Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Ruminant Research

Print ISSN: 2345 - 4261
Online ISSN: 2345 - 4253

Improvement of double Ovsynch protocol by progesterone supplement in postpartum Holstein dairy cows

Mahdi Ansari[1*], Mohammad Ali Eslami[2], Mehdi Poorhamdollah[3]

[1]Department of Animal and Poultry Physiology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, Email: m.ansari@gau.ac.ir, m.ansari9980@gmail.com

[2] Domgostan-e kavir CO., Yazd. Iran, Email: mohammadalieslami6170@gmail.com

[3] Department of Animal Science, College of Agriculture and Natural Resources, The University of Tehran, Karaj, Iran, Email: poorhamdollah@ut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 06/19/2023
Revised: 08/15/2023
Accepted: 08/16/2023

Keywords:
Progesterone
Supplement
Ovsynch
Dairy cows
Estrous cycle
Corpus luteum

ABSTRACT

Background and Objectives: Using synchronization protocols is a primary management tool that improves the fertility of high-producing dairy cows. However, being on different days of the estrous cycle results in various responses to these programs. Double Ovsynch, but not Presynch-Ovsynch, program is recommended for anovular cows due to having additional GnRH injections. However, not all cows have corpus luteum (CL) at the start of the second Ovsynch and ovulatory follicles would grow at a low progesterone microenvironment, resulting in low-quality oocytes and embryos. The current study was conducted to identify these cows and assess the effectiveness of a progesterone supplement on the fertility of postpartum dairy cows.

Materials and Methods: A total of 318 healthy postpartum dairy cows were used in the current study. Data of parity and milk yield (1st and 2nd months) were recorded for all cows. Briefly, on 40 DIM, cows received GnRH on d 40, $PGF_2\alpha$ on d 47, GnRH on d 50 and checked for the presence of CL on d 57 at the start of the 2nd Ovsynch. Cows without CL were divided into control (DO-CL, continuing the routine program), and DO+CIDR (including one progesterone supplement). Those bearing CL were considered as DO-CL receiving routine injections. All cows were checked for pregnancy via ultrasonography on d 32, 60, and 120 post-AI, and pregnancy per artificial insemination (P/AI) and pregnancy loss rate were calculated. Data were analyzed using the GLIMMIX Procedure of SAS software.

Results: Cows bearing CL at the start of TAI Ovsynch, compared to DO-CL and DO-CIDR groups, had significantly higher P/AI on d 32 (50.84 vs. 29.27 and 41.46%, P=0.03), 60 (45.76 vs. 21.95 and 36.58%, P=0.01), and 120 (43.22 vs. 21.95 and 34.14%, P=0.03) post-AI. Although cows with CL at the start of the TAI program had 15% lower pregnancy loss than the control group, treatments did not significantly affect this trait in the 2nd (P=0.31) and 3rd-4th month (P= 0.75). Parity (primiparous vs. multiparous) had a significant effect on P/AI on d 32 (P=0.04) but not on d 60 (P=0.17) and 120 (P=0.28) post-AI. The effect of milk yield (M≥ 36 vs. M<36) on

P/AI at d 32 (P=0.003), 60 (P=0.001), and 120 (P=0.001) was significant. Dairy cows in M< 36 group compared to M≥36 had significantly higher P/AI on d 32 (52.96 vs. 35.63%), 60 (46.62 vs 28.11%), and 120 (44.41 vs. 26.08%) post-AI. The effects of treatment × parity (P=0.41) or treatment × milk yield (P=0.45) interactions were insignificant.

Conclusion: In the current study ovaries of dairy cows were exsamined at the start of TAI-Ovsynch and those not bearing CL received a progesterone supplement. These cows had an improvement in their P/AI rate compared to their counterparts in the control group. Therefore, identifying cows not bearing CL and applying progesterone is highly recommended. However, using a CIDR may not be sufficient and two CIDRs should be applied to achieve optimum results.

Cite this article: Ansari, M., Eslami, M.A., Poorhamdollah, M. (2023). Improvement of double Ovsynch protocol by progesterone supplement in postpartum Holstein dairy cows. *Journal of Ruminant Research*, 11(3), 117-130.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejrr.2023.21468.1903
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

پژوهش در نشخوارکنندگان
شاپا چاپی: ۲۳۴۵-۴۲۶۱
شاپا الکترونیکی: ۲۳۴۵-۴۲۵۳

بهبود کارایی برنامه دابل آوسینک با استفاده از مکمل پروژسترونی در گاوهای شیری هلشتاین پس از زایش

مهدی انصاری[1*]، محمدعلی اسلامی[2]، مهدی پورحمداله[3]

[1] گروه فیزیولوژی دام و طیور، دانشکده علوم دامی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران، رایانامه: m.ansari@gau.ac.ir, m.ansari9980@gmail.com

[2] شرکت دام گستران کویر، یزد، ایران، رایانامه: mohammadalieslami6170@gmail.com

[3] گروه علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، رایانامه: poorhamdollah@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۲۹
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۵/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۲۵

واژه‌های کلیدی:
مکمل پروژسترون
آوسینک
گاو شیری
چرخه فحلی
جسم زرد

چکیده

سابقه و هدف: استفاده از برنامه‌های تولیدمثلی همزمان‌سازی یکی از ابزارهای مدیریتی بهبود باروری گاوهای شیری پرتولید است. بااین‌وجود، حضور دام‌ها در روزهای مختلف چرخه فحلی سبب پاسخ‌دهی متفاوت به این برنامه‌ها می‌شود. برنامه دابل آوسینک با داشتن تزریق GnRH اضافی نسبت به پری‌سینک آوسینک برای گاوهای غیرتخمک‌ریز نیز مناسب گزارش‌شده است، اما همه دام‌ها در زمان شروع آوسینک دوم جسم زرد فعال ندارند و فولیکول تخمک‌ریز در ریزمحیط با غلظت پایین پروژسترون رشد می‌کند که باعث کاهش کیفیت اووسیت و رویان می‌شود. مطالعه حاضر با هدف شناسایی دام‌های فاقد جسم زرد و بررسی اثر استفاده از مکمل پروژسترون بر باروری گاوهای شیری پس از زایش انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از ۳۱۸ رأس گاو شیری سالم پس زایش استفاده شد. اطلاعات مربوط به‌نوبت زایش و نیز تولید شیر ماه اول و دوم پس از زایش ثبت شد. به‌طور خلاصه دام‌ها روز ۴۰ پس از زایش GnRH اول، هفت روز بعد $PGF_2\alpha$، سه روز بعدازآن دومین GnRH و هفت روز بعد یعنی از روز ۵۷ پس از زایش وارد آوسینک دوم شده و تخمدان‌هایشان با استفاده از دستگاه اولترا سوند برای حضور یا نبود جسم زرد بررسی شدند. گاوهای فاقد جسم زرد به ۲ گروه تقسیم شدند گروه اول (گروه شاهد، DO-CL)، ادامه برنامه دابل آوسینک را دریافت کردند. گروه دوم (DO+CIDR)، مکمل پروژسترونی (سیدر) را به مدت ۷ روز دریافت کردند و دام‌هایی که دارای جسم زرد بودند (DO+CL) ادامه برنامه دابل آوسینک را دریافت کردند. همه گاوها ۳۲، ۶۰ و ۱۲۰ روز پس از تلقیح برای تشخیص و تائید آبستنی با استفاده از دستگاه التراسوند مورد بازبینی قرار گرفتند. درصد گیرایی و سقط ماه دوم و ماه‌های سوم-چهارم محاسبه گردید. واکاوی داده‌ها با استفاده از رویه GLIMMIX نرم‌افزار SAS صورت گرفت.

