دراسة تأثير وسط تكييف النطف في تخصيب بويضات نعاج العرابي خارج الجسم

طه جاسم الطه * خلف عبدالرزاق حسن * عبدالرزاق نعيم خضير**
*قسم الثروة الحيوانية / كلية الزراعة / جامعة البصرة ** جامعة البصرة / كلية الطب البيطري

الخلاصة

أجريت الدراسة في مركز أطفال الأنابيب المساعد التابع إلى كلية الطب/جامعة البصرة للمدة من كانون الثاني ٢٠٠٩ ولغاية كانون الثاني ٢٠١٠. استعملت في التجربة ٢٢٧٩ بويضة حصل عليها من مبايض النعاج المذبوحة في مجزرة البصرة ، ونضجت مختبريا" باستعمال وسط الانضاج TCM199 الوسط الزرعي النسيجي المطور (media Modified tissue culture) المزود بمصل جنين العجل (١٠%) ، لدراسة تأثير أوساط تكييف النطف في قابليتها على الاخصاب اذ كييفت نطف من مني طازج او مني مجمد مذوب بأحد وسطي التكيف البراكيت اوألايرلن فضلا"عن دراسة تأثير نوعين من المضادات الحيوية الجنتامايسين و البنسلين المضافة لوسطي التكيف . اظهرت النتائج تفوق الوسط الاول معنويا عند مستوى(أ ≥٠,٠٥)في جميع التجارب قبل تجميد المني وبعده مع وجود أنزيم الهيالبورونيديز و المضاد الحيوي الجنتامايسين بدلا من المضاد الحيوي البنسلين في عدد البويضات المخصّبة وكذلك المنقّسمة .

المقدمة

يعتمد نجاح عملية إنضاج البويضات وإخصابها خارج الجسم الحي بالدرجة الأساس على تركيبة الأوساط الزرعية التي تساعد على تحفيز البويضة في أجراء العمليات الحيوية لغ رض الإنضاج والإخصاب (Alofi and Alhimaidi, ٢٠٠٤) ، ليس بمقدور النطف أن تخصب البويضات ما لم تأخذ وقتاً كافياً في القناة التناسلية الأنثوية لتمنحها القدرة على التخصيب أذ يتوافق مع التكيّيف زيادة نشاط الحركة التموجية للنطف بوجود أيون الكالسيوم الذي يساعد على تنشيط النطفة المنطلقة من داخل الخلية أو في قنوات كيميائية وأيونية للغشاء السايتوبلازمي للنطف (Dale and Elder ،١٩٩٧) واستعملت العديد من الأوساط الزرعية على الرغم من اختلاف تركيبها، هنالك عدة طرق لاستحداث تكييّف النطف خارج الجسم (مختبرياً) ومنها استعمال وسط عالي الأيونية حيث يعمل على تكييفّ النطف مما تؤدي الى اختراق البويضة وإنجاح عملية التخصّيب (Duran ،١٩٩٨) ، وان إضافة البايروفيت واللاكتيت كمصدر للطاقة بدلاً من الكلوكوز الى الوسط الزرعي يسبب تثبيط عمل الهيبارين وأن وجود الخلايا الركامية في الوسط ساعدت على إنتاج GAGS عندما تحفز بواسطة هرمون FSH (Parrish وأخرون .,١٩٨٨). وان وجود البومين المصل البقري في وسط التكييّف يساعد على إزالة الكولسترول والزنك من النطفة لقدرته على ربط الجزيئات المعروفة بعملها على ثبات غشاء الخلية ومع العلم أن تحسين التكيّيف وتفاعل غطاء رأس النطفة مهم ليكون غشاء الخلية في كل من البويضة والنطفة غير ثابت) (Duran،١٩٩٨) . ونظرا لأهمية اجراء تكييف النطف وتهيئتها لاخصاب البيوض مختبريا ، فقد اجريت هذه الدراسة لمعرفة افضل الاوساط لتكييف النطف المستحصل عليها من مني طازج او مجمد مذوب ومتابعة اخصاب البيوض و انقسامها.

