CORE
Metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
Provided by Journals of University of Babylon

Journal of University of Babylon for Pure and Applied Sciences, Vol. (27), No. (6): 2019

Effect of Presence or Absence of Corpus Luteum on Ovarian Dimensions, Number of Follicles and the Quality of oocytes in Local Cows (*Bos Indicus*)

Fawzyia Jameel Hassan **Hashim M. Al-Rubaei**
Foundation of Technical Education / Al-Mussaib Technical College
Haidar Malik Abd Ali
Al-Mussaib Technical Institute
drhashem48@yahoo.com

ARTICLE INFO
Submission date: 29 /7 2019
Acceptance date: 2 / 10/ 2019
Publication date: 31 /12 /2019

Abstract

The present study was aimed to assessing the influence of presence or absence of corpus luteum (CL) on the dimensions of ovaries and the number of follicles and oocytes and their quality in local cows. A total of 256 cow ovaries were collected from abattoirs of Babylonian province for the period from September 2017 until April 2018. The female reproductive system were transported to the laboratory within 2 hour post slaughter. The ovaries were removed and categorize into 2 groups based on the presence (n=150) or absence (n=106) of CL. The ovaries were measured their dimensions, and the follicle were counted, measured and classified according to their diameter as small 3-5 (mm) , medium 6-9 (mm) and large 10-20 (mm). The follicular fluid were aspirated and the oocyte were collected, examined , measured , evaluated, and graded. The result of present study showed a significant higher ($P<0.05$) in dimension of the ovaries with the presence of CL compared to the ovaries without CL. The result also showed significant increase ($P<0.05$) in the average total number of follicles and oocytes recovered per ovary of ovaries without CL compared with the ovaries with CL. This study concluded that the presence of CL negatively affects on the number of follicles and the quality of oocyte.

Key words : cows , ovary , corpus luteum , follicles , oocyte

© Journal of University of Babylon for Pure and Applied Sciences (JUBPAS) by University of Babylon is licensed under a Creative Commons Attribution 4. 0 International License, 2019.

تأثير وجود أو عدم وجود الجسم الأصفر في أبعاد المبايض وعدد الجريبات ونوعية البويضات في الأبقار المحلية (*Bos Indicus*)

فوزية جميل حسن **هاشم مهدي عبود**

الكلية التقنية / المسيب، جامعة الفرات الأوسط التقنية – 51009 بابل ، العراق

حيدر مالك عبد علي

المعهد التقني / المسيب

drhashem48@yahoo.com

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية لتقويم تأثير الجسم الأصفر أو غيابه في أبعاد المبايض وعدد الجريبات ونوعية البويضات في الأبقار المحلية. جُمع 256 مبيضاً بقرياً من مجازر محافظة بابل للمدة من أيلول 2017 لغاية نيسان 2018. نُقلت الأجهزة التناسلية الأنثوية إلى المختبر خلال ساعتين بعد الذبح. أُزيلت المبايض وصُنفت على مجموعتين بناءً على وجود الجسم الأصفر (عدد= 150) أو عدم وجود الجسم الأصفر (عدد = 106) . وقيست أبعادها. وعُدت وقيست وصُنفت الجريبات على أساس قطرها إلى صغيرة 3–5 (ملم) ومتوسطة 6–9 (ملم) وكبيرة 10–20 (ملم) . سُحب السائل الجريبي وجُمعت وفُحصت وعُدت وقُومت ودُرجت البويضات. بينت نتائج الدراسة الحالية أرتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في أبعاد المبايض مع وجود الجسم الأصفر مقارنة مع المبايض التي لا تحتوي على الجسم الأصفر. أوضحت النتائج أيضاً أرتفاعاً معنوياً ($P<0.05$) في متوسط العدد الكلي للجريبات والبويضات لكل مبيض مع غياب الجسم الأصفر مقارنة مع المبايض التي تحتوي على الجسم الأصفر. نستنتج من هذه الدراسة وإن وجود الجسم الأصفر يؤثر سلبياً على عدد الجريبات ونوعية البويضة.

