

التطبيقات المستخدمة في توحيد الشبق في الحيوانات المجترة: مراجعة مقال

مهند عامر شريف¹ ايمن هاشم عيسى² أسامة أنور سعيد^{3*}

¹قسم شؤون الاقسام الداخلية _ رئاسة الجامعة _ جامعة الانبار

²قسم القانون _ كلية القانون والعلوم السياسية _ جامعة الانبار

³قسم الإنتاج الحيواني _ كلية الزراعة _ جامعة الانبار

*المراسلة الى: أسامة أنور سعيد، قسم الإنتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة الانبار، الرمادي، العراق.

البريد الإلكتروني: osama_anwr85@uoanbar.edu.iq

Article info

Received: 2023-10-03
Accepted: 2023-11-06
Published: 2023-12-31

DOI-Crossref:
10.32649/ajas.2024.145165.1102

Cite as:
Shareef, M. A., A. H. Essa, and O. A. Saeed. (2023). Estrus synchronization applications utilized in ruminant animals: a review. Anbar Journal of Agricultural Sciences, 21(2): 419-427.

©Authors, 2023, College of Agriculture, University of Anbar. This is an open-access article under the CC BY 4.0 license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



Review Article

الخلاصة

تتوفر عدد من برامج توحيد الشبق في الماشية بناءً على استخدام الهرمونات المختلفة مثل البروجسترون والبروستاكلاندين $PGF2\alpha$ ومجموعاتها المختلفة مع هرمونات أخرى مثل هرمون الاستروجين GnRH. وينبغي أن يتم اختيار بروتوكول توحيد الشبق المناسب على أساس الامكانية الإدارية والنتائج المتوقعة. ان هناك إمكانية في تحقيق توحيد الشبق عن طريق حقن البروستاكلاندين $PGF2\alpha$ لوحده ولكن ذلك يحتاج إلى الكشف المناسب عن حالة المبيض خصوصاً في الأبقار حيث أن البروستاكلاندين $PGF2\alpha$ يكون نشطاً فقط في الجسم الأصفر خلال الفترة ما بين 8 إلى 17 يوماً من دورة الشبق. قد يقلل البروجسترون من نسبة الخصوبة بحوالي 14% ولكن التعرض للبروجسترون لفترة قصيرة (أقل من 14 يوماً) أيضاً يكون مفيداً بصورة أكبر. تعد إضافة GnRH في برنامج التزامن القائم على البروجسترون أو البروستاكلاندين مفيداً لمزيد من التزامن في مرحلة الشبق حيث قد يكون GnRH مفيداً لمزامنة دورة الشبق في الحيوانات المجترة وخصوصاً بعد الولادة. ان توفر الطرق الجديدة لمزامنة الشبق التي يسبق فيها بروتوكول GnRH مع مزامنة البروجسترون أكثر فعالية للشبق مع خصوبة عالية. ويمكن الاستنتاج ان أفضل وسيلة في الحصول على نسب جيدة في مزامنة الشبق هي استخدام هرمون البروجسترون في تلك البروتوكولات.

كلمات مفتاحية: الاسفنجيات المهبلية، الهرمونات، النعاج، الأبقار، الماعز.

ESTRUS SYNCHRONIZATION APPLICATIONS UTILIZED IN RUMINANT ANIMALS: A REVIEW

M. A. Shareef¹ A. H. Essa² O. A. Saeed*³

¹Department of Accommodation Affairs– headquarter- University of Anbar

²Department of Law- College of Law and Political Sciences- University of Anbar

³Department of Animal Production- College of Agriculture- University of Anbar

*Correspondence to: O. A. Saeed, Department of Animal Production, College of Agriculture, University of Anbar, Ramadi, Iraq.