مواد البحث وطرائقه

أجريت هذه التجربة في مركز أطفال الأنابيب المساعد التابع لكلية الطب /جامعة البصرة للمدة من كانون الثاني ٢٠٠٩م الى كانون الثاني ٢٠١٠م ، استعملت في هذه التجربة ٤٥٥٨ بويضة لدراسة العوامل المؤثرة في إنضاج بويضات النعاج العرابية وإخصابها خارج الجسم التي تم الحصول عليها من النعاج التي عمرها مابين (٢-٤) سنة وقد أختير الحجم للجريبة ما بين (٤ – ٦) ملم والمذبوحة في مجزرة البصرة محافظة البصرة / العراق . وتضمنت التجربة دراسة التأثير .

١: وسط التنشيط البراكيت قبل تجميد النطف وبعدها :أجريت الدراسة لمعرفة تأثير الوسط البراكيت في نشاط النطف من خلال إخصاب البويضات مختبرياً بوجود أنزيم هيالبورونيديز أو عدم وجوده مع استعمال وسط إنضاج البويضات وإخصابها TCM–199 في كلا المعاملتين .

٢: وسط التنشيط ايرلز قبل تجميد النطف وبعدها : تضمنت هذه الدراسة معرفة تأثير وسط التنشيط الايرلز في تكيّيف النطف مختبرياً ومدى تأثيره في نسبتي إنضاج البويضات وإخصابها خارج الجسم بوجود أنزيم

تاريخ تسلم البحث ١٧ / ٦ / ٢٠١٢ وقبوله ١ / ١٠ / ٢٠١٢

هياليورونيديز أو عدم وجوده مع استعمال وسط TCM – 199 في كلا المعاملتين لإنضاج بويضات النعاج وإخصابها .

جمع المبايض من المجازر : جمعت المبايض من نعاج أغنام العرابي المذبوحة في مجزرة البصرة وهي في أطوار مختلفة من دورة الشبق، وضعت المبايض في أكياس تحتوي على المحلول الفسيولوجي (كلوريد الصوديوم) بتركيز ٠,٩% مضافاإليه المضادات الحيوية البنسلين والستربتومايسين وبدرجة حرارة ما بين ٣٢-٣٥مْ ثم نقلت الى المختبر خلال ١-٢ ساعة بعد الجمع (Cox وأخرون., ١٩٩٤) وبعد وضعها في حاوية تبريد Cool box للمحافظة على درجة حرارة المحلول الفسيولوجي . وجمعت البويضات باستعمال تقنية السحب Aspiration Technique من الجريبات المبيضية بعد اجراء التقييم للجريبات بواسطة الفرنيه (Vernier) بالاعتماد على قطر الجريبات أختيرت الجريبة ذات الحجم ما بين (٤-٦) De Smedtوأخرون., ١٩٩٢) ، إذ سحبت البويضات باستعمال أبرة قياس G٢٢ متصلة بمحقنة قياس ٥ مل تحتوي ٠,٥ مل من وسط TCM–199 المحور عن طريق سحب السائل الجريبي وبعد ذلك تفريغها في طبق بتري يحتوي على كمية من وسط TCM–199 المحور مع السائل الجريبي ليتم عزل البويضات الصالحة للانضاج والحاوية على أكثر من ٣ طبقات من الخلايا الركامية مع تحبب السايتوبلازمي ويعرف بمعقد البويضة-الخلايا الركامية (COCs) .غسلت البويضات ٢-٣ مرة في القطيرات معدة للغسل من وسط TCM–199 المحور بعدها نقلت الى طبق بتري يحتوي ٢مل من وسط TCM– 199 لغرض إنضاج البويضات (حسن و اخرون٢٠١٢) .

إنضاج البويضات : نقل معقد البويضة الركامية (COCs) الى طبق بتري الحاوي على ٢مل من الوسط الزرعي TCM–199 المحور وبعدها غطيت بزيت البارافين ونقلت الى حاضنة Co_2 وبتركيز ٥% ودرجة حرارة ٣٨,٥مْ ورطوبة ٩٥% لمدة ٢٧ساعة (Crozetوأخرون., ٢٠٠٠) . بعد إنتهاء مدة الحضن أخرجت البويضات وفحصت تحت المجهر، وعزلت البويضات الناضجة التي تميزت بوجود الجسم القطبي الأول مع تمدد الخلايا الركامية المحيطة بها وتغير لونها من المعتم الى البراق وإذ تم سحب البويضات واعادتها عدة مرات للتخلص من الطبقات المحيطة بها حتى أصبحت جاهزة للإخصاب .

