

艾克拜尔·艾合麦提, 程志跃, 阿布力皮孜·买买提, 等. 不同处理方法对湖羊初产母羊同期发情和繁殖性能的影响 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (11): 28-32.

AIKEBAIER AIHEMAITI, CHENG Z Y, ABULIPIZI MAIMAITI, et al. Effects of different protocols of estrous synchronization on reproductive performance of primiparous ewes of Hu sheep [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (11): 28-32.

## 不同处理方法对湖羊初产母羊同期发情和繁殖性能的影响

艾克拜尔·艾合麦提<sup>1#</sup>, 程志跃<sup>1#</sup>, 阿布力皮孜·买买提<sup>2</sup>, 樊琛<sup>1</sup>,  
木热迪力·麦麦提<sup>1</sup>, 王旭光<sup>1</sup>, 赵国栋<sup>1\*</sup>

(1. 新疆农业大学动物科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052;

2. 新疆沙雅县农业农村局, 新疆 沙雅 842200)

**摘要:** 旨在探究促性腺激素释放激素 (GnRH) 和前列腺素 (PG) 对湖羊初产母羊同期发情和繁殖性能的影响。将 199 只健康、体况良好、空怀的初产母羊随机分为 GnRH 组 ( $n=103$ ) 和 PG 组 ( $n=96$ ), 分别用 2 种激素进行同期发情处理, GnRH 组采用 GnRH+PG+GnRH 方法处理, PG 组采用 PG+PG 方法处理; 处理后 24、48、72 h 观察母羊的发情表现, 对发情母羊即时进行人工授精, 配种时每只羊肌肉注射促黄体素释放激素 A<sub>3</sub>; 授精后 35 d 使用 B 超机进行妊娠诊断, 统计受胎率和产羔情况。结果显示: 2 组母羊发情时间均主要集中在 0~24 h, 显著高于 24~48 h 和 48~72 h ( $P<0.05$ ); 总发情率 GnRH 组 (84.47%) 与 PG 组 (79.17%) 之间无显著差异 ( $P>0.05$ ); 2 组母羊的受胎率、产羔率、单羔率、双羔率、多羔率和流产率也均无显著差异 ( $P>0.05$ ); PG 组的药物费用为 6.55 元/只, GnRH 组的药物费用为 9.91 元/只, PG 组的成本更低。结论: 鉴于 GnRH 组与 PG 组的同期发情效果接近, 考虑到成本因素, 建议在集约化养殖过程中应用 PG 组方法对初产母羊进行同期发情处理。

**关键词:** 初产母羊; 同期发情; 发情率; 促性腺激素释放激素; 前列腺素

**中图分类号:** S827.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2024)11-0028-05

## Effects of different protocols of estrous synchronization on reproductive performance of primiparous ewes of Hu sheep

Aikebaier Aihemaiti<sup>1#</sup>, CHENG Zhiyue<sup>1#</sup>, Abulipizi Maimaiti<sup>2</sup>, FAN Chen<sup>1</sup>, Muredili Maimaiti<sup>1</sup>,  
WANG Xuguang<sup>1</sup>, ZHAO Guodong<sup>1\*</sup>

(1. College of Animal Sciences, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China;

2. Agriculture and Rural Affairs Bureau of Xinjiang Shaya County, Shaya 842200, China)

**Abstract:** This study aimed to investigate the effects of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and prostaglandin (PG) on estrus synchronization and reproductive performance of primiparous ewes of Hu sheep, and to find a more economical and effective estrus synchronization scheme for large-scale breeding production. 199 healthy primiparous ewes were obtained and randomly divided into 2 groups: the GnRH group ( $n=103$ ) and the PG group ( $n=96$ ). The GnRH group was treated with GnRH+PG+GnRH. The PG group was treated with PG+PG. The estrus performance of the two groups of ewes was observed at 24, 48, and 72 h after treatment. Artificial insemination was performed immediately on the estrus ewes, and each ewe was intramuscularly injected with LRH A<sub>3</sub> during mating. 35 days later, pregnancy of the ewes was diagnosed by ultrasonography and the pregnancy rate, and the number of lambs was counted. The results showed that the estrus time of the two groups of ewes was mainly in the period of 0-24 h, and there was a significant difference in the estrus time between 24-48 h and 48-72 h ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in the overall estrus rate between the GnRH group (84.47%) and PG group (79.17%) ( $P>0.05$ ). There was no significant difference in conception rate, lambing rate, single lambing rate, twinning rate, multiple lambing rate and abortion rate between the two groups ( $P>0.05$ ). The drug cost of the PG group was 6.55 yuan for each ewe, the drug cost of the GnRH group was 9.91 yuan each, and the cost of PG group was lower. In summary, in view of the fact that the estrus synchronization effect of

