ARABIC SUMMARY

الملخـــــص العـــــربى

أجرى هذا البحث فى معمل الأخصاب الخارجى (المركز الدولى للتدريب على رعاية الحيوان) بسخا -كفر الشيخ ، التابع لمعهد بحوث الأنتاج الحيوانى - مركز البحوث الزراعيه - وزارة الزراعه .

كان الهدف من هذا البحث هو دراسة انضاج واخصاب وتطور بويضات الارانب خارج الرحم ويعتبر معرفة الظروف البيئية الملائمة هام جدا لعملية انضاج البويضات واخصابها وتتابع تطورها الطبيعى وهذا يعتبر من أهم دراسات تكنولوجيا الاخصاب الخارجى .

التجربة الاولى :

١ . أ . قياسات مورفولوجية على مبيض الأرانب :

فى هذه التجربة تم ذبح ١٤ أرنبة نيوزيلاندى بيضاء عمر ٦-٧ شهور غير معاملة هرمونيا (مجموعة أولى) وعدد ١٤ أرنبة أخرى معاملة بهرمون PMSG (٧٥ وحده دولية) تم ذبحها بعد حوالى ٦٠ ساعة من المعاملة بالهرمون (مجموعة ثانية) . و ذلك لدراسة تأثير فصل السنه على وزن المبيض و عدد الأجسام الصفراء و الحويصلات المبيضيه وأيضا البويضات المتحصل عليها من كلتا المجموعتين .

و يمكن تلخيص النتائج المتحصل عليها فيما يلى:-

١ . كان لفصل السنة تأثير معنوى (مستوى ١,٪) على وزن المبيض الايسر والأيمن لأرانب المجموعة الأولى بينما هذا التأثير كان غير معنوى لأرانب المجموعة الثانية.

٢ . كان لفصل السنه تأثيرى معنوى (مستوى ٥٪) على عدد الاجسام الصفراء الموجودة على المبيض الأيسر ، بينما كان هذا التأثير غير معنوى على عدد الاجسام الصفراء الموجوده على المبيض الأيمن فى المجموعة الاولى. ولم يكن لفصل السنه تأثير معنوى على عدد الاجسام الصفراء على المبيض الأيسر والأيمن فى المجموعة الثانية.

٣ . كان لفصل السنه تأثير معنوى (مستوى ١٪) على عدد الحويصلات المبيضية الموجودة على المبيض الأيسر للمجموعه الاولى بينما كان هذا التأثير غير معنوى على عدد الحويصلات المبيضيه الموجوده على المبيض الايمن فى كلا من المجموعتين و أيضا المبيض الايسر فى المجموعه الثانيه ، بينما هذا التأثير كان معنويا (مستوى ٥٪) بالنسبة لعدد الحويصلات المبيضية الكلية فى كلا المجموعتين.

٤ . لم يكن لفصل السنه تأثير معنوى على عدد البويضات المتحصل عليها فى المجموعة الأولى ، بينما هذا التأثير كان معنويا (مستوى ٥٪) فى المجموعة الثانية.

١ . ب . الانضاج الخارجى لبويضات الأرانب :

فى هذه الدراسة تم انتخاب البويضات الجيدة المجمعة من اناث الارانب الغير معامله هرمونيا وكذلك من الاناث المعامله بهرمون PMSG فى مواسم مختلفة من السنه ثم تم غسلها وزراعتها فى بيئة الانضاج TCM-199 مضافا اليها سيرم دم أجنة الابقار (FCS) أو البيومين سيرم دم الابقار (BSA) وتم بعد ذلك تحضينها فى محضن لمدة ٢٠ ساعة فى جو يتكون من٥٪ ثانى أوكسيد الكربون و ٩٥٪ هواء . بعد انتهاء فترة التحضين تم اختبار البويضات المنزرعة لمعرفة درجة النضج وقيمت على حسب مراحل انضاجها . وكانت النتائج المتحصل عليها كالاتى :-

١ . ليس هناك تأثير معنوى لموسم السنه على عملية الانضاج الخارجى .

٢ . اضافة سيرم دم أجنة الأبقار (FCS) الى بيئة الانضاج أدى الى زيادة نسبة البويضات الناضجة مقارنه بأضافه ألبيومين سيرم دم الأبقار(BSA) حيث كانت ٧٣,١٪ مقابل ٥٤,٤٪ للبويضات المجمعه من اناث الارانب الغير معامله هرمونيا و ٨١,٣٪ مقابل ٦٥,٢٪ للبويضات المجمعه من الارانب المعامله بهرمون PMSG على التوالى.

