دراسة كيميا حيوية لبعض المكونات في السائل الجريبي المبيضي في مراحل مختلفه لجريبات الأبقار المحلية

عباس حسين غافل علي هاشم صبح
جامعه الفرات الاوسط / الكلية التقنية - المسيب

الملخص

تهدف هذه الدراسة الى بيان العلاقة مابين بعض المركبات الايضيه للسائل الجريبي المبيضي من جريبات ذات احجام مختلفه وعلاقتها بحجم الجريبة في الأبقار المحلية. جُمعت المبايض (140) مبيض من 70 بقرة بالغه غير حامل والتي ذبحت في مجازر محافظة بابل للفترة من اذار 2015 إلى ايلول 2015. نُقلت المبايض إلى المختبر خلال ساعتين بعد الذبح. سُحب السائل الجريبي من الجريبات الصغيرة (3-10 ملم) والجريبات الكبيرة (11-20 ملم)، وخُزن بدرجة -5 درجة مئوية قبل التحليل. حُللت عينات السائل الجريبي لتقدير الكوليستيرول والبروتين الكلي والكلوكوز باستخدام العدة التجارية. بينت النتائج أرتفاع معدل تركيز الكوليستيرول والكلوكوز معنوياً ($P<0.05$) في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الكبيرة عن السائل الجريبي الموجود في الجريبات الصغيرة. أنخفض معنوياً ($P<0.05$) معدل تركيز البروتين الكلي في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الكبيرة عن الموجود في الجريبات الصغيرة.

Study on some biochemical component in ovarian follicular fluid in different stages in local cows

Abbas H. Ghafel ali hashim subah
Fl-Furat Al-Awsat Technical University / Al-Mussaib Technical College

Abstract

The aim of this study was to evaluate the relationship between some metabolites constituent in follicular fluid of ovarian from different sized follicles and it's relationship with follicular size in local cows. Ovaries were collected (140 ovary) from 70 adults non-pregnant cows which slaughtered at abattoirs of Babylon province during the period from March 2015 to September 2015. The ovaries were transported to the laboratory within 2 hours after slaughtering. Follicular fluid was withdrawal from small(3-10mm)and large (11-20mm) follicles and stored at -5ºC prior to analysis. The follicular fluid samples were analyzed for cholesterol, total protein and glucose, using commercial kits. The result showed that the average concentration of cholesterol and glucose in follicular fluid of large follicles were significantly higher ($P<0.05$) than the follicular fluid in small follicles. The average concentration of total protein in ovarian follicular fluid of large follicles were significantly lower ($P<0.05$) than that in follicular fluid in small follicles.

المقدمة

السائل الجُريبي جزء منه يترشح من مصل الدم والجزء الاخر يتكون من مواد تنتج موضعياً وله علاقة بالفعاليات الايضية لخلايا الجُريبة (1).يُشكل السائل الجريبي الظروف الكيموحيوية للبويضة قبل الإباضة(2). يحتوي السائل الجريبي المبيضي على المواد الايضية والهرمونية والدهون (3) وعوامل النمو والتثبيط(4) وعدد من العناصر والأملاح (5).تنمو وتنضج الجريبة والبويضة بظروف كيموحيوية مرتبطة بتغير حجم الجريبة من صغيرة إلى كبيرة وأن كل هذه المواد الموجودة في السائل الجريبي ذات علاقة بنضج البويضة (6). يمتلك السائل الجريبي وظائف مختلفة منها أبقاء الانقسام الخيطي للبويضة في حالة سكون (7)، وحماية البويضة من التحلل اثناء الاباضة (8). ورفع جاذبية قبعة النطفة ويؤثر في نضج البويضة واخصابها (9). توفر المواد الايضية للسائل الجُريبي بيئة مناسبة والتي تكون عامل مهماً في تأثيرها في نمو البويضة وتطور الجنين المبكر(10). أشار(9). الى احتواء السائل الجُريبي على المكونات الايضية مثل البروتين الكلي والكوليستيرول والايونات مثل المغنسيوم والصوديوم والهرمونات مثل هرمون الحمل (progesterone) ، اذ تؤثر هذه المكونات في نضج البويضة واخصابها.بينت عدة دراسات خارج جسم الحيوان بأن المواد الأيضية مثل الكلوكوز ربما تؤثر على أكتمال بيوض الابقار ونضجها النهائي وبعد اخصابها ونموها إلى مرحلة الكيس الأرومي (blastocyst)(13, 12,11).تحدث التغيرات المعنوية في المواد الايضية خلال مرحلة نمو الجريبة بفعل النشاط الايضي وبالأشتراك مع خواص حواجز جدار الخلية

