

## GnRH ve PGF<sub>2α</sub> KOMBİNASYONU' NUN İNEKLERDE ÖSTRÜS SENKRONİZASYONU ve GEBELİK ORANI ÜZERİNE ETKİSİ

Abdullah Kaya<sup>1</sup>

Kenan Çoyan<sup>1</sup>

Ahmet Semacan<sup>2</sup>

### The effect of GnRH and PGF<sub>2α</sub> combination on estrus synchronization and pregnancy rate in cows

**Summary:** The aim of this study was to compare the effectiveness of GnRH and PGF<sub>2α</sub> combination, and PGF<sub>2α</sub> and PGF<sub>2α</sub> regimens for synchronization of estrus in cows. The study was carried out on 20 (6 Brangus, 14 Brown Swiss) cows, age ranging 3 - 5 years old. The cows were randomly divided into two groups. In group I (n=10), cows were treated with an intramuscular injection of 20 µg GnRH (day=0) a random stage of the estrous cycle, followed by PGF<sub>2α</sub> 7µg days later (day=7). In group II (n=10), cows were given two injections of PGF<sub>2α</sub> 11 day apart (day= 0, and 11). The cows were observed to determine the onset of the estrus for four days and then inseminated 12 hours after the onset of estrus. Blood samples were collected to determine plasma progesterone levels, in group I on the day of GnRH and PGF<sub>2α</sub> injections and at estrus, and in group II on the day of each injection of PGF<sub>2α</sub> and at estrus. The mean interval from synchronization to onset of estrus, synchronization and pregnancy rates of the groups were determined. Plasma progesterone levels on days 0 and estrous were similar (p > 0.05) between the two groups, but on the day of synchronization, in group I were found to be higher progesterone levels than in group II (p < 0.01). The mean interval from synchronization to estrus in group I and II were found 54.3 ± 3.2 and 62.2 ± 3.2 hours, respectively (p > 0.05). The synchronization rate were higher in group I (% 100) than in group II (% 80) (p < 0.01), and pregnancy rate of the group I and II were % 60 and % 40 respectively (p < 0.05). The distribution of the estrous in group I concentrated between 40 and 60 hours following the synchronization, but in group II were a homogen distribution between 40 and 80 hours after the synchronization. As a conclusion, application of a GnRH analogue prior to synchronization of estrus with an injection of PGF<sub>2α</sub> may provide higher results than two injections of PGF<sub>2α</sub> for estrus synchronization in cows.

**Key words:** Cow, estrus synchronization, GnRH, PGF<sub>2α</sub>

**Özet:** Bu araştırma, ineklerde östrüs senkronizasyonu için GnRH ve PGF<sub>2α</sub> kombinasyonu ile çift doz PGF<sub>2α</sub> uygulamalarının etkilerinin karşılaştırılması amacıyla yapıldı. Araştırma, 3-5 yaşlı 20 baş (6 Brangus, 14 İsviçre Esmer) inek üzerinde gerçekleştirildi. İnekler tesadüfi örnekleme ile 2 gruba ayrıldı. Östrüs siklusunun evresine bakılmaksızın I. gruptaki ineklere (n = 10) 20 µg GnRH kas içi yolla uygulandı (0. gün), 7 gün sonrasında ise PGF<sub>2α</sub> enjekte edilerek senkronize edildi, II. gruptaki inekler (n = 10), 11 gün aralıklarla çift doz PGF<sub>2α</sub> ile senkronize edildi. İnekler, östrüsün belirlenmesi amacıyla senkronizasyondan 24 saat sonra 4 gün süre ile gözlemlendi ve östrüsün başlamasından 12 saat sonra tohumlandılar. Plazma progesteron düzeylerinin belirlenmesi amacıyla, GnRH ve PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonlarından önce ve tohumlama gününde olmak üzere kan örnekleri toplandı. Grupların ortalama enjeksiyon - östrüs aralığı, senkronizasyon ve gebelik oranları belirlendi. Grupların uygulama öncesi ve östrüsteki plazma progesteron düzeyleri benzer bulundu (p>0.05), ancak senkronizasyon amacıyla PGF<sub>2α</sub> uygulandığı gün progesteron düzeyi I. grupta II. gruptan daha yüksek bulundu (p<0.01). Ortalama enjeksiyon - östrüs aralığı I ve II. gruplarda sırasıyla, 54.3 ± 3.2 ve 62.2 ± 3.2 saat olarak benzer bulundu (p > 0.05). Senkronizasyon oranları I ve II. gruplarda sırasıyla, % 100 ve % 80 olarak bulunmuş olup, gruplar arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulundu (p < 0.01). Birinci ve II. gruplarda sırasıyla % 60 ve % 40 oranında gebelik sağlanmış olup gruplar arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir (p < 0.05). Senkronizasyonu takiben I. grupta östrüsler 40 - 60. saatler arasında yoğunlaşmasına rağmen II. grupta 40 - 80. saatler arasında homojen bir dağılım sergiledi. Sonuç olarak, ineklerde PGF<sub>2α</sub> ile östrüs senkronizasyonundan 7 gün önce bir GnRH analogu uygulamanın, çift doz PGF<sub>2α</sub> uygulamalarına göre daha iyi sonuçlar verdiği kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** İnek, östrüs senkronizasyonu, GnRH, PGF<sub>2α</sub>

Geliş Tarihi : 03.10.1998

1: Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, KONYA.

