

Bo a Spermalarının ki Farklı Sulandırıcı ile Dondurulması ve n Vitro De erlendirilmesi

Pürhan Barbaros TUNCER¹, Mesut ÇEV K², Ö. Orkun DEM RAL³, Hüseyin K NET¹

¹ Lalahan Hayvan Merkezi Ara tırma Enstitüsü, Sun'i Tohumlama Laboratuvarı, Ankara-TÜRK YE

² OMU. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Samsun-TÜRK YE

³ Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Kayseri-TÜRK YE

Özet: Bu çalı mada, Laiciphose W 488 (LS) ve AndroMed (AS) sulandırıcılarıyla sulandırılan Hol tayn (Siyah Alaca) bo a spermalarında sulandırma, ekilibrasyon ve çözdürme sonrası spermatozoa motilitesi (%) ve anormal spermatozoa oranları (%) üzerine sulandırıcıların etkisi incelendi. Ara tırmada 4 bo adan alınan toplam 40 ejakülat kullanıldı. Ortalama ejakülat miktarı 8.47 ± 0.69 ml, spermatozoa yo unlu u $1030.55 \pm 7.11 \times 10^6$ /ml ve anormal spermatozoa oranı % 3.47 ± 0.18 olarak tespit edildi. LS ve AS ile sulandırılmı spermalarda sulandırma sonrası ve ekilibrasyon sonrası motil spermatozoa oranları sırasıyla % 83.37 ± 0.37 ve % 73.50 ± 0.80 , % 83.12 ± 0.38 ve % 72.25 ± 0.83 olarak saptandı. LS ve AS sulandırıcıları ile dondurulmu spermanın çözdürme sonrası ortalama spermatozoa motilite oranları sırasıyla % 54.63 ± 1.47 ve % 52.75 ± 1.16 , anormal spermatozoa ise sırasıyla % 7.75 ± 0.34 ve % 8.25 ± 0.30 olarak bulundu. Bu çalı maya göre, her iki sulandırıcı ile elde edilen veriler rutinde kullanılabilir nitelikler ta maktaki birlikte, Laiciphose W 488 sulandırıcısı ile çözdürme sonrası spermatozoa motilitesi ($P < 0.05$) ve anormal spermatozoa oranında daha iyi sonuçlar alındı.

Anahtar Kelimeler: AndroMed, anormal spermatozoa, bo a sperması, Laiciphose W488, motilite.

Freezing of Bull Semen with Two Different Extenders and In Vitro Evaluation

Summary: In this study effect of AndroMed (AS) and Laiciphose W 488 (LS) extenders on the sperm motility and abnormal spermatozoa rates was examined in Holstein bull semen after they were diluted equilibrated and, thawed. In the study 40 ejaculates collected from 4 bulls were used. Average semen volume (8.47 ± 0.69 ml), sperm concentration (1030.55 ± 7.11 , and abnormal spermatozoa (3.47 ± 0.18 %) were found. The motility rates of fresh semen and after equilibration that diluted with LS and AS were 83.37 ± 0.37 %, 73.50 ± 0.80 % and 83.12 ± 0.38 %, 72.25 ± 0.83 % respectively. After thawing motility rates of sperm diluted with LS and AS extenders were 54.63 ± 1.47 %, 52.75 ± 1.16 % and, abnormal spermatozoa percentages of the sperm were 7.75 ± 0.34 % and 8.25 ± 0.30 %. According to this study, neither of these extenders are superior to each other, but statistically it was recognized that sperm motility rate in Laiciphose W 488 extender was remarkable. With respect to the finding of this study, it was observed that both of extenders in dilution of bulls' semen were proper and usable.

Key Words: AndroMed, abnormal spermatozoa, bull semen, Laiciphose W488, motility.

