Archive of SID

Iranian Journal of Animal Science
Vol 49, No 4, Winter 2019 (557-565)
DOI: 10.22059/ijas.2019.265820.653661

علوم دامی ایران
دورهٔ ۴۹، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۷ (ص ۵۶۵-۵۵۷)

تأثیر زمان‌های گوناگون تزریق GnRH بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های لک‌قشقایی سوپراوولاسیون‌شده با eCG در شرایط پرورش عشایری

حسین زاهدپور[۱]، جواد حبیبی زاد[۲*] و مهرداد معمار[۲]
۱ و ۲. دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام و استادیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۲۰)

چکیده

به منظور بررسی تأثیر زمان‌های مختلف تزریق GnRH بر فعالیت‌های تولیدمثلی میش‌های لک‌قشقایی سوپراوولهشده با eCG در فصل پاییز، ۶۰ رأس میش (۲ تا ۳ ساله و میانگین وزنی ۱/۸±۴۹ کیلوگرم) انتخاب شدند. چرخه فحلی میش‌ها با اسفنج‌های پروژسترون‌دار برای یک دوره ۱۴ روزه هم‌زمان شد. یک روز قبل از خارج نمودن اسفنج‌ها، ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG به صورت درون‌ماهیچه‌ای تزریق شد. سپس میش‌ها بر اساس عدم دریافت (شاهد) یا دریافت GnRH، در روزهای یک، هفت و ۱۲ پس از فحلی به چهار گروه تقسیم شدند و طی دو چرخه فحلی پیاپی، شاخص‌های تولیدمثلی مانند نرخ بازگشت به فحلی و نرخ آبستنی اندازه‌گیری و بین گروه‌ها مقایسه شد. نتایج نشان داد بین گروه‌های مختلف آزمایشی از لحاظ نرخ بازگشت فحلی، نرخ آبستنی، میش‌های زایمان‌کرده، فکاندیتی و پرولیفیکیسی تفاوتی وجود نداشت (P>۰/۰۵)، ولی نرخ دوقلوزایی در میش‌هایی که در روزهای هفت و ۱۲ پس از فحلی به آن‌ها GnRH تزریق شد، نسبت به گروهی که در روز نخست پس از فحلی GnRH دریافت کردند، کمتر بود (P<۰/۰۵). غلظت پروژسترون سرم در میش‌های آبستن، زایمان‌کرده، تک‌قلوزا و دوقلوزا که پس از فحلی به آن‌ها GnRH تزریق شد، بیشتر از میش‌های شاهد بود (P<۰/۰۵). به‌طور کلی استفاده از GnRH طی روزهای مختلف پس از جفت‌گیری در میش‌های لک‌قشقایی سبب افزایش غلظت پروژسترون گردید. علاوه بر این نرخ دوقلوزایی در میش‌های دریافت‌کننده GnRH در روز نخست نسبت روزهای هفتم و دوازدهم پس از فحلی به‌طور معنی‌داری بیشتر بود.

واژه‌های کلیدی: گونادوتروپین جفت اسب‌سانان، میش لک‌قشقایی، نرخ آبستنی، نرخ دوقلوزایی، هورمون آزادکننده گونادوتروپین‌ها.

The effect of different times of GnRH injection on reproductive performance of Lake-Ghashghaei ewes supperovulated with eCG in nomadic breeding condition

Hossein Zahedpour[1], Javad Habibizad[2*] and Mehrdad Meamar[2]
1, 2. M. Sc. Student and Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran
(Received: Sep. 19, 2018 - Accepted: Mar. 11, 2019)

ABSTRACT

In order to investigate the different times of GnRH injection on the reproductive activities of Lake-Ghashghaei ewes supperovulated with eCG in autumn season, 60 ewes (2-3 ages and average body weight 49±1.8 Kg) were chosen. Estrus cycle of ewes were synchronized by progesterone sponges during a 14 days period. One day before removing the sponges, 400 IU of eCG were injected intramuscularly. Then the ewes were divided into 4 groups according to receiving GnRH on different days (one, seven and 12 days) or not receiving GnRH (control) after estrus observation and reproductive indexes such as the rate of return to estrus and pregnancy rate, were measured and compared among different groups in two continuous estrus cycle. The result indicated that there were not any significant differences (P>0.05) in the rate of return to estrus, pregnancy rate, parturation rate, fecundity and prolificacy among treatment groups, but the rate of twin birth was significantly (P<0.05) lesser in the groups, receiving GnRH in 7 and 12 days compared with the group that recieved GnRH in the first day. Serum progesterone concentration in pregnant, delivered, single and twin births ewes that received GnRH were significantly (P<0.05) more than control ewes. In conclusion, GnRH administration during different days after mating increased serum progesterone concentration in Lake-Ghashghaei ewes. Moreover, the rate of twining birth in ewes which received GnRH on the first day, was significantly more compared with using GnRH on 7th and 12th days after estrus.

Keywords: Equine Chorionic Gonadotropin, Gonadotropin Releasing Hormone, pregnancy rate, Lake-Ghashghaei ewes**,** twining rate**.**

* Corresponding author E-mail: j_habibi58@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

روش‌های متفاوت هورمون درمانی برای بهبود عملکرد تولیدمثلی در گوسفند وجود دارد. گونادوتروپین جفت اسب‌سانان (equine Chorionic Gonadotropin: eCG) مهم‌ترین هورمونی است که به‌طور گسترده در بهبود عملکرد تولیدمثلی به ویژه نرخ دوقلوزایی گوسفند استفاده می‌شود (Mulvaney *et al.*, 2013; Martinez *et al.*, 2015; Rahman *et al.*, 2017). نیمه‌عمر بالای این هورمون باعث ایجاد تعداد زیادی فولیکول غیر تخمک‌گذار در سطح تخمدان می‌شود که تولید مقدار زیادی استروژن، درست زمانی که نیاز به سطوح بالای پروژسترون است، می‌شود. سطوح بالای استروژن در فاز لوتئال، بر نرخ تخمک‌ریزی، انتقال تخمک، انتقال اسپرم، باروری و زنده‌مانی رویان اثر می‌گذارد (Husein & Ababneh, 2008). چنین شرایطی می‌تواند سبب کاهش پاسخ به تحریک تخمک‌ریزی و تولید رویان شود که تفاوت‌های نژادی، مدیریتی و شرایط تغذیه‌ای می‌تواند در بروز این موارد مؤثر باشد (Boscos *et al.*, 2002).

