



İvesi Koyunlarında Servikal Mukus Miktarı ile Fertilité Arasındaki İlişki

Mehmet Ferit ÖZMEN^{1,a,✉}, Ümit CİRİT^{2,b}

¹Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

²Çukurova Üniversitesi Ceyhan Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı Adana, Türkiye

^aORCID: 0000 0002 5531 220X; ^bORCID: 0000-0002-0187-2615

Geliş Tarihi/Received
05.05.2020

Kabul Tarihi/Accepted
24.08.2020

Yayın Tarihi/Published
31.12.2020

Öz

Çalışma, Diyarbakır ilinde üreme mevsimi dışında İvesi ırkı koyunlarda çara miktarı ile gebelik arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla 237 koyun üzerinde yürütüldü. Östrus senkronizasyonu için, tüm koyunlara 12 gün süreyle progesteron içeren sünger (20 mg fluorogestene acetate, Chronogest, Intervet) intravaginal yolla uygulandı. Sünger çıkarmadan iki gün önce PGF2 α (1 ml, im, Estrumate, Intervet) ve süngerin çıkarıldığı gün 600 IU PMSG (im, Chronogest, Intervet) uygulandı. Östrus senkronizasyonu yapılan koyunlar suni tohumlama işleminden hemen önce vajina tabanındaki servikal mukus (SM) miktarına göre "yok" (n= 25), "az" (n= 79) veya "bol" (n= 133) olarak sınıflandırıldı. Koyunlar östrüsten 12-18 saat sonra intra-servikal yolla 200 \times 10⁶ motil spermatozoa içeren taze-sulandırılmış sperma ile tohumlandı. Gebelik oranları, suni tohumlamadan (ST) 30-40 gün sonra ultrason aracılığı ile belirlendi. Çara durumuna göre "yok", "az" ve "bol" olarak sınıflandırılan koyunların gebelik oranları sırasıyla %36.4, %50.6 ve %45.1 olarak bulundu (p>0.05). Çalışmamızdan; İvesi koyunlarda ST öncesinde vajinadaki SM miktarının gebelik oranlarını istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilemediği sonucu çıkarılmıştır. Ancak SM miktarına göre "yok" ve "az" olarak sınıflandırılan koyunların gebelik oranları arasında kayda değer sayısal farklılığın olması, SM miktarının fertilitéyi etkileme potansiyelinin olabileceğine işaret etmektedir. Bu nedenle daha fazla koyunun dahil edildiği yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Gebelik oranı, koyun, servikal mukus, suni tohumlama

Relationship Between the Amount of Cervical Mucus and Fertility in Awassi Sheep

Abstract

The study was carried out on 237 sheep in Diyarbakır province outside the breeding season in order to investigate the relationship between the amount of cervical mucus (CM) and pregnancy in Awassi sheep. For oestrus synchronization, a sponge containing progesterone (20 mg fluorogestene acetate, Chronogest, Intervet) was administered intravaginally to all sheep for the 12th day. Two days before sponge removal PGF2 α (1 ml, im, Estrumate, Intervet) and 600 IU PMSG (im, Chronogest, Intervet) were applied on the day the sponge was removed. Just before the artificial insemination (AI), ewes were classified according to the amount of cervical mucus (CM) in the vagina as "absent" (n= 25), "little" (n= 79) or "abundant" (n= 133). Ewes were inseminated intra cervically 12-18 hours after estrus with fresh diluted semen at a dose of 200 \times 10⁶ motile spermatozoa. Pregnancy rates were determined by ultrasound 30-40 days after AI. Pregnancy rates of ewes classified as having absent, little and abundant cervical mucus were 36.4%, 50.6% and 45.1%, respectively (p>0.05). It has been concluded from the study that the amount of CM in the vagina prior to AI did not significantly affect the pregnancy rates in the Awassi sheep. However, remarkable numerical difference between the pregnancy rates of sheep classified as "absent" and "little" according to the amount of SM indicates that the amount of SM may have the potential to affect fertility. Therefore, new studies are needed including more ewes.

