

Siklik ve Siklik olmayan Sütçü İneklerde Ovsynch Protokolüne Verilen Yanıtın Karşılaştırılması

Abdulkadir KESKİN¹, Gülnaz YILMAZBAŞ-MECİTOĞLU¹, Ebru KARAKAYA¹,
Umut TAŞDEMİR², Ali ALKAN³, Hayrettin OKUT⁴, Ahmet GÜMEN¹

Geliş Tarihi: 26.10.2010

Kabul Tarihi: 26.11.2010

Özet: Ovsynch protokolü, iki GnRH ve bir PGF_{2α} uygulamasından oluşan ve ovulasyonu sinkronize eden zaman ayarlı suni tohumlama (ST) protokolüdür (GnRH-7gün-PGF_{2α}-56saat-GnRH-18 saat-ST). Bu protokolün avantajı, östrus tespitine gerek kalmadan ST'ye olanak sağlamasıdır. Yapılan çalışmalarda Ovsynch protokolü hem siklik hem de siklik olmayan ineklerde ovulasyonu başarılı bir şekilde sinkronize etmesine rağmen, elde edilen gebelik oranlarında farklılıklar mevcuttur. Bu çalışmanın amaçları; 1) siklik olmayan ineklerde Ovsynch öncesi en büyük follikül çapını belirlemek 2) siklik olmayan ineklerde follikül çapının Ovsynch sonuçları üzerine etkisini saptamak 3) siklik ve siklik olmayan ineklerde Ovsynch protokolüne verilen yanıtı karşılaştırmaktır. İneklerin siklik olup olmadıklarını saptamak amacıyla 7 gün arayla iki kez ovaryumların ultrasonografik muayenesi yapıldı. Çalışma, 181 baş siklik, 69 baş ise siklik olmayan toplam 250 baş inekte gerçekleştirildi. Siklik olmayan ineklerde Ovsynch öncesi en büyük follikül çapı 16-24 mm olan inek oranı (%44.9), 9-15 mm ($P<0.05$; %28.9) ve ≥ 25 mm ($P<0.01$; %26.0) follikül çaplarına sahip ineklerin oranından daha yüksek saptandı. Ovsynch'in ilk GnRH'na alınan yanıt, siklik olmayan ineklerde (%97.1, 67/69) siklik ineklere (%57.5, 104/181) göre daha fazla saptandı ($P<0.0004$). Ovsynch'in ikinci GnRH'na yanıt, siklik (%88.4, 160/181) ve siklik olmayan (%85.5, 59/69) ineklerde benzer tespit edildi. Aynı zamanda 31. gün gebelik oranında siklik (%39.8, 72/181) ve siklik olmayan (%31.9, 22/69) inekler arasında fark bulunmadı. Bununla birlikte ≥ 25 mm follikül çapına sahip siklik olmayan ineklerin Ovsynch'in ikinci GnRH'na yanıtı ve gebelik oranı (sırasıyla; %100 ve %55.5), follikül çapı 9-15 mm (sırasıyla; %75.0 ve %15.0) ve 16-24 mm (sırasıyla; %83.8 ve %29.0) olan ineklere göre daha yüksek saptandı. Sonuç olarak, siklik olmayan ineklerin Ovsynch protokolüne en az siklik inekler kadar yanıt verdiği ve Ovsynch başlangıcında siklik olmayan ineklerde en büyük follikül çapının ikinci GnRH'a yanıtı ve gebelik oranını etkilediği saptandı.

Anahtar Kelimeler: İnek, Ovsynch, siklik, siklik olmayan.

Comparison of Responses to Ovsynch between Cyclic and Noncyclic Cows

Abstract: The Ovsynch protocol is a timed artificial insemination program compromise two GnRH and one PGF_{2α} administrations in which ovulation was synchronized (GnRH - 7d - PGF_{2α} - 56h - GnRH - 18h - AI). The advantage of this protocol is allowing successful artificial insemination (AI) without detection of estrus. Previous studies have shown that although the Ovsynch protocol synchronized ovulation successfully in both cyclic and noncyclic cows, conception rate is inconsistent between the studies. The aims of this study were (1) to detect the maximum follicle size in noncyclic cows (2) to determine the effect of maximum follicle size on Ovsynch outcome (3) to compare response to Ovsynch protocol between cyclic and noncyclic cows. Cows' ovaries were

¹ Uludağ Üniversitesi Veteriner, Fakültesi Doğum ve Jinekoloji A.B.D, 16059, Görükle, Bursa.

² Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü, 06852, Lalahan, Ankara.

³ Tarfaş A.Ş., 16190, Karacabey, Bursa.

