

Murrah Mandalarında Postpartum Anöstrus Sorununun Rektal Muayene ve Süt Progesteron Testi ile Belirlenerek Sorunlu Hayvanlarda PRID+PMSG Hormon Tedavisinin Fertiliteye Etkisinin Araştırılması

Mehmet UÇAR

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Afyon - TÜRKİYE

Mustafa KÜÇÜKKEBAPÇI

Afyon Kocatepe Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Afyon - TÜRKİYE

Muzaffer ÇELEBİ

Türkiye Atom Enerjisi Kurumu, Nükleer Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi, Ankara - TÜRKİYE

Havva Neşe AKALIN

Afyon Kocatepe Tarımsal Araştırma Enstitüsü, Afyon - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 17.08.2001

Özet: Mandalarda postpartum anöstrus en önemli infertilite sebeplerindedir. Bu nedenle sunulan çalışmada, Afyon Kocatepe Tarımsal Araştırma Enstitüsünde bulunan, doğumlarını bahar sonu ve/veya yaz başında yapan 8 Murrah ırkı mandada şekillenen postpartum anöstrus sorununun rektal muayene ve süt progesteron seviyelerine bakılarak belirlenmesi amaçlandı. Ayrıca deney hayvanlarının, progesteron salan intravaginal alet (PRID) + gebe kısarak serum gonadotropini (PMSG) ile tedavi edilerek gebe kalma oranlarının araştırılması planlandı.

Mandaların ovaryumları, bir östrus siklusu süresince ve bir hafta sonrasına kadar (bir ay), haftada bir kez rektal muayene ile araştırılırken, aynı süre içerisinde haftada iki kere süt örnekleri progesteron seviyelerine enzim immunoassay (EIA) yöntemiyle bakılmak üzere alındı. Bu süre sonunda hayvanların vaginalarına PRID yerleştirilerek 12 gün kalması sağlandı. PRID'lerin çıkarıldığı gün 750 IU PMSG hormonu intramuskuler uygulandı.

PRID ve PMSG tedavisi öncesinde bir manda hariç, diğerlerinde ovaryum aktivitesi gözlenmezken, aynı hayvanların süt progesteron seviyesi 0.12-0.94 ng/ml arasında tespit edildi. Bütün mandalarda PMSG uygulamasını takiben ortalama 60. saatte (%100) kızgınlık gözlenirken, hayvanların hepsinde gebelik şekillendiği ve gebelik başına aşım sayısının 2.13 olduğu belirlendi.

Sonuç olarak, Murrah ırkı mandalarda şekillenen anöstrus sorununun tanısında süt progesteron değerlerinin yararlı olabileceği, ovaryum aktivitesinin uyarılmasında ve anöstrus sorununun tedavi edilmesinde ise PRID+PMSG hormon kombinasyonunun iyi sonuçlar verdiği ve hayvanların gebe kalmalarını sağlamak amacıyla kullanılabilceği kanısına varıldı.

Anahtar Sözcükler: Murrah mandası, anöstrus, progesteron, PRID, PMSG

Use of Milk Progesterone Assay and Rectal Palpation to Monitor Postpartum Anoestrus and the Effect of PRID-PMSG Treatment in Murrah Buffaloes

Abstract: Postpartum anoestrus is widely known to cause infertility in buffaloes. This study was conducted to determine the problem of postpartum anoestrus using rectal palpation and milk progesterone level in 8 Murrah buffaloes calved during late spring or early summer in the Kocatepe Agricultural Research Institute, Afyon, Turkey. In addition, the pregnancy rates of experimental animals were investigated using a combined therapy of a progesterone releasing intravaginal device (PRID) and pregnant mare serum gonadotropin (PMSG).

The ovaries of each buffalo were examined by rectal palpation once a week and the milk progesterone level was detected twice a week using enzyme immunoassay (EIA) during an oestrus cycle and the week following (for a period of a month). At the end of this period, the PRID was inserted and kept in the vagina for 12 days. Upon removal of the PRID, PMSG (750 IU) was administered intramuscularly.

Prior to the PRID-PMSG treatment, there were no ovarian activities in any animals and their milk progesterone levels were between 0.12 and 0.94 ng/ml, except for one animal. Approximately 60 h following PMSG administration, all buffaloes (100%) showed signs of clinical oestrus. Gestation occurred in all buffaloes with a service per conception rate of 2.13.

The results of the present study suggested that milk progesterone level is a useful tool to diagnose postpartum anoestrus and PRID-PMSG treatment induces ovaries, cures anoestrus, and facilitates gestation in Murrah buffaloes.

