

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

KIZGINLIK GÖSTEREN İNEKLERDE KIZGINLIĞIN
FARKLI DEVRELERİNDE ELDE EDİLEN VAGİNA
VE SERVİKS AKINTILARINDA FEROMONLARIN
ARAŞTIRILMASI

DOKTORA TEZİ

T 54875

Tanzer BOZKURT

F.Ü. VETERİNER FAKÜLTESİ
DÖLERME VE SUN'I TOHUMLAMA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr. Eşref DEMİRCİ

ELAZIĞ - 1996

İÇİNDEKİLER

I.ÖNSÖZ.....	1
2.GİRİŞ.....	1
2.1.Feromonun Tanımı.....	1
2.2.Feromonların bulunduğu yerler ve etkileri.....	3
2.2.1.İşaret (davranış, ani tepki uyandıran) Feromonları.....	4
2.2.1.1.Cervico-vaginal mucusun fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	15
2.2.2. Öncü (Priming) Feromonlar.....	18
3. MATERYAL VE METOT	22
3.1. Kızgınlığın teşhisi.....	22
3.2. Cervico-vaginal mucusun toplanması.....	23
3.3. Örneklerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin tayini.....	23
3.3.1. Renk tayini.....	23
3.3.2. pH tayini.....	23
3.3.3. Vizkozite tayini.....	24
3.3.4. Su ve kuru madde miktarı tayini.....	24
3.3.5. Mineral madde tayini.....	24
3.4. Boğa Denemesi.....	24
3.5. Örneklerin kimyasal analizi.....	24
3.5.1.Kimyasal yapı tayininde kullanılan spektroskopik cihazlar.....	25
3.5.2. Cervico-vaginal mucus ekstraksiyonu.....	25
3.5.2.1. Kloroform / Metanol ile ekstraksiyon işlemi.....	26
3.5.2.2. Dializ ile ekstraksiyon işlemi.....	26
3.5.2.3.Kolon Kromatografisi(Slica gel'le doldurulmuş).....	26
3.5.2.4. Dietileter ile Ekstraksiyon işlemi.....	27
3.6. İstatistik Analizler.....	27
4.BULGULAR	28
5.TARTIŞMA ve SONUÇ	59
6.ÖZET	67
7.SUMMARY	69
8.KAYNAKLAR.....	71
9.ÖZGEÇMİŞ	80
10.TEŞEKKÜR.....	81

1.ÖNSÖZ

Dünya nüfusunun hızla artışı, şehirleşme ve sanayileşmenin yaygınlaşması ve toplumların kültür düzeylerinin yükselmesi hayvansal kökenli et, süt ve deri gibi ekonomik değer taşıyan ürünlere karşı talebi artırmıştır. Bu gibi nedenlerden dolayı insanların beslenmesinde önemli yeri olan, dünyada ve özellikle az gelişmiş ülkelerde büyük ölçülere varan, hayvansal protein açığını kapatma çabaları ve önlemleri içerisinde sığır yetiştiriciliği çok büyük yer tutmaktadır. Şöyle ki; sığır, insan gıdası olarak değerlendirilmesi mümkün olmayan çeşitli doğal bitki kaynaklarını, tarımsal artıkları ve gıda sanayi artıklarını en iyi şekilde değerlendirerek et, süt, deri ve benzeri ürünlere çeviren, topraktan aldığı gübresiyle toprağa geri veren ve gerektiğinde iş gücünden yararlandığımız çok faydalı bir hayvandır. Sığırın eti ve sütü yeri doldurulamaz temel bir besindir. Derisi geniş bir sanayi kolunun hammaddesidir. Her yönü ile tarıma destektir. İstenilen zaman satılarak paraya dönüştürülebildiği için çiftçi ailesinin ekonomik güvencesidir. İşsizliğe karşı iyi bir çare ve en nihayet dış ticaret kalemleri arasında yer alan önemli bir döviz kaynağıdır. Bu yüzden de çoğu ülkeler sığır ırklarının gerek et gerek süt verimini artırmada yıllardır yoğun çalışmalar yapagelmekte ve bu konuda gerçekten çok önemli gelişmeler sağlamış bulunmaktadırlar (8).

Türkiye, 1994'deki rakamlara göre 11.901.000 baş sığır varlığı ile sığircılık konusunda dünyanın önde gelen ülkelerinden biri olmasına rağmen birim başına düşen verim seviyesi yönünden hala dünya ortalamalarının altındadır. Ülkemizde 1994 yılı itibariyle 161.475 ton sığır eti, 155.110 ton dana eti , sağılan 6.082.000 baş sığırdan 9.129.000 ton süt, 1.236.500 sığır derisi ve 1.228.565 dana

derisi elde edilmiştir (75). Bu verimler ileri ülkelerle karşılaştırıldığında aradaki farkın 5-10 misli olduğu görülmektedir. Ülkemizde elde edilen verimlerdeki bu gerilemenin ana nedenlerinden birisi sığır ırklarının ıslah edilmemiş olmasıdır. Sığır ırklarının ıslahı ve ekonomik değer taşıyan verimlerin sürekliliği ve artırılması ancak döl verimi ile elde edilen kuşaklar yoluyla sağlanabilir. Bu durum hayvanlarda en önemli verimin döl verimi olduğunu göstermektedir.

Hayvanlardan yüksek oranda döl verimi elde edilmesi bir çok faktör tarafından engellenmektedir. Sığırlarda üreme fizyolojisinin bütün yönlerinin tamamen anlaşılabilmesi üreme potansiyelinin tamamen kullanılamamasına neden olmuştur. Dölverimini menfi yönde etkileyen en önemli problemlerden birisi de östrusun tam olarak zamanında tespit edilememesidir. Üremenin denetlenmesinde östrusun tespiti büyük bir önem taşımaktadır. Çünkü kesin bir östrus tespiti üremenin anahtarı rolündedir (34,44,46).

Özellikle sun'i tohumlamanın yaygın olarak kullanıldığı günümüzde gizli seyreden kızgınlıkların tespit edilememesi olumsuz bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Östrusun teşhis edilememesi embriyo transferi ve sun'i tohumlama için, boğaların bulunmadığı sürülerde temel problemlerdendir. Kızgınlığı tespit etmek için, henüz boğa kadar pratik ve kesin sonuç alınabilecek bir metod geliştirilememiştir. Östrusun tespit yöntemleri arasında yer alan, doğrudan doğruya gözlemler, Heat mount dedektörü , arama boğaları, hormon analizleri, vaginal direnç testleri ve cervical mucus testleri gibi yöntemlerin hiç birisi tamamen yeterli, güvenilir ve özel değildir. Günümüzde östrusu teşhis etmek için kullanılan bu yöntemlerle östrusu kesin belirleme oranının % 60'ın altında olması,

gebelik oranındaki düşüklüğün önemli sebeplerinden birisi olup, sun'i tohumlama uygulanan bölgelerde östrusların zamanında tespit edilememesi, normal fizyolojik sınırlar içerisinde maximum sayıda yavru alınmasını engellemektedir. Oysa, daha öncede belirtildiği gibi östrusun tespiti için en etkili metod seksüel olarak tecrübeli deneme boğaları tarafından yapılan östrus keşfidir. Boğalar kızgın inekleri belirlemede %95-100 oranında başarılı olmaktadır. Boğaların bu başarısı, inekler tarafından çeşitli şekillerde salgılanan feromonların oral ve kokusal yolla tesbiti sayesinde olmaktadır (3,19,21,27,34,50).

Feromonlar, bir hayvan tarafından dışarıya salgılanan ve aynı türün diğer bir ferdi tarafından alındığında çeşitli spesifik reaksiyonlara neden olan kimyasal habercilerdir. Ovaryumlarda gelişen Graaf follikülünün salgıladığı östrojenik hormonların etkisiyle, dişilerin fizyolojik ve psişik değişiklikler göstererek erkeği cezbetmesi, koklama yoluyla alınan kimyasal maddelerin yani feromonların uyarmasıyla olur. Diğer bir anlamda hayvanlarda çiftleşmenin sağlanması dışarıya salgılanan feromonlar sayesinde olmaktadır. Bu bilgilerin ışığı altında feromonların kimyasal yapısı belirlenebilirse östrusu teşhis etmek basit kimyasal bir test ile mümkün olabilecektir. Bu bileşiklerin identifikasyonunun östrus tespitinde çok daha fazla bir rol oynayacağı şüphesizdir. Öte yandan feromonların tespitiyle hem süt ırkı hem de et ırkı ineklerde östrusun tespiti için güvenilir bir saha testinin geliştirilmesi sağlanmış olabilecektir (28,34,55,61,67,78).

Hayvanlardan yüksek oranda döl verimi alınabilmesi için kızgınlığın kesin olarak tespit edilmesiyle birlikte, tohumlamanın kızgınlık sürecinin hangi evresinde yapılacağıнын bilinmesi de büyük önem taşımaktadır. İneklerden yeterli bir dölverimi alınabilmesi için,

tohumlamanın kızgınlığın hangi döneminde yapılması gerektiği hususunda yapılan araştırmalarda, kızgınlığın ortasında ve ikinci yarısında yapılan tohumlamalardan en fazla döl verimi elde edildiği bildirilmektedir (61). Feromonlar vasıtasıyla kızgınlığın başladığı an tesbit edilebilirse tohumlamanın en uygun zamanda yapılabilmesi mümkün olabilir. Böylece dölverimini menfi yönde etkileyen en önemli faktörlerden birisi ortadan kaldırılarak dölveriminin artırılması sağlanmış olacaktır.

Ayrıca feromonların çeşitli tür hayvanlarda tespit edilerek, sentetik formlarının elde edilmesi ve pratik olarak kullanılabilir bir hale getirilmesiyle, örneğin köpekleri bu kokulara karşı aşıtıtarak bir sürü içerisinde kızgınlık gösteren ineklerin bu köpekler yardımıyla kolayca tesbit edilmesi, dolayısıyla östrusun tespitini kolaylaştırması, ayrıca dölveriminin arttırılmasında önemli rolü olan puberti yaşının karşı cinsin uyarılması sonucu erkene alınması, mevsime bağlı anöstrusun sonlandırılması, doğum sonu aralığının kısaltılması ve östrus sinkronizasyonu sağlaması gibi etkileri de mevcuttur (29). Feromonların bu etkilerinin dölveriminin artırılmasına sağlayacağı yararlarının ne denli büyük olduğunu herkesce takdir edilmektedir.

Bu çalışma, kızgınlık gösteren ineklerde, kızgınlığın farklı devrelerinde elde edilen vagina ve cervix akıntılarında kızgınlığın erkeğe habercisi olan feromonların varlığını ve kimyasal yapısını araştırmak amacıyla planlanmıştır.

2.GİRİŞ

2.1.Feromonun Tanımı

Hayvanlar aleminde kimyasal haberleşme üremenin kontrolünde sosyal ve seksüel etkileşmelerin düzenlenmesinde temel bir rol oynamaktadır.Hayvanlar özellikle üreme faaliyetlerinin koordinasyonu için gerekli olan üremeyle ilgili bilgileri birbirlerine kimyasal haberleşme yoluyla iletmektedirler . Çiftlik hayvanları dahil bir çok memeli türlerinde koku yoluyla alınan bir takım kimyasal işaretler mevcuttur. Bir çok canlının varlığını sürdürmesi ve birbirleriyle haberleşmesi de bu kimyasal işaretlere bağlıdır. Bu kokuların tanınması ve bilgi alışverişinin sağlanması aynı türün fertleri arasında olduğu kadar farklı türlerin fertleri arasında da oluşmaktadır. İşte haberci olarak rol oynayan ve dış çevreye salındığında aynı türün bir başka bireyi tarafından alınan bu kokusal işaretleri veya kokulu kimyasal maddeleri tanımlamak için feromon terimi kullanılmaktadır. Diğer bir ifadeyle feromon evcil hayvanların kimyasal haberleşmesinde kullanılan bir vasıtaadır (5,11, 24,31, 51).

Kokusal haberleşme üzerine gerçek manada araştırmalar 1960'lı yılların başlarında başlamıştır. Memelilerle uğraşan bilim adamları (48,62) entomoloji ile ilgili modeli örnek alarak, bir hayvan tarafından salgılanan ve aynı türün diğer bir bireyi tarafından alındığında spesifik bir reaksiyona neden olan maddeleri tanımlamak için feromon terimini kullandıklarını, bu tanımda bahsedilen spesifik reaksiyon ile ya özel bir davranışın gösterildiğini ya da endokrin veya üreme sistemindeki fizyolojik değişikliklerin ifade edildiğini, çünkü, feromona karşı verilen cevabın ya alıcının fizyolojik durumunda bir değişiklik oluşturduğunu ya da belli bir davranışın performansı ile ilgili olduğunu bildirmektedirler.

Wilson ve Bossert (79) insektlerdeki feromonal haberleşmeyi örnek olarak feromon terimini yine yukarıdaki gibi tanımladıklarını, fakat feromonun etki şekline göre de salgı feromonları ve priming (öncü) feromonlar olarak ikiye ayırdıklarını, bu sınıflandırmaya göre salgı feromonlarını, ani fakat dönüşümlü bir davranış değişimine veya klasik uyarı cevap örneğindeki gibi merkezi sinir sistemince verilen bir cevaba neden olan feromonlar olarak tanımlarlarken, Priming feromonları da endokrin, üreme veya muhtemel diğer sistem fonksiyonlarını ya inhibe ederek ya da stimule ederek değiştirebilmesi için bir seri fizyolojik olayları başlatan feromonlar olarak tanımlamışlardır.

Bununla birlikte memelilerin cinsel istek, davranış ve üreme olaylarında feromonal haberleşmenin önemli bir rol oynadığı artan bir tarzda ortaya çıktıkça salgı feromonu teriminin, feromonu alan memelilerin davranış cevaplarına göre uygun olmadığı görülmüştür(23).

Öte yandan Bronson (22) ve Izard (49) salgı feromonu teriminde ima edilen kesin cevabın memelilerin esnek davranış biçimi içerisinde her zaman gerçekleşmemiş olması nedeniyle bu terim yerine davranış cevabı uyandıran memeli feromonlarını ifade etmek için işaret feromonu terimi kullanılması gerektiğini, çünkü, bir işaret cevabın tabiatını değil sadece bilginin transferini ima eder demektedirler.

Bu bilgiler ışığı altında kimi araştırmacı (48) ve yazarlar (5, 44, 49), orijin olarak insektlerde kullanılan bir kavramın, memelilerde kullanılmasındaki doğal problemleri de göz önüne alarak, bir hayvan tarafından dışarıya salgılanan ve aynı türün diğer bir ferdi tarafından alındığında bir veya daha fazla spesifik reaksiyon doğuran

madde veya madde karışımları olarak feromon terimini tarif etmek ve kullanmakla birlikte, kokusal duyumlarla özel bilgiyi ileten ve özel davranış meydana getiren anlamında işaret feromonunu ve kokusal duyumlarla ölçülebilen fizyolojik cevaplar oluşturan feromonlar anlamında da priming feromonunu tanımlamaktadırlar. Ayrıca Izard (49), feromon kavramının bu şekilde kullanılmasının memelilerin davranışlarını ve feromonları araştırırken yanlış kavramların ortaya çıkmasını önleyeceğini, bu uyarıya rağmen feromon kavramının memelilerde kullanılması konusunda bazı araştırmacıların feromon terimi ve tanımını kullanmakta hala çekingen kaldıklarını ve memelilerde koklamaya bağlı haberleşmeyi ifade eden farklı terimler kullandıklarını, belirli bir ortamda fizyolojik ya da davranışa bağlı cevabın sadece koklamaya ilgili algılamalara bağlı olmayıp görme, işitme, dokunma, tat alma duyularının birkaçının veya tümünün birlikte algılanmasına da bağlı olabileceğinin unutulmaması gerektiğini vurgulamaktadır .

2.2.Feromonların bulunduğu yerler ve etkileri

Yapılan çalışmalarında, evcil hayvanlarda feromonların farklı türlerde, farklı kaynaklarda bulunduğu ve üremeye ilgili mesajların iletilmesinde ve üreme fizyolojisinde etkili olduğu bildirilmekle beraber feromonların kimyasal karakteri ve nasıl üretildiği belirtilmemiştir. Ancak son zamanlarda feromonların kimyasal özellikleri ve ihtimal dahilinde buldukları yerlerin araştırılması hususunda çalışmalar yoğunlaşmış ve birkaç türde de kimyasal yapısı belirlenmiştir.

Feromonların hayvan organizmasında bulunduğu veya köken aldığı yerler hakkında tartışmalar hala sürdürülmekle birlikte yapılan çalışmalarla feromonların cervico-vaginal mukusda

(9,38,41,55,64,67), idrarda (1,14,27,48,50,59,70), deri bezleri ve salgılarında (15,35,63,70), perineal bezler ve salgılarında (9,12,13,14,15,63), tükürük bezi ve salgılarında (27,49,74), yapağıda (56,57,58), teke kılında (26,72), gaitada (30,67), sütde (51) ve kanda (51,52,53,54) bulunduğu tespit edilmiştir.

Adams (1), hayvanlarda feromonların bulunduğu bu salgıların ve bölgelerin kontrolünün hormonal ve sinir sistemi vasıtasıyla yapılmasının, feromonların hayvanlarda üretilmesi veya salgılanmasının ancak hormonal ve sinir sisteminin koordineli olarak çalışmasıyla mümkün olabileceğini dile getirmiştir.

Öte yandan feromonların alınmasıyla alıcıda yaptığı etkileri inceleyen araştırmacılar östrusun belirlenmesi (1,32,35,47,55,57,64), mevsimsel anöstrusun sonlandırılması (56,57,58,71), pubertenin kısaltılması (27,47,48,49,71,76), postpartum anöstrusun kısaltılması (48,49,80,) ve östrus sinkronizasyonu (48,56,57,58) üzerine feromonların küçümsenemeyecek kadar etkili rolleri olduğunu bildirmektedirler.

2.2.1.İşaret (davranış,ani tepki uyandıran) feromonları

İşaret feromonlarının alınmasının oral ve kokusal yollarla olduğu, bir çok memeli tür erkeklerinin kokusal incelemeyle dış genital organlarının değişimini veya karakteristik östrus davranışlarından önce proöstrustaki dişileri belirleyebildikleri, bunu da rutin olarak dişilerin anogenital bölgelerini koklayıp, idrar veya cervico-vaginal mucusu analiz ederek sağladıkları, evcil hayvanlar arasında böylesi araştırmacı davranışların at, koyun, keçi ve sığırlar arasında mevcut olduğu bildirilmektedir (32,39,49,70).

İneklerde seksüel davranışların önemli derecede açığa çıktığı dönem östrus safhasıdır. Bu dönemdeki ineklerin boğalara yakınlığı,

boğaları etkilediği gibi ineklerdeki östrus davranışları da boğanın ve diğer kızgın ineklerin varlığından etkilenmekte ve kızgınlık davranışları ortaya çıkmaktadır (45,67). Boğalar ise, proöstrusta bulunan ineklerin salgıladığı kokulu maddeleri flehmen yolu ile vomeronasal organa ulaştırarak östrusu başlangıçta tespit edebilmektedirler(1,32,35,48,67).

Boğalar tarafından anogenital bölgenin kısa aralıklarla koklanması, yalanması ve bu bölgeye burnun sürtülmesi, incelenme altında bulunan dişinin genellikle idrar yapmasını sağlar. Dişi idrar yapsın veya yapmasın sonunda erkek flehmen davranışını gösterir. Domuz hariç, pek çok tür hayvanın hem erkek hem de dişilerinde feromona karşı cevap olarak flehmen davranışı oluşur. Flehmen davranışı, hayvanın sürü eşinin veya karşı cinsinin genital bölgesini veya feromonların bulunduğu diğer yerleri kokladıktan sonra üst dudağını burun deliklerinin üzerine kıvrarak burun deliklerini kısmen kapatması, boynunu yukarıya kaldırarak çenesini uzatması, ağzını tamamen açıp dilini ağızda yayvan bir şekilde tutarak derin bir nefes alması ve bir kaç saniye (10-30 saniye) bu pozisyonda kalması halidir (32,37,49,69).

Estes (32)'e göre vomeronasal organ, bilateral kör bir kese olup siğir, koyun ve keçilerde nasopalatin kanala açılan, hayvanlar arasında seksüel aktivitenin koordinasyonu ve üremeye ilgili mesajların tanınmasında rolü olan özel kemoreseptörleri bulunan bir organ olarak tarif edildikten sonra flehmen davranışı da nefes alma ve dilin damak üzerine yaptığı ani okşama hareketleri ile oral boşluktan vomeronasal organa hava ile birlikte transfer edilen feromonların kimyasal analizi olarak bildirilmektedir.

Jacobs ve ark. (50) yaptıkları çalışmada, boğanın kendisini kabuledecek dişiyi genital kanal sıvılarındaki bilgilere göre tanıdığını ve ilgisini ona göre yönelttiğini, dişinin cervico-vaginal sekresyonundaki veya idrarındaki feromonların, boğanın seksüel davranışlarının bir parçası olan, flehmen davranışı vasıtasıyla vomeronasal organın reseptörlerine taşınarak orada belirlendiğini, flehmen olayında vomeronasal organ içerisinde vaginal sekresyon veya idrarın incelenme mekanizmasını anlamak için sinematografi ve yavaş-hareket (freeze-frame) tekniği ile Brahman boğalarının östrojen uygulanmış ineklerin vulvasını koklarken yaptıkları ağız ve dil hareketleri gözlemlendiğinde, boğaların önce dili eğerek sert damağa bastırdığını, dilin gövdesini ağızdan dışarıya çıkardığını, dilin bu durumunu sürdürerek ileriye doğru hareket ettiğini, dilin bir kez kesici dişler ve papilla'ya (nasopalatin kanala) ulaştıktan sonra geri çekilerek eğik kısmının gevşetildiğini, dilin sert damağa bastırılmasıyla yapılan vuruşun 2-6 kez tekrarlandığını ve her darbenin 1/4 - 1/2 saniye sürdüğünü tesbit etmişlerdir.

Öte yandan boğaların flehmen davranışları, nasopalatin kanalın tıkanması öncesinde ve sonrasında değerlendirildiği zaman, flehmen cevaplarının sayısının değişmediğini, fakat flehmen davranışı süresinin tıkanmadan sonra arttığı gözlenmiş olup, nasopalatin kanalın tıkanması östrusun tespitini engelleyememiştir. Bunun sebebinin ise, östrusun tesbitinin ya ana koklama sistemi yoluyla ya da damağa dille yapılan basınç ve sıvazlamalarla vomeronasal organda kısmi bir emmeye sebep olunarak oral ve nasal boşluktan feromonların girmesine imkan sağlanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bununla birlikte sığırlarda östrusun keşfinde koklamanın rolü üzerine ihtilafli görüşler de vardır. Çünkü boğaların

kokuya bağlı araştırmalarında hem esas koklama sistemlerini hem de ek koklama sistemlerini kullandıkları ayrıca vomeronasal organ ve flehmen davranışının kızgınlığın keşfinde önemli rol oynamakla beraber yeterli olmadığı, esas koklama sisteminin rolünün ve öneminin henüz tesbit edilememesi yüzünden bu ihtilafli görüşlerin ortaya çıktığı bildirilmektedir (49,50).

Hradecky ve ark. (43) sığırılarda östrus siklusu boyunca boğanın flehmen reaksiyonlarının durumunu incelemek üzere yaptıkları çalışmada, boğalarda flehmen reaksiyonlarının sadece östrusa has spesifik reaksiyonlar olmayıp, östrus siklusunun diğer safhalarında da oluştuğunu, boğanın inekler arasına salındığında ilk önce onların diş genital organlarını kokladığını ve çekici bir koku bulursa ineğin perivulvar alanına burnunu sürterek onu, urinasyon yapmaya zorladığını, inek urinasyon yapsın veya yapmasın, bu kısa fiziksel temas ineğin seksüel siklusta bulduğu safhaya bakmaksızın boğanın ani flehmen oluşturmasına neden olduğu, burnunu sürtme davranışı aynı zamanda boğanın ağız-burun çevresinde perivulvar deri yağlarının yayılmasını sağlamakta olup inek urinasyon yapmadığı takdirde boğanın nasal boşluğu içerisine uçucu ve kokulu bileşiklerin (feromonların) girmesine sebep olduğu, yine burun sürtmenin çok hızlı ve yoğun bir reflex oluşturup ineğin external organlarının hiperemisine ve uyarılmasına neden olarak ineklerde kokulu bileşiklerin gaz haline geğmesine veya buharlaşmasına yardımcı olduğu bildirmekte olup bunun da östrus feromonlarının hem sınırlı bir süre içerisinde oluşmakta olduğunu hem de östrus dişında da sınırlı sayıda meydana geldiğini ve flehmen'in östrusla ilişkili kokular için tek başına spesifik bir cevap olmayıp, östrusun 4 gün

öncesine ve 3 gün sonrasına kadar flehmen davranışının yapıldığını bildirmektedirler.

