הזרקת GnRH בתחילת ייחום, הנקבע על ידי מערכת זיהוי ייחומים אוטומטית, לשיפור פוריות קיץ וסתיו בפרות לחלב

Administration of GnRH at onset of estrus, determined by automatic heat detection system, to improve summer and autumn fertility in dairy cows

עבודת הגמר של התלמיד: ירון צבי קרסל Yaron Zvi Kressel

שנה"ל בה צפוי/ה התלמיד/ה לסיים את הלימודים לתואר DVM: תש"ף

כמילוי חלקי של הדרישות לשם קבלת תואר דוקטור לרפואה וטרינרית

מטעם ביה"ס לרפואה וטרינרית ע"ש קורט של האוניברסיטה העברית בירושלים.

בהדרכת פרופסור צביקה רוט

האוניברסיטה העברית בירושלים

רחובות

תאריך:

"אני מאשר פרסום תקציר העבודה בעברית בעיתון רפואה וטרינרית.

חתימת המנחה:_____"

תקציר

בעונות הקיץ והסתיו נרשמת ירידה משמעותית בביצועי הפוריות של פרות לחלב. הפגיעה כתוצאה מעקת החום היא רב-גורמית באופייה וכוללת פגיעה באיכות הזקיק והביצית. אחד הליקויים שתועדו הוא ירידה בריכוז האסטרדיול ובהפרשת ה- LH ובעקבות כך שיבוש או עיכוב בביוץ. הנחת העבודה המרכזית של מחקר זה היא כי הזרקה של GnRH במהלך ייחום העמידה, תשפר ליקויים אלו ותעלה את שעור ההתעברות. מערכות זיהוי אוטומטיות חדישות מציגות נתונים על פעילות הפרות בכל שעתיים, מה שמאפשר לקבוע כמעט בזמן אמת את הופעת הפרה בייחום, ללא תצפית. בעבודה זו בחנו שימוש במערכת זיהוי אוטומטית לקביעת תחילת ייחום, על מנת להזריק לפרה GnRH בחלון זמנים אפקטיבי. תחילה בחנו את המתאם בין ייחום עמידה (תצפית) ורישום הפרה כ'דורשת' בדו"ח מערכת הזיהוי האוטומטית. בהמשך, בחודשי הקיץ (יולי-ספטמבר) והסתיו (אוקטובר–נובמבר), ביצענו ניסוי בשני משקים מסחריים. פרוטוקול הניסוי כלל הזרקת 2 מ"ל של אנאלוג סינטטי של GnRH (Gonabreed), עד 4 שעות מהכניסה לדו"ח. החלוקה לקבוצות בוצעה באופן רנדומלי לפי ימות השבוע. הפרות הוזרעו על ידי מזריע ("שיאון") ובדיקת הריון נעשתה כ- 42-45 ימים לאחר הזרעה, על ידי הווטרינר המטפל. הנתונים נותחו במודל רב גורמי בפרוצדורת GLIMMIX בתכנת SAS. ככלל, לא נמצא הבדל בשיעור ההתעברות בין קבוצות הטיפול (n=183) והביקורת (n=196). אולם, בפילוח לפי עונה, נמצא כי בחודשי הסתיו התקבל שיפור מובהק באחוזי ההתעברות בין קבוצות הטיפול (n=70) והביקורת (n=72) (47.1% ו- 24.2%, בהתאמה). תת-הקבוצות שהושפעו במיוחד בעונה זו הן פרות שהיו בתחלובה שנייה, פרות במצב גופני גבוה בהמלטה (≥3.25 מצב גופני), פרות שסבלו מתחלואה (מחלות מטבוליות, רחם ועטין) ופרות קשות התעברות (הזרעות רביעית וחמישית). לסיכום שיטה זו נמצאה כיעילה לשיפור פוריות הסתיו, אולם אינה מגיעה לכלל יישום היות ועדיין אין טכנולוגיה מתאימה.

Abstract

In both the summer and autumn months, a significant decrease in the fertility of dairy cows has been recorded. Reduced reproductive performance upon heat stress is multifactorial in its nature and includes a decrease in the quality of the follicle and its enclosed oocyte. One of the documented alterations is low estradiol concentration in the blood, which in turn, leads to low secretion of the luteinizing hormone (LH). These might impair the ovulation and therefore negatively affect fertilization and conception. The assumption of the current study is that administration of GnRH at the onset of estrus will improve these alterations, and increase conception rate (CR). Modern automated systems enable us to detect the cow's activity every two hours, thus allowing us to determine the onset of estrus, without the need of continuous observation. First, we examined the correlation between the timing when the cow expressed heat, determined both by automated systems and by visual observation of standing heat. Conception rate was analyzed by the GLIMMIX procedure (SAS). We found that the time of standing estrus occurred within 2 hours before until 4 hours after the automatic machine alerts, i.e. initiation of estrus, as appeared in a specific report. Then, we conducted a fertility study on two commercial herds in the summer (July- September) and in the autumn (October- November). The cows were divided randomly into control - and treatment groups. Synthetic analog GnRH (2 ml; Gonabreed) was administrated at a specific time, defined in our preliminary observation, and described above. Artificial insemination was conducted by a professional technician ("Sion") and pregnancy was determined by the herd's attending veterinarian, approximately 42-45 days post insemination. Overall, CR did not differ between treatment (n=183) and control group (n=196). However, further analysis of treatment by season has revealed that, in the autumn, the CR was significantly higher in the treatment group (n=70 relative to the control (47.1% and 24.2% respectively; $P<0.05$). The sub-groups that were mostly affected by the treatment, were cows at the second lactation, those with high body

condition score at parity (BCS ≥ 3.25), those with pathology background (metabolic, uterine and udder diseases) and repeat breeder cows (i.e., 4 and 5 inseminations). In conclusion, we suggest that injection of GnRH at the onset of estrus, defined by an automatic system, is effective in improving the impaired autumn fertility of dairy cows. Nevertheless, this methodology cannot be implanted in farms, due to the lack of proper technology.

תוכן עניינים

מבוא: עמוד 6-9

שיטות וחומרים: עמוד 9-12

תוצאות: עמוד 13-15

דיון: עמוד 16-19

מסקנות: עמוד 19

תודות: עמוד 20

רשימת מקורות: עמוד 21-23

נספחים: עמוד 24

מבוא

הפעילות הרבייתית בפרה מתאפיינת במחזוריות רב עונתית. אורך מחזור הפרה הוא בין 18 ל-25 ימים ומושפע מגורמים רבים כגון: גיל הפרה, מצבה הרפואי, העונה ועוד. בחודשי הקיץ פרות החלב בישראל ובאזורים אחרים בעולם חשופות לעומס חום המשפיע על מדדי יצרנות רבים. סלקציה לתנובת חלב גבוהה הביאה לירידה ביכולתן של הפרות לווסת את חום גופן תחת תנאי עומס חום. מחקר עוקבה בספרד הראה ירידה בביצועי הפוריות לעומת עלייה בתנובת החלב. אך עם זאת, נמצא שהפגיעה התרחשה רק בתקופה החמה (López-Gatius et al., 2003). החשיפה לעקת חום מורידה את צריכת המזון ופוגעת במדדי היצרנות והפוריות. הירידה בשיעור ההתעברות בקיץ היא כ- 20-30% ביחס לחורף (De Rensis et al., 2003). גם בעבודה שנעשתה בארץ בשנות השמונים נמצא כי עבור פרות בוגרות, הגורם בעל ההשפעה המשמעותית ביותר על אחוזי ההתעברות הוא החודש בו הוזרעה הפרה (Ron et al., 1984). עבודה מ-2019 מראה שגם בשני העשורים האחרונים בישראל ישנם פערים משמעותיים של עד כמעט 20 יחידות אחוז בהתעברות מהזרעה ראשונה בין הקיץ והחורף (Wolfenson et al., 2019). בעשורים האחרונים, נעשה שימוש אינטנסיבי במערכות צינון שונות בעדרי החלב אשר הקטינו משמעותית את הפער בין מדדי היצרנות בקיץ לאלו של חודשי החורף. אולם בהתייחס למדדי הפוריות, עדיין קיים פער משמעותי בין הקיץ לחורף. במילים אחרות שימוש במערכות הצינון , גם היעילות ביותר, אין בהם כדי לבטל את האפקט של עקת החום הקיצית על מערכת הרבייה. (Roth, 2008; De Rensis et al., 2003). לאור ההתחממות הגלובלית והטיפוח המתמשך ליצרנות גבוהה, ניתן לצפות כי בעיה זו תלך ותחמיר.