收稿日期: 2023-12-30; 修回日期: 2024-08-30

基金项目: 自治区天池英才项目

第一作者: 艾克拜尔·艾合麦提, 男, 博士研究生; 程志跃, 男, 硕士研究生。<sup>#</sup>共同第一作者

\* 通信作者: 赵国栋, 博士, 讲师, 主要从事草食动物营养代谢及繁殖理论与技术研究, E-mail: zhaogd2021@163.com。

GnRH group and PG group was close. However, considering the cost factor, it is recommended that the estrus synchronization treatment for primiparous ewes of the PG group be applied during intensive breeding.

**Keywords:** primiparous ewes; estrus synchronization; estrus rate; GnRH; PG

绵羊的同期发情和人工授精技术已成为养殖生产中高效的动物繁殖技术。同期发情技术可以在人为干预的时间内调控母羊的发情排卵周期和配种时间,从而提高母羊的生产性能,提高绵羊养殖效益,推动养羊业的发展。有研究表明同期发情技术不仅可以提高母羊的受胎率和产羔率<sup>[1-2]</sup>,还可以通过调整怀孕母羊的分娩时间以缩短产羔周期,从而实现母羊的高效繁育<sup>[3]</sup>。目前,用于绵羊同期发情的方案有很多,现阶段在规模化养殖场中普遍采用阴道海绵栓+孕马血清促性腺激素(PMSG)这一同期发情方案,此外,在实际生产中也常常使用孕激素阴道海绵栓、前列腺素(PG)以及促性腺激素释放激素(GnRH)等药物进行同期发情处理<sup>[4-5]</sup>。在规模化养殖场中,药物成本是影响养殖效益的重要因素,这也进一步促使养殖者们要寻求一种最经济有效的同期发情方案。Yu等<sup>[6]</sup>通过5种同期发情方案对湖羊繁殖性能影响的比较,发现使用阴道海绵栓+PMSG的方案是最经济有效的同期发情方案。

由于初产母羊受限于自身的诸多因素,技术人员很难采用埋置阴道海绵栓方法对初产母羊进行同期处理,导致不管是大型养殖场还是养殖户们长期以来对初产母羊都是靠传统的自然交配方式来使其受孕。同时与经产母羊采用传统埋栓处理方式相比,初产母羊的繁殖性能通常较差而且不稳定。目前关于使用不同激素对初产母羊进行同期发情处理,并对其繁殖性能进行相关研究的报道较少。因此,本研究旨在通过GnRH和PG处理的方式对初产母羊进行同期发情处理,对初产母羊的繁殖性能有进一步了解,期望探索一种经济有效的同期发情处理方案,从而优化和推广一种适用于大型规模化养殖场和普通养殖户的同期发情处理方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物

本试验于2021年11月—2022年5月在新疆阿瓦提县畜牧养殖专业合作社进行,选择199只健康状况良好、空怀的湖羊初产母羊,以及5只健康的成年湖羊公羊(2~3岁),所有试验羊遗传背景相似。

### 1.2 主要试剂

注射用促黄体素释放激素 $A_3$ (简称 $A_3$ )为北京绿欣康农牧科技有限公司产品,戈那瑞林注射液(人工合成的GnRH)、氯前列醇钠注射液(人工合成

的PG)均为宁波三生生物科技有限公司产品。所有药品均在4℃条件下保存。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 试验设计

