



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DÖLERME ve SUNİ TOHURLAMA
ANABİLİM DALI



**EMBRİYO TRANSFER UYGULAMALARI İLE REPEAT BREEDER
İNEKLERDE GEBELİK ORANLARININ ARAŞTIRILMASI**

ERKAN SAY

DOKTORA TEZİ

BURSA-2018

Erkan SAY

DÖLERME ve SUNİ TOHURLAMA LOJİ ANABİLİM DALI DOKTORA TEZİ

2018



**T.C.
ULUDAĞ
ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ
DÖLERME ve SUNİ
TOHUMLAMA
ANABİLİM DALI**



**EMBRİYO TRANSFER UYGULAMALARI İLE
REPEAT BREEDER İNEKLERDE GEBELİK
ORANLARININ ARAŞTIRILMASI**

ERKAN SAY

(DOKTORA TEZİ)

**DANIŞMAN:
III
Prof.Dr. HAKAN SAĞIRKAYA**

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI



Yüksek Lisans/Doktora tezi olarak sunduğum 'Embriyo Transfer Uygulamaları ile Repeat Breeder İneklere Gebelik Oranlarının Araştırılması' adlı çalışmamın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Erkan SAY
Tarih ve İmza



SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Dölerme ve Suni tohumlama Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Erkan SAY tarafından hazırlanan "Embriyo Transfer Uygulamaları ile Repeat Breeder İneklere Gebelik Oranlarının Araştırılması" konulu Doktora tezi 20/06/2018 günü, 11:00-13 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından **oy birliği** ile kabul edilmiştir.

	<u>Adı-Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Tez Danışmanı	Prof.Dr. Hakan SAĞIRKAYA	
Üye	Prof.Dr. Zekariya NUR	
Üye	Prof.Dr. Yavuz NAK	
Üye	Prof.Dr. Serhat PABUCCUOĞLU	
Üye	Prof.Dr. Abdullah KAYA	

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve
..... sayılı toplantısında alınan numaralı
kararı ile kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Ali AYDOĞDU
Enstitü Müdürü

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

20/06/2018

Adı Soyadı: Erkan SAY

Anabilim Dalı: Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı

Tez Konusu: Embriyo Transfer Uygulamaları ile Repeat Breeder İneklerde Gebelik Oranlarının Araştırılması

ÖZELLİKLER	UYGUNDUR	UYGUN DEĞİLDİR	ACIKLAMA
Tezin Boyutları	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	X <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof.Dr. Hakan SAĞIRKAYA

İmza: 

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYANI.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
İÇİNDEKİLER	VII
TÜRKÇE ÖZET	VIII
İNGİLİZCE ÖZET.....	IX
1. GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	6
2.1. Sığırlarda Üreme	6
2.2. Sığırlarda Döl Tutmama Sendromu (Repeat Breeder Sendromu=RBS).....	10
2.3. Embriyo Transferi (ET).....	14
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....	25
3.1.Gereç	25
3.1.1. İşletme ve Hayvanların Seçilmesi.....	25
3.2.Yöntem	26
3.2.1.Denemenin Kurulması	26
3.2.2.Süperovulasyon Protokolü ve Embriyoların Değerlendirilmesi	26
3.2.3.Taşıyıcı İneklerin Hazırlanması ve Seçilmesi	34
3.2.4.Embriyoların Transferi	34
3.2.5. Kan-Progesteron Seviyelerinin Saptanması.....	36
3.2.6.İstatistiksel Analiz.....	37
4.BULGULAR.....	38
4.1.Gebelik Bulguları	38
4.2.Gebelik-Korpus Luteum İlişkisi	41
4.3.Gebelik-Embriyo Safha ve Kalite İlişkisi.....	44
4.4.Kan Progesteron Sonuçları	47
5.TARTIŞMA ve SONUÇ	49
6.KAYNAKLAR	62
7.SİMGELER ve KISALTMALAR	69
8.EKLER.....	71
9.TEŞEKKÜR.....	74
10.ÖZGEÇMİŞ	75

TÜRKÇE ÖZET

Bu çalışmanın amacı tekrarlayan tohumlamalara rağmen, gebe kalmayan ve bu nedenle sürüden çıkarılması gereken döl tutmayan (repeat breeder) olarak tanımlanan ineklerde uygulanacak embriyo transferi sonucunda elde edilecek gebelik oranlarının araştırılmasıdır. Ayrıca, taşıyıcı olarak kullanılacak ineklerde korpus luteum kalitesi, embriyo gelişim safhası-kalitesi ve kan progesteron seviyelerinin gebe kalma üzerindeki etkisinin belirlenmesi de hedeflenmiştir.

Çalışmada Holstein ırkından yaşları 3-8 arası değişen, rastgele seçilmiş 87 baş inek kullanılmıştır. Döl tutmayan inekler (n=45); en az bir doğum yapmış, seksüel siklusları düzenli olan, genital organlarında klinik bir bozukluk bulunmayan ve anormal bir akıntı göstermeyen, ancak en az üç defa veya daha fazla sayıda suni tohumlama yapılmasına rağmen gebe kalmayan ineklerden seçilmiştir. Kontrol grubunu (n=42) oluşturacak inekler ise, doğum sonrası hiç suni tohumlama işlemine tabi tutulmayan hayvanlardan oluşturulmuştur. Taşıyıcı ineklere transferden 24 gün önce PGF_{2α} uygulaması yapılmıştır. Bu uygulamadan sonra, inekler takibe alınmış ve östrus belirtileri gösteren hayvanlar kayıt altına alınıp taşıyıcı aday olarak belirlenmiştir. Deneme grubunda transfer yapılan toplam 45 taşıyıcı döl tutmayan inekten 16'sı gebe kalmıştır. Kontrol grubunda ise, 42 taşıyıcı ineğe yapılan embriyo transfer işleminden sonra 21 inek gebe kalmıştır. Yapılan istatistiksel analiz sonucu deneme ve kontrol gruplarında gebelik oranları sırasıyla %35,6 ve %50 olarak belirlenmiştir. İki grup arasında istatistiksel fark bulunmuştur ($p<0,05$). Çalışmada bunun dışında korpus luteum yapısı ile gebe kalma arasındaki ilişki incelenmiş olup, yapılan istatistiksel analizde korpus luteum büyüklüğünün gebe kalma üzerine etkisi olmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$). Ayrıca embriyo safha ve kaliteleri de değerlendirilmiştir. Buna göre embriyo safha ve kalitesinin gebelik üzerinde önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Her iki grup içerisinde örneklem gruplar oluşturularak kan progesteron değerlerine bakılmıştır. Kan progesteron seviyesinin de gebelik üzerinde etkisi olmadığı saptanmıştır ($p>0,05$).

Sonuç olarak döl tutmayan inekler için embriyo transferinin bir tedavi yöntemi olarak uygulanabileceği, özellikle yüksek süt verimli ineklerin gebe bırakılmasında kullanılabileceği kanısına varılmıştır. Böylece tercihen üstün özelliklere sahip ineklerin embriyolarının döl tutma problemi yaşayan özellikle yüksek süt verimli ineklere transferi ile bu hayvanların gebe bırakılarak sonraki laktasyondada yüksek süt veriminden yararlanılarak ekonomik fayda sağlanabileceği kanısına varılmıştır. Bunun yanı sıra, taze embriyo transferi için taşıyıcı olarak kullanılacak ineklerde korpus luteum büyüklüğü ile kan progesteron değerinin ve transfer edilen embriyo safha-kalitesinin gebelik oranları üzerinde etkisi olmadığı tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Embriyo Transferi, Holştayn, İnfertilite, Repeat Breeder

İNGİLİZCE ÖZET

The aim of this study is to compare pregnancy rate via applying embryo transfer to the cows which is not being pregnant and should be removed from herd as repeat breeder in spite of inseminating frequently. It is also aimed to determine the affect of corpus luteum quality, embryo stage-quality and blood progesterone levels on pregnancy in cows which are used as recipients.

In this study, 87 randomly selected Holstein cows that ages ranging from 3-8 were utilised. The repeat breeder cows (n=45) were selected from at least one giving birth, having regular sexual cycle, missing clinical worsening into genital organ, not displaying an abnormal discharge. On the other hand, It was selected from non-pregnant cows which inseminated artificially 3 times or more. Besides, cows that will form the control group (n=42) were slected from the cows not applying any artificial insemination postnatally. The PGF2 α application was performed to all recipient cows which are considered to benefit from as a recipient in control and testing groups just 24 days before flushing day. Subsequent to this application, the cows were followed and showing an eustrous indications animals were recorded and determined as candidate recipient. 16 out of 45 recipient repeat breeder cows were become preganant in testing group which has already transferred. On the other hand, in control group 21 out of 42 recipient cows were become pregnant after embryo transfer procedure. In consequence of statistcal analyses, the pregnancy rates were observed amongst testing and control groups respectively 35,6% and 50%. There was a significant difference between pregnancy rates ($p<0,05$). The relation between corpus luteum and being pregnant was investigated and as a result of this investigation of statistical analyses, the size of Corpus Luteum was observed that no effect on being pragnant ($p>0,05$). Furthermore, the quality and phase of embryo was evaluated. Accordingly, the quality and phase of embryo has no significant effect on pregnancy ($p>0,05$). Within both groups was created sampling groups to obsreved blood progesterone value. The level of blood progesterone was determined no effect on pregnancy ($p>0,05$).

As a result, it has been concluded that embryo transfer can be used to conceive especially for high-yielding cows as a treatment method for repeat breeder cow. Thereby, by the transfer from cows with high superior characteristics to cow which have fertilization problems, specially high milk yielding cows, can economically be benefit obtained by utilizing the high milk yield in the later lactation. Moreover, it was determined that cow's corpus luteum size, blood progesterone level and transferred embryo stage-quality were not influenced on pregnancy rates in cows utilized as recipients for fresh embryo transfer.

Key Words: Embryo Transfer, Holstein, Infertility, Repeat Breeder

1. GİRİŞ

Süt sığırcılığı işletmelerinde kârlılık hayvanların en az 305 gün sağılması ve yılda bir keze yaklaşan oranda doğum yapması ile sağlanabilmektedir. Diğer bir deyişle en yüksek süt ve döl verimini elde edebilmek için, laktasyon süresinin en az 305 gün ve buzağılama aralığının 12 aya olabildiğince yakın olması gerekmektedir. Hedeflenen süre içerisinde gebe kalmayan hayvandan ekonomik açıdan istenen süt ve yavru verimi elde edilememektedir. Doğum-gebe kalma aralığının uzaması ve gebelik başına tohumlama sayısının artması hem zaman hem de verim kayıplarına sebep olarak ciddi ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Gebe kalmanın geciktiği süre içerisinde ayrıca yem, ilaç, bakım ve ekipman gibi ek harcamalar da ortaya çıkmaktadır (Arbel ve ark., 2001; Kaygısız ve ark., 2008; Kumuk ve ark., 1999; Sarıözkan ve ark., 2012).

Modern süt sığırcılığının yapıldığı ülkelerde, hayvanların süt ve döl verimini etkileyen birçok sorunla karşılaşmaktadır. Bunlardan birisi de döl tutmayan inek (repeat breeder, çeviren inek) sorunudur. Döl tutmayan inekler pratikte, en az üç veya daha fazla tohumlandıkları halde gebe kalmayan hayvanlar olarak tanımlanırlar. Bu sorun konusunda yapılan daha geniş bir tanımlama ise; on yaşından daha küçük ve en az bir doğum yapmış, seksüel siklusları düzenli olan, genital organlarında klinik bir bozukluk fark edilmeyen ve anormal bir akıntı göstermeyen, ancak fertil bir boğayla üç defa veya daha fazla sayıda çiftleştiği ya da suni tohumlama yapıldığı halde gebe kalmayan hayvanlara çeviren (döl tutmayan) hayvanlar adı verilmektedir (Alaçam, 2010; Ergene, 2009).

Bazı araştırmacılar (Gunter, 1981; Kimura ve ark., 1987; Stevenson ve ark., 1988) ise, normal siklus sürelerine sahip olmalarına rağmen, fertil bir boğayla iki veya daha fazla kez çiftleştirilmesine rağmen gebe kalmayan inekleri de döl tutmayan

olarak tanımlamışlardır. Lafi ve Kaneene (1988) ile Wagh ve ark. (1991) normal siklusa sahip 3 defadan fazla tohumlandıkları halde gebe kalmayan inekleri döl tutmayan inek olarak kabul etmişlerdir. Bu tanımların yanı sıra embriyonik ölüm terimi yaygın olarak döl tutmayan ile aynı anlamda kullanılmaktadır. Embriyonik ölüm ve fertilizasyonun şekillenmemesi sığırlarda infertilitenin en önemli nedenlerinden olmasına rağmen, çoğu zaman döl tutmayan ile eş anlam taşımadığı ifade edilmektedir (Dinç, 1990).

Doğal aşım veya suni tohumlama sonucunda gebe kalmayan her inek en az 2 aylık bir ekonomik kayba neden olarak yılda bir yavru alınmasını engellemektedir. Döl tutmayan ineklerin etiolojisinin karmaşık olması ve çoğu klinik olguda klinik tanının mümkün olmaması nedeniyle ineklerden buzağı elde edilememekte, hatta çoğu hayvan reproduktif yetersizlik nedeniyle elden çıkarılmakta veya kesime sevk edilmektedir (Aköz, 1998).

Döl Tutmama Sendromunun (Repeat Breeder Sendromu=RBS) etiolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte multifaktöriyel bir tablo göstermektedir. İnekten, boğa ve çevresel/idari kaynaklı etkenlerin sorumlu olduğu belirtilmektedir. Bunların hepsi üst üste gelebilmekte ve bu durumda temel sebebi çözmeyi zorlaştırmaktadır. Annenin yaşının etkisi, genetik faktörler, uterus enfeksiyonları ve tekrarlayan östrus periyotları, genital kanalın anatomik bozuklukları, hormonal fonksiyonel bozukluklar, erken embriyonik ölümler, yetersiz foliküler büyüme ve beslemenin etkileri (tüm yaşamsal süreçte beslemenin önemi tartışmasızdır ve sütçü sığırların rasyonlarındaki nitel-nicel yetersizlikler ve değişiklikler reproduktif fonksiyon bozukluklarına neden olabilir) anneye bağlı nedenler olarak sayılabilirken; boğanın fertilitate yeteneği, sperma kalitesi, sperma bırakılma yeri ve tohumlama zamanı da boğaya bağlı etkenleri oluşturmaktadır. Bunların dışında çevresel etkenler de repeat breeder sendromunun etyolojisinde yer alabilmektedir. Bunlar; mevsim, östrus takibi, doğum ve suni tohumlamadaki hijyen ve stres faktörleri olarak sıralanabilir (Perez-Marin ve ark., 2012).

Hayvancılık alanında modern teknolojilerden faydalanarak verimi artırmak ve kısa sürede istenen zamanda ve sayıda üstün nitelikli yavrular elde edebilmek için,

sunu tohumlama, seksüel siklus senkronizasyonu, embriyo nakli ve embriyoların dondurulması, ikizlik oranının artırılması, embriyoda veya spermada cinsiyet tayini gibi bir takım yöntemler gittikçe yaygın bir şekilde kullanım alanı bulmaya başlamıştır. İster birim hayvan başına verimi artırmak, ister mevcut hayvanların verimlerini koruyup sürekliliğini sağlamak konusunda olsun, uygulanan bu biyoteknolojik yöntemlerin ana amacı üstün erkek ya da dişi genotipinin yaygınlaştırılmasıdır (Akyol, 2001).

Süt sığırlarında hızlı genetik ilerlemeyi sağlamanın ve sürü içerisinde seçkin dişi ve erkek hayvanların sayısını artırmanın en önemli yollarından biri de embriyo transfer uygulamalarıdır (Akyol, 2001; Pabuçcuoğlu, 2013, Seidel ve Seidel, 1991; Tekeli, 2010). Ayrıca, embriyo transferi hayvan ıslahında başarının en etkin biçimde artırılmasında kullanılan modern tekniklerin başında yer almaktadır (Bülbül ve Dursun, 2005). Birtakım biyolojik işlemler dizisinden oluşan embriyo transferi uygulamalarının en önemli amacı; üstün nitelikli hayvanlardan, sağlıklı ve genetik kapasitesi yüksek ekstra yavruların doğmasını yüksek kaliteli oosit ve embriyo elde ederek sağlamaktır (Santos ve ark., 2008). Normal şartlarda bir inekten yılda bir yavru alınabilir iken, embriyo transferi ile yaşamı boyunca elde edilebilecek yavru sayısının en az 5 katı yavru elde edilebilmektedir (Seidel ve Seidel, 1991; Tekeli, 2010).

Embriyo transferi laktasyondaki ineklerde, özellikle ısı stresi durumunda, fertilitenin artırılmasında çok yararlı bir etki göstermektedir. Bir embriyonun transferi infertiliteye neden olan bazı etkenleri (fertilizasyon başarısızlığı ve erken embriyonik ölüm gibi) elimine edebilmektedir. Bu nedenle embriyo transferi döl tutmayan sütçü ineklerde özellikle sıcak havalarda etkin olduğu yaz mevsiminde yüksek oranda gebelik elde etmek için kullanılabilir (Bilby, 2010).

Sunulan bu çalışmada amacımız en az 3 kez tohumlanmasına karşın gebe kalmayan ve sürüden çıkarılması gereken döl tutmayan ineklere embriyo transferi uygulayarak gebe kalmalarının sağlanıp sağlanamayacağını araştırmaktır. Böylelikle döl tutma sendromlu ineklerin embriyo transferi ile gebe bırakılması sağlanıp, bir süre daha sürüde tutularak ekonomik kazanç elde edilebileceği

gösterilmeye çalışılacaktır. Türkiye’de döl tutmayan ineklerle ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların birçoğu hormonal düzenlemelerle suni tohumlama temeline dayanmaktadır. Ayrıca ülkemizde embriyo transferi çalışmaları hâlâ dünya çapında olduğu kadar yaygın bir yer tutmamaktadır. Bu çalışmada amaçlanan diğer bir konuda embriyo transferinin yaygınlaşabilmesi için bir örnek teşkil edebilmektir. Çalışma ile döl tutmayan ineklerde alternatif bir tedavi yöntemi olan embriyo transferiyle gebe bırakılma oranlarının artırılabilmesinin ülkemizdeki yetiştiricilere ve meslektaşlarımıza gösterilmesi de hedeflenmiştir. Ülkemizde döl tutmayan ineklere yapılan embriyo transferi çalışmaları ile kıyaslandığında kullanılan hayvan sayısının fazlalığı ve taze embriyo transferi yapılması nedeniyle hem özgün değere sahip hem de sonuçları itibarı ile pratikte fayda sağlayabilecek bir çalışmadır.

Ayrıca, bu çalışmada taşıyıcı ineklerde embriyo safha-kalitesinin, korpus luteum büyüklüğünün ve rastgele seçilen inekler içerisinde kan-progesteron değerinin gebe kalma üzerine etkisinin olup olmadığının tespiti de amaçlanmıştır.

Çalışmada transfer edilen embriyolar süperovulasyon uygulamasından sonra in vivo olarak elde edilmiş ve taze olarak döl tutmayan taşıyıcılara transfer edilmiştir. İn vivo embriyo üretimi için süperovulasyon protokolüne tabi tutulan verici inekler Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü hayvancılık işletmesi bünyesinde yetiştirilen sürüden seçilmiş ve sürü içerisinde döl tutmayan sendromlu olarak kabul edilen ineklere transfer edilmiştir.

Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Hayvancılık Bölümü, Hayvancılık İşletmesi’nde hâlihazırda DPT tarafından desteklenen Anadolu Alacası Geliştirme Projesi yürütülmektedir (Anonim, 2001). Bu proje kapsamında ülke koşullarına uygun test edilmiş boğalar geliştirmek, kaliteli sperma üretiminde dışa bağımlılığı azaltarak kısa sürede verimde genetik ilerleme sağlamak amaçlanmaktadır. Proje uygulamasında donör hayvanlar süperovulasyon protokollerine tabi tutularak embriyolar elde edilmektedir. Embriyolar uygun medyumlar içerisinde stereo mikroskop altında, kalitelerine göre ayrılarak sınıflandırılmaktadır. Kaliteli embriyolar taşıyıcılara transfer edilerek birden çok yavru elde edilebilmektedir. Görüldüğü üzere kurum bünyesinde yürütülen

alışmalar nedeniyle bu doktora tez çalışması için yeterli alt yapı ve pratik tecrübe bulunmektedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Sığırlarda Üreme

Sığır yetiştiriciliğinde, etkili bir yönetim iyi bir üreme performansı ve yüksek verimli bir üretim için gereklidir. Fakat istenen üreme hedefleri yerel koşullara ve bireysel çiftlik sistemlerine bağlı olarak değişebilmektedir (Ball, 2004). Süt sığırcılığında karlılığı belirleyen ana unsur döl verimidir. İdeal ölçülerde bir döl verimi demek; daha yüksek süt verimi, yıllara göre daha fazla buzağı üretimi ve daha yüksek bir verim için daha fazla seleksiyon olasılığı demektir. Ancak süt sığırlarında süt veriminin artırılmasına paralel olarak döl veriminde gerilemelerde görülebilmektedir (Ata 2013, Campos ve ark., 1994; Marti ve Funk, 1994; Oltenacu ve ark., 1991).

Üreme, hayvansal üretimin etkinliğinin belirlenmesinde yaşamsal bir faktördür. En ideali, bir ineğin yılda bir kez doğum yapmasıdır. Bu nedenle, sığır kaynaklı et ve süt üretim modeli generasyon aralığı sığırlara göre daha kısa olan diğer çiftlik hayvanları türlerinden (örneğin domuzlar ve koyunlar) daha az etkilidir. Bu aynı zamanda genetik ilerleme oranının nispeten yavaş olacağı anlamına da gelmektedir. Sütçü sürülerde, sürekli arttırılmak istenen süt üretimi sonucunda genellikle diğer faktörlerin göz ardı edilmesine neden olmaktadır. Bu durumun bir sonucu olarak, bir inek buzağılamanın ardından daha yüksek miktarda süt vermeye başlamakta ve tekrar gebe bırakılıp buzağılamadığı takdirde, belli bir laktasyon periyodunun sonunda süt üretimi düşmektedir. Modern sistemlerde yetiştirme ve bakım masrafları yüksek olduğundan dolayı ilk buzağılama için 2 yılın üzerindeki herhangi bir gecikme ve ilk buzağılamayı takiben optimum sürenin üzerindeki buzağılama aralıkları gelirden belirgin bir düşüşe neden olmaktadır. Buzağılar hem sağlıklı ineklerin yenilenmesi hem de sığır eti üretimi açısından büyük önem

taşımaktadır. Bu nedenle üreme süreci işletmeler açısından yaşamsal bir öneme sahiptir (Ball, 2004).

Üreme verimliliğinin ölçümü

Üreme verimliliği, bir ineğin gebe kalma ve canlı yavrular üretme kabiliyetinin bir ölçüsü olarak tanımlanabilir. İnfertilite veya yetersiz fertilitate, normal üreme performansını belirleyen seviyelerden farklı derecelerde sapmalarını ifade etmektedir.

