مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد(12) العدد(2)–(2012) - عدد خاص بوقائع المؤتمر العلمي الرابع لعلوم الثروة الحيوانية
ISSN-1813-1646

دراسة تأثير بعض العوامل غير الوراثية في إنضاج بويضات النعاج وإخصابها خارج الجسم

أ –تأثير أشهر السنة واالموسم وقطر الجريبات

خلف عبد الرزاق حسن ، طه جاسم الطه [1] وعبد الرزاق نعيم خضير[2]

[1]قسم الثروة الحيوانية – كلية الزراعة –جامعة المبصرة–العراق

[2]كلية الطب البيطري–جامعة البصرة–العراق

الخلاصة

أجريت التجربة في مركز أطفال الأنابيب المساعد التابع إلى كلية الطب/جامعة البصرة للمدة من كانون الثاني 2009 ولغاية كانون الثاني 2010 لغرض دراسة أمكانية إخصاب بويضات نعاج ألعرابية خارج الجسم فضلاً عن إجراء تكييّف للنطف لزيادة حيويتها. استعملت في التجربة 4558 بويضة حصل عليها من مبايض النعاج المذبوحة في مجزرة البصرة لدراسة تأثير أشهر السنة،و الموسم، وقطر الجريبة في إنضاج بويضات النعاج وإخصابها خارج الجسم. أثبتت الدراسة وجود تأثير معنوي ($P<0.05$) لأشهر السنة في إنتاج البويضات الناضجة والمخصبة والمنقسمة خارج الجسم , إذ سجل شهر تشرين الأول أعلى النسب (97.77 ، 43.55 ، 25.37) % على التوالي ، بينما حقق موسم الخريف أعلى نسب لإنضاج وإخصاب البويضات وانقسامها خارج الجسم اذ بلغت على التوالي (35.75 ، 68.53 ، 93.34)% مع اختلاف معنوي عن بقية المواسم عند مستوى ($P<0.05$) . وعند دراسة تأثير قطر الجريبة في إنضاج البويضات مختبريا , فقد قسمت أقطار الجريبات الى خمس مجاميع (<2 , 2-3< , 3-4< , 4-5< , 5>) ملم، أظهرت البويضات المسحوبة من جريبات ذات قطر 5< ملم اختلافاً معنوياً عند مستوى ($P<0.05$) في موسم الشتاء اذ أعطت نسبة انضاج أعلى بلغت18.78% وإخصاب البويضات وانقسامها خارج الجسم النسب على التوالي (97.56 ، 77.38)% لنفس القطر المذكور انفا" بينما في موسم الصيف أيضا أعطت الجريبات ذات القطر أكبر من 5 ملم أعلى النسب في إنضاج وإخصاب البويضات وانقسامها خارج الجسم مقارنة ببقية أقطار الجريبات .

الكلمات الدالة :
عوامل غير وراثية ، انضاج بويضات ، قطر الجريبة

للمراسلة :
طه جاسم الطه
قسم علوم الثروة الحيوانية– كلية الزراعة–جامعة البصرة

ايميل:
tahaaltaha@ymail.com

Effect of Non Genetic Factors on Arabi ewes Oocytes Maturation, and *in vitro* Fertilization the A-Effect of month of the year .season .and follicular diameter.

Khalaf Abdulrazzaq Hasan Al-Rishdy ,Taha. J. Al-Taha[1] and Abdul Razak N. Khudair [2]
[1]Department of Animal Resources, College of Agriculture, University of Basra
[2]Department of Reproductive Physiology , Veterinary College University of Basra

KeyWords:
Non Genetic Factors , Fertilization

Correspondence:
Taha. J. Al-Taha

Department of Animal Resource, College of Agriculture, University of Basra

Email:
tahaaltaha@ymail.com

Abstract

The study was conducted at Assisted Reproductive Technology Center (A R T) College of Medicine, University of Basra, from January, 2009 to January,2010 . The aim was to study the ability of *in vitro* fertilization of Arabi sheep Ocolytes and sperms capacitation to increase their activity. A total of 4558 ova were collected from ovaries obtained from Basra Slaughter House to study the effect of month, season, follicle diameter and culture media on maturing sheep oocyte and *in vitro* fertilization. Results revealed a significant ($P<0.05$) effect of months on Oocytes in vitro maturation . October showed highest percentage (77.97 %) .This month also showed significant increases in in vitro fertilized and divided Oocytes (55.43% and 37.25%) respectively. Seasons had significant ($P<0.05$) effect on *in vitro* maturation, fertilization and division of Oocytes. Autumn gave the highest values (75.35%, 53.68% and 34.93%) respectively. Oocyte were divided into five classes(2< , 2>-3, 3>-4, 4>-5,5>) .When in vitro fertilization was done , Oocyte with diameter >5 recorded highest ($P<0.05$)in vitro fertilization and division percentages (78.18 , 56.97% and 38.77%) respectively

