

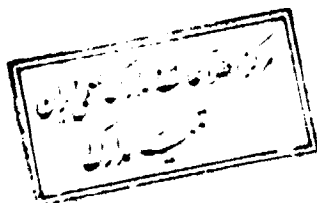
۲۵۰۷۵

۱۳۷۸ / ۴ / ۲۰

دانشگاه فردوسی مشهد

دانشکده کشاورزی

گروه علوم دامی



پایان نامه جهت اخذ درجه

کارشناسی ارشد در رشته علوم دامی

موضوع

بررسی اثرات تزریق GnRH بر عملکرد تولیدمثلی
میشهای نژاد بلوچی در خارج از فصل تولید مثل

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر محمد جواد ضمیری

اساتید مشاور:

جناب آقای دکتر فریدون افتخار شاهرودی

جناب آقای دکتر محمد حسن خزاعی

تحقیق و نگارش:

علیرضا هروی موسوی

سال تحصیلی: ۷۴-۷۳

۲۵۰۷۵

2008/2

حروفچینی لیزری و تکثیر چاپاک (مشهد)

تقدیم به :

تمامی کشتگان راه حق و حقیقت .
آنانی که در جوار رحمت پروردگارشان حیات جاودانه دارند .

تقدیم به :

روح بلند مادرم
او که انسان بود و انسانیت می آموخت
او که عزیز بود و عزت می آموخت
و خلاصه او که فاطمه بود و یگانه

تقدیم به :

پدر بزرگوارم
که با دلسوزی و محبت موجبات ادامه تحصیل را میسر ساخت

تقدیم به :

همسرم که با صبر و بردباری مشکلات فراوان دوران تحصیل را
پذیرفت و درس استقامت آموخت .

تقدیم به :

برادران بزرگوارم که همواره یاورانم بوده‌اند.



بسمه تعالی

باتأیید خداوند متعال و با استعانت از حضرت ولی عصر (عج)، جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد آقای مهندس علیرضا هروی موسوی رشته دامپروری تحت عنوان:
بررسی اثرات تزریق GnRH بر عملکرد تولیدمثلی میشهای نژاد بلوچی در

خارج از فصل تولید مثل

با حضور استاد راهنما و هیأت داوران در محل دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در روز پنجشنبه ۱۵/۴/۷۴ ساعت ۱۲-۱۰ صبح تشکیل و با موفقیت دفاع گردید و نمره نوزده رتبه اول را با امتیاز $\frac{17}{20}$ دریافت نمود.

هیأت داوران:

استاد راهنما:

جناب آقای دکتر محمد جواد ضمیری

اساتید مشاور:

۱- جناب آقای دکتر فریدون افتخار شاهرودی

۲- جناب آقای دکتر محمد حسن خزاکی

تشکر و قدردانی

با ستایش و سپاس به درگاه ایزد یکتا و آرزوی فرج حضرت مهدی (عج)، لازم است از کلیه اساتید، همکاران و دوستانی که در مراحل انجام این پژوهش قبول زحمت نموده‌اند، سپاسگزاری نمایم. به خصوص اساتید گرامی آقای دکتر محمد جواد ضمیری (استاد رهنما) و آقایان دکتر فریدون افتخار شاهرودی و دکتر محمدحسن خزاعی (اساتید مشاور) که راهنمائیهای ارزنده‌شان امکان شروع و ادامه کار را فراهم آورد.

- از اساتید محترم گروه دامپروری دانشکده کشاورزی مشهد بویژه مدیریت محترم گروه علوم دامی، جناب آقای دکتر نصیری و همچنین استاد ارجمند جناب آقای دکتر گلپان.
- مسئولین محترم ایستگاه دامپروری آقایان مهندس حیدریان و مهندس رضیان.
- پرسنل بخش اندوکرینولوژی بیمارستان قائم بویژه استاد گرامی آقای دکتر عبدی نژاد.
- پرسنل محترم آزمایشگاه تشخیص طبی پاستور بویژه خانم محمدیان.
- پرسنل محترم آزمایشگاه تشخیص طبی مؤید بویژه آقای دکتر روشنی، دکتر مؤید، خانم صبوری و خانم حسین زاده.

