

ارزیابی ایجاد فحلی و باروری در خارج از فصل تولیدمثل در پی استفاده از پروژسترون تزریقی و یا اسفنج و تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی در میش‌های نژاد شال

حسن صیدی‌سامانی^۱، امیر نیاسری-نسلجی^{۲*}، علی شجاعی^۳، مهدی گنج‌خانلو^۴ و محمد بنی‌نجار^۵

^۱ دانشجوی دکتری تخصصی مامایی و بیماری‌های تولیدمثل، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۲ استاد گروه مامایی و بیماری‌های تولیدمثل، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران و رئیس مؤسسه تحقیقات دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۳ دانشجوی دکتری عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۴ دانشیار گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

^۵ کارشناس مؤسسه تحقیقات دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۰

دریافت: ۱۴۰۰/۵/۲۸

چکیده

هدف مطالعه حاضر مقایسه دو روش القای فحلی در خارج از فصل تولیدمثل با استفاده از پروژسترون تزریقی و یا اسفنج در میش‌های نژاد شال بود. تعداد ۱۰۸ رأس میش غیرآبستن نژاد شال بر اساس سن و نمره بدنی به دو گروه آزمایشی شامل: گروه تزریق (تعداد: ۵۴، سن: ۳۳/۰±۳/۲۱ ماه، نمره بدنی: ۲/۵±۰/۱۱) و گروه اسفنج (تعداد: ۵۴ رأس، سن: ۳۷/۵±۲/۵۸ ماه، نمره بدنی: ۲/۶±۰/۱۱) تقسیم شدند. میش‌های گروه تزریق ۴ تزریق متوالی پروژسترون (۵۰ میلی‌گرم، زیرجلدی) به فاصله ۷۲ ساعت دریافت داشتند. میش‌های گروه اسفنج، اسفنج داخل مهبل آغشته به پروژسترون (۴۰ میلی‌گرم فلوجستون استات) به مدت ۱۴ روز دریافت داشتند. هورمون eCG (۳۰۰ واحد بین‌المللی، عضلانی) همزمان با خروج اسفنج و ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق پروژسترون تزریق گردید. دوازده ساعت پس از تزریق eCG، فحل یابی با استفاده از قوچ‌های مجهز به پیشبند انجام شد. در فاصله ۵۶-۵۰ ساعت پس از تزریق eCG، تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی با استفاده از اسپرم تازه (یکصد میلیون در ۰/۲ میلی‌لیتر در هر شاخ رحم) انجام شد. تشخیص آبستنی با استفاده از دستگاه سونوگرافی، ۳۵ روز پس از تلقیح مصنوعی صورت پذیرفت. فراوانی بروز فحلی در گروه اسفنج (۷۴/۱ درصد) بیش‌تر از گروه تزریق (۳۸/۹ درصد) بود. فاصله بین فحلی ایستا تا تلقیح مصنوعی، نرخ باروری، نرخ چندقلوزایی و میزان تزايد گله در دو گروه مشابه بود. میزان آبستنی در میش‌هایی که در فاصله ۲۴ ساعت بعد از فحلی ایستا تلقیح شدند در گروه تزریق (۷۶/۲ درصد) بیشتر از گروه اسفنج (۴۲/۵ درصد) بود. به طور خلاصه، با توجه به مشابه بودن تزايد گله، به عنوان شاخص نهایی در عملکرد تولید مثل گله، هزینه کمتر، دسترسی آسان و عدم دخالت در دستگاه تولیدمثل در روش تزریق، می‌توان استفاده از روش تزریق در القای فحلی در خارج از فصل تولید مثل میش را توصیه نمود.

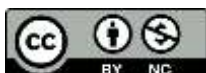
کلمات کلیدی: القای فحلی، پروژسترون تزریقی، اسفنج داخل مهبل، فصل غیر تولیدمثل، میش شال

مقدمه

تولید مثل در اغلب نژادهای گوسفند فصلی بوده طبیعی تنها یک زایش در سال حاصل می‌گردد (Abeica et al, 2011; Noakes et al, 2019) و در شرایط (Sareminejad et al, 2015). به منظور بهبود عملکرد تولید

* نویسنده مسئول: امیر نیاسری-نسلجی، استاد گروه مامایی و بیماری‌های تولیدمثل، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران و رئیس مؤسسه تحقیقات دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

E-mail: niasari@ut.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

مثل و افزایش سوددهی در گله‌های گوسفند، استفاده از روش‌های همزمانی فحلی در گله‌ها ضروری است. روش‌های کنترل تولیدمثل در گوسفند شامل روش‌های طبیعی و روش‌های هورمونی است (Abecia et al, 2012). پروژستازن‌ها از جمله ترکیباتی هستند که به طور معمول در میش برای کنترل چرخه تولیدمثل در فصل تولیدمثل (Koyuncu and Ozis Alticekic, 2010; Moakhar et al, 2021; López-García et al, 2021) و خارج از فصل تولیدمثل (Greyling et al, 1994)، به صورت تزریقی (Dutt, 1953)، خوراکی (Farrag et al, 2018)، داخل مهبل (Moakhar et al, 2012; Skliarov et al, 2021; López-García et al, 2021) و ایمپلنت زیرجلدی (Bragança et al, 2019) استفاده می‌شوند. در این میان، رایج‌ترین روش، استفاده از ابزارهای داخل مهبل نظیر اسفنج و سیدر است که آغشته به پروژسترون بوده و به مدت ۱۲-۱۴ روز استفاده شده و در زمان خروج این ابزار از هورمون eCG برای القاء فحلی بهتر و بیشتر و افزایش نرخ دوقلو زایی استفاده می‌شود. از مشکلات به کارگیری این ابزارها، تماس مستقیم آن‌ها با دستگاه تناسلی میش است که نیازمند رعایت تمهیدات بهداشتی بوده و باید توسط تکنسین ماهر انجام شود. اما با وجود رعایت مسائل بهداشتی، در هنگام خروج این ابزارها در درصدی از موارد چسبندگی، ترشحات چرکی و خونابه‌ای به همراه بوی متعفن مشاهده می‌شود (Swelum et al, 2015; Godfrey et al, 1997; Greyling et al, 1987). وجود ترشحات چرکی و التهاب مهبل ناشی از استفاده این ابزارها می‌تواند سبب کاهش باروری در میش شود (Martinez-Ros et al, 2014; Manes et al, 2018). از طرفی، امروزه با توجه به افزایش قیمت و محدودیت دسترسی به این ابزارها، استفاده از آن‌ها در کشور ما مقرون به صرفه نیست. بنابراین القاء و یا همزمانی فحلی با استفاده از پروژسترون تزریقی علاوه بر این که روشی ارزان قیمت است، با دستگاه تناسلی حیوان در تماس نبوده و نیازی به اتخاذ تمهیدات بهداشتی خاص نداشته و به راحتی توسط پرسنل دامپروری قابل استفاده

