

Mandada Üreme Özellikleri Üzerine Etkin Faktörler

Özel Şekerden

Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 31034, Antakya

Özet: Üreme özellikleri üzerine dişi mandada genotip, yem ve yemleme sistemleri, malaklama mevsimi, sürü yönetimi (kızgınlık kontrolü, doğumda uterus masajı, hormon uygulama, tohumlama tekniği, ovulasyon zamanı, çiftleşme mevsimi), iklim, süperovulasyon, embriyo transferi, embriyonik ölümler, erken gebelik teşhisi; erkek mandada sperm özellikleri ve bunu etkileyen faktörler ile selenyumun etkisi üzerindeki araştırma sonuçları özetlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Manda, Üreme Özellikleri

Factors Effecting Reproductive Characteristics of Buffalo

Abstract: Effects of genotype, feed and feeding systems, calving season, herd management (heat detection, uterus massage at calving, hormone application, technique of insemination, ovulation time, mating season), climate, superovulation, embryo transfer, embryonic deaths, early gestation diagnosis on reproductive characteristics in female buffaloes and sperm characteristics and factors affecting them and effect of selenium on reproductive characteristics in male buffaloes are summarized.

Key Words: Buffalo, Reproductive Characteristics

Giriş

Üreme özellikleri gerek dişi, gerekse erkekte muhtelif faktörler tarafından etkilenir. Bu faktörler aşağıda kısaca açıklanmıştır.

Dişi Mandaların Üreme Özellikleri

Genotip

Üretken hayata başlamak için cinsel aktivitenin başlaması, hayvanın çiftleştirilmesi ve doğurması gerekmektedir. Ancak üreme özellikleri yaş, genotip ve bireye bağlı olarak değişiklikler göstermektedir. Üreme özellikleri üzerine etkin faktörlerin başında genotip gelmektedir. Çünkü, eşeysel olgunluğa ulaşma ve ilk defa çiftleşme yaş ve ağırlıkları, iki doğum arası süre, servis periyodu, kızgınlığın sakın geçip geçmediği, her türlü yem ve yemleme sistemlerine karşı gösterilen reaksiyonlar v.b. , her şeyden önce ırktan ırka ve her ırk içinde de bireyden bireye farketmektedir.

Eşeysel olgunluk yaşı üzerinde üreme hormonları ile canlı ağırlık arasındaki karşılıklı ilginin etkisi, kimi araştırmacılar tarafından araştırılmıştır (Kamanpatana ve ark., 1987).

24 aylıktan daha küçük yaşta kızgınlık senkronizasyonu uygulanan mandalarda döl tutma oranının, düşük olması canlı ağırlığın ve serum progesteron seviyesinin düşüklüğü nedeniyledir (Barnabe ve ark., 1995; Esposito ve ark., 1993).

Barnabe ve ark. (1997), 21-23 ay yaşlı Murrah ırkı manda düvelerinde ilk kızgınlık siklusunda serum progesteron seviyesi ile üreme performansı, yaş ve canlı ağırlığın ilgisini araştırmışlardır. Araştırmacılar deneme hayvanlarının %66.6'sında siklus'un 24.8 aylık yaşta (25-27 ay) progesteron seviyesi 3.34 ng/mg'a, canlı ağırlık 396.7 kg'a ulaştığında başladığını, ancak bunlardan %50'sinin, 24.8 aylık yaşta ve 405.5 kg ağırlıkta iken döl tuttıklarını, aynı yaşta (24.8 ay) ovaryum aktivitesi başlayan, canlı ağırlık ortalaması 384.4 kg olan %42 oranındaki hayvanın aşırılmasına rağmen döl tutmadığını, 23.6 aylık yaşta ve 337 kg ağırlığında olan %20 oranında deneme hayvanının ise, kızgınlık göstermediğini belirtmektedirler.

Kızgınlık, dişi hayvanların üreme organlarında, organizmada ve davranışlarındaki fiziksel ve morfolojik değişiklikler kompleksi ile karakterize olan sinirsel ve hormonal bir işlemdir. Kızgınlık süresi ortalaması, genotipten genotipe ve her genotipin yetiştirildiği ülke ve bölgeye göre farklıdır (Çizelge 1).

Çizelge 1. Ülke ve genotiplere göre kızgınlık süreleri (saat)

Araştırmacı	Genotip	Ülke	Kızgınlık süresi (saat)
Chantalakhana, 1981	Bataklık mandası	Tayland	12-36
Sadhu, 1985	Akdeniz	Mısır	16-36

Yem ve Yemleme Sistemleri

İrk, mevsim, iklim, foto periyot, sürü yönetimi, yemleme, büyüme oranı, patoloji gibi birçok faktör eşeyssel olgunluk yaş ve ağırlığı üzerine etkilidir. Dünyadaki genetik çeşitlilik ve farklı çevre şartları nedeni ile, manda düvelerinin döl verim performansı üzerindeki araştırma sonuçları birbirinden önemli derecelerde farklıdır (Borghese ve ark., 1993). Kötü yemleme sistemleri günlük yem tüketimini azaltmak suretiyle eşeyssel olgunluk yaşını 36 aya kadar, hatta daha da çok geciktirebilir. Malaklama sonrasında ineklere Vitamin E ve Se uygulanması süt verimini artırdığı gibi, malaklama aralığını, involusyon süresini, ilk kızgınlık yaşı ile ovulasyon ve gebe olmadan geçen günler sayısını küçültmektedir (El-Nenaey ve ark., 1996).

Borghese ve ark. (1997), 27 adet Akdeniz ırkı mandada yemleme sisteminin canlı ağırlık, ovaryum gelişimi, plazma progesteron seviyesi, eşeyssel olgunluk ve döl tutma ağırlıkları üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar deneme hayvanlarına 3 yemleme sistemi uygulamışlardır; 1: mısır sapı, 2: mer'a 3: Unifeed. Araştırmacılar unifeed sisteminin en yüksek ortalama canlı ağırlık kazancı (824 gr/gün) ve en erken eşeyssel olgunluk yaşı (532 gün); meradaki düvelerin karlı canlı ağırlık kazancı (718 gr/gün) ve eşeyssel olgunluk yaşı (569 gün) ile daha yüksek döl tutma oranı, daha küçük döl tutma yaşı ve en ekonomik sürü yönetimi ve yemlemeyi sağladığını bildirmektedirler.

