T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DÖLERME VE SUNİ TOHUMLAMA ANABİLİM DALI

DÜVELERDE PROGESTERON DESTEKLİ FARKLI RESENKRONİZASYON PROTOKOLLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mesut KIRBAŞ

Danışman

Prof. Dr. Kenan ÇOYAN

KONYA - 2008

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DÖLERME VE SUNİ TOHUMLAMA ANABİLİM DALI

DÜVELERDE PROGESTERON DESTEKLİ FARKLI RESENKRONİZASYON PROTOKOLLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mesut KIRBAŞ

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından 11/ 02 / 2008 günü sözlü olarak yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.
(S.B.E. Yön.Kur. Karar tarih ve No: 15/01/2008 566/8538)

Tez jürisi:	Jüri Başkanı	Prof. Dr. Kenan ÇOYAN …….….....
	Danışman	Prof. Dr. Kenan ÇOYAN …….....
	Üye	Prof. Dr. Mehmet Bozkurt ATAMAN…….……...
	Üye	Yrd. Doç. Dr. Aydın GÜZELOĞLU……..…….

.

İ Ç İ N D E K İ L E R

1. GİRİŞ……1

2. LİTERATÜR BİLGİ…… 3

2.1. İneklerde Seksüel Siklus…… 3
2.1.1. Proöstrüs…… 3
2.1.2. Östrüs…… 4
2.1.3. Metöstrüs…… 4
2.1.4. Diöstrüs…… 6
2.2. Östrüs Belirlenmesinin Önemi ve Problemleri…… 6
2.3. İneklerde Östrüs Senkronizasyonu…… 8
2.3.1. Senkronizasyon Yöntemlerinin Prensipleri…… 9
2.3.1.1. Luteal fazın kısaltılması…… 9
2.3.1.2. Luteal fazın uzatılması……10
2.3.1.3. Folliküller gelişimin uyarılması…… 11
2.4. Resenkronizasyon…… 16

3. MATERYAL ve METOT…… 19

4. BULGULAR…… 21

5. TARTIŞMA ve SONUÇ……34

6. ÖZET …… 43

7. YABANCI DİLDE ÖZET ……44

8. KAYNAKLAR…… 45

9. ÖZGEÇMİŞ…… 50

10. TEŞEKKÜR …… 51

T A B L O L A R

Tablo 2.1.: Yetiştirici tarafından tohumlanması istenen hayvanların siklik dönemleri…… 6

Tablo 2.2.: Gün içerisinde saatlere göre östrüs gösterme oranları …… 8

Tablo 2.3.: İkinci GnRH uygulama saatlerinin karşılaştırılması ……..……13

Tablo 2.4.: Ovaryum yapısına göre heatsynch ve ovsynch sonuçlarının karşılaştırması…… 15

Tablo 2.5.: Düvelerde farklı resenkronizasyon metotlarının karşılaştırılması……..… 18

Tablo 4.1.: Ovsynch uygulama günlerindeki kan progesteron değerleri (ng/ml)……. 23

Tablo 4.2.: Grup I (İmp13)'de kan progesteron değerleri(ng/ml)……..……24

Tablo 4.3.: Grup I (İmp13)'deki hayvanların 13.gün ovaryum bulguları……24

Tablo 4.4.: Grup I (İmp13)'de resenkronizasyon sonrası tohumlanan hayvanların 27. gün muayene bulguları……..……25

Tablo 4.5: Grup II (İmp18)'de kan progesteron değerleri(ng/ml)……26

Tablo 4.6: Grup II (İmp18)'deki hayvanların 18.gün ovaryum bulguları……27

Tablo 4.7.: Grup II (İmp18)'de resenkronizasyon sonrası tohumlanan hayvanların 27. gün muayene bilgileri……27

Tablo 4.8.: Grup III (Kontrol)'de kan progesteron değerleri (ng/ml)……28

Tablo 4.9.: Gruplardaki hayvanların birinci tohumlama, resenkronizasyon sonraki tohumlama ve toplam gebelik oranları……..…..… 29

Tablo 4.10.: Tüm hayvanlara ait ovsynch uygulamasında ovaryum cevapları…..……30

Tablo 4.11.: Grup I (İmp13)'deki hayvanlarda ovaryum cevapları……..…..…… 31

Tablo 4.12.: Grup II (İmp18)'deki hayvanlarda ovaryum cevapları……..…… 32

Tablo 4.13.: Kontrol grubundaki hayvanların ovaryum cevapları……..…… 33

Ş E K İ L L E R

Şekil 2.1.: Östrüs siklusu sırasındaki değişikler……..…… 5
Şekil 2.2.: Resenkronizasyon protokolü (Progesteron ile18. gün)……..……16
Şekil 2.3.: Resenkronizasyon protokolü (GnRH ile 26. gün)……..17
Şekil 2.4.: Resenkronizasyon protokolü (Progesteron ile 13. gün)…… 17
Şekil 3.1.: Standart Ovsynch protokolü……..…… 19
Şekil 3.2.: Grup I uygulama şeması……..……20
Şekil 3.3.: Grup II uygulama şeması……..…… 20
Şekil 3.4.: Grup III (Kontrol) uygulama şeması……..……21
Şekil 4.1.: Tüm hayvanlara ait ovsynch uygulama günlerindeki kan progesteron seviyeleri……22
Şekil 4.2.: Grup I (İmp13)'deki hayvanlara ait kan progesteron sevilerini gösterir grafik…… 24
Şekil 4.3.: Grup II (İmp18)'deki hayvanlara ait kan progesteron sevilerini gösterir grafik……..… 26
Şekil 4.4.: Grup III (Kontrol)'deki hayvanlara ait kan progesteron sevilerini gösterir grafik……..… 29

1. GİRİŞ

Hayvan yetiştiriciliğinde ve ıslahında temel konu şüphesiz üremedir. Çünkü populasyonların verimleri, ne kadar yüksek olursa olsun döl verimleri yeterli değil ise bu verimlerin sürekliliği ve diğer kuşaklara aktarılması söz konusu değildir (Sönmez 1990). Hayvan yetiştiriciliğinde ekonomik kayıplara neden olan sorunların en önemlilerinden birisi infertilitedir. İnfertilitenin nedenleri arasında, tohumlama zamanı, endokrin yetersizlikler ve fonksiyonel bozukluklar, genital organ hastalıkları, beslenme bozuklukları, östrüs sikluslarının düzensizliği, östrüsün sakin geçmesi ve ovaryumların siklik faaliyetlerinin tamamen durması sayılabilir (Çınar 1999).

İneklerde reprodüktif verimliliğin sağlanmasında ilk unsur ise sevk ve idareye bağlı olarak östrüs tespitinin doğru bir şekilde yapılması gerektiği bildirilmektedir (Lopez-Gaitus ve Vega-Prieto 1990). Yetersiz ve yanlış yapılan östrüs tespitlerinin; gebelik başına tohumlama sayısını, boş geçen günleri ve buzağılama aralığını artırdığı, hatta boşa geçen günler ile östrüs tespit hatalarının arasında %92 oranında bir korelasyonun olduğu bildirmiştirler (Nebel ve ark 2003).

Özellikle sağmal ineklerin günde iki kez sağım yapılırken gözlemlenmesine karşın (Xu va Burton 1999), düvelerin suni tohumlama için östrüs davranışlarını belirlemeye çalışmanın hem zaman kaybı hem de işçiliği artırıcı olduğu, hatta östrüslerinin tam anlamıyla tespit edilememesiyle sonuçlandığı öne sürülmektedir (Cleef ve ark 1996). Bu yüzden östrüs tespitinin yetersiz olduğu sürülerde östrüs (Xu ve Burton 1999) ve ovulasyonun senkronizasyonu ile sabit zamanlı tohumlamaların yapılabileceği bildirilmiştir (Xu ve Burton 2000).

Sabit zamanlı tohumlama yöntemlerinin birisi de GnRH-$PGF_2\alpha$-GnRH kombinasyonu şeklinde kullanılan ovsynch programıdır (Pursley ve ark 1995). Bu yöntem $PGF_2\alpha$ enjeksiyonundan 48 saat sonra ikinci GnRH enjeksiyonu uygulanarak östrüs tespitine gerek kalmaksızın, tohumlamanın ikinci GnRH enjeksiyonundan 16-20 saat sonra yapılmasına olanak sağlayan bir yöntemdir (Xu ve Burton 2000).

Sabit zamanlı tohumlamalarda ilk tohumlama ortalama gebelik oranlarının arttırılması, senkronize edilen hayvanlardan gebe kalmayanların bir an önce tespit edilerek tekrar östrüs göstermelerinin sağlanması ve gebe bırakılmalarına yönelik araştırmalar yapılmaktadır. Bu amaca yönelik olarak son yıllarda senkronize edilen hayvanların tekrar

senkronize (resenkronize) edilerek sürekli program dâhilinde tutulmalarına yönelik çalışmalar üzerinde durulmaktadır.

Sunulan çalışmada standart ovsynch programı uygulanmış İsviçre esmeri düveler, iki farklı resenkronizasyon programı uygulanarak östrüs, ovulasyon ve gebelik oranları değerlendirilmiştir.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1. İneklerde Seksüel Siklus

Pubertasa ulaşan sağlıklı düveler ile inekler gebe olmadıkları dönemlerde belirli zaman aralıkları ile tekrarlanan ve dış belirtileri ile de fark edilebilen erkeği kabul etme davranışları gösterirler (Bülbül 2004). Dişi hayvanların belli fizyolojik ve psikolojik belirtiler göstererek erkeği kabul etme durumuna kızgınlık (östrüs) denir. İneklerde bir östrüs döneminden, takip eden diğer östrüs dönemine kadar geçen süre östrüs siklusu ya da seksüel siklus olarak tanımlanır (Çoyan 1994). İki östrüs arası süre ineklerde ortalama 21 (21±4) (Diskin ve Sreenan 2000) düvelerde ise 20 (20±3) gün olarak bildirilmektedir (Çınar 1999).

Östrüs siklusunun süresi bakım-besleme, ırk, iklim, ahırda boğanın bulunması ve ineğin serbest dolaşması gibi faktörlere bağlıdır. Ahırda boğanın bulunması ve ineğin serbest dolaşması siklus süresini kısaltırken, aşırı soğuk ve sıcak havalarda bu süre uzamaktadır (Çoyan 1994).

Bir inekte östrüs siklusu klasik olarak; östrüs (0. gün), metöstrüs (1-4 gün), diöstrüs (5-17 gün) ve proöstrüs (18-21 gün) olmak üzere dört evreye ayrılır (O'Connor 1993, Çoyan 1994).

2.1.1. Proöstrüs

Siklusun 18-21. günleri arasında 3-4 günlük süredir (Çoyan 1994). Korpus luteum'un (CL) regrese olduğu ve östrojen düzeyinin artmasıyla vulva dudaklarındaki enlemesine kıvrımların kaybolduğu bu evrede, vulva hafif ödemli, vagina hiperemik ve nemli bir hal alır. Bu dönemdeki hayvanların huzursuz, hareketli, sürüdeki diğer hayvanların peşinde gezmeleri ve diğer ineklerin üzerine atladıkları gözlenir. Ancak kendi üzerine atlanılmasına müsaade etmemektedir. Diğer hayvanların genital organlarını kokladıkları ve sağrılarına baş koyma gibi hareketler gözlenir. Sağılan hayvanlarda süt verimi ve tüm hayvanlarda yem tüketimi azalır (O'Connor 1993, Çınar 1999). Rektal muayenede ovaryumlarda regrese olan bir CL ve gelişmekte olan follikül, uterusta ise tonus artışı hissedilir (Çınar 1999, Parker ve Mathis 2002). Bu evrede CL regrese olmasıyla progesteron seviyesi düşmeye başlar (Parker ve Mathis 2002) (Şekil 2.1). Progesteronun hipotalamus üzerine yaptığı negatif feedback etkisi ortadan kalkar ve Gonadotropin Salınım Hormon (GnRH)'un yeniden salgılanması uyarılır. Serbest kalan GnRH'nın uyardığı hipofiz ön lobundan salgılanan Follikül Uyarıcı Hormon (FSH) etkisiyle

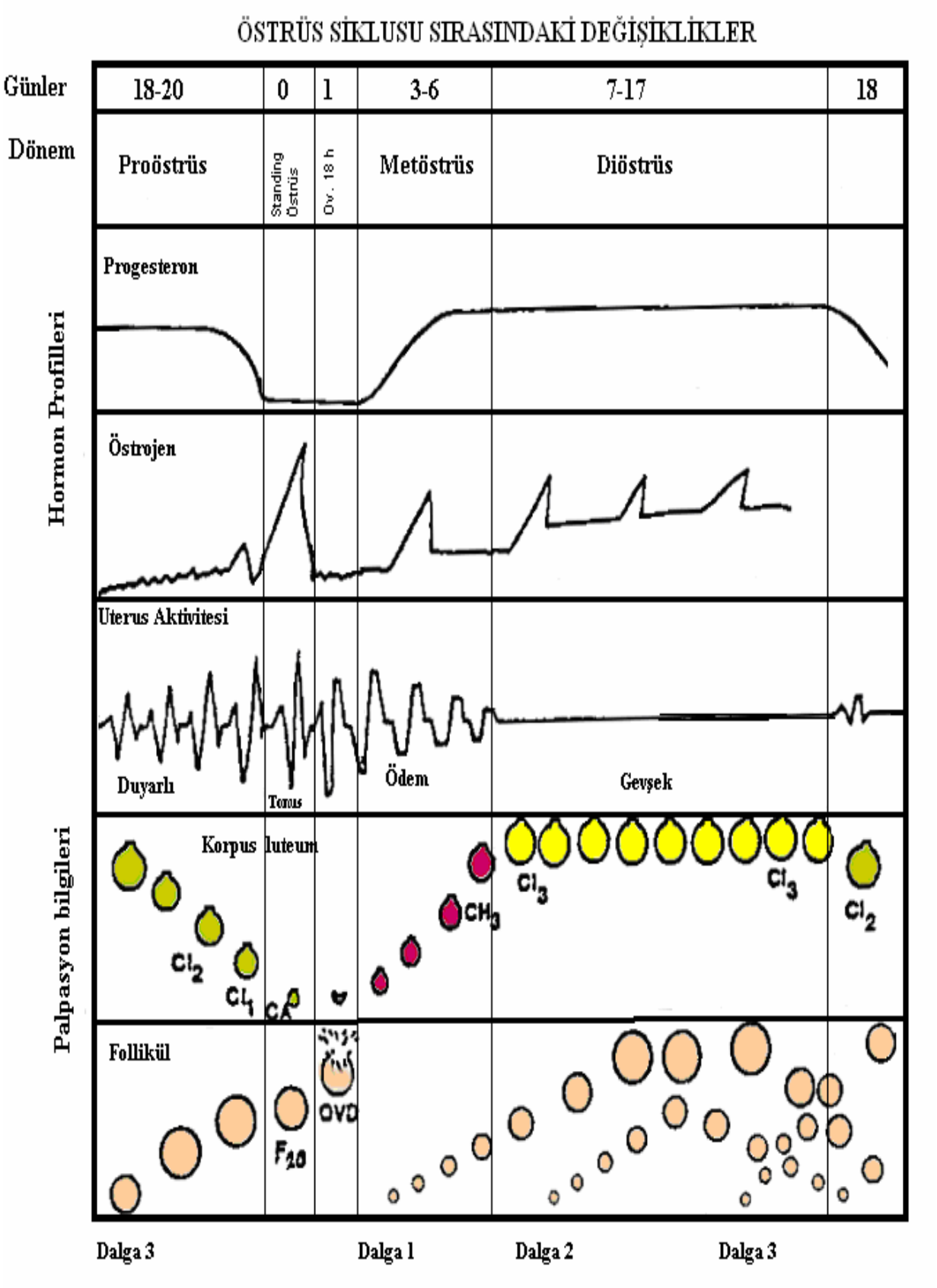
follikülogenezis uyarılır ve dominant graf follikül hızlı bir şekilde büyüyerek aktifleşir (Parker ve Mathis 2002). Folliküllerin gelişmesine bağlı olarak kanda östrojen seviyesi artar (O'Connor 1993). Östrojen seviyesinin artmasına bağlı olarak küçük folliküller regrese olmaya başlar (Parker ve Mathis 2002).

2.1.2. Östrüs

Siklusun 0. günüdür, ineklerde yaklaşık 12-18 saat sürerken düvelerde 2-3 saat daha kısadır (Çoyan 1994). Bu dönemde vulva dudakları ödemli yumuşak ve hiperemiktir ve vulvadan yumurta akına benzer bir akıntı (çara) gelir (Çoyan ve Tekeli 1996). Hayvanlar bu dönemde başka hayvanların üzerlerine atlamasına müsaade ederler (Standing östrüs) ve bu dönemde boğayı kabul ederler (O'Connor 1993). Süt veriminde ve yem tüketiminde azalma gözlenir. Serbest gezen ineklerde östrüs süresi ineğin boğayı ilk ve son kabul ettiği süre ile kısıtlıdır. Diğer evcil hayvanlara göre östrüsün daha kısa sürmesinin avantajı östrüsün doğru tespiti ile suni tohumlamayla yüksek gebelik oranları elde edilebilmesidir (Çoyan 2005). Rektal muayenede uterusta tonus artmış ve ovaryumda regrese olan bir CL ve olgun bir follikül vardır (Şekil 2.1). Serviks uteri kateter geçebilecek kadar açıktır (Bülbül 2004). Ovaryumlardaki folliküllerin etkisiyle kanda östrojen seviyesi yüksek, progesteron seviyesi düşüktür (O'Connor 1993, Çınar 1999).

2.1.3. Metöstrüs

Metöstrüsün kesin sınırları tam belli olmamakla beraber östrüsün bitimi ya da belirtilerinin kaybolmasından sonra başlar. Siklusun 1-5 günleri arasında 3-5 gün sürer (O'Connor 1993, Çoyan 1994). Bu dönemde kimi hayvanlarda östrustaki yüksek östrojen seviyesinin neden olduğu uterustaki yüzeysel kanamalardan dolayı metöstrüs kanaması görülür (O'Connor 1993). Buna bağlı olarak vaginal mukus kanla karışıktır (Çoyan 2005). Metöstrüs kanaması genellikle östrüsten 2 gün sonra ve çoğunlukla düvelerde görülür (Çoyan 2005). Bu dönemde vulva ve vaginadaki ödem ve hiperemi kaybolmuştur. Hayvanlar boğayı kabul etmezler (Çınar 1999). Rektal muayenede dönemin başlangıcında ovulasyona giden bir follikül ve dönemin sonuna doğru ise hızlı büyüyen bir CL hissedilir (Parker ve Mathis 2002). Bu dönemde GnRH uyarımıyla hipofizin ön lobundan salınan Luteinleştirici hormonun (LH) etkisiyle ovulasyon gerçekleşir (Çoyan 1994, Parker ve Mathis 2002). Ovulasyon metöstrüste genellikle östrüsün bitiminden 8-10 ve LH pikinden 24-30 saat sonra şekillenir. CL; LH etkisiyle ovulasyonun gerçekleştiği folliküldeki hücrelerin luteal hücrelere dönüşmesiyle oluşur (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Östrüs siklusu sırasındaki değişikler (Eilts ve Paccamonti [2007] modifiye edilmiştir).

2.1.4. Diöstrüs

Diöstrüs süresi ortalama olarak 10-14 gün sürer (Çoyan 1994). Diöstrüs dönemi seksüel siklusun en uzun süren ve son evresidir (O'Connor 1993). Diöstrüs döneminde hayvanlarda hiçbir kızgınlık belirtisi gözlenmez (Bülbül 2004). Bu dönemde ovaryumlarda olgun bir CL yer alır (O'Connor 1993, Çınar 1999, Parker ve Mathis 2002, Yiğit ve Arıkan 2001). CL maksimum büyüklüğe ulaşmıştır ve siklusun 15-16. gününe kadar fonksiyoneldir (Şekil 2.1). CL'dan progesteron salgılanır. Kanda progesteron seviyesine bağlı olarak LH salınımı baskılanır. CL dan salgılanan progesteron ile uterus yapısı ve hayvan gebeliğe hazırlanır. Eğer fertilizasyon gerçekleşmiş ise hayvanda gebelik devam eder (Çoyan 1994). Gerçekleşmemiş ise siklusun 16-18. günlerinde uterus endometriumdan salınan Prostaglandin F2 alfa ($PGF_2\alpha$) etkisiyle CL regrese olur, hızlı bir şekilde küçülmeye başlar (Parker ve Mathis 2002).

