

**DEĞİŞİK SULANDIRICILAR İLE DONDURULAN AYGIR SPERMALARININ
İN-VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR***
(The Studies on In-Vitro Evaluation of Stallion Semen Frozen With Different Extenders)
Pürhan Barbaros TUNCER¹

1. Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Lalahan/ANKARA

ÖZET

Bu çalışma Safkan Arap aygırlarının spermalarının laktoz ve tris sulandırıcılarıyla sulandırılıp dondurulması ve dondurma sonrası spermatojik özelliklerinin saptanması amacıyla yapılmıştır.

Araştırmada Anadolu Tarım İşletmesinde yetiştirilen 5 baş Safkan Arap aygır kullanılmıştır. Beş Safkan Arap aygırından alınan spermalar laktoz ve tris sulandırıcıları ile cm³'te 100 milyon motil spermatozoa bulunacak şekilde sulandırılmıştır ve makrotüplere çekildikten sonra sıvı azot buharında dondurulmuştur.

Laktoz ile sulandırılıp dondurularak 50⁰C'de 40 saniye ve 45⁰C'de 30 saniye süreyle çözödürölen spermalarda çözüm sonu spermatozoa motilitesi (%), toplam anormal spermatozoa oranı (%), anormal akrozom oranı (%) ve spermatozoa dayanıklılığını saptamak için yapılan termo-rezistens test 1., 2. ve 3. saatlerde kontrolleri yapılan motilite oranlarının (%) ortalama değerleri yukarıda belirtilen sırayla; %47.44-%42.33; %31.73-%35.52; %22.64-%24.59; %22.74-%19.94; %9.13-%6.74 ve %2.58-%1.13 olarak saptanmıştır.

Tris ile sulandırılıp dondurularak 50⁰C'de 40 saniye ve 45⁰C'de 30 saniye süreyle çözödürölen spermalarda çözüm sonu ortalama değerler yukarıda belirtilen sırayla; %37.83-34.63; %36.06-%38.39; %24.14-%25.79; %17.58-%15.94; %5.50-%4.96 ve %0.99-%0.83 olarak tespit edilmiştir.

Araştırmadan elde edilen bulgulara göre; aygır spermasını laktoz ile sulandırmanın tris sulandırıcısına göre ve dondurduktan sonra 50⁰C'de 40 sn süre ile çözödürömenin 45⁰C'de 30 sn süreyle göre daha iyi spermatojik özellikler ortaya koyduğu görölmektedir. Ayrıca sulandırıcılar ile çözödürme ısı ve sürelerinin arasında bir ilişkinin olmadığı da saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler : Aygır, Sperma, Sulandırma, Dondurma, Çözödürme.

SUMMARY

The aim of this research was to investigate spermatojical charecteristics of stallion semen frozen with lactose and tris extenders. This experiment was done in the Anadolu State Farm and five Pure Arabian Stallions were used.

Semen taken from five Arabian Stallions were extended in a way that to ensure 100x10⁶ /cm³ motile spermatozoa by lactose and tris extenders and frozen in the macrotube in liquid nitrogen vapour.

In the semen after thawing of 50⁰C-40 seconds the average values of semen; sperm motility (%),total percentage of abnormal sperm (%), percentage of abnormal acrosome (%) and thermo-rezistance test motility (%) in 1., 2. and 3. hours were recorded; %47.44; %31.73; %22.64; %22.74; %9.13 and %2.58 respectively for frozen semen by lactose.

In the semen after thawing of 50⁰C-40 seconds the average values of sperm were recorded; %37.83; %36.06; %24.14; %17.58; %5.50 and %0.99 respectively as mentioned above for frozen semen by tris.

In the frozen semen by lactose extender, after thawing of 45⁰C-30 seconds spermatojical charecteristics were recorded; %42.33; %35.52; %24.59; %19.94; %6.74 and %1.13 respectively as mentioned above.

In the diluted semen by tris extender, after thawing of 45⁰C-30 seconds spermatojical charecteristics were recorded; %34.63; %38.39; %25.79; %15.94; %4.96 and %0.83 respectively as mentioned above.

As a conclusion, extending stallion semen by lactose was more succesfull compare to by tris extenders and thawing at 50⁰C-40 seconds was given better results than thawing at 45⁰C-30 seconds. On the other hand, no relation was found semen extenders and thawing temperature and time.

