

**SPERMANIN DERİN DONDURULMA METOTLARI**  
**ve TÜRKİYE'DE**  
**DONDURULMUŞ SPERMA UYGULAMASI**

(Deep Frazen Methods of Semen and Implementation In Turkey)

**GİRİŞ**

**Doç. Dr. Adnan ÖZKOCA (\*)**

Sun'i tohumlama uygulanan çiftlik hayvanlarında elde edilen spermanın saklama metodları çeşitlidir, bunlardan biriside derin dondurularak saklanmasıdır.

Dondurulmuş sperma dendiği zaman; alkol ve kuru buz kullanılarak dondurulmuş ve  $-79^{\circ}\text{C}$ . da saklanmış veya sıvı nitrojen içerisinde  $-196^{\circ}\text{C}$ . da saklanan sperma anlaşılır. Genel olarak her iki metod bir çok dünya memleketlerinde kullanılmaktadır. Bazı ülkelerde aynen sıvı nitrojenin özelliklerini taşıyan ve  $-196^{\circ}\text{C}$ . temin eden sıvı havada kullanılmaktadır. Aynı amaç ile sıvı  $\text{CO}_2$ . de kullanılabilir.

**Dondurulmuş Spermanın Faydaları**

Modern anlamdaki sun'i tohumlama tatbikatında dondurulmuş spermanın kullanılması olağanüstü bir olay olmuştur. Özellikle sığır sun'i tohumlaması, dondurulmuş sperma sayesinde büyük gelişmeler kaydetmiş-

---

(\*) Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi — İSTANBUL



tir. Her zaman için elde taze sperma bulundurmanın ekonomik güçlükleri gözönünde bulundurulursa dondurulmuş sperma kullanmanın faydaları daha iyi anlaşılır.

#### **Bu Faydalar :**

1- Dondurulmuş sperma ile en iyi damızlıkları kullanmak mümkündür. Böylece, bir yetiştirici, istediği zaman arzuladığı boğanın sperması ile ineklerini tohumlatabilir.

2- Bir erkek damızlık elden çıkmış olsa dahi, dondurulmuş sperma sayesinde, bu damızlığın spermasını kullanmak mümkündür. Sperma; dondurulmuş olarak 3-4 sene saklanmış ve başarı ile kullanılarak, yapılan tohumlamalardan gebelik elde edilmiştir. Son çalışmalara göre bu süre 10 seneye ulaşmıştır.

3- Bir damızlıktan elde edilen sperma dondurularak yüzde yüz istifade edilir. Halbuki sıvı halinde saklanan spermayı belirli bir süre içerisinde kullanmak zorunluğ u vardır.

4- Sun'i tohumlama laboratuvarından tatbikata gönderilen spermaların sevkiyat masrafları azalır. Sıvı halindeki spermada her gün veya gün aşırı yapılan sevkiyat yerine, dondurulmuş spermada 2-3 haftada bir sevkiyat yapılır ve teknisyen istediği boğaların spermasından elinde stok bulundurabilir.

5- Biribirinden uzak olan bölgelerde üstün vasıflı damızlıkların kullanılması mümkündür. Hatta memleketler arasında dahi, 1958 yılında B.Almanya'dan memleketimize de dondurulmuş boğa sperması gönderilmiş ve başarı ile kullanılmıştır.

6- Dondurulmuş sperma ile yapılan çalışmalarda hastalıkların kontrol altına alınması da önemli bir konudur.

#### **Dondurulmuş Spermanın Tarihçesi çesi :**

İnsan spermasınının -17°C. da yaşadığı Daven Port .



tarafından 1897 yılında bildirilmiştir. 1938 yılına gelinceye kadar, bu izlenimlerle fazla ilgilenilmemiştir. Bu tarihlerde Luyet ve Hodapp (1938) gibi araştırmacılar, kurbağa spermalarının dondurulduktan sonra büyük bir ekseriyetinin hareket gösterdiklerini açıklamışlardır.

Başka bir çalışmada F. Jahnel (1938) tarafından yapılmış ve cam tüpler içerisinde dondurulan insan spermasının  $-79^{\circ}\text{C}$ . da, 40 gün başarı ile saklandığı, bir kısmında  $-196^{\circ}\text{C}$ . ve  $-269^{\circ}\text{C}$ .da daha kısa süre için saklandığı bildirilmiştir.