⁴ Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Biyometri ve Genetik Bilimdalı, 65080, Van.

evaluated by ultrasonography two times, 7 d apart, to determine cyclicity. Following the ultrasonographic examinations, total 250 lactating dairy cows were included the study, 181 cyclic and 69 noncyclic cows. The proportion of noncyclic cows had 16-24 mm follicle size (%44.9) at the beginning of the Ovsynch was greater than 9-15 mm ($P<0.05$; %28.9) and ≥ 25 mm ($P<0.01$; %26.0). Ovulation rate to first GnRH of Ovsynch was greater ($P<0.0004$) in cyclic (57.5%, 104/181) than in noncyclic cows (97.1%, 67/69). Response to second GnRH of Ovsynch was similar in cyclic (88.4%, 160/181) and in noncyclic (85.5%, 59/69) cows. The conception rate was also similar in cyclic (39.8%, 72/181) and noncyclic (31.9%, 22/69) cows. However, the conception rate and response to second GnRH of Ovsynch were found to be greater in cows that had follicle size ≥ 25 mm at (%100 and %55.5, respectively) beginning of the Ovsynch than cows that had follicle 9-15 mm (%75.0 and %15.0, respectively) and 16-24 mm (%83.8 and %29.0, respectively). Thus, noncyclic cows were respond to Ovsynch protocol as much as cyclic cows and maximum follicle size at the beginning of the Ovsynch in noncyclic cows significantly affect on response to second GnRH of Ovsynch and conception rate.

Key Words: Cow, Ovsynch, cyclic, noncyclic.

Giriş

Süt verimi ve fertilité sütçü işletmelerde verimliliği ve karlılığı belirleyen önemli faktörlerdir. Daha önceki çalışmalarda ineklerde süt verimi arttıkça fertilitenin azaldığı saptanmıştır⁹. Yüksek süt verimi, ineklerde fertilitéyle direkt ilişkili olan östrus süresinde kısalmaya, östrus göstermeden ovulasyonlara, anovülatör koşulların oluşmasına ve serum steroid konsantrasyonlarında (progesteron ve estradiol 17 β) azalmaya neden olmaktadır^{22,23}. Yukarıda sayılan nedenlerden dolayı, birçok işletmenin temel reproduktif yönetimi olan östrus takibi ve östrus gösteren ineklerin tohumlanması şeklindeki uygulamalar etkinliğini kaybetmektedir^{15,17,18}. Bunun yerine ineklerde östrus siklusunu düzenleyen ve kontrol eden hormonların kullanılmasıyla östrusu senkronize ederek fertilité artırılmaya çalışılmaktadır. Senkronizasyon protokolleri içerisinde PGF_{2 α} ve GnRH'nin beraber kullanıldığı protokoller geniş yer tutmaktadır. Bunlardan en önemlisi, ovulasyonu senkronize ederek ineklerde östrus takibine gerek kalmadan tohumlaya izin veren Ovsynch protokolüdür. Ovsynch protokolü iki GnRH ve bir PGF_{2 α} enjeksiyonundan oluşan (GnRH – 7 gün – PGF_{2 α} – 56 saat – GnRH – 18 saat – ST) ve suni tohumlama (ST) zamanı önceden belirlenebilen bir protokoldür¹⁶. Protokolde ilk GnRH enjeksiyonu follüküler dalgayı senkronize etmekte ve GnRH uygulamasını takiben 9 mm ve üzerindeki follüküller ovüle olarak yeni bir korpus luteum şekillenmekte, 9 mm altındaki follüküller regrese olmaktadır. Takiben 7 gün sonra uygulanan PGF_{2 α} korpus luteumları lize ederek yeni bir follüküler dalganın başlamasına neden olmaktadır. PGF_{2 α} 'dan 56 saat sonra yapılan ikinci GnRH enjeksiyonu hipofizden LH salınımını uyarak dominant follükülün enjeksiyonu takiben 32 saat içerisinde ovüle olmasını sağlar. Böylece ikinci GnRH, Ovsynch protokolünde

ovulasyonu senkronize ederek zaman ayarlı tohumlamaya imkân sağlar^{15,16}.

Yapılan çalışmalarda Ovsynch sonrası; ilk GnRH'a yanıt %50–70, ikinci GnRH'a yanıt %75–90 ve elde edilen gebelik oranları %25–45 arasında değişmektedir^{1,4,8,16,21,24}. Çalışmaların sonuçları arasındaki farklılığa neden olan birçok faktör vardır. Ovsynch'in başlatıldığı andaki östrus siklusunun dönemi, ineklerin sağıldığı gün sayısı (SGS) ve laktasyon sayısı Ovsynch'e verilen cevabı değiştirebilmektedir. Örneğin Ovsynch östrus siklusunun 5-12. gününde başlatıldığında elde edilen gebelik oranı, siklusun diğer günlerinde başlatılmasına göre daha yüksek saptanmaktadır^{1,4,8,18,21,24}. Ovsynch uygulanan tek doğum yapmış (primipar) ineklerden elde edilen gebelik oranı, birden fazla doğum yapmış (multipar) ineklere göre daha yüksektir^{5,18,20}. Aynı zamanda Ovsynch protokolünde, her bir hormona alınan yanıt Ovsynch'in başarısı üzerine önemli bir etkiye sahiptir. Örneğin Ovsynch'in ilk GnRH'na alınan yanıt ne kadar yüksek ise ineklerin senkronizasyon ve gebelik oranında artmaktadır^{1,4,8,18,21}.