Key Words : Stallion, Semen, Dilution, Freezing, Thawing.

* Aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir.

GİRİŞ

Türkiye’de % 90’ından fazlası küçük ve orta yapılı yerli ırklardan oluşan 1 milyon at bulunmaktadır. Bu atları ıslah etmek ve iş güçlerini artırmak için, Türkiye’nin çeşitli bölgelerinde açılan aygır depolarındaki aygırlarla ıslah çalışmalarına devam edilmektedir (23). Aygır spermasının, tıpkı boğa spermasında olduğu gibi dondurulup saklanması konusunda araştırmacılar yoğun çalışmalar yapmışlar ve son 20-25 yılda bulunan uygun sulandırıcı ve dondurma yöntemleri ile aygır spermasının da boğa sperması gibi dondurulup sun’i tohumlama yöntemi ile normal bir dölverimi alınabileceği bir çok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur (3, 16, 19, 20, 24, 27). Damızlık aygırların sıfat sezonu boyunca çoğu kez aşırı derecede sıfatta kullanıldıkları görülmektedir. Bu durum sperma kalite- sine olumsuz etki yapmakta ve buna bağlı olarak dölverimi düşüklüğüne neden olmaktadır (14).

Aygır spermasını ilk kez 1954’de Szumowski, 1955’de Roy, 1959’da Zmurin, - 70⁰C’de cam ampuller içinde; Negase ve ark. (18) ile Merkt ve Krause (17) 1966’da, Krause ve Grove (15) 1967’de pellet yöntemi ile dondurmışlardır.

Aygır spermasını pelet yöntemi ile donduran Klug ve ark. (13), çözüm sonu spermatozoa motilite oranını % 40.0, Bader ve Mahler (4), % 50.0 ve Krause ve Grove (15) ise, % 50.0 - 70.0 olarak saptamışlardır. Aygır spermasını payet yöntemi ile donduran Kozandağı ve İşler (14), çözüm sonu motilite oranını % 40.0 olarak belirlemişlerdir.

Cristanelli ve ark. (11) ise, spermaları Laktoz - EDTA -Yumurta sarısı- %4 Gliserol içeren sulandırıcı ile sulandırarak dondurmışlardır. Bu spermaların 75⁰C’deki su banyosunda 5 dakika süreyle çözdürülmeleri sonucunda, çözüm sonu motilite oranlarını ortalama %35.0 olarak saptamışlardır. Blanch ve ark. (6), 8 aygırdan aldıkları ejakülatları Laktoz -Yumurta sarısı- %4 Gliserol ile sulandırdıktan sonra dondurmışlardır. Dondurulan bu spermaların çözüm sonu motilitelerini, % 66.80 ile %36.70 arasında değişen oranlarda tespit etmişlerdir.

Cochran ve ark. (10) yaptıkları bir çalışmada ise, aldıkları ejakülatları % 4 Gliserol içeren Laktoz - EDTA - Yumurta sarısı sulandırıcısında dondurduktan sonra 75⁰C’deki su banyosunda 7 dakika süreyle çözdürmüşler ve çözüm sonu motilite ortalamalarının %34.0 - %22.0 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Tekin ve ark. (26), Karacabey Harasında yetiştirilen Safkan Arap ve Haflinger aygırlarından aldıkları spermaları santrifüje ederek, Laktoz - Merck sulandırıcısı - Yumurta sarısı ve Gliserin sulandırıcısı ile sulandırıp dondurmışlardır. Spermaların, çözüm sonu motilite oranlarını Safkan Arap aygırlarında ortalama % 40.2 ve Haflinger aygırlarında ise ortalama % 35.0 olarak saptamışlardır.

Aygır spermasını makrotüpler içinde donduran Braun ve ark. (8), Arap aygırlarının donmuş spermalarını 50⁰C’de 45 sn süreyle çözerek çözüm sonu spermatozoa motilite oranını ortalama % 33.0; Sevinç ve ark. (24)’da , Karacabey Harası Arap ve Haflinger aygırlarında çalışmışlar ve Türkiye’de ilk kez

