T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSVİÇRE ESMERİ DÜVE VE LAKTASYONDA OLMAYAN İNEKLERDE OVARYUM FONKSİYONLARININ ÖSTRÜS SENKRONİZASYONU VE GEBELİK ORANI ÜZERİNE ETKİSİ

Mehmet KÖSE

DOKTORA TEZİ

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI (VET)

Danışman

Prof. Dr. Tevfik TEKELİ

KONYA-2010

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İSVİÇRE ESMERİ DÜVE VE LAKTASYONDA OLMAYAN İNEKLERDE OVARYUM FONKSİYONLARININ ÖSTRÜS SENKRONİZASYONU VE GEBELİK ORANI ÜZERİNE ETKİSİ

Mehmet KÖSE

DOKTORA TEZİ

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI (VET)

Danışman

Prof. Dr. Tevfik TEKELİ

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 07 202 007 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2010

S.Ü. SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Mehmet KÖSE tarafından savunulan bu çalışma, jürimiz tarafından Doğum ve Jinekoloji (Vet) Anabilim Dalında Doktora Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı ve Danışman	**Prof. Dr. Tevfik TEKELİ** Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi	İmza
Üye :	**Prof. Dr. Mehmet GÜLER** Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi	İmza
Üye:	**Prof. Dr. Melih AKSOY** Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	İmza
Üye:	**Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN** Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi	İmza
Üye:	**Prof. Dr. Hüseyin ERDEM** Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi	İmza

ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu …… tarih ve …… sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Orhan ÇETİN

Enstitü Müdürü

ii. ÖNSÖZ

Sütçü inek işletmelerinde östrüslerin tespit edilememesi reprodüktif verimliliği sınırlayan faktörlerin en başında gelmektedir. Ayrıca östrüs tespiti iş gücü ve zaman kaybına da yol açmaktadır. Östrüs tespiti için harcanan iş gücü ve zaman kaybını azaltmak için değişik hormon preparatlarının tek veya kombine kullanıldığı östrüs senkronizasyonu yöntemleri geliştirilmiştir.

Östrüs senkronizasyonunda en yaygın olarak kullanılan hormon gruplarından birisi de $PGF_{2\alpha}$ ve analoglarıdır. Bu hormonların kullanıldığı senkronizasyon yöntemlerinde östrüs ve ovulasyonlar geniş zaman aralıklarına dağılmaktadır. Bu yöntemlerde östrüs tespitine dayalı tohumlama yapıldığında iş gücü ve zaman kaybı oluşurken, sabit zamanlı tohumlama yapıldığında ise ovulasyonlar tohumlama zamanına göre senkronize edilemediğinden gebelik oranları düşmektedir. Bu nedenle prostaglandinlerin kullanıldığı senkronizasyon yöntemlerinde kabul edilebilir gebelik oranının elde edilmesi zaman ve işgücü kaybının en aza indirilmesi için ovulasyonların da senkronize edilmesi gerekmektedir. Ovulasyonların senkronizasyonunda klinik alanında en yaygın kullanılan hormon ise LH salınımı üzerine pulsatil etkisi olan GnRH'dır.

Progesteron, gebeliğin devamında özellikle erken embriyonal dönemde anahtar rolünde olan bir hormondur. Fertilizasyon sonrası maternal kabulün gerçekleşmesi ve embriyonun canlılığının devamlılığı, uygun progesteron profilinin oluşumuna bağlıdır. Erken embriyonal dönemde gerekli progesteron ortamının oluşumu ise yine ovaryum fonksiyonlarına bağlıdır.

Sunulan çalışmada 14 gün ara ile iki prostaglandin enjeksiyonundan 48 saat sonra GnRH'nın uygulandığı senkronizasyon yönteminde senkronizasyon periyodunda ve tohumlama sonrası ovaryum fonksiyonlarının gebelik oranı üzerine etkisi araştırılmıştır.

Doktoram süresince çalışmamın her aşamasında desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Hüseyin ERDEM ve Doç. Dr. Aydın GÜZELOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi

sunarım. Ayrıca tez süresi boyunca sabırla bana yardımcı olan meslektaşlarım Dr. Bülent BÜLBÜL, Şükrü DURSUN, Mesut KIRBAŞ, Naci TURHAN, Bayram YAMAN ve Ahmet OYAR'a, istatistiksel analizlerin yapılmasında büyük destek gördüğüm ağabeyim Dr. Ahmet Hamdi AKTAŞ'a teşekkürü borç bilirim. Bugüne kadar desteklerini esirgemeyen sevgili eşim Semagül KÖSE ve çocuklarım Berkehan ve Eymen'e, annem Kadriye ve babam Mikdad KÖSE'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca sunulan çalışmayı destekleyen S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP)'ne teşekkür ederim.

iii. İÇİNDEKİLER

Sayfa

1. GİRİŞ……...……..…..1

1.1. İneklerde Östrüs Senkronizasyonu ve Avantajları…….2

1.2. İneklerde Uygulanan Östrüs Senkronizasyonu Yöntemlerinin Esasları……2

1.1.1. Prostaglandinler ile Östrüs Senkronizasyonu…….....3

Tek enjeksiyon uygulaması……...…….……...3

Çift enjeksiyon uygulaması……...…….……...4

Onbir gün ara ile $PGF_{2\alpha}$ uygulama yöntemi……...…….....5

Ondört gün ara ile $PGF_{2\alpha}$ uygulama yöntemi ……...……5

Pazartesi-pazartesi $PGF_{2\alpha}$ uygulama yöntemi ……...……...6

1.3. Östrüs Senkronizasyonunun Başarısını Etkileyen faktörler…….....6

1.3.1. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile Yapılan Östrüs Senkronizasyonunda Başarıyı Etkileyen Faktörler ……...…….....……...……7

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ uygulaması sırasında seksüel siklusun evresi.....7

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ uygulaması sırasında progesteron düzeyinin etkisi……..8

Luteolizisin yetersiz olması……..9

Enjeksiyon sonrası folliküler evrenin uzun olması…….…..…..10

İneklerin östrüs göstermemesi (Anöstrüs)……..11

Prostaglandinlerin dozu, uygulanma şekli ve çeşidi……...12

Ovaryumlardaki fonksiyonel korpus luteumların doğru tespit edilme düzeyi……14

1.3.2. Östrüs Senkronizasyonunun Başarısına Etki Eden Bazı Genel Faktörler…….……14

Embriyonik ölümler……14

Vücut kondüsyon skoru (VKS) ve vücut ağırlığı……16

1.4. GnRH ve Östrüs Senkronizasyonunda Kullanımı……...18

1.5. Erken Gebelikte Endokrin Düzen ve Gebeliğe Etkisi……..21

2. GEREÇ ve YÖNTEM……..……..…..……..……..24

3. BULGULAR……...……..…….……..40

4. TARTIŞMA……...……...…….……...40

5. SONUÇ ve ÖNERİLER……..……..……..58

6. ÖZET……60

7. SUMMARY……...…….……61

8. KAYNAKLAR……...……...…….……62

9. ÖZGEÇMİŞ……...……...……...……68

iv. SİMGELER VE KISALTMALAR

CL	Korpus luteum
FSH	Follikül uyarıcı hormon
GnRH	Gonadotropin salınım hormonu
IM	İntramüsküler
LH	Luteinleştirici hormon
P_4	Progesteron
PG	Prostaglandin
$PGF_{2\alpha}$	Prostaglandin F_2 alfa
SC	Deri altı
τ	Tau
VKS	Vücut kondüsyon skoru

1. GİRİŞ

Sığır işletmelerinde reprodüktif verimlilik, ekonomik karlılığın en önemli göstergesidir. Son yıllarda modern sütçü işletmelerde genetik ve sürü yönetiminde önemli ilerlemeler olmuştur. Ancak yüksek süt verimi ve yoğun bakım-beslemeden kaynaklanan fizyolojik strese bağlı olarak reprodüktif fizyolojide oluşan değişiklikler nedeniyle östrüs tespit oranı ve fertilite olumsuz olarak etkilenmekte, buna bağlı olarak reprodüktif verimliliğin sürekli olarak azaldığı görülmektedir (Lucy 2001, Thatcher ve ark 2004). Sığır yetiştiriciliğinde optimal reprodüktif verimliliğin ve yılda bir buzağı hedefinin sağlanabilmesi için öncelikle östrüsün tam olarak belirlenmesi, tohumlamanın zamanında yapılması ve kayıt sisteminin titiz olarak uygulanması gerekmektedir (Stephen ve ark 1998). Bunlar arasında östrüslerin tespit edilememesi reprodüktif verimliliği sınırlayan faktörlerin en başında gelmektedir (López-Gatius ve Vega-Prieto 1990). Sütçü sürülerin çoğunda östrüs tespit oranının % 50'den daha düşük olduğu görülmektedir (Senger 1994). İneklerin büyük bir oranının gerçekte östrüste olmasına rağmen, östrüs skor puan sistemine göre yeterli puanı sağlayamadığı ve tohumlama zamanındaki hatalara bağlı olarak gebelik oranının düştüğü belirlenmiştir (Van Eerdenburg ve ark 2002). Östrüs tespit oranının, gözlem yapan kişinin yanlış değerlendirmeleri nedeniyle azalabileceği, östrüs tespitinde gözlem metodu yerine diğer metotlarının kullanılması durumunda (rektal palpasyon/ultrasonografik muayene, elektronik aktivite ölçüm tekniği), gözlem metoduyla östrüste oldukları belirlenemeyen ineklerin önemli bir kısmında (%91) östrüslerin belirlenebileceği belirtilmektedir (Özlüer ve Salmanoğlu 2003).

Östrüsün tam olarak belirlenememesi ve tohumlama zamanındaki hatalara bağlı etçi ve sütçü sürülerde oluşan fertilite düşüklüğünü önleyebilmek ve yüksek fertilite oranları sağlayabilmek amacıyla farklı östrüs senkronizasyonu yöntemleri, her geçen gün daha yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun yanında sürü içinde senkronizasyonun daha etkin olarak sağlanabilmesi amacıyla yeni östrüs senkronizasyonu protokolleri geliştirilmekte, bu yöntemlerin avantaj ve dezavantajları değerlendirilmekte ve tartışılmaktadır.

1.1. İneklerde Östrüs Senkronizasyonu ve Avantajları

Östrüs senkronizasyonu, östrüs ve ovulasyonun istenen zamanda gerçekleşmesi için eksojen hormon uygulamaları ile seksüel siklusa müdahale edilerek yapılan planlı uygulamalardır (Alaçam 1997b, Cirit 2002). İneklerde reprodüktif verimliliği arttırmak için karlı ve popüler bir uygulama olan östrüs senkronizasyonunun avantajları şunlardır;

a) Östrüs tespitini kolaylaştırır ve bu iş için harcanan zamanı azaltır,

b) Suni tohumlama uygulamalarını kolaylaştırır,

c) Östrüslerin kısa zaman aralığı içinde toplulaşmasını sağlar,

d) Tohumlanan ineklerde gebelik tanısının erken yapılmasına olanak sağlar ve gebe olmadığı belirlenen ineklerin daha kısa sürede tekrar tohumlamasını sağlar,

e) Postpartum 45-56. günde ineklerin tohumlamalarına olanak sağlayarak yılda bir buzağı elde edilmesi hedefine ulaşmayı kolaylaştırır,

f) Sabit zamanlı tohumlama yapılabilmesi nedeniyle östrüs tespitine gerek kalmadan tohumlama yapılabilmesine olanak sağlar,

g) İnekler arasındaki buzağılama aralıklarını en aza indirir,

h) Doğumların toplulaştırılması nedeniyle sürü idaresini kolaylaştırır,

i) Reprodüktif sorunlar nedeniyle sürüden çıkartılan inek oranını azaltır,

j) Genetik potansiyeli yüksek boğaların spermalarının tohumlamada daha fazla kullanımına olanak sağlar,

k) Embriyo transferi uygulamalarında verici ve alıcı ineklerin östrüsleri arasındaki farklılıkları minimuma indirir (Alaçam 1997b, Forbes ve ark 1997, Jordan ve ark 2002, Merrel 2003, Ian 2005, Sabo ve ark 2008).

1.2. İneklerde Uygulanan Östrüs Senkronizasyonu Yöntemlerinin Esasları

İneklerde seksüel siklusun kontrolü, eksojen hormon uygulamaları ile hormonal metabolizmada oluşturulan değişikliklerle sağlanmaktadır. İneklerde östrüs siklusunun kontrolünde üç temel yaklaşım bulunmaktadır.

a) Luteolitik ajanlarla luteolizisin uyarılması

b) Progestagenlerin belirli bir süre uygulanmasıyla ovaryumda yapay korpus luteum (CL) fonksiyonunun oluşturulması

c) Folliküler ve luteal fonksiyonların düzenlenmesi amacıyla gonadotropin

salınım hormonu (GnRH) ve prostaglandinlerin birlikte uygulanmasıyla ovulasyonların senkronize edilmesi (Allock ve Peters 2004).

1.1.1. Prostaglandinler ile Östrüs Senkronizasyonu

ProstaglandinF_2 alfa ($PGF_{2\alpha}$), evcil hayvanların çoğunda "doğal luteolizin" olarak kabul edilmektedir (Pineda 2003). CL'nin yaşamını kısaltan bu luteolitik etki 1970'li yıllarda yapılan birçok çalışma ile ortaya konmuş (Wenzel 1991), daha sonraları $PGF_{2\alpha}$ ve üretilen çeşitli sentetik türevleri ineklerde seksüel siklusların kontrol edilmesinde ve genel sürü idaresinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır (Pineda 2003, Mitchell ve Gordon 2004). Normal bir siklusta $PGF_{2\alpha}$, ineklerde seksüel siklusun diöstrüs döneminin sonlarına doğru (siklusun 15-17. günleri) uterustan salgılandıktan sonra uterus venasına, buradan da ovaryum arterine diffüzyon yoluyla geçerek ovaryum üzerindeki fonksiyonel CL'nin morfolojik ve fonksiyonel (işlevsel) regresyonuna yol açmaktadır (John 1999, Pineda 2003, Weems ve ark 2006). $PGF_{2\alpha}$ ve analogları eksojen olarak seksüel siklusun 5-17 günleri arasında uygulandığında CL'nin prematüre luteolizisine (regresyonuna) ve progesteronun (P_4) periferal kan düzeyinde ani ve önemli bir azalmaya neden olmaktadır. Uygulamayı izleyen 30 saat içerisinde progesteron düzeyi bazal seviyelere düşmektedir. Progesteron düzeyindeki bu ani düşüş hipotalamus ve hipofiz üzerindeki yüksek progesteron düzeyine bağlı şekillenen negatif feed-back kontrolünün ortadan kalkmasına ve hipofiz gonadotropinleri ve östradiol 17-β düzeyinde pre-ovulatör bir artışa ve bunu takiben de ovulasyona neden olmaktadır (Canooğlu 2004, Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters 2004).

İneklerde $PGF_{2\alpha}$ ve analogları ile östrüs senkronizasyonu farklı şekillerde yapılabilmektedir.

Tek enjeksiyon uygulaması

Üç farklı şekilde uygulanmaktadır. Birinci yöntemde; rektal muayene, ultrasonografik muayene veya progesteron testi sonrası ovaryumlarında fonksiyonel

CL bulunan, gebe olmayan inekler belirlenerek $PGF_{2\alpha}$ enjekte edilir. Enjeksiyon sonrası östrüs gösteren inekler tohumlanır. Bu yöntemin etkinliği CL'lerin doğru tespit edilmesindeki başarı düzeyine bağlıdır (Roche ve ark 1998, Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters 2004).

İkinci yöntemde; herhangi bir uygulama yapılmadan 6 gün süreyle ineklerin östrüsleri gözlenir. Bu süre içerisinde östrüs gösteren inekler tohumlanır (Çoyan 2002, Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters 2004). Östrüs göstermeyen ineklere ise $PGF_{2\alpha}$ enjekte edilerek ya östrüs tespitine göre ya da sabit zamanlı olarak 1 veya 2 kez tohumlanır (Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters 2004). Bu uygulama yöntemi daha az hormon kullanımına olanak sağlaması yönünden ekonomik avantaj oluşturmakla birlikte, 6 gün östrüs takibi gerektirmesi nedeniyle dezavantaj oluşturmaktadır (Çoyan 2002).

Üçüncü yöntemde; sürüde gebe olmadığı kesin olarak belirlenen ineklere $PGF_{2\alpha}$ enjekte edildikten sonra 7 gün östrüs takibi yapılır. Östrüs gösteren inekler tohumlanır. Östrüs göstermeyen ineklere 8. gün tekrar $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılır ve bu enjeksiyon sonrası östrüste oldukları belirlenen inekler tohumlanır (Alaçam 1997b, Çoyan 2002).

Tek enjeksiyon $PGF_{2\alpha}$ uygulamasına ait bu yöntemlerde genel olarak $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunu izleyen 3-5 gün içerisine östrüsler dağılmakta ve gözlem sonrası tohumlama yapılmaktadır. Bu yöntemler avantajlı görülmekle birlikte östrüslerin geniş bir zaman aralığına dağılması, östrüslerin tespiti için ilave zaman ve iş gücü gerektirmesi önemli bir dezavantaj oluşturmaktadır (Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters 2004).

Çift enjeksiyon uygulaması

Bu yöntemlerin esası, ovaryumlarındaki fonksiyonel yapılar ve seksüel siklusun dönemi dikkate alınmadan belirli aralıklarla iki kez $PGF_{2\alpha}$ uygulanmasını

içerir. İki kez $PGF_{2\alpha}$ uygulamaları ile elde edilen gebelik oranlarının tek enjeksiyon uygulama yöntemlerinden daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Salmanoğlu ve ark 1999). Bu yöntem de üç farklı şekilde uygulanmaktadır.

Onbir gün ara ile $PGF_{2\alpha}$ uygulama yöntemi

Bu uygulamada, ineklere 11 gün ara ile iki $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılır. Tohumlamalar, ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası östrüs tespitine göre veya östrüs tespiti yapılmaksızın 80. saatte tek ya da 72 ve 96. saatlerde iki kez yapılır (Çoyan 2002, Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters 2004). Ancak düvelerde enjeksiyon-östrüs aralığının ineklere göre daha kısa olması, düvelerde ilk tohumlamanın en geç 60. saatte yapılmasını gerektirmektedir (Çoyan ve ark 1990).

Ondört gün ara ile $PGF_{2\alpha}$ uygulama yöntemi

Bu yöntemde $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonları 14 gün ara ile yapılır. Bu yöntemde de tohumlamalar ikinci enjeksiyon sonrası östrüs tespitine göre veya östrüs gözlemi yapılmadan sabit zamanlı olarak tek veya iki kez yapılır. Ondört gün ara ile yapılan $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonlarının bazı avantajları bulunmaktadır. Östrüs siklusunun geç diöstrüs döneminde (siklusun 10-15. günleri arası) $PGF_{2\alpha}$ uygulandığında hayvanların tamamında luteolizis şekillenmekte ve östrüsleri gözlenmektedir (Alan ve ark 1991). Ayrıca 14 gün ara ile çift $PGF_{2\alpha}$ uygulamasında, ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu öncesi daha yüksek progesteron düzeyinin sağlandığı ve gebe kalma / gebelik oranlarının daha yüksek elde edildiği farklı araştırıcılar tarafından ifade edilmektedir (Young 1989, Folman ve ark 1990).

Çift enjeksiyon $PGF_{2\alpha}$ uygulamasında değişik modifikasyonlar yapılabilmektedir. Buna göre ovaryumlardaki yapılar hakkında bilgi sahibi olmadan birinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılır ve enjeksiyon sonrası östrüs gösteren inekler tohumlanır. Östrüs göstermeyenlere 11-14 gün sonra ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılır ve tohumlamalar östrüs tespitine göre veya sabit zamanlı olarak yapılır. Bu

uygulama ile östrüs takibi yapılmadan uygulanan çift $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyon yöntemine göre daha iyi gebelik oranı sağlanmaktadır (Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters 2004, Zonturlu ve İzgür 2004).

Pazartesi-pazartesi $PGF_{2\alpha}$ uygulama yöntemi

Pratik progesteron ölçüm test kitlerinin kullanıldığı bir yöntemdir. Bu yöntemde postpartum 60 günü geçmiş ve henüz tohumlaması yapılmamış ineklerin süt progesteron düzeyine göre tohumlama yapılmaktadır. Buna göre pazartesi günü sabah sağımında alınan süt örneklerinde progesteron düzeyi belirlenir. Progesteron düzeyi yüksek çıkan ineklere $PGF_{2\alpha}$ enjekte edilerek, perşembe ve cuma sabahı iki kez tohumlanır. Progesteron düzeyi düşük çıkan ineklere ise izleyen pazartesi günü aynı işlem uygulanır (Salmanoğlu ve ark 1999).

1.3. Östrüs Senkronizasyonunun Başarısını Etkileyen Faktörler

Östrüs senkronizasyonu sonrası maksimum reprodüktif performansın sağlanabilmesi ve maksimum gebelik oranının elde edilebilmesi başlıca üç faktörün etkileşimine bağlıdır. Bunlar; uygulanan senkronizasyon yöntemi ile sağlanan senkronizasyonun derecesi, tohumlama sonrası elde edilen gebelik oranı ve çevresel ve idari faktörlerdir. Senkronizasyon derecesi, uygulanan senkronizasyon protokolüyle istenen bir zamanda östrüs gösteren veya ovulasyonları senkronize edilen ineklerin oranı olduğundan, elde edilecek gebelik oranı açısından çok önemlidir. Seksüel siklusun hormonal uygulamalarla kontrolünde uygulanan protokol sonrası oluşacak reprodüktif performans (örneğin; gebelik oranı), özellikle sabit zamanlı tohumlamalarda senkronizasyonun derecesine bağlıdır. Çevresel ve idari faktörler de, östrüs siklusunun hormonal kontrolünün optimal düzeyde sağlanabilmesi için göz ardı edilmeyecek unsurlardır. Örneğin; enerji alımı, reprodüksiyon açısından farklı evrelerde ineklerin olması gereken vücut kondüsyon skoruna etkili olduğundan, hayvanların beslenmesinde dikkat edilmesi gereken en önemli faktörlerden birisidir (Ball ve Peters 2004).

1.3.1. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile Yapılan Östrüs Senkronizasyonunda Başarıyı Etkileyen Faktörler

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ uygulaması sırasında seksüel siklusun evresi

$PGF_{2\alpha}$ ile yapılan östrüs senkronizasyonunda başarı, öncelikle ovaryumda aktif bir CL'nin varlığına bağlıdır (Cavalieri ve ark 2006). $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonlarıyla en iyi luteolitik etki, uygulamanın, seksüel siklusun 5-17. günleri arasında yapılması durumunda alınmaktadır (Canooğlu 2004, Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters 2004). Buna karşılık ovaryumlarda CL'nin bulunmadığı seksüel siklusun 18-0 ve 1-4. günleri (0. gün =östrüs) arasında prostaglandin enjeksiyonları etkisiz olmaktadır (Kılıçarlan ve ark 1997, Allock and Peters 2004).

1990'lı yılların başlarında ovaryum follikül dinamiği hakkında önemli bilgiler elde edilmiştir. Bu bilgiler ışığında enjeksiyon-östrüs aralığını etkileyen en önemli unsurun mevcut folliküler dalganın evresi olduğu anlaşılmıştır. Prostaglandinler, siklusun luteal döneminin ortasında uygulandığında yüksek oranda cevap alınmakla birlikte, östrüsler enjeksiyon sonrası 2-7. günler arasında hatta 8. güne kadar dağılım göstermektedir (Alan ve ark 1991, Canooğlu 2004, Zonturlu ve İzgür 2004, Thatcher ve ark 2004). Bunun nedeni ineklerde normal bir östrüs siklusunda birden fazla folliküler dalganın bulunması ve senkronizasyon döneminde gelişmiş olan dominant follikülün ovule olmadan dejenere olma ihtimalinden kaynaklanmaktadır. Dolayısıyla ineklerde östrüslerin görülme zamanı, folliküler gelişim ve CL'nin regresyonu arasındaki senkronizasyonun derecesine bağlı olmaktadır (O'Connor 2001, Canooğlu ve Salmanoğlu 2004). Sonuç olarak, östrüslerin geniş zaman aralıklarına dağılmasının nedeni, $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında ovaryumlardaki CL'nin yaşı ve gelişen folliküler dalganın evresidir (O'Connor 2001). Siklusun erken (7.gün) ve geç luteal (15-16.günler) evresinde yapılan enjeksiyonlarda ineklerin büyük çoğunluğunun (% 75-80) östrüsleri 24 saat içerisinde toplulaşırken, 12-13. günlerde yapılan enjeksiyonlarda alınan cevaplar oldukça değişken olmaktadır (Macmillan ve ark 2003). Alan ve ark (1991) diöstrüsün erken döneminde $PGF_{2\alpha}$ enjekte edilen ineklerde, enjeksiyon-östrüs aralığının (ineklerde 48,8 saat, düvelerde

49,0 saat), diöstrüsün geç döneminde enjekte edilen ineklere göre (inek 71,7 saat, düve 53,7 saat) daha kısa olduğunu belirlemişlerdir. Tekeli ve ark (1992), seksüel siklusun evresi dikkate alınmadan $PGF_{2\alpha}$ uyguladıkları düvelerin uygulama gününde % 40,9'nun diöstrüs, % 36,4'nün proöstrüs ve % 22,7'sinin metöstrüs evresinde olduklarını belirlemişlerdir. Proöstrüs evresinde olanlar diğerlerine göre daha erken östrüs gösterirken, metöstrüs evresindekiler aktif bir CL'ye sahip olmadıklarından beklenen östrüsü göstermemişlerdir. Alan ve ark (2000) çalışmalarında, erken diöstrüs döneminde $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonuna cevap vermeyen ineklerin cevap vermemelerinin ovaryumlarında enjeksiyona cevap verecek aktif bir luteal yapının bulunmamasından kaynaklanmış olabileceğini, proöstrüs evresindeki düvelerin ise $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan etkilenmedikleri için erken östrüs gösterdikleri kanısına vardıklarını bildirmişlerdir.