البحث مستل من رساله ماجستير للباحث الثاني

(14). تبين دراسة مكونات السائل الجريبي المبيضي صورة واضحة عن مدى احتياج الجريبة والبويضة لمختلف المواد الايضية والايونية والهرمونية والدهنية والانزيمات والعناصر والاملاح وعوامل النمو والتثبيط وذلك لبيان الاحتياجات الاساسية الضرورية لاستمرار نموها ونضجها ومن ثم ينعكس هذا على انضاج البويضات واخصابها مختبرياً. قبل تسليط الضوء على احتمال تأثير التغيرات الايضية على نوعية الجريبة والبويضة فأنه من الضروري تحديد التراكيز الفسلجية للمواد الايضية الشائعة في السائل الجريبي من جريبات مختلفة الأحجام، لذلك تهدف هذه الدراسة لتقدير تراكيز بعض المواد الايضية (الكوليستيرول والبروتين الكلي والكلوكوز) وعلاقتها بتغير حجم الجريبة لمعرفة احتياج الجريبة والبويضة من هذه المكونات من مختلف مراحل نموها.

المواد وطرائق العمل Material and methods

1. جمع المبايض وفحصها Collection and examination of ovaries

أجريت الدراسة في مختبرات قسم تقنيات الإنتاج الحيواني في الكلية التقنية / المسيب للمدة من أذار 2015 إلى ايلول 2015 ، جُمعت المبايض (140 مبيض) من 70 بقرة غير حامل والتي ذبحت في مجازر محافظة بابل في موسم التناسل وكانت بحالة سليمة من الناحية الصحية قبل الذبح وفحصت القناة التناسلية بعد الذبح وكانت طبيعية وخالية من التشوهات الخلقية. وضعت المبايض في حقيبة بلاستيكية تحتوي على محلول الملح الفلسلجي الطبيعي بتركيز 0.9% ، وأدخلت الحقيبة في صندوق مبرد ونقلت إلى المختبر خلال ساعتين بعد الذبح ، غُسلت المبايض في المختبر مرتين بالمحلول الملح الفسلجي الطبيعي المبرد ووضعت على أوراق التنشيف لتجفيفها، أزيلت الأنسجة العالقة عن المبايض وقيست جريبات كل مبيض بواسطة القَدِمة (Vernier calipers) ، وصنفت الجريبات طبقاً لهذه القياسات إلى مجموعتين صغيرة ذات قطر (3-10 ملم) وكبيرة ذات قطر (11-20 ملم). سُحب السائل الجريبي من كل جريبة بأستعمال محاقن طبية معقمة نبيذة (disposable) ذات أحجام 1 و5 و10 مليلتر وأبر ذات قياس 23 و29 . جُمعت محتويات السائل الجريبي من كل صنف ولكل حيوان على حدة، ثم خلط السائل الجريبي المأخوذ من الجريبات ذات الصنف الواحد والتي جمعت في نفس اليوم (في كل عملية جمع) ووضع في قناني مخروطية (Centrifuge tube) ذات حجم 10 مليلتر لمدة 15 دقيقة لكي يستقر، بعد ذلك وضعت القناني بجهاز النبذ المركزي(Centrifuge-Hettich-Germany) وبسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق ، بعدها سُحب السائل الجريبي الطافي بواسطة ماصة معقمة وحفظ بدرجة -5 مئوية لحين التحليل.

2. التحاليل الكيموحيوية Biochemical analysis

تم اجراء تحليل العينات السائل الجريبي لتقدير المواد الأيضية (الكوليستيرول والبروتين الكلي والكلوكوز) باستعمال العدة التجارية المناسبة والمتوفرة، قيست تراكيز الكوليستيرول باستعمال عدة تجارية من شركة(BIOLBO Kit, France) من خلال الطريقة الضوئية بواسطة جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer–PD303-Germany) وبطول موجي 490 نانوميتر بالتتابع وقيس تركيز البروتين الكلي بأستعمال عدة تجارية من شركة (BioSystems Kit, Spain) ومن خلال الطريقة الضوئية وبواسطة جهاز المطياف الضوئي وبطول موجي 545 نانوميتر، وقيس تركيز الكلوكوز باستعمال عدة تجارية من شركة (AGAPPE Kit, SWITZERLAND) ومن خلال الطريقة الضوئية بواسطة جهاز المطياف الضوئي وبطول موجي 505 أنجزت جميع القياسات طبقاً للجهة المصنعة للعدة التجارية.

