المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٣، عدد إضافي ١، ٢٠٠٩ (٥٣-٥٧)
وقائع المؤتمر العلمي الخامس، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل

مقارنة استخدام الناظور في التلقيح الاصطناعي داخل الرحم مع التلقيح في عنق الرحم في النعاج العواسية موحدة الشبق

براء دريد الوتار، محمد بشير طه ومنير سالم البدراني

فرع الجراحة وعلم تناسل الحيوان، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

تهدف الدراسة الحالية الى مقارنة طريقتين مختلفتين لتلقيح النعاج صناعيا، التلقيح داخل عنق الرحم والتلقيح باستخدام الجراحة المنظارية. استخدم في هذه الدراسة ١٣ نعجة عواسية فتية تراوحت أعمارها مابين ٧–٩ اشهر بالإضافة إلى كبش واحد منتخب لهذا الغرض. تم جمع السائل المنوي من الكبش باستخدام المهبل الاصطناعي وخفف بثلاثة أنواع مختلفة من المخففات، فحصت النعاج بطريقة الجراحة المنظارية للتأكد من خلوها من الحمل قبل بدء الدراسة. قسمت النعاج إلى مجموعتين المجموعة الاولى ضمت ٦ نعاج اما المجموعة الثانية فضمت ٧ نعاج. اجريت عملية توحيد الشبق في كلا المجموعتين وذلك باتباع طريقة الحقن بهرمون البروجستيرون وبجرعة ٧ ملغم يوميا في العضلة ولمدة ١٢ يوم، وفي اليوم الأخير تم حقن هرمون المحفز للقند الخيلي eCG. أظهرت النتائج أن جميع النعاج موحدة الشبق قد ظهرت عليها علامات الشبق (٢٣,١٪ من النعاج ظهرت عليها علامات الشبق بعد ٤٨ – ٥٦ ساعة أما بقية النعاج فظهرت عليها علامات الشبق بعد ٦٦-٧٢ ساعة). كما ثبت أن مخفف الحليب الخالي من الدسم هو أفضل المخففات التي استخدمت في هذه الدراسة لحفظ السائل المنوي المبرد للأكباش لاسيما عند استخدامه بنسبة تخفيف ١:١٠. بينت نتائج الدراسة ان نسبة الحمل في النعاج التي لقحت في عنق الرحم كانت ٥٠٪، اما النعاج التي لقحت بطريقة الجراحة المنظارية فكانت نسبة الحمل فيها ٧١٪. استنتج من هذه الدراسة أن طريقة التلقيح داخل الرحم باستخدام الجراحة المنظارية يمكن الاعتماد عليها في تلقيح النعاج العواسية للحصول على نسبة اخصاب عالية وجيدة.

Comparison of laparoscopic intrauterine insemination in synchronized Awassi ewes

B. D. Al-Wataar, M. B. Taha and M. S. AL-Badrany

Department of Surgery and Theriogenology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

The present study was conducted to comparison between two different methods in sheep artificial insemination, which intrauterine and laparoscopic artificial inseminations. In this study 13 Awassi ewe lamb aged 7-9 months with one ram were used for the semen collection. Semen collection by using artificial vagina, and dilution by three types of extenders. Ewes included in this study were examined by the laparoscopic surgery to ensure they are not pregnant before starting this study. Ewes were divided into two group, first group contained six ewes, while the second contained seven ewes. The synchronization processes was done in both group by injection 7 mg Intramuscular of Progesterone daily for 12 days followed by injection 500 IU of eCG in last day. All ewes showed estrus signs, (23.1%) after 48 hours from the last injection, while the reminders ewes showed signs of estrus (66–72) hours. Pregnancy rate in ewes inseminated in cervix were 50%, while ewes inseminated by laparoscopic were 71%. The intrauterine insemination using laparoscopic surgery be depended for inseminated ewes to obtained high and good fertility percentage. It could be concluded that the intrauterine insemination is a useful method for fertilizing ewes by artificial insemination.

