

Dinamika Folikel Ovulasi Setelah Sinkronisasi Estrus dengan Prostaglandin F2 α pada Sapi Perah

Ovulatory Follicular Dynamics After Estrus Synchronization using Prostaglandin F2 α in Dairy Cows

Prabowo Purwono Putro¹, Asmarani Kusumawati¹

¹Bagian Reproduksi dan Obstetri,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada.
Email: prabowopp@yahoo.co.id

Abstract

The study was aimed to follow development of ovulatory follicular dynamics as well as plasma progesterone profile after estrus synchronization using PGF2 α and GnRH. A total of 15 non-pregnant dairy cows, 4-5 years of age, healthy and reproductively sound were used in the present study. Treatment 1, given intramuscular injection of PGF2 α 25 mg (PGF2 α), treatment 2 PGF2 α 25 mg and GnRH 250 μ g 2 days later (PGF2 α -GnRH), and treatment 3 with GnRH 250 μ g (7 days prior to injection of PGF2 α), PGF2 α 25 mg and GnRH 250 μ g (2 days after injection of PGF2 α) (GnRH-PGF2 α -GnRH) (the Ovsynch method). Transrectal ultrasonographic examination using real time, B-mode, with 7.5 MHz transducer was performed everyday for 12 days to follow ovulatory follicular and luteal dynamics. Blood plasma was taken every day for progesterone determination using EIA technique. Data of follicular, luteal development and progesterone levels were tested using analysis of variance and correlation analysis. The animals showed estrus within 70.70 ± 01.90 hours following PGF2 α injection. Prostaglandin F2 α induced corpus luteum regression, decreased in progesterone plasma levels, followed by ovulatory follicular development and eventually underwent ovulation. Administration of first GnRH increased corpus luteum size, enhanced its regression and decreased plasma progesterone levels, while the second administration induce better ovulatory follicular development. Rate of the corpus luteum regression, progesterone decrease and ovulatory follicular development following PGF2 α injection for respective treatments 1, 2 and 3 were 2.53 ± 0.24^a , 2.73 ± 0.36^a and 3.53 ± 0.28^b mm/day; 1.39 ± 0.14^a , 1.35 ± 0.18^a dan 1.57 ± 0.12^b ng/ml/day; and 1.33 ± 0.15^a , 1.63 ± 0.19^b and 1.67 ± 0.23^b mm/day, respectively ($P < 0.05$). It can be concluded that PGF2 α induced corpus luteum regression, decreased in progesterone plasma levels and ovulatory follicular development. Addition of GnRH increased corpus luteum size and plasma progesterone levels, after PGF2 α injection corpus luteum regression and progesterone decrease became more prominent, while ovulatory follicular development occurred much better. .

Key words: PGF2 α , GnRH, ovulatory follicle, corpus luteum.

Abstrak

Penelitian ini bertujuan mengikuti dinamika perkembangan folikel ovulasi dan profil progesteron plasma setelah sinkronisasi estrus dengan PGF2 α dan GnRH. Sejumlah 15 ekor sapi betina peranakan *Friesian Holstein* (PFH), tidak bunting, umur 4-5 tahun, pada fase lutea, diberi 3 perlakuan. Perlakuan 1, diberi suntikan intramuskuler PGF2 α sebanyak 25 mg, perlakuan 2 PGF2 α 25 mg dan GnRH 250 μ g 2 hari kemudian, dan perlakuan 3 dengan GnRH 250 μ g (7 hari sebelum penyuntikan PGF2 α), PGF2 α 25 mg dan GnRH 250 μ g (2 hari setelah penyuntikan PGF2 α). Pemeriksaan ultrasonografi transrektum menggunakan *real time, B-mode*, dengan 7,5 MHz transduser dilakukan setiap hari selama 12 hari untuk mengikuti dinamika folikel dominan dan korpus luteum. Plasma darah diambil setiap hari untuk determinasi progesteron dengan teknik EIA. Dinamika perkembangan folikel, korpus luteum dan konsentrasi progesteron dianalisa secara statistik menggunakan analisis varian dan analisis korelasi. Estrus timbul $70,70 \pm 01,90$ jam setelah penyuntikan PGF2 α . Prostaglandin F2 α menyebabkan regresi korpus luteum, penurunan kadar progesteron plasma, diikuti dengan perkembangan dinamika folikel dominan dan berakhir dengan ovulasi. Pemberian GnRH pertama meningkatkan ukuran korpus luteum dan memperjelas regresinya, mempercepat penurunan kadar progesteron, sedangkan pemberian kedua menginduksi perkembangan folikel ovulasi lebih baik. Kecepatan regresi korpus luteum, penurunan kadar progesteron dan pertumbuhan folikel ovulasi setelah penyuntikan PGF2 α untuk perlakuan 1, 2 dan 3 masing-masing adalah $2,53 \pm 0,24^a$, $2,73 \pm 0,36^a$ dan $3,53 \pm 0,28^b$ mm/hari; $1,39 \pm 0,14^a$, $1,35 \pm 0,18^a$ dan $1,57 \pm 0,12^b$ ng/ml/hari; dan $1,33 \pm 0,15^a$, $1,63 \pm 0,19^b$ dan $1,67 \pm 0,23^b$ mm/hari ($P < 0,05$). Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian PGF2 α menyebabkan regresi korpus luteum, penurunan progesteron plasma dan perkembangan folikel ovulasi. Tambahan GnRH meningkatkan ukuran korpus luteum dan progesteron plasma, setelah penyuntikan PGF2 α regresi korpus luteum dan penurunan kadar progesteron lebih nyata, serta perkembangan dinamika folikel ovulasi menjadi lebih baik.