یافته‌ها: گاوهای دارای جسم زرد در زمان آغاز آوسینک دوم نسبت به گروه شاهد و نیز گروه

DO+CIDR درصد گیرایی روز ۳۲ (۵۰/۸۴ در برابر ۲۹/۲۷ و ۴۱/۴۶ درصد، ۰/۰۳ =P)، ۶۰ (۴۵/۷۶ در برابر ۲۱/۹۵ و ۳۶/۵۸ درصد، ۰/۰۱ = P) و ۱۲۰ (۴۳/۲۲ در برابر ۲۱/۹۵ و ۳۴/۱۴ درصد، ۰/۰۳ = P)، بالاتری داشتند. با وجود کاهش ۱۵ درصدی درصد سقط ماه دوم در گروه DO+CL نسبت به گروه شاهد (DO-CL)، این صفت در ماه دوم (۰/۳۱ = P) و سوم-چهارم (۰/۷۵ = P) بین تیمارهای آزمایشی تفاوتی نداشت. اثر نوبت زایش بر درصد گیرایی گاوها در روز ۳۲ (۰/۰۴ = P)، معنی‌دار ولی بر درصد گیرایی روز ۶۰ (۰/۱۷ = P) و ۱۲۰ (۰/۲۸ = P) معنی‌دار نبود. اثر تولید شیر بر درصد گیرایی روز ۳۲ (۰/۰۰۳ = P)، ۶۰ (۰/۰۰۱ = P) و ۱۲۰ (۰/۰۰۱ =P) معنی‌دار بود. گاوهای با تولید شیر کمتر از میانگین گله (۳۶ >M) نسبت به گاوهای بالاتر از میانگین گله (۳۶ ≤ M) درصد گیرایی روز ۳۲ (۵۲/۹۶ در برابر ۳۵/۶۳ درصد)، ۶۰ (۴۶/۶۲ در برابر ۲۸/۱۱ درصد) و ۱۲۰ (۴۴/۴۱ در برابر ۲۶/۰۸ درصد) بالاتری داشتند. اثر متقابل تیمار در نوبت زایش (۰/۴۱ = P) و تیمار در شیر تولیدی (۰/۴۵ = P) معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه تخمدان‌ها در زمان شروع آوسینک دوم برنامه دابل آوسینک بررسی شد و دام‌های فاقد جسم زرد مکمل پروژسترونی دریافت کردند نتایج باروری حاکی از بهبود درصد گیرایی در گاوهای دریافت‌کننده مکمل پروژسترون نسبت به گروه شاهد بود؛ بنابراین، توصیه می‌شود در صورت استفاده از برنامه‌های هم‌زمان‌سازی برای گاوهای پس از زایش، دام‌های فاقد جسم زرد در زمان شروع آوسینک برنامه تلقیح زمان‌بندی‌شده شناسایی و از مکمل پروژسترونی استفاده شود. به‌هرحال، برای دستیابی به نتایج بهینه استفاده هم‌زمان از دو سیدر ضروری به نظر می‌رسد.

استناد: انصاری، م.، اسلامی، م.ع.، پورحمداله، م. (۱۴۰۲).بهبود کارایی برنامه دابل آوسینک با استفاده از مکمل پروژسترونی در گاوهای شیری هلشتاین پس از زایش. *پژوهش در نشخوارکنندگان*، ۱۱(۳)، ۱۳۰-۱۱۷.

DOI: 10.22069/ejrr.2023.21468.1903

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

برنامه‌های همزمان‌سازی چرخه فحلی و تلقیح زمان‌بندی‌شده (TAI) در سراسر دنیا برای کنترل تولیدمثل گله‌های شیری استفاده می‌شود. برنامه‌های اخیر با بالا نگهداشتن نرخ سرویس بدون کاهش نرخ P/AI بعد از مشاهده فحلی یا تلقیح طبیعی نرخ آبستنی را بهبود داده‌اند (Lima و همکاران، ۲۰۱۲.، Santoz و همکاران، ۲۰۰۹). بااین‌وجود، منافع بالقوه برنامه‌های TAI به افزایش نرخ تلقیح و تسهیل مدیریت محدود نیست و استفاده از این برنامه‌ها در مقایسه با برنامه‌های سنتی مدیریت تولیدمثلی، ابزاری برای بهبود باروری گاوهای کم بارور و افزایش نرخ P/AI است (Bisinotto و همکاران، ۲۰۱۳).

برنامه‌های سنتی مدیریت چرخه فحلی (استفاده از پروستاگلاندین‌ها یا پروژسترون درمانی ۱۲ روزه) برای بهینه‌سازی زمان تلقیح و نرخ آبستنی به تشخیص فحلی وابسته هستند؛ بنابراین، برنامه‌های همزمان‌سازی تخمک‌ریزی برای تسهیل استفاده از TAI بدون صرف هزینه مالی و کارگری برای تشخیص فحلی ابداع شدند (Crowe و همکاران، ۲۰۱۸). برنامه آوسینک برای اولین بار در اواسط دهه ۱۹۹۰ ابداع شد (Pursley و همکاران، ۱۹۹۵). باوجوداینکه نتایج اولیه این برنامه بسیار امیدوارکننده بود، اما نتایج باروری حاصل از تلقیح گاوها با استفاده از این روش و پس از تشخیص فحلی تفاوت معنی‌داری نداشت (۲۷ در برابر ۳۰/۵ درصد) (Burke و همکاران، ۱۹۹۶). به‌طورکلی، وقتی آوسینک در مزارع تجاری گاو شیری انجام می‌شود، گاوها در یک گامه تصادفی از چرخه فحلی هستند. برای مثال، تجویز GnRH در روزهای ۴-۱ چرخه فحلی به‌ندرت سبب تخمک‌ریزی می‌شود، در حالیکه تجویز GnRH در روزهای ۹-۵ تقریباً در همه گاوها سبب تخمک ریزی خواهد شد. این امر سبب ابداع روش‌های پیش همزمانی شد تا تعداد بیشینه‌ای از گاوها در گامه مناسبی از چرخه فحلی در زمان شروع آوسینک قرار گیرند (Wiltbank and Pursley، ۲۰۱۴).