Available online at http://www.vetmedmosul.org/ijvs

المقدمة

للتلقيح الاصطناعي فوائد كثيرة في مجال تربية الاغنام ومنها تحسين الصفات الوراثية والانتاجية والتي تؤدي الى زيادة الوارادات الاقتصادية فضلاً عن امكانية نشر الصفات المحسنة على نطاق واسع وسريع (1).

لقد بدأت عمليات التلقيح داخل الرحم مباشرة بإتباع تقنية Laparoscopy في استراليا عام ١٩٨٢ (2) وذلك لما يواجهه التلقيح الصناعي في النعاج عبر المهبل أو عنق الرحم من صعوبات تشريحية في عنق الرحم (3). وتبع ذلك تطور سريع وانتشار واسع لهذه التقنية وهذا قد يساهم في تحسين الصفات الوراثية لحيوانات المزرعة (4)، لاسيما أن هذه التقنية لا تحتاج إلى كميات كبيرة من السائل المنوي ولا إلى اعداد كبيرة من الحيامن الحية فضلا عن تحقيقها لنسبة إخصاب جيدة تصل إلى ٧٠٪ (5)، كما أنها تسهل الكشف عن العيوب في الجهاز التناسلي الأنثوي من الداخل، ولكن في الوقت نفسه فان نتائج هذه الطريقة تتأثر بالعديد من العوامل منها تحديد موعد الإباضة المتوقع، و وقت التلقيح ونوعية السائل المنوي المستخدم مبرداً كان ام مجمداً (4).

وبينت الدراسات التي اتبعت طريقة التلقيح داخل قرن الرحم باستخدام الجراحة المنظارية أن استعمال تراكيز مختلفة من السائل المنوي لم يكن له تأثير على نسبة الإخصاب حيث تم التلقيح بتركيزين مختلفين ٥٠ × ١٠٦ و ٣٠٠ × ١٠٦ وكانت نتائج نسبة الإخصاب متقاربة ٦٥,٨٪ و٦٨,٢٪ على التوالي (6).

هدفت الدراسة الحالية الى مقارنة طريقتين مختلفتين لتلقيح النعاج صناعياً، التلقيح داخل عنق الرحم والتلقيح باستخدام الجراحة المنظارية.

المواد وطرائق العمل

أجريت هذه الدراسة في الفترة المحصورة مابين ٢٠٠٥/١٠/١٥ الى ٢٠٠٦/٤/١٥ استخدمت في هذه الدراسة ١٣ نعجة تراوحت أعمارها مابين ٧-٩ شهور وأوزانها مابين ٤٥ – ٥٠ كغم، فضلا عن اختيار كبش واحد من مجموع ستة أكباش لغرض جمع السائل المنوي.

تم فحص النعاج للتأكد من عدم وجود الحمل في أي منها بواسطة الجراحة المنظارية. قسمت النعاج إلى مجموعتين، المجموعة الأولى وضمت ست نعاج والتي هيأت للتلقيح بطريقة التلقيح داخل عنق الرحم، أما المجموعة الثانية فضمت سبع نعاج والتي هيأت لتلقيحها بطريقة الجراحة المنظارية بداخل قرن الرحم مباشرة.

بعد اختيار أحد الأكباش والذي يتميز برغبة جنسية عالية وصفات جسمية جيدة ومحيط كيس صفن جيد، تم تدريبه على القذف داخل المهبل الاصناعي وتطلب ذلك مدة ثلاثة أسابيع. واستخدم لجمع السائل المنوي المهبل الاصطناعي.

تم توحيد الشبق في النعاج، حيث اتبعت طريقة حقن البروجستيرون في العضلة لتوحيد الشبق في النعاج، وذلك بحقن ٧ ملغم من هرمون البروجستيرون (Progesteron, Intervet, Holland) في العضلة يومياً ولمدة ١٢ يوماً. وفي اليوم الاخير تم حقن هرمون المحفز للقند الخيلي eCG وبجرعة ٥٠٠ وحدة دولية (Folligon – Intervet – Holland) لمرة واحدة وفي العضلة أيضا.