یکی از راهکارهای افزایش درصد تخمک‌ریزی و کاهش حضور فولیکول‌های مقاوم و بنابراین بهبود عملکرد تولیدمثلی در زمان کاربرد eCG، استفاده از هورمون آزادسازی گونادوتروپین‌ها (Gonadotropin Releasing Hormone: GnRH) است. استفاده از این هورمون سبب تراوش هورمون لوتئینه‌کننده (Luteinizing Hormone: LH) و سرژ آن شده و در نهایت سبب تخمک‌ریزی می‌شود. نتایج نشان داده است که استفاده از GnRH در روزهای مختلف پس از جفت‌گیری در میش‌های سوپراوولاسیون‌شده با eCG طی فصل تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی، سبب بهبود عملکرد تولیدمثلی به‌ویژه نرخ تخمک‌ریزی، نرخ بره‌زایی و افزایش غلظت پروژسترون پلاسما می‌شود (Jordan *et al.*, 2009; Karaca *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2015; Hosseinzadeh-Aski *et al.*, 2016). در پژوهشی، استفاده از هورمون آزادکننده گونادوتروپین‌ها در روز فحلی و یا هفت روز پس از مشاهده فحلی، سبب کاهش تلفات آبستنی در گوسفند شد (Hashem *et al.*, 2015). اگر چه برخی از پژوهش‌ها گزارش کرده‌اند که استفاده از GnRH طی فصل تولیدمثلی سبب بهبود نرخ تخمک‌ریزی و بره‌زایی می‌شود، با این وجود، برخی دیگر از پژوهش‌ها نتایج متفاوتی را گزارش کرده‌اند. برای نمونه، مشخص شده است که استفاده از GnRH سبب بهبود نرخ تخمک‌ریزی در گوسفند شد، ولی بر میزان باروری تأثیری نداشت (Reyna *et al.*, 2007). همچنین، استفاده از GnRH حدود ۲۴ ساعت پس از برداشت اسفنج پروژسترون‌دار، تأثیر معنی‌داری بر نرخ تخمک‌ریزی و میزان آبستنی نداشت (Cavalcanti *et al.*, 2012).

از آنجا که تحقیقات محدودی در مورد تأثیر کاربرد GnRH در زمان‌های مختلف پس از جفت‌گیری روی میش‌های سوپراوولهشده با eCG در نژادهای مختلف کشور در شرایط پرورش عشایری (با وجود تنش‌های مختلفی نظیر کمبود مواد غذایی، راهپیمایی طولانی‌مدت و تغییرات آب و هوایی) انجام شده است، لذا پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر استفاده هم‌زمان این دو هورمون بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های لک‌قشقایی در شرایط پرورش عشایری در فصل تولیدمثلی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در یک گله بزرگ عشایری نژاد لک‌قشقایی با درجه خلوص بالا، در شهرستان بویراحمد واقع در استان کهگیلویه و بویراحمد و آزمایشگاه گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج از اواخر شهریور تا بهمن‌ماه (فصل تولیدمثلی) سال ۱۳۹۶ انجام شد. تعداد ۶۰ رأس میش لک‌قشقایی ۲ تا ۳ ساله با میانگین وزنی ۱/۸±۴۹ کیلوگرم که در شرایط تقریباً مشابه بودند از یک گله گوسفند ۱۴۵ رأسی انتخاب شدند. میش‌های انتخاب شده برای این تحقیق به مدت ۴ ماه پس از زایش بدون حضور قوچ نگهداری شدند؛ بنابراین، از آبستن نبودن آن‌ها اطمینان حاصل شد. در تمام مراحل این تحقیق، شرایط تغذیه و جایگاه نگهداری برای همه میش‌ها یکسان بود، به‌طوری‌که میش‌ها در شرایط پرورش عشایری، صبح‌گاه از جایگاه خارج و تا

www.SID.ir

Archive of SID

غروب از علوفه مرتع تغذیه می‌کردند. پس از انتخاب نمودن میش‌ها در گله مورد نظر، به‌منظور مشخص نمودن میش‌ها در گروه‌های مختلف آزمایشی و ثبت مشخصات، به‌وسیله پلاک گوش، شماره‌گذاری شدند.

چرخه فحلی میش‌ها با استفاده از اسفنج‌های پروژسترون‌دار با نام تجاری اسپونجاوت (Esponjavet)، حاوی ۶۰ میلی‌گرم مدروکسی پروژسترون استات (Medroxyprogesterone acetate)، ساخت شرکت هیپرای (Hipra)، اسپانیا برای یک دوره ۱۴ روزه هم‌زمان شد. سپس به تمام میش‌ها یک روز پیش از خارج نمودن اسفنج‌های پروژسترون‌دار، برای برنامه تخمک‌ریزی چندتایی، ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG با نام تجاری گوناسر (Gonaser)، ساخت شرکت هیپرای، اسپانیا به‌شکل درون ماهیچه‌ای تزریق شد. پس از برداشت اسفنج‌ها، قوچ‌های برتری که توسط عشایر انتخاب شده بودند و توانایی تولیدمثلی آن‌ها برای دامدار محرز بود به نسبت یک به پنج در گله رها شدند. پس از مشاهده نشانه‌های فحلی، میش‌ها به صورت تصادفی به چهار گروه تیماری (۱۵ رأس در هر گروه) تقسیم شدند. سپس در روزهای مختلف پس از بروز فحلی (یک، هفت و ۱۲) نیم میلی‌لیتر (۲۵ µg) GnRH (Cystorelin ساخت شرکت Ceva Sante Animale، فرانسه) به هر میش در گروه‌های مختلف تیماری به شکل درون ماهیچه‌ای تزریق شد. یک گروه تیماری ۱۵ رأسی نیز که فقط اسفنج‌های محتوی پروژسترون و eCG دریافت نمودند، به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد. سپس ویژگی‌های تولیدمثلی نظیر نرخ بازگشت به فحلی پس از دو دوره ۱۷ روزه (برابر با طول چرخه تولیدمثلی گوسفند) و نرخ آبستنی به دقت بررسی و رکوردهای آن‌ها برای گروه‌های مختلف آزمایشی ثبت شد.