Geargy ve Reeves (37) yaptıkları çalışmada, boğaların kızgınlık gösteren düveye karşı oluşturduğu flehmen davranışlarının kızgın olmayanlara karşı oluşturduğundan farklı olmadığını, koku sisteminin veya kokuyla kızgınlığın tespitinin yetersiz olduğunu ve kızgınlık gösteren düvelerin birbirlerine atlama davranışlarının boğalar üzerinde kokularından daha fazla uyarıcı etki yaptığını tesbit etmişlerdir. Yine Geargy ve ark. (36) yaptıkları diğer bir çalışmada, diöstrüs ve östrusteki düvelerle birlikte bulundurulan boğalar tarafından meydana getirilen flehmen sayıları arasında fark bulunmadığını ve bu sonucuna göre de boğa ile inek arasında fiziksel bir temas bulunmadığı zaman boğaların östrüsteki ineği ayırdedemediğini bildirmektedirler.

Houpt ve ark. (42) tarafından yapılan araştırmada, bazı boğalar tarafından kızgınlıktaki ineğin idrarına karşı oluşturulan flehmen reaksiyonları sayısının, diostrusteki ineğin idrarına karşı oluşturulan flehmen reaksiyonları sayısından daha fazla olduğunu ileri sürmektedirler. Oysa Albone ve ark. (4) ve Blazquez ve ark (14) boğalar için koklamanın önemli olduğunu ve boğaların en erken östrustan 4 gün önce kokusal araştırmalar yoluyla kızgınlık gösterecek inekleri tespit edebildiklerini vurgulamışlardır.

French ve ark.(35) boğaların koklamayla birlikte görme, duyma ve tat alma duyularını da kullanarak proöstrus ve östrustaki inekleri tespit edebildiklerini ve özellikle görme duyusunun seksüel davranışların kesin görüntüsünün oluşmasının ani ve direkt kontrolü üzerine önemli bir rol oynadığını savunmaktadırlar.

Blokey(17) ve Williamson ve ark.(78)'nin yaptıkları araştırmalarda, merada kızgınlık gösteren dvelerle birlikte bulunan boğaların bu düvelerin birbirlerine atlama, koklama, yalama, takip etme, çenelerini sağı üzerine koyma davranışlarını görmeleriyle, onların kızgınlıkta bulunduğunu tesbit ettiklerini öne sürmektedirler.

Blaschke ve ark. (10) etçi ırk boğaların görme, koklama, tat ve ses alma duyularını kullanmak suretiyle östrusu belirlediklerini ve bunların içinde görme duyusunun 1. derecede, koklama ve tat alma duyusunun 2. derecede, duyma duyusunun ise 3. derecede boğalar için önemli olduğunu tespit etmişlerdir. Bir diğer çalışmada (25) ise, boğalar tarafından östrusun belirlenmesi için yararlanılan görme duyusunun koku alma duyusundan daha önemli olduğu bildirilmektedir. Ayrıca Blokey (18) ve Wallach ve Price(77)'in yaptıkları çalışmalar sonucunda elde ettikleri verilere göre de, boğaların atlama davranışlarında dişinin kızgınlıkta bulunmasından ziyade hareketsiz olarak beklemesinin daha etkili olduğu görülmüş yani zaptırap altına alınmış ineğin kızgınlık durumuna bakmaksızın boğaların atlama davranışı gösterdiği anlaşılmaktadır.

Feromonların algılanma şeklinin sadece oral ve koklama yoluyla olmasına rağmen feromonlara karşı oluşan cevapların görme, işitme, dokunma ve tat alma duyuları veya bunların birkaçının birleşmesiyle ilgili olarak değişebileceği gibi feromonların laboratuvar tetkikleriyle izolasyonu ve belirlenebilmesinde, ineklerdeki seksüel kokuların doğal alıcısı olan boğaların koku alma ve flehmen davranışlarının gözlenerek yapılması en fazla güvenilir biyolojik yoldur (19,43,49,69,78).Bu kokuların biyolojik olarak keçi için boğaların kullanılmasına ilaveten eğitilmiş köpek (41,52,53,54) ve ratlar (27,28,59)'da kullanılmaktadır.

Dehnhard ve ark. (28) kızgınlık siklusu esnasında 10 inekten idrar örnekleri toplayarak ratların biyolojik denemesi yoluyla feromon aktivitesini araştırdıklarında maximum feromon aktivitesinin kızgınlıktan bir gün önce görüldüğünü tesbit etmişlerdir.

Ladewig ve Hart (59), inek idrarı üzerine yaptıkları çalışmada kızgın ineklerin idrarı ile kızgın olmayan ineklerin idrarını ratlara koklattıklarında %65 oranında doğru olarak kızgınlığı ayırdedebildikleri sonucuna varmışlardır.

Dehnhard ve Claus (27), ineklerin östrus ve diöstrus devrelerinde alınan idrarlarındaki kokusal farklılığa karşı ratların reaksiyonlarını değerlendirdiklerinde, hem östrus hem de diöstrus kokusuna karşı ratların doğru cevapları arasındaki farkı istatistikî açıdan önemli bulmuşlardır ($P < 0.0001$).

Hawk ve Conley (41), kızgınlık gösteren ineklerin vaginal mucus, süt, kan ve idrar örneklerindeki östrusla ilgili kokuları eğitilmiş köpekler kullanarak belirlemek için 4 ayrı deney yaptıklarını, bu deneyler sonucunda östrus ve diöstruste bulunan ineklerin sütlerinden faydalanarak eğitilmiş köpeklerin gösterdikleri reaksiyonlara göre ineklerin siklusun hangi safhasında olduğunu tespit edebildiklerini bildirmişlerdir.

Kiddy ve ark. (54) sütçü ineklerden kızgınlık gösterenleri tespit etmek için, kızgın ve kızgın olmayan ineklerin vulva ve vestibulumuna yerleştirilen süngerleri, vaginanın derin kısmından elde ettikleri sıvıları, normal urinasyon sonucu elde edilen idrarı, kateter yardımıyla vesica urinariadan aldıkları idrarı, sütü ve kan plazmasını köpeklere koklatarak alıştırdıklarında, köpeklerin kızgın ineklerden elde edilen materyale yukardaki sıraya göre %97, 86, 96, 97, 99 ve 94 oranında reaksiyon verirken kızgın olmayan ineklerden elde edilenlere

karşı yine yukardaki sırasıyla % 2, 1, 1, 1, 1 ve 8 oranında reaksiyon gösterdiklerini ve sonuç olarak ineklerde östrusla ilişkili kokuların vücut sıvılarıyla yayıldığı görüşünü ileri sürmektedirler.

Kiddy ve Mitchell (53), ineklerde kızgınlığın karakteristik kokusunu belirlemek için, eğitilmiş bir Cathovla leopard çoban köpeği ile 3 Alman Shepherd köpeğini üç farklı deneyde kullanarak östrusla ilişkili kokuların ilk kez ne zaman açığa çıktığını, ne zaman kaybolduğunu ve ne kadar müddetle devam ettiğini tesbit etmek amacıyla östrus siklusunu boyunca süngere emdirilmiş vaginal sıvıları kullandıklarını, sonuçta östrus kokusunun östrustan 3 gün önce yavaşça salındığını, östrusta hat safhaya ulaştığını ve östrustan sonra 1 gün içinde kaybolduğunu belirlemişlerdir.

Kiddy ve ark. (52) eğitilmiş köpekleri kullanılarak ineklerde östrusla ilişkili kokuların keşfedilmesi konulu çalışmalarında ineklerin kızgınlığa has koku ürettiklerini ve bu kokuların eğitilmiş köpekler tarafından belirlenebileceğini bildirmişlerdir.

Bir çok türde feromonların en önemli kaynaklarından birisi olan deri bezleri sıgırlarda vulva ve perineal bölgede bulunmakta olup boğaların burunlarını vulva ve perineal bölgeye burun sürmeleri feromonların bu bölgede bulunduğunu veya salgıladığını göstermektedir (63).

Rivard ve Klemm (70), ineklerin östrus devresindeki feromonları ihtiva eden vücut sıvıları üzerine yaptıkları bir çalışmada, feromonların ya vulval deri bezlerindeki feromonları yoğunlaştıran özel kısımlardan veya vulval deri bezlerinden ya da herhangi bir diğer kaynaktan köken alarak kan yoluyla bütün organizmaya yayıldığını bildirmektedirler.

Blazquez ve ark. (15) boğanın ineklere karşı davranışlarını araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, östrus sinkronizasyonu uygulanmış iki inek ve bir boğayı bir arada tutarak, inekler östrus siklusunun ortalarında iken birinin perineal bölgesine adrenalin, diğerine su enjekte ederek boğanın seksüel davranışını izlediklerinde, boğanın adrenalin uygulanan ineğe karşı gösterdiği seksüel davranışlarının (yalama, burun sürtme, koklama, vulvaya masaj ve flehmen), su uygulanan ineğe oranla daha fazla olduğunu ve bunun sonucu olarak üremeye ilgili mesajları içeren feromonların kaynaklarının deri bezleri olduğunu belirlemişlerdir.

Bir boğanın feromonal etkiden dolayı meydana getirdiği seksüel davranışının boğanın direkt perineal bölgeye yönelmesinden sonra oluşması, kokusal işaretlerin ineklerin genital kanalından kaynaklanan salgılar, perineal deri bezleri veya idrarda bulunduğu işaretidir (14).

Blazquez ve ark. (13) 16 haftalık 10 adet Friesian x Hereford düveyi iki gruba ayırarak 1. grupta bulunan düvelerin kulak altına östradiol-17 beta uygulayıp 2. grubu kontrol grubu olarak kullandıklarını, perineal ve boyun bölgesi bezlerindeki gelişmeyi incelediklerinde perineal bölgedeki ter ve yağ bezleri hacminin kontrol grubuna göre daha büyük olduğunu ($P < 0.01$), neticede östrojen hormonunun perineal deri bezlerini aktive ederek bu bölgede var olan kokulu maddelerin (feromonların) kızgınlıkta salgılandığını ileri sürmektedirler. Yine benzer bir araştırma (12) sonucuna göre de, ineklerin perineal bölgesindeki deri bezlerinin kokulu maddelerin (feromonların) salgılandığı özel deri bezleri olarak dikkate alınması gerektiği bildirilmektedir.

Klemm ve ark. (55) östrusa yaklaşmış ve östrusta bulunan 140 inekten topladıkları cervico-vaginal mucus örneklerini saflaştırarak, gas kromatografi-mass spektroskopisi kullanarak bioassay ile değerlendirdikten sonra, boğalarda koklama, yalama, flehmen, penis kasılması ve preputial sekresyona neden olan alkol, diol, primer amin, aromatik alkenden oluşan dokuz bileşik tespit ettiklerini buna bağlı olarak cervico-vaginal mukusun feromon veya feromonları ihtiva ettiğini savunmaktadırlar.

Nishimura ve ark. (64) östrus gösteren düvelerin vaginal mucusunda feromonları araştırmak için yaptıkları çalışmada, hem östrusta hem de diöstrustaki düvelerin cervico-vaginal mucusunu toplayarak bu mucuslarda bulunan aşım işareti olan maddeleri (feromonları) ayırmak için dializ ve ion-exchange kromatografisi kullanarak biological assay sonucu elde ettikleri bulgulara göre feromonların düşük moleküler ağırlığa sahip nötral maddeler olduğunu ve cervico-vaginal mucusta bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Paleologou (67), östrusta bulunan ineklerin cervico-vaginal mucusunu geniş bir kaba koyarak ve yapay inek maketinin caudal kısmına mucusu sürerek boğaların davranışlarını incelediği çalışmada boğaların seksüel olarak uyarıldığına ve feromonların cervico-vaginal mucusta bulunduğuna işaret etmektedir.

Donavon (30), östrustaki ineklerin gaitalarının da boğalar için çekici olduğunu, yani bunların da feromonları içerdiğini bildirmektedir.

Blissitt ve ark. (16)'nın koyun idrarındaki östrusla ilgili kokuların koçlar tarafından ortaya çıkarılması konulu çalışmalarında, koçların östrustaki koyunları tespit etmek için koklama duyularını kullandıklarını, östrus gösteren ve göstermeyen koyunların idrar

kokularının ayrımının koçların koklama kabiliyetine bağlı olduğunu, koçların östrustaki, östrustan 1-6 gün önceki ve östrustan 4-10 gün sonraki devrede bulunan koyunların idrar kokusu arasındaki farkı belirleyebildiklerini, ancak koçların kızgınlıkta bulunan farklı koyunların idrar örnekleri ile kızgınlıktaki ve kızgınlıktan 1-3 gün sonraki koyunların idrar kokusu örnekleri arasında ayırım yapamadıklarını netice olarak koyunların kızgınlık devresinde idrarlarında bulunan feromonlar vasıtasıyla koçlara kızgınlıklarını bildirdiklerini ve bu kokuların kızgınlıktan 4 gün sonra kaybolduğunu bildirmektedirler.

Lindsay (60), koçların çiftleşme davranışlarında kokusal uyarının önemini araştırdığı çalışmasında, kızgınlık gösteren koyunları belirleme yeteneklerini karşılaştırmak için koku alma yeteneği bulunmayan (anosmik) iki koç ile normal iki koçun, eşit sayıda kızgınlık gösteren ve kızgınlık göstermeyen koyunların bulunduğu iki grup içerisine çiftleşmeleri için bırakıldığını, normal koçların her iki grup içerisinde de kızgınlık gösteren koyunları ayırd edebildiklerini ($P < 0.001$), anosmik koçların ise kızgınlık gösteren koyunları ancak kendilerine aştığı zaman onların kaçmamasıyla belirleyebildiklerini, netice olarak koçların östrustaki koyunları koku alma yoluyla teşhis edebildiklerini vurgulamaktadır.

Bland ve ark. (9), koyunların östrus siklusunun farklı safhalarında elde ettikleri vulvo-vaginal sekresyonlarında ve idrarlarında uçucu veya uçucu olmayan östrus işareti olan feromonları gas-kromatografi ile belirlemek istediklerini fakat başarısız olduklarını, bununla birlikte feromonların steroid, yağ asidi, keton, aldehid, amid, amin, fenol, diol ve alkol gibi düşük moleküler ağırlıkta olmadığını bildirmişlerdir.

Goodwin ve ark. (38) dişi köpeklerin kızgınlığa girdikleri zaman dışarıya özel koku veya kokular saldıklarını bu koku veya kokuların erkek köpekleri etkilediğini ve dişiye karşı kur yapmasını sağladığını, erkekleri etkileyen bu kokulu maddelerin kaynaklarının kesin olarak bilinmediğini, vagina, idrar, her ikisi veya bu bölgelere yakın diğer anatomik organlar üzerinde bir çok çalışmalar yapıldığını, bu çalışmaların birinde östrüdeki dişi köpeklerin vaginal sekresyonları analiz edilerek Methyl P-hydroxybenzoate bulunduğunu, hiç çiftleşmemiş dişilerin veya anöstrüde bulunan dişilerin vulvalarına bu bileşiğin çok az miktarları sürülerek erkek köpeklerle bir arada tutulduğunda erkek köpeklerin tahrik olduğunu ve atlama teşebbüsünde bulunduğunu tespit etmişlerdir.

2.2.1.1.Cervico-vaginal mucusun fiziksel ve kimyasal özellikleri

Sığır cervico-vaginal mucusunun fiziksel ve kimyasal özellikleri ve dışarıya çıkış yolu üzerinde birçok kontaminasyonlara maruz kalması feromonların kimyasal yapısını belirlemek için yapılan çalışmaları etkilemekte, hatta bu özellikler dikkate alınmadan yapılan çalışmaların çoğunun sonuçsuz kalmasına neden olmakta, bu yüzden sığır cervico-vaginal mucusunda feromonları araştırırken mucusun fiziksel ve kimyasal özelliklerinin de incelenmesi gerekmektedir (4,43,55,70).

Hayvan östrüde iken östrojen hormonunun etkisi altında kaldığından dişi genital organlarda vasodilatasyon ve vaskülarite artışı meydana gelmektedir (73). Dolayısıyla cervico-vaginal mucusun fiziksel ve kimyasal özelliklerini dolaşımda bulunan östrojen seviyesi etkilemekte olup cervico-vaginal mucus, vestibule'de bulunan major vestibular bezler (Bartholin bezleri), serviks bezleri ve

endoserviks'in epithelial hücreleri tarafından salgılanmakta, mucusun hacmi ve yoğunluğu ovaryum hormonları tarafından kontrol edilmektedir (2,39).

Asotra ve ark.(7)'nin ineklerin östrus siklusu esnasında cervico-vaginal mucustaki değişiklikler üzerine yaptıkları çalışmada, östrus esnasında cervico-vaginal mucusun kuru madde miktarının % 1-2.5 arasında olduğu ve siklus ilerledikçe kuru madde miktarının arttığı, mucusun renginin genellikle renksiz ve saydam olduğu ve östrus siklusu ilerledikçe renklendiği östrusutan 1 gün sonra kirli renksiz, bu renkten sonra kırmızımsı ve daha sonra kirli beyaz olduğu, mucusun pH'sının ise östrusta 8.02-8.19, diöstrusta 7.88-8.13 arasında değiştiği bildirilmektedir.

Hamana ve ark. (40)'nın sialik asit ve siğir servikal mucusunun bazı fiziko-kimyasal özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada, kızgınlıktan iki gün önce ve bir gün sonraki dönemde mucusun renginin genellikle saydam veya sadece beyazımtrak renkte, ve birkaç örnekte de beyaz veya sarı renkte olduğu, cervico-vaginal mucusun su miktarının östrus öncesi kademeli olarak artarken, östrus sonrasında yine kademeli olarak azaldığı, östrusta cervico-vaginal mucusun su miktarının % 98-99 arasında değiştiği ve vizkozitesinin de proöstrus safhasında azalırken bu safhadan sonra derece derece arttığı ve ayrıca östrusta cervico-vaginal mucusun pH'sının da 7.0-9.2 arasında değiştiği vurgulanmaktadır.

Boyland (20), yaptığı araştırmada, östrus esnasında elde ettikleri mucusun kuru madde miktarının % 1-1.5, diöstrus esnasındaki ise % 2-3 arasında olduğunu tespit etmiştir.

Scott Blair ve ark. (73) yaptıkları bir araştırmada, elde ettikleri siğir cervico-vaginal mucusunun kuru madde miktarını

östrusta ortalama % 1.2, diöstrusta ortalama % 2.4 ve gebelikte ise ortalama % 15.9 olarak bulduklarını, mucusun kuru madde ile vizkozitesinin östrusta minimum seviyede bulunduğunu, cervico-vaginal mucusun pH'sının östrus siklusu boyunca 6.5-7.0 arasında seyrederken kızgınlıkta 7.6-8.1 arasında değiştiğini bildirmektedirler. Olds ve VanDemark (65), sığır dişi genital organlarındaki luminal sıvılar üzerine yaptıkları araştırmada, cervico-vaginal mucusun pH'sının ortalama 7.8 olduğunu hesaplamışlardır. Yine Olds ve VanDemark (66) yaptıkları diğer bir çalışmada, sığır cervico-vaginal mucusu pH'sının östrus dışında siklus boyunca 6.5-7.0 arasında, kızgınlıkta ise 7.6-8.1 arasında değiştiğini, kuru madde miktarının kızgınlıkta ortalama % 1.2, diöstrusta ortalama % 2.4 ve gebelikte de % 15.9 olduğunu tespit etmişlerdir. Arya ve Jain (6), Jersey ırkı inekleri iki gruba ayırarak bu gruplarda cervico-vaginal mucusun kuru madde miktarını ve pH'sını 1. grupta sırasıyla ortalama % 1.47 ± 0.076 , ve 8.12 ± 0.106 , 2. grupta ise yine sırasıyla ortalama % 1.88 ± 0.096 ve 7.91 ± 0.118 olarak bulmuşlardır.

Sığır servikal mucusu üzerine Klemm ve ark.(55)'nin yaptıkları çalışmada ise östrusta servikal mucusun pH'sının östrus siklusunun diğer dönemlerine oranla daha çok asidik olduğunu (pH 6.5-6.7), total protein miktarının en az, su miktarının en çok olduğunu, mineral maddelerden Na, Cl ve Mg miktarının östrus esnasında siklusunun diğer dönemlerine oranla artarken, Ca, K ve yağ miktarlarında azalma görüldüğünü ileri sürmektedirler.

Paleologou (68) yaptığı çalışmada, östrusta elde edilen cervico-vaginal mucusun renginin genellikle saydam ve renksiz, vizkozitesinin sulu, kuru madde miktarının ortalama % 1.4, su

miktarının ortalama % 98.6 , pH'sının ortalama 6.7 , Na miktarının ortalama 12.17 mEq/1, K miktarının ortalama 115 mEq/1, Ca miktarının ortalama 9.8 mg/100ml ve Mg miktarının da ortalama 4.2 mg/100 ml olduğunu tespit etmiştir.

2.2.2. Öncü (Priming) Feromonlar

Yaşları yaklaşık 10 aylık olan 15 prepubertal etçi ırk düvenin oronasal bölgesine haftada bir kez feromon ihtiva ettiği bildirilen 3ml boğa idrarı sprey edilirken, 19 düveye de su sprey edildiği, 7 hafta sonra hem idrara hemde suya karşı maruz kalan düveleri rectal muayenede ovaryum aktivitesinin başlayıp başlamadığına göre ayrıldıklarında idrar ile tedavi edilenlerin % 67'sinin su ile tedavi edilenlerin ise % 35'inin puberteye ulaştığı, neticede boğa idrarında feromonların bulunduğu ve düvelerde puberte başlangıcını hızlandırdığı bildirilmektedir (27,47,76).

Roberson ve ark. (71), yaşları ortalama 287 ± 2 gün olan 52 düveyi boğalarla birlikte, yaşları ortalama 286 ± 2 gün olan 51 düveyi de boğalardan ayrı tutarak puberteye ulaşma oranı, puberte yaşı ve ağırlığı yönünden incelediklerinde, iki grup arasındaki farkın önemsiz olduğu, söz konusu özellikler üzerine ergin boğaların etkili olmadığı sonucuna varmışlardır.

Izard (49), yeni doğum yapmış ineklerin ovaryum aktiviteleri üzerine boğaların etkili olduğunu, vasectomize boğalarla günde 3-4 saat birlikte tutulan ineklerin, boğalardan ayrı tutulan ineklere göre daha erken kızgınlık gösterip gebe kaldıklarını ileri sürmektedir. Benzer bir çalışmada (80), doğumu müteakip boğalarla birlikte tutulan ineklerde postpartum anöstrus döneminin kısaldığı (3 gün-53 gün) görülmüş, fakat bu sürenin azalmasında boğa feromonların etkisi olup olmadığının bilinmediği, çünkü postpartum

anöstrus süresinin kısalmasında beslenme, yaş, hastalıklar gibi bir çok faktörün rol oynadığı bildirilmektedir.

Izard ve Vandenberg (48), araştırma grubu olarak 47 ve kontrol grubu olarak da 92 düve alarak ,kızgınlık gösteren ineklerden toplanan idrar ve cervico-vaginal mucusun bir karışımının PGF₂-alpha enjeksiyonundan sonra oronasal yolla araştırma grubundaki düvelere tatbik edildiğini, bu hayvanların kızgınlığın başlamasından 12 saat sonra tohumlandığını, kontrol grubundaki düvelere ise oronasal yolla su uygulandığını ve yine östrusun başlamasından 12 saat sonra tohumlandığını, bu düvelerdeki etkilenme, kontrol grubundaki düvelerin etkilenmesiyle karşılaştırıldığı zaman araştırma grubundakilerin daha erken östrus gösterdikleri ve PGF₂-alpha enjeksiyonunu müteakip daha çok düvenin östruslarının sinkronize edildiği, elde edilen bu bulgulara göre de östrus gösteren ineklerin cervico-vaginal mucus ve idrarının feromonları ihtiva ettiği ve bu feromonların da ovaryum fonksiyonlarını etkilediği belirtilirken yine aynı araştırmada vasectomize boğalarla birlikte tutulan ineklerde servis periyodu süresinin feromonal etkiden dolayı yaklaşık 35 güne kadar kıaldığını bildirmektedirler.

Roberson ve ark. (71), prepubertal kuzular arasına ani olarak koçların katılmasının puberte yaşını etkilemediğini ve sinkronizasyonun koç feromonlarının dişide ovaryum faaliyetleri üzerine etkisinden kaynaklandığını ileri sürmektedirler.

