

**DINAMIKA FOLIKEL OVULASI SETELAH SINKRONISASI ESTRUS
DENGAN PROSTAGLANDIN F2 α PADA SAPI PERAH**Prabowo Purwono Putro, R. Wasito, Hastari Wuryastuty, dan Soedarmanto Indarjulianto¹**INTISARI**

Penelitian 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. Tambahkan 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, Ovsynch, Folikel ovulasi, Korpus luteum, Progesteron, Ultrasonografi, EIA)

¹Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna No. 2, Bulaksumur, Yogyakarta

OVULATORY FOLLICULAR DYNAMICS AFTER ESTRUS SYNCHRONIZATION USING PROSTAGLANDIN F2 α IN DAIRY COWS

ABSTRACT

The study 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) (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 everyday 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 \pm 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 \pm 0.24^a, 2.73 \pm 0.36^a and 3.53 \pm 0.28^b mm/day; 1.39 \pm 0.14^a, 1.35 \pm 0.18^a dan 1.57 \pm 0.12^b ng/ml/day; and 1.33 \pm 0.15^a, 1.63 \pm 0.19^b and 1.67 \pm 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, Ovsynch, Ovulatory follicle, Corpus luteum, Progesterone, Ultrasonography)

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 F_{2α} 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

Sejumlah 15 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} (Lutalyse™, dinoprost tromethamine, Upjohn, Kalamazoo, USA) 25 mg disuntikkan intramuskuler, kelompok 2 dengan perlakuan PGF_{2α} 25 mg dan GnRH (Fertagyl™, gonadorelin, Intervet International, Boxmeer, Holland) 250 µg 2 hari kemudian, serta kelompok 3 dengan GnRH 250 µg (hari ke 5 siklus), PGF_{2α} 25 mg (hari ke 12) dan GnRH 250 µg (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 ekhogenitas 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 Kit*™, 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. dan 2.

Perkembangan folikel dominan, korpus luteum dan kadar progesteron plasma pada semua perlakuan disajikan pada Grafik 1-3. 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. Korpus luteum mengalami

Tabel 1. Karakteristik folikel ovulasi pada semua perlakuan (*Ovulatory follicular characteristics in all treatments*)

	Perlakuan 1, (Treatment 1) n=5	Perlakuan 2, (Treatment 2) n=5	Perlakuan 3, (Treatment 3) n=5
Diameter maksimum folikel ovulasi (mm) (Maximum diameter of ovulatory follicle (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) (Follicular diameter at injection of 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) (Follicular growth rate (mm per day))	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 ($P < 0,05$)

(Different superscript at the same row indicating significant differences ($P < 0,05$))

Tabel 2. Ukuran korpus luteum pada semua perlakuan (*Corpus luteum size in all treatments*)

	Perlakuan 1, (Treatment 1) n=5	Perlakuan 2, (Treatment 2) n=5	Perlakuan 3, (Treatment 3) n=5
Saat penyuntikan PGF2 α (ng/ml) (At the time of PGF2 α injection (ng/ml))	12,60 \pm 0,55 ^a	12,40 \pm 0,55 ^a	14,60 \pm 0,45 ^b
Pada saat estrus (mm) (At 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) (Regression rate of corpus luteum (mm/day))	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 ($P < 0,05$)

(Different superscript at the same row indicating significant differences ($P < 0,05$))

Tabel 3. Konsentrasi progesteron plasma pada semua perlakuan (*Plasma progesterone concentration in all treatments*).

	Perlakuan 1, (<i>Treatment 1</i>) n=5	Perlakuan 2, (<i>Treatment 2</i>) n=5	Perlakuan 3, (<i>Treatment 3</i>) n=5
Saat penyuntikan PGF2 α (ng/ml) (<i>At the time of PGF2α injection (ng/ml)</i>)	4,45 \pm 0,23 ^a	4,38 \pm 0,30 ^a	5,01 \pm 0,10 ^b
Pada saat estrus (ng/ml) (<i>At estrus (ng/ml)</i>)	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) (<i>Decreasing rate of progesterone concentration (ng/ml/day)</i>)	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 ($P < 0,05$).