یکی از برنامه‌های پیش همزمانی که برپایه تجویز $PGF_2\alpha$ توسعه یافت، برنامه پری سینک-آوسینک بود (Moreira و همکاران، ۲۰۰۱). در این برنامه دو تزریق $PGF_2\alpha$ به فاصله ۱۴ روز از یکدیگر انجام‌گرفته و برنامه آوسینک به فاصله ۱۴-۱۰ روز از $PGF_2\alpha$ دوم آغاز می‌شود. مقایسه برنامه آوسینک در برابر پری سینک آوسینک افزایش P/AI (۴۲/۸ در برابر ۲۹/۴ درصد) را نشان داد ولی این افزایش محدود به گاوهای دارای چرخه طبیعی بود (Moreira و همکاران، ۲۰۰۱)؛ بنابراین، به دلیل اینکه درصد گاوهای غیرتخمک‌ریز در اوایل شیردهی بالاتر است، راهکارهای دیگری برای القای تخمک‌ریزی در طی پیش همزمانی بسیار کارامدتر خواهد بود. علاوه براین، برنامه پری سینک آوسینک نمی‌تواند گاوها را با دقت بالایی در گامه مناسبی از چرخه فحلی در زمان شروع آوسینک قرار دهد زیرا سبب القای فحلی در زمان متغیری پس از تجویز $PGF_2\alpha$ می‌شود (Giordano و همکاران، ۲۰۱۶)؛ بنابراین زمان شروع آوسینک در گامه مناسبی از چرخی فحلی (روز ۸-۶) نخواهد بود. برای بهبود پاسخ به GnRH در برنامه آوسینک، برنامه دابل آوسینک (Double Ovsynch) ابداع شد و مقایسه دابل آوسینک با پری‌سینک آوسینک نشان داد که تخمک‌ریزی در پاسخ به اولین GnRH در دابل آوسینک نسبت به پری‌سینک آوسینک بالاتر (۸۰ درصد در برابر ۶۹/۹ درصد) بود (Cardoso Consentini و همکاران، ۲۰۲۱). به هرحال مطالعات بعدی برای بهبود برنامه دابل آوسینک و افزایش کارایی این برنامه صورت گرفت. برای مثال، درصد گاوهایی که پس از تزریق $PGF_2\alpha$ آوسینک پس‌روی کامل جسم زرد ندارند از ۳۰-۵ درصد متغیر است (Wiltbank و همکاران، ۲۰۱۲). برنامه دابل

آوسینک حتی در شرایط تنش حرارتی نیز توانست پاسخ تخمدانی بهتر و درصد گیرایی بالاتری در مقایسه با پری‌سینک آوسینک از خود نشان دهد (Dirandeh و همکاران، ۲۰۱۵). بااین‌وجود تلاش برای بهبود کارایی برنامه دابل آوسینک ادامه داشته و یکی از رویکردهای مهم تلاش برای کاهش غلظت پروژسترون در زمان تلقیح بود. پس‌روی ناقص جسم زرد سبب افزایش غلظت پروژسترون در زمان تلقیح و کاهش درصد باروری می‌شود. سازوکارهای فیزیولوژیکی متعددی سبب کاهش باروری در شرایط پس‌روی ناقص جسم زرد می‌شود. اول اینکه پروژسترون ممکن است با تغییر در شرایط رحم و اویداکت سبب اختلال در جابجایی اسپرم و تخمک می‌شود (Hunter، ۲۰۰۵). دوم، افزودن پروژسترون به محیط کشت IVF نرخ تولید بلاستوسیست را کاهش داده است که حاکی از اثرات مستقیم پروژسترون بر توسعه و تکوین رویان است. اثری که با افزودن مهارکننده گیرنده پروژسترون به محیط برطرف شد که نشان‌دهنده نقش مهم گیرنده پروژسترون در این عمل است (Silva and Knight، ۲۰۰۰). درنهایت افزایش اندک در غلظت پروژسترون در زمان تلقیح سبب کاهش ضخامت اندومتریوم می‌شود که ممکن است سبب کاهش توسعه رویان شود (Souza و همکاران، ۲۰۱۱). یک مطالعه فراتحلیل با مطالعه ۵۳۵۶ رأس گاو شیری نشان داده است که استفاده از تزریق اضافی $PGF_2\alpha$، سبب یک افزایش ۱۱/۶ درصدی در پس‌روی کامل جسم زرد (۹۵/۱ در برابر ۸۳/۵ درصد) و نیز بهبود ۴/۶ درصدی در نرخ P/AI (۳۸/۶ در برابر ۳۴/۰ درصد) می‌شود (Borchardt و همکاران، ۲۰۱۸).

همان‌طور که غلظت بالای پروژسترون در زمان تلقیح به‌عنوان یک عامل منفی در باروری گاو مطرح است، غلظت پایین‌تر آن در زمان رشد فولیکول تخمک‌ریز نیز مطلوب نیست. مطالعات اخیر نشان داده است که احتمال آبستن شدن گاوهای فاقد جسم زرد در زمان شرع برنامه TAI ۳۰ درصد کمتر از هم گله‌ای‌های خودشان است که در زمان شروع برنامه همزمان‌سازی دارای جسم زرد هستند (Bisinotto و همکاران، ۲۰۱۰). جالب اینجاست که این کاهش در باروری به وضعیت چرخه دام بستگی ندارد؛ به‌عبارت‌دیگر، گاوهایی که تخمک‌ریزی پس از زایش را از سر می‌گیرند اما در زمان شروع برنامه همزمان سازی فاقد جسم زرد فعال هستند (گامه‌های پرواستروس، استروس یا مت استروس) هستند نرخ P/AI مشابهی با گاوهایی غیرتخمک‌ریز دارند و P/AI در هر دو گروه نسبت به گاوهای دارای استروس کمتر است. نبود جسم زرد در زمان تزریق اولین GnRH برنامه TAI معرف گروهی از گاوهای کم بارور است که تقریباً ۳۰ درصد از کل گاوهایی را تشکیل می‌دهند که دوباره تلقیح می‌شوند. احتمالاً این کاهش در باروری گاوهایی تحت برنامه TAI در غیاب جسم زرد در شروع برنامه TAI با غلظت پروژسترون پایین در زمان رشد فولیکول تخمک‌ریز ارتباط داشته باشد. غلظت پایین پروژسترون در طی رشد فولیکول تخمک‌ریز با فرآیندهای برقراری و حفظ آبستنی ارتباط دارد (Bisinotto و همکاران، ۲۰۱۳).

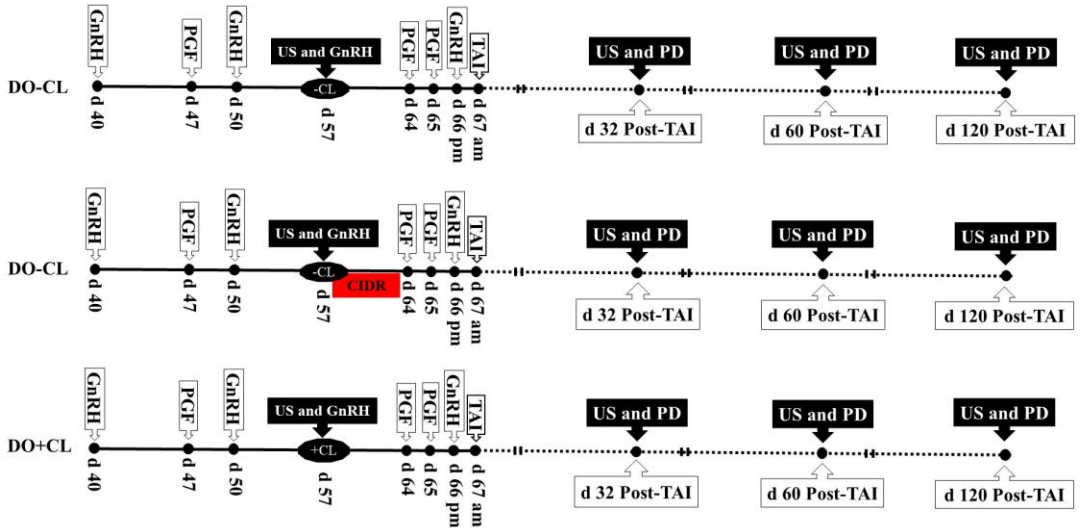
هدف از انجام این پژوهش تشخیص گاوهای دارای جسم زرد یا فاقد آن در زمان شروع برنامه آوسینک دوم برنامه دابل آوسینک و بررسی اثر استفاده از مکمل پروژسترونی در گروه فاقد جسم زرد بر درصد گیرایی و درصد سقط ماه دوم و سوم-چهارم آبستنی بود.

