



Sütçü İneklerde Ovsynch Protokolünde İkinci GnRH Uygulamasının Geciktirilmesinin Gebelik Oranı Üzerine Etkisi

Birten EMRE^{1✉}, Ömer KORKMAZ¹, Abuzer Kafar ZONTURLU¹

1. Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE.

Özet: Bu çalışmada, ineklerde Ovsynch (OVS) protokolünde ikinci GnRH enjeksiyonunun geciktirilmesinin gebelik oranı üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı. Çalışmada, toplam 40 adet primipar, Holstein-Friesian ırkı sağmal ineğe 0. günde 10 µg GnRH ve 7. günde 500 µg PGF_{2α} uygulanarak rastgele iki gruba ayrıldı. Prostaglandin uygulamasını takiben hayvanlara (n=21), 48. saatte (OVS 48), diğer gruptaki hayvanlara (n=19) ise 56. saatte 2. GnRH enjeksiyonu yapıldı (OVS 56). Protokollerini takiben 16. saatte suni tohumlama uygulandı. Serum progesteron (P₄) değerlendirilmesi amacıyla, PGF_{2α}'nın uygulandığı 7. günde ve tohumlamalar sırasında kan örnekleri alındı. Gebelik tanısı, suni tohumlamadan sonraki 40-45. günde transrektal ultrasonografi ile tespit edildi. Gruplar arasındaki 7. gün ve tohumlama anı ortalama serum P₄ değerlerinin değişimi incelendiğinde, (OVS 48: sırasıyla 11.09 ± 7.60 ve 0.89 ± 1.31 ng/ml olmasına karşın, OVS 56: 6.00 ± 5.98 ve 1.10 ± 1.79 ng/ml) istatistiksel olarak önemli bir farklılık belirlenmedi (P>0.05). Çalışmada, farklı Ovsynch programları sonucunda elde edilen gebelik oranı OVS 48 grubunda % 66.66, OVS 56 grubunda ise % 47.36 olarak belirlendi. Ancak, gruplar arasındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlemlendi (P>0.05). Sonuç olarak, sütçü ineklerde klasik Ovsynch protokolünde ikinci GnRH enjeksiyonunun 8 saat geciktirilmesinin (48 yerine 56. saatte) gebelik oranı üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Gebelik oranı, Gonadotropin-releasing hormon, Ovsynch, Sütçü İnek.

The Effect of Delaying the Administration of Second GnRH in the Ovsynch Protocol on Pregnancy Rate in Dairy Cows

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effect of delaying the second GnRH injection on pregnancy rates in the Ovsynch protocol (OVS) in cows. In the study, a total of 40 primiparous, Holstein-Friesian dairy cows treated with 10 µg GnRH on day zero and 500 µg PGF_{2α} on day 7 and the cows were then randomly divided into two groups. The 2nd GnRH injection was performed at the 48 hours in the OVS 48 (n = 21) and at the 56 hours in the OVS 56 (n = 19) after the PGF_{2α} injection. Artificial insemination (AI) was performed 16 hours after the protocols. Blood samples were taken at day 7 and at the time of insemination to evaluate progesterone (P₄). Pregnancy diagnosis was determined at 40-45th day after the AI by transrectal ultrasonography. No statistically significant differences were determined between groups for the mean serum P₄ values on day 7 and at the time of insemination (OVS 48: 9.11 ± 7.60 and 0.89 ± 1.31 ng/ml vs. OVS 56: 6.00 ± 5.98 and 1.10 ± 1.79 ng/ml, respectively) (P>0.05). Pregnancy rates were determined as 66.66 % in group OVS 48 and 47.36 % in group OVS 56. However, no significant difference was observed between the groups (P>0.05). In conclusion, the findings suggest that delaying the second GnRH injection for 8 hours (56th hour instead of 48th hour) in conventional Ovsynch protocol had no effect on pregnancy rate in dairy cows.

Key words: Dairy Cow, Gonadotropin-releasing hormone, Ovsynch, Pregnancy rate.

