

## اثر تزریق GnRH ، hCG و AD3E بر بازده تولیدمثل، متابولیت‌ها و پروژسترون خون گاوهای شیری پرتولید در فصل تابستان

مژگان شارخیان رضایی<sup>۱</sup>، احمد ریاسی<sup>۲\*</sup>، سعید انصاری مهباری<sup>۳</sup>، محمد خوروش<sup>۴</sup> و سیمین خورسندی<sup>۱</sup>

تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۲

<sup>۱</sup> به‌ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشجوی دکتری علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

<sup>۳</sup> استادیار گروه علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

\*مسئول مکاتبه: Email: ariasi@cc.iut.ac.ir

### چکیده

زمینه مطالعاتی: تزریق برخی هورمون‌ها و مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است بازده تولیدمثل گاوهای شیری را در فصل تابستان بهبود بخشد. هدف: این مطالعه به منظور بررسی استراتژی‌های بهبود باروری گاوهای شیری پس از تلقیح مصنوعی در فصل تابستان با استفاده از ترکیبات هورمونی و آنتی‌اکسیدانی انجام شد. روش کار: از ۱۰۰ راس گاو شیری چند شکم زایش و آماده برای اولین نوبت تلقیح در چهار گروه آزمایشی ۱- شاهد (بدون تزریق هورمون و ویتامین)، ۲- تزریق AD<sub>3</sub>E همزمان با تلقیح مصنوعی (AD<sub>3</sub>E)، ۳- تزریق GnRH همزمان با تلقیح مصنوعی و hCG و ۴- تزریق AD<sub>3</sub>E و GnRH همزمان با تلقیح مصنوعی (GnRH+hCG)، ۱۱ روز پس از تلقیح مصنوعی (GnRH+hCG) استفاده شد. ویتامین AD<sub>3</sub>E به میزان ۲۵ میلی لیتر (هر میلی لیتر حاوی ۵۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۱۰۰۰۰ واحد ویتامین D<sub>3</sub> و ۲۰ میلی گرم ویتامین E)، GnRH به میزان ۵ میلی لیتر (معادل ۲۵ میکروگرم آلارین استات) و hCG به میزان ۱۵۰۰ واحد تزریق شد. خونگیری از گاوها در روزهای ۱۱، ۱۵ و ۱۹ پس از تلقیح انجام شد. نتایج: داده‌های این آزمایش نشان داد که گاوهای دریافت کننده ویتامین AD<sub>3</sub>E روزهای باز بیشتر و به تعداد تلقیح بیشتری به ازای آبستنی نیاز داشتند ( $P < 0/05$ ). نرخ آبستنی تجمعی تنها در سرویس دوم و به فاصله ۱۲۰ روز پس از زایمان به طور معنی داری ( $P < 0/05$ ) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و گاوهای دریافت کننده AD<sub>3</sub>E نسبت به دیگر گروه‌ها شرایط نامناسب تری داشتند. غلظت پروژسترون سرم گاوهای آبستن در روز ۱۹ پس از تلقیح به طور معنی داری ( $P < 0/05$ ) در گروه دریافت کننده GnRH+hCG بیشتر از دیگر گروه‌های آزمایشی بود. تزریق GnRH+hCG موجب کاهش غلظت کلسترول و VLDL ( $P < 0/05$ ) شد، اما در این گاوها غلظت گلوکز، پروتئین کل و آلبومین سرم خون بطور معنی داری ( $P < 0/05$ ) بیشتر از گروه AD<sub>3</sub>E بود. نتیجه‌گیری نهایی: تزریق AD<sub>3</sub>E به گاوهای پرتولید آماده تلقیح در فصل تابستان اثر منفی بر بازده تولیدمثل آنها داشت. تزریق هورمون‌های GnRH و hCG هرچند فراسنجه‌های تولید مثل را چندان تحت تاثیر قرار نداد، اما تاثیر مثبتی بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی خون داشت.

واژگان کلیدی: AD<sub>3</sub>E ، hCG ، GnRH ، بازده تولیدمثل ، پروژسترون ، گاو شیری

## مقدمه

حیوانات خونگرم در دمای خنثی محیطی بهترین عملکرد تولید و تولید مثل را دارند و هر تغییری در شرایط محیط از جمله تنش گرمایی فصل تابستان تهدیدی برای تعادل متابولیکی آنها محسوب می‌شود (هانسن ۲۰۰۷؛ بیلبی و همکاران ۲۰۰۸). برای بررسی اثر تنش گرمایی فصل تابستان از شاخص دما - رطوبت<sup>۱</sup> (THI) استفاده می‌شود و بخوبی مشخص شده است که THI بیشتر از ۷۲، گاوهای شیری را در شرایط تنش گرمایی قرار می‌دهد (مادر و همکاران ۲۰۰۲). براساس آمار هواشناسی، دمای هوا در مناطق مرکزی ایران در فصل تابستان به بیشتر از ۴۰ درجه سانتی‌گراد می‌رسد و به همین دلیل احتمال افزایش THI به بیشتر از ۷۲ نیز وجود دارد.

مطالعه انجام شده توسط دشتی (۱۳۹۲) نشان داد که بازده تولید مثل گاوهای شیری پرتولید بطور معنی-داری تحت تاثیر فصل سال قرار گرفت، بطوریکه در فصل تابستان روزهای باز و دفعات تلقیح بازای آبستنی افزایش یافت. همچنین غلظت پروژسترون خون در روزهای مختلف پس از تلقیح مصنوعی در تابستان کمتر از زمستان بود. نتایج یک تحقیق در آمریکا نشان داد که در ایالت جورجیا نرخ آبستنی گاوهای شیری بدلیل تنش گرمایی تابستان افت شدیدی داشت و این شرایط تا فصل پاییز نیز ادامه پیدا کرد (هانگ و همکاران ۲۰۰۸). کاهش نرخ باروری گاوهای پرتولید در فصل تابستان به دلایل مختلف از جمله عوامل قبل از تخمک‌ریزی و شرایط فیزیولوژیک حیوان در مراحل ابتدایی پس از تلقیح مصنوعی اتفاق می‌افتد (ولفن سون و همکاران ۲۰۰۰؛ روت و همکاران ۲۰۰۱ و لویز و همکاران ۲۰۰۷). از سوی دیگر در شرایط تنش گرمایی، تولید بیش از حد متابولیت‌های فعال اکسیژن عاملی برای آسیب رسیدن به اووسیت‌ها، رویان و بخش‌های

مهم دستگاه تولید مثل حیوان است (آل-گوبوری و همکاران ۲۰۱۰).