将199只初产母羊随机分为2组,即GnRH组( $n=103$ )和PG组( $n=96$ )。GnRH组采用GnRH+PG+GnRH方法处理,PG组采用PG+PG方法处理。GnRH组在试验开始第1天每只羊肌肉注射戈那瑞林注射液0.6 mL(30 μg),记为第0天,第5天时每只羊肌肉注射氯前列醇钠注射液1 mL(100 μg),第6天每只羊再次肌肉注射戈那瑞林注射液0.6 mL。PG组在试验开始第1天每只羊肌肉注射氯前列醇钠注射液1 mL,记为第0天,第10天每只羊再次肌肉注射氯前列醇钠注射液1 mL。配种时(2次输精),GnRH组第7天,PG组第12天,每只羊肌肉注射 $A_3$  12.5 μg。试验公母羊分开饲养,试验母羊处理前1个月进行免疫和驱虫工作,全舍饲饲养,试验期间初产母羊进行统一的饲养管理。

#### 1.3.2 精液的采集、评价及稀释

选取性欲旺盛、体质良好的湖羊种公羊5头,用假阴道法采集公羊精液,采精结束后肉眼观察精液的颜色,并在显微镜下检测精子的活力和密度,选择活力在0.8以上,气味、颜色正常的精液用于配种。为了减少个体差异带来的影响,将检验合格后的多只公羊精液进行均匀混合。采用文献[7]的方法,将精液基础稀释液和原液按照1:3的比例稀释。

#### 1.3.3 发情鉴定和配种

GnRH组和PG组在处理后用试情法对母羊进行发情鉴定,将试情公羊混入试验母羊群,观察母羊的发情表现。发情母羊外阴部会充血肿胀,有黏液流出,会主动靠近公羊并安静接受公羊爬跨,此时母羊即可鉴定为发情。每天早晚各试情1次,每次试情30 min,记录撤栓或激素处理后0~24 h、24~48 h、48~72 h 3个时间段的发情母羊数,并统计每个时间段母羊的发情率。每组在处理72 h内发情母羊均视为有效发情,试情开始72 h后仍未发情的母羊即视为未发情母羊。对鉴定发情的母羊采用子宫颈口法进行人工输精,使用开膈器打开母羊阴道,借助头灯照射阴道,将输精枪对准并推入宫颈口约0.5 cm进行输精(发情母羊子宫颈口会微微张开),每只母羊输精量为0.25 mL,每只母羊进行2次输精(早上7:00和下午19:00)<sup>[8]</sup>。

### 1.3.4 妊娠诊断

人工授精 35 d 后, 利用兽用 B 超仪 (RKU10-1915011, 徐州市凯信电子设备有限公司) 经腹部超声对母羊进行妊娠诊断, 统计母羊受胎率, 分娩时统

计产羔情况。

### 1.3.5 同期发情方案药物成本的计算

使用的所有药物均基于试验进行时的市场价格, 所有药物成本的计算成本见表 1。

表 1 同期发情方案药物成本

药品名称	价格/(元·盒 <sup>-1</sup> )	规格	注射剂量	可处理羊数	药物成本/(元·只 <sup>-1</sup> )
戈那瑞林注射液	95	10 支/盒, 2 mL, 100 μg/支	30 μg/只	33	2.88
氯前列醇钠注射液	48	10 支/盒, 2 mL, 0.2 mg/支	1 mL/只	20	2.40
促黄体素释放激素 A <sub>3</sub>	35	10 支/盒, 25 μg/支	12.5 μg/只	20	1.75

## 1.4 数据统计与分析

试验数据均采用 SPSS 24.0 统计软件进行分析。发情时间分布采用方差分析 (One-way ANOVA) 和 Duncan's 多重比较进行检验分析, 结果用“平均值±标准差”表示, 各组间繁殖性能的差异使用卡方检验进行比较分析。 $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理方法对湖羊初产母羊不同发情时期的影响

由表 2 可知, 在 0~24 h 和 24~48 h, GnRH 组和 PG 组母羊发情率无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 在 48~

72 h, GnRH 组母羊发情率显著高于 PG 组 ( $P < 0.05$ )。2 组平均值比较, 0~24 h 母羊发情率显著高于 24~48 h 和 48~72 h ( $P < 0.05$ ), 其余 2 个时间段之间不存在显著差异 ( $P > 0.05$ )。

