

Değişik Sulandırıcılar İle Sulandırılarak 5°C'de 24 Saat Saklanan Aygır Spermalarının Spermatojik Özellikleri

Hazım GÖKÇEN*
Binnur BİLGİN***

Hüseyin TÜMEN**
Cumhur SÖNMEZ****

İbrahim DOĞAN***
Mürsel DEMİREL*****

ÖZET

Bu araştırmada 24 saat süreyle 5°C'de saklanan aygır spermasının spermatojik özelliklerinde meydana gelebilecek değişimlerin saptanması amaçlandı. Materyal olarak kullanılan 6 aygırdan alınan spermalar 3 bölüme ayrıldı ve 3 ayrı sulandırıcı ile sulandırıldı. Sperma alındıktan hemen sonra yapılan spermatojik muayeneler sulandırdıktan sonra, 5°C'de ve 12 ile 24. saatlerde tekrarlandı. Ortalama motilite, ölü, anormal ve akrozom yapısı bozulmuş spermatozoon oranları 24. saatte sırası ile % 15.7, 51.0, 36.1 ve 2.7 olarak bulundu.

* Prof. Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Repro. ve Sun'i Toh. B.D. Bursa-Türkiye.

** Yard. Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak. Repro. ve Sun'i Toh. B.D. Bursa-Türkiye.

*** Araş. Gör.; U.Ü. Vet. Fak. Repro. ve Sun'i Toh. B.D. Bursa-Türkiye.

**** Dr. Vet. Hek.; Ask. Vet. Araş. Enst. Gemlik, Bursa-Türkiye.

***** Vet. Hek.; Ask. Vet. Araş. Enst. Gemlik, Bursa-Türkiye.

SUMMARY

Spermatological Characteristics of Stallion Semen Diluted With Different Diluents and Stored at 5°C for 24 Hours

In this study, spermatological characteristics of stallion semen, stored at 5°C for 24 hours, was investigated. Ejaculates collected and divided into three groups by split sample method and diluted with different diluents. Ejaculates were examined just after collection and reexamined just after dilution and 12 and 24 hours after dilution at 5°C. Averages of motile, dead, abnormal and acrosome defected spermatozoon percentages 24 hours after dilution were found as 15.7, 51.0, 36.1 and 2.7 respectively.

Key words: Stallion, semen, storage.

GİRİŞ

Hızla gelişen teknolojinin ürünü olarak her alanda yaygın biçimde mekanizasyona geçilmesi, özellikle işgücünden yararlanılabilen at türünün sayıca azalmasına yol açmıştır ve bugün Türkiye'de 399,459 adet at bulunmaktadır¹. Ancak özellikle tarım kesiminde her ne kadar mekanizasyona geçilse de hala atın işgücü olarak önemi büyüktür. Zira Türkiye'de tarım makinalarının giremeyeceği arazi miktarı oldukça fazladır. Bu yüzden atların üretimi ve neslinin devamının sağlanması halen zorunluluk arz etmektedir.

Atlarda istenen düzeyde dölverimi elde edilmesi kısrağa olduğu kadar aygıra da bağlıdır. Her şeyden önce aygırın fertil ve yeterli spermatolojik özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bunun yanısıra kısraklarda östrus süresinin uzun ve ovulasyon anının değişken oluşu, spermatozoon ve ovumun yaşama süresinin de kısa olması nedeniyle tekrarlanan tohumlamalara gerek duyulmaktadır. Bu da özellikle harem kurularak yapılan tohumlamalarda aygırların sık sık aşım yapma zorunluluğunu ortaya çıkarmakta ve aygırın yıpranması yanısıra dölveriminin düşmesine yol açmaktadır. Oysa aygır spermasının kısa süreli de olsa saklanması halinde bu sorunun belli ölçüde önüne geçmek mümkün olabilecektir. Nitekim Bush ve ark.² çok eski yıllarda Sato ve Yamene'nin yaptıkları çalışmalara dayalı olarak aygır spermasının değişik sulandırıcılarla sulandırılarak spermatozoonların yaşama süresinin uzatılabileceğini ve tohumlamada kullanılabileceğini bildirmektedirler. Aygır spermasının sulandırılması amacıyla değişik sulandırıcılar geliştirilmiştir. Yağsız süt^{3,4}, yağsız süt-jelatin⁵ ve yağsız süt-glikoz⁶ bu amaçla kullanılabilir.