השפעת עומס חום על הפוריות היא רב גורמית באופייה (Veerkamp et al., 2003). אחד המנגנונים שזוהו עד כה הוא השפעה ישירה על הציר היפותלמוס-היפופיזה–שחלה. לדוגמא אחד הגורמים המעורבים בירידה בפוריות הקיץ הוא ירידה בייצור והפרשת אסטרדיול על ידי הזקיק הדומיננטי. בהקשר זה אציין כי ממשק ההזרעות המלאכותיות מתבסס על הזרעה בייחום וכי הפעילות הייחומית של הפרה ובכלל זה עלייה במספר הצעדים, קפיצה על פרות אחרות ועמידה נגרמת כתוצאה מעליית ריכוזי אסטרדיול בדם מעל הרמה הבזאלית (Lyimo et al., 1999). לכן, ירידה ברמות האסטרדיול המיוצרות ומופרשות על ידי הזקיק המבייץ יכולה לשבש את האירועים סביב הייחום והביוץ. עבודות קודמות דיווחו על ירידה במשך ובעוצמת התנהגות הייחום במהלך הקיץ, ובעקבות כך פגיעה ביכולת לזהות ייחומים (בעיה ממשקית). ייתרה מכך רמות

נמוכות של אסטרדיול יכולות גם להשפיע על רמות השיא של ה- LH וזאת בעקבות רמות נמוכות של אסטרדיול. (שיבוש הורמונאלי) (West, 2003; De Rensis et al., 2003). לשיבושים הורמונלים אלו יכולה להיות השפעה ישירה על התהליכים המתרחשים סביב הביוץ, לעכב את הביוץ ולשבש את תזמון המפגש של הביצית והזרע (Bloch et. al, 2006). הסיכון לכשל ביוצי גדל פי 4 במהלך העונה החמה לעומת הקרה (López-Gatius et al., 2005).

לאחרונה פותחו מספר שיטות לשיפור ביצועי הרבייה בפרות במהלך הקיץ. השיטה היעילה ביותר עד כה לצמצום עקת החום והנזקים הנגרמים בעקבותיה היא צינון הפרות באמצעות הרטבה ואידוי מאולץ (Roth 2008). בנוסף, פותחו גישות המבוססות על טיפול הורמונאלי: שיטה אחת מבוססת על הזרקת GnRH במהלך הדיאסטרוס על מנת להעלות את ריכוז הפרוגסטרון בדם, הורמון החיוני לשמירה על ההיריון. על מנת להתגבר על הפגיעה הממושכת של עומס חום קיצי על מאגר הביציות והזקיקים השחלתי פותח פרוטוקול המבוסס על טיפול הורמונלי המבוסס על הזרקות חוזרות של PG ו- GnRH להשרות 3 גלי-זקיקים רציפים במטרה לבייץ ביצית מזקיק שלא נפגע מעומס החום (Roth, 2008). שיטה זו נמצאה יעילה רק בתת קבוצות של פרות וכרוכה בעבודה רבה ובעלויות גבוהות. Willard וחובריו מצאו שהזרקת GnRH בימים 5 או 11 לאחר הזרעה העלתה באופן מובהק את ריכוזי הפרוגסטרון בפלסמה כמו כן את מספר וגודל הגופים הצהובים הפעילים. אולם, בבחינת אחוזי ההתעברות נמצאה רק נטייה למובהקות (Willard et al., 2003). מטה-אנאליזה משנת 2000 של Peters וחובריו בחנה את ההשפעה של הזרקת GnRH בימים 11-14 לאחר ההזרעה על אחוזי ההתעברות. נמצא כי רק ב 5 מתוך 19 מחקרים היה שיפור מובהק ($P<0.05$) באחוזי ההתעברות. גישה נוספת שנבחנה היא הזרקת GnRH לתזמון וסנכרון הביוץ. הזרקה של GnRH בזמן הייחום (נקבע לפי תצפית פעמיים ביממה), שיפרה את אחוזי ההתעברות מהזרעה ראשונה בקיץ בפרות הטיפול בהשוואה לביקורת (28 לעומת 17%, בהתאמה). בנוסף, טיפול זה שיפר את אחוז ההריונות שהתקבל בבדיקת הריון כ- 45 יום לאחר הזרעה בהשוואה לקבוצת הביקורת (Ullah et. al., 1996).

העבודה הנוכחית מתבססת על הזרקת GnRH בדגש על מועד הזרקה מדויק יותר (onset of estrus), לקבלת תוצאה אפקטיבית יותר בתנאי עומס חום כבדים. הבסיס המחקרי לעבודה זו הם ממצאים מעבודות קודמות בהן נמצא כי שיא LH מעל סף מסוים ובתזמון נכון הינו תנאי הכרחי לביוץ והתעברות (Bloch et

al., 2006; Kaim et al., 2003). עוד נמצא כי ברוב הפרות שיא LH מתרחש בממוצע כ-3 שעות לאחר תחילת ייחום. ב-26% מהפרות האינטרוול בין תחילת הייחום לביוץ היה ארוך ונמשך מעבר ל- 31 שעות. בשליש מקבוצת פרות זו (9% מהפרות בניסוי) האינטרוול היה ארוך מאד, כ-מעל 35 שעות אשר נחשב מעבר לטווח הנורמלי. בפרות אלו שיא ה- LH התרחש בממוצע 9 שעות מתחילת הייחום (Bloch et al., 2006). בעבודה נוספת תועד כי הזרקת GnRH במהלך ייחום, לפני שיא ה-LH הספונטני, מעלה פי 2 את גובהו (Rosenberg et al., 1991). הזרקת GnRH תוך 3 שעות מתחילת ייחום עמידה, כלומר לפני שיא LH טבעי ברוב הפרות, מנעה ביוץ מאוחר (מעל 30 שעות) בכל הפרות בקבוצת הניסוי בעוד ש 24% מהפרות בקבוצת הביקורת בייצו בתוך יותר מ-30 שעות. טיפול זה שיפר את אחוזי הפוריות באופן מובהק. הקבוצות בהן התקבלה השפעה מירבית בקיץ היו קבוצת המבכירות ופרות בעלות ציון גופני נמוך (23% ו 27%, בהתאמה; Kaim et al 2003). מגמה דומה נמצאה בניסוי של רוזנברג וחובריה בו אחוזי ההתעברות בקבוצת הטיפול נמצאו גבוהים ב 34% ב אוכלוסיית המבכירות ו ב 23% בפרות הבוגרות בהשוואה לקבוצת הביקורת (לא מטופלות). אולם יש לציין שהשיפור נראה רק במקבצים בהם אחוזי ההתעברות בקבוצת הביקורת היו נמוכים מ- 40% (Rosenberg et al., 1991).

חשוב לציין כי האופן בו נבחנה גישה זו היה כרוך בשעות תצפית מרובות על מנת לזהות את הייחום בתחילתו. ההזרקה תוזמנה עם ייחום עמידה כסמן ל- onset of estrus, התנהגות שרק כ-53-60% מהפרות מציגות בזמן ייחום (Roelofs et al., 2005, Lyimo et al., 1999). בהתאם למגבלה זו עלה הצורך בייעול השיטה ובעבודה הנוכחית נעשה שימוש במערכת זיהוי ייחומים מתקדמת לתזמן את מועד הייחום עם הזרקת ה GnRH.

