مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية
المجلد 39 العدد 2 (2023): 39- 48

Damascus University Journal of Agricultural Sciences
Vo 39 No.2 (2023): 39 - 48

تأثير موجه المناسل الإياسي البشري في الكفاءة التناسلية عند نعجات العواس خارج موسم التناسل

أسيل الكرجوسلي[1]، د. منصور أحمد[2]، د. محمد صالح[3]

[1]طالبة دكتوراه في قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة دمشق

[2] باحث في إدارة بحوث الثروة الحيوانية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق

[3]أستاذ مساعد في قسم الإنتاج الحيواني ، كلية الزراعة ، جامعة دمشق

الملخص:

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم معدلات الحمل عند نعجات العواس، بعد استبدال hMG بـeCG بالمشاركة مع البروجستاجينات خارج موسم التناسل.

وزِّعت 20 نعجة عواس ولدت أكثر من مرة عشوائياً إلى مجموعتين متساويتي العدد. أُدخلت الإسفنجات المهبلية في نعجات المجموعتين وتُركت لمدة 14 يوماً، وحُرّض التطور الجريبي بالتزامن مع سحب الإسفنجات المهبلية عند مجموعة الشاهد بـ 750 وحدة دولية eCG، وعند المجموعة الثانية بـ25 وحدة دولية hMG، وحُرّضت الإباضة بعد 52ساعة من حقن hMG بـ1000 وحدة دولية hCG. لُقّحت جميع النعجات صنعياً في وقت محدد بعد 24ساعة من حقن hCG باستخدام سائل منوي طازج ممدد جُمع باستخدام قاذف كهربائي قبل وقت التلقيح مباشرة. استخدم جهاز أمواج فوق صوتيّة مزوّد بمسبرٍ خطيٍ عبر المستقيم بترددٍ 7.5 MHz لمراقبة الجريبات المبيضيّة لمدة ثلاثة أيام متتالية، بدءاً من يوم حقن موجهات المناسل، ولتشخيص الحمل في اليوم 35 بعد التلقيح.

سُجِّلت فروق إحصائية ($P<0.05$) في أعداد الجريبات الصغيرة والمتوسطة والكبيرة فقط بعد 48ساعة من حقن موجهي المناسل، إذ تفوّقت مجموعة hMG ($P<0.01$) في أعداد الجريبات الكبيرة على مجموعة eCG (8.00 مقابل 2.38، على التتالي). لم تُسجّل فروق معنوية ($P>0.05$) في معدل الحمل بعد المعاملة بـhMG مقارنة بـeCG (100% مقابل 80% في مجموعتي hMG وeCG على التوالي). لم تُسجل فروق معنوية ($P<0.05$) في تراكيز الاستراديول بين المجموعتين. من هذه النتائج، يمكن الاستنتاج أن البرامج المعتمدة على hMG بالمشاركة مع البروجستاجينات تعد واعدة لاستبدال البرامج التقليدية المعتمدة على eCG لتحريض التطور الجريبي خارج موسم التناسل عند نعجات العواس.

كلمات مفتاحية: hMG– eCG – إسفنجات مهبلية – نعاج العواس.

تاريخ الايداع:2021/10/30
تاريخ القبول: 2022/3/15

حقوق النشر: جامعة دمشق – سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

Effect of human menopausal gonadotropin on reproductive efficiency of Awassi ewes outside the reproductive season

Aseel Alkarjousli[1], Dr. Mansour Ahmed[2], Dr. Mohammed Saleh[3]

[1]PhD. Student, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria.
[2]Researcher, General Commission for Scientific Agricultural Research, Syria.
[3]Assistant Professor, Department of Animal Production, Faculty of Agriculture, Damascus University, Syria.

Abstract

This study aimed to evaluate pregnancy rates in Awassi ewes, after substitution of hMG for eCG with progestagens during the non-breeding season.

