

## ANKARA KEÇİLERİNDE ANÖSTRUS DÖNEMDE ÖSTRÜS AKTİVİTESİNİN İNDÜKLENMESİ VE FERTİLİTE KONTROLÜ

Bülent GÜVEN<sup>1</sup>

Semin ÖZSAR<sup>1</sup>

Muzaffer ÇELEBİ<sup>1</sup>

Hüseyin SUNGUR<sup>2</sup>

Tahir GONCAGÜL<sup>2</sup>

**Induction of estrus activity during anestrus period in the Angora goat and fertility control.**

### SUMMARY

The effect of MAP (Medroxy Progesterone Acetate) with PMSG (Pregnant Mare serum gonadotropin) was examined in 29 nature anestrus Angora Goats. Each animal received the treatment of 60 mg MAP-impregnated vaginal sponges for 14 d and 500 IU PMSG 48 hours before sponge removal. Libido activity in three bucks was induced with daily injection of 1000 IU PMSG and 25 mg Testosterone per animal over a period of 20 days and was proved by testosterone RIA in the blood samples collected every other day.

All does exhibited estrus activity 48-60 h following sponge removal. Nineteen does were naturally mated with the bucks. While 10 does were artificially inseminated twice using pre-frozen buck semen (200 x 106 spz/does, 45-50 % post-thawing motility) after teasing with bucks.

The overall conception rate based on progesterone-EIA (> 1.5 ng/ml on day 20 following insemination) was 41.4 %, comprising 9 animals (47.4 %) in naturally-mated group and 3 animals (30 %) in artificially-inseminated group. Throughout the gestation 4 abortions (2-3 m) and 6 stillbirths were observed. Therefore, fertility rate was very low (7 %).

**KEY WORDS :** Angora goat, estrus induction.

### ÖZET

Yirmidokuz erişkin Ankara keçisinde MAP (Medroxy Progesterone Acetate) ve PMSG'nin anöstrüs dönemindeki etkisi çalışıldı. Her bir hayvana 14 gün süreyle intravaginal progesteron süngeri (MAP) ve süngerin çıkarılmasında 48 saat önce 500 IU PMSG enjeksiyonu uygulandı.

Üç tekeye libido aktivitesini indüklemek için, 20 gün süreyle her gün 1000 IU PMSG ve 25 mg testosteron enjeksiyonu yapıldı. Her iki günde bir toplanan kan örneklerinde RIA ile testosteron tayini yapılarak libido aktivitesi gösterildi.

Süngerin çıkarılmasından 48-60 saat içerisinde bütün keçiler östrüs aktivitesi gösterdi. Ondokuz keçi tabii olarak tohumlandı ve 10 keçide ise arama tekesi kullanılarak östrüsler belirlendi ve dondurulmuş teke sperması ile (200x10 spermatozoit/doz, % 45-50 çözünme sonrası motilite) sun'i olarak tohumlandı.

Progesteron-EIA ile (tohumlama sonrası 20. günde 1.5 ng/ml) gebelik oranı % 41.4 olarak bulundu. Bunların % 47.4'ü (9 hayvan) tabii tohumlanan, %30'u (3 hayvan) ise suni tohumlanan grupta idi. Gebelik süresince 4 yavru atma (2-3 aylık) ve 6 ölü doğum gözlemlendi. Böylece fertilitte oranı % 7 olarak belirlendi.

Sonuç olarak, MAP ve PMSG uygulamaları ile Ankara keçilerinde derin anestrusta, östrüs aktivitesini indüklemeye başarılı olunmasına rağmen, fertilitte oranı düşük bulunmuştur. Bu konuda daha detaylı çalışma yapılması gerektiği kanısına varıldı.

**ANAHTAR KELİMELER:** Ankara Keçisi, Östrüs'ün uyarılması.

### GİRİŞ

İlman iklim bölgesinde yetiştirilen küçükbaş çiftlik hayvanları, mevsime bağlı olarak sadece sınırlı bir zaman aralığında üreme aktivitesi gösterip üretilebilmektedirler. Bu hayvanların çeşitli hormon uygulamaları ile, sıfat mevsimini değiştirmek ve normal sıfat mevsimi dışında da tohumlanabilmelerine ve böylece iki yılda üç veya yılın her mevsiminde yavru verimi elde edilebilmesine olanak sağlamak son yıllarda çeşitli araştırmalara konu olmuştur (3,5,7,9,15,17).

