Influence of the season and ovarian follicular size on hormonal, metabolic and ionic changes of ovarian follicular fluid in native ewes.

تاثير الموسم وحجم الجريبة المبيضية في التغيرات الهرمونية والايضية والايونية للسائل الجريبي المبيضي للنعاج المحلية

د. هاشم مهدي الربيعي
الكلية التقنية / المسيب

ميادة صاحب الحسناوي
جامعة كربلاء / كلية الطب البيطري

البحث مستل من الباحث الثاني (ماجستير)

المستخلص

أجريت الدراسة في مختبرات قسم تقنيات الإنتاج الحيواني/الكلية التقنية/ المسيب للمُدة من2011/2/1لغاية2012/2/1 بهدف دراسة بعض المكونات الكيموحيوية للسائل الجُريبي المبيضي للنعاج وعلاقتها بالموسم وحجم الجُريبه. جمعت الأعضاء التناسُلية الإنثوية من مجزرة محافظة كربلاء، بلغ المجموع الكلي للقناة التناسُلية240عينة ,نقلت العينات إلى المختبر خلال 2-3ساعات بعدالذبح. سحب السائل الجُريبي من الجُريبات الصغيرة (أقل من4ملم) والمتوسطة(4-6ملم) والكبيرة(تساوي أو أكثر من7 ملم) , ثم خزن السائل الجُريبي بدرجة 4مئوية تحت الصفر لحين التحليل تم تحليل عينات السائل الجُريبي لبيان مُستوى هرمون المُودق(**Estrogen**)وهرمون مُحفز الجُريبات(**FollicleStimulating Hormone- FSH**) والكلوكوز والكوليستيرول والبروتين الكلي والبوتاسيوم والكالسيوم. أظهرت النتائج إرتفاع مُعدل مُستوى هرمون المُودق للفصول الأربعة بصورة عالية المعنوية($p<0.01$) مع زيادة حجم الجُريبة، بينما إنخفض وبشكل عالي المعنوية($p<0.01$) مُعدل مُستوى هرمون مُحفز الجُريبات مع إختلاف حجم الجُريبة.إزداد معنويا($p<0.01$) مُعدل مُستوى الكوليستيرول للفصول الأربعة في السائل الجُريبي مع زيادة حجم الجُريبة، إرتفع وبشكل عالي المعنوية($p<0.01$) مُعدل مُستوى الكلوكوز للفصول الأربعة مع زيادة حجم الجُريبة، بينما إنخفض مُعدل مُستوى البروتين الكلي للفصول الأربعة بمعنوية عالية($p<0.01$) مع كبر حجم الجُريبة. إنخفض بشكل عالي المعنوية($p<0.01$) مُعدل مُستوى البوتاسيوم ولجميع الفصول مع زيادة حجم الجُريبة. وعلى العكس إزداد وبشكل عالي المعنوية($p<0.01$) مُعدل مُستوى الكالسيوم وللفصول الأربعة مع كبر حجم الجريبة .

Abstract

The study was conducted at laboratories of department of animal technical production ,Al-MusaibTechnicalCollege from 1/2/2011 to 1/2/2012 to investigate some biochemical composition of ovine follicular fluid in relation to season and follicle size. The female reproductive organs were collected from slaughter house of province of Karbala .A total of 240 samples of genital tract. The samples were transported to the laboratory within 2-3 hours post slaughter. The follicular fluid was aspirated from small (>4mm),medium (4-6mm)and large (≤ 7mm) follicle .The follicular fluid was stored at -4C° prior to assay. Follicular fluid sample were analyzed for estrogen hormone, follicle stimulating hormone ,glucose ,cholesterol ,total protein ,potassium and calcium .The results showed that the mean of estrogen hormone level at different seasons of the year were highly significant ($p<0.01$)with an increased follicular size(diameter) ,while the mean follicle stimulating hormone level decreased highly significant ($p<0.01$) with difference in follicular diameter**.**The mean of cholesterol level at different seasons of the year wasshowed highly significant increased ($p<0.01$) in follicular fluid with increased in follicular size. The mean of glucose level at different seasons of the year increased significantly ($p<0.01$) with increased follicular size , while the mean total protein level at different seasons of the year decreased in highly significant ($p<0.01$) with enlargement of follicular size.The mean of potassium level at different seasons of the year decreased highly significant ($p<0.01$) with increased follicular size, rather the mean of calcium level at different seasons of the year increased significantly ($p<0.01$) with increased follicular size.

المقدمة

تتمتع الأغنام بأهمية إقتصادية ناجمة من دورة رأس المال السريعة فيها وكونها حيوانات إنتاجية غير مكلفة في تربيتها ومقدرتها على تحويل المواد الأقل قيمة إلى مواد مُفيدة ومُربحة مثل اللحوم والحليب والصوف (1)، وقُدرتها على تحمُل الظروف البيئية من حرارة مُرتفعة ونقص المواد الغذائية ومُقاومة الإصابة بالأمراض (2) ، كما تعد فسلجة تناسُل الأغنام أحد الأُسس المهمة في التربية والإنتاج (3) ، وبالنظر إلى إنخفاض الإنتاجية والخصوبة لدى الأغنام المحلية مقارنة بالأجنبية (4)، لذا أصبح من الضروري إدخال التقنيات الحديثة من الإخصاب الخارجي ونقل الأجنة والإنتخاب الوراثي على المدى البعيد لرفع الأداء التناسُلي والإنتاجي وتحسينهما(5,6) يتكون السائل الجُريبي المبيضي للنعاج من مواد تُنتج موضعياً أثناء الفعاليات الأيضية لخلايا الجُريبة وهو أيضا جُزء من إنتاج مصل الدم لذلك فإن تركيب السائل الجُريبي يكون مشابها ولكن ليس مُتطابقا مع بلازما الدم (7) . يحتوي السائل الجُريبي على المواد الأيضية والأيونية والهرمونية والدهون (8) وعوامل نمو وتثبيط (9) وعدد من العناصر والأملاح (10). تنمو وتنضج الجُريبة والبويضة بظروف كيموحيوية مرتبطة بتغير حجم الجُريبة من صغيرة إلى كبيرة وإن كل هذه المواد الموجودة في السائل الجُريبي ذات علاقة بنضج البويضة (11). يمتلك السائل الجُريبي وظائف مُختلفة منها مالهُ علاقة بالبويضة هي إبقاء الإنقسام الخيطي للبويضة في حالة خمول(12)، وحماية البويضة من التحلل أثناء الإباضة(13). تعطي دراسة مُكونات السائل الجُريبي صورة واضحة عن مدى إحتياج الجُريبة والبويضة لمُختلف المواد الأيضية والأيونية والهرمونية والدهنية والإنزيمات والعناصر والأملاح ومُثبطات النمو ومُحفزاته لسد إحتياجاتها الأساسية والضرورية لإستمرار نموها ونضجها ومن ثم ينعكس هذا على إنضاج البويضات واخصابها مختبرياً. تهدف الدراسة الحالية لمعرفة تاثير الموسم في تراكيز بعض مكونات السائل الجُريبي, الهرمونات(هرمون المُودق ومُحفز الجريبات) والأيضية(الكوليستيرول والكلوكوز والبروتين الكلي) والأيونات(البوتاسيوم والكالسيوم) وعلاقتها بتغيُر حجم الجُريبة وذلك لمعرفة مسار تغذية الجُريبة والبويضة في هذه المُكونات .