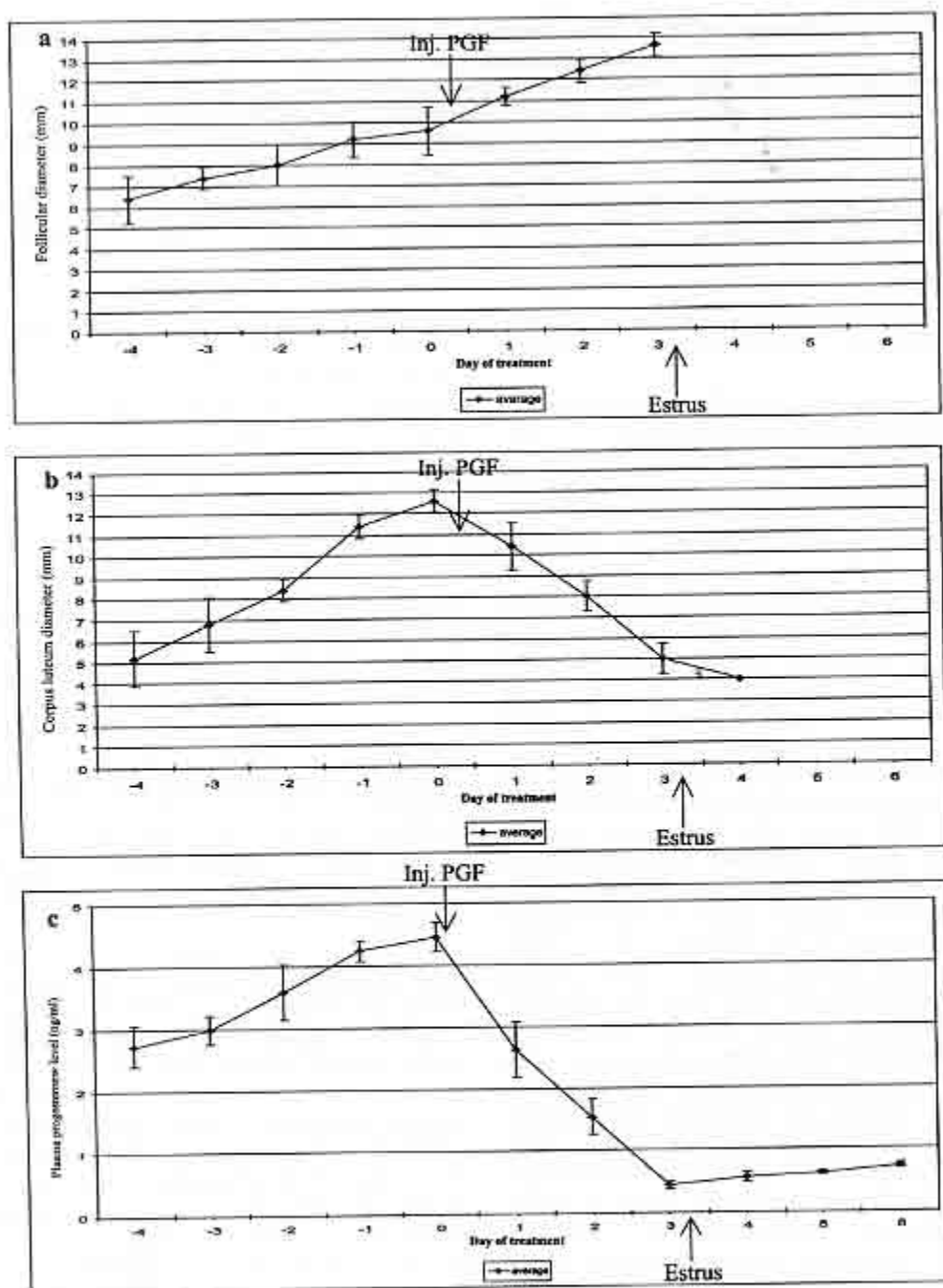
(*Different superscript at the same row indicating significant differences ($P < 0,05$)*)

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 progesterone.

