

Siklik ve Asiklik Anöstrüslü İneklerde Ovsynch ve Ovsynch + Cosynch Uygulamalarının Gebelikler Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması

Yavuz NAK* Deniz NAK* Emin KARAKAŞ**

Geliş Tarihi: 09.05.2005

Kabul Tarihi: 30.05.2005

Özet: Bu çalışmanın amacı doğum sonrası kızgınlıkları gözlenemeyen sütçü ineklerde, GnRH + PGF_{2α} + GnRH ve ikinci GnRH uygulamasını izleyen 16. saatte tohumlama (Ovsynch yöntemi), GnRH + PGF_{2α} + GnRH ve ikinci GnRH uygulaması ile aynı anda ve 16 saat sonra olmak üzere çift tohumlama (Cosynch yöntemi + Ovsynch yöntemi) şeklindeki iki farklı hormonal uygulama metodununun ilk tohumlama gebelik oranı üzerine etkilerini karşılaştırmaktır. Laktasyonda bulunan ve kızgınlıkları gözlenemeyen 84 baş sütçü inek tedavi grupları içerisine rasgele olarak dağıtıldı. Grup I (Ovsynch) (N: 41)'deki ineklere, 0. günde 10 µg busereline acetate (GnRH), yedinci günde 25 mg dinoprost trometamine (PGF_{2α} analogu), dokuzuncu günde 10 µg busereline acetate uygulandı ve ikinci GnRH uygulamasını izleyen yaklaşık 16. saatte sun'ı tohumlama yapıldı. Grup II (Ovsynch + Cosynch) (N: 43)'deki ineklere, 0. günde 10 µg busereline acetate (GnRH), yedinci günde 25 mg dinoprost trometamine (PGF_{2α} analogu), dokuzuncu günde 10 µg busereline acetate uygulandı ve ikinci GnRH uygulaması ile aynı anda ve izleyen yaklaşık 16. saatte olmak üzere çift sun'ı tohumlama yapıldı. Gebelikler sun'ı tohumlamaları izleyen 50. günde rektal muayene ile belirlendi.

İlk tohumlama gebelik oranları grup I ve II için sırasıyla % 58.5 ve % 44.1 olarak tespit edildi. İlk tohumlama gebelik oranları açısından grup I ve grup II arasında istatistiksel fark belirlenmedi. İlk tohumlama gebelik oranı grup I'de grup II'ye göre daha fazla olma eğilimindeydi. Bununla birlikte grup II'deki asiklik inek oranı grup I'den daha fazlaydı.

Sonuç olarak grup II'de yapılan çift tohumlama grup I'deki tek tohumlamaya göre ilk tohumlama gebelik oranları üzerine ilave bir katkı yapmadı. Büyük bir olasılıkla ilk tohumlama gebelik oranındaki farklılık grup II'deki asiklik inek oranının grup I'deki asiklik inek oranına göre fazla olmasından kaynaklandı.

Anahtar Kelimeler: Sütçü İnek, anöstrüs, ovsynch, cosynch, çift tohumlama, gebelik.

Comparison Of Effects On Pregnancy Rates Of Ovsynch And Cosynch + Ovsynch Administrations in Cyclic Or Noncyclic Anestrus Cows

Summary: This investigation was carried out in order to compare effect of two different treatment methods on the first service pregnancy rate in postpartum unobserved estrus dairy cows. These methods were GnRH + PGF_{2α} + GnRH and artificial insemination (TAI) at 16th hours after the last GnRH injection (Ovsynch protocol), GnRH + PGF_{2α} + GnRH and double TAI either concurrently and at 16th hours after the second GnRH injection (Cosynch + Ovsynch). A total of 84 unobserved estrus lactating dairy cows were randomly assigned into two groups. Cows in group I (Ovsynch) (N: 41) at days 0, 7 and 9 were treated with 10 µg busereline acetate (GnRH), 25 mg dinoprost trometamine (PGF_{2α} analogue) and 10 µg busereline, respectively, and timed artificial insemination (TAI) occurred approximately at 16th hours after the second GnRH injection. Cows in group II (Ovsynch + Cosynch) (N: 43) at days 0, 7 and 9 were treated with 10mcg Busereline acetate (GnRH), 25mg dinoprost trometamine (PGF_{2α} ana-

* Yard. Doç. Dr., U.Ü. Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Bursa – Türkiye.