Folliküller gelişim evreleri yönünden incelendiğinde, $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında dominant folliküle sahip olan ineklerde 2-3 gün içerisinde, folliküler gelişimin seleksiyon evresinde olan ineklerde ise dominant follikülün seçimi için 2-4 gün gerekmesi nedeniyle daha geç zamanda östrüs görüldüğü belirtilmektedir (Roche ve ark 1998).

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ uygulaması sırasında progesteron düzeyinin etkisi

Prostaglandinlerin siklusun luteal döneminin erken ve ortasında uygulanmasıyla meydana gelen östrüs ve elde edilen gebe kalma oranlarının, geç luteal dönemde yapılan uygulamalara göre daha düşük olduğu bildirilmektedir. Bunun nedeninin, siklusun erken ve orta luteal dönemdeki progesteron düzeylerinin daha düşük olması ileri sürülmektedir (Diskin ve ark 2002). Tohumlama öncesi progesteron düzeyinin düşük olmasının, luteinleştici hormonun (LH) salınım sıklığının artmasına ve sonucunda oositin erken olgunlaşmasına ve bu durumun ovulasyon zamanında oositin kalitesinin düşmesine neden olabileceği belirtilmektedir (Sartori 2004). Oosit kalitesinin düşüklüğü ise fertilizasyon sonrası embriyonun kalitesinin düşmesine neden olmaktadır (Ahmad ve ark 1995). Nitekim Folman ve ark (1990) prostaglandinlerle senkronize edilen ineklerde gebe kalma

oranının, ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu öncesindeki progesteron düzeyi ile pozitif ilişkili olduğunu ifade etmektedirler. Araştırmacılar gebe kalma oranını, ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu öncesi progesteron düzeyi <5 ng/ml olan ineklerde % 36, >5 ng/ml olan ineklerde ise % 75 olarak bildirmektedirler.

Jöchle ve ark (1989) yaptıkları bir çalışmada, anöstrüste olan ve ovaryumlarında CL bulunan inekleri, uygulamanın başlangıç gününde progesteron düzeylerine göre iki gruba ayırmışlardır. Uygulama sırasında progesteron düzeyi >2 ng/ml olan ineklerde östrüs ve gebelik oranlarını sırasıyla % 96,6 ve % 75,4, <2 ng/ml olanlarda ise bu oranları sırasıyla % 93,5 ve 74,4 olarak tespit etmişlerdir.

Luteolizisin yetersiz olması

Prostaglandinlerin luteolitik etkisi LH ve prolaktine karşı antagonizm oluşturması, lizozimlerin frajilitesini artırması, utero-ovarian venlerde vazokonstriksiyon oluşturarak CL'nin beslenmesini yavaşlatması veya progesteron prokürsörlerini ve kolesterol esterlerini azaltması ve esteraz enziminin aktivitesini düşürmesi sonucu gerçekleştiği belirtilmektedir (Alaçam 1997a, Pineda 2003). Ancak $PGF_{2\alpha}$ uygulanan ineklerin yaklaşık % 10'nunda luteolizisin yeterince olmaması nedeniyle östrüslerin senkronize edilemediği ve dolayısıyla senkronizasyon oranının düştüğü bildirilmektedir (Ball ve Peters 2004). Luteolizisin yetersiz olması, progesteron üzerine olması beklenen etkinin tam şekillenmemesi ya da 24-48 saat içerisinde luteal geri dönüş nedeniyle olmaktadır (Allcock ve Peters 2004). Luteolizis yetersizliğinin nedenleri tam olarak belirlenememiştir. Ancak;

a) Bazı CL'lerin uygun luteal dönemde olmasına rağmen cevap vermemesi,

b) Enjeksiyonların luteal evrenin çok erken dönemine tesadüf etmesi,

c) Kas içi (IM) uygulamalarda solüsyonun kan dolaşımının çok az olduğu yağ veya ligamental dokuya yapılması,

d) Kullanılan eksojen luteolitik ajanın yarı ömrünün kısa olması gibi nedenlerden kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters 2004).

Waldmann ve ark (2006), ineklerde 14 gün ara ile iki kez $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası, ilk enjeksiyon sırasında ovaryumlarında aktif bir CL bulunan ineklerin % 6,4'ünde, ikinci enjeksiyon sonrasında ise % 14,8'inde luteolizisin şekillenmediğini bildirmektedirler.

Enjeksiyon sonrası folliküler evrenin uzun olması

İneklerde doğal ve sentetik prostaglandinlerin enjeksiyonundan sonra 24 saat içerisinde progesteron bazal düzeylere inmekte, östradiol 48-72. saatlere kadar yükselmekte ve östrüsler başlamaktadır. Östrüslerin başlamasından sonra LH düzeyinde ani bir yükselme meydana gelmekte ve östrüs başlangıcından 24-30 saat sonra da ovulasyon şekillenmektedir (Kılıçarslan ve ark 1997). Ancak $PGF_{2\alpha}$ uygulanan ineklerin yaklaşık % 20'sinde luteolizis oluştuğu halde progesteronun kısa sürede beklenen bazal düzeylere düşmediği, uzun süre düşük düzeylerde seyrettiği ve buna bağlı olarak follikül içerisinde bulunan oositlerin uzun süre düşük progesteron etkisine maruz kaldığı belirtilmektedir. Uzun süre düşük progesteron etkisinde kalan dominant follikül içerisindeki oositin yaşlanması ve dejenere olması nedeniyle fertilitenin olumsuz etkilendiği düşünülmektedir. Benzer durum yüksek verimli sütçü ineklerde normal seyreden seksüel siklustaki luteolizis aşamasında da şekillenebilmektedir. Bunun nedeninin ise laktasyondaki ineklerde yüksek süt veriminden kaynaklanan fizyolojik stres nedeniyle östrüs sikluslarındaki düzensizlik olabileceği belirtilmektedir (Kılıçarslan ve ark 1997, Allcock ve Peters 2004). Robinson ve ark (2006) $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan sonraki 2-4 gün içerisinde progesteron düzeyinin bazal seviyelere düşmemesi durumunda, LH'nın salınım sıklığının azaldığını ve bunun sonuçta ovulasyonun oluşmaması nedeniyle folliküller kistlerin oluştuğunu bildirmektedirler. Starbuck ve ark (2006), çift $PGF_{2\alpha}$ uygulaması sonrası uzun folliküller evreye sahip olan ineklerde luteolizis-östrüs (69,7 saat), luteolizis-ovulasyon (98,3 saat), luteolizis-progesteron artışı (180,6 saat) ve ovulasyon-progesteron artışı (82,3 saat) aralığının, kısa folliküler evreye sahip olan ineklere (138,3; 45,1; 77,7; 60,6 saat) göre daha uzun olduğunu belirtmektedirler. Bu ineklerde östrüs-ovulasyon aralığı süreleri benzer olmasına rağmen ovulasyonu izleyen progesteron artışının uzun folliküler evreye sahip olan ineklerde geciktiğini

bildirmişlerdir. Nitekim Robinson ve ark (2005) folliküler evrenin kısa olduğu ineklerde pre-ovulatör follikülün ovulasyonu sonrası gelişen CL'den sentezlenen progesteron düzeyinin daha yüksek olduğunu ve bunun tohumlama sonrası optimal luteal fonksiyonun oluşması açısından önemli olduğunu bildirmektedirler. Fertilizasyon sonrası progesteron konsantrasyonundaki yükselmenin gecikmesi ve yetersizliği durumunda erken embriyonik gelişimin olumsuz etkilenmesi nedeniyle erken embriyonik ölümlerin arttığı bildirilmektedir (Mann ve Lamming 2001).

İneklerin östrüs göstermemesi (Anöstrüs)

Bir senkronizasyon protokolü sadece siklik aktivite gösteren ineklerde östrüs ve ovulasyonların senkronize edilmesini değil, anöstrüs gösteren ineklerde ve prepubertal düvelerde de fertil östrüs ve ovulasyonları sağlamalıdır (Stevenson ve ark 1997). Luteolitik etkili ajanlar fonksiyonel CL'lerin lizisini sağladığından ovaryum aktivitesi göstermeyen ineklerde luteolitik etkili ajana karşı alınan cevaplar da düşük olmaktadır (Allcock ve Peters 2004).

Anöstrüs gösteren ineklerin oranı, sürüye göre değişiklik göstermektedir. Sürü bazında, en fazla postpartum anöstrüsle karşılaşılmaktadır (Allcock ve Peters 2004). Fizyolojik olarak uterusta involusyonun ve endometrial rejenerasyonun gerçekleştiği bu dönemde, ineklerde seksüel aktivite görülmemektedir. Bu dönemde $PGF_{2\alpha}$ salınımındaki yetersizliğin uterus involusyonunu geciktirdiği bildirilmektedir. $PGF_{2\alpha}$ salınımındaki yetersizliği gidermek ve seksüel aktivitenin kısa sürede başlatılarak doğum-gebe kalma aralığını kısaltmak amacıyla ve doğum sonrası ilk tohumlama için yapılan senkronizasyon uygulamalarında prostaglandinler kullanılmaktadır (Çolak ve ark 1995).

Anöstrüs sorunu olan inek ve düvelerde yapılan çalışmalarda luteolitik ajanların kullanılmasıyla elde edilen gebelik oranlarının genel olarak düşük olduğu belirtilmektedir. Stevenson ve ark (1997), siklik aktivite gösteren ve göstermeyen ineklere 14 gün arayla $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu ile yapılan östrüs senkronizasyonunda elde edilen gebe kalma oranlarının sırasıyla % 56,2 ve 26,5 olduğunu bildirmektedirler.

Aynı çalışmada ilk enjeksiyondan sonraki 7. günde GnRH ve bu günden başlayarak 8 gün süreli norgestomet uygulaması sonrası gebe kalma oranlarını da siklik aktivite gösterenlerde % 59,2, siklik aktivite göstermeyenlerde % 62,2 olarak belirlemişlerdir. Frisch ve O'Neill (1996) cloprestenol ile senkronize edilen, siklik aktivite göstermeyen inek ve düvelerde gebelik oranının siklik aktivite gösteren inek ve düvelere göre önemli düzeyde düşük olduğunu ve luteolitik ajanların anöstrüsteki ineklerde etkisiz olduğunu bildirmektedirler. Waldmann ve ark (2006) 14 gün ara ile iki kez $PGF_{2\alpha}$ uyguladıkları çalışmada, ineklerin % 19'unun anöstrüste olmasına bağlı olarak ovulasyon sonrası progesteron düzeyinin düşük ve daha kısa siklusa sahip olduklarını belirtmektedirler. Bu nedenle anöstrüsteki ineklerde $PGF_{2\alpha}$ ve analoglarının kullanılmaması tavsiye edilmektedir.

Prostaglandinlerin dozu, uygulanma şekli ve çeşidi

$PGF_{2\alpha}$ ve analogları, intramusküler, intrauterin, intravenöz, intraovarian ve intravulval-submukozal olarak uygulanabilmektedir (Alaçam 1997a). Östrüs senkronizasyonu amacıyla genelde intramusküler yolla enjeksiyonları tercih edilmektedir. Birçok çalışmada 500 μg cloprestenol'un IM enjeksiyonuyla % 100'e yakın oranda luteolitik cevap alındığı bildirilmektedir (Alaçam ve ark 1989, Tekeli ve ark 1992, Tekeli ve ark 1994). Ancak östrüs senkronizasyonunun büyük sürülerde daha pratik olması ve tercih edilmesi nedeniyle, uygulama dozlarının azaltılması ekonomik açıdan önemli olabilmektedir. Buna yönelik olarak düşük doz ve farklı uygulama yollarının denendiği bazı çalışmalar yapılmıştır (Tekeli ve ark 1994). Normal uygulama dozuna göre IM 1/2 doz ve intramusküler/intravulval-submukozal 1/4 doz olarak uygulandığında luteolitik cevabın yüksek olduğunu bildiren çalışmalar olduğu gibi (Çoyan ve ark 1990, Aksoy ve ark 1992, Zonturlu ve İzgür 2004), düşük olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır (Aksoy ve ark 1992, Tekeli ve ark 1994). Ayrıca düşük doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonlarıyla elde edilen gebe kalma / gebelik oranlarında da farklı sonuçlar alınmıştır (Çoyan ve ark 1990, Zonturlu ve İzgür 2004). Düşük gebelik oranlarının, tohumlama zamanının gecikmesinden veya progesteron düzeyinin yavaş düşmesine bağlı olabileceği ileri sürülmektedir (Çoyan ve ark 1990, Tekeli ve ark 1994).

Prostaglandinlerin farklı uygulama dozu ile ilgili yapılan çalışmalarda (Garcia-Winder ve Gallegos-Sánchez 1991, Heinonen ve ark 1996), elde edilen östrüs senkronizasyonu ve gebelik oranları arasında herhangi bir farklılık olmadığı ifade edilmektedir. Buna karşılık yüksek doz uygulamalarında östrüslerin daha erken oluştuğu ve daha kısa zaman aralığında toplandığı belirtilmektedir (Répási ve ark 2003).

Colazo ve ark (2002), ineklerde siklusun evresine bakılmaksızın IM ve deri altı (SC) olarak uyguladıkları 500 µg cloprestenol'ün ineklerde luteolizis oluşturma oranlarının aynı olduğunu, ancak 125 µg dozda aynı yolla uygulamada östrüs ve ovulasyon oranlarının düştüğünü bildirmektedirler. Azaltılmış dozda seksüel siklusun 7. gününde yapılan enjeksiyonlarda da benzer sonuçların alındığı belirtilmektedir. Bu nedenle $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonları seksüel siklusun dönemi dikkate alınmaksızın yapıldığında, siklusun erken dönemindeki CL'lerin duyarlılıklarının daha düşük olması nedeniyle dozları azaltılmamalıdır (Colazo ve ark 2002). Sabit zamanlı tohumlama protokollerinde de uygulama dozu ve yolu enjeksiyon-östrüs aralığını etkilemektedir. Buna göre 500 µg IM uygulamada 125 µg IM uygulamaya göre enjeksiyon-östrüs aralığı daha kısa (58,5 ve 78,8 saat) olmaktadır. Benzer durum SC uygulamada da (75 ve 82,3 saat) olmaktadır. Bu nedenle, tohumlama zamanının, luteolitik ajanın uygulama dozu ve yoluna göre planlanması gerekmektedir (Colazo ve ark 2002).

Turner ve ark (1987) ineklerde farklı luteolitik ajanların etkinliklerini inceledikleri bir çalışmada, $PGF_{2\alpha}$, cloprestenol sodyum ve fenprostenol uygulanan gruplarda uygulama sonrası 96. saate kadar östrüs oranlarını sırasıyla % 27, 52,7 ve 37,7 olarak bildirmişlerdir.

Ovaryumlardaki fonksiyonel korpus luteumların doğru tespit edilme düzeyi

Prostaglandinlerle östrüs senkronizasyonunda en önemli unsur, ovaryumlarda fonksiyonel CL'nin tespit edilme başarısıdır. Senkronizasyon amacıyla yapılan çalışmalarda (Alaçam 1997b, O'Connor 2001), rektal muayene sonrası seçilen ineklerin yaklaşık % 20'sinin $PGF_{2\alpha}$'ya cevap vermediği ve rektal muayene sırasında

yanlış tespitler yapıldığı belirlenmiştir. Kaya ve ark (2000) 135 inek üzerinde ovaryum palpasyonu yöntemiyle seksüel siklusun dönemlerinin belirlenebilirliği ya da araştırılması üzerine bir çalışma yapmışlardır. Araştırmacılar, rektal muayenede luteal evrede olan ineklerin % 83,4'üne doğru tanı yapıldığını bildirmişlerdir. Çalışmada, postmortem muayene ve progesteron düzeylerine göre gerçek siklus dönemi folliküler veya ovulasyon sonrası dönem olan ineklerin % 44,9'una luteal evre tanısı yapılmıştır. Diğer yandan ineklerin % 30'unun ovaryumlarında fonksiyonel bir CL'ye sahip olmasına rağmen, rektal muayene sırasında yanlış değerlendirme sonucu enjeksiyon için seçilmediği de belirtilmektedir. Bu tip yanılgılar sadece rektal muayeneyi yapan klinisyene bağlı olmayıp ovaryumlarda bulunan CL'nin büyüklüğü ve kıvamı ile de ilişkili olabilmektedir. Bazen CL'nin ovaryum dokusu içerisine gömülü olması veya ovaryumun yüzeyinden dışarı doğru çıkıntının küçük olması da CL'nin tespit edilmesini güçleştirmektedir (Kaya ve ark 2000, O'Conner 2001). Elmarimi ve ark (1983) $PGF_{2\alpha}$ uygulanmadan önce rektal palpasyonla ineklerin % 96'sında CL belirlenmesine karşın ineklerin sadece % 66'sında serum progesteron düzeyinin $\geq$2 ng/ml tespit edildiğini bildirmektedirler. Buna göre ineklerde rektal muayenede ovaryumlar üzerinde CL belirlense dahi bu CL'nin fonksiyonel olmayabileceği ileri sürülebilir.

1.3.2. Östrüs Senkronizasyonunun Başarısına Etki Eden Bazı Genel Faktörler

Embriyonik ölümler

Etçi ve sütçü inek işletmelerinde ekonomik kazanç reprodüktif verimliliğe bağlıdır (Santos ve ark 2004). İneklerde aşım ya da tohumlama sonrası 45-50. günlere kadar olan kayıpları içeren embriyonik ölümlerin reprodüktif performansı olumsuz etkileyen en önemli faktör olduğu kabul edilmektedir (Thatcher ve ark 2006, Bech-Sàbat ve ark 2008, Erdem ve Güzeloğlu 2008a).

İneklerde gebeliğin yaklaşık 42. gününe kadar olan dönem embriyonik dönem olarak tanımlanmaktadır. Bu dönemde gerçekleşen embriyonik ölümler, erken ve geç

embriyonik ölümler olarak iki dönemde değerlendirilmektedir. Embriyonal dönemin 25. gününe kadar olan ölümler erken embriyonik ölümleri, 25. günden embriyonal dönemin sonuna kadar (42. gün) olan dönemde gerçekleşen ölümler ise geç embriyonik ölümleri kapsamaktadır (Barrett ve ark 2004, Santos ve ark 2004). Tohumlama veya aşım sonrası 24. güne kadar östrüslerin oluşması erken embriyonik ölüm oluştuğunu ve gebeliğin 16. gününe kadar olan süreçte embriyonik ölümün şekillendiğini, östrüs siklusunun 24 günden fazla olması ise gebeliğin 16 gününden sonra embriyonik ölümün şekillendiğini işaret etmektedir (Barrett ve ark 2004, Santos ve ark 2004). Bu yüzden embriyonik ölümler, doğum–gebe kalma aralığının uzamasına, gebelik başına düşen tohumlama sayısının artmasına ve işgücü girdilerinde artışa neden olduğundan, önemli ekonomik kayıplara yol açmaktadır (Erdem 1997).

İnek ve düvelerde yapılan çalışmalarda, fertilizasyon oranlarının % 55-100 gibi oranlarda olmasına rağmen gebe kalma oranlarının tohumlama sonrası 27-30. günlerde % 35-45 olduğu ifade edilmektedir (Sartori ve ark 2002, Santos ve ark 2004). Bu oran % 10 oranındaki embriyonik ölümleri de içerdiğinden tohumlama sonrası 5-30. günler arasındaki embriyonik kayıp oranı % 48 gibi yüksek bir orana ulaşmaktadır (Thatcher ve ark 2006).

Modern yetiştirme sistemlerinin uygulandığı sütçü inek işletmelerinde tohumlamalar, östrüs ve/veya ovulasyonların senkronize edilmesi sonrası sabit zamanlı veya östrüs tespitine göre yapılmaktadır. Santos ve ark (2004) östrüs tespitine dayalı tohumlamalarda embriyonik ölüm oranının %9,7 – 29,3, sabit zamanlı tohumlama yöntemleri sonrası ise %10,4 – 50,7 arasında değiştiğini bildirmektedirler. Farklı kaynaklarda embriyonik ölümlerin; repeat breeder, süt verimi yüksek, 5. doğumunu yapmış ineklerle sıcak iklim bölgesinde bulunanlarda daha yüksek olduğu bildirilmektedir (Sreenan ve Diskin 1986, Akar ve Apaydın 1996, Silva ve ark 2002, Thatcher ve ark 2006).

Vücut kondüsyon skoru (VKS) ve vücut ağırlığı

Reprodüktif performansın istenen düzeyde olabilmesi için hayvanın beslenme durumu çok önemlidir. Beslenme durumunu değerlendirmenin en kolay yolu ise VKS'nin belirlenmesidir. İneklerde optimal fertilite oranının sağlanabilmesi için reprodüktif yaşamın farklı evrelerinde olmaları gereken VKS'lerde olmaları gerekmektedir. İneklerde bu sayede fertilitenin düşmesine neden olan negatif enerji dengesinin oluştuğu düşük VKS'nin veya yağlanmaya neden olan yüksek VKS'nin oluşumuna neden olan fazla vücut rezervlerinin oluşumu engellenebilir. İneklerdeki VKS bakımından esas hedef buzağılama sırasındaki VKS'nin 2,5-3,5 arasında olmasını sağlamaktır. Buzağılama sırasındaki VKS'nin 4 veya daha fazla olması durumunda, ineklerde genital organların involusyonu gecikmekte, güç doğum ve buna bağlı genital organ hasarı ve enfeksiyon riski ile bunların kombinasyonun oluşturduğu etkiler nedeniyle fertilite oranları düşmektedir (Ball ve Peters 2004). Vücut kondüsyon skoru yüksek olan ineklerde doğumdan sonra kondüsyon skorundaki düşüş daha fazla ve hızlı olmaktadır. Ayrıca bu tip ineklerde esterleşmemiş yağ asitleri ve beta hidroksibütirat konsantrasyonları daha yüksek olmaktadır (Meikle ve ark 2004). Bu nedenle, bu ineklerde erken postpartum dönemde vücuttaki rezerv yağların aşırı mobilize olmaları nedeniyle serbest kalan metabolitler karaciğere daha yüksek konsantrasyonda ulaştığından, yağlı karaciğer sendromu ve metabolik hastalıklar oluşmaktadır. Bu durum daha sonraki dönemde fertilite sorunlarının oluşumuna neden olmaktadır. Doğum sırasında VKS düşük olan ineklerde ise besleme ile aşırı enerji gereksinimleri kısa sürede sağlanamayacağından ovaryum fonksiyonlarının yeniden başlaması gecikmekte ve postpartum anöstrüs dönemi uzamaktadır (Ball ve Peters 2004). Ayrıca negatif enerji dengesi oluşmuş ineklerde, folliküllerin yetersiz olarak büyümesi ve gelişmesi nedeniyle, bu folliküllerden LH salınımını uyaracak yeterli miktarda östradiol ve ovulasyonu indükleyecek LH salınımı oluşamamaktadır (Sabo ve ark 2008).

Kuru dönemde, doğum sırasında ve erken laktasyon döneminde bulunan ineklerin beslenme durumları takip edilmeli ve ilk tohumlamada gebe kalma olasılığı düşük olan ineklerin tespit edilmeleri için vücut kondüsyon skorları belirlenmelidir (Domecq ve ark 1997). Çünkü VKS, erken laktasyon döneminde bulunan ineklerde dokulardaki mobilizasyon oranının belirlenmesinde direkt olarak kullanılabilir ve bu

özellik iyi bir gösterge olarak kabul edilir (Wathes ve ark 2005).

Vücut kondüsyon skorunun fertilite ile yakın ilişkili olduğunu belirten birçok çalışma vardır (Domecq ve ark 1997, Loeffler ve ark 1999, DeJarnette ve ark 2001, Santos ve ark 2009). Domecq ve ark (1997) fazla sayıda doğum yapmış, yaşlı ve yüksek verimli sütçü ineklerde kuru dönemde ve laktasyonun ilk ayında VKS ve kondüsyon skorundaki değişikliklerin ilk tohumlamada gebe kalma oranını olumsuz etkilediğini, erken laktasyon döneminde VKS'deki aşırı kayıpların doğum-ilk tohumlama aralığının uzamasına neden olduğunu bildirmektedirler.

