دانشکده کشاورزی

گروه علوم دامی

پایان نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد

گرایش فیزیولوژی دام

موضوع:

تاثیر نوع رقیق کننده و زمان تعادل بر روی پارامترهای حرکتی اسپرم گاومیش قبل و بعد از انجماد توسط CASA

استاد راهنما: دکتر فرهاد فرخی اردبیلی

استاد مشاور:دکتر ایرج برنوسی

پژوهش و نگارش :

فرزاد فرجی

بهمن ۱۳۹۰

حق چاپ برای دانشگاه ارومیه محفوظ است

تقدیم به :

پدر و مادر مهربانم که دعـای خیرشـان را بدرقـه راهـم سـاختند و مسیر سربلندی را به شیواترین روش به من آموختند

به همسر مهربـانم کـه بـا صـبوری ،مهربـانی و دلگرمـی هـایش مشوق و همراه من در زندگی است

به پسرم پرهـام کـه شـیرینی زنـدگی و امیـدواری آینـده مـان هست

تشکر و قدردانی

حمد وسپاس خداوندی که به ما نعمت آموختن را عطا کرد تا با آن از تاریکی غفلت رهایی یابیم و ستایش او را که تجلی وجودش در دو گوهر گرانمایه برای زندگی ام بود. مادری که هزاران بار دستش را می بوسم و پدری که والاترین استاد زندگیم است.

استاد عزیز و فرزانه ام جناب آقای دکتر فرهاد فرخی اردبیلی که همواره در تمام مراحل انجام این پایان نامه با راهنمایی های ارزنده و بی دریغ خود مرا یاری نموده و راه گشای تمام مشکلات و الگوی رفتار و اخلاق برای من بودند کمال تشکر را دارم و از ایزد منان آرزوی سربلندی هرچه بیشتر را برایشان خواستارم.

از استاد ارجمند جناب آقای دکتر ایرج برنوسی که زحمت مشاوره این پایان نامه را با روی باز پذیرفتند کمال تشکر را دارم

از هم فکریها و راهنمای های استاد گرانقدر جناب آقای پروفسور فرهومند که همواره پشتیبان من بودند کمال تشکر را دارم

باسپاس فراوان از جناب آقای دکتراسماعیل آین که قبول زحمت داوری پایان نامه را به عهده گرفتند

تشکر و تقدیر از معاونت امور دام سازمان جهادکشاورزی آذربایجان غربی و کارکنان مرکز اصلاح نژاد گاومیش شمالغرب کشور،علی الخصوص مدیریت مرکزجناب آقای دکترشفیع پورو آقای قربان مرادزاده که همکاری صمیمانه ای در انجام پایان نامه داشتند.

تشکر ویژه از جناب آقای مهندس علیرضا مرادی به خاطر همکاری برادرانه اش در طول مراحل انجام پایان نامه .

در نهایت از کلیه کسانی که به نوعی مرا در این راه یاری نموده اند سپاسگزاری و تشکر می نمایم.

