



Dondurulmuş Sığır Embriyolarının Transferinden Elde Edilen Gebelik Oranı Üzerine Taşıyıcı Senkronizasyon Protokolünün Etkisi

Mehmet KÖSE^{1✉}, Bülent BÜLBÜL², Mesut KIRBAŞ²

Şükrü DURSUN², Mehmet ÇOLAK³

1. Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.
2. Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Konya.
3. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Zootečni Anabilim Dalı, Burdur.

Özet: Bu çalışmada, dondurulmuş-çözündürülmüş embriyo transfer edilen ineklerde gebelik oranı üzerine farklı östrüs senkronizasyon yöntemlerinin etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı. Bu amaçla taşıyıcıların östrüleri (n=50) iki farklı yöntemle senkronize edildi. Birinci gruptaki (PG grubu, n=24) taşıyıcılara 11 gün ara ile 500 µg cloprostenol kas içi yolla uygulandı. İkinci gruptaki (İmplant grubu, n=14) taşıyıcıların kulak derisi altına 10 gün süreyle 3 mg norgestomet içeren implant yerleştirildi. Bununla birlikte aynı zamanda 3 mg norgestomet+5 mg östradiol valerate kas içi uygulandı. Uygulamanın 9. gününde 500 µg cloprostenol kas içi enjekte edildi. Spontan östrüs gösteren inekler üçüncü grubu (Kontrol, n=12) oluşturdu. Embriyolar östrüs sonrası 7. günde epidural anestezi altında korpus luteumun bulunduğu taraftaki kornu uteriye bırakıldı (östrüs 0). Gebelik tespiti, östrüs sonrası 30, 60 ve 90. günlerde yapıldı. Gebelik oranı PG, İmplant ve Kontrol gruplarında 30. günde sırasıyla %66.6, %64.3 ve %33.3 oldu. Embriyonik ölümler sadece 30-60. günler arasında PG (n=4) ve İmplant (n=2) gruplarında belirlendi. Gruplar arasında gebelik oranları açısından önemli farklılık belirlenmedi. Sonuç olarak, doğal östrüs gösterenlere kıyasla senkronize edilen ineklerde daha yüksek gebelik oranları elde edildi ve iki farklı senkronizasyon protokolu arasında istatistik fark bulunamadı.

Anahtar kelimeler: Embriyo transferi, İnek, Taşıyıcı senkronizasyonu

The Effect of Different Recipient Synchronisation Protocols on Pregnancy Rates in Cryopreserved Embryo Transferred Cows

Abstract: The aim of this study was to compare the effect of different oestrus synchronisation protocols on pregnancy rates in cryopreserved-thawed embryo transferred cows. For this purpose, the recipient animals' oestruses (n=50) were synchronised with two different synchronisation protocols. In the first group (Prostaglandin F2 alpha (PG) group, n=24), two intramuscular administrations of 500 µg of cloprostenol were performed at 11-day interval. In the second group (implant group, n=14), an ear implant containing 3 mg norgestomet was inserted subcutaneously in the ear of each cow for 10 days. In addition, intramuscular form of 3 mg norgestomet+5 mg oestradiol valerate was administered at the same time. On d 9, 500 µg of cloprostenol (PG) was administered intramuscularly. In the third group (Control, n=12), cows exhibiting spontaneous oestrus were included in the study. After synchronisation, embryos were transferred into the uterine horn ipsilateral to the corpus luteum by epidural anesthesia on d 7 (oestrus= d 0). Pregnancy detection was performed on d 30, 60 and 90 after oestrus. Pregnancy rates were 66.6%, 64.3% and 33.3% on d 30 in groups PG, Implant and control, respectively. Embryonic losses were detected only between d 30 and 60 in PG group (n=4) and Implant group (n=2). There was no significant difference for pregnancy rates between groups. In conclusion, higher pregnancy rates were obtained in synchronised cows than in controls, and there was no significant difference between synchronisation groups.

Key words: Cow, Embryo transfer, Recipient synchronisation.

