مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۵، شماره ۱، ۱۳۹۹، ۱۱۷-۱۰۹
مقاله پژوهشی

اثرات زمان استفاده از eCG بر کارایی تولیدمثلی میش‌های نژاد شال در روش کوتاه مدت همزمان‌سازی فحلی در فصل تولیدمثلی

حمیدرضا فردوسی، مهدی وجگانی، فرامرز قراگوزلو، مسعود طالب خان گروسی،

امیر نیاسری نسلجی، وحید اکبری نژاد

گروه مامایی و بیماری‌های تولیدمثل، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

10.22059/jvr.2018.264746.2844

تاریخ دریافت: ۱۵ مهر ماه ۱۳۹۸ **تاریخ پذیرش:** ۱ دی ماه ۱۳۹۸

چکیده

زمینهٔ مطالعه: همزمان‌سازی فحلی، ابزاری ارزشمند در مدیریت تولیدمثل میش است.

هدف: هدف از انجام این مطالعه، بررسی کارآیی و بهترین زمان استفاده از eCG در برنامه کوتاه مدت همزمان‌سازی فحلی مبتنی بر GnRH-PGF$_2\alpha$ در فصل تولیدمثل در میش‌های نژاد شال بود.

روش‌کار: ۱۶۰ رأس میش ۶-۲ ساله غیرآبستن انتخاب و به‌صورت تصادفی به ۴ گروه مساوی تقسیم شدند. به همه میش‌ها در روز صفر، ۲۵ میکرو گرم آلارلین استات (آنالوگ GnRH) و در روز پنج، ۷۵ میکرو گرم دی-کلوپروستنول (آنالوگ PGF$_2\alpha$)، تزریق گردید. به گروه اول (شاهد) هورمون دیگری تزریق نشد. گروه‌های دوم تا چهارم به ترتیب ۴۸ ساعت قبل، ۲۴ ساعت قبل و همزمان با تزریق PGF$_2\alpha$، ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG دریافت کردند. میش‌ها تا ۹۶ ساعت پس از تزریق PGF$_2\alpha$، در معرض قوچ‌های بارور قرار گرفتند. غلظت پروژسترون خون پیش از تزریق و ده روز پس از تزریق PGF$_2\alpha$ اندازه‌گیری شد.

نتایج: غلظت پروژسترون پیش از تزریق PGF$_2\alpha$ تفاوتی بین گروه‌های آزمایشی مختلف نشان نداد (P>۰/۰۵)، ولی غلظت آن ۱۰ روز پس از تزریق PGF$_2\alpha$، در گروه‌های ۲ و ۳ نسبت به گروه‌های ۱ و ۴ بالاتر بود (P<۰/۰۵). درصد بروز فحلی در پی استفاده همزمان eCG و PGF$_2\alpha$ در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش یافت (P<۰/۰۵). درصد بروز فحلی، طی روز اول پس از تزریق PGF$_2\alpha$ در گروه‌های دوم و سوم به طور معنی‌داری از گروه اول و چهارم بیشتر بود (P<۰/۰۵). همچنین اختلاف معنی‌داری بین درصد بروز فحلی طی روز دوم، بین گروه‌های اول و چهارم و گروه‌های دوم و سوم مشاهده گردید (P<۰/۰۵). میانگین زمان شروع فحلی پس از تزریق PGF$_2\alpha$ به‌طور معنی‌داری در گروه‌های دوم و سوم کمتر از گروه اول و چهارم بود (P<۰/۰۵). نرخ آبستنی، میزان برهزایی، چندقلوزایی و نرخ تزاید گله اختلاف معنی‌داری را در بین گروه‌های آزمایشی نشان نمی‌دادند (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری نهایی: استفاده از eCG در زمان‌های مختلف (۲۴ و ۴۸ ساعت قبل و همزمان با PGF$_2\alpha$)، در روش کوتاه مدت همزمان‌سازی فحلی مبتنی بر GnRH-PGF$_2\alpha$ در فصل جفت‌گیری، می‌تواند بر روی شاخص‌های فحلی موثر باشد. با توجه به تنوع توده‌های گوسفند کشور، استفاده همزمان eCG و PGF$_2\alpha$ در روش کوتاه مدت، ممکن است نتایج قابل قبولی داشته باشد.

کلمات کلیدی: همزمان‌سازی فحلی، eCG، فصل تولیدمثل، میش، PGF2α

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: فرامرز قراگوزلو، گروه مامایی و بیماری‌های تولیدمثل، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

پست الکترونیکی: *faramarz@ut.ac.ir*

مقدمه

در اکثر نقاط دنیا، تولید گوشت، شیر و پشم هدف اصلی پرورش گوسفند بوده و بنابراین واضح است که افزایش بازده تولیدمثلی یکی از مهم‌ترین عوامل سودآوری و پایداری در این صنعت به‌شمار می‌رود (۵،۱۶،۲۴،۳۵). از سوی دیگر، فصلی‌بودن تولیدمثل در اغلب نژادهای گوسفند (۱،۱۱،۲۳،۲۶) سبب تنها یک زایش در سال می‌گردد (۳۱). فعالیت تولیدمثلی میش که با تغییرات رفتاری و هورمونی و نیز الگوهای

تخمک‌گذاری مشخص می‌گردد، اساساً تحت تأثیر عوامل متعدد فصلی نظیر طول دوره نوری، دما و تغذیه قرار دارد (۱۹).

تولیدمثل در نشخوارکنندگان کوچک با کمک روش‌های متعددی از جمله استفاده از هورمون‌ها، تنظیم نوردهی و حضور قوچ قابل کنترل است (۲). مدیریت چرخه‌های تولیدمثلی با استفاده از هورمون‌ها، امکان تولیدمثل کنترل‌شده دام‌ها را فراهم کرده و بازده تولیدمثلی گله را افزایش می‌دهد (۳۰). به‌این ترتیب، روش‌های همزمان‌سازی فحلی به‌عنوان ابزاری ارزشمند و با هدف افزایش نرخ بره‌زایی، ایجاد بره‌های هم‌سن، تداوم تولید بدون توجه به فصل و استفاده بیشتر از پتانسیل تولیدی گوسفندان، به‌کار رفته‌اند (۸،۱۵،۳۳). به علاوه، همزمان‌سازی فحلی سبب استفاده بهینه از نیروی کارگری، تجهیزات و همچنین تنظیم عرضه و تقاضا متناسب با نیاز بازار می‌گردد (۲،۱۵،۲۰،۳۵).

