

ANÖSTRÜS DÖNEMİNDEKİ KOYUNLARDA OVARIEL AKTİVİTENİN MEDROKSİPROGESTERON ASETAT (MAP) VE PMSG HORMONU İLE KONTROL ALTINA ALINMASI ÜZERİNDE ÇALIŞMA

Erol ALAÇAM**
Mehmet GÜLER***
D. Ali DİNÇ***
Saffet ERÖZ****
A. Nuri SEZER*****

ÖZET

Bu çalışmada geç anöstrüs döneminde bulunan 30 adet Merinos ırkı koyuna MAP ve PMSG hormonları uygulanarak, ovaryum aktivitelerinin uyarılması ve sek-süel siklusların senkronizasyonu ile bu işlemlerin fertiliteye etkisini araştırmak amaçlandı.

Çalışma materyali onar hayvanlık 3 gruba ayrılarak, birinci gruba vaginal MAP süngerleri (13 gün süreyle), ikinci gruba MAP süngerleri + 500 UI PMSG (i.m.) uygulanırken, üçüncü grup kontrol olarak bırakıldı. Deneme hayvanlarından, hormon uygulamalarından 3 gün önce, uygulama günü ve bitimini izleyen 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. günlerde jugular kan örnekleri alındı. Bu örneklerin plazmaları çıkartılarak RIA yöntemi ile progesteron ve östradiol 17 β yoğunlukları araştırıldı. Örnekleme günlerinde arama koçu, sabah akşam günde iki defa gruplar içinde doluşturularak, östrüs gösterenler belirlendi ve bu hayvanlara doğal aşım yaptırıldı. Çalışma bulguları kuzulamalar beklenerek karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

Bulguların değerlendirilmesiyle, kontrol grubunda hiçbir seksüel aktivite görülmezken, MAP ve MAP + PMSG gruplarında senkronizasyon, fertilizasyon ve kuzulama oranları aynı rakamları gösterdiler. Buna karşılık MAP + PMSG grubunda östrüsler daha erken saatlerde belirlendi ve doğan kuzu sayısı diğer gruba kıyasla daha yüksek bulundu.

-
- * Bu çalışma Tarım, Orman ve Köyişleri Bakanlığı tarafından desteklenmiştir.
** Prof. Dr.; Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Konya.
*** Araş. Gör.; Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Konya.
**** Vet. Hek.; Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü, Konya.
***** Uzm. Dr.; Özel Nükleer Tıp Merkezi, Konya.

SUMMARY

Control of Ovarium Functions in Ewes at Late Anestrous Season by Medroxyprogesteronacetate (MAP) and PMSG Hormones

Present study was performed on 30 Merino ewes for the synchronization of oestral cycles in late anestrous season.

The animals were divided into 3 groups and MAP sponges was inserted into the vagina for the first group and MAP sponges + PMSG (500 UI) was injected intramuscularly to the second group of ewes. The rest 10 ewes were served as controls.

The jugular blood samples were collected, 3 days before the MAP applications, on the day of vaginal sponge insertion and 1., 2., 3., 4., 5. and 6th days after the end of hormone treatments. Plasma progesterone and oestradiol 17 β levels were determined by RIA method. On the sampling days the rams were put in the groups and ewes in estrous were bred naturally. The laboratory values and clinical observations were compared with lambing results.

Based on a results, synchronization, conception and lambing rates were similar in MAP and MAP + PMSG treated groups. On the other hand beginning hours of the estrous was earlier and lamb counts was higher in MAP + PMSG treated group.

KEY WORDS

Ewe, Synchronization, Late Anestrous Season, Medroxyprogesteronacetate (MAP), PMSG hormone.

