

HAFLİNGER AYGIRLARDA SPERMA KALİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

(Evaluation of Semen Quality In Haflinger Stallions)

Alparslan Kani BUL¹
Ongun UYSAL²

Çiğdem ÇEBİ²
Ergun AKÇAY²

Dilem BUL¹

¹ TJK İzmit Merkez Aşım İstasyonu, KOCAELİ.

² Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, ANKARA.

Geliş Tarihi: 24.03.2010

Kabul Tarihi: 27.05.2010

ÖZET

Çalışmanın amacı, üç Haflinger ırkı aygırdan alınan ejakülatların muayenesiyle, başlıca spermatolojik parametreleri, anormal spermatozoa tipleri ve yüzdelerini ortaya koyarak sperma kalitesini değerlendirmek ve bireylerarası farklılıkları saptamaktır.

Araştırma süresince aygırlardan sperma çiftleşme mevsiminde (Şubat-Mart) haftada iki kez sun'i vajenle alındı. Üç Haflinger aygırdan elde edilen toplam 30 ejakülatta genel ortalama jelli ejakülat miktarı 21.50±5.10 ml, spermatozoa motilitesi % 68.16±4.23, spermatozoa yoğunluğu 192.22±51.0 X10⁶/ml, anormal spermatozoa oranı % 46.43±10.11, ölü spermatozoa oranı % 28.30±7.30 ve spermanın pH değeri 7.50±0.38 olarak kaydedildi. Değerlendirilen spermatolojik parametrelerin tümü için aygırlar arasında gözlenen farklılıklar istatistik açıdan önemli (P<0.001) bulundu.

Başa bağlı bozukluklardan akrozom ve diğer anomaliler ile orta kısım (protoplazmik damlacıklı) ve kuyruğu kapsayan anormal spermatozoa tiplerinin genel ortalama değerleri sırasıyla % 13.03±3.34, % 3.23±2.00, % 46.43±10.11 ve % 3.50±0.74 olarak kaydedildi. Anormal spermatozoa tiplerinden tamamı protoplazmik damlacıklı orta kısım bozuklukları yönüyle bireyler arasında gözlenen farklılıklar önemli saptandı (P<0.001).

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre, Haflinger aygırlarda anormal spermatozoa oranları dışında spermatolojik parametrelerin normal sınırlar içinde olduğu ve yaşın sperma kalitesini etkilediği görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Aygır, Haflinger, sperma, spermatolojik parametreler.

SUMMARY

The aim of research was to evaluate semen quality depends on age by displaying the principle spermatological parameters, abnormal sperm types and percentages and to determine differences among individuals by examination of semen collected from 3 Haflinger stallions.

Throughout research, semen was collected from stallions by artificial vagina in breeding season (February-March) twice in a week. General average ejaculate volume with gel, sperm motility, sperm concentration, the percentage of abnormal sperm (%), the percentage of dead sperm (%) and sperm pH value were recorded as 21.50 ± 5.10 ml, 68.16 ± 4.23 %, $192.22 \pm 51.0 \times 10^6$ /ml, 46.43 ± 10.11 %, 28.30 ± 7.30 % and 7.50 ± 0.38 in a total of 30 ejaculates from three Haflinger stallions respectively. Differences among stallions were found significant ($P < 0.001$) for all of evaluated spermatological parameters.

General average values of abnormal sperm types including acrosome, head, middle piece (with protoplasmic droplet) and tail were recorded as 13.03 ± 3.34 %, 3.23 ± 2.00 %, 46.43 ± 10.11 % and 3.50 ± 0.74 %. Differences observed among individuals were determined significant for middle piece with protoplasmic droplet all of them within abnormal sperm types ($P < 0.001$).

In conclusion, according to findings obtained from this study, it is observed that spermatological parameters except for the percentages of abnormal sperm is within normal levels and age effects sperm quality in Haflinger stallions.

Key words: Haflinger, stallion, semen, spermatological parameters.