Giri

Erkek hayvanlardan bir defada alınan spermada, fertilizasyon için gerekenden daha fazla spermatozoa bulundu undan damızlık hayvanlardan alınan bir ejakülat ile çok sayıda di i tohumlanabilir. Bir ejakülat, spermatozoa özelliklerine ve fertilite gücüne göre çok misli sulandırılabilir (8,11). Gliserolün 1949 yılında kryoprotektan özelliklerinin bulunmasından sonra spermanın dondurularak uzun süre saklanması mümkün olmu tur. Sulandırıcılara katılan lipoprotein kayna ı veya yüksek molekül a ırlıklı materyaller so uk okuna kar ı spermatozoayı korur. Sulandırıcılardaki glukoz ya da fruktoz spermatozoanın enerji kayna ını olu tururlar. Kriyoprotektanların sulandırıcılara katılması amaç, hücre içi ve dı ı buz kristalleri olu umunu minimize etmek ve dondurma sonrasında

spermatozoaya en az zararı veren kristalizasyonu olu turmaktır (1,3,6,13,15,18). Spermanın sulandırılarak dondurulması amacıyla birçok ticari solüsyon veya formüle edilmi kimyasallar kullanılabilir. Spermatozoonları donma okuna kar ı korumak amacıyla sperma sulandırıcıları üzerindeki çalı malar halen devam etmektedir (6). Yumurta sarısı ve süt uzun süre spermatozoa koruyucusu olarak kullanılmı ve birçok ara tırmanın konusu olmu lardır. Hücre içi sıvıların pH ve tuz konsantrasyonları, donma sırasında tuzların çökmesi ve buz kristallerinin olu umu nedeniyle de i mektedir. Bu de i likler ve buna ba lı hücre membran lipidlerindeki kayıplar donma hasarının en büyük sebepleridir (2). So utmanın zararlı etkilerine kar ı spermatozoonları korumak için spermaya yumurta sarısı, süt veya bunlara benzer nitelikte lipoprotein, lesitin, ve sefalin gibi büyük molekül a ırlıklı bileşiklerin katılması önerilmektedir (4,7,9,10). Sulandırıcılarda ozmotik basınç ve hidrojen iyon konsantrasyonunu ayarlamak için sitrat, tris, fosfat ve

sitrik asit gibi tampon maddeler yaygın olarak kullanılmaktadır (11).

Spermadaki bakteri miktarının artması spermatozoonlara zararlıdır. Yumurta sarısı ve süt mikrobiyel kontaminasyon riskini artırmaktadır. Böylelikle endotoksin oluşumuyla spermatozoanın fertilité kapasitesini olumsuz yönde etkilemektedirler (3). Bunu önlemek amacıyla, sulandırıcılara ara tırcılar hayvansal orijine dayanmayan apatojen steril ürünler veya SPF (specific pathogen free) yumurta sarısının kullanılmasının daha güvenli oldu unu savunmaktadırlar (3,5,15).

Aires ve ark. (1)'larının yaptıkları çalı mada, bo a spermalarını sulandırmak için yumurta sarısı içermeyen ve yumurta sarısı içeren sulandırıcılar (AndroMed ve Tris) kullanılmı lardır. Çözdürme sonu motiliteyi AndroMed için % 73.54±2.34, Tris içinse % 59.57±2.75 olarak tespit etmi lerdir. Her iki sulandırıcıda da spermatozoa motilitesi belirli bir azalma göstermi tir. Dört saatlik bir inkubasyon sonrası spermatozoa motilitesi sırasıyla % 58.05±2.23 ve % 36.67±3.78 olarak saptanmı tir. Bozkurt ve Tekin (4) yaptıkları çalı mada, biociphos, laiciphos, sitrat ve tris sperma sulandırıcılarını kullanılmı lardır. Bu sulandırıcılarla sulandırdıkları spermalarda sulandırma sonrası spermatozoa motilite oranını sırasıyla % 60.89±2.66, % 63.30±1.25, % 45.72±1.97 ve % 58.96±2.62 ve çözdürme sonu spermatozoa motilite oranlarını ise sırasıyla % 39.98±1.77, % 43.60±2.06, % 28.22±1.79 ve % 41.89±2.76 olarak saptanmı lardır. Aynı ara tırcılar genel ortalama anormal spermatozoa oranlarını ise sırasıyla % 21.75±1.62, % 23.68±2.11, % 21.87±1.28 ve % 22.00±1.72 olarak tespit etmi lerdir. Hirsch ve ark. (8)'ları, ba langıç motilitesi % 91.4 olan sulandırılmı Holstein bo a spermalarında Biociphos ve Triladyl sulandırıcıları ile çözdürme sonrası motiliteyi % 60 ve % 61 saptarken; Bohm ve ark. (2)'ları, Biociphos ve Tris ile sulandırdıkları spermalarda çözdürme sonu motilite oranını sırasıyla % 60 ve % 62 olarak tespit etmi lerdir. Yılmaz ve Yurdaydın'ın (18) tris sulandırıcısı kullanarak yaptıkları çalı mada dondurdukları spermaları de i iki ısı ve sürelerde çözdürmü ler ve çözdürme sonu spermatozoa motilite oranlarıyla, spermatozoa'nın akrozomundaki bozuklukları tespit etmi lerdir. +38°C ısıda ve 10 sn ile çözdükleri spermalarda spermatozoa motilitesini % 66.0±0.4, +35°C'de 15 sn ile çözdürdükleri spermalarda ise % 9.20±0.4 oranında akrozom bozuklu u saptanmı lardır.