Luyet'in çalışmalarına göre (1940) düşük ısı derecelerinde hayatın devam ettirilmesi, hücre içerisinde buz kristallerinin teşekkülünü önlemek, veya dondurmadan önce hücrenin suyunu almak veyahut ani olarak dondurmak ve ısıtmak, esasına dayanır.

Shettles (1940) insan spermasını  $-79^{\circ}\text{C}$ .,  $-196^{\circ}\text{C}$ . ve  $-296^{\circ}\text{C}$ . da dondurarak tekrar canlandırmaya teşebbüs etmiş, dondurma esnasında spermanın mümkün olduğu kadar taze olması gerektiğini açıklamıştır.

Shaffner (1941), kanatlıların spermasına levulose katarak ve kısmen dehidre ederek  $-70^{\circ}\text{C}$ . da dondurmuştur. Ortalama olarak spermatozoitlerin  $\frac{1}{3}$ .de canlılık müşahade edilmiştir.

Hoagland ve Pincus (1942), plazmoliz sağlayan çeşitli eriyikler kullanmışlardır.

Spermanın dondurulması konusunda, gerçek çalışmalar, 1945 yılında, İngilterede Parkes tarafından yapılmıştır. Araştırmacı, insan spermasını kapiller tüplerde ve geniş çaplı tüplerde karşılaştırmalı olarak dondurmaya denemiştir. Geniş tüplerde dondurarak,  $-79^{\circ}\text{C}$ . ve  $-196^{\circ}\text{C}$ . ısıda muhafaza edilen spermalardan başarılı sonuçlar sağlanmıştır. Ampullerde dondurulan ve 2-8 ay  $-79^{\circ}\text{C}$ . da muhafaza edilen spermalar çözülürken, canlı spermatozoitlerin gayet bol olduğu görülmüş fakat bu spermaların fertilitate sonuçları hakkında bilgiye rastlanmamıştır.



Polge, Smith ve Parkes (1949), glycerol ihtiva eden eriyiklerle kanatlıların spermasını dondurmuşlar ve spermatozoitlerin tamamen canlı kaldığını görerek,  $-79^{\circ}\text{C}$ . da uzun zaman saklamışlardır.

Smith ve Polge (1950'b), Polyhydric alkoller ve bunların türevleri arasında glycerol'un, düşük ısı derecelerinde spermatozoitleri koruyucu bir özellik taşıdığını izlemişlerdir.

Glycerol, donma olayının emniyetini sağlar. Smith ve Polge (1950 a) Sodyum sitrat ile hazırlanmış eriyiklere % 10-15 oranında glycerol katarak boğa sperması ile karıştırmışlar ve  $2^{\circ}\text{C}$ . dan  $-79^{\circ}\text{C}$ . kadar tedricen soğutmuşlardır. Bu spermalar çözüldüğünde % 50-90 arasında canlı spermatozoit bulunmuştur. % 90 canlı spermatozoit bulunan grupta glycerol miktarı % 15 oranında olup dondurma ameliyesi her biri 1.5-2 dakika olan 14 safhada, yapılmıştır. Çözüldükten sonra; spermanın,  $2^{\circ}\text{C}$ . da 24 saat saklanması dondurulmamış olana (kontrol grubu) nazaran aktiviteyi azaltmıştır. Teke spermasında da durum aynıdır.

Dondurulmamış spermada glycerol'un tesirleri gene Polge ve Rowson (1952) tarafından araştırılmış ve spermanın fertilitate gücünün azalmadığı görülmüştür. % 15 glycerol ve hiç glycerol bulunmayan spermanın sağladığı gebelik % 76 ve % 50 olarak bildirilmektedir.

### **Spermanın Dondurulması**

C. Polge tarafından izah edilen sperma dondurma metodu şöyledir :

1- Sperma alındıktan hemen sonra, 50 cc. yumurta sarısı ve 50 cc. % 2,94 sodium citrate (dihydride) ile hazırlanmış eriyikle sulandırılır. Genel olarak sulandırma oda ısı derecesinde ve 1:1 oranında yapılır.