بعد مرور ٤٨-٦٠ ساعة من حقن هرمون eCG تم التأكد من حدوث الشبق من خلال ملاحظة علامات الشبق لاسيما الافرازات المهبلية، واحتقان بطانة المهبل وتضخم الشفرتين، فضلا عن ذلك فقد تم اتباع الطريقة الموصوفة من قبل Arthur وجماعته (7) لتحديد وقت الشبق في النعاج وذلك بعمل مسحات مهبلية وصبغها بصبغة المثلين الأزرق (8).

التلقيح الصناعي

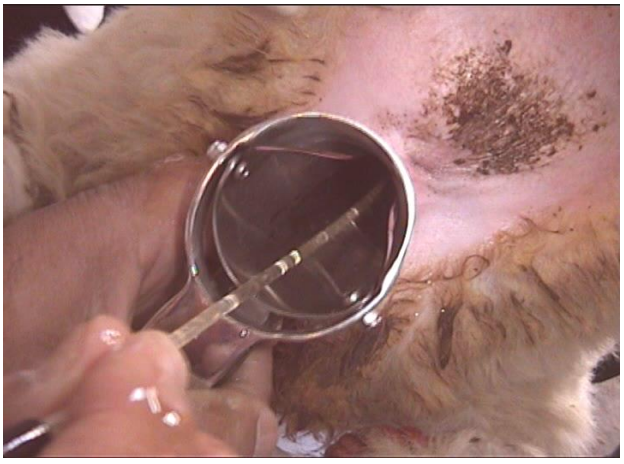
اجري التلقيح الاصناعي لنعاج المجموعة الاولى بطريقة التلقيح داخل عنق الرحم (9). صورة رقم (١). اما نعاج المجموعة الثانية فلقحت بإتباع طريقة الجراحة المنظارية وباستخدام جهاز الجراحة المنظارية (10،11). صورة رقم (٢).

فحص الحمل

بعد تلقيح النعاج تم متابعتها للتأكد من عدم العودة إلى الشبق وفي اليوم العشرين بعد التلقيح تم اجراء فحص مستوى هرمون البروجستيرون في الدم بطريقة Raido Immino Assay (4)، وباستخدام جهاز Gamma Counter (HVD-1470-016, Austuria).

التحليل الإحصائي

تم عرض البيانات في هذه الدراسة كمعدل ± الانحراف القياسي. تم استخدام اختبارFisher Exact Test لمقارنة نتائج التلقيح الاصطناعي. جميع الاختبارات الاحصائية المستخدمة في هذه الدراسة تم تطبيقها من خلال برنامج التحليل الاحصائي Sigmastat (Jandel Scientific Softwaer V 3.1). وتم اعتماد مستوى المعنوية $P<0.05$ كحد ادنى للفروق المعنوية (12).



صورة رقم ١: توضح طريقة الحقن داخل عنق الرحم وباستخدام القسطره وفاتحة المهبل الخاصة بالأغنام.

صورة ٢: توضح عملية الحقن داخل قرن الرحم باستخدام الجراحة المنظارية حيث يلاحظ انتفاخ قرن الرحم بعد حقنه بالسائل المنوي المخفف.

النتائج

من مجموع ١٣ نعجة تم تطبيق نظام توحيد الشبق عليها، ٣ نعاج (٢٣,١٪) ظهرت عليها علامات الشبق بعد ٤٨ – ٥٦ ساعة من آخر حقنة من هرمون البروجيستيرون، والنعاج العشرة المتبقية (٧٦,٩ %) فقد لوحظت عليها علامات الشبق بعد ٦٦- ٧٢ ساعة من آخر حقنة من هرمون البروجيستيرون.

