

## علاقة تطور البويضة مع حجم الجريبة ومكونات السائل الجريبي الأيضية في الجاموس المحلي

هاشم مهدي الربيعي<sup>1</sup> علي جاسم جعفر<sup>2</sup> ميادة صاحب حسن<sup>2</sup>

استاذ مدرس مدرس

<sup>1</sup> قسم تقنيات الانتاج الحيواني / الكلية التقنية المسيب / جامعة الفرات الاوسط

<sup>2</sup> كلية الطب البيطري / جامعة كربلاء

البريد الالكتروني: drhashem48@yahoo.com

المستخلص

صُممَ البحث لتقدير بعض مركبات السائل الجريبي الأيضية من جريبات مختلفة الأحجام وعلاقتها بتطور البويضة. جُمع 120 مبيض من 60 أنثى جاموس بالغة غير حامل والتي ذبحت في مجازر محافظة بابل خلال المدة من أيلول 2016 لغاية شباط 2017 ونُقلت المبايض إلى المختبر خلال ساعتين بعد الذبح. سُحب السائل الجريبي المبيضي من الجريبات لغرض أستحصال وفحص البويضات وتقدير المكونات الأيضية. قومت البويضات وحُللت عينات السائل الجريبي المبيضي لتقدير المواد الأيضية (الكلوكوز والبروتين الكلي والكوليستيرول الكلي والدهون الثلاثية triglycerides). بينت النتائج ارتفاعاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الكلوكوز والكوليستيرول الكلي في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الكبيرة مقارنة بالجريبات الصغيرة ، بينما كان هناك انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز البروتين الكلي والدهون الثلاثية في السائل الجريبي المبيضي للجريبات الكبيرة مقارنة بالجريبات الصغيرة. بينت نتائج هذه الدراسة أيضاً ارتفاعاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في نسبة وجود الخلايا الركمية المبيضية حول البويضة مع زيادة حجم الجريبة. أرتفعت معنوياً ( $P < 0.05$ ) نسبة حالة النطاق الشفاف الكامل الكلي مع كبر حجم الجريبة، وأرتفع معنوياً ( $P < 0.05$ ) معدل قطر البويضة مع زيادة حجم الجريبة، وأرتفعت معنوياً أيضاً نسبة الهيولي المتجانس كلياً مع زيادة حجم الجريبة. نستنتج من هذه الدراسة تردي نوعية البويضات داخل الجريبة ربما السبب في تدني خصوبة أناث الجاموس المحلي. تنمو وتنضج البويضات في السائل الجريبي المبيضي في مركبات أيضية متذبذبة أو متباينة مع تغير حجم الجريبة.

كلمات مفتاحية : الجريبة ، البويضة ، السائل الجريبي ، المواد الأيضية ، أناث الجاموس.

## Relationship of oocyte development with follicular sized and metabolites follicular fluid composition in local buffaloes

Hashem M. Al-Rubaei<sup>1</sup> Ali J. Al-Nuaimi<sup>2</sup> Mayada S. Al-Hissnawi<sup>2</sup>

Professor

Lecturer

Lecturer

<sup>1</sup> Department of Animal Production Techniques / Technical College of Mussayab / AL-Furat Middle Technical University

<sup>2</sup> Veterinary College/ Kerbala University

drhashem48@yahoo.com

### Abstract :

This project was designed to evaluate some metabolites composition of ovarian follicular fluid from different sized follicles and it's relationship with oocyte development. 120 ovaries were collected from 60 adults non-pregnant female's buffalo slaughtered at abattoirs of Babylon province during the period from September 2016 to February 2017 and transported to the laboratory within 2 hours post slaughter. The ovarian follicular fluid were aspirated from follicles for recovery and evaluation of oocytes and determination of metabolites composition. The oocytes were evaluated and the ovarian follicular fluid samples were analyzed for determinate the metabolites (glucose, total protein, total cholesterol and triglycerides). The results showed that the mean concentrations of glucose and total cholesterol in ovarian follicular fluid of large follicles were significantly higher ( $P<0.05$ ) compared with small follicles, while the mean concentrations of total protein and triglycerides in ovarian follicular fluid of large follicles were significantly lower ( $P<0.05$ ) compared with small follicles. The results of the present study also indicated that the percentage of the presence of oocytes with cumulus oophorus around oocyte was significantly higher ( $P<0.05$ ) with increased of follicular size. The percentage of completely zona pellucida was significantly higher ( $P<0.05$ ) with enlargement of follicular size. The average of oocyte diameter was significantly increased ( $P<0.05$ ) with enlargement of follicular size. The percentage of completely hemogenous cytoplasm were significantly higher ( $P<0.05$ ) with increased of follicular size. In conclusion, based on these data we can infer that the inferior oocyte quality inside of follicle may be cause to deteriorate infertility in female's buffalo. The oocytes growth and mature in metabolites composition of follicular fluid in fluctuate or variation considerably with changes in follicular size.

