

ÇİFTLİK HAYVANLARINDA OOSİT MATURASYONU VE İN-VİTRO FERTİLİZASYON

(Oocyte maturation and invitro Fertilization on Farm Animals)

Hüseyin SUNGUR*

Nafiz YURDAYDIN**

SUMMARY

Important developments have occurred about invitro fertilization by under standing summary of the gamet physiology and fertilization mechanism in mammalian animals Although succesfull studies have been carried out on experimental animals and man, studies with livestock animals also gives good results since 1978.

Invitro fertilizatioin consists of stages that oocyst maturations sperma capacitation, fertilization and storage of embryo in suitable medium. In this article we attempt to give the stages mentioned above and informations about observed studies.

ÖZET

Memeli hayvanlarda, gamet fizyolojisinin ve fertilizasyon mekanizmalarının anlaşılması ile birlikte invitro fertilizasyon konusunda önemli gelişmeler olmuştur. Başarılı çalışmaların çoğunu deney hayvanlarında ve insanda yapılanlar oluşturmasına rağmen 1978 yılından itibaren çiftlik hayvanlarında yapılan çalışmalardan da olumlu sonuçlar alınmaya başlanmıştır.

İnvitro fertilizasyon (IVF); oosit maturasyonu, sperma kapasitasyonu, fertilizasyon ve embrionun uygun medyumlarda saklanması safhalarını kapsamaktadır. Bu makalede söz konusu safhaların mekanizmaları ile yapılan çalışmalar hakkında bilgiler verilmeye çalışılacaktır.

GİRİŞ

İnvitro fertilizasyon (IVF), aynı türe ait ovum ile spermatozoitlerin suni ortamlarda döllenesi olarak tanımlanabilir. Bugün, hormon kullanarak süperovulasyon sonucu fertilizasyon için çok sayıda ovum elde edilebilmektedir. Fertilizasyon için gerekli spermanın elde edilmesi ise çok kolay olmaktadır.

Fertilize olmamış ovum, tuz konsantrasyonlarına, hidrojen iyonlarına, protein ve metabolizma ürünlerine çok hassastır.

Çiftlik hayvanlarında invitro fertilizasyonun pratik olarak uygulanabilmesi açısından oosit olgunlaşması (maturasyon) ve sperma kapasitasyonu için optimal bir sistem henüz gerçekleştirilememiştir. Bu yüzden konu ilgi odağı olmaya devam etmektedir.

1- FERTİLİZASYON VE MATURASYONUN İN -VİVO GELİŞİMİ SPERMATOZOA

Spermatozoitler tubulus seminiferous'lar içerisinde yerleşmiş bulunan ger-

* Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü.

** A. Ü. Vet. Fak. Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı, ANKARA.

minativ hücrelerinden yani spermatogoniumlardan oluşur. Olay anında hücreler bölünüp farklılaştığı gibi kromozom sayısı yarıya iner. Hücreler nukleus ve sitoplazması geniş anlamda değişikliğe uğrar.

1. Ejakülasyonda milyonlarca spermatozoa bulunmasına rağmen, ovidukt ampullasına çok az sayıda spermatozoa ulaşabilmektedir (1000 kadar).

2. Çiftleşmeden 15 dk. kadar sonra bazı spermatozoit hücreleri, çok hızlı bir şekilde fertilizasyon noktasına ulaşmaktadır (Isthmus).

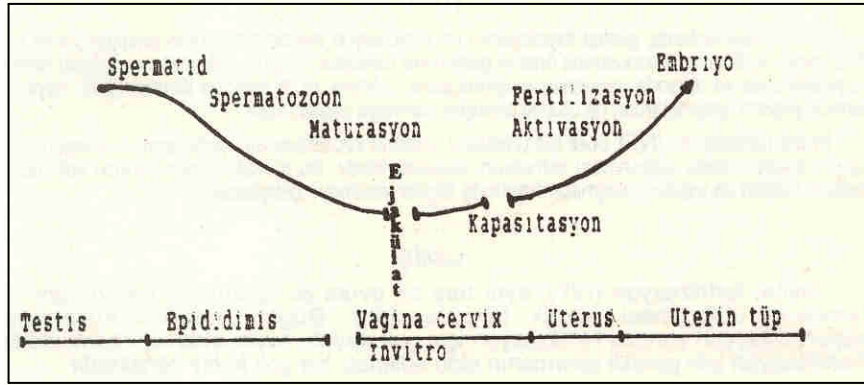
3. Spermatozoa oositi aktive etmeden önce kapasitasyon denilen bir seri değişikliklere uğrar.