GİRİŞ

Embriyo transferi, ineklerde genetik ilerlemenin hızlandırılması ve kaliteli damızlık sayısının kısa sürede arttırılması amacıyla kullanılan önemli bir biyoteknolojik yöntemdir. Bu amaçların gerçekleştirilmesi için donörden alınan transfer edilebilir embriyoların nakledildikleri uterusu yaşamını sürdürmesi ve gebelik sürecinin buzağı doğumuyla tamamlanması gerekir. Bu nedenle embriyoların transfer edileceği taşıyıcıların belirlenmesi oldukça önemlidir (McMillan, 1998). Çünkü transfer edilebilir kalitede olan bir embriyonun deneyimli bir operatör tarafından taşıyıcıya transferi sonrası gebeliğin oluşumu için en önemli faktörün seçilen taşıyıcının uygunluğu olduğu belirtilmektedir (Hasler, 2004). Embriyo implante oluncaya kadar gelişimini devam ettirebilmesi için uterus endometriyumundan besleneceğinden embriyo transferinin başarısı için taşıyıcının östrüs siklusunun embriyonun gelişim evresine uygun olarak senkronize edilmesinin gerekliliği daha iyi anlaşılmaktadır (Sağırkaya, 2009). Bununla birlikte dondurulup-çözündürülmüş embriyoların transferi sonrası elde edilen gebelik oranının, taze embriyo transferine göre daha düşük ve gebelik başına ortalama maliyet daha yüksektir (Sağırkaya ve Bağış, 2003). Bu nedenle dondurulmuş-çözündürülmüş embriyoların transferinde, taşıyıcının östrüs siklusunun senkronize edilmesinin gerekliliği ve uygulanacak senkronizasyon protokolünün önemi daha da artmaktadır (Bényei ve ark., 2006; Jones ve Lamb, 2008).

İneklerde östrüs siklusunun kontrolü amacıyla uygulanan senkronizasyon yöntemleri genel olarak iki esasa dayanmaktadır. Bu yöntemlerden birincisi luteolitik ajanlar kullanılarak ovaryumlardaki luteal yapının lize edilerek luteal dönemin kısaltılmasıdır. Bu amaçla prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) ve sentetik analogları yaygın olarak kullanılmakta ve 10-14 gün aralıklarla iki prostaglandin uygulamaları daha çok tercih edilmektedir (Odde, 1990; Mapletoft ve ark., 2009). İkinci yöntem ise gestagen uygulaması ile kan

progesteron düzeyinin yüksek tutularak östrüs ve ovulasyonların engellenmesi suretiyle luteal evrenin uzatılmasıdır (Odde, 1990; Ball ve Peters, 2004).

Bu uygulamalarda progesteron, siklik CL'den kaynaklanan asenkronizasyonun önüne geçebilmek ve östrüslerin daha da toplulaştırılabilmesi için, uygulamanın başlangıcında ve/veya sonunda östradiol ve prostaglandin ile kombine edilmektedir (Ball ve Peters, 2004; Jones ve Lamb, 2008; Mapletoft ve ark., 2009). Gestagenlerin en yaygın kullanılan formlarından biri derialtı implant ürünleridir (Alaçam, 1997; Xu ve Burton, 1999; Çoyan, 2002). İmplant uygulamasının başlangıcında da siklik CL'nin kontrolü amacıyla 3 mg norgestomet+5 mg östradiol valerat içeren solüsyon enjekte edilmektedir (Alaçam, 1997; Bülbül ve Ataman, 2005). İmplantın uzaklaştırılmasından 24-48 saat önce PG uygulaması ile östrüslerin başlama zamanındaki dağılım azaltılabilmektedir (Rathbone ve ark., 1998). Genellikle kulak derisi altına yerleştirilen implantlar bileşimindeki maddeler nedeniyle sütte kalıntı oluşumuna neden olduğundan düve ve laktasyonda olmayan ineklerde kullanımı daha uygun olduğu bildirilmektedir (Ball ve Peters, 2004).

Bu çalışmada etilen glikolle dondurulmuş-çözündürülmüş birinci kalite sığır embriyolarının transferinde taşıyıcılara uygulanan 11 gün ara ile iki kez $PGF_{2\alpha}$ ve 10 gün süre ile kulak derisi altına implant tarzında progesteron uygulamalarının gebelik oranı üzerine etkilerinin, doğal östrüsleri tespit edilen taşıyıcılarda elde edilen gebelik oranı ile karşılaştırılması amaçlandı.