2- Sulandırılan sperma 3-5 saat zarfında  $5^{\circ}\text{C}$ . kadar soğutulur.



3- % 16 glycerol ihtiva eden, % 2,94 lük sodyum sitrat mahlülü ile 1:1 oranında sulandırılır. Burada da ısı 5°C. dir. Her cc. için 0,5 mgr. streptomycin sulfat ilâve edilir. Eriyişin son şekli şöyledir: % 8 glycerol, % 25 yumurta sarısı, % 2.2 sodyum sitrat.

4- Equilibration (Tevazun) süresi 5°C. da 6-20 saatte tamamlanır. Ekseri araştırmacılar 16-20 saat arasını tercih ederler. En iyi neticelerde bu müddet esnasında alınmaktadır.

5- Sperma dondurmak için ampüllere veya tüplere boşaltılır ve etiketlenir.

6- A- Dondurma kuru buz, alkol veya acetone kullanılarak ve dakikada 1°C. düşürerek başlar. 0°C. dan -15°C.e düşürmek ameliyenin en önemli safhasıdır. Derecenin düşürülmesi iyi bir şekilde ayarlanmalıdır.

Dikkat : Dondurma ameliyesindeki hüner. süratli, donma esnasında hücrelerdeki suyun kristal haline gelmesini önlemektir. Burada glycerol koruyucu olarak vazife görür.

B- -15°C. dan -70°C. kadarda dakikada 3-4°C. düşürmek sureti ile dondurulur.

7- Sperma -79°C. veya daha aşağı ısıda saklanmalıdır. Saklama esnasındaki ısı derecesi önemlidir. Ampuller ısıtılmamalı ve tekrar dondurulmamalıdır. Isı derecesi -65°C. üstünde olursa spermanın fertilitesi azalır. Bütün saklama müddetince ısı derecesi -70°C. ile -79°C. arasında veya daha aşağı olmalıdır.

8- Dondurulmuş spermanın kullanılması : Dondurulmuş sperma taşıyan ampul 5°C. su içinde bir kaç dakika bırakılır, sonra kullanılır.

Yukarıda anlatılan, spermanın dondurulması ve dondurulmuş olarak saklanması metodu standart bir metod olmakla beraber, araştırmacılar tarafından gliserinin miktarı % 7-12 tevazun müddeti 6-20 saat ve yumurta % 20-25 arasında değiştirilmekte ve hemen hep-



sinde de birbirine eşit başarılar sağlanmaktadır.

### **Dondurulmuş Spermada Kullanılan Eriyikler**

Yumurta sarısı-sodyum sitrat veya süt dondurulmuş spermada kullanılabilir. Ekseri laboratuvarlarda bu iki eriyik aşağıda izah edilen şekilde hazırlanmakta ve spermanın dondurulmasında kullanılmaktadır.

#### **1- Yumurta Sarısı Eriyiğinin Hazırlanması**

Eriyik: A- Dört adet yumurtanın sarısı 250 cc.lik dereceli bir silindire boşaltılır. Eşit hacimde steril bidistile suyu aynı silindire ilâve edip karıştırılır, sonra bir kaç dakika kendi haline bırakılır.

Eriyik: B- 100 cc. kapasitede dereceli bir silindire eriyik A.dan 40 cc. boşaltılır. 2 gr. sod.sit. dihydrate, 100 mg. streptomycin sulfate ayrıca ilâve edilir ve bunlar steril distile su ile 100 cc. ye tamamlanıp karıştırılır.

Eriyik: C- 100 cc. kapasitede bir silindire 14 cc. glycerol 40 cc. eriyik A, 2 gr. sod. sit. dihydrate katılır ve bunlara steril distile su ile 100 cc.ye tamamlanıp karıştırılır. Eriyik B ve eriyik C nin eşit olarak karıştırılmasından elde edilen eriyiğın bileşimi şu şekildedir: yumurta sarısı % 20, sod.sit. dihydrate % 2, glycerol % 7 ve her cc. için 0,5 mg. streptomycin sulfate.