İneklerin siklik olup olmamaları da Ovsynch'e verilen yanıtı etkilemektedir. Ovsynch uygulanan siklik olmayan ineklerin en az siklik olanlar kadar başarılı bir şekilde senkronize olmalarına rağmen gebelik oranları, siklik ineklere göre daha düşük saptanmıştır^{5,10,11,24}. Bazı çalışmalarda ise Ovsynch sonrası elde edilen gebelik oranı siklik ve siklik olmayan ineklerde benzer bulunmuştur^{2,14,19}. Bununla birlikte siklik olmayan ineklerde Ovsynch öncesi follükül çapının Ovsynch sonuçları üzerine etkisi konusunda herhangi bir araştırma bulunmamaktadır. Sunulan bu çalışma ile, siklik olmayan ineklerde Ovsynch başlangıcında 1) en büyük follükül çapının belirlenmesi ve 2) follükül çapının Ovsynch sonuçları üzerine etkisinin saptanması 3) hem siklik hem de siklik olmayan ineklerde Ovsynch'in ilk ve ikinci

GnRH'ına yanıtı ve gebelik oranını tespit etmek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

1. Hayvan Materyali, Barındırma ve Beslenme

Bu çalışma Bursa ili sınırları içerisinde bulunan, sürü kompozisyonu İsveç Kırmızısı (~%35) ve Siyah Alaca (~%65) ineklerden oluşan yaklaşık 1000 baş sağmal sütçü ineğe sahip bir ticari işletmede gerçekleştirildi (Ocak 2009-Aralık 2009). İşletmedeki, İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca inekler, birlikte serbest sistemde barındırıldı ve inekler süt verimine göre gruplandırılarak günde üç kez sağıldı. İşletmenin yıllık süt ortalaması 9.880 ± 69.7 kg'dı (305 gün). Yaz mevsimlerinde sıcaklık stresine karşı barınaklarda su püskürtme ve vantilatör sistemi kullanıldı. İnekler National Research Council normlarına uygun bir biçimde formüle edilmiş toplam karma rasyonla beslendi¹³. Sürünün, günlük süt verimi, fertilitite, sağlık ve sürü yönetimi kayıtları Alpro 2000 (DeLaval, İsveç) kullanılarak takip edildi.

Çalışmada kullanılan ineklerin ortalama günlük süt verimleri, tohumlamadan önceki ve sonraki haftanın ortalaması alınarak kaydedildi. İneklerin Vücut Kondüsyon Skoru (VKS) Ovsynch senkronizasyon protokolünün başlangıcında yapıldı ve 1 den 5'e kadar olan skalada değerlendirildi (1=çok zayıf, 5=çok yağlı)⁶. Çalışmada mevsim etkisinin belirlenmesi amacıyla, haziran, temmuz ve ağustos ayları sıcak dönem, eylül'den mayıs ayına kadar olan dönem ise soğuk dönem olarak kabul edildi. İneklerin sıcak mevsimde, sıcaklık stresine girip girmedikleri belirlemek amacıyla Sıcaklık-Nem-İndeksi hesaplandı (SNI)¹². Sıcaklık nem indexini hesaplamak için $(1.8 \times Tdb + 32) - [(0.55 - 0.0055 \times RH) \times (1.8 \times Tdb - 26.8)]$ formülü kullanıldı (Haziran ayında SNI=70.5, temmuz ayında SNI=73.6, ağustos ayında SNI=71.3 olarak belirlendi).

2. Ovsynch Protokolü

Çalışmaya 190 baş Siyah Alaca ve 60 baş İsveç Kırmızısı olmak üzere toplam 250 baş sağmal sütçü inek dahil edildi. Toplam 250 baş inekten 181 başı siklik ve 69 başı siklik olmayan ineklerdi ve tüm ineklere Ovsynch protokolü uygulandı. Bu protokolde; Ovsynch'in ilk GnRH enjeksiyonu (Busereline acetate, 10 µg, Receptal®, Intervet, Türkiye) ineklerin siklik olup olmadıklarının belirlenmesinden sonra kas içi uygulandı. ilk GnRH'dan 7 gün sonra PGF_{2α}

enjeksiyonu (Cloprostenol, 500 µg, i.m., Estrumate®, CEVA-DİF, Türkiye) yapıldı. PGF_{2α}'yı takiben 56 saat sonra ikinci GnRH enjeksiyonu (Busereline acetate, 10 µg, i.m., Receptal®) uygulandı. Suni tohumlamalar son GnRH uygulamalarında 16-18 saat sonra işletme Veteriner Hekimleri tarafından yapıldı.

3. Ultrasonografik Muayeneler

İneklerin siklik olup olmadıklarını belirlemek amacıyla ovaryumlar 7 gün arayla iki kez ultrasonografi ile muayene edildi (5,0–7,5 MHz proba sahip Honda HS 2000™, Honda, Japonya). Bu muayenelerde ovaryum üzerindeki bütün yapılar kaydedildi. Bir hafta arayla yapılan ovaryum muayenelerinden herhangi birinde ovaryum üzerinde luteal yapı saptanan inekler siklik, luteal yapı olmayan inekler siklik olmayanlar olarak değerlendirildi. Siklik olmayan ineklerde Ovsynch başlangıcında ovaryum üzerindeki en büyük follikülün çapı kaydedildi. Siklik olmayan inekler follikül çaplarına göre 3 grupta sınıflandırıldı. Follikül çapı 9-15 mm olan inekler birinci gruba dahil edilirken, 16-24 mm folliküle sahip inekler ikinci gruba ve ≥ 25 mm folliküle sahip olanlar üçüncü gruba dahil edildi. Siklik olmayan ineklerin follikül çapına göre sınıflandırmasında, Gümen ve ark.'nın⁵ yaptıkları sınıflandırma kriter alındı.

