



## تأثیر زمان‌های مختلف شروع پروتکل اوسینک پس از تلقیح بر شاخص‌های هم‌زمانی و باروری گاوهای هلشتاین

عیسی دیرنده<sup>۱</sup> و علی رضایی رودباری<sup>۲</sup>

۱- استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: dirandeh@gmail.com)

۲- دانشجوی دکتری، گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۲/۲۶

### چکیده

هدف از پژوهش حاضر بررسی سه زمان مختلف شروع اوسینک پس از تلقیح بدون در نظر گرفتن وضعیت آبستنی برای تلقیح دوباره روی شاخص‌های هم‌زمانی، از دست رفتن آبستنی و باروری بود. تعداد ۴۵۰ راس گاو هلشتاین (با میانگین تولید شیر بیشتر از ۳۰ کیلوگرم در روز) با شکم‌های زایش دو تا چهار انتخاب شدند و به صورت تصادفی در بین سه گروه قرار گرفتند. گروه‌های آزمایشی بر اساس زمان شروع پروتکل عبارت بودند از: (۱) شروع پروتکل از روز ۲۵ پس از تلقیح، (۲) شروع پروتکل از روز ۲۸ پس از تلقیح و (۳) شروع پروتکل از روز ۳۲ پس از تلقیح همه دام‌ها در زمان شروع پروتکل بدون توجه به وضعیت آبستنی هورمون آزادکننده گوناوتروپین (GnRH) دریافت کردند، در صورت منفی بودن نتیجه آبستنی هفت روز بعد از دریافت اول GnRH پروستاگلندین تزریق شد و ۵۶ ساعت بعد از آن GnRH دوم و به صورت میانگین ۱۶ ساعت پس از GnRH دوم تلقیح شدند. از اولتراسونوگرافی برای تعیین پاسخ به سه تزریق اوسینک، تشخیص آبستنی (روز ۳۲±۳ پس از تلقیح) و تأیید آبستنی (روز ۶۵±۴ پس از تلقیح) استفاده شد. نتایج نشان داد پاسخ به GnRH اول و دوم اوسینک تحت تأثیر زمان شروع پروتکل اوسینک قرار گرفت ( $P=0/03$ ). در گروهی که پروتکل اوسینک در روز ۳۲ (۷۴٪ درصد) شروع شده بود، نسبت به روز ۲۵ (۴۶٪ درصد) و روز ۲۸ (۵۰٪ درصد) بیشتر بود ( $P=0/03$ ). در گروهی که پروتکل در روز ۳۲ شروع شده بود نسبت به دو زمان دیگر درصد پاسخ به GnRH اول اوسینک بیشتر بود ( $P=0/02$ ). شروع اوسینک در روز ۳۲ پس از تلقیح نسبت به روز ۲۵ و ۲۸ پس از درصد گیرایی را در اولین تست آبستنی ( $P=0/02$ ) و تست تأیید آبستنی ( $P=0/01$ ) افزایش داد. به‌طور کلی شروع اوسینک در روز ۳۲ پس از تلقیح با بهبود شاخص‌های هم‌زمانی باروری را در گاوهای شیری افزایش داد.

واژه‌های کلیدی: اوسینک، اولتراسونوگرافی، گاو هلشتاین، هم‌زمانی دوباره

### مقدمه

هم‌زمانی فحلی بسته به این‌که دام در چه روزی از چرخه باشد متفاوت است (۲۱،۱۹،۱۱).

یکی از روش‌های بسیار رایج در هم‌زمانی دوباره روش اوسینک ۵۶ (شامل یک تزریق GnRH هفت روز قبل از پروستاگلندین و یک تزریق GnRH ۵۶ ساعت پس از پروستاگلندین و در نهایت تلقیح در ۱۶ ساعت پس از GnRH دوم) است (۵). آغاز اوسینک در فاصله روزهای ۵ تا ۹ چرخه فحلی سبب افزایش پاسخ به GnRH اول اوسینک (کمتر از ۹۰ درصد) خواهد شد (۲۴). علت این بهبود پاسخ ایجاد یک موج فولیکولی بعد از تزریق GnRH (۱۰) و وجود جسم زرد در زمان تزریق پروستاگلندین است (۳). گالو و سانتوز (۱۲) گزارش کردند افزایش پاسخ به GnRH اول اوسینک سبب افزایش نرخ آبستنی شد.

پائین بودن غلظت پروژسترون در زمان شروع هم‌زمانی دوباره با کاهش باروری در ارتباط است. در زمان شروع اوسینک پس از تلقیح، بین ۱۵ تا ۲۶ درصد از گاوها فاقد جسم زرد یا دارای غلظت پایین پروژسترون بودند که به رشد فولیکول پیش از تخم‌کریزی در محیط دارای غلظت کم پروژسترون منجر گردید (۲۳). تکامل فولیکول در محیط با غلظت کم پروژسترون با کاهش کیفیت رویان و کاهش باروری در گاوهای شیری در ارتباط است (۲۵).

