

Gebe Kısırak Serum Gonadotropini (PMSG)'nin Sütçü İneklerde Senkronizasyon ve Gebelik Oranları Üzerine Etkileri

M. Berk Toker^{*1}, Selim Alçay¹

¹ Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, 16059, Bursa/Türkiye.

Received 27-04-2022 Accepted 18-05-2022

Özet

Suni tohumlama yönteminin başarısı, birçok diğer etken ile birlikte, uygulayıcının spermayı doğru zamanda genital kanala vermesinden geçmektedir. Süt hayvancılığında ıslah sonucu meydana gelen metabolizma artışı, üreme hormonlarının miktarında ve yarılanma sürelerinde değişikliklere sebep olmaktadır. Bu durum, östrus bulgularının ve dolayısıyla elde edilecek gebelik sonuçlarının doğrudan azalmasına neden olmaktadır. Sürü devamlılığı ve üretim verimliliği açısından son derece önemli olan gebelik, en ideal ve kısa yoldan ulaşılması gereken nihai hedefdir. Bu amaçla sabit zamanlı suni tohumlama için kullanılan yöntemler (presynch, ovsynch, ve ovsynch modifikasyonları olan G6G, G7G, v.b.) yıllar boyunca araştırılmış ve günümüzde geliştirilmeye devam etmektedir. Bu çalışmada, progesteron destekli ovsynch senkronizasyonu ile aynı planının ilk hormonu olan GnRH enjeksiyonu yerine PMSG ile gerçekleştirilen indüksiyon sonrasında elde edilecek östrus cevapları ve buna bağlı olarak elde edilecek gebelik oranlarının araştırılması planlanmıştır. Bu amaçla ticari olarak süt üretimi yapan entansif bir işletmede, aynı koşullarda bakım, besleme ve barındırılması gerçekleştirilen toplam 139 baş sütçü Simmental inek kullanıldı. Çalışmaya dâhil edilen hayvanlar; üretim kayıtları bilinen, düzenli olarak cinsel aktivite gösteren, en az bir doğum geçmişi olan ve herhangi bir hastalık geçmişi bulunmayan hayvanlar arasından seçildi. Çalışma sonucunda, PMSG grubunda (68 baş) iç ve dış östrus bulguları gösteren hayvanların sayısı 61 baş (%89,71) olarak tespit edilmiş; östrus bulguları gösteren hayvanların da 55 tanesinde (%90,16) gebelik sonucu elde edilmiştir. GnRH ile başlanan senkronizasyon grubunda (71 baş) ise; toplam östrus tespit edilen hayvan sayısı 56 (%78,87), gebelik elde edilen hayvan sayısı 45 (%80,35) olarak belirlenmiştir. Gerçekleştirilen istatistiksel analiz sonucunda, iki senkronizasyon modelinde de östrus yanıt oranları ve östrusa gelen hayvanlardaki gebelik oranları arasında istatistiksel anlamlılık değerinde fark bulunamamıştır ($P>0,05$). Bu sonuçlar, ovsynch yönteminde kullanılan ilk GnRH yerine PMSG'nin başarı ile kullanılabilirliğini ortaya koymaktadır. Gerçekleştirilen bu çalışmanın, PMSG kullanılarak planlanacak çeşitli senkronizasyon yöntemlerinin daha fazla hayvana uygulanması ile, elde edilecek yeni metotlara yol gösterici nitelikte olacağı öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Süt Sığırcılığı, Simmental, PMSG, Progesteron, Ovsynch, Senkronizasyon

Abstract

Effects of Pregnant Mare Serum Gonadotropine (PMSG) on Synchronisation and Pregnancy Rates of Dairy Cows