GİRİŞ

Haflinger ırkı atların kökeni Avusturya'nın Güney Tirol dağlarıdır ve günümüzde Amerika, Avrupa, Afrika ve Avustralya'ya kadar bütün kıtalarda ve Türkiye dahil İspanya, Çek Cumhuriyeti, Hindistan ve Tayland gibi (5) 60'dan fazla ülkede bulunmaktadır (6, 7). İlk resmi belgesi 1874 yılında 249 Follie'nin bir damızlık aygırı olarak yarı Arap aygırı olan 133 El Bedevi XXII ile yerel bir Tirol kısırağından doğmasıdır. Tüm modern safkan Haflingerlerin orijini 7 farklı aygır çizgisi (A, B, M, N, S, ST ve W) ile doğrudan bu Follie isimli aygıra dayanır (8). Haflinger atlar ormanda veya çiftliklerde iş hayvanı olarak ya da tekerlekli arabaları, kızakları çekmek için kullanılmaktadır (9). Ayrıca yük taşıma ve hafif araba çekme gibi amaçların yanında dresaj, engel atlama, arazi binişleri, dayanıklılık ve terapi amaçlarına da hizmet

etmektedirler. Haflingeri tek yapan ayırıcı özelliği onun altın sarısı rengi ile beyaz, uzun yele ve kuyruğudur (8).

Haflinger ırkı ilk kez 1961 yılında Avusturya'dan Türkiye'ye getirilmiştir. İthal edilen dört aygır ve 20 kısrağ ile, Karacabey harasında (şimdiki ismi Karacabey Tarım İşletmesi) hem saf yetiştirilmeğe hem de yarımkarı Arap kısrağlar ile melezleme çalışmalarına başlanmıştır. Karacabey harasında doğup büyüyen safkan ve melez Haflingerler Türkiye şartlarına uyum sağlamışlardır. Ayrıca, Karacabey harasında yetiştirilen Haflingerlere beş ayrı yönlü (Binek, yük taşıma, araba çekimi, tarla sürümü ve tırmık çekimi) performans testleri uygulanmıştır. Bu testler de başarılı sonuçlar vermiştir. Daha sonra Haflinger aygırlar, halk elinde bulunan yerli at tiplerinin ıslahı için aygır depolarına gönderilmiş ve halk elindeki yerli at tipleri ile melezleme çalışmalarına başlanmıştır (10).

Aygırlar genel olarak 12-24 aylıkken pubertaya ulaşırlar ve 36 aylıktan itibaren ilk sifata alınabilirler. Aygırlar yılın her mevsiminde dölerimsel aktivite göstermekle birlikte, sperma verimi ve kalitesi mevsime bağlı olarak değişebilmektedir. Özellikle çiftleşme mevsiminde seksüel aktivite daha çok olacağı için, sperma verimi diğer zamanlara göre daha yüksek olmaktadır (16, 34). Sperma kalitesi ırka bağlı olarak da değişiklik göstermektedir, Tekin ve ark. (28) Haflingerlerde sperma kalitesinin Arap aygırlarından daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Voss ve ark. (32) ise spermatolojik özelliklerin dolayısıyla sperma kalitesinin aygırların yaşına bağlı olarak değişebildiğini ifade etmişlerdir. Genel olarak aygırların yaşlarına göre spermatolojik parametreleri 2-3 yaşlar, 4-6 ve 9-16 yaşlar arası sırasıyla jelli ejakülat miktarı (ml) 15.2, 31.4 ve 43.2, spermatozoa motilitesi (%) 55.0, 63.1 ve 59.9, spermatozoa yoğunluğu ($X10^6/ml$) 123.4, 160.9 ve 161.3, sperma pH'sı 7.68, 7.64 ve 7.59 olarak bildirilmektedir (4).

