Program OvSynch, jego modyfikacje oraz alternatywne programy hormonalne stosowane w rozrodzie krów

JĘDRZEJ M. JAŚKOWSKI, MAGDALENA HERUDZIŃSKA,
JAKUB KULUS, KLAUS-PETER BRÜSSOW, MAREK GEHRKE

Centrum Weterynarii, Uniwersytet im. Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Gagarina 7, 87-00 Toruń

Otrzymano 07.12.2017

Zaakceptowano 07.05.2018

Jaśkowski J. M., Herudzińska M., Kulus J., Brüssow K.-P., Gehrke M.

OvSynch program, its modifications and alternative hormonal programs in cow reproduction

Summary

The OvSynch program was formulated over 20 years ago (it consists in administering gonadoliberein on the day of starting the procedure, then injecting prostaglandin 7 days after the GnRH initial injection, and administration of GnRH two days after applying PGF_{2α}. The procedure ends in the insemination of a female 16–20 hours after administering the final dose of the hormone) and it is commonly applied in cow reproduction management protocols. It has evolved into numerous modifications which has boosted its effectiveness. They have consisted in replacing GnRH with hCG or pLH, diversifying the time of the final injection of GnRH, which follows the prostaglandin injection, and postponing insemination after the final GnRH dose, as well as changing the dosage of the aforementioned hormones. To expedite the Ovsynch protocol, so-called PreSynch was used, which involved administering two prostaglandin injections with a 14 day interval before applying the initial GnRH dose in protocol OvSynch. The interval between the second prostaglandin injection in the PreSynch program varied (PreSynch-14, PreSynch-12, PreSynch-11, PreSynch-11 and PreSynch). The pregnancy rate can be also improved by introducing GnRH injection before starting the OvSynch program, administered 7, 6 or 4 days before the initial GnRH injection in OvSynch (G7G, G6G, G4G). Higher pregnancy rates, in comparison to the PreSynch-OvSynch program, can be obtained by applying the DoubleOvsynch protocol. In this protocol two OvSynch programs are administered in a 7-day interval. Lately, alternative programs such as DoubleSynch and EstraDoubleSynch have emerged. The DoubleSynch protocol consists in administering PGF_{2α} in day 0, GnRH on the second day, another PGF application on the 9th day, and the second GnRH dose on the 11th day. Artificial insemination is performed in oriented time (TAI). This solution is used in order to achieve a higher percentage of pregnant cows in comparison to the PreSynch+OvSynch protocol. It also enables synchronisation of heat and ovulation, both after the first and the second hormonal treatment of GnRH. In EstraDoubleSynch protocol the second injection of GnRH at the end of the DoubleSynch program is replaced by estradiol benzoate (BE) administration on the 10th day, in order to acquire a higher level of follicle waves synchronisation and ovulation rate. Those programs applied in cow reproduction management can positively influence fertility and boost cow breeding profitability.

Keywords: OvSynch, PreSynch, G6G, alternative modifications, cows

Program synchronizacji rui i owulacji o popularnej nazwie OvSynch (OVS) ma ponad 20 lat. Opracowany i opisywany przez Pursleya i wsp. (48) zapoczątkował erę nowoczesnego, hormonalnego sterowania rozrodem krów. Idea programu była efektem wcześniejszych odkryć, związanych z rozwojem ultrasonografii i poznaniem dynamiki pęcherzyków jajnikowych podczas cyklu rujowego (1, 35, 36, 44). Ustalono wtedy, że w okresie międzyrujowym ma miejsce nie jedna, lecz dwie, trzy lub cztery tzw. fale pęcherzykowe. Umiejętność hormonalnego sterowania pojawianiem

się, dojrzewaniem i owulacją pęcherzyków jajnikowych stała się początkiem badań nad opracowaniem protokołu przydatnego do synchronizacji rui i owulacji z ustaloną w czasie inseminacją (TAI) i początkiem współczesnych metod zarządzania rozrodem krów mlecznych.

Klasyczny program OvSynch

Program opiera się na trzech iniekcjach hormonalnych następujących po sobie w określonej sekwencji. Zadaniem pierwszego podania GnRH jest stymulacja

rozwoju pęcherzyków jajnikowych bądź wywołanie owulacji dojrzałych pęcherzyków, względnie luteinizacja dużego pęcherzyka jajnikowego. Podana w 7. dniu prostaglandyna (PG) ma powodować luteolizę ciała

(-lek) żółtego. Kolejna, finalna dawka GnRH aplikowana 48 godzin po iniekcji prostaglandyny, indukuje owulację pęcherzyka dominującego i umożliwia ustaloną w czasie inseminację, przypadającą zwykle na 24. godzinę po podaniu GnRH (ryc. 1) (11, 39, 44, 48, 58, 59). Program ten w swoim założeniu miał być skuteczny u wszystkich krów, niezależnie od fazy cyklu rujowego. Okazało się, że efektywność programu OvSynch jest zróżnicowana (23, 44). Protokół OvSynch wydaje się bardziej skuteczny u pierwsiastek niż wieloródek (odsetek ciąży, odpowiednio, 37,9% wobec 31,6% u pierwsiastek i wieloródek) (53). Rabiee i wsp. (50) na podstawie metaanalizy wyników kilkunastu publikacji doszli do wniosku, że wskaźnik zacięć po zastosowaniu programu OvSynch nie różni się istotnie od programu opartego na dwóch iniekcjach prostaglandyny. Co więcej, u wieloródek wskaźnik zacięć był wyższy po zastosowaniu synchronizacji rui z wykorzystaniem dwóch iniekcji prostaglandyny podanej w 12-dniowym odstępie (2xPG12) niż protokołu OvSynch, natomiast stosując program 2xPG12 i OvSynch u pierwsiastek uzyskiwano podobne wskaźniki zacięć (13).

Płodność krów po zastosowaniu programu OvSynch. Po zastosowaniu OvSynch wskaźnik zacięć był różny – w zależności od stada, cech osobniczych, kondycji krów, temperatury zewnętrznej itp. – przeważnie jednak nie przekraczał 40% (24, 31, 50). W dalszych badaniach wykazano, że wskaźnik ciąży po zastosowaniu protokołu OvSynch zależy od: obecności i rozmiarów ciała żółtego (*corpus luteum* – CL), występowania *mastitis* i kulawizn przed rozpoczęciem programu. Stwierdzono, że zastosowanie protokołu OvSynch w obecności CL pozwalało na uzyskanie wyższego wskaźnika ciąży niż gdy na jajnikach nie stwierdzono wyraźnej struktury lutealnej. W przypadku stwierdzenia ciała żółtego wskaźnik ciąży wynosił 52,8%, natomiast u krów bez tej struktury na jajniku 27,9%. Wykazano, że u krów, u których w okresie między wycieleniem a rozpoczęciem protokołu OVS stwierdzono *mastitis* lub kulawiznę, wskaźnik ciąży był wyraźnie niższy niż u zdrowych krów (31).

