

Siklik ve Asiklik Anöstruslu Sütçü Düvelerde Ovsynch veya PRID + PGF₂ α + PMSG Uygulamalarının Reprodüktif Performans Üzerine Etkileri

Yavuz NAK* Deniz NAK* Kamil SEYREK İNTAŞ** Hasan Basri TEK***
Abdülkadir KESKİN*** Bilginer TUNA*** İsmail Hakkı KUMRU***

Geliş Tarihi: 24.03.2005

Kabul Tarihi: 06.05.2005

Özet: Bu çalışmanın amacı 17 – 18 aylık oldukları halde östrüsleri gözlemlenememiş sütçü düvelerde, ovsynch (n:34) veya PRID + PGF₂α + PMSG (n:33) olmak üzere iki farklı hormonal uygulama yönteminin, östrüslerin tespiti, dağılımı ve ilk tohumlama gebelik oranları üzerine etkisini belirlemektir. İlk gruptaki düvelere, 0. gün GnRH enjeksiyonu, 7 gün sonra PGF₂α enjeksiyonu, 48 saat sonra ikinci GnRH uygulaması ve 12 saat sonra suni tohumlama yapıldı. İkinci grupta ise, 0. gün PRID, 7. gün PGF₂α im, 9. gün PRID'lerin uzaklaştırılması ve 500 IU PMSG im ve 56. saatte suni tohumlama uygulandı. Östrüsler günde 3 kez takip edildi. Son hormonal uygulamaları izleyen 4 gün içerisinde östrüs tespit oranları, birinci grupta, %29.41, ikinci grupta, %72.72 olarak belirlendi (P<0.001). İlk tohumlama gebelik oranları grup 1 ve grup 2'de sırasıyla %58.82 ve %48.48 olarak tespit edildi. Ovsynch grubunda gözlenebilen östrüsler son uygulamayı takip eden ilk 24 saat diğerlerinde ise 48 saat içinde yoğunlaştı.

Anahtar Kelimeler: Anöstrüs, PGF₂α, PMSG, PRID, ovsynch, östrüs, gebelik oranı, düve.

Effects on Reproductive Performance in Cyclic and Non cyclic Dairy Heifers of Ovsynch or PRID + PGF₂α + PMSG Administrations

Summary: The objective in this study was to determine the effect on estrus detection and distribution, first service pregnancy rate using two different treatment methods as ovsynch (n=34) or PRID + PGF₂α + PMSG (n:33) in 17 – 18 month years old unobserved estrus dairy heifers. Group I: GnRH injection, followed in 7 days by PGF₂α injection, then another GnRH injection and AI 12 hours after second GNRH injection. Group II: PRIDs inserted (on day 0), on days 7 heifers received PGF₂α, PRIDs removed and 500 IU PMSG injected (on days 9). AI was administrated at 56. hours following PRIDs removal. Heifers were observed for sings of estrus for 20 minutes three times. Proportion of heifers observed in estrus during the 5 days after last hormonal administration were 29.41%, 72.72% for groups 1, 2 respectively. First service pregnancy rates were determined 58.28%, 48.48% for groups 1, 2 respectively. While observed estruses in ovsynch group accumulated in first day, in second group accumulated in the second day after latest hormonal administrations.

Key Words: PRID, ovsynch, estrus, pregnancy, unobserved estrus, heifers.

* Yard.Doç.Dr.U.Ü.Vet. Fak. Doğum ve Jinekoloji A.B.D., Bursa-Türkiye.

** Doç.Dr..U.Ü.Vet.Fak. Doğum ve Jinekoloji A.B.D.,Bursa-Türkiye.

*** Araş.Gör. U.Ü.Vet. Fak. Doğum ve Jinekoloji A.B.D., Bursa-Türkiye.

Giriş

Süt inekçiliği ile uğraşan işletmelerde sağmal inekler ile düveler aynı yerlerde tutulmakta ve sağmal inekler günde en az iki kez sağıma getirilmektedir. Bu işlem inekler üzerindeki ilgiyi arttırmakta, böylece ineklerde östrüsler daha iyi belirlenmekte ve tohumlanmaları sağlanmaktadır¹⁴. Suni tohumlama için düvelerin östrüs davranışlarını belirlemeye çalışmak hem zaman kaybı ve hem de iş yoğunluğuna neden olmakta, çoğunlukla büyük ölçüde östrüslerin kaçırılması ile sonuçlanmaktadır². Bu tip olumsuzlukları ortadan kaldırmak için önceden belirlenen zamanda tohumlamaya olanak veren özel sinkronizasyon metotları geliştirilmiştir¹⁴.