جمع المني وتقييمه وتكييفه مختبرياً : جمع المني الطازج با ستعمال المهبل الاصطناعي (Artificial vagina) من أثنين من ذكور الأغنام العرابية المحلية عمرها ما بين (٢-٣) سنوات التابعة لمحطة الأبحاث والتجارب الزراعية في كلية الزراعة / جامعة البصرة، وقد خضعت للفحص الشهري السريري الدقيق للتأكد من عدم أصابتها من أي مشاكل تناسلية تؤثر في قابليتها الجنسية ، وبعد الانتهاء من جمع المني خضع للتقييم الشامل من حجم ولون وتركيز النطف وحركتها الفردية والجماعية . وجرى تكييّف النطف حسب طريقة De Smedtوأخرون., ١٩٩٢) ، إذ تم تخفيف المني مع ٨ مل من وسط البراكيت أو ايرلز بعد ذلك عمل له طرد مركزي بمعدل٩٠٠دورة/دقيقة ولمدة ١٠ دقائق وبدرجة حرارة ٣٧مْ، أخذت النطف المتجمعة في قعر الأنبوب التي تكون بشكل أقراص (Pellet) ، وأضيف ٢مل من وسط التكيّيف ثم تركت النطف لتسبح للأعلى (Swim–up) لمدة ١,٥ ساعة بدرجة حرارة ٣٨,٥مْ في الحمام المائي، ثم سحب الجزء ال علوي ٠,٥ مل الحاوي على النطف الطافية ذات الحيوية العالية وقدرت حركة النطف باستعمال المجهر الضوئي مع تقدير تركيز النطف . بعدها خففت بإضافتها الى وسط التكييف ليصبح تركيز النطف ١×١٠^{٦} نطفة/مل ووضعت في الحاضنة لمدة ٤-٥ ساعات بدرجة حرارة ٣٨,٥مْ لتكون جاهزة للإخصاب

إخصاب البويضات مختبرياً : جهزت أطباق بتري معقمة حاوية على وسط الإخصاب TCM–199 المحور بكمية ٢مل من الوسط في كل طبق وأضيفت النطف بعد عملية التكيّيف بكمية ٠,٢مل الى الوسط ، بعد ذلك أضيفت البويضات الناضجة إليها بمعدل ٥-١٠ بويضات ثم وضعت الأطباق في الحاضنة (غاز Co_2 بتركيز ٥% ، درجة حرارة ٣٨,٥مْ ، رطوبة ٩٠%) لمدة ٢٤ساعة (Martinoوأخرون., ١٩٩٤) .

بعد انتهاء مدة الحضن تم التخفيف بإضافة وسط الإخصاب TCM–199 المحور الى أطباق بتري المحضونة فيها البويضات والنطف لأجل فحص البويضات ومشاهدة حدوث الإخصاب فيها والتي تتميز بظهور الجسم القطبي الثاني Second Polar Body فضلاً عن الجسم القطبي الأول First Polar Body . والبويضات التي ظهرت عليها علامات الإخصاب نقلت الى أطباق تحتوي الوسط الزرعي TCM–199المحور وحضنت لمدة ٢٤ساعة ، بعدها تم استخراج طبق بتري الحاوي على البويضات المخصبة لملاحظة الانقسام الخلوي والنمو لهذه البويضات (Jainudeen وأخرون ., ٢٠٠٠) . أجري التحليل الإحصائي مقارنة باستخدام البرنامج الإحصائي الجاهز (Anonymous، ٢٠٠٩).

