

## KOYUNLARDA DİÖSTRÜSÜN FARKLI GÜNLERİNDE ENJEKTE EDİLEN PROSTAGLANDİN F<sub>2α</sub>'NİN ENJEKSİYON-ÖSTRÜS, ENJEKSİYON-OVULASYON ARALIĞI VE FERTİLİTE ÜZERİNE ETKİSİ

M. Bozkurt Ataman<sup>1@</sup>

Mehmet Aköz<sup>2</sup>

### Effect of Prostaglandin F<sub>2α</sub> Injections during the Different Day of Oestrus on Injection-Oestrus, Injection-Ovulation Interval and Fertility in Ewes

**Özet:** Bu çalışmada koyunlarda seksüel siklusun farklı günlerinde uygulanan PGF<sub>2α</sub>'nin enjeksiyon-östrüs, enjeksiyon ovulasyon aralığı, gebelik ve doğum oranları üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı. Materyal olarak 30 baş Merinos x Akkaraman ırkı melezi koyun ve aynı ırktan 5 baş koç kullanıldı. Koyunlar 12 gün süreli FGA içeren vaginal sünger kullanılarak senkronize edildi. Koyunların tamamına sünger uzaklaştırılmadan 24 saat önce 0.294 mg Triaprost tromethamine enjekte edildi. Daha sonra 6 saat aralıklarla arama koçu yardımıyla östrüsler takip edildi. Koyunlar östrüs bitim saatleri dikkate alınarak üç gruba ayrıldılar. Östrüslerin bitim günü 0. gün olarak kabul edildi. Birinci gruptaki koyunlara (n:10) östrüs bitiminden 3 gün sonra, ikinci gruptaki koyunlara (n:10) östrüs bitiminden 6 gün sonra ve üçüncü gruptaki koyunlara (n:10) ise, östrüs bitiminden 9 gün sonra 0.294 mg Triaprost tromethamine enjekte edildi. Prostaglandin enjeksiyonlarından önce plazma progesteron seviyelerini belirlemek amacıyla 5 ml kan örnekleri V. jugularisten toplandı. Prostaglandin enjeksiyonunu takiben koyunların tamamına 400 IU PMSG enjekte edildi. Enjeksiyon-östrüs ve enjeksiyon ovulasyon aralığı birinci grupta üçüncü gruptan önemli (p<0.05) derecede düşüktü. Prostaglandin enjeksiyon günü progesteron seviyesi birinci grupta ikinci gruba göre daha düşüktü (p<0.05). Östrüs ve gebelik oranları açısından gruplar arasında farklılık gözlenmedi (p>0.05). Sonuç olarak; bu çalışmada koyunların ovulasyonu takiben 3. günde de prostaglandin enjeksiyonlarına yeterli düzeyde cevap verebildiği kanısına varıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Koyun, farklı gün, PGF<sub>2α</sub>

**Summary:** The objective of this trial was to determine the efficacy of prostaglandin injections on different days of estrous cycle to induce ovarian activity of ewes during the breeding season. Vaginal sponges containing 30 mg fluorogestone acetate (FGA) were inserted into the vagina of the ewes for 12 days. 0.294 mg Triaprost tromethamine, an analogue of PGF<sub>2α</sub>, was intramuscularly injected to all ewes one day before the withdrawal of sponges in three groups. Estrous of each ewe were followed using with teaser rams with the 6 hour interval and mean ovulation time were determined based on the completing of estrous. Animals were divided into three groups according the time of end of estrus. 0.294 mg Triaprost tromethamine were injected on day 3 (Group I), 6 (Group II) and 9 (Group III) after ovulation. Afterwards, PMSG at the dosage of 400 IU were injected to all of the ewes at the moment of prostaglandin injection. PGF<sub>2α</sub>-estrus, PGF<sub>2α</sub>-ovulation interval were significantly (P<0.05) shorter in the group I than in the groups II and III. Plasma progesterone level at the moment of PGF<sub>2α</sub> injections was statistically (p<0.05) lower in the group I than in the group II. On the other hands, estrus response and pregnancy rates were not statistically different (p>0.05) among the groups. As a result of in this study, injection of PGF<sub>2α</sub> on day 3 after ovulation was found to be effective to induce ovarian activity in ewes.