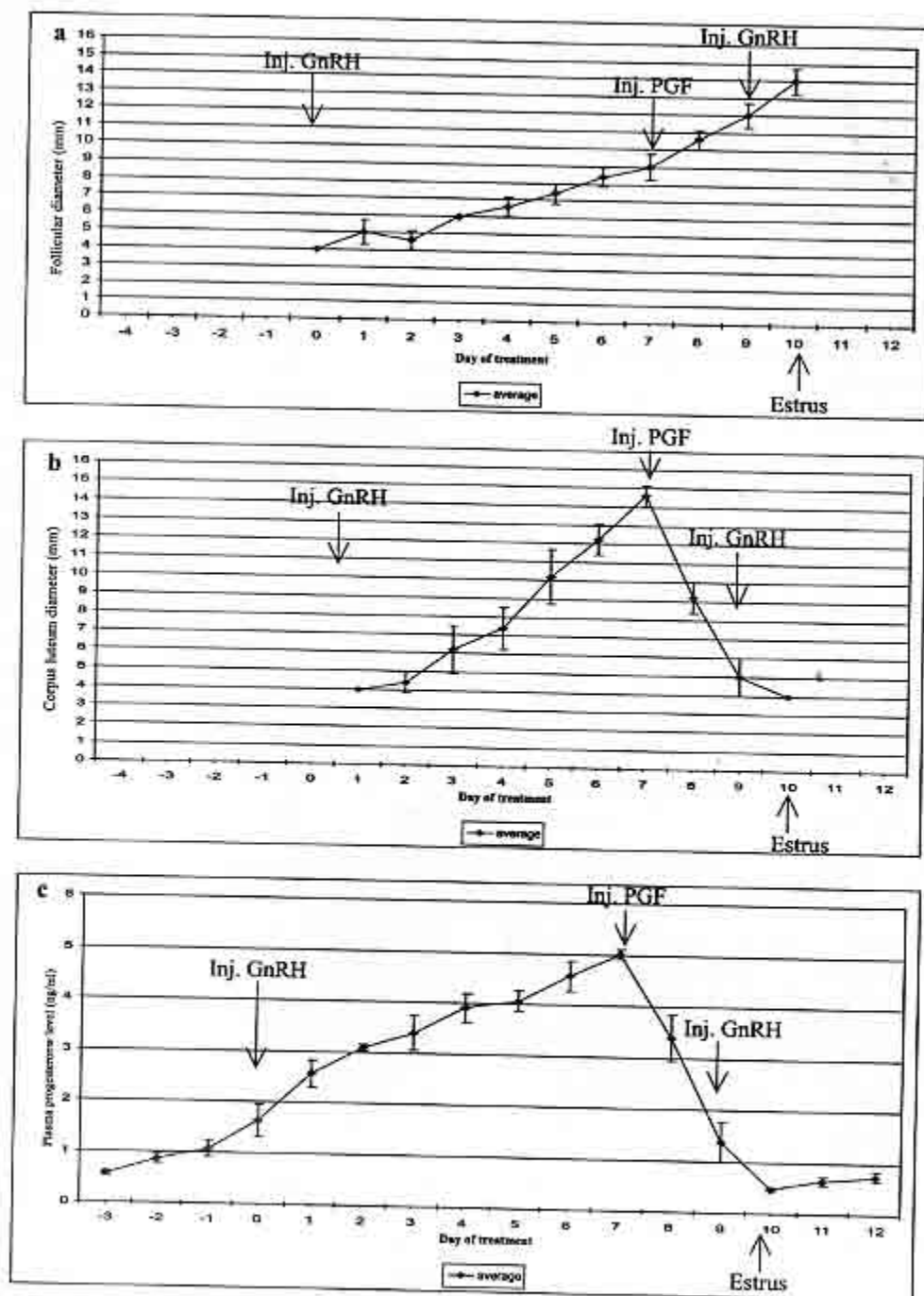
Semua sapi penelitian menunjukkan gejala estrus setelah perlakuan dengan rerata setelah 70,70 \pm 01,90 jam setelah penyuntikan PGF2 α . Waktu timbulnya estrus ini sama dengan laporan-laporan penggunaan PGF2 α untuk sinkronisasi estrus sapi (Pursley *et al.*, 1997; Stevenson *et al.*, 2000; Xu *et al.*,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