Key Words: Artificial insemination, cervical mucus, sheep, pregnancy rate

GİRİŞ

Spermatozoonlar kuyruk salınımları ile hareket edebildiklerinden, dişi üreme kanalında fertilizasyon bölgesine ulaşabilmeleri için sıvı bir ortama ihtiyaç duymaktadır. Östradiol, reproduktif sistem üzerine etki ederek burayı ödemli tonik hale getirir ve özellikle servikal bezlerin yüksek oranda salgı yapmasına neden olarak karakteristik mukusun akışına neden olur. Servikal mukus (SM) adı verilen bu sıvı spermatozoanın dişi genital sisteminde karşılaştığı ve

döllenme bölgesine doğru yolculuklarında aşmaları gereken ilk fizyolojik ortamdır (1). Servikal mukus, yarı katı bir jel ve düşük viskoziteli bir plazmadan oluşur. Su (%90-98), elektrolitler, inorganik iyonlar, karbohidratlar, şekerler, amino asitler, çeşitli enzimler ve bakteriyel proteinler içerir (2, 3). Müsin olarak da bilinen makromoleküler glikoproteinler mukusun fiziksel özelliklerini belirleyen mukus salgı kütlesi boyunca üç boyutlu bir filamentöz ağ oluştururlar (4). Mikroskopik bakıda; östrus dönemindeki SM'un, spermatozoanın

doğrusal şekilde ilerleyebilmelerine olanak sağlayan ve serviks kanalını geçebilmelerine rehberlik edecek tarzda sıralanmış üç boyutlu düzgün kanalcıklar şeklinde yapılandığı izlenmektedir. Fakat örneğin insanlarda, ovulasyon sonrası progesteronun yüksek olduğu dönemde SM'un su miktarı önemli düzeyde azalmakta, içerisindeki kanallar karmaşık hal almakta ve spermatozoon göçüne elverişsiz bir hale gelmektedir (5).

Servikal mukusun spermatozoonların taşınmasında, beslenmesinde ve vajinanın asidik ortamından korunmasında rol oynamasının yanında ölü ve anormal yapıdaki spermatozoonun elimine edilmesi için doğal bir filtre görevi görmesi gibi çok önemli görevleri vardır (6,7). SM içerisinde ilerleyemeyen (penetre olamayan) spermatozoonların ovumu dölleme yeteneğinden de yoksun oldukları bildirilmektedir (6,8). Ruminantlar, tavşanlar, kediler ve insan da dahil olmak üzere primatlar gibi çiftleşme sonrasında spermanın vajinaya bırakıldığı türlerde, serviks ve tamamlayıcısı olan servikal mukus üremede kritik bir rol oynamaktadır (1).

Spermatozoonun dışı genital sistemde en zor geçtiği ve çoğunun canlılığını kaybettiği bölge olan serviks koyunlarda oldukça karmaşık bir yapıya sahiptir ve henüz sığırlardaki gibi suni tohumlama esnasında serviks uteriye kolayca geçmeye yarayan pratik yöntemler geliştirilememiştir. Dondurulmuş sperma ile servikal yolla yapılan suni tohumlamaların (ST) gebelik oranları istenen düzeyde olmadığı gibi ırklara göre oldukça farklılık gösterebilmektedir (Suffolk %8, Belclare %44, Finn %77 vs.) (9). Bu durum, koyunlarda ST'nin saha koşullarında yaygınlaştırılmasının önündeki en önemli engellerden biridir. Laparoskopik yolla sperma doğrudan uterus içine bırakıldığında, gebelik oranlarındaki ırka bağlı farklılığın ortadan kalktığı gözlemlenmiştir (9). Bu bulgulara dayanarak; dondurulmuş sperma ile servikal yolla yapılan ST'lerin başarısının düşmesindeki asıl sebebin, dondurma-çözdürme işlemlerinin verdiği hasarlara bağlı olarak, "spermatozoonun servikal bariyeri geçememesi" olduğu ileri sürülmüştür (9). Dondurulmuş sperma ile yapılan ST'lerde kateterin serviks içerisinde ilerletilebildiği mesafe arttıkça gebelik oranlarının da artması bu görüşü desteklemektedir (10).