من مجموع ٦ نعاج والتي لقحت بطريقة الحقن داخل عنق الرحم أظهرت ٣ نعاج (٥٠ %) علامات الحمل. حيث كان مستوى هرمون البروجيستيرون فيها ١٦,٨٦ ± ٣,٧٨ نانو كرام / مل في حين كان مستوى هرمون البروجيستيرون للنعاج الثلاثة الباقية ٠,٥٣ ± ٠,٤٨ نانو كرام / مل. وعند مقارنة مستوى هرمون البروجيستيرون في المجموعتين لوحظ وجود فرق معنوي (P<0.05). أما النعاج التي لقحت باستخدام طريقة الحقن داخل قرن الرحم باستخدام الجراحة المنظارية فمن مجموع ٧ نعاج، أظهرت ٥ نعاج (٧١,٤ %) علامات الحمل من خلال ارتفاع مستوى هرمون البروجيستيرون حيث كان ١٠,٨٥ ± ٣,٩٦ نانو كرام / مل وعند مقارنته مع مستوى هرمون البروجيستيرون للنعجتين المتبقيتين والذي كان ٠,٨٠ ± ٠,٥٢ نانو كرام/ مل لوحظ وجود فرق معنوي (P<0.05) بين المجموعتين (جدول ١ و ٢).

وعند مقارنة نتائج الطريقة الأولى والطريقة الثانية للتلقيح الصناعي لوحظ أن نسبة الحمل في النعاج الملقحة بطريقة التلقيح داخل قرن الرحم وباستخدام الجراحة المنظارية كانت أعلى من الطريقة الأخرى ولكن إحصائيا لم يظهر فرق معنوي بين الطريقتين.

جدول ١: يبين عدد النعاج الحوامل وغير الحوامل ونسبها.

طريقة التلقيح	العدد	الحوامل		غير الحامل	
		العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
التلقيح في عنق الرحم	٦	٣	٥٠٪	٣	٥٠ %
التلقيح في قرن الرحم	٧	٥	٧١,٤ %	٢	٢٨,٦ %

جدول ٢: مستوى هرمون البروجستيرون في نعاج التجربة.

المجاميع		مستوى هرمون البروجستيرون
المجموعة الملقحة في عنق الرحم باستخدام القسطرة	النعاج الحوامل	١٦,٨٦٠± ٣,٧٧٩ a
	النعاج غير الحوامل	٠,٥٢٩± ٠,٠٤٨ a
المجموعة الملقحة في قرن الرحم باستخدام الجراحة المنظارية	النعاج الحوامل	١٠,٨٥٤± ٣,٩٦٢ b
	النعاج غير الحوامل	٠,٨٠١± ٠,٠٥١ b

a, b الحروف المتشابهة تعني وجود فرق معنوي (P<0.05) بين المجاميع.

وعند مقارنة مستوى هرمون البروجيستيرون في النعاج الحوامل وغير الحوامل تبين عدم وجود فرق معنوي في مستوى البروجيستيرون في كلا الطريقتين.

المناقشة

أظهرت نتائج توحيد الشبق أن النعاج كلها استجابت لعملية توحيد الشبق مع فارق بسيط في وقت حدوث الشبق. أن السبب في الحصول على هذه النسبة العالية من توحيد الشبق يعود الى كفاءة الطريقة المستخدمة حيث ان الحقن اليومي بهرمون البروجستيرون يضمن بقاء مستوى هذا الهرمون في الدم ثابتا طيلة مدة الحقن، فضلا عن الفعل التنشيطي لهرمون المحفز للقند الخيلي eCG المستخدم في هذه الدراسة (13). وهذه النتائج تتفق مع (14) حيث سجل نسبة توحيد شبق ٩١ % بالرغم من أنه استخدم الحقن وبجرعة ١٠ ملغم من هرمون البروجستيرون. ومن جهة أخرى فان نسبة توحيد الشبق المسجلة في هذه الدراسة تعتبر عالية وجيدة مقارنة مع دراسات أخرى ففي الدراسة التي أجراها (15) والذي استخدم فيها مركب Medoxy Acetate Progesterone وبجرعة ٥٠ ملغم ولمدة ١٨ يوما فقد تم تسجيل معدل توحيد شبق أقل من ٩٠ %.