المواد وطرق العمل

1. جمع العينات Collection of samples

أجريت الدراسة في قسم تقنيات الإنتاج الحيواني/الكلية التقنية/المسيب، جُمعت نماذج البحث كافة والحاوية على الجهاز التناسُلي الإنثوي للنعاج المحلية المذبوحة والبالغ عددها240 عينة في مجزرة محافظة كربلاء المُقدسة، وقد إستمر الجمع لمُدة سنة كاملة وبمُعدل3-7 عينات إسبوعيا وبمجموع 20 عينة شهريا وللمُدة من شباط 2011 ولغاية شباط 2012، جمعت النماذج بين الساعة من5-7 صباحا من نعاج بالغة جنسيا تراوحت أعمارها 8-60 شهرا وتم تقدير العمر بواسطة التسنين(**Dental formula**)(14) وبعد سلخ الحيوان وإزالة الأحشاء الداخلية تم سريعا إزالة الجهاز التناسُلي كاملا(الصورة 1) ووضع بعد ذلك بكيس بلاستيكي حاوٍ على محلول الملح الفسلجي بتركيز 0.9% وبعد ذلك يوضع الكيس في صندوق بلاستيكي حاوٍ على كمية من الثلج ونقل إلى المختبر (15) .

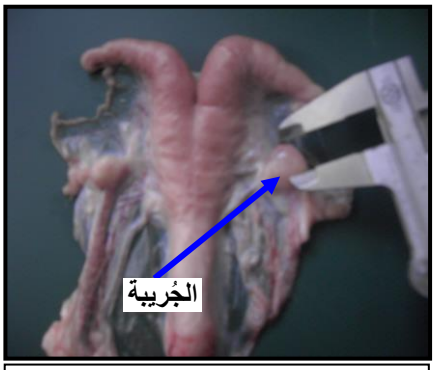
2. جمع وفحص المبايض Collection and examination of ovaries

فُصلت المبايض عن الجهاز التناسلي في المختبر وذلك بإزالة الرباط العريض **(Broad ligament)** الذي يربطها مع قناة البيض والرحم والأنسجة والأربطة المبيضية باستعمال المشرط والمقص الجراحي، ثم غُسلت المبايض مرتين بمحلول الملح الطبيعي **(Normal saline)** ، بعد ذلك تم فحص وقياس الجريبات **(Follicles)** بواسطة القدمة **(Vernier calipers)** (نوع **Nichi** يابانية) (صورة 2) ابتداءاً من تلك التي قطرها 1 ملم وحتى 12 ملم ، ثم صنفت الجريبات إلى ثلاثة مجاميع حسب قطرها، الأولى صغيرة قطرها اقل من 4 ملم (**4mm**>) والثانية متوسطة ذات قطر 4-6 ملم (**4-6mm**) والثالثة ذات قطر يساوي 7 ملم أو أكثر (**mm** $\geq$ **7**) .

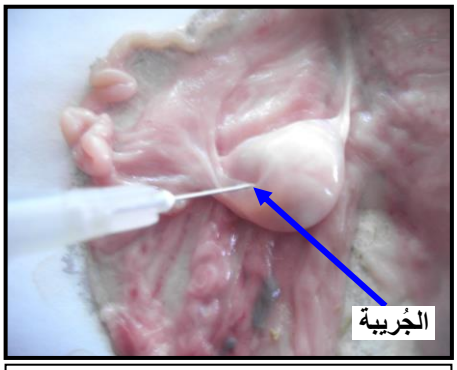
3. سحب السائل الجريبي Aspiration of follicular fluid

سحب السائل الجريبي من المجاميع الثلاثة للجريبات بواسطة سرنجة الأنسولين المعقمة النبيذة ذات قياس 29 -**29 (gauge)**صورة 3) ووضع في قناني سعة 2 ملليتر للسائل الجريبي المسحوب من الجريبات الصغيرة وقناني سعة 5 ملليتر للسائل الجريبي المسحوب من الجريبات المتوسطة والكبيرة ، ثم وضع في المجمدة بدرجة حرارة -4 مئوية تحت الصفر لغاية التحليل، وعند التحليل نهاية كل ثلاثة أشهر (موسم) يذاب السائل الجريبي ويجمع مع بعضه لغرض التحليل (15).

الصورة (1) الجهاز التناسُلي للنعاج



الصورة (2) قياس قطر جُريبة المبيض



الصورة (3) سحب السائل الجُريبي

4. التحاليل الكيموحيوية Biochemical analysis

تم تقدير تركيز هرموني المودق ومحفز الجريبات بأستعمال عدة تجارية من شركة**(AccuBind Kit-USA)** والتي تعتمد على قياس كثافة اللون بواسطة جهاز **Enzyme Linked Immune Sorbint Assay (ELISA) (Metertch) Germany**وبطول موجي 450 نانومتر . تم تقدير تركيز الكلوكوز باستعمال عدة تجارية من شركة**(Cromatest Kit-Spain)**من خلال الطريقة الضوئية بواسطة جهاز المطياف الضوئي **(Spectrophotometer)**(نوع **PD303** ألماني) وبطول موجي546 نانوميتر ، ولغرض تقدير الكوليستيرول وتركيز البروتين الكلي استعملت عدة تجارية من شركة **(Biomaghreb Kit-Tunis)** ومن خلال الطريقة الضوئية وبواسطة جهاز المطياف الضوئي وبطول موجي 500 نانوميتر للكليسيترول و 546 للبروتين الكلي ، أما تحليل الأيونات فقد استعملت في تحليلها عدة تجارية من شركة **(SPINREACT Kit- Spain)**لغرض فحص وتقدير أيون البوتاسيوم بواسطة جهاز المطياف الضوئي وبطول موجي 578 نانوميتر وعدة تجارية من شركة **(RANDOX Kit-England)**لغرض فحص وتقدير أيون الكالسيوم باستعمال جهاز المطياف الضوئي وبطول موجي 550 نانوميتر .

5. المواسم Seasons

قسمت مواسم السنة إلىفصل الشتاء: كانون الأول/ كانون الثاني/ شباط وفصل الربيع: آذار/ نيسان/ آيار وفصل الصيف: حزيران/ تموز/ آب وفصل الخريف: أيلول/ تشرين الأول/ تشرين الثاني.

6. التحليل الإحصائي Statistical analysis

أستعمل التصميم العشوائي الكامل (**Completely Randomized Design**) لدراسة تأثير حجم الجُريبة في مُستوى الهرمونات والعناصر المدروسة وقُورنت الفروق المعنوية بين المُتوسطات بإختبار (16) مُتعدد الحدود لمقارنة الفروق المعنوية بين المتوسطات. وأستُعمل البرنامج الجاهز(17) في التحليل الإحصائي للبيانات.

