

## CLOPROSTENOL İLE SENKRONİZE EDİLEN İNEKLERDE OVULASYONLARIN B-MODE ULTRASONOGRAFİ İLE SAPTANMASI\*

### Determination of Ovulation Using by B-Mode Ultrasonography in Cows Synchronized with Cloprostenol

M. Ragıp KILIÇARSLAN\*\* Hayri EKİNCİ\*\* Cengiz S. KONUK\*\*  
İsmail KIRŞAN\*\* Kutlay GÜRBULAK\*\*\* Adem ŞENÜNVER\*\*

#### ÖZET

Bu araştırmada, Cloprostenol ile östrus senkronizasyonu yapılan ineklerde ultrasonografik muayene ile ovulasyonların saptanması amaçlandı.

Çalışmada yaşları 4-6 arasında değişen 20 adet Holstein ırkından sütçü inek kullanıldı. Seksüel sikluslarının dönemine bakılmaksızın hayvanlara 500 µg Cloprostenol İ.M. enjekte edildi ve dört gün süre ile hem östrus belirtileri araştırıldı hem de ultrasonografik muayene yapıldı. Östrus gösteren hayvanlar enjeksiyonu izleyen 72. saatte tohumlandılar. Östrus göstermeyen hayvanlara ise 11 gün sonra ikinci 500 µg Cloprostenol İ.M. enjekte edildi ve enjeksiyonu izleyen 72. saatte tohumlandılar.

İlk enjeksiyondan sonra, senkronizasyon oranı, östrusların başlama saati ortalaması, preovulatorik folliküllerin ortalama çapı, ovulasyon zamanı, gebe kalma oranları sırasıyla; %35, %59.2, 20±2mm, 80.4 saat, %57.1 olarak belirlendi. İkinci enjeksiyondan sonra ise bu oranlar sırasıyla; %100, 57.5 saat, 20±2mm, 81.3 saat, %69.2 olarak saptandı.

**Anahtar Sözcükler:** Östrus, Senkronizasyon, Prostaglandin F2 alpha, Ultrasonografi.

#### SUMMARY

The aim of this study was to determinate of ovulation using by ultrasonography in cows synchronized with Cloprostenol.

20 Holstein cows, ages between 4-6 were in this study. Without controlling the phase of the sexual cycles, 500 µg Cloprostenol was injected İ.M. in cows and oestrus symptoms were detected and also were examined by ultrasonography following 4 days. During the standing oestrouses, artificial insemination were done 72. hours after injections.

The cows were not seen oestrus symptoms within 4 days, were injected second 500 µg Cloprostenol 11 days later and were inseminated with the same procedure.

Synchronizations rate, the avarege begining time of oestrus, the avarege diamater of preovulatoric follicles, ovulation time, pregnancy rates obtained from first and second group of cows were 35%, 59.2 hour, 20±2 mm, 80.4 hour, %57.5 hour, 20±2mm, 81.3 hour, 69.2% respectively.

**Key Words:** Oestrus, Synchronization, Prostaglandin F3 alpha, Ultrasonography.

#### GİRİŞ

Hayvanların ahır içerisindeki sürekli olarak bağlı tutulduğu işletmelerde, yetiştiricilerce östrusu doğru olarak belirleme oranının ancak %40 civarında olması, ineklerde östrus süresinin kısa ve değişken bir seyir izlemesi ve özellikle postpartum dönemde suböstrus ve düzensiz sikluslar görülmesi nedeniyle kontrollü üreme programlarının uygulanması giderek önem kazanmaktadır (1-3).

Seksüel siklusların istenen zamana göre planlanması olarak tanımlanabilen senkronizasyonun, sürüde östrus tesbitini kolaylaştırması, östrusları belirginleştirmesi, suni tohumlamanın başarısını artırması ve biyoteknolojik yöntemlerin uygulanmasında

büyük faydalar sağlaması gibi bir çok avantajı olduğu bildirilmektedir (4,5).

Doğal ve sentetik prostaglandinler inek ve düvelere seksüel siklusun 5-17. günler arasında uygulandıklarında, ovaryumdaki corpus luteum'un gerile-diği, periferik kandaki progesteron düzeyinin 12 saat içinde belirgin şekilde düştüğü, enjeksiyonu izleyen 24. saatte progesteronun düşmesi ile birlikte östradiol düzeyinin 48-72. saatlere kadar yükseldiği ve ortalama 72±24. saatte östrusun şekillendiği bildirilmektedir (4, 6,7). Östrusun başlaması ile birlikte LH düzeyinde ani bir yükselme meydana geldiği ve östrusun başlangıcından sonraki 24-

\* Bu çalışma Doğu İlaç Firması tarafından desteklenmiştir.