Termin rozpoczęcia programu OVS. Najwyższy wskaźnik zacięć uzyskiwano, rozpoczynając serię zastrzyków 6.-10. dnia cyklu rujowego (2, 9, 50). Wykazano, że najlepsze efekty daje rozpoczęcie protokołu OvSynch w 6. dniu cyklu rujowego, gdyż w takim przypadku najwyższy odsetek samic z dodatkowym ciałkiem żółtym spodziewany jest w dniu iniekcji prostaglandyny (2). Gorsze rezultaty osiągnęto, gdy pierwsza iniekcja GnRH następowała w połowie cyklu rujowego lub później. W celu poprawy efektywności

Ryc. 1. Protokół OvSynch

protokołu prowadzono szereg badań nad modyfikacjami procedury, zoptymalizowaniem terminu rozpoczęcia programu OvSynch oraz rozwiązaniami alternatywnymi (22, 31, 45, 48, 60).

Modyfikacje klasycznego programu OvSynch

Termin inseminacji. Najwcześniej próbowano dokonywać przesunięcia terminu inseminacji po drugiej, finalnej iniekcji GnRH protokołu OvSynch. W tym celu krowy inseminowano albo w momencie podania GnRH, albo, odpowiednio, w 8., 12., 16., 24. i 32. godzinie po podaniu hormonu. Najlepsze rezultaty zacięć uzyskiwano przeprowadzając inseminację między 8. a 24. godziną po podaniu GnRH. Z kolei inseminacja towarzysząca podaniu GnRH lub następująca 32 godziny po niej skutkowała niższym wskaźnikiem zacięć. Generalnie czas inseminacji nie wpływał zasadniczo na uzyskiwane wyniki ciąży (49).

Termin podawania hormonów. Testowano także wpływ jednoczesnego podania prostaglandyny i finalnej dawki GnRH (CoSynch) w zmodyfikowanym programie OvSynch (MOV). Wskaźnik zacięć z zastosowaniem MOV był niższy niż w przypadku stosowania protokołu OvSynch. W momencie podania drugiej iniekcji GnRH średnica pęcherzyka owulacyjnego była istotnie większa niż przy zastosowaniu MOV. Interesujących danych dostarczają wyniki eksperymentu, w którym GnRH podawano w różnym terminie po podaniu prostaglandyny. Jeśli GnRH podawano wraz z aplikacją prostaglandyny, względnie 12, 24 i 36 h po podaniu $PGF_{2\alpha}$, zaznaczał się liniowy wzrost średnicy pęcherzyka i wskaźnika zacięć wraz z wydłużaniem czasu do finalnej iniekcji GnRH (45). W innych badaniach porównywano wskaźnik ciąży i poziom P4 po zastosowaniu klasycznego protokołu OvSynch i protokołu OvSynch, w którym finalną dawkę GnRH podawano 60 h po iniekcji $PGF_{2\alpha}$. W grupie, w której zastosowano zmodyfikowany OvSynch, stężenie progesteronu (P4) w 4. dniu po rui było wyższe niż w grupie ze standardowym protokołem (odpowiednio, 2,1 i 1,6 ng/ml). Nie miało to jednak istotnego wpływu na ogólny wskaźnik ciąży, który wynosił 38,4% dla grupy ze zmodyfikowanym protokołem i 44,1% dla grupy z klasyczną procedurą synchronizacji owulacji (22). Obecnie preferowane są programy OvSynch, w których finalna iniekcja GnRH następuje 56 godzin po podaniu prostaglandyny (31).

W innych badaniach porównywano klasyczny protokół OvSynch z modyfikacją OVS polegającą na skróceniu odstępu między pierwszym podaniem GnRH a iniekcją $PGF_{2\alpha}$ z 7 do 6 dni. Wskaźnik ciąży w grupie krów, u których zastosowano 7-dniowy (standardowy)

odstęp między podaniem gonadoliberyny i prostaglandyny wyniósł 50,3%, natomiast w grupie, w której odstęp skrócono do 6 dni, był on równy 40,9% (60).

Choriogonadotropina (hCG) i pLH a OvSynch. Wynik zacielen próbowano poprawić, wprowadzając po przeprowadzeniu programu OvSynch iniekcję 3000 j.m. hCG w 5. dniu po inseminacji. Lepszy wynik zacielen gwarantowało podanie – 24 godziny po iniekcji prostaglandyny – 1 mg benzoesu estradiolu i przeprowadzenie inseminacji 48-52 godzin później (33). Zastąpienie pierwszej iniekcji GnRH w protokole OvSynch podaniem 1500 j.m. hCG nie wpłynęło korzystnie na odsetek owulujących pęcherzyków pierwszej fali oraz wskaźnik zacielen (wskaźnik zacielen w grupie otrzymującej hCG zamiast GnRH – 37,6%, natomiast w grupie otrzymującej GnRH – 48,4%). Konkluzją tych badań jest, że zastąpienie pierwszej iniekcji GnRH podaniem hCG nie jest przydatne do poprawy efektywności programu OvSynch (34). Potwierdzają to badania De Renis i wsp. (19), w których wykazano brak poprawy wskaźnika ciąży zarówno u krów mlecznych, jak i mięsnych po wprowadzeniu do protokołu OvSynch 2500 j.m. hCG w miejsce iniekcji GnRH w 0. i 9. dniu. Podobne wnioski wysnuli Geary i wsp. (25). Wykazano jednak, że zastosowanie modyfikacji programu OvSynch z użyciem hCG latem niweluje negatywny wpływ stresu cieplnego na wskaźnik ciąży (19, 20). Poza tym, u samic, u których zastosowano zmodyfikowany protokół OvSynch z hCG, odnotowano redukcję odsetka strat ciąży z 36 do 5% (20). Z kolei u krów mięsnych użycie hCG skutkowało wyższym odsetkiem skróconych rui (24).

