دراسة تأثير العمر ووجود او عدم وجود الجسم الاصفر في عدد البويضات المستحصلة والمنضجة وعلى هرمونات السائل الجريبي في الجاموس

زهور زهير محسن د. تحرير محمد نطاح د. اسماعيل كاظم عجام

كلية الزراعة/جامعة القاسم الخضراء

الخلاصة

هدفت هذه الدراسة لاستحصال البيوض من مبايض الجاموس وتنميتها خارج الجسم ودراسة كافة التغيرات الهرمونية . جُمعت المبايض (38) مبيض من 20 انثى جاموس والتي ذبحت في مجزرة محافظة بابل للفترة من 14 / 5 / 2014 ولغاية 20 / 21 / 2014 . بينت النتائج ان هناك تأثير معنوي ($P \leq 0.05$) للعمر على عدد البويضات الكلي ، بينما تأثير العمر على عدد البويضات الجيدة والناضجة لم يكن معنوياً ($P \geq 0.05$) ولكن هناك تأثير معنوي ($P \leq 0.05$) للعمر في نسبة البويضات الناضجة . وأثر العمر على مستوى هرمونات الاستروجين والبروجسترون بمستوى معنوية ($P \leq 0.05$) ، بينما لم يظهر فرق معنوي ($P \geq 0.05$) في مستوى هرمونات ال FSH و LH . وبينت نتائج الدراسة ان هناك فرق غير معنوي ($P \geq 0.05$) بين عدم وجود الجسم الاصفر وعدد البويضات الكلية ، بينما اعطى وجود الجسم الاصفر اعلى نسبة من عدد البويضات الجيدة والناضجة . بينت نتائج الدراسة ان لوجود الجسم الاصفر اثر (غير معنوي) على مستوى الهرمونات المدروسة وهي FSH ، LH ، الاستروجين (E2) والبروجسترون (P4) على التوالي .

Studying the effect of age and the presence or absence of the corpus luteum in the number of obtained and maturied oocyte and the follicular fluid hormones in Buffalo

Zuhoor Zuhair Mohsin Tahreer Mohammed Ismael Kadhum Ajam

Coll. of Agric.,/ Univ. of AL-QASIM GREEN

Abstract

This study aimed to obtain the oocytes from the buffalos ovary and maturing them In Vitro and studying all the hormonal changes. Collected (38) ovaries are collected from the 20 female buffalo who had slaughtered in the massacre of the Babylon province for the period from 14/05/2014 to 20/12/2014. The results showed that there was a significant effect ($P \leq 0.05$) of age on the total number of oocytes, while the effect of age on the number of good and mature oocytes was not significant ($P \geq 0.05$) However , there was a significant effect ($P \leq 0.05$) of age in the proportion of mature oocytes. There was a significant ($P \leq 0.05$) effect of age on the level of estrogen and progesterone hormones , while no significant difference ($P \geq 0.05$) in the level of FSH and LH hormones was found. The results of the study showed that there was no significant difference($P \geq 0.05$) between the absence of the corpus luteum and the total number of oocytes , while there is higher proportion of the good and Mature oocytes with the presence of the corpus luteum, The results of the study showed that the presence of corpus luteum was not significantly ($P \geq 0.05$) affects the level of studied hormones a(FSH, LH, EstrogenE2 and Progesterone P4) respectively .

*البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الاول

المقدمة

يعود الجاموس للعائلة البقرية Bovidae جنس Bubalis والذي ينتشر في العراق من الموصل إلى البصرة لقابليته الكبيرة على التكيف في الظروف البيئية القاسية في الاهوار وقرب الجداول والأنهار ، و نتيجة لكفاءته العالية في استخدام النباتات المائية كالقصب والبردي والأعلاف المتوفرة في مناطق تواجده مما ساهم في حمايته من خطر الانقراض (الحسناوي ،2012). يعد الجاموس من الحيوانات المحلية وهو شبه مائي (Semi aquatic) يحب السباحة في الماء لتقليل درجة حرارة جسمه وخاصة في اشهر الصيف الحارة بسبب لون جلده الاسود او الرمادي الداكن الممتص للحرارة والى قلة الغدد العرقية التي يمتلكها وسماكة جلده (Borghese ، 2008) تعد المشاكل التناسلية واحدة من المعوقات التي يعاني منها الجاموس ، إذ سجل خمول المبايض في الجاموس العراقي بنسبة 6.6 % ، ويرجع سبب ذلك الى الاضطرابات الهرمونية ، لاسيما هرمون محرر مغذيات المناسل او القند GnRH ، ومن ثم هرمون محفز الجريبات FSH (رحاوي ، 2009). تلعب الخلايا الحبيبية (الركامية) دورا أساسيا في تعزيز نضج البويضة الكامل من خلال التأثير الايجابي لمغذيات المناسل (Moor و Warnes ، 1978) . تتأثر كفاءة بويضات الجاموس بالعوامل البيولوجية و العوامل البيئية (Nandi وجماعته ، 2001) مثل حجم الجريب ، قطر البويضة، وجود أو عدم وجود الجسم الأصفر في المبيض ودرجة حرارة البيئة. ويعتبر النضج في المختبر In Vitro Muturation (IVM) واحداً من الخطوات الأساسية في عملية التخصيب في المختبر In Vitro Fertilization (IVF) ، وقد درس العديد من الباحثين المظاهر المختلفة لل IVM في بويضات الثدييات (Pawshe وجماعته ، 1996 ؛ Kharche وجماعته ، 2005) . تلعب طبيعة الوسط دوراً هاماً في التلقيح الاصطناعي والتطور في المختبر حيث يكمل الوسط الاساسي في معظم الدراسات بالهرمونات وتراكيز مختلفة من المصل (Pawshe ، 1996) . يتضمن نضج البويضات جانبين: النضج النووي والسايتوبلازمي . حيث يوفر نضج البويضات مختبريا فرصة ممتازة ورخيصة اضافة الى وفرة الاجنة لإجراء البحوث الأساسية وتطبيق التقنيات الحيوية الحديثة مثل استنساخ الحيوانات المعدلة وراثيا (Mahmoud و EL – Naby ، 2013) . اشار Kulkarni وجماعته (1994) الى العلاقة بين حجم الجريبة والتركيز الهرموني للأدراك الكامل لدور هذه الهرمونات في نضوج وتطور البويضات في الزجاج بالاضافة الى نمو في الحيوان الحي .

لاحظ Makkawaay وجماعته (1988) انخفاض مستوى البروجسترون في الجاموس في معظم الجريبات المتطورة ، هذا المستوى الواطئ للبروجسترون في السائل الجريبي ربما يقترن بأرتفاع مسبق للبروستكلاندين (Algire وجماعته ، 1992) او تحويله الى الاستراديول (Ahmed وجماعته ، 1997) . في حين وجد Maxwell وجماعته (2006) ان تركيز الاستراديول في السائل الجريبي في الجاموس يزداد معنويا مع حجم الجريبة اما هرمون FSH وLH فلم يلاحظ عليهما اي تغير مع زيادة حجم الجريبة .

المواد وطرائق العمل

1 – جمع وفحص المبايض

انجزت الدراسة في مختبر التقانات قسم الثروة الحيوانية في كلية الزراعة / جامعة القاسم الخضراء للمدة من 14 / 5 / 2014 ولغاية 20 / 12 / 2014 ، جُمعت المبايض من اناث الجاموس التي تم ذبحها في المجزرة الرئيسية في محافظة بابل في أوقات الصباح الباكر وذلك بعد ذبح الحيوان مباشرة ، حيث بلغ المجموع الكلي للعينات (20) عينة (38 مبيض) وكانت هذه العينات لحيوانات تتراوح معدل اعمارها بين - 15) (1 سنة وتم تقدير العمر التقريبي بواسطة التسنين (Dental formula) . تم جمع المبايض من اناث الجاموس المذبوحة بعد جلبها مباشرة من المجزرة وفي مراحل غير معروفة من دورة الشبق . وضعت هذه المبايض بعد استئصالها من اناث الجاموس في حاوية زجاجية تحتوي على محلول فسلجي طبيعي 0.9% لغرض المحافظة عليها وكذلك ضمان عدم تلف مكوناتها ونقلت خلال 1 - 2 ساعة بعد الذبح . بعد الوصول الى المختبر تم غسل المبايض من 2 - 3 مرات بالمحلول الفسلجي الطبيعي (0.9%) بدرجة حرارة 30 - 35 درجة مئوية .