شروع برنامه‌های هم‌زمانی در مراحل تصادفی چرخه فحلی ممکن است موجب کاهش نرخ آبستنی شود و دلیل این

فاصله زایش تا آبستنی یا روزهای باز شاخص بسیار خوبی برای سنجش موفقیت تولید مثلی گله‌های گاو شیری است. روزهای باز تحت تأثیر اجزایی از مدیریت تولیدمثل قرار دارد، مثل: دوره انتظار اختیاری<sup>۱</sup>، نرخ فحل یابی و نرخ گیرایی<sup>۲</sup>، افزایش روزهای باز با کاهش تولید روزانه یک گاو شیری، سود آوری گاوداری را می‌کاهد. از آنجا که این شاخص چکیده‌ی عملکرد تولیدمثلی گاوهای شیری محسوب می‌شود و ارتباط بسیاری با سودآوری گاوداری دارد، تأثیر تغییر در روزهای باز در سودآوری گاوداری در بسیاری از مطالعات بررسی شده است (۱). اگرچه نتایج مطالعات متفاوت است ولی بیشتر مطالعات تأکید دارند که افزایش روزهای باز سبب زیان اقتصادی گاودار می‌شود (۱۸،۱). گاوهایی که به دنبال اولین تلقیح، غیرآبستن گزارش شده‌اند باید برای حفظ کارایی تولیدمثلی در زمان مناسبی تلقیح شوند. بنابراین با توجه به مرحله چرخه فحلی پروتکل‌هایی برای هم‌زمانی دوباره تخم‌کریزی و تلقیح زمان‌بندی شده ابداع شده است (۲). به‌طور معمول از روش‌های هم‌زمانی دوباره برای کاهش فاصله بین تلقیحات و افزایش نرخ آبستنی استفاده می‌شود (۸). فاصله بین تلقیح و شروع هم‌زمانی دوباره به فاصله تلقیح تا تشخیص آبستنی بستگی دارد. احتمال تخم‌کریزی در پاسخ به GnRH اول، زمان پس‌روی جسم زرد، مدت ماندگاری فولیکول غالب و در نهایت درصد

1- Voluntary Waiting Period

2- Conception Rate

3- Gonadotropin-releasing hormone

مورد بررسی قرار گرفت. تشخیص آبستنی اولیه در روز  $33 \pm 3$  پس از تلقیح و تأیید آبستنی در روز  $65 \pm 4$  پس از تلقیح با دستگاه اولتراسونوگراف انجام شد. وجود فولیکول با قطر بزرگتر از ۵ میلی‌متر در زمان اولین تزریق GnRH و دیده شدن جسم زرد جدید یا جسم زرد اضافی ۷ روز بعد (در زمان تزریق پروستاگلندین) در همان موقعیت در تخمدان شاخصی از تخمک‌ریزی در پاسخ به GnRH اول در نظر گرفته شد (۳). وجود فولیکول غالب در زمان تزریق GnRH دوم و ناپدید شدن آن ۷ روز بعد از تلقیح شاخصی برای تعیین درصد گاوهایی که به GnRH دوم پاسخ دادند بود (۱۰، ۳). وجود جسم زرد فعال ( $< 10$  میلی‌متر) در زمان تزریق و پس روی آن (کاهش قطر) در زمان تزریق GnRH دوم شاخصی از درصد گاوهایی که به PGF2 پاسخ دادند در نظر گرفته شد.

#### اولتراسونوگرافی

از دستگاه سونوگرافی (BCF Ultrasound Australas, Victoria Australia) مجهز به پروب داخل رکتومی ۷/۵ مگاهرتز برای تشخیص آبستنی در روز ۳۲ پس از تلقیح استفاده شد. حضور جنین، شاخص اصلی و وجود جسم زرد و مایعات در شاخ رحم، شاخص کمکی آبستنی در نظر گرفته شد. تأیید آبستنی در روز ۷۰ پس از تلقیح از سوی یک دامپزشک ماهر انجام شد. اختلاف تعداد آبستنی در روز ۳۲ و ۷۰ پس از تلقیح، مرگ و میر جنینی در نظر گرفته شد.

#### آنالیز آماری

داده‌های صفر، ۱ از طریق رویه GLIMMIX (Logistic regression) نرم‌افزار SAS آنالیز شدند. مدل آماری شامل نوبت زایش، زمان شروع پروتکل اووسینک (روزهای ۲۵، ۲۸ و ۳۲ پس از تلقیح)، تعداد تلقیح و مأمور تلقیح بود. همچنین سطح معنی‌داری آماری در  $P < 0.05$  گزارش و تفسیر شد:

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + T_j + C_k + P_l + e_{ijklm}$$

$Y$  = مقدار هر مشاهده

$\mu$  = میانگین کل برای صفت مورد نظر

$T$  = اثرات ثابت تیمار

$A$  = اثر تصادفی حیوان.

