



Modifiye U-synch Protokolü ile Mevsim Dışı Senkronize Edilen Akkaraman Kangal Irkı Prepubertal Kuzu ve Primipar Koyunlara GnRH ve hCG Uygulamalarının Fertilite Üzerine Etkisi

Abdurrahman TAKCI

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji A.D. 58140 Kampüs, Sivas, Türkiye

*Corresponding Author's E-Mail: abdurrahmantakci@cumhuriyet.edu.tr

Özet

Koyunlar mevsimsel poliöstrik hayvanlardır. Yerli gen kaynağımız olan Akkaraman-Kangal ırkı koyunlar da yıl içinde sadece üreme sezonunda (sonbahar aylarında) seksüel aktivite göstermektedir. Bundan dolayı üreme sezonu dışında (anöstrüste) gebelik elde etmek için farklı seksüel uyarımlar yapılması gerekmektedir. Bu amaçla mevcut çalışma her grubun 15 baş prepubertal kuzu (10-14 aylık) ve 10 baş primipar koyun (postpartum 55-70.günlerinde olan) ihtiva ettiği üç grup ile derin anöstrüs döneminde (Mayıs-Haziran) olan hayvanlarda yürütülmüştür. Bütün gruplara 0. gün 100 µg gonadorelin diasetat tetrahidrat kas içi enjeksiyonu ile birlikte 20 mg flurogestan asetat içeren sponj 7 gün süreyle vaginada tutulmuş ve sponj çıkarıldığı gün 131,5 µg kloprostenol sodyum ve 600 IU eCG kas içi enjeksiyonları yapılmıştır. Sponj çıkarıldıktan 56 saat sonra (10. gün); Grup 1'deki hayvanlara 100 µg gonadorelin diasetat tetrahidrat (GnRH), Grup 2'deki 600 IU hCG enjeksiyonu yapılırken, Grup 3 (Kontrol)'deki hayvanlara 2 ml serum fizyolojik enjeksiyonlarını takiben koç katımı yapıldı ve koçlar 5 gün boyunca (10-15. gün) koyunlarla birlikte kaldı. Gruplar arasında östrüs gösterme, gebe kalma oranları ve eşit günlerde progesteron seviyeleri değerlendirilmiş olup gruplar arasında bu parametreler yönünden oluşan fark istatistiki yönden anlamlı bulunmadı. Modifiye U-synch yöntemlerinin prepubertal toklu ve primipar koyunlarda reproduktif etkinliği benzer bulundu. Sonuç olarak Akkaraman Kangal ırkı prepubertal toklu ve primipar koyunlarda modifiye U-synch yöntemleri ile anöstrüste gebelik elde edilebileceği belirlenmiştir.

Received 19 July 2019
Received in revised form 30 July 2019
Accepted 4 August 2019

Anahtar kelimeler:

Akkaraman, anöstrüs, kangal, prepubertal, koyun.

Cite this article: Takcı A (2019) Modifiye U-synch Protokolü ile Mevsim Dışı Senkronize Edilen Akkaraman Kangal Irkı Prepubertal Kuzu ve Primipar Koyunlara GnRH ve hCG Uygulamalarının Fertilite Üzerine Etkisi. Turk Vet J, 1(2):60-68.

The Effects of GnRH and hCG Applications on Fertility in Akkaraman Kangal Prepubertal Lambs and Primiparous Sheep with Synchronized Modified U-synch Protocol and out of Breeding Season

Abstract

Sheep are seasonally polyestrous. Our native genetic source Akkaraman-Kangal breed sheep show sexual activity only in breeding season (months of fall) through year too. Different induction methods are needed to produce lamb out of breeding season). For this purpose, the study conducted on 3 groups which involve 15 prepubertal ewe lamb (10-14 months of age) and 10 primiparous ewe (55-70 days of postpartum) in deep anestrous (may-june). Each group was recieved 100 µg gonadorelin diacetate tetrahydrate (GnRH) together with progesterone including sponge (20 mg flugeston acetate). Sponge was out 7 days (7th Day) later following 131,5 µg PGF2α and 600 IU eCG injection. 100 µg gonadorelin diacetate tetrahydrate (GnRH), 600 IU hCG and 2 ml sterile saline solution was injected to group 1, 2 and 3 respectively at the 56th hour following sponge out. Ram were introduced to the groups for 5 days after injection (between 10-15th days). Progesterone levels, Estrous and pregnancy rate were evaluated. Significant diffirences was not observed between groups. Reproductive efficiency of the modified U-synch method found to be smilar in prepubertal ewe lambs and primiparous ewes. In conclusion, it was determined that a reasonable pregnancy rate can be achieved with modified U-synch method in Akkaraman-Kangal prepubertal ewe lambs and primiparous ewes.

Key words: Akkaraman, anestrus, kangal, prepubertal, sheep.

Giriş

Koyunlar mevsime bağlı üreme özelliğine sahiptirler. Üreme sezonunda östrüs siklusunun ardışık şekilde tekrar etmesi sebebiyle mevsimsel poliöstrik hayvanlar olarak nitelenir. Mevsime bağlı üreme özelliği doğal bir kontraseptif (gebelik önleyici) olarak karşımıza

çıkılmaktadır. Doğumların belirli bir zaman diliminde olması kuzu ve süt üretimlerinin de yılın bir döneminde yoğunlaşmasına neden olmaktadır. (Gómez-Brunet ve ark., 2008; Bartlewski ve ark., 2011; Abecia ve ark., 2012; Weems ve ark., 2015; Pampori ve ark., 2018).

Koyunlarda reproduktif etkinliğinin değerlendirilmesi koyunların yaşamları boyunca sahip oldukları kuzu verimlerine bakılarak yapılmaktadır. İlk kuzulama yaşı ve kuzulamalar arasındaki zamanın azaltılması halinde reproduktif verimin arttığı bilinmektedir. Sezon dışında farklı uygulamalar ile ovulasyonlar sağlandığı takdirde üreme sezonu ve pubertasa ulaşma yaşı ayarlanabilmektedir (Lewis ve ark., 1996).

