

تأثیر پنج روش مختلف همزمانی فحلی بر قطر فولیکول تخمک‌ریزی‌کننده، غلظت پروژسترون پس از تلقیح و درصد گیرایی گاو هلشتاین در تنش حرارتی

عیسی دیرنده*

استادیار، گروه علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران، صندوق پستی ۵۷۸
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۲/۱۸)

چکیده

هدف از این پژوهش، مطالعه تأثیر پنج روش همزمانی فحلی بر قطر فولیکول تخمک‌ریزی‌کننده، غلظت پروژسترون در زمان تلقیح و روزهای ۵ و ۱۲ پس از تلقیح و درصد گیرایی در شرایط تنش حرارتی در گاو هلشتاین بود. بدین منظور ۲۵۰ رأس گاو هلشتاین (میانگین تولید روزانه بیشتر از ۳۰ کیلوگرم در روز و نوبت زایش $1/1 \pm 3/6$) به‌طور تصادفی انتخاب و در گروه‌های آزمایشی زیر شامل ۱- آوسینک (OV)، ۲- پری سینک / آوسینک (PO)، ۳- دابل آوسینک (DO)، ۴- G7G آوسینک (G7G)، ۵- PG7G آوسینک (PG7G) قرار گرفتند. نتایج نشان داد، قطر فولیکول تخمک‌ریزی‌کننده در گاوهایی که با روش OV همزمان شدند در مقایسه با دیگر روش‌ها به‌طور معنی‌داری کوچک‌تر بود. غلظت پروژسترون در روزهای ۵ و ۱۲ پس از تلقیح در گاوهایی که با روش OV همزمان شده بودند در مقایسه با دیگر روش‌ها کمتر بود ($P < 0/05$). گاوهایی که با روش OV همزمان شده بودند در مقایسه با دیگر روش‌ها کمترین درصد گیرایی را در روز ۳۲ و ۶۰ پس از تلقیح داشتند ($P < 0/05$). بین دیگر روش‌های همزمانی تفاوتی در درصد گیرایی در روزهای ۳۲ و ۶۰ پس از تلقیح وجود نداشت. به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد، استفاده از روش‌های بر پایه پیش‌همزمانی پیش از آغاز آوسینک می‌تواند سبب افزایش باروری در گاوهای هلشتاین در شرایط تنش حرارتی شود.

واژه‌های کلیدی: الایزا، اولتراسونوگرافی، تنش حرارتی، گاو شیری، همزمان سازی فحلی.

Effect of five different heat synchronization protocols on ovulatory follicle diameter, after AI progesterone concentration and conception rate in Holstein cows in heat stress condition

Essa Dirandeh*

Assistant Professor, Department of Animal Science, Sari Agricultural Science and Natural Resources University, Sari, Iran, P. O. Box 578
(Received: Mar. 7, 2018 - Accepted: May 8, 2018)

ABSTRACT

The objective of this study was to compare the effect of five estrous synchronization protocols on ovulatory follicle diameter, progesterone concentration at AI and days 5 and 12 after AI and conception rate in Holstein cows during heat stress. Holstein cows (n=250) with more than 30 kg/d milk yield were randomly assigned to one of 5 experimental groups, 1) ovsynch (OV); 2) presynch-ovsynch (PO); 3) double ovsynch (DO); 4) G7G-ovsynch (G7G) and 5) PG7G-ovsynch (PG7G). Results showed that ovulatory follicle diameter was smaller in cows synchronized with OV protocol compared to other protocols ($P < 0.05$). Progesterone concentration at days 5 and 12 post AI was lower in OV protocol compared to other protocols ($P < 0.05$). Conception rates at days 32 and 62 post AI were lower in OV protocol compared to other protocols ($P < 0.05$). There was no difference among other synchronization protocols ($P < 0.05$). In conclusion, results of present study showed that using presynchonization before initiation of Ovsynch can increase PR/AI of Holstein cows during heat stress.

Keywords: Dairy cow, ELISA, heat stress, ultrasonography.

* Corresponding author E-mail: Dirandeh@gmail.com

مقدمه

پژوهش‌های دو دهه گذشته نشان می‌دهد، همزمان با افزایش میانگین تولید شیر در گاو شیری، به دلیل انتخاب ژنتیکی و بهبود مدیریت، عملکرد تولیدمثلی روندی کاهشی داشته است (Caraviello *et al.*, 2006). چالش‌های ناشی از نبود فحل‌یابی به‌هنگام و صحیح سبب شده است تا برنامه‌های همزمانی فحلی و تخمک‌ریزی به بخش ثابتی از برنامه‌های مدیریت تولیدمثل گله‌های گاو شیری تبدیل شوند (Dirandeh *et al.*, 2015).

