الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية الهندسة الزراعية
قسم الإنتاج الحيواني

تأثير hCG أو GnRH في الديناميكية الجريبية ومعدل الحمل بعد توقيت الإباضة عند نعاج العواس

أطروحة أعدّت لنيل درجة الدكتوراه في الإنتاج الحيواني
(فيزيولوجيا التناسل)

إعداد المهندسة

عبير عيسى سلوم

إشراف

المشرف العلمي	المشرف المشارك
الدكتور محمد الصالح	الدكتور المعتصم بالله الدقر
الأستاذ المساعد في قسم الإنتاج الحيواني - كلية الزراعة - جامعة دمشق -	الباحث في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية

2022

قدمت هذه الأطروحة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الدكتوراه في الإنتاج الحيواني (فيزيولوجيا التناسل) من كلية الزراعة – جامعة دمشق، نوقشت هذه الأطروحة الموسومة بعنوان " **تأثير hCG أو GnRH في الديناميكية الجريبية ومعدل الحمل بعد توقيت الإباضة عند نعاج العواس**" في جلسة علنية يوم الخميس بتاريخ 2022/8/11 ، وأجزيت من قبل لجنة الحكم المؤلفة من السادة الأساتذة:

أ.د. علي العلي **عضواً**

الأستاذ في قسم الإنتاج الحيواني – كلية الزراعة – جامعة الفرات

أ.د. أحمد الشيخ **عضواً**

الأستاذ في قسم الإنتاج الحيواني – كلية الزراعة – جامعة دمشق

أ. د. صاموئيل موسى **عضواً**

الأستاذ في قسم الإنتاج الحيواني – كلية الزراعة – جامعة دمشق

أ.م.د. محمد الصالح **عضواً مشرفاً**

الأستاذ المساعد في قسم الإنتاج الحيواني – كلية الزراعة – جامعة دمشق

د. عدنان الأسعد **عضواً**

باحث وخبير في المركز العربي (أكساد)

2022

تصريح

أنا الموقعة أدناه عبير عيسى سلوم

أصرح بعلمي الكامل وقبولي:

1. أن كل ما ينتج عن البحث والأطروحة هو ملكية فكرية ومالية شريكة فيه جامعة دمشق، وإنني ألتزم بأخذ موافقة الجامعة في حال رغبتي بنشر البحث أو الأطروحة أو جزء منها نصاً أو مضموناً خارج إطار الجامعة (من دور نشر أو مكتبات أو مواقع إلكترونية وغيرها من وسائل النشر).
2. أنه لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم اقتباسه من عمل علمي آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في جامعة دمشق أو أية جامعة أو معهد تعليمي داخل الجمهورية العربية السورية أو خارجها.

المرشحة

عبير عيسى سلوم

شهادة

نشهد أن العمل الموصوف في هده الأطروحة بعنوان" **تأثير hCG أو GnRH في الديناميكية الجريبية ومعدل الحمل بعد توقيت الإباضة عند نعاج العواس**" هو نتيجة بحث علمي قامت به المرشحة عبير عيسى سلوم بإشراف الدكتور محمد الصالح الأستاذ المساعد في قسم اللإنتاج الحيواني في كلية الزراعة – جامعة دمشق، والدكتور المعتصم بالله الدقر الباحث لدى الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، وأن المراجع المستخدمة في هذه الرسالة موثوقة أصولاً ضمن صفحة المراجع.

المرشحة	المشرف المشارك	المشرف العلمي
م. عبير عيسى سلوم	د. المعتصم بالله الدقر	د. محمد الصالح

Certificate

It is hereby certificated that the work described in this thesis:

"Effect of hCG or GnRH on follicular dynamics and pregnancy rate after ovulation synchronization in Awassi ewes"

is the result of the scientific research carried out by the candidate Abir Issa Salloum under the supervision of Assistant Prof. Mohammed Saleh, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Damascus University, and Dr. AL-Moutassem Billah AL-Daker, a Researcher in General Commission for Scientific Agricultural Research، and any reference to other research works has been cited in the text.

Candidate	Co-supervisor	Supervisor
Abir Issa Salloum	Dr. AL-Moutassem Billah AL-Daker	Dr. Mohammed Saleh

كلمة شكر

بعض النعم على هيئة أشخاص .....

مهما بحثت عن كلمات شكرٍ لكم سوف تشعرني دوماً بقصورها وعدم إيفائها حقكم... لقد أنعم الله تعالى علي بإتمام هذا البحث ... وكان نجاحي مضاعفاً لوقوفكم معي ودعمكم ومساندتكم لي ... وأخص بالشكر:

والدي ووالدتي ... زوجي المهندس **ياسين محمد وبناتي... لمى... صبا... نور... داليا**

أستاذي المشرف الدكتور **محمد الصالح** على ما خصني به من التوجيه والتصويب ... وما علمني من فيض إنسانيته وخلقه الرفيع ومستواه العلمي الراقي... كما أتوجه بالشكر الكبير للدكتور **منصور أحمد** مدير إدارة بحوث الثروة الحيوانية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية والمشرف المشارك الدكتور **المعتصم بالله الدقر** والمهندس **موفق عبد الرحيم** على المساعدات الكبيرة التي قدموها لي لإتمام الجزء العملي من هذا البحث... وشكر خاص لصديقتي ورفيقة أيام العمل المجهد حتى النهاية ... الدكتورة **أسيل الكرجوسلي** ... وأشكر زميلي المحترم.الدكتور **إياد علي ديب** على وقفته الأخوية معي وزملائي المحترمين الدكتور **عبد المجيد يسوف** والمهندس **محمد حسن** والمهندس **محمود الشيخ حسين** على تعاونهم ومساعدتهم الكريمة ... والشكر الكبير والإمتنان لصديقتي الدكتورة **سوسن حسن** خبيرة في مجال الأعلاف – إيكاردا على ما قدمته لي من مساعدة في توفير المراجع البحثية... كما أتوجه بالشكر للدكتور **شادي سكرية** رئيس قسم علم الحياة الحيوانية – كلية العلوم – جامعة دمشق على إتاحة الفرصة لي لإجراء التحاليل المخبرية للهرمونات قي مخبر الدراسات العليا.

فهرس المحتويات

تصريح خطي ج
شهادة..... د
كلمة شكر..... ه
فهرس المحتويات..... و
قائمة الجداول List of Tables..... ط
قائمة الصور ..... ل
قائمة الاختصارات والمصطلحات ..... م
الملخص ..... ع
المقدمة Introduction..... 1
الفصل الأول: الدراسة المرجعية..... 5
1-1 وصف دورة الشبق عند النعجة 7
1-1-1 سلوك الشبق 8
1-2 الوطاء – الغدة النخامية..... 9
1-2-1 نماذج GnRH وLH 9
1-2-2- الهرمون المنشط للجريب FSH..... 10
1-3 المبيض..... 11
1-3-1 الديناميكية الجريبية..... 11
1-3-2 الإباضة 14
1-3-3 إفراز هرمونات المبيض 15
1-3-4 البروستاغلاندينات الرحمية..... 17
1-4 التحكم بإفراز GnRH وLH المنشطة من قبل ستيروئيدات المبيض 17
1-4-1 مولد ذبذبات GnRH 18
1-4-2 تأثيرات الأُستراديول والبروجسترون 18
1-4-3 الآليات التي يتوسط بها البروجسترون الآلية الارتجاعية السلبية 19
1-4-4 الآليات التي يتوسط بها الأُستراديول في الآلية الارتجاعية السلبية 19

1-4-5 التحكم الهرموني بموجتي GnRH وLH 21

1-5-1 آليات عمل الأُستراديول 22

1-5-2 آلية عمل البروجسترون 23

1-6 التحكم بسلوك الشبق 25

1-6-1 التحكم الهرموني 25

1-6-2 التحكم العصبي 26

1-6-3 التحكم بالتطور الجريبي 27

1-6-4 التحكم في معدل الإباضة 29

1-7 تنظيم إفراز الهرمونات من الجريب 30

1-8 التحكم بإفراز بروجسترون الجسم الأصفر 32

1-9 تطور الجسم الأصفر 32

1-9-1 دعم الجسم الأصفر 33

1-9-2 انحلال الجسم الأصفر 34

1-10 دورة الشبق عند النعجة 36

1-11 التنظيم الموسمي للدورة المبيضية عند النعجة 38

1-11-1 كيف يُسهم التغير السنوي في الآلية الارتجاعية السلبية للأُستراديول في موسمية التناسل 39

1-11-2 الآليات الهرمونية العصبية التي تتوسط التغير الفصلي في الإستجابة للآلية الارتجاعية السلبية للأُستراديول 40

1-12 تأثيرات الفرمونات والتفاعلات الاجتماعية 41

الفصل الثاني: مناهج البحث وأدواته..... 43

2-1 مكان تنفيذ البحث 44

2-2 حيوانات الدراسة 44

3-1 منهجية البحث 45

3-1-1 توقيت الإباضة داخل موسم التناسل 45

3-1-2 تحريض الشبق والإباضة خارج موسم التناسل 46

3-1-3 مراقبة الشبق 47

3-1-4 مراقبة النمو الجريبي 47

3-1-5 تحضير محلول التمديد 48

3-1-6 جمع السائل المنوي وتمديده 48

3-1-7 تشخيص الحمل 49

3-1-8 عينات الدم 49

4-1 المؤشرات المدروسة 56

الفصل الثالث: النتائج والمناقشة 60

أولاً: النتائج 61

5-1 داخل موسم التناسل 61

5-1-1 تأثير المعاملة الهرمونية في حدوث دورات الشبق القصيرة 61

5-1-2 تأثير المعاملة الهرمونية في عدد الجريبات 66

5-1-3 تركيز هرمون الأُستراديول 71

5-1-4 تركيز هرمون البروجسترون 72

5-1-5 تركيز الكوليسترول 74

6-1-5 علاقة الارتباط بين الكوليسترول وكل من البروجسترون والأُستراديول 75

5-2 خارج موسم التناسل 77

ثانياً: المناقشة 84

6-1 داخل موسم التناسل 84

6-2 خارج موسم التناسل 87

الفصل الرابع: الاستنتاجات والمقترحات 90

الاستنتاجات 91

المقترحات 92

الخاتمة 92

المراجع 93

Abstract 126

قائمة الجداولList of Tables

رقم الجدول	عنوان الجدول	الصفحة
الجدول (1)	مكونات الخلطة العلفية المركزة المقدمة للحيوانات ونسبتها	44
الجدول (2)	أعداد نعاج مجموعات الدراسة بحسب المعاملة الهرمونية داخل موسم التناسل	46
الجدول (3)	أعداد نعاج مجموعات الدراسة بحسب المعاملة الهرمونية خارج موسم التناسل	47
الجدول (4)	تركيب المحاليل المستخدمة في معايرة الكولسترول	50
الجدول (5)	تفاعلات التصالب بين الأُستراديول والهرمونات الستيروئيدية الأخرى	54
الجدول (6)	تفاعلات التصالب بين البروجسترون والهرمونات الستيروئيدية الأخرى	56
الجدول (7)	نتائج تطبيق تعليمة REG	59
الجدول (8)	بداية الشبق (ساعة بعد حقنة GnRH) ومدته (ساعة) في النعاج المعاملة ببرنامج Ovsynch متبوعاً بتحريض الإباضة باستخدام GnRH وhCG مقارنة مع الشاهد	61
الجدول (9)	مدة الشبق (ساعة) في النعاج المعاملة ببرنامج Ovsynch متبوعاً بتحريض الإباضة باستخدام GnRH وhCG مقارنة مع الشاهد	61
الجدول (10)	معدل دورات الشبق القصيرة والحمل والولادات عند نعاج العواس المعاملة بـ hCG أو GnRH داخل موسم التناسل	63
الجدول (11)	الإحصاءات الخاصة بمعدل الحمل بحسب المعاملة داخل الموسم	63
الجدول (12)	تقديرات تحليل الاحتمال الأعظمي للعامل المؤثر في معدل حدوث دورات الشبق القصيرة	65
الجدول (13)	معاملات الإرتباط بين الكوليسترول والأستراديول خلال فترة اخذ العينات	75
الجدول (14)	معاملات الإرتباط بين الكوليسترول والبروجسترون خلال فترة اخذ العينات	76
الجدول (15)	معاملات الإرتباط بين الأُستراديول وإجمالي عدد الجريبات	77
الجدول (16)	تحليل التباين لمعدل النمو الجريبي بعد 24 ساعة من حقن eCG خارج موسم التناسل	81
الجدول (17)	تحليل التباين لمعدل النمو الجريبي بعد 48 ساعة من حقن eCG خارج موسم التناسل	81

الجدول (18)	متوسط قطر الجريب الإباضي/مم عند المجموعات الثلاثة خارج الموسم لحظة حقن GnRH	82
الجدول (19)	نسبة الحمل عند المجموعات الثلاث خارج موسم التناسل	82
الجدول (20)	الإحصاءات الخاصة بمعدل الحمل بحسب المعاملة خارج الموسم	83

قائمة الأشكالList of Figures

رقم الشكل	عنوان الشكل	الصفحة
الشكل(1)	مخطط توقيت الإباضة والتلقيح الصنعي وتوزيع النعاج على المجموعات التجريبية داخل موسم التناسل	45
الشكل(2)	مخطط توقيت الإباضة والتلقيح الصنعي وتوزيع النعاج على المجموعات التجريبية خارج موسم التناسل	46
الشكل(3)	العلاقة بين الكثافة الضوئية وتراكيز الأُستراديول	53
الشكل(4)	العلاقة بين الكثافة الضوئية وتراكيز البروجسترون	55
الشكل(5)	متوسط أعداد الجريبات الصغيرة عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن GnRH وبعدها بـ 60 ساعة و84 ساعة.	66
الشكل(6)	متوسط أعداد الجريبات المتوسطة عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن GnRH وبعدها بـ 60 ساعة و84 ساعة.	68
الشكل(7)	متوسط أعداد الجريبات الكبيرة عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن GnRH وبعدها بـ 60 ساعة و84 ساعة.	70
الشكل(8)	متوسط تراكيز الأُستراديول بغ/مل عند ثلاث مجموعات من النعاج المعاملة ببرنامج Ovsynch متبوعة بتحريض الإباضة باستخدام hCG أو GnRH مقارنة مع الشاهد	72
الشكل(9)	متوسط تراكيز البروجسترون نغ/مل عند ثلاث مجموعات من النعاج المعاملة ببرنامج Ovsynch متبوعة بتحريض الإباضة باستخدام hCG أو GnRH مقارنة مع الشاهد	73
الشكل(10)	مستويات الكوليسترول عند نعاج مجموعتي الدراسة مع مجموعة الشاهد بعد حقن hCG وGnRH	74
الشكل(11)	متوسط أعداد الجريبات الصغيرة عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن eCG وبعدها بـ 24 ساعة و48 ساعة.	78
الشكل(12)	متوسط أعداد الجريبات المتوسطة عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن eCG وبعدها بـ 24 ساعة و48 ساعة.	79
الشكل(13)	متوسط أعداد الجريبات الكبيرة عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن eCG وبعدها بـ 24 ساعة و48 ساعة.	80
الشكل(14)	معدّل النمو الجُريبيّ (مم/اليوم) في مبيضي نعاج المجموعات الثلاثة بعد حقنها بهرمون eCG بـ 24 و 48 ساعة خارج موسم التناسل	81

قائمة الصورList of Photo

رقم الصورة	عنوان الصورة	الصفحة
الصورة(1)	حالة حمل توأم عند إحدى نعاج المجموعات التجريبية	64
الصورة(2)	حالة حمل مفرد عند إحدى نعاج المجموعات التجريبية	64
الصورة(3)	الجريبات صغيرة الحجم على مبيضي إحدى نعاج المجموعات التجريبية	67
الصورة(4)	الجريبات متوسطة الحجم على مبيضي إحدى نعاج المجموعات التجريبية	69
الصورة(5)	الجريبات كبيرة الحجم على مبيضي إحدى نعاج المجموعات التجريبية	71

قائمة الاختصارات والمصطلحات List of Abbreviations and Terrminology

الاختصار	المعنى باللغة الإنكليزية	المعنى باللغة العربية
AI	Artificial Insemination	التلقيح الصُنعي
ARC	Arcuate nucleus	النواة المقوسة
BMP2	Bone morphogenetic proteins-2	البروتينات المورفوجينية العظمية -2
BMP6	Bone morphogenetic proteins-6	البروتينات المورفوجينية العظمية -6
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate	3′،5′ أدينوسين أحادي الفوسفات الحلقي
$CD4^+$	T- Lymphocytes 4^+	الخلايا الليمفاوية التائية 4^+
$CD8^+$	T- Lymphocytes 8^+	الخلايا الليمفاوية التائية 8^+
CD8αα	T- Lymphocytes 8+α	الخلايا الليمفاوية التائية 8+ألفا
CSF	Cerebrspinal fluid	السائل الدماغي الشوكي
Cx43	Vacuole connection protein	بروتين الإتصال الفجوي 43
D_2R	Dopamine receptor agonist	ناهض مستقبل الدوبامين
DA	Dopamina	هرمون الدوبامين
eCG	Equine chorionic gonadotropin	منشط المناسل المشيمائي الخيلي
EOPs	Opiate peptides	ببتيدات أفيونية المنشأ
EOP	Endogenous Opiate peptides	البيبتيدات الأفيونية الذاتية
ERα	Estrogen receptor alpha	مستقبل هرمون الأستروجين ألفا
FGF_2	Fibroblast growth factor	عامل نمو الخلايا الليفية
FOS	Fructooligosaccharides	فركتوز قليل السكر
FSH	Follicle-Stimulating Hormone	الهرمون المنشط للجريب
FSHβ	Follicle-Stimulating Hormoneβ	الهرمون المنشط للجريب بيتا
GABA	Y-Aminobutyric acid	حمض غاما أمينو بوتيريك

هرمون النمو	Growth hormone	**GH**
الهرمون المحرّر لمُنشِّطات الغُدَدِ التَّنَاسُلِيَّة	Gonadotropin-releasing hormone	**GnRH**
موجه المناسل المشيمائي البشري	Human Chorionic Gonadotropin	**hCG**
هرمون النموشبيه الأنسولين -1	Insulin-like growth factor 1	**IGF1**
هرمون كسبيبتين 1	Kisspeptin hormone1	**Kiss1**
مستقبل هرمون	Kisspeptin hormone receptor1	**Kiss1R**
عصبونات كسبيبتين، نويروكينينβ، دينورفين	Kisspeptin,neurokinin B,and dynorphin neurons	**KNDy**
هرمون الإباضة	Luteinizing Hormone	**LH**
منطقة الوطاء القاعدية الأنسية	Medial Basal Hypothalamus	**MBH**
نشاط كهربائي متعدد الوحدات	Multiunit electrical activity	**MUA**
نور إبينفرين	Norepinephrine	**NE**
الناقل العصبي نور إبينفرين	Norepinephrine neurotransm.	**NEA**
الناقل العصبي نور إبينفرين -1	Norepinephrine neurotransm.-1	**NEA1**
نويروكينين-B	Neurokinin-B	**NK-B**
استئصال مبايض	Ovariectomy	**OVX**
استئصال مبايض نعجة	Ovariectomy ewe	**OVX+Ewe**
البروستاغلاندين E_2	Prostaglandin E_2	**PGE_2**
البروستاغلاندين F2α	Prostaglandin F2α	**$PGF_{2\alpha}$**
الباحة أمام البصرية	Preoptic area anterior	**POA**
مستقبل هرمون البروجسترون	Progesterone receptor	**PR**
الحمض النووي الريبوزي المرسال	Messenger ribonucleic acid	**RNA m**
ناهضات مستقبل البروجسترون486	Progesterone receptor agonists 486	**RU486**

البروتين التنظيمي الحاد المولد للسيتروئيدات	Steroidogenic acute regulatory protein	**STAR**
عامل نخر الورم ألفا	Tumor necrosis factor alpha	**TNFα**
منشط البلاسمينوجين نمط يوركيناز	Urokinase-type plasminogen activator	**UPA**
عامل النمو الوعائي البطاني	Vascular endothelial growth factor	**VEGF**
النواة الوطائية البطنية الأنسية	Ventromedial hypothalamic nucleus	**VMN**
خلايا لمفاوية تائية	T lymphocytes	**$\gamma\delta$+**

الملخص

نُفذ البحث في محطة دير الحجر التابعة للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية بهدف تقليل الانحلال اللوتيئيني المبكر باستبدال الهرمون المحرض للإباضة hCG بـ GnRH بعد 72 ساعة من التلقيح عند نعاج العواس داخل موسم التناسل وخارجه. وقّتت الإباضة داخل موسم ل .38 نعجة التناسل باستخدام برنامج Ovsynch، أما خارج موسم التناسل فحُرّض الشبق عند 40 نعجة بإدخال الإسفنجات المهبلية لمدة 14 يوماً و حُقن 650 وحدة دولية من هرمون eCG بالتزامن مع سحب الإسفنجات المهبلية في صباح اليوم الرابع عشر. حُرّضت الإباضة عند النعاج بـ 1.5 مل من هرمون GnRH بعد 52 ساعة تالية لُقحت النعاج صنعياً بعد 12–16 ساعة، وزعت النعاج عشوائياً بعد 72 ساعة من التلقيح إلى ثلاث مجموعات، حقنت المجموعة الأولى بـ 37.5 مايكروغرام إحدى نظائر Lecirelin GnRH، وحقنت المجموعة الثانية بـ 1000 وحدة دولية من hCG، وتُركت المجموعة الثالثة كشاهد وحُقنت بـ 1مل محلول فيزيولوجي NaCl. جمعت عينات الدم يومياً بعد المعاملة بـ GnRH، وحللت البلازما لمعرفة تراكيز الأُستراديول – البروجسترون – الكوليسترول. شُخّصت المبايض عند حقنة GnRH، وبعد 60 و84 ساعة باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتيّة، و شُخّص الحمل بالأمواج فوق الصوتية عبر المستقيم في اليوم 35 بعد التلقيح الصنعي. لم يختلف عدد الجريبات المبيضية وحجمها (P>0.05) بين مجموعات الدراسة. داخل موسم التناسل لم تتأثر بداية الشبق ومدته بالمعاملة (P>0.05)، و لم تُسجل أي اختلافات كبيرة (P<0.05) في تراكيز الأُستراديول والبروجسترون والكوليسترول بين المجموعات الثلاثة خلال فترة الدراسة. كان واضحاً التحلل المبكر للجسم الأصفر عند النعاج ذات فترات الشبق الأطول في اليوم 6.24 بعد التلقيح الصنعي وبلغ 7.69% و 18.18% و 23.07% في مجموعة GnRH و hCG و NaCl على التوالي. ارتفع معدل الحمل إلى 92.31% و 81.82% في مجموعتي GnRH و hCG على التوالي مقارنة بـ 76.92% في مجموعة الشاهد. أما خارج موسم التناسل فلم يُسجل فرق معنوي في أعداد الجريبات صغيرة الحجم والمتوسطة والكبيرة عند المجموعات

الثلاثة (P<0.05) عند حقن eCG وبعد 24 وبعد 48 ساعة. سُجل وجود جريبات كبيرة في المجموعات الثلاثة بعد 48 ساعة من حقنeCG. تفوقت مجموعة الشاهد (P<0.05) على مجموعتي GnRHو hCG بمعدل النمو الجريبي بعد 24 ساعة من المعاملة بهرمون eCG، بينما تلاشت الفروق الإحصائية بين المجموعات الثلاثة بعد 48 ساعة من الحقن. تفوقت نعاج مجموعة GnRH بحجم الجريب الإباضي (P<0.01) مقارنة مع نظيره عند مجموعتي الشاهد و hCG. لم تُسجل دورات شبق قصيرة عند المجموعات الثلاثة، وكانت معدلات الحمل عندها متقاربة (P<0.05) وبلغت 85.71، 85.71 % و 91% عند مجموعات GnRH و hCG والشاهد على التوالي.

يُستنتج من الدراسة أنَّ GnRH كان أكثر فعالية في أثناء موسم التناسل للحد من التحلل المبكر للجسم الأصفر، و إنَّ نعاج العواس لاتظهر دورات شبق قصيرة خارج موسم التناسل، ولم يكن استبدال hCG بـ GnRH كعامل محرض للإباضة مجدياً ولا ينصح به.

الكلمات المفتاحية: GnRH – hCG – Ovsynch – تحلل الجسم الأصفر – نعاج العواس – موسم التناسل

المقدمة Introduction

تعتمد إدارة التناسل عند الغنم على توقيت الشبق أو تحريضه داخل موسم التناسل أو خارجه، يتبعه تلقيح طبيعي أو صنعي. يُستخدم لذلك البروجسترون (أو أحد مثيلاته الصنعية البروجستوجينات) بالمشاركة مع البروستاغلاندين وأحياناً eCG (Abecia وزملاؤه،2012). لاتؤدي هذه البرامج إلى مزامنة الإباضة بشكل فعال (Barrett وزملاؤه، 2008) مما يؤثر في إمكانية إجراء التلقيح الصنعي في وقت محدد(Thatcher وزملاؤه، 2002)، كما إنَّ المعاملة المطولة بالبروجستاجين تسبب انخفاض الخصوبة (Husien وAbabneh، 2008؛ Vinoles وزملاؤه، 2001)، وتخرشات في أنسجة المهبل، ولابد من مراقبة الشبق قبل تطبيق التلقيح الصنعي AI (Holtz وزملاؤه، 2008).

بعد اقتراح برنامج توقيت الإباضة Ovulation Synchronization (Ovsynch) عند البقر (Pursley وزملاؤه، 1995) لم يعد هناك حاجة لمراقبة الشبق، وأصبح تطبيق التلقيح الصنعي Artificial Insemination (AI) في وقت محدد بالنسبة لجرعة GnRH الثانية، و تبين لاحقاً أنَّ هذا البرنامج يمكن تطبيقه على المجترات الصغيرة (Holtz وزملاؤه، 2008). إلا أنه سُجل بعد تطبيق البرنامج آنف الذكر معدلات متباينة من حالات التحلل اللوتيئيني المبكر، والتي بدورها خفضت من معدلات الحمل.

تبين أنَّ المعاملة بالبروجسترون وGnRH Gonadotropin– releasing Hormone خارج موسم التناسل تؤدي إلى نمو الجريبات المبيضية وتطورها وحدوث الإباضة وتشكل جسم أصفر فعّال وظيفياً تماماً كما هي الحال عند النعاج داخل موسم التناسل (Wright وزملاؤه، 1984؛ 1983؛ Mcleod وزملاؤه، 1982). سُجل تباين كبير في معدل الحمل عند النعاج التي حُرض الشبق عندها خارج موسم التناسل بلغ 22–70%، ولعل تباين وقت إجراء التلقيح الصنعي يُعد أهم أسباب هذا التباين (Kaya وزملاؤه، 2013؛ Moeini وزملاؤه، 2007 ؛ Karagiannidis وزملاؤه، 2001)، وفي مثل هذه الحالات يمكن أن يؤدي تحريض الإباضة إلى الحد من تلك التباينات.

اتبعت طرائق عدة للحد من الفقد المبكر للأجنة عند الغنم والبقر نتيجة تحلل الجسم الأصفر، منها حقن GnRH بين الأيام 10–14 بعد التلقيح (Beck وزملاؤه، 1994؛ Nephew وزملاؤه، 1994؛ Peters وزملاؤه، 1992؛ FuKui وزملاؤه، 1985)، أو البروجسترون قبل الإباضة إذ إنه يُثبط مستقبلات الأوكسي توسين في بطانة الرحم ويحد بالتالي من استجابة الرحم للأوكسي توسين لإفراز $PGF_{2\alpha}$ (Leyva وزملاؤه، 1998).

طُورت طرائق بديلة لزيادة معدل الحمل بحقن Human Chorionic Gonadotropin (الهرمون المشيمائي البشري) hCG في مرحلة مبكرة من تطور الجسم الأصفر (Gomez–Brunet وزملاؤه، 2007؛ Ishida وزملاؤه، 1999)، إذ يساعد هذا الهرمون على نضج البويضة وحدوث الإباضة وله تأثير Lutenizing Hormone (هرمون اللوتنة) LH نفسه (Khan وزملاؤه، 2003؛ Schmitt وزملاؤه، 1996b) ويسهم في تطور الجسم الأصفر وزيادة إفراز البروجسترون والحفاظ على الأجنة (Aslan وزملاؤه، 2011 ؛ Fukui وزملاؤه، 2001 ؛ Nephew وزملاؤه، 1994 ؛ Kittok وزملاؤه، 1983)، وزيادة تدفق الدم في الجسم الأصفر أكثر بكثير من GnRH، كما يؤدي إلى زيادة إفراز إنترو فيرون تاو IFNt ويمنع انحلال الجسم الأصفر (Nephew وزملاؤه، 1994)، ويؤثر إيجابياً في حيوية الجنين بصورة أفضل من GnRH (Cam وKuran، 2004)، ويمكن أن تؤدي المعاملة به بالتزامن مع سحب الإسفنجات المهبلية خارج الموسم إلى رفع نسبة الحمل إلى 100% عند النعاج نتيجة زيادة إفراز البروجسترون من الجسم الأصفر وزيادة إفرازات الرحم (Kaya وزملاؤه، 2013؛ Cam وKuran، 2004؛ Nephew وزملاؤه، 1994).

دُرس في هذا البحث تأثير hCG أو GnRH في الديناميكية الجريبية وهي آلية تطور الجريبات المبيضية ومعدل الحمل بعد توقيت الإباضة عند نعاج العواس، وقد تناول كلاً من الفصول الآتية: تضمن **الفصل الأول** تسليط الضوء على أهم الدراسات المرجعية في وصف دورة الشبق والتناسل عند النعاج والهرمونات التي تدخل في عملية التناسل وسلوك الشبق عند النعاج، وتم في هذا الفصل توضيح

آلية التداخلات الفيزيولوجية والتنسيق بين الهرمونات والدماغ والغدة النخامية والمبيض والرحم التي تحدث دورة الشبق، وتضمن هذا الفصل أيضاً الدراسات المرجعية الخاصة بآلية الديناميكية الجريبية وحدوث الإباضة والهرمونات التي تدخل بهذه الآلية وتراكيزها، فضلاً عن ذلك، ذُكر في هذا الفصل الدور المهم والرئيسي للبروجسترون والأُستراديول وتنظيم إفرازهما وآلية عملهما والآلية الارتجاعية السلبية لهما والتحكم الهرموني والعصبي بسلوك الشبق والإباضة عند النعاج، كما سُلط الضوء في هذا الفصل على كيفية تطور الجسم الأصفر والهرمونات التي تتحكم في ذلك، بالإضافة إلى التداخلات الفيزيولوجية للهرمونات التي تؤدي إلى تدهوره أو مايسمى (الانحلال اللوتيئيني) ودور $PGF_{2\alpha}$ في ذلك، وذكر في نهاية الفصل الدراسات المرجعية الخاصة بالتنظيم الموسمي لدورة الشبق والآليات الهرمونية والعصبية ومظاهر السلوك الجنسي التي تدخل في ذلك.

ذُكر في **الفصل الثاني** مناهج البحث وأدواته من حيث مكان تنفيذ البحث وتكوين قطيع الغنم وتصميم التجربة وتوزيع النعاج حسب نوع المعاملة الهرمونية داخل موسم التناسل وخارجه، كما ذكرت الهرمونات التي استُخدمت في برنامج تحريض الإباضة داخل الموسم و الجرعات المستخدمة وأوقات حقنها، تضمن ايضاً هذا الفصل تقنية تحريض الشبق خارج موسم التناسل باستخدام الإسفنجات المهبلية والهرمونات التي استخدمت في تحريض الإباضة، وطريقة التلقيح الصنعي التي طبقت بعد مراقبة الشبق عند النعاج داخل موسم التناسل وخارجه، وذكر أيضاً في هذا الفصل طريقة سحب عينات الدم ومداولته وطريقة تحليلها لتحديد تركيز الكوليسترول وهرمون الأُستراديول والبروجسترون، والأجهزة التي استخدمت لهذا الغرض، وكيف أُجري الفحص المبيضي وتشخيص الحمل داخل موسم التناسل وخارجه.

بينت النتائج في **الفصل الثالث** مقارنة المعاملة بـ hCG أوGnRH في تقليل حدوث دورات الشبق القصيرة بين المجموعات داخل موسم التناسل وتأثيرها في الديناميكية الجريبية ونسبة الحمل، ومقارنة تراكيز الكوليستيرول وهرمون الأُستراديول والبروجسترون بين المجموعات الثلاثة وعلاقة الارتباط بين

الأُستراديول والكوليستيرول، كما ذكر في هذا الفصل نتائج المقارنات بين المجموعات الثلاثة من حيث أعداد الجريبات، وأقطارها، ومعدل النمو الجريبي، ونسبة الحمل، ومقارنتها بنتائج الأبحاث السابقة.

تضمن **الفصل الرابع** أهم الاستنتاجات وفق النتائج التي تم التوصل إليها في هذه الدراسة من حيث تأثير المعاملة بـ hCG أوGnRH في الحد من حدوث دورات الشبق القصيرة، ومن ثم زيادة نسبة الحمل عند النعاج داخل موسم التناسل وخارجه، وأهم المقترحات بالإضافة إلى الخاتمة.

أهمية البحث

تكمن أهمية هذا البحث أنه باستخدام برنامج توقيت الإباضة Ovsynch أصبح من الممكن تطبيق AI في وقت محدد بالنسبة لجرعة GnRH الثانية دون الحاجة إلى مراقبة الشبق، وأنَّ استخدام هرمون hCG أو GnRH يقلل من حالات حدوث التحلل اللوتيئيني المبكر (دورات الشبق القصيرة) وازدياد معدلات الحمل عند النعاج.

أهداف البحث

هدفت الدراسة الحالية إلى اختبار إمكانية تخفيض حدوث دورات الشبق القصيرة عند نعاج العواس المعاملة ببرنامج توقيت الإباضة Ovsynch داخل موسم التناسل، واختبر بهذا الخصوص فعالية GnRH أو hCG بعد التلقيح بـ 72ساعة في أثناء الموسم وخارجه للتخلص من دورها في سلسلة العوامل المؤدية إلى تحلل الجسم الأصفر، و تركيز الأُستراديول والبروجسترون وعلاقتها بمعدل الحمل، إضافة إلى تحديد العلاقة بين الكوليسترول وكل من البروجسترون والأُستراديول .

الفصل الأول

الدراسة المرجعية

Literature Review

تمتاز أنماط الوظيفة التناسلية عند النعجة بسيطرة إيقاعين مميزين:

- الأول: دورة الشبق التي يبلغ طولها 16–17 يوماً، وتعدّ هذه المدةّ ثابتة بشكل ملحوظ بحيث أنَّ حوالي 95 % من النعاج تظهر دورات شبق ضمن المدى الطبيعي الذي يتراوح بين 14–19 يوماً (Epstein، 1985). توجد بعض الاختلافات في طول دورة الشبق بين السلالات مع تقدم العمر، ولكن هذه الاختلافات صغيرة نسبياً (يومٌ واحد تقريباً).
- الثاني: الدورة السنوية للنشاط المبيضي، إذ تحدث دورات الشبق الطبيعية عند معظم سلالات الغنم بالتزامن مع انخفاض عدد ساعات الإضاءة (Faigl وزملاؤه، 2011)، في الخريف والشتاء (موسم التناسل) في المناطق الباردة وتتوقف في الربيع والصيف (موسم السكون). من وجهة نظر تطورية، تضمن هذه المدة المحددة للخصوبة أن تولد الحملان في الربيع عندما تكون الظروف البيئة مواتية للرعاية. على النقيض من ثبات طول دورة الشبق تختلف الأنماط التناسلية الفصلية اختلافاً كبيراً، إذ إنَّ بعض الغنم الجبلية البدائية تظهر دورة شبق واحدة داخل موسم التناسل، بينما تظهر نعاج المرينو دورات شبق عدة في أثناء موسم التناسل (Beck وزملاؤه، 1994). يبدو أنَّ هذا التباين يعكس البيئة التي طُوّرت فيها السلالات، فالسلالات التي نشأت في ظروف قاسية تمتاز بموسم تناسل أقصر (Hafez وHafez، 2000). يجب الأخذ بالحسبان أنَّ هذه الاختلافات بين السلالات بخصوص الموسمية تعكس الاختلافات في درجة نشاط المبيض في أثناء الربيع والصيف. يمثل حدوث الإباضة أو غيابها الحد الفاصل في الوظيفة المبيضية. تعد هذه الاختلافات في الخصوبة واضحة حتى عند النعاج القادرة على التناسل على مدار السنة، وكذلك عند سلالات موسمية التناسل يحدث نشاط مبيضي (تطور جريبي) طول فترات السكون.

تماثل دورة الشبق عند النعاج نظيرتها عند الأنواع الأخرى ذات الإباضة التلقائية من حيث وجود طور جريبي وآخر لوتيئيني، ويمتاز الطور الجريبي بأنه أقصر نسبياً مقارنةً مع نظيره عند الرئيسيات(Rajkovic وزملاؤه، 2006)، ولذلك ليس مستغرباً أنَّ الآليات الهرمونية – العصبية التي

تتحكم في دورات الشبق عند النعاج مماثلة في كثير من النواحي لنظيرتها عند الرئيسيات والجرذ(Pineda وزملاؤه، 2010). ولكن تمثل موسمية الوظيفة التناسلية عند الغنم تحدياً إضافياً وعلاقة فارقة مميزة، إذ تحدث دورات الشبق عند النعاج كنتيجة لتفاعل منسق لكل من الدماغ والغدة النخامية والمبيض والرحم. لفهم التحكم بهذه الدورة يجب تحليل الاتصال بين هذه الأنسجة، الذي يحدث إلى حدٍ كبير عبر سبعة هرمونات:

1. الهرمون المطلق لموجهة الغدد التناسلية GnRH المفرز من الوطاء.
2. الهرمون الملوتن LH و الهرمون المنبه للجريب FSH من الفص الأمامي من الغدة النخامية.
3. الأُستراديول والإنهبين والبروجسترون من المبيض.
4. $PGF_{2\alpha}$ من الرحم والجسم الأصفر.

عند تحليل التداخلات الفيزيولوجية لهذه الهرمونات، يجب الأخذ بالحسبان عاملين ذوي أهمية قصوى:

- الأول: حتى يكون لهرمون معين أهمية في تنظيم دورية المبيض يجب أن يوجد بتراكيز فيزيولوجية تفوق العتبة.
- الثاني: تحدث تغيرات في تراكيز هذه الهرمونات الجائلة وفق تسلسل محدد في أوقات يمكن التنبؤ بها في أثناء دورة الشبق، ونتيجة لذلك فإنَّ دراسة العلاقة المؤقتة بين اثنين من الهرمونات تعطي إشارة مفيدة للعلاقة السببية بينهما.