Koyunlar 7-10 aylık yaşta yetişkin ağırlığının %50-70'ine ulaştığında pubertasa erişirler. Kuzularda pubertaya geçişte mevsim belirleyici rol oynamaktadır. Beslenme ve vücut ağırlığı gibi faktörler yeterli olsa dahi sezona ulaşmadan kuzuların pubertal aktivite göstermeleri mümkün değildir. Bu nedenle aşım sezonu dışında pubertasa geçiş için gerekli olgunluğa ulaşan kuzular ancak takip eden aşım sezonunda pubertasa ulaşabilmektedir (Valasi ve ark., 2012). Doğumdan sonraki ilk yıl içerisinde pubertasa ulaşarak gebe kalan kuzular yetişkin olduklarında daha yüksek reproduktif performans sergilemektedir. Bu nedenle reproduktif olgunluğa erişmiş ancak mevsimsel olarak pubertasa erişemeyen kuzularda yapılacak uyarımlar reproduktif etkinliği ve verimliliği doğrudan artırmaktadır (Edwards ve ark., 2015).

Üremenin kontrol altına alınmasında fotoperiyod uygulamaları, koç etkisi, yoğun besleme (flushing) gibi doğal yöntemler kullanılsa da pratikte koyun ve keçilerde üremeyi kontrol altına almak için GnRH, progestagenler, östrojenler, PGF2 α ve analogları, melatonin, gebe kısarak serum gonadotropini (eCG/PMSG), insan koryonik gonadotropini (hCG), melatonin gibi hormonlar ve bunların kombinasyonları kullanılmaktadır (İbiş & Ağaoğlu, 2016).

Sıklıkla kullanılan yöntemlerden biri olan koç etkisi progesteron uygulamalarından sonra kısa süre içerisinde LH salınımını artırarak östrus ve ovulasyonların daha dar bir zaman aralığında senkronize bir şekilde ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Ungerfeld, 2011). Benzer şekilde koyunlarda yapılan sabit zamanlı suni tohumlama protokollerinde progesteron uygulamalarını takiben 36-48. saatlerde GnRH uygulamaları yapılmaktadır (Reyna ve ark., 2007). Buna rağmen yapılan bazı çalışmalarda progesteron uygulamaları sonrasında GnRH enjeksiyonunun üreme etkinliği artırsa da çalışma sonunda elde edilen üreme sonuçları etkilemediği belirtilmektedir (Walker ve ark., 1989, Eppleston ve ark., 1991). Bunun yanında prepubertal hayvanlarda pubertasa geçiş sürecinde yapılan uyarımlarda daha düşük gebelik oranları elde edilmektedir (Edwards ve ark., 2015). Pubertasa geçiş

sürecinde prepubertal hayvanlarda yetişkinlere kıyasla çok daha düşük miktarlarda LH salınımı meydana gelmekte bu nedenle ilk fertil ovulasyon öncesinde ovulasyonsuz östruslar ve suböstrus olguları görülmektedir (Foster & Hileman, 2015). Prepubertal hayvanlarda makul gebelik oranları elde edilmesi amacıyla progesteron uygulamalarıyla yapılan uyarımlarda uzun süreli koç katımı yapılmaktadır (Abecia ve ark., 2016; Kıvrak, 2019).

Prepubertal hayvanlarda senkronizasyon süresini kısaltmak amacıyla geliştirilecek yeni uygulamalar maliyeti azaltarak karlılığın artmasını sağlayacaktır. Bu nedenle yapılan çalışmada modifiye-U synch yöntemi ile senkronize edilmiş, progesteron uygulamasından sonra GnRH ve hCG uygulanmış prepubertal kuzu ve primipar koyunlarda kısa süreli koç katımının östrus ile gebelik oranları üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler

Bu çalışma uygulamalarına; Cumhuriyet Üniversitesi - Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 196 sayı ve 08.02.2019 tarihli kararı ile T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı'nın 71037622-325.04.02-E. 81906 sayı ve 08.01.2019 tarihli kararıyla çalışmada kullanılacak olan koyun ve koçlarda yapılacak tüm uygulamalar, hayvan hakları ve deney etiğine uygun olarak yürütüldü.

Yapılan çalışmanın materyalini; Sivas İli Gürün İlçesi 38.841171 enlem ve 37.289158 boylamda yer alan koyunculuk işletmesinde bulunan 24 aylık yaşta 30 baş primipar koyun, 10-14 aylık yaşta 45 baş prepubertal kuzu ve 24-60 aylık yaşta 7 baş Akkaraman-Kangal ırkı koç oluşturdu. Çalışma öncesinde kullanılan koyunların genel sağlık muayeneleri yapıldı ve sağlıklı olduğu belirlenen hayvanlar çalışmaya dâhil edildi. Çalışma öncesinde koç etkisinden yararlanmak amacıyla koçlar sürüden uygulamalara başlamadan 1 ay önce ayrıldı. Hayvanların beslenmesi yalnızca merada olup, uygulamalar öncesi veya uygulama süresince ilave besleme yapılmadı.

Çalışmaya dâhil edilen hayvanlar rastgele her grupta 10 primipar koyun ve 15 prepubertal kuzu olacak şekilde toplam 45'er hayvan bulunan 3 eşit gruba ayrıldı. Çalışmaya dahil edilen tüm hayvanlara 0. gün kas içi (İM) olarak 100 μ g gonadorelin diasetat tetrahidrat (Ovarelin®, CEVA) enjeksiyonu ile birlikte 20 mg flugeston asetat içeren intravaginal sünger (Chronogest®, MSD) yerleştirildi. Süngerlerin 7. gün

çıkartılmasını müteakip 600 IU eCG (PMSG-Intervet®, MSD) İM ve 131.5 µg cloprostenol sodyum (Estrumate®,MSD) İM enjeksiyonu yapıldı. Daha sonra 1. grupta bulunan hayvanlara süngerler çıkartıldıktan 56 saat sonra (10. gün) 100 µg GnRH, 2. grupta bulunan hayvanlara 600 IU hCG (Chorulon®,MSD), 3. grupta bulunan hayvanlara ise 2 ml serum fizyolojik (S.F.) solüsyonu İM olarak uygulandı. Sünger çıkartıldıktan 56 saat sonra yapılan enjeksiyonları takiben tüm gruplara 5 gün (10-15. gün) süreyle koç katımı yapıldı. Koçlar belirtilen süre içinde gün boyu koyunlarla birlikte kaldı. Koç katımı süresince en az 1 kez çiftleşen hayvanlar östrus pozitif olarak kaydedildi. Çalışma başlangıcından itibaren 38. günde tüm hayvanlara transrektal, 98. günde ise transabdominal olarak ultrasonografi (Mindray DP50/Vet/Us, 2-10 MHz koyuna spesifik transrektal linear prob, konveks prob) ile gebelik muayenesi yapıldı. Gebe olduğu belirlenen hayvanlarda gebelik muayeneleri sonrasında şekillenebilecek fetal ölümleri belirlemek için gebe hayvanların doğumları gözlemlenerek kayıt altına alındı.