Santos ve ark (2009) inekleri VKS'ye göre < 3; 3,0-3,5 ve $\geq 3,75$ olacak şeklinde üç gruba ayırdıklarında, VKS'ler yükseldikçe fertilite parametrelerinin daha iyi elde edildiğini bildirmektedirler. Buna göre VKS'si yüksek olan ineklerde doğum sonrası sikluslar daha erken başlamakta, 30 ve 58. günler arasında gebe kalma oranı daha yüksek olmakta ve aynı zamanda gebelik kayıplarının az olduğu ifade edilmektedir. Vücut kondüsyon skoru $\leq 2,75$ olan ineklerde ise postpartum 70. günde anovulasyon riskinin daha yüksek (%30) ve bu oranın anöstrüsteki ineklerin yarısından fazlasını oluşturduğunu bildirmektedirler. Nitekim Shephard (2005) da benzer şekilde VKS'si düşük olan ineklerde anovulasyon oranının daha fazla olduğunu ifade etmekte ve bu durumun fertiliteyi olumsuz etkilediğini ileri sürmektedir.

Vücut kondüsyon skorunda meydana gelen ani değişikliklerin de fertiliteyi olumsuz etkilediği ifade edilmektedir. López-Gatius ve ark (2004) doğumdan postpartum 30. güne kadar VKS'de meydana gelecek bir birim azalmanın embriyonik ölüm olasılığını 2.41 kat arttırdığını, Silke ve ark (2002) da gebeliğin 28-56. günleri arasında VKS'de bir birim azalmada oluşan gebelik kaybının 3.2 kat arttığını bildirmektedirler. Santos ve ark (2004) metabolizmadaki değişikliklerin göstergesi olan VKS ve skordaki ani değişikliklerin embriyonik ve fötal kayıpları arttırmasından dolayı fertilite üzerine olumsuz etkisinin olduğunu belirtmektedirler.

Santos ve ark (2009) doğum sonrası VKS'deki azalma düzeyinin 1 birimden fazla olması halinde 30 ve 58. günlerdeki gebe kalma oranlarının olumsuz olarak etkilediğini belirtmektedirler. Çalışmada VKS kaybının bir birimden daha fazla, 1 birimden daha az olduğunda veya VKS'de değişme olmayan gruplarda gebe kalma oranları sırasıyla 30. günde % 28,0; 37.3 ve 41,6; 58.gün de ise % 22,3; 31,7 ve 37,2, 30-58. günler arasındaki embriyonik kayıplar ise % 20,5; 14,5 ve 10,7 olarak belirlenmiştir.

DeJarnette ve ark (2001) senkronizasyon amacıyla modifiye ovsynch yöntemi uyguladıkları bir çalışmada VKS < 3 olan ineklerde östrüs tespit oranının düştüğünü belirtmektedirler. Chebel ve ark (2006) düvelerde yaptıkları çalışmada, tohumlama sezonunun başlangıcında vücut ağırlığının gebe kalma oranı üzerine etkili olmamakla birlikte, östrüs tespit oranı ile vücut ağırlığı arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmektedirler. Ponsart ve ark (1996) ise vücut ağırlığının gebelik oranı üzerine etkili bir faktör olduğunu ileri sürmektedirler.

Beslenme ve fertilite arasındaki ilişki üzerine değişik sonuçlar alınabilmektedir. Ancak sütçü ineklerde asiklik periyodun uzunluğunu belirleyen esas faktörün enerji dengesi olduğu açıktır (Ball ve Peters 2004). Besleme durumu ile ovaryum aktivitesi, östrüs davranışları ve fertilite arasındaki ilişkilerin açıklanması için ayrıntılı çalışmalar yapılması gerekmektedir.

1.4. GnRH ve Östrüs Senkronizasyonunda Kullanımı

GnRH hipotalamusun bazal kısmındaki özelleşmiş nöronlardan belirli aralıklarla salgılanan ve tüm memelilerde reprodüktif fonksiyonların düzenlenmesinde merkezi anahtar rolüne sahip olan neuro-peptid yapısında bir hormondur. GnRH, ovaryumlarda spesifik reseptörlerinin bulunmaması nedeniyle folliküler gelişim ve CL fonksiyonu üzerine etkisini, adeno-hipofizden follikül uyarıcı hormon (FSH) ve LH salınımı yoluyla indirekt olarak sağlamaktadır (Twagiramungu ve ark 1995). GnRH hipotalamusta bulunan nöronlardan salgılandıktan sonra hipotalamo-hipofizyal portal dolaşım yoluyla ön hipofizdeki gonadotrop hücrelere ulaşır ve önce bu hücreler üzerindeki spesifik yüzeysel

reseptörlere bağlanır. Bu bağlanmayı takiben hücre içerisine alınır ve ikinci mesenger işaret dönüşümü yoluyla FSH ve LH sentezi ve salınımı oluşur (D'Occhio ve ark 2000).

GnRH ve analogları hipofiz üzerindeki fizyolojik etkilerinden dolayı çiftlik hayvanlarında ovaryum disfoksiyonlarının neden olduğu infertilite olgularında, ovulasyonun indüklenmesinde ve tohumlama sonrası gebe kalma oranlarının arttırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Schneider ve ark 2006).

İneklerde GnRH uygulaması sonrası follikül dinamiğinde meydana gelecek değişim, folliküler dalganın evresine bağlıdır. GnRH uygulaması sırasında ovaryumlarda dominant follikülün bulunması durumunda yeterli gonadotropin salınımı oluşursa dominant follikül ovule olmaktadır. Dominant follikülün ovulasyonu gonadotropin salınım düzeyinin yanında gelişim evresi ve üzerindeki LH reseptörlerinin sayısıyla da yakından ilişkilidir. Eksojen gonadotropik hormon uygulamaları, erken atrezia evresine rastlarsa dominant follikülün geleceği granuloza hücreleri üzerinde yeterli LH reseptörlerinin bulunup-bulunmamasına bağlı olurken, uygulama dominantlığın oluşumundan öncesine rastlarsa granuloza hücrelerinde reseptörler oluşmadığından folliküler dalganın gelişiminde bir değişiklik oluşmamaktadır (Roche ve ark 1998). Bu ineklerde siklusun herhangi bir döneminde yapılan GnRH uygulaması sonrası dominant follikülün ovule olmayacağı anlamına gelmektedir. Dolayısıyla dominant follikülün ovule olma yeteneği, eksojen gonadotrop hormonun uygulama zamanındaki gelişme evresine bağlıdır. Dominant follikülün büyüme veya durağan (statik) evrelerinde yapılan eksojen gonadotropik hormon uygulamaları, follikülün büyüklüğünde artış sağlarken, regresyon evresinde ise follikülün büyüklüğü üzerine etkisiz kalmaktadır. Dominant follikül üzerinde bulunan LH reseptörlerinin sayıları büyüme evresinden durağan ve regresyon evresine doğru giderek azalmaktadır. Progesteron düzeyinin yüksek olduğu siklusun orta ve geç luteal döneminde LH reseptörlerinin sayısının ve LH salınım sıklığının yetersiz olması nedeniyle büyük follikül ovule olmamakta, regresyona uğramakta (Twagiramungu ve ark 1995) veya luteinize olmaktadır (Kastelic ve Mapletoft 1998).

$PGF_{2\alpha}$ ve analoglarının östrüs ve ovulasyonun senkronizasyonunda kullanımı, ovaryumdaki fonksiyonel ve olgun CL'nin luteolizisi sonrası dolaşımdaki progesteron konsantrasyonunun düşüşü esasına dayanmaktadır. Hipotalamus ve hipofiz üzerine progesteronun negatif feed-back etkisinin ortadan kalkmasıyla birlikte, östrüs ve ovulasyonun senkronize edildiği ovaryal ve endokrin olaylar başlamaktadır. Ancak sadece prostaglandinlerin kullanıldığı yöntemlerde folliküler dalganın gelişim evresine bağlı olarak senkronizasyon cevapları çok değişken olmaktadır. Senkronizasyon cevaplarındaki değişkenlik $PGF_{2\alpha}$ uygulamasından önce GnRH uygulamasıyla azaltılabilmektedir. Çünkü GnRH uygulamasından 2-4 saat sonra FSH ve LH salınımıyla periferal kan dolaşımında düzeyleri artmakta ve etkileri oluşmaktadır (Twagiramungu ve ark 1995). GnRH, siklusun luteal döneminde uygulandığında folliküller dalganın durumuna göre dominant follikül ovule ya da regrese olmakta ve birkaç gün içerisinde yeni bir folliküler dalga başlamaktadır. Luteal cevabın oluşacağı dönemde uygulanan $PGF_{2\alpha}$ ile mevcut ve/veya yeni şekillenen CL (ler) lize edilerek folliküler senkronizasyon sağlanmaktadır. Ovsynch, co-synch gibi senkronizasyon yöntemleri bu esasa dayanmaktadır (Peters 2005). Kastelic ve Mapletoft (1998) laktasyonda olmayan ineklerde yaptıkları bir çalışmada, birinci gruptaki ineklere GnRH enjeksiyonu sonrası 6. gün $PGF_{2\alpha}$, ikinci gruptakilere ise serum fizyolojik enjeksiyonu sonrası $PGF_{2\alpha}$ uygulamışlardır. Çalışmada GnRH enjekte edilen ineklerde pre-ovulator follikül büyüklüğünün daha homojen olduğunu ve ovulasyonların daha kısa zaman aralığında oluştuğunu ortaya koymuşlardır. Twagiramungu ve ark (1995) da benzer şekilde GnRH sonrası 6. günde $PGF_{2\alpha}$ enjekte edildiğinde, östrüslerin 7 ve 8. günlerde yoğunlaştığını belirtmektedirler. $PGF_{2\alpha}$ sonrası 24-72. saatler arasında ineklerin % 56-76'sında östrüs görülürken, GnRH sonrası 6 veya 7. günde $PGF_{2\alpha}$ uygulanan ineklerin % 73-83'ünde 4 gün içerisinde östrüs görülmektedir (Twagiramungu ve ark 1995). Ayrıca GnRH enjeksiyonu luteal dönemin sonunda uygulandığında ovulasyon oluşmaz ise östrüs siklusu normal düzeninde seyrederek erken östrüsler oluşmaktadır (Pursley ve ark 1997). $PGF_{2\alpha}$ sonrası 48-60. saatlerde yapılan ikinci GnRH enjeksiyonu ile ovulasyonlar daha etkin olarak senkronize edilmekte ve GnRH- $PGF_{2\alpha}$ uygulamasına göre progesteronun yükselişi 24 saat daha erken oluşmaktadır (Peters 2005).

İneklerde dalgalanma şeklinde seyreden folliküller gelişim GnRH'nın indüklediği FSH hormonu ile oluşmaktadır. Hipofizde LH ile birlikte aynı hücrelerden sentezlenen FSH kısa süreli olarak depo edilerek pulsatif olmayan karekterde salgılanmaktadır (Roche 1996). Bir östrüs siklusu içerisinde 5 gün aralıklarla 2 gün süreli 2-3 kez FSH artışı olmaktadır (Mihm ve ark 1996). Ovulasyon sonrası oluşan FSH salınımındaki artış ilk folliküler dalgalanmanın oluşmasına neden olmaktadır (Twagiramungu ve ark 1995). Gelişmeye başlayan folliküllerin çapı 8-9 mm'ye ulaştığında folliküllerden biri salgıladığı steroidal ve non-steroidal maddeler sonucu dominant hale geçmekte ve diğerlerinin regresyonuna neden olacak şekilde gelişmesine devam etmektedir (Garcia ve ark 1999). Dominant follikülün çapı 9-10 mm'ye ulaştığında follikül içi östradiol-17β düzeyi artarak FSH salınımı baskılanmakta, LH reseptörleri artmaktadır. Bu dönemde luteal regresyon oluşursa progesteronun düşmesine bağlı olarak hipotalamus ve hipofiz üzerindeki negatif feed back etki ortadan kalkacağından, hipofizden LH salınımı artmakta ve dominant follikül ovule olmaktadır. Dolayısıyla çapı 9-10 mm'ye ulaşan dominant follikül ovule olma yeteneğine sahip olduğundan GnRH ve analogları, ovulasyonun indüklenmesi amacıyla östrüs senkronizasyon yöntemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Lucy ve ark 1992).

1.5. Erken Gebelikte Endokrin Düzen ve Gebeliğe Etkisi

Gebe olmayan siklik ineklerde ortalama 17 gün süren luteal dönem, siklusun 14-17. günleri arasında endometriumdan pulsatil olarak salgılanan $PGF_{2\alpha}$'nın ovaryum üzerindeki CL'nin regresyonuna neden olması ile sonlanmaktadır (John 1999, Pineda 2003). Gebe olan ineklerde ise fertilizasyondan ortalama 16 gün sonra (12-23. günlerde) konseptustan salınan interferon-τ (tau) ovaryum folliküllerinden salınan östradiol tarafından uyarılan oksitosin reseptörlerinin artışına engel olmaktadır. Bu durumda CL'den salgılanan oksitosinin $PGF_{2\alpha}$ üretiminin son döneminde etkisiz kalması nedeniyle yüksek progesteron seviyesi düşmeden devam etmekte ve sonuçta konseptusun gelişimi devam etmektedir (Thatcher ve ark 1989, Hopkins 2003, Ball ve Peters 2004, Güzeloğlu 2006).

Progesteron düzeyi ineklerde embriyonun büyümesini ve gelişimini etkilemektedir. Tohumlama sonrası düşük progesteron düzeyi, embriyonun gelişimi için gerekli olan büyüme faktörlerini ve uterus proteinlerinin yeterince üretimini sağlayamadığından embriyo gelişimi olumsuz etkilenmektedir (Diskin ve ark 2006). Bu nedenlerden dolayı ineklerde gebeliğin sürdürülebilmesi için tohumlama sonrası progesteron düzeyi oldukça önemlidir (Ball ve Peters 2004).

Erken embriyonik ölümlerde genetik ve çevresel faktörlerin yanı sıra luteal fonksiyonların yetersizliğinin de önemli bir sebep olduğu ve erken gebelik sürecinin CL'nin desteğinde olduğu belirtilmektedir (Ergene 2008, Morris ve Diskin 2008). İneklerde gebeliğin maternal kabulünün yeterli düzeyde embriyo gelişimi ve özellikle ovulasyon sonrası uygun progesteron profili ile ilişkili olarak interferon-τ üretimine bağlı olduğu bildirilmektedir (Mann ve Lamming 2001). Tohumlama sonrası progesteron konsantrasyonunun düşük olması durumunda uterustan salgılanan aşırı $PGF_{2\alpha}$'nın gebeliğin kabulünü engellediği ve embriyonik kayıplara neden olduğu belirtilmektedir (Wolfenson 2006). Starbuck ve ark (2006) erken embriyo gelişimi uygun progesteron ortamında interferon-τ üretimine bağlı olması nedeniyle fertilizasyon sonrası gebeliğin devamı için post-ovulatör progesteron artış zamanının çok önemli olduğunu belirtmektedirler. Gebeliğin devamının ovulasyon zamanı ile ilişkili olmadığı, esas sorunun progesteron yükselişinin gecikmesi olduğu belirtilmektedir. Araştırıcılar (Starbuck ve ark 2006) yaptıkları çalışmada ovulasyonların östrüs sonrası 24-44. saatler arasında kısa bir zaman aralığında dağıldığını tespit ederlerken, ovulasyon sonrası progesteron artışının 40-96. saatler gibi geniş bir zaman aralığına dağıldığını belirlemişlerdir. Mann ve Lamming (2001) tohumlama sonrası 16. güne kadar kan aldıkları inekleri aynı gün mezbahada keserek uteruslarından embriyoları topladıkları çalışmada, progesteron düzeyi, embriyo büyüklüğü ve uterus yıkama sıvısındaki interferon-τ düzeyleri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. Çalışmada, yıkama sonrası embriyo elde edilmeyen hayvanlarda ovulasyon sonrası progesteron düzeyinin 1 ng/ml üzerine artış süresinin (6,2±0,4 gün) embriyo elde edilen ineklere (4,9±0,2 gün) göre daha geç olduğu ve bu ineklerde luteal evre süresince progesteron düzeyinin daha düşük değerlerde seyrettiği belirlemişlerdir. Çalışmada ayrıca embriyo gelişiminin zayıf olduğu ineklerde üretilen interferon-τ düzeyinin çok düşük veya ölçülemeyen düzeyde

olduğu ve ovulasyon sonrası progesteron konsantrasyonundaki yükselişin de geciktiği bildirilmektedir.

Chagas e Silva ve Lopes da Costa (2005), tohumlanan ve tohumlanmayan düvelerde östrüs sonrası 0, 5, 7, 10, 13, 15, 17, 19 ve 21. günlerdeki plazma progesteron düzeylerini inceledikleri bir çalışmada, östrüs senkronizasyonu sonrası tohumlanmayan, tohumlama sonrası gebe kalmayan ve gebe kalan düvelerde 17. güne kadar progesteron düzeylerinin benzer olduğunu, ancak luteolizisin başlangıç günü olarak bilinen 17. günde gebe ve gebe olmayan ineklerdeki progesteron değerlerinin önemli derecede farklı olduğunu bildirmişlerdir. Stronge ve ark (2005) ise, tohumlama sonrası 5, 6 ve 7. günlerdeki süt progesteron değerleri ve tohumlama sonrası 4. günden 7. güne kadar olan progesteron düzeyindeki artış oranları ile embriyo yaşamı arasında doğrusal ve katlamalı bir ilişkinin var olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar, en uygun embriyo yaşama oranının 4, 5 ve 6. günlerdeki 7.4 ng/ml, 13.2 ng/ml ve 16.8 ng/ml süt progesteron düzeyleriyle ilişkili ve 4-7. günler arasındaki optimum progesteron düzeyindeki günlük artışın 4.7 ng/ml olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlara benzer olarak McNeill ve ark (2006) tarafından da, ovulasyon sonrası 4 ve 6. günlerde süt progesteron düzeyi ile embriyo yaşam oranı arasında katlamalı bir ilişkinin bulunduğu bildirilmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma materyalini Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü'ne ait 60 baş düve ve 27 baş laktasyonda olmayan inek olmak üzere toplam 87 baş İsviçre Esmeri inek ve düve oluşturdu. Materyal, klinik ve subklinik herhangi bir sorunu olmayan, ancak uygulanan sürü yönetimi nedeniyle uzun bir süre suni tohumlama yapılmamış ve gebe kalmamış, laktasyonda olmayan İsviçre Esmeri inek ve düvelerden seçildi. Çalışmanın başlangıcında hayvanlara rektal ve ultrasonografik muayene uygulandı. Genital sistemlerinde herhangi bir sorun olmadığı belirlenen inek ve düveler çalışmaya dahil edildi. Çalışmanın materyalini ideal ilk tohumlama yaşına göre oldukça yaşlı düve ve önceki laktasyonun sonlandırılması sonrası tohumlanmayan inekler oluşturduğu için, inek ve düveler aynı bölmelerde aynı rasyon bileşimi ile beslendi. Hayvanlar yarı açık bölünmüş padoklarda (25 baş/padok) mısır silajı, yonca ve buğday sapı ile ad libitum beslendi. Günlük su ihtiyaçları ve mineral bloklar da ad libitum sağlandı.

İşletmeye ait kayıtlardan çalışmaya dahil edilen inek ve düvelerin ortalama yaşları sırasıyla 59,9 ay (en küçük 32 ay - en büyük 80 ay) ve 35,1 ay (en küçük 19 ay – en büyük 65 ay), ortalama canlı ağırlıkları ise çalışmanın başlangıcında yapılan tek ölçümle 588,4 kg (en düşük 414 kg – en yüksek 726 kg) ve 461,7 kg (en düşük 330 kg – en yüksek 665 kg) olarak belirlendi.

Hayvanların zaptı-raptı sağlandıktan sonra serviks uteriden başlayarak ovaryumların muayenesi ile sonlanacak şekilde rektal palpasyon ve real-time ultrason ile genital organların sistematik muayeneleri yapıldı. Ultrasonografik muayenede 6-8 MHz frekansa sahip rektal probu olan, Linear array, Real Time B mode (Falco Vet, Pie Medical, Maastrich, The Netherlands) cihaz kullanıldı. Genital organların ultrasonografik muayeneleri Pierson ve Ginther (1984)'in tanımladığı yöntemle yapıldı.

Çalışmada kullanılan materyalin tamamına seksüel siklusun hangi döneminde olduklarına bakılmaksızın 14 gün ara ile 150 µg d-kloprestonol (Dalzamin, Vetaş, İstanbul) IM enjekte edildi. Birinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası 5 gün süreyle günde 3 defa 30 dakika süreyle östrüs gözlemi yapıldı. İkinci cloprostenol enjeksiyonundan 48 saat sonra, ovulasyonun uyarılması amacıyla 50 µg lesirelin asetat (Dalmarelin, Vetaş, İstanbul) IM uygulandı. İkinci $PGF_{2\alpha}$ ve GnRH enjeksiyonlarının yapıldığı günlerde ovaryumlar üzerindeki yapıların belirlenmesi amacıyla ultrasonografik muayenelerde CL ve dominant folliküllerin en uzun çapları ölçülerek büyüklükleri kaydedildi. Bütün hayvanlar GnRH enjeksiyonundan 12-16 saat sonra sabit zamanlı tohumlandı. Tohumlamalar fertilitesi kanıtlanmış boğa sperması ile yapıldı.

Sabit zamanlı tohumlamalardan yaklaşık 30 saat sonra real-time ultrason yardımıyla ovulasyon kontrolü yapıldı. Ovulasyonlara, GnRH analoğunun enjekte edildiği gün yapılan ultrasonografik muayene sırasında belirlenen dominant folliküllerin bulunup bulunmamasına göre karar verildi.

Tohumlama sonrası ilk gebelik muayenesi 28. günde real-time ultrason ile fötal sıvıların ve embriyonun görülmesi kriterlerine göre yapıldı. İkinci gebelik muayenesi ise 42. günde yapılan rektal muayene ve real-time ultrason ile gerçekleştirildi. Rektal muayenede; kornu uteriler arasındaki asimetri, gebelik CL'nin varlığı, yavru zarlarının kayması ve fötal çarpma, ultrasonografik muayenede ise; gebelik CL'nin varlığı, fötal sıvılar, fötüs ve fötal kalp atışının görülmesi kriterlerine göre yapıldı.

Luteal aktivitenin belirlenmesi amacıyla $PGF_{2\alpha}$ uygulama günlerinde, tohumlama günü (0. gün) ve tohumlama sonrası 7, 14 ve 21. günlerde kan örnekleri toplandı. Örnekler kuyruk venasından vakumlu ve antikoagulanlı 10 ml'lik santrifüj tüplerine alındı. Alınan kan örnekleri bekletilmeden 3000 devir/dakika'da 20 dakika santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı ve progesteron analizleri yapılıncaya kadar -18 ^{0}C'de saklandı. Progesteron analizi için Progesterone II (Roche Diagnostics, Indianapolis, USA) kiti ile Elecsys 1010 cihazı kullanıldı. Luteal aktivitenin varlığı ve birinci ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulamaları sırasında plazma progesteron düzeyine göre sınıflandırmada <1 ng/ml progesteron değerleri düşük , ≥1 ng/ml değerleri yüksek kabul edildi (Morbeck ve ark 1991, Murugavel ve ark 2003).

Çalışmada kullanılan hayvanlarda $PGF_{2\alpha}$ uygulamaları sonrası elde edilen bulgular ve buna göre yapılan gruplandırmalarda dikkate alınan kriterler Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1. $PGF_{2\alpha}$ uygulamaları sonrası oluşan ovaryum cevabı ve ovaryum aktivitesine ait bulgular ve hayvanların gruplandırılması sırasında dikkate alınan kriterler.

Grup	**Kriter**
Luteolizis ve senkronizasyon	İkinci $PGF_{2\alpha}$ uygulama günü plazma P4≥1 ng/ml ve tohumlama sırasında P4<1 ng/ml
Yetersiz luteolizis	İkinci $PGF_{2\alpha}$ uygulama günü plazma P4≥1 ng/ml ve tohumlama sırasında P4≥1 ng/ml
Anöstrüs (inaktif ovaryum)	Birinci ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulamasında plazma P4<1 ng/ml
İkinci $PGF_{2\alpha}$ uygulama günü luteal yapının olmaması	İkinci $PGF_{2\alpha}$ uygulamasında ovaryumlarda ultrasonografik muayenede luteal yapı belirlenememesi ve plazma p4<1 ng/ml

Reprodüktif özelliklere göre sınıflandırma, çizelge 2.2'de belirtildiği şekilde, senkronize ineklerin tohumlama sonrası plazma progesteron düzeyleri ve 28 ve 42. gün gebelik muayenesi sonuçları dikkate alınarak yapıldı (Morbeck ve ark 1991, Tekeli ve ark 1992, Baklacı ve Vural 1999, Brito ve ark 2002, Taponen ve ark 2003, Waldmann ve ark 2006).

