

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

**BOĞA SPERMASINDA VİTAMİN A VE BETA
KAROTEN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE BU
SPERMALARLA TOHURLANAN İNEKLERDEN
ELDE EDİLEN DÖLVERİMİ SONUÇLARI**

DOKTORA TEZİ

T 54873

Seyfettin GÜR

F.Ü.VETERİNER FAKÜLTESİ
DÖLERME VE SUNİ TOHURLAMA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr. Eşref DEMİRCİ

ELAZIĞ - 1996

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ	1
1.GİRİŞ	1
1.1. Vitamin A'nın Tanımı	1
1.1.1. Vitamin A'nın Emilmesi, Taşınması, Depolanması ve Atılması	1
1.1.2. Vitamin A'nın Fonksiyonları	3
1.1.2.1. Vitamin A'nın Üreme Üzerine Etkisi	3
1.2. Beta Karotenin Tanımı	4
1.2.1. Beta Karotenin Emilmesi, Taşınması ve Depolanması	4
1.3. Sperma ve Seminal Plasmanın Vitamin A Değerleri.	5
1.4. Vitamin A ve Beta Karotenin Spermatolojik Karakterler ve Dölvürümü Üzerine Etkisi.	7
2.MATERYAL ve METOT	20
2.1. Materyal	20
2.2. Metot	20
2.2.1. Boğaların Cinsel İsteklerinin Belirlenmesi.	21
2.2.2. Sun'i Vajenin Hazırlanması	21
2.2.3. Spermanın Alınması.	21
2.3. Spermanın Muayenesi	22
2.3.1. Spermanın Rengi ve Miktarı	22
2.3.2. Spermanın Mikroskopik Muayenesi.	22
2.3.2.1. Spermatozoid Motilitesi.	23
2.3.2.2. Spermatozoid Yoğunluğu.	23
2.3.2.3. Spermanın pH'sı.	23
2.3.2.4. Spermatozoidlerin Morfolojik Muayenesi.	23

2.4. Spermmanın Sulandırılması ve Dondurulması	24
2.4.1. Spermmanın Sulandırılması	24
2.4.2. Spermmanın Dondurulması	25
2.5. Dondurulmuş Spermmanın Tohumlamada Kullanılması	25
2.5.1. İneklerin Tohumlanması	26
2.6. Seminal Plasmada Vitamin A ve Beta Karoten Analizi	26
2.6.1. Vitamin A ve Beta Karoten Analizi için Seminal Plasma Örneklerinin Hazırlanması	26
2.6.2. High Performance Liquid Chromotography (HPLC)'de Vitamin A Analizi için Stok ve Çalışma Standartlarının Hazırlanması	27
2.6.2.1 Stok Standardının Hazırlanması	27
2.6.2.2. Çalışma Standartlarının Hazırlanması	28
2.6.3. High Performance Liquid Chromotography (HPLC)'de Beta Karoten Analizi için Stok ve Çalışma Standartlarının Hazırlanması	28
2.6.3.1. Stok Standardının Hazırlanması	28
2.6.3.2. Çalışma Standartlarının Hazırlanması	28
2.6.4. High Performance Liquid Chromotography (HPLC)'de Vitamin A ve Beta Karoten Analizi için Kullanılan Çözücülerin Hazırlanması	29
2.6.5. High Performance Liquid Chromotography (HPLC)'de Vitamin A ve Beta Karoten Düzeylerinin Okunması	29
2.7. İstatistik Analizler.	30
3.BULGULAR.	31
3.1. Spermatojolojik Özellikler	31

3.2. Boğaların Seminal Plasmada Bulunan Vitamin A Değerleri. . .	37
3.3. Boğalara Vitamin A Uygulanmadan Önce ve Sonra Seminal Plasmada Bulunan Vitamin A Değerlerini Gösterir Grafikler . .	40
3.4. Dölverimi Sonuçları	43
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	44
5. ÖZET	56
6. SUMMARY	59
7. KAYNAKLAR	62
8. ÖZGEÇMİŞ	68
9. TEŞEKKÜR	69



ÖNSÖZ

Ülkemizdeki hızlı nüfus artışına paralel olarak, hayvansal üretimin yeterli olmaması, insan beslenmesinin temelini teşkil eden hayvansal protein açığını giderek artırmaktadır. İnsanların dengeli bir şekilde beslenebilmeleri için besinlerle günde kg canlı ağırlık için 1 - 1.2 gr protein almaları ve alınan proteinin % 40-45'nin hayvansal protein olması gerekir (21). Yetişkin bir insanda günlük ortalama alınması gereken 35 gr hayvansal proteinin ülkemizde ancak 20 gr gibi düşük düzeyde olması, yıllık kişi başına düşen 120 adet yumurta, 170 litre süt, 25 kg et üretiminin artırılmasını zorunlu kılar (5). Bu ise hayvanların dölderimiyle ilgili genetik, biyolojik ve teknolojik birtakım bilgilerin edinilmesi ve hayvanların süratle sun'i tohumlama uygulamalarıyla ıslah edilip, normal fizyolojik sınırlar içerisinde maksimum sayıda yavru alınması ve bunun yanında hayvan başına düşen diğer ekonomik verimlerin artırılması ile sağlanabilir. Hayvanların dölderimi ve diğer ekonomik verimlerinin artırılabilmesi de hayvanların protein, vitamin ve mineral ihtiyaçlarını karşılayacak dengeli bir rasyonla beslenmelerine bağlıdır.

Vitaminler, hayvansal organizmanın fizyolojik fonksiyonlarını sürdürebilmesi için çok az miktarları bile gerekli olan, çoğu organizmada sentezlenemeyen ve dışardan alınması zorunlu olan biyo-katalizör maddelerdir (6). Hayvansal organizma vitaminlerin çoğunu sentezleyemediğinden, bu maddelerin büyük bir kısmını mutlaka dışardan almak zorundadır. Bu nedenle organizmanın normal fonksiyon yapabilmesi için bu maddelerin alınan besinlerde de belirli düzeylerde bulunması gerekmektedir. Organizmada oluşan anabolik ve katabolik olayları ve tüm metabolizmayı etkileyen ve bir kısmı enzimlerin aktif gruplarında yer alan, yoğunluğu ve yetersizliği fizyolojik fonksiyonların

yapılmasını durduran ya da önemli ölçüde azaltan bu maddelere karşı ilgi artmış ve geniş araştırmalara konu olmuştur.

Bu vitaminlerden A vitamini epitel dokuların gelişimini ve proliferasyonunu uyararak etkisini gösterir. Üreme organlarının tümü ve özellikle gonadların epitel dokudan oluşmuş bulunmasından dolayı, vitamin A'nın eksikliği gonadların fizyolojik fonksiyonlarını bozarak dölverimini aksatır. Hayvanların fizyolojik faaliyetleri özellikle görme ve üreme ile ilgili fonksiyonlarını sürdürmesinde, A vitamini vazgeçilmeyen bir unsurdur(4).

Yeşil yemlerin bol olduğu mevsimlerde bu vitaminlerin eksikliği pek sorun oluşturmamaktadır. Yurdumuzda çoğu yerlerde yeşil otlak ve meranın ömrü kısa sürdüğünden hayvanlar vitamin A ve Beta karoten ihtiyaçlarını karşılayacak vitamin depolamasını yeterli düzeyde yapamamaktadırlar. Bir sonraki yeşillik dönemine kadar, özellikle kuru yemlemenin uzun sürdüğü kış ve ilkbahar aylarında bu vitaminleri yeterli düzeyde alamamaları nedeniyle çoğunlukla karaciğerde depo ettikleri vitamin depolarıyla idare etmek zorundadırlar.

Yeterli miktarda vitamin A depo edememeleri durumunda hayvanlarda pika, hipovitaminosis A, septisemia-neanotorium, bronşitis gibi hastalıklara, dişi hayvanlarda yavru atma, erken doğum ve erkek hayvanların testis paranziminde bulunan tubuli seminiferi kontortilerin iç yüzünü astarlayan germinatif epitel hücrelerinde meydana gelen dejenerasyonlar ve yine vitamin eksikliğine bağlı olarak Hipofiz ön lobundan salgılanan gonadotropin hormonlarının salgılanmasını durdurmasından dolayı, indirek olarak testiküler dejenerasyon sonucu spermatogenesisde aksamalara yol açmaktadır. Spermatogenesisde meydana gelebilecek aksaklıklar sonucu damızlık olarak kullanılan boğaların dölveriminde, bu boğaların spermalarıyla tohumlanan ineklerin gebelik oranında dolayısıyla yavru veriminde de düşüşler gözlenmektedir (19). Bu da ekonomik olarak büyük zararlara sebep olmaktadır.

Bu çalışma, sun'i tohumlamada kullanılan damızlık boğaların, vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra alınan spermalarının seminal plasmasındaki vitamin A ve Beta karoten düzeylerinin ölçülmesi, vitamin A'nın spermatolojik özellikler üzerine etkisi ve bu spermalarla tohumlanan ineklerden elde edilen dölverimi sonuçlarını tesbit etmek amacıyla yapılmıştır.



1.GİRİŞ

1.1. Vitamin A'nın Tanımı

Vitamin A hayvansal dokularda bulunan, suda çözünemeyen fakat petrol, kloroform, aseton ve petrol eter gibi yağlı solusyonlarda kolayca eriyebilen bir vitamindir. Vitamin A'nın hayvansal kaynaklı retinol, retinoik asit ve retinal adı verilen bileşenleri vardır. Bunlar arasında vitamin A'nın tüm fonksiyonlarını yalnız alkol formdaki retinol yerine getirmektedir. Diğer yağda eriyen vitaminler gibi A vitamini de diyetle dışardan alındığında safra tuzlarının yardımıyla emülsiyon haline getirilerek ince barsaklardan emilir (32).

Vitamin A $C_{20}H_{30}O$ kapalı formülü ile bilinip molekül ağırlığı 286.46 dır. Saf olarak açık sarı renkte bulunur (31). Oksijen ve oksijen neşreden maddelere özellikle kobalt ve bakıra karşı duyarlı olup güneş ışığına ve yüksek ısıya karşı dayanıksız olduğundan kolayca yıkımlanabilir (7,31,33).

1.1.1. Vitamin A'nın Emilmesi, Taşınması, Depolanması ve Atılması

Hayvan vücudunda lipidlerin absorbe edildiği yer proximal jejunum mukozasıdır. Vitamin A'nın provitamini olan Beta karoten ve A vitamini yağlı solusyonlarda eriyebildiğinden emilmesi lipidlerle birlikte ince barsaklarda olurken, buna karşılık midede emilmesi oluşmaz. Beta karotenin ince barsaklardan emilmesi protein eksikliğinde azalır. Emilen Beta karoten çoğunlukla ince barsaklarda ve karaciğerde Vitamin A'ya dönüşür. Beta karotenin Vitamin A'ya dönüşümü iki enzim vasıtasıyla olur. Retinaldehyd'in iki molekül vererek merkezi iki bağ ile Beta karotenin ikiye bölünmesini katalize eden Beta karoten 15,15' dioxygenase enzimi ile, retinaldehyd'i retinol'a indirgeyen retinaldehyd reductase enzimidir (32,35,36). Çoğu omurgalı hayvan türlerinde Beta karotenin bölünmesini sağlayan Beta karoten 15,15' dioxygenase

enzimi bulunduğu halde kedi ve Amerikan vizonunda bu enzimin bulunmamasından dolayı bu hayvanlar beta karoteni A vitaminine çevirme yeteneğine sahip değillerdir (32,47).

Hayvansal kaynaklı besinlerde palmitat ester şeklinde bulunan vitamin A, hayvanlar tarafından alındığında pankreas tarafından salgılanan retinyl ester hidrolase enzimi tarafından ince barsaklarda hidrolize edilir. Lipid misellerinin düzenlenmesi ve bu enzimin faaliyeti için safra tuzları gereklidir. Emülsifiye edilen diyetle beslenmeyi ayarlayan lipidlerden vitamin A mikrovilluslara taşınır. Normal olarak vitamin A retinol şeklinde emilir. Mukosaya ait hücreler içerisindeki retinol, palmitate estere tekrar esterlenir. Mukosanın Chylomicra'sı içerisine katılır ve lenf içerisine salınır. Retinolun küçük miktarları ilk olarak retinae, daha sonra glucuronoid form olan retinoic acide oksitlenir. Lenf sistemi içerisinde düşük dansiteli bir lipoprotein ile vitamin A portal kana geçerek karaciğere taşınır. Başlıca Hepatocytlerdeki stellate ve paransimal hücrelerde esas olarak depo edilir (47).

Vücudun diğer kısımları tarafından vitamin A'ya ihtiyaç duyulduğunda karaciğerde depo edilen vitamin A harekete geçirilir. Vitamin A karaciğerde ester şeklinde depo edildiğinden dolaşım sistemine salıverilmeden önce hidrolize edilerek alkol formu olan retinola dönüştürülür. Retinol, karaciğer tarafından sentezlenip salgılanan 20.000 molekül ağırlığında, tek polipeptit zincirinden oluşan, özel taşıyıcı bir protein olan Retinol Binding Protein (RBP) tarafından hedef dokulara taşınır (18,32,42).

Vitamin A'nın karaciğerden mobilizasyonunu ve perifer dokulara dağılmasını, besinlerdeki vitamin A düzeyi belirler. Retinol eksikliği spesifik olarak Retinol Binding Proteinin sekresyonunu bloke eder. Şöyleki; plasma Retinol Binding Protein düzeyi düşer karaciğer de Retinol Binding Protein seviyesi yükselir. Hücresele Retinol Binding Protein ve hücresele Retinoic Acid Binding

protein olarak bilinen spesifik bağlayıcı proteinler vitamin A'nın hücre çekirdeğine girişine izin verir. Böylece dokularda da vitamin A tesbit edilebilir.