Kan örneklerinin alınması ve değerlendirilmesi:

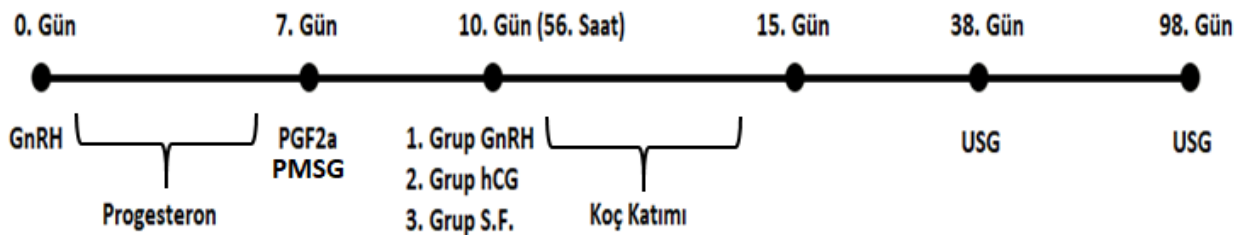
Uygulamalar esnasında (süngerler takılırken, çıkarılırken, çıkarıldıktan 56 sonra koç katımında ve tüm gebelik muayanelerinde) progesteron seviyesi belirlenebilmesi için vena jugularisten 10 ml kan örnekleri alındı. Oda sıcaklığında yarım saat bekletildikten sonra kan örnekleri soğutmalı santrifüjde 3.000 devir/5dakika olacak şekilde santrifüj edildikten sonra serum örneklerinin her birinden 2 adet 1 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine alınarak ölçüm zamanına kadar -80°C'de stoklandı. Progesteron ölçümü analitik sensitivitesi ≤0.1 ng/ml ve ölçüm aralığı: 0.1 ng/ml-36.0 ng/ml progesteron olacak şekilde ARCHITECT Progesteron Chemiluminescence (7K77) Abbott test kiti ve tam otomatik ARCHITECT -i2000SR (Abbott) cihazı kullanılarak Chemiluminescence Microparticle Immunoassay (CMIA) yöntemi ile yapıldı. Çalışma içi (intra-assay) coefficient of variation (CV)'u düşük ve

yüksek seviyeli progesteron konsantrasyonları için sırasıyla %3.4-5.5 ile %1.6-2.2 arasında değişmektedir. Analizler Serum (serum ve serum separatör tüplerine alınan kanlarda) ve Plazma (Na heparin, Li heparin ve K EDTA antikoagülanları ile) örnekleri için 32 valide edilmiştir. Belirtilen antikoagülanlar dışındaki diğer antikoagülanlarla validasyon yapılmamaktadır.

İstatistiksel analizler: Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.) istatistik paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Değişkenlerin öncelikle Shapiro wilk ve Levene testi ile normallik ve homojenlik varsayımlarını sağlayıp sağlamadığı kontrol edilmiştir. Gebe olduğu belirlenen hayvanlardaki progesteron seviyesi ortalamaları tek yönlü varyans analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. Post hoc olarak Bonferonni testi kullanılmıştır. Gebe olduğu belirlenen hayvanlarda gruplar arasında tekiz ve çoklu gebelik oranları ile çiftleşen hayvanlarda gebelik oranları Monte Carlo simülasyonu kullanılarak ki-kare analizi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arasında gebelik ve östrus oranları ki-kare analizi kullanılarak değerlendirilmiştir. GnRH, hCG ve kontrol gruplarında gebe olduğu tespit edilen hayvanların primipar veya prepubertal olma durumu arasında ilişki ikili lojistik regresyon analizi yapılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada veriler % olarak ifade edilmiştir. Anlamlılık düzeyi p<0,05 ve p<0,01 değerleri olarak kabul edilmiştir.

Bulgular

Çalışmanın materyalini oluşturan koyunların tamamı süreci eksiksiz tamamladı. Gruplarda senkronizasyonun sağlanması adına 0. günde vagina içine uygulanan progesteron içeren süngerler 7. günde eksiksiz olarak çıkarıldı. Süngerin çıkarılması sırasında hiçbir hayvanda vaginitis belirtisi görülmedi. Ultrasonografik olarak gebe olduğu ve yavru sayısı belirlenen koyunların



Şekil 1. Gruplara yapılan uygulamaların şematik gösterimi.

Tablo 1. Gruplarda sünger takılırken, çıkarılırken ve çıkarıldıktan sonraki 56. saatteki ortalama progesteron düzeyleri.

Grup (n:25)	0.gün (sünger takılırken) Median Progesteron ng/ml (min-max)	7. gün (sünger çıkarılırken) Median Progesteron ng/ml (min-max)	10. gün (sünger çıkarıldıktan sonraki 56. Saat) Median Progesteron ng/ml (min-max)
1. Grup (GnRH)	0,19 (0,10-0,56)	0,24 (0,10-1,41)	0,43 (0,20-0,82)
2. Grup (hCG)	0,17 (0,10-1,96)	0,24 (0,11-2,04)	0,22 (0,10-2,91)
3. Grup (Kontrol)	0,18 (0,12-1,71)	0,25 (0,11-2,43)	0,37 (0,11-0,65)

Tablo 2. Gebelik muayenesi (38. Gün) sırasında ortalama progesteron düzeyleri.

Grup (n:25)	ng/ml \pm standart sapma
1. Grup (GnRH)	3,9329 \pm 1,32882
2. Grup (hCG)	5,0290 \pm 1,83126
3. Grup (Kontrol)	3,9329 \pm 1,32882

doğumları izlendi ve ultrasonografi kayıtları ile karşılaştırıldı. 38. günde yapılan gebelik muayenesinde belirlenen yavru sayıları ile doğum yavru sayılarının eşdeğer olduğu belirlendi.