עד לאחרונה, מערכות זיהוי הייחומים האוטומטיות ידעו לזהות עלייה בפעילות הפרות ולדווח על שינוי הפעילות באינטרוולים של כ-8 שעות. הסבר: האנטנות הקולטות את הנתונים היו מצויות במכון החליבה כך שניתן היה לקלוט את הנתונים בזמן חליבה בלבד. כיום, הודות לשיפור הטכנולוגי ושימוש באנטנה מרחבית ניתן לקלט את העלייה בפעילות הפרה ולזהות את תחילת הייחום ב "חלון זמנים" של עד שעתיים מתחילת הייחום. ממצאים מעבודות קודמות מעידים על התאמה מלאה או הקדמה של עד כשעתיים של ייחום העמידה את זיהוי המערכת האוטומטית (Aungier et al., 2014; Stevenson et al., 2015). ככל

הנראה, יש התאמה די טובה בין הפעילות המתקבלת במערכת האוטומטיות להתנהגות ייחומית (תחילת ייחום עמידה) למרות כל זאת, בעבודה הנוכחית בדקנו גם מתאם זה.

השערת העבודה הנוכחית היא כי הזרקת GnRH בסמיכות תחילת ייחום העמידה (זיהוי על פי מערכת אוטומטית) תגרום לסנכרון שיא ה- LH, הביוץ ומועד ההזרעה ובעקבות כך יתקבל שיפור בשיעור ההתעברות בקיץ ובסתיו.

המטרה המרכזית של עבודה זו הינה בחינת האפשרות לשיפור אחוזי התעברות קיץ-סתיו בפרות לחלב ע"י הזרקת GnRH בתחילת ייחום המזוהה על ידי מערכת זיהוי אוטומטית.

<u>מטרות המשנה</u>

(1) בדיקת ההתאמה בין תחילת ייחום עמידה (onset of estrus) הנקבע ע"י תצפית ובין הרישום המתקבל במערכת הזיהוי האוטומטית.

(2) בדיקת ההתכנות הממשקית לביצוע שיטה זו.

חומרים ושיטות

המשקים ואיסוף נתונים

המחקר נערך בין החודשים יולי לנובמבר על 379 פרות ומבכירות מגזע הולשטיין ישראלי, בשתי רפתות שיתופיות- רפת קבוצת יבנה (n=178) ו- רפת גבעת חיים מאוחד (n=201). הפרות הוזנו במנה כולית (TMR), נחלבו 3 פעמים ביום וממוצעי תנובת חלב מתוקנים ל 305 ימים ברפתות אלו היו 13,544 ק"ג ו -11,655 ק"ג, בהתאמה. הפרות בקבוצת יבנה שוכנו בחצרות מדגם "לכיש" והפרות בגבעת חיים בחצרות עם תאי רביצה. הפרות היו תחת פיקוח בריאותי של רופאים וטרינרים מארגון "החקלאית" ונבדקו על ידם באופן שגרתי כשבוע לאחר ההמלטה וב "שיא חלב" (כ-50 ימים לאחר ההמלטה). במהלך בדיקות אלו נקבע המצב הגופני של הפרות בסולם המקובל של 1-5 נקודות ברמת דיוק של רבע נקודה. פרות שאובחנו כסובלות ממחלות רחם, (דלקת רחם, אצירת שלייה) מחלות מטבליות, (קטוזיס, קדחת חלב) או מחלות עטין, טופלו בהתאם לפרוטוקול הרפואי שנהוג במשק. נתוני התחלואה תועדו והפרות סווגו כ "פרות אשר

סבלו מתחלואה לאחר המלטה". נתונים נוספים הידועים כמשפיעים על סיכויי התעברות תועדו גם הם ובכלל זה, מספר תחלובה, מספר הזרעה, עונה ומצב גופני. ניהול ממשק הפוריות כלומר בחירת הפרות להזרעה, מועד הזרעתן ובחירת הפר המזריע בוצעו בהתאם לתכנית ולמדיניות המשקים ללא התערבות צוות המחקר. הפרות הוזרעו על ידי מזריע מקצועי ("שיאון") ובדיקת הריון נעשתה כ- 42-45 ימים לאחר הזרעה, על ידי הווטרינר המטפל.

בע"ח וציוד

בניסוי נכללו מבכירות ופרות מתחלובות שונות, מהזרעה ראשונה עד חמישית. שני המשקים עבדו עם מערכות ניטור פעילות בזמן אמת (®Heatime) של חברת SCR. המשדרים מצויים על צוואר הפרות ומודדים תנועות מעלה מטה כמדד למספר הצעדים שעשתה הפרה. בכל 20 דקות המשדרים שולחים את הנתונים שנאספו דרך אנטנות מרחביות אל מחשב הניהול. המחשב משכלל את הנתונים שנאספו במשך שעתיים ומציג אותם בדו"ח פעילות של כל פרה. (תמונה מספר 1) הפעילות מחושבת לפי אלגוריתם שפותח בחברת SCR ומקבלת ניקוד פעילות משוכללת של בין 100- ל 100+, כאשר 0 הוא הפעילות הממוצעת של הפרה. פרה בייחום נחשבה פרה שהפעילות המשוכללת שלה הייתה גבוהה מ- 30, או מעל 25 במידה והפרש הימים מאירוע הייחום הקודם היה בטווח הנורמלי של בין 18-23 ימים. ניקוד 30 נחשב לסטייה מעלה של 5 סטיות תקן ביחס לפעילות הממוצעת של אותה פרה (תמונה מס' 1). לטובת הניסוי פותח דו"ח מיוחד המתעדכן בכל שעתיים ומציג כל פרה שזוהתה בייחום למשך 6 שעות. לצורך ההזרעות המשקים השתמשו בדו"ח זה אשר נבדק פעם ב 24 שעות, בבוקר לפני הגעת המזריע.

בחינה מקדימה

על מנת למצוא את המתאם בין מועד הזיהוי ע"י המערכת לזה המתקבל בתצפית, בוצעה סדרת תצפיות בשני המשקים, כמספר שעות בכל תצפית. כל הפעילויות המאפיינות ייחום התנהגותי תועדו ובכלל זה רחרוח, תגובת 'פלהמן', הנחת ראש, פעילות מוגברת, קפיצה וייחום עמידה. תחילת ייחום נקבעה לפי השעה בה הפרה הציגה לראשונה ייחום עמידה, קפיצות מרובות על פרות אחרות או קפיצה על ראש של פרה אחרת. סה"כ תועדו 40 ייחומים אשר נבחנו מול הזיהוי של המערכת.

פרוטוקול הניסוי

הפרות חולקו באופן אקראי לקבוצת ניסוי וקבוצת ביקורת לפי ימי השבוע לסירוגין (ימים א', ג', ה' וימים ב', ד', ו' בהתאמה). פרות קבוצת הניסוי שזוהו בייחום ע"י מערכת הזיהוי האוטומטי בשעות העבודה (מ-04:00 עד 23:00 בקירוב), הוזרקו 2 מ"ל של אנלוג סינטטי של GnRH (200 µg of Gonadorelin i.m., Gonabreed, Parnell Laboratories, Alexandria, Australia) המכילים 200 מק"ג גונדורלין (כאצטט), וזאת תוך 4 שעות מזיהוי הייחום. ההזרקה בוצעה לשרירי הצוואר או האגן עם מזרק חד או רב פעמי, עם מחט בעובי 16G, בהתאם להעדפת העובדים. מסיבות אתיות ורווחת בע"ח, לפרות בקבוצת הביקורת לא הוזרק דבר.