مواد و روش‌ها

زمان اجرا و پرورش حیوانات: این پژوهش به مدت ۹ ماه از شهریور سال ۱۴۰۰ تا خرداد سال ۱۴۰۱ در شرکت دام گستران کویر یزد واقع در تفت، یزد انجام شد. گاوها پس از زایش به مدت ۳ روز در زایشگاه نگهداری شده و پس‌ازآن به بهاربند دام‌های تازه‌زا منتقل شدند. وضعیت عمومی دام‌ها به‌صورت روزانه چک شد و در صورت داشتن علائم بیماری درمان مربوطه را دریافت کردند. حیوانات در فضای مسقف دارای فری‌استال نگهداری شده و روزانه سه نوبت به فاصله هشت ساعت (۰۶:۰۰، ۱۴:۰۰ و ۲۲:۰۰) دوشیده شدند. رکورد برداری از شیر به‌صورت ماهیانه صورت گرفت. از میانگین دو رکورد اول گاوها پس از زایش استفاده شد و حیوانات به دو گروه بالاتر یا برابر ($M \geq ۳۶$) و پایین‌تر از میانگین تولید شیر گله ($M < ۳۶$) گروه‌بندی شدند. خوراک‌دهی حیوانات نیز سه نوبت در روز بلافاصله پس از شیردوشی صورت گرفت. جیره غذایی دام به‌صورت کاملاً مخلوط حاوی یونجه و کاه خردشده، سیلاژ ذرت و کنسانتره دارای ذرت، جو، کنجاله سویا و مخلوط مواد معدنی و ویتامینه در اختیار دام‌ها قرار گرفت (NRC, 2001).

طراحی آزمایش: در روز ۴۰ پس از زایش گاوها قبل از ورود به برنامه همزمان سازی برای وضعیت رحم، سرویکس و تخمدان‌ها موردبررسی قرار گرفتند و دام‌های با دستگاه تولیدمثلی سالم (رحم جمع شده، لیزابه شفاف و فاقد کیست تخمدانی) برنامه دابل آوسینک را دریافت کردند. به‌طور خلاصه در روز ۴۰ اولین تزریق GnRH، روز ۴۷ $PGF_2\alpha$ و روز ۵۰ GnRH دوم تزریق شد. به فاصله ۷ روز بعد یعنی در روز ۵۷ دام‌ها GnRH آوسینک دوم (آوسینک TAI) را دریافت کردند و برای حضور یا عدم حضور جسم زرد در سطح تخمدان با استفاده از دستگاه التراسوند (EMP®, Model: V9, China) موردبررسی قرار گرفتند. دام‌هایی که فاقد جسم زرد بودند به‌طور تصادفی به یکی از گروه‌های شاهد (DO-CL، ادامه برنامه دابل آوسینک)، DO+CL (ادامه برنامه دابل آوسینک به همراه مکمل پروژسترونی وتوسیدر®، ابوریحان، ایران) اختصاص داده شدند. دام‌هایی که دارای جسم زرد بودند (DO+CL) ادامه برنامه دابل آوسینک را دریافت کردند. با استفاده از دستگاه التراسوند دام‌ها به ترتیب ۳۲، ۶۰ و ۱۲۰ روز پس از تلقیح برای تشخیص و یا تائید آبستنی بازبینی شدند (نمودار ۱). درصد گیرایی (P/AI) و درصد سقط ماه دوم (تفاوت تعداد دام‌های آبستن در روز ۳۲ و ۶۰ تقسیم بر تعداد دام‌های آبستن در روز ۶۰) و سوم-چهارم (تفاوت تعداد دام‌های آبستن در روز ۱۲۰ و ۶۰ تقسیم بر تعداد دام‌های آبستن در روز ۶۰) نیز محاسبه شد.

آنالیز آماری: همه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزارSAS (9.4) انجام گرفت. متغیرهای با توزیع دوجمله‌ای نظیر درصد گیرایی، تلفات آبستنی با رویه GLIMMIX آنالیز شد. اثرات ثابت شامل تیمار (DO-CL vs. DO+CIDR vs. DO+CL)، شکم زایش (شکم اول در برابر چند شکم)، تولید شیر (میانگین رکورد اول و دوم، $m< ۳۶$ و $m \geq ۳۶$) بود. برهمکنش تیمار در شکم و تیمار در تولید شیر ابتدا به‌عنوان عوامل کووریت وارد معادله مدل شد ولی به دلیل معنی‌دار نبودن حذف گردید. مقایسات میانگین با آزمون توکی و سطح معنی‌داری، ۰/۰۵ درصد در نظر گرفته شد.



نمودار ۱- تغییر در برنامه دابل آوسینک برای همزمان‌سازی چرخه فحلی گاوهای شیری هلشتاین پس از زایش. همه گاوهای آزمایشی در روز ۴۰ پس از زایش به برنامه دابل آوسینک اختصاص داده شدند. در روز ۵۷ پس از زایش بر اساس وضعیت تخمدان به گروه DO-CL (فاقد جسم زرد)، DO+CIDR (فاقد جسم زرد+ مکمل پروژسترونی سیدر به مدت ۷ روز) و DO+CL (دارای جسم زرد) تقسیم شدند. GnRH: هورمون آزادکننده گونادوتروپین، PGF: پروستاگلاندین $F_2\alpha$، CL: جسم زرد، CIDR: رهایش داخلی کنترل‌شده دارو، TAI: تلقیح زمان‌بندی‌شده، US: التراسونوگرافی تخمدان/ رحم، PD: تشخیص آبستنی، am: قبل از ظهر، pm: بعدازظهر.

Figure 1. Modification of double Ovsynch program to synchronize estrous cycle of postpartum Holstein dairy cows. All cows were allocated to double Ovsynch on day 40 postpartum. According to their ovarian status, cows received either DO-CL (without CL), DO+CIDR (progesterone supplement for a 7-d period), or DO+CL (with CL). GnRH: Gonadotropin-releasing hormone, $PGF_2\alpha$: Protaglandine-$F_2\alpha$, CL: Corpus luteum, CIDR: Controlled internal drug release, TAI: Timed artificial insemination, US: Ultrasonography of ovarian/uterus, PD: pregnancy diagnosis, am: before noon, pm: afternoon.