Öncelikli olarak gruplarda bulunan hayvanlarda primipar ve prepubertal olma durumu ile bu hayvanlarda östrüs gösterme, gebelik, çoğul gebelik oranları ve progesteron düzeyleri arasındaki ilişki ikili lojistik regresyon analizi ile değerlendirilmiş ve grup içinde primipar ve prepubertal olma durumunun istatistiksel farklılık oluşturmadığı belirlenmiştir. Bunun için tablosal ve grafiksel gösterimlerde gruplar bir bütün olarak ele alınmıştır.

Gruplarda bulunan hayvanların yaş ortalamaları karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$). Hayvanlara süngerin çıkarılmasını takiben 56. saatte yapılan uygulamaların progesteron seviyesi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla gebelik muayenesi sırasında alınan kan örneklerinde yapılan ölçümler karşılaştırıldığında gruplar arasında progesteron düzeyleri bakımından istatistiksel anlamlılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Gruplarda sünger takılırken, çıkarılırken ve çıkarıldıktan sonraki 56. saatteki ortalama progesteron düzeyleri Tablo 1'de gösterilirken 38. günde gebelik muayenesi esnasındaki progesteron düzeyi Tablo 2'de gösterildi. Hayvanların uygulamalar esnasındaki kan örneklerine ait progesteron seviyelerinin grafiksel dağılımı Şekil 2-5'de verildi.

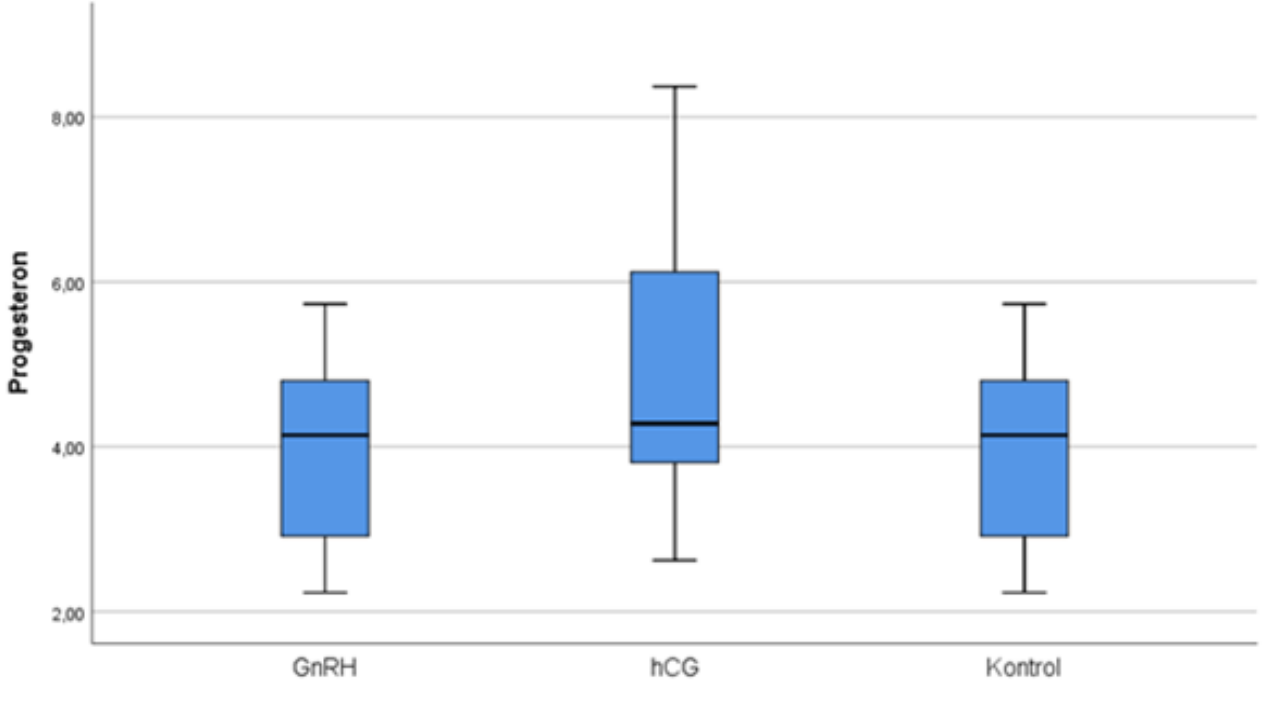
Östrüs gösterme oranları incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel bir farklılık belirlenmemiştir. GnRH ve hCG grubunda 13, Kontrol grubunda ise 11 hayvanın çiftleştiği tespit edilmiştir. Gebelik muayenesinde çiftleştiği tespit edilmediği halde gebe olan bir hayvan belirlenmemiştir. Gruplar çoklu ve tekiz gebelik bakımından incelendiğinde 1. grupta (GnRH) 1 çoklu 6 tekiz 2. grupta (hCG) 6 çoklu 4 tekiz, 3. grupta 1 çoklu 7 tekiz doğum tespit edildi. Gruplardaki üremeye ilişkin bulgular Tablo 3'de verilmiştir.

Tablo 3. Üreme bulguları.