makrotüplerde dondurdukları spermalarda spermatozoa motilite oranını % 47.58 ve % 49.99 olarak saptamışlardır. Yurdaydın ve ark. (30)'da makrotüpte dondurdukları Haflinger (hem Karacabey Harasında ve hem de Stadl-Paura aygır deposunda yetiştirilen) ve Noriker (Stadl-Paura aygır deposunda yetiştirilen) ırkıdan aygırların spermalarında çözüm sonu spermatozoa motilite oranını sırası ile % 54.85, % 46.50 ve %47.50 ve ortalama anormal spermatozoa oranını % 26.80, % 33.70 ve % 45.40 olarak saptamışlardır. Yurdaydın ve Pohl (29) ise, dondurdukları sıcakkanlı aygırların spermalarını değişik ısı ve sürelerde çözerek en yüksek motilite oranını % 49.60 olarak 50⁰C'de 40 sn sürede, en düşük motilite oranını da % 25.60 olarak 40⁰C'de 35 sn sürede çözülen spermalarda bulmuşlardır. Ayrıca çözüm sonu en düşük anormal spermatozoa oranını % 23.88 olarak 50⁰C'de 35 sn süreyle çözülen spermalardan elde etmişlerdir. Aynı araştırmacılar, en yüksek anormal spermatozoa oranını da % 40.88 olarak 40⁰C'de 30 sn sürede çözülen donmuş spermalardan elde etmişlerdir. Yurdaydın ve ark. (28), yaptıkları bir başka çalışmada Safkan Arap aygırlarının spermalarını laktoz ile sulandırıp dondurmuş ve bu spermaları 45⁰C'deki su banyosunda 30 sn süreyle çözdürerek, spermatozoa motilite oranını % 44.28 ve ortalama anormal spermatozoa oranını % 34.40 olarak saptamışlardır.

Bader (2), aygırlardan aldığı spermaları 1/ 3 oranında Laktoz - Yumurta sarısı - Gliserol sulandırıcısı ile sulandırdıktan sonra pelet şeklinde dondurmuş ve sıvı azotta muhafaza etmiştir. Dondurulan spermaların

çözüm sonu ortalama motilite oranını % 50.0 (17.0 – 70.0) olarak saptamıştır. Kozandağı ve İşler (14), spermatozoa motilitesini % 40.0 olarak saptamışlardır.

Öte yandan Nishikawa ve Shinomiya (20), % 80.0; Aliev (1), % 30.0 çözüm sonu motilite değerlerini bulmuşlardır. Braun ve ark. (7), yaptıkları bir çalışmada ise laktoz sulandırıcısına değişik oranlarda kattıkları yağsız süt tozu ile dondurdukları spermalarda çözüm sonu motilite oranını % 41.70 olarak saptamışlardır.

Bielanski (5)'ye göre, aygırlardan normal bir fertilitate sağlayabilmek için morfolojik olarak en az % 65.0 oranında normal yapı gösteren spermatozoa olması ve ayrıca anormal spermatozoa oranının % 6.0 ile % 35.0 arasında değişmesi gerekmektedir.

Türkiye'de yetiştirilen değişik ırktan atların reproduktif özelliklerine ilişkin çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak aygır spermasının dondurularak sun'u tohumlamada kullanılma olanakları üzerine bazı araştırmalar yapılmış olmasına karşın pratikte uygulama şansı yok denecek kadar azdır. Bu çalışma ile değişik sulandırıcıların ve dondurma tekniklerinin aygır spermasının spermatolojik özellikleri üzerine etkileri ile farklı çözdürme sıcaklık ve sürelerinin bu sulandırıcıların hangisinin de daha iyi sonuç verdiğini ortaya koymak amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğüne bağlı Anadolu Tarım İşletmesinde yetiştirilen 5 baş safkan Arap ırkı aygır kullanılmıştır. Her aygırdan 6'şar

ejekülat sperma, 1995 yılı sıfat sezonunda ve her gün, sabahları sun'i vajen ile alınmıştır.

Alınan ejakülatlar jel kısmı (Anadolu Tarım İşletmelerinde yapıldığı şekilde) ayrıldıktan sonra santrifüje edilmeden %11'lik Laktoz [Laktoz : 50.0 ml, Merck : 25.0 ml, Yumurta sarısı : 20.0 ml, Gliserin : 5.0 ml] ve Tris sulandırıcısı [Tris ana sulandırıcısı : 70.0 ml, Yumurta sarısı : 20.0 ml, Gliserin : 7.0 ml, Bidistile su : 3.0 ml] ile cm³'te 100 milyon motil spermatozoa bulunacak şekilde sulandırılıp makrotüplere çekildikten sonra sıvı azot buharında 20 dakika bekletilerek dondurulmuş ve -196 °C'de sıvı azot içinde depo edilmiştir.