Email: osama_anwr85@uoanbar.edu.iq

Abstract

Several estrus synchronization programs for cattle utilize a variety of hormones, including progesterone, prostaglandin PGF_{2α}, estrogen, and GnRH, either individually or in combination. The selection of the suitable estrus synchronization protocol should be based on the practicality of implementation and anticipated outcomes. It may be feasible to synchronize the estrus cycle by administering prostaglandin F_{2α} alone. However, it is crucial to thoroughly examine the ovaries, particularly in cows, as prostaglandin PGF_{2α} only affects the corpus Luteum during the 8-17 days of the estrus cycle. Progesterone has the potential to decrease fertility by approximately 14%. However, when exposed to progesterone for a duration of less than 14 days, it can also have more advantageous effects. Incorporating GnRH into a synchronization program that is already based on progesterone or prostaglandin helps to further enhance the synchronization of the estrus phase. GnRH is believed to aid in the coordination of the estrous cycle in ruminants, particularly following parturition. For optimal fertility during the estrus period, the utilization of novel synchronization techniques that prioritize the administration of the GnRH protocol is more advantageous. The most effective approach to achieve optimal rates of estrus synchronization is to incorporate the hormone progesterone into these protocols.

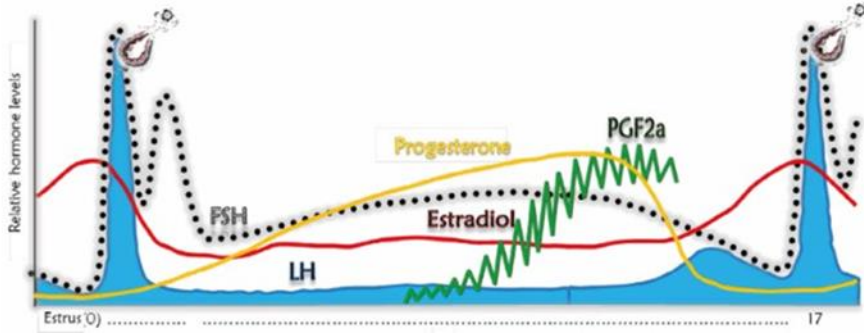
Keywords: Vaginal sponges, Hormones, Ewes, Cattle, Goats.

المقدمة

يعد فشل الإخصاب والهلاك الجنيني المبكر مصدرًا رئيسيًا للخسارة الاقتصادية في صناعة اللحوم وإنتاج الحليب للأبقار والاعنام والماعز. إذ يمكن منح الحيوان فرصة إضافية للحمل خلال موسم التكاثر باستخدام تقنية توحيد الشبق. إن توحيد الشبق يمكن تعريفه ببساطة هو التلاعب بالدورة الهرمونية من خلال التغذية الراجعة الايجابية والسلبية للهرمونات التناسلية من خلال ظهور الشبق لجميع الاناث في نفس الوقت تقريباً تحدث دورة الشبق شهرياً خلال 21 يوماً في الابقار والجاموس و17 يوماً في الاعنام. أن توحيد الشبق يعمل على تحسين نسبة الخصوبة والايخصاب والحمل، من خلال معرفة وقت الاباضة بعد حدوث الشبق اذ يتم الاعتماد على تقنية التلقيح الاصطناعي التي تؤدي الى تقليل المدة ما بين الولادتين فضلا عن سهولة العمليات

الادارية مثل توحيد موعد الولادات والفظام وتسمين وتسويق الحملان والعجول. تتمتع بعض بروتوكولات توحيد الشبق بالقدرة على حث الاناث على بدء دورات شبق وتقصير مدة ما بعد الولادة. بالإضافة إلى ذلك، تسمح بعض بروتوكولات توحيد الشبق الى اجراء التلقيح في الوقت المناسب والتقليل أو إلغاء عملية كشف الشبق او استخدام الذكور الكشافة (6، 10 و33). ان دورة الشبق هي المدة الزمنية الواقعة بين ظهور علامات الشبق الأول وظهور علامات الشبق الذي يليه، غالبا ما تكون كل 21 يوم في الابقار، 14 – 19 يوم بمعدل 17 يوم في الاغنام اما في الماعز فتكون من 18 – 24 يوم بمعدل 21 يوم، تقسم دورة الشبق الى طورين رئيسيين هما الطور الحويصلي والطور اللوتيني او الطور الأصفرى (1، 6 و30). يمكن تقسيم دورة الشبق الى أربع فترات 1- فترة الشبق: وهي الفترة التي تكون فيه الاناث مستعدة للتزاوج الطبيعي مع الذكور اذ تختلف طول فترة الشبق من حيوان الى اخر فتكون غالبا 12-18 ساعة في الابقار، 24-36 ساعة في النعاج و30-40 ساعة في الماعز. تحدث الاباضة بعد 10 -12 ساعة في الابقار من نهاية الشبق اما في النعاج فتكون في وسط ونهاية فترة الشبق بينما تحدث الاباضة بعد ساعات قليلة من انتهاء الشبق في الماعز.