Knight ve Lynch (57) toplam 49 koyundan,14'ünü iki koç ile birlikte üç gün tutarak, 18'ine koçların idrarını günde altı defa olmak üzere üç gün süreyle sprey ederek ve 17'sine ise benzer şekilde su sprey etmek suretiyle yaptıkları çalışmanın sonunda, loperoskopy metoduyla ovulasyon sonuçlarını sırasıyla % 40, 22 ve 0 olarak elde

ettiklerini, aynı şahıslar çalışmalarını devam ettirerek 26 koyunu 4 koçla birlikte 3 gün tuttıklarını, koçların böğürlerinden kırılarak alınmış yünleri 29 koyunun burun çevreleri üzerine 1. ve 2. günler birer dakika tuttıklarını, 3. gün bu yünleri koyun ağlarının çevresine serptiklerini, aynı gruptaki koyunların burun çevreleri üzerine koçların göz çevrelerinden aldıkları kazıntıları ovalıyarak sürdüklerini, 3. gruptaki 30 koyunu ise koçlardan ayrı tuttıklarını, 3 günlük uygulama sonucunda ovulasyon oranını gruplara göre sırasıyla % 50, 48 ve 7 olarak bulduklarını bu çalışmalara göre koçların yünlerinde ve göz çevrelerindeki kirlerde bulunan feromonların çiftleşme mevsiminin erken devrelerinde ovulasyon amacıyla koyunları uyarmak için kullanılabileceğini, yine bu sonuçlara göre, koç idrarında bir miktar uyarıcı edici feromon bulunmasına rağmen bu uyarıcı feromonların asıl kaynağının idrar olmadığı vurgulanmaktadır.

Dorset ırkı koyunlar üzerinde yapılan bir çalışmada (56), Dorset koçlarının göz çevresinden ve yapağısından hazırlanan preparatlar koyunların ağız ve burun delikleri civarına uygulandığında, bu hayvanlarda ovulasyonun uyarıldığını yani erkek feromonlarını içeren koç preparatlarının koyunlara uygulanmasıyla özellikle anöstrusta bulunan dişilerin ovaryum aktivitelerinin uyarıldığını ve bu uyarılmada koklamayla alınan feromonların tek başına bile etkili olduğu iddia edilmektedir.

Knight ve ark. (58) çiftleşme mevsimi öncesinde henüz ovulasyon oluşturmamış koyunların ağız ve burun çevresine Dorset koçu yapağını ovalıyarak % 40-53'ünün 4 gün içerisinde ovulasyon oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

Claus ve ark. (26) mevsime bağlı anöstrusta bulunan keçilerde erkek kokusunun ovulasyonu uyarması ve LH salgısı üzerine etkisini

araştırmak için yaptıkları çalışmada, teke kılının feromonları kapsadığını ve bunların da keçilerde siklik aktivitenin yeniden başlamasını uyardığını, keçi kılının ekstraksiyonu sonucu 4-ethyl-dallı yağ asiti tespit ettiklerini ve bulunan 4-ethyloctanoic acid'in teke kokusu ve teke etkisinden sorumlu feromon olduğunu belirtmişlerdir.

Sasada ve ark. (72) yaptıkları çalıřmada, 8 ergin Saanen ve Yerli Japon tekelerinin bař ve boyun kıllarından izole edilen kokunun yapısını 4 Ethyl-dallı yaė asidi olarak belirtirken, bu yaė asidinin sentetik versiyonunu bir sopaya sūrulerek oērūsta bulunan keçilere yaklařtırdıklarında, keçilerin bu madde ile kaplı sopayı kokladıkları gōzlenirken, bařka bir madde ile kaplı olana karřı hiç bir reaksiyon gōstermediklerini, ayrıca kastre edilmiř erkeėe bu sentetik materyal sūrūldūėunde kızgın diřilerin ilgi gōsterdiėi de gōzlenmiřtir.

Domuzların testisinde sentez edilen 5 alpha-androst-16-en-3-one ve 5 alpha-androst-16-en-3 alpha-ol steroidleri domuzların tūkrūkleriyle salgılanan feromonlar olup diři domuzların ovaryum faaliyetleri ūzerine etkili olduėu belirtilmektedir. (27,74).

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Elazığ ilinin kenar mahalleleri ve yakın köylerinde yetiştirilen yaşları 3-11 arasında değişen, Holştayn, Montofon, Simental ırklarıyla bu ırkların melezlerinden oluşan ve kızgınlık gösteren 197 inekten 104 ineğin cervico-vaginal mucusu materyal olarak kullanılmıştır. Kızgınlık gösteren 93 inekten ise cervico-vaginal mucus rectal masaj yöntemiyle elde edilememiştir.

3.1. Kızgınlığın teşhisi

İneklerin kızgınlıkları ve kızgınlığın hangi safhasında olduğu havyan sahibinden alınan bilgilerin yanında mutad kızgınlık belirtilerine bakılarak belirlendi. İnekte kızgınlık belirtilerin kısa sürmesi, değişken olması bazılarında da gizli seyretmesi kimi zamanlar problem teşkil etmiştir.

İneklerin sinirli ve huzursuz olması, böğürmesi, diğer ineklerin üzerine atlaması, diğer inekler kendisinin üzerine atladığı zaman sakin durup kaçmaması, kolay heyecanlanması, vulvanın nemli hafif ödemli olması vaginanın nemli yapışkan, parlak ve hiperemik olması, cervix ve vaginadan yumurta akı kıvamında saydam, müköz bir akıntının gelmesi, serviks'in açık olması, vulva, clitoris ve sağrının iki tarafına maniplasyon yapıldığında hayvanın bundan hoşlanıp kaçmaması, özellikle rectal muayenede cervix ve vagina üzerine cranialden caudale doğru masaj yapıldığında akıntının gelmesi ovaryum üzerinde Graaf follikülü'nün bulunması kızgınlığın teşhisinde yararlanılan belli başlı belirtiler olmuştur. Bazı ineklerde akıntının içerisinde iplik şeklinde kan lekeleri rastlanması kızgınlığın bir kaç gün önce bittiğinin belirtisi olmuştur.

3.2. Cervico-vaginal mucusun toplanması

Kızgınlığın başında 43, ortasında 41 ve sonunda 20 ineğin cervico-vaginal mucusu rectal masaj yoluyla steril rodajlı cam erlenmayerlere alındı. İneğin kızgınlığı teşhis edildikten sonra eldiven geçirilmiş sağ elle rectuma girilip rectum boşaltıldıktan sonra vulva ve çevresi kağıt havlu veya pamuk yardımıyla temizlendi. Serviks uterusun cranialinden başlamak suretiyle cranialden caudale doğru masajlar yapılırken bir yardımcı tarafından tutulan rodajlı 50 cc'lik erlenmayerler içerisine serviks ve vaginadan gelen akıntı alınarak ağızları kapatıldı.

Kızgınlığın farklı devrelerinde toplanan örnekler boğa denemesine tabii tutulduktan sonra fiziksel özellikleri belirlenerek kaydedildi. Daha sonra kızgın ineklerden elde edilen cervico-vaginal mucuslar kimyasal analizlere başlanıncaya kadar -15 ile -20 ° C arasında muhafaza edildi.

3.3. Örneklerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin tayini

3.3.1. Renk tayini

Cervico-vaginal mucusun rengi iki kişi tarafından gözle muayene edilerek saydam ve renksiz, kirli renksiz, sarımsı, beyaz, kırmızımsı diye sınıflandırıldı.

3.3.2. pH tayini

Cervico-vaginal mucusun PH'sı Beckman Zeromatic SS-3 Model pH metre ile ölçüldü. pH metre, pH'sı bilinen alkali standard solüsyon ile ayarlandıktan sonra aletin elektrodunun cervico-vaginal mucus içerisine daldırılmasıyla cervico-vaginal mucusun pH'sı aletin göstergesinden okunarak kaydedildi.

3.3.3. Vizkozite tayini

Cervico-vaginal mucusun vizkozitesinin tayini yine gözle mucusun akışkanlığına göre "0"dan başlanarak "4"e kadar beş sınıf altında sınıflandırıldı. Şöyle ki;

"0" çok sulu ve akışkan,

"1" çok az yoğun,

"2" orta derecede yoğun ve yapışkan,

"3" katı kıvamlı yapışkan,

"4" oldukça kalın, kuru ve jelöz yapıdaki mucuslar

3.3.4. Su ve kuru madde miktarı tayini

Su ve kuru madde miktarı 1 gr Cervico-vaginal mucus 48 saat süreyle 110 °C'lık etüvde bekletildikten sonra oluşan ağırlık azalması ve kalan kısmın tartılmasıyla tespit edildi.

3.3.5. Mineral madde tayini

Cervico-vaginal mucusun içerdiği K, Na, Ca ve Mg miktarlarını tayin etmek için önce örnekler derişik H₂SO₄ ile çözüldü. Daha sonra Atomik Absorbsiyon ve Atomik Emisyon spektroskopisi ile bu minerallerin miktarları tayin edildi.

3.4. Boğa Denemesi

Boğa denemesi, etrafında dişi materyal bulunmayan, kısmi şekilde zaptı rapt altında bulunan boğalar kullanılarak analizlere başlamadan ve analiz sonrasında elde edilen ekstraktlar için ayrı ayrı yapıldı. Boğa denemesinde, örnekler 30 ml distile su ile sulandırılıp vücut sıcaklığına kadar ısıtılarak rastgele bir şekilde üç ayrı boğanın önüne geniş bir kab içerisinde sunuldu. Boğaların koklama, yalama, çeneyi uzatma, flehmen davranışları ve penislerindeki ereksiyon oluşumlarına bakılarak sonuçlar kaydedildi.

3.5. Örneklerin kimyasal analizi

3.5.1. Kimyasal yapı tayininde kullanılan spektroskopik cihazlar

F.Ü. Fen Edebiyat Fak. Kimya Bölümünde bulunan Seconom 1000 Ultraviyole-Visible spektrometresi ile Pye Unicon Sp 3-100 model Infrared spektrometresi kullanılarak spektrumları alındı.

¹H-NMR spektrumları, İnönü Üniv. Fen Edebiyat Fak. Kimya Bölümünde bulunan 60 MHz Varian (EM-360) spektrometre ve Atatürk. Üniv. Fen Edebiyat Fak. Kimya Bölümünde bulunan 200 MHz Binker spektrometre kullanılarak alındı.

Ankara, Emniyet Genel Müdürlüğü Polis Kriminoloji laboratuvarında bulunan Gaz/Kütle spektrometrisinde 30 M 0.32 MM ID DB-5 Kapillar Kolon kullanılarak Gaz/Kütle spektrumları alındı ve sonuçlar cihazda otomatik olarak değerlendirildi.

3.5.2. Cervico-vaginal mucus ekstraksiyonu

Başlangıçta hangi metodun etkili olacağı bilinmediği için örnekleri saflaştırmak maksadıyla bir çok metot denendi. Bu amaçla değişik organik çözücü ve çözücü sistemleri kullanıldı. Her ekstraksiyon işlemi, kızgınlığın başında, ortasında ve sonunda elde edilen cervico-vaginal mucus örneklerine göre ayrı ayrı yapıldı. Bu işlemler için kimyasal madde olarak Kloroform, Metanol, Dietileter, Slica gel, fosfat ve sellüloz tüp kullanıldı. Kısmi saflaştırma sonucu elde edilen her ekstrakt'ın organik çözücüleri 10 veya 35 °C'de döner buharlaştırıcı veya adi destilasyon ile buharlaştırılarak uzaklaştırıldı.

Organik çözücüler uzaklaştırıldıktan sonra arta kalan tortu yeteri kadar (yaklaşık 30ml) su ile sulandırılarak boğa denemesine tabi tutuldu. Daha sonra boğalardan olumlu reaksiyon alınan örneklerin

Ultraviöle-Visible (UV), Infrared (IR), Nükleer Magnetik Rezonans ($^1\text{H-NMR}$) ve Gaz/Kütle spektrumları alındı.

3.5.2.1. Kloroform / Metanol ile ekstraksiyon işlemi

Mucustaki organik maddelerin ekstraksiyonu için önce 4 kısım kloroform ve 1 kısım metanol karışımı kullanıldı. Söz konusu Kloroform + Metanol karışımından 4 kısım alınarak cervico-vaginal mucus ile karıştırıldıktan sonra fazların oluşması için 2 saat ayırma hunisinde bekletildi. Daha sonra meydana gelen fazlar ayırma hunisinden ayrı ayrı alınarak her birisinin çözücüleri döner buharlaştırıcıda 35°C 'de uzaklaştırıldı. Ekstrakt içerisinde var olduğu düşünülen uçucu maddelerin spektroskopik analiz sırasında buharlaşıp kaybolacağı düşüncesiyle analiz öncesi bu ekstraktlar boğa denemesine tabii tutuldu. Elde edilen ekstraktlar da ayrı ayrı boğa denemesine tabii tutulduktan sonra spektroskopik analizleri için UV, IR, $^1\text{H-NMR}$ spektrumları alındı. Sonuçları kaydedildi.

3.5.2.2. Dializ ile ekstraksiyon işlemi

İnce tabaka kromatografisi ile belirlenen çözücü sistemi (kloroform/metanol, 1/1) ile 5 ml cervico-vaginal mucus çözümlü selüloz tüplere koyularak $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat süreyle 20 ml distile su içerisinde dializ edildi. Dializ süresince her 6 saatte bir distile suyu değiştirildi. Dializ sonrası selüloz tüp içinde kalan kısmın organik çözücüsü 35°C 'de döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldıktan sonra boğa denemesine tabii tutularak spektroskopik analizleri yapıldı. Sonuçları kaydedildi.

3.5.2.3. Kolon Kromatografisi (Slica gel'le doldurulmuş)

Ekstratları saflaştırmak amacıyla ince tabaka ve kolon kromatografisi kullanıldı. İnce tabaka kromatografisi ile en uygun

çözücü sisteminin 1/1 oranında kloroform/metanol olduğu bulundu. Kolona adsorbent (emici niteliğe sahip) olarak silica gel, kloroform / metanol (1/1) çözücü sistemi kullanılarak dolduruldu ve ekstrakt kolona enjekte edildi. Sonra da fosfat tamponu kullanılarak elüe edildi. Su trompu ile organik çözücüleri uzaklaştırıldıktan sonra kalıntıların spektroskopik analizleri yapılarak boğa denemesine tabii tutuldu ve sonuçları kaydedildi.

3.5.2.4. Dietileter ile Ekstraksiyon işlemi

Cervico-vaginal mucus'a 1/1 oranında distile su ilave edildi. Mucustaki organik maddelerin ekstraksiyonu için sulu faz 200 ml dietileter ile ekstrakte edildi. Bu işlem 3 defa tekrarlandı. Organik materyal ihtiva eden eter fazı $MgSO_4$ ile kurutuldu. Çözücüler 10-15 °C'de distilasyon ve yine 10-150°C'de döner buharlaştırıcı ile buharlaştırılarak uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstratlar boğa denemesine tabii tutulduktan sonra spektroskopik analizleri (U.V, IR, 1H -NMR ve Gaz/kütle) yapıldı. Sonuçları kaydedildi.

3.6. İstatistikî Analizler

İstatistikî olarak F değeri ve Varyans analizi Feldmen ve Gagon (33)'un belirttikleri metodlarla, Machintosh bilgisayar Statwiev™ programı ile yapıldı.

4.BULGULAR

Kızgınlığın başında 43, ortasında 41 ve sonunda 20 ineğin cervico-vaginal mucusları renk yönünden incelenerek elde edilen bulgular Tablo 1 'de özetlenmiştir.

Tablo-1 : Kızgınlığın farklı devrelerine göre elde edilen cervico-vaginal mucusların belirlenen renkleri

Renk	Kızgınlığın Başı		Kızgınlığın Ortası		Kızgınlığın Sonu		TOPLAM	
	Sayı	n=43 (%)	Sayı	n=41 (%)	Sayı	n=20 (%)	Sayı	n=104 (%)
Saydam ve Renksiz	38	88.37	31	75.60	13	65.00	82	78.84
Kirli Renksiz	3	6.97	--	--	--	--	3	2.88
Sarımsı	2	4.65	3	7.31	3	15.00	8	7.69
Beyaz	--	--	7	17.07	--	--	7	6.73
Kırmızımsı	--	--	--	--	4	20.00	4	3.84

Kızgınlığın başında elde edilen 43 örnekten % 88.37' sının saydam ve renksiz, % 6.97'sinin kirli renksiz ve % 4.65 'inin sarımsı renkte, kızgınlığın ortasında elde edilen 41 örnekten % 75.60'ının saydam ve renksiz, % 7.31'inin sarımsı ve % 17.07'sinin beyaz renkte ve kızgınlığın sonunda elde edilen 20 örnekten % 65'inin saydam ve renksiz, % 15' inin sarımsı ve % 20'sinin kırmızımsı renkte olduğu belirlenmiştir.

İneklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen toplam 104 örneğin % 78.84 'ünün saydam ve renksiz, % 2.88' inin kirli renksiz, % 7.69'unun sarımsı, % 6.73'ünün beyaz ve % 3.84 'ünün kırmızımsı renkte olduğu tesbit edilirken, kızgınlığın başında elde edilen örneklerin hiç birinde beyaz ve kırmızımsı renge, kızgınlığın ortasında elde edilen örneklerden ise kirli renksiz ve kırmızımsı

renge ve kızgınlığın sonunda elde edilenlerde de kirli renksiz ve beyaz renge rastlanmamıştır.

Sığır Cervico-vaginal mucus örnekleri kızgınlığın başında, ortasında ve sonunda toplanarak vizkozite, pH gibi özelliklerinden başka içerdiği kuru madde (%), su (%), Kalsiyum (mg/100ml), Sodyum (mEq/1) Potasyum (mEq/1) ve Magnezyum (mg/100ml) miktarları araştırılmış olup elde edilen en az, en çok ve ortalama değerleri Tablo 2 'de özetlenmiştir.

Kızgınlığın başında 43 mucus örneği toplanarak adı geçen özellikler yönünden değerlendirildiğinde, toplanan numunelerde 5 sınıf altında değerlendirilen vizkozite 0-3 arasında değişmiş ve ortalama 2.14 ± 0.11 , pH 6.90-8.20 arasında ortalama 7.29 ± 0.05 , kuru madde miktarı % 0.82-% 2.48 arasında ortalama 1.54 ± 0.06 , su miktarı % 97.52-% 99.18 arasında ortalama 98.46 ± 0.06 , kalsiyum miktarı 9.4-10.8 mg/100ml arasında ortalama 9.89 ± 0.05 mg/100 ml, sodyum miktarı 11.25-12.80 mEq/l arasında ortalama 11.91 ± 0.06 mEq/1, potasyum miktarı 110-136 mEq/l arasında ortalama 119.62 ± 0.88 mEq/1 ve magnezyum miktarı da 3.25-4.21 mg/100 ml arasında ortalama 3.94 ± 0.04 mg/100ml olarak tespit edilmiştir.

Kızgınlığın ortasında 41 mucus örneği toplanmış olup sözü edilen özellikler yönünden incelendiğinde, toplanan numunelerde vizkozite 0-4 arasında değişmiş ortalama 2.34 ± 0.15 , pH 6.70-9.20 arasında ortalama 7.53 ± 0.10 , kuru madde miktarı % 1.02- % 5.02 arasında ortalama 1.59 ± 0.12 , su miktarı % 94.08- % 98.98 arasında ortalama 98.39 ± 0.13 , kalsiyum miktarı 9.3-11 mg/100ml arasında ortalama 9.87 ± 0.06 mg/100ml, sodyum miktarı 10.51-13.00 mEq/1 arasında ortalama 12.20 ± 0.09 mEq/1, potasyum

Tablo 2 : Kızgınlığın farklı dönemlerinde elde edilen cervico-vajinal mucusun vizkozite, pH, kuru madde su, Ca, Na, K, Mg 'un en az, en çok ve ortalama değerleri.

	Kızgınlığın Başı n=43			Kızgınlığın Ortaarı n=41			Kızgınlığın Sonu n=20			TOPLAM n=104			F Değeri
	En az	En çok	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	En az	En çok	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	En az	En çok	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	En az	En çok	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	
Vizkozite	0.00	3.00	2.14 ± 0.11	0.00	4.00	2.34 ± 0.15	1.00	4.00	2.90 ± 0.18	0.00	4.00	2.37 ± 0.09	0.41
pH	6.90	8.20	7.29 ± 0.05	6.70	9.20	7.53 ± 0.10	6.90	9.20	7.84 ± 0.16	6.70	9.20	7.46 ± 0.06	2.55
Kuru Madde (%)	0.82	2.48	1.54 ± 0.06	1.02	5.02	1.59 ± 0.12	1.12	3.12	1.87 ± 0.13	0.82	5.02	1.62 ± 0.06	0.11
Su Miktarı (%)	97.52	99.18	98.46 ± 0.06	94.08	98.98	98.39 ± 0.13	96.88	98.88	98.13 ± 0.13	94.08	99.18	98.37 ± 0.07	0.18
Ca (mg/100ml)	9.40	10.80	9.89 ± 0.05	9.30	11.00	9.87 ± 0.06	9.60	12.00	10.79 ± 0.16	9.30	12.00	10.06 ± 0.06	1.01
Na (mEq/l)	11.25	12.80	11.91 ± 0.06	10.51	13.00	12.20 ± 0.09	11.58	13.10	12.38 ± 0.10	10.51	13.10	12.11 ± 0.05	3.05
K (mEq/l)	110.00	136.00	119.62 ± 0.88	110.00	160.00	117.08 ± 1.32	112.60	126.70	116.58 ± 0.68	110.00	160.00	118.04 ± 0.66	3.22
Mg (mg/100ml)	3.25	4.21	3.94 ± 0.04	2.60	4.30	3.96 ± 0.07	3.66	4.30	3.97 ± 0.04	2.60	4.30	3.96 ± 0.03	0.82

miktarı 110-160 mEq/1 arasında ortalama 117.08 ± 1.32 mEq/1 ve magnezyum miktarı da 2.6-4.3 mg/100 ml arasında ortalama 3.96 ± 0.07 mg/100ml olarak tespit edilmiştir.

Kızgınlığın sonunda 20 mucus örneği toplanarak aynı özellikler yönünden incelendiğinde vizkozite 1-4 arasında değişmiş ortalama 2.9 ± 0.18 , pH, 6.90-9.20 arasında ortalama 7.84 ± 0.16 , kuru madde miktarı % 1.12-% 3.12 arasında ortalama % 1.87 ± 0.13 , su miktarı % 96.88-% 98.88 arasında ortalama % 98.13 ± 0.13 , Kalsiyum miktarı 9.6-12 mg/100ml arasında ortalama 10.79 ± 0.16 mg/100 ml, Sodyum miktarı 11.58-13.10 mEq/1 arasında ortalama 12.38 ± 0.10 mEq/1, Potasyum miktarı 112.60-126.70 mEq/1 arasında ortalama 116.58 ± 0.68 mEq/1 ve magnezyum miktarı da 3.66-4.30 mg/100 ml arasında ortalama 3.97 ± 0.04 mg/100 ml olarak belirlenmiştir.

İneklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen toplam 104 cervico-vaginal mucus örneği belirtilen özellikler yönünden ele alındığında vizkozite 0-4 arasında değişmiş ortalama 2.37 ± 0.09 , pH 6.70-9.20 arasında ortalama 7.46 ± 0.06 , Kuru madde miktarı % 0.82-% 5.02 arasında ortalama % 1.62 ± 0.06 , su miktarı % 94.08-% 99.18 arasında ortalama % 98.37 ± 0.07 , Kalsiyum miktarı 9.30-12.00 mg/100ml arasında ortalama 10.06 ± 0.06 mg/100ml, Sodyum miktarı 10.51-13.10 mEq/1 arasında ortalama 12.11 ± 0.05 mEq/1, Potasyum miktarı 110-160 mEq/1 arasında ortalama 118.04 ± 0.66 mEq/1 ve Magnezyum miktarı da 2.60-4.30 mg/100 ml ortalama 3.96 ± 0.03 mg/100 ml olarak bulunmuştur.

Elde edilen bu verilere göre kızgınlığın farklı üç devresinde toplanan örneklerdeki vizkozite, pH, kuru madde (%), su (%), Ca (mg/100ml), Na (mEq/1), K (mEq/1) ve Mg (mg/100ml) miktarları

aralarında istatistiki olarak önemli bir fark ($P>0.05$) bulunmadığı tespit edilmiştir.

Feromonları saflaştırmak için yapılan organik analizlere başlamadan önce kızgınlıkta elde ettiğimiz cervico-vaginal mucuslar boğa denemesine tabi tutuldu. Üç yaşlarında üç farklı boğanın, cervico-vaginal mucus örneklerine karşı gösterdikleri davranışlar hem kızgınlığın farklı dönemlerine göre hemde tüm östrus dönemine göre incelenmiş ve Tablo 3'de her boğa için ve toplam üç boğa için yüzde değerler olarak belirtilmiştir.

Kızgınlık gösteren ineklerden kızgınlığın başında elde edilen toplam 43 mucus örneği boğa denemesine tabi tutulduğunda 3 boğada koklama, çeneyi uzatma, yalama, flehmen ve penis ereksiyonu tepkileri sırasıyla ortalama % 93.01, 44.18, 8.52, 77.51, 6.97 olduğu belirlenmiştir.

Kızgınlık gösteren ineklerden kızgınlığın ortasında elde edilen toplam 41 mucus örneği boğa denemesine tabi tutulduğunda 3 boğada koklama, çeneyi uzatma, yalama, flehmen ve penis ereksiyonu tepkileri sırasıyla ortalama % 92.68, 60.16, 3.24, 57.71, 2.43 olduğu gözlenmiştir.