Fertilite (doğurganlık) ile ilgili değerlendirme yapılırken genellikle ekonomik düzeyde buzağılama aralığı esas alınmaktadır. Buzağılama aralığı için ideal değer 365 gün olarak kabul edilmektedir. Ancak sürü bazında 365 günlük düzeyin tutturulması (özellikle Holştayn ırkı sığırlarda) çoğunlukla mümkün olmadığından bu süre ortalama 390 günü bulmaktadır (Ata, 2013). Biyolojik bir bakış açısıyla, buzağılama oranı en uygun fertilitate ölçütüdür ve 100 tohumlama başına doğan buzağı sayısı olarak tanımlanır. Aynı zamanda böyle bir değerlendirmenin dezavantajları da vardır. Çünkü östrus tespitinde başarısızlık yüzünden doğumdan sonra çok uzun servis periyodu olan ineklerin hesaba katılması gerekir. Esslemont (1992) östrus tespit oranının ve gebelik oranının (çiftleşme ya da suni tohumlama sonrası 45. günde) ürünü olan bir 'doğurganlık faktörü' kullanımını önermiştir. Pratikte östrus belirleme oranı, bir siklus dönemi içerisinde üzerine atlanılmasına izin veren ineklerin sayısının sürüdeki tüm ineklerin sayısına oranlanması ile bulunur (tohumlandıktan sonra 23 gün içerisinde tekrar tohumlanan ineklerin oranı). Daha sonra suni tohumlama yapıp gebe kalan ineklerin sayısı ile gebelik oranı (pozitif gebelik tanısı ile sonuçlanan tohumlanmış inek oranı) hesaplanır. Reprodüktif etkinlik veya doğurganlık faktörü için bir oran elde etmek amacıyla üzerine atlanılmasına izin veren inek oranı ile elde edilen gebelik oranı çarpılır. Üzerine atlanılmasına izin veren inek oranı en az %80 ve gebelik oranı %70 olmalıdır. Böylece doğurganlık faktörünün en az %56 olduğu görülür. Esslemont (1992) ayrıca, %22'nin üzerinde inek başına sürüden çıkarma maliyeti (%1 için 590 €), 360 günü aşan buzağılama aralıkları (günde 3 €) ve gebelik başına ikinin üzerinde her fazladan

östrus periyodu (tohumlama başına 18€) olarak bir sürüde fertilité ekonomik endeks (Fertex) puanını tanımlamıştır (Ball, 2004).

Üreme ile İlgili Parametreler

Sürünün devamı ve süt verimi ancak optimum döl verimi ile sağlanabildiğinden dolayı, döl verimi modern süt işletmelerinin karlılık ve başarısını belirleyen ana faktörlerden birisi haline gelmiştir. Fertilité, dölveriminin fizyolojik ve ekonomik sınırlar içinde devamlılığı şeklinde tanımlanabilirken, infertilite ise döl veriminin aksaması, yani doğum ile yeni bir gebeliğin şekillenmesi arasındaki sürenin uzaması şeklinde ifade edilebilir. Süt sığırcılığı yapılan işletmelerde, doğumlar arasındaki sürenin 400 günü aşması, doğum-gebelik arası sürenin 120 günden uzun, ilk tohumlamada gebelik oranının %50'den düşük, buzağı başına gereken tohumlama sayısının 2'den fazla olması ve bir işletmedeki hayvanların en az üçte birinde buzağı başına 3'ten fazla tohum kullanılması sürüde infertilite sorununun bulunduğu gösterge olarak değerlendirilmektedir (Alaçam, 2010).

Yetiştiricilikte işletmedeki karlılığın sağlanması ve devam ettirilebilmesi için bazı döl verimi parametrelerinin optimal seviyede tutulması gerekmektedir. Süt sığırı yetiştiriciliği yapılan işletmelerde döl verimi sorunu olup olmadığının değerlendirmesinde kullanılan en önemli güncel parametreler Tablo 1'de sunulmuştur (Ata, 2013).

Tablo 1. Süt İneklerinde Üreme Parametreleri (Alaçam, 2010; Ata, 2013; Daşkın, 2005, Hutchinson, 2007; Rogers, 2007; Wattiaux, 2007)

Ölçütler	İdeal	Hafif	Orta	Ciddi
	Değer	Problem	Derece	Problem
İlk östrus gösterme yaşı (ay)	< 8	10	11	> 12
İlk damızlıkta (yetiştirmede) kullanılma yaşı (ay)	13–15	15–17	18–20	<13 veya >20
İlk buzağılama yaşı (ay)	24	25–26	27–29	<24 veya >30
İlk tohumlamada canlı ağırlık (Holştayn) (kg)	340	320	310	< 300
İlk buzağılamada canlı ağırlık (Holştayn) (kg)	510–550	540–580	580–620	<510 veya >620
Yetişkin canlı ağırlık (Holştayn) (kg)	650–725	650–690	690–725	<650 veya >725

Buzağılama-ilk östrus görülene kadar geçen süre (gün)	< 40	40-50	50-60	> 60
Buzağılamadan sonra 60 gün içinde kızgınlık gösteren ineklerin oranı (%)	> 90	80-90	70-80	< 70
Östrus belirleme oranı (%)	> 80	50-65	66-80	< 50
Östrus tespit edilemeyen inek oranı (%)	< 10-14,9	19,9-15	20-40	> 40
Tohumlama aralığı 18-24 gün inek oranı (%)	> 65-62,5	60,1-62,4	50-60	< 50
Buzağılama-ilk tohumlama aralığı (gün)	< 60- 65	70-65,1	70,1-85	> 85
Servis periyodu				
(Buzağılama-gebe kalma aralığı) (gün)	< 80-82,5	82,6-85	85,1-100	> 100
Buzağılama aralığı (ay)	11,8-13	13-13,5	13,6-14	<11,7 veya >14
İlkine tohumlama gebelik oranı				
(düveler için) (%)	65-70	60-65	55-60	< 50
İlkine tohumlama gebelik oranı				
(birinci laktasyondakiler için) (%)	> 65-60,1	50,1-60	45-50	< 40
İlkine tohumlama gebelik oranı				
(yetişkinler için) (%)	40-50	35-40	30-35	< 30
İki tohumlamada gebe kalan inek oranı (%)	> 80	70-80	60-70	<50
Üç tohumlamada gebe kalan inek oranı (%)	> 90	80-90	70-80	<60
Üçüncü tohumlamaya gerek duyan inek oranı (%)	< 12,3-15,9	16-24,9	25-30,2	> 30,2
Dördüncü tohumlamada gebe kalan inek oranı (%)	> 96	85-95	75-85	<50
Dördüncü tohumlamaya gerek duyulan inek oranı (%)	< 4,3-6,3	6,4-12,4	12,5-16,6	> 16,6
Doğumdan sonraki 120 gün içinde gebe kalmayan ineklerin oranı (%)	< 10	11-12	13-14	> 15
Gebelik başına tohumlama (aşım) sayısı	< 1,75	1,76-2	2,01-2,30	> 2,30
İnfertilite nedeniyle zorunlu kesim oranı (%)	< 5-7,1	10,1-7,2	13-10	> 13
Gebe kalmayarak elden çıkarılma oranı (%)	< 6	10	15	> 20
Döl tutmayan inek oranı (%)	< 15	15-20	20-25	> 30
Abort oranı (%)	< 3	4-5	5-10	> 10
Retensiyo sekondinarum oranı (%)	< 8	10-15	15-20	> 20
Metrit (rahim iltihabı) görülme oranı (%)	< 10	10-20	20-30	> 30
Ovaryum kisti oluşma oranı (%)	< 5	10-20	20-30	> 40

Modern süt sığırı işletmelerinde Tablo 1’de belirtilen parametreleri sağlamak oldukça zorlaşmıştır. Son 50 yılda süt sığırcılığındaki hızlı genetik ilerleme sonucu hedeflenen yüksek süt verimine ulaşılmıştır (Sartori ve ark., 2010; Walsh ve ark., 2011). Ancak süt verimlerinde ki artışa paralel olarak döl verimlerinde düşme

şekillendiği görülmüştür (Butler, 1998; Sartori ve ark., 2010). Böylece iki doğum aralığı uzamış ve yüksek verimli bir inekten yılda bir yavru alınamaz hale gelinmiştir. Bu da sürü içerisinde hızlı genetik ilerleme sağlanmasını olumsuz yönde etkilemiştir. Bu olumsuzluklar karşısında embriyo transferi büyük önem kazanmıştır (Çoban, 2017).

2.2. Sığırlarda Döl Tutmama Sendromu (Repeat Breeder Sendromu=RBS)

Düzenli seksüel siklus gösterip, genital organlarında, klinik yöntemlerle herhangi bir bozukluk saptanmadığı halde gebe kalmayan ineklerin varlığı birçok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Küplülü ve ark. 1993). Döl tutmama sendromunun daha ayrıntılı bir tanımlamasını yapacak olursak; on yaşından daha küçük ve en az bir doğum yapmış, seksüel siklusu düzenli olan, genital organlarında klinik bir bozukluk tespit edilmeyen ve anormal bir akıntı göstermeyen, ancak fertil bir boğayla üç defa veya daha fazla sayıda çiftleştiği ya da suni tohumlama yapıldığı halde gebe kalmayan hayvanlara döl tutmayan (çeviren ya da repeat breeder) hayvanlar adı verilmektedir (Alaçam 2010, Ergene, 2009). Kimi araştırmacılar ise yukarıdaki literatürlerde bahsedilen özellikleri taşıyıp en az iki tohumlama yapılmasına rağmen gebe kalmayan inekleri döl tutmayan olarak kabul etmektedirler (Gunter, 1981; Kimura ve ark., 1987; Stevenson ve ark., 1988).

Döl tutmama (repeat breeding) sığırlardaki en önemli reproduktif sorunlardan birisi olarak değerlendirilmektedir. Sütçü sığırlarda döl tutmama insidansı bölge, çevre ve yönetime bağlı olarak değişmektedir. Bulman ve Lamming (1978) sütçü sığırlarda döl tutmayan inek görülme sıklığını %8,9, Bartlett ve ark. ise (1986) %24 olarak bildirmişlerdir. Gustafsson ve Emanuelson (2002) döl tutmayan inek oranını, İsveç sütçü sığır populasyonunda %10 olduğunu belirtmiştir.

Allen'a (1996) göre, döl tutmama sendromunun bir kısmı erken embriyonik ölümlerle ilgili olabilir, çünkü ineklerde embriyonik ölümlerin çoğu daha önce bilinenden çok daha erken meydana gelmektedir. Bu teori, döl tutmayan ineklerde embriyonik ölüm oranının önemli derecede yüksek olduğunu bildiren Ayalon (1978) ile Maurer ve Echtenkamp (1985) tarafından da desteklenmektedir. Ayalon (1978) döl tutmama sendromunun Kuzey Amerika'daki sütçü sığır sürülerinde ekonomik

kayıpların en büyük nedeni olduğunu ve değişik eyaletlerde rastlantı sıklığının %10-18 arasında değiştiğini bildirmiştir. Döl tutmayan ineklerle ilgili ekonomik kayıplar önemlidir ve bunlar; veteriner giderlerinin ve tohumlama maliyetlerinin artması, reproduksiyon performansının düşmesi ve istemsiz sürü dışı bırakma gibi ilave maliyetler olarak sıralanabilir (Bonneville-Hébert, 2011).

Döl tutmama sendromu servis peiyodunun ve buzağılama aralığının uzamasına neden olmakta, dolayısıyla süt ineği işletmelerinde düşük süt ve buzağı üretimi sonucu büyük ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu sendromdan sorumlu faktörler anatomik, hormonal, idari ve enfeksiyöz olmak üzere çok çeşitlidir ve sürüden sürüye, hayvandan hayvana ve östrüstan östrusa farklılık göstermektedir (Singh ve ark., 2008). Etiyolojisinin karmaşık olması döl tutmayan ineklerde tanıyıda güçleştirmektedir. Ancak, nedenin kesin olarak belirlendiği olgularda, farklı tedavi uygulamaları sonucunda elde edilen döl verimi oranlarında da farklılık gözlenmektedir (Aköz, 1998).

Döl tutmama sendromunun başlıca iki nedeni, erken embriyonik ölümler veya fertilizasyonun şekillenmemesidir. Bu iki temel nedene eşlik eden ya da yol açan bazı risk faktörleri döl tutmayan inek sorununun ortaya çıkmasında önemli rol oynamakta ve üzerlerinde dikkatle durulması gerekmektedir (Lafi ve Kaneene,1988).

Fertilizasyonun şekillenmemesi; ovulasyon gecikmesi veya anovulasyona, erken postpartum dönemde veya ovulasyondan sonra yapılan tohumlamaya, fekdasyondan önce oositin ölmesine, uterus enfeksiyonlarına, oosit ve spermatozoonun morfolojik ve fonksiyonel anomalilerine, gametlerin fekdasyon bölgesine taşınmasına olanak vermeyen yapısal engellere, ovulator mekanizma bozukluklarına, polispermiye, çift dişi pronukleusu taşıyan yumurtanın monospermik fertilizasyonuna, pronukleus formasyonunun şekillenmemesine, androgenezise, yaşlanmaya, yüksek süt verimine, immunulojik tepkilere ya da bazı çevresel faktörlere bağlı olarak ortaya çıkan atipik fertilizasyon gibi olgulara bağlı olabilmektedir (Gunther, 1981; King, 1991; Perez-Marin, 2012).

Embriyonik ölümlerin olası sebepleri arasında; yaşlanmış oositin fertilizasyonu, luteal kromozomal anomaliler, yüksek çevre ısı, rasyonlarda bazı temel ve özel

besin maddelerindeki yetersizlikler, siklik östrojen-progesteron hormonlarının dengesizliği, progesteron yetersizliği ve subklinik uterus enfeksiyonları gibi etmenler sıralanmaktadır (Ahmad ve ark., 1995; Bilodeau-Goeseels, 2006; Boland ve ark., 2001; Dunne ve ark., 1999; Humblot, 1999; King, 1990; Lamb, 2006; Wolfenson ve ark., 2000).

Döl tutmayan inek sorununun hayvanlarda bireysel olarak belirlenmesinde şu kriterler önem taşımaktadır;

- Döl tutmayan ineklerde reproduktif organlar genelde klinik olarak normaldir.
- Etiyolojisi çok çeşitlidir.
- Herhangi bir faktör döl tutmayan bir inek için spesifik olmayabilir ve döl tutmamanın gerçek sebebinin tespitini zorlaştırır veya yanlış tespite yol açabilir.

Bu faktörler ışığında döl tutmama sendromunun etiyolojisi şu şekilde sınıflandırılabilir

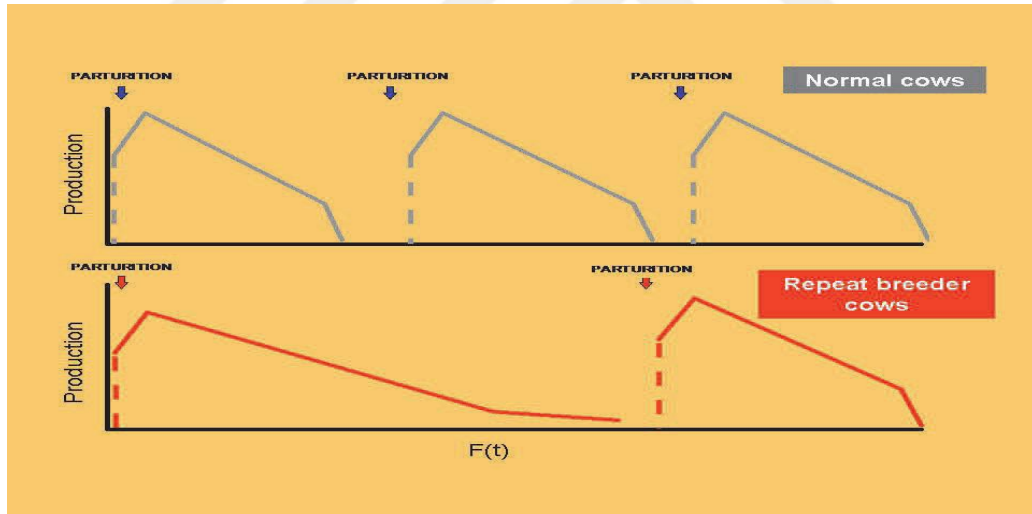
- Spermatazoon ve ovumun kongenital, genetik ya da sonradan kazanılmış defektlerine bağlı olarak. fertilizasyonun oluşmaması.
- Erken embriyonik ölümler
- Bakım ve idari faktörler
- Beslenme bozuklukları
- Çevre şartları
- Reproduktif organların genetik, anatomik ya da kongenital yapı bozuklukları
- Reproduktif sistemin enfeksiyöz ve travmatik yangısal reaksiyonları
- Endokrin bozukluklar
- Östrusun gözlenmesindeki hatalar ve tohumlamanın uygun olmayan zamanda yapılması (Aköz, 1998).

Reproduktif bakımdan bu hayvanlarda gebeliğin oluşturulması ya imkansızdır ya da çok sayıda tohumlamayı gerektirir. Bu olgu iki doğum arasındaki sürenin uzamasına bağlı olarak süt üretiminin azalmasına neden olmak suretiyle süt

sığırcılığı yapan işletmelerde para ve zaman kaybına neden olmaktadır (Doğan, 1998).

Döl tutmama sorununun çözülmesi için birçok tedavi yöntemi denenmektedir. Bunlar östrus tespitinin etkinliğinin artırılması, embriyo transferi, suni tohumlama sırasında GnRH uygulaması, suni tohumlamayı takiben hCG uygulaması, suni tohumlama yerine doğal aşım yapılması, gebe olmayan ineklerin yeniden senkronize edilmesi şeklinde sıralanabilir (Bilby, 2010).

Epidemiyolojik çalışmalarda döl tutmama sendromunun prevalansının %5'ten (Ayalaon 1984 Ürdün), %36'ya (Zambrano 1982 Küba) kadar değiştiği görülmektedir. Buna rağmen, süt ineği üretimindeki büyük talepleri değerlendirdiğimizde (bir inekten yılda bir buzağı almayı gerektiren), döl tutmayan inek sendromu süt ineği yetiştiriciliğinde ekonomik açıdan önemli bir etkiye sahiptir (Şekil 1) (Perez-Marin, 2012).



Şekil 1. Normal ve Döl Tutmayan İneklerin Laktasyon Eğrilerinin Karşılaştırılması (Perez-Marin, 2012)

Embriyo transferi son yıllarda döl tutmama sendromunun tedavisinde kullanılmaya başlayan yardımcı üreme tekniklerinden birisidir. Laktasyondaki sütçü sığırlar özellikle yaz mevsimi boyunca ortaya çıkan sıcak stresi etkisi altında iken, embriyo transfer uygulaması ile fertilitenin iyileştirilmesi açısından olumlu sonuçlar elde edilmektedir. Normal şartlarda bir embriyonun transferi infertilitenin kesin

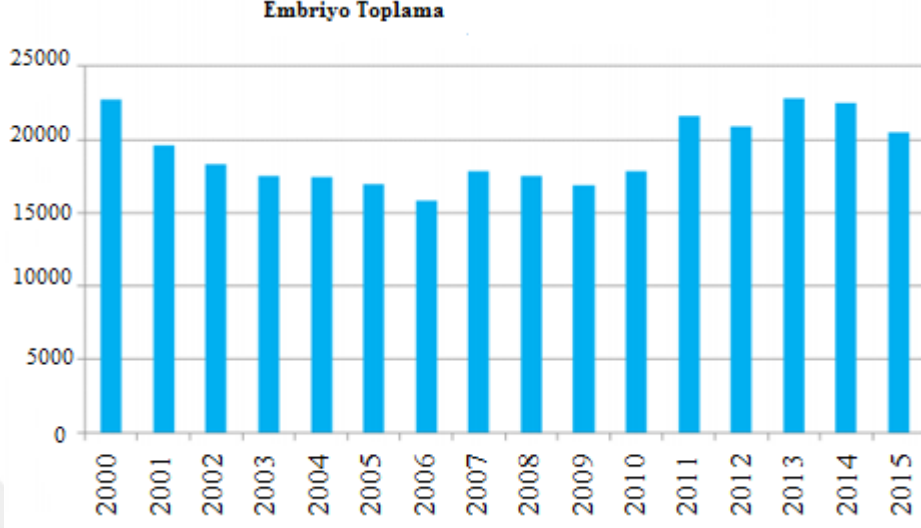
nedenlerini (fertilizasyon başarısızlığı ve erken embriyonik kayıp gibi) bertaraf edilebilmektedir (Bilby, 2010).

Genital organların muayenesinde klinik bozuklukları tespit edilmeyen ve en az 3 veya 4 suni tohumlamadan sonra gebe bırakılmayan inekler döl tutmayan inekler olarak tanımlanırlar; bu inekler 18 ila 24 gün aralıklarla normal bir şekilde östrüs belirtileri göstermelerine rağmen, gebe kalmaları için 3 veya 4'den fazla servis periyodu geçirmeleri gerekmektedir. Son yıllarda, laktasyondaki süt ineklerinin doğurganlığında bir düşüş görülmekte ve buna ek olarak, konsepsiyon başına servis periyodu sayısı artmakta; bu da tekrar tekrar tohumlanan ineklerin oranının yükseldiğini ifade etmektedir. Günümüzde döl tutmama sendromu sütçü sürü yönetiminde ekonomik başarıyı etkileyen önemli bir faktör haline gelmiştir ve bu sorunu düzeltmenin ilk adımı sorunun nedenini veya nedenlerini belirlemektir. Ne yazık ki, döl tutmama olgusu multifaktöriyel bir sendrom olduğundan bu nedenleri belirlemek oldukça zor olabilmektedir. Döl tutmayan ineklerin fertilitate performansını geliştirmek için birçok yaklaşım denenmekte ve son çalışmalar ET'nin döl tutmayan ineklerde fertilitate performansını artırmada etkili bir alternatif olabileceğini düşündürmektedir (Stradaoli, 2015).