تم سحب السائل الجريبي من جميع الجريبات المبيضية المرئية على سطح المبيضين الايمن والايسر باستخدام ابرة قياس نصلها Gauge - 18 مربوطة الى اسطوانة محقنة طبية معقمة بقياس 5 ml وبعد سحب

السائل الحويصلي تم افراغ محتويات كل محقنة في طبق زرعي معقم Petri dish للبحث عن البويضات تحت المجهر الضوئي بقوة تكبير 2X ومن ثم سحبها بواسطة ماصة دقيقة bastorpipette . بعد عملية سحب البويضات تم غسلها بالوسط الزرعي IVM من 2 - 3 مرات لانعاش البويضات وتجهيزها بمصدر غذائي ومن ثم وضعت في طبق بتري حاوي على الوسط الزرعي IVM المحضر يدوياً . نضجت البويضات مختبريا بواسطة زرعها بالوسط الزرعي IVM . حضنت البويضات في الحاضنة Incubated لمدة 24 ساعة في CO_2 Incubated (بتركيز 5%) و درجة حرارة 38.5 درجة مئوية . بعد جمع البويضات الموجودة في السائل الجريبي ثم جمع ووضع في انبوبة اختبار بلاستيكية وتم خزنها بدرجة - 20 درجة مئوية بعد الجمع مباشرة لحين اجراء التحاليل المراد اجرائها .

التحاليل الهرمونية

حللت عينات السائل الجريبي لمعرفة تراكيز الهرمونات (FSH ، LH ، الاستروجين و البروجسترون) باستعمال العدة التجارية المناسبة والمتوفرة ، تم تحليل هرمون محفز الجريبات (FSH) والهرمون اللوتيني (LH) بأستخدام Enzyme Immunoassay Test Kit (catalogs number: BC - 1029) المجهز من قبل شركة (Bio Check , Inc.) و تم تحليل هرمون الاستروجين بأستخدام Estradiol (E2) (Test System Product code : 300 – 4925) المجهز من قبل شركة (Monobind Inc.) و تم تحليل هرمون البروجسترون بأستخدام Progesterone Enzyme Immunoassay Test Kit (catalogs number: BC – 1113) المجهز من قبل شركة (Bio Check , Inc.) .

التحليل الاحصائي

تم تحليل البيانات باستعمال البرنامج – SAS Statistical Analysis System (2012) لدراسة تأثير العمر مع الجسم الاصفر على الصفات المدروسة ، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار Duncan (1955) متعدد الحدود ، في حين استعمل اختبار مربع كاي ($Chi - square - X^2$) في المقارنة بين النسب المئوية .

النتائج والمناقشة

1 - تأثير الفئات العمرية في عدد البويضات الكلي وعدد البويضات الناضجة ونسبتها .

تشير نتائج الدراسة في جدول (1) ان هناك فرق معنوي ($P\leq0.05$) للفئة العمرية (1 - 4) سنة في عدد البويضات الكلي (21.85 ± 15.59) بينما لم يلاحظ اي فرق معنوي بالنسبة للفئات العمرية الاخرى8 (5 –) سنة والاكثر من 8 سنة (14.00 ± 5.06) و (7.71 ± 3.56) على التوالي .

في حين لم يلاحظ اي فرق معنوي للفئات العمرية (1 – 4) سنة ، (5 – 8) سنة و الاكثر من 8 سنة في عدد البويضات الجيدة (5.71 ± 2.33) ، (4.67 ± 1.02) ،(3.85 ± 1.22) على التوالي . وكذلك بالنسبة للبويضات الناضجة فلم يلاحظ اي فرق معنوي بين الفئات العمرية (5.28 ± 2.45) ، (4.17 ± 0.74) و (3.71 ± 1.18) على التوالي ، ولكن يوجد فرق معنوي ($P \leq 0.05$) في نسبة البويضات الناضجة للفئة العمرية الاكثر من 8 سنه (48.12 ± 6.47) .

ويفسر ذلك هو ان تقدم الجاموس بالعمر يقترن بأنخفاض الهرمونات الجنسية وينعكس ذلك سلبا على نشاط المبايض ، مما يؤدي الى نقصان اعداد الجريبات المبيضية الكبيرة واقطارها ، في حين تصل الجريبات الصغيرة والمتوسطة الى مدى من النمو وتتوقف بعد ذلك نظرا لقلة نشاط المبايض بتقدم عمر الحيوان وكذلك وجد ان هناك علاقة احصائية مقبولة بين عمر الحيوان واعداد البويضات المضمحلة والمستحصلة من الجريبات الكبيرة ، اي كلما تقدم الحيوان بالعمر كان هناك زيادة مقبولة في عدد البويضات المضمحلة والمستحصلة . بينما وجدت علاقة متوسطة بين عمر الحيوان واعداد البويضات المضمحلة والمستحصلة من الجريبات المبيضية المتوسطة . في حين هناك علاقة قوية بين عمر الحيوان واعداد البويضات المضمحلة والمستحصلة من الجريبات المبيضية الصغيرة (محمد وجماعته ، 2010) . في حين اشار Ahmed وجماعته (1999) الى وجود علاقة ايجابية بين قطر الجريبات المبيضية وجودة البويضات المستحصلة بتقدم عمر الحيوان اذ كلما زاد قطر الجريبات المبيضية تم الحصول على بويضات جيدة ، وان افضل البويضات المستحصلة كانت في المرحلة المبكرة لتكوين الجسم الاصفر .

