

Praktyczne aspekty różnych systemów synchronizacji rui stosowanych obecnie w stadach bydła mlecznego.

Dr n wet. Monika Ptaszynska
Intervet International BV
Boxmeer, Holandia

Wstęp

Wydajność rozrodcza jest jednym z głównych czynników wpływających na produktywność i wydajność ekonomiczną stad bydła mlecznego. Dla stad stosujących sztuczne unasienianie, skuteczność wykrywania rui oraz odsetek wycieleń stanowią dwa główne wskaźniki determinujące zwartość okresu wycieleń oraz długość okresu międzywycieleniowego. Obserwacja objawów rujowych jest czasochłonną czynnością, która musi być przeprowadzana nawet do pięciu razy dziennie aby zapewnić wysoką skuteczność i właściwe wyznaczanie momentu sztucznego unasieniania.

Jeśli stada chcą sprostać wymaganiu uzyskania jednego cielęcia od każdej krowy rocznie, wówczas okres od wycielenia do zapłodnienia ulega skróceniu do około 85 dni, podczas których musi dojść do poporodowej involucji macicy, powrotu cyklicznej aktywności jajników oraz prawidłowego rozpoznania objawów rujowych i inseminacji.

Ekonomiczne następstwa niskiej skuteczności obserwacji objawów rujowych i co za tym idzie ograniczenie stopnia, w jakim może zostać wykorzystany postęp genetyczny oferowany za pośrednictwem sztucznej inseminacji stały się głównym motorem postępu w badaniach nad możliwościami synchronizacji rui i owulacji u bydła, jak również znajduje się w centrum uwagi lekarzy praktyków.

Przegląd poniższy stara się przedstawić najczęściej stosowane farmakologiczne programy synchronizacji rui i owulacji oraz praktyczne aspekty ich stosowania w stadach bydła mlecznego.

Ogólne wymagania i ograniczenia programów synchronizacji rui u bydła

Kluczowym aspektem jakiegokolwiek skutecznego systemu kontroli cyklu rujowego u bydła jest przewidywalna odpowiedź w postaci rui i owulacji u wysokiego odsetka zwierząt w obrębie określonego 12-24 godz. „okna czasowego”, która jednocześnie będzie związana z uzyskaniem wysokiego odsetka zapłodnień w wyniku jednokrotnego zabiegu unasieniania

przeprowadzanego o wyznaczonym czasie, bez konieczności obserwacji objawów rujowych.

Z powodu zmieniającego się zapotrzebowania pęcherzyków jajnikowych na działanie gonadotropin podczas ich wzrostu i dojrzewania, jest niezwykle trudnym zadaniem opracowanie prostego systemu opartego na podawaniu egzogennych hormonów płciowych, który zapewniałby, niezależnie od stadium cyklu jajnikowego w momencie rozpoczęcia programu, przewidywalne zapoczątkowanie nowej fali wzrostu pęcherzyków jajnikowych u wszystkich zwierząt objętych programem.

Wszystkie farmakologiczne metody kontroli rui u bydła powinny być postrzegane jako użyteczne narzędzie, którego głównym celem jest zwiększenie efektywności programu prowadzenia rozrodu w stadzie, poprawa organizacji inseminacji oraz korekta pewnych niedociągnięć organizacyjnych uniemożliwiających osiągnięcie optymalnych wyników rozrodu. W przypadku niektórych systemów farmakologicznej kontroli rui istnieje możliwość leczenia niektórych zaburzeń rozrodu takich jak zespół cichej rui czy też zespół torbielowatości jajników. Metody te jednak nigdy nie powinny być stosowane w zastępstwie właściwego żywienia i utrzymania krów.

Głównym ograniczeniem stosowania dowolnego farmakologicznego systemu mającego na celu synchronizację rui i owulacji jest stan aktywności jajników leczonych zwierząt, a więc obecność aktywności cyklicznej jajników lub też acyklii. Drugim ważnym aspektem jest faza cyklu rujowego, a więc i stan rozwoju fali pęcherzykowej w momencie rozpoczęcia programu. Najnowsze postępy w technikach diagnostycznych obejmujące zastosowanie ultrasonografii i mapowania receptorów pozwoliły nam na pełniejsze zrozumienie dynamicznych zmian mających miejsce w obrębie układu rozrodczego krowy podczas cyklu rujowego jak i w okresie anoestrus. To z kolei przyniosło możliwość bardziej świadomego i celowego wyboru programów synchronizacji rui, adekwatnego do stanu fizjologicznego poszczególnych zwierząt. Jednocześnie jesteśmy obecnie lepiej przygotowani do krytycznej, ale również bardziej realistycznej oceny oczekiwanych wyników stosowania takich programów.

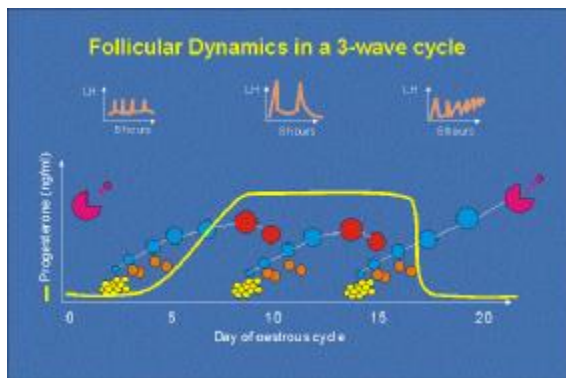
Krótki przegląd dynamiki fali pęcherzykowej w jajnikach bydła

Wzrost i rozwój pęcherzyków jajnikowych u przeżuwaczy charakteryzuje się występowaniem dwóch lub trzech następujących po sobie fal wzrostu podczas każdego cyklu estralnego. Każda fala obejmuje rekrutację tzw. kohorty

drobnych pęcherzyków, ich wzrost oraz selekcję przyszłego pęcherzyka dominującego, który kontynuuje dalszy wzrost i dojrzewanie do stadium przedowulacyjnego, podczas gdy pozostałe pęcherzyki tej fali ulegają atrezji. Zastosowanie badania ultrasonograficznego w ostatniej dekadzie umożliwiło wyróżnienie podczas wzrostu pęcherzyków jajnikowych trzech odrębnych etapów: wzrostu, selekcji i różnicowania. U bydła, każda kolejna fala pęcherzykowa rozpoczyna się od początkowej rekrutacji 3-6 pęcherzyków, które zostają „wytypowane” z całej puli znajdujących się w jajniku pęcherzyków pierwotnych aby rozpocząć dynamiczny wzrost i przekroczyć średnicę 4-5mm. W ciągu kilku dni od zapoczątkowania nowej fali, jedynie jeden (bardzo rzadko dwa) pęcherzyk z kohorty zostanie wybrany w fazie selekcji jako dominujący. To właśnie pęcherzyk dominujący kontynuuje wzrost i różnicowanie, podczas gdy pozostałe pęcherzyki, które rozpoczęły wzrost wraz z nim, zostają zatrzymane w rozwoju i stopniowo ulegają regresji. Pęcherzyk domiujący pierwszej fali w dwufalowym cyklu estralnym oraz pęcherzyki dominujące fali pierwszej i drugiej cyklu trójfalowego ulegają regresji i nie dochodzi do ich owulacji. Jednakże pęcherzyki dominujące każdej fali pęcherzykowej, nawet pierwszej, mogą teoretycznie podlegać końcowemu dojrzewaniu i owulacji, jeśli w okresie ich dominacji stworzone zostaną ku temu odpowiednie warunki hormonalne poprzez indukcję luteolizy (np. w wyniku stosowanie egzogennej $PGF_2\alpha$).