Choriogonadotropinę podawaną przed inicjalną iniekcją GnRH protokołu OvSynch stosowano również podczas protokołu ReSynch, u krów wcześniej inseminowanych. Wspomniany hormon (2000 j.m.) aplikowano 18. dnia po TAI, a następnie w 25. dniu po inseminacji podawano GnRH, poprawiając stopień synchronizacji rui u krów niecielných. Modyfikacja ta nie miała jednak wpływu na dalszą płodność krów (28). W innych badaniach ustalono, że podanie hCG przed rozpoczęciem programu CoSynch + CIDR nie poprawia odsetka zacielenych krów, natomiast zastąpienie GnRH iniekcją hCG w momencie inseminacji może powodować obniżenie wskaźnika ciąży (40).

Oprócz prób zastępowania iniekcji GnRH podaniem hCG prowadzono również badania nad wykorzystaniem w zmodyfikowanym protokole OvSynch świnińskiego hormonu luteinizującego (porcine luteinizing hormone – pLH). Wykazano, że podanie 25 mg pLH w miejsce finalnej iniekcji GnRH powoduje poprawę wskaźnika ciąży. Efektu tego nie odnotowano w przypadku podania pLH w miejsce zarówno finalnej, jak i inicjalnej dawki gonadotropiny (17).

Dodatkowa iniekcja prostaglandyny. Warunkiem niezbędnym do zacielenia jest wywołanie kompletnej

luteolizy (poziom P4 < 0,5 ng/ml). Podanie dodatkowej iniekcji prostaglandyny podczas programu OvSynch nie wpływa zasadniczo na wskaźnik zacielen, może być jednak stosowane w celu poprawy synchronizacji i wzmocnienia objawów rujowych. Dodatkowa iniekcja prostaglandyny powodowała zwiększenie odsetka samic z kompletną luteolizą z 84,6% w grupie kontrolnej do 95,6% w grupie badanej. Mimo to zastosowanie dodatkowej iniekcji PGF_{2α} nie miało wpływu na odsetek zacielenych krów (kontrola = 41,5% wobec + PGs = 44,7%) (12). W przypadku prostaglandyny powszechnie wiadomo, że dinoprost ma stosunkowo krótki okres półtrwania, wynoszący 7-8 min. Kloprostenol jest bardziej oporny na endogenne metabolizmy i utrzymuje się w krwiobiegu przez dłuższy czas (okres półtrwania = 3 h). Mimo to nie stwierdzono różnic w odsetku krów, u których dochodziło do pełnej luteolizy po podaniu kloprostenolu lub dinoprostu. Średni poziom progesteronu był w obu grupach podobny. Natomiast zaznaczała się tendencja do poprawy wyników zacielen po podaniu kloprostenolu, zarówno po inseminacji w pierwszej (40% wobec 35%), jak i drugiej rui (23% do 21%) (36, 37). Poziom P4 w momencie aplikacji pierwszej iniekcji GnRH wpływał na sekrecję LH indukowaną podaniem prostaglandyny i drugiej iniekcji GnRH podczas programu OvSynch. U krów z wysokim poziomem P4 otrzymujących 200 µg GnRH średni poziom LH po indukowanej luteolizie był wyższy przez 1,5-5 h w porównaniu do samic otrzymujących 100 µg GnRH w pierwszej iniekcji. W przypadku krów z niskim poziomem P4 po podaniu 200 µg GnRH pik LH był wyższy przez 1-2,5 h niż po podaniu 100 µg (27, 29). Z drugiej strony, zastąpienie w protokole OvSynch iniekcji 100 µg GnRH dawką zredukowaną do 50 µg nie miało istotnego wpływu na stopień synchronizacji rui, odsetek owulacji mnogich oraz wskaźnik zacielen. Tego rodzaju rozwiązanie umożliwiało uzyskanie oszczędności rzędu 6,40 \$ na krowę i 20,25 \$ na ciążę (23). Dalsze redukcje dawki GnRH do 10,5 i 5,25 µg octanu busereliny, jak również ograniczanie ilości podawanego kloprostenolu do 150 mg nie powodowało istotnych różnic w rozmiarach owulacyjnych pęcherzyków jajnikowych i płodności krów (32).

Odmienne od opisanych wniosków wysnuli Sousa i wsp. (54). Wykazano, że podanie PGF_{2α} w 5. lub 6. dniu po GnRH nasila luteolizę i powoduje skrócenie czasu do ustalonej w czasie inseminacji (TAI). Skrócony w ten sposób czas dominacji pęcherzyka wpływał korzystnie na płodność krów (53).

CoSynch + CIDR

Wsparcie progesteronowe może mieć korzystny wpływ na wyniki płodności krów poddanych programowi OvSynch. Nie wykazano wprawdzie, by zapłodnialność u krów, u których zastosowano CoSynch wraz z wprowadzeniem wkładki proge-

steronowej CIDR (ryc. 2), różniła się istotnie w porównaniu do grupy krów poddanych działaniu programu OvSynch (40,3% CoSynch + CIDR; 33,3% OvSynch), jednakże przewaga programu CoSynch+OvSynch była widoczna w odniesieniu do całkowitego wskaźnika zacielen (56,5% CoSynch; 37,8% OvSynch) (6).

PreSynch

Najprostszym programem optymalizującym protokół OvSynch jest PreSynch (synchronizacja wstępna) z wykorzystaniem dwóch następujących iniekcji prostaglandyny. Takie leczenie powoduje poprawę płodności u krów poddanych programowi OvSynch (40, 46, 57). Podając dwie iniekcje prostaglandyny w odstępie 14-dniowym na 28 dni przed rozpoczęciem protokołu OvSynch notowano wzrost odsetka zacielenych krów z 37,3% – uzyskiwanych po zastosowaniu programu OvSynch, do 49,6% (41). Podanie dwóch iniekcji prostaglandyny oraz rozpoczęcie programu OvSynch 12 dni (PreSynch-12) po drugiej iniekcji PG powodowało zwiększenie odsetka samic owulujących po pierwszej iniekcji GnRH oraz wykazujących ciało żółte w momencie podania prostaglandyny w programie OvSynch (58). W przypadku 12-dniowego protokołu PreSynch stwierdzono, że jest on skuteczniejszy u pierwsiastek niż u wieloródek. Istotne różnice wykazano także w odsetku skutecznych inseminacji po zakończonej procedurze oraz współczynnika ciąży w zależności od pory roku. Wyższe wartości wymienionych wskaźników osiągnano w okresie chłodniejszych miesięcy. Wówczas współczynnik cielnosci wynosił 24,9% i 24,68%, odpowiednio, dla zimy i wiosny. Podczas lata i jesieni był równy, odpowiednio, 6,6% i 15,63% (7). Iniekcję prostaglandyny (2xPG14) stosowano także na 14 (PreSynch-14), 12 (PreSynch-12), 11 (PreSynch-11), 10 (PreSynch-10), a nawet 9 dni (PreSynch-9) przed rozpoczęciem programu OvSynch (11, 18). Okazało się, że redukcja okresu pomiędzy programem PreSynch i OvSynch nie miała istotnego wpływu na odsetek owulujących krów po podaniu GnRH, jednak spowodowała istotne obniżenie odsetka cielnych samic w 32., jak i 60. dniu po TAI (18). Z kolei – co interesujące – wprowadzenie dodatkowej iniekcji prostaglandyny w 15. dniu po wycieleniu u krów poddanych następnie programowi PreSynch+OvSynch skracало liczbę dni do zacielenia oraz poprawiało wskaźnik zacielen po pierwszej inseminacji (3).

