تأثير حجم الجريبات على نسبة البويضات المستحصلة والناضجة في الأغنام العراقية

عبد الستار فرج مجيد*، محمد مؤيد طه** وسعد محمد ندا***
*كلية الطب البيطري/ جامعة الأنبار
**كلية الزراعة/ جامعة الأنبار
***وزارة العلوم والتكنولوجيا

الخلاصة

اجري البحث لمعرفة تأثير حجم الجريب على نسبة استحصال ونضج البويضات. أجريت الدراسة على 1440 مبيض جمعت من المجزرة وبمختلف مراحل دورة الشبق. تم حضن البويضات تحت 5% Co_2 وبدرجة حرارة 39مْ ورطوبة 90% لمدة 24ساعة.

أظهرت النتائج وجود تفوق معنوي ($p<0.05$) بين الجريبات الكبيرة (اكبر من 2.5ملم) والجريبات الصغيرة (اصغر من 2ملم) في نسبة استحصال البويضات (67.02± 2.2 و 64.18± 7.5) على التوالي ونسبة الإنضاج (44.5± 2.07 و39.3± 8.5) على التوالي.

وقد استنتج من الدراسة أن لحجم الجريب تأثير على نسبة الاستحصال والإنضاج مختبرياً في الأغنام العراقية.

Effect of Follicle Size on Oocyte Recovery and Maturation In Vitro in Iraqi Sheep

A.F. Majeed*, M. M. T. Al- Jumaily and S. M. Nada*****
***College of Veterinary Medicine/ Al- Anbar University**
****College of Agriculture/ Al- Anbar University**
*****Ministry of Sciences & Technology**

Abstract

The experiment was design to show the effects of the follicular size on percent of collection of Oocyte and maturation. From abattoir , 1440 sheep ovaries were collected at different stages of oestrus cycle. The oocytes were incubated at 5% Co_2, Temperature 39c^o and with humidity of 90% for 24hr.

The result showed a high significant difference ($p<0.05$) between the large follicles (<2.5mm) and small follicles (>2mm) in percentage of oocyte recovery (67.02± 2.2 viz 64.18± 7.5) respectively and percentage of oocyte maturation (44.5± 2.07 viz 39.3± 8.5) respectively.

It was concluded that the size of follicles could be affect the percent of oocyte recovery and maturation in vitro.

البحث مستل من أطروحة ماجستير للباحث الثاني

المقدمة

تتكون الجريبات المبيضية إما في المراحل الجنينية وإما بعد الولادة حيث تحيط طبقة من الخلايا الحويصلية (Follicular Cells) بالبويضات الأولية (Oogonia) منذ الولادة لتشكل منشأ الجريبات (1).

تنمو الجريبة الابتدائية بشكل منتظم لتنشأ منها الجريبة الحويصلية (Vesicular Follicle) (2). هناك العديد من العوامل داخل المبيض لها تأثير على نمو الجريب كالمستوى الهرموني (1) وما تحويه بيئة الجريب من ستيرويدات ومحفزات القند تعمل على تنظيم التطور الجريبي (3) ويتطور الجريب حتى يصل الحجم المطلوب ويدعى جريب ما قبل الاباضة (4). بعدها تحدث تغيرات في تكوين البروتين لمعقد البويضة– الركامية (Cumulus Oocyte Cells) الذي يدفع البويضة نحو اكتمال تطور البويضة (5).

وقد أشار العديد من الباحثين عن وجود علاقة بين حجم الجريب وقطر البويضة وبالتالي له علاقة مع التطور المتوقع للبويضة (6). وقد قسمت الجريبات المبيضية حسب أقطارها إلى نوعين: الجريبات الصغيرة وتتراوح أقطارها بين 0,8– 2ملم والجريبات الكبيرة وتتراوح أقطارها بين 2,5– 5ملم (7). فقد اجري البحث لغرض معرفة تأثير حجم الجريبات على نسبة البويضات المستحصلة والناضجة في الأغنام العراقية.