Ryc. 1.

Schemat dynamiki wzrostu fal pęcherzykowych podczas trójfalowego cyklu estralnego u bydła



Rekrutacja fali pęcherzykowej

Wzrost fali pęcherzykowej zostaje zapoczątkowany wzrostem stężenia FSH w krążeniu ogólnym. U bydła i innych gatunków zwierząt domowych fale wzrostu pęcherzyków jajnikowych poprzedzone są początkowo niewielkim wzrostem stężenia FSH. Wszystkie pęcherzyki rozpoczynające wzrost w kohorcie posiadają

specyficzne receptory dla FSH i ich wzrost w tej fazie zależny jest od obecności tej gonadotropiny. Dlatego też ten etap wzrostu fali pęcherzykowej nazywany jest czasami „zależnym od FSH”. Na tym etapie rozwoju pęcherzyki nie posiadają wystarczającej populacji receptorów dla LH aby móc zareagować na stymulację pod postacią substancji działających jak LH (np. analogów GnRH). Taki przejściowy wzrost stężenia FSH w krążeniu związany ze wzrostem fali pęcherzykowych ma miejsce u bydła podczas każdego cyklu rujowego, we wczesnym okresie poporodowym oraz w okresie dojrzewania płciowego.

Selekcja pęcherzyka dominującego

Na drodze nie do końca wciąż wyjaśnionego mechanizmu selekcji jedynie jeden (rzadko dwa) pęcherzyk zostaje wybrany spośród grupy, której wzrost został zainicjowany przejściowym wzrostem stężenia FSH. Kluczową cechą różnicującą pęcherzyk dominujący jest jego większa zdolność do wydzielania estradiolu. Sekrecja estradiolu i być może androgenów przez pęcherzyk dominujący zbiega się w czasie z zahamowaniem wzrostu stężenia FSH oraz utrzymaniem go na poziomie bazalnym (Ginther i wsp., 2000a,b). To właśnie rosnące stężenie estradiolu wydzielanego przez wzrastające pęcherzyki kohorty, a zwłaszcza przyszły pęcherzyk dominujący stanowią wraz z modulującą rolą inhibiny główny sygnał obniżający wydzielanie FSH, a stymulujący produkcję LH przez przysadkę mózgową.

W przeciwieństwie do pęcherzyków „skazanych” na atrezję, wybrany przyszły pęcherzyk dominujący wkrótce nabywa receptorów specyficznych dla LH, co pozwala mu na kontynuację wzrostu w środowisku niskiego poziomu FSH i wzrastającego poziomu LH. Tak więc można powiedzieć, iż poprzez ograniczenie wydzielania FSH, pęcherzyk dominujący pozbawia pozostałe pęcherzyki z jego fali niezbędnej stymulacji do wzrostu, podczas gdy sam wykorzystuje zarówno niskie stężenie FSH jak i wzrastające stężenie LH do swego dalszego rozwoju.

Badania ostatnich lat przyniosły ważne informacje dotyczące roli innych modulatorów takich jak czynniki wzrostu, inhibina i insulina w procesie różnicowania i selekcji pęcherzyka dominującego (Fortune i wsp., 2001; Mihm i wsp., 2003).

Pęcherzyk dominujący

Po jego selekcji, wzrost, aktywność estrogenna oraz „długość życia” pęcherzyka dominującego są kontrolowane poprzez dynamikę wydzielania LH. Tak więc jakiegokolwiek zmiany w dynamice wydzielania GnRH czy LH mieć będą głęboki

wpływ na ciągłość wzrostu pęcherzyka dominującego i jego owulację. Wiadomym jest obecnie, iż wzrost częstotliwości pulsacyjnego wydzielania LH, jaki można obserwować na przykład podczas stosowania niskich dawek progestogenów, prowadzi do przedłużenia okresu dominacji z 2-7 dni do ponad 14 dni, odbijając się negatywnie na jakości i potencjale rozwojowym komórki jajowej (Diskin i wsp., 2002). Liczne czynniki żywieniowe, środowiskowe, a nawet natury zakaźnej, które bezpośrednio lub pośrednio wpływają na wydzielanie GnRH/LH, mogą mieć decydujące znaczenie dla dalszych losów wybranego pęcherzyka dominującego, a w konsekwencji na proces owulacji i tym samym na wyniki rozrodu w stadzie.

Itnieją liczne systemy klasyfikacji farmakologicznych systemów mających na celu kontrolę cyklu rujowego i owulacji. Artykuł ten przedstawia je w sposób, który odzwierciedla stopień kontroli poszczególnych zmian w ramach cyklu jajnikowego oferowany przez poszczególne systemy synchronizacji.

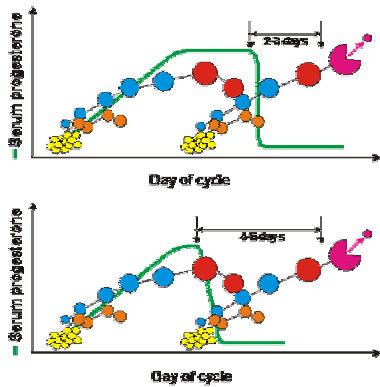
Systemy kontrolujące długość fazy lutealnej

Jak wspomniano wcześniej, obecność aktywnej tkanki lutealnej skutecznie zapobiega końcowemu dojrzewaniu i owulacji pęcherzyka dominującego pierwszej lub drugiej fali (w zależności od tego ile fal wzrostu ma miejsce podczas całego cyklu estralnego) poprzez działanie ujemnego sprzężenia zwrotnego progesteronu na wydzielanie LH.

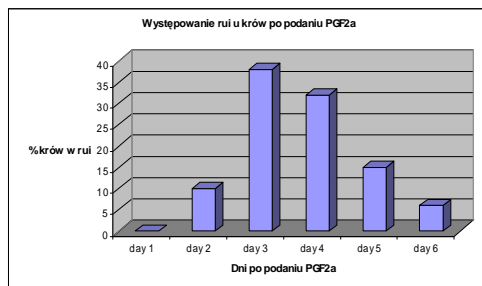
Podanie egzogennych analogów prostaglandyny $F_2\alpha$ po upływie 5 dni od owulacji, wywołuje u bydła szybką regresję ciała żółtego, w wyniku której stężenie progesteronu w krążeniu ogólnym obniża się gwałtownie i osiąga po upływie około 24 godz. poziom bazalny. W wyniku zniesienia hamującego wpływu progesteronu dochodzi do wzrostu częstotliwości pulsacyjnego uwalniania LH, co z kolei stymuluje wytwarzanie znacznych ilości estradiolu przez pęcherzyk dominujący i pojawienie się behawioralnych objawów rui. Maksymalne stężenia estradiolu jest czynnikiem, który bezpośrednio indukuje masywne uwalnianie LH z przysadki zwane przedowulacyjnym wylewem LH. W wyniku jego działania dochodzi do owulacji pęcherzyka dominującego. Pomimo szybkiej luteolizy, czas, po jakim następuje ruja i owulacja jest zróżnicowany i zależy od stadium zaawansowania fali pęcherzykowej w momencie podania prostaglandyny. Zwierzęta posiadające funkcjonalny pęcherzyk dominujący wkraczą w fazę rui w przeciągu 2-3 dni. Jednakże zwierzęta w fazie przed ustaleniem dominacji w fali pęcherzykowej w momencie indukcji luteolizy wymagają dodatkowych 2-4 dni na selekcję pęcherzyka dominującego i będą

zatem wykazywały dłuższy i bardziej zróżnicowany przedział czasowy od podania PG F₂ do owulacji.