البحث مستل من اطروحة الدكتوراه للباحث الاول

المقدمة

يعد الموسم عاملا مهما في تحديد نسبة البويضات المستحصل عليها من الحيوانات التي تذبح في المجازر, وتزداد هذه النسبة من البويضات خلال قمة الموسم التناسلي للأشهر أيلول، وتشرين الأول، وتشرين الثاني وتنخفض خلال شهري تموز وأب لأن الحيوانات الحقلية بعضها موسمّية التناســل كالأغنام Hafez and (Hafez,2000 و Mandi وأخرون , (2002)تتأثر البويضات عند ارتفاع درجات الحرارة في البيئة التي تعيش فيها الحيوانات إذ لاحظ الباحثون انخفاض اكتمال نمو البويضات في موسم الصيف مقارنة بموسم الشتاء ويعود سبب ذلك إلى الإجهاد الحراري الذي يقلل من نمو الجريبات الرئيسة مما يؤدي إلى عــدم نمو الجريبات السائدة وانخفاض في نمو الجريبات الثانوية (Badinga وأخرون , 1993 و AL–Katanani وأخرون , 2002)، وبين Wolfenson وأخرون , (1995)أن للإجهاد الحراري تأثيراً في تطور الجريبات من خلال انخفاض انتاج الهرمونات المغذية للقند(Gonadotrphic Hormones) مما يوقف نمو البويضات وإنضاجها , فضلا" عن ذلك , يعد حجم الجريبات المأخوذ أو المسحوب منها البويضات لأجل الإنضاج المختبري المحدد لاكتمال تطور البويضات وإنتاج الأجنة عاملا" مهما" في نجاح عملية التخصيب خارج الجسم. لذا كلما كان حجم الجريبات كبيرا" (بقطر2–6 ملم) تعطي ارتفاعا في نسبة الوصول إلى مرحلة الكيس العصيفي مقارنة بالبويضات التي مصدرها من جريبات صغيرة الحجم. ويرجع سبب ذلك إلى عدم إنضاج السايتوبلازم فيها الذي يؤثر في تطور الجنين(Cognie وأخرون , 1998), لذا هدفت الدراسة الحالية الى معرفة تأثير بعض العوامل اللاوراثية المتمثلة في أشهر السنة والموسم و حجم الجريبة في إنضاج بويضات النعاج وإخصابها خارج الجسم

