



Bio Vet Innovator Magazine

(Fueling The Future of Science...)

Volume 3 (Issue 7) JULY 2026



World Zoonosis Day - 06th July 2026

Popular Article

पशुधन सुधार में भ्रूण प्रत्यारोपण प्रौद्योगिकी: MOET और OPU-IVF का एक व्यापक विश्लेषण

सूर्यकांत साहू^{1*}, मनोज कुमार अवस्थी¹, अभिषेक राजपूत², दीक्षा साहू³, आशीष बेहरा¹

¹पशु मादा रोग एवं प्रसूति विज्ञान विभाग, पशु चिकित्सा एवं पशुपालन महाविद्यालय, अंजोरा,

दाऊ श्री वासुदेव चंद्राकर कामधेनु विश्वविद्यालय, दुर्ग, छत्तीसगढ़, भारत

²पशु शरीर रचना विज्ञान, विभाग, पशु चिकित्सा एवं पशुपालन महाविद्यालय, अंजोरा,

दाऊ श्री वासुदेव चंद्राकर कामधेनु विश्वविद्यालय, दुर्ग, छत्तीसगढ़, भारत

³पशु चिकित्सा विज्ञान, विभाग, पशु चिकित्सा एवं पशुपालन महाविद्यालय, अंजोरा,

दाऊ श्री वासुदेव चंद्राकर कामधेनु विश्वविद्यालय, दुर्ग, छत्तीसगढ़, भारत

*Corresponding Author: drsuryakantsahu@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.21739246>

Received: July 31, 2026

Published: July 31, 2026

© All rights are reserved by सूर्यकांत साहू

प्रस्तावना:

भारतीय अर्थव्यवस्था में पशुधन का एक अत्यंत महत्वपूर्ण स्थान है। भारत में कुल सकल घरेलू उत्पाद (GDP) में पशुधन का योगदान लगभग 4.1% है। इस महत्वपूर्ण योगदान के बावजूद, देश की बढ़ती जनसंख्या की पोषण संबंधी आवश्यकताओं, विशेष रूप से दूध और मांस की मांग को पूरा करने के लिए वर्तमान उत्पादन पर्याप्त नहीं है। इस मांग को पूरा करने के लिए पशुधन की उत्पादन क्षमता में भारी वृद्धि करना अनिवार्य है। इसके लिए या तो नई तकनीकों को अपनाना होगा या फिर मौजूदा तकनीकों को अधिक परिष्कृत और उन्नत बनाना होगा।

पशुधन की उत्पादकता बढ़ाने के लिए उनका प्रजनन सबसे मुख्य क्षेत्र है। वांछनीय आनुवंशिक गुणों वाले उच्च गुणवत्ता के पशुओं को तैयार करने में 'सहायक प्रजनन प्रौद्योगिकी' (Assisted Reproductive Technology - ART) एक क्रांतिकारी भूमिका निभा सकती है। इस तकनीक के अंतर्गत 'मल्टीपल ओव्यूलेशन एम्ब्रियो ट्रांसफर' (Multiple Ovulation Embryo Transfer - MOET) और 'इन-विट्रो फर्टिलाइजेशन' (In-Vitro Fertilization - IVF) तकनीक प्रमुख हैं, जो पारंपरिक प्रजनन विधियों की सीमाओं को पार कर पशुधन सुधार की गति को कई गुना बढ़ा देती हैं।

उन्नत तकनीकों की आवश्यकता क्यों?

एक सामान्य गाय अपने प्राकृतिक चक्र में (जो लगभग 21 दिनों का होता है) केवल एक ही अंडा (Egg) उत्पन्न करती है। गाय की गर्भावस्था अवधि लगभग 40 सप्ताह की होती है। इस प्रकार, अपने पूरे जीवनकाल में एक गाय औसतन केवल 2 से 3 बछड़ों को ही जन्म दे पाती है। यदि हम बिना किसी वैज्ञानिक हस्तक्षेप के केवल प्राकृतिक प्रजनन पर निर्भर रहें, तो किसी विशिष्ट और उच्च आनुवंशिक मूल्य वाली गाय के गुणों को पूरे झुंड या नस्ल में फैलाने की गति अत्यंत धीमी होगी।

पिछले तीन दशकों में, भ्रूण प्रत्यारोपण (Embryo transfer) एक विशिष्ट और अत्यधिक उन्नत जैव प्रौद्योगिकी के रूप में विकसित हुआ है। इस तकनीक में तीन मुख्य चरण और बड़े बदलाव देखे गए हैं:

1. **प्रथम चरण:** दाताओं (Donors) से सुपरओव्यूलेशन (Superovulation) के माध्यम से भ्रूण प्राप्त करना, और फिर गैर-सर्जिकल (बिना सर्जरी के) तरीके से उन्हें बाहर निकालकर प्राप्तकर्ता पशुओं में स्थानांतरित करना।

2. **द्वितीय चरण:** 'ओवम पिक-अप' और इन-विट्रो निषेचन (Ovum Pick Up with In-Vitro Fertilization - OPU-IVF) के माध्यम से प्रयोगशाला के भीतर भ्रूण का उत्पादन करना।

3. **तृतीय चरण:** इसके बाद और अधिक उन्नत इन-विट्रो तकनीकें विकसित हुईं, जैसे भ्रूण माइक्रोमैनिपुलेशन, दैहिक कोशिकाओं (Somatic cells) और भ्रूण स्टेम कोशिकाओं (Embryonic stem cells) से क्लोनिंग, प्री-इम्प्लांटेशन जेनेटिक डायग्नोसिस, और ट्रांसजेनिक पशुओं का उत्पादन।

सामान्य भाषा में, 'इन-विट्रो फर्टिलाइजेशन' (IVF) शब्द का प्रयोग एक व्यापक प्रक्रिया के लिए किया जाता है जिसमें मुख्य रूप से तीन चरण शामिल होते हैं: इन-विट्रो परिपक्वता (In-Vitro Maturation - IVM), इन-विट्रो निषेचन (In-Vitro Fertilization - IVF), और इन-विट्रो संवर्धन (In-Vitro Culture - IVC)। ये तीनों प्रक्रियाएं प्रयोगशाला में पूरी तरह से इन-विट्रो भ्रूण उत्पादन (In-Vitro Embryo Production - IVP) के लिए एक क्रम में संचालित की जाती हैं।