FERTİLİZASYON

Spermatozoa'nın ovuma girmesi ve onunla birleşmesi olup, gametlerin fertilizasyon noktası olan oviduktan ampullasına taşınımı, sperma kapasitasyonu ve akrozom reaksiyonu gibi ön şartları kapsayan bir oluşuma sahiptir ve iki yönlü bir olaydır. Bunlar;

a. Embryolojik Yön: Ovum spermatozoa tarafından uyarılır. Fertilizasyon gerçekleşmeden ovum embryolojik gelişmesini tamamlayamaz (Aktivasyon dönemi).

b. Genetik Yön: Fertilizasyon ile erkekteki genetik materyalin ovum içine girmesidir. Spermatozoon nukleusundaki kromozomal DNA ile dişi nukleusun birleşmesi (Syngamy) Fertilizasyonun temelidir.



Şekil 1. Spermatozoonun gelişim seyri.

KAPASİTASYON

Tüm evcil hayvanlarda spermatozoonlar testisten çıkıp caput epidimise gelinceye kadar "Bağımsız hareket etme ve ovumla ilişkiye girme" yeteneğinde değildir. Bu iki özelliği epididimal kanaldan geçiş esnasında kazanırlar. Ejakülasyon esnasında ise, seminal plazmadaki, gliko-protein tabiatındaki komponentlerin, spermatozoa yüzeyindeki, karbonhidrat zincirleriyle bağlanması sonucu, spermatozoa membranı stabilizasyon kazanır. Ejakülasyondan sonra spermatozoonların ovumla ilişkiye girebilmesi için dişi dölleme organındaki ol-

gunlaşma safhası kapasitasyon başlar (4, 8, 12).

Kapasitasyon; spermatozoaların ovum içine girebilmek için gerekli akrozom reaksiyonuna yol açacak fizyolojik-bioşimik değişimlerin tümü olarak tanımlanabilir.

Kapasitasyon türe özgü bir olay değildir; Boğa sperması tavşan uterusunda, Teke sperması da kızgınlık siklusundaki domuz uterusunda kapasitasyon gücüne ulaştığı bildirilmektedir (12).

Bu arada Kapasitasyon dölleme organlarına bağlı bir olay da değildir; Deneysel olarak tavşan spermatozoaları uterus dışında kolon, sidik kesesi ve gözün enterior karnerasında kapasite edilebilmiştir (12).

Kapasitasyonun moleküler mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak, spermatozoa membranına bağlanmış enzimatik aktivasyon gösteren seminal plazma komponentleri ile, dekapasitasyon faktörlerinin spermatozoa yüzeyinden uzaklaştırılmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir. Spermatozoa; yeniden seminal plazmaya bırakıldığında ovumla ilişkiye girme yeteneğini kaybettiği kimi çalışmalarda ortaya konmuştur.

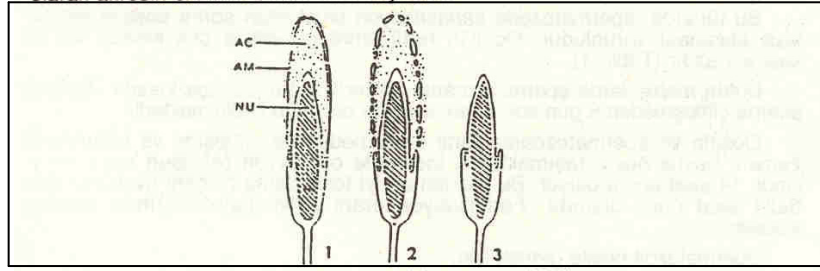
Aygır, boğa ve domuz seminal plazmasında Dekapasitasyon Faktörü (DF) tespit edilmiştir, ama bu faktörün özelliği kesin olarak bilinmemektedir. Akrozomda mevcut Hyaluronidaz enzimi yanında koç spermasının Carona Penetrating Enzyme(CPE), Trypsin Benzeri Enzim (TLE) taşıdığı ve bunların penetrasyonda görev aldığı bildirilmektedir (10). Dekapasitasyon faktörleri, CPE tarafından inhibe edebilirler, Bu yüzden kapasitasyon aynı zamanda bu inhibitörlerin uzaklaştırılması anlamına da gelmektedir.