2: Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, KONYA.

## Giriş

Süt sığırcılığının en önemli problemlerinden biri hatalı sevk ve idareye bağlı olarak östrüslerin zamanında belirlenememesinden kaynaklanan doğum - yeniden gebe kalma aralığının uzaması sayılmaktadır. Özellikle hayvanların sürekli bağlı tutulmalarından dolayı östrüs semptomlarının gözlenemediği işletmelerde yavru veriminde düşüklüğün nedeni olarak östrüsün belirlenememesi gösterilmektedir. Bu durum östrüsün belirlenmesine yönelik sevk ve idarenin önemini artırmaktadır. İşletmelerdeki hayvanların östrüslerinin doğru tespit edilebilmesi ve harcanan zamanın azaltılabilmesi için östrüs senkronizasyon programları geliştirilmiştir (Larson ve Ball, 1992). Östrüs senkronizasyonu; luteal regresyonun (luteolizisi) veya folliküler gelişim dalgasının senkronizasyonu ile gerçekleştirilebilmektedir (Pursley ve ark., 1995; Hariadi ve ark., 1998). İneklerde PGF<sub>2α</sub> veya analogları, luteolizisi sağlamalarından dolayı senkronizasyon amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmakta ve aktif bir corpus luteumun (CL) bulunduğu dönemde ineklere tek enjeksiyon ya da 10 - 12 gün aralıklarla çift enjeksiyon şeklinde uygulanmaktadır. Çift enjeksiyon yönteminde bazı hayvanların 2. enjeksiyon anında PGF<sub>2α</sub>'ya duyarlı CL'a sahip olmamalarının, senkronizasyon oranını düşürdüğü ifade edilmektedir (Lucy ve ark., 1986). Bunun nedeni olarak sürü içerisinde kistik ovaryumlu, asiklik ve diğer siklus düzensizliklerine sahip hayvanların da bulunabilmesi sayılmaktadır. Ayrıca hormon uygulamaları esnasında bu hormonlara duyarlı reseptörlerin bulunmaması nedeniyle etkisiz kalması ya da geciken etkilerinin, mevcut fonksiyon bozukluklarının tanınmasını geciktirdiği bildirilmektedir (Stolla ve ark., 1998).

PGF<sub>2α</sub> ile yapılan senkronizasyonlarda enjeksiyon sonrası östrüs ve ovulasyonların 2 - 5 günlük bir döneme yayılması nedeniyle sabit zamanlı tohumlama uygun olmamakta ve östrüs tespiti için fazla iş gücü ve zaman harcanmasını gerektirmektedir (Stevensen ve ark., 1987; Archbald ve ark., 1992; Larson ve Ball, 1992; Pursley ve ark., 1995). Östrüs oluşumundaki bu değişkenliğin,

enjeksiyon sırasında östrüs siklusunun evresine bağlı olarak gelişen folliküler dalga farklılığından kaynaklandığı ileri sürülmektedir (Thatcher ve ark., 1989; Adams, 1994; Hegemann ve Braun, 1998; Hariadi ve ark., 1998). Adams (1994) PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonunun folliküler dalganın gelişim veya statik dönemine rastlaması halinde enjeksiyon - östrüs aralığının kısa, regresyon dönemine rastlaması halinde ise daha sonraki folliküler gelişimin beklenmesinden dolayı uzun olduğunu bildirmektedir.

Luteolizisi senkronize etmek amacıyla kullanılan PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonuna verilecek yanıtın neticesinde hayvanlarda senkronize LH salınımının şekillenebilmesi için uygulama anında ovaryumlarda büyük ve homojen folliküllerin bulunmasının gerekli olduğu ileri sürülmektedir (Twagiramungu ve ark., 1995a). Bu nedenle östrüs senkronizasyon programlarında luteolizisin senkronizasyonu öncesinde folliküler dalganın da senkronize edilerek homojen folliküllerin oluşumunu uyarmanın luteolitik preparatların etkisini ve kesin östrüs oluşumunu artırabileceği bildirilmektedir (Pursley ve ark., 1995; Hegemann ve Braun, 1998; Hariadi ve ark., 1998).

Bazı araştırmacılar (Thatcher ve ark., 1993; Birnie ve ark., 1997; Hegemann ve Braun, 1998) ineklerdeki folliküler dalganın bir GnRH analogunun enjeksiyonu ile senkronize edilebileceğini öne sürmektedirler. Seksüel siklusun evresine bakılmaksızın uygulanan GnRH analoglarının ineklerde genellikle çapı 10 mm'den büyük folliküllerin ovulasyonuna yol açtığı (Pursley ve ark., 1995; Ahmad ve ark., 1997), bunun yanında GnRH'nin dozu ve siklus evresine bağlı olarak büyük folliküllerin atresiye olmasına ya da luteinizasyonuna da yol açabildiği ileri sürülmektedir (Archbald ve ark., 1991; Twagiramungu ve ark., 1992; Thatcher ve ark., 1993; Twagiramungu ve ark., 1995b). GnRH uygulamaları ile ovaryum üzerindeki büyük folliküllerin ovulasyon, atresi veya luteinizasyonu ile elimine edilmesini takiben orta büyüklükteki (çapı 5-10 mm) folliküllerin gelişimine yol açan yeni bir senkronize folliküler dalgayı başlatmaktadır (Twagiramungu ve ark., 1992; Pursley ve ark., 1995; Hegemann ve Braun, 1998).

