

تأثیر تجویز استروئیدها و GnRH در روز فحلی بر روی شاخصهای رشد فولیکولهای

تخمدانی در تلیسه‌های هلشتاین

دکتر علی اصغر مقدم^۱ دکتر امیر نیاسری نسلجی^۲ دکتر محمود بلورچی^۲

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۴، ۵۲-۴۵، (۱۳۸۰)

در گاو بشمار می‌رود (۳۶۴). متأسفانه پراکندگی وقوع فحلی متعاقب برنامه‌های همزمانی فحلی موجب محدودیت در استفاده از این تکنیکها در نوع گاو شده است (۳۸). اصول کلی برنامه‌های همزمانی فحلی بر کنترل جسم زرد استوار بوده است (۱۶). بر این اساس دو روش عمده کوتاه کردن طول مرحله لوتئال به کمک عوامل تحلیل برنده جسم زرد مثل پروستاگلاندین و یا طولانی کردن مرحله مذکور توسط پروژستازنها توصیه شده است (۱۶). ولی جهت همزمانی فحلی و تخمگذاری کنترل طول عمر جسم زرد به تنهایی کافی نبوده و همزمان کردن رشد فولیکولهای تخمدانی در آغاز این برنامه‌ها ضروری است (۳۵). در نوع گاو رشد فولیکولهای تخمدانی، الگوی موجی داشته و در خلال هر موج فولیکولی، گروهی از فولیکولهای کوچک شروع به رشد نموده و به‌طور معمول یک فولیکول انتخاب و غالب می‌گردد (۲۹، ۳۶). فولیکول غالب در خلال مرحله رشد خود مانع از رشد سایر فولیکولها (فولیکولهای مادون) گردیده و از آغاز موج فولیکولی جدید جلوگیری می‌کند (۵). در صورت حضور جسم زرد، فولیکول غالب تحلیل رفته و موج فولیکولی بعدی آغاز می‌گردد (۲۹، ۳۶). اما در غیاب تأثیر مهاری جسم زرد، فولیکول غالب تخمگذاری نموده و متعاقب آن گروه دیگری از فولیکولهای تخمدانی شروع به رشد می‌نمایند (۳۵). بنابراین به منظور همزمانی موج فولیکولی در گروهی از دامها لازم است بر اثرات مهاری فولیکول غالب بر روی آغاز موج جدید فولیکولی فائق آمد. بدین منظور از رهیافتهای مختلف شامل روشهای فیزیکی (۴، ۱۲) از قبیل الکتروکوتریزاسیون (۴) و اسپیره کردن فولیکولهای تخمدانی به قطر > 5 میلی‌متر (۴، ۱۲) و نیز القای تخمگذاری (۲۸، ۵۱) و یا تحلیل (۱۷) فولیکول غالب جهت همزمان کردن موج فولیکولی (۴، ۱۲، ۱۷، ۳۸، ۵۱) استفاده شده است.

کاربرد عوامل تخمگذاری کننده GnRH، h CG (۴۴، ۴۵، ۵۴، ۵۶)، (۲۷، ۳۸) و تحلیل برنده (استروئیدها ۳۷، ۴۰، ۴۵، ۵۹، ۶۵، ۶۶) فولیکول غالب از متداولترین روشهای همزمانی موج فولیکولی بوده که در برنامه‌های همزمانی فحلی مبتنی بر استفاده از پروستاگلاندین (۱۱، ۲۱، ۲۵، ۴۵، ۴۹، ۵۰) و یا پروژستازنها (۱۵، ۱۶، ۱۷، ۲۳، ۲۶، ۳۳، ۳۶) مورد استفاده قرار گرفتند. متعاقب استفاده از آنالوگهای GnRH، هورمونهای FSH و LH از هیپوفیز قدامی آزاد شده و فولیکولهای تخمدانی برحسب قطرشان تحلیل رفته (۳۸) و یا تخمگذاری می‌نمایند (۵۸). بنابراین GnRH با حذف اثرات مهاری فولیکولهای تخمدانی (اثر غیرمستقیم) (۲۴) و یا از طریق آزادسازی FSH (اثر مستقیم) (۲۴) سبب همزمانی موج فولیکولی و آغاز آن در فاصله ۱-۳ روز پس از درمان می‌شود (۱۱، ۴۵، ۵۰). هورمون hCG با تأثیر مستقیم بر روی تخمدان (۲۵) سبب تخمگذاری فولیکول غالب در حال رشد و آغاز موج جدید فولیکولی در فاصله ۴۸ ساعت پس از تجویز شده (۴۴) و بدین ترتیب منجر به همزمانی موج فولیکولی می‌گردد. ولی پاسخ به GnRH و hCG متغیر و به مرحله رشد فولیکولهای تخمدانی در زمان تجویز آنها بستگی دارد (۵۱، ۶۱). هورمونهای استروئیدی (استروژن و پروژسترون) عمدتاً جهت همزمانی موج فولیکولی در برنامه‌های همزمانی فحلی مبتنی بر استفاده از پروژستازنها (۲۲، ۲۶، ۳۳، ۳۶) به کار گرفته شدند و تنها در یک گزارش به استفاده از استرادیول در مرحله لوتئال و قبل از تجویز PG جهت همزمانی موج فولیکولی اشاره شده است (۱۱). از آنجایی که فولیکولهای کوچک در حال

تأثیر تجویز استروئیدها و GnRH در زمان فحلی بر روی فولیکول غالب پیش تخمگذار و همزمانی موج فولیکولی در تلیسه‌های هلشتاین مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور چرخه فحلی تلیسه‌های هلشتاین سیکلیک به وسیله دو بار تزریق عضلانی آنالوگ پروستاگلاندین $F_{2\alpha}$ به فاصله ۱۱ روز همزمان شد. تلیسه‌ها در روز فحلی (روز صفر آزمایش) با در نظر گرفتن سن و وزن به سه گروه: کنترل، GnRH و استروئید تقسیم شدند. تلیسه‌ها در هر گروه، در بهاربندهای مجزا نگهداری شده و جیره غذایی یکسانی دریافت کردند. تلیسه‌های گروه کنترل (تعداد = ۴ رأس) هیچ‌گونه درمانی را دریافت نداشتند. در فاصله ۳ ساعت پس از مشاهده فحلی ایستا، تلیسه‌های گروه GnRH (تعداد = ۹ رأس) ۲۵۰ میکرو گرم فرتاژیل و تلیسه‌های گروه استروئید (تعداد = ۹ رأس) ۲ میلی‌گرم استرادیول بنزوات به همراه ۱۰۰ میلی‌گرم پروژسترون، به‌طور عضلانی، دریافت داشتند. تلیسه‌های گروه‌های درمانی (استروئید و GnRH) در روز هفت آزمایش، PG دریافت کرده و تشخیص فحلی آغاز شد. مختصات فولیکولهای تخمدانی، از سه روز قبل تا ۲۵ روز پس از آغاز آزمایش با انجام سونوگرافی روزانه تعیین شد. در تمامی تلیسه‌ها در روز فحلی، فولیکول غالب تخمگذار وجود داشته و تخمگذاری در فاصله زمانی مشابه ($P > 0.05$) نسبت به شروع آزمایش صورت پذیرفت. آغاز موج فولیکولی پس از شروع آزمایش در تلیسه‌های گروه‌های کنترل (۲/۱۱±۰/۴۱ روز) و GnRH (۲/۴±۰/۱۸ روز) مشابه ($P > 0.05$) ولی سریعتر از تلیسه‌های گروه استروئید (۳/۹±۰/۲۳ روز) ($P < 0.05$) به وقوع پیوست. فاصله شروع آزمایش تا آغاز فحلی و تخمگذاری در گروه‌های درمانی (استروئید ۹/۷±۰/۷۱ و ۱۱±۰/۶۴ روز، GnRH: ۹/۲±۰/۲۸ و ۱۰/۲±۰/۲۸ روز) مشابه ($P > 0.05$)، و کوتاهتر از تلیسه‌های گروه کنترل (۲۲/۸±۱/۱۱ و ۲۴/۳±۰/۹۵ روز) بود ($P < 0.01$). سرعت رشد فولیکول تخمگذار در گروه‌های درمانی مشابه GnRH: ۱/۳±۰/۰۶ میلی‌متر در روز، استروئید ۱/۴±۰/۰۹ میلی‌متر در روز ($P > 0.05$) و بیشتر از گروه کنترل (۰/۹±۰/۰۶ میلی‌متر در روز) بود ($P < 0.01$). سن فولیکول تخمگذار در تلیسه‌های گروه‌های درمانی (GnRH ۵/۲±۰/۲۲ روز، استروئید: ۴/۳±۰/۶۴ روز، $P < 0.05$) کمتر از تلیسه‌های گروه کنترل (۷/۳±۰/۴۸ روز) بود ($P < 0.05$). درصد تراکم وقوع فحلی در فاصله ۷۲-۲۴ ساعت پس از تزریق پروستاگلاندین در تلیسه‌های گروه‌های استروئید و GnRH به ترتیب ۸۸/۸ و ۷۷/۷ بود ($P > 0.05$). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که تجویز GnRH و یا استروئید همزمان با شروع فحلی اختلالی در تخمگذاری ایجاد نکرده و در ایجاد همزمان موج فولیکولی جدید تفاوتی با یکدیگر ندارند. همچنین تجویز PG، هفت روز پس از شروع آزمایش، منجر به تخمگذاری فولیکول غالب با طول مدت غالبیت کوتاه خواهد شد. لذا از این تیمارها می‌توان به‌طور یکسان در برنامه‌های همزمانی فحلی در تلیسه‌های هلشتاین استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: همزمانی فحلی، GnRH، استروئید، پروستاگلاندین، تلیسه هلشتاین.

