد الأجنة وتركيز هرمون البروجستيرون في بلازما الدم (Kalkan وزملاؤه ، ١٩٩٦) ، وفي الأبقار فقد بلغت دقة تشخيص الحمل بهذه الطريقة عند اليوم ٣٨ - ٣٩ من الحمل (95.00 و 83.33 %) للأبقار الحوامل وغير الحوامل على التوالي (عيدان ، 2008).

٢-٤-٢-٢-٢ قياس هرمون الاسترون سلفيت

Assessment of estrone Sulphate

يمكن الكشف عن هرمون الاسترون سلفيت عند اليوم ٧٠ من الحمل حيث يكون تركيزه بحدود ٠,٧-٠,١ نانوغرام / مللتر ، ويزداد تركيزه بالتدريج خلال تقدم الحمل ليصل إلى مستوى يتراوح بين ١٥-٥٠ نانوغرام/ مللتر في مراحل الحمل المتقدم للنعاج (Tsang ، ١٩٧٨) وفي اليوم ٨٥ من الحمل هناك فروق عالية المعنوية في مستوى هذا الهرمون بين النعاج الحوامل وغير الحوامل (Worsfold وزملاؤه ، ١٩٨٦).

٢-٤-٣- قياس هرمون Ovine placental lactogen (OPL)

الباحث Chan وزملاؤه (١٩٧٨) قاموا بدراسة وعزل هذا الهرمون ، وقد ذكر الباحث Robertson وزملاؤه (١٩٨٠) أن دقة التشخيص بلغت ٩٧ ، ١٠٠ % لكشف النعاج الحوامل وغير الحوامل على التوالي في اليوم ٦٤ من الحمل.

٢-٤-٥- قياس البروتينات المرتبطة بالحمل:

Assessment of pregnancy protein

ومن هذه الطرائق ما يأتي:

٢-٤-٥-١- البروتين المختص بالحمل نوع B

Pregnancy-specific protein B (PSPB):

يعد الباحث Butler وزملاؤه (١٩٨٢) أول من أكتشف هذا البروتين في حيوانات المزرعة الذي تفرزه المشيمة ويذهب إلى دم إلام والجنين وهو يفرز من الخلايا الغذائية للجنين (Eckblad وزملاؤه ، ١٩٨٥) الدور الوظيفي لهذا البروتين المختص بالحمل هو الحث على إدامة الجسم الأصفر (Vecchio) Corpus luteum وزملاؤه ، (١٩٩٥).

طور الباحث Willard وزملاؤه (١٩٨٧) تقنية التقدير الكمي بطريقة RIA للبروتين المختص بالحمل وأصبح يقاس بالأيام 19.7 ± 0.1 وفي الأيام 21.7 ± 0.6 يوم بعد التسفيد (Wallace وزملاؤه ، ١٩٩٧) ، وقد لاحظ الباحث Willard وزملاؤه (١٩٩٥) أن تركيز هذا الهرمون يبدأ بالزيادة حتى يصل إلى 10.8 ± 0.4 نانوغرام/مللتر في اليوم ٣٠ من الحمل ويبقى بهذا التركيز تقريباً إلى قرب الولادة ، ثم ينخفض بعد الولادة إلى أن تصبح عملية تقديره صعبة في الأسبوع الثالث بعد الولادة (Willard وزملاؤه ، ١٩٨٧).

وفي الأبقار فقد بلغت دقة تشخيص حالات الحمل وعدم الحمل بهذه الطريقة عند اليوم ٣٨ - ٣٩ من الحمل 100 % للحالتين كليهما، أما في الجاموس فقد بلغت دقة التشخيص عند اليوم ٣٢ - ٣٤ من مدة الحمل ١٠٠ - 92.31 % لحالتي الحمل وعدم الحمل على التوالي (عيدان ، 2008 و Abdlkareem ، 2008).

٢-٤-٥-٢- الكلايكوبروتين المرتبط بالحمل OPAGs

Ovine pregnancy-associated glycoprotein

وهو كلايكوبروتين يتكون من ٣٨٢ حامض أميني وهو يرجع إلى عائلة إنزيمات (Aspartic proteinase) (Xie وزملاؤه ، ١٩٩١) ومعظمهم بدون نشاط إنزيمي (Xie وزملاؤه ، ١٩٩٧) ويزداد تركيز هذا البروتين بشكل تدريجي إلى حد الأسبوع التاسع من الحمل ثم ينخفض ببطء عند الأسبوع ١٣-١٤ ثم يزداد عند الأسبوع ١٧ إلى الولادة ، ومن ثم ينخفض سريعاً بعد الولادة إلى الأسبوع ٤ يصعب تقدير هذه البروتين (Ranilla وزملاؤه ، ١٩٩٤ و ١٩٩٧ ، و Gajewski وزملاؤه ، ١٩٩٩) .