वैश्विक स्तर पर, जहां इन-विवो (पशु के शरीर के भीतर) उत्पादित और स्थानांतरित किए जाने वाले भ्रूणों की संख्या पिछले कुछ वर्षों में स्थिर हो गई है, वहीं इन-विट्रो (IVP) तकनीक से उत्पादित भ्रूणों के स्थानांतरण में प्रतिवर्ष लगभग 12% की औसत वृद्धि देखी जा रही है।

ऐतिहासिक परिप्रेक्ष्य (History):

1. मल्टीपल ओव्यूलेशन एम्ब्रियो ट्रांसफर (MOET):

- **वैश्विक इतिहास:** सबसे पहले सुपरओव्यूलेशन तकनीक की रिपोर्ट वर्ष 1943 में कैसीडा और उनके सहयोगियों द्वारा की गई थी। इसके बाद वर्ष 1951 में विलेट द्वारा पहला सफल भ्रूण प्रत्यारोपण किया गया, जिससे एक स्वस्थ बछड़े का जन्म हुआ। वर्ष 1988 में स्मिथ ने पशु सुधार कार्यक्रमों में MOET की अवधारणा को मजबूती से पेश किया। उन्होंने दर्शाया कि कैसे एक सुनियोजित MOET कार्यक्रम से पशुओं के चयन की तीव्रता को बढ़ाया जा सकता है और पीढ़ियों के बीच के समय अंतराल (Generation intervals) को कम किया जा सकता है, जिससे आनुवंशिक लाभ तेजी से प्राप्त होते हैं। वर्तमान में, दुनिया भर में हर साल लगभग 5,00,000 गोवंशीय भ्रूण उत्पादित और स्थानांतरित किए जाते हैं। शुरुआत में ये सभी प्रक्रियाएं सर्जिकल तरीके से की जाती थीं, लेकिन 1970 के दशक के मध्य में गैर-सर्जिकल (Non-surgical) भ्रूण रिकवरी और ट्रांसफर तकनीकों का विकास हुआ।
- **भारतीय इतिहास:** भारत में पहला सफल भ्रूण प्रत्यारोपण वर्ष 1987 में 'नेशनल इंस्टीट्यूट ऑफ इम्यूनोलॉजी', नई दिल्ली में किया गया था।

2. इन-विट्रो भ्रूण उत्पादन (IVEP / IVF):

- **वैश्विक इतिहास:** इन-विट्रो फर्टिलाइजेशन (IVF) तकनीक के माध्यम से दुनिया के पहले बछड़े "वर्जिल" (VIRGIL) का जन्म वर्ष 1982 में ब्रैकेट और उनके सहयोगियों के प्रयासों से हुआ था। जीवित पशु से अंडाणु एकत्र करने की सबसे उन्नत तकनीक, जिसे 'ओवम पिक-अप' (Ovum Pick Up - OPU) कहा जाता है, की शुरुआत पहली बार 1987 में कैलेसेन और उनके सहयोगियों द्वारा गोवंश में की गई थी।
- **भारतीय इतिहास:** भारत में इस तकनीक का उपयोग करके पहला भैंस का कटड़ा "प्रथम" (PRATHAM) वर्ष 1990 में 'राष्ट्रीय डेयरी अनुसंधान संस्थान' (NDRI), करनाल में तैयार किया गया था। इसके बाद, डॉ. जवार द्वारा पुणे में 5 सितंबर 2017 को थारपारकर नस्ल का पहला आईवीएफ बछड़ा तैयार किया गया। भारत में गोवंश में ओपीयू के बाद आईवीएफ और ब्लास्टोसिस्ट चरण तक भ्रूण के विकास की सफलता वर्ष 2005 में वर्मा द्वारा दर्ज की गई थी। वर्ष 2012 में एनडीआरआई, करनाल में एक अधिक उम्र की साहीवाल गाय से पहली बार OPU-IVF तकनीक द्वारा साहीवाल बछड़ी "होली" का जन्म हुआ। एक और ऐतिहासिक मील का पत्थर 23 अक्टूबर 2021 को स्थापित हुआ, जब गुजरात के गिर सोमनाथ जिले में एक किसान के घर पर बन्नी नस्ल की भैंस के भारत के पहले आईवीएफ (IVF) बछड़े का जन्म हुआ।

सुपरओव्यूलेशन और मद समकालन बनाम ओवम पिक-अप (Superovulation & Estrus Synchronization vs. OPU):

- **सुपरओव्यूलेशन और मद समकालन (Superovulation and Estrus Synchronization):**

सुपरओव्यूलेशन का मूल सिद्धांत एक हार्मोनल तैयारी के माध्यम से अंडाशय में कई फॉलिकल्स (फॉलिकल्स - Follicles) के विकास को उत्तेजित करना है। इसके लिए मुख्य रूप से 'फॉलिकल स्टिमुलेटिंग हार्मोन' (FSH) सक्रियता वाले हार्मोन का उपयोग किया जाता है, जिसे अंतःपेशीय या उपत्वचीय रूप से दिया जाता है।

एक सामान्य और स्वस्थ दाता गाय को सामान्य मद चक्र के मध्य या अंत में, जब अंडाशय पर एक कार्यात्मक 'कॉर्पस ल्यूटियम' मौजूद होता है, चार दिनों तक प्रतिदिन दो बार FSH के इंजेक्शन दिए जाते हैं। उपचार के तीसरे दिन प्रोस्टाग्लैंडीन का इंजेक्शन दिया जाता है, जिससे CL का हास हो जाता है और पशु लगभग 48 से 60 घंटे बाद मद (Heat/Estrus) में आ जाता है।

मवेशियों में सुपरओव्यूलेशन के दो मुख्य तरीके अपनाए जाते हैं:

1. **PMSG / eCG विधि:** इसमें 'प्रेग्नेंट मेयर सीरम गोनाडोट्रोपिन' (PMSG), जिसे 'इक्वाइन कोरियोनिक गोनाडोट्रोपिन' (eCG) भी कहा जाता है, का 1800-3000 IU का एक अंतःपेशीय इंजेक्शन दिया जाता है। इसके दो से तीन दिन बाद प्रोस्टाग्लैंडीन F₂ अल्फा (PGF_{2α}) का इंजेक्शन दिया जाता है। यह विधि सरल है लेकिन कम नियंत्रित होती है।
2. **FSH विधि:** इस क्षेत्र की स्थितियों में यह अधिक विश्वसनीय है। इसमें FSH के 8 से 10 इंजेक्शन आधे-आधे दिन के अंतराल पर दिए जाते हैं। सबसे आम खुराक अनुसूची 6-6, 4-4, 2-2 और 2-2 मिलीग्राम की होती है, जिसमें छठे या सातवें इंजेक्शन के साथ प्रोस्टाग्लैंडीन F_{2α} दिया जाता है। 800 किलोग्राम से अधिक वजन वाली गायों के लिए लगभग 20% अधिक हार्मोन की आवश्यकता होती है।

दाता गायों की पोषण स्थिति उनके सुपरओव्यूलेशन के प्रति प्रतिक्रिया को प्रभावित करने वाला सबसे बड़ा कारक है। दाता गायों को सकारात्मक पोषण स्तर पर बनाए रखना और उन्हें उनकी आवश्यकताओं को पूरा करने वाला संतुलित आहार देना अत्यंत आवश्यक है। अमेरिकन और कैनैडियन एम्ब्रियो ट्रांसफर एसोसिएशन के आंकड़ों के अनुसार, प्रति दाता औसतन 5 से 7 स्थानांतरण योग्य भ्रूण प्राप्त होते हैं (गोवंश गोमांस पशुओं में 6.6 और डेयरी पशुओं में 5.7)।

- **ओवम पिक-अप (Ovum Pick Up - OPU):**

'क्यूम्युलस ऊसाइट कॉम्प्लेक्स' (Cumulus Oocyte Complexes - COCs) को मृत किए गए पशुओं के अंडाशय से या फिर जीवित दाताओं से सीधे प्राप्त किया जा सकता है। जीवित दाता गाय या बछिया के अंडाशय से अल्ट्रासाउंड प्रोब और एक चूषक सुई (Aspiration needle) की सहायता से बिना निषेचित अंडों या ऊसाइट्स को सीधे निकालने की प्रक्रिया को 'ओवम पिक-अप' (OPU) कहा जाता है।

गाय में इस तकनीक के लिए 'ट्रांसवैजाइनल दृष्टिकोण' का उपयोग किया जाता है, जिसमें मलाशय (Rectum) के माध्यम से अंडाशय को पकड़कर अल्ट्रासाउंड ट्रांसड्यूसर और सुई के सामने सबसे अनुकूल स्थिति में लाया जाता है। अल्ट्रासाउंड-निर्देशित ट्रांसवैजाइनल ओवम पिक-अप उच्च आनुवंशिक मूल्य वाली गायों से बार-बार ऊसाइट्स प्राप्त करने और पशु प्रजनन कार्यक्रमों में पीढ़ी के अंतर को कम करने के लिए एक अत्यधिक सफल और न्यूनतम चीर-फाड़ वाली (Minimally invasive) विधि है।

तकनीकी और जैविक कारक:

- **तकनीकी सुधार:** शुरुआत में उपयोग की जाने वाली 50 सेमी की स्टेनलेस स्टील की सुई के स्थान पर अब छोटी, डिस्पोजेबल, मानक हाइपोडर्मिक

सुइयों का उपयोग किया जाता है। ये सुइयां सस्ती होती हैं, इन्हें साफ करने की आवश्यकता नहीं होती, ये जल्दी कुंद नहीं होतीं और एक पशु से दूसरे पशु में रोगजनकों के संक्रमण के जोखिम को समाप्त कर देती हैं। इनका 'डेड वॉल्यूम' बहुत कम होता है, जिससे ऊसाइट्स पर प्रतिकूल वातावरण का प्रभाव न्यूनतम पड़ता है।

- **जैविक सुधार:** ओपीयू की आवृत्ति (Frequency) और समय का निर्धारण महत्वपूर्ण है। चूंकि ओपीयू के लगभग 3 दिन बाद एक प्रमुख फॉलिकल (Dominant follicle) उभरता है, इसलिए सप्ताह में दो बार (2 और 3 दिनों के अंतराल पर या 2 और 5 दिनों के अंतराल पर) बिना हार्मोनल उत्तेजना के ओपीयू करने से प्रमुख फॉलिकल अन्य छोटे फॉलिकल्स की अंडकोशिकाओं की विकास क्षमता को प्रभावित नहीं कर पाता। हार्मोनल प्री-स्टिम्युलेशन के बिना, प्रति ओपीयू सत्र में दाता गायों से 0 से 26 ऊसाइट्स तक प्राप्त हो सकते हैं, जिसमें औसतन 20% ऊसाइट्स विकृत या नग्न (Nude) होते हैं।

ऊसाइट्स (अंडकोशिकाओं) का रूपात्मक वर्गीकरण (Morphological Classification of Oocytes):

अंडाशय के फॉलिकल्स के अंदर से निकाले गए ऊसाइट्स को उनके साइटोप्लाज्म (Cytoplasm) और उन्हें ढकने वाली ग्रैनुलोसा कोशिकाओं (Granulosa cells) की विशेषताओं के आधार पर निम्नलिखित चार श्रेणियों में वर्गीकृत किया जाता है:

ग्रेड	विशेषताएं	व्यवहार्यता (Viability)
ग्रेड I	कॉम्पैक्ट क्यूम्युलस कोशिकाओं की तीन से अधिक परतें होती हैं। साइटोप्लाज्म पूरी तरह से जोना पेलुसिडा (Zona Pellucida - ZP) के भीतर समान रूप से बारीक कणों के साथ भरा होता है।	अत्यधिक व्यवहार्य (Higher quality)
ग्रेड II	ग्रेड I की तुलना में क्यूम्युलस कोशिकाओं की मात्रा थोड़ी कम होती है, लेकिन साइटोप्लाज्म जोना पेलुसिडा के भीतर पूरी तरह भरा होता है। कणों का वितरण थोड़ा असमान हो सकता है।	व्यवहार्य (Viable)
ग्रेड III	अनियमित और असमान साइटोप्लाज्म, जिसमें हल्के और गहरे रंग के क्षेत्र दिखाई देते हैं। यह पेरीवितलाइन (Perivitelline) स्थान को पूरी तरह नहीं भरता।	गैर-कार्यात्मक (Not workable)
नग्न (Denuded)	साइटोप्लाज्म अच्छी स्थिति में होता है, लेकिन इसके चारों ओर क्यूम्युलस कोशिकाओं की परत अनुपस्थित होती है। शुक्राणु क्षमता और निषेचन के लिए ग्रैनुलोसा कोशिकाएं आवश्यक हैं।	गैर-व्यवहार्य (Not viable)
अपभ्रंश (Atretic / Degenerate)	ये ऊसाइट्स पहले से ही परिपक्व या अधःपतन (Degeneration) की प्रक्रिया में होते हैं। इनका साइटोप्लाज्म पारदर्शी या अत्यधिक हल्का होता है।	अनुपयोगी (Non-viable)