1-1 وصف دورة الشبق عند النعجة

يمكن تقسيم دورة الشبق التي يبلغ طولها 16-17 يوماً، إلى طور جريبي يبلغ طوله 2-3 أيام وآخر لوتيئيني يبلغ طوله 13-14 يوماً. تعد الإباضة هي الحد الفاصل بين الطور الجريبي والطور اللوتيئيني ويبدو أنَّ الانتقال من الطور اللوتيئيني إلى الطور الجريبي التالي أطول قليلاً لإنَّ اكتمال التحلل اللوتيئيني، يتطلب وقتاً. ونظراً لكونها دورة يمكن للمرء أن يبدأ نظرياً من أي نقطة في وصفها، ولكن طالما أن سلوك الشبق هو العلامة المظهرية الخارجية الوحيدة لدورة الشبق عند النعجة (يمكن مراقبته

بسهولة عن طريق كباش مخصبة مزودة بأدوات تعليم) تستخدم بداية الشبق لتحديد بدء حوادث الدورة وقد اتفق على أنَّ اليوم الأول من الشبق هو اليوم 0 من دورة الشبق.

1-1-1 سلوك الشبق

ينقسم سلوك الشبق إلى ثلاثة أنشطة مميزة: الانجذاب – الميل – القبول.

- الانجذاب: يشير إلى الخصائص والسلوكيات التي تجعل النعجة تنجذب للكبش.
- الميل: يتضمن الأنشطة التي تجعل النعجة تبحث عن الكبش بنشاط.
- القبول: يتضمن سماح النعجة للكبش للقفز عليها والوقوف مكانها دون أن تتقدم (Fabre وGelez، 2007 ؛ Fabre وMartin، 1991a).

بالرغم من إمكانية تحديد الانجذاب ضمن الظروف التجريبية (Papargiris وزملاؤه، 2011) إلا أنه من الصعب ملاحظة الميول عند النعاج في ظل الظروف الطبيعية. لذلك فإنه عادة ما تُصنّف تحت "القبول". الميول واضحة كزيادة في النشاط الحركي في بداية الشبق، ويمكن أن يرافقه تحريك الذيل (عند الأنواع ذات الذيل)، كما تنظر النعجة فوق كتفها بحثاً عن الكبش عند اقترابه، إذ يقوم بوكز الخاصرة و/أو المنطقة غير التناسلية.

يعد القبول المؤشر الأكثر شيوعاً لرصد سلوك الشبق ويتضمن ببساطة الوقوف أثناء التلقيح الذي يكون قصيراً نسبياً، وعادةً ما يلقح الكبش النعجة مرات عدة في أثناء مدة شبق واحدة. يستمر سلوك الشبق في النعاج 24– 36 ساعة ولكن يمكن تخفيض مدته عن طريق الاتصال المستمر مع الذكور (Chemineau وزملاؤه، 2006). تقترن بداية الشبق مع موجة LH الإباضية، وتحدث الإباضة في المتوسط بعد بداية سلوك الشبق بـ 24–30 ساعة (Robertson، 1970).

1-2 الوطاء – الغدة النخامية

1-2-1 نماذج GnRH وLH

مكنت المقدرة على رصد إفراز GnRH في الدم البابي – النخامي عند النعاج من الحصول على كمٍّ وافر من المعلومات عن النماذج الطبيعية لإفراز GnRH الداخلي وتنظيمه يندر وجوده عند حيوان آخر. أظهرت هذه البيانات وجود ارتباط وثيق بين GnRH وإفراز LH. يوجد نموذجان لإفراز LH في النعجة كما هي الحال في أنواع ثديية أخرى، يتناغمان مع إفراز GnRH فيُنظمهما بآليات ارتجاعية مختلفة ويتحكمان بمختلف نواحي وظيفة المبيض. يحدث إفراز LH المنشط –الذي ينظمه تأثيرات الآلية الارتجاعية السلبية لهرمونات المبيض– على شكل نماذج ذبذبية بمستويات منخفضة طوال الدورة، ولكنه يعد مهماً في تكوين ستيرويد المبيض. تبتديء تراكيز الأُستراديول المرتفعة موجة LH في أواخر المرحلة الجريبية التي تسبب الإباضة وتشكل الجسم الأصفر. تؤثر الآلية الارتجاعية السلبية والإيجابية لهرمونات المبيض في الوطاء والنخامية على حدٍ سواء(Hauger وزملاؤه، 1977).

يرتبط الإفراز القاعدي لـ LH في أثناء دورة الشبق عكسياً مع وظيفة الجسم الأصفر، لذلك ينخفض تركيز LH من اليوم 1–9 مع ازدياد إفراز البروجسترون من الجسم الأصفر ويستمر منخفضاً حتى اليوم 14 ثم يزداد في أثناء المرحلة الجريبية بعد انحلال الجسم الأصفر (Karsch وزملاؤه، 1979؛ Hauger وزملاؤه، 1977). تجدر الإشارة إلى أنه عندما يؤخذ المتوسط كل ساعات عدة، فإنَّ الإفراز القاعدي GnRH قد لا يختلف بشكل ملحوظ خلال الدورة (Moenter وزملاؤه، 1992 ؛ Moenter وزملاؤه، 1991)، ولكن هذه المتوسطات تحجب التباين الملحوظ في نمط التحرير الذبذبي لـ GnRH. يلاحظ في أثناء منتصف الطور اللوتيئيني ذبذبات GnRH مرتفعة ذات تكرار منخفض، وبعد تحلل الجسم الأصفر يلاحظ زيادة تكرار الذبذبات وانخفاض ارتفاعها (Moenter وزملاؤه، 1991 ؛ Clarke وزملاؤه، 1987). ونظراً لإنَّ ذبذبات GnRH تؤدي إلى تشكل ذبذبات LH، لذلك فإنَّ تكرار ذبذبات LH يكون له نمط GnRH نفسه، أي إنه يكون مرتفعاً في الجزء الأول من الدورة

وينخفض إلى أدنى مستوى في أواخر الطور اللوتئيني ثم يزداد باستمرار في أثناء الطور الجريبي، وبذلك فإنَّ متوسط تركيز LH يرتبط بتكرارات ذبذبات LH (وليس بارتفاعها) في أثناء دورة الشبق.

تمثل موجة LH تدفقاً ضخماً من LH خلال مدة قصيرة من النخامية. ترتفع تراكيز LH بسرعة في غضون 4–8 ساعات إلى ذروتها التي تكون أعلى من المستويات القاعدية بـ 50–100 مرة، ومن ثم تنخفض بالسرعة نفسها بحيث تستمر الموجة نحو 12 ساعة وتلاحظ موجة LH عادة بعد ابتداء سلوك الشبق (Fabre وGelez، 2007)، ويبلغ الفاصل الزمني بين موجة LH والإباضة (22–26 ساعة) وتكون ثابتة بشكل ملحوظ، وتوجد في الوقت نفسه زيادة 20–40 ضعفاً في معدل إفراز GnRH (Moenter وزملاؤه، 1991). وهذا يعكس التغير في نمط إفراز GnRH من النوبي إلى النمط المستمر (Moenter وزملاؤه، 1992). تحدث هذه التغيرات تدريجياً إذ تبدأ بزيادة إفراز GnRH بين الذبذبات تليها زيادة في إفراز GnRH بين الذبذبات وارتفاع ذبذبة GnRH، ومن ثم التحرير المستمر في أثناء ذروة الإفراز (Evans وزملاؤه، 1995a ؛ Moenter وزملاؤه، 1992). على الرغم من أنَّ المراحل الأولية للموجة الإباضية من GnRH وLH تكون متزامنة نسبياً إلا أنَّ إفراز GnRH المرتفع يُحافظ عليه لساعات عدة بعد إنهاء موجة LH (Moenter وزملاؤه، 1991).

1-2-2- الهرمون المنشط للجريب FSH

تنخفض تراكيز FSH في أثناء المرحلة الجريبية إلى المستوى القاعدي في اليوم الذي يسبق موجة LH الإباضية (Knight وزملاؤه، 1998 ؛ Souza وزملاؤه، 1997 ؛ Goodman وزملاؤه، 1981a). توجد موجة FSH متزامنة مع موجة LH وتنخفض تراكيز FSH بالتوازي مع LH إلى أدنى مستوى في أثناء 8– 12 ساعة بعد الموجة قبل الإباضة. تزداد مستويات FSH لتصل إلى ذروة ثانية بعد 20–28 ساعة من الذروة الأولى، ويتبعها انخفاض شديد ثانٍ بين 36–48 ساعة. تلاحظ زيادة تدريجية في تراكيز FSH في اليوم 4–6 من الطور اللوتيئيني (Souza وزملاؤه، 1998؛ Knight وزملاؤه، 1998 ؛ Souza وزملاؤه، 1997) وهي ترتبط مع الموجة الثانية من التطور الجريبي. كما تلاحظ

زيادات صغيرة في FSH تستمر حوالي يوم واحد تحدث كل 3–6 أيام في أثناء الطور اللوتيئيني، كل منها تسبق موجةَ تطورٍ جريبي (Toosi وزملاؤه، 2010b؛ Souza وزملاؤه، 1998).

1-3 المبيض

1-3-1 الديناميكية الجريبية

يبدأ تشكل الجريبات البَدْئية في الحبال حاملة البيض بالقرب من قشرة ولب مبيض الجنين نحو اليوم 75 من الحمل، ويتزامن ذلك مع الوصول إلى الأعداد القصوى من الخلايا المنتشة في مبيض الجنين. يتألف كل جريب بَدْئي في البداية من الخلية البيضية وتحيط بها طبقة واحدة من الخلايا الحبيبية التي يكون عددها متغيراً من جريب لآخر ولكن ترتبط مع قطر الخلية البيضية، تنشأ الخلايا الحبيبية من طليعة الخلايا الحبيبية التي تنشأ أساساً من الظهارة السطحية للمبيض النامي وتتجمع الخلايا البيضية ضمن الحبال حاملة البيض origerous cords قبل أن تتراجع هذه الحبال (Sawyer وزملاؤه، 2002). تفقد أكثر من 75% من الخلايا المنتشة في اليوم 90 من الحمل عن طريق موت الخلايا المبرمج. تحتوي مبايض الصغيرة على 40000– 300000 جريب بدئي تكون أعداد الجريبات الغارية في الفطائم مرتفعة عند الولادة تتذبذب في أثناء مدتها قبل البلوغ مع عدم وجود موجات جريبية واضحة أو ارتباط مع تراكيز FSH (Rawlings وزملاؤه، 2003). يمكن تحديد الموجة الجريبية على أساس الجريبات التي تبزغ بقطر 3مم وتنمو إلى ما لا يقل عن 5 مم (Evans، 2003). تتراوح أعداد الموجات بحسب بعض الدراسات بين اثنتين وست موجات، يتداخل بعضها أحياناً وتنشأ الجريبات الإباضية من الموجات ما قبل الأخيرة والموجات الأخيرة (Bartlewski وزملاؤه، 1999) بعضها يبدأ من وقت مبكر في اليوم 9 أو قد يتأخر إلى اليوم 14 من الدورة (Johnson وزملاؤه، 1996). تجدر الإشارة إلى أنَّ طول دورة الشبق لم يختلف سواء كان عدد الموجات 3 أو 4 موجات (Seekallu وزملاؤه، 2010) على عكس البقر التي تكون فيها الدورات ذات الثلاث موجات أطول من نظيراتها ذات الموجتين. تبين نتيجة التحاليل الهرمونية أنَّ كل موجة جريبية يسبقها زيادة مؤقتة في تراكيز FSH

(Toosi وزملاؤه، 2010b؛ Goodman و Inskeep، 2006؛ Bartlewski وزملاؤه، 1999؛ Souza وزملاؤه، 1998) وأنَّ التجنيد في المجموعة النامية يتطلب وجود قليل من LH. تستمر الموجات الجريبية في أثناء مراحل السكون وتكون موجودة غالباً (Seekallu وزملاؤه، 2010) لكن ليس دائماً (Souza وزملاؤه، 1996) مقترنة بزيادات في FSH، وكما هي الحال في الطور اللوتيئيني يبدو أنَّ وجود قليل من LH ضروري لتجنيد الجريبات بـ FSH (Seekallu وزملاؤه، 2010). يُعّد انتخاب الجريب أو سيادته صعب التوصيف في النعاج على الرغم من أنهما مدعمان بالمشاهدات في أثناء الطور الجريبي (Duggavathi وزملاؤه، 2003؛ وزملاؤه، 2003؛ Lopez-Sebastian وزملاؤه، 1997). يعتقد أنَّ مصطلح الإباضة المحتملة هو مصطلح أفضل من الانتخاب أو السيادة لأكثر الجريبات تقدماً في التطور (Scaramuzzi وزملاؤه، 2011)، وأنَّ مبدأ السيادة الجريبية عند النعجة أصبح مؤخراً موضع تساؤل (Toosi وزملاؤه، 2010a). يجب التنويه إلى أنه في العديد من سلالات الغنم تنتج نسبة كبيرة من النعاج التوائم.

في النعاج ذات التوائم تظهر الجريبات الإباضية خلال مدى أوسع من الأيام مقارنة بالنعاج ذات الإباضة المفردة، ويبدو أنَّ الإباضة التوأمية ما هي في الواقع إلا نتيجة لانخفاض رتق الجريبات الصغيرة والكبيرة على حدٍ سواء (Landau وزملاؤه، 1996)، وهذا يتوافق مع حدوث الإباضة من كل من الموجات النهائية وماقبل النهائية، بمعنى أنه يُحتفظ بالجريبات الأكبر في الموجة قبل الأخيرة والجريبات الأصغر في الموجة النهائية كي تنمو إلى الحجم المطلوب للإباضة. لوحظ أنَّ هناك جريبات أكثر في الموجة ما قبل الأخيرة تحدث فيها إباضة عند سلالات النعاج مع انخفاض البروجسترون وتواتر أكبر من ذبذبات LH (Bartlewski وزملاؤه، 1999). سجلت أكثر حالات التحول الجريبي سرعة في نعاج المرينو دي بايس وهي عبارة عن سلالة أحادية الإباضة في إسبانيا، وعندها أصبحت 7 جريبات مختلفة هي الأكبر في أثناء دورة الشبق (Lopez-Sebastian وزملاؤه، 1997). أظهرت

تحاليل لاحقة في ثلاث سلالات إسبانية أخرى أنَّ نماذج التحول الجريبي لا تتأثر بالسلالة (Gonzalez–Anover وزملاؤه، 2007).

بيّن Mihm وزملاؤه (1994) العلاقة بين مدة سيادة الجريب والإباضة اللاحقة بعد معاملة البقر بالبروجستاجين الصنعي (نورجستومت) وتحلل الجسم الأصفر ومنع رتق أو إباضة ثاني أو ثالث جريب سائد في أثناء دورة الشبق. بينت دراسات سابقة انخفاض معدل الحمل بعد ثبات أول جريب سائد لمدة مطولة (Savio وزملاؤه، 1993 ؛ Sanchez وزملاؤه، 1993). إنَّ مدة نمو الجريب وسيادته إلى حد وصوله إلى حجم الإباضة مترافق مع تراكيز عالية من الأُستراديول (Stock و Fortun، 1993 ؛ Savio وزملاؤه، 1992، 1993؛ Sirois و Fortun، 1990). بيّن Mihm وزملاؤه (1994) أنَّ استمرار طور النمو يؤدي إلى تدهور نسبة أعلى من الجريبات السائدة تتدهور بوقتٍ واحد، وعندما تتجاوز مدة السيادة 10 أيام يكون عرضة للتكيس فالأجسام الصفراء التي تشكلت بعد إباضة الجريبات السائدة لها مدة حياة طبيعية (Savio وزملاؤه، 1992). إنَّ توقيت انحلال الجسم الأصفر على علاقة مع درجة تطور الجريب السائد (Mihm وزملاؤه، 1994)، وتؤدي المعاملة طويلة الأمد بالبروجسترون أو إدخال مصدر البروجسترون في وقت التحلل اللوتيئيني إلى استمرار الجريب الإباضي لمدة أطول، ويؤدي هذا إلى انخفاض معدل الحمل بسبب زيادة إنتاج الأُستراديول، وربما إلى تغير في داخل الجريب والبويضة وبيئة الرحم بسبب سرعة انتقال البويضة أو الموت المبكر للأجنة (Butcher و Pope، 1979). إنَّ تحرر البويضة في أثناء مدة السيادة يجعلها غير قابلة للإخصاب، أو التطور غير الطبيعي للأجنة لاحقاً، حيث أنَّ الزيادة البطيئة لموجة LH تستأنف الانقسام الاختزالي للبويضة وزيادة عمرها (Mattheij وزملاؤه، 1994). تخفض المعاملة بالبروجسترون من عدد الحيوانات المنوية في المهبل والرحم وقناة المبيض بعد التلقيح الصنعي وتزيد من موت النطاف عند النعاج (Hawk و Conley، 1971). تبين أنَّ المعاملة بـ hCG تحسن من تزامن الإباضة لكنها تسبب انخفاض معدل الحمل (Dias وزملاؤه، 2018). بيَّن Zamiri و Hosseini، (1998) إنَّ المعاملة بـ 500 وحدة دولية

من hCG زادت الخصوبة والولادات المتعددة على الرغم من انخفاض معدل الحمل. وأكد Dias وزملاؤه، (2018)، إنَّ المعاملة بـ hCG ليس لها علاقة بقطر الجريب ولكنه يزيد من تركيز البروجسترون، وهذا يحسن من كفاءة تثبيت الحمل الذي يحدث في اليوم الثالث عشر عند النعاج (Silvia وزملاؤه، 1984).

وتبين أنَّ حقن GnRH يسبب إفراز LH بصورة أعلى من الغدة النخامية، ما يؤدي إلى لوتنة أو إباضة الجريبات (Whitmore وزملاؤه، 1979؛ Bierschwal وزملاؤه، 1975).

1-3-2 الإباضة

لا تختلف عملية الإباضة عند النعاج عن نظيرتها في الأنواع الأخرى، ولكن تجدر الإشارة إلى أنَّ الدراسات المجراة على النعاج أسهمت بدرجة كبيرة بفهم دور الظهارة السطحية في المبيض ومشاركة عامل نخر الورم ألفا (TNFα) في تمزق الجريب (Scaramuzzi وزملاؤه، 2011). تبدأ الخطوات الرئيسة في سلسلة الحوادث الإباضية في جريب النعجة بتأثير أولي لموجة LH لزيادة 3′،5′ أدينوسين أحادي الفوسفات الحلقي (cAMP) الذي يوقف من تركيب الأُستراديول من البروجسترون عبر الأندروجين. تسهم الزيادة الناتجة في البروجسترون في أنسجة الجريب في زيادة إفراز PGE_2 و $PGF_{2\alpha}$ والتي تسهم بشكل تسلسلي في تدفق الدم إلى الجريب ونشاط تحلل البروتين (PGE_2) وإلى انقباضات الألياف العضلية الملساء في جدار الجريب ($PGF_{2\alpha}$). يحفز LH إفراز منشط البلاسمينوجين (UPA) نوع من الأوركيناز من الخلايا الظهارية لسطح المبيض، الذي يحفز تحول الخلايا إلى البلازمين وهذا الأخير ينشط أنزيمات تحلل الكولاجين في جدار قمة الجريب وتحرر TNFα من البطانة القرابية. يعمل انحلال الكولاجين المعزز بازدياد أنشطة الإنتساخ لأنزيمات تحلل البروتين المعدنية في الخلايا الهيكلية استجابة لـ (TNFα) ومدعومة أيضاً بالبروجسترون والبروستاغلاندينات على إضعاف قمة جدار الجريب، وتقل ثخانته مما يؤدي إلى تشكيل الوصمة ويتمزق الجريب. تحدُّ مثبطات أنزيمات تحلل البروتين المعدنية النسيجية من درجة أضرار تحلل البروتين وتسهم في إعادة بناء

الكولاجين في أثناء الانتقال من الطور الجريبي إلى مرحلة الطور اللوتيئيني Murdoch وزملاؤه، 2010؛ Murdoch وGottsch، 2003).

1-3-3 إفراز هرمونات المبيض

تفرز المبايض ثلاثة ستيروئيدات رئيسة هي البروجسترون الأُستراديول والأندروستينديون، بالرغم من أنَّ مستويات الأندروستينديون الجائلة ليس لها دور فيزيولوجي في النعاج (Goodman وInskeep، 2006)، إلاّ أنَّ التمنيع ضدها استخدم بنجاح لزيادة معدل الإباضة (Smith، 1985). يُفرز البروجسترون في الدم أساساً من الجسم الأصفر، بينما يفرز الأُستراديول فقط من الجريبات (Goodman وInskeep، 2006). تكون تراكيز البروجسترون منخفضة جداً في وقت مبكر من دورة الشبق، ثم ترتفع تدريجياً بالتوازي مع زيادة حجم الجسم الأصفر -كما تحدد باستخدام الأمواج فوق الصوتية (Davies وزملاؤه، 2006)- بين الأيام 2-8 لتصل إلى أعلى مستوى لها (1.5-4 نانو غرام /مل) وذلك تبعاً للسلالة (Goodman وInskeep، 2006؛ Hauger وزملاؤه، 1977). تبقى تراكيز البروجسترون ثابتة نسبياً من اليوم 8 حتى 14 ثم تنخفض إلى المستوى القاعدي في أثناء الأيام 1-2 التالية.

تجدر الإشارة إلى أنَّ تراكيز البروجسترون عند السلالات التي تمتاز بمعدلات إباضية عالية ليست دائماً أعلى من نظيرتها عند السلالات ذات معدلات الإباضة المنخفضة (Davies وزملاؤه، 2006)، وهذا يشير إلى أنَّ مقدار البروجسترون المفرز من الأجسام الصفراء في المجموعة الأولى يكون أقل. يحدث الارتفاع الرئيسي للأُستراديول في أثناء المرحلة الجريبية من دورة الشبق التي تستمر 2-3 أيام. تبدأ زيادة إفراز الأُستراديول بعد أول انخفاض للبروجسترون عند تحلل الجسم الأصفر (Baird وزملاؤه، 1976)، ويزداد من 5-10 أضعاف في أثناء الأيام القليلة التالية (Hauger وزملاؤه، 1977؛ Baird وScaramuzzi، 1976). تصل زيادة الأُستراديول إلى القمة عند ابتداء موجة LH الإباضية، ومن ثم تنخفض بسرعة إلى المستويات القاعدية. يبدو أنَّ إفراز الأُستراديول في

أثناء هذه المدة يأتي بدرجة كبيرة من الجريب الذي يُعيّن للإباضة والذي ينمو بسرعة في أثناء هذه المدة. سجلت معظم الدراسات ذروة ثانية من إفراز الأُستراديول في اليوم 4 تقريباً من الدورة والتي ترتبط مع الموجة الجريبية الأولى (Souza وزملاؤه، 1998)، وهذا يعني أنَّ تراكيز الأُستراديول تظل منخفضة نسبياً في أثناء بقية الطور اللوتئيني لا تُظهر نمطاً ثابتاً في أثناء هذا الطور.

عند قياس تراكيز البروجسترون والأُستراديول معاً عند ذات النعاج فإنه يلاحظ تقلبات واضحة وهذا يشير إلى نمط إفراز متقطع مماثل لنمط الإفراز المنشط لـ GnRH وLH (Goodman وInskeep، 2006). يرتبط نمط الإفراز النوبي من الأُستراديول –وليس البروجسترون– مؤقتاً مع ذبذبات LH السابقة.

يُنتجُ الإنهبين من قبل الجريبات عند النعجة من الخلايا الحبيبية بشكل رئيسي و تعد الجريبات الكبيرة مصدراً مهماً للإنهبين مع الإشارة إلى أنَّ الجريبات الأصغر تسهم أيضاً بشكل كبير في إفراز إنهبين المبيض نظراً لإنَّ هذه الأخيرة ليست مصدراً مهماً للأُستراديول فإنَّ إفراز المبيض من هذين الهرمونين الجريبيين لايقترن دائماً مع بعضهما بعضاً (Knight وزملاؤه، 1998؛ Souza وزملاؤه، 1997 ؛ Engelhardt وزملاؤه، 1993).

على النقيض من إفراز الأُستراديول، لا يوجد أي تغير في تراكيز الإنهبين المحيطية (Souza وزملاؤه، 1997) أو معدل إفراز الإنهبين في المبيض (Knight وزملاؤه، 1998) في أثناء الطور الجريبي. يبدأ الإنهبين بالإنخفاض في غضون ساعات قليلة بعد موجة LH ليصل إلى المستوى القاعدي خلال 24 ساعة لاحقة وهذا يتزامن مع ذروة ارتفاع FSH الثانية. توجد بعد ذلك زيادة في إفراز الإنهبين بين الأيام 1–3 من الطور اللوتيئيني يليه انخفاض طفيف خلال 1–2 من الأيام التالية (Knight وزملاؤه، 1998؛ Souza وزملاؤه، 1997). لا يُلاحظ مزيد من التغيرات المتناغمة في الإنهبين في أثناء بقية الطور اللوتيئيني على الرغم من الانخفاضات المؤقتة التي ترتبط أحياناً مع زيادات في إفراز FSH وابتداء موجات جريبية.

1-3-4 البروستاغلاندينات الرحمية

يعد تقييم البروستاغلاندين الرحمي في الجسم الحي معقد لسببين:

- الأول: يجب أن يقاس في الوريد الرحمي المبيضي أو الوريد الرحمي، لإنَّ البروستاغلاندينات تُستقلب كلياً تقريباً خلال أول مرور لها في الرئتين، ولإنَّ بعض الاستقلاب يحدث موضعياً في الرحم و/أوالمبيض (Silva وزملاؤه، 2000).
- الثاني: يفرز $PGF_{2\alpha}$ بصورة نوبية بحيث يجب أن تجمع عينات الدم بصورة متكررة نسبياً لتحديد نمط الإفراز الفعلي. عندما تؤخذ هذه القضايا التقنية بالحسبان تنشأ صورة منسقة عن إفراز $PGF_{2\alpha}$. يكون إفراز $PGF_{2\alpha}$ من الرحم قليلاً في الأيام 2-10 من دورة الشبق، تظهر نوبات إفراز $PGF_{2\alpha}$ لأول مرة بين الأيام 11 و13 من الدورة ويزداد تواتر هذه النوبات في أثناء 2-3 أيام التالية، تعكس هذه التغيرات النوبية في إفراز البروستاغلاندين متوسط تراكيز $PGF_{2\alpha}$ في الوريد الرحمي التي تزداد في أواخر الطور اللوتيئيني لتستقر في بداية الطور الجريبي، ومن ثم تزداد مرة أخرى إلى الذروة بعد انخفاض البروجسترون (Niswinder وزملاؤه، 2000).

1-4 التحكم بإفراز GnRH وLH المنشطة من قبل ستيروئيدات المبيض

نظراً لإنَّ إفراز موجهات المناسل المنشط يحدث دائماً بصورة نوبية لذلك فإنَّ تأثيرات الآلية الارتجاعية السلبية لكل من الأُستراديول والبروجسترون تتطلب تدخلاً مباشراً أو غير مباشر مع الآليات العصبية التي توجّه مولد ذبذبات GnRH.

1-4-1 مولد ذبذبات GnRH

يستنتج من نمط الإفراز النوبي لـ GnRH أنَّ العصبونات التي تتحكم بإفراز LH بالمستوى المنشط يجب أن تعمل بالمزامنة، وقد دُعم هذا الاستنتاج من تحاليل معدلات الإفراز الذبذبي لـ GnRH (Moenter وزملاؤه، 1992). بتخصيص أكبر يمكن القول أنَّ الإفراز النوبي من GnRH يحدث بالضرورة على شكل موجة مربعة ذات بداية ونهاية سريعتين من دون إفراز بين الذبذبات. تعد الخطوة الأولى لفهم الآليات الارتجاعية السلبية للستيروئيدات هي تحديد الأنظمة العصبية المسؤولة عن توليد ذبذبات GnRH. أشارت دراسة إلى أنَّ العناصر العصبية اللازمة لإفراز LH النوبي تتوضع في منطقة تحت المهاد الأنسي MBH في النعجة (Karsch وزملاؤه، 1979) كما هي الحال في الأنواع الأخرى، وقد سُجّلت ومضات من نشاط كهربائي متعدد الوحدات MUA ترتبط مع ذبذبات LH سجلت في هذه المنطقة عند نعاج OVX. تبين مؤخراً أنَّ عصبونات KNDy في النواة المقوسة ARC تؤدي دوراً مهماً في توجيه الإفراز النوبي من GnRH (Maeda وزملاؤه، 2010) وهذا يشير إلى الآتي:

1. يعد Kisspeptin ضرورياً عنه لإفراز LH النوبي في نعاج أُستؤصلت مبايضها OVX (Goodman وزملاؤه، 2012).
2. تشكل عصبونات KNDy شبكة ربط واسعة قادرة على الإستثارة بصورة متزامنة (Wakabayashi وزملاؤه، 2012) وترسل زوائد عصبية إلى عصبونات GnRH العصبي في غشاء تحت المهاد الأنسي MBH والباحة أمام البصرية POA (Merkley وزملاؤه، 2011).
3. يبدو أنَّ ومضات من نشاط كهربائي متعدد الوحدات التي ترتبط مع ذبذبات LH في ماعز OVX سُجلت في عصبونات KNDy (Ohkura وزملاؤه، 2009).

2-4-1 تأثيرات الأُستراديول والبروجسترون

يعد كل من الأُستراديول والبروجسترون ضرورياً للإفراز المُنشط من LH في أثناء دورة الشبق عند النعجة ويؤثران في متوسط التراكيز ونموذجها. يعد البروجسترون أكثر أهمية من الأُستراديول لإنَّ هذا

الأخير ذو آلية ارتجاعية سلبية ضعيفة داخل موسم التناسل (Legan وزملاؤه، 1977). يرتبط تثبيط البروجسترون لتكرار ذبذبات GnRH وLH بمقدار الجرعة في حين أنَّ الأُستراديول يقلل من ارتفاع ذبذبة GnRH وLH ولكن ينشط تكرار الذبذبات (Goodman وزملاؤه، 2002). ترتبط كل من التأثيرات آنفة الذكر بالجرعة، ولكن نظراً لأنها تميل إلى تعويض بعضها بعضاً فإنَّ تراكيز الأُستراديول القاعدية تكون فعالة مثلها مثل تراكيز الذروة في تخفيض متوسط LH. يعزز الأُستراديول أيضاً من تأثيرات البروجسترون المثبطة ولكن هذه التأثيرات لا تعتمد على الجرعة (Goodman وزملاؤه، 2002)، ومن ثمّ تعد التأثيرات المثبطة للأُستراديول ثابتة نسبياً طوال دورة الشبق، وأنَّ الإفراز المنشط من LH وتكرار ذبذبات GnRH – LH يرتبطان عكسياً مع تراكيز البروجسترون في أثناء دورة الشبق.

1-4-3 الآليات التي يتوسط بها البروجسترون الآلية الارتجاعية السلبية

للبروجسترون تأثير ارتجاعي سلبي رئيسي في تكرار ذبذبات GnRH، ولكن بالرغم من أنَّ البروجسترون يمكن أن يكون له تأثيرات مثبطة بشكل مباشر في النخامية (Goodman وInskeep، 2006)، إلا أنَّ ذلك لايظهر دائماً في الجسم الحي (Rispoli وNett، 2005)، ويخفض هذا الستيروئيد على وجه التحديد تكرار ذبذبات LH، وهذا التأثير يعكس تثبيط تكرار ذبذبات GnRH. يثبط البروجسترون أيضاً تعبير الرنا المرسال لـ Kiss1 في النواة المقوسة ARC.

1-4-4 الآليات التي يتوسط بها الأُستراديول في الآلية الارتجاعية السلبية

تعد هذه الآليات أكثر تعقيداً من تلك الخاصة بالبروجسترون لإنَّ الأُستراديول ينتج أربعة تأثيرات مختلفة في الإفراز النوبي لـ GnRH –LH. يزيد الأستروجين في أثناء الطور اللوتيئيني من قدرة البروجسترون على تثبيط تكرار ذبذبات GnRH (Skinner وزملاؤه، 1998)، أما في أثناء الطور الجريبي فإنَّ الأُستراديول:

1- يقلل من ارتفاع ذبذبات GnRH وLH ويزيد من تكرار الذبذبة (Evans وزملاؤه، 1994).

2- يغير من شكل ذبذبات GnRH ويزيد من تحرير GnRH بين الذبذبات (Evans وزملاؤه، 1995b).

تكمن الوظيفة الأساسية للأُستراديول في الآلية الارتجاعية السلبية في تثبيط ارتفاع ذبذبة LH. تشير معظم الدراسات إلى أنَّ هذا الأمر يعكس تأثير الأُستراديول في كل من النخامية والوطاء، وتؤدي المعاملة بالأُستراديول إلى خفض استجابة النخامية لـ GnRH سواء في الجسم الحي أو المخبر (Clarke، 2002)، وتكبت كلياً ذبذبات LH من دون تعطيل إفراز GnRH إلى الدورة الدموية البابية في بعض الظروف (Goodman وInskeep، 2006). لم توضّح الآليات الخلوية لهذا التاثير المثبط بشكل كامل ولكن أظهرت الدراسات السابقة أنَّ الأُستراديول يخفض بشكل حاد التعبير عن تحت وحدتي LH α وβ لـ m RNA (Clarke، 2002). أثبتت الدراسات الحديثة مشاركة مستقبلات الإستروجين في الآليات الارتجاعية السلبية الحادة للأُستراديول (Arreguin – Arevalo وزملاؤه، 2010) وإنَّ ارتباط الأُستراديول مع هذه المستقبلات ينشط أنظمة المرسال الثاني نفسها مثل GnRH (Iqbal وزملاؤه، 2009)، ويمكن أن تخفض زيادة تكرار ذبذبة GnRH المحرضة بالأُستراديول بصورة غير مباشرة من ارتفاع ذبذبة LH لإنَّ زيادة تكرار حقن GnRH يخفض من ارتفاع ذبذبة LH. (Goodman وInskeep، 2006)، ويخفض الأُستراديول أيضاً كمية GnRH في كل ذبذبة (Evans وزملاؤه، 1995b). ويحدث التأثير في كل من الباحة أمام البصرية POA وتحت المهاد الأنسي MBH (Goodman وInskeep، 2006). ومن غير المحتمل أنَّ حمض غاما أمينو بوتيريك (GABA) يتوسط الآلية الارتجاعية السلبية للإستروجن (Scott وClarke، 1993). وهناك دراسات تبين أنَّ NE يتوسط فعل الأُستراديول لإنَّ الأُستراديول يحدث بروتين FOS في النور إبينيفرين العصبية (NEA1) (Rawson وزملاؤه، 2001). يعد تحت المهاد الأنسي MBH الموقع الأكثر أهمية من ردود الفعل السلبية للإستروجن (Pau وزملاؤه، 1982). تشير الدراسات الحديثة إلى مشاركة

الخلايا العصبية في هذا الدور، وOVX يزيد FOS التعبير في الخلايا العصبية (Merkley وزملاؤه، 2012).

تتوسط الخلايا العصبية KNDy دور البروجسترون والأُستراديول في الآلية الارتجاعية السلبية عبر ناقلات عصبية مختلفة، تبين ذلك من خلال دور Kisspeptin وdynorphin في ذبذبات GnRH المتلاحقة، إذ أنَّ تثبيط Kisspeptin يقلل من ارتفاع ذبذبة GnRH، وبالمثل يقلل dynorphin من تكرار ذبذبة GnRH، لهرمون الإستروجين ثلاثة أدوار متتالية على إفراز GnRH الذبذبي في موسم التكاثر عند النعاج. قدرة الأُستراديول على زيادة البروجسترون بتثبيط تكرار ذبذبات GnRH تعتمد على dynorphin في الخلايا العصبية KNDy التي تحتوي على مستقبلات هرمون الإستروجين ER (Franceschini وزملاؤه، 2006) ومستقبلات هرمون البروجسترون PR (Foradori وزملاؤه، 2002). إنَّ آلية دور الأُستراديول في ذبذبة GnRH غير معروفة تماماً ومن غير المرجح أنها تعتمد على ببتيدات أفيونية المنشأ EOPs أو نورابينفرين NE لإنَّ تثبيط هذه النواقل العصبية لم يكن له تأثير في التكرار الذبذبي في نعاج OVX+E (Goodman وزملاؤه، 2002)، وللأُستراديول دور في شكل ذبذبات GnRH، على النقيض من ذلك للأُستراديول والنالكسون دور في زيادة تحرر GnRH بين الذبذبات، لذلك لا يزيد الأُستراديول من الببتيدات الأفيونية الذاتية (EOP).

1-4-5 التحكم الهرموني بموجتي GnRH وLH

أصبح معروفاً أنَّ ارتفاع الأُستراديول في الطور الجريبي يعد الإشارة الهرمونية الصادرة عن المبيض التي تحرض موجتي GnRH و LH ما قبل الإباضة (Goodman وInskeep، 2006)، بينما لا يسهم البروجسترون ولا مستقبلاته بشكل حاد في موجة LH لأن:

1. تراكيز البروجسترون الجائلة لاتزداد في أثناء مدة قبل الإباضة من دورة الشبق عند النعجة (Baird وScaramuzzi، 1976).

2. لا تمنع ناهضات مستقبل البروجسترون RU486 موجات GnRH وLH في النعاج التي يحرضها الأُستراديول (Domanski وزملاؤه، 1991). لا يتطلب تحريض موجة LH الارتفاع الكامل من الأُستراديول قبل الإباضة (Goodman وزملاؤه، 1981b). تعد الزيادة للتراكيز المسجلة في منتصف الطور الجريبي كافية، ومع ذلك فإنَّ الكميات الأكبر من الأُستراديول ستزيد من ارتفاع موجة LH ومزامنتها مع بداية الشبق (Goodman وInskeep، 2006)، وهكذا فإنَّ ذروة تراكيز الأُستراديول تعد مطلوبة لمحاكاة الأحداث في أثناء دورة الشبق، وأكثر الأفعال وضوحاً للبروجسترون هي أنَّ التراكيز المرتفعة منه تمنع قدرة الأُستراديول على تحريض موجة LH وGnRH (Evans وزملاؤه، 2002).