** Yard. Doç. Dr., U.Ü. Yenişehir Meslek Yüksek Okulu, Bursa – Türkiye.

logue), 10mcg Busereline, respectively, and double TAI either concurrently or at 16th hours after the last GnRH injection. Pregnancy testing was conducted by rectal palpation of uterus on days 50 after AI.

First service pregnancy rates for group I and II were determined as 58.5 % and 44.1 % respectively. There was no statistical difference for the first service pregnancy rates between the groups. In group I the first service pregnancy rate tended to be higher than group II. However, there were more acyding cows in group II than in group I.

As a result of this study, it was found that in group II double AI treatment to the cows did not made an additional contribution on the first service pregnancy rate. However, the difference for the first service pregnancy rates in the groups may be resulted from higher acyding cows rate in group II than in group I.

Key Words: Dairy cows, anestrus, ovsynch, cosynch, double TAI, pregnancy.

Giriş

Süt ineği yetiştiren işletmelerde büyük çoğunlukla östrüs tespit oranının düşük ve genel olarak da % 50'nin altında olduğu belirtilmektedir¹¹. Bir sürüde büyüklük ve süt verimini ve böylece geliri arttırmak için reproduktif performansın artırılması gerekmektedir. Sistemik üreme programları belli zamanlarda östrüsları uyardıklarından veya östrüs tanısı olmadan önceden belirlenmiş bir zamanda tohumlamaya olanak verdiklerinden dolayı bu amaç için uygundur¹³.

İneklerde, 0. günde GnRH, 7. günde PGF₂α ve 9 cu günde GnRH uygulamaları ve östrüsları tespit etmeden son GnRH uygulamasını izleyen 8 - 16. saatlerde, önceden belirlenen zamanda tohumlamayı (ÖZT) içeren yöntem (ovsynch), östrüs tespitine ihtiyaç duyulmadan sun'i tohumlama yapabilmek amacıyla geliştirilmiştir. Bu yöntem ile siklusun herhangi bir döneminde uygulanan Gonadotropin releasing hormone (GnRH) enjeksiyonu büyük folliküllerin ovulasyonuna veya luteinizasyonuna neden olmakta ve yeni bir folliküler dalganın ortaya çıkışını uyarmaktadır. İlk GnRH enjeksiyonunu izleyen 7. günde uygulanan PGF₂α korpus luteumun (Cl) regresyonunu uyarmakta ve sinkronize olmuş dominant follikülün son olgunlaşmasına olanak sağlamaktadır. PGF₂α uygulamasından sonra yapılan ikinci GnRH enjeksiyonu ise 24 saat içerisinde dominant follikülün ovulasyonunu sinkronize etmektedir. Ovulasyonun dar bir zaman süreci içerisinde senkronizasyonu, yaklaşık 16 saat içerisinde önceden belirlenmiş bir zamanda tohumlamaya olanak vermektedir^{7,8,18}.

Her ne kadar GnRH + PGF₂α + GnRH protokolünde genel olarak kabul gören uygulama son GnRH enjeksiyonunu izleyen 8 - 16 saat sonra tohumlama ise de, postpartum (pp) dönemdeki etçi ineklerde yapılan çalışmalarda son GnRH uygulaması ile aynı anda yapılan tohumlama (cosynch) ile ovsynch uygulamalarına yakın gebelik oranları elde edildiği ifade edilmektedir^{6,16}.

GnRH + PGF₂α + GnRH uygulamalarında ovulasyonların son GnRH uygulamasını izleyen 24 - 32 saat içerisinde yoğunlaştığı belirtilmektedir^{15,21}.