پژوهش‌ها نشان می‌دهند که استفاده تنها از پروژستاژن‌ها یا پروستاگلندین ($PGF_2\alpha$) در فصل تولیدمثلی به منظور همزمان‌سازی فحلی، شاید نتواند نتایج چندان مطلوبی را به‌همراه داشته باشد (۲۶). روش‌های مبتنی بر پروژستاژن‌های داخل واژنی، عموما زمان‌بر بوده (۲۲) و می‌توانند سبب بروز مشکلاتی نظیر التهاب واژن گردند (۴). استفاده طولانی مدت از پروژستاژن‌ها، با کاهش کیفیت تخمک، می‌تواند به کاهش نرخ باروری و اختلال در تکامل رویان منجر شود (۹). همچنین، پروژستاژن‌ها می‌توانند سبب بروز تغییراتی در انتقال و بقای اسپرم در دستگاه تناسلی دام ماده گردند (۱۰،۲۱). استفاده تنها از $PGF_2\alpha$ در فصل تولیدمثل نیز به دلیل وابسته بودن به مراحل رشد فولیکول در طول چرخه فحلی، همزمانی مطلوبی ایجاد نمی‌کند (۲۲). بنابراین، دو تزریق $PGF_2\alpha$ به فواصل ۷ الی ۱۶ روز در میش مورد استفاده قرار گرفته و مطالعات نشان داده‌اند که در فواصل کوتاه‌تر، همزمانی‌فحلی و تخمک‌گذاری بهبود یافته (۹)، ولی میزان باروری در فواصل مختلف تزریق $PGF_2\alpha$، متفاوت می‌باشد (۴،۱۰،۲۱). به منظور تنظیم فرآیند رشد فولیکولی، پیش از تزریق $PGF_2\alpha$ در برنامه‌های کوتاه مدت (۵ روزه) از GnRH در ابتدای برنامه استفاده شده‌است (۴،۶). در مقایسه‌های انجام شده در فصل تولیدمثل، نشان داده شد که روش کوتاه مدت مبتنی بر GnRH-$PGF_2\alpha$ می‌تواند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای روش‌های معمول همزمان‌سازی فحلی در نظر گرفته شود (۴،۶،۲۲).

استفاده از گنادوتروپین‌ها نظیر گنادوتروپین کوریونیک اسبی (eCG) در برنامه‌های همزمان‌سازی فحلی، به‌واسطه افزایش تعداد فولیکول‌هایی با قطر بیش از ۲ میلی‌متر و جلوگیری از بروز تحلیل طبیعی فولیکول (۳)، می‌تواند علاوه بر بهبود بروز علائم فحلی، بر روی رشد فولیکول‌ها، نرخ تخمک‌گذاری و نرخ آبستنی اثرات مثبتی داشته باشد (۷،۱۴،۱۸،۳۲،۳۴،۳۷). بر این اساس، به‌کارگیری eCG در خاتمه برنامه‌های همزمان‌سازی فحلی مبتنی بر پروژستاژن‌ها، جزو روش‌های متداول به شمار می‌رود (۱۳،۱۷،۳۷). در خصوص استفاده از eCG در برنامه‌های کوتاه مدت (۵ روزه) همزمانی فحلی مبتنی بر GnRH-$PGF_2\alpha$ تنها یک مطالعه صورت گرفته و طی آن نشان داده شد که استفاده از ۲۰۰ واحد بین‌المللی آن همزمان با تزریق $PGF_2\alpha$ و یا همزمان با خاتمه درمان ۱۴ روزه با پروژستاژن داخل واژنی، تفاوت معنی‌داری در نرخ باروری و تزاید گله ایجاد نمی‌نماید (۲۲). از مشکلات این مطالعه تعداد کم نمونه (۱۲ رأس میش)، عدم وجود گروه شاهد که eCG دریافت نکرده باشد و نیز پایین بودن میزان eCG استفاده شده بود. به دلیل این که با افزایش مقادیر eCG در زمان خروج منبع پروژسترونی، میزان بره‌زایی (۱۵،۲۵) و دوقلوزایی (۱۵،۲۵،۲۷،۳۴) افزایش پیدا می‌نماید، در مطالعه حاضر از مقدار ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG در گروه‌های درمانی استفاده شده است. همچنین در برخی مطالعات، گزارش گردیده که تزریق eCG، ۲۴ یا ۴۸ ساعت پیش از خارج کردن منبع پروژسترونی، سبب افزایش درصد میش‌های فحل و کوتاه‌کردن فاصله بین خارج کردن منبع پروژسترون تا فحلی، نسبت به گروهی شده است که eCG را در زمان خارج کردن آن دریافت داشته‌اند؛ ولی این درمان اثری بر روی نرخ تخمک‌گذاری، نرخ بره‌زایی، نرخ باروری و تزاید نداشته است (۳،۲۸،۳۲). البته در پژوهشی دیگر، نشان داده شد که تزریق eCG، ۲۴ ساعت قبل و یا همزمان با خارج کردن منبع پروژسترونی، سبب افزایش نرخ بره‌زایی و دو یا چند قلوزایی می‌گردد (۱۸). از آنجایی که تاکنون پژوهشی در خصوص زمان تزریق eCG نسبت به خاتمه درمان، در برنامه‌های همزمان‌سازی کوتاه مدت فحلی صورت نپذیرفته است، مطالعه حاضر به منظور بررسی کارآیی و تعیین بهترین زمان استفاده از eCG در برنامه کوتاه مدت همزمان‌سازی فحلی مبتنی بر GnRH-$PGF_2\alpha$ در فصل تولیدمثلی در میش نژاد شال، صورت پذیرفت.

مواد و روش کار

موقعیت جغرافیایی و زمان انجام مطالعه: این مطالعه در موسسه تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران واقع در امین آباد شهرری، با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۹ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۴ دقیقه، در مهر و آبان ماه سال ۱۳۹۵ انجام شد.