1-5-1 آلية عمل الأُستراديول

تتضمن مواقع تأثير الأُستراديول في إطلاق موجة LH كل من الوطاء والفص الأمامي من الغدة النخامية. تصل كمية LH المحررة استجابة لـ GnRH الخارجي إلى الحد الأقصى عندما يُحقن مباشرة قبل بداية موجة LH (Clarke، 2002)، وقد أشارت الدراسات التي كُبح فيها الإفراز الداخلي لـ GnRH واستبدل بذبذبات خارجية من GnRH أنَّ ما يقرب 10-20 % من الموجة يعود إلى تأثير الإستروجين في الغدة النخامية (Goodman وInskeep، 2006؛ Clarke، 2002). تبدو التأثيرات التحفيزية للأُستراديول في الخلايا موجهة التناسل متعددة الأوجه وتكون أساساً عبر مستقبلات الإستروجين. يؤثر الأُستراديول بالتناغم مع زيادة تكرار ذبذبات GnRH عبر زيادة مستقبلات كل من مستقبل الإستروجين ألفا ومستقبلات GnRH في الخلايا موجهة المناسل ويكون تعبيرهما أعظمياً في أثناء أواخر الطور الجريبي، كما يزيد الأُستراديول من تركيب LH وعدد قنوات Ca^{++} ويعزز من حركة الحبيبات الإفرازية نحو غشاء الخلية (Goodman وInskeep، 2006). كل هذه الإجراءات بمجملها تحسن استجابة الغدة النخامية لـ GnRH.

أظهرت القياسات المباشرة لـ GnRH بوضوح أنَّ الأُستراديول ينتج زيادة في إفراز GnRH بصورة كبيرة ويغير من نمط إفراز GnRH بحيث ينتقل تدريجياً من إفراز نوبي إلى إفراز مستمر

(Evans وزملاؤه، 1995ab). يبدأ إفراز GnRH بين الذبذبات بالزيادة قبل مدة وجيزة من بداية موجة LH، ومن ثم تحدث زيادة كبيرة في كل من ارتفاع ذبذبة GnRH، وإفرازه بين الذبذبات في أثناء الطور التصاعدي، والذي يؤدي في النهاية إلى تحرير كبير جداً من GnRH في أثناء إفراز الموجة. أشارت دراسات إلى مساهمة سبعة نواقل عصبية في التحكم بإفراز موجة GnRH أهمها Kisspeptin وgalanin وorphanin–FQ(OFQ) وNeurokininB (NKB) في هذه العملية. لقد أمكن بناءً على المعلومات آنفة الذكر تقسيم عملية تحريض الموجة إلى ثلاث مراحل:

1. مرحلة التنشيط: تستمر مدتها بين 4 – 14 ساعة يجب أن يكون في أثنائها الأُستراديول موجوداً.
2. مرحلة انتقالية: تستمر لمدة 6 – 8 ساعات ولاتتطلب وجود أُستراديول.
3. مرحلة تحرير GnRH وهي لا تتطلب أيضاً وجود أُستراديول.

يسهم Kisspeptin –ولكنه ليس المسؤول الوحيد– في موجة GnRH في النعاج لإنَّ ناهض مستقبل Kiss1R قادرٌ على تخفيض موجة LH بنحو 50% (Smith وزملاؤه، 2011)، على الرغم من أنها تمنع تماماً إفراز LH في نعاج OVX (Goodman وزملاؤه، 2012 ؛ Pereira وزملاؤه، 2010). ينشط الاستروجين تعبير Kisspeptin في POA (Smith وزملاؤه، 2008) ويزداد مستوى الرنا المرسال لـ Kiss1 في هذه العصبونات في أثناء الطور الجريبي (Smith وزملاؤه، 2009)، كما إنَّ تعبير بروتين (FOS) في المنطقة قبل البصرية (POA) يزداد عند وقت موجة LH، ومن ثم فإنه يحتمل مساهمة هذه المجموعة من العصبونات في الطور الإفرازي من تأثير الاستروجين. تشير الدراسات زيادة تعبير FOS في الخلايا العصبية KNDy وقت الموجة (Fergani وزملاؤه، 2014). ويعبّر KISS عن ارتفاع في نشاط بعض الخلايا العصبية في وقت متاخر من الطور الجريبي (Merkley وزملاؤه، 2012).

1-5-2 آلية عمل البروجسترون

لاتزال المعطيات حول آليتي عمل البروجسترون ضحلة:

- لم تدرس آلية العمل الإطلاقي للمعاملة المسبقة بالبروجسترون والتي تزيد ارتفاع GnRH على نطاق واسع، ربما لأنها اكتُشفت مؤخراً (Caraty و Skinner، 1999).
- إنَّ مقدرة البروجسترون على كبت موجة LH ترجع إلى منع موجة GnRH وليس إلى تأثيرات هذا الستيروئيد في الغدة النخامية (Kasa-Vubu وزملاؤه، 1992)، ويتم توسط هذا التأثير عبر مستقبلات البروجسترون ويمنع كل من مرحلتي التنشيط والمرحلة الانتقالية في عملية تحريض الموجة بالأُستراديول. تؤدي المعاملة بالبروجسترون في أثناء هاتين المرحلتين إلى كبت تعبير FOS في عصبونات GnRH، ولكنه لا يؤثر في تعبير FOS في عصبونات أخرى في POA، وهذا يتوافق مع الدراسات التي تؤكد أنَّ البروجسترون يؤثر في VMN -وليس في POA- لكبت موجة LH (Blache وزملاؤه، 1996).

1-5-3 التحكم بإفراز FSH

يتم التحكم في موجة FSH قبيل الإباضة من قبل الآليات العصبية التي تنتج موجة LH المرافقة، إذ يؤثر ارتفاع الأُستراديول في الطور الجريبي في الوطاء والفص الأمامي من الغدة النخامية الدماغ ليطلق موجة FSH وهذه الأخيرة يمكن أن يكبتها الفعل العصبي للبروجسترون وينظم إفراز FSH المنشط في باقي أطوار دورة الشبق عن طريق إفراز الأُستراديول والإنهبين من المبيض إضافة إلى التأثيرات الهرمونية النظيرة للأكتيفين ضمن النخامية واستناداً إلى أنماط الأُستراديول والإنهبين في أثناء دورة الشبق يمكن الاستنتاج أنَّ ارتفاع تركيز الأُستراديول في الطور الجريبي هو المسؤول عن انخفاض تراكيز الـ FSH في هذا الوقت (Knights وزملاؤه، 1998).

، في حين أنَّ التغيرات في تراكيز الإنهبين ربما تسهم في موجة FSH الثانية في اليوم 1 من الدورة. ومن غير الواضح كيفية تنظيم هرمونات المبيض تقلبات FSH المرتبطة بالموجات الجريبية في أثناء المدةالمتبقية من دورة الشبق. يمكن أن يسهم الأُستراديول والإنهبين في تغيرات FSH المرتبطة بالموجة الأولى، ولكن لوحظ أنَّ تراكيز هذه الهرمونات المبيضية لم تتغير في أثناء الموجة الثانية (ربما بسبب

انخفاض إفراز LH) لذلك فهي لم تسهم في تغيرات FSH المسجلة في أثناء الموجة الثانية (Souza وزملاؤه، 1998). وبالمثل فإنَّ الزيادات الدورية في إفراز FSH المسجلة في أثناء موسم السكون لا ترتبط مع التغيرات في الإنهبين ولا الأُستراديول (Souza وزملاؤه، 1996). بينت دراسة أنَّ موجات إفراز FSH تحدث كل 3–4 أيام بغياب هرمونات المبيض (Duggavathi وزملاؤه، 2005). بالرغم من إنَّ العديد من الدراسات أشارت إلى أنَّ الإنهبين يمكن أن يقلل من تحرر FSH مخبرياً (Goodman وInskeep، 2006)، إلا أنه لم يلاحظ أي تغيرات في مستويات mRNA لمستقبلات الإنهبين أو في المستويات الموضعية في النخامية (Fafioffe وزملاؤه، 2004)، أو في المستويات الموضعية من RNA المرسال أو البروتين الخاص بتحت الوحدة α إنهبين في أثناء دورة الشبق (Sallon وزملاؤه، 2010). يمكن للأكتيفين أن يحفز تركيب FSH وإطلاقه في المختبر (Youngوزملاؤه، 2008؛ Faure وزملاؤه، 2005)، وكذلك الأمر في الجسم الحي، والدليل على ذلك وجود الإرتباط القوي الإيجابي بين FSHβ وmRNA مع مستوى mRNA لثلاثة مستقبلات الأكتيفين (Fafioffe وزملاؤه، 2004).

1–6 التحكم بسلوك الشبق

1–6–1 التحكم الهرموني

يُعَد كل من البروجسترون والأُستراديول ضرورياً تحت الظروف الفيزيولوجية لتحريض سلوك الشبق في النعاج و يمكن أن ينتج عن المعاملة بالأُستراديول وحده شبقاً ولكن في غياب المعاملة المسبقة بالبروجسترون فإنه يُطلب جرعات بمستويات كافية (Fabre–Nys وGelez، 2007؛ Goodman وInskeep، 2006؛ Karsch وزملاؤه، 1980a). تزيد المعاملة المسبقة بالبروجسترون لأيام عدة من الحساسية لهرمون الإستروجين وشدة كل من سلوكي الميل والقبول (Fabre–Nys وMartin، 1991). توجد اختلافات بين السلالات في مدى الحساسية للأُستراديول (Ben Said وزملاؤه، 2007)، ولكن بشكل عام يمكن أن تحرض التراكيز المنخفضة الشبق في جميع النعاج تقريباً، مع التنويه إلى أنَّ

التراكيز المرتفعة تقلل من زمن الوصول إلى الشبق وزيادة النشاط الاستباقي للنعجة، تعد العلاقة المؤقتة بين البروجسترون والأُستراديول في أثناء دورة الشبق مهمة أيضاً لبدء الشبق. على النقيض من التأثيرات المساعدة للمعاملة الابتدائية للبروجسترون فإنه عندما كان يُعطي بالتزامن مع الإستروجين فإنَّ ذلك يمنع سلوك الشبق (Fabre–Nys وGelez، 2007)، وتكون المعاملة بالإستروجين أكثر فعالية عندما يعطى بعد أيام قليلة من سحب البروجسترون. ومن ثم يكون نمط الستيروئيد المثالي لتحريض الشبق في النعجة هو مدة طويلة من البروجسترون المرتفع تُتبع بانخفاض البروجسترون وارتفاع في الأُستراديول في الأيام القليلة التالية، وهذا النمط يماثل إلى حدٍ كبير ما يحدث في أثناء الطور الجريبي عند النعجة، ويساعد هذا النمط في توقيت الشبق مع موجة LH الإباضية ويخفض البروجسترون من شدة الشبق (Fabre–Nys وGelez، 2007)، ولكنه يزيد بالتزامن مع ذلك من شدة موجة LH (Skinner وزملاؤه، 2000). إنَّ الإرتفاع الكامل للأُستراديول قبيل الإباضة يكمل هذا التزامن (Goodman وInskeep، 2006)، ويعد انخفاض الأُستراديول في وقت موجة LH مهماً لإنهاء الشبق لإنَّ المعاملة بالإستروجين لفترات طويلة تضاعف مدة الشبق (Fabre – Nys وزملاؤه، 1994). تكمن الأهمية الفيزيولوجية للبروجسترون والأُستراديول بغياب الشبق في المدة الإنتقالية بين موسم السكون وموسم التناسل (Goodman وInskeep، 2006). تكون الإباضة الأولى عند بداية موسم التناسل غير مترافقة بسلوك شبق نظراً لنقص التحريض بالبروجسترون وتجدر الإشارة إلى أنه في نهاية موسم التناسل لا تظهر علامات شبق بعد تحلل الجسم الأصفر لإنَّ تراكيز الأُستراديول تفشل في الارتفاع.

1-6-2 التحكم العصبي

تُعَد المعلومات عن التحكم العصبي في سلوك الشبق –على عكس التحكم الهرموني– غير واضحة إلى حدٍ كبير. يؤثر الأُستراديول في النواة الوطائية البطنية الأنسية (VMN) ليحرض سلوك الشبق (Fabre–Nys وGelez، 2007)، ويزيد البروجسترون من التعبير عن مستقبلات هرمون الأستروجين ألفا ERα في هذه المنطقة (Blache وزملاؤه، 1994). يوجد ثلاثة نواقل عصبية تشارك في التحكم

بسلوك الشبق في النعجة Dopamina (DA) وGnRH والأوكسي توسين (Fabre-Nys وGelez، 2007). يُحفز تحرير DA في نواة البطين (النواة الوطائية البطنية الأنسية) VMN عن طريق سحب البروجسترون، ثم ينخفض بسرعة فقط إذا أُعطي أُستراديول لتحريض الشبق (Fabre-Nys وزملاؤه، 1994). يمكن أن يؤدي هذا إلى استنتاج الفرضية القائلة بأن DA يؤثر أولاً في VMN لتحفيز النّظُم العصبية المسؤولة عن سلوك الشبق، ولكن بعد ذلك يثبط هذا النشاط، وما يدعم ذلك هو أنَّ تأثيرات الحقن الموضعي من ناهض مستقبل الدوبامين DA (D_2R) في VMN يزيد من شدة سلوك الشبق عندما يعطى قبل المعاملة الجهازية بالأُستراديول، ولكنه ينخفض عندما يعطى بعد الأُستراديول (Fabre-Nys وزملاؤه، 2003). لم يكن لهذه المعاملات تأثير في ابتداء الشبق أو مدته عند النعجة، وهذا يشير إلى أنَّ النواقل العصبية الأخرى تشارك في بداية سلوك الشبق ونهايته، وإنَّ كل من GnRH والأوكسي توسين يشاركان أيضاً. في أثناء موجة GnRH ماقبل الإباضة يُحرّر GnRH في كل من النظام البابي والسائل الدماغي الشوكي CSF في البطين الثالث (Skinner وزملاؤه، 1995). يؤدي حقن مناهضات GnRH في CSF في أثناء الجزء الأخير من موجة GnRH إلى إنهاء سلوك الشبق قبل الوقت المتوقع، وهذا دليل على أن GnRH في CSF يضمن أن يستمر لمدة 36 ساعة في النعجة (Caraty وزملاؤه، 2002). على العكس من ذلك يؤدي التلقيح إلى تحرير الأوكسي توسين في منطقة VMN وتسريب الأوكسي توسين في هذه المنطقة يثبط قبول الذكر وهذا التأثير المثبط لإطلاق الأوكسي توسين الناجم عن التلقيح قد يفسر تقصير مدة قبول الذكر الذي يحدث عندما تتعرض النعاج باستمرار للكباش (Fabre-Nys وGelez، 2007).

1-6-3 التحكم بالتطور الجريبي

تحدث عملية تطور الجريبات البَدْئية إلى الجريبات الأولية والجريبات الصغيرة قبل الغارية (حتى نحو 2 مم في القطر) بشكل مستمر طوال دورة الشبق لأنها مستقلة عن موجهات المناسل. يتم التحكم فيه من خلال عوامل ضمن الجريبات تأتي أساساً من الخلية البيضية. يعد الرتق منخفضاً أثناء هذه المراحل،

ولكنه يزداد أكثر فأكثر كلما أصبحت الجريبات أكثر اعتماداً على دعم موجهات المناسل. تحت الظروف التي يكون فيها تراكيز FSH وLH منخفضة تتمايز الخلايا القرابية وتعبّر مستقبلات LH وتصبح الجريبات مستجيبة لموجهات المناسل، ومع استمرار النمو وزيادات في LH وFSH، تكتسب الجريبات المستجيبة لموجهات المناسل أنشطة أنزيم الأروماتاز وتصبح معتمدة على موجهات المناسل. تعد الجريبات المعتمدة على موجهات المناسل –بسبب احتياجاتها لدعم موجهات المناسل– حساسة بالنسبة لمعدلات عالية من الرتق ويحتمل أن هذه الخاصية تؤدي إلى تشكل موجات جريبية. إذا استمرت الجريبات المعتمدة على موجهات المناسل في التطور فإنها تكتسب مستقبلات LH على الخلايا الحبيبية ومستويات عالية من الأروماتاز، ومن ثم تصبح جريبات إباضية محتملة، وإذا لم تحدث موجة LH في أثناء 72 ساعة فإنَّ الجريب الإباضي المحتمل يصبح مرتوقاً.

في أثناء دورة الشبق عند النعجة يتم التحكم بديناميكية نمو الجريبات عبر تغيرات تراكيز FSH و LH في معظم الطور اللوتيئيني عندما يكون تكرار ذبذبات LH منخفضاً، يؤدي FSH دوراً حاسماً لأنَّ كبت ذرى FSH الداخلية تمنع بزوغ موجات جريبية (Barrett وزملاؤه، 2006)، ويمكن لـ FSH الخارجي أن يبتدىء موجات جريبية جديدة (Toosi وزملاؤه، 2010a). يجب القول ببساطة أنَّ تراكيز FSH يجب أن تكون فوق العتبة الحرجة حتى تتطور جريبات معتمدة على موجهة الغدد التناسلية لإنَّ التقلبات في ارتفاع ذرى FSH في أثناء الطور اللوتيئيني وزيادة ذرى FSH لاتؤثر في خصائص الموجة الجريبية اللاحقة (Toosi وزملاؤه، 2010b). يسمح ارتفاع طفيف في FSH فوق هذه العتبة بظهور مجموعة من الجريبات في بداية موجة جريبية، وحيث أنَّ واحداً أو أكثر من هذه الجريبات سوف يصبح (جريبات إباضية محتملة) فإنها تنتج كميات متزايدة من الأُستراديول والإنهبين وتكبح تراكيز FSH إلى ما دون العتبة المطلوبة من قبل الجريبات الأخرى المعتمدة على موجهات المناسل، ومن ثم فهي تصبح في النهاية رتقية. يؤدي استئصال أكبر جريب إلى إطالة عمر ثاني أكبر جريب بدرجة كبيرة في السلالات أحادية الإباضة (Evans وزملاؤه، 2002). يمكن أن ينظم النشاط الإفرازي لأكبر

جريب توقيت الموجة الجريبية التالية. وفقاً لهذه الفرضية تخضع جريبات الإباضة المحتملة الطور اللوتيئيني إلى الرتق في نهاية المطاف عند غياب موجة LH مما يسمح بارتفاع تراكيز FSH وابتداء موجة جريبية تالية. يبدو أنَّ الدراسات الأخيرة لا تدعم هذه الفرضية لإنَّ تحريض موجة جريبية إضافية بحقن FSH خارجي لم يؤخر التوقيت الطبيعي للزيادة الداخلية في إفراز FSH، والموجة الجريبية (Toosi وزملاؤه، 2010a). تتطلب المراحل النهائية لتطور الجريب في الطور الجريبي كلا موجهي المناسل. في أثناء المرحلة المبكرة من الطور الجريبي عندما يكون تكرار ذبذبة لـ LH لايزال بطيئاً فإنَّ تراكيز مرتفعة من FSH مطلوبة لتطوير جريبات الإباضة المحتملة والمحافظة عليها. إذا تمت المحافظة على تراكيز FSH في أثناء كامل الطور الجريبي فإنها سوف تكون كافية لتطوير جريبات قبيل الإباضة (Campbell وزملاؤه، 1998). تنخفض تراكيز FSH كلما ارتفع تركيز الأُستراديول ومن ثم فإنَّ جريبات قبيل الإباضة تبدل اعتمادها من FSH إلى LH في أثناء الطور الجريبي. يعد كل من التحريض بـ FSH ومستقبلات LH على الخلايا الحبيبية في الجريبات قبيل الإباضة وزيادة تكرار ذبذبات LH في الطور الجريبي ضروري لهذا التبدل ومن ثم في نهاية المطاف تحدث الإباضة. يتضح أهمية هذه الأخيرة من قدرة ذبذبات LH عالية التكرار المنتجة خارجياً في الطور اللوتيئيني للحفاظ على الجريبات الإباضية المحتملة (Gonzalez-Bulnes وزملاؤه، 2004)، ويوجد ارتباط عكسي بين تراكيز البروجسترون ومعدلات الإباضة في نعاج بربادوس أسود البطن (Devonish وزملاؤه، 2009). تجدر الإشارة إلى أن إفراز LH النوبي ليس ضرورياً، وإنَّ التسريب المستمر لـ LH كان قادراً على دعم جريبات الإباضة في النعاج المعاملة بمناهضات GnRH (Campbell وزملاؤه، 2007)، أو الفطائم قبل البلوغ (Keisler وزملاؤه، 1985).

1-6-4 التحكم في معدل الإباضة

يتأثر معدل الإباضة بالعوامل الهرمونية والوراثية والبيئة، ويعد البروجسترون أحد المؤثرات الهرمونية المهمة، فعندما تكون تراكيزه منخفضة في الدم يرتفع معدل الإباضة بصرف النظر عن إدارة التغذية. تبين من دراسات عن تأثيرات انخفاض البروجسترون في استمرارية الجريبات أنَّ هناك اتجاهاً نحو زيادة

معدل الإباضة (Johnson وزملاؤه، 1996)، فقد سُجل في سلالات الغنم عالية الخصوبة ارتباط خطي سلبي بين معدل الإباضة وتراكيز البروجسترون، ولكن انخفاض البروجسترون لايزيد من معدل ولادة الحملان (Devonish وزملاؤه، 2009). إنَّ معاملة النعاج الساكنة مسبقاً كي تنتج تراكيز من البروجسترون قبل إدخال الكباش أخفض مما هو ملاحظ في الطور اللوتيئيني وتعطي معدل إباضة أعلى من النعاج مع إدخال الكباش لوحدها بدون المعاملة (Knights وزملاؤه، 2003).

1-7 تنظيم إفراز الهرمونات من الجريب

لقي تنظيم إفراز الأُستراديول –أحد الهرمونين الجريبيين الرئيسين– اهتماماً أكبر من تنظيم إفراز الإنهبين، وتوجد أدلة تدعم الاستنتاج بأنَّ ذبذبات LH هي المحفز الرئيسي لتحرير الأُستراديول في أثناء الدورة. أثبتت الدراسات أن:

- هناك علاقة إيجابية بين إفراز LH المنشط والأُستراديول في أثناء الدورة.
- تسبق كل نوبة تحرير الأُستراديول في وريد المبيض بذبذبة LH.
- يمنع تثبيط إفراز LH من ارتفاع الأُستراديول في الطور الجريبي.
- إنَّ محاكاة LH كما هي في الطور الجريبي عند النعاج الساكنة تنتج ارتفاعاً في الأُستراديول شبيهاً بنظيره قبل الإباضة بوجود تراكيز FSH غير متغيرة أو متناقصة (Goodman وInskeep، 2006).

يؤدي حقن FSH في الجسم الحي حتى في غياب ذبذبات LH إلى تحفيز التطور الجريبي ويزيد إنتاج الأُستراديول من قبل هذه الجريبات. تبين لاحقاً أنَّ المعاملة المزمنة بمناهضات GnRH تكبت كل من FSH وLH ويؤدي تسريب FSH بمفرده إلى تحريض نمو الجريبات إلا أنه لم يحدث إفراز الأُستراديول منها أو أُفراز القليل منه (Campbell وزملاؤه، 1998). وعندما أضيف إفراز الـ LH النوبي بالمستويات الملاحظ فيها الطور الجريبي إلى FSH فإنَّ ذلك لم يؤثر في النمو الجريبي، لكنه حفز إفراز الأُستراديول بشكل ملحوظ. وهكذا يمكن القول إنه على الرغم من أنَّ إفراز FSH يؤدي دوراً

مهماً في التحكم بنمو الجريب ومعدل الإباضة إلا أنه يسهل إلى حدٍ كبير ارتفاع الأُستراديول قبل الإباضة لإنَّ تراكيز FSH تنخفض في هذا الوقت. يعد LH على الأرجح الهرمون الموجه الأساسي لإفراز الأُستراديول في أثناء الطور اللوتيئيني. ويتضح هذا الدور الحاسم لـ LH من خلال اختلاف أنماط إفراز الأُستراديول في أثناء الموجتين الجريبيتين الأولى والثانية (Souza وزملاؤه، 1998)، فعندما يكون تكرار ذبذبات LH مرتفعاً في أثناء الموجة الأولى (بسبب انخفاض البروجسترون) توجد زيادة مستمرة في إفراز الأُستراديول ولكن في الموجة الثانية عندما يُكبت تكرار ذبذبات LH لا توجد زيادة في إفراز الأُستراديول على الرغم من وجود معدل النمو الجريبي نفسه بالإضافة إلى FSH وLH يمكن أن يعدل البروجسترون من إفراز الأُستراديول ويتم ذلك وفق آليتين:

1. يُكبت البروجسترون بشكل غير مباشر إنتاج الأُستراديول عن طريق تثبيط منشط إفراز لـ LH المنشط.
2. يمنع البروجسترون بصورة مباشرة استجابة الجريبات لـ LH الخارجي (Goodman وInskeep، 2006).

قد يكون هذا التأثير الأخير مسؤولاً عن الملاحظة المسجلة في أثناء الطور اللوتيئيني بإنَّ ذبذبات LH الأعلى في أثناء هذه المرحلة تنتج زيادة في الأُستراديول مماثلة أو أصغر من نظيرتها في أثناء الطور الجريبي. توجد أدلة عن الأفعال التحفيزية الموضعية لـ IGF1 (Scaramuzzi وزملاؤه، 2011) والإنهبين A (Campbell وBaird، 2001) وBMP2 (Souza وزملاؤه، 2002) وBMP6 (Campbell وزملاؤه، 2009) في تركيب الأُستراديول، بينما يثبط اللبتين (Kendall وزملاؤه، 2004) والأكتيفين B،A (Young وزملاؤه، 2012) ومضاد هرمون ميولر (Campbell وزملاؤه، 2012) إنتاج الأُستراديول. لازال التنظيم الهرموني لإفراز الإنهبين A غير واضحً جزئياً لإنَّ إفراز هذا الهرمون يرتبط بشكل وثيق مع تغيرات في التطور الجريبي ومن ثم التأثيرات الهرمونية المستقلة في تحرره لا زالت صعبة التحديد. بينت بعض الدراسات أنَّ الـ LH والـ FSH لايحفزان إفراز الإنهبين. تجدر الإشارة

إلى أنَّ FSH الخارجي يزيد من إنتاج الإنهبين، ويعتقد أنَّ هذا انعكاس لتحفيز FSH للتطور الجريبي، ولاتزيد المعاملة الإضافية بـ LH من تحرير الإنهبين. بينت بعض الدراسات أنَّ FSH يحفز إفراز الإنهبين بشكل كبير من الجريبات في المختبر (Campbell وBaird، 2001) وإنَّ تكرار LH وذبذباته المسجلة في أواخر الطور الجريبي (مرة واحدة في الساعة) يحفز إفراز الإنهبين في الجسم الحي (Campbell وزملاؤه، 2007). في ضوء هذه التأثيرات المحفزة لـ FSH وLH يبدو من المرجح أنَّ تراكيز الإنهبين تبقى مستقرة نسبياً في أثناء الطور الجريبي لإنَّ تراكيز FSH تنخفض عندما ترتفع تراكيز LH. كما لوحظ سابقاً بالنسبة للأُستراديول فإنَّ عدم وجود زيادة في الإنهبين في الموجة الجريبية الثانية في أثناء الطور اللوتيئيني تشير إلى الدور المهم لـ LH في تنبيه إفراز الإنهبين في هذا الوقت من الدورة. على النقيض من الآثار المحفزة لإفراز LH المنشط في إنتاج الأُستراديول فإنَّ موجة LH تنهي إفراز الأُستراديول (Goodman وInskeep، 2006). يبدو أنَّ موجة LH تثبط بصورة مباشرة نشاط الأروماتاز لذلك ينخفض تركيز الأُستراديول قبل أي تغير في إنتاج الأندروجين. تسبب جرعة من hCG في تثبيط إفراز الإنهبين من الجريبات الإباضية (Campbell وزملاؤه، 2007) منتجة انخفاضاً في تركيز الإنهبين مماثلاً لنظيره الملاحظ بعد موجة LH طبيعية.

1-8 التحكم بإفراز بروجسترون الجسم الأصفر

ينظم النشاط الوظيفي للجسم الأصفر وزواله في أثناء دورة الشبق عند النعجة إلى حدٍ كبير من قبل العوامل المنشطة للجسم الأصفر المفرزة من الغدة النخامية (LH وGH) والعوامل المحللة للجسم الأصفر من الرحم ($PGF_{2\alpha}$) والمبيض (أُستراديول و$PGF_{2\alpha}$). يُنظم كل من LH $PGF_{2\alpha}$ الرحمي بدورهما من قبل البروجسترون.

1-9 تطور الجسم الأصفر

تتكون الخلايا المولدة للستيروئيدات من تحول الخلايا الحبيبية إلى خلايا لوتيئينية كبيرة والخلايا القرابية إلى خلايا لوتيئينية صغيرة (Niswender وزملاؤه، 2007). يعد تكون الأوعية الدموية هو العامل الرئيسي في تطور الجسم الأصفر نظراً للمتطلبات الكبيرة من إمدادات الأوعية الدموية لهذه الغدة

النشطة (Miyamoto وزملاؤه، 2010). تشمل السيتوكينات المعنية كل من عامل النمو الوعائي البطاني VEGF وعامل نمو الخلايا الليفية FGF_2. VEGF عبارة عن مُحدِث فعال للانقسام الفتيلي للخلايا البطانية الوعائية التي تحفز هجرة الخلايا البطانية.

VEGF يبلغ مستوى mRNA الذروة في أثناء أولى مراحل الطور اللوتيئيني في دورة الشبق، ويكون الأدنى في أثناء تحلل الجسم الأصفر. يتوضع بروتين VEG في الخلايا المحيطية بالشعيرات الدموية وخلايا العضلات الملساء في الجسم الأصفر المبكر. تجدر الإشارة إلى أنَّ هرمون الإستروجين الذي يؤثر عبر مستقبلاته ERα يمكن أن يؤدي أيضاً دوراً في تفعيل إفراز البروجسترون من الجسم الأصفر المبكر (Benoit وزملاؤه، 1992).

1-9-1 دعم الجسم الأصفر

على الرغم من أنَّ LH هو هرمون اللوتنة الأساسي في أثناء دورة الشبق عند النعجة، إلا أنه يبدو أنَّ LH يؤدي دوراً محفزاً أو مثبطاً في إفراز البروجسترون. استنتجت هذه النتيجة جزئياً من الارتباط العكسي بين تراكيز LH والبروجسترون في أثناء الدورة، ولإنَّ إفراز البروجسترون يكون أعظمياً عندما تكون تراكيز LH وتكرار ذبذبات LH في الحد الأدنى، لذلك فإنَّ موجه المناسل هذا من غير المرجح أن يكون العامل الرئيسي الذي ينظم معدلات إفراز البروجسترون. يرجع الاستقلال النسبي لإفراز البروجسترون عن LH لإنَّ معظم إفراز البروجسترون يأتي من الخلايا اللوتيئينية الكبيرة التي لا تستجيب لـ LH. عندما تعمل في أقصى حد. يتفاعل هرمون النمو GH مع LH ليكونا بمثابة منشط لوتيئيني عند المجترات. يعبّر الجسم الأصفر عند النعجة عن مستقبلات GH وIGF-I (Juengel وزملاؤه، 1997). تؤدي المعاملة بمزيج من LH وGH إلى استرجاع وزن الجسم الأصفر إلى الحد الطبيعي تقريباً عند النعاج التي استؤصلت نخامتها (Juengel وزملاؤه، 1997). يحتمل أن يُنظّم عمل هرمون النمو من خلال IGF-I عبر التغيرات في البروتين -1 الرابط لـ IGF-I والذي لوحظ ازدياد مستواه استجابة لـ $PGF_{2\alpha}$ عند البقرة (Sayre وزملاؤه، 2000). تشمل الخطوات الكيميائية الحيوية في تحفيز

تركيب البروجسترون في الخلايا اللوتيئينية بواسطة LH (Niswender وزملاؤه، 2007) تنشيط بروتين كيناز A ونقله من الكوليسترول عبر السيتوبلازم ونقل الكوليسترول من أغشية الميتوكوندريا الخارجية إلى الأغشية الداخلية. تعزز فسفرة البروتين التنظيمي الحاد المولد للسيتروئيدات (StAR) بواسطة بروتين الكيناز A نقل الكوليسترول. تحتوي الخلايا اللوتيئينية الكبيرة ستة أضعاف الخلايا اللوتيئينية الصغيرة من StAR في الجسم الأصفر الغنمي، وترتبط تراكيز StAR بتراكيز البروجسترون في البلازما طوال دورة الشبق. يرتبط إفراز البروجسترون في المختبر من الخلايا اللوتيئينية عند النعاج في الأيام 5 و 10 و 15 من الدورة إيجابياً مع التعبير عن mRNA لبروتين الإتصال الفجوي Cx43 (Borowczyk وزملاؤه، 2007).

1-9-2 انحلال الجسم الأصفر

يعرف الإنحلال اللوتيئيني بأنه زوال هيكلي للجسم الأصفر والذي يُسبق بفقدان القدرة على تركيب البروجسترون وإفرازه. يتوقف الإنحلال اللوتيئيني الطبيعي على إفراز عامل محلل رحمي يُسمى $PGF_{2\alpha}$ والذي يؤثر موضعياً لإنَّ استئصال قرن الرحم من جانب واحد يحافظ على وظيفة الجسم الأصفر في المبيض في الجهة نفسها، وليس في المبيض المقابل. سُلّم بأنَّ $PGF_{2\alpha}$ يدخل شريان المبيض من الوريد الرحمي المبيضي عبر آلية التيار المعاكس التي تسمح لـ $PGF_{2\alpha}$ بالوصول إلى المبيض دون الدخول في الدورة الدموية الرئوية حيث يثبط أنزيمياً في الرئتين (Goodman و Inskeep، 2006). يعد البروجسترون في الطور اللوتيئيني هو المحدد الرئيسي في توقيت إفراز $PGF_{2\alpha}$ الرحمي وتؤدي تراكيز منخفضة من الأُستراديول دوراً مسهلاً لهذا الإفراز والإستجابة المحللة للجسم الأصفر (Goodman و Inskeep، 2006). تبرمج زيادة إفراز $PGF_{2\alpha}$ في اليوم 11 وحتى اليوم 14 من قبل ارتفاع تراكيز البروجسترون في وقت مبكر من الطور اللوتيئيني وقد أثبت هذا في قدرة المعاملة بالبروجسترون ابتداءً من مرحلة الشبق على تبكير إفراز $PGF_{2\alpha}$ أربعة أيام والإسهام في تقصير دورة الشبق (Ottobre وزملاؤه، 1980). يمنع انخفاض البروجسترون عند تحلل الجسم الأصفر وارتفاع الأُستراديول في المرحلة الجريبية الإفراز المبكر من $PGF_{2\alpha}$ في بداية الدورة التالية ومن ثم ضمان

حدوث مدة لوتيئينية طبيعية. ذُكر سابقاً أنَّ البروجسترون له تأثير مطلق في سلوك الشبق، وربما يعكس هذا تحريض البروجسترون لمستقبل الإستروجين ألفا ERα في بطانة الرحم (Stone وزملاؤه، 1978). تبين مؤخراً أنَّ البروجسترون بمستوياته المسجلة في أثناء الطور اللوتيئيني يحمي الخلايا المولدة للستيروئيدات من موت الخلايا المبرمج apoptosis (Davis وزملاؤه، 2010).

بينت العديد من الدراسات أنَّ $PGF_{2\alpha}$ له أربعة تأثيرات رئيسة على الأقل في الجسم الأصفر:

1. يحفز $PGF_{2\alpha}$ إفراز الأوكسي توسين اللوتيئيني في أثناء 2–4 دقائق بعد الحقن العضلي (Lamsa وزملاؤه، 1989) أو بعد 15 دقيقة من ابتداء التسريب في الأوعية اللمفية الرحمية (Heap وزملاؤه، 1989).
2. الإنخفاض السريع في تدفق الدم إلى الجسم الأصفر الذي يترافق مع التأثير الثالث، وهو:
3. انخفاض إفراز البروجسترون (يُكتشف بعد 1–2 ساعة) نظراً لتنشيط مسلك أنزيم كيناز بروتين C– (المرسال الثاني).
4. تسبب زيادة الكالسيوم ضمن الهيولى المحرضة بـ $PGF_{2\alpha}$ الموت الخلوي عبر آلية الموت المبرمج والتحلل الهيكلي للجسم الأصفر. أضافت دراسات لاحقة عاملاً خامساً وهو تحريض إنتاج عوامل فعالة في الأوعية (مثل البروستاغلاندينات والأندوثلين وأننجيوتنسينII و أوكسيد الآزوت) تسهم في سلسلة الحوادث المؤدية إلى تحلل الجسم الأصفر.

تبين أنَّ للأوكسي توسين قدرة على زيادة إفراز $PGF_{2\alpha}$ من الرحم. يحفز الأوكسي توسين الإفراز النهائي لـ $PGF_{2\alpha}$ الذي يسهم في التحلل اللوتيئيني للأجسام الصفراء (Niswender وزملاؤه، 2007). تتضمن أفعال البروجسترون الواقية للجسم الأصفر زيادة Ca^{++} داخل الخلية عبر مستقبلات البروجسترون في غشاء الشبكة الأندوبلاسمية في كل من الخلايا الستيروئيدية الكبيرة والصغيرة (Ashley وزملاؤه، 2006). بينت بعض الدراسات دور الخلايا المناعية والستوكينات Cytokines في التحلل اللوتيئيني بما في ذلك الخلايا الليمفاوية التائية من أنماط عدة $CD4^+$ و$CD8^+$ (Pate وزملاؤه، 2012).

بينت بعض الدراسات على الجسم الأصفر في البقر أنَّ و $CD8\alpha\beta^{+}$ و $CD8\alpha\beta^{+}-\gamma\delta$ T والخلايا التائية تهاجر إلى الفراغات بين خلايا الجسم الأصفر و تزداد أثناء التحلل اللوتيئيني.

