เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2554; 9(3): 191-210

บทความรับเชิญ (Invited review article)

การควบคุมวงรอบการเป็นสัดในโค

Control of estrous cycle in cows

จุรีย์รัตน์ สำเร็จประสงค์

ภาควิชาชีวศาสตร์ทางสัตวแพทย์และสัตวแพทย์สาธารณสุข

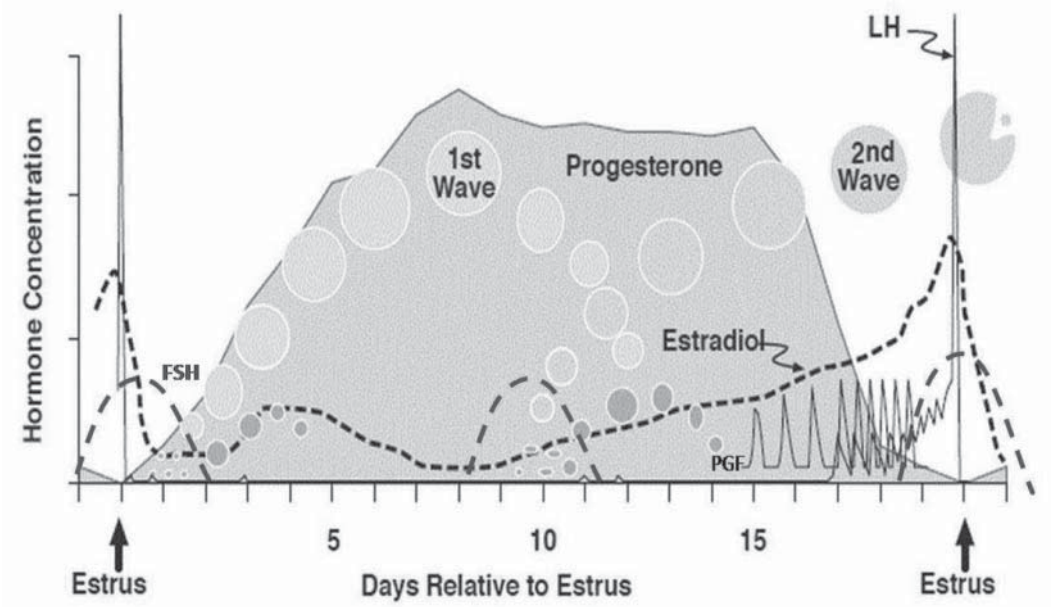
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่

E-mail address: jureerat.s@cmu.ac.th

บทนำ

การควบคุมวงรอบการเป็นสัดเป็นเทคโนโลยีชีวภาพทางระบบสืบพันธุ์อย่างหนึ่ง ซึ่งถูกนำมาใช้ในการจัดการระบบสืบพันธุ์โค เพื่อช่วยในการจัดการฟาร์มสะดวกขึ้น เช่น สามารถกำหนดฤดูการคลอดของแม่โคในฝูงได้ตามต้องการ วิธีเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้ฮอร์โมนบางวิธีทำให้โคแสดงอาการสัดชัดเจนขึ้น การเฝ้าระวังอาการสัดง่ายขึ้น หรือบางวิธีทำให้สามารถประมาณการช่วงเวลาเป็นสัดล่วงหน้าได้โดยมีอัตราความคลาดเคลื่อนไม่มากนัก การนำวิธีการควบคุมการเป็นสัดและการตกไข่มาใช้ร่วมกับเทคโนโลยีชีวภาพทางระบบสืบพันธุ์อื่น เช่น การผสมเทียม การย้ายฝากตัวอ่อน ยังเป็นการช่วยในการปรับปรุงพันธุ์และเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตโคพันธุกรรมดี ถึงแม้การควบคุมวงรอบการเป็นสัดจะมีประโยชน์ต่อการจัดการด้านระบบสืบพันธุ์โคดังกล่าวข้างต้น แต่การนำเทคโนโลยีนี้ไปใช้จะประสพผลสำเร็จมากน้อย นอกจากจะขึ้นกับปัจจัยด้านสุขภาพและความสมบูรณ์ของร่างกายโคแล้ว ผู้ปฏิบัติยังต้องมีความรู้ในด้านสรีรวิทยาระบบสืบพันธุ์ เข้าใจในหลักการการใช้ฮอร์โมนในการควบคุมวงรอบการเป็นสัดเป็นอย่างดี จึงจะสามารถเลือกใช้วิธีการ และ/หรือฮอร์โมนในการควบคุมวงรอบการเป็นสัดได้อย่างเหมาะสม เพื่อให้ได้ผลสำเร็จโดยคำนึงถึงอัตราการเหนี่ยวนำการเป็นสัดพร้อมๆ กัน (synchrony rates) และอัตราความสำเร็จในการตั้งท้อง (conception rates) จากการทำผสมเทียมหรือย้ายฝากตัวอ่อนในวงรอบการเป็นสัดนั้นให้อยู่ในระดับที่ดีหรือยอมรับได้ และมีความคุ้มค่ากับการลงทุน

บทความทางวิชาการนี้ ผู้เขียนมีวัตถุประสงค์ที่จะฟื้นฟูความรู้ทางสรีรวิทยาและการทำงานของระบบต่อมไร้ท่อ รวบรวมตรวจเอกสารที่เกี่ยวกับหลักการ และวิธีการที่นิยมใช้ในการทำการควบคุมวงรอบการเป็นสัดในโค วิเคราะห์ ข้อดี ข้อเสีย และผลสำเร็จของแต่ละวิธี



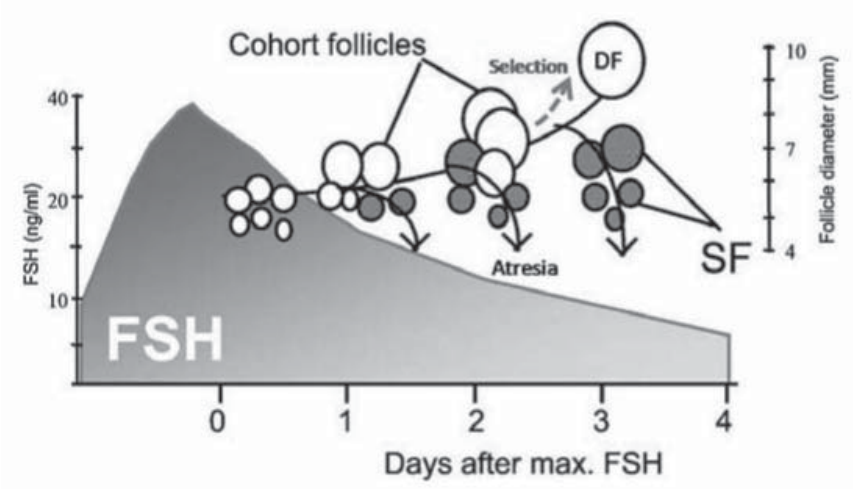
รูปที่ 1. วงรอบการเป็นสัดในโค แสดงคลื่นฟอลลิเคิล (2 คลื่น) และระดับฮอร์โมนที่เกี่ยวข้อง (ดัดแปลงจาก Day and Geary, 2005)[3]

วงรอบการเป็นสัดในโค (estrous cycle)

วงรอบการเป็นสัดมีความสำคัญในการทำงานของระบบสืบพันธุ์ ทำให้สัตว์เพศเมียมีโอกาสในการผสมพันธุ์และให้กำเนิดลูกอีกหลังจากพลาดการตั้งท้องในการผสมพันธุ์ในช่วงการเป็นสัดครั้งก่อน โคมีวงรอบการเป็นสัดทุกๆ 21 (17-24) วัน วงรอบการเป็นสัดนี้อยู่ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนในระบบสืบพันธุ์หลายชนิดที่ผลิตจากหลายแหล่ง ซึ่งทำหน้าที่แตกต่างกันไป ฮอร์โมนที่สำคัญ ได้แก่ gonadotropin releasing hormone (GnRH) จากไฮโปธาลามัส ทำหน้าที่ควบคุมการหลั่งฮอร์โมน gonodotropins (FSH และ LH) จากต่อมใต้สมอง ซึ่งมี FSH ทำหน้าที่ควบคุมการเจริญและพัฒนาของฟอลลิเคิล (follicle) บนรังไข่ที่มีหน้าที่ผลิตฮอร์โมนเอสโตรเจน หรือ estradiol ส่วน LH ทำให้เกิดการตกไข่ และสร้างเนื้อเยื่อลูเทียวเกิดเป็นโครงสร้างที่เรียกคอร์ปัสลูเทียม (corpus luteum) ทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมน progesterone และฮอร์โมน prostaglandin$F_{2\alpha}$ (PGF) ที่ผลิตจากมดลูกเป็นหลักทำหน้าที่สลายคอร์ปัสลูเทียม

การสลายคอร์ปัสลูเทียม (regression of corpus luteum)

กระบวนการสลายคอร์ปัสลูเทียมมีความสำคัญในการเหนี่ยวนำให้เกิดวงรอบการเป็นสัดใหม่ โดยทั่วไปการสลายของคอร์ปัสลูเทียมเกิดเนื่องจากฟอลลิเคิลที่มีการพัฒนาทั้งจำนวนและขนาดเพิ่มขึ้น มีการสร้างฮอร์โมนเอสโตรเจนสูงขึ้น ฮอร์โมนเอสโตรเจนนี้จะไปกระตุ้นการสร้างฮอร์โมน oxytocin ที่ไฮโปธาลามัส และกระตุ้นการเกิด receptors