Programy G6G i G7G

Efektywność programu OvSynch można także zwiększyć przez synchronizację wstępną, polegającą na wykorzystaniu iniekcji prostaglandyny, a następnie po dwóch dniach GnRH (14). Ustalono, że synchronizacja wstępna w wykorzystaniu GnRH podawanego

Ryc. 2. Protokół CoSynch + CIDR

Ryc. 3. Protokół PG6G

6 lub 7 dni (G6G lub G7G) przed inicjalną dawką GnRH podczas programu OvSynch powoduje wzrost stężenia P4 w momencie rozpoczynania programu OvSynch i w momencie iniekcji prostaglandyny. Skutkuje także wzrostem stopnia synchronizacji rui po finalnej iniekcji GnRH programu OvSynch i poprawą wskaźnika zacielen w porównaniu do klasycznego programu OvSynch (14, 15). Zwiększenie odsetka krów z wysokim poziomem progesteronu (> 1 ng/ml) w dniu podania inicjalnej dawki GnRH oraz w dniu podania prostaglandyny w programie OvSynch, a także poprawę wskaźnika ciąży uzyskiwano, aplikując 14 dni przed rozpoczęciem programu G6G lub G7G pojedynczą dawkę prostaglandyny (PG6G lub PG7G) (ryc. 3). W 30. dniu po inseminacji odsetek krów cielnych wyniósł 31,1% i 39,2%, odpowiednio, w grupach PG6G i PG7G i był nieznacznie wyższy niż w grupach poddanych protokołowi G6G i G7G. Równocześnie w grupach doświadczalnych niższy był odsetek strat ciąży między 30. a 60. dniem jej trwania (odpowiednio, 11,7% i 19,7%) (21). Wskaźnik zacielen w 32. i 60. dniu ciąży ulegał poprawie przy skróceniu okresu między podaniem prostaglandyny a iniekcją GnRH podczas protokołu PreSynch, poprzedzającego program G6G. Natomiast dodatkowa iniekcja prostaglandyny 24 h po pierwszej jej dawce (7. dzień programu OvSynch) powodowała zwiększenie odsetka krów z prawidłową regresją ciała żółtego, poprawiała wskaźnik zacielen w 60. dniu po sztucznym unasiennianiu (SU) oraz zmniejszała odsetek strat ciąży (30). Dowodzą tego wyniki eksperymentu, w którym krowy przydzielono do dwóch grup: 1) bez ingerencji hormonalnej przed przeprowadzeniem protokołu Ovsynch (kontrolna) lub 2) otrzymującej 25 mg PGF_{2α} (PreP), a następnie po 2 dniach 100 µg GnRH (PreG). Wspomniana iniekcja GnRH poprzedzała inicjalną dawkę GnRH programu OvSynch o 4 (G4G), 5 (G5G) lub 6 (G6G) dni. Odsetek samic, u których doszło do owulacji po inicjalnej iniekcji GnRH programu OvSynch, wynosił, odpowiednio, 56,0%, 66,7%, 84,6% i 53,8% dla grup G4G, G5G, G6G i kontrolnej oraz był istotnie wyższy w grupie G6G niż kontrolnej. Luteoliza w wyniku podania PGs była istotnie wyższa we wszystkich grupach doświadczalnych niż

kontrolnej (92,0%, 91,7%, 96,2% i 69,2%, odpowiednio, w grupach: G4G, G5G, G6G i kontrolnej). Stopień synchronizacji rui przed rozpoczęciem programu OvSynch był wyższy (odpowiednio, 92% wobec 69%) w grupie G6G niż u krów kontrolnych. Strategia oparta o $\text{PGF}_{2\alpha}$ i GnRH poprzedzające pre-OvSynch polegająca na wprowadzeniu 6-dniowego odstępu między PreG i inicjalną iniekcją GnRH programu OvSynch skutkuje wyższym odsetkiem owulacji i odpowiedzią luteolityczną po inicjalnej dawce GnRH i podaniu prostaglandyny w programie OvSynch, w porównaniu do krów kontrolnych. Konsekwencją tego jest poprawa płodności krów i optymalizacja protokołu OvSynch (8). Podobne rezultaty uzyskano u jaków, u których najwyższy wskaźnik zacieleń notowano w przypadku synchronizacji wstępnej G6G i G5G, natomiast zastosowanie G4G skutkowało gorszym wynikiem, porównywalnym do grupy kontrolnej, u której synchronizacji wstępnej przed zastosowaniem programu OvSynch nie stosowano (55). Z innych badań wynika, że u krów poddanych synchronizacji wstępnej z zastosowaniem programu G6G, w przeciwieństwie do jednej iniekcji prostaglandyny, jej dwukrotne podanie w 5. dniu programu OvSynch powodowało poprawę wskaźnika zacieleń. Efektu takiego nie notowano u krów kontrolnych, u których synchronizacji wstępnej nie stosowano (51, 52).

Modyfikacje wstępnej synchronizacji

W celu redukcji nakładu pracy związanej ze stosowaniem takich programów, jak Presynch-11 czy G6G, stosuje się pewne modyfikacje wstępnej synchronizacji. Jedną z nich jest jednoczesne zastosowanie prostaglandyny i GnRH, następujące siedem dni przed rozpoczęciem programu OVS. Stwierdzono, że taki rodzaj synchronizacji wstępnej pozwala uzyskać identyczny odsetek owulujących krów, podobny odsetek krów, u których uzyskuje się pełną luteolizę oraz podobny wskaźnik ciąży, jak po zastosowaniu programu G6G. Dowodzą tego badania, w których jedna grupa ustawiona została według protokołu G6G ($\text{PGF}_{2\alpha}$, 2 dni GnRH, 6 dni GnRH, 7 dni $\text{PGF}_{2\alpha}$, 56 godzin GnRH, i 16 godzin SU), natomiast zwierzęta z grupy 2 według programu PG + G ($\text{PGF}_{2\alpha}$ + GnRH, 7 dni GnRH, 7 dni $\text{PGF}_{2\alpha}$, 56 godzin GnRH, i 16 godzin SU). Wszystkie krowy otrzymywały drugą iniekcję $\text{PGF}_{2\alpha}$ 24 godziny po $\text{PGF}_{2\alpha}$ programu OvSynch. Odsetek zacielenych krów w 35. oraz 49. dniu po inseminacji był podobny w grupie 1 i 2 i wynosił 57% wobec 50% oraz 54% wobec 47%. Odsetek krów owulujących po podaniu GnRH podczas synchronizacji wstępnej był wyższy u krów z grupy 1 niż samic z grupy 2, jednak w momencie podania pierwszej iniekcji GnRH programu OvSynch był on w obu grupach porównywalny (67% wobec 68%). Stwierdzono także, że poziom progesteronu w momencie podania prostaglandyny w programie