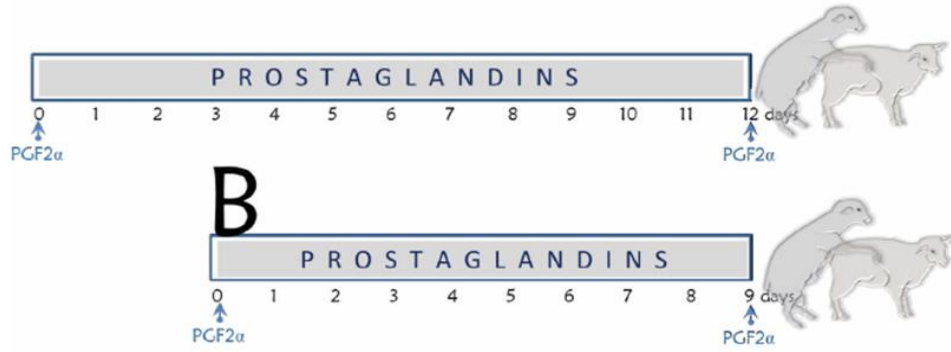
2- فترة ما بعد الشبق: تعتبر هذه الفترة فترة تكوين الاجسام الصفراء اذ تمتد حوالي 3 ايام بعد فترة الشبق ويحدث ايضا في هذه المرحلة ظاهرة النزف بسبب التركيز العالي لهرمون الاستروجين الذي يزيد من وعائية بطانة الرحم الداخلية وهذه الوعائية تصل الى ذروتها عند اليوم الاول من انتهاء الشبق وعند انخفاض مستوى هرمون الاستروجين فإن البعض من هذه الاوعية الدموية الشعرية سوف تتمزق وتؤدي الى فقدان كميات دم قليلة التي تظهر على شكل بقع صغيرة من الدم على الذيل. 3- فترة انتهاء الشبق: وهي الفترة التي يكون فيها الجسم الاصفر في كامل فعاليته تبدأ هذا الفترة في الابقار في اليوم الخامس من بداية دورة الشبق عندما يبدأ الارتفاع في مستوى تركيز هرمون البروجستيرون وتنتهي هذه الفترة عند اضمحلال الجسم الاصفر في اليوم 15-16. اما في النعاج فان هذه الفترة تمتد من 4 - 15 يوم ويطلق على هذه الفترة مرحلة تهيئة الرحم للحمل. 4- فترة ما قبل الشبق: تبدأ هذه المرحلة بعد اضمحلال الجسم الأصفر وانخفاض مستوى تركيز هرمون البروجستيرون اذ تمتد هذه الفترة حتى بداية الشبق وتصاحب هذه الفترة النمو الحويصلي، وعند نهاية هذه الفترة يبدأ تأثير هرمون الاستروجين اذ تعمل السيطرة الهرمونية على اظهار سلوك الشبق كما مبين في (شكل 1) (11، 21، 23 و38). ونظرا لقلة المعلومات المتوفرة في النظر عن آليات تطبيق توحيد الشبق، هدفت هذه الدراسة لمعرفة برامج توحيد الشبق الأكثر شيوعاً وتطبيقها على الحيوانات المجترة في العراق.



شكل 1 السيطرة الهرمونية لإظهار الشبق في الأغنام.

Figure 1 Hormonal control of estrus in sheep. The ewe's period lasts from 4 to 15 days and is referred to as the uterine preparation stage for pregnancy. 4: The pre-estrus phase: This phase commences following the disintegration of the corpus Luteum and the decline in progesterone hormone levels. This period continues until the onset of estrus. During this period, there is an increase in vesicular growth. At the end of this period, the influence of estrogen initiates hormonal control, which manifests as estrus behavior (Figure 1).