Karacabey Harasında 6 ve Avusturya'da 10 Haflinger aygırda çalışan Yurdaydın ve ark. (35) suni vajen yöntemiyle aldıkları nativ ejakülatlarda ortalama ejakülat miktarı, spermatozoa motilitesi, spermatozoa yoğunluğu, anormal spermatozoa oranı ve spermanın pH değerini sırasıyla 53.36 ml, % 68.05, $194.333X10^6/ml$, % 26.80, 7.1 ve 32.50 ml, % 60.00, $214.900X10^6/ml$, % 33.70 ve 7.5 bulmuşlardır.

Sevinç ve ark. (24), Karacabey Harasında Safkan Arap ve Haflinger aygır

spermalarını dondurdukları çalışmalarında genel ortalama ejakülat miktarını sırasıyla 38.33 ml ve 30 ml, spermatozoa motilitesini % 73.33 ve % 78.94, spermatozoa yoğunluğunu $202.666X10^6/ml$ ve $214.277X10^6/ml$, anormal spermatozoa oranını % 28.83 ve % 23.33 ve spermanın pH değerini 6.9 ve 6.9 olarak kaydetmişlerdir.

Aygırlarda infertiliteye neden olan spermatozoada başa ait defektleri inceleyen Held ve ark. (17), Arap aygırlarında baş anomalilerinin % 75'le predominant olduğunu, bunun da % 57'sinde başın tek ya da çok vakuollere sahip olduğunu göstermişlerdir.

Aygır spermasını değerlendiren Jasko (18) geleneksel spermatolojik testler yanında CASA sistemiyle de muayeneler yapmış ve hatta değişik seminal özelliklerin fertilityle korrelasyonu olduğu bilindiği halde, çalışmasında herhangi bir ilişki bulmadığını ifade etmiştir.

Çiftleşme mevsiminin farklı evrelerinde safkan sıcakkanlı damızlık aygırlardan sperma alan Yıldırım (33) en iyi spermatolojik parametrelerin üreme sezonunun ortalarında elde edildiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Araujo ve ark. (11) da üç yıl hemen hemen her gün ejakülatları alınan aygırlarda spermatolojik özelliklerden miktar, motilite ve yoğunluğun yıllık değişimler gösterdiğini, mevsimsel bir ritmi olduğunu söylemişlerdir. Aygır spermalarında spermatolojik özellikler ve fertilitite ile ilişkisini araştıran Dowsett ve Pattie (15) aygırın yaşı, ırkı, üreme mevsiminin fertilititeyi etkilediğini ve spermatolojik

özelliklerin gebelik oranıyla yakından ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Sunulan çalışmada, farklı yaşlarda Haflinger aygırların başlıca spermatolojik parametrelerinin ortaya konması yanında, özellikle anormal spermatozoa tipleri ve oranları yönüyle sperma kalitesinin değerlendirilmesi ve varsa bireylerarası farklılıkların belirlenmesi amaçlandı.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada TJK İzmit Merkez Aşım İstasyonundaki 3 (Paşa), 14 (Cu) ve 23 (Koreli) yaşlarında 3 Haflinger aygır kullanıldı. Araştırma süresince, aygırlardan suni vajenle çiftleşme mevsiminde (Şubat-Mart) haftada üç kez olmak üzere 10'ar ejakülat alındı. Elde edilen ejakülatlar sperma alma yerinde hazırlanan laboratuvarında başlıca spermatolojik parametreler yönüyle muayene edildi.

Ejakülat miktarı alındıktan hemen sonra dereceli (ml) sperma toplama kadehinden direkt okunarak jelli olarak belirlendi (28). Spermatozoa motilitesi (%) ısıtma tablalı Faz kontrast mikroskopta X100 büyütmede muayene edildi (27). Spermatozoa yoğunluğu ($X10^6/ml$) 0.01 ml sperma örneği 5 ml Hayem solusyonunda sulandırılarak hemositometrik yöntemle saptandı (29). Anormal spermatozoa oranının değerlendirilmesi için yaklaşık 0.5 ml Hancock solusyonunda fikze edilen sperma (sıvı fikzasyon yöntemi) mikroskopun immersiyon bakısında (X1000) incelenerek, normal form dışında yapı gösterenler belirlendi (19). Ölü spermatozoa oranı % 3 sodyum sitrat solusyonu içinde % 2'lik hazırlanan eosin

boyası ile spermadan hazırlanan frothin mikroskopun X400 büyütmesinde muayenesiyle değerlendirildi (28). Spermanın pH değeri ise renk skalası bulunduran pH metre kullanılarak ölçüldü (30).