است. در مطالعه‌ای جامع در خصوص استفاده از پروژسترون تزریقی برای القاء فحلی در خارج از فصل تولید مثل که در طی آن تعداد تزریقات پروژسترون مورد بررسی قرار گرفت، نویسندگان این مقاله دریافتند که ۴ تزریق متوالی پروژسترون (۵۰ میلی گرم، زیر جلدی، هر ۷۲ ساعت یک بار) می‌تواند سبب عملکرد تولید مثلی مناسبی در میش‌های نژاد شال در خارج از فصل تولید مثل گردد (Seidi-Samani et al, 2021). بر این اساس، هدف از مطالعه حاضر مقایسه دو روش القاء فحلی در خارج از فصل تولید مثل مبتنی بر تزریق پروژسترون و یا استفاده از اسفنج (روش متدوال در القاء فحلی) در میش‌های نژاد شال بوده است.

مواد و روش کار

این مطالعه در مؤسسه تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران واقع در امین آباد شهر ری، استان تهران، با طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۶ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۳۹ دقیقه، در طی ماه‌های اردیبهشت و خرداد سال ۱۳۹۹ انجام شد. در این مطالعه تعداد ۱۰۸ رأس میش سالم و غیر آبستن، با میانگین سن $35/2 \pm 2/4$ ماه، تعداد شکم زایش ۳-۱، حداقل فاصله از آخرین زایش ۵ ماه و امتیاز وضعیت بدنی $2/5 \pm 0/8$ (امتیاز ۱ برای میش‌های بسیار لاغر و امتیاز ۵ برای میش‌های بسیار چاق، Youngquist and Threlfall 2007)، میش‌های مورد مطالعه تحت شرایط یکسان تغذیه‌ای و بر اساس توصیه NRC تغذیه شده و در شرایط کاملاً بسته قرار داشتند. به طور خلاصه هر رأس میش روزانه به میزان ۴۰۰ گرم سیلوی ذرت، ۴۵۰ گرم کلش، ۷۰۰ گرم یونجه و ۴۰۰ گرم کنسانتره به صورت TMR دریافت می‌کرد. هر میش به میزان ۳۰۰ گرم کنسانتره اضافه به عنوان جیره تکمیلی، از سه هفته قبل از شروع مطالعه تا سه هفته بعد از آن، دریافت کرد. تمامی میش‌ها واکسن‌های مورد نیاز و داروهای ضد انگل را دریافت داشته و از سلامت کامل برخوردار بودند.

گروه بندی میش ها

ابتدا جهت تعیین وضعیت التهاب و ترشحات مهبلی میش های مورد مطالعه، دستگاه تناسلی هر میش، با کمک اسپیکولوم های اتوکلاو شده و چراغ قوه، مورد معاینه قرار گرفت. پس از انجام معاینه مهبل، میش ها با در نظر گرفتن سن و وضعیت امتیاز بدنی به صورت تصادفی به دو گروه آزمایشی مساوی تقسیم شدند. در گروه تزریق، از ۴ تزریق متوالی پروژسترون (۵۰ میلی گرم و تاژسترون، شرکت داروسازی ابوریحان، ایران؛ به صورت زیرجلدی)، به فاصله ۷۲ ساعت یک بار، استفاده شد (Figure 1). در فاصله ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق پروژسترون، ۳۰۰ واحد بین المللی eCG (Spain, Hipra, Gonaser)، به صورت عضلانی) تزریق شد. در گروه اسفنجه، از اسفنجه داخل مهبل (20 mg Fluorogestone acetate, MSD Animal Health) آغشته به پودر پنی سیلین و استرپتومایسین، به

مدت ۱۴ روز و تزریق ۳۰۰ واحد eCG همزمان با خروج اسفنجه، استفاده شد (Figure 2). جهت استقرار اسفنجه برای هر میش، از یک اسپیکولوم استریل جداگانه، استفاده شد.

تشخیص فحلی

فحل یابی با استفاده از قوچ های تیزر مجهز به پیش بند، ۱۲ ساعت پس از تزریق eCG آغاز و تا زمان تلقیح مصنوعی ادامه یافت. میش های فحل بلافاصله پس از مشاهده فحلی ایستا، از گروه جدا شده و زمان بروز فحلی ثبت گردید. تمامی میش ها، در فاصله ۵۶-۵۰ ساعت پس از تزریق eCG به روش لاپاروسکوپی تلقیح شدند. فاصله بین تزریق eCG تا ایستا فحلی، تزریق eCG تا تلقیح مصنوعی و فاصله بین ایستا فحلی تا تلقیح مصنوعی، برای هر میش ثبت شد. طرح آزمایشی در دو گروه آزمایشی در Figures 1 & 2 نشان داده شده است.