OvSynch był wyższy w grupie pierwszej niż drugiej (5,75 wobec 4,64 ng/ml). Ostatecznie uznano, że jednoczesne podanie prostaglandyny i GnRH siedem dni przed startem programu OvSynch może być prostą alternatywą dla programu G6G zapewniającą akceptowalne rezultaty (61).

DoubleOvsynch

Przed kilku laty zaproponowano tzw. DoubleOvsynch (ryc. 4) (56). Takie rozwiązanie ma zwiększać odsetek zacielenych krów w porównaniu do programu PreSynch + OvSynch z wykorzystaniem dwóch wstępnych iniekcji prostaglandyny (5). Wskaźnik ciąży u krów, u których zastosowano DoubleOvsynch wyniósł 49,7% i był wyższy od 41,7%, uzyskanego u krów, u których program OvSynch poprzedzono programem PreSynch, z wykorzystaniem dwóch iniekcji prostaglandyny. DoubleOvsynch poprawiał wskaźnik ciąży u pierwsiatek (65,2% wobec 45,2%), nie poprawiał go natomiast u wieloródek (37,5% i 39,3%). Powód tego zjawiska nie jest jasny (26). Korzystny efekt stosowania programu DoubleOvsynch u pierwsiatek potwierdzono na podstawie metaanalizy przeprowadzonej w Niemczech. Odsetek zacielenych jałowic po zastosowaniu DoubleOvsynch wyniósł 51,4%, podczas gdy po użyciu programu PreSynch+OvSynch wyniósł on 43,4%. U wieloródek po wprowadzeniu powyższych programów wskaźnik ciąży nie różnił się istotnie i wyniósł 39,2% i 41,4% (10). Powyższe wyniki zostały częściowo potwierdzone podczas badań populacyjnych przeprowadzonych w Hiszpanii na krowach rasy holsztyńsko-fryzyskiej (4). Badania objęły blisko 7 tys. krów poddanych protokołowi DoubleOvsynch oraz ponad tysiąc krów, u których zastosowano G6G. Całkowity wskaźnik ciąży był po obu programach porównywalny i wynosił dla DoubleOvsynch oraz G6G, odpowiednio, 36,3% i 34,8%, tym niemniej u krów pierwsiatek, u których zastosowano DoubleOvsynch, wskaźnik ciąży był istotnie wyższy niż w przypadku użycia programu G6G (44,3% wobec 31,4%). Tendencji tej nie notowano u krów wieloródek. DoubleOvsynch powodował indukcję rui u krów niewykazujących cyklu rujowego i wzrost odsetka krów z podwyższonym poziomem P4 w momencie podania inicjalnej dawki GnRH programu OvSynch oraz odsetka krów z wysoką koncentracją progesteronu ($> 3,0$ ng/ml) w dniu podania prostaglandyny (5). Także synchronizacja wstępna z zastosowaniem DoubleOvsynch zwiększała stopień synchronizacji cyklu rujowego i wskaźnik zapłodnialności w porównaniu do krów synchronizowanych z zastosowaniem pojedynczej iniekcji GnRH na 7 dni

Ryc. 4. Protokół DoubleOvsynch

przed rozpoczęciem programu OvSynchron (15).

Umiarkowany wpływ na efektywność programu DoubleOvsynch ma wielkość dawki GnRH i prostaglandyny. W jednym z eksperymentów oceniano wpływ dwóch różnych dawek gonadoreliny (100 i 200 µg) oraz dwóch różnych dawek analogu prostaglandyny (500 i 750 µg). Pomimo wzrostu odsetka owulujących krów po podaniu pierwszej iniekcji GnRH stwierdzano zaledwie marginalny wpływ dawki wymienionych substancji na płodność po orientowanej w czasie inseminacji (Timed Artificial Insemination – TAI) i zastosowaniu DoubleOvsynch (26). Interesujące wnioski płyną z ostatnich badań Santosa i wsp. (54), w których porównywali efektywność dwóch różnych systemów synchronizacji owulacji z zastosowaniem programu DoubleOvsynch oraz dwukrotnej iniekcji prostaglandyny. Nie stwierdzono istotnej różnicy w zapłodnialności, chociaż w przypadku programu DoubleOvsynch zwiększyła się liczba inseminacji przypadająca na ciążę. Generalnie jednak oba programy posiadały podobną skuteczność.

Programy alternatywne

DoubleSynchron. Opisano także programy alternatywne z wykorzystaniem prostaglandyny i GnRH. Pierwszy z nich przedstawiono w 2010 r. (45). Program ten, nazwany DoubleSynchron, zapewniał według autorów uzyskiwanie wysokich wskaźników ciąży u krów mlecznych. Metoda ta – mało jeszcze znana – umożliwia synchronizację rui i owulacji, leczeniu zarówno po pierwszym, jak i drugim podaniu hormonu uwalniającego gonadotropinę (GnRH). Sugerowano, że protokół ten może zwiększyć współczynniki ciąży u bydła mlecznego, szczególnie u krów pierwiastek. Protokół DoubleSynchron polega na: podaniu PGF_{2α} w dniu 0., GnRH w 2. dniu, kolejnym podaniu PGF_{2α} w dniu 9. i drugim podaniu GnRH w dniu 11. Sztuczna inseminacja następuje w ściśle ustalonym czasie (TAI), tj. od 16 do 20 godzin po drugim podaniu GnRH. Efektywność DoubleSynchron była porównywana do OvSynchron. Niezależnie od rozmiarów pęcherzyka jajnikowego (małe, średnie, duże), w dniu podania drugiej iniekcji GnRH wskaźnik ciąży był wysoki i oscylował we wszystkich trzech grupach na poziomie około 70%. Tymczasem w grupie krów poddanych protokołowi OvSynchron wskaźnik ciąży wyraźnie się obniżał w miarę zwiększania się rozmiarów pęcherzyka jajnikowego. O ile w grupie krów mających małe pęcherzyki w dniu podania drugiej dawki GnRH