**Key words :** follicle , oocyte , follicular fluid , metabolite , female's buffalo.

### المقدمة :

تمتلك أنثى الجاموس أداء تكاثري منخفض مع مشاكل تناسلية عديدة منها ضعف علامات الشبق أو الشبق الصامت وعدم الشبق الموسمي والبلوغ المتأخر (20) . لتحسين وتطوير الأداء التناسلي لأنثى الجاموس لابد من النهوض بوسائل التربية والتكاثر عن طريق إدخال وتطبيق التقنيات التكاثرية المساعدة مثل التلقيح الاصطناعي والتلقيح الخارجي والأبازة المتعددة وتوحيد الشبق ونقل الأجنة كبديل عن الوسائل التقليدية التي

أوصلت هذا الحيوان إلى عدم القدرة والكفاءة التناسلية (46). تُعد المجازر مصدراً مهماً ورخيصاً للحصول على البيوض لأنتاج الأجنة والأبحاث (19). يُنتج السائل الجريبي موضعياً في خلايا الجريبة وجزء منه يترشح من مصل الدم وهذا مرتبط مع الفعاليات الأيضية لخلايا الجريبة (21). يوفر السائل الجريبي بيئة مناسبة لنمو ونضج البويضة مرتبطة بحجم الجريبة من صغيرة إلى كبيرة (29) ، إذ تنمو وتنضج البويضة بظروف كيموحيوية مرتبطة بتغير حجم الجريبة من صغيرة إلى كبيرة وأن الصفات الأيضية والأيونية في السائل الجريبي المبيضي لها علاقة قوية بتطور ونضج البويضة (18). بيّن (8) بوجود علاقة بين تطور حجم الجريبة مع تطور قطر والكفاءة التطورية للبويضة. تُعد حالة الهيولي (Cytoplasm) والنطاق الشفاف (zona pellucida) والخلايا الركمية المبيضية (Cumulus oophorus) وقطر البويضة من العوامل التي تُعتمد لتقويم نوعية البويضة وتصنيفها (11)، ولقلة الدراسات في العراق عن التناسل في أنثى الجاموس المحلي لذلك تهدف هذه الدراسة لبيان علاقة تطور البويضة مع حجم الجريبة وبعض مكونات السائل الجريبي مثل الكلوكوز والبروتين الكلي والكوليستيرول الكلي والدهون الثلاثية، لمعرفة أحتياج الجريبة والبويضة من هذه المركبات في مختلف مراحل نموها ونضجها .

#### المواد وطرائق العمل :

أُجزت الدراسة في مختبرات قسم تقنيات الإنتاج الحيواني في الكلية التقنية/المسيب للمدة من أيلول 2016 الى شباط 2017 ، جُمعت 60 قناه تناسلية من أنثى جاموس بالغة وغير حامل والتي ذُبحت في مجازر محافظة بابل وبواقع 10 عينات شهرياً وكانت بحالة سليمة من الناحية الصحية قبل الذبح، وفُحصت القناة التناسلية عيانياً وكانت طبيعية وخالية من التشوهات الخلقية. أُزيلت المبايض (120مبيض) بعد وقت قصير من الذبح ووضعت في أكياس نايلون تحتوي على محلول الملح الطبيعي المعقم وتركيز 0.9% (Sterile normal saline 0.9%) ووضعت الأكياس في صندوق مبرد وُنقلت إلى المختبر خلال ساعتين بعد الذبح. غُسلت المبايض بمحلول الملح الطبيعي المعقم المبرد وُنشفت بأوراق التنشيف وأزيلت الأنسجة العالقة والأرطقة بها. قيست الجربيات بواسطة القدمة (Vernier Caliper) وصُنفت الجربيات طبقاً لهذه القياسات إلى ثلاثة مجاميع صغيرة ذات قطر (3-5 ملم) ومتوسطة ذات قطر (6-10 ملم) وكبيرة ذات قطر (11-20 ملم) (7) .

#### جمع السائل الجريبي

سُحب السائل الجريبي لغرض التحاليل الكيموحيوية من كل جريبة باستعمال محاقن طبية معقمة نبيذة (disposable) ذات أحجام 1 و5 و10 ملييلتر وأبر ذات قياس 18 و 23 و 29 (23&29, gauge18) جُمعت محتويات السائل الجريبي من كل صنف ولكل حيوان على حدة ، ثم خلط السائل الجريبي المأخوذ من الجربيات ذات الصنف الواحد والتي جُمعت في نفس اليوم (في كل عملية جمع) ووضع في أنابيب إختبار ذات حجم 10 ملييلتر لمدة 20 دقيقة لكي يستقر، ووضعت الأنابيب بجهاز النذب المركزي (Centrifuge)

Hettich-Germany) وبسرعة 4000 دورة / دقيقة لمدة 10 دقائق ، وسُحب السائل الجُريبي الطافي بواسطة ماصة معقمة وحفظ بدرجة -5 مئوية لحين التحليل (5). وأيضاً سُحب السائل الجريبي لغرض استحصال البويضات وفحصها من كل صنف من الجريبات وبنفس القياسات السابقة للمحاقن والأبر، ولكن تحتوي المحاقن في هذا الفحص على 0.1 مليلتر من الوسط الزراعي محلول دارى الفوسفات (Phosphate buffered saline – BDH – England) وأضيفت له مادة الكليسيرول والهيبارين (Heparin – LFO – Denmark) بنسبة 25 وحدة دولية / مليلتر ، وضع السائل الجريبي بعد السحب في طبق زجاجي (Petri-dish) (حجم 35 و 90 ملم ) لغرض تقويم البويضات، فُحصت البويضات بأستعمال المجهر الضوئي بقوة (Optica 400 microscope – Italy)، وقيس قطر البويضة بأستعمال كاميرا (Sawyer microscope company – China) مربوطة بحاسوب خاصة للتصوير والتي تحتوي على المسطرة المجهرية (16).