2.3. Embriyo Transferi (ET)

Embriyo transfer uygulaması süt sığırlarında genetik ilerlemeyi sağlamada ve sürü içerisinde damızlık değeri yüksek dişi ve erkek hayvanların sayısını arttırmada kullanılan yardımcı üreme tekniklerinden en önemlisidir. Son yıllarda geliştirilen yeni tekniklerle embriyo transferinin başarısı artmakta ve dünya çapında hızla yayılmaktadır. AETE'nin 31 Avrupa ülkesinden topladığı verilere göre; 2015 yılında toplam 20497 donör süperovulasyon protokollerine tabi tutularak, in vivo olarak embriyo üretimi yapılmıştır (2014 yılında 22490). Toplanan tüm embriyolar içinde transfer edilebilir embriyo sayısının 127980 olduğu belirtilmektedir. Bu sonuçlar, superovule edilen her bir inekten elde edilen transfer edilebilir embriyo sayısının ortalama 6,24'e ulaştığını göstermektedir. Tüm bu üretilen embriyoların %79'u sütçü ırklardan, %21'i ise etçi ırklardan elde edilmiştir. Avrupa'da 2000-2015 yılları

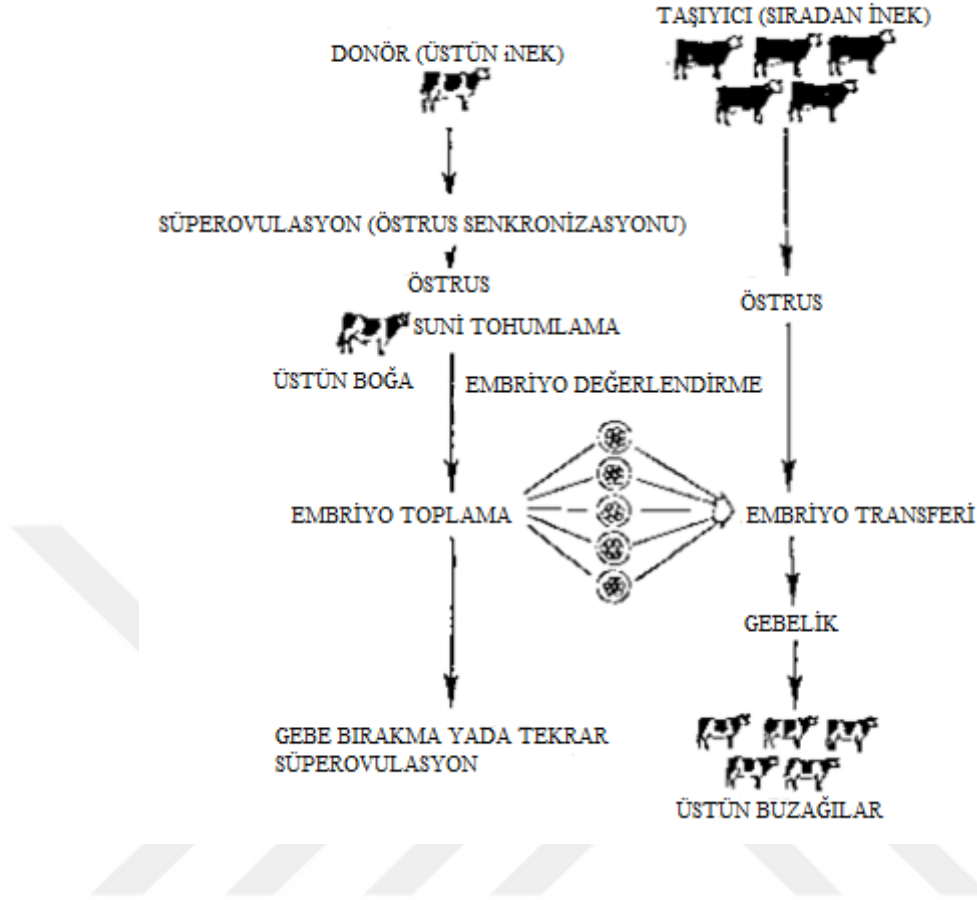
arasında in vivo yöntemle elde edilen embriyo sayıları Şekil 2’de gösterildiği gibidir (Mikkola, 2016).



Şekil 2. Avrupa’da Yıllara Göre Sığır Embriyosu Toplama Sayıları (In Vivo) (Mikkola, 2016)

Embriyo transferi kısaca gebelik süresini başka bir dişide tamamlamak amacıyla bir dişiden toplanan embriyonun (donör) başka bir dişiye (taşıyıcı) transfer edilmesi olayı olarak tanımlanır (Kunkel, 2010).

Embriyo transferi, donör olarak kullanılan dişinin genital kanalından toplanan embriyo ya da embriyoların, bir ya da daha çok sayıda sekronize edilen dişiye transfer edilmesi işlemidir (Şekil 3) (Kanagawa ve ark., 1995; Sağırkaya, 2009). Başka bir tanıma göre ise; genetik kapasitesi ve verim düzeyleri belirlenmiş olan seçkin inek ve boğalardan elde edilen embriyoların taşıyıcı ineklere nakledilmesi işlemine verilen isimdir (Kaymaz, 2012).



Şekil 3. Sığırlarda Embriyo Transferi Şeması (Kanagawa ve ark., 1995)

Yapılan bu tanımlardan anlaşılacağı üzere; birbirini izleyen birtakım biyolojik işlemler dizisi olan embriyo transfer uygulamasının temel amacı, üstün özelliklere sahip ineklerden elde edilecek yavru sayısının artırılmasıdır. Normal şartlarda bir inekten yılda bir yavru alınabilir iken, embriyo transferi ile bir ineğin yaşamı boyunca verebileceği yavru sayısının en az 5 katı yavru elde edilebilmektedir (Akyol ve ark., 2004; Hızlı ve ark., 2012; Sağırkaya, 2009).

Embriyo transferi ilk defa 1890 yılında Walter Heape tarafından Angora tavşanlarında yapılmıştır (Smith, 2009). 1949'da Warnwic ve Berry koyun ve keçilerde ilk başarılı embriyo transfer işlemini gerçekleştirmişlerdir (Betteridge, 2003; Kanagawa, 1995). Sığırlarda ise, ilk başarılı embriyo transferi 1951 yılında Amerika Birleşik Devletlerinde Cornell Üniversitesinde Willet ve ark. tarafından yapılmış ve ilk buzağı elde edilmiştir (Kanagawa, 1995; Willet ve ark., 1951). Türkiye'de ise, ilk embriyo transfer çalışmalarına 1981 yılında tavşanlar, 1983

yılında fareler üzerinde araştırma boyutlu olarak başlanmıştır (Akyol ve ark., 2004). 1984 yılında koyunlarda (Akyol ve ark., 2004), 1985 yılında da sığırlarda ilk defa yapılan embriyo transfer uygulaması İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Emekli Öğretim Üyesi Prof. Dr. İrfan Kamuran İleri tarafından gerçekleştirilmiştir (Sağırkaya, 2009). 1960'lı yıllara kadar embriyo kazanımı cerrahi yöntemle yapılırken, 1964 yılında Japon bilim adamı Suggie tarafından ilk defa cerrahi olmayan metot kullanılmıştır. Daha sonra günümüzde de kullanmakta olduğumuz servikal yöntemin geliştirilmesiyle birlikte embriyo transfer çalışmaları birçok ülkede yaygınlaşmıştır (Betteridge, 2003; Kanagawa, 1995; Sağırkaya, 2009).

Embriyo transfer uygulamalarının başarısı;

İlk başta tüm süreç kafa karıştırıcı olarak görülür fakat detaylı ve kesin bilgilerle kolayca açıklanabilir. İlk sorulacak soru, embriyo transferi (ET) prosedürünün yaygınlaşmasının istenmesinin amacı nedir? ET'nin geliştirilmesi ile aşırı populasyon artışının büyük bir problem olacağı akla gelebilir. Fakat böyle bir durum söz konusu değildir. Çünkü elde edilen embriyo sayıları artsada, ET uygulamalarının başarısı multifaktöriyel durumlar içerdiği için aşırı bir populasyon artışı gerçekleşmeyecektir. Embriyo transferi çalışmaları ilk olarak, süt sığırlarında buzağı üretimini arttırmak amacıyla yapılması düşünülürken, günümüzde pratik olarak çoğunlukla hayvanlar ile ilgili araştırmalarda ve sütçü ineklerde genetik ilerlemenin sağlanması amacıyla kullanılmaktadır. Bu yüzden, embriyo transferi ile süt sığırı endüstrisinde genetik üstünlüğe sahip sığırların artışı, bu hayvanlardan yaşamları boyunca daha fazla yavru elde edilmesi, hastalıkların kontrolü ve küçük populasyonlarda daha hızlı genetik değişim sağlanabilmektedir. Ayrıca bilimsel araştırmalarda üremenin fizyolojik, patolojik, immunolojik çalışmalar için değişkenliği azaltmaya katkıda bulunmaktadır. ET'nin başarılı bir şekilde yapılması verimli yaşamı uzun, güçlü genetik temelli yüksek verimli ineklere sahip olmak mümkün hale gelmiştir (Donahoo-Cheda, 2010).

Her yeni doğan buzağı büyük bir üreme potansiyeline sahiptir. Dışide yaklaşık 150.000 potansiyel yumurta ve her erkekte üretilen milyarlarca sperm hücresi vardır. Doğal üreme prosedürü ile üstün bir bireyin üreme potansiyelinin

yalnızca küçük bir kısmı gerçekleştirilebilir. Sürüde bir boğadan yılda ortalama 15-50 buzağı alınabilirken, bir inekten ise ortalama bir buzağı alınabilmektedir. Suni tohumlama ile genetik olarak üstün özelliklere sahip bir boğa tarafından üretilen çok sayıda sperm hücresinden faydalanmak mümkündür, fakat dışının üreme potansiyeli suni tohumlama yöntemiyle tam anlamıyla kullanılamamaktadır. Normal olarak işletmede kullanılan üreme programları ile bir inekten optimum şartlarda ömrü boyunca genel olarak en fazla 8 ila 10 buzağı alınabilmektedir. Suni tohumlama ile bir boğadan faydalanıp çok sayıda inek tohumlabılırken, embriyo transferi genetik olarak üstün özelliklere sahip bir ineğin ömrü boyunca üretebileceği yavruların sayısını büyük oranda artırabilen önemli bir uygulamadır (Selk, 2006).

Temelde dünya çapında her yıl, geleneksel süperovulasyon süreci kullanılarak 750000 ve in vitro teknikler ile 450000 den fazla embriyo üretilmektedir. Süperovulasyon ve embriyo toplama 30 günde bir tekrarlanarak yapılabilmektedir (Mapletoft, 2013)

Sığırlarda embriyo transferinin avantajları ve dezavantajları

Avantajları;

- Bir inekten yaşamı boyunca elde edilebilecek yavru sayısının en az 5 katı sayıda yavru elde edilebilir. Bu şekilde sürü içerisinde yüksek genotipik ve fenotipik kapasiteye sahip yavru sayısı arttırılabilir (Akyol, 2007; Seidel ve Seidel, 2005; Tekeli, 2010).
- Cinsiyeti önceden belirlenmiş embriyoların transferi ile doğrudan damızlık olarak kullanılacak dişi yavrular elde edilebilir (Pabuçcuoğlu, 2013).
- Hayvan ıslahında hızlı genetik ilerleme sağlanır. Boğaların değerlendirildiği projeni test yöntemiyle karşılaştırdığında MOET (çoklu ovulasyon ve embriyo transferi) yöntemi kullanılarak, daha kısa sürede damızlık değeri yüksek dişi ve erkek hayvanlar elde edilebilir (Seidel ve ark., 2005).

- Sürü içerisinde hastalık, yaşlılık gibi nedenlerle infertil duruma düşen üstün nitelikli hayvanlardan yavru elde edilebilir (Brock ve ark., 1997; Elsdén ve ark., 1979).

- Bölgeye adapte olmuş taşıyıcı anneden doğan yavruda pasif immünite yoluyla bölgeye uygun bağışıklık gelişimi sağlanabilir (Seidel ve ark., 2005; Tekeli, 2010).

- Sıcaklık stresine maruz kalan ineklerde embriyo transferi ile gebe kalma oranları, suni tohumlama ile gebe kalma oranlarına göre daha yüksektir. Bu nedenle sıcak dönemlerde embriyo transfer uygulamasının fertilitiyi arttırmak için etkin bir uygulama olduğu bildirilmiştir (Hansen ve Arechiga, 1999).

- Embriyo ithal etme maliyetleri genellikle canlı hayvan ithalatına kıyasla daha düşüktür ve sürülerde ırkların tek bir nesil içinde değiştirilmesi mümkündür. Embriyo transferi ile elde edilen yavrular saf olarak istenen ırktan olacak ve taşıyıcıdan elde edilecek pasif bağışıklık nedeniyle yeni çevreye daha çabuk adapte olmalarında diğer bir avantajı oluşturacaktır. Ayrıca, canlı hayvan nakli ile enfeksiyöz hastalıklar bölgeden bölgeye, ülkeden ülkeye taşınırken; embriyo ithalatı ile bu durum önemli oranda elimine edilebilecektir. Uygun prosedürler izlenirse, enfeksiyöz hastalığın embriyo transferi yoluyla nakli riski, doğal çiftleşme veya suni tohumlama ile karşılaştırıldığında daha düşüktür. Ancak, en ufak ayrıntılardaki dikkatsizlik, bu avantajı büyük ölçüde azaltabilmektedir (Seidel, 1991).

- Embriyolar dondurma yöntemleriyle süresiz olarak saklanabilir, böylece yüksek genetik özelliklere sahip veya nesli tükenme tehdidi altında olan tür ve ırkların embriyoları gelecekte kullanılmak amacıyla gen bankalarında depolanabilirler. Ayrıca bu teknoloji canlı hayvan ithalat/ihracatından daha ucuz olarak değerlendirilebilir (Muchunguh, 2015).

Dezavantajları ;

- Bu teknoloji, eğitilmiş teknik personel ve üst düzey bir yönetim gerektirir. Özellikle uterusun yıkanması ve östrusun alıcıda gözlenmesi ile ilgili teknik bilgiye ihtiyaç

vardır. Östrusun saptanması ve alıcının donörle senkronizasyonunda zor bir adımdır (Muchunguh, 2015).

- Hastalık ya da yaralanma nedeniyle donör inek veya düvede oluşabilen üreme kanalı problemleri uterus yıkamasını engelleyebilir (Karin, 2013).

- Embriyo transferi maliyetleri, çeşitli faktörlere bağlı olarak ülkeler arasında büyük farklılık göstermektedir. Bununla birlikte konuyla ilgili iki genelleme yapılabilir. Bunlardan ilki, nasıl yapıldığına bakılmaksızın embriyo transferi programlarının nisbeten pahalı olduğudur. Mevcut embriyo transfer servislerinin veya teknolojinin maliyetleri oldukça düşük olabilir; fakat, taşıyıcı olarak temin edilebilmesi için normal, sağlıklı ineklerin veya düvelerin üretime alınmamasından dolayı, üretilen ortalama buzağı sayısı için gereken işgücü ve yem maliyeti yüksektir. İkinci bir genelleme ise, sperma başına maliyetlerin embriyo transferinden gebe kalma oranları yüksek olduğunda en düşük olmasıdır, çünkü maliyetler daha fazla buzağı üzerine yapılmıştır (Seidel, 1991).

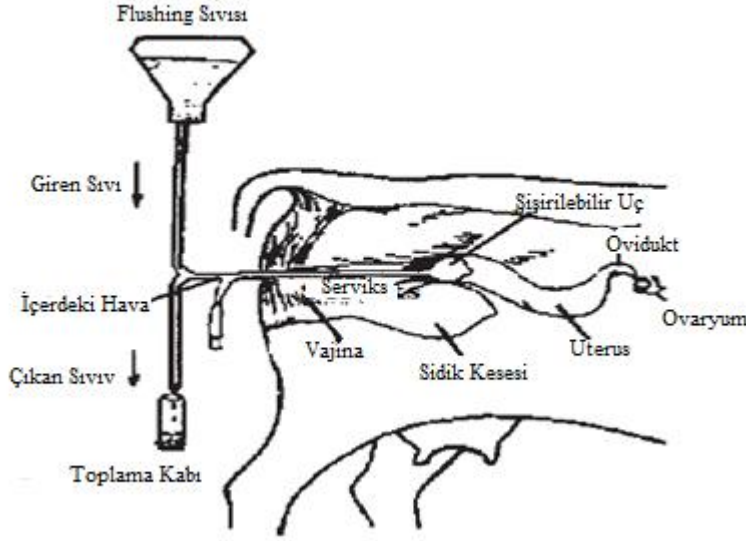
Yukarıda sayılan maddelere ek olarak tüm avantaj ve dezavantajlar Tablo 2 de sıralanarak gösterilmiştir.

Tablo 2. Embriyo Transfer Uygulamasının Avantaj ve Dezavantajları (Kanagawa ve ark., 1995)

Avantajları	Dezavantajları
Çoklu doğumların ve ikizlerin (uygulanabilir) sayısının artırılması	İleri ve karmaşık teknoloji gerektirmesi
Sürüdeki genetik kapasitenin geliştirilmesi	Birçok alanda araştırma gerektirmesi
İrk ıslahı için gereken sürelerin kısaltılması	Pahalı olması
Seçili boğa ve ineğe ait yavruların üretilmesi ve çoğaltılması	Hormonların zıt etki göstermesi (antikorların gelişimi)
Üstün genetik özelliklere sahip hatların korunması (dondurma yöntemiyle embriyo saklanması)	Uterutaki manipulasyonların yaralanmalarla sonuçlanabilmesi (yara, yapışma ve abetezi nedeniyle ölüm gibi)
Nadir hayvanlar ve soyu tehlikede olan hayvanların çoğaltılması	Zor doğum tehlikesi (büyük cüsseli embriyoların küçük cüsseli ineklere transferi)
Daha az taşıma ücreti (hayvan taşımak yerine embriyo taşımak)	Soy hattının yanlış kayıtlarla çarpıtılması
İnfertilite ve düşük fertilitte çalışmalarına katkı sağlanması	Kasıtlı suistimalin mümkün olması
Hayvancılıkta uluslararası işbirliği (embriyoların uluslararası ticareti)	Karmaşık kayıt yapılması (Kan muayenesi)

Sığılarda in vivo embriyo transferi uygulamasının aşamaları

- Verici (donör) ve alıcı (taşıyıcı) hayvanların seçimi
- Taşıyıcı ve donör ineklerde östrus (kızgınlık) senkronizasyonu
- Donör ineklere süperovulasyon protokolü uygulanması ve kızgınlık gösteren donör ineklerin tohumlanarak ovule olmuş oositlerin fertilizasyonunun sağlanması
- Tohumlamadan sonraki 7. günde uterus yıkaması yapılarak, embriyoların toplanması (Şekil 4)



Şekil 4. Uterus Yıkama ve Embriyo Toplama Prosedürünün Diyagramı (Selk, 2006)

- Elde edilen embriyoların laboratuvar (in vitro) ortamında değerlendirme aşamasından sonra, transfer edilebilir kalitede olanların, transfer işlemi için hazırlanması ya da dondurulup sonra kullanılmak üzere depolanması
- Embriyo transfer kateterine yerleştirilen embriyoların taşıyıcı hayvanların uterusuna nakli (Pabuçcuoğlu, 2013).

Embriyo transferinde hedef; sağlıklı ve genetik kapasitesi yüksek yavruların doğmasını sağlayacak üstün nitelikli hayvanlardan yüksek kaliteli oosit ve embriyo elde etmektir (Santos ve ark., 2008). Bu nedenle embriyo transferinde kullanılacak olan donör (verici) ineğin seçimi çok önemlidir. Potansiyel donör inek, maksimum sonuçlar elde edebilmek için, üreme bakımından sağlıklı olmalıdır. Bunun için rektal palpasyonla kontrol edildiğinde normal bir üreme sistemine sahip olması ve normal bir doğum sonrası süreçte bulunması ve özellikle de 18-24 gün süren östrus siklus süresine sahip olması (başka bir deyişle düzenli östrus göstermesi) gerekmektedir. Hem etçi hem de sütçü sığırlarda transfer prosedürü başlamadan önce, doğum sonrası yaklaşık 60 günün geçmiş olması tercih edilmektedir (Selk, 2006).

Donör (verici) inek seçiminde dikkat edilecek hususlar

- Genetik kapasitesi yüksek hayvanlar olmalıdır. Dikkate alınan genetik unsurların başında süt verimi, süt bileşimi, büyüme oranı, güç doğum ve hastalıklara karşı direnç gibi unsurlar büyük önem taşımaktadır (Sağırkaya, 2009; Tekeli, 2010).

- BLAD (Bovine Leucocyte Adhesion Deficiency) ve CVM (Complex Vertebral Malformation) gibi kalıtsal hastalık taşıyamamalıdır (Galli ve ark., 2003).

- Reprodüktif geçmişi iyi olan, düzenli östrus gösteren, uterus ve ovaryum muayenelerinde herhangi bir enfeksiyöz ve patolojik durumu bulunmayan hayvanlar olmalıdır (Hasler ve ark., 1987; Seidel ve ark., 2005; Selk, 2006; Tekeli, 2010).

- Döl verimini olumsuz etkileyen IBR, BVD, BSE, Löykoz, Tüberküloz, Mavidil, Leptospirozis ve Brucellozis gibi hastalıkları taşıyamamalıdır (Kanagawa ve ark., 1995; Mapletoft, 2013).

- Fertilizasyon oranındaki azalmadan dolayı çok yaşlı hayvanlar kullanılmamalıdır (Kaymaz, 2012).

Taşıyıcıların seçilmesi

Uygun taşıyıcı sürü yönetiminde embriyo transferinin başarısı için kritik öneme sahiptir. Reprodüktif olarak sağlıklı olan, buzağılama kolaylığına sahip, iyi süt veren ve annelik kabiliyetleri iyi olan inekler taşıyıcı olmak için uygundur. Uygun bir beslenme düzenine sahip olmalıdırlar. ‘Kaç tane taşıyıcı gereklidir?’ yanıtlanması güç olan bir sorudur. Bir yılda tek bir donör inekten elde edilecek embriyo transferi buzağı sayısı için gerekli ortalama bir donör sayısı belirlemek zordur. Koşullara göre sayı değişkenlik gösterir. Bir verici inekten 12 aylık bir süreçte 90 günde bir uterus yıkaması yapıp, yıkama başına 5 gebelik elde edilirse, yılda ortalama 20 gebelik elde edilebilir. Bazı ineklerden embriyo transferi ile yılda 50 gebelik elde edilebilir ve eğer ekonomik olarak uygunsa daha fazlasının da yapılması mümkündür. Transferi takiben taşıyıcı inekte embriyo yaşama oranını en üst düzeye çıkarmak için, taşıyıcı reprodüktif kanalı şartları embriyo elde edilen donörün kanalı ile yakın benzerlik göstermelidir. Bunun için uterus yıkama gününde

yıkama yapılacak donör ve elde edilen embriyoların transfer edileceği taşıyıcıların östrus sonrası aynı günde olacak şekilde senkronize edilmesi büyük önem taşımaktadır. Taşıyıcıların senkronizasyonu donörlerin senkronizasyonu ile aynı zamanda ve yöntemle yapılmalıdır. Prostaglandin enjeksiyonları donör ve taşıyıcılara aynı günde yapılmalıdır. Bu durum donör ile taşıyıcıların östrusun aynı safhasında olma ihtimalini artırır. Senkronizasyon için kullanılan hormonlar sadece siklik olan taşıyıcı ineklerde etkilidir. Anöstrusta bulunan veya siklik olmayan ve çok kısa postpartum günleri olan ineklerin taşıyıcı olarak kullanılması uygun değildir (Selk, 2006).