ويعود اختلاف عدد البويضات الجيدة الى عدة عوامل تسهم في اختلاف جودة البويضة وهي (العمر ، الموسم ، الحالة التغذوية (حالة الجسم) ، وقت الذبح ، حجم وحالة ووظيفة الحويصلات وطريقة استرجاع البويضة (Nandi وجماعته ، 2001) و(Zoheir وجماعته ، 2007) و (Amer وجماعته ، 2008).

بينما يلاحظ في هذه الدراسة زيادة في نسبة البويضات الناضجة و يعود انخفاض معدلات النضج في الاعمار الصغيرة الى نوعية البويضات التي حصل عليها من مبايض الابقار والتي قد تعاني من مشكلات تناسلية والتي كانت سببا في ذبحها (مهدي وجماعته ، 2012). ووجد Nandi وجماعته (2007) ان البويضات المأخوذة من جريبات صغيرة لم تستطيع بلوغ الانضاج المختبري وقد يعود السبب الى وجود عجز في تصنيع البروتينات اللازمة لمتابعة التكامل التطوري ، بينما البويضات المسحوبة من الجريبات الكبيرة تتمكن من بلوغ الانضاج المختبري ، وقد يعود السبب في ذلك الى ان اقطار البويضات تكون اكبر نتيجة لتراكم طبقات الخلايا والتي تكون ضرورية لتغذية البويضة (Leroy وجماعته ، 2004) .

2 - تأثير الفئات العمرية في مستوى الهرمونات المدروسة .

يشير الجدول (2) الى عدم وجود فرق معنوي في مستوى هرموني FSH وLH بين الفئات العمرية (1 – 4) سنة ، (5 – 8) سنة و الاكثر من 8 سنة حيث بلغ مستوى هرموني FSH و LH (2.71 ± 0.42) ، (2.33 ± 0.08) ، (2.71 ± 0.32) ، (3.16 ± 0.36) ، (2.66 ± 0.04) ، (3.03 ± 0.51) على التوالي . في حين وجدت زيادة معنوية ($P\leq 0.05$) في مستوى هرمون الاستروجين E2 للفئة العمرية (5 – 8) سنة (1798.08 ± 134.40) وكذلك زيادة هرمون البروجستيرون P4 لنفس الفئة العمرية (13.35 ± 3.77) ، ولم يلاحظ اي فرق معنوي للفئات العمرية الاخرى (1 – 4) سنة والفئة الاكثر من 8 سنة في مستوى هرمون الاستروجين E2 وهرمون البروجسترون P4 (1295.09 ± 201.77) ، (1206.34 ± 136.13) و (6.20 ± 3.62) ، (9.30 ± 5.67) على التوالي .

يلاحظ من الجدول عدم وجود فرق معنوي لكل من هرمون FSH و LH وهذا يتفق مع (Maxwell وجماعته ، 2006) فلم يلاحظ اي تغير في هرمون FSH و LH مع الزيادة في حجم الجريبة . لم تتفق نتائج الدراسة مع ما وجده AL – Fartosi (2010)حيث وجد ان هناك تأثير للعمر على مستوى هرمون FSH في اناث الجاموس للاعمار الصغيرة (الاقل من 6 اشهر والاكثر من 6 اشهر) ، بينما لم يكن هناك اي تأثير للعمر في مستوى هرمون LH للاناث. في حين اشار Al-Fartosi و Humaidan (2012) الى ان هناك تأثير كبير للعمر على مستويات الاستروجين والبروجسترون في اناث الجاموس المائي (Al-Fartosi و Humaidan ، 2012) .

