بررسی اثر هم‌زمان سازی فحلی و استفاده از GnRH بر برخی شاخص‌های سرمی و میزان باروری گوسفندان نژاد ماکویی در فصل تولیدمثل

رسول بابازاده اقدم[۱]، غلامعلی مقدم[۲*]، حسین دقیق‌کیا[۲]، سیدعباس رافت[۲]، آیتک بخشایش خیابانی[۱]، سینا مقدم[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۲- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۳- رزیدنت بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: ghmoghaddam@tabrizu.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۶/۲/۹ پذیرش نهایی: ۹۷/۸/۱۹)

چکیده

یکی از مهم‌ترین مشکلات دامداری‌ها پایین بودن نرخ باروری است. بنابراین، می‌توان با استفاده از هورمون‌های صناعی فرآیند تولیدمثل را در دام‌ها کنترل و نرخ باروری آن‌ها را با استفاده از هم‌زمان‌سازی فحلی افزایش داد. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر هورمون GnRH (هورمون آزادکننده گنادوتروپین) در روزهای ۱۰، ۱۱ و ۱۲ بعد از تلقیح مصنوعی بر باروری میش بود. برای این منظور ۲۲۶ رأس گوسفند ماکوئی با استفاده از سیدر همزمان‌سازی فحلی شدند. پس از درآوردن سیدر، تمامی میش‌ها PMSG (گنادوتروپین سرم مادیان آبستن) را به مقدار ۴۰۰ واحد بین‌المللی دریافت کردند. دو روز بعد، میش‌های فحل‌شده با اسپرم تازه، تلقیح مصنوعی شده و به سه گروه تقسیم شدند. گروه شاهد هیچ هورمونی دریافت نکرد. گروه دوم به زیرگروه‌های D، E و F تقسیم شدند که به ترتیب در روزهای ۱۰، ۱۱ و ۱۲ بعد از تلقیح مقدار ۲۰ میکروگرم GnRH (هورمون آزادکننده گنادوتروپین) به‌روش عضلانی دریافت کردند و گروه سوم (گروه G) نیز در روز ۱۲ بعد از تلقیح مقدار ۴۰ میکروگرم GnRH دریافت کرد. ۵ میلی‌لیتر خون دو روز بعد از تزریق به‌وسیله لوله ونوجکت گرفته شد. غلظت گلوکز، فسفر، اوره، پروتئین تام و پروژسترون سرم خون اندازه‌گیری گردید. برای تجزیه متغیرهای وابسته و متغیرهای مستقل به ترتیب از رویه GLM (General Linear Model) و FREQ (Frequencies) نرم‌افزار SAS استفاده شد. نتایج نشان داد که اثر GnRH بر میزان پروژسترون کاملاً معنی‌دار بود (p<۰/۰۱). همچنین بیشترین نرخ باروری متعلق به گروه سوم بوده و تفاوتی معنی‌دار در نرخ باروری بین گروه مذکور با سایر گروه‌ها مشاهده شد (p<۰/۰۱). به‌طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که تزریق ۵ میلی‌لیتر GnRH در روز ۱۲ بعد از تلقیح، نرخ باروری میش را بهبود می‌بخشد.

کلیدواژه‌ها: هم‌زمان‌سازی فحلی، GnRH، شاخص‌های سرمی، باروری، گوسفند.

مقدمه

تولیدمثل در اکثر گوسفندان ایرانی به صورت پلی-استروس فصلی انجام می‌گیرد و این حیوانات با تغییر طول مدت روشنایی فحل می‌شوند که این زمان روزهای اواخر تابستان و اوایل پاییز می‌باشد (Zamiri, 2005; Yadi *et al*., 2011). موفقیت در تلقیح میش یا به‌عبارت دیگر، شرط لازم جهت کسب نتایج مطلوب در لقاح، بستگی به تماس اسپرم‌های قابل لقاح با تخمک در زمان معین دارد. انتخاب زمان دقیق جهت تلقیح میش از لحاظ افزایش توان باروری میش مادر (تعداد نسبی بره در هر زایمان) بسیار اهمیت دارد (Zamiri, 2005). از آنجایی که فحل‌یابی در میش بدون حضور قوچ در گله کار نسبتاً دشواری است و نیز با حضور مداوم قوچ در گله، این امکان وجود دارد که بعضی از میش‌ها ناخواسته بارور شوند و دامدار از این باروری اطلاعی پیدا نکند، بنابراین در کارهای تحقیقاتی از روش‌هایی استفاده می‌شود که بدون نیاز به حضور قوچ در گله می‌توان میش‌ها را فحل کرد به‌طوری‌که تمام میش‌ها در یک زمان مشخص و با درصد بالایی فحل می‌شوند. چندین روش برای هم‌زمان‌سازی فحلی در میش وجود دارد که یکی از این روش‌ها سیدر-گذاری است. سیدر جسمی سیلیکونی و حاوی پروژسترون است و در داخل واژن میش قرار می‌گیرد. سیدر به مدت ۱۴-۱۲ روز در داخل واژن باقی می‌ماند و در این مدت، با آزادسازی پروژسترون مانع بروز فحلی در میش‌ها می‌شود. حدود ۲۴ تا ۴۸ ساعت بعد از خارج کردن سیدر، علائم فحلی در میش‌ها بروز خواهد کرد (Awel *et al*., 2009). گزارشی وجود دارد که نشان می‌دهد پاسخ‌دهی به استروس، زمانی که همزمان با خارج کردن سیدر از پروستاگلاندین استفاده شود، ۱۰۰ درصد خواهد بود و نرخ بره‌زایی نیز در این حالت بالا می‌رود (Ataman *et al*., 2006).