Bu çalışmada, başlıca spermatolojik özellikler yönüyle gruplararası farklılıkların saptanmasında tekrarlı ölçümlerde ANOVA (varyans analizi) tekniği, arasındaki farklılık önemli bulunan grupların karşılaştırılmasında Duncan testi kullanıldı (26).

BULGULAR

Araştırmada farklı yaşlarda üç Haflinger ırkı aygırdan alınan toplam 30 ejakülatta başlıca spermatolojik parametreler muayene edildi ve elde edilen genel ortalama jelli ejakülat miktarı 21.50 ± 5.10 ml, spermatozoa motilitesi % 68.16 ± 4.23 , spermatozoa yoğunluğu 192.22 ± 51.0 $X10^6/ml$, anormal spermatozoa oranı % 46.43 ± 10.11 , ölü spermatozoa oranı % 28.30 ± 7.30 ve spermanın pH değeri 7.50 ± 0.38 saptandı. Başlıca spermatolojik parametrelerin tümü için aygırlar arasında gözlenen farklılıklar istatistik açıdan önemli ($P < 0.001$) bulundu (Tablo 1).

Tablo 2'de sunulan anormal spermatozoa tipleri ve yüzdelerinden başa ait bozukluklardan genel ortalama akrozom bozukluğu % 13.03 ± 3.34 , baş bozuklukları % 3.23 ± 2.00 ile tamamı proksimal damlacıklı olmak üzere orta kısma ait bozukluklar % 46.43 ± 10.11 ve kuyruk bozuklukları ise % 3.50 ± 0.74 olarak kaydedildi. Tamamı protoplazmik damlacıklı spermatozodan ibaret olan orta kısım bozuklukları yönüyle

bireyler arasında önemli ($P<0.001$) farklılıklar bozukluklar için gözlenen farklılıklar önemsiz saptanırken, akrozom, baş ve kuyruğa ait ($P>0.05$) bulundu.

Tablo 1. Haflinger ırkı aygır ejakülatlarında başlıca spermatozojik parametrelerin genel ortalama değerleri (n: 10).

AYGIR	Jelli ejakülat miktarı (ml) $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Spermatozoa motilitesi (%) $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Spermatozoa yoğunluğu ($X10^6/ml$) $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Anormal spermatozoa oranı (%) $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Ölü spermatozoa oranı (%) $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Ph $\bar{X} \pm S\bar{X}$
1 PAŞA	25.50±6.43a	74.50±4.40a	168.31±35.23a	36.30±9.74a	21.00±6.23a	7.90±0.21a
2 CU	24.00±5.20a	67.50±5.90b	183.22±54.40ab	45.80±8.00b	27.20±8.12a	7.20±0.51b
3 KORELİ	15.00±3.33b	62.50±2.41b	225.15±65.10b	57.20±12.60c	36.70±7.54b	7.40±0.42b
Genel ortalama	21.50±5.10	68.16±4.23	192.22±51.0	46.43±10.11	28.30±7.30	7.50±0.38
P	***	***	***	***	***	***

***: $P<0.001$

a, b, c: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası farklılıklar önemlidir ($P<0.05$).

