مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (36) العدد (3) 2014
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (36) No. (3) 2014

تأثير الجسم الأصفر على مردودية البييضات الصالحة للتطور In vitro عند الأبقار المحلية

الدكتور زهير إبراهيم جبور*

(تاريخ الإيداع 30 / 12 / 2013. قبل للنشر في 14 / 5 / 2014)

□ ملخّص □

الهدف من هذا البحث تحديد تأثير الجسم الأصفر في مراحله المختلفة على الخصائص الشكلية للمعقّد الخلوي (خلايا ركامية–بييضة)، وبالتالي على مردودية البييضات الصالحة شكلياً للتطوّر المختبري In vitro .

جمعت البييضات من مبايض الأبقار بعد الذبح ، وقسّمت المبايض إلى أربع مجموعات :

آ– مبايض مع جسم نزفي .

ب– مبايض مع جسم أصفر نشط وظيفياً .

ج– مبايض مع جسم أصفر متراجع .

د – مبايض بدون جسم أصفر .

بينت النتائج في هذا البحث أنّ مردودية البييضات الصالح للتطوّر المختبري اختلفت وفقا لمرحلة الطور الأصفري . وكانت أعلى قيمة للمردودية في المبايض التي لاتحتوي جسماً أصفراً (8.1±1.6) ، بينما أقلها في مرحلة الجسم الأصفر المتراجع، إذ بلغت (5.5±1.3). وقد كان الفرق معنوياً ($p < 0.001$)

الكلمات المفتاحية : بييضة كومولوس (الخلايا الركامية)، الجسم الأصفر ،تقييم شكلي .

*أستاذ مساعد – قسم الإنتاج الحيواني – كلية الزراعة – جامعة تشرين – اللاذقية – سورية .

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (36) العدد (3) 2014
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (36) No. (3) 2014

Effect of The Corpus Luteum on the Yield of Local Cow Intact Oocytes for in vitro Culturing

Dr. Zohair Ibrahim Jabbour*

(Received 30 / 12 / 2013. Accepted 14 / 5 /2014)

□ ABSTRACT □

The purpose of this research was to determine the effect of the corpus luteum in various stages on morphological characteristics of cumulus oocyte complex consequently on the yield of morphologically intact oocytes for in vitro culturing.

Oocytes were collected from cow ovariesof animals after slaughter.

Ovaries were divided into the following four groups: (a) ovaries with corpus hemorrhagicum; (b) ovaries with a functional corpus luteum;

(c) ovaries with regressing corpus luteum (albicans) ;(d) ovaries without any luteal structure.

The results of this research show that, the intact oocytes yield for in vitro culturing differs accordingly with the stage of the corpus luteum.

The highest percentage of intact cell(**8.1 ± 1.6**) were recorded in ovaries without corpus luteum , whereas the lowest percentage of intact cells were recorded in ovaries with regressing corpus luteum(**5.5 ± 1.3)**. There was significant difference ($p < 0.001$)between the two groups for intact cells.

Keywords: Oocyte, cumulus cells, corpusluteum, morphological evaluation.

***Associate professor, Dep animal production,Fac .Agric ;Teshreen Univ ;Lattakia , Syria**.

مقدمة:

إنّ مبيض الثدييات يحتوي عدداً كبيراً من الجريبات في مراحل مختلفة من التطور،إلاّ أنّ أغلب هذه الجريبات يتدهور،وتبقى نسبة قليلة منها تنتج بييضات قادرة على التطوّر والنضج (Herao *et al .,2004)*. لذا فإنّ الإستفادة من أكبر عدد من البييضات المتواجدة في المبايض تلعب دوراً هاما في تطوير تقانة إنضاج البييضات وإنتاج الأجنة In vitro ، قبل تعرّض هذه البييضات للتدهور .

وعلى الرغم من التحسّن الذي طرأ على تقانة إنضاج البييضات وإخصابها In vitro ، فإنّ هناك تبايناً كبيراً في معدّل الحصول على الأجنّة الناتجة عن هذه البييضات والصالحة للزراعة ،إذ يتراوح هذا المعدل بين 10–30% ،في حين أنّ نسبة الإخصاب وإنتاج الأجنّة In vivo تصل إلى 80% (Merton *et al* .,2003) . الأمر الذي يؤكّد أهمية تحسين ظروف التربية المختبرية،وتحديد العوامل المؤثّرة في كمية ونوعية البييضات الصالحة للتربية مختبرياً In vitro.