فرزادفرجی

بهمن۱۳۹۰

چکیده

در طی چند سال اخیر رقیق کننده‌های تجاری بر پایه لسیتین سویا برای انجماد منی دام ها در دسترس قرار گرفته اند. آندرومد و بایوکسل دو نوع از این رقیق کننده ها می باشند که در بز، گوسفند و گاو مورد استفاده قرار گرفته اند. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی تاثیر دو رقیق کننده بایوکسل و آندرومد در دو زمان تعادل ۴ و ۲۰ ساعت برروی پارامترهای حرکتی اسپرم گاومیش بود. نمونه منی با استفاده از واژن مصنوعی از ۴ راس گاومیش نر جمع آوری و پس از ارزیابی اولیه و داشتن کیفیت مناسب در دو رقیق کننده بایوکسل و آندرومد به میزان ۶۰ میلیون در هر میلی لیتر رقیق شدند. نمونه های رقیق شده تا دمای ۴ درجه سانتی گراد سرد گردیده و سپس در پایوت های ۰/۵ میلی لیتری پر شدند. در هر رقیق کننده نیمی از پایوت ها پس از چهار ساعت و نیمی پس از ۲۰ ساعت زمان تعادل منجمد گردیدند. از هر رقیق کننده پس از هر زمان تعادل (قبل از انجماد) دو پایت تا ۳۷ درجه سانتی گراد گرم شده و سپس از لحاظ تحرک اسپرم ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه های منجمد نیز ابتدا برای مدت ۴۵ ثانیه در آب ۳۷ درجه سانتی گراد ذوب و سپس مورد ارزیابی قرار گرفتند. تحرک اسپرم ها با استفاده از سیستم آنالیز کامپیوتری اسپرم (CASA) ارزیابی و پارامترهای تحرکی اسپرم شامل VCL، VAP، VSL، ALH، BCF، LIN و STR محاسبه گردیدند. با استفاده از این پارامترها اسپرم ها به چهار رده A (متحرک با حرکت پیشرونده)، B (متحرک بدون حرکت پیشرونده)،C (دارای حرکت کتد) و D (بدون حرکت) تقسیم شدند. پس از طی زمان تعادل و قبل از انجماد تمامی پارامترهای سرعتی اسپرم (VAP,VSL و VCL) در بایوکسل نسبت به آندرومد و در ساعت تعادل ۴ نسبت به زمان تعادل ۲۰ بطور معنی‌داری بیشتر است. در پارامترهای مربوط به الگوی حرکتی اسپرم ها (STR و LIN) نیز هرچند در بین دو زمان تعادل اختلاف معنی‌دار وجود نداشت ولی هر دوی این پارمترها در رقیق کننده بایوکسل بطور معنی داری بیشتر از آندرومد بود. درصد اسپرم های دارای حرکت پیشرونده (رده A) نیز در منی رقیق شده در بایوکسل بیشتر از آندرومد و در زمان تعادل ۴ ساعت بیشتر از ۲۰ ساعت بود. در نمونه های منجمد و ذوب شده میانگین VSL اسپرم‌ها در بایوکسل بطور معنی داری بیشتر از آندرومد بود ولی در سایر سایر پارامترها تفاوت معنی داری بین منی منجمد شده در بایوکسل و آندرومد مشاهده نگردید. از لحاظ تاثیر زمان تعادل نیز پارامترهای سرعتی (VAP,VSL, VCL) در اسپرم‌هایی که پس از ۴ ساعت زمان تعادل منجمد شده بودند بطور معنی داری بیشتر از اسپرم‌هایی بود که پس از ۲۰ ساعت زمان تعادل منجمد شده بودند. اسپرم‌های رده A در منی منجمد شده در بایوکسل بطور معنی داری بیشتر از منی منجمد در آندرومد و در نمونه های منجمد شده پس از ۴ ساعت زمان تعادل بیشتر از نمونه های منجمد شده پس از ۲۰ ساعت زمان تعادل بود. در صورتیکه درصد اسپرم های رده B در گروه بایوکسل کمتر از آندرومد و در گروه ۴ ساعت زمات تعادل بیشتر از گروه ۲۰ ساعت بود. بر اساس نتایج این تحقیق کیفیت تحرک قبل و بعد از انجماد اسپرم ها درمنی رقیق شده در بایوکسل بهتر از آندرومد و بود و در زمان تعادل ۴ ساعت بهتر از زمان تعادل ۲۰ ساعت بود.