Kızgınlık gösteren ineklerden kızgınlığın sonunda elde edilen toplam 20 mucus örneği boğa denemesine tabi tutulduğunda 3 boğada koklama, çeneyi uzatma, yalama, flehmen ve penis ereksiyonu tepkileri sırasıyla ortalama % 85.00, 48.33, 11.66, 70.00, 0.00 olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3 : Kızgınlığın farklı devrelerinde elde edilen cervico-vaginal mucusların organik analizlere başlamadan önce yapılan boğa denemesinde boğaların göstergikleri müspet veya olumlu davranışların yüzde değerleri.

Boğa Davranışları (%)	Kızgınlığın Başı n=43			Kızgınlığın Ortası n=41			Kızgınlığın Sonu n=20			TOPLAM n=104						
	1.Boğa	2.Boğa	3.Boğa	Ortalama	1.Boğa	2.Boğa	3.Boğa	Ortalama	1.Boğa	2.Boğa	3.Boğa	Ortalama				
Koklama	95.34	97.67	86.04	93.01	95.12	95.12	87.80	92.68	80.00	90.00	85.00	85.00	92.30	95.19	86.53	91.34
Çeneyi Uzatma	46.51	53.48	32.55	44.18	60.97	70.73	48.78	60.16	50.00	45.00	50.00	48.33	52.88	58.65	51.92	54.48
Yalama	9.30	6.97	9.30	8.52	4.87	2.43	2.43	3.24	15.00	10.00	10.00	11.66	8.65	5.76	6.73	7.04
Flehmen	81.39	83.72	67.44	77.51	63.41	56.09	53.65	57.71	70.00	75.00	65.00	70.00	72.11	71.11	61.53	68.25
Ereksiyon	9.3	6.97	4.65	6.97	2.43	2.43	2.43	2.43	0.00	0.00	0.00	0.00	4.60	3.80	2.88	3.82

Sonuç olarak kızgınlık gösteren 104 inekten tüm kızgınlık süresince elde edilen mucus örnekleri boğa denemesine tutulduğunda 3 boğada koklama, çeneyi uzatma, yalama, flehmen ve penis ereksiyonu tepkileri sırasıyla ortalama % 91.34, 54.48, 7.04, 68.25, 3.82 olarak bulunmuştur.

Kızgınlığın farklı dönemlerine göre cervico-vaginal mucusda feromon niteliğindeki organik maddeleri araştırmak amacıyla Kloroform/Metanol (4/1), Kolon Kromatografisi(Slica gel'le doldurulmuş) ve Dializ ile ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen ekstraktlar boğa denemesine tabii tutulduğunda, boğalar koklamanın dışında seksüel belirtilerin hiç birini göstermemiş, hatta koklama davranışından hemen sonra ilgisini başka yerlere yöneltmiştir. Bununla birlikte elde edilen ekstraktların Infrared spektrumlarında $2980-2900\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde bulunması gereken organik maddelerin "-C-H-" gerilme titreşimi'ni gösteren piklerinin bulunmaması da bu ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen ekstraktlarda hiç bir organik maddenin bulunmadığını doğrulamaktadır.

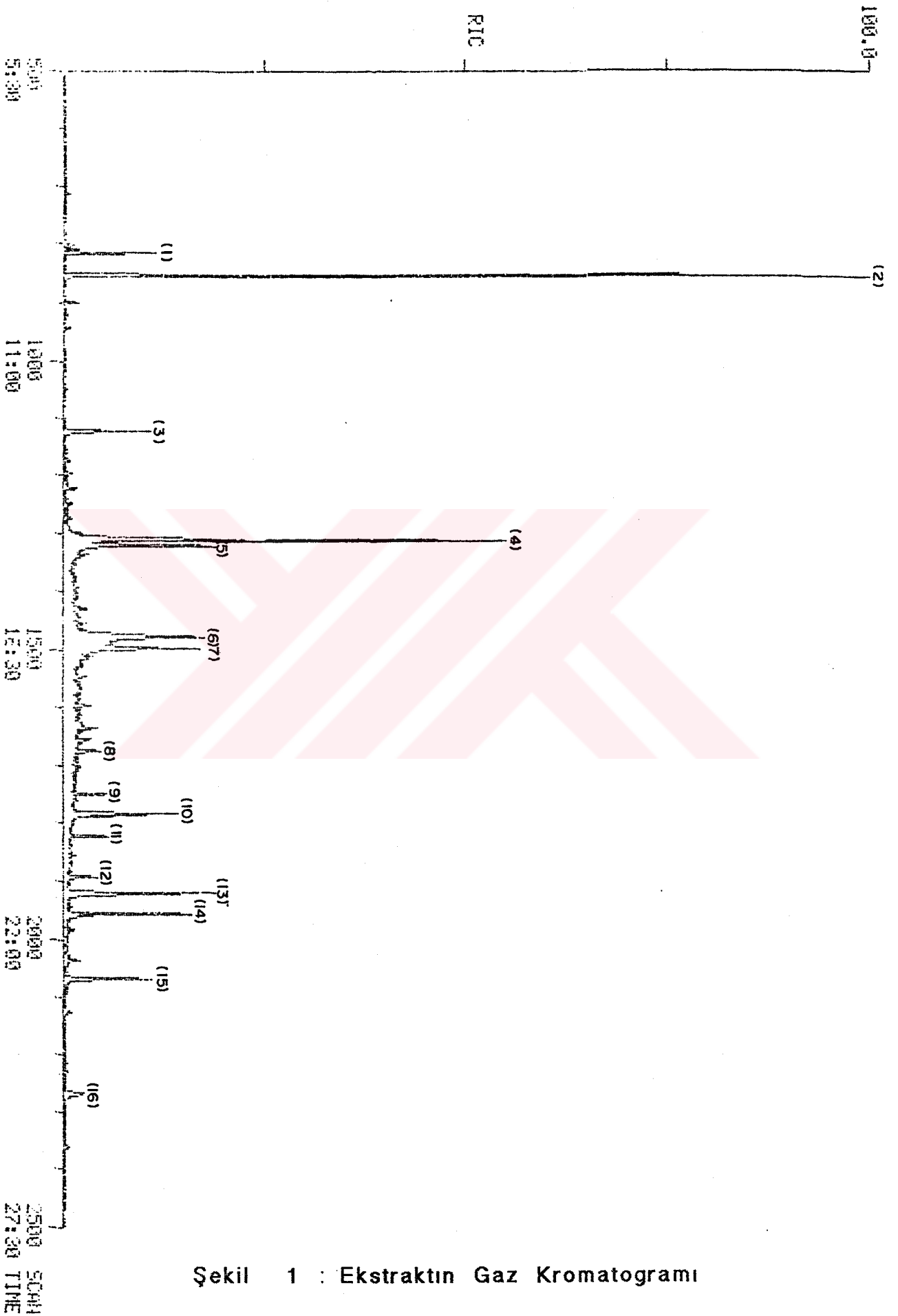
Sığır cervico-vaginal mucusunda feromon niteliğindeki organik maddeleri araştırmak amacıyla dietileter organik çözücüsü ile kızgınlığın başında, ortasında, sonunda toplanan her grup için ayrı ayrı ekstraksiyonlar yapıldı. Her grup için elde edilen ekstraktlar analiz öncesinde olduğu gibi yine ayrı ayrı boğa denemesine tabii tutuldu. Denemede kullanılan her üç boğanın da ekstraktların bulunduğu kaba doğru yaklaşarak kabı kokladıktan sonra çenesini uzatarak kabı yaladı, ardından flehmen davranışını meydana getirerek bir kaç saniye bu pozisyonda kaldıktan sonra seksüel olarak tahrik olduğu ve kısmen penisin erekte olmasıyla birlikte

ekstraktların bulunduğu kaba karşı atlama davranışı gösterdiği tespit edildi.

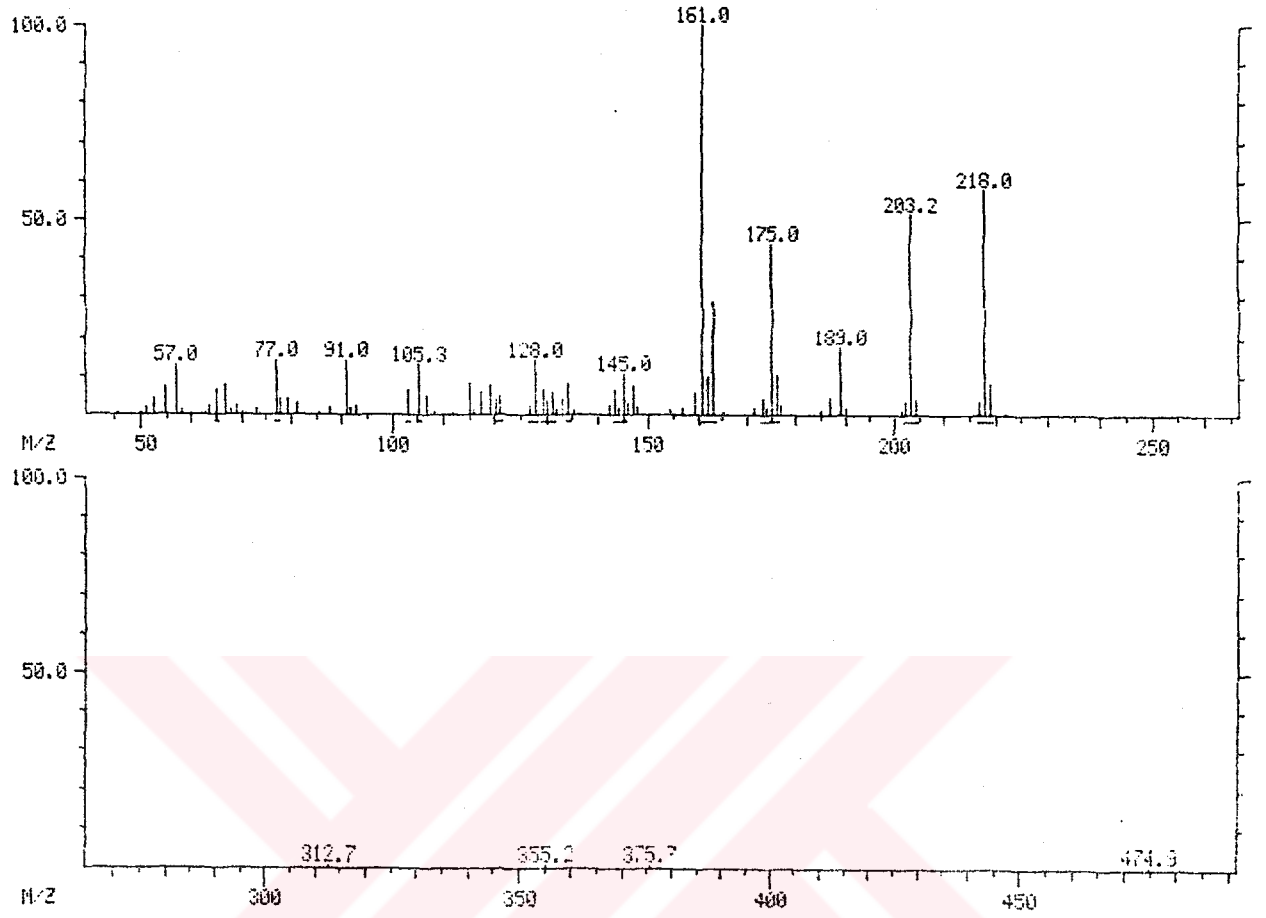
Boğaları seksüel olarak etkileyen ekstraktların yine her üç gruba göre ayrı ayrı $^1\text{H-NMR}$ ve gaz-kütle spektrumları alındığında her üç grupta bulunan organik maddelerin birbirinin aynısı olduğu belirlendi. Gaz/kütle spektrometrisiyle alınan ekstraktın gaz kromatogram'ına göre ekstraktta 16 adet organik maddenin var olduğu görüldü (şekil 1).

Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 1 No'lu bileşiğin gaz/kütle spektrumuna göre (şekil 2), kütle sayıları(kütle/yük : m/z) 218(Moleküler ağırlık : $M+$), 203, 189, 175, 161(temel pik), 145, 128, 105, 91, 77, 57 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 0.9 olarak tesbit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler kullanılarak önerilen bileşiğin formülüne göre (şekil 2-A) bu bileşiğin Dialkil Substitüe Benzen fonksiyonel grubundan olduğu belirlendi.

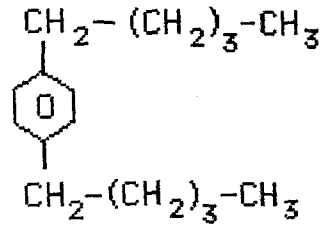
Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 2 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 3), kütle sayıları(m/z) 220 ($M+$), 205 (temel pik), 177, 160.9, 145, 133, 105.3, 91, 67.1, 57 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 12.83 olarak tesbit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler kullanılarak önerilen bileşiğin formülüne göre (şekil 3-A) bu bileşiğin Tri Sübstitüe Fenol fonksiyonel grubundan olduğu belirlendi.



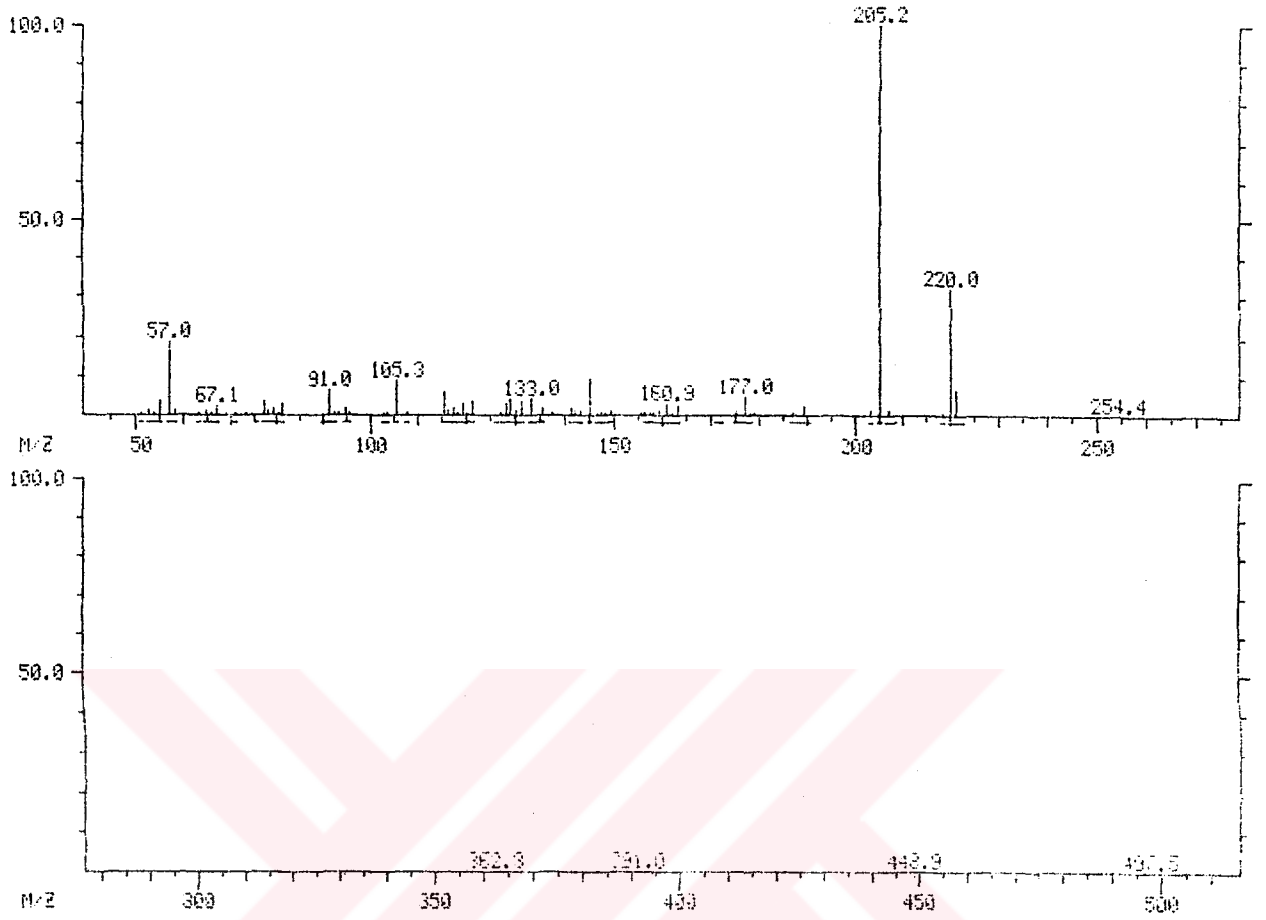
Şekil 1 : Ekstraktın Gaz Kromatogramı



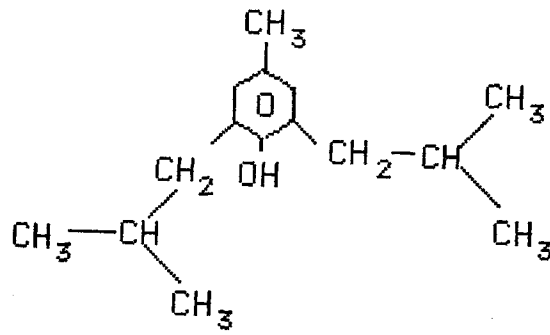
Şekil 2 : 1 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



Şekil 2-A : 1 No'lu bileşiğin önerilen formülü



Şekil 3 : 2 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



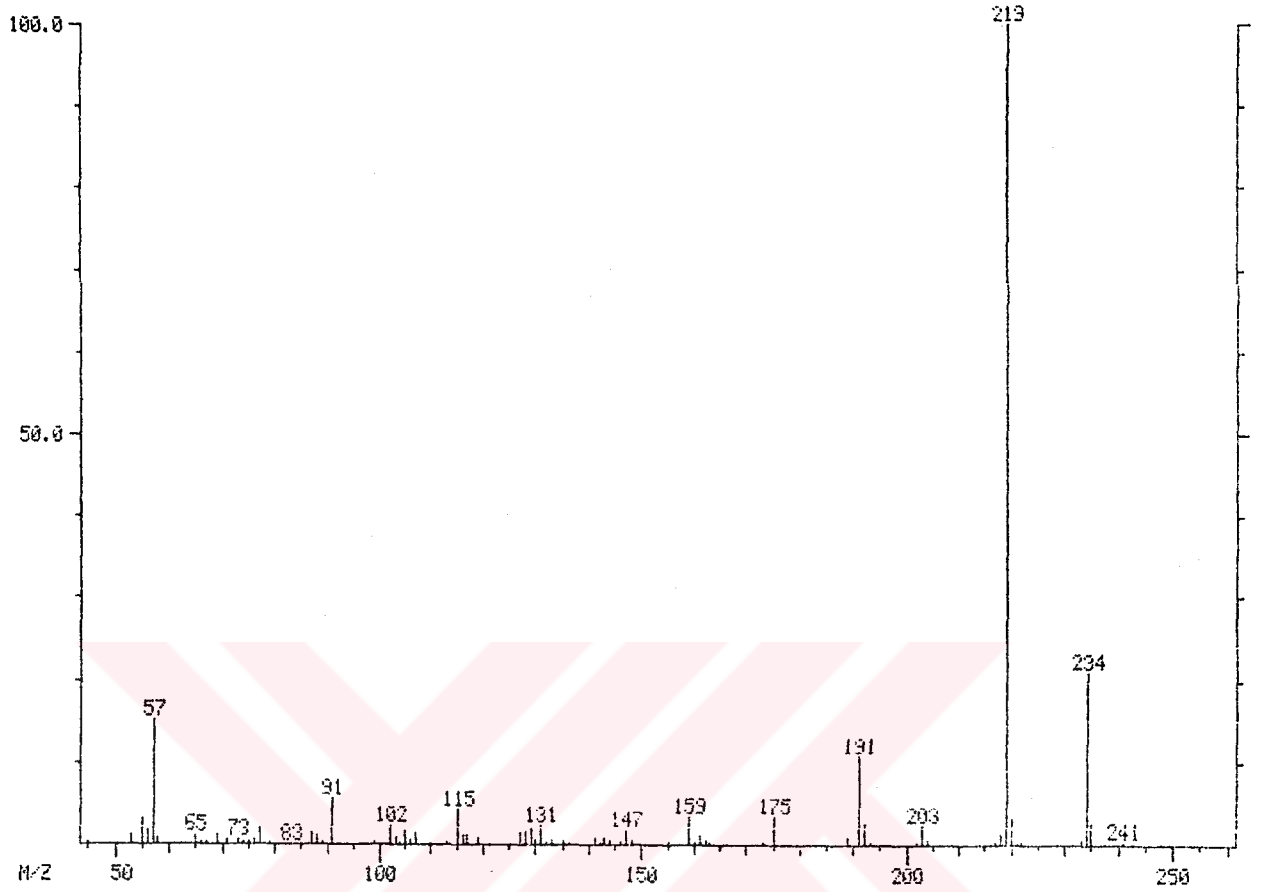
Şekil 3-A : 2 No'lu bileşiğin önerilen formülü

Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 3 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 4), kütle sayıları (m/z) 234 (M+) 219 (temel pik), 203, 191, 175, 159, 147, 131, 115, 102, 91, 77, 65, 57 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 1.08 olarak tesbit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler kullanılarak önerilen bileşiğin formülüne göre (şekil 4-A) bu bileşiğin Tri Sübstitüe Fenol fonksiyonel grubundan olduğu belirlendi.

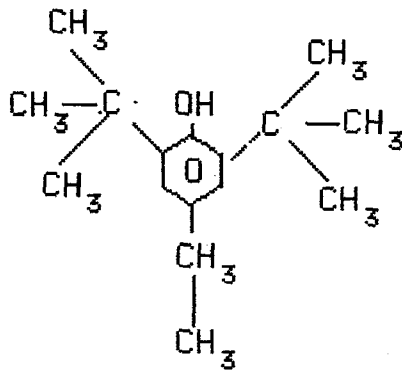
Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 4 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 5), kütle sayıları (m/z) 223 (M+), 205, 177, 160, 149 (temel pik), 121, 104, 92, 77, 65, 57 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 20.40 olarak tesbit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler kullanılarak önerilen bileşiğin formülüne göre (şekil 5-A) bu bileşiğin Ester fonksiyonel grubundan olduğu belirlendi.

Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 5 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 6), kütle sayıları (m/z) .256 (M+), 227, 213, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 115, 97, 83, 73,69, 60 (temel pik), 57, 45 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 5.83 olarak tesbit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler kullanılarak önerilen bileşiğin formülüne göre (şekil 6-A) bu bileşiğin Ester fonksiyonel grubundan olduğu belirlendi.

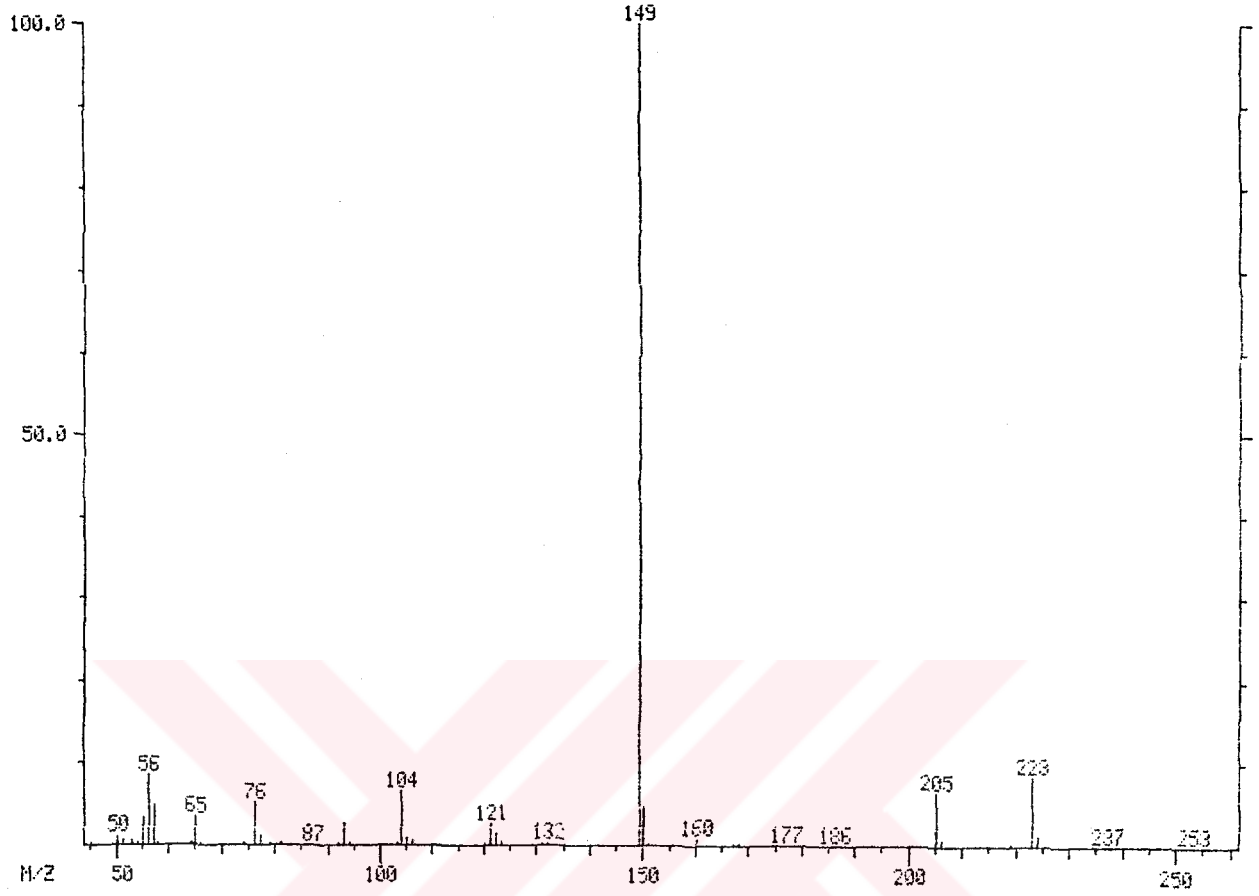
Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 6 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 7), kütle sayıları (m/z) 295 (M+), 282, 264, 222, 209, 189, 180, 166, 152, 139, 123, 111, 96, 83, 69, 55 (temel pik), 45 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 6.45 olarak tesbit edilmesine rağmen elimizdeki bilgiler bu bileşiğin yapısı hakkında bir förmül önerebilmemiz için yetersiz kalmıştır.