النتائج والمناقشة

تأثير الأوساط الزرعية

١ - وسط البراكيت لتنشيط النطف : أشارت نتائج الدراسة الحالية الى أمكانية إخصاب بويضات الأغنام في أوساط زرعية مختلفة عن طريق تنشيط النطف بواسطة وسط البراكيت، ويبين الجدول رقم (١) وجود تأثير معنوي بين الأوساط الزرعية المستعملة في الدراسة عند إنضاج البويضات خارج الجسم عن طريق تكوّن الجسم القطبي الأول إذ بلغت أعل ى نسبة للانضاج في الوسط الزرعي البراكيت الذي يحتوي على إنزيم الهيالبورونيديز والمضاد الحيوي الجنتامايسين ٧٢,٣٦% في حين أدنى نسبة لانضاج البويضات ٦٣,٩٣% في الوسط الزرعي الذي يحتوي على المضاد الحيوي البنسلين وغياب إنزيم الهيالبورونيديز وكذلك عدم وجود أي تأثير معنوي بين الوسط الزرعي الذي يحتوي على إنزيم الهيالبورونيديز والمضاد الحيوي الجنتامايسين والوسط الذي يحتوي على إنزيم الهيالبورونيديز والمضاد الحيوي البنسلين، أما نتائج نمو هذه البويضات وانقسامها خارج الجسم بعد مدة حضن ٢٤ساعة فتظهر في الجدول أمكانية القيام بعملية الإخصاب الخارجي والنمو الأولي للبويضات المخصّبة في وسط زرعي معروف اذ أعطت نتائج تفوق الوسط الزرعي الذي يحتوي على إنزيم الهيالبورونيديز والمضاد الحيوي الجنتامايسين أعلى نسبتي الإخصاب والانقسام (٥١,٦٨ و ٣٠,٤٣)% على التوالي وأدنى نسبتي الإخصاب والانقسام أعطاها الوسط الزرعي الذي يحتوي على المضاد الحيوي البنسلين وغياب إنزيم الهيالبورونيديز (٤٣,٥٩ و ٢٣,٥٣)% على التوالي ويظهر الجدول رقم ١ وجود تأثير معنوي بين الأوساط الزرعية المستعملة في الدراسة عند إخصاب البويضات وعدم وجود تأثير معنوي عند انقسام البويضات المخصبّة .

الجدول (١): تأثير وسط البراكيت لتنشيط النطف في نسبة إخصاب البويضات وانقسامها خارج الجسم الحي

الإضافات على الوسط البراكيت	عدد البويضات	البويضات الناضجة		البويضات المخصبّة		البويضات المنقسّمة	
		العدد	النسبة%	العدد	النسبة%	العدد	النسبة%
إنزيم الهيالبورونيديز والمضاد الجنتامايسين	١٢٣	٨٩	٧٢،٣٦أ	٤٦	٥١،٦٨أ	١٤	٣٠،٤٣أ
المضاد الجنتامايسين وغياب الإنزيم	١٢٠	٧٩	٦٥،٨٣ب	٣٦	٤٥،٥٧ب	١٠	٢٧،٧٨أ
إنزيم الهيالبورونيديز والمضاد البنسلين	١١٨	٨٣	٧٠،٣٤أ	٤١	٤٩،٣٩أ	١٢	٢٩،٢٧أ
المضاد البنسلين وغياب الإنزيم	١٢٢	٧٨	٩٣،٦٣ت	٣٤	٤٣،٥٩ت	٨	٢٣،٥٣أ

الأحرف المختلفة ضمن كل عمود تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى (أ ≥٠,٠٥)(أ ≥٠,٠٥).

أوضحت نتائج الدراسة لوسط التنشيط البراكيت في النطف المجمدة التي أعطت نسبة إنضاج للبويضات بلغت ٦٤,٧٥% في الوسط الزرعي الذي يحتوي على إنزيم الهيالبورونيديز والمضاد الحيوي الجنتامايسين في حين أعطى الوسط الزرعي الذي يحتوي على المضاد الحيوي البنسلين وغياب إنزيم الهيالبورونيديز أدنى نسبة إنضاج للبويضات ٥١,٢٢%، ويتضح من الجدول رقم ٢ وجود فروقات معنوية بين معاملات الدراسة عند إنضاج البويضات في حين لم يختلف معنوياً الوسطان الزرعيان اذ يحتوي الأول على إنزيم الهيالبورونيديز والمضاد الحيوي الجنتامايسين مع الثاني الذي ي حتوي على الإنزيم والمضاد الحيوي البنسلين عند إخصاب وانقسام البويضات الناضجة وقد أعطى الوسط الأول أعلى نسبتي إخصاب وانقسام للبويضات الناضجة بين الأوساط جميعا التي بلغت (٤٠,٥ و ٢٥,٠)% على التوالي وأدنى نسبتي إخصاب وانقسام للبويضات كانت (٢٥,٣٩ و ١٢,٥)% على التوالي في الوسط الزرعي الذي يحتوي على المضاد الحيوي البنسلين وغياب الإنزيم عن الوسط .