The success rate of artificial insemination depends on, besides other factors, transferring sperm to the genital tract on the right time. Increases on metabolic rates that caused from genetic reclamation have led to a decrease in the amounts and effective half-life of the reproductive hormones. This fact reduces the estrous symptoms and causes a decrease on pregnancy rates. As pregnancy is a key factor for production and continuity of the herd, it is the final target to reach in the shortest and the most effective way. For this purpose, fixed time artificial insemination methods (presynch, ovsynch, G6G, G7G, etc.) have been researched over the years. This study aims for replacing the first GnRH injection with PMSG that is being used in ovsynch synchronisation method and research the impacts over estrous symptoms and pregnancy rates. With this design, 139 Simmental dairy cows that are fed, maintained and sheltered under the same conditions were used in the study. Animals that possess production records, primiparus state, sexual activity and without a disease history were used in the study. As the result of the study; 61 cows (89.71%) in the PMSG study group that exhibit internal and external estrous signs were found. 55 of these animals (90.16%) were found to be pregnant after artificial inseminations. The animals that were in GnRH study group yielded 56 (78.87%) estrous sign rate and 45 (80.35%) of these animals presented a positive pregnancy after the study. There were no statistical difference found after analysing the results of the study between two groups in terms of occurrence of estrous symptoms and pregnancy for the study ($P<0,05$). These findings presented the results for possibility of replacing the first GnRH injection with PMSG for ovsynch synchronisation method. To become a beacon for the studies in the future, by applying this methods with more animals, further investigations and applications should be put into practice.

Keywords: Dairy Cattle, Simmental, PMSG, Progesterone, Ovsynch, Synchronisation.

* Corresponding author: M.Berk Toker, Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, 16059, Bursa/Türkiye. Tel: +90 224 2941350, e-posta: berktoker@uludag.edu.tr

Giriş

Östrus tespitinin en geleneksel yöntemi gözlemdir. Dünya çapındaki sürülerde hayvan sayısının artışı bu konuyla alakalı işçilik problemlerini de beraberinde getirmektedir.¹ Suni tohumlama yönteminin başarısı, birçok diğer etken ile birlikte, uygulayıcının spermayı doğru zamanda genital kanala iletmesinden geçmektedir.² Tespit edilemeyen ya da yanlış anlaşılmalı östrus bulguları gebelik ve buna bağlı olarak elde edilecek üretim girdilerinin azalmasına neden olmaktadır.³ Süt hayvancılığında uzun süreli ıslah uygulamaları sonucu meydana gelen genetik ilerlemenin yanı sıra, yönetim becerilerinin artması ile hayvanların kuru madde alışı artışı sağlanmıştır.⁴ Metabolizmadaki bu artış, üreme hormonlarının miktarında ve yarılanma sürelerinde değişikliklere sebep olarak östrus bulgularının görülmesinde azalmalara neden olmuştur.⁵ Senkronizasyon protokollerinde gerçekleşen gelişmeler, ovulasyonun kontrolünü sağlamış ve sabit zamanlı tohumlamaların başarısını arttırarak gebelik oranlarında olumlu sonuçlar elde edilmesinin önünü açmıştır.⁶

Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), progesteron (PG) ve gonadotropin salgılayıcı hormonlar (GnRH) ile alakalı kombinasyonlar korpus luteum'un (CL) yaşam döngüsünü kontrol ve yeni foliküler dalgalar oluşturmak yoluyla östrus ve ovulasyon senkronizasyonu amacı ile kullanılmaktadır.^{7,8} Sabit zamanlı suni tohumlama amacıyla kullanılan en yaygın senkronizasyon protokolleri presynch, ovsynch, G6G, G7G (modifiye ovsynch modelleri) ve double ovsynch v.b. olarak kabul edilebilir.⁹⁻¹¹ Zaman içerisinde gerçekleştirilen çalışmalarla söz konusu protokoller çeşitli değişikliklere uğramıştır. Örneğin progesteron içeren kontrollü salım cihazları (PRID ya da CIDR); PGF_{2α} etkinliğinin arttırılması ve beraberinde luteal regresyon oranının yükseltilmesi amacıyla senkronizasyon protokollerine dahil edilmiştir.¹² Pursley ve ark.¹³ tarafından önerilen Ovsynch protokolü temeline dayanan tüm senkronizasyon modellerinde asıl amaç; bir dominant follikül elde etmek ve CL mevcudiyetini sonlandırarak suni tohumlama başarısını arttırmak üzerine kurulmaktadır.

