

کارایی استفاده از پروژسترون یا GnRH روی عملکرد تولیدمثلی میش در خارج از فصل جفت گیری

سید مجتبی موسوی^{۱*} علی سوخته زاری^۲ مهدی وجگانی^۳

(۱) گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان، خرم آباد - ایران.
(۲) گروه علوم درمانگاهی آموزشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان، خرم آباد - ایران.
(۳) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
(دریافت مقاله: ۶ اردیبهشت ماه ۱۳۸۶، پذیرش نهایی: ۱۲ دی ماه ۱۳۸۷)

چکیده

جهت ارزیابی عملکرد تولیدمثلی میش در خارج از فصل تولیدمثلی، تعداد ۱۱۹ راس میش با استفاده از سیدر (در یک دوره ۱۲ روزه) و تزریق هورمون (IU) PMSG (۴۰۰، همزمان سازی فحلی شدند. پس از تلقیح میش ها در سه گروه آزمایشی قرار گرفتند. در گروه اول، در روز ۱۲ پس از تلقیح هورمون گنادرولین (GnRH، ۵ میلی لیتر) تزریق شد؛ گروه دوم، روز ۵ پس از تلقیح مجدداً سیدرگذاری شدند و گروه سوم، هیچگونه درمانی دریافت نکردند. داده ها با استفاده از آزمون مربع کای با نرم افزار SAS آنالیز شدند. میزان باروری در گروه های اول، دوم و سوم به ترتیب ۴۰، ۳۰ و ۳۰/۷۶ درصد و میزان تزایدگله در سه گروه فوق به ترتیب ۶۵، ۳۷/۵ و ۴۳/۵۸ درصد و میزان دوقلوزایی به ترتیب ۶۲/۵، ۲۵ و ۴۱/۶ درصد به دست آمد. نتایج نشان داد که سیدرگذاری مجدد یا تزریق هورمون گنادرولین پس از تلقیح تاثیر معنی داری در عملکرد تولیدمثلی میش ها نداشته است ($p > 0.05$).

واژه های کلیدی: GnRH، میش، سیدرگذاری، تزایدگله، دوقلوزایی.

مواد و روش کار

در این آزمایش ۱۱۹ راس میش نژاد لری با میانگین سن ۵-۲ سال و میانگین وزن $5/5 \pm 57$ کیلوگرم، در تیرماه سال ۱۳۸۴ در شهرستان پل دختر از توابع استان لرستان، مورد مطالعه قرار گرفتند. برنامه همزمان سازی فحلی با استفاده از پروژسترون داخل واژنی در شکل سیدر (CIDR، اینتروت، نیوزلند) به مدت ۱۲ روز انجام شد و در زمان برداشت سیدرها، مقدار ۴۰۰ واحد بین المللی هورمون PMSG (اینتروت - هلند) به صورت عضلانی به هر راس میش تزریق شد و همزمان تعداد ۳ راس قوچ تیزر تازمان تلقیح وارد گله شد. دو ساعت قبل از تلقیح در زمان ثابت، از قوچ ها به روش مهبل مصنوعی اسپرم گیری به عمل آمد که پس از ارزیابی از نظر غلظت، تحرک و درصد زنده بودن آنها، نمونه های منی با هم مخلوط و سپس به نسبت ۲ به ۱ با شیر پس چرخ استریلیزه رقیق و تازمان استفاده، در حمام بن ماری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شد و ۵۴ ساعت پس از برداشت سیدر تلقیح مصنوعی به روش داخل سرویکس برای تمامی میش ها به عمل آمد. پس از تلقیح، میش ها با در نظر قرار گرفتن سن، وزن و سابقه دوقلوزایی به طور کاملاً تصادفی در سه گروه آزمایشی قرار گرفتند. در گروه اول، ۱۲ روز پس از تلقیح مقدار ۵ میلی لیتر گنادرولین (آنالوگ GnRH، شرکت داروسازی ابوریحان) تزریق گردید. در گروه دوم، ۵ روز پس از تلقیح سیدرگذاری مجدد به مدت ۱۰ روز انجام شد و گروه سوم هیچگونه درمانی دریافت نداشتند. گوسفندان به صورت چرای آزاد از مرتع و پس چر مزارع غلات تغذیه شدند و از شروع آزمایش علاوه بر آن پس از بازگشت از مرتع هر میش ۲۵۰ گرم جو دریافت می کرد. میش ها آزادانه به آب و سنگ نمک دسترسی داشتند. تغذیه با جواز شروع آزمایش تا ۳ هفته پس از تلقیح ادامه پیدا کرد. پس از آن میش ها فقط