المواد وطرائق البحث

أجريت هذه التجربة في مركز أطفال الأنابيب المساعد التابع لكلية الطب/جامعة البصرة للمدة من كانون الثاني 2009م الى كانون الثاني 2010م ، استعملت في هذه التجربة 4558 بويضة لدراسة العوامل المؤثرة في إنضاج بويضات النعاج العرابية وإخصابها خارج الجسم التي تم الحصول عليها من نعاج بعمر مابين (2–4) سنة مذبوحة في مجزرة البصرة – محافظة البصرة / العراق. أجريت التجربة لمعرفة تأثير أشهر السنة والموسم في نسبتي إنضاج بويضات النعاج وإخصابها خارج الجسم الحي (مختبرياً)، اعتماداً على الوسط الزرعي TCM–199 للإنضاج ومتابعة تطور البويضات المخصبّة ونموها والوسط الزرعي البراكيت لتكييّف النطف مختبرياً.شملت الدراسة تحديد قطر الجريبة الأمثل الذي يمكن الحصول منها على بويضات قادرة على الإنضاج والإخصاب بنسبة عالية في موسميّ الشتاء والصيف، وقسمت الجريبات حسب أقطارها الى خمس مجاميع (2 > ، 2 – 3> ، 3 – 4> ،4 – 5> ، 5<) ملم مع استعمال الأوساط الزرعية نفسها في التجربة الأولى .جمعت المبايض مــن نعاج أغنام العرابي المذبوحة في مجزرة البصرة وهي في أطوار مختلفة من دورة الشبق، وضعت المبايض في أكياس تحتوي على المحلول الفسيولوجي (كلوريد الصوديوم) بتركيز 0,9% مضافا إليه المضادات الحيوية البنسلين والستربتومايسين وبدرجة حرارة ما بين 32–35مْ ثم نقلت الى المختبر خلال 1–2 ساعة بعد الجمع (Cox وأخرون , 1994) ، بعد وضعها في حاوية تبريد Cool box للمحافظة على درجة حرارة المحلول الفسيولوجي . وجمعت البويضات باستعمال تقنية السحب Aspiration Technique من الجريبات المبيضية بعد اجراء التقييم للجريبات بواسطة الفرنيه (Vernier) (اعتماداً"على قطر الجريبات) (De Smedt وأخرون , 1992) . سحبت البويضات باستعمال أبرة قياس G22 متصلة بمحقنة قياس 5 مل تحتوي 5.0 مل من وسط TCM–199 المحور عن طريق سحب السائل الجريبي وبعد ذلك تم تفريغها في طبق بتري يحتوي على كمية من وسط TCM–199 المحور مع السائل الجريبي ليتم عزل البويضات الصالحة للانضاج والحاوية على أكثر من 3 طبقات من الخلايا الركامية مع تحبب السايتوبلازمي ويعرف بمعقد البويضة–الخلايا الركامية (COCs) .غسلت البويضات 2–3 مرة في القطيرات معدة للغسل من وسط TCM–199 المحور بعدها نقلت الى طبق بتري يحتوي 2مل من وسط TCM– 199 لغرض إنضاج البويضات.نقل معقد البويضة الركامية (COCs) الى طبق بتري الحاوي على 2 مل من الوسط الزرعي TCM–199 المحور وبعدها غطيت بزيت البارافين ونقلت الى حاضنة Co_2 وبتركيز 5% ودرجة حرارة 38,5مْ ورطوبة 95% لمدة 27ساعة (Crozet وأخرون, 2000). بعد إنتهاء مدة الحضن أخرجت البويضات وفحصت تحت المجهر، وعزلت البويضات الناضجة التي تميزت بوجود الجسم القطبي الأول مع تمدد الخلايا الركامية المحيطة بها وتغير لونها من المعتم الى البراق و تم سحب البويضات واعادتها عدة مرات للتخلص من الطبقات المحيطة بها حتى أصبحت جاهزة للإخصاب .جمع المني الطازج باستعمال المهبل الاصطناعي (Artificial vagina) من أثنين من ذكور الأغنام العرابية المحلية عمرها ما بين (2–3) سنوات التابعة لمحطة الأبحاث والتجارب الزراعية في كلية الزراعة/ جامعة البصرة، وقد خضعت للفحص الشهري السريري الدقيق للتأكد من عدم أصابتها من أي مشاكل تناسلية تؤثر في قابليتها الجنسية ، وبعد الانتهاء من جمع المني, خضع للتقييم الشامل من حجم ولون