Özellikle koyun ve keçi gibi bazı hayvan türlerinde servikal mukusun yapısı, fiziksel ve kimyasal özellikleri spermatozoonların serviksi geçmeleri ve dölleme alanına ulaşmaları, sonuç olarak da gebeliğin oluşması üzerinde etkilidir (11). Farklı türlerde, sperma-SM ilişkisi ile fertilite arasındaki bağlantı günümüze kadar pek çok araştırmaya konu olmuştur (5,6,8). Koyunlarda servikal mukusun yapısı, görünüşü ve miktarındaki değişikliklerin gebelik üzerinde etkileri olabileceği ileri sürülmüştür (12-14). Ancak koyunlarda SM miktarı ile fertilite arasında ilişki üzerinde sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır. Üstelik çalışmalarda çelişkili sonuçlar rapor edilmiştir (14-15). Bazı araştırmacılar, fertil koyunlarla karşılaştırıldığında, östrus döneminde infertil koyunlardaki SM miktarının çok daha bol olduğunu ileri sürerken (15), bazı araştırmacılar ise tohumlama esnasında bol miktarda SM salgılayan koyunların gebelik oranının daha yüksek olduğunu ileri sürmüşlerdir (16). Yapılan literatür taramasına göre İvesi ırkı koyunlarda bu konuda yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada; İvesi ırkı koyunlarda intra servikal ST

sırasında vajinadaki SM (çara) miktarı ile gebelik arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırma Dicle Üniversitesi Yerel Etik Kurul tarafından onaylanmıştır (08/01/2020-3227). Araştırma, Diyarbakır ilindeki bir işletmede üreme mevsimi dışında progesteron temelli östrus senkronizasyonundan sonra östrus tesbiti yapılan İvesi ırkı 237 koyun üzerinde yürütüldü. Östrus senkronizasyonu amacıyla tüm koyunlara 12 gün boyunca vajina içi progesteron içeren süngerler yerleştirildi, sünger çıkarılmasından 2 gün önce PGF2α uygulandı ve sünger çıkarma gününde 600 IU PMSG verildi. Sünger çıkartılmasından sonra günde 2 kez arama koçları aracılığı ile östrus tespiti yapıldı. Suni tohumlama işleminden hemen önce koyunların arka kısımları yükseltilecek tohumlama pozisyonuna getirilen koyunların vajinası spekulum aracılığı ile açılarak bir baş lambası vasıtası ile aydınlatıldı. Koyunların arka ayakları ve kuyrukları üçgen bir sehpa yardımıyla yukarı kaldırılıp baş lambası ve spekulum aracılığıyla yapılan muayenede vagina tabanı ve serviks girişinde servikal mukus yoksa "yok"; servikal mukus sadece vagina tabanında var ise "az"; servikal mukus vagina içinde serviks girişini kaplayacak kadar fazla ise "bol" olarak değerlendirilmiştir (7, 20). Koyunlar östrustan 12-18 saat sonra intra-servikal yolla 200×10^6 motil spermatozoa içeren taze sulandırılmış sperma ile tohumlandı. Sperma Romanov ırkı koçlardan elektroejakülatör yardımıyla alındı. Mikroskopik muayene sonucu iyi olan spermalar (hacim: ≥ 0.5 mL; mass aktivite: ≥ 4 ; motilite: $\geq 70\%$, konsantrasyon: $\geq 2 \times 10^9$ /ml) (17) tris bazlı sulandırıcı ile sulandırıldı. Gebelik oranları, ST'dan 30-40 gün sonra ultrason (Esaote Pie Medical Aqlia, Türkiye) aracılığı ile belirlendi.

İstatistiksel Analiz: Gebelik oranlarının gruplar arasındaki karşılaştırılmasında Chi-square analiz yöntemi kullanıldı.

BULGULAR

Suni tohumlama öncesinde servikal mukus (SM) miktarına göre "yok", "az" ve "bol" olarak sınıflandırılan koyunların gebelik oranları sırasıyla %36.4, %50.6 ve %45.1 olarak bulundu ($p > 0.05$) (Tablo 1). En düşük gebelik oranı SM "yok" olarak sınıflandırılan koyunlardan elde edilirken en yüksek gebelik oranı SM "az" olan gruptan elde edilmiştir, ancak iki grup arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Tablo 1. Servikal mukus miktarına göre gruplandırılmış koyunların gebelik oranları

Servikal mukus miktarına göre gruplar	Koyun sayısı	Gebelik oranı (%)
Yok	25	36,4
Az	79	50,6
Bol	133	45,1