Çizelge 2.2. Senkronize ineklerin tohumlama sonrası plazma progesteron düzeyleri, 28. gün gebelik muayenesi sonuçlarına göre sınıflandırılması.

Reprodüktif durum	Kriter
Tohumlama sonrası 7. gün luteal yapının oluşmaması	7. gün P4 konsantrasyonunun <1 ng/ml olması
Erken luteolizis	7. gün P4 konsantrasyonunun ≥1 ng/ml ve 14. gün P4 konsantrasyonunun <1 ng/ml olması
Gebeliğin oluşmaması	Tohumlama sonrası 7 ve 14. günlerde P4≥1 ng/ml ve yükselen bir çizgide iken 21. gün progesteron <1 ng/ml olması
Erken embriyonik ölüm ihtimali	Tohumlama sonrası 21. güne kadar P4 konsantrasyonunun artarak devam etmesi ve 21. gün ≥ 14. gün P4 olması ve 28. günde yapılan ultrasonografik muayenede embriyonal yapının olmaması
Luteal evrenin uzaması veya erken embriyonik ölüm ihtimali	Tohumlama sonrası 21. güne kadar P4 konsantrasyonunun artarak devam etmesi ve 21. gün < 14. gün P4 olması ve 28. günde yapılan ultrasonografik muayenede embriyonal yapının olmaması
Gebe	Tohumlama sonrası 28. gün yapılan ultrasonografik muayenede gebeliğin belirlenmesi

Çalışmada uygulanan senkronizasyon protokolü sonrası elde edilecek senkronizasyon, gebe kalma ve gebelik oranlarının VKS'ye göre değerlendirilmesinin yapılması amacıyla ineklerin vücut kondüsyon skorları birinci $PGF_{2\alpha}$ uygulama gününde deneyimli bir veteriner hekim tarafından 1-5 değerlendirme skalasına göre belirlenerek inekler < 3, 3-3,5 ve ≥ 4 şeklinde üç kategoride sınıflandırıldı. Ayrıca aynı gün ineklerin canlı ağırlıkları tek ölçümle belirlendi.

Çalışmada fertilite ölçütleri olarak; ineklerde, düvelerde ve genel olarak senkronizasyon oranı (%), gebe kalma oranı (%) ve gebelik oranı (%) değerlendirildi (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Çalışmada kullanılan fertilite parametrelerinin hesaplanması.

Fertilite Ölçütü	Hesaplama Formülü
Senkronizasyon Oranı	Senkronize hayvan sayısı x100 / Toplam hayvan sayısı
Gebe Kalma Oranı*	Gebe kalan hayvan sayısı x100 / Tohumlama yapılan hayvan sayısı
Gebelik Oranı*	Gebe kalan hayvan sayısı x100 / Toplam hayvan sayısı

*Çalışmaya dahil edilen bütün hayvanlar tohumlandığı için elde edilen gebe kalma ve gebelik oranı aynıdır.

Sunulan çalışmada yukarıda belirlenen kriterlere göre oluşturulan alt gruplara ait follikül ve CL büyüklükleri ve progesteron düzeylerinin karşılaştırılmasında Genel Linear Model istatistiği kullanıldı. İnek ve düvelere ait senkronizasyon, gebe kalma ve gebelik oranları ki-kare (x^2) testi ile değerlendirildi. İstatistiki analizler bilgisayar ortamında Minitap paket programı ile yapıldı.

3. BULGULAR

Birinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında yapılan rektal palpasyonda inek ve düvelerin ovaryumlarında belirlenen CL ve ölçülen plazma progesteron düzeyleri Çizelge 3.1'de özetlenmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere birinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında yapılan rektal palpasyonda inek ve düvelerin 68'nin ovaryumlarda CL belirlenirken, 12'sinin ovaryumlarında CL belirlenmedi. Plazma progesteron düzeyleri ovaryumlarında CL belirlenen hayvanların 58'inde ≥1 ng/ml, 10'unda ise <1 ng/ml olarak elde edildi. Buna karşılık CL belirlenmeyen hayvanların 11'inde plazma progesteron düzeyi <1 ng/ml olarak saptanırken sadece 1'inde ≥1 ng/ml olarak saptandı. Yine çalışmada birinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası günde 3 defa 30 dakika süreyle yapılan östrüs gözleminde ovaryumlarında CL belirlenen 73 (progesteron analizleri yapılamayan 5 inek dahil edildiğinde) hayvanın 39'unda östrüs tespit edilirken, ovaryumlarında CL saptanmamış iki düvenin de östrüs gösterdikleri belirlenmiştir. Rektal palpasyonda bu düvelerden 1'inin ovaryumlarında graaf follikülü olduğu saptanmış, diğerinin plazma progesteron düzeyi de 1,43 ng/ml olarak ölçülmüştür.

Çizelge 3.1. Birinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında inek ve düvelerin ovaryumlarında saptanan CL ve plazma progesteron düzeylerinin karşılaştırılması*.

		CL		Progesteron düzeyi			
		Rektal Muayene		<1 ng/ml		≥ 1 ng/ml	
		n	(%)	n	(%)	n	(%)
İnek	CL (+)	22	(84.6)	5	(22.7)	17	(77.3)
n=26	CL (-)	4	(15.4)	4	(100.0)	0	(0.0)
Düve	CL (+)	46	(85.2)	5	(10.9)	41	(89.1)
n=54	CL (-)	8	(14.8)	7	(87.5)	1	(12.5)
Toplam	CL (+)	68	(85.0)	10	(14.7)	58	(85.3)
n=80	CL (-)	12	(15.0)	11	(91.7)	1	(8.3)

* Bir inek ve 6 düvenin plazma örnekleri olmadığından progesteron düzeyleri belirlenememiştir.

Çalışmada, siklusun dönemine bakılmaksızın yapılan birinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında ineklerin % 72,5 (58/80)'inin luteal aktiviteye sahip olduğu belirlendi.

İkinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında yapılan ultasonografik muayenede inek ve düvelerin ovaryumlarında saptanan CL ve ölçülen plazma progesteron düzeyleri Çizelge 3.2'de özetlenmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında yapılan ultrasonografik muayenelerde hayvanların 73'ünün ovaryumlarında CL tespit edilirken, 9'unun ovaryumunda CL tespit edilmedi**.** Plazma progesteron düzeyleri, ovaryumlarında CL belirlenen hayvanların 71'inde ≥1 ng/ml, 2'sinde ise <1 ng/ml olarak elde edildi. Buna karşılık CL belirlenmeyen hayvanların 8'inde plazma progesteron düzeyi <1 ng/ml olarak saptanırken sadece 1'in de ≥1 ng/ml olarak saptandı.

Çizelge 3.2. İkinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında CL tespiti ve plazma progesteron düzeylerinin karşılaştırılması*.

		CL		Progesteron düzeyi			
		Ultras. muayene		<1 ng/ml		≥ 1 ng/ml	
		n	%	n	%	n	%
İnek	CL(+)	24	92.3	0	0	24	100.0
n=26	CL (-)	2	7.7	2	100.0	0	0
Düve	CL(+)	49	87.5	2	4.1	47	95.9
n=56	CL (-)	7	12.5	6	85.7	1	14.3
Toplam	CL(+)	73	89.0	2	2.7	71	97.3
n=82	CL (-)	9	11.0	8	88.9	1	11.1

* Bir inek ve 4 düvenin plazma örnekleri olmadığından progesteron düzeyleri belirlenememiştir.

Birinci ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun yapıldığı günlerde alınan kan örneklerinde ölçümü yapılan progesteron düzeylerine (≥1 ng/ml ve < 1 ng/ml) göre hayvan materyalinin dağılımı Çizelge 3.3, bu sınıflandırmaya göre elde edilen gebelik oranları da Çizelge 3.4'de özetlenmiştir. Bu sınıflandırmaya göre en yüksek gebelik oranı düşük-yüksek grubunda (% 57) elde edilirken, yüksek-düşük ve düşük-düşük gruplarında gebelik elde edilmedi.

Çizelge 3.3. Birinci ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyon günü belirlenen progesteron düzeylerine göre hayvan materyalinin dağılımı.

Progesteron düzeyi		İnek		Düve		Toplam	
I. $PGF_{2\alpha}$	II. $PGF_{2\alpha}$	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Yüksek*	Yüksek	16	(59.26)	41	(68.33)	57	(65.51)
Yüksek	Düşük**	2	(7.41)	4	(6.67)	6	(6.90)
Düşük	Yüksek	9	(33.3)	12	(20.0)	21	(24.14)
Düşük	Düşük	-	-	3	(5.0)	3	(3.45)

*: ≥1 ng/ml, **:<1 ng/ml

Çizelge 3.4. Birinci ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyon günü belirlenen progesteron düzeylerine göre Yüksek-Yüksek, Yüksek-Düşük, Düşük-Yüksek ve Düşük-Düşük gruplarda elde edilen gebelik oranları.

	Yüksek-Yüksek*		Yüksek-Düşük**		Düşük-Yüksek		Düşük-Düşük	
İnek	37.5	(6/16)	0.0	(0/2)	44.4	(4/9)	0.0	(0/0)
Düve	34.2	(14/41)	0.0	(0/4)	66.7	(8/12)	0.0	(0/3)
Toplam	35.1	(20/57)	0.0	(0/6)	57.1	(12/21)	0.0	(0/3)

*: ≥1 ng/ml, **:<1 ng/ml

İkinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında progesteron düzeyi yüksek olarak tespit edilen hayvanların suni tohumlama sırasındaki progesteron düzeyleri ve ovulasyon durumlarına göre gebelik oranları Çizelge 3.5'te özetlenmiştir. İkinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyon günü, plazma progesteron düzeyi ≥1 ng/ml olan hayvanların suni tohumlama yapıldığı gün 76'sının plazma progesteron düzeyi <1 ng/ml, 2'sinin plazma progesteron düzeyi de ≥1 ng/ml olarak belirlenmiştir. İkinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında plazma progesteron düzeyi ≥1 ng/ml olan hayvanların tohumlama sonrası 30. saatteki ovulasyon muayenesinde 66'sında ovulasyon oluştuğu belirlenmiştir. Tohumlamaları izleyen 28. günde yapılan ultrasonografik muayenede ovulasyon şekillenen hayvanların 27'sinin gebe olduğu tespit edildi. Belirtilen saatte ovulasyon oluşmayan 10 hayvandan ise 5'inin gebe olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3.5). Tablodan da görüldüğü gibi suni tohumlamanın yapıldığı gün plazma progesteron düzeyi <1 ng/ml olan 76 hayvanın 66'sında (% 86,84) tohumlama sonrası 30. saatte ovulasyonların oluştuğu belirlenmiştir.

Çizelge 3.5. İkinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında progesteron düzeyi yüksek olarak tespit edilen hayvanların suni tohumlama sırasındaki progesteron düzeyleri ve ovulasyon durumlarına göre gebelik sayıları.

	II. $PGF_{2\alpha}$ **$P_4 \geq 1$	ST* günü P_4 düzeyi		Ovulasyon (+)			Ovulasyon (-)		
					Gebelik			Gebelik	
	n	<1	≥1	n	+	-	n	+	-
İnek	25	25	0	21	8	13	4	2	2
Düve	53	51	2	45	19	26	6	3	3
Toplam	78	76	2	66	27	39	10	5	5

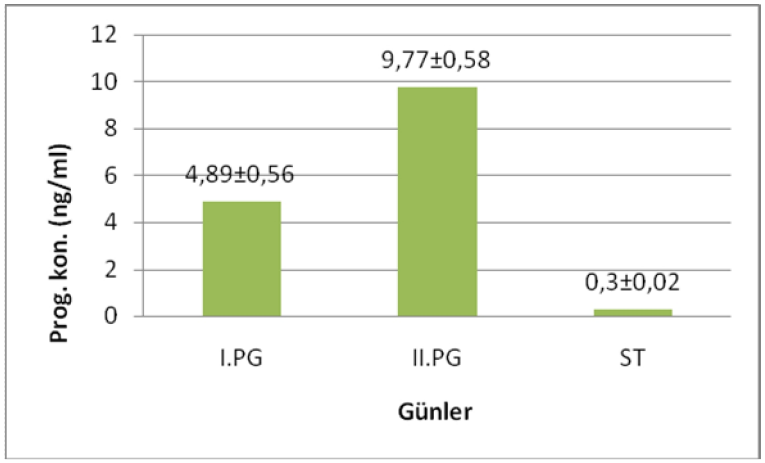
*ST:Suni Tohumlama **P_4:Progesteron

Çalışmada inek ve düvelerde elde edilen senkronizasyon, gebe kalma ve gebelik oranları Çizelge 3.6'da sunulmaktadır. İnek ve düveler arasında senkronizasyon, gebe kalma ve gebelik oranları açısından istatistiki fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

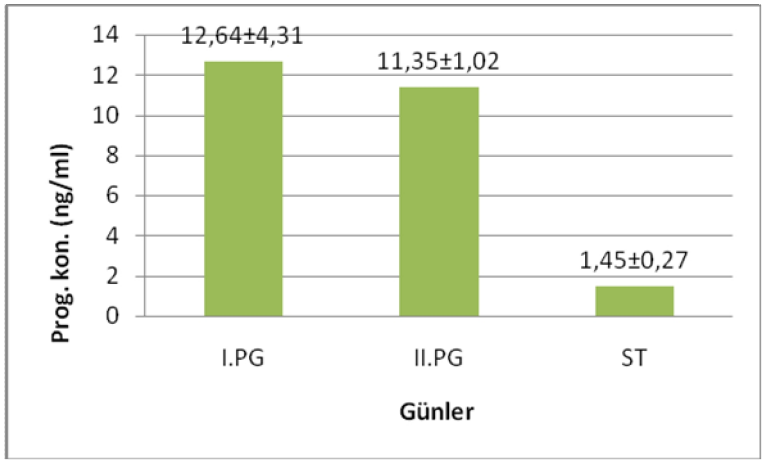
Çizelge 3.6. İnek ve düvelerde elde edilen senkronizasyon, gebe kalma ve gebelik sayı ve oranları.

		Senkronizasyon		Gebe kalma		Gebelik	
		n	%	n	%	n	%
İnek	27	25/27	92.60	10/27	37.04	10/27	37.04
Düve	60	51/60	85.0	22/60	36.67	22/60	36.67
Toplam	87	76/87	87.35	32/87	36.78	32/87	36.78
P		0,27		0,97		0,97	

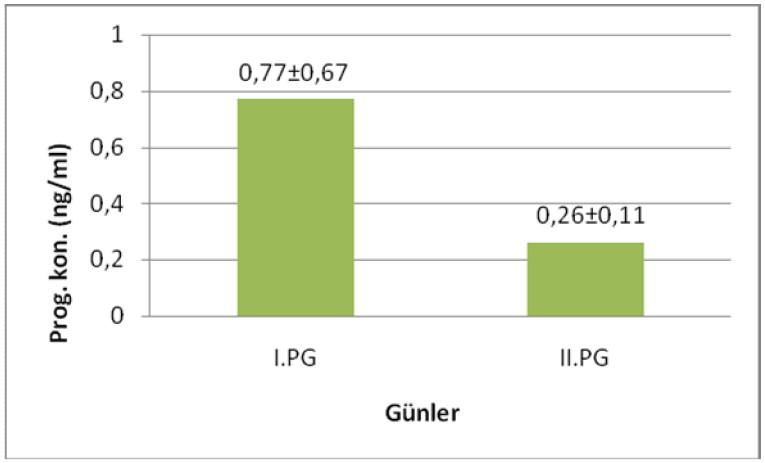
Birinci ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonları sonrası ovaryum cevabı $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonları ve suni tohumlamaların yapıldığı günlerdeki plazma progesteron düzeyleri ve klinik muayene bulgularına göre yapılan reprodüktif tanımlamalara ilişkin ortalama plazma progesteron düzeylerini gösteren grafikler aşağıda sunulmuştur (Şekil 3.1-4).



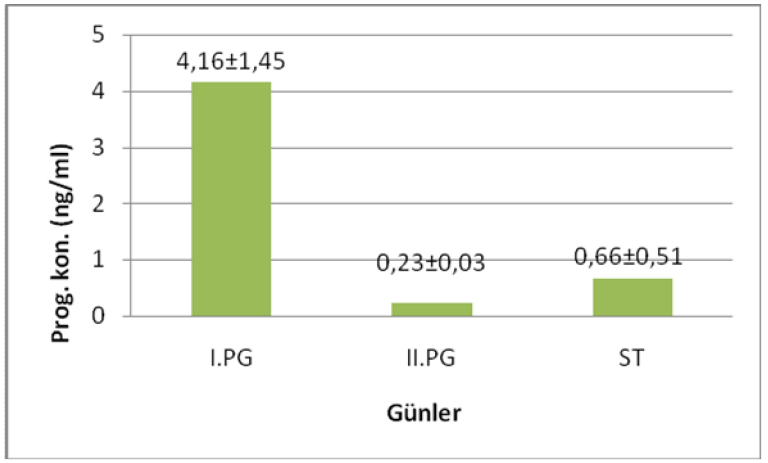
Şekil 3.1. Senkronize hayvanlardaki progesteron düzeyleri.



Şekil 3.3. Luteolizis yetersizliği belirlenen hayvanlardaki progesteron düzeyleri.



Şekil 3.2. Anöstrüste olan hayvanlardaki progesteron düzeyleri.



Şekil 3.4. II.$PGF_{2\alpha}$ uygulama gününde luteal yapı bulunmayan hayvanlardaki progesteron düzeyleri.

Çalışmada kullanılan hayvanlarda ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyon günü CL, dominant follikül büyüklükleri ve plazma progesteron düzeyleri Çizelge 3.7'de sunulmuştur. Tabloda, ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulaması sırasında ovaryumlarında luteal yapı bulunmayan ineklerin tamamında (n=6) birinci $PGF_{2\alpha}$ uygulaması sırasında CL bulunduğu ve plazma progesteron düzeyinin ≥1 ng/ml olduğu saptanmıştır. Bu bulgulara ek olarak, ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulaması sırasında yapılan klinik muayenelerde hayvanların 3'ünde kornu uterilerde tonus artışı ile birlikte ovaryumlarında graaf follikülü ve vaginal mukus akıntısı, 1'inde metöstrüs kanaması ve kornu uterilerde tonus artışı, 2'sinde kornu uterilerde tonus arışı ile birlikte ovaryum üzerinde ovulasyon çukurluğu bulguları elde edildi.

Çizelge 3.7. Çalışmada kullanılan hayvanlarda ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun yapıldığı gün ovaryumlarda belirlenen fonksiyonel yapıların büyüklükleri ve plazma progesteron düzeyleri.

Senkronizasyon sonrası reprodüktif durum	2.PG-FOLLİKÜL	2.PG-P4	2PG-CL
Senkronize	1.19 ± 0.06	9.76 ± 0.57 a	2.61 ± 0.05
Yetersiz luteolizis	0.98 ± 0.34	11.35 ± 3.36 a	2.56 ± 0.33
Anöstrüs (inaktif ovaryum)	0.97 ± 0.34	0.15 ± 3.36 b	
II. $PGF_{2\alpha}$ günü luteal yapı yok	1.43 ± 0.24	0.26 ± 2.38 b	
P	0,608	0,001	0,860

Aynı sütunda farklı harfler taşıyan ortalamalar arası fark önemlidir.

Çalışmada kullanılan hayvanlarda uygulanan senkronizasyon protokolüne göre yapılan sabit zamanlı suni tohumlama sonrası 21. günde plazma progesteron düzeyine göre elde edilen gebe kalma ve gebelik oranları Çizelge 3.8.'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.8. Çalışmada kullanılan hayvanlarda yapılan sabit zamanlı suni tohumlama sonrası 21. günde plazma progesteron düzeyine göre elde edilen gebe kalma ve gebelik oranları.

Senkronizasyon sonrası ovaryum cevabı	Tohumlanan inek sayı ve oranı		Toh. son. 21. gün gebe kalma sayı ve oranı		Toh. son.28. gün gebelik sayı ve oranı	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Senkronize	76	87.36	45	59.21	32	42.10
Yetersiz luteolizis	2	2.30	0	0	0	0
Anöstrüs(İnaktif ovaryum)	3	3.45	0	0	0	0
II. $PGF_{2\alpha}$ günü luteal yapı yok	6	6.89	0	0	0	0
Toplam	87	100	41	47.12	32	36.78

Senkronize ineklerin tohumlama sonrası plazma progesteron düzeyleri ve 28. gün gebelik oranları dikkate alınarak yapılan sınıflandırma ve bu sınıflardaki ineklerin ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulama günü CL, follikül büyüklükleri ve plazma progesteron düzeyleri ile GnRH uygulama gününde pre-ovulator follikül büyüklükleri ve tohumlama günü ve sonrası 7, 14 ve 21. günlerde plazma progesteron düzeylerinin ortalamaları Çizelge 3.9'da, plazma progesteron konsantrasyonları ise Şekil 3.5-10'da gösterilmiştir.

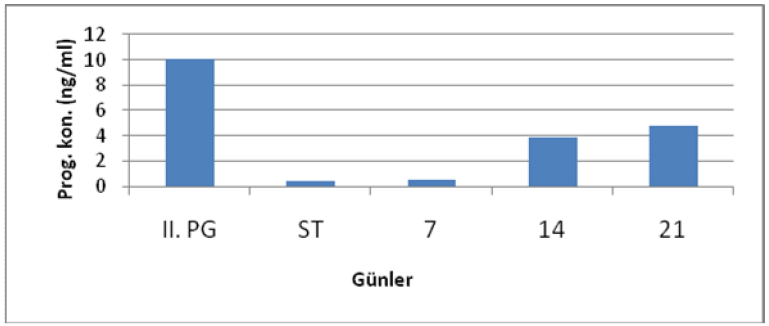
Çizelge 3.9. Senkronize ineklerin tohumlama sonrası plazma progesteron düzeyleri ve 28. gün gebelik oranları dikkate alınarak yapılan sınıflandırma ve bu sınıflardaki ineklerin ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulama günü CL, follikül büyüklükleri ve plazma progesteron düzeyleri ile GnRH uygulama gününde pre-ovulator follikül büyüklükleri, tohumlama günü ve sonrası 7, 14 ve 21. günlerde ortalama plazma progesteron düzeyleri.

Grup	2.PG CL (cm)	2.PG FOL.(cm)	2.PG P4 (cm)	GnRH FOL.(cm)
Tohumlama sonrası 7. gün luteal yapının oluşmaması (n=9)	2.61±0.19	1.16±0.21	10.08±1.98	1.13±0.11
Erken luteolizis (n=2)	2.57±0.33	1.14±0.37	9.52±3.42	1.35±0.19
Gebeliğin oluşmaması (n=20)	2.79±0.11	1.29±0.12	10.66±1.14	1.30±0.06
Erken embriyonik ölüm ihtimali (n=9)	2.50±0.19	1.25±0.21	11.61±1.98	1.30±0.11
Luteal evrenin uzaması veya olası EEÖ (n=4)	2.46±0.23	1.22±0.26	7.42±2.42	1.37±0.13
Gebe (n=32)	2.53±0.09	1.14±0.10	8.76±0.93	1.36±0.05
P	0,52	0,96	0,61	0,58

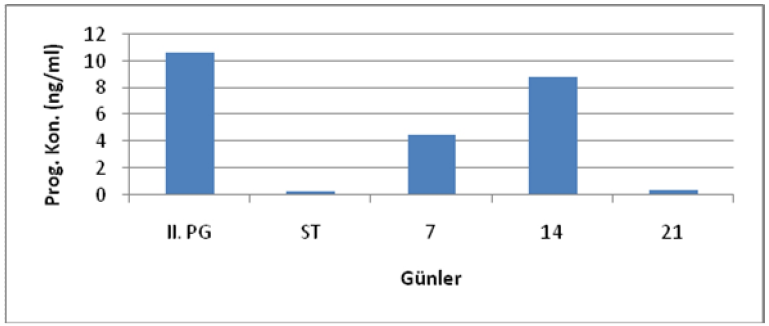
Çizelge 3.9 (Devam). Senkronize ineklerin tohumlama sonrası plazma progesteron düzeyleri ve 28. gün gebelik oranları dikkate alınarak yapılan sınıflandırma ve bu sınıflardaki ineklerin ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulama günü CL, follikül büyüklükleri ve plazma progesteron düzeyleri ile GnRH uygulama gününde pre-ovulator follikül büyüklükleri, tohumlama günü ve sonrası 7, 14 ve 21. günlerde ortalama plazma progesteron düzeyleri.