MATERYAL ve METOT

Çalışma Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsünde embriyo transferi amacıyla oluşturulan çekirdek Brown Swiss sürüsünde, düveler ve laktasyonda olmayan inekler üzerinde gerçekleştirildi. Hayvanlar enstitünün yarı açık

sistemli ahırlarında barındırıldı ve fizyolojik durumlarına uygun olarak hayvan besleme birimince karma yem, yonca ve mısır silajından oluşturulan rasyon ile beslendi. Su *ad libitum* olarak verildi. Çalışmanın yapıldığı dönemde sürünün fertilitiyi olumsuz etkileyen Bovine brucellosis, Bovine vibriosis, Bovine leptospirosis, Bluetongue virus infection, Mycobacterium tuberculosis, Enzootic bovine leucosis, Infectious pustular vulvovaginitis hastalıkları yönünden ari olduğu yapılan laboratuvar testleri ile doğrulandı.

Çalışmanın başlangıcında taşıyıcılara genel klinik muayene ve reproduktif organların muayenesi amacıyla rektal palpasyon ve ultrasonografik muayene yapıldı. Muayenelerde genital organları normal konumunda olan, çevresel dokulara yapışma olmayan, uterus kornularında herhangi anormal bir durum (sıvı birikimi, asimetri vb.) saptanmayan hayvanların östrüsleri, östrüs siklusunun evresi dikkate alınmadan aşağıda açıklanan iki farklı yöntemle senkronize edildi. Doğal östrüs gösteren ineklerden ise kontrol grubu oluşturuldu. Östrüs sonrası 6. gün (östrüs=0. gün) tekrar rektal palpasyon ve ultrasonografik muayene (5-7.5 MHz rektal prob, Falko, Pie Medical, Hollanda) yapıldı. Muayenede uterus kornularında herhangi anormal bir durum (sıvı birikimi, asimetri vb.) saptanmayan ve ovaryumlarında en az 2 cm çapında CL'ye sahip olan hayvanlar taşıyıcı olarak seçildi.

Birinci gruptaki (PG grubu, n= 24) taşıyıcılara östrüs siklusunun dönemine bakılmaksızın 11 gün ara ile iki kez 500 µg cloprostenol (PGF_{2α}; Estrumate®, Essex Animal Health, Freisoythe, Almanya) kas içi uygulandı. İkinci PGF_{2α} enjeksiyonunu izleyen 5 gün içerisinde 30 dakikalık sürelerle günde 3 kez yapılan gözlem yöntemiyle östrüs gösterenler belirlendi ve kayıtları tutuldu.

İkinci gruptaki (İmplant grubu, n= 14) taşıyıcılara ise östrüs siklusunun dönemine bakılmaksızın 6 mg norgestomet içeren silikon implant (Crestar®, Intervet International, B.V. Boxmeer, Hollanda), özel aplikatörü aracılığıyla

kulak derisi altına yerleştirildi ve 10 gün süreyle burada tutuldu. İmplant uygulamasının başlangıcında 3 mg norgestomet ve 5 mg östradiol valerate (Crestar®, Intervet International, B.V. Boxmeer, Hollanda) içeren solüsyon kas içi enjekte edildi. İmplantların çıkarılmasından 24 saat önce PGF_{2α} kas içi enjekte edildi. PGF_{2α} enjeksiyonunu izleyen 5 gün süresince I. grupta yapıldığı gibi östrüs takibi yapılarak östrüs gösterenler belirlendi.

Üçüncü gruptaki inekler (Kontrol, n= 12) doğal östrüs gösteren taşıyıcılardan seçildi.

