

Characterization of Anogenital Distance and Its Relationship with Fertility in German Fawn × Hair Crossbred and Saanen Goats

Metehan KUTLU^{1*}, Murat DURMUŞ²

¹Department of Obstetrics and Gynaecology, Faculty of Veterinary Medicine, Selçuk University, Konya, Turkey

²Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Çukurova University, Adana, Turkey

ABSTRACT

In the presented study, it was aimed to reveal the characterization of anogenital distance (AGD) and its relationship with fertility in German Fawn × Hair crossbred and Saanen goats whose estrus was synchronized during the breeding season. 53 heads of German Fawn × Hair crossbred (75% German Pied and 25% Hair goat) and 55 heads of Saanen breed goats were used in the study. Before applying the sponge, the anogenital distances of all goats were measured and recorded with a digital caliper. For each breed, they were divided into two AGD categories: short AGD group and long AGD group. A sponge containing 60 mg medroxyprogesterone acetate was applied intravaginally to these goats on day 0, and the sponges were kept in the vagina for 13 days. On the thirteenth day of application, sponges were removed in all goats, and eCG was administered at a dose of 500 IU at the time of sponge removal. Goats on estrus were hand mated with one of the proven bucks (goat:buck ratio of 7:1). The parameters of estrus rate, pregnancy rate, kidding rate, multiple birth rate, litter size and male litter rate were calculated in all groups. After the statistical analysis, no significant difference was detected in the parameters monitored between the groups ($p>0,05$). It was concluded that anogenital distance did not make a difference on fertility in German Fawn × Hair crossbred and Saanen goats whose estrus was synchronized with progestagen applications during the breeding season. It is thought that more detailed studies are needed to clearly demonstrate the characterization of anogenital distance and its relationship with fertility in goats.

Keywords: Anogenital distance, breeding season, fertility, goat

Alman Alaca × Kıl melezi ve Saanen Irkı Keçilerde Anogenital Mesafenin Karakterizasyonu ve Fertilite ile İlişkisi

ÖZ

Sunulan çalışmada, üreme mevsimi içerisinde östrüsları senkronize edilen Alman Alaca × Kıl melezi ve Saanen ırkı keçilerde anogenital mesafenin (AGM) karakterizasyonu ve fertilite ile ilişkisinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmada 53 baş Alman Alaca x Kıl melezi (%75 Alman Alaca ve %25 Kıl keçisi) ve 55 baş Saanen ırkı keçi kullanıldı. Sünger uygulanmadan önce tüm keçilerin anogenital mesafeleri dijital kumpasla ölçülerek kaydedildi. Her ırk için kısa AGM grubu ve uzun AGM grubu olmak üzere iki AGM kategorisine ayrıldı. Bu keçilere 0. gün intravajinal 60 mg medroksiprogesteron asetat içeren sünger uygulandı, süngerler 13 gün süreyle vajinada tutuldu. Tüm keçilerde uygulamanın on üçüncü günü süngerler çıkarıldı ve sünger çıkarılması anında 500 IU dozda eCG uygulandı. Östrüste olduğu tespit edilen keçiler elde aşım yöntemiyle (teke/keçi oranı: 1/7) fertil tekelerden bir tanesi ile çiftleştirildi. Teke katımından sonraki 40. günde çiftleşen hayvanlara ultrasonografik gebelik muayenesi yapıldı. Tüm gruplarda östrüs oranı, gebelik oranı, doğum oranı, çoklu doğum oranı, yavru verimi ve erkek yavru oranı parametreleri hesaplandı. Yapılan istatistiksel analiz sonrası gruplar arasında takip edilen parametreler arasında önemli bir fark saptanmadı ($p>0,05$). Sonuç olarak üreme mevsimi içerisinde progestagen uygulamaları ile östrüsları senkronize edilen Alman Alaca x Kıl melezi ve Saanen ırkı keçilerde anogenital mesafenin fertilite üzerine farklılık yaratmadığı görüldü. Keçilerde anogenital mesafenin karakterizasyonu ve fertilite ile ilişkisinin açıkça ortaya konulabilmesi için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Anogenital mesafe, fertilite, keçi, üreme sezonu

To cite this article: Kutlu M, Durmuş M. Characterization of Anogenital Distance and Its Relationship with Fertility in German Fawn × Hair Crossbred and Saanen Goats. Kocatepe Vet J. (2024):17(2)