Yağsız süt (2.4 gm.)-Glukoz (4.9 gm.)-% 7.5 Sodyum Bikarbonat (2 ml.)-Gentamisin Sülfat (100 mg.) ve distile su (100 ml.) dan oluşan sulandırıcı da uzun süredir kullanılmakta ve bununla iyi sonuçlar alınmaktadır⁷.

Bugün için aygır spermatozoonlarının kısarak genital organlarında uzun zaman yaşamasını sağlayacak bir yöntem bilinmemektedir. Bununla beraber spermatozoonları uzun ömürlü yapmak için bazı bileşimler kullanılmaktadır.

Yapılan denemelere göre aygır spermasını en uygun sulandırma oranı 1/3 - 1/5'tir. Sulandırılmış ve bir süre bekletilmiş sperma ile tohumlama yapılırken böyle spermaların daha kısa süre yaşayabildiği unutulmamalı ve tohumlamalar daha sık veya ovulasyon zamanı ile ayarlanarak yapılmalıdır⁸.

Yapılan bir araştırmada pek çok sulandırıcı denenmiş ve Glikoz (30 gr.), Laktoz (20 gr.), Sodyum potasyum tartarat (10 gr.), yumurta sarısı (200 gr.), para amino benzoik asit (6 gr.), Distile su (1000 ml.) dan oluşan sulandırıcı ile en iyi sonuçlar alınmıştır⁸. Başka bir araştırmada ise aygır sperması yağsız süt veya glisin sulandırıcıları ile sulandırılarak 24 saat süre ile 6-8°C'lik ısıda saklanmıştır. Bildirildiğine göre ilk altı saat içerisinde motilite yönünden sulandırıcılar arasında fark görülmemiştir. Buna karşın 24 saat sonra glisin ile sulandırılan sperma örneklerinde motilite oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır³.

Witte⁴, glisin ve yağsız süt sulandırıcıları ile sulandırdığı sperma örneklerinde 36 saat sonra % 53.3 ve % 36.1 oranında motil spermatozoon bulunduğunu bildirmektedir.

Varner ve ark.⁶ tarafından yapılan bir araştırmada yağsız süt-glikoz ile sulandırılarak 5°C'de 24 saat bekletilen ya da taze spermalar ile yapılan tohumlamalardan elde edilen gebelik oranlarının (% 73) farklı olmadığı öne sürülmektedir. Benzer şekilde sulandırılıp 5°C'de bekletilen sperma ile ardarda 2 yıl yapılan tohumlamalardan % 80 ve % 69 düzeyinde gebelik elde edilmiştir⁹.

Yapılan bu araştırmada, aygır spermasının sulandırılarak 24 saat süreyle saklanması halinde bu süre içerisinde spermatolojik özelliklerde meydana gelecek değişimlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Araştırmada materyal olarak Gemlik Askeri Veteriner Araştırma ve Eğitim Merkezinde yetiştirilen 6 adet safkan İngiliz aygır kullanıldı. Aygırlardan sun'i vajen ile alınan spermanın jel kısmı, süzmek suretiyle ayrıldıktan sonra motilite, ölü, anormal ve akrozomu defektli spermatozoon oranları belirlendi. Her aygırdan alınan sperma ilk muayenesi yapıldıktan sonra 3 eşit bölüme ayrıldı ve aşağıda bileşimleri verilen 3 ayrı sulandırıcı ile 1/3 oranında sulandırıldı. Sulandırılan spermanın ısısı yavaş yavaş 5°C'ye düşürüldü ve buzdolabında 24 saat süreyle bekletildi.

Spermanın sulandırılmasından önce yapılan spermatolojik muayeneler hem sulandırıldıktan ve ısısı 5°C'ye düşürüldükten sonra hem de 12 ve 24. saatlerde tekrarlandı. Motilite tayini rutin yöntem ile, ölü/canlı, anormal ve akrozom

bozukluğu olan spermatozoonların belirlenmesinde de sırasıyla eosin-nigrosin, çini mürekkebi ve Giemsa boyama yöntemleri uygulandı.