Bu ara tırmada Hol tayn ırkı bo alardan alınan spermaların ya sız süt tozu içeren Laiciphos W 488 ve yumurta sarısı yerine soya proteini içeren

AndroMed sulandırıcıları ile sulandırılarak; sulandırma, ekilibrasyon ve dondurulup çözdürülme sonrası spermatozoa motilitesi ile morfolojisi üzerindeki etkilerinin kar ıla tırılması amaçlanmı tir.

Gereç ve Yöntem

Bu çalı mada materyal olarak Lalahan Hayvancılık Merkez Ara tırma Enstitüsü'nde yeti tirilen 2-3 ya larında 4 ba Hol tayn damızlık bo aya ait ejakülatlar kullanılmı tir. Bo alardan, 2003 yılı Temmuz-A ustos aylarında haftada iki kez olmak üzere her bo adan toplam 10' ar ejakülat alınmı tir. Sun'i vajenle alınan ejakülatlar 34°C'deki su banyosuna konulduktan sonra sulandırmaya uygun olanların yo unlukları fotometrik yöntemle (Accucell Photometer, IMV, France) saptanmı tir ve spermalar iki e it kısma bölünerek, Laiciphose W 488 (IMV, France) sulandırıcısı ile iki a amada ve AndroMed (Minitub, Tiefenbach, Germany) sulandırıcısı ile tek a amada sulandırılarak 25°C'deki su küvetine konulup so utma kabineine nakledilmı lerdir. Sulandırılmı spermaların ısı 45 dakikada +4°C'ye dü ürüldükten sonra Laiciphose W 488 sulandırıcısının ikinci kısmı 5 defada ve 9 dakika arayla eklendikten sonra spermalar ekilibrasyona bırakılmı tir. Ekilibrasyon sonrası sulandırılmı spermalar 0.25 ml'lik mini payetler (IMV, France) içerisine otomatik makine yardımıyla (IMV, France) çekilmı ve bu i lem sonrası otomatik dondurma makinasında (Digitcool 5300, IMV, France) sıvı azot buharında 7 dakika içerisinde -140°C'de dondurulmu tur. Bu i lem sonrası toplanan dondurulmu spermalar sıvı azot (-196°C) içerisinde muhafaza altına alınmı tir. Daha sonra dondurulmu spermalar 37°C'de 20 sn süreyle çözdürülmü tür (1).

Spermanın in vitro de erlendirilmesinde; ejakülat miktarı (ml), spermatozoa yo unlu u ($\times 10^6/ml$), spermatozoa motilitesi (%) ve anormal spermatozoa oranı (%), sulandırılmı spermanın ekilibrasyon sonrası ve çözdürülmü spermada ise spermatozoa motilitesi (%) ve anormal spermatozoa oranları (%) muayene edilmı tir (7,14).

Ara tırmada elde edilen verilerin ortalama de erleri ve standart hataları ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) hesaplanmı ve bo aların iki farklı sulandırıcıya göre spermatolojik özelliklerinin kar ıla tırılmasında ba ımlı gözlemler için uygulanan t testi (paired t test) kullanılmı tir (20). Nativ spermada spermatolojik özellikler bakımından bo aların kar ıla tırılmasında ANOVA kullanılmı tir (19).