AKROZOM REAKSİYONU

Akrozom spermatogenesis sırasında, golgi kompleksinden gelişen nukleusun hemen hemen yarısını örten hyaluronidase ile proacnosin enzimi ihtiva eden bir organeldir. Kapasitasyon oluşmuş spermatozoa cumulus oaphorus ile temas esnasında akrozom reaksiyonuna uğrar. Bu esnada akrozomun posterior kısmı ekvatoryal segment dışında plazma membranı ile, dış akrozomal membran bir çok noktada birbiriyle birleşerek küçük veziküller şekillendirirler. Bu veziküller arasında şekillenen boşluklardan akrozomal enzimler dışarı çıkar. Akrozomal reaksiyon esnasında, akrozom tümüyle parçalanır.

Akrozom reaksiyonu mekanizmasının tam olarak bilinmesine karşın, harici ve dahili bazı faktörlerin uyarısı ile oluştuğu sanılmaktadır.

Harici faktörler olarak; Ca^{++} , ısı, pH, magnezyum, albumin dahili faktörler olarak akrosin enzimi ve ATP ase sayılabilir.



Şekil 2- Akrozom Reaksiyon seyri (Kanagawa 1986)

1. Akrozom reaksiyondan önce spermatozoon.
2. Mikrozom reaksiyonu esnasında, membranların vezikül oluşturması.
3. Akrozom reaksiyonundan sonra spermatozoon.

Akrozom reaksiyonu; Ovum örtülerinin geçilebilmesi için Likit enzimlerinin dışarı çıkma ve değişmeden kalan Ekvatoryal segmentin, ovum plazma membranı ile birleşmesini sağlayan iki önemli görevi vardır.

OOSİT

Diöstrusta, oosit, profaz I, pakiten veya diploten safhasındadır. Ovulasyondan kısa zaman önce oosit I. mitoz bölünme, arkasından da mayoz bölünme şekillenir. Ancak, fertilizasyon oluşmadığı sürece, bölünme tamamlanamaz. Fertilizasyon sonucu II. polar body ve dişi pronukleus oluşmaktadır. İnek, koyun, polar cisimciği taşırken atlarda oosit henüz birinci olgunlaşma bölünmesi safhasındadır. Ovulasyondan 15 saat öncesine kadar koyunlarda folliküler oosit'in çekirdekçiği veziküler bir görünümündedir. Ovulasyondan sonra ise, kromatin yoğunlaşmaya başlamakta ve I. polar cisimciği ovulasyondan birkaç saat önce oluşup oocyte ovulasyon esnasında Metafaz II safhasına ulaşmaktadır.

Ovulasyon sonucu atlarda primer, diğer türlerde seconder oosit serbest kalmaktadır. Oosit olgunlaşması fertilizasyon oluşuncaya kadar devam eder ki, bu safhada "Zygot" adını alır. Oogenesis sonucunda primer oocyte'den sadece bir oocyte, spermatogenesis ise bir spermatozoit'den 4 tane spermatozoa oluşur.

Ovum follikülden dışarı atılmadan az önce, bunun nüvesinden I. polar cisimciği ayrılır ve ovum membranının dış tarafında yer alır. Bu daha sonra sekonder oosit adını alır. Bu işlemde kromozom çiftlerinin herbiri partnerini, polar cisimciğine vermek suretiyle kaybeder ve sekonder oosit'de bu nedenle haploid sayıda kromozom vardır. -

2- SPERMATOZOANIN OOSİT'E GİRİŞİ

Hemen bütün memelilerde Fertilizasyon I. polar cisimciğin atılmasından sonra başlar. Spermatozoanın oocyte girmesine II. redüksiyon.bölünmesi esnasında müsaade edilirken, atlarda redüksiyon bölünmesinden önce fertilizasyon oluşur. Bütün çiftlik hayvanlarında fertilizasyon ovidukt'ta oluşur. Oocyte ovidukt ampullasına ulaştığı sırada mukoprotein tabiatındaki zona pellucida ile çevrili granuloza hücre demeti halindedir. Ve bu safha "cumulus cell" diye tanınır. Domuzlarda birkaç tane oocyte bir arada bulunur ve buna "oocyte plug" adı verilmektedir. Cumulus hücreleri, çiftlik hayvanlarında ovulasyondan birkaç saat sonra kaybolur. Cumulus hücreleri fertilizasyon başlamadan önce zona pellucida-dan uzaklaştırılmakta olup, bir çok türde oositler fertilize olmamaları halinde birkaç gün içinde dejenere olmalarına karşın, atlarda aylarca kalabilmektedirler (10).