Üçüncü ultrasonografi muayenesi, PGF_{2α} enjeksiyonu sırasında yapıldı. Bu muayenede yeni şekillenen korpus luteum varlığı arandı. Yeni şekillen korpus luteum, Ovsynch'in ilk GnRH uygulaması sonrasında GnRH'a cevap veren follikül veya folliküllerin ovulasyonu olarak kabul edildi ve bu durum ilk GnRH'a cevap olarak tanımlandı. Dördüncü ultrasonografi muayenesi, ST anında gerçekleştirildi ve ST anındaki en büyük follikül çapı saptandı. Beşinci ultrasonografi muayenesi, ST'den 7 gün sonra yapıldı. Suni tohumlama sırasında saptanan ovulatör follikülün ST'den 7 gün sonra kaybolması ve ovaryum üzerinde yeni bir korpus luteum saptanması Ovsynch'in ikinci GnRH'ına yanıt olarak kabul edildi. Suni tohumlama zamanında ovulatör follikülü olmayan ya da ST zamanında follikül/folliküller olmasına rağmen ovulasyon yapmayan inekler ikinci GnRH'a yanıt vermedi olarak kabul edildi. Gebelik muayeneleri ST sonrası 31. ve 62. günde ultrasonografi ile yapıldı.

4. İstatistik Analizler

Çalışmanın istatistik analizi SAS programı kullanılarak yapıldı (Release 9.2, SAS Institute, Cary, NC). İstatistik modele; ineklerin

ırkı (İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca), laktasyon sayıları (ilk ve daha sonrakiler), önceki ST sayıları (ilk ST ve birden fazla ST'si olanlar), VKS, SGS, mevsim (sıcak ve soğuk dönem), süt verimi ve ineklerin siklik olup olmadıkları dahil edildi.

Siklik ve siklik olmayan ineklerde; süt verimi, laktasyon sayıları, önceki ST sayıları, SGS, VKS ve ST anındaki follikül çapları arasındaki farkı belirlemek için PROC GLM uygulandı. Siklik ve siklik olmayan ineklerde; ilk ve ikinci GnRH'na verilen yanıt, 31. ve 62. gün gebelik oranları arasındaki fark ve Ovsynch öncesi follikül çapı ile gebelik oranı arasındaki ilişki PROC FREQ ile belirlendi. Gebelik (31. ve 62. gün) üzerine süt veriminin, SGS'nin, VKS'nun, laktasyon sayısının, ST sayısının, mevsimin ve siklik olup olmamanın etkisinin belirlenmesi için PROC LOGISTIC kullanıldı. Ovsynch'in ilk GnRH'na yanıt üzerine süt veriminin, SGS'nin, VKS'nun, laktasyon sayısının, ST sayısının, mevsimin ve siklik durumunun etkisinin belirlenmesi için PROC LOGISTIC kullanıldı.

Bulgular

Çalışmada kullanılan ineklerin ortalama sağılan gün sayısı (siklik ineklerde; 123.1 ± 5.7 , siklik olmayan ineklerde 120.0 ± 9.7), ortalama süt verimleri (siklik ineklerde; 38.3 ± 0.6 kg/g, siklik olmayan ineklerde 36.8 ± 1.1 kg/g), ortalama laktasyon sayısı (siklik ineklerde 2.0 ± 0.1 , siklik olmayan ineklerde 1.94 ± 0.11) ve ST anındaki en büyük follikül çapı (siklik ineklerde 15.9 ± 0.18 mm, siklik olmayan ineklerde 15.4 ± 0.29 mm) bakımından siklik ve siklik olmayan inekler arasında fark saptanmadı. Bununla birlikte siklik ineklerin daha önceki ST sayısı (0.9 ± 0.08) istatistiki olarak farklı olmasa da siklik olmayan ineklere göre (0.6 ± 0.14) daha fazla olma eğiliminde olduğu belirlendi ($P < 0.09$). Siklik (2.83 ± 0.02) ineklerin vücut kondüsyonlarının siklik olmayan (2.64 ± 0.04) ineklere göre daha iyi durumda olduğu tespit edildi ($P < 0.0004$).

Siklik ve siklik olmayan ineklerde ilk ovulasyon, senkronizasyon oranı ve 31 - 62. gün gebelik oranları Tablo-1'de verilmiştir. Ovsynch'in ilk GnRH'na verilen yanıt, ineklerin siklik olup olmadıklarından ($P < 0.0004$) ve sağılan gün sayısından ($P < 0.001$) etkilenirken, mevsimin, süt veriminin, VKS'nun, ırkın ve laktasyon sayısının Ovsynch'in ilk GnRH'na verilen yanıt üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlendi. İlk ovulasyon oranı, siklik

olmayan ineklerde (%97.1, 67/69) siklik ineklere (%57.5, 104/181) göre daha fazla ($P < 0.004$) saptandı. İneklerde sağılan gün sayısı arttıkça Ovsynch'in ilk GnRH'na verilen yanıtın %0.1 oranında arttığı belirlendi (%95 Güven aralığında; 1.00 - 1.02). Senkronizasyon oranı değerlendirildiğinde, siklik (%88.4) ve siklik olmayan (%85.5) inekler arasında her hangi bir fark bulunamadı. Siklik ve siklik olmayan ineklerde 31. ve 62. gün gebelik oranları bakımından bir fark saptanmadı (Tablo-1).