Taşıyıcılara teknik şartnameye uygun olarak yurt dışındaki ticari bir şirketten (Sunshine Genetics Inc., Whitewater, Wisconsin, USA) temin edilen etilen glikolle dondurulmuş birinci kalite 7 günlük embriyolar transfer edildi. Embriyo transferi taşıyıcının östrüs siklusunun 7. gününde donör ve taşıyıcının östrüs yaşları ±12 saat aralığında olacak şekilde gerçekleştirildi. Taşıyıcılara transfer işleminden 5 dakika önce bağırsakların peristaltik hareketlerini azaltmak amacıyla üst epidural anestezi (3-5 ml lidokain HCl, Vilcain, Vilsan, Ankara, Türkiye) uygulandı. Taşıyıcının hazırlığının tamamlanmasından sonra embriyo payetleri çözdürüldü. Çözdürme işlemi, sıvı azot tankından alınan payetin 5-6 saniye havada tutulduktan sonra 25 °C'lik su banyosunda 25-30 sn tutulması ile yapıldı. Bu sürenin sonunda bir pens ile tutulan payet kağıt havlu ile kurulandıktan sonra transfer kateterine yerleştirildi. Payetin ısı ile kapatılan ucu yere paralel olacak şekilde kesildikten sonra transfer kılıfı takıldı. Embriyo CL'nin bulunduğu taraftaki kornu uterusun cranio-dorsal (1/3-1/2) bölümüne bırakıldı. Transfer sonrası payet mikroskop altında incelenerek embriyonun uterusu bırakıldığı teyit edildi. Gebelik muayeneleri 30, 60 ve 90. günlerde ultrasonografik muayene ile belirlendi.

Çalışmada gruplarda elde edilen gebelik oranlarının ve gebelik kayıplarının istatistiki yönden karşılaştırılması ki-kare testiyle (MINITAB, Release 12.1, Minitab Inc.) yapıldı.

BULGULAR

Sunulan çalışmada 30, 60 ve 90. günlerde bütün taşıyıcılardan elde edilen total gebelik oranları sırasıyla %58.0 (29/50), %46.0 (23/50) ve %46.0 (23/50) olarak tespit edildi (Tablo 1). Buna göre gebelik kayıpları 30-60. günler arasında %20.7 (n=6) olmasına karşılık, 60-90. günler arasında gebelik kaybı oluşmadı. Senkronizasyon gruplarında 30, 60

ve 90. günlerde elde edilen gebelik oranları Tablo 1'de özetlendi. Gruplarda tespit edilen gebelik oranları arasında saptanan fark istatistiki açıdan önemli bulunmadı ($p>0.05$). Gebelik kayıplarının senkronizasyon metotlarına göre dağılımı ise Tablo 2'de verildi. Gebelik kayıpları açısından gruplar arasında istatistiksel fark belirlenmedi ($p>0.05$).

Tablo 1. Gruplarda 30, 60 ve 90. günlerde elde edilen gebelik oranları (%).

Table 1. Pregnancy rates obtained on d 30, 60 and 90 in the groups (%).

Grup	n	30. gün		60. gün		90. gün	
		n	(%)	n	(%)	n	(%)
PG	24	16/24	(66.7)	12/24	(50.0)	12/24	(50.0)
İmplant	14	9/14	(64.3)	7/14	(50.0)	7/14	(50.0)
Kontrol	12	4/12	(33.3)	4/12	(33.3)	4/12	(33.3)
Genel	50	29/50	(58.0)	23/50	(46.0)	23/50	(46.0)

İstatistiksel farklılık yoktur, $P>0.05$.

Tablo 2. Gruplarda 30-60 ve 60-90. günler arasında tespit edilen gebelik kayıpları.

Table 2. Pregnancy loss determined between d 30-60 and 60-90 in the groups.

Grup	30-60. günler arası		60-90. günler arası	
	n	(%)	n	(%)
PG	4/16	(25.0)	0/12	(0.0)
İmplant	2/9	(22.2)	0/7	(0.0)
Kontrol	0/4	(0.0)	0/4	(0.0)
Genel	6/29	(20.7)	0/0	(0.0)

İstatistiksel farklılık yoktur, $P>0.05$.

TARTIŞMA

İneklerde embriyo transferi, yetiştiricilik açısından önemli avantajlar sağlamasına rağmen suni tohumlama uygulamasına göre gebelik başına ekonomik maliyeti oldukça yüksektir. Ekonomik maliyetin düşürülmesi için taşıyıcılarda gebe kalma oranının yükseltilmesi gerekmektedir. Transfer edilebilir kalitede bir embriyonun deneyimli bir uygulayıcı tarafından transferi sonrası elde edilecek gebelik oranını etkileyen en önemli faktör, taşıyıcının uygunluğudur. Taşıyıcının östrüs siklusunun yaşı, embriyonun yaşına ne kadar yakın olursa gebeliğin oluşumu ve devamlılık ihtimali o derece iyileşmektedir. Bu nedenle taşıyıcıların östrüslerinin doğru tespiti siklus yaşının

izlenebilmesi dolayısıyla elde edilecek gebelik oranı açısından çok önemlidir (Mapletoft ve ark., 2009).