الكلمات الدالة: الأبقار، المبيض، الجسم الأصفر، الجريبة، البويضة.

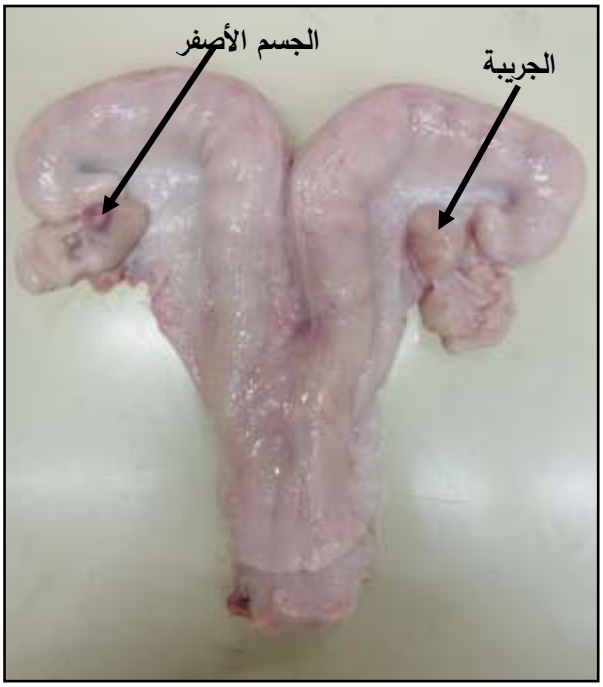
المقدمة

تُعد الأبقار المحلية من الماشية التي لا تزال إنتاجيتها منخفضة وذات مشاكل وراثية وصحية وتناسلية، ولغرض تحسين وتطوير الأداء التناسلي بات من الضروري إجراء البحوث والدراسات لأدخال وتطبيق التقنيات التكاثرية المساعدة مثل إنضاج وأخصاب البويضات خارج الجسم ونقل الأجنة [4 و8]. تُعد العينات التي تجمع من المجازر مصدراً رخيصاً ووفير للبويضات الأولية لأنتاج الأجنة على نطاق واسع من خلال إنضاج البويضة وأخصابها خارج جسم الحيوان [19]. بيّن [29] أن العلاقة بين تطور الأجسام الصفراء وتطور الجريبة يقدم أدلة جديدة لدعم وجود العوامل المرتبطة بعدم التجانس في الكفاءة التنموية للبويضة. يؤثر حجم الجريبات ونوعيتها في القدرة التطويرية لبويضات الأبقار [5 و 33] يؤثر وجود الجسم الأصفر بطريقة سلبية في تركيز هرمون المودق (Estradiol) وكذلك بكمية الجريبات ونوعيتها [26]. بينت بعض الدراسات التأثير السلبي لوجود الجسم الأصفر [12] أو هرمون الحمل (Progesterone) [21 و27] على كفاءة البويضة والنسب اللاحقة من تكوين الجنين ، مقارنة مع البويضات المستحصلة من مبايض خالية من الجسم الأصفر أو غياب هرمون الحمل [17 و 30]. تهدف الدراسة الحالية لمعرفة تأثير وجود الجسم الأصفر أو غيابه في أبعاد المبايض وعدد الجريبات ونوعية البويضات في مبايض الأبقار المحلية .

المواد وطرائق العمل

جمع الأجهزة التناسلية

أُنجزت الدراسة في مختبرات قسم تقنيات الإنتاج الحيواني في الكلية التقنية/المسيب للمدة من أيلول 2017 الى نيسان 2018. أزُيلت وجُمعت الأجهزة التناسلية من 128 بقرة غير حامل والتي ذبُحت في مجازر محافظة بابل وكانت بحالة سليمة من الناحية الصحية قبل الذبح ، فُحصت القناة التناسلية عيانياً وكانت طبيعية وخالية من التشوهات الخلقية (صورة1) ووضُعت في حقيبة بلاستيكية تحتوي على محلول الملح الفسلجي بتركيز 0.9% normal physiological saline(0.9%NaCl) ، ووضُعت الاكياس في صندوق مبرد ونُقلت إلى المختبر خلال ساعتين.