รูปที่ 2. แสดงการเจริญของฟอลลิเคิลจากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-4 มิลลิเมตร และการเลือกฟอลลิเคิลให้เจริญต่อไปเป็น DF (คัดแปลงจาก Austin et al, 1999, 2001)[9, 10]

ของฮอร์โมน oxytocin ที่อยู่ที่ผนังชั้นใน (endometrium) ของมดลูก การตอบสนองต่อการกระตุ้นของ oxytocin ที่ผนังมดลูกนี้ทำให้เกิดการหลั่ง PGF จากผนังมดลูกไปสลายคอร์ปัสลูเทียม ขณะเดียวกัน PGF ยังไปกระตุ้นให้มีการหลั่ง oxytocin ที่ผลิตจากคอร์ปัสลูเทียมเอง การกระตุ้นการหลั่ง PGF จากผนังมดลูกและ oxytocin จากคอร์ปัสลูเทียมนี้เป็น positive feedback ซึ่งกันและกัน ทำให้ปริมาณ PGF เพิ่มมากขึ้นจนเกิดการสลายคอร์ปัสลูเทียมในที่สุด[1, 2]

การเกิดคลื่นฟอลลิเคิล (follicular wave)

ในรอบวงจรการเป็นสัดหนึ่งๆ การเจริญของฟอลลิเคิลในโคภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมน FSH ซึ่งมีการหลั่งเป็นช่วงๆ (transient FSH) ทำให้การเจริญของฟอลลิเคิลมีลักษณะเป็นคลื่น เรียกว่า คลื่นฟอลลิเคิล (follicular wave, FW) (รูปที่ 1)

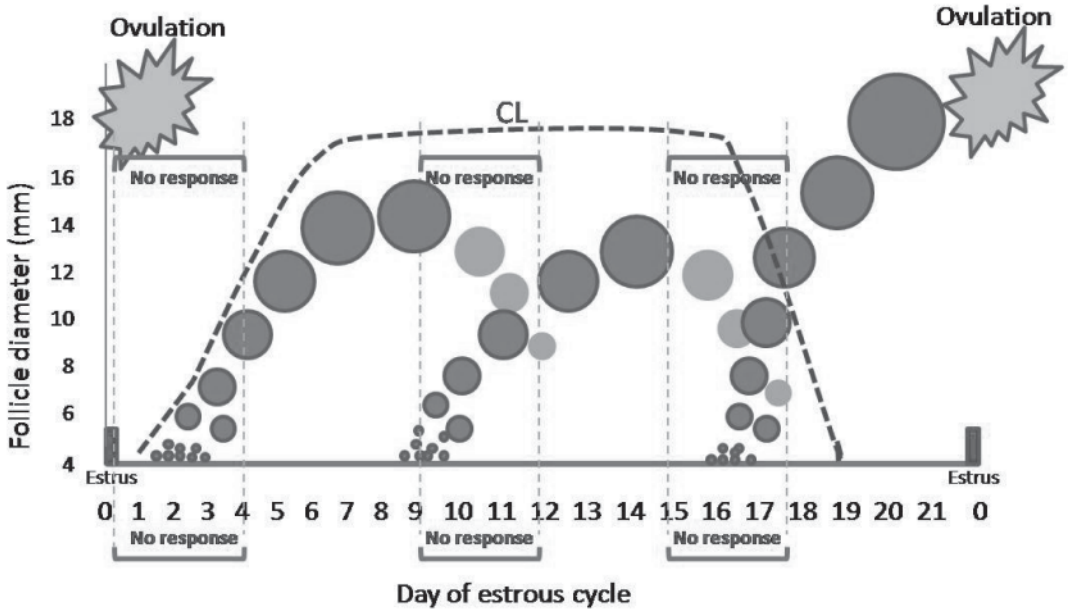
จำนวนคลื่นในหนึ่งวงรอบการเป็นสัดในโคนมจะมี 2-3 คลื่น[4, 5] โคเนื้ออาจมีได้ถึง 4 คลื่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแม่โค[5] คลื่นแรกของวงรอบการเป็นสัดเกิดหลังการตกไข่ คลื่นที่ 2 เกิดประมาณวันที่ 9-10 ในโคที่มี 2 คลื่น และวันที่ 8-9 ในโคที่มี 3 คลื่น[4, 5] คลื่นที่ 3 ประมาณวันที่ 14-15[5] หรือ 15-16[4] หรือ 16-18[3] ของวงรอบการเป็นสัด ความยาวของคลื่นฟอลลิเคิลแรกจะยาวกว่าคลื่นที่ 2 และ 3 และคลื่นสุดท้ายจะสั้นที่สุด

ในช่วงเริ่มต้นของคลื่นฟอลลิเคิล (FW emergence) ในโค สังเกตจากการใช้เครื่องอัลตร้าซาวน์ (ultrasound) จะพบฟอลลิเคิลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-4 มิลลิเมตร จำนวนหลายใบ หรือประมาณ 8-41 ฟอลลิเคิล[4] เจริญขึ้นพร้อมๆ กัน ภายใต้การควบคุมของ

ฮอร์โมน FSH หลังจากการเกิดคลื่นฟอลลิเคิล 2-3 วัน ระดับ FSH จะลดลงจากการถูกยับยั้งจาก inhibin และ estradiol ที่สร้างจากฟอลลิเคิลที่กำลังเจริญ มีผล negative feedback ยับยั้งการผลิต FSH จากต่อมใต้สมอง[4,6] การลดลงของ FSH นี้มีผลทำให้เกิดการเลือกฟอลลิเคิลให้โตเป็นฟอลลิเคิลใหญ่ ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ≥8.5 มม.[7,8] ที่เรียก dominant follicle (DF) ขึ้นมา กระบวนการเลือกฟอลลิเคิล (selection of DF) นี้เกิดประมาณ 3 วันหลังการเกิดคลื่นฟอลลิเคิล[4] และ DF นี้จะโตได้ถึงขนาด 12-20 มม. ภายในเวลา 3-4 วัน[8] ฮอร์โมน estradiol ที่สร้างจาก DF นี้ มีฤทธิ์ไปกดให้ฟอลลิเคิลเล็กๆ ที่เหลือ (subordinate follicle, SF) ให้เสื่อมสลายไป ทั้งนี้เนื่องจากการพัฒนาของฟอลลิเคิลเล็กๆ เหล่านี้ขึ้นกับฮอร์โมน FSH (FSH dependant follicles)[6] เมื่อขาด FSH ฟอลลิเคิลเล็กๆ เหล่านี้ จึงไม่สามารถเจริญต่อไปได้ (รูปที่ 2)

เมื่ออยู่ภายใต้อิทธิพลของฮอร์โมน progesterone ที่ผลิตจากคอร์ปัสลูเทียม ในระยะลูเทียของวงรอบการเป็นสัด DF ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ≥9 มม. จะพัฒนาเปลี่ยนจาก FSH dependant follicles ไปมี receptor ของ LH มากขึ้น กลายเป็น LH-dependent follicle [7,11] DF จะถูกกระตุ้นโดย LH ให้ผลิต estradiol เพิ่มมากขึ้น เกิด negative feedback ของ estradiol ต่อการผลิต FSH ทำให้ฟอลลิเคิลเล็กที่เป็น FSH dependant สลาย ตรงกับช่วงของการเลือก DF[12] ซึ่งขนาดของ DF นี้จะคงที่ (plateau phase) อยู่ได้ระยะหนึ่งในช่วงประมาณวันที่ 7-9 ของวงรอบการเป็นสัด[8] และในที่สุดจะต้องเสื่อมสลายไปเนื่องจาก progesterone ไปยับยั้งการหลั่ง LH พร้อมๆ กัน นั้นมีการเกิดเป็นคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ขึ้นมาแทน เนื่องจากระดับของฮอร์โมน estradiol จาก DF ที่ไปยับยั้งการผลิต FSH ลดลง ระดับ FSH ในกระแสเลือดจะเพิ่มสูงขึ้นภายใน 2 วัน และมีระดับสูงสุดประมาณ 12-24 ชั่วโมงก่อนการเกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่[4] จนเมื่อมีการเริ่มเสื่อมสลายของคอร์ปัสลูเทียม ระดับฮอร์โมน progesterone ที่ลดลง ทำให้เกิดการกระตุ้นการหลั่งฮอร์โมน LH ขณะเดียวกันฮอร์โมน estradiol จากฟอลลิเคิลใหญ่จะไป positive feedback ให้ไฮโปธาลามัสหลั่ง GnRH และต่อมใต้สมองหลั่ง gonadotropins จนในที่สุดเกิดเป็น gonadotroin surge (LH/FSH surge) ฟอลลิเคิลใบที่ใหญ่ที่สุดในขณะนั้น จะมีขนาดใหญ่ขึ้นอีกจนกลายเป็น preovulatory size จึงจะสามารถเกิดการตกไข่ได้ และการเริ่มคลื่นฟอลลิเคิลของวงรอบถัดไปเกิดหลังการตกไข่

อายุของคอร์ปัสลูเทียมในโคที่มีคลื่นฟอลลิเคิลในวงรอบการเป็นสัด 2 คลื่น จะมีอายุสั้นกว่าในโคที่มี 3 คลื่น โดยคอร์ปัสลูเทียมจะเริ่มสลายในวันที่ 16 ขณะที่ในโคที่มี 3 คลื่น คอร์ปัสลูเทียมจะเริ่มสลายในวันที่ 19 ทำให้ความยาวของวงรอบการเป็นสัดต่างกัน 19-20 วัน ในกลุ่มแรก เทียบกับ 22-23 วันในกลุ่มหลัง[4]