İneklerde ve düvelerde ovulasyonun senkronizasyonu (ovsynch) ve kızgınlıkları belirlemeden, önceden belirlenen zamanda tohumlama (ÖZT) şeklindeki uygulama (ovsynch + ÖZT), östrüs tespitine ihtiyaç duyulmadan suni tohumlama yapabilmek amacıyla geliştirilmiştir. Bu protokol ile siklusun herhangi bir döneminde uygulanan gonadotropin salınım hormonu (GnRH) enjeksiyonu büyük folliküllerin ovulasyonuna veya luteinizasyonuna neden olmakta ve bu da yeni bir folliküler dalganın başlamasını uyarmaktadır. İlk GnRH enjeksiyonunu izleyen 7. günde uygulanan PGF₂α korpus luteumun (CL) regresyonunu uyarmakta ve senkronize olmuş dominant follikülün son olgunlaşmasına olanak sağlamaktadır. PGF₂α uygulamasından sonra yapılan ikinci GnRH enjeksiyonu ise 24 saat içerisinde dominant follikülün ovulasyonunu senkronize etmektedir. Ovulasyonun böyle dar bir zaman süreci içerisinde senkronizasyonu, yaklaşık 16 saat içerisinde önceden belirlenmiş bir zamanda tohumlamaya olanak vermektedir⁴.

Ovsynch + ÖZT uygulanan düvelerin yaklaşık %22.5'u PGF₂α uygulamasını izleyen 39. saatten önce premature östrüsler göstermektedirler. Bu protokolda düvelerin %25 'inde PGF₂α enjeksiyonu izleyen 36 saatte önce %25 oranında premature östrüslerin görülebildiği belirtilmektedir⁴. Schmitt ve arkadaşları⁹ ise ovsynch protokolü uygulanan düvelerde, PGF₂α enjeksiyonunun yapıldığı gün dahil ikinci GnRH enjeksiyonuna kadar %27 oranında premature östrüslerin şekillendiği vurgulamaktadırlar.

Düvelerde ve ineklerde uygulanan suni tohumlama programlarında östrüs ve ovulas-

yonun progesteron ve progestagenler ile uyarılması yaygın olarak kullanılan bir metottur. Doğal progesteron ve sentetik progestagenler uygun doz ve şekillerde kullanıldığı zaman luteal fazda CL'un ürettiği progesteron düzeyini sağlayamamaktadır. Doğal süreçten farklı olarak LH seviyesi üzerinde yeterli geri tepki oluşmamaktadır. Bu durum luteal faza göre daha yüksek LH konsantrasyonuna yol açmaktadır. Bu sürekli LH desteği dominant follikülün büyümesinin devam etmesine ve kalıcı hale geçmesine neden olmaktadır. Ovulasyon follikülün yaşam süresindeki 4 günlük bir uzama gebe kalma oranında azalma ile sonuçlanmaktadır. Çünkü persistent dominant folliküllerdeki oosit ovulasyon öncesi premature olgunlaşma geçirmekte, böyle bir oosit fertilize olabilmekle beraber, erken embryonik ölüm şekillenmektedir^{1,5,7,12}.

Bu çalışmanın amacı 17 – 18 aylık oldukları halde östrüsleri gözlenememiş sütçü düvelerde ovsynch yahut PRID + PGF₂α + PMSG şeklindeki iki farklı hormonal uygulama metodunun östrüslerin belirlenmesi, dağılımı ve ilk tohumlama gebelik oranları üzerine etkilerini belirlemektir.