- مسئولین محترم آزمایشگاه تغذیه دام دانشکده سرکار خانم مهندس حیدریان و خانم کیانی.

- مسئولین محترم امور آزمایشگاه‌ها آقایان مهندس شریف و مهندس آرمین.
- کارکنان محترم واحد کامپیوتر حسابداری، کارپردازی، امور عمومی، نقلیه، چاپ و تکثیر و سمعی و بصری دانشکده.

- آقایان مهندسین طهمورث پور، محمدزاده، حسن آبادی، محرری، شعریاف، طوسی، پارسائی، سالار معینی، انوشه، ریاسی، قیصری، دانایی و کیانی و همچنین دوست ارجمند آقای علی صالحی مقدم کمال تشکر سپاسگزاری را دارم.

از مؤسسه تایپ و تکثیر چاپاک بویژه آقای مسّاح، خانم طالبی و خانم جوان که زحمت تایپ پایان نامه را کشیده‌اند تشکر می‌نمایم.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
چکیده فارسی	الف.
مقدمه	د.
فصل اول: پدیده‌های تولید مثلی در گوسفند	
۱-۱) فصل تولید مثل	۱.
۱-۱-۱) فصل تولید مثل در حیوان ماده	۱.
۱-۱-۲) فصل تولید مثل در حیوان نر	۲.
۱-۲) چرخه فحلی	۲.
۱-۲-۱) پرواستروس	۲.
۱-۲-۲) استروس	۳.
۱-۲-۳) مت استروس	۴.
۱-۲-۴) دای استروس	۴.
۱-۳) تغییرات هورمون چرخه فحلی	۵.
۱-۴) جفت‌گیری و لقاح سلولهای جنسی	۶.
۱-۵) آبستنی و زایش	۷.
۱-۵-۱) آبستنی	۷.
۱-۵-۲) زایش	۸.
۱-۶) پیوپریوم	۸.
فصل دوم: اندوکرینولوژی تولید مثل	
۲-۱) تعریف اندوکرینولوژی	۱۰.
۲-۲) طبقه‌بندی و خواص هورمونهای تولید مثلی	۱۰.
۲-۳) آناتومی هیپوتالاموس - هیپوفیز	۱۱.
۲-۴) سیستم هیپوتالاموس - هیپوفیز	۱۲.
۲-۴-۱) هیپوتالاموس	۱۴.

۱۴.....	۲-۴-۲) سیستم وسکولار
۱۵.....	۲-۴-۳) هیوفیز
۱۶.....	۲-۴-۴) سلولهای ادنوهیوفیز
۱۷.....	۲-۴-۵) سلولهای پارس انترمدیا
۱۷.....	۲-۴-۶) سلولهای نوروهیوفیز
۱۷.....	۲-۵) تنظیم اعمال هیوفیزی
۱۸.....	۲-۵-۱) هورمونهای هیوفیز وتروپیک
۱۹.....	۲-۵-۲) سیستم نوروترانسمیتری
۱۹.....	۲-۶) هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GnRH)
۲۲.....	۲-۷) دینامیک ترشح GnRH در طی یک پالس
۲۲.....	۲-۸) دینامیک ترشح GnRH در طی سرژ GnRH با توجه به مکانیزم ایجاد سرژ GnRH
۲۳.....	۲-۹) آزادسازی LH و FSH
۲۳.....	۲-۹-۱) هورمون محرک فولیکول (FSH)
۲۴.....	۲-۹-۲) هورمون لوتئینه کننده (LH)
۲۴.....	۲-۱۰) ترشح گنادوتروپین ها
فصل سوم: انستروس	
۲۷.....	۳-۱) انستروس فصلی
۲۷.....	۳-۲) انستروس در دوره شیردهی
۲۸.....	۳-۳) انستروس ناشی از پیری
۲۸.....	۳-۴) کمبودهای تغذیه ای
۲۹.....	۳-۵) تنش (استروس)
۲۹.....	۳-۶) انستروس فصلی در گوسفند