Kata kunci: PGF2 α , GnRH, folikel ovulasi, korpus luteum.

Pendahuluan

Sinkronisasi estrus merupakan teknik manipulasi siklus estrus untuk menimbulkan gejala estrus dan ovulasi pada sekelompok hewan secara bersamaan. Teknik ini terbukti efektif untuk meningkatkan efisiensi penggunaan inseminasi buatan (Bartolome *et al.*, 2002; Williams *et al.*, 2002; Patterson *et al.*, 2005). Beberapa metode sinkronisasi estrus telah dikembangkan, antara lain dengan penggunaan sediaan progesteron, prostaglandin F2 α (PGF2 α), serta kombinasinya dengan *gonadotrophin releasing hormone* (GnRH). Pemberian progesteron berpengaruh menghambat ovulasi, prostaglandin F2 α menginduksi regresi korpus luteum, sedangkan GnRH menambah sinergi proses ovulasi

(Hariadi *et al.*, 1988; Rabiee *et al.*, 2005; Bartolome *et al.*, 2004; Kasimanickam *et al.*, 2006). Beberapa metode sinkronisasi estrus berbasis penggunaan prostaglandin F2 α untuk pelaksanaan inseminasi buatan terprogram telah dikembangkan akhir-akhir ini. Salah satu yang paling banyak diaplikasikan adalah metode Ovsynch (Pursley *et al.* 1997; Cartmil *et al.*, 2001; Fricke, 2003; Colazo *et al.*, 2004; DeJarnette, 2003, 2004; Salverson, 2006). Kebanyakan penelitian sinkronisasi estrus dengan metode berbasis prostaglandin F2 α hanya melaporkan kemampuan suatu agen sinkronisasi untuk menimbulkan estrus dan hasil konsepsinya setelah inseminasi buatan (Thatcher *et al.*, 2001; Pancarci *et al.*, 2002; Bartolome *et al.*, 2004; Goodling *et al.*, 2005; Rabiee *et al.*, 2005; Miller, 2006; Chebel *et al.*,

2007). Hanya sedikit penelitian yang melaporkan perkembangan folikel ovulasi. Penelitian ini bertujuan untuk melihat perkembangan folikel, korpus luteum dan profil progesteron plasma setelah sinkronisasi estrus dengan PGF 2α serta kombinasinya dengan GnRH.

Materi dan Metode

Lima belas ekor sapi perah betina peranakan *Friesian Holstein* (PFH), tidak bunting, umur 4-5 tahun, sehat, mempunyai siklus reproduksi baik, digunakan dalam penelitian ini. Hewan secara acak dibagi menjadi 3 perlakuan dengan 5 ekor hewan per kelompok. Perlakuan 1, dengan PGF 2α (LutalyseTM, dinoprost tromethamine, Upjohn, Kalamazoo, USA) 25 mg disuntikkan intramuskuler, kelompok 2 dengan perlakuan PGF 2α 25 mg dan GnRH (FertagylTM, gonadorelin, Intervet International, Boxmeer, Holland) 250 μ g 2 hari kemudian, serta kelompok 3 dengan GnRH 250 μ g (hari ke 5 siklus), PGF 2α 25 mg (hari ke 12) dan GnRH 250 μ g (hari ke 14). Hewan diamati siklus estrusnya secara cermat, dengan pengamatan tingkah laku dan tanda-tanda luar sekurang-kurangnya 4 kali sehari dan saat estrus dihitung sebagai hari 0.

