



ARAŞTIRMA MAKALESİ

İneklerde embriyo transferinde farklı prostaglandin F_{2α} protokolleri ile taşıyıcı senkronizasyonu

Mesut Kırbaş^{1*}, Şükrü Dursun¹, Mehmet Köse¹, Bülent Bülbül¹,
Mehmet Çolak¹, Hasan Mutlu²

Özet

Kırbaş M, Dursun Ş, Köse M, Bülbül B, Çolak M, Mutlu H. İneklerde embriyo transferinde farklı prostaglandin F_{2α} protokolleri ile taşıyıcı senkronizasyonu. *Eurasian J Vet Sci*, 2010, 26, 1, 39-43

Amaç: Çalışmada, dondurulmuş çözdürülmüş embriyo transferi amacıyla taşıyıcı senkronizasyonunda kullanılan farklı prostaglandin F_{2α} protokolleri karşılaştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Toplam 46 İsviçre Esmeri inek rastgele üç gruba ayrıldı. Grup I (n=15)'deki ineklere östrüs siklusunun herhangi bir döneminde i.m. yoldan tek doz 0.150 mg kloprostenol enjekte edildi. Enjeksiyonları takiben beş gün boyunca östrüsler takip edildi. Diğer ineklere ise 11 (Grup II, n=15) ya da 14 (Grup III, n=16) gün arayla çift doz prostaglandin F_{2α} enjekte edildi. İkinci ve III. gruplarda son enjeksiyonu takiben 5 gün süreyle östrüs gözlemlendi. Bütün ineklere 7. gün (östrüs 0) ethilen glikolle dondurulmuş çözdürülmüş embriyolar transfer edildi. Gebelik tespiti 28. günde ultrason ile yapıldı.

Bulgular: Enjeksiyon-östrüs aralığı ve gebelik oranları Grup I, II ve III'te sırasıyla 56.13±4.37 saat ve %53.3; 62.40±3.42 saat ve %46.7; 70.75±3.08 saat ve %43.8 olarak tespit edildi. Grup I'de belirlenen enjeksiyon-östrüs aralığı Grup III'ten düşük (p<0.05) bulunurken, bu süre Grup I ile II ve Grup II ile III arasında benzer (p>0.05) olarak saptandı. Gruplarda tespit edilen gebelik oranları arasındaki fark önemsiz (p>0.05) bulundu.

Öneri: Çalışmada değerlendirilen bütün senkronizasyon metotlarının dondurulmuş çözdürülmüş embriyo transferinde östrüs senkronizasyonu amacıyla kullanılabilirliği kanısına varıldı.

Abstract

Kirbas M, Dursun S, Kose M, Bulbul B, Colak M, Mutlu H. Recipient synchronization with various prostaglandin F_{2α} protocols for embryo transfer in cows. *Eurasian J Vet Sci*, 2010, 26, 1, 39-43

Aim: In this study, recipient synchronization with various prostaglandin F_{2α} protocols for cryopreserved embryo transfer was examined.

Materials and Methods: A total of 46 Brown Swiss cows assigned randomly into three groups. Group I (n=15) cows injected 0.150 mg cloprostenol intramuscularly at random stage of the oestrus cycle. Following the injections, cows were observed for oestrus for 5 days. The other cows were received two 0.150 mg I.M. injections of cloprostenol 11 (Group II, n=15) or 14 (Group III, n=16) days apart. In Group II and III, cows were observed for oestrus for 5 days after the last injections. All cows were transferred embryos cryopreserved by ethylene glycol on d 7 (oestrus 0). Pregnancy diagnoses were performed on d 28 by ultrasonography.

Results: Injection-oestrus intervals and pregnancy rates were 56.13±4.37 h and 53.3%; 62.40±3.42 h and 46.7%; 70.75±3.08 h and 43.8% in groups I, II and III, respectively. Injection-oestrus interval was lower in Group I than in Group III (p<0.05) and was similar between groups I and II and groups II and III (p>0.05). The differences in pregnancy rates among groups were not significant (p>0.05).

Conclusions: All synchronization protocols evaluated in this study can be used for oestrus synchronization for cryopreserved embryo transfer in cows.