GİRİŞ

Seksüel senkronizasyon kısaca, östrüs ve ovulasyonun istenen zamana göre planlanması şeklinde tanımlanabilir. Sürüye koç katımı bir ölçüde seksüel aktiviteyi uyarıcı bir etki yaparsa da, daha rasyonel bir senkronizasyon için progestagenler, prostaglandinler, GnRH ve PMSG gibi hormonlar kullanılmaktadır. Aşım sezonunda senkronizasyon amacıyla progestagenler ve prostaglandinler en sık kullanılan hormonlardır. Bunlar siklik corpus luteumun etkisini uzatarak veya lize ederek işlev yaparlar. Aşım sezonu dışında, anöstrüs döneminde ise ovaryumlar afonksiyonel olduklarından, ovaryumlardaki fonksiyonel aktiviteyi uyarmak üzere progestagenler ve PMSG hormonları sıklıkla kullanılmaktadır^{1.2.3.}

Progestagenler yemlere katılarak, deri altı implant şeklinde, kas içi-deri altı enjeksiyonlarla veya vaginal süngerler biçiminde kullanılabilirler^{1.2.4.} Bunlardan vaginal süngerler pratik, uygulanması kolay ve etkili olarak birçok araştırmacı tarafından önerilmektedirler^{5.6.} Özellikle kalabalık sürülerde, 20-80 mg medroxyprogesteronacetate (MAP) veya cronolone (FGA), vb. içeren süngerlerin, 10-16 gün süre ile vaginaya uygulanması en uygundur^{1.3.7.}

Echternkamp ve ark.^{8.} aşım sezonundaki ve anöstrüs döneminde bulunan iki grup koyuna 9 gün süre ile vaginal progestagen uygulamışlar ve süngerlerin çıkartıldığı günde 20 mg progesteron ve 500 UI PMSG hormonlarını kas içine enjekte etmişlerdir. Araştırmacılar bütün koyunlarda spontan ovulasyon sağlanmakla birlikte, konsepsiyon şansının anöstrüstekilerde % 76, sezondakilerde ise % 100 olduğunu bildirmektedirler. Hackett ve Wolynetz⁹ de progestagen uygulamalarını takiben PMSG verilen koyunlarda fertilité oranını % 57, PMSG verilmeyenlerde % 47 olarak bulduklarını ileri sürmektedirler.

Langford ve ark.¹⁰, iki grup koyuna Haziran ve Ekim aylarında MAP süngerleri uygulamışlar ve her iki ayda da koyunların yarısına PMSG enjekte etmişlerdir. Çalışma sonunda konsepsiyon yüzdeleri, Haziran ayında PMSG verilenlerde % 82, verilmeyenlerde % 18, Ekim ayında ise PMSG enjekte edilenlerde % 87, edilmeyenlerde % 48 olarak belirlenmiştir.

Ouirke ve ark.¹¹, anöstrüs evresinde, laktasyonda olan ve olmayan koyunlarda, progesteron + PMSG uygulamalarına bağlı olarak östrüs ve spontan ovulasyon oranları ile plazma progesteron konsantrasyonlarını incelemişlerdir. Bulgular her iki grupta da benzer iken, senkronize östrüsü izleyen 10 ve 14. günlerde progesteron oranı laktasyondaki hayvanlarda düşük kalmıştır. Araştırmacılar bu durumun daha fazla erken embriyonik ölüme neden olabileceğini ileri sürmektedirler. Yine bu hayvanlardan toplanan embriyoların fertilizasyon ve canlılık oranı, kuru dakilerde % 64.9, laktasyondakilerde ise % 34.2 olarak saptanmıştır.

Kinser ve ark.¹², anöstrüsteki 160 adet koyunu 16 gruba ayırarak, değişik hormonları tek veya kombine olarak kullanmışlar ve progesteron + PMSG + HCG ile en yüksek senkronizasyon ve fertilizasyon oranını elde etmişlerdir.

Eppleston ve Roberts¹³, değişik progesteronları içeren vaginal süngerlerin senkronizasyondaki etkilerini araştırmak üzere yaptıkları çalışmada, FGA uygulananlarda doğum oranını % 55.4, MAP uygulananlarda ise % 43.4 olarak belirlemişlerdir.

Kılıçoğlu ve ark.¹⁴, anöstrüsteki 7 koyuna Mayıs ayında, 12 gün süre ile vaginal sünger uygulamışlar, PMSG enjekte etmeden, ısı ve ışık düzenlemeleri ile % 71.4 oranında senkronizasyon sağlamışlardır.