اكد Kruip و Dieleman (1985) ان تركيز الاستروجين E2 و البروجسترون P4 لا يتغير اعتماداً على حجم الجريبات فحسب بل على درجة تقهقر الجريبة ومرحلة الدورة او المرحلة الجريبية . واوضح Kruip و Dielman (1986) ان انتاج البروجسترون داخل الجريبات لم يكن معنويا مع الزيادة في حجم الجريبة ، كما ان زيادة حجم الجريبة تعود الى زيادة في عدد الخلايا الحبيبية والى التركيز العالي للاستروجين E2 الجريبي (Martin وجماعته ، 1991) .

اما Sharma وTaneja (2000) و Abdoon وKandil (2001) فقد اظهرت نتائجهم ان وجود الجسم الاصفر له دلالة احصائية ذات قيمة معنوية تنعكس على زيادة اعداد الجريبات المبيضية وبالاخص في الاعمار المتوسطة ، فضلا عن الحصول على بويضات ذات نوعية جيدة . يزداد تركيز الاستراديول في السائل الجريبي للجاموس مع زيادة حجم الجريبة بصورة معنوية (Maxwell وجماعته ، 2006) .

ويعود سبب انخفاض هرمون FSH الى انه يهيئ الحويصلات المبيضية النامية لتأثير هرمون LH والذي تحتاجه الحويصله لأكمال نموها ونضجها من خلال زيادة الفعالية الاروماتية للاندروجينات (الجشعمي وجماعته ، 2009) . وجد ان انخفاض الهرمونات الستيرويدية قد تؤدي الى توقف نمو البويضات نتيجة عدم تخليق البروتينات وعمليات الترجمة الضرورية (Mandi وجماعته ، 2002) .

جدول (1) تأثير الفئات العمرية في عدد البويضات الكلي وعدد البويضات الناضجة ونسبتها

الفئة العمرية (سنة)	العدد	المتوسط ± الخطأ القياسي (SE)			
		بويضات كلي	بويضات جيدة	بويضات ناضجة	نسبة البويضات الناضجة %
4-1	7	5.59 ± 21.85 a	2.33 ±5.71 a	2.45 ± 5.28 a	2.21 ± 24.03 a
8-5	6	5.06 ± 14.00 b	1.02 ± 4.67 a	0.74 ± 4.17 a	4.55 ± 29.79 ab
أكثر من 8	7	3.56 ± 7.71 b	1.22 ± 3.85 a	1.18 ± 3.71 a	6.47 ± 48.12 b
مستوى المعنوية		*	NS	NS	*
	* (P≤0.05) ، NS : غير معنوي.				

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها .

جدول (2) تأثير الفئات العمرية في مستوى الهرمونات المدروسة

الفئة العمرية (بالسنة)	العدد	المتوسط ± الخطأ القياسي			
		FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	Estrogen (E2) (pg/ml)	Progestron (P4) (ng/ml)
4 – 1	7	a 0.42 ± 2.71	0.36 ± 3.16 a	± 1295.09 201.77 b	b 3.62 ± 6.20
8 – 5	6	a 0.08 ± 2.33	0.04 ± 2.66 a	±1798.08 134.40 a	a 3.77 ± 13.35
اكثر من 8	7	0.32 ±2.71 a	0.51 ± 3.03 a	±1206.34 136.13 b	b 5.67 ± 9.30
مستوى المعنوية	-	NS	NS	*	*
	* (P≤ 0.05) ، NS : غير معنوي .				

المتوسطات التي تحمل حروف مختلفة ضمن العمود الواحد تختلف معنويا فيما بينها .

3 - جدول يوضح العلاقة بين وجود اوعدم وجود الجسم الاصفر بالصفات المدروسة

يشير الجدول (3) الى تفوق غير معنوي ($P\geq 0.05$) في عدد البويضات الكلي (19.12 ± 13.77) عندما يكون المبيض لا يحتوي على الجسم الاصفر بينما يلاحظ ان لوجود الجسم الاصفر تأثير غير معنوي ($P\geq 0.05$) في الصفات المدروسة الاخرى وهي عدد البويضات الجيدة ، البويضات الناضجة ، FSH ، LH ، E2 و P4 (4.83± 0.87) ، (4.58 ± 0.82) ، (2.48 ± 0.17)، (2.81± 0.21) ، (1496.85 ± 246.20) و (13.34 ± 4.39) على التوالي .