Yüksek oranda yağ içeren rasyonlarla beslenen malaklar, daha yüksek oranda yemden yararlanmakta ve daha hızlı büyümektedirler (El-Bedawy ve ark., 1996). Besleme düzeyinin iyileştirilmesi, hangi laktasyon sırasında olursa olsun tüm hayvanlarda gerek

servis periyodunu, gerekse malaklama aralığını kısaltmaktadır. Rasyona mineral karışımı eklemek sureti ile, uterus involuyonu üzerine etkili olan plazma progesteron seviyesi de yükseltilebilmektedir (Sabra ve ark. 1997).

Buzağılama Mevsimi

Çiftlik hayvanlarının çoğunda, üreme mevsimine bağlılık sözkonusudur. İklim, sürü yönetimi, besleme gibi pek çok çevresel faktörün, gerek erkek ve gerekse dişide üremeyi etkileyen çok önemli faktörlerdir. Bu faktörlerin etkileri, manda da dahil, tüm çiftlik hayvanlarında çok sayıda araştırmacı tarafından çalışılmıştır.

Mandada, üreme performansı ile ilgili önemli varyasyonlar belirlenmiştir (Reddy ve Mishra, 1980; De Silva ve ark., 1985; Popovici ve ark., 1991). Malaklamanın mevsimlere dağılımı, üreme aktivitesinin kriterlerinden birisidir. Malaklama mevsimi servis periyodu ve malaklama aralığı üzerinde önemli etkiye sahiptir. Nitekim kış ve ilkbahar malaklarının diğer mevsim malaklarına oranla malaklama ve servis periyotları daha kısadır (Affifi ve ark., 1992). İlkbahar sonu ve yaz başında doğuran mandalarda gebe olmayan gün sayısının daha uzun oluşuna, malaklama sonrası periyodunda muntazam olmayan yumurtalık aktiviteleri, az belirgin geçen kızgınlık ve yetersiz kızgınlık kontrolü neden olabilir (Khattab ve ark., 1990). Mevsime bağlı malaklama süt verimi, laktasyon süresi ve malaklama aralığı üzerinde önemli etkiye sahiptir. Bu nedenle mevsimsellik, indirekt olarak ekonomik kayıplara yol açabilmektedir (Wahid, 1975; Gurnani ve ark., 1976).

Sürü Yönetimi

Kızgınlık kontrolü

Malaklama aralığının uzaması, manda yetiştiricilerinin önemli problemlerinden biridir. Bunun, özellikle sıcak mevsimde, büyük ölçüde, birinci ve ikinci ovulasyonlarda sakın geçen kızgınlık frekansının yüksekliği (%79) nedeniyle olduğu sanılmaktadır (Barkawi, 1986). Günde yapılan kızgınlık kontrolü sayısının artırılması (örneğin 2 den 3'e çıkarılması), sakın geçen birkaç kızgınlığın belirlenmesini sağlayabilir (Khattab ve ark., 1988), ve sonuç olarak malaklama aralığı kısalmır. Bu uygulama, gündüz-gece başlayabilen kızgınlıkların belirlenmesine, şüphesiz ki katkıda bulunabilir. Barkawi ve ark. (1997), malaklama mevsimi ile ilgili olarak Mısır mandalarının doğum sonrası periyodunda kızgınlık özelliklerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, hayvanların doğum sonrası periyodunda orta derecede cinsel davranış sergilediğini (%46), ortalama 11.6±0.5 saat olan kızgınlık süresinin, kızgınlığın tekrarlanması ile uzadığını, belirlenen kızgınlıkların büyük çoğunluğunun sabah erken (%36.5) veya akşam (%26.9) başlarken, %12 sinin gündüz (9:00-15:00 arası) başladığını bildirmektedirler. Kızgınlıkların %60'ının saat 15:00 ile ertesi gün saat 9:00 arasında başlayıp bitmesini araştırmacılar "ilginç" olarak değerlendirmektedirler. Araştırmacılar, mevsimin, kızgınlık süresi üzerine etkili olmadığını, mandaların sıcak mevsimde, 09.0-15.0 arasında kızgınlık gösterme oranının, soğuk mevsime oranla daha düşük olduğunu, geceleyin

başlayıp biten kızgınlık oranının, sıcak mevsimde %75, soğuk mevsimde %45 olduğunu kaydetmektedirler.

Sığırdada olduğu gibi, mandada da, malaklamadan sonra normal ovaryum aktivitelerinin ve seksüel fonksiyonların yeniden başlaması, özellikle de hayvanlar kötü sürü yönetim şartlarında tutulmakta iseler oldukça değişkendir (Barkawi ve ark., 1986). Mandalar için ideal malaklama aralığı 13-14 aydır. Bununla birlikte malaklamadan sonraki 100 gün içinde kızgınlık göstermeyen mandanın kondüsyonu, “malaklama sonrası anestrus” olarak isimlendirilir. Buna, kızgınlık siklusu içinde olan ve olmayan mandalar dahil edilebilir. Mandanın, buzağılamayı izleyen 100 gün içinde kızgınlık göstermemesi, henüz kızgınlığa gelmemiş olması nedeni ile olabileceği gibi, kızgınlığın tespit edilememiş olmasından da kaynaklanmış olabilir. Hayvan, inaktif ovaryum nedeni ile kızgınlığa gelmezse, bu gerçek bir anestrus olayıdır. Ya da normal ovaryum aktivitesi başlamış, ancak ya kızgınlığın belirsiz geçmesi, veya yetersiz kızgınlık kontrolü nedeni ile kızgınlığı tespit edilememiştir.

Doğumda uterus masajı

PGF₂α, malaklamada dişinin fertilesini artırır. Uterus masajı uygulanarak PGF₂α'nın salgılanmasının sağlanması, üreme etkinliğinin artırılması açısından yararlı bir yönetim stratejisi olabilir (Velez ve Randel, 1990). Son zamanlarda ruminant büyükbaş dişilerde, üreme performansının iyileştirilmesinde rektal palpasyonla yapılan uterus masajı üzerinde durulmaktadır (Guatimosim Filho, 1995). Düveler, ergin olmayışları, seksüel görünüşleri ve vücut büyüklükleri nedeni ile uterus masajına, sığırdan farklı bir şekilde cevap vermektedirler (Andrade, 1991). Mandada, bu konudaki bilgiler çok sınırlıdır. Yapılan bir çalışmada (Ribeira ve ark., 1997), doğum sonrası periyotta uterus masajının, gebelik oranında artış sağladığı, bu nedenle doğumda uterusu uygulanan masajın, servis periyodunu kısaltmakta kullanılabilecek önemli bir uygulama olduğu bildirilmektedir.