Sunulan çalışmada elde edilen gebelik oranlarının, bazı araştırmacıların bildirdiklerinden yüksek (Dochi ve ark., 1998; Nasser ve ark., 2004; Bényei ve ark. 2006; Chebel ve ark., 2008), bazılarının bildirdiklerinden düşük (Hasler, 2001; Chagas E Silva ve ark., 2002; Purcell ve ark., 2005) bazılarının bildirdiklerine benzer (Dursun ve ark., 2007; Chase ve ark., 2009; Bülbül ve ark., 2010; Kırbaş ve ark., 2010) olduğu belirlenmiştir. Çalışmalarda elde edilen gebelik oranları arasındaki farkın, çeşitli araştırmacılar tarafından edilen glikolle

direkt transfer metoduna göre dondurulmuş-çözdürülmüş embriyo transferinden elde edilen gebelik oranını etkilediği bildirilen embriyo kalitesi, embriyonun gelişim evresi, embriyo dondurmada kullanılan vasat, dondurma ve çözündürme prosedürü, embriyo toplama-dondurma ve çözündürme-transfer arasındaki süre, embriyo-taşıyıcının östrüs yaşı, transfer eden teknisyenin yeteneği, mevsim, taşıyıcıların bakım-besleme şartları, ırk, lokasyon, vb faktörlerden etkilenmiş olabileceği bildirilmektedir (Weaver ve ark., 1986; Spell ve ark., 2001; Looney ve ark. 2006; Dursun ve ark., 2007; Chebel ve ark., 2008).

İneklerde suni tohumlama ve embriyo transferi uygulamalarını kolaylaştırmak için östrüs senkronizasyonu sıklıkla tercih edilmektedir. Bu amaçla farklı senkronizasyon yöntemleri uygulanmaktadır. Embriyo transferi uygulamalarında taşıyıcılara yapılan östrüs senkronizasyonunun amacı östrüslerin kısa bir zaman aralığında toplulaştırılması yanında taşıyıcının siklusunun senkronize edilerek embriyo transferi için uygun zamanın tespitine yönelik bir ön hazırlık yapmaktır. Östrüs tespitine dayalı embriyo transferi uygulamalarında gebelik oranının östrüslerin beklenilmesi nedeniyle östrüs tespitinin daha doğru olabileceği ve spontan östrüsler sonrası elde edilen gebelik oranlarından daha yüksek olabileceği belirtilmektedir (Hasler, 2010). Bununla birlikte östrüs senkronizasyonu ile doğal östrüs tespitine dayalı transfer uygulamasına göre daha kısa zaman aralığında daha fazla gebelik sağlanacağından embriyo transferi uygulamasının esas avantajının gerçekleşmesi mümkün olmaktadır. Ancak uygun senkronizasyon protokolünün seçimi, laktasyon ve sayısı, yaş, vücut kondisyon skoru, siklik aktivite durumu, postpartum dönem, sürü büyüklüğü, uygulama mevsimi, mevcut iş gücü, ekonomik maliyet, senkronizasyon preparatlarının ulaşılabilirliği, uygulama kolaylığı, sürüye ulaşabilme kolaylığı (mera) vb. birçok faktörün kompleks etkileşimlerine bağlıdır. Sunulan çalışmada 30.