برای کنترل تولیدمثل دام از هورمون‌های مختلفی از جمله گنادوتروپین‌ها استفاده می‌شود که به دو دسته تقسیم می‌شوند: ۱-آنهایی که رشد فولیکولی را تحریک می‌کنند و ۲- آنهایی که فولیکول را تحریک به آزادشدن می‌کنند (تخمک‌گذاری). گنادوتروپین‌هایی که توسعه فولیکولی را تحریک می‌کنند، زمانی استفاده می‌شوند که روند توسعه فولیکولی به‌وسیله فاکتورهایی مثل فصل آنستروس محدود می‌شود و یا زمانی که سوپراوولاسیون جهت انتقال جنین مورد نیاز است. این گنادوتروپین‌ها شامل PMSG (گنادوتروپین سرم مادیان آبستن) و FSH (هورمون محرک فولیکولی) می‌باشند. در مورد گنادوتروپین‌هایی که فولیکول‌ها را تشویق به اوولاسیون می‌کنند بایستی یک فولیکول قابل دسترس برای اوولاسیون وجود داشته باشد که این گنادوتروپین-ها شامل GnRH (هورمون آزادکننده گنادوتروپین)، hCG (گنادوتروپین جفتی انسان) و LH (هورمون لوتئینی‌کننده) می‌باشند (Taponen, 2003). زمانی‌که یک فولیکول آماده تخمک‌گذاری در دسترس باشد، گنادوتروپین‌هایی مانند GnRH، LH و hCG می‌توانند آن فولیکول را وادار به تخمک‌گذاری کنند. در این حالت از بروز تخمک‌گذاری تأخیری جلوگیری خواهد شد. هورمون GnRH، نوروپپتید کلیدی در کنترل عملکرد تولیدمثلی در تمام گونه‌های مهره‌داران می‌باشد (Cavalcanti *et al*., 2012). تزریق GnRH یا آنالوگ آن، افزایش ناگهانی LH و FSH را تشویق کرده و ۲ ساعت بعد از تزریق، همه میش‌ها افزایش ناگهانی LH

را نشان خواهند داد. با افزایش غلظت استروژن در طول دوره استروس، آزادسازی GnRH تحریک می‌شود که این امر آزادسازی GnRH ترشح و افزایش ناگهانی LH را در پی خواهد داشت که منجر به تخمک‌ریزی می‌شود (Cam *et al*., 2002). فرین و همکاران در سال ۱۹۸۸ نشان دادند که استفاده از GnRH در روز تلقیح باعث افزایش وزن جسم زرد می‌شود و از طرفی با کمک کردن به رشد اجسام زرد کوچک سبب افزایش ترشح پروژسترون از اجسام زرد کمکی می‌شود (Farin *et al*., 1988). گزارش شده است که تزریق GnRH در طول استروس ممکن است زمان اوولاسیون، نرخ باروری، نمو جسم زرد، ترشح پروژسترون و زنده‌مانی رویان را تحت تأثیر قرار دهد. GnRH به‌طور غیرمستقیم با اثر بر آزادسازی LH و FSH عمل می‌کند، اما اثر مستقیم آن روی دستگاه تولیدمثل شناخته نشده است (Taponen, 2003). اخیراً با مصرف گنادورلین‌ها در ۱۲ روزگی پس از تلقیح گوسفند توانسته‌اند با افزایش بقاء جنین، میزان آبستنی، دوقلوزایی و درصد زایمان را بهبود بخشند (Akifcam and Kuran, 2003; Sreenan, *et al*., 1996; Thatcher *et al*., 2011). استفاده از گنادوتروپین‌ها در روزهای ۱۱ و ۱۲ بعد از تلقیح گاو باعث افزایش بقاء جنین، نرخ آبستنی و درصد زایمان می‌شود (Cam *et al*., 2002). استفاده از GnRH در روزهای ۱۰، ۱۱، ۱۲ و ۱۳ بعد از آبستنی، باعث می‌شود که بقاء جنین و نرخ آبستنی بهبود یافته و میزان پروژسترون خون نیز افزایش یابد (Sreenan *et al*., 1996)، که افزایش پروژسترون به دلیل استقرار اجسام زرد کمکی می‌باشد (Mann *et al*., 1995; Beck *et al*, 1996). روز ۱۲ بعد از تلقیح زمان بحرانی برای شناسایی آبستنی توسط مادر است که در صورت ناکافی بودن میزان پروژسترون، رویان امکان تشکیل جفت را نخواهد داشت و تلف خواهد شد، زیرا این زمان هم‌زمان با پس‌رفت جسم زرد در چرخه طبیعی سیکل استروس می‌باشد (Bazer *et al*., 1998). بنابراین، هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی اثر هورمون GnRH در روز ۱۰، ۱۱ و ۱۲ بعد از تلقیح مصنوعی بر باروری میش بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از اوایل شهریور ۸۹ تا اواخر فروردین ۹۰ در ایستگاه اصلاح نژاد گوسفند ماکوئی واقع در محل سه راهی شهرستان شوط انجام گرفت. در این ایستگاه سالن‌های نگه‌داری میش‌ها با قوچ‌ها و بره میش‌ها جدا بوده و هر سالن مجهز به آخورهای سیمانی می‌باشد. دام‌ها از مرتع تغذیه می‌کردند. تعداد ۲۲۶ رأس میش ماکوئی با گروه‌های سنی ۱ تا ۷ ساله (با لحاظ کردن یکسانی تمامی سنین در هر تیمار) با روش سیدرگذاری (سیدر ساخت فایزر نیوزیلند) از اوایل شهریورماه هم‌زمان‌سازی فحلی شدند. بعد از گذشت ۱٤ روز سیدر را با استفاده از نخی پلاستیکی که به انتهای سیدر متصل است، خارج کرده و به هر میش ٤۰۰ واحد بین‌المللی PMSG (Pregnecol ساخت شرکت Bioniche کشور استرالیا) به‌صورت عضلانی تزریق شد. دو روز بعد از برداشت سیدر و مشاهده فحلی، میش‌های مذکور با استفاده از اسپرم تازه به روش واژینال تلقیح مصنوعی شدند. برای تلقیح هر پنج رأس میش موجود در هر تیمار، یک قوچ با سن مشخص و یکسان برای تمامی گروه‌ها در نظر گرفته شد و اسپرم تازه در خود ایستگاه تهیه گردید. برای

