

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HOLŞTAYN İRKİ İNEKLERDE PROGESTERONA DAYALI
SENKRONİZASYONDA FARKLI ZAMANLARDA PGF_{2α}
ENJEKSİYONUNUN GEBELİK ORANINA ETKİSİ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Veteriner Hekim İbrahim ŞAHAN

DANIŞMAN
Prof. Dr. Cihan KAÇAR

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

2019-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HOLŞTAYN İRKİ İNEKLERDE PROGESTERONA DAYALI
SENKRONİZASYONDA FARKLI ZAMANLARDA PGF_{2α}
ENJEKSİYONUNUN GEBELİK ORANINA ETKİSİ**

**Veteriner Hekim İbrahim ŞAHAN
DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Cihan KAÇAR**

2019-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Veteriner Hekim İbrahim ŞAHAN tarafından hazırlanmış olan "*Holştayn Irkı İneklerde Progesterona Dayalı Senkronizasyonda Farklı Zamanlarda PGF2a Enjeksiyonunun Gebelik Oranına Etkisi*" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy *birliği* ile *kabul* edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12/09/2019

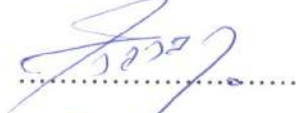
Adı Soyadı

İmza

Başkan: Prof. Dr. Cihan KAÇAR



Üye: Prof. Dr. Hasan ORAL



Üye: Prof. Dr. Abuzer Kafar ZONTURLU



Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... gün ve.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Doç. Dr. Özgür ÇELEBİ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Sütçü ineklerde verim kapasitesinin artırılma girişimlerinden dolayı ortaya çıkan en önemli fertilité problemlerden biri doğum gebe kalma aralığının uzamasıdır. Süt sığırını yetiştiriciliği işletmelerde böylesi durumlar ciddi maddi kayıplara sebebiyet vermektedir. Bu durumun en önemli sebepleri arasında hatalı östrus tespiti, östrus tespitinin yapılamaması ve yanlış zamanda suni tohumlama yapılmasıdır.

Günümüzde çiftlik hayvanlarında döl verim parametrelerini arttırmak amacıyla birçok girişimlerde bulunmaktadır. Temelini östrus senkronizasyon protokollerinin oluşturduğu bu girişimlerde temel hedef postpartum dönemde en kısa sürede gebe kalması sağlanıp işletme karlılığını bir adım daha ileriye taşımaktır.

İşletmelerde mevcut gebe hayvan sayısının arttırılmasına yönelik birçok östrus ve ovulasyon senkronizasyon programları uygulanmaktadır. Östrus takibinin getirdiği ekstra işçilik veya hatalı tespitlerden dolayı maddi kayıpların yaşanması özellikle sabit zamanlı suni tohumlama protokollerinin tercih edilmesine yol açmaktadır. Sabit zamanlı suni tohumlama protokollerinin de bazı eksik yönleri bulunmaktadır. Bunlardan birisi de luteolizis kayıplarının yaşanmasıdır.

Sunulan çalışmada, progesteron temelli sabit zamanlı suni tohumlama uygulanan Holştayn ineklerde farklı zamanlarda $PGF_{2\alpha}$ 'nın enjeksiyonunun gebelik oranına etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Özellikle protokolde 12 saat ara ile çift doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonlarının gebelik oranına ve luteolizis kayıpları üzerine etkisinin ortaya çıkarılması hedefler arasındadır. Yapılan çalışmada elde edilen verilerin hem Veteriner Hekimlik mesleğini icra eden meslektaşlarımıza hem de yapılacak çalışmalara faydalı olabileceği kanaatindeyiz.

TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans tezi eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tez çalışmam süresince katkı ve desteklerini esirgemeyen ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Cihan KAÇAR'a,

Tezimin her aşamasında katkıda bulunan hocalarım Prof. Dr. Hasan ORAL'a, Doç. Dr. Duygu KAYA'ya, Doç. Dr. Semra KAYA'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Mushap KURU'ya ve Arş. Gör. Murat Can DEMİR'e,

Progesteron konsantrasyonunun belirlenmesinde yardımcı olan Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Onur ATAKIŞI'ye

Saha uygulamalarında yardımlarından dolayı ve mesleki tecrübelerinden faydalandığım, meslektaşı olmaktan gurur duyduğum Veteriner Hekim İbrahim DAŞTAN'a

Hayatım boyunca destek ve sevgileriyle esirgemedi destek olan aileme,

Saha çalışmam boyunca göstermiş olduğu sabır ve güler yüzlülüğünden dolayı çok sevdiğim eşim Fatma ERAT ŞAHAN'a en samimi duygularıyla teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
KISALTMALAR LİSTESİ	I
ŞEKİLLER LİSTESİ	II
TABLolar LİSTESİ	IV
ÖZET	V
SUMMARY	VII
1. GİRİŞ	1
1.1. Pubertas ve Seksüel siklus	1
1.1.1. Pubertas	1
1.1.2. Seksüel Siklus	2
1.1.2.1 Östrus Siklusunun Evreleri	3
1.1.3. Foliküler Dalgalar	4
1.1.4. Korpus Luteum Oluşumu ve Luteolizis	5
1.1.4.1. Korpus Luteumu Oluşturan Hücre Çeşitleri	6
1.1.4.2. Korpus Luteumun Lizisi ve Vazoaktif Ajanları	6
1.2. İneklerde Östrus Senkronizasyonu	8
1.2.1. İneklerde PGF _{2α} ve Analogları ile Östrus Senkronizasyonu	9
1.2.2. İneklerde Sabit Zamanlı Suni Tohumlama Protokolleri	11
1.2.2.1. Ovsynch Protokolü	11
1.2.2.2. Cosynch Protokolü	12
1.2.2.3. Heatsynch Protokolü	13
1.2.2.4. Selectsynch Protokolü	13
1.2.2.5. Presynch Protokolü	14
1.2.2.6. Double Ovsynch Protokolü	14
1.2.3. Progesteron Destekli Yapılan Senkronizasyon Protokolleri	15
2. MATERYAL VE METOT	20
2.1. Hayvan materyali	20
2.2. Besleme	20
2.3. Senkronizasyon Protokolleri	21
2.4. Suni Tohumlama Uygulaması	22
2.5. Gebelik Muayenesi	22

2.6.	Kan Örneklerinin Değerlendirilmesi	22
2.7	Serum Progesteron Değerlerinin Belirlenmesi	23
2.8	İstatiksel Analiz	24
3.	BULGULAR	25
3.1.	Yaş, Vucut Kondüsyon Skoru (VKS) ve Süt Verimi	25
3.2.	Gebelik Oranları	26
3.3.	Progesteron Değerleri, Luteolizis ve Gebelik Oranları	27
4.	TARTIŞMA	31
5.	SONUÇ	39
6.	KAYNAKLAR	40
	ÖZGEÇMİŞ	49

KISALTMALAR LİSTESİ

CIDR	Progesteron İçeren Vagina İçi Araç
CL	Korpus luteum
ÇA	Çara akıntısı
DNA	Deoksiribonükleik asit
E2	Östradiol
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FSH	Follikül uyarıcı hormon
GnRH	Gonadotropin salınım hormonu
hCG	İnsan korionik gonadotropin
LH	Luteinleştirici hormon
MHz	Megahertz
OXT	Oksitosin
NO	Nitrikoksit
EDN1	Endotelin-1
ANG	Angiotensin
PGF_{2α}	Prostoglandin F ₂ alfa
ST	Suni tohumlama
ECP	Östradiol cypionate
PRID	Progesteron İçeren Vagina İçi Araç

ŞEKİLLER LİSTESİ

		Sayfa No
Şekil 1	İneklerde seksüel siklusun dönemleri ve ortalama günleri	3
Şekil 2	Foliküler dalgada çapı 1 mm kadar küçük olan foliküllerin belirlenmesi	4
Şekil 3	İneklerde folliküler gelişimin aşamaları. Bir östrus siklusunda şekillenebilen 2 veya 3 follikül dalgaların şekilsel görünümü	5
Şekil 4	Folikülden CL oluşumu	6
Şekil 5	Uterustan PGF _{2α} senteziyle başlayan fonksiyonel ve luteolisiz olgusunda artan veya azalan faktörler	7
Şekil 6	Sığırlarda luteolitik dalga sırasında rol oynayan vazoaktif ajanlar	8
Şekil 7	Korpus luteum olanlara tek doz PGF _{2α} senkronizasyon	10
Şekil 8	İlk beş gün kızgınlık takibi ve çift doz PGF _{2α} ile senkronizasyon	10
Şekil 9	Yedi gün kızgınlık takibine dayalı PGF _{2α} ile senkronizasyon	11
Şekil 10	Hedef tohumlama protokolü	11
Şekil 11	Ovsynch protokolü	12
Şekil 12	Cosynch protokolü	12
Şekil 13	Heatsynch protokolü	13
Şekil 14	Selectsynch protokolü	14
Şekil 15	Presynch-Ovsynch protokolü	14
Şekil 16	Double Ovsynch protokolü	15
Şekil 17	Progesteron (7gün) ve PGF _{2α} ile senkronizasyon	15
Şekil 18	Ovsynch+Progesteron ile Cosynch+Progesteron protokolü	16
Şekil 19	Modifiye Ovsynch+8 gün progesteron protokolleri	17
Şekil 20	Beş gün progesteron+Cosynch-72 protokolünde 12 saat arayla çift doz PGF _{2α} uygulaması	17
Şekil 21	Grup 1'e uygulanan progesteron destekli senkronizasyon protokolü.	21
Şekil 22	Grup 2'e uygulanan progesteron destekli senkronizasyon protokolü	21
Şekil 23	Grup 3'e uygulanan progesteron destekli senkronizasyon protokolü	22

Şekil 24	Grup 1’de serum progesteron konsantrasyonunu günlere göre değişimi	27
Şekil 25	Grup 2’de serum progesteron konsantrasyonunu günlere göre değişimi	28
Şekil 26	Grup 3’de serum progesteron konsantrasyonunu günlere	28



TABLolar LİSTESİ

		Sayfa No
Tablo 1	Çalışmada kullanılan ineklerin yaş, vücut kondüsyon skoru ve süt verimleri	25
Tablo 2	Gruplardaki ineklerin gebelik oranları	26
Tablo 3	İneklerde vücut kondüsyon skoruna göre gebelik oranları	26
Tablo 4	Gruplararası ve günlere göre progesteron değerleri	27
Tablo 5	Gruplardaki luteolizis oranları	29
Tablo 6	Luteolizis şekillenen ineklerde gebelik oranları	29
Tablo 7	Luteolizis şekillenen ineklerde progesteron değerleri	30

ÖZET

Holştayn Irkı İneklerde Progesterona Dayalı Senkronizasyonda Farklı Zamanlarda PGF_{2α} Enjeksiyonunun Gebelik Oranına Etkisi

Bu çalışmada, progesteron temelli sabit zamanlı suni tohumlama uygulanan Holştayn ineklerde PGF_{2α}'nın farklı zamanlarda enjeksiyonunun gebelik oranına etkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Sunulan bu çalışmada inekler rastgele 3 gruba ayrıldı. Grup 1 (n = 30): Bu gruptaki hayvanlara 0. gün 2 mL gonadotropin-releasing hormon (GnRH, Gonadorelin diasetat tetrahidrat, Ovarelin[®], Ceva, Türkiye) enjeksiyonu ile birlikte PRID Delta (1,55 g progesteron, PRID Delta[®], Ceva, Türkiye) intravaginal olarak uygulandı. Bu uygulamadan 8 gün sonra 5 mL PGF_{2α} (Dinoprost, Enzaprost-T[®], Ceva, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı. PRID 9. gün çıkartıldı ve 60 saat sonra suni tohumlama ile birlikte 2 mL GnRH enjeksiyonu yapıldı. Grup 2 (n = 30): Bu gruba Grup 1'den farklı olarak PRID intravaginal yerleştirildikten 8 ve 9 gün sonra 5 mL PGF_{2α} enjeksiyonu yapıldı. Grup 3 (n = 30): Bu gruba Grup 1'den farklı olarak PRID intravaginal yerleştirildikten 9 gün sonra 5 mL PGF_{2α} enjeksiyonu yapıldı. Gebelik muayeneleri sabit zamanlı suni tohumlama uygulamasında 45 gün sonra transrektal ultrasonografi ile yapıldı. Çalışma süresince 8. gün (Grup 1 ve 2), 9. gün (PRID çıkarılma günü), suni tohumlama günü kan örnekleri alındı ve serum progesteron değerleri belirlendi. Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel hesaplamasında SPSS 18 paket programı kullanıldı. Yapılan gebelik muayenelerinin sonuçları ise Grup 1, 2 ve 3'te sırasıyla %36,67, %53,33, %43,33 olarak belirlenmiştir (P = 0,194). Vücut kondüsyon skoru (VKS) < 3 olan ineklerde 24 saat ara ile PGF_{2α} enjeksiyonunun gebelik oranlarını (%70) diğer iki gruba göre (Grup 1 %20, Grup 3 %25) artırmıştır (P = 0,045). Gruplarda kan alım günlerine göre progesteron konsantrasyonunun PGF_{2α} enjeksiyonlarından sonra azaldığı (P < 0,001) belirlenmiştir. Gruplardaki luteolizis oranları arasında istatistiksel bir fark tespit edilmemiştir (P = 0,183). Luteolizis şekillenen ineklerde gebelik oranları bakımından Grup 1 ve Grup 3 arasında istatistiksel bir fark belirlenmiştir (P = 0,04). Sonuç olarak, ineklerde progesteron destekli sabit zamanlı suni tohumlama protokollerinde 24 saat arayla PGF_{2α} enjeksiyonu sayısal olarak hem

gebelik hem de luteolizis oranını arttırdığından fertilitiyi geliştirmede olumlu etkisinin olabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Gebelik, İnek, Luteolizis, $PGF_{2\alpha}$, Progesteron



SUMMARY

The Effect of PGF_{2α} Injection in Different Times on the Pregnancy Rate in Progesterone Based Synchronization in Holstein Cows

This study determined the effect of PGF_{2α} injection at different times on pregnancy rates in Holstein cows treated with progesterone-based fixed-time artificial insemination. In the present study, cows were randomly divided into three groups. Group 1 (n = 30): PRID Delta (1.55 g progesterone, PRID Delta[®], Ceva, Turkey) was placed intravaginally with 2 mL gonadotropin-releasing hormone (GnRH, Gonadorelin diacetate tetrahydrate, Ovarelin[®], Ceva, Turkey) injection on day 0. Eight days later, 5 mL PGF_{2α} (Dinoprost, Enzaprost-T[®], Ceva, Turkey) was injected. PRID was removed on the 9th day, and after 60 hours, fixed-time artificial insemination was performed with 2 mL GnRH injection. Group 2 (n = 30): 5 mL PGF_{2α} was injected 8 and 9 days after intravaginal placement of PRID. Group 3 (n = 30): 5 mL PGF_{2α} was injected 9 days after intravaginal placement of PRID. Pregnancy examinations were performed by transrectal ultrasonography 45 days after fixed-time artificial insemination. Blood samples were taken on the 8th day (Groups 1 and 2), 9th day (PRID removal day), and artificial insemination day and serum progesterone concentration was determined. SPSS 18 package program was used in the statistical analysis of the data. The pregnancy rates were 36.67%, 53.33%, and 43.33%, in Groups 1, 2, and 3, respectively (P = 0.194). In cows with a body condition score (BCS) < 3, repeated PGF_{2α} injections within a 24-hour interval increased the pregnancy rate (Group 2: 70%) compared to the other two groups (Group 1: 20%, Group 3: 25%) (P = 0.045). Progesterone concentrations decreased after PGF_{2α} injections (P < 0.001). No significant difference was found between luteolysis rates in the groups (P = 0.183). In cows having luteolysis, a significant difference was found between Group 1 and Group 3 pregnancy rates (P = 0.04). In conclusion, PGF_{2α} injection within a 24-hour interval in progesterone assisted fixed-time artificial insemination protocols in cows quantitatively increased both pregnancy and luteolysis rates and may improve fertility.

Key words: Cow, Luteolysis, PGF_{2α}, Pregnancy, Progesterone

1. GİRİŞ

Günümüz çağdaş hayvan yetiştiriciliğinde üremenin denetlenmesi amacıyla birçok yöntem uygulanmaktadır. Bu yöntemlerin ortak paydası; döl verimini en yüksek seviyeye çıkartılarak yıl içerisinde birim hayvan başına düşen yavru sayısını arttırarak (Alaçam 2015), et ve süt üretimi yapan işletmelerde de karlılığı arttıracaktır (Gordon 2002). Çiftlik hayvanlarında döl verimini arttırmak ve doğum-gebe kalma aralığını kısaltmak amacıyla östrus ve ovulasyon senkronizasyon yöntemleri sıkça kullanılmaktadır (Kuru 2015).

İneklerde üremenin denetlenmesi amacıyla östruslar kontrol altına alınabilmektedir. Bunu için yapılan uygulamaların başında $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu ile luteal evrenin kısaltılması veya progesteron/progestagen uygulamaları ile luteal evrenin uzatılmasıdır. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalarda foliküler aktivite ve ovulasyon kontrolü üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir (Semacan ve Pancarcı 2019).

1.1. Pubertas ve Seksüel Siklus

1.1.1. Pubertas

Pubertas; fertil ovulasyonlu ilk östrusun başlamasıdır. Pubertas, seksüel olgunluk değil, sadece seksüel başlangıçtır. Çünkü ilk ovulasyondan sonra oluşacak kızgınlıklarda seksüel olgunluk artarak gebe kalma yeteneği gelişir (Day ve Anderson 1998, Ball ve Peters 2004, Kalkan ve Öcal 2019). Bununla birlikte pubertası, kızgınlığı takiben fonksiyonel korpus luteumun oluştuğu ilk östrus olarak tanımlayan araştırmacılarda olmuştur (Moran ve ark. 1989, Kinder ve ark. 1995).