Tablo 2. Haflinger ırkı aygır ejakülatlarında anormal spermatozoa tipleri ve yüzdeleri (n: 10)

AYGIR	Anormal spermatozoa tipleri (%)				Toplam $\bar{X} \pm S\bar{X}$
	Baş		Orta kısım (Tamamı proksimal damlacık) $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Kuyruk $\bar{X} \pm S\bar{X}$	
	Akrozom $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Diğer $\bar{X} \pm S\bar{X}$			
1 PAŞA	12.80±4.03	3.50±2.64	17.10±3.05a	2.90±0.02	36.30±9.74a
2 CU	11.90±2.01	2.80±1.19	28.50±4.00b	2.60±0.80	45.80±8.00b
3 KORELİ	14.40±4.00	3.40±2.10	34.40±5.10b	5.00±1.40	57.20±12.60c
Genel ortalama	13.03±3.34	3.23±2.00	26.66±4.05	3.50±0.74	46.43±10.11
P	-	-	***	-	***

-. $P>0.05$, ***: $P<0.001$

a, b, c: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası farklılıklar önemlidir ($P<0.05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Erkek hayvanlarda aşım davranışları ve libidonun yerinde olmasına rağmen dölleme güçlerinin olmaması ya da azalması durumuna Impotentia generandi denmektedir. Bir başka

değişle, damızlık olarak kullanılmak istenen bir aygırın fertilité gücünün ortaya konmasında yapılan androlojik muayeneler kapsamında çiftleşme yeteneği normal bulunsa bile, spermatozojik parametrelerin de olması gereken ortalama değerler arasında bulunması

istenir. Sperma kalitesinin değerlendirilmesi, aygırın fertilitite potansiyelini ortaya koymasından yanısıra, infertilitenin saptanmasında da en önemli kriterlerdendir. Spermatolojik özelliklerden birinde oluşabilecek genetik, bakım besleme, yaş, üreme mevsiminin evreleri, ırk, birey, ejakülat alma sıklığı gibi faktörler nedeniyle, hatta aynı aygırın farklı ejakülatları arasında gözlenebilecek olumsuzluklar dölleme yeteneğini (potentia generandi) doğrudan etkileyeceğinden, aygırın fertilitesi de o ölçüde düşecektir. Dolayısıyla aygırlarda spermatolojik parametrelerin in vitro muayenesiyle saptanması ve değerlendirilmesi o aygırın bireysel olarak fertilizasyon potansiyelini ortaya koyması yönüyle bir fikir verecektir (1), ancak in vitro bulguların membran bütünlüğünü esas alan fluoresan boyama, hypoosmotik swelling ve spermatozoa-oosit bağlanma testleri gibi daha gelişmiş ve fertilitite ile korelasyonu yüksek spermatozoa fonksiyon testleriyle ve hatta in vivo dölverimi sonuçlarıyla desteklenmesi de büyük önem taşımaktadır (20).

Aygırlarda sperma kalitesi yaşa bağlı olarak etkilenmektedir. Genellikle üç yaşın altındaki ve 14 yaşın üzerindeki aygırlardan alınan ejakülatlarda sperma kalitesi zayıf olmaktadır (21). Yaşın etkisi; muhtemelen anormal epididimal fonksiyondan dolayı testis dejenerasyonu ve taylarda immatur spermatogenesis gibi faktörlerle ilişkilidir. Yaş spermatolojik parametreleri etkiler, dolayısıyla aygırın çok genç ve çok yaşlı olması durumunda aygırın fertilitite potansiyeli düşer (14). Sunulan çalışmada aygırların yaşları