وجاءت نتائج الدراسة مطابقة لما تمت ملاحظته من قبل (16) عند استخدامه لهرمون البروجستيرون لتوحيد الشبق في النعاج حيث أنه استخدم الهرمون بطريقة الاسفنجات المهبلية المشبعة بهرمون البروجستيرون. كذلك في الدراسة التي أجراها (17) حيث سجل نسبة ظهور الشبق في ٨٠ %من النعاج المعالجة بالاسفنجات المهبلية المشبعة بمركب - 6α -Methyl 17α hydroxy progesterone acetate ولمدة ١٢ يوما. في حين أن دراسة أخرى تم فيها تسجيل معدل توحيد شبق واطئ جدا بالمقارنة مع نتائج هذه الدراسة حيث أن ٦٥,١٪ فقط من النعاج لوحظ عليها علامات الشبق بعد استخدام اسفنجات مهبلية مشبعة بمركب Flagstone acetate وبمقدار ٣٠ ملغم ولمدة ١٢ يوما (18). أما عند مقارنة نتائج توحيد الشبق حسب الطريقة المتبعة في هذه الدراسة مع نظام آخر لتوحيد الشبق فقد وجد أن نسبة توحيد الشبق كانت الضعف بالمقارنة مع نظام توحيد الشبق الذي اعتمد على استخدام حقنتين من هرمون GnRH تفصلهما حقنة واحدة من هرمون $PGF_{2}\alpha$ (19).

بلغت نسبة الإخصاب التي تم الحصول عليها بعد تلقيح النعاج بطريقة التلقيح داخل قرن الرحم باستخدام الجراحة المنظارية ٧١,٤٪ وهذه النسبة تعتبر جيدة وعالية نسبيا إذا ما قورنت مع نتائج الطريقة الثانية المتبعة في هذه الدراسة ونتائج دراسات أخرى اهتمت بتلقيح النعاج صناعيا. إن السبب في الحصول على هذه النتيجة الجيدة هو تلقيح النعاج باستخدام الجراحة المنظارية داخل قرن الرحم مباشرة بالاضافة الى الوقت الصحيح والذي تم تحديده من خلال العلامات السريرية وفحص المسحات المهبلية، فضلا عن استخدام سائل منوي حديث الجمع والحاوي على نسبة عالية من الحيامن الحية والذي تم حقنه داخل قرن الرحم مباشرة حيث أن هذه العملية قللت من الحواجز والعقبات أمام الحيمن للوصول إلى مكان التقاء البيضة بالحيمن (20،21).

إن نسبة الحمل المسجلة في هذه الدراسة بإتباع طريقة الجراحة المنظارية كانت مقاربة لما توصل إليه (22) حيث انه سجل نسبة حمل ٦٨,٢ % بعد تلقيحه لمجموعة من النعاج بطريقة التلقيح داخل قرن الرحم. ولكن نتائج هذه الدراسة اختلفت مع دراسات عديدة استخدمت طريقة التلقيح نفسها في النعاج حيث كانت النسبة عالية مقارنة مع ما وجده (23) الذي اتبع طريقة الحقن داخل قرن الرحم باستخدام الجراحة المنظارية وسائل منوي مجمد حيث سجل نسبة حمل ٥٦ %. أما نتيجة تلقيح النعاج بطريقة الحقن داخل عنق الرحم فقد كانت قليلة مقارنة مع طريقة الحقن داخل قرن الرحم باتباع الجراحة المنظارية.ويعزى السبب في ذلك إلى التركيب التشريحي لعنق الرحم والذي يعمل كعائق رئيس في إنجاح عمليات التلقيح الاصطناعي في النعاج (24).

كذلك اختلفت نتائج الدراسة مع النتائج التي سجلها (25) حيث كانت نسبة الحمل قليلة جدا ٥٠ % في النعاج الملقحة بطريقة التلقيح داخل قرن الرحم وباستخدام السائل المنوي المجمد. وقد أرجع الباحثون انخفاض نسبة الحمل إلى أسباب منها الخطأ في وقت التلقيح، اختلاف مكان حقن السائل المنوي، واختلاف سلالة الحيوان (22،26).

إن هذه النتيجة اتفقت مع ما توصل إليه (27) بعد تلقيح النعاج بطريقة الحقن داخل عنق الرحم حيث سجل نسبة حمل وصلت الى ٦٠ % وكذلك اتفقت نتائج الدراسة مع دراسة أخرى أجريت على النعاج حيث تم تلقيحها داخل عنق الرحم وبجرعة تلقيح مقدارها ٤٠٠ ×١٠^{٦}خلية نطفية (28).