✉ Birten EMRE

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa, TÜRKİYE.
e-posta: birten@gmail.com

GİRİŞ

Sütçü inek işletmelerinde, östrüs tespiti reproduktif performansı etkileyen en önemli faktörlerdendir. Östrüs tespit oranı, birçok sürüde % 50'den daha az olmaktadır (Radostits ve ark., 1994). Yetersiz ve yanlış tespit, gebelik başına tohumlama sayısı, boş geçen günler ve buzağılama aralığını artırmaktadır (Heersche ve Nebel, 1994; Senger, 1994). Sütçü sığır işletmelerinde, bu sorunları ortadan kaldırmak ve optimal fertilitenin elde edilmesi amacıyla senkronizasyon metotları geliştirilmiştir (Baumann, 1988). Bu amaçla geliştirilen senkronizasyon programlarından birisi de Ovsynch protokolüdür. Sabit zamanlı tohumlamaya olanak sağlayan Ovsynch protokolü, aşım veya tohumlama yapılmadan önce Gonadotropin-releasing hormon (GnRH), prostaglandin (PG) ve GnRH'nin ardışık olarak uygulanmasıdır (Pursley ve ark., 1995; Semacan ve Pancarcı, 2013). Tohumlamalar ikinci GnRH enjeksiyonu sonrası 0–24. saatler arasında yapılmaktadır (Pursley ve ark., 1995; Stevenson ve ark., 1996). Tohumlamaların ikinci GnRH enjeksiyonu sonrası erken dönemde (16. saat) yapılmasının başarıyı artırdığı belirtilmektedir (Pursley ve ark., 1998; Peeler ve ark., 2004). Ovsynch programının özellikle östrüs tespitinin düşük olduğu veya işgücünden tasarruf edilmesi düşünülen sürülerde yararlı olabileceği belirtilmektedir (Jemmeson, 2000; McDogual ve ark., 2001; Erdem ve Güzeloğlu, 2008).

Laktasyondaki süt ineklerinde, Ovsynch protokolü sonrası elde edilen gebelik oranlarının %32 ile %76.9 aralığında değiştiği belirtilmektedir (Pursley ve ark., 1997; Aydın ve ark., 2008; Çevik ve ark., 2010; Kara ve ark., 2011; Yılmaz ve ark., 2011).

Ovulasyon senkronizasyonunu; yaş (hayvanın inek veya düve olması), laktasyon dönemi, uygulamaya başlandığında östrüs siklusunun dönemi ve ovaryum fonksiyon bozuklukları (anöstrüs, kistik ovaryum dejenerasyonu), vücut kondisyon skorunun kötü olması (2.5 ve altı) ve sıcaklık stresi gibi faktörler etkileyebilir (Pursley ve ark., 1997; Nebel ve Jobst, 1998; Moreira ve ark., 2000a).

Postpartum 70. günden önce uygulamalar da gebelik oranındaki başarıyı düşürmektedir (Pursley ve ark., 1997). Bununla beraber, Ovsynch protokolünün bir doğum yapanlarda, birden fazla doğum yapanlara göre daha etkili olduğu belirtilmektedir (Tenhagen ve ark., 2004).

Literatürde, klasik Ovsynch (2. GnRH uygulaması 48. saatte yapılan enjeksiyon) protokolüne kıyasla, enjeksiyonun 8 saat geciktirilmesinin (56. saat) daha iyi sonuçlar sağladığı bildirilmiştir (Peters ve ark., 1999; Brusveen ve ark., 2008; Bisinotto ve ark., 2010). Dolayısıyla, sunulan çalışmada, süt inekçiliği ile uğraşan ve kızgınlık tespit problemi yaşayan ticari bir işletmede ekonomik kayıpları önlemek amacıyla, farklı Ovsynch protokolü uygulamasının (48. saat yerine 56. saatte yapılan 2. GnRH enjeksiyonu) ilk tohumlamadaki gebelik oranı üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