در گاوهای شیری که در ماه‌های گرم سال تلقیح می‌شوند کاهش در باروری دیده می‌شود. عامل‌های چندی در بروز این وضعیت دخیل است. مهم‌ترین آن‌ها افزایش دما و رطوبت هوا است که منجر به کاهش بروز نشانه‌های فحلی، کاهش اشتها و ماده خشک مصرفی می‌شود (Hansen & Aréchiga, 1999). تنش حرارتی درجه فولیکول‌هایی را که برای غالب شدن انتخاب می‌شوند را کاهش می‌دهد، به طوری که اثر آن با کاهش ظرفیت استروئیدسازی یاخته‌های تیکا و گرانولوزا نمایان می‌شود و غلظت استرادیول خون کاهش می‌یابد. غلظت پروژسترون پلازما بسته به اینکه تنش حرارتی مزمن باشد یا حاد و بسته به وضعیت متابولیسم حیوان کاهش یا افزایش می‌یابد (De Rensis & Scaramuzzi, 2003). این نوع تغییرپذیری‌های هورمونی فعالیت فولیکولی را تغییر داده و منجر به کاهش کیفیت اووسیت و رویان می‌شود. محیط رحم نیز تغییر کرده و شانس لانه‌گزینی رویان کاهش می‌یابد. هم اشتها و هم ماده خشک مصرفی به‌واسطه تنش حرارتی کاهش می‌یابد بنابراین دوره توازن منفی انرژی پس از زایش را طولانی‌تر و فاصله گوساله‌زایی را به‌ویژه در گاوهای پرتولید افزایش می‌دهد (De Rensis & Scaramuzzi, 2003).

از سال ۱۹۹۵، برنامه آوسینک به‌صورت گسترده به‌عنوان روشی مؤثر در همزمانی چرخه‌های فحلی گاوهای شیری استفاده شده است (Pursley *et al.*, 1995). بی‌نیازی به فحل‌یابی، کاهش فاصله زایش تا تلقیح، کاهش شمار روزهای باز، درمان کیست‌های تخمدانی و درصد گیرایی مناسب، سبب شده است تا این روش مورد تأیید بسیاری از پژوهشگران و

دامپزشکان قرار گیرد (Cartmill *et al.*, 2001a,b). برنامه‌های هورمونی که به‌منظور رفع ناهنجاری‌های متابولیسمی و هورمونی گاوهای شیری انجام می‌شوند، در دو دوره پیش و پس از تلقیح مصنوعی کاربرد دارند. این برنامه‌ها دربرگیرنده پیش‌همزمانی فحلی^۱، همزمانی فحلی^۲ و همزمانی تخمک‌ریزی^۳، برنامه‌های پس از تلقیح (به‌منظور حمایت از آبستنی یا پیش‌همزمانی فحلی گاوهای آبستن نشده) و همزمانی دوباره فحلی برای تلقیح دوباره هستند (Pursley *et al.*, 1997).

نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهند، موفقیت برنامه آوسینک به گامه چرخه فحلی در زمان نخستین تزریق GnRH بستگی دارد (Dirandeh *et al.*, 2015a; Wiltbank & Pursley, 2014). مراحل آغازین گامه لوتئال (روزهای ۵ تا ۱۲ چرخه فحلی) بهترین زمان برای آغاز برنامه آوسینک است. آغاز پروتکل آوسینک در روزهای ۵ تا ۹ چرخه فحلی در مقایسه با دیگر روزهای چرخه فحلی، باروری بیشتری را به دنبال داشت (Dirandeh, 2014). بنابراین چندین برنامه پیش همزمانی برای کنترل عملکرد تخمدانی پیش از آغاز برنامه آوسینک طراحی شده است تا میزان همزمانی ناشی از برنامه آوسینک را بهبود بخشند.

پیش‌همزمانی چرخه‌های فحلی با دو بار تزریق PGF_{2α} به فاصله ۱۴ روز و آغاز آوسینک ۱۲ روز پس از آن (پری سینک-آوسینک (PO))، درصد گیرایی را در مقایسه با برنامه آوسینک افزایش داد. این افزایش در گاوهای شیرده دارای چرخه فحلی تا ۱۸ درصد گزارش شد. برای افزایش بازده تولیدمثلی برنامه آوسینک، فزون بر برنامه پیش‌همزمانی پری سینک-آوسینک برنامه‌های دیگری مانند دابل آوسینک (Dirandeh *et al.*, 2015a) و G6G آوسینک (Dirandeh *et al.*, 2015b) نیز ابداع شده است. این برنامه‌های پیش‌همزمانی با افزایش غلظت پروژسترون در زمان رشد و تکامل فولیکول درصد باروری را افزایش می‌دهند (Heidari *et al.*, 2017). در روش دابل آوسینک، دو برنامه آوسینک به‌شیوه پیاپی اجرا

1. Pre-Synchronization
2. Estrus-Synchronization
3. Ovulation- Synchronization

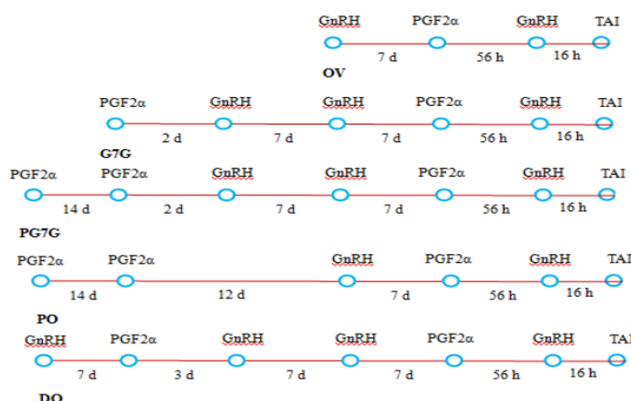
خرداد تا مهر دریکی از گاوداری‌های صنعتی شمال کشور واقع در شهر ساری انجام شد. در هنگام انجام پژوهش، شمار گاوهای این واحد ۵۸۰۰ رأس و شمار ماده گاو دوششی ۲۷۰۰ رأس بود. نژادهای این واحد گاوداری هلشتاین و رچیستر است. طول جغرافیایی محل آزمایش ۳۶ درجه و ۲۹ دقیقه و عرض جغرافیایی آن ۵۳ درجه و ۱۰ دقیقه است.

