Relationship some biochemical and Ionic composition of follicular fluid with ovarian follicular size in local she-camels (*Camelus dromedarius*)

علاقة بعض المكونات البايوكيميائية والأيونية للسائل الجريبي مع حجم الجريبة المبيضية في إناث الإبل المحلية (*Camelus dromedarius*)

د. هاشم مهدي الربيعي* ميادة صاحب حسن الحسناوي** ميادة محمود حسين الشربتي**
* هيئة التعليم التقني / الكلية التقنية / المسيب
** جامعة كربلاء / كلية الطب البيطري

المستخلص

صُمِمَ البحث لدراسة بعض المكونات الأيضية والأيونية في السائل الجريبي المبيضي وعلاقتها بالمتغيرات المحتملة لهذه المكونات مع تغيير حجم الجريبة في إناث الإبل المحلي . جُمِعَت (**120**) مبيض من **60** أنثى بالغة (**5-10**) سنوات ومذبوحة في مجزرة محافظة كربلاء في موسم التناسل (الشتاء). نقلت المبايض إلى المختبر خلال ساعتين بعد الذبح. سُحب السائل الجريبي من الجريبات الصغيرة (**4-9**ملم) والكبيرة (**10-20**ملم). خُزن السائل الجريبي بدرجة **-4** مئوي لحين التحليل. حُللت عينات السائل الجريبي لتقدير تركيز الكلوكوز والبروتين الكلي والكوليسيترول، وأيونات الصوديوم والكالسيوم والبوتاسيوم . أظهرت نتائج الدراسة أزدياد معدل تركيز الكلوكوز والكوليسترول معنوياً **(P<0.05)** مع زيادة حجم الجريبة، بينما انخفض معدل تركيز البروتين الكلي معنوياً مع كبر حجم الجريبة. بينت الدراسة أيضاً أرتفاع معدل تركيز أيوني الصوديوم والكالسيوم معنوياً مع تغير حجم الجريبة، بينما أنخفض معدل تركيز أيون البوتاسيوم معنوياً مع زيادة حجم الجريبة.

مفاتيح الكلمات : السائل الجريبي وحجم الجريبة والإبل

Abstract

This project was designed to study some metabolites and ionic composition of ovarian follicular fluid and to relate possible changes in composition to follicular size.

Ovaries were collected (120ovary) from 60 adult females camels (5-10 yr. old) slaughtered at slaughterhouse of province of Karbala in breeding season (winter). The ovaries were transported to the laboratory within 2 hours post slaughter. The follicular fluid was aspirated from small follicles (4-9mm) and large follicle (10-20mm).

The follicular fluid was stored at -4 C° prior to assay. Follicular fluid samples were analyzed for metabolites composition (glucose, total protein and cholesterol), and ionic composition (sodium, calcium and potassium). The results showed that the mean glucose and cholesterol concentration were increased significantly ($P<0.05$) with increased of follicular size, while the mean total protein concentration decreased significantly with inlargement of follicular size. Likewise, the mean sodium and calcium ions concentration increased significantly with changes of follicular size, while the mean potassium ion concentration decreased significantly with increased of follicular size.

Key words : follicular fluid , follicular size, camels

المقدمة

يتضمن جنس الإبل نوعين الأول الإبل ذات السنام الواحد أو الإبل العربي ***(Camelus dromedarius)*** ، والنوع الثاني الإبل ذات السنامين أو الإبل الآسيوي ***(Camelus bactrianus)***، وإن الإبل هو الحيوان الوحيد الذي يستطيع العيش عدة أسابيع بدون ماء والذي مازال يجهز الإنسان باللحوم والحليب **(1)** . إن الإبل المحلي حيوان موسمي التناسل إذ يبدأ موسم التناسل في فصل الخريف ويتصاعد حتى نهاية الشتاء ثم يبدأ بالتدهور التدريجي خلال فصل الربيع ويصل إلى قمة التدهور خلال فصل الصيف(**2**) . يطلق مصطلح الموجة الجريبية **(Follicular wave)** بدلاً من دورة الشبق **(Estrous Cycle)** الذي يطلق على التغيرات الوظيفية والتركيبية والسلوكية التي تحدث ضمن إيقاع زمني واضح بين إباضة وأخرى بسبب إن الإبل حيوان مستحث الإباضة **(Induced ovulator)** وإن الفعالية المبيضية خلال هذه الموجة تنحصر بالتغيرات الجريبية **(3)**. يبدأ تكوين السائل الجريبي في داخل جريبة **(follicle)** المبيض في مرحلة مبكرة من تطور ونمو الجريبة (**4**)، وهو عبارة عن مواد تُنتج موضعياً أثناء الفعاليات الإيضية لخلايا الجريبة وجزء منه يترشح من مصل الدم وهذا مرتبط مع النشاط الأيضي لخلايا الجريبة **(5)** ، لذلك

