ผลของฮอร์โมนเพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปินต่อการกระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลในรังไข่โคพื้นเมืองไทย (*Bos indicus*)

Effect of PMSG on ovarian follicular population in Thai Native Cattle (*Bos indicus*)

เด่นพงษ์ สาฆ้อง[1,3*], เทวินทร์ วงษ์พระลับ[1,3], สุภร กตเวทิน[1] และ ศักดิ์ศิริ ศิริเสถียร[2]

Denpong Sakhong[1,3*], Thevin Vongpralub[1,3] Suporn Katawatin[1] and Saksiri Sirisathien[2]

บทคัดย่อ: การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตอบสนองของรังไข่ของโคพื้นเมืองไทย (*Bos indicus*) ต่อการกระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลด้วยฮอร์โมนเพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปิน (Pregnant mare serum gonadotropin ; PMSG) สำหรับการเจาะเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธี Ovum pick-up (OPU) โคพันธุ์พื้นเมืองไทยเพศเมีย อายุ 2-11 ปี ควบคุมการเป็นสัดโดยการสอด CIDR® ร่วมกับการฉีดฮอร์โมน Estradiol-17β และ $PGF_{2\alpha}$ กระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลโดยฉีด PMSG ในขนาด 1000 IU/ตัว หลังเกิดการตกไข่ 1 วัน ผลการศึกษาพบว่า โคสาวและแม่โคเริ่มแสดงอาการเป็นสัดในชั่วโมงที่ 39.43±5.64 และ 46.29±5.64 ตามลำดับ ในวันที่ 1 วันที่ 2 วันที่ 3 หลังฉีดฮอร์โมน PMSG โคทั้งสองกลุ่มมีจำนวนฟอลลิเคิลในแต่ละวันเพิ่มขึ้นแตกต่างกัน (6.93±0.57, 10.57±0.57, 12.25±0.57 ฟอลลิเคิล) (P<0.05) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างโคสาวและแม่โคพบว่า หลังฉีดฮอร์โมน PMSG โคสาวมีจำนวนฟอลลิเคิลมากกว่าแม่โค (P<0.05) ซึ่งจำนวนและขนาดของฟอลลิเคิลเฉลี่ยในแต่ละวันมีความแตกต่างกัน (P<0.05) จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าการให้ฮอร์โมน PMSG ที่ระดับ 1000 IU/ตัว หลังเกิดการตกไข่ 1 วัน ในโคพื้นเมืองไทยสามารถกระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลได้ ซึ่งวันที่เหมาะสมสำหรับการเจาะเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธี OPU คือวันที่ 2-3 หลังการให้ฮอร์โมน PMSG โดยในโคสาวมีจำนวนฟอลลิเคิลเพิ่มขึ้นมากกว่าแม่โค แต่ขนาดของฟอลลิเคิลไม่แตกต่างกัน

คำสำคัญ: โคพื้นเมืองไทย ฟอลลิเคิล เพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปิน

ABSTRACT: The present investigation was undertaken to examine the responses of ovary to superstimulated with Pregnant mare serum gonadotropin (PMSG) for Ovum pick-up (OPU) in Thai Native Cattle (TNC), at 2 to 11 years of age following the administration of controlled intravagina drug release CIDR®, $PGF_{2\alpha}$ and Estradiol-17β. All animals were received PMSG 1000 IU/head on 1 day after ovulation. Estrous were detected on average at 39.43±5.64 and 46.29±5.64 hour after CIDR® removal in heifers and cows respectively. There were difference between amounts of follicle identified on day 1, 2, and 3 after injected PMSG (6.93±0.57, 10.57±0.57, 12.25±0.57 follicles). The numbers

[1] ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University

[2] ภาควิชาศัลยศาสตร์และวิทยาการสืบพันธุ์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
Department of Surgery and Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University