۳-۷	اندوکرینولوژی انستروس فصلی	۳۲
۳-۷-۱	تغییر فراوانی پالس LH و غلظت پروژسترون سرم در مرحله گذر از فصل انستروس به فصل تولید مثل	۳۳
۳-۷-۲	تغییرات فصلی ترشح GnRH در میش	۳۵

فصل چهارم: همزمان سازی چرخه فحلی در گوسفند

۴-۱	تاریخچه توسعه روشهای کنترل فحلی در گوسفند	۳۷
۴-۲	همزمان سازی فحلی و تخمکریزی در گوسفند	۳۸
۴-۲-۱	کوتاه نمودن مدت ترشح پروژسترون در میش با استفاده از پروستاگلندین ۳۸
۴-۲-۲	اسفنج های پروژستاژنی، وسیله ای جهت افزایش مدت ترشح پروژسترون در میش	۳۹
۴-۳	همزمان سازی فحلی در میشهای انستروس	۴۰
۴-۴	همزمان سازی فحلی در میشهای شیرده	۴۱
۴-۵	مصرف خوراکی پروژستاژن	۴۱
۴-۶	مصرف زیر پوستی پروژستاژن	۴۲

فصل پنجم: تشخیص آبستنی

۵-۱	اهمیت تشخیص آبستنی	۴۳
۵-۲	روشهای تشخیص آبستنی در گوسفند	۴۴
۵-۲-۱	روشهای کلینیکی	۴۴
۵-۲-۱-۱	روش اولتراسوند	۴۴
۵-۲-۱-۱-۱	پدیده داپلر	۴۵
۵-۲-۱-۱-۲	اسکن فرا صوتی ریل تایم	۴۵
۵-۲-۱-۱-۳	فرا صوت پالس-اکو	۴۶
۵-۲-۱-۲	آزمایش رکتال	۴۷
۵-۲-۱-۳	رادیوگرافی	۴۷

۴۷.....	۵-۲-۲) روشهای آزمایشگاهی تشخیص آبستنی در گوسفند
۴۸.....	۵-۲-۲-۱) بیوپسی از واژن
۴۸.....	۵-۲-۲-۲) روشهای ایمنولوژیکی
۴۸.....	۵-۲-۲-۲-۱) ترکیبات وابسته به آبستنی
۴۸.....	۵-۲-۲-۲-۱-۱) فاکتور ابتدای آبستنی (EPF)
۴۹.....	۵-۲-۲-۲-۱-۲) آنتی ژنهای وابسته به آبستنی
۴۹.....	۵-۲-۲-۲-۲) هورمونها
۴۹.....	۵-۲-۲-۲-۲-۱) سوماتوتروپین جفت
۵۰.....	۵-۲-۲-۲-۲-۲) استرون سولفات
۵۰.....	۵-۲-۲-۲-۲-۳) پروژسترون
۵۱.....	۵-۳) پروژسترون - هورمون آبستنی
۵۴.....	۵-۳-۱) جابجائی پروژسترون در خون
۵۴.....	۵-۳-۲) پروفیل پروژسترون
۵۴.....	۵-۳-۲-۱) پروفیل پروژسترون در طی چرخه فحلی
۵۶.....	۵-۳-۲-۲) پروفیل پروژسترون در آبستنی و زایش
۵۸.....	۵-۳-۳) روشهای تشخیصی و تعیین پروژسترون در خون
۵۸.....	۵-۳-۳-۱) کروماتوگرافی گاز - مایع (GLC)
۵۸.....	۵-۳-۳-۱-۱) مرحله آماده سازی پلاسما
۵۹.....	۵-۳-۳-۱-۲) مرحله استخراج و صابونی کردن
۵۹.....	۵-۳-۳-۱-۳) مرحله جداسازی پروژسترون
۵۹.....	۵-۳-۳-۱-۴) مرحله تبدیل آنزیمی
۶۰.....	۵-۳-۳-۱-۵) مرحله استیلاسیون
۶۰.....	۵-۳-۳-۱-۶) مرحله کروماتوگرافی گاز - مایع (GLC)