$P$  = اثر ثابت نوبت زایش

$C$  = اثر ثابت مأمور تلقیح

$e$  = اثر تصادفی عوامل باقیمانده

#### نتایج و بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد زمان شروع اووسینک، باروری را تحت تأثیر قرار داد ( $P = 0.01$ ). شروع اووسینک در روز ۳۲ پس از تلقیح نسبت به روز ۲۵ و ۲۸ پس از تلقیح نرخ گیرایی را به صورت معنی‌داری افزایش داد. درصد مرگ و میر جنینی در فاصله روزهای ۳۲ تا ۶۵ پس از تلقیح تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های مختلف شروع اووسینک نداشت ( $P = 0.62$ ، جدول ۱). شکم زایش تأثیری بر نرخ گیرایی در روز ۳۲ و ۶۵ و درصد مرگ و میر جنینی در فاصله روزهای ۳۲ تا ۶۵ نداشت ( $P = 0.57$ ). مرگ و میر جنینی در سه زمان ۲۵، ۲۸ و ۳۲ پس از تلقیح به ترتیب ۶/۴، ۹/۰ و ۹/۵ درصد بود.

کاهش این است که تخمک‌ریزی در حدود ۳۰ درصد حیوانات هم‌زمانی مناسب ندارد. با توجه به اینکه در اکثر موارد فاصله بین دو تلقیح در گاوهای شیری ۲۳ روز است (۲۲) به همین دلیل روزهای ۲۵، ۲۸ و ۳۲ که به احتمال گاوها در سه زمان مختلف چرخه فحلی قرار داشتند انتخاب شد و اثرات این سه زمان بر شاخص‌های هم‌زمانی و باروری گاوهای هلشتاین مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار و تابستان سال ۱۳۹۴ در یکی از گاو‌داری‌های تابعه هلدینگ دامپروری شیر و گوشت پارس در استان مازندران اجرا شد. گاوها در فری استال<sup>۱</sup> نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب داشتند. برای کنترل درجه حرارت همه گاوها در جایگاه‌های دارای تهویه نگهداری شدند. برنامه باز دیده‌های دامپزشکی گاوهای آزمایشی، فهرست تزریقات و زمان انجام معاینات دامپزشکی و تشخیص آبستنی به صورت روزانه با نرم افزار مدیران استخراج شد. همچنین از این نرم افزار برای پیگیری و ثبت زمان‌های شروع پروتکل، ثبت و استخراج شاخص‌های تولیدمثلی، زمان‌های انجام سونوگرافی و ثبت و استخراج وضعیت سلامت حیوانات استفاده شد. حیوانات دوبار در روز با جیره کاملاً مخلوط حاوی یونجه خرد شده، سیلوی ذرت، سویا برشته، کنجاله سویا و مخلوط مواد معدنی و ویتامینی تغذیه شدند. جیره‌ها دارای غلظت‌های مساوی از ماده خشک، انرژی قابل متابولیسم، پروتئین خام و چربی بوده و بر اساس جدول احتیاجات غذایی برای گاوهای شیری با میانگین وزنی ۶۵۰ کیلوگرم و میانگین تولید شیر ۳۰ تا ۳۵ کیلوگرم با درصد چربی تصحیح شده ۳/۵ درصد تنظیم شد. گاوها سه نوبت در روز در فواصل هشت ساعت شیردوشی شدند و مجموع شیر سه نوبت به عنوان رکورد روزانه ثبت شد.

بر اساس سوابق مامایی ۴۵۰ رأس گاو هلشتاین (با میانگین تولید شیر بیشتر از ۳۰ کیلوگرم در روز) با نوبت زایش دو تا چهار و با روزهای شیردهی ۲۰۰-۱۰۰ انتخاب شدند و به صورت تصادفی در یکی از سه گروه آزمایشی: (۱) شروع اووسینک از روز ۲۵ پس از تلقیح، (۲) شروع اووسینک از روز ۲۸ پس از تلقیح و (۳) شروع اووسینک از روز ۳۲ پس از تلقیح، قرار گرفتند. همه دام‌ها در زمان شروع اووسینک بدون توجه به وضعیت آبستنی GnRH (گونادرولین استات، ۱۰۰ میلی‌گرم گونادرولین/ میلی‌لیتر، شرکت پارنل، اسکاندریا، استرالیا) دریافت کردند، در روز  $30 \pm 2$  پس از تلقیح با استفاده از دستگاه اولترا سونوگرافی (BCF، استرالیا) مجهز به پروب داخل رکتومی ۷/۵ مگاهرتز تشخیص آبستنی انجام شد و گاوهای غیرآبستن هفت روز بعد از دریافت GnRH اول،  $PGF_2$  (کلوپروستتول، ۲۵۰ میلی‌گرم کلوپروستتول/ میلی‌لیتر، شرکت پارنل، اسکاندریا، استرالیا) و ۵۶ ساعت بعد از آن GnRH دوم دریافت و به صورت میانگین ۱۶ ساعت پس از GnRH دوم تلقیح شدند. به منظور بررسی پاسخ سه تزریق اووسینک (GnRH اول، GnRH و PGF2) در سه زمان تخمدان‌های ۵۰ گاو در هر تیمار با دستگاه اولتراسونوگرافی