کلمات کلیدی : بایوکسل، آندرومد، زمان تعادل، گاومیش، کاسا

فهرست مطالب

عنوان..... صفحه

چکیده فارسی

فصل اول :مقدمه و اهداف

۱-۱- اهمیت دامپروری در زندگی انسان ۱

۱-۲- اهمیت اصلاح نژاد دامها، بویژه دامهای بومی در تامین احتیاجات غذایی ۱

۱-۳- اهمیت گاومیش به عنوان یکی از دامهای بومی ۱

۱-۴- نقش تکنیکهای تولید مثلی در تسریع برنامه های اصلاح نژادی ۲

۱-۵- جایگاه تلقیح مصنوعی در برنامه های اصلاح نژاد ۲

۱-۶- علت اهمیت تلقیح مصنوعی ۳

۱-۷- جایگاه تلقیح مصنوعی در پرورش گاومیش ۴

۱-۸- بهبود روش های انجماد اسپرم ۴

۱-۹- مزایای انجماد اسپرم ۵

۱-۱۰- اهمیت رقیق کننده های مورد استفاده در انجماد اسپرم ۵

۱-۱۱- اهداف ۶

فصل دوم : بررسی منابع

۲-۱- منشاء ابتدایی گاومیش ۷

۲-۲- مشخصات گاومیشهای آسیایی وآفریقایی ۷

۲-۳- طبقه بندی گاومیشهای آسیایی ۹

۲-۴- مشخصات گاومیش باتلاقی ۹

۲-۵- مشخصات گاومیش رود خانه ای ۱۰

۲-۶- مشخصات گاومیش نژاد نیلی راوی ۱۱

۲-۷- مشخصات گاومیشهای جنوب..... ۱۱

۲-۸- مشخصات گاومیشهای آذربایجانی..... ۱۲

۲-۹- طبقه بندی گاومیشهای آذربایجانی ۱۳

۲-۱۰- مشخصات گاومیشهای مشکی ۱۳

۲-۱۱- مشخصات گاومیشهای چورا ۱۳

۲-۱۲- مشخصات گاومیشهای پیله (پیره) ۱۴

۲-۱۳-آمار جمعیت گاومیش در جهان و ایران ۱۴

۲-۱۴- ویژگی های گاومیش به عنوان یک دام بومی برتر در کشور ۱۵

۲-۱۵- اصلاح نژاد گاومیش ۱۷

۲-۱۶- مورفولوژی اسپرم ۱۹

۲-۱۷- مکانیسم تحرک اسپرم ۲۴

۲-۱۸- عوامل موثر بر تحرک اسپرم ۲۶

۲-۱۹- عوامل داخلی موثر بر تحرک اسپرم ۲۶

۲-۲۰- عوامل خارجی(محیطی) ۲۹
۲-۲۱- روش های ذخیره اسپرم ۳۲
۲-۲۲- روش های مختلف نگهداری اسپرم ۳۳
۲-۲۳- نگهداری کوتاه مدت منی به صورت مایع ۳۳
۲-۲۴- عوامل مؤثر در نگهداری اسپرم به صورت مایع ۳۳
۲-۲۵- نگهداری منی به صورت منجمد ۳۴
۲-۲۶- رقیق کننده ها ۳۵
۲-۲۷- دلایل استفاده از رقیق کننده ۳۵
۲-۲۸- محلولهای رقیق کننده برای انجماد ۳۶
۲-۲۹- ترکیبات مورد نیاز در یک رقیق کننده مناسب ۳۷
۲-۳۰- انواع رقیق کننده های مورد استفاده برای نگهداری اسپرم ۴۳
۲-۳۱- رقیق کننده های شیر ۴۳
۲-۳۲- رقیق کننده با منشا غیر حیوانی ۴۴
۲-۳۳- نقش زمان تعادل در انجماد اسپرم ۴۵

فصل سوم : مواد و روش ها

۳-۱- زمان و مکان آزمایش ۴۶
۳-۲- دام ها ۴۶
۳-۳- لوازم و مواد مورد استفاده ۴۶
۳-۳-۱- لوازم اسپرم گیری ۴۶

۳-۳-۲- لوازم آزمایشگاهی ۴۶
۳-۳-۳- مواد شیمیایی ۴۷
۳-۴- جمع آوری منی ۴۷
۳-۵- ارزیابی اولیه ۴۷
۳-۵-۱- حجم منی ۴۷
۳-۵-۲- ارزیابی اولیه تحرک اسپرم ها ۴۷
۳-۵-۳ - تعیین درصد اسپرم های زنده ۴۸
۳-۶- ارزیابی تحرک اسپرم ها توسط CASA ۴۸
۳-۷- رقیق کننده های مورد استفاده ۵۰
۳-۷-۱- بایوکسل ۵۰
۳-۷-۲- آندرومد ۵۰
۳-۸- انجماد منی ۵۰
۳-۹- آزمایش ها ۵۳
۳-۹-۱- رقیق سازی و ارزیابی قبل از انجماد ۵۳
۳-۹-۲- ارزیابی نمونه های منی پس از انجماد ۵۴
۳-۱۰- طرح آزمایش و آنالیز آماری ۵۴

فصل چهارم : نتایج

۴-۱ تاثیر نوع رقیق کننده و زمان تعادل برروی پارامترهای حرکتی اسپرم قبل از انجماد ۵۵

۴-۲ تاثیر نوع رقیق کننده و زمان تعادل برروی پارامترهای حرکتی اسپرم پس از انجماد و یخ گشایی....۶۰

فصل پنجم : بحث

۵-۱- تاثیر نوع رقیق کننده برروی پارامترهای حرکتی اسپرم گاومیش ۶۷

۵-۲- تاثیر زمان تعادل برروی پارامترهای حرکتی اسپرم گاومیش ۷۲

۵-۳- نتیجه گیری ۷۵

۵-۴- پیشنهادات ۷۵

فهرست منابع ۷۶

چکیده انگلیسی .....