Düvelerde pubertas öncesi ilk ovulasyon 4-9. aylar arasında şekillenir fakat bu sürenin oldukça değişken olabileceği ileri sürülmüştür. Ancak bu dönemde östrusun dış belirtilerinin ciddi manada görülmediği, ovulasyonla atılan oositin

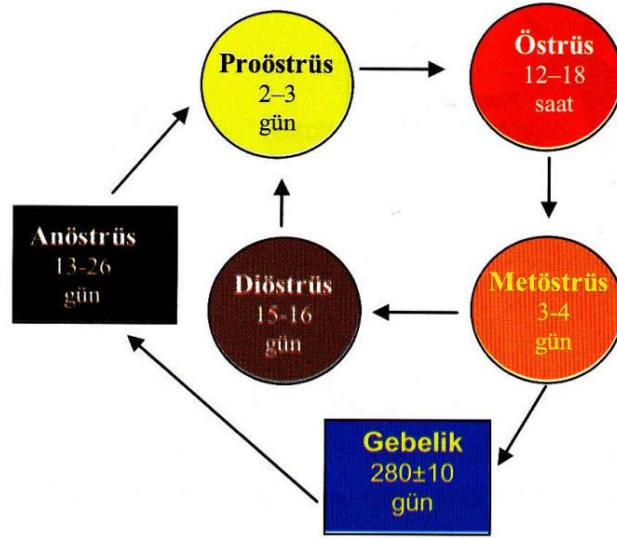
kalitesinin düşük ve sonrasında şekillenen korpus luteumun da kısa ömürlüdür. (Evans 1994, Rawlings 2003).

Düvelerde pubertas yaşı özellikle mevsim ve beslenme gibi gelişmeyi etkileyebilecek bazı faktörlere bağlı olarak değişim gösterebilir ve bu tip durumlarda pubertas ortalama 10-12. aylarda görülebilir. Fakat yetiştirme yaşı hayvanın canlı ağırlığı ve vücut gelişimine göre 13-17. aylar arasında değişmekte olup çoğu işletmelerde düvelerin 22-24. aylar arasında buzağılaması amaçlanmaktadır (Schillo 1992, Donovan 2003).

Pubertasa ulaşmış düvelerin mümkün olduğunca en kısa sürede tohumlanması istenmektedir. Bu sayede erken gebe kalan düveler geç tohumlananlara göre aksi bir durum olmadıkça daha uzun süre damızlıkta kullanılabilirler. Bu özelliğin yakalanması çiftlik bazında ekonomik yönden önemli bir avantaj sağlar (Lesmeister ve ark. 1973). Ancak düvelerin çok erken yaşta tohumlanması, abortlara ve pelvik çatının doğuma elverişsiz olmasından kaynaklı güç doğumlara neden olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (Patterson ve ark. 1992, Rice 1994).

1.1.2. Seksüel Siklus

Evcil hayvanlarda seksüel siklus genel olarak proöstrüs, östrüs, metöstrüs, diöstrüs ve anöstrüs olmak üzere beş döneme ayrılır (Şekil 1). İneklerde ise proöstrüs, östrüs, metöstrüs ve diöstrüs olmak üzere dört evrede incelenmektedir (Knickerbocker 1986, Kalkan ve Horoz 2015). Seksüel siklus uzunluğu ineklerde ortalama 21 gün, düvelerde ise 20 gündür. Siklusunun ortalama uzunluğu veya kısalığına bakım, besleme, çevre şartları, iklim, süt verimi, ayak hastalıkları ve ırk gibi faktörler etki edebilmektedir (Hafez ve Hafez 2006, Larson ve Randle 2019).



Şekil 1: İneklerde seksüel siklus dönemleri ve ortalama günleri (Kalkan ve Horoz 2015).

1.1.2.1. Östrus Siklus Evreleri

Proöstrus: Bu dönem ortalama 2-3 gün sürer ve ovaryan aktivitede belirgin bir artışın olduğu dönemdir. Kanda folikül uyarıcı hormon (FSH) düzeyindeki artışa bağlı olarak follikül gelişmesi hızlanır ve bunu takiben kan östrojen seviyesinde artışa gözlenir. Östrojen seviyesindeki artışın olması klinik olarak östrus belirtilerinin ortaya çıkmasına sebep olur. İneklerde en tipik bulgu diğerlerinin üzerine çıkıp kendi üzerine çıkılmasına müsaade etmemesidir (Kalkan ve Horoz 2015).

Östrus: Bu dönem ineklerde 12-18 saat arasında sürer ve çiftleşmeyi kabul ettikleri evredir. Bu evrede proöstrusun aksine diğer hayvanların üzerlerine atlarlar ve kendi üzerine atlanılmasına müsaade ederler. Bununla birlikte hareketlerinde, süt veriminde, iştahta ve geviş getirmede azalma olmaktadır. Hayvanlar huzursuzdur ve beden ısısında artış görülür (Kalkan ve Horoz 2015, Larson ve Randle 2019).

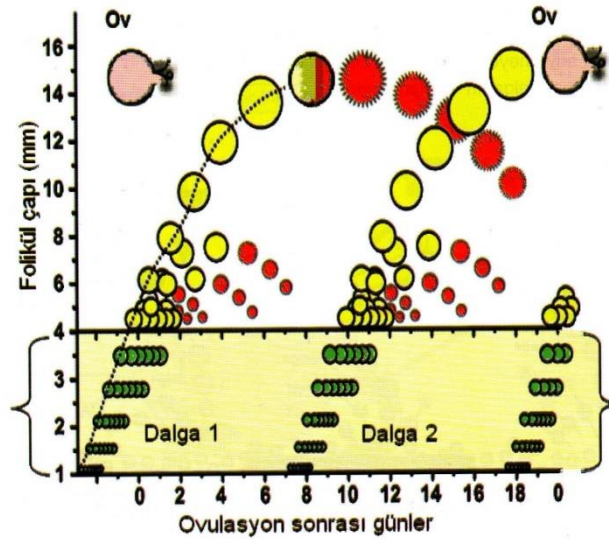
Metöstrus: Bu dönemde ovulasyonun olduğu ve çiftleşme isteği tamamen bitmiştir ve diğer hayvanların kendi üzerine atlanmasına izin vermezler. Ovulasyonlar sonrası progesteron kaynağı olan corpus hemorajikum ve sonrası korpus luteum şekillenmektedir. Ovulasyon, östrus bitiminden 8-12 saat sonra veya luteinleştirici hormon (LH) pikinden 24-30 saat sonra şekillenmektedir. Bu dönem boyunca östrojen ve progesteron seviyeleri düşüktür. Korpus luteumun yavaş yavaş gelişmeye

başlamasıyla progesteron salınır ve metöstrüs dönemi tamamlanır. Bu dönem ineklerde 3-4 gün sürmektedir (Kalkan ve Öcal 2019, Larson ve Randle 2019).

Diöstrus: Hormonal olarak progesteronun hakim olduğu bu dönem seksüel siklusun en uzun evresidir. Korpus luteum aktif olarak progesteron salgılanır ve ortalama 15-16 gün sürmektedir. Gebelik şekillenmediğinde uterustan salgılanan $PGF_{2\alpha}$ (siklusun 16-18. günler arasında) korpus luteumu lize eder. Bunun akabinde ise progesteron seviyesininde hızlı bir azalma görülür yeni bir siklus başlar (Senger 2005, Kalkan ve Öcal 2019).

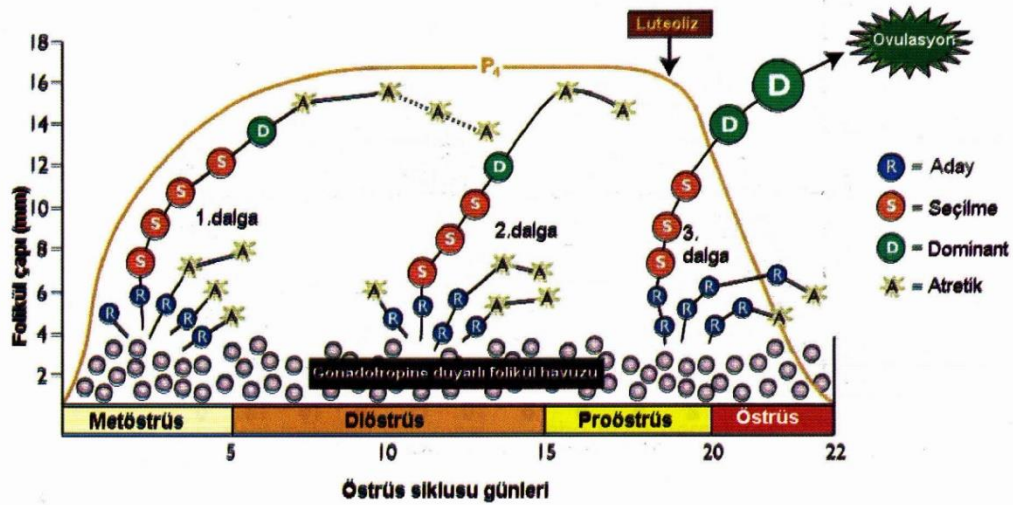
1.1.3. Foliküler Dalgalar

Foliküler dalgalar prepubertal süreçte, puberta sonrasında, gebelikte, doğum sonrasında şekillenmektedir. Oluşacak dalgalarda 5 ile 10 adet follikül aktive olur ve 2 dalga arası genellikle 7-9 gün sürmektedir. İneklerde çoğunlukla 2 veya 3 folliküler dalga görülür (Şekil 2, Sirois ve Fortune 1988, Ginther ve Knopf 1989, Adams ve ark. 2008).



Şekil 2: Foliküler dalgada çapı 1 mm kadar küçük olan foliküllerin görüntülenmesi (İki dalgalı bir siklus). Folikülün baskın hale geldiği (noktalı çizgi) büyüme oranının, dalga ortaya çıktıktan sonra (1 mm'den başlayarak) yaklaşık 5 güne kadar diğer dalgalara benzer olduğu ve dominant hale gelmesi beklenen folikül bir boyut avantajına sahip olduğu gösterilmiştir (Adams ve ark. 2008).

Sığır östrus sikluslarının çoğunluğu (>%95), iki veya üçlü foliküler dalgadan oluşmaktadır. Hem iki hem de üç dalgalı östrus sikluslarında, ilk foliküler dalganın ortaya çıkışı, ovulasyon gününde gerçekleşir (0. gün). İkinci dalganın ortaya çıkışı, iki dalgalı siklusun 9. veya 10. gününde, üç dalgalı siklusun 8. veya 9. gününde gerçekleşir. Üç dalgalı siklusta, 15. veya 16. günlerde üçüncü bir dalga ortaya çıkar. Progesteronun etkisi altında (diöstrusta), ardışık halde meydana gelen dalgaların dominantlık kazanmış folikülleri atrezi olmaktadır (Şekil 3, Senger 2005, Adams ve ark. 2008).



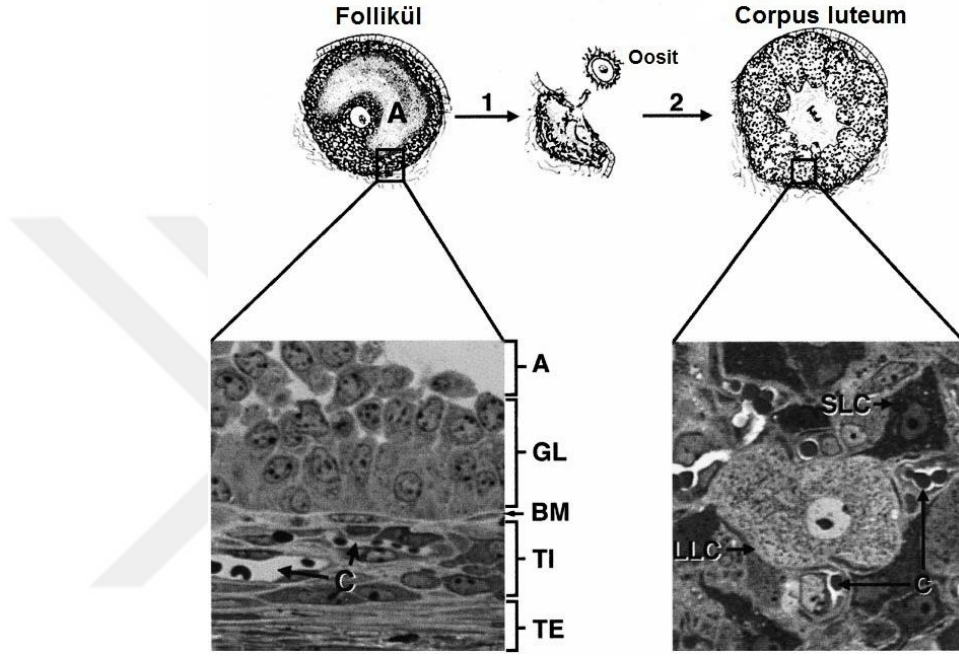
Şekil 3: İnekte folliküler gelişimin aşamaları. Bir östrus siklusunda şekillenebilen 2 veya 3 follikül dalgasının şekilsel görünümü. E2: Östrojen (Senger 2005, Kalkan ve Öcal 2019).

1.1.4. Korpus Luteum Oluşumu ve Luteoliz

Ovulasyon sonrasında oluşan korpus luteum (CL), gebeliğin devamlılığı için progesteron sentezleyen endokrin bir organdır (Miyamoto ve Shirasuna 2009, Kuru ve ark. 2014, Çolak 2015). Oositin atılmasından sonra teka interna dokusu folikül duvarının ortadan kalkmasıyla granuloza dokusunun içine girer ve şekillenmiş olan boşluğuna kan dolarak teka interna tabakası tarafından organize edilerek *korpus haemorrhagicum* oluşur. Bu süreci takiben granuloza ve teka interna hücreleri lutein hücrelerine dönüşerek *korpus luteum* oluşur. Birçok türde diöstrus aşamasında korpus luteum'un rengi koyu kırmızıdan sarı-krem rengine dönüşür (*korpus albicans*). Ancak ineklerde lipokrom pigmentinden dolayı korpus luteum koyu renk alır (Çolak 2015).

1.1.4.1. Korpus Luteumu Oluşturan Hücre Çeşitleri

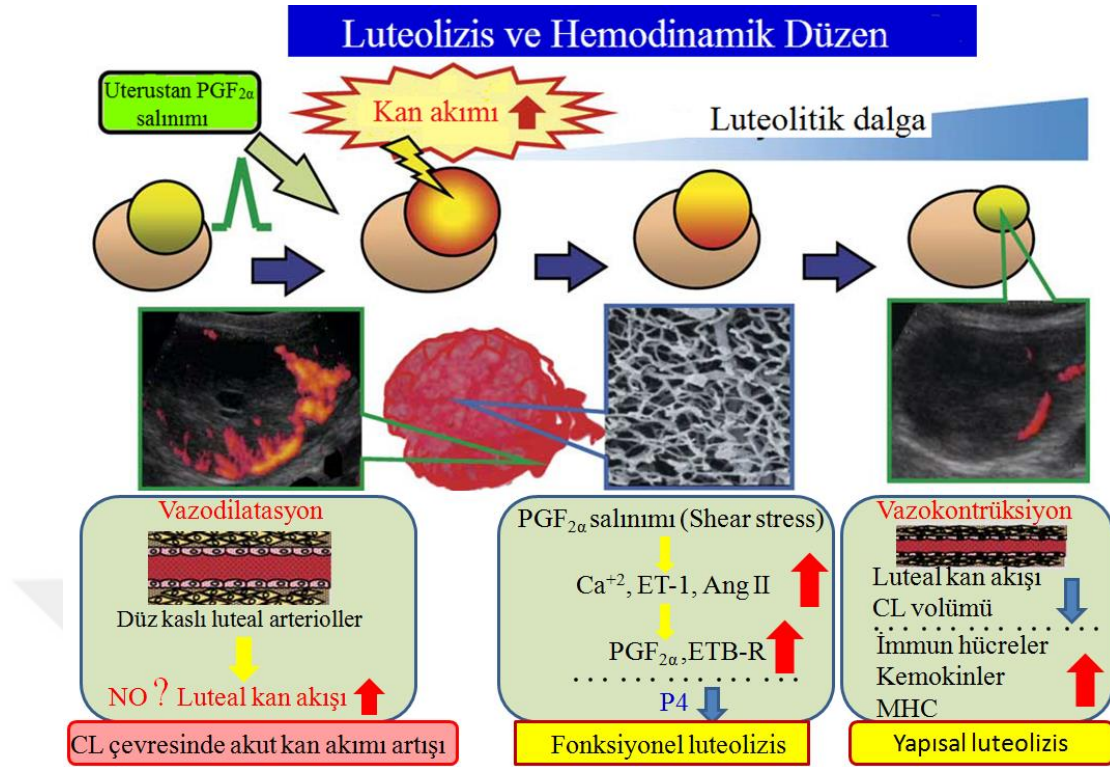
Korpus luteum *luteal hücreler* (küçük luteal hücreler 10-20 μm çapta, büyük luteal hücreler 25-38 μm çapta, Şekil 4) ve temel olarak *vasküler hücrelerden* (10-15 μm çapta hücrelerden oluşmaktadır (Niswender ve ark. 2000, Miyamoto ve Shirasuna 2009).



Şekil 4: Folikülden CL oluşumu. A: Antrum, BM: Taban membran, GL: Granulozal tabaka, TI: Teka interna, TE: Teka externa, C: Kapillar damar, LLC: Büyük luteal hücre, SLC: Küçük luteal hücre (Niswender ve ark. 2000).