कृत्रिम गर्भाधान बनाम इन-विट्रो परिपक्वता और निषेचन (AI vs. IVM & IVF):

- **कृत्रिम गर्भाधान (Artificial Insemination - AI):**

MOET कार्यक्रम की सफलता इस बात पर निर्भर करती है कि दाताओं को गर्भाधान के लिए किस प्रकार के वीर्य से कृत्रिम गर्भाधान किया जा

रहा है। लिंग-वर्गीकृत वीर्य (Sexed-sorted semen) से किए गए गर्भाधान में पारंपरिक वीर्य की तुलना में कम भ्रूण बनते हैं। दाता गाय में “खड़े मंद” (Standing estrus) के लक्षण दिखने के समय को संदर्भ बिंदु माना जाता है। चूंकि अंडाशय पर कई फॉलिकल्स से कई अंडे निकलते हैं, इसलिए उच्च गुणवत्ता वाले और अत्यधिक गतिशील शुक्राणुओं वाले कम से कम दो सीमेन स्ट्रॉ का उपयोग 12-12 घंटे के अंतराल पर किया जाता है। वीर्य को गर्भाशय के मुख्य भाग (Body of the uterus) में स्थापित किया जाना चाहिए, जो गर्भाशय ग्रीवा के ठीक आगे 1/2 से 1 इंच का एक छोटा सा हिस्सा होता है। यदि रॉड को बहुत गहरा डालकर किसी एक हॉर्न (Uterine horn) में वीर्य छोड़ दिया जाए, तो विपरीत अंडाशय से निकलने वाले अंडों का निषेचन प्रभावित हो सकता है। एआई के 7 दिन बाद गर्भाशय को फ्लश करके भ्रूण एकत्र किए जाते हैं।

● इन-विट्रो परिपक्वता (In-Vitro Maturation - IVM):

प्रयोगशाला में ऊसाइट्स को परिपक्व करने के लिए एक विशिष्ट वातावरण की आवश्यकता होती है:

- तापमान: 38.5°C
- गैस वातावरण: हवा में 5% CO₂
- आर्द्रता: 90-95%
- समय: 22-24 घंटे
- माध्यम (Medium): परिपक्वता माध्यम (TCM 199, अल्स साल्ट, ग्लूटामाइन, सोडियम बाइकार्बोनेट, 10% फेटल काफ सीरम, 0.5 µg/mL FSH, 22 µg/mL पायरुवेट, 50 µg/mL जेंटामाइसिन, 50 µg/mL LH, 1 µg/mL एस्ट्राडियोल) की 75 µL की बूंदों में ऊसाइट्स को रखा जाता है। इस प्रक्रिया के दौरान ऊसाइट्स अपना पहला अर्धसूत्री विभाजन पूरा करते हैं।

● इन-विट्रो निषेचन (In-Vitro Fertilization - IVF):

परिपक्व हो चुके क्यूम्युलस ऊसाइट कॉम्प्लेक्स (COCs) को निषेचन के लिए 4-वेल डिश (4-well dishes) में स्थानांतरित किया जाता है। प्रत्येक वेल में 500 µL आईवीएफ माध्यम (TALP माध्यम जिसमें पेनिसिलमाइन, हाइपोटॉरिन, एपिनेफ्रीन और हेपरिन शामिल होते हैं) और गतिशील शुक्राणु होते हैं।

गतिशील शुक्राणु प्राप्त करने के लिए सीमेन स्ट्रॉ को 38.5°C पर 1 मिनट के लिए पिघलाया (Thawing) जाता है और परकोल ग्रेडिएंट विधि (90% और 45% परकोल) का उपयोग करके 700g पर 15 मिनट के लिए सेंट्रीफ्यूज किया जाता है। इसके बाद शुक्राणुओं को निषेचन बूंदों में 1*10⁶ शुक्राणु/mL की अंतिम सांद्रता पर जोड़ा जाता है। शुक्राणु और ऊसाइट्स को 18 से 20 घंटे तक 38.5°C से 39°C पर 5% CO₂ वातावरण में एक साथ संवर्धित किया जाता है। इन-विट्रो गर्भाधान के इस दिन को 'दिन 0' कहा जाता है।

महत्वपूर्ण अंतर: इन-विट्रो परिपक्व ऊसाइट्स में इन-विवो परिपक्व ऊसाइट्स की तुलना में विकास की क्षमता कम होती है। इसके अलावा, आईवीएफ-व्युत्पन्न भ्रूणों की जीवनक्षमता क्रायोप्रिजर्वेशन (जमाने की प्रक्रिया) के बाद इन-विवो भ्रूणों की तुलना में काफी कम हो जाती है; इसलिए इन्हें ज्यादातर ताज़ा ही स्थानांतरित करना पड़ता है। आईवीएफ में 'पॉलीस्पर्मि' (एक से अधिक शुक्राणुओं द्वारा एक अंडे का निषेचन) की उच्च घटना (20-45%) देखी जाती है, जो पशु की उम्र बढ़ने और आईवीएफ के दौरान वीर्य की खुराक कम करने से सुधारी जा सकती है।

● भ्रूण की रिकवरी/संग्रहण और इन-विट्रो संवर्धन (Recovery & IVC):

● सर्जिकल भ्रूण संग्रह विधि (Surgical Embryo Collection Method):

शुरुआती दिनों में, मादा पशुओं को वध करके या जीवित पशुओं में लैपरोटॉमी (Laparotomy - पेट में चीरा लगाना) के माध्यम से गर्भाशय और