Kullanılan Sulandırıcılar:

- 1) Süt tozu 2.4 gr.
Glikoz 4.9 gr
Sodyum bikarbonat (% 7.5) 2 ml
Gentamisin 100 mg
Distile su 100 ml
- 2) Glikoz 5.76 gr
Sodyum potasyum tartarat 0.67 gr
Distile su 100 ml
Yumurta sarısı 3 ml
- 3) Sodyum sitrat 2.37 gr
Glikoz 0.8 gr
Yumurta sarısı 20 ml
Distile su 100 ml

BULGULAR

Yapılan araştırmada materyal olarak kullanılan aygırlardan alınan taze spermaların spermatolojik özelliklerine ilişkin bulgular Tablo I'de, spermaların sulandırılmasından ve ısısının 5°C'ye düşürülmesinden sonra da 12 ve 24. saatlerde saptanan spermatolojik değerler Tablo: II'de topluca sunulmuştur.

Tablo: I
Araştırmada Kullanılan Aygırların Taze Spermalarında
Saptanan Spermatolojik Özellikler

Aygırın Adı	Motilite (%)	Ölü Spermatozoon (%)	Anormal Spermatozoon (%)	Akrozom Defekli Spermatozoon (%)
Görkem	70	32	34	1
Kuruluş	75	29	36	-
Ay ışığı	70	35	24	1
Kuzgun	85	25	25	-
B. Gölge	60	22	22	3
Daver	60	40	38	-
ORTALAMA	70.0	30.5	29.8	0.8

Tablo I'den de izlenebileceği gibi 6 aygırdan alınan spermalarda ortalama motilite, ölü, anormal ve akrozom yapısı bozulmuş spermatozoon oranları sırasıyla % 70.0; % 30.5; % 29.8 ve % 0.8 olarak bulunmuştur.

Tablo: II
Ayğırlardan Alınan Spermaların Sulandırılmasından Sonra ve 24 Saat İçinde Saptanan Spermatojolojik Bulgular

Aygırın Adı	Sulandırıcı No	Motilite oranı (%)				Üst spermatozoon oranı (%)				Anormal spermatozoon oranı (%)				Akrozon bozukluk oranı (%)			
		Sulan-dırıldıktan son	5°C	12 saat sonra	24 saat sonra	Sulan-dırıldıktan son.	5°C	12 saat sonra	24 saat sonra	Sulan-dırıldıktan son.	5°C	12 saat sonra	24 saat sonra	Sulan-dırıldıktan son	5°C	12 saat sonra	24 saat sonra
Görkem	1	65	50	45	30	36	40	49	59	19	22	28	32	1	1	1	2
	2	65	55	55	45	30	42	45	47	21	21	28	33	1	2	1	3
	3	65	55	45	35	32	40	40	45	22	21	26	33	-	1	1	2
	Ortalama	65	53.3	45.0	36.6	32.6	40.6	44.6	50.3	20.6	21.3	27.3	32.6	0.6	1.3	1	2.3
Kuruş	1	70	65	55	30	29	34	38	48	46	45	45	47	-	-	-	1
	2	70	70	60	50	29	36	36	53	36	36	40	42	-	2	2	2
	3	70	65	40	30	32	32	37	91	37	35	38	36	-	2	1	2
	Ortalama	70	66.6	51.6	36.6	30.0	34.0	37.0	64.0	39.6	38.6	41.0	41.6	0.0	1.3	1.0	1.6
Ay ışığı	1	60	50	15	5	28	36	50	57	22	22	20	23	-	-	-	1
	2	60	55	25	10	35	35	53	60	27	25	25	23	1	2	1	3
	3	60	50	15	5	42	35	53	58	24	26	27	29	1	-	2	2
	Ortalama	60	51.6	18.3	6.6	35.0	35.3	52.0	58.3	24.3	24.3	24.0	25.0	0.6	0.6	1.0	2.0
Kuşun	1	70	60	40	-	24	30	36	38	20	22	27	32	-	-	-	1
	2	75	65	65	20	24	25	25	27	18	22	27	34	-	-	-	1
	3	65	65	40	-	26	25	24	28	15	21	21	29	1	-	1	1
	Ortalama	70	63.0	48.3	6.6	24.6	26.6	28.3	31.0	17.6	21.6	25.0	31.6	0.3	0.0	0.3	1.0
Beyaz bölge	1	60	50	20	-	22	25	25	40	22	23	25	28	1	4	4	8
	2	60	55	50	25	25	24	26	35	20	24	24	24	-	4	5	8
	3	60	55	25	-	25	27	30	37	18	19	21	27	2	3	4	8
	Ortalama	60	53.3	31.6	8.3	24.0	25.3	27.0	37.3	20.0	22.0	23.3	26.3	1.0	3.6	4.3	8.0
Daver	1	50	40	-	-	45	50	55	67	41	35	34	60	-	-	1	1
	2	55	50	45	-	50	57	60	75	42	38	41	58	-	1	1	2
	3	50	50	30	-	48	45	48	54	38	38	50	61	-	1	1	1
	Ortalama	51.6	46.6	25.0	0.0	47.6	50.6	54.3	65.3	40.3	37.0	41.6	59.6	0.0	0.3	1.0	1.3
	Genel Ortalama	62.7	55.7	36.6	15.7	32.3	35.4	40.5	51.0	27.0	27.4	30.3	36.1	0.4	1.1	1.4	2.7

