

تاثیر تزریق گونادوتروپین کوریونیک انسانی پس از قوچ‌اندازی بر غلظت پروژسترون و عملکرد تولیدمثلی میش‌های آمیخته افشاری × برولا مرینو

بهنام رستمی^{۱*}، رحمان حاجی زاده^۲ و محمدحسین شهیر^۳

تاریخ پذیرش: ۹۴/۴/۲۱ تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۲۴

^۱ استادیار گروه علوم دامی دانشگاه زنجان

^۲ دانش آموخته گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان

^۳ دانشیار گروه علوم دامی دانشگاه زنجان

* مسئول مکاتبه: Email: brostami@znu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: تلفات اولیه رویانی یکی از مشکلات اصلی تولیدمثلی دام‌های مزرعه‌ای است. تولید ناکافی پروژسترون از جسم زرد در اوایل آبستنی یکی از علل عمده این تلفات است. هدف: هدف از انجام این آزمایش تعیین اثرات تزریق عضلانی ۴۰۰ واحد بین‌المللی hCG، در روز ۱۱ پس از قوچ‌اندازی بر روی عملکرد تولیدمثلی میش‌های آمیخته افشاری × مرینو بود. روش کار: در مطالعه حاضر، تعداد ۲۴ راس میش آمیخته افشاری × مرینو به صورت تصادفی در دو گروه ۱۲ راسی قرار گرفتند. جهت همزمانی فحلی، تمامی میش‌ها سیدرهای پروژسترونی را به مدت ۱۲ روز دریافت کردند. در روز ۱۱ پس از قوچ‌اندازی، میش‌های گروه hCG، ۴۰۰ واحد بین‌المللی hCG به صورت عضلانی دریافت کردند و میش‌های گروه کنترل هیچ درمانی را دریافت نکردند. جهت اندازه‌گیری غلظت هورمون پروژسترون در روزهای ۷، ۱۲، ۱۷ و ۲۲ پس از قوچ‌اندازی از میش‌ها خون‌گیری به عمل آمد. نتایج: نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت هورمون پروژسترون در روزهای ۱۲ و ۱۷ پس از قوچ‌اندازی در میش‌های گروه hCG به طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود ($P < 0/05$). میش‌های گروه hCG سه و چهارقلوزایی بیشتری نسبت به گروه کنترل داشتند که در نتیجه تعداد بره متولد شده و تعداد بره به ازای هر میش در گروه hCG بالاتر بود. میزان تلفات رویانی تا زمان از شیرگیری در گروه hCG (۳/۸٪) از گروه کنترل (۱۱٪/۸) کمتر بود ($P < 0/05$). نتیجه‌گیری نهایی: به طور کلی نتایج بدست آمده از این تحقیق نشان داد که تجویز hCG در اوایل آبستنی با بهبود عملکرد لوتئال و احتمالاً با کاهش تلفات رویانی، عملکرد تولیدمثلی را در میش‌های آمیخته افشاری × مرینو بهبود می‌بخشد.

واژگان کلیدی: عملکرد تولیدمثلی، میش، پس از جفت‌گیری، hCG

مقدمه

می‌توان آن را با استفاده از درمان‌های هورمونی بهبود بخشید (اتسان و همکاران ۲۰۰۷). روش‌های مختلفی برای افزایش کارایی تولیدمثلی در میش‌ها وجود دارد که اغلب به منظور افزایش تعداد تخمک‌گذاری و افزایش نرخ بره‌زایی انجام می‌شود (مرادی کور و همکاران ۲۰۱۲).

مهم‌ترین و سودآورترین فاکتور برای پرورش‌دهندگان گوسفند در سیستم‌های نیمه متمرکز نرخ بره‌زایی است (سیرجانی و همکاران ۲۰۱۱) و از آنجائیکه تولید یک بره در سال، نمی‌تواند هزینه‌های دامپروری را تامین کند،

تشکیل جنین و زنده‌مانی آن به زنجیره‌ای از رویدادهای بیولوژیکی یکپارچه در تخمدان، رویان، اویدوکت و رحم وابسته است (جام و همکاران ۲۰۰۲)، که اختلالات فیزیولوژیک در هریک از این موارد، می‌تواند به کاهش زنده‌مانی رویان و کاهش میزان بره‌زایی منجر شود (تاچر و همکاران ۱۹۹۴). لانه‌گزینی رویان‌ها در میش از روز ۱۴ بعد از لقاح شروع شده و در روز ۲۸ پس از لقاح کامل می‌شود (اسپنسر و همکاران ۲۰۰۴). تلفات رویانی پیش از لانه‌گزینی یکی از مشکلات اصلی محدودکننده عملکرد بهینه تولیدمثلی در حیوانات مزرعه‌ای است، به طوری که در گوسفند ۴۰-۳۰ درصد رویان‌های ایجاد شده طی چند هفته اول آبستنی از بین می‌روند که ۸۰-۷۰ درصد این تلفات در دو هفته اول پس از لقاح اتفاق می‌افتد (مایکلز و همکاران ۱۹۹۸). با این حال تلفات رویانی قابل پیشگیری هستند و تنها میزان کمی از این تلفات به دلیل ناهنجاری‌های ژنتیکی رویان اتفاق می‌افتد (ویلموت و همکاران ۱۹۸۶).