برای انجام این پژوهش ۲۵۰ رأس گاو هلشتاین (میانگین تولید روزانه بیشتر از ۳۰ کیلوگرم در روز و نوبت زایش $1/1 \pm 3/6$) انتخاب شدند، سپس به‌طور تصادفی در پنج گروه آزمایشی قرار گرفتند. گاوها در جایگاه مسقف و فری استال نگهداری شدند. گاوها روزانه سه بار به فاصله هشت ساعت دوشیده شدند و میزان شیر تولیدی هر گاو به‌صورت خودکار ثبت شد. دام‌ها دو بار در روز با جیره کامل مخلوط حاوی یونجه خردشده، سیلوی ذرت، سویای برشته، کنجاله سویا و مخلوط مواد کانی و ویتامینی تغذیه شدند. جیره‌ها غلظت‌های مساوی از ماده خشک، انرژی قابل متابولیسم، پروتئین خام، چربی و NDF داشته و بر پایه جدول NRC برای گاوهای شیری با میانگین وزنی ۶۵۰ کیلوگرم و میانگین تولید شیر ۳۰ تا ۴۰ کیلوگرم تنظیم شد. در روز ۲۸ پس از زایش آزمون پاکی رحم در همه گاوها انجام و سلامت رحم و ناهنجاری‌های تخمدانی (کیست‌های تخمدانی و تخمدان استاتیک) بررسی شد. در صورت برگشت رحم به وضعیت پیش از زایش و تأیید دامپزشک، پروتکل‌های همزمانی با توجه به وضعیت تخمدان استفاده شد (شکل ۱). گاوهای فحل پیش از کامل شدن همزمانی به‌شرط سپری کردن ۴۵ روز پس از زایش توسط دو مأمور تلقیح و دو نوع اسپرم تلقیح شدند. حیوانات دچار کیست‌های تخمدانی از ادامه پروتکل همزمانی حذف شدند (در هر تیمار به‌طور میانگین چهار رأس و در کل ۲۰ رأس گاو از پروتکل حذف شدند). همه پروتکل‌ها در روز ۶۵ پس از زایش به پایان رسید بر همین پایه دام‌ها در فواصل مختلفی پس از زایش وارد پروتکل‌ها شدند (آغاز پروتکل‌ها: OV روز ۵۵ پس از زایش، G7G روز ۴۶ پس از زایش، PG7G روز ۳۲ پس از زایش، DO روز ۳۸ پس از زایش، PO روز ۲۹ پس از زایش).

می‌شود و در پایان دومین برنامه اوسینک تلقیح انجام می‌شود. Souza et al. (2007) در نتایج بررسی‌های خود گزارش کردند، اجرای این روش در گاوهای چند نوبت زایش در مقایسه با پری‌سینک-اوسینک، باروری را افزایش داد. روش دیگری که مبتنی بر پیش همزمانی، روش G6G بود که در سال ۲۰۰۸ معرفی شد یک برنامه همزمانی بر پایه اوسینک است. این برنامه پیش‌همزمانی با تزریق $PGF_{2\alpha}$ آغاز و دو روز بعد GnRH (۱۰۰ میلی‌گرم) تزریق می‌شود و در نهایت، پس از شش روز نخستین تزریق GnRH اوسینک انجام می‌شود. اوسینک با تلقیح زمان‌بندی‌شده کامل می‌شود و کل فرآیند از پیش‌همزمانی تا تلقیح زمان‌بندی‌شده ۱۸ روز طول می‌کشد (Souza et al., 2008). برنامه G6G درصد تخم‌ریزی پس از نخستین تزریق GnRH اوسینک را افزایش داده و سبب افزایش درصد گیرایی تا ۵۰ درصد می‌شود (Heidari et al., 2017). استفاده از روش‌های پیش‌همزمانی پیش از آغاز اوسینک منجر به همزمانی بهتر چرخه فولیکولی شده، به‌طوری‌که در آغاز اوسینک گاوها در فاصله روزهای شش تا هشت چرخه فحلی قرار دارند، در نتیجه افزایش تخم‌ریزی در پاسخ به نخستین تزریق GnRH رخ داده که این امر در نهایت باعث افزایش باروری می‌شوند (Galvao et al., 2007; Wiltbank & Pursley, 2014). با توجه به تأثیر منفی تنش حرارتی بر تولیدمثل در شمال کشور که سبب کاهش درصد گیرایی حتی به زیر ۱۰ درصد می‌شود و نتایج متناقض پروتکل‌های مختلف در شرایط مختلف هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر پنج روش رایج همزمانی فحلی شامل: ۱- اوسینک (OV)، ۲- پری سینک/ اوسینک (PO)، ۳- دابل اوسینک (DO)، ۴- G7G اوسینک (G7G) و ۵- PG7G اوسینک (PG7G) در یک گله بر قطر فولیکول، غلظت پروژسترون در زمان تلقیح و روزهای ۵ و ۱۲ پس از تلقیح و درصد گیرایی گاو هلشتاین در شرایط تنش حرارتی بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در شرایط تنش حرارتی (شاخص دما-رطوبت (THI) = ۷۵-۸۳) و در فاصله‌های ماه‌های



