

44511

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DÖLERME VE SUN'I TOHUMLAMA ANABİLİM DALI

DEĞİŞİK SULANDIRICILARLA İŞLEM GÖREN
HORUZ SPERMASININ +5°C'DE SAKLANMASI
VE SUN'I TOHUMLAMA SONUCUNDA ELDE
EDİLEN FERTİLİTE ORANLARI

DOKTORA TEZİ

SERHAT ALKAN

DANIŞMAN
Prof.Dr.İ.KAMURAN İLERİ

İSTANBUL-1995

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ



**Sunulan bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından
505/071191 numaralı proje ile desteklenmiştir.**

İÇİNDEKİLER

Sayfa

1. GİRİŞ	3
2. LİTERATÜR BİLGİSİ	5
2.1. Dişi Genital Organları	6
2.2. Erkek Genital Organları	7
2.3. Sperma Hacmi	7
2.4. Spermanın Motilitesi	8
2.5. Spermatozoit Yoğunluğu	10
2.6. Spermanın Ölü-canlı Oranı	11
2.7. Anormal Spermatozoit Oranı	11
2.8. Damızlıkların Sevk ve İdaresi	12
2.9. Spermanın Alınması	13
2.10. Horozlarda Endokrinoloji	13
2.11. Tavuklarda Endokrinoloji	14
2.12. Suni Tohumlama ve Döl Verimi	15
3. MATERYAL ve METOD	19
3.1. Hayvan Materyali	19
3.2. Spermanın Masaj Yöntemi İle Alınması	19
3.3. Spermatojik Özelliklerin Belirlenmesi	20
3.3.1. Sperma Hacmi	20
3.3.2. Mass Aktivite	20
3.3.3. Spermatozoit Motilitesi	20
3.3.4. Spermatozoit Yoğunluğu	20
3.3.5. Ölü-Canlı Muayenesi	20
3.3.6. Morfolojik Muayene	21
3.4. Spermanın Sulandırılması	21
3.4.1. Sulandırıcı A	21

3.4.2. Sulandırıcı B	21
3.5. Tavukların Tohumlanması	22
4. BULGULAR	23
4.1. Spermatolojik Özellikler	23
4.1.1. Sulandırılmış Sperma ile İlgili Bulgular	24
4.2. Tohumlama Sonuçları	25
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	34
6. RESİMLER:	43
7. LİTERATÜR LİSTESİ	50
8. ÖZET	56
9. SUMMARY	58



1. Giriş

Bütün dünyada ve ülkemizde yeni protein kaynakları arayışından dolayı beyaz et tüketimi giderek önem kazanmaktadır. Memeli hayvanlara kıyasla, tavukçulukta daha hızlı ve daha ekonomik hayvansal protein üretebilme hedefi dünyada geniş çapta bir tavukçuluk endüstrisinin oluşmasına neden olmuştur. Bu durum, gelişmiş ülkeler arasında çok güçlü bir rekabeti de gündeme getirmiştir.

Yüksek verimli ve kaliteli horozlardan daha fazla yararlanmak, üreme faaliyetlerini kontrol altına alarak yumurtadan çıkan civciv sayısını artırmak damızlık üretimi ve ekonomik açıdan büyük önem taşımaktadır.

Son 15-20 yılda ülkemizde de bu konuda küçümsenemeyecek çapta gelişmeler olmuş, tavuk eti ve yumurta üretimi yapan yüksek kapasiteli yetiştirmeler kurulmuştur.

Tavukçuluk sektörünün beyaz et ve yumurta üretimi açısından gelişmesi bazı olumlu sonuçları da beraberinde getirmiştir. Bunlar, yumurta ve tavuk eti yan ürünleri ile ilgili sanayi dallarının gelişmesi, bunların artan ihtiyaca paralel olarak pazar imkanı bulması, verimsiz arazilerin kümes hayvanlarının yetiştirilmesi için kullanılabilmesi ve mevcut kişi başına düşen protein ihtiyacının bir kısmının bu yolla ucuz olarak karşılanması şeklinde sayılabilir. Ayrıca, hibrit çalışmalarından elde edilen kanatlıların üretim sürelerinin kısa olması, yemden yararlanma güçlerinin yüksek olması gibi faktörler tavuk yetiştiriciliğini yaygınlaştırmış ve talebi artırmıştır.

Kanatlılarda heterozis çalışmaları ile hem hayvansal proteinin hızlı ve ekonomik üretimine hem de pek çok bilimsel araştırmanın bu konuda yoğunlaşmasına neden olunmuştur.

Tavukçuluk yetiştiriciliğindeki bu gelişmeler, tabii çiftleşme yerine kanatlılarda sun'i tohumlamanın uygulanmasını hem biyolojik ve hem de ekonomik yönden zorunlu kılmış ve tavukçuluk endüstrisi gelişmiş ülkelerde sun'i tohumlama yöntemi uygulanır hale gelmiştir. Kanatlı sun'i tohumlama teknolojisi, heterozis çalışmaları ve bu konudaki bilimsel araştırmalarda kullanılan önemli bir yöntemdir.

Türkiye şartlarında kanatlı sun'i tohumlamasını rutin ve başarılı bir şekilde uygulayabilmek için, horoz spermasını en iyi şekilde ve en uzun müddetle koruyacak bir sperma sulandırıcısına ihtiyaç vardır. Yapılan araştırmalar ile horoz spermasını +5°C'de saklamak için çeşitli sulandırıcılar ortaya konmasına rağmen, bu sulandırıcılarla ilgili çalışmalar devam etmektedir.

Horoz spermasının +5°C'de saklanabilmesi için sperma sulandırıcılarının kullanılması zorunludur. Ayrıca kullanılan sulandırıcıların spermanın hacmini istenilen miktarda artırabilme, canlılığını maksimum süreyle koruyabilme, spermatozoitlerin ihtiyaç gösterebileceği kimyasal maddeleri taşıma, spermatozoitlerin metabolitlerini elimine edebilme ve her yerde kolayca bulunabilen ve ucuz maddelerden olma gibi özelliklere sahip olması istenmektedir.

Sunulan çalışmada +5°C'de saklanan horoz sperması için iki farklı sulandırıcı (Sulandırıcı A ve Sulandırıcı B) üzerinde durularak, sulandırıcıların spermatolojik özelliklere karşı olan etkileri araştırılmıştır. Ayrıca ayda bir defa olmak üzere dört kez tekrarlanan, sun'i tohumlama çalışmalarıyla tavuklardan bir tek tohumlama ile kaç gün üst üste fertil yumurta elde edilebileceği sorusuna da yanıt vermek amaçlanmıştır.

2.Literatür Bilgisi

Evcil tavuk, Galliformes (Tavuksular) takımının Phasianidae familyasının Gallus cinsini oluşturan dört kuş tipinin ortak adıdır. Dar anlamda tavuk denince, bayağı yaban tavuğundan (Gallus gallus) geliştirilen ve günümüzde en yaygın biçimde yetiştirilen kümes hayvanı olan evcil tavuk anlaşılır. Tavuğun erişkin erkeğine "Horoz", dişisine "Tavuk", yumurtadan yeni çıkan yavrusuna "Civciv", gencine "Piliç" denir. Büyük dişi pilice "Yarka" veya "Ferik" adı verilir (2).

Halen daha evcil olmayan atalarıyla aynı tür (Gallus gallus) içinde sınıflandırılan evcil tavuk, en azından dört bin yıl önce evcilleştirilmiştir. Yaban tavuğunun ilk olarak horozları dövüştürme amacıyla evcilleştirilip beslendiği sanılmaktadır. Tavuk etinin ve yumurtasının ticari olarak kitlesel üretimi ancak ondokuzuncu yüzyılda başlamış, civciv üreten büyük tesisler 1920'den sonra önem kazanmış ve et üretimi yumurta üretiminin çok önüne geçmiştir (2).

Türkiye'de damızlık yerli melez tavukların yetiştirme çalışmaları ise 1965'te Ankara Tavukçuluk Araştırma ve Planlama Merkezi'nce başlatılmış ve 1978'den sonra Ziraat İşleri Genel Müdürlüğü'nün "Ülkesel Tavukçuluk Araştırma Projesi" kapsamında yürütülmüştür (2).

Türkiye'deki tavuk varlığı, 1967'de yaklaşık 30 milyondan 1990'da 96.5 milyona, yıllık yumurta üretimi ise yaklaşık 1.5 milyardan 7.6 milyara ulaşmıştır (2).

Ilgaz (17)'in bildirdiğine göre, kanatlılardan sperma alma amacına yönelik çalışmalar ilk olarak 20. yüzyılın başlarında başlatılmıştır. Tavuklarda ilk suni tohumlama çalışmasını Ivanof'un 1912 yılında yaptığı ve araştırmacının horozun duktus deferensinden keserek basınçla sperma aldığı ve bu sperma ile tohumlama yaptığı bildirilmektedir (17). Yine Ilgaz (17)'in bildirdiğine göre, ilk kez Burrows ve

Quinn horozlarda masaj yöntemi ile sperma almışlardır. Bu araştırmacılar daha sonra aynı yöntemle hindiden de sperma almayı başarmışlardır.

Türkiye'de ise horozlardan masaj yöntemi ile sperma alan Kozandağı(19) tabii ve sun'i tohumlamayı kıyaslamış, ayrıca Sevinç ve ark.(37,38,39) horoz ejakulatlarında başlıca spermatolojik özellikler üzerinde çalışmışlardır.

2.1. Dişi Genital Organları:

Tavuklarda embriyonik dönemde iki ovaryum gelişmekte fakat kanatlılara özel bir durum olmak üzere, sağ ovaryum ve sağ genital kanal daha sonraki gelişimine devam edememekte ve rudimentasyona uğramaktadır. Böylece tavuklarda tek bir ovaryum (sol ovaryum) ve tek bir genital kanal (ovidukt, uterus,vajina) bulunmaktadır (4).

Fonksiyonel olan sol ovaryumun memeli ovaryumlarındaki gibi temel iki görevi vardır. Bunlar, dişi gamet olan ovumun üretilmesi ve steroid hormonların salgılanmasıdır(4,29).

Ovaryum, medulla ve korteks olmak üzere iki bölüme ayrılır. Medulla; bağ doku, kan damarları ve sinirleri, korteks ise germinatif epiteli taşıyan bölüm olup, korteks bölümünde oositlerin gelişeceği oogoniyalar mevcuttur. Ergin bir dişi kanatlının ovaryumu 40-60 gram ağırlığında ve vücut boşluğunda, aortanın ventralinde, böbreğin kranialinde, adrenal bezlerin yanında yer almaktadır (4,29).

Tavuklarda ovaryumdan sonra ovidukt gelmektedir. Oviduktun yumurtlayan bir tavukta uzunluğu 80 cm. kadardır ve genişleme özelliğine sahiptir (11).

Tavuklarda ovidukt infundibulum, magnum ve istmus diye üç bölüme ayrılır. Oviduktun fonksiyonları, albumin (yumurta akı) üretimi ve depolanması, ovum üzerine membran ve şelazifer bağların üretimi, ovumun taşınması, spermatozoitlerin depo ve transportu ile fertilizasyondur (4). Oviduktun bölümlerinden infundibulumun uzunluğu 8cm, magnumun 32.5cm. ve istmusun ise 8.7cm. 'dir (11).

Oviduktan sonra dişi genital kanalı, uterusla devam etmektedir. Uterus yumurtanın kalsiyum kabuğunun şekillendiği organdır (4, 11).

Uterustan sonra dişi genital kanal vajina vasitasiyla kloakaya açılmaktadır. Tavukta vajina oldukça kısa, kaslı bir organdır. Vajina kopulasyon sırasında spermanın ovidukt yönünde transportuna, yumurtlamada ise yumurtanın uterustan kloakaya geçmesini sağlar (4).

2.2. Erkek Genital Organları:

Horozlarda testislerin toplam ağırlığı 30-60 gramdır (4). Testislerin büyüklüğü ilkbaharda 2-3 misli artar (11). Horozlarda skrotum bulunmaz ve testisler karın boşluğunun içersindedir. Testisler, akciğerin posteriorunda ve böbreklerin ventralinde, dorsal vücut duvarına asılı olarak bulunmakta ve plexus pampiniformisleri ile epididimisleri bulunmamaktadır (20). Testislerden çıkan bir çift duktus deferens vücut boşluğunda caudal yönde seyrederek kloakaya ulaşır. Eklenti üreme bezlerinin (prostate, vesicula seminalis, glandula bulbouretralis) olmayışı horozu memelilerden farklı kılar. Horozlarda kopulasyon organı olarak penis bulunmayıp yerine kloakanın ventralinde "Phallus" denen ve ereksiyon yeteneğine sahip bir organel çiftleşmeyi sağlar (4).

2.3. Sperma Hacmi:

Horozlardan alınan sperma hacmi bazı durumlarda değişiklik göstermektedir. Nitekim, Sevinç (36) horoz sperması hacmini en fazla 0.8 ml, en az 0.6 ml ve ortalama 0.7 ml olarak saptarken, sperma hacminin ırklara ve sperma alma sıklığına göre farklılıklar gösterdiğini belirtmiştir. Bu amaçla Hy-line ırkı horozlardan masaj yöntemi ile sperma alan Kozandağı (19), sperma hacmini 0.2-0.8 ml olarak bildirmiştir. Latorre ve arkadaşları (22), üç gün dinlendirilen horozlardan üst üste 4 kez sperma almış ve sperma hacmini horoz başına ortalama 1 ml olarak saptamışlardır.

Leghorn ve New Hampshire horozlarının spermatolojik özellikleri ile ilgili çalışma yapan Sevinç ve ark. (37), Leghorn ırkı horozlarda ortalama ejakulat miktarını 0.5 ± 0.05 ml ve New Hampshire'larda ise 0.68 ± 0.04 ml olarak bildirmişlerdir. Yine Sevinç ve arkadaşları(39), değişik sulandırıcılarla sulandırdıkları spermanın fertilitesi üzerine yaptıkları çalışmada ERBRO (Erbeyli Broiler) horozlarının ejakulat miktarını ortalama 0.58 ml olarak saptamışlardır.

Horozların günlük sperma üretimi ve sperma alma sıklığı üzerine çalışan Sexton (40), haftada bir sperma alınan horozlardaki sperma hacmini ortalama 0.35 ml, haftada üç kez sperma alınanlarda 0.45 ml ve haftada beş kez sperma alınanlarda 0.37 ml olarak bildirirken, aynı araştırmacı (41), seminal plazmanın horoz spermasının fertilitesi üzerine etkisini araştırdığı çalışmada 10 adet damızlık broiler horozundan masaj yöntemi ile toplam 8 ml sperma almıştır.

Horoz spermasını +10°C'de saklayan Shukla ve Tomar (43), çalışmalarında kullandıkları 11 beyaz Leghorn horozunun sperma hacmini ortalama 0.3 ± 0.01 ml olarak saptamıştır. Aynı ırk horozlardan masajla sperma alan Tsukunaga (46), kullandığı iki ejakulatta sperma hacmini 0.7 ml ve 0.3 ml olarak bildirmiştir.