1-10 دورة الشبق عند النعجة

يجب التمييز بين الحوادث المبيضية التي ينظمها LH وتلك التي ينظمها FSH لأنهما يؤثران بشكل مستقل إلى حدٍ كبير. يمكن النظر إلى دورة الشبق على أنها سلسلة من الأحداث التي ترتبط بالغدد الصماء، وكل مرحلة في السلسلة تبتدىء التغير الهرموني اللاحق. نظراً لأنَّ دورة الشبق هي سلسلة متكررة من الأحداث فإنه يمكن توصيف هذه الأحداث من الناحية النظرية بدءاً من أي نقطة من الدورة، ولكن تعد موجة LH قبل الإباضة، هي نقطة بداية مناسبة بشكل خاص لأنها تسبب ابتداء تركيب مبيضي جديد وتحدث عادة في اليوم 0 من دورة الشبق عند النعجة. تسبب موجة LH حدوث الإباضة ولوتنة بقايا الجريب وتطور الجسم الأصفر، وابتداء ارتفاع تركيز البروجسترون. نظراً لتأثيرات LH المنشط للجسم الأصفر عند النعجة فإنَّ نموذج إفراز البروجسترون في أثناء الطور اللوتيئيني (من الإباضة إلى ماقبل التحلل اللوتيئيني) يعكس العوامل الداخلية ضمن الجسم الأصفر و قدرته الإفرازية. توجد تأثيرات رئيسة عدة لمستويات البروجسترون المرتفعة في أثناء الطور اللوتيئيني وتعد بالغة الأهمية بالنسبة لدورة الشبق. يؤثر البروجسترون في بعض المراكز في الدماغ ويتحكم بسلوك الشبق وموجة GnRH، ومن ثم يحرض ارتفاع الأُستراديول في الطور الجريبي الشبق وموجة LH. تمنع الزيادة المبكرة في البروجسترون (في اليوم 3-5) إفراز $PGF_{2\alpha}$ كما أنه يبرمج الرحم كي يبدأ بإفراز $PGF_{2\alpha}$ بعد 7-8 أيام، إضافة إلى ذلك فإنه يعدل وظيفة الرحم بحيث لا يحدث إفراز مبكر من $PGF2\alpha$ في دورة الشبق التالية ويضمن استمرارية الطور اللوتيئيني الطبيعي في تلك الدورة. تجدر الإشارة إلى أنَّ اثنين من التأثيرات المحفزة الثلاثة آنفة الذكر للبروجسترون يمكنهما أن يعكسا قدرته على تحريض مستقبلات الإستروجين ألفا $ER\alpha$ (Blache وزملاؤه، 1994). ومن ثم قدرة المعاملة الابتدائية بالبروجسترون لتضخيم موجة GnRH يمكن أن تحرض مستقبلات الإستروجين ألفا $ER\alpha$. يكبت البروجسترون الإفراز المنشط من LH عن طريق كبت تكرار ذبذبة GnRH، وبذلك تنخفض تراكيز LH الجائلة إلى

المستويات الدنيا في منتصف الدورة وتستمر كذلك حتى الانحلال اللوتيئيني. تعد التراكيز المنخفضة من LH ضرورية للموجات الجريبية ويسمح الحد الأدنى من الدعم اللوتيئيني بزيادة $PGF_{2\alpha}$ التي تحدث بين اليوم 11 واليوم 13 ليحرض التحلل اللوتيئيني ومن ثم تنخفض تراكيز البروجسترون بشكل حاد. يحرر انخفاض البروجسترون عند التحلل اللوتيئيني ثلاثة نظم عصبية وطائية من الآثار المثبطة لهذا الستيروئيد. يُسمح للمراكز التي تتحكم بموجة GnRH–LH وسلوك الشبق أن تستجيب للأُستراديول، كما يسمح لمولد ذبذبات GnRH بزيادة التكرار. يساعد الارتفاع الناجم في تركيز LH المنشط في الحفاظ على النمو الجريبي ويحفز إفراز الأُستراديول من المبيض. يساعد الارتفاع المستمر للأُستراديول في المرحلة الجريبية بابتداء سلوك الشبق و موجتي GnRH وLH قبل الإباضة، كما أنه ضروري لبرمجة الرحم على إفراز $PGF_{2\alpha}$ بصورة طبيعية في أثناء دورة الشبق التالية. تعمل موجة LH بدورها على إنهاء إفراز الأُستراديول وتحريض الإباضة واللوتنة ومن ثم تبدأ دورة جديدة. وفي الوقت نفسه الذي تحدث فيه هذه الحوادث تعمل الأنشوطة الارتجاعية بين الجريبات النامية وإفراز FSH على تحديد الموجات الجريبية. تنهي موجة LH إفراز كل من الأُستراديول والإنهبين من المبيض ويسمح انخفاض هذين الهرمونين بازدياد تراكيز FSH في اليوم 1. يحفز هذا الارتفاع في FSH على التطور الجريبي بوجود مستويات منشطة من LH، وتزداد تراكيز كل من الأُستراديول والإنهبين مع تطور مجموعة من الجريبات، وتمنع هذه الهرمونات المبيضية بدورها إفراز الـ FSH والذي يسبب في نهاية المطاف رتق هذه الجريبات إذا كان إفراز LH المنشط منخفضاً. ومع تضاؤل الوظيفة الجريبية، ونتيجة لانخفاض إشارتها الرجعية السلبية فإنها تسمح بزيادة تراكيز FSH مرة أخرى وتبدأ موجة ثانية من الجريبات بالتطور. يتكرر هذا التسلسل الزمني في أثناء الطور اللوتيئيني –ما عدا الحالات التي يكون فيها زيادة حتى لو كانت صغيرة في مستويات الأُستراديول– وهذا ينتج من التطور الجريبي. تسمح زيادة تكرارات ذبذبات LH بعد حدوث التحلل اللوتيئيني بالمحافظة على نمو الجريب مقابل انخفاض تركيز FSH ويعزز السيادة الجريبية ضمن تلك الموجة بحيث تحدث في معظم السلالات إباضة واحدة أو اثنتان

فقط. تعمل الآليات الارتجاعية بين الجريبات وإفراز FSH بصورة متوازية وتعتمد نسبياً على الآليات الارتجاعية للبروجسترون في التحكم في التحلل اللوتيئيني والحوادث الفيزيولوجية في الطور الجريبي.

تؤدي التغيرات في تراكيز FSH دوراً محدوداً في توقيت الأحداث في دورة الشبق، ومن ثم فإنه ليس من المستغرب أنَّ التغيرات في معدل الإباضة لها تأثير ضئيل في تنظيم دورة الشبق، إذ تكون دورات الشبق عند السلالات متعددة الإباضات متشابهة إلى حد كبير مع تلك وحيدة الإباضة. أنَّ أهم الأحداث في دورة الشبق هي التحلل اللوتيئيني، وسلوك الشبق والإباضة واللوتنة، ويتم التحكم بهذه الأمور من قبل ستيروئيدات المبيض. يعد البروجسترون بالمشاركة مع ازدياد إفراز الأُستراديول في أثناء الطور الجريبي هو المسؤول عن سلوك الشبق وإطلاق موجة LH الإباضية. جدير بالذكر أنَّ إفرازات الجسم الأصفر والجريب الإباضي تبتدئ بالحوادث المؤدية إلى تخريب التركيب الآخر، وتعد وظيفة كل نسيج محددة وهذه الميزة تسمح بحدوث دورية النشاط المبيضي، وهو ضروري للأحداث في أثناء المرحلة الجريبية وهو بحد ذاته ينظم من قبل البروجسترون، فإذا كانت تراكيز البروجسترون مرتفعة يثبط إفراز LH المنشط ومن ثم لايحدث ارتفاع الأُستراديول أما إذا انخفض تركيز البروجسترون فيزداد إفراز LH المنشط و يحفز زيادة الأُستراديول قبل الإباضة.

1-11 التنظيم الموسمي للدورة المبيضية عند النعجة

يؤثر شهر الولادة في سن البلوغ عند السلالات موسمية التناسل، إذ تبين أنه بصرف النظر عن وقت الولادة سوف تصل الحملان لسن البلوغ داخل موسم التناسل فقط، وعلاوة على ذلك لوحظ أنَّ العديد من السلالات التي ولدت في الشتاء أو في الربيع تصل إلى سن البلوغ في الوقت نفسه من السنة، والتي ولدت في الربيع تصل إلى سن التناسل بعمر أصغر من التي ولدت في الشتاء بأشهر عدة (Dýrmundsson وLees، 1972). إنَّ ازدياد طول النهار في الربيع والصيف يليها انخفاض طول النهار في الخريف هذا يحفز بدء البلوغ الجنسي (Karsch وزملاؤه، 1984). تكمن الملاحظة الرئيسة لفهم هذه الأحداث في توضيح التغيرات الفصلية الكبيرة في تأثيرات الآلية الارتجاعية السلبية

للأُستراديول، إذ يثبط الأُستراديول في أثناء مرحلة السكون تكرار ذبذبات GnRH وLH، ومن ثم يثبط بقوة إفراز LH المنشط في حين أنَّ الأُستراديول داخل موسم التناسل لا يثبط التكرار التذبذبي، ومن ثم ينتج عنه فقط تثبيط محدود في متوسط تراكيز LH (Olster وزملاؤه، 1986). تصل الفطائم التي تولد في الربيع إلى البلوغ الجنسي في أثناء الموسم التناسلي أما تلك المولودة في الخريف فتتأثر بالآلية الارتجاعية السلبية للأُستراديول عندها، هذا يؤدي إلى إفراز LH بكميات مرتفعة و إلى بدء التطور الجريبي في الصيف، ويكون هذا خارج الموسم (Foster وزملاؤه، 1989).

يؤثر الميلاتونين في إفراز LH من الوطاء (Malpaux وزملاؤه، 1993) وله دور حاسم في الغدة النخامية وضبط الموسم التناسلي وتعديل إفرازLH (Stankov وزملاؤه، 1991) يعكس تأثير المدة الضوئية في النعاج التفاعل المعقد بين طول اليوم (ساعات الضوء في اليوم الواحد) والإيقاع الداخلي (Goldman، 2001).

1-11-1 كيف يُسهم التغير السنوي في الآلية الارتجاعية السلبية للأُستراديول في موسمية التناسل

نظراً لإنَّ دورة الشبق عبارة عن سلسلة من الأحداث المتسلسلة، فإنَّ أي اضطراب في أي مرحلة سوف يقطع السلسلة، وينتج عن ذلك توقف الإباضة. تعد الخطوة الأساسية –بخصوص موسمية التناسل– زيادة تكرار ذبذبات LH الذي يؤدي إلى ارتفاع الأُستراديول قبل الإباضة. يعد البروجسترون داخل موسم التناسل المثبط الرئيسي لتكرار ذبذبات GnRH (Karsch وزملاؤه، 1980b)، وحيث أنَّ تراكيز البروجسترون تنخفض عند الانحلال اللوتيئيني فإنَّ تكرار ذبذبات GnRH و LH يزداد وهذا الأخير يحفز إفراز المبيض للأُستراديول، الذي يبتدىء موجة LH وحدوث الإباضة. في المرحلة الانتقالية من الدورية إلى حالة السكون فإنَّ النظم العصبية المثبطة التي تنشطها الفترات الضوئية الطويلة تسمح للأُستراديول ليصبح الستيروئيد الأساسي في الآلية الارتجاعية السلبية التي تنظم تكرار ذبذبات GnRH. ومن ثم بعد تحلل آخر جسم أصفر في موسم التناسل لايزداد تكرار ذبذبات GnRH وLH، ودون

الزيادة في الإفراز المنشط من LH لايحدث ارتفاعاً للأُستراديول قبل الإباضة ليحرض موجة LH وسلوك الشبق فتحدث حالة السكون. تبقى النعاج ساكنة طالما الآلية الارتجاعية السلبية تثبط تكرار ذبذبات الـ LH. في أثناء فصل الخريف في أوروبا يتضاءل تأثير الآلية الارتجاعية السلبية للأُستراديول، وغياب البروجسترون يزيد إفراز ذبذبات LH ويحفز ارتفاع الأُستراديول مما يؤدي إلى ابتداء موجة LH، وتحدث أول إباضة في موسم التناسل. تجدر الإشارة إلى أنَّ الآلية التي تنظم إفراز LH المنشط ليست فقط النظام الهرموني الذي يظهر اختلافات موسمية في الغنم، وإنما توجد مجموعة متنوعة من التغيرات الموسمية عندها بما في ذلك انخفاض قدرة الأُستراديول في تحريض سلوك الشبق وانخفاض طفيف في استجابة المبيض لـ LH (Goodman وInskeep، 2006)، وزيادة ملحوظة في تراكيز البرولاكتين الجائلة. بالرغم من أنَّ هذه التغيرات يمكن أن تعدل وظيفة المبيض ومن ثم المساهمة في المحافظة على حالة السكون إلا أنَّ أياً منها بمفرده غير كافٍ لتفسير التناسل الفصلي في النعاج، أو على العكس من ذلك فإنَّ التغيرات في إفراز LH المنشط التي تنظمها مدة الإضاءة يمكن أن تفسر كل من توقف دورات الشبق في الربيع وإعادة بدئها في الخريف في أوروبا (Karsch وزملاؤه، 1980a).

1-11-2 الآليات الهرمونية العصبية التي تتوسط التغير الفصلي في الإستجابة للآلية الارتجاعية السلبية للأُستراديول

يمكن تقسيم الآليات التي بواسطتها يتحول التغير في المدة الضوئية إلى تغير في الآلية الارتجاعية السلبية للأُستراديول إلى ثلاث خطوات رئيسة (Goodman وزملاؤه، 2010):

1- تتلقى شبكة العين المعلومات الضوئية وتنقل إشارة عصبية عبر النواة فوق التصالبة suprachiasmatic والنواة المجاورة للبطين paraventricular والعقدة الرقبية العلوية إلى الغدة الصنوبرية.

2- تحول الغدة الصنوبرية الإشارة العصبية إلى إشارة هرمونية : أنماط الميلاتونين في المصل والسائل الدماغي الشوكي CSF. تفرز الغدة الصنوبرية الميلاتونين فقط في الليل، ومن ثم فإنَّ مدة الزيادة اليومية في تركيز الميلاتونين تعد إشارة هرمونية تناظر المدة الضوئية الخارجية.

3- يترجم نمط الميلاتونين في الوطاء لينتج تغيّر في استجابته للآلية الارتجاعية السلبية للأُستراديول. بينت الدراسات أنَّ الميلاتونين يؤثر في المنطقة أمام الأجسام الحلمية (Malpaux وزملاؤه، 1998). أشارت دراسات أخرى إلى إمكانية تأثير الميلاتونين في الجزء الحدبي من الغدة النخامية لتنظيم الانتقال إلى السكون (Hanon وزملاؤه، 2008).

1-12 تأثيرات الفرومونات ومظاهر السلوك الجنسي

من أبرز الأمثلة على التناسل تأثير النشاط التفاعلي عامةً والمدخلات الشمية. يعد تحريض الإباضة خارج موسم التناسل عند النعاج عن طريق التعرض للكبش من أهم الأمثلة عن تأثير التفاعلات الاجتماعية في التناسل والتي غالباً ما يشار إليها بـ (تأثير الذكر) (Ungerfeld وزملاؤه، 2004). إنَّ تأثير الذكر خارج موسم التناسل يزيد من تكرار ذبذبات LH وما يتبعه من نمو جريبي وموجة LH قبل الإباضة (Goodman وInskeep، 2006). تحدث الإباضة عادة خلال 2-3 أيام من إدخال الكبش، ولكن يمكن في بعض الأحيان أن تتأخر لتحدث بعد 4-6 أيام (Ungerfeld وزملاؤه، 2004)، وتُحّرض هذه الاستجابات الهرمونية - جزئياً- بالفرومونات التمهيدية التي تعتمد على الأندروجين في منطقة الرأس والرقبة عند الكبش (Hawken وMartin، 2012). تجدر الإشارة إلى أنَّ الإناث الشبقة تنتج زيادة مماثلة من إفراز LH النوبية استجابة للكباش (Walkden-Brown وزملاؤه، 1999)، ويمكن أن تؤثر الإشارات الشمية من الذكور في إفراز GnRH من الإناث عبر مسارين:

1- تُنقل عبر الخلايا الظهارية الشمية التي ترسل استطالات إلى البصلة الشمية التي بدورها ترسل استطالات إلى اللوزة القشرية في القشرة الكمثرية والقشرة الشمية الداخلية.

2- العضو الميكعي الأنفي الذي يرسل استطالات إلى البصلة الشمية المساعدة التي بدورها ترسل استطالات إلى اللوزة الأنسية (وهي المنطقة ذات الاتصال المباشر مع النوى الوطائية).

تبين أنَّ صوف الكبش يحفز إفراز LH النوبي، وكما أنه يحرض النشاط العصبي (تعبير FOS) في البصلة الشمية الرئيسية، واللوزة والقشرية وتجدر الإشارة إلى أنَّ الكبش يوفر إشارة تحفيزية أقوى بكثير من تلك التي أُنتجت بواسطة الصوف فقط (Gelez و Fabre–Nys، 2006).

الفصل الثاني

مواد البحث وطرائقه

Research Methodology

2-1 مكان تنفيذ البحث

نُفّذ البحث في محطة بحوث دير الحجر (الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية)، وفي مخبر التلقيح الصنعي ونقل الأجنة. قيست تراكيز البروجسترون والأُستراديول في مخبر الدراسات العليا في قسم الحياة الحيوانية – كلية العلوم – جامعة دمشق، و قيست تراكيز الكوليسترول في مخبر التقانات الحيوية الحيوانية – كلية الزراعة – جامعة دمشق، ونُفِّذ التلقيح الصنعي على نعاج العواس في محطة دير الحجر لتحسين أغنام العواس في أثناء الموسم التناسلي لعام 2018 وخارج الموسم التناسلي لعام 2019.

2-2 حيوانات الدراسة

أجريت الدراسة خلال موسم التناسل (23 تموز 2018)، على 38 نعجة عواس بالغة بأعمار 3-4 سنوات بمتوسط وزن 56 ± 1.16 كغ . و خارج موسم التناسل (10 آذار 2019) فقد أجري البحث على 40 نعجة عواس بالغة بأعمار3-4 سنوات وبمتوسط وزن 52 ± 0.91 كغ. وضعت النعاج في حظائر نصف مفتوحة وملحق بها مسرح خارجي، وقُدم لها 600 غ من العليقة المركزة (جدول1)، وتم توفير التبن أو الدريس أو الحجر الملحي بشكلٍ دائم أمام الحيوانات.

الجدول (1)؛ مكونات الخلطة العلفية المركزة المقدمة للحيوانات ونسبتها

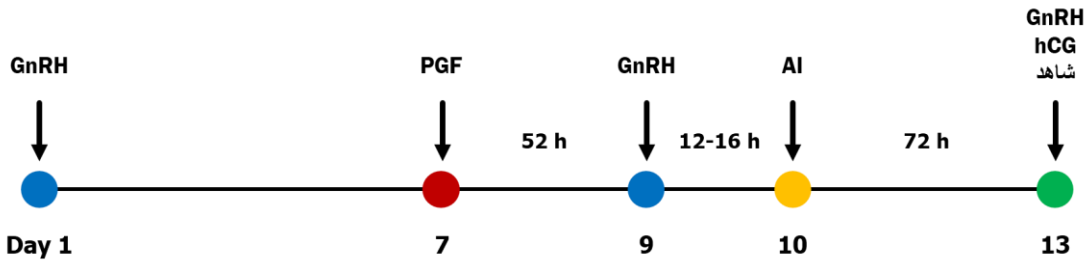
المادة العلفية	%
شعير	65
كسبة قطن مقشورة	20
نخالة	13
ملح طعام	1
دي كالسيوم	1

3-1 طرائق البحث

3-1-1 توقيت الإباضة داخل موسم التناسل

وقّتت الإباضة (الشكل1) عند كافة النعاج (38 نعجة) في أثناء الموسم التناسلي بتطبيق برنامج Ovsynch (جدول2). إذ حُقنت في اليوم الأول بجرعة أولى من GnRH (1.5مل دالمارلين، FATRO إيطاليا) وفي اليوم السابع بجرعة PGF2α (1.5 مل دالمازين، إيطاليا) وبعد 52 ساعة حقنت جرعة ثانية منGnRH (1.5مل دالمارلين، FATRO إيطاليا).

فحصت الجريبات المبيضية للمرة الأولى باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية (Honda HS Japan 2000) عن طريق المستقيم بالتزامن مع جرعة GnRH الثانية في برنامج Ovsynch آنف الذكر، وكرر الفحص بعد 48 ساعة، ومرة ثالثة يوم حقن GnRH أو hCG بعد 72 ساعة من التلقيح. أجري التلقيح الصنعي بعد 12-16 ساعة من جرعة GnRH الثانية في برنامج توقيت الإباضة باستخدام سائل منوي طازج ممدد، ثم قسمت النعاج بعد 72 ساعة من التلقيح إلى ثلاث مجموعات (جدول2)، تركت المجموعة الأولى كشاهد ولم تعامل بأية معاملة وحقنت بـ 1 مل سائل فيزيولوجي فقط (مجموعة NaCl)، أما المجموعة الثانية فعوملت بـ 1000 وحدة دولية hCG (مجموعة hCG)، والمجموعة الثالثة عوملت بـ 1.5 مل دالمارلين (مجموعة GnRH).



الشكل (1)؛ مخطط توقيت الإباضة والتلقيح الصنعي وتوزيع النعاج على المجموعات التجريبية داخل موسم التناسل

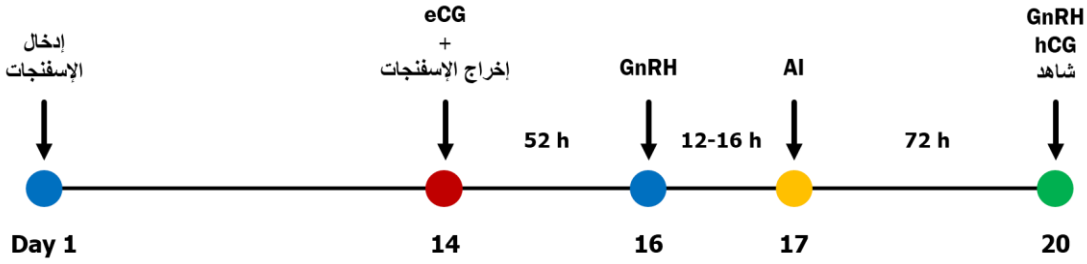
الجدول (2)؛ أعداد نعاج مجموعات الدراسة بحسب المعاملة الهرمونية داخل موسم التناسل

المعاملة	العدد	توقيت الإباضة	المعاملة الهرمونية بعد 72 ساعة من AI
الشاهد	**14**	Ovsynch	1mL (0.09 NaCl)
مجموعة hCG	**11**	Ovsynch	1000 IU hCG
مجموعة GnRH	**13**	Ovsynch	1.5 mL GnRH

3-1-2 تحريض الشبق والإباضة خارج موسم التناسل

حُرّض الشبق عند 40 نعجة (شكل2) بإيداع الإسفنجات المهبلية Ovejero (Sincro-Gest® Laboratories-إسبانيا) لمدة 14 يوماً (من 10/3/2019 إلى 24/3/2019)، وحُقنت 650 وحدة دولية من هرمون eCG بالتزامن مع سحب الإسفنجات المهبلية في صباح اليوم الرابع عشر، وحُرّضت الإباضة عند النعاج بـ 1.5 مل دالماريلين (FATRO إيطاليا) بعد 52 ساعة تالية من سحب الإسفنجات.

لُقحت النعاج صنعياً بعد 12-16 ساعة من جرعة GnRH باستخدام سائل منوي مجمد أُحضر من محطة بحوث إزرع-أكساد، ثم لقحت النعاج مرة ثانية بعد نحو ساعتين من التلقيحة الأولى. قسمت النعاج بعد 72 ساعة من التلقيح إلى ثلاث مجموعات (جدول3)، تركت المجموعة الأولى كشاهد ولم تعامل بأية معاملة وحقنت بـ 1 مل سائل فيزيولوجي فقط (مجموعة NaCl)، أما المجموعة الثانية عوملت بـ 1000 وحدة دولية hCG (مجموعة hCG)، ونعاج المجموعة الثالثة عوملت بـ 1.5 مل دالماريلين (مجموعة GnRH).



الشكل (2)؛ مخطط تحريض الشبق وتوقيت الإباضة وتوزيع النعاج على المجموعات التجريبية خارج موسم التناسل

الجدول (3)؛ أعداد نعاج مجموعات الدراسة بحسب المعاملة الهرمونية خارج موسم التناسل

المجموعة	عدد النعاج	تحريض الشبق و النمو الجريبي	المعاملة الهرمونية بعد 72 ساعة من AI
مجموعة NaCl	**12**	إسفنجات لمدة 14 يوماً و 650 IU eCG	1mL (0.09 NaCl)
مجموعة hCG	**14**	إسفنجات لمدة 14 يوماً و650 IU eCG	1000 IU hCG
مجموعة GnRH	**14**	إسفنجات لمدة 14 يوماً و650 IU eCG	1.5 mL GnRH

3-1-3 مراقبة الشبق

رُوقب الشبق داخل موسم التناسل بدءاً من أخر حقنة GnRH (1.5 مل دالماريلين) وحتى بعد انتهاء الشبق بـ 8 ساعات بمعدل مرة كل 8 ساعات (8 صباحاً، 16 ظهراً، 24 مساءً)، وذلك بواسطة كبش مزود بمئزر خاص، ولقحت النعاج باستخدام سائل منوي طازج ممدد داخل الموسم، وباستخدام سائل منوي مجمد خارج الموسم.

3-1-4 مراقبة النمو الجريبي

فحصت المبايض داخل الموسم وخارجه للمرة الأولى باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية (Honda HS 2000 Japan) عن طريق المستقيم بعد حقن الجرعة الثانية من GnRH الثانية في برنامج Ovsynch آنف الذكر، وكرر الفحص بعد 48 ساعة، ومرة ثالثة يوم حقن GnRH أو hCG بعد 72 ساعة من التلقيح. فُحصت مبايض جميع حيوانات الدراسة خارج موسم التناسل يومياً بدءاً من يوم حقن هرمون eCG ولمدّة 3 أيام متتابعة، باستخدام جهاز أمواج فوق صوتيّة (Honda ،HS-2000V Electronics – اليابان) مزوّدٌ بشاشة فيديو مدمجةٍ قياس 9 بوصاتٍ ذات 256 سويّةً رماديّةً. يعمل هذا الجهاز بالطّريقة الخطيّة B-Mode Linear Real Time، وكمشعرٍ للجهاز اسُتخدم مسبرٌ خطّيٌّ عبر المستقيم. صُنّفت الجريبات تبعاً لأقطارها في ثلاث فئات: جريبات صغيرة بأقطار أقل من 3 مم، جريبات متوسطة تتراوح أقطارها من 3 حتى5 مم، وجريبات كبيرة تبلغ أقطارها > 5 مم. أُجري تشخيص

الحمل في اليوم 32 بعد التلقيح باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية آنف الذكر، وروقبت حالة الحمل عند النعاج حتى الولادة، ثم أجري تشخيص الحمل في اليوم 32 بعد التلقيح باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية باستخدام راسم الصدى (Honda HS 2000 – Japan) والمزود بمسبر خاص عبر المستقيمZ7.5MH.

3-1-5 تحضير محلول التمديد

حُضِّرَ محلول التمديد الأساسي وفق (Salamon وMaxwell، 2000)، بوزن 3.52 غ سترات الصوديوم (Park Scientific Limited،U.K) و0.194 غ من الغلوكوز D-Glucose (U.K، Park Scientific Limited) أضيفتا إلى 60 سم^3 ماء مضاعف التقطير مع التحريك المستمر بواسطة خلاط مغناطيسي، ثم استكملت كمية الماء مضاعف التقطير إلى 100 سم^3 مع استمرار التحريك حتى الذوبان الكامل، ثم أُضيف 20 سم^3 من صفار البيض إلى 80 سم^3 من المحلول الأساسي.

3-1-6 جمع السائل المنوي وتمديده

وضع محلول التمديد قبل مدة كافية من بدء الجمع في حمام مائي على درجة حرارة 38 °س، كما وضع عدد كاف من الساترات والشرائح الزجاجية على صفيحة تسخين مدفأة لدرجة 38 °س لتنفيذ الفحوصات المخبرية. جُمِعَ السائل المنوي من الكبش بواسطة القاذف الكهربائي. ووُضع في حمام مائي درجة حرارته (38 °س). فُحِصَ السائل المنوي بعد عملية الجمع للتقييم العياني (الحجم واللون والقوام)، والتقييم المجهري الذي يتضمن الحركة الجماعية، والحركة التقدمية الأمامية. لتنفيذ التقييم المجهري سُحبت قُطيرة من السائل المنوي ووضعت على شريحة زجاجية مدفأة (38 °س)، ومُددت بحجم ماثل من المحلول الفيزيولوجي (NaCl 0.9%) المُدفأ على صفيحة التسخين، وغطيت بساترة بعد مزجها بلطف، ثم فحصت بوساطة مجهر متباين الأطوار (Nikon Eclipes e400, Japan) على تكبير 10 X لتقدير الحركة العامة وعلى تكبير 40 X لتقييم الحركة التقدمية الأمامية للنطف الحية.

بعد انتهاء التقييم المجهري والتأكد من صلاحية قذفات الكبش للتمديد، أضيفت كامل كمية محلول التمديد المطلوبة ببطء وحركة دورانية ضمن أنبوب فيه سائل منوي لمجموعة الشاهد، لضمان مزج محلول التمديد مع السائل المنوي جيداً.

3-1-7 تشخيص الحمل

أُجري تشخيص الحمل عند جميع النعاج في اليوم 32 بعد التلقيح الصنعي باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتيّة آنف الذكر (مسبرٌ خطّيٌّ عبر المستقيم)، وسُجّلت حالات وجود الأجنّة من عدمه.

3-1-8 عينات الدم

سُحبت عينات الدم(5 مل) في أثناء موسم التتناسل يومياً بدءاً من آخر جرعة GnRH من الوريد الوداجي ولمدة تسعة أيام لاحقة داخل موسم التناسل باستخدام أنابيب مفرغة مخصصة للاستعمال مرة واحدة مزودة بمادة K_3 EDTA كمانع تخثر. عُزلت البلازما بعد التثفيل وفرغَت في أنابيب إبيندورف سعة 1.5 مل سُجلَ عليها رقم الحيوان وتاريخ الجمع وحفظت على درجة حرارة– 20 ° س لحين إجراء معايرة، تركيز الكوليسترول وهرمون الأُستراديول والبروجسترون، باستخدام مجموعات تحليل جاهزة بالمطياف الضوئي باستخدام تقانة المقايسة المناعية المرتبطة بالأنزيم ELISA، وأجري تحليل عينات الدم في مخبر الدراسات العليا في قسم الحياة الحيوانية – كلية العلوم – جامعة دمشق، و في مخبر التقانات الحيوية الحيوانية – كلية الزراعة – جامعة دمشق.

3-1-8-1 معايرة الكولسترول

أجريت التحاليل باستخدم مقياس الطيف الضوئي (Optima SP-300 – اليابان) من أجل تقدير تراكيز الكوليسترول في البلازما، باستخدام مجموعات معايرة من شركة Human® الألمانية وشركة Spinreact® الإسبانية ووفق تعليمات الشركة المُصنعة(الجدول 4).

يتشكل الكولسترول بعد عملية الحلمهة الأنزيمية والأكسدة، ويتشكل الكوينونيمين quinoneimine الناتج ذو اللون الزهري، والذي يدل على تركيز الكولسترول في البلازما من الماء الأوكسجيني ومركب 4–أمينو أنتيبيرين 4–Aminoantipyrine بوجود الفينول وأنزيم البيروكسيداز.

$$\text{Cholesterol ester} + H_2O \xrightarrow{\text{Cholesterol esterase}} \text{Cholesterol} + \text{Fatty acids}$$

$$\text{Cholesterol} + O_2 \xrightarrow{\text{Cholesterol oxidase}} \text{Cholestene} - 3 - \text{one} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{phenol} + 4\ \text{Aminoantipyrine} \xrightarrow{\text{peroxidase}} \text{quinoneimine} + 4H_2O$$

الجدول (4)؛ تركيب المحاليل المستخدمة في معايرة الكولسترول

المحتويات	تركيز المحلول الابتدائي
RI Reagent	
4−aminoantipyrine	0.25 mmol/L
Phenol	6 mmol/L
Peroxidase	≥ 0.5 U/ml
Cholesterol esterase	≥ 0.15 U/ml
Cholesteroloxidase	≥ 0.10 U/ml
Pipes buffer	PH 6.8،80 mmol/L
Cal.Std	
Cholesterol	208 mg/dl

- **طريقة العمل**

- حضرت عينة blank تحتوي على ميليلتر واحد من الكاشف RI، أضيف إليها 10 مايكرو لتر من الماء المقطر.
- أضيف 10 مايكرو لتر من كل عينة من عينات البلازما أو المحلول المعياري إلى ميليلتر واحد من الكاشف ومزجت العينات جيداً.
- حضنت العينات لمدة 20 د في جو المختبر، فتحول لون المحلول إلى زهري فاتح.
- صفر الجهاز على عينة الـ blank.
- أخذت قراءة الكثافة الضوئية للعينة وللمحلول المعياري عند طول الموجة 546 نانومتر.

- **تركيز الكولسترول الكلي** بـ مغ/دل = (امتصاص العينة/امتصاص المحلول المعياري) x 200

3-1-8-2 معايرة هرمون الأُستراديول و البروجسترون:

استخدمت المقايسة المناعية الأنزيمية ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) بواساطة جهاز (Huma reader HS® ألمانيا) لتحديد تراكيز هرموني الأُستراديول والبروجسترون. تمت المعايرة من خلال صفيحة المعايرة Microtiterwelle ذات 96 بئراً (8×12) (DiaMetra إيطاليا). تعتمد هذه الطريقة على مبدأ التفاعل التنافسي الأُستراديول أوالبروجسترون في العينة مع الرابط الأنزيمي الهرموني (هرمون الأُستراديول أو البروجسترون الصنعي المعلم المرتبط بإنزيم بيروكسيداز فجل الحصان) لأعداد محددة من الأضداد المأخوذة من الأرانب. تتناسب هذه الكمية المعلومة من الرابط الأنزيمي الهرموني المرتبطة عكساً مع تركيز الهرمونين في العينة. بعد حضانة العينة والرابط الأنزيمي الهرموني في البئر، غُسلت كمية الرابط التي لاترتبط مع الضد بالإضافة إلى بقية البلازما، وأُضيف محلول الركيزة الأنزيمية Solution Substrate فيتحول اللون إلى أزرق، ثم تُضاف مادة موقفة للتفاعل Stop Solution فيتحول اللون إلى أصفر، تناسب كثافته عكساً مع كمية الهرمونين في كل عينة.

خطوات العمل:

1. وضعت في الآبار السبعة الأولى من صفيحة المعايرة 25 مايكروليتر من محاليل معيارية معلومة التركيز (Standards) للأُستراديول وفق التراكيز الآتية (0، و25، و100، و250، و500 و1000، و2000) بغ/مل، وبالنسبة للبروجسترون التراكيز الآتية (0، و0.3، و1.25، و2.5، و5، و15، و40) نغ/مل.
2. أُخرجت العينات من المجمدة قبل نصف ساعة من المعايرة، تُركت لتأخذ درجة حرارة الغرفة (20-25 ° س) ثم أُضيف 25 مايكرو ليتر من العينات المراد تقدير مستويات الهرمون فيها في كل من

الآبار المتبقية (89) ترتبط جزيئات الهرمون الموجودة في العينة على الجدران المغطاة بالطور الصلب المحتوي على أضداد الأُستراديول أو البروجسترون المحضرة في الأرانب.

3. حُضنت صفيحة المعايرة لمدة 5 دقائق في درجة حرارة الغرفة.

4. أُضيف 200 مايكروليتر للآبار كافةً من هرمون الأُستراديول (من البروجسترون) الصنعي المعلم والمرتبط بأنزيم بيروكسيداز فجل الحصان.

5. ثم رُجت صفيحة المعايرة بشكل لطيف لمدة 10 ثواني.

6. حُضنت صفيحة المعايرة لمدة ساعتين في درجة حرارة الغرفة بالنسبة للأُستراديول (و60 دقيقة بالنسبة للبروجسترون).

7. غُسلت صفيحة المعايرة ثلاث مرات بمحلول غسيل واق 400 مايكروليتر.

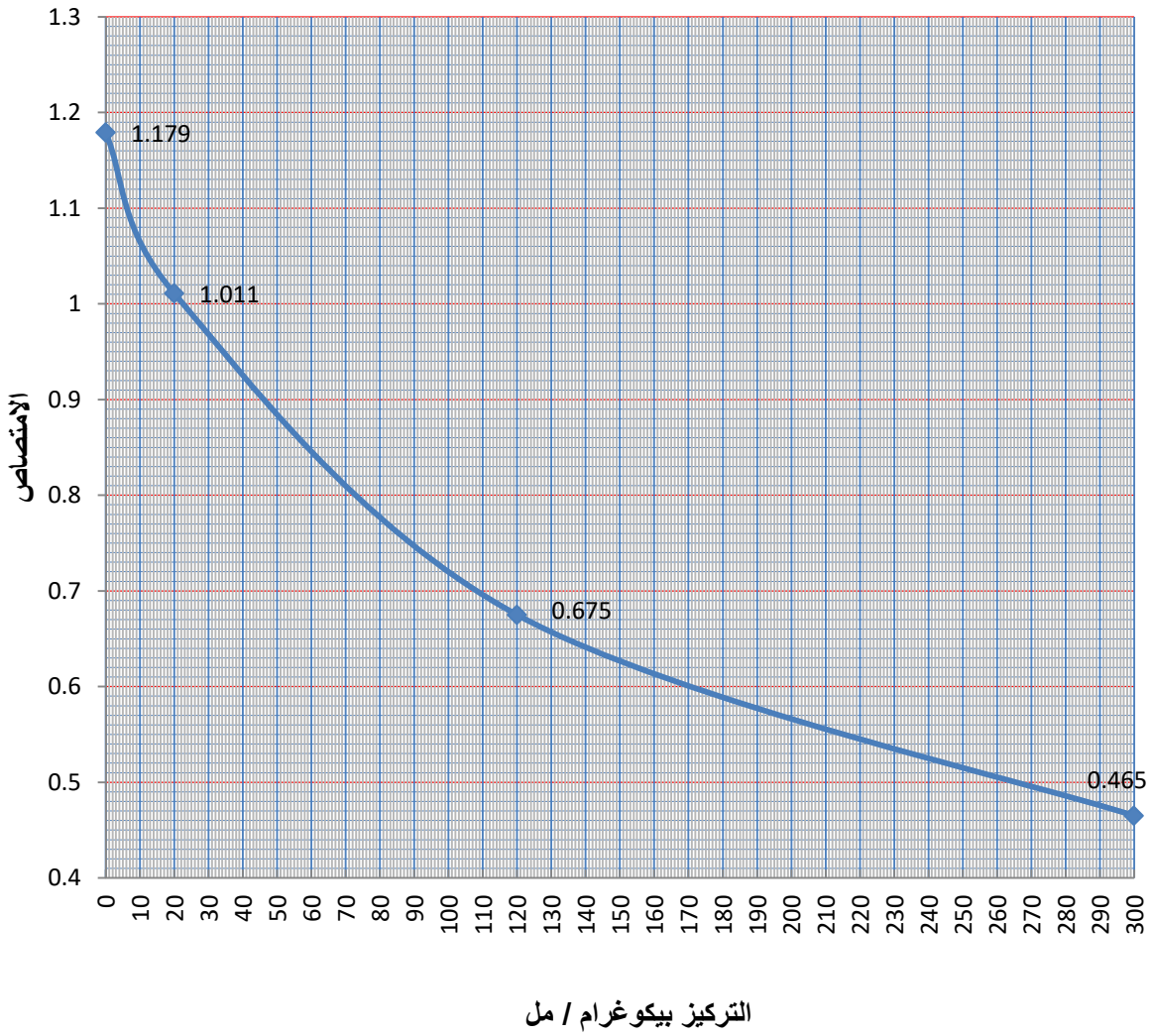
8. أُضيف بعد الغسل 100 مايكروليتر من محلول الركيزة الأنزيمية Substrate للأُستراديول و200 مايكروليتر للبروجسترون فيتحول اللون إلى الأزرق عند ارتباطه بالأنزيم المرتبط بالهرمون المعلم.