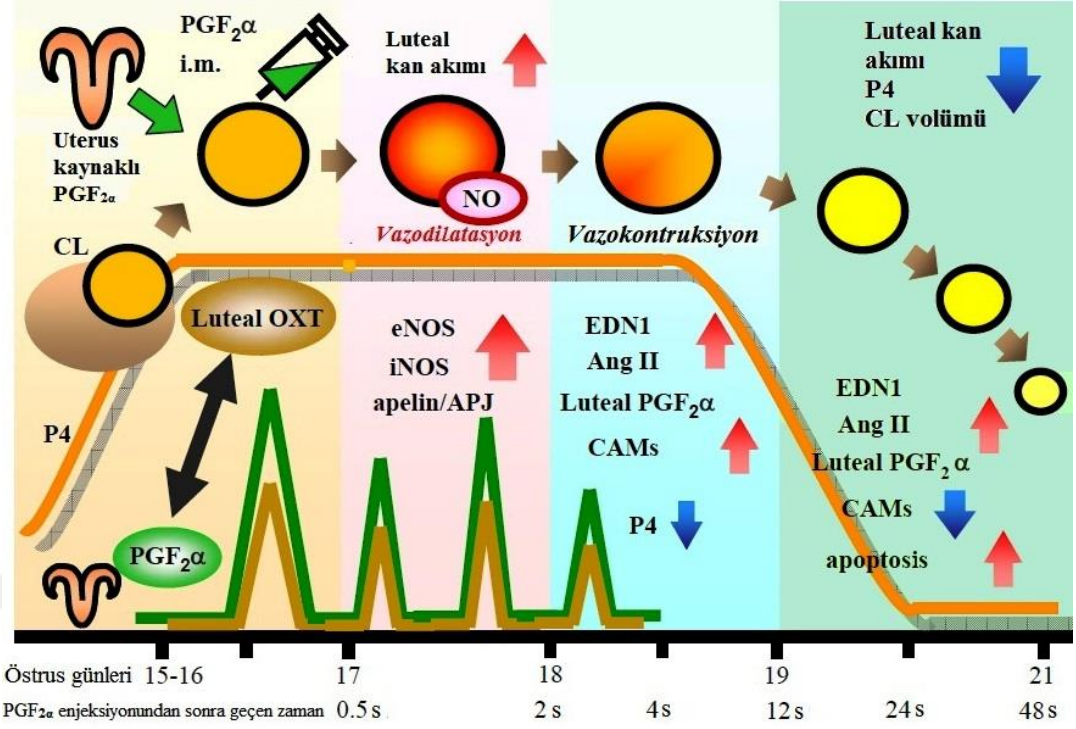
1.1.4.2. Korpus Luteumun Lizisi ve Vazoaktif Ajanları

İneklerde gebelik şekillenmediği durumlarda siklusun 16-18. günlerinde uterustan salgılanan $\text{PGF}_{2\alpha}$ ovaryum arterlerine gelerek korpus luteumun regresyonuna sebep olur (Korzekwa ve ark. 2004, Watanabe ve ark. 2006, Kuru ve ark. 2014, Kalkan ve Horoz 2015). Yapılan çalışmalarda ise $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'nın ovarian arter ve venöz sistemi önce genişlettiği daha sonra bu damarlarda vazokonstriksiyona sebep olduğu bildirmektedir (Şekil 5, Shirasuna ve ark. 2008, Miyamoto ve Shirasuna 2009).



Şekil 5: Uterustan PGF_{2α} senteziyle başlayan fonksiyonel ve yapısal luteolizis olgusunda artan veya azalan faktörler. NO: Nitrik oksit, CL: Corpus luteum, Ca: Kalsiyum, ET-1: Endotelin1, Ang II: Anjiyotensin II, ETB-R: Endotelin tip B reseptör, P4: Progesteron, MHC: Major histocompatibility complex molecules (Miyamoto ve ark. 2005).

Sığırlarda ovaryum adrenerjik sinirlerce zengindir ve bu sinirler nitrik oksit sentetaz aracılığı ile L-arginin'den nitrik oksit (NO) sentezlerler (Jaroszewski ve Hansel 2005, Skarzynski ve ark. 2003). Nitrik oksit luteal kan akışının artırılmasında görevli kuvvetli bir vazorelaksandır (Şekil 6, Miyamoto ve Shirasuna 2009). Bu konuda da yapılmış birçok çalışma NO'nun sığırların luteolizis olgusunda çok önemli bir mediatör olduğunu göstermektedir (Skarzynski ve ark. 2000, Skarzynski ve ark. 2003).



Şekil 6: Luteolisizde vazoaktif ajanlar (Miyamoto ve Shirasuna 2009).

Siklusun 4. ve 11. günlerinde $PGF_{2\alpha}$ uygulaması sonrası yapılan ölçümlerde belirgin farklılıkların olduğu belirlenmiştir (Tsai ve Wiltbank 1998). Luteal dönemin 11. günü CL volumü, ağırlığı ve salgıladığı progesteron (P_4) miktarı, luteal dönemin 4. gününden daha fazladır (Sugino ve Okuda 2007).

1.2. İneklerde Östrus Senkronizasyonu

Östrus senkronizasyonunda amaç bir inek sürüsünde toplu halde suni tohumlama veya çiftleştirme yapmak amacıyla kızgınlıkların aynı anda orta çıkmasını sağlamaktır. Ancak östrus senkronizasyonu ile kızgınlığın uyarılması terimleri birbiri ile karıştırılmamalıdır. Östrusun uyarılması anöstrus evresindeki bir hayvanın ovaryum aktivitesini uyararak kızgınlık belirtilerini saptanmasını zorlamaktır. Östrus senkronizasyonu ise bir sürü içinde östrus siklusları ve siklik aktiviteleri düzenli olan hayvanların kızgınlıklarını olabildiğince eş zamanlı göstermelerini sağlamaktır (Semacan ve Pancarcı 2019).

Östrus senkronizasyonunun faydalarını özetlemek gerekirse; kızgınlık tespitinde başarımın artırılması, kızgınlık tespitinde harcanan zamanın kısaltılması, doğumların istenilen zaman aralıklarına yoğunlaşması ve bir örnek buzağuların olması, reproduktif nedenlerden dolayı sürüden çıkarılan hayvan sayısının azaltılması, sürünün reproduktif yönetimi için belirli zamanlara iş gücünün yoğunlaşması, çok daha fazla hayvan yoğun olarak tohumlanacağından dolayı gebelik oranlarında artış sağlanabilmektedir (Kuru 2015).

1.2.1. İneklerde $PGF_{2\alpha}$ ve Analogları ile Östrus Senkronizasyonu

Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile yapılan senkronizasyon tam bir senkronizasyon sayılmaz çünkü $PGF_{2\alpha}$ sadece korpus luteumun üzerine etkilidir. Dolaylı yönden folliküler dalganın oluşumuna neden olur. $PGF_{2\alpha}$ enjekte edilen hayvanların tamamına ortalama 72-80. saatlerde suni tohumlama yapılmış ve gebelik oranı %50 olarak bulunmuştur. Bunun sebebi ise $PGF_{2\alpha}$ uygulandığı zamanda folliküler dalganın hangi aşamada olduğunun belirlenmemesidir (Graves ve Lauren 2004).

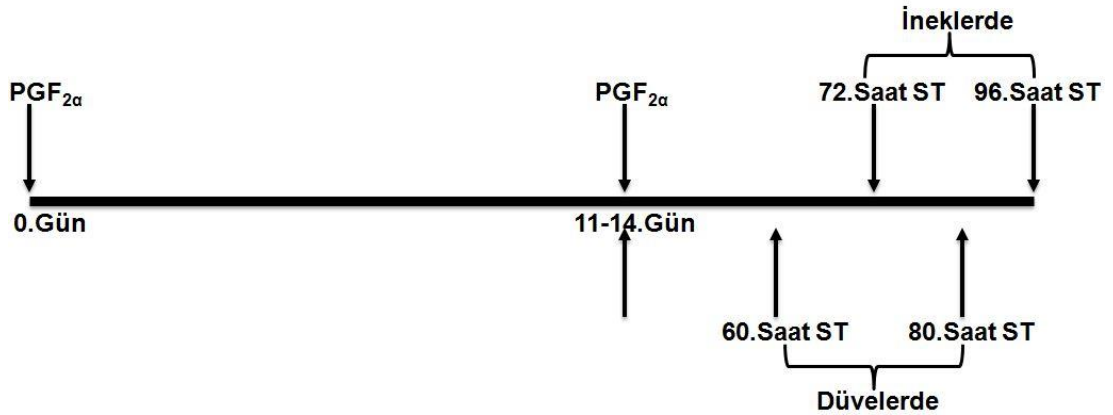
$PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan sonra hayvanın östrus göstermesi bekleniyorsa hayvanların östrus siklusunun 7-18. günleri arasında olması gerekmektedir (Semacan ve Pancarcı 2019). Yapılan çalışmalar gösteriyorki östrus siklusunun 5. gününden önce hayvanların hiçbirisi, 6. gününde olan hayvanların %25'i, 7. Günde olanların %66'sı, 8. gün ve sonrasında olanların %90'ının kızgınlık gösterdiği bildirilmektedir. Ayrıca çift $PGF_{2\alpha}$ uygulanan siklik ineklerde de %90 oranında östrus gözleendiği, en sıkıntı verici durumun anovulasyon şekillenen hayvanlardan kaynaklandığı bildirilmektedir (Santos 2011).

1.Yöntem: Korpus luteum tespit edilmiş olan hayvanlara bir doz $PGF_{2\alpha}$ uygulanır ve kızgınlık takibi (5 gün) yapılır. Kızgınlıkta olduğu tespit edilen hayvanlara 12 saat sonra suni tohumlama (ST) yapılır (Şekil 7, Alaçam 2005, Semacan ve Pancarcı 2012). Bu uygulamanın ardından hayvanların yaklaşık olarak % 70 ine yakını östrus belirtileri gösterir ve 12 saat sonra suni tohumla yapılır (Day ve Geary 2005).



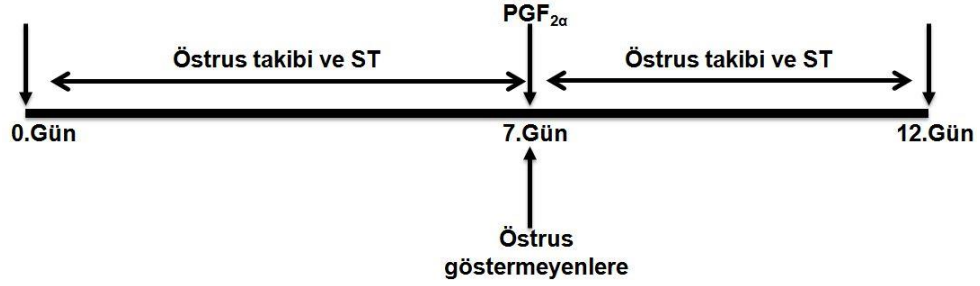
Şekil 7: Korpus luteum olanlara tek doz $PGF_{2\alpha}$ senkronizasyonu (Gordon 2002, Stevenson 2005).

2.Yöntem: Bu yöntemde çift doz $PGF_{2\alpha}$ 11-14 gün arayla uygulanır. İlk uygulamanın ardından hayvanların %60'ına yakını kızgınlık göstermektedir. Eğer maliyetin düşürülmesi isteniyorsa ilk enjeksiyondan 5-7 gün sonra takip yapıp östrus gösterenlere 12 saat sonra ST yapılır. İlk $PGF_{2\alpha}$ uygulamasına cevap vermeyen östrus siklusunun proöstrus, östrus ve metöstrus dönemlerinde olan hayvanlar 11-14 gün sonra yapılacak olan $PGF_{2\alpha}$ uygulaması esnasında diöstrus döneminde olacaklar ve ikinci $PGF_{2\alpha}$ uygulaması ile hayvanların hepsi eş zamanlı olarak senkronize edilmiş olacaktır (Şekil 8, Alaçam 2005, Semacan ve Pancarcı 2019).



Şekil 8: İlk beş gün kızgınlık takibi ve çift doz $PGF_{2\alpha}$ ile senkronizasyon (Semacan ve Pancarcı 2019).

3.Yöntem: Bu yöntemde ise 5-7 arasında östrus takibi yapılır ve östrus gösteren hayvanlara suni tohumlama uygulanır. Östrus göstermeyen hayvanlara ise 7. gün $PGF_{2\alpha}$ uygulanır (Şekil 9). Yapılan enjeksiyonu takiben 5 gün daha östruslar izlenir ve kızgınlıkta olan hayvanlar 12 saat sonra Suni tohumlama yapılarak protokol sonlandırılır (Alaçam 2005, Semacan ve Pancarcı 2012).



Şekil 9: Yedi gün kızgınlık takibine dayalı $PGF_{2\alpha}$ ile senkronizasyon (Alaçam 2005, Larson 2012).

4.Yöntem: Hedef tohumlama protokolünde ise; gönüllü bekleme süresinin sonunda ineklerde ilk suni tohumlama uygulamasının yapılabilmesi için, $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonlarının 14 gün ara ile üç defa yapıp, her $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunu takiben olgun bir korpus luteuma sahip inek sayısının artırılması arzu edilmektedir (Şekil 10, Nebel ve Jobst 1998).



Şekil 10: Hedef tohumlama protokolü (Pursley ve ark. 1997, Nebel ve Jobst 1998) .

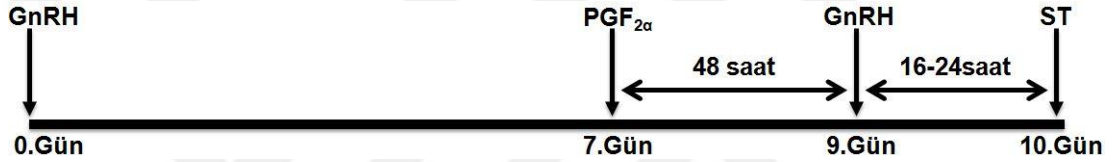
1.2.2. İneklerde Sabit Zamanlı Suni Tohumlama Protokolleri

1.2.2.1. Ovsynch Protokolü

Ovsynch, ovulasyonun senkronizasyonu yaparak ve sabit zamanlı tohumlama için geliştirilen ilk protokoldür (Pursley ve ark. 1995, Silcox ve ark. 1995, Burke ve ark.1996). Bu protokol dokuz gün gibi kısa bir sürede tamamlandığı gibi, tek bir suni tohumlama yeterli olmaktadır (Çoyan ve ark. 2003).

Bu protokolde siklusun herhangi bir zamanındaki ilk GnRH enjeksiyonu büyük foliküllerin ovulasyonu veya luteinizasyonu sonucunda korpus luteum ve/veya aksesör korpus luteumlar oluşur ve yeni foliküler dalga başlatılır. İkinci uygulama ise

yedi gün sonra uygulanan $PGF_{2\alpha}$ ile gelişen korpus luteumların luteolizisi sağlanır. Bunun akabinde oluşan yeni foliküler dalganın dominant folikülü ise 7 günde gelişir. Bu dominant folikül, $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan 2 gün sonra ovule olabilecek büyüklüğe ulaşır ve GnRH enjeksiyonuna yanıt verir. İkinci GnRH enjeksiyonu ise LH salınımını uyarmaktadır ve bununla birlikte senkronize ovulasyonlar şekillenmektedir. Ovulasyonların tamamına yakını da ortalama 8 saatlik bir zaman diliminde 2. GnRH enjeksiyonunu izleyen 24–32. saatlerde gerçekleşmektedir. İstenilen gebelik oranına ulaşabilmek için ovsynch protokolünün en az postpartum 75 günden sonra başlatılması gereklidir (Şekil 11, Pursley ve ark. 1997, Pursley ve ark. 1998, Nebel ve ark. 1998).



Şekil 11: Ovsynch protokolü (Pursley ve ark. 1995, Nebel ve Jobst 1998, El-Zarkouny 2010).

1.2.2.2. Cosynch Protokolü

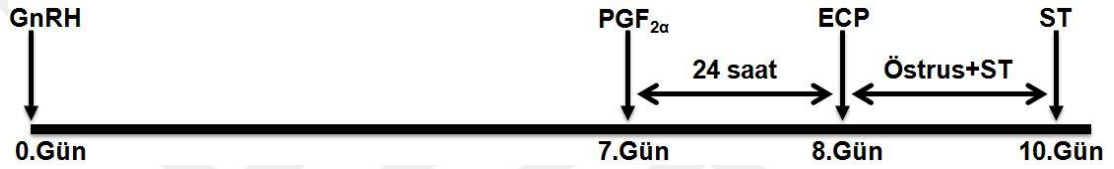
Bu protokol ovulasyonların senkronizasyonu için yapılmış olup, Ovsynch'ten farkı, suni tohumlamaların 2. GnRH enjeksiyonu ile birlikte yapılmasıdır (Merrel 2003). Yapılan bir çalışmada $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan 48, 56, 60, 64 veya 72 saat sonra GnRH enjeksiyonu ve tohumlama yapılabileceği, fakat en yüksek gebelik oranının ise 56. saatte yapılan suni tohumlama ile olduğu bildirilmiştir (Şekil 12, Kaçar ve ark. 2008, Dobbins ve ark. 2009).



Şekil 12: Cosynch protokolü (Day ve Grum 2005, Dobbins ve ark. 2009, Kesler 2005).

1.2.2.3. Heatsynch Protokolü

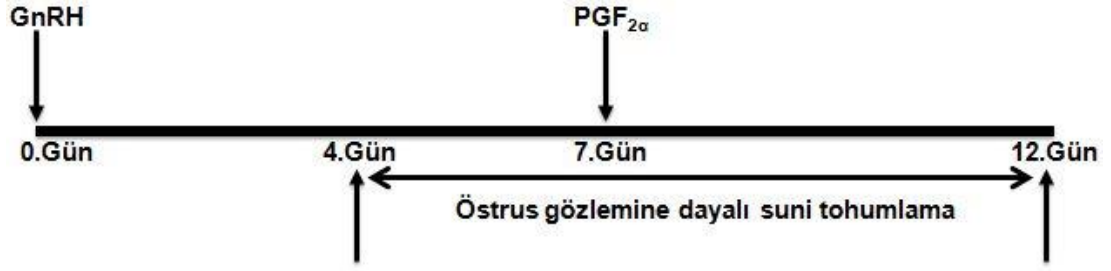
Bu protokol pre-synch programına bir alternatif olarak geliştirilmiştir ve pre-synch protokolüne göre göre iki farklılık içermektedir. Birinci fark 2. GnRH yerine 1,0 mg (0,5 mL) östradiol cypionate (ECP) kullanılmakta, 2. fark ise bu protokolda ECP uygulaması $PGF_{2\alpha}$ uygulamasından 24 saat sonra yapılmaktadır. Heat-synch protokolü uygulanan inekler ECP uygulamasından 48 saat sonra tohumlanmaktadır. Östradiol Cypionate progesteron yokluğunda ve follikülün varlığında hipotalamustan GnRH salınımını uyarır ve bunun sayesinde LH salınımını artırarak ovulasyonu sağlar (Şekil 13, Fricke 2002).