Yamane ve arkadaşları (51), yine Beyaz Leghornlarda geliştirdikleri masajla sperma alma tekniği ile ortalama 0.48 ml sperma hacmi bildirmişlerdir.

Yaşla spermatolojik karakterlerin ilişkisini araştıran Ramamurthy ve arkadaşları (31), 25 haftalık Beyaz Korniş ırkı horozlarda ortalama sperma hacmini 0.46 ± 0.03 ml olarak saptamıştır.

2.4. Spermanın Motilitesi:

Spermatozoit motilitesi, ileriye doğru bir yönde hareketli hücrelerin, hareketsiz ve diğer hareket şekli gösterenlere oranı olarak tanımlanmakta ve fertilizasyonun ancak motil spermatozoitlerle olduğu bilinmektedir (36). Bu sebepten ötürü saha çalışmalarında ve laboratuvar şartlarında, sperma motilitesinin ölçülmesi fertilité açısından önemlidir.

Taze ve normal bir sperma mikroskopta incelendiğinde, sahada dalgalanmalar ve spermatozoitlerin devamlı olarak ileri yönde hareket ettikleri görülmektedir (28).

Hy-line horozlarında yaptığı bir çalışmada Kozandağı (19), spermatozoit motilitesini ortalama %80-90 olarak bildirmiştir.

Isının ve belirli maddelerin horoz spermasının motilitesi üzerine etkilerini araştıran Ashizawa ve arkadaşları (3), Beyaz Leghorn horozlarda yaptıkları

çalışmada horoz spermasının motilitesini 30°C'de %62.5 ± 3.2 ve 40°C'de %8.7 ± 0.6 olarak bulmuşlardır.

Ovalbuminin motilite üzerine etkisini araştıran Blesbois ve ark. (6), ovalbumin katarak +4°C'de 24 saat muhafaza ettikleri spermanın motilitesini %40.40 olarak bildirmişlerdir.

Blesbois ve arkadaşları (7), motiliteyi 10 üzerinden değerlendirdikleri diğer bir çalışmada B.P.S.E.(Beltsville Poultry Semen Extender) sulandırıcısı ile sulandırdığı horoz spermasının motilitesini sulandırma sonrasında 6.9 ± 0.55 saptarken, 4°C'de 24 saat muhafaza ettiği spermanın motilitesini 5.1 ± 0.9 olarak bildirmişlerdir.

Howarth (15), horoz sperma sulandırıcılarını mukayese ettiği çalışmasında M.E.M., B.P.S.E.ve L.D.A.sulandırıcıları ile sulandırdığı spermaların motilitesini 5 saat sonra sırasıyla %91.2, %80.0 ve %66.1 olarak bildirmiştir.

Horoz spermasının saklanması konusunda çalışan Pradhan ve Tomar (30), çalışmalarında taze spermada saptadıkları spermatozoit motilitesi ortalamasını %89-96 olarak belirlemişlerdir.

Ramamurthy ve ark. (31), vücut ağırlığının sperma özellikleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, Beyaz Korniş ırkı horozların ortalama sperma motilitesini %75.24 ± 1.57 olarak bulmuşlardır.

Leghorn ve New Hampshire horozlarının spermatolojik özellikleri üzerinde çalışan Sevinç ve ark.(37), Leghorn ırkı horozların sperma motilitelerini ortalama %83.20 ± 2.63 olarak bildirirlerken, aynı araştırmacılar diğer bir çalışmada (39), ERBRO (Erbeyli Broiler) horozlarında sperma motilitesini ortalama %79.4 olarak belirlemişlerdir.

Çalışmasında B.P.S.E.(Beltsville Poultry Semen Extender) sulandırıcısının etkisini araştıran Sexton (41), sulandırdığı spermada motiliteyi %79 olarak saptamıştır.

Spermatolojik karakterler ve spermanın saklanması üzerine çalışan Shukla ve Tomar (43), aldıkları spermallerdeki motiliteyi ortalama %86.5 olarak saptamışlardır.

2.5. Spermatozoit Yoğunluğu:

Horoz spermasının yoğunluğu genellikle hemositometrik yöntemle saptanmaktadır (36). Özkoca (28), horoz sperması yoğunluğunun $3.5 \times 10^6/\text{mm}^3$ olduğunu belirtmektedir. Sevinç (36) ise horoz spermasının yoğunluğunu ml'de 4×10^9 spermatozoit olarak vurgulamaktadır. Pabuçcuoğlu (29), spermatozoit konsantrasyonunun ölçülmesinde "Spektrofotometrik" ve "Hemositometrik" yöntemleri bildirmekte ve horoz spermasının ortalama konsantrasyonunu $2-5 \times 10^9/\text{ml}$ olarak belirtmektedir. Çalışmalarında Isa Brown ve Korniş 199 ırkı horozları kullanan Blesbois ve Mauger (7), Isa Brown ırkı horozlarda sperma konsantrasyonunu $4 \times 10^9/\text{ml}$ ve Korniş 199'larda $6 \times 10^9/\text{ml}$ olarak bildirmiştir. Blesbois ve Raviers (9), ISA 199 horozlarını kullandıkları çalışmalarında bir araya topladıkları (pooling) spermaların fotometre ile belirledikleri konsantrasyonunu $5-7 \times 10^9/\text{ml}$ olarak bildirmiştir.

Kozandağı (19), Hy-Line horozlarında yaptığı çalışmada ortalama sperma konsantrasyonunu mm^3 'de 2.600.000-4.000.000 olarak bulmuştur. Mohan ve arkadaşları (24) çalışmalarında horoz spermasının ortalama konsantrasyonunu $6.7 \times 10^9/\text{ml}$ bulmuşlardır. Beyaz Leghorn horozlarda Pradhan ve Tomar (30), ortalama sperma konsantrasyonunu $3.57 \pm 4.45 \times 10^9/\text{ml}$ olarak belirlerken, aynı ırk horozlarda Sevinç ve arkadaşları (37) ortalama spermatozoit konsantrasyonunu $1.876 \times 10^6/\text{mm}^3$ olarak bulmuştur. E.R.B.R.O. (Erbeyli Broiler) horozlarını kullandığı diğer bir çalışmada ise aynı araştırmacılar (39), spermatozoit konsantrasyonunu $3.218 \times 10^9/\text{ml}$ olarak bildirmişlerdir.

Yaşın sperma karakterleri üzerine olan etkisini araştıran Ramamurthy ve arkadaşları (31), 25 haftalık Beyaz Korniş horozlarının ortalama spermatozoit konsantrasyonlarını $3.37 \pm 0.15 \times 10^6/\text{mm}^3$ bulurken, yaşları 35 haftalığa ulaştığında sperma özelliklerinin farklı olmadığını bildirmiştir. Wambeke (48), ırka ve sperma alma sıklığına bağlı olarak değişmekle birlikte, horozlarda spermatozoit konsantrasyonunu $4-8 \times 10^9/\text{ml}$ olarak bildirmektedir.

Hindiler üzerinde çalışan Huyghebaert ve Groot (16) hindi spermasının ortalama konsantrasyonunu $11 \times 10^9/\text{ml}$ olarak belirtirken, Lake, hindilerde yaptığı çalışmada ortalama sperma konsantrasyonunu $12 \times 10^9/\text{ml}$ olarak belirlemiştir (21). Ilgaz (17) ise hindi spermasının ortalama konsantrasyonunu $5.025 \pm 1.066 \times 10^9/\text{ml}$ olarak tesbit etmiştir.

2.6. Spermanın Ölü Canlı Oranı:

Birçok araştırmacı, vital boyalar ile spermatozoitlerin ölü-canlı ve morfolojik muayenelerinin yapılabileceğini bildirirlerken (1, 14, 27, 32, 35), Sayın (32) da eosin-nigrosin boyalarının vital boya özelliği göstererek ölü ve canlı spermatozoitlerin ayırımını sağladığını, ayrıca morfolojik muayeneler amacıyla da her zaman laboratuvarlarda kullanılabilecek bir yöntem olduğunu vurgulamaktadır.

2.7. Anormal Spermatozoit Oranı:

Diğer hayvan türlerinde olduğu gibi, horoz spermasında da anormal spermatozoit varlığı belirli bir oran içerisinde bulunmalıdır. Pradhan ve Tomar (30), Beyaz Leghorn horozların spermalarında ortalama anormal spermatozoit oranını %3.6-6.9 olarak bildirirken, Sevinç ve arkadaşları (37), Leghorn horozlarının anormal spermatozoit oranını $\%5.44 \pm 0.73$ ve New Hampshire horozlarda ise $\%6.76 \pm 0.95$ olarak belirlemiştir. Diğer bir yayınlarda, Sevinç ve arkadaşları (38), Leghorn horozlarında gözlenen spermatozoit bozukluklarının %0.38' inin akrozoma, %3.16'sinin başa, %1.63'ünün orta kısma ve %0.26'sinin da kuyruğa bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada (38), New Hampshire ırkı horozlarda gözlenen spermatozoid bozukluklarının ise % 0.37'sinin akrozoma, %4.98'inin başa, %1.69'unun orta kısma ve %0.17'sinin kuyruğa bağlı olduğu bildirilmiştir. Shukla ve Tomar (43) çalışmalarında, Beyaz Leghorn horozlarının spermasında %7.7 oranında anormal spermatozoit bulunduğunu bildirmişlerdir.

Ramamurthy ve arkadaşları (31), Beyaz Korniş horozlarında anormal spermatozoit oranını $\%11.82 \pm 0.74$ bulmuştur.

Donmanın spermatozoit morfolojisi üzerine etkisini araştıran Xia ve arkadaşları (50), taze ve donmuş horoz spermasındaki normal morfoloji yüzdelere sırasıyla, mitokondriaların bulunduğu bölge için $\%99.5 \pm 0.2$, $\%54.0 \pm 6.4$; orta

kısım için 99.1 ± 0.7 , 50.9 ± 6.0 ; nükleus için 99.8 ± 0.2 , 96.7 ± 2.4 ve perforatoryum için 100.0 ± 0 , 90.6 ± 2.3 olarak bulmuştur. Donma sonucunda ortaya çıkan morfolojik bozukluklar üzerine NaCl ve Glukoz sulandırıcılarının etkilerini araştıran Maeda ve arkadaşları (23), NaCl sulandırıcısı için donma öncesi morfolojik bozuklukları 3.4 ± 2.5 ve donma sonrası 18.1 ± 8.8 ; Glüköz sulandırıcısı için donma öncesi morfolojik bozuklukları 3.9 ± 2.3 ve donma sonrası 54.4 ± 21.0 olarak bulmuştur.

2.8. Damızlıkların Sevk ve İdaresi:

Damızlık horozların sevk ve idaresi reprodüktif açıdan oldukça önemlidir. Birçok araştırmacı çalışmalarda, damızlık olarak kullanılacak hayvanların 30-65 haftalık olmalarını ve bireysel kafeslerde bulundurulmalarını, ayrıca uygulanan ışık rejiminin 14 saat aydınlık ve 10 saat karanlık olmasını ve erkek damızlıkların günde 110 gr, dişilerin ise 120 gr yem almalarını önermişlerdir (6,7,8,9,23,30,34,37,39,47,49).

Beyaz Leghorn Babcock ırkı horozlarda çalışan Ashizawa ve arkadaşları (3), horozları bireysel kafeslerde 14 saat aydınlık ortamda ve ticari yemle ad libitum beslemenin, onların reprodüktif faaliyetlerini olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Bakst ve Cecil (5), çalıştığı 39-47 hafta yaşlı Beyaz Leghorn horozları her birinde 15'er horoz olacak şekilde iki kümeste beslemiş ve 9 hafta süreyle haftada 1 veya 2 kez sperma almışlardır. Smithy ve arkadaşları (44), horozların, tavuklardan ve diğer horozlardan ayrı, bireysel kafeslerde barındırılmasını tavsiye etmiş ve sperma hacmi ile kalitesinde herhangi bir ters etki görülmeden haftada üç kez sperma alınabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmalarında Rhode Island Red tipi horozları kullanan Thomson ve Wishart (45), horozları bireysel kafeslerde barındırarak 14 saat ışık 10 saat karanlık periyodunda tutarak, ticari damızlık yemi ile ad libitum beslemişler ve haftada üç kez iyi kalitede sperma almışlardır.

Hindilerden de 14 saat aydınlık, 10 saat karanlık ışık periyodunda ve ad libitum besleme ile Guemene ve ark. (13), yine özel damızlık yemi ile ad libitum beslemeyle ve 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ışık programıyla Lake (21), iyi kalitede sperma alınabileceğini bildirmişlerdir.

2.9. Spermanın Alınması:

Horozlardan sperma abdominal masaj yöntemi ile alınmaktadır. Abdominal masaj yönteminde birden fazla kişiye ihtiyaç vardır. Çalışanlardan birisi bir zemin üzerinde horozu veya hindiyi ayaklarından tesbit eder, aynı zamanda kanatlarını çırpmasını önler. Daha sonra spermayı alacak kişi, sağ veya sol eli ile, hayvanın en arka kısmında ve pubis kemiğinin altında ritmik hareketlerle masaja başlar. Burada amaç, ejakülasyonu uyarmaktır. Sperma almak için, sağ elin avuç içinde dereceli ve küçük bir tüp tutulur. Elin serbest kalan parmakları ejakulasyon refleksini uyarmak için kullanılır. Ejekulator refleks meydana geldiğinde her iki elin baş ve işaret parmağı uyum içinde, erkeğin sağımına refleks kayıp olana kadar devam eder. Sağım anında sol elin parmakları aynı zamanda spermanın vasa deferensin aşağı kısımlarına aktarılmasına da yardım eder (28). Sevinç (36)'de en yaygın sperma alma yönteminin masaj yöntemi olduğunu bildirmiştir. Araştırmacıya göre (36) bu yöntem, horozun abdomeninin dorsal kesimine uygulanan el masajıyla spermayı almayı kapsar. Horoz, masaj yapacak kişinin kucağında ve kuyruğu sırt üzerine yatırılmış bir pozisyonda tutulduktan hemen sonra baş parmak abdomenin bir tarafında, öbür parmaklar diğer tarafında olmak üzere abdomenin dorsal kesimine, kranio-kaudal ve dorso-ventral yönde masaj yapılmaktadır. Bu masajla duktus deferenslerde bulunan spermanın dışarı alınması sağlanmaktadır. Ilgaz (17), bir yardımcı personel tarafından bacaklarından tutularak tesbit edilen hindilerde, kloakal bölgeyi kuyruk sokumundan dorso-ventral, kısmen de abdomene kranio-kaudal yönde yapılan masajlarla uyarmış ve erekte olan çıkıntıya (Phallus) baş ve işaret parmağıyla yaptığı basınçla spermayı sağdığını bildirmektedir.

Kanatlı sperması ile çalışan diğer birçok araştırmacının sperma alma tekniği olarak masaj yöntemini kullandığı ve elde ettikleri ejakulatları birbirleriyle karıştırarak 'Pooling' yaptıkları görülmektedir (5,8,15,16,18,21,22,23,24,30, 34,37,39,38,41,43,44,45,46,49,50).

