

AYGIR SPERMASININ DONDURULMASI ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR

(Untersuchungen zur Tiefgefrierkonservierung von Hengstperma)

Nafiz YURDAYDIN (*)

Mustafa ÇELEBİ (**)

Alois HOLZMANN (***)

ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchungen wurden aus insgesamt 35 ejakulaten von 7 Vollblut Araberhengsten der Langestüt Çifteler verwendet.

Die Ejakulate nach ersten Beurteilung, für die Tiefgefrierung wurden mit Laktose-Merck-Eidotter-(6 %) Glycerin Verdünnermedium verdünnt. Die Ejakulate wurden jeweils nach der Verdünnung wurde neuerlich der Prozentsatz vorwärtsbeweglicher spermien durch Schatzung im mikroskop beurteilt, die enschliessende Portionierung erfolgte in Makropailleten. Nach 45 minutiger Lagerung bei Raumtemperatur wurden die pailleten über Stickstoffdampf 15 minuten eingefroren, anschliessend erfolgte die Sturzkühlung in flüssigen sticksstoff auf-196 °C.

Füs das auftauen der Pailleten wendeten wir 35 sek. bei 45 °C. Nach dem Auftauen, der durchschnittliche Prozentsatz vortwärtsbeweglicher Spermien, der Anteil toter spermien und morphologische abweichender Spermienformen wurden 44.28, 30.40 und 34.40 % festgestellt.

(*) A. Ü. Veteriner Fakültesi Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı, Ankara.

(**) Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Ankara,

(***) Veterinermedizinische Universität Wien, Wien.

ÖZET

Bu araştırmada, Çifteler Harası yetiştirilmesi 7 Safkan Arap aygırından alınan toplam 35 ejakülat sperma kullanıldı.

Alınan ejakülatlar ilk değerlendirmeden sonra, Laktoz-Merck-Yumurta sarısı-% 6 Gliserin içeren sulandırıcı ile sulandırılıp, makrotüplere çekildi. Makrotüplerde oda sıcaklığında 45 dakika bekletilen spermalar, sıvı azot buharında dondurularak -196 °C de sıvı azot içinde depo edilmiştir. Donmuş spermalar, 45 °C de 30 saniye süreyle çözülerek, çözüm sonu ortalama spermatozoon motilite, ölü ve anormal spermatozoon oranları sırasıyla % 44.28, % 30.40 ve % 34.40 olarak saptanmıştır.

GİRİŞ

At yetiştiriciliğinin verimli bir biçimde yapılabilmesi, başta bu hayvanlardan alınacak dölverimine bağlıdır. Bu da, kısraklar kadar hatta onlardan daha çok aygırların spermalarının normal dölleme gücünde olmalarıyla olasıdır.

Öte yandan, Türkiye'de yetiştirici kısraklarının tohumlanması, aygır depolarındaki çok sınırlı sayıdaki aygırlarla sürdürülmekte ve istenilen düzeyde dölverimi alınamamaktadır. Son yıllarda aygır sperması da, boğa sperması gibi başarıyla dondurulabilmekte ve uzun süre sıvı azot içinde saklanarak istenildiğinde tohumlamada kullanılarak normal dölverimi alınabilmektedir. Bu bakımdan, belli merkezlerde kurulacak aygır depolarında sperma kalitesi iyi aygırların spermalarının dondurulup istenilen yerlere gönderilmesiyle, at yetiştiriciliğinde büyük ölçüde sorun doğuran sınırlı aygır sayısı, bakım ve besleme gibi kimi sorunlara bir ölçüde çözüm bulunmuş olacaktır.

LİTERATÜR BİLGİSİ

Aygır spermasında boğa sperması gibi dondurulup tohumlamada kullanılarak normal bir dölverimi alınabileceği bir çok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (2, 5, 9, 12, 14, 16).

Aygır spermasını ilk kez 1954' de Szumowski (17), 1955' de Roy (15) 1959' da Zmurin (20), -79 °C de cam ampuller içinde; Nagase ve ark. (11) ile Merkt ve Krause (10) 1966' da, Krause ve Grove (8) 1967' de, Bader ve Mahler (3) ise, 1968' de Pellet yöntemiyle dondurmuşlardır.