از آنجائیکه حضور جسم زرد مناسب برای تولید پروژسترون جهت حمایت از آبستنی ضروری است، عملکرد ضعیف جسم زرد و تولید ناکافی پروژسترون در اوایل آبستنی یکی از علل عمده عدم شناسایی رویان توسط مادر و تلفات پیش از لانه‌گزینی در گوسفند است (نفیو و همکاران ۱۹۹۴). غلظت پایین پروژسترون در روز ششم پس از لقاح باعث به تاخیر افتادن توسعه رویان می‌شود، که این باعث می‌شود، شناسایی آبستنی توسط مادر در نتیجه عدم تولید مقدار کافی اینترفرون تاو (IFN- τ) توسط رویان صورت نگیرد (مان و همکاران ۲۰۰۱، ۲۰۰۶).

در تلاش برای کاهش تلفات رویانی و همچنین برای بهبود عملکرد تولیدمثلی، هورمون hCG در اوایل آبستنی در گوسفند و گاو استفاده شده است (سانتوز و همکاران ۲۰۰۱ و جام و کوران ۲۰۰۴). مطالعات پیشین نشان می‌دهد که استفاده از هورمون‌های لوتئوتروپیک پس از جفت‌گیری، نه تنها نرخ آبستنی را افزایش می‌دهد (مک میلان و همکاران ۱۹۸۶)، بلکه رشد متعاقب رویان را نیز تحریک می‌کند (گرت و همکاران ۱۹۸۸). درمان‌های هورمونی در گاو و گوسفند در روزهای مختلفی اعمال شده و نتایج بین مطالعات مختلف است، بطوریکه برخی محققین (جاب و همکاران ۱۹۹۰؛ رایان و همکاران و بارتولوم و همکاران ۲۰۰۵) اثر سودمندی را مشاهده نکرده‌اند، در حالی که تعدادی دیگر از محققین (شلدون و دویسن ۱۹۹۳؛ ناکائو و همکاران ۱۹۹۵؛ یلیدی و همکاران ۲۰۰۹) افزایش در نرخ آبستنی را گزارش کرده‌اند. تزریق hCG در روز ۱۱/۵ پس از قوچ‌اندازی با افزایش وزن جسم زرد، غلظت پروژسترون را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. علاوه بر این، در یک مطالعه مقدار IFN- τ که برای شناسایی آبستنی ضروری است با تزریق hCG در روز ۱۱/۵، نسبت به گروه کنترل ۵ برابر افزایش پیدا کرد (نفیو و همکاران ۱۹۹۴). تزریق ۱۵۰ واحد hCG ۱۲ روز پس از جفت‌گیری، با کاهش تلفات رویانی و بهبود زنده‌مانی رویان در مراحل اولیه آبستنی، دوقلو‌زایی را به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش داد (جام و کوران ۲۰۰۴). علاوه بر این، تزریق ۱۰۰ واحد بین-المللی هورمون hCG، در روز ۱۱/۵ پس از قوچ‌اندازی، مقدار پروژسترون را طی روزهای ۱۲ و ۱۳ (زمان شناسایی آبستنی و لانه‌گزینی) پس از قوچ‌اندازی به طور معنی‌داری افزایش داد (ردن و همکاران ۲۰۰۶).

روز ۱۲ پس از قوچ‌اندازی دوره‌ی بحرانی برای شناسایی آبستنی توسط میش و جلوگیری از تحلیل رفتن جسم زرد است که این زمان، منطبق با پسرقت جسم زرد در چرخه‌ی طبیعی فحلی می‌باشد (بازر و همکاران ۱۹۹۸). بنابراین در روزهای اول پس از قوچ‌اندازی می‌توان با استفاده از هورمون hCG یا بوسیله تحریک عملکرد جسم زرد توسط گونادوتروپین‌ها به شناسایی آبستنی توسط میش کمک کرد تا از این طریق از تلفات رویانی جلوگیری شود (خان و همکاران ۲۰۰۳). hCG اثرات لوتئوتروپیک داشته و باعث افزایش غلظت پروژسترون میش می‌شود. علاوه بر این تزریق hCG، باعث افزایش

طول سیکل فعلی شده و در نتیجه زمان بیشتری برای شناسایی آبستنی توسط مادر وجود خواهد داشت (بروئل و همکاران ۱۹۸۹ و سگوئین و همکاران ۱۹۷۷). با توجه به آنکه نژاد مورد استفاده در این آزمایش به عنوان یک نژاد جدید دارای قابلیت چندقلوزایی می باشد و نیز با توجه به نتایج متناقض ذکر شده در مطالعات پیشین، تحقیق حاضر به منظور بررسی اثرات تزریق عضلانی hCG پس از جفت‌گیری و قبل از شناخت آبستنی بر غلظت پروژسترون و عملکرد تولیدمثلی میش‌های آمیخته افشاری برولامرینو انجام گرفت.