ilerledikçe ejakülat miktarının ve spermatozoa motilitesinin düştüğü, fakat spermatozoa yoğunluğu, anormal spermatozoa oranı ve ölü spermatozoa oranının yükseldiği gözlenmekle beraber, spermanın pH değeriyle yaşa ilişkin bir bağlantı kurulamadı. Bir başka deyişle, seksüel olgunluğunu tamamlamaya az kalmış 3 yaşındaki Paşa adlı Haflinger aygırda sperma kalitesi daha yüksek kaydedilirken, 10 yaşın üzerindeki Cu (14 yaş) ve Koreli (23 yaş) için sperma kalitesi yaşlarıyla ilişkili olarak daha düşük saptandı. Ancak genel olarak bakıldığında yaşın ilerlemesiyle düşen ejakülat miktarı ve spermatozoa motilitesi ve artan spermatozoa yoğunluğu her üç aygır için normal sınırlar içerisinde bulunurken, özellikle anormal spermatozoa oranı olmak üzere, ölü spermatozoa oranının da yükseldiği, dolayısıyla infertiliteye yol açabilecek düzeylere ulaştığını söylemek mümkündür. Yaşa bağlı olarak spermatolojik parametrelerde gözlenen varyasyonlar, bu çalışmada bireysel faktörlerden de kaynaklanabilir. Bireylerin bakım beslemeyi, idareyi ve çevre faktörlerini değişik algılamaları ve reproduktif faaliyetlerine farklı yansıtılmalarından dolayı da spermatolojik parametreler arasında önemli farklılıklar gözlenmiş olabilir. Kaldı ki, sperma kalitesinin ve çiftleşme davranışlarının ırklar arasında değişmesi yanında aynı ırk içinde bireylerarası (22, 23) ve alınan ejakülatlar arasında da değiştiği söylenmektedir (14).

Seksüel olgunluk atlarda 5 yaşından sonra gerçekleşmektedir. Onbir yaşından ileri aygırlarda sperma kalitesinin düşmesi, defektif spermatogenesis ve epididimal fonksiyondan

dolayı yaşa bağlı artmış anormal spermatozoa üretiminden kaynaklanmaktadır. On yaşın üzerindeki aygırlarda fertilitate problemlerinin ortaya çıkacağı kabul edilmektedir (3).

Kimi araştırmacılar (12, 13) spermatozoanın normal ya da anormal yapısıyla fertilitate arasında değişik derecelerde korelasyon olduğunu söylerken, kimileri (15, 31) de herhangi bir ilişki olmadığını bildirmişlerdir. Haflingerler 4 yaşlarında reproduktif gelişimlerini tamamlarlar. Kısırlıklarda ilk tohumlama yaşı ile aygırların tohumlamada ilk kullanma yaşları dördtür (10).

Aygır spermatozoası için farklı morfolojik sınıflandırma sistemleri kullanılmaktadır. Aygır spermasında spermatozoa morfolojisi terimi büyük farklılık gösterebilir. Geniş aralıktaki morfolojik spermatozoa anomalileri normal bir aygır için kabul edilebilir. Bununla beraber düzenli kullanılan yüksek fertilitesi olan aygırlar genellikle çok az sıklıkta morfolojik olarak anormal spermatozoa içeren ejakülat verirler. Ejakülatta artan spermatozoa anomalileri fertilitenin de o ölçüde düşmesine yol açmaktadır (20).

Aygır spermasında diğer türlerinkinden farklı olarak sitoplazmik damlacıklar çok bulunabilmektedir ve bunun fertilitate olumsuz etkileyeceği düşünülen anormal spermatogenesis sonucu ya da spermiogenesis defektinin bir yansıması olarak immatur spermatozoonların işareti olduğu düşünülmektedir (2, 25). Proksimal damlacıklı spermatozoonlar immatur olduklarından oositi fertilize edemezler (2).

Bu çalışmada, spermatozoonlarda orta kısım bozukluklarından yalnızca proksimal damlacıklara rastlandı ve her üç aygırın spermasında da oldukça yüksek bulundu. Nativ spermalarda ortalama anormal spermatozoa oranlarının da Paşa, Cu ve Koreli için sırasıyla fertilitateyi etkileyecek düzeylerde olduğu (% 36.30±9.74, 45.80±8.00 ve 57.20±12.60) ve bireylerarası farklılıkların önemli olduğu belirlendi (P<0.001). Ancak anormal spermatozoa tipleri ve yüzdelerine bakıldığında akrozom, baş ve kuyruk anomalileri için farklılıklar önemsiz olurken, toplam anormal spermatozoadaki önemli farklılığa tamamı proksimal damlacıklı spermatozoadan ibaret olan orta kısım bozukluklarının yol açtığı görüldü. Aygırların yaşlarının ilerlemesine paralel olarak protoplazmik damlacıklı spermatozoa oranının önemli ölçüde arttığı gözlemlendi (Tablo 2).