Chemineau ve ark.¹⁵, keçilerin doğal ve senkronize sikluslarında LH, FSH, prolaktin, progesteron ve östradiol 17 β hormonu düzeylerini incelemişlerdir. Östradiol 17 β 'nin en yüksek değeri östrüsün başlangıcında alınmış, östrüsü izleyen 3. günde progesteron 1 ng/ml den yüksek değere ulaşmıştır. Senkronize hayvanlarda ise östradiol 17 β ve progesteronun zirve yoğunlukları normal siklustakilere kıyasla daha yüksek belirlenmiştir. Araştırmacılar östradiol 17 β değerinin senkronize hayvanlarda, PMSG enjeksiyonundan 18 saat sonra 13.8 pg/ml den 44.3 pg/ml ye ulaştığını eklemektedirler. Alaçam ve ark.¹⁶, keçiler üzerinde yaptıkları çalışmada MAP uygulamasının bitimini izleyen 4-5. günlerde kan progesteron oranının 2.8 ng/ml ye ve 11. günde 3.2 ng/ml ile maksimuma ulaştığını bildirmektedirler. Araştırmacılar süngerlerin çıkartılmasını izleyen 2-4. günde progesteronun 0.5 ng/ml olduğunu ve aşım kadar bu düzeyin devam ettiğini eklemektedirler.

Armitage¹⁷, progesteron uygulamalarında, süngerlerin düşme oranını % 4.2 olarak saptamıştır. Araştırmacı süngerlerin çıkartılmasından sonra aşımın 2.8 \pm 0.4 günde olduğunu, izleyen iki östrüsteki aşımına bağlı olarak konsepsiyon oranının % 100'e ulaştığını ve senkronize doğumların 5.8 \pm 0.5 gün içinde şekillendiğini ilave etmektedirler.

Sunulan çalışmada ise, geç anöstrüs döneminde bulunan koyunlara MAP ve PMSG hormonları uygulanarak ovaryum aktivitesinin uyarılması ve seksüel siklusların senkronizasyonu ile bu işlemlerin fertiliteye etkisini araştırmak amaçlandı.

1. Materyal:

Bu çalışma Tarım, Orman ve Köyişleri Bakanlığı, Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ait toplam 30 adet Merinos koyun üzerinde yapıldı. Deneme hayvanları, 5 yaşlı, ortalama 3 doğum yapmış ve yakın ağırlıktaki koyunlar arasından seçildi.

Deneme hayvanlarının bakım ve beslenmeleri normal olup, seksüel siklusların uyarılması için hormon uygulamalarından önce ve uygulama sırasında ek konsantre yem verildi. Koyunlara ısı ve ışık süreleri ile ilgili bir program uygulanmadı. Hormon uygulamaları Temmuz 1987 ayının ikinci yarısında yapıldı ve örneklemeler normal aşım sezonunun başlamasından en az bir ay önce bitirildi.

2. Metot:

2.1. Senkronizasyon amacıyla hormon uygulamaları:

Çalışmada progestagen olarak, 60 mg medroxyprogesteronasetat (MAP) içeren vaginal süngerler* ve Gebe Kısrak Serum Gonadotropini (PMSG)** kullanıldı.

Onar hayvanlık 3 gruba ayrılan koyunlardan;

1. Gruba: Vaginal MAP (13 gün süre ile)
2. Gruba: Vaginal MAP + 500 UI PMSG (i.m.)
3. Gruba: Kontrol (Hiçbir uygulama yapılmadı)

2.2. Kan örneklerinin toplanması:

Deneme koyunlarından jugular kan örnekleri, hormon uygulamalarından 3 gün önce, uygulama günü ve uygulamanın bitimini izleyen 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. günlerde, 24 saat ara ile sabah saatlerinde toplandı. Kontrol grubundaki örneklemeler de diğerleri ile aynı günlerde yapıldı.