4. التحليل الإحصائي Statistical analysis

استعمل التصميم العشوائي الكامل (CRD) لدراسة تأثير العوامل المختلفة (الموقع او الحجم) في الصفات المدروسة، وقُورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار (16) متعدد الحدود، واستعمل البرنامج (17) في التحليل الإحصائي.

النتائج والمناقشة :

اوضحت نتائج الدراسة الحالية أرتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في معدل تركيز **الكوليسيترول** الكلي في السائل الجريبي المبيضي مع زيادة حجم الجريبة إذ بلغ معدل تركيزه في الجريبات الصغيرة 62.075±3.13 ملغم/ديسيلتر وبلغ معدله في الجريبات الكبيرة 80.90±8.20 ملغم/ديسيلتر (جدول 1) . يعتبر الكوليستيرول هو المادة الاولية لتصنيع الهرمونات الشحمية (Steroid) ، حيث يحتوي السائل الجريبي فقط على البروتينات الدهنية عالية الكثافة (High-Densitylipoprotein) ، لذا فان خلايا الجريبات الحبيبية تعتمد على الكوليستيرول المشتق من هذه الدهون وانه يزداد تصنيع الهرمونات الشحميه كلما زاد حجم الجريبة ولهذا يرتفع مستوى الكوليستيرول كلما زاد حجم الجريبة (17) لذلك لا تعتمد على جزيئات البروتينات واطئة الكثافة (LDL) وذلك لامتلاكها جزيئات كبيرة لا تستطيع المرور ضمن الحواجز التي تفصل بين الدم والجريبة (18) . ان التركيز الواطيء للكوليستيرول في السائل الجريبي للجريبات الصغيرة ربما يعزى الى زيادة احتياج الخلايا الحبيبية لهذه الجريبات للكوليستيرول اثناء نموها وتكاثرها، لذلك يُسحب من السائل الجربي فتنخفض نسبته في الجريبات الصغيرة ، وعندما تنمو وتكبر الجريبة يقل تكاثر خلاياها الحبيبية وتبدأ بطرح الكوليستيرول في السائل الجريبي لاستعماله في تصنيع الهرمونات الشحمية (19) تتوافق نتائج هذه الدراسة مع ما ذكره (7) و(19) ولا تتوافق مع (20).في الأبقار، تتوافق نتائج هذه الدراسة مع (21).ولا تتوافق مع (22).في الجاموس.إذ بين أن المستوى المنخفض للكوليسيترول في الجريبات الكبيرة تشير إلى تحول الكوليسيترول إلى الهرمونات الشحمية(Steroids) ، ، وتتوافق هذه الدراسة مع(23و24).ولا تتوافق مع (25) (26).في الأبل.

اما معدل تركيز **البروتين الكلي** فقد بينت نتائج الجدول (1) وجود اختلاف غير معنوي في معدل تركيزه في السائل الجريبي المبيضي بين الجريبات الصغيرة والكبيره وبلغ في الجريبات الصغيرة 6.59±2.24 غرام/ديسيلتروالكبيره 5.78±1.22. ان بلازما الدم تعتبر مصدر البروتين في السائل الجريبي وكذلك من خلايا الجريبة ، ففي بداية تكوين الجريبة تحتاج كميات اكبر من البروتين ستسحب من الدم ويتكون مع