Bu çalışmanın amacı, kızgınlıkları gözlenemeyen sütçü ineklerde sadece ovsynch protokolüne göre ovsynch + cosynch şeklinde iki metodun birlikte kullanıldığı bir uygulama ile gebelik oranlarının nasıl etkileneceğini araştırmaktır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada 2003 - 2005 yılları arasında, Bursa ilinde bulunan ve süt inekçiliği yapan bir işletmede, ineklerin doğumlarının üzerinden 55 gün veya daha uzun bir süre geçmiş olmasına rağmen kızgınlıkları gözlenemeyen siyah alaca (Holstein) ırkına mahsus toplam 84 baş inek çalışma materyali olarak kullanıldı. İlk veya 14 gün sonra yapılan ikinci rektal muayenede ovaryumları üzerinde korpus luteum (Cl) 'a rastlanan inekler siklik, her iki muayenede de ovaryumları üzerinde Cl belirlenemeyen inekler asiklik olarak kabul edildi. Çalışma materyali rasgele olarak gruplar içerisine dağıtıldı ve aşağıdaki uygulamalar yapıldı.

1. Grup; Kırk bir baş ineğe, 0. günde bir Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) analogu buserelin acetate (Receptal[®], Intervet International, B.V Boxmeer, The Netherlands) 10 µg, 7. günde 25mg. Dinoprost trometamin (Dinolytic[®], Pharmacia, Rijksweg 12, 2870 Puurs The Belgium) ve 9 cu günde 10 µg buserelin acetate i.m. yolla enjekte edildi. Son GnRH uygulamasını izleyen yaklaşık 16. saatte sun'i tohumlamalar yapıldı.

2. Grup; Bu gruptaki 43 baş ineğe birinci gruptaki aynı hormonal uygulamalar yapıldı. İnekler son GnRH uygulandığı anda ve uygulamayı izleyen yaklaşık 16. saatte olmak üzere iki kez tohumlandı.

Gebelikler tohumlamaları izleyen yaklaşık 50. günde rektal yolla belirlendi. Gruplardaki tüm ineklerin ilk tohumlama gebelik oranları ve ayrıca asiklik ve siklik ineklerin ilk tohumlama gebelik oranları tespit edildi. Veriler χ^2 analiz metodu ile karşılaştırıldı ve değerler arasındaki farkların önemlilik sınırı $P < 0.05$ olarak kabul edildi.

Bulgular

İki farklı uygulama grubundaki toplam ilk tohumlamadaki gebelik oranları bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır (Tablo I). Grup I'de bu oran % 58.5 iken, Grup II'de % 44.1 olmuştur.

Tablo I. İki Farklı Uygulama Grubunda Toplam İlk Tohumlama Gebelik Oranları.

Table I. Total First Service Pregnancy Rates of Two Different Administration Groups

Uygulanan metot	İnek sayısı (N)	Gebe kalan (n)	Gebe kalma oranı (%)
GrupI (Ovsynch)	41	24	58.5 ^a
GrupII (Cosynch + Ovsynch)	43	19	44.1 ^a

Aynı sütunda benzer üst harfleri taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli değildir ($P > 0.05$).

Tablo II. İki Farklı Uygulama Grubundaki Toplam İlk Tohumlama Gebelik Oranı, Siklik ve Asiklik İneklerdeki İlk Tohumlama Gebelik Oranları

Table II. Total First Service Pregnancy Rates of, First Service Pregnancy Rates in Cycling and Non – cycling Cows in Two Different Administration Groups

Uygulama Grubu	İnek sayısı (N)	Gebe kalan (n)	Gebelik oranı (%)	Siklik inek (N)	Siklik gebe (n)	Siklik inek gebelik oranı (%)	Asiklik inek (N)	Asiklik gebe (n)	Asiklik inek gebelik oranı (%)
GrupI	41	24	58.5 ^a	37	22	59.4 ^a	4	2	50.0 ^a
GrupII	43	19	44.1 ^a	29	14	48.2 ^a	14	5	35.7 ^a

Aynı sütunda benzer üst harfleri taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli değildir ($P > 0.05$).