به‌منظور اندازه‌گیری غلظت پروژسترون سرم، از ۱۵ رأس گوسفند در هر تیمار، در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از بروز فحلی نمونه خون گرفته شد. پس از سانتریفیوژکردن نمونه‌ها (دور ۲۵۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه)، سرم خون جدا و تا زمان اندازه‌گیری پروژسترون، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند. سطوح پروژسترون با استفاده از کیت تجاری الایزا (AccuBind ELISA, Cat No: 4825-300, Lot No: ElA-48K2H6; Monobind, Inc. Lake Forest, CA (92630) USA)، با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (مدل استات فکس ۲۶۰۰ (Stat Fax-2600) ساخت ایالات متحده آمریکا) اندازه‌گیری شدند.

میش‌هایی که به‌مدت ۳۴ روز پس از بروز نشانه‌های فحلی، علائم فحلی مجدد را نشان ندادند به عنوان شاخص نرخ عدم بازگشت به فحلی (میش‌های آبستن) در نظر گرفته شدند. پس از طی شدن مدت آبستنی و زایش میش‌ها، فراسنجه‌های دیگری نظیر تعداد میش‌های زایمان‌کرده (یک یا دوقلوزا)، نرخ تک و دوقلوزایی [(تعداد میش‌های یک و دو قلوزا / تعداد میش‌های زایمان‌کرده)×۱۰۰]، تعداد بره‌های متولدشده، نرخ مرگ و میر بره‌ها، تعداد بره‌ها یک ماه پس از زایش، میزان فکاندیتی (Fecundity) [(تعداد بره‌های متولدشده / تعداد میش‌های جفت‌گیری‌کرده) × ۱۰۰] و میزان پرولیفیکیسی (Prolificacy) [(تعداد بره‌های متولدشده / تعداد میش‌های زایمان‌کرده) ×۱۰۰]، بررسی و ثبت گردید (Habibizad *et al.*, 2015; Hashem *et al.*, 2015).

داده‌های مربوط به نرخ بازگشت به فحلی، نرخ میش‌های آبستن و زایمان کرده، نرخ تک و دوقلوزایی، فکاندیتی و پرولیفیکیسی با استفاده از رویه Freq و بر اساس آزمون کای اسکور مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. داده‌های مربوط به غلظت پروژسترون با روش آنالیز واریانس برای داده‌های تکرار شونده در زمان با رویه Mixed و به کمک نرم‌افزار SAS آنالیز شدند. میانگین‌ها با رویه حداقل مربعات و تصحیح برای آزمون توکی ($P<۰/۰۵$) مقایسه شدند. مدل آماری این بخش از آزمایش نیز به شرح زیر در نظر گرفته شد.

$$Y_{ij} = \mu+T_i+t_j+T_i\times t_j+e_{ij}$$

Y= متغیر وابسته (غلظت پروژسترون)، µ= میانگین کلی Y، T_i= اثر تیمار، t_j= اثر زمان نمونه‌برداری، $T_i\times t_j$= برهم‌کنش تیمار و زمان نمونه‌برداری، eij = خطای آزمایشی.

نتایج

نتایج مربوط به تأثیر برنامه‌های مختلف هورمونی بر

www.SID.ir

Archive of SID

عملکرد تولیدمثلی میش‌های لک‌قشقایی طی فصل تولیدمثلی در جدول ۱ نشان داده شده است. هیچ‌کدام از میش‌ها در گروه‌های دریافت‌کننده GnRH علائم فحلی مجدد را نشان ندادند، در حالی که در گروه شاهد دو رأس میش علائم فحلی مجدد را نشان دادند. نتایج در ارتباط با وضعیت زایش میش‌ها نشان داد که در گروه دریافت‌کننده GnRH در روز یک، ۱۴ رأس از ۱۵ رأس میشی که به عنوان آبستن در نظر گرفته شده بودند، زایمان نمودند و در میش‌های دریافت‌کننده GnRH در روزهای هفت و ۱۲، با وجود عدم مشاهده علائم فحلی مجدد، در پایان دوره درصد کمتری از میش‌ها نسبت به گروه شاهد زایمان نمودند. کمترین تعداد میش زایمان‌کرده نیز در گروه دریافت کننده GnRH در روز ۱۲ مشاهده شد لذا نتایج نشان داد که اختلاف بین تیمارها از نظر آماری معنی‌دار نبود.

نتایج نشان داد که نرخ تک‌قلوزایی و دوقلوزایی از نظر آماری تحت تأثیر برنامه زمانی تزریق GnRH قرار گرفتند (P<۰/۰۵)، به‌طوری‌که بیشترین نرخ تک‌قلوزایی در گروه دریافت کننده GnRH در روز ۱۲ پس از جفت‌گیری مشاهده شد از طرف دیگر کمترین نرخ دوقلوزایی در گروه‌های دریافت‌کننده GnRH در روز هفت و ۱۲ پس از جفت‌گیری بود (به ترتیب صفر و دو رأس). بهترین نتیجه در ارتباط با نرخ دوقلوزایی در گروهی مشاهده شد که همراه برنامه هم‌زمان‌سازی فحلی و استفاده از eCG، هورمون آزادسازی گونادوتروپین‌ها را یک روز پس از جفت‌گیری دریافت نموده بودند (P<۰/۰۵)، به‌طوری که از ۱۴ رأس میش زایمان‌کرده، ۸ رأس آن‌ها دوقلو زاییدند. در همین راستا نتایج در ارتباط با تعداد بره‌های متولدشده نشان داد که کمترین تعداد بره متولد شده (۱۱ رأس) در گروه دریافت‌کننده GnRH در روز دوازدهم و بیشترین تعداد (۲۲ رأس) در گروه دریافت‌کننده GnRH در روز یکم بود. یکی از نکات مهم به‌دست‌آمده در این مطالعه در ارتباط با میزان مرگ و میر بره‌ها تا یک ماه پس از زایش بود به‌طوری که فقط یک رأس بره در گروه شاهد (دریافت‌کننده eCG به تنهایی) تلف شد که از نکات بسیار مهم برای عشایر پرورش‌دهنده گوسفند در شرایط پرورش عشایری است. نتایج در ارتباط با سایر فعالیت‌های مختلف تولیدمثلی از جمله میزان فکاندیتی و پرولیفیکیسی نیز نشان داد میزان عملکرد این صفات در گروهی از میش‌ها که در روز یک پس از جفت‌گیری GnRH دریافت نمودند تنها از لحاظ عددی نسبت به سایر گروه‌ها به ویژه گروه‌هایی که در روزهای هفت و ۱۲، GnRH دریافت نموده بودند بالاتر بود (جدول ۱).