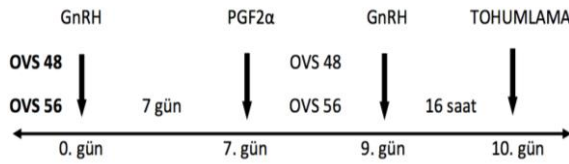
Çalışmada, materyal olarak 3 yaşında tek doğum yapmış, postpartum kontrolleri yapılan, herhangi bir puerperal dönem sorunu bulunmayan ve doğumun üzerinden en az 75 gün geçmiş (75-300. günler arası) toplam 40 baş sağmal inek kullanıldı. Hayvanların vücut kondisyon skorlarının 5'lik sisteme göre 3.0 ile 3.5 arasında değiştiği belirlendi (Rodenburg, 2004). İneklerin 305 günlük ortalama süt verimi 5.900 kg olup, sağımları günde iki defa, tam otomatik sağım sistemi ile yapılmaktaydı. Çalışma, inekler kış, bahar ve yaz aylarında yarı-açık serbest dolaşimli ahırlarda barındırılan ve günde iki kez bir örnek total rasyon karışımıyla beslenen özel bir işletmede gerçekleştirildi.

Çalışma Dizaynı

Çalışmada Ovsynch programında 0. günde 10 µg GnRH (Buserelin asetat), 7. günde 500 µg PGF_{2α} (Kloprostenol) enjeksiyonu yapıldı. Prostaglandin

uygulaması sonrası inekler rastgele iki gruba ayrıldı. Çalışmada OVS 48 (n=21) grubundaki hayvanlara, ikinci PGF₂α uygulamasını takiben 48. saatte ikinci GnRH, OVS 56 (n=19) grubundaki hayvanlara ise 56. saatte ikinci GnRH enjeksiyonu yapıldı (Şekil 1). Protokolü takiben 16. saatte suni tohumlama uygulandı. Gebelik muayeneleri tohumlamadan sonraki 40-45. günlerde transrektal ultrasonografik muayene (Pie Medical, 100 Falco Vet, 6-8 MHz Lineer prob) ile yapıldı.

Şekil 1. Ovsynch protokolünün uygulama şeması
Figure 1. Schematic diagram of Ovsynch protocol



Çalışmada tedavi gruplarının karşılaştırılmasında fertilité parametresi olarak; ilk tohumlamada gebelik oranı (İTGO; %) hesaplanarak değerlendirildi.

Kan Toplanması ve Değerlendirilmesi

Tüm hayvanlardan progesteron (P₄) değerlendirilmesi amacıyla, PGF₂α'nın uygulandığı 7. günde ve tohumlamalar sırasında hormon değerlerinin yapılan uygulamadan nasıl etkilendiğinin belirlenebilmesi için kuyruk veninden (*V. coccygea*) 10 ml kan örnekleri alındı. Alınan örnekler oda sıcaklığında 3.000 devirde 15 dakika süre ile santrifüj edildi ve elde edilen serum örnekleri analizleri yapıncaya kadar -20 °C'de saklandı. Serum P₄ konsantrasyonları elektro-kimyasal immunoassay yöntemi ile ölçüldü.

İstatistiksel Analiz

Elde edilen bulguların istatistiksel analizi SPSS® (Statistical Package for the Social Sciences, 16.0) programı kullanılarak yapıldı. İncelenen parametreler arası olası ilişkilerin araştırılmasında

Ki-kare testi kullanıldı. P (olasılık) değeri <0.05 düzeyinde önemli olarak kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmada, postpartum kontrolleri yapılan herhangi bir puerperal dönem sorunu bulunmayan ve normal involusyon sürecini tamamlamış, 3 yaşlı, toplam 40 baş inek kullanıldı.

Tablo 1. Çalışma gruplarında gebelik oranları.

Table 1. Pregnancy rates in study groups.

Grup	Gebelik oranı (%)	P değeri
OVS 48	66.66 ^a (12/19)	P>0.05
OVS 56	47.36 ^a (10/21)	

(^a) gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (P>0.05).

Senkronizasyon yöntemleri sonucunda elde edilen gebelik oranları değerlendirildiğinde, OVS 48 grubunda bu oran %66.66 (12/19) olarak belirlenirken, OVS 56 grubunda ise %47.36 (10/21) olarak tespit edildi (Tablo 1). Gruplarda, gebelik oranları arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu (P=0.218) gözlemlendi.

Tablo 2. Çalışma gruplarındaki serum progesteron düzeyleri (ng/ml).

Table 2. Serum progesterone levels in study groups (ng/ml).

