

## HOROZLARDA SPERMA KALİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

(Evaluation of Semen Quality in Cocks)

Ongun KESKİN\*

Necmettin TEKİN\*\*

Nafiz YURDAYDIN\*\*\*

Murat SELÇUK\*\*\*\*

Mustafa KAYA \*\*\*\*\*

### SUMMARY

The aim of this research was to prove principal spermatological characteristics by invitro data in Ross breeder cocks and expose factors effected semen quality.

İn this experiment 5 Ross breeder cocks were treated. During the research, semen was collected from cocks by manual massage method twice a week. The spermatological characteristics of ejaculates from cocks are as follows: (1) Ejaculate volume averaged  $0.3 \pm 0.0$  ml. (2) sperm motility  $72.1 \pm 5.9$  %, (3) sperm concentration  $3.0 \pm 1.9 \times 10^9$  /ml. (4) percentage of abnormal sperm  $4.8 \pm 0.7$  % and (5) pH  $.5 \pm 0.1$ .

Fresh semen was performed the thermorezistens test. During the incubation at  $40$  °C, it was observed that sperm motility ceased at 240. minutes.

### ÖZET

Bu araştırmanın amacı, Ross ırkı horozlarda invitro verilerle başlıca spermatolojik özellikleri ve sperma kalitesini etkileyen faktörleri ortaya koymaktır.

Bu çalışmada, Ross ırkı 5 horoz kullanılmıştır. Araştırma süresince, horozlardan haftada iki kez elle masaj yöntemiyle sperma alınmıştır. Horozlardan alınan ejakülatların ortalama spermatolojik özelliklerinden ejakülat miktarı  $0.3 \pm 0.0$  ml., spermatozoa motilitesi %  $72.1 \pm 5.9$ , spermatozoa yoğunluğu  $3.0 \pm 1.9 \times 10^9$ /ml., anormal spermatozoa oranı  $4.8 \pm 0.7$  ve pH  $7.5 \pm 0.1$  olarak bulunmuştur.

Taze spermaya termorezistens test uygulanmıştır.  $40$  °C' da inkubasyon sırasında spermatozoa motilitesi 240. dakikada sona ermiştir.

---

\* : Dr., A.Ü. Vet. Fak. Dölerme ve Sun'i Tohumlama ABD., ANKARA

\*\* : Prof. Dr., A.Ü. Vet. Fak. Dölerme ve Sun'i Tohumlama ABD., ANKARA.

\*\*\* : Doç. Dr., A.Ü. Vet. Fak. Dölerme ve Sun'i Tohumlama ABD., ANKARA

\*\*\*\* : Arař. Gör., A.Ü. Vet. Fak. Dölerme ve Sun'i Tohumlama ABD., ANKARA

\*\*\*\*\* : Arař. Gör.100.Yıl Üniv.Vet.Fak. Dölerme ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı.VAN.

## GİRİŞ ve LİTERATÜR ÖZETİ

Horoz ve tavuğun evciltilmeleri MÖ. 2000 yıllarına kadar uzanmakla beraber, özellikle 19. yüzyılda farklı tavuk ırklarında ekonomik fayda gözetilerek yetiştirilmelerine önem verilmiştir. 20. yüzyılın başlarında ise Amerika ve İngiltere'de birçok kültür tavuk ırkı ortaya çıkmıştır(1).

Bugüne kadar horozlardan sun'i tohumlama ya da biyoteknolojik araştırmalar için deneysel amaçlarla sun'i vajen (6) ve elektroejakülasyon (12) yöntemiyle sperma alınmışsa da günümüzde masaj yöntemi yaygın biçimde uygulanmaktadır (2,9).