نتایج و بحث

در مطالعه حاضر از برنامه دابل آوسینک به عنوان برنامه پیش‌همزمانی رایج در گاوداری استفاده شد. اثر وجود جسم زرد و مکمل پروژسترونی بر درصد گیرایی گاوهای شیری هلشتاین در جدول ۱ آورده شده است. بودن جسم زرد و استفاده از مکمل پروژسترونی در شروع برنامه آوسینک TAI توانست درصد گیرایی روز ۳۲ را به ترتیب ۲۱/۵۷ درصد (P = ۰/۰۳) و ۱۲/۱۹ درصد (P = ۰/۴۶) نسبت به گروه فاقد جسم زرد بهبود دهد. این اطلاعات نشان می‌دهد که غلظت بهینه پروژسترون طی توسعه فولیکول تخمک‌ریز برای دستیابی به باروری بالا در گاوهای شیری ضروری می‌باشد (Heidari و همکاران، ۲۰۱۷). دستکاری چرخه فحلی گاوها به‌گونه‌ای که آوسینک در گامه پرواستروس یا استروس آغاز شود سبب کاهش قابل‌توجهی در نرخ P/AI شده است (Bisinotto و همکاران، ۲۰۱۰).

غلظت پروژسترون درگاوهای شیری طی اواسط دای استروس بین ۵/۸-۴ نانوگرم در میلی‌لیتر متغیر است (Sarori و همکاران، ۲۰۰۴)؛ که پنج برابر زمانی است که از یک سیدر در گاوهای پر تولید استفاده می‌شود (Cerri و همکاران، ۲۰۰۹). افزایش جریان خون سیاهرگ باب با افزایش زدودگی استروئید توسط کبد، غلظت پروژسترون را در گاوهای شیری کاهش می‌دهد و این رویداد دلیل غلظت پایین پروژسترون در گاوهای پر تولید نسبت به گاوهای کم تولید و غیر شیری معرفی‌شده است (Wiltbank و همکاران، ۲۰۰۶). این نرخ بالای زدودگی، غلظت پایین پروژسترون را درگاوهای پرتولیدی که یک سیدر را دریافت کرده‌اند، توضیح می‌دهد. زمانی که

یک سیدر به گاوهای شیری تجویز می‌شود، مقدار پروژسترون آزادشده توسط سیدر تقریباً ۸۸/۶ میلی‌گرم در روز است. باوجوداینکه غلظت نهایی پروژسترون پلاسما بسته به نوع حیوان متغیر است، در گاوهای شیری استفاده از یک سیدر در روز غلظت پروژسترون پلاسما را تقریباً ۱-۰/۸ نانوگرم در میلی‌لیتر افزایش می‌دهد (Cerri و همکاران، ۲۰۰۹). به نظر می‌رسد افزایش غلظت پروژسترون ناشی از یک سیدر برای بلوغ بهینه اوسیت یا فولیکول طی گامه نهایی قبل از AI ناکافی می‌باشد.

باوجوداینکه این نتایج از اهمیت نقش پروژسترون در بلوغ مناسب فولیکول و زنده‌مانی رویان پرده برمی‌دارد، سازوکار دقیق این رویداد هنوز مشخص نیست. به نظر می‌رسد این حالت شبیه زمانی است که فولیکول تخمک‌ریز در شروع موج فولیکولی اول تجربه می‌کند؛ به‌عبارت‌دیگر، غلظت پایین پروژسترون سبب تسریع رشد فولیکولی موج اول در مقایسه با موج فولیکولی دوم می‌شود (Endo و همکاران، ۲۰۱۲). علاوه براین، گاوهای با غلظت پایین پروژسترون در طی توسعه موج فولیکولی، غلظت LH پلاسما بالاتر، سرعت رشد فولیکولی بیشتر و غلظت IGF-I درون فولیکولی کمتری دارند (Cerri و همکاران، ۲۰۱۱). این تغییرات در رشد فولیکولی و محیط درون فولیکول با کاهش تعداد بلاستومر زنده، کیفیت پایین رویان و افزایش رویان‌های تحلیل یافته در روز ۷ بعد از تلقیح مصنوعی ارتباط دارد (Rivera و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه براین، کاهش غلظت پروژسترون قبل از تخمک ریزی، یک اثر آتی بر عملکرد رحم و چرخه فحلی بعدی دارد. گاوهای با غلظت پایین پروژسترون طی رشد فولیکول تخمک-ریز، $PGF_2\alpha$ زیادی در پاسخ به اکسی‌توسین آزاد می-کنند و رگ‌زایی رحمی و ریخت‌شناسی غدد اندومتریومی متفاوتی دارند (Shaham-Albalancy و همکاران، ۲۰۰۱).

جدول ۱- اثر حضور جسم زرد و مکمل پروژسترون در گاوهای فاقد جسم زرد بر درصد گیرایی و سقط گاوهای شیری هلشتاین پس از زایش

Table 1. Effect of the presence of corpus luteum and progesterone supplement for cows without corpus luteum on conception rate and pregnancy loss of postpartum Holstein dairy cows

صفات Traits	تیمارها[1] Treatments			*P*-value
	DO-CL	DO-CL+CIDR	DO+CL	
گیرایی، درصد (تعداد/تعداد) P/TAI, % (no./no.)				
روز ۳۲ d 32	29.27[b](12/41)	41.46[ab] (17/41)	50.84[a] (120/236)	0.03
روز ۶۰ d 60	21.95[b] (9/41)	36.58[ab] (15/41)	45.76[a] (108/236)	0.01
روز ۱۲۰ d 120	21.95[b] (9/41)	34.14[ab] (14/41)	43.22[a] (102/236)	0.03
سقط، درصد (تعداد/تعداد) Pregnancy loss, % (no./no.)				
ماه دوم آبستنی[2] 2nd Month of pregnancy	25.00 (3/12)	11.76 (2/17)	10.00 (12/120)	0.31
ماه سوم و چهارم آبستنی[3] 3rd-4th Month of pregnancy	0 (0/9)	6.66 (1/15)	5.55 (6/108)	0.75

[1] همه گاوهای شیری سالم در روز ۴۰ پس از زایش وارد برنامه همزمان سازی دابل آوسینک شدند. در زمان شروع آوسینک دوم (روز ۵۷)، گاوهای فاقد جسم زرد به دو گروه DO-CL (ادامه برنامه دابل آوسینک) و DO-CIDR (مکمل پروژسترونی و ادامه برنامه دابل آوسینک) تقسیم شدند. گاوهای دارای جسم زرد (DO-CL) نیز ادامه برنامه دابل آوسینک را دریافت کردند. [a,b] در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف غیرمشترک معنی‌دار هستند.