اسپرم‌گیری از واژن مصنوعی استفاده گردید که اسپرم‌ها بلافاصله با شیر استریلیزه‌ای که دمای آن ۳۷ درجه سلسیوس بود، به نسبت ۱ به ۱ رقیق شده و در داخل فلاکس مخصوص که آن‌هم حاوی آب ۳۷ درجه سلسیوس بود، قرار گرفت. ۱۷ روز بعد از تلقیح اول، میش‌های برگشتی نیز با شناسایی فحلی دوم و سوم با استفاده از قوچ‌های بارور ۲ تا ۵ ساله و به‌روش طبیعی بارور شدند. تمام میش‌ها دارای رکورد بوده و شجره‌نامه هر کدام مشخص بود. زایمان از اواخر بهمن ماه شروع شده و تا اواخر اسفند ماه به طول انجامید. بره‌های متولدشده شماره‌گذاری شده و پس از ثبت جنسیت، مشخصات والدین آن‌ها نیز ثبت گردید. برای بررسی تأثیر هورمون GnRH، میش‌ها به‌طور تصادفی به سه گروه تیماری تقسیم شدند. گروه ۱ (گروه شاهد) شامل ٦۰ رأس گوسفند بود که با سه زیرگروه ۲۰ راسی A و B و C مشخص گردیدند. هیچ‌یک از گوسفندان این گروه هورمون GnRH دریافت نکرده و از هر یک از زیرگروه‌های ۲۰ رأسی آن به‌ترتیب در روزهای ۱۲، ۱۳ و ١٤ بعد از تلقیح مقدار ۵ میلی‌لیتر نمونه خون بوسیله لوله ونوجکت اخذ گردید. گروه دوم به سه زیرگروه D، E و F تقسیم شد که زیرگروه D شامل ٤٨ رأس میش بود و در روز ۱۰ بعد از تلقیح مقدار ۲۰ میکروگرم GnRH به‌روش عضلانی دریافت کردند. زیرگروه E شامل ٤۰ رأس میش بود که در روز ۱۱ بعد از تلقیح مقدار ۲۰ میکروگرم از محلول GnRH را دریافت کردند. زیرگروه F هم شامل ۳۹ رأس میش بود که در روز ۱۲ بعد از تلقیح مقدار۲۰ میکروگرم محلول GnRH دریافت کرد. همچنین گروه سوم (گروه G) که شامل ۳۹ رأس میش بود، در روز ۱۲ بعد از تلقیح مقدار ٤۰ میکروگرم محلول GnRH دریافت کرد. لازم به‌ذکر است، به‌دلیل این‌که زیرگروه‌های اول هورمون GnRH دریافت نکرده بودند، برای مقایسه باروری با گروه سوم مجموع سه زیرگروه اول در نظر گرفته شد، ولی برای مقایسه تفاوت میزان هورمون پروژسترون و متابولیت‌های خونی چون سه زیرگروه شاهد و زیرگروه‌های گروه دوم در روزهای مختلف آبستنی خون‌گیری شده بود، تک تک محاسبه و تفاوت‌های آن‌ها بررسی گردید. محلول GnRH استفاده شده در همه گروه‌ها وتوسپت بوسرلین ساخت کارخانه داروسازی ابوریحان (ایران، تهران) بود. نمونه‌های خون به فاصله دو روز بعد از تزریق هورمون GnRH، از ورید وداجی همه میش‌های مورد آزمایش با استفاده از سرسوزن و لوله ونوجکت بدون ماده ضد انعقاد به مقدار ٤۰ میکروگرم جمع‌آوری شده و در کمترین زمان ممکن و در درون ظرف مخصوص حمل نمونه‌های آزمایشگاهی و در کنار یخ خشک به آزمایشگاه واقع در جاده باسمنج تبریز منتقل و بلافاصله سرم خون‌های مذکور، با استفاده از سانتریفیوژ (ژنوس ۲۰) ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه جدا گردید. سرم‌های به‌دست آمده در درون میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری ریخته شده و تا زمان انجام آزمایشات سرمی مورد نظر، در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. در ادامه میزان گلوکز، اوره، پروتئین تام و فسفر سرم خون همه نمونه‌های مورد آزمایش به روش آنزیمی کالری‌متری و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر ژنوس ۲۰ (کشور امریکا) و با استفاده از کیت (شرکت پارس‌آزمون و زیست شیمی) اندازه‌گیری شد. همچنین میزان پروژسترون سرم‌های مذکور هم به روش الایزا و با

استفاده از کیت مونوباند آلمان به وسیله دستگاه الایزا ریدر اورنس ۲۱۰۰ آمریکا اندازه‌گیری شد.

– تحلیل آماری داده‌ها: عوامل مؤثر بر غلظت متابولیت‌های اندازه‌گیری‌شده به کمک رویه GLM نرم‌افزار SAS 9.1 و بر اساس روش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شدند. برای دانستن اثر تزریق هورمون GnRH (مقادیر ۲۰ در برابر ٤٠ میکروگرم) از مقایسات گروهی استفاده شد. تجزیه واریانس برای هر کدام از متابولیت‌های اندازه‌گیری‌شده، انجام گرفته شد و اثرات متقابلی که غیرمعنی‌دار شدند از مدل حذف شدند. همچنین با آزمون نرمال بودن باقی‌مانده (آزمون شاپیرو ویلک) به کمک دستور proc univariate، نرمال بودن باقی‌مانده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. برای تجزیه وتحلیل عوامل مؤثر بر باروری از رویه FREQ نرم‌افزار SAS 9.1 استفاده شد. برای بررسی صفات گسسته همچون نرخ باروری از آزمون Chi-square استفاده شد که از این مدل برای آزمون تفاوت میش‌هایی که آبستن شده و بره‌زایی کرده بودند و میش‌هایی که زایمان نکرده بودند هم استفاده شد.

یافته‌ها

مقایسه اثر تیمارها بر باروری و آبستنی میش‌ها در جدول ۱ آورده شده است. میزان باروری در گروه سوم اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۱) با زیرگروه‌های گروه اول و اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۵) با زیرگروه F گروه دوم نشان داد. با توجه به جدول ۱ استفاده از ۲۰ میکروگرم GnRH در روزهای ۱۰، ۱۱ و ۱۲ بعد از تلقیح نشان داد که میزان باروری در روز ۱۲ بعد از تلقیح تفاوتی معنی دار (p<۰/۰۵) با میش‌هایی که در روز ۱۰ بعد از تلقیح همان میزان هورمون را دریافت کرده بودند داشت ولی با زیرگروه‌های گروه اول تفاوت معنی‌داری نشان نداد. طبق این جدول بیشترین میزان باروری مربوط به گروه سوم دریافت‌کننده ٤٠ میکروگرم GnRH در روز ۱۲ بعد از تلقیح مصنوعی بود. میزان باروری گروه سوم در فحلی اول (۷٤/۳٦ درصد) تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۱) با گروه اول (۳۵/۵۹ درصد) داشت. همچنین بین گروه سوم (گروه G) و زیرگروه F گروه دوم که در روز ۱۲ بعد از تلقیح ۲۰ میکروگرم GnRH دریافت کرده بود، تفاوت معنی‌داری (p<۰/۰۵) از لحاظ میزان باروری مشاهده گردید.

