

**LAİCİPHOS 488 İLE SULANDIRILMIŞ VE
BUZDOLABINDA (+ 4 °C) SAKLANAN HOLŞTAYN
BOĞA SPERMASININ GÜNLÜK MOTİLİTESİ**

**(Daily motility of Holstein Bull Semen Diluted
with Laiciphos 488 and Stored in refrigerator (+4 °C)**

EŐref DEMİRCİ *

Seyfettin GÜR **

Hüseyin KİNET ***

Azmi EROĐLU ***

SUMMARY

This investigation was made to estimate the daily motility of bull semen that were diluted with laiciphos 488 and stored in the refrigerator (+ 4 °C).

Five Holstein bulls aged 4 - 5 and maintained on Lalahan Zootechnical Research Enstitute were constituted the material of this study. From each bull 10 ejaculates were collected twice a week using an artificial vagina during April and May in 1994.

From the each ejaculate 0.2 ml was transferred to a tube and mixed with laiciphos 488 and made up to 5 ml. Prior to storage in refrigerator, the first motility estimation was made and recorded. Afterwards, motility estimation on the bull semen kept in refrigerator were repeated once a 24 h for 240 hours. Motility estimation of semen were made subjectively by observing the movement of the spermatozoa under the microscope on a warmed stage at about 35 °C.

At the hours of semen collection motility of semen between the bulls ranged from 81 ± 1.0 % 77 ± 2.1 % with an average of 79.6 ± 0.8 %. The average semen motility of 5 bulls, 24 h and 48 h after storage in the refrigerator was 62.8 ± 1.7 and 51.2 ± 1.7 %, respectively. After 72 hours motility of semen was below 50 % in all the bulls and decreased gradually day by day. The motility of semen of 3 bulls disappeared at the 192 hours, and that of 2 at the 240 hours.

* : Doç. Dr., F. Ü. Vet. Fak. Reprod. ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı, Elazığ / TÜRKİYE.

** : Arş. Gör., F.Ü. Vet. Fak. Reprod. ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı, Elazığ / TÜRKİYE.

*** : Vet. Hek., Lalahan Hay. Arař. Enstitüsü, Sun'i Toh. Lab. Lalahan-Ankara / TÜRKİYE.

ÖZET

Bu araştırma Laiciphos 488 ile sulandırılarak buzdolabında saklanan (+4 °C) boğa spermasının günlük motilitesini tayin etmek için yapılmıştır.

Araştırmanın materyalini Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsünde yetiştirilen 4 - 5 yaşlarında 5 Holştayn boğa oluşturdu. Her bir boğadan sun'i vajen yardımıyla haftada iki defa olmak üzere 1994 Nisan - Mayıs aylarında 10 ejakulat alınmıştır. Her bir ejakulattan 0.2 ml sperma alınarak bir başka tüpe konuldu, üzeri Laiciphos 488 sperma sulandırıcısı ile 5 ml' ye tamamlandı. Buzdolabına koymadan önce birinci motilite tayini yapılarak kaydedildi. Bundan sonra buzdolabında saklanan spermaların motilite muayenesi her 24 saatte bir olmak üzere 240 saat devam etmiştir. Sperma motilitesinin hesaplanması ısıtma tablalı bioküleri mikroskopta yaklaşık 35 °C de spermatozoit hareketleri gözlenerek subjektif olarak yapılmıştır.

Spermaların alındığı saatte boğalar arasındaki sperma motilitesi % 81 ± 1.0 ile % 77 ± 2.1 arasında değişmiş ve ortalama % 79.6 ± 0.8 olmuştur. Tüm boğalarda ortalama sperma motilitesi 24. saatte % 62.8 ± 1.7, 48. saatte de % 51.2 ± 1.7 olarak bulunmuştur. Sperma motilitesi 72. saatte bütün boğalarda % 50' nin altına düşmüş olup, her geçen gün tedricen azalmış ve boğaların üçünde 192. saatte, diğer ikisinde de 240. saatte tamamen kaybolmuştur.