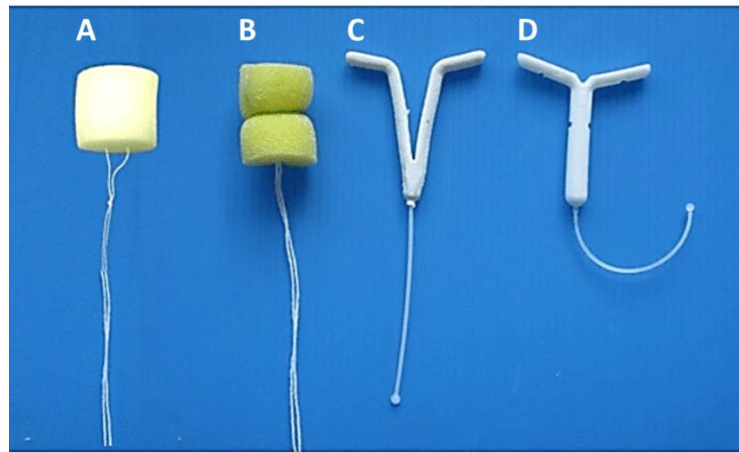
1. المعاملة بهرمون البروستوكلاندين (α PGF2): يصنف هرمون البروستوكلاندين من الهرمونات الدهنية يتم تكوينه من حامض الأركيدونيك اذ يتم انتاجه في جميع انحاء الجسم في الانسجة والأعضاء وبطانة الرحم الداخلية، يعمل هرمون البروستوكلاندين على تحليل الجسم الأصفر وله عدة وظائف أخرى مثل تقلصات الرحم وتقلص العضلات الملساء وتوسع وانقباض الاوعية الدموية وله دور أيضا في الاستجابة المناعية والخلوية، يتم معاملة النعاج بهرمون البروستوكلاندين لغرض توحيد الشبق اذ يتحلل الجسم الأصفر بعد 5 أيام من الحقن وبالتالي يبدأ الانخفاض في مستوى تركيز هرمون البروجستيرون الذي يتم انتاجه من الجسم الأصفر مما يؤدي الى بدأ دورة الشبق وظهور علامات الشبق بعد 36-144 ساعة بعد المعاملة بهرمون البروستوكلاندين (14، 30 و36)، كما اظهر نسبة النعاج الشبقية كانت 100% بعد معاملتها بجرعتين من هرمون البروستوكلاندين (شكل 2). تتم المعاملة ب 125 ملغم من الكلوبروستينول (أحد نظائر او مشتقات البروستوكلاندين) او 15 ملغ من α PGF2 الطبيعي. اما في الابقار فيتم معاملتها بجرعة واحدة من هرمون البروستوكلاندين ويتم تلقيحها بعد ظهور علامات الشبق، في حين يتم معاملة الابقار التي تمر بدورة شبق غير منتظمة بجرعتين من هرمون البروستوكلاندين خلال فترة 10-14 يوم (5 و7). بينما أشار (12، 13 و25) الى معاملة الأغنام والماعز بالحقن العضلي بهرمون البروستوكلاندين او نظائره الاصطناعية ادى الى حدوث الشبق بعد 11-13 يوم نتيجة لاضمحلال الجسم الأصفر وبداية دورة تناسلية جديدة. في حين أشار (17 و19) الى معاملة الابقار والبروستوكلاندين او أحد نظائره خلال المرحلة الأصفرية من 5-17 يوم قبل الشبق أدى الى حدوث دورة شبق جديدة وظهور علامات وسلوكيات الشبق بعد 5-9 يوم. بينما ذكر (14، 18 و31) الى ان معاملة الابقار بهرمون البروستوكلاندين خلال المرحلة الأصفرية (اللوتينية) المتأخرة 10-17 يوم بعد الشبق أدى الى حدوث علامات الشبق بعد 5-9 يوم من تاريخ المعاملة وهذه النتائج كانت متفقة مع (16 و41).