[2] سقط ماه دوم = (تفاوت تعداد دام‌های آبستن در روز ۶۰ و ۳۲ تقسیم بر تعداد دام‌های آبستن در روز ۳۲)×۱۰۰

[3] سقط ماه سوم-چهارم = (تفاوت تعداد دام‌های آبستن در روز ۱۲۰ و روز ۶۰ تقسیم‌بر تعداد دام‌های آبستن در روز ۶۰) × ۱۰۰

اثـر تولیـد شـیر بـر درصـد گیرایـی روز ۳۲ (P= ۰/۰۰۳)، ۶۰ (P= ۰/۰۰۱) و ۱۲۰ (P= ۰/۰۰۱) معنی‌دار بود. گاوهای با تولید شیر کمتـر از میـانگین گله (m< ۳۶) نسبت به گاوهای بالاتر از میانگین گلـه (m ≥ ۳۶) درصـد گیرایـی روز ۳۲ (۵۲/۹۶ در برابـر ۳۵/۶۳ درصد)، ۶۰ (۴۶/۶۲ در برابـر ۲۸/۱۱ درصـد)، روز ۱۲۰ (۴۴/۴۱ در برابـر ۲۶/۰۸ درصـد) بـالاتری داشتند. اما تولیـد شـیر بـر سـقط مـاه دوم (۱۳/۲۹ در برابر ۲۰/۹۷ درصد به ترتیب برای گاوهای بـا رکـورد پایین‌تر و بالاتر از میانگین گله، P= ۰/۱۸) و ماه سوم- چهارم (۴/۲۹ در برابر ۴/۲۹ برای گاوهـای بـا رکـورد پـایین‌تـر و بـالاتر از میـانگین گلـه، P=۰/۹۹) تـأثیر معنی‌داری نداشت. به نظر می‌رسد گاوهایی بـا تولیـد بالاتر مستعد کـاهش اسـکور بـدنی بیشـتری هسـتند. توازن انرژی منفی اوایل شیردهی اثر مضر بـر کیفیـت فولیکـول/ اووسـیت داشـته و درنتیجـه بـاروری را درگاوهـای شـیری کـاهش مـی‌دهـد (Wiltbank و همکاران، ۲۰۱۶). در گاوهای با پتانسیل ژنتیکی بالاتر برای تولید شیر نسبت به هم گله‌ای‌هـای خودشـان بـا پتانسیل ژنتیکی متوسط، بـه دلیـل افـزایش پاسـخ بـه تحریک بتاآدرنرژیکی و افزایش فعالیت لیپاز حسـاس به هورمون، تجزیه بافت چربی بیشتر اسـت. بـه‌دلیـل لیپولیز سریع، به‌طورمعمول توصیه می‌شود که گاوهای شیری پر تولید نمره وضعیت بـدنی متوسـطی (< 2.5 BCS ≤ 3.0) در آغـاز دوره انتقـال داشـته باشـند کـه باعث می‌شود آن‌ها بسیج ذخایر بدنی کمتـر و غلظـت اسیدهای چرب غیراستریفه (NEFA) و بتاهیدروکسی بوتیرات (BHBA) پـایین‌تـری داشـته باشـند. شـدت تـوازن منفـی انـرژی بـا افـزایش غلظـت، NEFA و BHBA خون مشخص مـی‌شـود کـه تـأثیر منفـی بـر سلامت دام داشته و سبب سرکوب سامانه ایمنی و نیز کیفیـت پـایین فولیکول/اووسـیت و درنتیجـه کـاهش باروری می‌شود (Barletta و همکاران، ۲۰۱۷).

اثر نوبت زایش بر درصـد گیرایـی گاوهـا در روز ۳۲ (P = ۰/۰۴) معنی‌دار ولی بر درصد گیرایی روز ۶۰ (P= ۰/۱۷)، و روز ۱۲۰ (P= ۰/۲۸) تـأثیر معنـی‌داری نداشت. به‌عبارت‌دیگر درصد گیرایی گاوهـای نوبـت زایش اول نسبت به گاوهای چند نوبت زایش در روز ۳۲ (۵۰/۹۳ در برابر ۳۷/۶۶ درصـد) روز ۶۰ (۴۱/۶۹ در برابر ۳۳/۰۴ درصـد) و روز ۱۲۰ (۳۸/۶۹ در برابـر ۳۱/۸۰ درصد) بالاتر بـود. امـا سـقط گاوهـای نوبـت زایش اول در مقایسه با چند نوبت زایـش در مـاه دوم (۲۰/۲۷ در برابـر ۱۳/۹۹ درصـد، P= ۰/۲۹) و مـاه سوم-چهارم (۵/۸۰ در برابـر ۲/۷۷ درصـد، P= ۰/۴۸) آبستنی معنی‌دار نبود. در مطالعات پیشین نیـز احتمـال آبستنی گاوهای جـوان‌تـر نسـبت بـه مسـن‌تـر بـالاتر گزارش‌شده است. اندازه کلـی دسـتگاه تولیـدمثلی در زمان AI با باروری گاوها ارتباط دارد. محققین در یک مطالعه بـا بررسـی انـدازه دسـتگاه تولیـدمثلی متوجـه شدند که درصد بسیار پـایین‌تـری از گاوهـای نوبـت زایـش اول (۴/۷۳ درصـد) رحـم بـزرگ داشـتند در حالیکه در گاوهای مسـن‌تـر ایـن نسـبت بیشـتر بـود (۱۲/۹۴ درصد). گاوهای با رحم بزرگ‌تـر نسـبت بـه گاوهای با رحم متوسط و کوچک بـه ترتیـب ۲۴/۴۱، ۳۸/۶۵ و ۳۴/۲۶ درصـد گیرایـی داشـتند (Young و همکـاران، ۲۰۱۰). بررسـی نتـایج حاصـل از تلقـیح مصنوعی دو پروتکل G6G و دابل آوسینک با بررسـی ۷۸۰۵ تلقیح از ۲۷ فـارم شـرق اسـپانیا نشـان داد کـه تفاوت معنی‌داری بـین پروتکـل‌هـا وجـود نـدارد امـا گاوهای نوبت زایش اول گیرایـی بیشـتری نسـبت بـه گاوهای چند نوبت زایش دریافت‌کننده دابل آوسـینک (۴۴/۳ در برابر ۳۱/۴ درصد) داشتند. محققین پیشـنهاد کردند که برنامـه دابـل آوسـینک بـرای گاوهـای غیـر تخمـک‌ریـز کـارایی بیشـتری دارد و ایـن نسـبت در گاوهای نوبـت زایـش اول بیشـتر اسـت (Astiz and Fargas، ۲۰۱۳).