[3] ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ และ ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร มหาวิทยาลัยร่วม มหาวิทยาลัยขอนแก่น
Center of Excellence on Agricultural Biotechnology (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok, Thailand and Agricultural Biotechnology Research Center for Sustainable Economy, Khon Kaen University, Khon Kaen

* Corresponding author: denpongx@gmail.com

of follicles in treated heifers were higher than in cows (P<0.05), while the mean numbers and sizes of follicles of each day are difference (P<0.05). These results demonstrated that the use of 1000 IU of PMSG at the same time of endogenous FSH release can induce follicular growth with the comparable responses between heifers and cows. The appropriate day to aspiration oocytes was 2-3 days after PMSG administration.
Keywords: Thai Native Cattle, Follicle, PMSG

บทนำ

ฮอร์โมนเพรกแนนท์แมร์ซีรั่มโกนาโดโทรปิน เป็นไกลโคโปรตีนฮอร์โมนที่ออกฤทธิ์ทั้ง FSH และ LH (Murphy et al., 1991) มีค่าครึ่งชีวิตยาว 40 ชั่วโมง และคงอยู่ในกระแสเลือดโคได้นานกว่า 10 วัน การกระตุ้นเพิ่มการตกไข่ (Superovulation) ด้วยฮอร์โมน PMSG จะฉีดเพียงครั้งเดียว (Deileman et al., 1993) สำหรับการใช้ฮอร์โมน PMSG ร่วมกับการเจาะเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธี OPU พบว่า สามารถเจาะเก็บโอโอไซต์ได้มากถึง 9.4-10.8 โอโอไซต์ต่อครั้ง จากผลดีของ PMSG ที่มีค่าครึ่งชีวิตนานทำให้ไม่ต้องฉีดฮอร์โมนกระตุ้นซ้ำ เจาะเก็บโอโอไซต์ได้บ่อยครั้งมากขึ้น และลดค่าใช้จ่ายในการดำเนินการ อย่างไรก็ตาม รายงานของการตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มจำนวนโอโอไซต์ในโคพื้นเมืองไทยสำหรับการทำ OPU มีอยู่อย่างจำกัด

การพัฒนาของฟอลลิเคิลบนรังไข่โคพื้นเมืองไทยที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลด้วยฮอร์โมน PMSG จึงมีประโยชน์ต่อการเจาะเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธี OPU ดังนั้น การวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนและขนาดของฟอลลิเคิลหลังจากได้รับการฉีดฮอร์โมน PMSG สำหรับใช้เป็นข้อมูลในการกระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลที่เหมาะสมเพื่อใช้สำหรับการเจาะเก็บโอโอไซต์ด้วยวิธี OPU ในโคพื้นเมืองไทย

วิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ใช้โคพันธุ์พื้นเมืองไทยเพศเมียที่ผ่านการตรวจสอบประวัติสุขภาพ และระบบสืบพันธุ์โดยการอัลตร้าซาวน์ อายุ 2-11 ปี มีคะแนนรูปร่าง 3.0-3.5 จำนวน 14 ตัว โดยแบ่งโคออกเป็น 2 กลุ่มคือ โคสาว (จำนวน 7 ตัว อายุเฉลี่ย 2.57±0.07 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 182.29±4.46 กก.) และแม่โค (จำนวน 7 ตัว อายุเฉลี่ย 7.43±0.65 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 242.57±6.61 กก.) ปรับวงรอบการเป็นสัดโดยการสอด CIDR® (InterAg, NZ) เข้าช่องคลอด นาน 7 วัน ฉีดฮอร์โมน estradiol-17β (E-17β; InterAg, NZ) ในขนาด 2.5 มก./ตัว และฉีดฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ (Pfizer Inc., USA) เข้ากล้ามเนื้อในขนาด 25 มก./ตัว ในวันที่ 6 หลังสอด CIDR® ตรวจการเป็นสัดโคทุก 12 ชั่วโมง ในเวลา 06.00 น. และ 18.00 น. ทุกวันเป็นเวลานาน 30 นาที