¹Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Konya,

²Çukurova Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Adana, Türkiye

Geliş: 12.04.2010, Kabul: 17.05.2010

*mesutkirbas@gmail.com

Anahtar kelimeler: Embriyo transferi, taşıyıcı senkronizasyonu, prostaglandin, inek

Keywords: Embryo transfer, recipient synchronization, prostaglandin, cow

► Giriş

Hayvancılık alanında modern teknolojilerden faydalanarak verimi artırmak ve kısa sürede istenen zamanda ve sayıda üstün nitelikli yavrular elde edebilmek için özellikle hayvancılık alanında ileri ülkelerde uygulanan en önemli yöntemlerden birisi de embriyo transferidir (Seidel ve Seidel 1991, Betteridge 2006). Ayrıca embriyo transferinde başarıyı etkileyen birçok faktör olmakla birlikte taşıyıcı hayvanların senkronizasyonu bu faktörlerin en önemlilerindedir (Hasler 2004).

Embriyo transferi sırasında verici ile taşıyıcı hayvanların östrüs yaşları arasındaki farkın ± 24 saat olması gerektiği, aradaki süre farkının bundan daha fazla olması halinde ise elde edilecek gebelik oranının önemli ölçüde düşük olacağı birçok araştırmacı tarafından vurgulanmaktadır (Spell ve ark 2001, Mapletoft 2006). Bahsedilen verici-taşıyıcı senkronizasyonunu sağlamak amacıyla protaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), progesteron ve GnRH gibi hormonların tek ya da kombinasyonlar halinde kullanımını da içeren çeşitli senkronizasyon protokollerinden yararlanılmaktadır (Jones ve Lamb 2008).

Bahsedilen protokollerden $PGF_{2\alpha}$ kullanılan senkronizasyon uygulamalarında, diöstrüs evresindeki hayvanlarda tek enjeksiyon, grup halindeki ise 11 ya da 14 gün arayla çift enjeksiyon uygulanarak seksüel siklusların senkronizasyonu sağlanır (Alaçam 1994, Karaca ve ark 2006). Bu amaçla, geçmişte daha çok tek doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu yapılırken, daha sonraları çoklu $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonları ile östrüs takibi için gerekli gün sayısını azaltmaya yönelik çalışmalara odaklanılmıştır (Jones ve Lamb 2008).

Yapılan bu çalışma ile dondurulmuş-çözdürülmüş embriyo transferi amacıyla taşıyıcı senkronizasyonunda $PGF_{2\alpha}$ 'nın tek doz, 11 gün ve 14 gün arayla çift doz uygulamaları ile senkronize edilen taşıyıcı hayvanlardan elde edilen gebelik oranlarının karşılaştırılması amaçlandı.

► Gereç ve Yöntem

Çalışmada Bahri Dağdaş Uluslararası Tarımsal Araştırma Enstitüsü bünyesinde bulunan yaklaşık 200 başlık boğa altı Brown Swiss sürüsü içerisinde senkronizasyon uygulanan ve östrüsün 6. günü yapılan muayene ile taşıyıcı olarak kullanılması uygun görülen 46 baş inek kullanıldı. İnekler 3-6 yaşlarındaki sağlıklı, reproduktif açıdan sorunsuz, 10 gün arayla yapılan iki rektal muayene sonucunda siklik oldukları belirlenen hayvanlar arasında seçildi. Yarı açık serbest sistemde barındırılan inekler, işletmede rutin olarak hazırlanan karma yem ve mısır silajı rasyonu ile beslendi. Su ise ad libitum olarak verildi.

İnekler östrüs siklusunun dönemine bakılmaksızın i.m. yoldan rastgele tek doz ya da 11 ya da 14 gün arayla çift doz 0.150 mg d-kloprostenol (Dalmazin, Vetaş, İstanbul, Türkiye) enjeksiyonu ile östrüs sen-