2.2. Östrüs Belirlenmesinin Önemi ve Problemleri

Gelişmiş ülkelerde; süt sığırcılığında sun'i tohumlamanın kullanım oranı % 90 ve üzerinde seyrederken, Türkiye'de bu oran % 10-15 arasında kalmaktadır. Türkiye'de bir yetiştirme teknolojisi olarak sun'i tohumlamanın sınırlı kalmasına neden olarak, elde edilen gebelik sonuçlarının düşük olması gösterilebilir. İneklerde sun'i tohumlama zamanlaması için ovulasyon östrüs bitiminden sonra olmasına rağmen, östrüs başlangıcını esas almanın, bitişini esas almaya göre daha yüksek gebelik oranları sağladığı bildirilmiştir (Kaya ve Gülyüz 2005)

Östrüsün zamanında ve doğru belirlenememesi ineklerde önemli bir infertilite sorunudur (Aksoy ve ark 1993). Sütçü ineklerin tohumlanmasında yüksek başarı oranı sağlanabilmesi için östrüs takibinin iyi bir şekilde yapılması gerekmektedir. Aksi halde gebe kalmadaki gecikmeler işletmenin ekonomik kayıplarını artırmaktadır (Salmanoğlu ve ark 1999). Kabul refleksine (Standing Heat) göre östrüs saptanmasının doğru tohumlama zamanlamasına önderlik ettiği bilinmektedir (Kaya ve Gülyüz 2005). Östrüsün doğru olarak belirlenememesi nedeniyle ineklerin %20'den fazlasının luteal dönemde, bazılarının ise gebe iken tohumlandıkları bildirilmektedir (Tablo 2.1) (Aksoy ve ark 1993).

Tablo 2.1: Yetiştirici tarafından tohumlanması istenen hayvanların siklik dönemleri (Aksoy ve ark 1993)

	Östrüste	**Östrüs Dışında**					
		Gebe	Diöstrüs	Metöstrüs	Proöstrüs	İnaktif ovaryum	**Toplam**
Sayı (n)	**56**	4	4	32	9	2	**51**
Oran(%)	**52.33**	3.73	3.73	29.91	8.43	4.87	**47.67**

Östrüsün yüksek oranlarda belirlenmesi de önemlidir. Yapılan bir çalışmada (Perry 2004), östrüs senkronizasyonu uygulanan hayvanlar 5 gün boyunca standing östrüs yönünden gözlemlenmiştir. Gözlemler günde 24 saat sürekli veya iki kez 30'ar dakika şeklinde yapılmıştır. 24 saat boyunca yapılan gözlemlerde %95 oranında östrüs belirlenebilirken, günde iki kez 30'ar dakika yapıldığında bu oran %56'ya düşmüştür. Araştırmacı, yapılacak tohumlamalarda ortalama %70 gebelik oranı hesabıyla; ilk gözlem yönteminde % 67, diğerinde ise %39 gebelik oranı elde edilebileceğini, bunun da birim tohumlama ve doğum-yeniden gebe kalma aralığını artıracağını bildirmiştir.

Östrüs belirlenmesin de kullanılan yöntemler; gözlem, kayıt sistemleri, kamar cihazı, marker ve diğer boyaların kullanılması, video kayıtları, pedometre, arama hayvanları, süt progesteron testleri, vaginal direnç ve pH'sının ölçülmesi gibi yöntemlerden faydalanılmaktadır (O'Connor 1993, Sarıbay 2002, Perry 2004, Wilson ve Gilson 2005). Bu yöntemlerden başka veteriner hekimler tarafından da yapılan rektal muayene ile östrüs belirlenmesi yapılabilmektedir. Bu yöntem oldukça fazla deneyim istemekte ve kimi zaman tekrarlanan muayenelere gereksinim göstermektedir (Salmanoğlu ve ark 1999).

Östrüs aktivitesini etkileyen faktörleri sıralayacak olursak; ahır sistemi ve zemini, ayak hastalıkları, sürüdeki aynı andaki östrüs ve proöstrüsteki hayvan sayısı, gözlem zamanı, iklim, beslenme, sistemik hastalıklar, uterus ve ovaryumdaki patalojik durumlar, yaş, sağmal hayvanlardaki süt verimi ve sürüde boğa bulunmasını sayabiliriz. Bu faktörlerin varlığı östrüs belirtilerinin şiddetini, östrüs ve östrüs siklusunun süresini etkilemektedir (O'Connor 1993, Sarıbay 2002).Ülkemizde işletmeler küçük aile işletmesi tipinde ve sabit yetiştirme şeklindedir. Bu tür işletmelerde östrüs belirlemede sekunder östrüs belirtilerinin dikkate alınması, östrüs tespitinde hata oranlarını arttırmaktadır (Aksoy ve ark 1993).

Östrüs tayininde kullanılan en pratik yöntem ineklerin doğrudan gözlenmesidir (Aksoy ve ark 1993). Bu yöntemde hayvanlar, östrüs belirtileri yönünden günde en az 2 kez olmak üzere 30'ar veya 45'er dakika süre ile gözlenmekte ve genellikle bu gözlemler sabah erken ve akşam saatlerinde yapılmaktadır (Salmanoğlu ve ark 1999, Wilson ve Gilson 2005).

Gözlem sırasında yukarıda bahsedilen östrüs aktivesini etkileyen faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Bu faktörlerin içinde gözlem zamanı oldukça önemlidir. O'Connor (1993) hayvanların % 70'nin östrüslerini saat 19:00 ile 07:00 arasında gösterdiğini, Selk (2004) ise, saat 18:00 ile 06:00 arasında gözlenen östrüs oranının %68

olduğunu bildirmektedirler. Bu nedenle gece gözlenmeyen ineklerde östrüs ve tohumlama zamanının belirlenmesinde hatalar olabilmektedir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2: Gün içerisinde saatlere göre östrüs gösterme ranları (Selk 2004)

Kontrol Saati	Östrüs Gösterme Oranı
Saat 06.00 - 12.00	% 22
Saat 12.00 -18.00	% 10
Saat 18.00 - 24.00	% 25
Saat 24.00 - 06.00	% 43

İneklerde gözlemle östrüs saptanmasında sık karşılaşılan sorunlar arasında proöstrüs ile östrüs semptomlarının oldukça benzer olması ve kızgınlık süresinin bireyler arasında değişkenlik göstermesi sayılabilir (Kaya ve Gülyüz 2005). Son yıllarda östrüs gözleminden doğabilecek hataları bertaraf etmek için $PGF_2\alpha$ kullanıldığı östrüs senkronizasyonu ile kontrollü suni tohumlamalara sıklıkla başvurulmaktadır (Salmanoğlu ve ark 1999).

2.3. İneklerde Östrüs Senkronizasyonu

Östrüs senkronizasyonu; östrüs ve ovulasyonun istenilen zamana göre planlanması olarak tanımlanmaktadır (Diskin ve ark. 2002). Bu amaçla eksojen hormon uygulamaları ile seksüel siklusa müdahale edilmektedir (Cirit 2002).

Sığırlarda östrüs senkronizasyonunun amaçlarını ve yararlarını şu şekilde sıralamak mümkündür;

a) Tohumlama-aşımları planlanan zaman içinde yapmak.

b) Östrüsleri kısa bir süre içinde toplulaştırmak, zaman ve işçilik tasarrufu sağlamak.

c) Embriyo nakli uygulamalarına olanak sağlamak.

d) İlk tohumlamada gebe kalmayan hayvanların izlenmesini kolaylaştırmak.

e) Gebelikleri istenen zamana göre ayarlayarak hayvanlarda bakım ve beslemeyi kolaylaştırmak.

f) Doğumları istenen bir süreçte yaptırmak ve dikkatli gözlemler ile doğum sırasında meydana gelebilecek kayıpları azaltmak.

g) Sürüde bir örnek gençleşmeyi sağlamak.

h) Ovulasyonu da senkronize ederek östrüs belirtileri gözlenmeden sabit zamanlı tohumlama yapabilmek.

ı) Östrüsün belirlenmesin zor olduğu, özellikle etçi sığır sürülerinde suni tohumlama uygulamalarına olanak sağlaması ve uygulamaların kolaylaştırılması.

i) Postpartum 45-56. günde tohumlama yapılarak yılda bir yavru almak (Sönmez 1990, Alaçam 1994a, Aral ve Çolak 2004, Bülbül ve Ataman 2005b, Gordon 2005).

Etkili bir östrüs senkronizasyon yönteminde, östrüslerin 12-24 saat içinde toplanması, yüksek östrüs ve ovulasyon cevabının oluşması ve bir suni tohumlama uygulamasıyla yüksek gebelik oranı elde edilmesi istenir (Diskin ve ark. 2002).

2.3.1. Senkronizasyon Yöntemlerinin Prensipleri

İneklerde östrüs senkronizasyonu luteal fazın kısaltılması, uzatılması ve folliküler gelişimin uyarılması esaslarına dayandırılmaktadır:

2.3.1.1. Luteal fazın kısaltılması

Bu yöntemde luteolitik etkiye sahip hormonların kullanılarak luteal fazın kısaltılması ve yeni bir siklusun başlatılması esası güdülmektedir (Alaçam 1994a, Bülbül ve Ataman 2005b). Bu amaçla; günümüzde $PGF_2\alpha$ ve analogları kullanılmaktadır. Östrüs senkronizasyonun da $PGF_2\alpha$; seksüel siklusun luteal döneminde tek doz, siklik dönem bilinmiyorsa 11 veya 14 gün arayla çift doz enjeksiyon şeklinde uygulanır ve 2-4 gün içinde östrüs belirtileri takip edilerek tohumlanır. Sabit zamanlı tohumlama yapılacaksa ikinci enjeksiyondan sonra ineklerde 72-96., düvelerde ise 48-72. saatlerde östrüs belirtilerine bakılmadan tohumlanabilir. (Alaçam 1994a).

Yapılan bir çalışmada; sağmal ineklerde tek doz $PGF_2\alpha$ uygulamasından sonra %48.5 östrüs ve tohumlanan ineklerden %46.3 gebelik, düvelerde %39.7 östrüs, ve tohumlanan düvelerden %71 gebelik oranı elde edilmişlerdir (Pursley ve ark 1997b).

Young (1989) 82 inek üzerinde yürüttüğü bir çalışmada; 41 ineğe 14 gün aralıkla, 41 ineğe ise 11 gün aralıklarla 25 mg dinoprost uygulamış ve gebelik oranları sırasıyla %51 ve %44 olarak bulunmuştur. Araştırmacı 14 gün arayla uygulanan $PGF_2\alpha$ enjeksiyonunun daha uygun olduğunu belirtmektedir. Yapılan bir başka çalışmada; araştırmacılar 14 gün ara ile $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu uyguladıkları 101 hayvanda östrüs oranı %55.5 ve gebelik oranı ise %31.7 olarak tespit edilmiştir (Stevenson ve ark 1999).

Bülbül ve Ataman (2005a) yaptıkları çalışmada; 11 gün arayla çift doz $PGF_2\alpha$ uyguladıkları 25 baş hayvanda %100 östrüs oranı ve %84 gebelik oranı elde ettiklerini bildirmişlerdir.

2.3.1.2. Luteal fazın uzatılması

Bu yöntemde siklik hayvanlarda luteal faz gestagenler ile uzatılmaktadır. Bu amaçla kullanılan progestagenler, oral, kas içi enjeksiyon, deri altı implant, vaginal sünger (sponj) veya vaginal spiral (PRID) formlarında uygulanabilmektedir (Çoyan 2002b).

PRID takıldıktan sonra 12 gün, kulak deri altı implant ise 9 gün sonra çıkartılmaktadır. Progestagenlerin uygulanma süresi bir diöstrüs süresidir (Çoyan ve Tekeli 1996). Progesteron uygulamasının sonunda, olası fizyolojik CL regresyonunu sağlamak için luteolitik bir hormon kullanılması önerilmektedir (Bülbül 2004).

PRID ve deri altı implantın uzaklaştırılmasından sonra 56. saatte tek veya 48-72. saatlerde çift tohumlama yapılmaktadır (Çoyan 2002b).

Controlled Internal Drug Releasing (CIDR) ise yapısında 1.38 veya 1.9 g progesteron içermektedir (El-Zarkouny ve Stevenson 2004, Ryan ve ark 1995) İntravaginal olarak uygulanması ile östrüs senkronizasyonu yapılmaktadır (Ryan ve ark 1995).

Smith ve Steveson (1995) yapmış oldukları bir çalışmada; bütün hayvanlara $PGF_2\alpha$ uygulaması yapmışlar, kontrol grubunda $PGF_2\alpha$ uygulamasından 14 gün sonra 2. doz $PGF_2\alpha$ uygulamışlar ve %62 östrüs, %50 gebelik oranları elde etmişlerdir. PRID grubunda ise; $PGF_2\alpha$ uygulamasından sonraki 8. gün PRID uygulaması, 14. gün 2. doz $PGF_2\alpha$ uygulaması. 2. doz $PGF_2\alpha$ uygulamasından 24 saat sonra da PRID'leri uzaklaştırmışlardır ve %66 östrüs. %56 gebelik oranı elde etmişlerdir. İmplant grubunda ise; yine $PGF_2\alpha$ uygulamasından sonraki 8. gün kulak derisi altına implant uygulaması, 14. gün 2. doz $PGF_2\alpha$ uygulaması, 15. gün implantı uzaklaştırmışlardır ve %64 östrüs, %49 gebelik oranı elde etmişlerdir

Yapılan bir başka çalışmada araştırmacılar; 13 gün arayla çift doz $PGF_2\alpha$ uygulaması ile 12 gün süre ile tutulan PRID uygulamalarını karşılaştırmışlardır. PRID grubunda %85.7 östrüs, %62.5 konsepsiyon ve %53.6 gebelik oranı elde etmişlerdir. $PGF_2\alpha$ grubunda ise %91.7 östrüs, %74.6 konsepsiyon ve %68.3 gebelik oranı elde etmişlerdir (Voh Jr ve ark. 2004).

Bülbül ve Ataman'ın (2005a) yapmış oldukları çalışmada; PRID grubunda 1.55 gr progesteron +10 ng EB içeren PRID 12 süreyle uygulanmış, uzaklaştırılmadan 24 saat önce $PGF_2\alpha$ uygulanmış, PRID uzaklaştırıldıktan sonraki 48 ve 72 saatlerde 2 kez sabit zamanlı şekilde tohumlamışlar. İmplant grubunda ise; 3 μg norgestomat içeren deri altı

implant 9 gün süreyle uygulanmış, implant deri altına yerleştirilmiş ve aynı anda 3 μg norgestomat + 5 μg Östradiol valerate enjeksiyonu yapılmış, implant uzaklaştırılmadan 24 saat önce $PGF_2\alpha$ uygulaması ve uzaklaştırıldıktan 48 ve 72. saatlerde sabit zamanlı olarak 2 kez tohumlamışlar. İki grupta da östrüs oranı %100 iken, gebelik oranlarını PRID grubunda %84, implant grubunda %72 olarak elde etmişlerdir.

Martinez ve ark'ın (2000) yapmış oldukları çalışmada progesteron preparatı olarak CIDR-B kullanmışlardır. Düveler üzerinde yürüttükleri bu çalışmada 3 grup oluşturmuşlar, birinci grupta (E+P grubu) 0. gün CIDR uygulaması ve 1 mg EB + 100 mg Progesteron enjeksiyon şeklinde uygulamışlar, 7. gün $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu ve CIDR uzaklaştırmışlar, bundan 24 saat sonra tekrar 1 mg EB uygulanmış ve bundan da 30 saat sonra sabit zamanlı olarak tohumlamaları yapmışlar. İkinci grupta (GnRH grubu) ise; 0. gün CIDR uygulaması ve 100 μg Gonadorelin acetate enjeksiyonu, 7. gün CIDR uzaklaştırılması ve $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu ve bundan 54 saat sonra 100 μg GnRH uygulaması ve sabit zamanlı tohumlama yapmışlar. Üçüncü grupta (kontrol grubu) ise 0. gün CIDR uygulaması, 7. gün CIDR uzaklaştırılması ve $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu, $PGF_2\alpha$ enjeksiyonundan sonraki 5 gün östrüsler gözlemlenmiş ve östrüs gösterenler 12 saat sonra tohumlamışlar. Östrüs gösterme ve gebelik oranları sırasıyla; kontrol grubunda %83 ve %38, E+P grubunda %100 ve %76, GnRH grubunda ise %55 ve %48 olarak elde etmişlerdir.

2.3.1.3. Folliküler gelişimin uyarılması

Folliküler dalganın ve siklusun yeniden başlatılması amacıyla GnRH ve LH etkili bir hormonun uygulanması prensibine dayanır (Xu ve Burton 2000).

İnek ve pubertasa erişmiş düvelerde reprodüktif fonksiyonların başlatılması ve düzenlenmesinde, hipotalamustaki nöronlardan salgılanan GnRH önemli rol oynar. Progesteron konsantrasyonunun yüksek olduğu luteal dönemde, GnRH salınımı inhibe edilmekte, progesteron konsantrasyonun düşük olduğu foliküler fazda GnRH salınımı uyarılmaktadır. Östradiol ise progesteron konsantrasyonuna bağlı olarak etkisini göstermektedir. Folliküler fazda oluşan bu pozitif feedback etki LH ve FSH'nın preovulatör dalgalanmasını sağlayacak GnRH salınımına yol açmaktadır (Cirit 2002).

Folliküler dalga; bir grup (4-6 adet) follikülün senkronize bir biçimde büyümeye başlamasıdır (Ginther ve ark 1989). Folliküler dalga ile gelişen follikülerin çapı 4-5 mm'ye ulaştığında, içlerinden bir tanesi dominant follikül olarak gelişimine devam etmekte diğerleri atreziye olmaktadır (Garcia ve ark 1999). Dominant follikülün diğer follikülerin

gelişimini baskılaması sebebiyle sığırlarda genellikle tek bir folikül ovule olmaktadır (Cirit 2002).

Bir östrüs siklusu içerisinde inek ve düvelerde oluşan folliküler dalga sayısı genellikle 2-3 olup (Çoyan 2002a), daha az olarak ta 1 veya 4 folliküler gelişim dalgası görülmektedir (Bülbül ve Ataman 2003). Bir siklusun içerisinde gelişen dalga sayısına etki eden faktörler tam olarak tespit edilememiştir (Garcia ve ark 1999). Ginther ve ark (1989)'na göre iki dalgalı sikluslarda folliküler dalganın ortaya çıkış günleri, siklusun ortalama 0.2±0.1 ve 9.6±0.2 günleri, üç dalgada ise -0.5±0.3, 9.0±0.0 ve 16.0±1.1 günleri, Siros ve Fortune (1988)'nin bildirdiklerine göre ise; iki dalgada 2 ve 11. günler, üç dalgada ise 1.9±0.3, 9.4±0.5 ve 16.1±0.7 günlerde ortaya çıktığını bildirmişlerdir (Bülbül 2004).

Luteolizisin senkronizasyonu amacıyla kullanılan $PGF_2\alpha$ ve analoğlarına verilecek cevabın yüksek olması, uygulama esnasındaki folliküler dalganın durumuna bağlıdır (Kaya ve ark 1999). Bundan dolayı prostaglandin enjeksiyonu sırasında olgun bir CL bulunması ve luteolizisi uyarmadan önce bir GnRH analoğu ile folliküler dalganın da senkronize edilmesi daha yüksek senkronizasyon oranı sağlamaktadır (Xu ve Burton 2000).

GnRH ve agonistlerinin; CL yaşam süresini uzatır ve kısmen CL spontan luteolizise karşı korur. Buna bağlı olarak da bazı araştırmacılar; GnRH ve LH etkili hCG'nin östrüs senkronizasyonunda kullanılabileceğini ve senkronize edilen hayvanlarda ovulasyon ve gebelik şansının yükseltilmesinde kullanılabildiğini bildirmektedirler (Tek ve ark 2003).