Submission: 18.01.2024 Accepted: 31.03.2024 Published Online: 04.04.2024

ORCID ID: MK: 0000-0002-1782-583X, MD: 0000-0002-4221-7449

*Corresponding author e-mail: metehankutlu2@hotmail.com

GİRİŞ

Reproduktif karakteristiğe ilişkin belirteçlerin kullanılması, fertiliteye yönelik genetik iyileştirmelerin hızını ve etkinliğini potansiyel olarak artırabilmektedir (Grala ve ark. 2021). Teknoloji ve bilim alanlarındaki gelişmeler sayesinde, çok sayıda belirteç ile hayvanların yalnızca genotip bilgileri kullanılarak, genomik seleksiyon yöntemiyle çiftlik hayvanlarında yapılan genom analizleri ve tek nükleotid farklılıkları (Single Nucleotide Polymorphism/SNP) çip teknolojisi ile son 10 yılda yaygınlaşarak uygulanabilir hale gelmiştir (Özkan ve Yakan 2017). Ancak genomik seleksiyonda kullanılan belirteçlerin tespiti, maliyeti ve farklı türlerde ve aynı türün farklı ırklarında çeşitlilik sağlaması dezavantaj yaratmaktadır (Özkan ve Yakan 2017). Bu durum çiftlik hayvanlarında fertiliteye ilişkin ucuz ve güvenilir belirteçlerin arayışına sebep olmuştur. Endüstriyel hayvancılıkta anogenital mesafe (AGM)'nin fertilité ile ilişkilendirilmesi Gobikrushanth ark. (2017) tarafından süt ineklerinde bildirilmiştir. Anogenital mesafe, kadınlarda anüsün merkezinden klitoris tabanına (Salazar-Martinez ve ark. 2004) veya klitorise (Sathyanarayana ve ark. 2010) kadar, süt ineklerinde ise anüsün merkezinden klitoris tabanına kadar olan ölçüm olarak tanımlanmaktadır (Gobikrushanth ve ark. 2017). Dişi fetüslerin uterusu prenatal gelişimi sırasında aşırı androjen maruziyeti üreme sisteminin androjenizasyonu ile sonuçlanmaktadır (Bowman ve ark. 2003). Bu androjenizasyon fareler (Zehr ve ark. 2001), tavşanlar (Bánszegi ve ark. 2012), domuzlar (Drickamer ve ark. 1997) ve kadınlar (Mendiola ve ark. 2012; Mira-Escolano ve ark. 2014; Wu ve ark. 2017) dahil olmak üzere çeşitli türlerde AGM'nin artmasına ve olumsuz fertilité sonuçlarına yol açtığı bildirilmiştir. Ancak önceki yapılan çalışmaların aksine Murciano-Granadina ırkı keçilerde yapılan çalışmada ise AGM ile fertilitenin doğru orantılı olduğu bildirilmiştir (Shourabi ve ark. 2022).

Mevcut literatürde keçilerde anogenital mesafe ile gebelik oranları arasındaki ilişkiyi inceleyen sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle sunulan çalışma ile üreme mevsimi içerisinde progesteron uygulamaları ile östrüsları senkronize edilen Alman Alaca x Kıl melezi ve Saanen ırkı keçilerde anogenital mesafenin karakterizasyonu ve fertilité üzerine etkilerinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu sayede keçilerde AGM'nin basit morfolojik ölçümü ile üreme performansı arasındaki ilişki doğrulanabilirse AGM, keçiler için gelecekteki genetik seleksiyon programlarında kullanılacak yeni bir üreme fenotipi haline gelebileceği öngörülmektedir.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