Laktoz ve Tris ile sulandırılarak makrotüpler içinde dondurulan bu spermalar 50°C'de 40 sn ve 45°C'de 30 sn süreyle eşit sayıda çözündürülerek çözüm sonu başlıca spermatolojik özellikleri [spermatozoa motilitesi (20x10 büyütme ısıtma tablalı mikroskopta en az üç değişik sahaya bakılarak); toplam anormal spermatozoa oranı ve bunlar içinde anormal yapı gösteren akrozom oranı (ejekülat Hancoock solüsyonu içine alınan sperma örneğinden hazırlanan preparatta immersiyon objektifi (x100) ile 400 spermatozoa sayılarak) saptanmıştır. Ayrıca spermatozoa dayanıklılığını ölçmek için Termoresistans test [çözülen spermaların çözüm sonu (su banyosunda bekletilerek) yaşama sürelerinin tespiti için] uygulanmıştır. Bu amaçla çözülen spermalarda 0., 1., 2., 3., 4., 5. ve 6. saatlerde motilite kontrolleri yapılmıştır (3. saatten sonra yapılan termoresistans test motilite sonuçları % 0

olarak tespit edildiğinden istatistiksel analizlere dahil edilmemiştir).

Sonuçların değerlendirilmesi için, sulandırıcılar ile çözündürme ısı ve sürelerinin karşılaştırılmasında tekrarlanan ölçümlü deneme desenine göre varyans analizi uygulanmıştır (12). Sulandırıcılar ile çözündürme ısı ve süreleri arasında bir interaksyon bulunup bulunmadığı da analiz edilmiştir.

BULGULAR

Laktoz ve Tris ile dondurularak 50°C'de 40 sn süreyle ve 45°C'de 30 sn süreyle çözümlenen spermalarda çözüm sonu spermatozoa motilite oranı, toplam anormal spermatozoa oranı ile bunlar içinde anormal yapı gösteren akrozom oranları ve termoresistans test (TRT) motilite oranları Tablo 1'de verilmiştir.

Beş aygırın dondurulan spermalarının çözündürülmesinden sonra çözüm sonu motilite oranları yukarıdaki sırayla laktoz için % 47.44 ve % 42.33; tris için % 37.83 ile % 34.63 olarak tespit edilmiştir. Aygırların genel ortalamalarının verildiği Tablo 1'den de görüleceği gibi çözündürme ısı ve sürelerinin motiliteye etkisi her iki sulandırıcı için önemsiz (P>0,05) bulunurken; sulandırıcıların motiliteye etkisi iki çözündürme ısı ve sürelerinde birbirinden farklı tespit edilmiştir (P<0,05).

Çözüm sonu toplam anormal spermatozoa oranları yukarıdaki sırayla laktoz için % 31.73 ve % 35.52; tris için % 36.06 ile % 38.39 olarak bulunmuştur. Sulandırıcıların ve çözündürme ısı ve sürelerinin anormal spermatozoa oranına etkileri istatistiki yönden önemli bulunmuştur (P<0,05).

DEĞİŞİK SULANDIRICILAR İLE DONDURULAN AYGIR SPERMALARININ İN-VİTRO

Beş aygırın çözüm sonu anormal yapı gösteren akrozom oranları yukarıdaki sırayla laktoz için % 22.64 ve % 24.59; tris için % 24.14 ile % 25.79 olarak saptanmıştır. Çözdürme ısı ve sürelerinin anormal akrozom oranına etkileri sadece laktoz sulandırıcısında farklı ($P<0,05$) bulunurken, çözdürme ısı ve süresi 50°C ve 40 sn olan grupta sulandırıcılar arasında anormal akrozom oranı bakımından önemli farklılık bulunmuştur ($P<0,05$).