รูปที่ 3. การตอบสนองต่อการใช้ฮอร์โมน GnRH ในโคที่มีคลื่นฟอลลิเคิล 3 คลื่น GnRH จะไม่สามารถทำให้เกิดการตกไข่ได้ในช่วงที่ฟอลลิเคิลใหญ่เริ่มเสื่อมสลาย หรือขณะกำลังเกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ (รูปวาดโดยผู้เขียน)

การเหนี่ยวนำการเกิดคลื่นฟอลลิเคิล (synchronization of follicular wave emer gence)

Mapletoft et al (2003 และ 2009)[13,14] กล่าวถึงวิธีการเหนี่ยวนำการเกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ ว่าสามารถทำได้ 3 วิธี ดังนี้

1) การเจาะน้ำในฟอลลิเคิลใหญ่ทิ้ง (follicle-ablation) ซึ่งทำได้โดยเจาะผ่านผนังช่องคลอดโดยดูจากเครื่องอัลตร้าซาวน์ ทำให้ระดับฮอร์โมน estradiol ลดลงอย่างรวดเร็ว และระดับฮอร์โมน FSH เพิ่มขึ้น กระตุ้นการเกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ภายในเวลา 24 ชั่วโมง[4,14,15] หลังการเจาะ เนื่องจากวิธีนี้เป็นวิธีที่ยุ่งยากและอาจก่อให้เกิดการบาดเจ็บได้จึงไม่เป็นที่นิยมใช้[5,16]

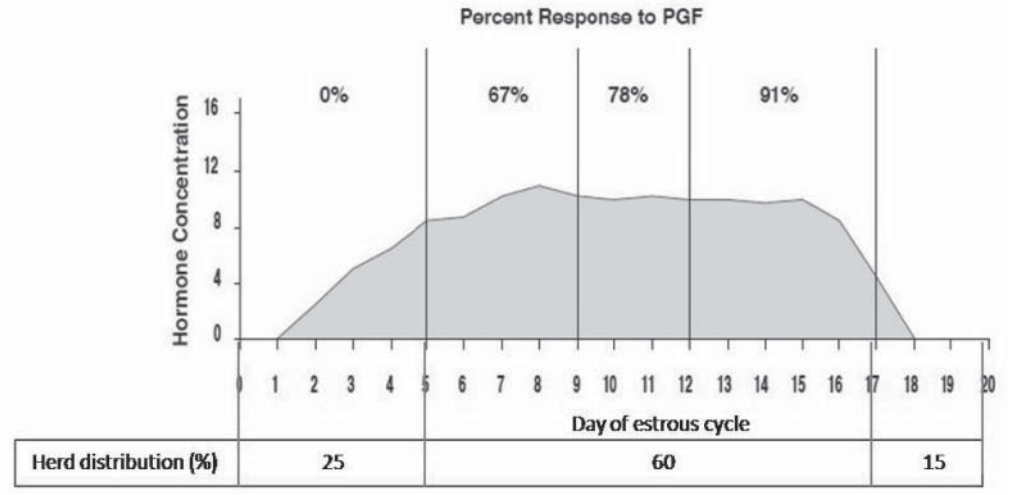
2) การใช้ฮอร์โมน GnRH หรือ LH เหนี่ยวนำให้เกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ ซึ่งจะไปกระตุ้นให้ฟอลลิเคิลใหญ่เกิดการตกไข่ ฟอลลิเคิลใหญ่ซึ่งเป็น DF ของคลื่นฟอลลิเคิลใด ในวงรอบการเป็นสัด มีศักยภาพที่จะเกิดการตกไข่และให้ไข่ที่มีคุณภาพดีสามารถเกิดการปฏิสนธิได้ เมื่อระดับ progesterone ในกระแสเลือดลดลง และเมื่อมีการเกิด LH surge พบว่าการให้ LH ในโค ขนาดที่เท่ากับขนาดที่ทำให้เกิดการตกไข่ในร่างกาย (ovulatory dose) จะทำให้เกิดการตกไข่ได้เฉพาะในช่วงที่รังไข่มี DF ซึ่งมี receptors ของ LH ใน granulosa cells มากพอแล้วเท่านั้น[6,17] การให้ GnRH จะกระตุ้นการหลั่ง LH และ FSH surge ภายใน 2 ชั่วโมง ทำให้เกิดการตกไข่ หยุดการยับยั้งการหลั่งฮอร์โมน FSH และเกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ตามมา วิธีนี้จะได้ผลต่อเมื่อฟอลลิเคิล

ใหญ่ที่มีอยู่ในขณะนั้นเจริญเต็มที่และมี LH receptors อยู่จำนวนมากพอ[18] คลื่นฟอลลิเคิลใหม่จะเกิดหลังการตกไข่ภายใน 24 ชั่วโมง[15] หรือ 1.8 วัน[5] โดยเฉลี่ย 2 วัน[3,14,19,20] หลังการฉีด GnRH ทั้งนี้เฉพาะเมื่อมีการตกไข่เกิดขึ้นเท่านั้น[21] การเหนี่ยวนำการตกไข่และการเกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่โดยการใช้ฮอร์โมน GnRH นี้ จะไม่ได้ผลหากให้ในช่วงที่ฟอลลิเคิลใหญ่เสื่อมสลายไปแล้ว หรือขณะกำลังเกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่[16, 22] (รูปที่ 3) ดังนั้นการให้ GnRH ในฝูงโคแบบสุ่มในวันใดวันหนึ่งของวงรอบการเป็นสัด จึงทำให้เกิดการตกไข่เพียง 50-70%[15] หรือ 60-70%[14] การให้ GnRH ในวันที่ 3 ของวงรอบการเป็นสัด จะทำให้โคในฝูงเกิดการตกไข่เพียง 7.1% ขณะที่ให้วันที่ 6 จะเกิดการตกไข่ 88.6%[15] และการตอบสนองต่อ GnRH ดีที่สุดในระหว่างวันที่ 5-12 ของวงรอบการเป็นสัด[16, 23]

3) การใช้ฮอร์โมน estradiol เหนี่ยวนำให้เกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ โดย estradiol จะไปกระตุ้นให้กระบวนการสลายคอร์ปัสลูเทียมโดยทำให้มดลูกหลั่ง PGF ยับยั้งการหลั่งฮอร์โมน FSH ทำให้ยับยั้งการเจริญของฟอลลิเคิลหรือทำให้ DF ที่มีอยู่ในขณะนั้นเสื่อมสลาย และเมื่อหมดฤทธิ์ของ estradiol จะเกิดการหลั่ง FSH surge ใหม่ซึ่งทำให้เกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ตามมา[13, 24] ภายเวลาในประมาณ 4 วัน [14] ระยะเวลาการเกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่หลังการให้ estradiol แตกต่างกันตามชนิด ขนาด และค่ากึ่งอายุของ estradiol ที่ใช้[18,25] และขึ้นกับช่วงเวลาหรือระยะของการพัฒนาของฟอลลิเคิลในคลื่นนั้นๆ[26] การใช้ฮอร์โมน estradiol เหนี่ยวนำให้เกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่จะได้ผลดีเมื่อใช้ร่วมกับฮอร์โมน progesterone[16] เช่น การใช้ estradiol-17β ขนาด 5 mg ร่วมกับ progesterone ทำให้เกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ภายในเวลาประมาณ 3-5 วัน (เฉลี่ย 4.3 วัน) [27] ขณะที่ estradiol benzoate ขนาด 5 mg ทำให้เกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ ภายในเวลาเฉลี่ย 5.4 วัน และการใช้ estradiol valerate ขนาด 5 mg และ estradiol cyprionate (ECP) ขนาด 1 mg ทำให้เกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่หลังฉีดนานกว่า และผลมีความแปรปรวนสูงกว่า[5,13,28] ขณะที่ Colazo, et al (2005)[29] รายงานการใช้ estradiol valerate ว่าให้ผลการเหนี่ยวนำคลื่นฟอลลิเคิลภายใน 4 วัน การให้ estradiol ที่ออกฤทธิ์ยาว หรือขนาดสูงๆ ไม่ให้ผลดีต่ออัตราการผสมติดหลังการเป็นสัด[5] อย่างไรก็ตาม การใช้ estradiol ในการเหนี่ยวนำคลื่นฟอลลิเคิลร่วมกับฮอร์โมนอื่น ถึงแม้จะให้ผลในการควบคุมวงรอบการเป็นสัดและการตกไข่ได้เป็นอย่างดี และเป็นที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางมาเป็นเวลานานนับสิบปี แต่เนื่องจากปัจจุบันมีการเข้มงวดในการใช้สารที่เป็น ‘estrogenic substance’ ในสัตว์ที่อยู่ในห่วงโซ่อาหารของมนุษย์ ทำให้มีการห้ามใช้ estradiol ในหลายประเทศ[15,16,20,30] ยาสัตว์ในกลุ่มนี้จึงไม่สามารถหาซื้อได้ในท้องตลาด

การควบคุมวงรอบการเป็นสัด (control of estrous cycle)