المواد وطرائق العمل

جمع 1440 مبيض لنعاج بالغة وفطائم مذبوحة في مجزرة الرمادي ونقلت إلى مختبر قسم الثروة الحيوانية/ كلية الزراعة/ جامعة الأنبار خلال ساعة في DPBS (محلول دارئ الفوسفات الملحي دليبكو) Dulbecco's Phosphate Buffer Saline في صندوق مبرد (Cool Box). كل مبيض عولج بمحلول الغسل DPBS لثلاث مرات وغسل مرتين في وسط جمع البويضات (DPBS + BSA+ Pencillin). عومل كل مبيض على حده.

صنفت الجريبات حسب أقطارها طبقاً إلى (7) جريبات صغيرة ذات قطر اقل من 2ملم وجريبات كبيرة ذات قطر اكبر من 2,5ملم. تم جمع البويضات بواسطة السحب والتقطيع وفقاً إلى (8). الأوساط الزرعية مع البويضات المجمعة نقلت إلى 35ملم طبق بتري بينما البويضات المستحصلة بطريقة التقطيع حفظ فيها المبيض بصورة كاملة مغمور في الوسط الزرعي. ترك الطبق بعدها يستقر لمدة خمسة دقائق لجعل البويضات تستقر في الأسفل. أضيف المزيد من الأوساط الزرعية إلى طبق بتري وبدون إحداث أي اضطرابات إلى البويضات. بعدها فحصت الأطباق بواسطة المجهر التشريحي وقد حسب عدد البويضات المستحصلة. وقد صنفت إلى جيدة ومقبولة وضعيفة وفقاً إلى (8).

إنضاج البويضات مختبرياً: نقلت البويضات المستحصلة إلى أوساط زرعية للإنضاج (TALP)، TCM-199 و DPBS في أطباق بتري المعقمة والحاوية على 2مل من الوسط الزرعي وبمعدل 6– 10بويضة لكل طبق. غطيت الأطباق ثم حضنت في حاضنة تجهز 5% Co_2، 39مْ درجة الحرارة، 90% رطوبة لمدة 24– 26 ساعة.

بعد انتهاء فترة الحضن فحصت البويضات تحت المجهر الضوئي لملاحظة درجة النضج التي تتميز بوجود الجسم القطبي الأول First Polar body مع ملاحظة تمدد ملحوظ للخلايا الركامية المحيطة بالبويضة وتحول لونها من الشكل المعتم إلى البراق.

حللت النتائج إحصائياً باستخدام برنامج Spss لتحليل الصفة المدروسة (9) واستخدم التحليل العشوائي الكامل CRD لمقارنة الفروق المعنوية بين المتوسطات.

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج التجربة (الجدول–1) تفوق الجريبات الكبيرة معنوياً ($p<0.05$) على الجريبات الصغيرة في نسبتي استحصال وإنضاج البويضات حيث بلغ عدد البويضات المستحصلة 396 بويضة من أصل 580 جريب

كبير أي بمعدل (0.68) بويضة لكل جريب و179 بويضة ناضجة من أصل 396 بويضة مستحصلة أي بمعدل (0.45) بويضة ناضجة للجريبات الكبيرة، أما نتائج الجريبات الصغيرة فقد بلغت 889 بويضة مستحصلة من أصل 1382 جريب صغير أي بمعدل (0.64) بويضة لكل جريب و350 بويضة من أصل 889 مستحصلة أي بمعدل (0.39) بويضة ناضجة.

وتتفق النتائج التي تم الحصول عليها مع ما لاحظه (10، 11) بأن البويضات المأخوذة من جريبات كبيرة (ذات قطر اكبر من 2.5 ملم) كانت أفضل من البويضات المأخوذة من جريبات صغيرة الحجم (ذات قطر اقل من 2 ملم).

ويعتقد ان هناك العديد من العوامل داخل المبيض لها تأثير على نمو الجريب كالمستوى الهرموني (1) وما تحويه بيئة الجريب من ستيرويدات ومحفزات القند تعمل على تنظيم التطور الجريبي (3) ويتطور الجريب حتى يصل الحجم المطلوب ويدعى جريب ما قبل الاباضة (4). بعدها تحدث تغيرات في تكوين البروتين لمعقد البويضة– الركامية (Cumulus Oocyte Cells) الذي يدفع البويضة نحو اكتمال تطور البويضة (5).