#### التحليل الكيموحيوية :

حُللت عينات مصل الدم لتقدير المواد الأيضية (الكلوكوز والبروتين الكلي والكوليستيرول الكلي والدهون الثلاثية Triglycerides) بأستعمال العدة التجارية المناسبة والمتوفرة، قيست تراكيز الكلوكوز والكوليستيرول باستعمال عدة تجارية من شركة Biolbo Kit, France من خلال الطريقة الضوئية بواسطة جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer – PD303- Germany) وبطول موجي 490 و 550 نانوميتر بالتتابع (43)، وقيست تراكيز البروتين الكلي والدهون الثلاثية باستعمال عدة تجارية من شركة Chromatest Kit, Spain ومن خلال الطريقة الضوئية وبواسطة جهاز المطياف الضوئي وبطول موجي 510 و 520 نانوميتر بالتتابع (44).

#### التحليل الإحصائي :

استعمل التصميم العشوائي الكامل (CRD) لدراسة تأثير العوامل المختلفة (الحجم) في الصفات المدروسة، وقُورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار (12) متعدد الحدود، واستعمل البرنامج (36) في التحليل الإحصائي وفق النموذج الرياضي الآتي:

$$Y_{ij} = \mu + V_i + e_{ij}$$

إذ أن:

$Y_{ij}$ : قيمة المشاهدة

$\mu$  ،  $j$  : المتوسط العام للصفة المدروسة،

$V_i$  : تأثير حجم الجريبة ( صغير - متوسط - كبير ) .

$e_{ij}$  : الخطأ العشوائي الذي يتوزع طبيعياً بمتوسط يساوي صفراً وتباين قدره  $\sigma^2 e$  .

## النتائج و المناقشة :

يتضح من نتائج الجدول (1) ارتفاعاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الكلوكوز في السائل الجريبي المبيضي مع كبر حجم الجريبة، إذ بلغ معدل تركيزه في الجربيات الصغيرة  $54.62 \pm 3.22$  ملغم. ديسيلتر<sup>-1</sup> وفي الجربيات المتوسطة  $63.68 \pm 4.12$  ملغم. ديسيلتر<sup>-1</sup> وفي الجربيات الكبيرة  $76.67 \pm 3.24$  ملغم. ديسيلتر<sup>-1</sup>. ان سبب الزيادة المعنوية للكلوكوز مع كبر حجم الجريبة ربما يعزى لكثرة أبيضه ولأنه يلعب دوراً مهماً في الأيض المبيضي باعتباره المصدر الرئيس للطاقة وذلك لتأبيضه خلال المسار اللاهوائي (29). واستهلاكه من قبل العدد الكثير من الخلايا الحبيبية المتكونة في الجربيات الكبيرة (26)، وكذلك زيادة نفاذية الحواجز بين الجريبة والدم مع زيادة وعائيتها وتطورها لذلك يترشح المزيد من الكلوكوز من مصل الدم إلى السائل الجريبي المبيضي (45). تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما جاء به (7) و (1) و (5) في الجاموس، وتتفق مع (18) و لا تتفق مع (25) إذ بينوا عدم وجود اختلاف معنوي في معدل تركيز الكلوكوز في الجربيات الصغيرة والمتوسطة والكبيرة في الأبقار.

بينت نتائج الجدول أيضاً إنخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز البروتين الكلي في السائل الجريبي المبيضي بين الجربيات الصغيرة والمتوسطة والكبيرة إذ بلغ  $80.07 \pm 6.03$  و  $70.20 \pm 4.02$  و  $60.30 \pm 3.64$  ملغم. ديسيلتر<sup>-1</sup> بالتتابع. تحتاج خلايا الجريبة في بداية تكوينها للبروتين الكلي لنمو وتطور وبناء الطبقات المتعددة للخلايا الحبيبية وخلايا القراب (Theca) الداخلي والخارجي وكذلك نمو وتطور وتغذية البويضة (41)، لذا تسحب الجربيات كمية كبيرة من البروتين الكلي وذلك بترشيحه من مصل الدم إلى السائل الجريبي المبيضي وبالتالي يزداد تركيزه (1). أن سبب أنخفاض البروتين الكلي في الجربيات الكبيرة ربما يعود إلى أكمال نموها وبناءها لذا يصبح أحتياجها للبروتين الكلي أقل نسبياً (22)، أو ربما يعود قلة البروتين الكلي في الجربيات الكبيرة هو أستعماله في البروتينات الرابطة التي تنقل الهرمونات الشحمية (Steroid) التي يزداد أنتاجها في الجربيات الكبيرة (17). تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما جاء به (42) و (5) وتختلف مع (7) في دراستهم على الجاموس إذ بينوا استقرار معدل تركيز البروتين الكلي بين مختلف الجربيات، وتتفق مع (25) و (32) في دراستهم على الأبقار.