Horozlardan kloakanın masajı yöntemiyle kolaylıkla sperma alınmaktadır. Sperma alma sırasında, spermadan önce veya sonra şeffaf bir sıvı olan lenf sıvısı gelir. Lenf sıvısı özellikle yüksek ısılarda invitro uzun süre bekletilen horoz ve ördek spermatozoonlarının fertilizasyon yeteneğinin hızla kaybına neden olmaktadır (8, 15). Bu nedenle, sun'i tohumlama ile yüksek dölverimi isteniyorsa, sperma alma sırasında ejakülatın lenf sıvısıyla fazla miktarda kontamine edilmemesi önerilmektedir. Spermatozoa üzerine direkt etkisinden başka, spermatozoa yoğunluğunu azalttığından dölverimini etkilemesi yönüyle önem taşımaktadır.

Sperma kalitesini etkilemesi yönüyle, horozlardan düzenli aralıklarla sperma alınmalıdır. 36-59 haftalık horozlardan haftada üç, beş ve on kez sperma alan Fuguay ve Renden (7) ejakülat miktarı ve spermatozoa yoğunluğu bakımından haftada üç veya beş kez sperma alınan erkekler arasında hiçbir fark saptamazlarken, Mc Daniel ve Sexton (17), optimum kalitede sperma elde edilmesi için horozlardan haftada iki kez sperma alınması gerektiğini bildirmişlerdir. Öte yandan sperma alma aralıkları uzayacak olursa ductus deferens'de dejenere olmuş (anormal) spermatozoa oranının artması ile dölverimi etkilenmektedir (14).

Rus Beyazı ırkı horozlardan masaj yöntemiyle sperma alan Fomin ve Scherbatov (6), ejakülat miktarını 0.6 ml. bildirmişlerdir.

Horoz ejakülatlarında başlıca spermatolojik özellikleri saptayan Sevinç ve ark. (23, 24), spermatozoa motilitesini Leghorn ırkında % 83.2±0.6, New Hampshire ırkında % 77.6±0.2, Shucla ve Tomar (26), % 86.5, Carvalho ve ark. (5), % 50.8 olarak kaydetmişlerdir.

Podgorny ve ark. (20), Cornish ırkı horozlarda spermatozoa yoğunluğunu  $3.5 \times 10^9$ /ml, White Rock ırkında  $3.4 \times 10^9$ /ml, Kono ve Hiura (12)  $0.8-2.3 \times 10^9$ /ml saptamışlardır.

Farklı ırklardan horoz ejakülatlarını inceleyen Banerjee ve Katpatal (3) Beyaz Leghorn ve Rhode Island Kırmızısında spermatozoa motilitesini sırasıyla % 80.5±0.1 ve % 70.5±0.2, canlı spermatozoa oranını % 82.9±1.2 ve % 75.0±1.8, anormal spermatozoa oranını % 23.3±0.4 ve % 23.2±0.7 bulmuşlar ve ırklar arasında spermatolojik özellikler yönüyle önemli farklılıklar olduğunu ifade etmişlerdir.

Carvalho ve ark. (5), ise 14 aylık Beyaz Leghorn ırkında spermatozoa motilitesini % 50.8, spermatozoa yoğunluğunu  $2.7 \times 10^9$ /ml ve anormal spermatozoa oranını % 6.4 olarak saptamışlar ve spermatozoa motilitesinin dölverimi ile yakından ilgili olduğunu bildirmişlerdir.

New Hampshire horozlarında yaş ve mevsimin sperma kalitesine etkisini inceleyen Kunev ve Lanolov (13), 8, 12, 20, 21 ve 25 aylıkta ejakülat miktarını sırasıyla 0.5, 0.6, 0.3, 0.5 ve 0.3 ml, spermatozoa motilitesini 16 aylıkta % 40.2, 22 aylıkta % 77.5 ortalama % 65.4, spermatozoa yoğunluğunu 9 aylıkta  $1.1 \times 10^9$ /ml, 23 aylıkta  $2.4 \times 10^9$ /ml., anormal spermatozoa oranını ise ortalama % 14.5 bulmuşlardır.