Ovsynch sonrası siklik ve siklik olmayan ineklerde laktasyon sayısının, gebelik oranı üzerine her hangi bir etkisinin olmadığı ve primipar/multipar ineklerin Ovsynch'e aynı oranda cevap verdiği belirlendi (Tablo-2). Sonuçlar incelendiğinde Ovsynch'in sıcak ya da soğuk dönemde başlatılmasının gebelik üzerine bir etkisinin olmadığı tespit edildi (Tablo-3). Aynı şekilde süt veriminin, SGS'nin, VKS'nin ve ırkın gebelik üzerine herhangi bir etkisi saptanmadı.

Tablo 1. Siklik ve siklik olmayan ineklerde Ovsynch'in birinci ve ikinci GnRH'larına yanıt, gebelik ve embriyonik ölüm oranları.

Table 1. Response to first and second GnRH of Ovsynch, conception rate and embryonic loss in cyclic and noncyclic cows

	Siklik	Siklik olmayan	P değeri
Birinci GnRH'a yanıt (%)	57.5 (104/181)	97.1 (67/69)	0.0004
İkinci GnRH'a yanıt (%)	88.4 (160/181)	85.5 (59/69)	0.53
31. gün gebelik oranı (%)	39.8 (72/181)	31.9 (22/69)	0.24
62. gün gebelik oranı (%)	34.8 (63/181)	29.0 (20/69)	0.38
Embriyonik kayıp (%)	12.5 (9/72)	9.0 (2/22)	0.63

Tablo 2. Siklik ve siklik olmayan ineklerde laktasyon sayısının Ovsynch sonrası 31. ve 62. gün gebelik oranı üzerine etkisi

Table 2. The effects of parity on 31 and 62 d pregnancy in cyclic and noncyclic cows

	31. gün gebelik			62. gün gebelik		
	Siklik	Siklik olmayan	P değeri	Siklik	Siklik olmayan	P değeri
Primipar (%)	41.6 (32/77)	29.0 (9/31)	0.20	29.9 (23/77)	29.0 (9/31)	0.72
Multipar (%)	38.5 (40/104)	34.2 (13/38)	0.63	38.5 (40/104)	28.9 (11/38)	0.38
P değeri	0.67	0.64		0.56	0.99	

Tablo 3. Siklik ve siklik olmayan ineklerde Sıcak ya da Soğuk dönemin gebelik oranı üzerine etkisi

Table 3. The effects of hot and cold period on 31 and 62 d pregnancy in cyclic and noncyclic cows

Mevsim	31. gün gebelik			62. gün gebelik		
	Siklik	Siklik olmayan	P değeri	Siklik	Siklik olmayan	P değeri
Sıcak (%)	40.0 (38/95)	30.0 (6/20)	0.38	34.7 (33/95)	25.0 (5/20)	0.36
Soğuk (%)	39.5 (34/86)	32.7 (16/49)	0.42	34.9 (30/86)	30.6 (15/49)	0.60
P değeri	0.94	0.82		0.98	0.63	

Sunulan bu çalışmada Ovsynch öncesi en büyük follikül çapı 16-24 mm olan siklik olmayan inek oranı (%44.9, 31/69), 9-15 mm ($P<0.05$; %28.9, 20/69) ve ≥ 25 mm ($P<0.01$; %26.0, 18/69) follikül çaplarına sahip ineklerin oranından daha yüksek saptandı. Siklik olmayan ineklerde Ovsynch öncesi follikül çapının Ovsynch'in birinci GnRH'na verilen yanıt üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı belirlendi. Bununla birlikte 25 mm ve üzeri follikül çapına sahip ineklerin (%100, 18/18) Ovsynch'in ikinci GnRH'na, 9-15 mm (%75.0, 15/20) ve 16-24 mm (%83.8, 26/31) follikül çaplarına sahip ineklere göre daha fazla yanıt verdiği saptandı ($P<0.01$). Aynı şekilde 25 mm ve üzeri follikül çapına sahip ineklerin (%55.5, 10/18) gebelik oranı 9-15 mm ($P<0.004$; %15.0, 3/20) ve 16-24 mm ($P<0.06$; %29.0, 9/31) follikül çaplarına sahip ineklere göre daha yüksek saptandı (Tablo-4).

Tablo 4 Siklik olmayan ineklerde Ovsynch öncesi en büyük follikül çapının, Ovsynch'in birinci ve ikinci GnRH'na yanıtlara ve gebelik oranı üzerine etkisi.