۶۰.....	۷-۱-۳-۵) مرحله شناسایی پروژسترون
۶۰.....	۲-۳-۵) کروماتوگرافی TLC
۶۱.....	۴-۳-۵) اندازه‌گیری پروژسترون با روش ایمنونواسی
۶۳.....	۱-۴-۳-۵) ایمنونواسی
۶۳.....	۱-۱-۴-۳-۵) تولید آنتی‌بادی
۶۵.....	۲-۱-۴-۳-۵) هورمون label شده
۶۶.....	۳-۱-۴-۳-۵) جداسازی هورمون چسبیده به آنتی‌بادی و هورمون آزاد
۶۸.....	۴-۱-۴-۳-۵) معیارهای روایی
۶۸.....	۱-۴-۱-۴-۳-۵) اختصاصی بودن
۷۰.....	۲-۴-۱-۴-۳-۵) حساسیت
۷۰.....	۳-۴-۱-۴-۳-۵) دقت
۷۱.....	۴-۴-۱-۴-۳-۵) روایی
۷۱.....	۲-۴-۳-۵) سنجش رقابتی اتصال پروتئین

فصل ششم: بررسی پژوهشهای انجام شده با GnRH

۷۲.....	۱-۶) استفاده از GnRH در گاو
۷۶.....	۲-۶) استفاده از GnRH در خوک
۷۶.....	۳-۶) استفاده از GnRH در اسب
۷۷.....	۴-۶) استفاده از GnRH در گوسفند

فصل هفتم: مواد و روش‌ها

۹۸.....	۱-۷) محل اجرای طرح
۹۸.....	۲-۷) آزمایش اول
۹۸.....	۱-۲-۷) همزمان سازی فعلی میشها
۱۰۰.....	۲-۲-۷) تیمارهای آزمایش

۱۰۱.....	۷-۲-۳) نحوه جفت‌گیری	۱۰۱.....
۱۰۱.....	۷-۲-۴) نمونه‌گیری	۱۰۱.....
۱۰۲.....	۷-۳) آزمایش دوم	۱۰۲.....
۱۰۳.....	۷-۴) روش اندازه‌گیری غلظت پروژسترون	۱۰۳.....
۱۰۵.....	۷-۵) پروتکل اندازه‌گیری میزان پروژسترون	۱۰۵.....
۱۰۸.....	۷-۶) خصوصیات کیفی کیت مورد استفاده	۱۰۸.....
۱۰۸.....	۷-۶-۱) کالیبراسیون	۱۰۸.....
۱۰۸.....	۷-۶-۲) بازیافت	۱۰۸.....
۱۰۹.....	۷-۶-۳) تکرارپذیری	۱۰۹.....
۱۰۹.....	۷-۶-۴) حساسیت	۱۰۹.....
۱۰۹.....	۷-۶-۵) اختصاصی بودن	۱۰۹.....
۱۱۰.....	۷-۷) سنجش میزان پروژسترون در نمونه‌ها با استفاده از RIA	۱۱۰.....
۱۱۱.....	۷-۷-۱) سنجش میزان پروژسترون بر اساس پروتکل ۷-۵	۱۱۱.....
۱۱۱.....	۷-۷-۲) سنجش میزان پروژسترون بر اساس افزودن اسید به نمونه‌های سرمی	۱۱۱.....
۱۱۱.....	۷-۷-۳) سنجش میزان پروژسترون بر اساس استخراج پروژسترون	۱۱۱.....
۱۱۴.....	۷-۷) آنالیز آماری داده‌ها	۱۱۴.....
	فصل هشتم :	
۱۱۵.....	نتایج و بحث	۱۱۵.....
۱۳۴.....	نتیجه‌گیری و توصیه	۱۳۴.....
۱۳۵.....	جداول	۱۳۵.....
۱۴۸.....	نمودارها	۱۴۸.....
۱۵۸.....	فهرست منابع	۱۵۸.....
	چکیده انگلیسی	