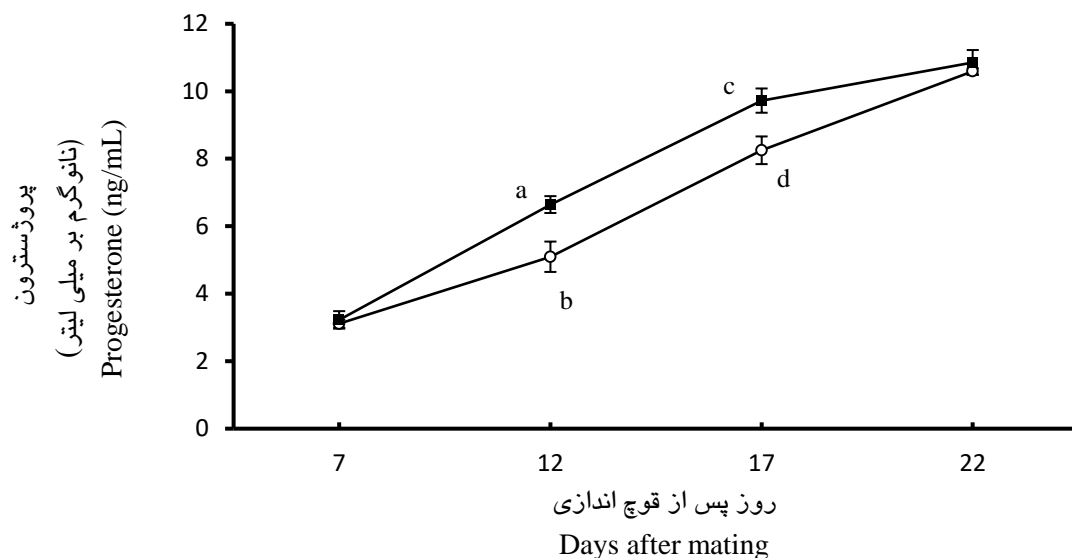
مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۲۴ راس میش ۲/۵ ساله، با میانگین وزن $۷۱/۳ \pm ۱/۴$ و یک شکم‌زا از بین آمیخته‌های افشاری × مرینو (آمیخته‌ها F₂ و از نظر ژنتیکی، ۷۵٪ نژاد افشاری و ۲۵٪ مرینوس بودند) برای انجام این طرح انتخاب شدند. میش‌ها از مراتع به صورت آزاد تغذیه شده و در جایگاه بسته به صورت گروهی نگهداری می‌شدند. برای همزمانی فعلی، سیدره‌های پروژسترونی (-Eazi Breed™, CIDR®, 0.3 g P₄; New Zealand) به مدت ۱۲ روز در واژن تمامی میش‌ها قرار گرفت. ۱۲ روز پس از سیدرگذاری، تمامی سیدرها برداشته شد و همزمان با برداشتن سیدرها ۴۰۰ واحد بین‌المللی eCG (Folligon®; Intervet; Holland) به صورت عضلانی به همه میش‌ها تزریق شد. ۱۷ ساعت پس از تزریق eCG فعل‌یابی با استفاده از قوچ‌های مجهز به پیش‌بند انجام شد. میش‌هایی که علائم فعلی را بروز دادند به صورت طبیعی، با قوچ‌های بارور جفت‌گیری کردند. ۲۴ راس میش به صورت تصادفی در ۲ گروه آزمایشی قرار گرفتند. میش‌های گروه اول (n=۱۲) $BCS=۲/۷ \pm ۰/۱$ و $۷۲/۲ \pm ۲/۱$ = میانگین وزن) در روز ۱۱ پس از قوچ‌اندازی، ۴۰۰ واحد بین‌المللی hCG (Chorulon®; Intervet, Holland) را به صورت عضلانی دریافت کردند و میش‌های گروه دوم (n=۱۲)

نتایج و بحث

غلظت پروژسترون

میانگین غلظت پروژسترون پلازما در شکل ۱ آورده شده است. میانگین غلظت پروژسترون در هر دو گروه از روز ۷ و با پیشرفت آبستنی به طور معنی‌داری افزایش یافته است. غلظت پروژسترون خون در روزهای ۱۲ و ۱۷ پس از قوچ‌اندازی در میش‌های گروه hCG به طور معنی‌داری از گروه کنترل بالاتر است ($P < ۰/۰۵$). اگرچه غلظت پروژسترون در روزهای ۷ و ۲۲ پس از قوچ‌اندازی در گروه hCG بالاتر از گروه کنترل است، اما از نظر آماری اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار نیست.



شکل ۱- میانگین غلظت پروژسترون در میش‌های گروه کنترل (○) و گروه hCG (■)
 Figure 1- Mean Progesterone concentration of ewes in control (○) and hCG (■) groups

عملکرد تولیدمثلی

تعداد میش‌های برگشت به فعلی، تعداد میش‌های زایش کرده، تعداد بره و میزان مرگ و میر بره‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. تعداد میش‌هایی که پس از اولین سیکل فعلی و جفت‌گیری آبستن نشدند و دوباره علایم فعلی را نشان دادند در گروه hCG کمتر از گروه کنترل بود و اختلاف بین دو گروه معنی‌دار بود ($P < 0.05$). میش‌هایی که در دوره پس از قوچ‌اندازی هورمون hCG دریافت کرده بودند سه و چهارقلو زایی بیشتری نسبت به گروه کنترل داشتند، که در نتیجه تعداد کل بره‌ها و همچنین تعداد بره به ازای هر میش^۱ در این گروه نسبت به گروه کنترل بیشتر بود ($P < 0.05$). میزان مرگ و میر بره‌ها از زمان تولد تا زمان از شیرگیری (دو ماهگی) برای گروه کنترل و hCG به ترتیب ۱۱/۸٪ و ۳/۶٪ بود و اختلاف بین دو گروه از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