9. حُضنت الصفيحة لمدة 15 دقيقة على درجة حرارة الغرفة.

10. أُضيف 50 مايكروليتر من محلول إيقاف التفاعل Stop Solution للأُستراديول و 100 مايكروليتر للبروجسترون فيتحول اللون إلى أصفر.

11. قيست الكثافة الضوئية Optical Density =(OD) على موجة طولها 450 نانوميتر بعد 10 دقائق من إضافة محلول التوقيف بحيث كلما زادت الكثافة تعني ان مركب الأُستراديول أو البروجسترون الصنعي ارتبط بصورة اكثر مع هرمون العينة، ومن ثم فتركيز الهرمون في العينة يكون أقل وتكون العلاقة عكسية بين الهرمون والكثافة الضوئية.

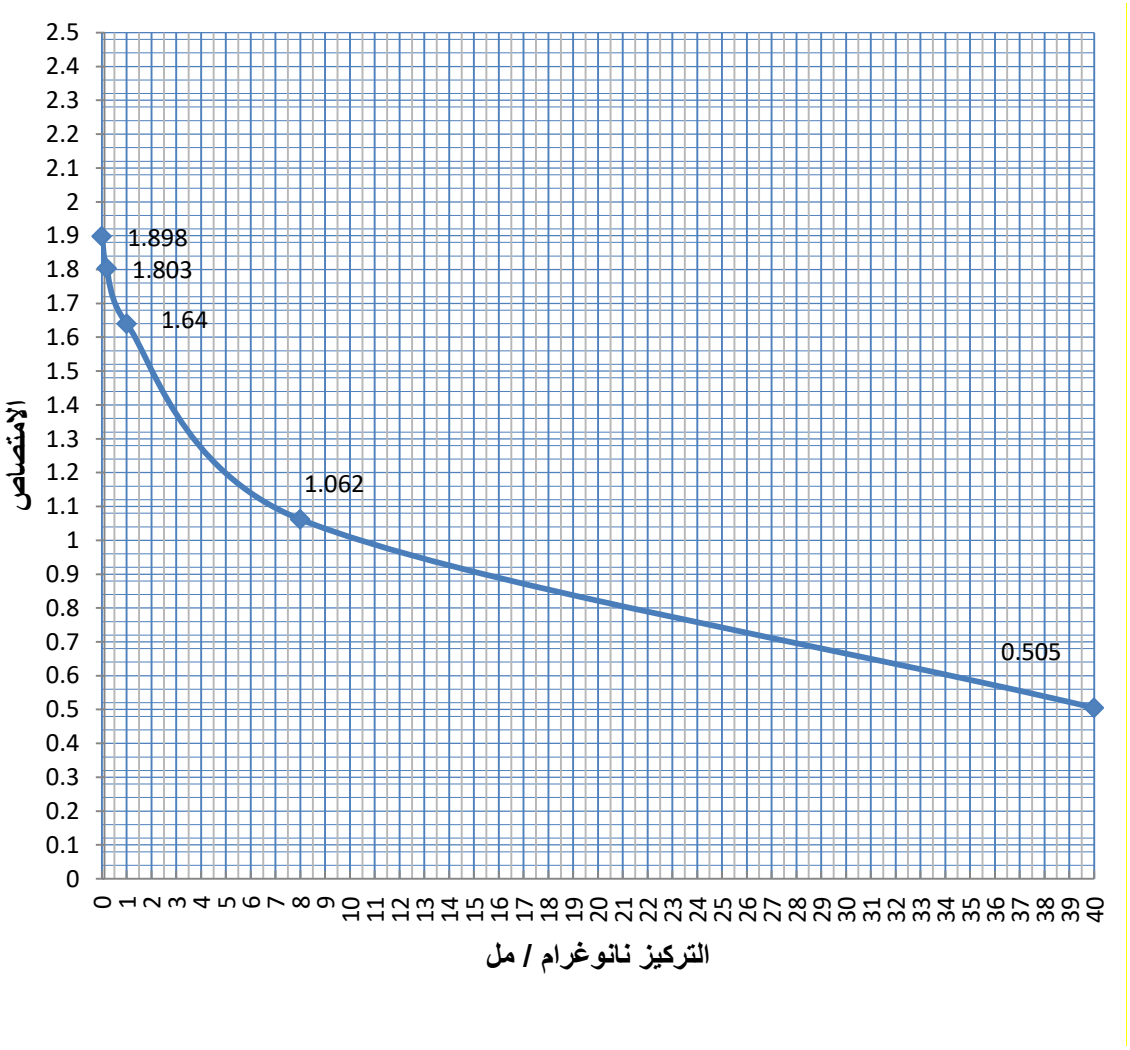
يمثل الشكل (3 و4) المخطط البياني للعلاقة بين الكثافة الضوئية وتراكيز الأُستراديول والبروجسترون على التوالي، ويوضح الجدولان (1و2) تفاعلات التصالب لمجموعة معايرة الأُستراديول والبروجسترون مع الهرمونات الستيروئيدية الأخرى.على التوالي:



الشكل (3)؛ العلاقة بين الكثافة الضوئية وتراكيز الأُستراديول

الجدول(5)؛ تفاعلات التصالب بين الأُستراديول والهرمونات الستيروئيدية الأخرى

التفاعل التصالبي %	الهرمون	التفاعل التصالبي %	الهرمون
100	17β-Estradiol	0	11-Deoxycortisol
0	Androstenendione	0	21-Deoxycortisol
0	Androsterone	0	Dihydrotestosterone
0	Corticsterone	0	Dihydroepiandosterone
0	Cortison	0	20-Dihydroprogesterone
0	Epiandrosterone	0	11-Hydroxyprogesterone
0	16-Epiestriol	0	17α-Hydroxyprogesterone
0	Estradiol-3-sulfate	0	17α-Pregnenolone
0	Estradiol -3-glucoronide	0	17α- progesterone
0	17α-Estradiol	0	Pregnanediol
0.05	Estriol	0	Pregnanetriol
0	Estriol-16-glucoronide	0	Pregnenolone
0.2	Estrone	0	Progesterone
0	Estrone-3-sulfate	0	Testosterone
0	Dehydroepiandosterone		



الشكل (4)؛ العلاقة بين الكثافة الضوئية وتراكيز البروجسترون

الجدول(6)؛ تفاعلات التصالب بين البروجسترون والهرمونات الستيروئيدية الأخرى

الهرمون	التفاعل التصالبي %
Progesterone	100
17α OH Progesterone	0.3
Estradiol	<0.10
17β-estradiol	<0.10
Testosterone	<0.10
11- Desoxycorticosterone	1.1
DHEA-S	<0.02
Cortisol	<0.02
Corticosteron	0. 2
Pregnenolone	0.35
Cortison	<0.10
11-Desoxycortisol	0.1

4-1 المؤشرات المدروسة

1) أعداد الجريبات بحسب قطرها، وقطر الجريب الإباضي.
2) معدل النمو الجريبي.
3) بداية الشبق ومدته.
4) تركيز البروجسترون والأُستراديول .في دم النعاج.
5) تركيز الكوليسترول.
6) طول دورة الشبق
7) مُعدل الحمل = (عدد الإناث إيجابية الحمل بالإيكو / عدد الإناث الملقحة) x 100.
8) معدل الولادة=(عدد الإناث الوالدة / عدد الإناث الملقحة) x 100.

التحليل الإحصائي

أجريت جميع العمليات الإحصائية باستخدام نظام التحليل الإحصائي (2008) 9.2 SAS®.

- بوبت البيانات الخاصة بالمؤشرات المدروسة في جداول إكسل Excel خاصة تمهيداً لإجراء التحاليل الإحصائية الملائمة عليه.
- حسبت المتوسطات للمؤشرات المدروسة، والخطأ المعياري SE بواسطة تعليمة MEANS.
- قُيّمت الفروق بين المجموعات بخصوص المؤشرات المدروسة المستمرة إحصائياً _ في حال وجودها_ بحسب اختبار TUKEY المدرج ضمن تعليمة النماذج الخطية المعممة GLIMMIX تبعاً للنموذج الآتي:
  - $Yi=Xi\beta+Ziy+\varepsilon i$ ، حيث:

– Yi: المتغير المدروس (بداية الشبق ومدته وأقطار الجريبات).

– Xiβ : مصفوفة عمودية للمتغيرات التوضيحية (تعد مؤثرات ثابتة) التي يمكن قياسها من الإعدادات التجريبية (وهي في دراستنا موجهات المناسل).

– β: قدرت مصفوفة المعاملات غير المعروفة بتطبيق طريقة أقل المربعات على بيانات المتغير المدروس.

Ziy: تمثل y مصفوفة العوامل العشوائية مثل (الحيوان، العمر) المؤثرة في المتغيرات المدروسة.

εi: الخطأ التجريبي.

- اختُبرت الفروق –في حال وجودها _ في النسب المئوية لكلٍ من حدوث دورات الشبق القصيرة ونسبة الحمل والولادة باستخدام اختبار فيشر.
- حُدد أفضل نموذج رياضي مفسر للعوامل المؤثرة في معدل حدوث دورات الشبق القصيرة و معدل الحمل (شُخّص بالأمواج فوق الصوتية في اليوم 32 بعد التلقيح) باستخدام تعليمة REG، وأُدخلت المتغيرات ذات قيمة AIC و C(p) (معيار المعلومات AKaike) الأدنى فقط

في النموذج الرياضي. وقد تبين بناءً على ذلك أنَّ مؤشر طول مدة الشبق هو أهم العوامل المؤثرة في معدل حدوث دورات الشبق القصيرة عند النعاج (الجدول 7)، وبناءً على ذلك أُدخل هذا المؤشر فقط في النموذج الرياضي المتاح في تعليمة الانحدار اللوجستي LOGISTIC لتحديد مقدار تأثيره في معدل حدوث دورات الشبق القصيرة.

- استُخدمت تعليمة PROC LOGISTIC للحصول على نسب التغيرات في ODDS، واحتمال حدوث "التحلل المبكر للجسم الأصفر" عندما يزداد التباين المرافق "X" بمقدار وحدة واحدة.
- حُسبت معاملات الارتباط بين المؤشرات المدروسة بحسب تعليمة CORR.

الجدول (7)؛ نتائج تطبيق تعليمة REG

Number in Model	C(p)	R-Square	AIC	SSE	Variables in Model
1	-0.3659	0.0901	-37.2425	2.94643	estrusduration
2	0.0242	0.1781	-37.3801	2.66127	Estrusbegin estrusduration
1	0.7218	0.0306	-35.9124	3.13909	follday3
1	1.2214	0.0032	-35.3285	3.22759	treat
1	1.2250	0.0031	-35.3245	3.22821	weight
1	1.2359	0.0025	-35.3118	3.23015	totalfollic
1	1.2779	0.0002	-35.2635	3.23760	Estrusbegin
2	1.5164	0.0965	-35.3917	2.92557	totalfollic estrusduration
2	1.5285	0.0959	-35.3763	2.92771	follday3 estrusduration
3	1.5603	0.2035	-36.0389	2.57908	totalfollic Estrusbegin estrusduration
2	1.5871	0.0926	-35.3020	2.93809	treat estrusduration
2	1.6204	0.0908	-35.2599	2.94399	weight estrusduration
3	1.8762	0.1862	-35.5881	2.63505	weight Estrusbegin estrusduration
3	1.9583	0.1817	-35.4726	2.64958	follday3 Estrusbegin estrusduration
3	2.0092	0.1790	-35.4012	2.65860	treat Estrusbegin estrusduration
2	2.1676	0.0609	-34.5796	3.04092	follday3 totalfollic
2	2.6750	0.0331	-33.9679	3.13080	follday3 weight
2	2.7151	0.0309	-33.9203	3.13791	treat follday3
2	2.7218	0.0306	-33.9124	3.13909	follday3 Estrusbegin
3	3.1372	0.1173	-33.8794	2.85841	follday3 totalfollic estrusduration
2	3.1737	0.0059	-33.3836	3.21914	treat weight
2	3.1811	0.0054	-33.3750	3.22045	totalfollic weight
2	3.2021	0.0043	-33.3508	3.22416	treat totalfollic
2	3.2138	0.0037	-33.3373	3.22624	weight Estrusbegin

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

أولاً: النتائج

5-1 داخل موسم التناسل

5-1-1 تأثير المعاملة الهرمونية في ظهور الشبق

أظهرت جميع النعاج علامات الشبق دون وجود فروق معنوية في كل من ابتداء الشبق بعد الحقنة من هرمون GnRH (البداية 9.48 و9.89 و9.52 ساعة بالنسبة لمجموعة الشاهد وhCG وGnRH على التوالي، الجدول 8)، ومدته (22.64 و22.27 و22.69 ساعة بالنسبة لمجموعة الشاهد و hCG وGnRH على التوالي، الجدول 9).

الجدول (8)؛ بداية الشبق (ساعة بعد حقنة GnRH الثانية) عند النعاج المعاملة ببرنامج Ovsynch متبوعاً بتحريض الإباضة باستخدام GnRH وhCG مقارنة مع الشاهد

المعاملة	بداية الشبق/سا بعد حقنة GnRH الثانية	
	المتوسط	SE
مجموعة الشاهد	9.48[a]	0.21
مجموعة hCG	9.89[a]	0.16
مجموعة GnRH	9.52[a]	0.21

تشير الحروف المتماثلة ضمن العمود الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية (P>0.05)

الجدول (9)؛ مدة الشبق (ساعة) في النعاج المعاملة ببرنامج Ovsynch متبوعاً بتحريض الإباضة باستخدام GnRH وhCG مقارنة مع الشاهد

المعاملة	مدة الشبق	
	المتوسط	SE
مجموعة الشاهد	22.64[a]	0.37
مجموعة hCG	22.27[a]	0.18
مجموعة GnRH	22.69[a]	0.17

تشير الحروف المتماثلة ضمن العمود الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية (P>0.05)

سُجلت دورات شبق جديدة (قصيرة) بعد 6.24 يوماً من التلقيح عند 23.07% من النعاج المعاملة ببرنامج توقيت الإباضة القياسي فقط، وقد أدت معاملة النعاج بـ GnRH بعد 72 ساعة من التلقيح الصنعي إلى تخفيض معدل حدوث دورات شبق قصيرة إلى 7.69%، ويعد هذا التخفيض مقبولاً بالرغم من أنه غير معنوي، في حين لم ينتج عن المعاملة بـ hCG إلا أن تخفيض طفيف في معدل حدوث دورات شبق قصيرة (18.18 %)، أي بمعدل نحو 4.89% فقط (جدول10)، ولم تتأثر المؤشرات آنفة الذكر بعمر النعاج ووزنها.

سُجل أفضل معدل حمل عند نعاج مجموعة GnRH، وبلغ 92.31 % مقارنة مع نظيره عند مجموعة hCG والنعاج المعاملة بالبرنامج الشاهد فقط إذ وصل معدل الحمل عندها إلى 81.82 % و76.92 %على التوالي (جدول10) (صورة 1 و2)، ولم تصل الفروق بين المعدلات الثلاثة آنفة الذكر إلى مستوى المعنوية الإحصائية (P>0.05) (الجدول 11).

تبين بناءً على الخوارزميات المتوافرة في تعليمة REG أنَّ أهم عامل مؤثر في معدل حدوث دورات شبق قصيرة – ومن ثم معدل الحمل– هو طول مدة الشبق عند النعجة بصرف النظر عن عمرها أو وزنها، ويؤكد ذلك تقديرات الاحتمال الأعظمي التي أشارت إلى أنَّ حدوث دورات الشبق القصيرة يرتبط معنوياً (P=0.026) بطول مدة الشبق (جدول 12). اعتُمدت خوارزميات إضافية لتحديد طبيعة التأثير آنف الذكر هل هو بالزيادة أم بالنقصان، ووظف بهذا الخصوص معدل الترجيح odds radio (OR) الذي بلغ 3.58.

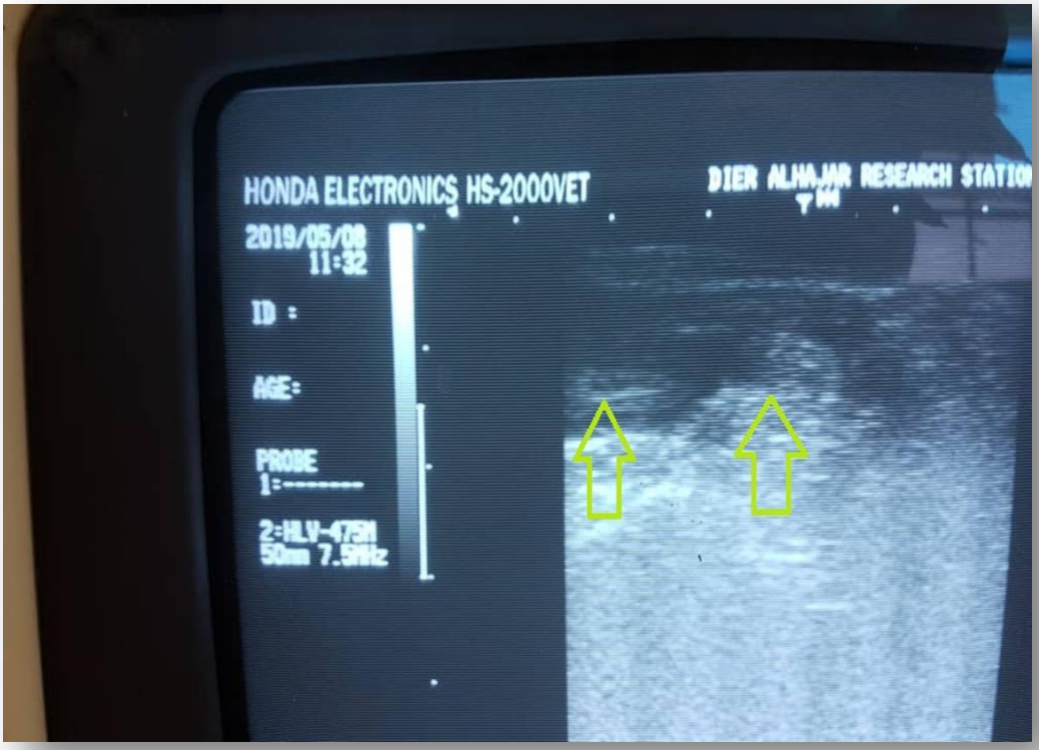
الجدول (10)؛ معدل دورات الشبق القصيرة والحمل والولادات عند نعاج العواس المعاملة بـ hCG أو GnRH داخل موسم التناسل

المعاملة	دورات الشبق القصيرة %	الحمل %	الولادات %
NaCl	23.07[a]	76.92[a]	76.92[a]
hCG	18.18[a]	81.82[a]	81.82[a]
GnRH	7.69[a]	92.31[a]	84.61[a]

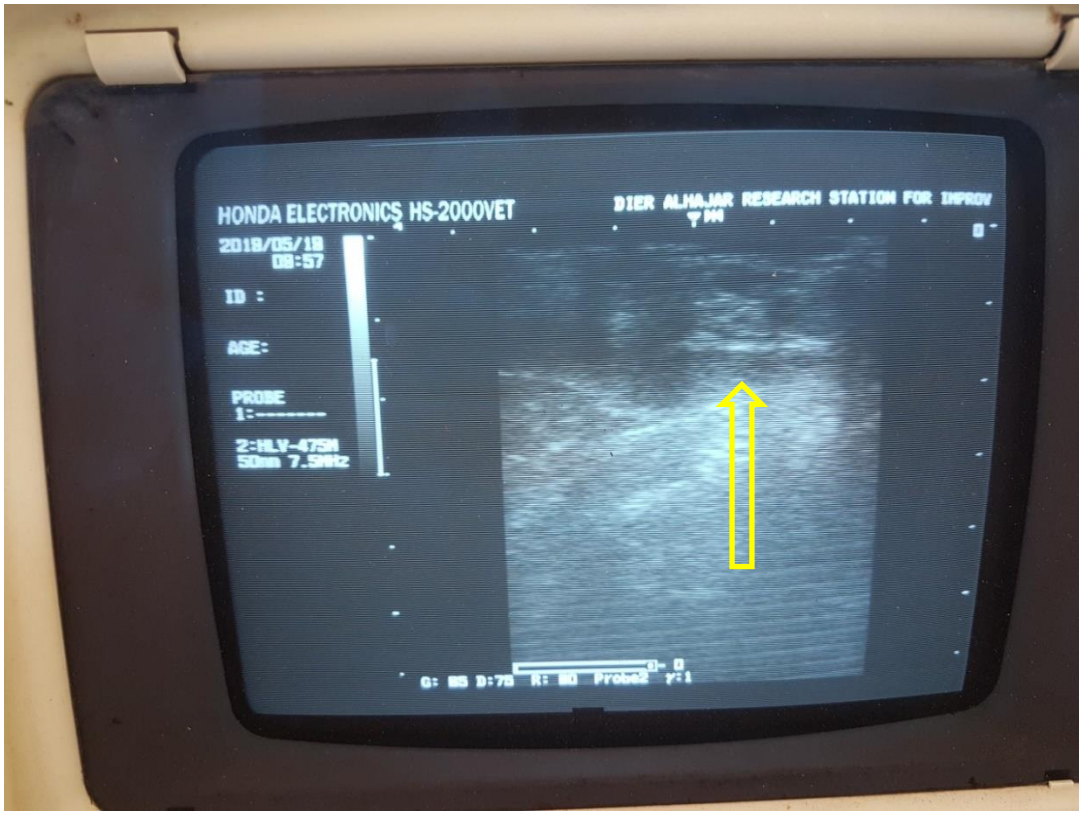
ضمن العمود الواحد: لاتوجد فروق معنوية ns

الجدول (11)؛ المؤشرات الإحصائية المؤثرة بمعدل الحمل بحسب المعاملة داخل الموسم

الإحصاءات	DF	القيمة	الاحتمال
مربع كاي	2	0.0101	0.9949
مربع كاي لمعدل الترجيح	2	0.0101	0.995
مربع كاي مانتل هانزل	1	0.0073	0.9319
معامل فاي		0.0163	
معامل الاحتمال		0.0163	
كارمر V		0.0163	



الصورة (1)؛ حالة حمل توأم عند إحدى نعاج المجموعات التجريبية



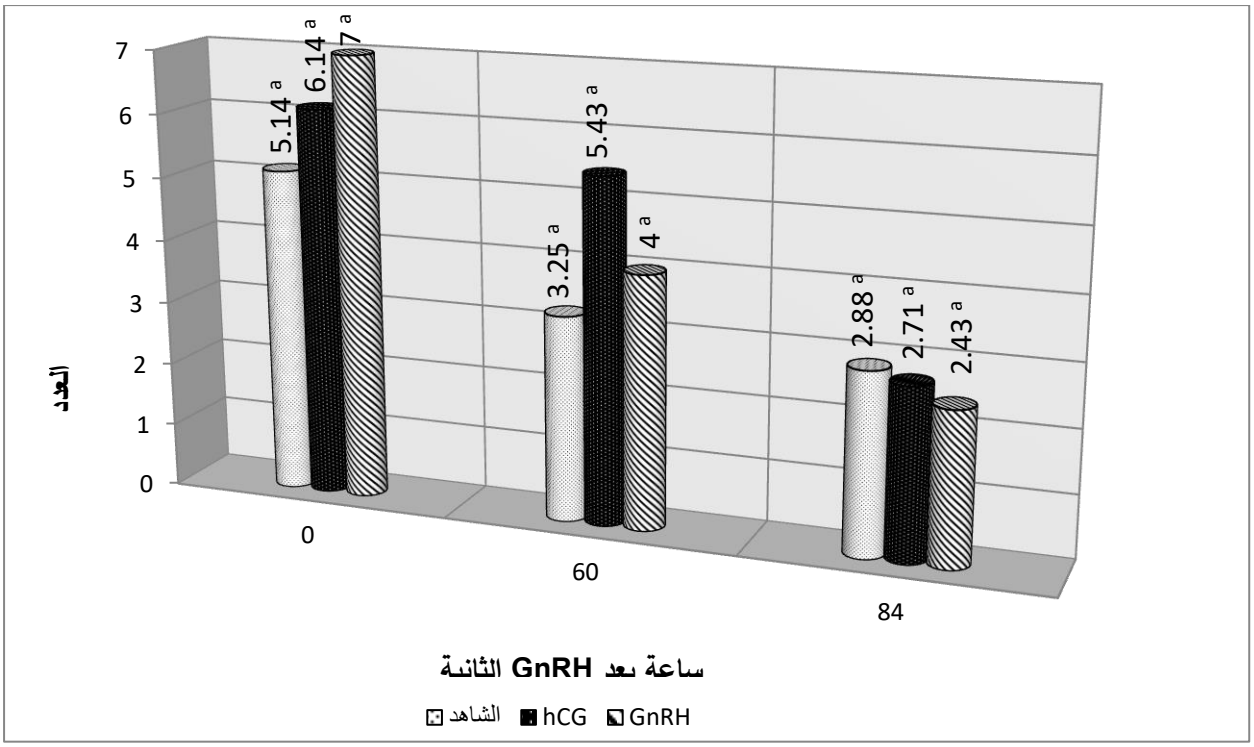
الصورة (2)؛ حالة حمل مفرد عند إحدى نعاج المجموعات التجريبية

الجدول (12)؛ تقديرات تحليل الاحتمال الأعظمي للعامل المؤثر في معدل حدوث دورات الشبق القصيرة

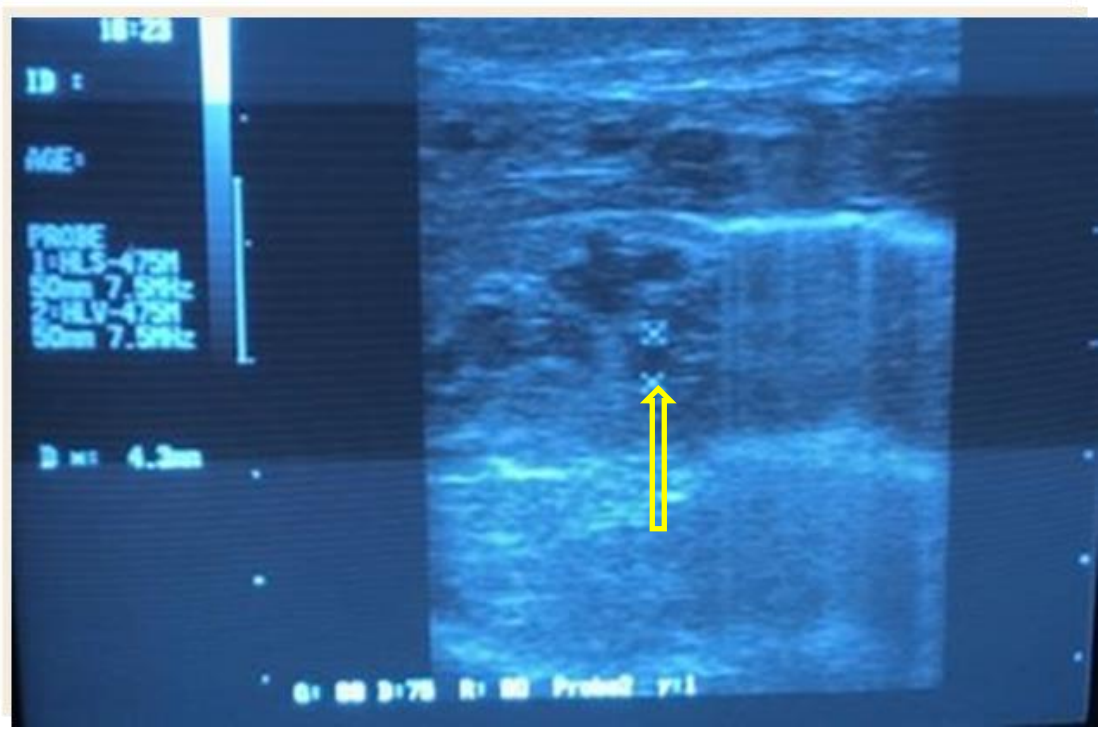
المؤشر	درجات الحرية	التقدير	الخطأ القياسي	Wald Chi-Square SD	Pr>ChiSq
الثابت	1	-30.7775	13.2466	5.3983	0.0202
مدة الشبق	1	1.2754	0.5749	4.9221	0.0265

لم تسجل فروق كبيرة (P>0.05) في متوسط العدد الإجمالي للجريبات الصغيرة (بقطر <3 مم) عند المجموعات الثلاثة ولوحظ تناقص أعدادها من ساعة حقن الجرعة الثانية من GnRH في برنامج Ovsynch وبعدها بـ 60 أو 84 ساعة (شكل 5 ، صورة3).

5-1-2 تأثير المعاملة الهرمونية في عدد الجريبات المبيضية وحجمها

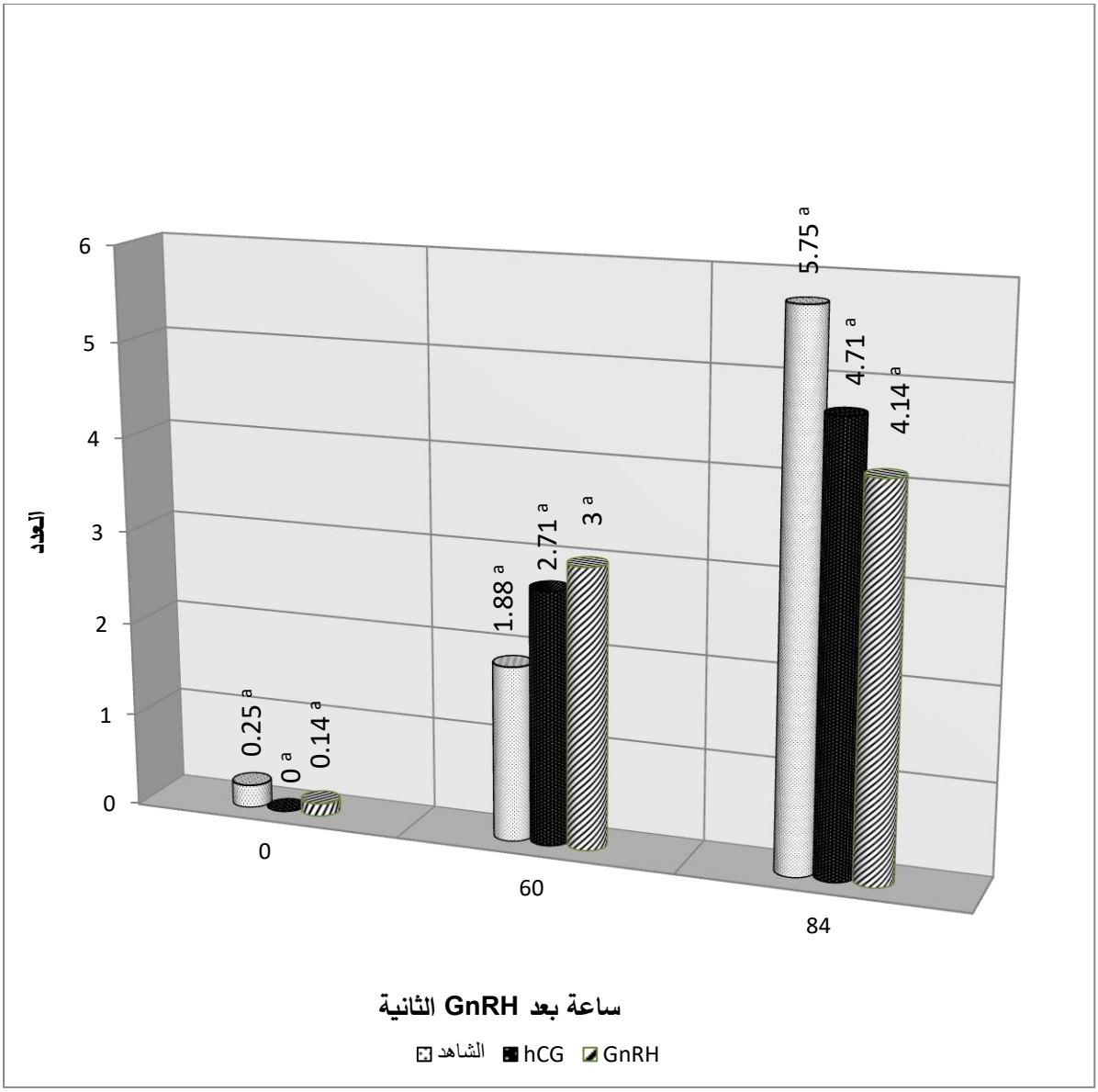


الشكل(5)؛ متوسط أعداد الجريبات الصغيرة الحجم < 3 ملم عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن الجرعة الثانية من GnRH وبعدها بـ 60 ساعة و84 ساعة.

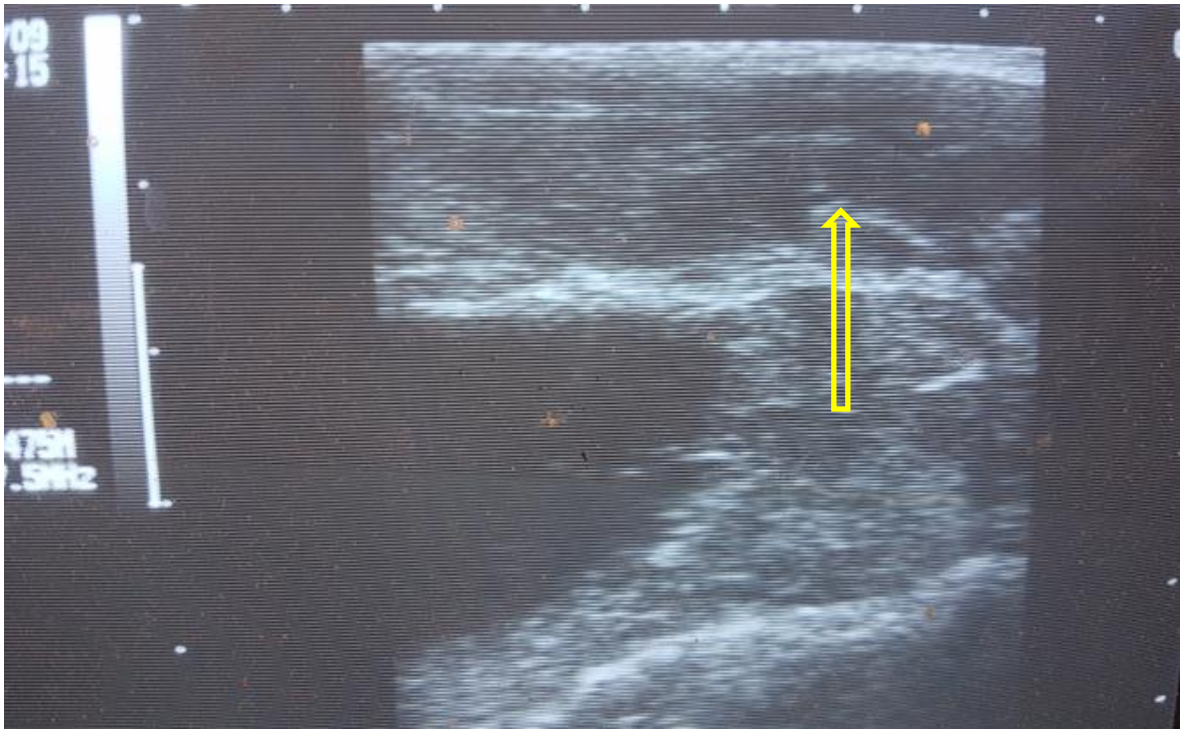


الصورة (3):جريب صغير الحجم على مبيض إحدى نعاج المجموعات التجريبية

لم تسجل فروق كبيرة ($P<0.05$) في متوسط العدد الإجمالي للجريبات المتوسطة (بقطر 3-5 مم) عند المجموعات الثلاثة ولوحظ تزايد غير معنوي في أعدادها بعد حقن الجرعة الثانية من GnRH في برنامج Ovsynch وبعدها بـ 60 ساعة أو 84 ساعة (شكل 6 ، صورة 4).

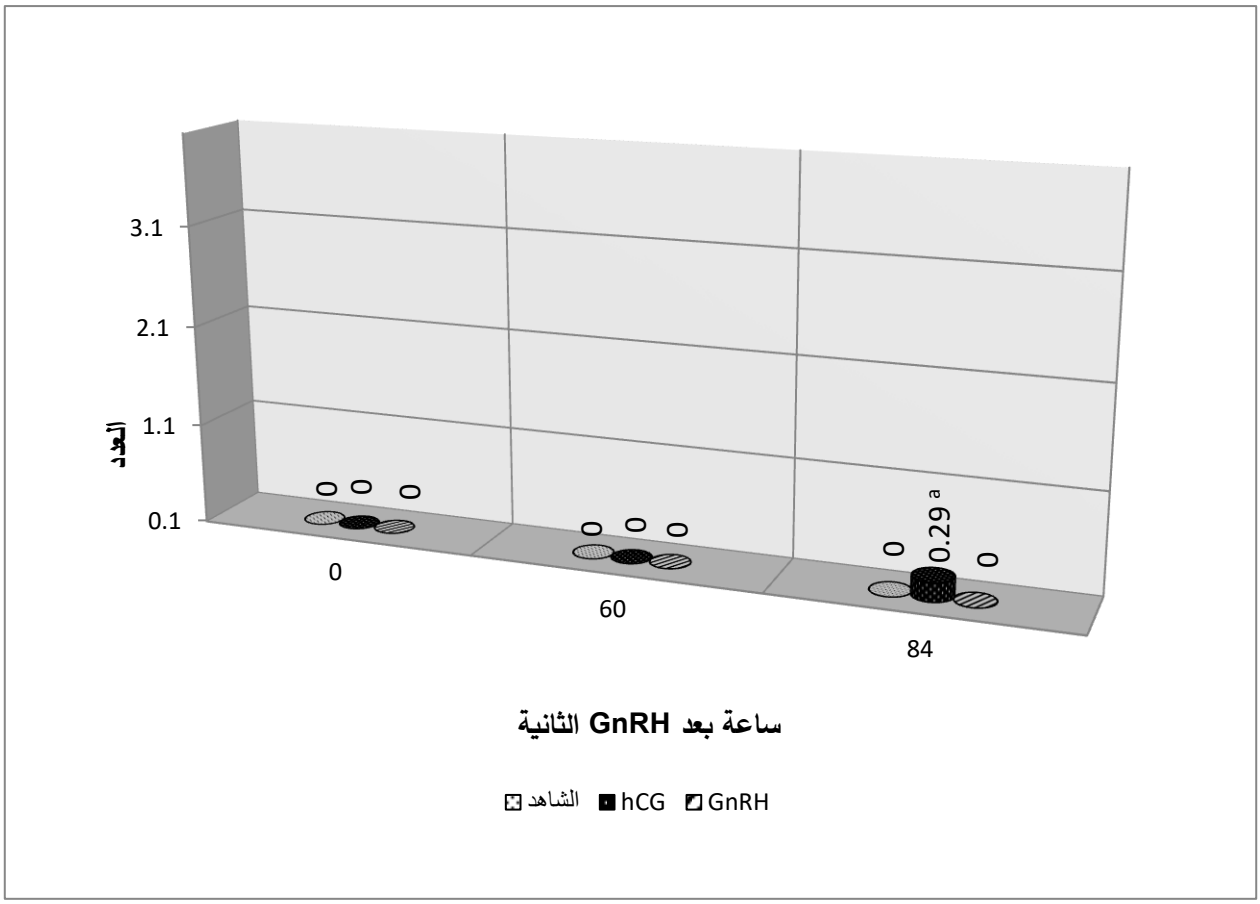


الشكل(6)؛ متوسط أعداد الجريبات المتوسطة الحجم (3–5 ملم) عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن GnRH وبعدها بـ 60 ساعة و84 ساعة.

