

**DÜVELERDE CLOPROSTENOL UYGULAMASI SONRASINDA KONSEPSİYON VE
EMBRYONİK ÖLÜM ORANLARININ KAN PROGESTERON HORMONU
DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜMÜ İLE ARAŞTIRILMASI***
(Determination of conception and embrionic loss rate by Monitoring Peripheral Serum Progesterone
Levels in Heifers Induced Their Estrus with Cloprostenol)

Can BAKLACI¹

Rıfat VURAL¹

1. Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, 06110, Dışkapı, Ankara

ÖZET

Sunulan çalışmada, seksüel siklusun 12'nci günü cloprostenol enjekte edilerek östrusları senkronize edilen düvelerde gebe kalma ve gebeliğin 22'nci gününden sonra şekillenebilecek olası embriyonik ölüm oranlarının , serum progesteron düzeyi izlenerek belirlenmesi amaçlandı.

Çalışmada 80 baş Holstein düve, uygulama (n=60) ve kontrol (n=20) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Uygulama grubuna siklusun 12'nci günü 526 mikrogram cloprostenol sodium enjekte edilirken; kontrol grubundaki düvelere hiç bir uygulama yapılmadan ilk gözlenen spontan östruslarında tohumlandılar. Uygulama grubunda, enjeksiyon sonrası 96 saate kadar östruslar gözlemlendi. Gözlenen östruslarda, östrusun başlamasını izleyen 12 saat sonra tek, 72 saate kadar östrus gözlenemeyen hayvanlarda ise 72 ve 96'ncı saatlerde çift tohumlama gerçekleştirildi. Çalışmaya alınan tüm hayvanlar, tohumlamayı izleyen 22'nci günden itibaren 60'ncü güne kadar haftada 2 kez vena jugularis'den kan alınarak periferik serum progesteron düzeyleri EIA yöntemi ile belirlendi.

Uygulama grubunda, siklusun 12'nci günü yapılan PGF₂ α enjeksiyonu sonrasında, düvelerin %93,4'ü 72 saat içinde gözlenebilir östrus gösterirken %6,6'sı östrus belirtileri göstermeden tohumlandı. Bu tohumlamalarda sırası ile %71 ve %25 oranlarında gebelik elde edildi. Serum progesteron düzeylerine bakıldığında tohumlamayı izleyen 22 günde uygulama grubunda %80 gebelik oranı belirlenirken tohumlamayı izleyen 60'ncü günde bu oranın %68,3'e düştüğü; buna karşılık, kontrol grubunda aynı dönemlerde elde edilen gebelik oranlarının ise sırası ile %95 ve %90 olduğu saptandı. Progesteron düzeyleri izlenerek gebeliklerin 22-45 'nci günleri arasında uygulama grubunda 7 hayvanda ve kontrol grubunda 1 hayvanda embriyonik ölüm gözlemlendi (p <0.01). Uygulama grubunda embriyonik ölüm şekillenen 7 hayvanın 6'sında tohumlamayı izleyen 22 ve 27'nci günlerdeki serum progesteron düzeylerinin aynı dönemdeki normal gebelik seyri gösteren düvelere göre belirgin bir düşüklük gösterdiği saptandı (p <0.05). Tohumlamayı izleyen 22'nci günden itibaren serum progesteron düzeyi düşmeye başlayan hayvanlarda 3-5 gün içinde östrus gözlenirken; 30'ncü günden itibaren serum progesteron düzeyi düşmeye başlayan düvelerde ise 6-27 gün arasında değişen sürede östruslar gözlemlendi.

Sonuç olarak; seksüel siklusun 12'nci günü PGF₂ α enjekte edilen düvelerde ilk tohumlamada elde edilen gebelik oranlarının spontan östrus gösterip tohumlanan düvelere göre düşük olduğu; tohumlamayı izleyen 22-45'nci günler arasındaki embriyonik ölümlerin gebeliğin 22, 27 ve 30'ncü günlerinde ölçülen serum progesteron düzeyleri ile belirlenebildiği ve luteal regresyonun başlaması ile gözlenebilen östrus arasındaki sürenin, gebeliğin dönemine bağlı olarak, 3-27 gün arasında değişebileceği saptandı.

Anahtar Kelimeler: Embriyonik Ölüm, Düve, PGF₂ α, Serum Progesteron

SUMMARY

The aim of the this study was to determine conception and embrionic death rate by monitoring peripheral serum progesterone concentrations in heifers induced their estrus with cloprostenol at day 12 of the estrus cycle.

In this study, 80 Holstein heifers were assigned to two groups as treated (n=60) and control (n=20). While the treated heifers were received 526 microgram cloprostenol sodium at day 12 of estrus cycle, heifers in the control group were inseminated at the first detected spontaneous estrus. In the treated group, observation of the estrual activity of heifers were maintained for 96 hours following administration of PGF₂ α and they were inseminated approximately 12 h after the initial observation of estrus. In this group, heifers which had not been showed the estrual activity until 72 h were inseminated at 72 and 96 h after PGF₂ α injection. Blood samples for progesterone assay were drawn from jugular vein puncture 2 times weekly between the days 22 and 60 of the gestation.

While 93.4 percent out of heifers receiving PGF₂ α did exhibit behavioral estrus within 72 h , the remaining heifers in treated group (6.6%) didn't show standing heat. In treated group, while the pregnancy rates of heifers exhibited the standing heat were 71%, in contrast, heifers that had failed to respond with behavioral estrus to injection were 25% in the first service. Whereas conception rate of treated group was 80 percent at day 22, pregnancy rate was fell to 68.3 percent at day 60. Untreated control heifers in the same herds achieved a 95% conception and 90% pregnancy rate. As heifers with a serum progesterone concentration of 2.0 ng /ml or higher were considered pregnant, there was an apparent loss of seven pregnancies in the treated group between 22-45 day postinsemination as compared to one loss in the control group (p <0.01). Six out of these seven heifers which had embrionic loss were showed a marked decrease of progesterone levels on day 22 and day 27 after insemination as compared to heifers which had normal pregnancy at similar pregnancy time (p <0.05). While heifers began to decline the progesterone levels at day 22 of the pregnancy were exhibited behavioral estrus 3-5 days later, after day 30 of the pregnancy , estrus were observed 6-27 days later.

These study results had been indicated that heifers treated with PGF₂ α at day 12of the estrus cycle could be had lower pregnancy rate as compared with untreated control, that embrionic death could be detected to monitor peripheral serum progesterone concentration on day 22, 27 and 30 of pregnancy and also that the interval between the onset of luteal regression and behavioral estrus in embrionic loss could be varied among 3-27 days .

Key Words: Embrionic Death, Heifer, PGF₂ α, Serum Progesterone

GİRİŞ

Süt ineği yetiştiriciliği yapılan işletmelerde, ekonomik sınırları aşmadan hedeflenen fertilitite verilerinin yakalanmasında, çeşitli nedenlere bağlı embriyonik ölümler önemli engeller olarak karşımıza çıkmaktadır. Son yıllarda, sütçü işletmelerde, önemli ekonomik ve zaman kaybına neden olan embriyonik ölümler, ultrasonografi gibi görsel teknolojik gelişmelerin artması ile birlikte tohumlamayı izleyen ilk 21 gün gibi kısa bir süre içinde belirlenmeye çalışılmaktadır. Bu yöntemler arasında gebeliğin 22-45'inci günleri arasında serum, plazma veya süt progesteron düzeyleri izlenerek, embriyonik ölümlerin şekillenebileceği kritik günlerin saptanması ve bu saptama-

lar doğrultusunda saha veteriner hekimleri için gebeliğin belli standart dönemlerinde alınacak örnekler ile embriyonik ölümlerin en kısa süre içinde tanınması ve yorumlanması dünyada son yıllarda üzerinde yoğunlaşılan konulardan biridir.