2.10. Horozlarda Endokrinoloji:

Kanatlı hayvanlar seksüel olgunluğa ulaştıkları zaman "Fotostimulatorik" olmakta, daha sonraki gelişmeler ışık kontrolü altında meydana gelmekte (4,29) ve

horozlarda testis aktiviteleri beyin tarafından kontrol edilmektedir (42). Başta ışık olmak üzere çevre faktörlerinin etkisiyle hipotalamustan GnRH (Gonadotropin Releasing Hormon) salgılanmaktadır. Bu faktörlerin etkisi ile de hipofiz bezi uyarılarak gonadotrop hormonların salgılanması sağlanmaktadır (4). Böylece hipofizden FSH ve LH salgılanmaktadır.

Tavuk beyninden cLH-RH-1 ve cLH-RH-II diye iki tip luteinizing hormon-releasing hormon izole edilmiştir (13). Dolaşımdaki FSH ve LH'nın seviyesi, testis aktivitesi ve spermatogenesis ile yakından ilgilidir (42). FSH'nın etkisi ile testislerdeki tubulus seminiferuslarda büyüme ve gelişme, LH'nın etkisi ile de interstisiyel dokudaki "Leydig hücreleri" uyarılarak steroid hormon salgılanması sağlanmaktadır. Seminifer tübüllerin gelişmesi sonucunda spermatogenesis, FSH ve LH'nın kontrolü altında devam etmektedir. Horozlarda, plazma testesteron seviyesindeki artış, hipofiz bezi üzerine etki ederek gonadotropik hormonların (FSH ve LH) salgılanmasını inhibe etmektedir. Gonadotropik hormonların azalması sonucunda spermatogenesis ve leydig hücrelerinden testesteron salgılanması da zayıflamaktadır. Azalan testesteron miktarı, hipofiz üzerine olan baskıyı kaldırarak gonadotropik hormonların salgılanmasını tekrar hızlandırmakta ve bu mekanizma kendi kendini kontrol ederek devam etmektedir (29).

2.11. Tavuklarda Endokrinoloji:

Tavuklarda, hipofizden salgılanan ve reproduksiyonla ilgili olan başlıca gonadotropik hormonlar FSH ve LH'dır. FSH ve LH'nın spesifik etki organları ovaryumdur. Bu hormonların etkisiyle ovaryumdaki folliküller gelişmekte ve steroidogenesis artmaktadır. Ovaryumlardan salgılanan steroid hormonlar östrojen, progesteron, ve androjendir (4). Sex steroidleri başlıca iki steroidojenik aktif hücre tabakası tarafından salgılanmaktadır. Follikülü çevreleyen bu iki hücre tabakası, teka interna ve granüloza tabakalarıdır. Progesteron granüloza hücrelerinden, östrojenler teka interna hücrelerinden salgılanırken, androjenler ise hem teka interna ve hem de granüloza hücrelerinden salgılanmaktadır (4).

Tavuklarda östrojenin mideden kalsiyum emilimini ve vücut yağı depolanmasını artırmak, karaciğere etkiyerek yumurta sarısı proteinlerinin üretimini

sağlamak, vasküler sistemde değişim ve gelişim meydana getirmek ve kemiklerde ekstra kalsiyum depolanmasını sağlamak gibi görevleri bulunmaktadır.(4)

Progesteron hormonunun ise, oviduktun büyüme ve gelişimini sağlamak, albumin sentezinde rol almak, gonadotropin sentezinde feedback etkisi gibi daha spesifik etkileri bulunmaktadır.(4)

Kanatlılarda ovulasyondan 6-8 saat önce progesteron pik yapmakta ve bu progesteron piki, hipofizden LH salınımını uyararak ovulasyonu sağlamaktadır (4,29).

Tavuklarda androjenler de salgılanmaktadır. Androjenlerin ovidukt gelişmesinde, sekonder seksüel karakterlerin ortaya çıkmasında ve gonadotropinlerin salgılanması üzerinde etkisi bulunduğu bildirilmektedir (4,29).

Hipofizin ön lobundan salgılanan prolaktin hormonu, kanatlılarda kuluçka içgüdüsunü uyarmaktadır. Yumurtlanan yumurtalar, yuvanın varlığı ve mevsimin etkisi ile adenohipofizden prolaktin salgılanmakta ve kuluçka olayı başlamaktadır. Yumurtaların üzerine yatan dişi kanatlının göğsüne yumurtaların temas etmesi ve meydana gelen sinirsel etki ile hipofiz bezi uyarılarak prolaktin piki kuluçka müddetince devam etmekte ve gonadotropik hormonların salgılanması engellenmekte ve bu sayede kuluçka müddetince yumurtlama olayının önüne geçilmektedir (4, 29).

2.12. Sun'i Tohumlama ve Dölverimi:

Tavuklarda bu amaçla çalışacak kişilerin yeterli düzeyde anatomik ve fizyolojik bilgiye sahip olması gerekmektedir.

Özkoca'ya (28) göre tavuğun tohumlanmasında bir yardımcı tavuğu koltuk altında tesbit ederken, her iki elin avuçları ile kloaka ve viseral bölgeye hafif bir basınç yapılır. Bu uygulama yumurtlayan tavuklarda kolayca gerçekleşir. Kaudal vajina dışarıya çıktığında operatör tarafından spermayı taşıyan katater 3cm derinliğine kadar vajinaya sokularak sperma çabucak verilmelidir. Katater dışarıya çıkarılmadan önce karın bölgesine yapılan basınç kaldırılmalı ve vajinanın yerine yerleşmesine olanak sağlanmalıdır. Böylece basınçla dışarıya çıkartılmış

vajinadan spermanın geriye gelmesine mani olunur. Sevinç'in (36) açıklamalarına göre ise, bir kişi tohumlanacak tavuğu, kuyruğu geriye yatırılmış, kloaka dışarıya doğru kabarcak ve vajinanın kloakal ucu anüsün ağzına yaklaşacak biçimde kucağında tutar. Daha önce, bir tüberkülin şiringasına, ya da bir göz damlalığına çekilen sperma, genel olarak anüsün sol tarafında yer alan vajinanın içine damlalık takriben 2-3 cm sokulur ve sonra yardımcının eliyle abdomenin geri kısmına yaptığı basınç kaldırılır. Böylece vajinanın anüse yaklaşan ucu yerine döner. Bundan sonra, damlalığın lastiği sıkılmakla sperma vajinaya verilir.

Pabuççuoğlu'na göre (29), de tavukların tohumlanmasında genellikle iki kişiye ihtiyaç vardır. Sun'i tohumlama yapacak olan operatörün, bir adet insülin enjektörü veya 9-10 cm uzunluğunda polietilen bir boruya eklenmiş normal bir enjektöre ihtiyacı vardır. Tohumlanacak olan tavuk yardımcı operatör tarafından arkası operatöre doğru olacak şekilde tutulur. Yardımcı operatör tavuğun abdomenine ilio-pubal bölgenin altına gelecek şekilde iki taraflı basınç yapmalıdır. Abdomene uygulanan bu basınç sayesinde "Vajina Eversiyonu" denen olay gerçekleşmektedir. Vajina eversiyonu dişi genital kanalın distal bölümünün abdomene yapılan basınç sonucunda kloakadan dışarı çıkmasıdır. Bu olay yumurtacı tavuklarda çok rahat oluşmakta hatta tavuk ele alındığı zaman kendiliğinden meydana gelmektedir. Operatör vajinada eversiyon meydana geldikten sonra, içinde sperma bulunan katateri vajinal orifisyumdan içeri 4-6 cm sokar. Katater içerde iken abdomene yapılan basınç kaldırılır ve vajina içeriye giderken bir yandan da sperma enjekte edilir. Aksi takdirde karın boşluğuna yapılan basınç yüzünden sperma dışarıya akabilmektedir.

Hafez'e göre de (4), tohumlama için tavuk yardımcının sol koltuk altında tutulur ve iki elin avuç içleriyle viseral ve kloakal bölgelere basınç yapılarak vajina eversiyonu sağlanır. Bu olay gerçekleştiği zaman spermayı taşıyan şiringa 3 cm sokularak sperma verilir. Şiringa çekilmeden abdomene yapılan basınç kaldırılarak, vajinanın yerine dönmesi sağlanır. Böylece vajinanın hareketi sonucunda spermanın dışarıya atılması önlenir (4).

Tavuklarda optimal fertilité elde edebilmek için haftada bir kez tavuk başına, içerisinde 200×10^6 spermatozoit içeren 0.1 ml sperma ile tohumlama gerekli görülmektedir(4,29). Blesbois ve Mauger (6) de tavuk başına 200×10^6

spermatozoit dozunu yeterli bulmaktadırlar. Aynı araştırcılar (7), başka bir çalışmada haftada 1 kez yaptıkları sun'i tohumlamalarda iki değişik yaş grubunda tavuk kullanmışlar ve 35-43 haftalık tavuklarda %96, 55-58 haftalık tavuklarda %94 fertilite elde etmişlerdir. Blesbois ve Raviers (9), haftada bir kez tavuk başına 200×10^6 spermatozoit vererek yaptıkları sun'i tohumlamaların sonucunda, taze sperma kullanılan tohumlamalarda %95.5 ve 4°C'de 24 saat beklemiş sperma ile yapılan tohumlamalarda %72 fertilite elde etmişlerdir. Bootwalla ve Froman (10), yaptıkları sun'i tohumlama çalışmasında 33×10^6 ve 100×10^6 spermatozoit/tohumlama dozu konsantrasyondaki spermaları kullanmışlar ve sırasıyla 98 ± 2.7 ve 99 ± 2.2 fertilite elde etmişlerdir. Froman ve Angel (12) B.P.S.E. (Beltsville Poultry Semen Extender) sperma sulandırıcısı ile sulandırıp 25°C'de inkübe ettikleri sperma ile intravaginal olarak yaptıkları tohumlamalardan 60.2 ± 0.05 fertilite elde etmişlerdir. Aynı araştırmacılar (12), bu sperma ile intramagnal yaptıkları tohumlamalarda 66.7 ± 0.15 fertilite oranı kaydetmişlerdir. Howarth (15), çalışmasında tavukları haftada bir kez 0.1 ml sperma ile intravaginal olarak tohumlamış ve 82.9 ± 1.0 fertilite elde etmiştir.

Sun'i ile tabii tohumlamayı karşılaştıran Kozandağı (19), 5 ve 10 gün ara ile yaptığı tohumlama çalışmalarında 0.1 ml sulandırılmış sperma kullanmış ve birinci grupta %89.5 ikinci grupta %80.6 fertilite oranı elde etmiştir.

RöBler ve ark.(47), 1:1 sulandırılmış ve 0.06, 0.08 ve 0.10 ml dozlarında sperma kullanarak yaptığı tohumlamalardan sırasıyla %93.2, %94.1 ve %92.3 fertilite elde etmişlerdir. Schramm (33), 7 gün ara ile 1:1, 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10, 1:20, 1:50 oranında sulandırılmış sperma ile yaptığı tohumlamalardan sırasıyla %98.8, %93.5, %96.8, %97.0, %90.1, %92.4, %81.2 ve %66.1 fertilite oranları elde etmiştir. Aynı miktarda sulandırılmış spermayı tohumlama öncesinde 4 saat saklayarak yaptığı tohumlamalardan ise sırasıyla %96.3, %89.9, %96.0, %93.5, %87.4, %85.1, %68.1 ve %37.4 fertilite oranı elde etmişlerdir. Sevinç ve ark.(39), tavuk başına 0.2 ml ve 100×10^6 spermatozoit dozu ile yaptıkları tohumlamalarda sütlü sulandırıcı ile sulandırılan spermalardan %56.12, Ringer sulandırıcısı ile sulandırılan spermadan ise %59.06 fertilite elde etmişlerdir. Sexton (41), çalışmasında, spermayı seminal plazma ile sulandırıp +5°C'de muhafaza ederek tohumlama yapmış ve %69 fertilite elde etmiştir. Aynı araştırmacı seminal plazma

ile sulandırıp +37°C'de muhafaza ettiği sperma ile yaptığı tohumlamalardan %53, inkübe edilmiş seminal plazma ile sulandırıp +5°C'de muhafaza ettiği sperma ile yaptığı tohumlamalardan %62 ve aynı spermayı +37°C'de muhafaza ederek yaptığı tohumlamalardan %21 oranında fertilite elde ederken, kontrol grubu olarak kullandığı B.P.S.E. (Beltsville Poultry Semen Extender) ile sulandırdığı sperma ile yaptığı tohumlamalardan ise %92 fertilite oranı sağlamıştır. Araştırmacı (41), çalışmalarında tavuk başına haftada 1 kez 100×10^6 spermatozoit dozunu kullanmıştır. Wambeke (48), taze spermayla yaptığı tohumlamalarda, tavuk başına $100-150 \times 10^6$ spermatozoitin verilmesinin yaygın bir yöntem olduğunu bildirmiş ve sürünün yaşlanması ile bu dozun iki katına çıkması gerektiğini savunmuştur.

Latorre ve arkadaşları (22), ampulde dondurulmuş sperma ile tek ve üst üste iki gün yaptığı tohumlamalarda tek tohumlama sonucunda %49 ve çift tohumlama sonucunda %71 fertilite elde etmiştir. Aynı araştırmacılar (22), payette dondurulmuş sperma ile yaptığı tek tohumlamada %45 ve çift tohumlamada %62 fertilite elde etmiştir. Dondurulmuş horoz spermasının en uygun kullanılma şartlarını tesbit etmek için çalışan Ohara ve arkadaşları (25), 0.025 ml, 0.05 ml, 0.1 ml ve 0.2 ml dondurulmuş sperma ile yaptığı tohumlamalardan sırasıyla %60.9, %90.4, %96.9 ve %94.6 fertilite elde etmişlerdir. Donmuş horoz spermasının fertilizasyon yeteneğini ölçtüğü çalışmasında Ohara ve arkadaşları (26), 0.05 ml sperma ve 2×10^8 spermatozoitle yaptıkları tohumlamadan ortalama %71.8 fertilite elde etmişlerdir.

3. Materyal ve Metod

3.1. Hayvan Materyali:

Çalışmada özel bir tavukçuluk işletmesinden temin edilen yumurtacı "İsa Brown" ırkı 12 horoz ve tohumlama çalışmaları için 40 adet tavuk kullanıldı. Horozlar, 50 x 50 cm'lik bireysel kafeslerde, tavuklar ise yumurtacı tavuk kafeslerinde barındırılarak hazır damızlık tavuk rasyonu ile beslendiler. Ayrıca kontrol grubu olarak aynı ırktan 10 adet tavuk ve 1 adet horoz serbest olarak bir arada barındırıldılar.

3.2. Spermanın Masaj Yöntemi ile Alınması:

Çalışma öncesinde 10 haftalıkken bireysel kafeslere alınan horozlar, masaj yöntemiyle sperma vermeye alıştırdılar.

Araştırma, spermatolojik ve tohumlama çalışmaları olmak üzere iki aşamada gerçekleştirildi. 20. haftadan itibaren horozlardan haftada 2 kez masaj yöntemi kullanılarak sperma alındı (Resim 1, 2, 3) ve spermatolojik çalışmalar yürütüldü (44).