برای مقابله با اثر منفی تنش گرمایی فصل تابستان بر بازده تولید مثل گاوهای شیری استراتژی‌های مختلفی بکار گرفته شده است. اما، به دست آمدن نتایج متنوع، نشان دهنده دخالت عوامل متعدد از جمله مدت و شدت تنش، پتانسیل ژنتیکی دام برای تولید شیر و شرایط مدیریت گله است (اشمیت و همکاران ۱۹۹۶ و ولفن سون و همکاران ۲۰۰۰). یکی از مهمترین راهکارها برای کاهش اثر تنش گرمایی بر تولید مثل گاوهای شیری استفاده از پروتکل‌های هورمونی موثر بر حفظ و ماندگاری اووسیت تازه لقاح یافته است (خان و همکاران ۲۰۰۳). گزارش شده است که تزریق hCG می‌تواند سبب افزایش سطح و حجم جسم زرد شده و ممکن است قطر جسم زرد را نیز افزایش دهد (ماهندارن و سیانان گاما ۱۹۹۲؛ سانتوس و همکاران ۲۰۰۰). ویلارد و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که نرخ آبستنی گاوهای تحت تنش گرمایی ملایم در تابستان با مصرف GnRH در مرحله پس از تلقیح، تا حدود ۱۶ درصد افزایش یافت. در برخی مطالعات نیز از مواد افزودنی خوراکی شامل آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و سنتتیک برای مقابله با اثر تنش گرمایی و بهبود بازده تولید مثل گاوهای شیری استفاده شده است (اشمیت و آکین بامیجو ۲۰۰۰؛ سیلز و همکاران ۲۰۰۸ و کارکودی و همکاران ۲۰۱۱).

تاکنون در منابع معتبر علمی گزارشی مبنی بر اثر مصرف همزمان هورمون‌ها و ویتامین‌های دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بر بازده تولید مثل گاوهای شیری ارائه نشده است. بنابراین هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی اثر تزریق هورمون‌های GnRH و hCG و ویتامین AD3E بر عملکرد تولیدمثلی گاوهای شیری پرتولید و تغییرات غلظت پروژسترون و متابولیت‌های خون آنها در فصل تابستان بود.

<sup>1</sup>. Temperature - humidity index

## مواد و روشها

این آزمایش در تابستان سال ۱۳۹۱ در یکی از گاوداری‌های بزرگ صنعتی استان اصفهان انجام شد. براساس اطلاعات دما و رطوبت نسبی ثبت شده، بیشینه شاخص دما-رطوبت در محل اجرای آزمایش ۷۷/۳۵ تعیین شد. برای انجام آزمایش از ۱۰۰ راس گاو هلشتاین چند شکم زایش (۲، ۳، ۴، ۵) و آماده برای اولین نوبت تلقیح پس از زایش استفاده شد. گاوها در دوره شیردهی ۳۰۵ روزه قبلی بیشتر از ۱۱۰۰۰ کیلو شیر تولید نموده و سابقه سخت زایی، جفت ماندگی، بیماری های متابولیک پس از زایش نداشتند. همچنین تمام گاوها وارد شده به طرح تا هفته پنجم شیردهی تایید پاک شدن رحم<sup>۲</sup> را گرفتند. فعل یابی گاوها بصورت چشمی و توسط ۳ نفر فعل یاب صورت می گرفت و قبل از تلقیح نیز آمادگی حیوان برای تلقیح توسط دامپزشک گله با روش توش رکتال تایید می شد. اولین تست آبستنی گله بفاصله ۴۲ روز پس از تلقیح مصنوعی در گاوهایی که علایم برگشت به فعلی نداشتند، انجام شد.

گاوها بطور تصادفی به چهار گروه ۲۵ راسی تقسیم شدند بطوریکه میانگین شکم زایش و میانگین تولید شیر هر گروه مساوی باشد. تیمارهای آزمایشی عبارت بودند از: ۱- شاهد (بدون تزریق هورمون یا ویتامین) ۲- تزریق AD<sub>3</sub>E همزمان با تلقیح مصنوعی (AD<sub>3</sub>E)، ۳- تزریق GnRH همزمان با تلقیح مصنوعی و تزریق hCG بفاصله ۱۱ روز پس از تلقیح مصنوعی (GnRH+hCG)، ۴- تزریق GnRH و AD<sub>3</sub>E همزمان با تلقیح مصنوعی و تزریق hCG بفاصله ۱۱ روز پس از تلقیح مصنوعی (GnRH+AD<sub>3</sub>E+hCG). به منظور یکسان شدن شرایط آزمایش به گاوهای گروه شاهد آب مقطر تزریق شد. ویتامین AD<sub>3</sub>E<sup>۳</sup> به میزان ۲۵