Ryc. 2. Zależność czasowa od podania prostaglandyny do momentu wystąpienia rui i owulacji u krów



Ryc. 3. Występowanie rui w populacji krów, po podaniu PGF₂.



To zróżnicowanie czasu od podania PGF₂ do początku rui i owulacji powinno zawsze być brane pod uwagę gdy planuje się sztuczne unasiwienie krów objętych systemem opartym na podawaniu prostaglandyn. Statystycznie, rzeczywiście większość samic rozpoczyna ruję i owuluje pomiędzy 3 i 5 dniem od podania PGF₂, niektóre jednak mogą wykazywać ruję i owulację już w 3 dniu lub dopiero w dniu 7. Pomimo, iż unasiwienie „na ślepo” o wyznaczonym czasie jest teoretycznie możliwe w przypadku niektórych systemów opartych tylko na podaniu PGF₂, najlepsze wyniki osiąga się jednak unasiwiając krowy i jałówki na podstawie obserwacji objawów rujowych.

Istnieje wiele systemów synchronizacji rui i owulacji opartych jedynie na podawaniu prostaglandyn, wybór których zależy od organizacji prowadzenia rozrodu w danym stadzie, liczby personelu, typu zwierząt oraz uzależnień

finansowych. Poniższy przegląd najpopularniejszych systemów został zaadaptowany z publikacji Cavalieri i wsp. (2006).

Oprócz systemów przedstawionych na Ryc. 4 dużą popularność zdobył sobie system nazywany Targeted Breeding i polegający na systematycznym podawaniu $\text{PGF}_2\alpha$ krowom w okresie powycieleniowym. Zwierzęta w tym systemie otrzymują $\text{PGF}_2\alpha$ w odstępach 14 dniowych, począwszy od 21 dnia po wycieleniu i są unasieniane na podstawie obserwowanych objawów rujowych. Krowy, u których nie obserwowano objawów rujowych po trzecim podaniu $\text{PGF}_2\alpha$ są unasieniane bez obserwacji oznak rui, w 72-80 godz. po ostatnim podaniu prostaglandyny. System ten zapewnia intensywne prowadzenie krów i umożliwia unasienianie znacznej części stada w stosunkowo krótkim okresie czasu, pod warunkiem, iż krowy rozpoczęły cykliczną aktywność jajników przed lub podczas okresu synchronizacji. Wielu praktyków jest przekonanych, iż kilkukrotne indukowanie luteolizy za pomocą egzogennej $\text{PGF}_2\alpha$ w określonym czasie po wycieleniu skraca czas ekspozycji endometrium na działanie podwyższonych koncentracji progesteronu i ogranicza podatność macicy na zakażenia bakteryjne. W dostępnym piśmiennictwie znaleźć możemy zarówno prace, które wykazują brak wyraźnych korzyści takiego postępowania (Burton i Lean 1995 (meta-analiza); Hendricks i wsp., 2005), jak i takie, które wskazują na obniżenie występowania zakażeń macicy i poprawę płodności w stadach poddanych rutynowemu stosowaniu prostaglandyn w okresie poporodowym (Etherington i wsp., 1994; Nakao i wsp., 1997).

Należy jednak zwrócić uwagę na jeden, często niedoceniany aspekt systemu Targeted Breeding: systematyczne stosowanie prostaglandyn, jeśli jest rozpoczęte stosunkowo

wcześnie w okresie po wycieleniu znacznie ogranicza ekspozycję krów na działanie endogennego progesteronu jako że skracamy systematycznie ich kolejne fazy lutealne. Brak jest jak dotąd jasności, co do możliwego wpływu takiego systemu na funkcjonowanie wczesnego ciała żółtego po unasienianiu, występowanie skróconej fazy lutealnej i wczesnej zamieralności zarodków.

Niewątpliwą zaletą systemów kontroli cyklu rujowego opartych na prostaglandynach jest ich stosunkowo niski koszt, łatwość stosowania oraz niewątpliwie ułatwienie obserwacji rui poprzez akumulację i identyfikację zwierząt, którym personel musi poświęcić większą uwagę przez kilka dni po iniekcji. Negatywną stroną systemów opartych jedynie na wykorzystaniu $\text{PGF}_2\alpha$, o którym często zapominamy jest fakt, iż mogą one być skuteczne tylko i

wyłącznie w przypadku krów i jałówek, które wykazują cykliczną aktywność jajników i podczas co najmniej części systemu posiadają funkcjonalne ciało żółte. Jest to przyczyną znacznego ograniczenia w stosowaniu tych programów w stadach gdzie występuje znaczny odsetek krów w stadium anoestrus, co jest problemem często spotykanym w okresie poporodowym w stadach o wysokiej produktywności mlecznej.

Wyniki płodności uzyskiwane przy zastosowaniu systemów synchronizacji rui opartych na prostaglandynach

Uznaje się generalnie, że płodność wyrażona jako odsetek zapłodnień jałówek wykazujących cykliczną aktywność jajników i poddanych synchronizacji rui przy pomocy prostaglandyn jest porównywalna z wynikami uzyskiwanymi u jałówek unasienianych w rui spontanicznej na podstawie obserwacji objawów rujowych. Wyniki uzyskiwane u krów mlecznych jednakże wydają się zróżnicowane i niektórych przypadkach niższe niż w grupie kontrolnej unasieniania w rui spontanicznej. Różnice w wynikach uzyskiwanych w różnych doświadczeniach przypisuje się zróżnicowaniu warunków utrzymania zwierząt i ich produktywności oraz różnej skuteczności rozpoznawiania rui. Jak wspomniano, w publikacji Diskin i wsp. (2002), obniżony odsetek zapłodnień obserwowany w niektórych przypadkach u krów otrzymujących $PGF_2\alpha$ może być związana z faktem, iż znaczna część krów podlega unasienianiu w rui, do której dochodzi po sztucznie skróconej fazie lutealnej. Istnieją dane wskazujące na to, że zarówno krowy jak i jałówki, które otrzymują $PGF_2\alpha$ w późnej fazie lutealnej wykazują lepiej wyrażone behawioralne objawy rui jak i wyższy odsetek zapłodnień, niż zwierzęta, u których luteolizę wywołuje się we wczesnej lub środkowej fazie lutealnej (Nebel i wsp., 1998; Diskin i wsp., 2002).

Systemy kontrolujące zarówno długość fazy lutealnej jak i rozwój fali pęcherzykowej

Jako, że zastosowanie $PGF_2\alpha$ jako jedyne narzędzia synchronizacji rui i owulacji nie przyniosło pełnej kontroli dynamiki wzrostu fali pęcherzykowej i nie umożliwiło w pełni unasieniania bez konieczności obserwacji objawów rujowych, w ostatniej dekadzie ogromne wysiłki włożone zostały w opracowanie różnych kombinacji czynników luteolitycznych i gonadotropin/GnRH w celu osiągnięcia tego celu.