Gebe kısırak serum gonadotropinleri (PMSG), lüteinleştirici hormon (LH) ve follikül uyarıcı hormon (FSH) ile aynı glikoprotein hormon ailesinin bir üyesidir. Yapısında bulunan oligosakkaritler nedeniyle karaciğer ve böbrekte filtre edilerek metabolize edilmesi azalmakta ve uygulanan sığırların kan dolaşımında 118 ile 123 saat kadar aktif konsantrasyonda kalmaktadır.¹⁴ PMSG, dolaşımdaki uzun yarılanma ömrü sebebiyle folliküler gelişim üzerine etki etmekte, böylelikle östrojen ve progesteron hormon mik-

tarlarının yüksek seviyede seyretmesine sebep olmaktadır.¹⁵ Östrus siklusunun kontrolü ve ovulasyon oranlarını arttırmak amacıyla kullanılan PMSG; tek doz uygulama ile etkisini göstermesi ve düşük maliyetli oluşu ile göze çarpmaktadır.¹⁶

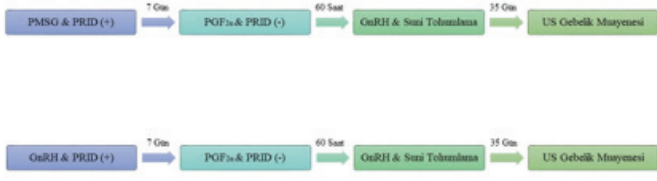
Bu çalışmanın amacı; progesteron destekli ovsynch senkronizasyon protokolünde 0. gün GnRH yerine PMSG kullanımının, simmental ırkı ineklerde indüksiyon sonrasında gözlemlenen östrus cevapları ve gebelik oranları üzerine etkisinin karşılaştırılmasıdır.

Materyal ve Metot

Bu araştırma; süt üretimi gerçekleştiren ticari bir işletmede (Çanakkale – Türkiye), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından alınan uygunluk kararı doğrultusunda gerçekleştirildi (Karar No: 2020/02-03). Çalışmada; üretim kayıtları bilinen ve düzenli olarak cinsel aktivite gösteren, en az bir doğum geçmişi olan 139 baş sütçü Simmental inek kullanıldı. Herhangi bir hastalık geçmişi bulunan, abortus, klinik mastitis veya topallık başlıklarında tedavi görmüş hayvanlar çalışmaya dâhil edilmedi ayrıca çalışmada kullanılan tüm hayvanlara, çalışma öncesi dönemde jinekolojik ve ultrasonografik muayene uygulandı. Tüm hayvanların suya ulaşımı isteğe bağlı ve kısıtlama olmaksızın sağlandı. Beslenme rasyonları aynı olan hayvanlar bu çalışmada yer aldı.

Laktasyonun 60. gününde olan hayvanlar, haftalık olarak iki çalışma grubuna bölündü. Toplamda 68 baş hayvan, ovsynch senkronizasyon programının ilk hormonu olan GnRH yerine kullanılan PMSG ile gerçekleştirilen senkronizasyonu grubuna (Laktasyon ortalaması: 2,3), 71 baş ise ovsynch yönteminin standardı olan GnRH senkronizasyonu grubuna (Laktasyon ortalaması: 2,4) dâhil edildi. Çalışma grubuna göre hayvanlara PMSG, 500 IU dozda (Chrono-Gest PMSG - MSD Animal Health, Almanya) veya GnRH (Receptal – MSD Animal Health, Almanya), 2 ml dozda (0,0042 mg/ml buserelin asetat) kas içi yolla çalışmanın 0. gününde enjekte edildi. Aynı gün, iki çalışma grubunda bulunan hayvanlara da kontrollü dâhili ilaç salım cihazları (CIDR® - Zoetis, ABD) ile progesteron uygulamasına başlandı. Hayvanların tamamına çalışmanın 7. gününde prostaglandin F-2α (Dinolytic, Zoetis - ABD) 2 ml dozda olacak (5mg/ml) şekilde kas içi yolla enjekte edildi. Takip eden 60. Saatte tekrar 2 ml dozda GnRH enjeksiyonu uygulanarak hayvanlar suni olarak tohumlandı (Şekil 1). Gerçekleştirilen suni tohumlama uygulamaları için çalışmanın tamamında aynı boğanın sperma payetleri tercih edildi. Bilgisayar destekli semen analizörü (CASA) ile gerçekleştirilen muayene sonuçlarına göre kullanılan

payetlerin minimum motilite oranı %55, canlılık oranı %70 ve payette bulunan motil spermatozoon sayısı $7,25 \times 10^6$ olarak tespit edildi. Uygulamaları takip eden 35. günde ultrason (Hasvet 838 Veteriner Ultrason Cihazı – Antalya/Türkiye) aracılığıyla gebelik tespit muayenesi uygulanarak ilgili gruba ait gebelik sonuçları elde edildi.