GnRH enjeksiyonundan sonraki 7. güne kadar spontan östrüs ve ovulasyonların baskılandığı ve bu

süre içerisinde şekillenen yeni folliküllerin 7 gün sonra dominant hale geçerek spontan ovulasyon aşamasına geldiği bildirilmektedir (Pursley ve ark., 1995; Twagiramungu ve ark., 1995a). Ayrıca ovulasyon sonrası şekillenen accessor CL'larında 7. güne kadar PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonuna duyarlı hale geldiği (Drost ve Thatcher, 1992), ovaryumlarında homojen, büyük folliküller ve olgun CL'ların bulunduğu bu hayvanlara PGF<sub>2α</sub> uygulamasını takiben senkronize östrüs ve ovulasyonların şekillenme oranının arttığı belirtilmektedir (Thatcher ve ark., 1989; Twagiramungu ve ark., 1992).

Östrüs senkronizasyon yöntemlerinden GnRH - PGF<sub>2α</sub> kombinasyonunun, çift doz PGF<sub>2α</sub> yöntemine göre daha iyi sonuç verdiği (Guibault ve ark., 1991) bildirilmesine rağmen, fertilité üzerine olan etkilerinin karşılaştırılmasına ilişkin araştırmalar sınırlı sayıdadır.

Bu çalışmada, ineklerde PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonundan 7 gün önce GnRH uygulaması ile 11 gün arayla çift doz PGF<sub>2α</sub> yöntemlerinin östrüs senkronizasyonu ve gebelik oranları üzerine etkilerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

**Materyal:** Araştırmada materyal olarak, Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ait 3 - 5 yaşlı, 6 Brangus ve 14 İsviçre Esmer ırkı olmak üzere aynı bakım besleme koşullarında yetiştirilen toplam 20 baş inek kullanıldı. İnekler, klinik olarak herhangi bir sorunu bulunmayan ve postpartum en az 60 gününü tamamlayan ve doğumdan sonra hiç tohumlanmamış hayvanlar arasından seçildiler.

**Metot:** Araştırmaya alınan inekler, seksüel siklusun evresine bakılmaksızın rastlansal olarak iki eşit gruba ayrıldı. Birinci grup (GnRH + PGF<sub>2α</sub>, n=10); bu gruptaki ineklere 20 µg GnRH (Receptal®; Topkim - İstanbul) (0. gün) i.m. olarak enjekte edildi ve 7 gün sonra 0.150 mg PGF<sub>2α</sub> (Dalmazin®; Vetaş - İstanbul) enjekte edilerek senkronize edildi. İkinci grup (PGF<sub>2α</sub> + PGF<sub>2α</sub>, n = 10) ; bu gruptaki hayvanlara ise 11 gün ara ile (0 ve 11. günlerde) 0.150 mg PGF<sub>2α</sub> i.m. enjekte edi-

lerek çift doz senkronizasyon programı uygulandı. Östrüs takibinin kolaylığı açısından birinci grubun PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonu ve ikinci grubun 2. PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonları aynı zamanda yapıldı ve enjeksiyondan 24 saat sonra 4 gün süre ile östrüs takibi yapıldı.

Östrüsün belirlenmesi; diğer hayvanlar üzerine atlama veya diğerlerinin atlamasına izin verme, vulvada ödem ve servikal mukus akıntısının gözlenmesinin yanısıra, rektal muayene ile uterus tonusu ve ovaryumlarında büyük bir follikülün varlığı esas alınarak yapıldı. Tohumlamalar, östrüsün gözlenmesinden 12 saat sonra yapıldı.

Grupların uygulama öncesi (0. gün), PGF<sub>2α</sub> ile senkronizasyon öncesi (I. grupta, 7. ve II. grupta, 11. günler) ve tohumlama günündeki plazma progesteron düzeylerinin belirlenmesi amacıyla ineklerin v.jugularislerinden 10 ml'lik heparinli polietilen tüplere kan örnekleri alındı. Kan örnekleri 45 dk. oda ısısında bekletildikten sonra 5000 devir / dk.'da 10 dakika süre ile santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı, progesteron analizleri yapılmaya kadar plazma örnekleri - 20 °C'de derin dondurucuda saklandı. Plazma progesteron düzeyleri S.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Endokrinoloji Laboratuvarı'nda belirlendi. Plazma progesteron düzeyleri yüksek (>0.5 ng/ml) bulunan ineklerin siklik olarak aktif CL'a sahip oldukları kabul edildi (Stevensen ve ark., 1987).

Grupların senkronizasyon oranı, östrüs şekillenen hayvanların yüzde olarak ifade edilmesi ile, enjeksiyon - östrüs aralığı ise, PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonu ile senkronize edildikten sonra östrüslerin başlamasına kadar geçen süreler esas alınarak belirlendi. Tohumlamalardan 60 gün sonra gebelik tanısı amacıyla tüm hayvanlara rektal muayene uygulanarak grupların gebelik oranları belirlendi ve yüzde olarak değerlendirildi.