Materyal ve Metot

2002-2005 yılları arasında Bursa ili ve çevresindeki süt inekçiliği ile uğraşan işletmelerde, 17-18 aylık oldukları halde östrüsleri gözlenememiş siyah - alaca 67 adet düve çalışma materyali olarak kullanıldı. Düvelerin ovaryum bulguları 12 gün arayla yapılan çift rektal muayene ile belirlendi. Yapılan iki rektal muayenin herhangi birinde ovaryumları üzerinde yaklaşık 2 - 2,5 cm'lik bir CL belirlenen düveler siklik, belirlenemeyenler ise asiklik olarak kabul edildi. Düveler deneme gruplarına rasgele dağıtıldı ve aşağıdaki uygulamalar yapıldı.

1. Grup: Otuzdört baş düveye 0. günde bir GnRH analogu olan 10µg Busereline asetat (Receptal[®], Intervet International, B.V Boxmeer, The Netherlands), 7.günde 25 mg Dinoprost tromethamine (PGF₂α) (Dinolytic[®], Pharmacia, Rijksweg 12, 2870 Puurs The Belgium) ve 9. günde 10µg Busereline asetat im olarak uygulandı. Son GnRH uygulamasını izleyen yaklaşık 12. saatte suni tohumlama yapıldı.

2. Grup: Otuzüç baş düveye 0. günde PRID intravaginal (PRID[®], Sanofi Animal Health Ltd.,

France), 7.günde 25 mg Dinoprost tromethamine im olarak uygulandı, dokuzuncu günde PRID uzaklaştırıldı, 500 IU PMSG (Pmsg®, Sanofi Animal Health Ltd., France) im olarak uygulandı. PRID'lerin çıkarılmasını izleyen yaklaşık 56. saatte suni tohumlama yapıldı.

Tüm gruplarda gebelikler 45 – 50. günler civarında rektal muayene ve ultrasonografi ile belirlendi. Östrüsler diğer inekleri aşma, aşımaya, temiz müköz akıntı gibi bulgular göz önünde tutulup, günde 3 kez izlenerek tespit edildi. Gruplardaki östrüs tespit oranı, östrüslerin dağılımı ve ilk tohumlama gebelik oranları belirlenerek, bulgular t- testi ile istatistiksel açıdan değerlendirildi.

Bulgular

Sunulan çalışmada toplam ilk tohumlama gebelik oranı ve siklik düvelerdeki gebelik oranları dikkate alındığında, iki farklı hormonal uygulama grubu arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunamaz iken, asiklik düvelerdeki ilk tohumlama gebelik oranının ovsynch grubunda, PRID grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olacak düzeyde yüksek olarak belirlendi (Tablo.I).

Tablo I. Östrüsleri Gözlenemeyen Düvelerde Hormon Uygulamaları Sonrasında İlk Tohumlama Gebelik Oranları.

Table I. First Service Pregnancy Rates Following Hormonal Administrations in Unobserved Oestrus Heifers

REPRODUKTİF PARAMETRELER	UYGULAMA GRUPLARI	
	1.GRUP OVSYNCH	2.GRUP PRID + PGF _{2α} + PMSG
Toplam İlk Tohumlama Gebelik Oranı	20 / 34 = % 58.82	16 / 33 = % 48.48
Siklik Düvelerde İlk Tohumlama Gebelik Oranı	14 / 28 = %50.00	14 / 29 = % 48.27
Asiklik Düvelerde İlk Tohumlama Gebelik Oranı	6 / 6 = % 100 ^a	2 / 4 = %50 ^b

a,b: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında istatistiksel açıdan önemli farklılık bulunmaktadır (P< 0.001).

PRID grubundaki toplam östrüs tespit oranının, asiklik ve siklik düvelerdeki östrüs tespit oranlarının ovsynch grubundaki oranlardan istatistiksel açıdan önemli olacak düzeyde fazla olarak belirlendi (Tablo.II).

Tablo II. Östrüsleri Gözlenemeyen Düvelerde Hormonal Uygulamalar Sonrasında Östrüs Tespit Oranları.

Table II. Oestrus Detection Rate Following Hormonal Administrations Groups in Unobserved Oestrus Heifers.