Hormon uygulama

Kısa ve uzun süreli Bovin somatotropin hormonu (BST) (Büyüme hormonu) uygulamalarının, sığırdada ve mandada süt verimini artırdığı bilinmektedir (Armstrong, 1988; Bauman ve Vernon, 1993; Phipps, 1993; Athar ve ark., 1994; Ferrara ve ark., 1989; Ludri ve ark., 1989). Ancak hala, süt verimini artırmak için BST uygulanan hayvanların döl verimi üzerine BST'nin etkisi kesin olarak belirlenmiş değildir. Bu konuda süt sığırlarında çelişkili araştırma sonuçları vardır. Bazı araştırmacılar (Cole ve ark., 1991; Eppard ve ark., 1985) süt sığırlarında BST uygulamanın döl verimi fonksiyonlarını etkilemediğini bildirirken, diğer bazıları (Weller ve ark., 1990) bu uygulamanın servis periyodunu ve her gebelik için gerekli aşım sayısını artırdığı bildirilmektedir. Bu konuda manda üzerinde yapılan araştırma, yok denecek kadar azdır. Usmani ve Athar (1997) süt mandalarında kısa süreli BST uygulamasının döl verimi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, Nili-Ravi ırkı üzerinde yaptıkları çalışmada, malaklamadan sonraki 60. günde tek doz halinde 320 mg

somidobove uygulamışlardır. Bu çalışmada deneme ve kontrol gruplarında saptanan bazı üreme özellikleri Çizelge 2’de verilmiştir. Kontrol grubu ile deneme grupları arasındaki farklılıkların, hiçbir özellik için önemli olmadığını, bu nedenle kısa süreli BST uygulamasının süt mandalarının üreme aktivitelerini olumsuz etkilemediği sonucuna vardıkları bildirilmiştir. Ancak şüphesiz ki, sadece kısa süreli BST uygulanan bir araştırma sonucuna göre bu konuda kesin hükme varmak mümkün değildir. Konuya açıklık getirmek için daha başka araştırmaların yapılmasına gereksinim vardır.

Tohumlama tekniği, ovulasyon zamanı, çiftleştirme mevsimi

Manda yetiştiriciliğinin entansif olarak yapıldığı İtalya gibi ülkelerde kızgınlık gösteren mandaların tespiti yüksek masraf gerektirmektedir. Düşük fertilitate nedeni ile sun’i tohumlamanın ise, pratikte rutin olarak kullanılma şansı azdır. Ayrıca böyle ülkelerde suni tohumlamadaki döl tutma oranı, Avrupa dışındaki manda yetiştiren ülkelere oranla düşüktür. Bu, Avrupa dışındaki ülkelerde çiftleşmenin, tabii çiftleşme mevsiminde yapılması ve kızgınlığı takip edilecek manda sayısının az olmasından kaynaklanmaktadır. Manda yetiştiriciliğinin entansif olarak yapıldığı özellikle Güney İtalya’da, her çiftlikte fazla sayıda hayvan bulunması, kızgınlık takibinde güçlük yaratmaktadır. En önemli neden ise, Mozarella peyniri için manda sütü talebi nedeni ile döl tutmanın, Mart-Eylül periyoduna getirilmesinin zorunlu oluşudur. Bu son söylenen neden, fertilitateyi düşürmektedir. Gerçekte, pozitif foto periyot aylarında (Ocak-Haziran), yumurtalıkların sıklık aktivitesi biraz azalmaktadır. Üreme etkinliğinin yükseltilmesi için, kızgınlık tespitinde vasectomize boğalar (operasyonla üreme faaliyeti durdurulmuş düşük genetik değerli boğalar) kullanarak sun’i tohumlama uygulanmalıdır (Zicarelli ve ark., 1997a). Sürüdeki optimal vasectomize boğa sayısı, en azından, tabii çiftleştirme ile fertilitateyi garanti etmek için gereken kadar (25 dişiye 1 erkek) olmalıdır.

Çizelge 2. Doğum sonrası ilk kızgınlık döngüsü için ortalama değerler^x

Özellik	Deneme grubu	Kontrol grubu
Buzağılama-ilk kızgınlık süresi (gün)	96.4	92.5
İlk aşımında döl tutma oranı (%)	66.7	62.5
Her gebelik için gerekli aşım sayısı	1.7	1.87
Servis periyodu (gün)	164	135
Buzağılama aralığı(gün)	473	439

^x Usmani ve Athar (1997)

Zicarelli ve ark. (1997a), suni tohumlamanın masraflarını azaltmak için yararlı olan kızgınlık senkronizasyonu ve suni tohumlama pratiğinde semenin yerleştirilmesi gereken ideal yer (uterus boynuzları veya servix) konularında mevcut bilgilere katkıda bulunmak amacı ile bir araştırma yapmışlardır. Şimdiye kadar, suni tohumlama pratiğinde semenin yerleştirilmesi gereken ideal yer konusunda detaylı çalışma yapılmamıştır. Mandada uterus boynuzları ve uterus gövdesi çapı, sığırınkine oranla daha küçüktür. Bu anatomik özellik nedeni ile semen yanlışlıkla uterus gövdesine değil,