شكل 2 توحيد الشبق بتطبيق برنامج المعاملة بهرمون البروستوكلاندين للنعاج.

Figure 2 Synchronization of estrus by applying the prostaglandin treatment program for ewes. Additionally, the study demonstrated that the proportion of ewes in estrus reached 100% following the administration of two doses of the hormone prostaglandin (Figure 2).

2. المعاملة بهرمون البروجستيرون: البروجستيرون هو هرمون ستيرويدي يتألف من 21 ذرة كربون يفرز من قبل الخلايا الصفراء للجسم الأصفر والمشيمة يعمل على ادامة الحمل من خلال تهيئة بطانة الرحم الداخلية للانغراس وزيادة نشاط افرازات غدد بطانة الرحم الداخلية، كما يعمل بالتآزر مع هرمون الاستروجين لإظهار سلوك الشبق، وله دور مهم في تطور الغدة اللبنية من خلال نمو تطور الانسجة الافرازية الحويصلية (8، 35 و42). يمكن إعطاء البروجسترون أو المركبات البروجستيرونية النشطة عن طريق الفم أو في العضل أو تحت الجلد أو داخل المهبل شكل 3. كما أظهرت الدراسات التي أجريت على النعاج التي تحتوي على المركبات البروجستيرونية النشطة ولأكثرها شيوعا واستعمالا هي FGA (أسيئات الفلوروجيستون fluorogestone acetate) و MAP (أسيئات ميدروكسي بروجستيرون medroxyprogesterone acetate) كفاءة عالية. هنالك العديد من الاستعمالات لهرمون البروجستيرون في تطبيق تقنية توحيد الشبق وسيتم التركيز في هذه الدراسة على الاستعمالات الأكثر شيوعا والاسهل تطبيقا والاقبل سعرا للمربي في العراق.



شكل 3 المعاملة بهرمون البروجستيرون.

A و B: الاسفنجات المهبلية، C: DICO، D: السيدر: CIDR

Figure 3 Treatment with progesterone. A and B: vaginal sponges, C: DICO, D: CIDR Administering progesterone or progesterogenic compounds via oral, intramuscular, subcutaneous, or intravaginal routes.

2. 1. الحقن بهرمون البروجستيرون: يعتمد تطبيق بروتوكول توحيد الشبق وتوحيد الاباضة بصورة عامة على المعاملة بهرمون البروجستيرون، فمنذ خمسينيات القرن الماضي تم تطبيق العديد من المواد البروجستينية المختلف ودراسة ومراقبة فعليتها في اظهار سلوك الشبق. اشار (28) الى ان حقن النعاج ب 37.5، 25 و12.5 ملغ من هرمون البروجستيرون تأزرا مع $7.5 \mu\text{g}$ من نظائر محرضات القند (Alarelin acetate : GnRH)، اظهرت النتائج الى عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) بين المعاملات في حدوث الشبق، بينما تفوقت المعاملة الثانية معنويا ($P > 0.05$) في معدل الولادات 66.7% مقارنة مع مجموعة السيطرة 40%. بينما اشار (24) الى امكانية المعاملة بهرمون البروجستيرون بالتأزر مع الهرمون المحرض للقند خلال معاملتين قصيرة وطويلة، اذ تكون فترة المعاملة (4-9 يوم) و14 يوم على التوالي.

2. 2. الاسفنجات المهبلية المشبعة بهرمون البروجستيرون: تصل المركبات البروجسترونية النشطة إلى أقصى تركيز لها بعد 48 ساعة من الإدخال المهبلي للإسفنجة في النعاج ويبدأ تركيز البروجستيرون بالانخفاض تدريجيا لغاية سحب الاسفنجات. اشار (39) الى ان معاملة نعاج المايرنو بالإسفنجات المهبلية المشبعة بهرمون البروجستيرون بتركيز 40، 50 و60 ملغم MPA خلال فترتين قصيرة (7 يوم) وطويلة (12 يوم) اذ استجابت النعاج الى تركيز 40 ملغم. في حين ذكر (37) ان معاملة الماعز بالإسفنجات المهبلية ادى الى حدوث الشبق بنسبة 100%. في حين لاحظ (9) ان معاملة النعاج بالإسفنجات المهبلية بتركيز 500 ملغم لمدة 12 يوم ادى الى ظهور الشبق بنسبة 94%. في حين ذكر (20) ان معاملة النعاج بالإسفنجات المهبلية المشبعة ب 20 و40 ملغم وتقليل فترة المعاملة من 12 الى 6 يوم لم يؤثر سلبا على تطور الجريب وعملية الاباضة عند معاملة الاناث داخل الموسم التناسلي.