Grupların uygulama öncesi, PGF<sub>2α</sub> ile senkronizasyonu ve östrüs sırasındaki plazma progesteron düzeylerinin karşılaştırılmasında t - testi uygulandı. PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonu ile östrüs aralığı arasındaki farkın karşılaştırılmasında varyans analizi uygulandı ve Fisher'in gerçek p değeri hesaplandı. Senkronizasyon ve gebelik oranları arasındaki farkın önem kontrolü ise ki kare - testi ile karşılaştırıldı.

Tablo 1: Birinci (GnRH + PGF<sub>2α</sub>) ve ikinci (PGF<sub>2α</sub> + PGF<sub>2α</sub>) gruplara ait plazma progesteron düzeyleri, PGF<sub>2α</sub> enjeksiyon - östrüs aralığı, senkronizasyon ve gebelik oranları

	Uygulamalar		P
	I. Grup (x ± Sx)	II. Grup (x ± Sx)	
Hayvan sayısı (n)	10	10	
Uygulama öncesi progesteron (ng / ml)	1.58 ± 0.35	1.12 ± 0.24	0.355
Senkronizasyon anındaki progesteron(ng/ ml)	2.98 ± 0.5 <sup>a</sup>	1.05 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.005**
Östrüsteki progesteron (ng / ml)	0.34 ± 0.03	0.37 ± 0.04	0.888
Enjeksiyon - östrüs aralığı (Saat)	54.3 ± 3.2	62.2 ± 3.2	0.096
Senkronizasyon oranı (%)	100 <sup>a</sup>	80.0 <sup>b</sup>	0.001 **
Gebelik oranı (%)	60.0 <sup>a</sup>	40.0 <sup>b</sup>	0.018*

a, b: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arasındaki fark, istatistiki açıdan önemlidir.

\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01.

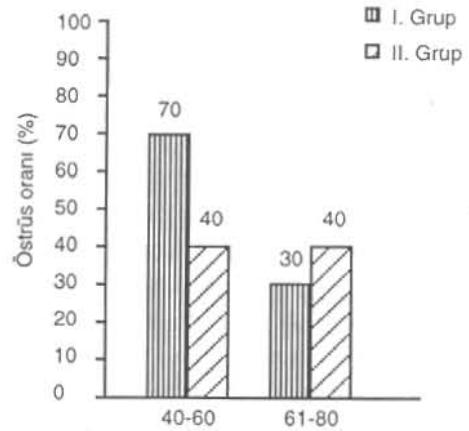
### Bulgular

Araştırmada uygulanan senkronizasyon programlarının değişik dönemlerindeki ortalama plazma progesteron düzeyleri, enjeksiyon - östrüs aralığı, senkronizasyon ve gebelik oranlarına ait bulgular Tablo 1'de, araştırmadan elde edilen östrüs dağılım oranları ise Şekil 1'de sunulmuştur.

Tablo 1'den izlenebileceği gibi araştırmaya alınan ineklerin uygulama öncesi (0. gün) plazma progesteron düzeylerinin ortalaması I ve II. gruplarda sırasıyla 1.58 ± 0.35 ve 1.12 ± 0.24 ng /ml olarak bulunmuş olup, gruplar arasında istatistiki açıdan bir farklılık tespit edilememiştir. Birinci grupta GnRH enjeksiyonundan 7 gün sonra ve II. grupta 11. günde PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonları öncesi alınan kan örneklerinde grupların ortalama plazma progesteron düzeyleri sırasıyla, 2.98 ± 0.5 ve 1.05 ± 0.3 ng / ml olarak bulunmuş olup (Tablo 1), gruplar arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmuştur. (p< 0.01). Çift doz PGF<sub>2α</sub> uygulanan grupta 2 baş inekte her iki enjeksiyon sırasında plazma progesteron düzeyleri düşük (< 0.5 ng / ml) bulunduğu için bu hayvanlar, aktif CL'a sahip değiller şeklinde değerlendirildi. Östrüsteki plazma progesteron düzeyleri ise I ve II. gruplarda sırasıyla, 0.34 ± 0.03 ve 0.37± 0.04 ng/ml, olarak birbirine yakın bulunmuştur(p>0.05)(Tablo 1).

PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonu ile östrüslerin başlaması arasındaki ortalama süre I ve II. gruplarda sırasıyla, 54.3 ± 3.2 ve 62.2 ± 3.2 saat olarak tespit edildi

(Tablo 1). GnRH kombinasyonu ile gerçekleştirilen senkronizasyon programında östrüsler daha erken şekillenmesine rağmen, gruplar arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulunmadı (p>0.05). Araştırmadan elde edilen senkronizasyon oranları I ve II. gruplarda sırasıyla, % 100 ve % 80 olarak bulundu (p< 0.01). Gebelik oranları ise sırasıyla, % 60 ve % 40 olarak tespit edildi ve gruplar arasındaki farklılık istatistiki açıdan önemli bulundu (p<0. 05) (Tablo 1).



PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonu sonrası östrüs dağılımı (saat)

Şekil 1: Birinci ve ikinci gruplara ait östrüs dağılım oranları

Şekil 1'den de izlenebileceği gibi PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonundan önce GnRH uygulanan I. grup ve çift doz PGF<sub>2α</sub> uygulanan II. grupta enjeksiyondan sonraki 40 - 60. saatler arasındaki östrüs oranı sırasıyla, % 70 ve % 40 olarak, 61 - 80. saatler arasındaki östrüs oranları sırasıyla % 30 ve % 40 olarak bulunmuştur.

### Tartışma ve Sonuç

Sığır yetiştiriciliğinde reprodüktif etkinlik, düzenli östrüs takibinin yapılması ile ideal tohumlama zamanının tespit edilmesine ve yapılan tohumlamalardan sağlanan yüksek gebelik oranına bağlıdır. İşletmelerde yıl boyu östrüs takibinin yapılması hem sıkıcı hemde önemli iş gücü gerektirmektedir. Bu nedenle gestagenler, PGF<sub>2α</sub> ve gestagen - PGF<sub>2α</sub> kombinasyonları başta olmak üzere, bir çok östrüs senkronizasyon programı geliştirilmiştir (Larson ve Ball, 1992; Twagiramungu ve ark., 1995a). Ancak bu metotlardan elde edilen gebelik oranları çoğu zaman tatmin edici düzeyde değildir (Twagiramungu ve ark., 1995a). Sığırlarda luteolizis'in senkronizasyonu amacıyla yaygın olarak kullanılan PGF<sub>2α</sub> ve analoglarına verilecek yanıtın yüksek olması, uygulama sırasındaki folliküler dalganın durumuna bağlı olduğu bildirilmektedir (Pursley ve ark., 1995; Hegemann ve Braun, 1998). Bu yüzden 2 ya da 3 folliküler dalgaya sahip ineklerde prostaglandin enjeksiyonu sırasında olgun bir CL'un bulunması yanında luteolizisi uyarmadan önce bir GnRH analogu ile folliküler dalganın da senkronize edilmesinin daha yüksek senkronizasyon sağlayabileceği ileri sürülmektedir (Adams, 1994).

Siklusun herhangi bir döneminde uygulanan GnRH, doza bağlı olarak mevcut dominant folliküllerin ovulasyonuna neden olduğu ve sonrasında da accessor CL'lar şekillenerek artan luteal hücrelerin progesteron salgısını artırdığı, ayrıca luteal dönemde uygulanan GnRH'nin endojen salınımını uyardığı LH'nin luteotropik etkisi ve CL oluşumunu desteklemesinin progesteron yükselmesine yol açtığı bildirilmektedir (William, 1982; Thatcher ve ark., 1993; Sianangama ve Rajamahendran, 1996). Ayrıca CL büyüklüğü ile progesteron salgılama düzeyi arasında korelasyon olduğunu bildirilmektedir (Assey ve ark., 1993). Sunulan araştırmada, I ve II. grupların uygulama öncesi ortalama plazma progesteron düzeyleri sırasıyla,  $1.58 \pm 0.35$  ve  $1.12 \pm 0.24$  ng / ml olarak birbirine benzer ( $p > 0.05$ ) bulunmuştur. Grupların plazma progesteron düzeylerinin benzer olması, gruplardaki ineklerin homojen dağılımını gös-

termektedir. Birinci grupta GnRH enjeksiyonundan 7 gün sonra ve II. grupta PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonundan 11 gün sonra luteolizisin uyarılması sırasında ortalama plazma progesteron düzeyleri sırasıyla,  $2.98 \pm 0.50$  ve  $1.05 \pm 0.30$  ng / ml olarak bulunmuş olup, gruplar arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir ( $p < 0.01$ ). Böyle bir duruma, I. grupta uygulanan GnRH'nin dominant folliküllerin ovulasyonu veya luteinizasyonuna yol açarak accessor CL'ların şekillenmesi, ya da uyarılmış olduğu LH'nin luteotropik etkisi ile bu grupta progesteron düzeyinin yükselmesine neden olabileceği düşünülmektedir.

Hariadi ve ark. (1998), PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonlarından sonra 4 gün içinde şekillenen östrüslerdeki progesteron düzeylerinin 0.2 - 0.8 ng / ml arasında bulunmasını normal luteal regresyonun bir göstergesi olarak kabul etmektedirler. Çalışmada östrüsteki progesteron düzeyleri I ve II. gruplarda sırasıyla,  $0.34 \pm 0.03$  ve  $0.37 \pm 0.04$  ng / ml olarak bulunmuş olup, gruplar arasında istatistiki açıdan önemli bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Bu değerler, PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonlarından sonra gruplardaki normal luteal regresyonun sağlandığının bir göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Kastelic (1994), folliküler dalgayı dominant follikülün gelişmeye devam ettiği ilk 6 gün (gelişme dönemi), aynı büyüklükte kaldığı 6 gün (statik dönem) ve daha sonra regresyona uğradığı dönem olmak üzere 3 bölüme ayırmaktadır. Adams (1994), luteolitik preparatların uygulanmasından sonraki östrüs ve ovulasyonların şekillenme süresinin uygulama sırasındaki folliküler dalganın dönemine bağlı olduğunu bildirmektedir. Araştırmacı, luteolitik preparatların uygulanmasının mevcut dominant folliküllerin gelişme döneminde ise enjeksiyondan kısa bir süre sonra östrüs ve ovulasyonların şekillendiğini, buna karşılık dominant folliküllerin regresyon döneminde uygulandığı takdirde ise yeni bir folliküler dalganın gelişerek ovulator follikülün oluşmasından sonra östrüsün oluşabileceğini, bu durumun enjeksiyon - östrüs aralığının uzamasına neden olduğunu öne sürmektedir. Araştırmadan elde edilen enjeksiyon östrüs aralığı I ve II. gruplarda sırasıyla,  $54.3 \pm 3.2$  ve  $62.2 \pm 3.2$  saat olarak bulunmuştur. Gruplar arasında bulunan bu farklılık istatistiki açıdan önemli olmamasına rağmen, GnRH uygulanan grupta östrüslerin daha erken şe-