การควบคุมวงรอบการเป็นสัดในฝูงโค อาจทำได้โดยใช้กลยุทธ์ในการควบคุมอายุของ

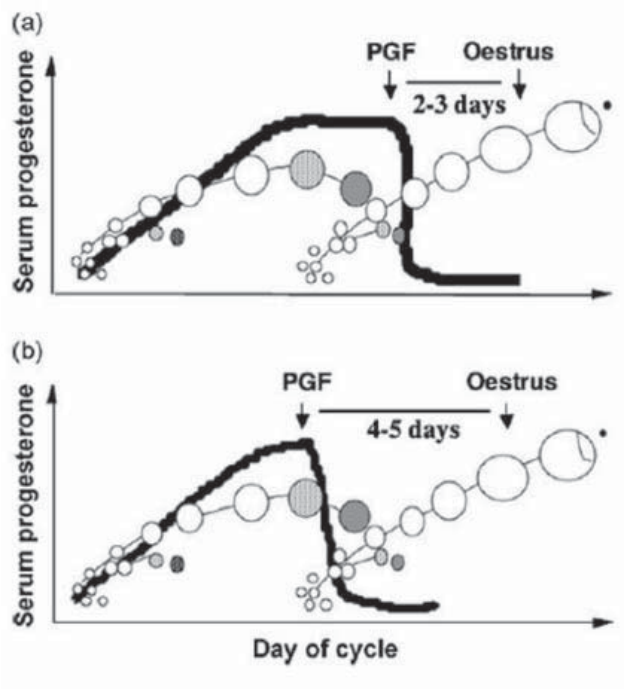


รูปที่ 4. แสดงอัตราการตอบสนองต่อการฉีด PGF ในโค (ดัดแปลงจาก Day and Geary, 2005)[3]

คอร์ปัสลูเทียม หรือย่นระยะลูเทียวด้วย PGF เหนี่ยวนำการตกไข่ด้วยการใช้ฮอร์โมน GnRH และยืดอายุคอร์ปัสลูเทียมหรือป้องกันการเป็นสัดและการตกไข่โดยใช้ progestagen โดยมีจุดมุ่งหมายให้โคในฝูงแสดงอาการสัดในเวลาที่กำหนดพร้อมๆ กัน และให้อัตราการผสมติดหลังอาการสัดเป็นที่ยอมรับได้ ซึ่งวิธีการควบคุมวงรอบการเป็นสัดในโคที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันส่วนใหญ่จะให้ผลในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดหรือเหนี่ยวนำการตกไข่ให้เกิดขึ้นในช่วงแคบๆ ภายในช่วงเวลา 4-5 วัน บางวิธีถึงแม้จะไม่เหมาะที่จะใช้กับการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา (fixed time insemination) เนื่องจากโคแสดงอาการสัดไม่พร้อมกัน ทำให้ยังต้องใช้การตรวจอาการสัดรายตัวก่อนผสม แต่การแสดงอาการสัดจะอยู่ในช่วงระยะเวลาเพียง 4-6 วัน ประกอบกับการที่ฮอร์โมนบางชนิดทำให้โคแสดงอาการสัดชัดเจนขึ้น จึงช่วยให้การเฝ้าระวังได้ง่ายขึ้น[16]

1.การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้ PGF (prostaglandin F2 α-based protocols)

ในวงรอบการเป็นสัดปกติ หลังการตกไข่และมีการเกิดคอร์ปัสลูเทียมขึ้น ระดับฮอร์โมน progesterone จะเริ่มเพิ่มขึ้นตั้งแต่วันที่ 2 หลังอาการสัด และเพิ่มสูงสุดประมาณวันที่ 8 เมื่อคอร์ปัสลูเทียมมีการเจริญเต็มที่[3] ระดับฮอร์โมนจะสูงคงที่จนถึงวันที่ 17 ซึ่งเมื่อมดลูกเริ่มหลั่ง PGF มาสลายคอร์ปัสลูเทียม ระดับฮอร์โมน progesterone จึงจะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงระดับต่ำสุด[3] การฉีด PGF ซึ่งมีฤทธิ์เป็น 'luteolytic agent' ให้โคขณะที่มีคอร์ปัสลูเทียมอยู่จะทำให้คอร์ปัสลูเทียมสลาย ระดับฮอร์โมน progesterone ลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 24 ชั่วโมง[26] และวงรอบการเป็นสัดใหม่เกิดขึ้นโดยโคจะแสดงอาการสัดภายใน 2-5 วัน หลังการฉีด PGF อย่างไรก็ตามคอร์ปัสลูเทียม

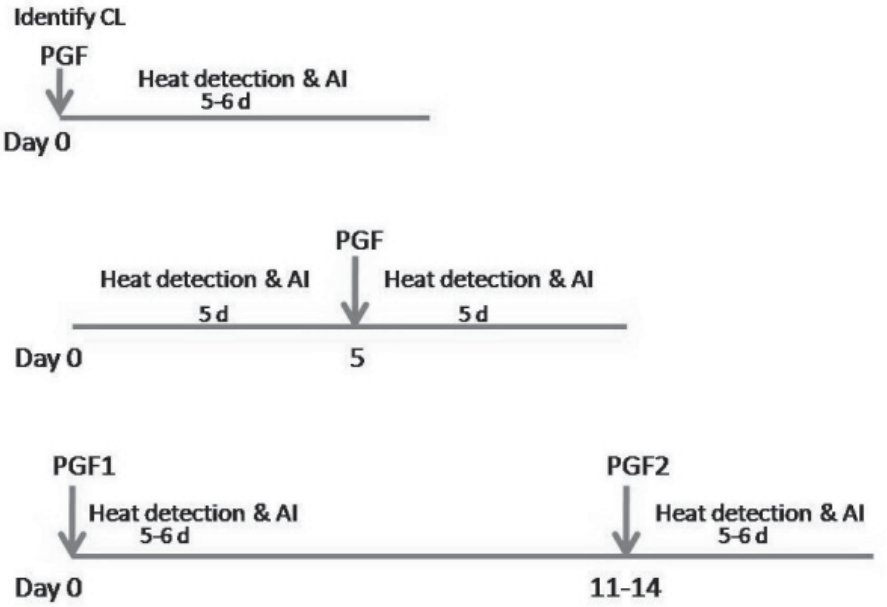


รูปที่ 5. ผลการตอบสนองโดยการเกิดอาการสัดหลังการให้ PGF ในโค ขณะอยู่ในช่วงของคลื่นฟอลลิเคิลต่างกัน (a) ให้ PGF หลังการเลือก DF แล้ว และ (b) ให้ PGF ในขณะที่กำลังเกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ (จาก Lane et al, 2008) (30)

ที่อายุน้อย (≥5 วัน) และคอร์ปัสลูเทียมที่กำลังจะสลาย (≤17 วัน) จะไม่ตอบสนองต่อ PGF (รูปที่ 4)

Mapletoft et al. (2008)[16] กล่าวถึงการล้วงตรวจเพื่อยืนยันการมีอยู่ของคอร์ปัสลูเทียมอาจช่วยให้การใช้ PGF มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น แต่ยังอาจมีความคลาดเคลื่อนจากความชำนาญของผู้ปฏิบัติได้ การให้ PGF 2 ครั้งห่างกัน 12 ชั่วโมง ช่วยให้การตอบสนองของคอร์ปัสลูเทียมที่อายุน้อยดีขึ้น[15,16] ทั้งนี้อาจเนื่องจากคอร์ปัสลูเทียมที่อายุน้อยยังมีศักยภาพไม่เพียงพอในการทำให้เกิด positive feedback ให้มดลูกผลิต PGF เพิ่มมากขึ้น ปกติการหลั่ง PGF จากมดลูกเพื่อไปสลายคอร์ปัสลูเทียมจะมีลักษณะเป็น pulse มีการหลั่งทุก 6-8 ชั่วโมง การให้ 2 ครั้งห่างกัน 8-12 ชั่วโมงให้ผลการสลายคอร์ปัสลูเทียมที่ดีกว่าให้ครั้งเดียว[31]

วิธีการควบคุมวงรอบการเป็นสัดด้วยการฉีด PGF จะได้ผลเฉพาะในวันที่ 5-17 ของวงรอบการเป็นสัดในโคสาว 7-17 วัน ในแม่โค [18] หรือขณะที่คอร์ปัสลูเทียมเจริญเต็มที่[3,19,32] การฉีด PGF สองครั้งห่างกัน 10-11 วัน[16,32] หรือ 13-14 วัน[3,16] หรือแม้แต่ห่างกันแค่ 8-9 วัน[16] อาจช่วยให้อัตราการตอบสนองของโคในฝูงเพิ่มขึ้น นอกจากนี้วิธีการควบคุมวงรอบการเป็นสัดด้วยการฉีด PGF ยังมีความแปรปรวนโดยโคจะแสดงอาการสัดไม่พร้อมกัน ทั้งนี้ขึ้นกับว่าการให้ PGF ตรงกับช่วงใดของคลื่น



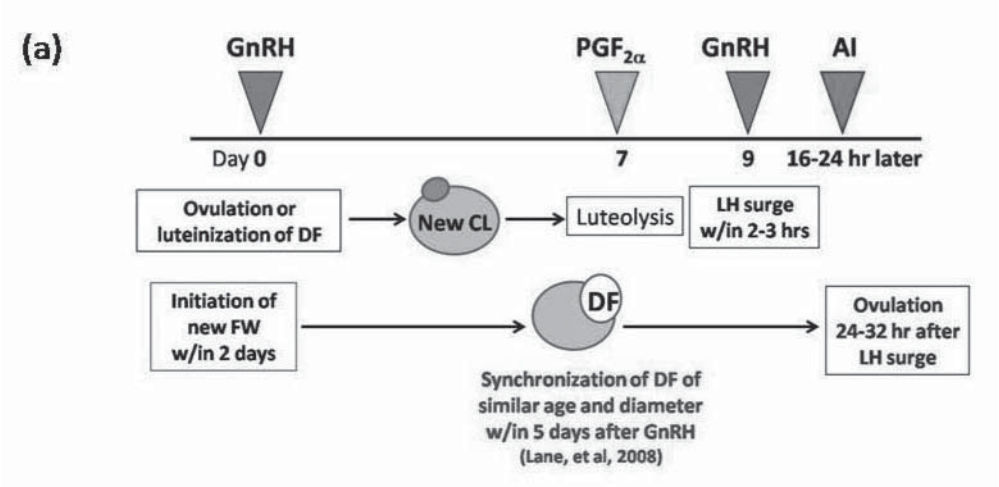
รูปที่ 6. โปรแกรมการควบคุมวงรอบการเป็นสัดด้วย $PGF_{2\alpha}$