وفي دراسات أخرى استخدمت التلقيح داخل عنق الرحم تم تسجيل نسبة حمل أقل مما لوحظ في هذه الدراسة حيث سجل (29) نسبة حمل ٢٨ % بعد إجراء التلقيح بسائل منوي مجمد، في حين أن (30) أجروا عمليات التلقيح لنعاج بإتباع هذه الطريقة نفسها وسجلت نسبة حمل وصلت إلى ٩ %. وقد عزى السبب إلى انخفاض نسبة الحمل في الدراسات جميعها إلى التركيب التشريحي لعنق الرحم في النعاج والى أسباب أخرى مثل انخفاض مستوى كفاءة السائل المنوي أو إلى موقع التلقيح بالنسبة لعنق الرحم أو إلى نوع سلالة الحيوان وعمره (31،32).

نستنتج من هذه الدراسة ان طريقة التلقيح داخل الرحم باستخدام الجراحة المنظارية يمكن الاعتماد عليه في تلقيح النعاج العواسية للحصول على نسبة اخصاب وحمل عالية وجيدة.

المصادر

1. Ritar AJ, Ball DD. The effect of frozen thawing of goat and sheep semen at high density of spermatozoa on viability and fertility after insemination. Anim Reprod Sci. 1993; 31: 299-202.
2. Schoenian S. Reproduction in ewe. Western Maryland research and education center. 2004. pp.201-208.
3. Lymberopoulos AG, Amiridis GS, Kuhholzer B, Besenfelder U, Christodoulou V, Vainas A and Brem, G. Fertilization and embryo

time intrauterine insemination in ewes. Reprod Domestic Animal, 2005; 40: 258–272.
20. Mckelvey WAC, Robinson JJ and Aitken RP. The evaluation of a laparoscopic insemination technique on ewe. Theriogenology, 1985; 24: 519-535.
21. Daily MR. Laparoscope artificial insemination to improved genetics animal. Caberidge: Super Sire, Ltd., 2005. pp11-13.
22. Ehling GH, Wirth P, Schindles L, Hadeler KG, Dopke HH, Lemme E, Herrmaun D and Niemann H. Laparoscopical intrauterine insemination with different dose of fresh conserved and frozen semen for the production of ovine zygotes. Theriogenology. 2003; 60: 77-87.
23. King ME, Mekekelvey AC, Dingwall WS, Matthews KP, Gebbie FE, Mylne MJA, Stewart E and Robinson JJ. Lambing rate and littler sizes following intrauterine or cervical insemination of frozen-thawed semen with or with out oxytocin administration. Theriogenology. 2004; 62: 1236-1244.
24. Eppleston J and Maxwell WMC. Recent attempts to improve the fertility of frozen semen inseminated in to the cervix. Wool Technol. Sheep Breed. 1993; 41: 291-302.
25. Riese R and Gourlery DD. A comparison of the laparoscopic intra-uterine and the Gurley Scope trans-cervical method of artificial insemination of sheep. Amin Reprod Sci. 1998; 34: 306-313.
26. Maxwell WMC, Evans G, Rhodes SL, Hillard MA and Bindon BM. Fertility of superovulated ewe after intrauterine or oviductal insemination with low number of fresh or frozen-thawed spermatozoa. Reprod Fertil Dve. 1993; 5: 56-63.
27. Olesen I. Effect of cervical insemination with frozen semen on fertility and litter size of norwegian sheep. Livestock Prod. Sci.1993; 37: 169-184.
28. Yoshioka Z, Inudo Y and Torizuka T. Experiments on the storage of semen and insemination of the stored semen in sheep and goats. Bull. Natl. Agric. Sci. 1951; 1: 53-60.
29. Fair S, Hanrahan JP, O'Meara CM, Duffy P, Rizos P, Wade M, Donovan A, Boland MP, Lonergan P and Evans ACO. Differences between Belclare and Suffolk ewes in fertilization rate, embryo quality and accessory sperm number after cervical or Laparoscopic artificial insemination. Theriogemology. 2001; 63: 1995-2005.
30. Windsor DP. Variation between ejaculates in the fertility of froze ram semen used for cervical insemination of Merino ewes. Amin Reprod Sci. 1999; 47: 21-29.
31. Windsor DP. Factors influencing the success of transcervical insemination in merino ewes. Theriogenology, 1995; 31: 1009-1018.
32. Husein M, Bailey MT, Abodnch MM, Romano JE, Crabo BG and Wheaton JE. Effect of eCG on the pregnancy rate of ewe transcervically insemination with frozen-thawed semen out side the breeding season. Theriogeniology. 1998; 49: 997-1005.