Bulgular

Bo alara ait ortalama ejakülat miktarı (ml) ve spermatozoa yo unlu u ($\times 10^6/\text{ml}$) sırasıyla A bo- asında 8.70 ± 0.73 ve 920.00 ± 6.36 , B bo asında

8.20 ± 0.64 ve 990.80 ± 5.36 , C bo asında 7.80 ± 0.66 ve 1010.20 ± 5.95 , D bo asında ise 9.20 ± 0.75 ve 1210.20 ± 10.80 bulunurken dört bo- anın toplam ortalama ejakülat miktarı 8.47 ± 0.69 ml ve spermatozoa yo unlu u $1030.55 \pm 7.11 \times 10^6$

Tablo 1. Nativ spermada spermatozoa motilitesi ve anormal spermatozoa oranlarına ait ortanca de erler

Bo a	Motilite (%)		Anormal Spermatozoa (%)					
	LS	AS	Akrozom	Ba **	Orta	Kuyruk	Toplam	
A	Ortanca (Min.-Maks) 82,5±0,83 80,0-85,0	82,5±0,83 80,0-85,0	0,1±0,1 0,0-1,0	1,1±0,1 1,0-2,0	0,7±0,21 0,0-2,0	1,1±0,56 0,0-2,0	3,0±0,33 2,0-5,0	
B	Ortanca (Min.-Maks) 85,0±0,81 80,0-85,0	82,5±0,83 80,0-85,0	0,1±0,1 0,0-1,0	1,00±0,0 1,0-1,0	1,0±0,33 0,0-3,0	1,7±0,21 1,0-3,0	3,8±0,38 2,0-6,0	
C	Ortanca (Min.-Maks) 85,0±0,66 80,0-85,0	85,0±0,66 80,0-85,0	0,1±0,1 0,0-1,0	1,00±0,0 1,0-1,0	0,6±0,3 0,0-3,0	1,5±0,16 1,0-2,0	3,2±0,38 2,0-5,0	
D	Ortanca (Min.-Maks) 85,0±0,66 80,0-85,0	85,0±0,76 80,0-85,0	0,2±0,13 0,0-1,0	1,1±0,1 1,0-2,0	1,1±0,23 0,0-2,0	1,5±0,22 0,0-2,0	3,9±0,37 2,0-5,0	
Genel (n=40)	Ortanca (Min.-Maks) 85,0±0,37 80,0-85,0	85,0±0,38 80,0-85,0	0,12±0,05 0,0-1,0	1,05±0,03 1,0-2,0	0,85±0,13 0,0-3,0	0,85±0,13 0,0-3,0	3,47±0,18 2,0-6,0	
F	1,00	0,93	0,21	0,67	0,74	1	1,41	

(LS: Laiciphos W 488 ve AS: AndroMed)

** Akrozom haricinde

Tablo 2. Laiciphos W 488 (LS) ve AndroMed (AS) ile sulandırılan spermalarda ekilibrasyon sonrası spermatozoa motilite ve anormal spermatozoa oranlarına ait ortalama de erler (n=10).