اگرچه تزریق هورمون hCG در روز ۱۱ پس از قوچ-اندازی، وزن تولد بره‌های تک‌قلو و چهارقلو را به صورت عددی افزایش داد، اما اختلاف بین دو گروه معنی‌دار نبود. در صورتی که به طور قابل توجهی بره‌های دوقلوی متولد شده در گروه hCG، وزن تولد بیشتری نسبت به بره‌های دوقلوی گروه کنترل داشتند و اختلاف بین دو گروه معنی‌دار بود ($P < 0.05$). علاوه بر این وزن از شیرگیری بره‌های دوقلو در گروه hCG از گروه کنترل بیشتر بود (جدول ۲).

جدول ۱- عملکرد تولیدمثلی در میش‌های گروه hCG (تزریق ۴۰۰ واحد hCG در روز ۱۱ پس از قوچ اندازی) و گروه کنترل (بدون درمان هورمونی)

Reproductive performance of ewes in hCG (injection of 400 IU on day 11 after mating) and control (no treatment after mating) group -Table1

	کنترل	hCG
تعداد میش‌های درمان شده	12	12
Ewes included (n)		
تعداد میش‌های برگشت به فحلی	3 ^a	0 ^b
Ewes returned to estrus (n)		
تعداد میش‌های زایش کرده	9	11*
Ewes lambed (n)		
تولد تک‌قلو	3	3
Single birth (n)		
تولد دوقلو	10	6
Twin birth (n)		
تولد سه‌قلو	0	3
Triplet birth (n)		
تولد چهارقلو	4 ^b	16 ^a
Quadruplet birth (n)		
تعداد کل بره‌ها	17	28
Total number of lambs (n)		
تعداد بره به ازای هر میش	1.89 ^b	2.55 ^a
Lambs per ewes lambed (n)		
میزان مرگ و میر بره‌ها (%)	11.8 ^a	3.6 ^b
Lamp mortality (%)		

حروف مختلف در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$)

* یک راس میش در گروه hCG در ماه چهارم آبستنی سقط جنین داشت و از مطالعه خارج شد.

Values within rows with different letters differ significantly ($P < 0.05$).

* One ewe in hCG group aborted in 4th month of pregnancy.

همکاران (۱۹۸۹). شناسایی آبستنی توسط مادر در گوسفند تقریباً در روز ۱۲ پس از لقاح صورت می‌گیرد (اسپنسر و همکاران ۲۰۰۴b). نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق هورمون hCG در دوره پس از جفت‌گیری غلظت پروژسترون مادری را مخصوصاً در روز ۱۲ پس از جفت‌گیری که همزمان با شناسایی آبستنی توسط مادر در گوسفند است (اسپنسر و همکاران ۲۰۰۴b) افزایش می‌دهد.

هدف اصلی این مطالعه بهبود عملکرد تولیدمثلی میش‌ها در مراحل اولیه آبستنی با استفاده از درمان‌های هورمونی بود. فرضیه انجام این تحقیق این بود که افزایش غلظت پروژسترون مادری با استفاده از هورمون hCG در اوایل آبستنی باعث کاهش تلفات رویانی می‌شود. عملکرد ضعیف لوتئال و به دنبال آن کاهش غلظت پروژسترون از مهمترین عواملی است که زنده‌مانی رویان در میش را تحت تأثیر قرار می‌دهد (آشوورد و

جدول ۲- وزن تولد (میانگین \pm S.E.M) بره‌ها در گروه hCG (تزریق ۴۰۰ واحد hCG در روز ۱۱ پس از قوچ‌اندازی) و گروه کنترل (بدون درمان هورمونی)

Table 2- Birth weight (Mean \pm S.E.M) of lambs in hCG (injection of 400 IU on day 11 after mating) and control (no treatment after mating) group

	کنترل	hCG
وزن تولد (کیلوگرم) Birth weight (Kg)		
تک‌قلو Single	5.30 \pm 0.15	5.48 \pm 0.18
دو‌قلو Twin	4.75 \pm 0.06 ^b	4.96 \pm 0.07 ^a
چهارقلو Quadruples	3.38 \pm 0.19	3.41 \pm 0.10
وزن از شیرگیری (کیلوگرم) Weaning weight (Kg)		
تک‌قلو Single	20.73 \pm 1.46	19.67 \pm 2.36
دو‌قلو Twin	16.35 \pm 0.43 ^b	18.67 \pm 0.35 ^a
چهارقلو Quadruplets	12.85 \pm 0.25	13.84 \pm 0.52

حروف مختلف در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$).

Values within rows with different letters differ significantly ($P < 0.05$).

همکاران ۲۰۰۷؛ معینی و همکاران ۲۰۰۹ و لنکفورد و همکاران (۲۰۱۰).