فإن تركيب السائل الجريبي يكون مشابهاً ولكن ليس مطابقاً مع بلازما الدم **(6)** . تفرز خلايا المبيض مواد قابلة للذوبان مثل الهرمونات الشحمية **(Steroids Hormones)** وعوامل النمو **(7)** وعوامل التثبيط **(8)** والمواد الأيونية والدهون **(9)** وعدد من العناصر والأملاح **(10)**، تلعب هذه المواد دوراً مهماً في النشاط الإيضي لخلايا المبيض ولاحقاً توضح الحالة الوظيفية للجريبة **(11)**. يهيئ السائل الجريبي المبيضي الظروف الدقيقة المناسبة لتطور ونمو ونضج البويضة وهو حيوي وضروري لبقاء الخصوبة في الأنثى **(12)** . يمتلك السائل الجريبي القابلية على بقاء الإنقسام الإختزالي للبويضة التي في حالة سكون ويحمي البويضة من التحلل عند خروجها أثناء الإباضة **(13)** ، ورفع جاذبية وحركة النطفة وتفاعل قلنسوة النطفة **(14)**. يلعب السائل الجريبي دوراً كبيراً في التنظيم الصمي الذاتي **(Autocrine)** والجانبي **(Paracrine)** لخلايا الجريبة وتنظيم نضج نواة وهيولي **(Cytoplasm)** البويضة وعملية الإباضة **(15)**. تعطي معرفة مكونات السائل الجريبي معلومات حول احتياجات نمو ونضج الجريبة والبويضة وتستعمل كدليل لتكوين وسط زرعي متمم وفعال لنضج ومعرفة احتياجات التطور التكاملي للبويضة **(16)**. أن دراسة مكونات السائل الجريبي للإبل ربما تكون مفيدة في تحسين نظام نضج البويضة خارج الجسم **(IVM)** في عائلة الإبل **(17)** . يتغير النشاط الأيضي وخاصية حواجز جدار الجريبة خلال مراحل نموها لذلك نتوقع وجود مختلف المكونات الكيموحيوية في السائل الجريبي مع اختلاف حجم الجريبة **(18)**. تهدف هذه الدراسة لتقدير تراكيز مركبات الكلوكوز والبروتين الكلي والكوليسيترول وأيونات الصوديوم والكالسيوم والبوتاسيوم بالسائل الجريبي وعلاقتها بحجم الجريبة ، بيانات هذه الدراسة ربما تحسن زراعة البويضة وخلايا الجريبة مثل الخلايا الحبيبية **(Granulosa)** والركمية **(Comulus)** والقراب **(Theca)** خارج الجسم في الإبل.

