The relationship between Follicular diameter and Oocyte diameter and Maturation on Awassi ewes

العلاقة مابين قطر الجريبة وقطر ونضج البويضة لدى النعاج العواسي

د. هاشم مهدي الربيعي د. جميل سرحان اللامي علي جاسم النعيمي
قسم تقنيات الانتاج الحيواني – الكلية التقنية – المسيب

بحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثالث

المستخلص

اجري البحث في قسم تقنيات الانتاج الحيواني / الكلية التقنية / المسيب للمدة من 2008/9/1 لغاية 2009/9/1 بهدف التعرف على العلاقة ما بين قطر الجريبة وقطر ونضج البويضة ، جُمعَ 150 زوجا من المبايض من نعاج بالغة من مجازر قضاء المسيب / محافظة بابل ، ونقلت الى المختبر خلال 1 -2 ساعة وبلغ عدد الجريبات على المبايض 1205 جريبة وصنفت الى 6 مجاميع طبقا الى قطر الجريبة 1-2 و> 2 -3 و> 3-4 و> 4-5و> 5-6 و> 6-8 ملم وسُحب السائل الجريبي منها ، بينت النتائج وجود اعلى نسبة للبويضات الناضجة عندما يكون قطر الجريبة ما بين 2 – 3 ملم وقطر البويضة ما بين 115 – 120 مايكروميتر . أزداد قطر البويضة معنويا ($p<0.01$) مع زيادة كلا من سمك النطاق الشفاف وعدد الجريبات . كان معامل الارتباط بين قطر الجريبة وقطر البويضة موجبا وعالي المعنوية ($p<0.01$) في حين كان سالبا وعالي المعنوية ($p<0.01$) بين كل من قطر الجريبة ونضجها وكذلك بين قطر البويضة ونضجها. في حين لوحظ وجود فرقاً معنوياً ($p<0.01$) في النشاط الجريبي باختلاف فصول السنة ، اذ تميز فصلي الربيع والخريف بزيادة النشاط الجريبي وعدد الجريبات بينما انخفض عدد الجريبات خلال فصلي الشتاء والصيف .

مفاتيح الكلمات :- قطر الجريبة ، قطر البويضة ، السائل الجريبي ، النعاج العواسي

Abstract

This study was conducted at department of animal technical production , AL-Musaib Technical college from 1st September 2008 to 1st September 2009 to investigate a relation between follicular dimeter with maturation and dimeter of oocyte . A total of 150 pairs of ovaries were collected from adult ewes from slaughter house of AL- Musaib city/Babil province and ovaries were transported to the Laboratory with in 1–2 hours . The number of follicular ovaries reached to (1205) follicle . Follicles were classified in to 6 groups according to the follicle dimeter (1-2,> 2-3, >3-4, >4-5, >5-6, and>6-8) and Follicular fluid was aspirated from follicles . The results showed presence of highest percentage of mature oocgtes when the follicular diameter was between 2 – 3 mm and oocyte diameter ranged from 115 – 120 microns . The oocyte diameter increased significantly ($p< 0.01$) with the increased thickness of Zona pellucida and number of follicles . The correlation coefficient between follicle diameter and oocyte diameter was positive and it was highly significant ($p<0.01$) , while the coefficient was negative and it was highly significant ($p<0.01$) between follicle diameter and its maturation. Showed presence a significant difference ($p<0.01$)on follicular activity among seasons which increase follicular activity and number of follicles at spring and Autumn while decrease number of follicles during winter and summer .

Keywords : follicular diameter , oocyte diameter, Follicular fluid, Awassi ewes

المقدمة

إن النجاح الاقتصادي لأي مشروع حيواني يعتمد على خصوبة الإناث (1)، توجد العديد من السبل لزيادة الكفاءة التناسلية في الأغنام ومنها تعدد الاباضة وبالتالي زيادة معدل الولادات (2). إن أهم ما يميز الأغنام العواسي قدرتها على العيش في الظروف البيئية الصعبة كارتفاع درجات الحرارة ونقص المواد الغذائية ومقاومة الأمراض (3) ،كما وتتسم بانخفاض معدلات الخصوبة (4) ، فالزيادة في معدلات الخصوبة للأغنام العواسية سوف يعكس بالنتيجة تحسنا ملحوظا في كفاءة إنتاج الأغنام (5). تعُد البويضات التي يتم الحصول عليها من المجازر مصدرا رخيصا مهما لإنتاج الأجنة لأبحاث التطور الحياتي والوظيفي أو عند استعمال التقانات الحياتية مثل تجميد البويضات (6), زراعة وتجميد الخلايا الجسمية الأولية للأجنة (7) ونقل النواة في البويضات الأولية (8). إن