شکل ۱. روش‌های مختلف همزمانی فحلی شامل ۱- آوسینک (OV)، ۲- پری سینک/آوسینک (PO)، ۳- دابل آوسینک (DO)، ۴- G7G آوسینک (G7G) و ۵- PG7G آوسینک (PG7G)

Figure 1. Different synchronization protocols (Ovsynch (OV), Presynch-Ovsynch (PO), Double-Ovsynch (DO), G7G- Ovsynch (G7G), PG7G- Ovsynch (PG7G)

تخمک‌ریزی‌کننده در زمان تلقیح و تشخیص آبستنی در روز ۳۲ پس از تلقیح استفاده شد. حضور جنین به‌عنوان شاخص اصلی و وجود جسم زرد و مایعات در شاخ رحم به‌عنوان شاخص کمکی آبستنی در نظر گرفته شد. اختلاف شمار آبستنی در روز ۳۲ و ۶۰ پس از تلقیح به‌عنوان از دست رفتن آبستنی در نظر گرفته شد (گاوهایی که در روز ۳۲ پس از تلقیح در آزمون آبستنی آبستن بودند ولی در آزمون بعدی (روز ۶۰ پس از تلقیح) سقط کردند).

تجزیه آماری

داده‌های (، ۱) توسط رویه GENMOD و داده‌های تکرارشونده بر پایه رویه MIXED نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ تجزیه و تحلیل شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد.

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + F_m \pm e_{ijklm}$$

Y = میزان هر مشاهده

μ = میانگین کل برای صفت مورد نظر

A_i = اثر ثابت تیمار

B_j = اثر تصادفی حیوان

C_k = اثر نمره وضعیت بدنی

D_l = اثر نوبت زایش

F_m = اثر اسپرم

e_{ijklm} = اثر عامل‌های باقی‌مانده

خون‌گیری

خون‌گیری از ۲۰ رأس گاو در هر روش همزمانی و در مجموع از ۱۰۰ رأس گاو در زمان تلقیح و روزهای ۵ و ۱۲ پس از تلقیح برای تعیین غلظت پروژسترون انجام شد. خون‌گیری از گاوها، توسط لوله خلأ ۶ میلی‌لیتری دارای ماده ضد انعقاد EDTA (آواپزشک، اراک، ایران)، از سیاهرگ دمی انجام شد. نمونه‌ها پس از گردآوری، روی یخ نگهداری شدند و پس از پایان نمونه‌گیری، همه نمونه‌ها با دستگاه سانتریفیوژ (Universal 320R, Hettich Zentrifugen) با ۳۰۰۰g، به مدت ۱۵ دقیقه، سانتریفیوژ شدند و سپس پلاسما به‌دست‌آمده تا زمان اندازه‌گیری پروژسترون در دمای ۲۱- درجه سلسیوس نگهداری شدند. غلظت پروژسترون در نمونه‌ها با استفاده از کیت الیزا (Diaplus, North York, Ontario, Canada) دستگاه الیزا ریدر (Stat Fax- 2100, Awareness Technologyinc) تعیین شد. ضریب تغییر داخلی گروهی کمتر از ۲ درصد و حساسیت کیت ۰/۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر بود.

اولتراسونوگرافی

از دستگاه سونوگرافی (BCF Ultrasound Australas, Scotland) مجهز به پروب داخل رکتومی ۷/۵ مگاهرتز برای معاینه وضعیت تخمدان‌ها و تشخیص جسم زرد فعال در روز ۲۸ پس از زایش، بررسی قطر فولیکول

تفاوتی نداشت ($P > 0.05$). غلظت پروژسترون (نانوگرم بر میلی‌لیتر) تحت تأثیر روش‌های مختلف همزمانی ($P < 0.05$) و زمان ($P < 0.05$) قرار گرفت ولی اثر برهمکنش تیمار در زمان معنی‌دار نبود. غلظت پروژسترون در گاوهایی که پیش از اجرای OV پیش همزمان شده بودند (DO، PO، G7G و PG7G) در مقایسه با روش OV بیشتر بود ($P < 0.05$ ، جدول ۲). غلظت پروژسترون از زمان تلقیح تا روز ۱۲ پس از تلقیح روندی افزایشی داشت ($P < 0.05$ ، جدول ۲). به طوری که در زمان تلقیح ($3/0.1 \pm 0.4$) نانوگرم بر میلی‌لیتر، روز ۵ پس از تلقیح ($4/1.6 \pm 0.4$) نانوگرم بر میلی‌لیتر) و روز ۱۲ پس از تلقیح ($5/4.2 \pm 0.5$) نانوگرم بر میلی‌لیتر) بود.

نتایج

درصد گیرایی در روز ۳۲ پس از تلقیح در گروه آوسینک نسبت به دیگر گروه‌ها به طور معنی‌داری کمتر بود (جدول ۱، $P < 0.05$). در روز ۶۰ پس از تلقیح نیز درصد گیرایی در گروه آوسینک نسبت به دیگر گروه‌ها کمتر بود (جدول ۱، $P < 0.05$). از دست رفتن آبستنی در فاصله روزهای ۳۲ تا ۶۰ پس از تلقیح تفاوتی بین گروه‌های آزمایشی نداشت ($P > 0.05$).