2. 3. السيدر (Controlled Internal Drug-Releasing, CIDR): السيدر (جهاز الاطلاق الداخلي المتحكم في العلاج) هو أداة تشبه حرف T يتكون من قالب من السيليكون يحتوي في اطرافه على مغلف مشبع بالبروجستيرون بتركيز مختلفة حسب الشركة المصنعة يستخدم لأغراض توحيد الشبق وتوحيد الاباضة (4). ذكر (32) ان تطبيق بروتوكول السيدر أدى الى انخفاض في إفرازات والتصاقات من الغشاء المخاطي المهبلي للنعاج مقارنة مع مجموعة الاسفنجات المهبلية. في حين لاحظ (4) بعدم وجود اختلافات معنوية في معدل الشبق، نسبة التوائم، عدد المواليد في البطن الواحدة، نسبة الخصوبة وبقاء المواليد على قيد الحياة بين النعاج المعاملة بالإسفنجات المهبلية والسيدر خلال فترت المعاملة 5، 9 و13 يوم. بين (34) ان معاملة النعاج في شهر 12 (خلال الموسم التناسلي) و شهر 4 (خارج الموسم التناسلي) اذ تم معاملة المجموعة الأولى بالسيدر المشبع ب 3.5 غم من هرمون البروجستيرون لمدة 5 أيام ثم سحب بعد اليوم الخامس والمعاملة بحقن داخل العضلة جرعة واحدة 400 وحده دوليه من هرمون eCG، اما المجموعة الثانية فقد تم عملت بالسيدر المشبع ب 3.5 غم من هرمون البروجستيرون لمدة 5 أيام ثم سحب بعد اليوم الخامس والمعاملة بحقن داخل العضلة 50 ميكروغرام العضلة جرعة واحدة من هرمون GnRH، في حين تم معاملة المجموعة الثالثة بالسيدر المشبع ب 3.5 غم من هرمون البروجستيرون لمدة 5 أيام ثم سحب بعد اليوم الخامس والمعاملة بحقن داخل العضلة

50 ميكروغرام العضلة بجرعتين جرعة هرمون GnRH الأولى في الايوم الأول من ادخال السيدر والثانية عند سحب السيدر، أظهرت النتائج بعدم وجود اختلافات بين المعاملات في سلوك الشبق، حدوث الاباضة، عدد الاجسام الصفراء ومستوى تركيز هرمون البروجستيرون خلال او خارج الموسم التناسلي.