يأتي في طليعة العوامل المؤثّرة إختيار البييضات المناسبة للإنضاج وفق الخصائص الشكلية الملائمة للمعقّد الخلوي cumulus oocyte complex (معقّد البييضة – الخلايا الركامية) ،نظراً للتآثر الكبير بين الخلايا الركامية والبييضات، الذي يحدّد مستقبلهما الوظيفي معاً(Gosden ,2002) . أما العامل الآخر الذي يؤثر على مردودية البييضات، فهو مرحلة التطوّر الجريبي وتواجد أو غياب الجسم الأصفر (Boindiono *et al,.*1995) .فالجسم الأصفر كغدة تناسلية إنتقالية تنتج البروجيستيرون،يتأثّر وظيفياً في مراحله المختلفة بعوامل مختلفة مثل هورمون LH والبروستاغلاندين والإنهيبين ،التي تؤثّر بدورها على التكوينات المبيضية الأخرى كالجريبات وبالتالي البييضات (Schams and Berisha.,2004).

لذلك كانت الغاية من إجراء هذا البحث تحديد تاثير الجسم الأصفر بمراحله المختلفة على تطور الجريبات وبالتالي على مردودية البييضات الصالحة شكلياً للتطوّر In vitro ضمن مجاميع جريبية تتراوح أقطارها بين 2– 8 ملم ،نظراً لأنّ أغلب البييضات المأخوذة من جريبات بهذه الأقطار ، أظهرت قدرتها على التطوّر المختبري In vitro. الأمر الذي سيعزّز الإستفادة من الأمهات المتفوّقة وراثياً حتى بعد موتها.(Vassena*et al* .,2003).

طرائق البحث ومواده :

أجري البحث على مبايض الأبقار المحلية (مختلطة) بعمر 4–6 سنوات ،تم الحصول عليها من المسلخ المحلي في اللاذقية بعد ذبحها بقرابة الساعة ، حيث وضعت المبايض في محلول ملحي (0.9% Na CL)،في حافظة حراري، ونقلت خلال ساعتين إلى المختبر . تم استبعاد المبايض التي تحتوي جريباً مسيطراً (قطره أكبر من 10 ملم) ،واستبعدت المبايض ذات النسيج الدهني .فرزت المبايض المأخوذة من 22 بقرة إلى المجموعات الآتية :

المجموعة الأولى : مبايض تحتوي أجساماً نزفية وعددها(10).

المجموعة الثانية: مبايض تحتوي جسماً أصفراً ناضجاً نشطاً وعددها (10).

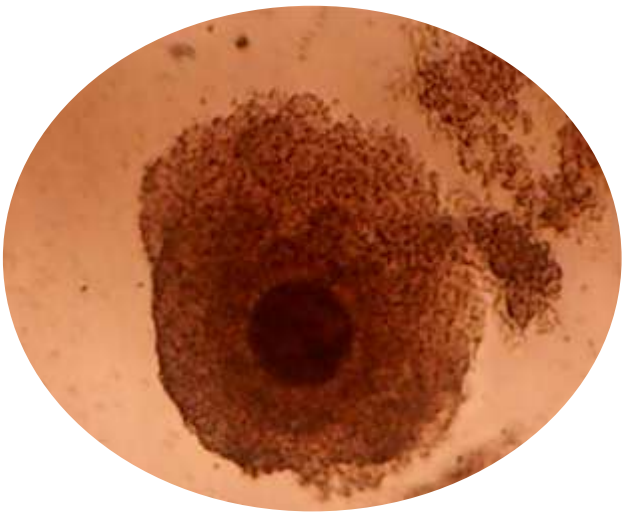
المجموعة الثالثة : مبايض تحتوي جسماً أصفراً متراجعاً (شاحب اللون) وعددها(10)

المجموعة الرابعة : مبايض لاتحتوي أي تشكيل أصفري وعددها (14).

عزلت البييضات من جريبات بأقطار 2-8 ملم ،نظراً لأنّ هذه الجريبات تتميز بقدرة تطورية متماثلة ،وبأنّها قادرة على التطوّر مختبرياً ،بينما لم تستخدم الجريبات بأقطار أقلّ من 2 ملم ،لأنّ البييضات المأخوذة منها سجّلت قدرة تطورية منخفضة (Pavlok *et al* .,1992) .