میلی لیتر (هر میلی لیتر حاوی ۵۰۰۰۰ واحد ویتامین A، ۱۰۰۰۰ واحد ویتامین D<sub>3</sub> و ۲۰ میلی گرم ویتامین E)، هورمون GnRH<sup>۴</sup> به میزان ۵ میلی لیتر (معادل ۲۵ میکروگرم آلازین استات) و هورمون hCG<sup>۵</sup> به میزان ۱۵۰۰ واحد بصورت عضلانی تزریق شد. برای تغذیه‌ی گاوها از جیره پایه تنظیم شده بر مبنای توصیه‌های NRC (۲۰۰۱) استفاده شد. در روزهای ۱۱، ۱۵ و ۱۹ پس از تلقیح و قبل از توزیع وعده غذایی صبح با کمک ونوجکت از سیاهرگ دم گاوها خون گیری شد. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه گاوداری منتقل شده و سرم تهیه شده با کمک سمپلر داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری ریخته شدند. با استفاده از کیت های آزمایشگاهی و دستگاه اتوآنالایزر<sup>۶</sup> غلظت متابولیت های خون شامل تری‌گلیسرید، کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی بسیار کم (VLDL)، پروتئین کل، آلبومین و گلوکز اندازه گیری شد. غلظت پروژسترون با استفاده از کیت و روش الیزا و غلظت مالون دآلدهید (MDA) با استفاده از روش تغییر یافته اسمیت که توسط سانتوس و همکاران (۱۹۸۰) شرح داده شده است اندازه‌گیری شد. مراحل اندازه‌گیری غلظت MDA شامل اضافه کردن ۳/۷۵ سی سی محلول اسید فسفریک و ۱/۲۵ سی سی محلول TBA به ۵۰۰ میکرولیتر سرم، قراردادن نمونه در بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه، خنک کردن به مدت ۱۰ دقیقه، سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه و قرائت توسط دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ۵۳۲ نانومتر بود.

داده‌های حاصل از این آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با نرم افزار تحلیل‌گر آماری SAS و با رویه GLM تجزیه شدند. داده های مربوط به روزهای باز،

<sup>۴</sup> با نام تجاری و تارولین ساخت شرکت داروسازی ابوریحان،

ایران

<sup>۵</sup> Chorulon, Intervet, Millsboro, DE.

<sup>۶</sup> Technicon RH1000, Auto Analyzer. Biosystem Kit

<sup>۲</sup> Clean test

<sup>۳</sup> با نام تجاری آدویت ساخت شرکت دارو سازی رازک، ایران

لانه گزینی رویان و ماندگاری آن را تحت تاثیر قرار می‌دهند ارتباط داشته باشد.

نرخ گیرایی بازای اولین تلقیح و درصد آبستنی جمعی گاوها (جدول ۲) نشان داد که تیمارهای آزمایشی تنها در دومین تلقیح بر درصد آبستنی گاوها تاثیر داشت. بطوریکه بالاترین درصد آبستنی (۷۶/۱۹٪) در گاوهای دریافت کننده GnRH+hCG اتفاق افتاد و اختلاف آن با گاوهای دریافت کننده ویتامین AD3E معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) شد. گرچه درصد آبستنی در دومین تلقیح برای گروه شاهد کمتر از گروه دریافت کننده GnRH+hCG بود، اما تفاوت مشاهده شده از نظر آماری معنی دار نشد ( $P > 0/05$ ). پایین بودن نرخ آبستنی در گروه های دریافت کننده مکمل AD3E می‌تواند به غلظت کمتر برخی متابولیت های خون از جمله گلوکز، آلبومین و پروتئین سرم خون (جدول ۵) در ارتباط باشد.

نرخ آبستنی گاوها بفواصل ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ روز پس از زایش در جدول ۳ نشان داده شده است. براساس این نتایج تنها بفاصله ۱۲۰ روز پس از زایش نرخ آبستنی تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. این موضوع می‌تواند به میانگین روزهای باز گاوهای مورد مطالعه در این آزمایش (جدول ۲) ارتباط داشته باشد. بیشترین درصد آبستنی بفاصله ۱۲۰ روز پس از زایش مربوط به گاوهای گروه شاهد بود و البته اختلاف آن با گاوهای دریافت کننده GnRH+hCG معنی دار نشد، اما با دو گروه دیگر اختلاف معنی داری ( $P < 0/05$ ) داشت. در یک مطالعه مشخص شد که استفاده از مکمل بتاکاروتن به مدت ۹۰ روز در شرایط تنش حرارتی بر نرخ آبستنی گاوهای شیری در اولین تلقیح تاثیری نداشت، اما سبب افزایش نرخ آبستنی در گاوهایی شد که ۱۲۰ روز از زایمان آنها گذشته بود (آرچیگا و همکاران ۱۹۹۸). تفاوت در نتایج می‌تواند به دلیل نوع و مدت مصرف مکمل باشد. از سوی دیگر نتایج فراسنجه‌های خون‌شناسی در آزمایش حاضر با نتایج

دفعات تلقیح بازای آبستنی، نرخ آبستنی جمعی و نرخ آبستنی تا ۱۵۰ روز پس از زایش با روش Chi-Square مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. برای تعیین سطح معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها از آزمون LSD استفاده شد و سطح معنی‌داری ۵٪ در نظر گرفته شد.

## نتایج و بحث

### فراسنجه‌های بازده تولید مثل

فراسنجه‌های مرتبط با بازده تولید مثل شامل روزهای باز، دفعات تلقیح بازای آبستنی و نرخ آبستنی گاوها در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

روزهای باز و تعداد تلقیح بازای آبستنی به طور معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. بیشترین روزهای باز و تعداد تلقیح مربوط به گروه دریافت‌کننده مکمل AD3E بود که با نتایج گزارش شده توسط محققان قبلی (افشین و سعید ۲۰۱۱) مطابقت داشت. آنها نیز با بررسی تاثیر مصرف مکمل ویتامین A و بتاکاروتن بر عملکرد تولیدمثلی گاوهای شیری که تحت تنش حرارتی قرار داشتند، گزارش کردند که تعداد روزهای باز در گروه دریافت کننده ویتامین A و بتاکاروتن نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری بالاتر بود و بهبود در عملکرد تولیدمثلی گاوهای شیری در شرایط تنش حرارتی با استفاده از مکمل‌های ویتامینی مشاهده نشد. بالاتر بودن دفعات تلقیح و در نتیجه روزهای باز بیشتر در گروه دریافت کننده ویتامین AD3E می‌تواند به پایین بودن غلظت گلوکز خون این گروه از گاوها نیز ارتباط داشته باشد. از سوی دیگر روزهای باز و دفعات تلقیح بازای آبستنی گروه های دریافت کننده هورمون GnRH+hCG با گروه شاهد تفاوت معنی داری نداشت. با توجه به بالاتر بودن غلظت هورمون پروژسترون در این گروه انتظار کاهش روزهای باز یا دفعات تلقیح بازای آبستنی وجود داشت. این موضوع می‌تواند به عوامل متعدد دیگری که