بويضات النعاج المنضجة باستعمال التقانات المختبرية بالإمكان أن تؤدي دورا بالتحسين الوراثي وبشكل يساعد على رفع إنتاجية الأغنام (9) ، اذ تنمو وتنضج البويضة بأجواء أو ظروف كيموحياتية مرتبطة بتغيير حجم الجريبة من صغيرة إلى كبيرة، وان الايض الايوني والصفات الإنزيمية للسائل الجريبي وتطور الجريبة أو البويضة كلها تكون ذات علاقة قوية بنضج البويضة (10)، وكما أوضحت دراسة أخرى وجود علاقة مهمة بين حجم الجريبة وحجم السائل الجريبي(11)، وان البويضات المستحصلة من الجريبات الكبيرة وجدت ذات نمو وتطور عال متكامل (12). يهدف البحث إلى أختيار البويضة أستناداً لقطر جريبتها وتحديد موسم النشاط الجريبي للاغنام العواسي .

المواد وطرائق العمل

أجري البحث في مختبرات الكلية التقنية / المسيب قسم تقنيات الإنتاج الحيواني من2008/9/1 ولغاية 2009/9/1، وجُمعت النماذج المتمثلة بمبايض النعاج العواسي من مجازر قضاء المسيب/محافظة بابل ومحال القصابين وذلك بعد ذبح الحيوانات مباشرة ، جُمع 150 زوجاً من المبايض وبلغ مجموع الجريبات 1205 جريبة ناضجة وبأحجام مختلفة وكانت هذه العينات لحيوانات بالغة تراوح معدل اعمارها بين (2-5 سنة). وتم تقدير العمر بواسطة التسنين (13) نُقلت العينات الى المختبر داخل وعاء بلاستيكي يحتوي على ثلج ومحلول فسلجي طبيعي 0.9 % مضاف له مضاد حياتي (Penicillin + Streptomycin) خلال 1- 2 ساعة بعد الذبح (14) . غسلت المبايض في المختبر بالمحلول الفسلجي الطبيعي بدرجة حرارة 30- 35 مئوية ووضعت على اوراق ترشيح (Filter paper) لامتصاص الماء الزائد. عينت الجريبات الناضجة(جريبات كراف) والمنتخبة للفحص المجهري. أجريت قياسات قطر الجريبة باستعمال المسطرة دالة القياس القدمة (vernia) وجرى تقسيم الجريبات الى ست مجاميع (1-2 و> 2 -3 و> 3-4 و> 4-5 و> 5-6 و> 6-8 ملم). سُحب السائل الجريبي من الجريبات بوساطة محقنة طبية حجم 2 مللتر و 5 ملليتر وابرة قياس 23 (Gauge23) تحتوي على 0.1 ml من الوسط الزرعي محلول دارئ الفوسفات phosphate Buffer Saline (PBS) وذلك للحفاظ على البويضة من التحلل أثناء الفحص والتصنيف وأضيفت له مادة الهيبارين كمادة مانعة لتخثر السائل الجريبي بنسبة 25 IU/ml ووضع السائل الجريبي في طبق زجاجي ليتم تقييم البويضات ومرحلة نضجها (11). تم فحص العينات باستخدام المجهر الضوئي بقوة تكبير 400 . تم التاكد من وجود البويضات في المحلول بعد أخذ قطرة على شريحة أوطبق زجاجي وصُنفت على أساس الشكل والحجم وعدد صفوف الخلايا المحيطة بها (15). وقيست أبعادها بواسطة مقياس عيني مدرج (ocular micrometer) مثبت في العدسة العينية للمجهر.