\*\* İÜ Vet. Fak. Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, İstanbul-TÜRKİYE

\*\*\* KAÜ Vet. Fak. Doğum ve Dölerme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kars-TÜRKİYE

saatte ortalama çapı 25 mm'ye ulaşan follikülde ovulasyonun şekillendiği, siklusun di-östrus döneminde görülen bu olayların pro-östrus, östrus ve metöstrus dönemlerinde yapılan enjeksiyonlarda gerçekleşmediği ancak ortalama 11 gün sonra yapılan ikinci enjeksiyon sırasında tüm hayvanlar lüteal fazda olduğundan prostaglandin F2 alpha'nın luteolitik etkisine karşı duyarlı hale geldikleri ileri sürülmektedir (3,8-10).

Corpus luteum'u belirlemeksizin tek prostaglandin enjeksiyonu ile % 60, çift enjeksiyon yöntemi ile de % 90'ın üzerinde bir senkronizasyon oranı sağlanabileceği bildirilmektedir (3,11-13).

Tekeli ve ark. (3), 22 adet düveye 500µg Cloprostenol enjekte etmişler, ilk enjeksiyon sonrası östrus görülme oranı %77; 11 gün sonra yapılan 2. enjeksiyondan sonra ise bu oranı % 100 olarak tespit etmişlerdir.

Alaçam ve ark. (4), 46 düveye 500 µg Cloprostenol İ.M. olarak enjekte etmişler, ilk enjeksiyon sonrası östrus görülme oranını %86.95, gebelik oranını %47.43, 11 gün sonra yapılan ikinci enjeksiyondan sonra ise bu oranları %100 ve %66.66 olarak saptadıklarını bildirmişlerdir.

Aksoy ve ark. (1), 89 adet inek ve düvede 11 gün arayla iki kez 500 µg Cloprostenol uyguladıkları hayvanlarda gebelik oranını %50.56 olarak saptamışlardır.

Alaçam ve ark. (6), diöstrusta olduklarını saptadıkları 1. gruptaki 7 ineğe 25 mg Lutalyse, 2. gruptaki 13 ineğe ise 11 gün arayla iki kez 25 mg Lutalyse enjekte etmişler, östrusları 1. grupta 36-48., 2. grupta 48-96. saatlerde saptamışlardır. Araştırmacılar ilk grupta kontrollü tek, ikinci grupta ise östrusları araştırmaksızın 48 ve 72. saatlerde iki kez sun'i tohumlama uygulamışlardır. Fertilité oranını 1. grupta %57.1, ikinci grupta %61.5 olarak saptamışlardır.

Kısrak ve ineklerde ovaryumların muayenesi ve özellikle ovulasyonun kontrolü rektal muayene ve ultrasonografi aracılığıyla yapılmaktadır (14,15). Veteriner obstetrik ve jinekoloji'de yaygın olarak B-Mode real-time ultrasonografi ile 3.5-7.5 MHz'lik dönüştürücülerden, evcil hayvanlarda ovaryum faaliyetleri, ovulasyon zamanı, erken gebelik ve yine genital organ patolojilerinin saptanmasında faydalanılmaktadır (8,16, 17).

Kahn ve Leidl (14), 14 ineğe 5 MHz'lik prob ile yaptıkları ultrasonografik muayenede, çapı 10 mm ve daha büyük follikülleri saptadıklarını ve preovulatorik folliküllerin ortalama büyüklüğünü 15 mm olarak ölçtüklerini bildirmektedirler.

Sirois ve ark. (18), 10 düvede 7.5 MHz'lik rektal prob ile siklus boyunca her gün ovaryumları muayene etmişlerdir. Bu muayeneler sonucunda çapı 5 mm'den büyük follikülleri saptadıklarını ve preovulatorik folliküllerin ovulasyondan 7 gün önce görünür hale geldiklerini ve günlük büyüme oranını 2.3 mm/gün olarak belirlediklerini ileri sürmüşlerdir.

Peters ve Ball (10), inekte preovulatorik folliküllerin 2-2.5 cm'ye kadar büyümeye devam ettiğini ve bu çapa ulaştığında ovulasyonun şekillendiğini bildirmektedir.