Sevinç ve ark (23, 24) Beyaz Leghorn ve New Hampshire ırkı horoz spermalarında 6.9 olarak saptadıkları pH değerini, Shucla ve Tomar (26), Beyaz Leghorn ırkında 7.7 bulmuşlardır.

Bu çalışma horozlarda sperma kalitesinin belirlenmesi yanında, sperma kalitesini etkileyen faktörlerin ortaya konması amacıyla yapılmıştır.

#### **MATERYAL VE METOT**

Çalışmada 25 haftalık Ross ırkı 5 horoz kullanılmıştır. Araştırmanın başlangıcında horozlar iki hafta süreyle sperma vermeye alıştırmışlardır. Araştırma süresince horozlardan öğleden sonraları masaj yöntemiyle haftada iki kez sperma alınmıştır (22). Elde edilen ejakülatlar sperma alma yerinde hazırlanan laboratuvarında başlıca spermatolojik özellikler yönünden incelenmiştir.

Ejakülat miktarı (ml), sperma toplama kadehinden direkt okunarak belirlenmiştir. Spermatozoa motilitesi (9) Iam ısıtma tablalı Phase Contrast mikroskopta 10 x 40 büyütmede muayene edilmiştir. Spermatozoa yoğunluğu 0.01 ml sperma örneği 5 ml Hayem solusyonunda sulandırılarak hemositometrik yöntemle saptanmıştır (28). Anormal spermatozoa oranının değerlendirilmesi için yaklaşık 0.5 ml Hancock solusyonunda fikze edilen sperma, mikroskobun immersiyon bakısında incelenerek

normal form dışında yapı gösterenlere belirlenmiştir. Spermanın pH' sı, renk skalası bulunduran pH metre kullanılarak ölçülmüştür (27).

Spermatolojik özellikleri değerlendirilen ejakülatlar aynı sperma toplama kadehinde birleştirilerek mix ejakülat elde edilmiştir. Mix ejakülate, 40 °C su banyosunda tutularak termorezistens test uygulanmış ve 30 dakikada bir spermatozoa motilitesi saptanmıştır.

### BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada, Ross ırkına ait başlıca spermatolojik özelliklerin ortalama değerleri Tablo 1' de verilmiştir. Toplam 5 horozda sırasıyla ejakülat miktarı (ml)  $0.2 \pm 0.0$ ,  $0.2 \pm 0.0$ ,  $0.3 \pm 0.0$ ,  $0.5 \pm 0.1$ ,  $0.5 \pm 0.01$  spermatozoa motilitesi (9),  $76.0 \pm 6.5$ ,  $86.0 \pm 2.2$ ,  $44.0 \pm 7.6$ ,  $86.5 \pm 3.3$ ,  $68.0 \pm 9.8$ , spermatozoa yoğunluğu ( $\times 10^9/\text{ml}$ )  $3.4 \pm 0.3$ ,  $0.9 \pm 0.2$ ,  $2.0 \pm 0.4$ ,  $3.6 \pm 0.5$ ,  $5.0 \pm 1.01$  anormal spermatozoa oranı (%)  $2.8 \pm 0.3$ ,  $10.0 \pm 2.2$ ,  $3.9 \pm 0.3$ ,  $4.0 \pm 0.3$ ,  $3.5 \pm 0.4$ , spermanın pH değeri  $7.4 \pm 0.1$ ,  $7.4 \pm 0.1$ ,  $7.6 \pm 0.1$ ,  $7.5 \pm 0.2$  ve  $7.5 \pm 0.2$  olmuştur.

Araştırma süresince elde edilen toplam 50 ejakülatta saptanan spermatolojik özelliklerin genel ortalamaları ise sırasıyla  $0.3 \pm 0.0$  ml, %  $72.1 \pm 5.9$ ,  $3.0 \pm 1.9 \times 10^9/\text{ml}$ ., %  $4.8 \pm 0.7$  ve  $7.5 \pm 0.1$  kaydedilmiştir (Tablo 1).