Tab. 1. Wartość wskaźnika ciąży w zależności od zastosowanego programu synchronizacji rui i owulacji

Program	Wskaźnik ciąży [%]	Autor/źródło
OvSynchron	29,8-50,3	Forro i wsp. (22) Yilmazbas-Mecitglu i wsp. (60) Ozturk i wsp. (45) Mirmahmoundi i wsp. (41) Azevedo i wsp. (6) Brusveen i wsp. (12)
OvSynchron – hCG zamiast 1. iniekcji GnRH	37,6	Keskin i wsp. (34)
PreSynchron-14 + OvSynchron	41,7-49,6	Mirmahmoundi i wsp. (41) Giordano i wsp. (26)
PG + G	50,0	Yousuf i wsp. (61)
PG6G	57,0	Dirandeh i wsp. (21)
	31,1	
PG7G	39,2	
G6G	34,8	Astiz i wsp. (4)
DoubleOvsynchron	36,3-49,7	
		Borchardt i wsp. (10) Giordano i wsp. (26)
DoubleSynchron	72,8	Ozturk i wsp. (45)
EstraDoubleSynchron	63,0	Mirmahmoundi i wsp. (41)

wynosił on 45,5%, o tyle w przypadku pęcherzyków średnich i dużych było to, odpowiednio, 28,1% i 5,3%. Jednocześnie wskaźnik zacięń wzrósł z 29,8% (OvSynchron) do 72,8% (DoubleSynchron). DoubleSynchron z powodzeniem stosowano u bawołów Murrah z *anoestrus* oraz wykazujących aktywność jajnikową (41, 42). Owulacja występowała u 90% krów – 22,2 i 23,2 h po pierwszej i drugiej iniekcji GnRH. Wskaźnik ciąży u krów z aktywnością cykliczną jajników wyniósł 60%, podczas gdy u samic z *anoestrus* oraz kontrolnych 55% i 27,3%. Całkowity wskaźnik ciąży u krów cyklicznych i z *anoestrus* równy był 58,1%, wobec 27,3% w grupie kontrolnej.

EstraDoubleSynchron. Modyfikacją programu DoubleSynchron, zmierzającą do wyższej synchronizacji fal pęcherzykowych oraz wyższego odsetka owulujących samic jest EstraDoubleSynchron, stosowany głównie u krów mięsnych. Protokół zakłada rezygnację z drugiej iniekcji GnRH pod koniec programu DoubleSynchron i zastąpienie jej aplikacją (w 10. dniu) benzoesanu estradiolu (BE) (41). W takim przypadku inseminacja w ściśle ustalonym czasie następowała 48 do 60 godzin później. Owulacja następowała 48,5 h po podaniu BE u wszystkich krów doświadczalnych (n = 12). Pęcherzyk jajnikowy rozpoczynał intensywny wzrost krótko po podaniu prostaglandyny, osiągając w okresie owulacji 12,9 mm średnicy. Co jednak istotne, po zastosowaniu EstraDoubleSynchron u krów mięsnych z *anoestrus* oraz krów wykazujących cykl jajnikowy uzyskano, odpowiednio, 64% i 62% wskaźnik zacięń, podczas gdy u samic kontrolnych wyniósł on 34,5%.

Skuteczność programu OvSynchron jest ograniczona i zależy od szeregu czynników indywidualnych

i środowiskowych. Stopień synchronizacji rui oraz wskaźnik ciąży można zwiększać na drodze subtelnych zmian w protokole podstawowym, względnie w efekcie stosowania synchronizacji wstępnej lub oryginalnych modyfikacji programu OvSynch. Przy dobrej obserwacji rui zastosowanie programu nie gwarantuje uzyskiwania szczególnej przewagi w odniesieniu do płodności krów, w porównaniu do prostszych i tańszych programów indukcji i synchronizacji rui opartych o jednorazową lub dwukrotną iniekcję prostaglandyny. W warunkach hodowli masowej i niedostatkach organizacyjnych może być jednak sposobem na zachowanie rentowności i uzyskiwanie akceptowalnych rezultatów płodności krów.