النتائج والمناقشة Results and Discussion

هرمون المودق (Estrogen) : يتضح من الجدول (1) إرتفاع مُستوى هرمون المُودق بصورة عالية المعنوية($p<0.01$) مع زيادة حجم الجُريبة، إذ كان مُعدل مُستوى هرمون المُودق في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات المبيضية الصغيرة(4< ملم) ولجميع فصول السنة314.25 بيكوغرام/ميليلتر وإرتفع مُعدل مُستواه معنويا في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات المبيضية المتوسطة(4-6ملم) ولجميع فصول السنة ووصلإلى350.71بيكوغرام/ميليلتر وإستمر بالإرتفاع في مُستواه في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات المبيضية الكبيرة(7≤ ملم) ولجميع فصول السنة وبلغ مُعدله 378.55بيكوغرام/ميليلتر، وبينت نتائج الجدول عدم وجود تأثير معنوي للإختلافات الموسمية في مُستوى هرمون المُودق في السائل الجُريبي المبيضي لنفس حجم الجُريبة وقد يعود سبب الزيادة المعنوية لهرمون المُودق مع زيادة حجم الجُريبة إلى بداية نمو الجُريبة وتكوين الغار**(Antrum)** في الجُريبة النامية عندما يكون قطرها ميليمتراً واحداً تقريبا، إذ تبدأ خلايا القراب البينية **(Theca intersticial cells)** في الجُريبة النامية بالتَمَيـُّز والوضوح وبناء مُستقبِلات لهرمون الإباضة**(Luteinizing hormone)** وبالنتيجة تمتلك خلايا القراب البينية القابلية لإنتاج الاندروجين والغالب منه هو هرمون الشحمون الخصوي**(Testosterone)** وبمساعدة هرمون الإباضة (18) وبإستمرار الجُريبة السائدة بالنمو فإن الخلايا الحبيبية**(Granulosa cells)** تكتسب القابلية والجُهد على إنتاج

كميات كبيرة من هرمون المُودق وبمساعدة هرمون مُحفز الجُريبات أو تحت تأثيره (7)، وتستمر فعالية الخلايا الحبيبية ونشاطها وتصل إلى أعلى مُستواها عندما تصل الجُريبة وقت ماقبل الإباضة في الطور الجُريبي، إذ تصبح الخلايا الحبيبية نشطة جدا أو ذات فعالية عالية في تحويل الاندروجينات التي تصنع في خلايا القراب البينية إلى هرمون المُودق(19) وهذا يتفق مع (15) في الأغنـــام و(20) في الأبـقار و (21) في الجـاموس و(22) في المعـز.

الجدول **1**. تأثير حجم الجُريبة في مُستوى هرمون المُودق (**Pg/ml**) خلال مواسم السنة المختلفة .

حجم الجُريبة	الموسم					المُعدل
ملم	عدد الجُريبات	الشتاء 120 مبيضاً	الربيع 120 مبيضاً	الصيف 120 مبيضاً	الخريف 120 مبيضاً	480 مبيضاً
صغير 4> ملم	4375	± 317.80 **C**3.29**a**	± 312.60 **C** 2.01**a**	± 310.67 **C** 1.64**a**	± 315.93 **C** 2.55**a**	± 314.25 **C** 1.24**a**
متوسط 6-4 ملم	1211	± 351.53 **B** 4.67**b**	± 353.20 **B** 4.44**b**	± 348.2 **B** 2.74**b**	± 349.9 **B** 5.51**b**	± 350.71 **B** 2.18**b**
كبير 7≤ ملم	372	± 377.46 **A** 8.19**c**	± 384.13 **A** 5.47**c**	± 375.9 **A** 6.77**c**	± 380.8 **A** 3.97**c**	± 378.55 **A** 6.74**c**
مُستوى المعنوية	--	**	**	**	**	**

** (**P<0.01**). المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.
الحروف الأفقية ضمن السطر الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها

هرمون مُحفز الجُريبات (FSH) :أظهرت نتائج التحليل الإحصائي للجدول(2) أن مُستوى هرمون مُحفز الجُريبات يتأثر معنويا (**P**< 0.01) بإختلاف حجم الجُريبة، إذ إنخفض مُستوى هرمون مُحفز الجُريبات مع زيادة حجم الجُريبة وبلغ مُعدل مُستواه في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات الصغيرة ولجميع الفصول الأربعة 9.62 ملي وحدة دولية/ ميليلتر مقارنة مع مُعدل مُستواه في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات المبيضية والمتوسطة والكبيرة، إذ وصل إلى 7.27 و5.55مليوحدة دولية/ميليلتر، وبينت نتائج الجدول عدم وجود تأثير معنوي لتأثير إختلاف مواسم السنة في مُستوى هرمون مُحفز الجُريبات في السائل الجُريبي عند ثبوت حجم الجُريبة. يعزى سبب إنخفاض هرمون **FSH** في الجُريبات من بداية عملية تكوين الجُريبات(**Folliculogenesis**) في الجُريبة الأولية(**Primordial Follicle**) التي تحتوي على بويضة إبتدائية(**Primary oocyte**) في حالة سكون وتحاط بطبقة واحدة من الخلايا المسطحة تنمو وتتطور الجُريبة الأولية إلى جُريبة إبتدائية(**Primary Follicle**) والتي تتصف بتحول الخلايا المسطحة إلى خلايا مكعبة (23)، وعندما يصل حجم الجُريبة إلى 0.1 ملم تبدأ الخلايا الحبيبية في الجُريبات الإبتدائية بتكوين مُستقبِلات لهرمون مُحفز الجُريبات وتطويرها(24)، تنمو وتتطور الجُريبة لتصبح في مرحلة الغار(**Antral Follicle**) في هذه المرحلة فان البناء الأساسي للجُريبة قد إكتمل ولكن خلايا القراب تستمر في الإنقسام الخيطي مع زيادة حجم الجُريبة وتحت تأثير هرمون مُحفز الجُريبات فإن خلايا القراب تفرز كمية كبيرة من هرمون الاندروجين والذي يتم تحويله بواسطة الخلايا الحبيبيـة إلى هرمـون المُودق، لهذا يبدأ تركيزه بالإرتفاع في داخل الجُريبة مع تقدم حجمها ومن ثم يزداد تركيزه في بـلازما الدم، لذا سوف يؤثر في إفراز هرمون مُحفز الجُريبات بواسطة التغذية الإسـترجاعية السالبة ويتسـبب في تثبيط إنتاجه وتقليله في الغدة النخـامية(18)،وكذلك قلة مُستقبِلات هرمون **FSH**على الخلايا الحبيبية وخـلايا القراب مع زيـادة مُستقبِلات هرمون الإباضـة **LH** للجُريبة ماقبل الإباضة (25)، ويمكن أن يعزى سـبب تغاير مُستوى هرمون مُحفز الجُريبات مع حجم الجُريبة إلى إن نمو وإنقسام الخلايا في بداية تكوين الجُريبة يكون سريعا وذلك لإكتمال طبقات الجُريبة المختلفة التي تحمي وتُغذي البويضة وتكوين هذه الطبقات تعتمد على هرمون **FSH** وبعد إكتمال نمو وتطور الجُريبة فإن الإعتماد على هرمون **FSH** سوف يقل لذا فإن مُستواه يقل مع زيادة حجم الجُريبة (26) وهـذا يتفق مع (27) و(22) في المعز و(28) في الجاموس و(7) في لأبقار.