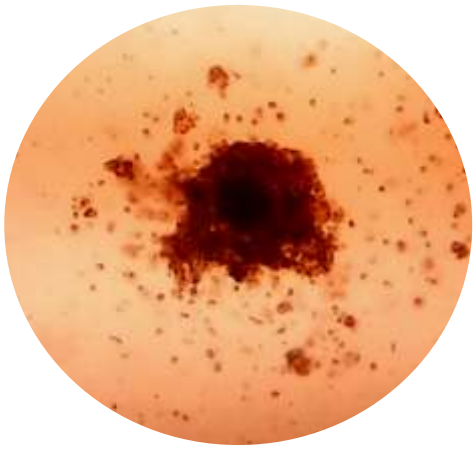
تمّ عزل البييضات بعد شقّ الجريبات بواسطة، ثم غسلت أربع مرّت على الأقل في محلول ملحي للتخلّص من البقايا الدموية والقطع النسيجية الكبيرة ، لتسهيل رؤية الخلايا تحت المجهر . بعد ذلك تمّ نقل البييضات المغسولة إلى طبق بتري مقسّم إلى أربعة قطاعات ، ويحتوي على محلول رينجر لاكتات ،أضيف إليه الهيبارين بتركيز (1ppm/ml)،لمنع تلاصق الخلايا مع بعضها البعض ، ولتسهيل عملية العدّ . تمّ العدّ في كل قطاع بمفرده ،وحُسب إجمالي عدد البييضات السليمة والمتدهورة في كل مبيض . أُخضعت البييضات جميعها للتقييم الشكلي وفق معايير : (Blondin and Sirard .,1995 ., De Loose *et al* .,1989) .وتبعاً لذلك قسّمت الخلايا إلى مجموعتين :

1- خلايا سليمة : الأووبلازم متجانس ،المنطقة الشفّافة سليمة دائرية غير مجعّدة ، الخلايا الركامية متراصّة في طبقات عديدة،الشكل (1) .

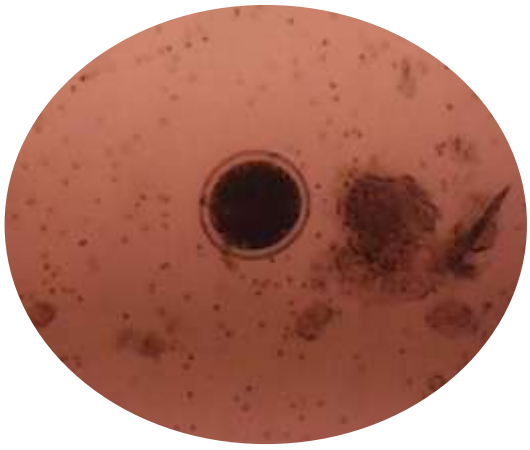


شكل (1). خلية سليمة.

2- خلايا متدهورة: الأووبلازم غير متجانس أو متحوصل ، المنطقة الشفّافة مجعّدة ، الخلايا الركامية ممتدة، أومعنقدة، أو متحوصلة، الشكل (2) ، أو قد تكون الخلايا البيضية عارية من الخلايا الركامية ،الشكل (3).



شكل (2). خلية متدهورة.



شكل (3). خلية عارية.

أجري التحليل الإحصائي للمعطيات بإستخدام تحليل التباين ANOVA ،إذ أُخذ بالحسبان متوسط عدد البييضات السليمة والمتدهورة في كل مبيض،حسب طور الجسم الأصفر .

النتائج والمناقشة :

تبين النتائج في الجدول (1) أنّ متوسط عدد الخلايا السليمة في المبايض التي تحتوي جسماً نزفياً بلغ (1.2±9.1)في حين بلغ متوسّط عددالبييضات المتدهورة (0.6 ±5.2) .

جدول (1) تأثير مراحل الجسم الأصفر على مردودية البييضات السليمة والمتدهورة

مرحلة الجسم الأصفر.	عدد المبايض	متوسط الخلايا السليمة / مبيض	متوسط الخلايا المتدهورة / مبيض
جسم نزفي	10	9.1 ± 1.2 a	5.2 ± 0.6 b
جسم أصفر نشط	10	7.7 ± 0.9 b	5.7 ± 0.9 b
جسم أصفر متراجع	10	5.5 ± 1.3 c	6.7 ± 1.5 a

الأرقام المتبوعة بحروف متشابهة ،لا تختلف إحصائياً تبعاً لاختبار أقل فرق معنوي LSD على مستوى ثقة 5%.