مقدمه

به منظور اهداف اصلاح نژادی، افزایش نرخ بره زایی، تولید بره های هم سن و استفاده بیشتر از پتانسیل تولید مثلی گوسفند از روش های مختلف درمان هورمونی بهره گیری شده است. تحقیقات نشان داده است که مرگ و میر اولیه جنینی قبل از جایگزینی، یکی از عوامل محدودکننده اصلی در عملکرد تولیدمثلی مطلوب در حیوانات اهلی است (۱۴، ۱۵) و عدم کفایت جسم زرد و کافی نبودن میزان پروژسترون به عنوان یکی از عوامل موثر در مرگ و میر اولیه جنینی و در نتیجه کاهش باروری در حیوانات شناخته شده است (۲). از طرفی از طریق سیدرگذاری مجدد بعد از تلقیح در گاوهای شیری و گوشتی توانسته اند با کاهش مرگ و میر اولیه جنینی میزان نرخ آبستنی را افزایش دهند (۲۲، ۲۵). علاوه بر این تحقیقات نشان داده که تزریق GnRH پس از تلقیح با افزایش غلظت پروژسترون خون افزایش میزان آبستنی را سبب گشته است (۲۶). بررسی ها نشان داده که در گوسفند حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد مرگ و میر جنینی در سه هفته اول آبستنی اتفاق می افتد (۱۴، ۱۵) که ۱۷۰ الی ۸۰ درصد آنها در روزهای ۸ تا ۱۶ بعد از تلقیح می باشد (۲۳). اخیراً با مصرف گنادرولین ها در ۱۲ روزگی پس از تلقیح گوسفند توانسته اند با افزایش بقاء جنین، میزان آبستنی، دوقلوزایی و درصد زایمان را بهبود دهند (۴، ۵). لذا در این آزمایش به منظور کاهش مرگ و میر اولیه جنینی و افزایش باروری بره زایی گوسفند، بعد از اجرای برنامه همزمان سازی فحلی با سیدر، در یک گروه از هورمون گنادرولین در روز ۱۲ پس از تلقیح و در گروهی دیگر با سیدرگذاری مجدد در روز ۵ پس از تلقیح به مدت ۱۰ روز استفاده شده است.



جدول ۱- مقایسه شاخص های تولید مثلی در گروه های آزمایشی.

گروه های آزمایشی	تعداد میش ها	تعداد زایش	تعداد بره متولد شده	باروری درصد	دوقلو زایی درصد	تزاید گله درصد
GnRH (گروه اول)	۴۰	۱۶	۲۶	۴۰	۶۲/۵	۶۵
سیدر گذاری مجدد (گروه دوم)	۴۰	۱۲	۱۵	۳۰	۲۵/۰	۳۷/۵
شاهد (گروه سوم)	۳۹	۱۲	۱۷	۳۰/۷۶	۴۱/۶	۴۳/۵۸