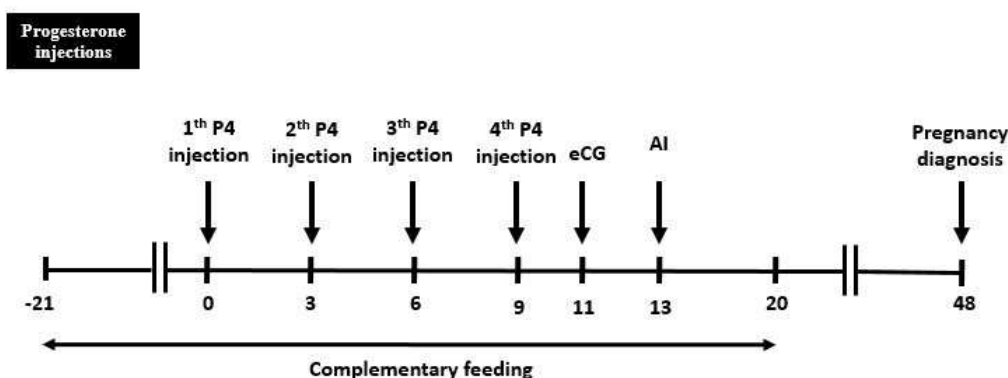


Figure 1: Schematic depiction of experimental design in progesterone injections group

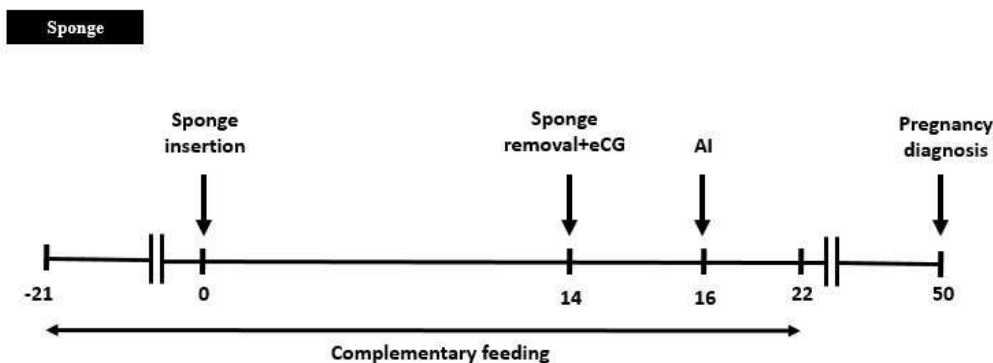


Figure 2: Schematic depiction of experimental design in sponge group

اسپرم‌گیری و آماده‌سازی اسپرم

اسپرم‌گیری با استفاده از دستگاه الکترواجاکولاتور از قوچ‌های شال انجام شد. پس از ارزیابی منی، نمونه‌های دارای حرکت جمعی با درجه ۴ و ۵ و حرکت انفرادی اسپرم $\geq 80\%$ درصد انتخاب شده و توسط رقیق کننده اصلاح شده شتر برای قوچ (Gharibi et al, 2014) آماده‌سازی شد، به طوری که در هر دوز تلقیح (۰/۲ میلی‌لیتر) 100×10^6 سلول اسپرم در نظر گرفته شد.

تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی

تلقیح مصنوعی به روش لاپاروسکوپی و در داخل شاخ‌های رحم (در هر شاخ ۰/۲ میلی‌لیتر) و با استفاده از دستگاه لاپاروسکوپ (Karl Storz, Hopkins, Tuttlingen, Germany) انجام شد. میش‌ها ۲۴ ساعت قبل از تلقیح در پرهیز آب و غذا قرار گرفتند. سپس در روز تلقیح مصنوعی در حالت خوابیده به پشت بر روی تخت لاپاروسکوپی قرار گرفته و پس از ثابت شدن در روی تخت، ناحیه قدامی پستان با تیغ تراشیده شد و پس از ضد-عفونی، بی‌حسی موضعی با استفاده از لیدوکائین هیدورکلراید دو درصد (وتاکائین، شرکت داروسازی ابوریحان، ایران) در محل ورود دو تروکار (۴-۵ سانتی‌متر در جلوی پستان و ۳-۴ سانتی‌متر در طرفین خط وسط) انجام شد. ابتدا تروکار و کانولا مربوط به تلسکوپ از محل برش سمت چپ وارد حفره شکم شده و از طریق آن گاز CO_2 وارد حفره شکم گردید تا شکم کمی برآمده شود. سپس یک تلسکوپ غیرقابل انعطاف با قطر ۵ میلی‌متری و زاویه ۳۰ درجه از طریق این کانول وارد حفره شکمی گردید. از برش سمت راست یک تروکار و یک کانول وارد شکم شده و از این راه سوند مخصوص تلقیح مصنوعی وارد شد. سپس سوزن سوند تلقیح مصنوعی در خم بزرگ شاخ رحم، در قسمتی که عروق کمتری دارد، وارد شده و پس از اطمینان از قرار گرفتن سوزن در لومن رحم، تخلیه اسپرم (۰/۲ میلی‌لیتر، ۱۰۰ میلیون اسپرم) صورت پذیرفت.

تلقیح مصنوعی شاخ دوم نیز از همین طریق انجام شد. در انتها محل شکاف‌ها با اسپری آنتی‌بیوتیک ضد عفونی شد. تشخیص آبستنی از طریق رکتال با استفاده از دستگاه اولتراسوند (Honda HS-1500; Tokyo, Japan) B-Mode مجهز به پراب خطی ۷/۵ مگاهرتزی و دارای نگهدارنده مخصوص، ۳۵ روز پس از تلقیح مصنوعی انجام شد.