REPRODUKTİF PARAMETRELER	UYGULAMA GRUPLARI	
	1.GRUP OVSYNCH	2.GRUP PRID + PGF _{2α} + PMSG
Toplam Östrüs Tespit Oranı	10 / 34 = % 29.41 ^a	24 / 33 = % 72.72 ^b
Siklik Düvelerde Östrüs Tespit Oranı	8 / 28 = % 28.57 ^a	20 / 29 = % 68.96 ^b
Asiklik Düvelerde Östrüs Tespit Oranı	1 / 6 = % 16.66 ^a	4 / 4 = % 100 ^b

a,b:Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler arasında istatistiksel açıdan önemli farklılık bulunmaktadır (P< 0.001).

Ovsynch grubunda tespit edilebilen östrüslerin tümünün son uygulamayı takip eden 1. günde, PRID grubunda ise biri hariç tümünün 2. günde toplandığı görülmektedir (Tablo. III).

Tablo III. Hormonal Uygulamalar Sonrasında Senkronize Östrüslerin Dağılımı

Table III. Distribution of Synchronized Oestrus Following Hormonal Administrations

GRUPLAR	GÜNLER VE ÖSTRÜS GÖSTEREN HAYVAN SAYILARI				TOPLAM
	1	2	3	4	
1.GRUP OVSYNCH	10	0	0	0	10
2.GRUP PRID + PGF _{2α} + PMSG	0	23	1	0	24

Tartışma

Büyük sütçü işletmelerde, özellikle de merada otlatma da söz konusu ise düvelerde üreme ile ilgili özenin etkili bir şekilde yürütülmesinde zorluklar yaşanabilmektedir. İnekler günde en az iki kez sağıldığından daha fazla göz önünde olmakta, buna karşılık düvelerde östrüslerin tespiti ve tohumlanmaları için özel gayret gerektirmektedir. Bu nedenle düvelerde suni tohumlamanın kullanılması östrüs takibi yapmadan önceden belirlenen bir zamanda tohumlamaya olanak ve-

ren ve normal sınırlar içerisinde gebelik oluşturabilen bir senkronizasyon programının uygulanması ile kolaylaştırılacaktır¹⁴.

Son GnRH enjeksiyonunun PGF₂ α enjeksiyonundan 48 saat sonra yapıldığı Ovsynch yönteminin kullanılması ve östrüs gösterenlerin tohumlanması ile % 48.0; östrüs takibi yapmadan ikinci GnRH'dan 15 saat sonra yapılan tohumlama ile % 45.5 oranında ilk tohumlama gebelik oranı elde edilmiştir⁹. Sunulan çalışmada, Ovsynch yöntemi uygulanan düvelerde son GnRH enjeksiyonundan 12 saat sonra yapılan tohumlama ile % 58.48 gibi, yukarıda sözü edilen çalışmadan daha iyi bir ilk tohumlama gebelik oranına ulaşılmıştır. Diğer bir çalışmada⁹, ovsynch yönteminin kullanılması ve östrüs gösterenlerin tohumlanması ile % 48.7, 15. saatte kör tohumlama ile % 25.8 ilk tohumlama gebelik oranı elde edilmiştir. Östrüs takibi yapılarak tohumlama uygulandığı zaman, kör tohumlama uygulananlara göre daha yüksek gebelik oranı elde edildiği ifade edilmektedir¹⁰. Ovsynch + ÖZT metodunun düvelerde kullanılması ile östrüs siklusunda kısılma ile birlikte tohumlamayı takiben (≤ 16 gün) yoğun bir şekilde tekrar östrüs görülmesi ile karşılaşıldığı belirtilmektedir. Özellikle ikinci GnRH enjeksiyonu, PGF₂ α enjeksiyonundan sonraki 48. saatte 24. saate çekildiğinde kısa bir siklus ve östrüslerin tekrar görülmesi olgusu daha da artmaktadır⁴. Ovsynch + ÖZT protokollerinde PGF₂ α enjeksiyonundan sonra < 39 saat gibi bir zaman süreci içerisinde östrüsler görülebilmektedir⁹. Düvelerde büyük bir olasılıkla folliküler dalga modelinde bir tutarsızlık söz konusu olduğundan dolayı egzogen GnRH uygulamaları ile luteal fonksiyonların senkronizasyonunun sağlanmadığı, bu nedenle ovsynch + ÖZT uygulamasının düvelerde başarılı olamadığı ifade edilmektedir⁶. İneklerde olduğu gibi⁶, düvelerde de ovsynch + ÖZT yönteminin başarısında, protokolün başlatıldığı seksüel siklusun döneminin önemli rol oynadığı, uygulamaya erken luteal fazda yani siklusun 5 – 10. günleri arasında başladığı zaman daha yüksek gebe kalma oranlarının elde edilebileceği belirtilmektedir⁴. Çalışmalarda farklı sonuçlar alınması kullanılan ovsynch + ÖZT yöntemlerindeki farklılıklardan, yukarıda sözü edilen diğer etkilerden kaynaklandığı kanısındayız. Ovsynch protokolünün düvelerde uygun olmadığına yönelik tespitlere⁴ rağmen, sunulan bu çalışmada ovsynch + ÖZT yöntemini kullanılması ile %58.48 gibi oldukça iyi bir ilk tohumlama gebelik oranı elde edilmiştir.