أستعمل البرنامج (16) الجاهز في التحليل الإحصائي لدراسة تأثير فصول السنة وعدد الجريبات وسمك النطاق الشفاف (Zona pellucida) في قطر الجريبة وقطر البويضة والنضوج، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات بأختبار(17) متعدد الحدود. كما أستعمل أختبار مربع كااي للمقارنة بين النسب المدروسة، وأستعمل ذات البرنامج في تقدير معامل الانحدار وأيجاد معادلات الخط المستقيم للعلاقة بين قطر الجريبة على سمك النطق الشفاف وعدد الجريبات وقطر البويضة على سمك النطاق الشفاف وعدد الجريبات والبويضة والنضوج .

النتائج والمناقشة:

يلاحظ من الجدول (1) أن نسبة البويضات الناضجة بلغت أعلى نسبة وبشكل معنوي ($p<0.01$) وكانت 62.60% في حين انخفض معدل البويضات متوسطة النضج وغير الناضجة معنوياً ($p<0.01$) إذ وصلت 18.54 و 18.80 على التوالي كما تبين من الجدول انخفاض نسبة البيوض الناضجة وبشكل معنوي ($p<0.01$) كلما ازداد قطر الجريبة بينما ترتفع نسبة البيوض غير الناضجة وبشكل معنوي ($p<0.01$) كلما ازداد قطر الجريبة وذلك لأن الخلايا الحبيبية تقل فعاليتها كلما زاد قطر الجريبة بينما تكون ذات فعالية جيدة عندما يكون قطر الجريبة صغيراً (18) . ان البويضات المأخوذة من جريبات صغيرة لم تستطيع بلوغ الانضاج المختبري وقد يعود السبب الى وجود عجز في تصنيع البروتينات اللازمة لمتابعة التكامل التطوري (11) بينما البويضات المسحوبة من جريبات كبيرة تتمكن من بلوغ الانضاج المختبري وقد يعود السبب ربما الى ان اقطار البويضات تكون اكبر نتيجة لتراكم طبقات الخلايا والتي تكون ضرورية لتغذية البويضة (12) . ويمكن ان يحدث التكامل التطوري وتصنيع عامل ضروري من الام لاسناد الانضاج والاخصاب ومتابعة التطور الجنيني المبكر للبويضات المسحوبة من جريبات ذات اقطار ما بين 2-3 ملم (18و19) اما من ناحية قطر البويضات فان البويضات ذات الاقطار الاقل من 110 مايكروميتر لم يكتمل انضاجها النووي والهيولي في الاخصاب المختبري لذلك تكون غيرقادرة لاسناد تطورها بينما ذات الاقطار الاكبر من 120 مايكروميتر تحتوي على طبقات متراصة من الخلايا الركمية(Cumulus cells) والتي تكون ضرورية لاكمال تطور البويضة(20) .

جدول (1) يبين توزيع حالة وعدد البويضات حسب معدل قطر الجريبة

معدل قطر الجريبة (ملم)	عدد الجريبات	حالة وعدد البويضات		
		الناضجة	متوسطة النضج	غير الناضجة
2-1	454	a 265 A (% 58.37)	a 87 B (% 19.16)	a 102 B (% 22.47)
3-2<	383	a 240 A (% 62.66)	b 71 B (% 18.54)	b 72 B (% 18.80)
4-3<	160	b 77 A (% 48.12)	c 37 B (% 23.13)	c 46 B (% 28.75)
5-4<	98	c 44 A (% 44.90)	d 23 B (% 23.47)	d 31 B (% 31.63)
6-5<	62	d 24 A (% 38.71)	e 14 B (% 22.58)	d 24 A (% 38.71)
8-6<	28	e 12 A (% 42.86)	e 09 B (% 32.14)	e 07 B (% 25.00)
المجموع	1205	682	241	282