همزمانی فحلی از ضروریات اولیه توسعه تلقیح مصنوعی متراکم و انتقال جنین

۱) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

۲) گروه آموزشی علوم در مانگامی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.



رشد ($8/5 <$ میلیمتر) جهت رشد به FSH نیاز دارند، تجویز استرادیول سبب کاهش غلظت FSH ($16,47,54$) و تحلیل این فولیکولها ($2,32$) می‌شود. استرادیول همچنین از طریق کاهش دامنه نوسانات LH ($13,56$)، باعث توقف رشد فولیکول غالب ($1,30$) می‌گردد. پروژسترون با کاهش فرکانس نوسانات LH، باعث تحلیل فولیکول غالب شده ($26,29,36,40$) ولی به علت عدم تأثیر بر روی ترشح FSH، قادر به تحلیل فولیکولهای کوچک در حال رشد (32) نمی‌باشد. از آنجایی که تجویز استرادیول در غیاب پروژسترون با اثرات نامطلوبی نظیر ایجاد کیستهای تخمدانی ($42,63$) و رفتار فحلی کاذب ($39,43$) همراه بوده و استفاده از استرادیول به تنهایی در مرحله پرواستروس سبب غلیان LH و تخمگذاری می‌گردد (60)، تجویز توام استرادیول و پروژسترون به منظور همزمانی موج فولیکولی توصیه می‌شود. در حضور پروژسترون (مرحله لوتئال و یا استفاده از پروژسترون تکمیلی)، تجویز استروئیدها با آغاز موج جدید فولیکولی در فاصله ۳-۶ روز پس از درمان همراه بوده است (18). ولی پاسخ به استروئیدها بستگی به نوع، مقدار و مرحله رشد فولیکولهای تخمدانی در زمان تجویز آنها دارد ($10,16,18,20,28$). از طرف دیگر استروئیدها همواره در شرایطی به کار رفته اند که درمانهای تکمیلی با پروژستازنها (سیدر، پرید، نورجستومت و ملنجسترو استات) ($18,22,26,37$) استفاده شده و یا اینکه دامها در مرحله لوتئال سیکل فحلی (11) قرارداشتند. پژوهش حاضر به منظور مقایسه تأثیر تجویز استروئیدها (به تنهایی) و GnRH در زمان فحلی بر روی مختصات فولیکولهای تخمدانی در تلیسه‌های هلشتاین صورت پذیرفت.

مواد و روش کار

پژوهش حاضر در واحد گاو شیری شرکت سهامی کشت و صنعت و دامپروری مغان، واقع در پارس آباد، استان اردبیل، با عرض جغرافیایی $39^{\circ} 32' 5''$ شمالی و طول جغرافیایی $47^{\circ} 32' 5''$ شرقی و با حداکثر ارتفاع ۴۰۰ متر از سطح دریا صورت پذیرفت. تلیسه‌های هلشتاین، که سیکلیک بودن آنها با وجود جسم زرد در آزمایش سونوگرافی و یا بروز فحلی تأیید گردید، انتخاب شدند. بمنظور یکنواختی شرایط تغذیه ای و مدیریتی، تلیسه‌های مورد مطالعه در بهاربندهای مجزا نگهداری شده و جیره غذایی براساس معیارهای NRC (1989) دریافت داشتند. چرخه فحلی در تلیسه‌ها (تعداد = 23) به وسیله دو بار تزریق عضلانی آنالوگ پروستاگلاندین $F_{2\alpha}$ (PG)، 25 میلی گرم لوتالیز، UpJohn، انگلستان) به فاصله ۱۱ روز همزمان شد. تلیسه‌ها در روز فحلی (روز صفر آزمایش) با در نظر گرفتن سن و وزن به سه گروه آزمایشی: کنترل، GnRH و استروئید تقسیم شدند. تلیسه‌های گروه کنترل (تعداد = 4 رأس: میانگین وزن زنده: $371/7 \pm 22/2$ کیلو گرم و سن: $14/2 \pm 0/45$ ماه) هیچ‌گونه درمانی را دریافت نداشتند. در فاصله ۳ ساعت پس از مشاهده فحلی ایستا (روز صفر آزمایش)، تلیسه‌های گروه GnRH (تعداد = 9 رأس؛ میانگین وزن زنده: $331 \pm 10/04$ کیلو گرم و سن: $14/3 \pm 0/56$ ماه) 250 میکروگرم GnRH (فرتاژیل، هلند) و تلیسه‌های گروه استروئید (تعداد = 9 رأس؛ میانگین وزن زنده: $314/4 \pm 38/4$ کیلوگرم و سن: $14/4 \pm 0/2$ ماه) 2 میلی گرم استرادیول بنزوات (ابوریحان، ایران) توام با 100 میلی گرم پروژسترون (Intervet، هلند)، به طور عضلانی، دریافت داشتند. تلیسه‌های گروههای درمانی (GnRH و استروئید) در روز هفت آزمایش، PG دریافت کردند. مشاهده دامها برای تشخیص علائم فحلی، چهاربار در روز، در ساعات $22,18,12,6$ و هر بار به مدت 30 دقیقه انجام شد. فحلی دام در صورت اجازه پرش به دام دیگر (فحلی ایستا) مورد تأیید قرار گرفت. مشخصات رشد و تحلیل فولیکولهای تخمدانی، از سه روز قبل تا 25 روز پس از آغاز آزمایش توسط سونوگرافی، به‌طور روزانه، صورت پذیرفته و در فرم انفرادی مخصوص ثبت گردید. سونوگرافی توسط دستگاه سونوگراف Pie Medical (Model 480, Holland) مجهز به ترانسدیوسر راست روده‌ای با فرکانس 5 MHz انجام شد (36). براین اساس، پس از تخلیه محتوی راست روده از مدفوع، ترانسدیوسر وارد شده و تخمدانها بمنظور بررسی و اندازه گیری فولیکولهای موجود و اجسام زرد مورد