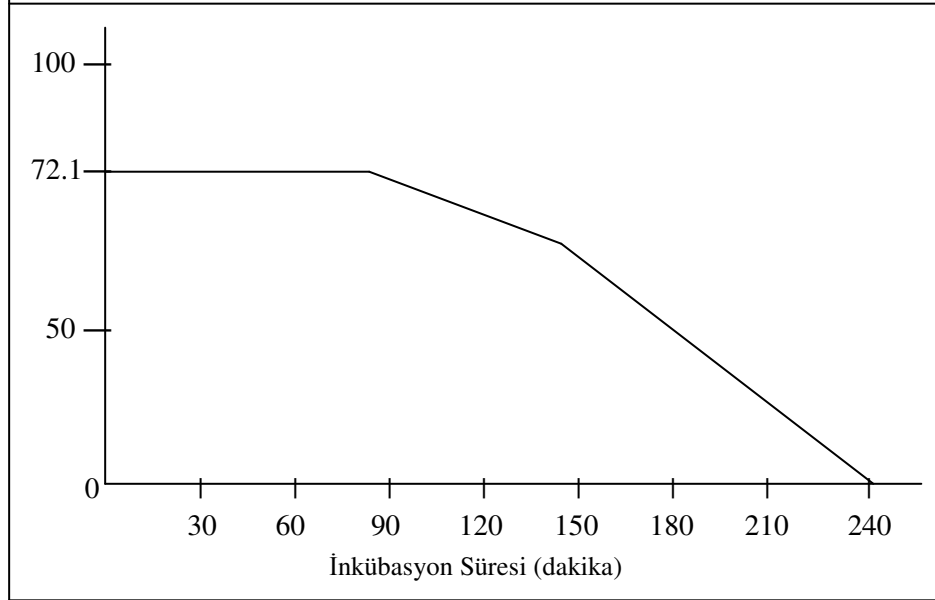
Taze spermalara uygulanan termorezistens test sonuçları Grafik 1, de belirtilmiştir. Başlangıç spermatozoa motilitesi (% 72.1) 40 °C' da inkubasyonun 240. dakikasında (4. saat) sıfıra düşmüştür.

Bu çalışmada, 25 haftalık Ross ırkı horozlardan öğleden sonraları alınan ejakülatlarda başlıca spermatolojik özellikler saptanmıştır. Tavuklar öğleden sonra geç saatlerde çiftleşme isteği gösterdiklerinden horoz spermasının alınması ve sun'i tohumlama için en uygun zaman bu saatlerdir. Üstelik öğleden sonra horozlarda sperma miktarı en yüksek seviyeye ulaşır ve tavuklar öğleden sonra tohumlandığında fertilitite daha yüksektir (19).

Kanatlılarda türler ve bireyler arasında seksüel olgunluk yaşında kalıtsal ve yaşa bağlı farklılıklar olduğu bilinmektedir. Shillin (25), 104 ve 107 günlük olgun horozlarda spermatolojik özellikler üzerinde çalışmış, sperma kalitesinin 6-24 aylıkken optimum olduğunu saptamıştır. Benoff ve ark (4), bireyler arasında ejakülat miktarı ve spermatozoa yoğunluğu yönüyle geniş varyasyon saptamışlardır. Bu çalışmada 25 haftalık (6 aylık) horozlarda çalışılmış ve spermatolojik özellikler başlangıçta istenen düzeyde değilken 8 hafta içinde optimum değerlere ulaşmıştır.

Tablo 1. Taze horoz spermalarında başlıca spermatolojik özelliklerin ortalama değerleri.