#### **2- Sütli Eriyiğinin Hazırlanması**

Eriyik: A- Tam yağlı, homogenize ve pastörize süt bir ben mareyde 93°-96°C. arasında on dakika müddetle ısıtıp soğutulur.

Eriyik: B- eriyik A.nın her 100 cc. için 100 mgr. streptomycin sulfate katılır.

Eriyik: C- kapasitesi 100 cc. olan dereceli bir silindire 16 cc. gliserol koyup bu eriyik A. ile 100 cc. ye iblâğ edilir. Yani 84 cc. eriyik A.katılır



ve karıştırılır. Eriyik B ve C. nin eşit hacimlerde karıştırılması ile elde edilen eriyiğin bileşimi şöyledir : 92 süt, 8 glycerol ve eriyiğin her cc. için 0,5 mg. streptomycin sulfatı.

### **Spermanın Dondurulması İçin Gerekli Malzeme**

Genellikle kullanılan malzeme şunlardır: Bir soğutma kabı ve içinde sperma ampullerinin veya tüplerinin konulmasına yarayan telden yapılmış özel raflar ve bölmeler, Erlenmayer ve kullanılan eriyikleri ölçmek için dereceli silindirler. Glycerol ve spermayı dondurmadan evvel doldurmaya mahsus ve camdan yapılmış 1-1,2 cc. hacminde ampuller. Ayrıca mekanik bir karıştırma aleti, + 40°C. ile -100°C. gösteren termometre ve laboratuvar saati kullanıldığında dondurma ameliyesinin kolay ve emin bir şekilde yapılması sağlanır.

### **Dondurulmuş Spermanın Saklanması**

Kuru buz ve alkol: Bu gün, bir çok memleketlerde, dondurulmuş spermanın saklanması için, en düşük ısı derecesi olarak -79°C. temin edebilen kuru buz ve alkol kullanılmaktadır. Bununla beraber; sıvı nitrojen, sıvı hava, sıvı karbondioksit ve mekanik soğutma cihazlarının kullanılması da gün geçtikçe yayılmaktadır.

Kuru buz ve alkol kullanmanın kullanma kolaylığı ve ucuzluğu gibi bazı faydaları ve her zaman temin edilmemesi gibi mahzurları vardır.

Termos: Lüzum ettiği anda kullanılmak ve az miktarda dondurulmuş spermayı elde bulundurmaya gayesi ile, içinde, sperma ampullerini koymaya mahsus rafları bulunan termoslarda başarı ile kullanılabilir. Termoslara 3-4 günde bir kuru buz ilâve etmeyi unutmamalıdır.

Kuru buz ile dondurulmuş sperma muhafazasında kullanılan sandıklar:

Bu sandıklar muhtelif ölçülerde olur ve sun'i tohumlama malzemesi satan firmalardan temini mümkündür.



İçinden, dondurulmuş spermayı almak için forceps kullanılır ve böylece bütün kutuda ısı derecesinin yükselmesi önlenir.

Dondurulmuş spermanın mekanik aletlerle saklanması: Kuru buzun yapacağı iş bu aletlere yaptırılır. Bir feet küpten, 54 feet küp hacmine kadar olanları vardır. En büyüğü 57,600 ampul dondurulmuş spermayı muhafaza eder.

Mekanik aletlerde bir arıza meydana geldiğinde ısının muhafazası için kuru buz kullanılır.

Sıvı nitrojen: Sıvı nitrojen en düşük ısı derecesini temin etmek bakımından dördüncü dereceyi işgal eder. Atmosfer basıncı altında  $-196^{\circ}\text{C}$ . sağlar.  $-79^{\circ}\text{C}$ . kuru buz ve alkolün temin edebileceği en düşük ısıdır. ve dondurulmuş spermanın saklanması içinde en müsait noktadır.

Sıvı nitrojen kuru buzun yerini almaktadır. American Breeders Service, dünyadaki en büyük sun'i tohumlama organizasyonlarından olup 1957-1958 yıllarında yalnız dondurulmuş sperma ile çalışmış ve 1.100 adet teknisyen ile 1.200.000 baş inek tohumlanmıştır.