جدول ۱. تأثیر زمان‌های مختلف تزریق GnRH بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های لک‌قشقایی سوپراوووله شده با eCG.

Table 1. The effect of different times of GnRH injection on reproductive performance of Lake Ghashghaei ewes supperovulated with eCG

Parameters	Experimental groups				P-value
	eCG	eCG+GnRH $_1$	eCG+GnRH $_7$	eCG+GnRH $_{12}$	
Rate of return to estrus (%)	2/15 (13.3)	0/15 (0.0)	0/15 (0.0)	0/15 (0.0)	0.34
Pregnant ewes (%)	13/15 (86.7)	15/15 (100.0)	15/15 (100.0)	15/15 (100.0)	0.38
Parturition ewes (%)	12/13 (92.3)	14/15 (93.3)	12/15 (80.0)	11/15 (73.3)	0.51
Single birth (%)	8/12 (66/7) ^{bc}	6/14 (42.8) ^{c}	10/12 (83/3) ^{ab}	11/11 (100.0) ^{a}	0.01
Twin births (%)	4/12 (33.3) ^{ab}	8/14 (57.2) ^{a}	2/12 (16.7) ^{bc}	0/11 (0.0) ^{c}	0.01
Number of born lambs	16	22	14	11	-
Death of lambs (%)	1/16 (6.25)	0/22 (0.0)	0/14 (0.0)	0/11 (0.0)	0.26
Fecundity (%)	1.06 (106.6)	1.46 (146.6)	0.93 (93.3)	0.73 (73.3)	0.11
Prolificacy (%)	1.33 (133.3)	1.57 (157.1)	1.16 (116.6)	1.0 (100.0)	0.09

حروف بالانویس متفاوت (a,b,c) در هر ردیف بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

eCG: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج.

eCG+GnRH $_1$: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج و تزریق GnRH در روز یکم پس از فحلی.

eCG+GnRH $_7$: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج و تزریق GnRH در روز هفتم پس از فحلی.

eCG+GnRH $_{12}$: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج و تزریق GnRH در روز دوازدهم پس از فحلی.

Different letters superscripts (a, b and c) within a rows between treatmnents are statistically significant.

eCG: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge.

eCG+GnRH $_1$: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge and GnRH injection on the first day after estrus.

eCG+GnRH $_7$: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge and GnRH injection on the 7th day after estrus.

eCG+GnRH $_{12}$: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge and GnRH injection on the 12th day after estrus.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج مربوط به تغییرات غلظت پروژسترون سرم در میش‌های آبستن، زایمان‌کرده و تک قلوزا در جدول ۲ نشان داده شده است. غلظت پروژسترون در روزهای ۱۵ و ۳۰ در گروه‌های دریافت‌کننده GnRH در وضعیت‌های مختلف تولیدمثلی نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (P<۰/۰۵). از طرف دیگر مقایسه غلظت پروژسترون سرم بین روزهای مختلف نمونه‌برداری در هر گروه تیماری به صورت مجزا و همچنین در سه وضعیت مختلف تولیدمثلی بررسی شده نشان داد که غلظت این هورمون در گروه دریافت‌کننده GnRH طی روز ۱۲ پس از جفت‌گیری در روز ۱۵ نسبت به روز ۳۰ به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. در سایر گروه‌های مختلف تیماری اگرچه اختلاف معنی‌دار نبود ولی روند تغییرات نیز به صورت کاهشی بود.

نتایج نشان داد که اثر تیمار و زمان بر غلظت پروژسترون میش‌های دوقلوزا معنی‌دار بود، ولی برهمکنش آن‌ها اثر معنی‌داری نداشت. نتایج همچنین نشان داد که تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها پروژسترون پایین‌تری داشت و همچنین غلظت پروژسترون اندازه‌گیری شده در روز ۱۵ نسبت به ۳۰ بالاتر بود (جدول ۳).

جدول ۲. برهمکنش تیمار و روز نمونه‌برداری بر غلظت پروژسترون (نانوگرم در میلی‌لیتر) در میش‌های آبستن، زایمان‌کرده و تک‌قلوزا لک‌قشقایی (میانگین حداقل مربعات ± خطای استاندارد)

Table 2. The interaction between treatment and day of sampling on serum progesterone concentration (ng/ml) in pregnant, delivered and single birth Lake Ghashghaei ewes (LS means ± SE)