به احتمال گاوهای در روز ۹ چرخه فحلی بودند، به همین دلیل نسبت به دو گروه دیگر باروری بیشتری داشتند. شروع اوسینک در روز ۶ تا ۱۰ چرخه فحلی در مقایسه با زمان‌های دیگر به دلیل حضور فولیکول غالب پاسخ‌دهنده به تزریق GnRH، موجب افزایش نرخ تخمک‌ریزی، تشکیل جسم زرد، شروع موج فولیکولی جدید (۱۰) و در نهایت، هم‌زمانی موثر چرخه‌های فحلی و افزایش نرخ باروری شد (۲۴).

سرتوریو همکاران (۲۲) گزارش کردند آغاز هم‌زمانی دوباره در فاصله روزهای ۲۷ تا ۳۱ پس از تلقیح سبب افزایش درصد آبستنی شد. در تضاد با نتایج مطالعه حاضر لویز و همکاران (۱۶) گزارش کردند زمان شروع پروتکل تأثیری بر درصد آبستنی نداشته و تفاوت معنی‌داری بین شروع پروتکل در روز ۳۲ یا ۳۹ پس از تلقیح وجود نداشت. دلیل این امر می‌تواند تفاوت در طول چرخه فحلی دام‌ها در تلقیح قبلی، مرگ و میر زودرس رویانی و گامه لوتیال کوتاه باشد (۲۳، ۱۴، ۹). اگر فولیکولی سه روز قبل از تزریق GnRH اول شروع به رشد کند به تزریق پاسخ نداده و تا زمان تزریق دوم GnRH پس روی خواهد کرد، در نتیجه کاملاً منطقی است که تخمک‌ریزی در پاسخ به GnRH اول بازده نهایی پروتکل اوسینک را افزایش دهد (۳). درصد مرگ و میر رویانی در پژوهش حاضر مشابه با بسیاری از مطالعات (۲۱، ۲۰) در سطح ۱۰ درصد بوده و تحت تأثیر زمان شروع پروتکل قرار نگرفت.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد نرخ گیرایی در گاوهایی که به GnRH اول اوسینک پاسخ دادند، در مقایسه با گاوهایی که به GnRH اول اوسینک پاسخ ندادند ۱۲ درصد بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). در تأیید مطالعات حاضر چپل و همکاران (۸) گزارش کردند درصد آبستنی در گاوهایی که به GnRH اول اوسینک پاسخ دادند، در مقایسه با گاوهایی که پاسخ ندادند ۱۰ درصد بیشتر بود. دلیل این موضوع افزایش ماندگاری فولیکول غالب در سطح تخمدان (۴) و به دنبال آن تخمک‌ریزی فولیکول پیرتر و در نهایت کاهش کیفیت رویان است (۶).

یکی از دلایل پایین بودن نرخ آبستنی به ازای تلقیح در برنامه‌های هم‌زمانی شروع برنامه‌های هم‌زمانی در روزهای تصادفی چرخه فحلی می‌باشد. پژوهشگران گزارش نموده‌اند که پاسخ فولیکول‌های غالب به تزریقات GnRH (۳) و حضور جسم زرد در زمان تزریق PGF2 (۱۳) اجزای اصلی یک برنامه هم‌زمانی موفق را تشکیل می‌دهند. واسکونسو و همکاران (۲۴) گزارش نمودند که شروع برنامه‌های هم‌زمانی در مراحل تصادفی چرخه فحلی ممکن است موجب کاهش نرخ آبستنی شود. دلیل کاهش نرخ آبستنی بنا بر پیشنهاد آنان، این است که تخمک‌ریزی در حدود ۳۰ درصد حیوانات هم‌زمانی مناسب ندارد. در پژوهش حاضر با توجه به طول چرخه ۲۳ روزه در گاوهایی که سابقه تلقیح دارند در گاوهایی که پروتکل اوسینک در روز ۳۲ پس از تلقیح در آن‌ها آغاز شد

جدول ۱- تأثیر زمان‌های مختلف شروع اوسینک بر نرخ گیرایی در روز ۳۲ و ۶۵ پس از تلقیح و درصد مرگ و میر جنینی در فاصله روزهای ۳۲ تا ۶۵ پس از تلقیح