فهرست جداول و نمودار ها

جدول ۳-۱- رده بندی اسپرم ها براساس پارامترهای محاسبه شده توسط CASA.....۷۹

جدول ۴-۱: تجزیه واریانس پارامترهای مختلف محاسبه شده توسط CASA در منی گاومیش رقیق شده در دو نوع رقیق کننده پس از دو زمان تعادل (قبل از انجماد) ۵۵

جدول ۴-۲: میانگین پارامترهای حرکتی اسپرم (SE±) محاسبه شده توسط CASA در منی گاومیش رقیق شده دربایوکسل و آندرومد پس از دو زمان تعادل (۴ و ۲۰ ساعت) قبل از انجماد ۵۶

جدول ۴-۳: تجزیه واریانس درصد رده های مختلف اسپرم (براساس نتایج CASA) در منی گاومیش رقیق شده در دو نوع رقیق کننده پس از دو زمان تعادل (قبل از انجماد) ۵۷

جدول ۴-۴: میانگین (± اشتباه معیار) درصد اسپرم ها در هر رده بر اساس آنالیزکامپیوتری تحرک (CASA) در منی گاومیش رقیق شده در بایوکسل و آندرومد پس از دو زمان تعادل (۴ و ۲۰ ساعت) قبل از انجماد...۵۸

جدول۴-۵: تجزیه واریانس پارامترهای حرکتی اسپرم های رده A و B (بر اساس نتایج CASA) در منی گاومیش رقیق شده در دو نوع رقیق کننده پس از دو زمان تعادل (قبل از انجماد) ۵۹

جدول ۴-۶: میانگین پارامترهای حرکتی اسپرم های رده A و B محاسبه شده توسط CASA در منی گاومیش رقیق شده دربایوکسل و آندرومد پس از دو زمان تعادل (۴ و ۲۰ ساعت) قبل از انجماد ۶۰

جدول ۴-: ۷ نتایج تجزیه واریانس پارامترهای مختلف محاسبه شده توسط سیستم CASA در منی گاومیش منجمد شده در دو نوع رقیق کننده پس از دو زمان تعادل ۶۱

جدول ۴-۸ میانگین پارامترهای حرکتی اسپرم (SE±) محاسبه شده توسط CASA در منی گاومیش منجمد شده دربایوکسل و آندرومد پس از دو زمان تعادل (۴ و ۲۰ ساعت) ۶۲

جدول ۴-۹: تجزیه واریانس در صد رده های مختلف اسپرم (براساس نتایج CASA) در منی گاومیش منجمد شده در دو نوع رقیق کننده پس از دو زمان تعادل ۶۳
جدول ۴-۱۰: میانگین (± اشتباه معیار) درصد اسپرم ها در هر رده بر اساس آنالیز کامپیوتری تحرک (CASA) در منی گاومیش منجمدشده در بایوکسل و آندرومد پس از دو زمان تعادل (۴ و ۲۰ ساعت) ۶۳
جدول ۴-۱۱: تجزیه واریانس پارامترهای حرکتی اسپرم های رده A و B (بر اساس نتایج CASA) در منی گاومیش منجمد شده در دو نوع رقیق کننده پس از دو زمان تعادل ۶۴
جدول ۴-۱۲: میانگین پارامترهای حرکتی اسپرمهای رده A و B (±SE) محاسبه شده توسط CASA در منی گاومیش منجمد شده دربایوکسل و آندرومد پس از دو زمان تعادل (۴ و ۲۰ ساعت) ۶۶