TARTIŞMA VE SONUÇ

Koyunlarda suni tohumlama ile ovulasyon arasındaki süre östrus ile ST arasındaki süreden daha kritiktir, bu nedenle fertilizasyon olasılığını arttırmak amacıyla östrusun ne zaman başladığını belirleyebilmek ve ovulasyon zamanını yaklaşık olarak hesaplayabilmek çok önemlidir (18). Fakat

koyunlarda östrusun belirlenmesi zordur, çünkü diğer hayvan türlerinin sergiledikleri dış (görsel) östrus belirtilerini neredeyse hiç sergilemezler (19). Servikal mukusun yapısı östrus ve ovulasyon zamanı konusunda yol gösterici olabilmektedir. Koyunlarda östrus başlangıcında servikal mukus şeffaftır ve östrus ilerledikçe daha bulanık (bulutumsu) bir hal almaya başlar (20). Bu durum beyazımsıdan peynir benzeri bir görünüme kadar değişebilir. Östrusun sonunda görülen ovulasyona yakın zamanlarda, yani östrus başlangıcından 25-30 saat sonra, servikal mukus kremi ve peynir benzeri bir hal alır (21).

Saha koşullarında dondurulmuş sperma ile koyunlarda yapılan servikal tohumlamaların başarısı henüz istenen düzeyde değildir. Bu durum koyunlarda suni tohumlamanın saha koşullarında yaygınlaşmasının önündeki en önemli engellerden biridir. Koyunlarda serviks sabit bir yapıda değildir ve 4-7 halkadan oluşan oldukça kıvrımlı, karmaşık ve uzun (5.7-10 cm) bir kanala sahiptir. Birinci halkanın merkezi kanalı (lümeni) ile 2. ve 3. halkaların lümenlerinin aynı hizada olmaması, ST pipetinin çoğunlukla yanlış yönlendirilmesine ve sonraki halka merkez açıklıklarının hizalanamamasına neden olmaktadır. Ayrıca, serviks kanalının en dar bölgesi (2-3 mm) ilk 3 halkanın bulunduğu bölgedir. Bu nedenlerle; koyunlarda ST pipeti serviks içerisinde "nadiren" 1 cm'den daha derine yönlendirilebilmektedir. Serviksin tamamen geçilmesi ise oldukça nadirdir (22). Bu nedenle koyunlarda servikal ST sonrasında spermatozoa servikal bariyeri çoğunlukla kendi hareketleri ile aşmak zorundadırlar. Bundan dolayı saha koşullarında servikal tohumlamaların gebelik oranlarının artışı sağlayacak her bir faktörün pratik ve ekonomik değeri bulunmaktadır. Bu faktörlerden biri de servikal mukustur. Koyunlarda servikal mukusun görünümü, yapısı, içeriği ve miktarı ile fertilite arasındaki ilişkiyi araştıran çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak ST esnasında servikal mukus miktarı ile fertilite arasındaki ilişki sınırlı düzeyde araştırılmıştır, üstelik çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan eski çalışmalarda östrus esnasında bol miktarda SM tespit edilen koyunlarda ST ile daha yüksek gebelik oranları elde edileceği görüşü biraz daha fazla kabul görmekle birlikte (13,16) bunun tersini (15) veya SM miktarının fertiliteyi etkilemediğini bildiren araştırmalar da bulunmaktadır (20). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada ise, koyunlarda süperovulasyon tedavisinin veya östrus senkronizasyonu yönteminin (PGF_{2α} veya progesteron) esnasında kullanılan hormonların servikal mukusun kimyasal içeriğini ve yapısını değiştirdiği ve sonuç olarak spermanın serviks boyunca geç yeteneği ve fertilite üzerinde olumsuz etkileri olabileceği gösterilmiştir. Prostaglandin F_{2α}, ile senkronize edilen koyunların östrusta SM miktarının önemli düzeyde azaldığı ve doğal östrusta veya progesteron temelli senkronizasyon akabinde tohumlanan koyunlara göre önemli derecede daha düşük gebelik oranlarına sahip olduğu bildirilmiştir (14).