Ovsynch; Son yıllarda GnRH-$PGF_2\alpha$-GnRH kombinasyonu şeklinde kullanılan ovulasyon senkronizasyon programıdır. $PGF_2\alpha$ enjeksiyonundan 48 saat sonra ikinci GnRH enjeksiyonu uygulanarak östrüs tespitine gerek kalmaksızın, tohumlamanın ikinci GnRH enjeksiyonundan 16 saat sonra yapılmasına olanak sağlamaktadır. Ovsynch programı ile özellikle östrüs takibi sonucu yapılan bazı hataları eliminasyonu ile reprodüktif performansları iyileştirilebilmektedir (Xu ve Burton 2000).

GnRH enjeksiyonlarının folliküler gelişimi hızlandırdığı, luteal yetmezliği gidererek ovulasyon ve luteinizasyon sağladığı, sekunder folliküleri luteinize ederek, CL formasyonunu güçlendirdiğini bildirilmiştir (Çınar 1999). Buna bağlı olarak ovsynch yönteminin en önemli avantajları arasında, ilk GnRH enjeksiyonunun ovaryumlarda ek CL oluşturarak $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu esnasında luteal dokunun bulunmasının sağlanması, ikinci GnRH enjeksiyonu ile ovulasyonların uyarılması sonucu östrüsün gözlenmesi zorunluluğunun ortadan kalkması sayılabilir (Aral ve Çolak 2002).

Stevenson ve ark (1999); yaptıkları çalışmada ikinci GnRH enjeksiyonunu $PGF_2\alpha$ enjeksiyonundan 33 ve 48 saat sonra uygulamışlardır. Araştırmacılar Tablo 2.3'deki sonuçları bulmuşlardır. Sonuçlara bakıldığında gebelik oranına göre 48. saatte yapılan uygulamalardan daha yüksek cevap alınacağı bildirilmiştir.

Tablo 2.3: İkinci GnRH uygulama saatlerinin karşılaştırılması (Stevenson ve ark 1999).

$PGF_2\alpha$- GnRH enjeksiyon arası (saat)	İnek sayısı (n)	$PGF_2\alpha$ östrüs arası (saat)	Gebelik oranı (%)
33	68	54±13	22.1
48	115	55±4.4	35.6

Pursley ve ark (1997b); inek ve düvelerde ovsynch ile senkronizasyon sonucunda gebelik oranlarını değerlendirdikleri çalışmada; ineklere 0. gün 100 μg GnRH, 7. gün 25 mg $PGF_2\alpha$ ve bundan 30-36 saat sonra 100 μg GnRH enjeksiyonları yapılarak 16-20 saat sonra tohumlayarak ovsynch protokolü uygulamışlardır. Kontrol grubuna ise 3 kez 14 gün arayla 25 mg $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu ve üçüncü enjeksiyondan sonraki 72-80 saatler arasında tek tohumlama yapılmıştır. Çalışma grubunda bulunan ineklerde %37.8, kontrol grubunda ise %38.9 gebelik oranı elde edilmiştir. Aynı protokolün düvelerde uygulanması sonucunda çalışma grubunda %35.1, kontrol grubunda ise %74.4 gebelik oranı elde edilmiştir. Düvelerde gebelik oranı, ovsynch programında düşük bulunmasına neden olarak; ineklerin %86.2'sinde $PGF_2\alpha$ uygulama zamanında kan progesteron seviyesinin yüksek düzeyde olması, buna karşılık düvelerde bu oranın %54 seviyesinde kalmasını öne sürmektedirler. Böylece ilk GnRH enjeksiyonunda düvelerde %54 düzeyinde ovulasyon gerçekleşirken; ineklerde %85 oranında ovulasyon gerçekleşmiştir. Bu da ineklerin östrüs siklusunun herhangi bir zamanında LH salınımına cevap veren dominant bir follikülün olduğunu göstermektedir. Düvelerde folliküler dalganın bu şekilde senkronize edilememesinden dolayı; ovulasyon düzeyinin düşük oluşu ovasynch programında başarıyı düşürmektedir.

Nak ve ark'ın (2005a) yaptıkları çalışmada ovsynch uyguladıkları siklik ve asiklik anöstrüslü düvelerde toplamda %58.8 gebelik oranları elde etmişlerdir. Çalışmada kullandıkları 34 baş hayvanın 28 adedinin siklik anöstrüste olduğu ve bu hayvanlarda %50

gebelik oranı, 6 tanesinin asiklik anöstrüste olduğu ve bu hayvanlardan %100 gebelik oranı elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Tek ve ark (2003) yaptıkları bir çalışmada grubun birinde ilk GnRH yerine hCG kullanmış ve diğer grupta ise son GnRH yerine hCG uygulamışlardır. Birinci GnRH yerine hCG uyguladıkları grupta %58.9 ve diğer grupta ise %48.7 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmişlerdir.

Cosynch; Ovsynch metoduna benzer bir senkronizasyon metodudur. Ovsynch programında olduğu gibi 0. gün GnRH ve 7. günde $PGF_2\alpha$ uygulaması yapılır. Sonrasında ovsynch programından farklı olarak 9. gün yapılan GnRH enjeksiyonu ile birlikte tohumlama yapılır. Östrüs gözlemi gerektirmemesi ve gebelik oranın diğer senkronizasyon metotlarıyla karşılaştırıldığında yeterli düzeylerde olması sebebiyle avantajlı bir metottur (Merrel 2003).

Dejarnet ve Marshall (2003), cosynch protokolün de $PGF_2\alpha$ enjeksiyonundan sonra 60-64. saatlerde tohumlamayla birlikte ikinci GnRH uygulanmasının yapılacağını bildirmektedirler.

Martinez ve ark (2002) yaptıkları çalışmada cosynch uyguladıkları ineklerden %45.1, düvelerde %39.1 gebelik elde etmişlerdir. Yaptıkları diğer bir çalışmada cosynch uygulamasında birinci GnRH ile $PGF_2\alpha$ aralığını 6 gün ile 7 gün olarak karşılaştırmışlar ve 6 günde %52.4, 7 gün aralığında ise %52 oranında gebelik elde ettiklerini ve her iki uygulamanın da uygulanabileceğini bildirmişlerdir.

Selectsynch; Ovsynch programında olduğu gibi 0. gün GnRH uygulaması sonrası 7. günde $PGF_2\alpha$ uygulaması ve bundan sonra östrüs takibine göre tohumlamalar yapılır. Tohumlama için hayvanlar $PGF_2\alpha$ enjeksiyonundan sonra 120 saat (5 gün) gözlem yapılarak östrüs belirtilerini gösterenler östrüs başlangıcından 8-12 saat sonra tohumlanır (Wilson 2003).

Stevenson ve ark (1999) yaptıkları çalışmada GnRH+$PGF_2\alpha$ protokolünü uyguladıkları 74 baş hayvandan östrüs gösterme ve tohumlama oranını %82.3 ve gebelik oranını ise %25.6 olarak tespit etmişlerdir.

Kaya ve ark (1999) östrüs senkronizasyonu için kullanılan GnRH+$PGF_2\alpha$ kombinasyonu ile çift doz $PGF_2\alpha$ uygulamalarının karşılaştırılması amacıyla yaptıkları bir çalışmada; ineklerin östrüs siklusunun evresine bakılmaksızın I. gruba 0. gün 20 μg GnRH,

7. gün ise $PGF_2\alpha$ uygulanmıştır. İkinci gruba ise 11 gün aralıkla $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu yapılarak hayvanlar senkronize edilmiştir. Ortalama enjeksiyon–östrüs aralığı I. ve II. gruplarda sırasıyla, 54.3±3.2 ve 62.2±3.2 saat, gebelik oranı I. ve II. gruplarda sırasıyla %60 ve %40 olarak bulunmuştur. Araştırmacılar östrüs senkronizasyonu amacıyla GnRH-$PGF_2\alpha$ kombinasyonunun kullanılmasının daha yararlı olacağını bildirmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada; inekler seksüel siklusun hangi evresinde olduğuna bakılmaksızın 0. gün 10 μg buserelin ve 7. gün 500 μg cloprostenol uygulanarak bundan sonraki 48 ve 72. saatlerde iki kez tohumlanmıştır. Östrüs oranı %96 ve gebelik oranı ise %62.5 olarak tespit edilmiştir (Bülbül 2004).

Heatsynch protokolü; 0. gün GnRH, 7. gün $PGF_2\alpha$ ve bir gün sonra östradiol cypiyonat (ÖCP) enjeksiyonu yapılmaktadır. Tohumlama ise sabit zamanlı olarak ÖCP enjeksiyonundan 42-50 saat sonra yapılmaktadır (Stevenson ve Tiffany 2004). Östradiol 17ß, foliküler fazda GnRH salınımın da pozitif feedback etkiye sahiptir. Bu etki ile LH salınımına neden olur (Cirit 2002). Östradiol'ün LH üzerine pozitif feedback etkisine bağlı olarak ovulasyonun senkronizasyonunda kullanılabileceği belirtilmektedir (El-zarkouny ve Stevenson 2004).

Stevenson ve Tiffany (2004) yaptıkları çalışmada; heatsynch ve ovsynch protokollerini karşılaştırmışlardır. Kullanılan hayvanların ovaryum faaliyetlerine göre, folliküler kistli, luteal kistli, anöstrüs, proöstrüs, metöstrüs, erken diöstrüs ve geç diöstrüs şeklinde gruplandırılmıştır ve elde edilen sonuçlar Tablo 2.4'de verilmiştir. Araştırmacılar ovsynch protokolü ile en iyi sonucu erken diöstrüs ve foliküler kistli hayvanlarda, heatsynch protokolünde ise luteal kistli ve proöstrüsdeki hayvanlardan almışlardır.

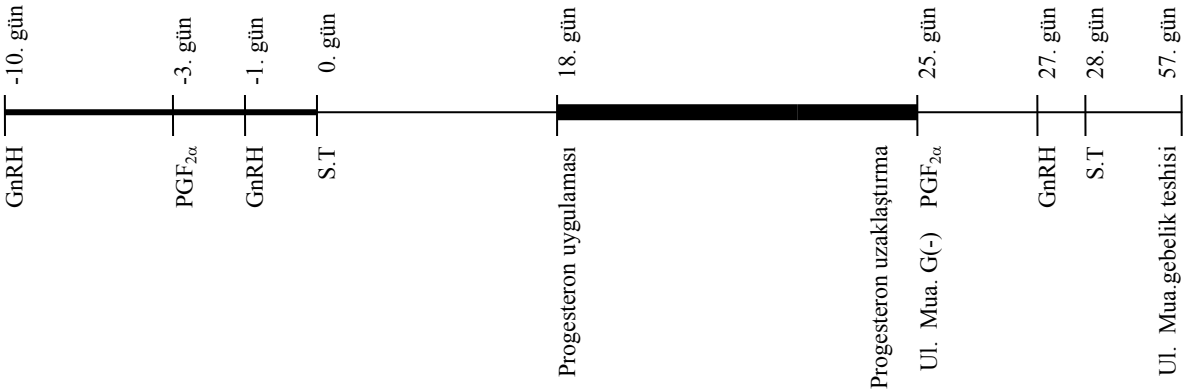
Tablo 2.4: Ovaryum yapısına göre heatsynch ve ovsynch sonuçlarının karşılaştırması (Stevenson ve Tiffany 2004).

Gebelik oranı (%)	Folliküler kist	Luteal kist	Anöstrüs	Proöstrüs	Metöstrüs	Erken diöstrüs	Geç diöstrüs
Ovsynch	33.3 (6)	16.7 (6)	14.3 (7)	13.0 (23)	30.0 (10)	36.4 (107)	17.6 (34)
Heatsynch	16.7 (6)	50.0 (6)	7.7 (13)	35.6 (28)	0 (8)	30.4 (102)	17.6 (34)

2.4. Resenkronizasyon

Ultrosonografi ile gebeliğin teşhisi tohumlamadan sonra 20-25. günler arasında yapılabilmektedir. Böylece gebe olmayan hayvanların tespiti yapılmakta ve bu hayvanların tekrar tohumlanması mümkün olabilmektedir. Tohumlamadan sonra gebe kalmayan hayvanları yeniden senkronize ederek tekrar tohumlayabilmek için hazırlanan programlara resenkronizasyon programları denir (Stevenson ve Tiffany 2004).

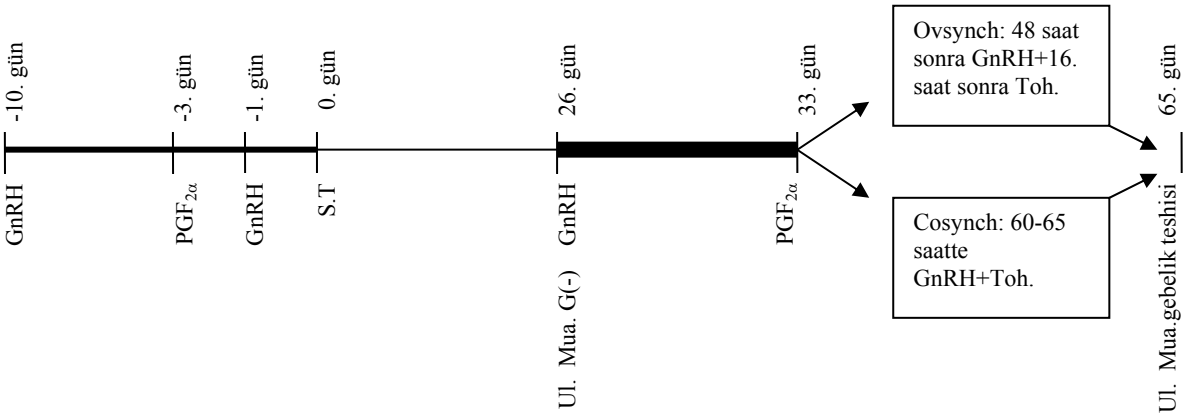
Bunun için değişik yöntemler uygulanmaktadır. Bunlardan bir tanesi senkrozine edilip tohumlanan hayvanlara 18 gün sonra bir progesteron preperatı uygulamasını takiben (PRID, İmplant veya CIDR) 25. gün progesteron preperatı uzaklaştırılmakta ve aynı gün ultrason ile gebelik kontrolü yapılmaktadır. Gebe olmadıkları tespit edilen hayvanlara $PGF_2\alpha$ uygulanır. $PGF_2\alpha$ enjeksiyonundan 48 saat sonra GnRH enjeksiyonu ile ovulasyon da senkronize edilerek 12–18 saat sonra sabit zamanlı tohumlama yapılabilmektedir (Şekil 2.2). Böylece hayvanlar sürekli olarak kontrol altında tutulmaktadır (Çoyan 2005).



Şekil 2.2: Resenkronizasyon protokolü (Progesteron ile18. gün).

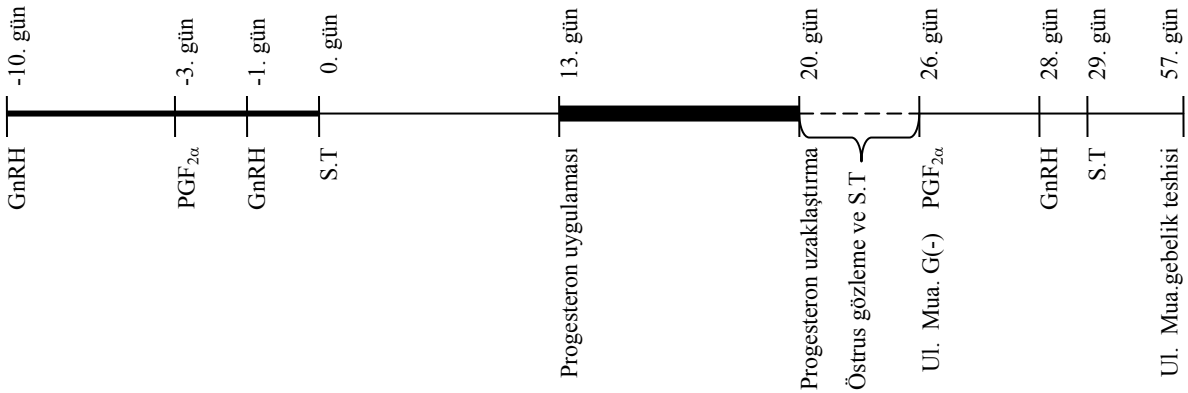
Bir başka yöntem ise sabit zamanlı tohumlamadan sonra GnRH ile senkronizasyona başlayarak tekrar sabit zamanlı tohumlama programlarından biri seçilerek resenkronizasyona tabi tutmaktır. Fricke ve ark (2003) yaptıkları çalışmada; ovsynch ile sabit zamanlı tohumlanan inekleri 3 gruba ayırmışlar, birinci grupta; tohumlamadan sonraki 19. gün GnRH uygulaması yapılmış ve 26. gün ultrason ile gebelik muayenesi yapılarak gebe olmayanlara $PGF_2\alpha$ uygulanmış ve bu uygulamadan 2 gün sonra tohumlamayla birlikte ikinci GnRH uygulaması yapılmıştır. İkinci grupta; 26. gün ultrason ile gebelik muayenesi yapılarak gebe olmayanlara GnRH uygulaması, 33. gün $PGF_2\alpha$ ve 35. gün tohumlamayla birlikte son GnRH uygulaması yapmışlardır (Şekil 2.3). Son grupta ise 33. gün ultrason ile gebelik muayenesi yapılarak gebe olmayanlara GnRH uygulaması,

40. gün $PGF_2\alpha$ ve 42. gün tohumlamayla birlikte son GnRH uygulaması yapılmıştır. Araştırmacılar resenkronizasyona 19. gün başlanan grupta %23, 26. gün başlanan grupta %34 ve 33. gün başlanan grupta ise %38 oranında ikinci tohumlamadan gebelik elde ettiklerini, 26 ve 33. günlerde başlanan uygulamaların daha başarılı olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 2.3: Resenkronizasyon protokolü (GnRH ile 26. gün).

Yapılan başka bir çalışmada ise; resenkronizasyon amaçlı CIDR kullanılmıştır. Hayvanlar iki gruba ayrılmış bir grup kontrol grubu iken diğer gruba tohumlamadan 13 gün sonra CIDR uygulanmış ve 20. gün uzaklaştırılmıştır. 20-26. günlerde hayvanların östrüsleri takip edilmiş ve östrüs gösterenler tohumlanmıştır. 29-57. günler arasında ise ultrasonla gebelik kontrolleri yapılmıştır (Şekil 2.4). Sonuç olarak ikinci tohumlamalarda CIDR kullanılan grupta %20 kontrol grubunda %31.6 oranında gebelik elde edilmiştir (El-Zarkouny ve Stevenson 2004).



Şekil 2.4: Resenkronizasyon protokolü (Progesteron ile 13. gün).

Colazo ve ark (2005) yaptıkları çalışmada farklı resenkronizasyon protokollerini karşılaştırmışlardır. Birinci grupta (C grubu); tohumlamadan 13 gün sonra CIDR takılmış ve 20. gün CIDR uzaklaştırılmıştır. İkinci grupta (CÖP grubu); tohumlamadan 13 gün sonra CIDR takılmasıyla birlikte 1.5 mg östrodiol 17 β ve 50 mg progesteron enjeksiyonun uygulandığı ve 20. gün CIDR uzaklaştırılmıştır. Üçüncü grupta (CÖPÖ grubu); tohumlamadan 13 gün sonra CIDR takılmasıyla birlikte 1.5 mg östrodiol 17 β ve 50 mg progesteron enjeksiyonun uygulanmış. 20. gün CIDR uzaklaştırılmış ve 21. gün 0.5 mg östrodiol 17 β enjeksiyonu yapılmıştır. Kontrol grubunda ise hiçbir uygulama yapılmamıştır. Araştırma sonuçları Tablo 2.5'de verilmiştir. Araştırmacılar CÖP grubunda en iyi sonuçları aldıklarını bildirmişlerdir.

Tablo 2.5: Düvelerde farklı resenkronizasyon metotlarının karşılaştırılması (C= 7gün CIDR 13. gün. CÖP= C +(1.5 mg Ö-17b + 50 mg Progesteron 13. gün). CÖPÖ= CÖP + 0.5 mg Ö-17b 21. gün) (Colazo ve ark. 2005).