Key Words: Murrah buffalo, anoestrus, progesterone, PRID, PMSG

Giriş

Mandalarda postpartum dönemde şekillenen anöstrus sorunu malaklama aralığını uzatan en önemli infertilite sebeplerindedir. Bu hayvanlarda doğum sonrası ilk ovaryum aktivitesi 30-60. günler arasında başlarken, postpartum ilk östrus ve ovulasyon 60-90. günler arasında olmaktadır (1). Bu sınırların üstündeki veriler mandalarda anöstrus sorunu oluştuğunu göstermektedir (2).

Mandalarda anöstrus sorununun şekillenmesinde etkili olan bakım, besleme, mevsim, çevre ve yaş gibi faktörlerin yanı sıra (3,4,5), östrus semptomlarının zayıf olması, özellikle uç sınırlarda oluşan iklimik koşulların meydana getirdiği ısı stresi, gün ışığı süresi ile malak emzirme reproduktif verimliliği olumsuz etkilemektedir (2,6,7). Ayrıca ısı stresinin hayvanlarda ACTH/kortizol seviyelerini artırarak etkili olduğu aktarılmaktadır (7). Yapılan bir çalışmada mandaların %13.6'sında anöstrus sorunu meydana geldiği, %40.9'unda diğer ovaryum bozuklukları olduğu, %45.5'inde ise normal ovaryum aktivitesinin bulunduğu bildirilmektedir (2).

Mandalarda postpartum dönemde ovaryum aktivitesi ve ovaryumun fonksiyonel bozukluklarının anlaşılabilmesi için rektal muayene bulgularının yanı sıra, süt/plazma progesteron değerlerinden de yararlanılabilmektedir (8). Süt progesteron değerleriyle postpartum ilk ovulasyon ve östrus gibi parametreler belirlenebilirken, reproduktif fonksiyonel bozukluklar, özellikle anöstrus sorunu teşhis edilebilmektedir (2).

Anöstrus sorununun tedavisinde bir seçenek olan progesteron salan intravaginal alet (PRID) uygulamaları, ineklerde olduğu gibi mandalarda da iyi bir yöntemdir (9,10). Bunun yanı sıra norgestomet içerikli kulak implantı (11) veya PRID+PMSG hormon kombinasyon uygulamaları da yapılabilmektedir (12). Ayrıca PRID+PMSG uygulamalarıyla mandalarda kızgınlıkların çok iyi bir şekilde senkronize edilebildiği, anöstrusdeki hayvanlarda östrusu ve ovulasyonu uyarmada tedavinin etkili olduğu da bildirilmektedir (12). El Beley ve ark. (9), bu sorun ile karşılaşan mandalarda PRID uygulamaları sonrasında östruslerin gözlenme oranının %100.0 olduğunu aktarmaktadırlar. Postpartum anöstrus sorununda hormon uygulamaları sonrası oluşan gebelik oranları ise %56.5-67.0 arasında değişebilmektedir (12,13).

En popüler manda ırklarından olan Murrah'lar bazı verim ve ırk özellikleriyle üstün ayrıcalıklara sahiptir.

Hayvanların ortalama laktasyon verimleri 1872-5000 lt, laktasyon süreleri ise 269-306 gün kadardır (14).

Bu nedenle sunulan çalışmanın amacı, Afyon bölgesine az sayıda ithal edilen Murrah manda ırkında ekonomik kayıp oluşturan postpartum anöstrus sorununun rektal muayene ve süt progesteron analizleriyle belirlenmesi, ayrıca hayvanların reproduktif sıklık faaliyetlerinin başlatılabilmesi için uygulanan PRID+PMSG hormon tedavileri sonrasında mandaların gebe kalma oranlarının araştırılması şeklinde özetlenebilir.

Materyal ve Metot

Araştırmada Afyon Kocatepe Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'ne birçok özellikleriyle yetersiz bulunan Anadolu ırkı mandaları melezlemek amacıyla ithal edilen, 3-4 yaşlı, ortalama 400 kg canlı ağırlıkta postpartum anöstrus süresi yaklaşık olarak 6.5 ay uzayan ve reproduktif verim düşüklüğü belirlenen 8 Murrah ırkı manda materyal olarak kullanıldı. Anılan hayvanlara günde iki defa olmak üzere toplam 6 kg kaba (yonca), 4 kg konsantre yem verilmekteydi. Hayvanların sağimleri günde iki defa sabah-akşam makine ile yapılmakta ve ortalama 9 lt süt elde edilmekteydi. Mandalardan doğan malaklar doğumdan itibaren ilk 5 gün emzirildikten sonra yapay yolla besleniyorlardı.