ronizasyonuna tabi tutuldu. Bütün hayvanlarda son $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyondan sonraki 5 gün boyunca günde 3 kez 30 dakikalık gözlemlerle östrüs takip edildi ve östrüs gösterenler kaydedildi. Östrüs gösteren hayvanların östrüs günü "0" olarak kabul edildi ve 6. gün linear-array transrektal prob (5-7.5 MHz) kullanılarak ultrason (Falko, Pie Medikal, Hollanda) ile inekler muayene edildi. Muayenede ovaryumlarında en az 2 cm çapında, sert kıvamlı CL'a sahip olan hayvanlar taşıyıcı olarak seçildi ve uygulanan östrüs senkronizasyon protokolüne göre birinci (tek doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu ile senkronizasyon, Grup I, n=15), ikinci (11 gün arayla çift doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu ile senkronizasyon, Grup II, n=15) ya da üçüncü (14 gün arayla çift doz $PGF_{2\alpha}$ enjeksiyonu ile senkronizasyon, Grup III, n=16) grupta bulunan inekler belirlendi. Bütün taşıyıcılara 7. gün etilen glikolle direkt transfer metoduna göre dondurulmuş-çözdürülmüş embriyolar transfer edildi.

Embriyolar ticari bir şirketten (Sunshine Genetics Inc., Whitewater, Wisconsin, USA) sağlandı. Önceden bildirilen standart süperovulasyon (Herman ve ark 1994) protokolüne tabi tutulan donör hayvanlarda tohumlamanın ardından 7 gün sonra gerçekleştirilen uterus yıkamasında elde edilen blastosist aşamasında bulunan birinci kalitedeki embriyolar, uterus yıkamasını takiben 2 saat içerisinde direkt transfer metoduna uygun olarak etilen glikolle Hasler ve ark (1997)'nin bildirdiği şekilde dondurulmaya başlandı (PBS + %0.4 BSA + 1.5 M etilen glikol solusyonu içinde payete çekilen embriyolar 20 dk ekilibrasyona tabi tutulduktan sonra dondurma cihazına yerleştirilerek 15 dk boyunca $-6^{\circ}C$ 'de bekletilmesini takiben $-6^{\circ}C$ 'de seeding uygulandı, $0.6^{\circ}C/dk$ düşüşle $-6^{\circ}C$ 'den $-32^{\circ}C$ 'ye soğutuldu ve sıvı nitrojene bırakıldı).

Embriyo transferi, embriyonun ve taşıyıcının östrüs yaşları birbirine paralel olacak şekilde (± 24 saat), taşıyıcı hayvanın östrüs siklusunun 7. gününde iken yapıldı. Dondurulmuş embriyoların çözdürülmesi, azot tankından çıkarılan payetin 5 sn havada ve bunu takiben $25^{\circ}C$ 'deki su banyosunda 25 sn tutulmasıyla gerçekleştirildi. Çözdürülen embriyolar zaman kaybetmeden, yaklaşık 5 dk içinde, taşıyıcılara transfer edildi. Embriyolar taşıyıcılara bağırsak peristaltliğini önlemek amacıyla üst epidural anestezi eşliğinde (lidokain HCl, 5-7 ml, Vilcain, Vilsan, Ankara, Türkiye), CL'un bulunduğu kornuya ipsilateral olarak ve kornunun üst 1/3'üne bırakıldı. Gebelik muayenesi östrüsten sonraki 28-30. günlerde ultrason kullanılarak yapıldı.

Çalışmada gruplarda elde edilen gebelik oranlarının istatistiki açıdan karşılaştırılması kıkare, enjeksiyon-östrüs aralığı ise varyans analizi (ANOVA) yöntemiyle bilgisayar programı (MINITAB, Release 12.1, Minitab Inc.) kullanılarak yapıldı.

► Bulgular

Sunulan çalışmada gruplarda elde edilen gebelik

oranları (%) ve son PGF_{2α} enjeksiyonu-östrüs aralıkları (saat) Tablo 1'de özetlendi. Gruplarda elde edilen gebelik oranları arasında istatistiki fark tespit edilemezken, Grup I'de saptanan son PGF_{2α} enjeksiyonu-östrüs aralığı Grup III'den düşük oldu (p<0.05). Gruplarda son PGF_{2α} enjeksiyonunu takiben hayvanların östrüs başlangıç saatleri ve sayıları Grafik 1'de özetlendi.

Tablo 1. Grup I, II ve III'de elde edilen gebelik oranları (%) ve son PGF_{2α} enjeksiyonu-östrüs aralıkları (mean±SEM).

	n	Enjeksiyon-östrüs aralığı (saat)	Gebelik oranı (%)
Grup I	15	56.1±4.37 ^b	53
Grup II	15	62.4±3.42 ^{ab}	47
Grup III	16	70.7±3.08 ^a	43

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir (p<0.05).