Mükemmel embriyolar transfer edilse dahi taşıyıcı inekteki gebelik oranları oldukça değişken olabilmektedir. McMillan (1998) transfer edilen embriyonun ve taşıyıcı ineğin, embriyo transferi sonrası ilk 60 günde gebeliğin devamına etki/katkılarının ayrı ayrı ortaya konduğu bir model önermiştir. Bu model göstermiştir ki, alınan değişken sonuçların ardında yatan neden, embriyonun yaşayıp gelişebilme yeteneğinden çok alıcının gebeliği devam ettirebilmekteki yeteneğinin çok değişken olmasıdır. Diğer taraftan, gebeliğin 60. gününden sonra alıcının fötal kayıp üzerine neredeyse hiçbir etkisi olmaması son derece ilginçtir. McMillan tarafından sunulan bu model, sürüde gebe kalma ihtimali yüksek oranda olan alıcılar olabileceğini göstermektedir. Bu durumdan ötürü pratikte birçok hekim tarafından sürüdeki genetik iyileştirmenin sağlanabilmesi amacıyla bu tür inekler seçilmeye çalışılmaktadır (McMillan, 1998; Ptaszynska, 2009).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. İşletme ve Hayvanların Seçilmesi

Bu çalışmada Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsünde bulunan laktasyondaki donör olarak seçilen ineklerden elde edilen embriyolar yine bu işletmede yetiştirilen döl tutmayan ve doğum sonrası hiçbir uygulama yapılmamış kontrol grubu ineklere transfer edilmiştir. Anılan işletmedeki inekler Holstein ırkı inekler olup, yaşları 3-8 arasında değişmektedir. Çalışmada anılan işletmeden rastgele seçilmiş 87 baş inek kullanılmıştır. Döl tutmayan inekler (n=45); en az bir doğum yapmış, seksüel siklusları düzenli olan, genital organlarında klinik bir bozukluk bulunmayan ve anormal bir akıntı göstermeyen, ancak üç defa veya daha fazla sayıda suni tohumlama yapıldığı halde gebe kalmayan inekler olarak tanımlanmıştır. Kontrol grubunu oluşturacak inekler (n=42) ise, doğum sonrası hiç suni tohumlama işlemine tabi tutulmayan hayvanlardan oluşturulmuştur. Çalışmada kullanılacak hayvanlar belirlenirken genital organlar rektal muayene ve transrektal ultrasonografi (Ultrasonic scanner, HS-101V, Honda, JAPAN) yardımıyla patolojik bir durum olup olmadığına bakılmıştır.

İşletmede inekler açık ahırlarda barındırılmakta olup, Akdeniz ikliminin önemli etkisi olan sıcaklık stresini minimum düzeye indirmek için serinletme sistemi olarak su püskürtmesi ile birlikte fanlar kullanılmaktadır. Hayvanların rasyonlarında kaba yem olarak buğday samanı, yonca, mısır silajı ve fiğ; kesif yem olarak işletme de üretilen %18 proteinli kesif yem kullanılmıştır. Su adlibitum olarak otomatik suluklarla sağlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Denemenin Kurulması

Çalışmada döl tutmayan inekler ve doğum sonrası hiç bir işlem yapılmamış taze inekler olmak üzere iki grup hayvan kullanılmıştır. Döl tutmayan 45 inekten oluşan grup deneme grubu olarak adlandırılmıştır. Doğum sonrası hiçbir işlem görmemiş ineklerden oluşturulan kontrol grubu ise 42 inekten oluşturulmuştur.

Donörlerde jinekolojik muayeneler rektal palpasyon ve transrektal ultrasonografi (Ultrasonic Convex Scanner, HS 2000, Honda, Japan) yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Süperovulasyon protokolü için GnRH (Receptal, MSD Animal Health, Almanya), PGF_{2α} (Lutelen, Topkim, Türkiye), FSH (Folltropin-V, Bioniche Animal Health Europe Ltd., İrlanda) hormonları ile doğal progesteron hormonu (P4) salan intravajinal gereç (PRID) (PRID-Delta, Ceva, Türkiye) kullanılmıştır. Uterus yıkaması (Flushing) uygulamasında fetal buzağı serumu (FCS, Sigma, Almanya) ve kanamisin (Kanovet, Vetaş, Türkiye) ihtiva eden laktatlı ringer (Polifleks®, 1000 cc, Polifarma, Türkiye) solüsyonu kullanılmıştır. Uterusun flushing sonrası kontaminasyonunu engellemek içinse, uterus içi antibiyotik (Metricure®, MSD hayvan sağlığı, Türkiye) uygulanmıştır.

Deneme ve kontrol grubunu oluşturan hayvanlarda jinekolojik muayene için rektal muayene eldiveni ve antiseptik gibi malzemelerden yararlanılmıştır. Bu hayvanlarda kızgınlıkları uyarmak için PGF_{2α} kullanılmış, uygulamayı izleyen günlerde kızgınlık takibi yapılmış ve kızgınlık belirtileri gösteren hayvanlar kaydedilmiştir. Embriyo transferi aşamasında ise, yine ovaryum muayenesi yapılarak uygun olan hayvanlara embriyo nakli gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. Süperovulasyon Protokolü ve Embriyoların Değerlendirilmesi

Süperovulasyon programları öncesinde foliküler gelişimin senkronizasyonu amacıyla en çok tercih edilen yöntem olan kontrollü hormon (progesteron) salınımı yapan intravajinal gereç (PRID) uygulanmıştır.

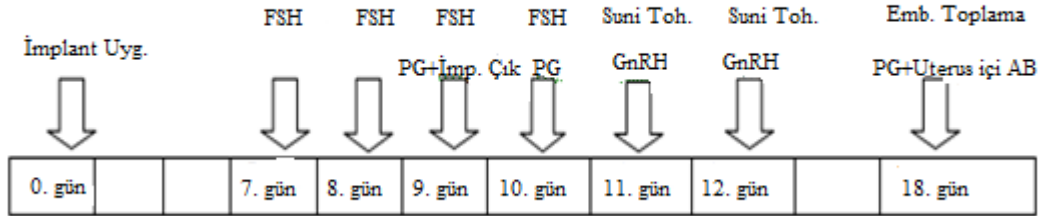
Bu uygulamayı takiben 7 gün sonra FSH enjeksiyonlarına başlanmış, 4 gün süreyle, 12 saat ara ile günde ikişer kez olmak üzere, toplam 8 defa, azalan dozlarda FSH intramüsküler (i.m.) olarak uygulanmıştır. Enjeksiyonlar FSH dozları sırasıyla 4 cc, 4cc, 3 cc, 3 cc, 2 cc, 1,5 cc, 1,5 cc ve 1 cc olacak şekilde yapılmıştır.

FSH uygulamasının 3. günü akşamı ve 4. günü sabahı var olan korpus luteumun, regresyonu ve ovulasyonun sağlanması amacıyla iki kez 2 cc PGF_{2α} enjeksiyonu yapılmıştır.

FSH uygulamalarının 3. günü akşam PRID'ler çıkarılmıştır.

Son FSH uygulamasını takip eden 12., 24. ve 48. saatlerde hayvanlar 3 kez tohumlanmış ve 2 ile 3. tohumlamayla beraber 2,5 cc i.m. GnRH enjeksiyonu yapılmıştır.

Donör ineklere uygulanan süperovulasyon protokolü Şekil 5 ve Tablo 3'te ayrıntılı bir şekilde gösterilmiştir.

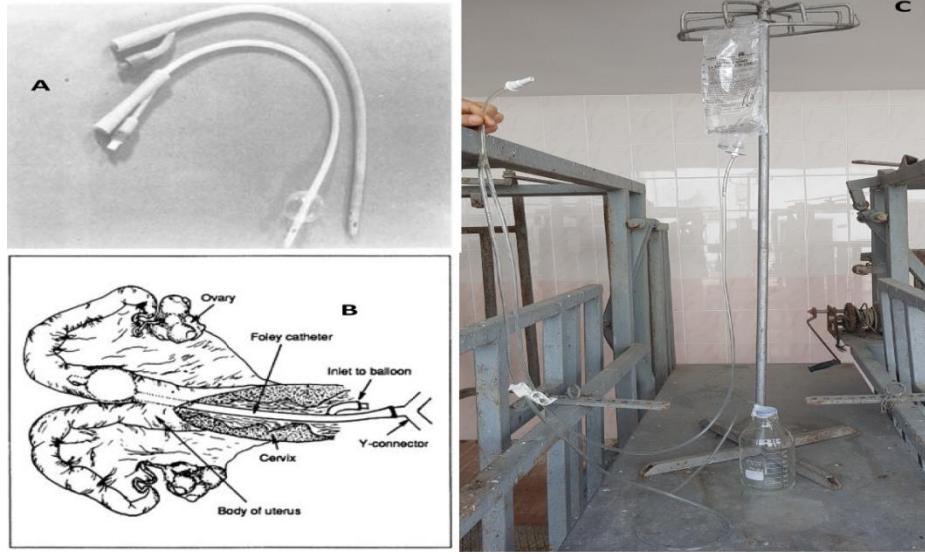


Şekil 5. Donörlere Uygulanan Süperovulasyon Protokolü (Bó ve ark., 2002)

Tablo 3. Donörlere Uygulanan Süperovulasyon Protokolü (Bó ve ark., 2002)

0.gün	1.55 g progesteron (PRID) uygulaması
7.gün	Sabah Akşam 4cc FSH
8.gün	Sabah Akşam 3cc FSH
9.gün	Sabah 2cc FSH+2cc PGF _{2α} , Akşam 1,5 cc FSH+ İmplantı (PRID) uzaklaştırma
10.gün	Sabah 1,5cc FSH +2cc PGF _{2α} , Akşam 1 cc FSH
11.gün	Sabah Kızgınlık takibi ve suni tohumlama – 12 saat arayla 2. tohumlama+ GnRH
12.gün	3. tohumlama+GnRH
18.gün	Uterus yıkaması (flushing) yapılmıştır.

İlk tohumlamayı takip eden 7. günde uterus yıkaması (Flushing) yapılmıştır. Cerrahi olmayan metotla her bir kornu için 300-500 ml solüsyon kullanılacak şekilde kornular ayrı ayrı yıkanmıştır. Yıkama amacıyla 37°C sıcaklıkta ve kanamisin ve FCS içeren laktatlı ringer solüsyonu, ucu şişirilebilir 2 yollu silikon foley kateter (30cc, Bioniche, Kanada), Y bağlantılı hortum ve sıvının toplanması için içi boş 1000 ml'lik şişe kullanılmıştır. Yıkama işlemi sırasında foley kateteri, uterusun bifurkasyon noktasından yaklaşık olarak 5 cm ilerisine içine yerleştirilen demir stile (E24A, Agtech, ABD) vasıtası ile ilerletilmiş ve kateterin balonu 15-20 ml hava ile şişirilerek kateterin sabitlenmesi sağlanmıştır. Daha sonra bir ucu yıkama solüsyonunda diğer ucu ise embriyo toplama şişesinde bulunan Y hortum vasıtasıyla uterusun yıkanması işlemine başlanmıştır. Uterus yıkamasında kullanılan malzemeler Şekil 5'te gösterilmiştir. Yıkama solüsyonu ilk uygulamada küçük hacimler (50-70 ml) şeklinde uterusa verilmiştir. Arkasından sıvı akışının kendiliğinden olması beklenmiştir. Uterus kornusuna dolan sıvıyı boşaltmak amacıyla öncelikle uterus pelvis çatısı üzerine çekilerek uygun boşalma pozisyonuna getirilmiş, sonra klips açılıp, kornulara masaj yapılarak sıvının kolaylıkla boşaltılması sağlanmıştır. Her bir kornu uteri 300-500 ml hazırlanan solüsyonla yıkanarak toplam 800-1000 ml sıvı steril şişede toplanmıştır. Uterus yıkama işlemi için hazırlanan donör inekler ve uterus içine yerleştirilmiş foley kateteri Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. Uterus Yıkama İşlemi İçin Kullanılan Malzemeler (Seidel, G.E. et al, 1991) A. Foley Katateri B.Uterus içerisine yerleştirilmiş ve balonu şişirilmiş Foley Katateri C. Bir Ucunda Yıkama Sıvısı, Diğer Ucunda Embriyo Toplama Şişesi Bulunan Y Bağlantı Hortumu

Uterus yıkama işlemi tamamlandıktan sonra, korpus luteumların lize edilmesi için 2 cc i.m. PGF_{2α} enjeksiyonu yapılmış ve uterus enfeksiyonlarının önlenmesi için de 500 mg benzatin sefapirin intrauterin olarak uygulanmıştır.

Steril şişede toplanan sıvı, filtrasyon amacıyla 70 µm genişliğinde gözenekleri olan filtreler (EMCON filtre) (Agtech Zona Filter, Radiated, CAT. #D03, ABD) kullanılarak filtre edilmiştir. Filtreler holding solüsyonu (TCM-199(M7528, Sigma, Almanya) + 200 mM dozunda L-glutamin (G5763, Sigma, Almanya) + 10 mg/ml dozunda gentamisin (G1264, Sigma, Almanya) + %20 FCS) ile yıkanarak filtre içindeki sıvı 3 adet petri kabı (Agtech Square Search Dish, VWR, CAT#D09A, ABD) içerisine alınmıştır. Petri kaplarında ısıtmalı stereo mikroskoplar (Leica, S8APO, Japonya) kullanılarak embriyo taramaları yapılmıştır. Bulunan embriyolar kültür solüsyonuna (holding solüsyonu ile aynı) aktararak 38,5°C, %5 CO₂ ve yüksek rutubetli ortamı sağlayan inkübatörde (Binder, ABD) bekletilmiştir. Embriyolar kalite ve gelişim safhalarına göre sınıflandırılmıştır. Şekil 7’de Flushing işlemi için hazırlanmış ve flushing yapılan inekler gösterilmiştir.



Şekil 7. Flushing İşlemi İçin Hazırlanmış ve Flushing Yapılan İnekler

Bulunan embriyoların kalitelerine ve gelişim safhalarına göre sınıflandırılması Kaymaz (2012), Silva ve ark. (2009) ile Kanagawa ve ark. (1995)'nın değerlendirme kriterleri dikkate alınarak aşağıda belirtildiği şekilde yapılmıştır.

A. Kalitelerine göre

1. Transfer edilebilir embriyolar

a- Mükemmel kalite embriyolar (1. Kalite): Normal gelişim gösteren, dejenerasyon bölgesi bulunmayan veya %10'un altında olan ya da birkaç vezikül içeren, zonası sağlam, homojen dağılımlı, küresel embriyolar.

b- İyikalite embriyolar (2. Kalite): Mükemmel kalite embriyo vasıflarından biraz sapma gösteren, vezikül sayısı artmış, dejenere bölgeleri %10-30 arasında olan embriyolar.

2. Transfer için uygun olmayan embriyolar

a- Zayıf kalite embriyolar (Vasat Embriyo): %30-50 arasında dejenerasyon bölgesi olan, blastomer kopmaları ve homojen olmayan hücre yığınları bulunan embriyolar

b- Dejenere embriyolar: Dejenere bölgeleri % 50 den fazla olan embriyolar.

c- Oosit: Döllenenmemiş ovum. Embriyo kalite değerlendirilmesi esnasında kullanım dışı bırakılmıştır (Kaymaz 2012, Silva ve ark., 2009).

B. Gelişim safhalarına göre

a-Morula: Hücre sayısının 16'nın üzerine çıkmasıyla embriyo morula adını alır. Hücre topu (dut) şeklinde bir görünüm göze çarpar. Tek tek hücreleri ayırt etmek güçtür. Perivitellin boşluk geniş değildir.

b-Kompakt Morula: Hücreler tamamen birleşmiş ve kompleks yığın halini almıştır. Perivitellin boşluk genişlemiştir.

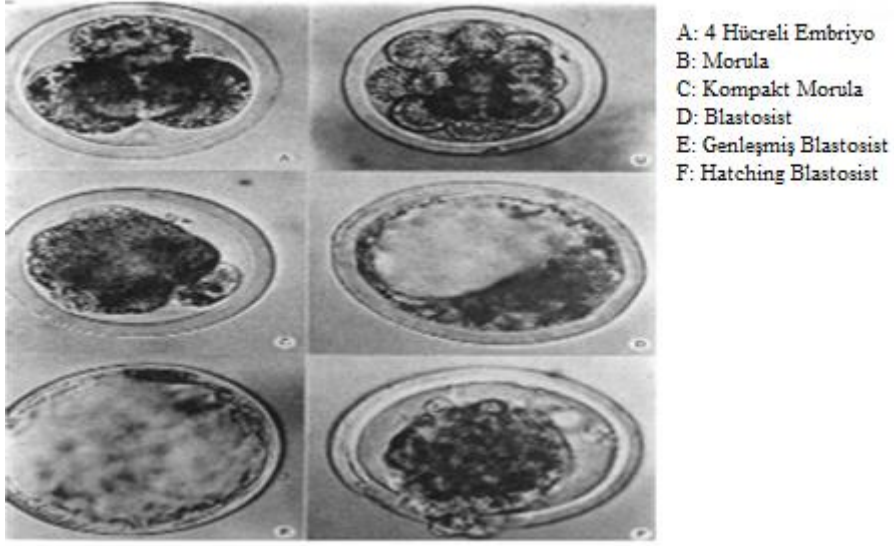
c- Erken Blastosist: Kompakt morula safhasından sonra, embriyonun içerisine alınmaya başlanan sıvı ile dolu blastosöl denilen kavitenin oluşmaya başladığı safhadır. Perivitellin boşluk biraz daha genişlemiştir.

d- Blastosist: Dış kısmında embriyoyu çepeçevre saran trofoblastik hücreler ve embriyonun bir kutbunda daha koyu görünümlü Inner-cell mass oluşumuyla karakterize safhadır. Perivitellin boşluk tamamen dolmuş durumdadır.

e- Genleşmiş (Expanded) Blastosist: Embriyonun çapı blastosöl boşluğundaki sıvı hacminin artmasına bağlı olarak genişlemiştir. Zona pellusida incelmıştır.

f- Zona Serbest (Hatched) Blastosist: Embriyo zona pellusidadan tamamen ayrılmış olabilir. Zonasından çıkmış embriyoda blastosöl çöküntüler bariz olarak tespit edilebilir (Kanagawa ve ark. 1995).

Gelişim safhalarına göre embriyoların sınıflandırılması Şekil 8'de gösterilmiştir.



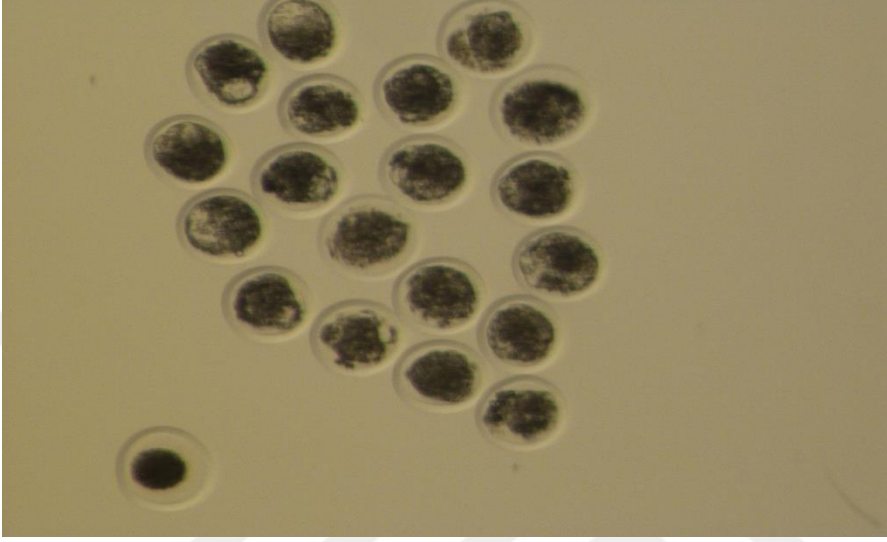
Şekil 8. Embriyo Safhaları (Selk, 2006)

Çalışmada elde edilen embriyoların mikroskop altında aranması, değerlendirilmesi ve payete çekilmesi Şekil 9’da gösterilmiştir.

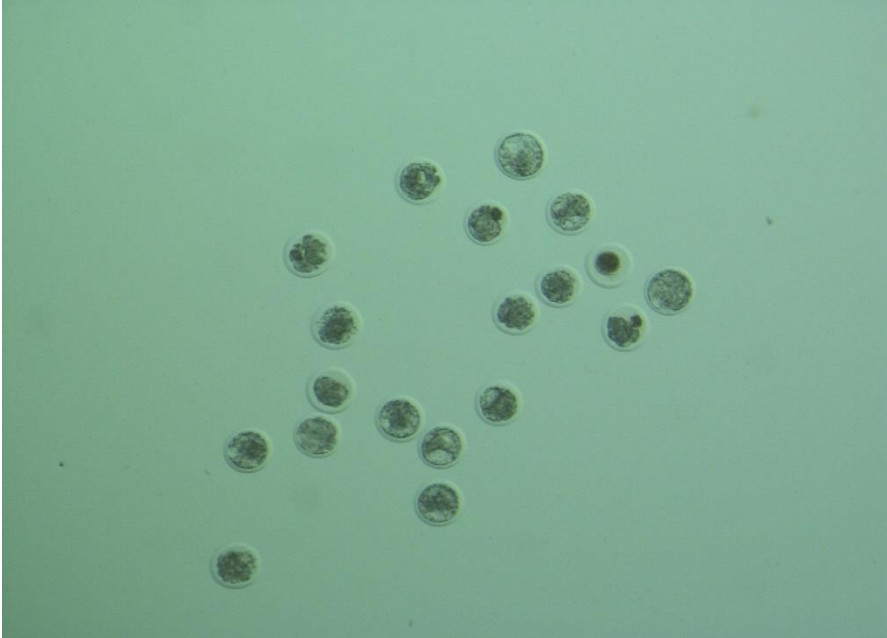


Şekil 9. Embriyoların Aranması, Değerlendirilmesi ve Transfer İçin Payete Çekilmesi

Süperovulasyona alınan her hayvanın korpus luteum (CL) sayısı, yoğunluğu, boşluklu olup olmadığı ve çapı yıkama işlemine başlamadan önce ultrason yardımı ile belirlenmiştir. Şekil 10 ve Şekil 11’de çalışma esnasında elde edilen bazı embriyolar gösterilmiştir.



Şekil 10. Çalışmada Elde Edilen Bazı Embriyolar



Şekil 11. Çalışmadan Elde Edilen Bazı Embriyolar

3.2.3. Taşıyıcı İneklerin Hazırlanması ve Seçilmesi

Deneme grubu olarak seçilen döl tutmayan inekler; düzenli seksüel siklus gösterip, genital organlarında klinik yöntemlerle herhangi bir bozukluk saptanmadığı halde, en az 3 kez tohumlanmalarına rağmen, gebe kalmayan ineklerden seçilmişlerdir. Kontrol grubundaki hayvanlar ise doğum yaptıktan sonra, en az 90 günü geçmiş, düzenli seksüel siklus gösterip, genital organlarında klinik yöntemlerle herhangi bir bozukluk saptanmayan ve hiçbir suni tohumlama uygulaması yapılmamış inekler arasından seçilmişlerdir.

Taşıyıcı hayvanlara, östrusun 7. günü embriyo transfer işlemi gerçekleştirmek amacıyla, östrus senkronizasyonu yöntemlerinden biri olan çift doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu uygulanmıştır. Bunun için uterus yıkama gününden 24 gün önce ilk $PGF_{2\alpha}$ uygulaması yapılmıştır. 14 gün sonra ikinci $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu uygulanmış ve 48 ile 96. saatler arasında ineklerde kızgınlık takibi yapılmıştır. Östrus belirtileri gösteren hayvanlar kayıt altına alınıp taşıyıcı aday olarak belirlenmiştir (Şekil 12). Her iki grupta aday ineklere ultrason muayenesi yapılarak uterus ve ovaryum yapıları değerlendirildikten sonra, çalışma için taşıyıcı inek olarak seçilmişlerdir. Transferler, transfer günü uygun korpus luteuma sahip olan ve hiçbir patolojik belirti göstermeyen ineklere yapılmıştır.