Grup	P ₄ (7. Gün) Ort ± Ss	P ₄ (Tohumlama) Ort ± Ss	P değeri
OVS 48	11.09 ± 7.60	0.89 ± 1.31 ^a	P>0.05
OVS 56	6.00 ± 5.98	1.10 ± 1.79 ^a	

(^a) gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (P >0.05). Ort ± Ss: Ortalama ± Standart sapma.

Çalışmada, Ovsynch senkronizasyonu uygulanan ineklerdeki ortalama serum progesteron

düzeyleri Tablo 2'de yer almaktadır. Gruplar arasındaki 7. gün ve tohumlama anı serum P₄ değerleri incelendiğinde, OVS 48 yöntemi uygulanan grupta 7. gün ve tohumlama anı ortalama serum P₄ değerleri sırasıyla 11.09 ± 7.60 ve 0.89 ± 1.31 ng/ml iken, OVS 56 grubunda bu değerler sırasıyla 6.00 ± 5.98 ve 1.10 ± 1.79 ng/ml olarak kaydedildi. Serum P₄ düzeyi, suni tohumlama sırasında OVS 48 grubunda daha düşük düzeyde tespit edilmiş olup, gruplar arasında serum P₄ değerleri yönünden istatistiksel olarak önemli bir ilişki belirlenemedi (P>0.05).

TARTIŞMA ve SONUÇ

İneklerde, östrus tespiti ve uygun tohumlama zamanının belirlenmesi reproduktif verimliliği etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Yetersiz ve yanlış tespit tohumlama sayısını, boş geçen günleri ve buzağılama aralığını artırmaktadır. Bu sorunları ortadan kaldırılması ve fertilitenin artırılması amacıyla sabit-zamanlı tohumlama yapmaya olanak sağlayan yöntemler geliştirilmiştir. Bu amaçla geliştirilen Ovsynch protokolü sütçü inek işletmelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ovsynch programının, özellikle östrus tespitinin düşük olduğu ve/veya işgücünden tasarruf edilmesi düşünülen sürülerde yararlı olabileceği belirtilmektedir (Jemmeson, 2000; McDogual ve ark., 2001; Erdem ve Güzeloğlu, 2008). Laktasyondaki süt ineklerinde, Ovsynch protokolü sonrası elde edilen gebelik oranlarının %32 ile %76.9 aralığında değiştiği belirtilmektedir (Pursley ve ark. 1997; Aydın ve ark., 2008; Çevik ve ark., 2010; Kara ve ark., 2011; Yılmaz ve ark., 2011). Sonuçların bu kadar geniş bir aralıkta olması; yaş, postpartum gün, laktasyon dönemi, uygulamaya başlandığında östrus siklusunun dönemi, ovaryum fonksiyon bozuklukları, vücut kondisyon skoru ve ısı stresi gibi faktörlerden kaynaklanmaktadır (Pursley ve ark., 1997; Nebel ve Jobst, 1998). Sunulan çalışmada, klasik Ovsynch yöntemi olan OVS 48 grubunda gebelik oranı %66.66 olarak belirlendi. Bu oran, çoğu araştırmacının bildirdiğinden daha yüksektir (Pursley ve ark., 1997;

Aydın ve ark., 2008; Doğruer ve ark., 2010). Çalışmamızda, daha yüksek gebelik sonuçları elde edilmesinin sebebinin, materyal olarak bir doğum yapmış ineklerin kullanılmasından (Peters ve Pursley, 2002; Navanukraw ve ark., 2004) kaynaklanmış olabileceği düşünüldü. Bu durum, literatürde primipar hayvanlarda erken laktasyon döneminde metabolik problemlerle karşılaşılma riskinin daha düşük olması ile açıklanmıştır (Stevenson ve ark., 1996; Peters ve Pursley, 2002; Tenhagen ve ark., 2004). Bununla birlikte, postpartum gün, suni tohumlama zamanı, mevsim ve bölge (Pursley ve ark., 1998), işletmeler arasındaki besleme ve idare koşulları gibi birçok faktörün bu oran üzerinde etkili olabileceği düşünüldü.