Bu türlerde, spermatozoada kapasitasyon oluştuktan sonra oosit'in ampullaya ulaşması zorunludur. Oosit'in fertil ömrü genellikle çok kısadır ve 24 saat'ten azdır (Tablo 1).

Bütün memelilerde spermatozoanın da fertil ömrü oldukça kısadır. Sadece atlarda çiftleşmeden 5 gün sonra fertilizasyon oluştuğu bildirilmektedir.

Oositin ve spermatozoanın fertil ömrü nedeniyle çiftleşme ve tohumlama zamanı büyük önem taşımaktadır. İneklerde ovulasyon östrusun sona ermesinde 14 saat sonra oluşur. Bu yüzden en iyi tohumlama zamanı ovulasyondan 6±24 saat önce olanıdır. Fertilizasyon oranı çiftlik hayvanlarında oldukça yüksektir.

Spermatozoit oosite girmek için;

- 1) Cumulus hücrelerini,
- 2) Zona pellucida,
- 3) Vitellin mebran'ı geçmek zorundadır.

Spermatozoa kendi motilite gücüyle cumulus hücre kitlesini geçer. Spermatozoada mevcut hyaluronidase enzimi yardımıyla cumulus hücrelerini eritir.

İkinci engel zona pellucidadır. Oosit tarafından FERTİLİZİN adı verilen bir maddenin salgılandığı, spermatozoa'yı agglutine ederek atağını durdurmak istediği bilinmektedir, ancak spermatozoa'da kalıcı bir immobilizasyon oluşmaz ve spermatozoa arkasında ince dar bir tünel bırakarak zonaya doğru yüzer. Bu safhada, akrozomdan serbest kalan proteolitik enzimler etkilidir.

Koç ve boğa spermatozoa'sında izole edilen akrozom ekstrelerinin zona pellucida'nın eritilmesinde etkili olduğu bildirilmektedir (3).

Penetrasyonun son safhası spermatozoa başının vitellus yüzeyine yapışmasıdır. Bu aşama ovumda aktivasyonun başlaması açısından hayati bir öneme sahiptir ve oosit gelişmeye başlar.

Elektron mikroskopunda yapılan incelemelerde, penetrasyona, oocyte yüzeyindeki mikrovillilerinde aktif olarak katıldığı gözlenmiştir. İlk önce mikrovillier spermatozoa başını yakalar. Spermatozoa ve oosit membranları yırtılarak biri diğerine katılır. Spermatozoa vitellus içine hareket eder ve plazma membranlarını vitellin membran içinde bırakır.

3- OOSİT MATURASYONU VE İN-VİTRO FERTİLİZASYON

İster *in vivo*, isterse *in vitro* olsun başarılı bir fertilizasyon için spermatozoit ve ovumun olgunlaşmasına ihtiyaç vardır. Memelilerde *in vitro* fertilizasyon için ovum ve spermatozoa'ların farklı kültür ortamlarında ve değişik şartlarda bir araya getirilerek başarılı sonuçlar alındığı birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir.

3. 1. Oositin Hazırlanması

1. Ovulatory Oocyte

Olgun oositler, ovulasyondan hemen önce graf folliküllerinden yada ovulasyondan hemen sonra oviduktan aspire edilebilir. Ovumun kazanılmasında uygun zaman, LH profilleri ile yada kısırak ve ineklerde rektal palpasyon ile ovulasyon anı tahmin edilebilir.

Fertilizasyonda optimal sonuç, ovulasyondan hemen önce veya hemen sonra elde edilen ovumlar ile kazanılabilmektedir. Bu esnada yumurta mayoz bölünmenin metafaz II safhasındadır ve maturasyon tamamlanmıştır.

2. Folliküler Oocyte

Düvelerde binlerce oosit potansiyeli mevcut olduğu bilinmektedir. Reprodüksiyon için bu oosit potansiyelinin ne oranda yararlanabileceği araştırılmaktadır.

3. *In vitro* Kültür ve Oositin Olgunlaşması

Olgunlaşmamış oositler (immature) çapı 1-6 mm. arasında değişen folliküllerden aspirasyon yoluyla kazanılabilir. Oosit sayısının 10-50 arasında değiştiği ve bunların % 40-50'sinin *in vitro* maturasyon için elverişli olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir.