İnek ve düvelerde, östrusun kontrolüne yönelik uygulamalar; ya corpus luteumun yaşam sürecini etkileme (PGF₂α, östrojenler) ya da corpus luteum fonksiyonunu taklit etme (progesterinler) prensibine dayanmaktadır (7). Sığırlarda östrusun kontrolünde, luteolizisi başlatarak etkisini gösteren, PGF₂α ve analogları, pratik ve sıklıkla kullanılan preparatlardır (18). Düvelerde PGF₂α uygula-

malarına en yüksek gözlenebilir östrus yanıtı, siklusun 12'nci gününden sonra yapılan $PGF_2\alpha$ enjeksiyonlarından elde edilmiştir (7). $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu ve östrus gözlem aralığı; siklusun dönemine, uygulama anında mevcut dominant follikülün aşamasına ve corpus luteumun gerileme hızına bağlıdır (7,21). İneklerde $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu ve östrus gözlem aralığı ortalama 60-72 saat arasında değişmekle birlikte; düvelerde seksüel siklusun 5-8'nci günleri arasında yapılan enjeksiyonlarda belirtilen aralığın ortalama 48-59 saat arasında, siklusun 12-15'inci günü arasında yapılan uygulamalarda ise bu aralığın ortalama 53-72 saat arasında değiştiği gözlenmiştir (28, 40, 41, 43).

Bir kısım araştırmacılar, östrusu uyarmak amacı ile $PGF_2\alpha$ enjekte edilen ineklerde gebelik oranının kontrol grubu ile bir farklılık göstermediğini belirtirken (8, 9); Graves ve ark (15) ile Morell ve ark (31), $PGF_2\alpha$ uygulamaları ile senkronize edilmiş östruslarda yapılan tohumlamalarda embriyonik ölümlerin şekillenebileceğini ve kontrol grubuna göre daha düşük bir gebelik oranı ile karşılaşılacağına vurgulamışlardır.

Gebeliğin devamlılığında, corpus luteum, embriyo ve uterus arasındaki ilişki ve bağlantının önemli rolü vardır (22, 38). Progesteron hormonu sığırlarda gebeliğin devamlılığında etkin ve gerekli hormonlardan biridir. Düvelerde gebeliğin 25'nci günüden önce şekillenen embriyonik ölümlerde, luteal gerileme ve ovulasyon, embriyonik ölümlerle eş zamanlı olarak gözlenirken; 25'inci günden sonra oluşan embriyonik ölümlerde, luteal gerileme ve çiftleşmeyi izleyen ikinci

ovulasyonun, embriyo-nik ölümleri izleyen 3-42 gün arasında değişen bir sürede şekillendiği vurgulanmaktadır (26).

Embriyonik ölüm saptanan ineklerde corpus luteum çapı ve progesteron düzeyinin, gebeliğin devam ettiği ineklere göre belirgin bir farklılık gösterdiği saptanmıştır. Aslan ve ark. (5), embriyonik-fötal ölüm ve corpus luteum çapı arasındaki ilişkiyi ultrasonografik ve endokrinolojik olarak inceledikleri çalışmalarında, gebeliğin 18, 38, 48 ve 58'nci günlerinde şekillenmeye başlayan yavru kayıplarında corpus luteum çapını sırası ile 1,3; 1,1; 1,46 ve 1,6 cm olarak belirlerken aynı dönemde yavru kayıpları şekillenmeyen hayvanlarda corpus luteum çapını sırası ile 1,99; 2,02; 2,12 ve 2,2 cm olarak gözlemişlerdir. Araştırmacılar, belirtilen gebelik dönemlerinde yavru ölümü şekillenen hayvanlarda kan serum P4 değerlerini (nmol/l) sırası ile 0,8; 1,2; 4,3 ve 3,99 olarak ölçerlerken aynı dönemlerde gebeliğin normal seyrettiği hayvanlarda 25,8; 26,97; 28,53 ve 32,64 nmol/l olarak bulmuşlardır.

Drost ve ark. (11), gebeliğin 21 ve 63'üncü günleri arasında embriyonik ve fötal ölüm şekillenen ineklerden haftada iki gün alınan süt örneklerinden elde edilen progesteron değerlerinin normal gebelik seyri gösteren ineklere göre daha düşük olduklarını vurgulamışlardır.

Embriyonik ölümlerin tanısında, günümüzde, ultrasonografik muayene yöntemleri ile zigot-embriyonun elde edilmesine yönelik direkt yöntemlerin (27, 34) yanısıra; siklus uzunluklarının gözlemlendiği ve embriyonik gelişim süresince kan serum-plazma ve süt hormon

düzeylerinin ölçüldüğü indirekt yöntemler (34) de kullanılmaktadır.

Bu çalışma ile, östrus siklusunun 12'nci günü cloprostenol enjekte edilerek östrusları senkronize edilen ve spontan östrus gösteren Holstein düvelerde, tohumlamayı izleyen 22-45'inci günler arasında şekillenebilecek embriyonik ölümlerin, serum progesteron düzeyleri takip edilerek belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

Bu çalışma, Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Karacabey Tarım İşletmesi'ne ait, canlı ağırlığı 320-350 kg arasında değişen ve pubertasa ulaşmış 80 baş Holstein Fresian düve üzerinde gerçekleştirildi. Çalışma grubunu oluşturan hayvanlar, kayıt taraması yapılarak ve 10 gün ara ile çift rektal palpasyon ve jinekolojik muayene uygulanarak (1); doğumsal anomali ve reproduktif problemi bulunmayan ve düzenli siklus gösteren düveler arasından seçildi. Çalışmaya alınan düvelerin tamamı daha önce tohumlanmamış olup, yarı açık yetiştirme sistemi içinde günlük hayvan başına 5 kg % 13-14 protein içeren kesif yem, 15 kg bezelye sapı silajı ve ortalama 2 kg saman sapı ile beslenmekteydi.

Metot

Çalışmada kullanılan 80 baş düvenin 60 başı uygulama (grup I) ve 20 başı ise kontrol grubu olarak (grup II) ayrıldı. Doğal östrusları izleyen 12'nci gün rektal palpasyon yöntemi ile corpus luteum belirlenen, grup I'deki 60 baş düvenin gluteus kasına 526 µg cloprostenol sodium (PGF₂α analogu,

Estrumate, 263 mg/ ml, Doğu İlaç) enjekte edildi. Kontrol grubundaki 20 baş düveye ise herhangi bir uygulama yapılmaksızın spontan östrusları gözlemlendi.

Östrusların Takibi

Grup I'de PGF₂α enjeksiyonunu izleyen 24'ncü saatten itibaren 96'ncı saate kadar; grup II'deki düvelerde ise hergün sabah 07⁰⁰, öğlen 13⁰⁰ ve akşam 19⁰⁰ saatlerinde yarım saat süre ile östrus belirtileri araştırıldı. Vulvada ödem, çara akıntısı bulunan ve üzerine bir başka hayvanın atlamasına izin veren düveler östrusta oldukları düşünülerek jinekolojik muayene için ayrıldılar. Rektal muayenede, ovaryumda ortalama 1,5 cm'nin üzerinde follikül bulunan, uterusu ödemli ve tonositesi artmış ve vaginal muayenede vaginada ödem, cervix ve anterior vaginada müköz akıntı birikintisi gözlenen düveler sun'i tohumlama amacıyla ayrıldılar.