Table 4. The effect of maximal follicul size on response to first and second GnRH of Ovsynch and conception rate in noncyclic cows

En büyük follikül çapı	Birinci GnRH'a yanıt	İkinci GnRH'a yanıt	31. gün gebelik
9 - 15 mm	%100 (20/20)	%75.0 (15/20) ^a	%15.0 (3/20) ^x
16 - 24 mm	%96.7 (30/31)	%83.8 (26/31) ^a	%29.0 (9/31) ^y
≥ 25 mm	%94.4 (17/18)	%100 (18/18) ^b	%55.5 (10/18) ^z

a,b P = 0.01; x,y P = 0.21; x,z P = 0.004; y,z P = 0.06

Tartışma

Yapılan çalışmalarda, sağmal sütçü ineklerde Ovsynch'in ilk GnRH'na yanıt %50-70 arasında değişmektedir^{4,5,8,18,21,24}. Literatürlerde

siklik olmayan ineklerin siklik ineklere oranla Ovsynch'in ilk GnRH'na daha fazla cevap verdiği bildirilse de, çalışmaların sonuçları arasında tutarsızlıklar vardır^{4,5,11,14}. Örneğin, Gümen ve ark.⁵ siklik olmayan ineklerin (%88) siklik ineklere (%62) göre ilk GnRH'a daha fazla yanıt verdiğini bildirmektedir. Ancak Moreira ve ark.¹¹ Ovsynch sonrası siklik ve siklik olmayan ineklerin ilk GnRH'a yanıt bakımından inekler arasında bir fark saptamamışlar ve her iki grup için ilk GnRH'a yanıtı %50 oranında tespit etmişlerdir. Bununla birlikte Öztürk ve ark.¹⁴ ilk GnRH'a yanıtı siklik ineklerde (%78) siklik olmayan ineklere (%54) göre daha yüksek saptamışlardır. Sunulan bu makalede, siklik ineklerde ilk GnRH yanıt %58 tespit edilirken siklik olmayan ineklerde ilk GnRH'a yanıt %97 olarak saptanmış ve iki grup arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.004$). Elde edilen bu sonuç, Ovsynch'in ilk GnRH'na siklik olmayan ineklerin daha fazla cevap verdiğini bildiren çalışmalarla uyumlu bulunmuştur^{4,5}.

Sunulan bu çalışmada Ovsynch uygulanan siklik (%88) ve siklik olmayan (%85) inekler ikinci GnRH'a yüksek oranda cevap vermiş ve gruplar arasında bir fark saptanmamıştır. Elde edilen sonuçlar daha önceki yapılan çalışmaların sonuçlarıyla benzer bulunmuştur^{1,5,19,21}. Ancak bazı çalışmalarda siklik olmayan ineklerde ikinci GnRH'a yanıt, siklik ineklere göre daha düşük saptanmıştır^{4,14}. Yapılan bir çalışmada ikinci GnRH'a yanıtı, Ovsynch başlangıcında siklik olan ve progesteron seviyesi yüksek olan ineklerde (%81), siklik olmayan ineklere (%69) göre daha yüksek belirlenmiştir¹⁴. Benzer bir çalışmada da ilk GnRH zamanında siklik olan ineklerde ikinci GnRH'a yanıt %87 saptanırken siklik olmayan ineklerde %76 olarak tespit edilmiştir⁴. Sunulan bu çalışmada siklik olmayan ineklerdeki ikinci GnRH'a alınan yüksek cevap siklik olmayan ineklerin ilk GnRH'a verdikleri yüksek orandaki cevaba bağlı olabilir. Yapılan bir çalışmada Ovsynch'in ilk GnRH'na cevap veren siklik olmayan ineklerde ikinci GnRH'a cevap %90 saptanırken, ilk GnRH'a cevap vermeyen siklik olmayan ineklerde ikinci GnRH'a cevabı daha düşük (%49) saptanmıştır¹¹. Daha önceki yapılan çalışmalarda, Ovsynch'in PGF_{2α} uygulama zamanında ineklerde progesteron seviyesi ne kadar yüksekse ikinci GnRH'a yanıtın o kadar yüksek oranda olduğu bildirilmektedir^{4,14}. Örneğin Ovsynch'in ilk GnRH'ı ile PGF_{2α} arasına ekzojen progesteron uygulanan (%87) ineklerde, uygulanmayanlara (%80) göre ikinci GnRH'a yanıt

daha yüksek saptanmıştır⁴. Sunulan bu çalışmamızda aynı zamanda 25 mm ve üzeri follikül çapına sahip ineklerde Ovsynch'in ikinci GnRH'ına yanıt ve elde edilen gebelik oranı, 9-15 mm ve 16-24 mm follikül çapına sahip ineklere göre daha fazla saptanmıştır. Bunun sebebi belkide büyük folliküle sahip, siklik olmayan ineklerin, ilk GnRH uyarımına bağlı olarak ovulasyonu takiben şekillenen korpus luteumun daha büyük olması ve daha fazla progesteron üretmesi olarak açıklanabilir. Yukarıda belirtildiği gibi PGF_{2α} zamanında yüksek serum progesteron seviyesine sahip ineklerde senkronizasyon oranının ve takiben gebelik oranının da yüksek tespit edilmiştir.