Adı geçen laboratuvar tarafından Sıvı Nitrojen tatbikata konulmuş ve iyi sonuçlar alınmıştır. Bir milyondan fazla inekle yapılan tohumlamalarda, 60-90 arasında tekrar kızgınlık göstermeyenler esasına göre, gebeliğin % 71,5 olduğu bildirilmektedir.

Minnesota'da; Larson ve Graham (1958) tarafından, yapılan bir denemede, aynı boğadan alınan sperma dondurulmuş ve bir kısmı kuru buz-alkol içerisinde ( $-79^{\circ}\text{C}$ ), bir kısmı da sıvı nitrojen içerisinde ( $-196^{\circ}\text{C}$ ) saklanmıştır. Bu spermalarla 1.000 baş inek tohumlanarak, birinci tohumlamadan 75. gün sonra tekrar kızgınlık göstermeyenler gebe olarak kabul edilmiştir. Neticede; kuru buz-alkol grubunda 69,3 sıvı nitrojen grubunda da 71,9 gebelik sağlanmıştır. Buna benzer araştırmada Pickett ve arkadaşları (1959) tarafından Connecticut'ta yapılmıştır. Gene aynı boğadan alınan



sperma ikiye bölünerek bir kısmı dondurulmuş ve sıvı nitrojende saklanmış, bir kısmında glycerol katılarak sıvı halde kullanılmıştır. 60-90 gün arasında tekrar kızgınlık göstermeyenler esasına göre, sıvı haldeki sperma ile tohumlanan 332 baş inekte, % 77.7 oranında gebelik sağlanmıştır. Dondurulup sıvı nitrojende saklanan sperma ile 329 baş inek tohumlanmış % 72,9 oranında gebelik sağlanmıştır. Araştırmacının kanaatine göre iki grup arasındaki fark önemli değildir ve her iki grupta tatminkâr gebelik sonucu sağlanmıştır.

**Sıvı Hava:** Bir çok Avrupa memleketlerinde, dondurulmuş spermanın saklanmasında sıvı havadan faydalanılmaktadır. Sıvı havada, ısı derecesini  $-150^{\circ}\text{C}$ . kadar sıvı nitrojeninkine yakın olarak düşürmektedir. Bu metodla çalışıldığında, uzun zaman kuru buz kullanmayada ihtiyaç yoktur.

**Sıvı karbondioksit:** Dondurulmuş spermanın saklanmasında, sıvı karbondioksitin kullanılması da başarılı olmaktadır. Sağladığı ısı derecesi kuru buzunkı kadardır. Eğer tazyik altında bulundurulursa daha aşağı derecelerde düşmektedir. Bu metodla saklamanın faydası, herhangi bir mekanik problemin mevcut olmamasıdır. Aynı zamanda 100.000 ampul dondurulmuş spermayı saklayabilecek kapasitede aletler yapmak mümkündür.

Polge ve Rowson (1952), dondurulmuş sperma ile 285 baş inek tohumlamışlar ve üç ay sonra, tekrar kızgınlık göstermeyenler esasına göre gebelik ortalaması % 66,3 olmuştur. 32 hafta saklanmış dondurulmuş spermanın özellikleride yeterli bulunmuştur. 1:40 oranında sulandırılıp,  $-79^{\circ}\text{C}$ . da saklanan spermalar ile yapılan tohumlamaların sağladığı fertilitede tatminkâr olmuştur.

Amerika Birleşik Devletlerinde dondurulmuş sperma ile yapılan tohumlamalardan elde edilen sonuçlar, taze sperma ile elde edilen sonuçlardan % 2-5 daha düşüktür. Amerika Birleşik Devletlerinde ve Kanada'da, bir çok sun'i tohumlama organizasyonu, gerek dondurulmuş



gerekse sıvı halindeki sperma ile eşit gebelik sonuçları elde etmektedir.

Bir boğanın spermasını dondurmaya arzu ediliyorsa, boğanın sıhhati tam olduğunda sperma alınmalı ve dondurulmalıdır. Pek çok kimse boğada bir topallık veya fertilitesinde bir düşüklük görüldükten sonra spermasını dondurmaya karar verir. Dondurma ameliyesi spermayı ıslah etmediği gibi fertilitesi düşük spermaların dondurulmasında bir değer taşımaz. Bu nokta daima gözönünde tutulmalıdır.