Sun'i Tohumlama

Çalışmaya alınan tüm hayvanlar fertilitesi yüksek boğalardan özel hazırlanmış ve ml'sinde ortalama 20x10⁶ spermatozoit bulunan dondurulmuş sperma ile tohumlandı. Sabah östrus gösteren hayvanlar öğlenden sonra, öğlenden sonra östrus gösteren hayvanlar ertesi sabah tohumlandı. Uygulama grubunda PGF₂α enjeksiyonunu izleyen 72'nci saate kadar östrus göstermeyen düvelere 72 ve 96'nci saatlerde çift tohumlama yapıldı.

Serum Progesteron Düzeylerinin Belirlenmesi

Serum progesteron düzeylerini belirlemek amacı ile grup I'deki düvelerden cloprostenol uygulaması öncesi, tohumlama

anında, tohumlamayı izleyen 22'nci gün ve bu dönemden itibaren ise 60'nci güne kadar, haftada 2 kez; kontrol grubundaki düvelerde ise tohumlama anında, tohumlamayı izleyen 22'nci gün ve bu dönemden sonra 60'nci güne kadar, haftada 2 kez, Vena jugularis'den steril-vakumlu tüplere kan örnekleri alındı (tohumlamayı izleyen, 22, 27, 30, 33, 36, 40, 47, 54 ve 60'nci günlerde). Alınan kan örnekleri portatif soğutucu içinde Karacabey Tarım İşletmesi'nin Klinik Laboratuvarı'na taşınarak 15 dakika süre ile 3000 devir/ dakika santrifüj işleminden sonra elde edilen serumlar -20 °C'deki derin don-durucuda saklandı.

Serum progesteron düzeyleri TAEK, Hayvan Sağlığı, Nükleer Araştırma Enstitüsü, Lalahan, Fizyoloji Laboratuvarı'nda Enzim Immuno Assay (EIA) yöntemi kullanılarak değerlendirildi (17, 33).

Tohumlamayı izleyen 22'nci günden itibaren serum progesteron düzeyleri 2 ng/ml'nin altında ölçülen düveler embriyonik ölüm şüpheli hayvanlar olarak kabul edildi.

Gebelik Muayenesi

Gebelik muayenesi; her iki grupta da tohumlamayı izleyen 45'nci güne kadar östrus belirtisi göstermeyen düvelerde, rektal palpasyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi.

Kornu uterilerde asimetri, yavru zarlarının kayması ve fetal çarpma gebelik kriteri olarak değerlendirildi. Bu muayene bulguları 60'nci günde yapılan ikinci muayene ile doğrulandı.

Gruplardan elde edilen bulgular, minitab istatistik paket programı içinde t-student test ile karşılaştırıldı.

BULGULAR

Gözlenebilir östrusları izleyen 12'inci günde PGF₂α uygulanan 60 düveden üçü 24 'üncü saatte, yirmibeşi 48'inci saatte, yirmisekizi 72'nci saatte olmak üzere toplam 56 düve gözlenebilir östrus gösterirken (%93,4); dört düvede uygulamayı izleyen 96 saat içinde östrus gözlenemedi (%6.6). PGF₂α uygulamasını izleyen 24'üncü saatte östrus gösteren düvelerin tamamı ilk tohumlamada gebe kalırken, 48'nci saatte östrus gösterenlerin %60'ı, 72'nci saatte östrus gösterenlerin %78'i ve östrus belirtisi göstermeyen hayvanların ancak %25'i ilk tohumlamada gebe kalmışlardır (tablo 1).

Uygulama grubunda ilk tohumlamada 60 baş düveden 41'i (%68,3), ikinci tohumlamada 19 baş düveden 17'si (%89), üçüncü tohumlamada 2 düveden 1'inde gebelik elde edilirken bir baş düve dördüncü tohumlamada gebe kalmıştır. Kontrol grubunda bulunan 20 düvenin 18'inde (%90) ilk tohumlamada gebelik elde edilirken, diğer iki düve ikinci ve üçüncü tohumlamada gebe kalmışlardır (tablo 2). Uygulama grubunda elde edilen her gebelik için ortalama 1,36 tohumlama yapılırken kontrol grubunda bu oran 1,11 olarak belirlendi (tablo 2).

PGF₂α enjekte edilen ve tohumlanan 60 düvenin 12 başı 22 gün içinde tekrar östrus gösterirken; 7 baş düve tohumlamayı izleyen 22-60'nci gün arasında östrus göstermişlerdir (tablo 3). Kontrol grubunda ise 1 baş düve tohumlamayı izleyen 21'inci günde, 1 baş düve ise 47'nci günde östrus göstermiştir. Uygulama ve kontrol grubunda tohumlamayı izleyen

22 gün içinde çeviren düvelerin tohumlama ve tekrar östrus aralığı sırası ile $21\pm 1,71$ ve $21\pm 0,0$ olarak belirlendi (tablo 3). Serum progesteron değerlerine bakılarak, uygulama grubunda, tohumlamayı izleyen ilk 22 gün içinde düvelerin %80'i gebe şüpheli kabul edildi. Tablo 1. PGF₂α uygulaması sonrası östrusların gözlem aralığı ve ilk tohumlamada elde edilen gebelik oranları.

ilirken; bu oranın 60'ıncı günde %68,3'e düştüğü; kontrol grubunda ise bu oranların benzer dönemlerde sırası ile %95 ve %90 olduğu belirlendi (tablo 3).

	Düve sayısı (n=60)	İlk tohumlamada elde edilen gebelik oranı (n=41)
Uygulamayı izleyen 24'ncü saatte östrus gösteren düveler	3	3 (%100)
Uygulamayı izleyen 48'nci saatte östrus gösteren düveler	25	15 (%60)
Uygulamayı izleyen 72'nci saatte östrus gösteren düveler	28	22 (%78)
Uygulama sonrası östrus gözlenemeyen düveler	4	1 (%25)
TOPLAM	60	41 (%68,3)

Tablo 2. Uygulama ve kontrol grubunda birinci, ikinci, üçüncü ve dördüncü tohumlamalarda elde edilen gebelik oranları.*

	Gruplar	
	PGF ₂ α uygulanan grup	Kontrol grubu
İlk tohumlamada elde edilen gebelik oranı	41/60 (%68,3)	18/20 (%90)
İkinci tohumlamada elde edilen gebelik oranı	17/19 (%89)	1/2 (%50)
Üçüncü tohumlamada elde edilen gebelik oranı	1/2 (%50)	1/1 (%100)
Dördüncü tohumlamada elde edilen gebelik oranı	1/1 (%100)	-
Gebelik elde edilemeyen düve sayısı	-	-
Elde edilen her gebelik için yapılan ortalama tohumlama sayısı	1,36	1,11

*Uygulama grubunda ilk tohumlama sonrası çeviren ineklere herhangi bir uygulama yapılmadan doğal östruslarda tohumlandı.

Tablo 3. Uygulama ve kontrol grubunda tohumlamayı izleyen ilk 22 gün içinde ve 22-60 gün arasında çeviren düve sayısı.

Tohumlamayı izleyen	PGF ₂ α uygulanan grup (n= 60)	Kontrol grubu (n= 20)	İstatistiksel Farklılık
İlk 22 gün içinde gebe şüpheli düve sayısı*	48 (%80) a	19 (%95) b	p<0.005
22 gün içinde çeviren düve sayısı	12 (%20) a	1 (%5) b	p<0.001
60. günde gebelik pozitif düve sayısı**	41 (%68,3) a	18 (%90) b	p<0.005

DÜVELERDE CLOPROSTENOL UYGULAMASI SONRASINDA KONSEPSİYON VE EMBRİYONİK

22-60 gün arasında östrus gözlenen düve sayısı	7 (%11,6) a	1 (%5) b	p<0.001
22 gün içinde çeviren düvelerde tohumlama ve tekrar östrus aralığı (X ± SD)	21 ± 1,71	21 ± 0,0	

*Tohumlamayı izleyen 22'inci gün östruslar gözlenerek ve sonrasında serum progesteron düzeyine bakılarak doğrulandı.