Grup	ST günü P4 (ng/ml)	7.Gün P4 (ng/ml)	14.Gün P4 (ng/ml)	21.Gün P4 (ng/ml)
Tohumlama sonrası 7. gün luteal yapının oluşmaması (n=9)	0.36±0.07 ab	0.53±0.89 c	3.88±1.35 b	4.75±1.19 c
Erken luteolizis (n=2)	0.20±0.11 b	2.58±1.54 abc	0.34±2.34 b	5.92±2.05 abc
Gebeliğin oluşmaması (n=20)	0.33±0.04 b	4.51±0.51 a	8.86±0.78 a	0.35±0.68 d
Erken embriyonik ölüm ihtimali (n=9)	0.50±0.07 a	2.31±0.89 bc	2,74±1.35 b	8.95±1.19 ab
Luteal evrenin uzaması veya olası EEÖ (n=4)	0.21±0.08 b	4.61±1.09 ab	8.51±1.65 a	5.64±1.45 bc
Gebe (n=32)	0.25±0.03 b	4.09±0.42 ab	7.73±0.64 a	10.04±0.56 a
P	0,016	0,004	0,0001	0,0001

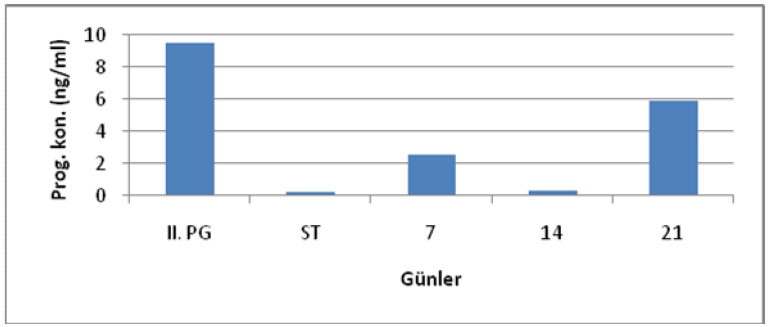
Aynı sütunda farklı harfler taşıyan ortalamalar arası fark önemlidir.
EEÖ:Erken embriyonik ölüm.



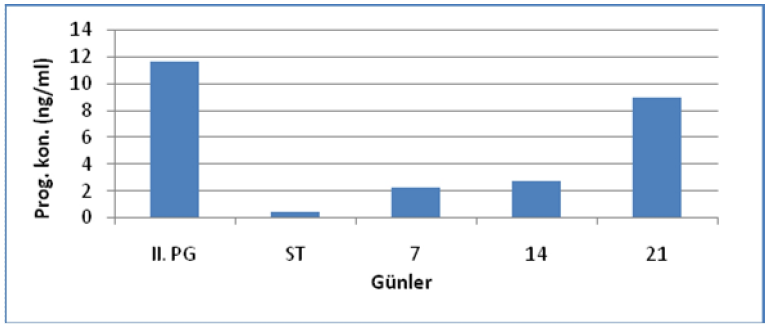
Şekil 3.5. Tohumlama sonrası 7. günde luteal yapı bulunmayan hayvanlardaki progesteron düzeyleri.



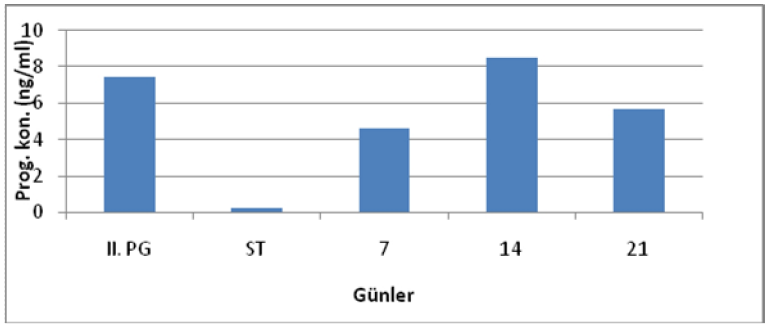
Şekil 3.7. Gebelik şekillenmeyen hayvanlardaki progesteron düzeyleri.



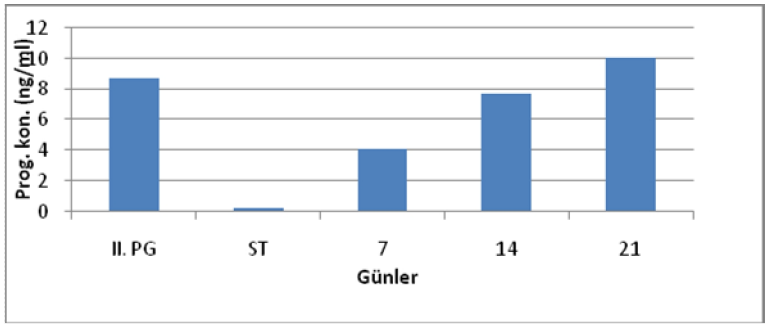
Şekil 3.6. Erken luteolizis oluşan hayvanlardaki progesteron düzeyleri.



Şekil 3.8. Erken embriyonik ölüm şekillendiği düşünülen hayvanlardaki progesteron düzeyleri.



Şekil 3.9. Luteal evrenin uzaması veya erken embriyonik ölüm şekillendiği düşünülen hayvanlardaki progesteron düzeyleri.



Şekil 3.10. Gebe hayvanlardaki progesteron düzeyleri.

Senkronize ineklerin gebelik (+), gebelik (-) ve embriyonik ölüm şekillenen ineklerin; ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu günü CL, follikül büyüklükleri ve plazma progesteron değerleri ile GnRH enjeksiyonunun yapıldığı gün preovulatör follikül büyüklüklükleri ve tohumlama günü ve tohumlama sonrası 7. gündeki plazma progesteron değerleri ortalamaları Çizelge 3.10'da sunulmaktadır.

Çizelge 3.10. Senkronize ineklerin gebelik durumları ve olası embriyonik ölümlere göre oluşturulan gruplarda ikinci $PGF_{2\alpha}$ ve izleyen GnRH enjeksiyonu günü ve sonrasında elde edilen bazı ölçüm ve muayene bulguları.

Grup	2.PG CL (cm)	2.PG FOL. (cm)	2.PG P4 (ng/ml)	GnRH FOL.(cm)	ST P4 (ng/ml)	ST iz.7.gün P4 (ng/ml)
Gebe değil (n=35)	2.69± 0.08	1.25± 0.09	10.04± 0.91	1.28± 0.05	0.31± 0.03 b	3.60± 0.43
Gebe (n=32)	2.54± 0.08	1.13± 0.09	9.20± 0.93	1.35± 0.05	0.25± 0.03 b	4.02± 0.44
Embriyonik ölüm (n=9)	2.50± 0.19	1.25± 0.20	11.61± 2.04	1.30± 0.11	0.50± 0.07 a	2.31± 0.97
P	0,38	0,65	0,53	0,63	0,004	0,28

Birinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun yapıldığı gün vücut kondüsyon skorları <3; 3-3,5 ve ≥4 olarak değerlendirilen hayvanlara ait senkronizasyon, gebe kalma ve gebelik oranları Çizelge 3.11'de sunulmaktadır.

Çizelge 3.11. Birinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun yapıldığı gün vücut kondüsyon skorları <3, 3-3.5 ve ≥4 olarak değerlendirilen hayvanlara ait senkronizasyon, gebe kalma ve gebelik oranları.

	<3		3-3.5		≥4		P
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Toplam	17/87	(19.54)	49/87	(56.32)	21/87	(24.14)	
Senkronizasyon oranı	14/17	(82.35)	43/49	(87.76)	19/21	(90.48)	0,75
Gebe kalma oranı	4/17	(23.53)	20/49	(40.82)	8/21	(38.10)	0,44
Gebelik oranı	4/17	(23.53)	20/49	(40.82)	8/21	(38.10)	0,44

Çizelge 3.11 de izlendiği gibi, VKS <3 ve ≥4 olan ineklerin genel oranının, 3-3.5 olan gruba göre daha düşük bir oranı oluşturduğu ve obez (VKS=5) hayvanların çok az sayıda olduğu belirlenmiştir.

4. TARTIŞMA

Süt inekçiliğinde, östrüs senkronizasyonu yöntemlerinin esas amacı östrüslerin belirlenememesine bağlı kayıpları azaltmak ve optimal gebelik oranı elde etmektir. Östrüs ve ovulasyonların senkronizasyonunda birçok önemli fizyolojik olayın düzenlenmesi gerekmektedir. İneklerde PG'lerin kullanıldığı östrüs senkronizasyonu protokolerinin başarısı, uygulama sırasında ineklerin ovaryumlarında fonksiyonel CL veya CL'lerin bulunmasına bağlıdır (Cavalieri ve ark 2006). Nitekim normal östrüs siklusunun 18-0. ve 1-4. günleri arasındaki dönemlerde (proöstrüs, östrüs ve metöstrüs) bulunan ineklerin ovaryumlarında fonksiyonel bir CL bulunmaması nedeniyle, uygulanan $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonları etkisiz kalmakta ve östrüsler oluşmamaktadır (Allock ve Peters 2004). Ayrıca PG'lerin folliküler dinamik üzerine direkt olarak etkili olmaması nedeniyle uygulama sonrası östrüsler değişik zamanlarda oluşmaktadır (Alan ve ark 1991, Canooğlu 2004, Zonturlu ve İzgür 2004, Thatcher ve ark 2004). Bazı araştırmacılar da (Roche ve ark 1998, Whismant ve ark 1999), enjeksiyonlar sırasında seksüel siklusun ve folliküler gelişimin dönemine bağlı olarak östrüs ve ovulasyon zamanlarının çok değişken olduğunu, dolayısıyla fertilizasyon ve gebelik oranlarının düşük olduğunu ifade etmektedirler. Bu geniş zaman aralığına dağılan östrüslerin tespiti için harcanan işçilik ve zamandan tasarruf edebilmek amacıyla sabit zamanlı tohumlama protokolleri geliştirilmiştir.

Senkronizasyonda luteolitik ajanların uygulanması ile başarılı sonuçların elde edilebilmesi için öncelikle ineklerin ovaryumlarında bulunan fonksiyonel CL'nin belirlenmesi gerekmektedir (Elmarimi ve ark 1983, Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters 2004). Ovaryumlarda bulunan fonksiyonel luteal yapıların doğru olarak belirlenememesi, uygulanan luteolitik ajanların etkisiz kalması ile sonuçlanmaktadır (Hanzen ve ark 2000). Sunulan çalışmada, birinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında yapılan rektal palpasyon ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında yapılan ultrasonografik muayenelerde ovaryumlardaki luteal yapıların tespit edilebilme oranları sırasıyla % 85.0 ve % 97 gibi yüksek oranlarda elde edilmiştir. Ancak rektal muayenede ovaryumlardaki luteal yapıların tespit edilebilme oranının ultrasonografik muayeneye göre daha düşük olduğu görülmüştür (Çizelge 3.1 ve Çizelge 3.2). Elmarimi ve ark (1983), iki grup hayvan üzerinde gerçekleştirmiş oldukları bir çalışmada

rektal muayenede % 96.0 ve % 92.0 oranında en az bir adet fonksiyonel CL belirlemiş olmalarına rağmen CL belirlenen hayvanların sırasıyla ancak % 66.0 ve % 79.0'unun plazma progesteron değerlerinin ≥2 ng/ml olduğunu ifade etmektedirler. Bu çalışmada, Çizelge 3.1.'de de görüldüğü gibi, rektal muayene sırasında ovaryumlarında CL belirlenen 68 hayvanın 58'inde progesteron düzeyleri ≥ 1 ng/ml olarak belirlenmiş ve % 85 oranında doğru tanı konulmuş, 10'unda ise progesteron düzeyleri <1 ng/ml olarak elde edilmiş ve bu nedenle de % 15 oranında hatalı luteal yapı tanısı konulmuştur (Çizelge 3.1). Kaya ve ark (2000) rektal palpasyon yöntemiyle ineklerde seksüel siklusun dönemlerinin belirlenmesi amacıyla yaptıkları çalışmada, gerçek siklus dönemi luteal dönem olmasına rağmen ineklerin %16.6'sında CL belirlenememiştir. Bu ineklerin %8.3'üne folliküler, diğer %8.3'üne ise ovulasyon sonrası dönem tanısı yapılmıştır. Araştırmacılar yanlış luteal tanıların CL'lerin ovaryum üzerindeki çıkıntısının küçük olması nedeniyle regrese ve gelişmekte olan CL'lerle karıştırılmasından, bir önceki siklusa ait CL'nin yeterince küçülmemesinden, mezbaha şartlarında muayenenin anemnez alınmadan bir kez yapılmasından kaynaklanmış olabileceğini belirtmektedirler. Haznen ve ark (2000) da rektal palpasyon yoluyla regresyona giden ve büyümekte olan CL'lerin birbirinden ayırımlarının güç olduğunu belirtmektedirler. Bu çalışmada da benzer oranda rektal palpasyon yoluyla yapılan % 15 oranındaki yanlış luteal yapı tanısı konulmasının muhtemel nedenlerinin, Kaya ve ark (2000) ve Hanzen ve ark (2000)'nın belirttiği nedenlerden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Sunulan çalışmada, ikinci PG enjeksiyonları sırasında yapılan ultrasonografik muayenelerde plazma progesteron düzeyine göre yanlış CL (+) ve CL (-) tanı oranları, rektal muayenelerdeki plazma progesteron düzeyine göre yanlış CL (+) ve CL (-) tanı oranlarından daha düşük olarak elde edilmiştir (Çizelge 3.2). Ultrasonografik muayenelerde 2 hayvanda CL (+) tanısı konulmasına rağmen progesteron düzeyleri <1 ng/ml olarak tespit edilmiştir. Bunun nedeninin Battocchio ve ark (1999) tarafından da ifade edildiği gibi regrese olan CL'lerin ovaryum stromasından farklı bir ekojeniteye sahip olmamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Ultrasonografik muayenelerde, sadece 1 hayvanda progesteron düzeyi ≥1 ng/ml olmasına rağmen hatalı olarak CL (-) tanısı konulmuştur. Bu yanılgının, gelişmekte olan genç CL'nin küçük hacimli ve ultrasonografik görüntüsünün gri-siyah ve ovaryum stromasında düzensiz birkaç gri ekojenik odak şeklinde olması nedeniyle tespitinin güçlüğünden (Haznen ve ark 2000, Kayacık ve ark 2005) kaynaklanabileceği kanısına varılmıştır.

İneklerde ilk örneklemede belirlenen luteal aktivite oranının, ineklerin seksüel siklusun dönemlerine eşit olarak dağıldığı göz önüne alındığında, hayvanların yaklaşık % 70'nin luteal evrede oldukları bildirilmektedir (Odde 1990, Kaya ve ark 1998, Thatcher ve ark 2004). Çalışmada seksüel siklusun dönemine bakılmaksızın yapılan birinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında alınan plazma örneklerinde ineklerin % 72,5'nin luteal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmada ilk enjeksiyon sırasında belirlenen bu luteal aktivite oranının yukarıdaki araştırmacılar tarafından ilk örneklemede % 70 olarak bildirilen luteal aktivite oranına yakın olduğu görülmektedir. Çalışmada ayrıca ilk $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası günde 3 kez yapılan östrüs gözlemiyle elde edilen % 44.83'lük östrüs tespit oranı, Kılıçarslan ve ark (1997)'nın bildirdiği % 35'lik östrüs tespit oranından yüksek, Tekeli ve ark (1992), Alaçam ve ark (1989), Diaz ve ark (2005)'nın sırasıyla bildirdiği % 50.0, 50.0 ve 61.1'lik östrüs tespit oranlarından daha düşük bulunmuştur. Luteal aktivite oranının yüksek olmasına rağmen sütçü inek işletmelerinde $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası östrüs tespit oranlarının düşük olduğu görülmektedir. Bu nedenle östrüs tespiti yapılmadan sabit zamanlı tohumlama yapılan protokoller bu sorunun çözümlenmesinde pratik bir yöntem olarak değerlendirilebilir.

İneklerde onbir gün arayla iki kez yapılan $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonlarıyla sağlanan östrüs senkronizasyonunun prensibi, ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında ineklerin ovaryumlarında fonksiyonel bir luteal yapının varlığını sağlayarak luteolitik cevap şansının artırılmasına dayanmaktadır. Onbir gün arayla iki kez yapılan $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonlarıyla sağlanan östrüs senkronizasyon protokollerinde, ilk uygulama sırasında siklusun 5-17. günleri arasında olan hayvanlar, oluşan luteolitik cevap nedeniyle ikinci uygulamada sırasında mutlaka bir sonraki siklusun 8-15. günlerinde olacaklardır. İlk uygulama sırasında seksüel siklusun 18-4. günlerinde olan ineklerde bu kez luteolitik cevap oluşmayacağından ikinci uygulama sırasında ineklerin siklusun 8-15. günlerinde olacağı tahmin edilmektedir (Allock ve Peters 2004). On-ondört gün ara ile iki kez $PGF_{2\alpha}$ uygulaması yapılan ineklerin yaklaşık % 90'nında östrüslerin uyarıldığı bildirilmektedir (Thatcher ve ark 2004). Bu çalışmada elde edilen senkronizasyon oranı, luteolizis yetersizliği bulunan inekler dikkate alınmadığında % 87,36 olarak elde edilmiş ve bu oran yukarıdaki kaynakta bildirilen senkronizasyon oranına çok yakın ve uyumlu olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu bulgular ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası

ineklerin yaklaşık %90'ının östrüs tespitiyle tohumlanabilmesi 11 veya 14 gün ara ile iki kez uygulanan $PGF_{2\alpha}$ ile senkronizasyon yönteminin en önemli avantajı olarak ifade edilebilir.

Çalışmada, birinci ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun yapıldığı gün ölçümü yapılan progesteron düzeylerine (≥1 ng/ml = yüksek, < 1 ng/ml = düşük) göre oluşturulan sınıflandırmada, hayvanların % 65.51'inin progesteron yüksek-yüksek, % 24.14'ünün ise progesteron düşük-yüksek gruplarda yer aldığı belirlenmiştir (Çizelge 3.3). Her iki gruba ait olan bu hayvanlar ovaryumlarında CL bulunan ve östrüsleri luteolitik ajanlarla uyarılabilecek, luteal fonksiyonları senkronize edilmiş grupları oluşturmuşlar ve gebeliklerin % 35.1'i her iki $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında progesteron düzeyleri yüksek-yüksek, % 57.1'i ise düşük-yüksek grubunda yer alan hayvanlarda elde edilmiştir (Çizelge 3.4). Erdoğan ve Alaçam (2003), 11 gün ara ile iki kez $PGF_{2\alpha}$ uygulaması sonrası inekleri 80. saatte sabit zamanlı tohumlayarak gerçekleştirmiş oldukları bir çalışmada, sunulan çalışmada elde edilen gebelik oranlarına benzer şekilde, ilk $PGF_{2\alpha}$ uygulaması sırasında süt progesteron düzeyi ≥ 5 ng/ml olan ineklerde % 25, < 5 ng/ml olanlarda ise % 58.3 gebelik elde etmişlerdir. Folman ve ark (1990) yine yukarıdaki sonuçlara benzer olarak, PG'lerle senkronize edilen ineklerde gebe kalma oranının ikinci $PGF_{2\alpha}$ öncesi progesteron düzeyi ile pozitif ilişkisinin olduğunu, ikinci $PGF_{2\alpha}$ öncesi progesteron düzeyi < 5 ng/ml olan ineklerde gebelik oranının %36, > 5 ng/ml olanlarda ise %75 olarak elde edildiğini bildirmişlerdir. Alan ve ark (1991) inek ve düveler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, diöstrüsün erken döneminde PG enjekte edilen hayvanlarda enjeksiyon-östrüs aralığının (ineklerde 48,8 saat, düvelerde 49 saat) diöstrüsün geç döneminde enjekte edilen hayvanlara göre (inek 71,7 saat, düve 53,7 saat) daha kısa olduğunu bildirmektedirler. Sunulan çalışmada, enjeksiyon-tohumlama aralığının yaklaşık 70 saat olması ve belirtilen çalışmalarda enjeksiyon-östrüs aralığı ve tohumlama zamanının benzer olmaları göz önüne alındığında, progesteron düzeyleri düşük-yüksek olan gruptaki hayvanlarda ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun siklusun luteal evresinin geç dönemlerine tesadüf ettiği ve enjeksiyon-tohumlama zamanı arasında senkronizasyonun sağlanmış olması nedeniyle gebelik oranının daha yüksek olduğu düşünülmektedir.

İnek ve düvelerde infertilitenin en önemli nedenlerinden birisi etiyolojisi çok kompleks bir olgu olan anöstrüs sorunudur. Anöstrüsün nedenleri çok değişken ve çeşitli olmakla birlikte bazıları tam olarak açıklanamamaktadır (Boyd ve ark 2004). Anöstrüs, fizyolojik ve gerçek anöstrüs olmak üzere iki şekilde değerlendirilmektedir. Gerçek anöstrüs ovulasyonların oluşmaması ve bu durumun sürekliliği ile karakterizedir. Düvelerde karşılaşılan gerçek anöstrüsün en yaygın nedenleri ovaryum hipoplazisi ve hakiki inaktif ovaryum olgularıdır (Alaçam 1997c, Boyd ve ark 2004). Sunulan çalışmada birinci ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında yapılan rektal ve ultrasonografik muayene bulguları ve ölçülen plazma progesteron düzeylerine göre pubertas yaşına ulaşmış olan düvelerden 3'ünde hakiki anöstrüs olgusu belirlendi. Bu durum, söz konusu düveler pubertasa erişmiş olmakla birlikte yaşça daha büyük ve daha iri yapılı olan inek ve düvelerle aynı bölmede, bir arada tutulmaları nedeniyle yeterli beslenememelerinden ve yetersiz enerji alımı nedeniyle şekillenmiş olabileceği düşünülmektedir. İneklerde beslenmeye bağlı anöstrüsün nedeni tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte genel görüş yetersiz beslenme ve GnRH salınımı arasında doğrudan bir ilişkinin bulunmasıdır. Yetersiz beslenme ve GnRH salınımı arasındaki bu ilişkide anöstrüsün nedeni olarak, GnRH'nın hipotalamus'tan salınımına hipofizin cevabının yetersiz olmasından daha çok hipotalamik gonadotropin yetersizliğine bağlı LH salınımının yetersizliği sebep olmaktadır (Mwaanga ve Janowski 2000). Bu nedenle, çalışmada düvelerin yetersiz enerji alımı nedeniyle oluşabilecek yetersiz LH salınım sıklığı ve LH salınımına bağımlı dominant follikülün seçimindeki aksamalardan dolayı ovaryal siklusun tamamlanabilmesi için gerekli olan ovulasyonun oluşmadığı ve bunun da anöstrüs olgusuyla karekterize olduğu düşünülmektedir.

Senkronizasyon amacıyla uygulanacak bir protokol ile sadece siklik aktivite gösteren ineklerde östrüs ve ovulasyonların senkronize edilmesi değil, aynı zamanda anöstrüs gösteren inek ve prepubertal düvelerde de fertil östrüs ve ovulasyonların başlatılması da amaçlanmalıdır (Stevenson ve ark 1997). Ancak prostaglandin kullanımına dayalı senkronizasyon protokollerinin en önemli dezavantajlarından birisi, ovaryumların sadece üzerlerinde fonksiyonel bir CL'nin varlığı durumunda luteolitik etkili ajana karşı cevap alınmasıdır (Elmarimi ve ark 1983, Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters 2004). Bu nedenle sadece $PGF_{2\alpha}$ kullanılımı esasına dayalı senkronizasyon protokollerinde hakiki anöstrüs

gösteren ve prepubertal dönemde bulunan düvelerde östrüslerin başlatılması mümkün olmamaktadır (Stevenson ve ark 1997). Sunulan çalışmada anöstrüs gösterdiği belirlenen düvelerden birinde GnRH uygulaması sonrası ovulasyonun şekillendiği, tohumlama sonrası progesteron düzeyinin yükseldiği ve 21. günde progesteron düzeyinin < 1 ng/ml'nin altına düştüğü belirlenmiş ve ovaryum aktivitesinin normale döndüğü gözlenmiştir. Bu nedenle uygulanan senkronizasyon protokolünde GnRH kullanımının sürü içerisinde anöstrüs gösterdikleri klinik olarak belirlenemeyen inek ve düvelerde anöstrüs sorununu tedavi edici bir uygulama olma avantajı sağladığı düşünülmektedir. Gyawu ve ark (1991) doğum sonrası 56. günde bulunan ve senkronizasyon amacıyla 11 gün ara ile iki kez $PGF_{2\alpha}$ uyguladıkları 29 inek üzerinde yaptıkları bir çalışmada, uygulamaya başlamadan önce hayvanlardan aldıkları süt örneklerindeki progesteron düzeylerine göre 3 inekte (% 10.34) ovulasyonun oluşmadığını, 11 gün ara ile uygulanan $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonları sonrasında da bu ineklerde senkronize ovulasyonların şekillenmediğini ve 72 ve 96. saatlerde yapılan tohumlamalar sonrası da gebe kalmadıklarını bildirmektedirler. Araştırmacılar PG'lere dayalı senkronizasyon yöntemlerinin, bu tür inekler sürüde küçük bir oranı oluştursa da uygun olmadığını ve PG'lere dayalı senkronizasyon yöntemlerinin gebelik oranını olumsuz etkileyen bir faktör olduğunu belirtmektedirler.