وقد بلغ متوسط عدد البييضات السليمة في المبايض التي تحتوي جسماً أصفرا نشطاً (0.9±7.7)، في حين بلغ متوسط عدد الخلايا المتدهورة (0.9±5.7) .

بلغ المعدّل الوسطي للخلايا السليمة في المبايض التي تحتوي جسماً أصفراً متراجعاً (1.3±5.5)، في حين كان هذا المعدّل للخلايا المتدهورة (1.5±6.7).

هذه النتائج تبيّن التاثير ذا الدلالة المعنوية لكل مرحلة من الجسم الأصفر على مردودية للبييضات السليمة،إذ كانت أعلى مردودية في أزواج المبايض التي تحتوي جسماً نزفياً، ثم في المبايض ،التي تحتوي جسماً أصفراً نشطاً ،وأدناها في المبايض التي تحتوي جسماً أصفراً متراجعاً .

وبمقارنة تأثير الجسم الأصفر بمراحله المختلفة على إجمالي مردودية البييضات السليمة ،مع المردودية الإجمالية للبييضات السليمة ،التي تمّ الحصول عليها من المبايض التي لاتحتوي جسماً أصفرياً،نجد أنّ متوسط

المردودية الإجمالية للبيضات السليمة في المبايض التي تحتوي التشكيلات الأصفرية المختلفة ، قد وصل إلى (1.9±6.7) ،في حين كان المعدّل الوسطي لهذه المردودية (8.1 ±1.6) في المبايض ،التي لاتحتوي أي نوع من الأجسام الصفراء،وقد كان الفرق معنوياً بين المجموعتين، حيث ($P < 0.001$).

جدول (2) مقارنة مردودية البييضات بين المبايض التي تحتوي تشكيلاً أصفرياً والمبايض التي لا تحتوي أي تشكل أصفري

المبايض	العدد	متوسط الخلايا السليمة / مبيض	متوسط الخلايا المتدهورة / مبيض
مع جسم أصفر (مراحل مختلفة)	30	6.7 ± 1.9 b	6.3 ± 1.4 a
بدون جسم أصفر	14	8.1 ± 1.6 a	5.5 ± 0.8 b

الأرقام المتبوعة بحروف متشابهة ،لا تختلف إحصائياً تبعاً لاختبار أقل فرق معنوي LSD على مستوى ثقة 5%.

إنّ نتائج دراستنا تتوافق مع نتائج بعض الدراسات الأخرى ،وتختلف مع بعضها الآخر .فقد سجّلت إحدى الدراسات أنّ مردودية البييضات السليمة كانت أعلى في المبايض التي لاتحتوي جسما أصفراً عند الأبقار (Moreno *et al1993)*، وعند الجاموس(Das *et al*., 1996 .,Abdoon *et al* .,2001.,Al-Shimma *et al*, 2013) ،

وعند الأغنام (Souza *et al* .,1996)،إلاّ أنّ نتائج هذه الدراسة تتعارض مع نتائج دراسة أجريت على الجاموس ، إذ كانت مردودية البيييضات في المبايض التي تحتوي جسما اصفراً أعلى من المبايض، التي لاتحتوي جسماً أصفراً (Gupta *et al.,2007*)، بينما لم تلاحظ في دراسات أخرى فروقات معنوية في مردودية البييضات السليمة بين المبايض، التي تحتوي جسماً أصفراً وتلك التي لاتحتوي جسماً أصفراً عند الأبقار (Gao *et al* ., 2004)، وعند الأغنام أيضاً (Contreras *et al* ., 2008).وقد وجد أيضاً في إحدى الدراسات على الماعز أنّ ديناميكية تطور الجريبات،وبالتالي البييضات لاتتأثّر بوجود الجسم الأصفر ،ولا بغيابه (Lassala *et al* ., 2004) .

تتفق نتائجنا أيضاً في مردودية البييضات السليمة ،أو الصالحة للإنضاجin vitro ،الماخوذة من المبايض التي تحتوي جسماً نزفياً ، وتلك التي تحتوي جسماً أصفراً مع نتائج دراسة أجريت على الجاموس (Manjunatha *et al* ., 2007) ، إلاّ أنّها تختلف في مردودية البييضات المأخوذة من المبايض التي لاتحتوي تشكيلاً أصفرياً ، إذ أنّ المردودية في دراستنا كانت أعلى.