2.3. Örneklerin işlenmesi:

Toplanan kan örneklerinin plazmaları 2000 rpm de, 20 dakikada çıkartılarak, laboratuvar işlemlerine kadar -20°C derecede saklandı. Örneklerin tamamlanmasından sonra işlenmesi Konya Özel Nükleer Tıp Merkezi'nde, RIA yöntemi ile yapıldı.

RIA çalışmaları için;

Gamma sayıcı (Mini assay tip, 6-20), derin dondurucu, vorteks mikser, su banyosu (37°C dereceye ayarlı), yarı ve tam otomatik ayarlanabilir socorex pipetler (50 - 1000 MI) ve aksesuar laboratuvar aletleri ile,

^{125}I Progesteron Analiz Kiti, IMM 1024***

^{125}I Östradiol 17β Analiz Kiti, IMM 1018***

kitleri kullanıldı.

RIA çalışmaları LAEA¹⁸'nin tarif ettiği şekilde yapılarak örneklerde progesteron ve östradiol 17β değerleri araştırıldı.

2.4. Bulguların değerlendirilmesi:

RIA bulgularına göre progesteron düzeyi 1 ng/ml den düşük olan ve arama ko-

* Veramix, Sponge, 60 mg, Upjohn, İngiltere.

** Folligon, amp., 1000 UI, Intervet, Hollanda.

*** Immuchem Corp., A.B.D.

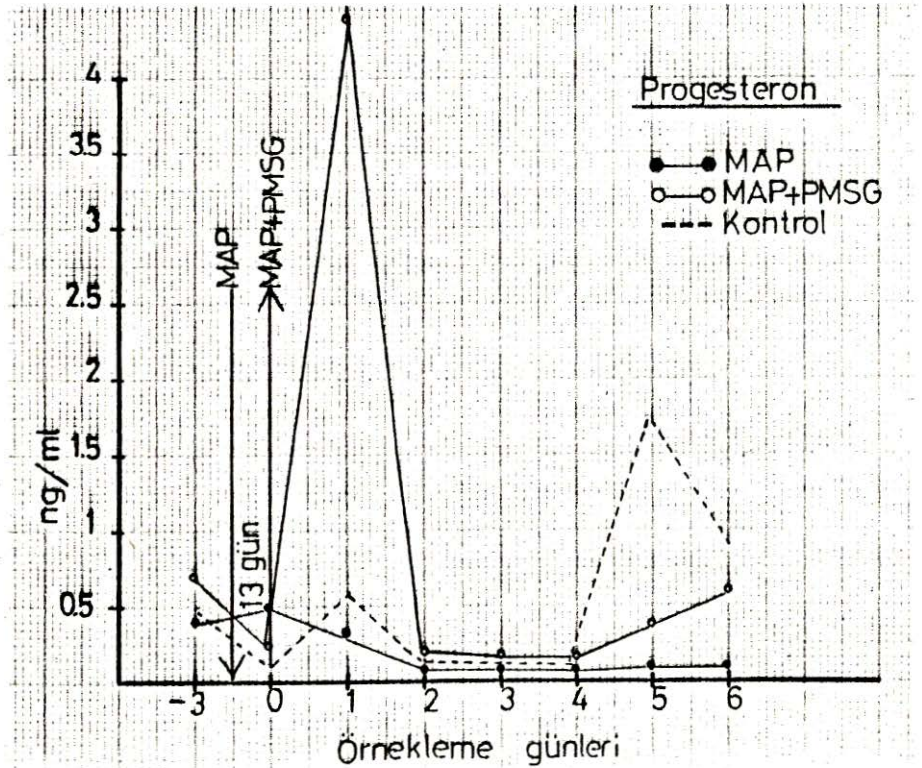
çuna ilgi göstermeyen koyunlar anöstrüste olarak kabul edildi. Çalışma sonunda doğumlar beklenerek uygulamaların fertiliteye etkileri araştırıldı. Bütün bulgular karşılaştırmalı olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışma bulguları tablo ve grafikler biçiminde özetlenmiştir.