جدول 1: تركيز المكونات الأيضية في السائل الجريبي المبيضي للجربيات الصغيرة والمتوسطة والكبيرة في الجاموس المحلي (المعدل  $\pm$  الخطأ القياسي)

الجربيات			المواد الأيضية
جريبة كبيرة (20-11 ملم)	جريبة متوسطة (6-10 ملم)	جريبة صغيرة (3-5 ملم)	ملغم. ديسيلتر <sup>1-</sup>
3.24 $\pm$ 76.67 A	4.12 $\pm$ 63.68 B	3.22 $\pm$ 54.62 C	الكلوكوز
3.64 $\pm$ 60.30 C	4.02 $\pm$ 70.20 B	6.03 $\pm$ 80.07 A	البروتين الكلي
8.26 $\pm$ 116.27 A	4.20 $\pm$ 87.22 B	3.66 $\pm$ 64.78 C	الكوليستيرول الكلي
1.37 $\pm$ 26.72 C	3.32 $\pm$ 36.28 B	3.72 $\pm$ 44.60 A	الدهون الثلاثية

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

أوضحت نتائج جدول (1) ارتفاعاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الكوليستيرول الكلي في السائل الجريبي المبيضي في الجاموس المحلي مع زيادة حجم الجريبة إذ بلغ في الجربيات الصغيرة 3.66  $\pm$  64.78 ملغم. ديسيلتر<sup>1-</sup> والجربيات المتوسطة 4.20  $\pm$  87.22 ملغم. ديسيلتر<sup>1-</sup> والجربيات الكبيرة 8.26  $\pm$  116.27 ملغم. ديسيلتر<sup>1-</sup>. يحتوي السائل الجريبي المبيضي على البروتينات الدهنية عالية الكثافة (High-Density Lipoprotein (HDL) ذات الجزيئات الصغيرة (تستطيع المرور بين حواجز الدم والجريبة)، ولا يحتوي على البروتينات واطئة الكثافة (LDL) وذلك لامتلاكها جزيئات كبيرة من البروتين (لا تستطيع المرور ضمن حواجز الدم والجريبة) لذلك فإن الخلايا الحبيبية الموجودة في الجربيات تستعمل الكوليستيرول المرشح من هذه الدهون المشتقة من بلازما الدم خلال عبورها الغشاء القاعدي لهذه الخلايا (23). أن قلة تركيز الكوليستيرول في السائل الجريبي المبيضي للجربيات الصغيرة ربما يعزى إلى أستعمال الخلايا الحبيبية له أثناء نموها وتكاثرها ونضجها فتسحب الكوليستيرول الموجود في السائل الجريبي لذلك سوف تقل نسبته في الجربيات الصغيرة (36). أن الأرتفاع في زيادة نسبة الكوليستيرول في الجربيات الكبيرة ربما يعزى إلى زيادة وعائية ونفاذية جدار هذه الجربيات مما يؤدي إلى دخول جزيئات الدهون عالية الكثافة في السائل الجريبي (32). تتفق هذه الدراسة مع (5 و7) ولا تتفق مع (1) في الجاموس وتتفق هذه الدراسة أيضاً مع ماجاء به (32) و (38) في الأبقار .

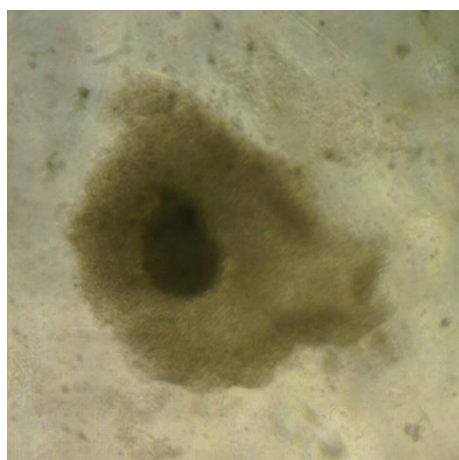
تبين نتائج الجدول أيضاً انخفاضاً معنوياً ( $P < 0.05$ ) في معدل تركيز الدهون الثلاثية في السائل الجريبي المبيضي مع زيادة حجم الجريبة ، إذ وصل معدل تركيزها في الجربيات الصغيرة 3.72  $\pm$  44.60 ملغم/ديسيلتر ، وفي الجربيات المتوسطة 3.32  $\pm$  36.28 ملغم/ديسيلتر وفي الجربيات الكبيرة 1.37  $\pm$  26.72 ملغم/ديسيلتر ، ان سبب ارتفاع معدل تركيز الدهون الثلاثية في السائل الجريبي المبيضي للجربيات الصغيرة ربما يعزى لعدم

مقدرة جزيئات الدهون الثلاثية العبور من السائل الجريبي المبيضي إلى داخل الخلايا الحبيبية للجريبة بواسطة جزيئات الدهون واطئة الكثافة وذلك لأمتلاكها جزيئات كبيرة من البروتين لا تستطيع اجتياز الحواجز التي تفصل بين الدم والجريبة (26). أن انخفاض تركيز الدهون الثلاثية في الجريبات الكبيرة ربما يعزى إلى سرعة وأستمرار استهلاكها من قبل خلايا الجريبة الحبيبية نتيجة لسرعة تكاثرها ونموها ونضجها لذا تسحب الدهون الثلاثية لتزودها بالطاقة إلى داخل الخلايا الحبيبية للجريبة (2)، إذ أن الدهون الثلاثية عبارة عن خزين دهن يتكون من جزيئة واحدة من الكليسيرول وثلاثة جزيئات من الأحماض الدهنية لتزويد الطاقة التي تحتادها الجزيئة (13). تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما جاء به (5 و 7) في الجاموس وفي الأبقار مع (26) و مع (3 و 4) في دراستهم على الأبل.