حیوانات تحت آزمایش: در این پژوهش از ۱۶۰ رأس میش سالم و غیرآبستن ۲ الی ۶ ساله نژاد شال با میانگین وزنی ۹±۵۸

کیلوگرم و امتیاز وضعیت بدنی ۳/۱±۰/۳ (امتیاز ۱ برای میش‌های بسیار لاغر و امتیاز ۵ برای میش‌های بسیار چاق، ۳۶) استفاده شد. میش‌های تحت آزمایش از یک ماه پیش از شروع مطالعه، تحت شرایط یکسان تغذیه‌ای و مدیریتی قرار گرفتند.

گروه‌بندی و روش همزمان‌سازی فحلی: پس از بررسی اولیه، میش‌ها با در نظر گرفتن سن، وزن و امتیاز وضعیت بدنی به صورت تصادفی به چهار گروه آزمایشی مساوی تقسیم گردیدند. در میش‌های چهار گروه آزمایشی، در روز صفر آنالوگ GnRH (۲۵ میکروگرم آلارلین استات، وتارولین، ابوریحان، ایران؛ به صورت عضلانی) و در روز پنج آنالوگ سنتتیک $PGF_{2}\alpha$ (۷۵ میکروگرم دی-کلوپروستنول، وتاگلندین، ابوریحان، ایران؛ به صورت عضلانی) تزریق گردید. به میش‌های گروه اول (شاهد) هورمون دیگری تزریق نشد. در گروه‌های دوم تا چهارم به ترتیب ۴۸ ساعت قبل، ۲۴ ساعت قبل و همزمان با تزریق $PGF_{2}\alpha$، ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG (Gonaser، Hipra، Spain؛ به صورت عضلانی) تزریق گردید (تصویر ۱).

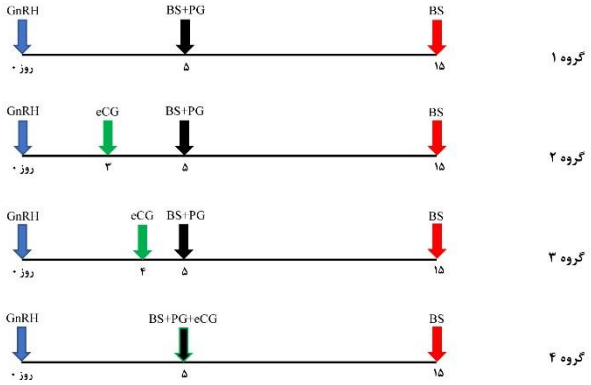
فحل‌یابی و مدیریت جفت‌گیری: فحل‌یابی با استفاده از قوچ‌های تیزر دارای پیش بند و ماده رنگی پیش سینه‌ای، از ۶ ساعت پس از تزریق $PGF_{2}\alpha$ آغاز شد و تا ۹۶ ساعت به صورت مداوم ادامه یافت. به ازای هر هفت رأس میش یک رأس قوچ سالم و بارور برای جفت‌گیری اختصاص داده شد و میش‌هایی که علائم واضح فحلی را نشان می‌دادند هر ۱۲ ساعت تا خاتمه فحلی در معرض این قوچ‌ها قرار داده می‌شدند. پس از پایان دوره ۹۶ ساعته، میش‌ها به طور کامل از قوچ‌ها جدا شدند.

نمونه برداری از خون و سنجش غلظت پروژسترون سرم خون: به منظور ارزیابی غلظت پروژسترون سرم خون، در هر چهار گروه، پیش از تزریق $PGF_{2}\alpha$ (روز ۵) و ۱۰ روز پس از تزریق آن (روز ۱۵)، نمونه خون از ورید وداج در لوله‌های خلاء ۱۰ میلی‌لیتری استریل بدون ماده ضد انعقاد (Sunphoria، Mediplus، China)، اخذ گردید (تصویر ۱). نمونه‌های خون پس از نیم ساعت نگهداری در دمای اتاق، در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. سرم خون پس از جداسازی، به میکروویال‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل و تا زمان سنجش میزان پروژسترون در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. غلظت پروژسترون به کمک کیت الایزا (DRG Instruments GmbH، Germany) اندازه‌گیری شد که قابلیت تشخیص حداقل ۰/۰۴۵ و حداکثر ۴۰ نانوگرم پروژسترون در هر میلی‌لیتر را داشت و ضریب تغییرات Intra-assay و Inter-assay برای آن به ترتیب ۵/۴درصد و ۹/۹۶ درصد بود.

جدول ۱. مقایسه شاخص‌های تولیدمثلی در گروه‌های آزمایشی میش نژاد شال در فصل تولیدمثل که توسط برنامه کوتاه مدت همزمانی فحلی مبتنی بر GnRH-PGF2α مورد ارزیابی قرار گرفتند.

شاخص‌های اندازه‌گیری شده	گروه اول شاهد	گروه دوم eCG، ۴۸ ساعت قبل از $PGF_{2}\alpha$	گروه سوم eCG، ۲۴ ساعت قبل از $PGF_{2}\alpha$	گروه چهارم eCG همزمان با $PGF_{2}\alpha$
تعداد	۴۰	۴۰	۴۰	۴۰
درصد بروز فحلی (تعداد)	(۳۷) ۹۲/۵^{a}	(۳۵) ۸۷/۵^{a}	(۳۷) ۹۲/۵^{a}	(۴۰) ۱۰۰^{b}
درصد بروز فحلی ۲۴ - ۰ ساعت پس از $PGF_{2}\alpha$	۱۵^{a}	۳۷/۵^{b}	۵۵^{b}	۱۷/۵^{a}
درصد بروز فحلی ۴۸-۲۴ ساعت پس از $PGF_{2}\alpha$	۶۷/۵^{a}	۵۰^{b}	۳۷/۵^{b}	۷۷/۵^{a}
بروز فحلی پس از $PGF_{2}\alpha$ [1] (ساعت)	۳۳/۹ ± ۱/۹۹^{a}	۲۴/۹ ± ۱/۷۲^{b}	۲۱/۱ ± ۱/۵۹^{b}	۳۲/۵ ± ۱/۸۵^{a}
درصد آبستنی (تعداد)	(۳۱) ۷۷/۵^{a}	(۲۴) ۶۰^{a}	(۲۶) ۶۵^{a}	(۳۲) ۸۰^{a}
میزان برهزایی (تعداد)	(۲۷) ۶۷/۵^{a}	(۲۰) ۵۰^{a}	(۲۲) ۵۵^{a}	(۲۸) ۷۰^{a}
تعداد بره متولد شده	۴۳	۳۳	۳۷	۵۲
چندقلوزایی (Prolificacy)	۱/۵۹^{a}	۱/۶۵^{a}	۱/۶۸^{a}	۱/۸۶^{a}
میزان تزاید گله (Fecundity)	۱/۰۸^{a}	۰/۸۳^{a}	۰/۹۳^{a}	۱/۳^{a}
غلظت پروژسترون [1] (نانوگرم در میلی‌لیتر)				
روز ۵ آزمایش (پیش از تزریق $PGF_{2}\alpha$)	۳/۹ ± ۰/۳۲^{a}	۳/۹ ± ۰/۹۶^{a}	۲/۵ ± ۰/۳۵^{a}	۳/۳ ± ۰/۳۳^{a}
روز ۱۵ آزمایش (۱۰ روز پس از تزریق $PGF_{2}\alpha$)	۸/۴ ± ۰/۵۷^{a}	۱۳/۴ ± ۱/۵۲^{b}	۱۱/۹ ± ۱/۳۴^{b}	۸/۴ ± ۰/۵۷^{a}