killendiği ve östrüslerin çoğunun (% 70) enjeksiyondan sonraki 40 - 60. saatler arasına yoğunlaştığı, oysa yalnız PGF<sub>2α</sub> uygulanan grupta 40 - 80. saatler arasında bir dağılım sergilediği görülmektedir (Şekil, 1). Bu farklılığın muhtemel nedeni olarak, gruplarda bulunan hayvanların luteolizisin uyarılması sırasında farklı folliküler dalga dönemlerinde olması sayılabilir. Çünkü I. grupta GnRH uygulamasından 7 gün sonra luteolizis uyarıldığı için bu süre içerisinde gelişen yeni folliküler dalgadaki büyük senkronize folliküller gelişme dönemini tamamlamakta ve regresyon döneminde follikül bulunma ihtimali azalmaktadır. Çift doz PGF<sub>2α</sub> uygulanan II. grupta ise 2. enjeksiyon sırasında regresyon döneminde olan follikül bulunma ihtimali olduğu için bu gruptaki bazı ineklerde ovulator folliküllerin enjeksiyondan sonra gelişmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Bazı araştırmacılar (Thatcher ve ark., 1989; Drost ve Thatcher, 1992; Twagiramungu ve ark., 1992) GnRH uygulamasından 7 gün sonra uygulanan PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonu ile östrüslerin şekillenmesi arasındaki sürenin çift doz PGF<sub>2α</sub> uygulamalarına göre daha kısa olduğunu bildirmektedir. Araştırmadan elde edilen enjeksiyon östrüs aralığının GnRH uygulanan grupta daha kısa olması bildirilen literatürlere benzerlik arzemektedir.

Araştırmadan elde edilen senkronizasyon oranları I ve II. gruplarda sırasıyla, % 100 ve % 80 olarak bulunmuştur. Senkronizasyon oranları arasındaki farklılığın muhtemel nedeni olarak luteolizisin uyarılması sırasında gruplardaki PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonuna duyarlı aktif CL'a sahip hayvanların oranının farklı olması düşünülmektedir. Çünkü, çift doz PGF<sub>2α</sub> ile senkronizasyonlarda ineklerin ancak % 72'sinin ikinci enjeksiyon sırasında PGF<sub>2α</sub> ya duyarlı aktif CL'a sahip olduğu ileri sürülmektedir (Lucy ve ark., 1986). Oysa laktasyondaki ineklerde, siklusun hangi döneminde olursa olsun GnRH enjeksiyonundan sonra % 90'ında ovulasyonun şekillendiği, 7 gün sonrasına kadar spontan östrüs ve ovulasyonlar baskılanarak oluşan CL'ların PGF<sub>2α</sub> ya duyarlı olgun hale geldiği ve daha yüksek östrüs oluşumuna neden olduğu bildirilmektedir (Thatcher ve ark., 1993; Pursley ve ark., 1995). Sunulan araştırmada GnRH uygulanan grupta luteolizisin uyarılması sırasında

progesteron düzeyinin ve senkronizasyon oranının yüksek olması, bu grupta luteolizisin uyarılması sırasında aktif CL'a sahip hayvanların oranının yüksek olduğunu göstermektedir.

Twagiramungu ve ark. (1995a), PGF<sub>2α</sub> ile yüksek oranda senkronizasyon sağlanmasının uygulama anındaki büyük folliküllerin homojenitesine bağlı olduğunu, bu amaçla PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonundan 7 gün önce uygulanan GnRH ya da analoglarının ovaryumlarda homojen follikül gelişimini uyardığını ileri sürmektedirler. Sunulan araştırmada I. grupta senkronizasyon oranının yüksek olmasının diğer bir nedeni de luteolizis öncesinde uygulanan GnRH'nin ovaryumlarda muhtemelen büyük homojen folliküllerin gelişimini uyarması sayılabilir.

Araştırmadan elde edilen gebelik oranları I ve II. gruplarda sırasıyla, % 60 ve % 40 olarak bulunmuştur (p< 0.05). Birinci grupta gebelik oranının yüksek bulunması, GnRH'nin folliküler dalgayı senkronize ederek homojen folliküllerin oluşumunu uyarması ve PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonu öncesi daha yüksek progesteron salgılanmasına yol açması yanında grup içerisinde bulunabilecek muhtemel asiklik ve kistik ovaryumlu hayvanlara da etkili olması düşünülmektedir.