Positions	Sampling days	Experimental groups			
		eCG	eCG+GnRH $_1$	eCG+GnRH $_7$	eCG+GnRH $_{12}$
Pregnant	15	5.51±0.22 ^{Ba}	8.28±0.21 ^{Aa}	8.19 ±0.21 ^{Aa}	7.58 ±0.21 ^{Aa}
	30	5.19 ±0.22 ^{Ca}	7.95 ±0.21 ^{Aa}	7.71 ±0.21 ^{Aa}	6.61 ±0.21 ^{Bb}
Delivered	15	5.57±0.21 ^{Ba}	8.38±0.19 ^{Aa}	8.22 ±0.21 ^{Aa}	7.82 ±0.21 ^{Aa}
	30	5.42 ±0.21 ^{Ca}	8.15 ±0.19 ^{Aa}	7.91 ±0.21 ^{Ab}	6.90 ±0.21 ^{Bb}
Single birth	15	5.11±0.23 ^{Ba}	7.82±0.26 ^{Aa}	8.06 ±0.20 ^{Aa}	7.82 ±0.19 ^{Aa}
	30	5.07 ±0.23 ^{Ca}	7.52 ±0.26 ^{Aa}	7.73 ±0.20 ^{Aa}	6.90 ±0.19 ^{Bb}

حروف بالانویس متفاوت (A, B, C, a, b) در هر ردیف (بند واژه‌های بزرگ) یا در هر ستون (بند واژه‌های کوچک در هر موقعیت به صورت مجزا) بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

Sampling days: روزهای مختلف نمونه‌گیری خون پس از مشاهده فحلی.

eCG: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج.

eCG+GnRH $_1$: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج و تزریق GnRH در روز یکم پس از فحلی.

eCG+GnRH $_7$: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج و تزریق GnRH در روز هفتم پس از فحلی.

eCG+GnRH $_{12}$: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج و تزریق GnRH در روز دوازدهم پس از فحلی.

Different letters subscripts (A, B, C, a, b) in each row (capital letters) or in each column (small letters in each separate position) indicated difference between treatment.

Sampling days: Different days of blood sampling after estrus observation.

eCG: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge.

eCG+GnRH $_1$: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge and GnRH injection on the forst day after estrus.

eCG+GnRH $_7$: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge and GnRH injection on the 7th day after estrus.

eCG+GnRH $_{12}$: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge and GnRH injection on the 12th day after estrus.

جدول ۳. اثر کلی تیمار و روز نمونه‌برداری بر غلظت پروژسترون سرم (نانوگرم در میلی‌لیتر) در میش‌های دوقلوزای لک‌قشقایی (میانگین حداقل مربعات ± خطای استاندارد)

Table 5. Overall effect treatment and day of sampling on serum progesterone concentration (ng/ml) in twin birth Lake Ghashghaei ewes (LS means ± SE)

Situation	Experimental groups				Sampling day	
	eCG	eCG+GnRH $_1$	eCG+GnRH $_7$	eCG+GnRH $_{12}$	15	30
Twin births	6.31±0.15^{b}	8.66 ±0.10 ^{a}	8.93 ±0.21 ^{a}	-	8.09 ±0.10^{a}	7.84±0.10^{b}

حروف بالانویس متفاوت (a, b) در هر ردیف بیان‌گر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است.

در گروه دریافت‌کننده GnRH در روز ۱۲ پس از فحلی، دوقلوزایی مشاهده نشد.

eCG: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج.

eCG+GnRH $_1$: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج و تزریق GnRH در روز یکم پس از فحلی.

eCG+GnRH $_7$: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج و تزریق GnRH در روز هفتم پس از فحلی.

eCG+GnRH $_{12}$: گروه دریافت‌کننده ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG یک روز قبل از برداشت اسفنج و تزریق GnRH در روز دوازدهم پس از فحلی.

Sampling day: روزهای مختلف نمونه‌گیری خون پس از مشاهده فحلی.

Different letters superscripts (a, b) within a rows between treatments are statistically significant.

In the GnRH recieved group, on the 12th day after estrus observation, there was no twin birth.

eCG: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge.

eCG+GnRH $_1$: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge and GnRH injection on the first day after estrus.

eCG+GnRH $_7$: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge and GnRH injection on the 7th day after estrus.

eCG+GnRH $_{12}$: The group received 400 IU of eCG one day before removing the sponge and GnRH injection on the 12th day after estrus.

Sampling days: Different days of blood sampling after estrus observation.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش می‌توان چنین برداشت نمود که استفاده از هورمون آزادسازی گونادوتروپین‌ها در روز یک پس از جفت‌گیری، در میش‌های لک‌قشقایی سوپراوولەشده با eCG در شرایط پرورش عشایری می‌تواند نرخ دوقلوزایی و همچنین غلظت هورمون پروژسترون را به عنوان هورمون نگهدارنده آبستنی تحت تأثیر قرار دهد که نشان دهنده اهمیت زمان استفاده از GnRH پس از جفت‌گیری و همچنین استفاده هم‌زمان هورمون آزادسازی گونادوتروپین‌ها و گونادوتروپین جفت اسب‌سانان در این نژاد است. نتایج در ارتباط با فعالیت‌های مختلف تولیدمثلی به‌جز تعداد میش‌های تک‌قلوزا و دوقلوزا اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده GnRH و گروه شاهد نشان نداد، احتمالاً کم بودن تعداد تکرار در هر تیمار که به‌دلیل محدودیت اجرای این تحقیق در شرایط عشایری بود، در معنی‌دار نشدن این فراسنجه اثرگذار بود، زیرا چنین گزارش شده است که صفات مرتبط با باروری متغیرهای ناپیوسته هستند و به منظور ارزیابی دقیق‌تر این صفات بهتر است تعداد مشاهدات در گروه‌های مختلف تیماری بیشتر باشد (Lindsay *et al.*, 1993).