المواد وطرائق العمل

1. جمع العينات والسائل الجريبي Samples and follicular fluid collection

أجريت الدراسة في مختبرات قسم تقنيات الإنتاج الحيواني/الكلية التقنية / المسيب من **2012/10/1** لغاية **2012/12/31** ، جمعت **120** مبيض من **60** أنثى بالغة (**5-10**) سنوات ، ذُبحت في مجزرة كربلاء المقدسة في موسم التناسل وبواقع **20** عينة شهرياً وكانت في حالة صحية جيدة مع قناة تناسلية طبيعية بعد أن فُحصت عيانياً بعد الذبح مباشرة. وضعت المبايض في كيس بلاستيكي حاوٍ على محلول الملح الفسلجي الطبيعي بتركيز **0.9%** ، ثم وضع الكيس في صندوق مبرد ونقل إلى المختبر خلال ساعتين. غُسلت المبايض مرتين بالمختبر بمحلول الملح الفسلجي الطبيعي ووضعت على أوراق الترشيح لأمتصاص الماء الزائد منها **(19)** . أُزيلت الأنسجة العالقة الغريبة منها ، بعد ذلك قيست جريبات كل مبيض بواسطة القدمة **(Vernier calipers – Nichi – Japan)** ، ثم صنفت الجريبات طبقاً لهذه القياسات إلى مجموعتين صغيرة ذات قطر (**4-9** ملم) وكبيرة ذات قطر (**10-20** ملم) . سُحب السائل الجريبي المبيضي بواسطة محقنة طبية معقمة (نبيذة) مع إبرة ذات قياس **22 (22 gauge)**. جُمعت محتويات السائل الجريبي من كل مجموعة ولكل حيوان على حدة في قناني وحفظت هذه القناني بدرجة حرارة **-4** درجة مئوية لغاية التحليل .

2. التحاليل الكيموحيوية للسائل الجريبي Biochemical analysis of follicular fluid

حُللت عينات السائل الجريبي لقياس تركيز المكونات الأيضية والأيونية في المجموعتين، إذ قيس تركيز الكلوكوز والبروتين الكلي باستعمال عدة تجارية من شركة **(RANDOX-kit–England)** من خلال الطريقة الضوئية بواسطة جهاز المطياف الضوئي **(Spectrophotometer–PD303–Germany)** وبطول موجي **546** نانوميتر ، ولغرض قياس الكوليسيترول استعملت عدة تجارية من شركة **(Cromatest-kit–Spain)** ومن خلال الطريقة الضوئية وبواسطة جهاز المطياف الضوئي وبطول موجي **500** نانوميتر. حللت الأيونات باستعمال عدة تجارية من شركة**(Biomaghreb-kit–Tunisia)** ومن خلال الطريقة الضوئية بواسطة جهاز المطياف الضوئي وبطول موجي**500** نانوميتر لقياس أيون الصوديوم و **550** نانوميتر لأيون الكالسيوم و **578** نانوميتر لأيون البوتاسيوم .

3. التحليل الإحصائي Statistical analysis:

استُعمل التصميم العشوائي الكامل **(Completely Randomized Design)** لدراسة تأثير حجم الجريبة في مستوى تركيز المكونات الأيضية والأيونية وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات بأختبار **Duncan (20)** متعدد الحدود لمقارنة الفروق المعنوية بين المتوسطات. واستعمل البرنامج الجاهز **SAS (21)** في التحليل الإحصائي للبيانات.

النتائج والمناقشة Results and Discussion

يتضح من الجدول (**1**) أزدياد تركيز الكلوكوز معنوياً **(P<0.05)** مع زيادة حجم الجريبة ، إذ بلغ معدل تركيزه في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الصغيرة **4.12 ± 41.44** ملغم/ديسيلتر ، وأرتفع معدل تركيزه في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الكبيرة ووصل إلى **6.02 ± 4.50** ملغم/ديسيلتر. يلعب الكلوكوز دوراً مهماً في الأيض المبيضي بسبب أهميته كمصدر للطاقة في المبيض ، إذ من المحتمل تأيضه بواسطة المبيض خلال المسار اللاهوائي الذي يؤدي لتكوين اللاكتيت **(Lactate)** (**22**و**23**) . أن الزيادة المعنوية للكلوكوز مع زيادة حجم الجريبة ربما يعود لقلة أيضه واستهلاكه من قبل العدد القليل من الخلايا الحبيبية في الجريبات الصغيرة مقارنة مع الجريبات الكبيرة (**19**و**24**) ، وربما يعود سبب أرتفاع تركيز الكلوكوز في الجريبات المبيضية الكبيرة إلى زيادة نفاذية الحواجز بين الجريبة والدم خلال نمو الجريبة ولذلك يترشح مزيد من الكلوكوز من بلازما الدم