آنالیز آماری

نرخ بروز فحلی (تعداد میش‌های فحل نسبت به کل تعداد میش‌ها ضربدر ۱۰۰)، فاصله زمانی بین تزریق eCG تا بروز فحلی ایستا، فاصله زمانی بین تزریق eCG تا تلقیح مصنوعی، فاصله زمانی بین بروز فحلی ایستا تا تلقیح مصنوعی، نرخ باروری (تعداد میش‌های آبستن به تعداد میش‌های در معرض قوچ ضربدر ۱۰۰)، میزان بهره‌زایی (تعداد میش‌های زایمان کرده به تعداد میش‌های در معرض قوچ ضربدر ۱۰۰)، چندقلوایی (تعداد بره‌های متولد شده نسبت به تعداد میش‌های زایمان کرده ضربدر ۱۰۰) و میزان تزايد گله (تعداد بره‌های متولد شده نسبت به تعداد میش‌هایی که در معرض قوچ قرار گرفتند ضربدر ۱۰۰) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. اطلاعات دارای متغیرهای گسسته با توزیع فراوانی دو جمله‌ای (نظیر نرخ آبستنی) و یا پواسون (نظیر دو قلوایی)، با استفاده از آزمون رگرسیون لجستیک و اطلاعات دارای متغیرهای پیوسته نظیر فاصله زمانی از تزریق eCG تا شروع فحلی به روش GLM و با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۴) مورد بررسی قرار گرفت. اطلاعات به صورت میانگین و خطای معیار و درصد بیان شد (SAS, 2012).

نتایج

نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد میزان بروز فحلی در گروه اسفنج (۷۴/۱ درصد) بیشتر از گروه تزریق (۳۸/۹ درصد) بود (Table 1؛ $P < 0.05$). همچنین تراکم بروز فحلی در طول ۲۴ ساعت (در فاصله ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از تجویز eCG)، در میش‌های گروه اسفنج (۱۰۰ درصد؛

۴۰ رأس از ۴۰ رأس) بیش‌تر از میش‌های گروه تزریق (۷۱/۴ درصد؛ ۱۵ رأس از ۲۱ رأس) بود (نمودار ۱؛ $P < 0.05$). سایر میش‌های گروه تزریق، در فاصله ۱۲-۲۴ ساعت (۴/۸ درصد) و ۴۸-۵۶ ساعت (۲۳/۹ درصد) پس از تزریق eCG فعلی ایستا نشان دادند (نمودار ۱). زمان بروز فعلی پس از تزریق eCG در دو گروه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت (Table 1؛ $P > 0.05$). همچنین از نظر فاصله زمانی بین فعلی تا تلقیح مصنوعی و eCG تا تلقیح مصنوعی، در دو گروه با یکدیگر اختلافی مشاهده نشد (Table 1؛ $P > 0.05$). میزان باروری در گروه تزریق

۴۰ رأس از ۴۰ رأس) بیش‌تر از میش‌های گروه تزریق (۷۱/۴ درصد؛ ۱۵ رأس از ۲۱ رأس) بود (نمودار ۱؛ $P < 0.05$). سایر میش‌های گروه تزریق، در فاصله ۱۲-۲۴ ساعت (۴/۸ درصد) و ۴۸-۵۶ ساعت (۲۳/۹ درصد) پس از تزریق eCG فعلی ایستا نشان دادند (نمودار ۱). زمان بروز فعلی پس از تزریق eCG در دو گروه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت (Table 1؛ $P > 0.05$). همچنین از نظر فاصله زمانی بین فعلی تا تلقیح مصنوعی و eCG تا تلقیح مصنوعی، در دو گروه با یکدیگر اختلافی مشاهده نشد (Table 1؛ $P > 0.05$). میزان باروری در گروه تزریق

Table 1: Reproductive performance of Shal ewes after inducing estrus using progesterone injection (4 SC injections of 50 mg progesterone in oil, 72 hrs apart) or intravaginal sponge (20 mg Fluorogestone acetate for 14 days) followed by laparoscopic AI, during non-breeding season

Parameters	Progesterone injections	Sponge	Total
Number	54	54	108
Estrus response (%)	21 (38.9) ^a	40 (74.1) ^b	61 (56.5)
Interval between eCG to estrus (hrs)	40.4±1.86 ^a	38.2±0.91 ^a	39.0±0.88
Interval between estrus to AI (hrs)	10.7±1.83 ^a	12.4±0.89 ^a	11.8±0.86
Interval between eCG to AI (hrs)	52.3±0.18 ^a	51.0±0.14 ^a	51.7±0.13
Fertility or lambing rate (%)	21 (38.9) ^a	20 (37) ^a	41 (38)
Lamb born (number)	33 ^a	30 ^a	63
Prolificacy (%)	157 ^a	150 ^a	154
Fecundity (%)	61.6 ^a	55.6 ^a	58.3

^{ab}Values within rows with different superscripts differ ($p < 0.05$).

Table 2: The effect of interval between estrus to AI on fertility of Shal ewes following progesterone injections (4 SC injections of 50 mg progesterone in oil, 72 hrs apart) or intravaginal sponge (20 mg Fluorogestone acetate for 14 days) followed by laparoscopic AI, during non-breeding season

Group	Interval between estrus to AI (hrs) and related pregnancy							
	<12	Pregnant (%)	12-24	Pregnant (%)	With Estrus	Pregnant (%)	Without estrus	Pregnant (%)
Prog. injections	14	9 (64.3)	7	7 (100)	21	16 (76.2) ^A	33	5 (15.1) ^A
Sponge	18	7 (38.9)	22	10 (45.4)	40	17 (42.5) ^B	14	3 (21.4) ^A
Total	32	16 (50) ^a	29	17 (58.6) ^a	61	33 (54.1) ^a	47	8 (17.0) ^b

^{ab}Values within rows with different superscripts differ ($P < 0.05$).

^{AB}Values within columns with different superscripts differ ($P < 0.05$).

میش‌هایی که علایم فعلی را نشان ندادند در بین دو گروه مشابه بود (Table 2؛ $P > 0.05$).