Siklik ineklerde ilk tohumlama gebelik oranı grup I'de % 59.4, grup II'de % 48.2 olarak

belirlendi. Asiklik inekler dikkate alındığında ilk tohumlama gebelik oranı grup I'de % 50.0 ve grup II'de % 35.7 olarak tespit edildi. Grup I asiklik ineklerin gebelik değerleri ile grup II deki asiklik ineklerin gebelik değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli farklılık belirlenemedi ($P > 0.05$). Aynı şekilde grup I ve grup II deki siklik ineklerin gebelik değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan önemli farklılık tespit edilemedi ($P > 0.05$) (Tablo. II).

Grup I'de yapılan uygulamalar sonucu, siklik ineklerdeki ilk servis gebelik oranı % 59.4, asiklik ineklerdeki ilk servis gebelik oranı %50.0 olarak belirlendi. Grup I'deki siklik ve asiklik ineklerin gebelik oranları arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olmadığı tespit edildi ($P > 0.05$) (Tablo III).

Tablo III. GrupI'de Siklik ve Asiklik İneklerdeki İlk Tohumlama Gebelik Oranları

Table III. First Service Pregnancy Rates of Cycling and Non – cycling Cows in Group I.

Özellikler	İnek sayısı (N)	Gebe kalan (n)	Gebe kalma oranı (%)
Siklik	37	22	59.4 ^a
Asiklik	4	2	50.0 ^a

Aynı sütunda benzer üst harfleri taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli değildir ($P > 0.05$).

Grup II'de yapılan uygulamalar sonucu, siklik ineklerdeki ilk servis gebelik oranı % 48.2, asiklik ineklerin ilk servis gebelik oranı % 35.7 olarak tespit edildi ve değerler arasında istatistiksel açıdan önemli farklılık belirlenemedi ($P > 0.05$) (Tablo IV).

Tablo IV. GrupII' de Siklik ve Asiklik İnekledeki İlk Tohumlama Gebelik Oranları

Table IV. First Service Pregnancy Rates of Cycling and Non – cycling Cows in Group II

Özellikler	İnek sayısı (N)	Gebe kalan (n)	Gebe kalma oranı (%)
Siklik	29	14	48.2 ^a
Asiklik	14	5	35.7 ^a

Aynı sütunda benzer üst harfleri taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli değildir ($P > 0.05$).