الجدول**2**. تأثير حجم الجُريبة في مُستوى هرمون **FSH** (**mIU/ml**) خلال مواسم السنة المختلفة .

حجم الجُريبة	الموسم					المُعدل
ملم	عدد الجُريبات	الشتاء 120 مبيضاً	الربيع 120 مبيضاً	الصيف 120 مبيضاً	الخريف 120 مبيضاً	480 مبيضاً
صغير 4 > ملم	4375	± 9.32 **A** 0.26**a**	± 9.88 **A** 0.32**a**	± 9.36 **A** 0.33**a**	± 9.90 **A** 0.18**a**	± 9.62 **A** 0.14**a**
متوسط 6-4 ملم	1211	± 6.97 **B** 0.21**b**	± 7.52 **B** 0.24**b**	± 7.72 **B** 0.32**b**	± 6.89 **B** 0.22**b**	± 7.27 **B** 0.13**b**
كبير 7 ≤ ملم	372	± 5.61 **C** 0.17**c**	± 5.60 **C** 0.18**c**	± 5.45 **C** 0.28**c**	± 5.52 **C** 0.13**c**	± 5.55 **C** 0.09**c**
مُستوى المعنوية	--	**	**	**	**	**

** (**P<0.01**). المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.
الحروف الأفقية ضمن السطر الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها

الكوليستيرول Cholesterol:أوضح الجدول(3) وجود تباين في مُعدل مُستوى الكوليستيرول في السائل الجُريبي المبيضي (**p**<0.01) وللفصول الأربعة بإختلاف حجم الجُريبة، إذ بلغ مُعدل مُستواه في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات المبيضية الكبيرة 139.24 ملغم/ديسيلتر مقارنـة مع مُعدل مُستواه في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات المبيضية المتوسطة والصغيرة، إذ كان مُستواه 110.93 و 96.37 ملغم/ ديسيلتر على التوالي، ولم تلاحظ أي فروقات معنوية في مُستوى الكوليستيرول بين الفصول الأربعة عند المقارنة بين نفس حجم الجُريبة. يؤدي الكوليستيرول دورا معنويا في وظيفة المبيض لأنه يعد المادة الأولية أو الأساسية لتركيب الهرمونات الستيرويدية الذي يفرزها المبيض وتستعمله الخلايا الحبيبية والقراب لنموها وتكاثرها وكذلك لتغذية البويضة ونضجها. ينتمي الكوليستيرول إلى صنف الشحوم المشتقة(**Dreived Lipid**) ويكون على شكلين الأول كوليستيرول الحر والثاني خلات الكوليستيرول(**Cholesterol esters**)،لايعتمد جسم الحيوان على المواد الغذائية فقط للحصول على حاجته من الكوليستيرول بل يصَنعـُه داخل جسمه من مواد عضوية بسيطة في أماكن عديدة من الجسم ومن ضمنها المبيض(29). يُشتق الكوليستيرول في السائل الجُريبي من مصدرين الأول إعادة تأليفه أو تركيبه بواسطة الخلايا الحبيبية من الخلات(**Acetate**) والثاني الممثل من البروتينات الدهنية من بلازما الدم، يحتوي السائل الجُريبي فقط على البروتينات الدهنية عالية الكثافة، لذا فإن الخلايا الحبيبية الوعائية الموجودة في الجُريبات تعتمد بشكل عام على الكوليستيرول المُتأتي من هذه الدهون المشتقة من بلازما الدم بواسطة عبورها للغشاء القاعدي للخلايا الحبيبية(8). يُخزن الكوليستيرول المُشتق من الخلات ويبقى في الخلايا وبواسطة التغيُرات الوظيفية للمبيض يتم تحويله إلى الشكل الحر تحت تأثير هرمونات المناسل المُتحررة من الغدة النخامية التي تقوم بإحتواء الكوليستيرول المُشتق وتحليله كيميائيا ثم تحويله إلى الشكل الحر الذي يدخل في تصنيع الهرمونات الستيرويدية، وعند إزدياد نمو الخلايا الحبيبية وتكاثرها سوف تحتاج إلى شكل خلات الكوليستيرول لذا يُسحَب من السائل الجُريبي فتكون نسبته قليلة عندما تكون الجُريبة صغيرة، أما عندما يكبُر حجم الجُريبة فسوف يقل تكاثر الخلايا وتبدأ في هذه المرحلة بتصنيع الهرمونات الستيرويدية وتقوم الخلايا بتحويل خلات الكوليستيرول إلى الشكل الحر وطرحه في السائل الجُريبي لإستعماله في تصنيع الهرمونات الستيرويدية (30).ونتائج هذه الدراسة تتفق مع(15) في الأغنام و (31) في الجاموس و(32) في المعز .

الجدول 3. تأثير حجم الجُريبة في مُستوى الكوليستيرول (**mg/dl**) خلال مواسم السنة المختلفة.

حجم الجُريبة		الموسم				المُعدل
ملم	عدد الجُريبات	الشتاء 120 مبيضاً	الربيع 120 مبيضاً	الصيف 120 مبيضاً	الخريف 120 مبيضاً	480 مبيضاً
صغير 4 > ملم	4375	± 96.61 **C** 1.41**c**	± 98.07 **C** 1.89**c**	± 95.76 **C** 1.24**c**	± 95.04 **C** 1.81**c**	± 96.37 **C** 0.80**c**
متوسط 6-4 ملم	1211	± 106.15 **B** 2.33**b**	± 112.78 **B** 2.07**b**	± 111.84 **B** 3.02**b**	± 112.94 **B** 2.79**b**	± 110.93 **B** 1.31**b**
كبير 7 ≤ ملم	372	± 141.24 **A** 1.34**a**	± 139.54 **A** 1.69**a**	± 138.18 **A** 1.49**a**	± 138.02 **A** 2.13**a**	± 139.24 **A** 0.84**a**
مُستوى المعنوية	--	**	**	**	**	**

** (**P<0.01**). المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.
الحروف الأفقية ضمن السطر الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها

الكلوكوز Glucose :يتبيـَّن من الجدول(4) أن مُستوى الكلوكـوز إزداد معنويا(**p**<0.01) مع زيادة حجم الجُريبة، إذ بلغ مُعدل مُستواه ولجميع فصول السنة في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات الصغيرة 48.08 ملغم/ديسيلتر وإرتفع مُعدل مُستواه ولجميع الفصول في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات المتوسطة إذ كان 59.89 ملغم/ديسيلتر وإستمر مُستواه بالإرتفاع في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات الكبيرة وبلغ مُعدلـه ولجميع الفصول 70.55 ملغم/ديسيلتر، بين الجـدول أيضا عـدم وجود فروق معنويـة في مُستوى الكلوكوز عند المقارنة بين الفصـول الأربعة لنفس حجم الجُريبة. إن الكلوكـوز يؤدي دورا مهما في عمليات الأيض المبيضي ويعد المصدر الرئيس للطاقة في المبيض عن طريق تأيضه في المسار اللاهوائي(**Anaerobic Pathway**) الذي يُؤدي إلى تكوين اللاكتوز(33). إن نقصان كمية الكلوكوز في السائل الجُريبي يُسبب عدم إكتمال نضج نواة الخلايا الحبيبية وعدم تمدد الخلايا الركمية التي تُحيط بالبويضة(34).وقد ترجع الزيادة المعنوية للكلوكوز مع زيادة حجم الجُريبة في الجُريبات الكبيرة ربما إلى إن أيـض الكلوكوز في الجُريبات الكبيرة قليل مقارنةً مع الجُريبات الصغيرة**(35)**. يرتفـع الكلوكوز نسـبيا في السائل الجُريبي مع تطور الجُريبة وذلك لقلة إستهلاكـه من قبل العـدد القليل من الخلايا الحبيبية في الجُريبات الكبيرة لذلك يرتفع مُستواه في السائل الجُريبي مع تقدم حجم الجُريبة**(15)**، ولعل يعود السبب في زيادة الكلوكوز في الجُريبات الكبيرة ربما إلى زيادة نفاذية الحواجِـز(**Barriers**)التي تفصُل الـدم عن الجُريبة خـلال نمو الجُريبة وذلك بترشيح مزيد من الكلوكوز من بلازمـا الدم إلى السائـل الجُريبي وزيادته فـي الجُريبات الكبيرة(36).وتتفق هذه الدراسة مع (37) في الأغنام و(7) في الأبقـارو(38) في الإبل و (39) في المعز .

الجدول4. تأثير حجم الجُريبة في مُستوى الكلوكوز (**mg/dl**) خلال مواسم السنة المختلفة.

حجم الجُريبة	الموسم					
ملم	عدد الجُريبات	الشتاء 120 مبيضاً	الربيع 120 مبيضاً	الصيف 120 مبيضاً	الخريف 120 مبيضاً	المُعدل 480 مبيضاً
صغير 4 < ملم	4375	± 47.67 **C** 1.73**c**	± 50.72 **C** 0.89**c**	± 46.29 **C** 1.67**c**	± 47.63 **C** 1.82**c**	± 48.08 **C** 0.79**c**
متوسط 6-4 ملم	1211	± 56.74 **B** 1.78	± 62.75 **B** 1.79	± 62.41 **B** 2.19	± 57.64 **B** 3.36**b**	± 59.89 **B** 1.21**b**
كبير 7 ≤ ملم	372	± 71.01 **A** 1.16**a**	± 69.24 **A** 1.16**a**	± 71.04 **A** 0.81**a**	± 70.93 **A** 1.29**a**	± 70.55 **A** 0.55**a**
مُستوى المعنوية	--	**	**	**	**	**

** (**P<0.01**). المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها .
الحروف الأفقية ضمن السطر الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها

البروتين الكلي Total Protein: يتضح من الجدول(5) وجود إنخفاض عالي المعنوية(**p**<0.01) في مُستوى البروتين الكلي مع زيادة حجم الجُريبة، إذ بلغ مُعدل مُستواه في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات الصغيرة وللفصول الأربعة 4.61 غم/ لتر، وإنخفض معنويا مُعدل مُستوى البروتين الكلي وللفصول الأربعة في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات المتوسطة إذ كان 3.73 غم/ لتر وإستمر الإنخفاض في مُعدل مُستوى البروتين الكلي في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات الكبيرة وبلغ 2.72 غم/ لتر، وأظهرت نتائج الجدول أن الإنخفاض في مُستوى البروتين الكلي في موسم الصيف لم يكن معنويا بين الجُريبات الصغيرة والمتوسطة بينما كان معنويا (**p**<0.01) بين الجُريبات الكبيرة والمتوسطة والكبيرة والصغيرة. يحتوي السائل الجُريبي على عدة أنواع من البروتينات مُشتقة من بلازما الدم أو تُصنع داخل الخلايا الحبيبية والقرابية من مواردها الأولية وهي الأحماض الأمينية (40). تحتاج الجُريبات في بداية تكوينها للبروتين لبناء الطبقات المُتعددة من الخلايا الحبيبية وخلايا القراب التي تُحيط بالبويضة لذلك تحتاج الجُريبة إلى وفرة من البروتين لذا تُسحب من بلازما الدم وتُصنع من خلايا الجُريبة لذلك سوف يزداد مُستوى البروتين الكلي في الجُريبة الصغيرة وعندما يكتمل بناء خلايا الجُريبة يصبح إحتياجها للبروتين قليلاً(13)، تحتاج عملية تكوين الجُريبات والإنقسام الخيطي للبويضة قبل الأباضة وتكوين الأوعية الدموية الجديدة(**Angiogenesis**) للجُريبة إلى مواد أولية في مُقدمتها الشحوم البروتينية والتي تفرز من قبل الخلايا الحبيبية للجُريبة لذا سوف يزداد إفرازه في بداية تكوين الجُريبة الصغيرة ومن ثم يزداد في السائل الجُريبي للجُريبة الصغيرة(41)، وقد يعود سبب قلة البروتين في الجُريبات الكبيرة إلى زيادة حجم الجُريبة، إذ يزداد إنتاج الهرمونات الستيرويدية بزيادة حجم الجُريبة والتي تحتاج إلى البروتينات الرابطة لنقل هذه الهرمونات إلى الهدف لذا سوف تستهلك هذه البروتينات لنقل هذه الهرمونات(42)، وكذلك فإن إنتاج الكوليستيرول يزداد كلما كبر حجم الجُريبة، وإن الكوليستيرول يصنع من قبل البروتينات الدهنية لذا سوف يُستهلك أيضا في صناعة الكوليستيرول كلما كبُر حجم الجُريبة لذلك يقل مُستوى البروتين الكلي كلما إزداد حجم الجُريبة(8) وهذه النتائج تتفق مع (15) و(43) في الأغنام و(44) في المعز ومن جهة أخرى لا تتفق النتائج مع (21) في الجاموس و (38) في الإبل إذ لم يجدوا تغيراً في مُستوى البروتين الكلي بإختلاف حجم الجُريبة .

الجدول 5. تأثير حجم الجُريبة في مُستوى البروتين الكلي (**g/l**) خلال مواسم السنة المختلفة.