Sunulan çalışmada, elde edilen veriler ışığında, Haflinger aygırlarda spermanın değerlendirilmesi sonucu genel olarak anormal spermatozoa değerleri dışında, spermatolojik parametrelerin normal sınırlar içerisinde olduğu görülmüştür. Anormal spermatozoa oranlarının ve bu kapsamda protoplazmik damlacıklı spermatozoonların, aygırın çok genç ya da yaşlı olmasına bağlı olarak veya bireysel faktörlerden kaynaklanan nedenlerle hayvanın fertilitate potansiyelini etkileyecek düzeylere ulaştığı ortaya konmuştur. Dolayısıyla Haflinger aygırlar için 4 yaşın altında ve 10 yaşın üzerindeki yetiştirmede kullanırken infertilitateye yol açabileceği dikkate alınmalıdır.

KAYNAKLAR

1. **Akçay E, Demiral O, Yıldız S** (2007) *Yarışlardan çıkarılmış Arap aygırlarında bazı androlojik muayeneler*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 54: 29-33.
2. **Amann RP, Seidel GE Jr, Mortimer RG** (2000) *Fertilizing potential in vitro of semen from young beef bulls containing a high or low percentage of sperm with a proximal droplet*. Theriogenology, 54: 1499-1515.
3. **Amann RP, Thompson Jr DL, Squires EL, Pickett BW** (1979) *Effects of age and frequency of ejaculation on sperm production and extragonadal sperm reserves in stallions*. Journal Reproduction and Fertility, (Suppl 27) :1-6.
4. **Anonim** (2010) Equine reproduction <http://books.google.com.tr/books?id=erişim tarihi:11.03.2010>
5. **Anonim** (2010) The origins, breeding, management and world population of Haflinger horses. <http://www.cababstractsplus.org/abstracts/Abstract.aspx?AcNo=19970101604> Erişim tarihi: 11.03.2010.
6. **Anonim** (2010) Haflinger. <http://www.furrycritter.com/resources/horses/Haflingers.htm>.
7. **Anonim** (2010) The Haflinger - a living Tyrolean cultural asset. <http://www.haflinger-tirol.com/en/history/>.
8. **Anonim** (2010) Atlar Dünyası. <http://horseatlardunyasi.blogcu.com/Haflinger-atlari-tarihcesi+ve+ozellikleri>.
9. **Anonim** (2010) Haflinger - Horse Breeds & info. http://www.horshowcentral.com/horse_breeds/haflinger/315/1.
10. **Anonim** (2010) Haflinger ati. http://www.zamanesozluk.com/haflinger_ati.html.
11. **Araujo JF, Righini AS, Fleury JJ, Caldas MC, Costa-Neto JB, Marques N** (1996): *Seasonal rhythm of semen characteristics of a Brazilian breed ("Mangalarga") stallion*. Chronobiology International, 13: 477-85.
12. **Bielanski W, Dudek E, Bittmar A, Kosiniak K** (1982) *Some characteristics of common abnormal forms of spermatozoa in highly fertile stallions*. Journal of Reproduction and Fertility, (Suppl 32): 21-26.
13. **Bielanski W, Kaczmarek F** (1979) *Morphology of spermatozoa in semen from stallions of normal fertility*. Journal of Reproduction and Fertility, (Suppl 27): 39-45.
14. **Dowsett KF, Knott LM** (1996) *The influence of age and breed on stallion semen*. Theriogenology, 46: 397-412.
15. **Dowsett KF, Pattie WA** (1982) *Characteristics and fertility of stallion semen*. Journal Reproduction and Fertility, 32: 1-8.
16. **Gülyüz F, Yurdaydın N** (1992) *Aygır spermasında mevsimsel değişiklikler*. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 3: 45-51.
17. **Held JP, Prater P, Stettler M** (1991) *Spermatozoal head defect as a cause of infertility in a stallion*. Journal American Veterinary Medical Association, 15: 1760-1761.
18. **Jasko DJ** (1992) *Evaluation of stallion semen*. Veterinarian Clinical North American Equine Practice. 8: 129-148.
19. **Kavak A, Lundeheim N, Aidnik M, Einarsson S** (2004) *Sperm morphology in*