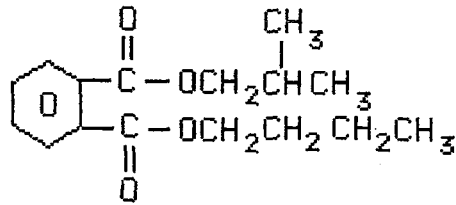
Şekil 4 : 3 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



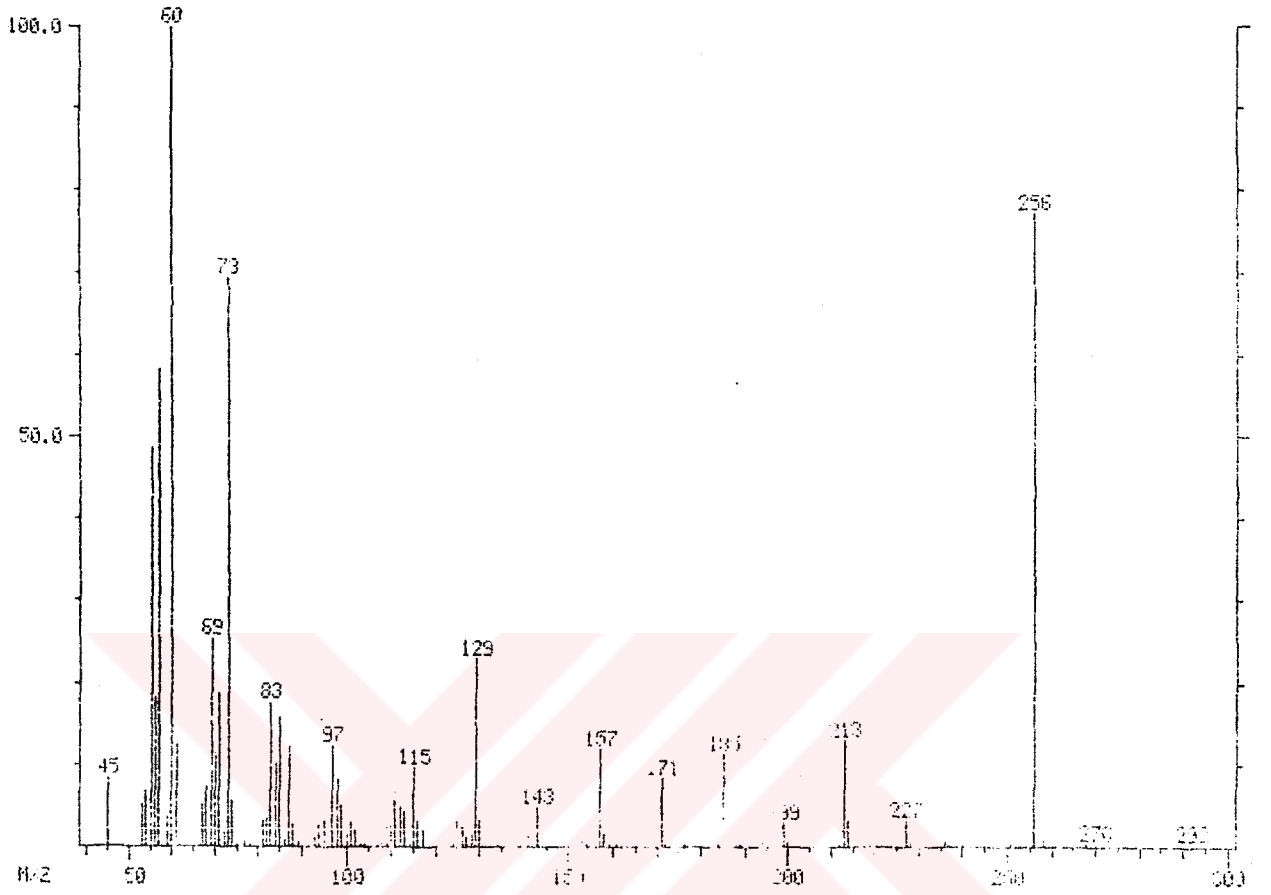
Şekil 4-A : 3 No'lu bileşiğin önerilen formülü



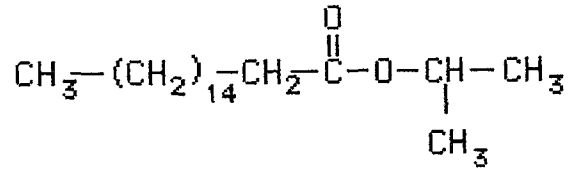
Şekil 5 : 4 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



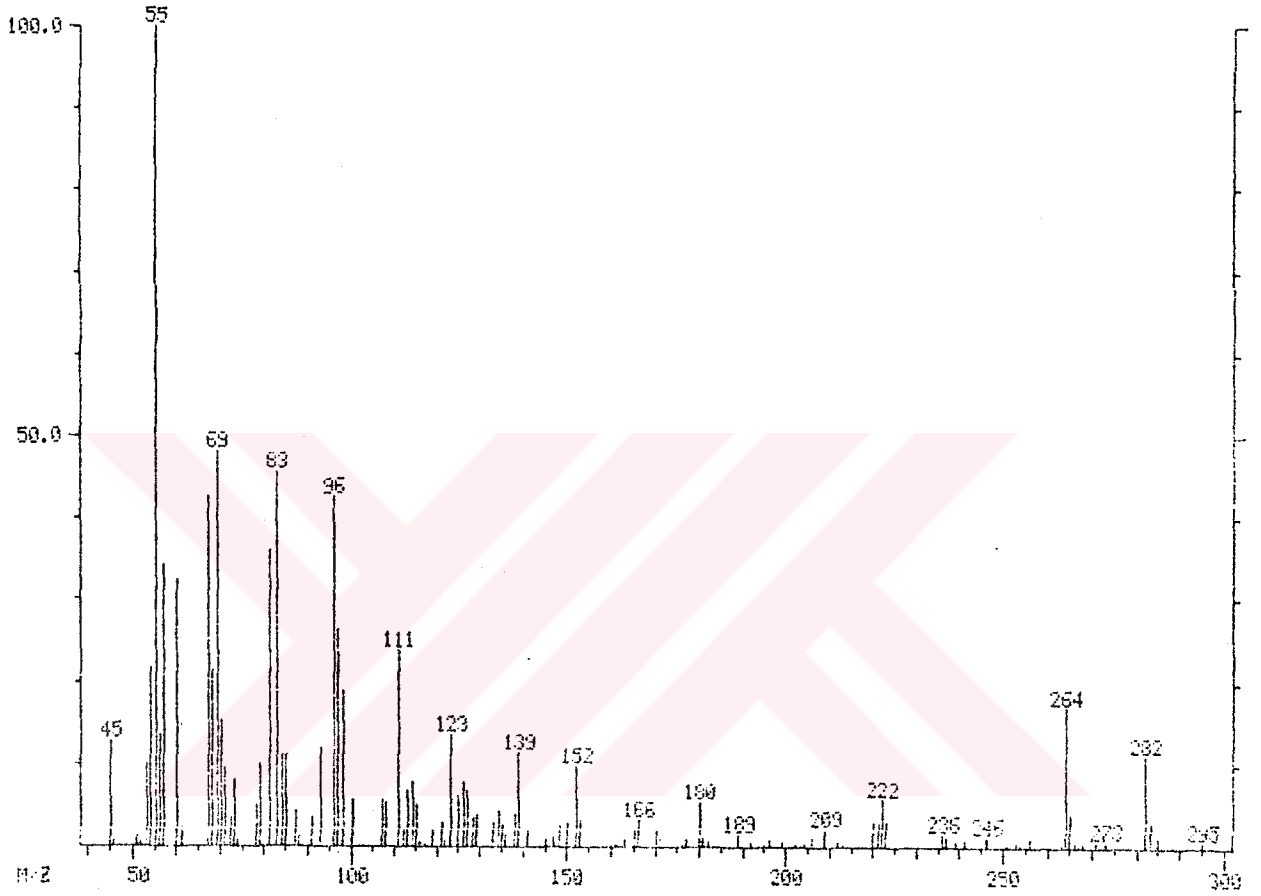
Şekil 5-A : 4 No'lu bileşiğin önerilen formülü



Şekil 6 : 5 No'lu bileşimin Gaz/Kütle Spektrumu



Şekil 6-A : 5 No'lu bileşimin önerilen formülü



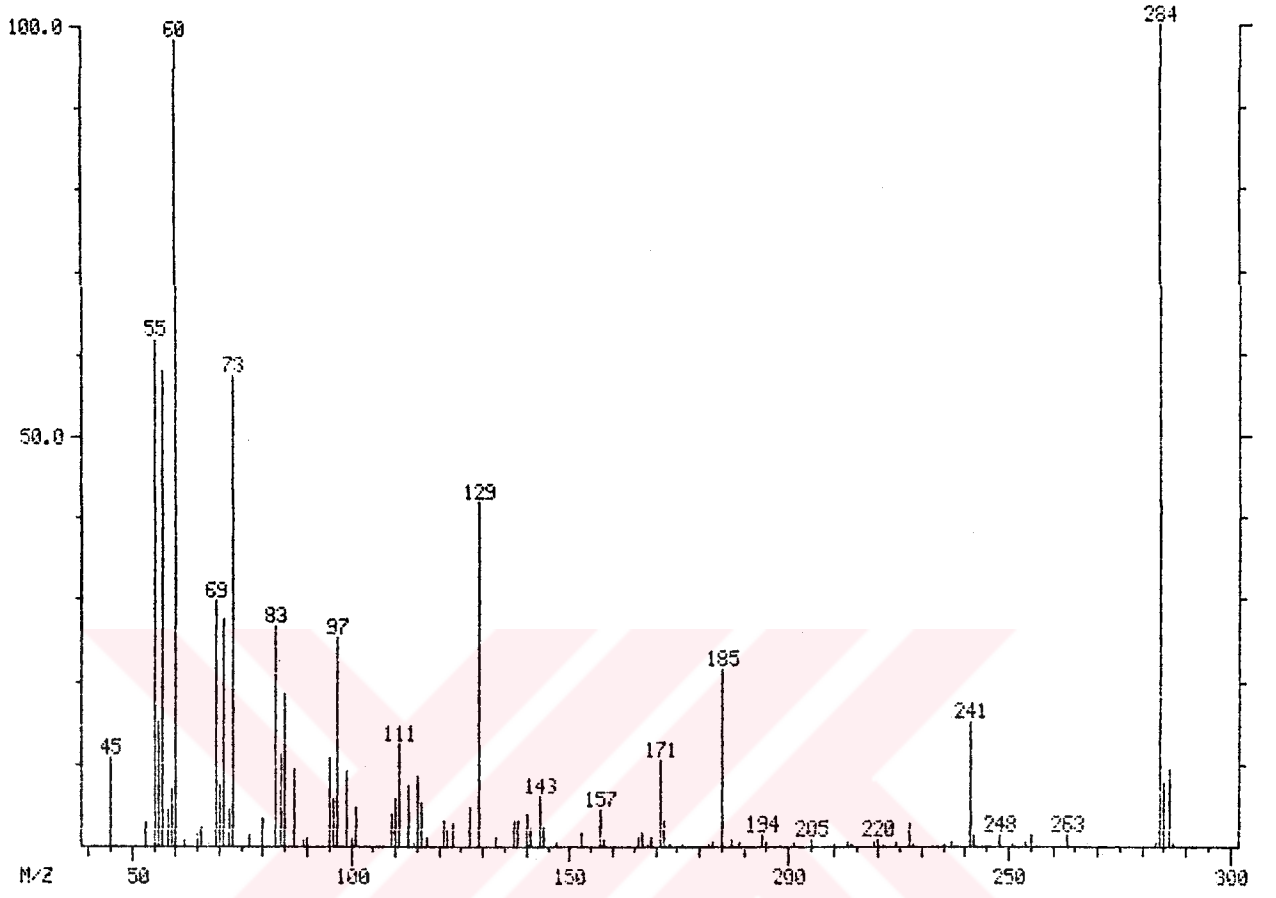
Şekil 7 : 6 No'lu bileşimin Gaz/Kütle Spektrumu

Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 7 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 8), kütle sayıları (m/z) 284 (M+), 241, 205, 185, 171, 157, 143, 129, 111, 97, 83, 73, 69, 60 (temel pik), 57, 55, 45 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 5.46 olarak tesbit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler kullanılarak önerilen bileşik formülüne göre (şekil 8-A) bu bileşiğin Ester fonksiyonel grubundan olduğu belirlendi.

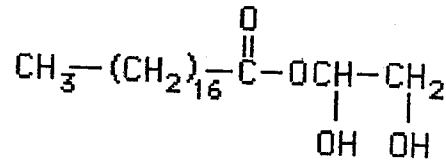
Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 8 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 9), kütle sayıları (m/z) 292 (M+), 253, 239, 226, 211, 196, 184, 163, 141, 127, 113, 99, 85, 71, 57 (temel pik), 47 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 1.57 olarak tesbit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler kullanılarak önerilen bileşik formülüne göre (şekil 9-A) bu bileşiğin Alken fonksiyonel grubundan olduğu belirlendi.

Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 9 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 10), kütle sayıları (m/z) 433 (M+) 424, 391, 351, 343, 323, 302, 295, 275, 262, 233, 209, 181, 175, 166, 156, 145, 129, 119, 113, 107, 91, 77, 67, 53 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 1.00 olarak tesbit edilmesine rağmen elimizdeki bilgiler bu bileşiğin yapısı hakkında bir förmül önerebilmemiz için yetersiz kalmıştır.

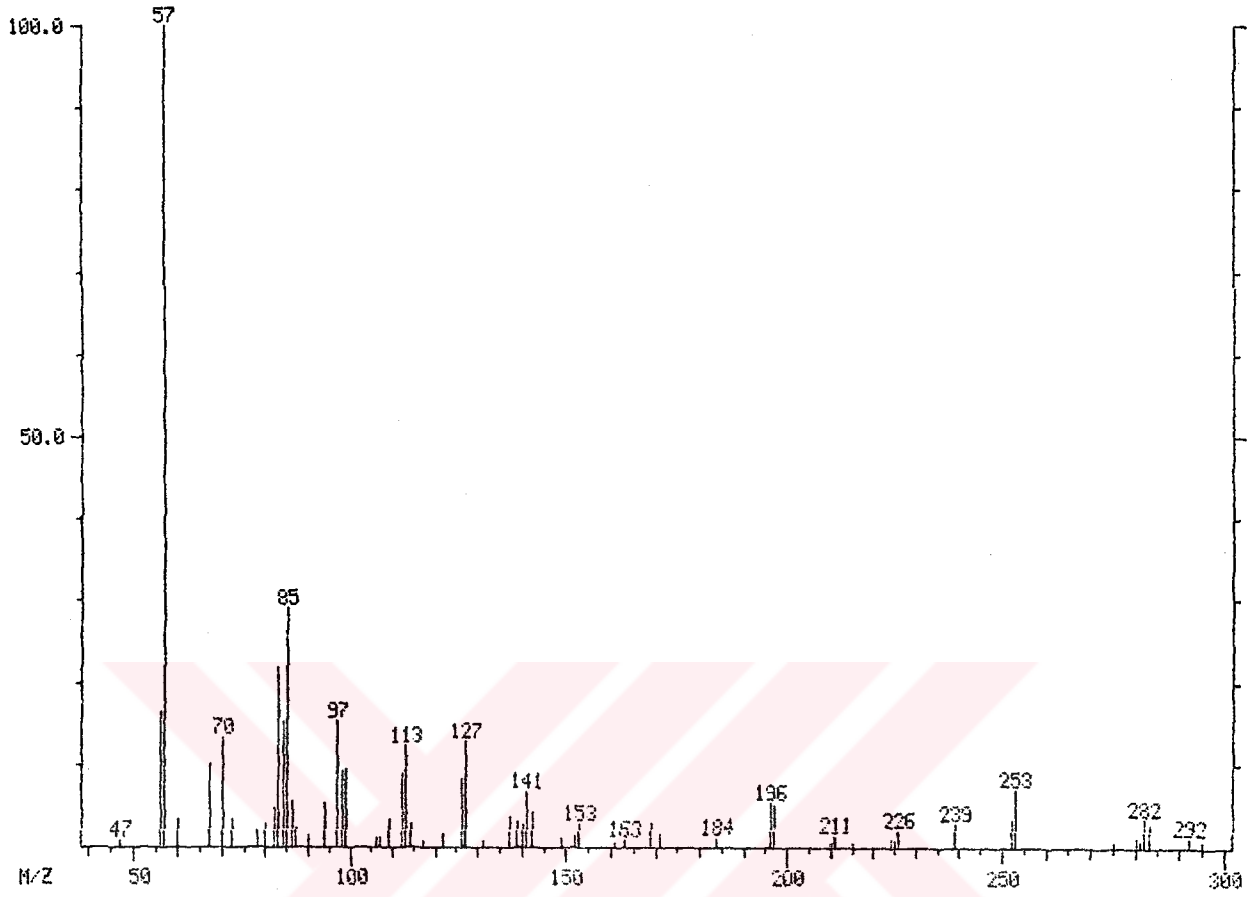
Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 10 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 11), kütle sayıları (m/z) 294 (M+), 279, 250, 233, 149 (temel pik), 123, 97, 77, 69, 55 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 16.50 olarak tesbit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler kullanılarak önerilen bileşik formülüne göre (şekil 11-A) bu bileşiğin Alken fonksiyonel grubundan olduğu belirlendi.



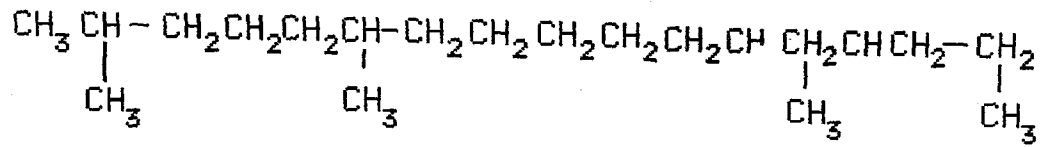
Şekil 8 : 7 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



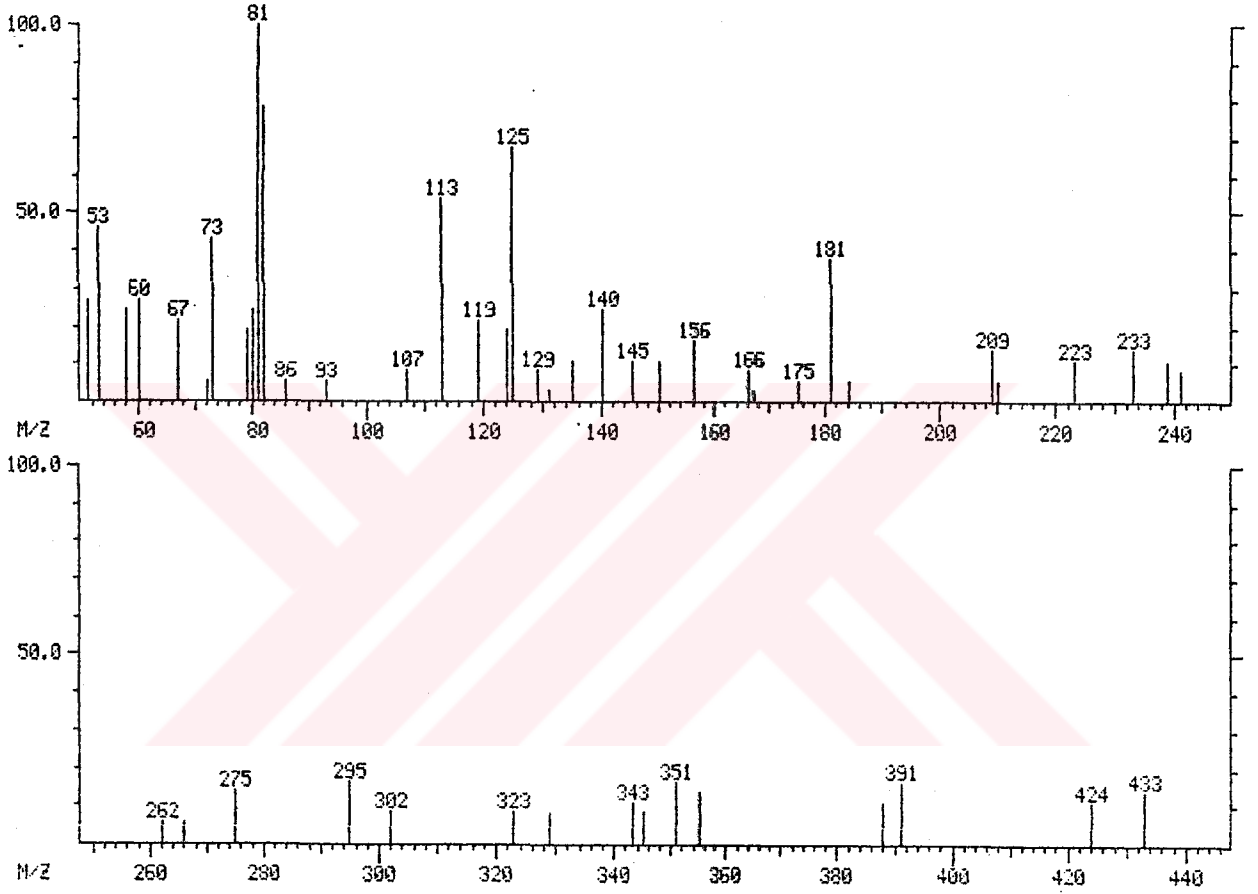
Şekil 8-A : 7 No'lu bileşiğin önerilen formülü



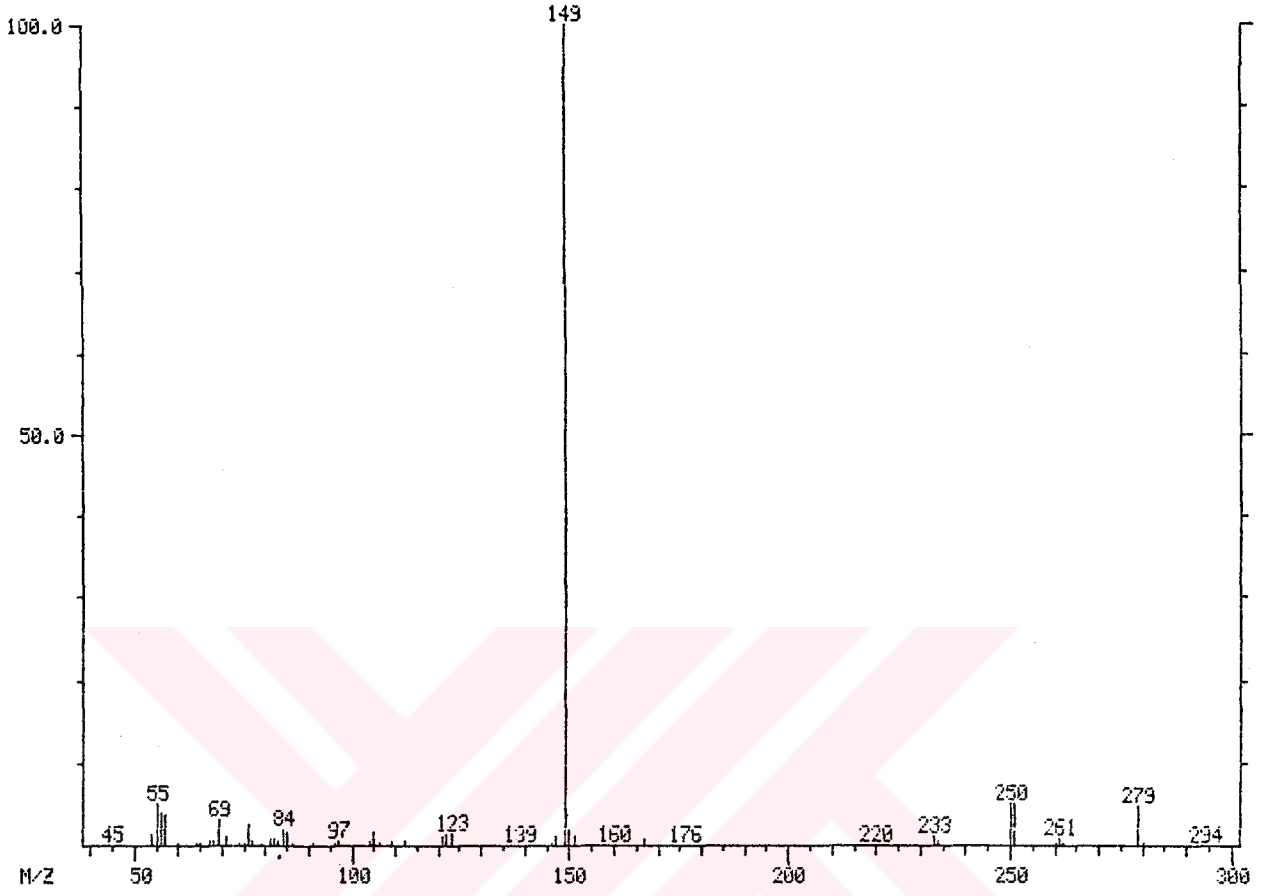
Şekil 9 : 8 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