Çözüm sonu termoresistans test 1. saat motilite oranları sırasıyla laktoz için % 22.74 ve % 19.94; tris için % 17.58 ve % 15.94 olarak bulunurken; termoresistans 2. saat motilite oranları ise laktoz için % 9.13 ve % 6.74; tris için % 5.50 ve % 4.96; termoresistans test 3. saat motilite oranları laktoz için % 2.58 ve % 1.13; tris için % 0.99 ve % 0.83 olarak tespit edilmiştir. Çözdürme

ısı ve sürelerinin termoresistans test 1. saat motilite oranlarına etkileri istatistiki yönden yalnız laktoz sulandırıcısında farklı ($P<0,05$) bulunurken; sulandırıcıların termoresistans test 1. saat motilite oranı bakımından 50°C 'de 40 sn süre grubunda birbirinden farklı tespit edilmiştir ($P<0,05$). Termoresistans test 2. saat motilite oranlarına etkileri istatistiki yönden her iki sulandırıcı seviyesinde de önemsiz ($P>0,05$) bulunurken; sulandırıcıların termoresistans test 2. saat motilite oranı yönünden 50°C 'de 40 sn süre grubunda birbirinden farklı ($P<0,05$) ve termoresistans test 3. saat motilite oranına etkileri gerek sulandırıcı gerekse çözdürme ısı ve süresi gruplarında önemli olmayan farklar tespit edilmiştir.

Tablo 1 : Genel olarak 5 Safkan Arap aygırının dondurulan spermalarında çözüm sonu belirlenen spermatolojik özellikler

Spermatolojik Özellikler	Sulandırıcı (n=30)	Çözdürme Isı ve Süresi (n=30)		
		50°C 40 sn X±Sx	45°C 30 sn X±Sx	F
Motilite (%)	Laktoz	47.44±5.56	42.33±6.52	3.07
	Tris	37.83±6.06	34.63±4.25	0.37
	F	18.64*	9.90*	
Anormal Spermatozoa (%)	Laktoz	31.73±2.50	35.52±2.04	13.86*
	Tris	36.06±2.45	38.39±2.60	11.02*
	F	24.75*	8.39*	
Anormal Akrozom (%)	Laktoz	22.64±1.22	24.59±1.12	28.16*
	Tris	24.14±1.15	25.79±1.41	2.08
	F	6.45*	4.20	
TRT-1. Saat (motilite) (%)	Laktoz	22.74±4.84	19.94±4.45	15.60*
	Tris	17.58±4.21	15.94±3.95	4.71
	F	11.43*	0.69	
TRT-2. Saat (motilite) (%)	Laktoz	9.13±2.70	6.74±2.71	0.95
	Tris	5.50±2.81	4.96±1.83	0.21
	F	7.95*	5.22	
TRT-3. Saat (motilite) (%)	Laktoz	2.58±1.39	1.13±0.77	0.64
	Tris	0.99±0.80	0.83±0.58	1.0
	F	3.06	0.04	

- : $P>0,05$ * : $P<0,05$ TRT: Termo-resistans test

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda da sulandırıcılar ile çözdürme ısı ve süreleri arasında bir interaksyon bulunmadığı da tespit edilmiştir. Ayrıca 3. saatten sonra yapılan termo-resistans test motilite sonuçları % 0 olarak tespit edildiğinden istatistiksel analizlere dahil edilmemiş ve çizelgelerde gösterilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmada kullanılan 5 baş safkan Arap aygırının laktoz ve tris ile dondurularak 50°C'de 40 sn ve 45°C'de 30 sn süreyle çözdürülen spermalarda çözüm sonu spermatozoa motilite oranı sırayla laktoz için % 47.44 ve % 42.33; tris için ise % 37.83 ve % 34.63 olarak tespit edilen bu değerler, Yurdaydın ve ark. (30)'nın % 46.50, Sevinç ve ark. (24)'nin % 47.58, Tekin ve ark. (26)'nin % 40.2 ve % 35.0 olarak bildirdikleri çözüm sonu spermatozoa motilite oranlarına benzerdir.

Öte yandan, bu çalışmada elde edilen çözüm sonu spermatozoa motilite oranları, Nishikawa ve Shinomiya (20)'nin % 80.0 ve Bader (2)'in % 50'nin üzerinde elde ettikleri motilite oranlarından düşük; Aliev (1)'in % 30.0 ve Cochran ve ark (10)'nin % 22.0 olarak bildirdikleri motilite oranlarından yüksek bulunmuştur.