**Rektal palpasyon bulguları gözönüne alındı.

^{a,b} Aynı satırda farklı harflerle yer alan değerler birbirinden önemlidir.

Çalışmaya alınan hayvanlarda serum progesteron düzeyleri izlenerek; uygulama grubunda, tohumlamayı izleyen 22-27'nci gün arasında 3, 30-47'nci gün arasında 4 baş düve olmak üzere toplam 7 baş düvede embriyonik ölümler saptanırken; kontrol grubunda sadece bir baş düvede 30-47'nci gün arasında embriyonik ölüm gözlemlendi.

Gerek uygulama gerekse kontrol grubunda ilk tohumlamada gebe kalan düvelerin tohumlama günü ve tohumlamayı izleyen 22, 27, 30, 33, 36, 40, 47, 54 ve 60'ncü günlerde elde edilen serum progesteron düzeylerinin istatistiksel bir farklılık göstermeden paralel seyrettiği belirlendi (tablo 4).

Uygulama grubunda tohumlamayı izleyen 25'inci günde östrus gösteren iki düvenin (düve A ve B), 22'nci günde alınan kan örneklerinden elde edilen serum progesteron düzeyleri, 2,94 ng/ml ve 1,36 ng/ml; 28'nci günde östrus gösteren bir düvede ise (düve C), 3,34 ng/ml olarak belirlenirken (tablo 5); normal gebelik seyri gözlenen düvelerde bu dönemde elde edilen ortalama serum progesteron düzeyi 6,76±4,94 ng/ml olarak belirlendi (tablo 4). Tohumlamayı izleyen 37 ve 38 'nci günlerde östrus gözlenen 2 düvede (düve D ve E), serum progesteron düzeyinin 30'ncü günden

itibaren düşmeye başladığı ve 36'ncü günde 1 ng/ml'nin altına indiği belirlendi. (tablo 5). Benzer şekilde tohumlamayı izleyen 47'inci günde östrus gösteren bir düvede (düve F), serum progesteron düzeyi 30'ncü günde 7,21 ng/ml iken kademeli olarak azalarak 40'ncü günde 1,98 ng/ml ve östrus günü 0,26 ng/ml düzeyinde ölçüldü (tablo 5).

Tohumlamayı izleyen 57'nci günde östrus belirlenen bir baş düvede (düve G), serum progesteron seviyesinin 30'ncü günde 2,55 ng/ml iken; 33'ncü günde azalarak 2,22 ng/ml ve 36'ncü gün 0,35 ng/ml düzeyine düştüğü ve 47'nci günde 1,95 ng/ml'e yükseldiği belirlendi (tablo 5). Tohumlamayı izleyen 37, 38, 47 ve 57'nci günlerde östrus gözlenen düvelerde gebeliğin 33'ncü gününde elde edilen serum progesteron değerlerinin aynı dönemdeki gebe hayvanların değerlerinden daha düşük olduğu gözlemlendi (tablo 4, tablo 5). Kontrol grubunda tohumlamayı izleyen 47'nci günde östrus gösteren bir düvenin serum progesteron değerleri düve F ile paralellik göstermiştir (tablo 5).

Uygulama grubunda serum progesteron düzeyi 22-27'nci günler arasında düşmeye başlayan 3 düvede 3-5 gün içinde östruslar gözlenirken; 30 ve 33'ncü günlerde serum progesteron

teron düzeyi düşmeye başlayan 4 hayvanda, serum progesteron düzeyi 6-11 günde, 0,50 ng/ml'nin altına indi. Ancak bu 4 hayvandan birinde (düve G), serum progesteron düzeyi 30'ncü günde düşmeye başlayıp; 36'ncü günde 0,50 ng/ml'nin altına inmesine rağmen östrus beldeklerini serum progesteron düzeyinin

düşmeye başlamasını izleyen 27 gün sonra belirlendi (tohumlamayı izleyen 57'nci gün). Kontrol grubunda ise 33'ncü günden itibaren belirgin bir düşüş gösteren bir hayvanda serum progesteron düzeyi, 14 gün sonra 0,5 ng / ml'nin altına indi.

Tablo 4. İlk tohumlamada gebe kalan düvelerde gebeliğin değişik dönemlerinde elde edilen serum progesteron düzeyleri (X±SD).

Kan örneği alım günü	PGF ₂ α uygulanan grup (n=41)	Kontrol grubu (n=18)
Enjeksiyon günü	5,34 ± 1,09 ng/ml	-
0*	0,39 ± 0,19 ng /ml	0,23 ± 0,16 ng/ml
22	6,76 ± 4,94 ng/ml	6,89 ± 4,71 ng/ml
27	6,84 ± 4,76 ng/ml	7,16 ± 4,35 ng/ml
30	6,98 ± 4,50 ng/ml	8,48 ± 4,83 ng/ml
33	7,03 ± 3,98 ng/ml	7,85 ± 4,87 ng/ml
36	7,10 ± 5,10 ng/ml	7,14 ± 2,09 ng/ml
40	7,35 ± 4,71 ng/ml	7,06 ± 4,56 ng/ml
47	7,71 ± 5,27 ng/ml	6,73 ± 3,09 ng/ml
54	7,54 ± 5,27 ng/ml	6,69 ± 4,72 ng/ml
60	7,16 ± 4,15 ng/ml	6,67 ± 1,65 ng/ml

*Tohumlama günü.

Tablo 5. Uygulama ve kontrol grubunda embriyonik ölüm şekillenen düvelerde serum progesteron düzeyleri (ng / ml)

Kan örnekleme günü	Gebeliğin değişik dönemlerinde embriyonik ölüm şekillenen düveler							
	A	B	C	D	E	F	G	Kontrol
0*	0,24	0,32	0,15	0,26	0,29	0,31	0,19	0,25
22	2,94	1,36	3,34	6,05	2,45	2,45	3,87	3,47
27			0,53	17,01	3,25	2,90	2,16	3,75
30				5,08	1,22	7,21	2,55	3,70
33				3,22	1,15	5,56	2,22	2,58
36				0,95	0,25	3,34	0,35	1,97
40						1,98	0,54	1,23
47						0,26	1,95	0,45
54							0,87	
60								

*Tohumlama günü.

TARTIŞMA

İntensif süt ineği yetiştiriciliği yapılan işletmelerde, özellikle düvelerde, seksüel siklusların istenen zamana göre planlanması, östrusların tespiti için gerekli zamanın kısaltılması, östrusların belirginleştirilmesi ve biyoteknolojik yöntemlerin uygulanmasında $PGF_2\alpha$ ve analogları veteriner hekimler tarafından sıklıkla kullanılmaktadır. Düvelerde bu preparatlar kullanılarak yüksek senkronizasyon elde edilmesine rağmen, senkronizasyon sonrası ilk tohumlamada elde edilen gebelik oranları sürekli tartışma konusu olmuştur.