Aygır spermasını pellet yöntemiyle donduran Klüg ve ark. (6), çözüm sonu spermatozoon motilite oranını % 40; Bader ve Mahler (3) % 50; Krause ve Grove (8) ise, % 50-70 olarak saptamışlardır.

Bu arada, payet yöntemiyle dondurdukları aygır spermasının çözüm sonu motilite oranını % 80 olarak belirleyen Nishikawa ve ark. (12) bu spermalar ile tohumladıkları 113 kısıraktan % 44.2 gebelik oranı elde etmişlerdir. Aygır spermasını aynı yöntemle donduran Kozandağı ve İşler (7) de, çözüm sonu motilite oranını % 40 olarak saptamışlardır.

Bu gelişmelerden sonra, Aliev (1) plastik tüplerde dondurduğu spermaların çözüm sonu spermatozoon motilite oranını % 50; spermayı makrotüp donduran Oliveira (13) da, % 45 ve Martin ve Klug (9) ise, makrotüpde dondurdukları aygır spermalarıyla tohumladıkları 13 kısıraktan % 63.2 gebelik oranı elde etmişlerdir.

Aygır Spermasını makrotüpler içinde donduran Braun ve ark. (4), Arap aygırlarının donmuş spermalarını 50 °C de 45 saniyede çözerek çözüm sonu spermatozoon motilite oranını % 33; Sevinç ve ark. (16) da, Karacabey Harası Arap ve Haflinger aygırlarında spermatozoon motilite oranını % 47.58 ve 49.99 olarak saptamışlardır. Aynı araştırmacılar, donmuş aygır spermasıyla 'Türkiye' de ilk kez tohumladıkları 14 Haflinger kısıraktan % 50 gebelik oranı almışlardır. Yurdaydın ve ark. (18) da, makrotüpde dondurdukları Haflinger ve Nonius ırkından aygırların spermalarında çözüm sonu spermatozoon motilite oranlarını sırasıyla % 54.85, 33.70 ve 45.40 olarak saptamışlardır. Yurdaydın ve Pohl (19) ise, dondurdukları Sıcak Kanlı aygırların spermalarını değişik ısı ve sürelerde çözerek en yüksek motilite oranını (% 49.60) 50 °C de 40 saniye, en düşük motilite oranını da (%25.60) 40 °C de 35 saniyede çözülen spermalarda bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar, en düşük anormal spermatozoon oranını (% 23.88) 50 °C de 35 saniyede, en yüksek anormal spermatozoon oranını da (% 40.88) 40 °C de 30 saniyede çözülen donmuş spermalardan elde etmişlerdir.

MATERYAL VE METOD

Araştırmada materyal olarak, Çifteler Harası yetiştirmesi 7 Safkan Arap aygırından Mart 1985' de gün aşırı alınan toplam 35 ejakülat sperma kullanıldı.

Alınan ejakülatlar spermatolojik özellikleri saptandıktan sonra santrifüje edilmeden % 6 gliserin içeren laktöz- Merck- Yumurta sarısı sulandırıcısı ile sulandırılıp makrotüplere çekildi. Bu spermalar, oda sıcaklığında 45 dakika bekletildikten sonra, sıvı azotun 24 cm. üstünde (sıvı azot buharında) 15 dakikada dondurulup, -196 °C de sıvı azot içinde depo edilmiştir.

Daha sonra, donmuş spermalar 30 saniye süreyle 45 °C de çözülerek çözüm sonu başlıca spermatolojik özellikler saptanmıştır. Öteyandan, çözülmüş bu spermalardan bakteriyoloji laboratuvarına örnekler gönderilerek, bakteriyel flora yönünden de araştırmaları yapılmıştır.

BULGULAR

Çifteler Harası yetiştirilmesi 7 Safkan Arap aygırından gün aşırı alınan toplam 35 ejakülatta saptanan spermatolojik özellikler Tablo 1 ' de verilmiştir. Tablodan da izlenebileceği gibi, bu aygırların toplam ortalama sperma miktarı 46.70 ml, spermatozoon motilite oranı % 67.57 (tek yönlü hareket eden spermatozoon oranı), ölü spermatozoon oranı % 20.80, anormal spermatozoon oranı % 26.50 ve spermatozoon yoğunluğu da mm^3 de 231.428 olarak elde edilmiştir.