الحروف الصغيرة للمقارنة عموديا (فئات قطر الجريبة في أعداد البويضات بأختلاف نضجها). الحروف الكبيرة للمقارنة أفقيا (بين نسب البويضات الناضجة والمتوسطة النضج وغير الناضجة)، الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية (P<0.01).
يتبين من الجدول (2) ان هنالك انحدارا موجبا وعالي المعنوية لقطر الجريبة على سمك النطاق الشفاف بلغ معامله0.096 ملم/مايكروميتر، أي ان قطر الجريبة يزداد بمقدار 0.096 ملم لكل مايكروميتر واحد إضافي من سمك النطاق الشفاف وبمعامل تحديد قدره 0.62 أي ان سمك النطاق الشفاف يكون 62% من قطر الجريبة في الأغنام. وفي الوقت الذي كان فيه انحدار قطر الجريبة على عدد الجريبات موجبا إلا انه لم يبلغ حد المعنوية ، وبلغ معامله 0.022 ملم / جريبة وبمعامل تحديد بلغ 0.19. وأظهرت النتائج أن قطر البويضة يزداد مع زيادة معنوية لكل من سمك النطاق الشفاف وكذلك عدد الجريبات ، إذ بلغ معامل الانحدار 1.77 ملم/مايكروميتر و0.910 ملم/جريبة وبمعامل تحديد 0.71 و 0.78 على التوالي. يحيط النطاق الشفاف بالغشاء المحي (Vitelline membrane) للبويضة ويظهر خلال الطور الجريبي بواسطة التراكم التدريجي بين البويضة وخلايا الجريبة لذا فأن زيادة قطر البويضة ونموها يعني زيادة النطاق الشفاف وربما يعزى ذلك إلى ان المواد البروتينية المكونة لجهازكولجي وهيولي البويضة مشابهة للبروتينات التي يتكون منها غلاف النطاق الشفاف (21) ومن خلال هذه النتائج يمكن التنبؤ بقطر الجريبة وقطر البويضة من خلال سمك النطاق الشفاف وعدد الجريبات.

جدول (2) انحدار قطر الجريبة وقطر البويضة على سمك النطاق الشفاف وعدد الجريبات

الصفات المنحدرة	معامل الانحدار (b)	معادلة الخط المستقيم (التنبؤ)	مستوى المعنوية	معامل التحديد (R^2)
انحدار قطر الجريبة على سمك النطاق الشفاف	0.096 ملم/مايكروميتر	Y^ = 1.145 + 0.096 (X)	**	0.62
انحدار قطر الجريبة على عدد الجريبات	0.022 ملم /جريبة	Y^ = 2.71 + 0.022 (X)	Ns	0.19
انحدار قطر البويضة على سمك النطاق الشفاف	1.77 مايكروميتر/مايكروميتر	Y^ = 88.44 + 1.77 (X)	**	0.71
انحدار قطر البويضة على عدد الجريبات	0.910 مايكروميتر/جريبة	Y^ = 107.07 + 0.910 (X)	**	0.78

**** (P<0.01)، Ns: غير معنوي..**

أظهرت النتائج في الجدول (3) أن معامل الارتباط بين قطر الجريبة وقطر البويضة موجب وعالي المعنوية وبلغ معامله 0.55 في حين كانت العلاقة عكسية وعالية المعنوية (p< 0.01) وسالبة بين كل من قطر الجريبة والنضج (-0.47) وقطر البويضة والنضج (-0.61) .

جدول (3) معامل الارتباط أو التلازم بين المتغيرات والصفات المدروسة

الصفات المرتبطة	معامل الارتباط (r)	مستوى المعنوية
1 و 2	0.55	**
1 و 3	0.47-	**
2 و 3	0.61-	**

1: قطر الجريبة 2: قطر البويضة 3: النضج : **(P<0.01)

أظهرت فحوصات المبايض نشاطا جريبيا واضحا خلال الربيع ،إذ بلغ عدد الجريبات خلال هذا الفصل 480 جريبة أي بنسبة قدرها 39.83% (الجدول4)، وتراوح معدل أقطارها 3.71 ملم وبلغت أقطار بويضاتها 121.00 مايكروميتر (الجدول 5)، وانخفض عدد الجريبات المبيضية معنوياً خلال فصل الصيف (p<0.01) اذ بلغت 110 جريبة وبنسبة 9.13% وتراوح معدل اقطارها 3.08 مليمتر وبلغ معدل قطر البويضة 115.83 مايكروميتراذ لاتختلف معنويا عن فصل الربيع وبدأت الجريبات المبيضية بالنشاط الجريبي خلال موسم الخريف وبلغ عددها 370 جريبة وبارتفاع معنوي (p<0.01) وبنسبة 30.71% وتراوح معدل اقطارها 3.60 ملم ومعدل اقطار بويضاتها 118.61 مايكروميتر اما عند فصل الشتاء فقد بدا النشاط الجريبي يقل عن فصل الخريف وبلغ عدد الجريبات 245 جريبة وبنسبة 20.33% ومعدل قطر الجريبة لهذا الموسم بلغ 3.50 ملم وقطر البويضة بلغ 115.62مايكروميتر .