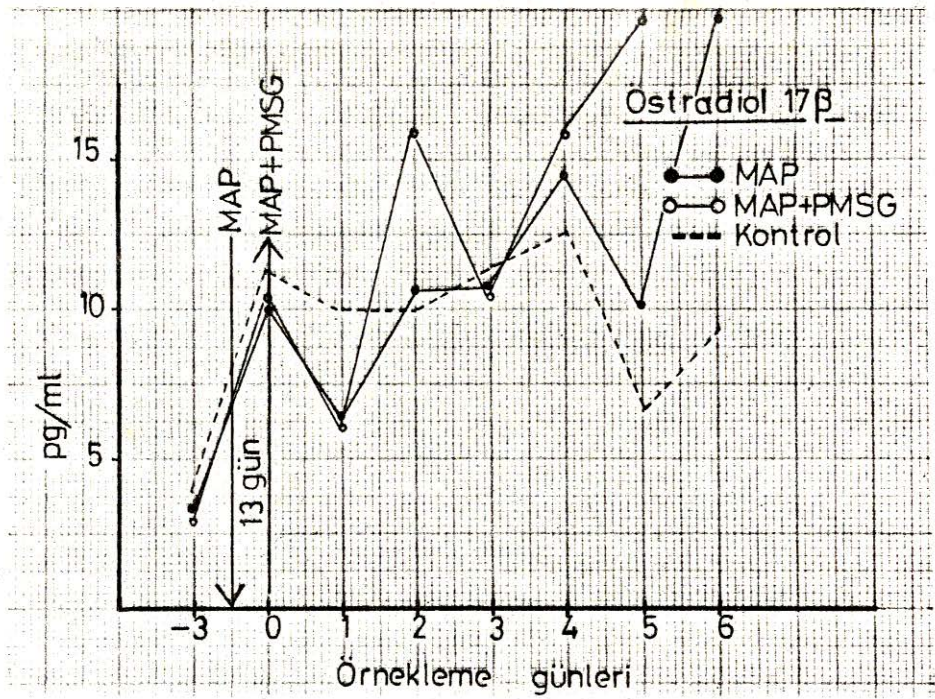
Tablo: I
Çalışma Gruplarında Senkronizasyon ve Fertiliteye İlişkin Bulgular

BULGULAR	ÇALIŞMA GRUPLARI		
	MAP	MAP + PMSG	Kontrol
N	10	10	10
Senkronizasyon oranı (%)	80	80	—
Östrüsün görüldüğü saat	69 st.	48 st.	—
İlk aşımında gebelik oranı (%)	70	70	—
Kuzulayan koyun sayısı	7	7	—
Doğan kuzu sayısı	12	13	—



Grafik: 1

Çalışma Sırasında Elde Edilen Progesteron Hormonu Değerleri (ng/ml)



Grafik: 2

Çalışma Sırasında Elde Edilen Östradiol 17 β Hormonu Değerleri (pg/ml).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Anöstrüsün son döneminde bulunan toplam 30 adet Merinos koyunu üzerinde, ovaryum fonksiyonlarının erken uyarılması amacıyla yapılan bu çalışmada, gerek MAP içeren vaginal süngerlerle gerekse MAP + PMSG uygulaması ile % 80 oranında senkronize östrüsler sağlanırken, hormon uygulanmayan kontrol grubunda hiçbir siklik aktivite belirlenmemiştir.

Senkronizasyon amacıyla uygulanan hormonların deneme koyunları üzerindeki etkileri klinik gözlemlerle ve RIA yöntemi ile kan serumunda ng/ml düzeyindeki progesteron ve pg/ml düzeyindeki östradiol 17 β yoğunlukları ölçülerek araştırılmıştır. Vaginal ve parenteral hormon uygulamalarından önce alınan kan örneklerindeki ölçümlerde progesteronun 1 ng/ml nin altında olması ve bu koyunların arama koçuna ilgi göstermemiş olması uygulamaların yapıldığı Temmuz ayının 2. yarısında tüm materyalin aşım sezonuna girmediğini ve uygulamaları izleyen serum progesteron ve östradiol 17 β değişimlerinin bu girişimlere bağlı olduğunu göstermektedir.