20 multiparous Awassi ewes were randomly allocated into two equal treatment groups. Vaginal sponges have been inserted for 14 days to all of treatment groups. Along with intravaginal sponges withdrawal, follicular development was induced in the control group with 750 IU eCG and in the second group with 25 IU hMG and ovulation was induced 52h after hMG administration with 1000 IU hCG. All ewes were artificially inseminated at fixed time after 24h of hCG administration with fresh diluted semen collected using an electroejaculator just before insemination time. An ultrasound scanner equipped with a linear transducer probe with a frequency of 7.5 MHz was used to monitor ovarian follicles for three consecutive days, starting at gonadotropin administration, and to diagnose pregnancy at 35 d post A.I. Statistical differences ($P<0.05$) were reported in the number of small, medium, and large follicles after 48 h of gonadotropin injection. The number of large follicles in hMG group was greater ($P<0.05$) than in eCG group (8.00 vs. 2.38, respectively). No statistical differences ($P>0.05$) (100% vs. 80% in hMG and eCG group, respectively) were reported in pregnancy rate in hMG -compared to eCG- group. No significant differences ($P>0.05$) were recorded in estradiol concentrations between the groups.

From these results, it may be concluded that hMG-based protocols with progestagens are promising alternatives for traditional eCG-based protocols to induce follicular development/ estrus outside of the breeding season in Awassi ewes.

Key words: hMG– eCG - Intravaginal Sponges - Awassi Ewes.

Received: 30/10/2021
Accepted: 15/3/2021

Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

المقدمة:

تنفذ على نطاق واسع في العديد من دول العالم برامج توقيت الشبق عند العنزات والنعجات داخل الموسم التناسلي أو خارجه لتحسين الكفاءة التناسلية (زرقاوي وسكوتي، 2009؛ Denicolo وزملاؤه، 2008)، وزيادة عدد مرات الحمل والولادة باستخدام موجهات الغدد التناسلية مثل موجهة المناسل المشيمائية الخيلية eCG (Equine chorionic gonadotropin) أو الهرمون المنبه للجريب FSH (stimulating hormone Follicle)، بالمشاركة مع الإسفنجات المهبلية المحتوية على البروجستيرون الصنعي (العبد الله 2021؛ زرقاوي 2010).

بالرغم من فعالية موجه المناسل الميشيمائي الخيلي في تحريض النمو الجريبي وإنتاج الأجنة داخل موسم التناسل وخارجه عند معظم سلالات الأغنام والماعز (Dias وزملاؤه، 2020؛ El-Mokadem وزملاؤه، 2018؛ Fierro و Olivera-Muzante، 2017؛ Knights وزملاؤه، 2015؛ Swelum وزملاؤه، 2015)، إلا أن معدلات الاستجابة له كانت تتأثر سلباً بعد تكرار المعاملة به نتيجة تشكل أضداد له عند الحيوانات المُعاملة (Herve وزملاؤه، 2004؛ Roy وزملاؤه، 1999)، كما لوحظ زيادة أعداد الجريبات الكبيرة التي تفشل في الوصول إلى الإباضة (Mapletoft وزملاؤه، 2002؛ Ishwar و Memon، 1996). يمكن أن يُعزى هذا الأمر إلى مستويات الإستروجين المرتفعة التي تستمر لفترة أطول في الإناث المعاملة بهذا الهرمون. يعمل البروجستاجين خارجي المنشأ بشكل موسع في برامج توقيت الشبق أو تحريضه على إطالة الطور اللوتيئيني أو محاكاته (Kenji وزملاؤه، 2004؛ Ungerfeld و Rubianes، 2002).

بالرغم من النتائج الأولية المشجعة لاستخدام موجه المناسل الإياسي البشري hMG عند الماعز تحت ظروف القطر العربي السوري وأن استخدامه آمن ولا تتشكل أضداد له بعد المعاملة به (Saleh و Ahmad، نتائج غير منشورة)، إلا أنه لم يُختبر على نعجات العواس، ولذلك فقد هدفت هذه الدراسة إلى تحديد إمكانية استبدال hMG بـ eCG في برامج تحريض الشبق خارج موسم التناسل.

مواد البحث وطرائقه:

مكان إجراء البحث:

أجريت الدراسة في محطة بحوث دير الحجر لتربية غنم العواس في البحوث العلمية الزراعية خارج موسم التناسل (آذار 2019) على 20 نعجة عواس بالغة بأعمار وأوزان متقاربة (الموسم الإنتاجي الثاني) والمرباة في حظائر مفتوحة وملحق بها مسرح خارجي وكان يقدم لها 600غ من المركزات العلفية ، وكان يسمح لها بالوصول الحر للتبن والدريس والحجر الملحي والماء.

تم قياس تركيز هرمون E_2 في مخبر الفيزيولوجيا في مديرية الصحة الحيوانية التابعة للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، بطريقة معايرة الممتز المناعي المرتبط بالأنزيم ELISA (A3، DAS- إيطاليا) باستخدام مجموعات معايرة خاصة (DiaMetra إيطاليا).