Sunulan çalışmada, ST öncesinde vajina tabanındaki SM durumuna göre "yok", "az" ve "bol" olarak sınıflandırılan koyunların gebelik oranları sırasıyla %36.4, %50.6 ve %45.1 olarak bulundu (p>0.05). Bulgularımıza benzer şekilde, Gil ve ark. (2003) Corriedale ırkı koyunlarda servikal ST esnasında SM miktarı ile fertilite arasında önemli bir ilişki

bulamadıklarını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, dondurulmuş sperma ile yapılan servikal ST öncesinde SM miktarına göre "az", "normal" ve "bol" olarak sınıflandırılan koyunların gebelik oranlarını sırasıyla %25, %29 ve %25 olarak bulmuşlardır (20). Diğer bir çalışmada; SM miktarına göre "çok az", "normal" ve "çok fazla" olarak gruplandırılan ve taze-sulandırılmış sperma ile servikal ST yapılan koyunların kuzulama oranlarının benzer bulunduğu (sırasıyla %37.7, %38.1 ve %43.4; p>0.05) bildirilmiştir (7). Smith (1971) bol miktarda SM salgılayan koyunlarda spermatozoonların büyük kısmının oluşan akıntının etkisiyle dışa doğru aktığını, bunun da gebelik oranlarını düşürdüğünü bildirmiştir. Çalışmamızda servikal mukus miktarı bol olan koyunların gebelik oranlarının SM miktarı az bulunan koyunlardan sayısal olarak daha düşük bulunmasının sebebi spermatozoonların dışarı akması olabilir.

İstatistiksel farklılık olmamakla birlikte SM "yok" olarak sınıflandırılan koyunlar ile SM "az" olarak sınıflandırılan koyunlar arasındaki 14.2 puanlık sayısal fark pratik ve ekonomik açıdan yetiştiriciler açısından önemli olabilir. Karmaşık serviks yapısı ve bu yapıyı geçmeyi sağlayacak pratik yöntemlerin henüz geliştirilmemiş olması koyunlarda suni tohumlama çalışmalarında başarıyı artırabilecek diğer hususların önemini artırmaktadır. Bu nedenlerle, özellikle östrus senkronizasyonu uygulanan koyunlarda ST öncesi SM tespit edilmeyen koyunların tohumlanmayarak belirli bir süre sonra tekrar muayene edilmesi veya tekrarlı tohumlanması, çok fazla SM belirlenen koyunlarda ise mukusun bir aspiratör yardımıyla uzaklaştırılması veya vajina içerisinde spekulum varlığında koyunun ön kısmının yükseltilmesiyle dışarıya akmasının sağlanması sayısal olarak biraz daha yüksek gebelik oranlarının elde edilmesine katkı sağlayabilir.

Çalışmamızdan; progesteron ile östrus senkronizasyonu uygulanan İvesi koyunlarda ST öncesinde vajinadaki SM miktarının gebelik oranlarını istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilemediği sonucu çıkarılmıştır. Ancak SM miktarına göre "yok" ve "az" olarak sınıflandırılan koyunların gebelik oranları arasında kayda değer sayısal farklılığın olması, SM miktarının fertiliteyi etkileme potansiyelinin olabileceğine işaret etmektedir. Bu nedenle daha fazla koyunun dahil edildiği yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Roelofs J, López-Gatius F, Hunter RHF, Van Eerdenburg FJC, M. Hanzen C. (2010). When Is a Cow in Estrus? Clinical and Practical Aspects. *Theriogenology*. 74(3): 327-344.
2. Schumacher G. (1970). *Biochemistry of Cervical Mucus*. *Fertil Steril*. 21(10): 697-705.
3. Tsiligianni T, Karagiannidis A, Brikas P, Saratsis P. (2001). Chemical Properties of Bovine Cervical Mucus During Normal Estrus and Estrus Induced by Progesterone and/or Pgf_{2α}. *Theriogenology*. 56(1): 41-50.
4. Rutllant J, López-Béjar M, López-Gatius F. (2005). Ultrastructural and Rheological Properties of Bovine Vaginal Fluid and Its Relation to Sperm Motility and Fertilization: A Review. *Reprod Domest Anim*. 40: 79-96.