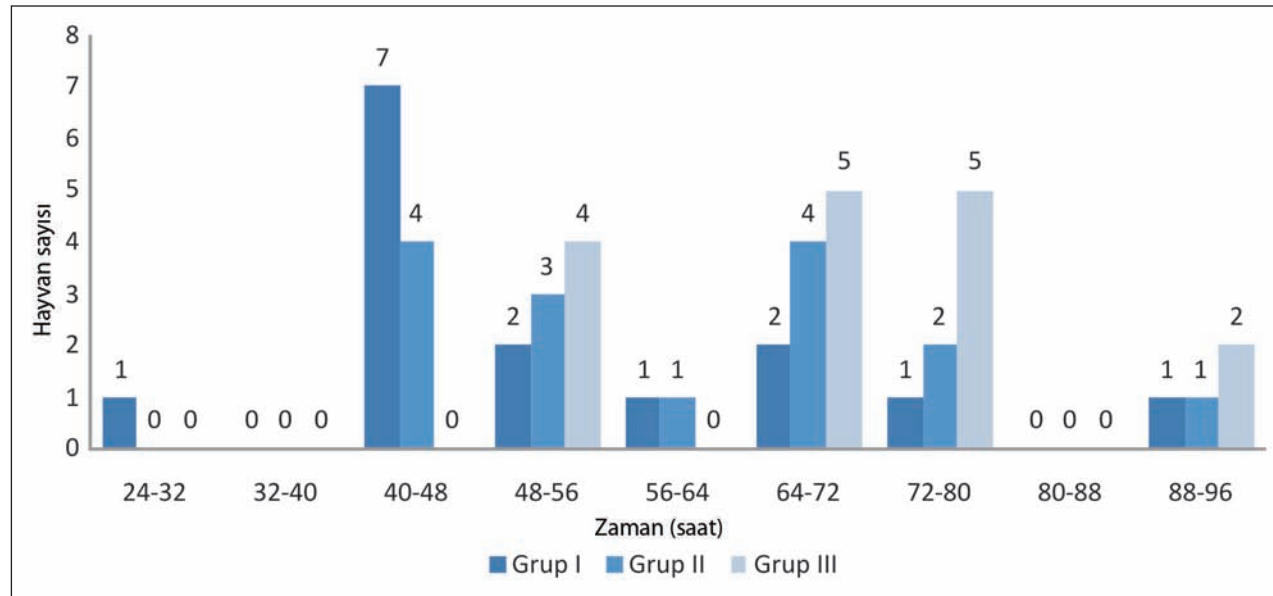
Grup I, II ve III'de son PGF_{2α} enjeksiyonunu takip eden saatlerde östrüs oranları (%) ise Grafik 2'de özetlendi ve saatlere göre gruplar arasında istatistiki fark tespit edilmedi.

► Tartışma

PGF_{2α} diöstrüs evresindeki hayvanlarda tek enjeksiyon, grup halindeki ise 11 ya da 14 gün arayla çift enjeksiyon şeklinde uygulanarak seksüel siklus-

14 gün arayla çift doz uygulamaları ile senkronize edilen taşıyıcı hayvanlardan sırası ile %53, %47 ve %43 oranlarında gebelik elde edildi ve gruplar arasında istatistiki açıdan bir fark tespit edilmedi.