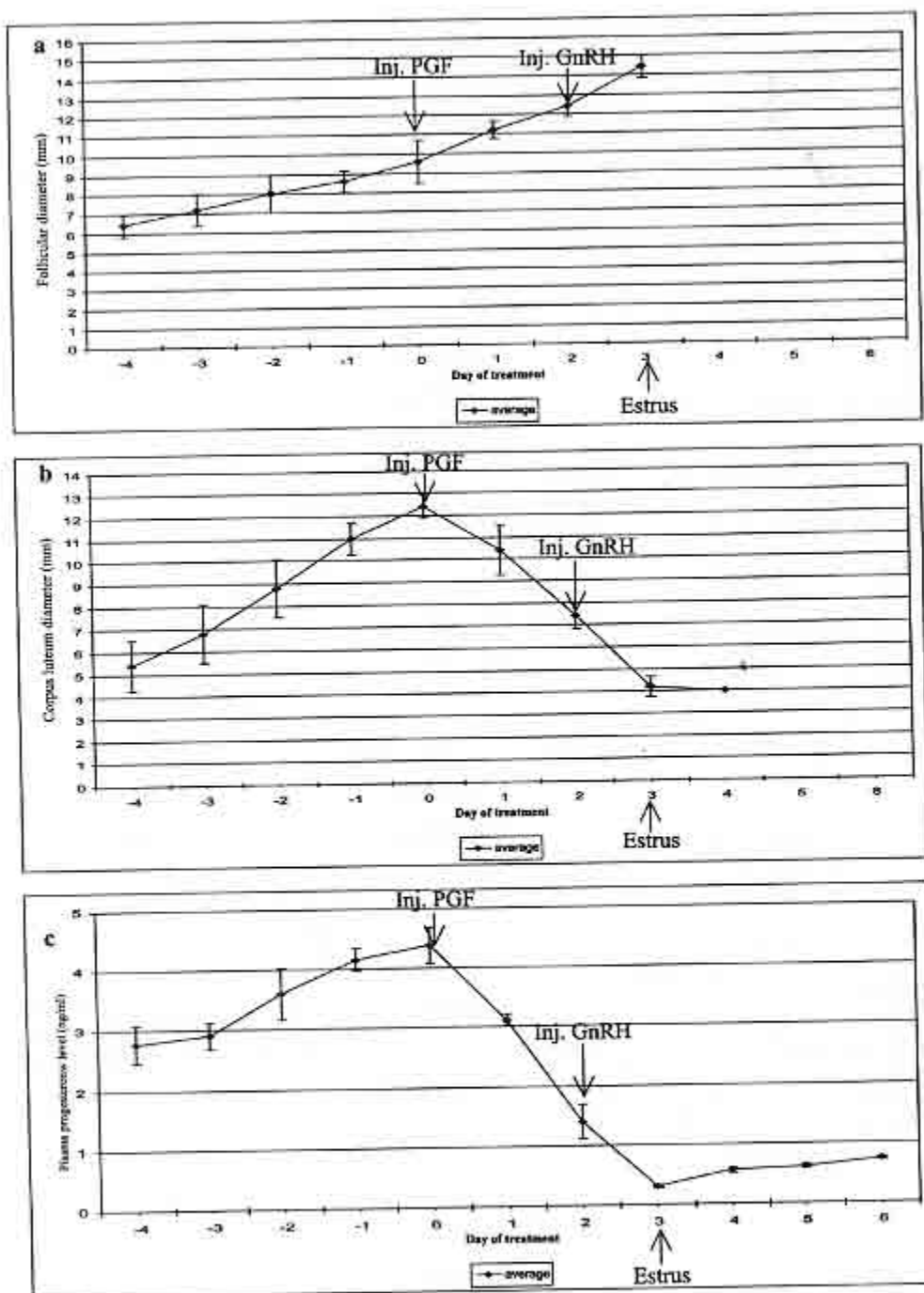
Hasil dari penelitian ini juga mendukung pendapat tersebut, bahwa regresi korpus luteum diikuti dengan penurunan kadar progesteron plasma, perkembangan dinamis folikel dominan menjadi folikel ovulasi, serta berakhir dengan timbulnya estrus dan proses ovulasi. Pemberian GnRH pertama pada metoda Ovsynch 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.