$^{a, b}$ اعداد با حروف متفاوت در هر سطر، اختلاف معنی‌دار با هم دارند ($P<0/05$). [1] Mean±SEM.



تصویر ۱. طرح آزمایشی شامل تزریقات صورت گرفته و خونگیری (Blood sampling) و زمان‌بندی انجام آزمایش در گروه‌های آزمایشی مختلف (۴۰ رأس میش در هر گروه).

تشخیص آبستنی: تشخیص آبستنی از طریق رکتال با استفاده از دستگاه اولتراسوند B-mode (Emperor، V9، China) مجهز به پراب خطی ۷/۵ مگاهرتزی، ۴۰ روز پس از اتمام دوره جفت‌گیری صورت گرفت.

ارزیابی شاخص‌های تولیدمثلی: برای هر گروه آزمایشی شاخص‌های تولیدمثلی شامل نرخ بروز فحلی (تعداد میش‌های فحل نسبت به تعداد کل میش‌ها ضربدر ۱۰۰)، زمان شروع فحلی (فاصله بین تزریق $PGF_2\alpha$ تا بروز اولین رفتارهای فحلی)، نرخ آبستنی (تعداد میش‌های آبستن نسبت به تعداد میش‌هایی که در معرض قوچ قرار گرفته‌اند ضربدر ۱۰۰)، میزان بره‌زایی (تعداد میش‌هایی که زایش کرده‌اند نسبت به تعداد میش‌هایی که در معرض قوچ قرار گرفته‌اند ضربدر ۱۰۰)، چند قلوزایی (تعداد بره متولد شده نسبت به تعداد میش‌هایی که زایمان کرده‌اند) و میزان تزاید گله (تعداد بره متولد شده نسبت به تعداد میش‌هایی که در معرض قوچ قرار گرفته‌اند) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند (۳۶). اطلاعات دارای متغیرهای گسسته با توزیع فراوانی دو جمله‌ای یا پوآسون، نظیر نرخ آبستنی با استفاده از آزمون رگرسیون لوجستیک و اطلاعات دارای متغیرهای پیوسته نظیر فاصله زمانی تا شروع فحلی و میزان پروژسترون به روش GLM و با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۴) بررسی شدند. تفاوت‌ها در سطح کمتر از ۵ درصد معنی‌دار تلقی گردید.

نتایج

ارزیابی نتایج حاصل از اندازه‌گیری غلظت پروژسترون در روزهای ۵ و ۱۵ آزمایش نشان داد که تمامی میش‌ها، دارای جسم زرد فعال و سیکلیک بودند. غلظت پروژسترون در روز ۵ آزمایش تفاوتی بین گروه‌های آزمایش مختلف نشان نداد (جدول ۱؛ $P>۰/۰۵$). غلظت این هورمون در روز ۱۵ آزمایش در گروه‌های ۲ و ۳ آزمایش، تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه‌های ۱ و ۴ نشان داد (جدول ۱؛ $P<۰/۰۵$).

تعداد ۱۴۹ رأس از ۱۶۰ رأس میش مورد آزمایش، در طی دوره مشاهده ۹۶ ساعته پس از تزریق $PGF_2\alpha$، علائم بارز فحلی را نشان دادند، که از این تعداد، ۳۷ (۹۲/۵ درصد)، ۳۵ (۸۷/۵ درصد)، ۳۷ (۹۲/۵ درصد) و ۴۰ (۱۰۰ درصد) رأس به‌ترتیب متعلق به گروه‌های آزمایش اول، دوم، سوم و چهارم بودند (جدول ۱). درصد بروز فحلی در پی استفاده همزمان eCG و $PGF_2\alpha$ در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش یافت (جدول ۱؛ $P<۰/۰۵$). درصد بروز فحلی در میش‌ها، طی روز اول پس از تزریق $PGF_2\alpha$ در گروه‌های دوم (۳۷/۵) و سوم (۵۵) به طور معنی‌داری از گروه اول (۱۵) و چهارم (۱۷/۵) بیشتر بود (جدول ۱؛ $P<۰/۰۵$). همچنین اختلاف معنی‌داری بین درصد بروز فحلی طی روز دوم پس از تزریق $PGF_2\alpha$ بین گروه‌های اول و چهارم (به‌ترتیب ۶۷/۵ و ۷۷/۵) و گروه‌های دوم و سوم (به‌ترتیب ۵۰ و ۳۷/۵) مشاهده گردید (جدول ۱؛ $P<۰/۰۵$). میانگین زمان شروع فحلی پس از تزریق $PGF_2\alpha$ به‌طور معنی‌داری در گروه‌های دوم و سوم کمتر از گروه اول و چهارم بود (جدول ۱؛ $P<۰/۰۵$).