Şekil 13: Heatsynch protokolü (Martinez ve ark. 2001, 2002, Pancarci ve ark. 2002).

1.2.2.4. Selectsynch Protokolü

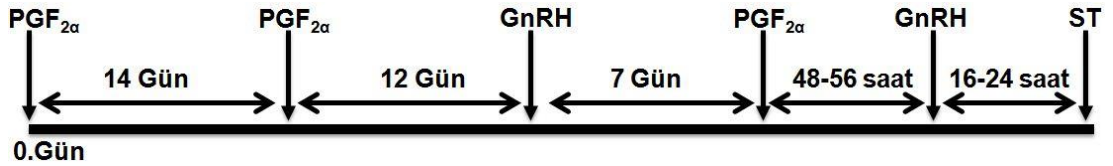
Ovsynch protokolü modifiye edilerek olumuş bir protokoldür. Bu protokolda, ovsynch protokolündeki 2. GnRH enjeksiyonu uygulanmamakla birlikte, suni tohumlama östrus gösteren ineklere uygulanmaktadır. GnRH enjeksiyonu ile başlanan bu protokolda; GnRH'yı izleyen 7. gün $PGF_{2\alpha}$ enjekte edilir. GnRH enjeksiyonunda sonraki 6. günde östruslar gözlenmeye başlar ve bu gözlemler 12. güne kadar devam eder. Östrus gözlemini takiben kızgınlık gösteren hayvanlara suni tohumlama uygulanır (Şekil 14, Lamb ve ark. 2004, Tenhagen ve ark. 2005, El-Zarkouny 2010).



Şekil 14: Selectsynch protokolü (Lamb ve ark. 2004, Tenhagen ve ark. 2005, El-Zarkouny 2010).

1.2.2.5. Presynch protokolü

Presynch protokolü ovsynch protokolünün modifiye edilmesiyle oluşmuştur. Yapılan araştırmalarda östrus siklusunun 5-10. günleri arasında yapılan ovsynch uygulamalarında maksimum başarıya ulaşılmıştır. Bu araştırmalara bakılarak ovsynch protokolünü siklusun 5-10. günleri arasında başlatılmak için 1. GnRH enjeksiyonundan önce 2. $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılmaya başlanmıştır. Birinci $PGF_{2\alpha}$ uygulamasından 14 gün sonra 2. $PGF_{2\alpha}$ uygulaması yapıp 12-14 gün sonra ovsynch protokolü uygulanmaktadır. Bunu takiben ise ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan 3-5 gün sonra östruslar görülmekte ve ilk GnRH enjeksiyonunda tüm sikluslar 5-10. günler arasında olmaktadır (Şekil 15, Stevenson 2005, Souza ve ark. 2008, Santos 2011).

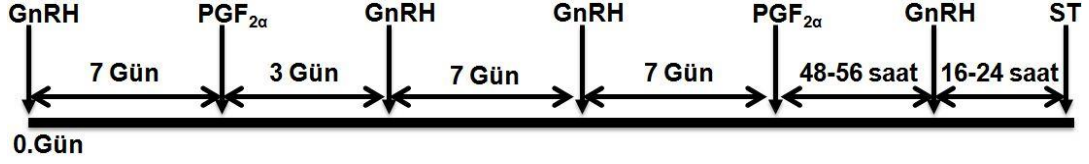


Şekil 15: Presynch-Ovsynch protokolü (Stevenson 2005, Souza ve ark. 2008, Santos 2011).

1.2.2.6. Double-Ovsynch Protokolü

Ovsynch protokolünün aralarında 7 gün olacak şekilde ard arda iki kez uygulanmasına Double-Ovsynch denir (Şekil 16). Double-Ovsynch protokolünün yüksek süt verimine sahip ve siklik olmayan ineklere uygulandığında daha yüksek gebelik oranlarına ulaşıldığı bildirilmiştir (Souza ve ark. 2008, Ayres ve ark. 2013). Bunun yanında sütçü ineklerde gebelik başarısını negatif olarak etkileyen faktörlerden birisi de avovulasyon olgularındır. Özellikle anovulatör sütçü sığırlarda

double-ovsynch protokolünde daha yüksek fertilite oranları elde edilmiştir (Ayres ve ark. 2013, Herlihy ve ark. 2012).

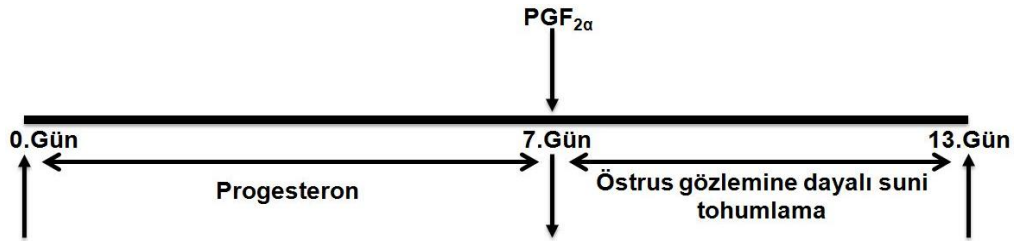


Şekil 16: Double Ovsynch protokolü (Binversie ve ark. 2012, Herlihy ve ark. 2012).

1.2.3. Progesteron Kullanılan Senkronizasyon Protokolleri

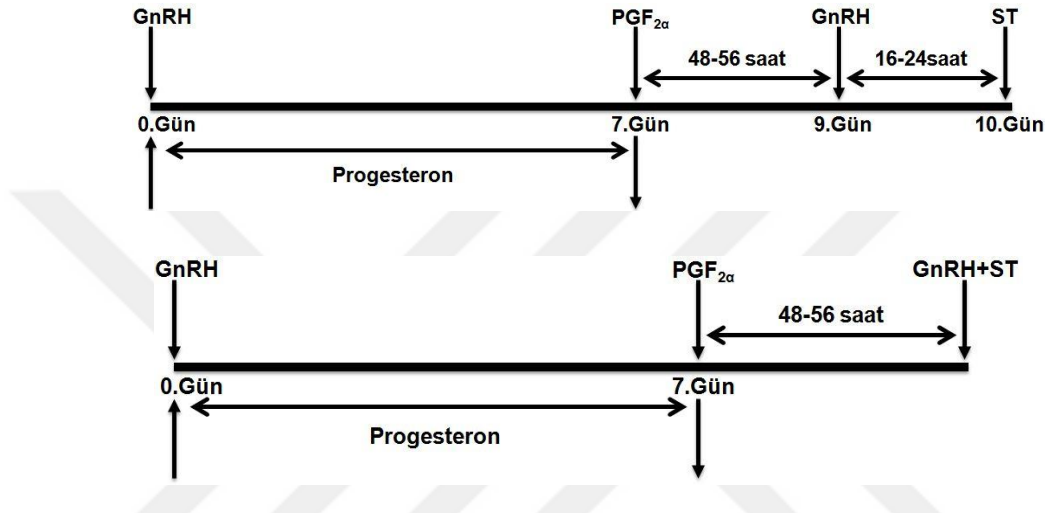
Progesteronlar, herhangi bir uterus enfeksiyonu bulunmayan inek ve düvelerde senkronizasyon amacıyla (yem katkı maddesi, kulak implantı ve intravaginal gereç (PRID, CIDR) olarak) kısa (4-5 gün) ve uzun süreli (7-14 gün) olarak PGF_{2α} ile kombine veya ovulasyon senkronizasyon protokolleriyle birlikte kullanılabilir (Hanlon ve ark. 1996, Patterson ve ark. 2002, Kaçar ve Aslan 2004, Kuru ve ark. 2015, 2018).

Senkronizasyon amacıyla progesteron uygulaması östrus siklusunun farklı dönemlerindeki hayvanların senkronizasyonuna olanak sağlamaktadır. Bu tip protokolde (Şekil 17) progesteron 7-10 gün süreyle uygulanmakta, son gün veya bitime 1-2 gün kala (4 gün önce yapan araştırmacılarda vardır) PGF_{2α} enjeksiyonu yapılmaktadır. Progesteron uygulaması bitiminden sonra östrus takibi yapıp kızgınlıkta olanlara suni tohumlama yapılmaktadır (Xu ve Burton 1999, Richardson ve ark. 2002, Larson 2012)



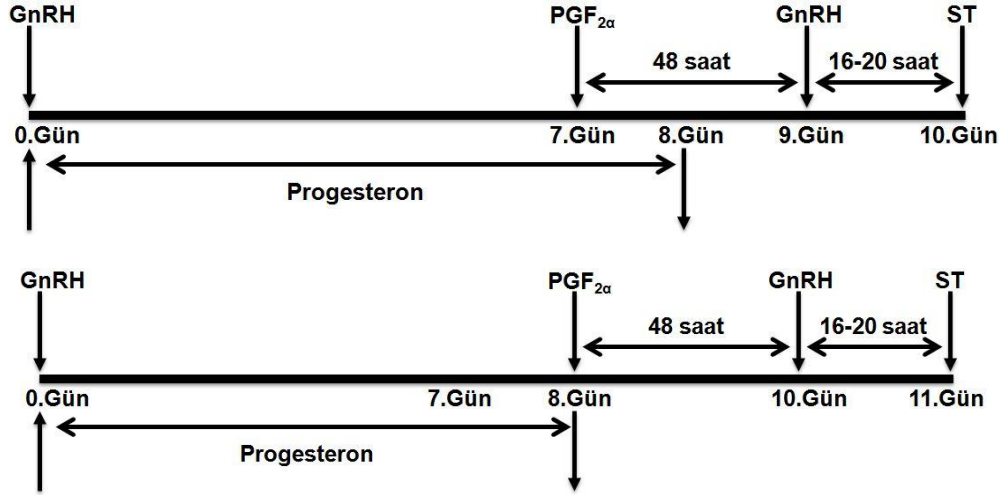
Şekil 17: Progesteron (7 gün) ve PGF_{2α} ile senkronizasyon (Hall ve ark. 2012).

Progesteron taşıyan aparatlar Ovsynch veya Cosynch protokollerinde (Şekil 18) gebelik oranının artırılması amacıyla 0 ve 7. günler arasında uygulanmaktadır (Lima ve ark. 2012). Araştırmacılar 0 ve 7. günler arasında kullanılan progesteron sayesinde prematüre östrusların görülmediğini (Kim ve ark. 2003) ve protokolda tam bir senkronizasyon sağlandığını bildirmektedirler (Wheaton ve Lamb 2007).



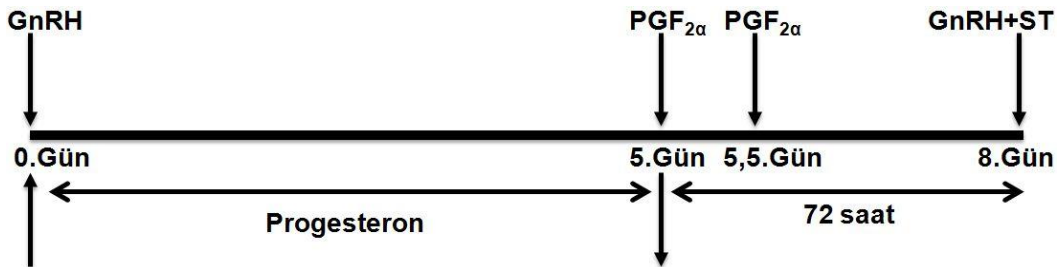
Şekil 18: Ovsynch+Progesteron ve Cosynch+Progesteron protokolü (Ambrose ve ark. 2008, Howard ve ark. 2009).

Yapılan bazı çalışmalarda Ovsynch+progesteron protokolünde progesteron uygulanan gün sayısını değiştirilerek protokol modifiye edilmiştir. Bu tip değişikliklerle fertilitenin artırılması hedeflemiştir. Ambrose ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada Ovsynch protokolünde progesteronu 8 gün ve bundan bir gün sonra GnRH uygulayıp, 16-20 saat sonra hayvanları sabit zamanlı tohumlamışlardır (Şekil 19). Uygulamalar sonucunda gebelik oranını ise %61,8 olarak belirtmişlerdir. Yine aynı çalışmada progesteron 8 gün uygulanıp, 8. günde PGF_{2α} enjeksiyonu yapılmış ve Ovsynch protokolüne devam edilmiştir (Şekil 19). Bu protokolda %54,1 oranında gebelik belirlendiği bildirilmiştir (Ambrose ve ark. 2008).



Şekil 19: Modifiye Ovsynch + 8 gün progesteron protokolleri (Ambrose ve ark. 2005, 2008).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Ovsynch veya Cosynch protokolündeki $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonlarını 12 veya 24 saat arayla iki doz şeklinde yapan araştırmacılar olmuştur (Şekil 20, Dorsey ve ark. 2011, Peterson ve ark. 2011, Kaçar ve ark. 2018). Sütçü düvelerde 5. gün uygulanan tek doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun tam luteolitik etki yapmadığı bunun için ikinci dozun yapılması gerektiği savunulmaktadır (Bridges ve Lake 2011). Bazı araştırmacılar ise tek doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun bir yaşında olan düvelerde luteolizis için yeterli olacağını ve gebelik oranlarının da iki doz uygulanan ve tek doz uygulananlarla benzer olduğunu bildirmişlerdir (Helser ve ark. 2006, Ribeiro ve ark. 2012a). İneklerde yapılan bazı çalışmalarda da iki kez $PGF_{2\alpha}$ uygulamasının tek uygulamaya göre gebelik oranını arttırmadığı görülmüştür (Peel ve ark. 2010).



Şekil 20: Beş gün progesteron+Cosynch-72 protokolünde 12 saat arayla çift doz $PGF_{2\alpha}$ uygulaması (Dorsey ve ark. 2011).

İnek ve düvelerde senkronizasyon protokollerinde $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonundan sonra luteolizis kayıplarının %1,69-18,8 arasında değişebilmektedir. Luteolizis kayıplarının durumunda suni tohumlama sırasında sirkülasyondaki progesteron konsantrasyonunun yüksek olmakta ve gebelik oranlarının düşük olmasına neden olmaktadır (Brusveen ve ark. 2009, Wiltbank ve ark. 2015, Kuru ve ark. 2017).

Düve veya ineklerde Ovsynch ve Cosynch protokolünde tek (Kaçar ve ark. 2015, Kuru ve ark. 2015) veya çift $PGF_{2\alpha}$ (Stevenson ve ark. 2014, Kuru ve ark. 2019) uygulamaları yapılmaktadır ve bu protokollerde yeni gelişen genç CL'nin dirençli olmasından dolayı ikinci doz $PGF_{2\alpha}$ kullanılması önemlidir (Wiltbank ve ark. 2015). Bununla birlikte, klasik 7-gün Ovsynch protokolünde bile CL regresyonundan aksaklıklar olabilir ve fertilité negatif olarak etkilenir (Wiltbank ve ark. 2014). Özellikle ilk GnRH enjeksiyonu sonrasında ovulasyon olan ineklere göre yeni bir CL şekillenen ineklerde yapılacak $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonları etkisiz olabilmektedir (Giordano ve ark. 2012). Siklusun 7-12. günleri arasında $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sirkülasyondaki progesteron düzeyini ve korpus luteum hacmini düşürür fakat siklusun ilk 5 günlük döneminde luteolizise neden olmamaktadır (Kuru ve ark. 2014). Luteolizis kayıplarını ortadan kaldırmak amacıyla genel olarak iki strateji izlenmektedir. Bunlardan birinci $PGF_{2\alpha}$ dozunun artırılması, ikincisi ise birer gün arayla iki $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılmasıdır (Giordano ve ark. 2013, Wiltbank ve ark. 2014).

Kaçar ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun Ovsynch + CIDR protokolü sırasında Simental ineklerde sabit zamanlı suni tohumlamada gebelik oranına etkisini araştırmışlardır. Tek $PGF_{2\alpha}$ ve çift doz $PGF_{2\alpha}$ yapılan Ovsynch + CIDR gruplarında gebelik oranının sırasıyla %46 ve %55 olarak belirlemişlerdir. Gebelik oranının çift $PGF_{2\alpha}$ grubunda rakamsal olarak yüksek olmasına uygulama grupları arasında istatistiksel olarak farklı olmadı tespit edilmiştir ($P>0,05$). Sonuçta, Ovsynch + CIDR protokolündeki ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu, gebelik oranını artırma eğiliminde olduğu saptanmıştır.

Kuru ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada Simental ineklerde Ovsynch protokolünde ikinci doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun gebelik oranına etkisini araştırmışlardır. Sabit zamanlı suni tohumlama sonrası 30. günde gebelik oranı klasik Ovsynch grubunda %29, çift doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılan Ovsynch grubunda %36,5 oranında gebelik elde edilmiştir ($P = 0,373$). Simmental ineklere 24 saatlik aralıklarla iki $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunu Ovsynch protokollerinde gebelik oranını arttırabileceği bildirilmiştir.

Bu çalışmada, progesteron temelli sabit zamanlı suni tohumlama uygulanan Holştayn ırkı ineklerde $PGF_{2\alpha}$ 'nın farklı zamanlarda enjeksiyonunun gebelik oranına ve progesteron konsantrasyonuna etkisi araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan alınan onay (KAÜ- HADYЕК 2019/129) ile Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan (Bozkurt Kaymakamlığı İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü'nün 19.06.2019 tarih ve 64445328-020-E1820373 sayılı çalışma izni yazısı) alınan izin sonrası bu çalışma Denizli ili Bozkurt ilçesindeki özel işletmelerde gerçekleştirildi. Hormon analizleri ise Kafkas Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı.