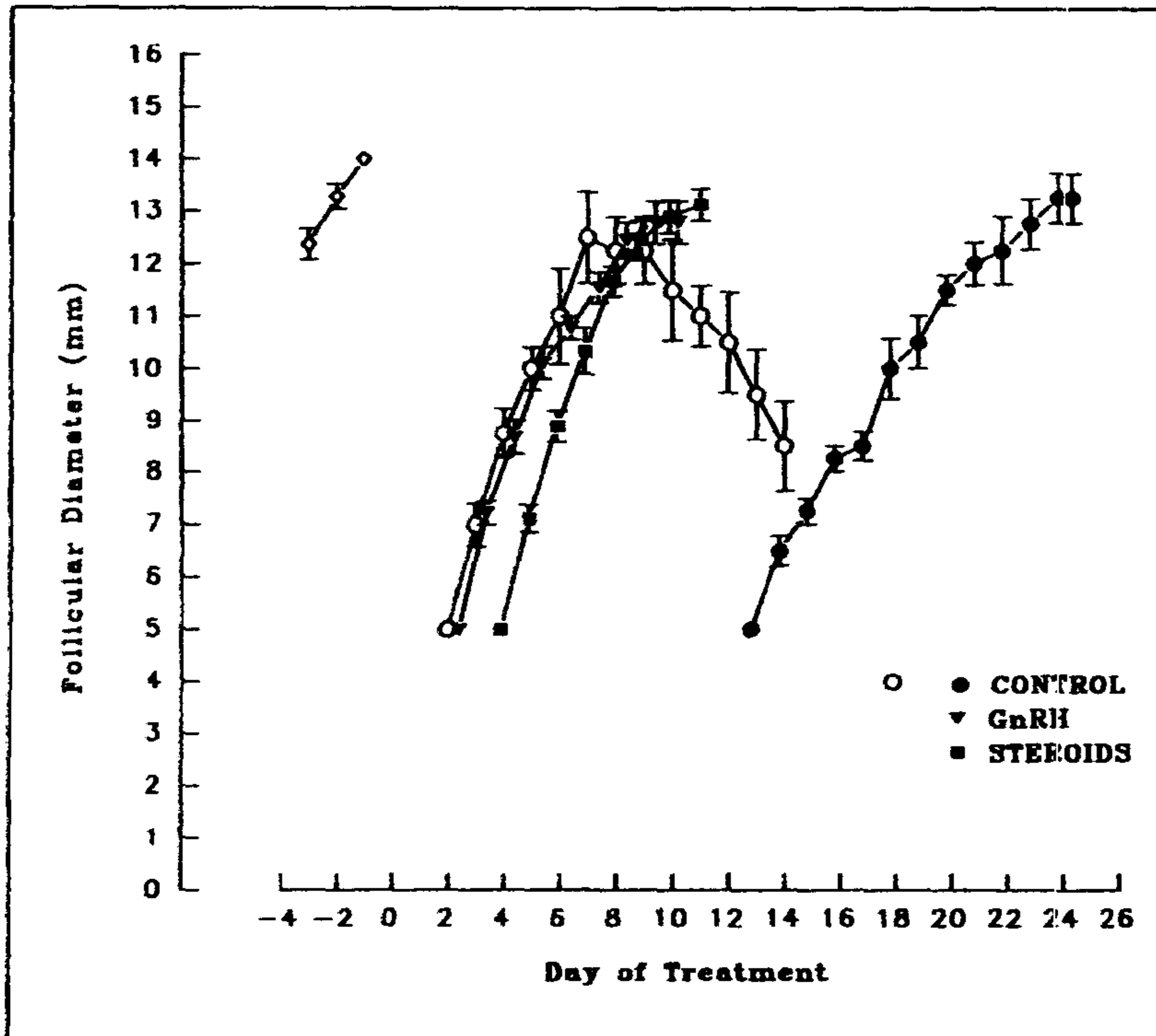
ارزیابی روزانه قرارگرفتند. اندازه و محل فولیکولهای تخمدانی به قطر $4 >$ میلیمتر و نیز جسم زرد توسط خط کش مستقر در دستگاه تعیین شد (36). فولیکولهای تخمدانی به قطر $10 >$ میلیمتر، از نظر اندازه، به عنوان فولیکول غالب (36) و زمان ناپدید شدن آن به عنوان روز تخمگذاری در نظر گرفته شد. به‌صورت گذشته نگر اولین روزی که فولیکول غالب به اندازه $5-4$ میلیمتر در سونوگرافی مشاهده شد، به عنوان روز آغاز موج فولیکولی مدنظر قرار گرفت و در صورت مشاهده فولیکول $7-6$ میلیمتری، روز قبل به عنوان روز آغاز موج فولیکولی در نظر گرفته شد ($29,36$). از زمانی که فولیکول $2-1$ میلیمتر کاهش اندازه داشته و این کاهش به صورت پیشرونده ادامه یافت، به آغاز تحلیل فولیکول تخمدانی در نظر گرفته شد (29). اولین روز غالبیت براساس معیارهایی از قبیل (1) روزی که رشد فولیکول مادون متوقف شد (2) زمانی که قطر فولیکول غالب $9 >$ میلیمتر شد (3) و تفاوت اندازه فولیکول غالب و بزرگترین فولیکول مادون $2 >$ میلیمتر بود، تعیین گردید (41). طول مدت غالبیت (سن) فولیکول تخمگذار از تفاضل فاصله بین اولین روز غالبیت و روز تخمگذاری با احتساب یک روز کمتر محاسبه شد. سرعت رشد روزانه فولیکول به صورت حاصل تفاضل اندازه فولیکول تخمگذار در روز ما قبل از تخمگذاری و اندازه اولیه این فولیکول در آغاز موج فولیکولی جدید تقسیم بر تعداد روزهای بین این دو اندازه محاسبه و به صورت میلیمتر در روز گزارش گردید. اطلاعات به‌دست آمده از طریق آزمون تجزیه واریانس (ANOVA) با استفاده از روش (General Linear Model) GLM در برنامه آماری (Statistical Analysis System) SAS مورد ارزیابی قرار گرفتند (57). تجزیه واریانس جهت تعیین تأثیر متغیرهای مستقل بر روی متغیرهای وابسته به کار گرفته شد. پیش فرض نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از شیوهٔ Univariate در برنامه آماری SAS صورت پذیرفت. به منظور آنالیز پاسخهای وابسته به یکدیگر متعلق به یک نمونه آزمایشی نظیر روند رشد فولیکولهای تخمدانی از آزمون تجزیه واریانس به روش Repeated Measure با در نظر گرفتن یک (Univariate) و یا چند متغیر (Multivariate) بودن، استفاده شد (31). در صورتی از تجزیه واریانس چند متغیره استفاده شد که ساختار واریانس و کوواریانس در طول زمان متضمن پیش نیازهای تجزیه واریانس نبود که برای تأیید آن از آزمون اسفروسیتی (Sphericity) استفاده شد. اطلاعات موجود با متغیرهای مجزا نظیر درصد تظاهرات و تراکم فحلی توسط آزمون مربع کای (Chi-Square) در برنامه آماری SAS مورد ارزیابی قرارگرفتند. اطلاعات به‌صورت میانگین \pm خطای استاندارد (Standard Error) نشان داده شد.

نتایج

نظر به اینکه تا روز بروز علائم فحلی (روز صفر آزمایش) هیچ‌گونه درمانی بر روی تلیسه‌های تحت آزمایش صورت نپذیرفت، اطلاعات فولیکولهای تخمدانی حاصل از سونوگرافی که از سه روز قبل از شروع آزمایش تا روز صفر آزمایش، بدون در نظر گرفتن گروههای آزمایشی، درهم ادغام شده و مورد بررسی قرارگرفتند. فولیکولهای تخمگذاری کننده دارای رشد فزاینده از روز سوم ($11/2 \pm 0/28$ میلیمتر) تا روز پیش از تخمگذاری ($14 \pm 0/13$ میلیمتر) بودند. به عبارت دیگر در روز فحلی، فولیکولهای تخمدانی، در تمامی گروههای آزمایشی، دارای رشد پیشرونده بوده و در مرحله پیش تخمگذاری قرار داشتند (نمودار ۱). تخمگذاری در فاصله‌ای مشابه نسبت به آغاز آزمایش (استروئید: $2/1 \pm 0/26$ روز؛ GnRH: $1/7 \pm 0/17$ روز؛ کنترل: $1/5 \pm 0/29$ روز؛ $P > 0/05$) در گروههای آزمایشی صورت پذیرفت (جدول ۱). تنها در یک رأس تلیسه از گروه استروئید، فاصله بین درمان تا تخمگذاری 4 روز به طول انجامید.

آغاز موج فولیکولی نسبت به شروع آزمایش در دو گروه کنترل ($2/0 \pm 0/41$ روز) و GnRH ($2/4 \pm 0/18$ روز) مشابه ($P > 0/05$) و کوتاهتر ($P < 0/05$) از تلیسه‌های گروه استروئید ($3/9 \pm 0/23$ روز) بود (جدول ۱). لازم به ذکر است که تنها در یک رأس تلیسه متعلق به گروه استروئید، موج فولیکولی جدید، 6 روز پس از درمان آغاز شد. به دلیل تزریق پروستاگلاندین





نمودار ۱ - اندازه بزرگترین فولیکول تخمدانی (میانگین ± خطای استاندارد) در تلیسه‌های هلشتاین که درمانی دریافت نداشتند (کنترل) و یا در روز فحلی (روز صفر آزمایش) GnRH و یا استروئید دریافت داشته‌اند.