डिंबवाहिनी को बाहर निकालकर भ्रूण एकत्र किए जाते थे। डिंबवाहिनी-गर्भाशय जंक्शन पर संवर्धन माध्यम (Culture medium) डालकर एक कैथेटर के माध्यम से भ्रूणों को संग्रह ट्यूब में बहाया जाता था। यद्यपि इस विधि से उच्च प्रतिशत में भ्रूण प्राप्त होते थे, लेकिन सर्जिकल आघात और अंगों के आपस में चिपकने के कारण इसे एक पशु पर अधिकतम तीन बार से अधिक नहीं दोहराया जा सकता था।

● गैर-सर्जिकल भ्रूण संग्रह विधि (Non-Surgical Embryo Collection Method):

व्यावसायिक उद्देश्यों के लिए यह सबसे पसंदीदा विधि है क्योंकि यह प्रजनन पथ को कोई नुकसान नहीं पहुंचाती, इसे बार-बार दोहराया जा सकता है और इसे सीधे किसान के फॉर्म पर किया जा सकता है। गोवंश में भ्रूण आमतौर पर सुपरओव्यूलेशन के बाद मद के 6 से 8वें दिन (औसतन 7वें दिन) एकत्र किए जाते हैं।

मलाशय के माध्यम से गर्भाशय ग्रीवा को पार करते हुए एक टू-वे फोले कैथेटर गर्भाशय में डाला जाता है। कैथेटर के अग्र भाग को गर्भाशय के बाहरी द्विभाजन के पीछे स्थापित किया जाता है और दोनों हॉर्न को एक साथ फ्लश किया जाता है। गर्भाशय को कुल 1 लीटर डलबेको फॉस्फेट बफर्ड सलाइन (DPBS) माध्यम का उपयोग करके तीन से चार बार फ्लश किया जाता है। इसके बाद तरल को एक फिल्टर पर एकत्र करके स्टीरियो-माइक्रोस्कोप के नीचे भ्रूणों की गिनती और मूल्यांकन किया जाता है।

● इन-विट्रो संवर्धन (In-Vitro Culture - IVC):

निषेचन के बाद संभावित युग्मनज को संवर्धन के लिए 4-वेल डिश में रखा जाता है, जिसमें 500 μ L CR1-aa माध्यम या सिंथेटिक ओविडक्ट फ्लूइड माध्यम होता है। यह प्रक्रिया 38.5°C तापमान, 5% CO₂ और 90-95% आर्द्रता पर की जाती है।

माध्यम का pH 7.3 से 7.5 और ऑस्मोलैरिटी 272 से 280 mOsm के बीच होनी चाहिए। pH के उतार-चढ़ाव को कम करने के लिए HEPES बफर का व्यापक रूप से उपयोग किया जाता है। माध्यम में भ्रूणों के शुरुआती विकास के लिए सोडियम पायरूवेट और ऊर्जा के लिए 'फेटल काफ सीरम' (FCS) या 'एस्ट्रस काउ सीरम' (ECS) का उपयोग (5 से 20% सांद्रता में) किया जाता है।

आइसोलेटेड या छोटे समूहों में संवर्धित भ्रूणों के लिए 'एपिडर्मल ग्रोथ फैक्टर' (EGF) या 'ट्रांसफॉर्मिंग ग्रोथ फैक्टर' (TGF- α और TGF- β) जोड़ने से ब्लास्टोसिस्ट दर बढ़ती है। आमतौर पर प्रति 100 μ L माध्यम की बूंद में 15 से 20 भ्रूण संवर्धित किए जाते हैं।

- तीसरे दिन (Day 3): प्रत्येक बूंद से 50% माध्यम को ताज़ा माध्यम से बदल दिया जाता है, जिसे "फीडिंग" कहा जाता है। इसी समय क्लीवेज दर का मूल्यांकन किया जाता है।
- पांचवें दिन (Day 5): पुनः 50% माध्यम को ग्लूकोज युक्त ताज़ा माध्यम से बदला जाता है क्योंकि इस चरण में प्राकृतिक रूप से भ्रूण गर्भाशय में प्रवेश करता है जहाँ उसे ग्लूकोज की अधिक आवश्यकता होती है। इससे पहले ग्लूकोज भ्रूण के लिए हानिकारक माना जाता है।
- सातवें दिन (Day 7): ब्लास्टोसिस्ट दर का मूल्यांकन किया जाता है।

इन-विवो और इन-विट्रो भ्रूणों की तुलना:

इन-विट्रो उत्पादित भ्रूण (IVP) इन-विवो (प्राकृतिक) भ्रूणों की तुलना में गुणवत्ता में थोड़े कमजोर होते हैं। प्रयोगशाला के कृत्रिम वातावरण के कारण भ्रूण के लिपिड चयापचय में बदलाव आ जाता है, जिससे ट्राइग्लिसराइड्स का संचय बढ़ जाता है और फॉस्फोलिपिड का उत्पादन कम हो जाता है। इसका परिणाम यह होता है कि भ्रूण की कोशिका झिल्ली की तरलता प्रभावित होती है और वे ठंड (क्रायोप्रिजर्वेशन) को बर्दाश्त नहीं कर पाते। आईवीएफ भ्रूणों की स्थानांतरण के बाद जीवित रहने की दर (लगभग 40%) इन-विवो भ्रूणों (50-60%) की तुलना में कम होती है। इसके अलावा, आईवीएफ भ्रूणों में कभी-कभी 'लार्ज ऑफस्प्रिंग सिंड्रोम' (Large Offspring Syndrome - LOS) देखा जाता है, जिससे जन्म के समय बछड़े का आकार सामान्य से काफी

बड़ा हो जाता है और प्रसव में कठिनाई (Dystocia) होती है।

उत्पादित भ्रूणों का मूल्यांकन (Evaluating Embryos):

'इंटरनेशनल एम्ब्रियो ट्रांसफर सोसाइटी' (IETS) के मैनुअल के अनुसार, भ्रूणों को उनके विकास के चरणों (Stages) और गुणवत्ता (Quality) के आधार पर कोड दिए जाते हैं:

विकास के चरण (Stages of Development):