Ovsynch uygulanan siklik ve siklik olmayan ineklerden elde edilen gebelik oranı çalışmalar arasında farklılık göstermektedir. Bazı çalışmalarda siklik ineklerin gebelik oranı siklik olmayan ineklere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir^{5,10,11}. Örneğin Moreira ve ark.¹¹ siklik ineklerde gebelik oranını %42, siklik olmayan ineklerde %22, Gümen ve ark.⁵ siklik ineklerde %31, siklik olmayan ineklerde %9 ve Maiero ve ark.¹⁰ siklik ineklerde %38 siklik olmayan ineklerde %7 saptamışlardır. Ancak Cordaba ve Fricke² siklik ineklerdeki gebelik oranı ile (%46) ve siklik olmayan ineklerin (%30) gebelik oranları arasında bir fark saptamıştır. Bu çalışmanın sonucuyla uyumlu olarak, bu çalışmada 31. gün gebelik oranı siklik ineklerde %40 ve siklik olmayan ineklerde %32 olarak belirlenmiştir.

Siklik olmayan ineklerde elde edilen düşük gebelik oranı, Ovsynch'in ilk GnRH'ını takiben elde edilen yüksek ovulasyon oranına rağmen, kısa süren luteal döneme atfedilmektedir^{5,22}. Bu problem, Ovsynch'in ilk GnRH'ı ve PGF_{2α} arasındaki 7 günlük süreye ekzojen progesteron uygulanarak aşılmaya çalışılmıştır^{19,22}. Yapılan bir çalışmada Ovsynch + progesteron uygulanan siklik olmayan ineklerde gebelik oranı sadece Ovsynch uygulanan siklik olmayan ineklere göre %10 daha fazla saptanmıştır¹⁹. Bununla birlikte Ovsynch sonrası gebelik oranı siklik olmayan ineklerde düşük saptanan çalışmalar incelendiğinde Ovsynch'in ineklere erken laktasyon döneminde (postpartum 50-75. gün) uygulandığı görülmektedir. Negatif enerji dengesinin devam ettiği ve ineklerin süt veriminde pike ulaştığı bu dönemde uygulanan Ovsynch sonrası gebeliklerin düşük saptanması normal olarak kabul edilmektedir²²⁻²⁴. Wiltbank ve ark.²² erken laktasyon döneminde (postpartum 50-75. gün) siklik olmayan inekler-

de gebelik oranının düşük olacağını ve postpartum 100. günden sonra siklik olmayan ineklerde elde edilecek gebelik oranının siklik inekler gibi olacağını belirtmektedirler. Ancak burda önemli olan noktanın VKS'un 2.50 ve altı olması durumunda gebelik oranının düşük olacağını vurgulamaktadırlar. Benzer şekilde Moreira ve ark.¹¹ VKS'nin düştükçe ineklerde gebelik oranında azaldığını saptamışlardır. Sunulan bu çalışmada siklik olmayan ineklerin ortalama sağılan gün sayısı 120 ± 9.7 gün ve VKS'leride 2.64±0.04 olarak saptandı. Bu sonuç yukarıda belirtilen kritik değerlerin üzerindedir ve Ovsynch sonrası siklik olmayan ineklerden elde edilen gebelik oranının siklik ineklerle benzer olmasının nedenini açıklayabilmektedir.

Yapılan bazı çalışmalarda primipar ineklerin, multipar ineklere göre gebelik oranının daha yüksek olduğu bildirilmektedir^{5,18,20}. Örneğin Souza ve ark.¹⁸ primipar ineklerde gebelik oranını %65, multiparlarda %45 olarak saptamışlardır. Ancak bu çalışmada, Ovsynch öncesi presenkronizasyon uygulanmış ve yazarlar primipar ineklerde elde edilen yüksek gebelik oranını presenkronizasyon etkisine bağlamışlardır. Yapılan başka bir çalışmada ise gebelik oranı multipar ve primipar arasında istatistiki olarak farklı saptanmamış, ancak primipar ineklerin sayısal olarak fazla olduğu bildirilmektedir²⁰. Sunulan bu çalışmada primipar ve multipar inekler arasında Ovsynch sonrası elde edilen gebelik oranı bakımından bir fark saptanmadı. Bu sonuç yukarıdaki literatürlerin sonuçlarıyla uyumlu bulunmamıştır. Bununla birlikte, multipar ve primipar inekler arasında Ovsynch'e verilen yanıtın karşılaştırılabilmesi için daha fazla sayıda ineğin çalışmaya katılmasına gerek vardır.

Sunulan bu çalışmada, aynı zamanda sıcak mevsiminin Ovsynch sonrası gebelik üzerine etkisi araştırıldı. Sıcak yada soğuk dönemde Ovsynch sonrası elde edilen gebelik oranı bakımından dönemler arasında bir fark bulunmadı. Ancak sıcak dönemin sağmal ineklerde yol açtığı sıcaklık stresinin fertilité üzerine olumsuz bir etkiye sahip olduğu bildirilmektedir^{3,7,24}. Bu çalışmada gebeliklerin sıcak dönemden etkilenmemeleri ineklerin sıcaklık stresine maruz kalmamalarıyla açıklanabilir ve hesaplanan SNI'de bu sonucu doğrulamaktadır.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada Ovsynch uygulanan siklik ve siklik olmayan ineklerde ilk GnRH' a yanıt siklik olmayan ineklerde yüksek saptanırken, ikinci GnRH'a yanıt ve gebelik oranları benzer saptanmıştır.