کاهش دامنه نوسانات LH (۱۳،۵۶) و کاهش غلظت FSH (۱۶،۴۸) و پروژسترون با کاهش فرکانس نوسانات و غلیان LH (۲۵،۲۹،۳۶) در تحلیل فولیکول تخمدانی (۱۸،۲۰،۲۲) و جلوگیری از تخمک‌گذاری (۲۴،۵۹) نقش دارند. عدم تفاوت در فاصله شروع فحلی (آغاز درمان) تا تخمک‌گذاری در تلیسه‌های گروه استروئید و کنترل نشان می‌دهد که درمان با استروئیدها همزمان با شروع فحلی تأثیر منفی در فرآیند تخمک‌گذاری ندارد.

مطالعات نشان می‌دهد که غلیان LH و تخمک‌گذاری بترتیب در فاصله ۲-۴ (۲۳) و ۴۸ (۵۰،۵۸،۶۴) ساعت پس از تجویز GnRH بوقوع می‌پیوندد. از طرف دیگر غلیان LH و تخمک‌گذاری بترتیب ۳-۶ (۱۴،۳۴) و ۲۲-۳۶ (۱۴،۳۴) ساعت پس از فحلی گزارش شده است. با توجه به عدم تفاوت در فاصله شروع فحلی (آغاز درمان) تا تخمک‌گذاری در تلیسه‌های گروه GnRH و کنترل، می‌توان چنین استنباط کرد که درمان با GnRH همزمان با شروع فحلی تأثیر منفی در فرآیند تخمک‌گذاری ندارد. موج جدید فولیکولی پس از تخمک‌گذاری فولیکول غالب در تمامی تلیسه‌های تحت آزمایش بوقوع پیوست. ولیکن آغاز موج جدید فولیکولی نسبت به شروع درمان در تلیسه‌هایی که استروئید دریافت داشتند (۲/۰ ± ۰/۴۱) در مقایسه با تلیسه‌های گروه‌های کنترل (۲/۰ ± ۰/۴۱) روز (و GnRH (۲/۴ ± ۰/۱۸) روز) با تأخیر صورت پذیرفت (P < ۰/۰۵). این یافته با اطلاعات قبلی مبنی بر اینکه استروئیدها در به تأخیر انداختن موج فولیکولی مؤثرند همخوانی دارد (۶۲). در این گزارشات موج جدید فولیکولی در فاصله ۳-۶ روز پس از تجویز استروئیدها بوقوع پیوست (۱۱،۳۳). تحقیقات نشان می‌دهد که تزریق استروژن در شرایطی که سطح پروژسترون (آندوزن یا اگزوزن) بالا است با مکانیسم بازخور منفی بر روی FSH از آغاز موج فولیکولی جدید ممانعت به عمل می‌آورد (۱۱،۲۰،۲۸،۴۴). مدت این بازخور منفی و عدم شروع موج جدید فولیکولی به نیمه عمر و مقدار استروژن مورد استفاده بستگی دارد (۱۰،۲۰)، به گونه ای که استرادیول والرات تأثیر باز دارنده بیشتری نسبت به استرادیول بنزوات (۱۰،۱۶) و استرادیول ۱۷ بتا (۱۹) داشته و نیز افزایش مقادیر استرادیول در افزایش طول مدت بازخور منفی بر روی FSH (۱۹،۲۰) مؤثر بوده است. علی‌رغم تأخیر در شروع موج تخمک‌گذاری کننده در تلیسه‌هایی که استروئید دریافت داشتند، رشد نسبتاً سریعتر (P > ۰/۰۵) فولیکول تخمک‌گذار در تلیسه‌های این گروه (۱/۴ ± ۰/۰۹) میلی‌متر در روز) در مقایسه با تلیسه‌های گروه GnRH (۱/۳ ± ۰/۰۶) میلی‌متر در روز) سبب گردید تا اندازه فولیکول تخمک‌گذار (استروئید: ۱۳/۱ ± ۰/۳۱ میلی‌متر؛ GnRH: ۱۲/۸ ± ۰/۴۰ میلی‌متر) و فاصله شروع

(روز ۷ آزمایش) و در نتیجه تحلیل جسم زرد، در تلیسه‌های گروه‌های درمانی (استروئید و GnRH)، فولیکول غالب حاصل از موج فولیکولی بوقوع آمده پس از شروع آزمایش تخمک‌گذاری کرد. در حالی که در گروه کنترل، رشد فولیکول غالب اولین موج فولیکولی در فاصله ۷/۲ ± ۰/۶۳ روز پس از تخمک‌گذاری متوقف و بالاخره در روز ۹/۵ ± ۰/۵ پس از تخمک‌گذاری وارد مرحله تحلیل فولیکولی شد (جدول ۱). در تلیسه‌های این گروه، موج دوم فولیکولی در فاصله ۱۱ ± ۰/۵ پس از تخمک‌گذاری (۱۲/۸ ± ۰/۴۸) روز نسبت به شروع آزمایش) آغاز گردید که در نهایت به تشکیل فولیکول تخمک‌گذاری کننده انجامید (نمودار ۱).

فاصله شروع آزمایش تا موج فولیکولی تخمک‌گذار در گروه‌های آزمایشی متفاوت بود (P < ۰/۰۱)، به گونه‌ای که در تلیسه‌های گروه‌های درمانی (استروئید: ۳/۹ ± ۰/۲۳ روز؛ GnRH: ۲/۴ ± ۰/۱۸ روز؛ P < ۰/۰۵) کوتاهتر (P < ۰/۰۱) از تلیسه‌های گروه کنترل (۱۲/۸ ± ۰/۴۸) روز) بود (نمودار ۱). فاصله شروع آزمایش تا فحلی و تخمک‌گذاری فولیکول غالب حاصل از آخرین موج فولیکولی به ترتیب در گروه‌های درمانی عبارت بودند از: استروئید ۹/۷ ± ۰/۷۱ روز و ۱۱ ± ۰/۶۴ روز؛ GnRH: ۹/۲ ± ۰/۲۸ روز و ۱۰/۲ ± ۰/۲۸ روز، که با یکدیگر تفاوتی نداشتند (P > ۰/۰۵)، ولی با تلیسه‌های گروه کنترل (۲۲/۸ ± ۱/۱۱ روز و ۲۴/۳ ± ۰/۹۵ روز) متفاوت بودند (P < ۰/۰۱، جدول ۱).

سرعت رشد فولیکول تخمک‌گذاری کننده در تلیسه‌های گروه‌های درمانی (استروئید: ۱/۴ ± ۰/۰۹ میلی‌متر در روز؛ GnRH: ۱/۳ ± ۰/۰۶ میلی‌متر در روز؛ P > ۰/۰۵) بیشتر از تلیسه‌های گروه کنترل (کنترل: ۰/۹ ± ۰/۰۶ میلی‌متر در روز؛ P < ۰/۰۱) بود سن فولیکول غالب تخمک‌گذاری کننده در تلیسه‌های گروه‌های درمانی (استروئید: ۴/۳ ± ۰/۶۴ روز؛ GnRH: ۵/۲ ± ۰/۲۲ روز؛ P < ۰/۰۵) کمتر از تلیسه‌های گروه کنترل (۷/۳ ± ۰/۴۸ روز؛ P < ۰/۰۵، جدول ۱) بود.