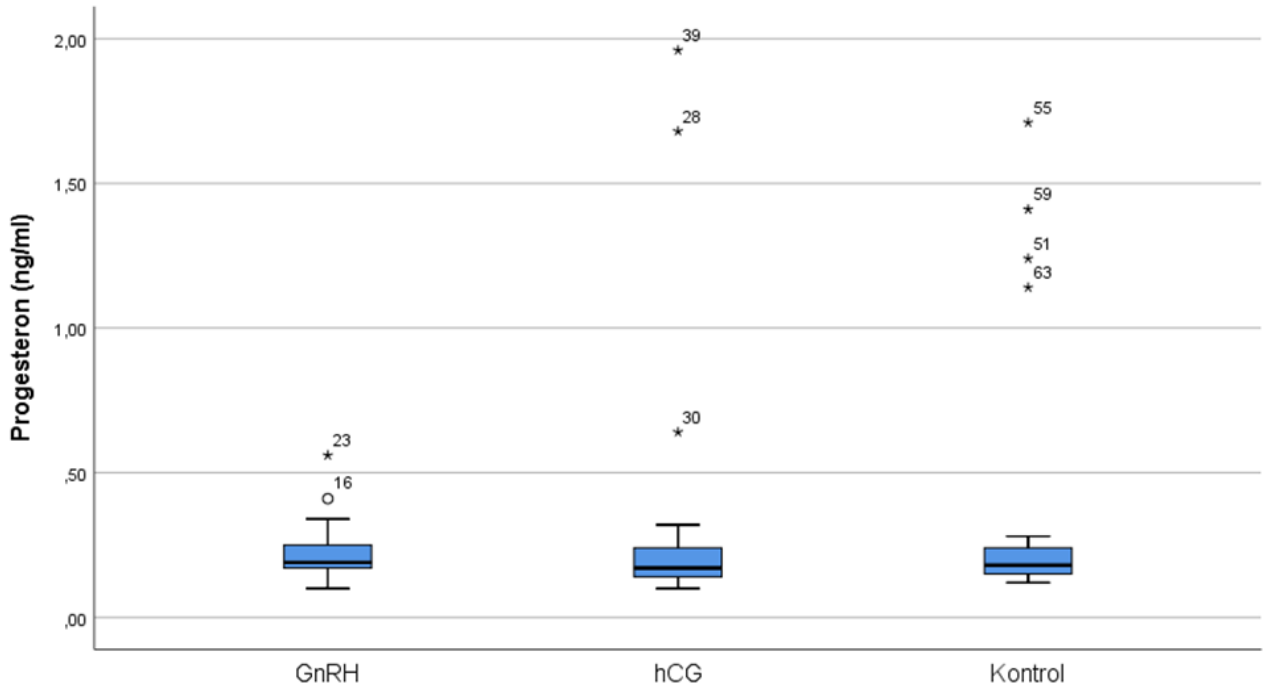
Grup (n: 25)	Östrüs oranı	Gebelik oranı	Çoğul gebelik oranı	
(1. grup) GnRH (n: 25)	Prepubertal (n:15)	% 53,33 (8/15)	% 26,66 (4/15)	% 25 (1/4)
	Primipar (n:10)	% 50 (5/10)	%30 (3/10)	% 0 (0/3)
(2. grup) hCG (n: 25)	Prepubertal (n:15)	% 46,66 (7/15)	%40 (6/15)	%66,66 (4/6)
	Primipar (n:10)	%60 (6/10)	% 40 (4/10)	%50 (2/4)
(3. grup) S.F. (n: 25)	Prepubertal (n:15)	%40 (6/15)	% 26,66 (4/15)	%25 (1/4)
	Primipar (n:10)	%50 (5/10)	% 40 (4/10)	% 0 (0/4)

Tablo 4. Gruplar içerisinde çoklu ve tekiz gebelik oranları. (* Aynı harfler arasında istatistiksel farklılık tespit edilmemiştir (p=0,058). Oransal hesaplamalar her grup için ayrı ayrı tekiz ya da çoklu gebelik sayısı / grupta bulunan gebe sayısı olacak şekilde hesaplanmıştır).

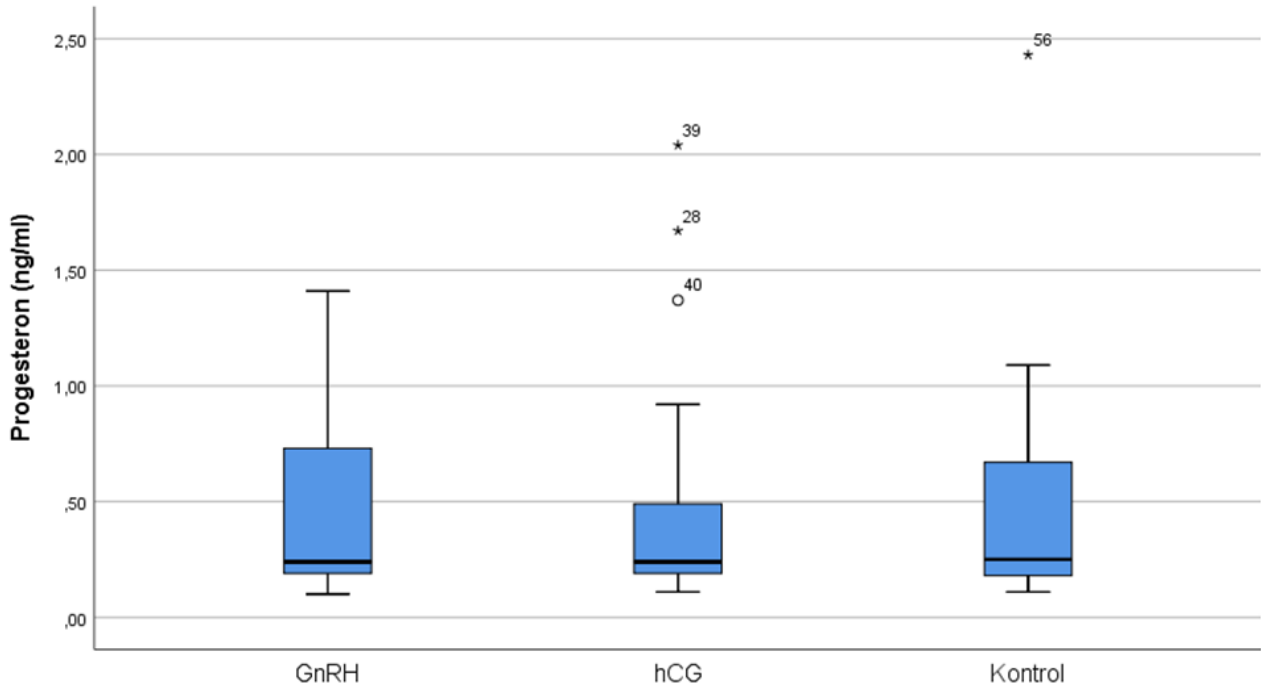
Grup	Gebelik oranı (kümülatif)	Çoklu	Tekiz
(1. grup) GnRH (n:25)	28,0% ^a	14,3% ^a	85,7% ^a
(2. grup) hCG (n:25)	40,0% ^a	60,0% ^a	40,0% ^a
(3. grup) S.F. (n:25)	32,0% ^a	12,5% ^a	87,5% ^a