میزان باروری در میش‌های گروه تزریق که علایم فعلی را نشان دادند (۷۶/۲ درصد) بیشتر از گروه اسفنج بود (۴۲/۵ درصد؛ Table 2؛ $P < 0.05$). میزان باروری در

بحث

مطالعه حاضر به منظور مقایسه عملکرد تولیدمثلی میش‌های نژاد شال در خارج از فصل تولیدمثل متعاقب القای فحلی با استفاده از اسفنچ و یا پروژسترون تزریقی انجام شد. در فاصله ۵۶ ساعت پس از تزریق eCG، درصد بیش‌تری از میش‌ها در گروه اسفنچ (۷۴/۱ درصد) نسبت به گروه تزریق (۳۸/۹ درصد) علائم فحلی از خود نشان دادند ($P < 0.05$). بالا بودن میزان بروز فحلی در پی استفاده از اسفنچ با مطالعات قبلی همخوانی دارد (۷۶/۵ درصد: Rastegarnia and Heydari, 2010، ۱۰۰ درصد: Safdarian et al, 2006). ولی میزان مشاهده فحلی ایستا متعاقب استفاده از پروژسترون تزریقی (۶ تزریق یک روز در میان) در مطالعه قبلی نسبت به مطالعه حاضر بیشتر بوده است (۸۰ درصد: Hashemi et al, 2006).

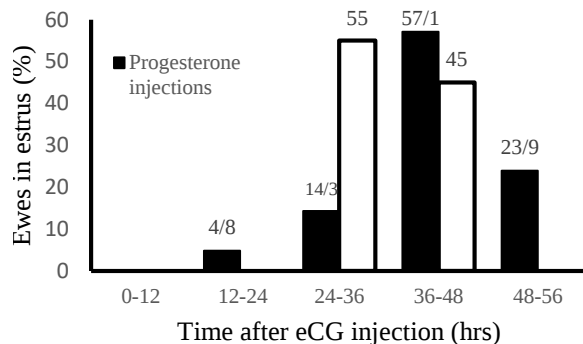


Figure 1: Tightness of estrus synchrony in Shal ewes following eCG administration in two estrous synchronization programs based on progesterone injections (4 SC injections of 50 mg progesterone in oil, 72 hrs apart) or intravaginal sponge (20 mg Fluorogestone acetate for 14 days) during non-breeding season

یکی از دلایل این تفاوت طول مدت ثبت علائم فحلی بوده است که در مطالعه حاضر ۵۶ ساعت و در مطالعه قبلی ۱۲۰ ساعت بوده است. همچنین در مطالعه حاضر، eCG به فاصله ۴۸ ساعت پس از آخرین تجویز پروژسترون، تزریق شد. در حالی که در مطالعه Hashemi و همکاران، تزریق eCG همزمان با آخرین تزریق پروژسترون صورت پذیرفت.

Dutt در سال ۱۹۵۳ در القاء فحلی با استفاده از تزریقات مکرر پروژسترون نشان داد که ۴ تزریق زیرجلدی پروژسترون به فاصله ۷۲ ساعت و تزریق ۵۰۰ واحد eCG به صورت زیرجلدی به فاصله ۷۲ ساعت پس از آخرین تزریق پروژسترون، باعث ایجاد فحلی در ۸۰ درصد از میش‌های درمان شده، در مدت ۱۰ روزه می‌شود (Dutt, 1953). از دلایل اختلاف در فراوانی بروز فحلی در مطالعه حاضر با مطالعه Dutt، می‌توان به اختلاف در طول مدت فحلیابی اشاره نمود. از دیگر دلایل تفاوت در میزان بروز فحلی در مطالعه حاضر با سایر مطالعات می‌تواند تفاوت در مقادیر eCG استفاده شده در مطالعه حاضر (۳۰۰ واحد بین المللی) نسبت به سایر مطالعات باشد. به طور کلی میزان مصرف eCG در گوسفند بین ۲۵۰ تا ۷۵۰ واحد بین-المللی گزارش شده است که این میزان بستگی به سن، فصل و نژاد دارد (Boland et al, 1981). در فصل تولیدمثل، استفاده از مقادیر متفاوت eCG در همزمانی با سیدر می-تواند بر عملکرد تولیدمثلی میش‌های نژاد شال، پس از تلقیح لاپاروسکوپیک، مؤثر باشد؛ به طوری که بهترین عملکرد تولیدمثلی زمانی حاصل شد که eCG به میزان ۵۵۰-۶۵۰ واحد بین‌المللی استفاده شود (Moakhar et al, 2012). Najafi و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای که بر روی میش‌های نژاد قزل انجام دادند نشان دادند که با افزایش سطح eCG از ۳۵۰ به ۵۵۰ واحد بین‌المللی، غلظت هورمون‌های استروئیدی به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. مقادیر بالاتر eCG ممکن است در افزایش تعداد و اندازه فولیکول‌های تخمدانی و در نتیجه تولید بیشتر استرادیول و افزایش میزان بروز فحلی مؤثر بوده باشد (Ali, 2007). فاصله بین خاتمه درمان تا شروع علائم فحلی شاخص مهمی جهت تعیین زمان تخمک‌گذاری است. در مطالعه حاضر تفاوتی در فاصله تزریق eCG تا فحلی در گروه اسفنچ و تزریق، مشاهده نشد (به ترتیب $38/2 \pm 0/91$ و $40/1 \pm 4/86$ ساعت؛ $P > 0.05$). Rastegarnia و همکاران فاصله بین تزریق eCG تا بروز علائم فحلی را در همزمانی با اسفنچ، $41/9 \pm 8/9$ ساعت گزارش کردند

(Figure 1; $P < 0.05$) که با مطالعه Hashemi و همکاران همخوانی دارد (Hashemi et al, 2006). Rastegarnia و همکاران تراکم بروز فعلی در فاصله بین ۲۴-۴۸ ساعت پس از خاتمه درمان با اسفنج را ۸۱/۳ درصد گزارش کردند (Rastegarnia et al, 2006).