2.1. Hayvan Materyali

Sunulan araştırma, Ocak-Mayıs ayları arasında yarı açık ahır sisteminde barındırılan (Resim 1), miks rasyonla beslenen ve *ad libitum* su tüketen Holştayn ineklerde gerçekleştirildi. Çalışmada 2-6 yaş arasında, 450-550 kg ağırlıkta, 2,5-3,5 vücut kondüsyon skoru olan [Edmonson ve ark. (1989)'ın tarif ettikleri gibi 0,25'lik artış gösteren 5'lik skorlamaya göre], 14-25 litre süt verimine sahip, postpartum en az 60 günde olan klinik yönden sağlıklı 90 adet Holştayn ırkı inek rastgele 3 gruba ayrıldı.

Çalışmada kullanılacak ineklerin koruma amaçlı iç-dış antiparaziter ilaçlamaları ile aşılamları senkronizasyon protokollerinden en az 25 gün öncesinden olacak şekilde uygulandı.

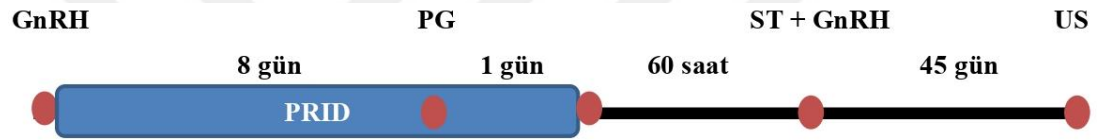
2.2. Besleme

Çalışmada kullanılan ineklere günde iki kez yemleme yapıldı ve içilebilir nitelikte su sabit suluklardan sağlanarak *ad libitum* verildi. İnekler çalışma süresinde yonca kuru otu, arpa samanı, buğday kuru otu, mısır slajı, şeker pancarı posası, arpa kırması ve konsantre yem (2750 metabolik enerji, ham protein %21, ham selüloz %10, ham yağ %4, ham kül %8, kalsiyum %1, fosfor %0,6, sodyum %0,45) ile beslendi.

2.3. Senkronizasyon Protokolleri

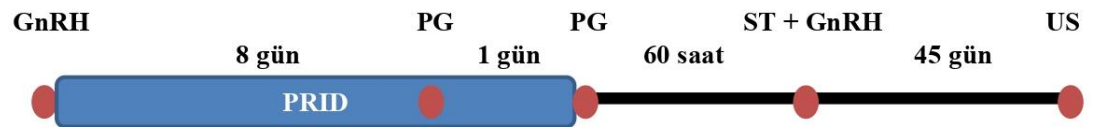
Çalışmada progesteron kaynağı olarak Progesterone-Releasing İnvaginal Device (1,55 g, PRID Delta[®], Ceva, Türkiye) kullanıldı.

Grup 1 (n=30): Bu gruptaki hayvanlara 0. gün 2 mL gonadotropin-releasing hormon (GnRH) enjeksiyonu ile birlikte PRID intravaginal olarak uygulandı. Bu uygulamadan 8 gün sonra 5 mL PGF_{2α} (Dinoprost, Enzaprost-T[®], Ceva, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı. PRID 9. gün çıkartıldı ve 60 saat sonra sabit zamanlı suni tohumlama ile birlikte 2 mL GnRH (Gonadorelin diasetat tetrahidrat, Ovarelin[®], Ceva, Türkiye) enjeksiyonu yapıldı (Şekil 21).



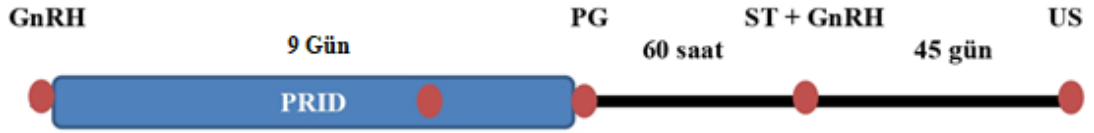
Şekil 21: Grup 1'e uygulanan progesteron destekli senkronizasyon protokolü. PRID: Progesterone-releasing intravaginal device, PG: PGF_{2α}, ST: Sabit zamanlı suni tohumlama, US, Ultrasonografi.

Grup 2 (n=30): Bu gruptaki hayvanlara 0. gün 2 mL GnRH enjeksiyonu ile birlikte PRID intravaginal olarak uygulandı. Bu uygulamadan 8 ve 9 gün sonra 5 mL PGF_{2α} enjeksiyonu yapıldı. PRID 9. gün çıkartıldı ve 60 saat sonra sabit zamanlı suni tohumlama ile birlikte 2 mL GnRH enjeksiyonu yapıldı (Şekil 22).



Şekil 22: Grup 2'e uygulanan progesteron destekli senkronizasyon protokolü. PRID: Progesterone-releasing intravaginal device, PG: PGF_{2α}, ST: Sabit zamanlı suni tohumlama, US, Ultrasonografi.

Grup 3 (n=30): Bu gruptaki hayvanlara 0. gün 2 mL GnRH enjeksiyonu ile birlikte PRID intravaginal olarak uygulandı. Bu uygulamadan 9 gün sonra 5 mL PGF_{2α} enjeksiyonu yapıldı ve PRID çıkarıldı. PRID çıkarıldıktan 60 saat sonra sabit zamanlı suni tohumlama ile birlikte 2 mL GnRH enjeksiyonu yapıldı (Şekil 23).



Şekil 23: Grup 3'e uygulanan progesteron destekli senkronizasyon protokolü. PRID: Progesterone-releasing intravaginal device, PG: PGF_{2α}, ST: Sabit zamanlı suni tohumlama, US, Ultrasonografi.

2.4. Suni Tohumlama Uygulaması

Tüm gruplarda PRID çıkarıldıktan 60 saat sonra sabit zamanlı suni tohumlama yapıldı. Suni tohumlama amacıyla Holştayn sperma (Medivet[®], Türkiye) kullanıldı. Sperma suni tohumlamadan hemen önce 37°C' deki su banyosunda 30 saniye çözdürüldükten sonra rekto-vaginal yöntemle Graff folükülünün tespit edildiği kornu uteriye bırakıldı. Çalışmada tüm ineklere tek suni tohumlama yapıldı. Uygulama farklılıklarını ortadan kaldırmak amacıyla suni tohumlama uygulamaları aynı Veteriner Hekim tarafından yapıldı.

2.5. Gebelik Muayenesi

Gebelikler suni tohumlama uygulamalarından 45 gün sonra transrektal ultrasonografik muayeneler (5-7,5 MHz linear prob, Draminski iScan[®], Draminski, Polonya) ile belirlendi.

2.6. Kan Örneklerinin Değerlendirilmesi

Çalışma süresince 8. gün (Grup 1 ve 2), 9. gün (PRID çıkarılma günü) ve suni tohumlama günü *vena coccygea*'dan 8,5 mL'lik jelli serum tüplerine (BD Vacutainer[®], BD, Türkiye) kan örnekleri alındı. Progesteron değerlerin belirlenmesi amacıyla alınan kan örnekleri 3500 devirde 10 dakika santrifüj (NF400R[®], Nüve, Türkiye) edildikten sonra elde edilen serum örnekleri ölçümler yapılncaya kadar -18°C'de saklandı.

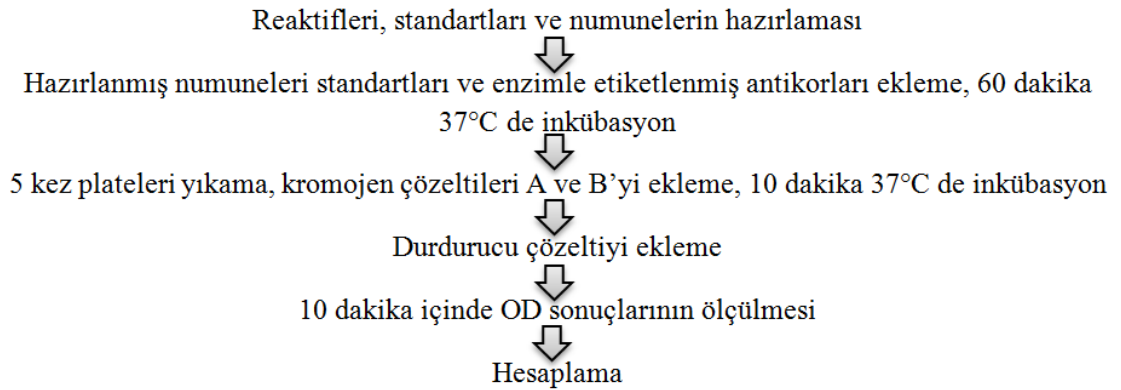
2.7. Serum Progesteron Değerlerinin Belirlenmesi

Protokollerde, farklı günlerde elde ineklerden edilen serum örneklerindeki progesteron konsantrasyonu Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ticari kitleri (SunRed Biotechnology Company, Shanghai, Çin) kullanılarak ELISA okuyucu (Epoch[®], Biotek, USA) ile belirlendi.

✚ Testin Prensibi

Kit, bir çift-antikor sandviç enzim bağlantılı immünosorbent tahlili (ELISA), numunelerde sığır progesteron seviyesinin tahlil edilmesi için kullanılır. Sığır progesteron monoklonal antikoruna ile önceden kaplanmış olan monoklonal antikor enzimine progesteron ilave edilir, inkübe edilir; biotin etiketli progesteron antikorları eklenir ve bağışıklık kompleksi oluşturmak için Streptavidin-HRP ile birleştirilir sonra inkübasyon gerçekleştirilir ve kombine olmamış enzimi çıkarmak için tekrar yıkanır. Sonrasında kromojen çözeltisi A,B eklenir, sıvının rengi maviye döner ve asidin de etkisiyle sonunda sarı rengini alır. Rengin kroması ve numunenin sığır progesteron konsantrasyonu pozitif olarak körele edilmiştir.

✚ Prosedürün Özeti



Yapılan çalışmada 8 ve 9. günlerdede alınan kan örneklerindeki serum progesteron düzeylerindeki değişim belirlendi. Ayrıca suni tohumlama günü serum progesteron düzeyleri ile aktif korpus lueumlar belirlenerek luteolizis oranı saptandı. Progesteron konsantrasyonunun -3. günde ≥ 1 ng / mL ve 0 günde < 1 ng / mL olan

ineklerin CL regresyonu olduğu kabul edilmektedir (Ribeiro ve ark. 2012a). Bu çalışmada ilk PGF_{2 α} enjeksiyonu sırasında serum progesteron konsantrasyonu ≥ 1 ng/mL ve suni tohumlama sırasında < 1 ng/mL olan ineklerde corpus luteumun luteolizisi şekillenmiş olarak kabul edildi.

2.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel hesaplamasında SPSS 18 (SPSS[®], Chicago, IL, USA) paket programı kullanıldı. Çalışma sonunda elde edilen gebelik oranları değerlendirilmesi Ki-kare testine göre yapıldı. Grupların yaş, süt verimi, kondüston skoru ve progesteron değerlendirmeleri One Way ANOVA ve çoklu karşılaştırması Tukey HSD testi ile yapıldı. Grup için ikili karşılaştırma için Paired-t testi, çoklu bağımlı grupların değerlendirilmesi Repeated Measures ANOVA ve çoklu karşılaştırması Bonferoni ile yapıldı. Çalışmadaki veriler ortalama \pm standart hata olarak verildi. İstatistiksel sonuçların değerlendirmesinde $P < 0,05$ ve daha küçük değerler önemli olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Yaş, Vücut Kondüsyon Skoru (VKS) ve Süt Verimi

Çalışmada bulunan ineklerin yaş, vücut kondüsyon skorları ve süt verimlerinin ortalama değerleri Tablo 1’de verilmiştir. Gruplardaki ineklerin yaş, VKS ve süt verimlerinin istatistiksel olarak farklı olmadığı tespit edilmiştir ($P > 0,05$). Gruplarda yaş ortalaması 4,38 ile 4,5 ($P = 0,894$), VKS’nin 2,90 ile 2,95 arasında ($P = 0,843$), süt veriminin ise 20,8 ile 22,1 L arasında ($P = 0,175$) değişim gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. İneklerin yaş, vücut kondüsyon skoru ve süt verimleri

Parametre	Gruplar	Ortalama	Standart Hata	P değeri
Yaş (Yıl)	Grup 1	4,50	0,27	0,894
	Grup 2	4,38	0,39	
	Grup 3	4,60	0,29	
VKS	Grup 1	2,92	0,06	0,843
	Grup 2	2,90	0,06	
	Grup 3	2,95	0,06	
Süt verimi (L)	Grup 1	20,80	0,50	0,175
	Grup 2	21,03	0,63	
	Grup 3	22,10	0,41	

3.2. Gebelik Oranları

Gebelik oranları gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermemesine rağmen sayısal olarak Grup 1’de diğer iki gruptan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Grup 2’deki gebelik oranının Grup 1’den yaklaşık olarak %16 oranında daha yüksek olduğu ve istatistiksel farklılıkta da bir eğilim ($P = 0,194$) olduğu saptanmıştır. Grup 1, 2 ve 3’te sırasıyla gebelik oranları %36,67 (11/30), %53,33 (16/30), %43,33 (13/30) olarak belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplardaki ineklerde gebelik oranları

Gruplar	Gebelik oranı (%)	Gebe/Toplam
Grup 1	36,67	11/30
Grup 2	53,33	16/30
Grup 3	43,33	13/30
P değeri	0,431	

Vücut kondüsyon skoruna (VKS) göre yapılan değerlendirmede, $VKS \geq 3$ olan ineklerde 24 saat ara ile $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonlarının gebelik oranlarını istatistiksel olarak etkilemediği görülmüştür ($P = 0,431$). Ancak $VKS < 3$ olan ineklerde 24 saat ara ile $PGF_{2\alpha}$ uygulamalarının gebelik oranlarını (%70) diğer iki gruba göre (Grup 1 %20, Grup 3 %25) istatistiksel olarak artırdığı ($P = 0,045$) belirlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. İneklerde vücut kondüsyon skoruna göre gebelik oranları (%)

Gruplar	VKS < 3		VKS \geq 3		P değeri
	%	n/Toplam	%	n/Toplam	
Grup 1	20 ^a	2/10	45	9/20	0.180
Grup 2	70 ^b	7/10	45	9/20	0.196
Grup 3	25 ^{ab}	2/8	50	11/22	0.222
P değeri	0.045		0.931		-
Total	39,29	11/28	46,77	29/62	0.704

BCS < 3 için: Grup 1 – Grup 2 arasındaki istatistiksel karşılaştırmada $P = 0,025$, Grup 1 – Grup 3 arasındaki istatistiksel karşılaştırmada $P = 0,80$, Grup 2 – Grup 3 arasındaki istatistiksel karşılaştırmada $P = 0,058$ olarak belirlenmiştir.

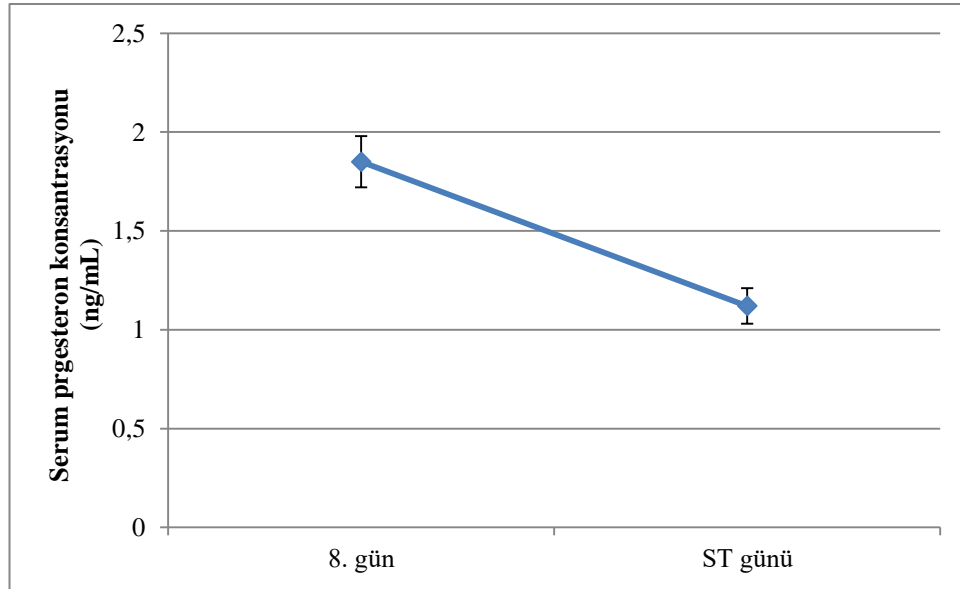
3.3. Progesteron Değerleri, Luteolizis ve Gebelik Oranları

İneklerde PGF_{2α} enjeksiyonları ve suni tohumlama sırasında progesteron değerleri Tablo 4'te verilmiştir. Gruplar arasında farklı günlerde alınan kan örneklerinde progesteron değerlerinin farklılık göstermediği ortaya konulmuştur (P > 0,05). Grup içi farklı günlerdeki progesteron değerleri PGF_{2α} enjeksiyonlarından sonra azaldığı belirlenmiş (Şekil 24-26) ve istatistiksel olarak farklı olduğu görülmüştür (P < 0,001).