İnek ve düvelerde suni tohumlama programlarında progesteron ve progestagen preparatları ile östrüslerin ve ovulasyonun uyarılması girişimleri yaygın bir biçimde kullanılmaktadır⁷. Prepubertal düvelerde sadece norgestomet kulak implantı kullanılması ve östrüs gösterenlerin tohumlanması ile %47 ilk tohumlama gebelik oranına ulaşılmıştır¹². Norgestomet içeren kulak implantı ve norgestomet + östradiol içeren enjektabl solüsyonun (SMB tedavisi) pubertal, prepubertal düvelerde kullanımı ve östrüs gösterenlerin tohumlanması ile %33 – 63 arasında değişen ilk tohumlama gebelik oranı elde edilmiştir. SMB tedavisi ve ÖZT ile pubertal ve prepubertal düvelerde %39 – 62 arasında değişen ilk tohumlama gebelik oranlarına ulaşılmıştır. Pubertal düvelerde norgestomet implant + PGF₂ α ve östrüs gösterenlerin tohumlanması ile %62, norgestomet implant + PGF₂ α + ÖZT ile % 66 ilk tohumlama gebelik oranı elde edilmiştir⁸. Düvelerde CIDR + PGF₂ α + östrüs gösterenlerin tohumlanması ile %42 ilk tohumlama gebelik oranlarına ulaşılmıştır². Düvelerde PRID + PGF₂ α + ÖZT ile %53.2 – 62 arasında değişen ilk tohumlama gebelik oranı elde edilmiştir^{8,13,14}. Anöstrüs gösteren düvelerde PRID + PMSG ve PRID'in uzaklaştırılmasını izleyen 56. saatte ÖZT ile %85 gebelik oranına ulaşılmıştır¹³. Düve ve ineklerde PRID + PGF₂ α ve PRID'in çıkarılmasını izleyen 48, 72 ve 96. saatlerde ÖZT ile hakiki anöstrüslü inek ve düvelerde %91.7, suböstrüslü inek ve düvelerde %81.8 gebelik oranları elde edilmiştir¹¹. Sunulan çalışmada PRID + PGF₂ α + PMSG ve 56. saatte kör tohumlama ile toplamda %48.48, siklik düvelerde (pubertal) %48.27 ve siklik olmayan düvelerde (prepubertal) %50. 0 ilk tohumlama gebelik oranına ulaşılmıştır. Progestagen tabanlı senkronizasyon uygulamalarında, düvelerin yaşı ve kilosundaki artışlara bağlı olarak daha yüksek östrüs ve gebelik oranlarına ulaşıldığı belirtilmektedir¹⁴. Yukarıda sözü edilen literatürlerdeki değişik progesteron veya progestagen tabanlı uygulamalar karşılaştırıldığı zaman sunulan çalışmada literatürlerin çoğunluğu ile uyumlu olacak şekilde normal düzeyde bir ilk tohumlama gebelik oranı elde edildiği görülmektedir. Fakat Ünal ve arkadaşları¹³ ile Şendağ ve arkadaşlarının¹¹ çalışmalarında, sunulan çalışmadaki gebelik oranlarına göre çok yüksek gebelik oranları elde edilmiştir. Şendağ ve arkadaşlarının¹¹ hormonal uygulamaların bitimini takiben 3 tohumlama yapmaları, sunulan çalışmadan daha yüksek gebelik oranı elde edilmesinde rol oynadı.