ISSN: 2789-7214 (online)
http://journal.damascusuniversity.edu.sy

تحريض الشبق والإباضة:

تم تحريض الشبق عند جميع نعجات الدراسة خارج الموسم التناسلي هرمونياً بإيداع الإسفنجات المهبلية (Sincro-Gest، Ovejero Laboratories®–إسبانيا) لمدة 14 يوماً (من 17/3/2019 إلى 31/3/2019)، ثم قُسّمت إلى مجموعتين متساويتين بالعدد، إذ حُقنت مجموعة الشاهد بـ 750 وحدة دولية eCG، وحُقنت المجموعة الثانية بـ 25 وحدة دولية hMG وحُرّضت الإباضة عندها بعد 52 ساعة بـ 1000 وحدة دولية من هرمون hCG، وأجري التلقيح الصنعي بعد 12–16 ساعة باستخدام سائل منوي طازج ممدد، وكُرِّر التلقيح مرة ثانية بعد ساعتين إضافيتين.

عينات الدم:

سُحبت عينات الدم (5 مل) يوميّاً اعتباراً من يوم حقن هرمون eCG أو hMG من الوريد الوداجي لجميع حيوانات الدراسة ولمدّة 5أيام لاحقة باستخدام أنابيب مفرّغةٍ ومخصّصةٍ للاستعمال مرةً واحدةً مزودة بمادة K_3EDTA كمانع تخثر. ثُفّلت عينات الدّم باستخدام مثفّلة (Rotofix 32A، Hettich – ألمانيا) على سرعة 3500 دورةً/ دقيقة لمدة 15 دقيقةً، وعُزلت البلازما في عبوات بلاستيكية Eppendorf سعة كل منها 1.5 مل، خصصت لقياس مستوى هرمون الإستراديول. سُجّل على العبوات رقم النعجة وتاريخ الجمع وحُفظت على درجة حرارة –20 °م لحين إجراء المعايرة الهرمونية باستخدام طريقة ELISA (A3، DAS- إيطاليا).

فحص التطور الجريبي وتشخيص الحمل:

فُحصت الجريبات المبيضية يومياً اعتباراً من يوم حقن هرمون eCG أو hMG ولمدّة 3 أيام متتابعة، باستخدام جهاز أمواج فوق صوتيّة (HS-2000V، Honda Electronics – اليابان) عن طريق المستقيم. صُنّفت الجريبات تبعاً لأقطارها في ثلاث فئات: جريباتٍ صغيرةٍ بأقطار (≥3 مم)، جريباتٍ متوسطة تتراوح أقطارها بين(> 3 إلى < 6 مم)، جريبات كبيرة بأقطار (≥6 مم). أُجري تشخيص الحمل في اليوم 35 بعد التلقيح باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية آنف الذكر وسُجّلت حالات وجود حمل من عدمه.

التحليل الإحصائي:

نُسّقت البيانات الخاصة بعدد الجريبات والنمو الجريبي ومعدل الحمل (نتائج تشخيص الحمل بالإيكو في اليوم 35 بعد التلقيح) في جداول خاصة تمهيداً لإجراء التحاليل الإحصائية الملائمة عليها باستخدام برنامج SAS 9.2 على النحو التالي:

- حُسبت متوسطات عدد الجريبات ومقدار النمو الجريبي والخطأ المعياري لهما باستخدام تعليمة MEANS.
- قُيّمت الفروق بين عدد الجريبات ومقدار النمو الجريبي إحصائياً –في حال وجودها– باستخدام اختبار تَكِي المدرج ضمن تعليمة النماذج الخطية المعممة GLIMMIX تبعاً للنموذج الرياضي التالي:

$$Yi=Xi\beta+Ziy+\acute{\epsilon}i$$

حيث:

- Yi: المتغير المدروس (عدد الجريبات، مقدار النمو الجريبي).
- Xi: مصفوفة عمودية للمتغيرات التوضيحية (تعد مؤشرات ثابتة) التي يمكن قياسها من الإعدادات التجريبية (وهي في دراستنا معاملة تحريض النمو الجريبي بـ hMG أو eCG).
- β: مصفوفة المعاملات غير المعروفة وتُقدر بتطبيق طريقة أقل المربعات على بيانات المتغير المدروس.
- Zi: تمثل y مصفوفة العوامل العشوائية (مثل الحيوان) المؤثرة في المتغيرات المدروسة.