جدول (4) عدد الجريبات بأختلاف الموسم ونسبتها المئوية

الموسم	عدد الجريبات	النسبة (%)
الشتاء	245	20.33
الربيع	480	39.83
الصيف	110	9.13
الخريف	370	30.71
المجموع	1205	% 100
قيمة مربع كاي (χ^2)	-----	** 7.33

** (P<0.01).

جدول (5) تأثير الموسم في معدل قطر الجريبة(مليمتر) وقطر البويضة(مايكروميتر)

الموسم	عدد الجريبات	المتوسط ± الخطأ القياسي	
		قطر الجريبة(مليمتر)	قطر البويضة(مايكروميتر)
الشتاء	245	0.47 ± 3.50	2.27 ± 115.62
الربيع	480	0.41 ± 3.71	2.21 ± 121.00
الصيف	110	0.55 ± 3.08	2.02 ± 115.83
الخريف	370	0.44 ± 3.60	1.65 ± 118.61
مستوى المعنوية	1205	Ns	Ns

Ns: غير معنوي.

وبينت نتائج فحص البيوض ان عدد البيوض الناضجة التي تم العثور عليها خلال فصل الربيع بعد فحص ما مجموعه 480 جريبة ناضجة تراوح معدل اقطارها 3.71 ملم وكانت 311 بويضة ناضجة وعند حساب النسبة المئوية لهذه البيوض من العدد الكلي تبين انها تبلغ 64.79% وهي اعلى نسبة مئوية للبيوض الناضجة التي تم الحصول عليها خلال فصول السنة المختلفة (الجدول 6)، وبلغ عدد البويضات متوسطة النضج 91 بويضة وبنسبة 18.96% وكان عدد البيوض غير الناضجة 78 وبنسبة 16.25%. يلي فصل الربيع فصل الخريف اذ بلغت النسبة المئوية للبيوض الناضجة 60% في حين بلغت خلال فصل الشتاء والصيف 27.36 و 51.82% على التوالي، اما النسبة المئوية للبيوض متوسطة النضج فقد كانت نسبتها المئوية خلال الخريف اقل كثيرا من الناضجة اذ بلغت 22.97% في حين بلغت خلال فصل الشتاء والصيف 20.81 و26.36% على التوالي. وتفوق فصل الشتاء في النسبة المئوية للبيوض غير الناضجة اذ بلغت نسبتها 51.83%وبلغت هذه النسبة في فصل الربيع 16.25% وهي اقل نسبة بين الفصول في حين بلغت نسبتها في فصلي الخريف والصيف 17.03 و21.82% على التوالي .

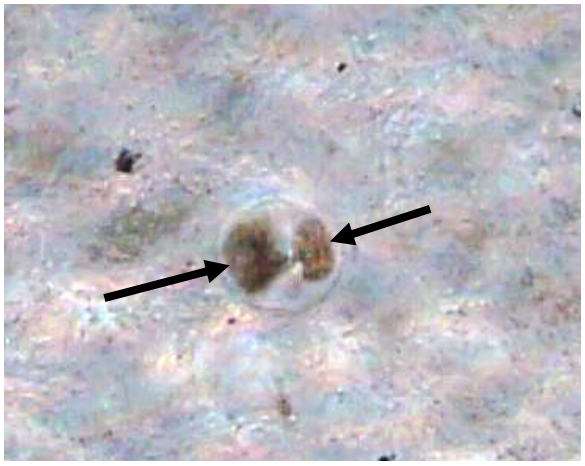
جدول (6) تأثير الموسم في معدل البويضات الناضجة ومتوسطة النضج وغير الناضجة