GİRİŞ

Evcil hayvanların en önemli verimi olan dölverimi, diğer ekonomik verimlerin de temeli ve kaynağıdır. Dölverimi erkek hayvanlarda dişilere nazaran daha büyük bir önem taşır. Dişi bir hayvan üreme yeneğini kaybettiğinde meydana gelen ekonomik kayıp yılda sadece bir yavru olduğu halde, motilitesi düşük veya motilitesini yitirmiş sperma veren bir erkek hayvanın çiftleştiği yada sperması ile tohumlanan tüm hayvanların kısır kalabileceği gerçektir. Bu nedenle boğalardan istediğimiz ölçüde dölverimi elde edebilmemiz büyük ölçüde spermatozoitlerin hareket yeteneğine ve motilitelere yani spermadaki motil spermatozoitlerin oranına bağlıdır. Kimi yazarlar (7, 9), motilitesi % 50' nin altına düşen spermaların sun'i tohumlama da kullanılmamasını tavsiye etmektedirler.

Philips (8), yaptığı çalışmada taze yumurta sarısı + sodyum fosfat ve potasyum fosfat ihtiva eden sperma sulandırıcısı ile boğaların spermalarını 1 : 4 oranında sulandırmış, bu sulandırıcıda bir kısım spermatozoitlerin 120 -150 saat bir kısmının da 300 saat canlılıklarını muhafaza ettiklerini bildirmiştir.

Franceschini ve ark. (3)' ları domuz spermasının buzdolabında saklanması spermatozoitlerin motilitesi üzerine etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada 40 domuzdan 160 semen örneği alarak 4 gün süreyle buzdolabında sakladıklarını ve sperma motilitesinin 24. saatten sonra her geçen gün azaldığını vurgulamışlardır.

Kumar ve ark. (4)' ları yaptıkları çalışmada spermayı buzdolabında 72 saat ve daha fazla süre sakladıklarında, sperma sulandırıcısı süte % 3 -6 gliserol ilave edildiğinde spermatozoitlerin motilitesinin daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Kumar ve ark. (6)' ları yaptıkları çalışmada 4 Murrah Buffalo boğasından 24 ejakulat sperma alıp süt, tris yada % 2.9' luk sodyum sitrat gibi sulandırıcılara % 0, 5, 10, 20 oranlarında yumurta sarısı ilave ederek hazırladıkları sulandırıcılarla spermayı karıştırıp buzdolabında 24, 48 ve 72 saat beklettikten sonra motilitelerini tayin ettiklerinde, (buzdolabında muhafaza edilen sperma örneklerinden) % 5 yumurta sarısı ilave edilen örneklerin motilitelerinin, yumurta sarısı ilave edilmeyenlere göre daha yüksek olduğunu gözlemişlerdir.

Vyas ve ark (11)'ları yaptıkları çalışmada, 5 melez boğadan aldıkları 166 ejakulat spermanın, ilk alındığında motilitesini % 71.03 olarak tayin ettiklerini ve bu spermaları buzdolabında 24, 48, 72 ve 96 saat muhafaza ettikten sonraki motilitelerini de sırasıyla ortalama % 58.63, 50.47, 41.25 ve 30.15 olarak hesapladıklarını bildirmişlerdir .

Kumar ve ark. (5)'ları yaptıkları çalışmada her biri sırasıyla % 0, 3, 6, 9, gliserol içeren sodyum sitrat, Tris + % 5 yumurta sarısı, Tris, Yağsız süt sulandırıcıları ile 4 Murrah buffalo boğasından aldıkları toplam 24 ejakulat spermayı sulandırdıklarını, sulandırmadan önce ve buzdolabında 30 dak, 24, 48, 72 saat beklettikten sonra sperma motilitelerini tayin ettiklerini, her ne kadar yumurta sarısı ilave edil-

meden muhafaza edilen örneklerdeki sperma motilitesi gliserol ilavesi ile artırıldı ise de, gliserol ilave edilen diğer sulandırıcılara göre, Tris + yumurta sarısı sperma sulandırıcısı kullanıldığında sperma motilitesinin daha yüksek olduğunu, bir başka deyişle gliserol, Tris + yumurta sarısı sperma sulandırıcısı ile sulandırılarak muhafaza edilen sperma motilitesini artırmadığını vurgulamışlardır.

Chand (1) yaptığı bir araştırmada, 4-5 yaşlarındaki 5 Murrah Buffalo boğasından aldığı sperma örneklerini inek sütü ile sulandırarak buzdolabında 6, 37, 48 saat muhafaza ettikten sonra ortalama sperma motilitelerini sırasıyla % 53.5 ± 1.80, 51.82 ± 1.87 ve % 33 ± 1.33 olarak tespit etmiştir.