فهرست شکل‌ها و نمودارها

صفحه

عنوان

۴.....	شمای ساده‌ای از چرخه فحلی میش.
۵.....	شمای تغییرات هورمونی چرخه فحلی میش
۶.....	چگونگی کنترل هورمونی چرخه فحلی میش را نشان می‌دهد.
۱۱.....	نمای شماتیک هسته‌های هیپوتالاموس و هیپوفیز.
۱۳.....	نمایش شماتیک ارتباط‌های هیپوتالاموس و هیپوفیز
۱۶.....	نمایش شماتیک بخش‌های داخلی هیپوفیز پرندگان و پستانداران
۱۸.....	تنظیم هیپوفیزوتروپیک ترشح هورمون‌های هیپوفیزی
۲۱.....	ترتیب اسیدهای آمینه GnRH
	تغییرات میانگین \pm انحراف معیار خطای غلظت پلاسمایی پروژسترون و LH در استروس
۲۵.....	طبیعی و پس از حذف ایمپلنت پروژسترونی
۵۲.....	مسیر سنتز استروئیدهای فعال بیولوژیکی از استات.
۵۳.....	بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی از کلسترول
۵۵.....	غلظت پروژسترون در خون محیطی میشهایی با چرخه ۱۷ روزه
۵۷.....	میزان پروژسترون میش آبستن
	غلظت پروژسترون در پلاسمای محیطی، در طی ۱۱ روزه آخر آبستنی میشهایی که یک قلو و یا
۵۷.....	دوقلو آبستن هستند.
۵۸.....	غلظت پروژسترون در میش در دوره قبل و بعد از آبستنی
۶۲.....	اصول RIA بر مبنای توانایی پروتئین باندکننده در اتصال با هورمون label دار
۶۹.....	ترتیب اتمهای کربن اسکلت استروئیدها.
۹۹.....	فرمول ساختمانی مدروکسی پروژسترون استات.
۱۰۷.....	نمونه‌ای از منحنی استاندارد در روش لگاریتمی - خطی (Log - Linear)
۱۸.....	نمونه‌ای از منحنی استاندارد در روش نیمه لگاریتمی - لگاریتمی (Logit - Log)

۱۴۸.....	بروز فحلی در میشهای غیرشیرده
۱۴۹.....	بروز فحلی در میشهای شیرده
۱۵۰.....	بروز فحلی در میشهای گروه GnRH
۱۵۱.....	بروز فحلی در میشهای گروه شاهد
۱۵۲.....	بروز فحلی در میشهای غیرشیرده (بر حسب ساعت)
۱۵۳.....	بروز فحلی در میشهای شیرده (بر حسب ساعت)
۱۵۴.....	بروز فحلی در میشهای گروه GnRH (بر حسب ساعت)
۱۵۵.....	بروز فحلی در میشهای شاهد (بر حسب ساعت)
۱۵۶.....	غلظت پروژسترون خون محیطی در میش شماره ۷
۱۵۷.....	غلظت پروژسترون خون محیطی در میش شماره ۷۷