recovery rates in superovulated chios ewes after laparoscopic intrauterine insemination. Theriogeniology. 2001. 55: 1855-1862.
4. Davis IF, Kerton DJ, Mcphee SR, White MB, Banfidel JC. and Cahile LP. Reproduction in sheep. Lindsay D.R. and Pearce. D.T. (eds). Cambridge: Cambridge university Press. 1984. pp.304-305.
5. Bearden HJ, Fuquay JW and Willard ST. Applied animal Reproduction. 6th ed. New Jerssy: Pearson Prentice Hall. Inc Asimon and Schuter CO. Enlewood Cliffs, 2004. pp 247-249.
6. Ehling GH, Wirth P, Schindles L, Hadeler KG, Dopke HH, Lemme E, Herrmaun D. and Niemann H. Labroscopic inttrautrine insemination with different dose of fresh conserved and fronzen semen for the production of ovine zygote. Theriogenology. 2003; 60: 77-87.
7. Arthur GH, Noakes DE, England GCW. and Parkison, TJ. Arthers Veterinary Reproductive and obstetrics. 8th ed. Edinbargh London: W.B Saunders. CO. Ltd 2001. pp. 432- 435.
8. Noel B, Bister, JL and Paquay R. Reproduction fertility. J Reprod Fertil. 1993; 99: 695-701.
9. Salamon S. Artificial insemination of sheep. Chippendal, Publicity Press, N.S.W. 1976. pp104.
10. Evans G. Application of reproduction technology to Australian live stock industries. Reprod Fertil Dev. 1991; 3: 627-650.
11. Haresign W. Manipulation of reproductive in sheep. J. Reprod Fertil Suppl 1992; 45: 127-139.
12. Snedecor GW and Cochran WG. Statistical methods. 6th ed. Iawa: The Iawa St. Univ. Press, Ames, 1973.
١٣. الحبوبي، ازهر حسن. نتائج تكثيف الشياع وزيادة التوائم في الأغنام العراقية لغاية ايلول ١٩٩١. مجلة اباء للابحاث الزراعية، وقائع الدورة التدريبية لتغذية وادارة الاغنام، بغداد،١٩٩٢، ٢/٢٨ الى ٤/٤ :٣٥-٤٦.
14. Stellfiug JN, Wulster-Radcliffe MC, Hensley EL, Cowardin EM, Seals RC and Lewis GS. Oxytocin induced cervical dilation and cervical manipulation in sheep: effect on laparoscopic artificial insemination. J Anim Sci. 2001; 79: 568-573.
15. Velle W, Amudal J and Lyngset O. Hormonal synchronization of estrus in the goat in connection with artificial Insemination. Nord Vet Med. 1964; 16: 828-835.
١٦. كاشف الغطاء، حسن فلاح حسن. دراسة تأثير التجميد للسائل المنوي والمقارنة ما بين التلقيح الصناعي و الطبيعي والمعاملة الهرمونية في نسب الإخصاب للمعز المحلي الأسود. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد، بغداد، ٢٠٠٣.
17. Petcu D, Scheul V and loneseu F. Studies on estrus synchronization in sheep. Anim Breed Abstra. 1987; 48: 164–179.
18. Strmšnik L, Pogačnik M, Čebulj N and Kosec M. Examination of oestrus cycle and early pregnancy in sheep using trans rectal ultrasonoggraghy. Solv Vet Res. 2002; 39: 47-58.
19. Deligiannis C, Valasi I, Rekkas CA, Gouias P, Theodosiadou E, Lainas T and Amiridis CS. Synchronization of ovulation and fixed