Spermaların sulandırılmasından sonra, 5°C'de, 12 ve 24. saatlerde yapılan muayenelerinde ortalama motilite oranları % 62.7, % 55.7, % 36.6 ve % 15.7; ölü spermatozoon oranları % 32.3, % 35.4, % 40.5 ve % 51.0; anormal spermatozoon oranları % 27.0, % 27.4, % 30.3 ve % 36.1; akrozom yapısı bozulmuş spermatozoon oranları da % 0.4, % 1.1, % 1.4 ve % 2.7 olarak saptanmıştır.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan araştırmada 3 ayrı sulandırıcı ile sulandırılan aygır spermalarında sulandırmadan önce; sulandırdıktan sonra; 5°C'de; 12 ve 24. saatlerde saptanan ortalama motilite oranları % 70.0, % 62.7, % 55.7, % 36.6, % 15.7; ölü spermatozoon oranları % 30.5, % 32.3, % 35.4, % 40.5, % 51.0; anormal spermatozoon oranları % 29.8, % 27.0, % 27.4, % 30.3, % 36.1; akrozom bozukluğu olan spermatozoon oranları da % 0.8, % 0.4, % 1.1, % 1.4 ve % 2.7 olarak saptanmıştır. Oysa değişik sulandırıcılar ile sulandırılıp 4-5°C'de bekletilen aygır spermalarında 3-4 gün süreyle yeterli düzeyde aktivite ve fertilizasyon yeteneğinin devam ettiği, +4°C'de 24 saat saklama halinde fertilizasyon yeteneğinin önemli ölçüde etkilenmeyeceği, 48 saat bekletilmiş sperma ile yapılan tohumlamalardan bile iyi sonuçlar alındığı öne sürülmektedir^{8,10}. Öte yandan, yapılan bir araştırmada süt ve glisin ile sulandırılıp 36 saat bekletilen sperma örneklerinde % 53.3 ve % 36.1 motilite oranı tesbit edilmiş ve bu spermalar ile yapılan tohumlamalardan da % 35.7-58.3 arasında gebelik oranı elde edilmiştir⁴. Fakat Hueck¹¹, sulandırılıp ısısı düşürülen spermaların 3 ayrı tip konteyner içinde 48 saat saklandığını, 5 saat sonra Sarstedt tipi konteynerde tutulan spermada başa bağlı bozuklukların arttığını bildirmektedir.