صورة 1. الجهاز التناسلي الأنثوي للأبقار بقوة تكبير 40 (40x)

قياس ابعاد المبايض والجريبات

أزيُلت المبايض من ارتباطها مع الاربطة المبيضية في الجهاز التناسلي ، ونُظفت من الأنسجة العالقة والاربطة ، وغُسلت بالمحلول الملحي الفسلجي المبرد ووضُعت على أوراق الترشيح لتجفيفها ، وقسمت على مجموعتين بناءً على وجود الجسم الأصفر (العدد = 106) أو عدم وجود الجسم الأصفر (العدد=150) وقيس طولها من جانب منطقة القطع مع الاربطة المبيضية او طول المسافة بين النهاية الامامية والخلفية (صورة 2)، وعرضها من اعرض منطقة او خط خارج من على خط الطول ، وسمكها من السطح الظهري الى السطح البطني ، وقيست جريبات كل مبيض بواسطة القدمة (Vernier Clippers) وصُنفت الجريبات طبقاً لهذه القياسات إلى ثلاث مجاميع صغيرة ذات قطر (5–3 ملم) ومتوسطة ذات قطر(6–9 ملم) وكبيرة ذات قطر (10–20 ملم) (صورة 3) [2] .

صورة 2. قياس أبعاد المبيض بقوة تكبير 40 (40x) صورة 3. قياس أبعاد الجريبة بقوة تكبير 40 (40x)

سحب السائل الجريبي

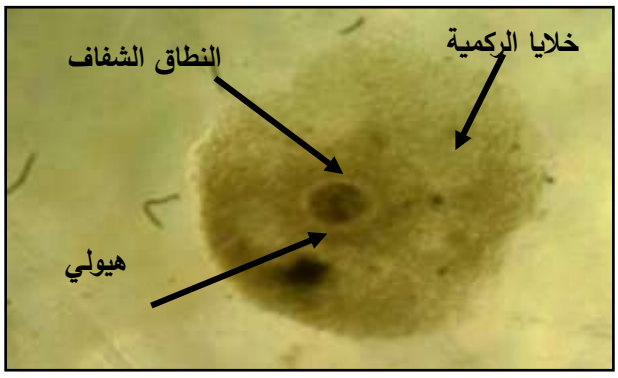
سُحب السائل الجريبي من الجريبات المرئية على سطح المبيض بوساطة ابرة نبيذة قياس 20 (20G) مرتبطة بمحقنة بلاستيكية نبيذة ذات حجم 2 و5 ملليتر أضيف إليها محلول دارئ الفوسفات مع الهيبارين, وضع الوسط والمحتويات في صحن بتري ذات قطر 35 ملم , وترك صحن البتري لمدة 5 دقائق للسماح للبويضات بالترسيب والأستقرار في القاع , وفُحصت وسُجلت عدد البويضات (صورة 4) .

صورة 4. سحب السائل الجريبي بقوة تكبير 40 (40x)

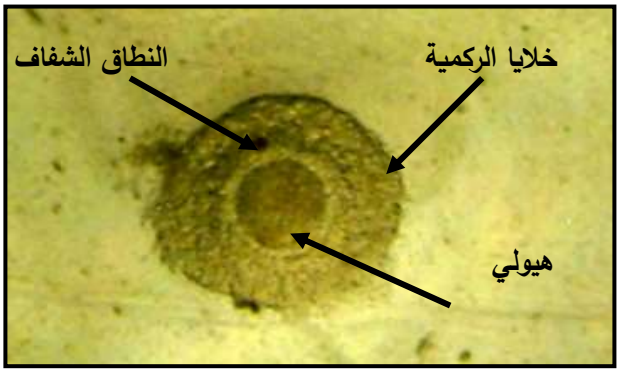
تدرج البويضات

بعد ترسيب واستقرار البويضات في طبق بتري بُحثَ عن البويضات بوساطة المجهر الضوئي (Olympus, Tokyo – Japan) وسُجل عددها لكل مبيض، ودُرّجت (graded) البويضة على أساس عدد طبقات الخلايا الركمية المبيضية المحيطة بها وصفات الهيولي (Cytoplasm) وكما يلي :