**Key Words:** ewe, different day, PGF<sub>2α</sub>

### Giriş

Koyunlar mevsimsel poliöstrik hayvanlardır. Koyunlarda sezon içerisinde östrüs senkronizasyonu

amacıyla progestagenler genellikle sünger formunda ve prostaglandinler (PG) farklı başarı oranlarıyla (%67-86) kullanılmaktadır. PGF<sub>2α</sub> koyunlarda luteolitik faktör olarak uterusdan izole edilmiş (Mc Crac-

ken et al 1972) ve sentetik formları prematür luteolizis için geliştirilmiştir (Acritopoulou and Haresign 1980). Siklik koyunlara tesadüfi olarak uygulandığında luteal regresyona sebep olmaktadır. PG'ler koyunlarda seksüel siklusun 12-14. günleri arasında uterus endometriumiundan salgılanmakta ve corpus luteumun (CL) faaliyetini sonlandırmaktadır (Chamley ve ark 1972). Bu sebeple başarılı bir östrüs senkronizasyonu için 9 gün arayla çift doz uygulanmakta ve yüksek oranda östrüs cevabı alınabilmektedir (Gordon 1997). Boland ve ark. (1978) prostaglandinlerle senkronizasyonu takiben fertilité oranlarının çok değişken olduğunu ifade ederlerken, Haresign (1980) ise fertilité oranlarının değişmediğini vurgulamaktadırlar.

PG uygulamalarının ve uygulama günlerinin ovulasyon oranları üzerine farklı şekilde etkili olduğu kimi araştırmacılar tarafından ifade edilmektedir (Gordon 1997, Houghton et al 1995). PG enjeksiyonundan ovulasyona kadar geçen süre ortalama 70 saat olmasına rağmen (Gordon 1997), östrüs başlangıç zamanı ve preovulatorik LH piki zamanı ve PG'nin seksüel siklusun hangi gününde enjekte edildiğine göre değişebilmektedir (Houghton et al 1995). Enjeksiyon östrüs aralığı arasındaki süredeki değişimler luteolizis esnasında follikül varlığına göre de değişebilmektedir (Acritopoulou and Haresign 1980). Ayrıca, bu süre PG enjeksiyonunun yapıldığı güne göre de değişmektedir. Siklusun ilk günlerine tesadüf eden uygulamalarda bu süre kısaltılmakta ve bu süre progesteron hormonunun bazal seviyesine düşmesi için gereken süreye göre değişmektedir (Houghton et al 1995).

Sunulan bu çalışmada seksüel siklusun farklı günlerinde uygulanan PGF<sub>2α</sub>'nın enjeksiyon-östrüs aralığı, gebelik ve doğum oranları üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

### Materyal ve Metot

Bu çalışmada materyal olarak 30 baş Merinos x Akkaraman ırkı melezi koyun kullanıldı. Koyunlar vaginal sünger (Chronogest, grey sponges, Intervet-