	Ejakülat Miktarı (ml)	Spermatozoa Motilitesi (%)	Spermatozoa Yoğunluğu (x10 <sup>9</sup> /ml)	Anormal Sp. Oranı (%)	pH
<b>HOROZ</b>	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$	$\bar{X} \pm S\bar{x}$
1	0.2 0.0	76.0 6.5	3.4 0.3	2.8 0.3	7.4 0.1
2	0.2 0.0	86.0 2.2	0.9 0.2	10.0 2.2	7.4 0.1
3	0.3 0.0	44.0 7.6	2.0 0.4	3.9 0.3	7.6 0.1
4	0.5 0.1	86.5 3.3	3.6 0.5	4.0 0.3	7.5 0.2
5	0.5 0.0	68.0 9.8	5.0 1.0	3.5 0.4	7.5 0.2
<b>Genel Ortal.</b>	0.3 0.0 n=50	72.1 5.9 n=50	3.0 1.9 n=48	4.8 0.7 n=47	7.5 0.1 n=49



Grafik 1. Taze horoz spermalarına uygulanan termorezistens test (40 °C) sonuçları.

Toplam 50 ejakülatta değerlendirilen başlıca spermatolojik özelliklerden ejakülat miktarı en düşük 0.1 ml. (1, 2, 3 nolu horozlarda), en yüksek 0.8 ml. (4 nolu horozda) kaydedilmiş, genel ortalama değer ise 0.3 ml. ile normal sınırlar içinde bulunmuştur.

Araştırmanın başında % 10 - 40 arasında değişen spermatozoa motilitesi çalışmanın sonuna doğru yükselerek % 95.0 gibi bir değere ulaşmış (5 nolu horozda) ve genel ortalama spermatozoa motilitesi % 72.1 olarak kaydedilmiştir.

İrk, yaş, mevsim, birey ve sperma alma sıklığı vb. faktörlere bağlı olarak değişebilen spermatozoa yoğunluğu araştırmanın son haftalarında normal değerlere ulaşırken, 5 nolu horozda  $8.0 \times 10^9$ /ml ile fizyolojik sınırların üzerinde bir değere de rastlanmıştır. Genel ortalama spermatozoa yoğunluğu ise  $3.0 \times 10^9$ /ml olmuştur.

Sperma kalitesinin belirlenmesinde en önemli kriterlerden biri de anormal spermatozoa oranıdır. Normal olarak taze spermalarda belirli bir oranda bulunan anormal spermatozoonlar bireysel faktörler yanında, spermanın dondurulması aşamalarında da artabilir. Anormal spermatozoonların dölleme güçleri olmadığından motilite ile birlikte dölverimini direkt etkileyen başlıca spermatolojik özelliktir (28). Araştırmanın başlangıcında 2 nolu horozda % 23.5 gibi yüksek bir değer saptanmışsa da çalışma süresince anormal spermatozoa oranı çok fazla değişmemiş ve toplam 47 ejakülatta genel ortalama değer % 4.8 bulunmuştur.

Çalışma süresince zaman zaman spermaya idrar, kan, dışkı veya dışarıdan başka maddeler karışarak spermanın pH' sını değiştirmişse de, araştırmanın başlangıcında genel olarak sperma pH' sı oldukça yüksek çıkmış, hatta 5 nolu horozda 9 gibi bir pH değerine rastlanmıştır. Çalışmanın ilerlemesiyle sperma pH sı normal sınırlara dönmüş ve genel ortalama pH değeri 7.5 kaydedilmiştir. Reid ve ark. (21) 'de ifade ettiği gibi, en yüksek dölverimi 6.5-8.0 pH değerleri arasında olan spermalarla elde edilmekte, daha yüksek ve daha düşük pH lar dölveriminin düşmesine neden olmaktadır.

Bu çalışmada horozlar arasında ortalama spermatolojik özellikler yönüyle Tablo 1' de gözlenen farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P < 0.001$ ).