Oosit olgunlaşmasında aşağıdaki yol izlenir;

1- Mezbahadan ovaryumlar toplanarak fosfat buffer saline (PBS) içinde ve 30-32 C°'de yarım saat içinde laboratuvara intikal ettirilir.

2- Çapı 1-6 mm. olan folliküllerden oositler aspire edilerek mikroskopta tanımlanması yapılarak gruplandırılır.

Tanımlama şöyle yapılır;

A- Kompakt cumuli ve corona mevcut oositler,

B- Ekspant edilmemiş cumulus ve corona mevcut oositler,

C- Cumulus ve corona hücrelerinden arınmış oositler (Denuded)

3- İnvitro olgunlaşma için iki kez HERBES, bir kezde BMOC 3 medyumlarında oositler yıkandıktan sonra, oositlerin 5-10 tanesi 37-39 °C , % 5 CO₂ ve % 95 hava ile dengelenmiş parafin ile kaplı kültürlerde inkubasyona bırakılır. Genellikle maturasyonun 24-27' nci saatler arasında tamamlandığı ve 33' nci saatten sonra maturasyonun artmadığı gözlenmiştir.

Oosit olgunlaşması için değişik kültürler, değişik şartlarda kullanılmıştır (Tablo 2) (3, 8, 15). Ovidukt fertilizasyon noktası olduğu ve bir çok türde embryo 8-16 hücreye kadar burada geliştiğine göre oviduktal fazın incelenmesinin embryo kültürü açısından büyük yararı vardır. Gerçekten ovidukt embryo gelişimi için kendine özgü bir çevre oluşturuyorsa standart embryo kültür medyumlarına ovidukt sekresyonun yada sekresyonda mevcut komponentler kültürlerin hazırlanmasında kullanılabilir. Ovidukt sekresyonunun analizi göstermiştir ki iyonik kompozisyon, halen kullanılmakta olan medyumlardan farklıdır.

Fertilizasyon ve normal gelişmenin olabilmesi için östrojen ve gonadotropinlere ihtiyaç vardır.

Preovulasyon fazda 3 önemli olay meydana gelmektedir.

1- Mayoz bölünmenin yeniden başlaması,

2- Sitoplazmik olgunlaşma,

3- Oosit membranlarının olgunlaşması.

Her üç olayda da gonadotropinlerin varlığına işaret edilmektedir.

İnvitro kültür sonunda aşağıdaki hücre gelişmeleri gözlenmekte olup, bunlar;

1- Olgunlaşmamış Oosit (Immature Oocyte): Kompakt cumulus hücre kitlesi mevcut stoplazma granüllü ve karanlık bir görünümündedir.

2- Olgun Oosit (Mature Oocyte): I. Kutup cisimciği hücre kitlesinden ayrılmıştır.

3- Aktiv Oosit: I. Kutup cisimcik ise dejenere olmuş yada mevcut değildir

4- Embrio

Normal gelişimini tamamlamış oositler ile fertilizasyon olduğu halde kimi zaman oositlerde parçalanma, gelişimin gecikmesi ve anormal gelişme gibi patolojik olgular kaçınılmaz olmaktadır (3).

3. 2. Spermann Hazırlanması

İnvitro fertilizasyon için kapasitasyonu tamamlanmış spermatozoa'lara ihtiyaç vardır. Kapasitasyon için şu yöntem kullanılmaktadır.

I. Tohumlama veya çiftleşme sırasında spermatozoa'lar dışı genital organlardan toplanabilir. Bu tabii kapasitasyondur. Kapasitasyon spermatozoa'nın uterusun ovidukta intikali ile tamamlanmaktadır. Ancak, kapasite olmuş spermatozoa sayısında bir limitasyon vardır. Tavşan uterusunda kapasite edilen boğa spermalarının invitro olarak olgunlaşan inek oositlerini penetre ettiği (Irtina ve Niwa-1977) tarafından bildirilmektedir (9).

II. Spermatozoa'lar değişik medyumlarda belli sürelerde kültüre edilerek invitro kapasitasyon sağlanabilmektedir. Folliküler sıvı ve serumla invitro inkubasyonun kapasitasyonu ve akrozom reaksiyonu indüklediği bilinmektedir (1, 2, 5, 9). Östrustaki ineğin ovidukt sıvısı sperma kapasitasyon için aktivite göstermesine rağmen luteal fazdaki ovidukt sıvısı aktif değildir.