٢-٤-٦- فحص الحمل باستخدام الأمواج فوق الصوتية Ultrasonography

تعد هذه الطريقة واحدة من طرائق تشخيص الحمل الجيدة وذات الدقة العالية في التشخيص ، أو لمعرفة التغيرات الفسلجية على الأعضاء التناسلية الأنثوية خلال دورة الشبق وخلال مدة الحمل وتتميز بكفاءتها في تشخيص عدد الأجنة المحمولة وللتنبؤ بجنس الجنين وتقدير عمره أيضاً ومعرفة الهلاكات الجنينية المتأخرة والتعرف على المحيط البيئي للجنين (Karen وزملاؤه ، ٢٠٠١ و Terzano ، ٢٠٠٥) .

٢-٤-٦-١- كشف الحمل الأشعة فوق السمعية-A Mode ultrasound A

تعتمد هذه الطريقة على إصدار أمواج فوق الصوتية تخترق الأنسجة تحت الجلد وتظهر الأصوات التي تلتقطها إلى إشارات كهربائية يلتقطها الجهاز ويحولها إلى ذبذبات على المقياس الأفقي والإشارات المسموعة تصور العمق الذي حدث عنده الانعكاس (Karen وزملاؤه ، ٢٠٠١) ، وفي بعض الدراسات كانت الدقة في الكشف والتشخيص ٨٦,٧ % ، ٦٩ % للنعاج الحوامل وغير الحوامل على التوالي (Madel ، ١٩٨٣) .

٢-٤-٦-٢- كشف الحمل بالأمواج فوق الصوتية Ultrasonic scanning

طريقة الكشف بجهاز السونار يعطي عرضاً واضحاً للرحم وهي تقنية سريعة أيضاً وسليمة وآمنة جداً وتعد وسيلة عملية لكشف حالة الحمل وتحديد عدد الأجنة وكذلك لتقدير عمر الجنين ووزنه وتعد من أفضل الطرائق وأهمها في تشخيص الحمل (Karen وزملاؤه ، ٢٠٠١) وكذلك فقد ذكر الباحث Fowler و Wilkins (١٩٨٤) ،

إن نسبة تشخيص الحمل المبكر في اليوم ٤٧ من الحمل وباستعمال جهاز ألسونار (Ultrasonograph) بلغت ٩٣,٣ % بينما بلغت دقة التشخيص ١٠٠ ، ٩٧,٩ و ٨٥,٢ % لحالات الحمل الفارغة والحمل المفرد والحمل التوأمي على التوالي وباستخدام تقنية الفحص من الجهة البطنية الخارجية (Trans abdominal). ويمكن تشخيص الحمل في اليوم ٢٥ من بداية الحمل (Gearhart وزملاؤه 1988، أو بعد اليوم ٣٠ من بداية التلقيح والحمل (Bretzlaff وزملاؤه ، ١٩٩٣) أن كشف النعاج الحوامل وغير الحوامل يكون أكثر دقة بعد مرور ٢٩ يوم من الحمل (Taverne وزملاؤه ، ١٩٨٥) بعد ذلك تزداد الدقة لتصل تقريبا إلى ١٠٠% في الأيام ٤٦-١٠٦ من بداية التلقيح ، والحمل (Davey وزملاؤه ، ١٩٨٦ و Gearhart وزملاؤه ، 1988) ، وفي العراق فقد كانت دقة تشخيص الحمل للماعز في اليوم ٤٥ من الحمل هي ٨٩ ، ٩٣ % لإناث الماعز الحوامل وغير الحوامل على التوالي (هوبي ، ٢٠٠٢).

وهناك عدة تطبيقات لهذه التقنية منها الكشف عن حالات الحمل المبكر (Diagnosis of early pregnancy) إذ يمكن و باستخدام المتحسس MHz ٧,٥ وبطريقة Trans rectal إدخال المتحسس عن طريق المستقيم فإن الحويصلات الجنينية تكون مميزة في اليوم ١٣ بعد التلقيح بينما أول تصوير للجنين يظهر في اليوم ١٩ من الحمل (Gonzalez وزملاؤه ، ١٩٩٨) أو في اليوم ٢٠ من مدة الحمل (Schrick و Inskip ، ١٩٩٣) باستخدام المتحسس MHz ٥ فإن أول إشارة للحمل تظهر على شكل صورة لفجوة طولية مدورة في الرحم وبالقرب من المثانة في النعاج في الأيام ١٧-١٩ من الحمل (Garcia وزملاؤه ، ١٩٩٣ و Doize وزملاؤه ، ١٩٩٧) ويظهر الجنين في اليوم ٢٥ من أيام الحمل (Buckrell وزملاؤه ، ١٩٨٦) ، ويمكن تحديد عدد الأجنة (Determination of fetal number) ويمكن تحديد مدة الحمل (Estimation of gestational age) ومن الممكن تحديد جنس الجنين بهذه التقنية أيضا (Determination of fetal sex)، وفي دراسة حول تشخيص جنس الأجنة في الأغنام للباحث (Castle و Coubrough ، ١٩٩٨) فقد حصل في اليوم ٦٠ - ٦٩ من الحمل على دقة في تحديد جنس الجنين بلغت ١٠٠%- ٧٦ % للجنين الذكر أو الأنثى على التوالي.