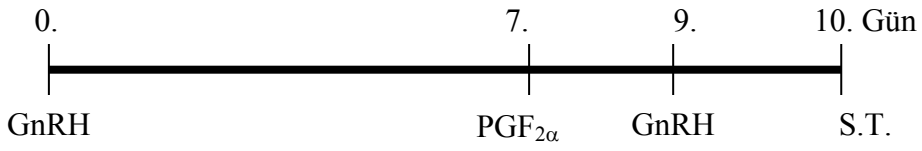
		C	CÖP	CÖPÖ	Kontrol
Sabit zamanlı ilk toh.	Düve sayısı	93	93	93	93
	İlk toh. Gebelik sayısı	44	46	31	42
	Gebelik oranı (%)	***47.3***	***49.5***	***33.3***	***45.2***
Resenkronizasyon	İlk toh. Gebe kalmayan	49	47	62	51
	Östrüs gösteren	45	45	59	45
	Östrüs oranı (%)	91.8	95.7	95.2	88.2
	İkinci toh. Gebe kalanlar	29	33	35	28
	Gebelik oranı (%)	***59.2***	***70.2***	***56.4***	***54.9***
Toplam Gebelik oranı (%)		**78.5**	**84.9**	**71**	**75.3**

3. MATERYAL VE METOT

Çalışma Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nde yetiştirilmekte olan ve yaşları 22-36 ay arasında değişen 44 baş İsviçre Esmeri düve üzerinde yürütülmüştür. Hayvanlar çalışma süresince işletmenin hayvan besleme bölümün hazırlamış olduğu rasyon (yonca otu, mısır silajı, buğday sapı balyası, pancar posası vs) ile beslendi. Hayvanlar otomatik sulukların bulunduğu ve gezinme alanına sahip yarı açık ahırlarda barındırıldı.

Çalışmada kullanılacak hayvanların siklik olup olmadıkları 10 gün ara ile iki kez rektal muayene yapılarak tespit edildi. Siklik oldukları tespit edilen hayvanlar standart ovsynch protokolü ile östrüs senkronizasyonuna tabii tutuldu, 0. gün GnRH analoğu (10 µg burserelin, Receptal® İntervet, İstanbul, Türkiye), 7. gün $PGF_2\alpha$ analoğu (0.150 mg d-kloprostenol, Dalmazin® Vetaş, İstanbul, Türkiye), $PGF_2\alpha$ uygulamasından 48 saat sonra 2.GnRH enjeksiyonu (10 µg burserelin) ve bu uygulamadan 16-18 saat sonra sabit zamanlı tohumlama yapıldı (Şekil 3.1). Tohumlamayı takiben inekler tesadüfî örnekleme yöntemi ile 3 gruba ayrıldı.

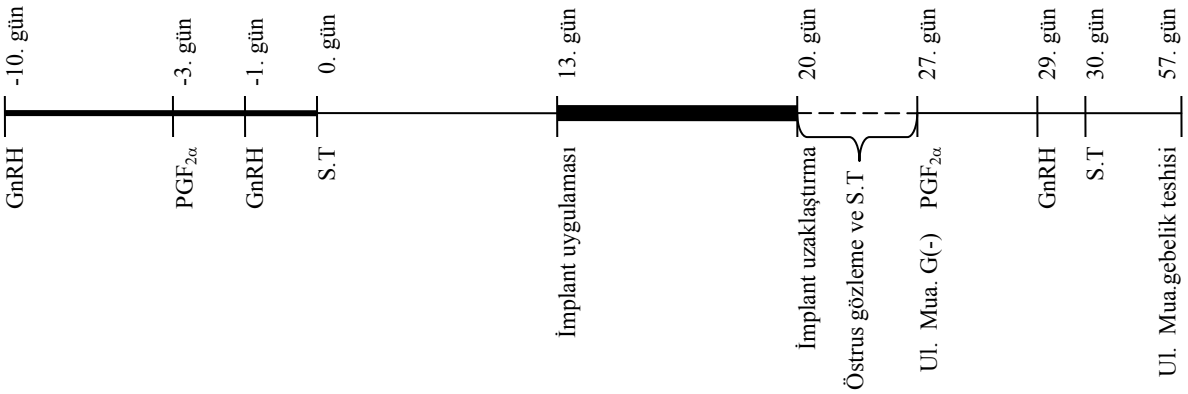
Standart Ovsynch Protokolü



Şekil 3.1.Standart Ovsynch protokolü.

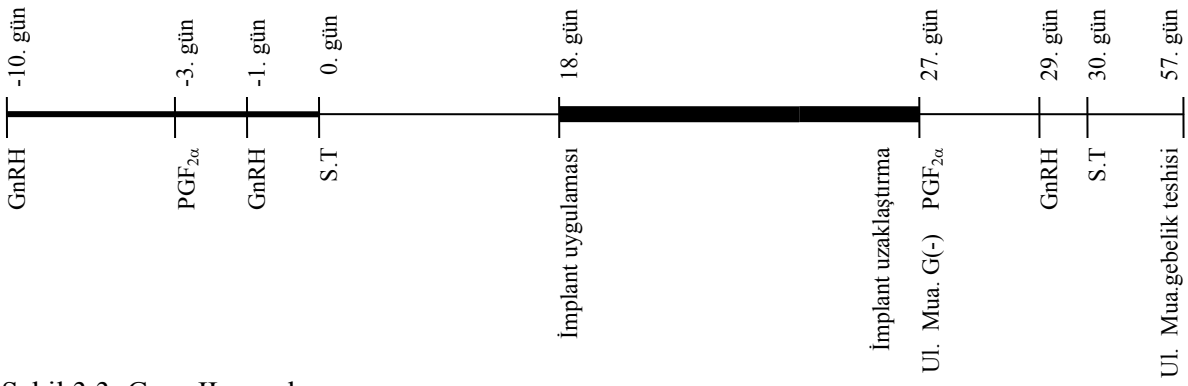
Grup I; çalışma 17 hayvan üzerinde yürütüldü. Standart ovsynch protokolünden sonra tohumlama günü 0. kabul edilerek, tohumlamadan sonraki 13. gün hayvanlara 3 µg norgestomet içeren kulak deri altı implantı (Crestar® İntervet, İstanbul, Türkiye) uygulaması yapıldı. Takılan implant 20. günde uzaklaştırıldı. İmplantın uzaklaştırılmasından sonra 7 gün süre ile hayvanların östrüsleri takip edildi. Östrüs gösterenler tekrar tohumlandı, göstermeyenler ise 27. gün ultrason ile gebelik teşhisleri yapıldı ve gebe olmayanlara $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu yapılarak hayvanlar tekrar senkronize edildi (Şekil 3.2). Tekrar ovulasyonu senkronize etmek için 29. gün yani $PGF_2\alpha$ enjeksiyonundan 48 saat sonra GnRH uygulaması ve bundan 16-18 saat sonra tekrar sabit zamanlı tohumlama yapıldı. 57. gün ise tohumlanan bu hayvanlara ultrason ile gebelik muayenesi yapıldı. Tohumlamadan sonraki 13. gün (implant takılırken) ve gebe

kalmayanlardan 27. gün ($PGF_2\alpha$ enjeksiyon günü) ve 30. gün ikinci tohumlama günlerinde kan numuneleri alındı. Bu grupta bir hayvanın tohumlamadan sonraki 18. günde ölmesinden dolayı gruptan çıkarılarak 16 baş hayvan değerlendirmeye alındı.



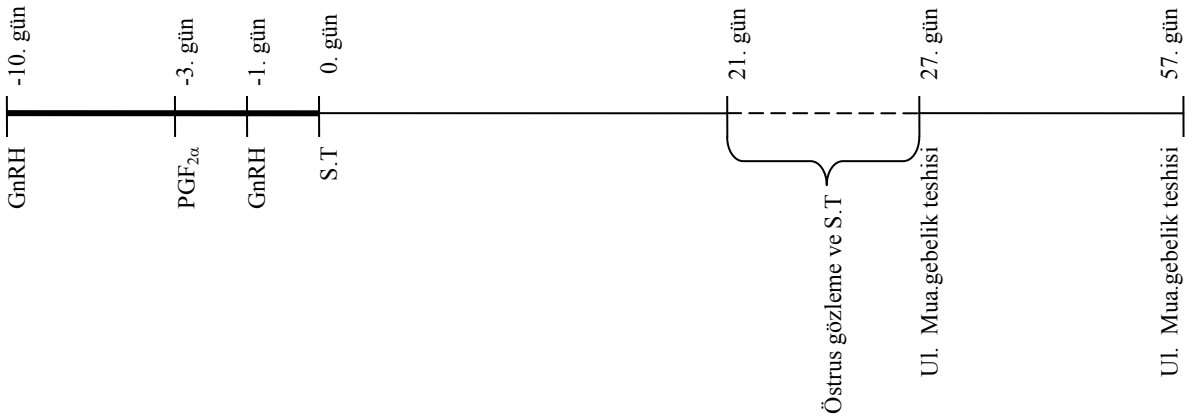
Şekil 3.2: Grup I uygulama şeması.

Grup II de; çalışma 17 hayvan üzerinde yürütüldü. Standart ovsynch protokolünden sonra tohumlama günü 0 kabul edilerek, tohumlamadan sonraki 18. gün hayvanlara kulak deri altı implant uygulaması yapıldı. Takılan implant 27. gün uzaklaştırıldı. Aynı gün ultrason ile gebelik muayeneleri yapıldı ve gebe olmayanlara $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu yapılarak hayvanlar tekrar senkronize edildi. Ovulasyonu senkronize etmek için 29. gün yani $PGF_2\alpha$ enjeksiyonundan 48 saat sonra GnRH uygulaması ve bundan 16-18 saat sonra tekrar sabit zamanlı tohumlama yapıldı. Tohumlanan bu hayvanlara 57. gün tekrar ultrason ile gebelik muayenesi yapıldı (Şekil 3.3). Tohumlamadan sonraki 18. gün (implant takılırken), gebe kalmayanlara 27. gün ($PGF_2\alpha$ enjeksiyon günü) ve 30. gün (ikinci tohumlama sırasında) kan örnekleri alındı.



Şekil 3.3: Grup II uygulama şeması.

Grup III yani kontrol grubunda ise; çalışma 11 hayvan üzerinde yürütüldü. Standart ovsynch protokolünden sonra tohumlama günü 0. kabul edilerek, tohumlamadan sonraki 20. gün kan serumu alındı, hayvanların 40. güne kadar östrüsleri gözlendi ve östrüs gösterenler tohumlandı. Tohumlamaları takip eden 27. günlerde ultrason ile gebelik teşhisleri yapıldı (Şekil 3.2).



Şekil 3.4: Grup III (Kontrol) uygulama şeması.

Tüm gruplardan alınan kan serumları –18 ºC'de saklandı ve bütün kan serumları tamamlandıktan sonra hormon analizleri yaptırıldı. Hormon analizleri için Progesterone RIA DSL-3900 (Diagnostic system lab. Texas, USA) Radioimmunoassay kitleri ile Isocomp I (MGM-instruments inc., Hamden, USA) cihazı kullanılarak progesteron ölçümleri yapıldı.

Hayvanlarda ultrason muayeneleri ovsynch uygulama günlerinde 7.5 MHz rectal prob (ESAOTE Pie Medical, 100 Falco) kullanılarak yapıldı.

Sunulan tez çalışmasında istatistiki yöntem olarak Minitab paket programından (Minitab release 12.1, 1998) yararlanıldı. Gruplardaki gebelik oranları arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla ki-kare, progesteron değerleri ile follikül ve CL büyükleri arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla One Way Anova yöntemi kullanıldı.

4. BULGULAR

Birinci GnRH uygulaması sırasında yapılan ovaryum muayenelerinde tüm hayvanlarda (n=44) aktif CL oranı %84.1, ortalama CL büyüklüğü ise 16.21±1.34 mm olarak bulundu. İlk tohumlamada gebe kalan hayvanlarda (n=21) CL varlığı %85.7 oranında ve CL ortalama büyüklüğü 15.25±1.81 mm, kalmayanlarda (n=23) ise CL varlığı %82.6 oranında ve CL ortalama büyüklüğü 17.09±1.99 mm olarak tespit edildi.

Follikül varlığına bakıldığında tüm hayvanlarda sekiz mm'den küçük follikül %15.9 oranında bulundu ve follikül büyüklük ortalaması 12.46±0.75 mm olarak tespit edildi. Sekiz mm'den küçük follikül varlığı oranı ve ortalama follikül büyüklüğü gebe kalan hayvanlarda % 14.3 ve 12.98±0.99 mm iken gebe kalmayanlarda %17.4 ve 11.98±1.11 mm olarak bulundu.

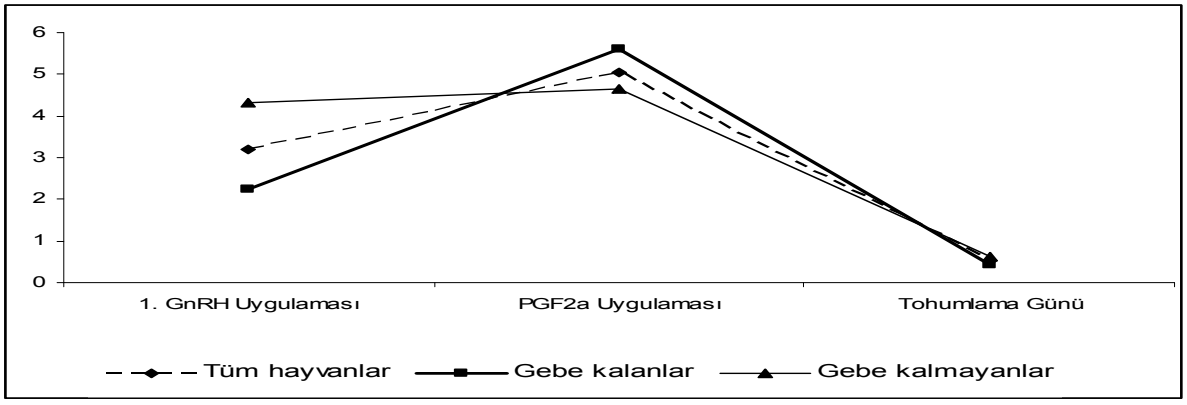
$PGF_2\alpha$ uygulaması sırasında; CL büyüklükleri 20 mm'den büyük olan hayvan sayısı ve ortalama büyüklükleri tüm hayvanlarda 31 baş ve 22.22±1.21 mm gebe kalanlarda 19 baş ve 24.79±1.01 mm ve kalmayanlar da ise 12 baş 19.88±2.03 mm olarak tespit edildi. Follikül büyüklük ortalaması ise tüm hayvanlarda 12.11±0.57 mm gebe kalanlarda 12.51±0.59 mm ve kalmayanlarda 11.74±0.96 mm olarak belirlendi.

İkinci GnRH uygulaması sırasında; ortalama CL ve follikül büyükleri ise tüm hayvanlarda 16.2±1.11 ve 13.62±0.43 mm. gebe kalanlarda 17.99±1.01 ve 14.22±0.40 mm ve kalmayanlarda ise 14.57±1.87 ve 13.07±0.72 mm olarak tespit edilmiştir.

Tohumlama günü ise follikül büyükleri tüm hayvanlarda (n=36) ortalama 14.77±.45 mm, gebe kalanlarda (n=21) ortalama 15.99±0.50 mm ve kalmayanlarda ise (n=15) ortalama 13.07±0.58 mm olarak tespit edilmiştir. Gebe kalmayan hayvanların 8 başında tohumlama günü yapılan muayenede ovulasyonun gerçekleşmiş olduğu tespit edildi.

Tohumlamadan 24 saat sonra yapılan muayenede ise; ovule olmamış folliküle sahip hayvan sayısı 4 baş olduğu ve tümünün gebe kalmadığı belirlendi. Tohumlama sonrası ovulasyon oranları ise tüm hayvanlarda %72.7, gebe kalanlarda %100 ve kalmayanlarda ise %47.8 oranında tespit edilmiştir.

Hayvanlara uygulama günlerindeki kan progesteron seviyelerine bakıldığında ise Tablo 4.1 ve Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1: Tüm hayvanlara ait ovsynch uygulama günlerindeki kan progesteron seviyeleri.

Tablo 4.1: Ovsynch uygulama günlerindeki kan progesteron değerleri (ng/ml).

	Tüm hayvanlar	Gebe kalanlar	Gebe kalmayanlar
1. GnRH Uygulaması	3.21±0.77	2.23±0.71	4.33±1.42
$PGF_2\alpha$ Uygulaması	5.06±0.72	5.62±1.19	4.64±0.91
Tohumlama Günü	0.52±0.05	0.43±0.05	0.62±0.09

*Aynı satırlar arası istatistiki fark yoktur (p>0.05).

Birinci gruptaki (İmp13) hayvanlara (n=16); birinci GnRH uygulaması sırasında ilk tohumlamada gebe kalanlar da (n=6) %83.33'ünde ortalama 13.87±3.03 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 10.83±1.97 mm büyüklüğünde follikül belirlendi. İlk tohumlamada gebe kalmayanların (n=10) ise %70'inde ve ortalama 13.26±3.09 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 10.82±2.35 mm büyüklüğünde follikül tespit edildi.

$PGF_2\alpha$ uygulaması sırasında; ilk tohumlamada gebe kalanların 6 başında ve ortalama 26.00±0.59 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 12.03±0.55 mm büyüklüğünde follikül tespit edildi. İlk tohumlamada gebe kalmayanların ise 9 başında ve ortalama 19.13±3.39 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 10.35±1.32 mm büyüklüğünde follikül gözlendi.

İkinci GnRH uygulaması sırasında; ilk tohumlamada gebe kalanlarda ortalama 18.02±1.96 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 14.62±0.50 mm büyüklüğünde follikül tespit edildi. İlk tohumlamada gebe kalmayanlarda ise ortalama 14.73±2.75 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 12.83±1.07 mm büyüklüğünde follikül belirlendi.

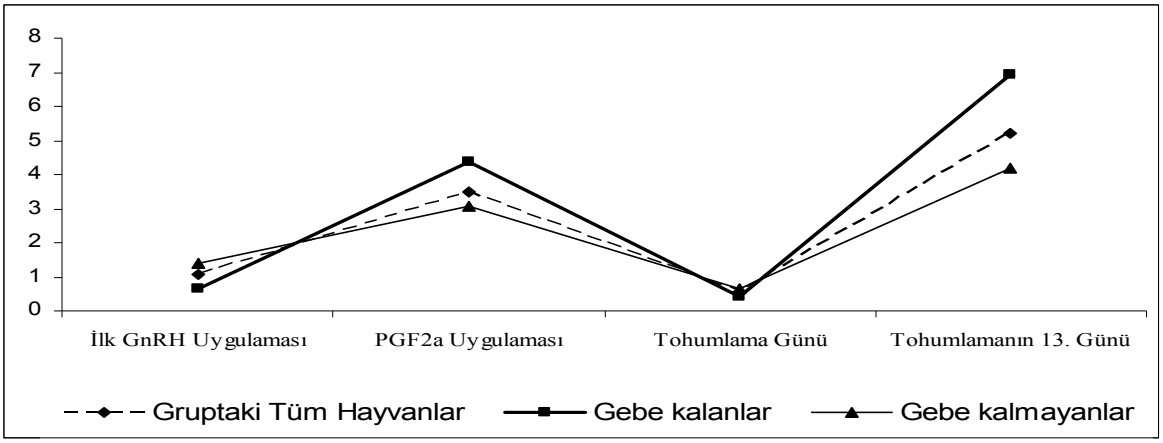
Tohumlama günü; ilk tohumlamada gebe kalanlarda ortalama 16.50±1.65 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 15.68±0.61 mm büyüklüğünde follikül tespit edildi. Gebe kalmayanlarda ise ortalama 12.42±2.43 mm büyüklüğünde CL, ortalama 10.74±1.90 mm büyüklüğünde follikül ve 2 baş hayvanda ovulasyon tespit edildi. Tohumlamadan 24 saat sonra yapılan kontrolde gebe kalanlarda ovulasyon oranı %100 iken, gebe kalmayanlarda %80 (%20'si tohumlama günü, %60'ı tohumlamadan sonraki 24 saat içinde) oranında gözlendi. 27. gün yapılan kontrolde ilk tohumlamada gebe kalma oranı %37.5 olarak tespit edildi. Birinci gruptaki hayvanlara ait ovaryum cevapları Tablo 4.11'de verilmiştir.

Gruptaki hayvanların ilk senkronizasyonda uygulama ve 13. gün kan progesteron seviyeleri ise Tablo 4.2 ve Şekil 4.2 de verilmiştir.

Tablo 4.2: Grup I (İmp13)'de kan progesteron değerleri(ng/ml).