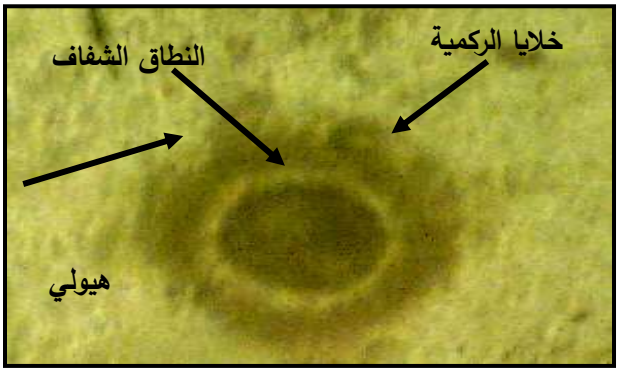
1. بويضة درجة أولى: بويضة ذات هيولي متجانس ومحاطة بأربع او اكثر من الطبقات الركمية المتراصة (صورة5).
2. بويضة درجة ثانية: بويضة ذات هيولي متجانس ومحاطة 2–4 طبقات من الخلايا الركمية المتراصة (صورة 6).
3. بويضة درجة ثالثة: بويضة ذات هيولي متجانس ومحاطة على الأقل بطبقة واحده من الخلايا الركمية المتراصة (صورة7).
4. بويضة درجة رابعة: بويضه ذات هيولي غير متجانس وعارية من الخلايا الركمية او محاطة جزئياً بخلايا ركمية غير متراصة او مبعثرة (صورة 8).



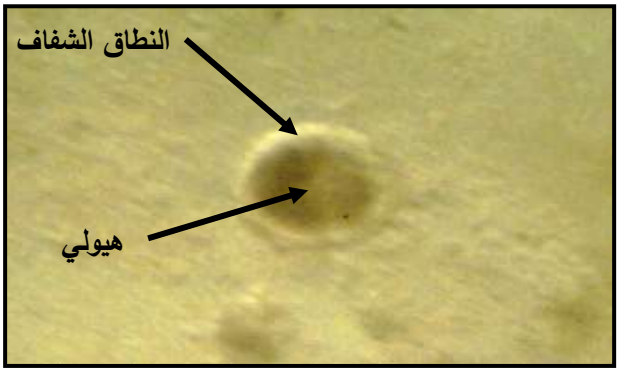
صورة 5. بويضة درجة أولى بقوة تكبير 40 (40x)



صورة 6. بويضة درجة ثانية بقوة تكبير 40 (40x)



صورة 7. بويضة درجة ثالثة بقوة تكبير 40 (40x)



صورة 8. بويضة درجة رابعة بقوة تكبير 40 (40x)

التحليل الاحصائي

استعمل البرنامج الاحصائي SAS (Statistical analysis system) [24] في تحليل البيانات بدراسة العوامل المختلفة في الصفات المدروسة على وفق تصميم عشوائي كامل Completely randomized (CRD) design) وقورنت الفروقات المعنوية باختبار دنكن [7] متعدد المديات (Multiple Rangetest)