نرخ آبستنی در میش‌های گروه اول تا چهارم به ترتیب ۷۷/۵، ۶۰، ۶۵ و ۸۰ درصد بود که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی را نشان نمی‌داد (جدول ۱؛ $P>۰/۰۵$). در گروه‌های اول تا چهارم، میزان بره‌زایی به‌ترتیب برابر ۶۷/۵، ۵۰، ۵۵ و ۷۰ درصد به‌دست آمد که تفاوت بین آن‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۱؛ $P>۰/۰۵$). با این حال، تفاوت در نرخ آبستنی و میزان بره‌زایی بین گروه‌های ۲ و ۴ به سمت معنی‌دار شدن پیش می‌رفت ($P=۰/۰۷$). چند قلوزایی در گروه اول تا چهارم به‌ترتیب ۱/۵۹، ۱/۶۵، ۱/۶۸ و ۱/۸۶ بود که نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌های آزمایشی نبود (جدول ۱؛ $P>۰/۰۵$). اختلاف بین گروه‌های آزمایشی، علیرغم مشاهده افزایش عددی در نرخ تزاید گله در گروه چهارم، از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۱؛ $P>۰/۰۵$).

بحث

به لحاظ تسهیل در مدیریت تولید مثل گله، استفاده از روش کوتاه مدت همزمان‌سازی فحلی مبتنی بر تزریق GnRH و $PGF_2\alpha$ به‌فاصله ۵ روز، مورد توجه قرار گرفته (۴،۶،۲۱،۲۲)، ولی

تاکنون پژوهشی پیرامون بهترین زمان تجویز eCG و تأثیر آن بر روی بازده تولیدمثلی میش انجام نشده است. در مطالعه حاضر، تأثیر زمان تزریق eCG نسبت به تزریق $PGF_2\alpha$ (همزمان، ۲۴ ساعت قبل و ۴۸ ساعت قبل) در برنامه کوتاه مدت همزمان‌سازی فحلی مبتنی بر $GnRH-PGF_2\alpha$ در فصل تولیدمثلی در میش نژاد شال، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق eCG در زمان‌های مختلف نسبت به تزریق $PGF_2\alpha$، می‌تواند در زمان شروع فحلی، درصد بروز فحلی، تراکم بروز علائم فحلی در زمان‌های مختلف و نیز غلظت پروژسترون سرم خون، تأثیر معنی‌دار داشته باشد.

هدف نهایی در برنامه‌های همزمان‌سازی فحلی مبتنی بر $GnRH-PGF_2\alpha$، همزمان‌کردن مرحله رشد فولیکولی به‌همراه تحلیل همزمان جسم زرد است تا بدین ترتیب، بتوان نتایج بهتری در شاخص‌های تولیدمثلی به‌دست آورد (۴). بسته به مرحله رشد فولیکولی، تجویز GnRH، سبب افزایش LH و القاء تخمک‌گذاری و یا آترزی فولیکول غالب می‌گردد که متعاقب آن یک موج فولیکولی جدید ایجاد می‌شود (۲۲،۲۶). در پی آن، یک فولیکول غالب جدید دارای اووسیت با کیفیت مناسب (۲۲) و قابلیت باروری بیشتر (۴) به‌وجود می‌آید. به‌علاوه، نشان داده شده است جسم زرد میش‌ها، از روز سه به بعد، به پروستاگلندین پاسخ می‌دهد (۲۹).

درصد بروز فحلی در گروه آزمایشی ۴ (۱۰۰ درصد) نسبت به گروه‌های ۱ تا ۳ (به ترتیب ۹۲/۵، ۸۷/۵ و ۹۲/۵ درصد) بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). تفاوت بین گروه ۱ و ۴ آزمایش را می‌توان به استفاده از eCG نسبت داد. مقادیر به‌دست آمده در گروه ۱ (۹۲/۵ درصد) این آزمایش، با نتایج مطالعات سایرین، (۹۳/۳ درصد؛ ۴) و (۹۰/۹ درصد؛ ۶) همخوانی داشت. ولی درصد بروز فحلی در گروه ۴ (۱۰۰درصد) بیشتر از مطالعه Martemucci و D'Alessandro در سال ۲۰۱۱ (۹۱/۷ درصد؛ ۲۲) بود که احتمالاً میزان eCG استفاده شده در مطالعه حاضر (۴۰۰ واحد بین‌المللی) در مقایسه با مطالعه مذکور (۲۰۰ واحد بین‌المللی)، می‌تواند دلیل این افزایش باشد. مقادیر بالاتر eCG ممکن است در افزایش تعداد و اندازه فولیکول‌های تخمدانی و در نتیجه تولید بیشتر استرادیول و افزایش درصد بروز فحلی موثر بوده باشد (۳).

معمولاً انتظار می‌رود که در صورت وجود جسم زرد فعال بر روی تخمدان میش، فحلی از ۳۶ ساعت پس از تزریق $PGF_2\alpha$ به بعد بروز پیدا کند (۲۶)، زیرا فولیکول‌ها در زمان تزریق $PGF_2\alpha$ در مراحل مختلف رشد بوده و لذا با حذف منبع پروژسترون، مراحل رشد فولیکول طی شده و علائم فحلی بروز می‌کند؛ به طوری‌که اگر فولیکول بزرگ در این زمان در فاز رشد باشد، به رشدش ادامه داده و در مدت کوتاهی پس از تجویز $PGF_2\alpha$ تخمک‌گذاری می‌نماید. ولی اگر لوتئولیز در زمانی رخ دهد که فولیکول بزرگ در حال تحلیل است، فولیکول‌های موج جدید، با تأخیر تخمک‌گذاری خواهند نمود (۱۲). به همین دلیل و به منظور تنظیم فرآیند رشد فولیکولی، پیش از تزریق $PGF_2\alpha$ در برنامه‌های کوتاه مدت (۵ روزه) از GnRH در ابتدای برنامه استفاده شده‌است (۴،۶). فاصله تا شروع فحلی در گروه دوم (۱/۷۲ ± ۲۴/۹ ساعت) و سوم (۱/۵۹ ± ۲۱/۱) کمتر از گروه اول (۱/۹۹ ± ۳۳/۹) و چهارم (۱/۸۵ ± ۳۲/۵) بود ($P<۰/۰۵$). دلیل این امر را می‌توان استفاده از eCG پیش از $PGF_2\alpha$ دانست، زیرا به علت اثرات شبیه FSH و LH این هورمون، بخشی از مراحل رشد فولیکولی، طی شده (۳) و با حذف منبع پروژسترون، مرحله رشد فولیکولی وابسته به LH (مرحله نهایی رشد) سریع‌تر اتفاق می‌افتد. به همین دلیل، درصد بروز فحلی در میش‌ها، طی ۲۴-۰ ساعت پس از تزریق $PGF_2\alpha$ در گروه‌های دوم و سوم (به‌ترتیب ۳۷/۵ و ۵۵درصد) به طور معنی‌داری از گروه اول (۱۵درصد) و چهارم (۱۷/۵ درصد) بیشتر بود ($P<۰/۰۵$). بر همین اساس، اختلاف معنی‌داری بین درصد بروز فحلی طی ۴۸-۲۴ ساعت پس از تزریق $PGF_2\alpha$ بین گروه‌های اول و چهارم (به‌ترتیب ۶۷/۵ و ۷۷/۵) و گروه‌های دوم و سوم (به‌ترتیب ۵۰ و ۳۷/۵) مشاهده گردید ($P<۰/۰۵$). در مقایسه با گروه ۱، Ataman و Akoz در سال ۲۰۰۶ فاصله تا شروع فحلی را در روش کوتاه مدت همزمانی فحلی مبتنی بر $GnRH-PGF_2\alpha$، ۲/۲۳ ± ۴۷/۶ ساعت محاسبه نمودند. شاید علت این تفاوت، اختلافات نژادی، سن، امتیاز وضعیت بدنی و ... باشد. از سوی دیگر، نتایج حاصل از گروه ۴ آزمایش حاضر با نتیجه بررسی Martemucci و D'Alessandro در سال ۲۰۱۱ در استفاده از روش کوتاه مدت $GnRH-PGF_2\alpha$ به‌همراه eCG (۸/۴ ± ۳۴/۹ ساعت) مطابقت داشت.