İneklerde yapılan önceki çalışmalarda, uygulanan OVS 56 protokolüne göre ilk suni tohumlamada değişik oranlarda gebelikler elde edilmiştir. Brusveen ve ark. (2008), farklı senkronizasyon yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında OVS 56 grubunda gebelik oranını %38.6 olarak belirlemişlerdir. Bufalolarda yapılan benzer bir çalışmada, OVS 48 ve OVS 56'da gebelik oranları sırasıyla % 50.8 ve % 50.7 olarak belirlenmiş olup, önemli bir farklılık belirlenmemiştir (Carvalho ve ark., 2010). Bununla birlikte, farklı senkronizasyon yöntemlerinin yer aldığı çalışmalarda, OVS 56 protokolünün daha iyi avantaj sağladığını belirten sonuçlar da bulunmaktadır (Peters ve ark., 1999; Brusveen ve ark., 2008; Bisinotto ve ark., 2010). Ovsynch ile resenkronizasyon yapılan diğer bir çalışmada da OVS 56 grubunda (%32), OVS 48 protokolüne (%22) göre daha yüksek oranda gebelik oranı belirlenmiştir (Bahrami ve ark., 2012). Sunulan bu çalışmada ise istatistiksel olarak gruplar arası anlamlı bir fark belirlenmemiş olup, OVS 56 grubunda daha düşük oranda gebelik elde edilmiştir. Grupların kendi içinde farklılığın başlamadığı, aynı uygulamaların yapıldığı 7. gündeki serum P₄ düzeylerine bakıldığında OVS 48 grubunda çok daha yüksek olduğu (11.09 ± 7.60 ile 6.00 ± 5.98 ng/ml)

görülmektedir. Bu sonuç, uygulanmakta olan PGF_{2α}'ya karşı daha duyarlı luteal yapının varlığının göstergesi olarak düşünülebilir. Diğer araştırmacılarının aksine, gebelik oranının OVS 48 uygulamasında daha yüksek çıkmasının sebebi, rastgele seçilen guruptaki hayvanların OVS 48 grubunda 7. günde daha uygun luteal yapıya ulaşmalarının sebep olduğu kanaatindeyiz.

Ovsynch protokolü uygulamasının avantajlarına rağmen bazı ineklerde luteal regresyonun gerçekleşmediği ve kan hormon konsantrasyonunun protokol esnasında ideal seviyelerde olmadığı bildirilmektedir (Moreira ve ark., 2000b; Souza ve ark., 2007). Özellikle suni tohumlama zamanında kan dolaşımındaki yüksek P₄ değerinin reproduktif kanalda sperma ve ovum transportu için uygun olmayan çevresel koşullara yol açarak fertilitite düşüklüğüne neden olduğu bildirilmektedir (Moreira ve ark., 2000b). Ovsynch uygulamasında tohumlamadan 16 saat önce, ikinci GnRH uygulandığı zaman, kan P₄ değerlerinin bakıldığı bir çalışmada düşük seviyedeki P₄ seviyelerinin oluşturduğu gurupta (0.4 ng/ml'den az), yüksek kan P₄ seviyelerindeki gruptan (0.9 ng/ml'den fazla) daha iyi fertilitite sonuçları elde edildiği belirtilmektedir (Brusveen ve ark., 2009). Yılmazbaş-Mecitoğlu ve ark. (2013), çalışmalarında, Ovsynch protokolünde en düşük serum P₄ değerlerini tohumlama anında bulduklarını kaydetmektedirler. Bu çalışmada da benzer olarak, tohumlama sırasında (OVS 48 grubunda 0.89 ± 1.31 ile OVS 56 grubunda 1.10 ± 1.79 ng/ml) 7. güne nazaran (OVS 48 grubunda 11.09 ± 7.60 ile OVS 56 grubunda serum P₄ değerlerinin daha düşük (6.00 ± 5.98 ng/ml) olduğu görülmektedir. Tohumlama anında, P₄ değeri daha düşük olan OVS 48 grubunda, gebelik oranları bakımından istatistiksel olarak fark çıkmasa da, gebelik oranının daha yüksek (% 66.66 ile % 47.36) olduğu gözlenmiştir.