Çalışma Ağustos 2023 tarihinde Adana ili Sarıçam ilçesinde Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği Keçicilik işletmesinde

yürütüldü. Çalışmada bir önceki sezonda doğum yapmış, genital organlarında klinik sorun belirlenmeyen, 2-5 yaş aralığında, sağlıklı, 45-50 kg canlı ağırlıktaki 53 baş Alman Alaca x Kıl melezi (%75 Alman Alaca ve %25 Kıl keçisi) ve 55 baş Saanen ırkı keçi kullanıldı. Tüm keçiler %60 kaba yem ve %40 kesif yemden oluşan standart rasyonla beslendiler. Kaba yem kaynağı olarak sırasıyla %75 ve %25 olmak üzere mısır silajı ve yonca samanı kullanıldı. Rasyonlar, OptiTMR Pro 4.0.33 kullanılarak keçilerin enerji ve protein gereksinimlerini karşılayacak şekilde formüle edildi. Suya ulaşmaları 24 saat boyunca ad-libitum sağlandı. Aşım öncesi hayvanlara flashing uygulaması yapılmadı. Çalışma Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 20.07.2023 tarih ve 5/14 sayılı onayı ile gerçekleştirildi.

Anogenital Mesafenin Belirlenmesi

Keçilere sünger uygulanmadan önce anüsün merkezinden klitoris tabanına kadar olan mesafe aynı kişi tarafından dijital kumpas (Piranha, Çin) ile ölçüldü. Shourabi ve ark. (2022) ve Feknous ve ark. (2021)'nin çalışmalarında belirtildiği gibi, her ırk (Alman Alaca x Kıl melezi "A" ve Saanen "S") için kısa AGM grubu (çalışmadaki keçiler $AGM \leq AGM$ medyanı) ve uzun AGM grubu (çalışmadaki keçiler $AGM > AGM$ medyanı) olmak üzere iki AGM kategorisine ayrıldı.

Östrüs Uyarımı

Tüm keçilere 13 gün süreli 60 mg medroksiprogesteron asetat içeren intravaginal sünger (Esponjavet®, Hipra, İspanya) uygulandı (0. gün). Süngerin çıkarıldığı gün (13. gün) 500 IU dozda eCG (At koryonik gonodotropini, Oviser®, Hipra, İspanya) kas içi olarak yapıldı. Östrüs tespitine süngerlerin çıkarılmasından 12 saat sonra başlandı ve östrüs tespiti sabah ve akşam (06.00-07.00:18.00-19.00) saatlerinde arama tekesi ile yapıldı. Östrüste olduğu tespit edilen keçiler elde aşım yöntemiyle (teke/keçi oranı: 1/7) fertil tekelerden bir tanesi ile çiftleştirildi. Elde aşım bittikten sonra tekeler sürüden çıkartıldı.

Ultrasonografik Muayene

Ultrasonografik muayenelerde real-time B-mode ultrason cihazı (Hitachi EUB-405, 3,5 MHz konveks prob, Japonya) kullanıldı. Aşım sonrası 40. günde uygulanan transabdominal gebelik muayenesinde gebelik kesesi, embriyo/fetüs'ün varlığı, yavru sıvıları ve plasentomların görülmesi halinde keçiler gebe olarak değerlendirildi.

Üreme Parametrelerinin Değerlendirilmesi:

Oğlak sayıları keçilerin doğumunu takiben not edildi ve üreme parametreleri olarak östrüs oranı, gebelik oranı, doğum oranı, çoklu doğum oranı, yavru verimi

ve erkek yavru oranı aşağıda belirtilen formüllerden faydalanılarak hesaplandı:

$$\text{Östrüs Oranı} = \frac{\text{östrüs gösteren keçi sayısı}}{\text{intravajinal sünger takılan keçi sayısı}} \times 100$$

$$\text{Gebelik Oranı} = \frac{\text{gebe keçi sayısı}}{\text{intravajinal sünger sonrası östrüs gösteren ve aşım yapılan keçi sayısı}} \times 100$$

$$\text{Doğum Oranı} = \frac{\text{doğum yapan keçi sayısı}}{\text{intravajinal sünger sonrası gebe kalan keçi sayısı}} \times 100$$

$$\text{Çoklu Doğum Oranı} = \frac{\text{ikiz + üçüz + dördüz doğum yapan keçi sayısı}}{\text{doğum yapan keçi sayısı}} \times 100$$

$$\text{Yavru Verimi} = \frac{\text{toplam doğan oğlak sayısı}}{\text{doğum yapan keçi sayısı}}$$

$$\text{Erkek Yavru Oranı} = \frac{\text{erkek oğlak sayısı}}{\text{toplam oğlak sayısı}} \times 100$$

BULGULAR

İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel karşılaştırılmasında SAS Versiyon 8.0 paket programından yararlanıldı. Her ırkın alt grupları arasında üreme parametrelerinin (oransal verilerin) karşılaştırılmasında Ki-kare testi ve Fisher'ın Tam testi, PROC GENMOD prosedürü kullanıldı. Hesaplanan p değerlerinin 0,05'den küçük olması durumunda önemli olarak kabul edildi.