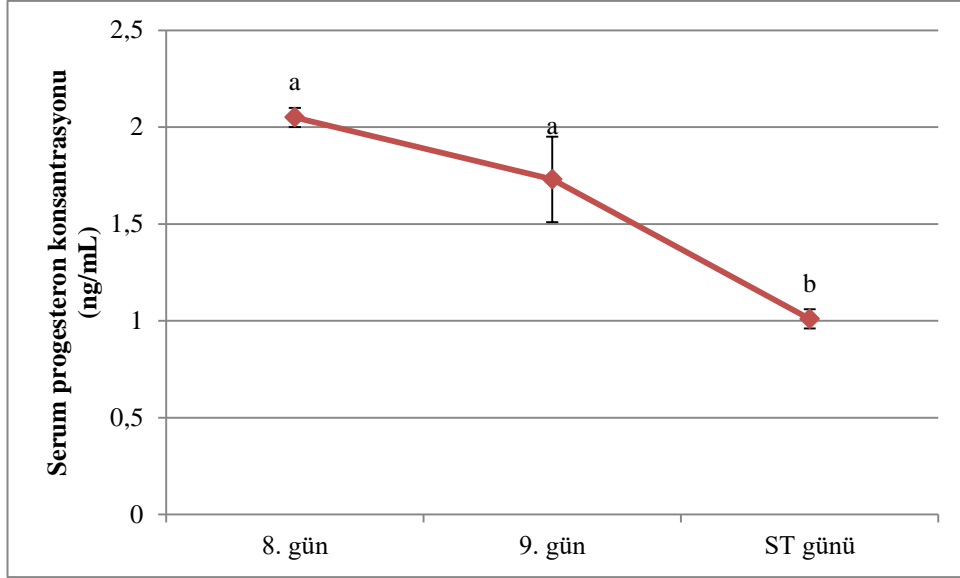
Tablo 4. Gruplar arası ve günlere göre progesteron değerleri (ng/mL)

Gruplar	8. gün	9. gün	ST günü	P değeri
Grup 1	1,85 ± 0,13 ^a	-	1,12 ± 0,09 ^b	<0,001
Grup 2	2,06 ± 0,05 ^a	1,73 ± 0,22 ^a	1,01 ± 0,05 ^b	<0,001
Grup 3	-	2,01 ± 0,14 ^a	1,17 ± 0,08 ^b	<0,001
P değeri	0,372	0,268	0,292	-

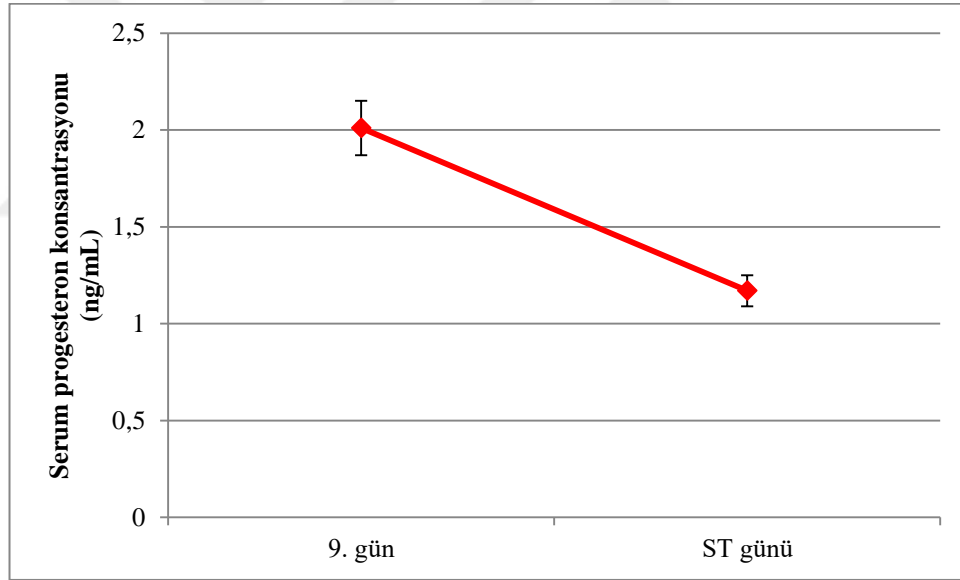
a-b: Aynı satırdaki gruplar arası istatistiksel farkları göstermektedir (P < 0,001). ST: Suni tohumlama günü.



Şekil 24: Grup 1'de progesteron değerlerin günlere göre değişimi (P < 0,001).



Şekil 25: Grup 2’de progesteron değerlerin günlere göre değişimi ($P < 0,001$).



Şekil 26: Grup 3’de progesteron değerlerin günlere göre değişimi. a-b: Günler arası istatistiksel farkları göstermektedir ($P < 0,001$).

İneklerde luteolizis Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'te sırasıyla %60, %70 ve %46,7 oranlarında şekillenmiştir. Gruplarda en yüksek luteolizis oranı grup 2'de %70,0 (21/30) tespit edilmesine rağmen istatistiksel bir fark ($P = 0,183$) belirlenmemiştir. Ancak Grup 2 ve Grup 3 ineklerinde luteolizis şekillenmesi bakımından istatistiksel bir eğilim olduğu ortaya konulmuştur ($P = 0,067$, Tablo 5).

Tablo 5. Gruplardaki luteolizis oranları

Gruplar	Luteolizis, % (n/toplam)	P değeri
Grup 1	60,0 (18/30)	0,183
Grup 2	70,0 (21/30)	
Grup 3	46,7 (14/30)	

Luteolizis şekillenen ineklerde gebelik oranları sırasıyla Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'te %61,1 (11/18), %76,2 (16/21) ve %92,9 (13/14) oranlarında şekillenmiştir. Grup 1 ve Grup 2 arasında önemli bir istatistiksel fark bulunmamıştır ($P = 0,309$). Grup 2 ve Grup 3 arasında daha anlamlı bir oran belirlenmemiştir ($P = 0,2$). Grup 1 ve Grup 3 arasında istatistiksel bir fark belirlenmiştir ($P = 0,04$, Tablo 6).

Tablo 6. Luteolizis şekillenen ineklerde gebelik oranları

Gebelik oranı % (n/Toplam)	Gruplar		
	Grup 1	Grup 2	Grup 3
	61,1 ^a (11/18)	76,2 (16/21)	92,9 ^b (13/14)

a-b: Aynı satırdaki gruplar arası istatistiksel farkları göstermektedir ($P < 0,05$).

Luteolizis şekillenen ineklerde suni tohumlama sırasındaki progesteron değerleri Tablo 7’de gösterilmiştir. Progesteron konsantrasyonu Grup 1’de $0,82 \pm 0,05$ (ng/mL), Grup 2’de $0,84 \pm 0,05$ (ng/mL) ve Grup 3’te $0,75 \pm 0,07$ (ng/ml) olarak belirlendi. Gruplar arasında progesteron konsantrasyonu bakımından istatistiksel bir fark belirlenmemiştir ($P = 0,51$).

Tablo 7. Luteolizis şekillenen ineklerde progesteron değerleri (ng/mL)

Gruplar	Ortalama	Standart Hata
Grup 1	0,82	0,05
Grup 2	0,84	0,05
Grup 3	0,75	0,07
P değeri		0,510

4. TARTIŞMA

Süt sığırcılığında başarılı bir östrüs senkronizasyon programının hedefi, östrüs belirlemesine gerek kalmadan sabit zamanlı bir suni tohumlama ile yüksek verim elde etmektir. Ovulasyon kontrolü stratejileri, korpus luteum ömrünün $PGF_{2\alpha}$ ile kontrol edilmesine, follikül gelişiminin uyarılmasına ve senkronize bir ovulasyonun veya progesteron tedavileri ile östrüsün önlenmesinin kontrolüne dayanmaktadır (Thatcher ve ark. 2006).

Ovsynch protokolünde normalden 1 gün sonra ek bir $PGF_{2\alpha}$ tedavisi uygulanan veya uygulanmayan ineklerde gebelik oranlarında istatistiksel bir fark bulunmamıştır (Ovsynch grubu ineklerde %44,7 ve 1 gün sonra ek $PGF_{2\alpha}$ uygulanan grupta %41,5). Aynı araştırmada Ovsynch protokolünün ikinci GnRH'sından sonraki ovulasyon oranlarında da fark (90,4 vs. % 89,4) belirlenmemiştir (Brusveen ve ark. 2009).

Seksüel siklusun 5. gününde tek doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun değişken cevaplar ortaya çıkardığı, ancak belirli aralıklarla iki doz enjekte edilen kloprostenolün korpus luteumun lizisinde %95-100 oranında sağladığı gösterilmiştir (Adams ve ark. 1994). Sütçü ineklerde, 8 saat ara ile iki $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonunun luteolizin indüklenmesinde tek bir $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyondan daha etkili olduğu öne sürülmüştür (Archbald ve ark. 1993). Çift $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonlarında, ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasında fonksiyonel bir korpus luteum bulunacağı için inek ve düvelerde östrüs belirtileri artacaktır. İneklerde ikinci bir $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu, korpus luteumun regresyonu ve gebelik oranının artmasına neden olur (Wiltbank ve ark. 2015).

İneklerde korpus luteum seksüel siklusun 6. ve 7. günlerinde luteolitik kapasite kazanır (Nascimento ve ark. 2014). Luteolitik kapasitenin gelişimi, Holştayn sığırlarında, 5. gün ve 6. günler arasındaki 24 saat boyunca meydana gelir, böylece birçok ineğin 6. gün korpus luteumu, tek bir $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonuna cevap vererek gerilemektedir (Nascimento ve ark. 2014).

Luteolizisi indüklemek için arka arkaya birkaç kez $\text{PGF}_{2\alpha}$ salınımı gerekir (Ginther ve ark. 2009). Östrus siklusunun 5. gününde tek bir $\text{PGF}_{2\alpha}$ tedavisi yapılan ineklerde luteal regrasyonun tam olarak gerçekleşmediği bildirilmektedir (Nascimento ve ark. 2014). $\text{PGF}_{2\alpha}$ salgılanmasının inhibisyonu luteolizisi geciktirir (Pugliesi ve ark. 2011). Seksüel siklusun 5. gününde, düvelerin %41'i tek bir $\text{PGF}_{2\alpha}$ tedavisine cevap verirken, laktasyonda olmayan veya laktasyondaki ineklerin hiçbiri 5. günde cevap vermemiştir. Yedinci günde, düvelerin %88'i ve laktasyonda olmayan ineklerin %90'ı, laktasyonda olan ineklerin sadece %66'sı tek bir $\text{PGF}_{2\alpha}$ tedavisine cevap vermiştir. Bu nedenle, farklı çalışmalarda erken dönemdeki CL'un cevap verebilirliğindeki farklılıklar, ineklerin fizyolojik durumları veya diğer araştırmalarda kullanılan inek ırkındaki faktörler ile açıklanabilir (Nascimento ve ark. 2014).

Resynch protokolü içerisinde ilk $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulamasından 24 saat sonra ikinci bir $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonunun, luteal regresyonu tam olarak sağladığı ve gebelik oranlarını artırma eğiliminde olduğu görülmüştür. Ancak tek seferde uygulanan çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonunun etkisinin olmadığı saptanmıştır (Barletta ve ark. 2018). 5-D Ovsynch protokolü sırasında çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulanması ile daha az gebelik elde edilmiştir ve 24 saat ara ile 2 doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulanan ineklere oranla benzer luteal regresyon oranlarına ulaşılmamıştır (Ribeiro ve ark. 2012a). Sunulan çalışmada, gruplardaki luteolizis oranının farklı olmadığı görülmüştür. Yirmidört saat ara ile iki defa uygulanan $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'nın diğer gruplara göre luteolizis üzerine etkili olmadığı görülmüştür.

Sütçü düvelerde luteolizi optimize etmek için 5 ve 6. günlerde 2 doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ ve GnRH enjeksiyonu ile kombine edilmiş 5 günlük zamanlamalı suni tohumlama programının gebelik oranını artırdığı görülmektedir (Lima ve ark. 2013). Ovsynch protokolü uygulanan ineklerde kloprostenol dozunun 500 mg'den 750 μg 'ye yükseltilmesi, multipar ineklerde luteal regresyon ve gebelik oranını artırırken, primipar ineklerde herhangi bir farklılık belirlenmemiştir (Giordano ve ark. 2012). Etçi ineklerde 7-8 saat aralıklarla enjekte edilen $\text{PGF}_{2\alpha}$ ile sabit zamanlı suni tohumlama sonucu gebelik oranlarının arttığı belirlenmiştir (Kasimanickam ve ark.

2009). Etçi ineklerde iki doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulanan 5 günlük sabit zamanlı suni tohumlama programlarında %69 oranında gebelik elde edilirken tek doz kloprostenol ve dinoprost uygulanan ineklerde ise %15-17 oranında gebelik tespit edilmiştir. Beş günlük CO-Synch+CIDR programında, ilk GnRH enjeksiyonu ile istenilen luteolizis zamanlaması arasındaki 5 günlük kısa aralık nedeniyle iki $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonu uygulaması geliştirilmiştir (Bridges ve ark. 2008).

Yaptığımız bu çalışmada yukarıda verilen çalışmaların aksine gruplar arasında gebelik oranlarının farklı olmadığı görülmüştür. Ancak iki defa 24 saat arayla $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonlarının 8. gün $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulanan ineklere göre (Grup 1) gebelik oranlarında artışta istatistiksel olarak bir eğilim olduğu belirlenmiştir. Gebelik oranlarında sayısal fark olmasına rağmen istatistiksel farkın belirlenmesi gruplarda kullanılan inek sayısının yetersizliğine bağlanabilir. Sekizinci günde $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonun gebelik oranını düşürdüğü görülmüştür, burada erken ve yetersiz luteolizisin fertilitite oranlarını olumsuz olarak etkileyebileceği düşünülmektedir.

Progesteron bazlı zamanlı suni tohumlama uygulanan Nelore ırkı ineklerde $\text{BCS} \geq 2,75$ olan ineklerde, gebelik oranı %69,75 iken, $\text{VKS} < 2,75$ olan ineklerde bu oran sadece %32,98'dir (Pereira ve ark. 2018). Zamanlı suni tohumlama uygulamaları yapılan protokollerde inek ve düvelerde VKS'nin pozitif enerji dengesini sağlaması açısından minimum 2,5 olması önerilmektedir (Pereira ve ark. 2018). Öte yandan, daha iyi VKS'li hayvanların, hayvansal vücut yüzeyindeki vücut yağ dağılımı yoluyla gözlenebilen daha yüksek seviyede besleyici rezervler sunması beklenmektedir. $\text{VKS} \leq 2,5$ olan ineklerde gebelik oranı %28,7 ile, $\text{VKS} 2,75-3$ (%37) ve $> 3,25$ (%40,9) olan gruplardan çok düşük bulunmuştur (Ribeiro ve ark. 2012b).

Sunulan çalışmada $\text{VKS} \geq 3$ olan ineklerde 24 saat ara ile $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonlarının gebelik oranlarını diğer gruplara göre değiştirmediği görülmüştür. Araştırmada şaşırtıcı olan ise $\text{VKS} < 3$ olan ineklerde 24 saat ara ile $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonlarının gebelik oranlarını diğer gruplara göre artırdığı gözlenmiştir. Bu

durum düşük VKS'li ineklerde iki defa $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonlarının tam luteolizisi sağlayabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Sabit zamanlı tohumlanan ineklerde $\text{PGF}_{2\alpha}$ ve GnRH ile önceden senkronizasyon, sadece $\text{PGF}_{2\alpha}$ ile önceden senkronizasyon uygulanan ineklere oranla gebelik oranını artırmıştır (Mendonça ve ark. 2019). $\text{PGF}_{2\alpha}$ ile çift enjeksiyon, inek ve düvelerde 72-96 ve 48-72. saatler arasında en yüksek oranda östrüs belirtilerinin görülmesini sağlamıştır. Östrüs tespitinden sonra suni tohumlama yapılan düveler ve ineklerde gebe kalma oranının, sabit zamanlı suni tohumlama uygulananlardan daha yüksek olduğu saptanmıştır (Gugssa ve ark. 2016).

Fertiliteyi optimize etmek için GnRH enjeksiyonu sonucunda yeni oluşturulmuş bir CL'nin regresyonunu arttırmak için 24 saat arayla 2 doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulanması gerektirir. GnRH uygulandığı zaman yüksek progesteron konsantrasyonları LH salınımını baskılar ve ovulasyonu engeller (Lima ve ark. 2013).

Ovsynch protokolü uygulanan sütçü ineklerde çift doz ve ilk $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulamasından 24 saat sonra aynı doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulaması yapılan gruplarda $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonu sırasındaki progesteron konsantrasyonlarının farklı olmadığı görülmüştür. Ayrıca gruplar arasında Progesteron ≥ 1 ng/mL olan ineklerde bir fark belirlenmemiştir. İki $\text{PGF}_{2\alpha}$ ile tedavi edilen ineklerde progesteron konsantrasyonu kontrol grubu ineklerden düşük olma eğiliminde iken çift doz $\text{PGF}_{2\alpha}$ ile tedavi edilen inekler arasında ise bir fark belirlenmemiştir. Paritenin progesteron konsantrasyonunu etkilemediği tespit edilmiştir (Barletta ve ark. 2018).

Korpus luteumda erken döneminde luteal regresyon eksikliğinin, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 'nın intraluteal progesteron üretimini azaltmaması ve intraluteal $\text{PGF}_{2\alpha}$ salgılanmasını teşvik etmemesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Barletta ve ark. 2018). İki intrauterin $\text{PGF}_{2\alpha}$ infüzyonu sonrasında luteal regresyon şekillenmeyen korpus luteumda, steroidojenik akut düzenleyici protein, 15-hidroksiprostaglandin dehidrogenaz ve vasküler endotelial büyüme faktörü A'nın mRNA'sında, tam luteal

regresyon şekillenen CL ile karşılaştırıldığında herhangi bir azalma olmamıştır (Atli ve ark. 2012).

Erken luteal regresyon geçiren inekler hariç, bir CL'ye sahip inekler veya Ovsynch protokolünün başlangıcında yüksek Progesteron (>1 ng/mL) konsantrasyonlarına sahip inekler PGF_{2α} uygulaması sırasında tek bir PGF_{2α} tedavisine cevap verecek şekilde 7 günden daha yaşlı ve daha olgun bir CL'a sahip olacaktır (Barletta ve ark, 2018). CL'siz inekler veya Ovsynch protokolünün başlangıcında düşük (<1 ng/mL) Progesteron konsantrasyonlu ineklerde GnRH kaynaklı LH dalgalarının maksimum seviyeye çıkması ve GnRH tedavisine ovulatrör yanıtın artması daha fazla olmaktadır. İlk GnRH kombinasyonunun ve protokolün 5. ve 6. günlerinde PGF_{2α} uygulamasının, gebelik oranını artırması beklenen follükülü geliştirdiği ve luteal regresyonu artırdığı tahmin edilmektedir (Lima ve ark. 2013). GnRH tedavisinden sonraki 5. günde tek doz veya 5. ve 6. günlerde iki kez PGF_{2α} enjeksiyonu yapılan ineklerde tek doz PGF_{2α} ile daha yetersiz oranda luteal regresyon oluşmuş ve fertilitte düşmüştür (Santos ve ark. 2010).