	Gruptaki Tüm Hayvanlar	Gebe kalanlar	Gebe kalmayanlar
İlk GnRH Uygulaması	1.07±0.31	0.67±0.22	1.41±0.52
$PGF_{2\alpha}$ Uygulaması	3.50±0.65	4.37±0.80	3.06±0.88
Tohumlama Günü	0.56±0.11	0.40±0.06	0.67±0.18
Tohumlamanın 13. Günü	5.20±0.84	6.92±0.92	4.17±1.14

*Aynı satırlar arası istatistiki fark yoktur (p>0.05).



Şekil 4.2: Grup I (İmp13)'deki hayvanlara ait kan progesteron sevilerini gösterir grafik.

Grup I 'deki hayvanlara 13. gün implant takılırken ovaryumların muayenesinde; gruptaki tüm hayvanlarda ortalama 22.75±1.68 mm CL, ortalama 11.34±0.88 mm follikül büyüklüğü ve ortalama 5.20±0.84 ng/ml kan progesteron seviyesi tespit edildi. İlk tohumlamada gebe kalanlarda ise ortalama 25.35±1.66 mm CL, ortalama 9.92±2.18 mm follikül büyüklüğü ve ortalama 6.92±0.92 ng/ml kan progesteron seviyesi belirlendi. İlk tohumlamada gebe kalmayanlarda ise ortalama 21.19±2.42 mm CL, ortalama 12.2±0.54 mm follikül büyüklüğü ve ortalama 4.17±1.14 ng/ml kan progesteron seviyesi tespit edildi (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Grup I (İmp13)'deki hayvanların 13.gün ovaryum bulguları.

Gruptaki tüm hayvanlar (n=16)	
CL büyüklüğü (mm)	22.75 ±1.68 (11; 36)
Follikül büyüklüğü (mm)	11.34 ±0.88 (0; 14)
Gebe kalanlar (n=6)	
CL büyüklüğü (mm)	25.35±1.66 (19.3; 30.2)
Follikül büyüklüğü (mm)	9.92±2.18 (0; 14)
Gebe kalmayanlar (n=10)	
CL büyüklüğü (mm)	21.19±2.42 (11; 36)
Follikül büyüklüğü (mm)	12.2±0.54 (8.5; 14)

*Gebe kalan ile kalmayanlar arasında aynı özellikler arasında istatistiki fark önemli değildir (p>0.05)

Birinci grupta implant uzaklaştırılmasından 48 saat sonra 1 baş, 72 saat sonra 3 baş hayvan olmak üzere toplam 4 baş (%25) hayvan östrüs göstermiş ve 8-12 saat içinde tohumlanmıştır. İkinci hohumlama sonrası 30. günde yapılan ultrasonografik muayenede ise gebelik tespit edilememiştir.

27. gün yapılan muayenede östrüs göstermeyen hayvanlardan 6 başının gebe kaldığı, 6 başının da gebe kalmadığı tespit edilerek, gebe kalmayan 6 baş hayvana resenkronizasyon için tekrar $PGF_2\alpha$ uygulaması yapılmıştır. Bu hayvanların aynı gün yapılan ovaryum muayenelerinde ise; CL büyüklükleri ortalama 17.7±4.0 mm ve follikül büyükleri 5.48±2.48 mm olarak tespit edildi. Kan progesteron seviyesi ise 2.58±1.41 ng/ml olarak belirlendi. Yapılan muayenelerde 3 baş hayvanda follikül tespit edilememiştir. Tohumlanan bu hayvanların 57. gün muayenelerinde ise 1 hayvanın gebe kaldığı tespit edildi.

Tablo 4.4: Grup I (İmp13)'de resenkronizasyon sonrası tohumlanan hayvanların 27. gün muayene bulguları.

	Gebe kalan	**Gebe kalmayan**
n	1	5
CL büyüklüğü (mm)	26,6±0	15.9±0.99
Follikül büyüklüğü (mm)	12.5±0	4.1±0.56
Kan progesteron (ng/ml)	1.92±0	2.7±3.83

*Aynı satırlar arası değerlerde istatistiki fark önemli değildir ($p>0.05$).

İkinci grupta (n=17) bulunan hayvanların birinci GnRH uygulaması sırasında; ilk tohumlamada gebe kalanlarda (n=9) %88.89 oranında ve ortalama 17.53±2.54 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 13.04±1.54 mm büyüklüğünde follikül tespit edildi. İlk tohumlamada gebe kalmayanlarda (n=8) ise %87.50 oranında ve ortalama 19.44±3.71 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 13.48±1.22 mm büyüklüğünde follikül gözlendi.

$PGF_2\alpha$ uygulaması sırasında; ilk tohumlamada gebe kalanlarda ortalama 23.62±2.21 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 12.29±0.99 mm büyüklüğünde follikül gözledi. İlk tohumlamada gebe kalmayanlarda ise ortalama 17.35±3.07 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 12.96±2.13 mm büyüklüğünde follikül tespit edildi.

İkinci GnRH uygulama sırasında; ilk tohumlamada gebe kalanlarda ortalama 17.29±1.91 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 14.23±0.55 mm büyüklüğünde follikül tespit edildi. İlk tohumlamada gebe kalmayanlarda ise ortalama 13.50±3.43 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 12.66±1.60 mm büyüklüğünde follikül belirlendi.

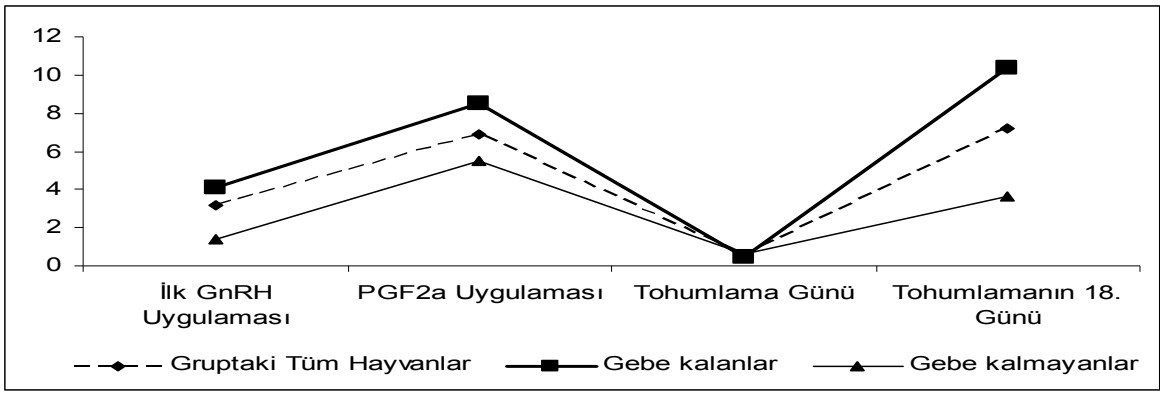
Tohumlama günü; ilk tohumlamada gebe kalanlarda ortalama 11.83±2.56 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 15.96±0.88 mm büyüklüğünde follikül belirlendi. Gebe kalan hayvanlarda tohumlama gününde ovulasyon tespit edilmedi. Gebe kalmayanlarda ise ortalama 9.29±3.65 mm büyüklüğünde CL, ortalama 5.62±2.15 mm büyüklüğünde follikül ve %50 oranında ovulasyon gözlendi. Tohumlamadan 24 saat sonra yapılan kontrolde gebe kalanlarda ovulasyon oranı %100 iken gebe kalmayanlarda %75 (%50 si tohumla günü, %25'i tohumlamadan sonraki 24 saat içinde) oranında tespit edildi. 27. gün yapılan kontrolde ilk tohumlamada gebe kalma oranı %52.94 olarak bulundu. Gruptaki hayvanlara ait ovaryum cevapları Tablo 4.12'de verilmiştir.

Gruptaki hayvanların ilk senkronizasyon ve 18. gün kan progesteron seviyeleri Tablo 4.5 ve Şekil 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.5: Grup II (İmp18)'de kan progesteron değerleri(ng/ml).

	Gruptaki Tüm Hayvanlar	**Gebe Kalanlar**	**Gebe Kalmayanlar**
İlk GnRH Uygulaması	3.19±1.09	4.07±1.51	1.42±0.65
$PGF_2\alpha$ Uygulaması	6.89±1.68	8.54±2.94	5.52±1.94
Tohumlama Günü	0.53±0.08	0.44±0.09	0.65±0.14
Tohumlamanın 18. Günü	7.18±1.69	10.34 ± 2.3^{a}	3.62 ± 1.89^{b}

*[ab]Aynı satırlar arası farklı harf taşıyan gruplarda istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.3: Grup II (İmp18)'deki hayvanlara ait kan progesteron sevilerini gösterir grafik.

İkinci gruptaki hayvanlara ilk tohumlamadan 18 gün sonra ovaryumlarının muayenesinde; gruptaki tüm hayvanlarda ortalama 21.84±0.63 mm CL, ortalama 10.59±0.95 mm follikül büyüklükleri ve ortalama 7.18±1.69 ng/ml kan progesteron seviyesi tespit edildi. İlk tohumlamada gebe kalanlarda ortalama 23.64±0.61 mm CL, ortalama 11.4±0.72 mm follikül büyüklükleri ve ortalama 10.34±2.3 ng/ml kan progesteron seviyesi tespit edildi. İlk tohumlamada gebe kalmayanlarda ise ortalama

19.81±0.59 mm CL, ortalama 9.68±1.87 mm follikül büyüklükleri ve ortalama 3.62±1.89 ng/ml kan progesteron seviyesi bulundu (Tablo 4.6). 18. gün Cl büyüklükleri ve kan progesteron seviyelerinin istatistiki açıdan ilk tohumlamada gebe kalanlar ile kalmayanlar arasında fark olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

Tablo 4.6: Grup II (İmp18)'deki hayvanların 18.gün ovaryum bulguları.

Gruptaki tüm hayvanlar (n=17)	
Cl büyüklüğü (mm)	21.84±0.63 (16.7; 26.5)
Follikül büyüklüğü (mm)	10.59±0.95 (0; 17.5)
Gebe kalanlar (n=9)	
Cl büyüklüğü (mm)	23.64±0.61[a] (20.5; 26.5)
Follikül büyüklüğü (mm)	11.4±0.72 (8.5; 15)
Gebe kalmayanlar (n=8)	
Cl büyüklüğü (mm)	19.81±0.59[b] (16.7; 22.5)
Follikül büyüklüğü (mm)	9.68±1.87 (0; 17.5)

*[ab]Gebe kalan ile kalmayanlar arasında aynı özellikler arasındaki istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).

Gruptaki hayvanlar ilk tohumlamadan sonraki 27. günde implantlar uzaklaştırıldı ve aynı gün ultrasonografi ile gebelik kontrolleri yapıldı. Yapılan kontrollerde 9 hayvanın gebe kaldığı tespit edildi. Gebe kalmayan 8 baş hayvana da $PGF_2\alpha$ uygulaması yapıldı. Gebe kalmayan hayvanların 27. gün ovaryum bilgileri bakıldığında CL büyüklükleri 17.66±2.59 ve follikül büyüklükleri 10.67±0.77 mm olarak ölçüldü. Kan progesteron seviyesi ise 1.94±0.76 ng/ml olarak tespit edildi. Bu hayvanların ikinci tohumlamadan sonraki 30. gün yapılan muayenede 1 hayvanın gebe kaldığı tespit edildi. 27. gün follikül büyüklükleri gebe kalan ve kalmayanlar arasında istatistiki açıdan fark önemli bulundu ($p<0.05$).

Tablo 4.7: Grup II (İmp18)'de resenkronizasyon sonrası tohumlanan hayvanların 27. gün muayene bilgileri.

	Gebe kalan	Gebe kalmayan
n	1	7
CL büyüklüğü (mm)	22±0	17.0±2.90
Follikül büyüklüğü (mm)	15±0[a]	10.1±0.54[b]
Kan progesteron (ng/ml)	3.15±0	1.54±0.92

*[ab]Aynı satırlar arası farklı harf taşıyan gruplar arasında istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).

Üçüncü gruptaki (n=11) hayvanlara birinci GnRH uygulaması sırasında; ilk tohumlamada gebe kalanlarda (n=6) %66.67 oranında ve ortalama 13.20±4.31 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 15.03±1.62 mm büyüklüğünde follikül tespit edildi. İlk

tohumlamada gebe kalmayanlarda (n=5) ise ortalama 21.00±2.31 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 11.90±0.87 mm büyüklüğünde follikül bulundu.

$PGF_2\alpha$ uygulaması sırasında; ilk tohumlamada gebe kalanlarda ortalama 25.32±1.25 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 13.33±1.46 mm büyüklüğünde follikül tespit edildi. İlk tohumlamada gebe kalmayanlarda ise ortalama 25.42±4.00 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 12.54±1.07 mm büyüklüğünde follikül belirlendi.

İkinci GnRH uygulama sırasında; ilk tohumlamada gebe kalanlarda ortalama 19.00±1.22 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 13.80±1.10 mm büyüklüğünde follikül tespit edildi. İlk tohumlamada gebe kalmayanlar da ise ortalama 15.94±4.51 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 14.22±0.73 mm büyüklüğünde follikül belirlendi.

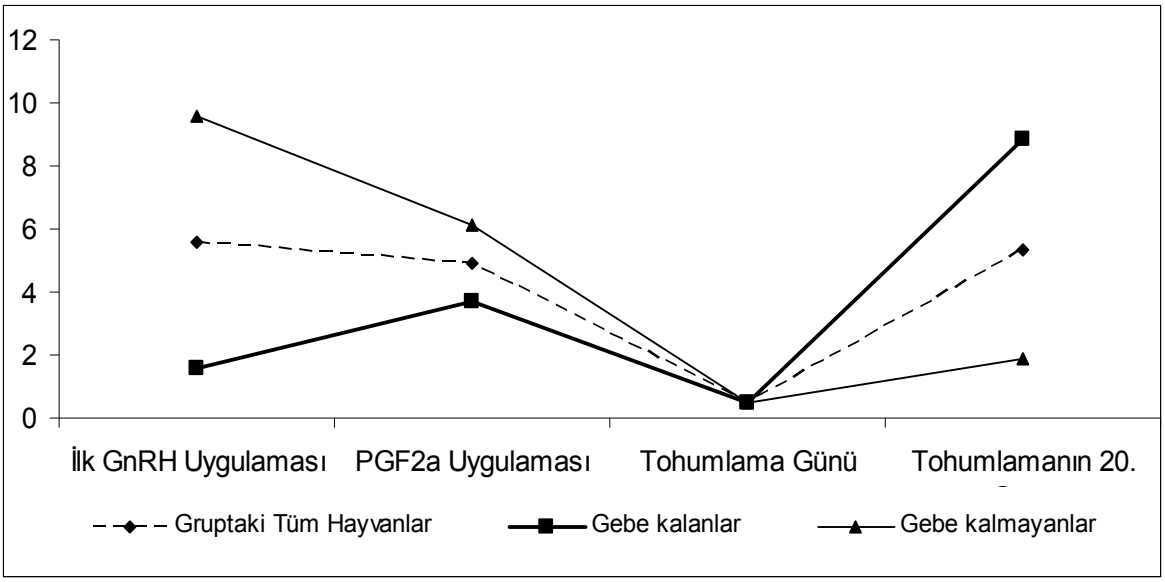
Tohumlama günü; ilk tohumlamada gebe kalanlarda ortalama 16.53±1.63 mm büyüklüğünde CL ve ortalama 16.35±1.12 mm büyüklüğünde follikül ile bu hayvanlarda ovulasyonun olmadığı tespit edildi. Gebe kalmayanlarda ise ortalama 12.56±3.55 mm büyüklüğünde CL, ortalama 8.70±3.59 mm büyüklüğünde follikül ve %40 oranında ovulasyon gözlendi. Tohumlamadan 24 saat sonra yapılan kontrolde gebe kalanlarda ovulasyon oranı %100 iken gebe kalmayanlarda da %100 (%40'ı tohumla günü, %60'ı tohumlamadan sonraki 24 saat içinde) olarak belirlendi. 27. gün yapılan kontrolde ilk tohumlamada gebe kalma oranı %54.54 olarak tespit edildi. Gruptaki hayvanlara ait ovaryum cevapları Tablo 4.13'de verilmiştir.

Gruptaki hayvanların ilk senkronizasyon ve 20. gün kan progesteron seviyeleri Tablo 4.8 ve Şekil 4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.8: Grup III (Kontrol)'de kan progesteron değerleri (ng/ml).

	Gruptaki Tüm Hayvanlar	**Gebe Kalanlar**	**Gebe Kalmayanlar**
İlk GnRH Uygulaması	5.58±1.88	1.57±0.93	9.59±2.66
$PGF_2\alpha$ Uygulaması	4.91±1.13	3.70±0.65	6.12±2.14
Tohumlama Günü	0.46±0.08	0.46±0.14	0.47±0.05
Tohumlamanın 20. Günü	5.36±1.74	8.86±2.19[a]	1.85±1.08[b]

*[ab] Aynı satırlar arası farklı harf taşıyan gruplarda istatistiki fark önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.4: Grup III (Kontrol)'deki hayvanlara ait kan progesteron sevilerini gösterir grafik;

Gruptaki hayvanlarda ilk tohumlamadan sonraki 20. gündeki kan progesteron seviyeleri; gruptaki tüm hayvanlar 5.36±1.74, ilk tohumlamada gebe kalanlar 8.86±2.19 ve kalmayanlar da 1.85±1.08 ng/ml olarak tespit edildi. Gruptaki hayvanlarda tohumlamanın 20. gün kan progesteron seviyelerinin istatistiki açıdan ilk tohumlamada gebe kalanlar ile kalmayanlar arasında fark olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Bu hayvanlardan iki başı ilk tohumlamadan sonraki 22. gün. bir başı da 23. gün östrüs göstererek ikinci kez tohumlanması yapıldı. Spontane östrüs gösterip ikinci kez tohumlanan 3 hayvanın ikinci tohumlamadan sonraki 30. gün yapılan muayenede 1 baş hayvanın gebe kaldığı tespit edildi. Kalan 8 hayvan 27 gün ultrasonografi ile gebelik kontrolleri yapıldı. Yapılan kontrollerde 6 hayvanın gebe kaldığı belirlendi.

Tablo 4.9: Gruplardaki hayvanların birinci tohumlama, resenkronizasyon sonraki tohumlama ve toplam gebelik oranları.

Gruplar	**Grup I (İmp13)**	**Grup II (İmp18)**	**Kontrol**
n	16	17	11
I.Tohumlamada tohumlanan	16	17	11
I. Tohumlamada gebelik	6	9	6
I. Tohumlamada gebelik (%)	37.5	52.94	54.54
II.Tohumlamada tohumlanan	10	8	3
II. Tohumlamada gebelik	1	1	1
II. Tohumlamada gebelik (%)	10	12.5	33.33
Toplam gebelik	7	10	7
Toplam gebelik (%)	43.75	58.82	63.63

*Aynı satırlar arası istatistiki fark önemli değildir ($p>0.05$).

Tablo 4.10: Tüm hayvanlara ait ovsynch uygulamasında ovaryum cevapları.

	Tüm hayvanlar	**Gebe kalanlar**	**Gebe kalmayanlar**
n	***44***	***21***	***23***
1. GNRH UYGULAMASI :			
CL varlığı	37 (%84.1)	18 (%85.7)	19 (%82.6)
CL büyüklüğü ortalama (mm)	16.21±1.34 (0-35)	15.25±1.81 (0-25)	17.09±1.99 (0-35)
8 mm küçük follikül bulunan hayvan	7 (%15.9)	3 (%14.3)	4 (%17.4)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	12.46±0.75 (0-23.2)	12.98±0.99 (0.5-23.2)	11.98±1.11 (0-22.3)
PGF_{2a} UYGULAMA GÜNÜ :			
CL büyüklüğü 20 mm den büyük olan	31 (%70.5)	19 (%90.5)	12 (%52.2)
CL büyüklüğü 20 mm den küçük olan	13 (%29.5)	2 (%9.5)	11 (%47.8)
CL büyüklüğü ortalama (mm)	22.22±1.21 (0-38.6)	24.79±1.01 (14.1-37.5)	19.88±2.03 (0-38.6)
8 mm küçük follikül bulunan hayvan	4 (%9.1)	1 (%4.8)	3 (%13)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	12.11±0.57 (0-18)	12.51±0.59 (7-18)	11.73±0.96 (0-17.7)
2. GNRH UYGULAMASI :			
CL büyüklüğü ortalama (mm)	16.2±1.11 (0-29.5)	17.99±1.01 (10-29.5)	14.57±1.87 (0-27)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	13.62±0.43 (7-20.3)	14.22±0.40 (10.3-16.9)	13.07±0.72 (7-20.3)
TOHUMLAMA GÜNÜ :			
CL büyüklüğü ortalama (mm)	12.86±1.13 (0-24)	14.51±1.33 (0-20)	11.36±1.77 (0-24)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	14.772±0.45 (9.5-21.1)	15.99±0.50 (12.5-21.1)	13.07±0.58 (9.5-16.5)
Tohumlama günü ovulasyon olanlar	8 (%18.2)	0 (%0)	8 (%34.8)
TOHUMLAMADAN 24 SAAT SONRA :			
Ovulasyon	32 (%72.7)	21 (%100)	11 (%47.8)
Ovule olmamış follükül varlığı	4 (%9.1)	0 (%0)	4 (%17.4)

Adet (oran), Ortalama ± SEM (alt ve üst sınırlar), CL: korpus luteum

Tablo 4.11: Grup I (İmp13)'deki hayvanlarda ovaryum cevapları.