Keçilerde anogenital mesafe için tanımlayıcı istatistikler Tablo 1.'de sunuldu. Tüm gruplarda üreme parametrelerine ilişkin elde edilen sonuçlar Tablo 2.'de sunuldu. Östrüs oranı, gebelik oranı, doğum oranı, çoklu doğum oranı, yavru verimi ve erkek yavru oranı parametreleri yönünden yapılan istatistiksel analizde gruplar arasında önemli bir fark saptanmadı ($p>0,05$)

Tablo 1. Keçilerde anogenital mesafe için tanımlayıcı istatistikler

Table 1. Descriptive statistics for anogenital distance in goats

Gruplar	n	Medyan (mm)	Ortalama (mm)	Standart Hataların Ortalaması (mm)	En küçük (mm)	En büyük (mm)
Alman Alaca x Kıl Melezi	53	43,1	44,01	0,73	33,13	61,82
A-Kısa AGM	27	40,61	39,96	0,52	33,13	43,1
A-Uzun AGM	26	47,5	48,22	0,757	43,6	61,82
Saanen	55	47,49	47,42	0,665	37,48	58,69
S-Kısa AGM	28	44,1	43,56	0,572	37,48	47,49
S-Uzun AGM	27	50,98	51,41	0,561	47,5	58,69

Tablo 2. Gruplarda üreme parametreleri**Table 2.** Reproductive parameters in groups

Gruplar	Alman Alaca x Kıl Melezi		Saanen	
	A-Kısa AGM (n=27)	A-Uzun AGM (n=26)	S-Kısa AGM (n=28)	S-Uzun AGM (n=27)
Östrüs Oranı	%100 (27/27)	%100 (26/26)	%100 (28/28)	%100 (27/27)
Gebelik Oranı	%81,5 (22/27)	%73,1 (19/26)	%85,7 (24/28)	%77,8 (21/27)
Doğum Oranı	%100% (22/22)	100% (19/19)	%100 (24/24)	%100 (21/21)
Çoklu Doğum Oranı	%95,5 (21/22)	%84,2 (16/19)	%87,5 (21/24)	%81,0 (17/21)
Yavru Sayısı	50	42	64	50
Tek	1 (1)	3 (3)	3 (3)	4 (4)
İkiz	14 (28)	9 (18)	7 (14)	7 (14)
Üçüz	7 (21)	7 (21)	9 (27)	8 (24)
Dördüz	-	-	5 (20)	2 (8)
Yavru Verimi	2,27 (50/22)	2,21 (42/19)	2,67 (64/24)	2,38 (50/21)
Erkek Yavru Oranı	%56 (28/50)	%54,8 (23/42)	%51,6 (33/64)	%54,0 (27/50)

*Yapılan istatistiksel analizde gruplar arasında önemli bir fark saptanmadı. ($p>0,05$)

TARTIŞMA

Anogenital mesafenin prenatal androjenizasyonun bir belirtici olduğu tespit edilmiştir (Macleod ve ark. 2010; Dean ve ark. 2012). Prenatal dönemde yüksek seviyedeki testesteron konsantrasyonu dış cinsel organlarda erkekleşmeye yol açabileceği ve uzayan AGM ile sonuçlanabileceği gösterilmiştir (Manikkam ve ark. 2004; Hotchkiss ve ark. 2007; Lamm ve ark. 2012).

Sunulan çalışmada östrüs oranı tüm gruplarda %100 olarak tespit edilmiş, istatistiksel olarak gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür. Geçiş sezonunda (temmuz) Alman alaca x kıl melezi keçilerde uzun süreli (17 gün) progestagen + eCG (400 IU) + dinoprost tromethamine (12,5 mg) uygulanan bir çalışmada keçilerin östrüs oranları %100 olarak tespit edilmiştir (Kutlu ve ark. 2022). Sunulan çalışmada elde edilen bu sonuç önceki çalışmada (Kutlu ve ark. 2022) aktarılan değerle uyum sağlayarak östrüs oranlarının benzer olduğu görülmektedir.