günde PG grubunda elde edilen gebelik oranı (%66.67); PG'lerin kullanıldığı çalışmaların bazıları ile benzer (Kubisch ve ark., 2004; Vargas ve ark., 2009; Kızıl ve ark. 2011), bazılarından yüksek (Nogueira ve ark., 2004; Hidalgo ve ark., 2004; Béneyi ve ark., 2006; Kirbaş ve ark., 2010), bazılarından ise düşük (Purcell ve ark., 2005; Vasconcelos ve ark., 2006) olarak tespit edildi. İmplant grubunda da benzer şekilde belirtilen günde elde edilen gebelik oranının (%50.0) bazı çalışmalarda bildirilenlerden yüksek (Béneyi ve ark., 2006; Rodrigues ve ark., 2010), bazılarından düşük (Scenna ve ark., 2005), bazılarında ise benzer (Vargas ve ark., 2009) olduğu belirlendi. Farklı senkronizasyon yöntemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada çift PG grubunda (%34.7) elde edilen gebelik oranının, tek PG (%41), Crestar (%45.1), CDIR (%50) ve doğal östrüs (%40.9) gruplarından düşük olduğu, senkronize ve non-senkronize olarak değerlendirildiğinde gebelik oranları arasında fark oluşmadığı (%41.8 ve %40.9) bildirilmiştir (Béneyi ve ark., 2006). Sunulan çalışmada da değerlendirilen iki senkronizasyon yönteminde elde edilen gebelik oranlarının benzer olduğu belirlendi.

İneklerde reproduktif verimliliği etkileyen en önemli faktörlerden birisi embriyonal (gebeliğin ilk 42-45. günlerine kadar olan dönem) ve fetal dönemde (embriyonal dönemin sonundan doğuma kadar olan dönem) oluşan kayıplardır (Bech-Sábat ve ark., 2008). Embriyonal dönemdeki kayıpların çok önemli bir kısmının (%47.5) gebeliğin 28-42. günleri arasında olduğu ifade edilmektedir (Diskin ve ark., 2006). Fetal kayıpların ise en fazla gebeliğin 45-60. günler arasında olduğu ve %12'ye kadar ulaşabileceği belirtilmektedir (Bech-Sábat ve ark., 2008). Yapılan bir çalışmada östrüs tespitine dayalı direkt embriyo transferi sonrası 21-60. günler arasındaki gebelik kaybı %16.8, 60. günden sonra oluşan fetal kayıp oranı ise %3.2 olarak bildirilmiştir (Chagas E Silva ve ark., 2002). Başka bir çalışmada ise 25-32. günlerden 60-66. günlere kadar olan süreçte oluşan gebelik kaybının, çalışmamızda belirtilen orana yakın olduğu (%20.3) bildirilmiştir

(Sartori ve ark., 2006). Sunulan çalışmada, embriyonal dönemin sonunda gebelik kontrolü yapılmamış ise de yukarıda belirtilen ifadeler ve çalışmamızda olduğu gibi, senkronizasyon yöntemlerinin gebelik kayıplarını etkilemediği (López-Gatius ve ark., 2002; Santos ve ark., 2004) göz önüne alındığında, çalışmamızda 30-60. günler arasında oluşan gebelik kaybının kabul edilebilir olduğu düşünülmektedir.

SONUÇ

Sonuç olarak etilen glikolle direkt transfer amacıyla dondurulmuş embriyoların transferi sonrasında östrüsleri çift doz PGF_{2α} (11 gün ara ile) veya 10 gün süreli progesteron salan kulak implantı uygulamalarıyla senkronize edilen taşıyıcılarda doğal östrüs gösterenlere kıyasla daha yüksek gebelik oranları elde edildi ve iki farklı senkronizasyon protokolu arasında istatistik fark bulunamadı (P>0.05). Bu nedenle belirtilen amaçla taşıyıcıların östrüslerinin çift doz PGF_{2α} (11 gün ara ile) veya 10 gün süreli progesteron salan kulak implantı uygulamalarıyla senkronize edilebileceği kanısına varıldı.

TEŞEKKÜR

Sunulan çalışma Tarımsal Araştırma Genel Müdürlüğü (TAGEM)" tarafından desteklenen Anadolu Esmeri Geliştirme Projesi kapsamında yürütülmüş olup 2-5 Kasım 2006 tarihlerinde düzenlenen II. Türk Veteriner Jinekoloji Kongresinde (Uluslararası Katılımlı) poster bildirisi olarak sunulmuştur.

KAYNAKLAR

- Alaçam E., 1997. Üremenin Denetlenmesi. Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite", Ed., E Alaçam, Medisan Yayınevi, Ankara, Türkiye.
- Ball PJH., Peters AR., 2004. Artificial control of the oestrous cycle. In "Reproduction in Cattle" Ed., PJH Ball, AR Peters, Blackwell Publishing Company.