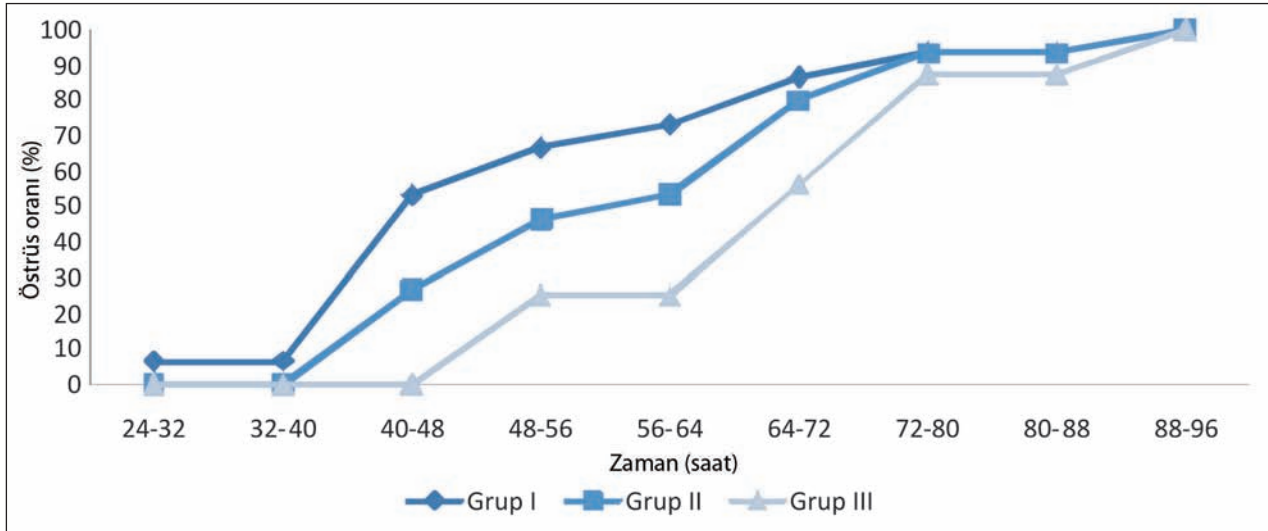
Luteal dönemde bulunan ineklere uygulanan PGF_{2α} enjeksiyonunu takiben luteal yapının lize olacağı ve bunun sonucunda ovaryumdaki mevcut folliküler yapıya bağlı olarak 72±24 saat içerisinde östrüs şekilleneceği (Ferguson ve Galligan 1993, Kılıçaslan ve ark 1997), luteolitik hormon uygulamasından sonra östrüs ve ovulasyonlara kadar geçen sürenin, uygulama sırasındaki folliküler dalganın dönemine bağlı olduğu bildirilmektedir (Çoyan ve ark 2003). Luteolitik hormon uygulaması mevcut dominant follikülün gelişme döneminde yapılmış ise enjeksiyondan kısa bir süre sonra östrüs şekilleneceği, regresyon döneminde uygulanmış ise östrüsün yeni bir folliküler dalganın gelişerek ovulatör follikülün oluşmasından sonra şekilleneceği için enjeksiyon-östrüs aralığının uzayacağı belirtilmektedir (Çoyan ve ark 2003). Ayrıca Stevenson ve ark (1984) ve Alan ve ark (1991), diöstrüsün erken ve geç döneminde uygulanan PGF_{2α} enjeksiyonundan sonra östrüs görülme zamanının erken diöstrüs döneminde daha kısa olacağını (belirtilen literatürlerde sırasıyla erken dönemde 50 ve 49 saat, geç dönemde ise 61 ve 72 saat), bu farklılığın da ovaryumda mevcut folliküler yapılar ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada Grup I'de tespit edilen 56 saatlik PGF_{2α} enjeksiyonu-östrüs arası süre, Kılıçaslan



Grafik 1. Grup I, II ve III'de son PGF_{2α} enjeksiyonunu takiben hayvanların östrüs başlangıç saatleri ve sayıları.

ların senkronize edilmesini sağlar (Young 1989, Folman ve ark 1990, Alan ve ark 1991, Alaçam 1994). Sunulan çalışma ile dondurulmuş-çözdürülmüş embriyo transferi amacıyla taşıyıcı senkronizasyonunda PGF_{2α}'nın tek doz, 11 gün ve 14 gün arayla çift doz uygulamaları ile senkronize edilen taşıyıcı hayvanlardan elde edilen gebelik oranlarının karşılaştırılması amaçlandı. Çalışmada, PGF_{2α}'nın tek doz, 11 gün ve

ve ark (1997)'nin yaptıkları çalışmada elde edilen sonuçla benzerlik gösterirken, Lopez ve ark (1981)'nin ve Amjad ve ark (2006)'nin bildirdikleri sonuçlardan düşük bulundu. Çalışmalarda elde edilen farklı sonuçların, luteotropik hormon uygulaması sırasında hayvanların ovaryumlarındaki mevcut folliküler yapı farklılığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.



Grafik 2. Grup I, II ve III'de son PGF_{2α} enjeksiyonunu takip eden saatlerde östrüs oranları (%).