Masaj yapılacak horoz, arka kısmı öne bakacak şekilde koltuk altında tesbit edildi ve kuyruğu sırtına doğru yatırıldı. Horozu tesbit eden elin baş ve işaret parmakları kloakanın her iki tarafına yerleştirildi. Diğer elin baş ve işaret parmakları ile abdomenin dorsal kesimine hızlı ve sürekli şekilde masaj uygulandı. Masaj sonucunda ereksiyona uğrayan papilladan daha önceden kloakanın her iki yanına yerleştirilen parmakların yardımıyla sperma sağıldı. Sağılan sperma bir yardımcı kişinin elindeki sperma toplama kadehine alındı.

Masaj sırasında spermaya gaita ve idrar bulaşmamasına özen gösterildi ve şüpheli durumdaki spermalar çalışmada kullanılmadı. Spermatolojik çalışmalar

sırasında herbir horozdan 24 kez sperma alındı. Horozlardan sperma tek bir dereceli toplama kadehine alındı (Pooling). Sonra sperma hacmi, mass aktivite, spermatozoit motilitesi, spermatozoit yoğunluğu, ölü-canlı ve morfolojik muayeneleri gibi spermatolojik özellikleri belirlendi.

3.3. Spermatolojik Özelliklerin Belirlenmesi:

3.3.1. Sperma hacmi: 12 horozun masaj yöntemiyle alınan ejakülatları özel dereceli sperma alma kadehinde toplandı ve sperma hacmi ml olarak belirlendi (Resim 4).

3.3.2. Mass aktivite: Taze spermadan bir damla lam üzerine alınarak lamel kapatılmaksızın binoküler ışık mikroskopunda incelendi (x10). Değerlendirme, bir artıdan dört artıya kadar (+, ++, +++, +++) kaynaşma hareketlerinin şiddetine göre yapıldı.

3.3.3. Spermatozoit Motilitesi: Elde edilen ejakülatlardan alınan küçük bir damla sperma, lam üzerinde serum fizyolojik ile sulandırılıp üzerine lamel kapatılarak ışık mikroskopunda (Resim 5) incelendi (x40). Değerlendirme, bir yönde güçlü hareketli spermatozoitlerin hareketsiz veya diğer hareket biçimi gösterenlere oranının en az beş değişik mikroskop sahasında belirlenmesiyle yapıldı.

3.3.4. Spermatozoit Yoğunluğu: Birim hacimdeki spermatozoit sayısı, Hemositometrik Yöntemle saptandı (29). Bu amaçla, ejakülatın eritrosit pipetine 0.5 çizgisine kadar sperma çekilip pipetin dış temizliği yapıldıktan sonra da 101 çizgisine kadar %3'lük NaCl solusyonu çekildi. Böylece sperma %3'lük NaCl solusyonuyla 200 misli sulandırılmış oldu. Thoma Lamı'nda sayımı ve hesaplanması yapılan spermanın, yoğunluğu ml'de milyar olarak belirlendi (29).

3.3.5. Ölü-Canlı Muayenesi: Spermadaki ölü spermatozoit oranının incelenmesi eosin-nigrosin boyama yöntemi ile yapıldı. Preperasyon için ilk önce, lam üzerine bir damla eosin ve bir damla spermatozoit damlatılarak birbiri ile karıştırıldıktan sonra, karışıma iki damla nigrosin eklenip sürme froti yapıldı. Froti hava akımında kısa sürede kurutuldu. Nigrosin fon boyası üzerinde eosin boyayı

alan kırmızı renkteki hücreler ölü, boya almamış renksiz görülen spermatozoitler canlı olarak değerlendirildi.

Hazırlanan frotiler x40 büyütmede 333 hücre sayılarak değerlendirildi. Sayılan toplam 333 hücredeki canlı spermatozoit sayısı 3 ile çarpılarak elde edilen miktar 10'a bölündü ve elde edilen sayı spermadaki % canlı spermatozoit oranı olarak kaydedildi (29).

3.3.6. Morfolojik Muayene: Spermadaki anormal spermatozoitlerin oranı da yine eosin-nigrosin boyama yöntemi ile hazırlanan aynı frotilerde saptandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu ile x100 büyütmede incelendi. Toplam 333 hücre sayılarak total morfolojik bozukluk gösteren spermatozoitler % olarak hesaplandı.

3.4. Spermanın Sulandırılması:

Genel spermatolojik kontrolleri yapılan sperma örnekleri iki kısma ayrılarak 1:5 oranında (22,30) iki ayrı sulandırıcı ile (Sulandırıcı A ve Sulandırıcı B) sulandırıldı. Kullanılan sulandırıcıların kimyasal bileşimleri şu şekilde idi.

3.4.1. Sulandırıcı A: %80 Sütlü sulandırıcı (90 kısım yağsız UHT* inek sütü + 10 kısım yumurta akı) + %20 fruktoz solusyonu (%5,w/v)

3.4.2.Sulandırıcı B: %80 sütlü sulandırıcı + %10 fruktoz solusyonu (%5,w/v) + %10 sodyum sülfat solusyonu (%2 w/v)

Sulandırıcıların her ikisine de antibiotik olarak 1000 I.U/ml kristalize penicillin ve 1000 mikrogram/ml oranında streptomisin sülfat katıldı (30).

Bu iki sulandırıcı ile sulandırılan sperma örnekleri +5°C'ye soğutularak buzdolabında saklandılar. Sperma örneklerine, ısı +5°C'ye düşürüldükten hemen sonra (0. saat), 6., 24., 48. ve 96. saatlerde motilite, ölü-canlı ve morfolojik kontroller tekrarlanarak sulandırmanın ve +5°C'de saklama süresinin spermatolojik özelliklere olan etkileri araştırıldı.

*.Ultra High Temperature teknolojisi kullanılarak sterilize ve homojenize edilmiş piyasada satışa sunulmuş %0.5 yağlı sütlerden yararlanıldı.

Laboratuar koşullarında gerçekleştirilen resistans testleri 24 kez tekrarlandıktan sonra spermatozoitleri daha iyi koruyabildiğine kanaat getirilen sulandırıcı B tohumlama çalışmaları için seçildi ve çalışmanın ikinci aşamasına geçildi. İkinci aşama için seçilen sulandırıcı B ile sulandırılan sperma +5°C'de saklanarak, saklamanın 6. ve 30.saatlerinde iki ayrı grup halinde tavukların tohumlanmalarında kullanıldı.

3.5. Tavukların Tohumlanması:

Tavukların tohumlanması araştırmacılar tarafından önerilen ve 1937 yılında Burrows ve Quinn'in ortaya koyduğu yöntemle yapıldı (10,25,48). Buna göre bir yardımcı tarafından tutulan tavuğun abdomenine diğer bir şahıs tarafından masaj yapılarak vajina eversiyonu sağlandıktan sonra (Resim 6), $200-300 \times 10^6$ spermatozoit içeren 0.2-0.3 ml hacimde sperma taşıyan mikropipet vajina içerisine 3 cm yönlendirilerek tohumlama gerçekleştirildi (Resim 7). Aynı bakım ve besleme koşullarındaki tavuklar, ayda 1 kez tohumlandı ve her tohumlamadan sonra 2. günden itibaren yumurtalar toplanıp fertilite oranları incelendi (10,22,25,39). Toplanan yumurtalardaki fertilite kontrolleri, yumurtaların kontrol grubu ile birlikte kuluçka makinesinde 10 gün inkübe edilip daha sonra kırılması ile gerçekleştirildi. Yumurtalardaki fertilite kontrolleri, embriyolu yumurtaların hiç görülmediği güne kadar devam ettirildi. Bu uygulamalar birer ay aralıklarla toplam 4 kez tekrarlandı ve fertilite sonuçları topluca değerlendirildi.

4. Bulgular

Çalışmanın bulguları spermatolojik özellikler ve tohumlama sonuçları olmak üzere iki grup altında toplandı.

4.1. Spermatolojik Özellikler:

Oniki horozdan toplanan 24 taze ejakulatin değerlendirilmesi sonucu elde edilen, hacim, mass aktivite, motilite, konsantrasyon, ölü-canlı ve morfolojik muayene bulguları Tablo 1'de verildi.

Başlıca spermatolojik özelliklerden olan "sperma hacmi", 12 horozdan alınıp pooling yapılarak elde edilen ejakulatların tümünde ortalama 3.29 ± 1.19 ml olarak bulundu (Tablo 1). Horoz başına sperma hacmi 0.27 ml olarak belirlendi.

Elde edilen toplam ejakulatlar arasında 5 ml'lik hacimle 3, 17, 18, 21 ve 23 nolu ejakulatlar en yüksek değere sahip olurken, 1 ml ile 11 nolu ejakulat en düşük hacimli ejakulat olarak belirlendi (Tablo 1).

Taze spermada mass aktivite değerlerinin ortalaması 3.29 ± 0.62 (+ değer olarak) + olarak bulundu. Ortalama mass aktivite değerlerinden, 2+ değerle 11 ve 22 nolu ejakulatlar en düşük olurken, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 15, 19 ve 20 nolu ejakulatlar 4+ değerle en yüksek mass aktiviteye sahip oldu (Tablo 1).

Sperma motilitesi toplanan ejakulatlar arasında ortalama $\%85.83 \pm 6.19$ olarak bulundu. 13 ve 14 nolu ejakulatların ortalama motilitesi $\%95$ ile en yüksek değere sahip olurken, 1 nolu ejakulat ortalama $\%70$ motilite ile en düşük motiliteli ejakulat olarak saptandı (Tablo 1).

Taze spermada spermatozoit yoğunluğu genel ortalaması $4.34 \pm 1.69 \times 10^9$ /ml bulundu. Ejakulat yoğunlukları arasında en yüksek değere 8.12×10^9 /ml ile

17 numaralı ejakulat sahip olurken, 6 numaralı ejakulat 1.94×10^9 /ml ile en düşük değerde belirlendi (Tablo 1).

Taze spermada elde edilen ortalama canlı spermatozoit miktarı $\%83.34 \pm 6.43$ olarak bulundu. 10 numaralı ejakulatin canlı spermatozoit ortalaması $\%97$ 'yle en yüksek değere sahip olurken, 6 numaralı ejakulatin canlı spermatozoit değeri $\%68.2$ ile en düşük değer olarak bulundu (Tablo 1, Resim 8).

Alınan spermalarda elde edilen anormal spermatozoit oranı ortalama $\%11.83 \pm 0.96$ olarak bulundu. Bu değer en yüksek $\%24$ ile 18 numaralı ejakulatta gözlenirken, en düşük $\%4$ ile 5 numaralı ejakulatta görüldü (Tablo 1, Resim 9, 10, 11, 12, 13).

4.1.1-Sulandırılmış Sperma ile İlgili Bulgular:

Çalışmada kullanılan Sulandırıcı A ile sulandırılan spermanın ısı $+5^\circ\text{C}$ 'ye düşürüldükten sonraki (0. saatte) motilite ortalaması $\%74.79 \pm 12.37$ olarak kaydedildi (Tablo 2).

Aynı spermanın, ısı $+5^\circ\text{C}$ 'ye düşürüldükten sonraki canlı spermatozoit ortalaması $\%81.91 \pm 6.31$ (Tablo 4) ve anormal spermatozoit ortalaması da $\%16.13 \pm 1.08$ olarak bulundu (Tablo 6).

Sulandırıcı A ile sulandırılıp $+5^\circ\text{C}$ 'de 6 saat muhafaza edilen spermanın motilite ortalaması $\%66.04 \pm 14.21$ (Tablo 2), canlı spermatozoit ortalaması $\%79.59 \pm 5.37$ (Tablo 4) ve anormal spermatozoit oranı $\%23.00 \pm 1.37$ oldu (Tablo 6). Aynı ısıda bulundurulan spermanın 24 saat saklandıktan sonraki motilite ortalaması $\%54.17 \pm 16.50$ (Tablo 2), canlı spermatozoit ortalaması $\%75.59 \pm 5.93$ (Tablo 4), anormal spermatozoit oranı $\%30.20 \pm 2.24$ (Tablo 6) olarak belirlendi. 48 saatlik bekleme süresi sonunda motilite ortalaması $\%29.92 \pm 18.67$ (Tablo 2), canlı spermatozoit oranı $\%72.14 \pm 6.67$ (Tablo 4) ve anormal spermatozoit oranı $\%41.74 \pm 3.31$ (Tablo 6) değerlerine düştü. Doksanaltıncı saat motilite ortalaması $\%11.38 \pm 15.38$ (Tablo 2), canlı spermatozoit oranı $\%61.31 \pm 16.40$ (Tablo 4) ve anormal spermatozoit oranı da $\%56.04 \pm 3.57$ (Tablo 6) olarak saptandı.

Sulandırıcı B ile sulandırılan spermanın ısı +5°C'ye düşürüldükten hemen sonra (0. saat) motilite ortalaması %80.83 ± 10.90 (Tablo 3), canlı spermatozoit ortalaması %81.73 ± 6.88 (Tablo 5) ve anormal spermatozoit ortalaması da %15.37 ± 0.94 (Tablo 7) olarak tespit edildi.

Sulandırıcı B ile sulandırılıp +5°C'de 6 saat muhafaza edilen spermanın motilite ortalaması %76.25 ± 10.34 (Tablo 3), canlı spermatozoit oranı %79.54 ± 5.57 (Tablo 5) ve anormal spermatozoit oranı %22.74 ± 1.23 (Tablo 7) olarak belirlendi.

Aynı ısıda bulundurulan spermanın 24 saatlik motilite ortalaması %63.96 ± 17.12 (Tablo 3), canlı spermatozoit oranı ortalaması %77.5 ± 6.01 (Tablo 5) ve anormal spermatozoit ortalaması %28.54 ± 1.26 (Tablo 7) olarak tespit edildi.

48 saatlik bekleme süresi sonunda motilite ortalaması %43.33 ± 20.78 (Tablo 3), canlı spermatozoit oranı %75.04 ± 5.15 (Tablo 5) ve anormal spermatozoit oranı ortalaması %39.58 ± 3.05 (Tablo 7) olarak bulundu.

Aynı sulandırıcınının 96 saat bekletilmesi sonucunda elde edilen motilite ortalaması %12.31 ± 11.74 (Tablo 3), canlı spermatozoit oranı %66.89 ± 9.82 (Tablo 5) ve anormal spermatozoit oranı da %49.90 ± 2.98 (Tablo 7) olarak saptandı.

4.2. Tohumlama Sonuçları:

Sulandırıcı B içeren sperma ile tohumlanan tavuklardan elde edilen yumurtaların fertilite oranları +5°C'deki 6 saat saklama grubunda 2. gün %48.57 ile en yüksek değere sahip olurken, en son fertil yumurtanın görüldüğü 17. günde fertilite oranı %2.17 oldu. 30 saat grubunda ise 2. günde %9.43 fertilite oranı elde edilirken, daha sonraki günlerde fertil yumurtaya rastlanmadı (Tablo 8).

Çalışmada kontrol grubu olarak 10 adet tavuk ve bir adet horoz serbest olarak barındırıldı ve doğal aşım sonucu elde edilen veriler sun'i tohumlama ile elde edilen fertilite oranları ile karşılaştırıldı (Tablo 8). Tablo 8'den anlaşılacağı üzere kontrol grubu yumurtalarındaki fertilite oranınının 2. gün %95.83 olduğu

belirlenirken, bu oran horoz ile tavuklar birbirinden ayrılmadığı için kontrol süresince %92.86 ile %100 arasında oldu.