بلاستوسیت پس از هچ شدن، شروع به آزادسازی IFN- τ ، که برای شناسایی آبهستی توسط مادر ضروری است، می‌کند. IFN- τ گیرنده‌های اکسی‌توسین را کاهش داده و با جلوگیری از تولید هورمون PGF_{2a} مانع لوتئولیز می‌شود (اسپنسر و همکاران ۲۰۰۴b). غلظت بالای پروژسترون در مراحل اولیه آبهستی از طریق رشد بیشتر و سریعتر بلاستوسیت، باعث ترشح بیشتر IFN- τ می‌شود (نفیو و همکاران ۱۹۹۴)، که در نتیجه مرگ و میر رویانی کاهش یافته و باروری افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد که رویان با حجم بزرگتر قابلیت زنده‌مانی بیشتری نسبت به رویان کوچکتر دارد و همچنین مقدار IFN- τ بیشتری (نفیو و همکاران ۱۹۹۴) که نقش مهمی در

hCG از طریق اتصال به گیرنده‌های هورمون LH در روی سلول‌های لوتئال فعالیت شبیه هورمون LH دارد (کلی و همکاران ۱۹۸۸؛ سانتوز و همکاران ۲۰۰۱). hCG از طریق فعالیت لوتئوتروپیک خود باعث لوتئینی شدن فولیکول‌های روی تخمدان شده و باعث تشکیل اجسام زرد ضمیمه و کمکی می‌شود (بک و همکاران ۱۹۹۸؛ جام و کوران ۲۰۰۴ و خان و همکاران ۲۰۰۹). همچنین این هورمون باعث تبدیل سلول‌های لوتئال کوچک به سلول‌های لوتئال بزرگ می‌شود (فارین و همکاران ۱۹۸۸)، که در نتیجه این تغییرات تولید هورمون پروژسترون افزایش می‌یابد. به طور مشابهی محققین دیگر گزارش کردند که تزریق هورمون hCG در دوره پس از جفت‌گیری باعث افزایش غلظت هورمون پروژسترون می‌شود (نفیو و همکاران ۱۹۹۴؛ جام و همکاران ۲۰۰۲؛ خان و

گزارش کردند که وزن جسم زرد و طول رویان در میث‌های دریافت‌کننده هورمون hCG در مقایسه با میث‌های گروه کنترل بالاتر بود (خان و همکاران ۲۰۰۷). گزارش شده است که هورمون‌های لوتئوتروپیک رشد جنین را افزایش می‌دهد (گرت و همکاران ۱۹۸۸).

hCG از طریق تحریک تولید پروژسترون باعث افزایش تولید IFN- τ می‌شود (تاچر و همکاران ۱۹۹۵؛ مان و همکاران ۱۹۹۸) که در حقیقت بوسیله مهار تولید PGF $_{2\alpha}$ مانع از لوتئولیز می‌شود (بازر و همکاران ۱۹۹۸). علاوه بر این ممکن است که تزریق hCG از طریق توسعه فولیکول‌ها در روز ۱۲ پس از جفتگیری مانع از لوتئولیز گردد. تزریق hCG باعث تخمک‌گذاری یا ایجاد جسم زرد خواهد شد. کاهش تولید استرادیول (بک و همکاران ۱۹۹۶) و افزایش تولید پروژسترون بیان‌گیرنده‌های اکسی‌توسین در رحم را مسدود کرده و از این رو سنتز PGF $_{2\alpha}$ مهار خواهد شد (خان و همکاران ۲۰۰۱). زمان تزریق hCG نیز مهم است به طوری که درمان میث‌ها در روز جفتگیری و روزهای ۴، ۵ و ۱۲ پس از جفتگیری گزارش شده است (بک و همکاران ۱۹۹۴؛ نفیو و همکاران ۱۹۹۴؛ دروف و پیترز ۱۹۹۴؛ پیترز ۱۹۹۶؛ تاچر و همکاران ۲۰۰۱؛ جام و همکاران ۲۰۰۲ و خان و همکاران ۲۰۰۳). با توجه به این که روز ۱۲ زمان حیاتی برای شناسایی آبستنی توسط مادر و جلوگیری از پسرقت جسم زرد است، بنابراین در مطالعه حاضر روز ۱۱ پس از جفتگیری به عنوان زمان مطلوب برای تزریق هورمون hCG انتخاب شد.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع چنین نتیجه‌گیری می‌شود که تزریق hCG در روز ۱۱ پس از قوچ‌اندازی و در دوره بحرانی قبل از شناسایی آبستنی توسط مادر که همزمان با تحلیل جسم زرد می‌باشد، با افزایش پروژسترون مادری و بهبود عملکرد لوتئال و احتمالاً با کاهش تلفات اولیه رویانی عملکرد تولیدمثلی میث را افزایش می‌دهد.

مهار سیگنال‌های لوتئولیتیک دارد را ترشح می‌کند. علاوه بر این تزریق hCG در روز ۱۱/۵ پس از جفتگیری ترشح IFN- τ و وزن جسم زرد را افزایش می‌دهد (نفیو و همکاران ۱۹۹۴). پروژسترون در آماده کردن محیط رحمی برای رشد و توسعه اولیه رویان، لانه‌گزینی و نگهداری آبستنی نقش اساسی دارد. اثرات hCG بر نرخ آبستنی و رشد جنین به اثرات آن در تولید پروژسترون و ترشحات رحمی که امبریوتروفیک هستند نسبت داده می‌شود. این ممکن است نتیجه‌ای در سیگنال قوی برای شناسایی آبستنی توسط مادر از رویان ایجاد کند. در مطالعه حاضر افزایش غلظت پروژسترون مادری در مراحل اولیه آبستنی تعداد بره و به طور کلی عملکرد تولیدمثلی را در میث‌های دریافت‌کننده hCG افزایش داد.