هذه التباينات في نتائج الدراسات حول تأثير الجسم الأصفر تؤكد بأنّ المرحلة التطوّرية للجريبات ،وبالتالي للبييضات مرتبطة بشكل وثيق بالمحتوى الهورموني في السائل الجريبي ،المحكوم بتوازن عالي الحساسية بين الإستروجين والبروجيستيرون(Nishimoto *et al* ., 2009). وعليه ،فإنّ الجسم الأصفر في مراحله المختلفة يؤثّر على مستوى البروجيستيرون في الحيوانات ،وبالتالي على الاليّة الهورمونية الناظمة لتطوّر الجريبات المبيضية .فالجسم الأصفر النشط يؤدي إلى إنخفاض مردودية البييضات السليمة عند المجموعات المدروسة بالمقارنة مع المجموعات التي لايحوي فيها المبيض جسماً أصفراً(Webb *et al* ., 1999) . ويمكن أن يفسّر التأثير المثبّط للجسم الأصفر على تطوّر الجريبات ، بإفرازه عوامل مثبّطة لتكاثر الـ Granulosa (الخلايا الحبيبية)،وبالتالي تثبيط تأثيرFSH على نمو الجريبات، باعتبار أنّ مستقبلات FSH تتواجد في الخلايا الحبيبية ، التي تنخفض حساسيتها إزاء FSH تحت تأثير مستويات مرتفعة من البروجيستيرون في الطور الأصفري النشط (Wiltbank *et al* ., 2002) ، يضاف إلى ذلك تأثيرات مثبِّطة أخرى للبروجيستيرون تمّ تحديدها في دراسات سابقة ،منها تخفيض الإفراز النبضي لـ LH وإنخفاض

مستقبلاته،الأمر الذي يؤدّي إلى إنخفاض تطوّر الجريبات إلى مراحل متقدّمة في المبيض المقابل للمبيض، الذي يحتوي جسماً أصفراً نشطاً (Bartlewski *et al* ., 2001). قد تكون هناك عوامل أخرى مسؤولة عن إنخفاض مردودية البييضات تحت تأثير الجسم الأصفر النشط كالإنهيبين،الذي يعاكس تأثير FSH ، فيعيق إنضاج جريبات جديدة(Sangha ., 2002) .ومع أنّ الكثير من الباحثين كان يستبعد من التربية المختبرية المبايض التي تحتوي جسماً نزفياً(kouzmina *et al* ., 1989) ،فإنّه من المثير للإهتمام المردودية العالية للبييضات الصالحة للتطوّر المختبري في المبايض التي تحتوي جسماً نزفياً ،مع الأخذ بالحسبان مردودية البييضات في المبايض المقابلة لها أيضاً، في حين أنّ هذه المردودية كانت في أدنى مستوى لها في طور الجسم الأصفر المتراجع،وقد كان الفرق معنوياً حيث($P<0.001$).

هذه المردودية العالية للمبايض، التي تملك جسماً نزفياً لا نملك تفسيراً راهناً لها، ولكن إحدى المقاربات الممكنة لتفسيرها،هي أنّ مرحلة تشكّل الجسم النزفي ، ربما تتوافق مع إنبثاق موجة جريبية جديدة ،تكون الجريبات فيها ،وبالتالي البييضات أكثر تجانساً ، أو ربما لأنّ مستوى الإستروجين قبل تحوّل الجسم النزفي إلى جسم أصفر نشط ، يكون في المستوى الفيزيولوجي الملائم لتطور الجريبات، قبل انتخاب الجريب المسيطر(Vernunft *et al* ., 20013) .

اما إنخفاض مردودية البييضات في المبايض التي تحتوي جسماً أصفراً في طور التراجع ، ربما يعود إلى أنّ تراجع الجسم الأصفر غالباً ما يترافق مع انتخاب جريب يتطور ليسيطر ويقمع تطوّر الجريبات الأخرى ،وبالتالي تنخفض مردودية البييضات الصالحة للتطوّر المختبري (Mihm and Austin ., 2002 ., Webb *et al* ., 2003).