قد يعود سبب ذلك الى ان وجود الجسم الاصفر يقلل بشكل ملحوظ من عدد الحويصلات المبيضية ويعزى سبب الاختلاف الى السلالة او الاختلاف الجيني في وظيفة المبيض بين جاموس البحر الابيض المتوسط وجاموس المستنقعات (Das وجماعته ، 1996). في حين وجد Savio وجماعته (1988) ان المبايض التي تحمل جسم اصفر كانت تمتلك عدد اعلى بكثير من الجريبات المبيضية السطحية ، ومن ثم انتاج اكبر عدد من البويضات ذات النوعية الجيدة مقارنة مع المبيض غير الحاوي على جسم اصفر.

وتتفق النتائج مع Kumar وجماعته (1996) الذي وجد ان العائد من البويضات يكون اقل معنوياً ($P\leq 0.05$) في المبايض الحاوية على الجسم الاصفر . وتتفق كذلك مع ما جاء في الجاموس من قبل Amer وجماعته (2008) و Jamil وجماعته (2008) وفي الابقار (Moreno وجماعته ، 1993) حيث ان عدم وجود الجسم الاصفر اعطى عدد كبير من الجريبات . في حين وجد Nandi وجماعته (2000) انخفاض استرداد البويضات عندما كان المبيضين حاويين على الجسم الاصفر وهذا يعود الى التطور الجريبي المحدود ، ان خلايا اللوتين تحتل معظم المبيض Kumar وجماعته (1997) . في حين ، لم يجد Boediono وجماعته (1995) و Das وجماعته (1996) اي اختلاف في متوسط عدد البويضات لكل مبيض بين المبايض الحاملة للجسم الاصفر وغير الحاملة للجسم الاصفر ، ولم تتفق النتائج مع (Kor ، 1995) إذ وجد ان عدم وجود الجسم الاصفر اعطى اعلى نسبة في تركيز الاستروجين والبروجسترون .

الجدول (3) يوضح الجسم الاصفر وعلاقة بالصفات المدروسة

جسم اصفر	العدد	المتوسط ± الخطأ القياسي						
		بويضات كلي	بويضات جيدة	بويضات ناضجة	FSH	LH	E2	P4
يوجد	12	±11.50 3.16 a	±4.83 0.87 a	± 4.58 0.82 a	± 2.48 0.17 a	±2.81 0.21 a	1496.85 a 246.20±	± 13.34 4.39 a
لايوجد	8	19.12 13.77 a±	± 4.62 2.05 a	±4.12 2.11 a	± 2.43 0.49 a	± 2.75 0.51 a	± 1141.25 295.28 a	± 2.39 0.45 a
مستوى المعنوية		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

NS : غير معنوي.

المصادر

الجشعمي ، سعاد عبد الامير ؛ مظفر نافع الصائغ ؛ تمارة ناطق داود (2009) . في الهرمونات التناسلية للنعاج العواسية E بمفرده او مع فيتامين HCG . مجلة الفرات للعلوم الزراعية (1): 32- 37 .

الحسناوي ، ميثم عباس عزيز (2012) . دراسة تأثير بعض العوامل في كمية الإنتاج والتركيب الكيمياوي لحليب الجاموس في محافظة ذي قار . دبلوم عالي - الكلية التقنية / المسيب هيئة التعليم التقني – العراق .

الحسناوي ،ميادة صاحب حسن . (2012) . تأثير الموسم وحجم الجريبة المبيضية في بعض المكونات البايوكيمياوية للسائل الجريبي في النعاج المحلية. رسالة ماجستير في تقنيات الانتاج الحيواني – الكلية التقنية / المسيب هيئة التعليم التقني – العراق .

رحاوي ، محمد عبد الالة عزيز (2009) . علاج انعدام الشبق في الجاموس بتدليك الرحم والمبايض عبر المستقيم . المجلة العراقية للعلوم البيطرية ، المجلد 23 ، العدد 1 (23 – 25) .

محمد ، عبد الهادي صلال ؛ زينب شنيور مهدي ؛ زينب جواد تقي (2010). العلاقة بين عمر

الجاموس العراقي في مرحلة اللاشيوع ووزن المبايض ونوع وعدد واقطار الجريبات المبيضية والبويضات المستحصلة منها . معهد تقني كوفة - العراق .

مهدي ، حسان احمد ؛ سليمان سلهب و مروان الحلبي . (2012) . طرائق جمع البويضات من مبايض الابقار في المسالخ في نضج البويضات ، واخصابها وتنميتها مخبريا . جامعة دمشق للعلوم الزراعية ، المجلد (28) – العدد 2 – الصفحات : 513 – 528

Abdoon, A.S.S. and Kandil, O.M. (2001). Factor affecting number of surface ovarian follicles and oocytes yield and quality in Egyptian buffaloes. *Reprod. Nutr. Dev.*, 41: 71-77 .