ISSN: 2789-7214 (online)
http://journal.damascusuniversity.edu.sy

- εi: الخطأ التجريبي.
- اختبرت الفروق –في حال وجودها– في نسبة الحمل باستخدام اختبار فيشر.

النتائج:

يبين الجدول (1) متوسط أعداد الجريبات على مبايض نعجات المجموعتين بعد حقن موجهي المناسل وحتى موعد تحريض الإباضة بـ hCG. سُجّلت فروق معنوية ($p<0.01$) في متوسط أعداد الجريبات الصغيرة في اليوم الأول بين مجموعة hMG ومجموعة eCG، مع غياب تام للجريبات المتوسطة والكبيرة في المجموعتين. بعد 24 ساعة من حقن موجهي المناسل لم تُسجل أي فروق معنوية ($p<0.05$) في متوسطات أعداد الجريبات سواء الصغيرة أو المتوسطة أو الكبيرة منها بين المجموعتين. تباينت المجموعتان تبايناً كبيراً في متوسط أعداد الجريبات الكبيرة بعد 48 ساعة من حقن موجهي المناسل إذ تفوقت ($p<0.01$) مجموعة hMG على مجموعة eCG (8.00 مقابل 2.38 جريبات كبيرة، على التتالي)، وامتازت مبايض النعجات المعاملة بـhMG بانخفاض ($p<0.01$) أعداد الجريبات الصغيرة بعد 48 ساعة من حقنه مقارنة مع مجموعة eCG (1.38 مقابل 4.25 جريباً صغيراً، على التتالي)، لم تُسجل أي فروق معنوية ($p>0.01$) في متوسطات أعداد الجريبات المتوسطة بين المجموعتين (2.38مقابل 4.38 جريباً متوسطاً، على التتالي). لم تُسجّل فروق إحصائية كبيرة في إجمالي أعداد الجريبات بين المجموعتين سواء بعد 24 ساعة (8.38 و10.39 جريباً) و48 ساعة (11.01 و11.76 جريباً) في مجموعتي eCG وhMG، على التتالي.

الجدول (1): أعداد الجريبات بحسب أقطارها عند المعاملة بـ eCG أو hMG وبعدهما بـ 24 و48 ساعة

ساعة بعد حقن موجه المناسل	حجم الجريب	مجموعة eCG		مجموعة hMG		P
		المتوسط	SE	المتوسط	SE	
0	صغير	**2.75^{a}**	1.42	**8.13^{b}**	0.55	0.005
	متوسط	–	-	-	-	-
	كبير	-	-	-	-	-
24	صغير	**4.75^{a}**	0.77	**6.13^{a}**	1.36	0.231
	متوسط	**3.63^{a}**	0.38	**4.13^{a}**	1.33	0.085
	كبير	**0.00^{a}**	0.00	**0.13^{a}**	0.13	0.613
48	صغير	**4.25^{a}**	1.37	**1.38^{b}**	0.42	0.005
	متوسط	**4.38^{a}**	0.98	**2.38^{a}**	1.21	0.012
	كبير	**2.38^{a}**	0.98	**8.00^{b}**	1.21	<0.0001

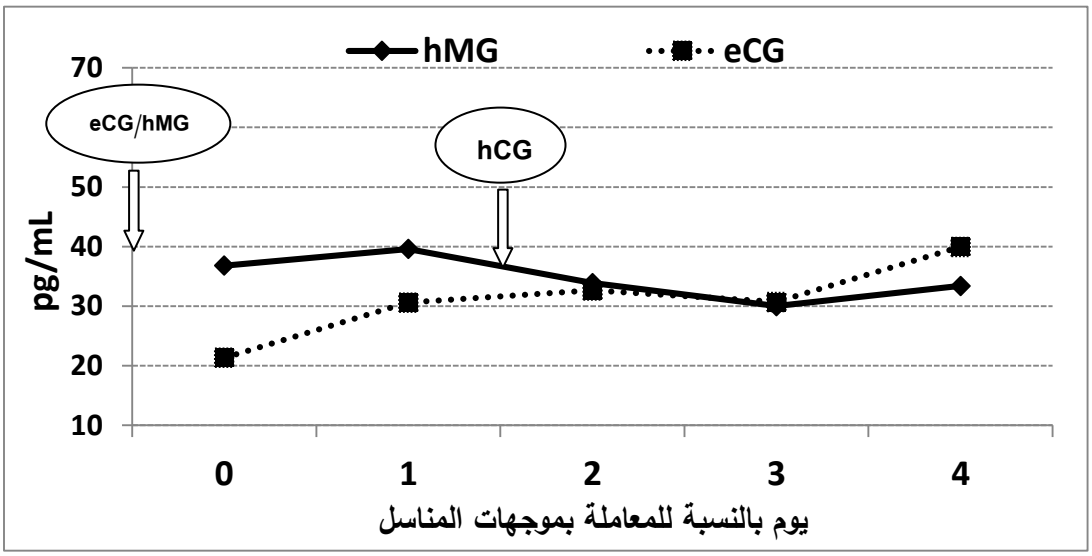
تشير الحروف العلوية المختلفة ضمن السطر الواحد إلى وجود فروق معنوية ($p<0.01$)