iki boynuzdan birisine yerleştirilebilir. Normal olarak, sığırdan bu yanlışlık yapılmaz. Zicarelli ve ark. (1997a), derin olmayan (servixal) tohumlamaya karşı derin (uterus boynuzlarının cranial bölgesi) tohumlamanın, döl tutma üzerindeki etkisini PRID veya Crester ile senkronize edilmiş 337 ergin mandada (< >96 saat) ve 187 düvede (< >72 saat) araştırmışlardır. Crester, kuyruğun en üst kısmına deri altına implante edilerek uygulanmıştır. Henüz ovulasyon gerçekleşmemiş olan hayvanlara implantasyonun 2. gününde (düvelerde 72 saat, ineklerde 96 saat) birbirini izleyen 2 gün tohumlama yapılmıştır. Düvelerin %55.7'sinde, implantasyondan sonra 72 saat içinde, ergin mandaların %40.6'sında implantasyondan sonra 96 saat içinde ovulasyon olmuştur. Araştırmacılar, çiftlikteki manda sayısı ile fertilitite oranı arasında ters ilişki bulunduğunu, 96 saat sonra ovulasyonun gerçekleştiği mandaların daha düşük fertilitite oranı gösterdiklerini (%11.45, %29.17, P<0.01) bildirmektedirler. Ayrıca araştırmacılar, derin tohumlamada ergin mandaların döl tutma oranının daha yüksek olduğunu (%26.16, %10.47, P<0.01), ifade etmekte ve ulaştıkları sonuçların, mandada (düve, ergin) ovulasyon zamanında büyük farklar olduğunu teyid ettiğini, ancak hayvanlara derin tohumlama uygulayarak sağlanan daha yüksek fertilitite oranı (ki, implantasyondan sonra 24 saat içinde ovulasyon olmuş) ve iki tohumlama tekniği arasında fark olmadığı sonucuna vardıklarını da kaydetmektedirler.

İtalya'da manda üretimi, iki önemli problemden etkilenmektedir. Bunlardan birincisi boğaların döl kontrolündeki güçlüğüdür. İtalya'da suni tohumlama, sürüde kayıtlı mandaların sadece %4'ünde kullanılmaktadır. Çünkü yetiştiriciler, denenmiş boğalardan semen sağlanmadığından ve belirlenemeyen kızgınlık belirtileri ve suni tohumlamadaki düşük gebelik oranı nedenleri ile bu teknolojiye baş vurmaktan korkmaktadırlar. İkincisi ise mandada üremenin mevsime bağlı oluşudur. Doğal çiftleşme mevsiminde (sonbahar) döl tutmayan manda, bir sonraki yılın sonbaharına kadar anestrus olmaktadır. Çiftlik hayvanlarında kızgınlığı kontrol ve teşvik etmek için progesteron salgılayan intravaginal ekipman (PRID) kullanılmaktadır. PRID, içi progesteron ile doldurulmuş bir silikondan (sentetik kavuçu) ibarettir. İlkbahar ve yaz aylarında döl tutma oranının yükseltilmesi ve kızgınlık kontrolü problemi olmaksızın belli zamanlarda tohumlama yapabilmek amacıyla sonbaharda gebe kalmamış olan bir grup mandada, ilkbahar ve yaz mevsimlerinde bir progesteron pessary (lastik halka) kullanılmıştır (Barile ve ark., 1997). Düşük döl tutma mevsiminde kızgınlığı teşvik için PRID uygulamasına (PRID+PMSG+PGF₂α) alınan cevaplar üzerinde çalışılmıştır. 62 mandaya implantasyon yapılarak 10 gün süre ile hayvanda bırakılmıştır. İmplantların geri alınmasından sonra 62 hayvandan 39 başı tabii olarak çiftleştirilmiştir. Kalan 23 başı ise, PRID'in alınmasından 48, 72 ve 96 saat sonra olmak üzere 3 defa sun'i olarak tohumlanmıştır. Tohumlama zamanında bu hayvanlarda uterus ve yumurtalıkların durumu belirlenmiştir. Progesteron seviyesini belirlemek için 17 hayvandan PRID'in geri alındığı günden başlayarak 30. güne kadar her 5 günde bir defa kan örneği alınmıştır. Progesteron seviyesine ve rektal palpasyondaki klinik bulgulara dayanarak, PRID muamelesi ile iyi bir senkronizasyon oranına ulaşıldığı sonucuna vardıklarını bildiren araştırmacılar, teşvik edilen kızgınlıklarda gebelik oranının %21, toplam gebelik

oranının (3.kızgınlığa kadar) %56.5, teşvik edilen kızgınlıklarda sun'i tohumlamadan sonra gebe kalma oranının %34.8 olduğunu da kaydetmektedirler. Araştırma sonuçlarına dayanarak, mandada PRID uygulamasının, kızgınlığı senkronize etmekte ve ovulasyonu teşvikte kullanılabilceği, düşük çiftleştirme mevsiminde gebelik oranını arttırabileceği ve sun'i tohumlama programlarının etkinliğini yükseltebileceği söylenebilir.

İklim

Ruminant çiftlik hayvanlarında iklim stresi, pek çok fizyolojik değişikliğe ve üreme etkinliğinin azalmasına neden olabilir. Döl tutma oranı ile hava sıcaklığı ve nisbi nem arasında negatif ilgi vardır (Goswami ve Nair, 1964). Sığır ve mandada iklim faktörünün döl tutma oranını etkilediğini gösteren çeşitli araştırmalar mevcuttur (Gwazdauskas ve ark., 1974; Lee, 1993; Vicent, 1972). Tropikal bölgelerdeki düşük döl verim oranı çiftlik, besleme, semen fertilitesi, kızgınlık kontrolü düzeyi, tohumlayıcı etkisi, manda ineğinin genotipi, süt verimi, emme, yaş v.b. birçok sürü yönetim faktörünün yanında sıcak ve nemli iklim ile de ilgilidir (Baruselli ve ark., 1997a).

Baruselli ve ark. (1997a), sun'i olarak tohumlanmış 1098 mandanın döl tutma oranı üzerine sun'i tohumlamanın yapıldığı gün ve ertesi gün'e ait iklimsel faktörlerin (sıcaklık, nisbi nem, yağış, Güneş ışığına maruz kalma süresi) etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar toplam gebe kalma oranının %51 olduğunu, incelenen iklimsel etkilerin döl tutma oranı üzerinde istatistik olarak önemli etkiye sahip olmadığını bildirmektedirler.

Süperovulasyon

Embriyo transferi (ET) ile ilk manda buzağısının doğumunu başaran Drost ve ark. (1983)'nin, başarılı denemeleri üzerine, mandada süperovulasyon etkinliğini geliştirmek için birkaç araştırmacı çalışmıştır. İtalya'da mandada süperovulasyon ilk defa Schallenberger ve ark. (1990) tarafından yapılmıştır. Daha sonra domuz hipofiz ekstraktı kullanılarak çok sayıda araştırma gerçekleştirilmiştir (Zicarelli ve ark., 1991; Di Palo ve ark., 1994). Süperovule edilmiş her hayvanda toplam yumurta verimi, ortalama yumurta verimi, toplam ve transfer edilebilir embriyo sayıları literatür bilgilerinden farklı bulunmuştur. Bu denemelerde süper ovulasyon uygulamasını müteakip, %50 gibi yüksek oranda ovaryum kisti belirlenmiştir. Mandada kızgınlık döngüsünün, sığıra oranla daha çok değişken oluşu, daha düşük oosit popülasyonu ile mevsimsel ve iklimsel etkiler, mandada düşük olan süper ovulasyon etkinliğini kısmen açıklamaktadır (Boni ve ark., 1995).