نرخ باروری میش متأثر از عوامل مختلفی نظیر ژنتیک، تغذیه، مدیریت (Petrovic et al, 2012; Fukui et al, 2010)، روش همزمانی، نوع و میزان eCG مورد استفاده، نوع اسپرم مورد استفاده (Hill et al, 1998) است. در مطالعه حاضر علی‌رغم بیش‌تر بودن میزان بروز فعلی و تراکم آن در گروه اسفنج، نرخ باروری بین دو گروه تفاوتی نداشت (۳۸/۹ درصد گروه تزریق و ۳۷ درصد گروه اسفنج؛ $P > 0.05$). نرخ بهره‌زایی متعاقب همزمانی با سیدر در خارج از فصل تولیدمثل و تلقیح به روش لاپاروسکوپی در میش‌های نژاد زندی ۳۷/۵ درصد بوده است که با مطالعه حاضر همخوانی دارد (Masoodi et al, 2016). در حالی که نرخ باروری حاصل از همزمانی با استفاده از پروژسترون تزریقی و اسفنج را در میش‌های نژاد قره‌گل به ترتیب ۷۵ و ۹۰ درصد گزارش کردند (Safdarian et al, 2006). تفاوت در باروری را در این دو مطالعه می‌توان به دلیل تفاوت در نژاد، سن، منطقه مورد مطالعه، روش تلقیح و تفاوت در تعریف این شاخص در مطالعه Safdarian و همکاران نسبت میش‌های زایمان کرده به میش‌های جفت‌گیری کرده را به عنوان نرخ باروری در نظر گرفته است در حالی که در مطالعه حاضر نرخ باروری (بهره‌زایی) بر اساس نسبت میش‌های زایمان کرده به میش‌های در معرض قوچ قرار گرفته (Youngquist and Threlfall, 2007) محاسبه شده است. همچنین در مطالعه حاضر از روش تلقیح لاپاروسکوپی جهت بارور کردن میش‌ها استفاده شده است در حالی که در مطالعه مذکور از جفت‌گیری طبیعی استفاده شده است.

در مطالعه حاضر نرخ باروری در میش‌هایی که قبل از تلقیح علایم فعلی را نشان دادند، بیش‌تر از میش‌هایی بود

(Rastegarnia and Heydari, 2010) که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. در حالی که Hashemi و همکاران فاصله بین تجویز eCG تا بروز فعلی را در گروه اسفنج، $5/6 \pm$ ۲۹/۶ ساعت گزارش کردند. در مطالعه اخیر فاصله بین تزریق eCG تا بروز فعلی در میش‌های دریافت کننده پروژسترون تزریقی $51/4 \pm 10$ ساعت گزارش شد. دلیل اختلاف در مطالعه حاضر با مطالعه مذکور را می‌توان به تفاوت در زمان تزریق و میزان eCG استفاده شده مربوط دانست. در مطالعه حاضر زمان تزریق eCG (۳۰۰ واحد بین المللی) در گروه تزریق، ۴۸ ساعت پس از آخرین تزریق پروژسترون بود در حالی که در مطالعه Hashemi و همکاران، زمان تزریق eCG در گروه تزریق، همزمان با آخرین تزریق پروژسترون و به میزان ۵۰۰ واحد بین‌المللی بود.

تلقیح مصنوعی در زمان ثابت مشکلات فعل‌یابی در میش را مرتفع می‌سازد. برای این منظور تعیین زمان مناسب تلقیح مصنوعی مبتنی بر زمان بروز فعلی و تخمک‌گذاری ضروری است تا بتوان در ادامه باروری مناسبی را نیز انتظار داشت. میزان زنده‌مانی اسپرم تازه در درون لوله‌های رحمی، ۱۰-۱۲ ساعت است. از طرفی طول عمر تخمک پس از تخمک‌گذاری، ۱۲-۲۴ ساعت است. طول مدت فعلی در میش حدود ۲۴-۳۶ ساعت بوده و تخمک‌گذاری در اواخر فعلی رخ می‌دهد (Evans and Maxwell, 1987). زمانی که از ابزارها پروژسترونی جهت همزمانی استفاده می‌شود، اکثر میش‌ها در فاصله ۳۶-۴۸ ساعت پس از خاتمه درمان فعل شده و معمولاً تخمک‌گذاری در فاصله ۶۰ ساعت پس از خروج ابزارها رخ می‌دهد و بهترین باروری زمانی حاصل می‌شود که تلقیح مصنوعی در زمانی نزدیک به تخمک‌گذاری انجام شود. بر این اساس تلقیح مصنوعی ۵۴ ساعت پس از خروج ابزار داخل مهبل توصیه می‌شود (Evans and Maxwell, 1987). در مطالعه حاضر تراکم بروز فعلی در طول ۲۴ ساعت (در فاصله ۲۴ تا ۴۸ ساعت پس از تجویز eCG)، در میش‌های گروه اسفنج (۱۰۰ درصد) بیش‌تر از میش‌های گروه تزریق (۷۱/۴ درصد) بود

که علایم فحلی در آن‌ها ثبت نشده بود (۵۴/۱ درصد در برابر ۱۷ درصد). از طرفی نرخ باروری در میش‌هایی که قبل از تلقیح علایم فحلی نشان دادند در گروه تزریق (۷۶/۲ درصد) بیش‌تر از گروه اسفنج (۴۲/۵ درصد) بود. همزمانی با استفاده از پروژستازن‌های مهیلی می‌تواند منجر به درجات مختلفی از التهاب و ترشحات چرکی در مهبل شود (Swelum et al, 2015; Niasari-Naslaji et al, 2005). از طرفی برخی مطالعات نرخ باروری حاصل از همزمانی با اسفنج (۴۵ درصد) را به دلیل ایجاد التهاب در مهبل، کمتر از همزمانی با سیدر (۷۵-۷۰ درصد) گزارش کرده‌اند (Martinez-Ros et al, 2018). لذا در مطالعه حاضر دلیل کاهش باروری در میش‌های فحل شده در گروه اسفنج را شاید بتوان به دلیل احتمال وجود ترشحات چرکی در مهبل و احتمالاً نشت این ترشحات به درون رحم در زمان فحلی نسبت داد. بر این اساس با وجودی که تعداد میش‌های