3. غرز الميلاتونين: يعلب طول امددة الضوئية دورًا رئيسيًا في التحكم بموسمية التناسل في المجترات خصوصا منها الاغنام. حيث ان الإشارات الضوئية المستقبلية من الحيوان تنتقل إلى محور الغدد الصماء العصبي التناسلي عن طريق إفراز الميلاتونين من الغدة الصنوبرية والتي تؤثر بالنتيجة على الساعة البيولوجية في الحيوان (27). في الأغنام والماعز يكون مستوى إفراز الميلاتونين في الدم منخفض خلال فترة النهار ومرتفعة في اثناء الليل في حين لوحظ في الجاموس انها تظهر شبقا خلال فترة النهار القصيرة أكبر بكثير من تلك التي تظهر خلال فترة النهار الطويل، مما يشير إلى أن انخفاض ضوء النهار هو عامل محدد أقوى لاستئناف نشاط المبيض (26). يصنع الميلاتونين بواسطة الغدة الصنوبرية خلال المرحلة المظلمة من الفترة الضوئية، ويكون دور الميلاتونين في نقل المعلومات الضوئية لمزامنة فيسيولوجيا الخلية خلال فترة الظلام (23). يؤدي التأثير الضوئي الذي يحفزه الميلاتونين في منطقة ما تحت المهاد (Premamillar hypothalamus, PMH) عبر مستقبل الميلاتونين من النوع 1 (Type 1 melatonin receptor, MT1) على إفراز البروستاكلاندين (GnRH) (40). يفرز الميلاتونين بشكل طبيعي أثناء الليل ولكن يمكن استخدام غرز الميلاتونين تحت الجلد لزيادة التركيز على مدار 24 ساعة مما يؤدي إلى استجابة تشبه استجابة النهار القصير دون التأثير على إفرازه الداخلي (29). ان استخدام هرمون الميلاتونين أدى الى حدوث الشبق داخل الموسم التناسلي النعاج والتي أدت الى الاستفاداة من استطالة الموسم التناسلي بما يزيد عن 60 يوماً. في دراسة أجريت خلال شهر اذار في استخدام غرز الميلاتونين على الأغنام المحلية العراقية لوحظ ان هناك زيادة معنوية في نسبة الولادات وعدد المواليد الناتجة (3). وفي دراسة أخرى وجدت ان استخدام غرز الميلاتونين والتقنين الغذائي أدى الى تحسين حالة الاكسدة وعدم التأثير على المتغيرات الدمية الأخرى في الحملان العراقية والتي تنعكس على الحالة التناسلية بشكل مباشر (2).

الاستنتاجات: نستنتج من الدراسة ان تطبيق بروتوكول هرمون البروجستيرون كان الأفضل من بين التطبيقات الأخرى المستخدمة في التناسل خصوصا الأغنام والتي أدت بدورها الى تحسين في نسبة وتوحيد الشبق من خلال تقليل مدة المعاملة 5-7 يوم مقارنة مع 9-13 يوم.

المصادر

1. Abrahamian, P., and Kantharajah, A. (2011). Effect of vitamins on in vitro organogenesis of plant. American journal of plant Sciences, 2(05): 669-674.
2. Antonietta, G. M., Emanuele, P., and Alvaro, S. (1998). Effects of encapsulation on Citrus reticulata Blanco somatic embryo conversion. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 55: 235-238.

3. Ara, H., Jaiswal, U., and Jaiswal, V. S. (2000). Synthetic seed: prospects and limitations. *Current science*, 78(12): 1438-1444.
4. Asmah, H. N., Hasnida, H. N., Zaimah, N. N., Noraliza, A., and Salmi, N. N. (2011). Synthetic seed technology for encapsulation and regrowth of in vitro-derived *Acacia* hybrid shoot and axillary buds. *African Journal of Biotechnology*, 10(40): 7820-7824.
5. Bajaj, Y. P. S. (1995). *Somatic Embryogenesis and Synthetic Seed II. Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Berlin, Springer-Verlag, 473.
6. Bandyopadhyay, S., and Hamill, J. D. (2000). Ultrastructural studies of somatic embryos of *Eucalyptus nitens* and comparisons with zygotic embryos found in mature seeds. *Annals of Botany*, 86(2): 237-244.
7. Bekheet, S. A. (2006). A synthetic seed method through encapsulation of in vitro proliferated bulblets of garlic (*Allium sativum* L.). *Arab journal of biotechnology*, 9(3): 415-426.
8. Dubey, R. C. (2014). *Advanced biotechnology*, S. Chand and company LTD. Ram Nagar, New Delhi, India, 114.
9. Fujii, J. A., Slade, D., and Redenbaugh, K. (1989). Maturation and greenhouse planting of alfalfa artificial seeds. *In vitro cellular and developmental biology*, 25: 1179-1182.
10. Ganapathi, T. R., Suprasanna, P., Bapat, V. A., and Rao, P. S. (1992). Propagation of banana through encapsulated shoot tips. *Plant Cell Reports*, 11: 571-575.
11. George, E. F., Hall, M. A., and De Klerk, G. J. (2008). *Plant propagation by tissue culture 3rd Edition*. The Netherland, The Back Ground Springer.
12. Helal, N. A. S. (2011). The green revolution via synthetic (artificial) seeds: a review. *Research journal of agriculture and biological sciences*, 7(6): 464-477.
13. Huda, A. K. M. N., Bari, M. A., and Rahman, M. (2009). Asexual propagation of eggplant (*Solanum melongena* L.) through encapsulated axillary buds. *Plant Tissue Culture and Biotechnology*, 19(2): 263-288.
14. Kitto, S. L., and Janick, J. (1982). Polyox as an artificial seed coat for asexual embryos. *In HortScience*, 17(3): 488-488.
15. Kumar, U. (2011). *Synthetic seeds for commercial crop production*. Agrobios (India).
16. Leroy, X. J., Leon, K., Charles, G., and Branchard, M. (2000). Cauliflower somatic embryogenesis and analysis of regenerant stability by ISSRs. *Plant Cell Reports*, 19(11): 1102-1107.
17. Loyola-Vargas, V. M., and Ochoa-Alejo, N. (2012). An introduction to plant cell culture: the future ahead. *Plant cell culture protocols*, 1-8.
18. Magray, M. M., Wani, K. P., Chatto, M. A., and Ummayah, H. M. (2017). Synthetic seed technology. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(11): 662-674.
19. Mariani, T. S., Sasmitamiharja, D., Mienanti, D., Latif, S., Ginting, G., and Miyake, H. (2014). Somatic embryogenesis of oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) for synthetic seed production. *Asian Journal of Applied Sciences*, 2(3): 223-231.