### 2.2 不同处理方法对湖羊初产母羊繁殖性能的影响

由表 3 可知, GnRH 组和 PG 组的发情率分别为 84.47% 和 79.17%, 产羔率分别为 164.37% 和 146.05%, 受胎率分别为 80.46% 和 69.74%, 以上指标组间均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。组间母羊的产单羔、双羔和多羔的比率以及流产率均不存在显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 2 不同发情时期初产母羊发情率分析

时间段/h	GnRH 组	PG 组	$\chi^2$	$P$ 值	平均值/%
0~24	67.82% (59/87)	71.05% (54/76)	0.200	0.655	69.44±2.28 <sup>a</sup>
24~48	12.64% (11/87)	22.37% (17/76)	2.696	0.101	17.51±6.88 <sup>b</sup>
48~72	19.54% (17/87)	6.58% (5/76)	5.837	0.016	13.06±9.16 <sup>b</sup>

注: 同列数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。() 中表示各组在该时间段内发情母羊数/总发情母羊数。

表 3 不同处理方法对初产母羊繁殖性能的影响

指标	GnRH 组	PG 组	$\chi^2$	$P$ 值
发情率	84.47% (87/103)	79.17% (76/96)	0.942	0.332
受胎率	80.46% (70/87)	69.74% (53/76)	2.519	0.113
产羔率	164.37% (143/87)	146.05% (111/76)	-	-
单羔率	20.00% (14/70)	20.75% (11/53)	0.011	0.918
双羔率	48.57% (34/70)	47.17% (25/53)	0.024	0.878
多羔率	27.14% (19/70)	28.31% (15/53)	0.020	0.887
流产率	4.29% (3/70)	3.77% (2/53)	0.020	0.887

注: () 中数值分别代表: 发情率, 总发情母羊数/总处理母羊数; 受胎率, 总怀孕母羊数/总发情母羊数; 产羔率, 总产羔数/总发情母羊数; 单 (双、多) 羔率, 产单 (双、多) 羔母羊数/总怀孕母羊数; 流产率, 流产母羊数/总怀孕母羊数。

### 2.3 不同同期发情方案的药物成本

由表4可知, PG组的药品费用低于 GnRH组。

表4 不同同期发情方案的药物成本比较 元·只<sup>-1</sup>

处理方案	PG	GnRH	A <sub>3</sub>	总价
GnRH组	2.40	5.76	1.75	9.91
PG组	4.80	-	1.75	6.55

注: -表示无。

## 3 讨论

光照、温度等因素可以通过影响动物体内分泌的激素含量水平变化来调控黄体的形成和退化, 从而导致母羊出现季节性发情<sup>[9-11]</sup>。随着我国养羊业的迅速发展, 各大养殖场之间对同期发情技术的需求正在逐步增加, 在实际生产中养殖者为了获得更好的发情率和受胎率, 常常在同期发情处理过程中联合使用不同种类的激素。因此, 短时间内集中发情和诱导卵泡快速发育药物的联合使用也成为了一项提高母畜繁殖效率的重要措施<sup>[12-13]</sup>。PG及其结构类似物被认为是一种高效的黄体溶解剂, 因其具有代谢快、残留少等优点, 当前已被广泛应用于湖羊的同期发情<sup>[14-15]</sup>。GnRH是由下丘脑分泌的一种神经激素, GnRH会促进垂体分泌促卵泡素(FSH)和促黄体素(LH), 其对脊椎动物的生殖调控有着重要作用, 研究证明GnRH是生殖的主要调控因子<sup>[16]</sup>。GnRH诱导排卵的作用已被广泛用于反刍动物生殖的相关研究中<sup>[17]</sup>。近年来, 人们开始尝试用GnRH代替PMSG进行羊的同步发情, 并取得了良好的效果<sup>[18]</sup>。本研究主要采用GnRH+PG+GnRH方法和PG+PG方法对湖羊初产母羊进行同期发情处理, 并对2种同期发情方案的效果进行了一定的分析比较。