إلى السائل الجريبي **(25)** ، أوضح **(26)** أهمية الكلوكوز في الأوساط الزرعية لتنمية ونضج البيوض خارج جسم الحيوان ، إذ بين أن قلة وزيادة تركيز الكلوكوز له تأثيراً سلبياً على نمو خلايا الجريبة ونضج البويضة ويسبب عدم أكتمال نضج النواة وتمديد الخلايا الركمية. تتفق نتائج هذه الدراسة في الإبل مع **(4)** ولا تتفق مع **(27)** إذ لاحظ أن مستوى الكلوكوز عالي نسبياً في الجريبة الصغيرة مقارنة مع الجريبة الكبيرة في إناث الإبل وحيدة السنام ، وتفسير ذلك ربما يعود إلى أختلاف النوع والسلالة في البلدان المختلفة وحتى في البلد الواحد**(28)**.وتتفق الدراسة مع**(29)** في الجاموس و**(24)** في الأبقار و**(19)** في الأغنام و**(30)** في المعز.

يُظهر الجدول **(1)** وجود انخفاض معنوي **(P<0.05)** في مستوى تركيز البروتين الكلي مع زيادة حجم الجريبة ، إذ بلغ معدل تركيزه في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الصغيرة **0.14 ± 6.60** غم/ديسيلتر ، وأنخفض في معدل تركيزه في السائل الجريبي المبيضي في الجريبات الكبيرة ووصل إلى **0.18 ± 4.90** غم/ديسيلتر. تحتاج الجريبات في بداية تكوينها للبروتين لبناء الطبقات المتعددة من الخلايا الحبيبية وخلايا القراب التي تحيط بالبويضة لذلك تحتاج الجريبة إلى كثرة من البروتين لذا يسحب من مصل الدم ويفرز من خلايا القراب ويزداد تركيزه في الجريبات الصغيرة ، وعندما يكتمل بناء خلايا الجريبة يصبح أحتياجها للبروتين قليل **(13)** . تدخل الشحوم البروتينية التي تفرز من قبل الخلايا الحبيبية للجريبة في عملية تكوين الجريبة والأنقسام الخيطي للبويضة قبل الإباضة وتكوين الأوعية الدموية الجديدة للجريبة لذا سوف تزداد في بداية تكوين الجريبة الصغيرة وبالتالي تكثر في السائل الجريبي **(31)**، وربما يعود سبب قلة البروتين في الجريبات الكبيرة لزيادة إنتاج الهورمونات الشحمية والتي تحتاج إلى البروتينات الرابطة لنقل هذه الهورمونات وبذلك تستهلك وتقل في الجريبات الكبيرة **(32)**. هذه النتائج تتفق مع (27) و **(33)** في الإبل وتختلف مع **(4)** في الإبل . وفي الجاموس تتفق مع **(34)** وتختلف مع (29) ، وفي الأغنام تختلف مع **(19)** وفي الأبقار تتفق مع **(24)** وتتفق في المعز مع **(35)** .

نلاحظ من الجدول (1) وجود زيادة معنوية **(P<0.05)** في معدل تركيز الكوليسيترول في السائل الجريبي المبيضي مع زيادة حجم الجريبة ، إذ بلغ معدل تركيزه في الجريبات الصغيرة **0.44 ± 5.35** مغلم/ديسيلتر وفي الجريبات الكبيرة وصل إلى **0.04 ±7.73** مغلم/ديسيلتر. يُشتق الكوليسيترول الموجود في السائل الجريبي من مصدرين الأول من الخلات بواسطة الخلايا الحبيبية للجريبة والثاني المأخوذ من البروتينات الدهنية من بلازما الدم **(19)**. يُعدْ الكوليسيترول المادة الأولية لتصنيع الهورمونات الشحمية وأن السائل الجريبي يحتوي فقط على البروتينات الدهنية عالية الكثافة **High-density lipoprotein (HDL)** لذلك فأن الخلايا الحبيبية الوعائية للجريبات تعتمد على الكوليسيترول المتأتي من هذه الدهون الموجودة من بلازما الدم من خلال عبورها الغشاء القاعدي للخلايا الحبيبية **(36)** ، أن عدم وجود جزيئات البروتينات الدهنية واطئة الكثافة **(LDL)** في السائل الجريبي وذلك بسبب أمتلاكها جزيئات كبيرة لا تستطيع المرور ضمن الحواجز التي تفصل بين الدم والجريبة **(37)**. تحتاج الخلايا الحبيبية للكوليسيترول أثناء نموها وتكاثرها لذا يُسحب من السائل الجريبي فتنخفض نسبته في الجريبة الصغيرة وعندما تكبر الجريبة يقل تكاثر خلاياها الجريبية وتبدأ بطرح الكوليسيترول في السائل الجريبي لأستعماله في تصنيع الهورمونات الشحمية **(38)** . تتفق نتائج هذه الدراسة مع **(33)** ولا تتفق مع (27) في الإبل ، وتتفق مع (29) ولا تتفق مع (39) في الجاموس ، ولا تتفق مع **(24)** في الأبقار وتتفق مع **(19)** في الأغنام ولا تتفق مع **(40)** في المعز .