Sonuç olarak, östrus takip problemi yaşayan işletmelerde iş yoğunluğunu hafifletmek ve fertilitiyi arttırmak amacıyla Ovsynch protokolünün yararlı olabileceği gözlemlendi. İneklerde, Ovsynch

protokolünde ikinci GnRH uygulamasının geciktirilmesinin bir avantajı belirlenemedi. Bununla birlikte, farklı Ovsynch protokollerinin etkinliğinin belirlenebilmesi için daha fazla sayıda hayvanın kullanıldığı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünüldü.

KAYNAKLAR

- Aydın İ., Aköz M., Dinç DA., 2008. Postpartum dönemdeki süt ineklerinde modifiye edilmiş Ovsynch protokolünün ovulatör follikül gelişimi ve gebelik oranı üzerine etkisi. III. Veteriner Jinekoloji Kongresi, 23-26 Ekim, Antalya.
- Bahrami A., Mosaferi S., Hamali H., Ostadi Z., 2012. Comparative study of resynchronization conception rate based on Ovsynch 48 and 56 hour in dairy cow. *Research Journal of Biological Sciences*, 7, 175-180.
- Baumann LE., 1988. Monitoring and predicting reproductive performance in dairy herds. Vol I and II. *Dissertation Abstracts International, B-Sciences and Engineering*, 49, 1049.
- Bisinotto RS., Ribeiro ES., Martins LT., Marsola RS., Greco LF., Favoreto MG., Risco CA., Thatcher WW., Santos JEP., 2010. Effect of interval between induction of ovulation and artificial insemination (AI) and supplemental progesterone for resynchronization on fertility of dairy cows subjected to a 5-d timed AI program. *Journal of Dairy Science*, 93, 5798-5808.
- Brusveen DJ., Cunha AP., Silva CD., Cunha PM., Sterry RA., Silva EP., Guenther JN., Wiltbank MC., 2008. Altering the time of the second gonadotropin-releasing hormone injection and artificial insemination (AI) during Ovsynch affects pregnancies per AI in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 91, 1044-1052.
- Brusveen DJ., Souza AH., Wiltbank MC., 2009. Effects of additional prostaglandin F_{2α} and estradiol-17β during Ovsynch in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 1412-1422.
- Carvalho NAT., Gimenes LU., Soares JG., Souza DC., Vannucci FS., Maio JRG., Baruselli PS., 2010.