النتائج والمناقشة

يتبين من نتائج جدول (1) أن عدد المبايض التي لا تحتوي على الجسم الأصفر بلغت 150 مبيضاً من مجموع 256 مبيضاً وبنسبة 58.59% ، وعدد المبايض التي تحتوي على الجسم الأصفر بلغت 106 مبيضاً وبنسبة 41.40%، إذ إن المبايض المأخوذة من المجازر كانت في مراحل مختلفة من دورة الشبق [32]. بين الجدول أيضاً زيادة معنوية ($P<0.05$) في أبعاد المبايض (الطول والعرض والسمك) التي تحتوي على الجسم الأصفر مقارنة مع المبايض التي لا تحتوي على الجسم الأصفر. تختلف أبعاد المبايض اعتماداً على الحالة التكاثرية والتغيرات الفسلجية للحيوان [6]، وتطور الجريبة وحدوث الإباضة وتكوين الجسم الأصفر وتحلله [25]. إن النمو في الخلايا الصفراء (Lutein cells) المكونة للجسم الأصفر تؤدي إلى الزيادة في أبعاد المبيض [16]. يزداد حجم الجسم الأصفر بسبب كثافة إنتاجيته من هرمون الحمل وبالتالي تزداد أبعاد المبيض [13]. تتفق نتائج هذه الدراسة مع [9 و15] إذ بينوا زيادة أبعاد المبيض مع وجود الجسم الأصفر .

جدول 1. تأثير وجود الجسم الأصفر أو غيابه في أبعاد المبايض في الأبقار المحلية (المعدل ± الخطأ القياسي)

نوع المبيض وعدده	عدد المبايض ونسبتها	طول المبيض (ملم)	عرض المبيض (ملم)	سمك المبيض (ملم)
عدم وجود الجسم الأصفر (150)	150 (% 58.59)	0.50±25.91 B	0.35±15.90 B	0.28±13.75 B
وجود الجسم الأصفر (106)	106 (% 41.40)	0.04±26.20 A	0.42±18.75 A	0.36±16.07 A
مستوى المعنوية		P<0.05	P<0.05	P<0.05

أوضحت نتائج الجدول (2) زيادة معنوية ($P<0.05$) في معدل عدد الجريبات لكل مبيض (0.49±23.51) جريبة في المبايض التي لا تحتوي على الجسم الأصفر مقارنة مع المبايض التي تحتوي على الجسم الأصفر(0.91±18.16) جريبة. يؤثر أفراز هرمون الحمل سلبياً على عدد الجريبات الصغيرة والمتوسطة وذلك بوساطة التغذية الإستراجعية السالبة إذ يقوم بتثبيط إفراز هرمون محفز الجريبة (Follicle stimulating hormone) (FSH) الذي يطور نمو الجريبات [6 و 26] . يؤثر وزن وحجم المبيض في متوسط العدد الكلي للجريبات [15]. يؤثر الجسم الأصفر موضعياً وذاتياً عن طريق التأثير الصمي الذاتي والجانبي (Autocrine and paracrine) في نمو وتطور الجريبات الكبيرة [28]. تتفق نتائج هذه الدراسة مع ماتوصل إليه [14 و 29] إذ بينوا التأثير السلبي لوجود الجسم الأصفر في عدد الجريبات. اختلفت نتائج هذه الدراسة مع [1] إذ بين

هنالك زيادة في عدد الجريبات في المبايض التي تحتوي على الجسم الأصفر وأختلف أيضاً مع [10] الذي بين وجود علاقة موجبة بين وجود الجسم الأصفر وعدد الجريبات.

جدول 2. تأثير وجود الجسم الأصفر أو غيابه في عدد الجريبات في مبايض الأبقار المحلية (المعدل ± الخطأ القياسي)

نوع المبيض وعدده	معدل عدد الجريبات/مبيض	عدد الجريبات		
		صغيرة 3–5 (ملم)	متوسطة 6–9 (ملم)	كبيرة 10–20 (ملم)
عدم وجود الجسم الأصفر (150)	1.49±23.51 [3527] A	0.01±13.10 A	0.43±9.90 A	0.05±0.51 A
وجود الجسم الأصفر (106)	0.91±18.24 [1925] B	0.72±10.41 B	0.16±7.40 B	0.03±0.35 A
مستوى المعنوية	P<0.05	P<0.05	P<0.05	غير معنوي

[ ] العدد بين القوسين يمثل الجريبات المسجلة على كل مبيض .