جدول **(1)** تركيز المكونات الأيضية في السائل الجريبي للجريبات الصغيرة والكبيرة للإبل المحلية

Composition (Metabolites)	Small follicle (4-9 mm)	Large follicle (10-20 mm)
Glucose (mg/dl)	41.44 ± 4.12 (B)	54.5 ± 6.02 (A)
Total protein (g/dl)	6.60 ± 0.14 (A)	4.90 ± 0.18 (B)
Cholesterol (mg/dl)	5.35 ± 0.44 (B)	7.73 ± 0.04 (A)

الحروف الكبيرة المختلفة أفقياً تدل على وجود فروقات معنوية **(P<0.05)**

يتضح من الجدول **(2)** أن تركيز أيون الصوديوم يتأثر معنوياً **(P<0.05)** باختلاف حجم الجريبة ، إذ بلغ تركيزه في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الصغيرة **3.87±140.99** مليمول/لتر ، وأرتفع مع زيادة حجم الجريبة ووصل إلى **3.34±148.23** مليمول/لتر . أن زيادة أيون الصوديوم في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الكبيرة له علاقة بحيوية الجريبة ومرتبط بنشاطها لتكوين هورمون المودق **(Estrogen)** الذي له القدرة على أحتباس الصوديوم داخل الخلية **(19)** . تتوسع أبعاد الجريبة مع استمرار نموها بسبب حركة الماء من الدم إلى داخل تجويف الجريبة أو السائل الجريبي هذه العملية تحتاج إلى ميل تناضحي عبر جدار الخلية لهذا فأن زيادة تركيز أيون الصوديوم في الجريبات الكبيرة ربما خلق هذا الميل أو الإنحدار التناضحي عبر جدار الخلية لتسهيل عملية التناضح **(41)**. تتفق نتائج هذه الدراسة مع **(42)** في الإبل ، وتتفق مع **(43)** ولا تتفق مع **(24)** في الأبقار ، وفي الجاموس تتفق مع **(44)** ولا تتفق مع (29) وتتفق مع **(19)** في الأغنام وفي المعز تتفق مع **(45)** .

نلاحظ من الجدول (2) أن مستوى أيون الكالسيوم يتأثر معنوياً **(P<0.05)** بأختلاف حجم الجريبة إذ أرتفع تركيزه مع زيادة حجم الجريبة ، وبلغ معدل تركيزه في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الصغيرة **2.33± 0.92**مليمول/لتر ، ووصل تركيزه في الجريبات الكبيرة إلى**3.81± 1.02**مليمول/لتر . يلعب الكالسيوم دوراً مهماً في تصنيع الهورمونات الشحمية للجريبات النامية وتنظيم هرمونات المناسل للمبيض وفي عملية الإباضة **(43)**. يعود سبب زيادة الكالسيوم مع زيادة حجم الجريبة إلى دخول الكالسيوم في تصنيع هورمون المودق وبما أن هذا الهورمون يزداد إفرازه مع تطور الجريبة لذلك فإن كمية هورمون المودق

تحتاج إلى كمية عالية من أيون الكالسيوم لذا يسحب من الدم إلى داخل السائل الجريبي **(19)**. نتائج هذه الدراسة تتفق مع **(42)** في الإبل ، وفي الجاموس تتفق مع **(44)** ولا تتفق مع (**29**) وفي الأغنام تتفق مع **(19)** وفي المعز تتفق **(46)**.