Tartışma ve Sonuç

İneklerde ovsynch uygulamaları ile pospartum erken dönemde % 0¹², protokolün siklusun 5 - 9. günlerinde uygulamaya başlanması ile % 80⁷ arasında değişen gebelik oranları elde edilmiştir. Ovsynch uygulamaları ile genel olarak elde edilen gebelik oranlarının % 28 ile % 49 arasında değiştiği belirtilmektedir^{1,3-6,9,18}. Genel olarak elde edilen bu oranların sunulan çalışmanın I. grubundaki % 58.5'lik toplam gebelik değerinden (Tablo I) daha düşük olduğu görülmektedir. Benzer ovsynch metodu kullanılmasına rağmen elde edilen gebelik değerleri arasında varyasyonlar görülmekte, bu farklılıkların şekillenmesinde çok değişik faktörler etkili olabilmektedir. Uygulamanın başlangıcındaki siklusun safhasına bağlı olarak gebelik oranı değişebilmektedir. Ovsynch protokolüne başlandığı andaki dominant follikülün ilk GnRH uygulaması sonucu lutenizasyonu veya ovulasyonu metodun başarısı üzerinde önemli rol oynamaktadır. İlk GnRH uygulaması sonucu mevcut dominant follikülün ovule olamaması, % 8 - 10 arasında değişen premature östruslara yani ilk GnRH ile son GnRH uygulamaları arasında herhangi bir dönemde kontrol dışı ve ÖZT ye imkan vermeyen östrusların oluşumuna yol açmaktadır². Ovsynch protokolünde ilk GnRH uygulaması siklusun folliküler dönemi veya erken yada geç luteal döneminde yapıldığı zaman düşük progesteron seviyesi nedeniyle gebelik oranında düştüğü belirtilmektedir²¹. Hormonal uygulamalardan ve özellikle PGF₂α uygulamasından önceki progesteron seviyesindeki yükselme gebelik oranında artış ile sonuçlanmaktadır¹⁷. Ovsynch uygulamasının başlangıcında yüksek progesteron seviyesine sahip, yani siklik olan ineklerde protokolün uygulanması sonucu gebelik oranının düşük progesteronlulara göre daha fazla olduğu ifade edilmektedir¹². Özellikle ilk GnRH uygulaması siklusun 5 - 10 cu günleri arasında yani dominant follikülün büyüme veya statik döneminde yapıldığı zaman yüksek gebelik oranlarına ulaşıldığı belirtilmektedir^{7,11}. Büyüme ve statik fazdaki dominant follikülün GnRH'nın uyardığı Luteinize edici hormon (LH)'a çok duyarlı olduğu ve ovulasyon oranının % 89'a ulaşabildiği, yeni bir folliküler dalganın şekillenmesi ve PGF₂α uygulamasından önce uyarılmış yada doğal bir Cl'un bulunma olasılığının çok fazla olduğu vurgulanmaktadır⁷. Daha iyi vücut kondisyonuna sahip ineklerde ovsynch uygulamaları yapıldığı zaman

düşük kondisyonlulara göre gebelik oranının daha yüksek olduğu ifade edilmektedir^{17,18}. Vücut kondisyonundaki artışın progesteron düzeyini yükselttiği ve buna paralel olarak gebelik oranının arttığı vurgulanmaktadır¹⁷. Mevsim, sıcak stresi, doğum sayısı gibi faktörlerinde ovsynch uygulamaları sonucu elde edilen gebelik oranını etkilediği belirtilmektedir. Özellikle sıcak stresinin gebelik oranını azalttığı ifade edilmektedir²⁰.

Sunulan çalışmada grup I ve grup II' deki toplam ilk tohumlama gebelik değerleri arasında istatistiksel açıdan önemli olacak düzeyde farklılık belirlenmemesine rağmen grup II' de son GnRH uygulandığı anda ve 16 saat sonra iki tohumlama yapılmasına rağmen, grup I' e göre daha düşük ilk tohumlama gebelik değeri elde edilmiştir (Tablo I). Ovsynch protokolünde ovulasyonların son GnRH uygulamasını izleyen 24 - 32. saatler arasındaki 8 saat gibi dar bir zaman dilimi içerisinde toplandığı belirtilmektedir^{7,10,15,18}. Ovsynch uygulamalarında son GnRH enjeksiyonunu izleyen 0 - 32. saatler arasında yapılan tek tohumlamalar sonucu en yüksek gebelik oranının 16. saatte yapılan tohumlama ile elde edildiği belirtilmektedir¹⁷. Ovulasyonların son GnRH uygulamasını izleyen 24 - 32. saatler arasındaki 8 saatlik dar bir zaman dilimi içerisinde toplanmış olması grup II' de olduğu gibi son GnRH uygulaması ile beraber ve izleyen 16 saatte olmak üzere iki tohumlama yapılmasının gebelik oranını etkilemeyeceği hatta 16. saatte yapılan sun' i tohumlamanın zamanlama açısından uygun olduğu kanısını uyardırmaktadır. Sunulan çalışmada grup II' deki asiklik inek sayısının (N:14) grup I' deki asiklik inek sayısına (N: 4) göre oldukça fazla olduğu görülmektedir (Tablo II). Anöstrus gösteren ve asiklik ovaryumlara sahip ineklerde ovsynch protokolünün uygulanması sonucu elde edilen ovulasyon oranının siklik ineklere göre daha düşük olduğu belirtilmektedir⁹. Ovsynch uygulamaları sonucu, sıfırıncı günde ilk GnRH ve yedinci gündeki PGF₂α uygulamalarından önce yüksek progesteron seviyesine sahip ineklerde, bu iki hormonun uygulandığı anda düşük progesteron seviyesine sahip ineklere göre daha yüksek gebelik oranı elde edildiği ifade edilmektedir¹⁷. Grup I (Tablo III) ve Grup II (Tablo IV)' deki asiklik ve siklik inekler, ilk tohumlama gebelik oranları açısından grup içerisinde karşılaştırıldığı zaman bile siklik ineklerdeki gebelik oranının asiklik ineklere göre daha yüksek olma eğiliminde olduğu görülmektedir. Grup II' deki toplam gebelik oranının grup I' deki toplam gebelik oranından