Sunulan çalışmada gebelik oranlarının ırklar arasında ve gruplar arasında istatistiksel açıdan farklı olmadığı ($p>0,05$), AGM'nin gebelik oranı üzerine herhangi bir olumlu ya da olumsuz etkisi olmadığı tespit edildi. Sığırlarda yapılan önceki çalışmalarda, kısa AGM gruplarında uzun AGM gruplarına göre gebelik oranını; ilk laktasyondaki Kanada Holştaynlarında +%22,7 (Gobikrushanth ve ark. 2017), ilk laktasyondaki Holştaynlarda +%10 (Grala ve ark. 2021), nullipar Holştaynlarda +8,7% (Carrelli ve ark. 2021), ve Kuzey Amerika Holştaynlarında +%6 (Carrelli ve ark. 2022) oranlarında istatistiksel olarak artırdığı, Kanada Holştaynlarında +%16,1 (Gobikrushanth ve ark. 2017) ve İran Holştaynlarında +18,6% (Akbarinejad ve ark. 2019) artırma eğiliminde olduğu, ikinci laktasyondaki Holştaynlarda (Grala ve ark. 2021), İrlanda Holştaynlarında (Gobikrushanth ve ark. 2019), Belçika ve Hollanda Holştaynlarında (Beci ve ark. 2023) istatistiksel olarak değişiklik

yaratmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmalardan farklı olarak Makiabadi ark. (2022) Holştayn ineklerde AGM'yi 3 gruba ayırmışlar postpartum ilk tohumlamada konsepsiyon oranı orta AGM grubunda kısa ve uzun AGM gruplarına göre daha yüksek (sırasıyla %46, %24 ve %28) olarak tespit etmişlerdir. Sığırlarda yapılan çalışmaların aksine Shourabi ark. (2022), Murciano-Granadina ırkı keçilerde gebelik oranının uzun AGM grubunda kısa AGM gruplarına göre %27,5 daha yüksek olduğunu bildirmiştir (sırasıyla %85,3 ve %57,8). Sunulan çalışmada elde edilen bu sonuçlar bazı (Gobikrushanth ve ark. 2019; 2021; Beci ve ark. 2023) çalışmalardan aktarılanlarla uyum sağlarken bazılarıyla da (Gobikrushanth ve ark. 2017; Akbarinejad ve ark. 2019; Carrelli ve ark. 2021; Grala ve ark. 2021; Carrelli ve ark. 2022; 2022) sağlamamaktadır. Çalışmalarda elde edilen farklı sonuçlar türlerin ve ırkların farklılığından kaynaklanıyor olabilir.

Yavru verimi ekonomik olarak karlılığı belirleyen önemli üreme parametrelerinden biridir. Sunulan çalışmada yavru veriminin ırklar arasında ve gruplar arasında istatistiksel açıdan farklı olmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Önceki yapılan çalışmalarda Feknous ve ark. (2021) tavşanlarda yavru verimini (8,96'e karşı 7,83) ve erkek yavru oranını (%61,6'e karşı %41) kısa AGM grubunda uzun AGM grubuna göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Aksine Shourabi ve ark. (2022) keçilerde uzun AGM grubunda yavru verimini ve erkek yavru oranının (%53,8'e karşı %42,2) kısa AGM grubundan daha yüksek olduğunu bildirmiştir ($p<0,05$). Sunulan çalışmada elde edilen bu sonuçlar önceki çalışmalarda aktarılan sonuçlarla uyum sağlamamaktadır. AGM'nin yavru verimi ve erkek yavru oranı üzerine şu anda sınırlı bilgi mevcut olduğundan bu ilişkinin aydınlatılması için daha fazla sayıda ve farklı keçi ırklarında daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu görülmektedir.

SONUÇ

Sonuç olarak üreme mevsimi içerisinde progestagen uygulamaları ile östrüsları senkronize edilen Alman Alaca x Kıl melezi ve Saanen ırkı keçilerde kısa AGM gruplarında rakamsal olarak gebelik oranı, çoklu doğum oranı, yavru verimini yüksek olduğu tespit edilsede istatistiksel olarak farklılık yaratmadığı görüldü. Keçilerde anogenital mesafenin karakterizasyonu ve fertilité ile ilişkisinin açıkça ortaya konulabilmesi için daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Çıkar çatışması: Bu çalışmada çıkar çatışması bulunmamaktadır.