ฉีดฮอร์โมน PMSG ในขนาด 1000 IU/ตัว ให้แก่โคทุกตัวหลังเกิดการตกไข่ 1 วัน ดำเนินการอัลตร้าซาวน์รังไข่ทั้งสองข้างทุกวันนาน 6 วัน บันทึกขนาดและตำแหน่งของฟอลลิเคิลที่ตรวจพบ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยวิธี General Linear Model เปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนฟอลลิเคิล ขนาดฟอลลิเคิล และอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลในแต่ละกลุ่มด้วย Least square means โดยใช้โปรแกรม SAS (SAS, 2004)

Table 1 Response (LS means ± SE) of follicular number and follicular diameter in TNC that were superstimulated with PMSG (1000 IU) on Day 1 after ovulation.

Day	Follicular number (Follicles)				Follicular diameter (mm)			
	control[1/]	Heifers[1/]	Cows[1/]	Means[3/]	Control[2/]	Heifers[2/]	Cows[2/]	Means[3/]
Day 1	4.00±0.23 [a]	7.79±0.81 [b]	6.07±0.81 [c]	6.93±0.57 [a]	4.25±0.15 [a]	5.17±0.15 [b]	4.94±0.15 [b]	4.90±0.10 [a]
Day 2	3.92±0.26 [a]	11.64±0.81 [b]	9.50±0.81 [c]	10.57±0.57 [b]	4.65±0.16 [a]	5.96±0.15 [b]	6.21±0.15 [b]	6.16±0.10 [b]
Day 3	3.75±0.23 [a]	13.50±0.81 [b]	11.00±0.81 [c]	12.25±0.57 [c]	5.00±0.15 [a]	7.84±0.15 [b]	8.16±0.15 [b]	7.96±0.10 [c]
Day 4	3.75±0.25 [a]	16.14±0.81 [b]	12.36±0.81 [c]	14.25±0.57 [d]	5.45±0.15 [a]	9.22±0.15 [b]	10.02±0.15 [c]	9.66±0.10 [d]
Day 5	3.54±0.25 [a]	17.00±0.81 [b]	11.64±0.81 [c]	14.32±0.57 [d]	5.88±0.15 [a]	11.26±0.15 [b]	11.52±0.15 [b]	11.39±0.10 [e]
Day 6	3.95±0.25 [a]	16.64±0.81 [b]	12.21±0.81 [c]	14.43±0.57 [d]	5.83±0.15 [a]	12.37±0.15 [b]	12.65±0.15 [b]	12.51±0.10 [f]

[1/], [2/] Value of Least square means (±SE) with difference superscript in the same row are different ($P<0.05$)

[3/] Value of Least square means (±SE) with difference superscript in the same column are different ($P<0.05$)

ผลการศึกษา

การควบคุมวงรอบการเป็นสัดในโคพื้นเมืองไทยสายอีสาน โดยการใช้ CIDR® ร่วมกับฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ และ ฮอร์โมน E-17β พบว่าโคตอบสนองต่อฮอร์โมนโดยแสดงอาการเป็นสัดทุกตัว โคสาวและแม่โคจะเริ่มแสดงอาการเป็นสัดในชั่วโมงที่ 39.43±5.64 และ 46.29±5.64 หลังถอด CIDR® ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกัน หลังจากที่โคแสดงอาการเป็นสัดจะพบกลุ่มของฟอลลิเคิลขนาดเล็ก (<3 มม) พัฒนาขึ้นมา ซึ่งจำนวนฟอลลิเคิลที่พัฒนาขึ้นมาหลังจากโคได้รับฮอร์โมน PMSG (**Table 1**) พบว่า วันที่ 1, 2 และ 3 โคสาวและแม่โคมีจำนวนฟอลลิเคิลที่ตอบสนองต่อฮอร์โมน PMSG ไม่แตกต่างกัน แต่ในวันที่ 4, 5 และ 6 โคสาวจะมีจำนวนฟอลลิเคิลที่พัฒนาขึ้นมามากกว่าในแม่โค ($P<0.05$) สำหรับขนาดของฟอลลิเคิลเฉลี่ยของโคทั้งสองกลุ่มพบว่า ในวันที่ 1 ถึงวันที่ 6 จะมีการพัฒนาขนาดโตขึ้นแตกต่างกัน ($P<0.05$) (**Table 1**) ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 1.12-1.80 มิลลิเมตร/วัน โดยอัตราการเจริญเติบโตของฟอลลิเคิลของโคสาวและแม่โคไม่มีความแตกต่างกัน