Systemy łączące GnRH i PGF₂

Jednym z najbardziej „klasycznych” już systemów należących do tej grupy jest powszechnie znany system Ovsynch. Originalny system opisany został przez Twagiramungu i wsp. (1995) i Pursley i wsp. (1995; 1997) i od tego czasu doczekał się wielu opracowań lecz stosunkowo niewielu znaczących zmian. Ovsynch jest systemem stosowanym głównie w synchronizacji rui i owulacji w stadach krów mlecznych i obejmuje dwie iniekcje GnRH oraz jedną PGF₂ □ □

Ponieważ w warunkach terenowych, gdy farmakologiczna synchronizacja rui stosowana jest najczęściej w heterogennej grupie krów, które mogą być w momencie rozpoczęcia programu w różnej fazie cyklu rujowego, poprzedzenie podania prostaglandyny iniekcją GnRH prowadzi do zwiększenia homogenności statusu dynamiki fal pęcherzykowych w momencie indukcji luteolizy. Podanie GnRH indukuje bowiem owulację lub luteinizację wszystkich pęcherzyków, które w momencie iniekcji osiągnęły należytą średnicę i posiadają adekwatną populację receptorów dla LH (Pursley i wsp., 1995). W wyniku tego, precyzja indukcji rui po zainicjowanej podaniem prostaglandyny luteolizy oraz synchronizacja wylewu LH ulegają znacznemu podwyższeniu, co pozwala na synchronizację zarówno regresji ciała żółtego, jak i wzrostu nowej fali fali pęcherzykowej.

Krowy, u których rozwój obecnej w momencie rozpoczęcia systemu fali pęcherzykowej uległ zmianie (owulacja kompetentnych pęcherzyków), powinny posiadać w momencie drugiej iniekcji GnRH pęcherzyk dominujący pochodzący już z nowej fali wzrostu. W przypadku krów, które otrzymały pierwszą iniekcję GnRH przed uzyskaniem fazy dominacji, dynamika rozwoju tej fali nie ulegnie zmianie (możliwość wzrostu i dalszego rozwoju dzięki wywołanej luteolizie), w wyniku czego wywodzący się z niej pęcherzyk dominujący będzie obecny w pełni dominacji w chwili podania drugiej dawki GnRH. Podanie drugiej dawki GnRH wywołuje u znacznego odsetka krów owulację, która jest ściśle synchroniczna i następuje około 26-32 godzin po iniekcji. Tak więc unasiennianie w 17-24 godz. po drugim podaniu GnRH powinno zaowocować wysokim odsetkiem powodzenia, a więc i zadowalającym odsetkiem zapłodnień (Peters i wsp., 1999).

Efektywność systemu Ovsynch

Zdolność systemów opartych na kombinacji GnRH+ PGF₂ □ +GnRH do efektywnej synchronizacji rui i owulacji zależy od stadium rozwoju fali pęcherzykowej w momencie pierwszej iniekcji GnRH. Odsetek zapłodnień osiągany przy

zastosowaniu systemu Ovsynch jest najwyższy, gdy u objętych programem krów dochodzi do owulacji po pierwszej iniekcji GnRH.

Vasconcelos i wsp. (1999) poddał analizie wpływ dnia cyklu rujowego, w którym rozpoczynano system Ovsynch u krów w laktacji na odsetek indukcji rui i owulacji (Tabela 1).

Tabela 1. Efektywność indukcji rui i owulacji w przypadku systemu Ovsynch rozpoczynanego w różnych dniach cyklu rujowego według Vasconcelos i wsp. (1999)

Dzień cyklu rujowego	Odsetek owulacji po 1szym podaniu GnRH	Odsetek owulacji po 2gim podaniu GnRH
1-4	23%	94%
5-9	96%	89%
10-16	54%	85%
17-21	77%	81%
Całkowity	64%	87%

Na podstawie wyników przedstawionych w badaniach Vasconcelos i wsp. (1999) można wnioskować, iż odsetek zapłodnień powinien być najwyższy, gdy system Ovsynch rozpoczynany jest pomiędzy 5 a 12 dniem cyklu rujowego. Monitorowanie cyklu rujowego krów w stadzie w celu selekcji najbardziej obiecującego momentu rozpoczęcia synchronizacji jest jednak mało praktyczne i w pewnym sensie zaprzecza początkowej idei opracowania systemu, który mógłby być zastosowany z równym sukcesem niezależnie od statusu cyklicznego krów.

W ostatnich kilku latach przeprowadzono wiele badań porównując odsetek zacielen uzyskiwany z zastosowaniem synchronizacji rui opartej na systemie Ovsynch oraz innych innych programach takich jak zastosowanie jedynie prostaglandyn ((Pursley i wp., 1997; de la Sota i wsp., 1998; Keister i wsp., 1998; Stevenson i wsp, 1999,2000; Cartmill 2001), progestagenów (Geary i wsp., 1998; Williams i wsp., 2002) oraz różnych modyfikacji systemu Ovsynch (Bartolome i wsp., 2002; Pancarci i wsp., 2002) i unasienniania w spontanicznej rui (Cordoba i Fricke 2001). Meta analiza przedstawiona przez Rabiee i wsp. (2005) zawiera porównanie wyników osiągniętych w licznych badaniach z zastosowaniem programu Ovsynch, w badaniach, w których stosowano unasiennianie w rui spontanicznej, dwukrotne lub trzykrotne iniekcje

prostaglandyn, system Select Synch oraz zmodyfikowany system Ovsynch (Heat Synch). Autorzy ci doszli do wniosku, że odsetek zacieleń uzyskany po unasienianiu w rui indukowanej systemem Ovsynch nie różnił się znacznie od wyników uzyskanych po unasienianiu krów w rui spontanicznej, na podstawie obserwacji objawów rujowych. Co więcej, prawdopodobieństwo zapłodnienia i ciąży nie różniło się w sposób znaczący pomiędzy grupą krów, u której stosowano system Ovsynch a krowami unasienianymi na podstawie objawów rujowych w rui indukowanej przy pomocy prostaglandyn. Porównanie prawdopodobieństwa ciąży u krów poddanych systemowi Ovsynch, Heat Synch i Select Synch nie wykazało statystycznie istotnych różnic.

Modyfikacje systemu Ovsynch

Zarówno odsetek owulacji po iniekcji GnRH jak i jakość następującej po niej funkcji lutealnej są uzależnione od stopnia rozwoju i średnicy pęcherzyka jajnikowego w momencie podania GnRH. Wielu naukowców i lekarzy praktyków uważa, że pre-synchronizacja i inne modyfikacje klasycznego systemu Ovsynch przyczyniają się do zwiększenia prawdopodobieństwa, iż po pierwszej iniekcji GnRH rzeczywiście dojdzie do owulacji. To z kolei zapewnia, że w momencie podania PGF₂ wszystkie krowy objęte takim złożonym systemem będą posiadały na jajniku ciało żółte i owulują po drugiej iniekcji GnRH.

Rycina 5. przedstawia graficznie różne modyfikacje systemu Ovsynch. Jedną z najprostszych modyfikacji programu Ovsynch stosowaną obecnie jest tzw. Co-Synch, w którym w odróżnieniu od klasycznego Ovsynch unasienianie nie następuje w około 24 godz. po drugim podaniu GnRH ale jednocześnie z nim t.j. w 48 godz. po podaniu PGF₂ (Small i wsp. 2000).