Türkiye) kullanılarak senkronize edildi. Süngerler 12 gün süreyle vaginada tutuldu. Sünger uzaklaştırılmadan 24 saat önce 0.294 mg Triaprost tromethamine (Iliren, Intervet, Türkiye) enjekte edildi. Daha sonra 6 saat aralıklarla arama koçu yardımıyla östrüsler takip edildi. Koyunun koçu reddettiği, alta durmaması östrojen bitimi olarak kabul edildi. Koyunlar östrüs bitim saatleri dikkate alınarak (ovulasyonun östrüs bitiminden 6-10 saat önce şekillendiği ve östrüs bitim zamanları arasında en fazla 12 saat olacak şekilde) üç gruba ayrıldılar. Östrüslerin bitim günü 0. gün (östrüs bitiminden 6 saat öncesi) olarak kabul edildi. Birinci gruptaki koyunlara (n: 10) östrüs bitiminden 3, ikinci gruptaki koyunlara (n: 10) östrüs bitiminden 6 ve üçüncü gruptaki koyunlara (n: 10) ise; östrüs bitiminden 9 gün sonra 0.294 mg Triaprost tromethamine enjekte edildi. PG enjeksiyonlarından önce plazma progesteron seviyelerini belirlemek amacıyla 5 ml kan örnekleri V. jugularisten toplandı. PG enjeksiyonunu takiben koyunların tamamına 400 IU PMSG (Foligon, Intervet, Türkiye) enjekte edildi. PMSG enjeksiyonlarını takiben 6 saat aralıklarla östrüs takibi yapıldı. İlk östrüs tespiti ile enjeksiyon zamanı arasındaki süre enjeksiyon östrüs aralığı, erkeği ret (bu saatten 6 saat çıkarılarak) ile ilk enjeksiyon aralığı ise enjeksiyon ovulasyon aralığı süre olarak kabul edildi. Östrüste oldukları belirlenen koyunlara elde aşım uygulandı. Gebelikler aşımı takiben 45. günde real time B-mode ultrasonla gerçekleştirildi. Progesteron seviyeleri EIA yöntemi yardımıyla TAEK 'de belirlendi. Verilerin istatistiki olarak değerlendirilmesinde t-test kullanıldı.

### Bulgular

Tablo 1'den de izlenilebileceği üzere enjeksiyon östrüs ve enjeksiyon ovulasyon zamanları arasında I ve III. gruplar arasında istatistiki önem belirlenirken (p<0.05), diğer gruplar arasında herhangi bir farklılık gözlenmedi (p>0.05). Öte yandan PG enjeksiyonu öncesi progesteron değerleri açısından I ve II. grup arasındaki farklılık önemli olarak belirlenirken (p<0.05), diğer gruplar arasındaki farklılıklar önemsiz

Grup	Enjeksiyon-östrüs aralığı (saat)	Enjeksiyon-ovulasyon aralığı (saat)	PG enjeksiyonu anındaki P4 değeri (ng/ml)	Östrüs oranı (%)	Gebelik oranı (%)
I	47.8±2.80 <sup>a</sup>	66.8±2.984 <sup>a</sup>	1.1±0.10 <sup>a</sup>	80 <sup>a</sup>	70 <sup>a</sup>
II	54.6±3.44 <sup>ab</sup>	71.2±3.40 <sup>ab</sup>	1.6±0.15 <sup>b</sup>	90 <sup>a</sup>	80 <sup>a</sup>
III	59.2±3.39 <sup>b</sup>	75.6±2.36 <sup>b</sup>	1.48±0.16 <sup>ab</sup>	100 <sup>a</sup>	90 <sup>a</sup>

a, b: P<0.05, a, ab: p>0.05

olarak belirlendi ( $P>0.05$ ).

Östrüs ve gebelik oranları açısından herhangi bir önem tespit edilmedi ( $p>0.05$ ).

### Tartışma ve Sonuç

Bu çalışma göstermektedir ki 3 günlük corpus luteuma sahip koyunlar  $PGF_{2\alpha}$  enjeksiyonlarına karşı duyarlıdır. Koyunların % 80'i PG enjeksiyonundan ortalama 41 saat sonra östrüs gösterdiler ve ortalama 61 saat sonra ise östrüsler tamamlandı.  $PGF_{2\alpha}$  enjeksiyonu ile östrüslerin başlama zamanları arasındaki süre birinci grupta diğer gruplara göre oldukça kısa olarak şekillendi. Bu durumun luteal regresyonun uyarıldığı günle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Öte yandan diğer araştırmacılar ovulasyon oranının (Bindon ve ark. 1970) ve östrüs sürelerinin (Acritopoulou ve Haresign 1980)  $PGF_{2\alpha}$  uygulama gününden etkilenmediğini vurgulamaktadırlar. Acritopoulou ve Haresign (1980), östrüs tespitinden 5, 8 ve 11 gün sonraki cloprostenol enjeksiyonlarının takiben enjeksiyon - östrüs aralığının sırasıyla 33, 40 ve 46 saat olarak şekillendiğini belirtmektedirler. Östrüslerin başlama zamanının artması seksüel siklusun ilerlemesine bağlı olarak progesteron seviyesindeki artışa bağlanmaktadır.