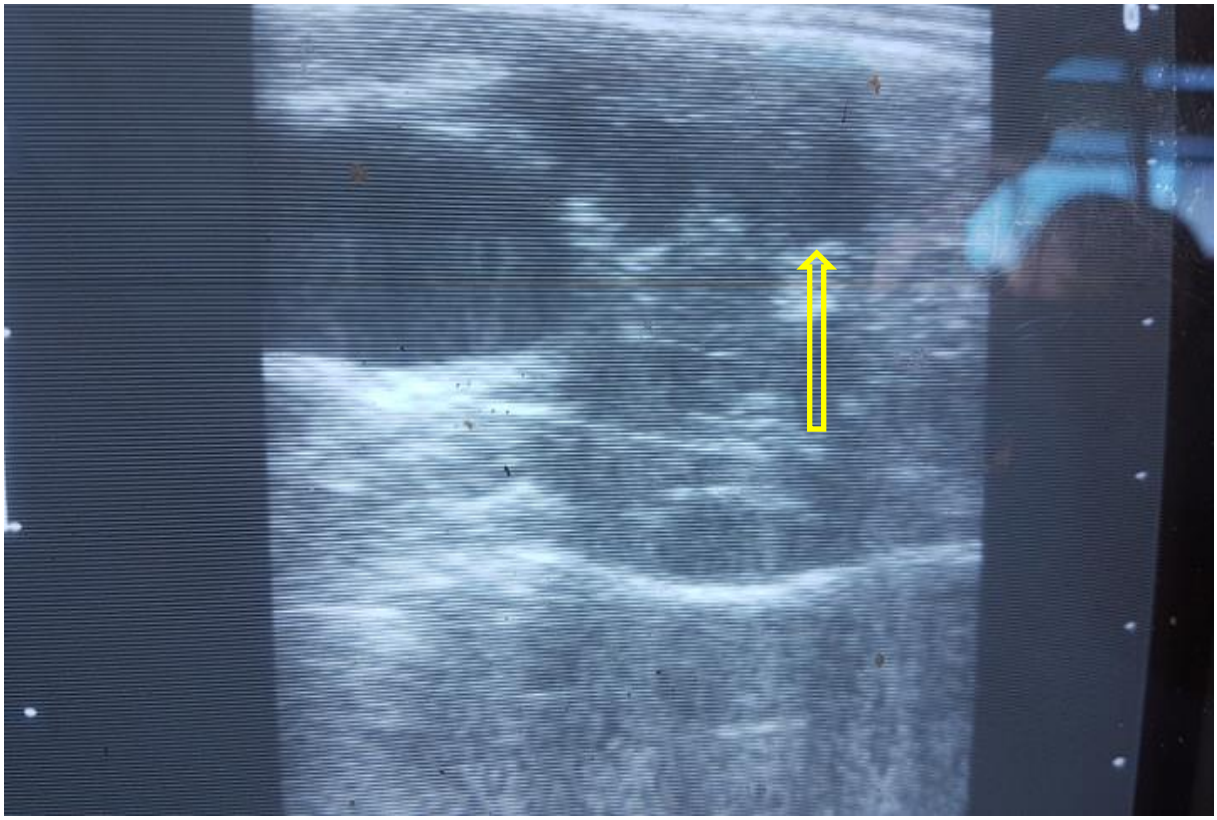


الصورة (4)؛ جريب متوسط الحجم (3–5 ملم) على مبيض إحدى نعاج المجموعات التجريبية

لم يسجل وجود جريبات كبيرة (بقطر >5 مم) عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن الجرعة الثانية من GnRH في برنامج Ovsynch وبعدها بـ 60 ساعة أو 84 ساعة (الشكل 7، الصورة 5).



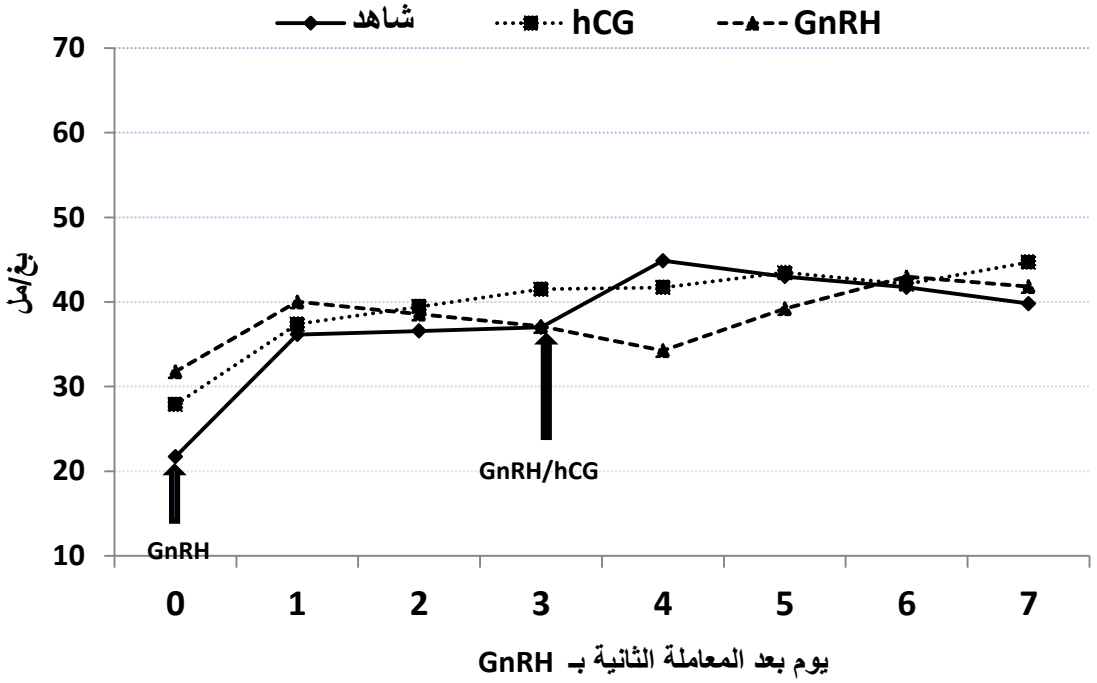
الشكل(7)؛ متوسط أعداد الجريبات الكبيرة الحجم عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن GnRH وبعدها بـ 60 ساعة و84 ساعة.



الصورة (5)؛ جريب كبير الحجم على مبيض إحدى نعاج المجموعات التجريبية

5-1-3 تركيز هرمون الأُستراديول

لم تسجل فروق كبيرة (P>0.05) في تركيز الأُستراديول عند حقن جرعة GnRH الثانية في المجموعات الثلاثة في برنامج Ovsynch، إذ بلغ تركيزه عند مجموعة الشاهد 21.69 بغ/مل وسجل بعد 24 ساعة زيادة لتصل إلى 36.5 بغ/مل، وحافظت على مستواها حتى اليوم الثالث ثم تزايد في اليوم الرابع وانحدر بصورة تدريجية. أما في مجموعة GnRH و hCG فقد سجلت تراكيز الأُستراديول بدءاً من اليوم الثاني ارتفاعاً من 23.82 و 27.86 بغ/مل لتصل إلى 40.04 و 37.39 بغ/مل، على التوالي، وحافظت على مستواها في باقي أيام المعاملة. سجل ارتباط سلبي (r=-0.72، P=0.005) بين إجمالي عدد الجريبات وتركيز الأُستراديول في يوم حقن hCG و GnRH بعد التلقيح الصنعي بـ 72 ساعة (الشكل8) (الجدول 15).



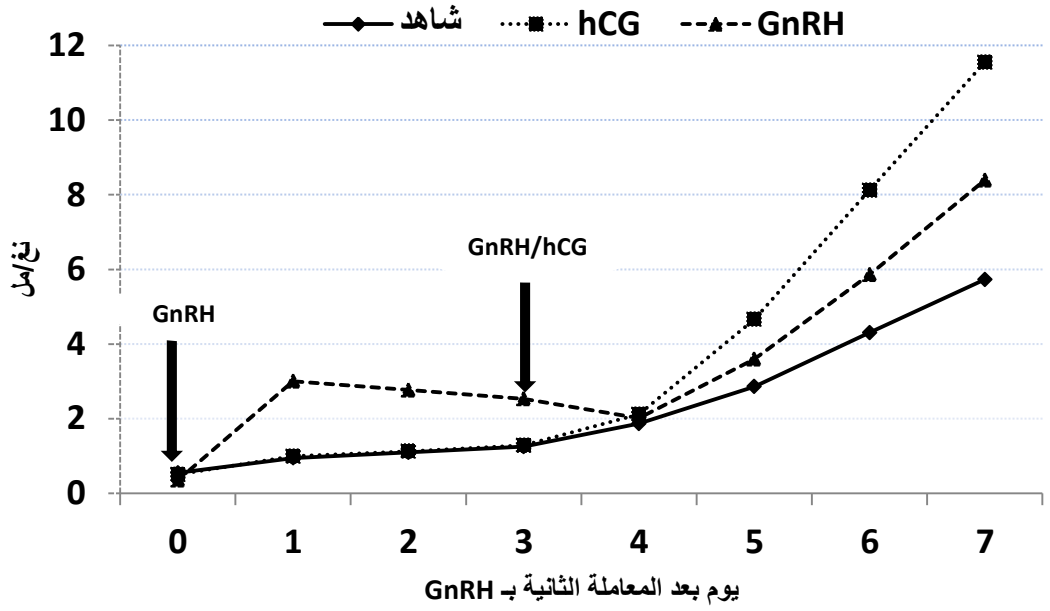
الشكل (8)؛ متوسط تراكيز الأُستراديول بغ/مل عند ثلاث مجموعات من النعاج المعاملة ببرنامج Ovsynch متبوعة بتحريض الإباضة باستخدام hCG أو GnRH مقارنة مع الشاهد

5-1-4 تركيز هرمون البروجسترون

لم تسجل فروق إحصائية ($0.05<P$) في مستويات البروجسترون بين المجموعات الثلاثة بعد الحقنة الثانية من GnRH، لوحظ أدنى انخفاض في تركيز البروجسترون يوم الحقنة الثانية من GnRH وقد يكون سببه حقن $PGF_2\alpha$ قبل 52 ساعة من حقن الجرعة الثانية من GnRH الذي أدى إلى تهدم الأجسام الصفراء وبالتالي انخفاض البروجسترون كما هو موضح في (الشكل 9)، خلال يومين بعد حقن $PGF_2\alpha$، وبما أنه لوحظ علامات شبق فقد عُد اليوم الأول من الدورة التناسلية، ثم ارتفعت مستويات البروجسترون تدريجياً في مجموعة GnRH لتصل في اليوم الثالث من دورة الشبق إلى 2.53 نغ/مل، وكانت هذه القيمة أعلى من مجموعة الشاهد 1.1 نغ/مل، ومجموعة hCG التي بلغ فيها تركيز البروجسترون 1.28 نغ/مل.

أُثبت انحلال الجسم الأصفر المبكر في اليوم 6.24 بعد التلقيح الصنعي حيث ترافق بانخفاض تراكيز البروجسترون إلى مستويات قاعدية وظهور علامات شبق عند 3 نعاج من أصل 13 (23.07%) من مجموعة الشاهد، و نعجة واحدة (7.69%) من مجموعة GnRH، ونعجتين (18.18%) من مجموعة hCG ولم تسجل فروق معنوية في نسبة ظهور دورات شبق قصيرة بين المجموعات. لم يكن لاستبدال hCG بـ GnRH كعامل محرض للإباضة تأثير يذكر (الجدول 10)، ولم يخفض معنوياً من حدوث تحلل الجسم الأصفر المبكر.

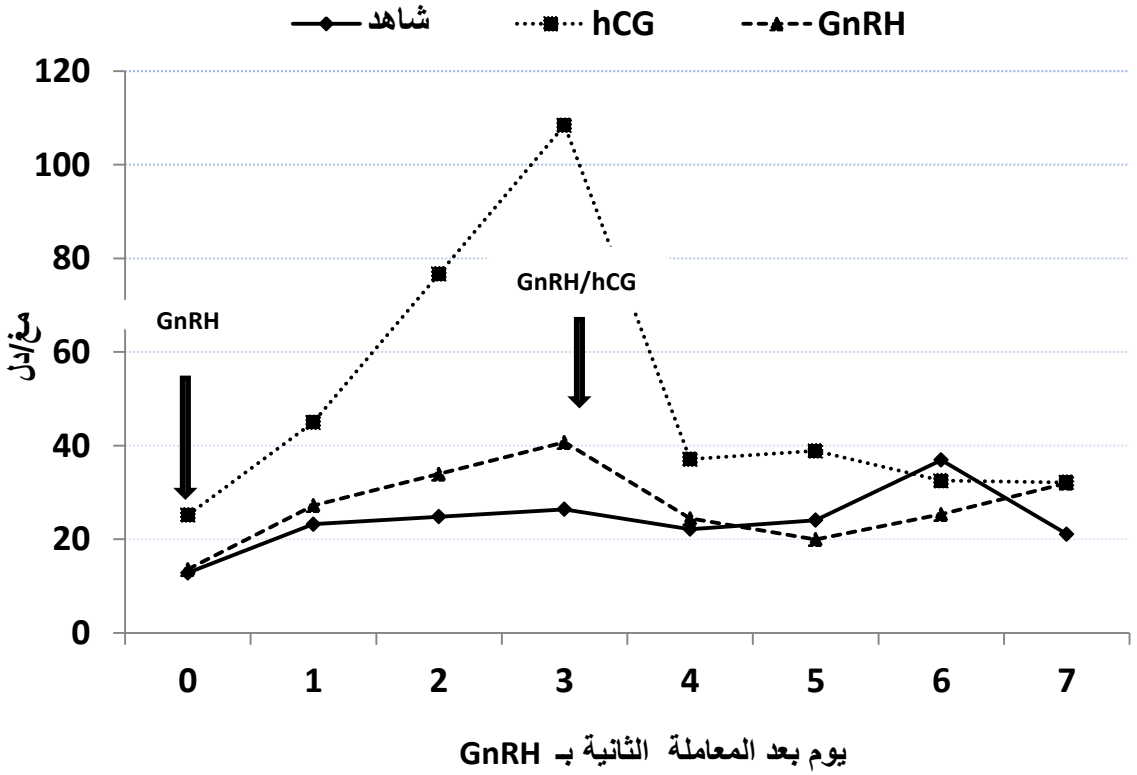
بعد حقن hCG أو GnRH ارتفعت تراكيز البروجسترون بسرعة أكبر مقارنة مع الشاهد، وكانت التراكيز عند مجموعة hCG في اليوم السابع أعلى مقارنة مع مجموعة GnRH (الشكل 9).



الشكل (9)؛ متوسط تراكيز البروجسترون نغ/مل عند ثلاث مجموعات من النعاج المعاملة ببرنامج Ovsynch متبوعة بتحريض الإباضة باستخدام hCG أو GnRH مقارنة مع الشاهد

5-1-5 تركيز الكوليسترول

يُلاحظ من الشكل (10) أنَّ تراكيز الكوليسترول كانت الأخفض عند حقن GnRH في المجموعات الثلاثة ومن ثم ازدادت تدريجياً، إذ ارتفعت مستويات الكوليسترول بعد 24 ساعة من حقن GnRH بسرعة لتشكل ذروة (108.42 مغ/دل) عند مجموعة hCG في اليوم الثالث من دورة الشبق، ثم انخفضت بشدة خلال يوم واحد ليصل إلى (37.10 مغ/دل)، أما في مجموعتي GnRH والشاهد فقد ازدادت تراكيز الكوليسترول على خلاف مجموعة hCG، ليصل إلى 40.32 و 20.40 مغ/دل على التوالي، وبعد ذلك بقيت ثابتة حتى نهاية أخذ عينات الدم، ولم تسجل فروق معنوية ($P>0.05$) بين المجموعات الثلاثة خلال كامل فترة الدراسة.



الشكل (10)؛ مستويات الكوليسترول عند نعاج مجموعتي الدراسة مع مجموعة الشاهد بعد حقن hCG وGnRH

6-1-5 علاقة الارتباط بين الكوليسترول وكل من البروجسترون والأُستراديول

لم يُسجل ارتباط ($P>0.05$) بين تراكيز الكوليسترول و الأُستراديول في أثناء مدة أخذ العينات، إلا أنه سُجلت قيم سلبية في أثناء جميع أيام الدراسة تراوحت بين 0.57- في اليوم الأول وحتى - 0.07 في اليوم الأخير (الجدول 13).

الجدول(13)؛ معاملات الإرتباط بين تركيز الكوليسترول والأُستراديول خلال فترة اخذ العينات

الأُستراديول/ يوم		الكوليسترول/ يوم							
		1	2	3	4	5	6	7	8
1	r	**-0.574**	**-0.619**	**-0.366**	**-0.327**	**0.043**	**-0.702**	**-0.727**	**-0.537**
	P	0.106	0.076	0.333	0.390	0.912	0.035	0.027	0.136
2	r	**-0.563**	**-0.389**	**-0.173**	**-0.133**	**0.001**	**-0.441**	**-0.459**	**-0.086**
	P	0.115	0.170	0.555	0.651	0.998	0.114	0.098	0.770
3	r	**-0.567**	**-0.393**	**-0.148**	**-0.104**	**-0.075**	**-0.352**	**-0.422**	**-0.061**
	P	0.112	0.164	0.613	0.722	0.799	0.218	0.133	0.837
4	r	**-0.456**	**-0.371**	**-0.125**	**-0.081**	**-0.055**	**-0.296**	**-0.404**	**-0.045**
	P	0.217	0.191	0.671	0.782	0.853	0.304	0.152	0.878
5	r	**-0.079**	**-0.340**	**-0.150**	**-0.115**	**-0.035**	**-0.285**	**-0.356**	**-0.027**
	P	0.840	0.234	0.609	0.696	0.901	0.303	0.192	0.923
6	r	**-0.425**	**-0.454**	**-0.245**	**-0.205**	**0.076**	**-0.425**	**-0.474**	**0.068**
	P	0.254	0.119	0.420	0.503	0.795	0.130	0.087	0.817
7	r	**-0.201**	**-0.427**	**-0.251**	**-0.216**	**0.055**	**-0.335**	**-0.496**	**0.051**
	P	0.604	0.128	0.387	0.458	0.845	0.222	0.060	0.858
8	r	**-0.124**	**-0.356**	**-0.377**	**-0.372**	**0.420**	**-0.137**	**-0.347**	**-0.071**
	P	0.750	0.212	0.184	0.190	0.119	0.625	0.206	0.801

أظهرت تراكيز الكوليستيرول ارتباطاً سلبياً ضعيفاً ($P>0.05$) مع تراكيز البروجسترون في اليوم الأول والثاني والخامس من أيام أخذ العينات، وبلغ 0.504 و 0.274 و 0.146، وسُجّل ارتباط إيجابي ومعنوي ($P>0.05$) في اليوم الثالث والرابع والثامن من أيام أخذ العينات بعد المعاملة بـ GnRH في برنامج Ovsynch، إذ بلغت قيم معامل الارتباط، 0.94 و 0.98 و 0.58 على التوالي (الجدول14).

الجدول(14)؛معاملات الإرتباط بين تركيز الكوليسترول والبروجسترون خلال فترة اخذ العينات

الكوليسترول/ يوم								البروجسترون/ يوم	
8	7	6	5	4	3	2	1		
-0.133	-0.601	-0.678	0.184	0.431	0.416	0.289	-0.504	r	1
0.733	0.087	0.045	0.636	0.247	0.265	0.450	0.167	P	
0.029	**-0.346**	**-0.258**	**-0.101**	**-0.055**	**-0.088**	**-0.274**	**-0.138**	r	**2**
0.920	0.226	0.372	0.731	0.852	0.766	0.344	0.724	P	
0.094	**-0.061**	**0.055**	**0.108**	**0.952**	**0.937**	**0.718**	**-0.105**	r	**3**
0.749	0.836	0.851	0.713	<.0001	<.0001	0.004	0.789	P	
0.091	**-0.004**	**0.100**	**0.128**	**0.984**	**0.973**	**0.781**	**-0.101**	r	**4**
0.756	0.990	0.733	0.663	<.0001	<.0001	0.001	0.796	P	
0.127	**-0.207**	**-0.007**	**-0.146**	**-0.078**	**-0.069**	**-0.004**	**-0.463**	r	**5**
0.653	0.458	0.980	0.604	0.791	0.815	0.988	0.210	P	
0.458	**-0.265**	**0.277**	**0.103**	**0.162**	**0.166**	**0.167**	**0.471**	r	**6**
0.086	0.340	0.317	0.714	0.581	0.571	0.567	0.200	P	
0.364	**0.051**	**0.586**	**0.196**	**-0.021**	**-0.006**	**0.083**	**0.758**	r	**7**
0.182	0.857	0.022	0.484	0.943	0.983	0.777	0.018	P	
0.583	**0.154**	**0.631**	**0.251**	**-0.062**	**-0.025**	**0.201**	**0.677**	r	**8**
0.022	0.584	0.012	0.368	0.833	0.932	0.491	0.045	P	

لم يسجل ارتباط ($P>0.05$) بين تراكيز الأُستراديول وأعداد الجريبات عند حقن GnRH وبعده بـ 3 أيام وبلغت قيمة معامل الإرتباط 0.296− و 0.317− على التوالي. سُجل ارتباط سلبي قوي بين تراكيز الأُستراديول و أعداد الجريبات بعد 4 أيام من حقن GnRH وبلغت قيمة معامل الإرتباط 0.683− (جدول 15؛ $P=0.01$).

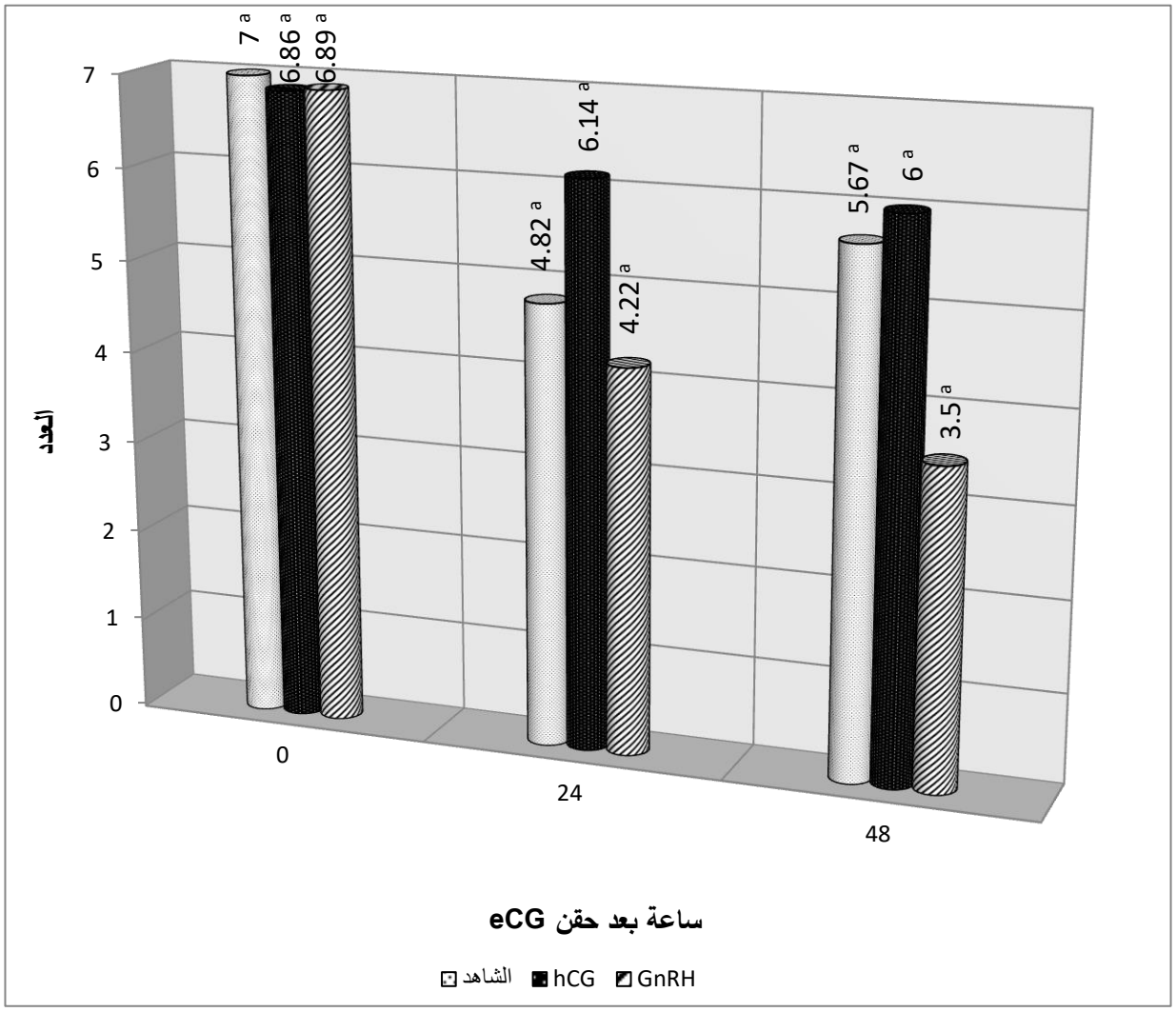
الجدول(15)؛ معاملات الإرتباط بين الأُستراديول وإجمالي عدد الجريبات

تركيز الإستراديول/ يوم		أعداد الجريبات		
		1	3	4
1	r	**-0.296**	-0.343	-0.833
	P	**0.475**	0.405	0.01
3	r	-0.007	**-0.317**	-0.719
	P	0.982	**0.29**	0.005
4	r	-0.054	-0.346	**-0.683**
	P	0.86	0.246	**0.01**

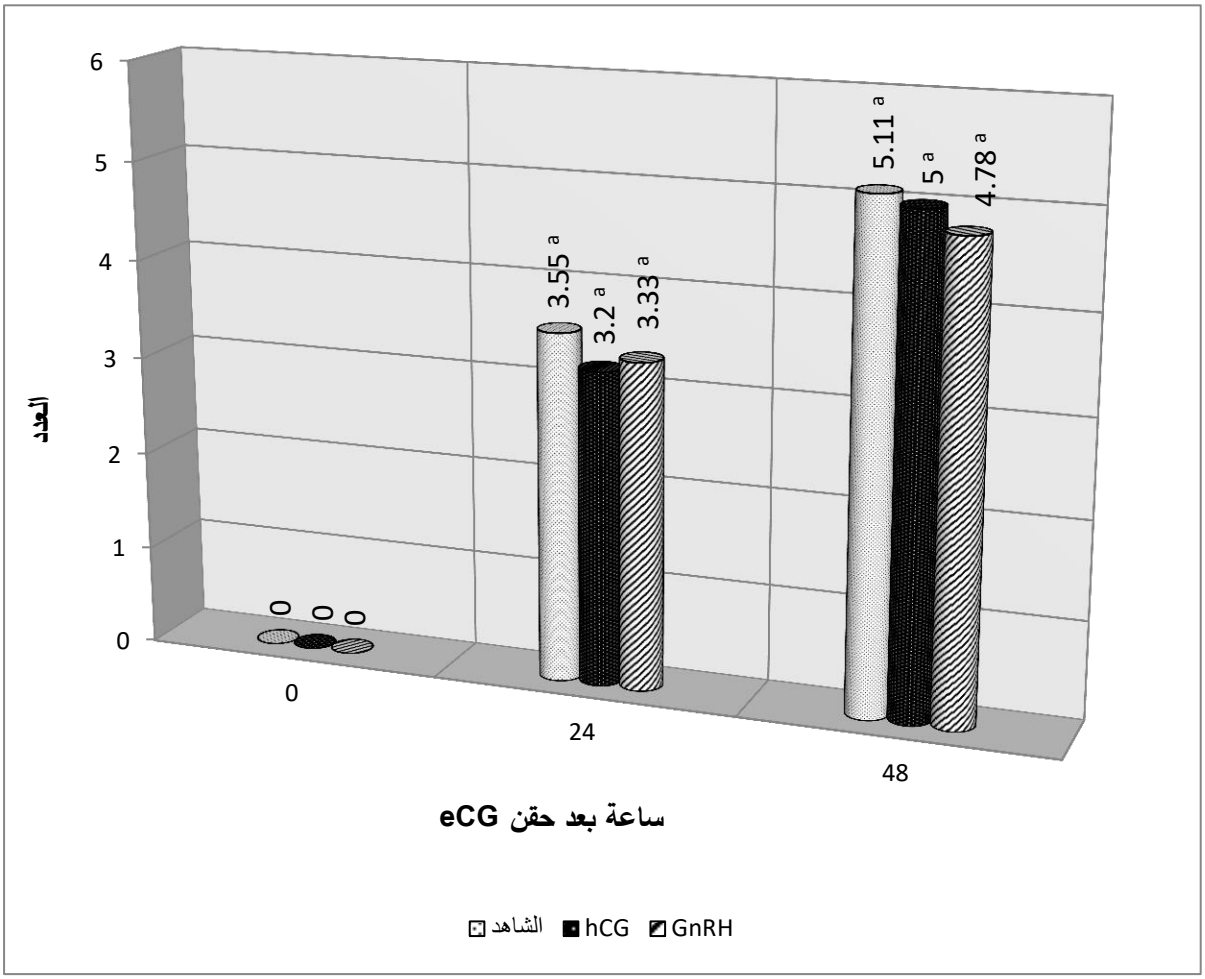
5-2 خارج موسم التناسل

لم تُسجل فروق معنوية في أعداد الجريبات صغيرة الحجم عند حقن eCG لنعاج المجموعات الثلاثة، وبلغ عددها 7.00 و 6.86 و 6.89 جريبات عند مجموعة الشاهد، وhCG وGnRH على التوالي (الشكل 11)، تناقصت أعداد الجريبات الصغيرة قليلاً بعد 24 ساعة من حقن eCG بين المجموعات الثلاثة، وفي المقابل ازدادت أعداد الجريبات متوسطة الحجم تدريجياً دون أن تصل الفروق بين المجموعات إلى مستوى المعنوية الإحصائية (P>0.05)، وبلغ متوسط أعدادها عند مجموعات الشاهد و hCG و GnRH 3.55 و 3.20 و 3.33 جريباً على التوالي. وكان واضحاً خلو مبايض نعاج المجموعات الثلاثة من الجريبات الكبيرة في اليوم الأول و الثاني من الكشف المبيضي، أي عند حقن eCG وبعده بـ 24 ساعة (الشكل 12). سُجل وجود جريبات متوسطة الحجم عند نعجتين من مجموعة GnRH ونعجة واحدة من مجموعة hCG، بعد 48 ساعة من حقن eCG لم تسجل أي فروق معنوية (P>0.05) بين المجموعات الثلاثة بأعداد الجريبات الصغيرة والمتوسطة والكبيرة، إذ بلغت أعداد الجريبات الصغيرة عند مجموعة hCG 6.00 مقابل 5.67 و3.50 جريباً عند مجموعتي الشاهد وGnRH على التوالي(الشكل 11)، وبلغت أعداد الجريبات المتوسطة عندها 5.00 مقابل 5.11 و4.78 جريباً عند مجموعتي الشاهد وGnRH على التوالي(الشكل 12)، أما أعداد الجريبات الكبيرة عندها فقد بلغت 5.00 جريبات مقابل 4.78 و5.11 جريباً عند مجموعتي الشاهد وGnRH على

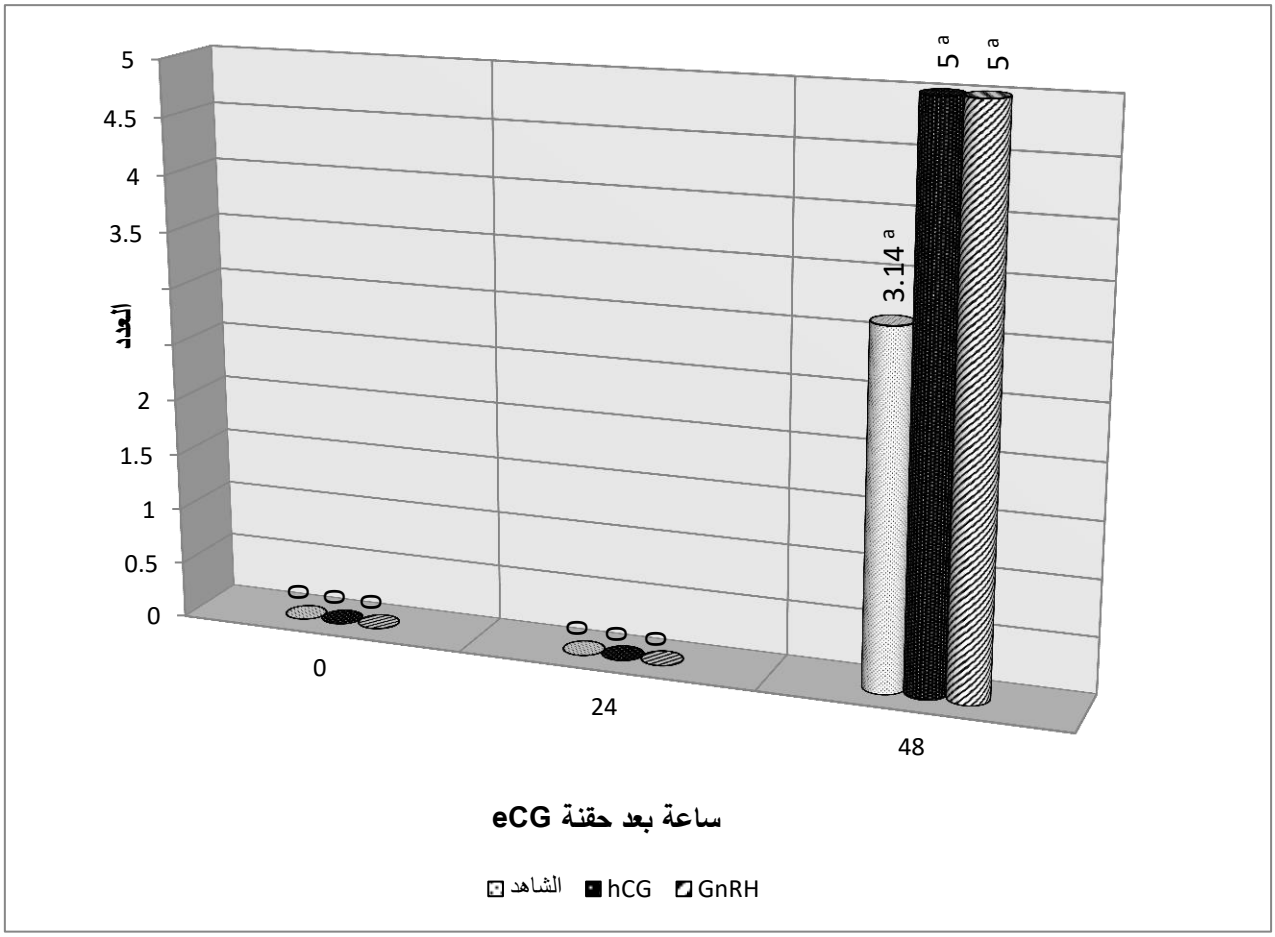
التوالي (الشكل 12). أما مجموعة الجريبات الكبيرة فقد تساوت في كل من مجموعة GnRH و hCG (5 جريبات) مقارنة مع مجموعة الشاهد (3.14 جريب) الشكل (13).



الشكل(11)؛ متوسط أعداد الجريبات صغيرة الحجم عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن eCG وبعدها بـ 24 و48 ساعة.



الشكل(12)؛ متوسط أعداد الجريبات متوسطة الحجم عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن eCG وبعدها بـ 24 و48 ساعة.



الشكل(13)؛ متوسط أعداد الجريبات كبيرة الحجم عند المجموعات الثلاث في ساعة حقن eCG وبعدها بـ 24 و48 ساعة.