٢ - وسط الايرلز لتنشيط النطف :يلاحظ من الجدول رقم ٣ نجاح الوسط الايرلز في تنشيط النطف وإنتاج بويضات مخصبّة وكذلك انقسامها، اذ أعطى الوسط الذي يحتوي على إنزيم الهيالبورونيديز والمضاد الحيوي الجنتامايسين أعلى النتائج في التجربة من ناحية إنضاج البويضات خارج الجسم وبعدها إخصابها و انقسامها

الجدول (٢): تأثير النطف المجمدة في نسبة اخصاب البويضات وانقسامها باستعمال وسط البراكيت لتنشيط النطف

الإضافات على الوسط البراكيت	عدد البويضات	البويضات الناضجة		البويضات المخصبّة		البويضات المنقسّمة	
		العدد	النسبة%	العدد	النسبة%	العدد	النسبة%
إنزيم الهيالليورونيديز والمضاد الجنتامايسين	١٢٢	٧٩	٦٤،٧٥أ	٣٢	٤٠،٥أ	٨	٢٥،٠ا
المضاد الجنتامايسين وغياب الإنزيم	١١٧	٦٦	٥٦،٤١ت	٢١	٣١،٨٢ب	٣	١٤،٢٨ب
إنزيم الهيالليورونيديز والمضاد البنسلين	١٢٠	٧٥	٦٢،٥ب	٢٨	٣٧،٣٣أ	٥	١٧،٨٦أ
المضاد البنسلين وغياب الإنزيم	١٢٣	٦٣	٥١،٢٢ث	١٦	٢٥،٣٩ت	٢	١٢،٥ت

الأحرف المختلفة ضمن كل عمود تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى (أ ≥٠,٠٥).

وبلغت النسب على التوالي (٥٩,٢٠ و ٣٩,١٩ و ٢٠,٦٩)% بينما أعطى الوسط الذي يحتوي على المضاد الحيوي البنسلين وغياب الإنزيم أدنى النسب في إنضاج البويضات وانقسامها (٤٥,٩٧ و ٥,٥٥)% على التوالي ، يبين الجدول رقم ٣ عدم وجود تأثير معنوي بين الوسط الذي يحتوي على الإنزيم والمضاد الجنتامايسين والوسط الذي يحتوي أيضا على الإ نزيم والمضاد البنسلين في كل العمليات التي أجريت وكذلك يلاحظ انعدام التأثير المعنوي بين الأوساط الداخلة في التجربة ما عدا الوسط الذي يحتوي على المضاد البنسلين وغياب الانزيم في أنقسام البويضات .

الجدول (٣) : تأثير وسط الايرلز لتنشيط النطف في نسبة اخصاب البويضات وانقسامها خارج الجسم الحي

الإضافات على الوسط الايرلز	عدد البويضات	البويضات الناضجة		البويضات المخصبّة		البويضات المنقسمة	
		العدد	النسبة%	العدد	النسبة%	العدد	النسبة%
إنزيم الهيالليورونيديز والمضاد الجنتامايسين	١٢٥	٧٤	٥٩،٢أ	٢٩	٣٩،١٩أ	٦	٢٠،٦٩أ
المضاد الجنتامايسين وغياب الإنزيم	١٢١	٦١	٥٠،٤١ب	١٧	٢٧،٨٧ت	٢	١١،٧٦أ
إنزيم الهيالليورونيديز والمضاد البنسلين	١١٩	٦٨	٥٧،١٤أ	٢٤	٣٥،٢٩أ	٤	١٦،٦٧أ
المضاد البنسلين وغياب الإنزيم	١٢٤	٥٧	٤٥،٩٧ت	١٨	٣١،٥٨ب	١	٥،٥٥ب

الأحرف المختلفة ضمن كل عمود تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى (أ ≥٠,٠٥).