Sunulan çalışmada gruplarda östrüs oranları sırasıyla %80, %90 ve %100 olarak şekillenmiştir. Çalışmada enjeksiyonlar sonrası birinci grupta 2 ve ikinci grupta ise 1 koyunda östrüs şekillenmemiştir. Birinci grupta iki koyunda östrüs şekillenmemesi, bu grupta  $PGF_{2\alpha}$  enjeksiyonlarının seksüel siklusun ilk günlerine tesadüf etmesinden kaynaklanmış olabilir. Nitekim bu dönemdeki luteal hücrelerin genç luteal hücreler olduğu, hatta bu dönemde  $PGF_{2\alpha}$  duyarlı hücrelerin reseptörlerinin LH hormonu reseptörleri tarafından bloke edildiği ifade edilmektedir (Çoyan ve Tekeli 1996). Sunulan bu çalışmada da birinci gruptaki koyunların bazılarında PG enjeksiyonlarının genç hücrelere tesadüf etmesine bağlı olarak östrüsler şekillenmemiş olabilir.

Enjeksiyon östrüs aralığı ve enjeksiyon-ovulasyon aralığı birinci grupta iki ve üçüncü gruba göre daha kısa sürede şekillendi. Bu duruma birinci grupta yer alan koyunlarda corpus luteumun henüz yeni şekillenmiş olması ve  $PGF_{2\alpha}$  enjeksiyonlarından sonra progesteronun bazal seviyesine inmesi için gereken sürenin bu grupta daha kısa olmasına bağlanabilir. Nitekim Kaya ve ark (2000); ineklerde corpus luteum çapı ve ağırlığı ile progesteron seviyesi arasında önemli ölçüde korelasyon tespit ettiklerini ifade etmektedirler. Ovulasyonu takiben

seksüel siklus süresi ilerledikçe corpus luteumun çapı artmakta ve buna bağlı olarak progesteron miktarında artış şekillenmektedir. Sonuç olarak gram luteal doku başına düşen progesteron miktarı artmaktadır. Bunlara ilaveten  $PGF_{2\alpha}$ -ovulasyon aralığı ve ovulasyon oranı üzerine uygulama sonrası görülen yeni folliküler gelişim dalgası, ovulator follikülün dominant kalma süresinin de etkili olduğu belirtilmektedir (Rubianes ve ark 2003). Sunulan çalışmada da böyle bir etkinin oluşması muhtemeldir. Nitekim bu çalışmada da üç grupta da östrüs gösterdikleri tespit edilen koyunlardan birer tanesinin gebe kalmaması embriyonik ölüm vb sebeplerin yanı sıra folliküler dalgaya, ovulatör follikülün dominant kalma süresinin ovulasyon oranlarını etkilemiş olabileceğine bağlanabilir.