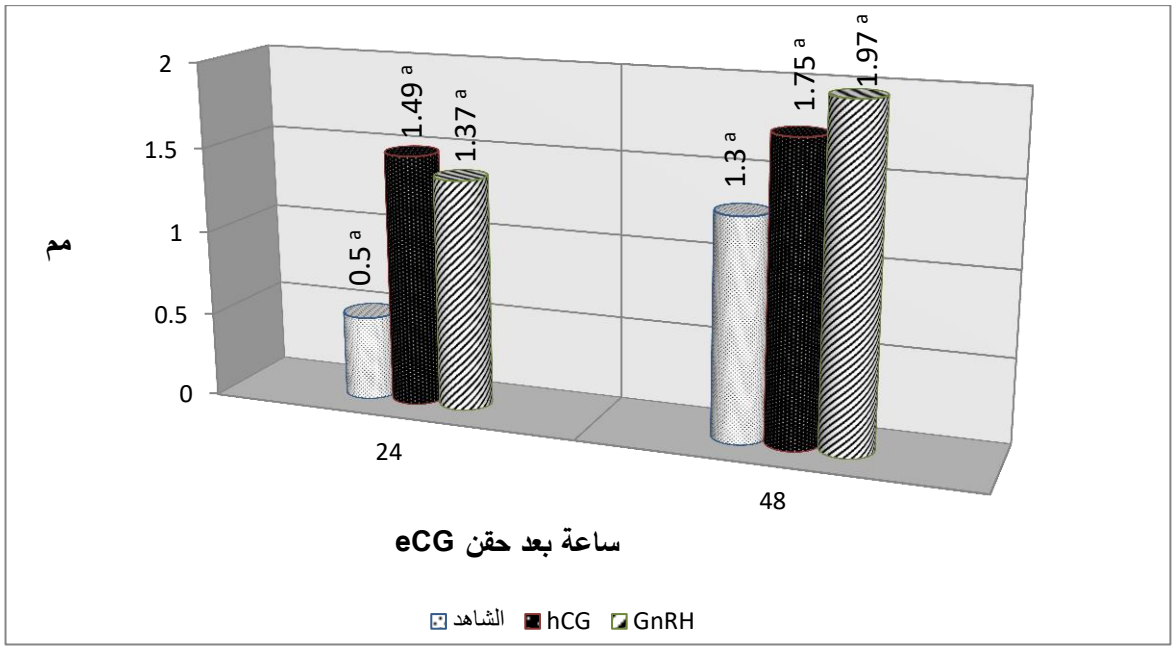
امتازت مبايض نعاج مجموعتي GnRH و hCG باستجابة أفضل لمنشط المناسل eCG وتفوقت ($P<0.05$) على مجموعة الشاهد بمعدل النمو الجريبي فقط بعد 24 ساعة من المعاملة بهرمون eCG (الجدول 16)، إذ بلغ معدل الزيادة في قطر الجريبات 1.37 و 1.49 مم/يوم عند مجموعتي GnRH و hCG على التوالي (مقابل 0.50 عند مجموعة الشاهد ، الشكل 15). بالرغم من زيادة معدل النمو الجريبي إلى 1.30 و 1.75 و 1.97 مم/يوم عند مجموعة الشاهد و hCG و GnRH على التوالي بعد 48 ساعة من حقن منشط المناسل eCG إلا أنَّ هذه الفروق لم تصل إلى حد المعنوية الإحصائية ($P<0.05$ ، الجدول 17).

الجدول(16)؛ تحليل التباين لمعدل النمو الجريبي بعد 24 ساعة من حقن eCG خارج موسم التناسل

المصدر	درجة الحرية	مجموع مربع الإنحرافات	متوسط المربعات	قيمة F	Pr > F
النموذج	2	5.6572511	2.8286255	5.48	0.011
الخطأ	24	12.389416	0.5162257		
المجموع	26	18.046667			

الجدول(17)؛ تحليل التباين لمعدل النمو الجريبي بعد 48 ساعة من حقن eCG خارج موسم التناسل

المصدر	درجة الحرية	مجموع مربع الإنحرافات	متوسط المربعات	قيمة F	Pr > F
النموذج	2	2.3442328	1.1721164	2.68	0.0889
الخطأ	24	10.491091	0.4371288		
المجموع	26	12.835324			



الشكل(14)؛ معدّل النمو الجُريبيّ (مم/اليوم) في مبيضي نعاج المجموعات الثلاثة بعد حقنها بهرمون eCG بـ 24 و 48 ساعة خارج موسم التناسل

كان حجم الجريب الإباضي أكبر (P>0.01) عند نعاج مجموعة GnRH مقارنة مع نظيره عند مجموعة hCG ومجموعة الشاهد، وبلغ قطره 6.5 مم و5.38 مم و 5.45 مم على التوالي (الجدول 18). كانت معدلات الحمل عند المجموعات الثلاثة متقاربة (P>0.05، الجدول 19) وبلغت 91% و 85.71، 85.71 % عند مجموعات الشاهد و hCG وGnRH على التوالي (الجدول 19).

الجدول (18)؛ متوسط قطر الجريب الإباضي/مم عند المجموعات الثلاثة خارج الموسم لحظة حقن GnRH

المؤشر	مجموعة الشاهد		مجموعةhCG		مجموعة GnRH		Pr>I t I
	المتوسط	SE	المتوسط	SE	المتوسط	SE	
قطر الجريب/مم	5.45 ^{b}	0.21	5.38 ^{b}	0.26	6.50 ^{a}	0.27	0.0065

تشير الحروف المختلفة ضمن السطر الواحد إلى وجود فروق معنوية (P>0.05)

الجدول(19)؛ نسبة الحمل عند المجموعات الثلاث خارج موسم التناسل

المجموعة	الحمل %
الشاهد	91.67^{a}
hCG	85.71^{a}
GnRH	85.71^{a}

تشير الحروف المختلفة ضمن السطر الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية (P>0.05)

الجدول (20)؛المؤشرات الخاصة بمعدل الحمل بحسب المعاملة خارج الموسم

الإحصاءات	DF	القيمة	الاحتمال
مربع كاي	2	0.2721	0.8728
مربع كاي لمعدل الترجيح	2	0.291	0.8646
مربع كاي مانتل هانزل	1	0	1
معامل فاي		0.0825	
معامل الاحتمال		0.0822	
كارمر V		0.0825	

ثانياً: المناقشة

6-1 داخل موسم التناسل

أشارت الدراسات أنَّ حقن GnRH أو hCG بعد ثلاثة أيام من التلقيح الصنعي يمكن أن يكون طريقة فعالة إما للوتنة الجريبات السائدة أو إباضتها بغرض استبعاد أي مصدر محتمل للأُستراديول لمنع الانحلال المبكر للجسم الأصفر أو تقليل حدوث التدهور للحد الأدنى، وعلاوة على ذلك كان الغرض من هذه المعاملة دعم وظيفة الجسم الأصفر بالإضافة إلى تعويض أي قصور محتمل في وظيفته باستبدال GnRH بدلاً من الـ hCG.

أظهرت جميع النعاج المعاملة ببرنامج توقيت الإباضة دورات شبق طبيعية وهذا يشير إلى أنَّ إفراز هرمون الأستروجين الذي يُؤدي دوراً رئيساً في هذا المجال (Jeong وKaiser، 2006؛ Etgen وGarcia–Segura، 2009) كان طبيعياً، وعلاوةً على ذلك فإنَّ تراكيز الأُستراديول المتزايدة في بداية الطور اللوتيئيني داخل الموسم التناسلي– كما هو مبين في الشكل(8) – قد يكون بسبب تأثير حقن هرمون GnRH الذي يحفز إفراز FSH وLH (الصالح، 2017). حين أن يحفز هرمون FSH نمو الجريبات وهذا يزيد من إفراز الأُستراديول منها (Perry وزملاؤه، 2014). إنَّ الاستجابة المباشرة لانحلال الجسم الأصفر بعد المعاملة بـ $PGF_{2\alpha}$ داخل الموسم التناسلي ما هو في الواقع إلا دليل على حساسية الجسم الأصفر المرتفعة للبروستاغلاندين عند نعاج العواس كغيرها من عروق الغنم. وكانت مستويات البروجسترون في بلازما الدم بعد الجرعة الثانية من GnRH عالية عند النعاج، وهذا يتفق مع دراسة سابقة بهذا الخصوص (Driancourt وزملاؤه، 1985) التي بدأ فيها الجسم الأصفر بدءاً من اليوم الثالث بإفراز كميات متزايدة من البروجسترون حتى اليوم السابع، وظل مرتفعاً (1–3) نانو غرام/مل حتى اليوم 12 من دورة الشبق. إن تراكيز البروجسترون المرتفعة في اليوم السابع عند مجموعتي hCG و GnRH (11.55 و 8.39 نغ/مل) الشكل (9) مقارنة بمجموعة الشاهد (5.73 نغ/مل) على التوالي. يمكن إرجاعها إلى تأثير hCG المديد المنشط للجسم الأصفر (Lei وRao،

1994؛ Saleh وHoltz، 2022) إذ يتفاعل الهرمون آنف الذكر مع مستقبلات LH على الجسم الأصفر لتحفيز إنتاج البروجسترون (Saleh وHoltz، 2022). ذكر Stevenson وزملاؤه، (2008) أنَّ الأجسام الصفراء الناتجة بعد تحريض الإباضة بـ hCG تفرز البروجسترون بوفرة أكبر من نظيرتها الناتجة عن المعاملة بـ GnRH. تجدر الإشارة إلى وجود اختلافات في تركيز البروجسترون بين السلالات، وقد يعود ذلك إلى اختلافات وراثية أو تباين طرائق تقدير مستويات الهرمون (ELISA أو RIA). لقد اعتُمد في هذه الدراسة على التلقيح الصنعي باستخدام سائل منوي طازج ممدد لاستبعاد تأثير السائل المنوي الممدد/المجمد في معدلات الحمل. أظهرت نتائج هذه الدراسة أنَّ انخفاض معدل تحلل الجسم الأصفر المبكر بعد المعاملة بـ GnRH يعد مؤشراً على أنَّ GnRH فعّال لتحسين معدلات الحمل. وقد تحولت جميع الجريبات الإباضية عند النعاج التي كان عندها دورات شبق قصيرة إلى أجسام صفراء قصيرة العمر، وهذا يمكن استنتاجه من عودة النعاج إلى إظهار الشبق قبل أوانه، وقد أكد ذلك تراجع تراكيز البروجسترون إلى مستويات دنيا. إنَّ الاختلافات بين المجموعات فيما يتعلق بوظيفة الجسم الأصفر تقود إلى الإعتقاد بأنَّ التحسّن في وظيفة الجسم الأصفر في مجموعة GnRH (92.31% وظيفة جسم أصفر طبيعية) يعود إلى فعالية Lecirelin كعامل تحفيز للإباضة فضلاً عن لوتنة الجريبات المبيضية وتمايزها إلى أجسام صفراء سليمة، (Stevenson وزملاؤه، 2008؛ Rantala وزملاؤه، 2008) بينتا أنَّ hCG كان أكثر فعالية من GnRH في تقليل حدوث دورات الشبق القصيرة. بعد استخدام REG PROC كانت قيمة معيار أكايكا AIC الأدنى للنموذج الرياضي الذي يحتوي متغير واحد فقط "مدة الشبق،" ويمكن الاستنتاج بأنَّ هذا النموذج الرياضي المتبع في هذه الدراسة الذي يضم متغيراً واحداً هو أكثر النماذج الرياضية دقة لتفسير أسباب انخفاض معدلات انحلال الجسم الأصفر بعد فترة وجيزة من تشكله. سُجلت أعلى نسبة من التحلل اللوتيئيني المبكر في مجموعة الشاهد (P<0.01)، وبلغت 23.07 % (الجدول10)، وهذا أقل مما كانت عليه في دراسة سابقة بعد تطبيق برنامج Ovsynch لوحده عند ماعز البور 29% (Holtz وزملاؤه، 2008)، وعند البقر (Schmitt

وزملاؤه، 1996c). بيّن Schmitt وزملاؤه، (1996a) أن hCG تفوق علىGnRH كعامل محرض للإباضة في برنامج التلقيح الصنعي عند البقر عن طريق تقليل إجراء تلقيحات إضافية إلى مستويات مماثلة لتلك التي لم يطبق عليها برنامج توقيت الإباضة، وتمت معاملتها فقط بالبروستاغلاندين في الوقت المناسب. ارتبط حدوث دورات الشبق القصيرة بحوادث فيزيولوجية عدة لعل أهمها زيادة طول مدة الشبق، وهذا ما أكدته بعض الدراسات السابقة (Stock و Fortune، 1993) التي أشارت إلى ارتباط انخفاض معدلات الخصوبة بارتفاع مستويات هرمون الأُستراديول عند البقر(Sirois وFortune، 1990؛ Stock وFortune، 1993؛ Kinder وزملاؤه، 1996). وقد تبين انخفاض معدل الحمل عند زيادة مدة سيادة الجريب الإباضي من 4 إلى 8 أيام، وانخفض أكثر إذا تجاوزت مدة السيادة 10 أيام (Mihm وزملاؤه، 1994). لازال السبب الفيزيولوجي لانخفاض معدل الحمل بعد زيادة مدة سيادة الجريب الإباضي غير واضح تماماً، ولكن يبدو أنَّ المقدرة الإفرازية للأجسام الصفراء الناتجة عن جريبات ذات سيادة مطولة تكون غير كاملة مما يعرضها للإنحلال المبكر قبل الوقت المتوقع (Vrisman وزملاؤه، 2018)، أما العامل الآخر المتعلق بحدوث دورات الشبق القصيرة قد يرتبط بتحريض إباضة الجريبات قبل الوقت المطلوب لنضجها النهائي عند بعض النعاج، إذ تبين في دراسة سابقة عن توقيت الإباضة عند نعاج العواس باستخدام برنامج Ovsynch، أنه يمكن تخفيض نسبة حدوث دورات الشبق القصيرة بإتاحة الوقت الكافي للجريب الإباضي كي يصل إلى مراحل نضجه النهائي (حبشية، 2019) . تجدر الإشارة إلى أنَّ الوقت المطلوب للجريب كي يصل إلى نضجه النهائي غير محدد بدقة عند نعاج العواس، نظراً لاختلاف نماذج النمو الجريبي بين أفراد القطيع الواحد، وهذا ما يفسر إظهار نسبة محدودة من النعاج لدورات الشبق القصيرة في الدراسة آنفة الذكر. بلغ معدل الترجيح ODDS ratio لمدة الشبق 3.58، وهذا يعني أنَّ النعاج التي لديها مدة شبق طويلة، أظهرت دورات شبق قصيرة أكثر بـ 258% من غيرها مع مدة شبق قصيرة. وبعبارة أخرى عندما تزيد مدة الشبق، يزداد معدل التحلل المبكر للجسم الأصفر.

أثبتت هذه الدراسة أنَّ حقن GnRH كان أكثر فعالية من hCG في تحريض إباضة الجريبات النامية آنفة الذكر، وتتباين كفاءة تحريض الإباضة عند حقن GnRH بحسب مرحلة نضج الجريب (Bello وزملاؤه، 2006)، إذ بيَن (Saleh وHoltz، 2022) أنَّ حقن GnRH خارجي يحرض خلال 20 دقيقة إفراز موجة LH إباضية. تؤدي هذه الموجة من هرمون LH إلى إباضة الجريبات المنتجة للأُستراديول التي اكتسبت أعداداً كافية من مستقبلات LH، أما الجريبات النامية التي لم تكتسب أعداد كافية من مستقبلات LH فلا تحدث فيها الإباضة وتستمر بإنتاج الإستروجين وهذا يسهم بإطالة مدة الشبق، ويؤدي الإستروجين دوراً مهماً في تحريض إفراز $PGF_{2\alpha}$ وابتداء دورة شبق جديدة قبل الوقت المتوقع، وهذا ما يفسر فشل GnRH في منع حدوث دورات الشبق القصيرة بشكل كلي، ومايدعم هذا الرأي أنَّ النعاج التي أظهرت دورات شبق قصيرة كانت مدة الشبق عندها طويلة، ويرتبط ارتفاع الأُستراديول لمدة طويلة مع التطور غير الطبيعي للأجنة (Breuel وزملاؤه، 1993) وانخفاض الخصوبة (Wehrman وزملاؤه، 1993)، وأشارت إحدى الدراسات على الجرذان إلى أنَّ تعرضها للأُستراديول لمدة مطولة قبل الإباضة يرتبط مع معدلات الانغراس المنخفضة وزيادة الموت الجنيني وتأخر نمو الأجنة (Butcher وPope، 1979). يمكن القول عموماً أنَّ معدلات الحمل في المجموعات الثلاثة كان ضمن الحدود المتعارف عليها عالمياً، مع الإشارة إلى أنَّ هذه المعدلات يمكن أن تنخفض قليلاً عند استخدام السائل المنوي الممدد والمجمد.

2-6 خارج موسم التناسل

تعد المعاملة بـ GnRH وhCG في أوقات مختلفة بعد التلقيح سواء كان طبيعياً أم صنعياً مفيدة لتحريض الإباضة وزيادة نسبة الحمل، و قد ارتبطت ببرامج توقيت الإباضة باستخدام مصدر للبروجسترون مع البروستاغلاندين وeCG (Abecia وزملاؤه، 2012). يشير غياب الجريبات متوسطة وكبيرة الحجم عند نعاج المجموعات الثلاثة لحظة حقن eCG خارج موسم التناسل إلى حالة السكون

عندها وانخفاض مستويات موجهات المناسل إلى مستويات دون العتبة المؤثرة، وهذا يتوافق مع دراسات كثيرة بهذا الخصوص (Dias وزملاؤه، 2018؛ Zolbin وزملاؤه، 2018).

يُشير تناقص أعداد الجريبات الصغيرة عند المجموعات الثلاثة بعد 24 ساعة من حقنة eCG إلى نمو هذه الجريبات وزيادة أقطارها استجابةً لحقنة eCG لتصبح جريبات متوسطة الحجم ولاحقاً جريبات كبيرة الحجم ووصولها إلى مرحلة الإباضة وهذا يتوافق مع دراسات عديدة بهذا الخصوص (Rodríguez-Martínez وزملاؤه، 2018؛ Dias وزملاؤه، 2018؛ Simoes وزملاؤه، 2006؛ Gonzalez Bulnesوزملاؤه، 2005).

يعود ازدياد أعداد الجريبات الكبيرة تدريجياً بعد 48 ساعة من حقن eCG لنعاج مجموعة الشاهد، وGnRH وhCG إلى استمرار نمو الجريبات استجابةً لجرعة eCG الذي يشابه في تأثيره كل من FSH و LH اللذين يفرزان من النخامية الغدية (Baird وCampbell، 1998)، و يسهمان في تطور الجريبات لتصل إلى مرحلة الإباضة (Scaramuzzi وزملاؤه، 1993). تبين أنه بعد 48 ساعة من حقن منشط المناسل eCG زاد معدل النمو عند المجموعات الثلاثة من دون وجود فروق معنوية، وهذا يتفق مع (Duggavathi و وزملاؤه، 2003). يشير اختلاف حجم الجريب الإباضي عند نعاج المجموعات الثلاثة إلى إمكانية حدوث الإباضة من جريبات بأقطار متباينة وهذا يتفق مع نتائج (Zolbin و وزملاؤه، 2018؛ Daghash و وزملاؤه، 2017) التي تبيّن منها أنَّ تحفيز الإباضة بـ eCG وhCG يمكن أن تزيد من عدد الجريبات وتقلل من حجم جريب الإباضة وحجم الأجسام الصفراء. يشير عدم إظهار دورات شبق قصيرة خارج الموسم التناسلي إلى أنَّ البيئة الهرمونية السائدة خارج موسم التناسل لاتدعم إنتاج $PGF_{2\alpha}$ وتحريره من بطانة الرحم الداخلية وخاصةً مستويات الأستروجين اللاعب الأبرز في سلسلة الحوادث المؤدية إلى تحرير $PGF_{2\alpha}$ (الصالح، 2017). إنَّ حقن eCG خارج موسم التناسل يحرض نمو موجة جريبية واحدة تنتهي بجريب إباضي أو أكثر بخلاف الحالة داخل موسم التناسل التي تتطور عند النعجة في أثناء موجات جريبية عدة في دورة الشبق الواحدة

وتكون متداخلة ومستويات الأستروجين أعلى (Clarke وCummins، 1985). قد يكون السبب الأساسي في تقارب معدلات الحمل عند نعاج المجموعات الثلاثة عدم إظهار النعاج دورات شبق قصيرة، وهذا يفسر عدم جدوى المعاملة بـ GnRH أو hCG خارج موسم التناسل، وهذا يتفق مع دراسات سابقة بهذا الخصوص (Kaya وزملاؤه،2013؛ Fukui وزملاؤه، 1991) التي حاولت تحسين الخصوبة بالمعاملة بـ GnRH و hCG خارج موسم التناسل دون جدوى (Ishida وزملاؤه، 1999).

الفصل الرابع

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Suggestions

الاستنتاجات Conclusions

هدف البحث إلى تقييم تأثيرhCG أو GnRH في الديناميكية الجريبية ومعدل الحمل بعد توقيت الإباضة ببرنامج الإباضة Ovsynch عند نعاج العواس، وتأثير المعاملة في حدوث دورات الشبق القصيرة، وهدف أيضاً إلى معرفة مدى تأثير المعاملة بتركز هرموني البروجسترون والأُستراديول وبعض المواد الكيميائية مثل الكوليستيرول وعلاقته مع مستويات البروجسترون والأُستراديول. تؤول النتائج إلى الاستنتاجات الآتية:

1. يمكن تطبيق برنامج توقيت الإباضة Ovsynch عند نعاج العواس الدورية.
2. تظهر النعاج التي مدة شبقها طويلة دورات شبق قصيرة أكثر من نظيرتها التي مدة شبقها أقصر بـ 258% داخل موسم التناسل.
3. لا مناص من حدوث انحلال الجسم الأصفر عند نسبة محدودة من النعاج، ولا يمكن –حتى الوقت الحاضر على الأقل– إلغاؤه بصورة نهائية، وإنما تقليل حالات حدوثه.
4. كانت القدرة على إفراز البروجسترون من الأجسام الصفراء الناتجة عن المعاملة بـ GnRH أقل من تلك التي نتجت عن المعاملة بـ hCG.
5. انخفاض معدل تحلل الجسم الأصفر المبكر بعد المعاملة بـ GnRH يعد مؤشراً على ملاءمة GnRH لزيادة معدلات الحمل.
6. لاتظهر نعاج العواس دورات شبق قصيرة بعد تحريض الشبق خارج موسم التناسل، وبالتالي حقن الهرمونات المحرضة للإباضة (GnRH أو hCG) بعد التلقيح بـ 72 ساعة لامبرر له وليس ذا جدوى اقتصادية.
7. استخدام hCG بدلاً من GnRH كعامل محفز للإباضة دون جدوى.
8. لايوجد جدوى لقياس تركيز الكوليسترول وبيان علاقته مع هرموني البروجسترون والإستراديول كمؤشر تناسلي في الغنم.

المقترحات Suggestions

- تقترح الدراسة بحقن GnRH داخل الموسم بعد التلقيح بـ 72 ساعة لتخفيض معدلات دورات الشبق القصيرة وزيادة نسبة الحمل ولاينصح باستخدامه خارج الموسم.
- إجراء المزيد من البحوث لحل المشاكل المتعلقة بالانحلال المبكر للجسم الأصفر.
- استخدام أعداد أكثر من الحيوانات لتدعم النتائج الأولية التي تم الحصول عليها لتثبيت مقترح الحقن بـ GnRH بعد التلقيح.
- تكرار الدراسة تحت نظم رعاية مختلفة للأغنام.

الخاتمة Conclusion

بهدف الحد من الانحلال اللوتيئيني المبكر عند نعاج العواس بعد استخدام برامج تحريض الإباضة ومن ثم زيادة نسبة الحمل، تم التوصل في هذه الدراسة إلى أنه يمكن زيادة نسبة الحمل باستخدام هرموني GnRH و hCG من خلال الحد من حدوث دورات الشبق القصيرة رغم أنَّ هذا الانخفاض لم يصل إلى مستوى المعنوية، وكان استخدام GnRH أكثر فعالية من hCG بهذا الخصوص.

المراجع References

المراجع العربية

الصالح، محمد (2017). **فيزيولوجيا الحيوان.** دمشق: الجمهورية العربية السورية. منشورات جامعة دمشق.

حبشية ،م. (2019). **توقيت الإباضة عند نعاج العواس باستخدام برنامج OvSynch**. مشروع تخرج- كلية الزراعة - جامعة دمشق.

المراجع الأجنبية

Abecia, J. A., Forcada, F., & González-Bulnes, A. (2012). **Hormonal control of reproduction in small ruminants.** Animal reproduction science, 130(3-4), 173-179.

Arreguin-Arevalo, J. A., Ashley, R. L., Wagenmaker, E. R., Oakley, A. E., Karsch, F. J., & Nett, T. M. (2010). **Membrane-initiated actions of estradiol (E2) in the regulation of LH secretion in ovariectomized (OVX) ewes.** Reproductive Biology and Endocrinology, 8(1), 1-12.

Ashley, R. L., Clay, C. M., Farmerie, T. A., Niswender, G. D., & Nett, T. M. (2006). **Cloning and characterization of an ovine intracellular seven transmembrane receptor for progesterone that mediates calcium mobilization.** Endocrinology, 147(9), 4151-4159.

Aslan, S., Arslanbas, D., Beindorff, N., & Bollwein, H. (2011). **Effects of induction of ovulation with GnRH or hCG on follicular and luteal blood flow in Holstein–Friesian heifers.** Reproduction in domestic animals, 46(5), 781-786.

Baird, D. T., & Campbell, B. K. (1998). **Follicle selection in sheep with breed differences in ovulation rate**. Molecular and cellular

Endocrinology, 145(1-2), 89-95.

Baird, D. T., & Scaramuzzi, R. J. (1976). **Changes in the secretion of ovarian steroids and pituitary luteinizing hormone in the peri-ovulatory period in the ewe: the effect of progesterone.** Journal of Endocrinology, 70(2), 237-245.

Baird, D. T., Land, R. B., Scaramuzzi, R. J., & Wheeler, A. G. (1976). **Endocrine changes associated with luteal regression in the ewe; the secretion of ovarian oestradiol, progesterone and androstenedione and uterine prostaglandin F2α throughout the oestrous cycle**. Journal of Endocrinology, 69(2), 275-286.

Barrett, D. M. W., Bartlewski, P. M., Duggavathi, R., Davies, K. L., Huchkowsky, S. L., Epp, T., & Rawlings, N. C. (2008). **Synchronization of follicular wave emergence in the seasonally anestrous ewe: The effects of estradiol with or without medroxyprogesterone acetate.** Theriogenology, 69(7), 827-836.

Barrett, D. M., Bartlewski, P. M., Duggavathi, R., Davies, K. L., & Rawlings, N. C. (2006). **Suppression of follicle wave emergence in cyclic ewes by supraphysiologic concentrations of estradiol-17beta and induction with a physiologic dose of exogenous ovine follicle-stimulating hormone.** Biology of reproduction, 75(4), 633-641.

Bartlewski, P. M., Beard, A. P., Cook, S. J., Chandolia, R. K., Honaramooz, A., & Rawlings, N. C. (1999). **Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrous cycle in breeds of sheep differing in prolificacy**. Reproduction, 115(1), 111-124.

Beck, N. F. G., Peters, A. R., & Williams, S. P. (1994). **The effect of GnRH agonist (buserelin) treatment on day 12 post mating on the reproductive performance of ewes**. Animal Science, 58(2), 243-247.

Bello, N. M., Steibel, J. P., & Pursley, J. R. (2006). **Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows.** Journal of dairy science, 89(9), 3413-3424.

Ben Said, S., Lomet, D., Chesneau, D., Lardic, L., Canepa, S., Guillaume, D., & Caraty, A. (2007). **Differential estradiol requirement for the induction of estrus behavior and the luteinizing hormone surge in two breeds of sheep.** Biology of reproduction, 76(4), 673-680.

Benoit, A. M., Inskeep, E. K., & Dailey, R. A. (1992). **Effect of a nonsteroidal aromatase inhibitor on in vitro and in vivo secretion of estradiol and on the estrous cycle in ewes.** Domestic animal endocrinology, 9(4), 313-327.

Bierschwal, C. J., Garverick, H. A., Martin, C. E., Youngquist, R. S., Cantley, T. C., & Brown, M. D. (1975). **Clinical response of dairy cows with ovarian cysts to GnRH.** Journal of animal science, 41(6), 1660-1665.

Blache, D., Fabre-Nys, C., & Venier, G. (1996). **Inhibition of sexual behaviour and the luteinizing hormone surge by intracerebral progesterone implants in the female sheep.** Brain research, 741(1-2), 117-122.

Blache, D., Batailler, M., & Fabre-Nys, C. (1994). **Oestrogen Receptors in the Preoptico-Hypothalamic Continuum: Immunohistochemical Study of the Distribution and Cell Density During Induced**

Oestrous Cycle in Ovariectomized Ewe. Journal of neuroendocrinology, 6(3), 329-339.

Borowczyk, E., Johnson, M. L., Bilski, J. J., Bilska, M. A., Redmer, D. A., Reynolds, L. P., & Grazul-Bilska, A. T. (2007). **Role of gap junctions in regulation of progesterone secretion by ovine luteal cells in vitro.** Reproduction, 133(3), 641-651.

Breuel, K. F., Lewis, P. E., Schrick, F. N., Lishman, A. W., Inskeep, E. K., & Butcher, R. L. (1993). **Factors affecting fertility in the postpartum cow: role of the oocyte and follicle in conception rate.** Biology of reproduction, 48(3), 655-661.

Butcher, R. L., & Pope, R. S. (1979). **Role of estrogen during prolonged estrous cycles of the rat on subsequent embryonic death or development.** Biology of reproduction, 21(2), 491-495.

Cam, M. A., & Kuran, M. (2004). **Effects of a single injection of hCG or GnRH agonist on day 12 post mating on fetal growth and reproductive performance of sheep.** Animal reproduction science, 80(1-2), 81-90.

Campbell, B. K., Clinton, M., & Webb, R. (2012). **The role of anti-Müllerian hormone (AMH) during follicle development in a monovulatory species (sheep).** Endocrinology, 153(9), 4533-4543.

Campbell, B. K., Kendall, N. R., & Baird, D. T. (2009). **Effect of direct ovarian infusion of bone morphogenetic protein 6 (BMP6) on ovarian function in sheep.** Biology of reproduction, 81(5), 1016-1023.

Campbell, B. K., Kendall, N. R., & Baird, D. T. (2007). **The effect of the presence and pattern of luteinizing hormone stimulation on ovulatory follicle development in sheep.** Biology of reproduction, 76(4), 719-727.

Campbell, B. K., & Baird, D. T. (2001). **Inhibin A is a follicle stimulating hormone-responsive marker of granulosa cell differentiation, which has both autocrine and paracrine actions in sheep.** Journal of Endocrinology, 169(2), 333-346.

Campbell, B. K., Dobson, H., & Scaramuzzi, R. J. (1998). **Ovarian function in ewes made hypogonadal with GnRH antagonist and stimulated with FSH in the presence or absence of low amplitude LH pulses.** Journal of endocrinology, 156, 213-222.

Caraty, A., Delaleu, B., Chesneau, D., & Fabre-Nys, C. (2002). **Sequential role of E2 and GnRH for the expression of estrous behavior in ewes.** Endocrinology, 143(1), 139-145.

Caraty, A., & Skinner, D. C. (1999). **Progesterone priming is essential for the full expression of the positive feedback effect of estradiol in inducing the preovulatory gonadotropin-releasing hormone surge in the ewe.** Endocrinology, 140(1), 165-170.

Chemineau, P., Pellicer-Rubio, M. T., Lassoued, N., Khaldi, G., & Monniaux, D. (2006). **Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats:** a working hypothesis. Reproduction Nutrition Development, 46(4), 417-429.

Clarke, I. J. (2002). **Multifarious effects of estrogen on the pituitary gonadotrope with special emphasis on studies in the ovine species.** Archives of physiology and biochemistry, 110(1-2), 62-73.

Clarke, I. J., Thomas, G. B., Yao, B., & Cummins, J. T. (1987). **GnRH secretion throughout the ovine estrous cycle**. Neuroendocrinology, 46(1), 82-88.

Clarke, I. J., & Cummins, J. T. (1985). **Increased gonadotropin-releasing hormone pulse frequency associated with estrogen-induced luteinizing hormone surges in ovariectomized ewes.** Endocrinology, 116(6), 2376-2383.

Daghash, H., Fahmy, S., Hassan, T., & Ali, M. (2017). **Impact of GnRH, PMSG and hCG treatments on follicular diameter, conception and lambing rates of Egyptian ewe lambs using intravaginal sponges.** Egyptian Journal of Sheep and Goat Sciences, 12(1), 1-8.

Davis, T. L., Bott, R. C., Slough, T. L., Bruemmer, J. E., & Niswender, G. D. (2010). **Progesterone inhibits oxytocin-and prostaglandin F2alpha-stimulated increases in intracellular calcium concentrations in small and large ovine luteal cells.** Biology of reproduction, 82(2), 282-288.

Davies, K. L., Bartlewski, P. M., Pierson, R. A., & Rawlings, N. C. (2006). **Computer assisted image analyses of corpora lutea in relation to peripheral concentrations of progesterone: A comparison between breeds of sheep with different ovulation rates.** Animal reproduction science, 96(1-2), 165-175.

Devonish, E. H., Knights, M., & Inskeep, E. K. (2009). **Effect of expected peripheral concentrations of progesterone on ovulation rate and litter size in Barbados blackbelly ewes.** Sheep goat res. j, 24, 17-25.

Dias, L. M. K., Sales, J. N. S., Viau, P., Barros, M. B. P., Nicolau, S. S., Simões, L. M. S., & Oliveira, C. A. (2018). **Although it induces synchronized ovulation, hCG reduces the fertility of Santa Ines ewes submitted to TAI.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 70, 122-130.

Domański, E., Chomicka, L. K., Ostrowska, A., Gajewska, A., & Mateusiak, K. (1991). **Release of luteinizing hormone-releasing hormone, β-endorphin and noradrenaline by the nucleus infundibularis/median eminence during periovulatory period in the sheep.** Neuroendocrinology, 54(2), 151-158.

Driancourt, M. A., Gibson, W. R., & Cahill, L. P. (1985). **Follicular dynamics throughout the oestrous cycle in sheep. A review.** Reproduction Nutrition Développement, 25(1A), 1-15.

Duggavathi, R., Bartlewski, P. M., Agg, E., Flint, S., Barrett, D. M. W., & Rawlings, N. C. (2005). **The effect of the manipulation of follicle-stimulating hormone (FSH)-peak characteristics on follicular wave dynamics in sheep: does an ovarian-independent endogenous rhythm in FSH secretion exist?.** Biology of reproduction, 72(6), 1466-1474.

Duggavathi, R., Bartlewski, P. M., Barrett, D. M. W., & Rawlings, N. C. (2003). **Use of high-resolution transrectal ultrasonography to**

assess changes in numbers of small ovarian antral follicles and their relationships to the emergence of follicular waves in cyclic ewes. Theriogenology, 60(3), 495-510.

Dýrmundsson, Ó. R., & Lees, J. L. (1972). **Attainment of puberty and reproductive performance in Clun Forest ewe lambs.** The Journal of Agricultural Science, 78(1), 39-45.

Engelhardt, H., Smith, K. B., McNeilly, A. S., & Baird, D. T. (1993). **Expression of messenger ribonucleic acid for inhibin subunits and ovarian secretion of inhibin and estradiol at various stages of the sheep estrous cycle**. Biology of reproduction, 49(2), 281-294.

Epstein, H. (1985). **The Awassi sheep, with special reference to the improved dairy type.** FAO Animal production and health paper, (57).

Etgen، A.M, & Garcia-Segura, LM,. (2009). **Estrogen regulation of neurotransmitter and growth factor signaling in the brain. In: Hormones , Brain and Behaviour** , 2nd Edition Elsevier Inc. , pp.1121-1162.

Evans, A. C. O. (2003). **Ovarian follicle growth and consequences for fertility in sheep**. Animal Reproduction Science, 78(3-4), 289-306.

Evans, N. P., Richter, T. A., Skinner, D. C., & Robinson, J. E. (2002). **Neuroendocrine mechanisms underlying the effects of progesterone on the oestradiol-induced GnRH/LH surge.** Reproduction (Cambridge, England) Supplement, 59, 57-66.

Evans, N. P., Dahl, G. E., Mauger, D. T., Padmanabhan, V., Thrun, L. A., & Karsch, F. J. (1995a). **Does estradiol induce the preovulatory**

gonadotropin-releasing hormone (GnRH) surge in the ewe by inducing a progressive change in the mode of operation of the GnRH neurosecretory system. Endocrinology, 136(12), 5511-5519.

Evans, N. P., Dahl, G. E., Mauger, D., & Karsch, F. J. (1995b). **Estradiol induces both qualitative and quantitative changes in the pattern of gonadotropin-releasing hormone secretion during the presurge period in the ewe.** Endocrinology, 136(4), 1603-1609.

Evans, N. P., Dahl, G. E., Glover, B. H., & Karsch, F. J. (1994). **Central regulation of pulsatile gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion by estradiol during the period leading up to the preovulatory GnRH surge in the ewe.** Endocrinology, 134(4), 1806-1811.

Fabre-Nys, C., & Gelez, H. (2007). **Sexual behavior in ewes and other domestic ruminants**. Hormones and Behavior, 52(1), 18-25.

Fabre-Nys, C., Chesneau, D., De La Riva, C., Hinton, M. R., Locatelli, A., Ohkura, S., & Kendrick, K. M. (2003). **Biphasic role of dopamine on female sexual behaviour via D2 receptors in the mediobasal hypothalamus.** Neuropharmacology, 44(3), 354-366.

Fabre-Nys, C., Blache, D., Hinton, M. R., Goode, J. A., & Kendrick, K. M. (1994). **Microdialysis measurement of neurochemical changes in the mediobasal hypothalamus of ovariectomized ewes during oestrus.** Brain research, 649(1-2), 282-296.

Fabre-Nys, C., & Martin, G. B. (1991). **Roles of progesterone and oestradiol in determining the temporal sequence and quantitative**

expression of sexual receptivity and the preovulatory LH surge in the ewe. Journal of endocrinology, 130(3), 367-379.

Fafioffe, A., Ethier, J. F., Fontaine, J., Jeanpierre, E., Taragnat, C., & Dupont, J. (2004). **Activin and inhibin receptor gene expression in the ewe pituitary throughout the oestrous cycle**. Journal of Endocrinology, 182(1), 55-68.

Faigl, V., Keresztes, M., Márton, A., Fébel, H., Kulcsár, M., Nagy, S., & Huszenicza, G. (2011). **Effect of season and photoperiod on the time of first postpartum ovulation in Awassi ewes**. Acta Veterinaria Hungarica, 59(4), 497-510.

Faure, M. O., Nicol, L., Fabre, S., Fontaine, J., Mohoric, N., McNeilly, A., & Taragnat, C. (2005). **BMP-4 inhibits follicle-stimulating hormone secretion in ewe pituitary**. Journal of Endocrinology, 186(1), 109-121.

Fergani, C., Routly, J. E., Jones, D. N., Pickavance, L. C., Smith, R. F., & Dobson, H. (2014). **Activation of cells containing estrogen receptor alpha or somatostatin in the medial preoptic area, arcuate nucleus, and ventromedial nucleus of intact ewes during the follicular phase, and alteration after lipopolysaccharide**. Biology of reproduction, 91(6), 141-151.

Foradori, C. D., Coolen, L. M., Fitzgerald, M. E., Skinner, D. C., Goodman, R. L., & Lehman, M. N. (2002). **Colocalization of progesterone receptors in parvicellular dynorphin neurons of the ovine preoptic area and hypothalamus**. Endocrinology, 143(11), 4366-4374.