Ahmed, W.M.; Abdoon, A.S.S.; Shalaby, S.I. A. and Kandil, O.M. (1999). Effect of reproductive status and body condition score on ovarian follicles and oocytes quality in buffalo cows. *Buffalo J.* 3: 333-343.

Al-Fartosi , K. and Nessren H. Humaidan , (2012) . Serum Estradiol and Progesterone in immature male and female water buffalo (BUBALUS BUBALIS) in marshes of Iraq . Department of Biology, College of Science, University of Thi-Qar, Iraq. *Bas.J.Vet.res.Vol.11,No.1* .

Al-Fartosi, K. G. (2010). Preliminary study on water buffalo (Bubalus bubalis) in marshes of Iraq (Defining some values of reproductive hormones*). J. of education College, Thi- Qar University, Iraq,* 1(1): 21-

Algire,J.E. ; Srikandakumar,A. ; Guilbault,L.A. and Downy,B.R.(1992). Preovulatory changes in follicular prostaglandins and their role in ovulation in cattle. *Canad. Journal vet. Res*. , 56:67-69.

Amer, H.A.; Hegab , A.O. and Zabbal, S.M. (2008). Effects of ovarian morphology on oocyte quantity and quality, granulose cells, *in vitro* maturation, and steroiod hormone production in buffaloes. *Anim. Reprod. Sci*., 5: 55-62.

Boediono, A.; Rajamahendran, R.; Saha, S.; Sumantri, C. and Suzuki, T. (1995). Effect of the presence of a CL in the ovary on oocyte number, cleavage rate and blastocyst production in vitro in cattle. *Theriogenology,* 43: 169 .

Borghese , A. (2008) . The buffalo , a social animal for the humanity . *Buffalo Newsletter* , 23 : 17 – 23 .

Das, G.K.; Jain, G.C.; Solanki, V.S. and Tripathi, V.N. (1996). Efficac of various collection methods for oocyte retrieval in buffalo, *Theriogenology* , 46: 1403–1411.

Dierich, A. ; Sairam, M.R. ; Monaco, L.; Fimia , G.M. ; Gansmuller , A. ; LeMeur, M. and Sassone-Corsi ,P. (1988). Impairing follicle stimulating hormone (FSH) signaling in vivo: targeted disruption of the FSH receptor leads to aberrant gametogenesis and hormonal imbalance. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 95: 13612-3617.

Duncan , D.B. (1955) . Multiple Rang and Multiplo F – test . Biometrics . 11 : 4 – 42 .

Hernandez-Cruz, E.; Gonalez-Cabriales, J.J.; Ordaz-Pichardo, C.and Cruz-Hernandez, D. (2009). Development of an immunobinding dot-blot assay as an alternative for the

(1996) . Oocyte retrieval and histological studies of follicular population in buffalo ovaries . , Central Institute for Research on Buffaloes, Sirsa Road, Hisar, 125 001, India.

Kumar, A.; Solanki, V.S. ; Jindal, S.K.; Tripathi , V.N. and Jain , G.G. (1997). Oocyte retrieval and histological studies of follicular population in buffalo ovaries. *Anim. Reprod. Sci.,* 47: 189- 195.

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 .

Mahmoud ,K. Gh. M. and El-Naby , AL-SH. Al-H. H. (2013). Factors Affecting Buffalo Oocytes Maturation Global Veterinaria., 11 (5): 497-510 .

Makkaway,M.Y. ;Salem,A. ;Younis,M.; Youssef,R.; Azouz,A. and Farahat,A.(1988). Estradiol,progesterone,thyrotropic and thyroid hormones Concentration in buffalo follicular fluid in relationship to follicle size.Alex.*J.Vet.Sci.*,4:391-

Manik, R.S.; Chauhan, M.S.; Singla, S.K. and Palta P. (2002). Transvaginal ultrasound guided aspiration of follicles from Indian buffaloes with reproductive problems. Vet. Rec. 150, 22–24.

Marson, E.P.; Ferraz, J.B.S.; Meirelles, F.V.; Balieiro, J.C.C. and Eler, J.P. (2008). Effects of polymorphisms of LHR and FSHR genes on sexual precocity in a Bos taurus x Bos indicus beef composite population. *Genet. Mol. Res.,* 7: 243-251.

serodiagnosis of human cysticercosis. *J. Helminthology,* 83: 333-337.