Öte yandan koyunlarda ovulasyondan sonraki günlerde  $PGF_{2\alpha}$  uygulamasının etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada (Rubianes ve ark. 2003), 1.grup koyunlara ovulasyondan sonraki 1. gün, 2. gruba 3. gün ve 3.gruba ise 5. gün  $PGF_{2\alpha}$  analogu olan delprostenate (Glandinex) 160  $\mu$ g uygulanmıştır. Ovulasyonlardan sonra transrektal ultrasonografi ile ovaryumlar izlenmiştir. 2. ve 3. grubun tamamında, 1.grup da 1 koyunda östrüs görüldüğü ve ovulasyonların takip ettiği, belirgin bir şekilde progesteron serum konsantrasyonunda düşüş belirlenmiştir. 8'er koyundan oluşan gruplardan 1. grupta 7 koyun  $PGF_{2\alpha}$ 'ya cevap vermemiştir. Östrüs ve ovulasyon gösterenlerde gruplara göre sıra ile,  $PGF_{2\alpha}$ -östrüs aralığı 1.grupta 48 saat, 2.grupta  $39\pm 3.8$  saat, 3.grupta ise  $48\pm 2.3$  saat olarak tespit edilirken,  $PGF_{2\alpha}$ -ovulasyon aralığı 1.grupta 60 saat, 2. grupta 60 saat, 3. grupta  $67.5\pm 5$  saat olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, siklusun 5-6. günü (ovulasyondan sonraki 4-5. gün) verilen  $PGF_{2\alpha}$  seksüel siklusun 3 günlük corpus luteum,  $PGF_{2\alpha}$ 'nın luteolitik etkisine duyarlı olduğu vurgulanmaktadır. Araştırmada 3 günlük corpus luteumların tümü lize olarak serum progesteron konsantrasyonlarında belirgin düşüşler olduğu bildirilmiştir. Sunulan çalışmada iki ve üçüncü gruptan elde edilen enjeksiyon ovulasyon aralığı, araştırmacıların bildirdikleri değerden yüksek olarak belirlenmiştir. Ayrıca, sunulan çalışmada da ovulasyonu takiben 3.günde PG enjeksiyonları sonrası progesteron seviyesinde belirgin bir düzeyde düşüş tespit edilmiştir. Değerler üzerine ırk, uygulama sezonu, bireysel farklılıklar gibi faktörlerin etkili olduğu düşünülmektedir.

$PGF_{2\alpha}$  enjeksiyonları anındaki progesteron düzeyleri incelendiğinde bu seviyenin östrüs bitiminden 3 gün sonra enjeksiyon yapılan koyunlarda

6 gün sonra enjeksiyon yapılan koyunlara göre daha önemli ölçüde ( $p < 0.05$ ) düşük seviyede ve 9 gün sonra enjeksiyon yapılan koyunlara göre rakamsal olarak düşük olduğu belirlendi. Bu duruma birinci grupta östrüs bitiminden sonra henüz birkaç gün geçmiş olmasına ve corpus luteumun yeni şekillenmesinin sebep olduğu düşünülmektedir.

Çalışmada gruplardan elde edilen östrüs (%80, %90 ve %100) ve gebelik oranları (%70, %80 ve %90) oranları koyunlar üzerinde yürütülen diğer araştırmalarda (Horoz ve ark 1999, Öztürkler ve ark 2003) bildirilen sınırlar içerisinde yer almakta ve karşılaştırılabilir oranlardadır. Üstelik senkronizasyon oranları progesteron sponjları kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda (Aghdam ve ark 2002, Beck ve ark 1996, Das ve ark 2000, Öztürkler ve ark 2003) elde edilen oranlara benzer olarak tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada elde edilen gebelik oranları diğer çalışmalarda (Beck ve ark 1993, Knights ve ark 2001, Menegatos ve ark 2003, Uçar ve ark 2002) farklı yöntemler kullanılarak elde edilen gebelik oranları sınırları içerisinde kalmıştır.

Sonuç olarak; bu çalışmada koyunlarda ovulasyonu takiben 3. günde de prostaglandin enjeksiyonlarına cevap verebilecek korpus luteumların geliştiği ve yeterli düzeyde cevap verebildiği, memnuniyet verici seviyelerde östrüs ve ovulasyon oranları sağladığı kanısına varıldı.

### Kaynaklar

Acritopoulou S and Haresign W (1980) Response of ewes to a single injection of an analogue of PGF<sub>2α</sub> given at different stages of the oestrous cycle, *J Reprod Fertil*, 58, 219-223

Aghdam HR, Birlir S, Alkan S and Pabuçcuoğlu S (2002) Kıvrıkcık ırkı koyunlarda mevsim içi ve mevsim dışı östrüs senkronizasyonu ve embriyo transfer çalışmaları, *IU Vet Fak Derg*, 28, 475-487

Beck NFG, Davies B and Williams SP (1993) Oestrous synchronization in ewes: The effect of combining a prostaglandin analogue with a 5-day progestagen treatment, *Anim Prod*, 56, 207-210

Beck NFG, Jones M, Davies B, Peters AR and Williams SP (1996) Oestrous synchronization in ewes: the effect of combining a prostaglandin analogue with a GnRH agonist (buserelin), *Animal Science*, 62, 85-87