Sunulan çalışmada son PGF_{2α} enjeksiyonu-östrüs aralıkları Grup II ve III'de sırası ile 62 ve 71 saat olarak tespit edildi. Grup II'de elde edilen sonuç, Kılıçsarı ve ark (1997), Fike ve ark (1999), Kojima ve ark (2000) ve Bülbül ve Ataman (2006)'ın yapmış oldukları çalışmalarda bildirdikleri sonuçlarla benzer iken, Aral ve Çolak (2004)'ün 11 gün arayla yaptığı senkronizasyon uygulamasında elde ettiği değerden düşük bulundu. Bazı çalışmalarda tespit edilen farklı değerlerin, birinci PGF_{2α} uygulaması sırasında hayvanların bulunduğu seksüel siklus dönemi ile ilişkisi olabileceği düşünülmektedir. Nitekim Xu ve Burton (1998), ikinci PGF_{2α} enjeksiyonuna verilecek cevabın, birinci enjeksiyon sırasında diöstrüsün geç döneminde olan ineklerde, erken dönemde olan ineklere göre daha yüksek olacağını vurgulamaktadırlar. Sunulan çalışmada Grup III'de tespit edilen son PGF_{2α} enjeksiyonu-östrüs aralığı ise yapılan diğer bazı çalışmalarda elde edilen değerlere yakın oldu (Jeffrey ve ark 1996, Le Blanch ve ark 1998, Stevenson ve ark 1999).

Grup I ve III'de tespit edilen son PGF_{2α} enjeksiyonu-östrüs aralıkları arasındaki fark önemli bulundu ($p < 0.05$). Gruplar arasında belirlenen farkın, yukarıda belirtilen, PGF_{2α} enjeksiyonları sırasında ovaryumda muhtemel folliküler yapı farklılıklarından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Martinez ve ark (2002), tek doz PGF_{2α} ile senkronize ettikleri Hereford ırkı ineklere etilen glikolle direkt transfer metoduna göre dondurulmuş-çözdürülmüş embriyo transferi yaptıkları çalışmalarında %45 gebelik elde etmişlerdir. McNaughtan (2004) ise düveler üzerinde yapmış olduğu çalışmada taşıyıcı hayvanları 11 gün arayla çift doz PGF_{2α} enjeksiyonu ile senkronize etmiş ve dondurulmuş-çözdürülmüş embriyo transferi sonucunda %45 gebelik elde ettiğini bildirmiştir. Yapılan başka bir çalışmada (Purcell 2004) ise Angus ve melezleri 14 gün arayla çift doz PGF_{2α} en-

enjeksiyonu ile senkronize edilmiş ve östrüsten sonraki 6-9. günler arasında embriyo transferi gerçekleştirmişlerdir. Direkt transfer yöntemine göre %10 etilen glikolle dondurulmuş-çözdürülmüş embriyoların transfer edildiği çalışmada %66 oranında gebelik elde edildiği belirtilmiştir. Herhangi bir senkronizasyon protokolü uygulanmayıp düvelere doğal östrüslerini takip eden 7. günde dondurulmuş-çözdürülmüş embriyo transferi yapılan bir çalışmada ise %53 gebelik sağlandığı bildirilmiştir (Bülbül ve ark. 2010). Sunulan çalışmada elde edilen gebelik oranları, Bülbül ve ark (2010)'nın doğal östrüsleri takip edilen düvelerde, Martinez ve ark (2002)'nin tek doz ve McNaughtan (2004)'ün 11 gün arayla çift doz PGF_{2α} enjeksiyonunu takiben elde ettikleri gebelik oranlarına yakın, Purcell (2004)'ün ise 14 gün arayla çift doz PGF_{2α} enjekte ederek uyguladığı senkronizasyon programı sonucunda bildirdiği orandan düşük olarak bulundu. Çalışmalarda elde edilen farklı gebelik oranlarının, etilen glikolle direkt transfer metoduna göre dondurulmuş-çözdürülmüş embriyo transferinden elde edilecek gebelik oranını etkilediği daha önceki araştırmacılar tarafından (Weaver ve ark 1986, Hasler 2001, Spell ve ark 2001, Looney ve ark 2006, Chebel ve ark 2008, Jones ve Lamb 2008) bildirilen embriyo kalitesi, taşıyıcı hayvan ırkı ve yaşı, beslenme, embriyo dondurmada kullanılan vasat, değişik dondurma-çözdürme metodları, embriyo transferini gerçekleştiren teknik eleman gibi faktörlere bağlı olabileceği düşünülmektedir.