مربوط به نرخ آبستنی همخوانی دارد و استفاده از برانگیز می کند که نیاز به مطالعات بعدی دارد. مکمل تزریقی AD3E در هنگام تلقیح مصنوعی را بحث

جدول ۱- تاثیر مصرف مکمل ویتامینی (AD3E)، و یا هورمون های GnRH و hCG بر روزهای باز و تعداد تلقیح بازای آبستنی (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) گاوهای شیری پرتولید در فصل تابستان

گروه های آزمایشی <sup>۱</sup>	روزهای باز	تعداد تلقیح به ازای آبستنی
شاهد	۹۵/۷۵ <sup>b</sup> $\pm$ ۹/۳۷	۲/۱۱ <sup>b</sup> $\pm$ ۰/۳۱
AD <sub>3</sub> E	۱۳۴/۹۴ <sup>a</sup> $\pm$ ۱۰/۵۲	۳/۲۹ <sup>a</sup> $\pm$ ۰/۳۵
GnRH+hCG	۱۱۱/۰۰ <sup>ab</sup> $\pm$ ۱۰/۶۱	۲/۵۰ <sup>ab</sup> $\pm$ ۰/۳۵
GnRH+AD3E+hCG	۱۱۱/۳۳ <sup>ab</sup> $\pm$ ۱۰/۷۹	۲/۷۳ <sup>ab</sup> $\pm$ ۰/۳۵

<sup>a-b</sup>: حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار ( $P < 0.05$ ) بین میانگین ها است.

جدول ۲- تاثیر مصرف مکمل آنتی اکسیدانی (AD3E)، و یا هورمون های GnRH و hCG بر نرخ آبستنی تجمعی (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) گاوهای شیری پرتولید در فصل تابستان

گروه های آزمایشی	نرخ آبستنی تجمعی (%)			
	تلقیح اول	تلقیح دوم	تلقیح سوم	تلقیح پنجم
شاهد	۳۶/۳۶	۵۹/۰۹ <sup>ab</sup>	۸۱/۸۲	۱۰۰/۰۰
AD <sub>3</sub> E	۲۳/۸۱	۴۲/۸۶ <sup>b</sup>	۶۶/۶۷	۹۵/۲۴
GnRH+hCG	۱۹/۰۵	۷۶/۱۹ <sup>a</sup>	۸۵/۷۱	۹۵/۲۴
GnRH+AD3E+hCG	۱۴/۲۹	۳۸/۱۰ <sup>b</sup>	۸۰/۹۵	۹۵/۲۴

<sup>a-b</sup>: حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار ( $P < 0.05$ ) بین میانگین ها است.

جدول ۳- تاثیر مصرف مکمل ویتامینی (AD3E)، و یا هورمون های GnRH و hCG بر نرخ آبستنی (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) گاوهای شیری پرتولید در فصل تابستان در فواصل مختلف پس از زایش

گروه های آزمایشی <sup>۱</sup>	نرخ آبستنی (%)		
	بفاصله ۹۰ روز پس از زایش	بفاصله ۱۲۰ روز پس از زایش	بفاصله ۱۵۰ روز پس از زایش
شاهد	۵۰/۰۰	۷۲/۷۳ <sup>a</sup>	۸۶/۳۶
AD <sub>3</sub> E	۲۸/۵۷	۳۸/۱۰ <sup>b</sup>	۶۱/۹۰
GnRH+hCG	۵۲/۳۸	۶۱/۹۰ <sup>ab</sup>	۸۰/۹۵
GnRH+AD3E+hCG	۲۸/۵۷	۳۸/۱۰ <sup>b</sup>	۷۱/۴۳

<sup>a-b</sup>: حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار ( $P < 0.05$ ) بین میانگین ها است.

### تغییرات غلظت پروژسترون خون

در جدول ۴ نشان داده شده است. غلظت پروژسترون سرم خون گاوهای آبستن تنها در روز ۱۹ پس از تلقیح بطور معنی داری ( $P < 0.05$ ) تحت تاثیر تیمارهای

نتایج مربوط به میانگین غلظت پروژسترون سرم خون گاوها در روزهای ۱۱، ۱۵ و ۱۹ پس از تلقیح مصنوعی

کند. یکی از راه‌های کاهش تلفات رویانی در مراحل ابتدایی آبستنی تزریق hCG و GnRH تعیین شده است (سرینا و همکاران ۱۹۹۶) و مطالعات نشان می‌دهد که hCG می‌تواند به میزان قابل توجهی اثرات منفی ناشی از استرس گرمایی بر باروری را خنثی کند (تفرا و همکاران ۲۰۰۱ و ادواردز و همکاران ۲۰۰۹). در گاوهای آبستن شده به دلیل تشکیل جسم زرد و فعالیت گیرنده-های LH، غلظت پروژسترون خون به تدریج افزایش می‌یابد و تا قبل از لانه‌گزینی (روزهای ۱۵ تا ۱۹) به پیک می‌رسد (راه و همکاران ۱۹۸۰).

آزمایشی قرار گرفت. بطوریکه غلظت پروژسترون خون گاوهای دریافت‌کننده هورمون GnRH + hCG بیشتر از دیگر گروه‌های آزمایشی بود. همانطور که در جدول ۵ نشان داده شده است همبستگی مثبت و معنی‌داری بین غلظت پروژسترون در روزهای ۱۱، ۱۵ و ۱۹ پس از تلقیح وجود داشت که با نتایج گزارش شده توسط محققان قبلی (ناکائو و همکاران ۱۹۸۳) مطابقت داشت. در گاوهای غیر آبستن غلظت پروژسترون تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار نگرفت. پروژسترون نقش حمایتی در حفظ رویان تازه تشکیل شده دارد و شرایط دستگاه تولید مثل را برای لانه‌گزینی رویان فراهم می‌کند.