فحل در گروه اسفنج بیشتر از گروه تزریق پروژسترون بود ولی به دلیل کاهش نرخ باروری در میش‌های فحل که با اسفنج درمان شده بودند در نهایت شاخص تزايد گله که مهمترین شاخص ارزیابی عملکرد تولید مثلی محسوب شده و بیان‌گر تعداد بچه افزوده شده به گله موجود می‌باشد، در دو گروه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. بنابراین به طور خلاصه می‌توان نتیجه گرفت که در روش القاء فحلی مبتنی بر تزریق پروژسترون به دلیل کاهش هزینه درمان، سادگی درمان و عدم نیاز به فرد ماهر، عدم مداخله در دستگاه تناسلی و در نتیجه عدم ایجاد التهاب و ترشحات فرج پس از خاتمه درمان و بالاخره عدم وجود تفاوت در شاخص تزايد گله در دو گروه، می‌توان چنین پیشنهاد کرد که استفاده از پروژسترون تزریقی نسبت به اسفنج، در همزمانی فحلی گوسفند مقرون به صرفه و کاربردی‌تر است.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر توسط صندوق حمایت از پژوهشگران به شماره طرح ۹۹۰۰۲۳۴۴ و نیز معاونت پژوهشی دانشگاه تهران مورد حمایت مالی قرار گرفته است. پروژسترون‌های مصرفی در این طرح توسط شرکت دارویی ابوریحان تأمین گردیده است. نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند تا از همکاری مسئولین و کارگران مؤسسه تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران کمال سپاس و قدردانی را داشته باشند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

منابع مالی

منابع مالی این مطالعه توسط صندوق حمایت از پژوهشگران و معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه تهران تأمین گردیده است.

منابع

- Abecia, J. A., Forcada, F., & González-Bulnes, A. (2011). Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 27(1): 67-79.
- Abecia, J. A., Forcada, F., & González-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 130(3-4): 173-179.
- Ali, A. (2007). Effect of time of eCG administration on follicular response and reproductive performance of FGA-treated Ossimi ewes. *Small Ruminant Research*, 72(1): 33-37.

- Boland, M. P., Crosby, T. F., & Gordon, I. (1981). Effect of mating management and PMSG dose on lambing outcome in ewes bred in late anoestrus. *The Journal of Agricultural Science*, 97(2): 445-447.
- Bragança, J. F. M., Drissen, R. O., Machado, S. A., Bennemann, P. E., & da Rocha, R. X. (2019). Efficacy of the re-utilization of an ear implant impregnated with progestogen in estrus synchronization response and pregnancy in sheep. *Tropical Animal Health and Production*, 51(6): 1763-1765.
- Dutt, R. H. (1953). Induction of estrus and ovulation in anestrual ewes by use of progesterone and pregnant mare serum. *Journal of Animal Science*, 12(3): 515-523.
- Evans, G., & Maxwell, W. C. (1987). Salamons' Artificial Insemination of Sheep and Goats (No. Ed. 2). Butterworth-Heinemann.
- Farrag, B., El-Hawy, A. S., El-Bassiony, M. F., El-Rayes, M. A. H., & Shedeed, H. A. (2018). Influence of short-and long-term administration of Melengestrol acetate on estrus activity and reproductive performance of nulliparous Barki ewes. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 3(4): 264403.
- Gharibi, S., Niasari-Naslaji, A., Poursasan, N., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2014). Replacement of Salamon with Shotor diluent and egg yolk with low density lipoprotein for chilled storage of ram semen. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 15: 279-284.
- Godfrey, R. W., Gray, M. L., & Collins, J. R. (1997). A comparison of two methods of oestrous synchronisation of hair sheep in the tropics. *Animal Reproduction Science*, 47(1-2): 99-106.
- Greyling, J. P. C., & Brink, W. C. J. (1987). Synchronization of oestrus in sheep: The use of controlled internal drug release (CIDR) dispensers. *South African Journal of Animal Science*, 17(3): 128-132.
- Greyling, J. P. C., Kotze, W. F., Taylor, G. J., Hagendijk, W. J., & Cloete, F. (1994). Synchronization of oestrus in sheep: use of different doses of progestagen outside the normal breeding season. *South African Journal of Animal Science*, 24(1): 33-37.
- Hashemi, M., Safdarian, M., & Kafi, M. (2006). Estrous response to synchronization of estrus using different progesterone treatments outside the natural breeding season in ewes. *Small Ruminant Research*, 65(3): 279-283.
- Hill, J. R., Thompson, J. A., & Perkins, N. R. (1998). Factors affecting pregnancy rates following laparoscopic insemination of 28,447 Merino ewes under commercial conditions: a survey. *Theriogenology*, 49(4): 697-709.
- Koyuncu, M., & Ozis Alticekic, S. (2010). Effects of progestagen and PMSG on estrous synchronization and fertility in Kivircik ewes during natural breeding season. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(3): 308-311.
- López-García, S., Sánchez-Torres, M. T., Cordero-Mora, J. L., Figueroa-Velasco, J. L., Martínez-Aispuro, J. A., García-Cué, J. L., & Cárdenas-León, M. (2021). Estrous synchronization in sheep with reused progesterone devices and eCG. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 50.
- Manes, J., Hozbor, F., Alberio, R., & Ungerfeld, R. (2014). Intravaginal placebo sponges affect negatively the conception rate in sheep. *Small Ruminant Research*, 120(1): 108-111.
- Martinez-Ros, P., Lozano, M., Hernandez, F., Tirado, A., Rios-Abellan, A., López-Mendoza, M. C., & Gonzalez-Bulnes, A. (2018). Intravaginal device-type and treatment-length for ovine estrus synchronization modify vaginal mucus and microbiota and affect fertility. *Animals*, 8(12): 226.
- Moakhar, H. K., Kohram, H., Shahneh, A. Z., & Saberifar, T. (2012). Ovarian response and pregnancy rate following different doses of eCG treatment in Chall ewes. *Small Ruminant Research*, 102(1): 63-67.
- Najafi, G., Cedden, F., & Maleki, S. (2014). The determination of plasma progesterone, estradiol-17 β hormone levels in Ghezel sheep treated with CIDR and various doses of PMSG during the breeding season. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 3(3): 118-122.
- Niasari-Naslaji, A., & Soukhtezari, A. (2005). Comparison between three estrus synchronization programs using progestagens during the breeding season in the ewe. *Pajouhesh Sazandegi*, 65: 86-91.
- Noakes, D. E., Parkinson, T. J., & England, G. C. (2018). Puberty and seasonality. In: *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. (10th ed). Elsevier Health Sciences. P. 54-62.
- Petrović, M. P., Caro Petrović, V., Ružić-Muslić, D., Maksimović, N., Ilić, Z. Z., Milošević, B., & Stojković, J. (2012). Some important factors affecting fertility in sheep. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 28(3): 517-528.