Sunulan çalışmada, siklusun dönemine bakılmaksızın ineklere bir prostaglandin analogu olan Cloprostenol tek veya östrus göstermeyen hayvanlara 11 gün arayla 2 kez enjekte edilmiş, uygulama sonrası östruslar gözlenmiş, enjeksiyon günü ve bunu izleyen 4 gün boyunca, günde bir kez ultrasonografik muayene uygulanarak preovulatorik folliküller ve ovulasyonların saptanması amaçlanmıştır.

#### MATERYAL ve METOT

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'ne ait 20 adet Holstein inek üzerinde gerçekleştirildi. İneklere önce rektal muayene uygulanarak genital organlarında herhangi bir patolojik lezyon bulunmayan hayvanlar çalışma için ayrıldı. Siklusun hangi döneminde bulduklarına bakılmaksızın seçilen tüm ineklere 500 µg Cloprostenol (Estrumate-DİF) İ.M. enjekte edildi. İneklere enjeksiyon günü ve bunu izleyen 4 gün boyunca sabah ve akşam saatlerinde yarımşar saat östrus belirtileri yönünden izlendiler. Ayrıca enjeksiyon günü ve bunu izleyen 4 gün boyunca, günde bir kez ultrasonografik muayene uygulanarak ovaryumlardaki folliküler değişimler, preovulatorik folliküllerin ortalama çapı ve ovulasyonlar saptandı. Östrus göstermeyenlere ise 11 gün sonra ikinci kez 500 µg Cloprostenol İ.M. olarak verildi. Aynı işlemler bu grupta da tekrar edildi. Hayvanlara enjeksiyondan sonraki 72.

saatte bir kez sun'i tohumlama uygulandı. Gebelikler 45. günde yapılan rektal muayene ile saptandı.

Çalışmada, Concept-LC model B-Mode real-time ultrasonografi cihazı (Dinamic Imaging Co) ile 5 MHz'lik linear-array rektal dönüştürücü ve mitsubishi marka K 65 HM model yazıcı birlikte kullanıldı.

### BULGULAR

Siklusun dönemine bakılmaksızın 500 µg Cloprostenol yapılan 20 hayvan, enjeksiyonu izleyen 1-4 gün süresince sabah 10.00, akşam 16.00 saatlerinde yarımşar saat östrus belirtileri yönünden izlenmiştir. Ayrıca bu süre içerisinde hayvanlara günde bir kez ultrasonografik muayene uygulanmıştır. Bu muayeneler sonucunda 20 hayvandan 7 tanesi (%35) birinci enjeksiyondan ortalama 59.2 saat sonra östrus göstermiş, 72. saatte bir kez sun'i tohumlama uygulanmış ve ovulasyonların, enjeksiyondan sonra ortalama 80.4 saatte oluştuğu saptanmıştır.

İlk enjeksiyondan sonraki 4 gün içinde östrus göstermeyen, 13 hayvana 11 gün sonra ikinci kez 500 µg Cloprostenol İ.M. enjekte edilmiş ve östrus takibi ile ultrasonografik muayeneler tekrarlanmıştır. Bu muayeneler sonucunda iki kez Cloprostenol uygulanan 13 hayvanın tamamı (%100), enjeksiyondan ortalama 57.5 saat sonra östrus göstermiş, 72. saatte bir kez sun'i tohumlama uygulanmış, ovulasyonlar enjeksiyondan sonraki ortalama 81.3 saatte şekillenmiştir.

Ovaryumların ultrasonografik muayenesinde çapı 7 mm ve daha büyük olan folliküller saptanmıştır. Preovulatorik folliküllerin ortalama çapı ise  $20 \pm 2$  mm olarak tespit edilmiştir.

Her iki grupta da gebelikler 45. günde rektal muayene ile saptanmış ve gebelik oranı 1. grupta %57.1, 2. grupta ise %69.2 olarak tespit edilmiştir. Bulguların tamamı Tablo 1'de özetlenmiştir.

