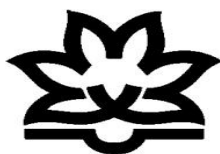


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



**دانشگاه ارومیه**

**دانشکده کشاورزی**

**گروه علوم دامی**

**پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته علوم دامی گرایش فیزیولوژی دام**

**موضوع**

**تأثیر نوع رنگ آمیزی، نوع رقیق کننده و انجماد بر مورفومتری سر اسپرم گاومیش با استفاده از**

**CASA سیستم آنالیز کامپیوتری**

**استاد مشاور:**

**دکتر ایرج برنوسی**

**استاد راهنما:**

**دکتر فرهاد فرخی اردبیلی**

**اساتید داور:**

**دکترروز علی باتوانی**

**دکتر پرویز فرهومند**

**تنظیم و نگارش:**

**سحر بابایی**

**شهریور ۱۳۹۱**

پایان نامه خانم سحر یامانی به تاریخ ۱۳۹۱/۰۶/۲۹ به شماره ۳۴۱ - ۲-ک مورد پذیرش هیات

محترم داوران با رتبه بسیار خوب و نمره ( ۱۸.۹ ) قرار گرفت.

۱- استاد راهنمای اول و رئیس هیات داوران: دکتر فریاد فرخی اردبیلی

۲- استاد مشاور: دکتر ایرج برنوسی

۳- داور خارجی: دکتر روز علی باتوانی

۴- داور داخلی: دکتر پرویز فرزند

۵- سرپرست تحصیلات تکمیلی: دکتر ابراهیم پسر

حق طبع و نشر این رساله متعلق به دانشگاه ارومیه است.

# تقدیم :-

پدران و مادران بزرگوارم که دعای خیرشان را توشه راهم ساختند و مسیر سربلندی را به  
شواترین روش به من آموختند و خواهران و برادر عزیزم که بهار زندگیم به ترنم محبتشان  
آکنده است.

همسر مهربانم که با صبوری، مهربانی و دلگرمی بایش مشوق و همراه من در زندگی بوده است.

# تقدیر و شکر:

سپاس خدایی را که نیکویی های آفرینش را برای ما برگزید و سپاس خدایی را که سیاهی ندانستن را از من زدود و ستایش او را که تجلی وجودش در سه کوه گرانه برای زندگی ام بود. مادری که هزاران بار دستش را می بوسم، پدری که والاترین استاد زندگی ام است و همسری که یار و یاور زندگی من می باشد.

از استاد راهنمای محترم و بزرگوارم جناب آقای دکتر فرهاد فرخی که موفقیت هایم را مدیون زحمات بی دریغ ایشان می دانم بسیار سپاسگذارم.

از استاد محترم و بزرگوارم جناب آقای دکتر ایرج برنوسی به خاطر زحماتشان به عنوان استاد مشاور در کارهای آماری  
پایان نامه صمیمانه سپاسگذارم.

از زحمات مدیریت محترم گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه جناب آقای دکتر پرویز فرهمند و  
همچنین جناب آقای دکتر روز علی باتوانی به عنوان هیئت داوران تشکر و قدردانی می‌کنم.

تشکر و قدردانی از معاونت امور دام سازمان جهاد کشاورزی آذربایجان غربی و کارکنان مرکز اصلاح نژاد گاو میش  
شمال غرب کشور، علی‌الخصوص مدیریت مرکز، جناب آقای دکتر وحید شفیق پور و همچنین آقای قربان مرادزاده که  
همکاری صمیمانه‌ای در انجام پایان نامه داشتند.

در نهایت از کلیه کسانی که به نوعی مراد این راه‌یاری نموده‌اند سپاسگزاری و تشکر می‌نمایم.