يفسّر التاثير القامع للجريب المسيطر ،بأنّ تطوّره يترافق بإفراز الإنهيبين ، الذي يُثبّط إفراز FSH ، وبالتالي إنخفاض مستوى الإستروجين، الذي يؤدي بدوره إلى تثبيط إنبثاق جريبات أخرى (Wiltbank *et al* ., 2002).

هذه النتائج تؤكّد الرأي ،الذي يعتبر أنّ مبيضي الأنثى وحدة وظيفية متكاملة،لذلك ،فإنّ أي تكوين أصفري في أحدهما،يؤثر في عملية التطوّر الجريبي،وبالتالي في مردودية البييضات للمبيضين كليهما (Adams *et al*., 2008) .

الاستنتاجات والتوصيات:

1-استمرار تباين نتائج التقييم الشكلي للبييضات في الدراسات المختلفة،الأمر الذي يؤكد ضرورة إيجاد معايير أخرى مكمّلة تقلّل درجة التباين كالمعايير البيوكيميائية والفيزيولوجية، وتقلّل من أثر العامل الذاتي في التقييم الشكلي.

2- إعتماد المبايض التي لا تحوي جسماً اصفراً ،وتلك المتواجدة في مرحلة الجسم النزفي مصدراً للحصول على أعلى مردودية من البييضات الصالحة شكلياً للتطوّر المختبري.

3- إعداد نظم تربية مختبرية وأوساط غذائية مرنة تمكّننا من الاستفادة من المبايض ذات المردودية المنخفضة من البييضات .

4- إجراء دراسات على عدد أكبر من المبايض،وإجراء دراسة مقارنة مع أنواع أخرى (أغنام ،ماعز..) .

المراجع :

1-ABDOON,A.S.S. *Factors affecting follicular population ,oocyte yield and quality in camels(Camelus dromedaries) ovary with special reference to maturation time in vitro*. Animal Reproduction Science 66,2001,71-79.

2-ADAMS,G.P.; JAISWAL,R. ; SINGH,J. ;MALHI,P. *Progress in understanding ovarian follicular dynamics in cattle*. Theriogenology,69,2008,72-80 .

Al-SHIMMA . Al-H. H.; El-NABY, KARIMA G.H.M.; MAHMOUDYOUSSEF F.; AHMED,

3-MAHMOUD E.A.; ABOUEL-ROOS and ALAA E. ABDEL-GHAFFAR. *Effect of Season of the year and Ovarian Structures on Oocytes Recovery Rate, Quality and Meiotic Competence in Egyptian Buffaloes* .Global Veterinaria 10 (4), , 2013, 408-412

4- BARTLEWSKI,P.M. ;BEARD,A.P.;RAWLINGS,N.C. *Ultra sonographic study of the effects of the corpus luteum on antral follicular development in unilaterally ovulating western white faced*

ewes. Anim . Reprod.Sci.65 (3/4),2001,231-244.

5- BLONDIN,P.; SIRARD,M.A. *Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes*. Mol Reprod Dev ,41,1995,54-62

6- BOINDIONO,A.;RAJMAHENDRAN,R.;SAHA ,S. ; SUMANTRI,C. ;SUZUKI,T. *Effect of the presence of a CL in the ovary on oocyte number, cleavage rate and blastocyste production in vitro in cattle*. . Theriogenology,43,1995, 196.

7 - CONTRERAS-SOLIS,I.; DIAZ,T.; LOPEZ,G.; CAIGUA,A.; LOPEZ-SEBASTIAN,A.; GONZALEZ-BULNES,A. *Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair sheep*. Anim.Reprod.Sci,104,2008,47-55.

8-DE LOOSE, F.;VAN VLIET,C.;VAN MAURIK,P.; KRUIP ,TH.A.M. *Morphology of immature bovine oocytes*. Gamete Research,24,1989,197- 204 .

9- GAO,Z.h.; ZHOU,X.; GAO,Q.H. *Relationship between the size and developmental status of the bovine ovary and the number of isolated preantral follicles*. Chin.J.Vet.Sci ,24,2004,84- 86.

10-GOLUOBEV,A.;KZAVERTIEV,B.P.;KOUZMINA,T.I.; NEKETEN,N.C.;GALIEVA,L.D.;SVEREDOV,B.E.; BEKHTINA,V.G. *Methodological recommendations of bovine oocytes and follicles culture*. Leningrad,VNIIRGZH,1989,9-11.