Pemeriksaan reproduksi dilakukan dengan alat ultrasonografi *real-time* transrektal, B-mode (Honda HS-2000, Honda Electronics Co. Ltd., Tokyo, Japan). *Probe* yang digunakan merupakan transduser transrektum, mempunyai daya panjang gelombang ultrasonik 7,5 MHz.

Sapi ditempatkan dalam suatu kandang jepit, kemudian rektum dievakuasi faecesnya dan diperiksa struktur ovarianya. Pemeriksaan ovaria dilakukan setiap hari selama satu siklus estrus penuh oleh operator yang sama. Pemeriksaan ultrasonografi pada ovaria sapi dilakukan menurut metode dari Fricke (2004) dengan pemindaian berulang permukaan ovaria untuk memperoleh citra gambaran folikel dan korpus luteum. Ukuran folikel dominan merupakan diameter antrum folikel, tidak termasuk dinding folikel. Folikel tampak sebagai struktur bulat, berwarna hitam, serta berbatas tegas. Korpus luteum tampak sebagai struktur dengan ekhogenisitas rendah, pada layar monitor sebagai struktur berwarna abu-abu. Ukuran korpus juga diukur dengan cara diukur rerata diameter terpanjang dan terpendek. Waktu ovulasi ditentukan dari menghilangnya folikel dominan dengan diameter lebih dari 10 mm secara tiba-tiba.

Darah diambil dari vena coccygea semua hewan penelitian, menggunakan tabung vakum 10 ml berisi lithium heparin. Tabung kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit, kemudian plasma darah dipisahkan dan dipindahkan ke tabung plastik bertutup ukuran 1 ml dan seterusnya disimpan dalam suhu -20° C sampai saat dilakukan asai untuk hormon progesteron. Determinasi kuantitatif progesteron dilakukan dengan metode EIA (*enzyme immunoassay*), menggunakan kit komersial (*Progesterone EIA KitTM*, Ridgeway Science, UK). Sensitivitas teknik ini sebesar 0,10 ng/ml, koefisien intra-dan inter-asai kurang dari 10 %, reaksi silang

terhadap steroid lain kurang dari 2 %.

Data yang dicatat meliputi dinamika perkembangan folikel dan korpus luteum, serta kadar hormon progesteron plasma darah. Dinamika perkembangan folikel dan konsentrasi progesteron plasma dianalisa menggunakan analisis varian, sedangkan korelasi antara konsentrasi progesteron plasma dan ukuran korpus luteum diuji dengan analisis korelasi. Semua perhitungan statistik dilakukan dengan menggunakan program SPSS 13.0 for Windows XP (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

Hasil dan Pembahasan

Timbulnya estrus setelah pengambilan implan penyuntikan PGF2 α pada masing-masing perlakuan

adalah $71,00 \pm 2,00$, $70,20 \pm 01,60$ dan $70,60 \pm 01,20$ jam, namun secara statistik tidak menunjukkan perbedaan bermakna ($P > 0,05$) atau rerata keseluruhan $70,70 \pm 01,90$ jam. Beberapa karakteristik folikel ovulasi dan profil kadar progesteron plasma pada semua kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 1, 2 dan 3.

Perkembangan folikel dominan, korpus luteum dan kadar progesteron plasma pada semua perlakuan disajikan pada Grafik 1-2. Folikel dominan juga mengalami perkembangan dengan pesat setelah penyuntikan PGF2 α , mencapai ukuran maksimum hari kemudian pada saat menunjukkan gejala estrus, kemudian menghilang karena terjadi ovulasi pada hari berikutnya.