فهرست جداول

صفحه

عنوان

۲۱.....	ارتباط ساختمانی LH-RH با برخی از انتاگونیستها و اگونیستها (محرکها)
۴۲.....	روشهای پروژستانی همراه با PMSG، برای ایجاد فحلی در میش
۱۰۶.....	پروتکل اندازه گیری پروژسترون
۱۰۹.....	تکرارپذیری کیت مورد استفاده در اندازه گیری پروژسترون
۱۱۰.....	کراس ری اکشن استروئیدها در کیت مورد استفاده در اندازه گیری پروژسترون
۱۱۳.....	درصد بازیافت استروئیدهای افزوده شده به پلاسما و استخراج آنها توسط پترولیوم اتر
۱۱۴.....	دقت تخمین پروژسترون افزوده شده به پلاسما
۱۳۵.....	میزان بروز فحلی در میشهای غیرشیرده
۱۳۵.....	میزان بروز فحلی در میشهای شیرده
۱۳۵.....	بروز فحلی در میشهای غیرشیرده (بر حسب ساعت)
۱۳۶.....	بروز فحلی در میشهای شیرده (بر حسب ساعت)
۱۳۶.....	مقایسه غلظت پروژسترون در ۱۶ و ۲۰ روز پس از پایان تزریق GnRH در حالت اسیدی
۱۳۷.....	غلظت پروژسترون در نمونه های استخراج شده توسط پترولیوم اتر
۱۴۴.....	مقایسه غلظت پروژسترون خون محیطی در سرم خالص و اسیدی
۱۴۵.....	غلظت پروژسترون خون محیطی میشهای آزمایش دوم

بررسی اثرات تزریق GnRH بر عملکرد تولید مثلی میشهای نژاد بلوچی در خارج از فصل تولید مثل

چکیده:

آزمایش اول: در این آزمایش اثرات تزریق GnRH بر عملکرد تولید مثلی میشهای انستروس شیرده ($n=20$) و غیرشیرده ($n=16$) نژاد بلوچی بررسی شد. در این آزمایش از ۳۶ راس میش در سنین مختلف استفاده شد که تا زمان شروع آزمایش دست کم ۳۵ روز از آخرین زایش آنها گذشته بود. میشها، بر اساس سن و تعداد زایش به جفتهای مشابه تقسیم شده و سپس در چهارگروه آزمایشی قرار گرفتند.

برای همزمان سازی فحلی بدلیل عدم امکان تهیه اسفنجهای واژنی آزادکننده پروژستازن، مدروکسی پروژسترون استات در ماهیچه تزریق شد. بدین ترتیب در هفت تزریق و با فواصل ۴۸ ساعت، هر بار ۱۲ میلی گرم مدروکسی پروژسترون استات (۰/۰۸ سی سی) درون ماهیچه تزریق شد. هفتاد و دو ساعت پس از آخرین تزریق مدروکسی پروژسترون استات، یک آنالوگ GnRH به نام بوزرلین به شکل زیرپوستی تزریق شد. شیوه تزریق GnRH به صورت زیر بود. در یک دوره شانزده ساعته، در هر ساعت ۲۵۰ نانوگرم GnRH به هر میش تزریق شد. در ساعت شانزدهم، به هر میش ۲/۲۵ میکروگرم GnRH تزریق و پس از آن تا چهارده ساعت بعد، به فواصل نیم ساعت به هر میش، ۲۵۰ نانوگرم GnRH تزریق گردید. پس از آخرین تزریق GnRH، پنج رأس قوچ بلوچی با دوز وارد گله شدند تا به صورت تصادفی با میشها جفت گیری نمایند. حداقل بمدت دو چرخه فحلی، قوچها در گله بودند. به منظور بررسی فعالیت جسم زرد، و به فواصل چهار روز، نمونه های خونی نزدیک به ۱۰ میلی لیتر از سیاهرگ گردن تهیه و پروژسترون نمونه ها با استفاده از رادیوایمینوآسی اندازه گیری شد.

غلظت پروژسترون در نمونه های خون محیطی میشهای بروز دهنده فحلی، غیرقابل تشخیص (کمتر از ۰/۴ نانوگرم در میلی لیتر) بود. تفاوت معنی داری در بروز فحلی میشهای شیرده و غیر شیرده گروه GnRH و شاهد مشاهده نشد. تزریق GnRH سبب کاهش