جدول ۱– مقایسه اثر تیمار بر باروری میش‌ها، تعداد زایش، تلفات و تکرر فحلی در فحلی اول تا سوم

		بدون تزریق GnRH			تزریق ۲۰ میکروگرم GnRH			تزریق ٤٠ میکروگرم GnRH	
		A	B	C	D	E	F	G	جمع
آبستنی در فحلی اول	تعداد	۱۱^{ab}	٦^{bc}	٥^{c}	۱۳^{c}	۱۸^{b}	۱۸^{b}	۲۹^{a}	۱۰۰
	فراوانی نسبی (٪)	۱۱	٦	٥	۱۳	۱۸	۱۸	۲۹	
عدم آبستنی در فحلی اول	تعداد	۹	۱٤	۱٥	۳٥	۲۲	۲۱	۱۰	۱۲٦
	فراوانی نسبی (٪)	۷/۱٤	۱۱/۱۱	۱۱/۹۰	۲۷/۷۷	۱۷/٤٦	۱٦/٦٦	۷/۹۳	
آبستنی در فحلی دوم	تعداد	٥	۱۰	۱۱	۲۹	۱۹	۲۱	۱۰	۱۰٥
	فراوانی نسبی (٪)	٤/۷٦	۹/٥۲	۱۰/٤۷	۲۷/٦۱	۱۸/۰۹	۲۰	۹/٥۲	
آبستنی در فحلی سوم	تعداد	٤	٤	٤	٦	۳	۰	۰	۲۱
	فراوانی نسبی (٪)	۱۹/۰٤	۱۹/۰٤	۱۹/۰٤	۲۸/٥۷	۱٤/۲۸	۰	۰	

تعداد بره	تعداد	۲۱	۲۰	۲۱	۵۰	٤۱	۳۹	٤۲	۲۳٤
	فراوانی نسبی (٪)	۸/۹۷	۸/٥٤	۸/۹۷	۲۱/۳٦	۱۷/٥۲	۱٦/٦٦	۱۷/۹٤	
دوقلو	تعداد	۱	۰	۲	۱	۲	۱	۲	۹
	فراوانی نسبی (٪)	۱۱/۱۱	۰	۲۲/۲۲	۱۱/۱۱	۲۲/۲۲	۱۱/۱۱	۲۲/۲۲	
سه‌قلو	تعداد	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۱	۲
	فراوانی نسبی (٪)	۰	۰	۰	۵۰	۰	۰	۵۰	
تلفات	تعداد	۰	۰	۱	۱	۱	۱	۱	٤
	فراوانی نسبی (٪)	۰	۰	۲۵	۲۵	۲۵	۲۵	۲۵	
تعداد میش تکرر فحلی	تعداد	۹ab	۱٤bc	۱۵c	۳۵cd	۲۲bd	۲۱bd	۱۰a	۱۲٦
	فراوانی نسبی (٪)	۷/۱٤	۱۱/۱۱	۱۱/۹۰	۲۷/۷۷	۱۷/٤٦	۱٦/٦٦	۷/۹۳	

abcd: حروف متفاوت در هر ردیف نشانه وجود تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) می‌باشد.

همچنین با توجه به جدول فوق تفاوت معنی‌داری بین گروه دوم و گروه اول از لحاظ باروری مشاهده نشد. در حالیکه با توجه به جدول مذکور بین گروه سوم با زیرگروه‌های D و E گروه دوم تفاوت معنی‌داری (p<۰/۰۱) در میزان باروری وجود داشت. از طرف دیگر با توجه به جدول ۱ اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۰۱) در تکرر فحلی بین گروه شاهد و گروه سوم مشاهده شد، ولی بین گروه شاهد و زیرگروه‌های گروه دوم اختلاف معنی‌داری در بازگشت به فحلی مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

با توجه به جدول ۲ مقادیر گلوکز، فسفر و پروتئین تام در میش‌های آبستن‌شده در اولین فحلی بیشتر از میش‌های آبستن نشده بود، ولی این تفاوت معنی‌داری نبود. همچنین مقادیر اوره خون گروه آبستن‌شده بیشتر از گروه آبستن‌نشده بود. به دلیل بالا بودن میزان گلوکز در این گروه از اثرات مضر اوره برای رویان کاسته شده هر چند این اختلاف در مقدار اوره در سطح معنی‌داری نبود.

جدول ۲- میزان متابولیت‌ها و هورمون پروژسترون خون در دام‌های آبستن شده و بارورنشده در فحلی اول

	وضعیت دام	تعداد	میانگین	انحراف معیار	حداقل	حداکثر
پروژسترون (ng/ml)	آبستن‌شده	۸۷	۹/٥٤	۳/۹٤	۲/۱	۲۲
	بارورنشده	۱۰۸	۸/٦۱	٤/۳۷	۲/٥	۲۷
فسفر (mg/dl)	آبستن‌شده	۸۷	۷/٥	۱/۸۹	٤/۳۳	۱٦/۸
	بارورنشده	۱۱۲	۷/۱۷	۱/٦۹	۳/۷۲	۱۳/٤۷
گلوکز (mg/dl)	آبستن‌شده	۸۷	٥۱/۸۳	۹/۱۲	۳۲	۷٦
	بارورنشده	۱۰۸	٥۰/۸۷	۹/٤۸	۳۱	۷٤
پروتئین تام (g/dl)	آبستن‌شده	۸۷	۷/۱۲	۰/٦۸	٥/٤	۸/٥
	بارورنشده	۱۱۲	۷	۰/۷٤	٤/٥	۸/۷
نیتروژن اوره‌ای (mg/dl)	آبستن‌شده	۸۷	۱٥/۲۷	٤/۹٥	۷/٦٦	۳۹/٤۸
	بارورنشده	۱۱۲	۱٤/۷۱	٥	٦/٥۸	۲۸