Peparin ve Peparen Sulphate spermatozoa'ya bağlanarak Ca^{++} iyon tüketimine sebep olarak fertilizasyona daha sonra embryo gelişimine olumlu etki ettiği bildirilmektedir (5, 9).

Brackett ve Arkadaşları tarafından inkubasyondan önce spermın yıkanması yada hipertonic solusyonlarla muamelesi sonunda sun'i kapasitasyon ve IVF sağlanmıştır.

III. İonophore ile muamele, 1984 yılında Takahashi ve Hanada tarafından boğa spermının kalsiyum iyonofor ile muamelesi sonucunda zonasız Hamster oositlerini penetre ettiği bildirilmiştir. Bu çalışmada sperma sentetik kültür medyum ile 0,5 mm ile 2-2.5 dk. muamele edilmesi ile kapasitasyon ve akrozom reaksiyon başlatılabilir (10).

Spermatozoitlerin dölleme yeteneğini kazanıp kazanmadığını belirleyecek özel bir test yoktur. Dölleme olgusu kapasitasyon için kullanılabilir yegane ölçüdür. Memeli hayvan türlerinde döllememiş ovumun kendiliğinden bölünmesinin oldukça fazla olduğu bildirilmektedir. Bu gibi olaylarda degeneratif fregmantasyon ile partogenetik gelişmeyi birbirinden ayırt etmek gerekmektedir. Ovum spermatozoit dışında başka yollardan da aktive edilebilir ki bu partogenesis olarak adlandırılır.

Bazı durumlarda ovum spermatozoit tarafından aktive edilmesine rağmen fertilizasyon oluşmaz bunada "Gynogenesis" denir. Androgenesis ise ovumun normal yollardan döllemesi ve gelişmesini sürdürmesidir (6, 13).

İnvitro fertilizasyonda spermatozoitin ovuma girmesi normal olarak 3 saat içinde olur ve döllemenin anlaşılması için 10 saat sonra sitolojik kontrollerin yapılması gerekmektedir (3, 5, 8, 14). Tekeli, değişik araştırmacılara dayanarak döllemenin belirtilerini şöyle sıralamaktadır.

- 1- Spermatozoitin kuyruğunun varlığı,
- 2- Ooplazma içinde şişkin spermatozoit başının bulunması,
- 3- Dişi ve erkek pronukleusların oluşması (Syngamy),
- 4- I. ve II. kutup cisimciklerin varlığı,
- 5- Perivitellin yüzey ve zona pellucida yüzeyinde spermatozoitlerin bulunması.

4- invitro Fertilizasyonu Etkileyen Faktörler

1- Spermatozoa' nın Kaynağı: 1960'lı yıllara kadar çiftleşmeden birkaç saat sonra dişi genital organlarından spermatozoa suspansiyonu elde edilmekte idi, Kültür medyumları ile sperma muamele edilmeden önce genellikle, seminal plazmayı uzaklaştırmak için santrifüj uygulanır.

2- Oosit etrafındaki folliküler hücre ve sıvıların varlığı ya da yokluğu,

3- Kullanılan fizyolojik solusyonlar: Son 10 yıllık çalışmalara göre solusyonlarda Calsiyum, heparin ve gonadotropik hormonların bulunması arzu edilmektedir.

4- İnvitro fertilizasyon için kullanılan sperma damlacığının miktarı.

5- Farklı kültürlerdeki gametlerin birleştirilme zamanı.

6- Sperma motilitesi (7).

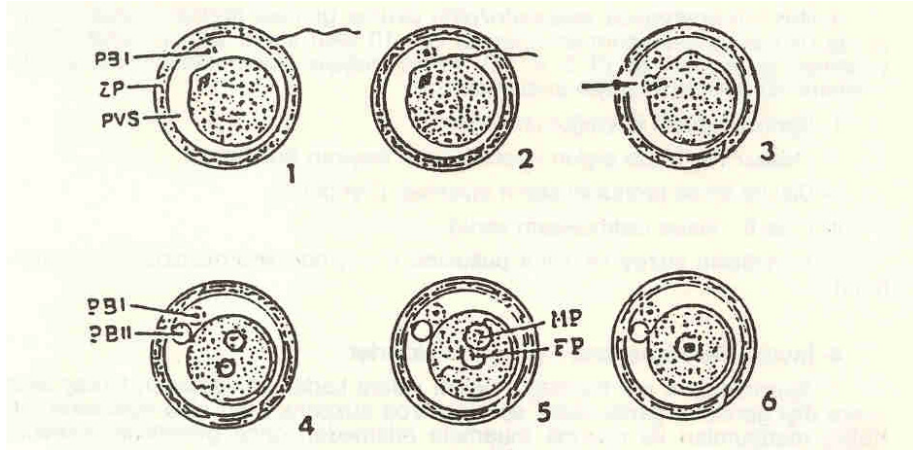
Çiftlik hayvanlarında invitro fertilizasyon çalışmaları henüz tamamlanmamış olup, araştırmalar devam etmektedir. Bu yüzden yapılan başarılı uygulamaların önemi vardır.