تكون الخلايا الكثيرة للجريبة (17)،تلعب محتويات السائل الجريبي من البروتين الكلي دوراً مهماً في نمو وتطور ونضج البويضة (25). تحتاج الجريبات في بداية تكوينها للبروتين الكلي لبناء الطبقات المتعددة للخلايا الحبيبية وخلايا القراب (Theca cells) التي تحيط بالبويضة لذلك تَسحب الجريبات كمية وفيرة من البروتين من مصل الدم ويزداد تركيزه في الجربيات ، وعندما يكتمل بناء الخلايا في الجربيات الكبيرة يصبح احتياجها للبروتين اقل نسبياً (8) . تُفرز الشحوم البروتينية من الخلايا الحبيبية للجريبة في عملية تكوين الجريبات والانقسام الخيطي قبل الاباضة وتكوين الاوعية الدموية الجديدة للجريبة لذا سوف تزداد في بداية تكوين الجريبة بالتالي تكثر في السائل الجريبي (28) ، وربما يعزى قلة تركيز البروتين الكلي في الجريبات الكبيرة لزيادة انتاج الهرمونات الشحمية والتي تحتاج الى البروتينات الرابطة لنقل هذه الهرمونات (29) . تتفق نتائج هذه الدراسة مع ماجاء به(30) و (31).في الابقار. تتوافق نتائج هذه الدراسة في الجاموس مع (33).ولا تتفق مع (21).إذ بينوا ثبوت معدل تركيز البروتين الكلي بين مختلف الجريبات. وفي الأبل تتوافق نتائج هذه الدراسة مع (25).وتختلف مع(26)و(23). يتضح من نتائج الجدول (1) وجود زيادة معنوية ($P<0.05$) في معدل تركيز **الكلوكوز** في السائل الجريبي المبيضي مع تغير حجم الجريبة، إذ بلغ معدل تركيزه في الجريبات الصغيرة 66.02±3.78 ملغ/ديسيلتر وفي الجريبات الكبيرة 82.3±4.06 ملغم/ديسيلتر. الزيادة المعنوية للكلوكوز مع زيادة حجم الجريبات يعزى إلى أن الكلوكوز له دورا مهما في عمليات الايض المبيضي وانه ضروري لنمو البويضات وخلايا الجريبات وانه مصدر مهم للطاقة في المبيض خلال تايضه في الطرائق اللاهوائية التي تؤدي إلى تكوين اللاكتوز(3).او زيادة نفاذية الحواجز بين الجريبة والدم خلال نموها ولذلك يترشح مزيداً من الكلوكوز الى السائل الجريبي من مصل الدم (32). إن انخفاض أو زيادة معدل تركيز الكلوكوز في الأوساط الزرعية لتنمية ونضج البويضة خارج جسم الحيوان له تأثيراً مؤذياً وضاراً على نمو خلايا الجريبة ونضج البويضة وعدم اكتمال نضج النواة وتمدد الخلايا الركمية (Cumulus cells) (33). تتفق نتائج هذه الدراسة مع جاء به(34) و(7).ولا تتفق مع (35).إذ بين عدم وجود اختلاف معنوي في معدل تركيز الكلوكوز في الجريبات الصغيرة والمتوسطة والكبيرة في الأبقار وتتفق هذه الدراسة مع(21).في الجاموس ، وفي الأبل تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما ذكره (26)و(23).ولا تتفق مع (36).إذ بين أن تركيز الكلوكوز عالي نسبياً في الجريبات الصغيرة مقارنة مع الموجود في الجريبات الكبيرة.

نستنتج من هذه الدراسة ان الكوليستيرول الكلي والكلوكوز ازداد تركيزه مع كبر حجم الجريبة بينما انخفض تركيز البروتين الكلي مع كبر حجم الجريبة.

جدول (1). متوسط ± الخطا القياسي لتركيز المكونات الأيضية في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الصغيرة والكبيرة في الأبقار المحلية

Composition	Small follicles (3-10mm)	Large follicles (11-20mm)
Metabolites		
Total Cholesterol mg/dl	62.075±3.13 B	80.90±8.20 A
Total protein g/dl	6.59±2.24 A	5.78±1.22 B
Glucose mg/dl	66.02±3.78 B	82.3±4.06 A

المتوسطات التي تحمل حروفاً مختلفة ضمن الصف الواحد تختلف معنوياً ($P<0.05$)

المصادر

Gerard,N.,Loiseau,S,.Duchamp,G, and Seguin,F.(2002). Analsis of the variation of follicular fluid composition during follicular grouh and maturation in the mare using proton nuclear magnetic resonance (HNMR.) Repord, 124: 241-248.

Jozwik, M.; Woezynski, S.; Jozwik, M.; Szamatowicz, M. (2001). Ammonia concentration in human preovulatoy ovarian follicles. Eur. J. Obstet. Gynecol. and Reprod. Biol. 94, 256-260.

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.

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

species and glutathions contents. Mol. Reprod. Dev, 56: 520-526.