نرخ آبستنی در میش‌های گروه اول تا چهارم به ترتیب ۷۷/۵، ۶۰، ۶۵ و ۸۰ درصد بود که اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های آزمایشی را نشان نمی‌داد ($P>۰/۰۵$). در مقایسه با گروه ۱ (۷۷/۵ درصد)، Ataman و Akoz در سال ۲۰۰۶، با استفاده از روش همزمان‌سازی فحلی مبتنی بر $GnRH-PGF_2\alpha$، به نرخ آبستنی ۸۵/۷ درصد دست یافتند. برخی محققین نیز در همزمان‌سازی فحلی با استفاده از پروژستاژن‌های داخل واژنی و eCG، نرخ آبستنی ۸۰ تا ۹۱/۶ درصد را گزارش نمودند (۱۴،۲۵،۳۴،۳۷). به نظر می‌رسد که مهمترین علت اختلاف در نرخ آبستنی را، باید در تعریف این شاخص در اغلب مطالعات ذکر شده و پژوهش حاضر دانست. در اغلب این تحقیقات، نسبت تعداد میش‌های آبستن شده به میش‌های جفت‌گیری کرده و یا تلقیح شده، به عنوان نرخ آبستنی در نظر گرفته شده است؛ در حالیکه در مطالعه حاضر،

نرخ آبستنی بر اساس نسبت تعداد میش‌های آبستن شده نسبت به میش‌های در معرض قوچ قرار گرفته (۳۶)، محاسبه شده است. از جمله علل دیگر این اختلاف، می‌توان به تفاوت‌های ناشی از نژاد، سن، عوامل مدیریتی و تغذیه‌ای، وضعیت بدنی، مقدار و نوع هورمون و زمان انجام آزمایش اشاره نمود. از سوی دیگر، بالاتر بودن این نرخ در گروه ۴ (۸۰ درصد) در مقایسه با مطالعه Martemucci و D'Alessandro در سال ۲۰۱۱ (۶۶/۷ درصد) را شاید بتوان به اثرات مثبت میزان eCG به‌کار گرفته شده در مطالعه حاضر نسبت داد، زیرا در مطالعات با استفاده از پروژستاژن‌ها، نشان داده شده است که با افزایش مقادیر eCG در زمان خروج منبع پروژسترونی، نرخ آبستنی افزایش می‌یابد (۱۵،۳۴).

میزان برهزایی در این مطالعه در گروه‌های ۱ تا ۴ به‌ترتیب ۶۷/۵، ۵۰، ۵۵ و ۷۰ درصد بود. مجدداً یادآوری می‌گردد در بسیاری از مطالعات، ممکن است میزان برهزایی بالاتر از مقادیر مطالعه حاضر عنوان شده باشد که با تعریف دقیق برهزایی (نسبت تعداد میش‌های زایمان کرده به میش‌های در معرض قوچ قرار گرفته؛ ۳۶)، این تفاوت توجیه می‌گردد. به عنوان مثال Beck و همکاران در سال ۱۹۹۶ و Ataman و Akoz در سال ۲۰۰۶، در روشی مشابه گروه شاهد در این تحقیق، میزان برهزایی را به ترتیب ۸۸/۸ درصد (۸۰ رأس میش زایمان کرده از ۹۰ رأس میش آبستن) و ۸۳/۳ درصد (۱۰ رأس میش زایمان کرده از ۱۲ رأس میش آبستن) به‌دست آوردند که در صورت اصلاح بر اساس تعریف مطالعه حاضر، میزان برهزایی به‌ترتیب ۸۰/۸ درصد و ۶۶/۷ درصد تغییر خواهد یافت. همانگونه که ملاحظه می‌گردد، میزان این شاخص در مطالعه حاضر با مطالعه صورت گرفته توسط Ataman و Akoz در سال ۲۰۰۶ (پس از اصلاح)، همخوانی دارد. همچنین میزان برهزایی در مطالعه Martemucci و D'Alessandro در سال ۲۰۱۱ (۶۶/۷ درصد) با نتیجه گروه ۴ (۷۰درصد) مطابقت داشت که نشان می‌دهد افزایش مقدار eCG تأثیری بر روی بهبود میزان برهزایی نداشته است. از آنجایی که در پژوهش حاضر، در میزان آبستنی و به دنبال آن میزان برهزایی بین گروه‌های مختلف، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده است، می‌توان اعلام نمود که استفاده از eCG در هر زمانی از برنامه ذکر شده، اثری بر روی دو شاخص تولیدمثلی ذکر شده ندارد؛ اگرچه این شاخص‌ها از لحاظ عددی در گروه ۴ بهتر از سایر گروه‌ها می‌باشند.