بينت نتائج جدول 3 ارتفاع معنوي (P<0.05) في متوسط عدد البويضات لكل مبيض (0.62±12.40) بويضة للمبايض التي لا تحتوي على الجسم الأصفر مقارنة مع متوسط عدد البويضات لكل مبيض (0.53±10.50) بويضة للمبايض التي تحتوي على الجسم الأصفر، وبين الجدول أيضاً أرتفاعاً معنوياً في عدد البويضات للدرجة الأولى والثانية في المبايض التي لا تحتوي على الجسم الأصفر مقارنة مع التي تحتوي الجسم الأصفر. أن قلة عدد البويضات لكل مبيض في المبايض التي تحتوي على الجسم الأصفر من المحتمل بسبب أن تطور الجريبات ونموها محصور أو مقيد من قبل الخلايا الصفراء التي تحتل جزءً كبيراً من المبيض وكذلك أن الجسم الأصفر ربما يثبط نمو الجريبات ويزيد من رتقها (atresia) [11] . هنالك بعض العوامل ربما تساهم في الأختلاف في نوعية وجودة البويضة منها العمر والموسم والحالة الغذائية (حالة الجسم) ومرحلة الشبق أثناء ذبح الحيوان والحالة الوظيفية للجريبة وحجمها وطريقة الحصول على البويضة [3 و18 و34]. بسبب عدم وجود الجسم الأصفر في المبايض ، فأن التأثير السلبي لهرمون الحمل ربما لم يعمل وأن نسبة هرمون الحمل إلى هرمون المودق تبقى في مستوى التوازن والتي تسمح بنمو الجريبة والبويضة [2 و 23]. تتفق نتائج هذه الدراسة مع [1 و20 و22] واختلفت نتائج هذه الدراسة مع ما توصل إليه [14و29] والذين بينوا عدم وجود فرق معنوي في عدد البويضات ونوعيتها في المبايض التي تحتوي على الجسم الأصفر أو لا تحتوي عليه.

جدول 3. تأثير وجود أو غياب الجسم الأصفر في عدد البويضات وتدرجها في مبايض الأبقار المحلية (المعدل ± الخطأ القياسي)

نوع المبيض وعدده	معدل عدد البويضات/مبيض	تدرج البويضة			
		درجة أولى	درجة ثانية	درجة ثالثة	درجة رابعة
عدم وجود الجسم الأصفر (150)	0.62±12.40 A	0.16±3.87 A	0.13±2.92 A	0.13±2.64 A	0.20±2.97 A
وجود الجسم الأصفر (106)	0.53±10.50 B	0.29±2.92 B	0.15±2.02 B	0.18±2.58 A	0.16±2.98 A
مستوى المعنوية	P<0.05	P<0.05	P<0.05	غير معنوي	غير معنوي

نستنتج من نتائج هذه الدراسة أن وجود الجسم الأصفر يؤثر سلباً في أبعاد وعدد ونوعية الجريبات والبويضات وهذا يؤثر على إنتاج البويضات المستعملة وإخصابها في التقانات التكاثرية المساعدة المختلفة.

Conflict of Interests.
There are non-conflicts of interest .

المصادر

[1] Acosta, T.J. and Miyamoto A.(2004). Vascular control of ovarian function: ovulation, corpus luteum formation and regression. Journal Animal Reproduction Science., 83 : 127–140.

[2] Alves, B.G.; A.K. Alves.; A.C. Lucio.; C.M. Martins.; T.H. Silva and R.M. Santos. (2014). Ovarian activity and oocyte quality associated with the biochemical profil of serum and follicular fluid from girolando dairy cows postpartum. Anim. Reprod. Sci., 1:1010-1016.