اختلافی بین اندازه فولیکول تخمک‌گذاری در بین گروه‌های آزمایشی (استروئید: ۱۳/۱ ± ۰/۳۱ میلی‌متر؛ GnRH: ۱۲/۸ ± ۰/۴۰ میلی‌متر؛ کنترل: ۱۳/۳ ± ۰/۴۸ میلی‌متر، P > ۰/۰۵) مشاهده نشد. فاصله تزریق پروستاگلاندین تا فحلی و تخمک‌گذاری بترتیب در گروه‌های درمانی (استروئید، ۲/۸ ± ۰/۶۸ روز و ۴/۱ ± ۰/۶۳ روز؛ GnRH، ۲/۲ ± ۰/۲۸ روز و ۳/۲ ± ۰/۲۸ روز) مشابه (P > ۰/۰۵) بود. تراکم وقوع فحلی، در فاصله ۲۴-۷۲ ساعت پس از تزریق پروستاگلاندین، بمیزان ۸۸/۸ درصد در تلیسه‌های گروه استروئید و ۷۷/۷ درصد در تلیسه‌های گروه GnRH بوقوع پیوست (جدول ۲، P > ۰/۰۵). از نظر فاصله بین دو فحلی تفاوتی بین تلیسه‌های گروه‌های درمانی (استروئید ۹/۷ ± ۰/۷ روز؛ GnRH: ۹/۲ ± ۰/۲۸ روز؛ P > ۰/۰۵) وجود نداشت ولی نسبت به تلیسه‌های گروه کنترل (۲۲/۸ ± ۱/۱۱ روز) کوتاهتر (P < ۰/۰۱) بود (جدول ۱). در تلیسه‌های گروه کنترل فاصله بین دو تخمک‌گذاری (۲۲/۸ ± ۰/۸۵) روز) تفاوت معنی داری (P < ۰/۰۱) با تلیسه‌های گروه‌های درمانی (استروئید: ۱۰/۹ ± ۰/۸۱ روز؛ GnRH: ۸/۵ ± ۰/۲۹ روز) داشت. این فاصله در گروه GnRH کوتاهتر از گروه استروئید بود (P < ۰/۰۵؛ جدول ۱). اندازه فولیکول تخمک‌گذار در زمانهای صفر، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از تزریق پروستاگلاندین در تلیسه‌هایی که استروئید دریافت داشتند (۱۰ ± ۰/۵۸، ۱۱/۴ ± ۰/۵۳ و ۱۲/۲ ± ۰/۶۶ میلی‌متر) با تلیسه‌های گروه GnRH در همین زمانها (۱۱/۱ ± ۰/۲۰، ۱۲/۱ ± ۰/۳۲ و ۱۲/۹ ± ۰/۲۶ میلی‌متر) تفاوت معنی‌داری نداشت (P > ۰/۰۵). تمامی تلیسه‌ها واجد فولیکول غالب تخمک‌گذار، ۴۸ ساعت پس از تزریق پروستاگلاندین بودند.

بحث

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر تزریق عامل تخمک‌گذاری کننده (GnRH) و تحلیل برنده فولیکول (استروژن و پروژسترون) در زمان فحلی بر روی فولیکول غالب، در مرحله پیش تخمک‌گذاری، صورت پذیرفت. درمان انجام شده تأثیری بر روی فولیکول غالب در حال رشد (در مرحله پیش تخمک‌گذاری) نداشت. به طوری که این فولیکولها در تمامی گروه‌های آزمایشی (استروئید: ۲/۱ ± ۰/۲۶ روز؛ GnRH: ۱/۷ ± ۰/۱۷ روز؛ کنترل: ۱/۵ ± ۰/۲۹ روز) در فاصله زمانی مشابه (P > ۰/۰۵) نسبت به آغاز درمان تخمک‌گذاری نمودند. اگرچه استروژن با



جدول ۱- شاخصهای فولیکولهای تخمدانی (میانگین \pm خطای استاندارد، دامنه) در تلیسه‌های هلستاین که درمانی دریافت نداشته اند (کنترل) و یا در روز فحلی (روز صفر آزمایش) استروئید و یا GnRH دریافت داشته اند.

گروههای آزمایشی			مشخصات
استروئید	GnRH	کنترل	
۹	۹	۴	تعداد
۱۴/۱ \pm ۰/۲۰ (۱۳-۱۵)	۱۳/۸ \pm ۰/۲۲ (۱۳-۱۵)	۱۴/۳ \pm ۰/۲۵ (۱۴-۱۵)	اندازه بزرگترین فولیکول موجود در زمان درمان (میلیمتر)
۲/۱ \pm ۰/۲۶ (۱-۴)	۱/۷ \pm ۰/۱۷ (۱-۲)	۱/۵ \pm ۰/۲۹ (۱-۲)	فاصله درمان تا تخمگذاری فولیکول موجود در زمان درمان (روز)
			آغاز موج فولیکولی جدید (روز):
۱/۹ \pm ۰/۳۵ (۰-۴) b	۰/۹ \pm ۰/۲۰ (۰-۲) a	۰/۵ \pm ۰/۲۹ (۰-۱) a	پس از تخمگذاری
۳/۹ \pm ۰/۲۳ (۳-۶) b	۲/۴ \pm ۰/۱۸ (۲-۳) a	۲ \pm ۰/۴۱ (۱-۳) a	پس از درمان
۰ (۰/۹) b	۰ (۰/۹) b	۱۰۰ (۴/۴) a *	فراوانی تحلیل موج فولیکولی ایجاد شده پس از درمان (درصد، تعداد)
-	-	۷/۲ \pm ۰/۶۳ (۶-۹)	توقف رشد فولیکول غالب موج فولیکولی ایجاد شده پس از درمان
-	-	۸/۵ \pm ۰/۵ (۸-۱۰)	فاصله از تخمگذاری (روز)
-	-	۹/۵ \pm ۰/۵ (۹-۱۱)	آغاز تحلیل فولیکول غالب موج فولیکولی ایجاد شده پس از درمان
-	-	۱۱ \pm ۰/۴۱ (۱۰-۱۲)	فاصله از تخمگذاری (روز)
-	-	۱۶ \pm ۰/۴۰ (۱۵-۱۷)	تحلیل کامل فولیکول غالب موج فولیکولی ایجاد شده پس از درمان
-	-	۱۷/۵ \pm ۰/۶۵ (۱۶-۱۹)	فاصله از تخمگذاری (روز)
۱۳/۱ \pm ۰/۳۱ (۱۲-۱۴)	۱۲/۸ \pm ۰/۴۰ (۱۲-۱۵)	۱۲/۵ \pm ۰/۵ (۱۲-۱۴)	حداکثر قطر فولیکول غالب موج فولیکولی ایجاد شده پس از درمان (میلیمتر)
۰ (۰/۹) b	۰ (۰/۹) b	۱۰۰ (۴/۴) a *	فراوانی دامهایی که فولیکول غالب موج فولیکولی ایجاد شده پس از درمان در آنها به اندازه غالبیت رسید و تحلیل رفت (درصد، تعداد)
			فاصله تا آغاز موج فولیکولی تخمگذار (روز)
۱/۹ \pm ۰/۳۵ (۰-۴) c	۰/۹ \pm ۰/۲۰ (۰-۲) b	۱۱/۳ \pm ۰/۴۸ (۱۰-۱۲) a *	فاصله از تخمگذاری (روز)
۳/۹ \pm ۰/۲۳ (۳-۶) c	۲/۴ \pm ۰/۱۸ (۲-۳) b	۱۲/۸ \pm ۰/۴۸ (۱۲-۱۴) a *	پس از درمان (روز)
۱/۴ \pm ۰/۰۹ (۱-۱/۸) b	۱/۳ \pm ۰/۰۶ (۱-۱/۵) b	۰/۹ \pm ۰/۰۶ (۰/۸-۱) a *	سرعت رشد فولیکول تخمگذار (میلیمتر در روز)
۱۳/۱ \pm ۰/۳۱ (۱۲-۱۴)	۱۲/۸ \pm ۰/۴۰ (۱۲-۱۵)	۱۳/۳ \pm ۰/۴۸ (۱۲-۱۴)	حداکثر اندازه فولیکول تخمگذار (میلیمتر)
۴/۳ \pm ۰/۶۴ (۳-۶) c	۵/۲ \pm ۰/۲۲ (۴-۶) b	۷/۳ \pm ۰/۴۸ (۶-۸) a	سن فولیکول غالب تخمگذار (روز)
۹/۷ \pm ۰/۷۱ (۸-۱۵) b	۹/۲ \pm ۰/۲۸ (۸-۱۱) b	۲۲/۸ \pm ۱/۱۱ (۲۱-۲۶) a *	فاصله درمان تا بروز تظاهرات فحلی (روز)
۱۱ \pm ۰/۶۴ (۱۰-۱۶) b	۱۰/۲ \pm ۰/۲۸ (۹-۱۲) b	۲۴/۳ \pm ۰/۹۵ (۲۳-۲۷) a *	فاصله درمان تا وقوع تخمگذاری (روز)
۹/۷ \pm ۰/۲۸ (۸-۱۵) b	۹/۲ \pm ۰/۲۸ (۸-۱۱) b	۲۲/۸ \pm ۱/۱۱ (۲۱-۲۶) a *	فاصله بین دو فحلی (روز)
۱۰/۹ \pm ۰/۸۱ (۸-۱۶) c	۸/۵ \pm ۰/۲۹ (۷-۱۰) b	۲۲/۸ \pm ۰/۸۵ (۲۱-۲۵) a *	فاصله بین دو تخمگذاری (روز)

a, b, c (مقادیر در هر ردیف با حروف لاتین متفاوت اختلاف معنی دار دارند (P < ۰/۰۵)، * (P < ۰/۰۱).