Beal (7), düvelerde siklusun 5-9'ncü günleri arasında PGF_2 alfa uygulamaları sonrası senkronize gözlenebilir östruslara alınan yanıtın %67, 9-12'nci günler arasında %77 ve 12-16'nci günler arasında ise %91'in üzerinde olduğunu açıklamıştır. Araştırmacı ayrıca bu dönemlerdeki uygulamalardan sonra elde edilen gebelik oranlarını ise sırası ile %68, %68 ve %75 olarak belirleyerek; siklusun 12'nci gününden sonra PGF_2 alfa uygulamaları ile yapılan senkronizasyon çalışmalarında en yüksek gebelik oranının elde edilebileceğini vurgulamıştır. Whittier ve ark. (44), aktif corpus luteuma sahip 146 inekte $PGF_2\alpha$ uygulamaları sonrası, %60.3'ün 36-130 saat arasında değişen sürede ve ortalama 79.1 saatte gözlenebilir östrus gösterdiklerini ve bu hayvanlarda uygulamayı izleyen 80'nci saatte yapılan tohumlamalarda %53.4, östrus gözlenmeden yapılan tohumlamalarda ise %20.6 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler. Stevenson ve ark. (39), $PGF_2\alpha$ uygulamaları sonrası gözlenen östrusları izleyen 72-96'nci saatlerde yapılan tohumlamalarda, Whittier ve ark. (44) 'nın

elde ettiği sonuçlarla benzer bulgular elde ederken; östrus gözlenmeden yapılan tohumlamalarda ise %30 oranında bir gebelik elde etmişlerdir. Çolak ve İzgür, (10); inek ve düvelerde $PGF_2\alpha$, medroxyprogesteron acetate ve norges-tomet'in östrusların senkronizasyonu üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, düvelerde 11 gün ara ile çift doz $PGF_2\alpha$ enjekte ettikleri grupta, ikinci enjeksiyonu izleyen 7 gün içinde %100 oranında davranışsal östrus belirtileri gözlerken; bu östruslarda yapılan tohumlamalarda %40 oranında bir gebelik elde etmişlerdir. Sunulan çalışmada ise siklusun 12'nci günü aktif bir corpus luteum belirlenerek $PGF_2\alpha$ uygulanan 60 düveden 56'sı (%93,4)'ü uygulamayı izleyen 24-72 saat arasında östrus gösterip bu evrenin ikinci yarısında tohumlanırlarken; 4'ü (%6.6) östrus göstermeden enjeksiyonu izleyen 72 ve 96'nci saatlerde tohumlanmıştır. Östrus gözlenmeden tohumlanan 4 hayvandan ancak birinde gebelik elde edilmiş, östrusu gözlenerek tohumlanan 56 hayvanın 40'ında (%71), ilk tohumlamada gebelik elde edilmiştir. Çalışmada ayrıca gözlenebilir östrusların 48-72 saat arasında yoğunlaştığı belirlenmiştir (tablo 1 ve 2). Sunulan çalışma ile benzer oranda, Alaçam ve ark. (2), kontrolsüz tek doz cloprostenol enjekte ettikleri 46 baş İsviçre Esmeri düvenin %86.9'nın uygulamayı izleyen 96 saat içinde gözlenebilir östrus gösterdiklerini ve bu hayvanların %64, 8'nin östruslarının 32-48 saat arasında yoğunlaştığını gözlemişlerdir.

Yapılan bir çok çalışmada $PGF_2\alpha$ uygulamaları sonrasında östrus gözlenerek yapılan tohumlamalardan %17-70 arasında değişen bir gebelik oranı elde edildiği bildirilmektedir (4,

7, 10, 36). Bir kısım araştırmacı (29, 35, 37, 41), $PGF_2\alpha$ uygulanan grup ile spontan östrus gösterip tohumlanan hayvanlar arasında ilk tohumlamada elde edilen gebelik oranları yönünden belirgin bir farklılığın bulunmadığını bildirmelerine rağmen sunulan çalışmada her iki grup arasında ilk tohumlamada elde edilen gebelik oranları yönünden belirgin bir farklılık gözlemlendi (kontrol grubu %90, uygulama grubu %68.3). Ayrıca $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu sonrasında elde edilen %93.3 gözlenebilir östrus ve bu östruslarda yapılan tohumlamalarda elde edilen %71'lik gebelik oranı (40 baş düve); Beal (7)'in bildirdiği %91 gözlenebilir östrus ve %75 gebelik oranına oldukça yakın oranlar olarak saptandı (tablo 1).

Arachbald ve ark. (4), fonksiyonel bir corpus luteum belirleyerek $PGF_2\alpha$ enjekte ettikleri düvelerde kontrol grubuna göre daha düşük gebelik oranını, preovulatör LH salınımındaki ve ovulasyon zamanındaki farklılıklara bağlarken; Beal (7), enjeksiyon anındaki dominant follikülün bulunduğu aşamanın (gelişme, dinlenme ve gerileme) önemli rolü olduğunu açıklamıştır. Kastelic ve Ginther (24), 17 düve üzerinde yaptığı çalışmada folliküler dalganın erken gelişme döneminde veya gerileme döneminde $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu ile corpus luteum geriletirse tedavi-ovulasyon aralığının ortalama 6.3 gün; folliküler dalganın gelişme döneminin ilerleyen aşamalarında veya erken durağan dönemde uygulanırsa bu sürenin ortalama 4,2 gün olduğunu belirlemişlerdir. Kastelic (20), siklusun 12'nci günü $PGF_2\alpha$ enjekte ettiği düvelerde ovulasyonların ikinci folliküler dalgadan köken aldığını; uygulama anında dominant follikülün $11,8\pm 0,8$

mm, follikülün ovulasyon çapının $16,4\pm 0,5$ mm ve uygulama ve ovulasyon aralığının $4,5\pm 0,3$ gün olduğunu belirlemiştir. Araştırmacı, siklusun 5 ve 8'nci gününde uyguladıkları $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu sonrası, uygulama ve ovulasyon aralığını sırası ile $3,0\pm 0,0$ ve $3,7\pm 0,2$ gün olarak belirlemiştir. Bu bilgiler doğrultusunda uyarılmış östruslar sonrası kontrol grubuna göre daha düşük gebelik oranının elde edilmesi; tohumlama-ovulasyon aralığının senkronize olamamasına bağlanabilir.

Alaçam ve ark.(3), 40 baş inek ve 10 baş düvede, gebeliklerinin 21, 38 ve 45'inci günlerinde Radio Immuno Assay (RIA) tekniği kullanılarak kan-serum ve süt progesteron değerlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, düvelerde belirtilen günlerde ortalama kan-serum progesteron değerlerini sırası ile $6,95\pm 0,77$ ng/ml, $7,72\pm 0,73$ ng/ml ve $6,88\pm 0,59$ ng/ml olarak belirleyerek, bu sonuçların aynı gebelik dönemlerinde ineklerden elde edilen sonuçlarla istatistik olarak önemli bir farklılığın bulunmadığını açıklamışlardır. Sunulan çalışmada, gerek uygulama gerekse kontrol grubunda ilk tohumlamada gebe kalan düvelerden gebeliklerinin 22-60'ıncı günleri arasında ölçülen kan-serum progesteron değerlerinin paralel seyrettiği ve bu değerlerin Alaçam ve ark. (3)'ün elde ettiği sonuçlarla benzerlik gösterdiği saptandı (tablo 4).