Hayvanlarda anöstrus tespiti: Sorunlu mandalara 1 ay süreyle, haftada bir kez rektal muayene yapılarak ovaryumları corpus luteum varlığı ile olası sıklık faaliyetler açısından araştırılırken, uterusları patolojik olgular yönünden kontrol edildi. Ayrıca süt progesteron düzeylerinin belirlenmesi amacıyla haftada iki kez potasyum dikromatlı tüplere sabah sağımında 5 ml süt örneği alınarak analiz için +5°C'de muhafaza edildi.

Süt progesteron değerlerinin belirlenmesi: Süt progesteron ölçümü Türkiye Atom Enejisi Kurumu Ankara Nükleer Tarım ve Hayvancılık Araştırma Merkezi laboratuvarında Enzim immünassay (EIA) yöntemi ile nicel olarak, Van de Wiel ve Koops (15)'un bildirdiği şekilde yapıldı. Süt örnekleri 3000 devirde 30 dakika +5 °C'de santrifüj edilerek yağ kısmı ayrıldı. Daha sonra plaklar anti tavşan/keçi IgG ile kaplandı (1 µg/kuyu) ve östrustaki mandalardan alınan yağı alınmış sütte 0.3, 0.6, 1.25, 2.5, 5, 10, 20 ng/ml olacak şekilde standartlar hazırlandı. Standart ve numuneler 20 µl/kuyu pipetlendi. Kuyulara 100 µl antikor pipetlenerek üzerine 50 µl/kuyu enzim (Horse Radish Peroxidase, RZ 3, Boehringer)

pipetlendi. Plaklar 37 °C de 2 saat ve +4 °C bir gece inkübe edildi. Üç kez tween 80 ile yıkanıp kurulandı. Kuyulara 150 µl substrat (TMB: tetra methyl benzidine, 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, Sigma) pipetlenerek 40 dakika karanlıkta inkübe edildi ve reaksiyon 50 µl H₂SO₄ ile durduruldu. Plaklar 450 nm'de ELISA'da okundu ve sonuçlar standart eğriden hesaplandı.

Hormon uygulamaları: Anöstrus sorunlu Murrah mandalara 1.55 g Progesteron+10 mg Östradiol benzoat içeren PRID spiralleri (PRID, Sanofi, Fransa) intravaginal uygulandı (n=8) ve 12 gün süreyle burada tutuldu. PRID'lerin uzaklaştırılacağı gün 750 IU PMSG (Syncro-Part 6000 IU, Sanofi-DİF, İstanbul) intramuskuler (n=7) olarak enjekte edildi.

Östrus izlenimleri, aşımalar ve gebelik muayenesi: Östrus izlenimi, PRID'ler hayvanlardan uzaklaştırıldıktan 24 saat sonra başladı. Günde üç kez 30 dakika süreyle ve 4 gün süresince östrus belirtileri gözlemlendi (Manda boşası yardımıyla). Doğal aşımalarından sonra izleyen olası östrus tarihlerinde tekrar gözlemler yapıldı ve aşımalar kaydedildi. Hayvanların gebelikleri doğal aşımaları izleyen 60-75. günlerde rektal muayene ile belirlendi.

Bulgular

Mandalarda postpartum anöstrus süresi ortalama 193±22 gün olarak tespit edildi. Bu süre içerisinde hayvanlarla birlikte manda boşası bulunduğu halde hiçbir hayvanda östrus belirtileri gözlenmedi. Yapılan rektal muayenelerde 7 mandada ovaryumların küçük, sert ve inaktif oldukları (CL-), uteruslarının ise normal olduğu belirlendi. Bir mandanın ovaryumlarında ise birer hafta ara ile yapılan muayenelerde corpus luteum ile Graaf folikülü ve izleyen haftada ise yine corpus luteumun bulunduğu belirlendi. Ancak bu hayvanda östrus belirtileri gözlenmedi. Bütün hayvanlardan elde edilen süt progesteron değerleri tablo 1'de, uygulanan tedaviler sonrası gözlenen bulgular ise tablo 2'de aktarılmaktadır.