Bu farklılıklar araştırmalarda kullanılan aygırların değişik ırk ve genetik yapıda olmalarından ve kullanılan aygır ve ejakülat sayılarının değişik olmasından ileri gelebileceği gibi, kullanılan sperma sulandırıcılarının da farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Diğer yandan, aygır spermasını dondurma teknik ve yöntemleriyle,

donmuş spermayı çözme ısı ve süresinin de değişik olması, sonuçların farklılığına neden olmuş olabilir.

Araştırmada kullanılan 5 baş safkan Arap aygırının laktoz ve tris ile dondurularak 50°C'de 40 sn ve 45°C'de 30 sn süreyle çözdürülen spermalarda çözüm sonu anormal spermatozoa oranı sırayla laktoz için % 31.73 ve % 35.52; tris için ise % 36.06 ve % 38.39 olarak tespit edilen bu değerler, Yurdaydın ve ark. (30)'nın % 26.80; Yurdaydın ve Pohl (29) en düşük % 23.88 ile en yüksek % 40.88 ve Yurdaydın ve ark (28)'nin % 34.40 olarak bildirmişlerdir. Bildirilen bu değerler arasındaki farklılık, donmuş spermaların değişik ısı ve sürelerde çözülmesinden ileri gelmiş olabileceği gibi kullanılan aygır ve ejakülat sayılarının farklı olmasından ve kullanılan sperma sulandırıcı ve gliserin oranlarının da farklı olmasından ileri gelmiş olabilir.

Bu çalışmada 5 Safkan Arap aygırının donmuş spermaları çözdürül- dükten sonra 30°C'deki su banyosuna konarak termo-resistans test (TRT) bulguları 1., 2. ve 3. saatlerde saptan- mıştır. Buna göre bu çalışmada elde edilen çözüm sonu termo-resistans test 1. saat motilite oranlarının genel ortalamaları; laktoz ile sulandırılıp dondurulan ve 50°C'de 40 sn süreyle çözdürülen makrotüplerde % 22.74 ile 45°C'de 30 sn süreyle çözdürülen makrotüplerde ise % 19.94 olarak bulunurken; tris ile sulandırılıp dondurulan ve 50°C'de 40 sn süreyle çözdürülen makrotüplerde % 17.58 ve 45°C'de 30 sn süreyle çözdürülen makro- tüplerde ise % 15.94 olarak saptanmıştır. Bu çalışmada elde

edilen çözüm sonu termo-resistans test 2. saat motilite oranlarının genel ortalamaları; laktoz ile sulandırılıp dondurulan ve 50⁰C'de 40 sn süreyle çözdürülen makrotüplerde % 9.13, 45⁰C'de 30 sn süreyle çözdürülen makrotüplerde ise % 6.74 olarak bulunurken; tris ile sulandırılıp dondurulan ve 50⁰C'de 40 sn süreyle çözdürülen makrotüplerde % 5.50 ve 45⁰C'de 30 sn süreyle çözdürülen makrotüplerde ise % 4.96 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen çözüm sonu termo-resistans test 3. saat motilite oranlarının genel ortalamaları; laktoz ile sulandırılıp dondurulan ve 50⁰C'de 40 sn süreyle çözdürülen makrotüplerde % 2.58, ile 45⁰C'de 30 sn süreyle çözdürülen makrotüplerde ise % 1.13 olarak bulunurken; tris ile sulandırılıp dondurulan ve 50⁰C'de 40 sn süreyle çözdürülen makrotüplerde % 0.99 ve 45⁰C'de 30 sn süreyle çözdürülen makrotüplerde ise % 0.83 olarak tespit edilmiştir. Dördüncü saat sonunda bu değerler % 0 olarak tespit edilmiş ve bu nedenle ilk 3 saat sonunda bulunan değerler istatistiki analizlere alınmıştır.

Literatür bulguları ile bu çalışmada saptanan çözüm sonu spermatolojik özellikler arasında görülen farklılıklar kullanılan aygırların farklı ırk, genetik yapı ve yaşta olmasından, hayvanların damızlıkta kullanılma süre ve sıklıklarının değişik olmasından ve ejakülatların toplandığı sıfat sezonunun farklı olmasından kaynaklanabileceği gibi kullanılan sperma sulandırıcıları ile sulandırıcıların içerdiği komponentlerin miktar ve oranlarının, özellikle gliserin ve yumurta sarısı oranlarının farklılığından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca

spermatolojik özelliklerde saptanan bu farklılıklar, spermanın sulandırılmasında ve dondurulmasında kullanılan tekniklerin farklılığından da ileri gelmiş olabilir. Spermanın dondurulması aşamasında gerçekleştirilen ekilibasyon süreleri, donmuş spermanın çözme ısı ve süreleri ile ejakülat sayılarının farklı olması da sonuçlar üzerinde etkili olmuş olabilir. Ayrıca, aygırın çiftleşme sezonunda olup olmadığı, çevre, bakım ve besleme koşulları da spermatolojik özelliklerin değişik olmasında etkili olmuş olabilir.