Laktasyon sırasında veya sıfat mevsimi dışında, başarılı bir üretim, hem östrüs hem de ovulasyonun indüklenmesini gerektirir. İlaçla veya eksojen hormonlar keçilerde süper ovulasyon ve östrüs sinkronizasyonu için uygulanmıştır (2,11,20). Yapılan çalışmalarda progesteronun PMSG (veya FHS-p) (domuz-FHS) ile birlikte kullanılması üreme performansındaki mevsimsel etkiyi azaltmada etkili olmuştur. Çalışmaların çoğunda gebe kısarak gonadotropini (PMSG)'nin uzun yarı ömrü ve tek ovulasyon yapmayan fazla miktarda folikül oluşturması bir

dezavantaj olarak kabul edilmektedir. Alternatif olarak FHS-p'nin kullanılmasının daha avantajlı olduğu düşünülmektedir (1). FHS-p daha kısa yarı ömürlü süperovulasyon için kullanımda E2'nin, progesteronun ve LH'nin periöstrüs endokrin profillerini üretmeye PMSG'ye göre daha meyillidir.

Mevsimsel anestrusta endokrin olaylar zinciri, korpus luteum olmadığı için, normal siklustaki gibi başlayamaz. Bu LH sekresyonu üzerine kuvvetli bir negatif feed-back (başa tepki) etkisi gösterir ve LH'nin en yüksek düzeye ulaşmasından önceki bazal artışını inhibe eder (7). Böylelikle, endojen progesteronun yokluğunda pozitif feed back için gerekli, akut veya kronik progesteron uygulamaları ile luteal faz progesteron konsantrasyonu elde edilir. Genellikle progesteronun harekete geçici etkisi, intra-vaginal sünger kullanılarak gerçekleştirilmektedir.

Ankara keçilerinde, bu yönde yapılan çalışmalarda Westhuysen (19), progesteron ile muamele edilen anöstrüs keçilerde büyük oranda gizli ovulasyon bildirmekle birlikte, Wentzel ve Müller (20) oldukça yüksek başarı elde etmişlerdir.

Özsar ve ark. (12) ise, anöstrüsten östrüsten geçiş döneminde, MAP uygulamalarında tabii tohumlama ile % 100 ge-

(1) T.A.E.K.Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsü- 06852 Lalahan/Ankara.

(2) T.K.B. Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü. 06852 Lalahan /Ankara.



belik oranı elde etmişlerdir.

Ankara keçilerinde yavrulama frekansının artırılması yönünde yapılacak araştırmaların bir çok ekonomik avantajı vardır. İyi ve kontrollü şekilde uygulanan üreme çalışmaları ile yavru veriminin, tiftik ve kalitesinin artırılması, suni tohumlamanın da uygulanmasıyla, kaliteli damızlık tekelerin genetik potansiyelinden daha fazla istifade etmek mümkün olacaktır. Bu çalışmada, Ankara keçilerinde anöstrusta MAP+PMSG uygulamasıyla östrusun ve ovulasyonun indüklenmesi, suni ve tabii tohumlama ile fertilitite oranlarının karşılaştırılması amaçlandı.

## MATERYAL VE METOD

Çalışmada Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsüne ait 30 baş Ankara keçisi kullanıldı. Çalışmalara, bölgede Ankara keçileri için, derin anöstrus dönem olan mayıs ayında başlandı. Uygulamadan bir ay önce başlayarak progesteron hormon tayini için haftalık kan örnekleri alındı. Örnek toplamaya çalışma sırasında, haftada 2 kez olarak devam edildi. Bütün keçilere 14 gün süreyle intravaginal progesteron süngerini MAP (60 mg Medroxy progesterone acetate, Upjohn) uygulandı. Uygulama sırasında sadece bir keçi süngerini düşürdü. Sünger çıkarılmadan 48 saat önce, keçi başına 500 IU PMSG (gebe kısırak serum gonadotropini, Intervet, Chrono gest) enjekte edildi.