Armstrong, D.G.; McEvoy, T.G.; Baxter, G., Robinson, J.J.; Hogg, C.O.; Woad, K.J.; Webb, R.; and Sinclair, K.D. (2001). Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production *in vtro*: association with the ovarian insuline-like growth factor system. Biol. Reprod, 64:1624-1632.

De Wit, A.A.C.; Cesar, M.L.F.; Kruip, T.A.M. (2001). Effect of urea during *in vitro* maturation on nuclear maturation and embryo development of bovine cumulus-oocyte-complexes. J. Dairy Sci, 84:1800-1804.

Gosden, R.G.; Hunter, R.H.F.; Telfer, E.; Torrance, C.; Brown, N.; (1988). Physiological factors underlying formation of ovarian follicular fluid. J. Reprod. Fertil, 82:813-825.

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

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

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.,49:61-66.

Bauchart, D. (1993). Lipid absorption and transport in ruminants. J. Dairy Sci., 76: 3864-3881.

Su, Y.Q.; Sugiura, K.; Wigglesworth, K.; Obrien, M.J.; Affourtit, J.P.; Pangas, S.A.; Matzuk,M.M. and 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.

Wehrman, M.E.; Welsh,T,H. and Williams,G,L. (1991). Diet-induced hyperlipidemia in cattle modifies the intrafollicular cholesterol enviroment, modulates ovarian dynamics and the onset and growth factors on in vitro development of sheep preanteral follicles. Small Rumin. Res, 70: 93-100.

Sharma, R. K. and Vasta, R. (1998). Biochemical changes in trace elements in antral follicles of goats. Indian. J. Anim. Sci, 68: 330- 331.

Endresen, MJ.; Haug, E.; Abyholm, T.; Henriksen, T (1990). The source of cholesterol for progesterone synthesis in cultured preovulatory human granulosa cells. Acta Endocrinol. (Copenh),123:359-364.

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.

Iwata, H.; Hashimoto, S.; Ohota, M.; Kimura, K.;Shibano,K. and 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.

Chang, A.S.; Dale, A.N.; and Moley, K.H.(2005). Maternal diabetes adverse affected preovulatory oocyte maturation,development,and granulosa cell apoptosis. Endocrinol, 146:2445-2453.

Galli, C.; Duchi, R.; Crotti, G.; Turini, P.; Ponderato, N .; Colleoni, S.; LagutinaI. and Lazzari, G.(2003). Bovine embryo technologies. Theriogenology, 59: 599–616 .

Bender, K.; Walsh, S.; Evans, A.C.O.; Fair, T. and Brennan, L. (2010). Metabolite concentrations in follicular fluid may explain differences in fertility between heifers and lactating cows. Reprod, 139:1047-1055

Hashimoto, S.; Minami, N.; Yamada, M.; Imai, H.(2000). Excessive concentration of glucose during *in vetro* maturation impairs the development competence of bovine oocytes after *in vetro* fertilisation: revelance to intracellular reactive oxygen

(2013). Follicular Fluid concentration of Biochemical Metabolites and Trace Minerals in Relation to Ovarian Follicle Size in Dairy Cows. Annual Review & Research in biology., 4:397-404.

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

Ying, Sh.; Wang, Z.; Wang, Ch.; Nie, H.; He, D.; Jia, R.; Wu,Y.; Zhou, Z.; Yan, Y.; Zhang, Y. and 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*., 142: 699-710.

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.

Landau, S.; Braw-Tal. R. ; Kaim, M., Bor. A. and Bruckental. I. (2000). Preovulatory follicular status affects the insulin and glucose content of the follicles yielding dairy cows. Anim. Reprod. Sci., 64: 29-314.

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.

Zeidan, A.E.B.; Abd El-Salaam, A.M.; El-Malky, O.M.; Ahamdi, E.A.A.; Sarhan, D.M.A. and Daader, A.H. (2008). Biochemical and histological changes in the ovary of the dromedary camel during breeding and non breeding seasons. Egyptian J. Basic Appl. Physiol., 7: 287 – 308.

of postpartum luteal activity. Biol., 45:514-522.

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.,25:66-72

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

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.

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.

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

El-Shahat, K.H.; El-Moaty, A.M. and 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.

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.

Kor, N. M.; Khanghah, K. M. and Veisi, A.(2013). Follicular fluid concentrations of biochemical metabolites and trace minerals in relation to ovarian follicle size in dairy cows .Annual review and research in biology ,3.4:397 404.

Nasrallah, M.K.; Kaveh, M.K. and Ali, V.