אקלים וצינון

בגבעת חיים, הפרות צוננו בחצרות באמצעות מערכת ערפול, ובחצר ההמתנה לפני כל חליבה וע"י הרטבה ואוורור כפויים. בכל חצר היו ארבעה מאוררי "הרקולס" מעל תאי הרביצה, עם 2 מתזים למאוורר בספיקה של 7 ליטר/שעה. בנוסף, מעל המדרכים פעלו 18 מאוררים 20 אינץ' עם ארבע דיזות בספיקה של 7 ליטר/שעה, כל אחת. הצינון בחצרות עבד משך כל היממה למעט הזמנים בהם הפרות היו בחליבה. בחצר ההמתנה , מתזים של 100 ליטר/שעה הרטיבו תחילה את הפרות במשך שתי דקות וחמישים שניות ואז שוב במרווחים של 4 דקות למשך חצי דקה, כאשר מאוררי הרקולס עובדים באופן רצוף. הצינון בקבוצת יבנה התבסס על הרטבה ואוורור כפויים הן בחצר ההמתנה והן באבוס. בחצר ההמתנה הצינון התבצע באינטרוולים של 30 שניות הרטבה ו-7 דקות אוורור לפני כל חליבה למשך 30 דקות ופעם אחת בין חליבת צהריים לחליבת ערב למשך 35 דקות, סה"כ 4 פעמים ביום. באבוסים הצינון נעשה באינטרוולים של דקה הרטבה ו-5 דקות אוורור למשך 45 דקות 6 פעמים ביום בהתאם לזמני האכילה.

נתוני אקלים בקבוצת יבנה נלקחו מתחנה מטאורולוגית שנמצאת בקיבוץ ונתוני גבעת חיים מתחנה מטאורולוגית המצויה בקיבוץ עין החורש הסמוך אליו. נתוני האקלים במשקים נלקחו מדו"ח שהופק ע"י אתר השירות המטאורולוגי הישראלי (ims.gov.il). הדו"ח שהופק כלל נתוני טמפרטורה ולחות יחסית בכל 3 שעות לאורך שעות היממה משך כל תקופת הניסוי. מנתוני הטמפרטורה (AT-Ambient temperature)

והלחות היחסית (RH- Relative humidity) חושב מדד temperature humidity index (THI) לפי הנוסחה המתוארת בעבודתם של Schüller וחובריו 2014:

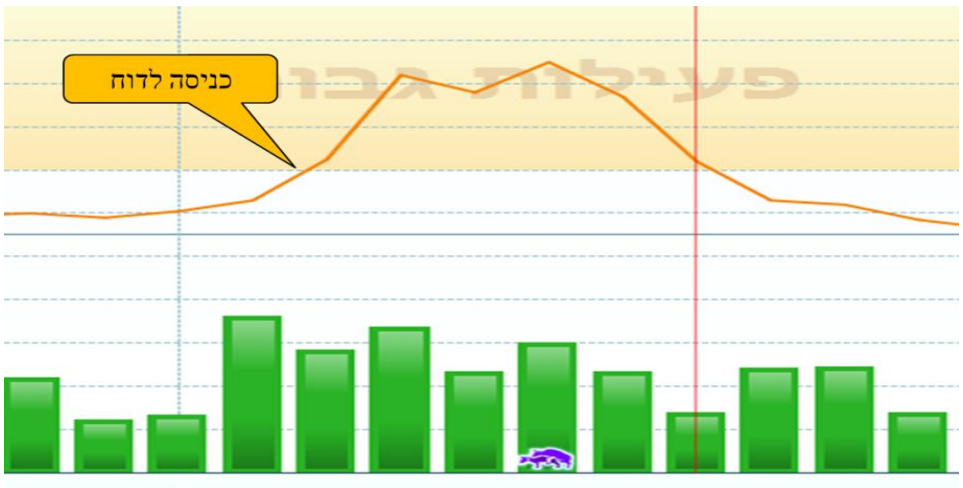
$$THI = (1.8 \times AT + 32) - ((0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times AT - 26)$$

הנתונים מהשעות 02:00 ו-14:00 נלקחו כדוגמאות מייצגות לעומס החום לאורך היממה (המינימלי בלילה והמקסימלי בצהריים, בהתאמה). מנתונים אלו חושב ה-THI הממוצע, המינימלי והמקסימלי לפי עונות הניסוי.

לצורך הערכת יעילות ממשק הצינון במשקים, הוחדרו וגינלית אוגרי חום לעשר פרות בכל משק, אשר תיעדו את טמפרטורת הגוף של הפרות במשך ארבעה ימים רצופים.

ניתוח סטטיסטי:

הנתונים נותחו במודל רב גורמי בפרוצדורת GLIMMIX בתכנת SAS, כאשר המשתנה התלוי הינו אחוזי ההתעברות (CR- Conception Rate) שחושבו כמספר ההזרעות המוצלחות (כלומר שהובילו לבדיקת הריון חיובית) מתוך סך ההזרעות בכל קבוצה. המשתנים הבלתי תלויים הינם עדר (גבעת חיים מול יבנה), עונה (קיץ מול סתיו), מספר הזרעה (1 ,2, 3, 4+5), מספר תחלובה (1, 2, 3+), מצב גופני בהמלטה (3.25 ומעלה או קטן מ 3.25) ותחלואה (מחלות מטבוליות+ עטין+ רחם מול בריאות). נתוני שני המשקים אוחדו לאחר שלא נמצא הבדל מובהק ביניהם.

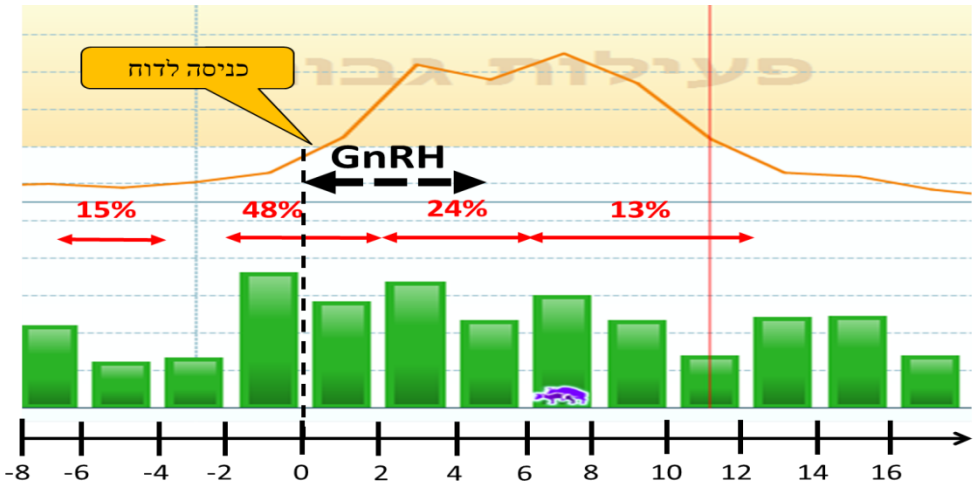


איור 1- גרף פעילות לדוגמה מתוך מערכת זיהוי הייחומים האוטומטית ®Heatime של חברת SCR. בגרף ניתן לראות את מספר הצעדים של הפרה בכל שעתיים (מלבנים ירוקים), פעילות משוקללת ממוצעת (קו כחול האופקי), פעילות משוקללת (גרף כתום) ואת התחום בו פעילות משוקללת מקבלת ניקוד מעל ל30 לפי האלגוריתם של חברת SCR ומכניסה את הפרה לדו"ח ייחומים (רקע כתום בהיר).

תוצאות

מתאם בין זיהוי ייחום בתצפית וזיהוי על ידי המערכת האוטומטית

כ -13% (5/40) מהפרות שהציגו ייחום עמידה לא נכנסו כלל לדו"ח זיהוי הייחומים של המערכת האוטומטית. הפרות שנכנסו לדו"ח התפלגו באופן הבא: 48% מתוך הפרות הציגו ייחום עמידה בטווח של שעתיים לפני ועד שעתיים אחרי הכניסה לדו"ח. 24% מהפרות הציגו ייחום בין שעתיים ל-6 שעות מהכניסה לדו"ח. 15% מהפרות הציגו ייחום עמידה יותר מ-4 שעות לפני הכניסה לדו"ח ו-13% מעל ל6 שעות לאחר שנכנסו לדו"ח (איור מס' 2).