- **चरण कोड 3 (Morula):** कम से कम 16 कोशिकाओं का एक समूह। व्यक्तिगत कोशिकाओं (Blastomeres) को एक-दूसरे से अलग पहचानना कठिन होता है।
- **चरण कोड 4 (Compact Morula):** व्यक्तिगत कोशिकाएं आपस में जुड़कर एक सघन द्रव्यमान बना लेती हैं, जो पेरीविटलाइन स्थान का 60 से 70% भाग घेरता है।
- **चरण कोड 5 (Early Blastocyst):** भ्रूण में एक तरल से भरी गुहा (Blastocoele) बन जाती है। यह पेरीविटलाइन स्थान का 70 से 80% भाग घेरता है।
- **चरण कोड 6 (Blastocyst):** बाहरी ट्रॉफोब्लास्ट (Trophoblast) परत और आंतरिक डार्क सघन कोशिका द्रव्यमान (Inner Cell Mass - ICM) का स्पष्ट अंतर दिखाई देता है।
- **चरण कोड 7 (Expanded Blastocyst):** भ्रूण का कुल व्यास नाटकीय रूप से बढ़ जाता है और जोना पेलुसिडा की परत पतली होकर अपनी मूल मोटाई की लगभग एक-तिहाई रह जाती है।
- **चरण कोड 8 (Hatched Blastocyst):** भ्रूण जोना पेलुसिडा की परत को पूरी तरह से छोड़ चुका होता है या छोड़ने की प्रक्रिया में होता है।

गुणवत्ता कोड (Quality Codes):

- **कोड 1 (उत्कृष्ट या अच्छा - Excellent/Good):** सममित और गोलाकार भ्रूण द्रव्यमान, जिसमें कोशिकाएं आकार, रंग और घनत्व में समान होती हैं। जोना पेलुसिडा चिकनी होनी चाहिए।
- **कोड 2 (संतोषजनक - Fair):** भ्रूण द्रव्यमान के समग्र आकार या कोशिकाओं के रंग और घनत्व में मध्यम अनियमितताएं। कम से कम 50% भाग बरकरार और व्यवहार्य होना चाहिए।
- **कोड 3 (कमजोर - Poor):** कोशिकाओं के आकार और घनत्व में बड़ी अनियमितताएं। कम से कम 25% भाग व्यवहार्य होना चाहिए।
- **कोड 4 (मृत या अपभ्रंश - Dead/Degenerating):** गैर-व्यवहार्य भ्रूण या एकल कोशिकाएं।

विशेष नोट: उत्कृष्ट और अच्छी गुणवत्ता वाले (कोड 1) कॉम्पैक्ट मोरुला से ब्लास्टोसिस्ट चरण के भ्रूण जमने (Freezing) के बाद भी उच्चतम गर्भधारण दर देते हैं। संतोषजनक और कमजोर गुणवत्ता (कोड 2 और 3) वाले भ्रूणों को हमेशा ताज़ा ही स्थानांतरित किया जाना चाहिए।

इन-विवो और इन-विट्रो भ्रूण प्रत्यारोपण (Embryo Transfer Process):

प्राप्तकर्ता मादाओं (Recipient Females) का चयन:

भ्रूण को स्वीकार करने वाली मादाओं (सरोगेट मदर) का चयन बहुत सावधानी से किया जाना चाहिए:

- प्राप्तकर्ता पशु स्वस्थ, जन्मजात या संक्रामक रोगों से मुक्त और अच्छे प्रजनन रिकॉर्ड वाले होने चाहिए।
- उनकी आयु 3 से 8 वर्ष के बीच होनी चाहिए। यदि बछिया (Heifers) हैं, तो उन्होंने अपने वयस्क वजन का 65-70% प्राप्त कर लिया हो और उनका

मद चक्र नियमित होना चाहिए।

- स्थानांतरण के समय उनका शारीरिक स्थिति स्कोर (BCS) 2.5 से 3 के बीच होना चाहिए।
- मलाशय परीक्षण द्वारा उनके अंडाशय पर एक स्पष्ट कॉर्पस ल्यूटियम (CL) का होना अनिवार्य है।

दाता-प्राप्तकर्ता समकालन (Donor-Recipient Synchrony):

प्राप्तकर्ता मादा के गर्भाशय का वातावरण दाता गाय के गर्भाशय के बिल्कुल समान होना चाहिए। इसके लिए दोनों के मद चक्र का समकालन (सिंक्रोनाइजेशन) इस प्रकार किया जाता है कि प्राप्तकर्ता का मद में आने का समय दाता गाय के कृत्रिम गर्भाधान के समय से मेल खाए, ताकि जब 7वें दिन भ्रूण निकाला जाए, तो प्राप्तकर्ता का गर्भाशय भी 7 दिन के भ्रूण को ग्रहण करने के लिए पूरी तरह तैयार हो।

प्रत्यारोपण की विधियाँ (Methods of Transfer):

1. **सर्जिकल भ्रूण प्रत्यारोपण:** इसमें प्राप्तकर्ता पशु के फ्लैंक वाले हिस्से में स्थानीय निश्चेतन (Local anesthesia) देकर लगभग 15 सेमी का चीरा लगाया जाता है। जिस तरफ के अंडाशय पर CL होता है, उसी तरफ के गर्भाशय हॉर्न के अग्र भाग में एक कुंद सुई से छेद करके ग्लास पिपेट की सहायता से भ्रूण को गर्भाशय के ल्यूमेन (Lumen) में छोड़ दिया जाता है।
2. **गैर-सर्जिकल भ्रूण प्रत्यारोपण:** यह एआई (AI) के समान ही एक अत्यंत सरल और सुरक्षित प्रक्रिया है। इसमें मानक 'कैसो इनसेमिनेटिंग गन' (Cassou Inseminating Gun) का उपयोग किया जाता है। 0.25 mL की प्लास्टिक स्ट्रॉ में भ्रूण को लोड किया जाता है। प्राप्तकर्ता पशु को एपिड्यूरल निश्चेतक (Epidural anaesthetic) दिया जाता है ताकि गर्भाशय की मांसपेशियां शांत रहें। गन को गर्भाशय ग्रीवा के पार ले जाकर भ्रूण को CL वाले हॉर्न के मध्य भाग में सुरक्षित रूप से जमा कर दिया जाता है।

प्राप्तकर्ताओं में गर्भ परीक्षण (Pregnancy Diagnosis):