► Öneriler

Çalışmada değerlendirilen bütün senkronizasyon metodlarının dondurulmuş-çözdürülmüş embriyo transferinde östrüs senkronizasyonu amacıyla kullanılabilirliği, bununla birlikte son PGF_{2α} enjeksiyonu-östrüs arası süre protokollere göre farklılık arz edebileceğinden, taşıyıcı hayvanlarda transfer için referans alınacak östrüs takibinin yapılmasının önemli olabileceği kanısına varıldı.

► Teşekkür

Bu çalışma, 4. Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Kongresi, 25-28 Ekim, 2007, Antalya'da poster bildiri olarak sunulmuştur.

► Kaynaklar

- Alaşam E, 1994. Üremenin Denetlenmesi, In: Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Doğum ve Infertilite, Ed; Alaçam E, I. Baskı, Dizgiyevi, Konya.
- Alan M, Çoyan K, Aksoy M, Tekeli T, Işık K, Sezen S, 1991. İnek ve düvelerde döstrüsün erken ve geç döneminde uygulanan luprostiol'ün enjeksiyon östrüs aralığı ve gebelik oranları üzerine etkisi. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg*, 31, 42-51.
- Amjad M, Aleem M, Saeed MA, 2006. Use of prostaglandin (PGF_{2α}) to induce oestrus in postpartum Sahiwal cows. *Pakistan Vet J*, 26, 63-66.
- Aral F, Çolak M, 2004. Esmir ırk inek ve düvelerde GnRH-PGF 2 alfa-GnRH ve PGF 2 alfa ile östrüs ve ovulasyon senkronizasyonu ve dölverim performansı. *Türk J Vet Anim Sci*, 28, 179-184.
- Betteridge KJ, 2006. Farm animal embryo technologies: achievements and perspectives. *Theriogenology*, 65, 905-913.
- Bülbül B, Ataman MB, 2006. Effect of parity on oestrus synchronization success in cows. *Revue Med Vet*, 157, 158-162.
- Bülbül B, Dursun Ş, Kirbaş M, Köse M, Ümütlü S, 2010. Düvelerde embriyo transferi öncesi flunixin meglumün uygulamasının gebelik oranı üzerine etkisi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16, 105-109.
- Chebel RC, Demetrio DGB, Metzger J, 2008. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. *Theriogenology*, 69, 98-106.
- Çoyan K, Ataman MB, Erdem H, Kaya A, Kaşıkçı G, 2003. Synchronization of estrus in cows using double PGF_{2α}, GnRH-PGF_{2α} and hCG-PGF_{2α} combination. *Revue Med Vet*, 154, 91-96.
- Ferguson JD, Galligan DT, 1993. Prostaglandin synchronization programs in dairy herds (part I). *Compend Con-tion Educ Pract Vet*, 15, 646-455.
- Fike KE, Wehrman ME, Lindsey BR, Bergfeld EG, Melvin EJ, Quintal JA, Zanella EL, Kojima FN, Kinder JE, 1999. Estrus synchronization of beef cattle with a combination of melengestrol acetate and an injection of progesterone and 17beta-estradiol. *J Anim Sci*, 77, 715-723.
- Folman Y, Kaim M, Herz Z, Rosenberg M, 1990. Comparison of methods for the synchronization of estrus cycles in dairy cows. 2. Effects of progesterone and parity on conception. *J Dairy Sci*, 73, 2817-2825.
- Hasler JF, Hurtgen PJ, Jin ZQ, Stokes JE, 1997. Survival of ivf-derived bovine embryos frozen in glycerol or ethylene glycol. *Theriogenology*, 48, 563-579.
- Hasler JF, 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*, 56, 1401-1415.
- Hasler JF, 2004. Factors influencing the success of embryo transfer in cattle. 23rd World Buiatrics Congress, Quebec City, Canada.
- Herman HA, Mitchell JR, Doak GA, 1994. The artificial insemination and embryo transfer of dairy cattle. Interstate Publishers, Illinois, USA.
- Stevenson JS, Kobayashi Y, Shipka MP, Rauchholz KC, 1996. Altering conception of dairy cattle by gonadotropin-releasing hormone preceding luteolysis induced by prostaglandin F_{2α}. *J Dairy Sci*, 79, 402-410.