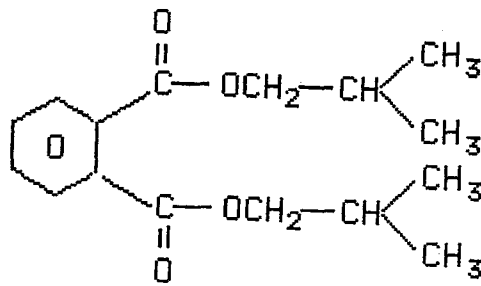
Şekil 9-A : 8 No'lu bileşiğin önerilen formülü



Şekil 10 : 9 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



Şekil 11 : 10 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



Şekil 11-A : 10 No'lu bileşiğin önerilen formülü

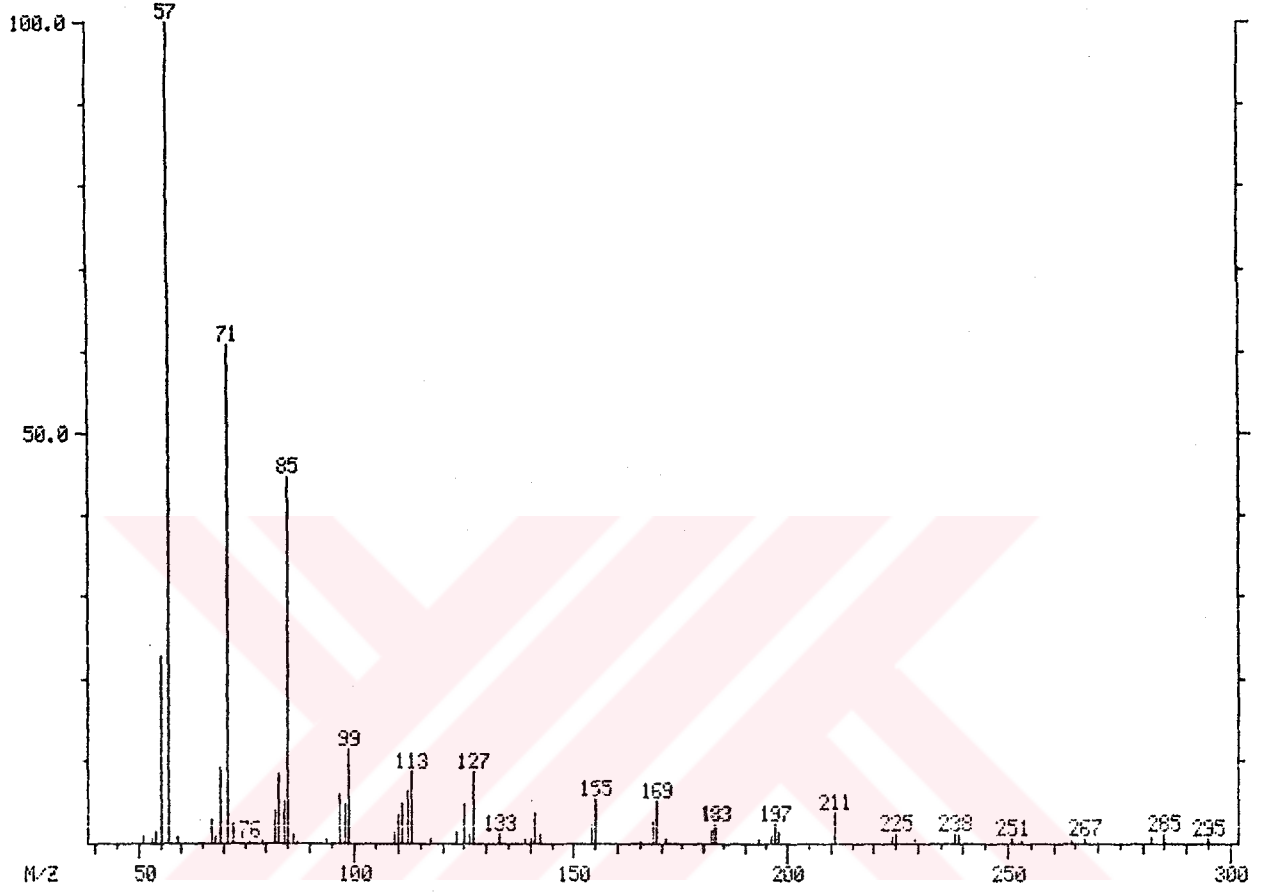
Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 11 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 12), kütle sayıları (m/z) 295 (M+), 285, 267, 251, 238,225, 211, 197, 183, 169, 155, 141, 133, 127, 113, 99, 85, 71, 57 (temel pik) ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 2.00 olarak tesbit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler kullanılarak önerilen bileşik formülüne göre (şekil 12-A) bu bileşiğin Alken fonksiyonel grubundan olduğu belirlendi.

Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 12 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 13), kütle sayıları (m/z) 239 (M+), 225, 211, 197, 183, 169, 155, 141,127, 113, 99, 85, 71, 57 (temel pik), 55 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 2.06 olarak tesbit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler kullanılarak önerilen bileşik formülüne (şekil 13-A) göre bu bileşiğin Alken fonksiyonel grubundan olduğu belirlendi.

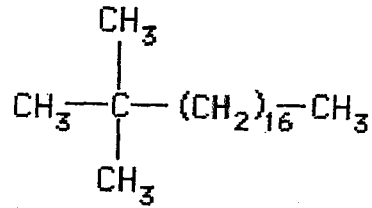
Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 13 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 14), kütle sayıları (m/z) 279 (M+), 261, 167, 149 (temel pik), 132, 122, 104, 92, 77,57 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 10.60 olarak tesbit edilmesine rağmen elimizdeki bilgiler bu bileşiğin yapısı hakkında bir förmül önerebilmemiz için yetersiz kalmaktadır. Ancak bu bileşiğin temel pikinde 149 olması, 4 ve 10 No'lu bileşiklerin izomeri olduğunu göstermektedir.

Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 14 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 15), kütle sayıları (m/z) 219 (temel pik), 203, 189, 176, 161, 145, 129, 119, 99, 91, 81, 69, 57 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 7.60 olarak tesbit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler

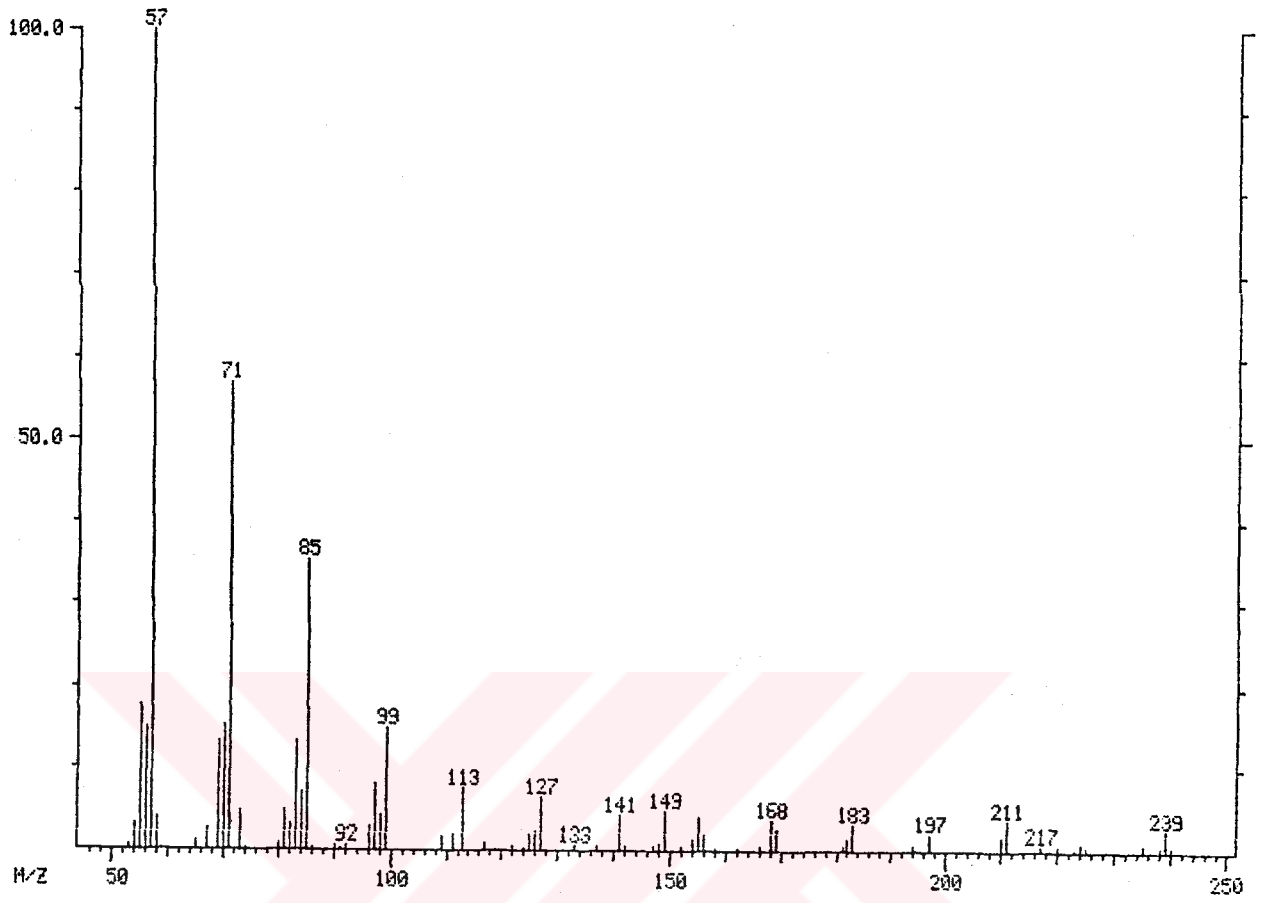
kullanılarak önerilen bileşik formülüne göre (şekil 15-A) bu bileşiğin Ester fonksiyonel grubundan olduğu belirlendi.



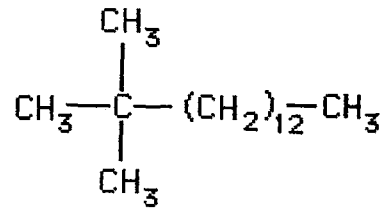
Şekil 12 : 11 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



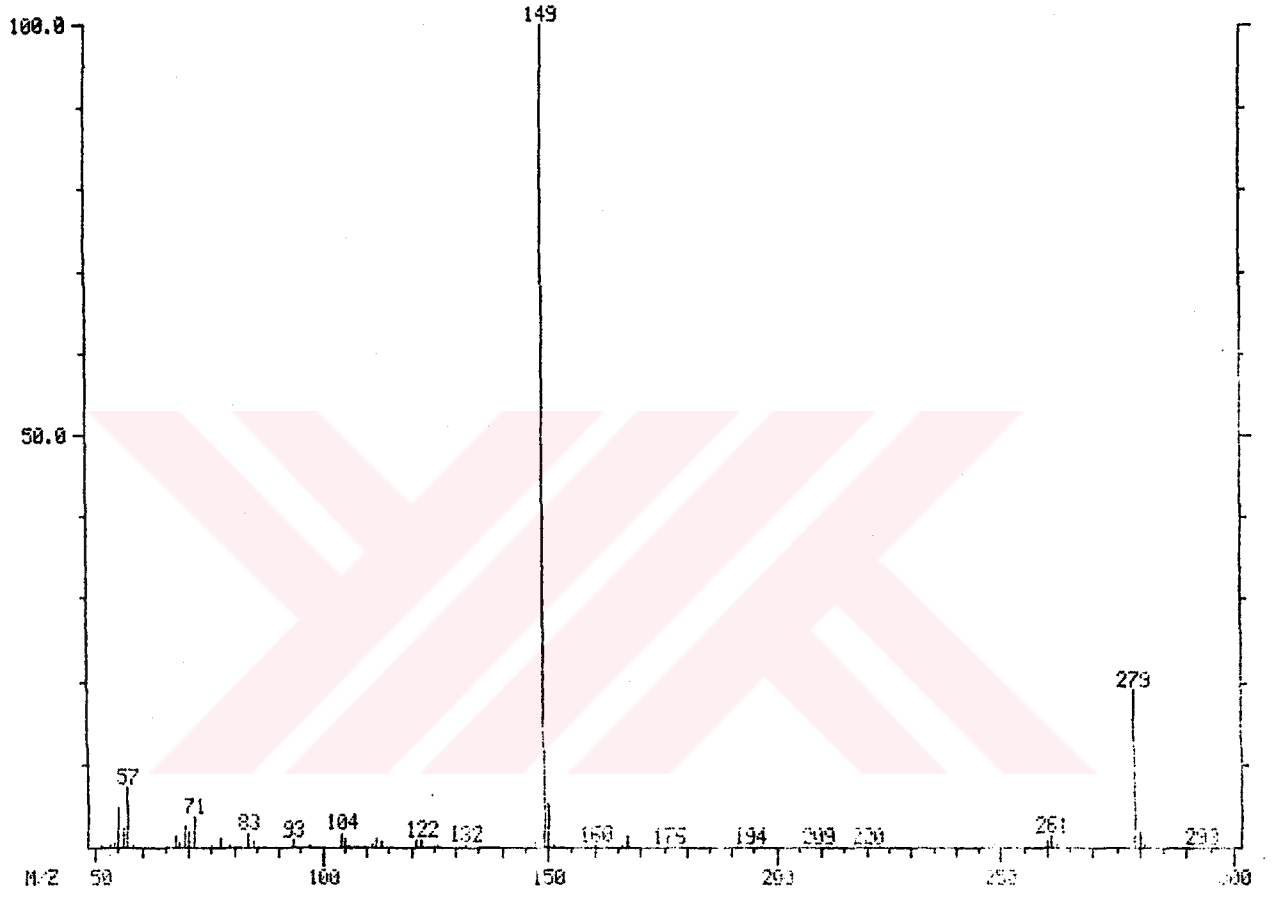
Şekil 12-A : 11 No'lu bileşiğin önerilen formülü



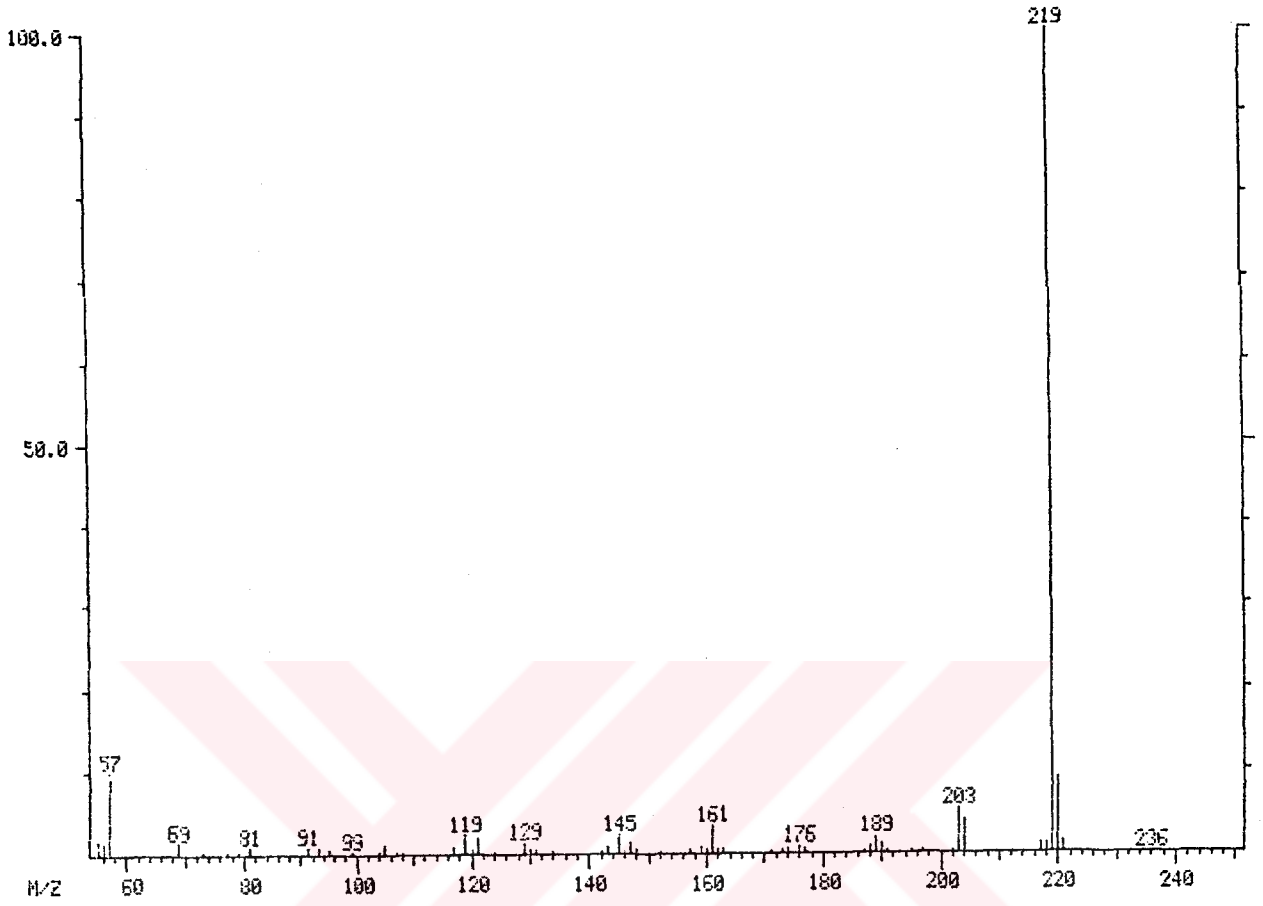
Şekil 13 : 12 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



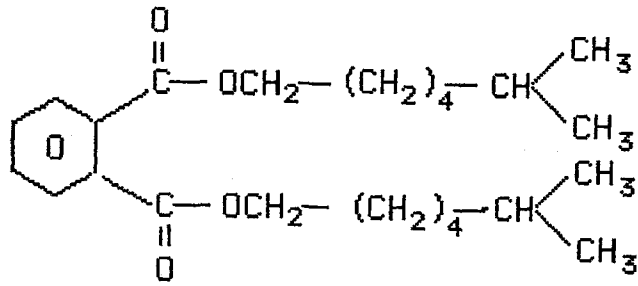
Şekil 13-A : 12 No'lu bileşiğin önerilen formülü



Şekil 14 : 13 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



Şekil 15 : 14 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



Şekil 15-A : 14 No'lu bileşiğin önerilen formülü

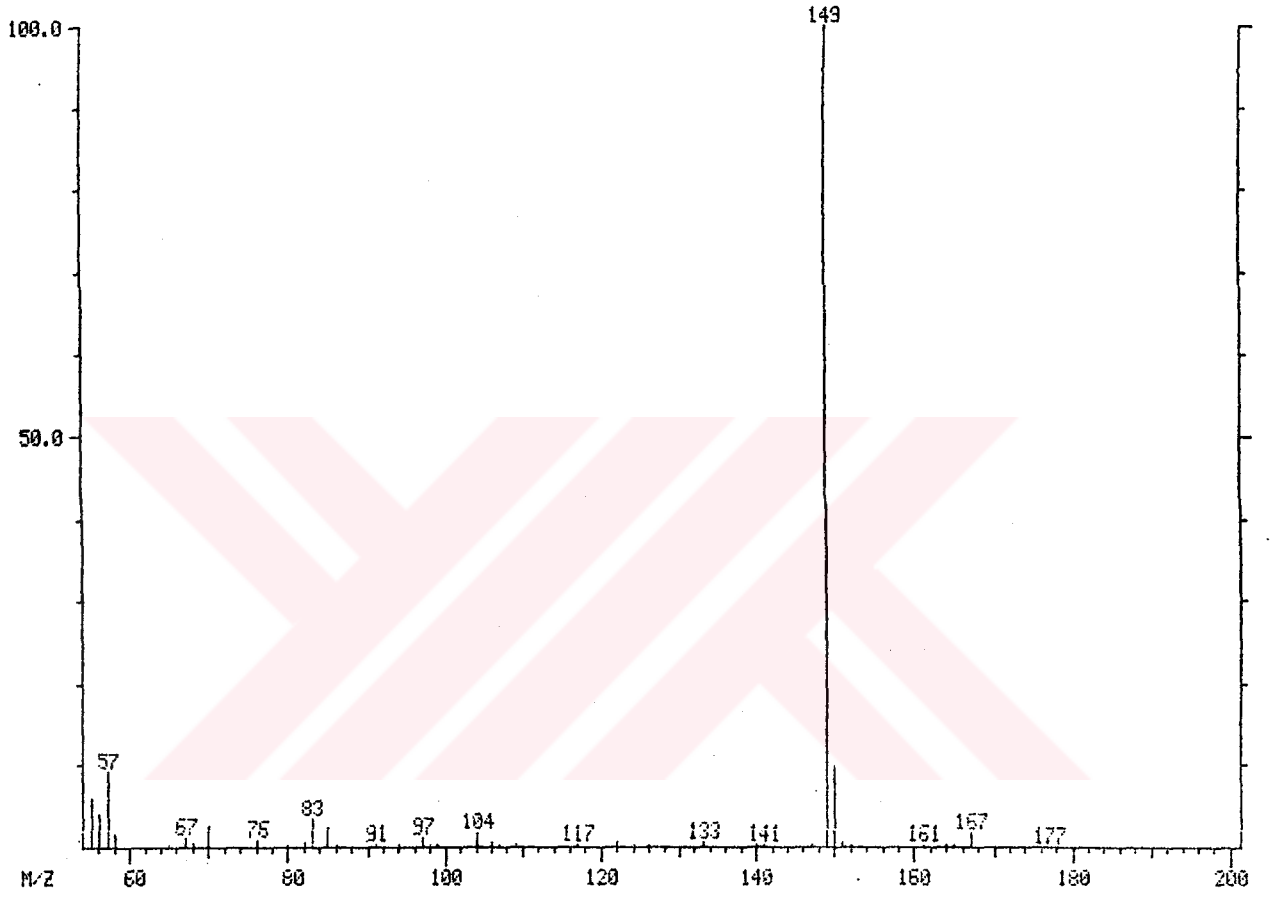
Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 15 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 16), kütle sayıları (m/z) 167 (M+), 149 (temel pik), 117, 104, 92, 77, 67, 57 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 5.06 olarak tesbit edilmesine rağmen elimizdeki bilgiler bu bileşiğin yapısı hakkında bir formül önerebilmemiz için yetersiz kalmaktadır. Ancak bu bileşiğin temel pikinin 149 olması, 4 ve 10 No'lu bileşiğin izomeri olduğunu göstermektedir.

Ekstraktın Gaz kromatogramındaki 16 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle spektrumuna göre (şekil 17), kütle sayıları (m/z) 446 (M+), 438, 386, (temel pik), 368, 329, 308, 301, 275, 260, 246, 213, 178, 159, 150, 129, 119, 105, 92, 77, 57, 50 ve bu bileşiğin karışımdaki bolluğu ise % 1.83 olarak tespit edildi. Elde edilen bu veriler ve Gaz/Kütle spektrometrisinin belleğindeki bilgiler kullanılarak bu bileşiğin Steroid fonksiyonel grubundan olduğunu belirlenmesine rağmen bir formül önerememekteyiz.