**Tablo 1.** Bulguların özeti.

BULGULAR	Tek Cloprostenol Enjeksiyonu	11 gün Arayla Çift Cloprostenol Enjeksiyonu
Hayvan Sayısı	7	13
Senkronizasyon Oranı	%35	%100
Östrusların Başlama Saati Ortalaması	52.9 saat	57.5 saat
Preovulatorik Folliküllerin Ortalama Çapı	20±2	
Tohumlama Zamanı	72. saat	72. saat
Ovulasyon Zamanı	80.4. saat	81.3. saat
Gebe Kalan Hay. Sayısı	4	9
Fertilite Oranı	%57.1	%69.2

## TARTIŞMA VE SONUÇ

İntensif sütçü sürülerde östrusları belirleme hatalarının yüksek olması, ineklerde östrus süresinin kısa ve değişken bir seyir izlemesi, düvelere göre siklusların düzensiz olması ve özellikle postpartum dönemde suböstrus ile düzensiz siklusların görülmesi gibi nedenlerle üremenin hormonlarla denetimine sıklıkla başvurulmaktadır (1-4).

Doğal ve sentetik prostaglandinlerin inek ve düvelere seksüel sikluslarının 5-17. günleri arasında uygulandıklarında ovaryumdaki corpus luteum'u geriletmediği ve ortalama  $72 \pm 24$ . saatte östrus oluşturduğu bildirilmektedir. Östrusun başlangıcından sonraki 24.30. saatte ortalama çapı 25 mm'ye ulaşan preovulatorik follikülde ovulasyonun şekillendiği, siklusun döstrus döneminde görülen bu olayların proöstrus, östrus ve metöstrus dönemlerinde yapılan enjeksiyonlarda gerçekleşmediği ancak ortalama 11 gün sonra yapılan ikinci enjeksiyon sırasında hayvanların prostaglandin F2 alfa'ya duyarlı hale geldikleri ileri sürülmektedir (3,4,6,7,9,10,19).

Seksüel siklusun farklı dönemlerinde bulunan ineklere uygulanan tek doz Cloprostenol enjeksiyonu sonucunda hayvanların %35'i, enjeksiyonu takip eden 59.2. saatte östrus göstermişlerdir. Çeşitli araştırmacılar kontrolsüz tek prostaglandin enjeksiyonundan sonra luteolizis ve senkronizasyon oranını %53. 2-80 arasında bildirmektedirler (4,6). Çalışmada tek prostaglandin enjeksiyonu sonucu saptanan %35'lik senkronizasyon oranını, doğum prostaglandin aralığının kısa olması ve düvelere göre, ineklerde siklusların düzensiz olmasına bağlamaktayız. Araştırmacılar (4,6,7), prostaglandin enjeksiyonunu izleyen 48-72. saatlerde östrusların görüldüğünü bildirmektedirler. Çalışmamızda da östruslar, enjeksiyonu izleyen ortalama 59.2 ve 57.5. saatlerde belirlenmiştir.

Araştırmalar (4,6,7,9,10,19), östrusun başlamasından sonraki 24-30. saatlerde ortalama çapı 25 mm'ye ulaşan preovulatorik folliküllerde ovulasyonun şekillendiğini ve tohumlamaların enjeksiyonları izleyen 72 ve 96. saatlerde yapılması gerektiğini ileri sürmektedir. Sunulan çalışmada, preovulatorik folliküllerin ortalama çapı  $20 \pm 2$  mm olarak

ovulasyonlar enjeksiyonu takiben 1. grupta ortalama 80.4, 2. grupta 81.3. saatlerde saptanmış, tohumlamalar ise her iki grupta da enjeksiyonu takip eden 72. saatte yapılmıştır. Kahn ve Leidl (14), preovulatorik folliküllerin ortalama büyüklüğünü 15 mm olarak ölçtüklerini bildirmektedirler.

Çalışmada enjeksiyon-ovulasyon aralığı bazı araştırmacıların (4,6), bildirdiği saatlerden daha erkendir. Bu durumu ultrasonografik muayene aralıklarınının 24 saat olması ve bunun yeterli olmamasına bağlamaktayız.

Ultrasonografik muayenelerde Sirois ve ark. (18), çapı 5 mm'den büyük, Kahn ve Leidl (14), çapı 10 mm ve daha büyük follikülleri saptadıklarını bildirmektedir. Sunulan çalışmada ise 7 mm ve daha büyük folliküller saptanmıştır. Bu farklılık kullanılan problemlerin değişik MHz'lerde olmasından kaynaklanabilir.