Suni tohumlama zamanına yakın artan dolaşımdaki progesteron konsantrasyonları sperm ve ovumun genital kanalda taşınması sırasında suboptimal bir ortam oluşturarak fertilitenin azalmasına neden olur (Brusveen ve ark. 2009). Zamanlanmış suni tohumlama sırasında dolaşımdaki progesteron oranının > 0,5 ng/mL'nin üzerine çıkması fertilitteyi %50'den fazla azaltmıştır (Souza ve ark. 2007).

Souza ve ark. (2007) ikinci GnRH tedavisi sırasında progesteron konsantrasyonunun yükselmesinin, progesteron konsantrasyonu düşük ineklere göre zamanlı suni tohumlama uygulamaları sonucunda gebelik oranını %50 oranında daha düşürdüğünü bildirmektedir.

İkinci PGF_{2α} ile tedavi, Ovsynch'in ikinci GnRH'sinde yüksek P4'lü ineklerin yüzdesindeki büyük düşüğe bağlı olarak CL'nin gerilemesinde açıkça etkili olmuştur. Şaşırtıcı bir şekilde, ikinci GnRH sırasında düşük P4'lü ineklerin yüzdesinde büyük bir artış olmasına rağmen, (%63,2 ve %91,0); ikinci PGF_{2α} tedavisi sırasında

progesteron değerleri yüksek olan ineklerde gebelik oranının artmadığı görülmüştür, Muhtemelen ekstra PGF_{2α}'nın daha önce verilmesi (normal PGF_{2α}'yı takip eden yaklaşık 12 saat sonra) dolaşımdaki progesteronu daha erken düşürecek ve gebelik oranı üzerinde olumlu bir etkiye sahip olacaktır (Brusveen ve ark. 2009). Ovsynch'in ilk PGF_{2α}'sından 48 saat sonra düşük progesteron konsantrasyonu belirlenen ineklerin oranı %94'tür (Souza ve ark. 2007).

Ovsynch protokolü sırasında ikinci bir PGF_{2α} enjeksiyonu yapılan ineklerde, GnRH uygulaması sırasındaki <0,4 ng/mL'den düşük progesteron değerine sahip ineklerin oranının kontrol grubu ineklere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (%95,6 ve %84,6). Bununla birlikte, tam luteolizli ineklerin fertilitenin bu luteolizise eşlik etmediği belirlenmiştir (Brusveen ve ark. 2009). Yapılan bu çalışmada ilk PGF_{2α} enjeksiyonları sırasında yüksek olan ortalama progesteron değerlerinin suni tohumlama sırasında düşüğü gözlenmiştir. PGF_{2α} enjeksiyonlarının etkili olduğu tespit edilmiş ve luteolizis şekillenen ineklerde suni tohumlama sırasında progesteron değerlerinin benzer olduğu belirlenmiştir.

Sabit zamanlı suni tohumlama uygulamaları yapılan sütçü ineklerde luteolizisin tam olarak gerçekleşmemesi fertiliteniyi azaltmaktadır (Martins ve ark. 2011, Ribeiro ve ark. 2012b). G6G protokolü ile önceden senkronize edilmiş ve daha sonra 5 günlük Ovsynch programı uygulanan sütçü ineklerde, 5. ve 6. günde çift doz kloprostenol enjeksiyonu sonucunda luteoliz %61,7'e karşı %96,2 ve fertiliteniyi %28,7'e karşı %45,4 oranlarında belirlenmiştir (Ribeiro ve ark. 2012b). Ovsynch protokolü uygulanan Simental ineklerde 7 ve 8. günlerde ift PGF_{2α} enjeksiyonları sonrasında klasik Ovsynch grubunda %29, 24 saat ara ile iki PGF_{2α} enjeksiyonu yapılan Ovsynch grubunda %36,5 oranında gebelik elde edilmiştir (Kuru ve ark. 2019). Beş günlük Cosynch protokolü uygulanan eti ineklerde, 5. günde tek doz, 5. günde çift doz ve 5. günde 8 saat arayla iki kez PGF_{2α} enjeksiyonları sonucu fertiliteniyi oranları sırasıyla %48, %51 ve %55 oranlarında gerçekleşmiştir (Giordano ve ark. 2013). Yedi günlük Ovsynch + CIDR protokolü ile senkronize edilen Simental ırkı ineklerde birinci PGF_{2α} enjeksiyonundan 24 saat sonra ikinci bir PGF_{2α} enjeksiyonu

sonucunda gebelik oranlarında %9 oranında bir artış görülmüş ve istatistiksel anlamda bir eğilim saptanmıştır (Kaçar ve ark. 2018).

Sütçü ineklerde folikülün dominant olduğu periyotta, ilk GnRH enjeksiyonundan PGF_{2α} enjeksiyonuna kadar olan aralığın azaltılması fertilitiyi iyileştirmiştir. GnRH enjeksiyonundan PGF_{2α} enjeksiyonuna kadar olan sürenin 7 günden 5 güne düşürülmesi ile CL'un başarılı bir şekilde luteolizisi için 24 saat ara ile 2 kez PGF_{2α} enjeksiyonu gereklidir (Santos ve ark. 2010).

Yedi ve 5 günlük PRID-SYNCH protokolü uygulanan ineklerde 24 saat arayla PGF_{2α} enjeksiyonlarının gebelik oranlarını artırmadığı belirlenmiştir. İkinci bir PGF_{2α} enjeksiyonunun yapılması, luteal regresyonu tamamlanmamış olan ineklerin yüzdesini azaltmıştır ve zamanlı suni tohumlama sonucu gebelik oranlarında artma eğilimi belirlenmiştir (Santos ve ark. 2016).

Foliküler gelişim süresinin 7 günden 5 güne düşürülmesi, fertilitiyi optimize etmek için, sabit zamanlı suni tohumlama zamanına yakın dönemde progesteron konsantrasyonlarını azaltmak amacıyla luteal regresyonu sağlamak için iki kez PGF_{2α} enjeksiyonu gerekmektedir (Santos ve ark. 2010).

Bir defada enjekte edilen tam doz PGF_{2α} ya da 8 saat arayla iki doza bölünmüş PGF_{2α}, 5 günlük bir korpus luteuma sahip ineklerde kan dolaşımındaki progesteron düzeyinde önemli bir düşüşe yol açabilir, ancak bu CL iyileşir ve tamamen işlevsel hale gelir. Bu nedenle 5. günden önce ve sonra iki doz PGF_{2α} bile tam luteolizisi başlatmak için yetersizdir (Nascimento ve ark. 2014). Siklusun 5. gününde sekiz saat ara ile iki kez PGF_{2α} uygulanan ineklerde kan progesteron konsantrasyonunun kontrol grubu ineklere göre çok düşük olduğu belirlenmiştir (Nascimento ve ark. 2014). Altıncı günde, 1 PGF_{2α} grubunda progesteron <1 ng/mL olan ineklerin %50'sinde ve 2 PGF_{2α} grubunda %100'ünde luteolizis olduğu görülmüştür. Tüm gruplardaki bütün ineklerde seksüel siklusun 15. gününde fonksiyonel bir CL (Progesteron > 1 ng/mL) belirlenmiştir. Bu nedenle, luteolizisi belirlemek için hangi progesteron değerinin kullanıldığına bakılmaksızın, özellikle

erken luteal dönemde $\text{PGF}_{2\alpha}$ uygulanan ineklerde CL'un sonradan iyileşmesi mümkündür (Nascimento ve ark. 2014).

Sunulan çalışmada suni tohumlama sırasında progesterone konsantrasyonu < 1 ng/mL olan inek sayısı 24 saat ara ile $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılan ineklerde %70 ile diğer gruplardan daha yüksek düzeyde belirlenmiştir. Fakat bu luteolizis oranının gebelik oluşma oranına eşlik etmediği görülmüştür. En düşük luteolizis oranı ise %46,7 ile 9. gün $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılan ineklerde görülmüştür. Ancak ilginç bir şekilde bu ineklerin diğer gruplara göre çok yüksek oranda gebe kaldığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre bu grupta gerçekleşen luteolizisin tam ve yeterli düzeyde gerçekleştiği ve buna paralel olarak uterusun gebeliğe daha uygun hale geldiğini düşündürmektedir.

5. SONUÇ

Holştayn ırkı ineklerde progesteron temelli ve sabit zamanlı suni tohumlama uygulamalarında 24 saat ara ile $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonlarının gebelik oranlarında sayısal anlamda artış sağladığı belirlenmiştir. Ayrıca bu gruptaki ineklerde luteolizis oranının daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu veriler ışığında 24 saat ara ile $\text{PGF}_{2\alpha}$ enjeksiyonu uygulamalarının fertilitiyi iyileştirmede etkili olabileceği, ancak istatistiksel değerleri güçlendirmek açısından daha fazla sayıda ineklerin kullanıldığı araştırmaların yapılmasının faydalı olabileceği kanısına varılmıştır.

6. KAYNAKLAR

Acosta TJ, Yoshizawa N, Ohtani M, Miyamoto A: Local changes in blood flow within the early and midcycle corpus luteum after Prostaglandin F_{2α} injection in the cow. *Biol Reprod*, 66: 651-658, 2002.

Adams GP, Nasser LF, Bo GA, Garcia A, Del Campo MR, MapletoftRJ. Superovulatory response of ovarian follicles of Wave 1 versus Wave 2 in heifers. *Theriogenology*, 42: 1103-13, 1994.

Alaşam E: Üremenin kontrolü. Alaşam E (Ed): *Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite*. 8. Baskı, Medisan, Ankara, 73-80, 2015.

Ambrose DJ, Emmanuel DGV, Colazo MG, Kastelic JP: Pregnancy rates to timed artificial insemination in Holstein heifers given PGF_{2α} twenty-four hours before or concurrent with removal of an intravaginal progesterone-releasing insert. *J Dairy Sci*, 91: 2678-2683, 2008.

Ambrose JD, Kastelic JP, Rajamahendran R, Aali M, Dinn N: Progesterone (CIDR)-based timed AI protocols using GnRH, porcine LH or estradiol cypionate for dairy heifers: ovarian and endocrine responses and pregnancy rates. *Theriogenology*, 64: 1457-1474, 2005.

Archbald LF, Risco C, Chavatte P, Constant S, Tran T, Klapstein E, Elliot J: Estrus and pregnancy rate of dairy cows given one or two doses of prostaglandin F₂ alpha 8 or 24 h apart. *Theriogenology*, 40: 873-84, 1993.

Atli M, Bender ORW, Mehta V, Bastos MR, Luo W, Vezina CM, and Wiltbank MC: Patterns of gene expression in the bovine corpus luteum following repeated intrauterine infusions of low doses of prostaglandin F₂alpha. *Biol Reprod*, 86: 130, 2012.

Ayres H, Ferreira RM, Cunha AP, Araújo RR, Wiltbank MC: Double-Ovsynch in high-producing dairy cows: effects on progesterone concentrations and ovulation to GnRH treatments. *Theriogenology* 79(1):159-164,2013.

Ball PJH, Peters AR: *Reproduction in Cattle*. 3rd Edition. Blackwell, USA, 2004.

Barletta RV, Carvalho PD, Santos VG, Melo LF, Consentini CE, Netto AS, Frick PM: Effect of dose and timing of prostaglandin F_{2α} treatments duringa Resynch protocol on luteal regression and fertility to timed artificial insemination in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci*, 101: 1730-1736, 2018.

Binversie JA, Pfeiffer KE, Larson JE: Modifying the Double-Ovsynch protocol to include human chorionic gonadotropin to synchronize ovulation in dairy cattle. *Theriogenology*, 78: 2095-2104, 2012.

Bridges GA, Helser LA, Grum DE, Mussard ML, Day ML. Decreasing the interval between GnRH and PGF_{2α} from 7 to 5 days and lengthening proestrus increases timed-AI pregnancy rates in beef cows. *Theriogenology*, 69: 843-851, 2008.

Bridges GA, Lake SL: Comparison of the CIDR Select and 5-day Select Synch + CIDR protocols that included limited estrus detection and timed insemination for synchronizing estrus in beef heifers. *Prof Anim Sci*, 27: 141-146, 2011.

Brusveen DJ, Souza AH, Wiltbank MC: Effects of additional prostaglandin F_{2α} and estradiol-17β during Ovsynch in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 92: 1412-1422, 2008.

Brusveen DJ, Souza AH, Wiltbank MC: Effects of additional prostaglandin F2alpha and estradiol-17beta during Ovsynch in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 92: 1412-1422, 2009.

Burke JM, Sal Sota RL, de la Risco CA, Staples CR, Schmitt EJ, Thatcher WW: Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 79: 1385-1393, 1996.

Çolak A: Üreme fizyolojisi ve endokrinolojisi. In: Alaçam, E. (Eds) Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. Beşinci Baskı, Medisan, Ankara, 15-22, 2015.

Çoyan K, Ataman M, Erdem H, Kaya A, Kasıkcı G: Synchronization of estrus in cows using double PGF2 alpha, GnRH-PG2 alpha and hCG-PGF2 alpha combination. *Revue Med Vet*, 154: 91-96, 2003.

Day ML, Anderson LH: Current concepts on the control of puberty in cattle. *J Anim Sci*, 76: 1-15, 1998.

Day ML, Geary TW: Handbook Of Estrous Synchronization. Western Association of Agricultural Experiment Station Directors (WAAESD). Western Region Publication, No: 014, 2005.

Day ML, Grum DE: Breeding strategies to optimize reproductive efficiency in beef herds. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 21: 367-381, 2005.

Dobbins CA, Eborn DR, Tenhouse DE, Breiner RM, Johnson SK, Marston TT, Stevenson JS: Insemination timing affects pregnancy rates in beef cows treated with CO-Synch protocol including an intravaginal progesterone insert. *Theriogenology*, 72: 1009-1016, 2009.

Donovan GA, Bennett FL, Springer FS: Factors associated with first service conception in artificially inseminated nulliparous Holstein heifers. *Theriogenology*, 60: 67-75, 2003.

Dorsey BR, Kasimanickam R, Whittier WD, Nebel RL, Wahlberg ML, Hall JB: Effect of time from estrus to AI on pregnancy rates in estrous synchronized beef heifers. *Anim Reprod Sci*, 127: 1-6, 2011.

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G: A body condition scoring chart for holstein dairy cows. *J Dairy Sci*, 72: 68-78, 1989.

El-Zarkouny SZ: Conception rates for standing estrus and fixed-time insemination in dairy heifers synchronized with GnRH and PGF2 α . *Turk J Vet Anim Sci*, 34: 243-248, 2010.

Evans AC, Adams GP, Rawlings NC: Endocrine and ovarian follicular changes leading up to the first ovulation in prepubertal heifers. *J Reprod Fertil*, 100: 187-194, 1994.

Fricke, P.M. (). Ovsynch, pre-synch, the kitchen-synch: What's up with synchronization protocols, 2002. Erişim: http://www.wisc.edu/dysci/facstaff/Fricke/Fricke_Biographical_Sketch_2004.pdf. Erişim tarihi: 08.08.2004.

Ginther OJ, Knopf L: Composition and characteristics of follicular waves during bovine estrous cycle. *Anim Reprod Sci*, 20: 187-200, 1989.

Giordano JO, Thomas MJ, Catucamba G, Curler MD, Masello M, Stangaferro ML, Wijma R: Reproductive management strategies to improve the fertility of cows with a suboptimal response to resynchronization of ovulation. *J Dairy Sci*, 99: 2967-2978, 2016.

Giordano JO, Wiltbank MC, Guenther JN, Pawlisch R, Bas S, Cunha AP, Fricke PM: Increased fertility in lactating dairy cows resynchronized with Double-Ovsynch compared with Ovsynch initiated 32 d after timed artificial insemination. *J Dairy Sci*, 95: 639–653, 2012.

Gordon I: *Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes*. CAB International, USA, 2002.

Graves WM, Lauren E: Dairy herd synchronization programs. Erişim: <http://pubs.caes.uga.edu/caespubs/pubcd/B1227.htm> Erişim tarihi: 13.09.2004.

Hafez ESE, Hafez B: Reproductive Cycle. In: Hafez ESE, Hafez B (Eds): *Reproduction in Farm Animals*. 7th Edition. Blackwell, p. 55-67, 2006.

Hall JB, Liles A, Whittier W: Estrus synchronization for heifers. http://pubs.ext.vt.edu/400/400-302/400-302_pdf.pdf. Erişim: 11.12.2012.

Hanlon DW, Williamson NB, Wichtel JJ, Steffert IJ, Craigie AL, Pfeiffer DU: The effect of estradiol benzoate administration on estrous response and synchronized pregnancy rate in dairy heifers after treatment with exogenous progesterone. *Theriogenology*, 45: 775-785, 1996.

Helser LA, Bridges GA, Grum DE, Mussard ML, Gasser CL, Lantz DM: Effect of decreasing the interval from GnRH to PGF2 α and lengthening proestrus on reproductive performance in GnRH-CIDR-PGF2 α synchronization programs. *J Anim Sci*, 84(Suppl-1): 432, 2006, (Abstract).

Herlihy MM, Giordano JO, Souza AH, Ayres H, Ferreira RM, Keskin A, Nascimento AB, Guenther JN, Gaska JM, Kacuba SJ, Crowe MA, Butler ST, Wiltbank MC: Presynchronization with Double-Ovsynch improves fertility at first postpartum artificial insemination in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 95: 7003-7014, 2012.

Howard JM, Falk DG, Carnahan KG, Dalton JC, Chebel RC, Ahmadzadeh A: The use of gonadotropin-releasing hormone in a progesterone-based timed artificial insemination protocol in replacement beef heifers. *Prof Anim Sci*, 25: 757-761, 2009.

Jaroszewski JJ, Hansel W: Intraluteal administration of a nitric oxide synthase blocker stimulates progesterone and oxytocin secretion and prolongs the life span of the bovine corpus luteum. *Proc Soc Exp Biol Med*, 224: 50-55, 2000.