Araştırmada kullanılan bu aygırların donmuş spermalarının çözüm sonu spermatolojik özellikleri de Tablo 2' de gösterilmiştir. Tablodan da görülebileceği gibi, çözüm sonu toplam ortalama spermatozoon motilite oranı % 44.28 (tek yönlü hareket eden spermatozoon oranı), ölü spermatozoon oranı % 30-40, anormal spermatozoon oranı % 34.40 ve spermatozoon yoğunluğu da, mm^3 de 111.085 olarak saptanmıştır.

Bu arada, çözülen spermalardan bakteriyoloji laboratuvarına gönderilen örneklerin ikisinde mycoplasma, Onunda da yüksek oranda Achromobacter sp. etkenleri belirlenmiştir.

Tablo: 1- Çifteler Harası yetiştirilmesi 7 Safkan Arap Aygırından günâşırı alınan toplam 35 ejakülatta saptanan spermatojik değler

Ejekülat No.	Sperma miktarı (ml)	Motilite oranı (%)			Ölü Spermatozoon oranı (%)	Anormal Spermatoz oranı (%)	Spermatozoon Yoğunluğu mm ³
		V	O	U			
1	10	75	05	20	19	28.5	230.000
2	30	80	05	15	22	27.5	126.000
3	80	80	05	15	14	27	325.000
4	50	85	05	10	16	29	280.000
5	40	75	05	20	28	28.5	218.000
6	30	70	10	20	26	26.5	195.000
7	30	70	10	20	17	28.5	166.000
8	30	60	15	25	21	24.5	330.000
9	60	40	15	45	32	30	230.000
10	30	60	15	25	21	27.5	215.000
11	30	65	10	25	21	28	185.000
12	30	70	10	20	23	28.5	295.000
13	30	65	05	30	23	29	245.000
14	40	65	10	25	19	27.5	315.000
15	30	65	15	25	18	32	165.000
16	70	60	10	30	27	33	125.000
17	90	60	20	20	24	27.5	310.000
18	80	75	05	20	24	25	215.000
19	25	75	05	20	24	29	310.000
20	30	60	10	30	21	26	185.000
21	45	70	20	10	16	18	210.000
22	25	65	15	20	25	31	190.000
23	30	70	10	20	16	20.5	270.000
24	45	80	10	10	22	23	170.000
25	40	75	05	20	21	29	280.000
26	40	80	10	10	14	21.5	230.000
27	60	60	15	25	17	24	275.000
28	55	65	15	20	19.5	30	310.000
29	45	50	20	30	32	28.5	215.000
30	45	70	10	20	22	29	245.000
31	30	65	10	25	16	18	180.000
32	30	65	20	15	19	24	135.000
33	35	60	10	30	26	21	280.000
34	40	70	10	29	14	26	190.000
35	25	65	10	25	19	21	255.000
Toplam ortalama	46.70	67.57	10.85	21.58	20.80	26.50	231.428

Tablo 2- 7 Safkan Arap aygırının 45 °C de 30 saniyede çözülen donmuş spermalarında çözüm sonu saptanan spermatolojik değerler.