miş olabilir. Yinede yukarıda sonuçlarından bahsedilen çalışmalarda^{11,13}, sırasıyla 5 ve 8 baş gibi çok sınırlı sayıda düvenin çalışma materyali olarak kullanılmış olduğunu göz önünde bulundurmak gerekmektedir.

Tablo I incelendiğinde sadece asiklik düvelerde ilk tohumlama gebelik oranının ovsynch grubunda, PRID + PGF₂ α + PMSG grubuna göre istatistiksel açıdan önemli olacak düzeyde fazla olduğu görülmektedir. Ancak gruptaki asiklik düve sayılarının çok az olması nedeniyle bu farklılığın değer taşımayacağı kanısındayız.

Sunulan çalışmada PRID+PGF₂ α + PMSG grubunda son hormonal uygulamayı izleyen ilk 5 gün içerisindeki toplam östrüs oranının %72.72 olduğu (Tablo. II) ve belirlenebilen 24 kızgınlığın 23'ünün birinci günde ve 1 tanesinin ise üçüncü günde olduğu görülmektedir (Tablo. III). Cleef ve ark.² CIDR + PGF₂ α uygulaması sonucu %89.9 oranında östrüs belirlediklerini ve bu östrüslerin % 85'nin ikinci günde şekillendiği bildirmektedirler. Sunulan çalışmada ovsynch grubundaki toplam östrüs tespit oranının %29.41 olduğu (Tablo. II) ve bu östrüslerin son GnRH uygulamasını izleyen 24 saat içerisinde toplandığı görülmektedir (Tablo. III). Ovsynch uygulaması yapılan düvelerde PGF₂ α uygulanan 7. günde %13, 8. günde %14.4, son GnRH uygulamasının yapıldığı 9 cu günde % 45.3 oranında östrüs şekillendiği ifade edilmektedir⁹. Ovsynch grubuna göre PRID grubunda toplamda, siklik ve asiklik düvelerde son hormonal uygulamaları izleyen 5 gün içerisinde östrüs tespit oranlarının istatistiksel açıdan önemli olacak düzeyde fazla olduğu görülmektedir (Tablo II). Bu sonuç diğer bazı çalışmalarla da^{2,9} uyumlu olacak şekilde progesteron veya progesteron uygulamalarında, ovsynch yöntemine göre östrüs tespit oranının daha iyi olduğunu göstermektedir. Gruplarda östrüslerin yoğunlaştığı günler dikkate alındığında yapılan kör tohumlamaların zamanlamalarının da uygun olduğu görülmektedir.

Düvelerde PGF₂ α ile uyarılmış östrüsterde yapılan tohumlamalar ile elde edilen fertilitenin iyi olduğu belirtilmektedir. Fakat uygulamaların yapıldığı dönemdeki dominant follikülün durumuna bağlı olarak östrüs ve ovulasyonun şekillenme zamanı açısından büyük varyasyonlar görüldüğü ve PGF₂ α uygulamalarının östrüs tespit problemi bulunan sürülerde önceden belirlenen zamanda kör tohumlama ile birlikte uygulanması durumunda, normalden düşük fertilitite değerleri-

nin elde edilmesi ile sonuçlandırıldığı ifade edilmektedir³.