[3] Amer, H.A., A.O Hegab and SM Zaabal .(2008). Effects of ovarian morphology on oocyte quantity and quality, granulosa cells, in vitro maturation, and steroid hormone production in buffaloes. Journal of Animal Reproduction., 5: 55-62.

[4] Baruselli, P.S.; Sa Filho; M.F., Ferreira, R.M.; Sales, A.L J.N. S.b, Gimenes; L.U.,Vieira.; L.M., Mendanha.; M. F. and Bo,G.A. (2012). Manipulation of follicle e ., Reprod Dom., 47: 134 -141.

[5] Contreras-Solis I, Diaz T, Lopez G, Caigua A, Lopez- Sebastian A, Gonzalez-Bulnes A. (2008). Systemic and intraovarian effects of corpus luteum on follicular dynamics during estrous cycle in hair breed sheep. Anim Reprod Sci., 104: 47-55.

[6] Diskin, M.G.; Mackey, D.R.; Roche, J.F. and screenan, J.M. (2003). Effects of nutrition and metabolic status on circulating and ovarian follicle development in cattle. Anim. Reprod. Sci., 78:345–370.

[7] Duncan, D.B. (1955). Multiple Rang and Multiple F-test. Biometrics., 11: 4-42.

[8] Ebangi A.L.; Erasmus G.J.; Mbah D.A.; Tawah C.L.; Ndofor-Foleng H.M. (2014). Evaluation of level of inheritance in the growth traits in the Gudali and Wakwa beef cattle breeds of Adamaw Cameroon [Retrieved August 25;Lives. Res. Rural Dev., 20: 11- 23

[9] Falah, R. (2008). Cow reproduction, publication of Ferdusi university, first edition, 340-345.

[10] Ginther, O. Bashir, S.T,, Santos, V.0. and Beg, M.A. (2013). Contralateral ovarian location between the future ovulatory follicle and extant corpus luteum increases the length of the luteal phase and number of follicular waves in heifers. Theriogenology., 79: 1130-1138.

[11] Hafez ESE. (1993). Folliculogensis, Egg Maturation and Ovulation: Reproduction in Farm Animals, 5th Ed, Lea and Febiger, Philadelphia, 114-143.

[12] Hajarian H, Shahsavari MH, Karami-shabankareh H, Dashtizad M. (2016). Thepresence of corpus luteum may have a negative impact on in vitro developmental competency of bovine oocytes. Reprod Biol., 16:47-52.

[13] Khaton ,R .; Sarder , M . J . U. and Gofur , M. R. (2015). Biometrical Studies of Reproductive Organs of Different Genotypes in Bangladesh. Asian Journal of Animal Sciences ., 9: 388-395 .

[14] Kouamo, J .; Meyoufey, B. and Zoli, A.P.(2017). Biometrical Study of Female Reproductive Tract (Bos Indicus) In Cameroon. Bull. Anim. Hith. Pr. Afr.,65:311-320 .

[15] Kouamo, J. ;Dawaye, S.; M. Zoli, A.P. and Bah, G.S. (2014). Evaluation of bovine (Bos indicus) ovarian potential for in vitro embryo production in the Adamawa plateau (Cameroon). Vet., 4:128–136.

[16] Kouamo, J. and Kharche, S.D. (2014). Dose dependent effect of pregnant mare serum gonadotropin and human chorionic gonadotropin on in vitro maturation of goat oocytes. Indian J. Anim. Sci., 4:410-414.

[17] Nagano M, Katagiri 5, Takahashi Y. (2006). Relationship between bovine oocyte morphology and in vitro developmental potential. Zygote., 14:53-61.

[18] Nandi S, Girish Kumar V, Chauhan M.S. (2006). In vitro production of bovine embryos: We need to stop or proceed a review. Agric. Rev.,27:122-129.

[19] Nandi S, MS Chauhan and P Palta .(2001). Effect of environmental temperature on quality and developmental competence in vitro of buffalo oocytes. Journal of Veterinary Research,, 148: 278-279.