Araştırmalar, tek prostaglandin uygulamasından sonra östrusu izleyen ilk tohumlamada fertilitite oranını %46-72 arasında bildirmektedirler (4,6). 11 gün ara ile çift prostaglandin uygulaması ve 72 ve 96. saatlerde tohumlamalar ile bu oran %52-72 olarak belirlenmiştir (4). Sunulan çalışmada tek enjeksiyondan sonra fertilitite oranı %57.1, çift enjeksiyondan sonra ise %69.2 olarak hesaplanmıştır. Bu rakamlar benzeri çalışmalar (1,6) için verilen sınırlar içinde kalmaktadır.

Sonuç olarak, ineklerde kontrolsüz tek ya da 11 gün arayla iki kez prostaglandin enjeksiyonu ve 72. saatte yapılan tek tohumlama ile %50'den fazla gebelik şansı elde edilebileceği ancak ultrasonografik muayenelerle follikül gelişimlerinin, preovulatorik folliküllerin ve ovulasyonların saptanmasında muayene aralıklarınının daha kısa tutulması gerektiği kanısına varılmıştır.

## TEŞEKKÜR

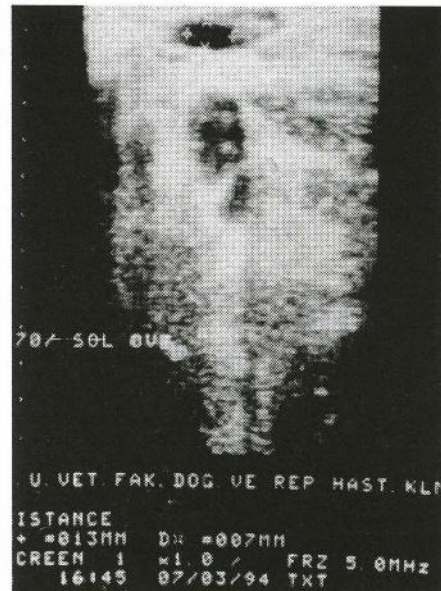
Çalışma için gerekli hormon preparatlarını sağlayan Doğu İlaç Firmasına teşekkürü bir borç biliriz.

## KAYNAKLAR

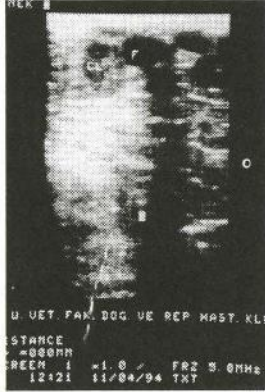
1. Aksoy, M., Alan, M., Tekeli, T., Semacan, A., Çoyan, M.: İnek ve düvelerde östrus belirleme hataları ve sun'i tohumlama uygulamasındaki önemi. Hay. Araş. Derg., 3 (1): 28-30, 1993.

2. Stolla, R.: Sütçü işletmelerde fertilité kontrolleri. 29-30 Nisan-Mayıs Türk-Alman Günleri, Tebliğ, s.63, 1993.
3. Tekeli, T., Aksoy, M., Özsar, S., Güven, B., Güler, M., Semacan, A.: Cloprostenol enjekte edilen düvelerde plazma progesteron ve vaginal direnç değerlerindeki değişimlerin izlenmesi. L.H.A.E. Derg., 32 (1-4): 15-27,1992.
4. Alaçam, E., Dinç, D.A., Kadak, R., Güler, M., Aksoy, M.: İsviçre esmeri düvelerde Cloprostenol kontrollü sun'i tohumlama çalışmaları. L.H.A.E. Derg., 29(1-4): 90+97, 1989.
5. Fetrow, J., Blanchard, T.: Economic impact of the use of prostaglandin to induce estrus in dairy cows. JAVMA, 190(2):163-196, 1987.
6. Alaçam, E., Kılıçoğlu, Ç., Özgür, H.: İneklerde prostaglandinlerle çalışmalar. 1. Östrus sinkronizasyonu., UÜ Vet. Fak. Derg., 2(3): 65-72, 1983.
7. Seguin, B.E.: Role of prostaglandins in bovine reproduction, JAVMA, 176(10): 1178-1181, 1980.
8. Kılıçarslan, M.R., Horoz, H., Şenünver, A., Konuk, S.C., Tek, Ç., Ekici, H., Cariođlu, B.: Kısıraklarda ultrasonografi ile ovulasyon zamanının saptanması. Türk Vet. Hek. Dern. Derg. (Basımda), 1996.
9. McDonald, L.E.: Synchronization and induction of estrus. Veteriner Endocrinology and Reproduction. Lea-Febiger, Philadelphia, 496, 1977.
10. Peters, A.R., Ball, P.J.H.: Ovulation. Reproduction in Cattle. Butterworths, London, 21, 1987.
11. Bosu, W.T.K., Doig, P.A., Barker, C.A.V.: Pregnancy and peripheral plasma progesterone levels in cows inseminated after synchronization of estrus with prostaglandin F2 alpha. Can. Vet. J., 22: 59, 1981.
12. Cooper, M.J.: Control of oestrous cycles of heifers with a synthetic prostaglandin analogue. Vet. Rec., 95: 200-203, 1974.
13. Cooper, M.J.: Prostaglandins in veterinary practice. Inpractice, 1: 30-34, 1981.
14. Kahn, W., Leidl, W.: Die anwendung der Achographie zur diagnose der ovarfunktion beim rind. Tierarztl. Umschau, 41: 3-12, 1986.