Yapılan araştırmada saptanan spermatolojik özelliklere ilişkin bulgular, özellikle 24 saat sonunda motilite oranı izleyebildiğimiz bazı literatürde bildirilen sonuçlara kıyasla daha düşüktür^{4,8,10}. Bunun yanısıra oda sıcaklığında 8 saat saklanan sperma örneklerinde bile % 56 ± 7 - 65 ± 9 arasında motilite oranı saptandığı bildirilmektedir. Elde edilen bulguların sunulan literatür sonuçlarına kıyasla daha düşük bulunmasının bir nedeni olarak kullanılan sperma sulandırıcılarının bileşimlerinin farklı olmasını düşünmek olasıdır. Her ne kadar sulandırıcılar arasında özellikle başlangıçta spermatolojik özellikler ve fertilite üzerine etkileri bakımından fark olmadığı bildirilmekte ise de^{4,5}, kimi araştırmacılar bu görüşe katılmadıklarını ve bazı sulandırıcıların hem spermatolojik özellikler hem de dölverimi bakımından daha iyi sonuç verdiğini öne sürmektedirler^{8,12,13}. Nitekim Tekin ve ark.³, sulandırıcılar arasında 0-6 saat içinde önemli bir fark olmadığını, fakat 24 saat sonra glisin ile sulandırılan spermanın diğerlerine kıyasla daha yüksek motilite gösterdiğini bildirmektedirler.

Aygırlarda sperma kalitesini etkilediği bildirilen yaş, ırk, gibi fizyolojik, bakım-besleme, iklim, ekzersiz, kullanım sıklığı gibi çevresel faktörlerin yanısıra

sperma alma yöntemi ve spermaya yapılan işlemlerin her araştırmada değişik derecelerde etki ederek farklı sonuçların ortaya çıkmasına yol açması da olasıdır.

Sonuç olarak, bu konuda izlenebilen literatür verileri ile yapılan bu araştırmada elde edilen sonuçlara dayanarak aygır spermasının daha uzun süre ile saklanmasına ve spermatolojik özelliklerini korumasına olanak sağlayacak sulandırıcıların ve tekniklerin geliştirilmesi amacıyla başka denemelerin yapılmasının yararlı olacağını, zorunlu hallerde de 0-12 saat süreyle saklanan spermanın tohumlamada kullanılabileceğini söylemek olasıdır.

KAYNAKLAR

1. T.C. BAŞBAKANLIK DEVLET İSTATİSTİK ENSTİTÜSÜ: 1991 Genel Tarım Sayım Muhtarlık Anketi Geçici Sonuçları (1991).
2. BUSCH, W., YÖHLE, K. und PETER, W.: Künstliche Besamung bei Nutstieren. VEBGustav Fischer Verlag Jena (1982).
3. TEKİN, N., WÖCKENER, A., KLUG, E.: Effect of two different diluents and storage temperatures on the viability of stallion semen. Anim. Breed. Abstr. 58: 7118 (1990).
4. WITTE, A.: Investigations on the preservation of chilled horse semen using different methods of dilution. Laboratory and field studies. Anim. Breed. Abstr. 58: 7120 (1990).
5. PICKETT, B.W.: Use of artificial insemination in stallion management, in "Current Therapy in Theriogenology" Ed. Morrow, A.D., 688-693, W.B. Saunders Company, Philadelphia (1980).
6. VARNER, D.D., BLANCHARD, T.L., MEYERS, P.J., MEYERS, S.A.: Fertilizing capacity of equine spermatozoa stored for 24 hours at 5 or 20°C. Theriogenology, 32(4), 515-525 (1989).
7. LOCK, Ted. F.: Artificial insemination and semen handling. in "Current Therapy in Theriogenologi 2", Ed. Morrow, D.A. 652-653, W.B. Saunders Company, Philadelphia (1986).
8. ÖZKOCA, A.: Çiftlik Hayvanlarında Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama. İstanbul Üniv. Vet. Fak. Yayınları No: 3209 (1984).
9. LUXARDO, M., ROGNONI, C., PESCO, A., CULLO, U.: Artificial insemination in the horse. Field trials. Anim. Breed. Abstr. 58: 5718 (1990).
10. GORDON, I: Controlled Breeding in Farm Animals. First Edition, Pergamon Press. Oxford (1983).
11. HUECK, C.: Investigations on the storage of fresh stallion semen, using different cooling and transport systems. A laboratory study. Anim. Breed. Abstr. 59: 5333 (1991).

12. HURTGEN, J.P.: Evaluation of Stallion Fertility. in "Current Therapy in Equine Medicine 2" Ed. Robinson, E., 555-557, W.B. Saunders Company, Philadelphia (1987).
13. BIZE, I., DRISCOLL, D.M.: Studies of stallion sperm survival: Preservation of progressive motility of stallion spermatozoon by low ionic strength media. *Anim. Breed. Abstr.* 58: 2528 (1990).