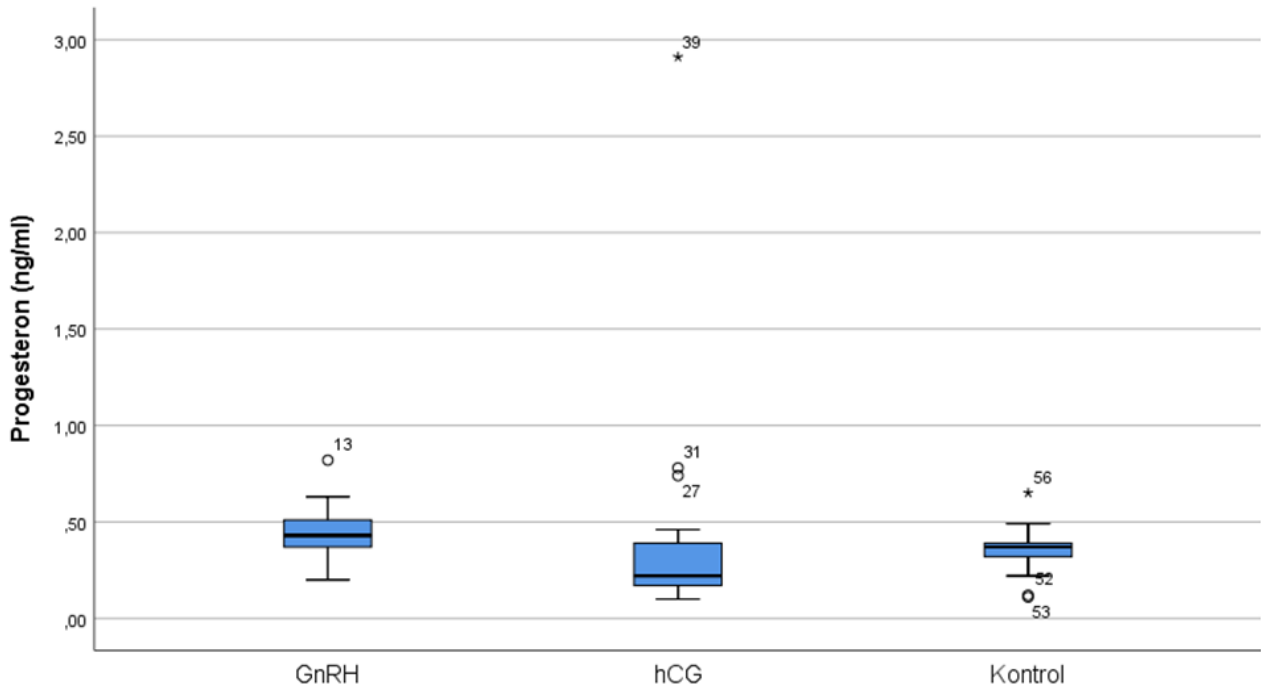
Şekil 2. Gruplarda 38. günde gebelik muayenesinde progesteron düzeyi dağılımı.



Şekil 3. Gruplarda 0. günde süngerlerin takıldığı esnada progesteron düzeyi dağılımı.



Şekil 4. Gruplarda 7. günde süngerlerin çıkarıldığı esnada progesteron düzeyi dağılımı.



Şekil 5. Gruplarda 10. günde (süngerler çıkarıldıktan sonraki 56. saat) progesteron düzeyi dağılımı.

Gruplar toplam (Prepubertal + Primipar) olarak çoğul gebelik yönünden karşılaştırıldığında istatistiksel fark belirlenmemiştir ($p=0,058$). Grup içerisinde tekiz ve çoklu gebelik oranları Tablo 3'de gösterilmiştir.

Ultrasonografi ile yapılan gebelik muayeneleri sırasında 38. ve 98. günlerde gerçekleştirilen muayenelerde aynı sonuçlar elde edildi. Bu nedenle hiçbir grupta erken

fetal ölüm ya da abortus şekillenmediği kabul edildi. Gebelik sayıları incelendiğinde 1. grupta (GnRH) 7, 2. grupta (hCG) 10, 3. grupta 8 hayvanın gebe olduğu tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında gruplar arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir ($p>0,05$). Gebelik oranları Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tartışma

Koyunların anöstrüs döneminde reproduktif olarak etkin olmayışı işletme verimliliğinin en önemli problemi olarak karşımıza çıkmaktadır (Knight ve ark., 1983). Koyunların ovaryumlarının foliküler dinamizm açısından anöstrüs döneminde tamamen durgun olmadığı veya dinamik olduğu bilinmektedir. Bu dönemde FSH sentezinin devam ettiği ve bu FSH dalgalanmalarına paralel olarak foliküler gelişim dalgalanmalarının da mevcudiyeti bilinmekte (Bartlewski ve ark., 1998) ve anöstrüs periyodunda foliküler aktivitenin devam etmesine istinaden ovulasyona yapılacak müdahaleler ile gebeliklerin elde edilebildiği üretim sistematiğine ulaşılabilmektedir (Simões, 2015). Bu çalışmada Sivas il sınırları içerisinde uzun yıllardır yetiştiriciliği yapılan bölgesel bir ırk olan Akkaraman Kangal ırkı prepubertal kuzu ve primipar koyunlar kullanılarak yetiştiriciler için en önemli ekonomik getiri olan kuzu üretimini artırmak amacıyla anöstrüs periyodunda farklı östrüs senkronizasyon yöntemleri kullanılarak seksüel uyarım gerçekleştirilmeye ve böylece etkin bir üreme verimliliği yöntemi belirlenmesi amaçlandı.