איור 2- בגרף מוצגת פעילות לדוגמה של פרה מסויימת ועליו התפלגות הפרות שהציגו ייחום עמידה, לפי מועד כניסתן לדו"ח הייחומים (חצים אדומים). זמן 0 הוא זמן כניסת הפרה לדו"ח הייחומים. חץ מקווקו שחור מייצג את חלון הזמנים להזרקת GnRH מרגע הכניסה לדו"ח.

עומס חום

לפי נתוני השירות המטאורולוגי (טבלה מס' 1), במהלך הקיץ (יולי-ספטמבר) הפרות בשני המשקים נחשפו בכל יום ולעתים גם בלילה לתנאי עומס חום קיצוניים של THI>73, ערכים הידועים כבעלי השפעה שלילית משמעותית על אחוזי התעברות (Schüller et al., 2014). במהלך הסתיו (אוקטובר- נובמבר) ה- THI הממוצע בשעות היום היה נמוך מ-73 יחידות אך בחלק מהימים היה גבוה מערך זה. בלילות הסתיו לא התקבלה אף מדידה של עומס חום קיצוני. לפי מדידת טמפ' וגינלית בשני המשקים בתקופת הקיץ, ניכר שמערכות הצינון עבדו בצורה טובה כאשר טמפ'

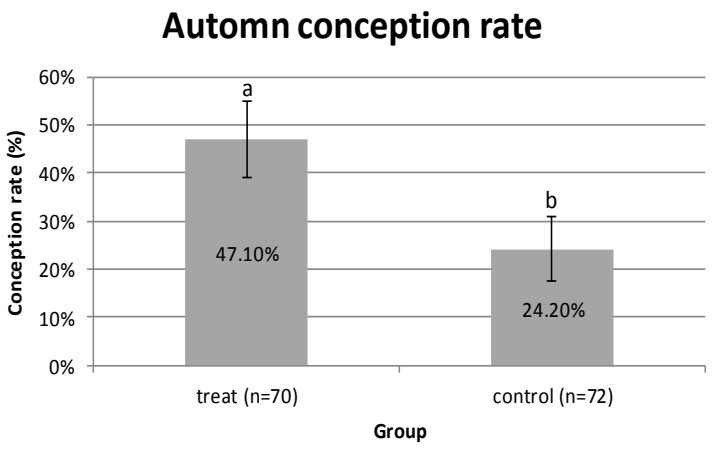
המקסימום שנמדדה בשני המשקים הייתה 39.1-39.2 מעלות צלזיוס, הנחשבת לטמפ' המקסימלית בטווח הנורמלי.

טבלה מספר 1- ערכי Temperature humidity index (THI) לפני עונה בשני המשקים בשעות הלילה (02:00) והצהריים (14:00). מודגש- זמנים בהם ערך THI>73.

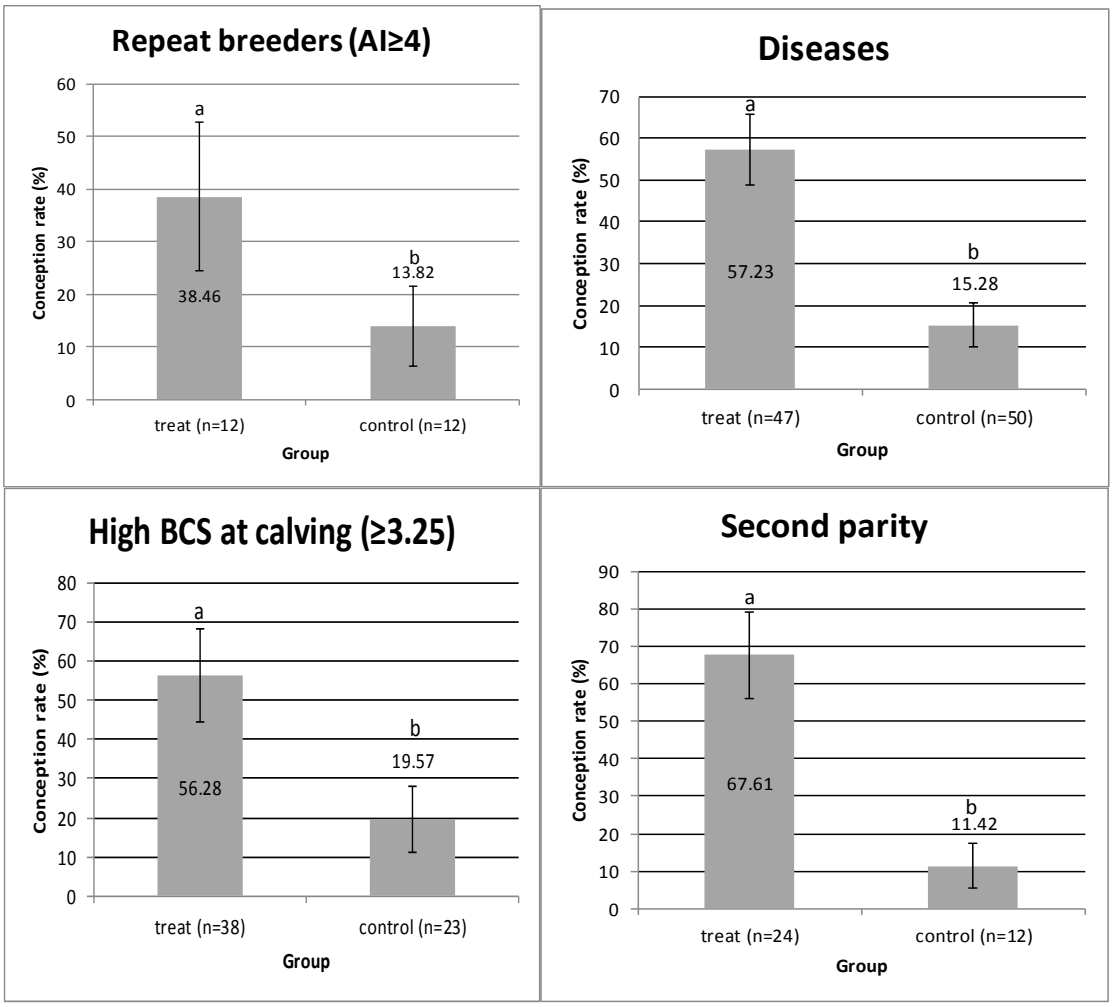
	קיץ				סתיו			
	עין החורש		יבנה		עין החורש		יבנה	
	לילה	צהריים	לילה	צהריים	לילה	צהריים	לילה	צהריים
מינימום	60.0	**74.2**	64.8	**74.5**	50.0	60.4	52.8	58.4
ממוצע	70.6	**80.0**	71.2	**79.8**	59.7	72.0	62.0	72.0
מקסימום	**80.0**	**83.1**	**78.1**	**83.3**	72.3	**77.8**	71.7	**78.4**

אחוזי התעברות

בניתוח של כלל ההזרעות לאורך כל חודשי הניסוי (קיץ +סתיו) לא נמצא הבדל מובהק סטטיסטית באחוזי ההתעברות בין קבוצת הטיפול (n=183) לקבוצת הביקורת (n=196). לא נמצא יתרון לקבוצת הניסוי במהלך חודשי הקיץ (יולי- ספטמבר), אולם, בחודשי הסתיו (אוקטובר-נובמבר), נמצא הבדל מובהק (P<0.05) של כ-23 יחידות אחוז בין קבוצת הניסוי לביקורת (n=70 ו- n=72, בהתאמה), כמתואר באיור מספר 3. כמו כן, נמצאו שלוש תת-קבוצות בהן התקבל הבדל מובהק (P<0.05) בין קבוצת הטיפול לקבוצת הביקורת במשך הסתיו וזאת למרות מספר קטן של פרות בכל תת קבוצה (איור מספר 4). בפרות בתחלובה שנייה כ-56 יחידות אחוז (מספר הפרות היה n=24 ו n=12, עבור קבוצת הטיפול וקבוצת הביקורת בהתאמה), בפרות במצב גופני גבוה בהמלטה (≥3.25) כ-37 יחידות אחוז (n=38 ו-n=23 , בהתאמה) ובפרות שסבלו מתחלואה (מחלות רחם, עטין ומטאבוליות) כ-42 יחידות אחוז (n=47 ו-n=50 , בהתאמה). בפרות קשות התעברות (הזרעה רביעית וחמישית) ההבדל עמד על כ-24 יחידות אחוז, הבדל משמעותי שלא נמצא מובהק בעקבות מספר קטן של פרות בכל קבוצה (n=12 ו- n=12, בהתאמה).