Sünger uygulaması ile aynı zamanda başlayarak 3 tekeye 21 gün süreyle, her üç günde bir 1000 IU PMSG ve 25 mg Testosteron (Sustanon 100, Organon) enjekte edildi.

Ondokuz keçi, süngerleri çıkarıldıktan 48-60 saat sonra tekelerle bırakılarak tohumlandı. On keçi ise daha önce sıfat mevsimi sırasında uygun dilüent (0.9 g glukoz, 20 ml yumurta sarısı, 10 g yağsız süt tozu, 7.0 ml gliserol/100 ml distile su ile tamamlandı) ile tek aşamada yıkanmadan dondurulan, çözme sonrası % 45-50 motilite gösteren  $200 \times 10^6$  spermatozoit/doz kullanılarak sabah akşam ikişer kere intraservikal tohumlandı. Tohumlama öncesi arama tekesi kullanılarak kızgınlık tayini yapıldı.

Tohumlamayı takiben 21. günde gebelik tayini için EIA (enzymimmunoassay) ile progesteron tayin edildi. EIA ekstraksiyon yapılmadan serumun 1:20 sulandırılmasıyla uygulandı (8). Serum testosteron düzeyleri RIA (radyuimmunoassay) ile tayin edildi (13).

## BULGULAR

Keçilerin tamamında, sünger çıkarılmadan 48-60 saat içinde östrus belirtileri gözlemlendi. Tohumlama sırasında keçilerde ortalama progesteron düzeyi  $0.19 \pm 0.08$  ng/ml olarak bulundu. Tohumlamadan sonraki 21. günde progesteron miktarı, keçilerin 12' sinde (% 41.4 > 1.5 ng/ml, ortalama  $4.24 \pm 2.04$  ng/ml olarak bulundu. Geri kalan 17 keçide (% 58.6) ise progesteron düzeyi 0.35 ng/ml'nin altında (ortalama  $0.21 \pm 0.1$  ng/ml) tayin edildi.

Testosteron-PMSG enjekte edilen tekelerde, enjeksiyon öncesi serum testosteron düzeyi ortalama  $1.356 \pm 0.529$  ng/ml iken, enjeksiyon sonrası bu miktarlarda hızlı bir artış tesbit edildi. Testosteron düzeyi deneme boyunca ortalama  $11.31752 \pm 4.445$  ng/ml olarak bulundu. Tohumlama sırasında tekelerde libido aktivitesi çok iyi olarak değerlendirildi.

Progesteron verilerine göre tabii tohumlanan 19 keçiden 9'u (% 47.4), suni tohumlanan 10 keçiden 3' ü (%30) gebe olarak saptandı. Gebelik süresince kontrol edilen hayvanların 4 tanesinin yavru attığı, 6'sının ölü doğum, 2'sinin ise normal doğum yaptığı tespit edildi (Tablo 1).

Tablo 1. Sıfat mevsimi Dışında Üreme Aktivitesi İndüklenen Ankara Keçilerinde Yavru Verimi

Tohumlama Şekli	Keçi Sayısı	Gebe Kalan Keçi Sayısı	Abort Yapan Keçi Sayısı	Doğum Canlı Ölü
Suni Toh.	10	3	2	- 1
Tabii Toh.	19	9	2	2 5

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, genel fertilitite oranı düşük elde edilmiştir. Gebelik oranlarının tabii tohumlananlarda % 47.4 suni tohumlanmalarda ise %30 olmasına karşılık doğum oranları oldukça düşük bulunmuştur.