وتركيز النطف وحركتها الفردية والجماعية . وجرى تكييّف النطف حسب طريقة De Smedt وأخرون ,(1992) ، وخفف المني مع 8 مل من وسط البراكيت أو ايرلز بعد ذلك عمل له طردا" مركزيا" بمعدل900دورة/دقيقة ولمدة 10 دقائق وبدرجة حرارة 37مْ، أخذت النطف المتجمعة في قعر الأنبوب التي تكون بشكل أقراص (Pellet) ، وأضيف اليها 2 مل من وسط التكيّيف ثم تركت النطف لتسبح للأعلى (Swim–up) لمدة 1.5 ساعة بدرجة حرارة 38.5مْ في الحمام المائي، ثم سحب الجزء العلوي 0.5 مل الحاوي على النطف الطافية ذات الحيوية العالية وقدرت حركة النطف باستعمال المجهر الضوئي مع تقدير تركيز النطف. بعدها خففت بإضافتها الى وسط التكييف ليصبح تركيز النطف 1×10^6 نطفة/مل ووضعت في الحاضنة لمدة 4–5 ساعات بدرجة حرارة 38.5مْ لتكون جاهزة للإخصاب .جهزت أطباق بتري معقمة حاوية على وسط الإخصاب TCM–199 المحور بكمية 2مل من الوسط في كل طبق وأضيفت النطف بعد عملية التكيّيف بكمية 0,2مل الى الوسط ، بعد ذلك أضيفت البويضات الناضجة إليها بمعدل 5–10 بويضات ثم وضعت الأطباق في الحاضنة (غاز Co_2 بتركيز 5% ، درجة حرارة 38.5مْ ، رطوبة 90%) لمدة 24ساعة (Martino وأخرون , 1994) . بعد انتهاء مدة الحضن تم التخفيف بإضافة وسط الإخصاب TCM–199 المحور الى أطباق بتري المحضونة فيها البويضات والنطف لأجل فحص البويضات ومشاهدة حدوث الإخصاب فيها والموضحة في الصورة 4 التي تتميز بظهور الجسم القطبي الثاني Second Polar Body فضلاً عن الجسم القطبي الأول First Polar Body . والبويضات التي ظهرت عليها علامات الإخصاب نقلت الى أطباق تحتوي الوسط الزرعي TCM–199المحور وحضنت لمدة 24ساعة ، بعدها تم استخراج طبق بتري الحاوي على البويضات المخصبة لملاحظة الانقسام الخلوي والنمو لهذه البويضات والصور المرقمة 5،6 تظهر الأجنة المنتجة (Jainudeen وأخرون , 2000). أجري التحليل الإحصائي مقارنة المتوسطات باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز (SPSS, 2009).

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية (الجدول1) وجود تأثير معنوي عند مستوى**(P <0.05)** بين أشهر السنة في نسبة إنضاج البويضات خارج الجسم (مختبرياً) التي تمتاز بتكوّن الجسم القطبي الأول وإذ سجلت أعلى نسبة في شهر تشرين الأول 97.77% في حين كانت أدناها في شهر شباط 14.57%، أثر الشهر معنوياً على نسبة إخصاب للبويضات الناضجة وتميزت هذه البويضات باحتوائها على جسم قطبي ثانٍ إذ بلغت 43.55% في شهر تشرين الأول في حين كانت أدنى نسبة إخصاب 35.32% في شهر شباط ، تفوق شهر تشرين الأول معنويا عن بقية الأشهر في نسبة انقسام البويضات المخصبة وإذ بلغت 25.37% أما أدنى نتائج انقسام للبويضات المخصبة خلال السنة كانت في شهر شباط 4.54 %.

الجدول (1): تأثيرا أشهر السنة في نسبة البويضات الناضجة والمخصبّة والمنقسمة

الشهر	عدد البويضات	البويضات الناضجة		البويضات المخصبّة		البويضات المنقسمة	
		العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة
كانون الثاني	120	78	65.0^{e}	36	46.15^{z}	6	16.67^{g}
شباط	119	68	57.14^{z}	22	32.35^{l}	1	4.54^{j}
آذار	120	71	59.17^{l}	24	33.80^{k}	2	8.33^{h}
نيسان	123	74	60.16^{k}	29	39.19^{j}	4	13.79^{e}
أيار	125	78	62.40^{j}	32	41.03^{h}	5	15.62^{f}
حزيران	111	72	64.86^{h}	32	44.44^{e}	6	18.75^{d}
تموز	117	79	67.52^{f}	37	46.83^{g}	8	21.62^{c}
آب	116	81	69.82^{g}	40	49.38^{d}	9	22.50^{b}
أيلول	122	90	73.77^{c}	47	52.22^{b}	15	31.91^{a}
تشرين الأول	118	92	77.97^{a}	51	55.43^{a}	19	37.25^{a}
تشرين الثاني	121	90	74.38^{b}	48	53.33^{a}	17	35.42^{a}
كانون الأول	123	89	72.36^{d}	46	51.68^{c}	14	30.43^{a}

الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى(P <0.05) .