### **Dondurulmuş Spermanın Zararları**

Dondurulmuş spermanın faydaları yanında bir kaç zararlı tarafıda vardır ve hatırdan çıkarılmamalıdır.

1- Bazı boğalar; tahminen  $\frac{1}{2}$  oranında elverişli sperma vermezler. Bugünkü sun'i tohumlama programının gayesi ineğin gebe bırakılması esasına dayanır ve bazı iyi özellikteki boğalar pek az kullanılır. İşte bu konuda çok dikkatli hüküm vermelidir.

2- Dondurulmuş sperma pahalı olmaktadır. Hem dondurulmuş hemde sıvı sperma ile çalışan merkezlerde, dondurulmuş spermadan ötürü masraflar yükselmektedir.

3- Dondurulmuş spermanın geniş mikyasta kullanılması, damızlık boğa adedini tahdit etmiştir. İyi özellikte bir boğanın geniş bir inek topluluğunda kullanılmasına bir itiraz yoktur, ancak hangi boğanın hangi sürüde veraset yoluyla ne gibi vasıfları intikal ettirdiğine güvenmelidir. Bize göre; pek az boğanın kullanılması uygun değildir. Bununla beraber, çok kıymetli bir boğanın, geniş bir toplulukta kullanılmasında genetik yönden faydalı olacaktır.

### **Diğer Çiftlik Hayvanlarının Spermasının Derin Dondurulması**

Ayır spermalarının düşük ısı derecesinde saklanması konusunda bazı özellikler gözönünde bulundurulmalıdır. Szumowski (1954), streptomycin katılmış, glyce-



rol-yum-sa-glucose eriyiği ile sulandırılmış spermayı -79°C. da dört ay saklayarak % 50 aktivite sağlamıştır. Barker ve Gandier (1957) epididimisten elde ettikleri spermayı pastörize homogenize süt ile sulandırıp -79°C. ısıda 30 gün beklettikten sonra yedi kısarak tohumlamışlar ve bunlardan bir tanesinde doğumla sonuçlanan gebelik elde etmişlerdir. Muhtemelen buda dondurulmuş aygır sperması ile sağlanan ilk gebeliktir. İljinckaya (1956) yum-sa-glucose-glycerol kullanarak -70°C. da sakladığı spermallerden tatminkâr fertilitate elde etmiştir. Boğa spermasında uygulanan metodu kullanarak 0°C. kadar yavaş soğutmuş ve bu ısıda 3-5 saat bekletildikten sonra -70°C. kadarda çabuk olarak soğutmuştur. Dört buçuk ay saklanan spermallerin muayenesi yapıldığında, numunelerin  $\frac{1}{3}$  de % 80-100,  $\frac{1}{3}$  ise % 50-67 aktivite tesbit edilmiştir.

Liess ve Ostrowski (1960), teke spermasını dondurarak keçilerin tohumlanmasında kullanmışlardır. Bu çalışmada teke spermasının bekleme müddeti 0,5 saat ile 560 gün arasında değişmiş ve spermallerin çözüldükten sonra yapılan canlılık muayenelerinde % 40-60 aktivite tespit edilmiştir. Bu özellikteki spermaller ile tohumlanan 90 baş keçiden 13 başı yavrulanmış ve ortalama gebelik % 13,33 olmuştur.

Pokatilova (1960), dondurulmuş ve -25°C. da muhafaza edilmiş koç sperması ile tohumladığı 99 baş koyundan % 46,4; diğer 68 baş koyunun tohumlanmasında da % 41,1 gebelik elde etmiştir. Ayrıca sulandırılmış koç sperması ile tohumladığı 131 baş koyundan % 77 gebelik sağlamıştır.

Kanada Veteriner Fâkültesi araştırmacılarından Barker (1962) imansız süt ile sulandırılan ve dondurularak -79°C. da saklanan teke sperması ile yaptığı tohumlamalardan % 80 üzerinde gebelik elde etmiştir. Ayrıca Kanada'dan Almanya ve Hollanda'ya dondurulmuş olarak gönderilen teke spermallerindanda % 70-75 gebelik sağlanmıştır.