Zicarelli ve ark. (1997b), mandanın embriyonik olarak üretimi için 89 mandayı 1000 IU domuz gonadotropin'i ile süper ovulasyona tabi tutmuşlardır. İlk ve ikinci defa doğuran mandalar, ikiden fazla sayıda buzağılanmış olanlara oranla daha yüksek sayıda ($P<0.05$) transferedilebilir embriyo (TE) vermişlerdir (2.52 ve 1.17). En az bir adet transfer edilebilir embriyo veren hayvanlar "Ovum Pick Up-OPU" ile ön muameleye tabi tutuldukları zaman az yumurta (3.38 ve 5.23), dominant folikül (DF) mevcut değilken,

daha fazla sayıda transfer edilebilir embriyo vermişlerdir (6.33, 2.81, $P<0.01$). OPU ile ön muameleye tabi tutulmayan hayvanlarda doğum sayısı (parity) ve DF'nin etkisi görülmemiştir (Zicarelli ve ark., 1997b).

Sığırdaki gebe kısrak serumu gonadotropin (PMSG) ile süper ovulasyon uygulandığında, morfolojik olarak iyi kalitede olan embriyoların üretimi oldukça değişkendir (Bever ve Dieleman, 1987). PMSG'nin, mandalarda da benzer etkisi görülmektedir. Kızgınlığın başlamasından sonra (prostaglandin enjeksiyonundan 60 saat sonra) PMSG'ye karşı anti serum uygulanması, transferedilebilir embriyo sayısını artırmaktadır (Vlahov ve ark., 1985).

Embriyo transferi

Embriyo transferinde (ET) modern biyoteknolojilerin gelişmesi ve invitro dölleme (IVEF), mandada et ve süt üretiminin artırılması için gereklidir (Singla ve ark., 1996). In vitro embriyo üretimi (IVEP), cinsiyet hücrelerinin bir yumurta üretim kaynağı olarak kullanılması, süper ovulasyonu ve embriyo transferini etkileyen teknik ve biyolojik sınırlamaların olumsuz etkilerinin öne çıkması nedenleriyle invivo embriyo üretiminden, daha fazla potansiyele sahiptir. IVEP'te bir vericiden (donör) alınan embriyo sayısı yüksektir (Boni, 1994). OPU tekniği, tekrarlanabilirlik özelliği nedeni ile, belli bir periyotta bir vericiden, hayvanın genital organına herhangi bir zarar vermeksizin aşırı derecede oosit toplamaya imkan vermektedir (Kruip ve ark., 1993).

Embriyonik ölümler ve erken gebelik teşhisi

Embriyonik ölümler, üreme etkinliğini düşüren önemli faktörlerden birisidir. Son yıllarda uterusun ultrasonla gözlenmesi, embriyonun kontrol ve gözlenmesinde bir metot olarak kullanılmaktadır (Beal ve ark., 1992). Sığırdaki embriyo ölüm oranı için literatür bilgileri %6.1'den (Kastelic ve ark., 1991), % 23'e (Chaffaux ve ark., 1986) kadar bir varyasyon göstermektedir. Mandada embriyonik ölümler üzerine sınırlı düzeyde bilgi sağlanabilmektedir. Tohumlanan mandaların büyük bir kısmı (%36), yeniden kızgınlık göstermekte gecikmektedir (Baruselli, 1994).

Ultrasonografi, erken gebelik teşhisinde ve embriyo ölümü olaylarının belirlenmesinde kullanılarak üreme fonksiyonlarını artırılmasına imkan sağlamaktadır. Ancak, erken embriyo ölümünün nedenlerini belirlemek üzere daha fazla araştırma yapılmasına gereksinim vardır (Baruselli ve ark., 1997b; Kastelic ve ark., 1991).

Erkek Mandaların Üreme Özellikleri

Murrah, Akdeniz ve Jafarabadi ırkları ile yapılan bazı araştırmalar (Crudeli ve ark., 1997), mandadaki genital gelişiminin, sığıra oranla daha yavaş olduğunu göstermiştir. Damızlık erkek malakların yetiştirilmesi çok önemlidir. Günlük canlı ağırlık kazancının yükseltilmesi, genellikle vücut doku ve organlarının erken kimyasal olgunluğa ulaşmasını sağlar. Bu ise, sonuçta çiftleşme organlarının, özel olarak da üreme kanalının gelişmesini teşvik eder. Damızlık erkek malakların erken eşeyssel olgunluğa

ulaşması, bu yetiştirme döneminin maliyetini düşürdüğü gibi, bu malakların, döl kontrolü ile yüksek genetik değere sahip oldukları belirlendiği takdirde, generasyon aralığını kısaltarak, bir generasyondaki genetik ilerlemeyi artırır. Ayrıca bu hayvanlar için, suni tohumlama merkezlerinde daha uzun üretken hayat sağlar. Şüphesiz ki, eşeyssel olgunluğa ulaşma yaşı üzerine etkin faktörler içinde genotip ilk sırada yer alır. Yapılan araştırmalar besleme düzeyinin cinsel isteği, semen hacmini, semen yoğunluğunu, kütle motilitesini, hücre motilitesini, ölü spermleri, anormal spermleri, her ml deki sperm ve fruktoz konsantrasyonlarını önemli derecede etkilediğini göstermiştir (Ashry ve ark., 1996).

Erkek hayvan, tohumlamada kullanılmadan önce cinsel özellikleri açısından değerlendirilir. Bu değerlendirme, semen değerlendirmesi ile genital organlarının klinik olarak morfolojik bakımdan değerlendirilmesini kapsar. Değerlendirme sonunda normal bulunmayanlar tohumlamada kullanılmazlar (Salisbury ve Van Denmark, 1961).