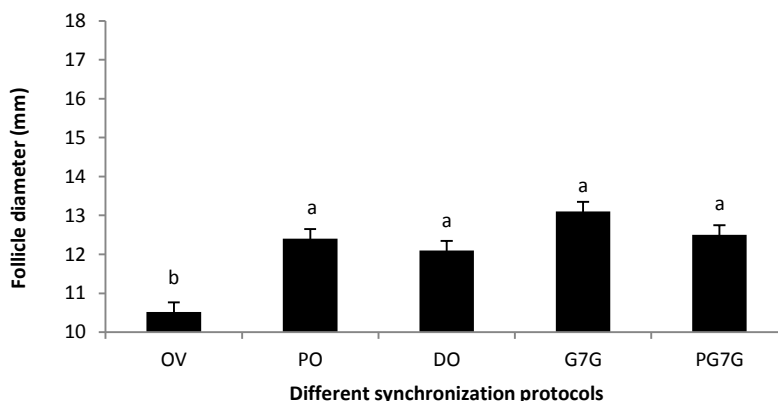
قطر فولیکول تخم‌ریزی‌کننده در گاوهایی که با روش آوسینک همزمان شدند در مقایسه با دیگر روش‌ها به طور معنی‌داری کوچک‌تر بود (شکل ۲، $P = 0.01$). قطر فولیکول (میلی‌متر) بین دیگر روش‌های همزمانی (DO، PO، G7G و PG7G)

جدول ۱. تأثیر روش‌های مختلف همزمانی بر درصد گیرایی در روز ۳۲ و ۶۰ پس از تلقیح و از دست رفتن آبستنی

Table 1. Effect of different synchronization protocols on conception rate at d 32 and 60 after A.I and pregnancy loss

Item	synchronization protocols ¹					P
	OV	PO	DO	G7G	PG7G	
Number of cows	50	50	50	50	50	
Conception rate at d 32 after A.I	14.0 ^b	28.0 ^a	32.0 ^a	32.0 ^a	38.0 ^a	0.04
Conception rate at d 60 after A.I	12.0 ^b	24.0 ^a	26.0 ^a	28.0 ^a	32.0 ^a	0.03
Pregnancy loss between d 32 and 60 after A.I	21.0	14.0	19.0	12.5	16.0	0.65

1. Ovsynch (OV), Presynch-Ovsynch (PO), Double-Ovsynch (DO), G7G- Ovsynch (G7G), PG7G- Ovsynch (PG7G). Values within a row with different superscripts differ ($P < 0.05$).



شکل ۲. تأثیر روش‌های مختلف همزمانی فحلی (۱- آوسینک (OV)، ۲- پری سینک/ آوسینک (PO)، ۳- دابل آوسینک (DO)، ۴- G7G آوسینک (G7G) و ۵- PG7G آوسینک (PG7G)) بر قطر فولیکول (میلی‌متر) در زمان تلقیح. حرف‌های غیرهمسان در هر ستون اختلاف معنی‌داری دارند ($P < 0.05$)

Figure 2. Effect of different synchronization protocols (Ovsynch (OV), Presynch-Ovsynch (PO), Double-Ovsynch (DO), G7G- Ovsynch (G7G), PG7G- Ovsynch (PG7G)) on follicle diameter (mm) at A.I. Values within a row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

جدول ۲. تأثیر روش‌های مختلف همزمانی بر غلظت پروژسترون (ng/ml)

Table 2. Effect of different synchronization protocols on progesterone concentrations (ng/ml)

Item	synchronization protocols ¹					Trt	Time	Trt*Time
	OV	PO	DO	G7G	PG7G			
Progesterone concentrations, ng/mL	2.60±0.2 ^b	3.17±0.3 ^a	3.25±0.5 ^a	3.30±0.5 ^a	3.52±0.6 ^a	0.04	0.03	0.56

1. Ovsynch (OV), Presynch-Ovsynch (PO), Double-Ovsynch (DO), G7G- Ovsynch (G7G), PG7G- Ovsynch (PG7G). Values within a row with different superscripts differ ($P < 0.05$).