Tedavi sonrası mandalarda (n=7) östrus gözlenirken, 7. günde PRID'i düşüren bir mandanın da östrus gösterdiği belirlendi (%100.0). Östruslar tedavi bitiminden ortalama 60 saat sonra şekillenirken, her bir gebelik için aşım sayısı 2.13 olarak tespit edildi. Mandaların %87.5'inin ikinci aşımında, %12.5'inin ise üçüncü aşımında gebe kaldığı belirlenirken, ilk aşımalar sonrasında ise gebelik şekillenmediği gözlemlendi. Ayrıca tedaviler sonrası şekillenen iki östrus arasındaki sürenin 22-27 gün olduğu belirlendi.

Tartışma

Mandalarda doğum sonrası reproduktif siklik faaliyetler 30-90. günler arasında başlamaktadır. Sunulan çalışmada Murrah mandalarında, ilk doğumlarını Nisan-Temmuz ayları arasında yaptıktan sonra 190±22 gün süresince siklik faaliyetlerin başlamadığı, ayrıca bu sürenin postpartum ilk östrus için bildirilen (1) 30-90 günlük süreden daha uzun olduğu belirlendi.

Mandalarda reproduktif verimliliği düşüren anöstrus sorununun oluşmasında birçok faktör rol oynamaktadır. Sunulan çalışmada Murrah manda malaklarının yapay yolla beslendikleri göz önüne alınırsa, mandalarda şekillenen anöstrus sorununun araştırmacıların (2,6,7) bildirdiklerinin aksine malakların emzirilmesiyle ilgili olmadığı anlaşılmaktadır. Ancak hayvanların doğum sonrası içinde bulunduğu aylar itibarıyla (Haziran-Temmuz-Ağustos) gün sıcaklığının yüksek olması ve ısı stresinin hayvanların siklik faaliyetlerini etkilemesi, bunun yanı sıra çevre koşullarına adaptasyonlarını tam olarak sağlayamamaları nedeniyle mandalarda anöstrus sorunu oluşabileceği düşünülmektedir.

Mandalarda süt progesteron değerleriyle reproduktif faaliyetler rahatlıkla izlenebilmektedir. Barkawi ve ark. (2), anöstrus sorunlu mandalarda progesteron değerlerinin 0.1±0.02 ng/ml civarında olduğunu, Essawi ve Kandil (11) ise progesteron seviyesinin 0.027-0.28 ng/ml civarında bulunduğunu aktarmaktadırlar. Ayrıca mandalarda süt progesteron analizleriyle sakin kızgınlık (suböstrus) ve klinik bozuklukların da belirlenebileceği vurgulanmaktadır (4). Anöstrus sorunlu Murrah mandalarından elde edilen süt progesteron değerlerinin (0.12-0.94 ng/ml) bir manda dışında yukarıdaki araştırmacıların bildirdikleri değerlerle aynı veya bu değerlere yakın olduğu belirlenmiştir (Tablo 1). Bunun yanı sıra rektal muayenede ovaryumlarda siklik oluşum bulgularına rastlanılmamış (n=7) ve bu bulguların süt progesteron değerleriyle paralel olduğu gözlenmiştir (Tablo 1). Bir manda ovaryumunda ise aktif corpus luteum palpe edilmiş, bu mandanın süt progesteron değerlerinin (4.08-5.03 ng/ml), belirlenen corpus luteumun varlığına bağlı olarak yüksek düzeyde ve rektal muayene bulgularına paralel olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle aynı mandanın suböstrusde olduğu kanaatine varılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda mandalarda anöstrus sorununun tam olarak tanısı için rektal muayene ve klinik bulguların yanı sıra süt progesteron değerlerinin önemli olduğu, ayrıca

Tablo 1. Anöstrus sorunu bulunan Murrah ırkı mandalardan elde edilen süt progesteron değerleri (ng/ml).

Hayvan sıra no	Süt Progesteron ng/ml							
	1.gün	5. gün	9.gün	12.gün	16.gün	19.gün	21. gün	24.gün
1*	0.56	1.94	3.20	4.08	5.03	0.28	0.31	3.15
2	0.12	0.22	0.22	0.12	0.15	0.19	0.18	---
3	0.40	0.18	0.37	0.19	0.22	0.19	0.18	0.15
4	0.28	0.19	0.19	0.12	0.25	0.25	0.94	---
5	0.25	0.22	0.25	0.67	0.75	0.28	0.94	0.24
6	0.28	0.31	0.37	0.28	0.31	0.22	0.28	0.18
7	0.25	0.25	0.25	0.25	0.19	0.15	0.15	0.25
8**	---	---	---	---	---	---	---	---

* Rektal muayene ile ovaryumlarında corpus luteum ve Graaf folikülü tespit edilen manda

**Hayvan laktasyonda olmadığı için süt örnekleri alınmadı

Tablo 2. PRID+PMSG uygulanan mandalarda uygulama ve fertilitte sonuçları.