Moody ve Lauderdale (30), tek doz $PGF_2\alpha$ uygulaması ile düvelerin %66'nın gözlenebilir östrus gösterdiğini ve bu östruslarda yapılan tohumlamalarda %59 konsepsiyon oranı ve %39 gebelik oranı elde ederlerken; bu oranları kontrol grubunda sırası ile %85, %62 ve %53 olarak belirlemişlerdir. Fope ve

Hodgson-Jones (13), $PGF_2\alpha$ enjeksiyonları ile luteolizis gerçekleştirerek tohumladığı ve embriyonik ölümleri plazma progesteron düzeylerine bakarak inceledikleri 69 düvede, tohumlamayı izleyen 21'nci günde %85 oranında gebelik belirlerken; 70'nci günde bu oranın %75'e düştüğünü belirlemişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda embriyonik ölümlerin önemli bir kısmının tohumlamayı izleyen 26. günden sonra şekillendiğini vurgulamışlardır. Figuero ve ark. (12), östrusu izleyen 5-10. günler arasında $PGF_2\alpha$ uyguladıkları 68 düvenin %66,2'nde gözlenebilir östrus, bu östruslarda tohumlamayı izleyen 21'nci günde %66,7 oranında, 42'nci günde ise %64,4 oranında bir gebelik elde ederken; benzer siklus döneminde $PGF_2\alpha$ uygulamasını izleyen 42'nci saatte 400 µg estradiol benzoat enjekte ettikleri 66 düvede elde edilen gözlenebilir östrus ve tohumlamayı izleyen 21 ve 42'nci günlerdeki gebelik oranlarını sırası ile %80,3, %69,8 ve %60,3 olarak saptamışlardır. Sunulan çalışmada, tohumlamayı izleyen 22 gün içinde uygulama grubunda %80 oranında (48 /60 baş düve) bir gebelik elde edilirken bu oranın tohumlamayı izleyen 60'nci günde %68,3'e düştüğü (41/60 baş düve), kontrol grubunda ise benzer dönemlerde elde edilen gebelik oranları sırası ile %95 (19/20 baş düve) ve %90 (18/20 baş düve) olarak belirlenerek her iki grup arasında önemli oran farklılığının olduğu saptandı ($p<0.005$). Sunulan çalışmanın uygulama grubunda elde edilen bu değerlerin; Fope ve Hodgson-Jones (13)'ün açıkladıkları gebelik oranları ile Figuero ve ark. (12)'nin, tohumlamayı izleyen 48 saat sonra estradiol benzoat uyguladıkları düvelerden elde ettikleri gebe-

lik oranlarına benzerlik gösterdiği saptandı (tablo 3).

Senkronize östruslar sonrası elde edilen farklı fertilité verileri; enjeksiyon anındaki dominant follikülün aşamasına (30); preovulatör LH salınımindaki aksamalara ve bununla bağlantılı olarak ovulasyonların gecikmesine (4); gametlerin taşınmasında, uterusun inorganik iyon miktarında ve endometrial aktivitede önemli değişikliklere neden olan hormonal dengesizliklere (23) bağlanmaktadır. Ayrıca, Stevenson ve ark. (39) ve Kastelic ve ark. (25), $PGF_2\alpha$ uygulaması ve ovulasyon arasındaki sürenin 2-5 gün arasında değiştiğini ve tohumlama ve ovulasyon arasındaki süre uzadıkça embriyonik ölüm oranlarının arttığını vurgulamışlardır.

Franco ve ark.(14), 192 inek üzerinde süt progesteron düzeyine bakarak erken embriyonik ölüm olgularını inceledikleri bir çalışmada, erken embriyonik ölüm şekillenen hayvanlardan tohumlamayı izleyen 21 ve 24. günlerde alınan süt progesteron düzeylerinin normal bir gebelik seyri izleyen ineklere göre düşük seyrettiği ve düşük seviyesini 40'ıncı güne kadar şekillenen embriyonik ölümlerin tümünde koruduğunu açıklamışlardır. Humbolat ve ark.(19), süt ırkı ineklerde gebeliğe özgü protein B, plazma progesteron düzeyi ve erken embriyonik ölümler arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında gebe ineklerde 21-24. günlerdeki plazma progesteron düzeyinin 10 ng/ml' nin üzerinde olduğunu ve bu düzeyin gebeliğin ilk üçte birlik dönemi süresince önemli bir sapma göstermeden koruduğunu; ancak gebeliğin erken dönemlerinde embriyonik ölüm şekillenen hayvanlarda 21-

24. günlerde plazma progesteron düzeyinin 10 ng/ml'nin altında seyrettiğini açıklamışlardır.

Aslan ve ark.(6), embriyonik/ fetal ölüm ile corpus luteum çapı, plazma progesteron düzeyi (nmol/l), Vit E ve Beta karoten arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında, gebeliklerinin 8, 18, 28, 38, 48 ve 58. günlerinde embriyonik ölüm saptanan ineklerin corpus luteum çapı ve progesteron düzeyinin normal gebelik seyri gösteren hayvanlara göre belirgin bir azalma gösterdiğini açıklamışlardır. Sunulan çalışmada, uygulama ve kontrol grubunda normal gebelik seyri gözlenen düvelerde; gebeliklerinin 22'nci gününden itibaren alınan kan örneklerinden elde edilen serum progesteron düzeyleri paralel seyrederken; uygulama grubunda embriyonik ölüm şekillenen 7 hayvanda serum progesteron değerlerinde, Aslan ve ark. (6), Franco ve ark. (14) ve Humbolat ve ark. (19) vurguladıkları gibi normal gebelik seyri gözlenen hayvanlara göre belirgin azalmalar saptandı. Bu embriyonik ölümlerin 3'ü tohumlamayı izleyen 22-27'nci gün arasında gözlenirken 4 embriyonik ölüm 30-47'nci gün arasında belirlenmiştir. Tohumlamayı izleyen 22-27'nci gün arasında embriyonik ölüm şekillenen 3 düvede serum progesteron düzeyi 22'nci günden itibaren düşük seyrederken; 37, 38, 47ve 57. günlerde östrus gösteren 4 hayvanda ise serum progesteron düzeyi 30'ncü günden itibaren kademeli bir düşüş göstermiştir. Kontrol grubunda tohumlamayı izleyen 47'nci gün östrus gösteren bir düvede serum progesteron düzeyi 30'cu günden itibaren azalmaya başlamıştır. Uygulama grubunda embriyonik ölüm şekillenen 7 hayvanın 6'sında tohumlamayı izleyen 22-27'nci günlerdeki serum

22-27'nci günlerdeki serum progesteron düzeylerinin aynı dönmedeki normal gebelik seyri gösteren düvelere göre belirgin bir azalma gösterdiği saptandı ($p<0.005$).

Düvelerde gebeliklerinin 20-40'nci günleri arasında şekillenebilecek embriyonik ölümlerin, ultrasonografik yöntem kullanılarak araştırıldığı bir çalışmada (26), gebeliğin 25'inci gününden önce şekillenen embriyonik ölümlerde önce luteal regresyonun şekillendiği ve embriyonik kalp atımlarının regresyonun başlamasını izleyen 3 gün sonra durduğunu; gebeliğin 25-40'ıncı günleri arasında ise luteal regresyonun embriyonik ölümleri izleyen 3-42 gün; ovulasyonların 5-46 gün sonra oluştuğu belirlenmiştir. Kastelic ve Ginther (23), gebeliklerinin 42. gününde $PGF_2\alpha$ enjeksiyonu uyguladıkları düvelerde, embriyonik ölümlerin 2,6 gün, ovulasyonun 2,7 gün sonra oluştuğu, aynı çalışmada ve benzer dönemde, antimitotik ve embriyotoksik bir madde olan colchicine'nin intrauterin uygulamaları sonrası embriyonik ölümlerin 1,2 gün ve amnion zarının elle rupturu sonrası aynı gün; ovulasyonların ise sırası ile 20,8 ve 35 gün sonra oluştuğunu bildirmişlerdir. Ryan ve ark. (32), gebeliklerinin 24-50. günleri arasında bulunan ve colchicine uygulayarak embriyonik ve fetal ölüm gerçekleştirdiği 44 etçi inekte; embriyonik ölümleri izleyen ortalama $13,5\pm 0,8$ gün sonra östrus gözlemişler ve gebelik yaşının bu süre üzerinde önemli bir etkisinin olmadığını vurgulamışlardır. Sunulan çalışmada kullanılan yöntemden dolayı embriyonun her ne kadar ölüm zamanı tam olarak belirlenememesine rağmen, 22'nci günden itibaren serum progesteron düzeyi düşmeye baş-