Bo a		Ekilibrasyon Sonrası													
		Spermatozoa Motilitesi (%)		Anormal Spermatozoa (%)											
		LS	AS	Akrozom		Ba **		Orta		Kuyruk		Toplam			
		LS	AS	LS	AS	LS	AS	LS	AS	LS	AS	LS	AS		
A	Ortanca (Min.-Maks)	73,0±1,7 60,0-80,0	72,0±1,7 60,0-80,0	0,3±0,15 0,0-1,0	0,2±0,13 0,0-1,0	1,5±0,22 1,0-3,0	1,5±0,22 1,0-3,0	1,3±0,26 0,0-3,0	1,1±0,23 0,0-2,0	2,3±0,33 1,0-4,0	2,4±0,3 1,0-4,0	5,4±0,74 4,0-10,0	5,2±0,59 3,0-9,0		
B	Ortanca (Min.-Maks)	72,0±1,7 60,0-80,0	70,0±1,83 60,0-75,0	0,2±0,13 0,0-1,0	0,3±0,15 0,0-1,0	1,3±0,15 1,0-2,0	1,7±0,21 1,0-3,0	1,1±0,23 0,0-2,0	1,5±0,26 0,0-3,0	2,7±0,21 1,0-4,0	2,9±0,23 1,0-4,0	5,3±0,36 4,0-7,0	6,4±0,54 4,0-9,0		
C	Ortanca (Min.-Maks)	74,5±1,17 70,0-80,0	73,5±1,07 70,0-80,0	0,2±0,13 0,0-1,0	0,2±0,13 0,0-1,0	1,9±0,23 1,0-3,0	1,90±0,23 1,0-3,0	1,2±0,29 0,0-3,0	1,4±0,22 0,0-2,0	2,6±0,34 1,0-4,0	2,5±0,34 1,0-4,0	5,9±0,69 3,0-10,0	6,0±0,61 4,0-9,0		
D	Ortanca (Min.-Maks)	74,5±1,89 60,0-80,0	73,5±1,98 60,0-80,0	0,3±0,15 0,0-1,0	0,4±0,16 0,0-1,0	1,8±0,24 1,0-3,0	1,6±0,16 1,0-2,0	1,4±0,16 0,0-2,0	1,0±0,21 0,0-2,0	3,0±0,44 1,0-5,0	2,5±0,47 1,0-6,0	6,5±0,67 3,0-9,0	5,5±0,65 2,0-8,0		
Genel (n=40)	Ortanca (Min.-Maks)	73,5±0,8 60,0-80,0	72,25±0,83 60,0-80,0	0,25±0,06 0,0-1,0	0,27±0,07 0,0-1,0	1,62±0,11 1,0-3,0	1,67±0,1 1,0-3,0	1,25±0,11 0,0-3,0	1,25±0,11 0,0-3,0	2,65±0,17 1,0-5,0	2,57±0,17 1,0-6,0	5,77±0,31 3,0-10,0	5,77±0,29 2,0-9,0		
T		2,69*		-0,37		-0,50		0		0,46		0			

**Akrozom hariçinde * : P<0.05 Farklı Önemli

Tablo 3. Laicphos W 488 (LS) ve AndroMed (AS) ile sulandırılan spermalarda çözündürme sonrası spermatozoa motilite ve anormal spermatozoa oranları (n=10)

Bo a		Çözündürme Sonrası													
		Spermatozoa Motilitesi (%) $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$		Anormal Spermatozoa (%) $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$											
A	Ortanca (Min.-Maks)	LS	AS	Akrozom		Ba **		Orta		Kuyruk		Toplam			
				LS	AS	LS	AS	LS	AS	LS	AS	LS	AS		
		52,5±3,82 20,0-60,0	51,5±2,69 30,0-60,0	0,30±0,15 0,0-1,0	0,30±0,15 0,0-1,0	2,30±0,30 1,0-4,0	2,50±0,30 1,0-4,0	1,50±0,34 0,0-4,0	1,20±0,29 0,0-3,0	3,40±0,34 2,0-5,0	3,70±0,26 3,0-5,0	7,50±0,74 5,0-12,0	7,70±0,63 6,0-12,0		
		55,0±1,97 40,0-60,0	52,0±2,6 30,0-60,0	0,30±0,15 0,0-1,0	0,60±0,16 0,0-1,0	2,00±0,29 1,0-4,0	2,00±0,25 1,0-3,0	1,50±0,16 1,0-2,0	2,00±0,29 1,0-4,0	3,40±0,34 2,0-5,0	3,70±0,42 2,0-6,0	7,20±0,53 5,0-10,0	8,30±0,71 6,0-12,0		
		56,0±1,25 50,0-60,0	55,5±1,17 50,0-60,0	0,30±0,15 0,0-1,0	0,60±0,16 0,0-1,0	2,40±0,40 1,0-4,0	2,60±0,37 1,0-4,0	1,30±0,36 0,0-4,0	1,60±0,30 0,0-3,0	3,50±0,30 2,0-5,0	3,60±0,42 1,0-6,0	7,50±0,77 4,0-12,0	8,40±0,63 6,0-12,0		
		55,0±4,08 20,0-65,0	52,0±2,71 30,0-60,0	0,40±0,16 0,0-1,0	0,70±0,21 0,0-2,0	2,90±0,31 1,0-4,0	3,00±0,21 2,0-4,0	1,50±0,16 1,0-2,0	1,10±0,18 0,0-2,0	4,00±0,36 2,0-5,0	3,80±0,57 1,0-8,0	8,80±0,69 4,0-11,0	8,60±0,45 7,0-11,0		
		54,63±1,47 20,0-65,0	52,75±1,16 30,0-60,0	0,33±0,08 0,0-1,0	0,55±0,09 0,0-2,0	2,40±0,17 1,0-4,0	2,53±0,15 1,0-4,0	1,45±0,13 0,0-4,0	1,48±0,14 0,0-4,0	3,58±0,17 2,0-5,0	3,70±0,21 1,0-8,0	7,75±0,35 4,0-12,0	8,25±0,30 6,0-12,0		
T		2,49*		-268*		-0,93		-0,20		-0,84		-2,43*			