Şekil 12. Taşıyıcılara Uygulanan Östrus Senkronizasyon Protokolü

3.2.4. Embriyoların Transferi

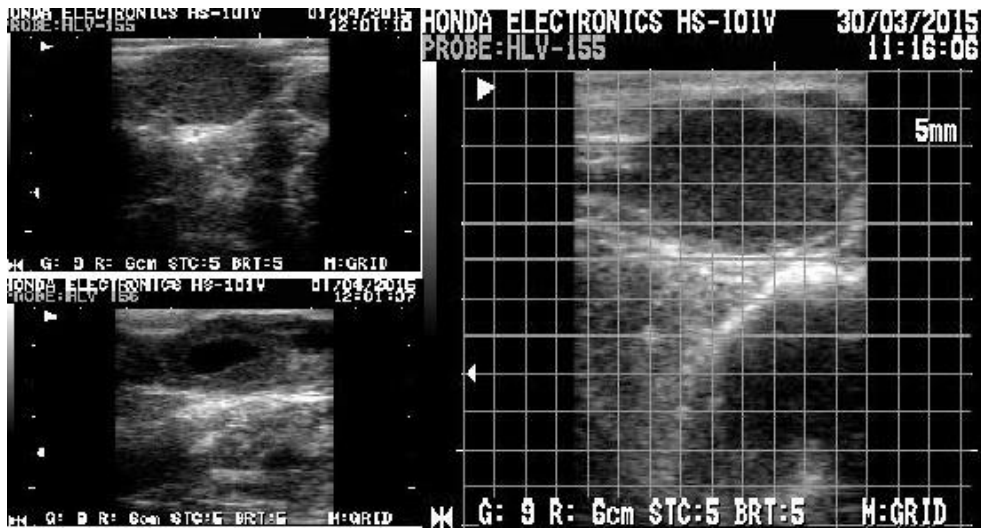
Taşıyıcı olarak kullanılacak deneme ve kontrol grubundaki hayvanların 6-8 gün önce östrus göstermiş olması gerekmektedir. Bu amaçla çalışmaya alınabilecek ineklere 14 gün ara ile iki kez $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılmış ve bu inekler takibe alınarak östrus belirtileri gösterenler tespit edilerek kayıt altına alınmıştır. Tespit edilen bu ineklerdeki kaliteli CL varlığı transfer günü ultrason muayenesi ile tespit

edilmiş; kaliteli ve uygun CL saptanan taşıyıcılara transfer işlemi uygulanmıştır. Transfer için kullanılan malzemeler Şekil 13'te gösterilmiştir.



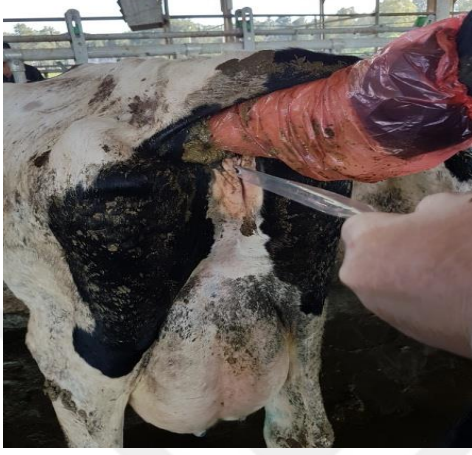
Şekil 13. Embriyo Transferi İçin Kullanılan Malzemeler

Ovaryum muayenelerinde CL'ler çap, kalite, antrum varlığı ve hangi tarafta bulunduğu yönünden değerlendirilmiş; ayrıca follikül varlığı ve büyüklüğü kaydedilmiştir. Transferler CL tespit edilen taraftaki kornu uteriye (sağ ya da sol) yapılmıştır. CL'ler kalite bakımından '++++' lük skala üzerinden değerlendirilmiş ve büyüklük olarak mm cinsinden hesaplanmışlardır. Transferler '++' (15-20 mm), '+++'' (20-25 mm) ve '++++' (>25 mm) olarak kabul edilen korpus luteum bulunduran hayvanlara yapılmıştır (Şekil 14).



Şekil 14. Taşıyıcılarda Tespit Edilen Farklı Büyüklükteki Korpus Luteumlar

Donör ineklerden elde edilen 7-8 günlük yaştaki embriyolar CL'un ultrason ile tespit edildiği sağ ya da soldaki kornu uteriye, embriyo transfer katateri vasıtası ile nakledilmiştir (Şekil 15). Taşıyıcı hayvanlardaki gebelik muayaneleri transfer işleminden 28 gün (östrus sonrası 35. gün) sonra ultrason ile yapılmıştır.



Şekil 15. Embriyonun Taşıyıcı İneğe Transfer İşlemi

3.2.5. Kan-Progesteron Seviyelerinin Saptanması

Kan progesteron düzeyinin belirlenmesi için kızgınlığı tespit edilen taşıyıcı ineklerden östrus siklusunun 7. gününde kan örnekleri alınmıştır. Bu amaçla rastgele kontrol grubundan 13 ve deneme grubundan 10 hayvan olmak üzere toplam 23 baş taşıyıcı inekten kan alınmıştır. Kanlar vena coccygenadan embriyo transfer işlemi gerçekleştirildikten hemen sonra, kırmızı kapaklı boş tüplere (9 ml, Aysel, Türkiye) vaküetynır ve ucuna takılan kanüller vasıtası ile alınmıştır. Tüpler kan serumunun ayrılması için 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ayrılan serumlar 2 ml'lik tüplere alınarak -20°C'lik derin dondurucuya konulmuştur. Embriyo transfer laboratuvarında -20°C'de muhafaza edilen serum örnekleri çözündürüldükten sonra, progesteron ölçümleri için Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (ÇÜTF) Merkez Laboratuvarına getirilmiş ve kan progesteron düzeylerine, DXI800 hormon analiz cihazı (Beckman Coulter, ABD) ve Beckman Coulter progesteron kiti kullanılarak Chemmilunesons yöntemiyle bakılmıştır.

3.2.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizi için SPSS (Version 23) paket programı kullanılmıştır. Grupların gebelik durumu istatistiki olarak Ki-Kare testi kullanılarak; gebelik-korpus luteum arasındaki ilişki, embriyo safhası ve kalitesinin gebelik üzerine etkisi Mann Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Gebelik-serum progesteron arasındaki ilişki ise T-test kullanılarak yapılmış ve gruplar arası değerlendirmede Pair Simple Test kullanılmıştır.



4. BULGULAR

4.1. Gebelik Bulguları

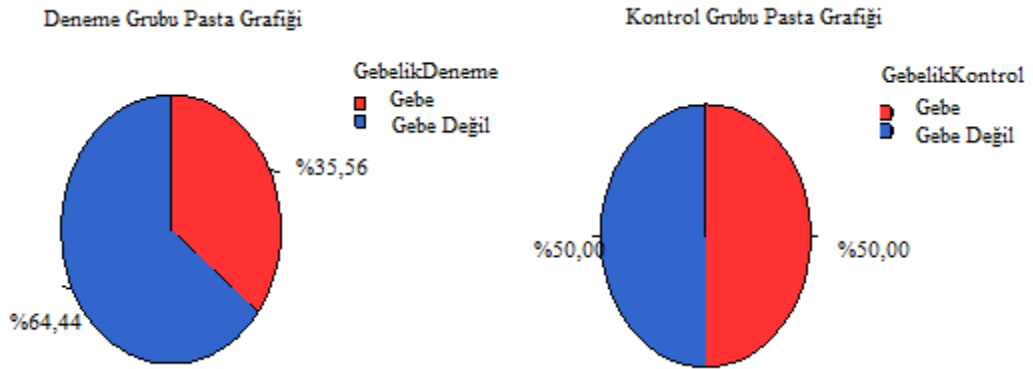
Deneme grubunda transfer yapılan toplam 45 taşıyıcı döl tutmayan inekten 16'sı gebe kalmıştır. Kontrol grubunda ise 42 taşıyıcı ineğe yapılan transfer işleminin 21'i gebelikle sonuçlanmıştır. Yapılan istatistiksel analiz sonucu deneme ve kontrol gruplarında gebelik oranları sırasıyla %35,6 ve %50 olarak bulunmuştur. Her iki grubun istatistiksel karşılaştırılmasında gebe kalma oranları arasında önemli bir istatistiki bir fark olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Gruplardaki her bir taşıyıcı ineğin gebelik durumları Tablo 4 ve Tablo 5'de detaylı gösterilmektedir. Ayrıca, gruplar arasındaki gebe kalma oranları Şekil 16'da gösterilmiştir.

Tablo 4. Deneme Grubu Gebelik Sonuçları

Hayvan No	Gebelik Durumu	Hayvan No	Gebelik Durumu
D1	Gebe Değil	D24	Gebe Değil
D2	Gebe Değil	D25	Gebe Değil
D3	Gebe Değil	D26	Gebe Değil
D4	Gebe Değil	D27	Gebe Değil
D5	Gebe Değil	D28	Gebe Değil
D6	Gebe	D29	Gebe Değil
D7	Gebe	D30	Gebe Değil
D8	Gebe Değil	D31	Gebe
D9	Gebe	D32	Gebe
D10	Gebe Değil	D33	Gebe Değil
D11	Gebe Değil	D34	Gebe
D12	Gebe Değil	D35	Gebe Değil
D13	Gebe	D36	Gebe
D14	Gebe Değil	D37	Gebe Değil
D15	Gebe Değil	D38	Gebe
D16	Gebe	D39	Gebe Değil
D17	Gebe	D40	Gebe Değil
D18	Gebe Değil	D41	Gebe Değil
D19	Gebe Değil	D42	Gebe Değil
D20	Gebe	D43	Gebe Değil
D21	Gebe	D44	Gebe Değil
D22	Gebe	D45	Gebe
D23	Gebe		

Tablo 5. Kontrol Grubu Gebelik Sonuçları

Hayvan No	Gebelik Durumu	Hayvan No	Gebelik Durumu
K1	Gebe	K22	Gebe
K2	Gebe Değil	K23	Gebe
K3	Gebe Değil	K24	Gebe
K4	Gebe Değil	K25	Gebe
K5	Gebe Değil	K26	Gebe
K6	Gebe Değil	K27	Gebe
K7	Gebe Değil	K28	Gebe Değil
K8	Gebe Değil	K29	Gebe Değil
K9	Gebe	K30	Gebe
K10	Gebe	K31	Gebe
K11	Gebe Değil	K32	Gebe
K12	Gebe Değil	K33	Gebe Değil
K13	Gebe	K34	Gebe Değil
K14	Gebe Değil	K35	Gebe
K15	Gebe Değil	K36	Gebe
K16	Gebe Değil	K37	Gebe
K17	Gebe Değil	K38	Gebe Değil
K18	Gebe Değil	K39	Gebe
K19	Gebe	K40	Gebe Değil
K20	Gebe	K41	Gebe
K21	Gebe	K42	Gebe Değil



Şekil 16. Deneme Grubu ve Kontrol Grubu Gebelik Oranları Grafiği

4.2. Gebelik-Korpus Luteum İlişkisi

Taşıyıcı ineklere transfer işlemi gerçekleştirilmeden önce yapılan ultrason muayenesinde, korpus luteum ölçülerine bakılmış ve ölçümde ‘++++’ şeklinde bir skala kullanılmıştır. Transferler ‘++’ (15-20 mm), ‘+++’ (20-25 mm) ve ‘++++’ (>25 mm) olarak kabul edilen korpus luteum bulunduran hayvanlara yapılmıştır.

Buna göre deneme grubunda ‘++’ korpus luteuma sahip 13 ineğe, ‘+++’ korpus luteuma sahip 28 ineğe ve ‘++++’ korpus luteuma sahip 4 ineğe transfer yapılmıştır. Bu grupta ‘++’ korpus luteuma sahip 5 inek, ‘+++’ korpus luteuma sahip 9 inek ve ‘++++’ korpus luteuma sahip 2 inek gebe kalmıştır. Gebe kalma oranları sırasıyla %38,5, %32,1 ve %50 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizde korpus luteum büyüklüğünün gebe kalma üzerine etkisi olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Deneme grubunun korpus luteum büyüklüğü ile gebe kalma arasındaki ilişki Tablo 6’da gösterilmiştir.

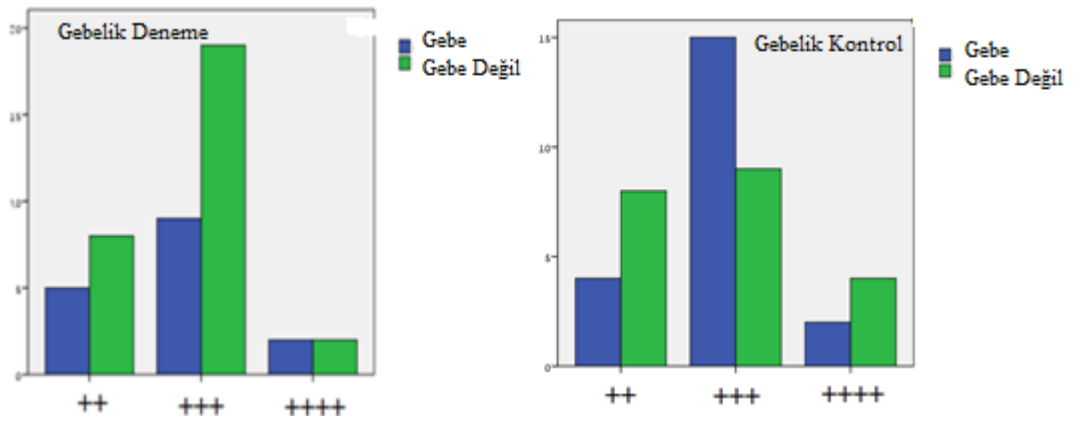
Tablo 6. Deneme Grubu Korpus Luteum-Gebelik İlişkisi

Hayvan No	CL Kalitesi	Sonuç	Hayvan No	CL Kalitesi	Sonuç
D1	+++	Gebe Değil	D24	+++	Gebe Değil
D2	+++	Gebe Değil	D25	+++	Gebe Değil
D3	+++	Gebe Değil	D26	+++	Gebe Değil
D4	++	Gebe Değil	D27	++	Gebe Değil
D5	++	Gebe Değil	D28	++	Gebe Değil
D6	++++	Gebe	D29	+++	Gebe Değil
D7	++	Gebe	D30	+++	Gebe Değil
D8	+++	Gebe Değil	D31	+++	Gebe
D9	++	Gebe	D32	+++	Gebe
D10	+++	Gebe Değil	D33	++	Gebe Değil
D11	+++	Gebe Değil	D34	++++	Gebe
D12	+++	Gebe Değil	D35	++++	Gebe Değil
D13	++	Gebe	D36	+++	Gebe
D14	+++	Gebe Değil	D37	+++	Gebe Değil
D15	++++	Gebe Değil	D38	+++	GEBE 39
D16	++	Gebe	D39	+++	Gebe Değil
D17	+++	Gebe	D40	+++	Gebe Değil
D18	++++	Gebe Değil	D41	+++	Gebe Değil
D19	++	Gebe Değil	D42	++	Gebe Değil
D20	+++	Gebe	D43	+++	Gebe Değil
D21	+++	Gebe	D44	+++	Gebe Değil
D22	+++	Gebe	D45	+++	Gebe
D23	++	Gebe			

Kontrol grubunda ise ‘++’ korpus luteumu bulunan 12, ‘+++’ korpus luteumu bulunan 24 ve ‘++++’ korpus luteumu bulunan 6 taşıyıcı belirlenmiş ve bu hayvanlara transfer yapılmıştır. Bu grupta ‘++’ korpus luteuma sahip 4 inek, ‘+++’ korpus luteuma sahip 15 inek ve ‘++++’ korpus luteuma sahip 2 inek gebe kalmıştır. Bu grupta ise, gebe kalma oranları sırasıyla %33,3, %62,5 ve % 33,3 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizde korpus luteum büyüklüğünün gebe kalma üzerinde bir etkisi olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Kontrol grubunun korpus luteum büyüklüğü ile gebe kalma arasındaki ilişkisi Tablo 7’de gösterilmiştir. Deneme ve kontrol grupları gebelik-korpus luteum ilişkisi grafik dağılımı Şekil 17’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Kontrol Grubu Korpus Luteum-Gebelik İlişkisi

Hayvan No	CL Kalitesi	Sonuç	Hayvan No	CL Kalitesi	Sonuç
K1	+++	Gebe	K22	++	Gebe
K2	++	Gebe Değil	K23	+++	Gebe
K3	++++	Gebe Değil	K24	+++	Gebe
K4	+++	Gebe Değil	K25	+++	Gebe
K5	+++	Gebe Değil	K26	+++	Gebe
K6	+++	Gebe Değil	K27	+++	Gebe
K7	+++	Gebe Değil	K28	++	Gebe Değil
K8	+++	Gebe Değil	K29	+++	Gebe Değil
K9	+++	Gebe	K30	+++	Gebe
K10	+++	Gebe	K31	+++	Gebe
K11	++++	Gebe Değil	K32	++++	Gebe
K12	++++	Gebe Değil	K33	+++	Gebe Değil
K13	+++	Gebe	K34	++++	Gebe Değil
K14	+++	Gebe Değil	K35	+++	Gebe
K15	++	Gebe Değil	K36	++++	Gebe
K16	+++	Gebe Değil	K37	+++	Gebe
K17	++	Gebe Değil	K38	++	Gebe Değil
K18	++	Gebe Değil	K39	++	Gebe
K19	++	Gebe	K40	++	Gebe Değil
K20	+++	Gebe	K41	++	Gebe
K21	+++	Gebe	K42	++	Gebe Değil



Şekil 17. Deneme ve Kontrol Grupları Gebelik-Korpus Luteum İlişkisi Grafik Dağılımı

4.3. Gebelik-Embriyo Safha ve Kalite İlişkisi

Embriyoların safhasına göre yapılan gebelik kıyaslamasında deneme grubunda transfer edilen 5 adet moruladan 1, 17 adet kompakt moruladan 6, 1 adet erken blastosistten 0, 15 adet blastosistten 6 ve 7 adet genişmiş blastosistten 3 gebelik elde edilmiştir. Gebelik oranları sırasıyla %20, %35,3, %0, %37,5 ve %42,9 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizde embriyonun gelişim safhasının gebe kalma üzerine etkisinin olmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

Embriyo safhasının yanı sıra, embriyo kalitesinin de gebe kalma üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Buna göre transfer edilebilen embriyolar mükemmel kalite, iyi kalite ve vasat olarak kategorize edilip transfer gerçekleştirilmiştir. Transfer edilen 35 adet mükemmel kalite embriyodan 15, 8 adet iyi kalite embriyodan 0 ve 2 adet vasat kalite embriyodan 1 gebelik elde edilmiştir. Gebe kalma oranları sırasıyla %42,9, %0 ve %50 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizde embriyo kalitesinin gebe kalma üzerine etkisi olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Deneme grubundaki embriyo safhasının ve embriyo kalitesinin gebelik durumu ile ilişkisi Tablo 8’de gösterilmiştir.

Tablo 8. Deneme Grubu Embriyo Kalitesi-Embriyo Safhası-Gebelik İlişkisi

Hayvan No	Embriyo Kalite	Embriyo Safha	Gebelik Durumu	Hayvan No	Embriyo Kalite	Embriyo Safha	Gebelik Durumu
D1	Mükemmel	Blastosist	Gebe Değil	D24	Mükemmel	Blastosist	Gebe Değil
D2	Mükemmel	Blastosist	Gebe Değil	D25	Mükemmel	Gen. Blast.	Gebe Değil
D3	İyi	Blastosist	Gebe Değil	D26	Mükemmel	Blastosist	Gebe Değil
D4	Vasat	Blastosist	Gebe Değil	D27	İyi	Erken Blast	Gebe Değil
D5	Mükemmel	K. Morula	Gebe Değil	D28	Mükemmel	Blastosist	Gebe Değil
D6	Mükemmel	Blastosist	Gebe	D29	Mükemmel	Morula	Gebe Değil
D7	Mükemmel	Gen. Blast.	Gebe	D30	İyi	Morula	Gebe Değil
D8	Mükemmel	Gen. Blast.	Gebe Değil	D31	Mükemmel	Morula	Gebe
D9	Mükemmel	Gen. Blast.	Gebe	D32	Mükemmel	Blastosist	Gebe
D10	İyi	K. Morula	Gebe Değil	D33	Mükemmel	K. Morula	Gebe Değil
D11	Mükemmel	K. Morula	Gebe Değil	D34	Mükemmel	K. Morula	Gebe
D12	Mükemmel	K. Morula	Gebe Değil	D35	İyi	Morula	Gebe Değil
D13	Mükemmel	K. Morula	Gebe	D36	Mükemmel	K. Morula	Gebe
D14	İyi	Morula	Gebe Değil	D37	Mükemmel	K. Morula	Gebe Değil
D15	İyi	K. Morula	Gebe Değil	D38	Mükemmel	K. Morula	Gebe
D16	Vasat	K. Morula	Gebe	D39	Mükemmel	K. Morula	Gebe Değil
D17	Mükemmel	Blastosist	Gebe	D40	İyi	K. Morula	Gebe Değil
D18	Mükemmel	Gen. Blast.	Gebe Değil	D41	Mükemmel	Gen. Blast.	Gebe Değil
D19	Mükemmel	Blastosist	Gebe Değil	D42	Mükemmel	Blastosist	Gebe Değil
D20	Mükemmel	Gen. Blast.	Gebe	D43	Mükemmel	K. Morula	Gebe Değil
D21	Mükemmel	Blastosist	Gebe	D44	Mükemmel	K. Morula	Gebe Değil
D22	Mükemmel	Blastosist	Gebe	D45	Mükemmel	K. Morula	Gebe
D23	Mükemmel	Blastosist	Gebe				

Embriyoların safhasına göre yapılan gebelik kıyaslamasında kontrol grubunda transfer edilen 9 adet kompakt moruladan 4, 3 adet erken blastosistten 0, 18 adet blastosistten 9 ve 12 adet genişmişblastosistten 8 gebelik elde edilmiştir. Gebelik oranları sırasıyla %44,4, %0, %50 ve %66,7 olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizde embriyonun safhasının gebe kalma üzerine etkisinin olmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

Kontrol grubunda da embriyo kalitesi ile gebelik durumu karşılaştırılması yapılmıştır. Buna göre transfer edilen 34 adet mükemmel kalite embriyodan 18, 7 adet iyi kalite embriyodan 3 ve 1 adet vasat kalite embriyodan 0 gebelik elde edilmiştir. Gebe kalma oranları sırasıyla %52,9, %42,9 ve %0 olarak bulunmuştur.

Yapılan istatistiksel analizde embriyo kalitesinin gebe kalma üzerine etkisi olmadığı görülmüştür ($p>0,05$).

Kontrol grubundaki embriyo safhasının ve embriyo kalitesinin gebelik durumu ile ilişkisi Tablo 9’da gösterilmiştir.

Gruplar karşılaştırıldığında her iki grubunda embriyo safhası-embriyo kalitesi-gebelik durumu arasındaki ilişkide istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir ($p>0,05$).