جدول ۴ - تاثیر مصرف مکمل ویتامینی (AD3E)، و یا هورمون‌های GnRH و hCG بر تغییرات پروژسترون (نانو گرم در میلی لیتر) (میانگین ± خطای استاندارد) گاوهای شیری پرتولید در فصل تابستان

گروه‌های آزمایشی				
GnRH+AD3E+hCG	GnRH+hCG	AD3E	شاهد	روز
۲/۷۷±۰/۶۲	۴/۰۸±۰/۵۲	۴/۰۷±۰/۶۰	۲/۷۶±۰/۶۱	۱۱
۵/۶۶±۰/۸۶	۶/۳۵±۰/۷۲	۵/۰۶±۰/۸۴	۴/۶۴±۰/۸۴	۱۵
۸/۳۷ <sup>b</sup> ±۰/۶۱	۱۰/۳۴ <sup>a</sup> ±۰/۵۱	۷/۳۰ <sup>bc</sup> ±۰/۵۹	۶/۷۵ <sup>bc</sup> ±۰/۵۹	۱۹
۲/۵۱±۰/۴۷	۲/۲۴±۰/۳۸	۲/۰۶±۰/۳۷	۲/۸۲±۰/۵۲	۱۱
۳/۱۹±۰/۲۷	۳/۸۸±۰/۲۲	۳/۳۳±۰/۲۱	۳/۹۶±۰/۳۰	۱۵
۳/۱۷±۰/۳۰	۳/۹۲±۰/۲۴	۳/۴۵±۰/۲۳	۳/۵۲±۰/۳۳	۱۹

<sup>a-b</sup>: حروف غیر مشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار ( $P < 0.05$ ) بین میانگین‌ها می‌باشد.

وجود داشت که در توافق با نتایج برخی محققان است (هاوکینز و همکاران ۱۹۹۵ و آبنی و همکاران ۲۰۰۷). غلظت کلاسترول خون گاوها تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت و پایین‌ترین غلظت کلاسترول مربوط به گروه دریافت‌کننده GnRH+hCG بود که با دیگر گروه‌ها تفاوت معنی داری ( $P < 0.05$ ) داشت. در مطالعاتی که در گوسفند انجام شده است نیز نتایج مشابهی به دست آمد (پیکون و همکاران ۲۰۰۹ و آتونویک و همکاران ۲۰۱۱). کلاسترول به عنوان پیش ساز پروژسترون شناخته می‌شود و کاهش غلظت آن در گاوهای دریافت‌کننده GnRH+hCG می‌تواند به

#### متابولیت‌های خون

نتایج مربوط به متابولیت‌های خونی در جدول ۵ و همبستگی بین این متابولیت‌ها در جدول ۶ نشان داده شده است. بر اساس این نتایج تیمارهای آزمایشی تاثیری بر غلظت تری‌گلیسیرید خون گاوها نداشت، اما کلاسترول و VLDL بطور معنی داری ( $P < 0.05$ ) تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. این یافته در توافق با نتایج گزارش شده قبلی بود (گرالت و همکاران ۲۰۰۷ و آتونویک و همکاران ۲۰۱۱). همانطور که در جدول ۳ نشان داده شده است همبستگی منفی و معنی‌داری بین غلظت پروژسترون پلاسمایی و غلظت تری‌گلیسیرید

گلوکز خون شد. علت این موضوع به درستی مشخص نیست، اما برخی معتقدند که در شرایط تنش گرمایی احتمال تشکیل پراکسیدهای ویتامین E وجود دارد و مصرف این مکمل اثرات تنش را تشدید می کند (بوسترا و همکاران ۲۰۰۸). در تحقیق آمر و همکاران (۲۰۱۱) نیز که از مکمل های معدنی ویتامینی به همراه پروتکل های اوسینک<sup>۷</sup> استفاده شده بود، کاهش گلوکز خون اتفاق افتاد. از سوی دیگر گزارش شده است که مصرف مکمل معدنی- ویتامینی تأثیری بر غلظت گلوکز خون گاوهای بوفالوی مدیترانه ای نداشت (وردوریکو ۲۰۱۰).

مصرف مکمل GnRH+hCG، غلظت پروتئین کل و آلبومین سرم خون را به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) در مقایسه با گروه های دریافت کننده مکمل ویتامینی افزایش داد. کمترین غلظت آلبومین سرم خون در گروه دریافت کننده مکمل ویتامینی AD3E مشاهده شد و این موضوع می تواند نقش مخرب ویتامین E در شرایط تنش گرمایی را تقویت کند (بوسترا و همکاران ۲۰۰۸). همانطور که در جدول ۶ نشان داده شده است همبستگی مثبت و معنی داری بین غلظت پروتئین کل با آلبومین و با گلوکز مشاهده شد. آلبومین جزو پروتئین های است که توسط کبد سنتز می شود و احتمالاً مصرف مکمل AD3E اثر مخربی بر بافت کبد و ظرفیت تولید آلبومین داشته است. زیرا گزارش ها نشان می دهد که در شرایط تنش گرمایی ویتامین E می تواند اثر اکسید کنندگی بر برخی بافت های بدن داشته باشد (بوسترا و همکاران ۲۰۰۸).

مالون دآلدهید به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته می شود و شاخص مناسبی برای تعیین وضعیت تنش اکسیداتیو می باشد. تیمارهای آزمایشی تأثیر معنی داری بر غلظت مالون دآلدهید سرم خون گاوها نداشتند. شاید بتوان نتیجه گرفت که شرایط نگهداری گاوها و شاخص دما- رطوبت محیط

تولید بیشتر پروژسترون در این گروه (جدول ۱) ارتباط داشته باشد (هاوکینز و همکاران ۱۹۹۵). از سوی دیگر گزارش شده است که تزریق مکمل ویتامین E سبب افزایش غلظت ویتامین E و نرخ تبدیل ویتامین E به کلسترول و در نتیجه افزایش غلظت کلسترول خون و بافت کبدی می شود. در آزمایش حاضر نیز غلظت کلسترول از نظر عددی در گروه دریافت کننده AD3E بیشتر بود (بوسترا و همکاران ۲۰۰۸).