วิจารณ์

ในการตอบสนองต่อการควบคุมวงรอบการเป็นสัด พบว่า โคทั้งสองกลุ่มแสดงอาการเป็นสัดชัดเจน และเป็นสัด 100% โดยเริ่มแสดงอาการเป็นสัดในชั่วโมงที่ 36-48 หลังถอด CIDR® นอกจากนี้พบว่าโคจะมีเมือกลักษณะใสและเหนียวข้นมากขึ้นในช่วงท้าย จากรายงานการศึกษาการควบคุมวงรอบการเป็นสัดด้วยการสอด CIDR® เข้าช่องคลอดร่วมกับการฉีดฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ พบว่าโคจะแสดงเริ่มอาการเป็นสัดที่ชั่วโมง 48 และโคแสดงอาการเป็นสัดถึง 92.3 % (Martinez et al., 2002) นอกจากนี้ Martinez et al. (2000) ได้รายงานไว้ว่า การควบคุมวงรอบการเป็นสัดด้วยการสอด CIDR® เข้าช่องคลอดร่วมกับการฉีดฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ และ Estradiol benzoate (EB) พบว่าโคแสดงอาการเป็นสัด 100 % ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ อาจเป็นเพราะฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจนที่เสริมเข้าไปทำให้โคแสดงอาการเป็นสัดเพิ่มมากขึ้น ซึ่ง Dailey et al. (1986) รายงานไว้ว่า การฉีดฮอร์โมนเอสโตรเจนให้แก่โคหลังจากโคได้รับฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ จะสามารถเพิ่มสัดส่วนการเป็นสัดและแสดงอาการเป็นสัดที่ชัดเจนขึ้น อีกทั้ง

ยังมีฤทธิ์ไปกระตุ้นการหลั่ง Luteinizing Hormone (LH) ซึ่งพบว่าโคที่ได้รับฮอร์โมน EB ในขณะที่มีระดับของฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนต่ำ จะสามารถกระตุ้นต่อมใต้สมองส่วนหน้าให้เกิดการหลั่ง LH เกิด LH surge และกระตุ้นให้ฟอลลิเคิลเด่นตกไข่ได้ (Bo et al., 1995) ในการศึกษานี้พบว่า โคพื้นเมืองไทยได้รับฮอร์โมน PMSG จะตอบสนองโดยการเพิ่มจำนวนและขนาดของฟอลลิเคิลได้แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับฮอร์โมน PMSG และโคสาวกลุ่มที่ได้รับ PMSG จะมีการเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลมากกว่าแม่โค เนื่องจากว่าฮอร์โมน PMSG เป็นฮอร์โมนที่มีฤทธิ์ของ Follicle stimulating Hormone (FSH) และ LH และมีค่าครึ่งชีวิตยาว จึงยังมีผลไปกระตุ้นฟอลลิเคิลขนาดเล็กในโคสาวให้เกิดการพัฒนาขึ้นมาได้อีก และอาจเนื่องจากปริมาณโอโอไซต์คงเหลือในรังไข่ (growing pool) แม่โคมีน้อยกว่าโคสาว หรือการตอบสนองต่อการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนได้ไม่ดี ซึ่งจากรายงานของ Singh et al. (2004) พบว่าโคที่มีอายุมากจะตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มการตกไข่น้อยกว่าโคที่อายุน้อยกว่า

นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าขนาดของฟอลลิเคิลที่เพิ่มขึ้นในแต่ละวันในโคกลุ่มที่ได้รับฮอร์โมน PMSG ไม่แตกต่างกัน แต่พบว่ามีขนาดโตกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) และมีอัตราการเจริญเติบโตที่สูง มีช่องแอนทรัมขนาดใหญ่และเป็นที่สะสมฮอร์โมนเอสโตรเจน ซึ่งฤทธิ์ของฮอร์โมนเอสโตรเจนมีผลต่อการขยายขนาดของเซลล์รังไข่และระบบท่อในทางเดินสืบพันธุ์ Sugano et al. (1999) รายงานการใช้ฮอร์โมน FSH เพื่อกระตุ้นการเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิล พบว่าโคที่ได้รับการฉีดฮอร์โมน FSH จะมีฟอลลิเคิลขนาดใหญ่ เป็นผลเนื่องจาก FSH ไปกระตุ้นการพัฒนาของฟอลลิเคิลมีการสร้างตัวรับของฮอร์โมนเอสโตรเจนในรังไข่เพิ่มขึ้น ผลิตฮอร์โมนเอสโตรเจนเข้าสู่ช่องแอนทรัมมากขึ้น ส่งผลให้ฟอลลิเคิลมีขนาดใหญ่ นอกจากนี้เอสโตรเจนที่สูงขึ้นยังมีผลไปกระตุ้นให้มีเลือดมาหล่อเลี้ยงบริเวณรังไข่เพิ่มมากขึ้น เซลล์ของรังไข่เกิดการขยายตัวเพิ่มขนาดมากขึ้น

เมื่อสังเกตจากการอัลตร้าซาวด์ พบว่า ฟอลลิเคิลที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลด้วยฮอร์โมน PMSG จะมีผนังของฟอลลิเคิลที่หนา มีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อแทรกเข้าไปในผนังของฟอลลิเคิล และเมื่อตรวจคลำด้วยมือจะพบว่าฟอลลิเคิลมีลักษณะแข็งและผนังหนาคลายกับเป็น Follicular cyst ซึ่งอาจเป็นผลจากฮอร์โมน PMSG ที่มีฤทธิ์ของ LH ไม่เหมาะสมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ Theca cells และ Granulosa cells สอดคล้องกับรายงานของ Burdelte et al. (2007) ที่ทำการทดลองฉีดฮอร์โมน PMSG ในหนู พบว่า ฟอลลิเคิลของหนูจะมีลักษณะเป็นเนื้อเยื่อหนารอบฟอลลิเคิลและเกิดลักษณะของ Ovarian cyst ในอัตราที่สูง ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกันกับรายงานของ Alfuraiji et al. (1989) ที่ทดลองในแม่โค นอกจากนี้ เทวินทร์ และคณะ (2553) ได้ทำการศึกษาการใช้ฮอร์โมน PMSG กระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลในขนาด 500 1000 และ 1500 IU/ตัว และทำการเจาะเก็บโอโอไซต์โดยวิธี OPU พบว่า Follicular fluid ที่เจาะเก็บได้มีเลือดปนอยู่เป็นจำนวนมาก

สรุป

การศึกษาการพัฒนาของฟอลลิเคิลที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลด้วยฮอร์โมน PMSG ในโคพื้นเมืองไทย สามารถสรุปได้ว่าการควบคุมวงรอบการเป็นสัดโดยการสอด CIDR® ร่วมกับการฉีดฮอร์โมน $PGF_{2\alpha}$ และ E-17β สามารถกระตุ้นให้โคเป็นสัดได้ภายใน 48 ชั่วโมง หลังถอด CIDR® การกระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลในโคพื้นเมืองไทยด้วยฮอร์โมน PMSG ที่ระดับ 1000 IU/ตัว ในช่วงที่มีการหลั่ง Endogenous FSH สามารถกระตุ้นจำนวนฟอลลิเคิลได้เพิ่มขึ้น โดยจำนวนของฟอลลิเคิลที่ตอบสนองฮอร์โมน PMSG ในโคสาวมากกว่าในแม่โค แต่ขนาดของฟอลลิเคิลไม่แตกต่างกัน วันที่เหมาะสมสำหรับการเจาะเก็บโอโอไซต์โดยวิธี OPU หลังจากกระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลด้วยฮอร์โมน PMSG ในโค