Tablo 9. Kontrol Grubu Embriyo Kalitesi-Embriyo Safhası-Gebelik İlişkisi

Hayvan No	Embriyo Kalite	Embriyo Safha	Gebelik Durumu	Hayvan No	Embriyo Kalite	Embriyo Safha	Gebelik Durumu
K1	Mükemmel	Blastosit	Gebe	K22	Mükemmel	K.Morula	Gebe
K2	Mükemmel	Blastosit	Gebe Değil	K23	Mükemmel	Blastosit	Gebe
K3	İyi	Blastosit	Gebe Değil	K24	Mükemmel	Blastosit	Gebe
K4	Mükemmel	Blastosit	Gebe Değil	K25	Mükemmel	Blastosit	Gebe
K5	Mükemmel	K.Morula	Gebe Değil	K26	Mükemmel	Blastosit	Gebe
K6	Mükemmel	K.Morula	Gebe Değil	K27	İyi	K.Morula	Gebe
K7	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe Değil	K28	İyi	Er. Blastosit	Gebe Değil
K8	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe Değil	K29	Mükemmel	Er.Blastosit	Gebe Değil
K9	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe	K30	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe
K10	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe	K31	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe
K11	Mükemmel	Blastosit	Gebe Değil	K32	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe
K12	Mükemmel	Blastosit	Gebe Değil	K33	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe Değil
K13	Mükemmel	Blastosit	Gebe	K34	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe Değil
K14	İyi	Blastosit	Gebe Değil	K35	Mükemmel	Blastosit	Gebe
K15	İyi	Blastosit	Gebe Değil	K36	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe
K16	Mükemmel	Er.Blastosit	Gebe Değil	K37	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe
K17	Mükemmel	K.Morula	Gebe Değil	K38	Mükemmel	K.Morula	Gebe Değil
K18	Vasat	K.Morula	Gebe Değil	K39	Mükemmel	Gen.Blastosit	Gebe
K19	İyi	K.Morula	Gebe	K40	Mükemmel	Blastosit	Gebe Değil
K20	Mükemmel	Blastosit	Gebe	K41	Mükemmel	Blastosit	Gebe
K21	İyi	K.Morula	Gebe	K42	Mükemmel	Blastosit	Gebe Değil

4.4. Kan Progesteron Sonuçları

Deneme grubundan rastgele 10 adet ve kontrol grubundan ise rastgele olarak 13 taşıyıcı inekten kan alınarak serum-progesteron düzeyine bakılmıştır. Deneme grubunda kan alınan 10 hayvandan 3'ü gebedir. Deneme grubundaki gebe hayvanların ortalama serum-progesteron düzeyi 2,73 ng/ml iken gebe olmayan taşıyıcıların ise 1,65 ng/ml olarak bulunmuştur. Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Kontrol grubunda 13 hayvandan 3'ünde gebelik tespit edilmiştir. Gebe hayvanların kan serum-progesteron değeri ortalama 1,9 ng/ml iken gebe olmayan hayvanların 2,55 ng/ml) olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiksel analizde gebe ve gebe olmayan hayvanlar arasında bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Her iki grubun kan serum-progesteron analizinin istatistiksel karşılaştırılmasında gruplar arasında bir fark görülmemiştir ($p>0,05$). Her iki grubunda progesteron gebelik ilişkisi Tablo 10 ve Tablo 11'de gösterildiği gibi bulunmuştur.

Tablo 10. Deneme Grubu Progesteron-Gebelik İlişkisi

Hayvan No	Gebelik Durumu	P4 (ng/ml)
D1	Gebe Değil	0,22
D2	Gebe Değil	1,28
D3	Gebe Değil	0,14
D4	Gebe	4,18
D5	Gebe	1,56
D6	Gebe Değil	1,5
D7	Gebe	2,46
D8	Gebe Değil	4,34
D9	Gebe Değil	1,97
D10	Gebe Değil	2,12

Tablo 11. Kontrol Grubu Progesteron-Gebelik İlişkisi

Hayvan No	Gebelik Durumu	P4 (ng/ml)
K1	Gebe Değil	3,32
K2	Gebe Değil	4,66
K3	Gebe Değil	1,35
K4	Gebe Değil	3,12
K5	Gebe Değil	1,35
K6	Gebe Değil	1,65
K7	Gebe	1,3
K8	Gebe	3,53
K9	Gebe Değil	2,35
K10	Gebe Değil	2,42
K11	Gebe	0,85
K12	Gebe Değil	1,29
K13	Gebe Değil	3,97

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Döl tutmayan ineklerle yapılan embriyo transfer çalışmaları az sayıdadır. Literatürlerdeki diğer çalışmalar donmuş-çözdürülmüş embriyolar ile yapılmışken, bu çalışmada taze transfer işlemi gerçekleştirilmiştir. Gebe kalma oranının yanı sıra, korpus luteum ile gebe kalma arasındaki ilişki, embriyo kalitesi ve safhası ile gebe kalma arasındaki ilişki ve kan progesteron değerinin taşıyıcılarda gebelik üzerine etkisine bakılmıştır.

Tanabe ve ark. (1985) normal ve döl tutmayan ineklerden oluşan iki grup içeren çalışmalarında östrus sonrası 7. günde cerrahi yolla yapılan transferler sonucu elde edilen gebe kalma oranlarını karşılaştırmışlardır. Çalışmada kullanılan hayvan materyalini 10 yaştan küçük ve üreme kanalında anatomik bozukluklar bulunmayan, kistik ovaryuma sahip olmayan ve genetik kusuru olmayan ineklerden oluşturmuştur. Kontrol grubundaki normal inekler son buzağılamadan sonra tohumlanmamış; deneme grubunu oluşturan döl tutmayan inekler ise buzağılamadan sonra altı ay içerisinde en az 4 kez (ortalama 6,2) tohumlanmasına rağmen gebe kalmayan östrus göstermiş ineklerden seçilmiştir. 23 döl tutmayan ve 28 normal inek embriyo taşıyıcı olarak seçilmiş ve intramuskuler yolla uygulan PGF_{2α} enjeksiyonu ile östrus senkronizasyonu yapılmıştır. Östrusun yedinci gününde cerrahi olmayan yolla embriyoları toplamışlar ve embriyoları taşıyıcı ineklerin korpus luteumlarının bulunduğu taraftaki kornu uterinin ön ucuna bir yan kesi yolu ile transfer etmişlerdir. 28 normal ineğin 23'ünü ve 23 döl tutmayan ineğin 16'sını gebe olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak embriyo transferi ile döl tutmayan ineklerin gebe kalmasının sağlandığı ve oldukça iyi bir sonuç alındığı ifade edilmiştir.

Son ve ark.'nın (2007) yaptığı CIDR tabanlı başka bir çalışmada en az 2 kez tohumlanmasına karşın gebe kalmamış 53 baş döl tutmayan inek taşıyıcı olarak

kullanılmıştır. Bu çalışmada embriyo transferi ve suni tohumlama uygulamalarının döl tutmayan ineklerdeki gebe kalma oranları araştırılmıştır. Taşıyıcılar 3 gruba ayrılmış, birinci gruba CIDR takılmış ve aynı anda estradiol benzoate (EB) uygulanmış; yedinci gün CIDR çıkartılmış ve PGF_{2α} enjeksiyonu yapılmış; sekizinci gün EB uygulaması ve 30 saat sonra zamanlı suni tohumlama işlemi gerçekleştirilmiştir. İkinci gruba aynı hormon tedavisi uygulanmış ve uygulamanın 16. günü blastosist ya da morula safhasındaki embriyolar transfer edilmiştir. Üçüncü grup ise, kontrol grubu olarak kabul edilmiş ve luteal fazda (östrüstan sonra 8-13. günler arası) PGF_{2α} uygulanarak suni tohumlama yapılmıştır. 60. günde yapılan gebelik muayenesinde embriyo transferi yapılan gruptan diğer gruplara göre önemli derecede yüksek gebelik oranı elde edildiğini tespit etmişlerdir. Gebe kalma oranları zamanlanmış embriyo transferi yapılan grupta %53,8 iken, zamanlanmış suni tohumlama yapılan grupta %7,7 ve kontrol grubunda %18,5 olarak bulunmuştur. Son ve ark. çalışma sonucu olarak gebe kalmayan inekler için embriyo transferi uygulamasının suni tohumlamaya göre avantajlı bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma ile sunulan bu doktora tez çalışması karşılaştırıldığında her iki çalışma için de döl tutma problemi yaşayan ineklerin gebe kalma oranları yüksek oranlarda bulunmuştur.

Dochi ve arkadaşlarının 2008'de yaptığı bir çalışmada in vitro fertilizasyon uygulaması ile elde ettikleri embriyoları dondurulduktan sonra çözündürmüş ve döl tutmayan ineklere transfer etmişlerdir. En az 3 en çok 21 tohumlama sonrası gebe kalmayan 122 düve ve 410 inekle yapılan bu çalışmada donmuş embriyolar bir gruba direk transfer edilmiş iken, diğer bir gruba da aynı östrus dönemi içerisinde suni tohumlama yapıldıktan 7 gün sonra embriyo transfer işlemi gerçekleştirilmiştir. Direk transferde gebelik oranı düvelerde %29,5 ineklerde %20,4 olarak bulunmuştur. Suni tohumlamadan 7 gün sonra embriyo transferi yapılan grupta ise gebelik oranlarını düvelerde %49,2 ineklerde ise %41,5 olarak tespit etmişlerdir. Sunulan çalışma sonuçları ile bu çalışma kıyaslandığında sunulan çalışmada ineklerde Dochi ve arkadaşlarının (2008) çalışmalarındaki direk embriyo transfer edilen gruba göre daha yüksek oranda gebelik oranı elde edilmiştir. Burdaki gebelik oranındaki farklılığın nedeni Dochi ve arkadaşlarının (2008) çalışmalarında donmuş çözündürülmüş embriyo kullanılmasından kaynaklanmış olabilir. Çünkü donmuş

embriyo transferinde gebelik oranı taze transfere göre daha düşük olmaktadır (Kızıllı ve ark., 2011; Riha ve ark., 2002).

Rodrigues ve ark., (2010) en az 3 kez suni tohumlama yapılmasına karşın, gebe kalmamış döl tutmayan ineklerde yapmış oldukları çalışmada inekleri östrus göstermesi için PGF_{2α} tedavisi uygulamışlar, östrus gösteren korpus luteumlu döl tutmayan inekler ve östrus gösteren korpus luteumsuz döl tutmayan inekler diye üç gruba ayırmışlardır. Korpus tespit edilemeyen I.grub da 150 µg d-cloprostenol (PGF_{2α}) enjeksiyonu uygulanmasını takiben 5 gün boyunca östruslar gözlemlenmiş ve kızgınlığı tespit edilen ineklere östrusun 6-8 günleri arasında embriyo transferi gerçekleştirilmiştir. 2. grup CL tespit edilen ineklerden oluşturulmuş olup, bu gruba ise 0. gün norgestomet içeren kulak implantı ile birlikte 50 mg progesteron ile 2 mg estradiol benzoate enjeksiyonu yapılmıştır. 8. gün implantlar çıkarılmış ve 400 IU eCG, 150 µg d-cloprostenol ve 1 mg estradiol cypionate enjeksiyonu uygulanmıştır. Protokolün 17. günü 2. gruptaki tüm ineklere planlanmış embriyo transferi yapılmıştır. 3. grup ise CL tespit edilmeyen ineklerden oluşturulmuş ve 2. gruba uygulanan östrus senkronizasyon protokolünün aynısı uygulanmıştır. Benzer şekilde protokolün 17. günü 3. gruptaki tüm ineklere planlanmış embriyo transferi yapılmıştır. Transfer yapılan hayvanlarda transfer sonrası 30. günde gebelik oranları sırasıyla 53,2 (42/79), 42,9 (67/156) ve 38,2 (50/131) olarak bulunmuştur. Gruplar arasında fark görülmediği bildirilmiştir. Rodrigues ve ark., (2010) yaptığı çalışma ve bu doktora tez çalışmasındaki gruplar karşılaştırıldığında benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir.

Stradaoli ve ark. (2015) 6 sütçü işletmeden seçilen, klinik olarak normal 3 ve daha fazla suni tohumlama yapılmış 44 döl tutmayan inekle bir çalışma yapmışlardır. Çalışma için söz konusu 6 sütçü işletmede tüm hayvanların ovaryum yapıları ve uterus durumları trans-rektal ultrasonografi kullanılarak muayene edilmiştir. Sadece hiçbir uterus ya da ovaryum patolojisine sahip olmayan inekler potansiyel taşıyıcı (n=39) olarak belirlenmiş ve bu inekler için östrus senkronizasyon programı uygulanmıştır. Kızgınlıkları tespit edilen 38 inek taşıyıcı olarak alınmıştır. Embriyo transferinin yapılacağı gün transrektal ultrason muayenesi ile ovaryum üzerindeki yapılar belirlenmiş, sadece normal morfolojiye sahip ve eko yapısı gösteren ve en az

10 mm çaplı korpus luteum bulunan ineklere (n=35) IETS'ye göre standart embriyo transferi tekniği ile tek bir taze ya da donmuş-çözündürülmüş embriyo verilmiştir. Gebelik teşhisi embriyo transferinden 30-40 gün sonra ultrasonografik metotla belirlenmiştir. Gebelik oranı %37,14 olarak bulunmuştur. Stradaioli ve ark. (2015) yaptığı bu çalışmanın sonuçlarının aynı araştırmacıların yapmış oldukları önceki embriyo transfer çalışmalarına göre daha düşük olduğunu belirtmişlerdir. Fakat döl tutmayan ineklerde suni tohumlama çalışmalarında gebe kalma oranlarının, embriyo transferi çalışmaları ile gebe kalma oranları karşılaştırıldığında daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Aslında, Stradaioli ve ark. (2015) çalışma için seçtikleri 6 sütçü işletmede de suni tohumlama sonrası gebelik oranlarının %20-35 arasında değiştiği bildirilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak araştırmacılar döl tutmayan ineklerde embriyo transferi uygulamasının gebelik oranını artırmada önemli bir girişim olabileceğini ifade etmişlerdir, fakat etkinliğini dikkatli bir şekilde araştırmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmiştir (Stradaioli ve ark., 2015). Stradaioli ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışma döl tutmayan ineklerde buldukları %37,14 gebelik oranı ve söz konusu doktora tez çalışmasındaki bulunan %35,6 gebelik oranı benzer olduğu görülmüştür. Fakat ilk çalışmada donmuş embriyo kullanılırken, doktora tez çalışmasında taze embriyo transferi yapılmıştır. Bununla birlikte her iki çalışmada daha ileri çalışmalar yapılması ve döl tutmayan ineklerde embriyo transferinin iyi bir tedavi alternatifi olabileceği sonucunu ortaya konmuştur.

Japon siyah etçi sığırları ile yapılan bir çalışmada (Ono ark., 2016) döl tutmayan düve ve ineklerin mevsime göre gebe kalma oranları karşılaştırılmıştır. Her iki gruptaki taşıyıcılara da taze ve donmuş embriyolar transfer edilmiştir. Taze ve donmuş embriyoların gebe kalma oranları arasında fark görülmemiştir. Gebe kalma oranları sırası ile %31,6 (18/57) ve %31,9 (86/270) olarak bulunmuştur. Döl tutmayan düvelerde gebe kalma oranı %32,9 (51/155), ineklerde ise %30,8 (53/172) olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar taşıyıcı olarak kullanılan düve ve ineklerin gebelik oranları arasında istatistiksel olarak fark bulamamışlardır. Mevsimsel olarak karşılaştırma yapıldığında ise ineklerde yaz mevsiminde gebe kalma oranları kış ve ilkbahara göre daha düşük olarak bulunmuştur. Fakat düvelerde mevsim ile gebelik oranları arasında bir ilişki bulunamamıştır. Yaz mevsimindeki tüm taşıyıcı inek ve düve gebelik oranı ilkbaharla karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur (Ono ark.,

2016). Çalışmamız ile karşılaştırıldığında birbirine yakın gebelik oranlarının elde edildiği ve sonuçların benzerlik gösterdiği görülmektedir.

Karavaşin ve ark.'nın (2016) yaptıkları “embriyo transferinin döl tutmayan ineklerde gebelik oranına etkisi” başlıklı çalışmada donör ineklerden elde edilen embriyolar vitrifikasyon yöntemi ile dondurulduktan sonra döl tutmayan taşıyıcı ineklere transfer edilmiştir. Çalışmada 32 döl tutmayan inek kullanılmıştır. Transfer işlemi taşıyıcılara östrüstan sonraki 7. günde gerçekleştirilmiştir. Transfer sonrası 60. günde rektal palpasyonla gebelik muayenesi yapılmış ve gebelik oranı %28,13 olarak bulunmuştur. Yapılan bu çalışma ile sunulan doktora tez çalışması karşılaştırıldığında sonuçlar yakın olmasına rağmen, ilk çalışmada gebelik oranının düşük olduğu görülmektedir. Karavaşin ve ark.'nın (2016) çalışmasında donmuş embriyo kullanılmış olması ve gebelik muayenelerinin 60.günde yapılmış olması gebelik oranının bizim çalışmamıza göre düşük olmasının nedenleri olarak gösterilebilir. Geç embriyonik ölümlerin gebelik oranını düşürmüş olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Aslan (1998) yaptığı çalışmada geç embriyonik-fötal ölüm oranını %14 olarak tespit etmişken, Silke ve ark. (2002) ineklerde geç embriyonik-fötal ölüm oranını % 7,2 bildirmiş, Kim ve ark. (2017) geç embriyonik ölüm oranını %6,9 olarak bulmuşlardır. Santos ve ark. (2004) 30 ile 45 günlük yaştaki embriyonik ölüm oranını günlük % 0,23 ile % 2,67 (ortalama %0,85), toplamda ise %3,2 ile %42,7 (ortalama %12,8) olarak bildirmişlerdir.

Tüm bu literatür örneklerinde görüldüğü gibi döl tutma problemi olan ve klinik olarak hiçbir patoloji göstermeyen inek ve düvelerde yapılan embriyo transferi sonucu gebe kalma oranlarının en az %30 civarında olduğu görülmektedir. Sunulan bu tez çalışmasında da döl tutmayan inek grubunda gebelik oranı %35,6 olarak bulunmuştur. Fakat döl tutmayan olarak tanımlanan bu hayvanları suni tohumlama ile gebe bırakmak oldukça zordur. Ergene (2012) yapmış olduğu çalışmada hiçbir tedavi işlemi uygulamadan suni tohumlama yaptığı döl tutmayan ineklerde gebelik oranını %20 olarak bulmuşken, Selvaraju ve ark. (2010) aynı durumdaki döl tutmayan ineklerde gebelik oranını % 18,75 olarak bildirmişlerdir. Bu durum da bize embriyo transferi ile döl tutmayan ineklerin gebe bırakılmasının bu sendromun

tedavisi için kullanışlı ve uygun bir alternatif olarak ön plana çıkabilecek bir uygulama olduğunu göstermektedir.

Rutledge'nin (2001) bildirdiğine göre doğal aşımada veya suni tohumlamada gebelik oranlarını düşüren 3 bireysel etken bulunmaktadır; boğa, inek ve embriyo. Çünkü gebelik oranı çeşitli şekillerde, genellikle ortak bir ortamda, etkileşime giren bu 3 etkene bağlıdır. Yine aynı derlemede belirtildiği üzere sıcaklık stresi 1. günde veya 1-3. günlerde embriyonun yaşama oranını ve dolayısıyla gebelik oranını düşürmektedir. Fakat 3, 5 veya 7. günlerde embriyo yaşının edindiği termal tolerans sayesinde gebelik oranı olumsuz yönde etkilenmemektedir. Bu derlemedeki bilgiler değerlendirildiğinde; embriyo transferi nedeniyle taşıyıcı için sperma kullanımı söz konusu olmadığından ve taşıyıcıya transfer edilecek embriyonun kaliteli ve belirli bir safhayı (yaşı) geçmiş olduğu göz önüne alındığında iki etmen elenerek sadece taşıyıcı inekten kaynaklanabilecek faktörler ortada kalmaktadır. Biraz daha açık bir şekilde ifade etmek gerekirse bu durumda gebe kalma oranını düşüren iki önemli dezavantajı elememize olanak sağlamakta ve ayrıca, transfer edilecek olan embriyo 7 günlük yaşta olacağı için termal tolerans edinmiş olduğundan sıcaklık stresi altında gebe kalma oranında suni tohumlamaya kıyasla yüksek sonuçlar elde edilebilmektedir. Rutledge (2001) sıcak stresin etkin olup infertiliteye neden olduğu dönemlerde dondurulup çözündürülen embriyo transferi ile yüksek gebelik oranlarının elde edilmesinin mümkün hale gelebileceğini belirtmektedir.

Korpus luteum boyutu, progesteron konsantrasyonları ve alıcılardaki gebelik oranları arasındaki ilişki halen belirsizdir ve bu konu üzerine birçok araştırma yapılmıştır (Hasler ve ark., 1980; Remsen ve ark., 1982). Dolaşımdaki progesteron konsantrasyonlarının yüksek (>6.0 ng/ml) veya düşük (<2.0 ng/ml) olmasının gebelik oranlarını etkileyip etkilemediğiyle ilgili görüş ayrılıkları bulunmaktadır. Görüntü analizine dayalı luteal fonksiyonu tahmin etme olasılığının, taşıyıcı seçiminin verimliliğini artırabileceğini ve potansiyel olarak gebelik oranlarını iyileştirebileceği ifade edilmektedir. Görüntü analizine dayalı bu teknik aynı zamanda CL özellikleri, progesteron konsantrasyonları ve gebelik oranı arasındaki ilişkiyi açıklığa kavuşturmaya yardımcı olabileceği belirtilmektedir (Siqueira ve ark., 2009).

Hasler (1980) serum progesteron düzeyi ve gebelik arasındaki ilişki belirlemek için yaptığı bir çalışmada 528 taşıyıcı düveden embriyo transferi anında (östrus sonrası 3-7. günler) ve daha sonrada östrusları izleyen 9-14. günler arasında düvelerin büyük bir kısmından kan almış ve radio-immunoassay yöntemi ile serum progesteron seviyelerini belirlemiştir. Çalışmada 45-65. günler arası gebelik muayeneleri yapılmıştır. Yapılan analizlerde gebelik ile serum progesteron seviyeleri arasında ilişki bulamamışlardır. Sunulan bu doktora tez çalışmasından farklı olarak Hasler (1980) çalışmasında transferi izleyen 9-14. günlerde kan örneklerini almıştır. Fakat sunulan bu doktora tezindeki gibi progesteron değerinin gebelik üzerinde etkisinin olmadığını tespit etmiştir. Bu durum gebelik için optimal bir kan progesteron seviyesinin, embriyo transferi sonrası gebeliğin devamı için yeterli olduğunu ortaya koymaktadır (Ramsen, 1982).

Ramsen (1982) serum progesteron değerleri, korpus luteum ve gebe kalma arasındaki ilişkiler üzerine yaptığı bir çalışmada serum progesteron seviyelerini 3 grup halinde düzenlemiştir. Yaptığı çalışmada 2 ng/ml altı serum progesteron seviyesinde taşıyıcıların gebe kalma oranı %20 (12/61), 2-5 ng/ml arası serum progesteron seviyesine sahip taşıyıcıların gebelik oranını %74 (94/127) ve 5 ng/ml serum progesteron seviyesine sahip taşıyıcıların gebe kalma oranını %60 (21/35) olarak bulmuştur. Sözü edilen bu çalışmada 2,5 ng/ml ile 3,0 ng/ml arasındaki progesteron seviyesinin gebelik açısından optimum bir olduğu ifade edilmiştir. Bu progesteron seviyesine sahip 29 düveden 23'ü (% 80) gebe kalmıştır. Aynı çalışmada korpus luteum kalitesi ve bulunduğu ovaryum ile gebelik arasındaki ilişkiye de bakılmıştır. Korpus luteumun sol veya sağ ovaryumda bulunmasının gebelik üzerine bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Sol ovaryumda korpus luteum bulunan 109 taşıyıcıdan 59'u (%54) gebe kalmış; korpus luteum'un sağ ovaryumda olduğu 114 hayvanın 68'i (% 60) gebe olarak tespit edilmiştir. Çalışmada korpus luteumlar iyi kalite, kötü kalite ve kistik olarak sınıflandırılmıştır. İyi korpus luteum'a sahip hayvanların % 56'sının (116/206) gebe olduğu belirlenmiştir. Kötü korpus luteum'a sahip hayvanların % 67'si (6/9) ve kistik bir korpus luteum'a sahip olanlarınsa % 62'si (5/8) gebe olarak teşhis edilmiştir. Ramsen (1982) yapmış olduğu bu çalışmada iyi bir korpus luteumun ve yüksek progesteron seviyesinin gebeliğin sürdürülmesi için yeterli olmadığı sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte 2,5 ng/ml

ile 3,0 ng/ml aralığında en yüksek gebe kalma oranının tespit edildiğini bildirmişlerdir.