الموسم	عدد الجريبات	المتوسط ± الخطأ القياسي		
		البويضات الناضجة	متوسطة النضج	غير الناضجة
الشتاء	245	67 B(% 27.36)c	51 C(% 20.81)ab	127 A(% 51.83)a
الربيع	480	311 A(% 64.79)a	91 B(% 18.96)b	78 B(% 16.25)b
الصيف	110	57 A(% 51.82)b	29 B(% 26.36)a	24 B(% 21.82)b
الخريف	370	222 A(% 60)a	85 B(% 22.97)ab	63 B(% 17.03)b
مستوى المعنوية	---	**	*	**
المجموع الكلي (النسبة)	1205	657 A(% 54.53)	256 B(% 21.24)	292 B(% 24.23)

الحروف الصغيرة للمقارنة عموديا (فئات قطر الجريبة في أعداد البويضات بأختلاف نضجها). الحروف الكبيرة للمقارنة أفقيا (بين نسب البويضات الناضجة والمتوسطة النضج وغير الناضجة)، الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية. * (P<0.05) ** (P<0.01).

إن تأثير التغيرات الفصلية على الجريبات وعلى البويضات ونضجها داخل الجريبات ربما يعزى الى الاجهاد الحراري وذلك بتأثيره على التطور الجريبي عن طريق اختزال تخليق الهرمونات الشحمية في الجريبات ويمكن ان يوقف نمو البويضة (12) . وان وجود اعلى مستوى للنشاط الجريبي خلال فصل الربيع والخريف ينسجم مع ما توصل اليه (22). ويمكن لمدة الاضاءة ان تؤثر على الغدة الصنوبرية (Pineal gland) والتي تؤدي دورا في النضج الجنسي (23) في افراز الهرمونات المحفزة للجريبة ومنها هرمون محفز الجريبات Follicular Stimulating Hormone (FSH) والذي يفرز من الغدة النخامية وان انخفاض هذا الهرمون يؤدي الى انخفاض مستوى هرمون المودق (Estrogen) من الجريبة ومن ثم انخفاض الحصول على البويضات الصالحة للانتاج والاخصاب الخارجي (24) . كما ان لتغذية الحيوان دورا مهما في الحالة الفسلجية للحيوان اذ عند توفر المواد العلفية في موسم الربيع ونظرا ما للتغذية من تأثير في الفعاليات التناسلية والتي تتضمن انتاج الهرمونات واكتمال البويضات والاخصاب والتطور الجنيني المبكر وان سوء التغذية يؤثر على نوعية البويضة (25)
واظهرت نتائج فحص البيوض ان هنالك حالات طبيعية وغير طبيعية بالبيوض اذ بينت وجود صف واحد من الخلايا الركمية(صورة 1) ووجود سايتوبلازم مفصص (صورة 2) .

صورة (1) توضح صفين من الخلايا الركمية لجريبة بقطر 2.5مليمتر وبويضة بقطر 120 مايكرميتر (400X)



صورة (2) توضح نوع السايتوبلازم مفصص لجريبة بقطر 3مليمتر وبويضة بقطر 120 مايكرميتر (400X)

من خلال ما تقدم يمكن ان نستنتج ان قطر الجريبة > 2 – 3 ملم والذي يقابله قطر البويضة 115 – 120 مايكروميتر هو القطر المناسب لاختيار البويضة للاغراض العلمية المختلفة مثل اخصاب البويضة خارج جسم الكائن الحي ونقل الاجنة وتطورها والبحوث المتعلقة بالوراثة وان موسم الربيع يليه موسم الخريف هو الوقت الملائم لاستحصال البويضات من المجازر .