حجم الجُريبة	الموسم					المُعدل
ملم	عدد الجُريبات	الشتاء 120 مبيضاً	الربيع 120 مبيضاً	الصيف 120 مبيضاً	الخريف 120 مبيضاً	480 مبيضاً
صغير 4 < ملم	4375	± 4.50 **A** 0.15**a**	± 4.50 **A** 0.12**a**	± 4.77 **A** 0.11**a**	± 4.64 **A** 0.10**a**	± 4.61 **A**0.06**a**
متوسط 6-4 ملم	1211	± 3.50 **B** 0.10**b**	± 3.66 **B** 0.17**b**	± 4.05 **A** 0.16**b**	± 3.72 **B** 0.16**b**	± 3.73 **B** 0.17**b**
كبير 7 ≤ ملم	372	± 2.62 **C** 0.23**c**	± 2.88 **C** 0.18**c**	± 2.63 **B** 0.13**c**	± 2.76 **C** 0.16**c**	± 2.72 **C** 0.12**c**
مُستوى المعنوية	--	**	**	**	**	**

** (**P<0.01**). المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.
الحروف الأفقية ضمن السطر الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها

أيون البوتاسيوم Potassium : إتضح من الجدول(6) أن مُستوى أيون البوتاسيوم يتأثر بصورة عالية المعنوية(**p**<0.01) بإختلاف حجم الجُريبة، إذ إنخفض مُستوى البوتاسيوم مع زيادة حجم الجُريبة، وبلغ مُعدل مُستوى البوتاسيوم في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات الصغيرة ولجميع الفصول 14.38 ملي مول/لتر، وإنخفض معنويا مُعدل مُستوى البوتاسيوم في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات المتوسطة ولجميع الفصول وبلغ 11.52 ملي مول/لتر، ولم يكن الإنخفاض في مُعدل مُستوى السائل الجُريبي المبيضي ولجميع الفصول بين الجُريبات المتوسطة والكبيرة معنويا وبلغ 10.94 ملي مول/لتر.يُعد البوتاسيوم الأيون الموجب الأساسي في السائل داخل الخلية وكذلك يكون مهماً جدا للسائل خارج الخلية أيضا(45) عند سحب الكلوكوز داخل الخلية لإنتاج الطاقة وللحفاظ على الوسط داخل الخلية وخارجها فيجب أن تُعادل شحنة الكلوكوز وذلك عن طريق دخول أيونات البوتاسيوم إلى داخل الخلية وبواقع دخول زوج من أيونات البوتاسيوم وخروج ثلاثة أيونات من الصوديوم وذلك للحفاظ على تركيز الصوديوم الواطئ داخل الخلية(11)، ولعل سبب زيادة مُستوى البوتاسيوم في الجُريبات الصغيرة وقلته في الجُريبات الكبيرة يعود إلى دخول أيونات البوتاسيوم في عملية إستهلاك الكلوكوز وهذه العملية تتطلب سحب أيون البوتاسيوم من مواقع خارج الخلية أي من السائل الجُريبي إلى مواقع داخل الخلية في الجُريبة وهي الخلايا الحبيبية وخلايا القراب مما يؤدي إلى قلة مُستوى البوتاسيوم في السائل الجُريبي ويزداد خزنه في خلايا الجُريبة(46) وهذه النتيجة تتفق مع (15) في الأغنام (22) في المعز و(47) في الجاموس .

الجدول **6**. تأثير حجم الجُريبة في مُستوى أيون البوتاسيوم (**mmol/l**) خلال مواسم السنةالمختلفة.

حجم الجُريبة	الموسم					المُعدل
ملم	عدد الجُريبات	الشتاء 120 مبيضاً	الربيع 120 مبيضاً	الصيف 120 مبيضاً	الخريف 120 مبيضاً	480 مبيضاً
صغير 4 < ملم	4375	± 14.38 **A** 0.16**a**	± 14.39 **A** 0.16**a**	± 13.94 **A** 0.18**a**	± 13.74 **A** 0.20**a**	± 14.12 **A** 0.04**a**
متوسط 6-4 ملم	1211	± 11.52 **B** 0.10**b**	± 11.42 **B** 0.15**b**	± 11.63 **B** 0.16**b**	± 11.50 **B** 0.10**b**	± 11.52 **B** 0.06**b**
كبير 7 ≤ ملم	372	± 10.69 **B** 0.10**c**	± 11.14 **B** 0.22**c**	± 10.79 **B** 0.11**c**	± 11.14 **B** 0.21**c**	± 10.94 **B** 0.08**c**
مُستوى المعنوية	--	**	**	**	**	**

** (**P<0.01**). المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.
الحروف الأفقية ضمن السطر الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها

أيون الكالسيوم Calcium: يلاحظ من الجدول(7) أن مُستوى أيون الكالسيوم يزداد معنويا(**p**<0.01) مع زيادة حجم الجُريبة، إذ بلغ مُعدل مُستوى أيون الكالسيوم في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات الصغيرة وللفصول الأربعة 4.24 ملغم/ديسيليتر، وإزداد بشكل غير معنوي مُعدل مُستوى الكالسيوم في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات المتوسطة وبلغ 4.55 ملغم/ديسيليتر، وأرتفع مُعدل مُستوى الكالسيوم معنويا ووصل في السائل الجُريبي المبيضي للجُريبات الكبيرة وللفصول الأربعة إلى 5.73ملغم/ديسيليتر. يؤدي الكاليسيوم دورا مهما في كفاءة تصنيع الهرمونات الستيرويدية للجُريبات النامية وتنظيم هرمونات المناسل في عملية تصنيع الهرمونات الستيرويدية للمبيض وفي عملية الإباضة(12). لعل سبب زيادة الكالسيوم بإزدياد حجم الجُريبة يعود إلى دخول الكالسيوم في تصنيع الهرمونات الستيرويدية ومنها المُودق وبما أن هذا الهرمون يزداد مُستواه كلما زاد حجم الجُريبة وكثرت عدد الخلايا الحبيبية التي تفرزها لذلك فإن كمية المُودق المتزايدة تحتاج إلى كمية عالية من أيون الكالسيوم يسحب أو يُرشح كمية كبيرة من هذا الأيون من الدم إلى السائل الجُريبي لهذا السبب سوف يزداد في السائل الجُريبي كلما كبرت الجُريبة(48). وهذه النتائج تتفق مع (15) في الأغنام و(49) في الأبقار.

الجدول 7. تأثير حجم الجُريبة في مُستوى أيون الكالسيوم (**mg/dl**) خلال مواسم السنة المختلفة .