تعداد میث‌های برگشتی به فعلی در گروه hCG در مقایسه با گروه کنترل پایین بود. احتمالاً تزریق هورمون hCG با بهبود عملکرد جسم زرد و کاهش تلفات اولیه رویانی که در چند هفته اول آبستنی برای ۷۰-۸۰ درصد رویان‌ها اتفاق می‌افتد مانع از پسرقت جسم زرد و برگشت به فعلی میث‌ها در گروه درمانی شده است. بنابراین میث‌های درمان شده با hCG در مقایسه با گروه کنترل نسبت بیشتری بره سه و چهار قلو تولید کردند. این نتایج با گزارشات قبلی که از هورمون hCG استفاده کرده بودند همخوانی دارد (جام و کوران ۲۰۰۴؛ خان و همکاران ۲۰۰۷). این نتایج نشان می‌دهد که تجویز هورمون hCG قبل از شناسایی آبستنی توسط مادر بوسیله بهبود زنده‌مانی رویان علاوه بر بهبود نرخ آبستنی باعث افزایش نرخ چندقلوزایی و افزایش تعداد بره‌ها می‌شود. در مطالعه حاضر وزن تولد بره‌های دوقلو در گروه hCG بالاتر از گروه کنترل بود. هرچند وزن تولد بره‌های یک و چهار قلو نسبت به گروه کنترل بالاتر بود اما اختلاف بین دو گروه از این نظر معنی‌دار نبود. خان و همکاران (۲۰۰۷) با کشتار میث‌هایی که در روز ۱۲ پس از جفتگیری hCG دریافت کرده بودند

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از پرسنل محترم آزمایشگاه فیزیولوژی و مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان به دلیل مساعدت در انجام این طرح سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

- Ashworth CJ, Sales DI and Wilmut I, 1989. Evidence of an association between the survival of embryos and periovulatory plasma progesterone concentration in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility* 87: 23-32.
- Atsan T, Emsen E, Yaprak M, Dagdemir V and Diaz GAG, 2007. An economic assessment of differently managed sheep flocks in eastern turkey. *Italian Journal of Animal Science* 6: 407-414.
- Bartolome JA, Melendez P, Kelbert D, Swift K, McHale J and Hernandez J, 2005. Strategic use of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) to increase pregnancy rate and reduce pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed insemination. *Theriogenology* 63: 1026-1037.
- Bazer FW, Ott TL and Spencer TE, 1998. Maternal recognition of pregnancy: comparative aspects -a review. *Trophoplast Research* 12: 375-386.
- Beck NFG, Green A, Khan TH and Khalid M, 1998. The effects of buserelin (GnRH analogue) or hCG treatment on luteal weight and embryonic development during early pregnancy in the ewe. *Journal of Reproduction and Fertility* 21: 95-96.
- Beck NFG, Jones M, Davies B, Mann GE and Peters AR, 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: 407-412.
- Beck NFG, Peters AR and Williams SP, 1994. The effect of GnRH agonist (buserelin) treatment on day 12 post mating on the reproductive performance of ewes. *Animal Production* 58: 243-247.
- Breuel KF, Spitzer JC and Henricks DM, 1989. Systemic progesterone concentration following human chorionic gonadotropin administration at various times during the estrous cycle in beef heifers. *Journal of Animal Science* 67: 1564-1572.
- Cam MA and 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. *Animal Reproduction Science* 80: 81-90.
- Cam MA, 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: 73-82.
- Drew SB and Peters AR, 1994. Effect of buserelin on pregnancy rates in dairy cows. *Veterinary Record* 134: 267-269.
- Farin CE, Moeller CL, Hayan H, Gamboni F, Sawyer HR and Niswender GD, 1988. Effect of luteinizing hormone and human chorionic gonadotrophin on cell populations in the ovine corpus luteum. *Biology of Reproduction* 38: 413-421.
- Garrett JE, Geisert RD, Zavy MT and Morgan GL, 1988. Evidence for maternal regulation of early conceptus growth and development in beef cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 84: 437-446.
- Jubb TF, Abhayaratne D, Maimo J and Andeson GA, 1990. Failure of an intramuscular injection of an analogue of gonadotrophin releasing hormone 11 to 13 days after insemination to increase pregnancy rates in dairy cattle. *Australian Veterinary Journal* 67: 359-361.
- Kelly CM, Hoyer PB and Wise ME, 1988. In-vitro and in-vivo responsiveness of the corpus luteum of the mare to gonadotrophin stimulation. *Journal of Reproduction and Fertility* 84: 593-600.
- Khan TH, Beck NFG and Khalid M, 2007. The effects of GnRH analogue (buserelin) or hCG (Chorulon) on Day 12 of pregnancy on ovarian function, plasma hormone concentrations, conceptus growth and placentation in ewes and ewe lambs. *Animal Reproduction Science* 102: 247-257.