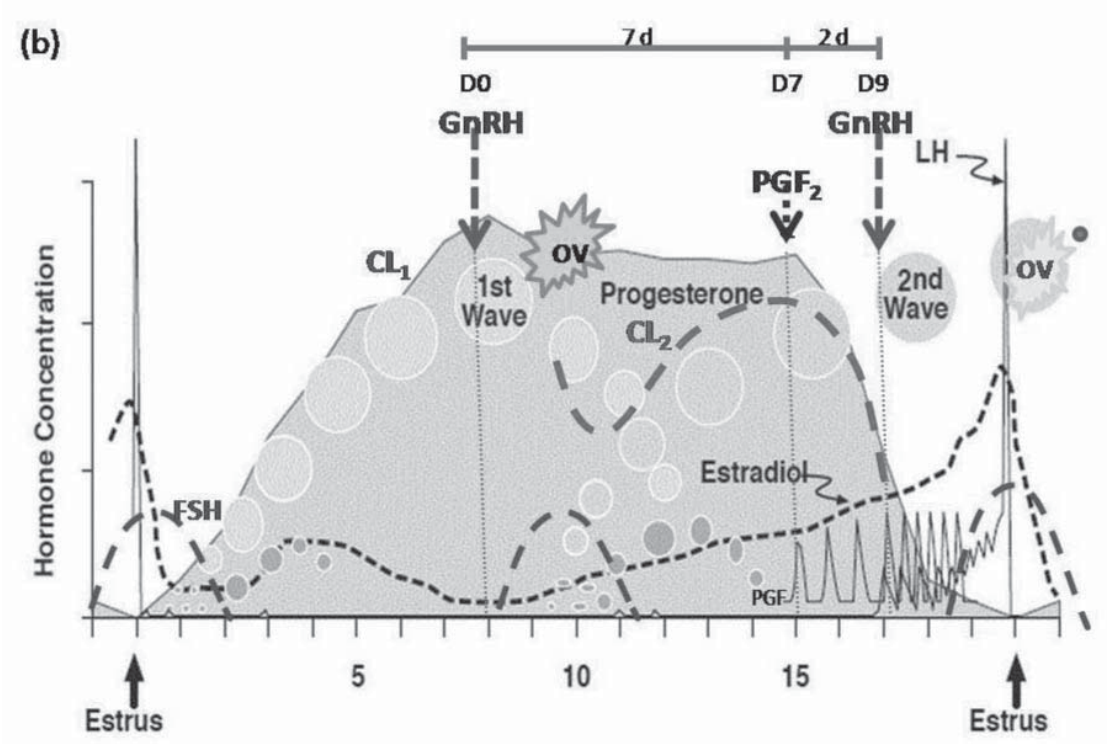
ฟอลลิเคิล [16,19,30] หากการให้ PGF ตรงกับช่วงที่ฟอลลิเคิลใหญ่ หรือ DF อยู่ในช่วงท้ายของการเจริญเติบโต (late growing, ขนาด ≥9 มม.) หรือ ช่วงเริ่มหยุดการพัฒนา (early static phase)[16] ฟอลลิเคิลใหญ่นั้นก็พร้อมจะเจริญต่อไปถึง preovulatory size ทันทีเมื่อไม่มีอิทธิพลของ progesterone ควบคุม โคจะแสดงอาการสัดภายใน 2-3 วัน หลังการให้ PGF แต่หากตรงกับช่วงที่กำลังเริ่มต้นคลื่นฟอลลิเคิลโคจะแสดงอาการสัดช้ากว่า โดยอาการสัดเกิดหลังการฉีด PGF 4-5 วัน (รูปที่ 5) การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโคด้วยวิธีนี้จึงไม่ควรใช้กับการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา[5] แต่ควรทำในฝูงโคที่มีวงรอบการเป็นสัดปกติและมีระบบการสังเกตอาการสัดที่ดีเท่านั้น[30] ตัวอย่างโปรแกรมการให้ PGF ดังแสดงในรูปที่ 6

โดยสรุป PGF ทั้งที่เป็นสารที่ได้จากธรรมชาติและสารสังเคราะห์ เช่น alfaprostol, cloprostenol, fenprostalene, luprostinol มีฤทธิ์ในการสลายคอร์ปัสลูเทียมที่เจริญเต็มที่แล้ว หรือในช่วง diestrous stage ของวงรอบการเป็นสัด โดยจะเหนี่ยวนำให้เกิดอาการสัดในโคได้ภายใน 7 วัน[33] และการควบคุมวงรอบการเป็นสัดโดยวิธีการสลายคอร์ปัสลูเทียมจะให้ผลดียิ่งขึ้นหากสามารถควบคุมการเกิดคลื่นฟอลลิเคิลไปพร้อมกันด้วย[16,19,26]

2. การเหนี่ยวนำการเป็นสัดและการตกไข่โดยใช้ GnRH (GnRH-based protocols)

การใช้ GnRH ที่เป็นสารธรรมชาติ หรือสารสังเคราะห์ เป็นวิธีที่เหนี่ยวนำให้เกิดการตกไข่ โดยทำให้เกิดการหลั่ง 'preovulatory gonadotropin surge' แต่การเหนี่ยวนำ



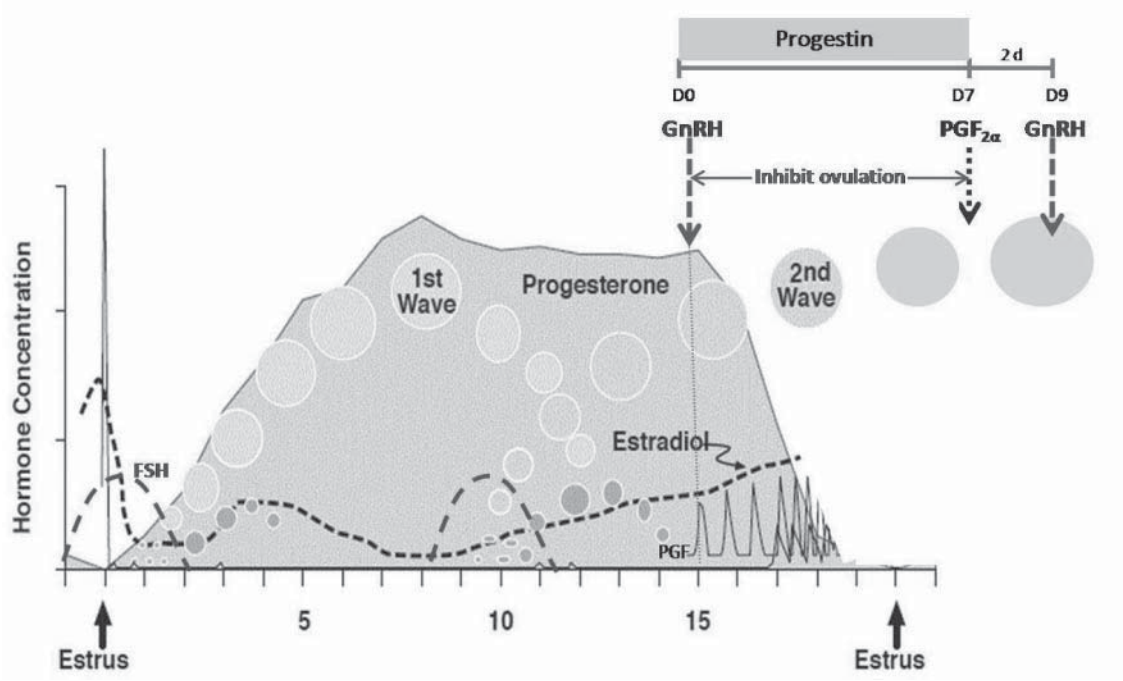


รูปที่ 7. (a) โปรแกรมการเหนี่ยวนำการตกไข่แบบ Ovsynch (b) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเมื่อใช้การเหนี่ยวนำการตกไข่แบบ Ovsynch ในวันที่ 8 ของวงรอบการเป็นสัด (ดัดแปลงจาก Day and Geary, 2005)[3]

การตกไข่ของฟอลลิเคิลในขณะที่ยังมีขนาดเล็กหรือยังไม่เจริญสมบูรณ์เต็มที่ให้เกิดการตกไข่โดยการใช้ GnRH จะให้ผลการผสมติดต่ำ หรือมีการตายของตัวอ่อนหลังผสม[34] สาเหตุของการผสมติดต่ำอาจเนื่องมาจากการให้ GnRH ในขณะที่ฟอลลิเคิลมีขนาดเล็ก มีระดับ estradiol ไม่เพียงพอจะไป positive feedback ให้เกิด LH-surge หรือไม่เพียงพอที่จะไป positive feedback ให้มดลูกหลั่ง PGF เพียงพอที่จะสลายคอร์ปัสลูเทียมอย่างสมบูรณ์ได้[35] เช่นเดียวกับการใช้ฮอร์โมน human chorionic gonadotropin (hCG) ซึ่งมีฤทธิ์ของ LH ทำให้เกิดการตกไข่โดย LH surge ที่ได้จากการฉีด ไม่ได้เกิดจาก positive feedback ของฮอร์โมน estradiol ทำให้โอโอไซต์มีคุณภาพต่ำ ไม่มีศักยภาพในการปฏิสนธิ หรือมีอัตราการรอดชีวิตของตัวอ่อนต่ำ[36] สาเหตุอื่นของการผสมไม่ติดอาจเนื่องจากการตกไข่จากฟอลลิเคิลเล็ก ทำให้คอร์ปัสลูเทียมที่เกิดจากฟอลลิเคิลนั้นมีขนาดเล็กด้วย และมีศักยภาพในการผลิต progesterone ได้ไม่เพียงพอจะรักษาการตั้งท้อง หรือเกิดจากการสลายคอร์ปัสลูเทียมเร็วกว่าที่ควร[15,37] อย่างไรก็ตาม การให้ GnRH ขณะที่ฟอลลิเคิลใหญ่กำลังจะเสื่อมสลาย หรือฟอลลิเคิลใหญ่ที่ค้างอยู่บนรังไข่นานเกินไปจะได้โอโอไซต์ที่มีคุณภาพต่ำเช่นกัน DF ที่มีอายุอยู่นานเกิน 5 วัน มักมีโอโอไซต์ที่มีคุณภาพไม่ดี[23] ฉะนั้นการใช้ GnRH เหนี่ยวนำการตกไข่จะได้ผลดีต่อเมื่อฟอลลิเคิลที่มีอยู่ในขณะนั้นมีขนาดเหมาะสมเท่านั้น[15]