Manda boğalarının üreme etkinliğinin artırılması, mükemmel bir andronolojik çalışma gerektirmektedir. Mısırdaki Mohamed (1997), 212 adet 1-5 yaşlı olan canlı ve 21 kesilmiş manda üzerinde scrotum'un anatomik ve morfolojik özelliklerini, klinik incelemelerle çalışmıştır. Scrotum içeriğinin (scrotal torba, testisler, epididimis ve kanallar) çapı, ağırlığı ve hacminin, yaşın ilerlemesi ile önemli derecede arttığı belirlenmiştir.

Sperm özellikleri ve bunlar üzerine etkin faktörler

Optimal kalite özelliklerine sahip olan dondurulmuş sperma elde etme koşullarından birisi, dondurma biyo-sisteminin fonksiyonel yapısıdır. Manda boğası sperm üretimi, iklimsel faktörlerden oldukça etkilenir. Manda sperm üretimini karakterize eden hacim, başlangıç hareketliliği ve semende spermatozoa yoğunluğu gibi özellikler; ırk, semen alma ayı ve yılı, boğanın yaşı, çevrenin nisbi nemi ve ısı gibi faktörlerden önemli derecede etkilenmektedir. Murrah ırkı mandalardan sağlanan ejakülat miktarı, Bataklik mandalarına oranla ortalama 0.72 ml daha fazla olup, ortalama sperm hücresi konsantrasyonu $1116.01 \times 10^6 / \text{mg}$ dır (Kolev, 1997).

Selenyum'un düşük fertilité üzerine etkisi: Selenyum (Se) hayvanlar için esas olan bir besin maddesidir. Son birkaç yılda Mısır'da çoğu ıslah merkezlerinde ekonomik bir araç olarak Se'un biyolojik olarak kullanımı düşünülmüştür.

Erkek mandalarda cinsiyet hormonları üzerindeki bilgiler, son derece azdır. Steroid hormon seviyelerinin, seminal kalitenin kötüleşmesi üzerine etkin olduğu, bazı araştırmalarda bildirilmektedir (Dixit ve ark., 1985; Li ve ark., 1988). Youssef ve ark. (1997), Mısır manda boğalarında Se enjeksiyonunun, seminal ve serum steroid hormonları (testesteron ve estradiol) üzerindeki rolünü, semen fiziksel özelliklerinin uygunluğunu araştırmışlardır. Araştırmacılar, seksüel olarak olgun, semen kalitesi düşük olan 5 adet manda boğasına sodyum selenite olarak Se enjekte etmişlerdir. Her deneme hayvanına toplam 90 mg Se uygulanmıştır. Ancak uygulama, toplam doz üçe bölünerek birer hafta aralıklarla üç defada enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan sonra bu hayvanların

seminal plazmasının ve kan serumunun testosteron seviyeleri önemli derecede artmıştır (Sırasıyla 1.99 ve 2.84 ng/mg ve 1.17 ve 1.32 ng/mg). Bununla birlikte seminal ve serum esradiol seviyeleri önemli derecede düşmüştür (Sırasıyla 10.98 ve 17.60pg/ml; 2.07 ve 90.01 pg/ml). Bu sonuçlar, Se'un, semen kalitesi üzerindeki olumlu etkisini göstermektedir (Youssef ve ark., 1997).

Kaynaklar

- Afifi, E.A., M.H. Khalil, L.H. Bedeir, S.M. Zeidan, 1992. Genetic analysis of reproductive traits in Egyptian Buffaloes. *Egypt J. Anim. Prod.*, 29, No: 2, 139-154.
- Andarade, V.J., 1991. Manejo Alternativo da Produção em Bovinos de Corte, *Caderno Tecnico da Escola de Veterinaria da UFMG*, 6, 29-54.
- Armstrong, D.G., 1988. The Implications of Biotechnology for Livestock Production, Nutrition and Health. *Nut. Abstr. And Reviews*, 58: 415-426
- Ashry, M.A., S.O. Amin, A.A. Ali, Y.A. Mekkawi, 1996. Effect of Plane of Nutrition on Performance, and Reproductive Traits of Growing Buffalo Male Calves International Symposium on Buffalo
- Athar, I.H., R.H. Usmani, A.G. Khan, J.D. Warsey, 1994. Effect of Recombinant Bovine Somatotropin on Yield and Composition of Milk in Dairy Buffaloes. *Proceeding, First Anisian Buffalo Association Congress, Khon Kaen, Thailand*, 265-267.
- Barile, V.L., A. Glasso, E. Marchiori, A. Borghese, 1997. Effect of PRID Treatment on Estrus Synchronization and Progesterone Levels in Italian Buffaloes. *5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, Caserta, Italy, Proceedings*, 738-743.
- Barkawi, A.H., M.M. Shafie, Y. Mekawy, M.B. Aboul-Ela, 1986. The Use of Serum and Milk Progesterone Concentration to Monitor Post-Partum Ovarian Activity in Egyptian Buffaloes. *Buffalo, J.*, 2, 125-134.
- Barkawi, A.H., M.A. El-Wardani, R.M. Khattab, 1997. Post-Partum Estrous Behavior and Related Phenomena of Egyptian Buffaloes in Relation to Season of Calving. *5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, Proceedings*, 710-715.
- Barnabe, R.C., V.H. Barnabe, M.C. Guido, M.L. Gambarini, M.A. Zogno, P.S. Baruselli, 1995. Out of Breeding Season Mating of Buffalo Heifers Through Food Supplementation. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 19, 47-59.
- Barnabe, R.C., V.H. Barnabe, M.C. Guido, P.S. Baruselli, M.A. Zogno, 1997. Onset of Ovarian Activity in Murrah Buffalo Heifers. *5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., Caserta, Italy, Proceedings*, 702-705.
- Baruselli, P.S., 1994. Sexual Behavior in Buffaloes. *IVth World Buffalo Congress, Sao Paulo, Brasil*, 1, 158-173.
- Baruselli, P.S., V.H. Barnabe, R.C. Barnabe, J.A. Visintin, A.C. Souza, J.H. Ikeda, 1997a. Climatic Fails to Affect Conception Rate of Buffalo Cows Artificially Inseminated. *5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, Caserta, Italy, Proceedings*, 744-747.
- Baruselli, P.S., J.A. Visintin, V.H. Barnabe, R.C. Barnabe, R. Amaral, A.C. Souza, 1997b. Early Pregnancy Ultrasonographic Diagnosis and Embryonic Mortality Occurrence in Buffalo. *5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, caserta, Italy, Proceedings*, 776-778.
- Bauman, D.E., R.G. Vemon, 1993. Effect of exogenous bovine somatotropin on lactation. *Annu. Rev. Nutr.*, 13: 437-461.