Hayvan sıra no	Östrus	Östrus gözlenen saatler	Gebelik için gerekli aşım sayısı	İlk üç aşım sonrası gebelik
1	+	76	2	+
2	+	PRID 7.günde düştü	2	+
3	+	54	2	+
4	+	76	2	+
5	+	54	3	+
6	+	54	2	+
7	+	54	2	+
8	+	54	2	+
	%100.0	Ortalama 60.saat	Ortalama 2.13	%100.0

hayvanlarda şekillenebilecek suböstrus olgularının da süt progesteron düzeyine bağlı olarak rahatlıkla belirlenebileceği düşünülmektedir.

Progesteron ve PMSG hormon uygulamaları ineklerde ve düvelerde reproduktif fonksiyonel bozuklukların tedavisinde rahatlıkla kullanılabilirdiği gibi (10,16), mandalarda da anöstrus sorunun tedavisinde uygulanabilmektedir (9). Bu tür tedaviler sonrasında PRID uygulanan 16 hayvanda östrusun, 1. gün 5, 2. gün 4 ve 3. gün ise 7'sinde gözlemlendiği bildirilirken, toplamda östruslerin gözlenme oranının ise %100.0 olduğu aktarılmaktadır (9). Yine anöstrusde bulunan mandalarda, norgestomet içerikli kulak implantı ile subkutan östrojen valerate bileşiminin 9 gün uygulanması ve implantları çıkarmadan önce 750 IU PMSG enjekte

edilmesi sonrasında hayvanlarda %100.0 kızgınlık belirlendiği bildirilmektedir (11). Sunulan çalışmada PRID+PMSG uygulamaları sonrasında Murrah mandalarının tedavilerin bitiminden sonra ortalama 60. saatte %100.0 oranında kızgınlık gösterdikleri belirlendi (Tablo 2). Elde edilen bu oran araştırmacıların (9,11) tedaviler sonrasında bildirdikleri oran ile uyum göstermektedir.

Barile ve ark. (12), PRID+PMSG uyguladıkları 62 mandada 3 aşım sonrası %56.5, Mansour ve Abdo (13) ise, progesteron ve PMSG yaptıkları 9 mandada %67.0 oranında gebelik oluştuğunu aktarmaktadırlar. Sunulan çalışmada kullanılan 8 Murrah mandanın PRID'lerin alınmasından sonra gözlenen ilk kızgınlıklarında gebe kalmadıkları, ilk üç aşımında mandalarda oluşan gebelik

oranlarının ise %100.0 olduğu tespit edildi. Gebelik başına aşım ortalaması ise 2.13 olarak belirlendi (Tablo 2). Sunulan araştırmada elde edilen gebelik oranı (%100.0) diğer araştırmacıların bildirdikleri oranlardan daha yüksek bulunmuştur. Elde edilen yüksek gebelik oranı, Murrah manda sürüsü içerisinde sürekli boğanın bulunmasından ileri gelmiş olabilir. Bunun yanı sıra mandaların gözlenen ilk östruslarda gebe kalmamasının nedeninin, hayvanlarda PRID uygulaması sonrasında oluşan aseptik vaginitisten kaynaklanabileceği, daha sonraki fertil östruslarda bu olgunun ortadan kalkması ile doğal aşımın daha olumlu sonuçlar verebileceği varsayılmaktadır.

Çalışmada PRID+PMSG tedavileri sonrasında hayvanlarda başlayan siklik faaliyetler doğrultusunda oluşan östruslar arasındaki sürenin 22-27 gün arasında olduğu belirlendi. Bu konu ile ilgili olarak Beg ve Totey (7) mandalarda iki östrus arasındaki sürenin ortalama 21 gün olabileceğini aktarıırken, bakım, beslenme, idare gibi etkenlerin yanı sıra çevre koşulları ile fotoperiyod gibi

faktörlerin de östrus süresinin uzamasında veya kısalmada etkili olabileceğini aktarmaktadırlar.