Tablo 1. Taze spermada kaydedilen spermatolojik özellikler.

Ejakulat no	Hacim (ml)	Massaktivite	Motilite oranı (%)	Konsantrasyon ($\times 10^9$)	Canlı Spermatozoit Oranı (%)	Anormal Spermatozoit Oranı (%)
1	2.5	+++	70	3.88	85	10
2	3	++++	80	3.81	85	15
3	5	++++	90	4.15	90	10
4	4	++++	85	5.06	85	10
5	3	++++	80	5.08	83	4
6	3	++++	90	1.94	68.2	10
7	3	++++	80	2.69	80	10
8	2	+++	90	1.96	89	7
9	1.5	+++	80	3.10	83	10
10	2	+++	80	2.72	97	5
11	1	++	90	3.24	90	11
12	2	+++	80	3.58	81	10
13	2	+++	95	2.74	85	19
14	3	+++	95	5.39	84	14
15	3	++++	90	6.80	85	10
16	4	+++	90	6.70	85	11
17	5	+++	90	8.12	84	19.4
18	5	+++	90	7.40	75	24
19	3.5	++++	90	4.57	91	15
20	4	++++	80	3.20	83	13
21	5	+++	80	6.28	70	6
22	4	++	85	3.77	75	16.5
23	5	+++	90	4.20	85	14.5
24	3.5	+++	90	3.94	82	9.6
Ortalama	3.29 ± 1.19	3.29 ± 0.62	85.83 ± 6.19	4.34 ± 1.69	83.34 ± 6.43	11.83 ± 0.96

Tablo 2. Sulandırıcı A ile sulandırılan spermaların saklama sürelerine göre motilite değerleri.

Ejakulat no	Sulandırma Öncesi Motilite (%)	SULANDIRMA SONRASI + 5°C'DEKİ MOTİLİTE DEĞERLERİ				
		0. saat	6. saat	24. saat	48. saat	96. saat
1	70	50	40	35	30	10
2	80	50	40	30	30	15
3	90	60	60	50	30	10
4	85	80	70	60	50	10
5	80	80	80	60	30	15
6	90	80	70	60	40	0.1
7	80	60	50	50	40	0.1
8	90	70	50	40	20	10
9	80	50	40	40	40	10
10	80	80	70	50	50	40
11	90	80	80	80	80	70
12	80	80	75	70	50	5
13	95	90	80	70	25	15
14	95	80	50	10	10	10
15	90	70	70	70	0	0
16	90	80	70	70	5	5
17	90	85	70	60	5	0
18	90	70	60	40	20	0
19	90	85	65	40	5	1
20	80	80	80	60	48	20
21	80	80	70	60	40	15
22	85	75	75	75	20	1
23	90	90	85	50	20	1
24	90	90	85	70	30	10
Ortalama	85.83 ± 6.19	74.79 ± 12.37	66.04 ± 14.21	54.17 ± 16.50	29.92 ± 18.67	11.38 ± 15.38

Tablo 3. Sulandırıcı B ile sulandırılan spermaların saklama sürelerine göre motilite değerleri.

Ejakulat no	Sulandırma Öncesi Motilite (%)	SULANDIRMA SONRASI +5°C'DEKİ MOTİLİTE DEĞERLERİ				
		0. saat	6. saat	24. saat	48. saat	96. saat
1	70	70	70	70	65	15
2	80	80	80	60	30	30
3	90	70	70	70	60	20
4	85	80	80	80	65	20
5	80	80	80	70	70	20
6	90	80	80	75	60	5
7	80	70	60	50	40	0.5
8	90	90	65	50	20	5
9	80	40	40	30	40	10
10	80	80	80	60	60	10
11	90	80	80	70	60	50
12	80	80	80	75	50	30
13	95	90	85	85	75	3
14	95	90	70	5	5	5
15	90	85	70	70	70	1
16	90	90	80	70	10	10
17	90	90	80	70	20	10
18	90	80	80	70	20	1
19	90	90	85	75	30	10
20	80	80	80	60	40	5
21	80	80	80	60	50	5
22	85	85	80	70	30	5
23	90	90	90	60	20	5
24	90	90	85	80	50	20
Ortalama	85.83 ± 6.19	80.83 ± 10.90	76.25 ± 10.34	63.96 ± 17.12	43.33 ± 20.78	12.31 ± 11.74

Tablo 4. Sulandırıcı A ile sulandırılan spermaların saklama sürelerine göre canlı spermatozoit oranları.

Ejakulat no	Sulandırma Öncesi Canlı Spermatozoit Oranları (%)	SULANDIRMA SONRASI +5°C'DEKİ CANLI SPERMATOZOİT ORANLARI				
		0. saat	6. saat	24. saat	48. saat	96. saat
1	85	85	84.7	84.4	84.4	75.4
2	85	81.9	81.1	77.8	77	80
3	90	88.5	85	85	83	80
4	85	82.4	80.5	80	80	80
5	83	80	80	80	68	20
6	68.2	70	70	70	64	60
7	80	80	80	75	73	70
8	89	90	87	80	77	64
9	83	83	85	80	80	62
10	97	95	80	77	70	66
11	90	86	86	72	70	62
12	81	85	80	78	78	70
13	85	85	85	80	69	65
14	84	70	70	70	60	30
15	85	85	85	74	74	20
16	85	85	80	78	70	67
17	84	82	80	77	69	70
18	75	73	73	60	60	50
19	91	84	73	65	65	65
20	83	83	83	70	66	58
21	70	70	70	70	70	62
22	75	75	75	75	75	70
23	85	84	75	75	71	65
24	82	83	82	81	78	60
Ortalama	83.34 ± 6.43	81.91 ± 6.31	79.59 ± 5.37	75.59 ± 5.93	72.14 ± 6.67	61.31 ± 16.40

Tablo 5. Sulandırıcı B ile sulandırılan spermaların saklama sürelerine göre canlı spermatozoit oranları.

Ejakulat no	Sulandırma Öncesi Canlı Spermatozoit Oranları (%)	SULANDIRMA SONRASI +5°C'DEKİ CANLI SPERMATOZOİT DEĞERLERİ				
		0. saat	6. saat	24. saat	48. saat	96. saat
1	85	82.5	80	80	80	75.5
2	85	82	80	77	77	77
3	90	83	83	83	80	80
4	85	85	83	83	83	80
5	83	80	80	78	78	60
6	68.2	65	65	65	65	60
7	80	80	80	77	78	77
8	89	90	88	88	80	75
9	83	83	85	85	80	70
10	97	95	80	85	82	60
11	90	90	86	83	72	65
12	81	85	81	75	75	70
13	85	82	82	80	70	70
14	84	70	70	65	65	45
15	85	87	86	80	76	40
16	85	84	82	78	78	70
17	84	83	77	77	77	72
18	75	75	75	75	75	67
19	91	87	79	68	68	63
20	83	83	83	80	70	58
21	70	70	70	70	70	64
22	75	73	73	73	73	70
23	85	84	83	77	71	68
24	82	83	78	78	78	69
Ortalama	83.34 ± 6.43	81.73 ± 6.88	79.54 ± 5.57	77.5 ± 6.01	75.04 ± 5.15	66.89 ± 9.82

Tablo 6. Sulandırıcı A ile sulandırılan spermaların saklama sürelerine göre anormal spermatozoit oranları.

Ejakulat no	Sulandırma Öncesi Anormal Spermatozoit Oranları (%)	SULANDIRMA SONRASI +5°C'DEKİ ANORMAL SPERMATOZOİT ORANLARI				
		0. saat	6. saat	24. saat	48. saat	96. saat
1	10	13.5	16.5	16.9	22.4	23
2	15	16.1	12.4	14	14.5	35
3	10	10	15	15	23	34
4	10	14.6	15	15	15	39
5	4	15	20	24	35	50
6	10	10	24	25	35	53
7	10	13	15	30	45	60
8	7	17	20	40	46	42
9	10	20	18	35	40	55
10	5	5	15	17	25	50
11	11	15	20	29	43	54
12	10	15	27	27	43	41
13	19	30	38	37	41	48
14	14	15	25	35	40	60
15	10	17	23	27	31	90
16	11	16	25	32	83	90
17	19.4	19	25	60	60	75
18	24	27	30	31	60	70
19	15	20	26	50	70	80
20	13	15	20	35	50	57
21	6	14	35	40	47	60
22	16.5	20	30	33	45	52
23	14.5	20	27	27	38	47
24	9.6	10	30	30	50	80
Ortalama	11.83 ± 0.96	16.13 ± 1.08	23.00 ± 1.37	30.20 ± 2.24	41.74 ± 3.31	56.04 ± 3.57

Tablo 7. Sulandırıcı B ile sulandırılan spermaların saklama sürelerine göre anormal spermatozoit oranları.

Ejakulat no	Sulandırma Öncesi Anormal Spermatozoit Oranları(%)	SULANDIRMA SONRASI +5°C'DEKİ ANORMAL SPERMATOZOİT ORANLARI				
		0. saat	6. saat	24. saat	48. saat	96. saat
1	10	10	17.4	20	20	22.1
2	15	15	22.5	20	20	25.6
3	10	17	18	20	25	29
4	10	17	17	17	20	45
5	4	15	15	24	25	40
6	10	17	33	35	35	51
7	10	13	20	31	33	35
8	7	17	35	36	35	48
9	10	12	18	25	40	45
10	5	5	18	25	40	52
11	11	16	17	35	34	51
12	10	20	30	30	30	40
13	19	26	30	30	60	60
14	14	13	25	25	40	60
15	10	10	16	23	27	60
16	11	16	17	33	79	85
17	19.4	20	20	30	44	58
18	24	24	30	35	60	63
19	15	15	25	40	55	57
20	13	14	18	25	50	50
21	6	12	27	37	43	51
22	16.5	20	26	30	40	47
23	14.5	15	21	27	35	45
24	9.6	10	30	32	60	78
Ortalama	11.83 ± 0.96	15.37 ± 0.94	22.74 ± 1.23	28.54 ± 1.26	39.58 ± 3.05	49.90 ± 2.98

Tablo 8. Sulandırıcı B ile sulandırılıp +5°C'de bekletilen sperma ile 6. ve 30. saatlerde uygulanan tohumlamaların fertilité sonuçları.

Tohumlama sonrası	Kontrol Grubu			Deneme grupları					
				6 saat			30 saat		
	Yumur. sayısı	Fetil yumurta	Fertilité oranı	Yumur. sayısı	Fetil yumurta	Fertilité oranı	Yumur. sayısı	Fetil yumurta	Fertilité oranı
1. gün	Toplanan yumurtalar değerlendirmeye alınmadılar								
2. gün	24	23	95.83	35	17	48.57	53	5	9.43
3. gün	26	25	96.15	49	20	40.82	42	0	0
4. gün	21	21	100.0	40	18	45.00	41	0	0
5. gün	30	30	100.0	39	14	35.90	37	0	0
6. gün	25	25	100.0	44	12	26.09	45	0	0
7. gün	25	24	96.00	39	13	33.33	49	0	0
8. gün	25	24	96.00	42	8	19.05	45	0	0
9. gün	24	24	100.0	51	9	17.65	40	0	0
10.gün	18	17	94.44	47	9	19.15	49	0	0
11.gün	29	29	100.0	48	5	10.42	51	0	0
12.gün	25	25	100.0	49	3	6.12	49	0	0
13. gün	26	26	100.0	47	3	6.38	48	0	0
14. gün	24	24	100.0	45	3	6.67	49	0	0
15. gün	28	26	92.86	49	0	0	50	0	0
16. gün	26	26	100.0	41	1	2.44	51	0	0
17. gün	31	31	100.0	46	1	2.17	52	0	0
18. gün	24	24	100.0	44	0	0	41	0	0

5. Tartışma ve Sonuç:

Masaj yöntemi ile 12 horozdan alınan toplam 24 taze ejakulatın değerlendirilmesinde elde edilen, hacim, mass aktivite, motilite, ölü-canlı ve morfolojik muayene bulguları Tablo 1'de verildi. Başlıca spermatolojik özelliklerden olan "sperma hacmi", elde edilen toplam ejakulatların tümünde ortalama 3.29 ± 1.19 olarak bulundu. Bu ejakulatlardan en düşük miktar 11 numaralı ejakulatta 1ml, ve en yüksek miktar 3, 17, 18, 21, ve 23 numaralı ejakulatlarda 5ml olarak gözlemlendi. 3.29 ± 1.19 ml olan hacim genel ortalaması 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 numaralı ejakulatlardan düşük olurken, 3, 4, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 numaralı ejakulatlardan daha yüksek değer aldı (Tablo 1). Alınan spermallerdeki bu hacimsel farklılıklar, sperma alma anında bazı horozların sperma vermemesi ve bazen de spermaya dışkı karıştığı için alınan spermanın çalışma dışı tutulmasından kaynaklandı. Bunların yanında horozların bireysel sperma hacimleri 0.1 ile 0.8 ml arasında değişim gösterdi.

Taze spermaların mass aktivite değerlerinin ortalaması 3.29 ± 0.62 (+ değer olarak) artı olarak bulundu (Tablo 1). Ejakulatlar arasında en yüksek değere 4+ (++++) ile 2, 3, 4, 5, 6, 7, 15, 19, 20 numaralı ejakulatlar sahip olurken, 2+ (++) ile 11 ve 22 numaralı ejakulatların en düşük değere sahip olduğu gözlemlendi. Ortalama mass aktivite değeri 1, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 21, 22, 23, ve 24 numaralı ejakulatlardan yüksek bulunurken, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 19, 20, numaralı ejakulatlardan daha düşük olduğu belirlendi (Tablo 1).

Sperma motilitesi toplanan ejakulatlar arasında ortalama $\%85.83 \pm 6.19$ değerini aldı. Motilite açısından $\%95$ değerle 13. ve 14. ejakulatlar en yüksek değere sahip olurken, $\%70$ değerle 1 numaralı ejakulatın en düşük düzeyde olduğu belirlendi. 1, 2, 4, 5, 7, 9, 10, 12, 20, 21, 22, numaralı ejakulatların motilite değerleri, ortalama değerden düşük olurken, 3, 4, 6, 8, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 23, 24 numaralı ejakulatların motilite değerlerinin ortalama değerden yüksek olduğu gözlemlendi (Tablo 1).

Taze spermaların toplam ortalama canlı spermatozoit oranı 83.34 ± 6.43 oldu. 10 nolu ejakulat 97 canlı spermatozoit oranı ile en yüksek değere sahip olurken, 6 nolu ejakulat 68.2 ile en düşük değere sahip oldu. 5, 6, 7, 9, 12, 18, 20, 21, 22, 24 nolu ejakulatlar canlı spermatozoit oranı açısından ortalama değerinde kalırken, 1, 2, 3, 4, 8, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 19, 23 nolu ejakulatlar ise elde edilen ortalamadan daha yüksek değere sahip oldular (Tablo 1).