أوضحت نتائج الدراسة الحالية تأثيراً معنوياً للموسم عند مستوى **(P <0.05)** في إنضاج بويضات الأغنام المحلية مختبرياً (الجدول 2) إذ بلغت نسبة الإنضاج في موسم الخريف 35.75 % وهي أعلى من بقية المواسم بعكس موسم

الربيع الذي أعطى أدنى نسبة التي بلغت 43.60%، ووجدت أعلى نسبتي إخصاب وانقسام للبويضات الناضجة في موسم الخريف أيضا وكانتا (68.53 و 93.34)% على التوالي على الرغم من عدم وجود تأثير معنوي بنسبة إخصاب البويضات خارج الجسم بين مواسم الخريف والصيف وكذلك الشتاء في حين كانت أدنى نسبتي إخصاب للبويضات وانقسامها خارج الجسم في موسم الربيع التي بلغت على التوالي (12.38 و 94.12)% . وقد يعزى السبب الى عدد البويضات المستحصلة عليها من الحيوانات بالموسم إذ تــزداد خــلال الموسم البارد وتقل في الموسم الحار نتيجة الإجهاد الحراري الذي يعمل علــى عــدم اكتمــال نمــو البويضات (Mandi وأخرون ,2002). وتتفق هذه الدراسة مع O·Callaghan وأخرون , (2000) الذين أشاروا الى أن التغذية في المواسم المختلفة تؤدي دوراً مهماً في الحالة الفسلجية للجسم التي تسبب تغيرات سريعة وآنية في معدل الفعاليات الايضية وبالتالي عدم اكتمال مكونات السائل الجريبي نتيجة للتغذية غير الجيدة في المواسم الرديئة التغذية الذي يحدد مستقبل البويضات فسلجياً لأنه مقياساً لمقدرتها على التمايز وثم الإنضاج.

الجدول (2): تأثير مواسم السنة في نسبة البويضات الناضجة والمخصبّة والمنقسمة

الموسم	عدد البويضات	البويضات الناضجة		البويضات المخصبّة		البويضات المنقسمة	
		العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة
الشتاء	362	235	64.91^{b}	103	43.83^{a}	21	20.39^{c}
الربيع	369	223	60.43^{c}	85	38.12^{b}	11	12.94^{d}
الصيف	344	232	67.44^{a}	109	46.98^{a}	23	21.10^{b}
الخريف	361	272	75.35^{a}	146	53.68^{a}	51	34.93^{a}

الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى (P <0.05)

يبين الجدول 3 وجود تأثير معنوي عند مستوى **(P <0.05)** في نسبة إنضاج البويضات مختبرياً المحسوبة من كل الجريبات الصغيرة والكبيرة في القطر لكلا موسمي الشتاء والصيف، تفوقت الجريبات ذات القطر الأكبر من 5 ملم معنوياً على جميع الجريبات ذات القطر الأقل من ذلك في موسم الشتاء إذ بلغت نسبة إنضاجها 18.78% في حين أعطت الجريبات ذات القطر الأقل من 2ملم أقل نسبة إنضاج للبويضات(97.23%)، و لوحظ من الجدول رقم 3 ايضا" وجود تأثير معنوي في قطر الجريبات المستعملة في الدراسة الحالية من ناحية نسبتي إخصاب البويضات وانقسامها خارج الجسم إذ أعطت الجريبات ذات القطر الأكبر من 5 ملم نسبتي إخصاب وانقسام للبويضات الناضجة (97.56 و 77.38)% على التوالي في حين اعطت الجريبات ذات القطر الأقل من 2ملم نسبة إخصاب بلغت 79.13% ولكن لم تستطع بويضات هذه الجريبات من الانقسام على الرغم من عدم وجود تأثير معنوي في نسبتي الإخصاب والانقسام في البويضات التي سحبت من الجريبات ذات الأقطار >4 – 5 مــلم و >5 ملم ويعزى السبب الى ما ذكره Arlotto وأخرون , (1996) الى العلاقــة بــين قطــر الجريــبة وقطر البويضة وبالتالي له علاقة مع التطور المتوقع للبويضة الذي يتأثر بالعديد من العوامل كعمر الحيوان (Thibault,1972) والتغذية (Haidri and Gwatkin,1973) ومرحلة الشبق (Tsafriri and Channing,1975) التي ذبح الحيوان فيها وهذه النتائج مشابهة لما توصل إليه Crozet وأخرون , (1995) الذين أشاروا الى أن بويضات المعز تكتسب التكامل التطوري بشكل تدريجي مع استمرار نمو الجريبة إذ أعطى التأكيد أن التكامل لبلوغ الإنضاج المختبري أيضا يحدث بشكل متسلسل من البويضة خلال تطور الجريبة، وقد يكون توقف تتابع انقسام البويضات المخصبّة الى حصول نقص في بعض رسائل الحامض النووي (mRNA) وأن بويضات المعز المسحوبة من جريبات ذات أقطار أكبر من 3ملم قادرة على تخليق عاملاً ضرورياً من الأم Maternal Factors لإسناد إنضاج البويضات وإخصابها وكذلك متابعة التطور الجنيني المبكر. في حين جاءت نتائج الدراسة الحالية مغايرة لما توصل إليه Fukui and Sakuma (1980) في الأبقار و Erickson and Sorenson (1974) في الفئران من عدم وجود أي اختلاف معنوي في إنضاج البويضات المسحوبة من جريبات ذات أقطار مختلفة وإخصابها .