Kan ve sütteki progesteron düzeylerinin belirlenmesi luteal fonksiyonların değerlendirilmesinde kullanılan en etkili yöntemlerdendir. Progesteron düzeyleri takip edilerek luteal aktivite hakkında önemli bulgular elde edilebilmekte ve tohumlama öncesi süt/kan progesteron analizleriyle PG esaslı senkronizasyon protokolleri kolaylıkla uygulanabilmektedir (Salmanoğlu ve ark 1999). Progesteron düzeyinin belirlenmesinin pratikte sağladığı bu kolaylığın esası, aslında PG'lerin kullanıldığı senkronizasyon protokolerinin temel presibine dayanmaktadır. PG'lerin östrüsü uyarmaları ve toplulaştırmaları, ovaryumlarda enjeksiyona cevap verecek fonksiyonel luteal yapının bulunmasıyla mümkündür (Hopkins 2003, Cavalieri ve ark 2006). Luteolitik ajanların uygulanmasını izleyen 30 saat içerisinde periferal progesteron düzeyi hızla bazal seviyelere düşmesini takiben hipofiz gonadotropinleri ve östradiol 17-β'nın düzeyinde preovulatör bir artış olmakta ve dominant follikül gelişim evresine göre değişen sürelerde graaf folikülü haline gelerek ovule olmaktadır (Canooğlu 2004, Allcock ve Peters 2004, Ball ve Peters

2004). Çalışmada gebe kalan inek ve düvelerin (n=32) birinci ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyon gününde plazma progesteron düzeylerine göre yapılan sınıflandırmaya göre yüksek-yüksek (n=20) ve düşük-yüksek (n=12) gruplarında olması, yani sadece ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun yapıldığı gün fonksiyonel luteal yapıya sahip olan ineklerde daha yüksek bir gebeliğin oluşması PG'lerle senkronizasyon protokollerinin esasını göstermektedir (Çizelge 3.4).

Sabit zamanlı tohumlama yöntemlerinde elde edilen gebelik oranlarının, östrüs tespitine dayalı yapılan tohumlamalarda elde edilen gebelik oranları ile mukayese edilebilecek oranda olabilmesi için ovulasyonların sabit zamanlı tohumlama sonrası uygun zamanda spontan olarak oluşması veya indüklenmesi gerekmektedir. Ancak çift $PGF_{2\alpha}$ yöntemlerinde de folliküler dalga tam olarak senkronize edilemediğinden gebe kalma oranı düşmektedir. Bu problem ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan 48 saat sonra yapılan GnRH enjeksiyonu ile aşılabilmektedir (Cartmill ve ark 2001, Güzeloğlu ve ark 2007, Erdem ve Güzeloğlu 2008b).

Sunulan çalışmada uygulanan senkronizasyon protokolü, ikinci $PGF_{2\alpha}$ sonrası uygulanan GnRH ile ovaryumlarda bulunan dominant folliküllerin ovulasyonlarının senkronize edilmelerinin amaçlanması nedeniyle prensip olarak ovsynch yöntemine benzemektedir. Ovsynch ve benzer senkronizasyon yöntemlerinin esası; $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan 7 gün önce uygulanan GnRH enjeksiyonları ile ovaryumlarda mevcut follikülün ovulasyona veya atreziye uğratılarak yeni bir folliküler dalganın başlatılması, 7. günde PG enjeksiyonu ile mevcut CL'nin lizisi ve oluşan dominant follikülün gelişiminin devam etmesi, PG enjeksiyonundan 48 saat sonra yapılan ikinci GnRH enjeksiyonu ile dominant folliküllerde senkronize ovulasyonların oluşturulmasıdır (Allcock ve Peters 2004). Ancak sütçü inekler için geliştirilen ve popüler şekilde uygulanmakta olan ovsynch yöntemi, düveler için gebe kalma oranının düşüklüğü nedeniyle önerilmemektedir (Pursley ve ark 1997). Düvelerde folliküler dalgalanmanın ineklerden farklı olması, bir folliküler dalganın ineklere göre daha uzun sürmesi nedeniyle birinci GnRH enjeksiyonu sırasında ovule olacak büyüklükte follikülün bulunma ihtimalinin düşük olması ve ikinci GnRH enjeksiyonu zamanında %13.4-17.4 oranında ovulasyonların tohumlama öncesi oluşması nedeniyle gebelik oranları ineklere göre düşük olmaktadır (Thatcher ve ark 1996, Tenhagen ve ark 2005, Erdem ve Güzeloğlu 2008b). Çalışmada uygulanan senkronizasyon yönteminde de

tohumlamalar ovsynch yöntemine benzer olarak GnRH sonrası 16-20. saatlerde yapılmıştır. Pursley ve ark (1997) ovsynch yönteminde ovulasyonların % 85-100 oranında GnRH enjeksiyonunu izleyen 24-32. saatler arasında oluştuğunu belirlemişlerdir. Sunulan çalışmada ise ovulasyonların, suni tohumlamaların yapıldığı gün plazma progesteron düzeyi <1 ng/ml olan 76 inek ve düvenin 66'sında (% 86,84) tohumlamaları izleyen 30. saatte şekillendiği, tohumlama sonrası 30. saatte yapılan ovulasyon kontrolünde tespit edilmiştir. Erdem ve Güzeloğlu (2008b) bu yöntemin ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında siklusun diöstrüs döneminde ve ovaryum üzerinde ikinci folliküler dalgaya ait bir dominant folliküle sahip olma ihtimali ve 48 saat sonra yapılan GnRH enjeksiyonuyla dominant follikülün ovulasyonunun sağlanması nedeniyle düvelerin seksüel siklus mekanizmalarına daha uygun olduğunu belirtmektedirler.

Peters ve Benboulaid (1998) $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası 48-60. saatler arasında GnRH uygulamalarının senkronize ovulasyonların oranını arttırdığını bildirmektedirler. Genel olarak $PGF_{2\alpha}$'nın kullanıldığı sabit zamanlı tohumlamaların yapıldığı protokollerde, folliküler dinamiklerdeki farklılıklar yüzünden östrüs ve ovulasyonların farklı zamanlarında olması nedeniyle hayvanlar iki kez tohumlanmış olsalar dahi östrüs tespitine dayalı yapılan tohumlamalara göre daha düşük oranda gebelik elde edilmektedir (Peters ve Benboulaid 1998). Ancak $PGF_{2\alpha}$'nın kullanıldığı östrüs tespitine dayalı tohumlama yöntemlerinde yapılacak tohumlama sayısı dolayısıyla elde edilecek gebelik oranı, östrüs tespit oranına bağlı olacağından östrüs tespit oranının düşük olduğu sürülerde doğal olarak gebelik oranı da düşük elde edilecektir. Borman ve ark (2003) 11 gün ara ile iki kez $PGF_{2\alpha}$ uyguladıkları çalışmanın birinci bölümünde ikinci $PGF_{2\alpha}$ sonrası ovulasyon oranının % 50 olduğunu ve ovulasyonların enjeksiyon sonrası 3-5. günler arasına dağıldığını belirlemişlerdir. Çalışmanın ikinci bölümünde ise ovulasyon oranının % 55.9 olduğunu, ancak enjeksiyon sonrası 96. saate kadar östrüslerin % 26.4'ünün belirlendiğini bildirmektedirler. Borman ve ark (2003)'nın çalışmalarında $PGF_{2\alpha}$'nın kullanıldığı yöntemlerin dezavantajları olan ovulasyonların geniş zaman aralıklarına dağılması ve ilk dört gün içerisinde belirlenen östrüs oranının düşük olması nedeniyle, tohumlamaların östrüs tespitine dayalı olarak yapılması durumunda gebelik oranının düşük olacağı görülebilmektedir. Sunulan çalışmada uygulanan tohumlama protokolü ile hayvanlar hem östrüs takibine gerek duyulmadan sabit zamanlı olarak

tohumlanmış ve hem de kullanılan GnRH ile östrüs ve ovulasyonların dağılımı engellenerek sabit zamanlı bir tohumlama protokolünde optimum gebelik oranı elde etmek için gerekli olan senkronize ovulasyonlar sağlanmıştır.

Çalışmada GnRH'nın uygulandığı gün yapılan ultrasonografik muayenelerde senkronize oldukları kabul edilen ineklere ait alt gruplarda follikül büyüklükleri arasında istatistiki yönden herhangi bir fark tespit edilmemiştir. Gebe, gebe olmayan ve olası embriyonik ölüm oluştuğu düşünülen ineklerde ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun yapıldığı güne ait follikül büyüklükleri sırasıyla 1,13±0,09; 1,25±0,09 ve 1,25±0,20 cm, GnRH uygulama gününde ise follikül büyüklükleri sırasıyla 1,35±0,05; 1,28±0,05 ve 1,30±0,11 cm olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.10). Sartori ve ark (2002) laktasyonda olmayan ineklerde ve düvelerde luteolizis günü preovulatör follikül büyüklüklerini sırasıyla 1,10 cm ve 1,31 cm olarak belirlediklerini ifade etmektedirler. Waldmann ve ark (2006) ise laktasyondaki ineklerde, sunulan çalışmadaki sınıflandırmaya benzer bir şekilde yaptığı sınıflandırmada, laktasyondaki yüksek verimli ineklerde $PGF_{2\alpha}$ uygulama günü en büyük follikül çapını gebe, gebe olmayan ve geç embriyonik ölüm şekillenen ineklerde sırasıyla 13,6±0,7, 13,2±0,9 ve 16±2,0 mm; $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası 80-82. saatte yapılan tohumlama gününde ise follikül büyüklüklerini aynı gruplarda sırasıyla 17,4±0,7, 15,7±0,9 ve 12±1,8 mm olarak belirlemişlerdir. Sunulan çalışmada belirtilen günlerde follikül büyüklükleri açısından gruplar arasında istatistiki bir fark olmamasına karşılık, Waldman ve ark (2006) geç embriyonik ölüm şekillenen ineklerde tohumlama günü follikül büyüklüklerinin diğer gruplardan önemli derecede küçük olduğu bildirmişlerdir.

Ovulasyon sonrası CL, pre-ovulator follikülün teka interna ve granuloza hücrelerindeki bir seri morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler sonucu oluşmakta ve gelişimini sürdürmektedir (Berisha ve Schams 2005). Sunulan çalışmada senkronizasyon ve devamındaki gebelik oranına etki eden önemli faktörlerden birinin, ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında ineklerin % 6.89'unun (n=6) ovaryumlarında fonksiyonel luteal bir yapının bulunmaması olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.8). Bu ineklerin 14 gün önceki ilk $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu gününde yapılan rektal muayenelerinde CL belirlenmiş ve plazma progesteron

düzeyleri ≥ 1 ng/ml olarak ölçülmesine rağmen, sürülerde yaklaşık %7 kısa siklusa sahip inek olduğu izlenimini vermektedir. Tohumlama sonrası progesteron düzeylerinin yükselmesi ve 21. günde progesteron düzeyinin < 1 ng/ml olması, bu hayvanlarda CL regresyonunun erken oluştuğu ve siklusun 2-4. günlerinde olduklarını düşündürmektedir. Salmanoğlu ve ark (1999) postpartum 50-60. günlerde bulunan ineklerde yaptıkları bir çalışmada 11 gün ara ile yapılan iki $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası ikinci enjeksiyon gününde ineklerin % 30'nda (6/20) CL bulunmadığını tespit etmişlerdir. Kaya ve ark (1998) da yine bu orana yakın olarak, Lucy ve ark (1986)'nın çift doz PGF uygulamalarında ineklerin ancak % 72'sinin ikinci uygulamada fonksiyonel bir CL'ye sahip olduklarını bildirmektedirler. Odde (1990) de çift $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyon yöntemlerinde, ikinci enjeksiyon sonrası östrüs oranının % 70'lerde olduğunu, bu oranın düşüklüğünün siklusun dönemi ile ilişkili olabileceğini belirtmektedir. Siklusun geç luteal döneminde yapılan PG uygulamalarında östrüs cevabı siklusun 5-9. günlerinde yapılan uygulamalara göre daha yüksek olmaktadır. Çift $PGF_{2\alpha}$ uygulamalarında ilk enjeksiyon sonrası östrüs gösteren inekler, ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulama gününde sonraki siklusun 6-9. günlerinde olacaklardır. Bu nedenle bu ineklerin ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulama gününde sonraki siklusun erken luteal evresinde olmaları nedeniyle luteolitik cevabın azalmasına bağlı olarak östrüs oranları düşmektedir. Sunulan çalışmada bu oranın düşük olmasının nedeninin ineklerin laktasyonda olmamaları nedeniyle laktasyon stresinin bulunmaması ve postpartum dönemdeki ineklere göre ovaryum fonksiyonlarının daha düzenli olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. İkinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında luteal dokunun bulunmamasının nedenleri; ilk uygulamadan ve luteozisten sonra ovulasyonun şekillenmemesi sonucu luteal yapının oluşmaması, luteal yapı formasyonunun gecikmesi (Alaçam ve ark 1989), luteal yapının beslenmesini sağlayan damarlaşmanın oluşmaması veya yetersiz olmasından (Berisha ve Schams 2005) kaynaklanmış olması sayılabilir.

Sunulan çalışmada tohumlama sonrası 28. günde yapılan ultrasonografik muayenede tespit edilen gebelik oranı (%36.78), östrüsleri aynı yöntemle senkronize edilen Holstein ırkı düvelerde elde edilen gebelik oranlarından (Güzeloğlu ve ark 2007, Erdem ve Güzeloğlu 2008a, Erdem ve Güzeloğlu 2008b) düşük bulunmuştur. Bu çalışmadaki gebelik oranının düşüklüğünün çalışma materyalinin düve olmasına rağmen ilk tohumlama yaşının, vücut

ağırlığı ve vücut kondüsyon skorunun yüksek olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Prostaglandinlerin kullanıldığı senkronizasyon yöntemlerinde gebelik oranlarını olumsuz etkileyen faktörlerden birinin de, bazı ineklerde $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası luteolizisin yetersizliğinin olduğu belirtilmektedir (Peters 1984, Aksoy ve ark 1993). Sunulan çalışmada ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulamasında luteal yapı bulunan ineklerden sadece 2'sinde plazma progesteron düzeyinin enjeksiyon sonrası 48. saatte ≥1 ng/ml olduğu belirlendi. Luteolitik ajanların fonksiyonel CL bulunan ineklere uygulandığında kan progesteron düzeyinde ani düşüş oluşturduğu ve östrüsleri uyardığı birçok çalışmada ortaya konulmuştur. Ancak tohumlamaların sabit zamanlı olarak uygulandığı protokollardan elde edilen gebelik oranlarında östrüslerin oluşum zamanı değil, tohumlama zamanının uygunluğu önem kazanmaktadır. Sabit zamanlı olarak yapılan tohumlamalarda luteolizisin gecikmesi durumunda tohumlamalar erken dönemde yapılmış olacağından gebeliğin oluşma ihtimali azalmaktadır. Çalışmada senkronizasyon başarısını düşüren bu tip ineklerin (erken luteolizis) oranı düşük olsa da (% 2.30), bu oranın % 10'lara kadar yükselebileceği bildirilmektedir (Peters 1984). Luteolizis yetersizliğinin nedenlerinin, bireysel olarak bazı ineklerin ovaryumlarındaki CL'lerin luteolitik ajanlara duyarsız olması veya luteolitik ajanların akciğer gibi fazla kanlanan organlarda hızlı metabolize olması olabileceği belirtilmektedir (Peters 1984). Taponen ve ark (2002) ise, doğal östrüs sonrası 8. günde $PGF_{2\alpha}$ uyguladıkları 60 inekten 10'nunda (% 11,67) luteal regresyonun oluşmadığını, bu ineklerde progesteron düzeyinde % 50'den fazla azalma olduğu halde 1 nmol/l'nin altına düşmediğini ve östrüslerin 18-25. günler arasında görüldüğünü belirtmektedirler. Sunulan çalışmada luteolizis yetersizliği belirlenen 2 inekten birisinin 21. gün plazma progesteron düzeyi <1 ng/ml belirlenirken, diğerinin ≥1 ng/ml olduğu belirlenmiştir.

Mann ve Lamming (2001), ineklerde gebeliğin maternal kabulünde en önemli unsurlardan olan embriyonun yeterli interferon-τ üretiminin ovulasyon sonrası progesteron profiline bağlı olduğunu belirtmektedirler. Tohumlama sonrası anormal luteal fonksiyonlar nedeniyle gebelik oranları düşmektedir. Hommeida ve ark (2004) tohumlama sonrası en

yaygın anormal luteal fonksiyonlar olarak, progesteron sentezinin gecikmesi veya progesteron düzeyinin düşük düzeyde seyretmesini ileri sürmektedirler. Sunulan çalışmada hayvanların 7. gün plazma örneklerine göre 9'unda (% 11.85) luteal aktivitenin oluşmadığı (Çizelge 3.9) görülmüştür. Östrüslerin folliküler dalganın evresine bağlı olarak luteolitik ajanların enjeksiyonu sonrası 8. güne kadar dağıldığı dolayısıyla ovulasyonların da geniş zaman aralıklarında oluştuğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (Alan ve ark 1991, O'Connor 2001, Çoyan ve ark 2003, Canooğlu 2004, Thatcher ve ark 2004, Zonturlu ve İzgür 2004). Ovulasyonların geniş zaman aralıklarına dağılması sabit zamanlı tohumlama yapılan çift $PGF_{2\alpha}$ yöntemlerinde fertilitenin düşmesinin en önemli nedenlerinden birisini oluşturmaktadır (Salmanoğlu ve ark 1999). Çoyan ve ark (2003) yaptıkları çalışmada, I. gruptaki ineklere 7 gün arayla hCG-$PGF_{2\alpha}$, II. gruptaki ineklere 7 gün arayla GnRH-$PGF_{2\alpha}$, ve III. gruptakilere ise 11 gün arayla iki $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası tüm gruplarda bulunan ineklere 48. saat sonra GnRH enjeksiyonu uyguladıklarını belirtmektedirler. Araştırmacılar çift $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılan gruptaki ineklerde tohumlama zamanındaki follikül büyüklüğünün, diğer gruplara göre önemli derecede küçük, enjeksiyon-ovulasyon aralığının ise daha uzun olduğunu, büyük folliküllerin enjeksiyon-ovulasyon aralığının kısalmasına eşlik ettiğini ve hCG'nin esas olarak LH etkisi yapmasının ovulasyonu daha kısa sürede indüklemesini sağladığını ifade etmektedirler. Hommeida ve ark (2004) tohumlama sonrası luteal fonksiyonların gebelik oranı üzerine etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada sütteki progesteron düzeyinin seyrini incelemişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında tohumlama sonrası 5. güne kadar progesteron düzeyinin 1 ng/ml'nin altında olmasını, luteal aktivitenin başlangıcının gecikmesine bağlamışlardır. Çalışmalarında 30 inekten 5'inde luteal aktivitenin başlangıcının geciktiğini, 5. günden sonra 1 ng/ml'nin üzerine çıktığını ve bu ineklerden sadece 2'sinin gebe kaldığını bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada 7. gün plazma örneklerine göre luteal aktivite oluşmadığı belirlenen 9 ineğin GnRH enjeksiyon gününde preovulatör folliküllerinin büyüklüklerinin diğer gruplara göre daha düşük olduğu ve 30. saatte yapılan ovulasyon kontrolünde bu ineklerden sadece 6'ında ovulasyonların oluştuğu ve bu ineklerden 14. gün en düşük progesteron düzeyine sahip olan inekte bu düzey 2.38 ng/ml olarak belirlendi. Ayrıca ovulasyon şekillenmediği belirlenmiş olan 2 inekte de benzer bulgular elde edildi. Çalışmada ovulasyonları senkronize etmek amacıyla GnRH kullanılmış olsa da folliküler dalganın evresine bağlı olarak follikül maturasyonunun tamamlanmaması nedeniyle ovulasyonların yeterince uyarılamadığı, ovulasyonların geç şekillendiği ve luteal

yapı oluşumunun gecikmesi gibi nedenlerin tohumlama sonrası düşük progesteron düzeylerinin oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca GnRH ile ovulasyonların uyarıldığı durumlarda follikül gelişiminin yapay olarak etkilenmesi nedeniyle normal sürecin tamamlanamadığı ve maturasyonunu tamamlamamış küçük folliküllerin ovule olması nedeniyle luteal yapı gelişiminin olumsuz olarak etkilendiği, gelişen CL'lerin küçük olduğu, bu CL'lerin sentezledikleri progesteron miktarının azaldığı ve bunu takiben gebelik kayıplarının oluşabileceği belirtilmektedir (Perry ve ark 2005). Benzer biçimde, bir çok araştırmada (Barrett ve ark 2004, Hommeida ve ark 2004, Stronge ve ark 2005, McNeill ve ark 2006) tohumlama sonrası luteal aktivitenin başlangıcının geciktiği ve aynı zamanda progesteron konsantrasyonu düşük olan ineklerde embriyonun yaşama gücünün azaldığı ve buna bağlı olarak gebelik oranlarının düştüğü belirtilmektedir.

Progesteronun yarılanma ömrünün kısa olması nedeniyle gebeliğin devamı için sürekli salgılanması gerekmektedir. İneklerde tohumlama sonrası progesteron düzeyinin izlenmesiyle luteal aktivitenin ne zaman başladığı, erken gebelikte yeterli düzeyde olup olmadığı, erken embriyonik ölümlerin belirlenmesi ve luteal aktivitenin gebelik oluşumu üzerine etkisi izlenebilmektedir (Salmanoğlu ve ark 1999, Mann 2002). Sunulan çalışmada, tohumlama sonrası bir hafta ara ile üç kez alınan plazma örneklerinde progesteron hormon düzeyleri ölçülmüştür. Senkronize ineklerden 4'nün 21. gün plazma progesteron değerlerinin $\geq$1 ng/ml ve 21. gün plazma progesteron değerlerinin 14. gün plazma progesteron değerlerinden daha düşük olmaları ve ovulasyon muayenesinde 4 hayvanda da ovulasyonların oluştuğunun belirlenmiş olması, bu ineklerde luteal evrenin uzamasına bağlı olarak seksüel siklusun süresinin uzadığını düşündürmektedir (Çizelge 3.9). Seksüel siklus sırasında 3 folliküler dalgaya sahip olan ineklerde siklus süresinin 27 güne kadar uzayabildiği ifade edilmektedir (Kaya ve ark 1998). Benzer şekilde Chagas de Silva ve Lopes da Costa (2005) tohumlama yapılmayan düvelerin 22-25 gün sonra yeniden östrüs gösterdiklerini ve tohumlanmayan düvelerin % 16.4'nün plazma progesteron düzeyinin 2 ng/ml'den yüksek olduğunu belirtmektedirler. Bunun dışında Morbeck ve ark (1991) 14 gün arayla $PGF_{2\alpha}$ ile östrüs senkronizasyonunun ineklerde siklus süresinin uzamasına neden olduğunu bildirmektedirler. Belirtilen çalışmada 14 gün arayla iki kez $PGF_{2\alpha}$ uygulanan ineklerde östrüs siklusunun süresinin 24,2±0,8 gün, kontrol grubundaki ineklerde ise 22,7±0,4 gün olarak belirlendiği

ifade edilmektedir. Araştırmacılar ayrıca deneme grubunda 25 günden uzun süren östrüs siklusu insidansının daha yüksek olduğunu ve uzun süreli siklusların luteal evrenin uzamasıyla karakterize olduğunu belirtmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar tarafından ilk $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında progesteron düzeyi >1 ng/ml olan ineklerde siklusun uzama eğilimi gösterdiği de belirtmektedirler. Sunulan çalışmada sözkonusu olan 4 ineğin tamamında da ilk enjeksiyon gününde CL olduğu belirlendi ve progesteron düzeyleri ≥1 ng/ml olarak tespit edildi. Ayrıca $PGF_{2\alpha}$ ile östrüs senkronizasyonun yukarıdaki araştırmacıların ifade ettikleri gibi 14 gün ara ile yapılması, ilk $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında CL bulunması ve tohumlama sonrası 21. gündeki plazma progesteron düzeyinin 14. güne göre düşük olması, bu olguların erken embriyonik ölümlerden ziyade luteal evrenin uzamasına bağlı olduğunu düşündürmektedir.