Kacar C, Lehimcioglu NC, Oral H, Yildiz S, Kaya S, Kuru M, Zonturlu AK, Pancarci SM, Gungor O, Aslan S: The effects of Cosynch 56 protocol on pregnancy rates of cows and heifers presynchronized with a single dose of PGF2 α . *Rev Méd Vét*, 166(3-4): 90-95, 2015.

Kaçar C, Aslan S: İneklerde ge postpartum dönemde PRID ve CIDR-B ile PGF2 α (İliren[®]) kombinasyonunun fertilitte parametrelerine etkisi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 51: 19-23, 2004.

Kaçar C, Kuru M, Oral H, Kaya S, Kaya D, Demir MC. Effect of second prostaglandin F2 alpha injection during the Ovsynch + Controlled internal drug release (CIDR) protocol on pregnancy rate in Simmental cows. *Reprod Domest Anim*, 53(Supply 2): 149, 2018 (Abstract).

Kalkan C, Horoz H: Pubertas ve seksüel sikluslar. In: Alaam, E. (Eds) *Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite*. Beşinci Baskı. Medisan. Ankara, 23-40, 2015.

Kalkan C, Öcal H: Üreme Fizyolojisi. In: Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A (Ed): *iftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji*. Medipres, Malatya, syf. 15-55, 2019.

Kasimanickam R, Day ML, Rudolph JS, Hal JB, Whittier WD: Two doses of prostaglandin improve pregnancy rates to timed-AI in a 5-day progesterone-based synchronization protocol in beef cows. *Theriogenology*, 71: 762-767, 2009.

Kesler DJ: Estrus synchronization systems: GnRH. Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle. 12-13 November. Texas A&M University, College Station, Texas, 2005.

Kim IH, Suh GH, Son DS: A progesterone - based timed AI protocol more effectively prevents premature estrus and incomplete luteal regression than ovsynch protocol in lactating Holstein cows. *Theriogenology*, 60: 809-817, 2003.

Kinder JE, Bergfeld EGM, Wehrman ME, Peters KE, Kojima FN: Endocrine basis for puberty in heifers and ewes. *J Reprod Fertil Suppl*, 49: 393-407, 1995.

Knickerbocker JJ: Current Therapy in Theriogenology 2th Ed: WB Saunders Company, Philadelphia, London, 117-142, 1986.

Korzekwa A, Jaroszewski JJ, Bogacki M, Deptula KM, Maslanka TS, Acosta TJ, Okuda K, Skarzynski J: Effects of prostaglandin F_{2α} and nitric oxide on secretory function of bovine luteal cells. *J Reprod Dev*, 50: 411-417, 2004.

Kuru M, Oral H, Kulaksız R: İneklerde luteolizis mekanizması ve vazoaaktif ajanları. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg*, 9: 141-148, 2014.

Kuru M: Holstein ırkı düvelerde progesteron ile kombine edilen Cosynch protokolünde ovulasyonun uyarılması amacıyla hCG veya GnRH hormonu kullanılmasının gebelik oranları üzerine etkisi. *Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars*, 2015.

Kuru M, Oral H, Çolak A, Gürbulak K, Bekyürek T: The effect of hCG or GnRH administration on pregnancy rates in Holstein heifers when used to induce ovulation as part of a 5-day Co-Synch Progesterone-Releasing Intravaginal Device protocol. *Rev Med Vet*, 168(1-3): 38-45, 2017.

Kuru M, Kükürt A, Oral H, Ögün M: Clinical use of progesterone and its relation to oxidative stress in ruminants. In: Drevensek, G. (Ed): *Sex Hormones in Neurodegenerative Processes and Diseases*. pp. 303-327, IntechOpen, London, 2018.

Kuru M, Kaçar C, Kaya S, Demir MC, Kaya D, Oral H. The effect of two prostaglandin F_{2α} injections with a 24-hour interval on the pregnancy rate in Ovsynch protocols performed in Simmental cows. 4th International Congress on Advances of Veterinary Sciences and Techniques (ICAVST), pp. 35, July 10-14, Kiev, Ukraine, 2019.

Lamb GC, Cartmill JA, Stevenson JS: Effectiveness of select synch (gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F_{2α}) for synchronizing estrus in replacement beef heifers. *Prof Anim Sci*, 20: 27-33, 2004.

Larson RL, Randle RF: The bovine estrous cycle and synchronization of estrus. <http://cite.seerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.618.212&rep=rep1&type=pdf>. Erişim: 21.05.2019.

Larson RL: The bovine estrous cycle and synchronization of estrus. http://www.vet.kate.edu/studentorgs/bovine/pdf/Synchronization_Systems1.pdf. Erişim: 09.12.2012.

Lesmeister JL, Burfening PJ, Blackwell RL: Date of First calving in beef cows and subsequent calf production. *J Anim Sci*, 36: 1-6, 1973.

Lima FS, Bisinotto RS, Ribeiro ES, Ayres H, Greco LF, Galvão KN, Risco CA, Thatcher WW, Santos JE: Effect of one or three timed artificial inseminations before natural service on reproductive performance of lactating dairy cows not observed for detection of estrus. *Theriogenology*, 77: 1918-1927, 2012.

Lima FS, Ribeiro ES, Bisinotto RS, Greco LF, Martinez N, Amstalden M, Thatcher WW, Santos JEP: Hormonal manipulations in the 5-day timed artificial insemination protocol to optimize estrous cycle synchrony and fertility in dairy heifers. *J. Dairy Sci*, 96: 7054-7065, 2013.

Martinez M, Adams G, Kastelic J, Mapletoft R: Artificial insemination without heat detection in beef heifers. *Large Animal Veterinary Rounds*, 1: 1-7, 2001.

Martinez MF, Kastelic JP, Adams GP, Mapletoft RJ: The use of a progesterone-releasing device (CIDR-B) or melengestrol acetate with GnRH, LH, or estradiol benzoate for fixed-time AI in beef heifers. *J Anim Sci*, 80: 1746-1751, 2002.

Mendonça LGD, Rocha LS, Voelz BE, Lima GT, Scanavez ALA, Stevenson JS: Presynchronization strategy using prostaglandinF2 α , gonadotropinreleasing hormone, and detection of estrus to improve fertility in a resynchronization program for dairy cows. *Theriogenology*, 124, 39-47, 2019.

Merrel R: Estrus detection and synchronization. Student Research Summary, Texas A&M University. 1-17, 2003.

Miyamoto A, Shirasuna K, Hayashi KG, Kamada D, Kawashima C, Kaneko E, Acosta TJ, Matsui M: A potent use of color ultrasound as a tool for reproductive management: New observation using color ultrasound scanning that were not possible with imaging only in black and white. *J Reprod Dev*, 52: 153-160, 2006.

Miyamoto A, Shirasuna K, Wijayagunawardane MP, Watanabe S, Hayashi M, Yamamoto D, Matsui M, Acosta TJ: Blood flow: A key regulatory component of corpus luteum function in the cow. *Domest Anim Endocrinol*, 29: 329-339, 2005.

Miyamoto A, Shirasuna K: Luteolysis in the cow: A novel concept of vasoactive molecules. *Anim Reprod*, 6: 47-59, 2009.

Moran C, Quirke JF, Roche JF: Puberty in heifers a review. *Anim Reprod Sci*, 18: 167-182, 1989.

Nascimento AB, Souza AH, Keskin A, Sartori R and Wiltbank MC: Lack of complete regression of the day 5 corpus luteum after one or two doses of PGF2 α in nonlactating Holstein cows. *Theriogenology*, 81: 389-395, 2014.

Nebel RL, Jobst SM: Evaluation of systematic breeding programs for lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 81: 1169-1174, 1998.

Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, Mcintush EW. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. *Physiol Rev*, 80: 1-29, 2000.

Okuda K, Skarzynski DJ: Luteal prostaglandin $F_{2\alpha}$: New concept of prostaglandin $F_{2\alpha}$ secretion and its actions within the bovine corpus luteum. *Asian-Aus J Anim Sci*, 13: 390-400, 2000.

Pancarci SM, Jordan ER, Risco CA, Schouten MJ: Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle. *J Dairy Sci*, 85: 122-131, 2002.

Patterson DJ, Perry RC, Kiracofe GH, Bellows RA, Staigmiller RB, Corah LR: Management considerations in heifer development and puberty. *J Anim Sci*, 70: 4018-4035, 1992.

Peel RK, Whittier JC, Enns RM, Grove AV, Seidel GE: Effect of 6-versus 12-hour interval between 2 prostaglandin $F_{2\alpha}$ injections administered with 5-day cosynch + controlled internal drug-release protocol on pregnancy rate in beef cows. *Prof Anim Sci*, 26: 307-312, 2010.

Pereira LL, Ferreira AP, Vale WG, Serique LR, Neves KAL, Morini AC, Monteiro BM, Minervino AHH: Effect of body condition score and reuse of progesterone-releasing intravaginal devices on conception rate following timed artificial insemination in Nelore cows. *Reprod Dom Anim*, 53: 624-628, 2018.

Peterson C, Alkar A, Smith S, Kerr S, Hall JB, Moore D, Kasimanickam R: Effects of one versus two doses of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on AI pregnancy rates in a 5-day, progesterone-based, Co-Synch protocol in crossbred beef heifers. *Theriogenology*, 75: 1536-1542, 2011.

Pugliesi G, Shrestha HK, Hannan MA, Carvalho GR, Beg MA and Ginther OJ: Effects of inhibition of prostaglandin $F_{2\alpha}$ biosynthesis during preluteolysis and luteolysis in heifers. *Theriogenology*, 76: 640-651, 2011.

Pursley JR, Mee MO, Wiltbank, MC: Synchronization of ovulation in dairy cows using $PGF_{2\alpha}$ and GnRH. *Theriogenology*, 44: 915-923, 1995.

Pursley JR, Silcox RW, Wiltbank MC. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 81: 2139-2144, 1998.

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

Rawlings NC, Evans AC, Honaramooz A, Bartlewski PM: Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. *Anim Reprod Sci*, 78: 259-270, 2003.

Ribeiro ES, Bisinotto RS, Favoreto MG, Martins LT, Cerri RL, Silvestre FT, Greco LF, Thatcher WW, Santos JE: Fertility in dairy cows following presynchronization and administering twice the luteolytic dose of prostaglandin $F_{2\alpha}$ as one or two injections in the 5-day timed artificial insemination protocol. *Theriogenology*, 78: 273-284, 2012a.

Ribeiro ES, Monteiro AF, Lima S, Ayres H, Bisinotto RS, Favoreto MLF, Greco RS, Marsola, Thatcher WW, Santos JEP: Effects of presynchronization and length of proestrus on fertility of grazing dairy cows subjected to a 5-day timed artificial insemination protocol. *J Dairy Sci*, 95: 2513-2522, 2012b.

Rice LE: Dystocia-related risk factors. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 10: 53-68, 1994.

Richardson AM, Hensley BA, Marple TJ, Johnson SK, Stevenson JS: Characteristics of estrus before and after first insemination and fertility of heifers after synchronized estrus using GnRH, PGF_{2α} and progesterone. *J Anim Sci*, 80: 2792-2800, 2002.

Santos JEB: Reproductive management of lactating dairy cows for first postpartum insemination. *Risco CA, Melendez P (Eds): Dairy Production Medicine*. p. 81-98. Wiley-Blackwell, USA, 2011.

Santos VG, Carvalho PD, Maia C, Carneiro B, Valenza A, Crump PM, Fricke PM: Adding a second prostaglandin F_{2α} treatment to but not reducing the duration of PRID-Synch protocol increases fertility after resynchronization of ovulation in lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci*, 99: 3869-3879, 2016.

Santos JEP, Narciso CD, Rivera F, Thatcher WW, Chebel RC: Effect of reducing the period of follicle dominance in a timed artificial insemination protocol on reproduction of dairy cows. *J Dairy Sci*, 93: 2976-2988, 2010.

Schillo KK, Hall JB, Hileman SM: Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. *J Anim Sci*, 70: 3994-4005, 1992.

Semacan A, Pancarcı ŞM: Üremenin denetlenmesi. Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rıışvanlı A, Köker A (Ed): *Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji*. 97-137. Medipres, Malatya, 2019.

Senger PL: *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 2nd Edition. Current Conception Inc, 2005.

Shirasuna K, Asaoka H, Acosta TJ, Wijayagunawardane MP, Ohtani M, Hayashi M, Matsui M, Miyamoto A: Real-time relationships in intraluteal release among prostaglandin F_{2α}, endothelin-1, and angiotensin II during spontaneous luteolysis in the cow. *Biol Reprod*, 71: 1706-1711, 2004a.

Shirasuna K, Asaoka H, Acosta TJ, Wijayagunawardane MP, Ohtani M, Hayashi KG, Matsui M, Miyamoto A: Real-time dynamics of prostaglandin F_{2α} release from uterus and corpus luteum during spontaneous luteolysis in the cow. *Reproduction*, 128: 189-195, 2004b.

Shirasuna K, Asaoka H, Acosta TJ, Wijayagunawardane MPM, Matsui M, Ohtani M, Miyamoto A: Endothelin-1 within the corpus luteum during spontaneous luteolysis in the cow: Local interaction with prostaglandin F_{2α} and angiotensin II. *J Cardiovasc Pharmacol*, 44: 252-255, 2004c.

Shirasuna K, Watanabe S, Asahi T, Wijayagunawardane MPB, Sasahara K, Jiang C, Matsui M, Sasaki M, Shimizu T, Davis JS, Miyamoto A: Prostaglandin F_{2α} increases endothelial nitric oxide synthase in the periphery of the bovine corpus luteum: The possible regulation of blood flow at an early stage of luteolysis. *Reprod Fertil*, 135: 527-539, 2008.

Silcox RW, Powell KL, Pursley JR, Wiltbank MC: Use of GnRH to synchronize ovulation in Holstein cows and heifers treated with GnRH and prostaglandin. *Theriogenology*, 43: 325, 1995.

Sirois J, Fortune JE: Ovarian follicular dynamics during the estrus cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol Reprod*, 39: 308-317, 1988.

Skarzynski DJ, Jaroszewski JJ, Bah MM, Deptula KM, Barszczewska B, Gawronska B, Hansel W. Administration of a nitric oxide synthase inhibitor counteracts prostaglandin F_{2α} -induced luteolysis in cattle. *Biol Reprod*, 68: 1674-1681, 2003.

Skarzynski DJ, Kobayashi S, Okuda K. Influence of nitric oxide and noradrenaline on prostaglandin F_{2α} -induced oxytocin secretion and intracellular calcium mobilization in cultured bovine luteal cells. *Biol Reprod*, 63: 1000-1005, 2000.

Souza AH, Ayres H, Ferreira RM, Wiltbank MC: A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 70: 208-215, 2008.

Souza AH, Gumen A, Silva EPB, Cunha APJ, Guenther, Peto CM, Caraviello DZ, Wiltbank MC: Supplementation with estradiol-17β before the last GnRH of the Ovsynch protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 90: 4623-4634, 2007.

Stevenson JS: Breeding strategies to optimize reproductive efficiency in dairy herds. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 21: 349-365, 2005.

Stevenson S, Pulley SL, Hill SL: Pregnancy outcomes after change in dose delivery of prostaglandin F_{2α} and time of gonadotropin-releasing hormone injection in a 5-day timed artificial insemination program in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 97: 7586-7594, 2014.

Sugino N, Okuda K. Species-Related differences in the mechanism of apoptosis during structural luteolysis. *J Reprod Dev*, 53: 977-986, 2007.

Gugssa T, Ashebir G, Yayneshet T: Effects of fixed time AI and AI at detected estrus on conception rate in smallholder zebu and crossbred heifers and cows subjected to double PGF_{2α} administration. *Trop Anim Health Prod*, 48: 1209–1213, 2016.

Tenhagen BA, Kuchenbuch S, Heuwieser W: Timing of ovulation and fertility of heifers after synchronization of oestrus with GnRH and prostaglandin F_{2α}. *Reprod Dom Anim*, 40: 62-67, 2005.

Thatcher WW, Bilby TR, Bartolome JA, Silvestre F, Staples CR, Santos JE: Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenology*, 65: 30–44, 2005.

Tsai SJ, Wiltbank MC: Prostaglandin F_{2α} regulates distinct physiological changes in early and mid-cycle bovine corpora lutea. *Biol Reprod*, 58: 346-352, 1998.

Weems CW, Weems YS, Randel RD: Prostaglandins and reproduction in female farm animals. *Vet J*, 171: 206-228, 2006.

Wheaton JE, Lamb GC: Induction of cyclicity in postpartum anestrous beef cows using progesterone, GnRH and estradiol cypionate (ECP). *Anim Reprod Sci*, 102: 208-216, 2007.

Wiltbank MC, Baez GM, Cochrane F, Barletta RV, Trayford CR, Joseph RT: Effect of a second treatment with prostaglandin F_{2α} during the Ovsynch protocol on luteolysis and pregnancy in dairy cows. *J Dairy Sci*, 98: 8644-8654, 2015.

Wiltbank MC, Souza AH, Carvalho PD, Cunha AP, Giordano JO, Fricke PM, Baez GM, Diskin MG: Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*, 8: 70–81, 2014.

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

Yang L, Yao X, Li S, Chen K, Wang Y, Chen L, Zhang L: Expression of genes associated with luteolysis in peripheral blood mononuclear cells during early pregnancy in cattle. *Mol Reprod Dev*, 83: 509-515, 2016.



ÖZGEÇMİŞ

Denizli ili Çardak ilçesinde 1991 tarihinde doğdum. İlk ve orta öğretimimi Beylerli İlköğretim Okulu'nda tamamladıktan sonra lise eğitimimi 2005-2009 yılları arasında Isparta/Keçiborlu Anadolu Lisesi'nde bitirdim. 2009-2015 yılları arasında da Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesinde lisans eğitimimi tamamladım. Aynı yıl vatani görevimi K.K.T.C. 39. Mekanize Piyade Tümen Komutanlığı'nda tamamladıktan sonra 2016 yılının mayıs ayında Denizli ili Bozkurt ilçesinde kendi kliniğimi açarak işletmeye başladım ve hala devam etmekteyim. Yüksek lisans eğitimime 2016 yılında yılında Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında başladım. 2018 yılında ise evlendim.