Table 1. Effect of different time of starting Ovsynch protocol on conception rate at day 32 and 65 after AI and pregnancy loss between day 32 and 65 after AI

P-value	روز شروع اوسینک پس از تلقیح		
	۳۲	۲۸	۲۵
	۱۵۰	۱۵۰	۱۵۰
۰/۰۲	۲۸/۰ <sup>a</sup>	۲۲/۰ <sup>d</sup>	۲۰/۶ <sup>d</sup>
۰/۰۱	۲۵/۳ <sup>a</sup>	۲۰/۰ <sup>d</sup>	۱۹/۳ <sup>d</sup>
۰/۶۲	۹/۵	۹/۰	۶/۴

تعداد دام  
نرخ گیرایی در روز ۳۲ پس از تلقیح (درصد)  
نرخ گیرایی در روز ۶۵ پس از تلقیح (درصد)  
نرخ مرگ و میر رویانی در فاصله روزهای ۳۲-۶۵ پس از تلقیح (درصد)  
اعداد دارای حروف غیرمشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار هستند ( $P < 0.05$ )

گیرایی نداشتند. امروزه از پروتکل‌های هم‌زمانی دوباره در سطح وسیعی برای کاهش فاصله بین تلقیحات در گاو شیری استفاده می‌شود ولی این پروتکل‌ها در داخل کشور تاکنون خیلی مورد استفاده قرار نگرفته است. سازه‌های مختلفی بر موفقیت پروتکل‌های هم‌زمانی دوباره تأثیر می‌گذارند که عبارتند از: زمان شروع پروتکل‌ها، نسبت گاوهایی که به تزریق اول اوسینک پاسخ می‌دهند، غلظت پروژسترون در زمان تزریق PG، غلظت استرادیول در فولیکول تخمک‌ریزی کننده و اندازه فولیکول تخمک‌ریزی کننده (۱۱، ۹، ۳). حضور فولیکول غالب و وجود جسم زرد فعال پاسخ‌دهنده به تزریق PGF2 در هنگام شروع برنامه‌های هم‌زمانی، به ویژه، در دوره انتظار اختیاری که حیوانات در تعادل منفی انرژی می‌باشند، نمی‌تواند موجب تضمین موفقیت برنامه‌های هم‌زمانی شود. تزریق PGF2 به برخی از گاوهای پرتولید دارای جسم زرد فعال (۲۳ میلی‌متر) در زمان شروع

پاسخ به GnRH اول اوسینک در گاوهایی که اوسینک در روز ۳۲ شروع شده بود (۷۴/۰ درصد) نسبت به دو زمان دیگر بیشتر بود (به ترتیب ۴۶/۰ و ۵۰/۰ درصد در روزهای ۲۵ و ۲۸ پس از تلقیح،  $P = 0.04$ ، جدول ۲). پس روی جسم زرد تحت تأثیر زمان شروع اوسینک قرار نگرفت و به صورت میانگین در سه زمان ۵۳/۲ درصد بود ( $P = 0.49$ ). درصد گاوهایی که به GnRH دوم اوسینک پاسخ دادند در گروه ۲۵ کمترین مقدار (۲۶/۰ درصد) بود و با افزایش روزهای پروتکل از ۲۵ به ۳۲ روند افزایشی داشت به‌طوری‌که در روز ۳۲ (۴۲/۰ درصد) به بیشترین مقدار رسید ( $P = 0.01$ ). تعداد و نرخ گیرایی در گاوهایی که به GnRH اول اوسینک (۶۰/۸۸)، GnRH اول اوسینک پاسخ دادند، بیشتر از گاوهایی بود که به GnRH اول اوسینک پاسخ ندادند (۳۵/۶۲، ۵۶/۴ درصد،  $P = 0.01$ ، جدول ۲). شکم زایش ( $P = 0.63$ ) و تعداد تلقیحات ( $P = 0.87$ ) اثر معنی‌داری بر شاخص‌های هم‌زمانی و نرخ