	Gruptaki Tüm Hayvanlar	**Gebe kalanlar**	**Gebe kalmayanlar**
n	***16***	***6***	***10***
1. GNRH UYGULAMASI :			
CL varlığı	12 (%75)	5 (%83.33)	7 (%70)
CL büyüklüğü ortalama (mm)	13.50±2.20 (0-24.60)	13.87±3.03 (0-20.00)	13.26±3.09 (0-24.60)
8 mm küçük follikül bulunan hayvan	5 (%31.25)	2 (%33.33)	3 (%30)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	10.82±1.60 (0-22.30)	10.83±1.97 (5.00-18.80)	10.82±2.35 (0-22.30)
PGF_{2a} UYGULAMA GÜNÜ :			
CL büyüklüğü 20 mm den büyük olan	12 (%75)	6 (%100)	6 (%60)
CL büyüklüğü 20 mm den küçük olan	4 (%25)	0 (%0)	4 (%40)
CL büyüklüğü ortalama (mm)	21.71±2.25 (0-29.30)	26.00±0.59 (24.50-28.00)	19.13±3.39 (0-29.30)
8 mm küçük follikül bulunan hayvan	2 (%12.5)	0 (%0)	2 (%20)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	10.98±0.86 (0-14.00)	12.03±0.55 (10.00-14.00)	10.35±1.32 (0-13.60)
2. GNRH UYGULAMASI :			
CL büyüklüğü ortalama (mm)	15.96±1.87 (0-25.00)	18.02±1.96 (13.00-25.00)	14.73±2.75 (0-24.50)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	13.50±0.71 (7.00-19.10)	14.62±0.50 (13.00-16.70)	12.83±1.07 (7-19.10)
TOHUMLAMA GÜNÜ :			
CL büyüklüğü ortalama (mm)	13.95±1.68 (0-24.00)	16.50±1.65 (10.00-20.00)	12.42±2.43 (0-24.00)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	12.60±1.34 (0-17.50)	15.68±0.61 (14.00-17.50)	10.74±1.90 (0-16.50)
Tohumlama günü ovulasyon olanlar	2 (%12.5)	0 (%0)	2 (%20)
TOHUMLAMADAN 24 SAAT SONRA :			
Ovulasyon	12 (%75)	6 (%100)	6 (%60)
Ovule olmamış follükül varlığı	2 (%12.5)	0 (%0)	2 (%20)

Adet (oran), Ortalama ± SEM (alt ve üst sınırlar), CL: korpus luteum

Tablo 4.12: Grup II (İmp18)'deki hayvanlarda ovaryum cevapları.

	Gruptaki Tüm Hayvanlar	**Gebe kalanlar**	**Gebe kalmayanlar**
n	***17***	***9***	***8***
1. GNRH UYGULAMASI :			
CL varlığı	15 (%88.24)	8 (%88.89)	7 (%87.50)
CL büyüklüğü ortalama (mm)	18.43±2.14 (0-35.00)	17.53±2.54 (0-25.00)	19.44±3.71 (0-35.00)
8 mm küçük follikül bulunan hayvan	2 (%11.76)	1 (%11.11)	1 (%12.50)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	13.25±0.97 (7.00-23.20)	13.04±1.54 (7.80-23.20)	13.48±1.22 (7.00-18.50)
PGF_{2a} UYGULAMA GÜNÜ :			
CL büyüklüğü 20 mm den büyük olan	10 (%58.82)	7 (%77.77)	3 (%37.50)
CL büyüklüğü 20 mm den küçük olan	7 (%41.76)	2 (%22.22)	5 (%62.59
CL büyüklüğü ortalama (mm)	20.67±1.96 (0-37.50)	23.62±2.21 (14.10-37.50)	17.35±3.07 (0-27.50)
8 mm küçük follikül bulunan hayvan	2 (%11.75)	1 (%11.11)	1 (%12.50)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	12.61±1.10 (0-18.00)	12.29±0.99 (7.00-8.00)	12.96±2.13 (0-17.70)
2. GNRH UYGULAMASI :			
CL büyüklüğü ortalama (mm)	15.51±1.90 (0-29.50)	17.29±1.91 (10.00-29.50)	13.50±3.43 (0-27.00)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	13.49±0.80 (8.00-20.30)	14.23±0.55 (11.00-16.50)	12.66±1.60 (8.00-20.30)
TOHUMLAMA GÜNÜ :			
CL büyüklüğü ortalama (mm)	10.64±2.14 (0-24.00)	11.83±2.56 (0-20.00)	9.29±3.65 (0-24.00)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	11.09±1.68 (0-21.10)	15.96±0.88 ((12.5-21.10)	5.62±2.15 (0-13.00)
Tohumlama günü ovulasyon olanlar	4 (%23.52)	0 (%0)	4 (%50)
TOHUMLAMADAN 24 SAAT SONRA :			
Ovulasyon	11 (%64.7)	9 (%100)	2 (%25)
Ovule olmamış follükül varlığı	2 (%11.76)	0 (%0)	2 (%25)

Adet (oran), Ortalama ± SEM (alt ve üst sınırlar), CL: korpus luteum

Tablo 4.13: Kontrol grubundaki hayvanların ovaryum cevapları.

	Gruptaki Tüm Hayvanlar	**Gebe kalanlar**	**Gebe kalmayanlar**
n	***11***	***6***	***5***
1. GNRH UYGULAMASI :			
CL varlığı	9 (%81.81)	4 (%66.67)	5 (%100)
CL büyüklüğü ortalama (mm)	16.75±2.74 (0-28.50)	13.20±4.31 (0-22.40)	21.00±2.31 (14.10-28.50)
8 mm küçük follikül bulunan hayvan	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	13.61±1.05 (10.00-21.50)	15.03±1.62 (10.00-21.50)	11.90±0.87 (10.00-15.00)
PGF_{2a} UYGULAMA GÜNÜ :			
CL büyüklüğü 20 mm den büyük olan	9 (%81.81)	6 (%100)	3 (%60)
CL büyüklüğü 20 mm den küçük olan	2 (%18.18)	0 (%0)	2 (%40)
CL büyüklüğü ortalama (mm)	25.36±1.82 (17.30-38.60)	25.32±1.25 (21.90-29.00)	25.42±4.00 (17.30-38.60)
8 mm küçük follikül bulunan hayvan	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	12.97±0.90 (10.00-17.90)	13.33±1.46 (10.00-17.90)	12.54±1.07 (10.00-15.70)
2. GNRH UYGULAMASI :			
CL büyüklüğü ortalama (mm)	17.61±2.08 (0-25.00)	19.00±1.22 (14.30-22.00)	15.94±4.51 (0-25.00)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	13.99±0.66 (10.30-16.90)	13.80±1.10 (10.30-16.90)	14.22±0.73 (12.00-16.50)
TOHUMLAMA GÜNÜ :			
CL büyüklüğü ortalama (mm)	14.73±1.85 (0-19.90)	16.53±1.63 (11.00-19.90)	12.56±3.55 (0-19.80)
Follikül büyüklüğü ortalama (mm)	12.87±2.04 (0-20.00)	16.35±1.12 (13.80-20.00)	8.70±3.59 (0-16.40)
Tohumlama günü ovulasyon olanlar	2 (%18.18)	0 (%0)	2 (%40)
TOHUMLAMADAN 24 SAAT SONRA :			
Ovulasyon	9 (%81.81)	6 (%100)	3 (%60)
Ovule olmamış follükül varlığı	0 (%0)	0 (%0)	0 (%0)

Adet (oran), Ortalama ± SEM (alt ve üst sınırlar), CL: korpus luteum

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Süt sığırcılığının en önemli problemlerinden biri hatalı sevk ve idareye bağlı olarak östrüslerin zamanında tespit edilememesinden kaynaklanan doğum-yeniden gebe kalma süresinin uzaması sayılmaktadır. Özellikle hayvanlar bağlı tutulduklarında östrüs semptomlarının tam olarak gözlenemediği işletmelerde yavru veriminin düşüklüğünün nedeni olarak gösterilmektedir. Bu durum östrüs belirlenmesine yönelik sevk ve idarenin önemini artırmaktadır. İşletmelerdeki hayvanların östrüslerinin doğru tespit edilmesi ve harcanan zamanı azaltmak amacıyla östrüs senkronizasyon yöntemleri geliştirilmiştir (Kaya ve ark 1999). Östrüs senkronizasyonu amacı ile yapılan uygulamaların nihai amacı östrüs ve ovulasyon senkronizasyonu sonrası en uygun gebelik oranlarını sağlamaktır (Cavalieri ve ark 1997).

Ovsynch, GnRH ve prostaglandin kullanılarak ovulasyonun senkronizasyonu veya kontrol altına alınması demektir. Ovsynch uygulaması östrüsten ziyade ovulasyonu senkronize etmektedir. Östrüs gözlenerek yapılan tohumlama ile benzer sonuçların alınabildiği bir sabit zamanlı tohumlama protokolüdür (Dinç 2006).

Ultrason kullanımıyla tohumlamadan 26 gün sonra erken gebelik teşhisi yapılabilmektedir. Erken yapılan gebelik teşhisiyle gebe kalmayanlar tespit edilerek, yeniden tohumlama hazırlığı yapılabilmektedir. Bazı araştırmacıların bildirdiklerine göre ilk tohumlamada gebelik oranı %40 veya daha düşük olmaktadır. Geriye kalan %60 veya daha fazlası için resenkronizasyon stratejileri geliştirilmeye çalışılmıştır (Fricke 2002). Tohumlamadan sonra gebe kalmayan hayvanlar yeniden senkronize edilerek tekrar tohumlanabilmektedir (Stevenson ve Tiffany 2004).

Sunulan çalışmada, İsviçre esmeri düvelerin ovsynch protokolü ile senkronizasyonu ve tohumlanması sonrasında gebe kalmayanların tekrar tohumlanabilmeleri amacıyla iki farklı resenkronizasyon yöntemi uygulanmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen veriler, benzer konularda yapılan diğer çalışmaların sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Tüm hayvanların ilk senkronizasyon (ovsynch) için hazırlanması sırasında ilk GnRH uygulamasında (0. gün) ovaryumdaki CL ve folliküllere bakıldığında; CL büyüklüklerin ortalaması ilk tohumlamada gebe kalanlarda ortalama (15.25±1.81 mm), kalmayanlarda ise (17.09±1.99 mm) olduğu, gebe kalanların CL büyüklüğünün kalmayanlara göre daha küçük olduğu belirlendi. Follikül büyüklerine bakıldığında ise ilk tohumlamada gebe kalanlarda (12.98±0.99 mm) ve gebe kalmayanlarda (11.98±1.11 mm) olarak tespit edildi.

Büyüklüğü 8 mm'den büyük olan follikül bulunmama oranları ise gebe kalmayanlarda %14.3 iken gebe kalanlarda bu oran %17.4 olarak tespit edildi (Tablo 4.10).

Gruplara baktığımızda; ilk GnRH uygulama gününde İmp13 grubun da ortalama CL büyüklüğü (13.50±2.20 mm), İmp18 (18.43±2.14 mm) ve kontrol grubunda (16.75±2.74 mm) olarak ölçüldü. Follikül büyüklükleri ise İmp13 grubunda (10.82±1.60 mm), İmp18 (13.25±0.97 mm) ve kontrol grubunda (13.61±1.05 mm) olarak belirlendi. Sekiz mm'den büyük follikül varlığına sahip olmayan hayvan sayısı, İmp13 grubunda 5 baş ve İmp18 grubunda 2 baş iken kontrol grubunda hiç tespit edilememiştir (Tablo 4.11, Tablo 4.12, Tablo 4.13)

Stevenson ve Tiffany (2004) yaptıkları çalışmada ovsynch ve heatsynch başlangıç günündeki siklus dönemine göre ortalama follikül büyüklükleri proöstrüsta 13.3±07 mm, metöstrüste 13.4±1.1 mm, erken diöstrüste 13.2±0.4 mm ve geç diöstrüste 12.9±0.6 mm olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada İmp18 ve kontrol grubu follükül ortalamaları Stevenson ve Tiffany (2004) yapmış oldukları çalışmayla benzer iken İmp13 grubu daha düşük ortalamaya sahip olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak vücut kondüsyon skorunun (Risco ve ark 1998), süt veriminin (Tenhagen ve ark 2003), hayvanların yaşının (Peters ve Pursley 2002) ovsynch programını etkilediğinin bildirilmesine karşılık, ovsynch programının başlangıcındaki seksüel siklus döneminin senkronizasyon oranına ve follikül büyüklüğünün fekondasyon oranına etkisinin olmadığını sadece ilk GnRH enjeksiyonu sonrasında ovulasyon gözlenen hayvanlarda senkronizasyon oranının daha yüksek olduğunu öne sürülmektedirler (Vasconcelos ve ark 1999). Çalışmamızda da ovsynch programı başlangıcındaki ovaryum bulguları ile elde edilen gebelik oranları arasında fark gözlenmemesine karşılık, ilk GnRH uygulaması sırasında ortalama follikül büyüklüğünün artmasının gebelik oranını sayısal olarak artırdığı gözlenmiştir. Buna sebep olarak; GnRH uygulamaları sonucunda en iyi cevabın 10 mm'den büyük folliküllerin verdiği (Vasconcelos ve ark 1999, Dolezel ve ark 2002) bildirilmiştir. Çünkü 9 mm'den küçük folliküllerdeki granuloza hücrelerinde bulunan LH reseptörlerinin azlığı, GnRH uygulanmasıyla uyarılan LH dalgasının cevabını düşürdüğü bildirilmiştir (Xu ve Burton 2000).

$PGF_2\alpha$ uygulama günü (7. gün) ovaryum yapılarına bakıldığında; hayvanların %70.5'inde 20 mm'den büyük CL tespit edilmiştir. Geriye kalan 13 hayvanın 3 tanesinde CL gözlenmez iken 10 tanesinde ise 10 ile 20 mm arasında CL olduğu belirlenmiştir. İlk tohumlamada gebe kalan hayvanların 19 tanesinde 20 mm'den büyük CL bulunmasına

karşın 2 tanesinde bu ölçüden küçük olduğu tespit edilmiştir. Gebe kalmayanların ise 12 başında 20 mm'den büyük CL var iken 11 başında 20 mm'den daha küçük olarak tespit edilmiştir. Büyüklüklerine bakıldığında ise gebe kalanların CL büyüklük ortalamasın (24.79±1.01 mm) kalmayanlardan (19.88±2.03 mm) büyük olduğu tespit edilmiştir. Follikül büyüklükleri ise CL büyüklüklerinde olduğu gibi ilk tohumlamada gebe kalanlarda (12.51±0.59 mm) kalmayanlardan büyük (11.74±0.96 mm) olarak tespit edildi. Yine gebe kalanlarda 1 baş ve kalmayanlarda 3 baş olmak üzere toplam 4 baş hayvanda 8 mm'den büyük folliküle sahip olmadıkları gözlenmiştir (Tablo 4.10).

Çoyan ve ark (2003) yapmış oldukları çalışmada 7 gün arayla GnRH+$PGF_2\alpha$ ve hCG+$PGF_2\alpha$ şeklinde uyguladıkları senkronizasyon protokolleri sırasında $PGF_2\alpha$ uygulama günü CL ortalama büyüklüğü GnRH+$PGF_2\alpha$ grubunda 24±1.7 mm ve hCG+$PGF_2\alpha$ grubunda ise 26±1.8 mm olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada tüm hayvanlarda (22.22±1.21 mm) elde edilen sonucun ilk grupla benzer iken ikinci gruptan düşük olduğu gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda hCG+$PGF_2\alpha$ grubundan düşük olması araştırmacıların ilk enjeksiyonda hCG kullanmış olmalarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Gruplara bakıldığında; İmp13 grubunda $PGF_2\alpha$ uygulama anında hayvanların %75'inde 20 mm'den büyük CL var iken İmp18 grubunda bu oran %59 ve kontrol grubunda %82 olarak tespit edilmiştir. 20 mm'den küçük olan hayvanlardan ise imp13 grubundakilerin (4 baş) ve kontrol grubundaki (2 baş) hayvanlar ilk tohumlamada gebe kalmaz iken, İmp18 grubundaki 7 baş hayvanın 2 tanesi ilk tohumlamada gebe kaldığı tespit edildi. Folliküllere bakıldığında ise İmp18 grubu ile kontrol grubunun ortalama büyükleri birbirine yakın iken İmp13 grubunun bu iki gruptan küçük bir ortalamaya sahip olduğu tespit edildi. 8 mm'den büyük olmayan follikül varlığı ise İmp18 ve İmp13 grubunda 2 şer baş hayvanda mevcut iken kontrol grubunda gözlenmedi. İmp18 grubunda 1 tanesi ilk tohumlamada gebe kalır iken İmp13 grubunda her ikisinin de gebe kalmadığı gözlendi (Tablo 4.11, Tablo 4.12, Tablo 4.13).

İkinci GnRH uygulaması (9. gün) sırasında ovaryumlarda ortalama CL büyükleri ilk tohumlamada gebe kalanlarda 17.99±1.01 mm ve kalmayanlarda ise 14.57±1.87 mm olarak gözlenmiştir. Her iki grupta da; $PGF_2\alpha$ uygulama günündeki ortalamalardan küçük bulunmuştur. Follikül büyükleri ise gebe kalanlarda 14.22±0.40 mm ve kalmayanlarda 13.07±0.72 mm olarak tespit edildi (Tablo 4.10). Rivera ve ark. (2005) Holstein ırkı

düvelerde yaptıkları çalışmada (n=95) 0. gün GnRH, 6. gün $PGF_2\alpha$ ve 8. gün tohumlama+GnRH uyguladıkları düvelerde 2. GnRH uygulama gününde ortalama follikül büyüklüğü 11.8±0.2 mm, gebe kalanlarda 12.3±0.3 ve gebe kalmayanlarda 11.3±0.2 mm olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. El-Zarkouny ve ark (2004) yapmış oldukları çalışmada ovsynch+CDIR (n=24) uyguladıkları hayvanlarda son GnRH uygulama günü follikül ortalama büyüklüğünün 16.2±06 mm iken sadece ovsynch (n=27) uyguladıkları hayvanlarda ise 14.1±06 mm olduğunu bildirmişlerdir. Rivera ve ark (2005) bulduğu sonuçların, yapılan bu çalışma sonunda elde edilen sonuçlardan düşük olduğu, bunun sebebi olarak araştırmacıların protokolünde 6 gün arayla kullanılan hormonlar ve çalışmada kullandıkları hayvan ırkından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. El-Zarkouny ve ark (2004) elde ettikleri sonuçlar ovsynch grubu ile çalışmamızın sonuçları benzer iken ovsynch+CDIR grubundaki sonuçların daha büyük olduğu bunun sebebi ise araştırmacıların ovsynch uygulamasına ek olarak progesteron uygulamalarından kaynaklanabileceği sanılmaktadır.

Gruplarda ise follikül büyükleri birbirine yakın bir ortalamaya sahip iken, CL büyüklüğü bakımından kontrol grubu diğer gruplardan büyük bir ortalamaya sahip olduğu tespit edildi (Tablo 4.11, Tablo 4.12, Tablo 4.13).