فهرست اشکال

شکل ۲- ۱. شکل اسپرم در پستانداران مختلف ۱۹
شکل ۲ -۲- شکل اسپرم از لحاظ ساختمانی ۲۱
شکل ۲- ۳. قسمتهای مختلف دم اسپرم ۲۲
شکل ۲- ۴- قسمتهای مختلف تشکیل دهنده گردن اسپرم ۲۳
شکل ۲- ۵- ساختار تشکیل دهنده آکسونم ۲۵
شکل ۲-۱ محلول اویکسل وبایوکسل ۴۵

فصل اول

مقدمه و اهداف

مقدمه ----------

دام و دامپروری در تامین احتیاجات غذایی انسان نقش مهمی دارد . از زمانی که حیوانات در جوامع مختلف در جهت رفع احتیاجات غذایی انسان به کار گرفته شدند در امور زندگی افراد آن جوامع تحول شگرفی به وقوع پیوسته است . (فرهومند ،۱۳۸۰)

افزایش جمعیت انسانی یکی از عواملی است که می تواند تاثیر مهمی بر روی تولید دامها بگذارد. و این افزایش جمعیت و توزیع ناعادلانه غذا یکی از بزرگترین مشکلات دنیای امروز به شمار می رود. اصلاح نژاد دامها یعنی تولید گوشت و شیر بیشتر و در نتیجه تغذیه و سلامت بهتر مردم [آمانلو ۱۳۷۴].

با توجه به نقش و اهمیت دام های بومی هر منطقه، حفظ و نگهداری مواد وراثتی و اطلاعات ژنتیکی دام های بومی و اصلاح آن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار می باشد. گاومیش یکی از دام های بومی کشور است که جمعیت قابل توجهی را در نواحی شمال غرب و جنوب غرب کشور دارا می باشد. نقش مهمی در اقتصاد خانوارهای روستایی این مناطق بعهده دارد.. با گذشت زمان و مشخص شدن استعدادهای گاومیش ارزش و اهمیت این حیوان روز به روز بیشتر مشخص می شود (فرهومند ،۱۳۸۰). برخی از محققین گاومیش را تحت عنوان دام آینده معرفی کرده و اظهارمی دارند که استفاده از توانایی های بالقوه آن در آینده بیشتر از سایر دامهای اهلی خواهد شد . می توان گفت تا کنون این حیوان فراموش شده ترین دام در بین حیوانات اهلی مهم بوده است و اگر چه از زمانهای قدیم اهلی شده و مورد استفاده قرار گرفته معذالک شناخت انسان از آن تا به امروز ناچیز بوده و بسیار کمتر از حیوانات اهلی دیگر مورد بررسی واقع شده است . (م. فهیم الدین ،۱۳۷۹)

گاومیش علاوه بر داشتن جثه تنومند و تولید شیر و گوشت نسبتا بالا، دارای استعداد ژنتیکی فوق العاده برای مقاومت در برابر بیماریها و شرایط محیطی نامساعد می باشد. در عین حال به عنوان دام برتر آسیایی شناخته شده و امروزه کارهای تحقیقاتی زیادی در اغلب کشورهای آسیایی در جهت اصلاح نژاد این دام

مفید صورت می گیرد . بدیهی است رکن اصلی و اساسی اصلاح نژاد ،عمل تلقیح مصنوعی ،فراوری و انجماد منی تهیه شده از گاومیش های برتر ،ضروری است .

در طی سالهای اخیر تکنیکهای تولید مثلی متعددی ابداع شده اند. این تکنیکها در انسان با هدف درمان ناباروری انجام می گیرد ولی در علوم دامی غالبا در کنار برنامه های اصلاح نژادی و به منظور تسریع در این برنامه ها به کار می روند. تکنیکهای تولید مثلی از جمله: تلقیح مصنوعی، همزمان کردن فحلی و اوولاسیون، سوپر اوولاسیون، انتقال جنین، تقسیم رویان، انتقال هسته و... باعث افزایش کارایی تولید مثلی دام شده و از طریق افزایش تعداد نتاج گاو نر در سال می توانند باعث تسریع در برنامه های اصلاح نژاد شوند [ضمیری، ۱۳۸۵ و Evans and Maxwell, 1987].