جدول ۳- تجزیه عوامل مؤثر بر غلظت هورمون و متابولیت‌های خونی تحت تأثیر تزریق GnRH

منابع تغییرات	پروژسترون	گلوکز	فسفر	نیتروژن اورهای	پروتئین تام
تیمار	**	**	**	**	**
سن	NS	*	NS	NS	**
اثر متقابل سن و تیمار	NS	NS	NS	NS	NS

* و ** معنی‌داری به ترتیب در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد، NS : غیر معنی‌دار

با بررسی جدول ۳ هم مشاهده می‌شود که اثر تیمار بر مقدار پروژسترون سرم خون معنی‌دار بود ($p<۰/۰۱$) ولی اثر سن و اثر متقابل سن و تیمار معنی‌دار نبود. همچنین با مقایسه میانگین مقادیر پروژسترون سرم خون مشاهده شد که مقدار آن در گروه سوم بیشتر از سایر گروه‌ها بود (این گروه در روز ۱۲ بعد از تلقیح ٤٠ میکروگرم GnRH دریافت کرده بود). همچنین مشاهده شد که میانگین میزان پروژسترون در گروه دوم که مقدار ۲۰ میکروگرم GnRH دریافت کرده بود، کمتر از سایر گروه‌ها بود. نتایج حاصل از جدول ۳ نشان می‌دهد که اثر تیمار و سن بر غلظت گلوکز سرم خون تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) دارد. با مقایسه میانگین مقادیر گلوکز سرم، بیشترین مقدار گلوکز در زیرگروه E گروه دوم مشاهده شد. همچنین اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بین زیرگروه E گروه دوم با زیرگروه F گروه دوم و گروه سوم مشاهده گردید. نتایج حاصل از جدول مذکور نشان می‌دهد که اثر تیمار بر غلظت فسفر خون معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) بوده ولی اثر سن بر میزان فسفر سرم خون معنی‌داری نبود. همچنین گروه شاهد در برابر گروه تیمار درخصوص میزان فسفر سرم خون تفاوت معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) را نشان داد. با مقایسه میانگین مقادیر فسفر سرم خون، بیشترین مقدار فسفر در زیرگروه E گروه دوم و کمترین میزان آن در زیرگروه C گروه اول مشاهده شد. در مقایسه مقادیر فسفر بین زیرگروه F گروه دوم با گروه سوم که در روز ۱۲ بعد از تلقیح، هورمون GnRH دریافت کرده بودند، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. اما اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بین زیرگروه D گروه دوم با زیرگروه F گروه دوم و گروه سوم در مقدار فسفر مشاهده گردید. نتایج حاصل از جدول ۳ نشان می‌دهد که فقط تیمار بر میزان نیتروژن اوره سرم خون اثر معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) داشت. با مقایسه میانگین مقادیر نیتروژن اوره سرم خون، بیشترین مقدار نیتروژن اوره خون در زیرگروه F گروه دوم و کمترین میزان آن در زیرگروه D گروه دوم مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) داشتند. همچنین بین زیرگروه F گروه دوم با گروه G و زیرگروه E گروه دوم اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) مشاهده گردید. گروه G اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) با زیرگروه D گروه دوم و گروه شاهد نشان داد. با توجه به جدول ۳ اثر تیمار و سن بر میزان پروتئین تام سرم خون کاملاً معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) بود. مقایسه میانگین پروتئین تام سرم خون نشان داد که بیشترین مقدار پروتئین تام مربوط به گروه شاهد و کمترین مقدار آن مربوط به زیرگروه F گروه دوم می‌باشد و بنابراین، اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بین زیرگروه F گروه دوم با سایر گروه ها در مقدار پروتئین تام سرم مشاهده شد.

همچنین از همین لحاظ بین گروه سوم با زیرگروه E گروه دوم اختلاف معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) مشاهده گردید. همچنین با توجه به جدول ۳ اثر سن بر میزان پروتئین تام سرم خون معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) بود. با مقایسه میانگین پروتئین تام سرم با توجه به سن، بیشترین میزان این فراسنجه در میش‌های ۷ ساله و کمترین میزان آن در میش‌های یک‌ساله مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری از این لحاظ بین سنین ٤ تا ۷ ساله مشاهده نشد. تفاوت معنی-داری ($p<۰/۰۵$) از لحاظ مقدار پروتئین تام سرم بین میش‌های یک ساله با میش‌های ٤ تا ۷ ساله مشاهده شد. میش‌های ۲ و ۳ ساله نیز از لحاظ مقدار پروتئین تام سرم تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. از طرف دیگر با توجه به جدول ۳ سن میش بر میزان گلوکز خون اثر معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) داشت. با مقایسه میانگین غلظت گلوکز خون با توجه به سن، بیشترین میزان گلوکز خون در میش‌های یک ساله و کمترین میزان آن در میش‌های ۵ ساله مشاهده شد ولی تفاوت معنی‌داری از این لحاظ بین میش‌های با سنین ۲، ٤، ۵، ٦ و ۷ ساله مشاهده نشد، اما بین میش‌های یک ساله با میش‌های ۵ و ۷ ساله تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) در میزان گلوکز خون مشاهده شد. با توجه به جدول ٤ اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) در تعداد زایش بین گروه سوم با بقیه گروه‌ها مشاهده شد. بیشترین درصد باروری، نرخ بره‌زایی و تزاید گله به گروه سوم تعلق داشت. این گروه در روز ۱۲ بعد از تلقیح مقدار ۵ میلی‌لیتر هورمون GnRH دریافت کرده بود.