Tohumlama gününün (10. gün) verilerine bakıldığında; CL büyüklüklerinin gebe kalanlarda (14.51±1.33 mm) ve kalmayanlarda (11.36±1.77 mm), $PGF_2\alpha$ ve 2. GnRH günlerine göre daha düşük oldukları gözlenmiştir. Gebe kalanların tümünde follikül bulunurken büyükleri ise 15.99±0.50 mm olarak tespit edilmiştir. Gebe kalmayanların 8 başında tohumlama anında ovulasyonun olduğu tespit edilmiş ve ortalama büyüklükleri de 13.07±0.58 mm olarak bulunmuştur (Tablo 4.10).

Grupların tohumlama günü bilgilerine bakıldığında, follikül büyüklükleri grup ortalamaları birbirine benzer olduğu gözlense de, İmp18 grubunda gebe kalmayanların follikül büyüklükleri ile bütün gruplarda gebe kalanların follikül büyükleri arasında istatistiki açıdan fark olduğu tespit edildi ($p<0.01$). Ayrıca kontrol ve İmp13 grubunda 2, İmp18 grubunda ise 4 baş hayvanda ovulasyon olduğu tespit edilmiş olup bu hayvanların ilk tohumlamada gebe kalmadığı gözlemlenmiştir. Tohumlama günü follikül büyüklüklerinde gözlenen istatistiki farkın, İmp18 grubunda diğer gruplardan daha fazla ovulasyonun gerçekleşmesinden kaynaklandığı sanılmaktadır (Tablo 4.11, Tablo 4.12, Tablo 4.13).

Çoyan ve ark (2003) inekler üzerinde yapmış oldukları çalışmada, tohumlama günü follikül büyüklüğünü GnRH+$PGF_2\alpha$+GnRH grubunda 19±1.7 mm ve hCG+$PGF_2\alpha$+GnRH grubunda ise 18±0.5 mm olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada elde edilen tohumlama günü follikül büyüklükleri, Çoyan ve ark (2003) nın bildirdiği verilerden daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni olarak seçilen hayvanların yaşları olabileceği gibi, siklus süresince 2 veya 3 folliküler dalgaya sahip olmanın da follikül büyüklüğü etkileyebileceğini bildirilmiştir. Hatta 3 folliküler gelişim dalgasına sahip hayvanların dominant ovulatör follikül çapının, 2 folliküller dalga sahip hayvanların dominant ovulatör follikül çapından daha küçük olacağı öne sürülmektedir (Ginther ve ark 1989).

Tohumlamadan 24 saat sonra yapılan ovulasyon kontrollerinde gebe kalanların tamamında ovulasyon tespit edilmesine karşılık, gebe kalmayanların %47.8'inde (11/23) ovulasyon tespit edilmiştir. Gebe kalmayanların 4 başında ise ovule olmamış follikül olduğu gözlenmiştir (Tablo 4.10). Son GnRH enjeksiyonuna cevap olarak ovulasyon gerçekleşmeyen hayvan sayısı (%9) olarak belirlenmiştir. Benzer sonucu (%7) Xu ve Burton (2000) da bildirmişlerdir.

Kan progesteron seviyeleri incelendiğinde; birinci GnRH uygulama gününde ilk tohumlamada gebe kalanların (2.23±0.71 ng/ml) ortalama değerleri, gebe kalmayanların (4.33±1.42 ng/ml) değerlerinden daha düşük bulundu. Tüm hayvanlarda kan progesteron değerleri ortalaması ise 3.21±0.77 ng/ml olarak tespit edildi (Tablo 4.1). Yapılan çalışmalarda senkronizasyon başlangıcında siklik aktivite (aktif CL) oranı %60-70 arasında olduğu bildirilmektedir (Stevenson ve ark 1996, Pursley ve ark 1997a).

Çalışmada kullanılan hayvanlarda ilk enjeksiyon günü yapılan ovaryum kontrollerinde elde edilen % 84 oranındaki CL varlığı sunulan çalışmada bildirilen değerlerden yüksek bulunmak ile birlikte aktif CL varlığı araştırmacıların bildirdiği değere benzer bulunmuştur.

$PGF_2\alpha$ uygulama günü kan progesteron seviyelerine bakıldığında ise; ilk tohumlamada gebe kalanların (5.62±1.19 ng/ml) ortalama değerleri, gebe kalmayanların (4.64±0.91 ng/ml) değerlerinden daha yüksek bulundu. Tüm hayvanlarda kan progesteron değerleri ortalaması ise 5.06±0.72 ng/ml olarak tespit edildi (Tablo 4.1).

Gruplarda $PGF_2\alpha$ uygulama günü kan progesteron seviyelerine ise en yüksek İmp18 grubunda (6.89±1.68 ng/ml) gözlenirken, en düşük ortalama ise İmp13 grubunda

(3.50±0.65 ng/ml) olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda ise (4.91±1.13 ng/ml), bu iki değer arasında tespit edilmiştir. Stevenson ve ark (1996) yaptıkları çalışmada GnRH-$PGF_2\alpha$-GnRH şeklinde uyguladıkları senkronizasyon protokolünde $PGF_2\alpha$ uygulama günündeki ortalama kan progesteron değerlerini yaklaşık olarak 4 ng/ml olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada tüm hayvanların ortalaması bu değerden yüksek bulunmuştur. $PGF_2\alpha$ uygulama günü progesteron değerinin yüksek bulunmasının nedeni olarak GnRH enjeksiyonunun dominant folliküllerde luteinleşme veya ovulasyona neden olarak aksesuar CL teşekkül etmesinden kaynaklanabileceği öne sürülmektedir (Schmitt ve ark 1996). Buna karşılık Luteal dönemde yapılan GnRH enjeksiyonlarının ovulasyonu uyarması yanında, yeni bir folliküler dalga gelişimini uyarabileceği, ancak mevcut dominant folliküllerin luteinleşmesi veya ovule olmadan atreziye olabileceğide bildirilmektedir (Vasconcelos ve ark 1999)

Genel olarak $PGF_2\alpha$ uygulamalarından 24 saat sonra progesteron düzeyinin bazal seviyeye indiği bildirilmektedir (Stevenson ve ark 1996, Stevenson ve ark 1999). Çalışmada tohumlama günü kan progesteron seviyelerine bakıldığında, gebe kalanların ve gebe kalmayanların progesteron düzeylerinin 1 ng/ml altında olduğu dolayısı ile anılan literatür bilgilerine uyumlu olarak luteolizisin şekillendiği gözlenmektedir (Tablo 4.1).

Yapılan çalışmalarda ovsynch uygulamaları sonucunda elde edilen gebelik oranları; ineklerde Stevenson ve ark (1996) %31.94, Pursley ve ark (1997b) %37.8, Stevenson ve ark (1999) %35.6, Geary ve Whittier (1999) %52 (Wilson 2003), Hall ve Whittier (2001) %55.8 (Hall ve ark 2002), Çoyan ve ark (2003) %60, El-Zarkouny ve ark (2004) %36.3 ve Nak ve ark (2005b) %42.2 oranında elde ettiklerini bildirmişlerdir. Düvelerde ise Stevenson ve ark (1996) %53.8, Pursley ve ark (1997b) %35.1 ve Nak ve ark (2005a) %58.8 oranlarında gebelik elde ettiklerini bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada ilk tohumlamada İmp13 grubunda %37.5 oranında gebelik elde edilmiştir, bu oran İmp18 grubu (%52.94) ve kontrol grubundan (%54.54) düşük bulunurken, İmp18 ve kontrol grupları birbirine yakın gebelik oranı elde edilmiştir (Tablo 4.9). Bu oranlar; ineklere uygulanan ovsynch sonuçlarına bakıldığında çoğu araştırmacın (Stevenson ve ark 1996, Pursley ve ark 1997b, Stevenson ve ark 1999, El-Zarkouny ve ark 2004, Nak ve ark 2005b) elde ettikleri oranlarından; İmp18 ve kontrol grupları yüksek olarak bulunurken, İmp13 grubuyla benzer oranlar elde edilmiştir. İmp13 grubu gebelik oranları Geary ve Whittier (1999), Hall ve Whittier (2001) ve Çoyan ve ark (2003)' larının bildirdiği sonuçlardan düşük bulunmasına karşılık, İmp18 ve kontrol grupları benzer bulunmuştur. Pursley ve ark

(1997b), düveler üzerinde elde ettikleri gebelik oranları, İmp13 grubu gebelik oranları ile benzerlik göstermek ile birlikte İmp18 ve kontrol grupları oranlarından düşük bulunmuştur. Stevenson ve ark (1996) ve Nak ve ark (2005a) elde ettikleri gebelik oranlarından İmp13 grubu düşük bulunur iken, İmp18 ve kontrol grupları benzer bulunmuştur. Oranlar arasındaki farklılıklar araştırmacıların kullandıkları hayvan ırkları, yaş, bakım besleme ve sağmal inek olmasından kaynaklanabileceği gibi çalışmamızda kullanılan hayvan sayısının azlığı da rol oynayabilir. Pursley ve ark (1997b) göre ovsynch yönteminin sağmal ineklerde folliküler ve luteal gelişimi sağlayarak östrüs senkronizasyonu yaptığını, ancak düveler için uygun olmadığını belirtseler de çalışmamızda elde edilen gebelik oranları, anılan araştırmacının ineklerden elde ettiği gebelik oranları ile benzerlik göstermektedir. Bu durumun nedeni olarak muhtemelen hayvanların yaşlarının ilerlemiş olmalarına karşılık henüz doğum yapmamış olmalarından dolayı düve olarak tanımlanmaları da düşünülebilir.

İlk tohumlama sonrası kontrol grubundan elde edilen yüksek gebelik oranın nedeni tohumlamadan sonraki 24 saat içinde ovulasyon şekillenme oranının İmp13 grubunda %75, İmp18 grubunda %64 ve kontrol grubunda %82 oranı ile açıklanabilir. $PGF_2\alpha$ uygulama günü 8 mm'den küçük follikül bulunmaması da kontrol grubunda gebelik oranının yüksek olmasının bir başka nedeni olabileceği düşünülmüştür. Östrüs senkronizasyonunda ovulasyon zamanın $PGF_2\alpha$ uygulama zamanındaki folliküler gelişim safhasına bağlı olduğu (Stevenson ve ark 1999), GnRH uygulamasına en iyi cevabın 10 mm'den büyük folliküllerin verdiği (Vasconcelos ve ark 1999, Dolezel ve ark 2002) bildirilmiştir. Çünkü 9 mm'den küçük folliküllerdeki granuloza hücrelerinde bulunan LH reseptörlerinin azlığı, GnRH uygulanmasıyla uyarılan LH dalgasına cevabı düşürdüğü bildirilmiştir (Xu ve Burton 2000).

İmp13 grubunda 13. gün implant uygulama sırasında gebe kalan hayvanlarda ortalama CL büyüklüğü ve progesteron konsantrasyonları, gebe kalmayan hayvanların ortalamasından yüksek bulunmuştur. Stevenson ve ark (2003) yaptıkları çalışmada resenkronizasyon amacıyla 13. gün progesteron (CIDR) uyguladıkları düvelerde 13. gün kan progesteron seviyesini 5.3±0.3 ng/ml olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Elde ettikleri bu sonucun bu çalışmada elde edilen sonuç ile (5.20±0.84 ng/ml) benzer olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca El-Zarkouny ve Stevenson (2004) yaptıkları çalışmada, tohumlamadan sonraki 13. gün resenkronizasyon amacıyla CIDR uyguladıkları hayvanlarda 13. kan progesteron seviyesi gebe kalanlarda yaklaşık 4 ng/ml iken gebe

kalmayanlarda 3.5 ng/ml olduğunu bildirmiştir. Gebe kalanlarda progesteron değerinin, kalmayanlara göre, yüksek çıkması doğal olarak gebe kalan grubun tamamında progesteron değerinin yüksek olmasına karşılık gebe kalmayan bazı hayvanlarda ovulasyonun şekillenmemiş olması ve bunun sonucu progesteron ortalamalarını düşürmesi söz konusu olabilir.

El-Zarkouny ve Stevenson (2004) yaptıkları çalışmada sabit zamanlı tohumlamadan sonra resenkronizasyon amacıyla 13. gün CIDR uyguladıkları ve 20. gün uzaklaştırdıkları çalışma grubu ile herhangi bir tedavi uygulamadıkları kontrol grubunda, tohumlamadan sonraki 20-26. günlerde gebe kalmayanlarda östrüs gösterme oranı CIDR grubunda %33.9 iken kontrol grubunda %28.7 olarak tespit ettiklerini, ilk tohumlamada gebelik oranlarının CIDR grubunda %42.1, kontrol grubunda %38.2, resenkronizasyon sonucu gebelik oranı CIDR grubunda %20 ve kontrol grubunda %31.6 oranında elde ettiklerini bildirmişlerdir. Colazo ve ark (2005) yaptıkları benzer çalışmada CIDR uygulanan grupta ilk tohumlamada gebe kalmayanların tohumlamadan sonraki 20-26. günler arasında östrüs gösterme oranını %70.6 iken kontrol grubunda ise %85.7 oranında olduğunu, ilk tohumlamada gebe kalma oranı CIDR uygulanan grupta %57, kontrol grubunda ise %56.4 ve resenkronizasyon sonucu çalışma grubunda %44.1 ve kontrol grubunda %65.7 oranında gebelik elde edilmiştir. Stevenson ve ark (2003) tarafından yürütülen benzer çalışmada ise resenkronizasyon sonucu gebelik oranı progesteron grubunda %33.3, kontrol grubunda %15 olarak bildirmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada ise sabit zamanlı tohumlamadan sonraki 20-27. günler arasında gebe kalmayanların östrüs gösterme oranı bakımından İmp13 grubu (%40) El-Zarkouny ve Stevenson (2004) çalışmasından yüksek, Colazo ve ark (2005) ve Stevenson ve ark (2003) değerlerinden düşük olduğu tespit edilmiştir. İlk tohumlamada gebelik oranlarına bakıldığında; İmp13 grubunda (%37.5) yapılan diğer çalışmalardan (El-Zarkouny ve Stevenson 2004, Colazo ve ark 2005 ve Stevenson ve ark 2003) düşük olduğu, kontrol grubu ise (54.54) El-Zarkouny ve Stevenson (2004) çalışmasından yüksek iken diğer (Colazo ve ark 2005 ve Stevenson ve ark 2003) çalışmalarla benzer olduğu tespit edilmiştir. Resenkronizasyon sonucu gebelik oranlarına bakıldığında ise İmp13 grubunun (%10) diğer yapılan çalışmalardan daha düşük olduğu, kontrol grubunun (%33) El-Zarkouny ve Stevenson (2004) çalışmasıyla benzer iken, Colazo ve ark (2005) çalışmasından düşük ve Stevenson ve ark (2003) çalışmalarından yüksek bir orana sahip olduğu tespit edilmiştir. Anılan literatür çalışmaları ile sunulan çalışma arasındaki

farklılıkların ortaya çıkmasında, muhtemelen kullanılan hormon preparatları, hayvan ırkları, kondüsyon ve çalışmada kullanılan hayvan sayısının azlığının da rol oynayabileceği düşünülmektedir.

İmp18 grubunda 18. gün implant uygulaması sırasında gebe kalan hayvanların CL, follikül ve kan progesteron seviyeleri gebe kalmayanlardan büyük olduğu gözlendi. Özellikle CL ($p<0.01$) ve progesteron değerlerinin önemli derecede büyük olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Bu durumun nedeni olarak, gebe kalmayan siklik hayvanlarda 18. günde luteolizisin başlamış olması gösterilebilir. De La Sota (2005) yaptığı çalışmada ovsynch uyguladığı hayvanlara resenkronizasyon amacıyla tohumlamadan sonraki 18-25. günler arasında PRID uyguladığı hayvanlarda birinci ve ikinci tohumlama sonrasında toplamda %57 oranında gebelik elde ettiğini bildirmiştir. Yapılan çalışma bulguları ile anılan literatür bulguları benzerlik göstermek ile birlikte, yapılan literatür taramalarında bu gruba ilişkin olarak başka veri bulunulamamasından dolayı yeterli tartışma imkanı bulunamamıştır.

Sonuç olarak sunulan çalışmada uygulanan ovsynch protokolü ile ilk tohumlamadan sonra elde edilen östrüs oranları ve gebelik oranlarının literatür verileri ile karşılaştırıldığında yeterli tatmin edici düzeyde bulunmasına karşılık, uygulanan resenkronizasyon protokollerinde yüksek östrüs oranı elde edilmiş, ancak gebelik oranı yetersiz bulunmuştur. Resenkronizasyon protokollerinin hayvanların sürekli gözlem altında tutulmasını sağlaması göz önünde bulundurulursa, özellikle yetersiz östrüs gözlemi yapılan işletmelerde reprodüktif yönetim açısından olumlu sonuçlar doğuracağı düşünülebilir. Ancak tüm işletmelerde yaygın hormon uygulamalarının getireceği ek maliyetler ve periyodik hormon uygulamalarının tüketiciler üzerinde yaratacağı olumsuz etkiler göz önünde bulundurulmalıdır

6. ÖZET

S. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı
YÜKSEK LİSANS TEZI / KONYA 2008

Mesut KIRBAŞ

Düvelerde Progesteron Destekli Farklı Resenkronizasyon Protokollerinin Karşılaştırılması

Bu çalışmada, ovsynch yöntemiyle tohumlanan düvelerden gebe kalmayanlarının en kısa sürede gebe bırakılması için progesteron destekli resenkronizasyon protokollerine alınması ve bu yöntemlerden en uygununun belirlenmesi amaçlandı

Çalışmada kullanılan İsviçre esmeri düveler (n=44) ovsynch yöntemiyle tohumlandı. Tohumlamadan sonra hayvanlar tesadüfî olarak 3 gruba ayrıldı. **I. Grup düvelere (İmp13)** (n=16), tohumlamadan sonraki 13. gün progestron içeren kulak implantı uygulandı ve 20. gün implant uzaklaştırıldı. **II. Grup düvelere ise (İmp18)** (n=17) tohumlamadan sonraki 18. gün kulak implantı uygulandı ve 27. gün implant uzaklaştırıldı. **III. Grup düvelere (Kontrol)** ise hiçbir uygulama yapılmadı. I ve III. gruplarda tohumlamadan sonraki 20 ile 27. günler arasında östrüsler gözlendi ve östrüs tespit edilen düveler tohumlandı. Geriye kalanların 27. günde ultrason ile gebelik muayeneleri yapıldı. I ve II. grupta gebe kalmayanlara $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu yapıldı. $PGF_2\alpha$ enjeksiyonundan 48 saat sonra GnRH enjeksiyonu ve bundan da 16-20 saat sonra tekrar tohumlama yapıldı. Kontrol grubunda ise aynı süreçte doğal östrüsler gözlendi. Son tohumlamadan 30 gün sonra ultrason ile gebelik kontrolleri yapıldı. Ovsynch, implant, son $PGF_2\alpha$ uygulama ve tohumlama günlerinde kan numuneleri alındı ve ovaryum muayeneleri yapıldı.

Ovsynch yöntemiyle senkronizasyon sonucu gebelik oranları I., II. ve III. gruplarda sırası ile %37.5, %52.9 ve %54.5 olarak bulundu**.** Tohumlamadan sonraki 20-27. günler arasında gebe kalmayanların östrüs gösterme oranı I ve III. gruplarda sırası ile %40 ve %60 olarak belirlendi. Son tohumlama sonucu toplamda gebelik oranları %43.8, %58.8 ve %63.6 olarak tespit edildi.

Sonuç olarak, karşılaştırılan resenkronizasyon protokollerinden II. grubun, I. gruba göre sayısal olarak daha başarılı olduğu tespit edildi. Resenkronizasyon protokollerinin kullanılmasının, tohumlamadan sonra hayvanların sürekli kontrol altında tutulmasını sağlanacağı, sağmal ineklerde de doğum-yeniden gebe kalma süresi kısaltacağı kanısına varıldı.

7. SUMMARY

S. Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı
YÜKSEK LİSANS TEZI / KONYA 2008

Mesut KIRBAŞ

Comparison Of Different Resynchronization Protocols Based On Progesterone In Heifers

In this study, it was aimed that to take the heifers which were not pregnant via artificial insemination (AI) following ovsynch method to resynchronization protocols used progesterone and to determine the most appropriate method.