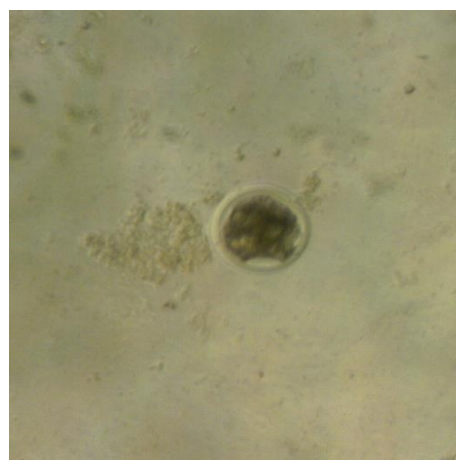
بينت نتائج جدول (2) أن عدد الجريبات المفحوصة ذات حجم (3-5) ملم بلغت 896 جريبة ، أعطت 395 بويضة وبنسبة 44.08 % ، إذ بينت 229 بويضة منها وجود الخلايا الركمية المبيضية (صورة 1) وبنسبة 57.97% و 166 بويضة بعدم وجود الخلايا الركمية المبيضية (صورة 2) . أرتفعت معنوياً ( $P < 0.05$ ) نسبة وجود الخلايا الركمية المبيضية مع زيادة معدل حجم الجريبة، إذ وصلت إلى 62.96% للجريبات المتوسطة ذات الحجم 6-10 ملم و 70.10% للجريبات الكبيرة ذات الحجم 11-20 ملم. وبين الجدول أيضاً انخفاضاً في نسبة عدم وجود الخلايا الركمية المبيضية مع كبر حجم الجريبة. أن الأرتفاع المعنوي في نسبة وجود الخلايا الركمية المبيضية مع كبر حجم الجريبة، ربما قد يعزى إلى زيادة أعداد الخلايا الحبيبية مع نمو وتطور الجريبة والتي تكوّن الخلايا الركمية التي تحيط بالبويضة (21). أن عدد طبقات الخلايا الركمية المبيضية هو العامل في تحديد نوعية البويضة (24) . أن زيادة أعداد الخلايا الركمية المبيضية حول وأرتباطها الوثيق بالبويضة سوف يزيد أمدادها بالمواد الغذائية عن طريق الفجوات (26) . تتفق نتائج هذه الدراسة مع ماجاء به (14) إذ بين أن نسبة وجود الخلايا الركمية المبيضية في بويضات الجاموس بلغ 63.17% ومع (46) إذ بين أن نسبة وجود الخلايا الركمية المبيضية بلغ 66.24% في الجاموس أيضاً ، وفي الأبقار تتفق مع (34 و 35). وبين الجدول أيضاً أن عدد البويضات المفحوصة لتقويم حالة النطاق الشفاف بلغت 395 بويضة، أعطت 347 بويضة وبنسبة 87.84% نطاق شفاف كامل كلي، بينما أعطت 48 بويضة وبنسبة 12.15% نطاق شفاف مفتوح، أن الأرتفاع المعنوي ( $P < 0.05$ ) في نسبة النطاق الشفاف الكامل الكلي مع زيادة حجم الجريبة بلغ في الجريبات المتوسطة 92.59% وفي الجريبات الكبيرة وصلت نسبته إلى 95.85% في حين أنخفضت معنوياً نسبة حالة النطاق الشفاف المفتوح مع زيادة حجم الجريبة. يوضح الجدول أختلافاً معنوياً بين أكمال النطاق الشفاف وعدم أكماله وهذا يدل على أن نسبة أكمال النطاق الشفاف عالية وأنه يتكون مع بداية تكوين الجريبة والبويضة (30) . يزداد نمو وتطور مكونات الهيولي مع زيادة نمو وتطور الجريبة ومنها الرايوسوم وظهور الفجوات الأيضية وتكوين البروتينات السكرية التي تكون النطاق الشفاف (31). يوفر النطاق الشفاف ممرات أو



فجوات تمر من خلالها المواد والعناصر الأساسية والضرورية لنمو البويضة ويعمل كذلك النطاق الشفاف لحماية البويضة وتطورها (39).



صورة 2: عدم وجود الخلايا الركمية المبيضية



صورة 1: الخلايا الركمية المبيضية

جدول 2: تقويم حالة الخلايا الركمية المبيضية وحالة النطاق الشفاف باختلاف حجم الجريبة في الجاموس المحلي (المعدل  $\pm$  الخطأ القياسي)

حالة النطاق الشفاف (Zona pellucida)	عدم وجود الخلايا الركمية المبيضية		وجود الخلايا الركمية المبيضية		عدد البويضات المستحصلة والمفحوصة	عدد الجريبات المفحوصة	حجم الجريبة (ملم)
	مفتوح العدد (%)	كامل كلي العدد (%)	العدد (%)	العدد (%)			
48 b (%12.15) A	347 a (%87.84) C	166 b (%42.02) A	229 a (%57.97) C	395 (%44.08)	896	5-3	
20 b (%7.40) B	250 a (%92.59) B	100 b (%37.03) B	170 a (%62.96) B	270 (%52.04)	510	10-6	
4 b (%4.12) C	93 a (%95.85) A	29 b (%29.89) C	68 a (%70.10) A	97 (%62.58)	155	20-11	
70 b (%19.44)	690 a (%90.53)	295 b (%38.71)	467 a (%61.28)	762 (%48.81)	1561	المجموع	

الحروف الكبيرة للمقارنة عمودياً والحروف الصغيرة للمقارنة أفقياً.

الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية ( $P < 0.05$ ).

من الجدول (3) نلاحظ أن عدد البويضات المفحوصة لتقويم قطر البويضة بلغت 395 بويضة من جريبات صغيرة ذات قطر 5-3 ملم إذ بلغ معدل أقطارها 155.6 مايكرومتر، ومن الجريبات المتوسطة بلغت 270



بويضة ووصل معدل أقطارها إلى 162.5 مايكروميتر (صورة3) ، ومن الجريبات الكبيرة 11-20 ملم بلغت 97 بويضة وبلغ معدل أقطارها 165.4 مايكروميتر. وبينت نتائج الجدول أيضاً ارتفاع معدل قطر البويضة معنوياً ( $P<0.05$ ) مع زيادة حجم الجريبة وقد يعزى السبب إلى طور النمو الذي تمر به الجريبة إذ تحدث زيادة في عدد الخلايا الحبيبية وحجم الجريبة وحجم البويضة (41) . أن لنوعية وحجم الجريبة تأثيراً على قطر البويضة إذ توجد علاقة بين التكامل التطوري للبويضة مع حجم الجريبة كمؤشر غير مباشر للارتباط بين نمو البويضة والتكامل التطوري إذ يمكن استعمال قطر البويضة كمؤشر أنتخابي لإنتاج الأجنة مختبرياً (34) . تتفق نتائج هذه الدراسة مع (6 و 20) في الجاموس و (9) في الأبقار إذ بينوا زيادة قطر البويضة مع زيادة نمو الجريبة وأن كفاءة الأنقسام الأختزالي مرتبط بقطر ما لا يقل عن 120 مايكروميتر. بين الجدول ذاته أن عدد البويضات لتقويم الهولي بلغت 395 بويضة من جريبات صغيرة ذات حجم 3-5 ملم التي أعطت 177 بويضة وبنسبة 44.81% ذات هولي متجانس كلياً و 218 بويضة وبنسبة 55.18% متجانس جزئياً (صورة4) . ارتفع معنوياً ( $P<0.05$ ) نسبة الهولي المتجانس كلياً مع كبر حجم الجريبة وبلغ 51.85% للجريبات المتوسطة ذات الحجم 6-10 وبنسبة 56.70% للجريبات الكبيرة ذات حجم 11-20 ملم ، بينما انخفضت معنوياً ( $P<0.05$ ) نسبة الهولي المتجانس جزئياً مع زيادة حجم الجريبة. أن الأرتفاع المعنوي في نسبة الهولي المتجانس كلياً مع حجم الجريبة قد يعزى إلى أكمال مجموعة الأحماض الأمينية التي تكون البروتينات المرتبطة بنمو البويضة في المراحل الأولى (10). يحتوي هولي البويضة النامية على الكلايكوجين والحبيبات الدهنية والبروتينات (15)، وأن كثرة الشبكة الأندوبلازمية وأجسام كولجي وكذلك تضاعف المتقدرات (Mitochondria) يعكس الفعالية العالية للبويضة (37)، تتفق هذه الدراسة مع (27 و 28) في الجاموس ومع (15) في الأبقار . أظهرت نتائج هذه الدراسة أن نسبة الهولي المتجانس تقريباً 50% وغير المتجانس 50% وهذه النتائج جاءت متوافقة مع النسبة العامة للخصوبة المتدنية لهذا الحيوان والتي تتراوح بين 45-50% لذا يعزى تدني خصوبة الجاموس إلى تردي نوعية البويضة في داخل محيط الجريبة.

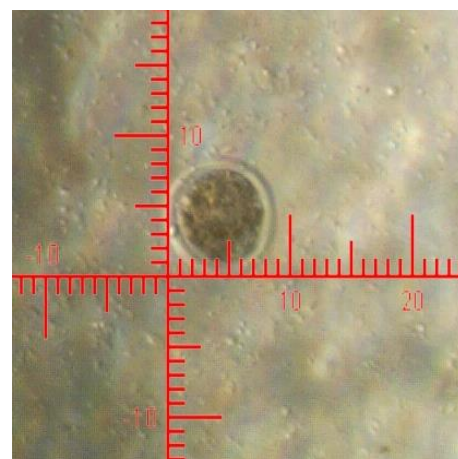
جدول 3: تقويم حالة النطاق الشفاف وقطر البويضة باختلاف حجم الجريبة

تقويم الهيولي (Cytoplasm)		قطر البويضة (مايكروميتر)	عدد البويضات المستحصلة والمفحوصة	عدد الجربيات المفحوصة	حجم الجريبة (ملم)
متجانس جزئي العدد(%)	متجانس كلي العدد(%)				
218 a (%55.18) A	177 b (%44.81) C	155.6 (118.6-169.2) C	395 (%44.08)	896	5-3
130 a (%48.14) B	140 a (%51.85) B	162.5 (126.2-185.2) B	270 (%52.04)	510	10-6
42 b (%43.29) C	55 a (%56.70) A	165.4 (134.6-186.3) A	97 (%62.58)	155	20-11
390 (%51.18)	372 (%48.81)		762 (%48.81)	1561	المجموع

الحروف الكبيرة للمقارنة عمودياً والحروف الصغيرة للمقارنة أفقياً.  
الحروف المختلفة تعني وجود فروق معنوية ( $P < 0.05$ ).