[20] Penitente-Filho J.M, Jimenez C.R,, Zolini A.M, Carrascal E, Azevedo JL, Silveira CO, .(2015). Influence of corpus luteum and ovarian volume on the number and quality of bovine oocytes. Anim Sci J; 86: 148-152.

[21] Pfeifer LF, Mapletoft Ri, Kastelic JP, Small JA, Adams GP, Dionello Ni, Shing J. (2009). Effects of low versus physiologic plasma progesterone concen cell trations on ovarian follicular development and fertility in beef cattle. Theriogenology. 72:1 237—1 250.

[22] Santos, S.S.D., Feirirra, M.A.P., Pinto, J.A., Sampaio, R.V., Carvalho, A.C., Silva, T.V.G., Costa, N.N., Cordeiro, M.S., Miranda, M.S., Ribeiro, H.F.L. and Ohashi, O.M. (2013). Characterization of folliculogenesis and the occurrence of apoptosis inthe development of the bovine fetal ovary. Theriogenology 79, 344-350.

[23] Sartori, R. and Barros, C.M. (2011). Reproductive cycles in Bos indicus cattle. Anim. Repro. Sci. 124: 244-250.

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

[25] Shabankareh HK, Habibizad J, Torki M. (2009). Corpus luteum function following single and double ovulation during estrous cycle in Sanjabi ewes. *Anim Reprod Sci*; 114: 362-369.

[26] Shabankareh HK, Habibizad J, Sarsaifi K, Cheghamirza K, Jasemi VK.(2010). The effect of the absence or presence of a corpus luteum on the ovarian follicular population and serum oestradiol concentrations during the estrous cycle in Sanjabi ewes. *Small Rumin Res* 2010; 93: 180-185.

[27] Shabankareh H.K., Kor N.M., Hajarian, H. (2013). The influence of the corpus luteum on metabolites composition of follicular fluid from different sized follicles and their relationship to serum concentrations in dairy cows. Anim Reprod Sci; 140: 109-114.

[28] Shabankareh1 D.V.M, Mohammad Hamed Shahsavari1, Hadi Hajarian, D., Gholamali Moghaddam. (2015). In vitro developmental competence of bovine oocytes: Effect of corpus luteum and follicle size Iran J. Reprod Med., 10: 615-622.

[29] Sugulle AH, Dochi O, Koyama H. (2008) Developmental competence of bovine oocytes selected by Brilliant Cresyl Blue Staining: Effect of the presence of corpus luteum on embryo development. J Mammalian Ova Research., 25: 50-55.

[30] Urrego R, Herrera-Puerta E, Chavarria NA, Camargo 0, Wrenzycki C, Rodriguez-Osorio N. (2015). Follicular progesterone concentrations and messenger RNA expression of Mater and Oct-4 in immature bovine oocytes as predictors of developmental competence. Theriogenology.,83:1179-1187.

[31] Vassena R, Mapletoft RJ, Allodi S, Singh J, Adams GP. (2003). Morphology and developmental competence of bovine oocytes relative to follicular status. *Theriogenology*; 60: 923-932.

[32] Wang, Z. G.; Song-Dong, Y. and Zi-Rong. X. (2007) . Effects of Collection Methods on Recovery Efficiency, Maturation Rate and Subsequent Embryonic Developmental Competence of Oocytes in Holstein Cow Anim. Sci., 20: 496-500 .

[33] Zhang K, Hansen PJ, Ealy AD. (2010). Fibroblast growth factor 10 enhances bovine oocyte maturation and developmental competence in vitro. Reproduction., 140:815-826.

[34] Zoheir KMA, AS Abdoon, KF Mahrous, MA Amer. MM Zaier, Li-Guo Yang and EM El Nahass (2007). Effect of season on the quality and in vitro maturation rate of Egyptian buffalo (Buba1us bubalis) oocytes. Journal of Cell and Animal Biology., 1: 29-33.