Tabel 1. Karakteristik folikel ovulasi pada semua perlakuan

	Perlakuan 1, n=5	Perlakuan 2, n=5	Perlakuan 3, n=5
Diameter maksimum folikel ovulasi (mm)	$13,60 \pm 0,25^a$	$14,40 \pm 0,55^b$	$14,00 \pm 0,21^b$
Diameter folikel ovulasi saat penyuntikan PGF2 α (mm)	$9,60 \pm 1,14^a$	$9,50 \pm 1,24^a$	$9,00 \pm 0,70^a$
Kecepatan pertumbuhan folikel (mm per hari)	$1,33 \pm 0,15^a$	$1,63 \pm 0,19^b$	$1,67 \pm 0,23^b$

^{a, b}Superskrip tidak sama dalam satu baris berbeda nyata ($P < 0,05$).

Tabel 2. Ukuran korpus luteum pada semua perlakuan

	Perlakuan 1, n=5	Perlakuan 2, n=5	Perlakuan 3, n=5
Saat penyuntikan PGF2 α (ng/ml)	$12,60 \pm 0,55^a$	$12,40 \pm 0,55^a$	$14,60 \pm 0,45^b$
Pada saat estrus (mm)	$5,00 \pm 0,71^a$	$4,20 \pm 0,45^a$	$4,00 \pm 0,00^a$
Kecepatan regresi korpus luteum (mm/hari)	$2,53 \pm 0,24^a$	$2,73 \pm 0,36^a$	$3,53 \pm 0,28^b$

^{a, b}Superskrip tidak sama dalam satu baris berbeda nyata ($P < 0,05$).

Tabel 3. Konsentrasi progesteron plasma pada semua perlakuan

	Perlakuan 1, n=5	Perlakuan 2, n=5	Perlakuan 3, n=5
Saat penyuntikan PGF2 α (ng/ml)	4,45 \pm 0,23 ^a	4,38 \pm 0,30 ^a	5,01 \pm 0,10 ^b
Pada saat estrus (ng/ml)	0,31 \pm 0,03 ^a	0,34 \pm 0,05 ^a	0,48 \pm 0,11 ^a
Kecepatan penurunan kadar progesteron (ng/ml/hari)	1,39 \pm 0,14 ^a	1,35 \pm 0,18 ^a	1,57 \pm 0,12 ^b

^{a, b} Superskrip tidak sama dalam satu baris berbeda nyata ($P < 0,05$).

Korpus luteum mengalami proses regresi dengan cepat setelah pemberian PGF2 α mencapai ukuran minimum saat estrus 3 hari kemudian. Korpus luteum kemudian tidak dapat diikuti lagi setelah itu. Profil progesteron plasma juga mengikuti perkembangan korpus luteum. Setelah penyuntikan PGF2 α kadar progesteron menurun dalam waktu 3 hari, mencapai kurang dari 0,50 ng/ml saat hewan menunjukkan gejala estrus. Kemudian kadar progesteron plasma kembali meningkat setelah estrus. Pemberian GnRH sekali 2 hari setelah penyuntikan PGF2 α mampu meningkatkan diameter folikel ovulasi secara nyata. Pemberian GnRH dua kali menyebabkan peningkatan ukuran korpus luteum dan memperjelas regresinya, disamping juga mempercepat penurunan kadar progesteron.