İnvitro fertilizasyon ile yavru elde edilen türler:

Araştırmacı	Yıl	Tür
Chang	1959	Tavşan
Whittingham	1968	Fare
Toyoda ve Chang	1974	Rat
Stephoe ve Bdwards	1978	İnsan
Brackett ve Ark.	1982	İnek
Chang ve Ark.	1986	Domuz
Chang ve Ark.	1986	Koyun

SONUÇ

Bugün birçok gelişmiş ülkede bile, hayvancılık geleneksel şekilde ve küçük üniteler halinde yapılmaktadır. Ticari süt ve et sığırcılığında üretim henüz yaygınlaştırılamamıştır. Dünya hızlı nüfus artışına paralel olarak gelişmeyen



Şekil 3- Fertilizasyon anında oluşan olaylar.

PBI: I. Polar cisimcik, ZP: Zona Pellucida, PVS: Perivitellin alan, MP: Erkek pronükle, FP: Dişi pronükle.

- 1- Spermatozoit'in zona pellucida ile temasa geçmesi ve birinci kutup cisimciğinin atılması,
- 2- Spermatozoit'in zona pellucidayı delmesi ve vitellusa yapışması,
- 3- Spermatozoit'in vitellusa girmesi.
- 4- Dişi ve Erkek pronüklelerin oluşumu,
- 5- Singamy.
- 6- Fertilizasyonun tamamlanması.

Tablo 1- Oosit ve Spermatozoa'nın fertil ömrü.

TÜR	Gametlerin Fertil ömrü (Saat)	
	OOSİT	SPERMATOZOA
İnek	8-12	30-48
At	6-8	72-100
İnsan	6-24	24-48
Fare	6-15	10-12
Tavşan	6-8	30-36
Rat	8-12	12-24
Koyun	16-24	30-48
Domuz	8-10	24-48

Tablo 2- Oosit maturasyonu ile invitro kültür zamanı arasındaki ilişki.

Kültüre etme zamanı	Oosit sayısı	Olgunlaşma Safhası							
		GV	PR	MI	AN	TE	MII	%	DEĞ.
0	101	101	10	0	0	0	0	0	0
6	23	9	14	0	0	0	0	0	0
12	32	1	3	27	0	0	0	0	1
18	21	0	1	13	1	0	6	28.6	0
24	57	0	2	16	2	4	31	54.4	2
27	54	0	1	19	1	1	31	52.4	1
30	32	0	0	10	1	2	18	-	1
33	34	1	0	12	0	2	19	56.3	0
TOPLAM	354	112	21	97	5	9	105	55.9	5

GV: Germinal vesikül TE: Tele faz
 PR: Profaz MII: Metafaz II
 MI: Metafaz I DEG: Degeneratif
 AN: Ana Paz

hayvansal üretim, protein sıkıntısına neden olmaktadır. Bu yüzden, hayvansal üretimde maksimum derecede artışlar sağlayacak yeni teknolojilere gereksinim vardır.

Bu bağlamda, embryo transferi ve invitro fertilizasyon çalışmalarına ilgi artmıştır. Eğer oosit maturasyonu ve invitro fertilizasyon pratik olmaya başlarsa verimi yüksek hayvanların çoğalması hızlanacaktır. Süper ovulasyon ile bir inekten ortalama 6-7 tane transfer edilebilir embryo kazanılabilmekte ve bunu takiben 3-4 gebelik oluşmaktadır. Yani, taze bir vericinin 3 kez kullanıldığını düşünürsek yılda 9-12 buzağı elde edilebilir. İnvitro oosit maturasyonu ve fertili-

zasyon ile yüzbinlerce oosit potansiyelini harekete geçirmek mümkündür. Bunun % 1'i bile gebelikle sonuçlansa bir inekten 750-1000 yavru doğacak demektir. Bu erkek damızlıklar içinde geçerlidir.