يتضح من الجدول **(2)** أن تركيز أيون البوتاسيوم انخفض معنوياً **(P<0.05)** مع زيادة حجم الجريبة إذ بلغ معدل تركيزه في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الصغيرة **13.39±0.47** مليمول/لتر ، وانخفض معدل تركيزه معنوياً ووصل في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الكبيرة إلى **7.94±0.48** مليمول/لتر. إن انخفاض معدل تركيز البوتاسيوم مع تطور حجم الجريبة ربما بسبب زيادة استخدام الكلوكوز بواسطة تطور الجريبة ، هذه العملية تؤدي إلى تحويل أيون البوتاسيوم من مواقع خارج الخلية إلى مواقع داخل الخلية وبالتالي سوف يقل تركيزه في السائل الجريبي كلما كبرت الجريبة **(19)**. أن المعنوية العالية لتركيز البوتاسيوم في السائل الجريبي للجريبة مقارنة بتركيزه في مصل الدم مع غياب الارتباط بينهما يبين أن البوتاسيوم ربما يفرز موضعياً في السائل الجريبي (**24** و **42**). هذه النتائج تتفق مع (**42**) في الإبل وتتفق مع (**29**) في الجاموس و**(24)** في الأبقار و**(19)** في الأغنام .

جدول **(2)** تركيز المكونات الأيونية في السائل الجريبي للجريبات الصغيرة والكبيرة للإبل المحلية

Composition (Ions mmol/L)	Small follicle (4-9 mm)	Large follicle (10-20 mm)
Potassium	13.39 ± 0.47 (A)	7.94 ± 0.48 (B)
Sodium	140.99 ± 3.87 (B)	148.23 ± 3.34 (A)
Calcium	2.33 ± 0.92 (B)	3.21 ± 1.02 (A)

الحروف الكبيرة المختلفة أفقياً تدل على وجود فروقات معنوية **(P<0.05)**

نستنتج من هذا البحث أن السائل الجريبي يحتوي على المكونات الأيضية والأيونية وكل هذه المكونات تختلف تراكيزها مع نمو وتطور الجريبة نقصاناً أو زيادة وهذا ينعكس على مسار تغذية وتطور البويضة، وأن النتائج ربما تحسن زراعة البويضة وخلايا الجريبة في الإبل خارج جسم الحيوان .

المصادر

1. Wardeh, M.F. (2004). Classifications of dromedary camel, J. Camel Sci., 1:1-7.
2. Al-Rubaeae, H.M. (1998). Seasonal changes in the reproductive system of local she-camels (*Camelus dromedaries*). Ph.D. Thesis. Vet. Med., Baghdad Univ., Iraq.
3. Skidmore JA, Billah M, Allen WR. (1995). The ovarian follicular wave pattern in the mated and non-mated dromedary camel (*Camelus dromedaries*). *J Reprod Fertil Suppl*, 49:545-548.
4. El-Shahat, K.H., El-Moaty, A.M., Moawaed, A.R. (2013). Follicular fluid composition relation to follicular size in pregnant and non-pregnant dromedary camels (*Camelus dromedaries*). Anim. Reprod., 10:16-23.
5. Gerard N, Loiseau S, Duchamp G, Seguin F. (2002). Analysis of the variations of follicular fluid composition during follicular growth and maturation in the mare using proton nuclear magnetic resonance (1H NMR). *Reproduction*, 124:241-248.
6. 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.
7. Fortune JE, Rivera GM, Yang MY. (2004). Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci*, 82/83:109-126.
8. 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.
9. 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.
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. Abdoon ASS. (2001). Factors affecting follicular population, oocytes yield and quality in camels (*Camelus dromedarius*) ovary with special reference to maturation time in vitro. *Anim Reprod Sci*, 66:71-79.

12. Hafez ESE. (2006). *Reproduction in Farm Animals*. 7th ed. Philadelphia, PA: Blackwell.pp528

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. Somfai T, Inaba Y, Watanabe S, Geshi M, Nagai T. (2012). Follicular fluid supplementation during in vitro maturation promotes sperm penetration in bovine oocytes by enhancing cumulus expansion and increasing mitochondrial activity in oocytes. *Reprod Fertil Dev*, 24:743-752.