توصلت الدراسة الحالية (الجدول ٤) الى أن وسط التنشيط ايرلز ساعد على تكييف النطف بعد التجميد في السائل النتروجيني بعد أحداث إنضاج للبويضات مختبرياً إذ بلغت أعلى نسبة ٥٣,٢٨% من الوسط الذي يحتوي على الإنزيم والمضاد الجنتامايسين بينما أعطى الوسط الذي يحتوي على المضاد البنسلين وغياب الإنزيم أدنى نسبة إنضاج ٤٢,١٥% مع وجود تأثير معنوي بين الأوساط ما عدا الوسطين اللذين يحتويان على الإنزيم ، بينما لم تسجل نسبة الإخصاب تأثيرا" معنويا" بين الأوساط ماعدا الوسط الذي يحتوي على المضاد البنسلين وغياب الانزيم اذ أعطى أدنى نسبة (٢٣,٥٣%) وكانت أعلى نسبة قد أعطيت من قبل الوسط الذي يحتوي على الإنزيم والمضاد الجنتامايسين (٣٣,٨٤%) وكذلك تفوق هذا الوسط حسابيا على جميع الأوساط في نسبة انقسام البويضات المخصبّة اذ بلغت ١٨,١٨% .

تدل نتائج الدراسة الحاليةعلى تأ ثير الأوساط الزرعية وأهمية نوع الإضافات ومصدرها وكميتها في هذه الأوساط لدورها المهم في توفير بيئة مشابهة لدرجة كبيرة لما توفره الجريبة من متطلبات ضرورية ومهمة لغرض الحصول على إنضاج جيد للبويضات وإخصابها خارج الجسم الحي (مختبرياً) .

الجدول (٤) : تأثير النطف المجمدة في نسبة اخصاب البويضات وانقسامها بأستعمال وسط الايرلز لتنشيط النطف

الإضافات على وسط الايرلز	عدد البويضات	البويضات الناضجة		البويضات المخصبّة		البويضات المنقسّمة	
		العدد	النسبة%	العدد	النسبة%	العدد	النسبة%
إنزيم الهياليورونيديز والمضاد الجنتامايسين	١٢٢	٦٥	٥٣،٢٨أ	٢٢	٣٣،٨٤أ	٤	١٨،١٨أ
المضاد الجنتامايسين وغياب الإنزيم	١٢٠	٥٦	٤٦،٦٧ب	١٦	٢٨،٥٧أ	١	٦،٢٥أ
إنزيم الهياليورونيديز والمضاد البنسلين	١٢٥	٦٥	٥٢،٠ا	٢٠	٣٠،٧٧أ	٣	١٥،٠أ
المضاد البنسلين وغياب الإنزيم	١٢١	٥١	٤٢،١٥ت	١٢	٢٣،٥٣ب	١	٨،٣٣أ

الأحرف المختلفة ضمن كل عمود تدل على وجود فرق معنوي عند مستوى (أ ≥٠,٠٥).

ويمكن القول أن وسط TCM–199 المحوّر يعد ذو كفاءة عالية لاحتوائه على العديد من الأحماض الامينية والبروتينات ومصادر الطاقة فضلاً عن وجود العناصر والأملاح اللازمة لإتمام إنضاج البويضات وإخصابها. واتفقت هذه النتائج مع نتائج (Izquierdoوأخرون., ٢٠٠٢) الذين أشاروا الى تأثير الوسط في نسب الأجنة الواصلة لمرحلة كيس العصيفة في المعز وكذلك مع نتائج (Sadler، ١٩٨٤) حول أهمية إضافة أنزيم الهياليورونيديز الذي تحتاجه النطفة لاختراق حاجز التاج المتشعع Corona radiata للبويضة. وجاءت النتائج مطابقة لنتائج Morrell (٢٠٠٦) في أهمية استعمال المضاد الحيوي الجنتامايسين بدلا من المضاد الحيوي البنسلين في المحافظة على النطف من استهلاك طاقتها للتقليل من تراكيز الايض الجرثومي . ومن العوامل التي تؤدي دوراً بارزاً في انجاح عملية الإخصاب الخارجي هو الحفاظ على حركة النطف بشكل جيد في أثناء عملية تكيّفها خارج الجسم وكذلك اختراق البويضة الناضجة (Chamberlandوأخرون ., ٢٠٠٢) وأظهرت التجربة الحالية تأثير التجميد في خفض حيوية النطف الداخلة في التجربة بعد الذوبان وذلك لارتفاع نسب النطف الم شوهة وقلة الحركة الفردية للنطف وتتفق هذه النتائج مع نتائج (Sugulleوأخرون., ٢٠٠٦) .