میزان چندقلوزایی در گروه اول تا چهارم به‌ترتیب ۱/۵۹، ۱/۶۵، ۱/۶۸ و ۱/۸۶ بود که اختلاف معنی‌داری را در بین گروه‌های آزمایشی نشان نمی‌داد ($P>۰/۰۵$). در مقایسه با گروه ۱، Beck و همکاران در سال ۱۹۹۶ و Ataman و Akoz در سال ۲۰۰۶ به ترتیب ۱/۶۹ و ۱/۷ را گزارش نمودند. Martemucci و D'Alessandro نیز در سال ۲۰۱۱ با استفاده از روش کوتاه مدت GnRH-PGF2α به همراه eCG به نسبت ۱/۶۶ دست یافتند که با نتایج حاصل از گروه ۴ همخوانی داشت.

میزان شاخص تزاید گله در مطالعه حاضر در گروه های اول تا چهارم به ترتیب ۱/۰۸، ۰/۸۳، ۰/۹۳ و ۱/۳ به دست آمد که از لحاظ آماری این اختلاف معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). در مقایسه با گروه ۱ مطالعه حاضر (۱/۰۸)، Beck و همکاران در سال ۱۹۹۶ و Ataman و Akoz در سال ۲۰۰۶ شاخص فوق را به ترتیب ۱/۳۶ و ۱ محاسبه نمودند. Martemucci و D'Alessandro در سال ۲۰۱۱ در پژوهشی مشابه گروه ۴، عدد ۱/۳ را به دست آوردند که نشان می دهد مشابه شاخص میزان برهزایی، افزایش میزان eCG تأثیری بر شاخص تزاید گله نداشته است.

نتیجه گیری: روش کوتاه مدت همزمان‌سازی فحلی می‌تواند در فصل جفت‌گیری مورد استفاده قرار گیرد و استفاده از eCG در زمان‌های مختلف (۲۴ و ۴۸ ساعت قبل و همزمان با PGF2α) نیز در بهبود شاخص‌های فحلی و به عبارت دیگر در زمان‌هایی که تلقیح مصنوعی می‌خواهد مورد استفاده قرار گیرد، مفید خواهد بود. با وجودیکه ممکن است برخی از شاخص‌های تولیدمثلی نظیر نرخ آبستنی، میزان برهزایی، چندقلوزایی و شاخص تزاید گله، بهبود پیدا نکنند، ولی مولفین اعتقاد دارند با توجه به تنوع توده‌های گوسفند کشور، با استفاده همزمان eCG و PGF2α در روش کوتاه مدت، ممکن است نتایج قابل قبولی به‌دست آید.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله وظیفه خود می‌دانند از معاونت محترم پژوهشی دانشکده و نیز مدیریت و پرسنل محترم موسسه تحقیقاتی امین‌آباد که کمک‌های شایانی در خصوص اجرای پروژه داشتند، تشکر و قدردانی نمایند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Abecia, J.A., Forcada, F., González-Bulnes, A. (2011). Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. Vet Clin North Am Food Anim Pract, 27(1), 67-79. https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2010.10.001 PMID: 21215891

2. Abecia, J.A., Forcada, F., Gonzalez-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. Anim Reprod Sci, 130, 173-179. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.011 PMID: 22325928