istatistiksel açıdan önemli olmayacak düzeyde az olmasında, grup II içerisindeki asiklik inek sayısının grup I içerisindeki asiklik inek sayısından fazla olmasının önemli rol oynadığı kanısındayız.

Sonuç olarak sunulan çalışmada, doğumdan sonra kızgınlıkları gözlenememiş ineklerde GnRH + PGF₂α + GnRH ve son GnRH ile aynı anda ve izleyen 16. saatte yapılan çift tohumlama sonucu, GnRH + PGF₂α + GnRH ve son GnRH uygulamasını izleyen 16. saatte tek tohumlama yapılan gruba göre daha yüksek gebelik oranı elde edilememiştir. Son GnRH uygulamasını takiben iki tohumlama yapılmasının, tek tohumlama uygulamasına göre gebelik üzerinde olumlu bir etkisi görülmemiştir. Çift tohumlama uygulanan grupta (Grup II) tek tohumlama uygulanan gruba (Grup I) göre istatistiksel açıdan önemli olmayacak düzeyde daha düşük bir gebelik oranı elde edilmiş ve bu farkın şekillenmesinde büyük bir olasılıkla grup II de bulunan asiklik inek sayısının grup I'e göre daha fazla olması önemli rol oynamıştır.

Kaynaklar

1. BARTOLOME JA, SOZZI A, McHALE J, MELENDEZ P, ARTECHE ACM, SILVESTRE FT, KELBERT D, SWIFT K, ARCHBALD LF, THATCHER WW. Resynchronization of ovulation an timed insemination in lactating dairy cows, II: assigning protocols according to stages of the estrous cycle, or presence ovarian cysts or anestrus. *Theriogenology*. 2005; 63: 1628 – 1642.
2. DEJARNETTE JM, DAY ML, HOUSE RB, WALLECE RA, MARSHALL C E. Effect of GnRH pretreatment on reproductive performance of postpartum suckled beef cows following synchronization of estrus using GnRH and PGF₂α. *J. Anim Sci*. 2001; 79: 1675 – 1682.
3. DEJARNETTE JM, MARSHALL CE. Effects of pre-synchronization using combinations PGF₂α and (or) GnRH on pregnancy rates of ovsynch and cosynch – treated lactating holstein cows. *Animal Reproduction Science*. 2003; 77: 51 – 60.
4. FRICKE PM, GUENTHER JN, WILTBANK MC. Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI lactating dairy cows. *Theriogenology*. 1998; 50: 1275 – 1284.
5. FRICKE PM, WILTBANK MC. Effect of milk production on the incidence of double ovulation in dairy cows. *Theriogenology*. 1999; 52: 1133 – 1143.
6. GEARY TW, WHITTER JC, HALLFORD PM, MACNEIL MD. Effect of calf removal on pregnancy rates of cows synchronized with the ovsynch or co – synch protocol. *J. Anim. Sci*. 2001; 79: 1 – 4.
7. KEITH BR, LESLIE KE, JOHSON WH, WALTON JS. Effect of presynchronization using prostoglandin F₂α and a milk – ejection test on pregnancy rate after the timed artificial insemination protocol, ovsynh. *Theriogenology*. 2005; 63: 722-738.
8. LEBLANC S J, LESLIE KE, CEELLEN HJ, KELTON DF, GREGORY PK. Measures of estrus detection and pregnancy in dairy cows after administration of gonadotropin – releasing hormone within an estrus synchronization program based on prostaglandin F₂α. *J.Dairy Science*. 1998; 81: 375 – 381