İnvitro yaşam süresi spermatozoonların fertilizasyon yeteneği ile yakından ilgili olduğundan sperma kalitesinin belirlenmesinde önemli bir faktördür. Bu sürenin uzun olması istenen bir özelliktir ve kısalması

dölveriminin düşmesine neden olmaktadır. Spermatozoonların invitro yaşam süresi başlangıç spermatozoa motilitesine bağlı olarak değişmektedir (11). 48°C da 1 saat canlı kalma oranını 8 aylık horoz spermalarında % 2.9, 20 aylıkta % 39.3 olarak saptayan Kunev ve Lanolov (13), invitro yaşam süresinin aynı zamanda yaşa ve inkubasyon ısısına da bağlı olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada başlangıç motilitesi % 72.1 olan spermaların 40 °C da inkubasyonu (termorezistens test) sonucu spermatozoonlar motilitelerini 4. saatte kaybetmişlerdir.

Elde edilen veriler ile değişik araştırmacıların yaptıkları araştırmalar arasında gözlenen ayrılıklar, farklı amaçlar (16, 18, 29) ve büyük ölçüde ayrı ırktan horozlarda çalışmalarından (2, 10) ileri gelen bir durumdur. Bununla beraber farklı ırktan horozlarda çalışılmış olsa da değişik araştırmacıların (14, 17), sonuçlarıyla kimi spermatolojik özellikler yönünden benzerlik göstermiştir.

### SONUÇ

Bu araştırma ile Ross ırkı horozlarda başlıca spermatolojik özelliklerin belirlenmesi yanında, bundan sonra yapılacak çalışmalara ışık tutacağı kanısıyla sperma kalitesini etkileyen kimi faktörler de ortaya konmuştur.

### LİTERATÜR LİSTESİ

1. AKSOY, T. (1991): Tavuk Yetiştiriciliği. 1. Baskı, Şahin Matbaası, Ankara.
2. AUSTİN, A.J.S., NATARAJAN, N. (1989): A study on the physical characters of semen of New Hampshire and White Leghorn Breed. *İnd J. Poultry Sci.*, 24: 233-239.
3. BANERJEE, A.K., KATPATAL, B.G. (1975): Semen studies on White Leghorn, Rhode Island Red, cross-breed and deshi breeds. III. İnitil motility, differential count and sperm abnormalities. *İnd. J. Hered.*, 4: 32-35.
4. BENOFF, F.H., ROWE, K.E., FUGUAY, J.İ., RENDEN, J.A., ARCSOTT, G.H. (1981) : Effect of semen collector on semen volume and sperm concentration in broiler males. *Poultry Sci.*, 60: 1062.
5. CARVALHO, R. R. De., KEGALE, F., ÇHQİLOFF, D. A.De.G. (1978): Relationship of three semen characters with fertility in White Leghorn cocks *Arq Escola Vet. Uni. Federal Dinas Gerais*, 30: 29-35.
6. FOMİN, A., SCHERBATOV, V. (1989) : Semen collected from cocks using an artificial vagina. *Ptitsevodstvo*, 7: 26-28.