جدول ٤- نتایج به‌دست‌آمده اثر تیمار بر شاخص‌های تولیدمثلی میش ماکوئی در فحلی اول

گروه‌های آزمایشی	تعداد میش	تعداد زایش	نرخ بره‌زایی	درصد باروری	درصد چندقلوزایی	درصد تزاید گله
A	۲۰	۱۱	۱۲	۵۵	۹	٦۰
B	۲۰	٦	٦	۳۰	۰	۳۰
C	۲۰	۵	۷	۲۵	٤۰	۳۵
کل شاهد	٦۰	۲۲[d]	۲۵	۳٦/۳٦	۱۳	٤۱/٦٦
D	٤۸	۱۳[c]	۱٦	۲۷	۱۵	۳۳/۳۳
E	٤۰	۱۸[bd]	۲۰	٤۵	۱۱	۵۰
F	۳۹	۱۸[bd]	۱۹	٤٦	۵	٤۸/۷۱
G	۳۹	۲۹[a]	۳۳	۷٤/۳۵	۱۰	۸٤/٦۱
کل کله	۲۲٦	۱۰۰	۱۱۳	٤٤/۲٤	۱۳	۵۰

حروف متفاوت در جدول نشانه وجود تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

با وجود این‌که آزمایش به طریق آنالیز فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شد، ولی اثرات اصلی شامل گروه‌های آزمایشی (A، B، C، D، E و F) و سن (در ۷ سطح ۱ تا ۷ ساله) مد نظر بود و میانگین ترکیب تیمارها (A1T1) مورد نظر تحقیق نبود. در این تحقیق اثر هم‌زمان سازی فحلی و استفاده از GnRH بر باروری گوسفند نژاد ماکوئی بررسی شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر، مشخص شد که استفاده از ٤۰ میکروگرم GnRH در روز ۱۲ بعد از

تلقیح اثر بهتری بر افزایش مقدار پروژسترون مترشحه از جسم زرد داشت که باعث بهبود باروری شده است. استفاده از GnRH با افزایش تولید پروژسترون توسط جسم زرد می‌تواند در نرخ باروری مؤثر باشد که این نتیجه با یافته‌های مطالعه می و همکاران که در سال ۱۹۹۳ انجام گرفته، مطابقت داشته ولی با نتایج تحقیق لوسی و استونسون در سال ۱۹۸٦ همخوانی نداشت (Lucy and Stevenson, 1986; Mee and et al., 1993). همچنین نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های پژوهش کییم و همکاران در سال ۲۰۰۳ مطابقت داشت که نشان داد استفاده از GnRH در روز ۱۲ بعد از تلقیح عملکرد تولیدمثلی میش را بهبود می‌بخشد (Kaim and et al., 2003). غیرمعنی‌داری اثر ۲/۵ میلی‌لیتر GnRH در روز ۱۲ بعد از تلقیح بر باروری میش‌ها، با یافته‌های مک میلان و همکاران در سال ۱۹۸٦ و بک و همکاران در سال ۱۹۹٤ مغایر بود و با یافته‌های جم و همکاران در سال ۲۰۰۲ مطابقت داشت (Beck *et al*., 1994; MacMillan *et al*., 1986; Cam *et al*., 2002).

بیشترین میزان باروری مربوط به گروه سوم دریافت‌کننده ۵ میلی‌لیتر GnRH در روز ۱۲ بعد از تلقیح مصنوعی بود که با نتایج کلمن و همکاران در سال ۱۹۹٤ و بازر و همکاران در سال ۱۹۹۸ مطابقت داشت، ولی با نتایج جم و همکاران در سال ۲۰۰۲ مغایر بود (Kleemann *et al*., 1994; Cam *et al*., 2002; Bazer *et al*., 1998). استفاده از GnRH در روز ۱۲ بعد از تلقیح سبب افزایش وزن کوتیلدون‌ها شده و همچنین میزان اینترفرون تائو را نیز افزایش می‌دهد و اینترفرون تائو باعث جلوگیری از ترشح $PGF_2\alpha$ شده و در نتیجه از لوتئولیز ممانعت به عمل می‌آید (Bazer *et al*., 1998; Kleemann *et al*., 1994; Thatcher *et al*., 1995). روز ۱۲ بعد از آبستنی، هم‌زمان با تحلیل جسم زرد در چرخه طبیعی فحلی می‌باشد که اگر آبستنی توسط مادر شناسایی شود و جسم زرد پایدار بماند، تا اواخر آبستنی جسم زرد باقی می‌ماند و با ترشح پروژسترون به بقاء جنین کمک می‌کند. ترشح پروژسترون توسط جسم زرد برای تداوم آبستنی ضروری است. استفاده از GnRH در روز ۱۲ بعد از تلقیح باعث می‌شود که شناسایی آبستنی توسط مادر به‌خوبی انجام شود. بنابراین استفاده از GnRH باعث بهبود نرخ آبستنی، بره‌زایی و وزن زایش می‌شود.

میزان هورمون پروژسترون در دام‌هایی که در فحلی اول بارور شده‌اند، بیشتر از دام‌هایی است که بارور نشده‌اند ولی تفاوت معنی‌داری بین مقادیر پروژسترون میش‌های آبستن‌شده و غیرآبستن وجود نداشت. پروژسترون مهم‌ترین عامل بقاء جسم زرد است و وجود جسم زرد برای ادامه آبستنی ضروری است. پروژسترون باعث رشد سریع بلاستوسیت‌ها می‌شود و بلاستوسیت‌ها با تولید اینترفرون تائو به بقاء جنین کمک می‌کنند (Walters *et al*., 1984). با توجه به این‌که بیشترین تعداد میش بارور در فحلی اول مربوط به میش‌هایی است که بعد از تلقیح GnRH دریافت کرده‌اند، می‌توان چنین گفت که استفاده از GnRH ترشح LH را افزایش می‌دهد و سلول‌های لوتئال کوچک جسم زرد که حاوی رسپتورهای LH بیشتری می‌باشند، در پاسخ مقدار بیشتری پروژسترون ترشح می‌کنند که این مکانیسم توسط فارین در سال ۱۹۸۸ بیان شده است (Farin *et al*., 1988). با توجه به نتایج فوق می‌توان گفت که یکی از دلایل موفقیت آبستنی میش‌های فحلی

اول به دلیل بالا بودن میزان پروژسترون سرم خون آن‌ها می‌باشد.