بحث

در این پژوهش استفاده از روش‌های مبتنی بر پیش‌همزمانی نسبت به اوسینک تنها قطر فولیکول تخم‌ریزی‌کننده را افزایش داد و به دامنه مطلوب برای تخم‌ریزی (۱۲ تا ۱۴ میلی‌متر) رساند. تخم‌ریزی در پاسخ به نخستین تزریق GnRH منجر به ایجاد موج جدید فولیکولی در ظرف ۱/۶ تا ۲/۵ روز پس از تزریق‌شده که این فولیکول قادر است تا نه روز بعد (دومین تزریق GnRH) قابلیت عملکردی خودش را حفظ کند (Carvalho *et al.*, 2014). به‌طور کلی گاوهایی که به نخستین تزریق GnRH پاسخ می‌دهند، اختلافات موجود در میان اندازه فولیکول تخم‌ریزی‌کننده آن‌ها در انتهای روش همزمانی کاهش یافته و اکثریت آن‌ها اندازه فولیکول همسانی در دامنه ۱۲ تا ۱۴ میلی‌متر خواهند داشت که این امر تأثیر مثبتی روی باروری دارد (Carvalho *et al.*, 2015). بهبود باروری در طول اوسینک مستلزم تخم‌ریزی از یک فولیکول با اندازه مطلوب است (Colazo *et al.*, 2015). برخی از گاوهایی که در اواخر چرخه فحلی هستند به GnRH اول پاسخ نداده و تخم‌ریزی ندارند. در این گاوها فولیکول بزرگ‌تر (مسن‌تر) در روز ۹-۵ تخم‌ریزی می‌کند. گاوهایی که در آغاز اوسینک در روزهای ۴-۱ و ۲۱-۱۴ (اوایل و اواخر) چرخه فحلی بودند فولیکول بزرگ‌تری (مسن) داشتند و نسبت به گاوهایی که در روزهای ۱۳-۵ (میان) چرخه فحلی بودند (دارای فولیکول جوان) نرخ باروری پایین‌تر (۲۵ درصد) دارند (Wiltbank *et al.*, 2014). اینترفرون T در گاوهایی که فولیکول کوچک‌تر از ۱۲ میلی‌متر دارند کمتر تولید می‌شود که این امر منجر به کاهش باروری در این گاوها می‌شود (Mann *et al.*, 1999). تنش گرمایی سبب به تأخیر افتادن گامه انتخاب فولیکول و طولانی شدن موج فولیکولی می‌شود، بنابراین اثرگذاری‌های نامطلوبی بر کیفیت اووسیت و تولید استروئید خواهد داشت. تنش گرمایی سبب کاهش شدت چیرگی فولیکول برتر و موجب رشد فولیکول‌های کوچک می‌شود. بنابراین دوره چیرگی فولیکول برتر طولانی می‌شود و نشان داده شده است که طولانی شدن این دوره با باروری همبستگی منفی دارد (Wilson *et al.*, 1998).

نتایج این پژوهش نشان داد، روش‌های مبتنی بر پیش‌همزمانی در مقایسه با اوسینک غلظت پروژسترون در زمان تلقیح را کاهش داد. تخم‌ریزی در پاسخ به نخستین تزریق GnRH منجر به شکل‌گیری جسم زرد و افزایش غلظت پروژسترون شده و این اطمینان را فراهم می‌کند که روند رشد و تکامل فولیکول‌ها در حضور مقادیر کافی پروژسترون (کاهش پالس‌های LH) انجام و از شکل‌گیری فولیکول پایدار دارای اووسیت پیر جلوگیری می‌کند (Carvalho *et al.*, 2015; Dirandeh *et al.*, 2015b). کاهش پروژسترون طی گامه رشد فولیکول پیش از تخم‌ریزی منجر به بقای فولیکول، از سرگیری زودرس میوز و بروز میزان بالای مرگ‌ومیر جنینی بین مراحل ۲ و ۱۶ یاخته می‌شود (Inskip, 2004). افزایش غلظت پروژسترون در زمان تلقیح به دلیل نبود پسروی کامل جسم زرد سبب کاهش باروری در گاو شیری می‌شود (Dirandeh *et al.*, 2015). پروژسترون، گیرنده‌های اکسی‌توسین، آنژیوتنسین II و استروژن در رحم را کاهش داده و از این طریق بر جابه‌جایی اسپرم و باروری تأثیر منفی می‌گذارد (Graham & Clarke, 1997). تأخیر در پس‌روی جسم زرد و یا پس‌روی ناقص جسم زرد تأثیر منفی بر تولید استرادیول و پالس‌های LH گذاشته (Bridges & Fortune, 2003) و فرایند طبیعی تخم‌ریزی را با مشکل روبه‌رو می‌کند. پیش‌همزمانی آغاز پروتکل اوسینک را در بسیاری از گاوهایی که نزدیک دای استروس هستند ممکن می‌سازد که این مرحله گامه مطلوبی برای گاوهای شیری است (Vasconcelos *et al.*, 1999). تنش گرمایی سبب کاهش دامنه و بسامد پالس‌های LH می‌شود که به دلیل اثر غیرمستقیم کاهش مصرف خوراک و همچنین افزایش کورتیزول است. کاهش LH در آغاز دوره فحلی، رشد و تکامل جسم زرد و در پی آن آبستنی را تحت تأثیر قرار خواهد داد (Derensis & Scaramuzzi, 2003). استفاده از روش‌های همزمانی فحلی از طولانی شدن دوره غالبیت فولیکول جلوگیری می‌کند، همچنین با افزایش پروژسترون در زمان رشد و نمو فولیکولی سبب افزایش کیفیت فولیکول تخم‌ریزی‌کننده می‌شود که هر دو مورد سبب افزایش درصد آبستنی می‌شود (Dirandeh *et al.*, 2015b).

در هر فحلی و در زمستان ۸/۶ پرش در هر فحلی داشتند. تغییرهایی که در رفتارهای فحلی گاوها در اثر تنش گرمایی رخ می‌دهد احتمال تشخیص فحلی توسط فحل‌یاب را کاهش می‌دهد (Hansen, 2011). به همین دلیل استفاده از روش‌های همزمانی فحلی به دلیل کاهش وابستگی به فحل یابی سبب افزایش باروری می‌شود.