Erken gebelik tanısı optimal reprodüktif performans ve gebeliğin devamlılığının sağlanması için çok önemlidir. Tohumlama sonrası gebe olmayan inekler ne kadar erken olarak belirlenirse o kadar erken sürede tekrar tohumlanabilme şansına sahip olabilmektedirler. Erken gebelik tanısı amacıyla kan ve süt progesteron düzeylerinin belirlenmesi sık kullanılan bir yöntemdir. Kan ve süt progesteron düzeylerine göre gebe olmayan ineklerde plazma progesteron düzeyi tohumlama sonrası 7. güne kadar giderek yükselmekte, luteal evre süresince yüksek olarak kalmakta, diöstrüsün sonuna doğru CL'nin regrese olmaya başlamasıyla birlikte düşme eğilimi göstermektedir. Gebe ineklerde ise progesteron düzeyi yüksek olarak kalmaktadır. Tohumlama sonrası 20-22. günler arasında alınan süt, serum veya plazma örneklerinde progesteron düzeyi düşük olan ineklerin gebe olmadığı, yüksek olanların ise gebe olduğu kabul edilmektedir (Farin ve Slenning 2001). Bu yöntemle gebe olmayan inekler % 100, gebe inekler ise yaklaşık % 80 bir doğrulukla tespit edilebilmektedir (Ball ve Peters 2004). Endokrinolojik muayeneler sırasında ovaryumda bulunan CL'nin fonksiyonunun bir göstergesi olan progesteron düzeyi belirlenmekte ancak uterusta bulunan embriyo veya fötüsün varlığı belirlenememektedir. Tohumlama sonrası 20-22. günler arasında alınan tek bir süt, serum veya plazma örneğinde progesteron düzeyinin yüksek olarak elde edilmesi inek veya düvenin gebe olduğuna işaret edebilir. Gebelik tanısı amacıyla hayvanlardan alınan tek bir kan örneğinde progesteron düzeyinin ölçümüne dayalı yanlış elde edilen pozitif sonuçların çeşitli nedenleri bulunmaktadır. Endometritis, pyometra

gibi uterus enfeksiyonlarında luteolitik mekanizmanın aksaması nedeniyle CL'nin yaşam süresinin uzaması, tohumlamaların yanlış zamanda yapılması nedeniyle örnek alma gününün bir sonraki siklusun luteal dönemine tesadüf etmesi, embriyo veya fötüsün bir iki gün önce ölmesi ya da luteal kist gibi olgularda progesteron düzeyi yüksek olarak belirlenebilmektedir. Kaya ve ark (1998) $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası sabit zamanlı iki tohumlama sonrası 21. gün alınan tek kan örneğinde progesteron düzeyini 0,5 ng/ml'den yüksek olan inekleri gebe olarak kabul ettiklerinde % 88,89 oranında doğrulukla gebeliğin tespit edilebildiğini bildirmektedirler. Elde edilen yanlış pozitif sonuçların genellikle erken embriyonik ölüm, seksüel siklusun uzaması veya gebelik için eşik progesteron düzeyinin 0,5 ng/ml olarak kabul edilmesinden kaynaklanabileceği ifade edilmektedir. Salmanoğlu ve ark (1999) ineklerde yaptıkları çalışmada süt örneklerinde hızlı progesteron testiyle 21. günde gebeliklerin doğru belirlenme oranını % 85 olarak bildirmektedirler. Araştırmacılar aynı araştırmada birkaç siklus süresi geçtikten sonra ineklere uygulanan rektal muayenelerde gebelik oranının % 75'e düştüğünü, bu düşmenin nedeninin ise embriyonik ölümler veya birinci derece endometritisler olabileceğini bildirmektedirler. Bosu ve ark (1981) 11 gün ara ile çift PG uygulamasını takiben 72 ve/veya 96. saatlerde yaptıkları tohumlamalar sonrası 18. güne kadar günde bir kez, izleyen 55. güne kadar 3 günde bir kez kan alarak 15 inek üzerinde gerçekleştirdikleri daha ayrıntılı bir çalışmada, tohumlama sonrası 24. güne kadar östrüs göstermeyen tüm inekleri gebe olarak kabul etmişlerdir. Araştırmacılar bu ineklerden 3'ünün 27-35. günlere kadar östrüs göstermediğini ve plazma progestron düzeylerinin de yüksek olduğunu, 8 ineğin tohumlama sonrası 45. günde yapılan rektal muayenede gebe olduğunu, 75. günde yapılan muayenelerde de bu ineklerden 5'inin gebeliklerinin devam ettiğini belirlemişlerdir. Sunulan çalışmada 21. gün kan örneklerine göre plazma progesteron düzeyi 1 ng/ml'nin üzerinde olan 9 (% 10.35) ineğin tohumlama sonrası 28 ve 42. günlerde yapılan ultrasonografik muayenelerinde gebe olmadıkları belirlenmiştir. Ancak bu 9 ineğin 21. gündeki plazma progesteron düzeylerinin 14. günde ölçülen plazma progesteron düzeylerinden daha yüksek olması, bu olgularda erken embriyonik ölüm olma ihtimalinin yüksek olduğunu düşündürmektedir (Çizelge 3.9). Nitekim Baklacı ve Vural (1999) da embriyonik ölüm şekillenen ineklerde progesteron düzeyinin ardışık alınan kan örneklerinde azalarak 1 ng/ml'nin altına düştüğünü bildirmişlerdir.

Sunulan çalışmada gebe ve erken embriyonik ölüm ihtimali olan gruplardaki hayvanların tohumlama sonrası 7 ve 21. günlerdeki plazma progesteron konsantrasyonları arasındaki istatistiki yönden bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$), ancak 14. gün gebe olan grupta prosgesteron düzeyinin önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Embriyonik ölüm ihtimali olan grup ve gebe ineklerin tohumlama sonrası 7, 14 ve 21. günlerdeki ortalama plazma progesteron düzeyleri sırasıyla 2,31±0,89; 4,09±0,42; 2,74±1,35; 7,73±0,64, 8,95±119, ve 10,04±0,56 birim olarak belirlenmiştir. Her iki grupta belirtilen günlere ait progesteron konsantrasyonları karşılaştırıldığında, progesteron profilindeki farklılaşmanın erken luteal dönemde (7.gün) oluştuğu ve bu farklılığın 14. günde önemli olduğu, erken embriyonik ölüm ihtimali olan grupta plazma progesteron düzeyinin gebe olan gruba göre tohumlama sonrası 14. güne kadar önemli derecede düşük kaldığı görülmektedir. Hommeida ve ark (2004) tohumlama sonrası 5. güne kadar 1 nmol/l'ye kadar olan ve sonraki günlerde 2 nmol/l altında devam eden progesteron düzeyini yetersiz olarak kabul etmektedirler. Araştırıcılar çalışmalarında progesteron yetersizliğinin hayvanların gebelik oranını olumsuz olarak etkilediğini bildirmektedirler. Sunulan çalışmada embriyonik ölüm ihtimali olan ineklerin 14. güne kadar progesteron düzeylerinin yatay bir seyir göstererek devam etmesi, yukarıdaki araştırmacıların da ifade ettikleri gibi progesteron yetersizliği olgusuyla benzerlik arz etmektedir.

Sunulan çalışmada senkronize ineklerden 2'sinde tohumlama sonrası ölçülen plazma progesteron düzeylerine göre erken luteolizis olgusu belirlendi (Çizelge 3.9). Taponen ve ark (2003) erken luteal regresyon ve kısa östrüs sikluslarının oluşumlarını inceledikleri çalışmalarında, sütçü düveleri önce iki gruba ayırmışlardır. Birinci gruptaki düvelere ovulasyon sonrası 6. günde, diğer gruptakilere ise 7. günde $PGF_{2\alpha}$ enjekte etmişlerdir. Daha sonra her iki grubun yarısına $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan 24 saat sonra GnRH enjeksiyonu uygulamışlardır. Ovulasyonların GnRH uygulanan düvelerin çoğunluğunda, GnRH enjeksiyonundan 24-30 saat sonrasında oluştuğunu, GnRH uygulanmayanların çoğunluğunda ise 72-96 saat sonra oluştuğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar GnRH uygulanmayan düvelerde östrüs siklusu sürelerinin 17-22 gün arasında değiştiğini, 6. günde $PGF_{2\alpha}$ uygulanan düvelerin 4'ünde ve 7. günde $PGF_{2\alpha}$ uygulanan düvelerin ise 3'ünde erken luteolizis oluştuğunu, bu nedenle 10-12 gün süren kısa sikluslarının oluştuğunu bildirmişlerdir.

Taponen ve ark (2002) laktasyondaki inekler üzerinde yaptıkları başka bir çalışmada yine $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası 24. saatte GnRH uyguladıkları ineklerin % 33'ünde erken luteolizis nedeniyle 10-12 gün uzunluğunda kısa süren siklusların oluştuğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada tohumlama sonrası 7 (≥ 1ng/ml) ve 14.günlerde (< 1 ng/ml) ölçülen plazma progesteron düzeylerine göre senkronize hayvanların 2'sinde erken luteolizis olgusu belirlendi ve bu hayvanların ortalama seksüel siklus süresi 14 gün olarak saptandı. Bu çalışmada kan örneklerinin sık aralıklarla alınmadığı göz önüne alınarak 14. günde alınan kan örneklerinin (< 1ng/ml), ovulasyon sonrası yeni oluşan seksüel siklusun metöstrüs evresine tesadüf etmesi olasılığı ve bu evrede de progesteron düzeylerinin < 1 ng/ml olması yüzünden çalışmaya ait kısa süren ortalama siklus süresi yukarıda araştırmacıların bildirdiği süreden daha uzun olarak elde edilmiş olabilir.

Sütçü işletmelerde reprodüktif verimliliğin devamlılığının sağlanabilmesi için en önemli bileşenlerden birisi düvelerin doğurgan sürüye geçişlerinin başarı düzeyidir. Çünkü sütçü sürülerde ineklerin yaklaşık % 25-35'i yıl içerisinde çeşitli sebeplerle sürüden uzaklaştırılmaktadır. Bunun yanısıra yıl içerisinde yaklaşık % 10-12 ölü doğum olmaktadır. Bu verilere göre yetiştiriciliğin karlı olabilmesi için İsviçre Esmeri düvelerin ilk tohumlama canlı ağırlığının ortalama 340-362 kg olması gerektiği belirtilmektedir. Genel ölçütler olarak da ilk tohumlamada VKS'nin 3.0 ve ilk buzağılama yaşının 22-24 ay olması önerilmektedir (Heinrichs ve Radostits 2001). Bu çalışmada materyal olarak kullanılan düvelerin canlı ağırlıkları, yaşlarının ideal ilk tohumlama yaşına göre fazla olması ve uzun bir süre gebe kalmamaları nedeniyle süt ve döl verimi söz konusu olmadığından idealden fazla olduğu belirlenmiştir. Bunlara karşın düvelerin vücut kondüsyon skorları ideale yakın ve ortalama 3.33 olarak belirlendi. Donovan ve ark (2003) Holstein ırkı düvelerde yaptıkları çalışmada VKS, canlı ağırlık ve yaşın, doğal östrüs tespiti ve $PGF_{2\alpha}$ ile uyarılan östrüslerde yapılan tohumlamalarda gebelik oranı üzerine etkisinin olmadığını belirtmektedirler. Bu çalışmada da hayvan materyalinin VKS ve canlı ağırlıklarının gebelik oranı üzerine etkisine genel olarak bakıldığında benzer bulgular elde edildi. Gruplar arasında gebelik oranları açısından istatistiki fark olmamakla birlikte vücut skorunun artmasıyla gebelik oranının da arttığı görülmektedir. Çalışmadaki ineklerin vücut kondüsyon skorlarının ortalaması, sütçü ineklerde optimum skor olarak kabul edilen 3 skoruna (Serin 2004) ve sütçü ineklerde tohumlama zamanında olması

gereken (3-3.5) (Erdoğan ve Alaçam 2003) skorlarına yakın bulunmuştur. Çalışmadaki obez ineklerin oranın düşük olması nedeniyle gebelik oranının obeziteden olumsuz etkilenmediği düşünülmektedir. Bu bulgular sütçü ineklerde suni tohumlama zamanında VKS'nin siklik ve gebe ineklerin oranının vücut skorunun artmasıyla yükseldiğini bildiren Santos ve ark (2004) ile Cerri ve ark (2004)'nın sonuçlarına paralellik göstermektedir. Snijders ve ark (2000) da bu sonuçları destekler şekilde VKS'si düşük olan ineklerden toplanan oositlerden blastosist gelişimin düşük olduğu bildirmektedirler.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan çalışmaya ait bulgular genel olarak değerlendirildiğinde çalışmada uygulanan östrüs senkronizasyonu protokolünün laktasyonda olmayan inek ve düveler için sabit zamanlı tohumlama yapılmasına olanak sağlayan uygun bir protokol olduğu kanısına varılmıştır. Prensip olarak Pursley ve ark (1995) tarafından geliştirilen ovsynch protokolüne benzerlik gösteren bu senkronizasyon protokolünün, GnRH ile östrüs takibi yapılmadan sabit zamanlı tohumlama yapılabilmesi ve uygulama açısından daha pratik olması nedeniyle özellikle düveler için uygun bir yöntem olduğu düşünülmektedir.

On dört gün ara ile uygulanan iki $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sonrası senkronizasyon oranını etkileyen en önemli faktörün, ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulama gününde inek ve düvelerin bir bölümünün ovaryumlarında CL'nin bulunmaması olduğu görüldü. Anöstrüs ve luteolizis yetersizliği olgularının senkronizasyon oranı üzerinde önemli oranda etkili olmadığı sonucuna varıldı.

Uygulanan senkronizasyon protokolü sonrası, senkronize olan inek ve düvelerin gebelik oranını olumsuz olarak etkileyen en önemli faktörlerden birinin tohumlama sonrası 7. güne kadar fonksiyonel luteal yapının oluşmaması, progesteron düzeyinin düşük olması ve luteal aktivitenin başlangıç zamanının gecikmesi olduğu kanısına varıldı.

Gebelik oranının düşük olmasının nedenlerinden birisinin de tohumlama sonrası erken embriyonik ölümler olabileceği düşünülmektedir.

Laktasyonda olmayan inekler ile düvelerde, tohumlama öncesi ve sonrası alınan kan örnekleri ile ovaryum fonksiyonlarının izlenebileceği kanısına varıldı. Laktasyonda olmayan ineklerde ve düvelerde ovaryum fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacıyla süt örneği alınması mümkün olmamaktadır. Süt örneği alınamayan bu tür hayvanlardan haftada bir alınacak kan örnekleriyle ovaryum fonksiyonlarının ve fertilitenin kolaylıkla izlenebileceği kanısına varılmıştır.

Senkronize olan inek ve düvelerde tohumlama sonrası 21. günde alınan plazma örneklerinde progesteron düzeylerinin <1ng/ml olması ve gebe olmadıkları 28 ve 45. günlerde yapılan ultrasonografik muayene ile doğrulanması, belirtilen günde bir kez alınan kan örneği ile gebe olmayan ineklerin %100 doğrulukla belirlenebileceğini göstermiştir. Ancak ≥1ng/ml olanlarda ise erken luteolizis, tohumlama sonrası luteal fonksiyonların başlangıcının gecikmesi, luteal evrenin uzaması veya erken embriyonik ölümler gibi nedenlerden dolayı gebeliklerin % 100 doğrulukla belirlenemeyeceği ve tek örneklemenin yeterli olmayacağı kanısına varıldı.

Optimal gebelik oranına ulaşmak için en ideal VKS'nin 3-3.5 olduğu, düşük VKS'li ineklerde ise gebelik oranlarının daha düşük olabileceği sonucuna varıldı.

6. ÖZET

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İsviçre Esmeri Düve ve Laktasyonda Olmayan İneklerde Ovaryum Fonksiyonlarının Östrüs Senkronizasyonu ve Gebelik Oranı Üzerine Etkisi

Mehmet KÖSE
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı (Vet)

Danışman
Prof. Dr. Tevfik TEKELİ

DOKTORA TEZİ / KONYA-2010

Bu çalışmada, laktasyonda olmayan İsviçre Esmeri inek ve düvelerde ovaryum fonksiyonlarının östrüs senkronizasyonu ve gebelik oranı üzerine olan etkisi araştırıldı.

Çalışmada materyal olarak toplam 87 baş inek ve düve (27 baş laktasyonda olmayan inek, 60 baş düve) kullanıldı. Hayvanların tamamına 14 gün ara ile iki kez $PGF_{2\alpha}$ ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan 48 saat sonra GnRH enjeksiyonu uygulandı. GnRH enjeksiyonunu izleyen 16-20. saatlerde hayvanlar sabit zamanlı olarak tohumlandı. Ovaryum fonksiyonlarının izlenmesi amacıyla hayvanların kuyruk venasından $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonlarının yapıldığı günler, tohumlama zamanı ve tohumlama sonrası 7, 14, ve 21. günlerde kan örnekleri alındı ve progesteron düzeyleri belirlendi. Progesteron düzeylerine göre ovaryum fonksiyonlarını ifade eden dört alt grup oluşturuldu. Gebelik tanısı tohumlamayı izleyen 28. günde ultrasonografik muayene ile yapıldı.

Uygulanan senkronizasyonda başarıyı etkileyen en önemli faktörün, ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyon gününde ovaryumlarda luteal yapının bulunmaması (% 6.89) olduğu belirlendi. Senkronize hayvanlarda ise gebelik oranını etkileyen en önemli faktörlerin ise tohumlama sonrası 7. günde luteal fonksiyonun başlamaması (n=9; %11.84) ve erken embriyonik ölümlerin (n=9; %11.84) olduğu belirlendi. Uygulanan senkronizasyon protokolü sonrası gebe kalma/gebelik oranı inek ve düvelerde sırasıyla % 36.67 ve 37.04 olarak belirlendi ($p>0.05$).

Sonuç olarak uygulanan senkronizasyon protokolüyle ovulasyonlarında yüksek oranda senkronize edilebileceği ve östrüs gözlemi yapılmadan 16-20. saatler arasında sabit zamanlı tohumlama ile tatminkar gebelik oranı elde edilebileceği kanısına varıldı.

Anahtar Sözcükler: Gebelik Oranı, Ovaryum Fonksiyonu, Östrüs Senkronizasyonu, Prostaglandin.

7. SUMMARY

T.C.

SELCUK UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCE

The Effect of Ovarian Functions on Estrus Sychronization and Pregnancy Rate in Brown Swiss Heifers and Non-Lactating Cows

Mehmet KÖSE

Department of Obstetrics and Gynaecology (Veterinary Science)

Supervisor

Prof. Dr. Tevfik TEKELİ

PhD THESIS/ KONYA-2010

In this study, the effect of ovarian functions on estrus synchronization and pregnancy rates in Brown Swiss Heifers and Non-Lactating Cows was investigated.

In study, Brown Swiss cows (n=27) and Brown Swiss heifers (n=60) was used as material. All animals were injected by two intramuskuler injections of 500 mcg cloprostenol administered 14 days apart and, was injected GnRH 48 h after second PGF2α injection. Timed artificial inseminations were performed between 16-20 hours following this injection. To define ovarian function was collected blood samples by tail venipuncture at on days applied $PGF_{2\alpha}$, insemination day, 7, 14, and 21 after insemination and, progesterone levels were determined. According to progesterone levels, four sub-groups were conducted. Pregnancy examinations were performed on days 28 after the AI by ultrasonography.

The most important factor reducing the efficacy of used estrus synchronization was did not have luteal function (6,89 %) at the second $PGF_{2\alpha}$ administration. Pregnancy rates in synchronized cows was affected by lack formation of luteal tissue on ovarium until on day 7 after insemination (n=9; 11.84%) and early embryo losses (n=9; 11.84%). Pregnancy rates in cows and heifers were 37.4, 36.67 % on days 28 respectively (P>0.05).

In conclusion, it was concluded that synchronization protocol used in our study can be synchronized ovulations and can be gained optimal pregnancy rates with fixed-time insemination without estrous detection.

Key Words: Estrus Synchronization, Ovarian Function, Pregnancy Rate, Prostaglandin.

8. KAYNAKLAR

1. Ahmad N, Schrick FN, Butcher RL, Inskeep EK. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. Biology of Reproduction.1995; 52: 1129-35.
2. Akar Y, Apaydın AM. İneklerde embriyonik ölümler ve sebepleri. Hayvancılık Araştırma Dergisi. 1996; 6 (1–2): 67–70.
3. Aksoy M, Tekeli T, Çoyan K, Alan M, Semacan A, Ataman MB, Işık K. Estrus synchronization with reduced cloprostenol doses in heifers. Assuit Veterinary Medical Journal. 1992; 27 (53): 284-8.
4. Aksoy M, Işık K, Çoyan K, Semacan A, Ataman MB, Taşal İ. Köy koşullarındaki sığırlarda $PGF_{2\alpha}$ kontrollü sun'i tohumlama uygulamaları. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi. 1993; 33 (1-2): 13-9.
5. Alaçam E, Dinç DA, Kadak R, Güler M, Aksoy M. İsviçre Esmeri düvelerde cloprostenol kontrollü sun'i tohumlama çalışmaları. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi. 1989; 29: 90-7.
6. Alaçam E. Hormonların klinik kullanımları. In: Alaçam E, editör. Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite. Birinci baskı. Ankara, Medisan: 1997a; s. 31-44.
7. Alaçam E. Üremenin denetlenmesi. In: Alaçam E, editör. Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite. Birinci baskı. Ankara, Medisan: 1997b; s. 59-68.
8. Alaçam E. İnekte infertilite sorunu. In: Alaçam E, editör. Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite. Birinci baskı. Ankara, Medisan: 1997c; s. 269-91.
9. Alan M, Çoyan K, Aksoy M, Tekeli T, Işık K, Sezen S. İnek ve düvelerde diöstrüsün erken ve geç döneminde uygulanan luprostiol^{R}'ün enjeksiyon östrüs aralığı ve gebelik oranları üzerine etkisi. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi. 1991; 31: 42-51.
10. Alan M, Taşal İ, Çetin Y, Saban E, Uyar A. İneklerde postpartum ovaryum aktivitesinin serum progesteron ölçümleriyle ve klinik olarak izlenmesi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2000; 11 (2): 60-4.
11. Allcock JG, Peters AR. Pharmacological manipulation of reproduction. In: Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG, editors. Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle. 2th ed. Iowa: Blackwell Publishing Company; 2004. p. 678-88.
12. Baklacı C, Vural R. Düvelerde cloprostenol uygulaması sonrasında konsepsiyon ve embriyonik ölüm oranlarının kan progesteron hormonu düzeylerinin ölçümü ile araştırılması. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi. 1999; 39 (2): 61-72.
13. Ball PJH, Peters AR. Fertilization, conception and pregnancy. In: Ball PJH, Peters AR, editors. Reproduction in Cattle. 3th ed. Cornwall: Blackwell Publishing Company; 2004.
14. Barrett DC, Boyd H, Mihm M. Failure to conceive and embryonic loss. In: Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG, editors. Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle. 2th. Iowa: Blackwell Publishing Company; 2004. p. 552-76.
15. Battocchio M, Gabai G, Mollo A, Veronesi MC, Soldano F, Bono G, Cairoli F. Agreement between ultrasonographic classification of the CL and plasma progesterone concentration in dairy cows. Theriogenology. 1999; 51: 1059-69.
16. Bech-Sàbat G, López-Gatius F, Yaniz JL, Garcia-Ispierto I, Santolaria P, Sulon BS, Sousa NM, Beckers JF. Factors affecting plasma progesterone in the early fetal period in high producing dairy cows. Theriogenology. 2008; 69: 426-32.
17. Berisha B, Schams D. Ovarian function in ruminants. Domestic Animal Endocrinology. 2005; 29: 305-17.
18. Borman JM, Radeliff RP, Mc Cormack BL, Kojima FN, Patterson DJ, Macmillan KL, Lucy MC. Synchronization of oestrus in dairy cows using $PGF_{2\alpha}$, gonadotropin-releasing hormone, and oestradiol cypionate. Animal Reproduction Science. 2003; 76: 163-76.
19. Bosu WTK, Doig PA, Barker CAV. Pregnancy and periferal plasma progesterone levels in cows inseminated after synchronization of estrus with $PGF_{2\alpha}$. Can. Vet. J. 1981; 22: 59-61.
20. Boyd H, Barrett DC, Mihm M. Problems associated with oestrous cyclicity. In: Andrews AH, Blowey RW, Boyd H, Eddy RG, editors. Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle. 2th. Iowa: Blackwell Publishing Company; 2004. p. 530-51.
21. Brito LFC, Satrapa R, Marson EP, Kastelic JP. Efficacy of $PGF_{2\alpha}$ to synchronize estrus in water buffalo cows (Bubalus bubalis) is dependent upon plasma progesterone concentration, corpus luteum size and ovarian follicular status before treatment. Animal Reproduction Science. 2002; 73: 23–35.
22. Canooğlu E. İneklerde senkronizasyon amaçlı prostaglandin F2α uygulamalarından sonra oluşacak östrusların görülme zamanı. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2004; 1: 43-7.