بود ( $P < 0.05$ ) و پاسخ به GnRH اول اوسینک بر پاسخ به دوم GnRH تأثیر مثبت داشت ( $P < 0.05$ ). این نتایج با نتایج پژوهش‌های پیشین (۱۵،۱۳،۱۲) تطابق داشت. بر اساس گزارش این محققین افزایش پاسخ به GnRH اول اوسینک بر پاسخ نهایی به GnRH دوم اوسینک اثر گذاشته و تخمک‌ریزی و در نهایت درصد آبستنی را افزایش داد (۱۵،۱۳،۱۲). تخمک‌ریزی فولیکول در پاسخ به GnRH اول اوسینک سبب بوجود آمدن فولیکول غالب با کیفیت بهتری خواهد شد که در پاسخ به GnRH قبل از تلقیح (GnRH دوم)، تخمک‌ریزی خواهد کرد (۲۴). در پژوهش حاضر پسروی جسم زرد تحت تأثیر زمان شروع پروتکل قرار نگرفت. این موضوع احتمالاً به علت پسروی زودتر جسم زرد و قبل از تزریق پروستاگلندین یا پاسخ ندادن به تزریق پروستاگلندین می‌باشد. پسروی پیش از موعد جسم زرد (قبل از تزریق پروستاگلندین) سبب سرژ پیش از موعد (و قبل از تخمک‌ریزی) LH، و در نهایت بروز فحلی قبل از تزریق دوم GnRH و نبود هم‌زمانی در تخمک‌ریزی می‌شود (۱۸). برخلاف نتایج پژوهش حاضر، لویز و همکاران (۱۶) گزارش کردند پس روی جسم زرد در گاوهایی که به GnRH اول اوسینک پاسخ نداده بودند، در مقایسه با گاوهایی که به GnRH اول اوسینک پاسخ دادند ۹ درصد بیشتر بود. به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر نشان داد گاوهایی که اوسینک را در روز ۳۲ پس از تلقیح آغاز کردند، نسبت به روز ۲۵ و ۲۸ پس از تلقیح به دلیل منظم کردن چرخه فحلی و قرار دادن گاوها در گام‌های مطلوب از چرخه فحلی (روزهای ۶ تا ۱۰ چرخه فحلی)، سبب افزایش پاسخ به GnRH اول و دوم اوسینک شد و در نهایت باروری را افزایش داد.

برنامه‌های هم‌زمانی (در دوره انتظار اختیاری  $> 40$  روز) نه تنها موجب ایجاد فحلی و تخمک‌ریزی نمی‌شود، بلکه به دلیل قرار داشتن حیوانات در تعادل منفی انرژی و این که ترشح سرژی هورمون LH، وجود نداشت (با وجود از بین رفتن جسم زرد در پاسخ به تزریق PGF<sub>2</sub> و از بین رفتن باز خورد منفی پروژسترون بر هیپوتالاموس) می‌تواند مانع از تخمک‌ریزی فولیکول غالب و در نتیجه به طور بالقوه موجب تشکیل کیست‌های تخمدانی در برخی گاوهای پرتولید شود. در نتیجه، استفاده نادرست از برنامه‌های هم‌زمانی در گاوهای پرتولید در دوره انتظار اختیاری ممکن است موجب کاهش کارایی روش‌های هم‌زمانی شود (۱).

در این پژوهش آغاز اوسینک در روز ۳۲ پس از تلقیح نسبت به روز ۲۵ و ۲۸ پس از تلقیح، درصد گاوهایی که به GnRH اول اوسینک پاسخ دادند را افزایش داد. تزریق GnRH در فاصله روزهای ۵ تا ۹ چرخه فحلی درصد گاوهایی که به GnRH اول اوسینک پاسخ می‌دهند را افزایش داد (۱۰) و به دنبال آن سبب ایجاد موج جدید فولیکولی گردید (۱۷). واسکونسلو و همکاران (۲۴) گزارش کردند احتمال تخمک‌ریزی در پاسخ به GnRH در میانه چرخه (روزهای ۵ تا ۹ چرخه فحلی) نسبت به ابتدای چرخه (روزهای ۱ تا ۴ چرخه) و انتهای چرخه (روزهای ۱۰ تا ۱۶) بیشتر بود. گالواوو و همکاران (۱۲) گزارش کردند شروع پروتکل هیت سینک<sup>۱</sup> در فاصله روزهای ۵ تا ۸ چرخه در مقایسه با روزهای ۸ تا ۱۱ چرخه، درصد گاوهایی که به GnRH اول اوسینک پاسخ دادند را از ۴۵ درصد به ۶۱/۴ درصد افزایش داد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد درصد گاوهایی که به GnRH دوم اوسینک پاسخ دادند و تخمک‌ریزی کردند، در روز ۳۲ نسبت به دو زمان دیگر بیشتر

جدول ۲- تأثیر زمان‌های مختلف شروع اوسینک بر پاسخ به GnRH اول اوسینک، PG اوسینک و GnRH دوم اوسینک  
Table 2. Effect of different time of starting Ovsynch protocol on response to first GnRH of Ovsynch, PG of Ovsynch and Second GnRH of Ovsynch

P-value	روزهای شروع اوسینک پس از تلقیح			تعداد دام
	۳۲	۲۸	۲۵	
	۵۰	۵۰	۵۰	
۰/۰۴	۷۴/۰ <sup>a</sup>	۵۰/۰ <sup>d</sup>	۴۶/۰ <sup>d</sup>	پاسخ به GnRH اول اوسینک، (درصد)
۰/۴۹	۵۲/۰	۵۴/۶	۵۲/۰	پاسخ به PGF <sub>2</sub> اوسینک، (درصد)
۰/۰۱	۴۲/۰ <sup>a</sup>	۳۲/۰ <sup>d</sup>	۲۶/۰ <sup>c</sup>	پاسخ به GnRH دوم اوسینک، (درصد)

اعداد دارای حروف غیرمشابه در هر ردیف دارای اختلاف معنی‌دار هستند ( $P < 0.05$ )

۰۳-۱۳۹۳-۰۶ انجام شد. بدین وسیله از مساعی و حمایت عزیزان کمال قدردانی و سپاس به عمل می‌آید.

### تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و بر اساس قرارداد طرح پژوهشی شماره

### منابع

- Arbel, R., Y. Bigun, E. Ezra, H. Sturman and D. Hojman. 2001. The effect of extended calving intervals in high lactating cows on milk production and profitability. *Journal of Dairy Science*, 84: 600-608.
- Bartolome, J.A., A. Sozzi and J. McHale. 2005. Resynchronization of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows. II: assigning protocols according to stages of the estrous cycle, or presence of ovarian cysts or anestrus. *Theriogenology*, 63:1628-1642.
- Bello, N.M., J.P. Steibel and J.R. Pursley. 2006. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89: 3413-3424.

1- Heat Synch

4. Bruno, R.G.S., J.G.N. Moraes, J.A.H. Hernández-Rivera, K.J. Lager, P.R.B. Silva, A.L.A. Scanavez, L.G.D. Mendonça, R.C. Chebel and T.R. Bilby. 2014. Effect of an Ovsynch56 protocol initiated at different intervals after insemination with or without a presynchronizing injection of gonadotropin-releasing hormone on fertility in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97:1-10
5. Brusveen, D.J., A.P. Cunha, C.D. Silva, P.M. Cunha, R.A. Sterry, E.P.B. Silva, J.N. Guenther and M.C. Wiltbank. 2008. Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during Ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91: 1044-1052.
6. Cerri, R.L., H.M. Rutigliano, R.C. Chebel and J.E.P. Santos. 2009. Period of dominance of the ovulatory follicle influences embryo quality in lactating dairy cows. *Reproduction*, 137: 813-823.
7. Chebel, R.C., J.E.P. Santos, R.L.A. Cerri, K.N. Galvão, S.O. Juchem and W.W. Thatcher. 2003. Effect of resynchronization with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 60: 1389-1399.
8. Chebel, R.C., J.E.P. Santos, R.L. Cerri, H.M. Rutigliano and R.G. Bruno. 2006. Reproduction in dairy cows following progesterone inserts presynchronization and resynchronization protocols. *Journal of Dairy Science*, 89: 4205-4219.
9. Dewey, S.T., L.G.D. Mendonca, G. Lopes Jr, F.A. Rivera, F. Guagnini, R.C. Chebel and T.R. Bilby. 2010. Resynchronization strategies to improve fertility in lactating dairy cows utilizing a presynchronization injection of GnRH or supplemental progesterone: I. Pregnancy rates and ovarian responses. *Journal of Dairy Science*, 93: 4086-4095.
10. Dirandeh, E., H. Kohram and A. ZareShahneh. 2009. GnRH injection before artificial insemination (AI) alters follicle dynamics in Iranian Holstein cows. *African Journal of Biotechnology*, 15: 3672-3676.
11. Fricke, P.M., D.Z. Caraviello, K.A. Weigel and M.L. Welle. 2003. Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals following first timed insemination. *Journal of Dairy Science*, 86: 3941-3950.
12. Galvao, K.N., J.E. Santos, R.L. Cerri, R.C. Chebel, H.M. Rutigliano, R.G. Bruno and R.C. Bicalho. 2007. Evaluation of methods of resynchronization for insemination in cows of unknown pregnancy status. *Journal of Dairy Science*, 90: 4240-4252.
13. Galvao, K.N. and J.E.P. Santos. 2010. Factors affecting synchronization and conception rate after the Ovsynch protocol in lactating Holstein dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 45: 439-446.
14. Giordano, J.O., P.M. Fricke, J.N. Guenther, M.S. Ares, G. Lopes, M.M. Herlihy and P.M. Fricke. 2012. Effect of presynchronization with human chorionic gonadotropin or gonadotropin releasing hormone 7 days before resynchronization of ovulation on fertility in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95: 5612-5625.
15. Keskin, A., G. Yilmazbas-Mecitoglu, A. Gumen, E. Karakaya, R. Darici and H. Okut. 2010. Effect of hCG vs. GnRH at the beginning of the Ovsynch on first ovulation and conception rates in cyclic lactating dairy cows. *Theriogenology*, 74: 602-607.
16. Lopes, G., J.O. Giordano, A. Valenza, M.M. Herlihy, J.N. Guenther, M.C. Wiltbank and P.M. Fricke. 2013. Effect of timing of initiation of resynchronization and presynchronization with gonadotropin-releasing hormone on fertility of resynchronized inseminations in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96: 3788-3798.
17. Moreira, F., C.A. Risco, M.F.A. Pires, D.J. Ambrose, M. Drost and W.W. Thatcher. 2000. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*, 83:1237-1247.
18. Moreira, F., C. Orlandi, C.A. Risco, R. Mattos, F. Lopes and W.W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84: 1646-1659.
19. Mulligan, F.J., L.O'Grady, D.A. Rice and M.L. Doherty. 2006. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. *Animal Reproduction Science*, 96: 331-353.
20. Rivera, F.A., L.G.D. Mendonca, G. Lopes Jr, J.E.P. Santos, R.V. Perez, M. Amstalden, A. Correa-Calderon and R.C. Chebel. 2011. Reduced progesterone concentration during growth of the first follicular wave affects embryo quality but has no effect on embryo survival post-transfer in lactating dairy cows. *Reproduction*, 141: 333-342.
21. Santos, J.E., C.D. Narciso, F. Rivera, W.W. Thatcher and R.C. Chebel. 2010. Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93: 2976-2988.
22. Sartori, R., J.M. Haughian, R.D. Shaver, G.J. Rosa and M.C. Wiltbank. 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 87: 905-920.
23. Silva, E., R.A. Sterry, D. Kolb, N. Mathialagan, M.F. McGrath, J.M. Ballam and P.M. Fricke. 2009. Effect of interval to resynchronization of ovulation on fertility of lactating Holstein cows when using transrectal ultrasonography or a pregnancy-associated glycoprotein enzyme-linked immunosorbent assay to diagnose pregnancy status. *Journal of Dairy Science*, 92: 3643-3650.
24. Vasconcelos, J.L.M., R.W. Silcox, G.J.M. Rosa, J.R. Pursley and M.C. Wiltbank. 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 52: 1067-1078.
25. Wiltbank, M.C., A.H. Souza, J.O. Giordano, A.B. Nascimento, J.M. Vasconcelos and M.H.C. Pereira, P.M. Fricke, R.S. Surjus, F.C.S. Zinsly, P.D. Carvalho, R.W. Bender, R. Sartori. 2012. Positive and negative effects of progesterone during timed AI protocols in lactating dairy cattle. *Animal Reproduction*, 9: 231-241.