صورة 4: هيولي غير متجانس



صورة 3: قياس قطر البويضة

نستنتج من هذه الدراسة تزدني نوعية البويضات داخل الجريبة ربما السبب في تدني خصوبة أنثى الجاموس المحلي. تنمو وتنضج البويضات في مركبات أبيضية للسائل الجريبي المبيضي متذبذبة أو متباينة مع تغير حجم الجريبة

## References:

1. Abd Ellah, M.R.; Hussien, H.A.; and Derar; D.R. (2010) Ovarian follicular fluid constituents in relation to stage estrus cycle and size of the follicle in buffalo. *Veterinary word*. 3: 263-267.
2. Abe, H.; Yamashita, S. ; Satoh, T. and Hoshi, H. (2002) Accumulation of cytoplasmatic lipid droplets in bovine embryos and cryotolerance of embryos developed in different culture systems using serum-free or serum-containing media. *Molecular Reproduction and Development* 61(1) :57-66.
3. 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. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 10(3): 327-331.
4. Ali, S.; Ahmad, N.; Akhtar, N.; Rahman, Z.U. and Noakes, D.E. (2008) Metabolite contents of blood serum and fluid from small and large sized follicles in dromedary camels during the peak and the low breeding seasons. *Animal reproduction science* ,108:446-456.
5. Al-Rubaeae, H.M. (2015) Studies on some metabolites, Ionic and Hormonal composition in ovarian follicular fluid and blood serum in relation to size of the follicular in Iraqi buffalos. *Journal of karbala University* , 13:253-263.
6. Amer, HA.; A.O. Hegab and S.M. Zaabal (2008) Effects of ovarian morphology on oocyte quantity and quality, granulosa cells, in vitro maturation and steroid hormone production in buffaloes . *Animal reproduction science*. 5: 55-62.
7. 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 Veterinary Journal*,25:66-72.
8. Barakat, I.A.H., S.A. Kandeal, Il.M. El-Ashmaoui, A. Rarkawi and E. El-Nahass, (2012) Effect of medium type and Luteinizing Hormone (LH) on in vitro maturation of Egyptian buffalo oocytes. *African Journal of Biotechnology* .11: 4620-4630.
9. Blanco M.R.; Deo, Mmyda S.; Moreno M. M.and Genero E.,(2011) Developmental competence of in vivo and in vitro matured oocytes. *Biotechnology and Molecular Biology Review* , V .6.7:155-165.
10. Boni, R.(2012) Origins and effects of oocyte quality in cattle .*Animal Reproduction*,9.3:333-340.
11. Chohan, KR. and AG. Hunter, (2003) In vitro maturation and fertilization of water buffalo oocytes. *Buffalo Journal* 1: 91-101.

12. **Duncan, D.B.(1955)** Multiple Range and Multiple Test. *Biometrics.*,11:1-42.
13. **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*). *Animal Reproduction*, 10:16-23.
14. **Gabr, Sh. A.; Abdel-Khalek, A.E. and El-Ratel, I.T. (2015)** Evaluation of some factors affecting quantity, quality and in vitro maturation of buffalo oocytes. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances.*,10: 1-13.
15. **Griffin, J.; Emery, B. R.; Huang, I.; Peterson, C. M. and Carrell, D. T. (2006)** Comparative analysis of follicle morphology and oocyte diameter in four mammalian species Grummer RR, Carroll DJ. A review of lipoprotein cholesterol metabolism: importance to ovarian function. *Animal science*. 1988;66:3160–3173.
16. **Hegab, A.O., A.E. Montasser, AM. Hammam, E.M.A. Abu El-Naga and SM. Zaabel, (2009)** Improving in vitro maturation and cleavage rates of buffalo oocytes. *Animal Reproduction.*, 6: 416-421.
17. **Hunter, R.H.F. (2003)** Physiology of the Graafian follicle and ovulation. Cambridge University Press, New York, pp.397.
18. **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. *Animal reproduction science*,19 : 215-223.
19. **Jaiml, H., H.A., Samad, N.U. Rehman, Z.I. Qureshi and L.A. Lodhi, (2007)** In vitro maturation and fertilization of riverine buffalo follicular oocytes in media supplemented with oestrus buffalo serum and hormones. *Acta Veterinaria Brno*, 76; 399-404.
20. **Jamil, H., HA. Samad, Z.I. Qureshi, N.U. Rehman and L.A. Lcdhi, (2008)** Harvesting and of riverine buffalo follicular oocytes. *Turk. J. Vet. Anirn. Sci.*, 32: 25-30.
21. **Jiang, J.Y.; Macchiarelli, G.; Tsang, B.K. and Sato, E.(2003)** Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles. *Reproduction*, 125:211–223.
22. **Kandil, G.M., ASS. Abdoon, C.H.D. Kacheva and B. Georgiev, (2013)** Affect of in vitro culture media on embryo developmental competence and vitrification methods in blastocyst viability in buffalo. *Global Veterinaria*, 11:622-629.
23. **Khan, F.A., Das, G.K., Pande, M., Mir, R.A. and Shankar, U. (2011)** Changes in biochemical composition of follicular fluid during reproductive a cyclicity in a water buffalo (*Bubalus buhalis* *Animal reproduction science*, 127: 38-42.