المصادر

1. Atsan , T. ; Emsen , E. ; Yaprak , M . ; Dagdemir , V. ; Diaz CAG (2007) . An economic assessment of differently managed sheep flocks in eastern Turkey. Ital. J. Anim. Sci. ; 6 : 407 – 414.
2. Akoz , M. ;Bulbul , B. Ataman, M.B. and Dere , S. (2006). Induction of multiple birth in Akkaraman cross - bred sheep synchronized with short duration and different doses of progesterone treatment combined with PMSG outside the breeding season. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 50: 97- 100. AL-
3. أصغر،فاطمة جمعة ،(2004). بعض اوجه التكاثر في اناث الوعل الجبلي. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.
4. الشويلي, مطشر جدوع حجيل (2000). الاخصاب الخارجي في الاغنام والماعز . رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري-جامعة بغداد.
5. القس ، جلال إيليا ، الجليلي ، زهير فخري وعزيز ، دائب اسحق (1993). أساسيات إنتاج الأغنام والماعز وتربيتها. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، كلية الزراعة- جامعة بغداد.
6. Kim , J.Y.; Kinoshita , M. ; Ohnishi , M. and Fukui,Y.(2001). Lipid and fatty acid analysis of fresh and frozen- thawed immature and in vitro bovine oocytes . Reprod .; 122: 131 – 138.
7. Vajta , G. ; Lewis , L. M. ; Hyttel , P.; Thomas, G. A. and Trounson , A.O. (2001).Somatic cell cloning with micro manipulators. Cloning ,3:89-95.
8. Cognie , Y. ; Baril , G . ; Poulin , P. and Mermilod , P .(2003) . Current status of embryo technologies in sheep and goat . Theriogenology ,62:1182-1191.
9. Samake , S . ; Amoah , E.A. ; Mobini , S. ; Gazal , O. and Gelaye , S . (2000) . In vitro fertilization of goat oocytes during the non breeding season . Small Ruminant Res .; 35: 49 – 54.
10. Iwata , H.; Inouo, J.; Kimura , K . ; Kuge , T.; Kuwayama , T. and Mouji , Y.(2006). Comparison between the characteristics of the follicular fluid and development competence of bovine oocytes . Anim. Reprod. Sci. ; 19 : 215-223.
11. 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 , Japanes society of Developmental Biologist . Growth Differ. 49 : 61- 66 .
12. 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 .
13. Getty, R. (1975) . Anatomy of domestic animal, 5th ed., B.W Saundersco Philadelphia. USA.
14. Dooly , V. G. (1983) . Follicular oocytes maturation for use in bovine exogenous and in vitro fertilization. Ph . D. Thesis , Michigan state university , USA.
15. Hussian, S. M.(1992). Clinical significance of human follicular fluid in vitro fertilization and embryo transfer. Ph . D. Thesis , Baghdad University .
16. SAS.(2001).SAS/STAT, Users Guide for Personal Computer .SAS Institute Inc., Cary, N.C.,USA.
17. Duncan, D.B.(1955). Multiple Range and Multiple Test . Biometrics. 11:1- 42.
18. Barnes , F. L . ; Kausche , A . ; Tiglias , J . ; Wood , C. ; Wilton , L . and Trounson , A . (1996) . Production of embryos from in vitro – matured primary human oocytes . Fertil. Steril.; 65 : 1151 – 1156 .
19. Gall, L.; Desmedt , V.; Crozet, N. and Sevellecy, C. (1996). Meiotic all in competence goat oocyte timing of nuclear events and protein phosphorylation. Theriogenology.; 46 : 825 – 835.

20. Fair, T. ; Hyttel , P. and Greve, T. (1995) . Bovine oocyte diameter in relation to maturational competence and transcription activity. Mol. Reprod. Dev.; 42: 437 – 442 .
21. Lundy , T. ; Smith , A. ; Connell, A.O.; Hudson , N. L. and Macnatty, P. (1999). Population of granulosa cell in small follicles of the sheep ovary . J. Reprod .Fert.; 115 : 251- 262.
22. العذب ، محمود عبد السلام ، (2008). رعاية الاغنام والماعز. مجلة البيطرة العربية ، مدينة مبارك للابحاث والتطبيقات التكنولوجية. جامعة بنها ، مصر .
23. McNeilly, A.S.; Crow, W.; Brooks, J. and Evans, G. (1992) Luteinizing hormone pulses follicle – stimulating hormone and control of follicle selection in sheep, J. Repord. Fertil.; 54:5-19.
24. Katanani ,Y. M . ; Paula-Lopes , F. F.; and Hansen , P . J. (2002) . Effect of season and exposure to heat stress on oocyte competence in Holstein Cows. J. Dairy Sci.; 85: 390 -396.
25. Borowczyk , E . ; Caton , J. S. ; Redmer , D . A . ; Bilski , J. J.; Weigl , R . M . ; Vonnahme , K. A . ; Borowicz , P. P. ; Kirsch , J. D. ; Kraft , K. C. and Reynolds , L . P. (2006). Effect of plan of nutrition on in vitro fertilization and early embryonic development in sheep . Thriogenology, 84 : 1593 – 1599 .