Corteel ve ark. (2,3), sıfat mevsimi dışındaki MAP ve FGA-PMSG uygulamalarında Alpin keçilerde  $200 \times 10^6$  sperma dozu ile % 54.8 fertilitite oranı elde ederken, aynı şartlarda Sannen keçilerde % 64.8 fertilitite elde etmişlerdir. Killian ve ark. (6) anöstrus koyunlarda FGA-PMSG uygulaması ile % 55 östrus oranı bildirmişlerdir. Koyunlarda anöstrustan östrusa geçişte ise FGA-PMSG uygulamasını takiben tabii tohumlama ile % 58.5 gebelik oranı bulunmuştur (4). Ankara keçilerinde daha önce yapılan bir çalışmada anöstrustan östrusa geçişte MAP ile tabii tohumlama kullanılarak %100 sinkonizasyon ve gebelik oranı elde edilmiştir (12). Keçilerin tabii veya suni tohumlamalarındaki başarı, bir çok faktöre bağlıdır. Fertilitite, derin anöstrus şartlarının indüklenerek aktif hale getirilmesine kıyasla, sıfat mevsiminde daha yüksektir (3). Sıfat mevsimi sırasında bazı araştırmacılar, suni uterin veya servikal tohumlama ile % 66 olan fertilititeyi tabii tohumlama ile % 80'e kadar çıkartabilmişlerdir (1). Ayrıca motil sperm sayısının artırılmasıyla da fertilitite oranını yükseltmek mümkün olabilmektedir (10).

Sıfat mevsimi dışında ise östrus ve fertil ovulasyonun, sinkonizasyon ve stimülasyonu için progesteron salınımını veya diöstrusu başlatmak gerekir. Şimdiye kadar küçük baş hayvanlarda sıfat mevsimi dışında yapılan östrus ve ovulasyonu indükleme çalışmalarında MAP veya FGA kendi başına yetersiz kalırken, PMSG, LH, FSH veya HMG ( humal menaposal gonadotropin) ile kombine bir şekilde kullanılması başarı oranını artırmaktadır (3,16). PMSG uygulanmış ve süper ovulasyon gösteren keçilerde indüklenen corpus luteumun, erken regresyon riski vardır (6). Bu da kısa sikluslarla sonuçlanır ve ayrıca da embrionik ölüme de neden olur. Nitekim çalışmamızda progesteron hormon analizi ile 20. günde gebe olduğu saptanan 4 keçide, daha sonra 2.5-3 aylık yavru atma gözlemlendi. Bunun sebebi luteal fazın kısalmasından dolayı uterus ve embrio arasındaki sinkonizasyon bozukluğu olabilir.

Son zamanlarda PMSG'ye alternatif olarak kullanılan FHS-P'nin kısa biyolojik yarı ömrü ile PMSG gibi fertilititeyi deprese etme riski olmadığı gösterilmiştir (1). Ayrıca FHS-p'nin daha iyi ovulasyon cevabı ve embrio oranı verdiği de gösterilmiştir. Bunun sebebi muhtemelen anılan hipofiz kaynaklı hormonun, PMSG' den daha fazla FHS aktivitesine sahip olması olarak gösterilmektedir.

MAP+PMSG uygulamasını takiben, suni tohumlama uygulanan hayvanlarda, tabii tohumlamaya kıyasla düşük fertilititeyle sonlanmasının diğer bir nedeni olarak, cervix uteri boyunca sperm transportu sırasında spermatozoa'nın hasara uğraması olarak gösterilmektedir (14). Ayrıca adsorbe edilen progesteron dozu da fertilititeyi etkileyen diğer bir neden olarak ileri sürülebilir. Çünkü gelişen bir follikülün çevresinde progesteron bulunması, bunu takiben oluşacak corpus luteumun normal fonksiyonu için gereklidir (18).

Çalışma sırasında doğum sonrası ölen (veya ölü doğum)



6 yavru için neden olarak sadece mevsim ve bakım şartları gösterilebilmektedir.

Çalışmalar göstermiştir ki, sıfat mevsimi dışında da Ankara keçilerinden yavru verimi almak mümkündür. Progesteronla yapılan bu ön uygulama anöstrusteki keçilerde progesteron üretimini artırmıştır. Bu da anılan keçilerde, indüklenen ovulasyonu takibeden yeterli bir luteal fonksiyon için progesteronun harekete geçirici etkisinin gerekli olduğu fikrini desteklemektedir.