5. Hilgers TW, Prebil AM, Daly KD, Hilgers SK (2001). The Picture Dictionary of the Creighton Model Fertility Care System. Pope Paul VI Institute Press, Omaha.
6. Taş M, Bacinoglu S, Cirit Ü, Özgümüş S, Kaşgöz H, Pabuccuoğlu S. (2007). Estimation of The Potential Fertility Based Upon Non-Return Rates of Bulls: Using Polyacrylamide Gel Instead of Cervical Mucus in the Sperm Penetration Test. *Theriogenology*. 68(7): 981-987.
7. Koşum N, Wasshuth R. (2000). An Investigation About the Effects of Insemination Depth, Cervico-Vaginal Mucus Production and Reflux of Semen in the Vagina After Insemination in Sheep. *Turk J Vet Anim Sci*. 24(1): 29-38.
8. Cox JF, Martinez C, Lagos S, Saravia F, Sasmay R. (1997). Sperm Migration in Cervical Mucus in Goats Relationship with Colonization of the Oviduct and Fertilization Efficiency. *Theriogenology*. 47: 254 (abstract).
9. Richardson L, Hanrahan JP, Donovan A, et al. (2009). Sperm Penetration and Viscosity of Cervical Mucus in Sheep Breeds Differing in Pregnancy Rate to Cervical AI with Frozen Thawed Semen. *Biol Reprod*. 81(1): 302
10. Eppleston J, Salamon S, Moore NW, Evans G. (1994). The Depth of Cervical Insemination and Site of Intrauterine Insemination and Their Relationship to the Fertility of Frozen-Thawed Ram Semen. *Anim Reprod Sci*. 36(3-4): 211-225.
11. Linford E. (1974). Cervical Mucus: An Agent or A Barrier to Conception? *J Reprod Fert*. 37: 239-250
12. Jones RC, Martin CA, Lapwood KR. (1969). Studies of the Artificial Insemination of Sheep the Effects on Fertility of Diluting Ram Semen, Stage of Oestrus of the Ewe at Insemination, and Injection of Synthetic Oxytocin. *Aust J Agric Res*. 20(1): 141-150.
13. Watson PF, Martin ICA. (1977). The Relationship of Age, Body Weight and Factors Associated with Oestrus to Non-Return to Oestrus of Artificially Inseminated Merino Ewes. *Aust J Exp Agric*. 17(84): 48-54.
14. Maddison, JW. (2017). Effects of Controlled Breeding on Cervicovaginal Mucus and Fertility of the Merino Ewe. PhD Thesis. The University of Sydney Faculty of Veterinary Science, p. 54-143, Sydney.
15. Smith JF. (1971). Studies on Ovine Infertility in Agricultural Regions of Western Australia. Cervical Mucus Production by Fertile and Infertile Ewes. *Aust J Agric Res* 22(3): 513-519.
16. Entwistle KW, Martin CA. (1972). Effects of the Number of Spermatozoa and Volume of Diluted Semen on Fertility in the Ewe. *Aust J Agric Res*. 23: 467.
17. Cirit U, Bagis H, Demir K, et al. (2013). Comparison of Cryoprotective Effects of Iodixanol, Trehalose and Cysteamine on Ram Semen. *Anim Reprod Sci*. 139(1-4): 38-44.
18. Hockey CD, Morton JM, Norman ST, McGowan MR. (2010). Improved Prediction of Ovulation Time may Increase Pregnancy Rates to Artificial Insemination in Lactating Dairy Cattle. *Reprod Domest Anim*. 45: 239-248.
19. Ehrlich AL. (2015). Evaluation of a Non-timed Artificial Insemination Practice Applied to Suffolk Ewes During Early Breeding Season. Master of Science Dissertation. Angelo State University College of Graduate Studies, p. 7-12, Texas.
20. Gil J, Rodriguez-Irazaqui M, Lundeheim N, Söderquist L, Rodríguez-Martínez H. (2003). Fertility of Ram Semen Frozen in Bioexcell® and Used for Cervical Artificial Insemination. *Theriogenology*. 59: 1157-1170.
21. Romano J, Fernandez AD, Villegas N. (2001). A Note on The Effect of Continuous Ram Presence on Estrus onset, Estrus Duration and Ovulation Time in Estrus Synchronized Ewes. *Appl Anim Behav Sci*. 73: 193-198.
22. Kershaw CM, Khalid M, McGowan MR, et al. (2005). The Anatomy of the Sheep Cervix and its Influence on the Transcervical Passage of an Inseminating Pipette into the Uterine Lumen. *Theriogenology*. 64: 225-235.

✉ **Sorumlu Yazar:**

Mehmet Ferit ÖZMEN
 Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni
 Tohumlama Anabilim Dalı, Sur, Diyarbakır, TÜRKİYE
 E-posta: ferit-ozmen@hotmail.com