3. Ali, A. (2007). Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. Small Ruminant Res, 72, 33-37. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2006.07.017
4. Ataman, M.B., Akoz, M. (2006). GnRH-PGF2α and PGF2α-PGF2α synchronization in akkaraman cross-bred sheep in the breeding season. B Vet I Pulawy, 50, 101-104.
5. Atsan, T., Emsen, E., Yaprak, M., Dagdemir, V., Diaz, C.A.G. (2007). An economic assessment of differently managed sheep flocks in eastern Turkey. Ital J Anim Sci, 6, 407-414.
6. Beck, N.F.G., Jones, M., Davies, B., Peters, A.R., Williams, S.P. (1996). Oestrus synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a GnRH agonist (buserelin). Anim Sci, 62, 85-87.
7. Boscos, C.M., Samartzi, F.C., Dellis, S., Rogge, A., Stefanakis, A., Krambovitis, E. (2002). Use of progestagen-gonadotrophin treatments in estrus synchronization of sheep. Theriogenology, 58, 1261-1272. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(02)01040-3 PMID: 12387340
8. Cavalcanti, A.D.S., Brandão, F.Z., Nogueira, L.A.G., da Fonseca, J.F. (2012). Effects of GnRH administration on ovulation and fertility in ewes subjected to estrous synchronization. Rev Bras Zootecn, 41(6), 1412-1418. http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982012000600014
9. Fierro, S., Vinoles, C., Olivera-Muzante, J. (2016). Concentrations of steroid hormones, estrous, ovarian and reproductive responses in sheep estrous synchronized with different prostaglandin-based protocols. Anim Reprod Sci, 167, 74–82. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.02.009 PMID: 26907940
10. Gonzalez-Bulnes, A., Veiga-Lopez, A., Garcia, P., Garcia-Garcia, R.M., Ariznavarreta, C., Sanchez, M.A., Tresguerres, J.A.F., Cocero, M.J., Flores, J.M. (2005). Effects of progestagens and prostaglandin analogues on ovarian function and embryo viability in sheep. Theriogenology, 63(9), 2523–2534. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.10.013 PMID: 15910932
11. Hafez, E.S.E., Hafez, B. (2000). Sheep and Goat. In: Reproduction in Farm Animals. (7th ed). Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, USA. p. 172-181.
12. Hashem, N.M., El-Zarkouny, S.Z., Taha, T.A., Abo-Elezz Z.R. (2015). Oestrous response and characterization of the ovulatory wave following oestrous synchronization using PGF2α alone or combined with GnRH in ewes. Small Ruminant Res, 129, 84-87. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.06.003
13. Hashim, N.H., Syafnir, Sembiring, M, (2013). Time of PMSG administration: Effect on progesterone and estradiol concentr-ation in synchronized ewes. Biomed Res-India, 24(1), 7-12.
14. Husein, M., Haddad, S. (2006). A new approach to enhance reproductive performance in sheep using royal jelly in comparison with equine chorionic gonadotropin. Anim Reprod Sci, 93, 24-33. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.06.012 PMID: 16055281
15. Ince, D., Karaca, O. (2009). Effect of oestrus synchronization and various doses of PMSG administration in Chios x Kivircik (F1) sheep on reproductive performance. J Anim Vet Adv, 8 (10), 1948-1952.
16. Jackson, C.G., Neville, T.L., Mercadante, V.R.G., Waters, K.M., Lamb, G.C., Dahlen, C.R., Redden, R.R. (2014). Efficacy of various five-day estrous synchronization protocols in sheep. Small Ruminant Res, 120(1), 100–107. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.04.004
17. 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 Res, 39, 67-71. https://doi.org/10.1016/S0921-4488(00)00170-X PMID: 11163717
18. Koyuncu, M., Ozis Altıcekic, S. (2010). Effects of Progestagen and PMSG on estrous synchronization and fertility in Kivircik ewes during natural breeding season. Asian Austral J Anim Sci, 23(3), 308–311. https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90393
19. Kridli, R.T., Husein, M.Q., Muhdi, H.A., Al-Khazaleh, J.M. (2006). Reproductive performance of hormonally treated anestrous Awassi ewes. Anim Reprod, 3(3), 347-352.
20. Kusina, N.T., Tarwirei, F., Hamudikuwanda, H., Agumba, G., Mukwena, J. (2000). A comparison of the effects of progesterone sponges and ear implants, PGF2α, and their combination on efficacy of estrus synchronization and fertility of Mashona goat does. Theriogenology, 53, 1567-1580. https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00298-3 PMID: 10883844
21. Martemucci, G., D'Alessandro, A.G. (2010). Estrous and fertility responses of dairy ewes synchronized with combined short-term GnRH, PGF2α and estradiol benzoate treatments. Small Ruminant Res, 93, 41–47. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.05.001
22. Martemucci, G., D'Alessandro, A.G. (2011). Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF2α, GnRH, eCG treatments for natural service or AI fixed-time. Anim Reprod Sci, 123, 32–39. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.11.007 PMID: 21176867
23. Mirzaei, A., Mohebbi-Fani, M., Nazifi, S., Aghamiri, M. (2011). Effect of GnRH administration, combined with the ram effect, on the occurrence of ovulation and pregnancy during the transition period from anoestrus in crossbred ewes. Small Ruminant Res, 100, 59-62. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2011.06.002
24. Moghaddam, G.H., Olfati, A., Daghigh Kia, H., Rafat, S.A. (2012). Study of Reproductive Performance of Crossbred Ewes Treated with GnRH and PMSG during Breeding Season. Iran J Appl Anim Sci, 2(4), 351-356.
25. Najafi G., Cedden, F., Mojtahedi, S., Aliverdinasab, R. (2014). Estrus synchronization and twinning rate of Ghezel ewes treated with CIDR and PMSG during the breeding season. J Anim Feed Res, 4(6), 144-149.
26. Noakes, D.E. G.C.W. (2009). Endogenous and exogenous control of ovarian cyclicity. In: Veterinary reproduction and obstetrics. (9th ed.). Saunders Elsevier. Philadelphia, USA. p. 30-47.
27. Nosrati, M., Tahmorespoor, M., Vatandoost, M., Behgar, M. (2011). Effects of PMSG Doses on Reproductive Performance of Kurdi Ewes Artificially Inseminated during Breeding Season. Iran J Appl Anim Sci, 1(2), 125-129.
28. Quintero-Elisea, J.A., Macías-Cruz, U., Álvarez-Valenzuela, F.D., Correa-Calderón, A., González-Reyna, A., Lucero-Magaña, F.A., Soto-Navarro, S.A., Avendaño-Reyes, L. (2011). The effects of time and dose of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) on reproductive efficiency in hair sheep ewes. Trop Anim Health Pro, 43(8), 1567-73. https://doi.org/10.1007/s11250-011-9843-z PMID: 21465100
29. Rubianes, E., Menchaca, A., Carbajal, B. (2003). Response of the 1–5 day aged ovine corpus luteum to PGF2α. Anim Reprod Sci, 78, 47–55. https://doi.org/10.1016/S0378-4320(03)00046-0 PMID: 12753782
30. Sadeghi Panah, A., Masoudi, R., Naeejian, H.R., Akbari-Sharif, A. (2015). Effect of eCG, PGF2α and GnRH hormones on ewes' reproductive performance in breeding season. Iran J Anim Sci, 46(2), 189-194.
31. Sareminejad, P., Tabatabaei Vakili, S., Mamouei, M., Mirzadeh, Kh., Boujarpour, M. (2015). Status of estrus and blood serum estrogen and progesterone in Arabic ewes synchronized with CIDR in non-breeding season. J Anim Sci Res, 25(1), 151-161.

32. Sirjani, M.A., Shahir, M.H., Kohram, H., Eskandarinasab, M.P., Kermani Moakhar, H. (2011). The effects of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) injection a day prior or at controlled intra-vaginal drug-releasing (CIDR) removal on multiple births in Afshari ewes. Afr J Biotechnol, 10(57), 12363-12367. https://doi.org/10.5897/AJB11.1870
33. Sookhtehzary, A., Vojgani, M., Niassari-Naslaji, A. (1996). Survey on efficacy of melatonin in the Atabi rams on improvement of reproductive performance in the anestrus ewes. J Vet Res, 61(2), 181-185.
34. Timurkan, H., Yildiz, H. (2005). Synchronization of oestrus in Hamdani ewes: The use of different PMSG doses. B Vet I Pulawy, 49, 311-314.
35. Vodjgani, M., Gharagozloo, F., Mahmoodzadeh, H., Assadi Moghaddam, B., Ferdowsi, H.R., Hosseini, A. (2017). Sheep and Goat Obstetrics and Reproductive Diseases. (2nd ed). Tehran University Press, Tehran, Iran. p. 42-80.
36. Youngquist, R.S., Threlfall, W.R. (2007). Current Therapy in Large Animal Theriogenology. (2nd ed). Saunders Elsevier. Philadelphia, USA. p. 642-704.
37. Zonturlu, A.K., Özyurtlu, N., Kaçar, C. (2011). Effect of Different Doses PMSG on Estrus Synchronization and Fertility in Awassi Ewes Synchronized with Progesterone During the Transition Period. Kafkas Univ Vet Fak, 17(1), 125-129. https://doi.org/10.9775/kvfd.2010.2572