Pomimo, że większość prac z systemem Co-Synch stosuje przedział czasowy 48 godz. pomiędzy podaniem PGF₂ a iniekcją GnRH i unasienianiem, to sam moment wystąpienia rui u tych krów sugeruje, iż być może przedział 60-64 godz. po iniekcji PGF₂ byłby bardziej właściwy dla krów ras mięsnych (Geary i wsp., 2000; Stevenson i wsp., 2000; DeJarnette i wsp., 2001a) i mlecznych (DeJarnette i wsp., 2001b). Wyniki uzyskane przy stosowaniu systemu Co-Synch u krów mlecznych są porównywalne lub nieznacznie tylko niższe od wyników po stosowaniu systemu Ovsynch, przy znaczącym ułatwieniu organizacji pracy (DeJarnette i wsp. 2003).

Jeden z programów uwzględniających pre-synchronizację i klasyczny Ovsynch, obejmuje dwie iniekcje PGF₂ w odstępie 14-to dniowym, z drugą mającą

miejsce w 12 dni przed pierwszym podaniem GnRH w ramach właściwego programu Ovsynch. Ten system nazwany Pre-Synch i stosowany u krów w laktacji przyniósł w pracach opisanych przez Moreira i wsp. (2001) zwiększenie odsetka zacielen o 18% (z 25% do 43%). Pre-synchronizacja w okresie po wycieleniowym może także być wykonana przy pomocy GnRH w 7 dniu przed planowanym rozpoczęciem właściwego protokołu Ovsynch. Modyfikacja ta posiada tę dodatkową zaletę, iż może prowadzić do poprawy skuteczności programu Ovsynch zarówno u krów przejawiających aktywność cykliczną jajników jak i krów w anoestrus (Thompson i wsp., 1999; Stevenson i wsp., 2000).

Połączenie stosowania prostaglandyn i GnRh jako pre-synchronizacji przed klasycznym programem Ovsynch lub Co-Synch było także testowane w praktyce ze zmiennym sukcesem, zazwyczaj jednak przynosząc pewnego stopnia poprawę odsetka zacielen po unasieleniu w rui indukowanej właściwym programem Ovsynch (DeJarnette i wsp., 2003).

Program Heat-Synch, szerzej stosowany w Stanach Zjednoczonych zastępuje drugą iniekcję GnRH podaniem benzoatu lub propionatu estradiolu (Geary i wsp., 2000; Stevenson i wsp., 2004). Zwolennicy tego systemu wskazują, iż podanie estradiolu synchronizuje bardziej precyzyjnie owulację pęcherzyka dominującego i nasila oznaki behawioralne rui. W sytuacji rosnących zastrzeżeń, co do dopuszczalności stosowania estrów estradiolu u zwierząt produkujących żywność oraz zakazu stosowania tych preparatów w Unii Europejskiej począwszy od października 2006 roku system ten ma ograniczony zasięg geograficzny.

Inną modyfikacją systemu Ovsynch jest zastąpienie drugiej iniekcji GnRH, przez hCG lub GnRH o przedłużonym działaniu pod postacią implantu zawierającego tzw. superanalog GnRH – deslorelinę. Zastosowanie hCG w miejsce GnRH przyniosło porównywalne wyniki w zakresie odsetka zacielen (De Rensis i wsp., 2002). Wykorzystanie długo działającej formy desloreliny spowodowało jednakże zwiększenie przedziału międzyowulacyjnego (Bartolome i wsp., 2004) prawdopodobnie na skutek desensytyzacji podwzgórza przez zbyt wysoką dawkę GnRH (Padula i wsp., 2002; 2005; Santos i wsp., 2004).

System Ovsynch i wysokość dawki GnRH

Pierwsze fundamentalne doświadczenia nad indukcją owulacji za pomocą GnRH i jej zastosowaniem w systemach typu Ovsynch wykonane zostały w większości przy wykorzystaniu 8mcg buzereliny, syntetycznego analogu GnRH o bardzo

wysokiej aktywności biologicznej (100-200 razy przekraczającej aktywność naturalnego GnRH; Chenault i wsp., 1990). Wiele późniejszych badań, przeprowadzonych głównie w Stanach Zjednoczonych, wykorzystywało również analog GnRH, gonadorelinę, jednakże w dawce 100mcg. Taki system dawkowania analogów GnRH jest normą w Stanach Zjednoczonych, w przeciwieństwie do standardowej dawki 250mcg stosowanej w Europie i Ameryce Łacińskiej, i wzbudza znaczne zainteresowanie w wielu krajach jako, że oferuje możliwość redukcji kosztów stosowanego leczenia. Porównując i interpretując wyniki tych badań należy jednak zdawać sobie sprawę, iż obniżona dawka gonadoreliny przedstawia sobą znaczną redukcję aktywności biologicznej w porównaniu z oryginalnie stosowaną dawką buzereliny. Od pewnego czasu wielu autorów zaczęło poddawać w wątpliwość pełną efektywność tak zredukowanej dawki gonadoreliny w zakresie indukcji owulacji, szczególnie w złożonych systemach typu Ovsynch, w których wywołanie owulacji u wysokiego odsetka krów decyduje o zarówno precyzji synchronizacji jak i efektywności całego programu.

Jak wykazano, niższe dawki gonadoreliny (25mcg i 100mcg) mogą okazać się jedynie częściowo skuteczne (100mcg) lub całkowicie niezdolne (25mcg) do wywołania owulacji pęcherzyka dominującego podczas fazy lutealnej (Mihm i wsp., 1998). W badaniach opisanych przez Cartmill i wsp. (2001) częstotliwość synchronicznej owulacji wyniosła jedynie 68% przy zastosowaniu programu Ovsynch z dawką 100mcg gonadoreliny u krów o cyklicznej aktywności jajników. Niemniej jednak musimy zauważyć, iż pojawia się także wiele prac sugerujących możliwość uzyskania porównywalnych wyników stosując wyższą jak i obniżoną dawkę gonadoreliny. Fricke i wsp. (1998) i Vasconcelos i wsp. (1999) wykazali porównywalne wyniki w zakresie odsetka indukcji owulacji stosując standardową (250mcg) i obniżoną dawkę gonadoreliny.

Niektóre najnowsze badania podnoszą argument, iż wiele owulacji wywołanych podaniem zredukowanych dawek GnRH może nie prowadzić do normalnej funkcji lutealnej po unasienianiu. To z kolei miałoby wyraźny wpływ negatywny na utrzymanie ciąży i końcowy odsetek zacieleń. Cordoba i Fricke (2002) oraz Shephard (2002) opisali zwiększone występowanie skróconej fazy lutealnej mające miejsce u krów poddanych systemowi Ovsynch z zastosowaniem dawek 50mcg i 100mcg gonadoreliny, co wskazywało na nieadekwatną funkcję lutealną i niepowodzenie w utrzymaniu ciąży. Oba zespoły autorów sugerowały, iż zaburzenia w formowaniu ciątka żółtego u takich krów związane były

prawdopodobnie z obniżoną zdolnością zredukowanej dawki GnRH do wywołania prawidłowej owulacji jak i stymulacji tworzenia ciała żółtego.