Vitamin A hayvansal ürünlerden yumurta sarısı, colostrum, süt, süt yağı gibi yiyeceklerde palmitat ester olarak bol miktarda bulunmakta olup vucuttaki vitamin A'nın % 90' ını karaciğerde, geri kalan kısmı göz, beyin, testis, ovaryum, uterus ayrıca böbrek, böbrek üstü bezi, akciğer, kan gibi diğer organ ve dokularda depo edilmektedir(42).

Retinol ve Retinoik acid gibi bazı vitamin A türevleri safra yoluyla barsak lumenine boşaltılarak barsak lumeni yoluyla, sütle, sperma ile vücuttan atılır (17,29,46).

1.1.2. Vitamin A'nın Fonksiyonları

Hayvanların daha fazla yaşamalarını, sağlıklı gelişip büyümelerini desteklemek için gerekli olan A vitamini, yeterli düzeyde alınamadığı takdirde hayvanlarda üreme, büyüme ve gelişmesinin duraklaması yanında vücudun önemli bazı fizyolojik fonksiyonlarında da aksaklıklar meydana gelmektedir (7,19,32).

1.1.2.1 Vitamin A'nın Üreme Üzerine Etkisi

Vücudun ve organlarının çoğunun üzerini koruyucu amaçla epitel hücreleri kaplamaktadır. Vitamin A epitel dokuların gelişmesini ve proliferasyonunu uyararak etkisini gösterir. Üreme faaliyetlerinin meydana geldiği genital organların tümü özellikle ovaryum ve testislerin epitel dokudan oluşmuş bulunması A vitamininin üremeyi neden etkileyebileceğini açıklamaktadır. Bu nedenle vitamin A'nın eksikliğinin derecesine bağlı olarak hayvanlarda infertilite ve sterilite olayları meydana gelmektedir. Bu durum dişi hayvanlarda repeat breeding, yavru atma, zayıf ve ölü doğum, retentio secundinarium, implantasyon

bozuklukları, plesantasyonun oluşmaması, östrus ve östrus siklusunda aksaklıklara rastlanırken, erkeklerde ise spermatogenesisin yavaşlaması veya durdurulması, Azoospermi, spermatozoidlerin dölleme güçlerinin düşmesi, sürekli normal aşım yapamamaları, testislerde dejenerasyon ve fonksiyonel bozukluklara neden olur (7,19,32,39, 41).

1.2. Beta Karoten'in Tanımı

Vitamin A'nın provitamini olarak en az 80 provitamin bilinmekle birlikte, en önemlileri; alfa, beta ve gama karotenler ve cryptoxanthindir. En aktif ve aynı zamanda doğada yeşil bitkilerde en yaygın bulunan beta karotendir. Beta karoten yeşil bitkilerin içerdiği karotenlerin % 90'ından fazlasını oluşturur. Saf beta karoten kırmızı renkte, eriyikleri ise sarımsı turuncu renktedir. Beta karoten de A vitamininde olduğu gibi, suda erimez organik çözücüler, yağ ve yağ eriyiklerinde erir. Yeşil yemlerdeki Beta karotenin, %60-80 ni güneş ışığı ve işleme esnasında yıkımlanır. Kış aylarında depo halinde iken meydana gelen kayıp da buna ilave edilirse, ilkbaharda depo halindeki kurutulmuş yeşil yemlerin içerdiği karoten miktarı oldukça düşüktür (31).

1.2.1. Beta Karoten'in Emilmesi, Taşınması ve Depolanması

Yeşil bitkilerde bol miktarda bulunan beta karoten ince barsaklarda emilir. Beta karotenin ince barsaklardan emilmesi protein eksikliğinde azalır. Alınan beta karoten sığırlarda 1/8 oranında, domuz ve koyunlarda 1/6 ve kanatlı hayvanlarda 1/2 oranında ince barsak ve karaciğerde A vitaminine dönüştürülür. Absorbe edilen beta karoten karaciğer ve yağ dokularında depo edilir (32). Diyetle yüksek düzeyde Beta karoten bulunduğu zaman kan plasması ve yağ sarı renkte olur (47).

1.3. Sperma ve Seminal Plasmanın vitamin A değerleri

Swarup ve ark. (46) boğa sperması ve dölverimi ile seminal plasmasının içerdiği çinko ve vitamin A düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmak amacıyla, iki boğa çiftliğinin her birinden ırk ve yaşları benzer olan, 2 dölverimi yüksek, 2 de dölverimi düşük olan boğadan sun'i vajen kullanılarak günde iki ejakulat sperma aldıklarını ve birinci ejakulatların spermatojik özellikler yönünden yetersiz olduklarını tesbit ederek attıklarını, ikinci ejakulatların ise bir kısmını tohumlamada kullanmak, bir kısmını da vitamin A ve çinko analizi için ayırdıklarını, vitamin A analizi için ayrılan spermayı 5 °C'de 8000 g'de santrifüj ederek seminal plasmasını ayırdıklarını, -25 °C'de bekletilen seminal plasmadan fluometrikal olarak A vitaminini analiz ettiklerini, dölverimi yüksek olan boğalarda toplam seminal plasmadaki A vitamini değerini 8.099 ng/ml, ortalama sperma miktarını 8.5 ml, 1-5'li skalaya göre spermatozoid motilitesini 4, spermatozoid yoğunluğunu 0.8 -1.75 milyar arasında ve canlı spermatozoid oranını % 70-80 bulurken, dölverimi düşük boğalarda toplam seminal plasmadaki A vitamini değerini 4.3 ng/ml, ortalama sperma miktarını 6 ml, 1-5'li skalaya göre spermatozoid motilitesini 2, spermatozoid yoğunluğunu 600-800 milyon arasında ve canlı spermatozoid oranını da %30-40 olarak bulmuşlar ve sonuçta spermatozoid motilitesi, spermatozoid yoğunluğu ve vitamin A düzeyi ile tohumlamadan 3 ay sonra geriye dönmeyenlerin oranını esas alarak tespit ettikleri dölverimi arasında yakın bir ilişkinin olduğunu vurgulamışlardır.

Virji ve ark. (49) insan spermasında vitamin A tesbit etmek amacıyla gönüllü insanlardan 3-7 günlük aralıklarla sperma alarak 20 dakika süreyle 1100 g de santrifüj etmek suretiyle seminal plasmayı ayırarak spermatozoitleri peletlediklerini, spermatozoid peletlerini tuzlu bir buffer solusyonu ile iki kez yıkayıp Yüksek Performanslı Liquid Kromatografisi (HPLC) ile vitamin A analizi

yaptıklarını, sonuç olarak elde ettikleri değerlerin diğer türlerden Örneğin; Ratlardaki düzeyden düşük bulunduğunu, boğa spermatozoidi ile yaklaşık aynı düzeyde ve ortalama 13 ng/ml olduğunu belirtmişlerdir.

Gambhir ve Ahluwalia (17), boğa sperminin bütününde, akrosomunda ve kuyruğunda ayrı ayrı vitamin A düzeylerini tesbit etmek amacıyla, aynı yaştaki 5 saf holştayn boğadan haftada bir kez, fakat her defasında 3 defa sperma aldıklarını, birinci ejakulattan elde edilen spermanın yetersiz olduğu için atıldığını, diğer ikisini birleştirerek bir kısmının yoğunluk tayini için bir kısmının da paketlenerek analiz için kuru buz içerisinde saklandıklarını, kuru buz içerisinde paketlenerek saklanan spermayı çözüp, 10 ml' sini 4 °C' de 4000 g'de 20 dakika santrifüj ederek seminal plasma ile spermatozoidleri birbirinden ayırdıklarını, spermatozoid içeren peletleri, oda ısısında % 09' luk 5 ml tuzlu su ile iki kez yıkamak suretiyle vitamin A analizi yaptıklarını, yapılan analiz sonucunda bütünlüğü bozulmamış 10^9 spermatozoidde 294 ng vitamin A, 10^9 spermatozoidin akrosomunda 200 ng vitamin A, 10^9 akrosomsuz spermatozoidde 80 ng vitamin A bulduklarını fakat spermatozoidlerin kuyruk kısmında vitamin A tesbit edemediklerini bildirmişlerdir.

Pivnyak ve ark. (38) siyah alaca Holştayn-FriAsian ve İsviçre Esmeri boğaları her grupta 11 boğa olmak üzere iki gruba ayırdıklarını, gruplardan birine 1 Mart ile 30 Haziran arası, günlük olarak 8-9 kg saman 2 kg ot, 2-4 kg konsantre yem, 0.3-0.4 kg ayçiçeği küspesi, 0.4 kg şeker ve 5 tavuk yumurtası karıştırılan temel bir rasyon verilirken, diğer grubun rasyonuna her bir hayvan için 500 mg mikrobiyal beta karoten karıştırarak yedirmişlerdir. Rasyonuna beta karoten ilave edilen boğaların spermalarındaki A vitamini düzeylerinde belli bir artışın olduğunu tespit etmişlerdir.

1.4. Vitamin A ve Beta Karotenin Spermatojik Karakterler ve Dölverimi Üzerine Etkisi

Kupfer ve ark. (26) sun'i tohumlamada kullanılan boğalara verilen beta karotenin önemini açıklamak amacıyla yaptıkları çalışmada, yaşları 9-14 aylık olan 16 deneme grubu boğayı, günlük olarak 690-710 mg beta karoten içeren bir rasyon ile, yine yaşları 9-14 aylık olan kontrol grubu 8 boğayı günlük 50-70 mg beta karoten içeren bir rasyonla besleyerek yaptıkları araştırmanın ilk üç ayında, deneme grubu boğalardan alınan spermaların miktarını ortalama 4.18 ml, spermatozoid yoğunluğunu 1079×10^6 /ml, spermatozoid motilitesini % 74.7, normal akrosomlu spermatozoid oranını % 89.8 ve anormal spermatozoid oranını %12.9 değerlerinde bulurken, yine araştırmanın ilk üç ayında kontrol grubu boğalardan alınan spermaların miktarını ortalama 4.42 ml, yoğunluğunu 982×10^6 /ml, spermatozoid motilitesini % 76.1, normal akrosomlu spermatozoid oranını % 90.3 ve anormal spermatozoid oranını da % 9.8 değerlerinde bulduklarını, dondurulmuş spermanın çözöldükten sonraki motilitesini ortalama olarak deneme grubu boğalarda % 61.2 , kontrol grubu boğalarda % 61.9 olarak tayin ettiklerini, çalışmada deneme grubu boğalardan çalışmanın ilk üç ayında sun'i tohumlama metodu ile tohumlanan 4934 inekten % 70.07 gebelik oranı elde ederken, kontrol grubu boğaların sperması ile tohumlanan 2524 inekten de % 72.84 gebelik oranı elde etmişlerdir.

Al-Hanak ve ark. (4) dondurma esnasında boğa spermatozoidlerinin bazı biyolojik özellikleri üzerine A vitaminin etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, 13 boğadan elde ettikleri 23 ejakulat spermayı üçe bölerek sulandırmak için kullandıklarını glucose-chelate'lı sperma sulandırıcısını da üç eşit kısma bölerek birinci kısmın ml'sine 500 IU, ikinci kısmın ml'sine 100 IU vitamin A ilave ettiklerini, üçüncü kısmı ise A vitaminsiz olarak aynı sulandırıcı ile sulandırdıklarını, dondurulup çözöldükten sonra spermatozoid motilitesini

sırasıyla ortalama % 41.2, % 38.9 ve % 36.5 olarak elde ettiklerini, buna karşılık 39 °C de 300 dakika beklettikten sonra bu değerlerin yine sırasıyla % 13.1, % 9.0 ve % 8.6 olduğunu bulmuşlardır.

Pivnyak ve ark. (37) boğa spermasının spermatolojik özellikleri üzerine mikrobiyal beta karotenin etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları araştırmada, spermatolojik özellikler yönünden fark bulunmayan iki grup siyah alaca Hoştayn boğasını 550 mg beta karoten içeren temel bir rasyon ile beslerken, gruplardan birisinin rasyonuna 500 mg mikrobiyal beta karoten ilave ettiklerini, bu beta karoten ilavesi ile spermatozoidlerin dölleme gücünün arttığını ve anormal spermatozoid oranında % 67'lik bir iyileşme olduğunu tespit etmişlerdir.

Golyarkin (16), sun'i tohumlamada kullanılan boğaların seksüel fonksiyonları üzerine vitamin A ve D'nin etkisini araştırmak üzere yaptığı çalışmada, rasyona vitamin A ilavesinin spermatolojik özellikler (spermatozoid yoğunluğu ve motilitesini, spermatozoidlerin resistansını) üzerine olumlu etki yaptığını bildirmektedir.

İdris ve Afiefy (20), Buffalo ve Friesian boğaların spermatozoid motiliteleri üzerine testesteron , vitamin A ve mevsimlerin etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, sağlıklı ve 7-8 yaşlarındaki 12 Buffalo ve 12 Friesian boğanın herbir ırktan olanını dört gruba bölerek haftalık birinci gruba 500.000 IU vitamin A, ikinci gruba 250 mg testesteron , üçüncü gruba vitamin A ile testesteronu birlikte verdiklerini ve dördüncüyü de kontrol grubu olarak kullandıklarını, bir yıl süreyle haftada iki defa olmak üzere bu boğalardan sperma aldıklarını, vitamin A verilen Buffalo ve Friesian boğalarında ortalama spermatozoid motilitesini sırasıyla; % 86.49 ve % 86.98, vitamin A ile testesteronun birlikte verildiği Buffalo ve Friesian boğalarında ortalama spermatozoid motilitelerini sırasıyla % 85.08, % 86.48 bulurken, kontrol grubu Buffalo ve Friesian boğalarında da ortalama spermatozoid motilitelerini sırasıyla

% 76.09 ve % 75.08 oranlarında bulduklarını, vitamin A ve Vitamin A + Testesteron uygulanan gruplar ile kontrol grubu boğaların spermatozoid motiliteleri arasında istatistiki olarak önemli ($p < 0.01$) düzeyde bir artış sağlandığını vurgulamışlardır.