- Rastegarnia, A., & Heydari. H. (2010). Oestrus synchronization in ewes with Fluorogestone acetate out of breeding season. *Journal of Large Animal Clinical Science Research*, 4(11): 21-30.
- Safdarian, M., Kafi, M., & Hashemi, M. (2006). Reproductive performance of Karakul ewes following different oestrous synchronisation treatments outside the natural breeding season. *South African Journal of Animal Science*, 36(4): 229-234.
- 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. *Journal of Animal Science and Research*, 25(1): 151-161.
- SAS, Statistical Analysis System. (2012). User's Guide, version 9.4. SAS Institute, Cary, NC.
- Seidi-Samani, H., Niasari-Naslaji, A., Vojgani, M., Ganjkanlou, M., Alijani, A., Baninajjar, M. (2023). Synchronization of estrus using progesterone injections followed by hMG in ewes. *Veterinary Research Forum*, 14 (3): 145-151.
- Skliarov, P., Pérez, C., Petrussha, V., Fedorenko, S., & Bilyi, D. (2021). Induction and synchronization of oestrus in sheep and goats. *Journal of Central European Agriculture*, 22(1): 39-53.
- Swelum, A. A. A., Alowaimier, A. N., & Abouheif, M. A. (2015). Use of fluorogestone acetate sponges or controlled internal drug release for estrus synchronization in ewes: Effects of hormonal profiles and reproductive performance. *Theriogenology*, 84(4): 498-503.
- Youngquist, R.S., & Threlfall, W.R. (2007). Current Therapy in Large Animal Theriogenology. (2 nd ed). Saunders Elsevier. Philadelphia, USA. p. 642-704.

Received: 19.08.2021

Accepted: 02.10.2021

Induction of estrus and fertility of Shal ewes using progesterone injections or intravaginal sponge followed by laparoscopic AI during non-breeding season

Hassan Seidi-Samani¹, Amir Niasari-Naslaji^{2*}, Ali Shojaie³, Mahdi Ganjkhanelou⁴
and Mohammad Baninajjar⁵

¹ DVSc Student, Department of Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

² Professor, Department of Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran and Scientific Director of Veterinary Research Institute, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

³ DVM Student, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Animal Sciences, School of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

⁵ Senior Technical Officer, Veterinary Research Institute, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 19.08.2021

Accepted: 02.10.2021

Abstract

The objective of this study was to compare two estrus induction protocols in Shal ewes (Iranian native breed) during the non-breeding season using progesterone injections and an intravaginal sponge. Non pregnant ewes (n=180), considering their age and BCS were stratified randomly into two groups: progesterone injection (n=54; age: 33.0±3.21 months; BCS, 2.5±0.11) and vaginal sponge (n: 54; age: 37.5±3.58; BCS: 2.6±0.11). The progesterone injection group received four consecutive injections of progesterone (50 mg, SC), 3 days apart. Ewes in the sponge group received an intravaginal sponge (40 mg Flugestone acetate) for 14 days. An intramuscular injection of eCG (300 IU) was given concurrent with sponge withdrawal or 48 hrs after the last progesterone injection. Twelve hours after eCG, estrus was detected by rams equipped with harnesses. Laparoscopic AI was performed 50-56 hrs after eCG injection by fresh semen (100×106 sperm in 0.2 ml per uterine horn). Pregnancy was diagnosed by rectal ultrasonography, 35 days after insemination. The incidence of estrus (74.1%) was greater in the sponge group than injection group (38.9%). There were no differences between the two groups in terms of time to estrus and time to AI after eCG injection. There was no differences between the two groups in the interval from estrus to AI, fertility, prolificacy, and fecundity. Fertility was greater in ewes that were inseminated within 24 hrs after estrous detection in the progesterone injected group (76.2%) compared to the sponge group (42.5%). In summary, due to the similarity in fecundity, as the final indicator of reproductive performance, and less cost, availability and no intervention of reproductive tract, progesterone injection method could be advised for inducing estrus in ewes during the non-breeding season.

Key word: Estrus induction, Progesterone injection, Sponge, Non-breeding season, Shal ewes

* **Corresponding Author:** Amir Niasari-Naslaji, Professor, Department of Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran and Scientific Director of Veterinary Research Institute, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
E-mail: niasari@ut.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).