سحر بابایی

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول (مقدمه) .....	۱
مقدمه .....	۱
اهداف .....	۲
فصل دوم (بررسی منابع علمی) .....	۳
۱-۲ رده بندی گاو میش .....	۳
۱-۱-۲ گاو میش وحشی آفریقائی .....	۴
۲-۱-۲ گاو میش وحشی آسیائی .....	۵
۳-۱-۲ گاو میش اهلی آسیائی .....	۶
۲-۲ طبقه بندی گاو میش آسیائی از نظر محیط زیست: .....	۶
۱-۲-۲ مشخصات گاو میش باتلاقی .....	۷
۲-۲-۲ مشخصات گاو میش رودخانه ای .....	۷
۳-۲ دورگ گیری .....	۸
۴-۲ پراکندگی گاو میش در جهان .....	۸
۵-۲ گاو میش در ایران .....	۸
۱-۵-۲ مشخصات گاو میش های جنوب .....	۹
۲-۵-۲ مشخصات گاو میش های آذربایجان .....	۹
۶-۲ خصوصیات رفتاری و عادت گاو میش .....	۱۱
۱-۶-۲ سازش با محیط: .....	۱۱

- ۲-۶-۲ رفتار گاومیش در رابطه با محیط: ۱۱.....
- ۲-۶-۳ رفتار جنسی گاومیش نر ..... ۱۲.....
- ۲-۷ ویژگی های گاومیش به عنوان یک دام بومی برتر در کشور: ..... ۱۲.....
- ۲-۸ باروری در دام های نر ..... ۱۳.....
- ۲-۹ دستگاه تناسلی دام نر ..... ۱۴.....
- ۲-۹-۱ اسکروتوم (بیضه دان) ..... ۱۵.....
- ۲-۹-۲ بیضه ..... ۱۵.....
- ۲-۹-۳ قزیب ..... ۱۵.....
- ۲-۹-۴ غده پروستات ..... ۱۵.....
- ۲-۹-۵ غده کوپر ..... ۱۶.....
- ۲-۹-۶ غده سمینال وزیکول ..... ۱۶.....
- ۲-۹-۷ اپیدیدیمیس ..... ۱۶.....
- ۲-۹-۸ آمپولا ..... ۱۶.....
- ۲-۱۰ مورفولوژی اسپرم ..... ۱۷.....
- ۲-۱۰-۱ سر اسپرم ..... ۱۸.....
- ۲-۱۰-۲ دم اسپرم ..... ۱۹.....
- ۲-۱۱ روش های ذخیره اسپرم: ..... ۲۱.....
- ۲-۱۱-۱ روش های مختلف نگهداری اسپرم: ..... ۲۲.....
- ۲-۱۱-۲ رقیق کننده ها: ..... ۲۲.....
- ۲-۱۱-۳ دلایل استفاده از رقیق کننده: ..... ۲۲.....



- ۲-۱۱-۴. محلول های رقیق کننده برای انجماد: ..... ۲۳
- ۲-۱۱-۵. ترکیبات مورد نیاز در یک رقیق کننده مناسب: ..... ۲۴
- ۲-۱۲. انواع رقیق کننده های مورد استفاده برای نگهداری اسپرم: ..... ۲۷
- ۲-۱۲-۱. رقیق کننده های شیر: ..... ۲۸
- ۲-۱۲-۲. رقیق کننده با منشأ غیر حیوانی: ..... ۲۸
- ۲-۱۳. تغییرات مورفومتریکی (ساختاری) اسپرم در فرآیند تشکیل اسپرم ..... ۲۸
- ۲-۱۴. ارزیابی مورفولوژی اسپرم: ..... ۳۰
- ۲-۱۵. اهمیت مورفولوژی اسپرم در باروری ..... ۳۲
- ۲-۱۶. روش های مختلف ارزیابی منی ..... ۴۶
- ۲-۱۶-۱. ارزیابی ظاهر و حجم منی: ..... ۳۵
- ۲-۱۶-۲. ارزیابی غلظت منی: ..... ۳۵
- ۲-۱۶-۳. ارزیابی مورفولوژی اسپرم: ..... ۳۵
- ۲-۱۷. روشهای آنالیز مورفومتری اسپرم: ..... ۳۵
- ۲-۱۷-۱. روش مشاهده ای یا غیر خودکار: ..... ۳۵
- ۲-۱۷-۲. روش آنالیز خودکار مورفومتری اسپرم: ..... ۳۶
- ۲-۱۸. استفاده از سیستم CASA برای ارزیابی مورفومتری اسپرم ..... ۳۹
- ۲-۱۸-۱. اهمیت سیستم CASA ..... ۳۹
- ۲-۱۸-۲. تاریخچه CASA ..... ۳۹
- ۲-۱۸-۳. از جمله پارامترهای مورفولوژیکی که سیستم CASA می تواند ارزیابی کند: ..... ۴۰
- ۲-۱۸-۴. فاکتور های موثر بر مطالعات مورفولوژیکی صورت گرفته با سیستم CASA ..... ۴۱