LH ve hCG'nin benzer yapıya sahip olmaları ve aynı reseptörlere bağlanabilmeleri sebebiyle benzer etki gösterdikleri bilinmektedir (Laphorn ve ark., 1994). Birçok hayvan türünde uygulanan hormon protokollerinde hCG ovulasyon indükleyici olarak kullanılmaktadır (Ginther ve ark., 2009). Çiftleşme periyoduna yakın bir zaman diliminde hCG uygulamalarının çoğul gebelik oranlarını artırdığı ancak fertilitate ve kuzulama oranlarını düşürdüğü belirlenmiştir (Zamiri & Hosseini, 1998). P₄ destekli vajinal sponjun 9 gün süreyle uygulanıp çıkarıldığı bir çalışmada bir gruba sünger çıkarıldıktan 24 saat sonra 500 IU hCG uygulanırken diğer gruba uygulanmamıştır. Yapılan muayenelerde ovulatör folikülün çapları her iki grupta benzerlik gösterirken hCG uygulamasının sadece sponj çıkarılmasıyla ovulasyon şekilleninceye kadar ki süreyi kısalttığı bununla beraber gebelik oranlarını düşürdüğü belirlenmiştir (Dias ve ark., 2018). Mevcut çalışmada sünger çıkarıldıktan 56 saat sonra 2. gruba 600 IU hCG uygulaması yapılarak ve koç katımı yapıldı. Böylece hCG uygulamasının reproduktif parametreler (Östrüs gösterme, gebe kalma ve çoğul gebelik oranları) üzerine etkinliğinin belirlenmesi amaçlandı. Gruplar arasında reproduktif parametreler yönünden istatistiksel fark bulunamamasına rağmen hCG uygulanan grupta çoğul gebelik sayısının her iki gruptan da fazla olduğu belirlendi. Bununla birlikte sünger uzaklaştırıldıktan

sonra hCG uygulamasının fertilitate ve kuzulama oranlarını üzerine etkisi tam olarak belirlenemedi. GnRH yüksek oranda olmasa da anöstrustaki koyunlarda ovaryum faaliyetlerini ve senkronize sikluslarda ovulasyon şansını arttırmak için kullanılabilir. Üreme mevsiminde yapılan senkronizasyon çalışmalarında sünger çıkarılmasından 24 saat sonra GnRH'nin 100 µg dozunda uygulanabildiği bilinmektedir. Ancak, bu uygulamanın anöstrüs döneminde ovulasyon zamanına pek etkisinin olmadığı bilinmektedir (Özyurtlu & Bademkiran, 2010). Anöstrüste yapılan mevcut bu çalışmada da benzer şekilde sünger çıkarıldıktan sonra GnRH uygulanıp uygulanmamasının üreme parametreleri üzerine etkisinin olmadığı belirlendi.

Sezon dışı yapılan bir çalışmada materyal olarak bizim çalışmamızdaki prepubertal kuzuların yaş aralığındaki Romney-cross ırkı prepubertal kuzular kullanılmıştır. Standart U-synch senkronizasyon protokolünün uygulandığı çalışmada 0. gün progesteron içeren vajinal gerecin uygulandığı esnada 50 µg dozunda GnRH uygulanmış ve 7 gün sonra vajinal gerecin çıkarıldığı esnada 125 µg PGF_{2α} ve 400 IU PMSG (eCG) uygulanmıştır (Martinez ve ark., 2015). Uygulamacılar bu uygulamalar sonucunda % 50 gebelik elde ederken bizim çalışmamızda gruplardaki prepubertal kuzularda (Grup 1, 2 ve 3) gebelik oranları daha düşük bulunmuştur (sırasıyla % 26,66 (4/15), %40 (6/15) ve % 26,66 (4/15)). Akkaraman Kangal ırkı prepubertal kuzuların uyarımında U-synch temelli programların etkili olmadığı belirlenmiştir.

Prepubertal kuzularda yapılan uyarım çalışmaları incelendiğinde çalışmaların büyük çoğunluğunda prepubertal kuzularda reproduktif etkinliğin artırılması amacıyla uzun süreli (60 gün) koç katımı uygulanmıştır. Farklı yöntemler kullanılarak yapılan bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar oldukça değişkendir. Abecia ve ark (2016) yaptıkları çalışmada prepubertal kuzularda seksüel olarak uyarılmış koçların kullanımı ile %60'ın üzerinde oranında ovulasyon elde edilirken kontrol grubunda ovulasyon görülmemiştir. Bunun yanında Kassem ve ark., 1989 yaptıkları çalışmada koç katımı sonrasında prepubertal kuzularda ortalama gebe kalma süresi 260 gün olarak belirlenmiştir. Bunun yanında kısa süreli koç katımı uygulanan bir çalışmada (Kivrak 2019) 5 günlük koç katımı sonrasında uygulama grubunda bulunan hayvanlarda %80'in üzerinde ovulasyon görülmüş ancak gebelik elde edilememiştir. Yapılan çalışmada koçlara uyarım amacıyla herhangi bir uygulama yapılmadı ve koçlar 5 gün süreyle süreye

katıldı. Ancak uygulama sonrasında en fazla %40 oranında gebelik elde edilmiştir. Bu nedenle prepubertal kuzularda kısa süreli koç katımı ile makul sonuçlar elde edilebilmesi için alternatif uygulamalara ihtiyaç olduğu kanısına varılmıştır.

Sonuçlar

Modifiye U-synch yöntemi ile anöstrüste Akkaraman Kangal ırkı prepubertal toklu ve primipar koyunlarda benzer reproduktif sonuçlar elde edilmiştir. Ancak hem prepubertal kuzularda hemde primipar koyunlarda modifiye U-synch yöntemi ve kısa süreli koç katımı ile etkin reproduktif başarı elde edilemediği kanısına varılmıştır. Gruplardaki prepubertal kuzularda (Grup 1, 2 ve 3) gebelikler oldukça düşük iken (sırasıyla % 26,66 (4/15), %40 (6/15) ve % 26,66 (4/15)) aynı şekilde primipar koyunlarda da gebelikler oldukça düşük bulunmuştur (sırasıyla % 30 (3/10), %40 (4/10) ve % 40 (4/10)). Modifiye U-synch yönteminde 2. GnRH enjeksiyonun reproduktif parametrelere katkı sağlamadığı belirlenmiştir. Bunun için bu enjeksiyon yerine sünger çıkarıldıktan sonra koç etkisinin artırılmasına yönelik çalışmaların yapılmasının ovulasyon üzerine daha olumlu katkı sağlayabileceği düşünülmüştür.

Kaynaklar

Abecia JA, Chemineau P, Gómez A, Keller M, Forcada F, Delgado JA (2016) Presence of photoperiod-melatonin-induced, sexually-activated rams in spring advances puberty in autumn-born ewe lambs. *Anim Reprod Sci* 170: 114-120. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.04.011>.