Systemy indukcji i synchronizacji rui i owulacji oparte na progestagenach
Progestageny stosowane w postaci różnego rodzaju wkładek dopochwowych uwalniających progesteron lub też podskórnych implantów silikonowych impregnowanych norgestometem indukują stan naśladujący naturalną fazę lutealną cyklu rujowego. Stosowane są najczęściej przez okres 7-10 dni w różnorodnych kombinacjach z PGF₂α, estrami estradiolu, GnRH i gonadotropinami. Jedną z cech większości stosowanych obecnie systemów synchronizacji rui u bydła opartych na progestagenach jest podawanie benzoatu estradiolu lub innych jego estrów w momencie rozpoczęcia programu.

Zadaniem estradiolu podanego na początku okresu stosowania progestagenów jest:

1. Stymulacja spontanicznej luteolizy jeśli krowa w momencie rozpoczęcia programu znajduje się w fazie lutealnej

2. Eliminacja zaawansowanej fali pęcherzykowej i stymulacja nowej fali wzrostu
Ta druga funkcja estrów estradiolu stosowanych wraz z progestagenami jest szczególnie istotna, jako że wszystkie obecnie stosowane preparaty stopniowo uwalniające progesteron/progestagen indukują powstanie w krążeniu ogólnym leczonych zwierząt tzw. sublutealnych koncentracji progesteronu. Dzięki zastosowaniu badania ultrasonograficznego i monitorowania dynamiki wzrostu pęcherzyków jajnikowych podczas cyklu rujowego u bydła, zaobserwowano, iż przedłużone podawanie niskich dawek progesteronu, szczególnie w sytuacji braku funkcjonalnej tkanki luteinowej, może prowadzić do powstania tzw. przetrwałych pęcherzyków dominujących.

Stężenia progesteronu/progestagenu w krążeniu powstałe na skutek stosowania spiral dopochwowych uwalniających progesteron lub implantów podskórnych z norgestometem, zapewniają indukcję negatywnego sprzężenia zwrotnego zapobiegającego uwolnieniu przedowulacyjnego wylewu LH, a więc także rui i owulacji. Nie są one jednak wystarczająco wysokie, aby całkowicie blokować uwalnianie LH z przysadki mózgowej. Tak więc niewielkiego stopnia pulsacyjne wydzielanie LH utrzymuje się, pozwalając na dalszy wzrost i przedłużoną dominację jeśli wyselekcjonowany pęcherzyk wystarczających rozmiarów znajduje się na jajniku w momencie rozpoczęcia programu. Pęcherzyk taki jest w pełni zdolny do owulacji po zaprzestaniu działania progestagenów, jednakże zaobserwowano, iż wyniki unasienniania krów owulujących takie przetrwałe pęcherzyki dominujące jest znacznie obniżona. Wiadomo obecnie, iż jeśli

dominacja pęcherzyka przedowulacyjnego przekracza 4 dni (przetrwały pęcherzyk dominujący) wówczas zaznacza się postępujące obniżenie płodności przypisywane obniżeniu kompetencji rozwojowej komórki jajowej i nasilonej zamieralności zarodków (Diskin i wsp., 2002).

Egzogenny estradiol stosowany wraz z progestagenami hamuje wzrost pęcherzyka dominującego doprowadzając do jego atrezji, gdy zostanie podany przed lub podczas wzrostu nowej fali, najprawdopodobniej na skutek supresji wydzielania FSH a być może również LH. Jeśli doszło już do selekcji pęcherzyka dominującego, podanie estradiolu powoduje zmniejszenie się średnicy pęcherzyka dominującego bez stałej zmiany momentu zapoczątkowania nowej fali wzrostu.

Pamiętać należy jednocześnie, iż podawanie niskich dawek progestagenów przez 6-8 dni krowom w stadium prawdziwego anoestrus bardzo rzadko wywołuje przetrwałość pęcherzyka dominującego w odróżnieniu od krów wykazujących cykliczną aktywność jajników przy braku tkanki luteinowej (McDougal i wsp. 2004).

Zastosowanie estradiolu na początku programów synchronizacji opartych na progestagenach nawet sięgających 12 dni, nie zawsze gwarantuje pełną regresję ciała żółtego u wszystkich zwierząt w momencie usunięcia źródła progestagenów lub do 24 godz. później. Dlatego też zaleca się obecnie podanie PGF₂ w momencie usunięcia źródła progestagenów lub do 48 wcześniej, aby zapewnić pełną regresję tkanki luteinowej u zwierząt, u których działanie estradiolu nie było wystarczającym czynnikiem pro-luteolitycznym.

Modyfikacje systemów opartych na progestagenach

Istnienie znacznej liczby programów synchronizacji rui opartych na progestagenach oraz fakt, iż praktycznie każdy producent zaleca odmienne schematy leczenia, sprawiają iż bardzo trudno jest mówić o modyfikacjach tych systemów. Generalnie rzecz ujmując możemy jednak obserwować obecnie dwa główne kierunki zmian w stosowanych obecnie programach: poszukiwanie w Europie alternatywnych programów mogących zastąpić te uwzględniające estradiol oraz modyfikacje zmierzające do uzyskania kombinacji bardziej adekwatnych dla synchronizacji rui i owulacji u krów poddawanych zabiegom poliowulacji.

Niemożność stosowania estradiolu u bydła na terenie Europy stanowi się napędową badań nad systemami łączącymi stosowanie progesteronu lub progestagenów wraz z analogami GnRH w miejsce estradiolu. Podanie GnRH w

momencie założenia wkładki dopochwowej lub implantu uwalniających progestagen powoduje zmianę dynamiki fali wzrostu pęcherzyków i zapobiega tworzeniu przetrwałego pęcherzyka dominującego (Thompson i wsp., 1999; Stevenson i wsp., 2000; Garcia i wsp., 2004). GnRH nie wywiera jednak żadnego działania luteolitycznego, zatem aby zapewnić eliminację hamującego efektu ciała żółtego na wzrost fali pęcherzykowej praktycznie należy u wszystkich poddanych synchronizacji zwierząt zastosować $PGF_2\alpha$ przed usunięciem źródła progestagenów. Identyfikacja krów w stadium prawdziwego anoestrus może pozwolić na uniknięcie konieczności podawania im prostaglandyn, ale w warunkach terenowych może okazać się mało praktyczna.

GnRH jest także coraz częściej stosowane pod koniec programów opartych na progestagenach w celu dodatkowej stymulacji i pełniejszej synchronizacji owulacji.

Wprowadzenie GnRH do programów synchronizacji rui opartych na progestagenach jest bardzo interesująca ze względu na luteotropowe działanie GnRH i pozwala na utrzymanie tego bardzo wartościowego systemu synchronizacji w Europie bez konieczności stosowania estradiolu.

W Stanach Zjednoczonych i Ameryce Łacińskiej często także stosuje się estry estradiolu w momencie usunięcia źródła progestagenów, szczególnie cypionat estradiolu. Panuje przekonanie, iż są one szczególnie przydatne przy unasienianiu w obserwowanej wizualnie rui, jako że znacznie wzmagają natężenie objawów rujowych. Negatywną stroną stosowania estradiolu w tym wypadku jest stymulacja behawioralnych objawów rui niezależnie od rzeczywistego zaawansowania pęcherzyka dominującego i co za tym idzie możliwość poddania unasienianiu krów niebędących w rui.