Spermatozoit yoğunluğu genel ortalaması $4.34 \pm 1.69 \times 10^9/\text{ml}$ olarak bulundu. $8.12 \times 10^9/\text{ml}$ ile 17 numaralı ejakulat en yoğun sperma olarak belirlenirken, 6 numaralı ejakulat $1.94 \times 10^9/\text{ml}$ ile en düşük değere sahip oldu. Ayrıca ortalama değer, 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 20, 22, 23, 24 numaralı ejakulatlardan daha yüksek, 4, 5, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21 numaralı ejakulatlardan daha düşük bulundu (Tablo 1).

Spermanın anormal spermatozoit oranı ortalama 11.83 ± 0.96 olarak bulundu. Bu oran, en yüksek 24 ile 18 numaralı ejakulatta gözlenirken, en düşük 4 ile 5 numaralı ejakulatta görüldü. Ortalama anormal spermatozoit değeri, 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 16, 21, 24 numaralı ejakulatlardan daha yüksek iken, 2, 13, 14, 17, 18, 19, 20, 22, 23 numaralı ejakulatlardan daha düşük oldu (Tablo 1).

Sulandırıcı A ile sulandırılan spermanın motilitesi ısı $+5^\circ\text{C}$ 'ye düşürüldükten hemen sonra 85.83 ± 6.19 'den 74.79 ± 12.37 'ye azalırken (0. saat), $+5^\circ\text{C}$ 'de 6 saat muhafaza sonucu 66.04 ± 14.21 'e, 24. saatte 54.17 ± 16.50 'e, 48. saatte 29.92 ± 18.67 'ye ve 96. saatte 11.38 ± 15.38 'e düştü (Tablo 2).

Sulandırıcı A ile elde edilen verilerin varyans analizi ile yapılan değerlendirmesinde, zamanla meydana gelen motilite düşüşünün istatistiksel incelemelerde önemli olduğu ($P < 0.001$) ve minimum önemli fark değerlendirmesinde 0. saat ile 6. saat ; 6. saat ile 24. saat arasında farkların önemsiz olduğu, 0-24; 0-48; 0-96; 6-48; 6-96; 24-48; 24-96; 48-96. saatler arasında şekillenen motilite düşüşlerinin istatistik açıdan önemli olduğu ($P < 0.05$) anlaşıldı.

Canlı spermatozoit oranı (0. saat) 83.34 ± 6.43 'den 81.91 ± 6.31 'e azalırken, sulandırılan spermanın $+5^{\circ}\text{C}$ 'de 6 saat muhafaza edilmesi sonucunda canlı spermatozoit oranı 79.59 ± 5.37 'ye, 24. saatte 75.59 ± 5.93 'e, 48. saatte 72.14 ± 6.67 'ye ve 96. saatte 61.31 ± 16.40 'a düştü (Tablo 4).

Geçen süreye bağlı olarak canlı spermatozoit oranlarında istatistiki açıdan oldukça önemli azalmaların meydana geldiği anlaşıldı ($P<0.001$). Minimum önemli fark incelenmesinde 0-6, 0-24, 6-24, 24-48 saatler arasındaki farkın önem taşımadığı, 0-48, 0-96, 6-48, 6-96, 24-96, 48-96. saatler arasındaki farkların ise önemli olduğu gözlemlendi ($P<0.05$).

Aynı sulandırıcı ile sulandırılan spermada anormal spermatozoit oranı 0. saatte 11.83 ± 0.96 'dan 16.13 ± 1.08 'e yükselirken spermanın $+5^{\circ}\text{C}$ 'de 6 saat muhafaza edilmesi sonucunda anormal spermatozoit oranı 23.00 ± 1.37 'ye, 24. saatte 30.20 ± 2.24 'e, 48. saatte 41.74 ± 3.31 'e ve 96. saatte 56.04 ± 3.57 'e yükseldi (Tablo 6).

Sulandırılan spermanın anormal spermatozoit oranlarında zamanla şekillenen değişiklikler, varyans analizinde önemli olarak değerlendirildi ($P<0.001$) Minimum önemli fark incelenmesinde 0-6, 6-24 saatler arasında anormal spermatozoit oranlarında önemsiz bir artış gözlenirken, diğer saatler arasında bu oranda önemli derecede artış olduğu gözlemlendi ($P<0.05$).

Sulandırıcı B ile sulandırılan spermanın motilitesi ısı $+5^{\circ}\text{C}$ 'ye düşürüldükten hemen sonra 85.83 ± 6.19 'dan 80.83 ± 10.90 'a azalırken (0. saat), spermanın $+5^{\circ}\text{C}$ 'de 6 saat muhafaza edilmesi sonucu 76.25 ± 10.34 'e, 24. saatte 63.96 ± 17.12 'ye, 48. saatte 43.33 ± 20.78 'e ve 96. saatte 12.31 ± 11.74 'e düştü (Tablo 3).

Sulandırıcı B ile sulandırılan spermalarda değişik zamanlarda elde edilen motilite verilerinin varyans analizi ile yapılan değerlendirmelerinde, motilitedeki düşüşün oldukça önem taşıdığı ($P<0.001$); minimum önemli fark değerlendirmelerinde ise 0-6, 6-24 saatler arasındaki farklar önemsiz bulunurken,

0-24, 0-48, 0-96, 6-48, 6-96, 24-48, 24-96. saatler arasında şekillenen motilite düşüşlerinin oldukça etkili olduğu ($P<0.05$) anlaşıldı.

Canlı spermatozoit oranı ortalaması $\%83.34 \pm 6.43$ 'den $\%81.73 \pm 6.88$ 'e azalırken (0. saat), $+5^{\circ}\text{C}$ 'de 6 saat muhafaza edilmesi sonucunda canlı spermatozoit oranı $\%79.54 \pm 5.57$ 'ye, 24. saatte $\%77.5 \pm 6.01$ 'e, 48. saatte $\%75.04 \pm 5.15$ 'e ve 96. saatte $\%66.89 \pm 9.82$ 'e düştü (Tablo 5).

Motilitede olduğu gibi Sulandırıcı B ile sulandırılan spermanın canlı spermatozoit oranlarında da zamanla meydana gelen azalmaların, varyans analizinde istatistiki açıdan önemli olduğu ($P<0.001$) anlaşıldı. Şekillenen bu azalmaların hangi zaman diliminde daha önemli olduğunu anlamak için yapılan minimum önemli fark incelenmesinde 0-6, 0-24, 6-24, 6-48, 24-48. saatler arasındaki farkın gözardı edilebileceği anlaşılırken, 0-48, 0-96, 6-96, 24-96, 48-96 saatler arasında oluşan düşüşlerin önemli olduğu görüldü ($P<0.05$).

Aynı sulandırıcı ile sulandırılan spermada anormal spermatozoit oranı $\%11.83 \pm 0.96$ 'dan $\%15.37 \pm 0.94$ 'e yükselirken (0. saat), $+5^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmesi sonucu 6. saatta $\%22.74 \pm 1.23$ 'e, 24. saatte $\%28.54 \pm 1.26$ 'ya, 48. saate $\%39.58 \pm 3.05$ 'e ve 96. saatte $\%49.90 \pm 2.98$ 'e yükseldi (Tablo 7).

Sulandırıcı B ile sulandırılan spermaların anormal spermatozoit oranlarında zamanla şekillenen yükselmeler dikkat çekecek kadar fazla olurken ($P<0.001$), minimum önemli fark incelenmesinde 0-6, 6-24 saatler arasında şekillenen anormal spermatozoit oranlarındaki artışın önemsiz, diğer saatler arasında şekillenen artışın istatistiki açıdan önemli olduğu belirlendi ($p<0.05$).

Taze spermadaki motilite $\%85.83 \pm 6.19$ iken, sulandırıcı A ile sulandırılan spermada bu oran ortalama $\%74.79 \pm 12.37$ 'ye düştü. Bu düşüş, yapılan t testi değerlendirmesinde istatistik açıdan önemli bulundu ($p<0.001$). İlerleyen zamanla birlikte $+5^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan sperma ile taze spermanın motilite değeri arasında şekillenen farkların, t testi değerlendirmesinde önemli olduğu ortaya çıktı ($p<0.001$).

Sulandırıcı B ile sulandırılan spermada sulandırma öncesi motilitesinin $\%85.83 \pm 6.19$ 'den $\%80.83 \pm 10.90$ 'a düştüğü ve bu düşüşün yapılan

değerlendirmede önemli olduğu görüldü ($p<0.05$). 6. saatte ortaya çıkan düşüşün çok daha fazla olduğu anlaşıldı ($p<0.001$). 24., 48. ve 96. saatlerde kaydedilen motilite değerlerindeki düşüşlerin de istatistik açıdan aynı derecede önemli olduğu belirlendi ($p<0.001$).

Sulandırıcı A ve B ile sulandırılan spermaların motilite değerlerindeki düşüşler aynı zaman dilimlerinde karşılaştırıldığında, sulandırıcı B lehine olan farkın önemsiz olduğu görüldü. 6. saatte kaydedilen değerler karşılaştırıldığında ise sulandırıcı B'nin daha iyi sonuç verdiği belirlendi ($p<0.01$). 24., 48. ve 96. saatlerde sulandırıcı B, sulandırıcı A'ya göre daha üstün motilite değerleri oluştururken, bunlardan 48. saatte meydana gelen üstünlüğün önemli olduğu ($p<0.05$), 24. ve 96. saatlerdeki üstünlüklerin ise önemsiz olduğu belirlendi.

Canlı spermatozoit oranları açısından taze spermaya göre her iki sulandırıcıda da ortalama değerlerde düşüş olmasına karşın, ısı $+5^{\circ}\text{C}$ 'ye düşürüldükten sonra (0. saat) yapılan değerlendirmelerde bu düşüşün önemsiz olduğu ortaya çıktı. Her iki sulandırıcıda 6. saatte oluşan düşüş minimal düzeyde önemlilik gösterirken ($P<0.05$), sulandırıcı A'da 24. 48., ve 96. saatlerde bu farklar daha önemli dereceye ulaştı ($P<0.001$). Sulandırıcı A'ya göre sulandırıcı B'de ise 24. saatte daha az düşüşler gözlenirken ($P<0.005$), 48. ve 96. saatlerde bu sulandırıcıda da düşüşler en yüksek seviyede görüldü ($P<0.001$).

Her iki sulandırıcının aynı zaman dilimlerinde canlı spermatozoit oranları karşılaştırıldığında birbirine yakın değerler elde edildi. İstatistiki önem taşımamakla birlikte sulandırıcı B'de canlı spermatozoit oranları açısından 24., 48. ve 96. saatlerde daha yüksek oranlar elde edildi.

Her iki sulandırıcının spermatozoitlerin morfolojik yapıları üzerine etkileri karşılaştırıldığında, sulandırıcı A'da ısı $+5^{\circ}\text{C}$ 'ye düşürüldükten hemen sonra (0. saat) ($P<0.005$), 6., 24., 48. ve 96. saatlerde ($P<0.001$) anormal spermatozoit oranlarında önemli derecede artışlar şekillendi. Sulandırıcı B'de meydana gelen artış, 0. saatte sulandırıcı A'ya göre daha az gerçekleşirken ($P<0.05$), 6., 24., 48. ve 96. saatlerde sulandırıcı A'daki verilerde olduğu gibi aynı derecede önemlilik gösterdi ($P<0.001$).

Her iki sulandırıcının verileri aynı zaman dilimlerinde anormal spermatozoit oranları açısından karşılaştırıldığında ise tüm zamanlarda sulandırıcı B'nin sulandırıcı A'ya kısmen üstün olduğu fakat bu üstünlüğün istatistiki önem taşımadığı gözlemlendi.

Başlıca spermatolojik özelliklerden olan sperma hacmi, sunulan çalışmada horoz başına 0.27 ml olarak bulundu. Bu miktar, çalışmasında ortalama sperma hacmini 0.2-0.8 ml olarak bildiren Kozandağı (19)'nin bulgularına eşdeğer olurken, yaptıkları çalışmalar sonucunda ortalama sperma hacim değerlerini bildiren birçok araştırmacının sonuçlarından daha düşük olmuştur (24,28,31,36,37,39,40,41,43, 46,50).

Araştırmada elde edilen veriler, diğer araştırmacıların değerleri ile karşılaştırıldığında, taze spermada $\%85.83 \pm 6.19$ olan motilite oranı, kimi araştırmacıların (7, 31, 37, 39, 41) buldukları değerlerden daha yüksek olurken, Howarth (15)'nin MEM sulandırıcısı ile elde ettiği $\%91.2$ motilite değerinden düşük, bazı araştırmacıların (19, 30, 43) sonuçlarına ise benzer bulundu.

Sulandırıcı A ve B kullanılarak sulandırılan spermaların 6. saatte kaydedilen motilite değerleri, Howarth (15)'in üç değişik sulandırıcı kullanarak 6 saat sakladığı spermalarda bulunduğu $\%57.4$ ve $\%0.6$ motilite değerlerinden yüksek, $\%85.6$ motilite değerinden ise daha düşük bulundu.

Bu çalışmada denenen sulandırıcı A ve B'yi yaptıkları araştırmada kullanan Pradhan ve Tomar (30), sulandırıcı A ile 67.2'nci saatte en az $\%50$ motilite elde ederken, sunulan çalışmada 24. saatte motilite ortalaması $\%54.16 \pm 16.50$ oldu ve bu değer 48. saatte $\%29.92 \pm 3.78$ 'e düştü. Pradhan ve Tomar (30)'ın çalışmasında $\%50$ motilite değerini 72 saat koruyan sulandırıcı B, sunulan çalışmada 24. saatte $\%63.96 \pm 17.12$ motilite sağlarken, bu değer 48. saatte $\%43.33 \pm 20.78$ düzeyine düştü. Shukla ve Tomar (43), R3 adını verdikleri sulandırıcı ile 18 saat muhafaza ettikleri spermadan $\%62.7$ motilite elde ederlerken, S5 sulandırıcısı ile 18 saatte $\%51.3$ motilite elde etmişlerdir. Sunulan çalışmada ise Sulandırıcı B ile, 24. saatte sulandırıcı R3'den daha yüksek motilite sağlanırken ($\%63.96 \pm 17.12$), sulandırıcı A ile 24. saatte $\%54.17 \pm 16.50$ motilite oranı elde edilerek, S5 sulandırıcısından daha yüksek motilite sağlanmıştır.

Sunulan çalışmada spermatozoit yoğunluğu genel ortalaması $4.34 \pm 1.69 \times 10^9/\text{ml}$ olarak bulunmuştur. Bu oranın horoz spermasının ortalama konsantrasyonunu $2-5 \times 10^9/\text{ml}$ (29), $3.57-4.45 \times 10^9/\text{ml}$ (30) ve $4-8 \times 10^9/\text{ml}$ (48) olarak bildiren araştırmacıların değerleri ile benzer olduğu gözlemlendi. Elde edilen bu ortalama değer bazı araştırmacıların (7,19,26,31,36,37,39,43) değerlerinden yüksek olurken, bazılarınınkinden de (7,9,24) düşük bulundu.