layan hayvanlarda 3-5 gün içinde östrus gözlenirken; 30'ncu günden itibaren serum progesteron düzeyi düşmeye başlayan hayvanlarda ise 6-27 gün arasında değişen bir sürede östruslar gözlemlendi. Serum progesteron düzeyi 30'ncu günden itibaren düşmeye başlayan ve 27 gün sonra gözlenebilir östrus gösterdiği belirlenen bir düvede (düve G, tablo 5.), serum progesteron düzeyinin 36. günde 0.5 ng/ml'nin altına indiği ve bunu izleyen 11 gün içinde 1.95 ng/ml kadar tekrar yükselme göstererek bir seksüel siklus süresi sonunda serum Kastelic ve ark. (26)'nın bulguları ile paralellik göstermiştir.

Gebeliğin 25'nci gününden önce 15 mm'nin altında bir uzunluğa sahip olan embriyoların yetersiz bTP-1 salgılarından dolayı luteolizisin embriyonik ölümden daha önce oluştuğu bildirilmesine rağmen (16, 42), bu dönemden önce şekillenen embriyonik ölüm ve luteo-lizis arasındaki süre farklılığının nedeni tam olarak açıklanamamaktadır. Gebeliğin 25-40'ncü günleri arasında oluşan embriyonik ölümler sonrası luteal reg-resiyonun değişik zamanlarda meydana gelmesi embriyonik artıkların cervix uteri yoluyla uzaklaştırılma hızına bağlanmıştır (23, 26).

Sonuç olarak; sunulan çalışmada, seksüel siklusun 12'nci günü PGF₂α en-jekte edilerek gözlenen östruslarda tohumlanan düvelerde ilk tohumlamada elde edilen gebelik oranlarının düşük olduğu ve tohumlamayı izleyen 22-45'nci günler arasında şekillenen embriyonik ölümlerin, 22, 27 ve 30'ncü günlerde ölçülen serum progesteron düzeyleri ile belirlenebileceği ve luteal regresyon ile gözlenebilir östrus arasında geçen sürenin, embriyonik ölümlerin

progesteron düzeyinin tekrar 1 ng/ml'nin altına düştüğü ve gözlenebilir östrus belirtilerini sergilediği gözlemlendi. Bu düvenin tohumlamayı izleyen 36'ncü günde serum progesteron düzeyi 0.5 ng/ml'nin altına inmesine rağmen östrus göstermemesini hayvanın bu dönemde sakin bir kızgınlık geçirmesine veya östrus gözlem hatasına bağlandı. Sunulan çalışmada gebeliğin belli dönemlerinde izlenen serum progesteron düzeyleri yardımıyla luteal regresyonun başlama zamanı ve tohumlama sonrası ikinci östrusların gözlem aralığı şekillendiği gebelik dönemine bağlı olarak, 3-27 gün arasında değişebileceği saptanmıştır.

TEŞEKKÜR

Alınan kan örneklerinin hormon analizleri ve ölçümlerini gerçekleştiren TAEK, Lalahan Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsü Müdürü Sayın Doç.Dr. Nurcan Çetinkaya ve Fizyoloji Laboratuvarı personeli Dr.Muzaffer Çelebi ve Biyolog Erdal Saban'a, elde edilen verilerin istatistiki hesaplamalarında yardımlarını esirgemeyen Araş.Gör. Sefa Gürcan'a teşekkürü bir borç bilmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. **Alaçam, E.** (1997) *Dişi Üreme Organlarının Muayenesi*, s.45. In: Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite, E. Alaçam (Ed.): Medisan Yayınevi, Ankara.
2. **Alaçam, E., Dinç, D.A., Kadak, R., Güler, M., Aksoy, M.** (1989) *İsviçre Esmeri Düvelerde Cloprostenol Kontrollü Sun'u Tohumlama Çalışmaları*. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi., 29(1-4): 90-97.
3. **Alaçam, E., Tekeli, T., Sezer, A.N.** (1987) *İneklerde Erken Gebelik Tanısı Amacıyla Kan ve Sütte Progesteron Hormonu Düzeylerinin*

- Araştırılması. Selçuk Üniv Veteriner Fakültesi Dergisi.*, 3(1): 13-24.
4. **Arachbald, L P., Tarn, T., Massey, R., Klapstein, E.** (1992) *Conception Rates in Dairy Cows After Timed-Insemination and Simultaneous Treatment with Gonadotrophin Releasing Hormone and / or Prostaglandin F2 Alpha.* *Theriogenology*, **37**: 723-731.
 5. **Aslan, S., Bucher, A., Arbeiter, K.** (1995) *Morphometrik Analysis of Follicle, Corpus Luteum, Utrus and the Blood Level-P4, E2, Vite, Beta -Carotin, Folate and Vit B12- During the Postparturient and Early Pregnancy Period in Cattle.* *Reproduction in Domestic Animals (Suppl.)*, **3**: 86-89.
 6. **Aslan, S., Handler, J., Arbeiter, K.** (1998) *Frühgravidität und Embryonale bzw. Frühfetale Mortalität bei der Kuh-Gelbkörperdynamik, Progesteron-, Vitamin-E-, Vitamin-B₁₂-, β -Carotin-und Folsäurekonzentrationen im Peripheren Blut.* *Wien Tierärztl Mschr*, **85**: 141-147.
 7. **Beal, W.E.** (1996) *Application of Knowledge About Corpus Luteum Function in Control of Estrus and Ovulation in Cattle.* *Theriogenology*, **45**(7): 1399-1411.
 8. **Bosu, W.T.K, Doig, P.A., Barker, C.A.V.** (1981) *Pregnancy and Peripheral Plasma Progesteron Levels in Cows İnseminated After Synchronisation of Oestrus with Prostaglandine F2 Alpha.* *Canadian Veterinary Journal*, **22**: 59-66.
 9. **Bosu, W.T.K, Doig, P.A., Barker, C.A.V.** (1981) *Pregnancy and Peripheral Plasma Progesteron Levels in Cows İnseminated After Synchronisation of Oestrus with Prostaglandine F2 Alpha.* *Canadian Veterinary Journal*, **22**: 59-66.
 10. **Bosu, W.T.K, Doig, P.A., Barker, C.A.V.** (1981) *Pregnancy and Peripheral Plasma Progesteron Levels in Cows İnseminated After Synchronisation of Oestrus with Prostaglandine F2 Alpha.* *Canadian Veterinary Journal*, **22**: 59-66.
 11. **Çolak, A. ve İzgür, H.** (1990) *İnek ve Düvelerde PGF₂ α Medroxyprogesteron Acetate ve Norgestomet ile Östrus Senkronizasyonu Üzerinde Çalışmalar.* *Doğa- Tr J of Veterinary and Animal Sciences*, **14** : 498-502.
 12. **Drost, M., Franco, O.J., Schille, V.M., Thatcher, M.J., Thatcher, W.W.** (1982) *The Effects of Pregnancy Diagnosis per Rectum on Early Embryonic Death in the Cow.* *Theriogenology*, **25**: 117-120.
 13. **Figuro, M.R., Fuguay, J.W., Shipley, S.K.** (1988) *Synchronization of Estrus in Early Diestrus Dairy Heifers with Prostaglandin F 2 Alpha and Estradiol Benzoate.* *Theriogenology*, **30**: 1093-1097.
 14. **Fope, G.S. and Hodgson-Jones, L.S.** (1975) *Use of Plasma Progesterone Levels in an Assessment of Embryonic Loss in Dairy Cattle.* *Veterinary Record*, **97**(15): 154.
 15. **Franco, O.J., Drost, M., Thatcher, M.J., Shille, V.M., Thatcher, W.W.** (1987) *Fetal Survival in the Cow After Pregnancy Diagnosis by Palpation per Rectum.* *Theriogenology*, **27**: 631-645.
 16. **Graves, R.L, Lutz, R.G., Riesen, J.W., Hoagland, T.A., Woody, C.O.** (1985) *Factors İnfluencing Estrus and Conception in Dairy Heifers After PGF2 Alpha.* *Theriogenology*, **23**: 733-742.
 17. **Gustafsson, H. and Larsson, K.** (1985) *Embryonic Mortality in Heifers After Artificial İnsemination and Embryo Transfer: Differences Between Virgin and Repeat Breeder Heifers.* *Research in Veterinary Science*, **39**: 271-274.
 18. **Güven, B.** (1988) *Mikrotitrasyon Plak Enzimmimmunoassay Yöntemiyle İneklerde Doğum Sonrası Süt Progesteron Düzeylerinin Tayini.* *Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.*
 19. **Hansel, W. and Convey, E.M.** (1983) *Physiology of the Estrous Cycle.* *Journal of Animal Science*, **57**(Suppl.2) : 404-410.
 20. **Humbolat, P., Camous, S., Martal, J., Charley, J., Jeanguyot, N., Thibier, M., Sasser, R.G.** (1988) *Pregnancy-specific protein B, progesterone concentrations and embryonic mortality during early pregnancy in dairy cows.* *Journal of Reproduction and Fertility*, **83**: 215-223.
 21. **Kastelic, J.P.** (1990) *Effect of day of prostaglandin F₂ alpha treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers.* *Animal Reproduction Science*, **23**: 169-180.
 22. **Kastelic, J.P.** (1994 a) *Understanding ovarian follicular development in cattle.* *Veterinary Medicine*, **January** : 64-71.
 23. **Kastelic, J.P.** (1994 b) *Noninfectious embryonic loss in cattle.* *Veterinary Medicine*, **June**, 584-589.
 24. **Kastelic, J.P. and Ginther, O.J.** (1989) *Fate of conceptus and corpus luteum after induced embryonic loss in heifers.* *Journal of American*