- Jones AL, Lamb GC, 2008. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. *Theriogenology*, 69, 107-115.
- Karaca F, Gülyüz F, Uslu BA, 2006. Saha şartlarındaki sığırlarda ikinci PGF_{2α} enjeksiyonunu takiben östrüste tohumlamalar ile sabit zamanlı tohumlamaların karşılaştırılması. *YYÜ Sağlık Bilimleri Dergisi*, 9, 226-230.
- Kılıçarslan MR, Ekinci H, Konuk CS, Kırşan İ, Gürbulak K, 1997. Cloprostenol ile senkronize edilen ineklerde ovulasyonların B-mode ultrasonografi ile saptanması. *Kafkas Üni Vet Fak Derg*, 3, 25-31.
- Kojima FN, Salfen BE, Bader JF, Ricke WA, Lucy MC, Smith MF, Patterson DJ, 2000. Development of an estrus synchronization protocol for beef cattle with short-term feeding of melengestrol acetate: 7-11 synch. *J Anim Sci*, 78, 2186-2191.
- Le Blanch JS, Leslie EK, Ceelen JH, Kelton FD, Keefe PG, 1998. Measures of estrus detection and pregnancy in dairy cows after administration of gonadotropin-releasing hormone within an estrus synchronization program based on prostaglandin F_{2α}. *J Dairy Sci*, 81, 375-381.
- Looney CR, Nelson JS, Schneider HJ, Forrest DW, 2006. Improving fertility in beef cow recipients. *Theriogenology*, 65, 201-209.
- Lopez BS, Martinez LA, Gabaldon LL, Falcon MC, Mazzarri G, 1981. Synchronisation of oestrus with norgestomet and Prostaglandin F_{2α} in beef cattle. *Trop Anim Prod*, 6, 101-104.
- Mapletoft FRJ, 2006. Bovine Embryo Transfer. International Veterinary Information Service, Ithaca NY (www.ivis.org), R0104.1106. Erişim tarihi: Haziran 2008.
- Martínez AG, Brogliatti GM, Valcarcel A, de las Heras MA, 2002. Pregnancy rates after transfer of frozen bovine embryos: a field trial. *Theriogenology*, 58, 963-972.
- McNaughtan J, 2004. The effect of prostaglandin inhibitor on pregnancy rates of heifer embryo transfer recipients. Master of Science. Department of Plant & Animal Sciences. Brigham Young University, Provo, Utah, USA.
- Purcell SH, 2004. Effect of a cidr insert and flunixin meglumine administered at the time of embryo transfer on pregnancy rate and resynchronization of estrus in beef cattle. Yüksekilisans Tezi. Virginia Polytechnic Institute, State University, Blacksburg.
- Seidel GE, Seidel SM, 1991. Training manual for embryo transfer in cattle. FAO, Rome, Italy.
- Spell AR, Beal WE, Corah LR, Lamb GC, 2001. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*, 56, 287-297.
- Stevenson JS, Schmidt MK, Call EP, 1984. Stage of estrous cycle, time of insemination, and seasonal effects on estrus and fertility of Holstein heifers after prostaglandin F_{2α}. *J Dairy Sci*, 67, 1798-1805.
- Stevenson JS, Kobayashi Y, Thompson KE, 1999. Reproductive performance of dairy cows in various programmed breeding systems including OvSynch and combinations of gonadotropin-releasing hormone and prostaglandin F_{2α}. *J Dairy Sci*, 82, 506-515.
- Weaver LD, Galland J, Sosnik U, Cowen P, 1986. Factors affecting embryo transfer success in recipient heifers under field conditions. *J Dairy Sci*, 69, 2711-2717.
- Young IM, 1989. Dinoprost 14-day oestrus synchronization schedule for dairy cows. *Vet Rec*, 124, 587-588.
- Xu ZZ, Burton LJ, 1998. Synchronization of estrus with PGF_{2α} administered 18 days after a progesterone treatment in lactating dairy cows. *Theriogenology*, 50, 905-915.