فصل سوم (مواد و روش‌ها) ..... ۴۴

۱-۳ لوازم و مواد مورد استفاده ..... ۴۴

۱-۱-۳. لوازم اسپرم‌گیری: ..... ۴۴

۲-۱-۳. لوازم آزمایشگاهی: ..... ۴۴

۳-۱-۳. مواد شیمیایی: ..... ۴۴

۲-۳. حیوانات: ..... ۴۴

۳-۳. زمان و مکان انجام آزمایش: ..... ۴۴

۴-۳. جمع‌آوری نمونه منی: ..... ۴۴

۵-۳. ارزیابی خصوصیات کمی و کیفی نمونه منی: ..... ۴۴

۱-۵-۳. ارزیابی حجم منی: ..... ۴۵

۲-۵-۳. ارزیابی اولیه تحرک اسپرم‌ها: ..... ۴۵

۶-۳. تهیه گسترش و آماده‌سازی لام‌ها برای رنگ‌آمیزی‌های اصل ..... ۴۵

۱-۶-۳. رنگ‌آمیزی دیفکوئیک ..... ۴۵

۲-۶-۳. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ..... ۴۶

۳-۶-۳. رنگ‌آمیزی حیاتی اسپرم ..... ۴۶

۷-۳. آنالیز مورفومتری: ..... ۴۷

۸-۳. رقیق‌کننده‌های مورد استفاده: ..... ۴۷

۱-۸-۳. بایوکسل: ..... ۴۷

۲-۸-۳. آندرومد: ..... ۴۸

۹-۳. انجماد منی: ..... ۴۸

- ۳-۹-۱. بسته بندی منی رقیق شده: ..... ۴۸
- ۳-۹-۲. مراحل عمل انجماد اسپرم ها ..... ۴۸
- ۳-۹-۳. ارزیابی نمونه ها قبل از انجماد ..... ۴۹
- ۳-۹-۴. ارزیابی نمونه ها بعد از انجماد ..... ۴۹
- ۳-۱۰-۱. آزمایشات ..... ۵۰
- ۳-۱۰-۱. آزمایش اول ..... ۵۰
- ۳-۱۰-۲. آزمایش دوم ..... ۵۰
- ۳-۱۰-۳. آزمایش سوم ..... ۵۰
- ۳-۱۱. طرح آزمایشات و آنالیز آماری ..... ۵۱
- تجزیه آزمایش اول ..... ۵۱
- تجزیه آزمایش دوم ..... ۵۱
- تجزیه آزمایش سوم ..... ۵۱
- فصل چهارم (نتایج) ..... ۵۲
- ۴-۱ نتایج آزمایش اول ..... ۵۲
- ۴-۲ نتایج آزمایش دوم ..... ۵۳
- ۴-۳ نتایج آزمایش سوم ..... ۵۵
- فصل پنجم ( بحث و نتیجه گیری ) ..... ۵۸
- بحث: ..... ۵۸
- ۵-۱. تأثیر نوع رنگ آمیزی و رقیق کننده بر ابعاد اسپرم ..... ۵۸
- ۵-۲. تأثیر انجماد بر ابعاد اسپرم ..... ۶۰