Şekil 1. Çalışmada Kullanılan Senkronizasyon Yöntemleri

Gerçekleştirilen çalışmaların istatistiki sonuçları SPSS programı kullanılarak analiz edildi (Windows için, SPSS 20.0; SPSS, Chicago, IL, USA). Pearson Ki-Kare yöntemi, metoduna uygun şekilde gerçekleştirildi ve çalışmanın verilerinin araştırılmasında kullanıldı. İstatistiki anlamlılık düzeyi $P < 0,05$ olarak tanımlandı ve sonuçlar buna uygun şekilde ifade edildi.

Bulgular

Gerçekleştirilen çalışmaya konu olan hayvanların vücut kondisyon skoru (VKS), süt üretimi, sağlıklı gün sayısı (SGS), geçirdiği gebelik sayısı ortalamaları açısından gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamaktadır. PMSG grubuna uygulanan senkronizasyona cevap oluşturan ve hem dış hem de iç östrus bulgularını gösteren hayvanların sayısı 61 baş olarak, %89,71 oranında tespit edilmiştir. Östrus bulguları gösteren hayvanlara, ikinci GnRH enjeksiyonu ile beraber suni tohumlama uygulaması gerçekleştirilmiştir. Uygulamayı takip eden 35. günde ultrason (Hasvet 838 Veteriner Ultrason Cihazı – Antalya/Türkiye) aracılığıyla gebelik tespit muayenesi uygulanmıştır. Bu çalışma grubunda suni olarak tohumlanan 61 baş hayvandan 55 tanesinde gebelik sonucu elde edilmiştir (%90,16). GnRH ile başlanan senkronizasyon grubunda östrus yanıtı, 71 baş hayvanın 56 tanesinde tespit edilmiş ve oran %78,87 olarak bulunmuştur. Bu grupta tüm bulguları gösteren hayvanlara gerçekleştirilen sabit zamanlı suni tohumlama sonucu elde edilen gebelik oranı 45 baş hayvan ile %80,35 oranında tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen istatistiki analiz sonucunda, iki senkronizasyon modelinde de östrus bulgularının gözlemlenmesi ve östrusa bağlı olarak elde edilen gebelik sonuçları arasında istatistiki anlamlılık değerinde fark bulunmamıştır ($P > 0,05$). Çalışmaya ait değerler Tablo 1'de ifade edilmiştir.

Tablo 1. Senkronizasyonda kullanılan iki farklı yöntemin östrus gösterme ve gebelik oranları

	Östrus Gösterme Oranı	Gebelik Oranı
PMSG	%89,71 (61/68)	%90,16 (55/61)
GnRH	%78,87 (56/71)	%80,35 (45/56)
P	0,080	0,133

Veriler ortalama olarak ifade edilmiştir.

P değeri, aynı sütünde bulunan grupların arasındaki önemli istatistiki farklılıkları göstermektedir ($P < 0,05$).