الجدول (3): تأثير قطر الجريبات في نسبة البويضات الناضجة والمخصبّة والمنقسمة في موسم الشتاء

قطر الجريبة ملم	عدد البويضات	البويضات الناضجة		البويضات المخصبّة		البويضات المنقسمة	
		العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة
2 >	121	29	23.97[e]	4	13.79 [d]	0.0	0.0[d]
3–2<	117	50	42.73[d]	11	22.00[c]	1	9.09[c]
4–3<	123	77	62.60[c]	34	44.15[b]	7	20.59[b]
5–4<	119	84	70.58[b]	46	54.76[a]	16	34.78[a]
<5	110	86	78.18[a]	49	56.97[a]	19	38.77[a]

الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى (P <0.05) .

وقد أظهر التحليل الإحصائي تأثيرا معنويا لقطر الجريبات ذات الحجم الأكبر من 5 ملم عن بقية الأقطار في موسم الصيف, اذ بلغت نسبة البويضات الناضجة في هذا القطر 37.70% أما أقل نسبة للبويضات الناضجة كانت عند أقل قطر للجريبات وهو اقل من 2ملم وبلغت 05.19%. أعطت البويضات المحسوبة من الجريبات ذات القطر الأكبر من 5 ملم أعلى نسبتي إخصاب وانقسام للبويضات الناضجة إذ بلغت النسب 50.0و 58.31 % على التوالي, ولكن لم تظهر فروقات معنوية بين الجريبات ذات الأقطار التالية >4–5 و5> في حين أعطت الجريبات ذات القطر الأقل من 2 ملم اقل نسبة إخصاب للبويضات الناضجة 12.5% ولم تستطع هذه البويضات من الانقسام. (الجدول 4) . تتـــأثر الأغنام بارتفاع درجة حرارة المحيط (موسمية النشاط الجنسي) مما يقلل من نمو الجريبـــات الرئيســـة بسبب عدم توفر الكمية الكافية من الهرمونات الستيرويدية وقد يؤدي ذلك الى توقف نمو البويضات نتيجة عدم تخليق البروتينات وعمليات الترجمة الضرورية (Mandi وأخرون , 2002) .

الجدول (4): تأثير قطر الجريبات في نسبة البويضات الناضجة والمخصبّة والمنقسمة في موسم الصيف

قطر الجريبة ملم	عدد البويضات	البويضات الناضجة		البويضات المخصبّة		البويضات المنقسمة	
		العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة
2>	126	24	19.05[e]	3	12.5 [d]	0,0	0.0[d]
3–2<	123	47	38.21[d]	9	19.15[c]	1	11.11[c]
4–3<	118	66	55.93[c]	24	36.36[b]	4	16.66 [b]
5–4<	114	73	64.04[b]	32	43.83[a]	8	25.0[a]
<5	108	76	70.37[a]	38	50.0[a]	12	31.58[a]

الأحرف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى (P <0.05) .

المصادر

Arlotto, T.; Schwartz, J. L.; First, N. L. and Leibfried–Rutledge, M. L. (1996). Aspects of follicle and Oocyte stage that affect in vitro maturation and development of bovine Oocytes. Theriogenology 45: 943–956 .

AL- 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 .

Badinga. L.; Thatcher, W. W.; Diaz, T.; Drost, M . and Wolfenson, D. (1993). Effect of environmental heat stress on follicular development and steroidogenesis in lactating Holstein Cows. Theriogenology 39:797–810.