**Akrozom hariçinde (*) : P<0.05 fark önemli

olarak saptanmıştır. Dört bo anın genel ortalama ejakülat miktarı en az 5.0 ml, en fazla 13.0 ml; spermatozoa yo unlu u ise en az 750×10^6 ve en fazla 1750×10^6 /ml olarak tespit edilmiştir.

Nativ spermaya ait spermatozoa motilitesi (%) ve anormal spermatozoa oranları (%) Tablo 1'de verilmiştir. Sulandırma sonrası yapılan spermatozoa motilite kontrollerinde sulandırıcılar arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Ekilibrasyon sonrası (LS ve AS) ve Çözdürme sonrası (LS ve AS) spermatozoa motilite (%) ve anormal spermatozoa (%) oranları Tablo 2 ve 3'te verilmiştir.

LS ve AS sulandırıcılarıyla sulandırılan spermalarda ekilibrasyon sonrası ve çözdürme sonrası tespit edilen anormal spermatozoa (%) oranlarında sulandırıcılar yönünden istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilmemiştir ($P > 0.05$). Çözdürme sonrası sulandırıcılar arasında motilite oranı istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P < 0.05$).

Tartı ma ve Sonuç

Bo a spermalarının dondurulması amacıyla birçok hazır sulandırıcı veya formüle edilmiş kimyasal kompozisyonlar kullanılabilir. Bu ticari sulandırıcıların maliyetleri fazla gibi görünse de spermaların sulandırma i lemi sırasında sağladıkları kolaylıklar dü ünüldü ünde avantajları açıkça ortaya çıkmaktadır. Çünkü kimyasalların tartılması sırasında hem miktarlarının ayarlanması ve hem de kontaminasyon riski çok fazladır. Ayrıca kimyasal maddelerin uygun artlarda muhafaza edilme zorunlulukları yanında belli bir kullanım sürelerinin olması da bir başka olumsuzluktur. Spermaların de erlendirilmesinde in vitro bulguların yanında in vivo fertilitte kontrollerinin de yapılması daha do ru sonuçların ortaya konması açısından önemlidir. Fakat de erlendirmeye alınan ejakülatların spermatozoa motilitesi ve morfolojisi yönünden incelenmesi de bir ölçüde yeterli olmaktadır. Çünkü motilitesi yeterli olmayan spermaların ve anormal spermatozoa oranı özellikle akrozoma bağlı defektlerin fazla olması fertilitteyi do rudan olumsuz olarak etkilemektedir.

Dimitropoulos (6) ise, Laiciphos plus 470 ve D. 36 sulandırıcılarıyla dondurdu u bo a spermalarında çözdürme sonu spermatozoa motilitesini sırasıyla % 26.3 ve % 31.5 olarak bildirmiştir. Bu ara tırma da elde edilen spermatozoa motilite de erleri yapılan çalı ma verilerinden oldukça dü üktür. Olu an bu farklılı ın kullanılan sulandırıcıların de i ik olmasından kaynaklandı ı dü ünülmektedir. Spermatozoada daha az hasar olu turan derin dondurma tekni ini geli tirmek için Rostel (12),