Piśmiennictwo

- Adams G. P., Mattern R. L., Kastelic J. P., Ko J. C., Ginther O. J.: Association between surges of follicle-stimulating hormone and the emergence of follicular waves in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 1992, 94, 177-188.
- Ahmed N., Kathiresan D., Ahmed F. A., Lalrintluanga K., Mayengbam P., Gali J. M.: Pattern of induced estrus and conception rate following Ovsynch and Ovsynch based gonadotropin-releasing hormone treatments initiated on day 6 of estrous cycle in repeat breeding crossbred cows. *Vet. World* 2016, 9, 342.
- Akbarabadi M. A., Shabankareh H. K., Abdolmohammadi A., Shahsavari M. H.: Effect of PGF_{2α} and GnRH on the reproductive performance of postpartum dairy cows subjected to synchronization of ovulation and timed artificial insemination during the warm or cold periods of the year. *Theriogenology* 2014, 82, 509-516.
- Astiz S., Fargas O.: Pregnancy per AI differences between primiparous and multiparous high-yield dairy cows after using Double Ovsynch or G6G synchronization protocols. *Theriogenology* 2013, 79, 1065-1070.
- Ayres H., Ferreira R. M., Cunha A. P., Araújo R. R., Wiltbank M. C.: Double-Ovsynch in high-producing dairy cows: effects on progesterone concentrations and ovulation to GnRH treatments. *Theriogenology* 2012, 79, 159-164.
- Azevedo C., Maia I., Canada N., Simões J.: Comparison of fertility, regular returns-to-estrus, and calving interval between Ovsynch and CO-synch+ CIDR protocols in dairy cows. *Theriogenology* 2014, 82, 910-914.
- Aziz R. A., Abdel-Wahab A.: Reproductive responses of primiparous and multiparous Holstein cows submitted to presynch-ovsynch protocol. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* 2017.
- Bello N. M., Steibel J. P., Pursley J. R.: Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2006, 89, 3413-3424.
- Bisinotto R. S., Chebel R. C., Santos J. E. P.: Follicular wave of the ovulatory follicle and not cyclic status influences fertility of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2010, 93, 3578-3587.
- Borchardt S., Haimel P., Pohl A., Heuwieser W.: Evaluation of prostaglandin F_{2α} versus prostaglandin F_{2α} plus gonadotropin-releasing hormone as Presynch methods preceding an Ovsynch in lactating dairy cows: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 2017, 100, 4065-4077.
- Boryczko Z., Jaśkowski B. M., Urbaniak K., Trela M., Bostedt H., Jaśkowski J. M.: Możliwości leczenia hormonalnego zaburzeń płodności u krów. *Życie Wet.* 2016, 91, 248-254.
- Brusveen D. J., Souza A. H., Wiltbank M. C.: Effects of additional prostaglandin F_{2α} and estradiol 17-β during Ovsynch in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2009, 92, 1412-1422.
- Cartmill J. A., El-Zarkonouy S. Z., Hensley B. A., Lamb G. C., Stevenson J. S.: Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. *J. Dairy Sci.* 2001, 84, 1051-1059.
- Carvalho P. D., Fuenzalida M. J., Ricci A. H., Souza R. V., Barletta M. C., Wiltbank M. C., Fricke P. M.: Modifications to Ovsynch improve fertility during resynchronization: Evaluation of presynchronization with GnRH 6 days before Ovsynch and addition of a second prostaglandin F_{2α} treatment. *J. Dairy Sci.* 2015, 98, 8741-8752.
- Carvalho P. D., Guenther N. J., Fuenzalida M. J., Amundson M. C., Wiltbank M. C., Fricke P. M.: Presynchronization using a modified Ovsynch protocol or a single GnRH injection 7 d before an Ovsynch-56 protocol for submission of lactating dairy cows for first timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 2014, 97, 6305-6315.
- Carvalho P. D., Wiltbank M. C., Fricke P. M.: Manipulation of progesterone to increase ovulatory response to the first GnRH treatment of an Ovsynch protocol in lactating dairy cows receiving first timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 2015, 98, 8800-8813.
- Colazo M. G., Gordon M. B., Rajamahendran R., Mapletoft R. J., Ambrose D. J.: Pregnancy rates to timed artificial insemination in dairy cows treated with gonadotropin-releasing hormone or porcine luteinizing hormone. *Theriogenology* 2009, 72, 262-270.
- Colazo M. G., Ponce-Barajas P., Ambrose D. J.: Pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows subjected to 2 different intervals from presynchronization to initiation of Ovsynch protocol. *J. Dairy Sci.* 2013, 96, 7640-7648.
- De Renis F., Marconi P., Capelli T., Gatti F., Faciolongo F., Franzini S., Scaramuzzi R. J.: Fertility in postpartum dairy cows in winter or summer following estrus synchronization and fixed time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG. *Theriogenology* 2002, 58, 1675-1687.
- De Renis F., Valentini R., Gorrieri F., Bottarelli E., Lopez-Gatius F.: Inducing ovulation with hCG improves the fertility of dairy cows during the warm season. *Theriogenology* 2008, 69, 1077-1082.
- Dirandeh E., Roodbari A. R., Gholizadeh M., Deldar H., Masoumi R., Kazemifard M., Colazo M. G.: Administration of prostaglandin F_{2α} 14 d before initiating a G6G or a G7G timed artificial insemination protocol increased circulating progesterone prior to artificial insemination and reduced pregnancy loss in multiparous Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 2015, 98, 5414-5421.
- Forro A., Tsousis G., Beindorff N., Sharif R., Jäkel L., Bollwein H.: Combined use of Ovsynch and progesterone supplementation after artificial insemination in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2012, 95, 4372-4381.
- Fricke P. M., Guenther J. N., Wiltbank M. C.: Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1998, 50, 1275-1284.
- Galvão K. N., Santos J. E. P.: Factors Affecting Synchronization and Conception Rate after the Ovsynch Protocol in Lactating Holstein Cows. *Reprod. Dom. Anim.* 2010, 45, 439-446.
- Geary T. W., Salverson R. R., Whittie J. C.: Synchronization of ovulation using GnRH or hCG with the CO-Synch protocol in suckled beef cows. *J. Anim. Sci.* 2001, 79, 2536-2541.
- Giordano J. O., Fricke P. M., Bas S., Pawlisch R., Guenther J. N., Nascimento A. B., Wiltbank M. C.: Effect of increasing GnRH and PGF_{2α} dose during Double-Ovsynch on ovulatory response, luteal regression, and fertility of lactating dairy cows. *Theriogenology* 2013, 80, 773-783.
- Giordano J. O., Fricke P. M., Guenther J. N., Lopes Jr G., Herlihy M. M., Nascimento A. B., Wiltbank M. C.: Effect of progesterone on magnitude of the luteinizing hormone surge induced by two different doses of gonadotropin-releasing hormone in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2012, 95, 3781-3793.
- Giordano J. O., Wiltbank M. C., Guenther J. N., Ares M. S., Lopes G. Jr., Herlihy M. M., Fricke P. M.: Effect of presynchronization with human chorionic gonadotropin or gonadotropin-releasing hormone 7 days before resynchronization of ovulation on fertility in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2012, 95, 5612-5625.
- Giordano J. O., Wiltbank M. C., Guenther J. N., Pawlisch R., Bas S., Cunha A. P., Fricke P. M.: Increased fertility in lactating dairy cows resynchronized with Double-Ovsynch compared with Ovsynch initiated 32 d after timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 2012, 95, 639-653.
- Heidari F., Dirandeh E., Ansari Pirsaraei Z., Colazo M. G.: Modifications of the G6G timed-AI protocol improved pregnancy per AI and reduced pregnancy loss in lactating dairy cows. *Animal* 2017, 15, 1-18.
- Ingenhoff L., Hall E., Ranjbar N. I., House J. K.: Effects of ovarian structures identified at Ovsynch™ enrolment, disease history and lactation variables on odds of pregnancy to a fixed-time artificial insemination after Ovsynch™. *Austral. Vet. J.* 2017, 95, 110-117.
- Karaca F., Dogruer G., Saribay M. K., Ergun Y., Ates C. T.: The Effect of the Reduced Dose of GnRH on Conception, Ovulation and Ovarian Structures in Ovsynch Program of Lactating Dairy Cows. *Anim. Rev.* 2016, 3, 66-72.
- Karami Sahabankreh J., Zandi M., Ganjali M.: First Service Pregnancy Rates Following Post-AI Use of hCG in Ovsynch and Heatsynch Programmes in Lactating Dairy Cows. *Reprod. Dom. Anim.* 2010, 45, 711-716.
- Keskin A., Yilmazbas-Mecitoglu G., Gumen A., Karakaya E., Darci R., Okut H.: Effect of hCG vs. GnRH at the beginning of the Ovsynch on first ovulation and conception rates in cyclic lactating dairy cows. *Theriogenology* 2010, 74, 602-607.
- Knopf L., Kastelic J. P., Schallenberger E., Ginther O. J.: Ovarian follicular dynamics in heifers: test of two-wave hypothesis by ultrasonically monitoring individual follicles. *Domest. Anim. Endocrinol.* 1998, 6, 111-119.