Bu çalışmada, Safkan Arap aygırlarının spermalarının değişik sulandırıcılarla sulandırılıp dondurulması ve donmuş spermaların çözüm sonu in-vitro değerlendirilmeleri ile bu sulandırıcıların aygır spermasının spermatolojik özellikleri üzerindeki etkileri ortaya konmaya çalışılmıştır.

Araştırma sonucunda elde edilen bulgular, aygır spermasını laktoz ile sulandırmanın tris sulandırıcısına ve dondurduktan sonra 50⁰C'de 4 sn süre ile çözdürmenin 45⁰C'de 30 sn süreyle çözdürmeye göre daha iyi spermatolojik özellikler verdiğini ortaya koymaktadır. Ayrıca sulandırıcılar ile çözdürme ısı ve sürelerinin arasında bir ilişkinin olmadığı da saptanmıştır.

Bu araştırmada genel olarak en yüksek motilite, en düşük anormal spermatozoa oranı, en düşük akrozom bozukluğu ve en iyi termo-resistans test sonuçları laktoz sulandırıcısı ile sulandırılan spermalarda tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. **Ahev A** (1975) An Improved Technique of Semen Freezing. *Anim. Breed. Abstr.*, 44: 180.
2. **Bader H** (1968) Deep-freezing of Stallion Semen in Pellet Form. *Anim. Breed. Abstr.*, 37: 59.
3. **Bader H** (1970) Weitere Erfahrungen über die Tiefgefrierung von Hengstperma. *Zuchthygiene.*, 5: 87-91.
4. **Bader H und Mahler R** (1968) Tiefgefrier- und Besamungsversuche mit Hengstperma unter Anwendung des Pelletverfahrens. *Zuchthygiene.*, 3: 6- 13.
5. **Bielanski W** (1951) Characteristics of The Semen of Stallions. Macro- and Microscopic Investigations with Estimation of Fertility. *Memories de l'Academie Polonaise des Science et des Letters, Series B. No: 16. (Anim. Breed. Abstr.*, 19, 1564).
6. **Blanch E L, Amann RP, Bowen R A and Frantz D** (1989) Changes in Quality of Stallion Spermatozoa During Cryopreservation : Plasma Membrane Integrity and Motion Characteristics. *Theriogenology*, 31 : 283-298.
7. **Braun J, Hochi S, Oguri N, Sato K and Tornes-Bog-Gino F** (1995) Effect of Different Protein Supplements on Motility and Plasma Membrane Integrity of Frozen- Thawed Stallion Sperma-tozoa. *Criobiology*, 32 (5), 487- 492.
8. **Braun W, Wolpert E und Leidl W** (1986b) Die Beschaffenheit von Hengstjakulaten ausserhalb der Paarungssaison und deren Einfluss auf die TG-Konservierung. *Pferdeheilkunde*, 2 : 101- 108.
9. **Busch W, Löhle K Und Peter W** (1983) Künstliche Besamung bei Nutztieren. VEB Gustav Fischer Verlag Jena, DDR : 20-33.
10. **Cochran JD, Amann RP, Froman DP and Pickett BW** (1984) Effects of Centrifugation, Glycerol Level, Cooling to 5⁰C, Freezing Rate and Thawing Rate on The Post- Thaw Motility of Equine Spermatozoa. *Theriogenology*, 22 : 25 - 38.
11. **Cristanelli MJ, Squires EL, Amann RP, and Pickett BW**, (1984) Fertility of Stallion Semen Processed, Frozen and Thawed by a New Procedure. *Theriogenology*, 22 : 39-45.
12. **Federer WT** (1955) Experimental Design-Theory and Application. Macmillan. New York.
13. **Klug E, Günzel AR, Merkt H Und Krause D** (1977) Untersuchungen von Hengsten zum Einsatz in der instrumentellen Samenübertragung mit Tiefgefrier- sperma. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, 84 : 236- 238.
14. **Kozandağı M ve İşler M** (1981) Türkiye'de Aygır Spermasının Sıvı Azotta Dondurulması Olanakları. *LZAE Derg*, 21 (3-4), 63-72.
15. **Krause D and Grove D** (1967) Deep Freezing of Jackass and Stallion Semen in Concentrated Pellet Form. *J. Reprod. Fertil.* 3 : 139- 141.
16. **Martin JC und Klug E** (1979) Zur Samenübertragung beim Pferd-Spermakonservierung in Kunststoffröhrchen. *Prakt. Tierarztl.*, 3 : 196- 204.
17. **Merkt H und Krause D** (1979) Tiefgefriersperma versuche mit Equidensperma unter Anwendung des sog. Pellet- Verfahrens. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.*, 13 : 267- 268.
18. **Negase H, Soejima S, Niwa H, Oshida H, Sagara Y, Ishizaki N, and Hoshi E** (1966) Studies on the Freezing of Stallion Semen. I. Fertility Results of Stallions Semen in Concentrated Pellet Form. *Jap. J. Anim. Reprod.*, 12 : 48- 51.
19. **Nishikawa Y, Waide Y, and Shinomiya S** (1968) Studies on Deep Freezing of Horse Spermatozoa. Proc. VI. Inter. Congr. *Anim. Reprod.* 1589- 1590.
20. **Nishikawa Y and Shinomiya S** (1972) Our Experimental Results and Methods of Deep Freezing of Horse Spermatozoa. *Anim. Breed. Abstr.* 42 (4133).
21. **Polge C and Minotakis C** (1964) Deep Freezing of Jackass and Stallion Semen. V.