تلقیح مصنوعی روش تکثیری است که از طریق آن منی به دست آمده از دام نر با استفاده از ابزار مخصوص بدون تماس مستقیم با دام ماده در دستگاه تناسلی آن قرار داده می شود، تا از تماس مستقیم نرها با ماده ها جلوگیری شود [Evans and Maxwell, 1987]. این روش مهمترین و قدیمیترین تکنیکی است که برای اصلاح نژاد حیوانات ارائه شده است، زیرا از طریق آن تنها با چند راس حیوان نر انتخابی، می توان اسپرم مورد نیاز برای تلقیح هزاران ماده را در سال تامین کرد. و این در حالی است که حتی با استفاده از فن انتقال رویان، تعداد نسبتا کمی نتاج می توان از یک ماده در سال به دست آورد. استفاده هدفمند از تلقیح مصنوعی، اولین بار در سال ۱۷۸۰ میلادی صورت گرفت و یک فیزیولوژیست ایتالیایی به نام اسپلانزانی، توانست توله سگ هایی را از این راه به وجود آورد. در مورد این کار در طول قرن نوزدهم، چند گزارش پراکنده وجود دارد، ولی در سال ۱۹۰۰ میلادی بود که در روسیه و کمی بعد از آن در ژاپن، مطالعات گسترده ای در رابطه با استفاده از این فن در حیوانات اهلی، آغاز شد [Hafez, 1987] و ایوانف روسی نخستین کسی بود که در گاو و گوسفند با موفقیت تلقیح مصنوعی را انجام داد [ضمیری، ۱۳۸۵].

یکی از مهمترین مزیتهای تلقیح مصنوعی کاربرد آن در برنامه های اصلاح نژادی می باشد.تلقیح مصنوعی امکان تکثیر سریع ژنهای ممتاز را می دهد . از زمانی که به کمک تلقیح مصنوعی اصلاح ژنتیکی میسر شده است تولید شیر دوبرابر شده و این امرهم برای دامدار و هم برای کشور مزایـای اقتـصادی دارد [Robert, 1986].

با استفاده از تلقیح مصنوعی:

۱- امکان استفاده گسترده از نرهای برتر و گسترش مواد ژنتیکی ارزشمند آنها در هر گله ای فراهم مـی شود [Hunter, 1982].

۲- موجب سهولت در انجام آزمون نتاج در شرایط محیطی و مدیریتی مختلف شده و به تبع آن، دقـت به گزینی بهبود پیدا می کند [Hunter, 1982].

۳- تلقیح مصنوعی باعث گستردگی بیشتر ژنهای عالی در مقایسه با روشهای معمول اصلاح نژادگردیده در نتیجه زمان مورد نیـاز بـرای اصـلاح ژنوتیـپ هـا بـر اسـاس گلـه را کـاهش مـی دهـد [Evans and Maxwell, 1987].

۴- هزینه های گزاف بهگزینی بین شمار زیادی خریدار اسپرم تقسیم می شـود و از ایـن رو، اسـپرم بـا قیمت مناسب در دسترس مصرف کنندگان قرار می گیرد. [Hunter, 1982].

۵- اسپرم گاوهای نر برتـر، حتـی پـس از مـرگ آنهـا مـی توانـد بـه کـار بـرده شـود [Evans and Maxwell, 1987].

۶- امکان دورگ گیری برای تغییر نوع تولید فراهم می گردد [Hunter, 1982].

۷- ژنوتیپ یا نژاد نو به وجود می آید. [Hunter, 1982].

تلقیح مصنوعی در گاومیش پیشرفت نسبتا جدیدی محسوب می شود . اولین بچه گاومیش کـه بـصورت مصنوعی تلقیح شده بود در انستیتو کشاورزی الله آباد در هند در سـال ۱۹۴۳ متولـد شـد . در بـسیاری از کشورهای در حال توسعه آسیا و آفریقا تلقیح مصنوعی از یک وسیله برای آبستن کردن گاومیش فراتر رفتـه است به طوری که تلقیح مصنوعی کل جمعیت گاومیش یک کشور را تحت خط مشی و برنامه های اصلاحی متناسب در می آورد تا توسط اسپرم هایی که از گاومیش های نر ممتاز بدست مـی آیـد پیـشرفت ژنتیکـی گاومیشها حاصل آید . (م. فهیم الدین ،۱۳۷۹)