Laiciphos ile sulandırdı ı spermayı de i ik iki metot ile dondurmu ve çözdürme sonu motiliteyi % 65 ve % 60 olarak saptamıştır. Rostel (12)'in belirtti i de erler ile yapılan ara tırmadaki de erler birbirine çok yakındır. Spermatozoa motilitesinde elde edilen sonuç dü üktür, bunun sebebi de dondurma tekni indeki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Bozkurt ve Tekin (4) yaptıkları çalı ma da elde ettikleri bulgular, bu çalı ma bulgularından spermatozoa motilite de erleri açısından benze mekle birlikte, anormal spermatozoa de erleri açısından belirgin bir farklılık göstermektedir. Burada kullanılan teknikler benzer oldu undan ortaya çıkan farklı ı do rudan çalı manın yapıldı ı mevsimsel döneme, bo aların bireysel özelliklerine veya ara tırıcılara ba lamak mümkündür. Hinsch ve ark. (8)'ları ile Bohm ve ark. (2)'larının yaptıkları çalı malarda buldukları çözdürme sonu motilite oranları bizim çalı mamızdaki de erlerden yüksektir. Woelder ve Malva (17), bo a spermalarının dondurma ve çözdürme i lemleri sırasında motil spermatozoa oranında yaklaşık % 50-60 azalma oldu unu bildirmiştir. Bildirilen spermatozoa motilite kayıp de erleri hemen hemen ara tırmaların ço unda ortaya çıkmaktadır. Bunun sebebi de daha önce de belirtildi i üzere dondurmaya ve kullanılan sulandırıcılara spermaların bir tepkisi olarak açıklanabilir. Yılmaz ve Yurdaydın'ın (18) yaptıkları çalı ma da buldukları spermatozoa motilite de erleri bu çalı ma sonuçlarına göre daha yüksek, akrozom bozuklukları ise dü ük bulunmuştur. Bu farklılık ara tırmada kullanılan hayvanlardan elde edilen ejakülatların farklı olmasından, kullanılan sulandırıcı ve ara tırmada kullanılan metot farklılı ından ortaya çıkmı olabilir. Aires ve ark. (1)'larının yaptıkları çalı ma ile yapılan bu çalı ma da benzer olan sulandırıcı verileri de er olarak birbirine çok yakındır ve bu anlamda birbirini desteklemektedir.

Genel bir de erlendirme yapmak gerekirse yukarıda farklı ara tırıcıların yaptıkları çalı malardan elde ettikleri sonuçlar, çalı ma sonuçlarımız ile do al olarak benzerlik ve farklılıklar göstermektedir. Bunun nedenleri spesifik sebeplerden ba ka, çalı ma da kullanılan sperma sulandırıcılarına, hayvan materyalinin farklı ırk ve ya ta olmasına, bakım besleme ko ullarının farklılı ına, sulandırıcılara katılan kryoprotektanların oranı ve farklılı ına, spermaların dondurma ekli [payet (0.25 veya 0.5 ml), pelet, ampul gibi] ve metoduna (yava veya hızlı dondurma gibi) göre de i iklimler gösterilmektedir.

Sonuç olarak ticari olarak satılan Laiciphos W 488 ve AndroMed sperma sulandırıcılarının maliyetleri fazla gibi görünse de spermaların sulandırma

ilemi sırasında sulağıkları kolaylıklar yönünden e itli kimyasalların katılarak hazırlandı ı di er sulandırıcılara göre tercih edilebilir. Bu alı mada elde edilen sonuçlar ı ında her iki sulandırıcı birbirine belirgin bir üstünlük sa lamasa da istatistiksel açıdan dondurma - özdürme sonrası Laiciphose W 488 sulandırıcısında spermatozoa motilite oranı önemli tespit edildi inden, Laiciphose W 488 sulandırıcısı AndroMed sulandırıcısına göre öncelikle tercih edilebilir.