VLDL در گروه دریافت کننده مکمل هورمونی بطور معنی داری ( $P < 0.05$ ) کمتر از گروه دریافت کننده AD3E بود. گزارش شده است که از دلایل احتمالی افزایش غلظت سرمی کلسترول، تری گلیسیرید و لیوپروتئین ها افزایش سطوح اسیدهای چرب آزاد خون، آزاد شدن کورتیزول و یا حساسیت به هورمون اپی نفرین و موبیلیزاسیون بافت چربی پس از زایمان است (پیکون و همکاران ۲۰۰۹). همچنین همبستگی مثبت و معنی دار بین غلظت تری گلیسیرید و VLDL وجود داشت (جدول ۶) که در توافق با نتایج سوبیچ و همکاران (۲۰۰۸) است.

غلظت گلوکز خون گاوها در تیمارهای مختلف تحت تاثیر نوع مکمل تزریقی قرار گرفت و در گروه دریافت کننده GnRH+hCG نسبت به گروه های دریافت کننده AD3E به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر بود، اما تفاوت آن با گروه شاهد معنی دار نشد. کاهش غلظت گلوکز در گروه های دریافت کننده مکمل AD3E می تواند به تاثیر منفی آن بر سلامت کبد و قابلیت گلوکونئوز کبدی در نشخوارکنندگان ارتباط داشته باشد. بررسی ها نشان داده است که گلوکز و IGF-1 محرک رشد و لانه گزینی رویان هستند و در دسترس بودن آن به طور مستقیم در تنظیم ترشح LH نقش دارد (جوسان و هانسن ۲۰۰۷). بنابراین احتمالاً یکی از دلایل بالاتر بودن غلظت پروژسترون خون در گروه دریافت کننده GnRH+hCG دسترسی بیشتر به گلوکز در این گروه بود. مصرف AD3E موجب کاهش غلظت

<sup>7</sup>. Ovsynch

باندازه ای نبوده است که گاوها را تحت تنش اکسیداتیو قرار دهد و شرایط تنش گرمایی ملایم برای آنها وجود داشته است (مادر و همکاران ۲۰۰۲). آکتاس و همکاران (۲۰۱۱) اثر مکمل های سلنیوم - ویتامین E و AD3E را بر غلظت مالون دآلدئید گاوهای هلشتین تحت تنش اکسیداتیو و حمل و نقل طولانی را مثبت ارزیابی کردند.

جدول ۵- تاثیر مصرف مکمل ویتامینی (AD3E)، و یا هورمون‌های GnRH و hCG بر متابولیت های خون (میانگین ± خطای استاندارد) گاوهای شیری پرتولید در فصل تابستان

گروه های آزمایشی				
GnRH+hCG	GnRH+hCG	AD3E	شاهد	
۱۵/۷۴ ± ۱/۱۰	۱۳/۸۰ ± ۱/۰۶	۱۶/۶۰ ± ۱/۰۸	۱۵/۲۲ ± ۱/۱۶	تری گلیسرید (mg/dl)
۲۶۹/۹۰ <sup>a</sup> ± ۱۱/۱۱	۲۳۶/۹۲ <sup>b</sup> ± ۱۰/۷۰	۲۷۰/۵۵ <sup>a</sup> ± ۱۰/۹۱	۲۶۹/۷۱ <sup>a</sup> ± ۱۱/۷	کلسترول (mg/dl)
۳/۲۰ <sup>ab</sup> ± ۰/۲۲	۲/۷۰ <sup>bc</sup> ± ۰/۲۱	۳/۳۵ <sup>a</sup> ± ۰/۲۱	۳/۰۶ <sup>abc</sup> ± ۰/۲۳	VLDL (mg/dl)
۵۸/۳ <sup>bc</sup> ± ۲/۰۰	۶۵/۵ <sup>a</sup> ± ۱/۹۳	۵۹/۸ <sup>bc</sup> ± ۱/۹۷	۶۳/۷ <sup>ab</sup> ± ۲/۱۱	گلوکز (mg/dl)
۷/۱۱ <sup>b</sup> ± ۰/۱۷	۸/۷۱ <sup>a</sup> ± ۰/۱۶	۶/۸۹ <sup>b</sup> ± ۰/۱۷	۸/۴۹ <sup>a</sup> ± ۰/۱۸	پروتئین کل (g/dl)
۳/۴۴ <sup>b</sup> ± ۰/۰۸	۴/۰۳ <sup>a</sup> ± ۰/۰۸	۳/۰۹ <sup>c</sup> ± ۰/۰۸	۳/۹۰ <sup>a</sup> ± ۰/۰۹	آلبومین (g/dl)
۱۲/۶۳۳ ± ۰/۳۰	۱۳/۱۸ ± ۰/۲۹	۱۲/۸۲ ± ۰/۲۹	۱۳/۳۴ ± ۰/۳۱	مالون دآلدئید (mg/dl)

<sup>a-b</sup>: حروف غیر مشابه در هر vndt نشان دهنده وجود تفاوت معنی دار (P < ۰/۰۵) بین میانگین ها است.