تلقیح مصنوعی داده های ارزشمندی درباره فحلی, تعداد سرویس برای هر آبستنی ,فـصلی بـودن جفـت گیری ها ,ناهنجاریهای تولید مثلی و غیره برای متخصصین اصلاح دام فراهم می‌آورد . در حال حاضر تلقـیح مصنوعی با اسپرم منجمد زمینه مساعدی را فراهم کرده تا گاومیش های بـومی در مقیـاس وسـیعی اصـلاح شوند ولی محدودیت اصلی این کار آن است که تعداد دام نر با ارزش ژنتیکی زیاد بخصوص نرهای پروف شده کم است (م. فهیم الدین ،۱۳۷۹). به کمک تلقیح مصنوعی و باداشتن اسپرم منجمد با میزان باروری بالا و نیز با استفاده از روشهای ایجاد استروس در گاومیش تبادل بین المللی اسپرم گاومیش نر ممتـاز بـه منظـور اصلاح نژاد انواع بومی و باتلاقی بین دو نوع باتلاقی و رودخانه ای ممکـن مـی شـود . امـروزه در بـسیاری از کشورهایی که دارای گاومیش هستند تلقیح مصنوعی بکار می رود.

بهبود روش‌های انجماد اسپرم :

برنامه ی انجماد اسپرم در حقیقت یک فرایند بیوفیزیکی و بیوشـیمیایی اسـت. اسـاس آن جلـوگیری از شوک ناشی از تغییرات دما هنگام انجماد و یخ گشایی و شوک اسـمزی حاصـل از خـروج آب سیتوپلاسـمی اسپرم است . منی معمولا در دمای ۳۰ تا ۳۷ درجه ی سانتیگراد با اجزای پایـه رقیـق کننـده (بـدون سـرما محافظ) متعادل می شود (محمدی-براتی ،۱۳۸۸).

منی مجمد شده و نگهداری شـده در دمـای بـسیار پـایین یعنـی در ازت مـایع ۱۹۶- درجـه سـانتبگراد ،واکنش های متابولیکی اسپرماتوزویید ها را کاملا متوقف می کند این کار امکان نگهداری منی بـرای مـدت طولانی را مهیا می کند. قدرت انتخاب متقاضیان منی افزایش یافته ونیز امکان تهیه منی در زمـان و مکـان واحدی و عرضه آن در مکانهای مختلف و حتی پس از ذخیره دراز مدت به وجود می آید . همچنین حمل و نقل داخلی و بین المللی منی آسان شده و می توان آنرا خارج از دوره تولید مثل جمع آوری و ذخیره نمود . (Hafez،1987)

سرعت انجماد منی بستگی به نوع رقیق کننده مورداستفاده دارد. نکته اساسی این است که عمل انجمـاد تا حد امکان سریع انجام شود تا از شوک اسمزی ناشی از انجمـاد آب در رقیـق کننـده (در نتیجـه افـزایش غلظت نمک) جلوگیری می شود . اما انجما د نباید آنقدر سریع باشد که باعث شوک سرمایی و تشکیل یـخ در داخل سلولهای اسپرم شود [Robert, 1986].

فاکتورهای متنوعی وجود دارند که برروی میزان مرگ ومیر اسپرماتوزوئیدها طی مراحل انجمادو ذوب اثر می گذارند که بعضی عبارتند از : نحوه مراقبت هنگام رقیق سازی اولیه منی ,روش اضافه کردن گلیـسرول , تعادل با گلیسرول ,میزان سرد کردن و میزان انجماد و ذوب کردن.

برای انجماد اسپرم گاومیش نر معمولا رقیق کننده تریس توصیه شده است. با این حال قابلیت انجماد و میزان باروری با اسپرم های گاومیش منجمد شده در رقیق کننده زرده تخم مرغ –تریس در مقایسه با اسپرم گاو پایین تر می باشد (Andarabi, 2009). دست یابی به رقیق کننده مناسب انجماد کـه بتوانـد میـزان باروری قابل قبول داشته باشد ,نیازمند ادامه تحقیقات بیشتر می باشد.