Tartışma ve Sonuç

Gerçekleştirilen çalışmada, düzenli seksüel siklus gösteren ve gebelik geçmişi bulunan Simmental ineklerde, 60. sağım gününden sonra uygulanan iki farklı senkronizasyon yönteminin östrus bulguları ve gebelik oranları üzerine etkileri araştırılmıştır. Sabit zamanlı suni tohumlamaya imkan sağlayan ovsynch gibi senkronizasyon protokolleri, GnRH ve PGF_{2α} gibi hormonların belirli sıralarda kullanılması ile kızgınlık tespiti yapmadan suni tohumlama uygulamalarına mümkün kılmaktadır.¹⁷ Ovsynch gibi yaygın kullanılan senkronizasyon yöntemlerinin başarısı, kullanılan hormonların sağladığı yanıt ile orantılıdır.¹⁸ Uygulanan bu yöntemler hem östrus bulgularını hem de ovulasyon zamanını senkronize ederek hem başarı oranını artırmakta hem de işçiliği azaltmaktadır.1 Ovsynch uygulamalarına ek olarak ilk enjeksiyonun gerçekleştirildiği gün progesteron içeren preparatların genital kanala yerleştirilmesi, yaygın olarak uygulanan senkronizasyon yöntemlerinden biridir.¹⁹ Çeşitli araştırmacılar, başarılı bir gebelik oranı elde etmek için gerçekleştirilecek suni tohumlama öncesi artmış progesteron oranının önemini vurgulamışlardır.^{20,21} Wiltbank ve ark.²² progesteron konsantrasyonunun suni tohumlamanın başarısını etkilediğini, kan progesteron düzeyinin tohumlamadan önce yüksek, tohumlama esnasında en düşük ve tohumlama sonrasında ise yükselerek artan bir değerde olması gerektiğini vurgulamıştır. Çoğu senkronizasyon programı işletmelerdeki hayvanların gebe bırakılmasında başarılı olsa da, ovsynch ve türevi senkronizasyon programları sabit suni tohumlama zamanı sebebiyle daha yüksek başarı sunmaktadır.¹³ Ovsynch senkronizasyon protokolüne progesteron kaynağı ekleyen Alnimer ve Lubbadah²³, çalışmadan bekledikleri üzere senkronizasyon sonrası gebelik oranlarında kontrol grubuna göre istatistiki anlam taşıyacak düzeyde fark bulmuşlardır. Kuru ve ark.²⁴, gerçekleştirdikleri çalışmada progesteron kaynağı içeren ve içermeyen ovsynch gruplarının gebelik oranlarını karşılaştırmış ve progesteron kullanılan gruplarda sonucun istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğunu bulmuşlardır. Silva ve ark.²⁵ tarafından senkronizasyon modellerinin gebeliğe etkileri konusu üzerine bir çalışma

gerçekleştirilmiştir. Söz konusu çalışmada süre olarak çok daha uzun uygulama zamanına sahip olan “Double-Ovsynch” yönteminin, progesteron kullanılan ovsynch protokolüne göre gebelik oranlarında istatistiki anlam içeren bir fark oluşturmadığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmaların sonuçları, östrus senkronizasyonunun hormonal olarak en kapsamlı yapıda ve mümkün olan en kısa sürede progesteron içeren bir ovsynch metodu ile gerçekleştirilebileceğini işaret etmektedir.

PMSG, tek tırnaklı olmayan türlerde hem folikül uyarıcı hormon (FSH) hem de lüteinleştirici hormon (LH) aktivitesini artırma özelliğine sahiptir.²⁶ Bu becerisi ile koyun ve keçilerde progesteron ile birlikte östrus senkronizasyonu ve ikizliği artırmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır.²⁷⁻²⁹ PMSG'nin sığırlarda kullanımı genel olarak ovulasyon oranını arttırmak üzerine denenmiş ve ovulasyon senkronizasyonu üzerine pozitif etkileri tespit edilmiştir.³⁰⁻³² Bu çalışmaların ortak yaklaşımı, ovulasyonu elde etmek amacıyla gerekli olan LH pikinin sağlanması amacıyla, PMSG'nin de kullanılabileceği üzerinde yoğunlaşmaktadır.

Sonuç olarak, ovulasyon senkronizasyonu amacıyla sıklıkla kullanılan progesteron destekli ovsynch adı verilen senkronizasyon programının etkinliği ve başarısı bilinmektedir. Adı geçen bu yöntemde, 0. gün kullanılan GnRH yerine çeşitli yaklaşımlarla başarısı kanıtlanmış PMSG'nin kullanımı sonucunda elde edilen östrus bulguları ve buna bağlı elde edilen gebelik sonuçlarında gruplar arasında istatistiki fark tespit edilememiştir. Bu sonuçlar, ovsynch yönteminde kullanılan ilk GnRH yerine PMSG'nin başarı ile kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Gerçekleştirilen bu çalışma ile, PMSG kullanılarak planlanacak çeşitli senkronizasyon yöntemlerinin daha fazla hayvana uygulanması ve elde edilecek yeni metotlara yol gösterici nitelikte olması planlanmaktadır.