- Khan TH, Beck NFG and Khalid M, 2009. The effect of hCG treatment on Day 12 post-mating on ovarian function and reproductive performance of ewes and ewe lambs. *Animal Reproduction Science* 116: 162-168.
- Khan TH, Beck NFG, Khalid M and Mann GE, 2001. Effect of post-mating GnRH analogue buserelin treatment on prostaglandin F2 α release in sheep. *Animal Reproduction Science* 27: 107-115.
- Khan TH, Hastie PM, Beck NFG and Khalid M, 2003. hCG treatment on day of mating improves embryo viability and fertility in ewe lambs. *Animal Reproduction Science* 76: 81-89.
- Lankford LM, Yates DT, Halalsheh RA, Black PL, Hallford DM and Ross TT, 2010. Effects of human chorionic gonadotropin on serum progesterone concentrations, embryonic survival, and lambing rates in ewes. *Proceeding of 2010 Western Section American Society of Animal Sciences* 61: 153-157.
- Mann GE, Fray MD and Lamming GE, 2006. Effects of time of progesterone supplementation on embryo development and interferon-tau production in the cow. *Veterinary Journal* 171: 500-503.
- Mann GE and Lamming GE, 2001. Relationship between maternal endocrine environment, early embryo development and inhibition of the luteolytic mechanism in cows. *Reproduction* 121:175-180.
- Mann GE, Lamming GE and Fisher PA, 1998. Progesterone control of embryonic interferon- τ production during early pregnancy in the cow. *Journal of Reproduction and Fertility* 21: 37.
- McMillan W, Knight TW and Macmillan KL, 1986. Effects of gonadotrophin releasing hormone (buserelin) on sheep fertility. *Proceeding of New Zealand Society of Animal Production* 46: 161-163.
- Michels H, Vanmontfort D, Dewil E and Decuypere E, 1998. Genetic variation of prenatal survival in relation to ovulation rate in sheep: a review. *Small Ruminant Research* 29: 129-142.
- Moeini MM, Alipour F and moghadam A, 2009. The effect of hCG on the reproduction performance in Lory sheep synchronized with different doses of pregnant mare serum gonadotrophin outside the breeding season. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances* 4: 9-15.
- Moradi-Kor N, Sadeghi S and Ziaei N, 2012. Comparison reproductive Performance in Kermani ewes Treated with two synchronization methods and Subsequent eCG treatment out of the breeding season. *International Journal of Biological Medicine Research* 3: 1485-1489.
- Nakao T, Hanzawa M, Nakada K, Moriyoshi M and Kawata K, 1995. Effect of buserelin administered at artificial insemination (AI) or 11-12 days after AI on conception rate in dairy cows. *Journal of Dairy Science*: 279 (abstract).
- Nephew KP, Cardenas H, McClure KE, Ott TL, Bazer FW and Pope WF, 1994. Effects 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: 453-458.
- Peters AR, 1996. Embryo mortality in the cow. *Animal Breeding* 64: 587-598.
- Redden RR, Herron B. J, Martinez CH and Ross TT, 2006. Effects of hCG and progesterone Administered to Ewes Post Breeding on Serum Concentrations of progesterone and Estradiol. *Proceeding of 2006 Western Section American Society of Animal Sciences* 57: 32-35.
- Ryan DP, Snijders S, Condon T, Grealy M, Sreenan J and O'farrell KJ, 1994, Endocrine and ovarian responses and pregnancy rates in dairy cows following the administration of a gonadotrophin releasing hormone analog at the time of artificial insemination or at mid-cycle post insemination. *Animal Reproduction Science* 34: 179-191.
- Santos J E, Thatcher WW, Pool L and Overton MW, 2001. Effect of human chorionic gonadotropin on luteal function and reproductive performance of high-producing lactating Holstein dairy cows. *Journal of Animal Science* 79: 2881-2894.
- Seguin BE, Oxender WD and Britt JH, 1977. Effect of human chorionic gonadotropin and gonadotropin-releasing hormone on corpus luteum function and estrous cycle duration in dairy heifers. *American Journal of Veterinary Research* 38:1153-1156.
- Sheldon M and Dobson H, 1993. Effects of gonadotrophin releasing hormone administered 11 days after insemination on the pregnancy rates of cattle to the first and later services. *Veterinary Record* 133: 160-163.

- Sirjani MA, Shahir MH, Kohram H and Zare-shahne A, 2011. Effect of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) treatment on multiple birth in Afshari ewes. *African journal of Biotechnology* 10: 12358-12362.
- Spencer TE, Burghardt RC, Johnson GA and Bazer FW, 2004a. Conceptus signals for establishment and maintenance of pregnancy. *Animal Reproduction Science* 82: 537-550.
- Spencer TE, Johnson GA, Bazer FW and Burghardt RC, 2004b. Implantation mechanisms: insights from the sheep. *Journal of Reproduction and Fertility* 128: 657-668.
- Thatcher WW, Meyer MD and Danet-Desnoyers G, 1995. Maternal recognition of pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility Suppl.* 49: 15-28.
- Thatcher WW, Moreira F, Santos JEP, Mattos RC, Lopes FL, Pancarci SM and Risco CA, 2001. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology* 55: 75-89.
- Thatcher WW, Staples CR, Danet-Desnoyers G, Oldick B and Schmitt EP, 1994. Embryo health and mortality in sheep and cattle. *Journal of Animal Science* 72: 16-30.
- Wilmot I, Sales DI and Ashworth CJ, 1986. Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *Journal of Reproduction and Fertility* 76: 851-864.
- Yildiz H, Kaygusuzoolu E, Kaya M and Cenesiz M, 2009. Effect of administration of GnRH on 12 day Post-mating on serum progesterone, luteinizing hormone levels, duration of cycle and pregnancy rate in cows. *Pakistan Veterinary Journal* 29: 110-114.