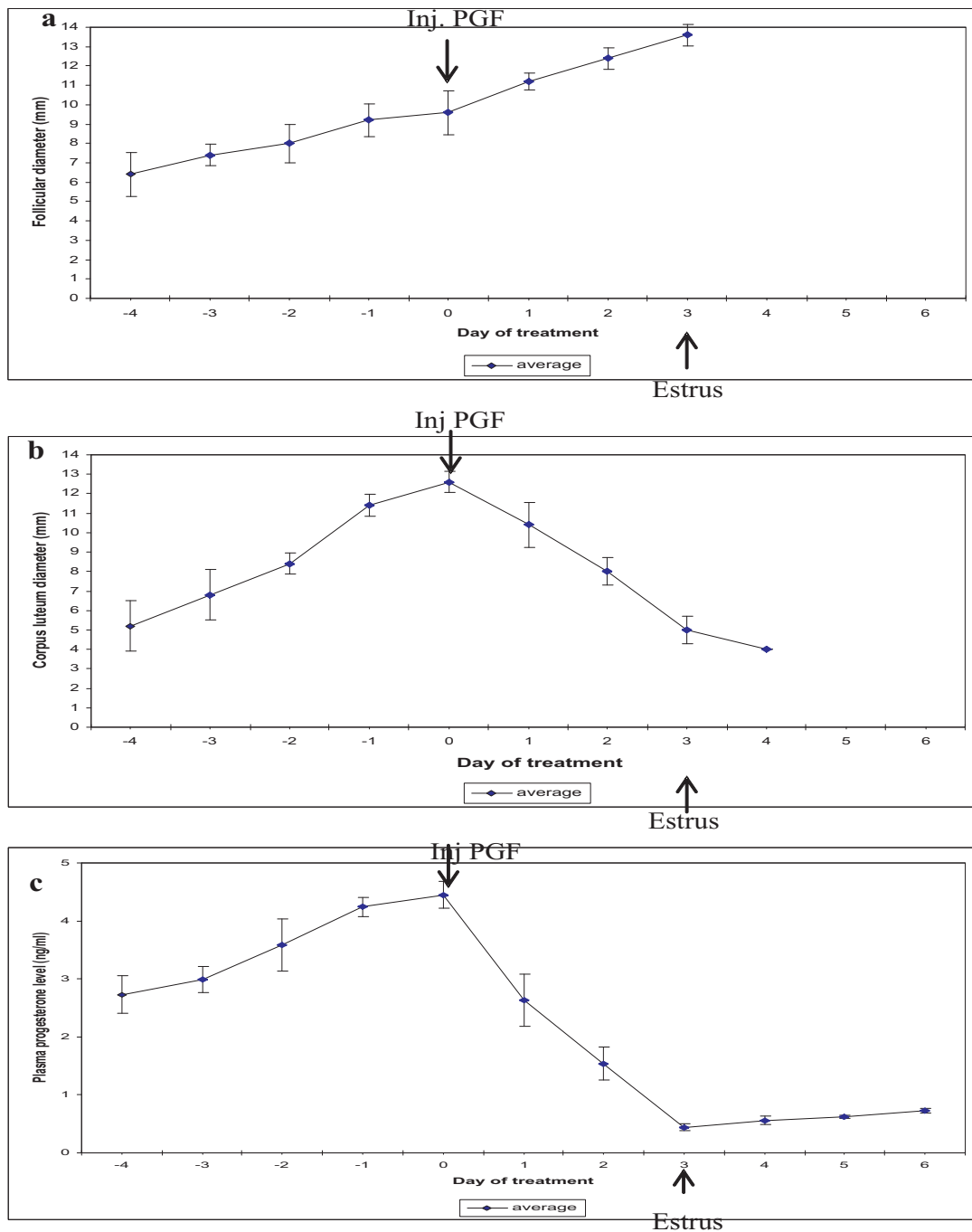
Semua sapi penelitian menunjukkan gejala estrus setelah perlakuan dengan rerata setelah 70,70 \pm 01,90 jam setelah penyuntikan PGF2 α . Waktu timbulnya estrus ini sama dengan laporan-laporan penggunaan PGF2 α untuk sinkronisasi estrus sapi (Pursley *et al.*, 1997; Stevenson *et al.*, 2000; Xu *et al.*, 2000; Bartolome *et al.*, 2002). Hasil penelitian ini

menunjukkan bahwa pemberian injeksi PGF2 α pada fase lutea akan menimbulkan regresi korpus luteum seperti yang dilaporkan oleh peneliti terdahulu (Cartmill *et al.*, 2001; Pancarci *et al.*, 2002). Regresi korpus luteum berakibat penurunan tiba-tiba kadar progesteron dalam plasma darah, menghilangkan umpan balik negatif dari hormon ini pada hipotalamus, sehingga akan menyebabkan pembebasan FSH dan LH dari hipofisa, memacu perkembangan folikel ovulasi, akhirnya terjadilah estrus dan ovulasi (Thatcher *et al.*, 2002; Rivera *et al.*, 2004; Rasby, 2005). Hasil dari penelitian ini juga mendukung pendapat tersebut, bahwa regresi korpus luteum diikuti dengan penurunan kadar progesteron plasma, perkembangan dinamis folikel dominan menjadi folikel ovulasi, serta berakhir dengan timbulnya estrus dan proses ovulasi.