۳-۵. مورفومتري اسپرم های زنده و مرده: ..... ۶۱

۴-۵. نتیجه گیری: ..... ۶۲

۵-۵. پیشنهادات: ..... ۶۲

فصل ششم (منابع و مآخذ) ..... ۶۳

## فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۳. مراحل روش رنگ آمیزی با Diff-Quick	۴۶
جدول ۲-۳. مراحل روش رنگ آمیزی با هماتوکسیلین	۴۶
جدول ۱-۴: تجزیه واریانس پارامترهای مختلف محاسبه شده توسط سیستم CASA در منی گاومیش رنگ آمیزی شده با دو نوع رنگ آمیزی (دیفکوئیک و هماتوکسیلین) و رقیق شده با سه سطح رقیق کننده (PBS، بایوکسل و آندرومد)	۵۲
جدول ۲-۴: میانگین ( $\pm$ اشتباه معیار) ابعاد سر اسپرم های ارزیابی شده توسط سیستم CASA با استفاده از دو روش رنگ آمیزی (دیفکوئیک و هماتوکسیلین) و سه سطح رقیق کننده (PBS، بایوکسل و آندرومد) ( $\pm$ اشتباه معیار)	۵۳
جدول ۳-۴: تجزیه واریانس پارامترهای مختلف محاسبه شده توسط سیستم CASA در منی گاومیش منجمد شده با دو نوع رنگ آمیزی (دیفکوئیک و هماتوکسیلین) و سه سطح رقیق کننده (PBS، بایوکسل و آندرومد)	۵۴
جدول ۴-۴: میانگین ( $\pm$ اشتباه معیار) ابعاد سر اسپرم های ارزیابی شده توسط سیستم CASA با استفاده از سه سطح رقیق کننده (PBS، بایوکسل و آندرومد) قبل و بعد از انجماد	۵۵
جدول ۵-۴: میانگین ( $\pm$ اشتباه معیار) ابعاد سر اسپرم های ارزیابی شده توسط سیستم CASA با استفاده از دوروش رنگ آمیزی (دیفکوئیک و هماتوکسیلین) قبل و بعد از انجماد	۵۵

جدول ۴-۶: تجزیه واریانس آزمایش مقایسه ابعاد سر اسپرم های زنده و مرده، توسط کالیبراسیون نرم افزار

CASA.....۵۶

جدول ۴-۷: میانگین (± اشتباه معیار) ابعاد سرهای اسپرم زنده و مرده توسط کالیبراسیون نرم افزار CASA...۵۶

## فهرست اشکال

صفحه

عنوان

- شکل ۱-۲ : دستگاه تناسلی گاومیش نر ..... ۱۵
- شکل ۲-۲: تصویر شماتیک از مورفولوژی اسپرم در پستانداران مختلف ..... ۱۷
- شکل ۳-۲: شکل اسپرم از لحاظ ساختمانی ..... ۱۸
- شکل ۴-۲: قسمت‌های مختلف دم اسپرم ..... ۲۰
- شکل ۵-۲: قسمت‌های مختلف تشکیل دهنده گردن اسپرم ..... ۲۰
- شکل ۶-۲: سخت افزار معمول سیستم ASMA ..... ۳۸
- شکل ۷-۲: نمایش شماتیک ارزیابی مورفومتریک سر اسپرم توسط سیستم ASMA ..... ۳۸
- شکل ۱-۳: نحوه تهیه گسترش از نمونه های منی رقیق شده برای رنگ آمیزی دیفکوئیک و هماتوکسیلین ..... ۴۵

## چکیده

مورفولوژی غیر طبیعی اسپرم یکی از نشان دهنده های مهم کاهش باروری می باشد. با استفاده از سیستم CASA می توان مورفومتری اسپرم را با سرعت و دقت بیشتری انجام داد. دقت مورفومتری اسپرم توسط CASA تحت تأثیر روش های آماده سازی اسپرم ها قرار دارد. مطالعه حاضر با اهداف زیر انجام گرفت:

۱- ارزیابی تأثیر نوع رنگ آمیزی (دیفکوئیک، همتاکسیلین) بر ابعاد سر اسپرم گاو میش ۲- ارزیابی تأثیر نوع رقیق کننده (بدون رقیق کننده، بایوکسل و آندرومد) بر ابعاد سر اسپرم گاو میش ۳- بررسی اثر انجماد بر ابعاد اندازه گیری شده اسپرم گاو میش ۴- مقایسه ابعاد سر بین اسپرم های زنده و مرده. در مرحله اول و دوم نمونه های منی از ۴ رأس گاو میش با استفاده از واژن مصنوعی جمع آوری شده و پس از رقیق سازی به وسیله محلول PBS، بایوکسل و آندرومد با روش دیفکوئیک و همتاکسیلین رنگ آمیزی شدند. مورفومتری اسپرم ها با میکروسکوپ متصل به CASA (Sperm ۲.۱, Video Test, Russia) و با بزرگنمایی  $\times 100$  انجام گرفت. از نمونه منی هر گاو میش حداقل ۱۰۰ اسپرم توسط نرم افزار شناسایی شده و پارامترهای مختلف سر آنها شامل میانگین طول ( $\mu\text{m}$ )، عرض ( $\mu\text{m}$ )، عدم تقارن (Rel.unit)، کشیدگی سر (Rel.unit)، بیضوی بودن سر (Rel.unit) محاسبه گردید. در مرحله اول آزمایش ارزیابی ابعاد مورفومتریکی سر اسپرم نشان داد که اختلاف معنی داری در بین روش های رنگ آمیزی وجود دارد ( $P < 0.05$ ). بزرگترین ابعاد سر در اسپرم های رنگ آمیزی شده با دیفکوئیک و کمترین آن در اسپرم های رنگ آمیزی شده با همتاکسیلین مشاهده گردید. در مرحله دوم آزمایش، ارزیابی ابعاد مورفومتریکی سر اسپرم نشان داد که هیچ گونه اختلاف معنی داری بین رقیق کننده ها وجود ندارد ( $P > 0.05$ ). در مرحله سوم آزمایش نمونه های منی بعد از جمع آوری ابتدا ۲۰ ساعت زمان تعادل را در رقیق کننده بایوکسل و آندرومد طی کردند سپس منجمد شدند. نمونه های منجمد، ذوب شده و با دو روش رنگ آمیزی (دیفکوئیک و همتاکسیلین) رنگ آمیزی شدند و مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارزیابی ابعاد مورفومتریکی سر اسپرم نشان داد که انجماد اثر معنی داری بر مورفومتری سر اسپرم گاو میش ندارد ( $P > 0.05$ ). در مرحله چهارم آزمایش، نمونه های منی بعد از جمع آوری در رقیق کننده بایوکسل رقیق شده و بعد از طی کردن ۲۰ ساعت زمان تعادل منجمد شدند. نمونه های منجمد شده ذوب گردیده و با رنگ ائوزین-نگروزین رنگ آمیزی شدند. مورفومتری اسپرم ها با میکروسکوپ متصل به CASA به صورت غیر اتوماتیک توسط کالیبراسیون نرم افزار انجام گرفت. ارزیابی ابعاد مورفومتریکی سر اسپرم نشان داد که اختلاف معنی داری بین سر اسپرم های زنده و مرده وجود دارد ( $P < 0.05$ ).



## فصل اول

### مقدمه:

انسان همواره برای تأمین نیازهای خود و افزایش رفاه اجتماعی در تلاش برای بالا بردن شناخت خود از طبیعت بوده است، بموازات کسب آگاهی هرچه بیشتر از طبیعت، تلاش برای بکارگیری منابع جدید غذا و انرژی مطرح می باشد از طرفی رشد بی رویه جمعیت به خصوص در جوامع جهان سوم و در پی آن بالا رفتن سطح تقاضا اهمیت سرعت بخشیدن به تسلط بر طبیعت و یافتن منابع جدید را هر چه بیشتر آشکار می سازد. در خصوص تأمین منابع غذایی، استفاده از فرآورده های پروتئینی دامهای اهلی از دیر باز در جوامع انسانی نقش اصلی را داشته است (دهقانی، ۱۳۷۱).

در این میان گاو میش به عنوان یکی از منابعی است که می تواند در تأمین بخشی از نیازهای پروتئینی حیوانی انسان نقش مهمی را داشته باشد. طبق مدارک تاریخی انسان از مدت ها پیش، از گاو میش برای کارهای کشاورزی استفاده کرده است.