Gerek aşım sezonunda bulunan, gerekse anöstrüsteki koyunlar üzerinde yapılan çalışmalarda^{3,9}, progestagenlere ek olarak PMSG hormonu enjeksiyonu ile ovulasyon ve fertilizasyon şansının arttığı bildirilirken, Mutiga ve Baker¹⁹, progestagenlere ek olarak ısı ve ışık ayarlaması yapılmasının yararlı olacağını, Chemineau²⁰ ise sürüye koç katımı ile PMSG kullanmadan da yüksek oranda senkronizasyon sağlanabileceğini ileri sürmektedirler. Sunulan çalışmada ise MAP ve MAP + PMSG uy-

gülenen gruplarda senkronizasyon, fertilizasyon ve kuzulama oranları benzer olarak belirlenmiştir. Çalışma sırasında ısı ve ışık ayarlaması yapılmamış, ancak sabah akşam arama koçu dolaştırılmıştır. Ayrıca verilen kesif yem miktarı artırılarak deneme hayvanlarının kondisyonlarının yüksek tutulmasına çalışılmıştır.

Anöstrüs dönemindeki koyun ve keçiler üzerinde yapılan çalışmalarda^{15,16}, hormon uygulamalarına cevap veren hayvanlarda, uygulamanın bitimini izleyen 2-4. günlerde progesteron yoğunluğu 1 ng/ml nin altında olduğu, aşım sonrasında ise bu değerin üzerine çıktığı bildirilmektedir. Bu çalışmada da progesteron hormonu düzeyleri benzer değerleri göstermektedir (Grafik: 1).

Sunulan çalışmada belirlenen senkronizasyon ve fertilizasyon oranları, bazı literatür çalışmalardan^{13,14} yüksek bazılarıyla^{8,10} paralel bir görünümündedir.

Çalışma sırasında uygulamanın bitimini izleyen 6 gün süresince toplanan plazma örneklerinin hormon değerleri uygulamaların etkisini anlamak bakımından yeterli olmuştur. Bu konuda bazı araştırmacılar^{14,21}; uygulamaların bitimini izleyen 2-5 gün içinde senkronize östrüslerin görüldüğünü bildirmektedirler. Bu çalışmada da östrüsler, MAP grubunda 69. saatten, MAP + PMSG grubunda 48. saatten sonra başlamıştır.

Çeşitli araştırmacılar^{1,2,7}, MAP süngerlerinin uygulanmasından sonra 12-16 gün vaginada bırakılmasını ve genellikle anöstrüsteki koyunlarda bu sürenin daha kısa olmasını önermektedirler. Sunulan çalışmada 60 mg lık MAP süngerleri 13 gün süre ile uygulanmış ve yeterli sonuç alınmıştır.

Armitage¹⁷, vaginaya uyguladığı MAP süngerlerinin % 4.2 oranında kaybolduğunu bildirirken, bu çalışmada 2 olguda süngerlerin düştüğü görülmüş ve hemen yenilenmiştir.

Sonuç olarak, aşım sezonunda olduğu gibi anöstrüsteki koyunlarda da progesteronları içeren süngerlerin vaginada 13 gün süre ile tutulmasıyla ovaryumlarda sıklık faaliyetlerin % 80 oranında başlatılabileceği ve bu arada süngerlerin çıkartıldığı gün enjekte edilen PMSG hormonunun östrüslerin daha erken başlamasında ve doğan kuzu sayısının artmasında etkili olabileceği kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

1. GORDON, I.: Controlled Breeding in Farm Animals, Permagon Press, Oxford, 436 (1983).
2. MOORE, N.W.: Procedures and results obtainable in sheep and goats, 89-94, D.A. Morrow (Editor), In "Current Therapy in Theriogenology", W.B. Saunders Co., Philadelphia (1980).
3. OTTOBRE, J.S., LEWIS, G.S., THAYNE, W.V. and INSKEEP, E.K.: Mechanism by which progesterone shortens the estrous cycle of the ewe, Biology of Reproduction, 23, 1046-1053 (1980).
4. LANGFORD, L. and WOLYNETZ, M.S.: Reproductive response of progesterone treated sheep in confinement to a single and double insemination, J. Anim. Sci., 57, 2, 307-312 (1982).
5. MARINCOWITZ, G. and VAN TONDER, E.M.: Effect of intravaginal MAP-impregnated sponges and PMS on Merino ewes during the breeding season, S. Afr. Agric. Sci., 11, 523-530 (1968).