تنش گرمایی می‌تواند به یاخته‌های سوماتیک یعنی یاخته‌های تیکا و گرانولوزا آسیب وارد کند. همچنین رشد فولیکول برتر در غلظت‌های کم LH سبب ترشح کمتر استرادیول توسط فولیکول برتر و بروز ضعیف فحلی، افزایش پروژسترون در زمان تلقیح و کاهش باروری می‌شود (Derensis & Scaramuzzi, 2003; Wilson *et al.*, 1998). استفاده از روش‌های همزمانی فحلی مبتنی بر پیش همزمانی سبب افزایش تخم‌ریزی در پاسخ به GnRH اول اوسینک شده و در پی آن یک موج جدید فولیکولی آغاز به رشد می‌کند که همین امر سبب جوان بودن فولیکول تخم‌ریزی‌کننده می‌شود. همچنین با تأثیر بر رشد جسم زرد سبب افزایش پس‌روی جسم زرد در پاسخ به تزریق PGF می‌شود که تأثیر مثبت بر افزایش درصد آبستنی دارد (Dirandeh *et al.*, 2015b).

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد، استفاده از پروتکل‌های پیش همزمانی در مقایسه با اوسینک تنها، به دلیل منظم کردن چرخه فحلی و قرار دادن گاوها در گامه‌ای مطلوب از چرخه فحلی و افزایش غلظت پروژسترون پس از تلقیح سبب افزایش باروری شد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری و بر اساس طرح پژوهشی شماره ۰۳-۱۳۹۳-۰۵ در شرکت شیر و گوشت مهدشت ساری انجام شد.

در این پژوهش درصد گیرایی در روزهای ۳۲ و ۶۰ پس از تلقیح در گروه‌هایی که پیش از آغاز اوسینک پیش همزمانی انجام شده بود نسبت به اوسینک بیشتر بود. بزرگ‌ترین محدودیت پیش روی برنامه اوسینک پاسخ‌های همزمانی متفاوت این برنامه است به‌گونه‌ای که بین ۱۰ تا ۳۰ درصد دام‌هایی که با این روش همزمان شدند در پاسخ به آخرین تزریق GnRH همزمان نمی‌شوند (Dirandeh *et al.*, 2015b). یکی از دلایل پایین بودن درصد آبستنی به ازای تلقیح در برنامه‌های اوسینک، نبود شناخت وضعیت تخمدان و آغاز برنامه‌های پیش‌همزمانی/همزمانی در مراحل تصادفی چرخه فحلی است. آغاز برنامه‌های همزمانی در مراحل تصادفی چرخه فحلی ممکن است موجب کاهش نرخ آبستنی شود (Vasconcelos *et al.*, 1999). نشان داده شده است، موفقیت پروتکل اوسینک تحت تأثیر مرحله چرخه طبیعی فحلی در زمان تزریق GnRH اول قرار می‌گیرد (Dirandeh, 2014). مراحل آغازین گامه لوتیال (روزهای ۵ تا ۱۲ چرخه فحلی) بهترین زمان برای آغاز پروتکل اوسینک است (Moreira *et al.*, 2001). مشخص شد، پیش‌همزمانی موجب افزایش قرار گرفتن چرخه فحلی شمار بیشتری از گاوها در اوایل مرحله دای استروس پیش از آغاز پروتکل اوسینک می‌شود که بهترین زمان برای آغاز اوسینک است (Carvalho *et al.*, 2015). پیش‌همزمانی چرخه‌های فحلی توسط PGF2 α پیش از آغاز برنامه‌های همزمانی اصلی می‌تواند باعث افزایش نرخ تخم‌ریزی در پاسخ به نخستین تزریق GnRH شود (Masoum *et al.*, 2017). افزایش نرخ آبستنی به ازای تلقیح در اثر کاربرد پیش همزمانی به دلیل قرار گرفتن دام‌ها در اوایل و میانه چرخه فحلی در هنگام آغاز برنامه‌های همزمانی اصلی است (Galvao *et al.*, 2007). تنش گرمایی سبب کاهش مدت و شدت فحلی می‌شود (Hansen & Aréchiga, 1999). گاوهای ماده هلشتاین در تابستان ۴/۵ پرش

REFERENCES

- Bello, N. M., Steibel, J. P. & Pursley, J. R. (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.