تفوق هرمون hMG ($P=0.0003$) بخصوص تأثيره في معدل النمو الجريبي على هرمون الـ eCG خلال الـ 24 ساعة الأولى، وقد تمايزت هذه الفروق بدرجة كبيرة ($P<0.0001$) بعد 48 ساعة من حقن موجهات المناسل وبلغ معدل زيادة أقطار الجريبات عندها 3.73 مم/يوم مقارنة مع 1.33 مم/يوم عند مجموعة eCG.

سُجّلت فروق معنوية ($p<0.05$) في متوسط قطر الجريب الإباضي في يوم حقن hCG، بين مجموعة hMG ومجموعة eCG بتفوق واضح لمجموعة hMG، إذ بلغ متوسط القطر الجريبي 9.00 و5.38 مم، على التتالي.

لم تُسجّل فروق معنوية في معدل الحمل بين المجموعتين المُعاملتين هرمونياً، إلا أنه من الجدير التنويه إليه أنه وبالرغم من عدم تسجيل فروق معنوية إلا أنه سُجّل تفوق للمجموعة المُعاملة بـ hMG على مجموعة الـ eCG في معدل الحمل بنسبة 20%.

لم تُسجّل فروق إحصائية ($p>0.05$) في متوسط تراكيز الاستراديول عند معاملة نعجات العواس بـ eCG أو hMG أو في الأيام الأربع اللاحقة (الشكل 1). سَجّلت مستويات الاستراديول عند النعجات المعاملة بـ eCG ارتفاعاً خطياً بسيطاً، أما في مجموعة hMG فقد أخذت بالانخفاض بعد 24 ساعة من حقن hMG واستمر الانخفاض بصورة خطية حتى نهاية برنامج سحب عينات الدم.



الشكل (1): متوسط تراكيز الاستراديول عند نعجات العواس عند المعاملة بـ eCG أو hMG وبعدهما بـ 4 أيام خارج موسم التناسل

المناقشة:

أحجم الكثير من المربين مؤخراً في بلدان عدة عن استخدام eCG لتحريض الشبق والنمو الجريبي خارج موسم التناسل التقليدي عند المجترات الصغيرة، لما لهذه الهرمونات من آثار سلبية في الحيوانات المعاملة عند تكرار المعاملة بها (Herve وزملاؤه، 2004؛ Roy وزملاؤه، 1999). ولما كانت المعاملة الهرمونية أنجع الطرائق لإتمام التحريض بنجاح، فقد كانت هذه الدراسة الفريدة من نوعها إحدى لَبِنات الأساس في عملية إيجاد بدائل ملائمة عن eCG، كما أنّ استخدام hMG في برامج توقيت الشبق يُنفّذ لأول مرّة ولذلك تخلو المناقشة من المقارنات مع دراسات أخرى. تجدر الإشارة إلى أنه تم في الدراسة الحالية استخدام جرعات كبيرة من السائل المنوي الطازج الممدد لاستبعاد التأثيرات التي يمكن أن يسببها استخدام السائل المنوي المجمد.