โปรแกรมที่เรียก Ovsynch[38] ใช้หลักการการเหนี่ยวนำคลื่นฟอลลิเคิลและการตกไข่ด้วย GnRH ร่วมกับการใช้ PGF โดยฉีด GnRH ครั้งแรก เพื่อกระตุ้นการตกไข่ หรือ ทำให้เกิดเนื้อเยื่อลูเทียวที่ผนังฟอลลิเคิล (luteinisation)[26] จากนั้นฉีด PGF ในวันที่ 7 หลังการฉีด GnRH เพื่อสลายคอร์ปัสลูเทียมหรือเนื้อเยื่อลูเทียวที่เกิดจากการให้ GnRH ครั้งแรก และฉีด GnRH ครั้งที่ 2 ในวันที่ 9 เพื่อให้เกิด LH surge หรือเพื่อเหนี่ยวนำการตกไข่ จึงสามารถใช้ได้กับการผสมเทียมแบบกำหนดเวลา โดยยึดหลักการผสมเทียมก่อนการตกไข่ (รูปที่ 7) เวลาที่เหมาะสมในการผสมเทียมคือระหว่าง 12-18 ชั่วโมงหลังการให้ GnRH ครั้งที่ 2[23]

โปรแกรม Ovsynch จะให้ผลดีเมื่อฉีดวันที่ 6 ของวงรอบการเป็นสัดเมื่อมี DF แล้ว ขณะที่วันที่ 3 และ 9 จะไม่ได้ผลเนื่องจากไม่มีฟอลลิเคิลที่จะตอบสนองต่อ GnRH และในวันที่ 15-17 ซึ่งโคจะเป็นสัดอยู่แล้วภายใน 5-7 วัน เมื่อให้ GnRH โคในกลุ่มนี้จะเป็นสัดก่อนโคตัวอื่นในฝูง[3] ในกรณีนี้การใช้ GnRH ร่วมกับ progestins อาจจะช่วยยับยั้งอาการสัดในโคกลุ่มนี้ได้ (รูปที่ 8) พบว่าการใช้โปรแกรม Ovsynch ให้ผลดีในแม่โคมากกว่าโคสาว โดยทำให้เกิดการตกไข่หลังฉีด GnRH ครั้งแรกในแม่โค 80% ในโคสาว 50% และพบว่าโคสาว 19% แสดงอาการสัดก่อนการฉีด PGF[19,39] และโปรแกรมนี้มักไม่ได้ผลดีเมื่อใช้กับโคเนื้อ *Bos indicus* เมื่อเทียบกับโคนมซึ่งเป็น *Bos Taurus*[3]



รูปที่ 8. การใช้ progestin ร่วมกับการเหนี่ยวนำการตกไข่แบบ Ovsynch จะช่วยยับยั้งอาการสัดและการตกไข่ของโคในกลุ่มที่อยู่ในช่วงท้ายของวงรอบการเป็นสัดขณะให้ GnRH (ดัดแปลงจาก Day and Geary, 2005)[3]

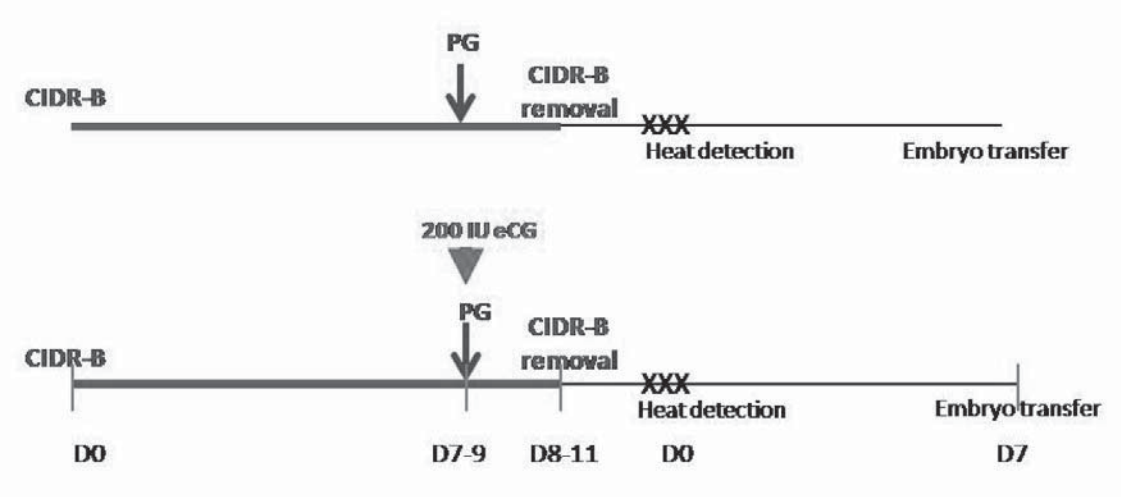
3. การเหนี่ยวนำการเป็นสัดโดยใช้ progestin (progestin-based protocols)

จากการที่ทราบว่า progesterone ในระยะลูเทียวทำหน้าที่ยับยั้งการหลั่ง LH ทำให้ฟอลลิเคิลขนาดใหญ่หยุดเจริญและเสื่อมสลายไปในที่สุด ซึ่งเป็นการยับยั้งการแสดงอาการสัดและการตกไข่ พร้อมๆ กับการเกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่[30] และการใช้ progesterone จะให้ผลในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดที่มีความคลาดเคลื่อนน้อยกว่าการใช้ PGF โดยการแสดงอาการสัดของโคในฝูงกระจายตัวน้อยกว่า การให้ progestin หรือสารที่ออกฤทธิ์เหมือนฮอร์โมน progesterone เป็นเวลานานเพื่อครอบคลุมระยะลูเทียมในโค (ประมาณ 14 วัน) จะทำให้โคทั้งฝูงแสดงอาการสัดพร้อมกัน แต่พบว่าวิธีนี้ให้อัตราการผสมติดต่ำ[14,16] ถึงแม้ progestin จะทำหน้าที่ป้องกันการตกไข่ได้โดยไปทำให้ DF เสื่อมสลายไป แต่ไม่มีฤทธิ์ในการเหนี่ยวนำหรือยับยั้งการเกิด FSH surge และพบว่าการยับยั้งการเจริญของ DF ขึ้นกับขนาดยาที่ใช้ การใช้ progesterone ขนาดที่ต่ำกว่าขนาดปกติที่พบในระยะลูเทียว (subluteal level) จะทำให้ DF ที่มีอยู่ในขณะนั้นไม่เสื่อมสลายในระยะเวลาที่ควร ภาวะที่มี progesterone ในขนาดต่ำๆ นี้จะกระตุ้นให้เกิดการหลั่ง LH (LH-pulses) และจะทำให้ DF ที่มีอยู่ในขณะนั้นมีขนาดใหญ่ขึ้นมากกว่าปกติ ระดับฮอร์โมน estradiol เพิ่มสูงขึ้น เกิดภาวะที่เรียก ‘persistent dominant

follicle'[10,15,16,36] ซึ่งหากฟอลลิเคิลเหล่านี้มีการตกไข่ โอโอไซต์ที่อยู่ภายในจะไม่มีคุณภาพดีพอที่จะเกิดการปฏิสนธิได้ เนื่องจากเป็นโอโอไซต์ที่มีอายุมาก (aged oocytes) ซึ่งมีการเจริญพร้อมผสมแบบ 'spontaneous maturation' ไปก่อนการตกไข่ สังเกตได้จากการมี 'germinal vesicle breakdown' และ 'cumulusexpansion'[7, 16] หรือโอโอไซต์มี premature resumption of meiosis[36] โอโอไซต์ที่อยู่ภายใน persistent dominant follicle นี้ ถึงแม้จะปฏิสนธิได้แต่ตัวอ่อนมักมีชีวิตรอดได้แค่ประมาณ 6 วัน หรือถึงระยะ 16-32 เซลล์[10,36] หรือพบมีอัตราการตายของตัวอ่อนระยะ 2-16 เซลล์สูง[36,40] ในแม่โคที่ให้ผลผลิตน้ำนมมากๆ มีอัตราการเผาผลาญในร่างกายสูง การขับฮอร์โมนจากกระแสเลือดเร็วกว่าโคสาว จึงพบภาวะ persistent dominant follicle ได้มากกว่าโคสาว[36,41] การเหนี่ยวนำการเป็นสัดด้วย progestins ในโคที่มีผลผลิตน้ำนมสูง อาจไม่ได้ผลดีเนื่องจากฮอร์โมนถูกขับออกเร็วทำให้มีระดับในเลือดต่ำ