Vomer (50), boğaların spermatojok özellikleri üzerine vitamin A'nın etkisini araştırmak amacıyla, dölverimi ve spermatojok özellikleri düşük 25 boğayı bu çalışmada kullandığını ve boğalara verilen kuru otu analiz ettiklerinde bu hayvanların mineral madde yönünden yeterli fakat vitamin A ve Beta karoten yönünden yetersiz olarak uzun zaman beslendiğini, bu boğalardan sun'i vajen yöntemiyle alınıp dondurulan spermanın, çözüldükten sonraki motilitesinin damızlık amacıyla kullanılamayacak düzeyde çok düşük olduğunu, bu eksikliğin belirlenmesini takiben, boğalara intra musküler olarak 4 milyon IU vitamin A enjekte edildiğini, enjeksiyondan sonra spermanın spermatojok özelliklerinde ve spermatozoidlerin dondurulmaya karşı dayanıklılıklarında hızlı bir gelişmenin sağlandığını gözlemiştir.

Stolbov ve Rimanova (44), dondurulduktan sonra çözülmüş boğa spermasının spermatojok özellikleri üzerine sulandırıcılardaki vitaminlerin etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, boğa spermasını dondurmadan önce yumurta sarısı-laktoz-glyserol sperma sulandırıcısına A ,C ve E vitaminlerinin ilave edilmesi, dondurulup çözüldükten sonraki spermatozoidlerin motilitesinin, vitaminsiz olarak aynı sulandırıcı ile sulandırılıp dondurulan spermanın spermatozoid motilitesiyle karşılaştırdıklarında, artış gösterdiğini ileri sürmektedirler.

Didkovskii (11), yaşları 2 aylıktan 15 aylığa kadar değişen siyah alaca erkek hayvanları yağlı süt ve yağlı süt yerine geçen çimen ve bakla samanı, konsantre yem, ayçiçeği küsbesi, yonca, çayır, kırmızı havuç ve NaCl eklenmiş bakla ve ot karışımından oluşan ve protein, kalsiyum, fosfor ve karoten

yönünden mükemmel bir rasyonu, üç gruba bölerek besledikleri hayvanların, birinci grubuna normal fizyolojik ihtiyaçlarını karşılayacak düzeyde, ikinci grubuna artırılarak, üçüncü grup hayvanlara da yüksek düzeyde vererek beslediklerini, 10-15 aylık yaşlardaki bu hayvanlardan sperma aldıklarında spermanın miktarını sırasıyla ortalama 1.27, 1.90 ve 2.30 ml, spermatozoid yoğunluğunu yine sırasıyla ortalama 0.62×10^9 /ml, 0.61×10^9 /ml ve 0.52×10^9 /ml olarak bulduklarını bildirmişlerdir.

Kupfer ve ark. (27) boğalarda beta karoten'in önemini araştırmak amacıyla, 16 boğaya yaklaşık olarak günlük 600 mg beta karoten içeren bir rasyonu 16 ay süreyle verdiklerini, kontrol grubu olarak kullanılan 6 boğayı ise beta karoten ilave edilmemiş bir rasyonla beslediklerini, bu sürenin sonunda her iki gruptaki boğalardan sperma alarak spermanın yoğunluğunu, dondurulmadan önce ve dondurulduktan sonraki motilitelerini, spermatozoidlerin morfolojik özelliklerini, sun'i tohumlama sonucu elde edilen gebelik oranlarını tespit ettiklerini, boğalar arasında spermatolojik özellikler ve elde edilen gebelik oranları yönünden gruplar arasında önemli bir farkın olmadığını ileri sürmektedirler.

Abilov ve ark. (1) sun'i tohumlama amacıyla kullanılan 164 boğanın kan serumlarında spermatozoidlere karşı antikor oluşup oluşmadığını belirlemek için spermatozoid aglutinasyon testi yapıldığını, 9, 8 ve 3 boğanın kanlarında sırasıyla 4, 8 ve 16 misli sulandırma ile spermatozoidlere karşı antikor oluştuğu için aglutinasyonun oluştuğunu, bu antikorların varlığının koç eritrositleriyle rosette testi kullanılarak tespit edildiğini, bir canlının kendi doku ve organlarının veya yapı unsurlarının aynı canlı için antijen özelliği göstermesi ve bu yapı unsurlarına karşı antikorların oluşması adı verilen autoimmunitynin spermatozoid motilitesinde herhangi bir azalmaya sebep olmazken, spermatozoid yoğunluğunda önemli derecede azalmaya neden olduğunu, bunu önlemek için

boğaların rasyonuna protein + vitamin A ilavelerinin yapıldığını ve yapılan bu ilavelerle boğaların gebe bırakma oranlarının % 71 den % 77.8 e yükseltildiğini müşahade etmişlerdir.

Afiefy ve ark. (2) 7-8 yaşlarında toplam 12 Buffalo ve Friesian boğasına haftalık olarak 500.000 I.U. vitamin A, 250 mg testesteron, ya da her ikisini birlikte enjekte ettiklerini ve bir grup boğayı da kontrol amacıyla kullandıklarını, boğalardan bir yıl süreyle haftada iki kez sperma aldıklarını, alınan spermanın uygulama gruplarında ırklara göre, sperma miktarı sırasıyla ortalama 3.96 ve 5.86 ml, kontrol grubunda da yine ırklara göre, sperma miktarı sırasıyla ortalama 3.79 ve 4.76 ml, deneme grubunda yer alan boğaların ortalama sperma miktarının kontrol grubundaki boğaların ortalama sperma miktarından önemli derecede daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Afiefy ve ark. (3) 7-8 yaşlarında 12 Buffalo ve Friesian boğasına bir süre için her hafta 5 x 10⁵ I.U. vitamin A, 250 mg testesteron, ya da 5 x 10⁵ I.U. vitamin A ile 250 mg testesteronu birlikte uyguladıklarını ve bir grup boğayı da kontrol grubu olarak ayırdıklarını, Buffalo boğalarının cinsel istekliliği için geçen süreleri sırasıyla ortalama; 74.42, 38.45, 49.16 ve 126.19 saniye tespit ederken, Friesian boğalarının cinsel istekliliği için geçen süreleri de sırasıyla ortalama; 64.78, 35.81, 56.43 ve 115.33 saniye bulduklarını, uygulama ve kontrol grubu boğalar arasında cinsel isteklilik yönünden gereken süreler arasında istatistiki olarak farkın önemli olduğunu vurgulamışlardır.

Fayez ve ark. (15) 9 hafta süreyle 2 Buffalo boğasından toplam 72 ejakulat sperma aldıklarını, ortalama sperma miktarını 3.6 ml, spermazoid motilitesini % 63.2, spermatozoid yoğunluğunu 0.93 x 10⁹ /ml, anormal spermatozoid oranını da % 15.3 düzeyinde bulduklarını belirtmişlerdir.

Lindley ve ark. (28) koçlarda vitamin A eksikliği üzerine Pregnant Mare Serum ve Testesteronun etkisini ve spermatolojik özellikler üzerine de vitamin A

eksikliğinin etkisini araştırmak amacıyla, 3-5 aylık yaşlarda 31 Hampshire, 2 melez (Hampshire x Columbia) ve 2 Columbia erkek kuzusunu bu çalışma için kullandıklarını, bu hayvanlar 7 eşit gruba bölünerek, karoten yönünden fakir olan % 25 buğday samanı, % 25 kurutulmuş pancar posası , % 15 buğday, % 17 yulaf ve % 18 yağlı keten tohumu içeren temel rasyonu bir grup hayvana, diğer gruplara ise bu temel rasyona ilave olarak vitamin A, testesteron, Pregnant Mare Serum, vitamin A ile B grubu vitaminleri verdiklerini, bu hayvanlardan sun'i vajen yardımıyla aldıkları spermaların miktarını, spermatozoid motilitesini (5 li skalaya göre), yoğunluğunu (Colorometer okuma metoduna göre) tayin ettiklerini, sadece temel rasyonla besledikleri, kontrol grubu da denilen hayvanlardan aldıkları spermanın miktarını ortalama 0.71 ml, spermatozoid yoğunluğunu 57.5, spermatozoid motilitesini 2.45 olarak tayin ederken temel rasyona ek olarak jelatin kapsüller içerisinde günlük 20.000 I.U. vitamin A vererek besledikleri hayvanlardan aldıkları spermanın miktarını ortalama 0.91 ml, spermatozoid yoğunluğunu 54.2, motilitesini 3.71 bulduklarını, gruplar arasında yapılan varyans analizi sonucu spermanın miktarı, spermatozoid yoğunluğu ve motilitesi yönünden gruplar arasındaki farkın önemli ($P < 0.1$) düzeyde olduğunu ve vitamin A eksikliğinde anormal spermatozoid oranının arttığını tesbit etmişlerdir.

Kozicki ve ark. (24) boğaların spermatolojik özellikleri üzerine vitamin A, D3, E ve C'nin yüksek seviyelerinin etkisini araştırmak amacıyla 10 zebu ve 10 avrupa orjinli (Holstein, Nelore, Chorołtais) boğaya günlük 4 kg konsantre yem ve ota ilave olarak 40.000 I.U./ml vitamin A, 4000 I.U./ml cholecalciferol ve 40 mg/ml vitamin E verdiklerini, deneme süresince her bir boğaya 50.000 I.U./ml vitamin A, 5000 I.U./ml cholecalciferol, 30 mg/ml vitamin E ve 100 mg/ml vitamin C den oluşan 15 ml karışımı ilave olarak ağızdan verdiklerini hayvanlardan deneme öncesi ve sonrası sun'i vajen yardımıyla haftada bir kez

sperma aldıklarını, vitamin ilavelerinin sperma miktarı, spermatozoid yoğunluğu ve motilitesi ve anormal spermatozoid oranı üzerinde olumlu bir etki meydana getirmediğini belirtmişlerdir.

Kozicki ve ark. (25) boğaların spermatolojik özellikleri üzerine vitaminlerin etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları araştırmada, yaşları 2-15 ay arasında değişen çeşitli ırklardan 20 boğayı rastgele iki gruba bölerek, boğalardan 12 hafta süreyle haftada bir kez sun'i vajen yardımıyla sperma aldıklarını, daha sonra deneme grubu hayvanlara 60 gün süreyle günlük olarak 750.000 I.U. vitamin A, 75000 I.U. vitamin D₃, 450 mg vitamin E ve 1,500 mg vitamin C'yi 15 ml lik bir çözelti şeklinde ağızdan verdikten sonra yine 12 hafta süreyle haftada bir kez sun'i vajen yardımıyla sperma aldıklarını, kontrol grubu hayvanlarda sperma miktarını ortalama 12.29 ml, spermatozoid yoğunluğunu ortalama $1192.5 \times 10^6/\text{ml}$, motilitesini ortalama % 68.05 bulurken, denemeye alınan hayvanlardaki sperma miktarını ortalama 12.42 ml, spermatozoid yoğunluğunu ortalama $1243.4 \times 10^6/\text{ml}$ ve motilitesini de ortalama % 64.40 olarak bulduklarını, vitamin uygulamaları sonucu sperma miktarı ve spermatozoid yoğunluğunda istatistiki olarak bir değişiklik görülmezken, spermatozoid motilitesi üzerine vitamin uygulamalarının negatif yönde bir etki oluşturduğunu ve anormal spermatozoidler üzerine nadir bir etkisinin olduğunu vurgulamışlardır.

Bratton ve ark. (8) karoten yönünden düşük rasyonla beslenen erişkin sütçü boğaların çiftleşme davranışları, spermatogenesis ve sperma üretimi üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla, 6 sütçü ırk boğayı vitamin A eksikliğinin klinik belirtilere yol açmayacak ve sperma üretiminde görülebilir bir bozulmaya neden olmayacak şekilde vitamin A ve beta karoten yönünden düşük rasyonla beslediklerinde, 40-120 günlük bir period içerisinde spermatozoid yoğunluğunda bir değişme olmazken, spermatozoid motilitesinde bir azalma, anormal

spermatozoid oranında bir artış, üç boğada aşım yeteneği yokken libidonun da azaldığı, beta karoten yönünden eksik rasyonla beslenen üç boğanın seminiferus tubullerinde tipik germinatif epitelyum dejenerasyonu görülürken, tubullerin lumeninde birkaç spermatogonia, spermatocyt, spermatid ve olgun spermatozoid bulunduğunu, karoten yönünden eksik rasyonla beslenen diğer üç boğanın rasyonuna yağlı solusyon içerisinde karotenin ilavesi ile, yağ içerisinde karoten verilmeyen boğalarda görülen ve sperma üretiminde sürekli değişikliklere sebep olan germinatif epitelyumun dejenerasyonunun önlendiğini bildirmektedirler.

Venci ve ark. (48) rasyona ilave edilen sentetik beta karotenin boğaların spermatolojik özellikleri üzerine etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada, araştırma materyali olarak 20 baş boğayı iki eşit kısma ayırarak yarısını deneme ve diğer yarısını da kontrol grubu olarak kullandıklarını, bu hayvanları çayır otu, pancar yaprağı, yulaf, arpa, buğday, kuru yonca, saman tuz ve 1/9 oranında mineral madde karışımı ile beslediklerini, deneme grubu boğalara üç aylık kış periodu için bu temel rasyona ilave olarak 200 mg sentetik beta karoten verdiklerini, deneme grubu boğalardan almış oldukları sperma miktarını ortalama 7.8 ml, spermatozoid motilitesini ortalama % 87.30, spermatozoid yoğunluğunu ortalama 1.44×10^9 /ml, ve anormal spermatozoid oranını ortalama % 15.52 bulurken, kontrol grubu boğalarda da sperma miktarını ortalama 5.80 ml, spermatozoid motilitesini ortalama % 87.26, spermatozoid yoğunluğunu ortalama 1.48×10^9 /ml ve anormal spermatozoid oranını da ortalama % 14.39 olarak tesbit ettiklerini, deneme ve kontrol grubundaki parametreler arasında ayrı ayrı yapılan varyans analizi sonuçlarına göre sperma miktarları arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunurken, spermatozoid motilitesi ve yoğunluğu ve anormal spermatozozoid oranları arasında istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığını hesaplamışlardır.