از مرتع تغذیه می کردند تا ۲ ماه آخر آبستنی که مجدداً ۲۵۰ گرم جوبه جیره غذایی آنها اضافه شد و در پایان اطلاعات مربوط به زایش ثبت شد و پارامترهای باروری (تعداد میش / تعداد زایش)، دوقلو زایی (تعداد زایش / تعداد بره) و تزاید گله (تعداد میش / تعداد بره) برای گروه های آزمایشی انجام شد. سپس داده های به دست آمده از طریق آزمون های مربع کای (Chi-Square) و دانکن مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج

میزان باروری در گروه با تزریق GnRH، گروه با سیدر گذاری مجدد و گروه شاهد به ترتیب ۳۰، ۴۰ و ۳۰/۷۶ درصد و تزاید گله در سه گروه فوق نیز به ترتیب ۶۵، ۳۷/۵ و ۴۳/۵۸ درصد و میزان دوقلو زایی در گروه های ذکر شده به ترتیب ۶۲/۵، ۲۵، ۴۱/۶ درصد به دست آمد (جدول ۱) که علی رغم اختلاف ظاهری در بین بعضی از داده ها، از نظر آماری اختلاف معنی داری در بین گروه ها مشاهده نشد ($p > 0.05$).

بحث

مرگ و میر جنینی از جمله عوامل موثر در ناباروری است که عواملی مثل ژن های کشنده، بیماری های عفونی، اختلالات تغذیه ای و هورمونی تولید مثل و عدم کفایت جسم زرد در آن دخیل است (۲). برقراری و حفظ آبستنی و رشد رویان، وابسته به توانایی جسم زرد برای ترشح پروژسترون می باشد، اختلال در ترشح پروژسترون از جسم زرد می تواند منجر به تلف شدن رویان شود (۲۰۷، ۱۷).

بررسی ها نشان داده است که غلظت پروژسترون میش هایی که جنین آنها در مراحل اولیه آبستنی تلف شده اند پایین تر از گروه کنترل بوده است (۲۰). در واقع استفاده از پروژسترون در طول فاز لوتئال سیکل فحلی می تواند میزان آبستنی را افزایش دهد (۱۷).

به این منظور استفاده از GnRH (۴، ۵، ۱۷، ۱۸)، hCG (۱، ۴، ۱۰، ۱۷، ۲۴) و برخی نیز سیدر گذاری مجدد (۸، ۲۳) را در بهبود میزان آبستنی موثر دانسته اند. ولی تعدادی از محققان اعلام نموده اند که چنین درمان هایی تأثیری روی میزان آبستنی نداشته و حتی آن را کاهش داده است (۶، ۷، ۹، ۱۱). لذا به نظر رسید مطالعه در این ارتباط می تواند مفید باشد.

در بررسی Stevenson و همکاران در سال ۱۹۹۱ نیز استفاده از پروژسترون

در گاوها به روش سیدر گذاری از روزهای ۲۱-۱۳ پس از فحلی، میزان آبستنی در اولین تلقیح را بهبود نداده است اما در سیکل فحلی بعدی، میزان آبستنی بهبود یافته است (۲۱).

Beck و همکاران در سال ۱۹۹۴ نیز گزارش کردند که تزریق بوسرلین (آنالوگ GnRH) در ۱۲ روزگی پس از تلقیح میش ها، تأثیر معنی داری روی عدم بازگشت به فحلی نداشته است. آنها نشان دادند که مکمل پروژسترونی عملکرد تولید مثلی میش ها را بهبود نداده است اما به هر حال ناباروری با کاهش فعالیت جسم زرد و افزایش غلظت هورمون پرولاکتین در قبل و بعد از جفت گیری در ارتباط بوده است (۳). افزایش پروژسترون بعد از تزریق GnRH ناشی از افزایش سلولهای بزرگ لوتئال در جسم زرد و احتمالاً ناشی از افزایش غلظت و فراوانی پالسه های ترشح FSH باشد (۱۳). هم چنین نتایج بررسی Nephew و همکاران در سال ۱۹۹۴ نیز نشان داد که تزریق hCG در ۱۲ روزگی پس از تلقیح، منجر به بلندتر شدن بلاستوسیت ها در ۱۳ روزگی پس از تلقیح شده و غلظت های پروتئین و اینترفرون تاو در ترشحات رحمی را افزایش داده است (۱۶). Keleman و همکاران در سال ۱۹۹۴ نشان دادند که تزریق پروژسترون در طول روزهای ۳-۱ بعد از تلقیح در گوسفند، رشد جنینی و طول بلاستوسیت را افزایش داده به طوری که منجر به افزایش وزن جنین نیز شده است، این بررسی نشان داد که تغییر محیط جنینی از طریق تغییر در افزایش بافت جفت در طول چند روز اول آبستنی، رشد جنینی را به طور مناسبی افزایش داده است (۱۱).