איור מספר 3- אחוזי התעברות ממוצעים (± שגיאת תקן) בעונת הסתיו (אוקטובר-נובמבר) לפי קבוצה (טיפול N=70, ביקורת N=72). אותיות שונות מעל העמודות מעידות על שונות מובהקת (P<0.05).



איור מספר 4- אחוזי התעברות ממוצעים (± שגיאת תקן) בעונת הסתיו (אוקטובר-נובמבר) של תתי הקבוצות שהושפעו ביותר בעונה זו. קבוצות אלו הן פרות קשות התעברות (הזרעה רביעית וחמישית), פרות בתחלובה שנייה, פרות במצב גופני בהמלטה (≥3.25 מצ"ג) ופרות שסבלו מתחלואה (מחלות רחם, עטין ומטאבוליות). מספרי הפרות בכל קבוצה מופיעות בבסיס העמודות. אותיות שונות מעל העמודות מעידות על שונות מובהקת (P<0.05).

דיון ומסקנות

בעבודה זו נמצא כי הזרקת GnRH תוך 4 שעות מתחילת ייחום, על פי מערכת זיהוי אוטומטית, הצליחה לשפר את אחוזי ההתעברות בתקופת הסתיו אך לא בתקופת הקיץ. במספר תת-קבוצות הכולל פרות עם ציון גופני גבוה בהמלטה, פרות שסבלו מתחלואה לאחר המלטה, פרות מתחלובה שניה ופרות קשות התעברות, נצפה שיפור משמעותי ביותר. על בסיס עבודות קודמות, בתת-קבוצות אלו יש אחוז גבוה יותר של פרות הסובלות משיבושים אנדוקריניים המובילים לפגיעה בהתנהגות הייחום, ביוץ דחוי או כשל ביוצי כך שניתן היה לצפות לאפקט מיטיב. ממצאי העבודה מעידים כי מספר פקטורים יכולים להשפיע על הצלחת הטיפול. בהתאם לכך המשך הדיון יתנהל תוך התייחסות פרטנית לכל פרמטר לפרמטר.

1. קיץ מול סתיו

ככלל, לא נמצא הסבר משכנע לחוסר ההצלחה לשפר את פוריות הקיץ לעומת הסתיו. ייתכן שלא די בזריקה בודדת של GnRH כדי לפצות על הנזקים של עקת החום ובפרט בציר היפותלמוס-היפופיזה-שחלה. בניגוד לממצאים שהתקבלו בעבודה הנוכחית, קאים וחובריו דיווחו על שיפור מובהק בפוריות הקיץ בעקבות זריקה בודדת של GnRH. הסתירה בין העבודות תתכן בעקבות הבדלים בעוצמת עומס חום, ממשק ויצרנות. בהתייחס להשפעה שונה בין העונות, יתכן והתזמון בין ייחום, שיא LH והביוץ שונה בין הקיץ והסתיו. במידה וכך, מועד ההזרקה צריך להיות מותאם לעונה. השערה זו לא נבדקה בעבודה הנוכחית וראויה להיבחן.

2. מתאם בין on set of estrus (OE) על לפי המערכת האוטומטית לזה הנקבע על פי שינויים ויזואליים בהתנהגות הפרה.

אחת מהנחות העבודה הנוכחית הייתה כי קיים מתאם בין מועד תחילת הייחום לפי זיהוי המערכת האוטומטית ולפי זיהוי בתצפית. עם העלייה בריכוזי האסטרדיול מעל לרמה הבזאלית מתחילים שינויים התנהגותיים הבאים לידי ביטוי במספר פעולות אופייניות: עלייה במספר הצעדים, רחרוח פרות אחרות, השענת סנטר על פרות אחרות, תגובת Flehmen, קפיצה על פרות אחרות, קפיצת פרות אחרות עליהן וייחום עמידה. Roelofs וחובריו מצאו, שההתנהגות שחזתה בצורה הטובה ביותר את תזמון הביוץ הייתה קפיצה על פרות אחרות. 90% מהפרות במחקר זה הציגו פעילות זו אשר התרחשה בממוצע 28.7±5.3 שעות לפני הביוץ. ייחום עמידה הוצג רק ב 58% מהפרות והתרחש 26.4±5.2 שעות לפני הביוץ (Roelofs

et al., 2005a). מחקר אחר של אותה קבוצה בדק את הקשר בין סימני התנהגות ייחום על פי נתוני פדומטריה, לתזמון הביוץ. מחקר זה השתמש בתגי רגל של חברת Nedap והגדיר ספי רגישות שונים לקביעת OE ומצא ששיעור זיהוי הייחומים הגבוה ביותר הושג בשימוש בעלייה ב 2.5, 3 ו 3.5 סטיות תקן ממספר הצעדים הממוצע של אותה פרה. שיעור הזיהוי עמד על 87%, 83% ו 79%, בהתאמה. כמצופה, שיעור התראות השווא על ייחום ירדו עם העלאת הסף ועמדו על 17%, 8% ו 5%, בהתאמה (Roelofs et al., 2005b). כלומר, הן לתצפית והן למערכות האוטומטיות יש מגבלות וכי קיימת שונות בין ובתוך כל שיטה בקביעת OE. השונות יכולה להיות בין המערכות השונות ובין אנשים שונים המבצעים את התצפית וזאת בנוסף להבדלים ממשקיים בין הארצות והמשקים השונים בהם בוצעו המחקרים. יחד עם זאת כל המחקרים מעידים על כך שהאירועים מתרחשים בסמיכות זה לזה. מחקר אחד מצא כי ייחום העמידה מקדים את העלייה בפעילות ב 1.8 שעות (Stevenson et al., 2014). אולם מערכת זיהוי הפעילות (SDet; Select Sires Inc.) במחקר זה הייתה שונה מזו בה השתמשנו במחקר הנוכחי. בנוסף, תזמון ייחום העמידה במחקר זה התבסס על המערכת אוטומטית המונחת על אחורי הפרה ורגישה למשקל ולא על תצפית. Aungier וחובריו ביצעו ניסוי על 21 פרות, שבדק תזמון פעילות ייחומית, פרופיל אנדוקריני של הורמוני מערכת המין וזיהוי פעילות אוטומטי ע"י שימוש במערכת דומה לזו שהשתמשנו בניסוי זה. מחקר זה מצא שייחום העמידה מתרחש במקביל לזיהוי המערכת ושיא LH מתרחש בממוצע כשעתיים לאחר מכן, אולם נמצאה שונות לא מבוטלת בין הפרות שנבדקו. בעבודה הנוכחית מצאנו שכ 75% מהפרות הציגו OE לפי תצפית בין שעתיים לפני עד 4 שעות לאחר הכניסה לדו"ח. יחד עם זאת, כדי לבסס טוב יותר את המתאם בין המערכת לתצפית יש לבצע תצפית רציפה על מספר גדול יותר של פרות ולנסות למצוא את נקודת הזמן האידיאלית עבור המערכת להתריע על תחילת ייחום עמידה וזאת על מנת לאפשר הזרקת GnRH בתוך 3 שעות.

אנו סבורים כי בסתיו היה מתאם טוב יותר בין זיהוי הייחום על ידי המערכת והאירועים המתרחשים סביב הביוץ. ידוע כי בעקבות עומס החום הפרות מעדיפות להמעיט בפעילות ומשך ועוצמת הייחום יורדים, מה שיכול לשנות את זמן הכניסה שלהן לדו"ח המבוסס על פעילות זו. חשוב לציין כי בסתיו השפעה מובהקת של הטיפול התקבלה רק בתת קבוצות של פרות (נדון בהמשך), מה שמרמז כי בנוסף לעונה מעורבים פקטורים נוספים .