6. McDONNEL, F. and CROWLEY, J.P.: The effect of progesterone impregnated sponges of fertility in anestrus ewes, *Vet. Sci. Comm.*, 2, 115-130 (1978).
7. STABENFELDT, G.H.: Physiologic, pathologic and therapeutic roles of progestins in domestic animals, *JAVMA*, 172, 6, 667-675 (1974).
8. ECHTERNCAMP, S.E. and LUNSTRA, D.D.: Causes for decreased fertility in out-of-season mated ewes, *Theriogenology*, 10, 65-71 (1979).
9. HACKETT, E. and WOLYNETZ, M.S.: Effect of PMSG on the reproductive performance of totally confined ewes bred at synchronised estrus, *Theriogenology*, 17, 2, 215-221 (1982).
10. LANGFORD, G.A., MARCUS, G.J. and BATRA, T.R.: Seasonal effects of PMSG and number of inseminations on fertility of progesterone treated sheep, *J. Anim. Sci.*, 57, 2, 307-312 (1983).
11. QUIRKE, J.F., HANRAHAN, J.P. and SHEEHAN, W.: Effect of lactation on some aspects of reproduction in progestagen-PMSG treated ewes during the non-breeding season, *Ir. J. Agric. Res.*, 20, 1-8 (1981).
12. KINSER, A.R., GIBSON, M.F., VINCENT, D.L., SCHEFFRAHN, N.S. and KESLER, D.J.: Ovarian responses of seasonally anestrous ewes administered progesterone, PMS, HCG and GnRH, *Theriogenology*, 19, 3, 449-464 (1983).
13. EPPELSTON, J. and ROBERTS, E.M.: The effect of progestagen, PMSG and the time of insemination on fertility in ewes following intrauterine insemination with frozen semen, *Australian Veterinary Journal*, 63, 4, 124-125 (1986).
14. KILIÇOĞLU, Ç., ALAÇAM, E., İZGÜR, H. ve TEKELİ, T.: Koyunlarda embriyo nakli üzerinde çalışmalar, *Doğa Bilim Dergisi*, 8, 3, 257-270 (1984).
15. CHEMINEAU, P., GAUTHIER, D., POINIER, J.C. and SAUMANDA, J.: Plasma levels of LH, FSH, Prolactin, Oestradiol 17 β and Progesterone during natural and induced oestrus in the dairy goat, *Theriogenology*, 17, 3, 313-321 (1982).
16. ALAÇAM, E., ÖZSAR, S., KILIÇOĞLU, Ç., GUVEN, B., İZGÜR, H., TEKELİ, T. and GLATZEL, P.: Induction of oestrus in Saanen goats at early breeding season by intravaginal progesterone sponges (MAP) or by prostaglandin F₂ injections. Effect of different age groups, *Theriogenology*, 24, 3, 283-291 (1985).
17. ARMITAGE, D.: Estrous synchronisation in commercial sheep flocks in Alberta and Saskatchewan, *Can. Vet. J.*, 24, 236-237 (1983).
18. INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY: Laboratory Training Manual on Radioimmunoassay in Animal Reproduction, Technical Report Series, No: 233, IAEA, Vienna (1984).
19. MUTIGA, E.R. and BAKER, A.A.: Effect of reduced daylight length on oestrous occurrence and superovulatory response in ewes treated with follicle stimulating hormone during the non-breeding season, *Vet. Rec.*, 114, 13-15 (1984).
20. CHEMINEAU, P.: Effect of progestagen as buchu-induced short ovarian cycles in the creole meat goat, *Anim. Reprod. Sci.*, 8, 15-21 (1985).
21. ROBINSON, T.J.: The control of the ovarian cycle in the sheep, Sydney Univ. Press, Sydney (1967).