Loginova (1962), derin dondurularak  $-79^{\circ}\text{C}$ . da saklanmış koç sperması ile tohumlamalar yapmış ve gebelik sağlayamamıştır. Gebeliğin elde edilemeyişinin sebebini, spermatozoitlerin soğuk şoklarından zarar görmesi şeklinde açıklamaktadır.

Bonfert (1964), dondurulmuş teke sperması ile yaptığı tohumlamalardan 1962 yılında % 39,1, 1963 yılında da % 51,6 gebelik sağlamıştır. Bununla beraber, bir çok Avrupa memleketlerinde ve sütçü ırk keçilerde dondurulmuş teke sperması kullanmak günden güne artmaktadır.

### **Dondurulmuş Sperma İle Türkiye'de Yapılan Çalışmalar**

Memleketimizde, dondurulmuş boğa sperması ile ilk çalışmalar 1958 yılında ve L.Z.A.E.de yapılmıştır. Özkoca (1959). Şirin 139-55 isimli boğadan elde edilen sperma dondurularak saklanmış ve sperma çözüldüğünde aktivitesinin tatminkâr olduğu görülmüştür. Gene aynı tarihte B. Almanya'dan adı geçen müesseseye, İsviçre Esmer, Holstein ve Angler ırkı boğaların dondurulmuş spermaları gönderilmiş 26 Nisan ile 28 Ağustos 1958 tarihleri arasında muhafaza edilerek tatbikata gönderilmiştir. Bu spermalar, aşağıda açıklanan muameleye tabi tutulmuştur.

1- Saklama süresince her 24 saatte kuru buz ikmalı yapılmış ve  $-79^{\circ}\text{C}$ . bütün saklama müddetince muhafaza edilmiştir.

2- Spermanın sevk edilmesi için bir ve yarım litrelik cam termoslar kullanılmış ve bunlarla  $-79^{\circ}\text{C}$ ., temiz etil alkol ve kuru buz ile sağlanmıştır. Nakil esnasında kullanılan termoslar,  $-79^{\circ}\text{C}$ . yi çevre şartlarında 36-48 saat muhafaza etmişlerdir.

3- Dondurulmuş boğa spermalarının kullanılma bölgesi olarak Niğde, Kayseri, Eskişehir, Bursa ve İzmir Müdürlükleri ile Karacabey Harası ile Bursa ve İzmir Veteriner Müdürlüklerine uçak ile, Ankara'ya otomobil ile, diğer vilâyetlerde tren ile sevkiyat yapılmıştır.



4- Dondurulmuş boğa spermalarının adı geçen bölgelerde kullanılmasına başlamadan evvel uygulayıcı elemanlara teknik bilgi verilmiş ve tatbikat gösterilmiştir. Tohumlamadan evvel, dondurulmuş spermayı taşıyan ampulün çözülmesi 38-48°C. sıcaklığındaki su da yapılmıştır.

Dondurulmuş boğa sperması ile yapılan, bu ön çalışmalardan sonra kendi boğalarımızdan elde edilen spermanın derin dondurulması cihazına gidilmiştir. Özkoca (1962).

1961-1962 de mevcut boğalardan Atan 380-57 adlı boğa hem müessese ineklerinin hemde bölgemizdeki yetiştirici ineklerinin tohumlanmasında kullanılmıştır.

1965 yılında ise Hanım 19-59 adlı boğa aynı amaçla kullanılmış aşağıda I No:lu tabloda gösterilen sonuçlar elde edilmiştir.

Tablo: I.