Çiftlik hayvanlarında infertilite sebepleri arasında kötü bakım ve beslenmenin, bazı enfeksiyon hastalıklarının yanında fertilizasyonun oluşmaması ve embryonik ölümlerde sayılabilir.

Tablo 3. Farklı safhadaki oositlerin invitro olgunlaşması (Yoshido ve Kanagawa (1983)).

Grup	Oosit sayısı	Asit Olgunlaşma Safhası							
		GV	PR	MI	AN	TE	MII	%	DEĞ.
A	111	0	3	35	3	5	62	55.9	3
B	32	2	0	7	1	3	13	41.9	6
C	34	0	3	8	0	2	14	40.0	7
D	40	4	3	10	1	1	14	34.1	7
TOPLAM	217	6	9	60	5	11	103	-	23

GV: Germinal vesikül TE: Tele faz
 PR: Profaz MII: Metafaz II
 MI: Metafaz I DEG: Degeneratif
 AN: Ana Paz

Türün devamı ve verimlilik, dölverimi zincirinin aksamamasına bağlıdır. Bu nedenle, döllemeyi olumsuz yönde etkileyen kimi faktörler invitro fertilizasyon ile giderilecek ve daha yüksek bir döllenme oluşumu sağlayacaktır.

LİTERATÜR LİSTESİ

1. AMANN, R.P. (1978): Maturation of spermatozoa in 11 th international congress on Animal Reproduction and A.I. Vol: 5 Syf.: 321-328.
2. BAVİSTER. D.B. (1988): Role of oviductal secretions in embryonic growth in vivo and invitro Theriogenology. 29: 143-153.
3. BRACKETT, G.B. (1983): A review of bovine fertilization in vitro. Theriogenology, 19: 1-14.
4. BRACKETT, G.B., SEİDEL, G.E. and SEİDEL, S.M. (1981): New Technologies in Animal Breeding. Academic press, Newyork PP: 141-161.
5. FİRST, L.D. and PARRİSH. J.J. (1988): Sperm maturation and in vitro fertilization 11 th international congresson Animal reproduction and A.I. Vol: 5, Syf. 161-166.
6. HAFİZ, E., S. E. (1987): Reproduction in Farm Animals. in: Embryo Transfer, invitro Ferlilizasyon and Genetic Engineering lea and Febiger, Philadelphthia page: 528.
7. HUNTER, R.H.F. (1980): Physiology and Technology of Reproduction in female domeslic Animals, Academic press, Newyork Chapter:VII.
8. IRITANI, A. and NİWA, K. (1977): Capacitation of bull spermatozoa and ferlilization invitro of cattie follicular oocytes matured in culture J. Reprod. Fert. 50: 119-121.

9. IRITANI, A. (1987): Invitro fertilization in cattle and microfertilization in the rabbit. Symposium on Biotechnology in Animal Breeding, Berlin Page: 27-28.
10. KANAGAWA, H. (1986): Oocyte Maturation and invitro fertilization. Ewperk Consultation on Biotechnology for livestock production and Health, Rome.
11. MOOR, M.R. and TROUNSON, A.O. (1977): Hormonal and follicular factors affecting maturation of sheep oocytes invitro and their subseguent developmental capacity. Fert. 49: 101-109.
12. MUYAN, M. (1984): Memelilerde fertilizasyon Doğa Bilim Derg., Seri D, Cilt. 8, Syf: 2.
13. ÖZKOCA, A. (1986): Sığırlarda Reprodüksiyon ve infertilite. İ. Ü. Vet. Fak. Yay. Syf: 59-70.
14. RAYMOND, W., VRİIGHT, J.R. and KENNETH, R.B. (1981): Aspects of invitro Fertilization and embryo culture in domestic Animals. Joumal of Animal Science 53: 702-725.
15. SÜSS, U., STRANZİNGER, G. (1987): Characterisation on invitro matured and Fertilized bovine oocytes Symposium on Biotechnology in Animal Breeding, Berlin, Page. 106-108.
16. TEKELİ, T (1983): Tavşan ovumlarının invitro fertilizasyonu üzerinde çalışmalar. Doktora Tezi.
17. THİBAULT, C. (1977): Are follicular maturation and oocytes maturation independent process, J. Reprod. Fert. 51: 1-15.