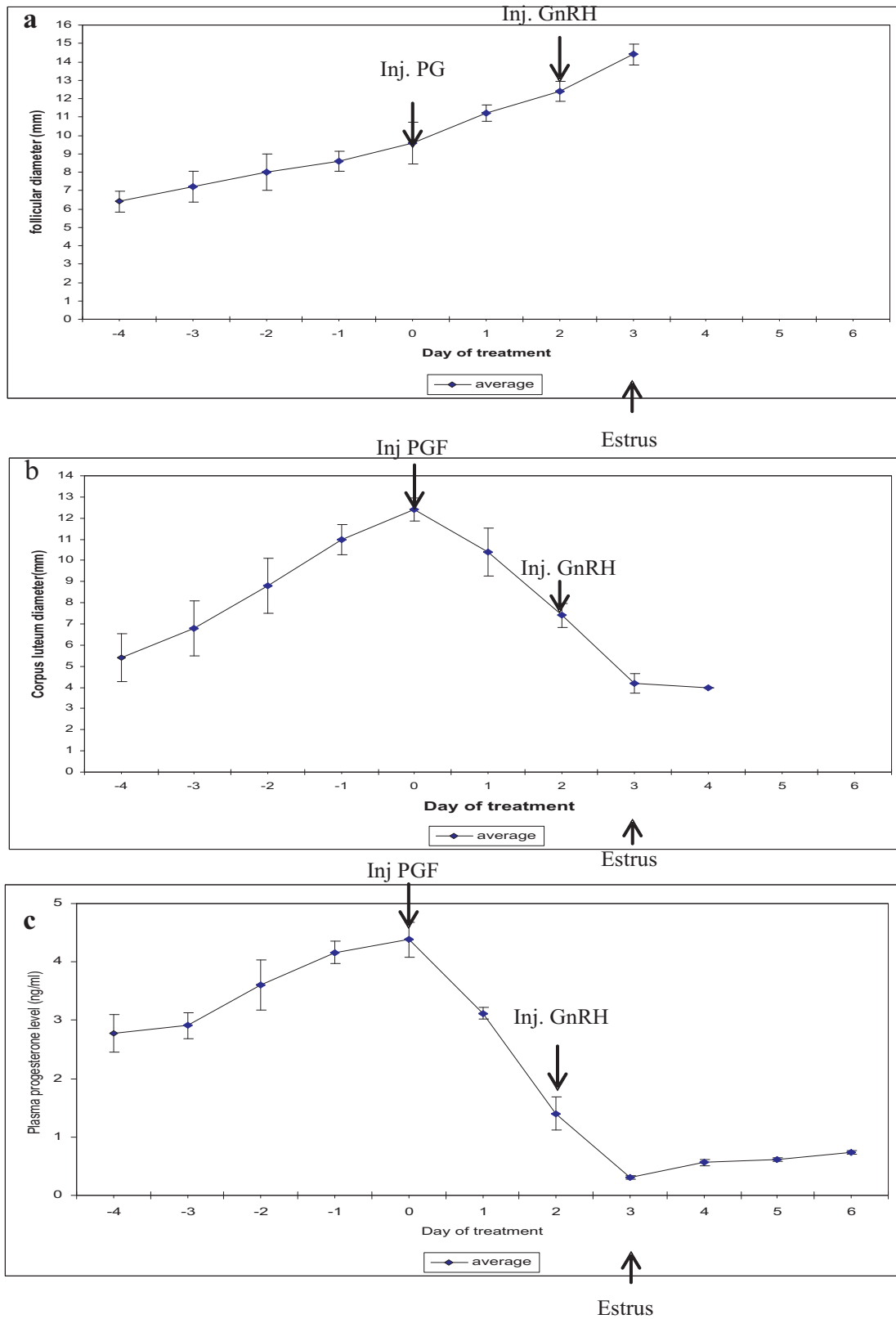
Pemberian GnRH pertama pada metoda Ovsynch 7 hari sebelum penyuntikan PGF2 α , ternyata meningkatkan ukuran korpus luteum dan progesteron plasma, sehingga terlihat jelas meningkatkan kecepatan regresi korpus luteum dan penurunan kadar progesteron plasma. Adanya ukuran korpus luteum dan kadar

progesteron maksimum dibutuhkan untuk keberhasilan sinkronisasi estrus dan perkembangan folikel ovulasi. Pemberian GnRH eksogen akan memacu pembebasan LH lebih intensif, sehingga proses luteinisasi korpus

luteum menjadi lebih baik dan menghasilkan hormon progesteron lebih tinggi seperti laporan oleh Rabiee *et al.* (2005) dan Chebel *et al.* (2007).