Donmuş Sperma No.	Motilite oranı (%)			Ölü Spermatozoon oranı (%)	Anormal Spermatoz oranı (%)	Spermatozoon Yoğunluğu mm	Bulunan Etkenler*	
	V	O	U				ACBH	M
1	50	20	30	29	31	136.000	+	-
2	40	25	35	34	33	193.000	-	-
3	45	20	35	29	44.5	145.000	+	-
4	40	15	45	36	42	124.000	-	+
5	45	20	35	35	40.5	136.000	-	-
6	45	15	40	31	37	130.000	-	-
7	40	20	40	34	39	110.000	+	-
8	45	25	30	29	38	104.000	-	-
9	30	20	50	48	41	95.000	-	+
10	50	20	30	27	32	118.000	-	-
11	40	25	35	26	33.5	85.000	-	-
12	50	20	30	27	28.5	126.000	-	-
13	50	20	30	31	30.5	117.000	-	-
14	50	10	40	31	38	106.000	-	-
15	50	20	30	33	36.5	118.000	-	-
16	40	20	40	36	41	105.000	-	-
17	30	15	55	39	38.5	96.000	+	+
18	40	10	40	29	37	126.000	+	-
19	50	10	40	26	40.5	132.000	-	-
20	55	15	30	28	33	105.000	-	-
21	45	25	30	28	35	105.000	-	-
22	40	10	50	24	29	104.000	+	-
23	50	20	30	23	28	120.000	-	-
24	30	20	50	33	29	85.000	+	-
25	50	10	40	26	31.5	102.000	-	-
26	50	15	35	28	33.5	106.000	-	-
27	50	20	30	26	31.5	97.000	-	-
28	35	15	50	34	32	90.000	+	-
29	50	20	30	28	29	98.000	-	-
30	45	15	40	24	30	118.000	-	-
31	50	25	25	29	33	98.000	-	-
32	45	15	30	27	35	125.000	+	-
33	30	15	55	36	39	105.000	+	-
34	50	20	30	32	37.5	128.000	-	-
35	45	15	40	28	26	118.000	-	-
Toplam ortalama	44.28	17.85	37.57	30.40	34.40	111.085		

*) ACBH -Achromobacter sp.
M -Mycoplasma

TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmada kullanılan 7 Safkan Arap aygırının donmuş spermalarında saptanan çözüm sonu toplam ortalama spermatozoon motilite oranı (% 44.28), Oliveire (13) nın % 45; Yurdaydın ve ark. (18) nın % 45.40 olarak bildirdikleri çözüm sonu sperma motilite oranlarına büyük ölçüde yakınlık göstermektedir.

Öte yandan, bu çalışmada elde edilen çözüm sonu spermatozoon motilite oranı (% 44.28), Bader ve Mahler (3) in % 50; Krause ve Grove (8) nin % 50-70; Nishikawa ve ark. (12) nın % 80; Aliev (1) in % 54.85 ve Yurdaydın ve Pohl (19) in % 49.60 olarak elde ettikleri motilite oranlarından düşük; Braun ve ark. (4) nın % 33; Kozandağı ve İşler (7) in % 40; Yurdaydın ve ark. (18) nın % 33.70; Yurdaydın ve Pohl (19) in % 25.60 olarak bildirdikleri motilite oranlarından ise yüksektir.

Bu farklılıklar, araştırmada kullanılan aygırların değişik ırktan olmalarından ve kullanılan aygır ve ejakülat sayılarının farklı olmasından ileri gelebileceği gibi, kullanılan sperma sulandırıcıları ve özellikle gliserin oranlarının da, farklı olmasından ileri gelmiş olabilir. Ayrıca, spermayı dondurma teknik ve yöntemleriyle, donmuş spermayı çözme ısı ve sürelerinde farklı olması yanında, spermayı değerlendirme tekniklerinde değişik olması sonuçların farklılığında etkin rol oynamış olabilir.

Araştırmada çözüm sonu elde edilen toplam ortalama anormal spermatozoon oranı (% 34.40) ise, Yurdaydın ve Pohl (19) in dondurmuş aygır spermasını 50 °C de 35 saniyede çözerek buldukları anormal spermatozoon oranından (%23.88) yüksek, spermayı 40 °C de 30 saniyede çözerek elde ettikleri anormal spermatozoon oranından (% 40.88) da düşüktür.

Bu değerler arasındaki farklılık, donmuş spermaların değişik ısı ve sürelerde çözülmesinde ileri gelmiş olabilir.

Sonuç olarak, donmuş aygır spermasında boğa sperması gibi pratikte kullanılmasıyla, bazı araştırmacılarında (2, 5, 6, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 20) kaydettiği gibi, kısraklardan normal bir dölverimi alınabileceğinden, Türkiye'de at yetiştiricilerinin kısraklarını arzu ettikleri aygırların spermalarıyla zamanında tohumlatmaları mümkün olacaktır.