Jaczewski ve ark. (22) boğa spermasının spermatolojik özellikleri üzerine vitamin A'nın farklı dozlarının etkisini araştırmak amacıyla yürüttükleri çalışmada, Polanyanın 12 aylık siyah-beyaz alaca Lowland boğalarını iki gruba ayırarak birinci gruptakilere 4 gün aralıklarla 4 defa 1500.000 I.U. vitamin A enjekte ederken, ikinci grupta yer alan boğalara da yine 4 gün aralıklarla 4 defa 3000.000 I.U. vitamin A enjekte ettiklerini, her iki gruptaki boğalardan uygulamadan önce ve uygulamadan 51 ve 73 gün sonra sperma alarak muayene ettiklerini, birinci grup boğaların uygulama öncesi spermatozoid yoğunluğunu ortalama 0.8×10^9 /ml ve anormal spermatozoid oranını ortalama % 5.1 bulurken, uygulamadan 51 ve 73 gün sonra yapılan muayenelerde spermatozoid yoğunluğunu sırasıyla ortalama 1.22×10^9 /ml, 0.81×10^9 /ml ve anormal spermatozoid oranını da ortalama % 4.4 ve % 7.8 bulduklarını, ikinci grup boğaların uygulama öncesi spermatozoid yoğunluğunu ortalama 0.8×10^9 /ml ve anormal spermatozoid oranını ortalama % 9.6 bulurken, uygulamadan 51 ve 73 gün sonra spermatozoid yoğunluğunu sırasıyla ortalama 1.0×10^9 /ml ile 0.98×10^9 /ml ve anormal spermatozoid oranını da yine sırasıyla ortalama % 7.6 ve % 9.6 olarak tespit etmişlerdir.

Erdinç ve ark. (14) değişik düzeylerde vitamin A ve vitamin E içeren rasyonlarla beslenen koçların sperma verimi üzerine yaptıkları çalışmada, 2-2.5 yaşlarındaki 15 adet merinos koçunu 3 gruba bölerek bir grubu kontrol, diğer grupları deneme amacıyla kullandıklarını, kontrol grubuna arpa, şeker pancarı posası, ayçiçeği küspesi, melas, kemik unu, tuz ve mineral madde karması ile ilave olarak beher kilogramına 10 mgr vitamin E ve 8000 I.U. vitamin A , ikinci gruba temel rasyona ek olarak beher kilogramına 10 000 I.U. vitamin A, üçüncü gruba temel rasyona ek olarak kilogramına 12000 I.U. vitamin A kattıklarını, koçlarda yemlemenin başlamasıyla birlikte haftada bir kez olmak üzere sun'i vajenle kontrol ve deneme grubu koçlardan 10 ejakulat sperma alarak

incelediklerini, kontrol grubu koçlarda sperma miktarını ortalama 1.01 ml, spermanın pH'sını ortalama 7.0, spermatozoid yoğunluğunu ortalama $3,3 \times 10^9$ /ml, spermatozoid motilitesini ortalama % 81.30 ve anormal spermatozoid oranını ortalama % 15.98 bulurken, ikinci ve üçüncü gruplardaki koçlarda sırasıyla sperma miktarını ortalama 1.03 ve 0.97 ml, spermanın pH'sını ortalama 7.08 ile 7.14, spermatozoid yoğunluğunu ortalama $3,050 \times 10^9$ /ml ve $2,970 \times 10^9$ /ml, spermatozoid motilitesini ortalama % 69 ve % 67.90 ve anormal spermatozoid oranını da ortalama % 31.2 ve % 24.55 bulduklarını, yapılan istatistiki analizler sonucunda ise gruplar arasında önemli bir farkın bulunmadığını bildirmişlerdir.

Dutt (12), vitamin A yetersizliğinin koçların testisleri üzerine olan etkisini araştırmak amacıyla yaptığı çalışmada, toplam 12 koç kullandıklarını ve bu hayvanları ikiye bölerek yarısını deneme ve diğer yarısını da kontrol grubu olarak kullandıklarını, kontrol grubu olarak kullandıkları hayvanları kaliteli yeşil yemlerle beslerken, deneme grubu hayvanları vitamin A yönünden eksik bir rasyonla beslediklerini, deneme grubu hayvanlarda vitamin A eksikliğinin ilk klinik belirtisi gece körlüğü, korneada donukluk, koçların seksüel isteklerinde belirgin bir azalma olurken, histolojik olarak da seminiferus tubullerin çapında belirgin bir daralma, seminiferus tubulün iç yüzünü astarlayan germinatif epitel hücrelerinde belirgin dejeneratif değişiklikler ve semineferus tubullerinin hemen hemen tamamında yıkımlanma olduğunu, spermatogenezin tamamen durduğunu belirtmişlerdir.

Weiss (51), boğaların seksüel fonksiyonları üzerine beta karotenin etkisinin olup olmadığını araştırmak amacıyla yaptığı çalışmada, ortalama 290 kg ağırlığında 8 aylık 7 boğanın dördünü kontrol, üç tanesini de deneme grubu olarak kullandığını, başlangıçta boğaların tümünü spermatolojik özellikler yönünden aynı seviyeye getirmek için standart bir rasyonla (vitamin D, E ile

konsantre yem, saman ve günlük canlı ağırlık artışı için 0.3 mgr beta karoten ile 100 I.U. vitamin A) 12 hafta beslediklerini, daha sonra deneme grubu hayvanların rasyonlarına ilave olarak ayrıca 0.3 mgr beta karoten (120 I.U. vitamin A) kattıklarını, deneme sonucu gruplar arasında hayvanların seksüel fonksiyonlarında önemli bir fark bulunmadığı, deneme grubu hayvanların sperma miktarı ve spermatozoid yoğunluğunda bir artış meydana gelirken spermatozoid motilitesinde ise bir azalmanın olduğunu bildirmektedir.

Roussel ve ark. (40) boğaların kan bileşimi ile spermatolojik özellikleri üzerine yüksek seviyelerde rasyona eklenen vitamin A'nın etkisini araştırmak amacıyla, 8 ergin boğayı iki eşit gruba ayırarak incelediklerini, bu maksatla başlangıçta % 14 protein içeren yaklaşık % 30 yonca ve % 70 çayır otundan oluşan rasyonu tüm boğalara 13 hafta süreyle yedirdiklerini, kontrol grubu boğaları bu temel rasyonla beslemeye devam ederlerken, deneme grubu boğaların rasyonuna 45 000 I.U. vitamin A ilavesi yaptıklarını, 16 haftalık deney periyodu süresince haftada bir defa olmak üzere ve her defasında da iki ejakulat sperma aldıklarını, deneme ve kontrol grubu boğalardan alınan spermanın miktarını sırasıyla ortalama 5.9 ve 5.4 ml, spermatozoid motilitesini ortalama % 49.5 ve % 49.7, spermatozoid yoğunluğunu ortalama $1.010 \times 10^9/\text{ml}$ ile $963 \times 10^6/\text{ml}$, anormal spermatozoid oranını ortalama % 9.7 ve % 11.8 olarak tesbit ettiklerini, deneme grubundaki boğaların sperma miktarı ve spermatozoid yoğunluğunda önemli derecede artış kaydedilirken, anormal spermatozoid oranında da göze çarpan bir azalmanın olduğunu vurgulamışlardır.

Madsen ve ark. (30) etci ırk boğalarda spermatolojik özellikler ve seksüel aktivite üzerine vitamin A ve beta karoten yetersizliğinin etkilerini araştırmak amacıyla yaptıkları incelemede, yaşları 14 - 26.5 ay arasında değişen Heroford-Shorthorn melezi 6 genç boğayı 45-140 mcg saf karoten içeren yonca ile beslediklerini, üç boğaya verilen yonca miktarını azaltarak verirken, diğer üç

boğayı ise kontrol amacıyla ayırdıklarını, hayvanlardaki vitamin A eksikliğini kan plazmasında vitamin A ve beta karotenin spektrofotometrik metotla tayin edilerek belirlendiğini, 25 aylık bir dönem zarfında sun'i vajen yöntemiyle haftada veya iki haftada bir olmak üzere almış oldukları spermaların miktarını, spermatozoid motilitesini, spermatozoid yoğunluğunu, anormal spermatozoid oranlarını ve boğaların seksüel aktivitelerini tesbit ettiklerini, vitamin A eksikliğine bağlı olarak seksüel aktivitede ve spermatozoid motilitesinde bir azalma, germinativ epitel hücrelerinde dejenarasyon ve anormal spermatozoid oranında ilerleyen bir artış gözleendiğini fakat karoten yedirilen boğaların sperma üretimi ve seksüel aktivitesinin normal olduğunu bildirmişlerdir.

Munro (34), boğa spermasının spermatojok özellikleriyle dölverimi arasındaki ilişkiyi araştırmak için yaptığı çalışmada, iki aylık bir sürede sun'i tohumlama amacıyla kullanılan 6 boğanın herbirinden 8 ejakulat sperma aldığını, anormal spermatozoid oranlarını ve bu spermalar ile yapılan sun'i tohumlama sonucu elde edilen gebelik oranlarını tesbit ettiğini, gebelik oranlarını her bir boğa için tek tohumlama sonucuna göre 3 aylık bir süre sonunda geri dönmeyenlerin oranı dikkate alınarak sırasıyla ortalama % 58.9, % 57.0, % 59.0, % 65.6, % 63.9 ve % 64.8 oranında bulunduğunu, anormal spermatozoid oranlarının en az % 10.1, en fazla % 32 olduğunu, anormal spermatozoid oranında meydana gelen artışın gebelik oranını azalttığını tespit etmiştir.

Erb ve ark. (13) üreme kapasitesi ve dölverimi üzerine değişik miktarlarda verilen vitamin A'nın etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, materyal olarak kullandıkları 13 Holştayn, 4 Jersey ve 3 Guernsey boğasını, deneme süresince 45.3 kg beyaz buğday, 38.5 kg yulaf, 20.3 kg buğday kepeği, 13.6 kg keten tohumu küspesi, 20.4 kg soya fasülyesi küspesi, 679.5 gr iyotlu tuz, 679.5 gr kemik unu, 679.5 gr kireç tozu ve 226.5 gr ışınlanmış mayadan oluşan tane yem karışımı ve pancar posasından oluşan rasyon ile beslediklerini, iki aylık

deneme periodu için boğaları üç gruba ayırdıklarını, birinci gruptaki boğaların herbirinin rasyonuna ilave olarak günlük 2000 IU vitamin A verdiklerini, ikinci gruptaki boğaların herbirinin rasyonuna ek olarak 4000 I.U. ile 6000 I.U. vitamin A verdiklerini ve üçüncü grubu kontrol amacıyla ayırıp herbir boğaya 100 000 I.U. vitamin A verdiklerini, daha sonra sun'i vajen yöntemiyle, östrustaki inekleri kullanarak, her bir boğadan 20 ejakulat sperma aldıklarını, kontrol amacıyla kullandıkları boğaların spermatolojik özelliklerinin normal olduğunu, birinci gruptaki boğalarda tamamen körlük şekillenirken, ikinci gruptaki boğaların üç tanesinde tamamen körlük diğer boğalarda gece körlüğünün olduğunu, ayrıca boğaların seksüel olgunlaşmanın geciktiğini, seksüel aktivite ve spermatogenesisin zayıfladığını, hipofiz bezlerinde kist geliştiğini, vitamin A eksikliğinden etkilenerek boğaların dölveriminin ve üreme kapasitesinin ciddi olarak azaldığını belirtmişlerdir.

2.MATERYAL METOT

2.1 MATERYAL

Bu çalışmanın materyalini Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsünde sun'i tohumlama amacıyla yetiştirilen 3-4 yaşlarındaki 5 Holştayn boğa ile Elazığ merkezi ve çevre köylerinden temin edilen 200 Holştayn inek oluşturmuştur.

2.2 METOT

Boğalardan sun'i vajen yöntemiyle sabah 8-10 saatleri arasında haftada iki kez ve her defasında ardı ardına iki ejakulat olmak üzere toplam 5 hafta süreyle sperma alındı. Daha sonra bu boğalara on gün ara ile iki kez 4'er milyon I.U. vitamin A enjekte edildi. Vitamin A enjekte edildikten yaklaşık 35-40 gün sonra tekrar sun'i vajen yöntemi kullanılarak haftada iki kez ve yine her defasında ardı ardına iki ejakulat olmak üzere toplam 5 hafta süreyle sperma alındı. Boğalardan spermanın alınması 1994 yılı Nisan-Temmuz ayları arasında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada kullanılan herbir boğaya araştırma süresince günlük olarak 15-20 kg kuru yonca, 3-4 kg karma yem, ayrıca öğle üzeri hayvanların her birine 0.5 kg kuru üzüm verildi.

Alınan birinci ve ikinci ejakulat spermaların gerekli makroskopik ve mikroskopik muayeneleri yapıldıktan sonra ikinci ejakulat spermadan vitamin A ve beta karoten analizinde kullanılmak üzere yeterli miktarlarda ayrılarak derin dondurucuda saklanırken, kalan sperma sun'i tohumlamada kullanılmak üzere donduruldu.