เนื่องจาก progesterone มีฤทธิ์อยู่ในร่างกายได้ในเวลาสั้นๆ จึงมีผู้คิดอุปกรณ์ที่ใช้ในการปลดปล่อยยาให้ออกอย่างสม่ำเสมอเป็นเวลานานตามที่ต้องการ ยาสัตว์ที่มีขายในท้องตลาด เช่น Cresta (Intervet, the Netherland) สำหรับฝังใต้หนังบริเวณหลังหู PRID (Sanofi, France) และ CIDR-B (Pfizer, USA) สำหรับใส่ภายในช่องคลอด โดยทั่วไปการใช้ progestin ให้ผลทำให้โคเป็นสัดสูงถึง 85% ภายใน 36-60 ชั่วโมงหลังถอด[26] การใส่ฮอร์โมนระยะสั้น 7-8 วัน ร่วมกับการสลายคอร์ปัสลูเทียมด้วย PGF ช่วยลดการเกิด persistent follicles[14]

การใช้ estradiol ร่วมกับ progestin โดยให้พร้อมกันในวันแรก จะช่วยกระตุ้นให้มดลูกผลิต PGF ไปสลายคอร์ปัสลูเทียม และเกิดคลื่นฟอลลิเคิลใหม่ในฝูงโคพร้อมๆ กัน ตัวอย่างยาที่มีขายในท้องตลาดที่ใช้หลักการนี้ ได้แก่ Cresta ซึ่งประกอบด้วย norgestomet ขนาด 6 mg ในรูปแท่งฮอร์โมนสำหรับฝังหู นาน 9 วัน และ norgestomet ขนาด 3 mg ในรูปยาฉีด และ estradiol valerate ขนาด 5 mg สำหรับฉีดเข้ากล้าม[16,42] การใช้ estradiol ร่วมกับ progestin นี้ หากใช้ในช่วงต้นของวงรอบการเป็นสัด มักไม่ได้ผลดีในแง่อัตราการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในฝูง เนื่องจากคอร์ปัสลูเทียมอาจยังคงอยู่ในวันที่ถอดฮอร์โมน การให้ PGF พร้อมการถอด progestin หรือ 1-2 วัน ก่อนถอด เพื่อไปสลายคอร์ปัสลูเทียมจะช่วยเพิ่มอัตราการเหนี่ยวนำการเป็นสัดในฝูง[26] อาจให้ estradiol ขนาดน้อยๆ (เช่น ให้ estradiol benzoate ขนาด 0.5-1.0 mg) ประมาณ 24 ชั่วโมง หลังถอด progestin เพื่อเพิ่มอัตราการแสดงอาการสัดของโคในฝูง และ estradiol จะไปช่วยเพิ่มการกระตุ้น LH surge ทำให้อัตราการเหนี่ยวนำอาการสัดให้เกิดพร้อมๆ กันดีขึ้น Mapletoft et al (2003)[13] รายงานการใช้ progesterone ในรูปสอดใส่ช่องคลอด นาน 7-8 วัน ร่วมกับการฉีด estradiol benzoate ในวันที่ใส่ฮอร์โมน และฉีด PGF วันที่ถอดฮอร์โมน หรือก่อนถอด 2 วัน ให้ผลการเหนี่ยว



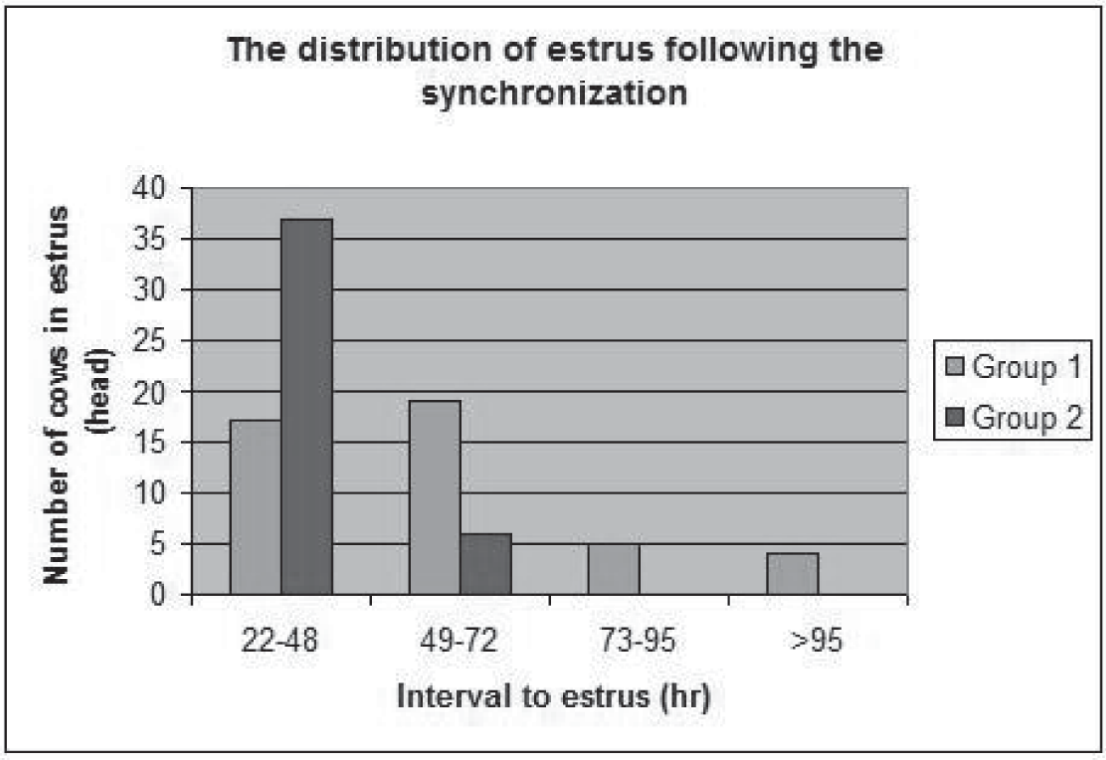
รูปที่ 9. โปรแกรม progestin-based ร่วมกับการฉีด PGF และ PGF + eCG[44]

นำการเป็นสัดภายใน 2-3 วัน หลังถอดฮอร์โมน และให้ผลการผสมติดดี Martinez et al (2002)[43] รายงานการใช้ progesterone ในโคเนื้อ ร่วมกับ GnRH หรือ porcine LH และ estradiol benzoate ให้ผลการเหนี่ยวนำการตกไข่ และอัตราการผสมติดจากการทำผสมเทียมแบบกำหนดเวลาสูง

การให้ฮอร์โมน equine chorionic gonadotropin (eCG) ขนาด 200-400 IU[14,19,44] หรือ 600 IU[45] ในวันที่ถอดฮอร์โมนหรือก่อนถอด 2 วัน ช่วยเพิ่มอัตราการผสมติดหลังการทำผสมเทียมหรือหลังการฝากตัวอ่อนการฉีด eCG จะช่วยเร่งการเจริญและเพิ่มขนาดของฟอลลิเคิลก่อนการตกไข่ ทำให้โคแสดงอาการสัดชัดเจนขึ้น คอร์ปัสลูเทียมมีขนาดใหญ่ขึ้น และผลิตฮอร์โมน progesterone ได้มากขึ้น[46,47] ตัวอย่างการใช้ progestin-based protocol ร่วมกับการฉีด PGF และ eCG ดังแสดงในรูปที่ 9[44]

ในการเหนี่ยวนำการเป็นสัดเพื่อทำการย้ายฝากตัวอ่อนของ Sumretprasong, et al (2010)[44] การให้ฮอร์โมน eCG ขนาด 200 IU ร่วมด้วยให้อัตราการเป็นสัด 100% เทียบกับกลุ่มที่ไม่ให้ eCG (60%) โดยมีการกระจายของโคที่แสดงอาการสัดหลังการเหนี่ยวนำน้อยกว่า (รูปที่ 10) โดยโคแสดงอาการสัดภายในเฉลี่ย 31.5 ± 2.5 ชั่วโมง (22-69 ชั่วโมง) หลังถอด CIDR-B เทียบกับ 60.8 ± 2.8 ชั่วโมง (34-106 ชั่วโมง) และให้คอร์ปัสลูเทียมที่มีคุณภาพดีกว่า

โดยสรุป การควบคุมวงรอบการเป็นสัดไม่ว่าจะด้วยวิธีใดดังกล่าวข้างต้น จะให้ผลสูงสุดเมื่อมีการจัดการฟาร์ม และมีการสังเกตอาการสัดที่ดี[16,26,30] ดังนั้นการสังเกตอาการสัดในฝูงยังเป็นเรื่องที่ไม่ควรหลีกเลี่ยง โดยเฉพาะในประเทศกำลังพัฒนา ซึ่งมีแรงงานในฟาร์ม



รูปที่ 10. แสดงการกระจายตัวของโคที่แสดงอาการสัดหลังเหนี่ยวนำด้วยโปรแกรม progestin-based ร่วมกับการฉีด PGF (Group 1) และ progestin-based ร่วมกับการฉีด PGF และ eCG (Group 2)[44]

เพียงพอ และมีจำนวนโคต่อฟาร์มไม่มากนัก หรือเลี้ยงแบบยืนโรงซึ่งเจ้าของมีโอกาสใกล้ชิดกับสัตว์ตลอดเวลา นอกจากนั้น การจะเลือกใช้วิธีการใดๆ ต้องคำนึงถึงความสำเร็จในแง่การให้อัตราการผสมติดหลังการเหนี่ยวนำการเป็นสัดนั้นสูง ความคุ้มทุน และความสะดวกในการปฏิบัติเป็นหลัก

เอกสารอ้างอิง

1. Senger PL. Pathways to pregnancy and parturition. 2nd rev. ed. Pullman: Current Conceptions Inc.; 2003.
2. Miyamoto A, Shirasuna K. Luteolysis in the cow: a novel concept of vasoactive molecules. Anim Reprod. 2009; 6(1): 47-59.
3. Day ML, Geary TW. Handbook of estrous synchronization. Wooster: Ohio Agriculture Research and Development Center, Ohio State University; 2005.
4. Adams GP, Jaiswal R, Singh J, Malhi P. Progress in understanding ovarian

follicular dynamics in cattle. Theriogenology. 2008; 69(1): 72-80.