Nelson (1985) embriyo transferinde taşıyıcı sığırların, östrus tespiti ve korpus luteum gelişiminin gebe kalma üzerine etkisini araştırdığı çalışmada, 6,5-9 günlük yaştaki embriyoları 1983 kasım ayından 1984 mayıs ayları arasında cerrahi olmayan yöntemle transfer ederek gebe kalma oranlarını değerlendirmiştir. Embriyolar ABD'nin 10 eyaletinde 19 sürüye transfer edilmiştir. Taşıyıcıların östrusu $PGF_{2\alpha}$ kullanılarak senkronize edilmiştir. Taşıyıcıların östrus tespitleri donör östrusları ile eş zamanlı olarak ± 60 saat (donörlerin östrus gösterdiği andan önce ve sonra) içinde yapılmıştır. Embriyolar 5'lik skala üzerinden 1, 2 ve 3 derece kaliteli olarak değerlendirilmiştir (5 = unfertilize). Korpus luteum, nakil sırasında 1) normal, 2) şüpheli veya 3) palpe edilemeyen olarak derecelendirilmiştir. Eğer östrus gözlenen alıcılardan çok daha fazla transfer edilebilir embriyo toplanmışsa, fazla embriyoların bir kısmı östrus görülmeyen alıcılara transfer edilmiştir. Dondurulmuş embriyolar, donmadan önce kalite derecesi 1 veya 2 olarak belirlenmiştir. Taşıyıcılara transfer edilen taze embriyolardan elde edilen gebe kalma oranları en yüksek olanlar (%63) östrus tespit edilen ve korpus luteumu bulunan ineklerde belirlenmiştir. Östrus gözlenmeyen, ancak normal bir korpus luteuma sahip olan ya da östrus gözlemlenen ancak şüpheli bir korpus luteuma sahip olan alıcılara transfer edilen taze embriyoların gebelik oranları, sırasıyla %41, %40 olarak bulunmuş dondurulmuş çözülmüş embriyolar için elde edilen %37'lik gebelik oranı ile arasında fark bulunamamıştır (sırasıyla %41, %40 ve %37) (Nelson, 1985).

Nogueira ve ark. (2004) $PGF_{2\alpha}$ ve eCG hormonları kullanarak senkronize ettikleri taşıyıcı düvelerde eklenti korpus luteum oluşturarak progesteron ve gebelik arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu çalışmada toplam 332 taşıyıcı düve kullanılarak 83'er hayvandan meydana gelen 4 grup oluşturulmuştur. Düvelere, östrus periyodunun rastgele bir döneminde $PGF_{2\alpha}$ uygulanmış (0. gün) ve yedi gün boyunca östrus belirtileri gözlemlenmiştir. 14. günde, $PGF_{2\alpha}$ uygulamasından 2-7 gün sonra östrusta olduğu belirlenen düveler, rastgele dört gruba ayrılmıştır. Sırasıyla gruplara 0 (kontrol), 200, 400 veya 600 IU. eCG uygulanmıştır. İki gün sonra (16. gün), bu alıcılara $PGF_{2\alpha}$ enjekte edilmiş ve enjeksiyonu takiben östruslar tespit

edilmiştir. Çoklu korpus luteum veya 15 mm'den büyük tek bir korpus luteuma sahip olan düvelere, östrusdan 6-8 gün sonra donmuş bir embriyolar transfer edilmiştir. Toplam çapının %30'undan büyük kısmı sıvı dolu boşluğu olan korpus luteuma sahip düveler çalışmada kullanılmamıştır. Kontrol grubunda ve 200, 400 ve 600 IU eCG enjeksiyonunu yapılan grulardasirasıyla 6, 8, 11 ve 11 düve bu ölçüt kullanılarak çalışmadan çıkarılmıştır. Böylece gruplarda transfer için kullanılacak sırasıyla 43, 32, 44 ve 43 östrus gösteren düve kalmıştır. Gruplardaki korpus luteum sayısı sırasıyla 0,82, 1,07, 1,16 ve 1,68; ortalama korpus luteum çapları ise 18,3±0,38 mm, 18,1±0,33 mm, 18,7±0,38 mm ve 18,1±0,46 mm olarak bulunmuştur. Gruplardaki ortalama progesteron seviyesi ise sırasıyla 3,93±0,73 ng/ml, 4,24±0,43ng/ml, 5,95±0,4ng/ml ve 7,81±0,6 ng/ml olarak tespit edilmiştir. 21. günde yapılan gebelik muayenesinde ise gebelik oranları gruplara göre sırasıyla %44,2, %53,1, %25,0 ve %25,6 olarak bulunmuştur. 83. gündeki gebelik muayenesinde gebelik oranları sırasıyla %41,9, %50,0, %25,0, %20,9 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada, östrus'tan 7 ila 12 gün sonra eCG uygulaması ile P4 konsantrasyonundaki sağlanan artışın ET yapılan alıcılarda konsepsiyon oranını artırmadığı, aksine, en yüksek P4 düzeylerine sahip hayvanlarda gebelik oranlarında düşüş olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı şekilde korpus luteum sayısı ve çaplarının gebelik oranı üzerindeki etkisinin önemsiz olduğu bildirilmişlerdir.

Siqueira ve ark. (2009) belirlenmiş zamanlı embriyo transferi için senkronize edilmiş taşıyıcı sığırlarda korpus luteumun fiziksel ve fonksiyonel karakterlerinin gebelik oranı üzerine etkisini araştırmışlardır. Bu çalışma için 259 baş melez kuru dönemdeki inek ve düve kullanmışlardır. Taşıyıcı sığırlara 0. gün 2 mg östrodiol benzoat uygulaması ile birlikte CIDR takılmıştır. 5. gün 400 IU eCG hormonu enjeksiyonu yapılmış; 8. gün de ise PGF_{2α} uygulanarak CIDR çıkarılmış ve 9. gün 1 mg östrodiol benzoate uygulanmıştır. 17. günde kan örnekleri alınmış ve ultrasonografik muayene ile ovaryumlar incelenmiştir. 177 taşıyıcıya tek bir taze, 1. veya 2. kalite in vivo (n=90) ya da in vitro üretilmiş (n=87) embriyo transferi gerçekleştirilmiştir. Transfer en az 1 adet korpus luteumu bulunan taşıyıcılara yapılmıştır. Çalışma sonucunda korpus luteum büyüklüğünün, in-vivo ya da in-vitro üretilmiş embriyo transferi yapılan taşıyıcılarda gebelik oranını etkilemediğini bildirmişlerdir. Ayrıca, ovaryum üzerindeki korpus luteumun adedinin gebelik

üzerinde etkili olmadığı belirlenmiştir. Buna karşılık plazma progesteron değerlerinin gebe hayvanlarda gebe olmayanlara oranla daha yüksek olduğunu saptanmıştır. Fakat taşıyıcılar in-vivo ve in-vitro üretilen embriyolara göre gruplandırıldığı zaman, plazma progesteron seviyelerinin gebe ve gebe olmayanlarda farklı olmadığı tespit edilmiştir.

Yukarıda ayrıntıları verilen literatürlerde görüldüğü gibi embriyo transferinde kullanılan taşıyıcı inek ve düvelerin korpus luteum büyüklükleri, bütünlükleri ile plazma progesteron seviyelerinin gebe kalma üzerinde etkisi olmadığı görülmektedir. Sunulan bu doktora tezinde de döl tutmayan ineklerden oluşan gruptaki ve kontrol grubundaki taşıyıcı ineklerde korpus luteum kalite değerlendirmesinin literatürler ile uyumlu bir şekilde gebe ve gebe olmayan inek oranı açısından farklılık oluşturmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca, mevcut doktora tez çalışmasında da tartışılan literatürlerde olduğu gibi plazma progesteron seviyeleri için kan örnekleri alınan taşıyıcı ineklerde de gebe ve gebe kalmayan taşıyıcılar arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Elde edilen bulgular ışığında embriyo transferinde gebelik elde edilmesi için taşıyıcı inek ya da düvenin östrus bulguları göstermesi gerekmektedir. Bununla birlikte östrus siklusunun 7 ± 1 . günündeki ultrason muayenesinde en az 15 mm büyüklükte luteal bütünlüğe sahip kaliteli bir korpus luteumun varlığının gerektiği değerlendirilmektedir. Bu yüzden taşıyıcı olarak seçilen hayvanların östrus takibi yapılmalı ve transfer öncesinde de rektovajinal ultrason muayenesi ile korpus luteumun varlığının ve bütünlüğünün tespit edilmesinin büyük öneme sahip olduğu kanısına varılmıştır.

Ramsen ve ark. (1982) yaptıkları çalışmada taşıyıcı düvelerde östrus siklusunun günü ile embriyo gelişiminin safhası arasında ciddi bir ilişki bulmuşlardır. Siklusun 7. gününde morula safhasındaki embriyoların transferi yapılan taşıyıcıların %75'inin (12/16), 8. günde ise sadece %25'inin (4/16) gebe kaldığını belirlemişlerdir. 8. günde blastosist transferi yapılan taşıyıcıların %62,5'i (30/48) gebe kalırken, 7. günde blastosist transferi yapılan taşıyıcıların %37,5'i gebe kalmıştır. Bu bulgularla 7. günde morula safhasında ve 8. günde blastosist safhasındaki embriyoların transferinin gebelik oranı açısından olumlu sonuçlar verdiği kanısına varmışlardır. Ramsen ve ark.'nın (1982) yapmış olduğu çalışmanın

aksine bu doktora tez çalışmasında embriyo safhasının gebelik üzerine etkisi olmadığı. Bu iki çalışmada gebelik oranlarındaki farklılığın söz konusu literatür çalışmasında düvelerin taşıyıcı olarak kullanılması ve siklusun farklı günlerinde farklı safhadaki embriyoların transferinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Spell ve ark. (2001) embriyo transferi sonrası gebelik oranları üzerine corpus luteum özelliklerinin, progesteron konsantrasyonunun, donör-taşıyıcı senkronizasyonunun, embriyo kalitesi, türü ve gelişim aşamasının etkilerini belirlemek amaçlı olarak 526 baş taşıyıcı kullanılan kapsamlı bir çalışma düzenlemişlerdir. Çalışmada transrektal ultrasonografi ile elde edilen ölçümler kullanılarak, her alıcı için korpus luteumun çapı ve embriyo transferi sırasında mevcut luteal doku hacmi belirlenmiştir. Ayrıca, çalışmada plazma progesteron değerleri tespit edilmiştir. Korpus luteum çapının ve luteal hacmin östrüstan 6,5 ve 8,5 gün sonra embriyo transferi yapılan alıcılar arasında farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Taşıyıcılar için östrus sonrası günler arttıkça korpus luteum çapı ve luteal doku hacminin arttığı; fakat, gebelik oranlarının östrüstan 6,5 ila 8,5 gün sonra embriyo transferi yapılan taşıyıcılar arasında farklılık göstermediği tespit edilmiştir. Tüm taşıyıcıların luteal özellikleri östrus sonrası gün sayısına bakılmaksızın analiz edildiğinde korpus luteum çapı veya luteal doku hacmi ve plazma progesteron konsantrasyonu arasında pozitif basit bir korelasyon saptamışlardır. Embriyo transferi sonrasında gebe kalanlar veya kalmayan taşıyıcılar arasında ortalama korpus luteum çapı, luteal hacim veya plazma progesteron konsantrasyonu açısından anlamlı bir farklılık bulamamışlardır. Sonuç olarak çalışmada embriyo gelişim safhasının ve embriyo kalitesinin gebelik oranı üzerinde önemli bir etkisi olmadığı saptanmıştır. Embriyo gelişim safhası, embriyo kalite derecesi veya verici-taşıyıcı senkronizasyonu ve embriyo türü (taze veya dondurulmuş çözülmüş) arasında anlamlı iki yönlü etkileşim bulunamamıştır.

Gonella-Diaza ve ark. (2013) in vitro üretilmiş embriyo transferi sonrası taşıyıcıların gebelik oranı, embriyonun gelişimsel durumu ve korpus luteum arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla 2003 Ocak ile 2009 Ağustos ayları arasında yapılan 17521 embriyo transfer sonucunu değerlendirmiştir. Adı geçen çalışmada

ovum pick up yöntemi ile elde edilen oositler in vitro fertilizasyon (IVF) prosedürüne tabi tutulmuştur. Transfer günü (embriyo gelişiminin 7. günü) embriyolar gelişim aşamalarına (morula, erken blastosist, blastosist, expanded blastosist, hatching blastosist, hatched blastosist) ve kalitelerine göre değerlendirmişlerdir. Çalışmada sadece transfer edilebilir olarak sınıflandırılan embriyolar kullanılmıştır (1: mükemmel; 2: iyi). Suni tohumlama ya da aşım işlemi görmemiş ve sağlıklı farklı ırklardan melez (Simmental/Brahman, Gyr/Brahman, Holstein/Brahman ve Brahman) 17521 düve taşıyıcı olarak kullanılmıştır. Embriyo transferi öncesinde ultrason ve rektal muayene yöntemleri kullanılarak reproduktif muayeneler yapılmış ve korpus luteumun varlığı, yeri (sol ya da sağ ovaryum) ve çapını (mm) belirlenmiştir. Embriyo transferinden 60 gün sonra taşıyıcıların 5495'inin (%31,4) gebe olduğu tespit edilmiştir. 18 mm'lik korpus luteum çapının en yaygın olarak karşılaşılan büyüklük olmasına rağmen, korpus luteum büyüklüğünün 14 mm'den 26 mm'ye kadar değiştiği belirlenmiştir. Tüm bulgular değerlendirildiğinde, taşıyıcılar korpus luteum çapları 20 mm'den daha büyük ve 20 mm'den daha küçük olanlar şeklinde gruplandırıldığında, birinci grubun gebelik oranının (%32) ikinci grubun gebelik oranından (%30,5) daha yüksek olduğu saptanmıştır. Sunulan bu doktora tez çalışmasının aksine Gonella-Diaza ve arkadaşları (2013) korpus luteum çapı ile gebelik arasında pozitif bir ilişki belirlemişler %39,7 ile en fazla gebelik oranını korpus luteum çapı 24 mm den büyük olan taşıyıcılarda elde etmişlerdir. Embriyo safhası gebelik ilişkisi karşılaştırıldığında morula ve erken blastosistten gebe kalanların oranı blastosist, expanded blastosist ve hatching blastosistten gebe kalanların oranından farklı bulunmuştur. En yüksek gebelik oranı expanded blastosist transferi yapılan hayvanlarda tespit edilmiştir. En az gebelik oranı morula safhasında bulunmuş ve ondan sonrada erken blastosist safhası gelmiştir. Son olarak transfer edilen blastosist ve hatching blastosist embriyolarının gebelik oranları karşılaştırıldığında önemli fark bulunamamıştır.

Sunulan bu tez çalışmasını bulguları değerlendirildiğinde taşıyıcı olarak kullanılacak hayvanlarda kızgınlıkların ve korpus luteum varlığının tespitinin doğru bir şekilde yapılmış olmasının, elde edilecek gebelik oranları açısından büyük önem taşıdığı görülmektedir. Korpus luteum büyüklüğü ile serum progesteron seviyesi arasında pozitif bir ilişkinin söz konusu olmasına rağmen, serum progesteron

seviyesinin gebe kalma üzerinde önemli bir etken olmadığı saptanmıştır. Ayrıca elde edilen embriyoların transfer edilebilir olanlarının (1. ve 2. kalite) gelişim safhalarının gebelik üzerinde çok önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Süperovulasyon protokolü yapılan donörlerden elde edilen transfer edilebilir embriyoların östrus sonrası aynı günlere denk getirilecek şekilde senkronize edilen taşıyıcılarda kaliteli bir korpus luteum varlığının tespitinden sonra nakledilmesi gebelik açısından çok önemli olduğu görülmektedir. Sonuç olarak, elde edilen veriler ışığında döl tutmayan inekler için embriyo transfer uygulamalarının başarılı bir tedavi alternatifi olarak önerilebileceği, transfer işlemi yapılacak taşıyıcı ineklerde senkronize kızgınlık tespiti ile transfer gününde korpus luteum varlığının tespitinin elde edilecek gebelik oranları açısından büyük önem taşıdığı kanısına varılmıştır. Bu doktora tezinde ana fikri olan döl tutmayan inekler için embriyo transferinin bir tedavi yöntemi olarak kullanılmasıyla, gebe kalma problemi yaşayan üstün vasıflı ineklerin gebe bırakılmaları sağlanabileceği gösterilmiştir. Böylece, üstün özelliklere sahip ineklerin embriyolarının yine üstün özellikli fakat döl tutma problemi yaşayan ineklere transferi ile sürünün ya da hayvan varlığının ıslahına yardımcı olunabilir ve ayrıca döl tutmayan yüksek verimli taşıyıcıların üretimde daha etkin kullanılmalarına yardımcı olabilir. Embriyo transferi özellikle son 50 yılda geliştirilen yeni yöntem ve teknolojilerle hayvan ıslahında kullanılan en önemli metotlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Ülkemizde de yaygın biçimde kullanılmaya başlanması ile kaliteli damızlık gebe düve ihtiyacımızın daha uygun maliyetlerle karşılanmasına önemli katkılar sağlayacağı değerlendirilmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Ahmad N, Schick FN, Butcher R et al (1995) Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. *Biology of Reproduction* 52: 1129-1135.
2. Akyol N (2001) Sığır embriyo transferinde hormon kullanımı. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi* 44(1): 95-104.
3. Akyol N, Kızıl SH, Karaşahin T (2007) İn vitro sığır embriyosu üretim ve transferi. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi* 47: 1-8. (Abstract)
4. Akyol N, Kızıl SH, Tuncer PB (2004) İneklerde süperovulasyon ve embriyo transferi çalışmaları. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi* 44 (1):1-5.
5. Aköz M (1998) Döl tutmayan (Repeat breeder) ineklerde PGF2a ve intrauterin köpük sprey (Rifaximina) uygulamalarının gebe kalma oranı üzerine etkisinin araştırılması (Doktora tezi). Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doğum ve Jinekoloji Ana Bilim Dalı. Konya.
6. Alaçam E (2010) İnekte İnfertilite Sorunu. Editör: Alaçam E, Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. 7. Baskı, Medisan Yayınları, Ankara, s: 267-290.
7. Alaçam E (1994) Sütçü ineklerin döl verimi kontrolünde güncel yaklaşımlar. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi* 4: 1-4.
8. Allen JF (1996) Separate sexes and the mitochondrial theory of aging. *Journal of Theoretical Biology* 180: 135-140.
9. Anonim (2001) Anadolu Alacası Geliştirme Projesi. DPT, Proje No: 2001A030010, Ankara.
10. Arbel R, Bigun E, Ezra H et al (2001) The effect of extended calving intervals in high lactating cows on milk production and profitability. *Journal of Dairy Science* 84: 600-608.
11. Aslan S, Wesenauer G (1999) İneklerde gebelik, embriyonik-fötal ölümler, ovaryum fonksiyonları ve uterus çapının ultrasonografi ile saptanması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 23 (3): 623-631.
12. Ata A (2013) Sütçü sığırlarda döl verimi ölçütlerinin güncel yorumu. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi* 1 (1): 30-41.
13. Ayalon N (1978) A review of embryonic mortality in cattle. *Journal of Reproduction and Fertility* 54: 483-493.
14. Ayalon N (1984) The repeat breeder problem. *Proceeding 10th International Congress Animal Reproduction and AI. Urbana, III, USA* 4:111-141.
15. Ball PJH, Peters AR (2004) *Reproduction in Cattle*. 3rd Edition, Blackwell Publishing, Oxford pp:1-12.
16. Barlett PC, Kirk JH, Mather EC (1986) Repeated insemination in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Theriogenology* 26: 309-322.
17. Baruselli PS, Ferreira RM, Sales JNS (2011) Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle. *Theriogenology* 76: 1583–1593.

18. Betteridge KJ (2003) A history of farm animal embryo transfer and some associated techniques. *Animal Reproduction Science* 79: 203-244.
19. Bilby TR (2010) Improving fertility in the repeat breeder, [http://articles.extension.org/pages/28606/improving-fertility-in-the-repeat-breeder#Embryo Transfer](http://articles.extension.org/pages/28606/improving-fertility-in-the-repeat-breeder#Embryo_Transfer), (05.05.2017).
20. Bilodeau-Goeseels S (2006) Embryonic development and factors affecting embryo survival in the cow, <http://www.dairy1to1.com/offer/pdf/bilodeau.pdf>, (08.05.2017).
21. Bó GA, Baruselli PS, Moreno D et al (2002) The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle. *Theriogenology* 57: 53-72.
22. Boland M, Lonegran P, O'callaghan D (2001) Effects of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology and oocyte and embryo development. *Theriogenology* 55: 1323-1340.
23. Bonneville-Hébert A, Bouchard E, Tremblay DD et al (2011) Effect of reproductive disorders and parity on repeat breeder status and culling of dairy cows in Quebec. *Canadian Journal of Veterinary Research* 75(2): 147-151.
24. Bulman DC, Lamming GE (1978) Milk progesterone levels in relation to conception, repeat breeding and factors influencing acyclicity in dairy cows. *Journal of Reproduction and Fertility* 54: 447-458.
25. Bülbül B, Dursun Ş (2005) İneklerde süperovulasyon cevabına etki eden faktörler. *Hayvancılık Araştırma Dergisi* 15(1): 16-25.
26. Brock KV, Lapin DP, Skrade DR (1997) Embryo transfer from donor cattle persistently infected with bovine viral diarrhoea virus. *Theriogenology* 47: 837-844.
27. Butler WR (1998) Effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 8: 2533-2539
28. Campos MS, Wilcox CJ, Becerril M et al (1994). Genetic parameters for yield and reproductive traits of Holstein and Jersey Cattle in Florida. *Journal of Dairy Science* 77: 867-873.
29. Çoban S (2017) Donör inek rasyonlarına doymamış yağ asiti ilavesinin süperovulasyon performansı ve embriyo kalitesi üzerine etkileri (Doktora tezi). Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Ana Bilim Dalı. Hatay.
30. Daşkın A (2005) Sığırcılık işletmelerinde reproduksiyon yönetimi ve suni tohumlama. *Aydan Web Ofset*. Ankara, s: 193-226.
31. Dinç DA (1990) Döl Tutmayan (Repeat Breeder) Hayvanlar Editör: Alaçam E. *Theriogenology, Evcil Hayvanlarda Reproduksiyon, Suni Tohumlama, Obstetrik ve İnfertilite*, Bölüm 28, Nurol Matbaası Ankara. 233-240.
32. Dochi O, Takahashi K, Hirai T et al (2008) The use of embryo transfer to produce pregnancies in repeat-breeding dairy cattle. *Theriogenology* 69: 124-128.
33. Doğan İ (1994) Döl tutmayan inek ve düvelerde penetrasyon testinin kullanım olanakları (Doktora Tezi), Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dölerme ve Suni Tohumlama Ana Bilim Dalı, Bursa.
34. Donahoo-Cheda K (2010) Cal Poly Dairy Embryo Recovery Record System. Dairy Science Department, College of Agriculture, California Polytechnic State University pp: 1-35.