غالب در تلیسه‌هایی که استروئید دریافت داشتند کمتر از تلیسه‌هایی بود که GnRH دریافت نمودند. اگرچه این اختلاف معنی دار نبود (P > ۰/۰۵)، مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که افزایش سن فولیکول تخمگذاری کننده با باروری نسبت معکوس دارد (۹،۴۱،۵۵). به طوری که نشان داده شده است با افزایش سن فولیکول تخمگذاری کننده از ۲ به ۱۲ روز میزان باروری از ۸۹ به ۱۲ درصد تنزل خواهد کرد (۹،۴۱). علت کاهش باروری متعاقب تخمگذاری فولیکول مسن ناشی از اختلال پدید آمده در جنین گزارش شده است که امروزه از علل مرگ زودرس جنینی محسوب می‌شود (۷،۵۲). همچنین نشان داده شده است که دامهای با سه موج فولیکولی دارای باروری بیشتری نسبت به دامهای با دو موج فولیکولی هستند (۵۳). دلیل این امر افزایش سن فولیکول تخمگذاری کننده است، به طوری که در دامهای با دو موج فولیکولی، سن فولیکول تخمگذاری کننده بیشتر از دامهای با سه موج فولیکولی است (۵۳). اطلاعات به دست آمده در مطالعه حاضر نیز یافته‌های اشاره شده را تأیید می‌نماید به طوری که در تلیسه‌های گروه کنترل که دارای دو موج فولیکولی بودند سن فولیکول غالب تخمگذاری کننده مشابه گزارشات قبلی (۲۰) و بیشتر از حد توصیه شده جهت حصول باروری مناسب است (۲۰،۴۱). با توجه به اهمیت سن فولیکول تخمگذاری کننده در باروری دام، به کارگیری روشهایی

درمان تا تخمگذاری در دو گروه درمانی (استروئید: ۱۱ \pm ۰/۶۴ روز؛ GnRH: ۱۰/۲ \pm ۰/۲۸ روز) تفاوت معنی داری نداشته باشد (P > ۰/۰۵).

در تلیسه‌های گروه کنترل اندازه فولیکول تخمگذار (۱۳/۲ \pm ۰/۴۸ میلیمتر) در مقایسه با تلیسه‌های گروههای درمانی تفاوت معنی داری را نشان نمی‌داد، ولی سن فولیکول غالب تخمگذاری کننده در تلیسه‌های گروه کنترل (۷/۳ \pm ۰/۴۸ روز) به دلیل سرعت رشد کم (P < ۰/۰۱) آن (۰/۹ \pm ۰/۰۶ میلیمتر در روز) بیشتر از تلیسه‌های گروههای درمانی (استروئید: ۴/۳ \pm ۰/۶۴ روز؛ GnRH: ۵/۲ \pm ۰/۲۲ روز، P < ۰/۰۵) بود. در تیمارهای به کار گرفته شده، سن فولیکول

جدول ۲- فراوانی بروز تظاهرات فحلی پس از تزریق پروستاگلاندین F₂ α (تعداد، درصد) در تلیسه‌هایی که GnRH یا استروئید دریافت نمودند.

گروه	ساعت پس از تزریق پروستاگلاندین F ₂ α				
	>۱۲۰	۱۲۰	۹۶	۷۲	۴۸
GnRH	-	-	۱۱/۱ (۱/۹)	۴۴/۴ (۴/۹)	۳۳/۳ (۳/۹)
استروئید	۱۱/۱ (۱/۹)	-	-	۳۳/۳ (۳/۹)	۵۵/۵ (۵/۹)



درمانی تفاوت معنی‌داری نداشت ($P > 0.05$). فولیکول غالب ناشی از اولین موج فولیکولی پس از آغاز آزمایش در تلیسه‌های گروه کنترل، که درمانی دریافت نکردند، پس از طی مراحل مختلف رشد، تحلیل رفته و دومین موج فولیکولی (موج فولیکولی تخمکگذاری کننده) با تأخیری معنی‌دار ($P < 0.01$) نسبت به دو گروه درمانی بوقوع پیوست ($12/8 \pm 0/48$ روز). لذا چنین می‌توان نتیجه گرفت که درمان با پروستاگلاندین پس از همزمان نمودن موج فولیکولی به وسیله استروئید و یا GnRH می‌تواند در کوتاه نمودن طول سیکل فحلی و همزمانی تخمکگذاری مؤثر باشد.

بر اساس تجربیات قبلی در حدود ۴-۶ روز به طول خواهد انجامید تا فولیکول تخمدانی از اندازه‌های ۵-۶ میلیمتر به اندازه فولیکول غالب (> 10 میلیمتر) برسد (۲۷). در مطالعه حاضر، اندازه فولیکول غالب در فاصله ۴۸ ساعت پس از تجویز پروستاگلاندین (استروئید: $12/2 \pm 0/66$ ؛ GnRH: $12/9 \pm 0/26$ میلیمتر) نشان می‌دهد که طول مدت ۷ روز بین آغاز درمان (تزریق GnRH و یا استروئید) تا تزریق پروستاگلاندین صحیح انتخاب شده است. با توجه به ارزاتر بودن استروئیدها نسبت به GnRH، به طور خلاصه نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استروئیدها از نظر علمی و اقتصادی می‌توانند به‌عنوان جایگزین GnRH در همزمانی موج فولیکولی قبل از تزریق پروستاگلاندین مورد استفاده قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

محققین حاضر بر خود لازم می‌دانند که مراتب قدردانی خویش را از مدیریت شرکت سهامی کشت و صنعت و دامپروری مغان، بویژه جناب آقای دکتر حسن امیری مقدم، که مجوز اجرای این طرح پژوهشی را صادر نمودند، ابراز دارند. همچنین از کلیه پرسنل واحد تلیسه‌داری مجتمع گاو شیری این شرکت بالاخص آقایان دکتر دیانت و مهندس علیزاده به خاطر کمک‌های فنی در انجام پروژه صمیمانه سپاسگزاریم.

References

1. Abeyawardens, S.A. and Pope, G.S. (1987): The involvement of progesterone and luteinizing hormone in the termination of the post - ovulatory rise in plasma estradiol - 17β concentration in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 15:27-36.
2. Adams, G.P. (1999): Comparative patterns of follicular development and selection in ruminants. *J. Reprod. Fertil., Supply* 54:17-32.
3. Adams, G.P. (1994): Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: Implication for synchronization and superstimulation. *Theriogenology*, 41: 19-24.
4. Adams, G.P., Kot, K., Smith, C.A. & Ginther, O.J. (1993): Effect of the dominant follicle on regression of its subordinates. *Can. J. Anim. Sci.*, 73: 267-275.
5. Adams, G.P., Matteri, R.L., Kastelic, J.P., Ko, J.C. and Ginther, O.J. (1992): Association between surges of FSH and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fertil.*, 94: 177-188.
6. Adams, G.P. and Pierson, R. A. (1995): Bovine model for study of ovarian follicular dynamics in humans. *Theriogenology*, 43: 113-120.
7. Ahmad, N., Schrick, F.N., Butcher, R.L. and Inskeep, E.K. (1995): Effects of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biol. Reprod.*, 52: 1129-1135.
8. Armstrong, D.T. (1993): Recent advances in superovulation of cattle. *Theriogenology*, 39: 7-24.
9. Austin, E.J., Mihm, M., Ryan, M.P., Williams, D.H. and Roche, J.F. (1999): Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. *J. Anim. Sci.*, 77: 2219-2226.
10. Barnes, M. A., Kazmer, G.W., Bierley, S.T. (1981): Gonadotropic and ovarian response in dairy cows treated with norgestomet and estradiol valerate. *Theriogenology*, 16: 13-25.
11. Barros, C.M., Moreria, M.B.P., Figueriredo, R.A., Teixeira, A.B. and Trinca, L.A. (2000): Synchronization of ovulation in beef cows (*Bos indicus*) using GnRH, PGF 2α and Estradiol benzoate. *Theriogenology*, 53: 1121-1134.
12. Brebfelt, D.R., Lightfoot, K.C. & Adams, G.P. (1994): Ovarian synchronization following ultrasound - guided transvaginal follicle ablation in heifers. *Theriogenology*, 42: 895-907.
13. Bergfeld EGM, Kojima FN, Cupp AS, Wehrman ME, Peters KE, Mariscal V, Sanchez T, Kinder JE. (1996): Changing doses of progesterone results in sudden changes