15. Leidl, W.: Atlarda döl verimi sorunları. 29-30 Nisan-Mayıs Türk-Alman Günleri. s.52, Teblig, 1993.
16. King, G.J., Burnside, E.B., Curtis, R.A.: Controlled breeding of dairy cows with cloprostenol. Can. Vet. J., 24:105-107, 1983.
17. Pierson, R.A., Kastelic, J.P., Ginther, O.J.: Basic principles and techniques for transrectal ultrasonography in cattle and horses. Theriogenology., 29(1): 3-20, 1988.
18. Sirois, J., Fortune, J.E.: Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by realtime ultrasonography. Biology of Reproduction., 39: 308-317, 1988.
19. Kılıçoğlu, Ç., İzgür, H., Küplülü, Ş., Salmanođlu, R., Vural, R., Kaymaz, M.: Kedilerde ultrasonografinin gebelik ve bazı jinekolojik olguların tanısında palpasyon ile karşılaştırılması olarak kullanılması. AÜ Vet. Fak. Derg., 39(1-2):, 1992.



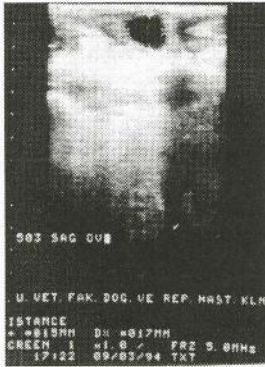
Resim 1.Enjeksiyon günü ovaryumun görüntüsü  
Figure 1.Appearance of ovarium on injection day



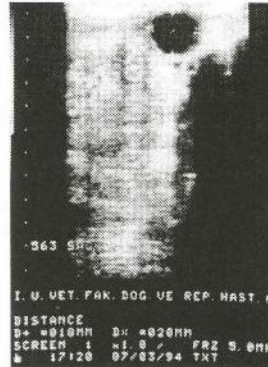
**Resim 2.**Enjeksiyon günü ovaryum görüntüsü  
**Figure 2.**Appearance of ovarium on injection day



**Resim 3.**Enjeksiyon sonrası gelişen follikül  
**Figure 3.**Development of follicle after injection



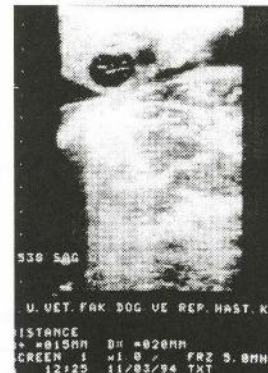
**Resim 4.**Enjeksiyon günü ovaryum görüntüsü  
**Figure 4.**Appearance of ovarium on injection day



**Resim 5.** Olgun follikül  
**Figure 5.** Mature follicle



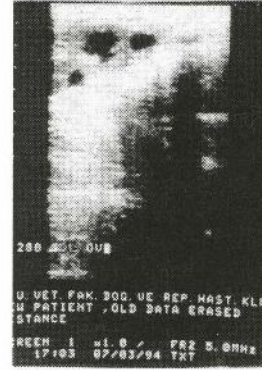
**Resim 6.** Olgun follikül  
**Figure 6.** Mature follicle



**Resim 7.** Ovulasyon  
**Figure 7.** Ovulation



**Resim 8. Ovulasyon**  
**Figure 8. Ovulation**



**Resim 9. Corpus Luteum**  
**Figure 9. Corpus Luteum**



**Resim 10. Corpus Luteum**  
**Figure 10. Corpus Luteum**



**Resim 11. 50 Günlük gebelik**  
**Figure 11. 50 days gestation**