Kaynaklar

- Aires VA, Hinsch KD, Muller-Schlosser F, Bogner K, Muller-Schlosser S, Hinsch E, 2003. In vitro and in vivo comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology.*, 60:269-279.
- Bohm JG, Muller-Schlosser F, Hinsch E, Ponce AA, Schill WB, Hinsch KD,1995. Comparison of different extenders for cryopreservation of bull semen. *J Reprod Fertility Abstr.*, No: 16.
- Bousseau S, Brillard JP, Marguant-Le Guienne B, Guerin B, Camus A, Lechat M, 1998. Comparison of bacteriological qualities of various egg yolk sources and the in vitro and in vivo fertilizing potential of bovine semen frozen in egg yolk or lecithin-based diluents. *Theriogenology.*, 50: 699-706.
- Bozkurt E, Tekin N, 2002. Bo a Spermasının Farklı Sulandırıcılar le Dondurulması ve n Vitro De erlendirilmesi. *Lalahan Hayv Ara Enst Derg.*, 42(2) : 1-17.
- Chen Y, Foote RH, Tobback C, Zhang L, Hough S, 1993. Survival of Bull Spermatozoa Seeded and Frozen at Different Rates in Egg Yolk-Tris and Whole Milk Extenders. *J Dairy Sci.*, 76: 1028-1034.
- Dimitropoulos E, 1975. Valeur comparative "in vitro" et "in vivo" de deux dilueurs du sperme de taureau: le laiciphos plus 470 et le D.36. *Annales De Medicine Veterinaire.*, 119: 167-180.
- Hafez ESE, 1993. *Semen evaluation*. Hafez ESE. ed. *Reproduction in farm animals*, Sixth Edition. Philadelphia. Lea&Febiger. pp. 405-424.
- Hinsch E, Hinsch KD, Boehm JG, Schill WB, Schloesser FM, 1997. Functional parameters and fertilization success of bovine semen cryopreserved in egg-yolk free and egg-yolk containing extenders. *Reprod Dom Anim.*, 32: 143-149.
- Klemm S,1993. *Processing semen quality control: Bovine Artificial Insemination Technical Manual*, Penner.P. ed. *Reproduction Technology Semex*, Second Edition. Ontario, Canada. Guelph. pp: 59-69.
- Pace MM, Sullivan JJ, Elliot F, Graham EF, Coulter GH, 1981. Effects of thawing temperature, number of spermatozoa and spermatozoal quality on fertility of bovine spermatozoa packaged in 0.5 ml French straws. *J Of Anim Sci.*, 53(3): 693-701.
- Parkinson TJ, 1996. The Male Animal. Arthur GH, Noakes DE, Pearson H, Parkinson TJ. eds. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 7th Edition, London, England, Elsevier Science Limited. pp: 572-655.
- Rostel W, 1977. A new, less damaging technique for deep freezing semen: *Tierarztliche-Umschau*, (record-VetCD), 32 (9): 456-458.
- Sato K, 1992. *Theory of Spermatozoal Freezing. A.I. Manual For Cattle*. Association of Livestock Technology, JICA, Japan. pp. 111-123.
- Tekin N, 1994. Spermanın muayenesi ve de erlendirilmesi. Alaam E. Ed. *Theriogenology.*, 1. Baskı, Ankara. A Ü Vet Fak, ss: 69-79.
- Thibier M, Guerin B, 2000. Hygienic aspects of storage and use of semen for animal insemination. *Anim Reprod Sci.*, 62: 233-251.
- Weitze KF, Petzoldt R, 1992. Preservation of Semen. *Anim Reprod Sci.*, 28: 229-235.
- Woelders H, Malva AP,1998. How important is the cooling rate in cryopreservation of (bull) semen, and what is its relation to thawing rate and glycerol concentration. *Reprod Dom Anim.*, 33: 299-305.
- Yılmaz N ve Yurdaydın N, 1993. De i ik süre ve ısılarda özölmü bo a spermalarının akrozom yapısı ve dölverimi üzerine etkisi. *Lalahan Hay Ar Ens Derg.*, 33(1-2): 20-27.
- Zar JH, 1999. *Biostatistical Analysis*. Fourth Edition Simon&Schuester/A Viacom Company, New Jersey, USA. pp:288-299.

Yazı ma Adresi:

Dr. Pürhan Barbaros TUNCER

Lalahan Hayvancılık Merkez Ara tırma Enstitüsü

Sun'ı Tohumlama Laboratuarı Elmada / ANKARA

Tel : 0 312 865 11 96 Dahili : 176

Faks : 0 312 865 11 12

Email : barbarostuncerp@hotmail.com