## Effect of Different Time of Starting Ovsynch Protocol After Artificial Insemination on Synchrony Parameters and Fertility in Holstein Cows

Eisa Dirandeh<sup>1</sup> and Ali Rezaei Roodbari<sup>2</sup>

---

1- Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University  
(Corresponding author: dirandeh@gmail.com)

2- Ph.D. Student, Department of Animal Science, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: January 13, 2016

Accepted: March 8, 2016

---

### Abstract

The objective of this study was to consider effect of three different time of starting Ovsynch after Artificial Insemination, on synchrony parameters, pregnancy loss and fertility in Holstein cows. Multiparous cows (> 30 Kg/d, n = 450) randomly assigned to one of three groups. Groups according to time of starting Ovsynch were as follows: 1- Starting Ovsynch on day 25 after AI, 2- Starting Ovsynch on day 28 after AI and 3- Starting Ovsynch on day 32 after AI. All cows received an injection of GnRH at time of starting Ovsynch regardless of their pregnancy status, and cow's diagnosed not pregnant using transrectal palpation received an injection of PGF2alpha seven days later and continued the protocol to receive an injection of GnRH 56 h after PGF and TAI 16 h later. Ultrasonography used to determine response to three injection of Ovsynch, pregnancy diagnosis at first check (32±3 after AI) and second check (65±4 after AI). Results showed response to first GnRH of Ovsynch and ovulatory response to second GnRH of Ovsynch affected by time of starting Ovsynch (P = 0.03). Proportion of cows responded to first GnRH of Ovsynch in group started Ovsynch on day 32 after AI (74.0%) was higher compared to groups started Ovsynch on day 25 (46.0%) or 28 (50.0%) after AI (P = 0.03). Ovulatory response to second GnRH of Ovsynch was greater in groups 32 compared to other groups (P = 0.02). Conception rate at day 32 (P = 0.02) and 65 (P = 0.01) after AI was greater in cows started Ovsynch on day 32 after AI (28.0 and 25.3%) compared to groups started Ovsynch on day 25 (20.6 and 19.3%) or 28 (22.0 and 20.0%) after AI. Cows starting the Ovsynch protocol 32 d after previous AI increased fertility by improving synchrony to the protocol.

**Keywords:** GnRH, Holstein cow, Ovsynch, Resynchronization, Ultrasonography