حجم الجُريبة	الموسم					المُعدل
ملم	عدد الجُريبات	الشتاء 120 مبيضاً	الربيع 120 مبيضاً	الصيف 120 مبيضاً	الخريف 120 مبيضاً	480 مبيضاً
صغير 4 > ملم	4375	± 4.32 **B** 0.09**a**	± 4.27 **B** 0.07**a**	± 4.16 **B** 0.03**a**	± 4.22 **B** 0.11**a**	± 4.24 **B** 0.04**a**
متوسط 6-4 ملم	1211	± 4.58 **B** 0.04**b**	± 4.62 **B** 0.04**b**	± 4.35 **B** 0.08**b**	± 4.66 **B** 0.06**b**	± 4.55 **B** 0.03**b**
كبير 7 ≤ ملم	372	± 5.29 **A** 0.08**c**	± 6.05 **A** 0.08**c**	± 5.87 **A** 0.11**c**	± 5.69 **A** 0.12**c**	± 5.73 **A** 0.06**c**
مُستوى المعنوية	--	**	**	**	**	**

** (**P<0.01**). المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها.
الحروف الأفقية ضمن السطر الواحد لا تختلف معنوياً فيما بينها

نستنتج من هذه الدراسة أن السائل الجريبي عبارة عن خليط يحتوي على الهرمونات والمواد الأيضية والأيونات وهي مشتقة من بلازما الدم وأيض خلايا الجريبة وهو مؤشر على الفعالية الإفرازية والأيضية لخلايا الجريبة وأن هذه المكونات تستعمل كدليل للمعلومات في حالة زراعة وأنضاج خلايا الجريبة والبويضات خارج جسم الحيوان **(In vitro)** .

المصادر References

1. Atsan, T.; Emsen, E.; Yaprak, M.; Dagdemir,V.; Diaz,C.A.G. (2007) . An economic assessment of differently managed sheep flocks in eastern Turkey. Ital. J. Anim. Sci., 6:407–414.
2. العذب، محمود عبد السلام. (**2008**).رعاية الأغنام والماعز. مجلة البيطرة العربية،مدينة مبارك للأبحاث والتطبيقات التكنولوجية. جامعة بنها، مصر .
3. الراوي، عبد الرزاق عبد الحميد وشجاع، طاهر عبد اللطيف .(2002). الكفاءة التناسُلية للنعاج العواسي وخلطها تحت نظام تكرار الولادة . مجلة الزراعة العراقية .7(6): 73-81.
4. القس،جلال إيليا والجليلي، زهير فخري وعزيز، دائب إسحاق .(1993). أساسيات إنتاج الأغنام والماعز وتربيتها . كلية الزراعة . جامعة بغداد . مطبعة دار الكتب للطباعة والنشر.
5. خلف،أحمد إسماعيل.(2010).التقويم الوراثي لنمو الحملان العواسي كأداة للإنتخاب. رسالة ماجستير/كلية الزراعة-جامعة بغداد.
6. Sutton, M. L.; Gilchrist, R. B. and Thompson, J. G. (2005). Effect of hexoses and gonadotropin on bovine oocyte nuclear maturation during in vitro maturation in asynthetic follicle fluid medium . Reprod. Fertil. Dev.17: 407- 415.
7. Nishimoto, S.; Glen, A.H.; Akio, M. and Safumi, T. (2009). Classification of Bovine follicles based on the concentration of steroid, glucose and lactate in follicular fluid and the status of accompanying follicles. J. Rep., Vol. 55, No.2.
8. Nandi, S.; Girish Kumar, V.; Manjunatha, B.M.; Ramesh, H.S.; Gupta, P.S.P.(2008). Follicular fluid concentrations of glucose lactate and pyruvate in buffalo and sheep, and their effects on cultured oocytes, granulosa and cumulus cells. Thriogenology, 69:186-196.
9. Arunakumari, G.; Vagdevi, R.; Rao, B.S.; Naik, B.R.; Naidu, K.S.; Suresh, K.R.V. and Rao, V.H.(2007). Effect of hormones and growth factors on in vitro development of sheep preanteral follicles. Small Rumin**.** Res., 70: 93-100.
10. Sharma, R. K. and Vasta, R. (1998). Biochemical changes in trace elements in antral follicles of goats. Indian. J. Anim. Sci. 68(4): 330- 331.
11. Iwata, H.; Inouo, J.; Kimura, K.; Kuge, T.; Kuwayama, T. and Mouji, Y.(2006). Comparison between the characteristics of the follicular fluidand development competence of bovine oocytes. Anim. Reprod. Sci. ;19 : 215-223.
12. Iwata, H.; Hashimoto, S.; Ohota, M.; Kimura, K.;Shibano,K. & Miyake, M. (2004). Effects of follicls size and electrolytes and glucose in maturation medium on nuclear maturation and developmental competental of bovine oocytes. Reprod., 127:159-164.

13. Chang, A.S.; Dale, A.N.; and Moley, K.H.(2005). Maternal diabetes adversely affected preovulatory oocyte maturation,development,and granulosa cell apoptosis. Endocrinol. 146:2445-2453.
14. Getty, R. (1975). Anatomy of domestic animals ,5th ed., B.W. Saundersco. Philadelephia. USA.
15. Nandi, S . ; Girish Kumar,V. ; Manjunatha ,B. M .; and Gupta, P. S . P. (2007) . Biochemical composition of ovine follicular fluid in relation to follicle size. Journal compilation, Japan's Society of Developmental Biologist. Growth Differ. 49: 61- 66.
16. Duncan, D.B.(1955). Multiple Range and Multiple Test. Biometrics.11:1-42.
17. SAS. (2004).SAS / STAT Users Guide for Personal Computers. Release 7.0. SAS Institute Inc., Cary,NC., USA. (SAS=Statistical Analysis System).
18. Campbell, B, K. (2009). The endocrine and local control of ovarian follicle development in the ewe. Anim. Reprod., v.6,n.1,p.159-171.
19. Zeidan, A.E.B.; El-Harairy, Sh.A.; Gabr,M.A.; Tag El-Dien.; Abd El-Rahman, and Amer,A.M.(2011). In vitro maturation of camel oocytes As affected by different media during breeding and non-bnreeding seasons. Journal of American Science.7(1).
20. Nicolas,M.;Nadia, G.; Henry, J.; Helen, M.; Sarah, H.(2005). fluctuations in bouine ovarian follicular fluid composition through the oestrous cycle (paper) society for Reproduction and fertility.
21. Thangavel, A. and Nayeem, M. (2004). Studies on certion biochemical profile of the buffalo follicular fluid. Indian Vet. J. (81) 25-27.
22.الجبوري،ناهض حمزة عبادي.(2012). دراسة بعض المُكونات الكيموحيوية للسائل الجُريبي المبيضي للمعز المحلي وعلاقتها بحجم الجُريبة وبعض الصفات الظاهرية لجهازها لتناسُلي. دبلوم عالٍ-الكلية التقنية/ المسيب، هيئة التعليم التقني- العراق.
23. He, D.(2011). Effect of different levels of short-term feed intake on folliculogensis and plasma concentrations of lactate dehydrogenase,glucose, and hormones in Hu sheep during the luteal phase. Reproduction, 142:699-710.
24. Vlckova, R.; Valocky,I.; Lazar,G.; Sopkova,D.; Maracek, I.(2008). Histological and ultrasonographic monitoring of folliculogenesis in puerperal ewes after spring lambing. Acta. Vet. Brno.,77:65-72.
25. Findlay, J.K.; Kerr,J.B.; Britt,K.; Liew,S.H.; Simpson,E.R.; Rosairo,D. and Drummond,A.(2009). Ovarian physiology: follicle development, oocyte and hormone relationships. Anim.Repord.,V.6,n.1,p.16-19.
26. Rosairo, D.; Kuyznierewicz, I.; Findlay, J. and Drummond, A.(2008). Transforming growth factor-b : its role in ovarian follicle development. Reproduction, doi.: 10.153 / Rep.80-310.
27. Frota, I.M.A.; Leitao, C.C.F.; Costa, J.J.N.; Van den Hurk, R.; Briota, I.R.; Saraiva, M.V.A.; Figueiredo, J.T.; Silva, J.R.V. (2011). Effects of MBP -7 and FSH on the development of goat preantral follicles and levels of mRNA for FSH-R, BMP-7 and BMP receptors after in-vitro culture. Anim. Reprod. (8) 25-31.
28. Nandi, S.; Gupta, P.S.P.; Raghu, H.M. and Sarma, P.V. (2006). In vitro growth of primordial, preantral and antral ovarian follicles in buffalo congress, Nanning , China. Edited by yang Bingzhuang Nanning city: Guangxi Buffalo Research Institute. Pp.148.
29. Blaszczyk, B.; Stankiewicz, T.; Udala, J.; Gaczarzewicz, D.; Lasota, B.; Blaszczyk, P.;Szymanska, A. and Szymanska - Paternak, J. (2005). Free thyroid hormones and cholesterol in follicular fluid of bovine ovaries.Bull Vet. Inst. Pulawy 50:189-193.
30. Su, Y.Q.; Sugiura, K.; Wigglesworth, K.; Obrien, M.J.; Affourtit, J.P.; Pangas, S.A.; Matzuk,M.M.; Eppig, J.J.(2008). Oocyte regulation of metabolic cooperativity between mouse cumulus cells and oocytes : BMP-15 and GDF-9 control cholesterol biosynthesis in cumulus. Development, 135:111-121.
31. Tabatabaei, S. and Mamoei,M.(2011). Biochemical composition of blood plasma and follicular fluid in relation to follicular size in buffalo. Vol 20(5): 441-445.
32. Deshpande, S.B. and Pathak, M.M. (2010). Hormonal and Biochemical profiles in follicular fluid of unovulated follicles in superovulated Goats ovaries. Vet. world.; 3(5):221-223.