در میش های آبستن، اینترفرون تاو تولید شده به وسیله رویان در فاصله روزهای ۲۱-۱۲ آبستنی، فعالیت گیرنده های استروژن را سرکوب می کند و موجب بالا نرفتن تعداد گیرنده های اکسی توسین و عدم حساسیت نسبت به آزاد شدن اکسی توسین جسم زرد می شود و ترشح نبض وار $PGF_2\alpha$ را به سطح پایین تر از آستانه حساس ۵ نبض در ۲۴ ساعت می رساند (۱۲).

القاء هورمونی تولید پروژسترون در روز ۱۲ پس از تلقیح یا بعد از آن، تولید اینترفرون تاو را افزایش داده و با جلوگیری از ترشح $PGF_2\alpha$ ، مانع از بین رفتن جسم زرد می شود (۲۴).

در این تحقیق میزان تزاید گله در گروه با تزریق GnRH، گروه با سیدر گذاری مجدد و گروه شاهد به ترتیب ۶۵، ۳۷/۵ و ۴۳/۵۸ درصد و میزان دوقلو زایی نیز در سه گروه فوق به ترتیب ۶۲/۵، ۲۵ و ۴۱/۶ درصد به دست آمد (جدول ۱). علی رغم اینکه در گروه استفاده از سیدر گذاری مجدد و گروه با تزریق GnRH نسبت به گروه شاهد نتایج بهتری به دست آمد ولی این اختلاف از نظر آماری معنی دار نبود ($p > 0.05$) که با مطالعات Cam و Kuran در سال ۲۰۰۴ که از GnRH یا HCG در روز ۱۲ پس از تلقیح استفاده کردند و میزان بره زایی و دوقلو زایی در گروه درمانی بیشتر بود مطابقت دارد.

Kenyon و همکاران در سال ۲۰۰۵ اثرات درمان کوتاه مدت با مکمل پروژسترونی را در میش ها بررسی کردند و نشان دادند که سیدر گذاری مجدد از روز ۳-۹ پس از تلقیح، روی میزان بره زایی، دوقلو زایی، وزن تولد بره ها و مرگ و میر بره ها تا زمان از شیرگیری تأثیری نداشته است (۹). هم چنین Beck