- in frequency of luteinizing hormone pulses and secretion of 17β estradiol in bovine females. *Biol. Reprod.*, 54: 546-553.
14. Bernard, C., Valet, J.P., Boland, R. and Lambert, R.D. (1983): Prediction of bovine ovulation by a rapid radiomunoassay for plasma LH. *J. Reprod. Fertil.*, 68: 425-430.
 15. Bo GA, Adams GP, Caccia M, Martinez M, Pierson Ra, Mapletoft RJ. (1995): Ovarian follicular wave emergence after treatment with progestogen and estradiol in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 39: 193-204.
 16. Bo GA. Adams GP. Nasser, L.F., Pierson, R.A and Mapletoft, R.J. (1993): Effect of estradiol valerate on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating gonadotropins in heifers. *Theriogenology*, 40: 225-239.
 17. Bo GA. Caccia, M., Martinez, M., Adams, G.P., Pierson, R.A. & Mapletoft, R.J. (1994): The use of estradiol – 17β and progestogen treatment for the control of follicular wave emergence in beef cattle. *Theriogenology*, 41: 165.
 18. Bo GA, Adams GP, Prieson RA, Mapletoft RJ. (1995): Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology*, 43: 31-40.
 19. Bolt, D.J., Scott, V., Kiracofe, G.H. (1990): Plasma LH and LH and FSH after estradiol, norgestomet and GnRH treatment in ovariectomized beef heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 23: 263-271.
 20. Burke, C.R., Day, M.L., Bunt, C.R. & Macmillan, K.L. (2000): Use of small dose of estradiol benzoate during diestrus to synchronize development of the ovulatory follicle in cattle. *J. Anim. Sci.*, 78: 145-151.
 21. Burke, J.M., De La Sota, R. L., Risco, C.A., Staples, C.R., Schmitt, J.P. and Thatcher, W.W. (1996): Evaluation of timed insemination using a GnRH agonist in lactating dairy cows. *J. Dairy. Sci.*, 79: 1385-1393.
 22. Caccia M, Bo G. A. (1998): Follicle wave emergence following treatment of CIDR-B implanted beef cows with estradiol benzoate and progesterone. *Theriogenology*, 49: 341 (abstr).
 23. Chenault, J.R, Kratzert, D.D., Rzepkowski, R.A., and Goodwin, M.C. (1990): LH and FSH response of Holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin. *Theriogenology*, 34: 81 (abstr).
 24. Christian, R.E. & Casida, L.E. (1948): The effects of progesterone in altering the estrous cycle of the cow. *J. Anim., Sci.*, 7: 540 (abstr.).
 25. De Renis, F. and Peters, A. R. (1999): The control of follicular dynamics by $PGF2\alpha$, GnRH, hCG and oestrus synchronization in cattle. *Reprod. Dom. Anim.*, 34: 49-59.
 26. Fike, K.E., Wehrman, M. E., Lindsey, B.R., Bergfeld, E.G., Melvin, E.J., Quintal, J.A., Zanella, E.L., Kojima, F.N. and Kinder, J.E. (1999): Estrus synchronization of beef cattle with a combination of melengesterol acetate and an injection of progesterone and 17β – estradiol. *J. Anim. Sci.*, 77: 715-723.
 27. Fortin, M.R. and Seguin, B.E. (1984): Follicular growth in cows after unilateral ovariectomy at estrus. *J. Anim. Sci.*, (supl., 1) 59: 364.
 28. Galvin, J., Rayan, D.P., Boland, M.P., Roche, J.F., Yaakub, H., Snijders, S. and O'Farrell, K.J. (1995): Ovarian follicular development following progestin and gonagotropin treatment at varying stages of the follicular wave and oestrus cycle. *Proc. Soc. Study Fertility, Dublin, Ireland*. 31.
 29. Ginther, O.J., Kastelic, J.P. and Knopf, L. (1989): Temporal associations among ovarian events in cattle during estrous cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fertil.*, 83: 223-230.
 30. Ginther, O.J., Kot, K., Kulick, L. J., Martin, S. and Wiltbank, M. C. (1996): Relationships between FSH and ovarian follicular waves during the last six months of pregnancy in cattle. *J. Reprod. Fertil.*, 108: 271-279.
 31. Gill, J.L and Hafs, H.D. (1971): Analysis of repeated measurements of animals. *J. Anim. Sci.*, 33: 331-336.
 32. Gong, J.G., Campbell, B.K., Bramley, T.A., Gutierrez, C.G., Peters, A.R. and Webb, R. (1996): Suppression in the secretion of FSH and LH, and ovarian follicle development in heifers continuously infused with a gonadotropin – releasing agonist. *Biol. Reprod.*, 55: 68-74.
 33. Hanlon, D.W., Williamson, N.B., Wichtel, J.J., Steffert, I.J., Craigie, A.L. and Pfeiffer, D.U. (1996): The effect of estradiol benzoate administration on estrous response and synchronized pregnancy rate in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone. *Theriogenology*, 45: 775-785.
 34. Hunter, R.H.F. (1985): Fertility in cattle: Basic reasons why late insemination must be avoided. *Anim. Breed. Abstr.*, 53: 83-87.
 35. Kastelic, J.P., Knopf, L. and Ginther, O.J. (1990): Effect of day of $PGF2\alpha$ treatment on selection and development ovulatory follicle in heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 23: 169-180.
 36. Knopf, L., Kastelic, J.P., Schallenberger, E. and Ginther, O.J. (1989): Ovarian follicular dynamics in heifers: Test of two wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Dom. Anim. Endocrinol.*, 6: 111-119.
 37. MacMillan, K.L. and Peterson, A.J. (1993): A new intravaginal progesterone releasing device for cattle (CIDR-B) for estrous synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Anim. Reprod. Sci.*, 33: 1-25.
 38. MacMillan, K.L. and Thatcher, W.W. (1991): Effects of an agonist of gonadotropin releasing hormone on ovarian follicles in cattle. *Biol. Reprod.*, 45: 883-889.
 39. McGuire W.J, Larson R.L., Kiracofe GH. (1990): Synchro-Mate B[®] induces estrus in ovariectomized cows and heifers. *Theriogenology*, 34:33-37.
 40. Manikkam, M. and Rajamhendran, R. (1997): Progesterone – induced atresia of the proestrous dominant follicle in the bovine ovary: Changes in diameter, insulin –