5. Bo GA, Baruselli PS, Martinez MF. Pattern and manipulation of follicular development in Bos indicus cattle. Anim Reprod Sci. 2003; 78(3-4): 307-26.
6. Driancourt MA. Regulation of ovarian follicular dynamics in farm animals. Implications for manipulation of reproduction. Theriogenology. 2001; 55(6): 1211-39.
7. Mihm M, Bleach ECL. Endocline regulation of ovarian antral follicle development in cattle. Anim Reprod Sci. 2003; 78: 217-37.
8. Kanitz W. Follicular dynamic and ovulation in cattle-a review. Arch Tierz. 2003; 46(2): 187-98.
9. Austin EJ, Mihm M, Evans ACO, Knight PG, Ireland JLH, Ireland JJ, et al. Alterations in Intrafollicular Regulatory Factors and Apoptosis During Selection of Follicles in the First Follicular Wave of the Bovine Estrous Cycle. Biol Reprod. 2001; 64(3): 839-48.
10. Austin EJ, Mihm M, Ryan MP, Williams DH, Roche JF. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. J. Anim. Sci. 1999; 77(8): 2219-26.
11. Lucy MC. The bovine dominant ovarian follicle. Journal of Animal Science. 2007; 85(13 suppl): 89-99.
12. Ginther OJ. Selection of the dominant follicle in cattle and horses. Animal Reproduction Science. 2000; 60-61: 61-79.
13. Mapletoft RJ, Martinez MF, Colazo MG, Kastelic JP. The use of controlled internal drug release devices for the regulation of bovine reproduction. J Anim Sci.2003; 81(14_suppl_2): 28-36.
14. Mapletoft RJ, BóGA, Baruselli PS. Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. Anim Reprod. 2009; 6(1): 114-24.
15. Wiltbank MC, Sartori R, Herlihy MM, Vasconcelos JLM, Nascimento AB, Souza AH, et al. Managing the dominant follicle in lactating dairy cows. Theriogenology. 2011; 76(9): 1568-82.

16. Mapletoft RJ, Bo GA, Adams GP, editors. Techniques for synchronization of follicular wave emergence and ovulation: Past, present and future. 3rd ed. Londrina. Anais. São Paulo Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo : SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO ANIMAL APLICADA; 2008.

17. Sartori R, Fricke PM, Ferreira JCP, Ginther OJ, Wiltbank MC. Follicular Deviation and Acquisition of Ovulatory Capacity in Bovine Follicles. Biol Reprod. 2001; 65(5): 1403-9.

18. Cavalieri J, Hepworth G, Fitzpatrick LA, Shephard RW, Macmillan KL. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. Theriogenology. 2006; 65(1): 45-64.

19. Bo GA, Mapletoft RJ, editors. Control of ovarian function for fixed-time AI and embryo transfer without estrus. 23rd ed. Canada : World Buiatrics Congress; 2004.

20. Bo GA, Guerrero DC, Adams GP. Alternative approaches to setting up donor cows for superstimulation. Theriogenology. 2008; 69(1): 81-7.

21. Martinez MF, Adams GP, Bergfelt DR, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effect of LH or GnRH on the dominant follicle of the first follicular wave in beef heifers. Anim Reprod Sci. 1999; 57(1): 23-33.

22. Atkins JA, Busch DC, Bader JF, Keisler DH, Patterson DJ, Lucy MC, et al. Gonadotropin-releasing hormone-induced ovulation and luteinizing hormone release in beef heifers: Effect of day of the cycle. J of Anim Sci. 2008; 86(1): 83-93.

23. Thatcher WW, Patterson DJ, Moreira F, Pancarci SM, Jordan ER, Risco CA. Current concepts for estrus synchronization and timed insemination. 34th Annual Meeting of the American Association of Bovine Practitioners.Vancouver:Assodation of Bovine Practitioners; 2001. p. 95-105.

24. Martinez MF, Kastelic JP, Bo GA, Caccia M, Mapletoft RJ. Effects of oestradiol and some of its esters on gonadotrophin release and ovarian follicular dynamics in CIDR-treated beef cattle. Anim Reprod Sci. 2005; 86(1-2): 37-52.

25. Burke CR, Mussard ML, Gasser CL, Grum DE, Day ML. Estradiol benzoate delays new follicular wave emergence

in a dose-dependent manner after ablation of the dominant ovarian follicle in cattle. Theriogenology. 2003; 60(4): 647-58.

26. Diskin MG, Austin EJ, Roche JF. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. Domestic Animal Endocrinology. 2002; 23(1-2): 211-28.

27. Bo GA, Adams GP, Pierson RA, Mapletoft RJ. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. Theriogenology. 1995; 43(1): 31-40.

28. Bo GA, Baruselli PS, Moreno D, Cutaia L, Caccia M, Tribulo R, et al. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. Theriogenology. 2002; 57(1): 53-72.

29. Colazo MG, Martinez MF, Small JA, Kastelic JP, Burnley CA, Ward DR, et al. Effect of estradiol valerate on ovarian follicle dynamics and superovulatory response in progestin-treated cattle. Theriogenology. 2005; 63(5): 1454-68.

30. Lane EA, Austin EJ, Crowe MA. Oestrous synchronisation in cattle-Current options following the EU regulations restricting use of oestrogenic compounds in food-producing animals: A review. Anim Reprod Sci. 2008; 109(1-4): 1-16.

31. Kasimanickam R, Day ML, Rudolph JS, Hall JB, Whittier WD. Two doses of prostaglandin improve pregnancy rates to timed-AI in a 5-day progesterone-based synchronization protocol in beef cows. Theriogenology. 2009; 71(5): 762-7.

32. Weems CW, Weems YS, Randel RD. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. The Veterinary Journal. 2006; 171(2): 206-28.

33. Murugavel K, Yániz JL, Santolaria P, López-Béjar M, López-Gatius F. Prostaglandin based estrus synchronization in postpartum dairy cows: An update. Journal [serial on the Internet]. 2003 Date; 1(1): Available from: http://www.jarvm.com/articles/Vol1Iss1/LOPEZD-JVM.htm.

34. Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, MacNeil MD, Geary TW. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. J of Anim Sci. 2007; 85(3): 684-9.

35. Araujo RR, Ginther OJ, Ferreira JC, Palhao MM, Beg MA, Wiltbank MC. Role of Follicular Estradiol-17beta in

Timing of Luteolysis in Heifers. Biology of Reproduction. 2009; 81(2): 426-37.

36. Inskeep EK. Preovulatory, postovulatory, and postmaternal recognition effects of concentrations of progesterone on embryonic survival in the cow. J of Anim Sci. 2004; 82(13 suppl): E24-E39.

37. Vasconcelos JLM, Sartori R, Oliveira HN, Guenther JG, Wiltbank MC. Reduction in size of the ovulatory follicle reduces subsequent luteal size and pregnancy rate. Theriogenology. 2001; 56(2): 307-14.

38. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2[alpha] and GnRH. Theriogenology. 1995; 44(7): 915-23.

39. Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Cook B, Olson WO, Mapletoft RJ. The use of progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle. Theriogenology. 2002; 57(3): 1049-59.

40. Ahmadi MR, Nazifi S, Sajedianfard J, Moattari G. Impact of estrous synchronization methods on cellular proportions in cervical mucus and serum hormone concentrations. Theriogenology. 2007; 67(3): 598-604.

41. Lopez H, Caraviello DZ, Satter LD, Fricke PM, Wiltbank MC. Relationship Between Level of Milk Production and Multiple Ovulations in Lactating Dairy Cows*. J Dairy Sci. 2005; 88(8): 2783-93.

42. Lauderdale JW. ASAS Centennial Paper: Contributions in the Journal of Animal Science to the development of protocols for breeding management of cattle through synchronization of estrus and ovulation. J Anim Sci. 2009; 87(2): 801-12.

43. Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Mapletoft RJ. The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. Journal of Animal Science. 2002; 80(7): 1746-51.

44. Sumretprasong J, Theungsonthia A, Leangcharuen N, Thijae K, Thawinprawat S. Effects of equine chorionic gonadotropin on progesterone-based estrus synchronization in Holstein Friesian x Brahman recipient cows. Kasetsart J (Nat Sci). 2010; 44(2): 196-201.

45. Duffy P, Crowe MA, Austin EJ, Mihm M, Boland MP, Roche JF. The effect of eCG or estradiol at or after norgestomet removal on follicular

dynamics, estrus and ovulation in early post-partum beef cows nursing calves. Theriogenology. 2004; 61(4): 725-34.

46. Binelli M, Machado R, Bergamaschi MACM, Bertan CM. Manipulation of ovarian and uterine function to increase conception rates in cattle. Anim Reprod. 2009; 6(1): 125-34.

47. Small JA, Colazo MG, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effects of progesterone presynchronization and eCG on pregnancy rates to GnRH-based, timed-AI in beef cattle. Theriogenology. 2009; 71(4): 698-706.