- **प्रथम संकेत:** प्रत्यारोपण के 18-24 दिनों के बाद प्राप्तकर्ता मादा का दोबारा मद के लक्षण न दिखना।
- **प्रोजेस्टेरोन परीक्षण:** मद के 22-24 दिन बाद दूध या रक्त के नमूनों में प्रोजेस्टेरोन का स्तर मापना, जो गैर-गर्भावस्था के लिए 95% और गर्भावस्था के लिए 80% सटीक होता है।
- **प्लेसेंटा-व्युत्पन्न प्रोटीन (PAG):** गर्भावस्था के 24 से 28वें दिन प्लाज्मा में इन प्रोटीनों का सटीक पता लगाया जा सकता है।
- **अल्ट्रासोनोग्राफी:** बछिया में 26वें दिन और वयस्क गायों में 28वें दिन अल्ट्रासाउंड द्वारा गर्भ का सटीक निदान किया जा सकता है। field परिस्थितियों में इसकी अत्यधिक अनुशंसा की जाती है।
- **मलाशय परीक्षण (Rectal Palpation):** गर्भावस्था के 45 से 60 दिनों पर पारंपरिक विधि से इसकी पुष्टि की जा सकती है।

तुलनात्मक अर्थशास्त्र (Comparative Economics):

एक आईवीएफ (OPU/IVP) भ्रूण के उत्पादन की लागत पारंपरिक MOET विधि की तुलना में लगभग 1.5 गुना अधिक होती है (वीर्य की लागत को छोड़कर)। इसके बावजूद, आईवीएफ तकनीक से प्रति यूनिट समय में मिलने वाले बछड़ों की संख्या बहुत अधिक होती है। एक आर्थिक रूप से व्यवहार्य प्रयोगशाला या क्लिनिक के लिए सालाना कम से कम 200 बार भ्रूण संग्रह और लगभग 1000 भ्रूण प्रत्यारोपण करना आवश्यक है।

तकनीकी लागत का विवरण (लागत रुपये में):

भ्रूण उत्पादन विधि	सुविधाओं और उपकरणों की लागत	फ्रोजन सीमेन की कुल फीस	उपभोग्य सामग्रियों की फीस	विधि की कुल लागत
MOET (X सॉर्टेड सीमेन के साथ)	₹3,895.24	₹15,006.02	₹20,462.18	₹39,375.16
IVEP (X सॉर्टेड सीमेन के साथ)	₹4,535.48	₹3,751.67	₹7,209.36	₹15,494.78

प्रति तकनीकी सेवा बछिया उत्पादन की दक्षता:

भ्रूण उत्पादन विधि	प्रति तकनीकी सेवा मूल्य	एकत्रित स्थानांतरण योग्य मादा भ्रूण	बछिया उत्पादन दर (%)	प्रति बछिया लागत
MOET (X सॉर्टेड सीमेन)	₹39,375.16	1.6	40.0%	₹71,791.36
IVEP (X सॉर्टेड सीमेन + IVM)	₹15,494.78	1.3	40.5%	₹39,562.95
IVEP (X सॉर्टेड सीमेन + FGS)	₹32,541.47	4.2	31.0%	₹38,225.59

भारत में भ्रूण प्रत्यारोपण कार्यक्रम का अपेक्षित वार्षिक व्यय और आय मॉडल:

वार्षिक व्यय (Expenditure):

- 1200 भ्रूणों का उत्पादन (उपभोग्य सामग्रियां, मीडिया, हार्मोन आदि @ ₹4500/भ्रूण): ₹54.00 लाख
- किसानों के संग्रहित दाताओं पर OPU प्रक्रिया (300 OPU/वर्ष @ ₹5000/OPU): ₹15.00 lakh
- 800 प्राप्तकर्ताओं का समकालन (Synchronization @ ₹2000/प्राप्तकर्ता): ₹16.00 लाख
- जनशक्ति (Embryologist आदि का वेतन @ ₹1 लाख/माह): ₹10.00 लाख
- कोख किराए पर लेना (Hiring of womb @ ₹10000/प्राप्तकर्ता): ₹20.00 लाख
- दाताओं का रखरखाव: ₹85.00 लाख
- कुल वार्षिक व्यय: ₹200.00 लाख**

लागत की वसूली और आय (Income):

- 600 भ्रूणों की बिक्री (@ ₹5000/भ्रूण): ₹30.00 लाख
- 6 महीने के बछड़ों की बिक्री (200 संख्या @ ₹75,000/बछड़ा): ₹150.00 लाख
- परामर्श शुल्क (Consultancy fees): ₹12.00 लाख
- पशुपालन योजनाओं से संसाधनों का संयोजन: ₹12.00 लाख
- कुल वार्षिक आय: ₹200.00 लाख**

भारत में MOET और IVF की वर्तमान स्थिति (Current Status):

भारत में संगठित भ्रूण प्रत्यारोपण प्रौद्योगिकी (ETT) की शुरुआत वर्ष 1987 में 'राष्ट्रीय डेयरी विकास बोर्ड' (NDDB) द्वारा साबरमती आश्रम

गौशाला (SAG), बीदज, गुजरात में एक केंद्रीय ईटी प्रयोगशाला की स्थापना के साथ हुई थी। इस परियोजना को भारत सरकार के जैव प्रौद्योगिकी विभाग (DBT) द्वारा वित्तपोषित किया गया था। इस नेटवर्क के तहत देश भर में 14 राज्य ईटी केंद्र स्थापित किए गए। साबरमती आश्रम गौशाला (SAG) ने इस क्षेत्र में अग्रणी कार्य करते हुए अब तक सर्वाधिक 14,388 व्यवहार्य भ्रूण और 755 बछड़े पैदा किए हैं, जिनमें स्वदेशी नस्लों के 122 बछड़े शामिल हैं। वर्ष 1991 में इसी परियोजना के तहत जमे हुए और पिघलाए गए (Frozen-thawed) भ्रूण से भारत के पहले भैंस के कटड़े का जन्म हुआ था।