جدول ۶- ضریب همبستگی بین غلظت پروژسترون و متابولیت های خون گاوهای شیری پرتولید در فصل تابستان

	پروژسترون روز ۱۱	پروژسترون روز ۱۵	پروژسترون روز ۱۹	کلسترول	گلوکز	تری گلیسرید	VLDL	آلبومین	پروتئین کل
پروژسترون روز ۱۵	۰/۷۰ <sup>**</sup>								
پروژسترون روز ۱۹	۰/۲۸	۰/۵۰ <sup>**</sup>							
گلوکز	-۰/۲۸	۰/۰۱	-۰/۳۱						
کلسترول	-۰/۲۱	-۰/۲۵	-۰/۲۵	-۰/۱۲					
تری گلیسرید	-۰/۱۶	-۰/۳۹ <sup>*</sup>	-۰/۱۸	-۰/۰۸	۰/۲				
VLDL	-۰/۱۰	-۰/۳۱	-۰/۱۸	-۰/۱۴	-۰/۲۲	-۰/۹۳ <sup>**</sup>			
آلبومین	-۰/۱۶	۰/۰۳	۰/۲۶	۰/۱۶	-۰/۰۹	۰/۰۴	۰/۰۵		
پروتئین کل	-۰/۳۰	-۰/۰۴	-۰/۰۹	۰/۴۶ <sup>**</sup>	-۰/۲	-۰/۰۹	-۰/۰۵	-۰/۴۹ <sup>**</sup>	

<sup>\*\*</sup>همبستگی معنی دار در سطح ۰/۰۱

<sup>\*</sup>همبستگی معنی دار در سطح ۰/۰۵



## منابع مورد استفاده

- دشتی ه. ۱۳۹۲. اثر فصل سال و شاخص دما - رطوبت (THI) بر بازده تولید مثل و تغییرات غلظت پروژسترون خون گاوهای شیری پرتولید. پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه علوم دامی دانشگاه صنعتی اصفهان.
- Abeni F, Calamari L, and Stifanini L, 2007. Metabolic condition of lactating Friesian cows during the hot season in the Po valley. 1. Blood indicators of heat stress. *J Biometeorol* 52: 87-96.
- Afshin DT, and Saeid S, 2011. Study on Blood Concentration of A, D Vitamins and  $\beta$ -carotene in Dairy Cows Affected Heat Stress and Effect on Calving to Conception Interval. *Adv Environ Biol* pp 1218-1220.
- Aktas MS, Ozkanlar S, Karakoc A, Akcay F, Ozkanlar Y, Elsevier LTD, and Oxford UK, 2011. Efficacy of vitamin E+selenium and vitamin A+E+D combination on oxidative stress induced by long term transportation in Holstein dairy cows. *Livestock Sci* 141: 76-79.
- Al-Gubory KH, Fowler PA, and Garrel C, 2010. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *J Biochemistry and Cell Biology* 42:1634-1650.
- Antunović Z, Novoselec J, šperanda M, Vegara M, Pavić V, Mioč B and Djidara M, 2011. Changes in biochemical and hematological parameters and metabolic hormones in Tsigai ewes blood in the first third of lactation. *Theriogenology* 5: 535-545.
- Arechiga C, Vazquez-Flores FS, Ortez O, Hernandez-Ceron J, Porras A, McDowell LR, and Hansen PJ, 1998. Effect of injection of  $\beta$ -carotene or vitamin E and on fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology* 50: 65-76.
- Bilby TR, Baumgard LH, Collier RJ, Zimbelman RB, and Rhoads ML, 2008. Heat stress effects on fertility: consequence and possible solution. *Proc Southwest Nutrition and Management Conference* 177-194.
- Bouwstra RJ, Nielen M, Newbold JR, Jansen EHJM, Jelinek HF, and Van Werven T, 2010. Vitamin E supplementation during the dry period in dairy cattle. II: Oxidative stress following vitamin E supplementation may increase clinical mastitis incidence postpartum. *J Dairy Sci* 93: 5696-5706.
- Bouwstra RJ, Goselink RMA, Dobbelaar P, Nielen M, Newbold JR, and Werven T, 2008. The relationship between oxidative damage and vitamin E concentration in blood, milk, and liver tissue from vitamin E supplemented and nonsupplemented periparturient heifers. *J Dairy Sci* 91: 977-987.
- Edwards JL, Bogart AN, Respoli LA, Saxton AM, and Scherick FN, 2009. Developmental competence of bovine embryos from heat stressed ova. *J Dairy Sci* 92: 563-570.
- Graulet B, Matte JJ, Desrochers A, Doepel L, Palin MF, and Girard CL, 2007. Effects of dietary supplements of folic acid and vitamin B<sub>12</sub> on metabolism of dairy cows in early lactation. *J Dairy Sci* 7: 3442-3455.
- Hansen PJ, 2007. To be or not to be-determination of embryonic survival following heat shock. *Theriogenology* 68S: S40-S48.
- Hawkins DE, Niswender KD, Oss GM, Moeller DCL, Odde KG, Sawyer HR, and Niswender GD, 1995. An increase in serum lipid increases luteal lipid content and alter the disappearance rate of progesterone in cow. *J Anim Sci* 73: 541-545.
- Huang C, Tsuruta S, Bertrand JK, Misztal I, Lawlor TJ, and Clay JS, 2008. Environmental effects on conception rates of Holsteins in New York and Georgia. *J Dairy Sci* 91:818-825.
- Jousan FD, and Hanson PJ, 2007. Insulin-like growth factor-1 promotes resistance of bovine preimplantation embryos to heat shock through actions independent of its anti-apoptotic actions requiring P13K signaling. *Mol Reprod Dev* 74:189-196.
- Karkoodi K, Chamani M, Beheshti M, Mirghaffari SS, and Azarfar A, 2011. Effect of organic Zinc, Manganese, Copper, and Selenium chelates on colostrum production and reproductive and lameness indices in adequately supplemented Holstein cows. *Bio Trace Elem Res* published online DOI 10.1007/s12011-011-9216-5.
- Khan TH, Hastie PM, Beck NFG, Khalid M, 2003. HCG treatment on day of mating improves embryo viability and fertility in ewe lambs. *Anim Reprod Sci* 76: 81-89.
- Lopes SA, Butler ST, Gilbert RO, and Butle WR, 2007. Relationship of pre-ovulatory follicle size, estradiol concentrations and season to pregnancy outcome in dairy cows. *Anim. Reprod Sci* 99: 34- 43.