- Bech-Sábat G., López-Gatius F., Yáñez JL., García-Ispuerto I., Santolaria P., Serrano B., Sulon J., De Sousa NM., Beckers JF., 2008. Factors affecting plasma progesterone in the early fetal period in high producing dairy cows. *Theriogenology*, 69, 426–432.
- Bényei B., Komlósi I., Pécsi A., Pollott G., Marcos CH., Campos AO., Lemes MP., 2006. The effect of internal and external factors on bovine embryo transfer results in a tropical environment. *Anim. Reprod. Sci.*, 93, 268–279.
- Bülbül B., Ataman MB., 2005. Saha şartlarındaki ineklerde farklı östrüs senkronizasyon yöntemlerinin fertilité üzerine etkisinin araştırılması. *Vet. Bil. Derg.*, 21, 15-22.
- Bülbül B., Dursun Ş., Kırbas M., Köse M., Ümütlü S., 2010. Düvelerde embriyo transferi öncesi flunixin meglumin uygulamasının gebelik oranı üzerine etkisi. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 16, 105-109.
- Chagas E Silva J., Lopes Da Costa L., Silva JR., 2002. Plasma progesterone profiles and factors affecting embryo-fetal mortality following embryo transfer in dairy cattle. *Theriogenology*, 58, 51-59.
- Chase CC., Vargas CA., Hammond AC., Olson TA., Griffin JL., Murphy CN., Tewolde A., Fields MC., 2009. Embryo transfer in Angus and Brahman recipient cows: effect of two methods of estrus synchronization on induced estrus and pregnancy. *Revista Científica*, 6, 630 – 638.
- Chebel RC., Demétrio DGB., Metzger J., 2008. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. *Theriogenology*, 69, 98–106.
- Çoyan K., 2002. İneklerde Hormonların Reprodüktif Kullanımı. In "Evcil Hayvanlarda Dölerme ve Suni Tohumlama", Ed., K Çoyan, S. Ü. Vet. Fak. Yayınları, Ünitesi, Konya, Türkiye.
- Diskin MG., Murphy JJ., Sreenan JM., 2006. Embryo survival in dairy cows managed under pastoral conditions. *Anim. Reprod. Sci.*, 96, 297–311.
- Dochi O., Yamamoto Y., Saga H., Yoshiba N., Kano N., Maeda J., Miyata K., Yamauchi A., Tomminaga K., Oda Y., Nakashima T., Inohae S., 1998. Direct transfer of bovine embryos frozen-thawed in the presence of propylene glycol or ethylene glycol