本研究中通过肌肉注射GnRH和PG 2种激素来对初产母羊进行处理, 进而使得母羊表现为同期发情, 探究了2种同期方法对初产母羊发情集中时间的影响。结果表明2组的发情时间均集中在0~48 h内, 在0~24 h内发情最为集中。王珂等<sup>[19]</sup>对湖羊同期发情处理的研究发现, 母羊发情时间主要集中在0~48 h内。陈万辉等<sup>[20]</sup>在对湖羊和小尾寒羊进行同期发情的研究中发现, 母羊的发情时间集中在13~36 h。以上研究结果与本试验结果基本一致。本试验2种同期方法对比可知, GnRH组的发情时间稍有延后, 在48~72 h之间仍有19.54%的母羊发情, 原因可能是: 一方面GnRH在羊上的使用剂量和使用后的副作用没有深入研究, 故而没有最佳的剂量指导; 另一方面在对羊进行同期发情处理时, GnRH与PG

搭配时的用药先后和时间间隔没有深入研究, 不够严谨, 有待进一步研究。

影响同期发情效果的因素有很多, 如母羊体况、季节、药物的选择和使用等。本试验结果表明, GnRH组的发情率和受胎率与PG组间无显著差异。研究表明, 采用孕酮海绵栓结合PMSG的同期发情处理方案对受胎率无显著影响<sup>[21]</sup>。本研究结果与上述研究结果一致。在实际生产过程中, 养殖者希望提高母羊产双羔的比率, 因为双胞胎羔羊在初生体重和存活率方面更具有优势, 羔羊的生长发育更好, 更有利于规模化羊场的养殖和管理<sup>[22]</sup>。Hasani等<sup>[1]</sup>报道, 使用同期发情技术进行处理后可以提高母羊产双羔的比率。在本研究中, 2组初产母羊的双羔率之间无显著差异, 原因可能是与经产母羊采用传统埋栓处理的方式不同, 仅仅使用激素处理不能将初产母羊的繁殖潜能显著提高。

在规模化养殖过程中, 药物的使用成本直接关系到养殖者的经济收益, 养殖者希望减少投入成本, 最大程度地提高生产效益。有研究表明, 在羊的同期发情处理过程中采用较低成本的同期方案也可以获得良好的发情率、受胎率和产羔率<sup>[1]</sup>。该研究结果与本研究结果一致。在本研究中, PG组方案的药品成本更低。Yu等<sup>[6]</sup>使用阴道海绵栓+PMSG的方案是5种同期发情方案中最经济有效的, 其药物成本为21.52元/只。本研究中PG组的药物成本只有6.55元/只, 药物成本更低, 更适合规模化生产需要。

## 4 结论

本研究结果表明, 使用GnRH+PG+GnRH方法和PG+PG方法对湖羊初产母羊进行处理后发情时间主要集中在0~24 h这一时间段, 前者处理的母羊发情率、受胎率和产羔率与后者相比均不存在显著差异, 此外两种处理方法的药物成本也十分接近, PG+PG方法药物成本更低。综上所述, 从母羊总发情率、产羔率和同期发情药物成本等方面考虑, PG+PG方法的同期发情处理方法更适合在规模化绵羊养殖生产中推广应用。

## 参考文献:

- [1] HASANI N, EBRAHIMI M, GHASEMI-PANAHI B, et al. Evaluating reproductive performance of three estrus synchronization protocols in Ghezel ewes [J]. Theriogenology, 2018, 122: 9-13.
- [2] GAROUSSI M T, MAVADATI O, BAHONAR M, et al. The effect of medroxyprogesterone acetate with or without eCG on conception rate of fat-tail ewes in out of breeding season [J]. Trop Anim Health Prod, 2020, 52 (4): 1617-1622.