Daodor ve ark (2)' ları 3 Ausimi koçundan haftalık olarak sperma örneklerini toplayıp buzdolabında 0, 24, 48, 96 ve 120 saat muhafaza ettikten sonra sperma motilitesini sırasıyla ortalama % 84.0 ± 1.34, 71.0 ± 1.51, 66.0 ± 1.01, 45.5 ± 1.72 ve 18.0 ± 0.92 olarak hesaplamışlardır.

Sevinç (9), boğa spermasının kısa süreli saklanması yani buzdolabında muhafaza edilmesi esnasında iki yada üç gün içerisinde kullanılmasının gerektiğini daha fazla saklanan spermaların sperma motilitesinin günden güne azaldığını ve buna bağlı olarak bu spermalarla yapılan tohumlamalardan elde edilen dölveriminin her geçen gün % 6 oranında düştüğünü bildirmektedir.

Bu araştırma, Laiciphos 488 sperma sulandırıcısı ile sulandırılarak buzdolabında saklanan boğa spermasındaki spermatozoitlerin belli saatlerdeki canlılık ve hareket oranlarını yani motilitesini yaşayabildikleri sürece tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL METOT

Bu çalışmada materyal olarak Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsünde yetiştirilen 3-4 yaşlarında sağlıklı 5 holştayn boğa kullanılmıştır. Bu boğalardan, 1994 yılı Nisan-Mayıs aylarında haftada iki kez olmak üzere 10' ar ejakulat sperma sun'i vajen yöntemiyle sabah vakitlerinde, saat 8-10 arasında alınmıştır.

Araştırmada kullanılan boğalar gece kapalı ahırlarda gündüz açık padoklarda barındırılmakta olup, boğalara kaba yem olarak günlük 10 kg yonca, kesif yem olarak 4 kg fabrika karması, ayrıca sperma alındığı sürece 4 yumurta, 0.5 kg kuru üzüm verilmiştir.

Alınan spermaların makroskopik ve mikroskopik muayeneleri yapıldıktan sonra ayrı bir tüp içerisine 0.2 ml sperma konularak üzeri Laiciphos 488 sperma sulandırıcısı ile 5 ml' ye tamamlandı. İlk motilite tayini yapılarak kaydedildi. Bu şekilde sulandırılan spermalar buzdolabında + 4 °C' de muhafaza edildi.

Buzdolabında sulandırılmış olarak bekletilen bu spermalardan her gün saat 10-11 arasında bir iki damla örnek alınarak lam üzerine konuldu. Üzeri lamelle kapatılarak biokülerli ısıtma tablalı mikroskop üzerine yerleştirildikten sonra 1-2 dakika bekletilerek ısınması sağlandı, muayeneler 35°C' de yapıldı. Spermatozoitlerin tek yönde ve hızlı hareket edenleri motil spermatozoit kabul edilerek birkaç mikroskop sahasındaki tahmini ortalama değerler, sperma motilitesi olarak kaydedildi. Motilite tayininde % 10 ve katları kullanıldı.

Her boğadan alınan 10 ejakulat spermanın alındığı saatteki, 24, 48, 72, 96,, 216. saatlerdeki ortalama motiliteleri ve 5 boğanın 50 ejakulatının genel motilite değerleri istatistiki olarak hesaplanmıştır (10).

BULGULAR

Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsünde 5 Holştayn boğanın her birinden 10 ejakulat spermanın alındığı saatlerdeki ortalama sperma motilitesi ve 5 boğanın spermasının alındığı saatten 216. saate kadar ki ortalama sperma motiliteleri Tablo 1' de verilmiştir.

Bu boğaların her birisinden alınan spermaların alındığı saatteki ortalama sperma motiliteleri % 81 ± 1.0 ile % 77 ± 2.1 arasında değişirken 5 boğa için ortalama % 79.6 ± 0.8 olarak bulunmuştur.

Beş boğanın ortalama sperma motilitesi 24. saatte % 62.8 ± 1.7 , 48 saatte % 51.2 ± 1.7 olarak hesaplanmıştır. Tüm boğalarda 48. saatte % 50' nin üzerinde bulunan sperma motilitesi 72. saatten itibaren yine tedricen azalarak 168. saatte % 3.6 ± 0.9 olmuştur.