در مطالعه حاضر گاوهای فاقد جسم زرد در زمان شروع برنامه TAI تلفات آبستنی بیشتری (۲۵٪) نسبت به هم گله‌ای‌های فاقد جسم زرد (۱۱/۷۶ درصد) یا دارای جسم زرد (۱۰ درصد) داشتند (P = ۰/۳۱) (جدول ۱). بررسی ۱۴ مطالعه و ۴۸۷۰ مورد آبستنی نشان داد که ۱۲/۸ درصد آبستنی‌ها در یک بازه ۱۵ روزه از روز ۲۸ تا ۴۲ آبستنی (تقریباً ۰/۸۵ آبستنی در روز) از دست می‌رود؛ بنابراین، تقریباً ۱۲ درصد سقط در ماه دوم برای گاوهای شیری پیش‌بینی می‌شود؛ اما یک واریانس قابل‌توجه ۳/۵ تا ۲۶/۳ درصد بین فارم‌های مختلف وجود دارد (Wiltbank و همکاران، ۲۰۱۶). در اوایل ماه دوم آبستنی، مجاورت بافت آلانتوئیس جنینی با اندومتریوم، سبب چسبندگی و در نهایت اتصال غشاهای مادری و آلانتویس، توسعه کامل جفت و تغذیه رویان تا انتهای این گامه می‌شود. در طی این دوره تغذیه جنینی، یک تغییر حیاتی از تغذیه شیر رحمی از طریق کیسه زرده جنین به تغذیه جفتی کوریوآلانتوئیس صورت می‌گیرد که سراسر آبستنی ادامه می‌یابد. جریان خون رحمی با توسعه سریع رویان و غشاهای همراه افزایش می‌یابد و نقص در توسعه جفت منجر به توسعه ناکافی جنین شده و این جنین‌های ناسالم شناسایی و حذف خواهند شد. عبور موفق از این دوره شامل رشد قابل‌توجه و تمایز سلول‌های جنینی و تروفوبلاست و ارتباط دوطرفه قابل‌توجه بافت‌های رویانی و رحمی است؛ بنابراین، نقص در توسعه رویان در طی این گامه حیاتی سبب سقط می‌شود (Wiltbank و همکاران، ۲۰۱۶). عوامل زیادی نظیر عدم تخمک‌ریزی در انتهای دوره انتظار اختیاری (Santos و همکاران، ۲۰۰۴)، غلظت پایین پروژسترون در طی رشد فولیکول تخمک‌ریز (Wiltbank و همکاران، ۲۰۱۴)، نوبت زایش (چند نوبت زایش ۱۷/۲ درصد، در مقایسه با نوبت زایش اول ۸/۷ درصد) (Santos و همکاران، ۲۰۰۹)، گله (Santos و همکاران، ۲۰۰۹)، تغییر در نمره وضعیت بدنی زایش تا تلقیح (۲۰/۵٪ =≤ ۱، ۱۴/۵٪ =< ۱، ۱۰/۷٪ =بدون تغییر) (Santos و همکاران، ۲۰۰۹)، بیماری‌های رحمی و سایر بیماری‌ها نظیر ورم پستان (Fuenzalida و همکاران، ۲۰۱۵) در سقط ماه دوم نقش دارند. در پژوهش حاضر با توجه به معنی‌دار نبودن اثر نوبت زایش بر نرخ سقط و کنترل سلامتی دام‌ها از نظر ورم پستان و نیز بیماری‌های رحمی قبل از شروع برنامه پیش همزمان‌سازی، به نظر می‌رسد غلظت پایین پروژسترون طی رشد فولیکول تخمک ریز در گروه گاوهای فاقد جسم زرد یکی از دلایل اصلی سقط بالاتر این گروه نسبت به دو گروه دیگر است این فرضیه با کاهش سقط در گروه دارای مکمل پروژسترونی تقویت می‌یابد. از محدودیت‌های این پژوهش شاید به محدوده کمتر عوامل مؤثر بررسی‌شده می‌توان اشاره کرد که در صورت افزایش این عوامل می‌توان با اطمینان بالاتری در مورد عامل یا عوامل تأثیرگذار قضاوت نمود.

در این پژوهش تفاوت معنی‌داری بین سقط ماه سوم–چهارم در بین تیمارهای آزمایشی مشاهده نشد (جدول ۱، P= ۰/۷۵). در ماه سوم و چهارم آبستنی به دلیل افزایش در نیاز تغذیه‌ای جنین در حال رشد، تعداد پلاسنتوم‌ها و اندازه آن‌ها افزایش پیدا می‌کند؛ که برای حمایت از جریان خون، جذب مواد غذایی و رشد جنین در سه ماهه دوم و سوم آبستنی حیاتی است (Peters Laven، ۲۰۰۱). نرخ سقط در این دوره بین ۱ تا ۳ درصد است. عوامل مؤثر در سقط این دوره مطالعه شده است اما آبستنی دوقلو یک عامل مهم در تلفات آبستنی این دوره می‌باشد. به نظر می‌رسد سقط در گاوهای دوقلو آبستن در یک شاخ ۳/۴۵ برابر زمانی است که آبستنی در دو شاخ روی می‌دهد. به‌طور مشابه در گاوهایی گوشتی سقط برای

دوقلو آبستنی در یک شاخ (۵/۸ برابر تک قلو آبستنی) بیشتر از حالتی بود که آبستنی در شاخ‌های مقابل (۲/۱ افزایش تلفات آبستنی نسبت به تک قلو آبستنی) بود (Echterkamp و همکاران، ۲۰۰۷). باوجود انجام مطالعات زیاد، سازوکار تخمک‌ریزی چندتایی که به آبستنی دوقلو منجر می‌شود، هنوز مشخص نشده است؛ اما به نظر می‌رسد غلظت پایین پروژسترون، سبب افزایش غلظت LH و انتخاب بیش از یک فولیکول و در نتیجه تخمک‌ریزی چندتایی می‌شود (Macmillan و همکاران، ۲۰۱۸). اثری که حداقل در مطالعه حاضر دیده نشد زیرا سقط در ماه سوم-چهارم برای گروه فاقد جسم زرد مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه پایش تخمدان‌ها و شناسایی گاوهای فاقد جسم زرد در زمان شروع آوسینک دوم و استفاده از یک مکمل پروژسترونی توانست درصد گیرایی را به‌طور قابل‌توجهی نسبت به گروه مشابه (فاقد جسم زرد و بدون مکمل پروژسترون) افزایش دهد. هرچند برای دستیابی به درصد گیرایی مشابه گاوهای دارای جسم زرد فعال، استفاده از دو مکمل پروژسترونی به‌صورت هم‌زمان توصیه می‌شود. راهکار جایگزین دیگر استفاده از روش‌های پیش هم‌زمان‌سازی است که بتواند نسبت گاوهای دارای جسم زرد را در این گامه از برنامه هم‌زمان‌سازی افزایش دهد.

منابع

Astiz, S., and Fargas, O. 2013. Pregnancy per AI differences between primiparous and multiparous high-yield dairy cows after using Double Ovsynch or G6G synchronization protocols. Theriogenology, 79(7): 1065–1070.

Barletta, R.V., Maturana Filho, M., Carvalh, P.D., Del Valle, T.A., Netto, A.S., Rennó, F.P., Mingoti, R.D., Gandra, J.R., Mourão, G.B., Fricke, P.M., Sartori, R., Madureira, E.H. and Wiltbank, M.C. 2017. Association of changes among body condition score during the transition period with NEFA and BHBA concentrations, milk production, fertility, and health of Holstein cows. Theriogenology, 104(2017): 30–36.

Bisinotto, R.S., Chebel, R.C. and Santos, J.E.P. 2010. Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. Journal of Dairy Science, 93(8): 3578–3587.

Bisinotto, R.S., Ribeiro, E.S., Lima, F.S., Martinez, N., Greco, L.F., Barbosa, L.F.S.P., Bueno, P.P., Scagion, L.F.S., Thatcher, W.W. and Santos, J.E.P. 2013. Targeted progesterone supplementation improves fertility in lactating dairy cows without a corpus luteum at the initiation of the timed artificial insemination protocol. Journal of Dairy Science, 96(4): 2214–2225.