- [3] BIEHL M V, DE FERRAZ JUNIOR M V C, BARROSO J P R, et al. The reused progesterone device has the same effect on short or long estrus synchronization protocols in tropical sheep [J]. *Trop Anim Health Prod*, 2019, 51 (6): 1545–1549.
- [4] YU X J, WANG J, BAI Y Y. Estrous synchronization in ewes: the use of progestogens and prostaglandins [J]. *Acta Agr Scand A - Anim*, 2018, 68 (4): 219–230.
- [5] HABEEB H M H, ANNE KUTZLER E. Estrus synchronization in the sheep and goat [J]. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 2021, 37 (1): 125–137.
- [6] YU X, BAI Y, YANG J, et al. Comparison of five protocols of estrous synchronization on reproductive performance of Hu sheep [J]. *Front Vet Sci*, 2022, 9: 843514.
- [7] 艾克拜尔·艾合麦提, 樊琛, 英提扎尔·阿布力孜, 等. 原花青素对吐鲁番黑羊精液低温保存效果的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2024, 60 (1): 244–248.
- [8] 艾克拜尔·艾合麦提, 艾日夏提·地里夏提, 库德热提·努热合买提, 等. 不同处理方法对疆南绒山羊同期发情效果和繁殖性能的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2023, 59 (12): 233–237.
- [9] 夏青, 张金龙, 狄冉, 等. 小尾寒羊和苏尼特羊从短光照到长光照过程中促黄体素和催乳素的变化特征 [J]. *农业生物技术学报*, 2020, 28 (3): 483–489.
- [10] 蒋长炜, 冯国献. 绵羊同期发情技术概述 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2010, 31 (10): 109–110.
- [11] 贺建宁, 王金鑫, 狄冉, 等. 常年发情和季节性发情绵羊在不同季节生殖激素变化规律 [J]. *畜牧兽医学报*, 2013, 44 (10): 1547–1553.
- [12] HAMEED N, KHAN M I, ZUBAIR M, et al. Approaches of estrous synchronization in sheep: developments during the last two decades: a review [J]. *Trop Anim Health Prod*, 2021, 53 (5): 485.
- [13] 何冰梅, 金美多吉, 王品珍, 等. 西藏多玛绵羊同期发情处理及外周血液激素含量变化研究 [J]. *中国畜牧杂志*, 2023, 59 (7): 159–163.
- [14] FIERRO S, VINOLES C, OLIVERA-MUZANTE J. Concentrations of steroid hormones, estrous, ovarian and reproductive responses in sheep estrous synchronized with different prostaglandin-based protocols [J]. *Anim Reprod Sci*, 2016, 167: 74–82.
- [15] FIERRO S, VINOLES C, OLIVERA-MUZANTE J. Long term prostaglandin based-protocols improve the reproductive performance after timed artificial insemination in sheep [J]. *Theriogenology*, 2017, 90: 109–113.
- [16] ROBERTS J L, MANI S K, WOLLER M J, et al. LHRH- (1-5): a bioactive peptide regulating reproduction [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2007, 18 (10): 386–392.
- [17] EVANS G, BROOKS J, STRUTHERS W, et al. Superovulation and embryo recovery in ewes treated with gonadotrophin-releasing hormone agonist and purified follicle-stimulating hormone [J]. *Reprod Fertil Dev*, 1994, 6 (2): 247–252.
- [18] MARTINEZ-ROS P, GONZALEZ-BULNES A. Efficiency of CIDR-based protocols including GnRH instead of eCG for estrus synchronization in sheep [J]. *Animals (Basel)*, 2019, 9 (4): 146.
- [19] 王珂, 于轩, 任茂源, 等. 不同受体羊同期发情及胚胎移植效果的研究 [J]. *畜牧兽医杂志*, 2018, 37 (6): 1–3.
- [20] 陈万辉, 陈海明, 王艳艳, 等. 湖羊和小尾寒羊同期发情效果研究 [J]. *中国畜禽种业*, 2018, 14 (10): 104–105.
- [21] QUINTERO-ELISEA J A, MACIAS-CRUZ U, ALVAREZ-VALENZUELA F D, et al. The effects of time and dose of pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) on reproductive efficiency in hair sheep ewes [J]. *Trop Anim Health Prod*, 2011, 43 (8): 1567–1573.
- [22] JUENGEL J L, DAVIS G H, WHEELER R, et al. Factors affecting differences between birth weight of littermates (BWTD) and the effects of BWTD on lamb performance [J]. *Anim Reprod Sci*, 2018, 191: 34–43.