نتایج مطالعات مختلف در زمان استفاده از GnRH طی روزهای مختلف پس از جفت‌گیری متفاوت می‌باشد به‌طوری که نتایج یک مطالعه (Ishida *et al.*, 1999) هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر در ارتباط با نرخ آبستنی، نرخ بره‌زایی و میزان پرولیفیکیسی نشان داد که استفاده از GnRH طی ۱۲ روز پس از جفت‌گیری در میش‌های سوپراوولەشده با eCG، نسبت به گروهی که فقط eCG دریافت کرده بود، اختلاف معنی‌داری را بین دو گروه نشان نداد. از طرف دیگر تحقیق بر روی میش‌های نژاد افشاری نشان داد که استفاده از GnRH طی ۴۸ ساعت پس از برداشت سیدر، سبب بهبود نرخ دوقلوزایی و بره‌زایی شد که موافق با یافته‌های این پژوهش در گروه دریافت‌کننده GnRH یک روز پس از جفت‌گیری بود (Sirjani *et al.*, 2012). نتایج چندین پژوهش نشان داده است که تزریق GnRH حدود ۲۴ و ۳۶ ساعت پس از برداشت اسفنج پروژسترون‌دار طی فصل تولیدمثلی در میش‌های سوپراوولەشده با eCG نسبت به گروه شاهد نرخ تخمک‌ریزی و نرخ آبستنی را بهبود نداد بلکه نسبت به گروه شاهد که تنها از eCG استفاده شده نیز کمتر بود (Luther *et al.*, 2007; Cavalcanti *et al.*, 2012). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تعداد میش‌های زایمان‌کرده و تعداد بره‌ها در گروه دریافت‌کننده GnRH در روز یک پس از جفت‌گیری نسبت به گروه شاهد و گروه‌های دریافت‌کننده GnRH در روزهای ۷ و ۱۲ از نظر عددی بالاتر بود. اختلاف بین نتایج این مطالعات می‌تواند به شرایط محیطی و روش انجام آزمایشات از جمله روش مختلف هم‌زمان‌سازی فحلی انجام‌شده، سطح GnRH استفاده شده و زمان تزریق این هورمون در مطالعات نسبت داده شود. از طرف دیگر به نظر می‌رسد اختلافات نژادی در پاسخ‌دهی به درمان‌های هورمونی تأثیرگذار باشند، لذا یکی از عوامل مهم در ارتباط با پاسخ نژادهای مختلف گوسفند به GnRH، ژنوتیپ است، چنین گزارش شده است که تأثیر GnRH در نژادهای مختلف گوسفند متفاوت می‌باشد، زیرا در نژادهای با میزان عملکرد تولیدمثلی بالاتر نسبت به نژادهای با باروری پائین‌تر دارای تأثیر بیشتری است (McNatty *et al.*, 1991; Hashem *et al.*, 2015). استفاده از GnRH طی روزهای اولیه پس از جفت‌گیری می‌تواند از طریق تأثیر بر افزایش غلظت LH، کاهش تعداد فولیکول‌های باقی‌مانده از موج فولیکولی قبلی، افزایش نرخ تخمک‌ریزی و به دنبال آن افزایش غلظت هورمون پروژسترون، سبب افزایش میزان آبستنی و بره‌زایی شود (Hashem *et al.*, 2015). لذا در مطالعه حاضر احتمالاً به‌دست آمدن نتایج بهتر در زمان استفاده از GnRH یک روز پس از جفت‌گیری می‌تواند به همین دلیل باشد. نتایج یک پژوهش اخیر در ارتباط با عملکرد تولیدمثلی پس از تزریق GnRH پنج روز پس از جفت‌گیری نسبت به گروه شاهد نشان داد که تعداد میش‌هایی که در اولین جفت‌گیری آبستن نشدند و مجدد علائم فحلی را نشان دادند همچنین تعداد کل بره‌های متولدشده و تعداد بره‌های متولدشده به‌ازای هر میش، اختلاف معنی‌داری را بین دو گروه نشان نداد. لذا نتایج مطالعه

www.SID.ir

Archive of SID

آن‌ها در این مورد هم‌سو با نتایج مطالعه حاضر می‌باشد (Mehri *et al.*, 2018).

نتایج به‌طور جالب توجهی نشان داد که اگرچه تعداد میش‌هایی که به‌عنوان آبستن در نظر گرفته شد در زمان استفاده از GnRH طی روزهای هفت و ۱۲ پس از جفت‌گیری نسبت به گروه شاهد که تنها eCG دریافت کرده بود بیشتر بود ولی تعداد میش‌های زایمان‌کرده و از همه مهم‌تر تعداد بره‌ها کمتر بود. چنین پیشنهاد شده است که طی یک الی چهار ساعت پس از استفاده GnRH در گوسفند، بز و گاو، غلظت LH افزایش می‌یابد که به دنبال آن فرآیند تخمک‌ریزی نیز اتفاق می‌افتد (Ambrose *et al.*, 1998; Cavalcanti *et al.*, 2012; Rahman *et al.*, 2017). لذا فرض بر این بود که استفاده از GnRH طی روز ۷ و ۱۲ پس از جفت‌گیری بتواند سایر فعالیت‌های مختلف تولیدمثلی به ویژه نرخ دوقلوزایی و در نهایت تعداد بره‌های متولد شده را افزایش دهد، ولی چنین تغییراتی مشاهده نشد که دلیل آن کاملا مشخص نیست. احتمالاً حضور بیشتر تعداد فولیکول‌های متوسط و بزرگ در روزهای اولیه پس از برداشت اسفنج و ناکافی بودن غلظت LH در این گروه‌ها که بتواند سبب افزایش نرخ تخمک‌ریزی و کاهش حضور این دسته از فولیکول‌ها شود، سبب وقوع چنین حالتی شده است؛ زیرا حضور چنین فولیکول‌هایی می‌تواند سبب افزایش غلظت استرادیول و به‌دنبال آن سبب ایجاد تأثیر منفی بر انتقال تخمک‌های لقاح یافته و نرخ آبستنی شود (Husein & Ababneh, 2008). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهند پائین بودن غلظت LH می‌تواند بلوغ فولیکولی و در نتیجه کیفیت اووسیت را تحت تأثیر قرار دهد، بنابراین رویان‌های ایجاد شده دارای کیفیت پائین‌تر با قدرت زنده‌مانی کمتری هستند (Mirzaei *et al.*, 2014).