Spermanın alınmasından yaklaşık 30 dakika önce, yeterli seksual prestimulasyonun sağlanması amacıyla boşalar spermata alma yerine getirilip boşalır. Spermata alınırken dikkatli bir şekilde boşaların cinsel istekleri ayrı ayrı izlenerek kaydedilir. Boşalardan spermata alınırken suni vajen sağ el ile penisin gireceği tarafa daha yakın yerden kaçırmak üzerine atılacak boşanın sağ

2.2.3. Spermata Alınması

ısıktan korunmak için keçe bir kılıf geçirilir. Spermata toplama kademin üzerine spermatozoitleri düşük ısı ve doldurulan sıcak su ve basınçla yeterli şekilde halde bir miktar hava üfleterek derinlikte vazelin sürülerek kayganlığı sağlanır. Suni vajenin basıncı ise içerisinde ayarlanır. Penisin gireceği ön kısmına bir cam bageç yardımıyla normal miktar ve silindirin bir ucunda bulunan delikten silindirin 2/3'ü sıcak su ile doldurularak amaç ile suni vajenin sıcaklığı, spermata alma esnasında 40 °C olacak şekilde suni vajen hazırlanırken canlı hayvanın vajinasının benzer özelliklerini taşımaması kademe gerçekleştirilir. Kaçuk bantlarla kısımlar sıkıca birbirine tutturuldu. Silindirin dış yüzüne geçirilir. Kaçuk huni ile suni vajen silindiri spermata toplama kaçırmak silindirin içine boru şeklinde ince kaçırmak astar geçirilerek her iki ucu su ile ovularak yıkamaya durulandıktan sonra etüvide kurutuldu. Ebonit yada sert suni vajeni hazırlamadan önce silindir dışında kalan kısımlar hafif sodalı

2.2.2. Suni Vajenin Hazırlanması

istekleri (libidoları) belirler. Davranışların gözlem altında tutulup, sürenin kaydedilmesiyle boşaların cinsel koklamalarından ejakulasyon oluşumuna kadar göstergeleri bir takım Erkek damızlıklarının aşım yapacakları hayvanların perineal bölgelemleri

2.2.1. Boşaların Cinsel İsteginin Belirlenmesi

tarafında sağı hizasında beklendi. Sun'i vajen sağı elle yaklaşık 45 derecelik bir meyille tutuldu. Boğayı boğanın üzerine atlatarak sperma alınırken boğanın penisi preputium vasıtasıyla yani çıplak el penise değmeden tutulup sun'i vajene yönlendirilerek sperma alındı. Alınan spermanın gerekli muayenelerinin yapılması için laboratuvara götürüldü. Sperma alınırken boğalar üçerli gruplar halinde tutuldu. Her boğadan haftada iki kez iki ejakulat alındı. Üçerli gruplar halinde tutulan boğalardan birinci, ikinci ve üçüncüsünden sperma alındıktan sonra tekrar birinciden başlanarak ikinci ejakulatlar alındı. Alınan birinci ve ikinci ejakülatın gerekli makroskopik ve mikroskopik muayeneleri yapıldıktan sonra ikinci ejakülatın kimyasal analizler için yeterli miktarlarda sperma ayrıldı, kalan spermanın sulandırma oranı hesaplanıp dondurma işlemine geçildi.

2.3. Spermanın Muayenesi

2.3.1. Spermanın Rengi ve Miktarı

Camdan yapılmış dereceli sperma toplama kadehi içerisinde çıplak gözle spermanın rengi muayene edildi. Spermanın miktarı ise sperma toplama kadehi üzerindeki ölçü çizgilerine göre okunup ml olarak kaydedildi.

2.3.2. Spermanın Mikroskopik Muayenesi

Spermanın mikroskopik muayenesi, ısıtma tablalı bioküerli mikroskop kullanılarak yapıldı. Muayeneden önce kullanılan lam, lamel ve pipetler iyice temizlenip etüvde sterilize edildi. Muayene esnasında kullanılan alet ve malzemenin vücut ısısında olmasına özen gösterildi.

2.3.2.1. Spermatozoid Motilitesi

Spermatozoid motilitesi yine ısıtma tablalı mikroskopla yapıldı. Mikroskop tablasına yerleştirilen lam üzerine sulandırılmış spermadan bir damla konularak onun da üzerine hava kabarcıklarının oluşmasını önlemek için 45 derece meyille bir lamel kapatıldı. Mikroskopun 40'lık objektifi ile spermatozoidlerin hareketleri özellikle ileriye doğru tek yönde ve hızlı hareket eden spermatozoidlerin 3 farklı mikroskop sahasındaki oran'ları göz kararı ile belirlendi. Ortalama spermatozoid motilitesi % olarak kaydedildi.

2.3.2.2 Spermatozoid Yoğunluğu

Spermanın yoğunluğu fotolometrik yöntemle tayin edildi (52). Bu yöntemin temeli sıvının veya sıvı içerisindeki partiküllerin yoğunluğuna bağlı olarak ışığı geçirmesi esasına dayanmaktadır.

Bu yöntemde göre 0.04 ml sperma alınıp % 0,7' lik serum fizyolojikle 0.25 ml'ye tamamlandı. Bu sulandırılan sperma quartz bir tüp içerisine konup alete yerleştirildi. Aletin göstergesinden, spermatozoid yoğunluğu okunarak kaydedildi.

2.3.2.3. Spermanın pH'sı

Spermanın pH'sı Beckman Zeromatic SS-3 Model pH-metre denilen aletle ölçüldü. pH-metre pH'sı bilinen alkali standart solusyonuyla ayarlandıktan sonra aletin elektrodunun sperma içerisine daldırılmasıyla spermanın pH'sı aletin göstergesinden okunarak kaydedildi.

2.3.2.4. Spermatozoidlerin Morfolojik Muayenesi

Anormal spermatozoidlerin çeşit, sayı ve oranlarını tespit etmek amacıyla boğalardan alınan her ejakülattan çini mürekkebi kullanılarak frotiler yapıldı.

Frotiller mikroskop altında 40'lık ve şüphelenen durumlarda immersion objektifi ile muayene edildi.

Bu maksatla bir deney tüpü içerisindeki 35 °C'de 1 ml % 3' lük Na-citrat solüsyonu içerisine bir damla sperma konularak karıştırıldı. Bu sulandırmaya mikroskop sahasında spermatozoidlerin tek tek görülebilmesini sağlamak için ihtiyaç duyuldu. Bu karışımdan alınan bir damla sperma bir iki damla çini mürekkebi ile bir lam üzerinde karıştırılarak ikinci bir lam yardımıyla sürme preparat yapıldı. Lam, pipet, sulandırıcı ve boya ısısının 30-35 °C de olması için gerekli özen gösterildi.

Hazırlanıp kurutulmuş olan frotiller mikroskop altında taranarak her frotiden 400 spermatozoid sayıldı. Bunların içerisinde bulunan anormal spermatozoidler çeşitlerine göre sınıflandırılarak sayılarına göre oranları hesaplandı.

2.4. Spermanın Sulandırılması ve Dondurulması

2.4.1. Spermanın Sulandırılması

Sperma sulandırıcısı olarak Fransız- LAIGLE firmasının hazırlamış olduğu 50 gr'lık poşetler içerisinde bulunan Laiciphos 488 kullanıldı. Bu 50 gr'lık toz halindeki sperma sulandırıcısı 40 °C'de 400 ml bidistle su içerisinde karıştırılarak çözüldü. Diğer taraftan 50 ml yumurta sarısı 50 °C'deki 100 ml bidistle su içerisine ilave edilerek karıştırıldı. Daha sonra yumurta sarısı içeren solüsyon Laiciphoslu solüsyon içerisine katılarak karışım sağlandı. Spermanın sulandırma oranının belirlenmesinde 0.25 ml'lik payetlerdeki her bir dozda 20.000.000 motil spermatozoid bulunması esas alındı. Sulandırıcının her mililitresine 1000 I.U. penicillin ve 1000 mg streptomycin ilave edildi. Bu sulandırıcı A ve B diye iki kısma ayrıldı. Sulandırıcı A'nın ısısı 34 °C'ye düşürülerek sperma ile karıştırıldı. Bu sulandırılmış spermanın ısısı 45-60

dakikada + 4 °C'ye düşürüldü. Toplam sulandırılmış sperma içerisinde % 7 oranında olacak şekilde gliserol ilave edilmiş ve ısı + 4 °C'ye düşürülmüş B sulandırıcısı, 4 eşit kısma bölünüp her bir kısım 10-15 dakika aralıklarla sulandırılmış sperma üzerine ilave edilerek gliserolizasyon işlemi tamamlandı. Ekilibrasyon sağlanması için 3 saat beklendi. Gliserolizasyonu ve Ekilibrasyonu tamamlanmış olan bu spermalar 0.25 ml'lik payetlere çekildikten hemen sonra dondurma işlemine geçildi.

2.4.2. Spermanın Dondurulması

Spermayı dondurmak için kullanılan 0.25 ml'lik payetlerin üzerine bilgisayarla spermanın üretildiği yer, tarih, boğanın adı ve ırkı yazıldıktan sonra gliserolizasyon ve ekilibrasyon işlemleri tamamlanmış olan sperma özel vakumlu makina ile payetlere dolduruldu. Payetlerin açık kalan diğer uç kısımları yine özel presleme makinası ile kapatıldı. Daha sonra payetler tek tabaka halinde oluklu payet dondurma rafları üzerine dizilerek bir kıskaçla tutturuldu. Bu raflar otomatik sperma dondurma cihazına yerleştirildi. Sıcaklığın 7 dakika içerisinde +4 °C den -140 °C'ye düşmesi sağlanacak şekilde cihaz ayarlanarak bu süre içerisinde spermanın dondurulması sağlandı. Payetler buradan alınıp gobletler içerisine, gobletler de Canisterlere yerleştirilerek sıvı azot içerisine (-196 °C) daldırılmak suretiyle tohumlamada kullanılıncaya kadar burada saklandı.

2.5. Dondurulmuş Spermanın Tohumlamada Kullanılması

Payetlerde dondurulup sıvı azot içerisnde - 196 °C'de saklanan spermanın +37 °C'ye ayarlı otomatik payet çözücüsü içerisinde 20 - 30 saniye bekletilerek çözülmesi sağlandı. Çözülen payetlerin uzun süre güneş ışığına maruz kalmaması için gerekli özen gösterildi. Su banyosu içerisinden alınan payetler kağıt peçete ile kurulandıktan sonra tohumlama yapmak için kullanılan pistoleye yerleştirildi,

Pistoleye yerleştirilen payetin ucu makasla kesildi. Üzerine pistole kılıfı geçirilerek tohumlamada kullanılmak üzere sperma hazırlanmış oldu.

2.5.1. İneklerin Tohumlanması

Tüm tohumlamalar rekto-vaginal yöntemle yapıldı. Tohumlanacak olan ineklerin kızgınlıkları hayvan sahibinden alınan bilgilerin yanında mutad kızgınlık belirtilerine dayanılarak yapıldı. Bu amaçla sağ el ile rektuma girildi. Genital organlar ve özellikle ovaryumlar üzerinde kızgınlık esnasında fizyolojik olarak oluşan Graaf follükülü ve fizyolojik veya patolojik bir başka oluşumun olup olmadığı muayene edildi. Hayvanın kızgınlığı kesin olarak teşhis edildikten sonra tohumlama kateterinin cervixin kanalından rahatça geçebilmesi için cervix yere paralel konumda tutuldu. Boşta kalan el vasıtasıyla pistole vulva dudakları arasından önce yere 45° lik bir açı yapacak şekilde, daha sonra yere paralel durumda itilerek cervixin orificium uteri externum'una yönlendirildi. Pistole sabit tutularak baş, işaret ve orta parmaklar arasında kavranan servix sağa-sola ve yukarı aşağı hafifce hareket ettirilerek pistolenin cervix kanalındaki kör keselere takılmadan ilerlemesi sağlandı. Cervix geçilir geçilmez sperma boşaltılarak tohumlama işlemi tamamlanmış oldu. Hayvanların gebelikleri ise tohumlamadan 2.5 ay sonra rektal muayene ile tespit edildi.

2.6. Seminal Plasmada Vitamin A ve Beta Karoten Analizi

2.6.1. Vitamin A ve Beta Karoten İçin Seminal Plasma Örneklerinin Hazırlanması

Boğalardan alınan sperma +4 °C'de Bechman'ın soğutmalı santrifüjü ile 1500 g'de 20 dakika santrifüj edildi. Tüpün üst kısmında toplanan seminal plasma bir pipet yardımıyla başka bir tüpe aktarıldı. High Performance Liquid

Chromatography 'de vitamin A ve beta karoten analizleri yapılincaya kadar bu seminal plasma örnekleri -20 °C'deki derin dondurucuda muhafaza edildi.

Elde edilen seminal plasma örneklerinden vitamin A analizi için çeker ocak içerisindeki bir tüpe 100 mikro litre seminal plasma kondu. Üzerine 100 mikro litre etil alkol ilave edildi. Ağız parafinle kapatılıp 15 saniye süre ile vortexlenerek iyice karıştırıldı. Bunun üzerine 200 µl n-Hexan ilave edildi. Ağız tekrar parafinle kapatılarak 45 saniye vortexlenip tekrar iyice karışması sağlandı. Sonra bu örnekler 1000 g de 15 dakika süreyle +4 °C de santrifüj edildi. Santrifüj sonucu toplanan hexan fazından 100 µl vitamin A analizi için tüplere alındı. Tüplerin ağızları parafinle iyice kapatıldı. Tüpler içerisinde bulunan hexan fazı, azot gazı altında buharlaştırılarak kurutuldu (9,10,23). Tüpün ağızı tekrar parafinle kapatılarak analize hazır bir şekilde buzdolabında saklandı.