Bu çalışmada anormal spermatozoit oranı taze spermada ortalama $\%11.63 \pm 0.96$ olarak saptandı. Bu değer, Beyaz Korniş horozlarında anormal spermatozoit oranını ortalama $\%11.82 \pm 0.74$ olarak bulan Ramamurthy ve ark. (31)'nin belirttiği değere benzer bulunurken, Maeda ve ark.(23)'nin NaCl ile glukoz sulandırıcısı için bildirdiği sırasıyla $\%3.4 \pm 2.5$ ve $\%3.9 \pm 2.3$ oranından, Pradhan ve Tomar (30)'ın bildirdiği $\%3.6-6.9$ 'dan, Sevinç ve ark.(37)'nin Leghorn ($\%5.44 \pm 0.73$) ve New Hampshire ($\%6.76 \pm 0.95$) horozlarında elde ettiği ve Shukla ve Tomar (43)'in bildirdiği $\%7.7$ anormal spermatozoit oranından daha yüksek bulundu.

Kullanılan iki sulandırıcının verileri değerlendirilip, istatistik hesaplamaları incelendiğinde, sulandırıcı B'nin sulandırıcı A'ya göre spermatolojik özellikleri daha iyi koruduğu, motilite verilerinin 6. saatte ($P < 0.01$) ve 48. saatte ($P < 0.05$) sulandırıcı B'de daha üstün olduğu ortaya çıktı. Bu nedenle tohumlama çalışması için spermaların sulandırılmasında sulandırıcı B kullanıldı.

Sulandırıcı B kullanılarak sulandırılan spermalar ile tohumlanan tavuklardan elde edilen yumurtaların fertilitite oranları 6 saat grubunda 2. gün $\%48.57$ ile en yüksek değere sahip olurken, en son fertil yumurtanın görüldüğü gün olan 17. günde $\%2.17$ 'e kadar düştü (Tablo 8). 30 saat grubunda ise 2. günde $\%9.43$ fertilitite oranı elde edilirken, daha sonraki günlerde fertil yumurtaya rastlanmadı (Tablo 8).

Sunulan çalışmada tohumlamaları yapmak için hacim olarak 0.2 ml sulandırılmış sperma kullanıldı. Bu tohumlama dozu bazı araştırmacıların kullandığı dozlarla eşit miktarda olurken (25, 39), araştırmalarında 0.1ml miktarında sperma kullanan diğer bazı araştırmacıların bildirdiği dozlardan daha yüksek tutuldu (4, 15, 19, 25, 26, 44, 46, 47).

Bu çalışmada ayda bir yapılan tohumlamalarda tavuk başına 0.2 ml içinde 200-300 x 10⁶ spermatozoit kullanıldı. Belirtilen bu miktar, birçok araştırmacının sun'i tohumlamada kullandıkları sperma dozu ile eşdeğer görülürken (6,9,26,29), bazı araştırmacıların çalışmalarında daha az sayıda spermatozoit içeren dozlarla tohumlama yaptıkları belirlendi (10, 16, 21, 39, 41, 48).

Sunulan çalışmada elde edilen 6 saat grubundaki 2. gün %48.57 ve 30 saat grubundaki 2. gün %9.43 fertilite verileri birçok araştırmacı (7,9,10,12,15,19,22,25,33,39,41,46,47) tarafından farklı sulandırıcılar kullanılarak, dondurulmuş veya taze sperma uygulanarak bildirilen fertilite oranlarından düşük olmuş, donmuş sperma ile tek tohumlama yapan Latore(22)'un elde ettiği %49 ve %45 fertilite sonuçlarına benzer bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan sulandırıcı B ile çalışan Pradhan ve Tomar(30)'ın 30 saatlik sperma ile gün aşırı 2 tohumlama yaparak elde ettikleri fertilite oranları %61 olurken, sunulan çalışmanın 30 saatlik grubunda tek bir tohumlamayla bu değerlerin çok altında fertilite oranı (%9.43) elde edildi.

Sunulan çalışmada tohumlamalardan elde edilen fertilite verilerinin, diğer araştırmaların sonuçlarından daha düşük olmasının muhtemel nedeni değişik çevre ve, laboratuvar koşullarına, kullanılan sulandırıcıların farklı oluşuna, teknikteki ve hayvanların ırklarındaki farklılıklara bağlanabilir. Ayrıca sunulan çalışmayla direkt benzerlik arz eden literatürlerde, tohumlamaların birden fazla yapıldığı görülmekte ve elde edilen fertilite oranlarının yüksekliği bu sebebe bağlanabilmektedir.

+5°C'de 6 saat saklanarak kullanılan spermalar ile 17. güne kadar fertil yumurta elde edilirken, 30 saat saklanan spermalarda ikinci günden sonra fertil yumurta elde edilemedi. Gruplar arasındaki farkın istatistikî hesaplamalarda oldukça önemli olduğu ortaya çıktı (P < 0.001).

Sunulan çalışmada sulandırılan spermanın 6 ve 30 saatlik saklama süreleri kıyaslandı ve 6 saatlik saklama sonucu yapılan sun'i tohumlamalardan ikinci gün %48.57 fertilite elde edildi. Sperma saklama müddeti ile birlikte

spermaların tüm spermatolojik özelliklerinin yanı sıra (motilite, canlılık, anormal spermatozoit oranı) fertilitesinde de belirgin azalma görüldü ($p < 0.05$).

Sonuç olarak sulandırılmış ve $+5^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmış spermanın spermatolojik özelliklerinde görülen düşüşlerin, diğer zamanlara oranla 0. saatte daha önemsiz miktarda gerçekleşmiş olması (Tablo 3, 5, 7) ve 6 saat süre ile saklanan spermayla yapılan tohumlamalardan 30 saatlik saklama süresine göre daha yüksek fertilitte elde edilmiş olması, çalışmada kullanılan sulandırıcı B'nin $+5^{\circ}\text{C}$ 'deki saklama süresinin biraz daha kısa tutulmasıyla taze sperma ile yapılacak tohumlamalarda bir alternatif olarak kullanılabileceği kanısına varıldı.



RESİMLER



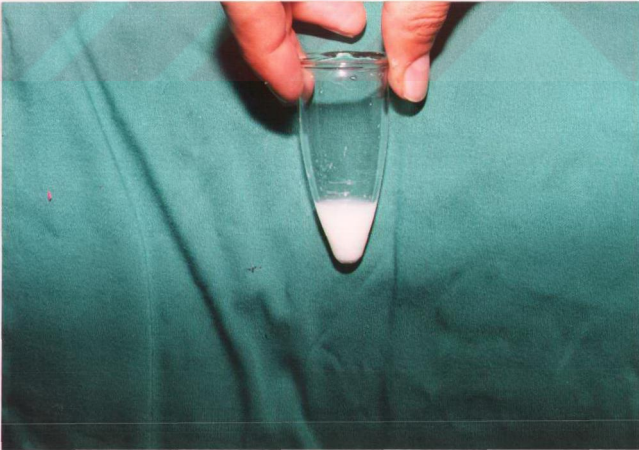
Resim 1. Horozlardan sperma alınırken abdomene yapılan masaj sırasında ellerin pozisyonu.



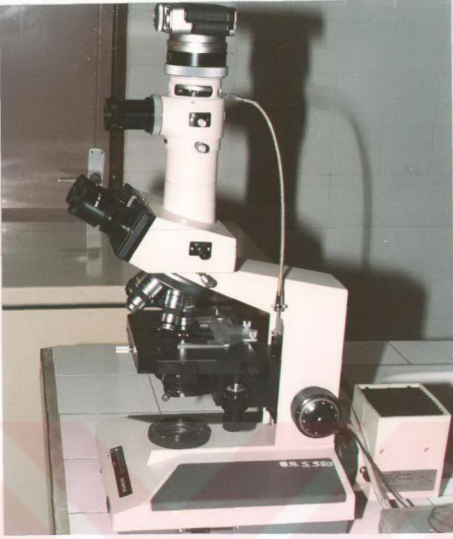
Resim 2. Masaj sonucu ereksiyona uğramış phallus.



Resim 3. Masajla erekte olmuş phallusdan spermanın sağılması.



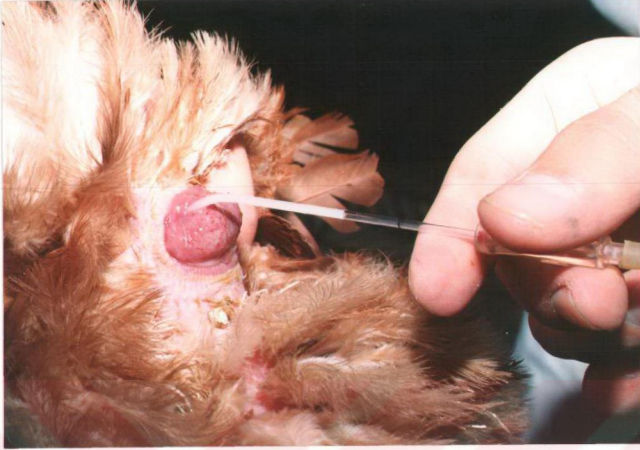
Resim 4. Horozlardan alınan spermaların bir arada toplanması (pooling).



Resim 5. Çalışmada kullanılan binokuler ışık mikroskobu.



Resim 6. Sun'i tohumlama yapılacak tavukda vagina eversiyonu

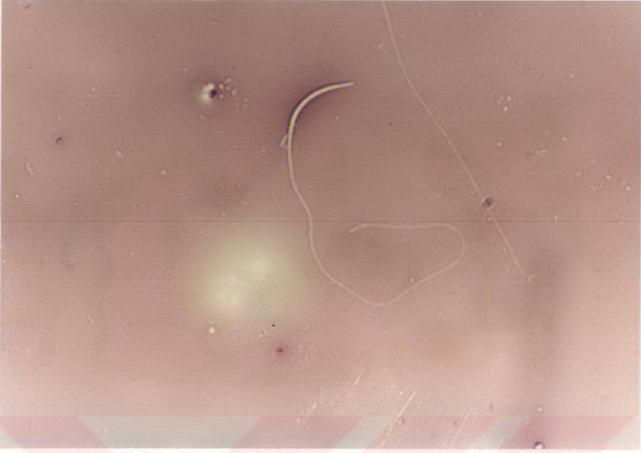


Resim 7. Eversiyon olmuş vaginaya tohumlama kateterinin uygulanışı.



Resim 8. Eosin-Nigrosin ile boyanmış frotide ölü ve canlı spermatozoitler (immersion objektif).

► Canlı spermatozoid; ➡ Ölü spermatozoid



Resim 9. Eosin-Nigrosin ile boyanmış frotide normal ve canlı bir spermatozoitin görünümü (immersiyon objektif).



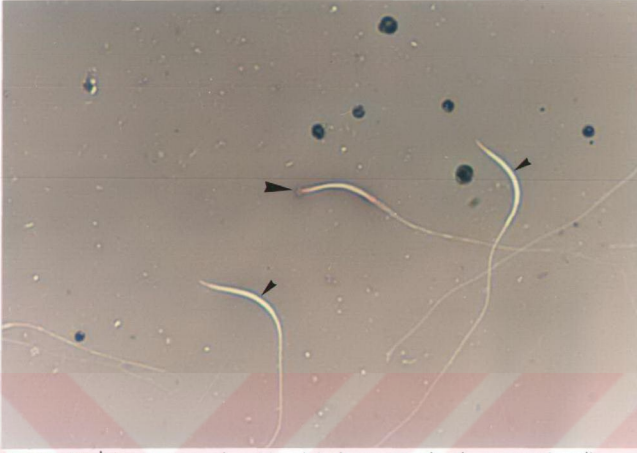
Resim 10. Eosin-Nigrosin ile boyanmış frotide normal ve ölü bir spermatozoitin görünümü (immersiyon objektif).



Resim 11. Baş bölgesinde şekillenmiş parçalanma (immersion objektif).



Resim 12. Baş bölgesi şişmiş bir spermatozot (immersion objektif).



Resim 13. İki adet normal ve bir adet akrozomu şişmiş spermatozoit
(immersiyon objektif)

▶ normal spermatozoit, ▶ akrozomda şişme.

LİTERATÜR LİSTESİ

1. Aalseth, E.P., Saacke, R.G. (1986): Vital staining and acrosomal evaluation of bovine sperm. *Gamete Research* 15:73-81
2. Ana Britanica Genel Kültür Ansiklopedisi (1993): Tavuk. Cilt 20, Shf.455. Ana Yayıncılık, İstanbul.
3. Ashizawa, K., Maeda, S., Okauchi, K. (1989): The mechanism of reversible immobilisation of fowl spermatozoa at body temperature. *J.Reproduction and Fertility*, 86, 271-276
4. Bahr, J.M., Bakst, M.R. (1987): Poultry. In: *Reproduction in Farm Animals*, Ed: E.S.E.Hafez, Chap.:18 p.379-398.
5. Bakst, M.R. (1990): *Research Note: Effects of agitation and temperature changes on turkey sperm viability after twenty-four hour storage.* *Poultry Science*, 71 :395-397.
6. Blesbois, E., Mauger, I. (1987): Effects of ovalbumin on the motility and fertilizing ability of fowl spermatozoa stored for 24hr at 4°C. *British Poultry Science*, 28:483-491.
7. Blesbois, E., Mauger, I. (1989): Einc content of fowl seminal plazma and its effects on spermatozoa after storage at 4°C. *British Poultry Science*, 39:677-685.
8. Blesbois, E., Hermier, D. (1990): Effects of high-density lipoproteins on storage at 4°C of fowl spermatozoa. *J.Reproduction and Fertility*, 90:473-482.
9. Blesbois, E., Raviers de, M. (1992): Effect of different fractions of seminal plasma on the fertilizing ability of fowl spermatozoa stored in vitro. *J.Reproduction and Fertility*, 95:263-268.

- 10.Bootwalla, S.M., Froman, D.P. (1988): Effect of extender viscosity on the insemination dose for chicken. *Poultry Science*, 67:1218-1221
- 11.Çalışlar, T. (1986): Evcil Hayvanların Anatomisi, II. at, tavuk diseksiyonu. I.Ü.Veteriner Fakültesi Yayınları, No:6. İstanbul.
- 12.Froman, D.P., Harold, N., Engel, J.R. (1989): Alteration of the spermatozoal glycocalyx and its effect on duration of fertility in the fowl (*Gallus Domesticus*). *Biology of Reproduction*, 40:615-621.
- 13.Guemene, G. Williams, J.B. (1992): In-vitro and in-vivo responses to chicken LHRH-1 and chicken LHRH-11 in male turkeys. *Journal of Endocrinology*, 132,387-393.
- 14.Hancock, J.L. (1952): A staining technique for the study of temperature-shock in semen. *Nature*, 167,323-324.
- 15.Howarth, B,J.R. (1983): Comparison of diluents for holding cock semen six hours at 41C. *Poultry Science*, 62:1084-1087.
- 16.Huyghebaert, G., Groote, G. (1983): The effect of diluent, storage temperature and number of spermatozoa on fertility and hatchability results obtained with turkey semen stored for 6 hours. *Arch.Geflügelk*, 47:103-109.
- 17.Ilgaz, B. (1989): Malya Tarım İşletmesinde yetiştirilen Amerikan Bronzu erkek hindilerin başlıca spermatolojik özellikleri ve suni tohumlama yöntemi ile elde edilen dölvürimi sonuçları. A.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakültesi, Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Bilim Dalı. ANKARA, (Doktora Tezi).
- 18.Joshi, J.D., Singh, H., Sidhu, N.S. (1989): Morphogenetic variations in guinea fowl spermatozoa. *Indian Journal of Science*, 24, 2:142-144.