نتایج یک مطالعه اخیر در میش‌های نژاد مرینوس طی فصل تولیدمثلی، در ارتباط با کاربرد GnRH در روز چهارم پس از جفت‌گیری نشان داد اگر چه استفاده از این هورمون نسبت به گروه شاهد سبب افزایش تعداد جسم زردهای مشاهده شده روی سطح تخمدان گردید، اما به‌طور جالب توجهی بین این دو گروه اختلاف معنی‌داری از نظر غلظت پروژسترون سرم مشاهده نشد (Fernandez *et al.*, 2018). نتایج مطالعه آن‌ها در ارتباط با تغییرات غلظت هورمون پروژسترون در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده GnRH نسبت به مطالعه حاضر در تضاد می‌باشد؛ زیرا در مطالعه حاضر غلظت هورمون پروژسترون در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده هورمون آزادسازی گونادوتروپین‌ها نسبت به گروه شاهد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. چنین گزارش شده است که در نشخوارکنندگان ۸۰ درصد از پروژسترون تولیدی توسط سلول‌های لوتئال بزرگ تولید می‌شود در حالی‌که سلول‌های کوچک لوتئال برای تولید پروژسترون نیاز به LH دارند، لذا افزایش غلظت LH می‌تواند از طریق تأثیر بر سلول‌های کوچک لوتئال سبب افزایش غلظت هورمون پروژسترون شود، بنابراین استفاده از GnRH از طریق تأثیر بر افزایش غلظت LH، می‌تواند سبب افزایش تولید پروژسترون شود (Diaz *et al.*, 2002; Stocco *et al.*, 2007; Wuttke *et al.*, 2001). در نتیجه GnRH می‌تواند هم از طریق افزایش نرخ تخمک‌ریزی و هم از طریق تأثیر بر سلول‌های کوچک لوتئال، سبب افزایش غلظت هورمون پروژسترون شود. در موافقت با نتایج مطالعه حاضر، در چندین مطالعه پیشین نیز نشان داده شد که صرف‌نظر از زمان تزریق هورمون آزادسازی گونادوتروپین‌ها، غلظت هورمون پروژسترون در گروه‌های دریافت‌کننده GnRH، نسبت به گروه شاهد بیشتر بود (Cam *et al.*, 2002; Lashari *et al.*, 2010; Hashem *et al.*, 2015). نتایج در گروه‌های مختلف تیماری در وضعیت‌های گوناگون تولیدمثلی نشان داد که غلظت هورمون پروژسترون در روز ۱۵ نسبت به روز ۳۰ بیشتر بوده است. نتایج یک مطالعه دیگر نیز نشان داد که غلظت این هورمون از روز هفت یک روند افزایشی را آغاز نموده و این روند افزایشی تا روزهای ۱۲ الی ۱۴ پس از جفت‌گیری ادامه پیدا کرده است و در روز ۲۱ پس از جفت‌گیری یک روند کاهشی را نشان داد و در روز ۲۸ نیز این روند کاهشی ادامه یافت (Hashem *et al.*, 2015). افزایش غلظت پروژسترون طی روزهای اولیه پس از فحلی یک فرآیند بسیار مهم و حیاتی محسوب می‌شود، زیرا فرآیند تحلیل جسم

www.SID.ir

Archive of SID

زرد از روز ۱۰ الی ۱۲ پس از جفت‌گیری شروع خواهد شد لذا افزایش غلظت این هورمون طی چنین روزهایی می‌تواند از طریق تأثیر بر روند تغییرات غلظت PGF2α و استرادیول سبب حفظ و ماندگاری جسم زرد و افزایش نرخ آبستنی و در نهایت برەزایی شود (Diaz *et al.*, 2002; Kaya *et al.*, 2013).

نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های این پژوهش به‌طور کلی نشان داد که استفاده از GnRH طی روزهای مختلف پس از جفت‌گیری نسبت به گروه شاهد، به‌طور معنی‌داری سبب افزایش غلظت هورمون پروژسترون گردید. از طرف دیگر نتایج نشان داد که استفاده از GnRH یک روز پس از جفت‌گیری نسبت به استفاده از این هورمون در روزهای هفت و ۱۲ پس از جفت‌گیری، توانست بر نرخ دوقلوزایی این نژاد اثر گذار باشد. بنابراین احتمالاً زمان استفاده از GnRH طی روزهای مختلف پس از جفت‌گیری در میش‌های لک‌قشقایی سوپراوله‌شده با eCG در شرایط پرورش عشایری، می‌تواند به عنوان یک عامل مهم در بهبود نرخ دوقلوزایی در این نژاد باشد.

REFERENCES

1. Ambrose, J. D., Pires, M. F. A., Moreira, F., Diaz, T., Binelli, M. & Thatcher, W. W. (1998). Influence of deslorelin (GnRH-agonist) implant on plasma progesterone, first wave dominant follicle and pregnancy in dairy cattle. *Theriogenology*, 50, 1157-1170.
2. Boscos, C. M., Samartzi, F. C., Dellis, S., Rogge, A. Stefanakis, A. & Krambovitis, E. (2002). Use of progestagen-gonadotrophin treatment in estrus synchronization of sheep. *Theriogenology*, 58, 1261-1272.
3. Cam, M. A., Kuran, M., Sedat Yildiz, S. & Selcuk, E. (2002). Fetal growth and reproductive performance in ewes administered GnRH agonist on day 12 post-mating. *Animal Reproduction Science*, 72, 73-82.
4. Cavalcanti, A. D. S., Brandao, F. Z., Nogueira, L. A. G. & Fonseca, J. F. D. (2012). Effects of GnRH administration on ovulation and fertility in ewes subjected to estrous synchronization. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 41, 1412-1418.
5. Diaz, F. J., Anderson, L. E., Wu, Y. L., Rabot, A., Tsai, S. J. & Wiltbank, M. C. (2002). Regulation of progesterone and prostaglandin F2a production in the CL. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 191, 65-80.
6. Fernandez, J., Bruno- Galarraga, M. M., Soto, A. T., de la Sota, R. L., Cueto, M. I., Gibbons, A. E. & Lacau, I. M. (2018). Hormonal therapeutic strategy on the induction of accessory corpora lutea in relation to follicle size and on the increase of progesterone in sheep. *Theriogenology*, 105, 184-188.
7. Habibizad, J., Riasi, A., Kohram, H. & Rahmani, H. R. (2015). Effect of feeding greater amounts of dietary energy for ashort-term with or without eCG injection on reproductiveperformance, serum metabolites and hormones in ewes. *Animal Reproduction Science*, 160, 82-89.
8. Hashem, N. M., El-Azrak, K. M., Nour El-Din, A. N. M., Taha, T. A. & Salem, M. H. (2015). Effect of GnRH treatment on ovarian activity and reproductive performance of low-prolific Rahmani ewes. *Theriogenology*, 83, 192-198.
9. Hosseinzadeh Aski, A., Masoudi, R., Zare-Shahneh, A., Asadzadeh, S., Dirandeh, E. & Sadeghipanah, H. (2016). The effect of equine chorionic gonadotrophin (eCG) injection combined with prostaglandin F2α (PGF2α) and gonadotrophin releasing hormone (GnRH) treatment on reproductive performance of Zandi ewes during non-breeding season. *Archives of Razi Institute*, 71, 269-276.
10. Husein, M. Q. & Ababneh, M. M. (2008). A new strategy for superior reproductive performance of ewes bred out-of-season utilizing progestagen supplement prior to withdrawal of intravaginal pessaries. *Theriogenology*, 69, 376-383.
11. Ishida, N., Okada, M., Sebata, K., Minato, M. & Fukui, Y. (1999). Effects of GnRH and hCG treatments for enhancing corpus luteum function to increase lambing rate of ewes artificially inseminated during the non-breeding season. *Journal of Reproduction and Development*, 45, 73-79.
12. Jordan, K. M., Inskeep, E. K. & Knights, M. (2009). Use of gonadotropin releasing hormone to improve reproductive responses of ewes introduced to rams during seasonal anoestrus. *Animal Reproduction Science*, 116, 254-264.
13. Karaca, F., Ataman, M. B. & Coyan. K. (2009). Synchronization of estrus with short and long-term progestagen treatments and the use of GnRH prior to short-term progestagen treatment in ewes. *Small Ruminant Research*, 81, 185-188.