LİTERATÜR

1. ALIEV. A. (1975): An improved technigue of semen freezing. Anim. Breed. Abstr., 44: 180.
2. BEDER, H. (1970): Weitere Erfahrungen über die Tiefgefrierung von Hengst-sperma. Zinchthygiene., 5: 87.
3. BEDER., H. UND MAHLER, R. (1968): Tiefgefrier-und Besamungsversuche mit Hengstsperma unter Anwerdung des pelletverfehrens. Zuchthygiene; 3: 6 -13.
4. BRAUN. J., WOLPERT, E. UND LEIDL, W. (1986): Die Beschaffenheit von Hengatejakulaten susserhalb der Paarungssaison und deren Einfluss suf die TG-Konservierung.
5. BUSCH, W., LÖHLE, K. UND PETER, W. (1983): Künstliche Besamung bei Nutztieren. VEB Custav Fischer Verlag Jena, DDR.
6. KLUG, E., GÜNZEL. A.R., MERKT, H. UND KRAUSE, D. (1977): Untersuc-hungen von hengsten zum Einsetz in der instrumentellen samenübertra-gung mit Tiefgefriersperma. Dtsch. Tierarztl. Wochenshr., 84: 236-238.
7. KOZANDAĞI, M. VE İŞLER, M. (1981): Türkiye'de aygır spermasının sıvı azotta dondurulması olanakları. Lalahan Zootečni Araştırma Enstitüsü Derg., Cilt XXI: 3-4.
8. KRAUSE, D. UND GROVE, D. (1967): Deep freezing of jackass and stallion semen in concentrated pellet form. J. Reprod. Fertil., 3: 139-141.
9. MARTIN, J.C. UND KLUG, E. (1979): Zur samenübertragung beim Pferd-Semenkonservierung in Kunststoffröhrchen. Prakt. Tierarzt., 3: 196-204.
10. MERKT, H. UND KRAUSF, D. (1979): Tiefgefriersperma versucha mit Eguidensperma unter Anwendung des. sog. pellet-Verfahrens. Dtsch. Tie-rarztl. Wochenschr., 13: 267-268.
11. NEGASE, H., SOEJIMA, S. NIWA, H., OSHIDE, H., SAGARA, Y., ISHIZAKI, N. AND HOSHI, E. (1966 a): Studies on the freezing of stallion semen. I. Fertility results of stallion semen in concentreted pellet form. Jap. J. Anim. Reprod., 12: 48-51.
12. NISKIKAWA, Y., WAIDE, Y. AND SHINOMIYA, S. (1968): Studies on deep freezing of horse spermatozoa. IV. Internal Kongr. Tier. Fortpfl. Hausti-erbes., Paris II, 1589 -1590.

13. Oliveira, M.A.L. (1982): Einfluss verschiedener Aufbeereitungsverfahren auf Motilitat und Akrosinaktivitat in der Thennoresistenzprüfung und auf das Befruchtungsergebnis von tiefgefrorenem. Pferdesamen. Hannover Tierarztl. Hochschule., Dissertation.
14. POLGE, C. UND MINOTAKIS, C. (1964): Deep. Freezing of Jackass and stallion semen. V. Internal. Kongr. Tier. Fortpfl. Haustierbes, Trento I: 545-552.
15. ROY, A. (1955): Storage of boar and stallion spermatozoa in glycine-egg-yolk medium. Vet. Rec., 67: 330.
16. SEVİNÇ, A., YURDAYDIN, N. VE TEKİN, N. (1984): Karacabey Harası Safkan Arap ve Haflinger aygırlarından alınan spermaların dondurulması ve Haflinger kısıraklarından elde edilen dölverimi. A.Ü. Vet. Fak. Derg., 31(2): 304-315.
17. SZUMOWSKI, M.P. (1954): Essais de congelation du sperma de cheval. Anim. Breed. Abstr., 23: 124.
18. YURDAYDIN, N., SEVİNÇ, A. VE WLADER, W. (1986): Değişik ırktan aygırların spermalarının dondurulması üzerinde araştırmalar. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 32(3): 446-455.
19. YURDAYDIN, N., VE POHL, W. (1987): Değişik süre ve ısılarda çözülmüş donmuş aygır spermasının başlıca spermatolojik özellikleri üzerinde araştırmalar. A. Ü. Vet. Fak. Derg., 34 (3): 497-485.
20. ZMURIN, L. (1959): The storage of stallion semen by freezing. Anim. Breed. Abstr., 27: 282, 1960.