- 19.Kozandağı, M. (1974): Tavuklarda sun'i ve tabii tohumlamanın dölleme (Fecondation) üzerine etkisi. L.Z.A.E. Derg. cilt: 14 (1-2): 23-33
- 20.Lake, P.E.(1971): The Male in Reproduction, In:Physiology and Biochemistry of The Domestic Fowl. ed: D.J.Bell; B.M.Freeman. Vol:3, Academic Press, London and New York.
- 21.Lake, P.E.(1984): Effect of aeration on the fertilizing ability of turkey semen stored for 48 hours at 5 and 15°C: a study from the 33rd to 47th week of age. *Reprod.Nutr.Develop.*: 24, 2:147-153.
- 22.Latorre, J.R., Harris, G.C.JR., Jhonson, Z.B. (1988): Research Note: influence of storage container for frozen-thawed chicken semen and frequency of insemination on fertility and its duration. *Poultry Science*, 67:333-335.
- 23.Maeda, T., Terada, T., Tsutsumi, Y. (1986): Studies of the factors causing abnormal acrosomes and crooked-necks in fowl spermatozoa during freezing and thawing. *British Poultry Science*, 27:695-702.
- 24.Mohan, J., Panda, J.N., Moudgal, R.P. (1991): Resistance of fowl spermatozoa to cold shock. *Indian Journal of Animal Sciences*, 61, 2:179-180.
- 25.Ohara, M., Ozeki, T., Tamura, C., Takahashi, T., Kusakari, N. (1990): Fertilization rates after single insemination of frozen semen from individual cock and the fertility of hen after repeated inseminations of frozen semen at 7-days intervals during 4 weeks. *Japanese Poultry Science*, 27, 6:398-402.
- 26.Ohara, M., Ozeki, T., Tamura, C., Takahashi, T., Kusakari, N.(1990): Effect of insmination dose and re-dilution on the fertility of fowl semen frozen in hiroshima diluent. *Japanese Poultry Science*, 27, 6:403-408.

- 27.Özkoca, A. (1960): Karacabey harası esmer ve Karacabey montofon boğaları ile Çifteler Harası boz ırk boğa spermaları üzerinde sun'i tohumlama tatbikatı yönünden değişik mevsimlerde yapılan araştırmalar. L.Z.A.E.Derg. 2:5-49.
- 28.Özkoca, A. (1984): Çiftlik Hayvanlarında reproduksiyon ve Suni Tohumlama, İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, No:4.
- 29.Pabuççuoğlu, S.(1994): Kanatlılarda reproduksiyon ve sun'i tohumlama. In: Reproduksiyon ve Suni Tohumlama, Ed: I.K.İleri, böl.F.; 242-251. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını, Ders Notu no:23 İSTANBUL
- 30.Pradhan, P.K., Tomar, N.S. (1987): Preservation of liquid poultry semen. Indian Veterinary Journal, 64:403-407.
- 31.Ramamurthy, N., Narahari, D., Kothandaraman, P., Sethumadhavan, V. (1989): Influence of age and body weight on the semen characteristics of white cornish sires. Indian Veterinary Journal, 66:584.
- 32.Sayın, T. (1982): Boğa, koç ve aygır spermatozoitlerinin morfoloji yönünden incelenmesinde değişik boyama yöntemlerinin karşılaştırılması. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Reproduksiyon ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı, İstanbul. (Doktora tezi)
- 33.Schramm, Von G.P. (1991): Effect of different dilution rates on the fertility of fowl semen. Animal Breeding Abstracts, Vol: 57, No: 7.
- 34.Schramm, Von G.P., Röbler, B. (1990): Spermaproduktion und Spermaqualität von Hähnen der Mastichtung bei unterschiedlicher Nutzungsintensität. Mh.Vet.-Med. 45:731-732.

- 35.Sekoni, V.O., Gustaffson, B.K., Mather, E.C. (1981): Influence of wet fixation staining techniques and storage time on bull sperm morphology. *Nordisk Veterinarmedicin*, 33 (4):161-166 Abst.
- 36.Sevinç, A.(1984): Dölerme ve Suni Tohumlama, Ankara Üniversitesi Veteriner fakültesi Yayınları: 397 ANKARA
- 37.Sevinç, A., Tekin, N., Muyan, M. (1983): Leghorn ve new hampshire horozlarında başlıca spermatolojik özellikler. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 30, 4:530-541.
- 38.Sevinç, A., Tekin, N., Muyan, M. (1983): Leghorn ve newhampshire horozlarında anormal spermatozoon tipleri. *L.Z.A.E.Derg.* cilt XXIII, Sayı 3-4: 123-135.
- 39.Sevinç, A., Tekin, N., Yurdaydın, N., Ekici, A., Eşcan, A. (1986): Süt ve ringer sulandırıcılarıyla sulandırılan ERBRO horoz spermalarının dövl verimi üzerinde araştırmalar. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 33, 2: 284-296.
- 40.Sexton, T.J. (1983): Maximizing the utilization of the male breeder. *Poultry Science*, 26: 1700-1710.
- 41.Sexton, T.J. (1988): Influence of seminal plasma on the fecundity of chicken spermatozoa. *Theriogenology*, 30, 4:711-720.
- 42.Sharp, P.J., Gow, C.B. (1983): Neuroendocrine control of reproduction in the cockerel. *Poultry Science*, 62:1671-1675.
- 43.Shukla, A.K., Tomar, N.S. (1987): Characteristics and preservation of poultry semen at 10°C. *Indian Veterinary Journal*, 64:689-692.

44. Smith, J.O. Robert, J.R., Jeffrey, F.P. (1960): Poultry. In: The Artificial Insemination of Farm Animals. Ed: Enos J. Perry, Chapter 11: 228-257. Rutgers University Press, New Brunswick, New Jersey.
45. Thomson, M.F., Wishart, G.J. (1991): Temperature-mediated regulation of calcium flux and motility in fowl spermatozoa. *Journal of Reproduction and Fertility*, 93:385-391.
46. Tsukunaga, S. (1985): Longdistance insemination with fowl semen by "Hiroshima Method". *Bulletin of the Hiroshima Agricultural Collage*, 7, 4:437-439.
47. Von Röbler, B., Schramm, G.P. (1991): Reproduktionsleistungen von Broilerelternieren bei Käfighaltung und künstlicher Besamung. *Mh.Vet.-Med.* 46:299-302.
48. Wambeke V. F. (1990): Semen preservation above 0°C in fowls. Control of Fertility in Domestic Birds, No.54: 173-183, July 2-4 Les Colloques de L'INRA, PARIS.
49. Wishart, G.J., Palmer, F.H. (1986): The effect of cryopreservation at -196°C on the viability of fowl and turkey spermatozoa assessed in vitro. *Animal Reproduction Science*, 10:317-324.
50. Xia, L., Lalli, M.F., Ansah, G.A., Buckland, R.B. (1988): Ultrastructure of fresh and frozen thawed spermatozoa of high and low fertility lines of chickens. *Poultry Science*, 67:819-825.
51. Yamane, J., Tsukunaga, S., Takahashi, T. (1966): "Hiroshima" method of artificial insemination of the domestic fowl. *Journal of Faculty of Fish and Animal Husbandary, Hiroshima University*, 6:395-429.

Ö z e t

Sunulan çalışmada, horoz spermasını +5°C'de uzun süre koruyabilecek sulandırıcıyı tespit etmek amacı güdüldü.

Çalışmanın deneme grubunda 12 horoz (Isa Brown) ve 40 adet tavuk, kontrol grubunda ise aynı ırktan bir horoz ve 10 tavuk kullanıldı. Horozlardan alınan ejakulatlar toplanıp spermatolojik testler uygulandıktan sonra, sperma 2 değişik sulandırıcı ile sulandırıldı ve +5°C'de 0., 6., 24., 48. ve 96. saatlerde spermatolojik testler tekrarlandı.

Taze spermada elde edilen spermatolojik ortalama değerler hacim 3.29 ± 1.19 cc, massaktivite $3.29 + 0.62$ (+ değer), motilite $\%85.83 + 6.19$, yoğunluk $4.34 \pm 1.69 \times 10^9$ /ml, canlı spermatozoit oranı $\%83.34 \pm 6.43$ ve anormal spermatozoit oranı $\%11.83 + 0.96$ olarak bulundu.

İki sulandırıcının karşılaştırılması sonucu yapılan değerlendirmelerde, sulandırıcı B'nin motilite, anormal spermatozoit ve canlı spermatozoit oranları açısından kullanılan çoğu zaman dilimlerinde, sulandırıcı A'ya göre daha üstün sonuçlar verdiği belirlendi ($P<0.05$). Sulandırıcı A ve B'nin spermatozoitlerin motilite, ölü-canlı ve anormal spermatozoit oranları üzerine etkileri karşılaştırıldığında, motilite açısından sulandırıcı B'nin 6., 24., 48. ve 96. saatlerde daha iyi sonuçlar verdiği ve 48. saatteki üstünlüğün önemli olduğu görüldü ($P<0.05$).

Canlı spermatozoit oranları açısından her iki sulandırıcıda ısı +5°C'ye düşürüldüğünde (0. saat) şekillenen düşüşler önemsizken, sulandırıcı A, 6. saatte önemli derecede ($P<0.05$) düşüş gösterdi ve bu farklar 24., 48. ve 96. saatlerde daha yüksek düzeye ulaştı ($P<0.001$).

Anormal spermatozoit oranları açısından ise sulandırıcı A'da 0. saatte ($P<0.005$) ve 6., 24., 48., ve 96. saatlerde ($P<0.001$) önemli oranlarda artışlar gözlenirken, sulandırıcı B'de meydana gelen yükselişlerin 0. saatte daha az

olduğu ($P < 0.05$) belirlendi. Böylece tohumlamalarda sulandırıcı B'nin kullanılmasına karar verildi.

Sulandırıcı B ile sulandırılan sperma ikiye ayrılarak bir kısmı $+5^{\circ}\text{C}$ 'de 6 saat, diğer kısmı da 30 saat bekletilerek tohumlamalar gerçekleştirildi. Tohumlamalar ayda bir kez olmak üzere dört kez tekrarlandı ve tavuklarda bir tohumlama ile kaç gün st üste fertil yumurta elde edilebileceği sorusuna yanıt arandı. Tohumlamalardan sonra 2. günden itibaren 18. güne kadar yumurtalar kuluçka makinasına alınarak fertilitte değerlendirilmesi yapıldı. Altı saat bekletilen sperma ile yapılan tohumlamalarda fertilitte oranları ilk dört gün sırasıyla %48.57, %40.82, %45, ve %35.90 olarak belirlendi. Dördüncü günden sonra düşüş göstererek onuncu günden sonra %10'un altına düştü ve en son 17. günde 2.17 oranında fertil yumurta elde edildi. 30 saat grubunda ise fertil yumurtaya sadece 2. gün %9.43 oranında rastlandı.

Gruplar arasındaki fertilitte farklılıklarının istatistiki hesaplamalarda oldukça önemli olduğu görüldü ($P < 0.001$).

Summary

The aim of this study was to find the extender which could keep the fowl semen longest at +5°C.

In the study, 12 cocks (Isa Brown) and 50 hens were used. Ejaculates from the cocks were pooled and spermatological tests were carried out. Same semens were extended with extender A and B and spermatological tests were repeated on 0., 6th, 24th, 48th and 96th hours at +5°C.

Average spermatological values were, volume 3.29 ± 1.19 cc, mass activity 3.29 ± 0.62 (+) motility $\%85.83 \pm 6.19$, concentration $4.34 \pm 1.69 \times 10^9/\text{cm}^3$, live spermatozoa $\%83.34 \pm 6.43$, abnormal spermatozoa $\%11.83 \pm 0.96$. Extender B was found superior to the other in motility, abnormal spermatozoa rate and live spermatozoa rate at most of the time periods.

Extender B was seen to have superior results of motility and this superiority was statistically important on the 48th hour ($P < 0.05$).

Live spermatozoa rates of extender B were also superior. Extender A caused a decrease on 6th hour in the level of ($P < 0.05$) and this decrease was more important on 24th, 48th and 96th hours ($P < 0.001$). Whilst extender B caused a lesser decrease on 24th hour ($P < 0.005$).

On 0th hour extender A caused a ($P < 0.005$) level decrease and this level increased to ($P < 0.001$) at 6., 24., 48. and 96th hours. Whilst extender B had better results on 0. hour ($P < 0.05$). For these reasons extender B was preferred for inseminations.

Semen, extended with extender B was divided into two and kept at +5°C. One half was used for inseminations at 6th hour and the other at 30th hour. Fertile eggs were gathered on the second day of inseminations until the 18th day and put into incubator.

The fertility rates from the second to fifth days of the semen kept for 6 hours were 48.57, 40.82, 45.00 and 35.90 respectively. This fertility rate was below 10% on 11th day. In the 30th hour group fertile egg was only seen on the second day at a rate of 9.43%.

Fertile eggs were obtained till 17th day after inseminations with the semen extended with extender B. There were no fertile eggs after the second day in the 30 hours kept semen group. The difference was very important statistically between the treatment groups ($P<0.001$).



Ö z g e ç m i Ő

1966 yılında K.K.T.C. LefkoŐa'da doğdum. İlk ve Orta Öğrenimimi LefkoŐada tamamladım. 1984 yılında I.Ü.Veteriner Fakóltesine girdim ve 1989 yılında mezun oldum.

1989 yılında I.Ü. Veteriner Fakóltesi Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı'nda doktora öğrencisi olarak göreve baŐladım. 1991 yılında Uzman Veteriner Hekim kadrosuna atandım.

Halen aynı Anabilim Dalında görevimi sürdürmekteyim.



T e Ő e k k ũ r

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Prof.Dr.l.Kamuran İLERİ'ye teőekkũrlerimi sunarım.

Doktora ōęrenimim boyunca tecrũbe ve bilgileri ile her zaman saygı duyduğum Sayın Prof.Dr.Adnan ÖZKOCA'ya, emeklerinden dolayı Sayın Yard.Doç.Dr.Kemal AK'a ve tũm Anabilim Dalı personeline teőekkũrlerimi sunmayı bir borç bilirim. Ayrıca çalışmanın her devresinde emeği bulunan Yard.Doç.Dr.Serhat PABUççUOğLU'na da Őũkranlarımı sunarım.

Çalışma materyalinin bakımı ve beslenmesinde her tũrlũ yardım ve bilgiyi esirgemeyen rahmetli Yard.Doç.Dr.Aysan Tantaş'ı rahmet ve saygı ile anarım.

Sonuç olarak, her tũrlũ fedakarlığı yaparak beni bu gũnlere eriştiren sevgili anneme ve eşim Sema'ya sonsuz sevgilerimi sunarım.