- Beal, W.E., R.C. Perry, L.R. Corah, 1992. The Use of Ultrasound Monitoring Reproductive Physiology of Beef Cattle. *J. Anim. Sci.*, 3, 924-929.
- Bevers, M.M., S.J. Dieleman, 1987. Superovulation with PMSG: Follicular Growth and Variations in the Peripheral Blood Concentration of Progesterone, Oestradiol, LH, Cortisol, Prolactin and PMSG. *Anim. Reprod. Sc.*, 15: 37-52.
- Boni, R., 1994. In Vivo Collection of Oocytes and Embryos in Bovine and Buffalo Species. *Buffalo J. supplement*, 2: 161-171.
- Boni, R., L. Zicarelli, T. Krup, 1995. Impact of Ovum Pick-up (OPU) Technique for Research and Animal Breeding. *Proc. Symp. On Reproduction and Anim. Breeding: Advances and Strategy*, 211-221.
- Borghese, A., G.M. Terzano, V.L. Barile, G. Annichiarico, A. Parmeggiani, 1993. Prospects of Buffalo Produc. In the Medit. And in the Middle East. *EAAP Pubbl. No: 62: 370-373.*
- Borghese A., V.L. Barile, G. Ficco, A. Galasso, E. Marchiori, G.M. Terzano, 1997. Feeding Sstem Effect on Rproduction Prformances in Bffalo Hifers. *World Buffalo Congress*, 13-16 Oct., 1997, Caserta, Italy, *Proceedings*, 697-701.
- Chaffaux, S., G.N.J. Reddy, F. Valon, M. Thibier, 1986. Transrectal Real-Time Ultrasound Scanning for Diagnosis Pregnancy and or Monitoring Embriyonic Mortality in Dairy Cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, 10, 193-200.
- Chantalakhana, Ch., 1981. *Res. Adv. Buff. Develop. FFTS*, Thawan, 131. De Franciscis, G., 1988. *Proc. II World Buffalo Congress*, India, V.1 Part 1, 21.
- Crudeli, G.A., V.P. Maldonado, S.M. Flores Barbaran, 1997. Reproductive Evaluation of Male Buffalo in the Argentina North-Eastern. *5th World Buffalo Congress*, 13-16 Oct., 1997, Caserta, Italy, *Proceedings*, 865-868.
- Cole, W.J., K.S. Madsen, R.L. Hintz, R.J. Collier, 1991. Effect of Recombinantly Derived Bovine Somatotropin on Reproductive Performance of Dairy Cattle. *Theriogenology*, 36(4): 575-595.
- De Silva, L.N.A., B.M.A.O. Perera, L. Tilakaratne, L.E. Edqvist, 1985. Production Systems and Reproductive Performance of Indigenous Buffaloes in Sri Lanka (Monograph). *Swedish Univ., of Agric. Sci., Uppsala, Sweeden*, 142.
- Di Palo, R., C. Di Meo, G. Ferrari, L. Zicarelli, 1994. Interrelazione Tra Alcune Costanti Ematochimiche e Produzioni Quali-Quantitative di Latte Di Bufula. *Atti Con. A.S.P.A.*, 8, 489.
- Dixit, N.K., S.P. Agrawal, A.K. Dwarakanth, 1985. Seasonal Variation in Serum Levels of Steroid Hormones and Their Relation With Seminal Quality and Lipids in Buffalo Bulls. *Theriogenology*, 24: 293-303.
- Drost, M., J.M. Wright, W.S. Cripe, A.R. Ritcher, 1983. Embriyo Transfer in Water Buffalo (Bubalis Bubalis). *Theriogenology*, 20: 579-584.
- El-Bedawy Sabbah, T.M., M. Allam, A.F. El-Kholy, A.K. Basiog, 1996. Response of Growing Buffalo Calves to Fat Containing Rations. *International Symposium on Buffalo Resources and Production Systems*. 14-17 Oct., 1996, Cairo, Egypt, 106.
- El-Nenaey, M., H. Soheir, A. Fawzy, R.M. Khattab, 1996. Effect of Vitamine E and Selenium Supplementation on Productive and Reproductive Performance of Egyptian Buffaloes. *International Symposium on Buffalo Resources and Production Systems*. 14-17 Oct., 1996, Cairo, Egypt, 62-69.
- Eppard, P.J., D.A. Bauman, S.N. Mccutcheon, 1985. Effect of Dose of Bovine Growth Hormone on Lactation of Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 68: 1109-1112.