- under on-farm conditions in an integrated embryo transfer program. *Theriogenology*, 49, 1051-1058.
- Dursun Ş., Köse M., Kırbas M., Bülbül B., Ümütlü S., 2007. Etilen glikolle dondurulmuş sığır embriyosu transferinde çözündürme-transfer aralığının gebelik oranı üzerine etkisi. IV. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Kongresi, Antalya, Türkiye.
- Hasler JF., 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*, 56, 1401-1415.
- Hasler JF., 2004. Factors influencing the success of embryo transfer in cattle. 23rd World Buiatrics Congress, Quebec City, Canada.
- Hasler JF., 2010. Bovine embryo transfer: Are efficiencies improving? Applied Reproductive Strategies Conference Proceedings, Nashville.
- Hidalgo CO., Gómez E., Prieto L., Duque P., Goyache F., Fernández L, Fernández I., Facal N., Díez C., 2004. Pregnancy rates and metabolic profiles in cattle treated with propylene glycol prior to embryo transfer. *Theriogenology*, 62, 664-676.
- Jones AL., Lamb GC., 2008. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. *Theriogenology*, 69, 107-115.
- Kırbas M., Dursun Ş., Köse M., Bülbül B., Çolak M., Mutlu H., 2010. İneklerde embriyo transferinde farklı prostaglandin F2 α protokolleri ile taşıyıcı senkronizasyonu. *Eurasian J. Vet. Sci.*, 26, 39-43.
- Kızıl SH., Akyol N., Karaşahin T., Satılmış M., 2011. Etilen glikol ile direkt transfer metoduna göre dondurulan in vivo sığır embriyolarının transferi. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 17 (5), 721-724.
- Kubisch HM., Sirisathien S., Bosch P., Hernandez-Fonseca HJ., Clements G., Liukkonen JR., Brackett BG., 2004. Effects of developmental stage, embryonic interferon-s secretion and recipient synchrony on pregnancy rate after transfer of in vitro produced bovine blastocysts. *Reprod. Dom. Anim.*, 39, 120-124.
- Looney CR., Nelson JS., Schneider HJ., Forrest DW., 2006. Improving fertility in beef cow recipients. *Theriogenology*, 65, 201-209.
- López-Gatius F., Santolaria P., Yáñez J., Rutllant J., López-Béjar M., 2002. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. *Theriogenology*, 57 (4), 1251-61.
- Mapletoft RJ., Bó GA., Baruselli PS., 2009. Control of ovarian function for assisted reproductive technologies in cattle. *Anim. Reprod.*, 6, 114-124.
- Mc Millan WH., 1998. Statical Models predicting embryo survival to term in cattle. *Theriogenology*, 50, 1053-1070.
- Nasser LF., Reis EL., Oliveira MA., Bó GA., Baruselli PS., 2004. Comparison of four synchronization protocols for fixed-time bovine embryo transfer in *Bos indicus* \times *Bos taurus* recipients. *Theriogenology*, 62, 1577-1584.
- Nogueira MFG., Melo DS., Carvalho LM., Fuck EJ., Trinca LA., Barros CM., 2004. Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2a and eCG? *Theriogenology*, 61, 1283-1290.
- Odde KG., 1990. A review of synchronization of estrus in postpartum cattle. *J. Anim. Sci.*, 68, 817-830.
- Purcell SH., Beal WE., Gray KR., 2005. Effect of a CIDR insert and flunixin meglumine, administered at the time of embryo transfer, on pregnancy rate and resynchronization of estrus in beef cattle. *Theriogenology*, 6, 867-878.
- Rathbone MJ., Macmillan KL., Inskeep K., Burggraaf S., Bunt CR., 1998. Fertility regulation in cattle. *J. Control. Release*, 54, 117-148.
- Rodrigues CA., Teixeira AA., Ferreira RM., Ayres H., Mancilha RF., Souza AH., Baruselli PS., 2010. Effect of fixed-time embryo transfer on reproductive efficiency in high-producing repeat-breeder Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 118, 110-117.
- Sağırkaya H., 2009. Sığırlarda embriyo transfer uygulaması ve Türkiye açısından önemi. *Uludağ Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 28, 11-19.
- Sağırkaya H., Bağış H., 2003. Memeli embriyolarının kriyoprezervasyonu. *Uludağ Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 22, 127-135.
- Santos JEP., Thatcher WW., Chebel RC., Cerri RLA., Galvão KN., 2004. The effect of embryonic death rates in

- cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Anim. Reprod. Sci.*, 82–83, 513–535.
- Sartori R., Gumen A., Guenther JN., Souza AH., Caraviello DZ., Wiltbank MC., 2006. Comparison of artificial insemination versus embryo transfer in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 65, 1311–1321.
- Scenna FN., Hockett ME., Towns TM., Saxton AM., Rohrbach NR., Wehrman ME., Schrick FN., 2005. Influence of a prostaglandin synthesis inhibitor administered at embryo transfer on pregnancy rates of recipient cows. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 78, 38–45.
- Spell AR., Beal WE., Corah LR., Lamb GC., 2001. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*, 56, 287–297.
- Vargas CA., Hammond AC., Olson TA., Griffin JL., Murphy CN., Tewolde A., Fields MJ., 2009. Embryo transfer in Angus and Brahman recipient cows: Effect of two methods of estrus synchronization on induced estrus and pregnancy. *Revista Científica*, 19, 630–638.
- Vasconcelos JLM., Demétrio DGB., Santos RM., Chiari JR., Rodrigues CA., Sá Filho OG., 2006. Factors potentially affecting fertility of lactating dairy cow recipients. *Theriogenology*, 65, 192–200.
- Weaver LD., Galland J., Sosnik U., Cowen P., 1986. Factors affecting embryo transfer success in recipient heifers under field conditions. *J. Dairy Sci.*, 69, 2711–2717.
- Xu ZZ., Burton LJ., 1999. Reproductive performance of dairy heifers after estrus synchronization and fixed-time artificial insemination. *J. Dairy Sci.*, 82, 910–917.