- like growthfactors system, aromatase activity, steroid hormones, and apoptotic index. *Biol. Reprod.*, 57: 580-587.
41. Mihm, M., Baguisi, A., Boland, M.P., Roch, J.F. (1994): Association between the duration of dominance of the ovulatory follicle and pregnancy rate in beef heifers. *J. Reprod. Fert.*, 102: 123-130.
 42. Nadaraja, R. Hansel, W. (1976): Hormonal changes associated with experimentally produced cystic ovaries in the cow. *J. Reprod. Fert.*, 47: 203-208.
 43. Niasari-Naslaji A., D'Occhio MJ, Whyte, T., Jillella, D. (1994): Oestrous behaviour in the absence of dominant follicle of ovulation after norgestomet treatment in heifers. *Aust. Soc. Reprod. Biol.*, 26: 73.
 44. Niasari-Naslaji A., Jillella, D., Fenwick, D., Kinder, J. E. and D' Occhio, M. J. (1996): Estrus synchronization and fertility after the control of formation and regression of the corpus luteum and emergence of the ovarian dominant follicle in cattle. *Theriogenology*, 46: 1451-1456.
 45. Niasari-Naslaji A., Moghaddam, A., Bolourchi, M., Amiri Moghaddam, H., Gilani, M., Dianat, V. and Alizadeh, J. (2000): Synchronization of ovarian follicle emergence using either GnRH or steroids prior to prostaglandin injection in cattle. *Proc. 14th Int. Con. Anim. Reprod.*, 2: 40.
 46. N.R.C. Nutrient (1988): Requirements of Dairy Cattle. National Research Council. Washington: National Academy Press,
 47. O' Rourke, M., Diskin, M.G., Sreenan, J.M. and Roche, J.F. (1998): Effect of different concentration of oestradiol administered during the first follicle wave in association with PRID insertion on follicle wave dynamics and estrous response in beef heifers. *J. Reprod. Fert.*, Abstr. Series., 21:15.
 48. O' Rourke, M., Diskin, M.G., Sreenan, J.M. & Roche, J.F. (2000): The effect of dose and route of oestradiol benzoate administration on plasma concentrations of oestradiol and FSH in long-term ovariectomised heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 59: 1-12.
 49. Pursley, J.R., Kosorok, M.R. and Wiltbank, M.C. (1997): Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy. Sci.*, 80: 301-306.
 50. Pursley, J.R., Mee, M. O. and Wiltbank, M.C. (1995): Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF_{2α} and GnRH. *Theriogenology*, 44: 915-923.
 51. Rajamahendran, R. and Sianangama, P.C. (1992): Effect of human chorionic gonadotropin (hCG) on dominant follicles in cows: Accessory corpus luteum formation, progesterone production and pregnancy rates. *J. Reprod. Fert.*, 95: 577-584.
 52. Revah, I. And Buttler, W.R. (1996): Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocyte. *J. Reprod. Fert.*, 106: 39-47.
 53. Roche, J.F., Austin, E.J., Ryan, M., O'Rourke, M., Mihm, M. and Diskin, M.G. (1998): Hormonal regulation of the estrous cycle of cattle. *Reprod. Dom. Anim.*, 33: 227-231.
 54. Roche, J.F., Austin, E.J., Ryan, M., O'Rourke, M., Mihm, M. and Diskin, M.G. (1999): Regulation of follicle waves to maximize fertility in cattle. *J. Reprod. Fert.*, (Suppl 54), 61-71.
 55. Sanchez, T., Wehrman, M.E., Bergfeld, E.G., Peters, K.E., Kojima, F.N., Cupp, A.S., Mariscal, V., Kittock, R.J., Rasby, R.J. and Kinder, J.E. (1993): Pregnancy rate is greater when the corpus luteum is present during the period of progestin treatment to synchronize time of estrus in cows and heifers. *Biol. Reprod.*, 49: 1102-1107.
 56. Sanchez, T., Wehrman, M.E., Kojima, F.N., Cupp, A.S., Bergfeld EGM, Peters KE., Mariscal V, Kittock RJ, Kinder, J.E. (1995): Dosage of the synthetic progestin, norgestomet, influences luteinizing hormone pulse frequency and endogenous secretion of 17β – estradiol in heifers. *Biol. Reprod.*, 52: 464-469.
 57. SAS. SASSTAT User's Guide. Vol. 1,4th ed. SAS institute, Cary NC, Version 6, (1989).
 58. Schmitt, E.J.P. and Diaz, T., Drost, M., Thatcher, W.W. (1996): Use of a gonadotropic – releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Anim. Sci.*, 74: 1084-1091.
 59. Shelton, J.N. and Casida, L.E. (1970): The effect of injected ovarian steroids on ovarian and pituitary function in the heifers. *Biol. Reprod.*, 2: 63-70.
 60. Short, R.E., Randel, R.D., Staigmiller, R.B. and Bellows, R.A. (1979): Factors affecting estrogen induced LH release in the cow. *Biol. Reprod.*, 21: 683-689.
 61. Silcox RW, Powell KL, Kiser TE, (1993): Ability of dominant follicles (DF) to respond to exogenous Gn RH administration is dependent on their stage of development. *J. Anim Sci.*, 71(Suppl 1), 219.
 62. Turzillo, A.M. and Fortune, J.E. (1993): Effects of suppressing plasma FSH on ovarian follicular dominance in cattle. *J. Reprod. Fert.*, 98: 113-119.
 63. Wiltbank, J.N., Ingalls, J.E. and Rowden, W.W (1961): Effects of various forms and levels oinst of estrogens alone or in combinations with gonadotrophins on the estrous cycle of beef heifers. *J. Anim. Sci.*, 20: 341-346.
 64. Wiltbank, M.C., Pursley, J.R., Fricke, P.M., Vasconcelos, J.N., Gibbons, J.R. and Ginther, O.J. (1996): Development of AI and ET and do not require detection of estrus using recent information on follicular growth. *Proc Ann Conv Am Embryo Transfer Assoc.*, 15: 23-44.
 65. Xu., Z.Z, Burton, L.J. (2000): Estrus synchronization of lactating dairy cows with GnRH, Progesterone and PGF_{2α}. *J. Dairy. Sci.*, 83: 471-476.
 66. Yelich, J.V., Mauch, H.S., Holland, M.D and Odde, K.G. (1995): Synchronization of estrus in suckled postpartum beef cows with melengestrol acetate and PGF_{2α}. *Theriogenology*, 43: 389-400.



Effect of steroids and GnRH, given on the day of estrus, on ovarian follicle characteristics in Holstein Heifers

Moghaddam, A.A.¹, Niasari-Naslaji, A.², Bolourchi, M.²

¹Graduated From the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran – Iran. ²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran – Iran. *J. Fac. Vet. Med. Tehran. Univ.* 56, 4: 45-52, 2001.

The effect of steroids and GnRH, given on the day of estrus, on preovulatory dominant follicle (PDF) and synchronization of follicular wave emergence in Holstein heifers was investigated. The stage of estrous cycle was synchronized in cyclic Holstein heifers using two I.M. injection of prostaglandin F2 α analogue (PG) 11 days apart. On the day of estrus (Day 0 of experiment) heifers were divided into three groups (control, GnRH and steroid) considering their weight and age. Heifers in each group were kept in the separate barn and received the same ration. Heifers in control group (n=4) received no treatment. Within 3 hours of detecting standing estrus, heifers in GnRH (n=9) and steroid (n=9) groups were given an I.M injection of GnRH (250 microgram Fertagyl) and combination of estradiol benzoate (2 mg) and progesterone (100 mg), respectively. GnRH and steroid heifers received PG on Day 7 of treatment and estrus detection was simultaneously initiated. From Day -3 to 25 of treatment, ultrasonography was conducted to characterize ovarian follicle. On the day of estrus, PDF was detected in all heifers and ovulated at the same time in experimental groups ($P>0.05$). The first follicular wave was emerged in GnRH (2.1 ± 0.41 d) and control (2.4 ± 0.18 d) earlier than steroid (3.9 ± 0.23 d) groups ($P<0.05$). The interval to estrus and ovulation after initiation of treatment was similar ($P>0.05$) in GnRH (9.2 ± 0.28 d, 10.2 ± 0.28 d) and steroid (9.7 ± 0.71 d, 11 ± 0.64 d) groups compared to control group (22.8 ± 1.11 d, 24.3 ± 0.95 d, $P<0.01$). The growth rate of ovulatory follicle was similar in GnRH (1.3 ± 0.06 mm/d) and steroid (1.4 ± 0.03 mm/d) groups but greater than ($P<0.01$) control group (0.9 ± 0.06 mm/d). The age of ovulatory follicle in treated groups (GnRH: 5.2 ± 0.22 d; steroid: 4.3 ± 0.64 d; $P<0.05$) was shorter ($P<0.05$) than control group (7.3 ± 0.48 d). The tightness of estrus synchrony between 24-72 hours after PG injection was similar between GnRH (77.7%) and steroid (88.8%) groups ($P>0.05$). The result of this study suggests that GnRH and steroid, given on Day of estrus, have no deleterious effect on ovulation and the new follicular wave emerges at the same time following these treatments. Ovulation of newly recruited dominant follicle occurs after PG injection prescribed 7 days after GnRH or steroid treatment. Therefore, these protocols can be used, alternatively, in estrous synchronization programs in dairy heifers.

Key words: Follicular Synchronization, GnRH, Steroids, Prostaglandin F2 α , Holstein heifer.