بررسی های باستان شناسی در هندوستان نشان داده که گاو میش در حدود ۵۰۰۰ سال قبل اهلی شده است و اکتشافات اخیر در یک غار سنگی مرکز هندوستان موید این مطلب است که مردم عصر حجر ۶۰۰۰ سال پیش از میلاد مسیح گاو میش را می شناختند. گاو میش در حرفه کشاورزی نقش مهمی را در زندگی اقتصادی کشاورزان بازی می کند و در کشورهای جهان سوم و کشورهای جنوب شرقی آسیا یکی از ارکان کشاورزی است (سعادت نوری، ۱۳۷۰).

گاو میش یکی از دام های بومی کشور است که جمعیت قابل توجهی را در نواحی شمال غرب و جنوب غرب کشور دارا می باشد. با گذشت زمان و مشخص شدن استعداد های گاو میش ارزش و اهمیت این حیوان روز به روز بیشتر مشخص میشود (فرهوند، ۱۳۷۹). برخی از محققین گاو میش را تحت عنوان دام آینده معرفی کرده و اظهار می دارند که استفاده از توانایی های بالقوه آن در آینده بیشتر از سایر دام های اهلی خواهد شد. می توان گفت تا کنون این حیوان فراموش شده ترین دام در بین حیوانات اهلی مهم بوده است و اگرچه از زمان های 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). گاو میش علاوه بر داشتن چته تنومند و تولید شیر و گوشت نسبتاً 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، فرآوری و انجماد منی تهیه شده از گاو میش های برتر، ضروری است.

توانایی تولید مثل دام های نر اهمیت زیادی در پرورش و نگهداری دارد. تشخیص پایین بودن باروری دام نر اهمیت بیشتری نسبت به موارد عقیمی کامل دارد زیرا در صورتیکه به موقع تشخیص داده نشوند خسارت های قابل توجهی وارد خواهد کرد. اختلاف قابل توجهی در میزان باروری در بین نرهای بالغ و سالم گزارش شده است (Rodriguez-Martinez ۲۰۰۶). ارزیابی توانایی باروری دام های نر قبل از تلقیح مصنوعی یا لقاح آزمایشگاهی (IVF)<sup>۱</sup> اهمیت زیادی دارد تا از نتایج مناسب آن اطمینان حاصل گردد. در حال حاضر آنالیز پارامترهای مختلف اسپرم (تحرک و مورفولوژی) مطلوب ترین رهیافت برای ارزیابی توانایی تولید مثل محسوب می شود. مورفولوژی ضعیف اسپرم یکی از نشان دهنده های مهم کاهش باروری در انسان (Kruger, ۱۹۹۳)، نریان (Jasko et al, ۱۹۹۰)، گاو نر (Sekoni et al, ۱۹۸۷) و قوچ (Chandler et al, ۱۹۸۸) گزارش شده است. در قوچ افزایش اختلالات اسپرم با کاهش باروری، استرس گرما و بیماری های بیضه ارتباط داشته است (Gravance et al, ۱۹۹۸). ناهنجاری سر اسپرم با مرگ زودرس جنین، کاهش باروری، کیفیت رویان و کاهش توانایی آن در اتصال به تخمک همراه بوده است (Gravance et al, ۱۹۹۸).

آنالیز اسپرم به طور معمول از طریق بررسی مشاهده ای توسط فرد انجام می گیرد ولی این روش به میزان زیادی ذهنی بوده و با خطا همراه است. نیاز به ارزیابی غیر ذهنی دقیق مورفولوژی اسپرم منجر به ابداع روش های کامپیوتری آنالیز مورفولوژیک اسپرم گردیده است (Davis et al ۱۹۹۳, Katz et al ۱۹۸۸). در این سیستم تصویر اسپرم از طریق دوربین متصل به میکروسکوپ، به یک کامپیوتر انتقال یافته و سپس توسط نرم افزار مربوطه ابعاد مختلف اسپرم محاسبه می گردد. دقت سیستم های آنالیز کامپیوتری مورفولوژی اسپرم (ASMA)<sup>۲</sup> برای تشخیص اختلالات مورفومتری در ابعاد سر اسپرم نرهای بارور و کم بارور بکار رفته است (Casey, ۱۹۹۷). در مطالعات مختلف این برنامه ها دقیق و تکرار پذیر گزارش شده اند و توانسته اند با استفاده از آنها تفاوت های جزئی را در بین افراد مختلف مشخص کنند در صورتیکه این تفاوتها توسط روش های ذهنی قابل تشخیص نبوده است (Garcia-Herreros et al, ۲۰۰۶).