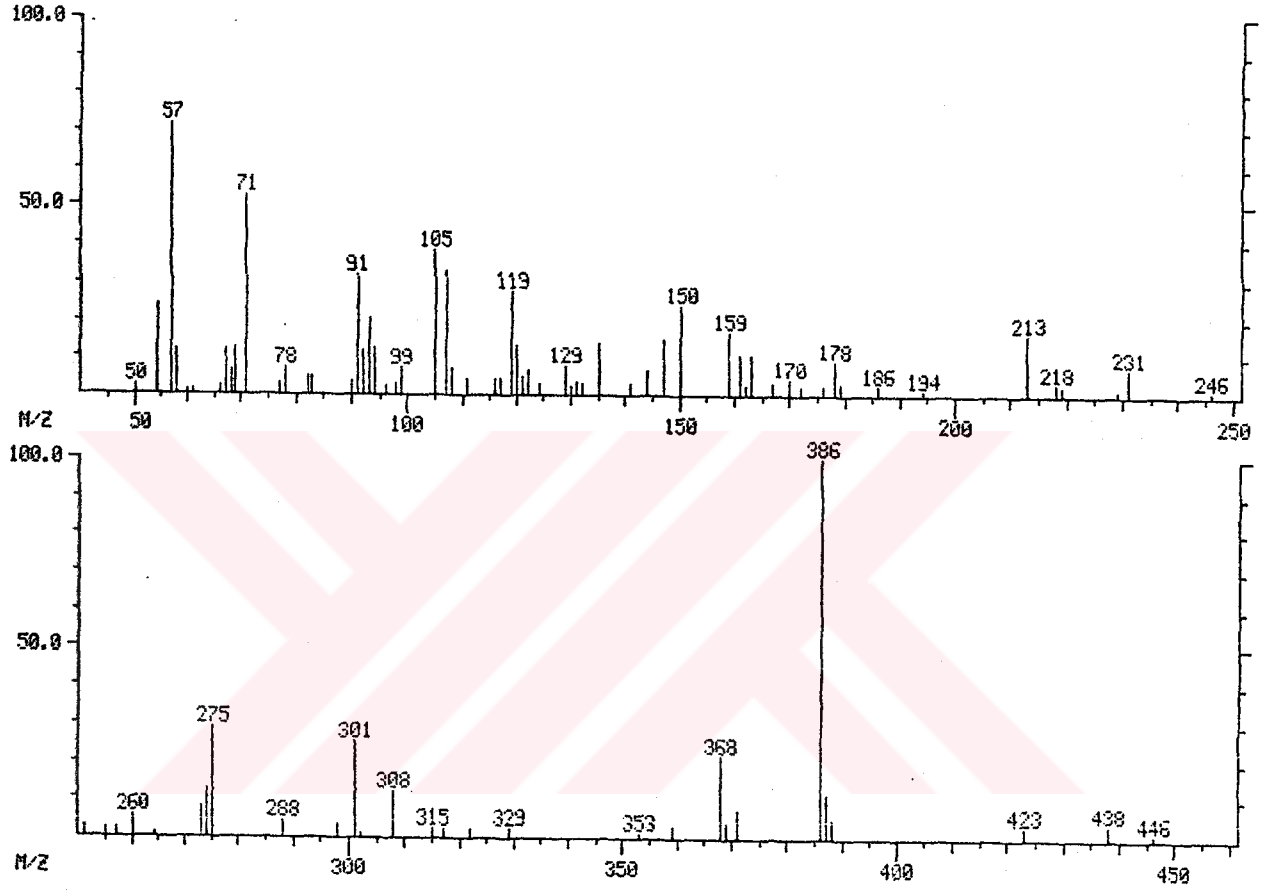
Boğa denemeleri sonucu olumlu reaksiyon ile sonuçlanan dietileter ekstraktının $^1\text{H-NMR}$ spektrumu (Şekil 18) alındığında Gaz/Kütle spektrumunu desteklediği görülmüştür. Bu spektrumuma göre de, formül yapısı önerilemeyen bileşikler haricindeki diğer bütün bileşiklerin yapılarında bulunan metil protonlarına ($-\text{CH}_3$) ait pikler yaklaşık 0.9 ppm 'de gözlenmektedir.

Ekstraktının $^1\text{H-NMR}$ spektrumundaki 1.3-2.4 ppm aralığında gözlenen pikler ise bileşiklerin yapısında bulunan ($-\text{CH}_2$) ve ($-\text{CH}-$) protonlarına ait piklerdir.

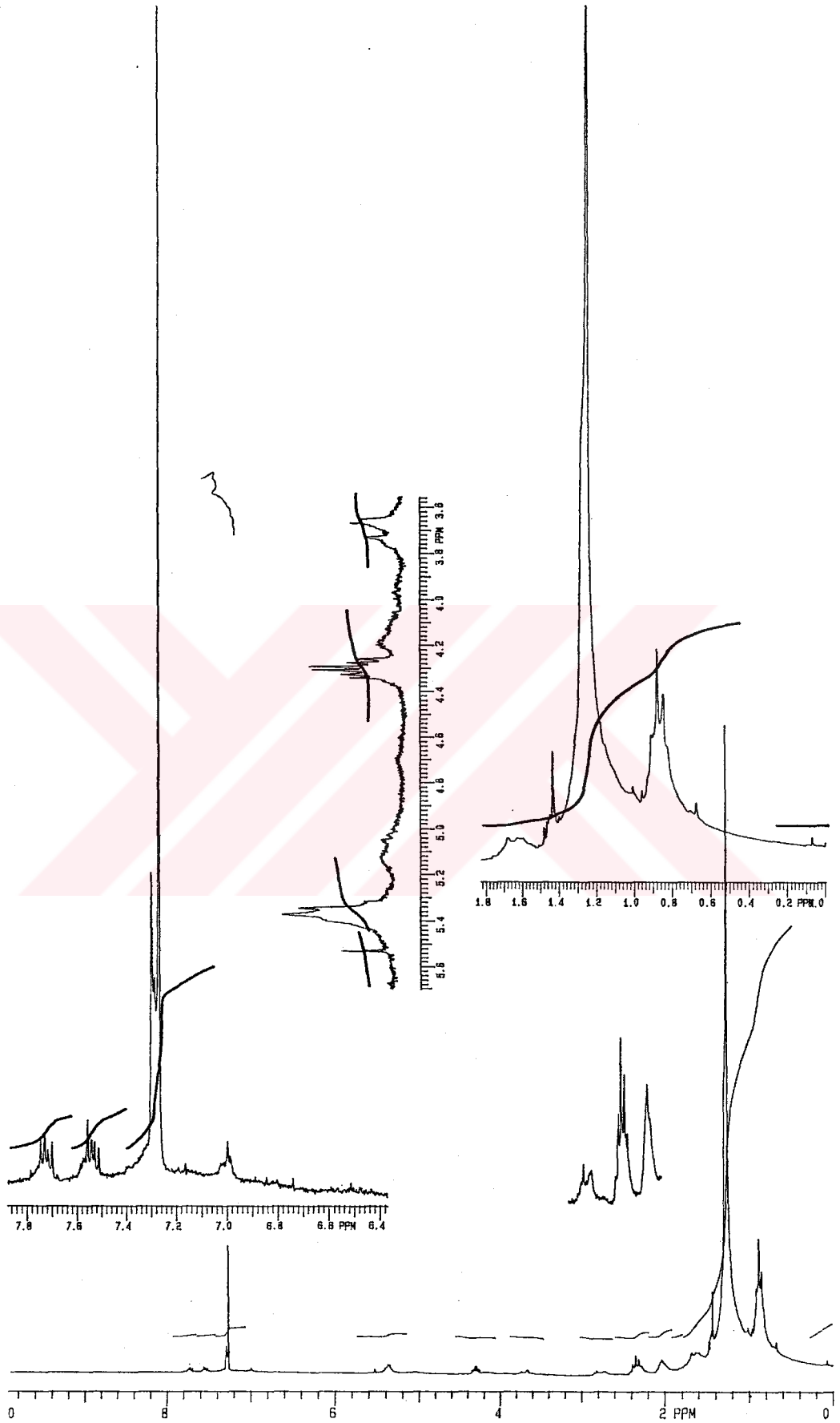
4, 5, 7, 10 ve 14 No'lu bileşiklerin ($\text{R}_1-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{R}_2$) yapısında bulunan metilen protonları ($-\text{CH}_2$) **4.3** ppm'de tesbit edilmiştir.



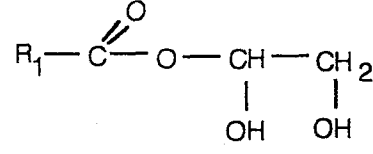
Şekil 16 : 15 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektrumu



Şekil 17 : 16 No'lu bileşiğin Gaz/Kütle Spektromu



Şekil 18 : Ekstraktın $^1\text{H-NMR}$ Spektrumu



7 No'lu bileşiğin yapısında bulunan karbon atomundaki proton piki 3.7 ppm'de görülmektedir.

2, 3, 7 No'lu bileşiklerde bulunan hidroksil (-OH) protonlarına ait pik 1.8 ppm' de gözlenmektedir.

4, 10 ve 14 No'lu bileşiklerin yapısında bulunan $-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-$ grubuna bağlı benzen halkasındaki proton pikleri 7.6 -7.7 ppm'de gözlenmiş olup bu da benzen halkasındaki protonlar etrafında elektron yoğunluğunu azaltan grupların varlığına işaret etmektedir.

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan bu çalışmada, kızgınlık dönemi boyunca elde edilen cervico-vaginal mucus örneklerinin % 78.84' ünün saydam ve renksiz, % 2.88 inin kirli renksiz, % 7.69 'unun sarımsı, % 6.73' ünü beyaz ve % 3.84' ünün kırmızımsı renkte olduğu belirlenmiştir. Renk yönünden bulunan bu sonuçlara göre cervico-vaginal mucus örneklerinde saydam ve renksiz, kirli renksiz, sarımsı, beyaz ve kırmızımsı renklere kızgınlık gösteren ineklerde rastlanmıştır. Mucus örneklerinin büyük çoğunluğunun saydam ve renksiz olması istenilen bir özellik olup elde edilen bütün örneklerin bu renkte olması istenmektedir. Ancak kirli renksiz, sarımsı, beyaz ve kırmızımsı renkteki mucus örnekleri de görülmüştür. Bunun sebebi bu örneklerin elde edildiği hayvanlarda latent bir metritis, vaginitis ve cervicitis gibi yangılı bir durum sonucu oluşan irin veya kanın cervico-vaginal mucusa karışmasından ileri gelebileceği gibi proöstrus ve östrus dönemlerindeki aşırı östrojenik etkiden dolayı vasküler sistemde diapedesiz sonucu açığa çıkan kanın mucusa karışmasından dolayı olabileceği de düşünülmektedir.

Renk yönünden bulunan bu sonuçlar Hamana ve ark.(40)'nın, Asotra ve ark. (7)'nin ve Paleologou (68)'nin bildirdikleriyle paralellik arz etmektedir.

Yapılan bu çalışmada, kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen 104 cervico-vaginal mucus örneğinin vizkoziteleri 0-4 arasında değişmiş ve ortalama 2.37 ± 0.09 olmuştur. İneklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen cervico-vaginal mucus örneklerinde tespit edilen bu vizkozite değerlerinin istatistik açıdan önemli bir fark teşkil etmemesine rağmen bireysel olarak

farklılık göstermesi, hayvanın ırkına bakım ve beslenmesine bağlı olabileceği gibi kızgınlık başlangıcında sulu ve kıvamlı iken sonuna doğru daha yoğun hal alması, kızgınlık esnasında organizmaya hakim olan östrojen hormon seviyesinin artıp azalmasından kaynaklanabilir.

Bu çalışmada elde edilen vizkozite değerleri Hamana ve ark. (40) ile Paleologou (68)'nun bildirdiği değerlerle benzerlik göstermektedir.

Yapılan çalışmada, ineklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen cervico-vaginal mucus örneklerinin pH değerlerinin 6.70-9.20 arasında değiştiği ve ortalama 7.46 ± 0.06 olduğu ve kızgınlığın farklı devrelerine göre belirlenen pH'lar arasında istatistik açıdan önemli bir fark bulunmadığı tespit edilmiştir. İneklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen cervico-vaginal mucus örneklerinde tespit edilen pH değerleri, kızgınlığın farklı dönemlerine göre istatistik açıdan önemli bir fark teşkil etmemesine rağmen, tesbit edilen pH değerlerinin alt ve üst sınırları arasındaki bu genişlik, kızgınlık başlangıcından itibaren östrojen hormonu seviyesinin artmasına, buna bağlı olarak mucusun hacminin kıvamının, vizkozitesinin değişmesine, ve latent bir enfeksiyon durumunda irinin mucusa karışmasına bağlı olabilir.

Yapılan bu çalışmada tespit edilen pH değerleri, Hamana ve ark. (40)'nın 7.0-9.2, Olds ve VanDemark (66)'ın ve Scott Blair ve ark.(73)'nin 7.6-8.1 olarak bildirdikleri pH değerlerine benzer; Olds ve VanDemark (65)'in ortalama 7.8 ve Arya ve Jain (6)'in 1.grupta ortalama 8.12 ± 0.106 ve 2. grupta ortalama 7.91 ± 0.118 olan pH değerlerinden düşük; Klemm ve ark. (55)'nin 6.5-6.7 ve Paleologou (68)'nin ortalama 6.7 olarak bildirdikleri pH değerlerinden yüksek bulunmuştur.

Bu çalışmadaki pH değerlerinin diğer araştışıcıların bildirdiklerinden düşük veya yüksek bulunması, mucusun elde edildiği kızgınlık dönemine, hayvanın ırkına, bakım ve beslenmesine, enfeksiyona bağlı bir durumdan dolayı irinin mucusa karışmasına, pH'ın ölçüm tekniğine bağlı olabilir.

İneklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen cervico-vaginal mucus örnekleri kuru madde miktarlarının % 0.82-5.02 arasında değiştiği ve ortalama % 1.62 ± 0.06 olduğu ve kızgınlığın başlangıcından itibaren giderek arttığı, kızgınlığın başlangıcında ortalama % 1.54 ± 0.063 , ortasında ortalama % 1.59 ± 0.12 ve sonunda ortalama % 1.87 ± 0.13 olduğu tespit edilmiştir. İneklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen cervico-vaginal mucus örneklerinde tespit edilen bu kuru madde miktarlarının kızgınlığın sonuna doğru giderek artması kızgınlığın başlangıcından itibaren östrojen hormonunun tedricen artmasına bağlı olarak salgı miktarının artması ve giderek sulu kıvamdan koyu kıvama dönüşmesine, hayvanın beslenmesine bağlı olabilir.

Bu çalışmada tespit edilen kuru madde miktarları, Asotra ve ark.(7)'nin belirttiği % 1-2.5, Hamana ve ark. (40)'nin bildirdiği % 1-2, Boyland ve ark. (20)'nin bulduğu % 1-1.5 değerlerinden daha fazla, ScottBlair ve ark.(73) ile Olds ve VanDemark (66)'ın belirttiği ortalama % 1.2, Paleologou (68)' nun belirttiği ortalama % 1.4 ve Arya ve Jain (6)'in 1. grupta belirttiği ortalama % 1.47 ± 0.076 değerindeki kuru madde miktarlarından yüksek ve 2. grupta belirttiği ortalama % 1.88 ± 0.096 oranındaki kuru madde miktarından düşük bulunmuştur.

Bu çalışmada elde edilen kuru madde miktarlarının diğer araştışmacıların bildirdiklerinden düşük veya yüksek bulunması,

mucusun elde edildiği kızgınlık dönemi, hayvanın bakım ve beslenmesi, yangılı bir durumdan dolayı irin veya kanın mucusa karışması, cervico-vaginal mucusun toplanma şekli, kuru madde miktarı ölçüm tekniği gibi nedenlerden ileri gelebilir.

Bu çalışmada ineklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen cervico-vaginal mucus örneklerindeki su miktarlarının % 94.08-99.18 arasında değiştiği ve ortalama % 98.37 ± 0.07 olduğu tespit edilmiştir. İneklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen cervico-vaginal mucus örneklerinde tespit edilen su miktarlarının, kızgınlığın farklı dönemlerine göre istatistik açıdan önemli bir fark teşkil etmemesine rağmen, tesbit edilen alt ve üst sınırları arasındaki bu farkın kızgınlığın başlangıcından itibaren kızgınlık ilerledikçe östrojen hormonu seviyesinin artmasına bağlı olarak salgılanmanın artışı ve kızgınlığın başlangıcında sulu kıvamlı iken sonuna doğru yoğun hal alması, hayvanın bakım ve beslenmesi mucustaki su miktarının değişmesine neden olabilir.

Hamana ve ark. (40)'nın kızgınlık süresince elde ettiği cervico-vaginal mucuslarda belirlediği % 98-99 su miktarı ile yine Paleologou (68)' nun aynı dönemde elde ettiği cervico-vaginal mucuslardaki ortalama % 98.6 oranındaki su miktarı bulgularımızla benzer bulunmuştur.

İneklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen cervico-vaginal mucus örneklerinde bulunan mineral maddelerden Ca miktarının ortalama 10.06 ± 0.06 mg/100ml, Na miktarının ortalama 12.11 ± 0.05 mEq/l, K miktarının ortalama 118.04 ± 0.66 mEq/l, ve Mg miktarının da ortalama 3.96 ± 0.03 mg/100ml olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada tespit edilen Na miktarı, Paleologou (68)'nun bildirdiği 12.17 mEq/l'lik Na miktarına yakın bulunurken, Ca miktarı 0.26 mg/100 ml ve K miktarı da 3.04 mEq/l kadar Paleologou (68)'nun bildirdiğinden daha fazla, halbuki Mg miktarı yine aynı araştırmacının bildirdiği Mg miktarından 0.24 mg/100 ml daha az bulunmuştur. Bu araştırmada bulunan mineral madde miktarları ile Paleologou (68)'nun bildirdikleri arasındaki az çok fark, hayvanların farklı beslenmeleri özellikle farklı vejetasyondan yararlanmaları, mineral madde miktarlarının tayin edilmesi metodu, hayvanın yaşı ve süt verimi gibi faktörlerden kaynaklanabilir.

Kızgınlığın başında elde edilen 43, ortasında elde edilen 41 ve sonunda elde edilen 20 cervico-vaginal mucus örneği boğa denemesine tabi tutulduğunda koklama, çeneyi uzatma, yalama, flehmen ve penis ereksiyonu tepkileri kızgınlığın başında toplanan örnekler için sırasıyla ortalama % 93.01, 44.18, 8.52, 77.51 ve 6.97; ortasındakiler için sırasıyla ortalama % 92.68, 60.16, 3.24, 57.71 ve 2.43; ve sonundakiler için ise % 85.00, 48.33, 11.66, 70.00 ve 0.00 olarak gözlenirken, tüm kızgınlık süresince bu davranışlar yine sırasıyla ortalama % 91.34, 54.48, 7.04, 68.25 ve 3.82 olarak tespit edilmiştir. Kızgınlığın farklı devrelerine göre yüzde olarak belirlenen bu değerlerin her seksüel davranışa ve kızgınlığın farklı dönemlerine göre değişken olması, boğa denemesinde kullanılan boğaların seksüel olarak tecrübelerinin farklılığından, temelde birbirlerine benzer olsa da hormonal durumlarının farklı seviyelerde seyretmesinden, bu tür tepkiler doğuran feromonların kızgınlık süresince bulunmasına rağmen kızgınlığın farklı devrelerine göre farklı seviyelerde bulunmasından ve boğaların bu örneklerle muhatap edildiği andaki halinden, sağlık durumundan ve çevre şartları gibi nedenlerden ileri

gelebilir. Şimdiye kadar yapılan çalışmaların hiç birisinde bu çalışmada bildirildiği gibi seksüel davranışların rakamlarla bildirilmemesinden dolayı tartışma imkanı bulunamamıştır.

Adams (1), Estes (32), French ve ark.(35), Hawk ve Conley (41), Izard ve Vandenberg (48), Izard (49), Jacobs ve ark.(50), Kiddy ve Mitchell (53), Klemm ve ark. (55), Nishumura ve ark.(64), Paleologou (66) ve Rivard ve Klemm (69)'in bildirdikleri gibi cervico-vaginal mucusun boğaları seksüel olarak uyaran feromonları ihtiva ettiği görüşü bu çalışmadaki bulguları doğrulamaktadır.

Kızgınlığın farklı dönemlerinde feromonları ihtiva ettiği tesbit edilen cervico-vaginal mucuslarda feromon niteliğindeki organik maddeleri tesbit etmek amacıyla kullanılan ekstraksiyon yöntemleri arasında kloroform/metanol (4/1) çözücü sistemi, kolon kromatografisi ve dializ sonucu elde edilen ekstraktlarda organik madde bulunmaması ve boğa denemelerinde boğaların seksüel olarak etkilenmemesinin nedenleri arasında, kızgınlığın sonundaki bazı örneklerin muhtemelen östrus bitiminden sonra toplanmış olması, üremeye ilgili mesajların (işaret feromonlarının) östrus başlamadan önce üretilmiş olması, ayrıca cervico-vaginal mucusun toplanma yöntemi, laboratuvara taşınması, analizlerin yapılması ve ekstraksiyon işlemi yapılırken organik çözücü olarak kullanılan kloroform ve metanol'ün buharlaştırılarak uzaklaştırılması ve boğa denemelerinde örneklerin ısıtılması esnasında zaten çok uçucu olan feromonların kaybolması gibi faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Dietileter ile yapılan ekstraksiyon işlemi sonucu elde edilen ekstraktlarda ise, feromon niteliğindeki maddelerin varlığı tespit edilmiştir. Çünkü organik çözücü olarak kullandığımız dietileter düşük

ısıda buharlaşmaktadır. Bu ekstraksiyon sonucu boğaları seksüel olarak uyaran ekstraktlarda toplam 16 adet organik madde tesbit edilmiştir. Bu tesbit edilenlerden 11 tanesinin kimyasal yapısı belirlenirken kimyasal yapısı belirlenemeyen 2 organik maddenin de 4 ve 10 No'lu bileşiğin izomeri olduğu tesbit edilmiştir. Üç tanesinin kimyasal yapısı ise belirlenememiştir. Ancak kimyasal yapısı belirlenemeyenlerden 1 tanesinin gaz/kütle spektrometrisinin bellegindeki bilgilere ve elde edilen bulgulara göre steroid fonksiyonel grubundan olduğu tesbit edilmiştir.

Şimdiye kadar yapılan araştırmaların hiçbirinde, bu araştırma ile cervico-vaginal mucusta tespit edilen ve kimyasal yapısı belirlenen söz konusu bileşiklerin varlığından bahsedilmemiştir. Klemm ve ark.(55)'nin feromon olarak bildirdikleri bileşiklerin bu çalışmalardakilerden farklı olması ve onların tespit ettikleri bileşiklere bu çalışmada rastlanmaması, çalışmalarda kullanılan techizat ve laboratuvar tekniklerinin farklı olmasıyla birlikte, bazı örneklerin muhtemelen östrus bitiminden sonra toplanmış olması, üremeye ilgili mesajların (işaret feromonlarının) östrustan önce veya östrusun erken safhalarında üretilmiş olması, ayrıca cervico-vaginal mucusun toplanma metodu, laboratuvara taşınması, saklanması, analizlerin farklı yöntemlerle yapılması ve ekstraktan organik çözücü olarak kullanılan kloroform ve metanol'ün buharlaştırılarak uzaklaştırılması ve boğa denemelerinde örneklerin ısıtılmasıyla uçucu nitelikte olan feromonların kaybolması gibi nedenlerden ileri gelebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak :

1- Kızgınlığın farklı devrelerinde toplanan cervico-vaginal mucus örnekleri birbirleriyle karşılaştırıldığında aralarında herhangi bir fark bulunmamıştır.

2-Cervico-vaginal mucuslardaki feromonlar, kloroform/ metanol ile ekstraksiyon, Dializ ile ekstraksiyon ve Kolon kromatografisi (Slica gel'le doldurulmuş) işlemleri ile ekstrakte edilemeyip, ancak Dietil eter ile ekstrakte edilebilmiştir.

3- Kızgınlığın habercisi olan feromonların, boğa denemesi ve ekstraksiyon işlemi sonuçlarına göre cervico-vaginal mucusta varlığı tespit edilmiştir.

4- Dietileter ekstraksiyonu ile cervico-vaginal mucuslarda feromon niteliğinde 16 organik madde tayin edilmiş ve bu maddelerin dialkil substitüe benzen, tri substitüe fenol, alken, ester ve steroid fonksiyonel gruplarından olduğu tespit edilmiştir.

5- Cervico-vaginal mucus örneklerinden analiz edilen feromon niteliğindeki maddelerin ancak boğa denemeleri sonucu boğaların seksüel davranışlarına göre feromon olarak değerlendirilebileceği kanaatine varılmıştır.