٣ . وبغض النظر عن تأثير موسم السنة وكذلك اضافة FCS أو BSA الى بيئة الانضاج وجد أن نسبة البويضات الناضجة المجمعة من الاناث المعامله هرمونيا كانت أعلى بدرجة معنويه (مستوى ٥٪) عن نسبة البويضات الناضجة المجمعة من الاناث الغير معامله هرمونيا (٧٣,٢٪ مقابل ٦٣,٧٪) .

١ . ج . الاخصاب الخارجى لبويضات الأرانب :

تم تجميع البويضات الناضجة وزراعتها فى بيئتى اخصاب مختلفتين (Brackett's أو TCM-199) مع ثلاث مستويات مختلفة من الاسموزية لكل بيئه (٢٨٥ و ٣٠٥ و ٣٢٥ مللى اسمول/ كجم) وذلك فى مواسم السنة المختلفة . كما تم تلقيحها بحيوانات منويه ناضجه خارجيا وحضنا كلاهما معا لمدة ٢٤ ساعه .

أوضحت النتائج المتحصل عليها بعد مرور ٢٤ ساعه من التلقيح والتحضين الأتى :-

١ . ليس هناك تأثير معنوى لموسم السنه على عمليه الاخصاب الخارجى .

٢ . دلت النتائج على أن بيئة الاخصاب Brackett's أدت الى ارتفاع معدل الاخصاب الخارجى مقارنة ببيئة الاخصاب الاخرى TCM-199(٣١ ٪ مقابل ٢٠,٧٪ للبويضات المجمعة من إناث الأرانب الغير معاملة هرمونيا وكانت هذه النسبه ٣٢,٢٪ مقابل ٢٤,٣٪ لبويضات الإناث المعاملة بهرمون PMSG) .

٣ . كما وجد أيضا أن معدل الأخصاب كان مرتفعا ٤١,٣٪ للبويضات المنزرعه فى بيئات ذات الاسموزيه ٣٠٥ بينما كانت هذه النسبه ٢٤,٧٪ و ١٠.٧٪ للبيئات ذات الاسموزيه ٢٨٥ و ٣٢٥ مللى أسمول/كجم على التوالى و ذلك بالنسبه للبويضات المجمعة من الإناث الغير معامله هرمونيا و كانت نسبه الإخصاب ٤٦,٨ و٢٦,١ و ١١٪ للبيئات ذات أسموزية ٣٠٥ و٢٨٥ و٣٢٥ مللى اسمول /كجم على التوالى للبويضات المجمعه من الاناث المعامله بهرمون PMSG .

٤ . و بغض النظر عن تأثير موسم السنه وكذلك تأثير بيئة الإخصاب وأيضا مستوى الأسموزية لكل بيئة وجد أن نسبة البويضات المخصبة المجمعة من الاناث المعاملة هرمونيا كانت أعلى بدرجة غير معنوية عن نسبة البويضات المخصبه المجمعة من الاناث الغير معاملة هرمونيا (٢٨,٣٪ مقابل ٢٥,٩٪) .

١ . د . التطور الخارجى لأجنة الأرانب :

تم زراعه البويضات المخصبه فى نفس البيئتين السابقتين وبنفس مستويات الأسموزيه السابقه لمدة خمسة أيام أخرى مع أستبدال البيئه يوميا .

أوضحت النتائج المتحصل عليها الأتى :-

١ . ٢٠,٨٪ من البويضات المخصبة والمنزرعة فى بيئة النمو TCM-199 قد تطورت الى مرحلة الجسم التوتى (Morula) بعد ٧٢-٩٦ ساعة من التلقيح الخارجى ، بينما كانت هذه النسبة ١٣,٩٪ للبويضات المخصبة المنزرعة فى بيئة النمو Brackett's وذلك للبويضات المجمعة من اناث الأرانب الغير معاملة هرمونيا. بينما كانت هذه النسبة ٢٨,٩٪ و٢٣,١٪ لبيئتى النمو TCM-199 و Brackett's على التوالى وذلك للبويضات المجمعة من اناث الأرانب المعاملة هرمونيا.