Seminal plazma örneklerinden beta karotenin analizi için de 100 µl seminal plazma, 100 µl kloroform ve 200 µl hexan kullanılarak vitamin A için örneğin hazırlanmasında olduğu gibi hazırlandı.

2.6.2 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)'de Vitamin A Analizi için Stok ve Çalışma Standartlarının Hazırlanması

2.6.2.1 Stok Standardının Hazırlanması

Bunun için Merck'in, her bir gramında 2.8 milyon I.U. vitamin A içeren retinol standardından alüminyum kağıt üzerinde 0.01 gr hassas terazide tartılarak kahverengi bir şişeye aktarıldı. Çeker ocak içerisinde üzerine 5 ml etil alkol ilave edilerek eritildi. Böylece 2mg/ml lik stok standardı hazırlanmış oldu.

2.6.2.2 Çalışma Standartlarının Hazırlanması

1. 1000 ng/µl: Çeker ocak içerisinde 5 ml'lik stok solusyonundan 2.5 ml kahverengi bir şişeye alınıp üzerine 2.5 ml etil alkol ilave edildi ve iyice karıştırılarak homojenizasyonu sağlandı.

2. 100 ng/µl :Yine çeker ocak içerisinde birinci çalışma standardından 0.5 ml bir kahverengi şişeye alındı, üzerine 4.5 ml etil alkol ilave edilerek iyice karıştırıldı.

3. 10 ng/ µl : Bunun için ise çeker ocak içerisinde ikinci çalışma standardından 0.5 ml kahverengi bir şişeye alındı, üzerine yine 4.5 ml etil alkol ilave edildi ve iyice karıştırılıp homojenizasyonu sağlanarak hazırlandı.

4. 1 ng/µl : Bu çalışma standardı hazırlanırken çeker ocak içerisinde üçüncü çalışma standardından 0.5 ml bir kahverengi şişeye alınıp üzerine 4.5 ml etil alkol ilave edildi, iyice karıştırılarak homojenizasyonu sağlandı.

2.6.3 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)'de Beta Karoten Analizi için Stok ve Çalışma Standartlarının Hazırlanması

2.6.3.1 Stok Standardının Hazırlanması

Bunun için Merk firmasının 1 gr'lık K 15555836 No'lu beta karoten standardından 0.01 gr alüminyum kağıt üzerinde hassas terazide tartılarak kahverengi bir şişeye aktarıldı. Çeker ocak içerisinde üzerine 5 ml kloroform ilave edilerek eritildi. Böylece 2 mg/ml'lik stok standardı hazırlandı. Beta karotenin en iyi çözüldüğü sulandırıcı kloroform olduğu için standart kloroformla hazırlanmıştır.

2.6.3.2 Çalışma Standartlarının Hazırlanması

1. 1000 ng/µl : Çeker ocak içerisinde 5 ml'lik stok solusyonundan 2.5 ml

kahverengi bir şişeye alınıp üzerine 2.5 ml kloroform ilave edildi. İyice karıştırılarak homojenizasyonu sağlandı.

2. 100 ng/ μ l : Yine çeker ocak içerisinde birinci çalışma standardından 0.5 ml bir kahverengi şişeye alınıp üzerine 4.5 ml kloroform ilave edilerek iyice karıştırıldı.

3. 10 ng/ μ l : Bunun için ise çeker ocak içerisinde ikinci çalışma standardından 0.5 ml kahverengi bir şişeye alınıp, üzerine 4.5 ml kloroform ilave edildi ve iyice karıştırılarak hazırlandı.

4. 1 ng/ μ l : Bu çalışma standardı hazırlanırken de çeker ocak içerisinde üçüncü çalışma standardından 0.5 ml bir kahverengi şişeye alındı, üzerine 4.5 ml kloroform ilave edilip iyice karıştırılarak homojenizasyonu sağlandı.

2.6.4. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)'de Vitamin A ve Beta Karoten Analizi için Kullanılan Çözücülerin Hazırlanması

Beta karoten analizi için distile edilerek % 99 saflaştırılmış metanolden % 47, asetonitrilden % 42, kloroformdan % 11 oranlarında alınıp çeker ocak içerisinde magnetik karıştırıcı yardımıyla çözücü hazırlandı. Bu çözücü HPLC de kullanılmadan önce millipore denilen alet içerisinde süzülerek vakum altında zehirli gazlardan arıtıldı. Vitamin analizinde kullanılmak amacıyla yine distile edilmiş metanolden % 95 lik bir çözücü çeker ocakda hazırlandı. Bu çözücü de HPLC de kullanılmadan önce millipore içerisinde süzülerek vakum altında zehirli gazlardan arıtıldı.

2.6.5. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)'de Vitamin A ve Beta Karoten Düzeylerinin Okunması

Vitamin A ve Beta karoten analizleri çözücü dağıtım pompası Model 600A, Evrensel liquid chromatografi enjektörü Model U6K, Emici dedektör Model 441

ve pik kaydedicisi BBC Goerz-Metrawatt SE-120 kısımlarından oluşan Waters Associates firmasının HPLC cihazı ile yapıldı.

Beta karoten analizi için daha önce hazırlanan çözücü 2 ml/dakikalık bir akış hızı ile pompalandı. Örnek ve standart solusyonlar alete 50-70 mikrolitre arasında enjekte edildi. 436 nm filtreli dedektör tarafından absorbanı gözlendi. Pikler 1cm / dakikalık bir hızla kaydedildi. Beta karoten standartlarının verilmesi ile elde edilen pikler boğa seminal plasmasında bulunan beta karoten miktarını belirlemek amacıyla kullanıldı.

Boğa seminal plasmasında bulunan retinol analizinde ise % 95 lik metanol 2.5 ml/dakikalık bir akış hızı ile pompalandı. Retinolun absorbanı da 280 nm filtreli dedektörde izlendi. Pikler 1 cm/dakikalık bir hızla kaydedildi. Standart ve örnekler alete 50-70 mikrolitre arasında enjekte edildi. Retinol standardının pikleri, seminal plasmada bulunan vitamin A veya retinolu hesaplamak amacıyla kullanıldı. Seminal plasmada bulunan retinol pikleri ortalama 2 dakika içerisinde oluştu.

2.7. İstatistiki Analizler

Elde edilen bulguların istatistiki analizleri Sümbüllüoğunun (45) belirttiği esaslar göz önünde bulundurularak, gruplarda gebelik oranları arasındaki farkın önemi Ki Kare (X^2) testi ile diğer parametreler arasındaki farkın önemi t testi ile analiz edildi. Ayrıca Dölverimi ile spermatozoid motilitesi ve yoğunluğu, seminal plasmada bulunan vitamin A düzeyleri arasındaki korrelasyon testi Stat View 512+T. M. paket programı (43) ile Macintosh Classic bilgisayarda yapıldı.

3.BULGULAR

3.1. Spermatolojik Özellikler

Bu çalışmada vitamin A uygulanmadan önce ve sonra boğaların gösterdiği cinsel davranışlara bağlı olarak sperma alınıncaya kadar geçen süre, her boğadan alınan 10'ar ejakulat spermanın ortalama miktarı, pH değeri, spermatozoidlerin yoğunluğu, dondurulmadan önce ve çözüldükten sonraki motilitesi, vitamin A uygulanmadan önce ve sonraki anormal spermatozoitlerin oranı, seminal plasmada bulunan vitamin A değerleri, tohumlanan ve gebe kalan ineklerin sayı ve oranları Tablo 1-4'de verilmiştir.

Boğaların, atlatılacağı boğayı görmesi ile sperma vermesi arasında geçen süreler vitamin A uygulanmadan önce ve sonra tespit edilmiş ve bu değerler Tablo 1-2'de gösterilmiştir. Vitamin A uygulanmadan önce her bir boğadan 10 ejakulat sperma alma esnasında geçen sürelerin ortalamaları boğalara göre 1.0 ± 0.00 ile 2.5 ± 0.87 dakika arasında değişmiş ve 5 boğa için ortalama 1.78 ± 0.25 dakika olmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra ise bu değerler 1.0 ± 0.00 ile 1.3 ± 0.21 dakika arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama 1.12 ± 0.05 dakika bulunmuştur. Boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve sonraki cinsel istekler için tespit edilen süreler ortalaması arasında yapılan t testinde önemli bir fark bulunamamıştır.

Tablo 1-2'de görüldüğü gibi, vitamin A uygulanmadan önce boğaların sperma miktarı ortalama 3.6 ± 0.27 ml ile 5.5 ± 0.63 ml arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama 4.4 ± 0.33 ml bulunmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra ise bu değerler ortalama 4.0 ± 0.46 ml ile 4.9 ± 0.28 ml arasında değişmiş ve 5 boğa için ortalama 4.4 ± 0.16 ml olarak belirlenmiştir. Boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve sonra ortalama sperma miktarları arasında t testi uygulaması sonucu farkın önemsiz olduğu görülmüştür.

Tablo 1-2'den izlenebileceği gibi, vitamin A uygulanmadan önce alınan spermanın pH'sı boğalara göre ortalama 6.32 ± 0.05 ile 6.49 ± 0.05 arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama 6.40 ± 0.03 olarak tayin edilmiştir. Vitamin A uygulandıktan sonra ise bu değerler yine boğalara göre ortalama 6.09 ± 0.07 ile 6.28 ± 0.09 arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama 6.18 ± 0.03 olmuştur. Boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve sonra ortalama sperma pH'ları arasında yapılan t testinde farkın önemsiz olduğu bulunmuştur.

Tablo 1-2'de verildiği gibi, vitamin A uygulanmadan önce alınan spermallerdeki spermatozoid yoğunluğu boğalara göre ortalama $0.758 \pm 0.11 \times 10^9 / \text{ml}$ ile $1.057 \pm 0.05 \times 10^9 / \text{ml}$ arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama $0.967 \pm 0.05 \times 10^9 / \text{ml}$ bulunmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra ise spermatozoid yoğunluğu yine boğalara göre ortalama $1.022 \pm 0.05 \times 10^9 / \text{ml}$ ile $1.244 \pm 0.08 \times 10^9 / \text{ml}$ arasında değişiklik gösterirken 5 boğada ortalama $1.115 \pm 0.04 \times 10^9 / \text{ml}$ hesaplanmıştır. Boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve sonra hesaplanan ortalama spermatozoid yoğunlukları arasındaki farkın yapılan t testi sonucu istatistik yönünden önemsiz olduğu tespit edilmiştir.

Boğalara vitamin A uygulanmadan önce alınan spermaların dondurulmadan önceki motilitesi boğalara göre ortalama % 65 ile % 74 arasında değişirken 5 boğada ortalama % 70.4 bulunmuştur. Bu spermaların dondurulup çözüldükten sonraki motiliteleri ise ortalama % 56 ile % 67 arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama % 60 olmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra boğalardan alınan spermaların dondurulmadan önceki motilitesi boğalara göre ortalama % 79 ile % 82 arasında seyrederken 5 boğada ortalama % 79.8 olarak hesaplanmıştır. Bu spermaların dondurulup çözüldükten sonraki motiliteleri ise yine boğalara göre ortalama % 60 ile % 66 arasında değişmiş ve 5 boğada

Tablo 1. Vitamin A Uygulanmadan Önce, Boğalardan Alınan 10'ar Ejekulat Spermedeki Kimi Spermatojik Özellikler ve Bu Spermalarla Tohumlanan İneklerden Elde Edilen Dölverimi Sonuçları

Boğa	S p e r m a										
	Boğamın		Spermatozoid				Tohumlanan				
	Libidosu (Dak) $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Miktarı (ml) $\bar{X} \pm S\bar{X}$	PH $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Anormal (%)	Yoğunluğu (...x10 ⁹) $\bar{X} \pm S\bar{X}$	Motilitesi (%) Dondurmadan Önce	Çözülükten Sonra	Vitamin A (ng/ml) $\bar{X} \pm S\bar{X}$	inek Sayısı	Gebe Sayı %	Kalan Sayı %
1009	2.5±0.87	5.5±0.63	6.47±0.06	12.53	1.057±0.05	72.0	59	5.14±0.18	20	12	60
1018	1.7±0.33	3.6±0.27	6.49±0.05	12.53	0.758±0.11	65.0	58	4.80±0.26	20	13	65
1019	2.1±0.65	3.8±0.30	6.32±0.10	10.69	1.021±0.10	72.0	56	5.01±0.13	20	13	65
1020	1.0±0.00	4.4±0.25	6.41±0.07	11.63	1.055±0.09	74.0	67	4.63±0.22	20	12	60
1030	1.6±0.26	4.7±0.18	6.32±0.05	10.13	0.945±0.08	69.0	60	4.35±0.25	20	12	60
Genel	1.78±0.25	4.4±0.33	6.40±0.03	11.50	0.967±0.05	70.4	60	4.79±0.13	-	-	-
Ortalama									Toplam	100	62

Tablo 2. Vitamin A Uygulandıktan Sonra, Boğalardan Alınan 10'ar Ejekulat Spermedaki Kimi Spermatolojik Özellikler ve Bu Spermalarla Tohumlanan İneklerden Elde Edilen Dölverimi Sonuçları

Boğa	S p e r m e											
	Boğamın Libidosu (Dak.)	Miktarı (ml)	pH	Spermatozoid		Vitamin A (ng/ml)	Tohumlanan		İnek Sayısı	Gebe Kalan Sayı	%	
				Anormal (%)	Yoğunluğu (...x10 ⁹)		Motilitesi (%)	İnek				
No	$\bar{X} \pm Sx$	$\bar{X} \pm Sx$	$\bar{X} \pm Sx$	Önce	Sonra	$\bar{X} \pm Sx$	Önce	Sonra	$\bar{X} \pm Sx$			
1009	1.0±0.00	4.9±0.28	6.11±0.08	8.51	1.244±0.08	80.0	64	7.46±0.46	20	15	75	
1018	1.2±0.13	4.5±0.40	6.28±0.09	10.28	1.022±0.05	79.0	60	6.43±0.19	20	14	70	
1019	1.3±0.21	4.0±0.46	6.23±0.07	7.66	1.050±0.05	79.0	66	6.18±0.16	20	14	70	
1020	1.0±0.00	4.5±0.43	6.09±0.07	8.33	1.035±0.09	82.0	66	6.66±0.36	20	15	75	
1030	1.1±0.10	4.1±0.34	6.17±0.07	8.01	1.223±0.06	79.0	64	5.52±0.17	20	13	65	
Genel	1.12±0.05	4.4±0.16	6.18±0.03	8.56	1.115±0.04	79.8	64	6.45±0.31	-	-	-	
Ortalama									Toplam	100	71	71

ortalama % 64 olmuştur. Bu değerler Tablo 1-2'de verilmiştir. Boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve sonra ortalama spermatozoid motiliteleri arasında yapılan t testi neticesinde istatistik yönünden ($p < 0.01$) önemli bir fark bulunurken, spermaların dondurulup çözüldükten sonraki ortalama spermatozoid motiliteleri arasında yapılan t testi sonucu istatistik yönünden önemli bir fark bulunamamıştır.