33. Gull, I.; Geva, E.; Lerner-Geval, L.T.; Wolman,I.and Amit, A. (1999). Anaerobic glycol sis. The metabolism of preounlatory human oocyte. European Journal of obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology.(85)225-228.
34. Nishimoto, H.; Matsutani, R.; Yamamato, S.; Takahashi, T.; Hayashi, K.G.; Miyamoto, A.; Hamano, S. and Tetsuka, M.(2006). Gene expression of glucose transporter (GLUT) 1,3 and 4 in bovine follicle and corpus luteum. Endocrinol.188:111-119.
35. Leroy, J.L.M.R .; Vanholder, T. and Delanghe, J.R. (2004) . Metabolite and ionic composition of follicular fluid from different – sized follicles and their relationship to serum in dairy cows. Anim. Reprod. Sci.; 80 : 201 – 211.
36. Ying, Sh.; Wang, Z.; Wang,Ch.; Nie, H.; He,D.; Jia, R.; Wu,Y.; Zhou, Z.; Yan, Y.; Zhang, Y.; Wang,F.(2011). Effect of different levels of short-term feed intake on folliculogenesis and follicular fluid and plasma concentrations of lactate dehydrogenase, glucose, and hormones in Hu sheep during the luteal phase. Reproduction November 1, 142: 699-710.
37. Faddy, M. and Gosden, R.(2007) . Numbers of ovarian follicles and testing germ line renewal in the postnatal ovary. Cell Cycle ,6:1951-1952.
38. Albomohsen, H.; Mamouei, S.; Tabatabaei, S. and Fayazi, J.(2011). Metabolite composition variations of follicular fluid and blood serum in Iranian dromedary camels during the peak breeding season. J. Anim. and Ver., (3): 327-331.
39. Thakur, R.S.; Chauhan, R.A.S. and singh, B.K. (2003). Studies on biochemical constituents of caprine follicular fluid. Indian Vet. J. (80) 160-162.
40. Kiker, W.; A.; Salisbury, M.W.; Green, B. and Engdahl, G.R.(2005). Effects of Protein and Energy Feeding on Ovine Oocyte Production and Developmental Capcity .Proceeding , Western Section , American Society of Animal Science. Vol.56.
41. Hunter, M.G.; Robinson, R.S.;Mann,G.E.; Webb, R.(2004). Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species.Anim. Reprod.Sci.82-83:461-477.
42. Webb, P.C.; Garnsworthy, J.; Gong,G. and Armstrong, D. G.(2004). Control of follicular growth : local intractions and nutritional influences.J.Anim.Sci,1;82(13-suppl):E 63-74.
43. Singh, D.; Sharma, M. K. & Pandey, R. S. (1999). Biochemical and hormone characterization of follicles from follicular and luteal phase ovaries of goat and sheep. Lndian. J. Exp. Biol. 37, 434-438.
44. Deldar, H.; Zare-Shaahneh, A.; Javad- Zamiri, M.; Daliri, M.; Kohran, H.; Ansari-Persaraice, Z.; Akhlaghi, A.; Zahndi, M. and Khodaie, M. (2011). Effect of glucose lactate and pyruvate, concentrations on in vitro growth of goat granulose cell. Afr. Can. Journal of Biotechnology; 10(40): 7874-7877.
45. Callaghan, D, O.; Yaakub, H.; Hyttel, P.; Spicer, L.J. and Boland, M. P. (2000). Effect of nutrition and superovulation on oocyte morphology, follicular fluid composition and systemic hormone concentrations in ewes. J. Reprod.Fertil., 118:303-313.
46. Warzych, E.; Cieslak,A.; Pawalak,P.; Renska,N.; Peres-Kamczyc,E. and Lechniak,D.(2011). Maternal nutrition affects the composition of follicular fluid transcript content in gilt oocytes. Veterinarni Medicina.56:156-167.
47. Kaur, J.; Takkar, O.P. and Khera, K.S. (1997). Mineral elements in follicular fluid of Buffalo ovary, India J. Anim. Reprod. (18) 36-38.
48. Tamilmani, G.; Rao, B,S.; Vagdevl, R.; Amarnath, D.; Naik,B,R.; Mutharao, M. and Rao,V.H.(2005). Nuclear maturation of ovine oocytes in cultured preantral follicles. Small Rumin Res.(60): 295-305.
49. Sava, L.; Pillai,S.; More,V. and Sontak, A.(2005).Serum calcium measurement, total versus free (ionized) calcium .Indian,J.Clin. Biochemistry.20:158-161.