Bununla birlikte siklik olmayan ineklerin Ovsynch öncesi ovaryum üzerindeki follikül çapı büyüdükçe ikinci GnRH'a yanıtın ve gebelik oranın arttığı saptanmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma TOVAG 107O227 (TÜBİTAK) numaralı proje tarafından desteklenmiştir. Aynı zamanda çalışmanın yapıldığı TARFAŞ A.Ş.'ine ve çalışanlarına yardım ve desteklerinden dolayı teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Bello N.M., Steibel, J.P., Pursley, J.R., 2006. Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.*, 89, 3413-3424.
- Cordoba M.C., Fricke, P.M., 2001. Evaluation of two hormonal protocols for synchronization of ovulation and timed artificial insemination in dairy cows managed in grazing-based dairies. *J Dairy Sci.*, 84, 2700-2708.
- Dikmen S., Hansen, J.P., 2009. Is the temperature-humidity index the best indicator of the heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? *J Dairy Sci.*, 92, 109-116.
- Galvao K.N., Santos J.E.P., 2010. Factors affecting synchronization and conception rate after the Ovsynch protocol in lactating Holstein dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.*, 45, 439-446.
- Gumen A., Guenther, J.N., Wiltbank M.C., 2003. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in noncyclic and cyclic lactating dairy cows. *J Dairy Sci.*, 86, 3184-3194.
- Ferguson J.D., Galligan, D.T., Thomsen N., 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J Dairy Sci.*, 77, 2695-2703.
- Hansen J.P., 2009. Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 364, 3341-3350.
- Keskin A., Yilmazbas-Mecitoglu, G., Gumen, A., Karakaya, E., Darici, E., Okut, H., 2010. Effect of hCG vs. GnRH at the beginning of the Ovsynch on first ovulation and conception rates in cyclic lactating dairy cows. *Theriogenology*, 74, 602-607.
- Lopez-Gatius F., 2003. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology*, 60: 89-99.
- Maiero S., Renaville, B., Comin, A., Marchini, E., Fazzini, U., Prandi, A., Motta, M., Marchi, V., 2006. Effect of cyclicity on Ovsynch synchronization treatment efficiency in dairy cows. *J. Anim. Vet. Adv.*, 5, 1062-1066.
- Moreira F., Orlandi C., Risco C.A., Mattos R., Lopes F., Thatcher W.W., 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.*, 84, 1646-1659.
- National Research Council. 1971. A guide to environmental research on animals. *Natl. Acad. Sci.*, Washington, DC.
- National Research Council, 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*, 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, D.C.
- Öztürk Ö.A., Cirit, Ü., Baran, A., Ak, A., 2010. Is Doublesynch protocol a new alternative for timed artificial insemination in anestrus dairy cows? *Theriogenology*, 73, 568-576.
- Pursley J.R., Kosorok, M.R., Wiltbank, M.C., 1997. Reproductive management of lactating dairy cows using synchronization of ovulation. *J Dairy Sci.*, 80, 301-306.
- Pursley JR, Wiltbank, M.C., Stevenson, J.S., Ottobre, J.S., Garverirc, H.A., Anderson, L.L., 1997. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized ovulation or synchronized estrus. *J Dairy Sci.*, 80, 295-300.
- Rabiee A.R., Lean, I.J. Stevenson M.A., 2005. Efficacy of Ovsynch program on reproductive performance in dairy cattle: a meta-analysis. *J Dairy Sci.*, 88, 2754-2770.
- Souza A.H., Ayres H., Ferreira R.M., Wiltbank M.C., 2008. A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 70, 208-215.
- Stevenson J.S., Pursley, J.R., Garverick, H.A., Fricke, P.M., Kesler, D.J., Ottobre J.S., Wiltbank, M.C., 2006. Treatment of cycling or noncycling lactating dairy cows with progesterone during the Ovsynch. *J Dairy Sci.*, 89, 2567-2578.
- Tenhagen B.A., Wittke, M., Drillich, M., Heuwieser, W., 2003. Timing of ovulation and conception rate in primiparous and multiparous cows after synchronization of ovulation with GnRH and PGF_{2α}. *Reprod. Dom. Anim.*, 38, 451-454.
- Vasconcelos J.L.M., Silwox R.W., Rosa G.J.M., Pursley J.R., Wiltbank M.C., 1999. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 52, 1067-1078.

22. Wiltbank M.C., Gumen , A., Lopez, H., Sartori, R., 2008. Management and treatment of dairy cows that are not cycling or follicular cysts. *Cattle Practice*, 16, 14-19.
23. Wiltbank M.C., Lopez, H., Sartori, R., Sangsritavong, S., Gumen A., 2006. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. *Theriogenology*, 65, 17-29.
24. Yamada K., 2005. Development of ovulation synchronization and fixed time artificial insemination in dairy cows. *J. Reprod. Dev.*, 51,177-186.