- Delay of the last GnRH administration at the Ovsynch protocol in buffaloes. *Revista Veterinaria*, 21, 179.
- Çevik M., Selçuk M., Doğan S., 2010. Comparison of pregnancy rates after timed artificial insemination in Ovsynch, Heatsynch and CIDR-Based synchronization protocol in dairy cows. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University*, 16, 85-89.
- Dogruek G., Saribay MK., Karaca F., Ergun Y., 2010. The comparison of the pregnancy rates obtained after the Ovsynch and double dose PGF₂α + GnRH applications in lactating dairy cows. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9, 809-813.
- Erdem H., Güzeloğlu A., 2008. Holstein ırkı düvelerde sabit zamanlı tohumlama amacıyla iki farklı östrus ve senkronizasyon yönteminin değerlendirilmesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 24, 7-13.
- Heersche G., Nebel RL., 1994. Measuring efficiency and accuracy of detection of estrus. *Journal of Dairy Science*, 77, 2754–2761.
- Jemmeson A., 2000. Synchronising ovulation in dairy cows with either two treatments of gonadotropin-releasing hormone and one of prostaglandin, or two treatments of prostaglandin. *Australian Veterinary Journal*, 78, 108–111.
- Kara U., Ayaşan T., Hızlı H., Gok K., 2011. Effect of Ovsynch protocol on pregnancy rate in heifers and cows. *Journal of Faculty of Veterinary Medicine, Erciyes Üniversitesi*, 8, 1-8.
- McDougall S., Cullum AA., Anniss FM., FM Rhodes., 2001. Treatment of anovulatory anoestrous postpartum dairy cows with a gonadotropin-releasing hormone (GnRH), prostaglandin F₂α, GnRH regimen or with progesterone and oestradiol benzoate. *The New Zealand Veterinary Journal*, 49, 168-172.
- Moreira F., Risco C., Pires MFA., Ambrose JD., Drost M., DeLorenzo M., and Thatcher WW., 2000a. Effect of body condition on reproductive efficiency of lactating dairy cows receiving a timed insemination. *Theriogenology*, 53, 1305-1319.
- Moreira F., Risco CA., Pires MFA., Ambrose JD., Drost M., Thatcher WW., 2000b. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*, 83, 1237–1247.
- Navanukraw C., Redmer DA., Reynolds LP., Kirsch JD., Grazul-Bilska AT., Fricke PM., 2004. A modified presynchronization protocol improves fertility to timed artificial insemination in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 1551-1557.
- Nebel RL., Jobst SM., 1998. Evaluation of systematic breeding programs for lactating dairy cows: A review. *Journal of Dairy Science*, 81, 1169–1174.
- Peeler ID., Nebel RL., Pearson RE., Swecker WS., Garcia A., 2004. Pregnancy rates after timed AI of heifers following removal of intravaginal progesterone inserts. *Journal of Dairy Science*, 87, 2868–2873.
- Peters AR., Mawhinney I., Drew SB., Ward SJ., Warren MJ., Gordon PJ., 1999. Development of a gonadotrophin-releasing hormone and prostaglandin regimen for the planned breeding of dairy cows. *Veterinary Record*, 145, 516–521.
- Peters MW., Pursley JR., 2002. Fertility of lactating dairy cows treated with Ovsynch after presynchronization injections of PGF₂α and GnRH. *Journal of Dairy Science*, 85, 2403-2406.
- Pursley JR., Mee MO., Wiltbank MC., 1995. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF₂α and GnRH. *Theriogenology*, 44, 915-923.
- Pursley JR., Silcox RW., Wiltbank MC., 1998. Effect of time of artificial insemination on pregnancy rates, calving rates, pregnancy loss, and gender ratio after synchronization of ovulation in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 2139–2144.

- Pursley JR., Wiltbank MC., Stevenson JS., Ottobre JS., Garverick HA., Anderson LL., 1997. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *Journal of Dairy Science*, 80, 295-300.
- Radostits OM., Leslieand KE., Fetrow J., 1994. *Herd Health-Food Animal Production Medicine*. 2nd ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA.
- Rodenburg J., 2004. Body condition scoring of dairy cattle. 109, *Omafra Factsheets*.
- Semacan A., Pancarcı ŞM., 2013. Üremenin denetlenmesi. In: "Çiftlik Hayvanlarında Doğum ve Jinekoloji", Ed., A Semacan, M Kaymaz, M Fındık, A Rışvanlı, A Köker, 99-124, Medipres Matbaacılık Ltd. Şti., Malatya.
- Senger PL., 1994. The estrus detection problem: New concepts, technologies and possibilities. *Journal of Dairy Science*, 77, 2745–2753.
- Souza AH., Gumen A., Silva EPB., Cunha AP., Guenther JN., Peto CM., Caraviello DZ., Wiltbank MC., 2007. Supplementation with estradiol-17 β before the last GnRH of the Ovsynch protocol in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 4623–4634.
- Stevenson JS., Kobayashi Y., Shipa MP., Rauchholz KC., 1996. Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F $_{2\alpha}$. *Journal of Dairy Science*, 79, 402–410.
- Tenhagen BA., Surholt R., Wittke M., Vogel C., Drillich M., Heuwieser W., 2004. Use of Ovsynch in dairy herds-differences between primiparous and multiparous cows. *Animal Reproduction Science*, 81, 1–11.
- Yılmaz C., Yılmaz O., Ucar M., 2011. Effect of PGF $_{2\alpha}$ and GnRH injections applied before Ovsynch on pregnancy rates in cows and heifers. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University*, 17, 641-644.
- Yılmazbas-Mecitoglu G., Karakaya E., Keskin A., Alkan A., Gumen A., 2013. Reducing the duration between gonadotropin-releasing hormone (GnRH) and prostaglandin F $_{2\alpha}$ treatment in the Ovsynch protocol to 6 days improved ovulation to second GnRH treatment, but inclined to reduce fertility. *Journal of Dairy Science*, 96, 3817–3824.