Vitamin A uygulanmadan önce ve sonra her bir boğadan alınan 10'ar ejakulat spermadaki anormal spermatozoid çeşit ve oranları Tablo 3' de gösterilmiştir. Vitamin A uygulanmadan önce alınan spermalardaki başa bağlı anormal spermatozoid oranı boğalara göre ortalama % 0.68 ile %1.35 arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama % 1.04 olmuştur. Orta kısma bağlı anormal spermatozoid oranı boğalara göre ortalama % 0.05 ile % 0.25 arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama % 0.15 bulunmuştur. Kuyruğa bağlı anormal spermatozoid oranı boğalara göre ortalama % 9.40 ile % 11.18 arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama % 10.32 olmuştur. Baş, orta kısım ve kuyruğa bağlı anormal spermatozoidlerden % 10.32 olarak en fazla kuyruğa bağlı anomalilere rastlanmıştır. Beş boğada toplam anormal spermatozoid oranı ortalama % 10.13 ile % 12.53 arasında değişmiş ortalama % 11.50 olmuştur. Boğalara vitamin A uygulandıktan sonra alınan spermalardaki başa bağlı anormal spermatozoid oranı boğalara göre ortalama % 0.70 ile % 1.23 arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama % 1.03 bulunmuştur. Orta kısma bağlı anormal spermatozoid oranı boğalara göre ortalama % 0.03 ile % 0.25 arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama % 0.10 olmuştur. Kuyruğa bağlı anormal spermatozoid oranı yine boğalara göre ortalama % 6.63 ile % 8.80 arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama % 7.41 olarak hesaplanmıştır. Bu anomali çeşitleri içerisinde % 7.41 olarak en fazla kuyruğa bağlı anomalilere rastlanmıştır. Beş boğada toplam anormal spermatozoid oranı ortalama % 7.66 ile % 10.28 arasında değişmiş ve

Tablo 3. Vitamin A Uygulanmadan Önce ve Uygulandıktan Sonra Boğa Spermesindeki Anormal Spermatozoid Çeşit ve Oranları

Boğa Kulak No	Ejekulat Sayısı	A n o r m a l S p e r m a t o z o i d										
		Vitamin A Uygulanmadan Önce					Vitamin A uygulandıktan Sonra					Fark %
		Başa bağılı (%)	Orta Kısma Bağılı (%)	Kuyruğa Bağılı (%)	Toplam (%)	Başa Bağılı (%)	Orta Kısma Bağılı (%)	Kuyruğa Bağılı (%)	Toplam (%)			
1009	10	1.10	0.25	11.18	12.53	1.20	0.03	7.28	8.51	4.02		
1018	10	1.35	0.20	10.98	12.53	1.23	0.25	8.80	10.28	2.25		
1019	10	1.08	0.08	9.53	10.69	0.98	0.05	6.63	7.66	3.03		
1020	10	0.98	0.15	10.50	11.63	1.15	0.08	7.10	8.33	3.30		
1030	10	0.68	0.05	9.40	10.13	0.70	0.08	7.23	8.01	2.12		
Genel Ortalama		1.04	0.15	10.32	11.50	1.03	0.10	7.41	8.56	2.94		

ortalama % 8.56 olarak hesaplanmıştır. Boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve sonra alınan spermallerdeki anormal spermatozoid oranları arasında en fazla dikkati çeken fark, kuyruğa bağlı anormal spermatozoidlerde % 2.91 oranında azalma ile kendini göstermiştir. Bu uygulamaya bağlı olarak toplam anormal spermatozoidlerdeki azalma farkı boğalar arasında ortalama % 2.12 ile % 4.02 arasında değişmekle beraber 5 boğada ortalama % 2.94 olarak belirlenmiştir. Boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve vitamin A uygulandıktan sonraki anormal spermatozoid oranları arasında uygulanan t testi sonucu istatistiki olarak ($p < 0.01$) önemli bir fark bulunmuştur.

Dondurulmadan önce boğa spermallerindeki anormal spermatozoid oranları ile spermatozoid motiliteleri arasında istatistiki olarak negatif bir ilişkinin olduğu yapılan korelasyon hesaplaması sonucu ortaya çıkmıştır.

3.2.Boğaların Seminal Plazmasında Bulunan Vitamin A Değerleri

Vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra boğalardan alınan her bir ejakulatin seminal plazmasında bulunan vitamin A değerleri ve ortalamaları Tablo 4'de verilmiş, ayrıca şekil 1-5'de grafikler halinde gösterilmiştir.

Vitamin A uygulanmadan önce 1009 No'lu boğadan alınan spermallerin seminal plazmasındaki vitamin A değerleri 3.85 ng/ml ile 5.80 ng/ml arasında değişmiş ve ortalama 5.14 ± 0.18 ng/ml olmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra aynı boğadan alınan spermallerin seminal plazmasındaki vitamin A değerleri 6.04 ng/ml ile 10.25 ng/ml arasında değişmiş ve ortalama 7.46 ± 0.46 ng/ml bulunmuştur.

Vitamin A uygulanmadan önce 1018 No'lu boğadan alınan spermallerin seminal plazmasındaki vitamin A değerleri 3.33 ng/ml ile 5.87 ng/ml arasında değişmiş ve ortalama 4.80 ± 0.26 ng/ml olmuştur. Vitamin A uygulandıktan

Tablo.4. Vitamin A Uygulanmadan Önce ve Uygulandıktan Sonra Boğazlardan Alınan Spermatozoidlerin Seminal Plasmasında Bulunan Vitamin A Değerleri (ng/ml).

Boğa Kulak No	Vitamin A Uygulanmadan önce										Ortalama vitamin A Değerleri	Vitamin A Uygulandıktan Sonra										Ortalama vitamin A Değerleri
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1009	5.17	5.00	3.85	5.17	5.80	5.44	5.35	5.71	5.31	4.58	5.14±0.18	6.25	9.62	8.40	7.05	7.29	6.37	10.25	6.66	6.69	6.04	7.46±0.46
1018	3.33	3.95	5.25	4.14	4.68	5.83	5.25	4.50	5.87	5.20	4.80±0.26	6.07	7.14	7.08	6.25	6.60	6.60	6.42	5.03	6.25	6.87	6.43±0.19
1019	5.80	4.50	4.82	4.91	5.71	4.82	4.55	5.17	4.82	5.00	5.01±0.13	6.77	5.87	6.25	6.07	6.51	5.17	5.89	6.25	6.07	6.96	6.18±0.16
1020	5.00	4.68	3.54	3.65	5.03	4.46	4.55	4.28	5.80	5.35	4.63±0.22	6.45	5.83	5.00	5.35	5.71	8.21	8.00	7.50	6.87	7.67	6.66±0.36
1030	3.33	3.75	3.57	4.82	5.00	5.41	5.38	3.33	4.28	4.64	4.35±0.25	4.75	4.82	5.17	5.76	5.42	6.25	5.80	6.25	5.19	5.80	5.52±0.17
Genel Ortalama	4.53	4.38	4.21	4.54	5.24	5.19	5.02	4.60	5.22	4.95	4.79±0.13	6.06	6.66	6.38	6.10	6.30	6.52	7.27	6.35	6.21	6.67	6.45±0.31

sonra aynı boğadan alınan spermaların seminal plasmasındaki vitamin A değerleri 5.03 ng/ml ile 7.14 ng/ml arasında değişmiş ve ortalama 6.43 ± 0.19 ng/ml olmuştur.

Vitamin A uygulanmadan önce 1019 No'lu boğadan alınan spermaların seminal plasmasındaki vitamin A değerleri 4.50 ng/ml ile 5.80 ng/ml arasında değişmiş ve ortalama 5.01 ± 0.13 ng/ml olmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra aynı boğadan alınan spermaların seminal plasmasındaki vitamin A değerleri 5.17 ng/ml ile 6.96 ng/ml arasında değişmiş ve ortalama 6.18 ± 0.16 ng/ml olarak belirlenmiştir.

Vitamin A uygulanmadan önce 1020 No'lu boğadan alınan spermaların seminal plasmasındaki vitamin A değerleri 3.54 ng/ml ile 5.80 ng/ml arasında değişmiş ve ortalama 4.63 ± 0.22 ng/ml olmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra aynı boğadan alınan spermaların seminal plasmasındaki vitamin A değerleri 5.00 ng/ml ile 8.21 ng/ml arasında değişmiş ve ortalama 6.66 ± 0.36 ng/ml bulunmuştur.

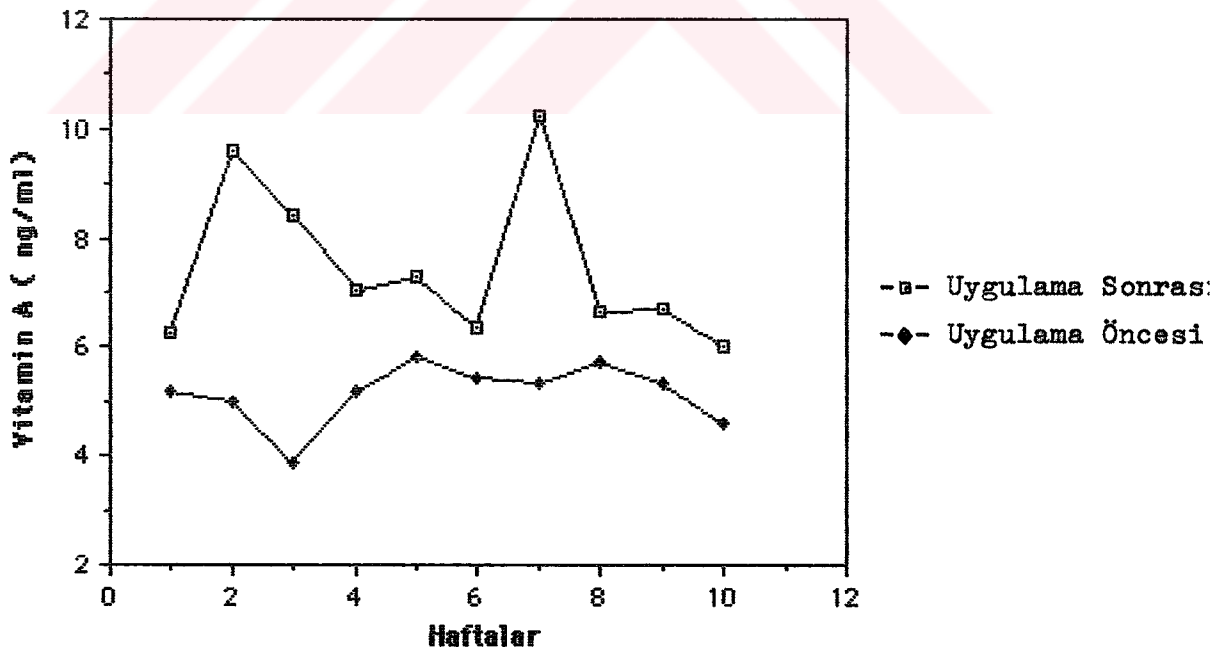
Vitamin A uygulanmadan önce 1030 No'lu boğadan alınan spermaların seminal plasmasındaki vitamin A değerleri 3.33 ng/ml ile 5.38 ng/ml arasında değişmiş ve ortalama 4.35 ± 0.25 ng/ml olmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra aynı boğadan alınan spermaların seminal plasmasındaki vitamin A değerleri 4.75 ng/ml ile 6.25 ng/ml arasında değişmiş ve ortalama 5.52 ± 0.17 ng/ml olarak tespit edilmiştir.