اهداف:

- ۱- تعیین ویژگی های مورفومتری سر اسپرم گاو میش با استفاده از سیستم CASA
- ۲- ارزیابی تأثیر نوع رنگ آمیزی (دیفکوئیک و هماتوکسیلین) بر ابعاد سر اسپرم گاو میش توسط سیستم CASA.
- ۳- بررسی اثر انجماد بر ابعاد اندازه گیری شده اسپرم گاو میش توسط سیستم CASA
- ۴- ارزیابی تأثیر نوع رقیق کننده (بایوکسل و آندرومد) بر ابعاد سر اسپرم گاو میش با استفاده از سیستم CASA

<sup>۱</sup>In vitro fertilization

<sup>۲</sup>Automatic Assisted Sperm Morphometry Analysis



بین کپل و گردن مستقیم و روبه جلو قرار دارد و در سین سروس موها طبیعی است یعنی جهتشان رو به عقب است.

جنس های آسیائی گوش های نسبتاً کوچک و جمجمه باریک دارند ولی در جنس آفریقائی گوش ها بزرگ، حاشیه دار و پهن و جمجمه باریک و کوچک می باشد (Ross cockrill, ۱۹۷۴). جمجمه این دو جنس با هم خیلی فرق دارند. استخوان تیغه و کام گاومیش های آسیائی بهم جوش خورده و سوراخ های خلفی بینی باز است و استخوان تیغه مجرای بینی را کاملاً به دو قسمت تقسیم می کند.

در گاومیش های آفریقائی استخوان تیغه و کام بهم جوش خورده و سوراخ های خلفی بینی با تیغه به ۲ قسمت تقسیم نمی شوند. به علاوه زایده صعودی استخوان بین فکی گاومیش آسیائی مقابل استخوان بینی قرار گرفته و از دور قابل دیدن است ولی در گاومیش آفریقائی کوتاه بوده و به استخوان بینی نمی رسد.

شاخ های گاومیش های وحشی آسیائی به شکل هلال ساده بوده و باریکتر از گاومیش آفریقائی است و قسمت میانی شاخها غالباً ضخیم و کلفت نمی باشد.

## ۲-۱-۱ گاومیش وحشی آفریقائی

این گونه به جنس گاومیش آفریقائی (سین سروس کافر)<sup>۱۰</sup> تعلق دارد و در جنگلها و زمینهای مسطح آفریقا در جنوب صحرا یافت می شود. تعداد آنها در اثر شکار کاهش پیدا کرده و در سال ۱۹۶۰، ۳-۲ میلیون رأس تخمین زده شده و حدود ۶۰ گونه و تحت گونه دارد که طبقه بندی نشده است. یکی از مشهورترین گونه های این جنس سین سروس کافر است که خود به سه گونه تقسیم می شود:

۱- سین سروس کافر کافر<sup>۱۱</sup>      ۲- سین سروس کافر نانوس<sup>۱۲</sup>      ۳- سین سروس کافر اکوئینوکیتالیس<sup>۱۳</sup>

### ۱- سین سروس کافر کافر

قد این گاومیش حدود ۱۴۰-۱۵۰ سانتی متر است. رنگ بدن مشکی است و وزن بدن می تواند به ۱۰۰۰ کیلوگرم نیز برسد.

<sup>۱۰</sup> Syncerus caffer

<sup>۱۱</sup> Syncerus caffer caffer

<sup>۱۲</sup> Syncerus caffer Nanus

<sup>۱۳</sup> Syncerus caffer Aequinoctialis