The heifers used in the study (n=44) were inseminated via ovsynch method. After the inseminations the animals were divided into three groups randomly. Group I animals (Imp13) (n=16) were treated with ear implants involving progesterone 13 days after AI and removed day 20. Groups II animals (Imp18) (n=17) were treated with ear implants involving progesterone 18 days after AI and removed day 27. Group III animals (Control) (n=11) were not treated. In groups I and III, estruses were observed 20 to 27 d after the AI and estrous heifers during this period were AI. Remaining heifers were examined for pregnancy on d 27 by ultrasonography. Heifers which were not pregnant in groups I and II were injected $PGF_2\alpha$. They were injected GnRH 48 h after $PGF_2\alpha$ injection and 16-20 h after this they were inseminated again. At the same time natural estrous was observed in control group. Pregnancy examinations were performed 30 d after the AI by ultrasonography. Ovarian examinations and blood collection were performed at the ovsynch, implant, last $PGF_2\alpha$ application and AI days.

Pregnancy rates after the ovsynch protocol were 37.5%, 52.9% and 54.5% in groups I, II and III, respectively. Estrous rates of the heifers that did not become pregnant between days 20-27 after the AI were 40% and 60% in groups I and III, respectively. Total pregnancy rates after the last AI were 43.8%, 58.8% and 63.6% in groups I, II and III, respectively.

In conclusion, it was determined that group II was more successful than group I as numerically. It was concluded that usage of resynchronization methods will provide to keep the animals under control after the insemination, and shorten the parturition-pregnancy interval in cows.

8. KAYNAKLAR

Aksoy M, Alan M, Tekeli T, Semacan A ve Çoyan K (1993) *İnek ve düvelerde östrüs belirleme hataları ve sun'i tohumlama uygulamasındaki önemi*, Hayvancılık Araştırma Dergisi, 3(1), 28-30.

Alaçam E (1994) *Üremenin Denetlenmesi*, Alınmıştır "Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Doğum ve İnfertilite" Editör E Alaçam, 81-88. Dizgievi, Konya.

Aral F ve Çolak M (2004) *Esmer ırk inek ve düvelerde GnRH-PGF2 alfa ile östrüs ve ovulasyon senkronizasyonu ve dölverim performansı*, Türk J Vet Anim Sci, 28, 179-184.

Bülbül B (2004) *Saha şartlarındaki ineklerde farklı östrüs senkronizasyon yöntemlerinin fertilite üzerine etkisini araştırılması,* Doktora tezi, S.Ü. Sağlık Bilimleri Enst., Konya.

Bülbül B ve Ataman MB (2003) *İnek ve düvelerde folliküler gelişim ve fertiliteye etkisi*, Türk Veteriner Hekimliği Dergisi, 15(2), 56-63.

Bülbül B ve Ataman MB (2005a) *Saha şartlarındaki ineklerde farklı östrüs senkronizasyon yöntemlerinin fertilite üzerine etkisinin araştırılması,* Vet. Bil. Derg., 21(3-4), 15-22.

Bülbül B ve Ataman MB (2005b) *İneklerde ösrüs senkronizasyonu*, Vet. Bil. Derg., 21(3-4), 23-32.

Cavalieri J, Kinder JE, De'ath G and Fitzpatrick (1997) *Effect of 48 h treatment with 17 β-oestradiol or progesterone on follicular wave emergence and synchrony of ovulation in bos indicus cows when administerede at the end of a perriod of progesterone treatment*, Anim. Reprod. Sci., 46,187-201.

Cirit Ü (2002) *Siyah alaca ineklerde PGF2α ve GnRH'nın farklı kombinasyonları ile östrüs senkronizasyonu çalışmaları*, Doktora tezi, İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enst, İstanbul.

Cleef JV, Macmillan KL, Drost M, Lucy MC and Thatcher WW (1996) *Effects of administering progesteron at selected intervals after insemination of synchronized heifers on pregnancy rates and resynchronization of returns to service*, Theriogenelogy, 46, 1117–1130

Colazo MG, Kastelic JP, Mainar-Jaime RC, Gavag QA, Whittaker PR, Small JA, et al (2005) *Resynchronization of previously timed-inseminated beef heifers with progestins*, Theriogenology, 65(3), 557-572.

Çınar M (1999) *PGF2 ile senkronize sütçü ineklerde tohumlama sırasında ve/veya tohumlamayı izleyen 12. günde GnRH uygulamalarının fertilite üzerine etkileri*, Doktora tezi, S.Ü. Sağlık Bilimleri Enst., Konya.

Çoyan K (1994) *Evcil Hayvanlarda Seksüel Sikluslar* Alınmıştır "Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Doğum ve İnfertilite" Editör E.Alaçam, 25-36, Dizgievi, Konya.

Çoyan K ve Tekeli T (1996) *Reprodüktif Fizyoloji*, Alınmıştır "İneklerde Suni Tohumlama" 5-13, Bahçıvanlar basım, Konya

Çoyan K (2002a) *Reprodüktif Fizyoloji*, Alınmıştır "Evcil Hayvanlarda Dölerme ve Suni Tohumlama" Editör K.Çoyan, 58-66, S.Ü. Vet Fak Yayın Ünitesi, Konya.

Çoyan K (2002b) *İneklerde Hormonların Reprodüktif Kullanımı* Alınmıştır "Evcil Hayvanlarda Dölerme ve Suni Tohumlama" Editör K.Çoyan, 112-117, S.Ü. Vet Fak Yayın Ünitesi, Konya

Çoyan K, Ataman MB, Erdem H, Kaya A, ve Kaşıkcı G (2003) *Synchronization of estrus in cows using double $PGF_2\alpha$, GnRH- $PGF_2\alpha$ and hCG- $PGF_2\alpha$ combination* Revue Med Vet, 154(2), 91-96.

Çoyan K (2005) "*İneklerde suni tohumlama el kitabı*" S.Ü Basımevi Konya.

De la Sota RL (2005) *Nach der Brunstsynchronisation folgt die Resynchronisation*, 1. Berliner Tagung 'Fruchtbarkeit beim weiblichen Rind', 18.-19.02.2005 http://www.vetion.de/taspezial/detail.cfm?aktuell_id=7621 Erişim tarihi Eylül 2007 (Abstract)

Dejarnette JM and Marshall CE (2003) *Efects of pre-senkronization using combinations $PGF_2\alpha$ and (or) GnRH on pregnancy rates of ovsynch- and Cosynch-treated lactating Holstein cows*, Animal Reproduction Sci, 77, 51-60.

Dinç DA (2006) *İneklerde reprodüktif verimliği artırma programları*, Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, 77(2), 50-64.

Diskin MG and Sreenan JM (2000) *Expression and detection of oestrus in cattle*, Reprod. Nutr. Dev., 40, 481–491.

Diskin MG, Austin EJ and Roche JF (2002) *Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle*, Dom. Anim. Endoc., 23, 211-228.

Doležel R, Čech S, Zajíc J and Havlíček V (2002) *Oestrus Synchronization by PGF_{2a} and GnRH in Intervals according to Stage of Follicular Development at Time of Initial Treatment in Cows.* Acta Vet. Brno, 71, 101-108.

Eilts BR and Paccamonti D (2007) *The bovina estrous cycle,* Figür (Östrüs siklusu sırasındaki değişikler) http://www.vetmed.lsu.edu/eiltslotus/theriogenology-5361/the_bovine_estrous_cycle.htm Erişim tarihi: Haziran 2007.

El-Zarkouny SZ and Stevenson JS (2004) *Resenkronizing estrus with progesteron or progesterone plus estrogen in cows of unknown pregnancy dtatus,* J Dairy Sci., 87, 3306-3321.

El-Zarkouny SZ, Cartmill JA, Hensley BA and Stevenson JS (2004) *Pregnancy in Dairy Cows After Synchronized Ovulation Regimens With or Without Presynchronization and Progesterone,* J. Dairy Sci., 87,1024-1037.

Fricke PM (2002) *Scanning the future-ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle,* J. Dairy Sci., 85,1918-1926

Fricke PM, Caraviello DZ, Weigel KA and Welle ML (2003) *Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals following first timed insemination*, J Dairy Sci, 86, 3941-3950.

Garcia A, Van Der Veijden GC, Colenbrander B and Bevers M (1999) *Monitoring follicular development in cattle by real-time ultrasonography: A review*, Vet Rec, 145, 334-340.

Ginther OJ, Knopf L and Kastelic JP (1989) *Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves*, J.Repord. Fertil., 87, 223-230.

Gordon IA (2005) "*Reproductive Technologies in Farm Animals*" Cambridge, MA USA, CABI Publishing.

Hall JB, Whittier WD, Myers J, Cline M, and Cuddy D (2002) *GnRH based estrus synchronization systems for beef cows*, Publication 400-013. Virginia Cooperative Extension, Blacksburg, VA http://www.ext.vt.edu/pubs/beef/400-013/400-013.html#L1 Erişim tarihi: Eylül 2007

Kaya A, Çoyan K ve Semacan A (1999) *GnRH ve PGF2α kombinasyonunun ineklerde östrüs senkronizasyonu ve gebelik üzerine etkisi*, Vet Bil Derg, 15 (1), 121-128.

Kaya M ve Gülyüz F (2005) *Doğal Kızgınlık Gösteren İneklerde Çift Sun'i Tohumlama*, YYÜ Vet Fak Derg., 16 (2), 31-33.

Lopez-Gaitus F and Vega-Prieto B (1990) *Pregnancy rate of dairy caws following sunchronization of estrus with cloprostenol, hCG and estradiol benzoate*, J of Vet Med Assocc, 37, 452-454.

Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Janzen E, McCartney DH and Mapletoft RJ (2000) *Estrus synchronization and pregnancy rates in beef cattle given CIDR-B, prostaglandin and estradiol or GnRH*, Can Vet J., 41(10), 786–790.

Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Cook B, Olson WO and Mapletoft RJ (2002) *The use progestins in regimens for fixed-time artificial insemination in beef cattle*, Theriogenology, 57, 1049-1059.

Merrel R (2003) *Estrus detection ve synchronization,.* Student research summary, ANSC 406, Texas A&M Univercity.

Nak Y, Nak D, Seyrek İntaş K, Tek HB, Keskin A, Tuna B ve Kumru İH (2005a) *Siklik ve asiklik anöstrüslü sütçü düvelerde ovsynch veya PRID+PGF2α+PMSG uygulamalarının reproduktif performans üzerine etkileri*, Uludağ Üniv. J. Fac. Vet. Med., 24 (1.2.3.4), 21-26.

Nak Y, Nak D, Seyrek İntaş K, Tek HB, Keskin A ve Tuna B (2005b) *Ovsynch, PRID+PGF$_2$α+PMSG ve Norgestomet içeren kulak implantı+PGF$_2$α+PMSG ile sağıtılan siklik ve asiklik anöstrüslü sütçü ineklerde kızgınlık ve gebelik oranlarının karşılaştırılması.* Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med., 24(1-2-3-4), 33-39

Nebel RL, McGilliard ML, French PD and Saltman RL (2003) *Economic impact of systematic breeding programs and factors to consider in program selection for the eproductive management of dairy cattle,* Proc Ann Conf Society for Therio, Columbus, OH, 371-379.

O'Connor ML (1993) *Heat Detection And Timing Of Insemination For Cattle,* Extension Circular 402, The Pennsylvania State University.

Parker R and Mathis C (2002) *Reproductive Tract Anatomy and Physiology of the Cow. Extension Livestock Specialists,* Guide B-212, New Mexico State University.

Perry G (2004) *Detection Of Standing Estrus In Cattle*, College of Agriculture & Biological Sciences, South Dakota State University, http://agbiopubs.sdstate.edu/articles/FS921B.pdf. Erişim tarihi Haziran 2007.

Peters MW and Pursley JR (2002) *Fertility of lactating dairy cows treated with Ovsynch after Presyncronization injections of PGF(2alpha) and GnRH,* Journal of Dairy Science, 85, 2403-2406.

Pursley JR, Mee MO and Wiltbank MC (1995) *Synchronization of ovulation in dairy cows using $PGF_2\alpha$ and GnRH,* Theriogenology, 44, 915-923**.**

Pursley JR, Kosorok MC and Wiltbank MC (1997a), *Reproductive Management of Lactating Dairy Cows Using Synchronization of Ovulation*, J Dairy Sci; 80, 301-306.

Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverirc HA and Anderson LL (1997b) *Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized ovulation or synchronized estrus,* J Dairy Sci., 80, 295-300.

Risco CA, Moreira F, De Lorenzo M and Thatcher WW (1998) *Timed artificial insemination in dairy cattle-Part II,* The Compendium 20(11), 1284-1289.

Rivera H, Lopez H, and Fricke PM (2005) *Use of Intravaginal Progesterone-Releasing Inserts in a Synchronization Protocol before Timed AI and for Synchronizing Return to Estrus in Holstein Heifers,* J.Dairy Sci., 88, 957–968

Ryan DP, Snijders S, Yaakub H and O'Farrell KJ (1995) *An evaluation of estrus synchronization programs in reproductive management of dairy herds*, J Anim Sci, 73, 3687-3695.

Salmanoğlu R, Alaçam E, Çelebi M ve Baş A (1999) *Sütçü ineklerde Hızlı Progesteron Testi Yardımıyla Yapılan Prostaglandin F2 alfa Kontrollü Tohumlamaların Fertiliteye Etkisi*, J. of Veterinary and Animal Sciences, 23(1), 115-121.

Sarıbay MK (2002) *İneklerde östrüsün gözlem ve pedometre yöntemiyle belirlenmesi*. Doktora Semineri, S.Ü. Sağ. Bil. Enst., Konya.

Schmitt E´J-P, Diaz T, Barros CM, de la Sota RL, Drost M, Fredriksson EW, Staples CR, Thorner R and Thatcher WW (1996) *Differential response of the luteal phase and fertility in cattle following ovulation of the first-wave follicle with human chorionic gonadotropin or an agonist of gonadotropin-releasing, hormone,* J Anim sci, 74, 1074-1083.

Selk G (2004) *Heat Detection Aids for Dairy and Beef A.I.*, Division of Agricultural Sciences and Natural Resources, Oklahoma State University. http://pods.dasnr.okstate.edu/docushare/dsweb/Get/Document-1964/F-4154web.pdf Erişim tarihi Haziran 2007.

Smith MW and Stevenson JS (1995) *Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostaglandin F2 alpha and progestins in the absence or presence of a functional corpus luteum,* J. Anim. Sci., 73, 3743-3751.

Sönmez MEC (1990) *Sığırlarda embriyo transfer tekniğinin ülkemiz koşullarında uygulanabilme olanağının araştırılması*, Doktora tezi, İ.Ü. Sağlık Bilimleri Enst., İstanbul.

Stevenson JS , Kobayashi Y, Shipka MP and Rauchholz KC (1996) *Altering Conception of Dairy Cattle by Gonadotropin-Releasing Hormone Preceding Luteolysis Induced by Prostaglandin $F_2\alpha$,* J Dairy Sci., 79, 402-410.

Stevenson JS, Kobayashi Y and Thompson KE (1999) *Reproduktive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including ovsynch and combinations of gonadotrpin-releasing hormone and prostaglandin $F2\alpha$*, J Dairy Sci., 82, 506-515.

Stevenson JS, Johnson SK, Medina-Britos MA, Richardson-Adams AM and Lamb GC (2003) *Resynchronization of estrus in cattle of unknown pregnancy status using estrogen, progesterone, or both,* J. Anim. Sci., 81,1681–1692.

Stevenson JS and Tiffany SM (2004) *Resynchronization estrus ovulation after non-pregnant diagnosis and various ovarian states including cysts*, J Dairy Sci., 87, 3658-3664.

Tek Ç, Sabuncu A, Baran A ve Evecen M (2003) *Postpartum sütçü ineklerde GnRH+$PGF_2\alpha$ ve hCG+$PGF_2\alpha$ uygulamalarının, östrüs senkronizasyonu ve fertilite üzerine etkileri*, Turk J Vet Anim Sci, 27, 125-131.

Tenhagen BA, Vogel C, Drillich M, Thiele G and Heuwieser W (2003) *Influence of stage of lactation and milk production on conception rates after timed artificial insemination following Ovsynch,* Theriogenology, 60, 1527-1537.

Vasconcelos JLM, Silcox RW, Rosa GJM, Pursley JR and Wiltbanksa MC (1999) *Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows*, Theriogenology, 52(6),:1067-1078.

Voh Jr AA, Larbi A, Olorunju SAS, Agyemang K, Abiola BD and Williams TO (2004) Fertility of N'dama and Bunaji Cattle to Artificial Insemination following oestrus synchronization with PRID and $PGF_2\alpha$ *in hot humid zone of Nigera,* Tropical Animal Healt and Production, 36(5), 499-511.

Wilson TW (2003) *Estrus Synchronization for beef cattle*, Bulletin 1232.

Wilson TW and Gilson WD (2005) *Estrous Detection Aids for Beef Cattle,* Agricultural and Environmental Sciences, Bulletin 1288, The University of Georgia

Xu ZZ and Burton LJ (1999) *Reproductive performance of dairy heifers after estrus synchronization and fixed-timed artificial insemination,* J Dairy Sci, 82, 910-917.

Xu ZZ and Burton LJ (2000) *Estrus synchronization of lactating dairy cows with Gnrh, Progesteron and Prostaglandin F2α,* J Dairy Sci, 83, 471-476.

Yiğit A ve Arıkan Ş (2001) *İneklerde östrus siklusu süresince gelişen steroidojenik ve non-steroidojenik luteal hücrelerin büyüklük dağılımlarında meydana gelen değişiklikler,* Turk J Vet Anim Sci, 25, 545-550.

Young IM (1989) *Dinoprost 14-day oestrus synchronisation schedule for dairy cows*, The Veterinary Record, 124, 587-588.

9. ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Konya'da doğdu. 1985 yılında Konya İli Karatay İlçesi Yavuz Selim İlkokulunu, 1988 yılında Konya ili Karatay İlçesi Mehmet Akif Ersoy İlköğretim Okulunu, 1991 yılında Konya Veteriner Sağlık Meslek Lisesini bitirdi. Aynı yıl Mardin İline Veteriner Sağlık Teknisyeni olarak ataması yapıldı. 1991 yılı ÖSS ve ÖSYS sonucu Konya Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazanarak kaydını yaptırdı. 1996 yılı bahar döneminde mezun oldu. Aynı yıl Mardin Tarım İl Müdürlüğünde Veteriner Sağlık Teknisyeni olarak göreve başladı. Şubat 1997 yılında Mardin İli Ömerli İlçesine ataması yapıldı. Temmuz 1997 tarihinde kadro değiştirerek Veteriner Hekim Unvanı aldı. Askerlik vazifesini Gemlik Askeri Veteriner Okulunda ve Deniz Astsubay Hazırlama Okulunda yaptı. Mardin ili Ömerli ilçesinde Veteriner olarak görevini devam ettirdi. Eylül 2001 tarihinde Afyon ili Başmakçı ilçesine, Ağustos 2004 tarihinde ise Bahri Dağdaş UTAE Müdürlüğüne ataması yapıldı. Halen bu kuruluşta Veteriner Hekim olarak görev yapmaktadır. Evli ve bir çocuk babasıdır.

10. TEŞEKKÜR

Çalışmamın değişik aşamalarında bilimsel ve mesleki tecrübelerinden yararlandığım Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Melih AKSOY ve Prof. Dr. M. Bozkurt ATAMAN hocalarıma ve araştırma görevlileri Dr. Orhan AKMAN ve Ali Doğan ÖMÜR'e teşekkürlerimi sunarım,

Yüksek lisans projemin yürütülmesini destekleyerek bana olanak sağlayan Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğüne saygılarımı sunarım,

Bünyesindeki Sığırcılık Şubesinde bu araştırmanın yapılmasına olanak sağlayarak destekleyen BAHRİ DAĞDAŞ Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü İdaresine teşekkürlerimi bir borç bilirim,

Bu çalışmam sırasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyerek özveri ile bana yardımcı olan mesai arkadaşlarımdan Dr. Bülent BÜLBÜL, Şükrü DURSUN ve Mehmet KÖSE başta olmak üzere sığırcılık şubesinde çalışan tüm teknik ve işçi personele teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım,

Bu ülkenin geleceği adına çalışan bir birey olabilmem için büyük bir özveri ve emek harcayan babam Mevlüt KIRBAŞ ve annem Ümmü KIRBAŞ başta olmak üzere tüm aileme teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın başından sonuna kadar maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Arzu KIRBAŞ ve oğlum M. Emre KIRBAŞ'a teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.