- Mader TL, Holt SM, Halen GL, Davis MS, and Spiers DE, 2002. Feeding strategies for managing heat load in feedlot cattle. *J Anim Sci* 80: 2373-2382.
- Nakao T, Narita S, Tanaka T, Hara H, and Shirakawa J, 1983. Improvement of first-service pregnancy rate in cows with gonadotropin-releasing hormone analog. *Theriogenology* 20: 111-118.
- Omer U, Seckin O, Mehmet K, Yunusemre O, Momin GV, and Harun P, 2011. Ovsynch synchronisation programme combined with vitamins and minerals in underfed cows: biochemical, hormonal and reproductive traits. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 17: 963-970.
- Piccione G, Giovanni C, Claudia G, Fortunata G, Sebastiano CR, Alessandro Z, and Pietro P, 2009. Selected biochemical serum parameters in ewes during pregnancy, post-parturition, lactation and dry period. *Anim Sci Papers and Reports* 27 (4): 321-330.
- Rahe CH, Owens RE, Fleeger JL, Newton HJ, and Harms PG, 1980. Pattern of plasma luteinizing hormone in the cyclic cow: dependence upon the period of the cycle. *Endocrinology* 107:498-503.
- Roth Z, Arav A, Bor A, Zeron Y, Braw-Tal R, and Wolfenson D, 2001. Improvement of quality of oocytes collected in the autumn by enhanced removal of impaired follicles from previously heat-stressed cows. *Reproduction* 122:737-744.
- Sales JNS, Dias LMK, Viveiros ATM, Pereira MN, and Souza JC, 2008. Embryo production and quality of Holstein heifers and cows supplemented with beta-carotene and tocopherol. *J Anim Reprod Sci* 106: 77-89.
- Santos JEP, Thatcher WW, Pool L, Ovrton MW, and Retnolds JP, 2000. Human chorionic gonadotropin influences the number of corpora lutea, plasma progesterone and conception rates of dairy cows. *Theriogenology* 72: 10-21.
- Santos MT, Valles J, Aznar J, and Vilches J, 1980. Determination of plasma malondialdehyde-like materials and its clinical application in strike patients. *J Clin Pathol* 33: 973-976.
- Schmitt EJP, Diaz T, Drost M, and Thatcher WW, 1996. Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle in human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin releasing hormone. *J Anim Sci* 74: 1074-83.
- Smith OB, and Akinbamijo OO, 2000. Micronutrients and reproduction in farm animals. *Anim Rep Sci* 60-61:549-560.
- Sobiech P, Milewski S, and Zduńczyk S, 2008. Yield and composition of milk and blood biochemical components of ewes nursing a single lamb or twins. *Department of Clinical Sci* 52: 591-596.
- Sreenan JM, Diskin MG, 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*. Lillhammer, August 1996.
- Tefera M, Chaffaux S, Thibier M, and Humblot P, 2001. A short note: lack of effect of post-AI, hCG or GnRH treatment on embryonic mortality in dairy cattle. *Livest Prod Sci* 71: 277-281.
- Verdurico LC, 2010. Evaluation of mediterranean buffalo cows during the transition period and early lactation and young calves until weaning. *Theriogenology* 72: 103-107.
- Willard SS, Gandy M, Bowers S, Graves K, Elias A, and Whisnant C, 2003. The effect of GnRH administration post insemination on serum concentration of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. *Theriogenology* 59: 1799-1810.
- Wolfenson D, Roth Z, and Meidan R, 2000. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. *Anim Reprod Sci* 60-61: 535-547.

## Effect GnRH, hCG and AD3E injection on reproductive performance and blood metabolites and progesterone of high producing dairy cows in summer season

M Sharokhian Rezaee<sup>1</sup>, A Riasi<sup>2\*</sup>, S Ansari Mahyari<sup>3</sup>, M Khorvash<sup>2</sup> and S Khorsandi<sup>4</sup>

Received: October 06, 2013

Accepted: April 22, 2015

<sup>1</sup>MSc Graduated Student and PhD Student, respectively, Department of Animal Science, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

<sup>2</sup>Associated Professor, Departments of Animal Science, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

<sup>3</sup>Assistant professor, Departments of Animal Science, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

\*Corresponding author: ariasi@cc.iut.ac.ir

### Abstract

**BACKGROUND:** Injection of some hormones and antioxidant supplements may improve the reproductive performance of dairy cows during summer season. **OBJECTIVE:** This study was conducted to evaluate strategies for improving dairy cows' fertility following artificial insemination in summer season using hormonal and antioxidant compounds. **METHODS:** One hundred high producing, multiparous dairy cows were randomly assigned to four groups: 1- Control (without injection of hormone and vitamin), 2- AD3E injection at the time of AI (AD3E), 3- GnRH injection at the time of AI and hCG injection 11 days after AI (GnRH+hCG), and 4- AD3E and GnRH injections at the time of AI and hCG injection 11 days after AI (AD3E+GnRH+hCG). AD3E (25 ml, each ml contain 50000 IU A, 10000 IU D3 and 20 mg E), GnRH (5 ml, each ml contain 5 µg alarin acetate) and hCG (1500 IU) were injected intramuscular. The blood sampling was on days 11, 15 and 19 after AI. **RESULTS:** The data showed that cows which received vitamin AD3E had more open days and need more insemination services for pregnancy ( $P<0.05$ ). Cumulative pregnancy rates in the second service and pregnancy rate in day 120 postpartum was affected by the treatments and cows received AD3E had no good condition. Pregnant cows which received GnRH+hCG, had higher ( $P<0.05$ ) serum progesterone concentration than the other groups on day 19 after AI. The injection of GnRH+hCG reduced ( $P<0.05$ ) concentration of serum cholesterol and VLDL. However, these cow had higher ( $P<0.05$ ) glucose, total protein and albumin than that the AD3E group. **CONCLUSIONS:** AD3E injection had adverse effect on reproductive performance of high producing dairy cows in summer season. Although, the injection of GnRH+hCG had no beneficial effect on reproductive performance, but it had some positive effects on blood biochemical parameters.

**Key words:** GnRH, hCG, AD3E, Reproductive performance, Progesterone, Dairy cow