15. 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.

16. 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).

17. Abdoon, A.S., O.M. Kandil, B. Berisha. H. Kliem and Schams. (2007). Morphology of dromedary camel oocytes and their ability to spontaneousand chemical parthenogenetic activation. Reproduction of Domestic animal. 42: 88-93.

18. Ali S, Ahmad N, Akhtar N, Rahman ZU, Ahmad M. (2011). Hormonal profiles in the serum and follicular fluid of female camel (Camelus dromedarius) during the peak and the low breeding season. *Pak Vet J*, 31:331-335.

19. 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.

20. Duncan, D.B.(1955). Multiple Range and Multiple Test. Biometrics.11:1-42.

21. SAS. (2004). SAS / STAT Users Guide for Personal Computers. Release 7.0. SAS Institute Inc., Cary,NC., USA**.** (SAS=Statistical Analysis System).

22. Boland, N.I., Humpherson, P.G., Lesse, H.J., Gosden, R.G., (1994). The effect of glucose metabolism on murine follicle development and steroidogenesis *in vetro*. Hum. Reprod. 9:617-623.

23. Rabiee, A.R., Lean.I.J,Gooden, J.M., Miller, B.G., (1999). Relationship among metabolites influencing ovarian function in the dairy cow. J. Dairy Sc. 82: 39-44.

24. 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.

25. 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.

26. 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.

27. Rahman ZU,Bukhari SA,Ahmad N, Akhtar N,Ijaz A,Yousaf MS,Haq IU.2008.Dynamics of follicular fluid in one-humped camel(*Camelus dromedarius*).*Reprod Domest Anim*,43:664-671.

28. Khanna, ND; Rai, AK and Tandon, SN (2004). Camel breeds of India. J. Camel Sci. 1:8-15.

29. Arshad,H.M.; Ahmad, N.; Zia-ur-Rahman, H.; Samad, A.; Akhtar, N. and Ali, S.(2005).Studies on biochemical constituents of ovarian follicular fluid and peipheal blood in buffaloes .Pakistan Vet.J.,25(4) .

30. Herrick, J.R. Lane M. Grander D.K, Behoodi E, Memili E, Balash S, Echelard Y, Krisher R.L. (2006). Metabolism, protein content and in vitro embryonic development of goat cumulus-oocyte complexes matured with physiological concentrations of glucose and L-lactate Mol. Reprod. Dev. 73:255-266.

31. 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.

32. 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.

33. 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.

34. Thangavel, A. and Nayeem, M. (2004). Studies on certion biochemical profile of the buffalo follicular fluid. Indian Vet. J. (81) 25-27.

35. 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.

36. Mishra, O.P., Pandey, J.N. and Gawande, P.G. (2003). Study on biochemical constituents of caprine follicular fluid after superovulation. Asian Aust. J. Anim. Sci. (16) : 1711-1715.

37. Clarke, H.G.; Hope, S.A.; Byers, S.; Rodgers, R.J.(2006). Formation of ovarian follicular fluid may be due to the osmotic potential of large glycosaminoglycans and proteoglycans. Reproduction, 132:119–131.

38. 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.

39. Abd Ellah, M.R., Hussien, H.A., Derar, D.R. (2010). Ovarian follicular fluid constituents in relation to stage estrus cycle and size of the follicle in buffalo. Veterinary word, 3(6): 263-267.

40. 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.

41. Sharma, R.K.; Vats, R. and Sawhney, A.(1995). Changes in electrolytes antral follicles in goat. Indian J. Anim. Report. (16) 18-21.

42. AlFattah, M.A., Al-Mubarak, A.I., Althnaian, T.A., Albokhadaim, I.F. (2012). Effect of feeding high urea diets on metabolites, Hormones and Ionic composition of follicular fluid in camels. Research Journal of pharmacology. 6(1) : 1-3.

43. 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.

44. 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.

45. Bordoloi, PK., Sarmah, B.C., Dutta, D. J. and Deka, B.C. (2001). Macro and micro minerals in caprine follicular fluid. Indian J. Anim. Reprod. (22): 23-25

46. 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.