11-GOSDEN,R.G.*Oogenesis as a foundation for embryogenesis*. Mol and Cell Endocrinol,186,2002,149-153.

12- GUPTA,P.S.P.; RAMESH,H.S.; NANDI,S.; RAVINDRA,J.P. *Recovery of large follicles from buffalo ovary: Effect of season and corpus luteum* . Anim Repro Sci,101,2007,145-152.

13-HIRAO,Y.;ITOH,T. ; SHIMIZU, M.; IGA,K.; AOYAGI,K.;KOBAYASHI,M.; KACCHI,M.;HOSHI,H.; TAKENOUCHI,N. *In Vitro Growth and Development of Bovine Oocyte Granulosa Cell Complexes on the Flat Substratum: Effect of High Polyvinylpyrrolidone concentration in Culture Medium*. Biology of Reproduction,70,2004,83-91.

14-LASSALA,A.;HERNANDEZ-CERON,J.; RODRIGUEZ-MALTOS,R.; GUTIERRES, C.G. *The influence of the corpus luteum on ovarian follicular dynamics during estrous synchronization in goats*. Anim .Reprod.Sci,84,2004,369-375 .

15-MANJUNATHA,B.M.; GUPTA,P.S.P.;RAVENDRA,J.P.; DEVARAJ,M.; RAMESH, H.s.; NADI,S. *In* vitro *development competence of buffalo oocytes collected at various stages of the estrous cycle*.Theriogenology,86 ,2007,882- 888 .

16-MERTON,J.S.;DEROOSE,A.P.W.;MULLAART,E.;DERUIGH,L.; KAAL,L.; VOS, P.L.A.M.; DIELEMAN,S.J. *Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry*.Thereiogenology,59,2003,651-674.

17- MIHM,M.;AUSTIN E.J. *The final stages of dominant follicle selection in cattle*. Domes Anim Endocrinol,23,2002,155-166.

18-MORENO,J.F.;FLORES-FAXWORTH,G.;WESTHUSIN,M.;KRAEMER,D.C. *Influence of pregnancy and presence of a CL on quantity and quality of bovine oocytes from ovarian follicles aspiratedpost-mortum*.Thereiogenology,93,1993,271.

19- NISHIMOTO,H.; HAMANO,S.; HILL,GM.; MIYAMOTO,A.; TETSUKA,M. *Classification of bovine follicles based on the concentrations of steroids, glucose and lactate in follicular fluid and the status of accompanying follicles*. Journal of Reproduction and development. 55,2009,219-224.

20-PAVLOK,A.LUCAS-HAHN,A.;NIEMANN,H. *Fertilization and development competence of bovine oocytes derived from different categories of antral follicles*. Mol Repro Dev,31,1992,63-67

21-SANGHA,G.K.;SHARMA,R.K.;GURAYA,S.S.*Biology of corpus luteum in small ruminant*.SmallRumin.Res.43,2002,53-64.

22- SCHAMS,D . ;BERISHA,B. *Regulation of corpus luteum function in cattle – an Overview*. Domestic animals,39,2004,241-251 .

23-SOUZA,C.J.H.;CAMPELL,B.K.; BAIRD,D.T. *Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anoestrus*.J. Repro. Fertil.108,1996,101-106.

24-VASSENA,R.;MAPLETOFT,R.J.;ALLODI,S.;SINGH,J.;ADAMS,G.P. *Morphology and developmental competence of bovine oocytes relative to follicular status.*Theriogenology,60,2003,923-932 .

25- VERNUNFT,A. ;WEITZEL,J.M.; VIERGUTZ,t. *Corpus luteum development and its morphology after aspiration of a preovulatory follicle is related to size and steroid content ofthe follicle in dairy cows* .Vet. Medicina ,58,2013(4),221 – 229.

26-WEBB,R.;GOSDEN,R.G.;TELFER,E.E.;MOOR,R.M. *Factors affecting folliculogenesis in ruminants*. Animal Sci,68, 1999 ,257-284 .

27-WEBB,R.;NICHOLAS,B.;GONG,J.G.;CAMPBELL,B.K.;GUTIERREZ,C.G.etal.*M echanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle*. Repro Suppl,61,2003,71-90 .

28- WILTBANK,M.;GUMEN ,A.;SARTORI,R . *Physiological classification of anovulatory conditions incattle*.Theriogenology,57 ,2002,21- 52 .