#### KAYNAKLAR

1. Amoah, E.A., Gelaye, S. (1990) Superovulation, synchronization and breeding of does, *Small Ruminant Research*, 3, 63-72.
2. Cortell, J.M., Baril, G., Leboeuf, B., Bove, P. (1984) A comparison of two hormonal treatments to provoke estrus and ovulation in the anestrus dairy goat. *Proc. 10 th. Int. Congr. Animal. Reprod. A.I. Univ. Illinois, Urbana, IL. paper No: 313, 3p.*
3. Corteel, D.M., Leboeuf, B., Baril, G. (1988) Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small. Rumin. Res* 1 19-35.
4. East, N.E., Rowe, J.D. (1989) Subcutaneous progestin implants versus intravaginal sponges for dairy goat estrus synchronization during the transitional period. *Theriogenology* 32, 6, 921-928.
5. Greyling, J.P.C., Van Niekerk, C.H., Grobbelaar, J.A.N. (1985) Synchronization of estrus in the Boer goat doe: The response to the use of intravaginal progestagen and PMSG. *S. Afr. J. Anim.Sci.* 15 52-55.
6. Killian, B., Kiesling, D.O., Warren, J.E. (1985) Life Span of corpora lutea induced in estrus-synchronized cycling and anestrus ewes. *J. Anim. Sci.*, 61, 210-215.
7. Lond, R.B. (1978) Increasing multiple births and frequency of lamblings, *FAO-World Animal Review*, 26 7-15.
8. Meyer, H.H.D., Güven, B. (1986) Improvement of Microtitration plate enzyme immunoassays for steroid determination by a second antibody technique, *The J. of Steroid Biochem*, 25, spl.139.
9. Majweel, W.M.C., Barnes, D.R. (1986) Induction of estrus in ewes using a controlled in ternal drug release device and PMSG. *J. Agric. Sci.*, 106, 201-203.
10. Mooere, N.W., Epleston, J. (1979) The control of estrus, ovulation and fertility in relation to artificial insemination in the Angora goat. *Aust. J. Agric. Res.*, 30, 965-972.
11. Noble, R.C., Bartlett, A.S. (1988) Seasonal differences in Nubian goats after gonadal stimulation. *J. Anim. Sci.*, 66, (Supl.1) 447.
12. Özsar, S., Güven, B., Ekici, A., Arif, Ş. (1988) Controlled breeding and A.I. in Angora goats, *IAEA Technical Report Series, Vienna, P.* 117-129.
13. Özsar, S., Güven, B., Çelebi, M., Kalkandelen, G. and Van de Wiel, D.F.M. (1990) Testosterone and LH concentrations in the Male Angora Goats During Puberty, *Anim. Rep. Sci.*, 23, 319-326.
14. Pearce, D.T., Robinson, T.J. (1985) Plasma progesterone concentrations, ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronized estrus. *J. Reprod. Fert.*, 75, 49-62.
15. Symons, A.M. Cunningham, N.F., Saba, N., Miller, P.G. (1974) Circulating Progesterone levels in anestrus sheep with silicone rubber progesterone implants. *J. Reprod. Fert.*, 41, 475-477.
16. Tamaenini, C., Cairoli, F., Bono, G., Gaianni, R. (1984) Reproductive findings in pluriparous and immature goats induced to ovulate in anestrus season. *Proc. 10 th Int. Congr. Anim. Reprod. A.I. Univ. Illinois, Urbana, IL, Paper No. 351, 3pp.*
17. Tamanini, C., Bono, G., Cairoli, F., Chiessa, F. (1985) Endocrine responses induced in anestrus goats by the administration of different hormones after a FGA treatment *Anim. Reprod Sci.*, 9, 357-364.
18. Thompson, J.G.E., Simpson, A.C., James, R.W., Tervit, H.R. (1990) The Application of progesterone-containing CIDR devices to superovulated ewes. *Theriogenology*, 33, 6, 1297-1304.
19. Vander Westhuysen, J.M. (1979) The control of ovarian function in cycling and anestrus Angora goat does. *Agroanimalia*, 11, 23-25.
20. Wentzel, P., Müller, P. (1979) Induction of breeding activity in anestrus Angora goats. *Agroanimalia*, 11, 61-79.