DEĞİŞİK SULANDIRICILAR İLE DONDURULAN AYGIR SPERMALARININ İN-VİTRO

- Internat. Kongr. Tier. Fortpfl. Haustierbes., Trento 1 : 545- 552.
22. **Roy A** (1955) Storage of Boar and Stallion Spermatozoa in Glycine- Egg Yolk Medium. *Vet. Record*, 67 : 330-332.
23. **Sevinç A, İstanbulluoğlu E, Yurdaydın N ve Çelebi M** (1984a) Çifteler Arap Aygırlarının Spermatolojik Özellikleri, Spermalarındaki Bakteriyel Flora ve Döl Verimleri Üzerinde Araştırmalar. *Doğa Bilim Dergisi*, Seri DI, 8 (3): 288-293.
24. **Sevinç A, Yurdaydın N ve Tekin N** (1984b) Karacabey Harası Safkan Arap ve Haflinger Aygırlarından Alınan Spermaların Dondurulması ve Haflinger Kısıraklarından Elde Edilen Döl Verimi. *A. Ü. Vet. Fak. Dergisi*, 31 (2): 304-315.
25. **Szumowski MP** (1954) Essais de congelation du sperma de cheval. *Anim. Breed. Abstr.*, 23, No: 523.
26. **Tekin N, Yurdaydın N, Klug E, Daşkın A, Keskin O und Küçük H** (1993) Gefrierkonservierungs- versuche mit samen von Vollblutaraber-und Haflingerhengsten im Türkischen Staatsgestüt Karacabey. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.* 100: 476-478, Heft, 12.
27. **Yurdaydın N** (1986) Atlarda Dölerme Özellikleri. *A. Ü. Vet. Fak. Dergisi*, 33(2): 210-224.
28. **Yurdaydın N, Çelebi M ve Holzmann A** (1989) Aygır Spermalarının Dondurulması Üzerinde Çalışmalar. *LHAE. Dergisi*, 29 (1-4): 98-106.
29. **Yurdaydın N ve Pohl W** (1987) Değişik Süre ve Isılarda Çözülmüş Donmuş Aygır Spermalarının Başlıca Spermatolojik Özellikleri Üzerinde Araştırmalar. *A. Ü. Vet. Fak. Dergisi*, 34(3): 479-485.
30. **Yurdaydın N, Sevinç A ve Wladar W** (1985) Değişik Irktan Aygırların Spermalarının Dondurulması Üzerinde araştırmalar. *A. Ü. Vet. Fak. Dergisi*, 32(3): 446-455.
31. **Zmurin L** (1959) The Storage of Stallion Semen by Freezing. *Anim. Breed. Abstr.* 27(282).