Sonuç olarak, sunulan çalışmada siklik ve asiklik anöstrüslü düvelerde ovsynch veya PRID + PGF₂ α + PMSG uygulamaları ve önceden belirlenen dönemde tohumlama ile normale yakın düzeyde ilk tohumlama gebelik oranlarına ulaşılmıştır. Bununla birlikte ovsynch grubunda toplam ilk tohumlama gebelik oranının biraz daha fazla olma eğiliminde olduğu görülmüştür. Literatür bilgileri göz önüne alındığında, progesteron veya progesteron uygulamalarında persistent follikül oluşumu^{5,7,12}, ovsynch uygulamalarında östrüs ve ovulasyonlarda görülen asenkronizasyonun^{4,9} gebelik oranlarında meydana getirdiği düşüşün önüne geçilebilmesi için iki metodun birleştirilmesi tarzında bir progesteratif faz oluşturulması gerekmektedir. Bunun için ovsynch metodunda ilk GnRH ve PGF₂ α uygulamalarının arasında kulak implantı veya PRID takılmasının uygun olabileceği ve gelecek araştırmaların konusu olarak bunun çalışılması gerektiği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. CARRIERE PD, AMAYA D, LEE B. Ultrasonography and endocrinology of ovarian dysfunctions induced in heifers with estradiol valerate. *Theriogenology*. 1995; 43: 1061 – 1076.
2. CLEEF JV, MACMILLAN KL, DROST M, LUCY MC, THATCHER WW. Effects of administering progesteron at selected intervals after insemination of synchronized heifers on pregnancy rates and resynchronization of returns to service. *Theriogenology* 1996; 46: 1117 – 1130.
3. MARTINEZ MF, KASTELIC JP, MAPLETOFT RJ. The use of estradiol and / or GnRH in two-dose PGF₂ α protocol of breeding management of beef heifers. *Theriogenology* 2004; 62: 363 – 372.
4. MOREIRA F, SOTA L, DIAZ T, THATCHER WW. Effect of day of estrus cycle at the initiation of a timed artificial insemination protocol on reproductive responses in dairy heifers. *J. Animal Sci.* 2000; 78: 1568 – 1576.
5. MURAY JA, CAVALIERI J, OCCHIO MJD, WHYTE TR, MACLELLAN LJ., FITZPATRICK LA. Treatment with progesteron and 17 β – östradiol to induce emergence of a newly – recruited dominant ovulatory follicle during oestrus synchronisation with long – term use of norgestomet in Brahman heifers. *Animal Reproduction Science* 1998; 50 : 11 – 26.

6. NEBEL RL, JOBST SM. Evaluation of systematic breeding programs for lactating dairy cows: A review. *J.Dairy Sci.* 1998; 81: 1169-1174.
7. OCCHIO MJD, KINDER JE. Failure of the LH-releasing hormone agonist, deslorelin, to prevent development of persistent follicle in heifers synchronized with norgestomet. *Theriogenology.* 1995; 44: 849 – 857.
8. ODDE KG. A review of synchronization of in postpartum cattle.; *J. Animal Sci.* 1990 ; 68(3): 817-830.
9. SCHMITT EJP, DIAZ T, DROST M., THATCHER WW. Use of a gonadotropin releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Animal Sci.* 1996; 74: 1084 – 1091.
10. STEVENSON JS, KOBAYASHI Y, THOMPSON KE Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding system including ovsynch and combination of gonadotropin – releasing hormone and prostoglandin F₂ α . *J.Dairy Sci.* 1999; 82: 506 - 515
11. ŞENDAĞ, S, ÇELİK, HA, AYDIN, AYDIN, İ, ÇOLAK, M, ÜMÜTLÜ, S. Hakiki anöstrüs ve suböstrüslü düve ve ineklerde progesteron releasing intravaginal device (PRID) ile tedavisi. *Veteriner Bilimleri Dergisi.* 2001; 17(3): 129 – 134.
12. TANAKA Y, VINCENT DL, LEDGERWOOD KS, WEEMS CW. Variable progesteron response and estradiol secretion in prepubertal beef heifers following treatment with norgestomet implants. *Theriogenology.* 1995; 43: 1077 – 1086.
13. ÜNAL, EF, GÖKÇEN, H, NAK, Y, TÜMEN, H. PRID (Progesteron Salan Vagina İçi Alet) kullanımı ile inek ve düvelerde anöstrusun sağıtımı. *Uludağ Üniversitesi Veteriner Fak. Dergisi.* 1992; 11(2): 91 – 100.
14. XU ZZ, BURTON LJ. Reproductive performance of dairy heifers after estrus synchronization and fixed-timed artificial insemination. *J.Dairy Sci.* 1998; 82: 910 – 917.