Abecia JA, Forcada F, González-Bulnes A (2012) Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Anim Reprod Sci* 130(3-4): 173-179. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.011>

Bartlewski PM, Baby TE, Giffin JL (2011) Reproductive cycles in sheep. *Anim Reprod Sci* 124(3-4): 259-268. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.024>

Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Rawlings NC (1998) Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *J Reprod Fertil* 113(2): 275-285. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1130275>

Dias L MK, Sales JNS, Viau P, Barros MBP, Nicolau SS, Simões LMS, Oliveira CA (2018) Although it induces synchronized ovulation, hCG reduces the fertility of Santa Ines ewes submitted to TAI. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 70(1): 122-130. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-9679>

Edwards SJ, Juengel JL, O'Connell AR, Johnstone PD, Farquhar PA, Davis, GH (2015) Attainment of puberty by ewes in the first year of life is associated with improved reproductive performance at 2 years of age. *Small Rumin Res*

123(1): 118-123. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2014.11.006>

Eppleston J, Evans G, Roberts EM (1991) Effect of time of PMSG and GnRH on the time of ovulation, LH secretion and reproductive performance after intrauterine insemination with frozen ram semen. *Anim Reprod Sci* 26: 227-237. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(91\)90049-6](https://doi.org/10.1016/0378-4320(91)90049-6)

Foster DL, Hileman SM (2015) Puberty in the sheep. In: Plant TM, Zeleznik AJ (ed) *Knobil and Neill's physiology of reproduction* (Vol. 2), 3rd edn. Academic Press Elsevier, London, pp 1441- 1485.

Ginther OJ, Beg MA, Gestal EL, Gestal MO, Cooper DA (2009) Treatment with human chorionic gonadotropin (hCG) for ovulation induction is associated with an immediate 17 β -estradiol decrease and a more rapid LH increase in mares. *Anim Reprod Sci* 114(1-3): 311-317. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2008.08.026>

Gómez-Brunet A, Santiago-Moreno J, Campo AD, Malpau B, Chemineau P, Tortones DJ, LópezSebastián A (2008) Endogenous circannual cycles of ovarian activity and changes in prolactin and melatonin secretion in wild and domestic female sheep maintained under a long-day photoperiod. *Biol Reprod* 78(3): 552-562. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.107.064394>

İbiş M, Ağaoğlu AR (2016) Koyun ve keçilerde üremenin senkronizasyonu. *MAE Vet Fak Derg* 1(2): 47-53.

Kassem R, Owen JB, Fadel I (1989) The effect of pre-mating nutrition and exposure to the presence of rams on the onset of puberty in Awassi ewe lambs under semi-arid conditions. *Animal Sci* 48(2): 393-397. <https://doi.org/10.1017/S0003356100040381>

Kıvrak (2019). Prepubertal dişi kuzularda aşım sezonu dışında uygulanan sülpirid'in reproduktif etkisinin belirlenmesi. Doktora tezi. Selçuk Üniversitesi Sağlık bilimleri enstitüsü

Knight TW, Tervit HR, Lynch PR (1983) Effects of boar pheromones, ram's wool and presence of bucks on ovarian activity in anovular ewes early in the breeding season. *Anim Reprod Sci* 6(2): 129-134. [https://doi.org/10.1016/0378-4320\(83\)90017-9](https://doi.org/10.1016/0378-4320(83)90017-9)

Laphorn AJ, Harris DC, Littlejohn A, Lustbader JW, Canfield RE, Machin KJ, Isaacs NW (1994) Crystal structure of human chorionic gonadotropin. *Nature* 369(6480): 455.

Lewis RM, Notter DR, Hogue DE, Magee BH (1996) Ewe fertility in the STAR accelerated lambing system. *J Anim Sci* 74(7): 1511-1522. <https://doi.org/10.2527/1996.7471511x>

Martinez M F, McLeod B, Tattersfield G, Smail B, Quirke LD, Juengel J L (2015) Successful induction of oestrus, ovulation and pregnancy in adult ewes and ewe lambs out of the breeding season using a GnRH+ progesterone oestrus synchronisation protocol. *Anim Reprod Sci* 155: 28-35. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.01.010>

Özyurtlu N, Bademkiran S (2010) Koyunlarda östrus senkronizasyonu ve östrusu uyarma yöntemleri. *Dicle Üniv Vet Fak Derg* (1): 17-22.

Pampori ZA, Sheikh AA, Aarif O, Hasin D, Bhat IA (2018) Physiology of reproductive seasonality in sheep—an update. *Biol Rhythm Res* 1-13. <https://doi.org/10.1080/09291016.2018.1548112>

Reyna J, Thomson PC, Evans G, Maxwell WM (2007) Synchrony of ovulation and follicular dynamics in merino ewes treated with GnRH in the breeding and non-breeding

seasons. *Reprod. Domest. Anim.* 42: 410-417 <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2006.00800.x>

Simões J (2015) Recent advances on synchronization of ovulation in goats, out of season, for a more sustainable production. *Asia Pac J Rural Dev* 4(2): 157-165. [https://doi.org/10.1016/S2305-0500\(15\)30014-2](https://doi.org/10.1016/S2305-0500(15)30014-2)

Ungerfeld R (2011) Combination of the ram effect with PGF2 α estrous synchronization treatment in ewes during the breeding season. *Anim Reprod Sci* 124: 65-68. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2011.02.021>

Valasi I, Chadio S, Fthenakis GC, Amiridis GS (2012) Management of pre-pubertal small ruminants: Physiological basis and clinical approach. *Anim Reprod Sci* 130(3-4): 126-134. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.005>

Walker SK, Smith DH, Godfrey B, Seamark RF (1989) Time of ovulation in the South Australian Merino ewe following synchronization of estrus. 1. Variation within and between flocks. *Theriogenology* 31: 545-553. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(89\)90239-2](https://doi.org/10.1016/0093-691X(89)90239-2)

Weems PW, Goodman RL, Lehman MN (2015) Neural mechanisms controlling seasonal reproduction: principles derived from the sheep model and its comparison with hamsters. *Front Neuroendocrinol* 37: 43-51. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2014.12.002>

Wildeus S (2000) Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats 1, 2. *J Anim Sci* 77(E-Suppl): 1-14. <https://doi.org/10.2527/jas2000.00218812007700ES0040x>

Zamiri MJ, Hosseini M (1998) Effects of human chorionic gonadotropin (hCG) and phenobarbital on the reproductive performance of fat-tailed Ghezel ewes. *Small Rumin Res* 30(3): 157-161. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(98\)00099-6](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(98)00099-6)