مقدار فسفر میش‌های آبستن در فحلی اول بیشتر از میش‌هایی است که آبستن نشده‌اند. فسفر به همراه گلوکز در وقوع واکنش‌های اکسیداتیو داخل سلول نقش اساسی ایفا می‌کنند تا وقوع فرآیند گلوکونئوژنز از اسید آمینه و افزایش غلظت اوره به حداقل برسد. معنی‌داری اثر GnRH بر مقدار پروژسترون با نتایج خان و همکاران در سال ۲۰۰۱، بک و همکاران در سال ۱۹۹٦ و نفیو و همکاران در سال ۱۹۹٤ در میش و گاو مطابقت داشت (Khan *et al*., 2001; Beck *et al*., 1996; Nephew *et al*., 1994). غیرمعنی‌داری اثر سن میش در مقدار پروژسترون با نتایج والترز و همکاران در سال ۱۹۸٤ مطابقت داشته و با نتایج من و همکاران در سال ۱۹۹۵ هم‌خوانی نداشت (Mann *et al*., 1995; Walters *et al*., 1984). دلیل تأثیر مثبت پروژسترون روی زنده‌مانی رویان و باروری را می‌توان این‌گونه استنباط کرد که تزریق مقدار ۵ میلی‌لیتر GnRH در روز ۱۲، با تحت تأثیر قرار دادن سلول‌های لوتئال کوچک که گیرنده‌های LH بیشتری دارند، باعث تولید مقدار بیشتری پروژسترون شده و کمک کرده است تا رویان تشکیل‌شده جایگزین شود و به علت کمبود پروژسترون و محیط نامناسب رحمی از بین نرود و در نتیجه باروری در این گروه افزایش یابد.

بیشترین مقدار گلوکز در زیرگروه E گروه دوم مشاهده شد. از آنجایی که در این مطالعه قبل از تزریق هورمون GnRH خون‌گیری نشده است، نمی‌توان بالا بودن میزان گلوکز را به تزریق هورمون نسبت داد به‌علاوه، سطح تغذیه و نوع آن در تمام میش‌ها یکسان بود. در نتیجه تفاوت در میزان گلوکز بین گروه‌ها می‌تواند به تفاوت‌های فردی، سن و سایر عوامل مربوط باشد. غیرمعنی‌دار بودن اثر سن میش بر غلظت فسفر با نتایج معلم و همکاران در سال ۲۰۰۷ و چاگاس و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطابقت داشت (Moallem *et al*., 2007; Chagas *et al*., 2007). هیچ اختلاف معنی‌داری در مقدار فسفر بین گروه سوم و زیرگروه F گروه دوم که در روز ۱۲ بعد از تلقیح هورمون GnRH با مقادیر متفاوت دریافت کرده بودند، مشاهده نشد. با توجه به اینکه قبل از تزریق هورمون GnRH خون‌گیری به عمل نیامده است، نمی‌توان تفاوت در مقادیر فسفر را به هورمون GnRH نسبت داد. غیرمعنی‌دار بودن اثر سن میش روی نیتروژن اوره خون با نتایج چاگاس و همکاران در سال ۲۰۰۷ مطابقت نداشت (Chagas *et al*., 2007). معنی‌دار بودن اثر سن میش روی میزان گلوکز با نتایج معلم و همکاران در سال ۲۰۰۷ و گوردون و همکاران در سال ۲۰۰۰ مغایر بود (Gordon *et al*., 2000; Moallem *et al*., 2007). استفاده از ۵ میلی‌لیتر GnRH در روز ۱۲ بعد از تلقیح درصد باروری و تزاید گله را بیشتر از ۲/۵ میلی‌لیتر GnRH افزایش می دهد. این یافته‌ها با نتایج کیم و همکاران در سال ۲۰۰۳ مطابقت داشت (Kaim *et al*., 2003)

لی و همکاران در سال ۱۹۸۵ مشاهده کردند گاوهایی که بعد از تزریق GnRH هنگام تلقیح با اولین سرویس آبستن شدند، غلظت پروژسترون بیشتری داشتند (Lee *et al*., 1985). پیشنهاد شده که درمان با GnRH هنگام تلقیح، فولیکولوژنز را تحت تأثیر قرار می‌دهد. درمان با GnRH در زمان تلقیح، غلظت PSPB (pregnancy-specific protein B) را در سرم افزایش

می‌دهد. ممکن است که GnRH و یا ماده‌ای کـه ترشـح پروژسترون را تحت تأثیر قرار می‌دهد، با افزایش تنظـیم PSPB باعث حفظ رویان و افزایش نرخ آبستنی گـردد. بعد از درمان با GnRH، استروژن سرم پایین‌تـر بـوده و غلظت و پالس LH وFSH افزایش مـی‌یابـد کـه گفتـه می‌شود این تغییرات در سیستم آندوکرینی ممکن اسـت به تغییرات در اولین و دومین موج فولیکولی رشد یافتـه برگردد.

یافته‌های این مطالعه مطابق با نتـایج بـه‌دسـت آمـده توسط استری و همکاران در سـال ۲۰۰٦ مـی‌باشـد کـه نشان دادنـد اسـتفاده از GnRH هنگـام فحلـی از تکـرر فحلی گوساله‌ها جلوگیری کـرده و نـرخ بـاروری را در تلیسه‌هایی که تکـرر فحلـی داشـتند افـزایش مـی دهـد (Sterry *et al*., 2006). باتوانی و الیاسی در سـال ۲۰۰٤ نشان دادند تزریق GnRH هنگـام تلقـیح نـرخ بـاروری گاومیش‌های رودخانه‌ای را به‌طور معنی‌دار بهبود بخشید (Batavani and Eliasi, 2004).

به‌طور کلی مـی‌تـوان نتیجـه گرفـت کـه تزریـق ۵ میلی‌لیتر GnRH در روز ۱۲ بعد از تلقیح، نرخ بـاروری میش را بهبود می‌بخشد.

سپاسگزاری

نویسـندگان از همـه کارکنـان ایسـتگاه تحقیقـاتی خلعت‌پوشان به خاطر همکاری در اجـرای ایـن تحقیـق قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که در این مطالعه هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند

.

منابع

- Akifcam, M. and Kuran, M. (2003). GnRH agonist treatment on day 12 post mating to improve reproductive performance in goats. Journal of Small Ruminant Research, 52(1-2): 169-172.
- Ataman, M.B. and Akoz, M. (2006). GnRH-PGF2α and PGF2α-PGF2α synchronization in akkaraman cross- bred sheep in the breeding season. Journal of Animal Science, 50(4): 101-104.
- Awel, H., Eshetu, L., Tadesse, G., Birhanu, A. and Khar, S.K. (2009). Estrus synchronization in sheep with synthetic progestogens. Tropical Animal Health and Production, 41(7): 1521-1524.
- Batavani, R.A. and Eliasi, K. (2004). Effect of GnRH analogue (gonadorelin) on pregnancy rates in river buffaloes. Iranian Journal of Veterinary Research, 5(2): 81-85.
- Bazer, F.W., Ott, T.L. and Spencer, T.E. (1998). Maternal recognition of pregnancy: comparative aspects—a review. Trophoblast Research, 12(2): 375-386.
- Beck, N.F.G., Peters, A.R. and Williams, S.P. (1994). The effect of GnRH agonist (buserelin) treatment on day 12 post mating on the reproductive performance of ewes. Animal Production, 58(2): 243-247.
- Beck, N.F.G., Jones, M., Davies, B., Mann, G.E. and Peters, A.R. (1996). The effect of GnRH analogue (buserelin) treatment on day 12 post mating on ovarian structure and plasma progesterone and estradiol concentration in ewes. Animal Science, 63(3): 407-412.