Bu bilgiler ışığı altında, feromonların laboratuvar tetkikleri yoluyla izolasyonu sonucu belirlenmesi için gelecekte yapılacak çalışmalarda, ineklerdeki seksüel feromonların doğal alıcısı olan boğaların seksüel davranışlarından koklama, yalama, flehmen, penis ereksiyonu ve atlama davranışlarının en güvenilir biyolojik yol olarak kullanılması, organik çözücü olarak düşük ısıda buharlaşan organik çözücülerin kullanılması ve analizi yapılacak biyolojik materyalin soğuk zincirine dikkat edilmesi, bundan sonra bu konuda çalışacaklara yol gösterecek ve ışık tutacaktır.

6.ÖZET

Bu çalışma, kızgınlık gösteren ineklerde, kızgınlığın farklı devrelerinde elde edilen vagina ve cervix akıntılarında kızgınlığın erkeğe habercisi olan feromonların varlığını ve kimyasal yapısını araştırmak amacıyla planlanmıştır. Ayrıca feromonların varlığını ve kimyasal yapısını etkileyebileceği düşüncesiyle cervico-vaginal mucusun fiziksel ve kimyasal özellikleri de incelenmiştir.

Östrusta bulunan 197 ineğin 104'ünden östrusun başında, ortasında ve sonunda rectal masaj yoluyla cervico-vaginal mucus örnekleri toplandı. Bu örnekler boğa denemesine tabii tutulduktan sonra renk, pH, vizkozite, Su-kuru madde, Ca, Na, Mg ve K miktarları tayin edildi. Daha sonra kimyasal analizlere başlayıncaya kadar -15 ile -20°C arasında muhafaza edildi.

Cervico-vaginal mucusun Kloroform/Metanol, Dializ, Kolon Kromatografisi (Slica gel'ledoldurulmuş) ve Dietileter ile ekstraksiyon işlemleri yapıldı. Boğa denemesi sonucu müspet reaksiyon alınan ekstratların kimyasal yapısını tayin etmek için Ultraviyole-Visible, Infrared, ¹H-Nükleer Magnetik Rezonans ve Gaz/Kütle spektroskopisi kullanılarak spektrumları alındı.

İneklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen 104 örneğin % 78.84 'ünün saydam ve renksiz, % 2.88' inin kirli renksiz, % 7.69'unun sarımsı, % 6.73'ünün beyaz ve % 3.84 'ünün kırmızımsı renkte olduğu tesbit edildi.

İneklerin kızgınlık döneminin farklı devrelerinde elde edilen toplam 104 cervico-vaginal mucus örneğinde vizkozite 0-4 arasında ortalama 2.37 ± 0.09 , pH 6.70-9.20 arasında ortalama 7.46 ± 0.06 , Kuru madde miktarı % 0.82-% 5.02 arasında ortalama 1.62 ± 0.06 , su miktarı % 94.08-% 99.18 arasında ortalama 98.37 ± 0.07 , Kalsiyum

miktarı 9.3-12 mg/100ml arasında ortalama 10.06 ± 0.06 mg/100ml, Sodyum miktarı 10.51-13.1 mEq/1 arasında ortalama 12.11 ± 0.05 mEq/1, Potasyum miktarı 110-160 mEq/1 arasında ortalama 118.04 ± 0.66 mEq/1 ve Magnezyum miktarı da 2.6-4.3 mg/100 ml arasında ortalama 3.96 ± 0.03 mg/100 ml olarak bulunmuştur.

Kızgınlığın farklı devrelerinde toplanan mucusların fiziksel özellikleri ve kimyasal maddeleri arasındaki fark istatistik olarak uygulanan varyans analizi metodu sonucu önemsiz ($P > 0.05$) bulunmuştur.

Kızgınlık gösteren 104 inekten kızgınlık süresince elde edilen mucus örnekleri 3 boğa ile denemeye tabii tutulduğunda koklama, çeneyi uzatma, yalama, flehmen ve penis ereksiyonu tepkileri sırasıyla ortalama % 91.34, 54.48, 7.04, 68.25, 3.82 olarak bulunmuştur.

Kızgınlığın üç farklı döneminde elde edilen cervico-vaginal mucus örneklerinin Kloroform/Metanol, Kolon Kromatografisi (Slica gel ile doldurulmuş) ve dializ ile ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen ekstraktlarının boğa denemesi neticesinde menfi sonuç verdiği gibi spektroskopik analizlerde de herhangi bir organik madde bulunamamıştır. Örneklerin Dietileter ile ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen ekstraktların boğa denemesi sonucu müspet netice verdiği gibi $^1\text{H-NMR}$ ve Gaz/kütle spektroskopileri sonucu dialkil substitüe benzen, tri substitüe fenol, ester, alken ve steroid fonksiyonel gruplarından 16 adet organik madde bulunmuştur.

Sığır cervico-vaginal mucusunda feromonların bulunduğu, bunların dietileter gibi düşük ısıda buharlaşan çözücülerle ekstrakte edilebileceği ve feromonların tayininde boğa denemesinin en güvenilir yol olduğu sonucuna varılmıştır.

7.SUMMARY

The aim of this study was to determine the presence and biochemical structure of pheromones that are believed to function as a signal of estrus for male animals. Furthermore the physical and chemical properties of cervico-vaginal secretions may influence the pheromones so physical and chemical properties of these secretions were also studied.

Cervico-vaginal mucus samples from 104 oestrus cows out of 197 were collected by rectal massage between early heat, mid heat and late heat of estrus. After these samples were bioassayed by bulls, they were analysed for colour, pH, viscosity, water-dry matter contents, Ca, Na, Mg and K levels. Afterwards, the remaining samples were stored at between -15 to -20° C until analysed.

Chloroform/methanol, diethyl ether extractions, dialysis, column chromatography (filled with silica gel) of cervico-vaginal mucus were also performed. To determine the chemical structure of the extracts from the positive samples spectrums were determined using Ultraviolet-visible, Infrared, ^1H -Nuclear Magnetic Resonance and Gas-Mass spectrometers.

In 104 cervico-vaginal mucus samples obtained from different period of estrous cows, 78.84 % was transparent colourless, 2.88 % dirty colourless, 7.69 % yellowish, 6.73 % white and 3.84 % reddish.

In 104 of samples, obtained different period of estrous cows, the viscosity ranged between 0 and 4 mean 2.37 ± 0.09 , pH value was between 6.7 and 9.2 mean 7.46 ± 0.06 , amount of dry matter varied between 0.82 % and 5.02 % mean $1.62 \% \pm 0.06$, water content ranged between 94.08 % and 99.18 % mean $98.37 \% \pm 0.07$, Ca concentration

ranged between 9.3 and 12 mg/100 ml mean 10.06 ± 0.06 mg/100 ml, Na concentration ranged between 10.51 and 13.1 mEq/l mean 12.11 ± 0.05 mEq/l, K level ranged between 110 and 160 mEq/l mean $118.04 \pm$ mEq/l and Mg amount ranged between 2.6 and 4.3 mg/100 ml mean 3.96 ± 0.03 mg/100ml.

The differences in physical properties and chemical contents of mucus samples collected during various phases of estrus were found to be statistically insignificant ($P > 0.05$).

When 104 mucus samples obtained from different phases of estrus cows, were tested by 3 bulls sniffing, chin resting, licking, flehmen and penile erection reactions were recorded and the mean values for the reactions were found to be 91.34, 54.48, 7.04, 68.25 and 3.82 %, respectively.

The result of bull assay carried out as the extracts obtained from the analysis of colon chromatography, dialysis and chloroform/methanol extractions was negative and also no organic substance was detected by spectroscopic analysis. But, after diethyl ether extraction, the samples still induced bull reaction and following spectroscopy, in these extracts from the functional groups of dialkyl substituted benzene, tri substituted phenol, ester, alkene and steroid, 16 organic substance were found.

The results of these studies indicate that bovine cervico-vaginal mucus secretions during estrus, contain pheromones. Additionally it was noticed that pheromones could be extracted with solvents such as diethyl ether which can evaporise at low temperatures (10-15 °C). For testing the presence of pheromones in biological secretions, bull assay still appears to be the most reliable method.

8.KAYNAKLAR

1 - Adams, M.G.(1980). Odour-Producing Organs of Mammals. Symposia of the Zoological Society of London. 45, 57-86.

2- Agrawal, S.C. and Datta I.C. (1977). Physico-Chemical Properties of Bovine Cervical Mucus at Estrus. Indian. J. Exp. Biol. 15, 417-419.

3- Alan, M. (1990). İneklerde Östrusun Belirlenmesi ve Fertilité Yönünden Önemi. TİGEM. 5 : 28, 25-29.

4-Albone, E.S., Blazquez, N.B., French,J., Long, S.E. and Perry, G.C. (1986). Mammalian Semiochemistry Issues and Futures,with Some Examples From a Study of Chemical Signaling in Cattle. 27-36. Ed. D. Duval, D. Muller-Schwarze and B.M. Silverstein. Chemical Signals in Vertebrates. 4th Ed. Plenum Press. New York.

5- Aron,C. (1979). Mechanism of Control of the Reproductive Function by Olfactory Stimuli in Female Mammals. Physiological Reviews. 59 :2, 229-284.

6- Arya, S. P. and Jain, Y. C. (1985). Genital Secretion (Cervico-Vaginal Mucus) of Jersey Cows : Dry Matter, Specific Gravity and Hydrogen Ion Concentration as Indicators of Heat and Early Pregnancy. Indian Journal of Animal Science. 55 : 11, 948-950.

7- Asotra, S., Asotra, K. and Jain, V.C.(1985). Changes in Quantity, Dry Matter, Colour, Fibrosity, pH and Contents of Carbonhydrates and Lipids of Cervico-Vaginal Mucus of Cows During Oestrous Cycle and Early Pregnancy. Indian Journal of Animal Sciences. 55:11, 918-931.

8- Aytuğ, C. N. (1985). Topkim Sığırcılık Seminerleri : Sığır Yetiştiriciliği ve Besicilikte Bakım Besleme ve Hastalıklarla Mücadele Sorunları Hakkında Pratiğe Yönelik Bilgiler. Eğitim Araştırma Çalışmaları Seri II. 5-6. Topkim Topkapı İlaç Premix San. Tic. A. Ş. İstanbul.

9- Bland, K.P, Jubilan, B.M., Lang, C. W. and Nizamoglu, M. (1992). Failure to Detect A Putative Oestrus-İndicating Pheromone in the Urine or Vaginal Secretions of Female Sheep. *Acta Veterinaria Hungarica*. 40: 1-2, 17-25.

10-Blaschke, C.F.,Thompson, Jr.,D.L., Jr.Humes, P.E. and Godke, B.A (1984). Olfaction, Sight and Auditory Perception of Mature Bulls in Detecting Estrual Responses in Beef Heifers. 10th Int. Congress Animal Reproduction and Artificial Insemination. Congress Proceeding, June 10-14 University of Illions, Urbana 11 pp. 284-295.

11-Blaustein, A.R. (1981). Sexual Selection and Mammalian Olfaction *American Naturalist*. 117 : 6, 1006-1010.

12-Blazquez, N. B., Batten, E. H., Long, S. E. and Perry, G. C. (1987). A Quantitive Morphological Examination of Bovine Vulval Skin Glands. *J . Anat*. 155, 153-163.

13-Blazquez. N.B., Long, S.E.,Perry,G.C and Watson,E.D (1987). Effect of Oestradiol-17 beta on Perineal and Neck Skin Glands in Heifer Calves. *J. Endocrinology*. 115, 43-46.

14-Blazquez. N.B., French, J., Long, S.E., Perry, G.C. and Stevens, K.(1988). Bovine Oestrous Odours Behaviovral and Histological İvestigations. In proc. 11th Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. 550.

15-Blazquez, N.B., French, J.M., Long, S.E., and Perry, G.C (1988). A Pheromonal Function for the Perineal Skin Glands. *Veterinary Record*. 123, 49-50.

16-Blissitt, M.J., Bland, K.P. and Cottrell, D.F. (1994). Detection of Oestrous-Related Odour in Ewe Urine by Rams. *J. Reprod. Fertil.* 101, 189-191.

17-Blockey. M.A. de B. (1978). The Influence of Serving Capacity of Bulls on Herd Fertility. *J. Anim. Sci.* 46 : 3, 589-595.

18-Blockey, M.A. de B. (1981). Modification of A Serving Capacity Test for Beef Bulls. *Appl. Anim. Ethol.* 7 , 321-326.

19-Blockey, M.A. de B.(1976). Sexual Behaviour of Bulls at Pasture (A Review). *Theriogenology.* 6: 4, 387-392.

20-Boyland, E. (1946). The Composition of Bovine Cervical Mucins and Their Reactions with Oxidizing Agents. *Biochem. J.* 40 , 334-337.

21-Britt. J.H., Cox. N.M. and Stevenson, S.J. (1981). Advances in Reproduction in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 64 , 1378-1402.

22-Bronson, F.H. (1971). Rodent Pheromones. *Biol. Reprod.* 4, 344-357.

23-Bruce, H.M.(1966). Smell as an Exteroceptive Factor Enviromental Influences on Reproductive Processes. *J. Anim. Sci.* 25 (suppl.), 83-87.

24-Carrel, J. E. (1976). Aphrodisiacs and Anaphrodisiacs Better Loving Through Chemistry. *Stadler Genetic Symposium.* 8 , 79-109.

25-Chenoweth, P.J. (1981). Libido and mating Behavior in Bulls, Boars, and Rams. (A Review). *Theriogenology* 16, 155-177.

26-Claus, R., Over, R. and Dehnhard, M.(1990). Effect of Male Odour on LH Secretion and the Induction of Ovulation in Seasonally Anoestrous Goats. *Anim. Reprod. Sci.* 22, 27-38.

27-Dehnhard, M. and Claus.,R.(1988). Reliability Criteria of a Bioassay Using Rats Trained to Detect Estrus Specific Odor in Cow Urine. *Theriogenology.* 30: 6, 1127-1138.

28-Dehnhard. M., Claus, R., Pfeiffer, S. and Schopper, D. (1991). Variation in Estrus-Related Odors in the Cow and Its Dependency on the Ovary. *Theriogenology.* 35: 3, 645-652.

29-Demirci, E. ve Bozkurt, T. (1994). Evcil Hayvanlarda Feromonlar. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi*, 8: 2, 112-117.

30-Donavon, C.A.(1967). Some Cinical Observation on Sexual Attraction and Deterrence in Dogs and Cattle. *Vet. Med. Small Anim. Clin.* 62, 1047-1051.

31-Doty, R. L. (1986). Odor-Guided Behaviour in Mammals. *Experientia* 42 : 3, 257-271.

32-Estes, R. D.(1972). The Role of the Vomeronasal Organ in Mammalian Reproduction. *Mammalia.* 36, 315-342.

33-Feldman, D. and Gagon, J. (1985). *Statview*™, Brain Power, Inc., Calabasas, C. A.

34-Foote, R.H. (1979). Time of Artificial Insemination and Fertility in Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 62 , 355-358.

35-French. J.M., Moore, G.F., Perry, G.C. and Long, S.E. (1989). Behavioural Predictors of Oestrus in Domestic Cattle, *Bos Taurus.* *Anim. Behav.* 38, 913-919.

36-Geargy, T.W., de Avila, D.M., Westberg, H.H., Senger, P.L. and Reeves, J.J. (1991). Bulls Show no Preference for a Heifer in Estrus in Preference Tests. *J. Anim. Sci.* 69 , 3999-4006.

37-Geary, T.W. and Reeves, J.J. (1992). Relative Importance of Vision and Olfaction for Detection of Estrus by Bulls. *J. Anim. Sci.* 70, 2726-2731.

38-Goodwin, M., Gooding, K.M. and Regnier, F. (1979). Sex Pheromone in the Dog. *Science* 203 : 9, 559-561.

39-Hafez, E. S. E. (1987). *Reproduction In Farm Animals*. Ed. E.S.E. Hafez. 5th Ed. Lea and Febiger. Philadelphia.

40-Hamana, R., El-Banna, A.A. and Hafez, E.S.E. (1971). Sialic-acid and Some Physicochemical Characteristics of Bovine Cervical Mucus. *Cornell Vet.* 61, 104-113.

41-Hawk, H.W. and Conley H.H. (1984). Estrus-Related Odors in Milk Detected by Trained Dogs. *J. Dairy Sci.* 67, 392-397.

42-Haupt, K.A., Rivera, W. and Glickstein, L. (1989). The Flehmen Response of Bulls and Cows. *Theriogenology* 32 : 3, 343-350.

43-Hradecky, P., Sis, R.F. and Klemm, W.R. (1983). Distribution of Flehmen Reactions of the Bull Throughout the Bovine Estrous Cycle. *Theriogenology*. 20, 197-204.

44-Hunter. R.H.F. (1980). Future Developments : Hormonal Cellular and Nuclear Manipulation. 375-376. Ed. R.H.F. Hunter. *Physiology and Technology of Reproduction in Female Domestic Animals*. Academic Press London.

45-Hurnik, J.F., King, G.J. and Robertson, H.A. (1975). Estrus and Related Behaviour in Postpartum Holstein Cows. *Appl. Anim. Ethology*. 2, 55-68.

46-Hurnik, J.F. and King, G.J. (1987). Estrus Behavior in Confined Beef Cows. *J. Anim. Sci.* 65 , 431-438.

47-Izard, M.K. and Vandenberg. J.G. (1982). The Effects of Bull Urine on Puberty and Calving Date in Crossbred Beef Heifers. *J. Anim. Sci.* 55 : 5, 1160-1168.

48-Izard, M.K. and Vandenberg, J.G. (1982). Priming Pheromones From Oestrous Cows Increase Synchronization of Oestrus in Dairy Heifers After PGF₂-alpha Injection. *J. Reprod. Fertil.* 66, 189-196.

49-Izard, M.K. (1983). Pheromones and Reproduction in Domestic Animals. 253-281. Ed. J.G. Vandenberg. *Pheromones and Reproduction in Mammals.* Academic Press, New York.

50-Jacobs, V.L., Sis, R.F., Chenoweth, P.J., Klemm, W.R., Sherry, C.L., and Coppock, E.E., (1980). Tongue Manipulation of the Palate Assists Estrous Detection in the Bovine. *Theriogenology.* 13: 5, 353-356.

51-Karlson, P and Butenandt, A. (1959). *Annu. Rev. Entomol.* 4, 39-58.

52-Kiddy, C.A., Mitchell, D.S., Bolt, D.J. and Hawk, H.W. (1978). Detection of Estrus-Related odors in Cows by Trained Dogs. *Biol. Reprod.* 19, 389-395.

53-Kiddy, C.A. and Mitchell, D.S. (1984). Estrus-Related Odors in Cows: Time of Occurrence. *J.Dairy Sci.* 64 , 267-271.

54-Kiddy, C.A., Mitchell, D.S. and Hawk, H.W. (1984). Estrus-Related Odors in Body Fluids of Dairy Cows. *J.Dairy Sci.* 67, 388-391.

55-Klemm, W.R., Hawkins, G.N. and E.De los Santos (1987). Identification of Compounds in Bovine Cervico-Vaginal Mucus Extracts That Evoke Male Sexual Behavior. *Chemical. Senses* 12 : 1, 77-87

56-Knight, T.W (1980). Sources of Ram Pheromones That Stimulate Ovulation in Ewes. Annual Report. 15-16 Hamilton New Zealand.

57-Knight, T.W and Lynch, P.R. (1980). Sources of Ram Pheromones That Stimulate Ouvlation in the Ewe. Anim. Reprod. Sci. 3 : 2, 133-136.

58-Knight, T.W., Tervit, H.R. and Lynch. P.R. (1983). Effects of Boars Pheromones, Ram's Wool and Presence of Bucks on Ovarlan Activity in Anovular Ewes Early in the Breeding Seasan. Anim. Reprod. Sci. 6 , 129-134.

59-Ladewig, J. and Hart, B.L. (1981). Demonstration of Estrus-Related Odors in Cow Urine by Operant Conditioning of Rats. Biol. Reprod. 24, 1165-1169.

60-Lindsay, D.R. (1965). The Importance of Olfactory Stimuli in the Mating Behaviour of the Ram. Anim. Behav. 13: 1, 75-78.

61-McDonald., L.E. (1989).Veterinary Endocrindogy and Reproduction. 4th Ed. Lea and Febiger, London.

62-Marchlewska-Koj, A. (1984). Pheromones and Mammalian Reproduction. Oxford Reviews of Reproductive Biology. 6, 266-302.

63-Mykytowycz, R. (1976). Olfaction in Relation to Reproduction in Domestic Animals. 207-224. Ed. D. Muller Schwarze and M.M. Mozell. Chemical Signals in Vertebrates. Plenum Press, New York.

64-Nishimura, K., Utsumi, T., Okano and A. Iritani. (1991). Separation of Mounting-Inducing Pheromones of Vaginal Mucus From Estrual Heifers. J. Anim. Sci. 69 , 3343-3347.

65-Olds, D. and VanDemark, N.L. (1957). Luminal Fluids of Bovine Female Genitalia. J. Am. Med. As. 131, 555-556.

66-Olds, D. and VanDemark, N. L. (1957). Physiological Aspects of Fluids in Female Genitalia with Special Reference to Cattle. Am. J. Vet. Res. 587-607.

67-Paleologou, A.M.(1977). Detection of Oestrus in Cows By a New Method Based on Bovine Sex Pheromones. Vet. Rec. 100, 319-320.

68-Paleologou, A.M. (1979). A Study of the Cervico Vaginal Secretions of Cows During the Different Phase of the Estrus Cycle. J. Inst. Anim. Technicians. 30: 2, 83-94.

69-Reinhardt, V. (1983). Flehmen, Mounting and Copulation Among Members of a Semi-Wild Cattle Herd. Anim. Behav. 31, 641-650.

70-Rivard, G.and Klemm, W.R. (1989). Two Body Fluids Containing Bovine Estrous Pheromone(s). Chemical Sense 14 : 2, 273-279.

71-Roberson, M.S., R.P. Ensotegui, J.G. Berardinelli, R.W. Whitman and M.J. McInerney. (1987). Influence of Biostimulation by Mature Bulls on Occurrence of Puberty in Beef Heifers. J. Anim. Sci. 64, 1601-1605.

72-Sasada,H. Sugiyama, T., Yamashita, K. and Masaki, J. (1984). Identification of Specific Odor Component in Mature Male Goat During the Breeding Season. Japanese J. Zootechnical Sci. 54 : 6, 401-408.

73-Scott Blair, G.W., Rolley, S.J., Coppen, F.M.V. and Malpress, F.H. (1941). Rheological Properties of Bovine Cervical Secretions During the Estrous Cycle. Nature. 3728. 147 , 453-454.

74-Sigronet, J.P. (1977). Chemical Communication and Reproduction in Mammals. J. Reprod. Fertil. Suppl. 11, 105-117.

75-Türkiye Cumhuriyeti Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü (1996). Türkiye İstatistik Yıllığı. 315-352. Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası. Ankara.

76-Vandenberg, J.G. and Izard, M.K. (1983). Pheromonal Control of the Bovine Ovarian Cycle.153-159. Ed. D. Müller-Schwarze, R.M. Silverstein. Chemical Signals in Vertebrates. Plenum Press, New York.

77-Wallach, S.J.R. and Price, E.O. (1988). Bulls Fail to Show Preference for Estrous Females in Serving Capacity tests. J. Anim. Sci. 66, 1174-1178.

78-Williamson, N.B., Morris, R.S., Blood, D.C. and Cannon. Ç.M. (1972). A Study of Oestrous Behaviour and Oestrus Dedection Methods in a Large Commerical Dairy Herd. Vet. Rec. 91, 50-58.

79-Wilson., E.O and Bossert, W.H. (1963). Chemical Communication Among Animals. Recent Prog. Horm. Res. 19, 673-710.

80-Zalesky, D.D., M.L. Day. M. Garcia-Winder, K. Imakawa, R.J. Kittok, M.J, D'Occhio and J.E. Kinder (1984). Influence of Exposure to Bulls on Resumption of Estrous Cycles Following Parturition in Beef Cows. J. Anim. Sci. 59: 5, 1135-1139.

9.ÖZGEÇMİŞ

Elazığ 1967 doğumluyum. İlk öğrenimimi Ankara Şeker ilkokulunda, orta öğrenimimi Ankara Atatürk Anadolu Lisesinde tamamladım. 1986 yılında girdiğim F.Ü. Veteriner Fakültesi'nden 1991 yılında mezun oldum. Aynı yılın Ekim ayında aynı fakültede, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalında doktora çalışmalarına başladım. Mart 1993'te aynı Anabilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen aynı görevimi sürdürmekteyim. Evli ve iki çocuk babasıyım.

Arş.Gör.Tanzer Bozkurt

10.TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince her türlü yardımlarını gördüğüm danışman hocam Prof.Dr.Eşref Demirci'ye, Arş.Gör.Mustafa Gündoğan'a, Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Mısır Alibabaoğlu, Yrd.Doç.Dr. Süleyman Servi ve Arş. Gör. Kadir Demirelli'ye, Tarım İl Müdürlüğü Proje İstatistik Şube Müdürlüğü çalışanlarına ve bu çalışmayı 105 nolu proje ile destekleyen F.Ü. Araştırma Fonu (FÜNAF) çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