Bindon BM, Blanc MR, Pelletier J, Terqui M and Thimonier J (1976) Periovarian gonadotrophin and ovarian steroid patterns in sheep of breeds with differing fecundity. *J Reprod Fertil*, 55 (1), 15-25

Boland MP, Gordon IR and Kelleher DL (1978) The effect of treatment by prostaglandin analogue (ICI-80996) or progestagen (SC-9880) on ovulation and fertilization in cyclic ewes, *J Agric Sci*, 91, 727-730

Chamley WA, Buckmaste JM, Cain DM, Cerini J, Cerini

ME, Cumming IA and Goding JR (1972) The effect of prostaglandin F<sub>2α</sub> on progesterone, oestradiol and luteinizing hormone secretion in sheep with ovarian transplants, *J Endocrinol*, 55, 253-263

Çoyan K ve Tekeli T (1996) İneklerde hormonların riprodüktif kullanımı, İçinden 'İneklerde Suni Tohumlama' 58-65, Baçivanlar Basımevi, Konya

Das GK, Naqvi SMK, Gulyani R, Pareek SR and Mittal JP (2000) Effect of two doses of progesterone on estrus response and fertility in acyclic crossbred Bharat merino ewes in a semi-arid tropical environment. *Small Rum Res*, 37, 159-163

Gordon IR (1997) Artificial control of oestrus and ovulation. In 'Controlled reproduction in sheeps and goats' Edited by IR Gordon, vol 2, 87-89, CAB international, New-york

Haresign W (1980) Controlling reproduction in sheep, *Span Prog Agric* 23, 88-91

Horoz H, Ak K, Kılıçarslan R ve Sönmez C (1999) Üreme mevsimindeki Sakız koyunlarında PGF<sub>2α</sub> ile östrüs senkronizasyonunun serum progesterone, östradiol 17-β ve LH üzerine etkisi, *IU Vet Fak Derg*, 25, 89-96

Houghton JAS, Liberati N, Schrick FN, Townsend EC, Dailley RA and Inskeep EK (1995) Day of estrous cycle affects follicular dynamics after induced luteolysis in ewes, *J Anim Sci*, 73, 2091-2101

Kaya A., Erdem H, Aksoy M ve Tekeli T (2000) İneklerde corpus luteumun morfolojik özellikleri ve endokrinolojik aktivitesi arasındaki ilişkinin araştırılması, *Vet Bil Derg*, 10, 1-2, 7-10

Knights M, Maze TD, Bridges PJ, Lewis PE and Inskeep EK (2001) Short-term treatment with a controlled internal drug releasing (CIDR) device and FSH to induce fertile estrus and increase prolificacy in anestrous ewes, *Theriogenology*, 55, 1181-1191

Mc Cracken JA, Carlsson JC, Glew ME, Goding JR, Baird DT, Gren K and Samuelson B (1972) Prostaglandin F<sub>2α</sub> identified as a luteolytic hormone in sheep, *Nature*, 238, 129

Menegatos J, Chadio S, Kalogiannis T, Kouskoura T and Kouimtzi S (2003) Endocrine events during the peri-estrous period and the subsequent estrous cycle in ewes after estrus synchronization, *Theriogenology*, 59, 1533-1543

Öztürkler Y, Çolak A, Baykal A ve Güven B (2003) Combined effect of a prostaglandin analogue and a progestagen treatment for 5 days on estrus synchronization in Tushin ewes. *Indian Vet J*, 80, 917-920

Rubianes E, Menchaca A and Carbajal B (2003) Response of the 1-5 day-aged ovine corpus luteum to prostaglandin F<sub>2α</sub> *Anim Reprod Sci*, 78, 47-55

Uçar M, Gündoğan M, Özdemir M, Tekerli M, Eryavuz A, Saban E ve Özenç E (2002) Değişik ırk koyunlarda progesterone+eCG ile östrüslerin senkronize edilmesi ve havansal kolesterol ile progesterone seviyelerinin araştırılması, *Vet Bil Derg*, 18, 79-85