References

- 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.
- Aurora, V., Alex, M., Robert, H., Bon, D., Francois, D., Sisco, W.M. (2004) Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows. *Theriogenology*. 61: 1513-1520.
- Beck, N.F.G., Peters, A.R., Willams, S.P. (1994) The effect of GnRH agonist (buserelin) treatment on day 12 post mating on the reproductive performance of ewes. *Anim. Prod.* 58: 243-247.
- Cam, M.A., Kuran, M. (2004) Effects of a single injection of hCG or GnRH agonist on day 12 post mating on fetal growth and reproductive performance of sheep. *Anim. Reprod. Sci.* 80: 81-90.
- Cam, M.A., Kuran, M., Yildiz, S., Selcuk, E. (2002) Fetal growth and reproductive performance in ewes administered GnRH agonist on day 12 post-mating. *Anim. Reprod. Sci.* 72: 73-82.
- Chebel, Ricardo C., Santos, José E.P., Cerri, Ronaldo L.A., Galvão, Klíbs N., Sérgio, O.J., Thatcher, W. (2003) Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Therio.* 60: 1389-1399.
- Davies, M.C.G., Beck, N.F.G. (1992) Plasma hormone profiles and fertility in ewe lambs given progestagen supplementation after mating. *Theriogenology*. 38: 513-526.
- Ill-Hwa, K., Gook-Hyun, S., Son, D. (2003) A progesterone-based timed AI protocol more effectively prevents premature estrus and incomplete luteal regression than an Ovsynch protocol in lactating Holstein cows. *Theriogenology*. 60: 809-817.
- Kenyon, P.R., Morris, S.T., West, D.M. (2005) The effect of progesterone supplementation post mating and shearing of ewes in early pregnancy on the reproductive performance of ewes and birthweight of lambs. *Vet. J.* 53: 321-325.
- Kittok, R.J., Stellflug, J.N., Lowry, S.R. (1983) Enhanced progesterone and pregnancy rate after gonadotropin administration in lactating ewes. *J. Anim. Sci.* 56: 652-655.
- Kleemann, D. O., Walker, S.K., Seemark, R. F. (1994) Enhanced fetal growth in sheep administered progesterone during the first three days of pregnancy. *J. Reprod. Fertil.* 102: 411-417.
- Mahmodzadeh, A. L. (2001) Reproduction in farm animals. Pub. Islamic Azad University-Rasht Branch. pp. 190-193
- Mee, M.O., Stevenson, J. S., Alexander, B.M., Sasser, R.G. (1993) Administration of GnRH at estrus influences pregnancy rates, serum concentrations of

و همکاران در سال ۱۹۹۴ نیز گزارش کردند که تزریق بوسرلین (آنالوگ GnRH) در روز ۱۲ پس از تلقیح میبشها، تاثیر معنی داری روی اندازه بره هانداشته است اما تعداد بره های دوقلو و اندازه بره ها را در میش های جوان (۱ و ۲ ساله) به طور معنی داری افزایش داده است (۳). همان گونه که ملاحظه شد بیشتر محققان اعلام نموده اند که استفاده از تحریک کننده های جسم زرد یا پروژسترون پس از تلقیح می تواند میزان باروری را بهبود بخشد اما تفاوت های ژنتیکی، درجه حرارت محیط از جمله عواملی هستند که می توانند کارایی درمان را متاثر سازند (۴).

بر اساس نتایج به دست آمده در این بررسی چنین استنباط می شود که سیدر گذاری مجدد یا تزریق هورمون گنادرولین به منظور افزایش پروژسترون پس از تلقیح تاثیر معنی داری در میزان باروری و تزیاید گله نداشته است.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه لرستان در تصویب طرح پژوهشی و معاونت محترم امور دام جهاد استان لرستان به خاطر تامین وسایل مورد نیاز در اجرای طرح و همچنین از کارکنان شرکت فارغ التحصیلان علوم دامی استان به خاطر همکاری های بی دریغشان در کل دوره اجرای طرح کمال تشکر و قدردانی را دارم.