وقد يعزى ذلك إلى أن حجم الجريب على علاقة مع قطر البويضة وبالتالي على علاقة وثيقة بتطور البويضة المتوقع. وهذا يعني وجود ارتباط بين قطر البويضة وحجم الجريب ونوعية الخلايا الركامية المحيطة بالبويضة (6، 12).

بينما اختلفت التجربة الحالية مع ما ذكره (7) بعدم وجود فروق معنوية بين الجريبات في نسبة الإنضاج.

وقد استنتج من الدراسة الحالية بان حجم الجريب له تأثير على نسبة استحصال وإنضاج بويضات الأغنام مختبرياً إذ ان الجريبات الكبيرة كانت الأفضل في رفع نسبتي الاستحصال وإنضاج البويضات مقارنةً بالجريبات الصغيرة.

جدول(1) تأثير حجم الجريبات على نسبة البويضات المستحصلة والناضجة (المعدل ± معامل الخطأ القياسي)

حجم الجريبات	النسبة المئوية للبويضات المستحصلة	النسبة المئوية للبويضات الناضجة
صغيرة	7.53 ±64.18 a	8.5 ±39.38 a
كبيرة	2.22 ±67.02 b	2.07 ±44.54 b

الحروف المختلفة ضمن العمود الواحد تعني وجود فروق معنوية ($p<0.05$).

المصادر

1. Hafez, B. & Hafez, E. S. E., (2000). Reproduction in farm Animals. 7th Ed. Lippincott Williams and Wilkins, A wolter kluwer Co. Philadelphia, U.S.A.
2. محي الدين، خير الدين ويوسف، وليد حميد، (1987). علم الفسلجة البيطرية. دار الكتب للطباعة والنشر/ جامعة الموصل.
3. Henderson, K. M.; McNeilly, A. S. & Swanston, I. A., (1982). Gondadotropin and steroid concentrations in bovine follicular fluid and their relation ship to follicle size. J. Reprod. Fertil., 65: 467- 473.
4. Dale, B. & Elder, K., (1997). In vitro fertilization Editor, Cambridge University. Press, Cambridge, U.K.
5. Dieleman, S. J.; Hendriksen, P. J. M.; Viuff, D.; Thomsen, P. D.; Hyttel, P.; Knijn, H. M.; Wrenzycki, C.; Kruip, T. A. M.; Niemann, H.; Gadella, B. M.; Bevers, M. M. & Voc, P. L. A. M., (2002). Effects of in vivo prematuration

and in vivo final maturation on developmental capacity and quality of pre-implantation embryos. Theriogenology. 57: 5- 20.

6. Arlotto, T.; Schwartz, J. L.; First, N. L. & 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.

7. العبيدي، غسان حسين جعفر، 1989. الإخصاب الخارجي في الأغنام. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

8. Wani, N. A.; Wani, G. M.; Khan, M. Z. & Salahudin, S., (2000). Effect of oocyte harvesting techniques on in vitro maturation and in vitro fertilization in sheep. Small Rumin. Res., 36: 63- 67.

9. Paul, R.; Kinnar, C. & Colin, D., (1994). Gray, spss for windows made simply Lawrence Erlbaum Associates.

10. Pavlok, A.; Lucas- Hahn, A. & Niemann, H., (1992). Fertilization and developmental competence of bovine Oocytes derived from different categories of antral follicles. Mol. Reprod. Dev., 31: 63- 67.

11. Torner, H.; Kubelka, M.; Heleil, B.; Tomek, W.; Alm, H.; Kuzmina, T. & Guiard, V., (2001). Dynamics of meiosis and protein kinase activities in bovine Oocytes correlated to prolactin treatment and follicle size. Theriogenology. 55(4): 885- 899.

12. Carolan, C.; Lonergan, P.; Monget, P.; Monniaux, D. & Mermillod, P., (1996). Effect of follicle size and quality on the ability of follicular to support cytoplasmic maturation of bovine oocytes. Mol. Reprod. Dev., 43: 477-483.