GnRH uygulamalarının yalnız siklik hayvanlarda östrüs ve ovulasyonu senkronize etmekle kalmayıp aynı zamanda anöstrüsteki hayvanlarda da siklik hayvanlarda olduğu gibi etkili olduğu, oysa yalnız PGF<sub>2α</sub> ile yapılan senkronizasyonların anöstrüsteki hayvanlarda östrüs ve ovulasyonu uyarmadığı belirtilmektedir (Stevensen ve ark., 1997). Twagiramungu ve ark. (1992) siklik aktiviteye sahip olmayan 7 baş inekte GnRH uyguladıktan sonra 6'sında siklik aktivitenin uyarıldığını ve bu hayvanların 7 gün sonra PGF<sub>2α</sub> ile senkronize edildikten sonra yapılan tohumlamalarda 5 başının gebe kaldığını bildirmektedir. Araştırmada inaktif ovaryuma sahip hayvanlara ait bulgu olmamasına rağmen, II. gruptaki 2 baş hayvanda 11 gün ara ile alınmış olan her iki kan örneğinde de plazma progesteron düzeylerinin düşük (< 0.5 ng / ml) bulunması ve bu hayvanlarda senkronizasyonun sağlanamamış olması muhtemelen bu ineklerin aktif CL'a sahip olmadıkları şeklinde değerlendirildi. Oysa I. grupta, GnRH enjeksiyonu sırasında plazma

progesteron düzeyi düşük inek bulunmasına rağmen 7 gün sonraki PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonu sırasında ineklerin tamamının yüksek progesteron (> 0.5 ng / ml) düzeyine sahip olduğu belirlendi. Benzer şekilde bu senkronizasyon programında folliküler kistli ineklerin de başarılı bir şekilde senkronize edilerek gebe kalabileceği bildirilmektedir (Braun ve ark., 1998; Stolla ve ark., 1998). Braun ve ark. (1998), 4 baş kistik ovaryuma sahip inekte 7 gün aralıkla GnRH + PGF<sub>2α</sub> uygulayarak 3 baş ineğin gebe kaldığını tespit etmişlerdir. Bu yüzden GnRH ile kombine edilerek senkronize edilen hayvanlarda kistik ovaryumlu hayvanlar bulunsa bile başarıyı olumsuz yönde etkilemeyecektir, oysa yalnız PGF<sub>2α</sub> kullanılarak yapılan senkronizasyonlarda folliküler karakterli kistlerde etkili olma ihtimali bulunmamaktadır.

Helmere ve Brith (1985) yüksek progesteron düzeyine sahip hayvanlarda yapılan senkronizasyonlarda fertilitenin de yüksek olduğunu ifade etmektedirler. Sunulan araştırmada senkronizasyon sırasında progesteron düzeyi yüksek olan I. grupta fertilitenin de yüksek bulunması literatür bilgilerine uyumlu bulundu. Twagiramungu ve ark. (1992) PGF<sub>2α</sub> enjeksiyonundan önce GnRH uygulanan grupta gebelik oranını % 70.8 olarak bildirmesine rağmen kontrol grubunda % 46.2 olarak bildirmektedir. Bu gebelik oranları sunulan araştırmadan elde edilen gebelik oranlarına paralellik arz etmektedir.

Prostaglandinler ile yapılan senkronizasyon sonrası şekillenen östrüste fertilitenin düşük olduğu ileri sürülmektedir (Morrel ve ark., 1991). Oysa GnRH kullanılarak yapılan senkronizasyonların follikül gelişimi ve oosit kalitesi üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığı bildirilmektedir (Twagiramungu ve ark., 1992).

Sonuç olarak, PGF<sub>2α</sub> ile luteal regresyonun senkronizasyonundan önce GnRH uygulanarak folliküler dalganın senkronizasyonunun amaçlandığı I. gruptan elde edilen enjeksiyon-östrüs aralığının ve östrüs dağılımının daha kısa olması nedeniyle, çift doz PGF<sub>2α</sub> ile yapılan senkronizasyon programlarına göre sabit zamanlı tohumlamaya daha uygun olduğu belirlendi. GnRH kullanılan grupta senkronizasyon ve gebelik ora-

nının da yüksek olması, siklik aktiviteye sahip olmayan ve kistik ovaryumlu hayvanlarda da kullanımının uygun olması, östrüs senkronizasyonu amacıyla 7 gün ara ile GnRH - PGF<sub>2α</sub> kombinasyonunun kullanılmasının daha yararlı olacağı kanısına varıldı.