Grafik 1. Perkembangan folikel (a), korpus luteum (b) dan kadar progesteron plasma (c) setelah pemberian GnRH-PGF-GnRH



Grafik2. Perkembangan folikel (a), korpus luteum (b) dan kadar progesteron plasma setelah pemberian PG-GnRH

Pemberian kedua GnRH 2 hari setelah penyuntikan PGF2 α dimaksudkan untuk sinkronisasi perkembangan folikel ovulasi dan proses ovulasi, sehingga dimungkinkan pelaksanaan inseminasi terjadwal (*fixed-time artificial insemination*) seperti laporan Thatcher *et al.* (2001, 2002) dan Rivera *et al.* (2004). Dalam penelitian ini pemberian GnRH 2 hari setelah penyuntikan PGF2 α mampu meningkatkan kecepatan perkembangan dan meningkatkan diameter folikel dominan. Kenyataan ini mendukung pendapat Martinez *et al.* (2003), Tapponen (2003) dan Salverson (2006) bahwa pemberian GnRH eksogen akan menimbulkan sinergi pembebasan FSH dan LH dari hipofisa, sehingga terjadi perkembangan folikel dominan lebih cepat, menyebabkan percepatan induksi perkembangan folikel ovulasi, sehingga sinkroni timbulnya estrus dan ovulasi menjadi lebih baik.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian PGF2 α akan menyebabkan regresi korpus luteum diikuti dengan penurunan kadar progesteron plasma. Regresi korpus luteum ini diikuti oleh perkembangan folikel dominan secara cepat dan ovulasi. Pemberian tambahan GnRH sebelum perlakuan akan meningkatkan ukuran korpus luteum dan memaksimumkan kadar progesteron plasma saat penyuntikan PGF2 α , sehingga akan menambah laju regresi korpus luteum dan meningkatkan pertumbuhan folikel dominan. Pemberian GnRH dua hari setelah pemberian PGF2 α akan menyebabkan perkembangan folikel ovulasi lebih baik. Dinamika folikel ovulasi setelah sinkronisasi estrus dengan

prostaglandin F2 α menjadi lebih sinergi dengan penambahan GnRH.

Daftar Pustaka

- Bartolome, J. A., Silvestre, F. T., Artechte, A. C. M., Kamimura, S., Archbald, L. F. and Thatcher, W. W. (2002) The Use of Ovsynch and Heatsynch for Resynchronization of Cows Open at Pregnancy Diagnosis by Ultrasonography. *J. Dairy Sci.* 81: 390-342.
- Bartolome, J. A., Sozzi, A., McHale, J., Swift, K., Kelbert, D., Archbald, L. F. and Thatcher, W. W. (2004) Resynchronization of Ovulation and Timed Insemination in Lactating Dairy Cows Using the Ovsynch and Heatsynch Protocol Initiated 7 Days Before Pregnancy Diagnosis on Day 30 by Ultrasonography. *Reprod. Fertil. Develop.* 16 (2): 126-127.
- Cartmill, J. A., El-Zarkouny, S. Z., Hensley, B. A., Lamb, G. C. and Stevenson, J. S. (2001) Stage of Cycle, Incidence and Timing of Ovulation and Pregnancy Rate in Dairy Cattle after Three Timed Breeding Protocols. *J. Dairy Sci.* 84: 1051-1059.
- Chebel, R. C., Santos, J. E. P., Rutigliano, H. M. and Cerri, R. L. A. (2007) Efficacy of an Injection of Dinoprost Tromethamine when Given Subcutaneously on Luteal Regression in Lactating Holstein Cows. *Theriogenology* 67: 590-597.
- Colazo, M. G., Small, J. A., Ward, D. R., Erickson, N. E., Kastelic, J. P. and Mapletoft, R. J. (2004) The Effect of Presynchronization on Pregnancy Rate to Fixed-Time AI in Beef Heifers Subjected to a Cosynch Protocol. *Reprod. Fertil. Develop.* 16 (2): 128-130.
- DeJarnette, M. (2003) What's New in Estrus Synchronization. Select Sires, Inc. Publication, North Plain City, Ohio, USA.