EFFECT OF SPERM CAPACITATION MEDIA ON *IN VITRO* FERTILIZATION OF ARABI EWES OOCYTES

*****Taha .J . Al-Taha *Khalaf Abdulrazzaq hasan ** Abdul Razak N. Khudair
*Department of Animal Resources, College of Agriculture, University of Basra
**Department of Reproductive Physiology, Veterinary College University of Basra

ABSTRACT

The study was conducted at Assisted Reproductive Technology Center (A R T) College of Medicine, University of Basra , from January , 2009 to January ,2010 . The aim was to study the effect of capacitation media on in vitro fertilization of Arabi ewes oocytes . A total of 2279 oocytes were collected from ovaries obtained from Basra Slaughter House .Oocytes were matured in TCM199 (tissue culture medium 199) supplemented with10%Fetal bovin serum (FBS) to study the effect of capacitation media on their fertilizing ability. freshly ejaculated and frozen thawed spermatozoa were capacitated in 1 of 2 media .A Bracket culture medium or Earle's balanced salt medium . Results revealed that Bracket medium with Hyalouronidase enzyme and Gentamycin instead of Penicillin antibiotics showed significant increase ($P \leq 0.05$) in number of in vitro fertilized

and divided ewe's oocytes as compared with the Earle's in both fresh and frozen thawed spermatozoa .

المصادر

حسن،خلف عبد الرزاق والطه ،طه جاسم ،وخضير،عبد الرزاق نعيم (٢٠١٢) دراسة تأثير بعض العوامل غير الوراثية في انضاج بويضات النعاج و اخصابها خارج الجسم .١ – تأثير اشهر السنة و الموسم في وقطر الجريبات .مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد١٢ العدد(٢):٨-١٣.

Alofi, A. A. and A. R. Alhimaidi, (2004). In vitro Maturation (IVM) and Fertilization (IVF) of Sheep Ova Cultured in Two Different Media . J. King Saud Univ. 16(1): 15–24 .

Anonymous. (2009). SPSS PASW Statistics 18 . WWW. Winwrap. Com Steptoe, P. C. and Edwards, R. G. (1978). Birth after The reimplantation of human embryo Lancet 2 (No.8085), 366.

Chamberland, A.; Fournier, V.; Tardif, S.; Sirard, M. A.; Rullivan, R. and J. L. Bailey, (2001). The effect of heparin on motility parameters and protein phosphorylation during bovine sperm capacitation. Theriogenology 55(3): 823–835 .

Cox, J. F.; Saravia, F.; Avila, J. and Santa A.Maria, (1994). Assessment of fertilizing ability of goat spermatozoa by in vitro fertilization of cattle and sheep intact oocytes . Theriogenology 41 : 1621 – 1629 .

Crozet, N.; Dehirel, M. and L. Gall, (2000). Meiotic competence of in Vitro grown Goat Oocytes. J. Reprod. Fert. 118: 367–373.

Dale, B. and K.Elder, (1997). In vitro Fertilization (ed.). Cambridge University Press. Cambridge. U.K.

De Smedt, V.; Crozet, N.; Ahmed–Ali, M.; Martino, A. and Y.Cognie, (1992). In vitro maturation and fertilization of goat oocytes. Theriogenology. 37: 1049–1060.

Izquierdo, D.; Villamediana, P.; Lopez–Bejar, M. and M. T. Paramio, (2002). Effect of in vitro and in vivo culture on embryo development from prepubertal goat IVM–IVF Oocytes. Theriogenology 57: 1431 – 1441.

Jainudeen, M. R.; Wahid, H. and E. S. E. Hafez, (2000). Ovulation induction, embryo production and transfer. In: Reproduction in Farm Animal. Hafez, E.S.E and Hafez, B. (eds.). 7th Ed., Lippincott Williams and Wilkns, Awolter Kluwer Co., Philadelphia . pp: 405 -430 .

Martino, A.; Mogas, T.; Palomo, M. J. and M.T. Paramio, (1994). In vitro maturation and fertilization of prepubertal goat oocytes. Theriogenology 41: 473 – 485.

Morrell, J. M. (2006). Update on semen technologies for animal breeding. Reprod. Dom. Anim. 41: 63 – 67 .

Parrish, J. J.; Susko–Parrish, J.; Winer, M. A. and N. L. First, (1988). Capacitation of bovine sperm by heparin. Biol. Reprod. 38: 1171- 1180 .

Sadler, T. W. (1984). Langman's Medical Embryology Hartman. Chapill Hill, North Carolina .