www.SID.ir

Archive of SID

14. Kaya, S., Kacar, C., Kaya, D. & Aslan, S. (2013). The effectiveness of supplemental administration of progesterone with GnRH, hCG and PGF2 on the fertility of Tuj sheep during the non-breeding season. *Small Ruminant Research,* 113, 365-370.
15. Lashari, M. H. & Tasawar, Z. (2010). The effect of GnRH given on day of mating on ovarian function and reproductive performance in Lohi sheep. *Pakistan Veterinary Journal,* 30, 29-33.
16. Lindsay, D., Martin, G. & Williams, I. (1993). Nutrition and Reproduction. In: King G, editor. Reproduction in Domesticated Animals. Amsterdam: *Elsevier Science Publishers*, 459-491.
17. Luther, J. S., Grazul-Bilska, A. T., Kirsch, J. D. et al. (2007). The effect of GnRH, eCG and progestin type on estrous synchronization following laparoscopic AI in ewes. *Small Ruminant Research,* 72, 227-231.
18. Martinez, M. F., McLeod, B., Tattersfield, G., Smaill, B., Quirke, L. D. & Juengel, J. L. (2015). Successful induction of oestrus, ovulation and pregnancy inadult ewes and ewe lambs out of the breeding season using a GnRH+progesterone oestrus synchronisation protocol. *Animal Reproduction Science*, 155, 28-35.
19. McNatty, K. P., Hudson, N. L., Shaw, L., Condell, L. A., Ball, K., Seah, S. L. & Clarke, I. J. (1991). GnRH-induced gonadotrophin secretion in ovariectomized Booroola ewes with hypothalamic–pituitary disconnection. *Journal of Reproduction and Fertility*, 91, 583-92.
20. Mehri, R., Rostami, B., Masoumi, R. & Shahir, M. H. (2018). Effect of injection of GnRH and hCG on day 5 post mating on maternal P4 concentration and reproductive performance in Afshari ewes. *Journal of Comparative Pathobiology*, 14, 2363-2370. (in Farsi)
21. Mirzaei, A., Rezaei, M. & Asadi, J. (2014). Reproductive performance after hCG or GnRH administration of long-term progestagen treatment of fat tailed ewes during seasonal anoestrus. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine,* 40, 176-182.
22. Mulvaney, F. J., Morris, S. T., Kenyon, P. R., Morel, P. C. H., West, D. M., Vinoles, C. & Glover, K. M. M. (2013). Comparison between the reproductive performance of ewe hoggets and mature ewes following aprogesterone-based oestrus synchronization protocol. *New Zealand Journal of Agricultural Research,* 56, 288-296.
23. Rahman, M. R., Rahman, M. M., Wan Khadijah, W. E. & Abdullah, R. B. (2017). Effect of supplementation of hCG or GnRH on ovulation and subsequent embryo production of eCG superovulated goats. *Indian Journal of Animal Research,* 51, 438-443.
24. Reyna, J., Thomson, P. C., Evans, G. & Maxwell, W. M. C. (2007). Synchrony of ovulation and follicular dynamics in Merino ewes treated with GnRH in the breeding and non-breeding seasons. *Reproduction in Domestic Animals,* 42, 410-417.
25. Silva, B. D. M., Silva, T. A. S. N., Moreira, N. H., Teixeira, H. C. A., Paiva Neto, M. A., Neves, J. P. & Ramos, A. F. (2015). Ovulation induction in ewes using GnRH in long and short-term synchronization protocols. *Animal Reproduction Belo Horizonte,* 12, 312-315.
26. Sirjani, M. A., Kohram, H. & Shahir, M. H. (2012). Effects of eCG injection combined with FSH and GnRH treatment on the lambing rate in synchronized Afshari ewes. *Small Ruminant Research,* 106, 59-63.
27. Stocco, C., Telleria, C. & Gibori, G. (2007). The molecular control of corpus luteum formation, function, and regression. *Endocrine Reviews*, 28, 117-149.
28. Wuttke, W., Pitzel, L., Seidlova-Wuttke, D. & Hinney, B. (2001). LH pulses and the corpus luteum: the luteal phase deficiency (LPD). *Vitamins and Hormones,* 63, 131-58.

www.SID.ir