भारत दूध उत्पादन में दुनिया का अग्रणी देश है, लेकिन यहाँ प्रति पशु औसत उत्पादकता केवल 1,924 किलोग्राम प्रति वर्ष है, जो वैश्विक मानकों से काफी कम है। इस उत्पादकता को बढ़ाने के लिए 'राष्ट्रीय गोकुल मिशन' (RGM) के तहत देश भर में आईवीएफ प्रयोगशालाएं स्थापित की गई हैं। राष्ट्रीय कार्य योजना (NAP) के तहत वर्ष 2023-24 तक देश में 50 ईटीटी-आईवीएफ प्रयोगशालाएं स्थापित करने का लक्ष्य रखा गया था, ताकि वीर्य स्टेशनों और प्रजनक फार्मों के लिए उच्च आनुवंशिक योग्यता वाले सांड और बछिया तैयार की जा सकें।

राष्ट्रीय गोकुल मिशन (RGM) के तहत कार्यात्मक प्रमुख प्रयोगशालाओं की स्थिति (31 मई 2022 तक):

1. कालसी, उत्तराखंड (उत्तराखंड पशुधन विकास बोर्ड): 690 आईवीएफ भ्रूण और 132 आईवीएफ बछड़े उत्पादित किए।
2. माटुपेटी, केरल (केरल पशुधन विकास बोर्ड): 340 आईवीएफ भ्रूण और 3 आईवीएफ बछड़े।
3. GADVASU, लुधियाना, पंजाब: 275 आईवीएफ भ्रूण और 1 आईवीएफ बछड़ा।
4. SAG, बीदज, गुजरात: 250 आईवीएफ भ्रूण और 71 आईवीएफ बछड़े।
5. BAIF, उरुलीकांचन, पुणे, महाराष्ट्र: 1,925 आईवीएफ भ्रूण और 15 आईवीएफ बछड़े।

इन-विट्रो उत्पादन (IVEP) के लाभ और कमियाँ (Advantages & Drawbacks):

लाभ (Advantages):

- **हार्मोन मुक्त प्रक्रिया:** इन-विट्रो भ्रूण उत्पादन के विपरीत, OPU/IVEP में दाता पशु को बिना किसी बाहरी हार्मोन के इंजेक्शन दिए ही अंडाणु प्राप्त किए जा सकते हैं।
- **कम समय अंतराल:** सुपरओव्यूलेशन (MOET) के लिए पशु को 40 से 60 दिनों का विश्राम देना पड़ता है और इसे जीवन में केवल 3-4 बार ही किया जा सकता है। इसके विपरीत, ओवम पिक-अप (OPU) को हर 15 से 30 दिन में एक बार, और बिना किसी नुकसान के लगातार 20 बार तक दोहराया जा सकता है।
- **वर्गीकृत वीर्य का कुशल उपयोग:** लिंग-वर्गीकृत वीर्य की गुणवत्ता एआई के लिए कमजोर हो सकती है, लेकिन आईवीएफ प्रयोगशाला के नियंत्रित वातावरण में यह बेहतर परिणाम देता है।
- **गर्भवती पशुओं का उपयोग:** आईवीएफ तकनीक के माध्यम से प्रारंभिक गर्भावस्था के पहले 3 महीनों के दौरान भी गर्भवती गायों के अंडाशय से सफलतापूर्वक ऊसाइट्स निकाले जा सकते हैं, जो MOET में असंभव है।
- **वीर्य की बचत:** आईवीएफ में वीर्य की एक ही खुराक का उपयोग करके 10 अलग-अलग मादाओं के ऊसाइट्स को निषेचित किया जा सकता है, जिससे बहुमूल्य और महंगे सांडों के वीर्य का अधिकतम उपयोग होता है।

कमियाँ (Drawbacks):

- **अत्यधिक कुशल जनशक्ति की आवश्यकता:** आईवीएफ तकनीक में कई सूक्ष्म चरण होते हैं, इसलिए इसके संचालन के लिए अत्यधिक प्रशिक्षित और अनुभवी वैज्ञानिकों एवं तकनीशियनों की आवश्यकता होती है।

- **फ्रीजिंग में कठिनाई:** पारंपरिक भ्रूणों की तुलना में इन-विट्रो निर्मित (IVP) भ्रूणों की संरचना नाजुक होती है, जिससे वे सामान्य फ्रीजिंग के दौरान गंभीर रूप से क्षतिग्रस्त हो सकते हैं। उनके लिए क्रायोप्रिजर्वेशन और दोबारा गर्म करने (Rewarming) की प्रक्रिया अत्यधिक संवेदनशील होती है।
- **आनुवंशिक जोखिम:** चूंकि एक ही मादा से एक वर्ष में सैकड़ों भ्रूण तैयार किए जा सकते हैं, इसलिए यदि दाता मादा के चयन में कोई त्रुटि होती है, तो पूरे झुंड में नकारात्मक गुणों के फैलने का जोखिम बहुत अधिक बढ़ जाता है।

निष्कर्ष:

भ्रूण प्रत्यारोपण प्रौद्योगिकी (ETT), विशेष रूप से OPU-IVF, आधुनिक पशुधन सुधार का एक शक्तिशाली स्तंभ बन चुकी है। हालांकि आईवीएफ तकनीक में अभी भी कुछ सीमाएं हैं, जैसे कि इन-विट्रो भ्रूणों की तुलना में थोड़ी कम गर्भधारण दर और प्रयोगशालाओं के संचालन की उच्च लागत, लेकिन कम समय में आनुवंशिक प्रगति हासिल करने के इसके लाभ इन सीमाओं पर भारी पड़ते हैं।

भविष्य का अनुसंधान मुख्य रूप से 'लार्ज ऑफस्प्रिंग सिंड्रोम' (LOS) के मूल कारणों को खोजने और भ्रूण के स्तर पर ही 'मार्कर असिस्टेड सिलेक्शन' (Marker Assisted Selection - MAS) या 'जीन असिस्टेड सिलेक्शन' (Gene Assisted Selection - GAS) को अधिक कुशल बनाने पर केंद्रित होना चाहिए। मवेशियों के जीनोम की पूरी कोडिंग उपलब्ध होने के बाद, यह तकनीक उच्च मूल्य वाले दुर्लभ जीनों और मात्रात्मक विशेषता वाले लोकी (Quantitative Trait Loci - QTL) को तेजी से गुणा करने में अमूल्य साबित होगी। अंततः, भारत जैसे विकासशील डेयरी प्रधान देश में, ग्रामीण स्तर तक आईवीएफ और एमओईटी तकनीकों का सही एकीकरण हमारी स्वदेशी और संकर नस्लों के कायाकल्प में एक युगांतकारी मील का पत्थर साबित होगा।