Çalışmanın Yapıldığı Sene	Boğanın Adı Va No:	Tohumlanan İnek Adedi	Gebe İnek Adedi	Gebelik %	Spermanın Bekleme Süresi
1961	Atan 380-57	7	5	71,4	3-97.gün
1962	"	13	7	53,8	3-90.gün
1965	Hanım 19-59	18	10	55,5	1-108.güh
Üç Senenin Ortalaması		38	22	57,8	-



## L I T E R A T Ü R

- 1- AMERICAN BREEDERS SERVICE. Proved Sire Newsletter, VII (December, 1958).
- 2- BONFERT, A. (1964): Experiences dans Insemination des chevres avec du Sperme Congele. Elevage Insemination, No: 83, 3-7.
- 3- BARKER, and FRAZER (1962): Canadian Workers find. freezing method for goat Semen. A.I. Digest. Vol. X. No: 7-6.
- 4- HOAGLAND, C. S., and G. PINCUS (1942): "Revival of Mammalian Sperm after Immersion in Liquid Nitrogen." Jour. Gen. Physiol., XXV, 337.
- 5- JAHNEL, F. (1938): "Über die Widerstandsfähigkeit von Menschlichen Spermatozoen gegenüber starker Kalte Wiederauftreten der Beweglichkeit nach Abkühlung auf  $-196^{\circ}\text{C}$ . (flüssiger Stickstoff) und  $-269.5^{\circ}\text{C}$ ., etwa  $37^{\circ}$  vom absoluten Nullpunkt entfernt flüssiger Helium. "Klin. Wöchschr., Heidelberg, XVII 1273-1274. Anim. Breed. Abstr., VII (1939) 71-72.
- 6- LARSON, G.L., and E.F. GRAHAM, (1958): "Effects of Low Temperatures in Storage of Bovine Semen." A.I. Digest, VI. 12.
- 7- LIESS, OSTROWSKI (1960): Artificial Insemination in goats using deep frozen semen. Dtsch. Tierzartl. Wschr., 67: 127-129.
- 8- LOGINOVA, (1962): Causes of low fertility in ewes Inseminated with frozen semen. Ovcevodstvo, 8 (8): 20-23. (A.B.A. Vol: 31, No: 428).
- 9- LUYET, B.J., and E.L. HODAPP. (1938): Proc. Soc. Expt. Biol and Med., XXXIX.



- 10- PARKES, A.S. (1945): Preservation of human Spermatozoa at Low Temperatures. *Brit.Med.Jour.*, II.212.
- 11- PICKETT, B.W., R.A.JONES, P.HELLER, W.A. COWAN, and D.G.GOSSLEE (1959): "Preliminary Studies on Fertility of Bull Semen Stored in Liquid Nitrogen" *A.I.Digest*, VII.4.
- 12- POLGE, C., and L.E.A. ROWSON (1952) : "Long-Term Storage of Bull Semen Frozen at Very Low Temperatures (-79°C.)." *Second Internatl. Cong Physiol and Pathol. of Anim. Reprod. And A.I., Copenhagen.*
- 13- POLGE, C., A.U.SMITH, and A.S.PARKES (1949): "Revival of Spermatozoa after Vitrification and Dehydration at Low Temperatures." *Nature*, CLXIV. 666.
- 14- POKATILOVA, (1960) : Storing ram Semen at -21°C. *Ovcevodstvo 6 (I) 23-25.*
- 15- ÖZKOCA, A. (1959) : Dondurulmuş Boğa spermasınınin memleketimiz şartlarında, muhafaza nakil ve kullanılma şekilleri. *L.Z.A.E. Dergisi cilt:I.sayı 2, 16-21.*
- 16- ÖZKOCA, A. (1962): Dondurulmuş boğa sperması ile yapılan tohumlamalardan elde edilen sonuçlar, *L.Z.A.E.Dergisi Cilt: 2, sayı: 3-4, 47-51.*
- 17- SHAFFNER, C.S., E.W.HENDERSON, and C.G.CARD. (1941): "Viability of Spermatozoa of the Chicken under Various Environment Conditions." *Poultry Sci.*, XX. 259-265.
- 18- SHETTLES, L.B. (1940) : The Respiration of Human Spermatozoa and Their Response to Various Gases and Low Temperatures. *Amer.Jour.Physiol.*, CXXVIII 408-415,
- 19- SMITH, A.U., and C.POLGE (1950 a) : "Storage of Bull Spermatozoa at Low Temperatures." *Vet.Rec.*, LXII. 115-116.
- 20- SMITH, A.U., and C.POLGE (1950)b) : "Survival of Spermatozoa at Temperature." *Nature*, CLXVI.668-669