

دانشگاه تهران

دانشکده دامپزشکی

پایان نامه

برای دریافت درجه دکترای تخصصی

مامانی و بیماریهای تولدی مثل دام

موضوع:

باروری آزمایشگاهی اووسیت‌های گاو

(I.V.F)

استاد راهنما:

دکتر محمود بلورچی

تحقیق و تدوین:

دکتر مهدی وجگانی

۱۳۷۴-۱۳۷۵

چکیده:

مطالعه ای به مدت ۱۲ ماه در آزمایشگاه بخش مامایی و بیماریهای تولید مثل دام دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران جهت بارور نمودن تخمکهای گاو در محیط خارج از بدن انجام شد. تخمدانهای گاوهای که برای کشتار به کشتارگاه قائم شهریار واقع در حومه تهران آورده می شد جمع آوری شده و در سرم فیزیولوژی گرم 37°C - 30°C قرار داده می شد و در اسرع وقت به آزمایشگاه منتقل می گردید. بنحوی که فاصله زمانی بین جمع آوری تخمدانها تا جمع آوری تخمک نارس از سرنگ ۱۰ سی سی که سوزن ۱۸ guge به سر آن وصل بود استفاده شده و تخمکها در فولیکولهایی که ۱ تا ۱۰ میلی متر قطر داشتند جمع آوری می شد.

برای بالغ کردن تخمکهای نارس، آنها را در قطرات حاوی محیط TC-199 که با سرم گاو فحل (۱۰٪) غنی شده و دارای آنتی بیوتیک پنی سیلین (100 IU/ml) و استرپتومایسین (Ug/ml) بود قرار می دادیم. سطح قطرات را با پارافین استریل گرم پوشانده و در شرایط ۵٪ دی اسید کربن، ۹۵٪ هوا و رطوبت کافی برای ۱۸-۲۴ ساعت در گرمخانه قرار می دادیم. از سوی دیگر دو پایت اسپرم منجمد را بمدت یک دقیقه در آب 37° سانتیگراد قرار می دادیم تا ذوب شود سپس آنها را داخل لوله آزمایش حاوی محیط BOFM^۱ که کافئین 10 mm داشتند خالی نموده و به مدت ۱۰ دقیق در 833 G دو بار سانتریفوژ می شد و پس از هر بار سانتریفوژ مایع روی لوله را خارج کرده و در نهایت اسپرم ته نشین شده در ته لوله با میزان کافی محیط BOFM تا رسیدن به غلظت مورد نظر رقیق شده و جهت بارور کردن تخمکهای بالغ شده مورد مصرف قرار می گرفت.

برای باروری، ۱۰ عدد از تخمکهای بالغ شده را در هر قطره محیط BOFM قرار داده و به هر قطره به میزان $10^6 \times 3\text{ ml}$ اسپرم اضافه می شد سپس قوطی پتری برای ۲۴-۲۲ ساعت در شرایط ۵٪

دی اکسید کربن، ۹۵٪ هوا و رطوبت کافی انکوباسیون می شد و پس از این مدت تخمکها جهت ارزیابی باروری ثابت شده و با اورسئین رنگ آمیزی می شدند.

در مجموع از ۴۱ عدد تخمدان جمع آوری شده ۲۳۹ عدد تخمک $(= ۵/۷ = ۲۳۹/۴۱)$ بدست آمد که از مجموع تخمکهای بدست آمده ۵۵ عدد از آنها جهت بارور کردن به محیط باروری منتقل شده که ۲۶ عدد از آنها توسط اسپرم بارور گردیدند $(= ۴۷٪ = ۲۶/۵۵)$.