Yazarların Katkı Oranı: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan etmişlerdir.

Etik İzin: Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 20.07.2023 tarih ve 5/14 sayılı onayı ile gerçekleştirildi.

KAYNAKLAR

- Akbarinejad V, Gharagozlou F, Vojgani M, Shourabi E, & Makiabadi MJM.** Inferior fertility and higher concentrations of anti-müllerian hormone in dairy cows with longer anogenital distance. *Domestic Animal Endocrinology*, 2019; 68: 47-53. doi: 10.1016/j.domaniend.2019.01.011
- Bánszegi O, Szenczi P, Dombay K, Bilkó Á, & Altbäcker V.** Anogenital distance as a predictor of attractiveness, litter size and sex ratio of rabbit does. *Physiology and Behavior*, 2012; 105(5): 1226-1230. doi: 10.1016/j.physbeh.2012.01.002
- Beci B, Van Eetvelde M, Vanlommel L, & Opsomer G.** The anogenital ratio as an indicator of reproductive performance in dairy heifers. *Theriogenology*, 2023; 210: 94-100. doi: 10.1016/j.theriogenology.2023.07.019
- Bowman CJ, Barlow NJ, Turner KJ, Wallace DG, & Foster PM.** Effects of in utero exposure to finasteride on androgen-dependent reproductive development in the male rat. *Toxicological Sciences*, 2003; 74(2): 393-406. doi: 10.1093/toxsci/kfg128
- Carrelli JE, Gobikrushanth M, Corpron M, Rajesh I, Sandberg W, Colazo MG, Ahmadzadeh A, Oba M, & Ambrose DJ.** Relationship of anogenital distance with fertility in nulliparous Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 2021; 104(7): 8256-8264. doi: 10.3168/jds.2020-19940
- Carrelli JE, Gobikrushanth M, Corpron M, Sandberg W, Rajesh I, Ahmadzadeh A, Oba M, & Ambrose DJ.** Associations between anogenital distance and measures of fertility in lactating North American Holstein cows: A validation study. *Journal of Dairy Science*, 2022; 105(7): 6339-6352. doi: 10.3168/jds.2021-20827
- Dean A, Smith LB, Macpherson S, & Sharpe RM.** The effect of dihydrotestosterone exposure during or prior to the masculinization programming window on reproductive development in male and female rats. *International Journal of Andrology*, 2012; 35(3): 330-339. doi: 10.1111/j.1365-2605.2011.01236.x
- Drickamer LC, Arthur RD, & Rosenthal TL.** Conception failure in swine: importance of the sex ratio of a female's birth litter and tests of other factors. *Journal of Animal Science*, 1997; 75(8): 2192-6. doi: 10.2527/1997.7582192x
- Feknous N, Belabbas R, Berbar A, & Zenia S.** Study of anogenital distance in rabbits: effect on sexual behavior and litter size biological components. *Veterinarija ir Zootechnika*, 2021; 79(1): 65-71.
- Gobikrushanth M, Bruinjé TC, Colazo MG, Butler ST, & Ambrose DJ.** Characterization of anogenital distance and its relationship to fertility in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 2017; 100(12): 9815-9823. doi: 10.3168/jds.2017-13033