พื้นเมืองไทยที่ระดับ 1000 IU ต่อตัว คือวันที่ 2-3 หลังจากได้รับฮอร์โมน แต่ผลของการใช้ฮอร์โมน PMSG ในการกระตุ้นเพิ่มจำนวนฟอลลิเคิลเพื่อเจาะเก็บโอโอไซต์ จะพบว่าผนังของฟอลลิเคิลจะมีลักษณะหนาตัวและแข็งคล้ายคอพัสลูเตียม

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900 ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร มหาวิทยาลัยร่วม มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

เอกสารอ้างอิง

เทวินทร์ วงษ์พระลับ ยุพิน ผาสุข ศักดิ์ศิริ ศิริเสถียร และ อดิศักดิ์ สังข์แก้ว. 2553. รายงานการวิจัยเรื่อง การผลิตตัวอ่อนโคพื้นเมืองไทยภายนอกร่างกายโดยเทคนิคการเจาะดูดไข่จากแม่โค. มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

Alfuraiji, M.M., P.J. Broadbent, J.S.M. Hutchinson, D.F. Dolman and T. Atkinson. 1989. Effect of time of administration of monoclonal anti-PMSG on superovulation response and embryo quality in cattle. Theriogenology 31: 165 (abstr).

Bo, G. A., G. P. Adam, R. A. Pierson and R. J. Mapletoft. 1995. Exogenous control of follicular wave emergence in cattle. Theriogenology 43: 31-40.

Burdette, J.E., R.M. Oliver, V. Ulyanov, S.M. Kilen, K.E. Mayo and T.K. Woodruff. 2007. Ovarian epithelial inclusions cysts in cheonically superovulated cdi and smadz dominant negative mice. Endocrine Society, USA. Doi: 10.1210/en.2007-0030.

Dieleman S. J., M. M. Bevers, P. L. A. M. Vos and F. A. M. De Loos. 1993. PMSG/anti-PMSG in cattle: A simple and efficient superovulatory treatment, Theriogenology 39: 25-42.

Dailey, R. A., J. C. Price, K. R. Simmons, E. M. Meisterling and S. P. Washburn. 1986. Synchronization of estrous in dairy heifer with prostaglandin F2α and estradiol benzoate. J. Dairy. Sci. 69: 1110-1114.

Martinez, M. F., G. P. Adams, J. P. Kastelic and R. J. Mapletoft. 2000. Induction of follicular wave emergence of estrous of synchronization and artificial insemination in heifer. Theriogenology. 54: 757-769.

Martınez, M. F., J. P. Kastelic, G. P. Adams and R. J. Mapletoft. 2002. The use of a progesterone-releasing device (CIDR) or melengestrol acetate with GnRH, LH or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. J. Anim. Sci. 80: 1746-1751.

Murphy, B. D. and S. D. Martinuk. 1991. Equine chorionic gonadotropin, Endocrinology Rev. 12: 27-44.

SAS. 2004. SAS/STAT 9.1 User's Guide. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.

Singh, J., M. Domiguez, R. Jaiswal and G. P. Adam. 2004. A simple ultrasound test to predict superovulatory response in cattle. Theriogenology. 62: 227-243.

Sugano, M. and T. Shinogi. 1999. Superovulation induction in Japanese Black cattle by a single intramuscular injection of hMG or FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. Anim. Reprod. Sci. 55 :175-181.