- Cam, M.A., Kuran, M., Yildiz, S. and Selcuk, E. (2002). Fetal growth and reproductive performance in ewes administered GnRH agonist on day 12 post-mating. Animal Reproduction Science, 72(1-2):73-82.
- Cavalcanti, A.S., Brandão, F.Z., Nogueira, L.A.G. and Fonseca, J.F. (2012). Effects of GnRH administration on ovulation and pregnancy in ewes subjected to estrous synchronization. Sociedade Brasileira de Zootecnia, 41(6): 1412-1418
- Chagas, L.M., Gore, P.J.S., Meier, S., Macdonald, K.A. and Verkerk, G.A. (2007). Effect of monopropylene glycol on luteinizing hormone, metabolites and postpartum an ovulatory intervals in prim parous dairy cows. Journal of Dairy Science, 90(3): 1168-1175.
- Farin, C.E., Moeller, C.L., Hayan, H., Gamboni, F., Sawyer, H.R. and Niswender, G.D. (1988). Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotropin on cell populations in the ovine corpus luteum. Biology of Reproduction, 38(2): 413-421.
- Gordon, D., Niswenper, L., Patrick, J., Keith Rollyson, M. and Mcintuh, W.E. (2000). Mechanisms controlling the function and life spean of corpus luteum. Journal of Physiology Review, 80(1): 1-29.
- Kaim, M., Bloch, A., Wolfenson, D., Braw-tal, R., Rosenberg, M., Voeand, H., et al. (2003). Effects of GnRH administered to cows at the onset of estrus on timing of ovulation, endocrine responses and conception. Journal of Dairy Science, 86(6): 2012-2021.
- Khan, T.H., Beck, N.G., Khalid, M. and Mann, G.E. (2001). Effect of post-mating GnRH analogue buserelin treatment on PGF2α release in sheep. Journal of Reproduction, 27: 47. (Abstract).
- Kleemann, D.O., Walker, S.K. and Seamark, R.F. (1994). Enhanced fetal growth in sheep administered progesterone during the first three days of pregnancy. Journal of Reproduction Fertility, 102(2): 411-417.
- Lee, C.N., Critser, J.K., Ax, R.L. and Folman, Y. (1985). Changes of luteinizing hormone and progesterone for dairy cows after gonadotropin-releasing hormone at first postpartum breeding. Journal of Dairy Science, 68(6): 1463-1470.
- Lucy, M.C. and Stevenson, J.S. (1986). Gonadotropin - Releasing Hormone at estrus: Luteinizing hormone, estradiol and progesterone during the periestrual and post insemination periods in dairy cattle. Journal of Biology of Reproduction, 35(2): 300-311.
- MacMillan, W., Knight, T.W. and Macmillan, K.L. (1986). Effects of gonadotropin releasing hormone (buserelin) on sheep pregnancy. Proc. N. Z. Soc. Animal Production, 46(3): 161-163.
- Mann, G.E. and Picton, H.M. (1995). Ovarian and uterine effects of a single buserelin injection on day 12 of the oestrous cycle in the cow. Journal of Reproduction Fertility, 15: 61. (Abstract).
- Mee, M.O., Stevenson, J.S., Alexander, B.M. and Sasser, R.G. (1993). Administration of GnRH at estrus influences pregnancy rates, serum concentrations of LH, FSH, estradiol 17 β, pregnancy specific protein B and progesterone, proportion of luteal cell types and in vitro production of progesterone in dairy cows. Journal of Animal Science, 71(1): 185-198.
- Moallem, U., Kartz, M., Lehrer, H., Livshitz, L. and Yakoby, S. (2007). Role of peripartum dietary propylene glycol or protected fats on metabolism and early postpartum ovarian follicles. Journal of Dairy Science, 90(3): 1243-1254.
- Nephew, K.P., Cardenas, H., Mcclure, K.E., Ott, T.L., Bazer, F.W. and Pope, W.F. (1994). Effect of administration of human chorionic gonadotropin or progesterone before maternal recognition of pregnancy on blastocyst development and pregnancy in sheep. Journal of Animal Science, 72(2): 453-458.
- Sreenan, J.M., Diskin, M.G. and Dunne, L. (1996). Embryonic mortality: the major cause of reproductive wastage in cattle. In: Proceedings of the 47th Annual Meeting of the European Association of Animal Production. Lillihammer. August. 1996.
- Sterry, R.A., Welle, M.L. and Fricke, P.M. (2006). Treatment with gonadotropin-releasing hormone after first timed artificial insemination improves pregnancy in non-cycling lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 89(11): 4237-4245.

- Taponen, J. (2003). Ovarian function in dairy cattle after gonadotropin-releasing hormone treatments during perioestrus. J. Faculty of veterinary medicine, University of Helsinki Hameentie, 57 Helsinki.
- Thatcher, W.W., Meyer, M.D. and Danet-Desnoyers, G. (1995). Maternal recognition of pregnancy. Journal of Reproduction Fertility. Suppl, 49(5): 15-28.
- Thatcher, W.W., Moreira, F., Santos, J.E.P., Mattos, R.C., Lopes, F.L., Pancarci, S.M., et al. (2001). Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. Theriogenology, 55(1): 75-89.
- Walters, D.L., Schams, D. and Schallenberger, E. (1984). Pulsatile secretion of gonadotropins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the luteal phase of the oestrous cycle in the cow. Journal of Reproduction Fertility, 71: 479- 491.
- Yadi, J., Moghaddam, F.M., Khalajzadeh, S. and Solati, A.A. (2011). International Conference on Asia Agriculture and Animal. IPCBEE Vol.13.
- Zamiri, M. J. (2005). Reproductive Physiology. 3rd ed., Iran: Haghshenas Publisher, pp: 125-148. [In Persian]