23. Canooğlu E, Salmanoğlu R. Sütçü ineklerde farklı dozlarda $PGF_2\alpha$ uygulamalarının corpus luteum ve follikül dinamiğine etkilerinin ultrasonografi ve progesteron ölçümleri ile araştırılması. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2004; 1: 27-33.
24. Cartmill JA, El-Zarkouny SZ, Hensley BA, Lamb GC, Stevenson JS. Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. J Dairy Sci. 2001; 84: 1051-9.
25. Cavalieri J, Hepworth G, Fitzpatrick LA, Shephard RW, Macmillan KL. Manipulation and control of the estrous cycle in pasture-based dairy cows. Theriogenology. 2006; 65: 45-64.
26. Cerri RLA, Santos JEP, Juchem SO, Galvao KN, Chebel RC. Timed artificial insemination with estradiol cypionate or insemination at estrus in high-producing dairy cows. J Dairy Sci. 2004; 87: 3704-15.
27. Chagas e Silva J, Lopes da Costa L. Luteotrophic influence of early bovine embryos and the relationship between plasma progesterone concentrations and embryo survival. Theriogenology. 2005; 64: 49-60.
28. Chebel RC, Santos JEP, Cerri RLA, Rutigliano HM, Bruno RGS. Reproductive performance of lactating dairy cows following progesterone insert based presynchronization and resynchronization protocols. J. Dairy Sci. 2006; 89: 4205-19.
29. Cirit Ü. Siyah alaca ineklerde $PGF_{2\alpha}$ ve GnRH'nın farklı kombinasyonları ile östrus senkronizasyonu çalışmaları. İstanbul Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi. 2002. T.C. Yüksek Öğretim Kurulu Dökümantasyon Merkezi, No: 118775.
30. Colazo MG, Martinez MF, Kastelic JP, Mapletoft RJ. Effects of dose and route of administration of cloprostenol on luteolysis, estrus and ovulation in beef heifers. Animal Reproduction Science. 2002; 72: 47-62.
31. Çolak A, Bekyürek T, Öztürkler Y. İneklerde postpartum dönemde PGF2α ile östrus sinkronizasyonu çalışmaları. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 1995; 1: 22-4.
32. Çoyan K, Aksoy M, Alan M, Işık K, Tekeli T. Düvelerde düşük cloprostenol dozlarının luteolitik etkisinin vaginal direnç değişimleri ve klinik östrüs belirtileriyle izlenmesi. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi. 1990; 30: 31-9.
33. Çoyan K. İneklerde hormonların reprodüktif kullanımı. In: Çoyan K, editör. Evcil Hayvanlarda Dölerme ve Suni Tohumlama. Birinci baskı. Konya: S Ü Vet Fak Yayın Ünitesi; 2002. p. 112-7.
34. Çoyan K, Ataman MB, Erdem H, Kaya A, Kaşıkçı G. Synchronization of estrus in cows using double $PGF_{2\alpha}$, GnRH- $PGF_{2\alpha}$, and hCG- $PGF_{2\alpha}$ combination. Revue Méd. Vét. 2003; 154 (2): 91-6.
35. DeJarnette JM, Salverson RR, Marshall CE. Incidence of premature estrus in lactating dairy cows and conception rates to standing estrus or fixed-time inseminations after synchronization using GnRH and $PGF_{2\alpha}$. Animal Reproduction Science. 2001; 67: 27–35
36. Diaz CAG, Emsen E, Tüzemen N, Yanar M, Kutluca M, Köyceğiz F. Reproductive performance and syncronization of estrus in Brown swiss and holstein cows and heifers using $PGF_{2\alpha}$. Journal of Veterinary Advances. 2005; 5: 551-3.
37. Diskin MG, Austin EJ, Roche JF. Exogenous hormonal manipulation of ovarian activity in cattle. Domestic Animal Endocrinology. 2002; 23: 211-28.
38. Diskin MG, Murphy JJ, Sreenan JM. Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. Animal Reproduction Science. 2006; 96: 297-311.
39. D'Occhio MJ, Fordyce G, Whyte TR, Aspden WJ, Trigg TE. Reproductive responses of cattle to GnRH agonists. Animal Reproduction Science. 2000; 60-61: 433–42.
40. Domecq JJ, Skidmore AL, Lloyd JW, Kaneene JB. Relationship between body condition score and conception at first artificial insemination in a large dairy herd of high yielding holstein cows. J Dairy Sci. 1997; 80: 113-20.
41. Donovan GA, Bennett FL, Springer FS. Factors associated with first service conception in artificially inseminated nulliparous holstein heifers. Theriogenology. 2003; 60: 67-75.
42. Elmarimi AA, Gibson CD, Morrow D, Marteniuk J, Gerloff B, Melancon J. Use of $PGF_{2\alpha}$ in the treatment of unobserved estrus in lactating dairy cattle. Am J Vet Res. 1983; 44: 1081-4.
43. Erdem H. İneklerde real-time ultrasonografi ile embriyonik ölümlerin insidansının belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 1997. Konya.
44. Erdem H, Guzeloglu A. Effect of meloxicam treatment during early pregnancy in holstein heifers. Reproduction in Domestic Animals doi. 2008a; 10.1111/j.1439-0531.2008.01317.
45. Erdem H, Güzeloğlu A. Holstein ırkı düvelerde sabit zamanlı tohumlama amacıyla iki farklı östrüs senkronizasyon yönteminin değerlendirilmesi. Veteriner Bilimleri Dergisi. 2008b; 24 (1): 7-13.
46. Erdoğan G, Alaçam E. Aile tipi sütçü inek işletmelerinde kontrollü tohumlama ile fertilitenin yükseltilmesine ilişkin girişimler. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2003; 50: 187-93.

47. Ergene O. İneklerde progesteron hormonunun klinik endikasyonları. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi. 2008; 79 (4): 29-34.
48. Farin PW, Slenning BD. Managing reproductive efficiency in dairy herds. In: Radostits OM, editor. Herd Health: Food Animal Production Medicine. 3th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 255-89.
49. Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosenberg M. Comparison of dairy cows. for the synchronization of estrous cycles in dairy cows. 2. effects of progesterone and parity on conception. J Dairy Sci. 1990; 73: 2817-25.
50. Forbes WL, Corah LR, Grieger DM, Stevenson JS, Thompson KE, Lamb GC. A novel estrus-synchronization program for anestrous and cycling, suckled, beef cows. Cattlemen's Day. 1997; 94-6.
51. Frisch JE, O'Neill CJ. Calving rates in tropical beef herd after treatment with a syncthetic progestagen, norgestoment, or a PG analogue, cloprostenol. Australian Veterinary Journal. 1996; 73: 98-102.
52. Garcia-Winder MJ, Gallegos-Sánchez J. Estrus synchronization in holstein cows using reduced doses of PG $F_{2\alpha}$. Theriogenology. 1991; 36 (2): 191-9.
53. Garcia A, Van Der Veijden GC, Colenbrander B, Bevers M. Monitoring follicular development in cattle by real-time ultrasonography: A review. The Veterinary Record. 1999; 145. 334-40.
54. Güzeloğlu A. İneklerde gebeliğin maternal kabulü sürecinde anti-luteolizisin moleküler mekanizması. Veteriner Bilimleri Dergisi. 2006; 22 (1-2): 83-88.
55. Güzeloğlu A, Erdem H, Sarıbay MK, Thatcher WW, Tekeli T. Effect of the administration of flunixin meglumine on pregnancy rates in Holstein heifers. Vet. Rec. 2007; 160: 404-6.
56. Gyawu P, Ducker MJ, Pope GS, Saunders RW, Wilson GDA. The value of progesterone, oestradiol benzoate and cloprostenol in controlling the timing of oestrus and ovulation in dairy cows and allowing successful fixed-time insemination. Br. Vet. J. 1991; 147: 171-82.
57. Hanzen CH, Pieterse M, Scenczi O, Drost M. Relative accuracy of the identification of ovarian structures in the cow by ultrasonography and palpation per rectum. The Veterinary Journal. 2000; 159 (2): 161-70
58. Heinonen K, Shiferaw T, Heinonen M. Oestrous synchronization in Ethiopian Highland Zebu cattle by means of intravaginal cloprostenole administration. Trop. Anim. Health. Prod. 1996; 28 (1): 121-5.
59. Heinrichs AJ, Radostits OM. Health management of dairy calves and replacement heifers. In: Radostits OM, editor. Herd Health: Food Animal Production Medicine. 3th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2001. p. 333-96.
60. Hommeida A, Nakao T, Kubota H. Luteal function and conception in lactating cows and some factors influencing luteal function after first insemination. Theriogenology. 2004; 62: 217-25.
61. Hopkins SM. Reproductive patterns of cattle. In: Pineda MH, Dooley MP, editors. McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction. 5 th. Iowa: Iowa State Press; 2003. p. 395-412.
62. Ian GR. Reproductive Technologies in Farm Animals. First Edition. Cambridge, CABI Publishing, 2005; 49-81.
63. John HK. Review of reproductive hormones for dairy cows. Veterinary Medicine Extension University of California, 1999; Davis CA 93274.
64. Jordan ER, Schouten MJ, Quast JW, Belschner AP, Tomaszewski MA. Comparison of two timed artificial insemination (TAI) protocols for management of first insemination postpartum. J Dairy Sci. 2002; 85: 1002-8.
65. Jöchle W, Schneemann W, Grunert E. Clinical response in anestrous dairy cows with high or low blood progesterone levels to treatment with the PGF analog alfaprostol. Zuchthyg. 1989; 24: 57-66.
66. Kastelic JP, Mapletoft RJ. Ovarian follicular responses in dairy cows treated with GnRH and cloprostenol. Can Vet J. 1998; 39: 107-109.
67. Kaya A, Çoyan K, Ataman MB. Plazma progesteron düzeylerine göre $PGF_{2\alpha}$, ile östrüs senkronizasyonu ve sabit zamanlı tohumlamanın gebelik oranı üzerine etkisi. Veteriner Bilimleri Dergisi. 1998; 14 (2): 77-83.
68. Kaya A, Erdem H, Çoyan K, Tekeli T. İneklerde ovaryum palpasyonu yöntemiyle seksüel siklus dönemlerinin belirlenebilirliğinin araştırılması. Hayvancılık Araştırma Dergisi. 2000; 10 (1-2): 21-4.
69. Kayacık V, Salmanoğlu MR, Polat B, Özlüer A. Evaluation of the corpus luteum size throughout the cycle by ultrasonography and progesterone assay in cows. Turk J. Vet. Anim. Sci. 2005; 29: 1316-31.
70. Kılıçarslan MR, Ekinci H, Konuk CS, Kırşan İ, Gürbulak K, Şenünver A. Cloprostenol ile senkronize edilen ineklerde ovulasyonların B-mode ultrasonografi ile saptanması. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 1997; 3: 25-31.
71. Loeffler SH, Meint JV, Schukken YH. The effects of time of disease occurance, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows. J Dairy Sci. 1999; 82: 2589-604.
72. López-Gatius F, Vega-Prieto B. Pregnancy rate of dairy cows following synchronization of estrus with cloprostenol, hCG and estradiol benzoate. J Vet. Med. 1990; 452-4.

73. López-Gatius F, Murugavel K, Santolaria P, López-Béjar M, Yàniz JL. Pregnancy rate after timed insemination in early post-partum dairy cows after ovsynch or specific synchronization protocols. J Vet Med. 2004; 51: 33-8.
74. Lucy MC, Savio JD, Badinga L, De La Sota RL, Thatcher WW. Factors that affect ovarian follicular dynamics in cattle. J. Anim. Sci. 1992; 70: 3615-26.
75. Lucy MC. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: Where will it end? J. Dairy Sci. 2001; 84: 1277-93.
76. Macmillan KL, Segwagwe BVE, Pino CS. Associations between the manipulation of patterns of follicular development and fertility in cattle. Animal Reproduction Science. 2003; 78: 327-44.
77. Mann GE, Lamming GE. Relationship between maternal endocrine enviroment, early embryo development, and inhibition of the luteolitic mechanism in cows. Reproduction. 2001; 121: 175-80.
78. Mann GE. Corpus luteum function and early embryonic death in the bovine. 22. World Buiatrics Congress, Abstract Book: p. 300-6, 18-23 August 2002 Hannover, Germany.
79. McNeill RE, Diskin MG, Sreenan JM, Morris DG. Associations between milk progesterone concentration on different days and with embryo survival during the early luteal phase in dairy cows. Theriogenology. 2006; 65: 1435–41.
80. Meikle A, Kulcsar M, Chilliard Y, Febel H, Delavaud C, Cavestany D, Chilibroste P. Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. Reproduction. 2004; 127: 727-37.
81. Merrel R. Estrus detection ve synchronization, Student research summary. 2003. ANSC 406, Texas A .&M University.
82. Mihm M, Diskin MG, Roche JF. Regulation of follicle wave growth in cattle. Reprod Dom Anim. 1996; 31: 531-8.
83. Mitchell JR, Gordon AD. Insemination of dairy and beef cattle; ınsemination training; pregnancy determination and reproduction problems. In Mitchell JR, Gordon AD, editors. The Artificial İnsemination and Embryo Transfer of Dairy and Beef Cattle (including information pertaining to goats, sheeps, horses, swine, and other animals. Ninth edition. New Jersey: Pearson Education; 2004; p. 151-243.
84. Morbeck DE, Tyler HD, Britt JH. Duration of estrous cycle subsequent to two injections of $PGF_{2\alpha}$ given at a 14-day interval in nonlactating holstein cows. J Dairy Sci. 1991; 74: 2342-6.
85. Morris D, Diskin M. Effect of progesterone on embryo survival. Animal. 2008; 2 (8): 1112–9.
86. Murugavel K, Yaniz JL; Santolaria P, Lopez-Bejar M, López-Gatius F. Luteal activity at the onset of a timed insemination protocol affects reproductive outcome in early postpartum dairy cows. Theriogenology. 2003; 60: 583-93.
87. Mwaanga ES, Janowski T. Anoestrus in dairy cows: causes, prevalence and clinical forms. Reprod Dom Anim. 2000; 35: 193-200.
88. O'Conner ML. Estrous synchronization programs for the dairy herd. DAS. 2001: 1-35.
89. Odde KG. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. J Anim Sci. 1990; 68: 817-30.
90. Özlüer A, Salmanoğlu MR. İneklerde farklı dozlarda $PGF_{2\alpha}$ uygulamalarının ve östrüs belirleme yöntemlerinin gebelik oranlarına etkisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2003; 50: 91-96.
91. Perry GA, Smith MF, Lucy MC, Green JA, Parks TE, MacNeil MD, Roberts AJ, Geary TW. Relationship between follicle size at insemination and pregnancy success. PNAS. 2005; 14 (102): 5268-73.
92. Peters AR. Luteolysis in cows using the $PGF_{2\alpha}$ analogue, tiaprost, and the effect of mode of administraion. The Veterinary Record. 1984; 114: 418-21.
93. Peters AR, Benboulaid M. Studies on the timing of ovulation after synchronisation treatments in cattle. Reprod Dom Anim. 1998; 33: 313-5.
94. Peters AR. Veterinary clinical application of GnRH—questions of efficacy. Animal Reproduction Science. 2005; 88: 155–167.
95. Pierson RA, Ginther OJ. Ultrasonography of the bovine ovary. Theriogenology.1984; 21: 495–504.
96. Pineda MH. Female reproduction system. In: Pineda MH, editor. McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction. 5th ed. Iova: Blackwell Publishing Company; 2003. p. 283-340.
97. Ponsart C, Sana M, Humblot P, Grimard B, Jeanguyot N, Ponter AA, Viel JF, Mialot JP. Variation factors of pregnancy rates after oestrus synchronization treatment in French Charolais beef cows. Vet. Res. 1996; 27: 227-39.
98. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using $PGF_{2\alpha}$ and GnRH. Theriogenology. 1995; 44-915.

99. Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, Ottobre JS, Garverirc HA, Anderson LL. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized ovulation or synchronized estrus. J Dairy Sci. 1997; 80: 295-300.
100. Répási A, Beckers JF, Sulon J, Perényi ZS, Reiczigel J, Szenci O. Effect of different doses of prostaglandin on the area of corpus luteum, the largest follicle and progesterone concentration in the dairy cow. Reprod Dom Anim. 2003; 38: 423-8.
101. Robinson RS, Hammond AJ, Hunter MG, Mann GE. The induction of a delayed post-ovulatory progesterone rise in dairy cows: a novel model. Domestic Animal Endocrinology. 2005; 28: 285–95.
102. Robinson RS, Hunter MG, Mann GE. Supra-basal progesterone concentrations during the follicular phase are associated with development of cystic follicles in dairy cows. The Veterinary Journal. 2006; 172: 340–6.
103. Roche JF. Control and regulation of folliculogenesis–a symposium in perspective. Reviews of Reproduction. 1996; 1: 19–27
104. Roche JF, Austin E, Ryan M, O'Rourke M, Mihm M, Diskin M. Hormonal regulation of the oestrous cycle of cattle. Reprod Dom Anim. 1998; 33: 227-31.
105. Sabo YG, Sandabe UK, Maina VA, Balla HG. Schemes for oestrous synchronization protocols and controlled breeding programs in cattle. Journal of Applied Sciences. 2008; 8 (2): 241-51.
106. Salmanoğlu R, Alaçam E, Çelebi M, Baş A. Sütçü ineklerde hızlı progesteron testi yardımıyla PGF_2 alfa kontrollü tohumlamaların fertiliteye etkisi. Turk J Vet Anim Sci. 1999; 23 (1): 115-21.
107. Santos JEB, Thatcher WW, Chebel RC, Cerri RLA, Galvão KN. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. Animal Reproduction Science. 2004; 82-83: 513-35.
108. Santos JEP, Rutigliano HM, Sá Filho MF. Risk factors for resumption of postpartum estrous cycles and embryonic survival in lactating dairy cows. Animal Reproduction Science. 2009; 110: 207-21.
109. Sartori R, Sartor-Bergfelt R, Mertens SA, Guenther JN, Parrish JJ, Wiltbank MC. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. J. Dairy Sci. 2002; 85: 2803-12.
110. Sartori R. Fertilization and embryonic mortality in cattle. Acta Scientiae Veterinariae. 2004; 32: 35-50.
111. Schneider F, Tomek W, Gürndker C. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and its natural analogues: A review. Theriogenology. 2006; 66: 691–709.
112. Senger PL. The estrus detection problem: New concepts, technologies, and possibilities. J Dairy Sci. 1994; 77: 2745-53.
113. Serin G. Sütçü ineklerde beden kondüsyon skorunun reprodüktif performans üzerine etkisi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2004; 10 (2): 221-5.
114. Shephard RW. A comparison of performance of the ovsynch treatment program between cycling and non-cycling cows within seasonally-calving dairy herds. Australian Veterinary Journal. 2005; 83 (12): 751-7.
115. Silke V, Diskin MG, Kenny DA, Boland MP, Dillon P, Mee JF, Sreenan JM. Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. Animal Reproduction Science. 2002; 71: 1-12.
116. Silva JC, Costa LP, Silva JR. Plasma progesteron profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy catle. Theriogenology. 2002; 58: 51–59.
117. Snijders SE, Dillon P, O'Callaghan D, Boland MP. Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. Theriogenology. 2000; 53: 981–9.
118. Sreenan JM, Diskin MG. The extent and timing of embryonic mortality in the cow. In: Sreenan JM, Diskin MG, editors. Embryonic mortality in farm animals. Luxembourg: Dordrechts Mortinius Nijhoff; 1986. p. 1–12.
119. Starbuck GR, Gutierrez CG, Peters AR, Mann GE. Timing of follicular phase events and the postovulatory progesterone rise following synchronisation of oestrus in cows. The Veterinary Journal. 2006; 172: 103–8
120. Stephen JL, Leslie KE, Ceelen HJ, Kelton DF, Keefe GP. Measures of estrus detection and pregnancy in dairy cows after administration of gonadotropin-releasing hormone within an estrus synchronization program based on prostaglandin $F_{2\alpha}$. J Dairy Sci. 1998; 81: 375-81.
121. Stevenson JS, Hoffman DP, Nichols DA, McKee RM, Krehbiel CL. Fetility in estrus-cycling and noncycling virgin heifers and suckled bef cows after induced ovulation. J Anim Sci. 1997; 75: 1343-50.
122. Stronge AJH, Sreenan JM, Diskin MG, Mee JF, Kenny DA, Morris DG. Post-insemination milk progesterone concentration and embryo survival in dairy cows. Theriogenology. 2005; 64: 1212–24
123. Taponen J, Kulcsár M, Katila T, Kátai L, Huszenicza G, Rodríguez-Martínez H. Short estrous cycles and estrous signs after premature ovulations induced with cloprostenol and gonadotropin-releasing hormone in cyclic dairy cows. Theriogenology. 2002; 58: 1291-302.

124. Taponen J, Hjerppe P, Kopra E, Rodríguez-Martínez H, Katila T, Kindahl H. Premature prostaglandin $F_{2\alpha}$ secretion causes luteal regression in GnRH-induced short estrous cycles in cyclic dairy heifers. Theriogenology. 2003; 60: 379-93.
125. Tekeli T, Aksoy M, Özsar S, Güven B, Güler M, Semacan A. Cloprostenol enjekte edilen düvelerde plazma progesteron ve vaginal direnç değerlerindeki değişimlerin izlenmesi. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi. 1992; 32: 15-27.
126. Tekeli T, Aksoy M, Özsar S, Güven B, Çoyan K, Semacan A, Alan M. İneklerde azaltılmış dozda cloprostenol uygulamalarının luteolitik etkisinin klinik östrüs belirtileri ve plazma progesteron düzeyleri yardımıyla izlenmesi. Veteriner Bilimleri Dergisi. 1994; 10 (1-2). 4-8.
127. Tenhagen BA, Kuchenbuch S, Heuwieser W. Timing of ovulation and fertility of heifers after synchronization of oestrus with GnRH and prostaglandin $F_{2\alpha}$. Reprod. Dom. Anim. 2005; 40: 62-7.
128. Thatcher WW, Macmillan KL, Hansen PJ, Drost M. Concepts for the regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. Theriogenology. 1989; 31: 149-64.
129. Thatcher WW, DeLaSota RL, Schmitt EJP, Diaz TC, Badinga L, Simmen FA, Staples CR, Drost M. Control and management of ovarian follicles in cattle to optimize fertility. Reprod. Fertil. Dev. 1996; 8: 203-17.
130. Thatcher WW, Bartolome JA, Sozzi A, Silvestre F, Santos JEP. Manipulation of ovarian function for the reproductive management of dairy cows. Veterinary Research Communications. 2004; 28: 111-9.
131. Thatcher WW, Guzeloglu A, Bilby TR. Early embryonic mortalitiy in modern dairy cows: Causes, consequences and remedy. Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift. 2006; 75: 106-13.
132. Turner TB, Peterson GA, Davis MA, Wilson GR, Irvin KM, Forry JTT. Synchronization of estrus in beef cows and heifers with fenprostalene, cloprostenol sodium, and PGF_2 alpha. Theriogenology. 1987; 28: 15-28.
133. Twagiramungu H, Guilbault LA, Dufour J. Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: A review. J Anim Sci. 1995; 73: 3141-51.
134. Van Eerdenburg FJCM, Karthaus D, Taverne MAM, Merics I, Szenci O. The relationship between estrous behavioral score and time of ovulation in dairy cattle. J Dairy Sci. 2002; 85: 1150-6.
135. Waldmann A, Kurykin J, Jaakma Ü, Kart T, Aidnik M, Jalakas M, Majas L, Padrik P. The effects of ovarian on estrus synchronization with PGF in dairy cows. Theriogenology. 2006; 66: 1364-74.
136. Wathes DC, Bourne N, Brickell J, Swali A, Taylor VJ. Relationship between production and reproduction. The 26th European holstein and Red Holstein Conference, Abstract Book: p. 1-8, 2005, Prague.
137. Weems CW, Weems YS, Randel RD. Prostaglandins and reproduction in female farm animals. The Veterinary Journal. 2006; 171: 206–28
138. Wenzel JGW. A review of prostaglandin F products and their use in dairy reproductive herd health programs. Veterinary Bulletin. 1991; 61 (5): 433-47.
139. Whismant CS, Washburn SP, Farin PW. Currrent concepts in synchronization of estrus and ovulation of dairy cows. Proceedings of the American Society of Animal Science. 1999: 1-8.
140. Wolfenson D. Factors associated with low progesterone concentrations and their relation to low fertility of lactating dairy cows. Israel Journal of Veterinary Medicine. 2006; 61 (2): 37-41.
141. Young IM. Dinoprost 14-day oestrus synchronisation schedule for dairy cows. The Veterinary Record. 1989; 124: 587-8.
142. Zonturlu AK, İzgür H. İneklerde değişik yollardan ve farklı dozlarda uygulanan $PGF_{2\alpha}$'nın (Dalmazin®) fertiliteye etkisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2004; 51: 13-7.

9. ÖZGEÇMİŞ

Ankara ili, Kalecik ilçesine bağlı Arkbürk Köyü'nde 1977 yılında doğdu. İlk ve orta öğrenimini Ankara'da tamamladıktan sonra 1991 yılında Çankırı Ziraat Meslek Lisesi'ni kazandı ve 1995 yılında dönem birincisi olarak mezun oldu. 1996 yılında Ziraat Teknisyeni olarak Elazığ ili Alacakaya ilçesine atandı. 1997 yılında başladığı Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2002 yılında mezun oldu ve veteriner hekim olarak Çankırı ili Eldivan ilçesi'ne atandı. Halen Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nde görev yapmaktadır. Evli ve iki çocuk babasıdır. İyi derecede ingilizce bilmektedir.