Sperma motilitesi 192. saatte üç boğada sıfır olarak bulunurken diğer iki boğada devam etmiş ve 192 ve 216. saatlerde de motil spermatozoidler görülmüş, 240. saatte materyalimizi oluşturan boğa spermalarında hiç bir motil spermatozoid görülmemiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma sonucunda Holştayn boğalar arasında sperma motilitesi, spermanın alındığı saatte % 81 ± 1.0 ile % 77 ± 2.1 arasında değişmiş, 5 boğa için de ortalama % 79.6 ± 0.8 olmuştur. Elde edilen bu değerler Vyas ve ark (11)' larının spermanın ilk alındığında tespit ettikleri % 71.03' lük sperma motilitesi ile Chand (1)' in inek sütü ile sulandırarak 6 saat buzdolabında muhafaza ettikten sonraki Buffalo boğa spermasının motilitesinden (% 53.5 ± 1.80) fazla olmuştur. Bu durum hayvanın genetik yapısına, ırkına, sperma sulandırıcısına, muayeneyi yapan kişiye, sperma alma metoduna, spermanın mikroskopta muayene esnasındaki ısı durumuna bağlı olabilir.

Spermaların alındığı saatteki motilitenin ortalama % 79.6 ± 0.8 , buzdolabında saklanmaya başladıktan sonraki 24. saatte % 62.8 ± 1.7 ve 48. saatte de % 51.2 ± 1.7 olarak bulunması, 72. saatte tüm boğalarda sperma motilitesinin % 50' nin altına düşmesi kimi yazar (7, 9) ve araştırmacı (11)' ların görüş ve buluşları ile paralellik arz etmektedir. Çünkü çalışmalarımız sonucunda 48. saatte % 51.2 ± 1.7 olarak bulunan motilite değeri buzdolabında saklanan spermanın iki gün süreyle motilitesini % 50 üzerinde bulunabileceği, bu süre içerisinde sun'i tohumlamada kullanılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Kimi araştırmacıların (1, 2, 3, 4, 5) bildirdiklerine göre boğa, koç, erkek domuz spermaları çeşitli sulandırıcılarla sulandırılıp buzdolabı ısısında saklandıklarında, sulandırıcıların çeşidine, içerisine glise-

Tablo 1. Laiciphos 488 ile sulandırılarak buzdolabında saklanan Holştayn boğa spermasının belli saatlerde boğalara göre ayrı ayrı ve genel motilitesi.

| Boğa Kulak No | Ejekulat Sayısı | SPERMA MOTİLİTESİ (%) | | | | | | | | | | |
|---------------|-----------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--|
| | | Alındığı Saatte | S a a t | | | | | | | | | |
| | | | 24. | 48. | 72. | 96. | 120. | 144. | 168. | 192. | 216. | |
| | | $\bar{X} \pm S\bar{X}$ | $\bar{X} \pm S\bar{X}$ | $\bar{X} \pm S\bar{X}$ | $\bar{X} \pm S\bar{X}$ | $\bar{X} \pm S\bar{X}$ | $\bar{X} \pm S\bar{X}$ | $\bar{X} \pm S\bar{X}$ | $\bar{X} \pm S\bar{X}$ | $\bar{X} \pm S\bar{X}$ | $\bar{X} \pm S\bar{X}$ | |
| 1009 | 10 | 80 ± 1.5 | 63 ± 2.6 | 51 ± 2.8 | 39 ± 3.1 | 30 ± 4.5 | 16 ± 4.5 | 8 ± 4.4* | 4 ± 3.1* | 2 ± 2.0* | 1 ± 1.0* | |
| 1018 | 10 | 77 ± 2.1 | 62 ± 1.3 | 50 ± 2.1 | 39 ± 2.8 | 28 ± 2.9 | 16 ± 3.1 | 7 ± 2.1 | 3 ± 1.5* | 0 | 0 | |
| 1019 | 10 | 80 ± 2.6 | 62 ± 7.3 | 52 ± 6.3 | 43 ± 5.8 | 32 ± 5.1 | 21 ± 4.8 | 14 ± 4.0 | 6 ± 2.7 | 2 ± 1.3* | 1 ± 1.0* | |
| 1020 | 10 | 81 ± 1.0 | 61 ± 4.1 | 49 ± 4.6 | 37 ± 5.6 | 27 ± 5.4 | 18 ± 3.6 | 8 ± 2.9 | 2 ± 1.3* | 0 | 0 | |
| 1030 | 10 | 80 ± 1.5 | 66 ± 1.6 | 54 ± 2.2 | 42 ± 2.9 | 30 ± 2.6 | 19 ± 2.8 | 9 ± 2.8 | 3 ± 1.5* | 0 | 0 | |
| Genel | 50 | 79.6±0.8 | 62.8±1.7 | 51.2±1.7 | 40 ± 1.8 | 29.4±1.8 | 18.0±1.7 | 9.2±1.5 | 3.6±0.9 | 0.8±0.5 | 0.4±0.3 | |