7. FUGUAY, J.İ., RENDEN, J. A. (1980): Reproductive performance of broiler breeders maintained in cages or on floors through 59 weeks of age. *Poultry Sci.*, 59: 2525.
8. FUJİHARA N, MİSHİYAMA H (1976): Studies on the accessory reproductive organs in the drake, 5. Effects of the fluid from the ejaculatory groove on the spermatozoa of the drake, *Poultry Sci.*, 55: 2415.
9. GAL' PERN, İ, İVANOV, B, POPOV, İ, TUR, B, ZHOVNİR, O. (1984): A longterm and rational use of cocks. *Ptitsevodstvo*, 2: 19-20
10. KARİMOV, K., PARONYAN, İ., İVANOV, B., POPOV, İ., TUR, B.(1983): Establishing a semen bank for domestic fowls a prospective method of preserving the gene pool. *Ptit sevodstvo*, 3: 17.
11. KESKİN, O, TEKİN, M, AKÇAY, E.(1996): Erbro ırkı horoz spermalarının farklı sulandırıcı ve kryoprotekianlarla dondurulması (Yayınlanmadı).
12. KONO, K., HİURA, F. (1983): Semen collection by rectal electroejaculation in the domestic fowl. *Jpn Poultry Sci.*, 20: 267-270.
13. KUNEV, K., KANOLOV, İ. (1988): Age and seasonal dynamics of semen production in New Hampshire cocks. *Zhivotnov'dni Kauki*, 25: 18-24.
14. KURBATOV, A.D, MARUBİNA, L E, BUBLYAEVA, G.B, VANOR, B.İ. (1976): Freezing cock sperm in liquid nitrogen. *Poultry Sci.*, 3:914.
15. LAKE, P. E. (1983): The male in reproduction. In: *Physiology and Biochemistry of the domestic fowl*. Ed: B. K. Freeman, 5: 1-61.
16. MAEDA, T, TERADA, T.(1982): The morphology of fowl spermatozoa stored at 5 °C in diluents of various osmotic pressures. *Jpn. Poultry Sci.*, 19: 344-350.
17. Mc DANİEL, G.R., SEXTON, T.J.(1977): Frequency of semen collection in relation to semen volume, sperm concentration and fertility in the chicken. *Poultry Sci.*, 21: 128.
18. MATSUMOTO, F, TERADA, T, TSUTSUMİ, F.(1985): Glutamic oxaloacetic transaminase released from chicken spermatozoa during freezethaw procedures, *Poultry Sci.*, 64: 1718-1722,
19. OTTİNGER, M.A., SCHLEİDT, V.M., RUSSEK, E.(1982): Daily patterns in courtship and mating behavior in the male Japanese quail. *Behav Proces*, 7: 223-233.
20. PODGORNÝ, E, WEZYK, S, LADA-GORZOWSKA, A.(1976): Variations in cock sperm quality throughout the year. In: VIII. İnt Congr. Anim. Reprod. Artif İnsem. Krakow., July, 12-16.



21. REİD, J. T., WARD, G. M., SALİSBURY, R. İ. (1948): The relationship in the change in pH effected by incusation to other semen characteristics. J. Dairy. Sci., 31 : 383-388.
22. SEVİNÇ, A. (1979): Dölerme ve Sun'j Tohumlama. A. Ü. Vet. Fak. Yayını, 356/254, Ankara.
23. SEVİNÇ, A., TEKİN, M., MUYAN, K. (1984): Leghorn ve New Hampshire horozlarında başlıca spermatolojik özellikler. A. Ü. Vet. Fak. Yayını, 30: 1983.
24. SEVİNÇ, A., TEKİN, M., MUYAN, M. (1984): Leghorn ve New Hampshire horozlarında anormal spermatozoon tipleri. L.ZA.E. Derg., 13: 123-135.
25. SHİLLİN, S. V.(1978): Sexual maturity of cocks and the effectiveness of use of their semen in artificial insemination. Sbor Mauch Trudov-Vse Mauchno-İssledovatel'skii Tekh. İns., Ptitsevodstvo, 46: 28
26. SHUCLA, A. K., TOMAR, M. S. (1987): Characteristics and preservation of poultry semen at 10 °C İnd Vet. J. 64: 689-692.
27. TEKİN, M.(1990): Erkek üreme organlarının muayenesi (Androlojik muayeneler). İn: Theriogenoloji, Ed: E. Alaçam. 1. Baskı, Nurol Matbaacılık A.Ş. pp. 53-67, Ankara.
28. TEKİN, N. (1994): Spermanın muayenesi ve değerlendirilmesi. İn: Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Doğum ve İnfertilite, Ed: E. Alaçam, 1. Baskı, 69-79, Dizgievi, Konya.
29. TERESSHCENKO, A, SAKHATSKİİ, M, ARTEMENKO, A.(1991): The Technology offreezing cock semen. Ptitsevodstvo, 5: 10-11.