Sonuç olarak, Türkiye'de Afyon bölgesinde az sayıda bulunan damızlık Murrah ırkı mandalarda yaz aylarında şekillenen anöstrus sorununun oluşmasında ısı stresi gibi çevresel faktörlerin önemli rol oynayabileceği ve hayvanların ilk doğumlarını yaptıktan sonra çevreye adaptasyonlarının tam olarak tamamlanmadığı ileri sürülebilir. Ayrıca hayvanlarda şekillenen bu sorunun tanısında süt progesteron değerlerinin önemli ölçüde yararlı olabileceği ve suböstrus gibi olguların tanısında da ayırıcı bulgu olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir. Bunun yanı sıra anöstrus sorununun ekonomik kayıp oluşturma riskinin ortadan kaldırılması ve Murrahların damızlık özelliklerinin korunarak devamlılığının sağlanabilmesi için PRID+PMSG hormon kombinasyonunun, reproduktif siklik faaliyetleri başlatması ve hayvanların gebe kalma oranlarının artırılması amacıyla başarılı bir şekilde kullanılabilceği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

- Jainudeen, M.R.: Reproduction in the Buffalo. In Veterinary reproduction and obstetrics. 7th ed., WB Saunders Co., London, p. 667-674, 1996.
- Barkawi, A.H., Shafie, M.M., Mekawy, Y., Aboul-Ela, M.B.: The use of serum and progesterone concentration to monitor post-partum ovarian activity in Egyptian buffaloes. Buffalo J. 1986; 2: 125-134.
- Zicarelli, L., Campanile, G., Infascelli, F., Esposito, L.: Effect of period, age and postpartum interval on spring anoestrus in the buffalo. Riv. Zootec. Vet. 1988; 16 (1): 21-31.
- Gupta, M., Prakash, B.S.: Milk progesterone determination in buffaloes post-insemination. Br. Vet. J. 1990; 146: 563-570.
- Jainudeen, M.R.: The water buffalo. Pertanika 6 (Rev. Suppl), 1983; 133-151.
- Chauhan, F.S., Singh, M.: Anestrus in buffaloes. Indian Vet. J. 1979; 56: 583-589.
- Beg, M.A., Totey, S.M.: The oestrous cycle, oestrous behaviour and the endocrinology of the oestrous cycle in the buffalo (*Bubalus bubalis*). Anim. Breed. Abstr. 1999; 67 (5): 329-337.
- Baruselli, P.S., Viana, W.G., Mucciolo, R.G., Oliveira, C.A., Madureira, E.H.: Ovarian activity and reproductive behaviour during the post partum in buffaloes. Proc. 4th World Buffalo Cong. Sao Paulo, Brazil, 27-30 June, 1994, Vol. 3, 641-642.
- El-Belely, M.S., Zaki, K., Abou-Ahmed, M.M., Grunert, E.: Influence of progesterone coils (PRID) on some plasma constituents in buffaloes. Br. Vet. J. 1987; 143 (4): 344-347.
- Ünal, F.F., Gökçen, H., Nak, Y., Tümen, H.: PRID (progesteron salan vagina içi alet) kullanımı ile inek ve düvelerde anöstrusun sağıtımı. U.Ü. Vet. Fak. Derg. 1992; 11 (2): 91-100.
- Essawi, S.A., Kandil, O.M.: Induction of ovulatory oestrus in non cycling buffaloes. Proc. 5th World Buffalo Cong. October 13-16, 1997, Royal Palace-Caserta, Italy. www.inea.it/isz/convegno/absripf.htm.
- Barile, V.L., Galasso, A., Marchiori, E., Borghese, A.: Effect of PRID treatment on oestrus synchronization and progesterone levels in Italian buffaloes. Proc. 5th World Buffalo Cong. October 13-16, 1997, Royal Palace-Caserta, Italy.
- Mansour, M.M., M. Abdo, G.A.: Effect of different routes of Pgf2alfa administration and progesterone on the treatment of infertility in buffaloes. Vet. Med. J. Giza. 1999; 47 (2): 267-276.
- Alexiev, A.: The water buffalo. St. Kliment Ohridski University Press, 1998. Sofia, Bulgaria.
- Van de Wiel, D.F.M., Koops, W.: Development and validation of an enzyme immunoassay for progesterone in bovine milk or blood plasma. Anim. Reprod. Sci. 1986; 10: 201-213.
- Alaçam, E., Tekeli, T., Çoyan, K., Işık, K.: İnaktif ovaryumlu düvelerde fluorogestone asetat (FGA) ve gebe kısarak serum gonadotropini (PMSG) ile sağıtım girişimleri. Hay. Araş. Derg. 1993; 3 (2): 110-112.