9. MIALOT JP, CONSTANT F, DEZAUX P, GRIMARD B. Estrus synchronization in beef cows: comparison between GnRH + PGF₂α + GnRH and PRID + PGF₂α + eCG. *Theriogenology*. 2003; 60: 319 – 330.
10. MOMCILOVIC D, ARCHBALD LF, WALTERS A, TRAN T, KELBERT D, RISCO C, THATCHER WW. Reproductive performance of lactating dairy cows treated with gonadotropin releasing hormone (GnRH) and / or prostoglandin F₂α (PGF₂α) for synchronization of estrus and ovulation. *Theriogenology*. 1998; 50: 1131-1139
11. MOREIRA F, SOTA L, DIAZ T, THATCHER WW. Effect of day of estrus cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Animal Sci*. 2000; 78: 1568 – 1576.
12. MURUGAVEL K, YANIZ JL, SANTOLARIA P, LOPEZ-BEJAR M, LOPEZ-GATIUS F. Luteal activity at the onset of a timed insemination protocol affects reproductive outcome in early postpartum dairy cows. *Theriogenology*. 2003; 60: 583 – 593.
13. NEBEL RL, JOBST SM. Evaluation of systematic breeding programs for lactating dairy cows: Areview. *J.Dairy Science*. 1998; 81: 1169-1174.
14. XU ZZ, BURTON LJ. Estrus synchronization of lactating dairy cows with GnRH, progesteron, and prostoglandin F₂α. *J.Dairy Science*. 2000; 83:471-476.
15. SCHMITT EJP, DIAZ T, DROST M, THATCHER WW. Use of a gonadotropin – releasing hormone agonist or human chroionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Anim. Sci*. 1996; 74: 1084 – 1091.
16. SMALL JA, AMBROSE JD, McCOUGHEY WP, WARD DR, SUTHERLAND WD, GLOVER ND, RAJAMAHENDIAN R. The effects of

- gonadotropin releasing hormone in prostoglandin $F_2\alpha$ – based timed insemination programs for beef cattle. *Can. J. Anim.Sci.* 2001; 81: 335 – 343.
17. STEVENSON JS, KOBAYASHI Y, THOMPSON KE. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding system including ovsynch and combination of gonadotropin – releasing hormone and prostoglandin $F_2\alpha$. *J.Dairy Science.* 1999; 82: 506-515.
 18. TENHAGEN BE, SURHOLT R, WITTKE M, VOGEL C, DRILLICH M, HEUWIESER W. Use of ovsynch in dairy herds- differences between primiparous and multiparous cows. *Animal Reproduction Science.* 2004; 81: 1 – 11.
 19. TWAGIRAMUNGU H, GUILBALUT LA, DUFOUR JJ. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin – releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: A review. *J.Animal Sci.* 1995; 73; 3141 – 3151.
 20. WILLARD S, GANDY S, BOWERS S, GRAVES K, ELIAS A, WHISNANT C. The effects of GnRH administration post insemination on serum concentrations of progesteron and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stres. *Theriogenology.* 2003; 59: 1799 – 1810.
 21. XU ZZ, BURTON LJ. Estrus synchronization of lactating dairy cows with GnRH, progesteron, and prostoglandin $F_2\alpha$. *J.Dairy Science.* 2000; 83:471-476.