Borchardt, S., Pohl, A., Carvalho, P.D., Fricke, P.M. and Heuwieser, W. 2018. Short communication: Effect of adding a second prostaglandin F2α injection during the Ovsynch protocol on luteal regression and fertility in lactating dairy cows: A meta-analysis. Journal of Dairy Science, 101(9): 8566–8571.

Burke J.M., sal Sota, R.L., de la Risco, C.A., Staples, C.R., Schmitt, E.J. and Thatcher, W.W. 1996. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 79(8): 1385–1393.

Cardoso Consentini, C.E., Wiltbank, M.C. and Sartori, R. 2021. Factors that optimize reproductive efficiency in dairy herds with an emphasis on timed artificial insemination programs. Animals, 11(2): 1–30.

Cerri, R.L.A., Chebel, R.C., Rivera, F., Narciso, C.D., Oliveira, R.A., Amstalden, M., Baez-Sandoval, G.M., Oliveira, L.J., Thatcher, W.W. and Santos, J.E.P. 2011. Concentration of progesterone during the development of the ovulatory follicle: II. Ovarian and uterine

responses. Journal of Dairy Science, 94(7): 3352–3365.
Cerri, R.L.A., Rutigliano, HM., Bruno, R.G.S. and Santos, J.E.P. 2009. Progesterone concentration, follicular development and induction of cyclicity in dairy cows receiving intravaginal progesterone inserts. Animal Reproduction Science, 110(1-2), 56–70.
Crowe, M.A., Hostens, M. and Opsomer, G. 2018. Reproductive management in dairy cows - The future. Irish Veterinary Journal, 71(1): 1–13.
Dirandeh, E., Roodbari, A.R. and Colazo, M.G. 2015. Double-Ovsynch, compared with presynch with or without GnRH, improves fertility in heat-stressed lactating dairy cows. Theriogenology, 83(3): 438–443.
Echternkamp, S.E., Thallman, R.M., Cushman, R.A., Allan, M.F. and Gregory, K.E. 2007. Increased calf production in cattle selected for twin ovulations. Journal of Animal Science, 85(12): 3239–3248.
Endo, N., Nagai, K., Tanaka, T. and Kamomae, H. 2012. Comparison between lactating and non-lactating dairy cows on follicular growth and corpus luteum development, and endocrine patterns of ovarian steroids and luteinizing hormone in the estrous cycles. Animal Reproduction Science, 134(3-4): 112–118.
Fuenzalida, M.J., Fricke, P.M. and Ruegg, P.L. 2015. The association between occurrence and severity of subclinical and clinical mastitis on pregnancies per artificial insemination at first service of Holstein cows. Journal of Dairy Science, 98(6): 3791–3805.
Giordano, J.O., Thomas, M.J., Catucuamba, G., Curler, M.D., Wijma, R., Stangaferro, M.L. and Masello, M. 2016. Effect of extending the interval from Presynch to initiation of Ovsynch in a Presynch-Ovsynch protocol on fertility of timed artificial insemination services in lactating dairy cows. Journal of Dairy Science, 99(1): 746–757.
Heidari, F., Dirandeh, E., Ansari-Pirsaraei Z. and 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(11): 2002–2009.
Hunter, R.H.F. 2005. The Fallopian Tubes in domestic mammals: How vital is their physiological activity? Reproduction Nutrition Development, 45(3): 281–290.
Laven, R.A. and Peters, A.R. 2001. Gross morphometry of the bovine placentome during gestation. Reproduction in Domestic Animals, 36(6): 289–296.
Lima, F.S., Bisinotto, R.S., Ribeiro, E.S., Ayres, H., Greco, L.F., Galvão, K.N., Risco, C.A., Thatcher, W.W. and Santos, J.E.P. 2012. Effect of one or three timed artificial inseminations before natural service on reproductive performance of lactating dairy cows not observed for detection of estrus. Theriogenology, 77(9): 1918–1927.
Macmillan, K., Kastelic, J.P. and Colazo, M.G. 2018. Update on multiple ovulations in dairy cattle. Animals 8(5): 1–12.
Moreira, F., Orlandi, C., Risco, C.A., Mattos, R., Lopes, F. and 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(7): 1646–1659.
Pursley, J.R., Mee, M.O. and Wiltbank, M.C. 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using $PGF_2\alpha$ and GnRH. Theriogenology, 44(7): 915–923.
Rivera, F.A., Mendonça, L.G.D., Lopes, G., Santos, J.E.P., Perez, R.V., Amstalden, M., Correa-Calderón, A. and Chebel, R.C. 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(3): 333–342.
Santos, J.E.P., Rutigliano, H.M. and Filho, M.F.S. 2009. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. Animal Reproduction Science, 110(3-4): 207–221.
Santos, J.E.P., Thatcher, W.W., Chebel, R.C., Cerri, R.L.A. and Galvão, K.N. 2004. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. Animal Reproduction Science, 82–83(2004): 513–535.
Sartori, R., Haughian, J.M., Shaver, R.D., Rosa, G.J.M. and Wiltbank, M.C. 2004. Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating

cows. Journal of Dairy Science, 87(4): 905–920.
Shaham-Albalancy, A., Folman, Y., Kaim, M., Rosenberg, M. and Wolfenson, D. 2001. Delayed effect of low progesterone concentrations on bovine uterine PGF2α secretion in the subsequent oestrous cycle. Reproduction, 122(4): 643–648.
Silva, C.C. and Knight, P.G. 2000. Effects of androgens, progesterone and their antagonists on the developmental competence of *in vitro* matured bovine oocytes. Journal of Reproduction and Fertility, 119(2): 261–269.
Souza, A.H., Silva, E.P.B., Cunha, A.P., Gümen, A., Ayres, H., Brusveen, D.J., Guenther, J.N. and Wiltbank, M.C. 2011. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. Theriogenology, 75(4): 722–733.
Wiltbank, M.C., Baez, G.M., Garcia-Guerra, A., Toledo, M.Z., Monteiro, P.L.J., Melo, L.F., Ochoa, J.C., Santos, J.E.P. and Sartori, R. 2016. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows. Theriogenology 86(1), 239–253.
Wiltbank, M., Lopez, H., Sartori, R., Sangsritavong, S. and Gümen, A. 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. Theriogenology, 65(1): 17–29.
Wiltbank, M.C. and Pursley, J.R. 2014. The cow as an induced ovulator: Timed AI after synchronization of ovulation. Theriogenology, 81(1): 170–185.
Wiltbank, M.C., Souza, A.H., Carvalho, P.D., Bender, R.W. and Nascimento, A.B. 2012. Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. Reproduction, Fertility and Development, 24(1): 238–243.
Wiltbank. M.C., Souza, A.H., Carvalho, P.D., Cunha, A.P., Giordano, J.O., Fricke, P.M., Baez, G.M. and Diskin, M.G. 2014. Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. Animal, 8(s1): 70–81.
Young, C., Di Croce, F.A., Roper, D., Harris, J., Rohrbach, N., Wilkerson, J. and Schrick, F.N. 2010. Effect of reproductive tract size on conception rates in lactating dairy cows utilizing a reproductive tract scoring system. Reproduction, Fertility and Development 23(1), 119-119.