3. גיל

בעבודה הנוכחית קבוצת הפרות בתחלובה שנייה היו המושפעות ביותר מהטיפול. בעבודתם של קאים וחובריו (Kaim et al., 2003) המבכירות הייתה קבוצת הגיל המושפעת ביותר. הסיבה לכך אינה ברורה דיה, אם כי שתי תת קבוצות אלו מתאפיינות במחזורי מין תקינים בהשוואה לפרות גבוהות, כך שקל יותר לסנכרנן. עבודות קודמות הראו שככל שהתחלובה גבוהה יותר (בין 4-1) עולה הסיכוי של הפרה להיות קשת התעברות כך שמתקבלת ירידה בשיעורי ההתעברות. (Bonneville-Hébert et al., 2011; Balendran et al., 2008). בעבודה אחרת נמצא כי איכות הביצית של פרות בתחלובה שניה הייתה נמוכה ביחס למבכירות ופרות בתחלובה שלישית ומעלה בחלון הזמן של 60-90 ימים בתחלובה. (Walters et al ., 2002). נתון זה יכול להסביר, ולו באופן חלקי, מדוע האפקט המיטיב לטיפול בעבודה הנוכחית התקבל בקבוצת הפרות בתחלובה שנייה.

4. תחלואה

פרות שסבלו מתחלואה כלשהיא לאחר ההמלטה (דלקת רחם, דלקת עטין או בעיה מטבולית) הושפעו מאד מהטיפול. ממצא זה מתקשר לשיבושים במחזוריות של פרות שסבלו מתחלואה בתחילת התחלובה (Opsomer et al., 2000), אשר ככל הנראה קשורה לשיבושים הורמונלים. תחלואה זו או אחרת יכולה אף להשפיע על משך ועוצמת הייחום (Roelofs et al., 2010). קטוזיס קליני, אצירת שלייה והמלטות קשות נקשרו עם ירידה באחוזי ההתעברות מהזרעה ראשונה בתחלובה העוקבת ולהארכת ימי הריק (Fourichon et al., 2000). עבודה אחרת מצאה שקטוזיס קליני נקשר עם ייחומים שקטים, שחלות ציסטיות וירידה בפוריות (Gröhn et al., 1990). גם קטוזיס תת קליני נמצא כמוריד את הסיכוי להתעברות (Raboisson et al., 2014). אנדומטריטיס נקשר להארכה של שבועיים עד חודשיים ויותר בימי הריק (Bretzlaff, 1987). בניתוח מידע מ 5 עבודות שונות נמצא כי מחלות דלקתיות לאחר המלטה הביאו לירידה בשיעור הפריית הביצית והתפתחות ביציות מופרות למורולה. כמו כן, מחלות דלקתיות לאחר המלטה העלו את מספר ההזרעות הדרושות להריון ואת כמות אובדני ההיריון, כאשר האפקט נמשך עד ארבעה חודשים מהמחלה (Riberio et al., 2016). דוגמה לפגיעה ישירה בפרופיל ההורמונלי בעקבות תחלואה ניתן לראות בעבודתו של Lavon et al. (2011) בה נמצאו ריכוזים נמוכים של הורמוני מין בכשליש מהפרות שסבלו מדלקות עטין כרוניות תת קליניות. לאור כל זאת ניתן לצפות כי הטיפול ייטיב עם תת קבוצה זו.

5. ציון גופני

בעבודה הנוכחית נמצאה השפעה משמעותית של הטיפול על פרות שהיו במצב גופני גבוה בהמלטה. לעומת זאת בעבודתם של קאים וחובריו (Kaim et al., 2003) נמצא כי פרות בעלות ציון גופני נמוך בשיא חלב הושפעו במיוחד מהטיפול. ככל הנראה, פרות אלו סבלו ממאזן אנרגיה שלילי חמור יותר. בהקשר זה נמצא פרות שאיבדו ציון גופני בין תחילת התחלובה עד לשיא חלב הן בעלות סיכוי נמוך יותר להתעבר מהזרעה ראשונה (Domecq et al., 1996; Heuer et al., 1999). היות ולפרות הממליטות במצב גופני גבוה יש יותר מאגרי שומן לאבד, אין בהכרח סתירה בין ממצאי העבודה הנוכחית לזו של קאים . בנוסף, ממצאי העבודה הנוכחית נתמכים ע"י עבודה אחרת שמצאה שפרות שהמליטו במצב גופני גבוה היו בעלות סיכוי נמוך יותר להתעבר מהזרעה ראשונה (Samarütel et al., 2006). עבודה נוספת מצאה שפרות במצב גופני גבוה יותר התעברו באחוזים גבוהים יותר מהזרעה ראשונה לאחר פרוטוקול Ovsynch לסינכרון הזרעה (Moreira et al., 2000). גם בפרוטוקול הזרקות חוזרות של PG ו-GnRH כטיפול קיץ נמצא שיפור בשיעור ההתעברות בפרות בעלות ציון גופני גבוה, אולם זה נמדד בשיא חלב ולא בהמלטה (Friedman et al., 2011). לאור כל זאת עולה כי מצב הגופני של הפרה מהווה פרמטר חשוב להצלחת הטיפול, קרי תגובה חיובית.

סיכום

ממצאי העבודה הנוכחית מעידים כי באמצעות הזרקת GnRH בחלון זמן של 4 שעות מזיהוי ייחום ע"י מערכת זיהוי אוטומטית (®Heatime של חברת SCR) ניתן לשפר את פוריות הסתיו של פרות לחלב. עיקר האפקט התקבל בפרות אשר היו בתחלובה שנייה, פרות שסבלו מתחלואה כלשהיא בתחילת התחלובה, פרות בעלות מצב גופני גבוה בהמלטה ופרות קשות התעברות. יחד עם זאת לא ניתן לשלול שילוב של מספר גורמים, אשר נבדק אך לא נמצא מובהק בשל מספר מועט של פרות השילובים השונים. כמו כן, נדרשת עבודה נוספת ע"מ להתאים את השיטה לשיפור פוריות הקיץ.

היבטים אתיים של המחקר

ככלל הפעילות במחקר זה מוגדרת כפעילות ממשקית. בכלל זה הזרקה בודדת של GnRH בנפח של 2 מ"ל לפרה. החומר Gonabreed מצוי בשימוש יום יומי ברפת החלב לשיפור ביצועי פוריות. הניסוי קיבל אישור של ועדת האתיקה אשר הועבר לרופאים המטפלים במשקים- דר' יוסי גור (גבעת חיים איחוד) ודר' אילן דגוני (יבנה) לפני תחילת הניסוי.

תודות

תודה לצוותים של רפתות קבוצת יבנה וגבעת חיים מאוחד על שיתוף הפעולה בביצוע הניסוי ואיסוף הנתונים. תודה למר משה קאים על עזרתו בהערכת עומס החום בו שרויות הפרות שהשתתפו בניסוי.

רשימת ספרות:

Aungier, S., J. Roche, P. Duffy, S. Scully, and M. Crowe. 2015. The relationship between activity clusters detected by an automatic activity monitor and endocrine changes during the periestrous period in lactating dairy cows.. J. Dairy Sci. 98:1666–84.

Balendran, A., Gordon, M., Pretheeban, T., Singh, R., Perera, R., and Rajamahedran, R. 2008. Decreased fertility with increasing parity in lactating dairy cows. Canadian journal of animal science, 88(3), 425-428.

Bloch, A., Y. Folman, M. Kaim, Z. Roth, R. Braw-Tal, and D. Wolfenson. 2006. Endocrine alterations associated with extended time interval between estrus and ovulation in high-yield dairy cows.. J. Dairy Sci. 89:4694–4702.