- DeJarnette, M. (2004) Estrus Synchronization: a Reproductive Management Tool. Select Sires, Inc. Publication, North Plain City, Ohio, USA.
- Fricke, P. M. (2003) Ovsynch, Pre-synch, the Kitchen-Synch: What's Up with Synchronization Protocols? Publication of Extension Service, University of Wisconsin, Madison, USA.
- Fricke, P. M. (2004) Potential Applications and Pitfalls of Ultrasound for Managing Reproduction in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 87: 912-916.
- Goodling, R. C., Shook, G. E., Weigel, K. A. and Zwald, N. R. (2005) The Effect of Synchronization on Genetic Parameters of Reproductive Traits in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 88: 2217-2225.
- Hariadi, M., Broomfield, D. and Wright, P. J. (1998) The Synchrony of Prostaglandin-Induced Estrus in Cows was Reduced by Pretreatment with HCG. *Theriogenology* 49: 967-974.
- Kasimanickam, R., Collins, J. C., Wuenschell, J., Currin, J. C., Hall, J. B. and Whittier, D. W. (2006) Effect of Timing of Prostaglandin Administration, Controlled Internal Drug Release Removal and Gonadotropin Releasing Hormone Administration on Pregnancy Rate in Fixed-Time AI Protocols in Crossbred Angus Cows. *Theriogenology* 65: 1-14.
- Martinez, M. F., Kastelic, J. P., Bo, G. A., Caccia, M. and Mapletoft, R. J. (2003) Effect of Oestradiol and Some of Its Esters on Gonadotrophin Release and Ovarian Follicular Dynamics in CIDR Treated Beef Cattle. *J. Anim. Sci.* 86: 37-52.
- Miller, D. J. (2006) Systematic Breeding Programs for the Dairy Herd. Illinois State University Publication, Urbana, Illinois, USA.
- Pancarci, S. M., Jordan, E. R., Risco, C. A., Shouten, M. J. and Thatcher, W. W. (2002) Use of Estradiol Cypionate in a Presynchronized Timed Artificial Insemination Program for Lactating Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 85: 122-131.
- Patterson, D. J., Smith, M. F., and Scafer, D. J. (2005) New Opportunities to Synchronize Estrus and Facilitate Fixed-Time AI, Division of Animal Sciences, University of Missouri-Columbia.
- Pursley, J. R., Kosorok, M. R. and Wiltbank, M. C. (1997) Reproductive Management of Lactating Dairy Cows Using Synchronization of Ovulation. *J. Dairy Sci.* 80: 301-306.
- Rabiee, A. R., Lean, I. J. and Stevenson, M. A. (2005) Efficacy of Ovsynch Program on Reproductive Performance in Dairy Cattle: a Meta-Analysis. *J. Dairy Sci.* 88: 2754-2770.
- Rasby, R. (2005) Synchronizing Estrus in Beef Cattle. *Beef Cattle Prod.* 2: 1-6.
- Rivera, H., Lopez, H. and Fricke, P. M. (2004) Fertility of Holstein Dairy Heifers After Synchronization of Ovulation and Timed AI or AI After Removed Tail Chalk. *J. Dairy Sci.* 87: 2051-2061.
- Salverson, R. (2006) Manipulation of the Oestrus Cycle in Cow, South Dakota State University-Cooperative Extension Service-USDA,
- Stevenson, J. S., Smith, J. F. and Hawkins, D. E. (2000) Reproductive Outcomes for Dairy Heifers Treated with Combination of Prostaglandin F₂ α , Norgestomet and Gonadotropin-Releasing Hormone. *J. Dairy Sci.* 83: 2008-2015.
- Thatcher, W. W., Moreira, W. and Risco, C. A. (2001) Strategies to Optimize Reproductive Efficiency by Regulation of

Ovarian Function. *Dom. Anim. Endocrin.* 23: 243-254.

Thatcher, W. W., Patterson, D. J., Moreira, F. and Pancarci, M. (2002) Current Concepts for Estrus Synchronization and Timed Insemination, 34th *An. Proc. Am. Soc. Bov. Pract.* 34: 96-105.

Williams, S. W., Stanko, R. L., Amstalden, M. and Williams, G. L. (2002) 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.* 80: 464 - 470.

Xu, Z. Z., Burton, L. J., McDougall, S. and Jolly, P. D. (2000) Treatment of Noncyclic Lactating Dairy Cows with Progesterone and Estradiol or With Progesterone, GnRH, Prostaglandin F_{2α}, and Estradiol. *J. Dairy Sci.* 83: 1112-1119.