Kaynaklar

1. Nowicki A, Baranski W, Baryczka A, et al. OvSynch protocol and its modifications in the reproduction management of dairy cattle herds – an update. *J Vet Res.* 2017;61:329-336. doi: 10.1515/jvetres-2017-0043
2. Lopez-Gatius F, Santolaria P, Mundet I, et al. Walking activity at estrus and subsequent fertility in dairy cows. *Theriogenology.* 2005;63:1419-1429. doi: 10.1016/j.theriogenology.2004.07.007
3. Firk R, Stamer E, Junge W, et al. Automation of oestrus detection in dairy cows: a review. *Livest Prod Sci.* 2002;75:219-232. doi: 10.1016/S0301-6226(01)00323-2
4. Sangsritavong S, Combs DK, Sartori R, et al. High Feed Intake Increases Liver Blood Flow and Metabolism of Progesterone and Estradiol-17 β in Dairy Cattle. *J Dairy Sci* 2002;85:2831-2842. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74370-1
5. Brozos C, Kiossis E, Hatzieffraimidis S, et al. Comparison of 5 Versus 7-Day Ovsynch + Progesterone Releasing Intravaginal Device Protocols (PRID) and a Modified G7G with an Option of Heat Detection Protocol for 1st Service in Lactating Dairy Cows. *Animals.* 2021;11;2955. doi: 10.3390/ani11102955
6. Pursley JR, Wiltbank MC, Stevenson JS, et al. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci.* 1997;80(2):295-300. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(97)75937-X
7. Larson LL ve Ball PHJ. Regulations of estrous cycles in dairy cattle: A review. *Theriogenology.* 1992;38(2):255-267. doi: 10.1016/0093-691X(92)90234-I
8. Borman JM, Radcliff RP, McCormack BL, et al. Synchronisation of oestrus in dairy cows using prostaglandin F2 α , gonadotrophin-releasing hormone, and oestradiol cypionate. *Anim Reprod Sci.* 2003;76:163-176. doi: 10.1016/S0378-4320(02)00244-0
9. Ribeiro ES, Cerri RL, Bisinotto RS, et al. Reproductive performance of grazing dairy cows following presynchronization and resynchronization protocols. *J Dairy Sci.* 2011;94:4984-4996. doi: 10.3168/jds.2011-4225
10. Carvalho PD, Guenther JN, Fuenzalida MJ, et al. Presynchronization using a modified Ovsynch protocol or a single gonadotropin-releasing hormone injection 7 d before an Ovsynch-56 protocol for submission of lactating dairy cows to first timed artificial insemination. *J Dairy Sci.* 2014;97:6305–6315. doi: 10.3168/jds.2014-8222
11. Souza AH, Ayres H, Ferreira RM, et al. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology.* 2008;70:208–215. doi: 10.1016/j.theriogenology.2008.03.014
12. Santos VG, Carvalho PD, Maia C, et al. Adding a second prostaglandin F2 α treatment to but not reducing the duration of a PRID-Synch protocol increases fertility after resynchronization of ovulation in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2016;99:3869–3879. doi: 10.3168/jds.2015-10557
13. Pursley JR, Mee MO, Wiltbank MC. Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF2 α and GnRH. *Theriogenology.* 1995;44:915–923.
14. De Rensis F ve Lopez-Gatius F. Use of Equine Chorionic Gonadotropin to Control Reproduction of the Dairy Cow: A Review. *Reprod Domest Anim.*