٢ . ١٦,٧٪ تطورت الى مرحلة الطور الجرثومى المبكر (Early blastocyst) بعد ٩٦-١٢٠ ساعة من التلقيح الخارجى وذلك فى بيئة النمو TCM-199 بينما كانت هذه النسبه ٥,٦٪ فى بيئة النمو Brackett's وذلك للبويضات المجمعة من الاناث الغير معاملة هرمونيا . وكانت هذه النسبه ١٨,٤ مقابل ١٣,٥ للبويضات المجمعة من الاناث المعاملة هرمونيا .

٣ . وجد أن البيئه ذات الاسموزيه ٣٠٥ مللى أسمول/كجم هى فقط التى شجعت البويضات المخصبه على أن تكمل نموها الى مراحل متقدمه (الطور التوتى Morula أو الطور الجرثومى Blastocyst) بينما فشلت الأجنه المنزرعه فى البيئات ذات مستوى الاسموزية ٢٨٥ . ٣٢٥ فى الوصول لهذين الطورين من التطور.

٤ . وبغض النظر عن تأثير بيئة النمو ومستوى الاسموزية فإن نسبة البويضات المخصبة التى تطورت الى الطور التوتى (Morula) والطور الجرثومى (Blastocyst) بالنسبة للبويضات المجمعة من اناث معاملة هرمونيا كانت ٢٥,٦ و ٨,٩٪ بينما كانت هذه النسبه ١٦,٧ و ٣,٣٪ على التوالى للبويضات المجمعة من الاناث الغير معاملة هرمونيا .

التجربة الثانية :

٢ . أ . قياسات مورفولوجية على مبيض الأرانب:

فى هذه التجربة تم معاملة اناث الارانب بهرمون PMSG (١٥٠وحده دوليه) أعقبها بحوالى ٨٣ ساعه الحقن بهرمون HCG (٧٥ وحده دوليه) وذلك لاحداث التبويض المتعدد .

تم ذبح عدد خمسة من اناث الارانب بعد حوالى ١٠ ساعات من الحقن بهرمون HCG (المجموعة الاولى) ، بينما ذبحت المجموعة الثانيه من الاناث (عدد ١٠ اناث) بعد حوالى ١٢ ساعه من الحقن بهرمون HCG و ذلك فى مواسم مختلفه من السنه .

وكانت النتائج المتحصل عليها كالأتى:-

١ . كان لفصل السنة تأثير معنوى (مستوى ١٪) على وزن المبيض الايسر والأيمن لأرانب المجموعة الثانيه ، بينما كان هذا التأثير غير معنوى لأرانب المجموعة الاولى.

٢ . كان لفصل السنه تأثير غير معنوى على عدد الاجسام الصفراء الموجودة على المبيض الأيسر و الايمن فى المجموعة الاولى و المجموعة الثانية.

٣ . كان لفصل السنه تأثير معنوى على عدد الحويصلات المبيضية الموجودة على المبيض الأيسر ،بينما هذا التأثير كان غير معنوى على عدد الحويصلات المبيضية الموجودة على المبيض الايمن و العدد الكلى للحويصلات على كلا المبيضين و ذلك فى أرانب المجموعه الاولى. بينما فى أرانب المجموعه الثانيه فان فصل السنه لم يكن له تأثير معنوى .

٤ . كان لفصل السنه تأثير غير معنوى على عدد البويضات المتحصل عليها فى المجموعة الأولى و المجموعة الثانية.

٢ . ب . الاخصاب الخارجى لبويضات الأرانب :

تم أستخلاص البويضات من الحويصلات المبيضية وزراعتها فى بيئتى اخصاب مختلفتين (Brackett's أو TCM-199) ذلك بالنسبه للمجموعه الاولى (التى ذبحت بعد ١٠ ساعات من حقن HCG). كما تم أيضا الحصول على البويضات من الحويصلات المبيضية وقناة المبيض و ذلك بالنسبه للمجموعة الثانية (التى ذبحت بعد ١٢ ساعه من حقن HCG) ثم تم زراعتها فى بيئى الإخصاب السابقتين كلا على حدة.

تم اضافة الحيوانات المنوية الناضجه خارجيا الى بويضات اناث المجموعة الأولى والثانية المنزرعة وحضنت معا على درجه ٣٨°م وفى جو يتكون من ٥٪ ثانى أكسيد الكربون و ٩٥٪ هواء و نسبة ٧٠-٨٠ ٪ رطوبة لمدة ٢٤ساعة.