يُشير عدم وجود جريبات متوسطة أو كبيرة عند بداية المُعاملة بموجهات المناسل إلى حالة السكون التي تمر فيها النعجات وهو أمر طبيعي لمثل هذا الوقت من العام، ويُعزى ذلك إلى تأثير الآلية الارتجاعية السلبية للاستروجين في الوطاء وينتج عن ذلك مستويات دُنيا قاعدية من FSH لا تكفي لتحريض النمو الجريبي (الصالح، 2017). إن ظهور جريبات متوسطة و/أو كبيرة الحجم بعد 24 ساعة من حقن كلا منبهي المناسل دليل ساطع على استجابة مبايض جميع النعجات المُعاملة وهذا يؤكد فعالية hMG في

تحريض النمو الجريبي عند نعجات العواس. جدير ذكره أن فعالية eCG في تحريض النمو الجريبي مثبتة عند مختلف الأنواع الحيوانية ما خلا العائلة الخيلية (Al-Merestani وزملاؤه، 2003؛ Gordon، 1997).

إنّ الانخفاض الكبير ($P<0.01$) في أعداد الجريبات الصغيرة والمتوسطة عند حقن hCG والتلقيح، يؤكد فعالية hMG الكبيرة في تحريض النمو الجريبي ولعل وجود مثل هذه الجريبات كانت إحدى مساوئ استخدام eCG (Herve وزملاؤه، 2004؛ Roy وزملاؤه، 1999)، نظراً لاستمرار نموها وإفرازها المتزايد من E_2 وهذا الأخير يشترك في سلسلة الحوادث الفيزيولوجية المساهمة في إفراز $PGF_{2\alpha}$ وتحلل الجسم الأصفر المبكر، وتعد هذه الظاهرة السبب الرئيس في فقد الأجنة المبكر وتخفيض معدلات الحمل بعد المعاملة بـ eCG (Mapletoft و Bo ، 2003؛ Evans وزملاؤه، 1994؛ Armestrong و Evans، 1983). وقد تبين أن hMG يتفوّق ($P<0.01$) على eCG بأعداد الجريبات الكبيرة حيث أن تحويل البروجسترون إلى استراديول في وقت تحفيز نضوج الجريب النهائي بسبب تأثير hCG الموجود في hMG يُمكّن بطانة الرحم من أن تكون أكثر ملاءمة لانغراس الجنين (Diego و Peter،2014)، كما يُعتقد أن hCG مثالي لدعم تطور الجسم الأصفر خلال المراحل الأولى من تشكله لأن نصف عمره الحيوي الطويل (Saleh وزملاؤه، 2012) يوفر تحفيزًا أكثر استدامة لإنتاج البروجسترون (Diego و Peter ،2014)، وقد يكون لهذه الناحية أهمية تطبيقية بالغة من حيث إمكانية المحافظة على الحمل خلال المراحل الأولى التي تُعد أكثر مراحل الحمل حساسية قبل أن يتعرف الجهاز المناعي للأم على الجنين.

يمكن القول أن فترة السكون عند نعجات العواس تتسم بمستويات مرتفعة من الاستروجين، ويؤكد عدم وجود فروق إحصائية في مستويات الاستروجين أن موجهات المناسل لاتؤثر فيها أو أنها مرتفعة بالأساس ولا ترتفع أكثر نظراً لوجود الآليات الارتجاعية التي تحد من ارتفاع الهرمونات بدرجة كبيرة (الصالح، 2017).

الاستنتاجات:

يمكن الاستنتاج أن فعالية موجّه المناسل الإياسي البشري hMG بالمشاركة مع البروجستاجينات لاتقل عن نظيرتها في البرامج التقليدية المعتمدة على eCG في تحريض التطور الجريبي خارج موسم التناسل عند نعجات العواس ويوصى باعتماده كبديل عن eCG لتلافي المشاكل المرتبطة باستخدام هذا الأخير.

المراجع References:

1. **الصالح م.ع (2017).** فيزيولوجيا الحيوان . منشورات جامعة دمشق.
2. **العبد الله ع (2021).** تحليل مقارن لشكل الجريبات ونموها وبعض المؤشرات الحيوية الكيمائية وأبعاد الجنين لدى العنزات الشامية ونعاج العواس بعد المعاملة بـ rFSH. رسالة ماجستير. كلية العلوم_جامعة دمشق.
3. **زرقاوي م، سكوتي أ. (2009).** أنماط نمو وتطور الجريبات عند نعاج العواس السوري خلال مراحل تناسلية مختلفة باستخدام تقنية تنظير جوف البطن. دائرة الإنتاج الحيواني، قسم الزراعة، هيئة الطاقة الذرية.
4. **زرقاوي م. (2010).** نظام تكثيف الولادات عند نعاج العواس السوري باستخدام المعاملات الهرمونية، داخل الموسم التناسلي وخارجه. دائرة الإنتاج الحيواني، قسم الزراعة، هيئة الطاقة الذرية.
5. **Al-Merestani MR, Zarkawi M, Wardeh MF.(2003).** Improving the reproductive efficiency, pregnancy diagnosis and monitoring of luteal activity in indigenous Damascus goats. Reprod Domest Anim. Feb;38(1):36-40.
6. **Armstrong DT, and Evans G.(1983).** Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goat. Theriogenology., 19:31-42.
7. **DeNicolo G, Morris ST, Kenyon PR, Morel PCH, Parkinson TJ.(2008).** Induced seasonal reproductive performance in two breeds of sheep. Anim Reprod Sci. 103:278–289.
8. **Dias GH, Miranda VO, Oliveira FC, Vargas Junior SF, Haas CS, Costa VGG, Lucia Jr T, Vieira AD, Corcini CD, Gasperin BG.(2020).** Treatment with eCG and hCG to induce onset of estrous cycles in ewes during the non-breeding season: Effects on follicular development and fertility. Animal Reproduction Science, 212, January, 106232.
9. **Diego E, and Peter H.(2014)**. A review of luteinising hormone and human chorionic gonadotropin when used in assisted reproductive technology. Reproductive Biology and Endocrinology 12:95.
10. **El-Mokadem MY, Nour El-Din A, Ramadan TA, Rashad AM, Taha TA, Samak MA, and Salem MH.(2018).** Effectiveness of controlled internal drug release device treatment to alleviate reproductive seasonality in anestrus lactating or dry Barki and Rahmani ewes during non-breeding season. Reprod Domest Anim. 53(2):319-325.
11. **Evans ACO, Adams GP, and Rawlings NC.(1994).** Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. Journal of Reproduction and Fertility 100: 187–194.
12. **Fierro S, Olivera-Muzante J.(2017).** Long interval prostaglandin as an alternative to progesterone-eCG based protocols for timed AI in sheep. Anim Reprod Sci. 180:78-84.
13. **Gordon I.(1997).** Controlled Reproduction in sheep and goat. CAB International 1997.
14. **Herve V, Roy F, Bertin J, Guillou F, and Maurel MC.(2004).** Anti-equine chorionic gonadotropin (eCG) antibodies generated in goats treated with eCG for the induction of ovulation modulate the luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone bioactivities of eCG differently. Endocrinology. 145(1):294-303.
15. **Kenji I, NaoK, Hirohide K,Akio M,Yutaka F.(2004).** A comparative study of induction of estrus and ovulation by three different intravaginal devices in ewes during the non-breeding season. Journal of Reproduction and Development, Voi. 50, No. 1,2004.
16. **Knights M, Redhead A, D'Souza K, and Baptiste Q.(2015).** Effect of stimulation with a gonadotropin mixture on reproductive outcome in nulliparous ewes bred during seasonal anestrus and early breeding season. Anim Reprod Sci. 159:198-204.

17. **Mapletoft RJ, Steward KB, and Adams GP.(2002).**Recent advances in the superovulation in cattle.Reprod Nutr Dev.42(6):601-611.
18. **Mapletoft RJ, and Bo GA.(2003).**Innovative strategies for superovulation in cattle. Anim. Reprod. 10: 174-179.
19. **Roy F, Maurel MC, Combes B, Vaiman D, Cribiu EP, Lantier I, Pobel T, Delétang F, Combarnous Y, and Guillou F.(1999).** The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. Biol Reprod. 60 (4) 805 -813.
20. **Saleh M, and Ahmad M.** Induction of estrus in shami goat does out of the breeding season using eCG, rFSH or hMG.
21. **Saleh M, Shahin M, Wuttke W, Gauly M, and Holtz W.(2012).** Pharmacokinetics of human chorionic gonadotropin after i.m. administration in goats (capra hircus). Reproduction, 144: 77-81.
22. **SAS.(2008).** SAS/STAT User's Guide, Version 9.2. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
23. **Swelum AA, Alowaimer AN, and Abouheif MA.(2015).** Use of fluorogestone acetate sponges or controlled internal drug release for estrus synchronization in ewes: Effects of hormonal profiles and reproductive performance. Theriogenology. 84(4):498-503.
24. **Ungerfeld R, and Rubianes E.(2002).** Short term primings with different progestogen intravaginal devices (MAP, FGA and CIDR) for eCG-estrous induction in anestrus ewes. Small Ruminant Research 46: 63–66.