36. Ko J. C., Kastelic J. P., Del Campo M. R., Ginther O. J.: Effects of a dominant follicle on ovarian follicular dynamics during the oestrous cycle in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 1991, 91, 511-519.
37. Martins J. P., Policelli R. K., Pursley J. R.: Luteolytic effects of cloprostenol sodium in lactating dairy cows treated with G6G/Ovsynch. *J. Dairy Sci.* 2011, 94, 2806-2814.
38. Martins J. P., Polliceli L. K., Neuder L. M., Raphael W., Pursley R. L.: Effects of cloprostenol sodium at final prostaglandin F_{2α} of Ovsynch on complete luteolysis and pregnancy per artificial insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2011, 94, 2815-2824.
39. Macmillan K. L.: Recent advances in the synchronization of estrus and ovulation in dairy cows. *J. Reprod. Dev.* 2010, 56, 42-47.
40. Marquezini G. H., Dahlen C. R., Bird S. L., Lamb G. C.: Administration of human chorionic gonadotropin to suckled beef cows before ovulation synchronization and fixed-time insemination: replacement of gonadotropin-releasing hormone with human chorionic gonadotropin. *J. Anim. Sci.* 2011, 89, 3030-3039.
41. Mirmahmoudi R., Prakash B. S.: The endocrine changes, the timing of ovulation and the efficacy of the Doublesynch protocol in the Murrah buffalo (*Bubalus bubalis*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 2012, 177, 153-159.
42. Mirmahmoudi R., Souri M., Prakash B. S.: Endocrine changes, timing of ovulation, ovarian follicular growth and efficacy of a novel protocol (Estradoublesynch) for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology* 2014, 81, 237-242.
43. Navanukrav C., Redmer D. A., Reynolds L. P., Kirsch J. D., Grazul-Bilska A. T., Fricke P. M.: A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2004, 87, 1551-1557.
44. Nowicki A., Barański W., Baryczka A., Janowski T.: OvSynch protocol and its modifications in the reproduction management of dairy cattle herds – an update. *J. Vet. Res.* 2017, 61, 329-336.
45. Öztürk O. A., Cirit U., Baran A., Ak K.: Is Doublesynch protocol a new alternative for timed artificial insemination in anestrus dairy cows. *Theriogenology* 2010, 73, 568-576.
46. Peters M. W., Pursley J. R.: Timing of final GnRH of the Ovsynch protocol affects ovulatory follicle size, subsequent luteal function, and fertility in dairy cows. *Theriogenology* 2003, 60, 1197-1204.
47. Portaluppi M. A., Stevenson J. S.: Pregnancy Rates in Lactating Dairy Cows After Presynchronization of Estrous Cycles and Variations of the Ovsynch Protocol. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 914-921.
48. Pursley J. R., Mee M. O., Wiltbank M. C.: Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF 2 alpha and GnRH. *Theriogenology* 1995, 44, 915-923.
49. Pursley J. R., Silcox R. W., Wiltbank M. C.: Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1998, 81, 2139-2144.
50. Rabiee A. R., Lean I. L., Stevenson M. A.: Efficacy of Ovsynch Program on Reproductive Performance in Dairy Cattle: A Meta-Analysis. *J. Dairy Sci.* 2005, 88, 2754-2770.
51. Ribeiro E. S., Bisinotto R. S., Favoreto M. G., Martins L. T., Cerri R. L., Silvestre F. T., Greco L. F., Thatcher W. W., Santos J. E.: Fertility in dairy cows following presynchronization and administering twice the luteolytic dose of prostaglandin F_{2α} as one or two injections in the 5-day timed artificial insemination protocol. *Theriogenology* 2012, 78, 273-284.
52. Ribeiro E. S., Cerri R. L., Bisinotto R. S., Lima F. S., Silvestre F. T., Greco L. F., Thatcher W. W., Santos J. E.: Reproductive performance of grazing dairy cows following presynchronization and resynchronization protocols. *J. Dairy Sci.* 2011, 94, 4984-4996.
53. Santos J. E. P., Narciso C. D., Rivera F., Thatcher W. W., Chebel R. C.: Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2010, 93, 2976-2988.
54. Santos V. G., Carvalho P. D., Maia C., Carneiro B., Valenza A., Fricke P. M.: Fertility of lactating Holstein cows submitted to a Double-Ovsynch protocol and timed artificial insemination versus artificial insemination after synchronization of estrus at a similar day in milk range. *J. Dairy Sci.* 2017, 100, 8507-8517.
55. Sarkar M., Dutta Borah B. K., Prakash B. S.: Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function in yak (*Poephagus grunniens* L.). *Anim. Reprod. Sci.* 2009, 113, 205-211.
56. Souza A. H., Ayres H., Ferreira R. M., Wiltbank M. C.: A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2008, 70, 208-215.
57. Tenhagen B. A., Surholt R., Wittke M., Vogel C., Drillich M., Heinwieser W.: Use of Ovsynch in dairy herds – differences between primiparous and multiparous cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2004, 81, 1-11.
58. Thatcher W. W., Moreira F., Pancarci S. M., Bartolome J. A., Santos J. E.: Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2002, 23, 243-254.
59. Yamada K.: JSAR Innovative Technology Award. Development of ovulation synchronization and fixed time artificial insemination in dairy cows. *J. Reprod. Dev.* 2005, 51, 177-186.
60. Yilmazbas-Mecitoglu G., Karakaya E., Keskin A., Alkan A., Gumen A.: Reducing the duration between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and prostaglandin F_{2α} treatment in the Ovsynch protocol to 6 days improved ovulation to second GnRH treatment, but inclined to reduce fertility. *J. Dairy Sci.* 2013, 96, 3817-3824.
61. Yousuf M. R., Martins J. P., Ahmad N., Nobis K., Pursley J. R.: Presynchronization of lactating dairy cows with PGF_{2α} and GnRH simultaneously, 7 days before Ovsynch have similar outcomes compared to G6G. *Theriogenology* 2016, 86, 1607-1614.

Adres autora: prof. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski prof. zw. UMK,
ul. Azaliowa 23, 62-002 Złotniki; e-mail: jmjaskowski@umk.pl