Jamil, H.; Samad, A.; Qureshi, Z.I.; Rehman, N.U. and Lodhi, L.A. (2008). Harvesting and evaluation of riverine buffalo follicular oocytes. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 32: 25-30.

Kharche, S.D.; Sharma, G.T. and Majumdar ,A.C. (2005). In vitro maturation and fertilization of goat oocytes vitrified at germinal vesicle stage. *Small Rumin. Res.*, 57: 81-84 .

Kor , N. M. (1995) . The effect of corpus luteum on hormonal composition of follicular fluid from different sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows . Get rights and content Open Access funded by Hainan Medical College Under a Creative Commons license , 7645(14) 60247-9 .

Kruip,TH.A.M. and Dielman,S.J.(1986). Steroid hormone concentration in fluids of bovine follicules relative to size,quality and stage of estrus cycle. *Theriogenology*,24: 395- 408.

Kruip , T.h.A.M. and Dieleman , S.J. (1985). Steroid hormone concentrations in the fluid of bovine follicles relative to size, quality and stage of the oestrus cycle Scienece direct-*Theriogenology*, volume 24 , October, Pages: 395-408.

Kulkarni,B.A. ; Deshmukh,B.T. ; Katkam,R.R. and Puri,C.P.(1994). Follicular fluid steroid hormone level of Indian buffaloes. *Buffaloes journal* ,10:71- 74 .

Kumar A. ; Solanki V.S. ; Jindal S.K.; Tripathi V.N. and Jain G.C.

potential of buffalo oocytes. *Vet. Rec.*, 147: 580-581.

Nandi, S.; Chauhan, M.S. and Palta, P. (2001): Effect of environmental temperature on quality and developmetal competence in vitro of buffalo oocytes. *Vet. Record.,* 148: 278- 279.

Pawshe, C.H.; Palanisamy, A.; Taneja, M.; Jain, S.K. and Totey, S.M. (1996). Comparison of various maturation treatments on in vitro maturation of goat oocytes and their early embryonic development and cell numbers. *Theriogenology,* 46: 971-982.

SAS . (2012). Statistical Analysis System , User's Guide . Statistical. Version 9.1th ed. SAS . Inst. Inc. Cary. N.C. USA .

Savio, J.D.; Keenan, L.; Boland, M.P. and Roche, J.F., (1988) . Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of heifers, *J. Reprod. Fertil.*, 83: 663–671.

Sharma, D. and Taneja, V.K. (2000). Number and quality of buffalo oocytes recovered relative to method of harvest, stage of estrous cycle and corpus luteum. *Indian J. Animal Sciences*., 70: 684-687.

Simoni, M.; Gromoll, J. and Nieschlag, E. (1997). The follicle stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology. Endocr. Rev., 18: 739-773.

Zoheir, K.M.A.; Abdoon, A.S.; Mahrous, K.F.; Amer, M.A.; Zaher, M.M.; Li-Guo; Yang and El-Nahass, E.M. (2007). Effect of season on the quality and *in vitro* maturation rate of Egyptian buffalo (*Bubalus bubalis*)

Marson, E.P.; Ferraz, J.B.S.; Meirelles, F.V.; Balieiro, J.C.C.; Eler , J.P.; Figueiredo, L.G.G. and Mourao, G.B. (2005). Genetic characterization of European-Zebu composite bovine using RFLP markers. *Genet. Mol. Res.,* 4:496-505.

Martin,T.L.; Fogwell,R.L. and Irland,J.J.(1991). Concentration of inhibins and steroids in follicular fluid during development of dominat follicles in heifers.*Biol. Reprod.*, 44:693-700.

Maxwell,N.; Opara,C.I. ; Okoli1,Udo.H. and Oyewole,A.(2006). Ovarian morphology and estradiol-17β concentrations in serum and follicular fluid oslaughtered zebu cattle in Ibadan, Nigeria. *VeterinArski Arhiv,* 76 (5): 403-411.

Moor, R.M. and Warnes, G.M. (1978). Effect of oocytes maturation in mammals. In: Control of Ovulation . 159-176.

Moreno, J.F.; Flores-Foxworth, G.; Westhusin, M. and Kraemer, D.C., (1993). Infl uence of pregnancy and presence of a CL on quantity and quality of bovine oocytes obtained from ovarian follicles aspirated post-mortem. *Theriogenology*, 39: 271.

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 .

Nandi, S.; Chauhan, M.S. and Palta, P. (2000). Effect of a corpus luteum on the recovery and developmental