- Gobikrushanth M, Purfield DC, Kenneally J, Doyle RC, Holden SA, Martinez PM, Canadas ER, Bruinjé TC, Colazo MG, Ambrose DJ, & Butler ST.** The relationship between anogenital distance and fertility, and genome-wide associations for anogenital distance in Irish Holstein-Friesian cows. *Journal of Dairy Science*, 2019; 102(2): 1702-1711. doi: 10.3168/jds.2018-15552
- Grala TM, Price MD, Kuhn-Sherlock B, Burke CR, & Meier S.** Investigating anogenital distance and antral follicle count as novel markers of fertility within a herd of cows with positive or negative genetic merit for fertility traits. *Journal of Dairy Science*, 2021; 104(12): 12939-12952. doi: 10.3168/jds.2020-19948
- Hotchkiss AK, Lambright CS, Ostby JS, Parks-Saldutti L, Vandenberg JG, & Gray LE, Jr.** Prenatal testosterone exposure permanently masculinizes anogenital distance, nipple development, and reproductive tract morphology in female Sprague-Dawley rats. *Toxicological Sciences*, 2007; 96(2): 335-45. doi: 10.1093/toxsci/kfm002
- Kutlu M, Alkan H, Doğan H, & Dinç DA.** The effect of carprofen treatment on reproductive parameters following progestagen administration in lactating German Fawn × Hair crossbred goats during the transitional period. *Large Animal Review*, 2022; 28: 131-135.
- Lamm CG, Hastie PM, Evans NP, & Robinson JE.** Masculinization of the distal tubular and external genitalia in female sheep with prenatal androgen exposure. *Veterinary Pathology*, 2012; 49(3): 546-51. doi: 10.1177/0300985811419533
- Macleod DJ, Sharpe RM, Welsh M, Fiskén M, Scott HM, Hutchison GR, Drake AJ, & van den Driesche S.** Androgen action in the masculinization programming window and development of male reproductive organs. *International Journal of Andrology*, 2010; 33(2): 279-87. doi: 10.1111/j.1365-2605.2009.01005.x
- Makiabadi MJM, Akbarinejad V, Heidari F, Gharagozlou F, & Vojgani M.** Greater reproductive performance in holstein dairy cows with moderate length of anogenital distance at first service postpartum. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 2022; 16(1): 46-56. doi: 10.22059/IJVM.2020.309538.1005125
- Manikkam M, Crespi EJ, Doop DD, Herkimer C, Lee JS, Yu S, Brown MB, Foster DL, & Padmanabhan V.** Fetal programming: prenatal testosterone excess leads to fetal growth retardation and postnatal catch-up growth in sheep. *Endocrinology*, 2004; 145(2): 790-798. doi: 10.1210/en.2003-0478
- Mendiola J, Roca M, Mínguez-Alarcón L, Mira-Escolano M-P, López-Espín JJ, Barrett ES, Swan SH, & Torres-Cantero AM.** Anogenital distance is related to ovarian follicular number in young Spanish women: a cross-sectional study. *Environmental Health*, 2012; 11(1): 90. doi: 10.1186/1476-069X-11-90
- Mira-Escolano MP, Mendiola J, Mínguez-Alarcón L, Melgarejo M, Cutillas-Tolín A, Roca M, López-Espín JJ, Noguera-Velasco JA, & Torres-Cantero AM.** Longer anogenital distance is associated with higher testosterone levels in women: a cross-sectional study. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 2014; 121(11): 1359-64. doi: 10.1111/1471-0528.12627
- Özkan H, & Yakan A.** Genomic selection in animal breeding: past, present. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2017; 57: 112-117.
- Salazar-Martinez E, Romano-Riquer P, Yanez-Marquez E, Longnecker MP, & Hernandez-Avila M.** Anogenital distance in human male and female newborns: a descriptive, cross-sectional study. *Environmental Health*, 2004; 3(1): 8. doi: 10.1186/1476-069X-3-8
- Sathyanarayana S, Beard L, Zhou C, & Grady R.** Measurement and correlates of ano-genital distance in healthy, newborn infants. *International Journal of Andrology*, 2010; 33(2): 317-23. doi: 10.1111/j.1365-2605.2009.01044.x
- Shourabi E, Hakimi H, Baqeri A, Gharagozlou F, Vojgani M, Foroutannejad M, Baghbanani RH, Mobedi E, & Akbarinejad V.** Evidence that Murciano-Granadina does with longer anogenital distance are more fertile and prolific and produce heavier and male-biased litters. *Anim Reprod Sci*, 2022; 244: 107047. doi: 10.1016/j.anireprosci.2022.107047
- Wu Y, Zhong G, Chen S, Zheng C, Liao D, & Xie M.** Polycystic ovary syndrome is associated with anogenital distance, a marker of prenatal androgen exposure. *Human Reproduction*, 2017; 32(4): 937-943. doi: 10.1093/humrep/dex042
- Zehr JL, Gans SE, & McClintock MK.** Variation in reproductive traits is associated with short anogenital distance in female rats. *Developmental Psychobiology*, 2001; 38(4): 229-238. doi: 10.1002/dev.1017