2. Bridges, P. J. & Fortune, J. E. (2003). Characteristics of developing prolonged dominant follicles in cattle. *Domestic Animal Endocrinology*, 25, 199-214.
3. Cartmill, J. A., El-Zarkouny, S. Z., Hensley, B. A., Lamb, G. C. & Stevenson, J. S. (2001a). Stage of Cycle, Incidence, and Timing of Ovulation, and Pregnancy Rates in Dairy Cattle after Three Timed Breeding Protocols. *Journal of Dairy Science*, 84, 1051-1059.
4. Cartmill, J. A., El-Zarkouny, S. Z., Hensley, B. A., Lamb, G. C. & Stevenson, J. S. (2001b). Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. *Journal of Dairy Science*, (11384031), 1051-1059.
5. Caraviello, D., Weigel, K., Fricke, P., Wiltbank, M., Florent, M., Cook, N., Nordlund, K., Zwald, N. & Rawson, C. (2006). Survey of management practices on reproductive performance of dairy cattle on large US commercial farms. *Journal of Dairy Science*, 89(12), 4723-4735.
6. Carvalho, P. D., Souza, A. H., Amundson, M. C., Hackbart, K. S., Fuenzalida, M. J. & Herlihy, M. M., *et al.* (2014). Relationships between fertility and postpartum changes in body condition and body weight in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97, 3666-83.
7. Carvalho, P., Wiltbank, M. & Fricke, P. (2015). Manipulation of progesterone to increase ovulatory response to the first GnRH treatment of an Ovsynch protocol in lactating dairy cows receiving first timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*, 98, 8800-13.
8. Chebel, R. C., Santos, J. E. P., Cerri, R. L., Rutigliano, H. M. & Bruno, R. G. (2006). Reproduction in dairy cows following progesterone inserts presynchronization and resynchronization protocols. *Journal of Dairy Science*, 89, 4205-4219.
9. Colazo, M. G., Behrouzi, A., Ambrose, D. J. & Mapletoft, R. J. (2015). Diameter of the ovulatory follicle at timed artificial insemination as a predictor of pregnancy status in lactating dairy cows subjected to GnRH-based protocols. *Theriogenology*, 84, 377-383.
10. De Rensis, F. & Scaramuzzi, R. J. (2003). Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow-a review. *Theriogenology* 60, 1139-1151.
11. Dirandeh, E. (2014). Starting Ovsynch protocol on day 6 of first postpartum estrous cycle increased fertility in dairy cows by affecting ovarian response during heat stress. *Animal Reproduction Science*, 149, 135-140.
12. Dirandeh, E., Rezaei Roodbari, A. & Colazo, M. G. (2015a). Double-Ovsynch, compared with presynch with or without GnRH, improves fertility in heat-stressed lactating dairy cows. *Theriogenology*, 83, 438-443.
13. Dirandeh, E., Rezaei Roodbari, A., Gholizadeh, M., Deldar, H., Masoumi, R., Kazemifard, M. & Colazo, M. G. (2015b). Administration of prostaglandin F2 α 14 d before initiating a G6G or a G7G timed-AI protocol increased circulating progesterone prior to AI and reduced pregnancy loss in multiparous Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 98, 5414-5421.
14. Galvao, K., Santos, J., Cerri, R., Chebel, R., Rutigliano, H., Bruno, R. & Bicalho, R. (2007). Evaluation of methods of resynchronization for insemination in cows of unknown pregnancy status. *Journal of Dairy Science*, 90, 4240-4252.
15. Graham, J. D. & Clarke, C. L. (1997). Physiological action of progesterone in target tissues. *Endocrinology Review*, 18, 502-519.
16. Hansen, P. J. & Aréchiga, C. F. (1999). Strategies for Managing Reproduction in the Heat-Stressed Dairy Cow. *Journal of Animal Science*, 77, 36-50.
17. Hansen, P. J. (2011). Managing reproduction during heat stress in dairy cows. *Dairy Production and Medicine*, 153-63.
18. Heidari, F., Dirandeh, E., Ansari Pirsaraei, Z. & Colazo, M. G. (2017). Modifications of the G6G timed-AI protocol improved pregnancy per AI and reduced pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal*, 11, 2002-2009.
19. Inskip, E. K. (2004). Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. *Journal of Animal Science*, 82, E24-E39.
20. Mann, G. E., Lamming, G. E., Robinson, R. S. & Wathes, D. C. (1999). The regulation of interferon- τ production and uterine hormone progesterone and embryonic survival in cows E37 receptors during early pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility*, 54, 317-328.
21. Masoumi, R., Badieli, A., Zare, A., Kohram, H., Dirandeh, E. & Colazo, M. G. (2017). A short presynchronization with PGF2 α and GnRH improves ovarian response and fertility in lactating Holstein cows subjected to a Heatsynch protocol. *Annals of Animal Science*, 17, 169-177.
22. Moreira, F., de la Sota, R. L., Diaz, T. & Thatcher, W. W. (2000). Effect of day of the estrous cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *Journal of Animal Science*, 78, 1568-1576.
23. Moreira, F., Orlandi, C., Risco, C. A., Mattos, R., Lopes, F. & Thatcher, W. W. (2001). Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 84, 1646-1659.

24. Pursley, J., Mee, M. & Wiltbank, M. (1995). Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 [alpha] and GnRH. *Theriogenology*, 44(7), 915-923.
25. Pursley, J. R., Kosorok, M. R. & Wiltbank, M. C. (1997). Reproductive Management of Lactating Dairy Cows Using Synchronization of Ovulation. *Journal of Dairy Science*, 80(2), 301-306.
26. Souza, A. H., Gumen, A., Silva, E. P., Cunha, A. P., Guenther, J. N., Peto, C. M. *et al.* (2007). Supplementation with estradiol-17 beta before the last gonadotropin-releasing hormone injection of the Ovsynch protocol in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 4623-34.
27. Vasconcelos, J. L. M., Silcox, R. W., Rosa, G. J. M., Pursley, J. R. & Wiltbank, M. C. (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.
28. Wilson, S. J., Kirby, C. J., Koenigsfield, A. T., Keisler, D. H. & Lucy, M. C. (1998). Effects of controlled heat stress on ovarian function of dairy cattle. 2. Heifers. *Journal of Dairy Science*, 81, 2132-2136.
29. Wiltbank, M. C. & Pursley, R. J. (2014). The cow as an induced ovulator, Timed AI after synchronization of ovulation. *Theriogenology*, 81, 170-185.