Cognie, Y.; Benoit, F.; Khatir, H. and Driancourt, M. A. (1998). Effect of follicle size and of the Fec. Booroola gene on Oocyte function in sheep . J . Reprod . Fert . 112 : 379 – 386 .

Cox, J. F.; Saravia, F.; Avila, J. and Santa Maria, A. (1994). Assessment of fertilizing ability of goat spermatozoa by in vitro fertilization of cattle and sheep intact oocytes . Theriogenology 41 : 1621 – 1629 .

Crozet, N.; Ahmed–Ali, M. and Dubos, M. P. (1995). Development competence of goat Oocyte from follicles of different size categories following maturation, fertilization and culture. In vitro. J. Reprod. Fert. 103: 293–298.

Crozet, N.; Dehirel, M. and Gall, L. (2000). Meiotic competence of in Vitro grown Goat Oocytes. J. Reprod. Fert. 118: 367–373.

De Smedt, V.; Crozet, N.; Ahmed–Ali, M.; Martino, A. and Cognie, Y. (1992). In vitro maturation and Fertilization of Goat Oocytes. Theriogenology. 37: 1049–1060.

Erickson, G. F. and Sorenson, R. A. (1974). In vitro maturation of Mouse Oocyte isolated from last , middle and preantral graafian follicle. J. Exp. Zool. 192: 123–127 .

Fukui, Y. and Sakuma, Y. (1980). Maturation of bovine Oocyte cultured in vitro: Relation to ovarian activity, follicular size and the presence or absence of cumulus cells. Biol. Reprod. 22: 669 – 673.

Haidri, A. A. and Gwatkin, R. B. L. (1973). Requirements for the maturation of hamster Oocytes from preovulattory Follicles. J. Reprod. Fert. 35: 173 – 176 .

Jainudeen, M. R.; Wahid, H. and Hafez, E. S. E. (2000). Ovulation induction, Embryo production and transfer. In: Reproduction in Farm Animal. Hafez, E.S.E and Hafez, B. (eds.). 7th Ed., Lippincott Williams and Wilkns, Awolter Kluwer Co., Philadelphia . pp: 405 -430 .

Mandi, S.; Raghu, H. M.; Ravindranatha, B. M. and Chauhan, M. S. (2002). Production of buffalo embryos in vitro. Premises and Promises. Reprod. Domest. Anim. 37: 65 – 74 .

Martino, A.; Mogas, T.; Palomo, M. J. and Paramio, M.T. (1994). In vitro Maturation and Fertilization of prepubertal Goat Oocytes. Theriogenology 41: 473 – 485.

O'Callaghan, D.; Yaakup, H.; Hyttel, P.; Spicer, L. J. and Boland, M. P. (2000). Effect of nutrition and super ovulation on Oocyte morphology. Follicular fluid composition and systematic hormone concentration in ewes. J. Reprod. Fert. 118: 303 – 313.

SPSS (2009). PASW Statistics 18 . WWW. Winwrap. Com Steptoe, P. C. and Edwards, R. G. (1978). Birth after The reimplantation of human embryo Lancet 2 (No.8085), 366.

Thibault, C. (1972). Final stage of mammalian Oocyte maturation in Oogenesis (J. D. Biggers and A. W. Schuetz, eds.). University Park Press, Baltimore, pp. 397–411 .

Tsafriri, A. and Channing, C. P.(1975). Influence of Follicular Maturation and Culture conditions on the meiosis of Pig Oocytes in vitro. J. Reprod. Fert. 43: 149 – 152 .

Hafez, E. S. E. and Hafez, B. (2000). Folliculogensis, Egg maturation, and ovulation. In: Reproduction in Fram Animal.7th Ed., Lippincott Williams and Wilkins, Awolter Kluwer Co., Philadelphia, U.S.A. PP :68 - 81.

Wolfenson, D.; Thatcher, W. W.; Badinga, L.; Savio, J. D.; Meidan, R.; Lew, B. J.; Braw-Tal. R. and Berman, A. (1995). Effect of heat stress of follicular development during the estrous cycle in lactation dairy Cattle. Biol. Reprod. 52: 1106 – 1113.

Parrish, J. J.; Susko–Parrish, J.; Winer, M. A. and First, N. L. (1988). Capacitation of bovine sperm by heparin. Biol. Reprod. 38: 1171-1180 .