- LH, FSH, estradiol-17 beta, pregnancy-specific protein B, and progesterone, proportion of luteal cell types, and in vitro production of progesterone in dairy cows. *J. Anim Sci.* 71: 185-198.
14. Michels, H., Vanmontfort, D., Dewil and Decuypere, E. (1998) Genetic variation of prenatal survival in relation to ovulation rate in sheep; a review. *Small Rum. Res.* 29: 129-142.
 15. Nancarrow, C.D. (1994) Embryonic mortality in the ewe and doe. In: Zavy, M.T., Geisart, R.D., Embryonic mortality in Domestic Species. CRC Press, London, UK. pp. 79-97.
 16. Nephew, K.P., Cardenas, H., McClure, K.E., Ott, T. L., Bazer, F.W., Pope, W. F. (1994) Effects of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. *J. Anim. Sci.* 72: 453-458.
 17. Rastegarnia, A., Niasari-Naslaji, A., Hovareshti, P., Sarhaddi, F., Safaei, M. (2004) The effect of different doses of Gonadorelin on ovarian follicle dynamics in river buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology.* 62: 1283-1291.
 18. Rettmer, I., Stevenson, J.S., Corah, L. R. (1992) Pregnancy rates in beef cattle after administering a GnRH agonist 11 to 14 days after insemination. *J. Anim Sci.* 70: 7-12.
 19. Schmitt, E.J., Diaz, T., Barros, C.M., Delasota, R.L., Drost, M., Fredriksson, E.W., Staples, C.R., Thorner, R., Thatcher, W. W. (1996) Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing hormone. *J. Anim Sci.* 74: 1074-1083.
 20. Shahidi, R., Gandomi sani, H. R. (1999) Reproduction in cattle (1sted.,) Publications of Norbakhsh. pp. 75-80.
 21. Stevenson, Jeffrey, S., Michael, Mee, O. (1991) Pregnancy Rates of Holstein Cows After Postinsemination Treatment with a Progesterone-Releasing Intravaginal Device. *J. Dairy. Sci.* 74: 3849-3856.
 22. Summers, R. N., Peterson, C. A., Lock, T. F., Pollack, C., Ireland, F.A., Faulkner D.B., Keshner, D.J. (2000) The effect of exogenous progesterone administered intervaginally, via CIDR, on embryo survival in beef cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 29: 161-169.
 23. Taponen, J., Rodríguez-Martínez, H., Katila, T. (2000) Administration of gonadotropin-releasing hormone during metoestrus in cattle: influence on luteal function and cycle length. *Anim. Rep. Sci.* 64: 61-169.
 24. Thatcher, W. W., Moreira, F., Santos, J. E., PMattos, R. C., Lopes, F. L., Pancarci, S.M., Risco, C. A. (2001) Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology.* 55: 75-89.
 25. Villarroel, A., Martino, A., BonDurant, R.H., Deletang, F., Sisco, W.M. (2004) Effect of post-insemination supplementation with PRID on pregnancy in repeat-breeder Holstein cows. *Theriogenology.* 61: 1513-1520.
 26. Willard, S., Gandy, S., Dowers, S., Graves, K., Elisa, A., Whisnant, C. (2003) The effects of GnRH administration post insemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology.* 59: 1799-1810.



EFFICACY OF GnRH OR CIDR ON OUT OF SEASON REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF EWE

Mousavy, S.M.^{1*}, Sookhtehzari, A.², Vojgani, M.³

¹Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorram Abad -Iran.

²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorram Abad - Iran.

³Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.

(Received 26 April 2007 , Accepted 1 January 2009)

Abstract:

An investigation was under taken to evaluate the out of season reproduction performance of ewe. A flock consisting 119 ewes was synchronized via implementation CIDR over a period of 12 days, following by injection of PMSG (400 IU). The ewes inseminated and divided to three experimental groups. Group1 : Injection of GnRH (5ml) at day 12 post insemination, group 2: Received CIDR for 5 to 15 days post insemination and group 3(control): ewes did not receive any treatment. Data were analyzed in Chi- Square method by SAS soft were. Fertility in group1, 2 and 3 were 40, 30 and 30.76 percent and fecundity were 65.0, 37.5 and 43.5 percent and twinning rate were 62.5, 25.0 and 41.6 percent, respectively. Results reveal that supplementation of progesterone or GnRH would not enhance reproductive performance in the ewe in out of season.

Key words: GnRH, ewe, CIDR, fecundity, twinning rate.

*Corresponding author's email: nayeb.h@lu.ac.ir.com, Tel: 0661-4200192, Fax: 0661-4200289