* : Tabloda hesaplanan örnek ortalamalara ait bazı grupların standart hatalarının yüksek çıkması, örneklerde bulunan motilite verilerinin çoğunun sıfır değerli olmasından kaynaklanmaktadır.

rol katılıp katılmamasına göre az çok farketmekle beraber sperma motilitesi her geçen gün azalmaktadır. Bu durum çalışmamız sonucu ile de doğrulanmış boğa spermasının motilitesinin buzdolabında günden güne azaldığı görülmüştür.

Philips (8) yaptığı çalışmasında boğa spermatozoitlerinin bir kısmının 120 -150 saat, bir kısmının da 300 saat canlılıklarını muhafaza ettiklerini bildirmiştir. Bu çalışmada ise spermatozoitlerin 3 boğada 168 saat, 2 boğada da 216 saat yaşadıkları görülmüştür. Bu durum boğanın genetik yapısına, ırkına, spermayı sulandırma tekniğine, sulandırıcıya, muayeneyi yapan kişiye, spermanın muayene metoduna bağlı olabilir. Nitekim, kumar ve ark (6)'nın aynı spermayı farklı sulandırıcılarla sulandınp 72 saat sonra muayene ettiklerinde % 5 yumurta sarısı ilave ettikleri sulandırıcı ile saklanan spermada motiliteyi en fazla bulmaları, sulandırıcıların motiliteyi önemli derecede etkilediğini doğrulamaktadır.

Sonuç olarak, buzdolabında saklanan boğa spermaları spermanın alındığı gün dahil olmak üzere üç günden fazla kullanılmamalıdır. Çünkü motilite % 50' nin altına düşeceğinden dölverimini de menfi yönde etkileyecektir.

Boğa sperması Laiciphos 488 sperma sulandırıcısı ile sulandırılarak buzdolabında kaslandığında, spermatozoitler 168 -216 saat kadar yaşayabilmektedir.

LİTERATÜR LİSTESİ

1. CHAND, D.(1987): Sperm production and motility under various physiological conditions in buffalo bulls (*Bubalus bubalis*). *Livestock -Adviser*.12: 8, 5-10.
2. DAEDER, A.H., TOHA, A. (1985): Survival rate of ram spermatozoa supplemented with PGF₂ alpha. *Anim. Breed. Abstr.* 053, 00687.
3. FRANCESCHİNİ, P. H., PİNHEIRO, LEL., LEİTE, F.G., OLNEİRA -FİLHO, E. B., ESPER, C. R. (1984): Effects of storage on sperm motility in refrigerated boar semen. *Revista -Brasileira -de -Reproducao Animal.* 8: 2, 91- 95.

4. KUMAR S., SAHNİ K L, MOHAN G. (1992): Effect of different levels of glycerol and yolk of freezing and storage of buffalo semen in milk, tris and sodium citrate buffers. Buffalo Journal 8: 2,151 -156.
5. KUMAR, S., SAHNİ, K.L., MOHAN, G., BENJAMİN, B.R. (1992): Effect of various levels of glycerol on keeping quality of buffalo semen in dilutors without yolk at re.frigeration temperature. Anim. Breed. Abstr. 060, 06382.
6. KUMAR, S.. SAHNİ. K.L.. BENJAMİN.B .R.. MOHAN, G. (1993): Effect of various levels of yolk on deep -freezing and storage of buffalo semen in different dilutors without adding glycerol. Buffalo Journal 9: 1, 79 -85.
7. ÖZKOCA. A.(1986): Sığırlarda reproduksiyon ve infertilite. İ.Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları No: 7, İstanbul.
8. PHİLLİPS, P. H. (1939): Preservation of bull sernen. J. Bioi. Chern, 130: 423.
9. SEVİNÇ, A. (1977): Dölerme ve Suni Tohumlama. A. Ü. Veteriner Fakültesi Yayınları, No: 12, Ankara.
10. SNEDECOR, G. V. (1957): Statistical Methods. The Iowa State Collage Press, Ames, Iwa, XIV + 534.
11. VYAS S, MOHAN G., DHAMİ, A J., SAHNİ, K L.(1992): Studies on the norms and correlations of initial and postthaw seminal attributes of triple crossbred bull. İnternational-Journal-of-Animal-Sciences, 7: 1, 73 -76.