## Kaynaklar

- Adams, G.P. (1994) Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle implications for synchronization and superstimulation. *Theriogenology*, 41, 19 - 24.
- Ahmad, N., Townsend, E.C., Dailey, R.A. and Inskeep, E.K. (1997) Relationships of hormonal patterns and fertility to occurrence of two or three waves of ovarian follicles, before and after breeding, in beef cows and heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 49, 13 - 28.
- Archbald, L.F., Norman, S.N., Tran, T., Saralye, T.T. and Thomas, P.G.A. (1991) Does GnRH work as well as GnRH and PGF in the treatment of ovarian follicular cysts?. *Veterinary Medicine*, October, 1037 - 1040.
- Archbald, L.F., Tran, T., Massey, R. and Klapstein, E. (1992) Conception rates in dairy cows after timed - insemination and simultaneous treatment with gonadotropin-releasing hormone and/or prostaglandin PGF<sub>2α</sub>. *Theriogenology*, 37, 723 - 731.
- Assey, R.J., Purwantara, B., Greve, T., Hyttel, P. and Schmidt, M.H. (1993) Corpus Luteum size and plasma progesterone levels in cattle after cloprostenol - induced luteolysis. *Theriogenology*, 39, 1321 - 1330.
- Birnie, L.M., Broadbent, P.J. and Hutchinson, J.S.M. (1997) Failure of prostaglandin F2a analogue to induce luteolysis in GnRH agonist treated heifers. *Vet. Rec.*, 22, 315.
- Braun, J., Görblich, S., Scharlach, A., Nüske, S. and Stolla, R. (1998) Fixed - time insemination after synchronization of estrus and ovulation with GnRH and PGF<sub>2α</sub> in dairy cows. 31th Conference on Physiology and Pathology of Reproduction, 5-6 März, München.
- Drost, M. and Thatcher, W.W. (1992) Application of gonadotropin releasing hormone as therapeutic agent in animal reproduction. *Anim. Reprod. Sci.*, 28, 11-19.
- Guibault, L.A., Villeneuve, P., Laverdiere, P., Proulx, J. and Dufour, J.J. (1991) Estrus synchronization in beef cattle using a potent GnRH analog (Buserelin) and Cloprostenol. *J. Anim. Sci., Suppl.*, 419.

- Hariadi, M., Broomfield, D. and Wright, P.J. (1998) The synchrony of prostaglandin-induced estrus in cows was reduced by pretreatment with hCG. *Theriogenology*, 49, 967 - 974.
- Hegemann, M. and Braun, J. (1998) The effect of GnRH or GnRH / PGF<sub>2α</sub> on follicular development in non-lactating cows. 31th Conference on Physiology and Pathology of Reproduction, 5-6 März, München.
- Helmer, S.D. and Britt, J.H.(1985) Mounting behavior as affected by stage of estrous cycling holstein heifers. *J. Dairy Sci.*, 68, 1290 - 1296.
- Kastelic, J.P. (1994) Understanding ovarian follicular development in cattle. *Veterinary Medicine*, January, 64 - 71.
- Larson, L.L. and Ball, P.J.H. (1992) Regulation of estrous cycles in dairy cattle: a review. *Theriogenology*, 38, 255 - 267.
- Lucy, M.C., Stevensen, J.S. and Call, E.P. (1986) Controlling first service and calving interval by Prostaglandin F<sub>2α</sub> gonadotropin - releasing hormone and timed insemination. *J. Dairy. Sci.*, 69, 2186 - 2194.
- Morrell, J.M., Noakes, D.E., Zintzaras, E. and Dresser, D.W. (1991) Apparent decline in fertility in heifers after repeated estrus synchronization with Cloprostenol. *Vet. Rec.*, 128, 404 - 407.
- Pursley, J.R., Mee, M.O. Wiltbank, M.C. (1995) Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2α</sub> and GnRH. *Theriogenology*, 44, 915 - 923.
- Sianangama, P.C. and Rajamahendran, R.(1996) Effects of hCG administration on day 7 of the estrous cycle on follicular dynamics and cycle length in cows. *Theriogenology*, 45, 583-592.
- Stevensen, J.S., Hoffman, D.P., Nichols, D.A., McKee, R.M. and Krehbiel, C.L. (1997) Fertility in estrus-cycling and noncycling virgin heifers and suckled beef cows after induced ovulation. *J.Anim.Sci.*, 75, 1343-1350.
- Stevenson, J.S., Lucy, M.C. and Call, E.P. (1987) Failure of timed inseminations and associated luteal function in dairy cattle after two injections of prostaglandinF<sub>2α</sub>. *Theriogenology*, 28, 937- 946.
- Stolla, R., Bendel, M., Hegemann, M. and Braun, J. (1998) Einsatz von PGF<sub>2α</sub> und GnRH zur Zyklussteuerung beim Rind. *Tierarztl Prax.*, 26, 187 - 192.
- Thatcher, W.W., Drost, M., Savio, J.D., Macmillan, K.L., Entwistle, K.W., Schmitt, E.J., De la Sota, R.L. and Morris, G.R. (1993) New clinical uses of GnRH and its analogues in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 33, 27 - 49.
- Thatcher, W.W., Macmillan, K.L., Hansen, P.J. Drost, M. and (1989) Concepts for regulation of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility. *Theriogenology*, 31, 149-164.
- Twagiramungu, H., Guibault, L.A. and Dufour, J.J. (1995a) Synchronization of ovarian follicular waves with a gonadotropin-releasing hormone agonist to increase the precision of estrus in cattle: A review . *J. Anim. Sci.*, 73, 3141-3151.
- Twagiramungu H., Guibault, L.A., Poulx, J. and Dufour, J.J. (1992) Synchronization of estrus and fertility in beef cattle with two injections of buserelin and prostaglandin. *Theriogenology*, 38, 1131-1144.
- Twagiramungu, H., Guibault, L.A., Poulx, J., Ramkumar, R. and Dufour, J.J. (1995b) Buserelin overcomes the effect of the corpus luteum on ovarian follicular development in postpartum cycling cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 39, 183 - 192.
- William, T.K. (1982) The use of GnRH in bovine reproduction. *Continuing Education Article*, 4, 2, 55 - 65.