The effect of post-mating hCG administration on maternal P₄ concentration and reproductive performance of Afshari × Booroola merino crossbred ewes

B Rostami^{1*}, R Hajizadeh² and MH Shahir³

Received: July 12, 2015

Accepted: August 14, 2016

¹Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

²Graduate MSc Student, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

³Associate Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

* Corresponding author: Email: brostami@znu.ac.ir

Introduction: Embryonic death occurs during early stages of pregnancy in mammalian species and is one of the most common causes of economic loss in the sheep industry. Almost 40% of sheep embryos fail to survive during the first month of pregnancy and 70–80% of this total loss occurs between days 8 and 16 after conception (Michels et al. 1998). Insufficient luteal function and low concentration of maternal progesterone is one of the major reasons of this mortality. Progesterone (P₄) has a critical role in production of different endometrial secretions that are essential for embryonic growth and plays a major role in establishment and maintenance of pregnancy (Spencer et al. 2004a). Suboptimal P₄ concentration after breeding, leads to a small and underdeveloped embryo not capable of producing sufficient amounts of interferon-tau (IFN- τ) on the days of maternal recognition of pregnancy (MRP) (Spencer et al. 2004b). In sheep, insufficient luteal function and consequently low concentration of maternal P₄ is one of the main causes of embryonic mortality (Michels et al. 1998). hCG has been used in order to increase P₄ production and to enhance reproductive performance. In the ewe, a single injection of hCG on Day 11.5 after breeding stimulated uterine secretions and increased IFN- τ (MRP protein) concentrations and conceptus growth (Nephew et al. 1994) and, when given on Day 12, improved reproductive efficiency (Khan et al. 2007). Contradictorily, hCG treatment on Day 12 after mating did not improve the reproductive efficiency in ewe lambs (Khan et al. 2009). One of the breeding programs which has been extensively supported by the government is the marker-assisted introgression of Fec B gene from Booroola Merino (originated in Australia and New Zealand) to Afshari (originated in Iran) sheep. This study is designed to evaluate the effects of such hormonal treatments on reproductive efficiency of these cross-continental crossbred ewes. Therefore, the purpose of this study was to investigate the effect of hCG given on day 11 after breeding on the conception rate, litter size, and P₄ concentration in highly prolific Iranian crossbred (Afshari × Booroola Merino) ewes. In addition, the effects of these treatments on birth weight and survivability of offspring were also studied. This study was conducted to investigate the efficiency of hCG administration after breeding to increase the maternal progesterone (P₄) concentrations and also to study the role of such hormonal treatment to enhance fertility in ewes.

Material and methods: The experiment was conducted during the breeding season (September 2014–April 2015) at the experimental herd of the University of Zanjan (latitude: 48° 31' 21" N; longitude: 36° 40' 13" E; altitude: 1663 m), Iran. Twenty-four cyclic and healthy Afshari × Booroola Merino crossbred ewes of 2.5 years old, weighing 69.9 ± 1.1 kg, were used in the experiment. They were fed Lucerne hay supplemented with grain pellets (CNCPS 2003) and given water ad libitum. After oestrus synchronization, the ewes were mated with fertile rams and were assigned to two groups. Ewes in hCG group (n=12) received an i.m. injection of 400 IU hCG on day 11 post-mating

(day of oestrus = day 0) and ewes in the control group (n=12) did not receive any treatment. Blood samples were collected from all animals on days 7, 12, 17 and 22 post-mating.

Results and discussion: Plasma P₄ concentrations were higher at days 12 and 17 post-mating in hCG treated ewes than that in control ewes ($P < 0.05$). The ewes in hCG group produced more quadruplets ($P < 0.05$) and triplets and consequently they had a larger litter size. The lamb mortality rate by weaning in hCG group (3.6 %) was less than that in control (11.8%; $P < 0.05$), groups. Results from the present study indicated that hCG administration increased maternal P₄ concentration, particularly during day 12 after breeding, which coincides with the critical time of maternal recognition of pregnancy (day 12 to 13; Spencer et al. 2004b) in sheep. Gonadotropins like hCG have been previously used in several experiments to improve the reproductive efficiency of ewes (Khan et al. 2003; Cam and Kuran 2004; Lankford et al. 2010). hCG is a luteogenic/luteotrophic hormone and has a luteinizing hormone (LH) activity which binds to the LH receptors on corpus luteum cells and has a longer half-life than LH in mammals and it may be useful for increasing P₄ production, and elevates maternal P₄ in sheep (Farin et al. 1988). This, in turn, prevents luteolysis and maintains viable the developing embryo. Considering the fact that day 12 is a critical time to MRP, and to prevent luteolysis, we selected the day 11 post-mating as an optimum time to administration of hCG. The timing of such hormonal treatments might be important

Conclusion: In conclusion, the results of present study demonstrated the efficiency of hCG administration after breeding to increase the maternal P₄ concentrations and also revealed the possible beneficial effect of such hormonal treatments as a management tool that may enhance fertility by improving luteal function in ewes.

Keywords: Reproductive performance, Ewe, Post mating, hCG