- Esposito, L., R. Di Palo, G. Campanile, R. Boni, N. Montemuro, 1993. Onset of Ovarian Activity in Italian Buffalo Heifers. Note III. Prospects of Buff. Produc. In the Medit.and in the Middle East. EAAP Publ. No: 62: 374-377.
- Ferrara, L.A., F. Di-Laccia, G. Mannit, F. Piva, F. Masoero, L. Fiorentini, G. Litta, 1989. The Effect of Somidobove (Biosynthetic Bovine Somatotropin) on the Production and Quality of Buffalo Milk. Asian-Australian J. Anim. Sci., 2: 12-16.
- Goswami, S.B., A.P. Nair, 1964. Effect of Some Climatological Factors on Reproduction of Buffaloes (Bubalus Bubalis). Indian J.Vet.Sci., 34, 127-134.
- Guatimosim Filho, V., 1995. Massagem Uterine e Intervalo do Parto ao Primeiro Cio em Femeas Zebus Multiparas Belo Horizonte. Escola de Veterinaria da UFMG, 1995, 45. Dissertação (Mestrado).
- Gurnani, M., R. Nagarcenkar, S.K. Gupta, A. Singh, 1976. Seasonality of Calving and its Influence on Economic Characters in Murrah Buffaloes. Indian J. Dairy Sci., 29: 173.
- Gwazdauskas, F.C., C.R. Wilcox, W.W. Thatcher, 1974. Environmental and Managemental Factors Affecting Conception Rate in Subtropical Climate. J. Dairy Sci., 58, 88-92.
- Kamonpatana, M., C. Pansin, V. Timsard, A. Limsakui, A. Vechabusakom, S. Savasrı, R. Parnpai, P. Pikultong, 1987. Indication of Puberty as Related to Fertility Based on Body Weight, Age and Profiles of Reproductive Hormones in Swamp Buffaloes. Buffalo J., 2, 181-195.
- Kastelic, J.P., D.L. Northey, O.J. Ginther, 1991. Spontaneous Embryonic Death on Day 20-40 in Heifers. Theriogenology, 35, 351-363.
- Khattab, R.M., A.H. Barkawi, M.B. Aboul-Ela, 1988. Buffalo, J., 4(2): 173.
- Kolev, S.I., 1997. Phenotypic Variety of Some Traits of Buffalo Bull's Sperm. 5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, Caserta, Italy, Proceedings, 829-832. c
- Kruip, Th.A.M., R. Boni, M.W.N. Roelofsen, Y.A. Wyrth, M.C. Pieterse, 1993. Application of OPU for Embryo Production and Breeding in Cattle. Theriogenology, 39: 251.
- Lee, C.N., 1993. Environmental Stress Effects on Bovine Reproduction. Vet. Clin. North Amer. 9, 263-273.
- Li, Y.P., J.H. Zhang, B.X. Li, J.G. Wu, X.A. Wang, 1988. Relationship Between Changes of Plasma Testosterone. 17-B Estradiol Levels and Breeding Performances in Male Buffaloes. 11th International Congress of Animal Reproduction. AI. 1980, No: 40.
- Ludri, R.S., R.C. Upadhyay, M. Singh, J.R. Guneraine, N. Basson, 1989. Milk Production in Lactating Buffalo Receiving Recombinantly Produced Bovine Somatotropin. J. Dairy Sci., 72: 2283-87.
- Mohamed, M., 1997. Morphological and Anatomical Characteristics of Male Genital Organs of Egyptian Buffaloes 1. Scrotal content. 5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, Casertai Italy, Proceedings, 815-819. 1
- Phipps, R.H., 1993. Effect of Bovine Somatotropin on Milk Production in the Tropics: a review. J. Dairy Sci., 76(suppl 1): 207-208.
- Popovici, I., O. Plugaru, A. Mulea, A. Pop, 1991. The Influence of the Month of Calving on Some Performances in Buffalo Cows Production. Third World Buffalo Congress, Varna, May 13-18, Abstracts: 63.
- Reddy, K.M., R.R. Mishra, 1980. Effect of Age at First Calving on Lactation Components and Calving Distribution in Murrah Buffalo. Indian J. Dairy Sci., 33: 3.

- Riberio, H.F.L., W.G. Vale, V.J. Andrade, 1997. Use of Uterine Massage Through the Puerperium as a Strategy to Improve Rreproductive Efficiency in Buffaloes. 5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, Caserta, Italy, Proceedings, 722-724.
- Sabra, H.A., S.I.A. Shalaby, S.A. Badawy, S.G. Hassan, M.F. Nawito, 1997. Effect of Mineral Mixture Supplementation on Postpartum Period in Buffaloes. 5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, Caserta, Italy, Proceedings, 809.
- Sadhu, T.S., 1985. First World Buffalo Congress, Cairo, VII, 187.
- Salisbury, G.V., N.L. Van Denmark, 1961. Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of Cattle. W.H. Freeman and Co., London.
- Schallenberger, E., H.G. Wagner, R. Papa, P. Harti, H. Tehumberg, 1990. Endocrinological evaluation of the induction of super ovulation with PMSG in water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Theriogenology*, 34: 379-392.
- Singla, S.K., R.S. Manik, M.L. Madan, 1996. Embriyo Biotechnologies in Buffaloes: A review. *Bubalus Bubalis* 1: 53-63.
- Usmani, R.H., I.H. Athar, 1997. Effect of Short Term Treatment With BST on Ovarian Activity and Fertility of Dairy Buffaloes. 5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, Caserta, Italy, Proceedings, 728-731.
- Velez, J.S., R.D. Randel, 1990. Effect of Uterine Manipulation on Postpartum Fertility and Plasma 13, 14-dihydro-15 keto-prostaglandin F₂α' in Multiparous Brahman cows. *J. of Anim. Sci.*, 68(5), 1389-1394.
- Vicent, C.K., 1972. Effects of Season and High Environmental Temperature on Fertility in Cattle: A Review. *J.A.V.M.A.*, 161, 1333-1338.
- Vhalov, K., C. Karaivanov, C. Petrov, M. Peterov, D. Racheve, A. Alexiev, O. Polihrohov, A. Danev, 1985. Studies on Superovulation and Embriyo Transfer in Water Buffalo. Proc. 1st World Buffalo Congress, Cairo, Egypt, Dec. 27-31, 8: 510-512.
- Wahid, A., 1975. In "Livestock Resources of Pakistan" Monograph No: 7, Pakistan Buffaloes, Univ. of Karachi, 32.
- Weller, R.F., R.H. Phipps, N. Craven, C.J. Peel, 1990. Use of prolonged release bovin somatotropin for milk production in British Friesian dairy cows. 2. Effect on health and reproduction in two consecutive lactations of treatment. *J.Agric.Sci.Cambridge*, 115: 105-112
- Youssef, R.H., M. Marzouk, M. Mohamed, G. Abdel Malak, H. Ezzo, 1997. Effect of Selenium Injection Gonadal Steroids in Low Fertilitie Egyptian Buffalo Bulls. 5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, Caserta, Italy, Proceedings, 856-860.
- Zicarelli, L., B. Dale, G. Campanile, R. Di Palo, R. Boni, L. Esposito, 1991. Superovulation and Embriyo Transfer in *Bubalus Bubalis* Proc. VII European Congress of E.T. (A.E.T.E) Cambridge, 220.
- Zicarelli, L., C. De Filippo, M. Francillo, C. Pacelli, E. Villa, 1997a. Influence of Insemination Technique and Ovulation Time on Fertility Percentage in Synchronized Buffaloes. 5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, Caserta, Italy. Proceedings, 732-737.
- Zicarelli, L., R. Boni, G. Campanile, S. Roviello, B. Gasparrini, R. Di Palo, 1997b. Response to Superovulation According to Parity, opu Priming, Presence/Absence of Dominant Follicle and Season. 5th World Buffalo Congress, 13-16 Oct., 1997, Caserta, Italy, Proceedings, 748-753.