20. Mondal, T. K., Bhattacharya, A., Sood, A., and Ahuja, P. S. (2002). Propagation of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) by shoot proliferation of alginate-encapsulated axillary buds stored at 4 C. *Current Science*, 83(8): 941-944.
21. Murashige, T. (1977). Plant cell and organ cultures as horticultural practices. In *Symposium on Tissue Culture for Horticultural Purposes* 78: 17-30.
22. Murashige, T. (1987). The impact of plant tissue culture on agriculture. *Frontiers of plant tissue culture*, 15-26.
23. Nhut, D. T., Tien, T. N. T., Huong, M. T. N., Hien, N. T. T., Huyen, P. X., Luan, V. Q., and Teixeira da Silva, J. A. (2005). Artificial seeds for propagation and preservation of *Cymbidium* spp. *Propagation of Ornamental Plants*, 5(2): 67-73.
24. Nongdam, P. (2016). Development of synthetic seed technology in plants and its applications: a review. *International Journal of Current Science and Research*, 19(4): 86-101.
25. Pattnaik, S., and Chand, P. K. (2000). Morphogenic response of the alginate-encapsulated axillary buds from in vitro shoot cultures of six mulberries. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 60: 177-185.
26. Ramawat, K. G. (2008). *Plant Biotechnology*. S. Chand and company LTD. Ram Nagar, New Delhi, India, 272.
27. Rao, P. V. L., and Singh, B. (1991). Plantlet regeneration from encapsulated somatic embryos of hybrid *Solanum melongena* L. *Plant Cell Reports*, 10: 7-11.
28. Redenbaugh, K., Nichol, J., Kossler, M. E., and Paasch, B. (1984). Encapsulation of somatic embryos for artificial seed production. *in vitro*, 20(2): 256-257.
29. Saiprasad, G. V. S. (2001). Artificial seeds and their applications. *Resonance*, 6(5): 39-47.
30. Sharma, S., Shahzad, A., and da Silva, J. A. T. (2013). Synseed technology a complete synthesis. *Biotechnology Advances*, 31(2): 186-207.
31. Taha, R. M., Daud, N., Hasbullah, N. A., and Awal, A. (2008). Somatic Embryogenesis and Production of Artificial Seeds in *Saintpaulia ionantha* Wendl. In *VI International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding*, 829: 331-336.
32. Umehara, M., Ikeda, M., and Kamada, H. (2007). Endogenous factors that regulate plant embryogenesis: recent advances. *Japanese Journal of Plant Science*, 1(1): 1-6.