- 2014;49:177-182. doi: 10.1111/rda.12268
15. Gonzalez A, Wang H, Carruthers TD, et al. Superovulation in the cow with pregnant mare serum gonadotrophin: Effects of dose and antipregnant mare serum gonadotrophin serum. *Can Vet J.* 1994;35:158-162.
 16. Praharani L, Sianturi RSG, Kusimaningrum DA, et al. Superovulatory responses using pregnant mare serum gonadotrophin hormone in Murrah buffalo cows. 2nd International Conference on Animal Production for Food Sustainability. 2021;888:012016. <http://conference.faterna.unand.ac.id/2021/> doi: 10.1088/1755-1315/888/1/012016
 17. Santos VG, Carvalho PD, Maia C, et al. Adding a second prostaglandin F_{2α} treatment to but not reducing the duration of a PRID-Synch protocol increases fertility after resynchronization of ovulation in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci.* 2015;99:3869-3879.
 18. Yılmazbaş-Mecitoğlu G, Karakaya E, Keskin A, et al. Comparison of synchronisation and fertility after different modifications of the ovsynch protocol in cyclic dairy cows. *Acta Vet Hung.* 2014;62(1):64-73.
 19. Bisinotto RS, Pansani MB, Castro LO, et al. Effect of progesterone supplementation on fertility responses of lactating dairy cows with corpus luteum at the initiation of the Ovsynch protocol. *Theriogenology.* 2015;83:257-265.
 20. Folman Y, Rosenberg M, Herz Z, et al. The relationship between plasma progesterone concentration and conception in post-partum dairy cows maintained on two levels of nutrition. *J Reprod Fertil.* 1973;34:267-278.
 21. Meisterling EM ve Dailey RA. Use of concentrations of progesterone and estradiol-17β in milk in monitoring postpartum ovarian function in dairy cows. *J Dairy Sci.* 1987;70:2154-2161.
 22. Wiltbank MC, Souza AH, Carvalho PD, et al. Improving fertility to timed artificial insemination by manipulation of circulating progesterone concentrations in lactating dairy cattle. *Reprod Fertil Dev.* 2012;24:238-243.
 23. Alnimer M ve Lubbadah W. Effect of using progesterone releasing intravaginal device with ovsynch program on reproduction in dairy cattle during summer season. *Anim Biosci.* 2003;16(9):1268-1273.
 24. Kuru M, Kacar C, Oral H, et al. Effect of two prostaglandin F_{2α} injections administered 24 hours apart on the pregnancy rate of Simmental cows subjected to the Ovsynch or Ovsynch + Controlled internal drug release (CIDR) protocols. *Med Veter.* 2020;76(11):660-665.
 25. Silva LACL, Simoes LMS, Bottine MP, et al. Presynchronization by induction of a largest follicle using a progesterone device in GnRH-based-ovulation synchronization protocol in crossbred dairy cows. *Theriogenology.* 2018;119:233-237.
 26. Garcia-Pintos C ve Menchaca A. Pregnancy establishment and maintenance after the administration of equine chorionic gonadotropin (eCG) associated or not with gonadotropin-releasing hormone (GnRH) after insemination in sheep. *Anim Prod Sci.* 2018;58:1802-1806.
 27. Kuru M, Boga Kuru B, Sogukpinar O, et al. Oestrus synchronisation with progesterone-containing sponge and equine chorionic gonadotropin in Pirlak ewes during the non-breeding season: can Toryum improve fertility parameters?. *J Vet Res.* 2020;64:573-579.
 28. Zarkawi M. Oestrous synchronisation and twinning rate of Syrian Awassi ewes treated with progestagen and PMSG during the breeding season. *New Zealand Journal of Agricultural Research.* 2001;44:159-163.
 29. Keskin M. Influence of buck effect and exogenous hormone treatments on oestrus synchronisation and litter size in shami (damascus) goats. *Turk J Vet Anim Sci.* 2003;27:453-457.
 30. Gabor GY, Kastelic JP, Pinter S, et al. Improving reproductive performance in lactating dairy cows by synchronising ovulation or inducing oestrus. *Acta Vet Hung.* 2002;50(2):231-234.
 31. Grimard B, Humblot P, Mialot JP, et al. Absence of response to oestrus induction and synchronization treatment is related to lipid mobilization in suckled beef cows. *Reprod Nutr Dev.* 1997;37:129-140.
 32. Macmillan KL ve Burke CR. Effects of oestrous cycle control on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci.* 1996;42:307-320.