- Estonian and Tori Breed stallions. Acta Veterinaria Scandinavica*, 45: 11-18.
- 20. Malrngrén L** (1997) *Assessing the quality of raw semen: a review* Theriogenology, 46: 523-530.
- 21. Pickett BW** (1993) *Reproductive evaluation of the stallion. P.755-768, In: Equine Reproduction. Edit: McKinnon AO and Voss JL. Philadelphia, London: Lea and Febiger.*
- 22. Pattie WA, Dowsett KF** (1982) *The repeatability of seminal characteristics of stallions. Journal of Reproduction and Fertility, (Suppl 32): 9-13.*
- 23. Rousset H, Chanteloube PH, Magistrini M, Palmer E** (1987) *Assessment of fertility and semen evaluations of stallions. Journal of Reproduction and Fertility, (Suppl 35): 25-31.*
- 24. Sevinç A, Yurdaydın N, Tekin N** (1984) *Karacabey harası safkan Arap ve Haflinger aygırlarından alınan spermaların dondurulması ve haflinger kısraklarından elde edilen dölverimi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 31: 304-315.*
- 25. Söderquist L, Janson L, Larsson K, Einarsson S** (1991) *Sperm morphology and fertility in A.I. bulls. Journal of Veterinary Medicine, 38: 534-543.*
- 26. Sümbüllüoğlu K, Sümbüllüoğlu U** (1993) *Biyoistatistik, 4. Baskı, Özdemir Yayıncılık, Ankara.*
- 27. Tekin N** (1994) *Spermanın muayenesi ve değerlendirilmesi. s. 69-79. In: Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon, Sun'i Tohumlama, Doğum ve İnfertilite, Ed: E. Alaçam, Dizgievi, Konya.*
- 28. Tekin N, Yurdaydın N, Klug E, Daşkın A, Keskin O, Küçük H** (1993) *Gefrierkonservierungsversuche mit Samen von Vollblutaraber und Haflingerhengsten im türkischen Staatgestüt Karacabey. Deutsch. Tierärztliche Wochenschr., 100: 476-478.*
- 29. Uysal O, Bucak MN** (2007) *Effect of oxidized glutathione, bovine serum albumine, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen. Acta Veterinaria Brunensis, 76: 383-390.*
- 30. Uysal O, Korkmaz T, Tosun H** (2005) *Effect of bovine serum albumine on freezing of canine semen. Indian Veterinary Journal, 82: 97-98.*
- 31. Voss JL, Pickett B, Squires E** (1981) *Stallion spermatozoal morphology and motility and their relationship to fertility. Journal American Veterinary Medical Association, 178: 287-289.*
- 32. Voss JL, Squires EL, Pickett BW, Amann RP** (1979) *Factors affecting reproductive performance of the stallion. Proceedings 25th American Association Equine Practice, 79: 33-49.*
- 33. Yıldırım S** (2010) *Safkan sıcakkanlı damızlık aygırlarda üreme sezonunun farklı evrelerinin libido ve spermatolojik parametreler üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.*
- 34. Yurdaydın N** (1986) *Atlarda dölerme özellikleri. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 33: 210-224.*
- 35. Yurdaydın N, Sevinç A, Wladar W** (1985) *Değişik ırktan aygırların spermalarını dondurulması üzerinde araştırmalar. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 32: 446-455.*