Grafik 1. Perkembangan folikel (a), korpus luteum (b) dan kadar progesteron plasma (c) setelah pemberian PGF₂ α (*Follicular development (a), corpus luteum (b) and plasma progesterone concentration (c) following PGF₂ α administration*)



Grafik 2. Perkembangan folikel (a), korpus luteum (b) dan kadar progesteron plasma (c) setelah pemberian GnRH-PG-GnRH (Follicular development (a), corpus luteum (b) and plasma progesterone concentration (c) following GnRH-PG- GnRH administration)



Grafik 3. Perkembangan folikel (a), korpus luteum (b) dan kadar progesteron plasma setelah pemberian PG-GnRH (*Follicular development (a), corpus luteum (b) and plasma progesterone concentration (c) following PGF-GnRH administration*)

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 Rabice *et al.* (2005) dan Chebel *et al.* (2007).

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.

Kesimpulan

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., F. T. Silvestre, A. C. M. Artechte, S. Kamimura, L. F. Archbald and W. W. Thatcher. 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., A. Sozzi, J. McHale, K. Swift, D. Kelbert, L. F. Archbald and W. W. Thatcher. 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., S. Z. El-Zarkouny, B. A. Hensley, G. C. Lamb and J. S. Stevenson. 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., J. E. P. Santos, H. M. Rutigliano and R. L. A. Cerri. 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., J. A. Small, D. R. Ward, N. E. Erickson, J. P. Kastelic and R. J. Mapletoft. 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.
- _____. 2004. Potential Applications and Pitfalls of Ultrasound for Managing Reproduction in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 87:912-916.
- Goodling, R. C., G. E. Shook, K. A. Weigel, and N. R. Zwald. 2005. The Effect of Synchronization on Genetic Parameters of Reproductive Traits in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 88: 2217-2225.
- Hariadi, M., D. Broomfield, and P. J. Wright. 1998. The Synchrony of Prostaglandin-Induced Estrus in Cows was Reduced by Pretreatment with HCG. *Theriogenology* 49: 967-974.
- Kasimanickam, R., J. C. Collins, J. Wuenschell, J. C. Currin, J. B. Hall and, D. W. Whittier. 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., J. P. Kastelic, G. A. Bo, M. Caccia and R. J. Mapletoft. 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., E. R. Jordan, C. A. Risco, M. J. Shouten and W. W. Thatcher. 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., M. F. Smith, and D. J. Scafer. 2005. New Opportunities to Synchronize Estrus and Facilitate Fixed-Time AI, Division of Animal Sciences, University of Missouri-Columbia.
- Pursley, J. R., M. R. Kosorok and M. C. Wiltbank. 1997. Reproductive Management of Lactating Dairy Cows Using Synchronization of Ovulation. *J. Dairy Sci.* 80: 301-306.
- Rabiee, A. R., I. J. Lean and M. A. Stevenson. 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., H. Lopez, and P. M. Fricke. 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., J. F. Smith and D. E. Hawkins. 2000. Reproductive Outcomes for Dairy Heifers Treated with Combination of Prostaglandin F2, Norgestomet and Gonadotropin-Releasing Hormone. *J. Dairy Sci.* 83: 2008-2015.
- Thatcher, W. W., W. Moreira, and C. A. Risco. 2001. Strategies to Optimize Reproductive Efficiency by Regulation of Ovarian Function. *Dom. Anim. Endocrin.* 23: 243-254.
- Thatcher, W. W., D. J. Patterson, F. Moreira and M. Pancarci. 2002. Current Concepts for Estrus Synchronization and Timed Insemination, 34th An. Proc. Am. Soc. Bov. Pract. 34: 96-105.
- Williams, S. W., R. L. Stanko, M. Amstalden, and G. L. Williams. 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., L. J. Burton, S. McDougall, and P. D. Jolly. 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.