در طی چند سال اخیر رقیق کننده های تجاری فاقد ترکیبات حیوانی (زرده تخم مرغ یا شیر) و بر پایـه پروتیین های گیاهی در دسترس قرار گرفته اند. بایوکسل و آندرومد دو نوع از این رقیق کننده ها می باشند که حاوی پروتیین گیاهی سویا می باشند. این رقیق کننده ها برای انجماد اسپرم گاو، گوسفند و بز بکار رفته انـد. انجمـاد اسـپرم گـاو .(Hansen et al., 2005; Stradaioli et al., 2007; Celeghini et al

(2008 و گوسفند و بز (Gill et al., 2003a; Gill et al. 2003b) در رقیق کننده بایوکسل کیفیت منی (تحرک، سلامت غشای پلاسمایی و آکروزوم اسپرم) حفظ شده و میزان باروری قابل قبولی را تولید کرده اند. در گاومیش نیز میزان تحرک، زنده مانی و سلامت غشای اسپرم‌های منجمد شده در بایوکسل و نیز باروری متعاقب تلقیح مصنوعی با منی منجمد شده در این رقیق کننده مشابه رقیق کننده زرده تخم مرغ-تریس گزارش شده است.

اهداف :

۱- تعیین پارامترهای تحرکی اسپرم در منی رقیق شده با رقیق کننده های بایوکسل و آندرومد

۲- ارزیابی تاثیر زمان تعادل طولانی (۲۰ ساعت) برروی پارامتر های حرکتی اسپرم های رقیق شده در آندرومد و بایوکسل با استفاده از سیستم CASA (قبل از انجماد).

۳- ارزیابی تاثیر زمان تعادل طولانی (۲۰ ساعت) بر روی پارامتر های حرکتی اسپرم های منجمد شده در رقیق کننده های آندرومد و بایوکسل.

۴- مقایسه پارامتر های تحرکی اسپرم های رقیق شده و منجمد شده در آندرومد و بایوکسل.

فصل دوم

بررسی منابع

بررسی منابع .....

منشاء ابتدایی گاومیش

جمعیت گاومیش های جهان (Bubalus Bubalis) حدود ۱۶۸ میلیون راس می باشد که ۱۶۱ میلیون راس آن (۹۵/۸۳٪) در آسیا، ۳/۷۱۷ راس در آفریقا که تقریبا تماما در مصر(۲/۲۴٪) ، ۳/۳ میلیون راس (۱/۹۶٪) در آمریکای جنوبی، ۴۰ هزار راس (۰/۰۲٪) در استرالیا و ۵۰۰ هزار راس (۰/۳۰٪) در اروپا می باشند (Borghese and Mazzi, 2005).

گاومیش آسیایی یا گاومیش آبی در جنس Bubalus و گونه bubalis قرار دارد. Bubalus bubalis معلق به رده پستانداران، زیر رده سم داران (Ungulata)، راسته زوج سمان (Artiodactyla)، زیر راسته نشخوارکنندگان، خانواده Bovidae، زیر خانواده Bovinae و تبار Bovini می‌باشد. در این تبار سه گروه وجود دارند که عبارتند از : گاو (Bovina)، گاومیش آسیایی (Bubalina) و گاومیش آفریقایی (Syncerina). Syncerina تنها یک گونه بنام Syncerus caffer دارد. گاومیش آسیایی یا Bubalina شامل سه گونه است که عبارتند از : Bubalus depressicornis یا Anoa که در اندونزی زندگی می کند، Bubalus mindorensis که در فیلیپین زندگی میکند و Bubalus bubalis که از اهلی کردن گاومیش وحشی هندی یا Bubalus arnee تولید شده است. اهلی شدن این گونه (۵۰۰۰ سال قبل) بعد از اهلی شدن گاو (۱۰۰۰۰ سال قبل) انجام گرفته است (Borghese and Mazzi, 2005). اکتشافات اخیر در غار سنگی مرکز هندوستان موید این مطلب است که گاومیشها ۶۰۰۰ سال قبل از میلاد مسیح برای مردم عصر حجر شناخته شده بودند. تاریخچه اهلی شدن گاومیش نشان می دهد که این دام از شبه قاره هند به تمام نقاط جهان منتقل شده است. ابتدا از آن برای انجام کارهای کشاورزی و بعدها جهت تولید شیر و گوشت استفاده می شده است . معتقدند که گاومیش احتمالا از راه ایران به اروپا نفوذ کرده است . (سعادت نوری ، ۱۳۷۰)