أوضحت النتائج المتحصل عليها بعد مرور ٢٤ ساعه من التلقيح والتحضين الأتى :-

١ . بالنسبه للمجموعه الاولى لم يلاحظ فرق معنوى بين نسبة الأخصاب للبويضات المنزرعه فى بيئه الأخصاب Brackett's و بيئه الأخصاب TCM-199 حيث كانت هذه النسبه ٤٩,٤٪ و ٤٢,٧٪ على التوالى .

٢ . كما وجد أيضا أن بيئه الأخصاب Brackett's تشجع زيادة نسبة البويضات المخصبه عن بيئة الأخصاب TCM-199 (٥٦٪ مقابل٤٦,٦٪) و كان هذا الفرق معنوى أحصائيا و ذلك بالنسبه للمجموعه الثانيه و بغض النظر عن مصدر البويضات .

٣ . وجد أن البويضات التى مصدرها قناة المبيض ذات نسبة إخصاب عالية عن البويضات التى مصدرها الحويصلات المبيضية ٦١,٦٪ مقابل ٤٧٪ و كان هذا الفرق معنوى أحصائيا و ذلك بالنسبه للمجموعه الثانيه .

٢ . ج . التطور الخارجى لأجنة الأرانب :

تم زراعه البويضات المخصبه من المجموعه الاولى (التى ذبحت بعد ١٠ ساعات من حقن HCG) والثانيه (التى ذبحت بعد ١٢ ساعه من حقن HCG) فى نفس البيئتين السابقتين لمدة خمسة أيام أخرى مع أستبدال البيئه يوميا .

أوضحت النتائج المتحصل عليها الاتى:-

١ . دلت نتائج المجموعه الاولى على أن بيئة النمو TCM-199 ساعدت على تطور نسبه أعلى من الأجنه للوصول الى الجسم التوتى (Morula) و الطور الجرثومى (Blastocyst) و كذلك الطور الجرثومى المتمدد (Expanding blastocyst) حيث كانت هذه النسب ٧, ٤٤٪ و ٢, ١٣٪ و ٦, ٢٪ على التوالى بينما كانت هذه النسب للأجنه المنزرعه فى بيئة النمو Brackett's هى ٨, ٣١٪ و ٥, ٤٪ و ٣, ٢٪ على التوالى ، و كان هناك فرق معنوى واضح فى نسبة الأجنه التى تطورت الى مرحلة الطور الجرثومى المبكر (Early blastocyst) حيث كانت ٣, ٢٦٪ للأجنه المنزرعه فى بيئة النمو TCM-199 بينما كانت هذه النسبه ٨, ٦٪ للأجنه المنزرعه فى بيئة النمو Brackett's .

٢ . دلت نتائج المجموعة الثانيه على أن نسبة الأجنة التى استمرت الى الجسم التوتى (Morula) كانت أعلى نسبيا فى بيئة Brackett's (٣, ٤٥٪) عن بيئة النمو TCM-199 (٨, ٤٠٪) ، بينما نسبة الأجنة التى استمرت حتى مرحلة الطور الجرثومى المبكر (Early blastocyst) و الطور الجرثومى(Blastocyst) والطور الجرثومى المتمدد (Expanding blastocyst) كانت أعلى نسبيا فى بيئة النمو TCM-199 (٤, ٢٥٪ و ٣, ١١٪ و ٦, ٥٪ على التوالى) عن الأجنة المنزرعة فى بيئة النمو (١, ٢٢٪ و ٣, ٩٪ و ٥,٣٪ على التوالى).

٣ . كما وجد من النتائج أيضا بالنسبة للمجموعة الثانية أن نسبة تطور الأجنة التى مصدرها البويضات المتحصل عليها من قناة المبيض أعلى بدرجه معنوية عن الأجنة التى مصدرها البويضات المتحصل عليها من الحويصلات المبيضية. حيث كانت ٦١,٤٪ مقابل ٣٣٪ للجسم التوتى (Morula) و ٣٣,٣٪ مقابل ١٨٪ للطور الجرثومى المبكر (Early blastocyst) و١٧,٥٪ مقابل ٦ ٪ للطور الجرثومى (Blastocyst) . وكانت الفروق غير معنوية بين مصدرى البويضات فى نسبة تطور الأجنة الى مرحلة الطور الجرثومى المتمدد (Expanding blastocyst) حيث كانت ٧٪ مقابل ٣٪ على التوالى .