Stosowanie programów indukcji i synchronizacji rui opartych na progestagenach u krów w anoestrus

Progestagenowe systemy indukcji i synchronizacji rui zdobyły sobie największe uznanie w prowadzeniu rozrodu bydła mięsnego. Wysoki odsetek poporodowego anestrus, zwłaszcza w pastwiskowej hodowli ekstensywnej oraz stosunkowo krótki sezon krycia sprawiają, iż uzyskanie wysokiej liczby samic w rui na początku sezonu i wysokiego odsetka zacielonych po jego zakończeniu jest niezwykle trudne. Często jedynym wyjściem staje się w takich warunkach indukcja i synchronizacja rui. Systemy oparte na progestagenach dzięki indukowaniu „sztucznej” fazy lutealnej zapewniają stosunkowo wysoki odsetek indukcji rui nawet w stadach ze znacznym udziałem krów w anoestrus. Co jest jednak znacznie ważniejsze, dzięki owemu efektowi „progesterone priming”,

systemy te ograniczają występowanie skróconej fazy lutealnej i wczesnej utraty ciąży u krów objętych indukcją rui w okresie anoestrus. Czyni to także programy oparte na progestagenach bardzo interesującymi w prowadzeniu rozrodu w wysokoprodukcyjnych stadach bydła mlecznego.

Nie należy jednak oczekiwać, iż wyniki jednokrotnej inseminacji w rui indukowanej za pomocą progestagenów będą porównywalne w grupie krów wykazujących aktywność cykliczną jajników i w grupie krów w anestrus. Dzięki pozytywnemu działaniu progestagenów na oś podwzgórzowo-przysadkową oraz ograniczenie występowania skróconej fazy lutealnej, zastosowanie systemów synchronizacji rui opartych na progestagenach umożliwi jednak stosunkowo szybkie objęcie wszystkich wycielonych krów unasienianiem i uzyskanie wysokiego odsetka zacieleń w przeciągu stosunkowo krótkiego sezonu rozrodczego.

Re-synchronizacja u krów powtarzających ruję

W przypadku krów poddanych uprzednio unasienianiu i powtarzających ruję niejednokrotnie stosuje się różne programy „re-synchronizacji”, aby zwiększyć liczbę samic unasienianych, a zatem i zacielanych w krótkim okresie czasu po wycieleniu. Działania takie obejmują wykorzystanie progestagenów w postaci spiral dopochwowych lub powtórne włączenie powtarzających ruję krów do programu Ovsynch i jego modyfikacji. Progestageny oferują możliwość zastosowania re-synchronizacji stosunkowo wcześnie po unasienianiu i niejako detekcję jako niezacielonych krów, które wykazują objawy rujowe po usunięciu źródła progestagenów w odróżnieniu od zacielonych, które przynajmniej teoretycznie nie powinny zareagować na podanie progesteronu. Taki system re-synchronizacji „na ślepo” budzi jednak kontrowersje z uwagi na koszt oraz dopochwowe podanie preparatów farmakologicznych u potencjalnie zacielonych krów.

System Ovsynch może być wykorzystany w dniu 21 lub 28 po unasienianiu w celu powtórnej synchronizacji powtarzających krów z odsetkiem zacieleń zbliżonym do uzyskanego w pierwszej inseminacji (Chebel i wsp., 2003). Bartolome i wsp. (2005) uzyskali zbliżone wyniki po re-synchronizacji przy pomocy systemów Ovsynch i Heat-Synch u krów uprzednio unasienianych i rozpoznanych jako nieciążarne w 27 dni później.

Podsumowanie

Farmakologiczne systemy indukcji i synchronizacji rui stanowią cenne narzędzie służące poprawie organizacji rozrodu w stadzie bydła mlecznego. W sytuacji

stale ograniczanych wydatków na obsługę zwierząt i rosnących wymagań odnośnie planowania laktacji w stadzie mogą one także przyczynić się do poprawy całkowitego odsetka wycieleń w stadzie i lepiej zaplanowanej produkcji mlecznej.

Szeroki wybór różnych systemów znajdujących się obecnie do dyspozycji lekarza weterynarii daje możliwość stworzenia systemów synchronizacji rui i owulacji starannie dobranych do sytuacji w danym stadzie oraz w adekwatny sposób odpowiadających zarówno oczekiwaniom jak i możliwościom właściciela zwierząt.

Piśmiennictwo

Bartolome J A., Silvestre FT., Arteche ACM., Kamimura S., Archbald LF., and Thatcher WW. The use of Ovsynch and Heatsynch for synchronization of cows open at pregnancy diagnosis by ultrasonography. *J. Dairy Sci.* 2002; 85(Suppl. 1):99. (Abstr.)

Bartolome JA., Santos JEP., Pancarci SM., Melendez P., Arteche et al. Induction of ovulation in non lactating dairy cows and heifers using different doses of a desloreline implant. *Theriogenology* 2004;61:407-19

Bartolome JA., Silvestre FT., Kamimura S., Arteche ACM et al. Resynchronisation of ovulation and timed insemination in lactating dairy cows I: use of Ovsynch and Heatsynch protocols after non-pregnancy diagnosis by ultrasonography. *Theriogenology* 2005;63:1617-1627

Burton NR., Lean IJ. Investigation by meta-analysis of the effect of prostaglandin F2a administered post partum on the reproductive performance of dairy cattle. *Vet Rec* 1995;136:90-4

Cartmill JA., El-Zarkouny SZ., Hensley BA., Lamb GC., and Stevenson JS.. 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

Cavalieri J., Hepworth G., Fitzpatrick LA., Shaphard RW., Macmillan KL. Manipulation and control of the oestrus cycle in pasture-based dairy cows. *Theriogenology* 2006;65:45-64

Chebel RC., Santos JEP., Cerri RLA., Galvao KN., Juchem SO., Thatcher WW. Effect of resynchronisation with GnRH on day 21 after artificial insemination on pregnancy rate and pregnancy loss in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2003;60:1389-99

Chenault JR., Kratzer DD., Rzepkowski RA., Goodwin MC. LH and FSH response of Holstein heifers to fertirelin acetate, gonadorelin and buserelin. *Theriogenology* 1990;34:81-98

Cordoba MC., and Fricke PM. Initiation of the breeding season in a grazing-based dairy by synchronisation of ovulation. *J Dairy Sci* 2002;85:1752-1763

DeJarnette JM., Day ML., House RB., Wallace RA., Marshall CE. Effect of GnRH pretreatment on reproductive performance of post partum suckled beef cows following synchronisation of oestrus using GnRH and PGF2 α . *J Anim Sci* 2001a;79:1675-1682

DeJarnette JM., Salverson RR., Marshall CE. Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronisation using GnRH and PGF2 α . *Anim Reprod Sci* 2001b;67:27-35

DeJarnette JM., Marshall CE. Effects of presynchronisation using combinations of PGF2 α and (or) GnRH on pregnancy rates of Ovsynch and Cosynch treated lactating Holstein cows. *Anim Reprod Sci* 2003;77:51-60

Diskin MG., Austin EJ., Roche JF. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. *Dom Anim Endocrinol* 2002;23:211-228

Etherington WG., Kelton DF., and Adams JE. Reproductive performance of dairy cows following treatment with fenprostalene, dinoprost, or cloprostenol between 24 and 31 Days post partum: A field trial. *Theriogenology* 1994; 42: 739-752

Fortune JE., Rivera GM., Evans ACO., Turzillo AM. Differentiation of Dominant Versus Subordinate Follicles in Cattle. *Biol Reprod* 2001; 65: 648-654

Fricke PM., Guenther JN., and Wiltbank MC. 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

Garcia FEO., Cordero MJL., Hizarza EA., Peralta OJG., Ortega CME., Cárdenas M., Gutierrez CG., Sánchez TEMT. Induction of a new follicular wave in Holstein heifers synchronized with norgestomet. *Animal Reprod Sci* 2004;80: 47-57

Geary TW., Wittier JC., Downing ER., LeFever DG., Silcox RW., Holland MD., Nett TM., and Niswender GD. Pregnancy rates of postpartum beef cows that were synchronized using Syncro-Mate B or the Ovsynch protocol. *J. Anim. Sci.* 1998;76:1523-1527

Geary TW., Downing ER., Bruemmer JE., Whittier JC. Ovarian and estrous response of suckled beef cows to the select synch estrous synchronisation protocol. *Prof Anim Sci* 2000;16:1-5

Ginther OJ., Bergfelt DR., Kulick LJ., Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle: role of estradiol. *Biol Reprod* 2000; 63:383-389.