Bonneville-Hébert, A., Bouchard, E., Tremblay, D. D., and Lefebvre, R. 2011. Effect of reproductive disorders and parity on repeat breeder status and culling of dairy cows in Quebec. Canadian journal of veterinary research, 75(2), 147-151.

Bretzlaff, K. 1987. Rationale for treatment of endometritis in the dairy cow. The Veterinary clinics of North America. Food animal practice, 3(3), 593-607.

De Rensis, F., and R.J. Scaramuzzi. 2003. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow - A review. Theriogenology 60:1139–1151.

Domecq, J. J., Skidmore, A. L., Lloyd, J. W., and Kaneene, J. B. 1997. Relationship between body condition scores and conception at first artificial insemination in a large dairy herd of high yielding Holstein cows. Journal of Dairy Science, 80(1), 113-120.

Fourichon, C., Seegers, H., and Malher, X. 2000. Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. Theriogenology, 53(9), 1729-1759.

Friedman, E., Voet, H., Reznikov, D., Dagoni, I., and Roth, Z. 2011. Induction of successive follicular waves by gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F2α to improve fertility of high-producing cows during the summer and autumn. Journal of dairy science, 94(5), 2393-2402.

Fukasawa, M., Tsukada, H., Kosako, T., and Yamada, A. 2008. Effect of lactation stage, season and parity on milk cortisol concentration in Holstein cows. Livestock Science, 113(2-3), 280-284.

Gröhn, Y., Erb, H. N., McCulloch, C. E., and Saloniemi, H. S. 1990. Epidemiology of reproductive disorders in dairy cattle: associations among host characteristics, disease and production. Preventive Veterinary Medicine, 8(1), 25-39.

Heuer, C., Schukken, Y. H., and Dobbelaar, P. 1999. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. Journal of dairy science, 82(2), 295-304.

Kaim, M., A. Bloch, D. Wolfenson, R. Braw-Tal, M. Rosenberg, H. Voet, and Y. Folman. 2003. Effects of GnRH Administered to Cows at the Onset of Estrus on Timing of Ovulation, Endocrine Responses, and Conception. J. Dairy Sci. 86:2012–2021.

Lavon, Y., G. Leitner, E. Klipper, U. Moallem, R. Meidan, and D. Wolfenson. 2011. Subclinical, chronic intramammary infection lowers steroid concentrations and gene expression in bovine preovulatory follicles. Domestic Animal Endocrinology, 40: 98-109.

López-Gatius, F. 2003. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. Theriogenology 60:89–99.

López-Gatius, F., M. López-Bójar, M. Fenech, and R.H.F. Hunter. 2005. Ovulation failure and double ovulation in dairy cattle: Risk factors and effects. Theriogenology 63:1298–1307.

Lyimo, Z. C., Nielen, M., Ouweltjes, W., Kruip, T. A., and Van Eerdenburg, F. J. C. M. 2000. Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. Theriogenology, 53(9), 1783-1795.

Moreira, F., Risco, C., Pires, M. F. A., Ambrose, J. D., Drost, M., DeLorenzo, M., and Thatcher, W. W. 2000. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactattng dairy cows receiving a timed insemination. Theriogenology, 53(6), 1305-1319.

Opsomer, G., Gröhn, Y. T., Hertl, J., Coryn, M., Deluyker, H., and de Kruif, A. 2000. Risk factors for post partum ovarian dysfunction in high producing dairy cows in Belgium: a field study. Theriogenology, 53(4), 841-857.

Peters, A.R., T.A. Martinez, and A.J.C. Cook. 2000. A meta-analysis of studies of the effect of GnRH 11-14 days after insemination on pregnancy rates in cattle. Theriogenology 54:1317–1326.

Raboisson, D., Mounié, M., and Maigné, E. 2014. Diseases, reproductive performance, and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: A meta-analysis and review. Journal of Dairy Science, 97(12), 7547-7563.

Ribeiro, E. S., Gomes, G., Greco, L. F., Cerri, R. L. A., Vieira-Neto, A., Monteiro Jr, P. L. J., and Santos, J. E. P. 2016. Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows. Journal of dairy science, 99(3), 2201-2220.

Roelofs, J.B., F.J.C.M. Van Eerdenburg, N.M. Soede, and B. Kemp. 2005. Various behavioral signs of estrous and their relationship with time of ovulation in dairy cattle. Theriogenology 63:1366–1377. (a)

Roelofs, J. B., van Eerdenburg, F. J., Soede, N. M., and Kemp, B. 2005. Pedometer readings for estrous detection and as predictor for time of ovulation in dairy cattle. Theriogenology, 64(8), 1690-1703. (b)

Roelofs, J., López-Gatius, F., Hunter, R. H. F., Van Eerdenburg, F. J. C. M., and Hanzen, C. 2010. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. Theriogenology, 74(3), 327-344.

Ron, M., Bar-Anan, R., and Wiggans, G. R. 1984. Factors affecting conception rate of Israeli Holstein cattle. Journal of Dairy Science, 67(4), 854-860.

Rosenberg, M., S.Y. Chun, M. Kaim, Z. Herz, and Y. Folman. 1991. The effect of GnRH administered to dairy cows during oestrus on plasma LH and conception in relation to the time of treatment and insemination. Anim. Reprod. Sci. 24:13–24.

Roth, Z. 2008. Heat Stress, the Follicle, and Its Enclosed Oocyte: Mechanisms and Potential Strategies to Improve Fertility in Dairy Cows. Reprod. Domest. Anim. 43:238–244.

Samarütel, J., Ling, K., Jaakson, H., Kaart, T., and Kärt, O. 2006. Effect of body condition score at parturition on the production performance, fertility and culling in primiparous Estonian Holstein cows. Vet Zootech, 36(58), 69-74.

Schüller, L. K., Burfeind, O., and Heuwieser, W. 2014. Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature–humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. Theriogenology, 81(8), 1050-1057.

Stevenson, J.S., S.L. Hill, R.L. Nebel, and J.M. DeJarnette. 2014. Ovulation timing and conception risk after automated activity monitoring in lactating dairy cows1. J. Dairy Sci. 97:4296–4308.

Ullah, G., J.W. Fuquay, T. Keawkhong, B.L. Clark, D.E. Pogue, and E.J. Murphey. 1996. Effect of Gonadotropin-Releasing Hormone at Estrus on Subsequent Luteal Function and Fertility in Lactating Holsteins During Heat Stress. J. Dairy Sci. 79:1950–1953.

Veerkamp, R. F., Beerda, B., and Van der Lende, T. 2003. Effects of genetic selection for milk yield on energy balance, levels of hormones, and metabolites in lactating cattle, and possible links to reduced fertility. Livestock Production Science, 83(2-3), 257-275.

Walters, A. H., Bailey, T. L., Pearson, R. E., and Gwazdauskas, F. C. 2002. Parity-related changes in bovine follicle and oocyte populations, oocyte quality, and hormones to 90 days postpartum. Journal of dairy science, 85(4), 824-832.

West, J.W. 2003. Effects of Heat-Stress on Production in Dairy Cattle. J. Dairy Sci. 86:2131–2144.

Willard, S., S. Gandy, S. Bowers, K. Graves, A. Elias, and C. Whisnant. 2003. The effects of GnRH administration postinsemination on serum concentrations of progesterone and pregnancy rates in dairy cattle exposed to mild summer heat stress. Theriogenology 59:1799–1810.

Wolfenson, D., and Roth, Z. 2019. Impact of heat stress on cow reproduction and fertility. Animal Frontiers, 9(1), 32-38.

נספחים

נספח 1- נתוני אקלים וטמפרטורת גוף בתקופת הניסוי (טמ' וואגינלית ע"י לוגרים).

נתוני אקלים	יבנה	גבעת חיים	
טמפ' אויר	°C30.6	°C30.8	מקס' ממוצע
לחות יחסית	96%	89%	מקס' ממוצע
THI מקס'	78	78	ממוצע מקס' יומי
טמפ' גוף	°C39.1-39.2	°C39.1-39.2	שיאים לפני צינון