24. **Kim, M., S.J. Hong, J.H. Lee, C.K. Mi K.J. Hwang and R.W. Park, (2011)** Comparison of in vitro maturation media of immature oocytes: The effectiveness of blastocyst culture media. *Fertil. Steril.*, 95; 554-557.
25. **Kor, N.M., Khanghah, KM. and Veisi,A. (2013)** Follicular fluid concentrations of biochemical metabolites and trace minerals in relation to ovarian follicle size in dairy cows..., 3: 397-404.
26. **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. *Animal reproduction science* ,80 : 201 – 211.
27. **Mehmood, A., M. Anwar, S.M.H. Andrabi, M. Afzal and S.M.S. Naqvi, (2011)** In vitro maturation and fertilization of buffalo oocytes: The effect of recovery and maturation methods. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences.*, 35: 381-386.
28. **Mistry, ON. and A.J. Dhami, (2009)** Studies on follicular size and oocytes recovery rate from buffalo ovaries by slicing method. *Indian journal. Field Veterinary.*, 5: 23-26.
29. **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.
30. **Nandi, S.; P.M. Ravindranatha; P.S. Gupta and F.V. Sarma, (2002)** Timing of sequential changes in cumulus cells and first polar body extrusion during in vitro maturation of buffalo oocytes. *Theriogenology*, 57: 1151-1159.
31. **Nandi, S., H.M. Raghu, B.M. Ravindranatha and MS. Chauhan, (2002)** Production of buffalo (*Bubalus bubalis*) embryos in vitro: Premises and promises. *Reproduction in Domestic Animals*,37: 65-74.
32. **Nasrallah, M.K., Kaveh, M.K. and Ali, V. (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.
33. **Pandey, A., S.C. Gupta and N. Gupta. (2010)** Effect of FSH and LH hormones on oocyte maturation of buffalo and gene expression analysis of their receptors and Cx43 in maturing oocytes. *Zygote*, 18: 231-234.
34. **Pelland, A.M.D., Corbett, H.E. and Baltz, J.M. (2009)** Amino acid transport mechanisms in mouse oocytes during growth and meiotic maturation. *Biology. Reprod.* 81: 1041-1054.

35. Preis, K.A; Seidel, G. Jr. and Gardner, D.K.(2005) Metabolic markers of developmental competence for in vitro-matured mouse oocytes. *Reprod.*,130:475–483.
36. SAS(2010) statistical Analysis system ,Users Guid .Statistical Version 7ed.SAS. Inst.Inc. Cary.N.C.USA.
37. Sturme, R.G.; Reis, A.; Leese, H.J.; and McEvoy, T.G. (2009) Role of fatty acids in energy provision during oocyte maturation and early embryo development. *Reproduction in Domestic Animals* 44 Suppl 3: 50-58.
38. Su, Y.Q.; Sugiura, K.; Wigglesworth, K.; O'brien, 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: Bmp15 and gdf9 control cholesterol biosynthesis in cumulus cells. *Development* 135: 111-121.
39. Suresh, K.P. 5. Nandi and S. Mondal, (2009) Factors affecting laboratory production of buffalo embryos: A meta-analysis. *Theriogenology*, 72: 978-985,
40. Tabatabaei, S. and Mamoei, M. (2010). Biochemical composition of blood plasma and follicular fluid in relation to follicular size in buffalo, Springer., 20: 441.
41. Tamilmani, O., B.S. Rao, R. Vegdevi, U. Amarnath, BR. Naik, M. Mutharao and V.H. Rao, (2005) Nuclear maturation of bovine oocytes in cultured preantral follicles. *Small Rumin. Reseach.*, 60: 295-305.
42. Thangavel, A. and Nayeem, M. (2004) Studies on certion biochemical profile of the buffalo follicular fluid. *Indian Veterinary Journal*, 81:25-27.
43. Tietz,N.W .(2005) Text book of clinical chemistry and molecular diagnostics. 4<sup>rd</sup> Ed. Burtis CA, ashwood ER, bruns DE. WB Saunders Co.
44. Young, D.S. (2000) Effect of drugs on clinical laboratory tests. 4<sup>th</sup> Ed. AACCC Press.
45. Ying, S.h., Wang, Z., Wang, C.h., 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.
46. Zoheir, K.M.A.; Abdoon, A.S.; Mahrous, K.F.; Amer, M.A.; Zaher, M.M.; Li-Guo, Y. and El-Nahass, E.M. (2007) Effect of season on the quality and in vitro maturation rate of Egyptian buffalo (*Bubalus buhalis*) oocytes. . *Journal of Cell and Animal Biology*, 1:29-33.