Ginther OJ., Bergfelt DR., Kulick LJ., Kot K. Selection of the dominant follicle in cattle: role of two-way functional coupling between follicle stimulating hormone and the follicles. *Biol Reprod* 2000; 62:920-927.

Hendricks KEM., Bartolome JA., Melendez P., Risco C., Archbald LF. Effect of repeated administration of PGF₂ in the early post partum period on the prevalence of clinical endometritis and probability of pregnancy at first insemination in lactating dairy cows. *Theriogenology* 2006 in press

Keister ZO., DeNise SK., Armstrong DV., Ax RL., and Brown MD. Pregnancy outcomes in two commercial dairy herds following hormonal scheduling programs. *Theriogenology* 1999;51:1587-1596.

McDougal S., Compton CWR., Annis FM. Effect of exogenous progesterone and oestradiol on plasma progesterone concentrations and follicle wave dynamics in anovulatory anoestrus post partum cattle. *Anim Reprod Sci* 2004;84:303-14

Mihm M., Deletang F., Roche JF. The gonadotrophin and ovarian response to an intermediate or low dose of gonadorelin in beef heifers: influence of dose, follicle status and progesterone environment. *J Reprod Fertil Abstr Ser* 1998;21:74

Mihm M., Bleach ECL. Endocrine regulation of ovarian antral follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci* 2003; 78: 217-237

Moreira F., Orlandi C., Risco CA., Mattos R., Lopes F., Thatcher WW. Effects of presynchronisation and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 2001;84:1646-59

Nakao T., Gamal A., Osawa T., Nakada K., Moriyoshi M., Kawata K. Postpartum plasma PGF metabolite profile in cows with dystocia and/or retained placenta, and effect of fenprostalene on uterine involution and reproductive performance. *J Vet Med Sci* 1997;59:791-4

Nebel RL., Jobst SM. Evaluation of systematic breeding programs for lactating dairy cows: a review. *J Dairy Sci* 1998;81:1169-74.

Padula AM., Borman JM., Wright PJ., Macmillan KL. Restoration of LH output and 17B oestradiol responsiveness in acutely ovariectomised Holstein dairy cows pre-treated with a GnRH agonist (deslorelin) for 10 days. *Anim Reprod Sci* 2002;70:49-63

Padula AM., Macmillan KL. Oestradiol 17B responsiveness, plasma LH profiles, pituitary LH and FSH concentrations in long terms ovariectomised Holstein cows at 24h, 48h and 21 days following treatment with an absorbable GnRH agonist implant. *Anim Reprod Sci* 2005;85:27-39

Pancarci SM., Jordan ER., Risco CA., Schouten MJ., Lopes FL., Moreira F., and Thatcher WW. Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2002;85:122-131

Peters AR., Ward SJ., Warren MJ., Gordon PJ., Mann GE, Webb R. Ovarian and hormonal responses of cows to treatment with an analogue of gonadotrophin releasing hormone and prostaglandin F₂. *Vet Rec* 1999; 27: 343-346

Pursley JR., Mee MO., and Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂ and GnRH. *Theriogenology* 1995;44:915-923.

Pursley JR., Kosorok MR., Wiltbank M.C. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J. Dairy Sci.* 1997;80: 301-306.

Rabiee AR., Lean IJ., Stevenson MA. Efficacy of Ovsynch program on reproductive performance in dairy cattle: a meta analysis. *J Dairy Sci* 2005;88:2754-2770

Rensis de F., Marconi P., Capelli T., Gatti F., Facciolongo F., Franzini S., Scaramuzzi RJ. Fertility in post partum dairy cows in winter or summer following oestrus synchronisation and fixed time AI after the induction of an LH surge with GnRH or hCG. *Theriogenology* 2002;58:1675-1687.

Santos JEP., Bartolome JA., Cerri RLA., Juchem SO., Hernandez O., Trigg T et al. Effect of a deslorelin implant in a timed artificial insemination protocol on follicle development, luteal function and reproductive performance of lactating dairy cows. *Theriogenology* 2004;61:421-35

Shephard R. Investigation of a whole herd controlled breeding program using GnRH and prostaglandin in commercial seasonally-calving dairy herds. *Aust Cattle Vet* 2002;23:24-28

Small JA., Ambrose JD., McCaughey WP., Ward DR., Sutherland WD., Glover ND., Rajamahendran R. The effects of gonadotrophin releasing hormone in prostaglandin F_{2a}-based timed insemination programs for beef cattle. *Can J Anim Sci* 2001;81:335-343

Sota de la, R. L., Burke JM., Risco CA., Moreira F., DeLorenzo MA., and Thatcher WW. Evaluation of timed insemination during summer heat stress in lactating dairy cattle. *Theriogenology* 1998;49:761-770

Stevenson JS., Kobayashi Y., and Thompson KE. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including Ovsynch and combination of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F₂. *J. Dairy Sci.* 1999; 82:506-515

Stevenson JS., Smith JF., and Hawkins DE. Reproductive outcomes for dairy heifers treated with combinations of prostaglandin F_{2a}, norgestomet and gonadotropin-releasing hormone. *J. Dairy Sci.* 2000;83:2008-2015

Stevenson JS., Tiffany SM., Lucy MC. Use of estradiol cypionate as a substitute for GnRH in protocols for synchronising ovulation in dairy cattle. *J Dairy Sci* 2004;87:3298-305

Thompson KE., Stevenson JS., Lamb GC., Grieger DM., Loest DE. Follicular, Hormonal, and Pregnancy Responses of Early Postpartum Suckled Beef Cows to GnRH, Norgestomet, and Prostaglandin F₂. *J. Anim. Sci.* 1999. 77:1823-1832

Twagiramungu H., Guilbault 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 Anim Sci* 1995;73:3141-51.

Vasconcelos JLM., Silcox RW., Rosa GJ., Pursley JR., Wiltbank MC. Synchronisation rate, size of the ovulatory follicle and pregnancy rate after synchronisation of ovulation beginning on different days of the oestrus cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1999;52:1067-1078

Williams SW., Stanko RL., Amstalden M., and Williams GL. Comparison of three approaches for synchronization of ovulation for timed artificial insemination in *Bos indicus*-influenced cattle managed on the Texas gulf coast. *J. Anim. Sci.* 2002;80:1173-1178