Foster, D. L., Ebling, F. J. P., Claypool, L. E., & Wood, R. I. (1989). **Photoperiodic timing of puberty in sheep.** Research in perinatal medicine, 9, 103-153.

Franceschini, I., Lomet, D., Cateau, M., Delsol, G., Tillet, Y., & Caraty, A. (2006). **Kisspeptin immunoreactive cells of the ovine preoptic area and arcuate nucleus co-express estrogen receptor alpha.** Neuroscience letters, 401(3), 225-230.

Fukui, Y., Itagaki, R., Ishida, N., & Okada, M. (2001). **Effect of different hCG treatments on fertility of estrus-induced and artificially inseminated ewes during the non-breeding season.** Journal of Reproduction and Development, 47(4), 189-195.

Fukui, Y., Kobayashi, K., Hirose, Y., Ono, H.,(1991). **Effects of GnRH and hCG injections on lambing rate of estrus-induced ewes during the non-breeding season**. Jpn J Anim Reprod; 37: 243-250.

Fukui, Y., Kobayashi, M., Kojima, M., & Ono, H. (1985). **Effects of time of PMSG and fixed-time GnRH injections on estrus incidence and fertility in physiologically different ewes pre-treated with progestogen-impregnated vaginal sponge during the nonbreeding season.** Theriogenology, 24(6), 631-641.

Gelez, H., & Fabre-Nys, C. (2006). **Neural pathways involved in the endocrine response of anestrous ewes to the male or its odor.** Neuroscience, 140(3), 791-800.

Goldman, B. D. (2001). **Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement.** Journal of biological rhythms, 16(4), 283-301.

Gómez-Brunet, A., Santiago-Moreno, J., Montoro, V., Garde, J., Pons, P., Gonzalez-Bulnes, A., & López-Sebastián, A. (2007). **Reproductive performance and progesterone secretion in estrus-induced Manchega ewes treated with hCG at the time of AI.** Small Ruminant Research, 71(1-3), 117-122.

Gonzalez-Añover, P., Encinas, T., Veiga-Lopez, A., Ammoun, I., Contreras, I., Ros, J. M., & Gonzalez-Bulnes, A. (2007). **Effects of breed on follicular dynamics and oestradiol secretion during the follicular phase in sheep.** Reproduction in domestic animals, 42(1), 29-33.

Gonzalez-Bulnes, A., Diaz-Delfa, C., Garcia-Garcia, R. M., Urrutia, B., Carrizosa, J. A., & Lopez-Sebastian, A. (2005). **Origin and fate of preovulatory follicles after induced luteolysis at different stages of the luteal phase of the oestrous cycle in goats.** Animal reproduction science, 86(3-4), 237-245.

Gonzalez-Bulnes, A., Souza, C. J. H., Campbell, B. K., & Baird, D. T. (2004). **Systemic and intraovarian effects of dominant follicles on ovine follicular growth.** Animal reproduction science, 84(1-2), 107-119.

Goodman, R. L., Maltby, M. J., Millar, R. P., Hileman, S. M., Nestor, C. C., Whited, B., & Lehman, M. N. (2012). **Evidence that dopamine acts via kisspeptin to hold GnRH pulse frequency in check in anestrous ewes.** Endocrinology, 153(12), 5918-5927.

Goodman, R. L., Jansen, H. T., Billings, H. J., Coolen, L. M., & Lehman, M. N. (2010). **Neural systems mediating seasonal breeding in the ewe.** Journal of neuroendocrinology, 22(7), 674-681.

Goodman, R. L., & Inskeep, E. K. (2006). **Neuroendocrine control of the ovarian cycle of the sheep**. In Knobil and Neill's physiology of reproduction (pp. 2389-2447). Academic Press.

Goodman, R. L., Gibson, M., Skinner, D. C., & Lehman, M. N. (2002). **Neuroendocrine control of pulsatile GnRH secretion during the ovarian cycle: evidence from the ewe.** Reproduction (Cambridge, England) Supplement, 59, 41-56.

Goodman, R. L., Pickover, S. M., & Karsch, F. J. (1981a). **Ovarian feedback control of follicle-stimulating hormone in the ewe: evidence for selective suppression**. Endocrinology, 108(3), 772-777.

Goodman, R. L., Legan, S. J., Ryan, K. D., Foster, D. L., & Karsch, F. J. (1981b). **Importance of variations in behavioural and feedback actions of oestradiol to the control of seasonal breeding in the ewe.** Journal of Endocrinology, 89(2), 229-240.

Hafez, E. S. E., & Hafez, B. (Eds.). (2000). **Reproduction in farm animals**. 7th Edition John Wiley & Sons.

Hanon, E. A., Lincoln, G. A., Fustin, J. M., Dardente, H., Masson-Pévet, M., Morgan, P. J., & Hazlerigg, D. G. (2008). **Ancestral TSH mechanism signals summer in a photoperiodic mammal.** Current Biology, 18(15), 1147-1152.

Hauger, R. L., Karsch, F. J., & Foster, D. L. (1977). **A new concept for control of the estrous cycle of the ewe based on the temporal relationships between luteinizing hormone, estradiol and**

progesterone in peripheral serum and evidence that progesterone inhibits tonic LH secretion. Endocrinology, 101(3), 807-817.

Hawk, H. W., & Conley, H. H. (1971). **Sperm transport in ewes administered synthetic progestagen**. In Journal of Animal Science (Vol. 33, No. 1, pp. 255-+). PO BOX 7410, CHAMPAIGN, IL 61826-7410 USA: AMER SOC ANIMAL SCIENCE.

Hawken, P. A. R., & Martin, G. B. (2012). **Sociosexual stimuli and gonadotropin-releasing hormone/luteinizing hormone secretion in sheep and goats**. Domestic animal endocrinology, 43(2), 85-94.

Heap, R. B., Fleet, I. R., Davis, A. J., Goode, J. A., Hamon, M. H., Walters, D. E., & Flint, A. P. F. (1989). **Neurotransmitters and lymphatic-vascular transfer of prostaglandin F2α stimulate ovarian oxytocin output in sheep**. Journal of endocrinology, 122(1), 147-159.

Holtz, W., Sohnrey, B., Gerland, M., & Driancourt, M. A. (2008). **Ovsynch synchronization and fixed-time insemination in goats**. Theriogenology, 69(7), 785-792.

Husein, M. Q., & Ababneh, M. M. (2008). **A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries**. Theriogenology, 69(3), 376-383.

Iqbal, J., Latchoumanin, O., Sari, I. P., Lang, R. J., Coleman, H. A., Parkington, H. C., & Clarke, I. J. (2009). **Estradiol-17β inhibits gonadotropin-releasing hormone-induced Ca^{2+} in gonadotropes to regulate negative feedback on luteinizing hormone release**. Endocrinology, 150(9), 4213-4220.

Ishida, N., Okada, M., Sebata, K., Minato, M., & Fukui, Y. (1999). **Effects of GnRH and hCG treatments for enhancing corpus luteum function to increase lambing rate of ewes artificially inseminated during the non-breeding season.** Journal of Reproduction and Development, 45(1), 73-79.

Jeong, K. H., & Kaiser, U. B. (2006). **Gonadotropin-releasing hormone regulation of gonadotropin biosynthesis and secretion**. In Knobil and Neill's physiology of reproduction (pp. 1635-1701). Academic Press.

Johnson, S. K., Dailey, R. A., Inskeep, E. K., & Lewis, P. E. (1996). **Effect of peripheral concentrations of progesterone on follicular growth and fertility in ewes.** Domestic Animal Endocrinology, 13(1), 69-79.

Juengel, J. L., Nett, T. M., Anthony, R. V., & Niswender, G. D. (1997). **Effects of luteotrophic and luteolytic hormones on expression of mRNA encoding insulin-like growth factor I and growth hormone receptor in the ovine corpus luteum.** Reproduction, 110(2), 291-298.

Karagiannidis, A., Varsakeli, S., Karatzas, G., & Brozos, C. (2001). **Effect of time of artificial insemination on fertility of progestagen and PMSG treated indigenous Greek ewes, during non-breeding season**. Small Ruminant Research, 39(1), 67-71.

Karsch, F. J., Bittman, E. L., Foster, D. L., Goodman, R. L., Legan, S. J., & Robinson, J. E. (1984). **Neuroendocrine basis of seasonal reproduction.** In Proceedings of the 1983 Laurentian Hormone Conference (pp. 185-232). Academic Press.

Karsch, F. J., Legan, S. J., Ryan, K. D., & Foster, D. L. (1980a). **Importance of estradiol and progesterone in regulating LH secretion and estrous behavior during the sheep estrous cycle.** Biology of reproduction, 23(2), 404-413.

Karsch, F. J., Goodman, R. L., & Legan, S. J. (1980b). **Feedback basis of seasonal breeding: test of an hypothesis.** Reproduction, 58(2), 521-535.

Karsch, F. J., Foster, D. L., Legan, S. J., Ryan, K. D., & Peter, G. K. (1979). **Control of the preovulatory endocrine events in the ewe: interrelationship of estradiol, progesterone, and luteinizing hormone.** Endocrinology, 105(2), 421-426.

Kasa-Vubu, J., Dahl, G. E., Evans, N. P., Thrun, L. A., Moenter, S. M., Padmanabhan, V., & Karsch, F. J. (1992). **Progesterone blocks the estradiol-induced gonadotropin discharge in the ewe by inhibiting the surge of gonadotropin-releasing hormone.** Endocrinology, 131(1), 208-212.

Kaya, S., Kaçar, C., Kaya, D., & Aslan, S. (2013). **The effectiveness of supplemental administration of progesterone with GnRH, hCG and $PGF_{2\alpha}$ on the fertility of Tuj sheep during the non-breeding season.** Small ruminant research, 113(2-3), 365-370.

Keisler, D. H., Inskeep, E. K., & Dailey, R. A. (1985). **Roles of pattern of secretion of luteinizing hormone and the ovary in attainment of puberty in ewes lambs.** Domestic Animal Endocrinology, 2(3), 123-132.

Kendall, N. R., Gutierrez, C. G., Scaramuzzi, R. J., Baird, D. T., Webb, R., & Campbell, B. K. (2004). **Direct in vivo effects of leptin on ovarian steroidogenesis in sheep**. Reproduction, 128(6), 757-765.

Khan, T. H., Hastie, P. M., Beck, N. F. G., & Khalid, M. (2003). **hCG treatment on day of mating improves embryo viability and fertility in ewe lambs**. Animal reproduction science, 76(1-2), 81-89.

Kinder, J. E., Kojima, F. N., Bergfeld, E. G. M., Wehrman, M. E., & Fike, K. E. (1996). **Progestin and estrogen regulation of pulsatile LH release and development of persistent ovarian follicles in cattle**. Journal of animal science, 74(6), 1424-1440.

Kittok, R. J., Stellflug, J. N., & Lowry, S. R. (1983). **Enhanced progesterone and pregnancy rate after gonadotropin administration in lactating ewes**. Journal of Animal Science, 56(3), 652-655.

Knight, P. G., Feist, S. A., Tannetta, D. S., Bleach, E. C. L., Fowler, P. A., O'Brien, M., & Groome, N. P. (1998). **Measurement of inhibin-A (α βA dimer) during the oestrous cycle, after manipulation of ovarian activity and during pregnancy in ewes**. Reproduction, 113(1), 159-166.

Knights, M., Baptiste, Q. S., Dixon, A. B., Pate, J. L., Marsh, D. J., Inskeep, E. K., & Lewis, P. E. (2003). **Effects of dosage of FSH, vehicle and time of treatment on ovulation rate and prolificacy in ewes during the anestrous season**. Small ruminant research, 50(1-2), 1-9.

Lamsa, J. C., Kot, S. J., Eldering, J. A., Nay, M. G., & Mc Cracken, J. A. (1989). **Prostaglandin F2α-stimulated release of ovarian oxytocin**

in the sheep in vivo: threshold and dose dependency. Biology of reproduction, 40(6), 1215-1223.

Landau, S., Houghton, J. A., Mawhinney, J. R., & Inskeep, E. K. (1996). **Protein sources affect follicular dynamics in ewes near the onset of the breeding season.** Reproduction, fertility and development, 8(6), 1021-1028.

Legan, S. J., Karsch, F. J., & Foster, D. L. (1977). **The endocrine control of seasonal reproductive function in the ewe: a marked change in response to the negative feedback action of estradiol on luteinizing hormone secretion**. Endocrinology, 101(3), 818-824.

Lei, Z. M., & Rao, C. V. (1994). **Novel presence of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin (hCG) receptors and the down-regulating action of hCG on gonadotropin-releasing hormone gene expression in immortalized hypothalamic GT1-7 neurons.** Molecular endocrinology, 8(8), 1111-1121.

Leyva, V., Buckrell, B. C., & Walton, J. S. (1998). **Follicular activity and ovulation regulated by exogenous progestagen and PMSG in anestrous ewes.** Theriogenology, 50(3), 377-393.

Lopez-Sebastian, A., de Bulnes, A. G., Moreno, J. S., Gomez-Brunet, A., Townsend, E. C., & Inskeep, E. K. (1997). **Patterns of follicular development during the estrous cycle in monovular Merino del Pais ewes.** Animal reproduction science, 48(2-4), 279-291.

Maeda, K. I., Ohkura, S., Uenoyama, Y., Wakabayashi, Y., Oka, Y., Tsukamura, H., & Okamura, H. (2010). **Neurobiological mechanisms**

underlying GnRH pulse generation by the hypothalamus. Brain research, 1364, 103-115.

Malpaux, B., Daveau, A., Maurice-Mandon, F., Duarte, G., & Chemineau, P. (1998). **Evidence that melatonin acts in the premammillary hypothalamic area to control reproduction in the ewe: presence of binding sites and stimulation of luteinizing hormone secretion by in situ microimplant delivery.** Endocrinology, 139(4), 1508-1516.

Malpaux, B., Daveau, A., Maurice, F., Gayrard, V., & Thiery, J. C. (1993). **Short-day effects of melatonin on luteinizing hormone secretion in the ewe: evidence for central sites of action in the mediobasal hypothalamus.** Biology of reproduction, 48(4), 752-760.

Mattheij, J. A. M., Swarts, J. J. M., Hurks, H. M. H., & Mulder, K. (1994). **Advancement of meiotic resumption in graafian follicles by LH in relation to preovulatory ageing of rat oocytes.** Reproduction, 100(1), 65-70.

Mcleod, B. J., Haresign, W., & Lamming, G. E. (1982). **Response of seasonally anoestrous ewes to small-dose multiple injections of Gn-RH with and without progesterone pretreatment.** Reproduction, 65(1), 223-230.

Merkley, C. M., Porter, K. L., Coolen, L. M., Hileman, S. M., Billings, H. J., Drews, S., & Lehman, M. N. (2012). **KNDy (kisspeptin/neurokinin B/dynorphin) neurons are activated during both pulsatile and surge secretion of LH in the ewe.** Endocrinology, 153(11), 5406-5414.

Merkley, C. M., Coolen, L. M., Goodman, R. L., & Lehman, M. N. (2011). **Direct projections of arcuate kndy (kisspeptin/neurokinin b/dynorphin) neurons to gnrh neurons in the sheep.** In: Annual Meeting of the Society for Neuroscience.

Mihm, M., Baguisi, A., Boland, M. P., & Roche, J. F. (1994). **Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers.** Reproduction, 102(1), 123-130.

Miyamoto, A., Shirasuna, K., Shimizu, T., Bollwein, H., & Schams, D. (2010). **Regulation of corpus luteum development and maintenance: specific roles of angiogenesis and action of prostaglandin F2alpha.** Soc Reprod Fertil Suppl, (67), 289-304.

Moeini, M. M., Moghaddam, A. A., Bahirale, A., & Hajarian, H. (2007). **Effects of breed and progestin source on estrus synchronization and rates of fertility and fecundity in Iranian Sanjabi and Lori ewes**. Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS, 10(21), 3801-3807.

Moenter, S. M., Brand, R. C., & Karsch, F. J. (1992). **Dynamics of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion during the GnRH surge: insights into the mechanism of GnRH surge induction.** Endocrinology, 130(5), 2978-2984.

Moenter, S. M., Caraty, A., Locatelli, A., & Karsch, F. J. (1991). **Pattern of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) secretion leading up to ovulation in the ewe: existence of a preovulatory GnRH surge.** Endocrinology, 129(3), 1175-1182.

Murdoch, W. J., Murphy, C. J., Van Kirk, E. A., & Shen, Y. (2010). **Mechanisms and pathobiology of ovulation**. Soc Reprod Fertil Suppl, 67, 189-201.

Murdoch, W. J., & Gottsch, M. L. (2003). **Proteolytic mechanisms in the ovulatory folliculo-luteal transformation**. Connective tissue research, 44(1), 50-57.

Nephew, K. P., Cardenas, H., McClure, K. E., Ott, T. L., Bazer, F. W., & Pope, W. F. (1994). **Effects of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep**. Journal of Animal Science, 72(2), 453-458.

Niswender, G. D., Davis, T. L., Griffith, R. J., Bogan, R. L., Monser, K., Bott, R. C., & Nett, T. M. (2007). **Judge, jury and executioner: the auto-regulation of luteal function**. Soc Reprod Fertil Suppl, 64, 191-206.

Niswender, G. D., Juengel, J. L., Silva, P. J., Rollyson, M. K., & McIntush, E. W. (2000). **Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum**. Physiological reviews, 80(1), 1-29.

Ohkura, S., Takase, K., Matsuyama, S., Mogi, K., Ichimaru, T., Wakabayashi, Y., & Okamura, H. (2009). **Gonadotrophin-releasing hormone pulse generator activity in the hypothalamus of the goat**. Journal of neuroendocrinology, 21(10), 813-821.

Olster, D. H., & Foster, D. L. (1986). **Control of gonadotropin secretion in the male during puberty: a decrease in response to steroid inhibitory feedback in the absence of an increase in steroid-independent drive in the sheep**. Endocrinology, 118(6), 2225-2234.

Ottobre, J. S., Lewis, G. S., Thayne, W. V., & Inskeep, E. K. (1980). **Mechanism by which progesterone shortens the estrous cycle of the ewe.** Biology of reproduction, 23(5), 1046-1053.

Papargiris, M. M., Rivalland, E. T. A., Hemsworth, P. H., Morrissey, A. D., & Tilbrook, A. J. (2011). **Acute and chronic stress-like levels of cortisol inhibit the oestradiol stimulus to induce sexual receptivity but have no effect on sexual attractivity or proceptivity in female sheep.** Hormones and behavior, 60(4), 336-345.

Pate, J. L., Johnson-Larson, C. J., & Ottobre, J. S. (2012). **Life or death decisions in the corpus luteum.** Reproduction in Domestic Animals, 47, 297-303.

Pau, K. Y. F., Kuehl, D. E., & Jackson, G. L. (1982). **Effect of frontal hypothalamic deafferentation on luteinizing hormone secretion and seasonal breeding in the ewe.** Biology of reproduction, 27(4), 999-1009.

Pereira, A., Rawson, J., Jakubowska, A., & Clarke, I. J. (2010). **Estradiol-17β-responsive A1 and A2 noradrenergic cells of the brain stem project to the bed nucleus of the stria terminalis in the ewe brain: A possible route for regulation of gonadotropin releasing hormone cells.** Neuroscience, 165(3), 758-773.

Perry, G. A., Swanson, O. L., Larimore, E. L., Perry, B. L., Djira, G. D., & Cushman, R. A. (2014). **Relationship of follicle size and concentrations of estradiol among cows exhibiting or not exhibiting estrus during a fixed-time AI protocol.** Domestic Animal Endocrinology, 48, 15-20.

Peters, A. R., Drew, S. B., Mann, G. E., Lamming, G. E., & Beck, N. F. (1992). **Experimental and practical approaches to the establishment and maintenance of pregnancy**. Journal of Physiology and Pharmacology: an Official Journal of the Polish Physiological Society, 43(4 Suppl 1), 143-152.

Pineda, R., Garcia-Galiano, D., Roseweir, A., Romero, M., Sanchez-Garrido, M. A., Ruiz-Pino, F., & Tena-Sempere, M. (2010). **Critical roles of kisspeptins in female puberty and preovulatory gonadotropin surges as revealed by a novel antagonist.** Endocrinology, 151(2), 722-730.

Pursley, J. R., Mee, M. O., & Wiltbank, M. C. (1995). **Synchronization of ovulation in dairy cows using $PGF_{2\alpha}$ and GnRH.** Theriogenology, 44(7), 915-923.

Rajkovic, A., Pangas, S. A., & Matzuk, M. M. (2006). **Follicular development: mouse, sheep, and human models.** Knobil and Neill's physiology of reproduction, 1, 383-424.

Rantala M.H., Katila T., Taponen J. (2008). **Effect of time interval between prostaglandin $F_{2\alpha}$ and GnRH treatments on occurrence of short estrous cycles in cyclic dairy heifers and cows.** Theriogenology. (71)6: 930-938.

Rawlings, N. C., Evans, A. C. O., Honaramooz, A., & Bartlewski, P. M. (2003). **Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats.** Animal reproduction science, 78(3-4), 259-270.

Rawson, J. A., Scott, C. J., Pereira, A., Jakubowska, A., & Clarke, I. J. (2001). **Noradrenergic projections from the A1 field to the preoptic area in the brain of the ewe and FOS responses to oestrogen in the A1 cells.** Journal of neuroendocrinology, 13(2), 129-138.

Rispoli, L. A., & Nett, T. M. (2005). **Pituitary gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor: structure, distribution and regulation of expression.** Animal reproduction science, 88(1-2), 57-74.

Robertson, H. A. (1970). **The endogenous control of estrus and ovulation in sheep, cattle, and swine.** Vitamins & Hormones, 27, 91-130.

Rodríguez-Martínez, R., Meza-Herrera, C. A., Tapia-Robles, K. I., Alvarado-Espino, A. S., Luna-Orozco, J. R., Leyva, C., & Véliz-Deras, F. G. (2018). **Effect of two routes of administration of human chorionic gonadotropin upon oestrus induction and reproductive outcomes in adult acyclic mix-breed goats**. Journal of Applied Animal Research, 46(1), 190-194.

Salamon, S., & Maxwell, W. M. C. (2000). **Storage of ram semen**. Animal reproduction science, 62(1-3), 77-111.

Saleh, M., & Holtz, W. (2022). **LH pattern and ovarian response in ovsynch-synchronized superovulated goats induced to ovulate with GnRH or hCG.** Theriogenology.

Sallon, C., Faure, M. O., Fontaine, J., & Taragnat, C. (2010). **Dynamic regulation of pituitary mRNAs for bone morphogenetic protein (BMP) 4, BMP receptors, and activin/inhibin subunits in the ewe during the estrous cycle and in cultured pituitary cells.** The Journal of endocrinology, 207(1), 55-65.

Sanchez, T., Wehrman, M. E., Bergfeld, E. G., Peters, K. E., Kojima, F. N., Cupp, A. S., & Kinder, J. E. (1993). **Pregnancy rate is greater when the corpus luteum is present during the period of progestin treatment to synchronize time of estrus in cows and heifers.** Biology of reproduction, 49(5), 1102-1107.

Savio, J. D., Thatcher, W. W., Badinga, L., De La Sota, R. L., & Wolfenson, D. (1993). **Regulation of dominant follicle turnover during the oestrous cycle in cows.** Reproduction, 97(1), 197-203.

Savio, J. D., Thatcher, W. W., Morris, G. R., Entwistle, K., & Drost, M. (1992). **Terminal follicular development and fertility in cattle is regulated by concentration of plasma progesterone.** In Proceedings of the 12th International Congress on Animal Reproduction, The Hague, The Netherlands (Vol. 2, pp. 999-1001).

Sawyer, H. R., Smith, P., Heath, D. A., Juengel, J. L., Wakefield, S. J., & McNatty, K. P. (2002). **Formation of ovarian follicles during fetal development in sheep**. Biology of reproduction, 66(4), 1134-1150.

Sayre, B. L., Taft, R., Inskeep, E. K., & Killefer, J. (2000). **Increased expression of insulin-like growth factor binding protein-1 during induced regression of bovine corpora lutea.** Biology of reproduction, 63(1), 21-29.

Scaramuzzi, R. J., Adams, N. R., Baird, D. T., Campbell, B. K., Downing, J. A., Findlay, J. K., & Tsonis, C. G. (1993). **A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe**. Reproduction, fertility and development, 5(5), 459-478.

Scaramuzzi, R. J., Baird, D. T., Campbell, B. K., Driancourt, M. A., Dupont, J., Fortune, J. E., & Webb, R. (2011). **Regulation of folliculogenesis and the determination of ovulation rate in ruminants**. Reproduction, Fertility and Development, 23(3), 444-467.

Schmitt, E. P., Diaz, T., Drost, M., & Thatcher, W. W. (1996a). **Use of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle.** Journal of Animal Science, 74(5), 1084-1091.

Schmitt, E. P., Diaz, T., Barros, C. M., De La Sota, R. L., Drost, M., Fredriksson, E. W., & Thatcher, W. W. (1996b). **Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone**. Journal of Animal Science, 74(5), 1074-1083.

Schmitt, E. P., Barros, C. M., Fields, P. A., Fields, M. J., Diaz, T., Kluge, J. M., & Thatcher, W. W. (1996c). **A cellular and endocrine characterization of the original and induced corpus luteum after administration of a gonadotropin-releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin on day five of the estrous cycle.** Journal of Animal Science, 74(8), 1915-1929.

Scott, C. J., & Clarke, I. J. (1993). **Inhibition of luteinizing hormone secretion in ovariectomized ewes during the breeding season by gamma-aminobutyric acid (GABA) is mediated by GABA-A receptors, but not GABA-B receptors.** Endocrinology, 132(4), 1789-1796.

Seekallu, S. V., Toosi, B. M., Duggavathi, R., Barrett, D. M. W., Davies, K. L., Waldner, C., & Rawlings, N. C. (2010). **Ovarian antral follicular dynamics in sheep revisited: Comparison among estrous cycles with three or four follicular waves**. Theriogenology, 73(5), 670-680.

Silva, P. J., Juengel, J. L., Rollyson, M. K., & Niswender, G. D. (2000). **Prostaglandin metabolism in the ovine corpus luteum: catabolism of prostaglandin F2α (PGF2α) coincides with resistance of the corpus luteum to PGF2α.** Biology of Reproduction, 63(5), 1229-1236.

Silvia, W. J., Fitz, T. A., Mayan, M. H., & Niswender, G. D. (1984). **Cellular and molecular mechanisms involved in luteolysis and maternal recognition of pregnancy in the ewe.** Animal Reproduction Science, 7(1-3), 57-74.

Simões, J., Almeida, J. C., Valentim, R., Baril, G., Azevedo, J., Fontes, P., & Mascarenhas, R. (2006). **Follicular dynamics in Serrana goats**. Animal Reproduction Science, 95(1-2), 16-26.

Sirois, J., & Fortune, J. E. (1990). **Lengthening the bovine estrous cycle with low levels of exogenous progesterone: a model for studying ovarian follicular dominance**. Endocrinology, 127(2), 916-925.

Skinner, D. C., Harris, T. G., & Evans, N. P. (2000). **Duration and amplitude of the luteal phase progesterone increment times the estradiol-induced luteinizing hormone surge in ewes**. Biology of reproduction, 63(4), 1135-1142.

Skinner, D. C., Evans, N. P., Delaleu, B., Goodman, R. L., Bouchard, P., & Caraty, A. (1998). **The negative feedback actions of progesterone**

on gonadotropinreleasing hormone secretion are transduced by the classical progesterone receptor. Proceedings of the National Academy of Sciences, 95(18), 10978-10983.

Skinner, D. C., Malpaux, B., Delaleu, B., & Caraty, A. (1995). **Luteinizing hormone (LH)-releasing hormone in third ventricular cerebrospinal fluid of the ewe: correlation with LH pulses and the LH surge.** Endocrinology, 136(8), 3230-3237.

Smith, J. T., Li, Q., Yap, K. S., Shahab, M., Roseweir, A. K., Millar, R. P., & Clarke, I. J. (2011). **Kisspeptin is essential for the full preovulatory LH surge and stimulates GnRH release from the isolated ovine median eminence.** Endocrinology, 152(3), 1001-1012.

Smith, J. T., Li, Q., Pereira, A., & Clarke, I. J. (2009). **Kisspeptin neurons in the ovine arcuate nucleus and preoptic area are involved in the preovulatory luteinizing hormone surge.** Endocrinology, 150(12), 5530-5538.

Smith, J. T., Coolen, L. M., Kriegsfeld, L. J., Sari, I. P., Jaafarzadehshirazi, M. R., Maltby, M., & Lehman, M. N. (2008). **Variation in kisspeptin and RFamide-related peptide (RFRP) expression and terminal connections to gonadotropin-releasing hormone neurons in the brain: a novel medium for seasonal breeding in the sheep.** Endocrinology, 149(11), 5770-5782.

Smith, J. F. (1985). **Immunisation of ewes against steroids: A review**. In Proc. NZ Soc. Anim. Prod (Vol. 45, pp. 171-177).

Souza, C. J., Campbell, B. K., McNeilly, A. S., & Baird, D. T. (2002). **Effect of bone morphogenetic protein 2 (BMP2) on oestradiol and inhibin**

A production by sheep granulosa cells, and localization of BMP receptors in the ovary by immunohistochemistry. Reproduction, 123(3), 363-369.

Souza, C. J. H., Campbell, B. K., & Baird, D. T. (1998). **Follicular waves and concentrations of steroids and inhibin A in ovarian venous blood during the luteal phase of the oestrous cycle in ewes with an ovarian autotransplant.** Journal of Endocrinology, 156(3), 563-572.

Souza, C. J. H., Campbell, B. K., Webb, R., & Baird, D. T. (1997). **Secretion of Inhibin A and Follicular Dynamics throughout the Estrous Cycle in the Sheep with and without the Booroola Gene (Fec B).** Endocrinology, 138(12), 5333-5340.

Souza, C. J. H., Campbell, B. K., & Baird, D. T. (1996). **Follicular dynamics and ovarian steroid secretion in sheep during anoestrus.** Reproduction, 108(1), 101-106.

Stankov, B., Cozzi, B., Lucini, V., Fumagalli, P., Scaglione, F., & Fraschini, F. (1991). **Characterization and mapping of melatonin receptors in the brain of three mammalian species: rabbit, horse and sheep.** Neuroendocrinology, 53(3), 214-221.

Stevenson, J. S., Tiffany, S. M., & Inskeep, E. K. (2008). **Maintenance of pregnancy in dairy cattle after treatment with human chorionic gonadotropin or gonadotropin-releasing hormone.** Journal of dairy science, 91(8), 3092-3101.

Stock, A. E., & Fortune, J. E. (1993). **Ovarian follicular dominance in cattle: relationship between prolonged growth of the ovulatory**

follicle and endocrine parameters. Endocrinology, 132(3), 1108-1114.

Stone, G. M., Murphy, L., & Miller, B. G. (1978). **Hormone receptor levels and metabolic activity in the uterus of the ewe: Regulation by oestradiol and progesterone.** Australian journal of biological sciences, 31(4), 395-404.

Thatcher, W. W., Moreira, F., Pancarci, S. M., Bartolome, J. A., & Santos, J. E. P. (2002). **Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function.** Domestic Animal Endocrinology, 23(1-2), 243-254.

Toosi, B. M., Davies, K. L., Seekallu, S. V., Ziegler, A. C., Barrett, D. M., Duggavathi, R., & Rawlings, N. C. (2010a). **Ovarian Follicular Dominance and the Induction of Daily Follicular Waves in the Ewe.** Biology of reproduction, 83(1), 122-129.

Toosi, B. M., Seekallu, S. V., Barrett, D. M. W., Davies, K. L., Duggavathi, R., Bagu, E. T., & Rawlings, N. C. (2010b). **Characteristics of peaks in serum concentrations of follicle-stimulating hormone and estradiol, and follicular wave dynamics during the interovulatory interval in cyclic ewes**. Theriogenology, 73(9), 1192-1201.

Ungerfeld, R., Forsberg, M., & Rubianes, E. (2004). **Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect.** Reproduction, Fertility and Development, 16(4), 479-490.

Viñoles, C., Forsberg, M., Banchero, G., & Rubianes, E. (2001). **Effect of long-term and short-term progestagen treatment on follicular**

development and pregnancy rate in cyclic ewes. Theriogenology, 55(4), 993-1004.

Vrisman, D. P., Bastos, N. M., Rossi, G. F., Rodrigues, N. N., Borges, L. P. B., Taira, A. R., & Oliveira, M. E. F. (2018). **Corpus luteum dynamics after ovulation induction with or without previous exposure to progesterone in prepubertal Nellore heifers**. Theriogenology, 106, 60-68.

Wakabayashi, Y., Yamamura, T., Sakamoto, K., Mori, Y., & Okamura, H. (2012). **Electrophysiological and morphological evidence for synchronized GnRH pulse generator activity among Kisspeptin/neurokinin B/dynorphin A (KNDy) neurons in goats**. Journal of Reproduction and Development, 59(1):40-8.

Walkden-Brown, S. W., Martin, G. B., & Restall, B. J. (1999). **Role of male-female interaction in regulating reproduction in sheep and goats.** Journal of reproduction and fertility. Supplement, 54, 243-257.

Wehrman, M. E., Roberson, M. S., Cupp, A. S., Kojima, F. N., Stumpf, T. T., Werth, L. A., & Kinder, J. E. (1993). **Increasing exogenous progesterone during synchronization of estrus decreases endogenous 17β-estradiol and increases conception in cows.** Biology of reproduction, 49(2), 214-220.

Whitmore, H. L., Hurtgen, J. P., Mather, E. C., & Seguin, B. E. (1979). **Clinical response of dairy cattle with ovarian cysts to single or repeated treatments of gonadotropin-releasing hormone.** Journal of the American Veterinary Medical Association, 174(10), 1113-1115.

Wright, P. J., Geytenbeek, P. E., Clarke, I. J., & Findlay, J. K. (1984). **Induction of plasma LH surges and normal luteal function in acyclic post-partum ewes by the pulsatile administration of LH-RH.** Reproduction, 71(1), 1-6.

Wright, P. J., Geytenbeek, P. E., Clarke, I. J., & Findlay, J. K. (1983). **LH release and luteal function in post-partum acyclic ewes after the pulsatile administration of LH-RH.** Reproduction, 67(2), 257-262.

Young, J. M., Henderson, S., Souza, C., Ludlow, H., Groome, N., & McNeilly, A. S. (2012). **Activin B is produced early in antral follicular development and suppresses thecal androgen production.** Reproduction, 143(5), 637-650.

Young, J. M., Juengel, J. L., Dodds, K. G., Laird, M., Dearden, P. K., McNeilly, A. S., & Wilson, T. (2008). **The activin receptor-like kinase 6 Booroola mutation enhances suppressive effects of bone morphogenetic protein 2 (BMP2), BMP4, BMP6 and growth and differentiation factor-9 on FSH release from ovine primary pituitary cell cultures.** Journal of Endocrinology, 196(2), 251.

Zamiri, M. J., & Hosseini, M. (1998). **Effects of human chorionic gonadotropin (hCG) and phenobarbital on the reproductive performance of fat-tailed Ghezel ewes.** Small Ruminant Research, 30(3), 157-161.

Zolbin, M. M., Nematian, S., Daghigh, F., Namdar, F., Zaree, S. T., Madadian, M., & Takzaree, N. (2018). **PMSG and HCG hormones effect on the development and growth of ovarian follicles.** Journal of Contemporary Medical Sciences, 4(1), 51-54.

Abstract

The research was conducted at the Scientific Research Center for Agriculture in Deir al-Hajar Station to ascertain whether premature luteolysis can be alleviated in awassi ewes during the breeding and non-breeding season by substituting the ovulation inducing agent hCG for GnRH

During the breeding season,ovulation was synchronized by the Ovsynch protocol, whereas, during the non-breeding season 40 ewes received vaginal sponges for 14 days, and along with sponge removal; were injected with 650 IU of eCG,and after further 52 hour the ewes were treated with 1.5 ml of GnRH AI was performed after 12-16 hours. sheep were artificially insemination. Seventy-two hours after the end of artificial insemination (AI), pluriparous Awassi ewes were randomly assigned to one of three treatment groups. First group received 37.5 µg of the GnRH analog Lecirelin, the second 1000 I.U hCG and the third group served as a control (received 1 ml of physiological saline solution). Blood samples were collected at daily intervals after GnRH treatment and analysed for plasma oestradiol, progesterone, and cholesterol concentrations. Ovarian follicles were monitored ultrasonically at the time of GnRH administration, 60 and 84 hr later. Pregnancy was diagnosed ultrasonically at Day 35 after AI.

During the breeding season number and size of ovarian follicles did not differ ($p > 0.05$) among treatment groups. Onset and duration of oestrus were not affected by treatment ($p > 0.05$). No significant differences ($p > 0.05$) were recorded in oestradiol and progesterone concentrations between the treatment groups during the inspection period. Premature luteolysis became evident in ewes with longer oestrous durations by Day 6.25 after AI and amounted to 7.69%, 18.18% and 23.07% in GnRH, hCG and Control groups,respectively. Pregnancy rates increased to 92.31% and 81.82% in GnRH and hCG groups, compared to 76.92% in the Control group.

During the non-breeding season no significant differences ($P>0.05$) were recorded in follicle numbers among the three groups 24 and 48 after eCG admiristration. Large follicles were recorded in the three groups 48 hours after eCG injections with no significant differences. Follicular

growth rate was significantly higher (P<0.05) in GnRH and hCG groups after 24 hours of eCG treatment. The size of ovulatory follicle was larger (P<0.01) in GnRH group compared with Control and hCG group No significant differences were recorded in the pregnancy rates between the three groups (P>0.05) and amounted 85.71%,85.71% and 91% in GnRH, hCG and Control groups respectively. The results indicate that GnRH was more effective in reducing premature luteolysis than hCG during the breeding season, whereas, during the non-breeding season, awassi ewes didn't exhibit short cycles. Substituting hCG for GnRH as an ovulation inducing agent was of no avail.

Keywords: *GnRH - hCG - Ovsynch - Luteolysis – Awassi ewes- Breeding season*

Syrian Arab Republic
Damascus University
Faculty of Agriculture
Dep. Of Animal Production

Effect of hCG or GnRH on follicular dynamics and pregnancy rate after ovulation synchronization in Awassi ewes

A dissertation submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Ph.D. in Animal Production (Reproduction physiology)

By

Abir Issa Salloum

Supervisors

Main Supervisor
Dr. Mohammed Saleh
Assistant Prof- Dep. Of Animal Production

Faculty of Agriculture-Damascus University

Assistant Supervisor

Dr. AL-Moutassem Billah AL-Daker

Researcher in General Commission for Scientific Agricultural Research

2022