- Veterinary Medicine Association, 194(7): 922-928.
25. **Kastelic, J.P. and Ginther, O.J.** (1991) *Factors affecting the origin of the ovulatory follicle in heifers with induced luteolysis.* Animal Reproduction Science, 26: 13-24.
 26. **Kastelic, J.P., Knopf, L., Ginther, O.J.** (1991a) *Effect of day prostaglandin F2 alpha treatment on selection and development of the ovulatory follicle in heifers.* Animal Reproduction Science, 33: 456-460.
 27. **Kastelic, J.P., Northey, D.L., Ginther, O.J.** (1991 b) *Spontaneous embryonic death on days 20 to 40 in heifers.* Theriogenology, 35: 351-363.
 28. **Kähn, W.** (1991) *Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik. Gynakologische untersuchung und Reproduksiyon (Pferd, Rind, Schaf, Ziege, Schwein, Hund, Katze).* Schlütersche Verlag, Hannover.
 29. **King, M.E., Kiracofe, G.H., Stevenson, J.S., Schalles, R.R.** (1982) *Effect of stage the estrous cycle on interval to estrus after PGF2 alpha in beef cattle.* Theriogenology, 18: 191-200.
 30. **Lauderdale, J.W., Seguin, B.E., Stellflug, J.N., Chenault, J.R. Thatcher, W.W., Vincent, C.K., Layancano, A.F.** (1974) *Fertility of cattle following PGF2 alpha injection.* Journal of Animal Science, 38: 964-967.
 31. **Moody, E.L., and Lauderdale, J. W.** (1977) *Fertility of cattle following PGF₂ α controlled ovulation.* Journal of Animal Science, 45 (Suppl.1): 189.
 32. **Morell, J.M., Noakes, D.E., Zintzares, E., Dresser, D.W.** (1991) *Apparent decline infertility in heifers after separated oestrus synchronisation with cloprostenol.* Veterinary Record, 128: 404-407.
 33. **Ryan, D.P., Rodriguez, H.F., Thompson, D.L., Saxton, A.M., Godke, R.E.** (1992) *Luteal maintenance in cattle after conceptus death during the first trimester of gestation.* Journal of Animal Science, 70: 836-840.
 34. **Saban, E.**(1996) *Akkaraman ırkı koyunlarda östrus siklusu boyunca progesteron değerleri .* Master Tezi , Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
 35. **Schulz, J. und Eulenberger, K.** (1983) *Zum Stand der Kenntnisse über die Ätiologie der embryonalen Mortalität beim Rind. Tierhygiene Information, Sonderheft Zuchthygiene, embryonale Mortalität.* Stoffwechsel und Fruchtbarkeit, 15. Jahrgang, 7-30
 36. **Sequine, B.E., Tate, D.J., Otterby, D.E.** (1980) *Use of cloprostenol in a reproductive management system for dairy cattle.* Journal of American Veterinary Medicine Association, 183 : 533-537.
 37. **Shultz, R.H.** (1979) *Controlled breeding in beef and dairy cattle, studies conducted in the united States and Canada 1976 and 1977.* Symposium: Heat Synchronization in Cattle with Prostaglandins, Turku, Finland.
 38. **Simmons, K.R., Moses, S.C., Perkins, B.L.** (1979) *Prostaglandin in milk, days open, and estrus detection in dairy cows treated with prostaglandin F2 alpha.* Journal of Dairy Science, 62 : 1443-1448.
 39. **Sreenan, J.M. and Diskin, M.G.** (1983) *Early embryonic mortality in the cow: Its relationship with progesterone concentration.* Veterinary Record , 28: 517-521.
 40. **Stevenson, J.S., Lucy, M.C., Call, E.P.** (1987) *Failure of timed inseminations and associated luteal function in dairy cattle after two injections of prostaglandin F2 alpha.* Theriogenology, 28: 937-946.
 41. **Stevenson, J.S., Schmidt, M.K., Call, E.P.** (1984) *Stage of estrus cycle. Time insemination and seasonal effects on estrus and fertility of Holstein heifers after prostaglandin F2 alpha.* Journal of Dairy Science, 67: 1798-1805.
 42. **Tanabe, T.Y. and Hann, R.C.** (1984) *Synchronised estrus and subsequent conception in dairy heifers treated with prostaglandin F2 alpha. I. Influence of stage of cycle at treatment.* Journal of Animal Science, 58: 805-811.
 43. **Thatcher, W.W., MacMillan ,K.L., Hansen,P.J., Drost, M.** (1989) *Concept for regulations of corpus luteum function by the conceptus and ovarian follicles to improve fertility.* Theriogenology, 31: 149-164.
 44. **Watts, T.L. and Fuguay, J.W.** (1985) *Response and fertility of dairy heifers following injection with prostaglandin F2 alpha during early, middle or late diestrus.* Theriogenology, 23: 655-661.
 45. **Whittier, W.D., Gwazdauskas, F.C., McGilliard, M.L.** (1989) *Prostaglandin F2 alpha usage in a dairy reproduction program for treatment of unobserved estrus, pyometra and ovarian luteal cysts.* Theriogenology, 32: 693-704.