35. Dunne LD, Diskin MG, Boland MP et al (1999) The effect of pre- and post-insemination plane of nutrition on embryo survival in beef heifers. *Animal Science* 69: 411-417.
36. Elsden RP, Nelson LD, Seidel GE (1979) Embryo transfer in fertile and infertile cows. *Theriogenology*, 9: 17-26.
37. Ergene O (2012) Progesteron concentrations and pregnancy rates of repeat breeder cows following postinsemination PRID and GnRH treatments. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 36 (3): 283-288.
38. Ergene O (2009) Repeat breeder ineklerde tohumlamayı izleyen farklı günlerde PRID ve GnRH ile sağaltım girişimleri(Doktora Tezi), Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doğum ve Jinekoloji Ana Bilim Dalı, Ankara.
39. Gali C, Duchi R, Crotti G et al (2003) Bovine Embryo Technologies. *Theriogenology* 59: 599- 616.
40. Gonella-Diaza AM, Holguín G, Montaña D et al (2013) Corpus luteum diameter and embryo developmental stage are associated with pregnancy rate: data analysis from 17,521 embryo transfers from a commercial in vitro bovine embryo production program. *Animal Reproduction* 10 (2): 106-111.
41. Gunther JD (1981) Classification and clinical management of the repeat breeding cow. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* 3 (4): 154- 159.
42. Gustafsson H, Emanuelson U (2002) Characterisation of the repeat breeding syndrome in swedish dairy cattle. *Acta Veterinaria Scandinavica* 43:115–25.
43. Hansen PJ, Arechiga CF (1999) Strategies for Managing Reproduction in the Heat-Stressed Dairy Cow. *Journal of Animal Science* 77:36-50.
44. Hasler JF, Browen RA, Nelson LD et al (1980) Serum progesterone concentrations in cows receiving embryo transfers. *Journal of Reproduction and Fertility* 58: 71-77.
45. Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF, et al(1987) Effect of donor-embryo-recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*; 27:139-168.
46. Hızlı H, Ayaşan T, Kılıçalp N et al (2012) Verici İnek ve Düvelerde Tekrarlı Ovulasyonların Embriyo Kalitesi Üzerine Etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 23 (1): 11-14.
47. Humblot P (1999) The frequency and variation of embryonic mortality and the use of pregnancy specific proteins to monitor pregnancy failure in ruminants. *Third conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction, Anger*, pp:19-27.
48. Hutchinson L (2007) Reproductive herd health program, <http://www.wvu.edu/~agexten/forglvst/Dairy/dirm18.pdf>, (08.05.2017).
49. Kanagawa H, Shimohira I, Saitoh N (1995) Manual of Bovine Embryo Transfer. National Livestock Breeding Center MAFF, JICA-Japan, pp: 1-34.
50. Kardeşahin T, Dursun Ş, Kızıl SH (2016) Effect of embryo transfer to conception rates in repeat breeding cattle. *1st International Congress on Advances in Veterinary Sciences and Technics (ICAVST), Sarajevo* p: 30.
51. Karin L (2013) What are the disadvantages of embryo transfer in Cattle?, [http://www.answers.com/Q/What are the disadvantages of embryo transfer in cattle](http://www.answers.com/Q/What_are_the_disadvantages_of_embryo_transfer_in_cattle)(15.10.2017).

52. Kaymaz M (2015)Yardımcı Üreme Teknikleri Editör: Semacan A, Kaymaz M Fındık M et al, Çiftlik Hayvanlarında Doğum Jinekoloji. 2. Baskı, Medipres Matbaacılık Yayıncılık Ltd. Şti., Malatya, s. 695-811.
53. Kızıl SH, Akyol N, Kardeş T et al (2011) Etilen glikol ile direkt transfer metoduna göre dondurulan in vivo sığır embriyolarının transferi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 17 (5): 721-724.
54. Kim SY, Jeong JK, Lee SC et al (2017)Risk factors for late embryonic mortality in dairy cows. Journal of Veterinary Clinics 34 (2): 82-86
55. Kimura M, Nakao T, Moriyoshi M et al (1987) Luteal phase deficiency as a possible causes of repeat breeding in dairy cows. The British Veterinary Journal 143: 560-566.
56. King WA (1990) Chromosome abnormalities and pregnancy failure in domestic animals. Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine 34: 229-250.
57. King WA(1991) Embryo-mediated pregnancy failure in cattle. Canadian Veterinary Journal32: 99-103.
58. Kumuk T, Akbaş Y, Türkmüt L (1999) Süt sığırcılığında döl verimine ilişkin ekonomik kayıplar ve yetiştiricilerin bilgi ve teknoloji ihtiyacı. Hayvansal Üretim 39-40: 1-12.
59. Kunkel JR (2010) Embryo transfer. Dairy Integrated Reproductive Management 1: 26
60. Küplülü Ş, Vural R, Güven B et al (1993) Dönen (repeat breeder) ineklerde intrauterin uygulamaların seksüel siklus uzunluğuna ve fertiliteye etkisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 40 (1): 49-63.
61. Lamb C (2006) Embryonic mortality in cattle, http://www.iowabeefcenter.org/pdfs/bch/02_220.pdf,(28.04.2017).
62. Lafi SQ, Kaneene JB (1988) Risk factors and associated economic effects of the repeat breeder syndrome in dairy cattle. Veterinary Bulletin 58: 891-903.
63. Marti CF, Funk DA (1994) Relationship between production and days open at different levels of herd production. Journal Dairy Science 77: 1682-1690.
64. Maurer RR, Echternkamp SE (1985) Repeat breeder females in beef cattle: influences and causes. Journal of Animal Science 61(3): 624-636.
65. Mapletoft RJ (2013) History and perspectives on bovine embryo transfer. Animal Reproduction 10 (3) pp: 168-173.
66. Mikkola M (2016) Statistics of European embryo transfer activity in 2015, <http://www.aete.eu/index.php/statistics/139-aete-statistics-2015/file>, (25.04.2017).
67. McMillan WH (1998) Statistical models predicting embryo survival to term in cattle after embryo transfer. Theriogenology 133: 39-43.
68. Muhunguh M (2015) Embryo Transfer Technology; the pros and cons, <http://www.nation.co.ke/business/seedsofgold/Embryo-Transfer-Dairy-Farming-Livestock/2301238-2667918-1chqphz/index.html>. (15.10.2017).
69. Nelson LD, Nelson CF (1985) Effect of estrus detection and corpus luteum development on pregnancy rates in bovine embryo recipients. Theriogenology 23(1): 212 (Abstract).
70. Nogueira MFG, Melo DS, Carvalho LM et al (2004) Do high progesterone concentrations decrease pregnancy rates in embryo recipients synchronized with PGF2a and eCG?. Theriogenology 61: 1283–1290.

71. Oltenacu PA, Frick A, Lindhe B (1991) Relationship of fertility to milk yield in Swedish cattle. *Journal of Dairy Science* 74: 264-268.
72. Ono T, Isobe T, Morita Y et al (2016) Effects of parity and season on pregnancy rates after the transfer of embryos to repeat-breeder japanese black beef cattle. *Archives Animal Breeding* 59: 45-49.
73. Pabuçcuoğlu S (2013) İneklerde Üremenin Kontrolü ve Embriyo Transferi, [aves.istanbul.edu.tr/ImageOfByte.aspx?Resim=8&SSNO=7&USER=1653,\(04.05.2017\)](http://aves.istanbul.edu.tr/ImageOfByte.aspx?Resim=8&SSNO=7&USER=1653,(04.05.2017))
74. Perez-Marin CC, Moreno LM, Calero GV (2012) Clinical Approach to the Repeat Breeder Cow Syndrome. Editor: Perez-Marin CC, *A Bird's-Eye View of Veterinary Medicine*. University of Cordoba, Spain pp:337-362.
75. Ptaszynska M (2009) Ruminantlarda Reprodüksiyon. Çeviren: Fındık M, Gültiken N, Ay SS et al, 10. Baskı, İstanbul s:151-152.
76. Remsen LG, Roussel JD (1982) Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. *Theriogenology* 18 (3): 365-372.
77. Riha J, Machatkova M, Pavlok A (2002) Viability of fresh and frozen transferred IVP bovine embryos. *Czech Journal Animal Science* 47 (7): 261-267.
78. Rodrigues CA, Teixeira AA, Ferreira RM et al (2010) Effect of fixed-time embryo transfer on reproductive efficiency in high-producing repeat-breeder holstein cows. *Animal Reproduction Science* 118: 110-117.
79. Rogers P (2007) Bovine fertility and control of herd infertility, <http://homepage.eircom.net/~progers/infertil.htm>,(25.04.2017).
80. Rutledge JJ (2001) Use of embryo transfer and ivf to bypass effects of heat stress. *Theriogenology* 55: 105-111.
81. Sağırkaya H (2009) Sığırlarda embriyo transfer uygulaması ve Türkiye açısından önemi. *Uludag University Journal of the Faculty of Veterinary Medicine* 28 (2): 11-19.
82. Santos JEP, Cerri RLA, Sartori R (2008) Nutritional management of the donor cow. *Theriogenology* 69: 88-97.
83. Santos JEP, Thatcher WW, Chebel RC et al (2004) The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs. *Animal Reproduction Science* 82-83: 513-535.
84. Sarıözkan S, Aral Y, Murat H et al (2012) Süt sığırcılığı işletmelerinde fertilite bozukluklarından kaynaklanan finansal kayıpların hesaplanması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 59: 55-60.
85. Sartori R, Bastos MR, Wiltbank MC (2010) Factors affecting fertilisation and early embryo quality in single- and superovulated dairy cattle. *Reprod. Fertil. Dev.* 8: 22:151.
86. Seidel GE, Seidel SM(1991) Training Manual for Embryo transfer in Cattle, <http://www.fao.org/DOCREP/004/T0117E/T0117E00.htm>,(26.05.2017).
87. Selk G (2006) Embryo transfer in Cattle. *Oklahoma Cooperative Extension Service ANSI* 3158.
88. Selvaraju M, Veerapandian C (2010) Effect of PGF_{2α} on oestrus and fertility rate in repeat breeder cows treated with norgestomet-oestradiol. *Veterinary World* 3 (10): 466-468.

89. Shakkarpude J, Caesar DD, Singh HS (2012) Estrogen and progesterone levels following double injections of PGF 2α in estrus synchronization of crossbred cows. *Environment and Ecology* 30 (4A) Kolkata: MKK Publication: 1546-1548.
90. Silke V, Diskin MG, Kenny DA et al (2002) Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 71, 1–12.
91. Siqueira LGB, Torres CAA, Souza ED et al (2009) Pregnancy rates and corpus luteum-related factors affecting pregnancy establishment in bovine recipients synchronized for fixed-time embryo transfer. *Theriogenology* 72: 949-958.
92. Silva JCC, Alvarez RH, Zanenga CA et al (2009) Factors Affecting Embryo Production in Superovulated Nelore Cattle. *Animal Reproduction* 6(3):440-445.
93. Singh J, Dadarwal D, Honparkhe M et al (2008) Incidences of various etiological factors responsible for repeat breeding syndrome in cattle and buffaloes. *The Internet Journal of Veterinary Medicine* 6: 1-6.
94. Smith AK (2009) Embryo transfer opportunities for vets and scientists. *Cattle Practice* 17: 16-25.
95. Son DS, Choe CY, Cho SR et al (2007) A CIDR-based timed embryo transfer protocol increases the pregnancy rate of lactating repeat breeder dairy cows. *Journal of Reproduction and Development* 53: 1313-1318.
96. Spell AR, Beal WE, Corah LR et al (2001) Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology* 56: 287-297.
97. SPSS for Windows. Base System User's Guide, Release 11.5, PSS Inc. Chicago, USA, 1999.
98. Stevenson JS, Frantz KD, Call EP (1988) Conception rates in repeat breeders and dairy cattle with unobserved estrus after prostaglandin F 2α and gonadotrophin-releasing hormone. *Theriogenology* 29: 451.
99. Stradaioli G, Biancucci A, Sbaragli T et al (2015) Preliminary results from a field study on the use of et to improve reproductive performance in repeat breeder cows, LXVIII Convegno Sisvet, XI Convegno Aipvet e XII Convegno Sira, Perugia p: 318.
100. Tanabe TY, Hawk HW, Hasler JF (1985) Comparative fertility of normal and repeat-breeding cows as embryo recipients. *Theriogenology* 23: 687–96.
101. Tekeli T (2010) Embriyo Nakli. Editör: Alaçam E, Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite. 7. Baskı, Medisan Yayınları, Ankara, s. 81-97.
102. Wagh AJ, Hukeri VB, Deshpande BR (1991) Repeat breeder crossbred cows and remedial measures thereon. *Livestock Adviser* 16: 3-6.
103. Walsh SW, Williams EJ, Evans ACO (2011) A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science* 123 (2011) 127–138.
104. Wattiaux MA (2007) Managing reproductive efficiency, http://babcock.cals.wisc.edu/downloads/de_html/ch13.en.html, (07.05.2017).

105. Willet EL, Black WG, Casida EL (1951) Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. *Science* 113: 247.
106. Wolfenson D, Roth Z, Meidan R (2000) Impaired reproduction in heat stressed cattle: basic and applied aspects. *Reproduction Science* 60-61: 535-547.



7. SİMGELER ve KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AETE	: Association of Embryo Technology in Europe (Avrupa'da Embriyo Teknolojisi Derneği)
BLAD	:Bovine Leucocyte Adhesion Deficiency (Sığır Lökosit Bağlanma Eksikliği)
BSE	: Bovine Spongiform Ensefalopati (Sığır Süngerimsi Beyin Hastalığı)
BVD	: Bovine Viral Diarrhoea
°C	: Santigrat Derece
cc	: Cubic Centimeter
CIDR	: Controlled Internal Drug Release (Kontrollü İlaç Salınımı Yapan Araç)
cm	: Santimetre
CL	: Korpus Luteum
CO ₂	: Karbon Dioksit
CVM	: Complex Vertebral Malformation (Omurga Bozukluğu Kompleksi)
EB	: Estradiol Benzoate
eCG	: Equine Chorionic Gonadotrophin (Gebe Kısırak Serumı)
ET	: Embriyo Transferi
FCS	: Fetal Calf Serum (Ölü Buzağı Serumı)
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
FTET	: Fixed Timed Embryo Transfer(Belirlenmiş Zamanlı Embriyo Transferi)
GnRH	: Gonadotropin Releasing Hormon
hCG	: Human Coryonik Gonadotropin Hormon
IBR	: Infectious Bovine Rhinotracheitis (Enfeksiyöz Sığır Rhinotraheiti)
IETS	: International Embryo Technology Society (Uluslar arası Embriyo Transfer Topluluğu)
IU	: International Unit (İnternasyonal Ünite)
IVF	: In Vitro Fertilizasyon
i.m.	: Intra Muskuler (Kas İçi)
m.g.	: Miligram
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
MOET	: Multiple Ovulation and Embryo Transfer(Çoklu Ovulasyon ve Embriyo Transferi)
ng/ml	: nanogram/mililitre
PG	: Progesteron Hormonu
PGF _{2α}	: Prostaglandin F _{2α} Hormonu
PRID	: Progesteron Releasing Intravaginal Device (Progesteron Salgılayan Vaginaiçi Araç)
P4	: Progesteron Hormonu
RBS	: Repeat Breeder Sendromu

SPSS : Statistical Package for the Social Sciences (Sosyal Bilimler İçin İstatistik Programı)
t : Zaman
TCM-199 : Tissue Culture Medium-199 (Doku Kültür Medyumu)
€ :Euro
> : Büyük
< : Küçük
µm : Mikrometre



8. EKLER

Şekiller Çizelgesi

Şekil 1. Normal ve Döl Tutmayan İneklerin Laktasyon Eğrilerinin Karşılaştırılması	13
Şekil 2. Avrupa’da Yıllara Göre Sığır Embriyosu Toplama Sayıları (İn Vivo)	15
Şekil 3. Sığırlarda Embriyo Transferi Şeması.....	16
Şekil 4. Uterus Yıkama ve Embriyo Toplama Prosedürünün Diyagramı	22
Şekil 5. Donörlere Uygulanan Süperovulasyon Protokolü	27
Şekil 6. Uterus Yıkama İşlemi İçin Kullanılan Malzemeler	29
Şekil 7. Flushing İşlemi İçin Hazırlanmış ve Flushing Yapılan İnekler	30
Şekil 8. Embriyo Safhaları	32
Şekil 9. Embriyoların Aranması, Değerlendirilmesi ve Transfer İçin Payete Çekilmesi	32
Şekil 10. Çalışmada Elde Edilen Embriyolar.....	33
Şekil 11. Çalışmada Elde Edilen Embriyolar.....	33
Şekil 12. Taşıyıcılara Uygulanan Östrus Senkronizasyon Protokolü	34
Şekil 13. Embriyo Transferi İçin Kullanılan Malzemeler.....	35
Şekil 14. Taşıyıcılarda Tespit Edilen Farklı Büyüklükteki Korpus Luteumlar.....	35
Şekil 15. Embriyonun Taşıyıcı İneğe Transfer İşlemi	36
Şekil 16. Deneme Grubu ve Kontrol Grubu Gebelik Oranları Grafiği	40
Şekil 17. Deneme ve Kontrol Grupları Gebelik-Korpus Luteum İlişkisi Grafik Dağılımı	43

Tablolar Çizelgesi

Tablo 1. Süt İneklerinde Üreme Parametreleri	8
Tablo 2. Embriyo Transfer Uygulamasının Avantaj ve Dezavantajları.....	21
Tablo 3. Donörlere Uygulanan Süperovulasyon Protokolü	27
Tablo 4. Deneme Grubu Gebelik Sonuçları.....	39
Tablo 5. Kontrol Grubu Gebelik Sonuçları.....	40
Tablo 6. Deneme Grubu Korpus Luteum-Gebelik İlişkisi.....	42
Tablo 7. Kontrol Grubu Korpus Luteum-Gebelik İlişkisi.....	43
Tablo 8. Deneme Grubu Embriyo Kalitesi-Embriyo Safhası-Gebelik İlişkisi	45
Tablo 9. Kontrol Grubu Embriyo Kalitesi-Embriyo Safhası-Gebelik İlişkisi	46
Tablo 10. Deneme Grubu Progesteron-Gebelik İlişkisi.....	47
Tablo 11. Kontrol Grubu Progesteron-Gebelik İlişkisi.....	48



Etik Kurul İzin Belgesi

T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

Toplantı Sayısı	Toplantı Tarihi	Toplantı Yeri	Oturum Başkanı
7	25.08.2015	Ç.Ü.T.F.-DETAUM	Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK

KARAR NO 3- Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı Başkanlığı'nda Görevli Veteriner Hekim Erkan SAY'ın sorumlu araştırmacı olarak yürütmesi öngörülen, "EMBRIYO TRANSFER UYGULAMALARI İLE REPEAT BREEDER İNEKLERDE GEBELİK ORANLARININ ARAŞTIRILMASI" başlıklı proje, araştırma etiği yönünden değerlendirildi; toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.

BAŞKAN Prof. Dr. Ergin ŞİNGİRİK
Araştırmacı Uzman Üye
Farmakoloji A.B.D. Öğretim Üyesi

ÜYELER Doç. Dr. Yusuf Kenan DAĞLIOĞLU
Veteriner Hekim
ÇÜTF-DETAUM Müdürü

Prof. Dr. Fatih KÖKSAL
Araştırmacı Uzman Üye
Mikrobiyoloji A.B.D. Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Mustafa EMRE
Araştırmacı Uzman Üye
Biyofizik A.B.D. Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Gülşah SEYDAOĞLU
Araştırmacı Uzman Üye
Biyostatistik A.B.D. Öğretim Üyesi

Doç. Dr. Selim KADIOĞLU
Tıp Etiği Uzmanı Üye
Deontoloji ve Tıp Tarihi A.B.D. Öğretim Üyesi

Doç. Dr. Bertan YILMAZ
Araştırmacı Uzman Üye
Tıbbi Biyoloji A.B.D. Öğretim Üyesi

Av. Mehmet Ali AKGÜL
Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi
[Meslek Dışı ve Kurum Dışı Üye]

Sezgin KERTMEN
Sivil Üye
[Meslek Dışı ve Kurum Dışı Üye]



KATILMADI



07.09.2015

Aslını teslim aldım

Erkan SAY



9. TEŞEKKÜR

Bu doktora tez çalışmasında, döl tutmayan ineklere yapılan embriyo transferinin ebe kalma üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı. Bununla birlikte korpus luteum kalitesinin, embriyo safha-kalitesinin ve kan-progesteron değerinin embriyo trnsferi üzerindeki etkileri değerlendirildi.

Çalışma konusunun belirlenmesinde, planlanmasında ve çalışmanın her aşamasında bilimsel katkılarıyla her zaman desteğini gördüğüm danışman hocam sayın Prof. Dr. Hakan SAĞIRKAYA ve tez çalışması esnasında bilgileri ve saha deneyimlerini benimle paylaşan hocam sayın Prof. Dr. Yavuz NAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Desteklerinden ötürü, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'ne (TAGEM) ve projenin yürütülmesi için hayvan, yem ve barınak imkânlarını sağladıkları için Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü idarecileri ve personeline şükranlarımı sunarım.

Değerli çalışma arkadaşlarım, Veteriner Hekimler Serdal ÇOBAN, Uğur KARA, İsmail YILMAZ, Veteriner Sağlık Teknikeri Orhan Gazi DÜNDAR, Ziraat Mühendisi Mehdi Ahmet Coşkun ile Biyolog Nurşen KESER'e yürekten teşekkür ediyorum. Ayrıca tezin istatistiksel analiz ve yazım aşamasında yardımlarından ötürü çok değerli dostum Araştırma Görevlisi Cengiz CAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi her zaman yanımda olan başta değerli annem ve babam olmak üzere tüm aileme şükranlarımı sunarım.

10. ÖZGEÇMİŞ

1986 yılında Mersin iline bağlı Tarsus ilçesinde doğdu. Orta öğrenimini tamamladıktan sonra 2005 yılında Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nde yüksek öğrenime başladı. 2011 yılında fakülteden mezun oldu. 2013 yılı bahar yarıyılında Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dölerme ve Suni Tohumlama Ana Bilim Dalında doktora eğitimine başladı.

2011 yılı Ağustos ayında Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğüne bağlı Aksaray Koçuş Tarım İşletme Müdürlüğünde göreve başladı. 2012 yılı Ekim ayında Tarımsal Araştırmalar ve Politikaları Genel Müdürlüğüne bağlı Doğu Akdeniz Tarımsal Araştırmalar Enstitüsü Müdürlüğü bünyesinde bulunan hayvancılık biriminde çalışmaya başladı ve hala burada görev yapmaktadır.