Vitamin A uygulanmadan önce boğalardan alınan spermaların seminal plasmalarında bulunan vitamin A değerleri boğalara göre ortalama 4.35 ± 0.25 ng/ml ile 5.14 ± 0.18 ng/ml arasında değişmekte olup 5 boğada ortalama 4.79 ± 0.13 ng/ml olarak hesaplanmıştır. Öte yandan vitamin A uygulandıktan sonra aynı boğaların seminal plasmalarında bulunan vitamin A değerleri boğalara göre ortalama 5.52 ± 0.17 ng/ml ile 7.46 ± 0.46 ng/ml arasında değişmiş olup 5

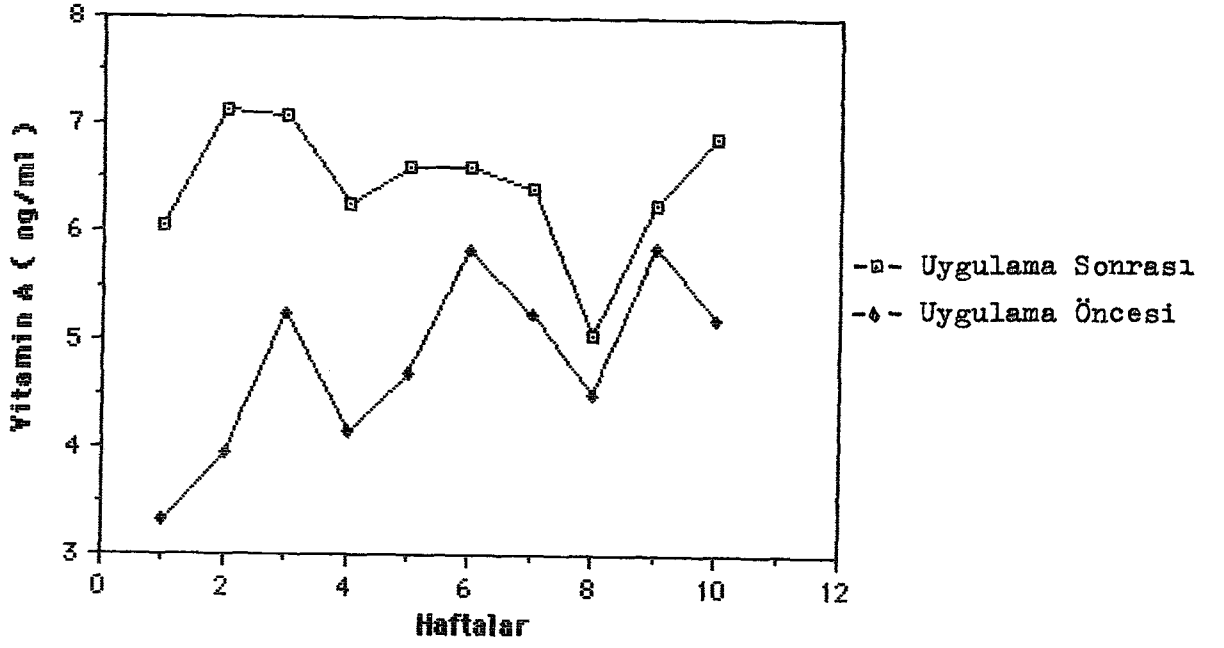
boğada ortalama 6.45 ± 0.31 ng/ml olarak hesaplanmıştır. Boğalara vitamin A uygulanması sonucu seminal plasmada yaklaşık 1.66 ng/ml lik bir artış olmuştur. Boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve vitamin A uygulandıktan sonra seminal plasmada bulunan vitamin A değerleri arasındaki fark, t testi uygulanarak yapılan istatistiki analiz sonucu $p < 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Boğa spermasının seminal plasmasında bulunduğu tahmin edilen beta karoten analizi için daha önce hazırlanan örneklerden 436 nm filtre dedektörlü High Performance Liquid Chromatography'ye 50-70 mikrolitre enjekte edilerek absorbansı gözlemlendi. Fakat beta karoten tespit edilemedi.

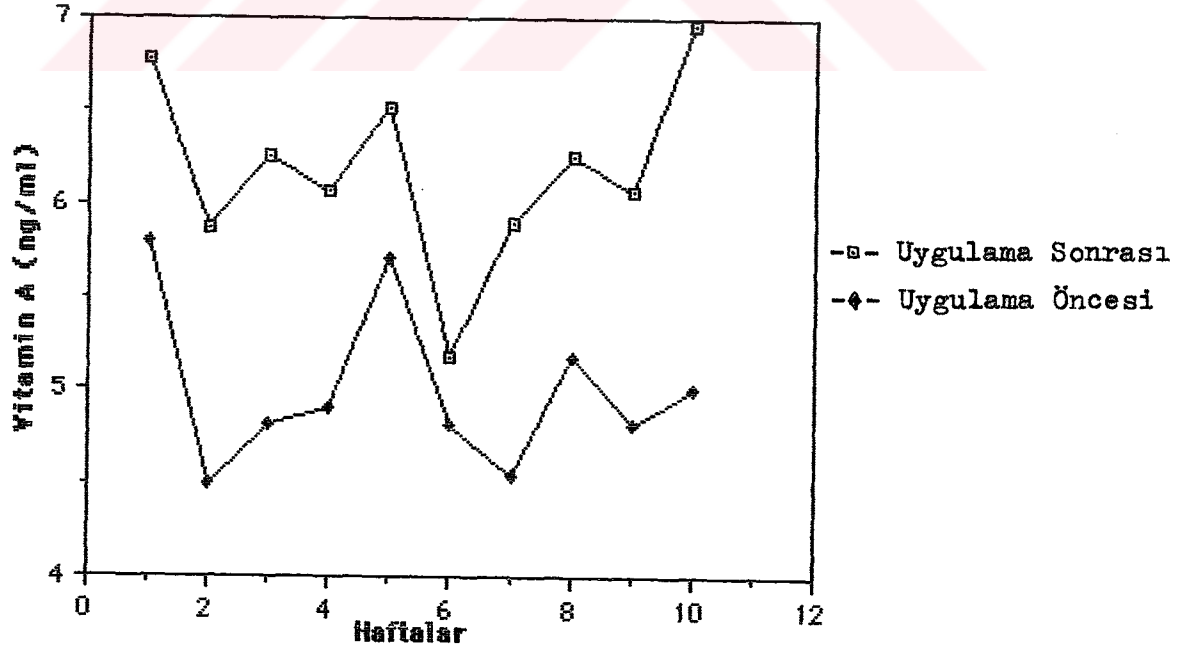
3.3 Boğalara vitamin A Uygulanmadan Önce ve Sonra Seminal Plasmada Bulunan Vitamin A Değerlerini Gösterir Grafikler.



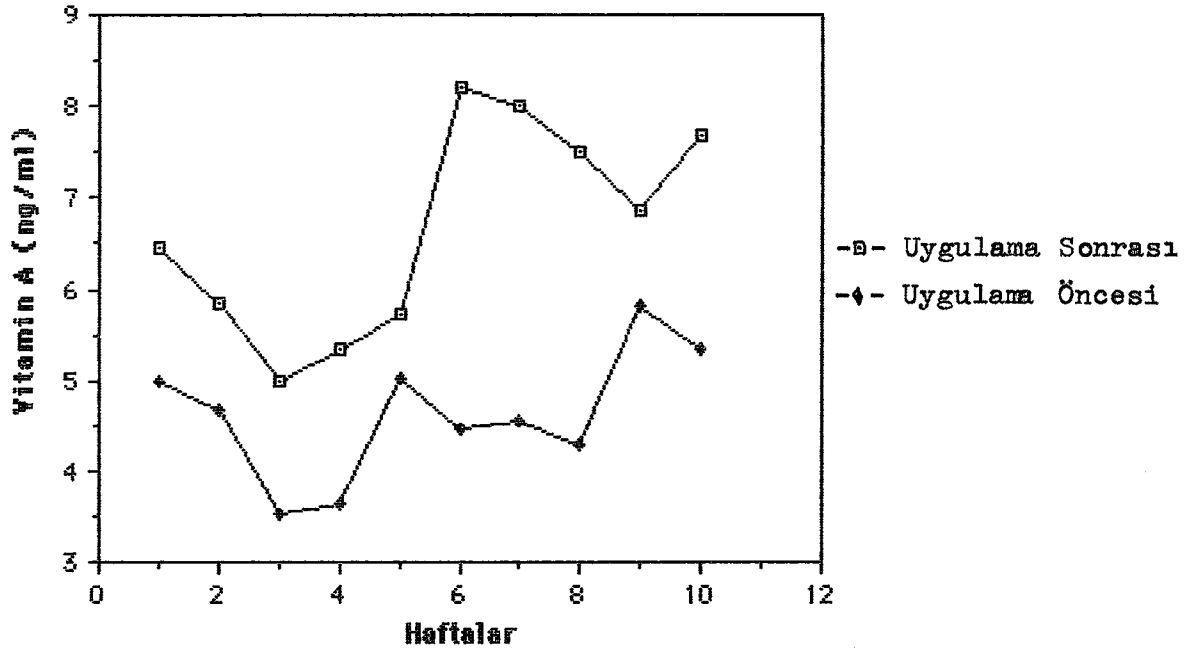
Şekil 1. 1009 Kulak No'lu Boğanın seminal plasmasındaki vitamin A değerleri



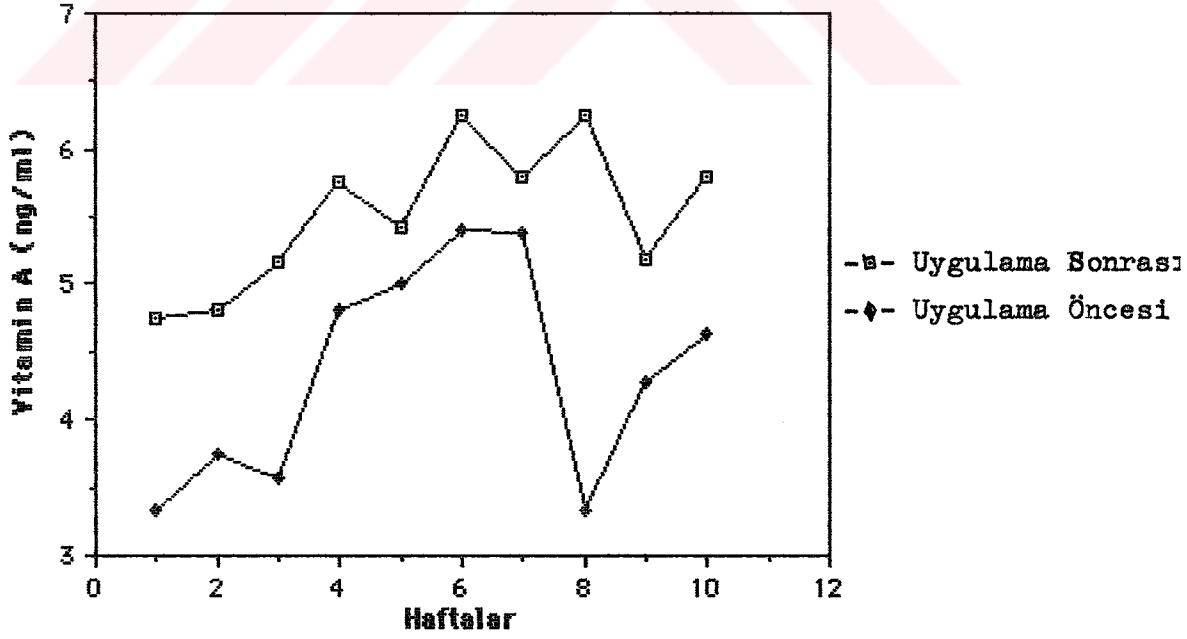
Şekil 2.1018 Kulak No'lu Boğanın seminal plazmasındaki vitamin A değerleri



Şekil 3. 1019 Kulak No'lu Boğanın seminal plazmasındaki vitamin A değerleri



Şekil 4. 1020 Kulak No'lu Boğanın seminal plazmasındaki vitamin A değerleri



Şekil 5. 1090 Kulak No'lu Boğanın seminal plazmasındaki vitamin A değerleri

3.4 Dölverimi Sonuçları

Vitamin A uygulanmadan önce boğalardan alınarak dondurulup sıvı azot içerisinde saklanan her bir boğa sperması ile tohumlanan ve gebe kalan ineklerin sayısı ve oranları Tablo 1'de verilmiştir. Buna göre her bir boğa spermasıyla 20 inek tohumlanmış, bunlardan elde edilen gebelik oranları % 60 - % 65 arasında değişmiş ve ortalama % 62 olmuştur.

Söz konusu boğalara vitamin A uygulandıktan sonra spermaları alınarak dondurulup sıvı azot içerisinde saklanan her bir boğa sperması ile tohumlanan ve gebe kalan ineklerin sayısı ve oranları Tablo 2'de verilmiştir. Burada da görüldüğü gibi her bir boğa spermasıyla 20 inek tohumlanmış, bunlardan elde edilen gebelik oranı % 65 - % 75 arasında değişmiş ve ortalama % 71 olarak hesaplanmıştır. Boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra spermalarıyla tohumlanan ineklerden elde edilen gebelik oranları arasında % 9' luk bir fark bulunmasına rağmen yapılan Ki Kare (χ^2) analizi sonucu bu farkın istatistik yönünden önemsiz olduğu tespit edilmiştir. Boğaların spermatozoid motilitesi, spermatozoid yoğunluğu ve seminal plasmada bulunan vitamin A düzeyi ile dölverimleri arasında yapılan korelasyon hesaplamasında pozitif bir ilişkinin bulunduğu görülmüştür.

4.TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, boğaların cinsel istekleri için gereken ortalama süreler vitamin A uygulanmadan önce 1.78 dakika ve uygulandıktan sonra 1.12 dakika olarak tespit edilmiştir. Afiefy ve ark. (3) Friesian boğalarına vitamin A uygulamadan önce cinsel istekleri için gereken süreyi ortalama 129.19 saniye bulurken, vitamin A uyguladıklarında bu süreyi 74.42 saniye, vitamin A + testesteron verdiklerinde 49.16 saniye, Buffalo boğalarına vitamin A uygulanmadan önce boğaların cinsel istekleri için gerekli süreyi 115.33 saniye, vitamin A uyguladıklarında 64.78 saniye, vitamin A + testesteron verdiklerinde 56.43 saniye, bulmuşlardır. Boğaların cinsel istekleri için tespit edilen süre Afiefy ve ark.(3)' nin tespit ettiği süreye yakın bulunmuştur. Vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra boğaların cinsel istekleri için gereken süreler arasındaki fark boğalara uygulanan A vitaminine bağlı olabileceği gibi , sperma alma esnasında boğalara karşı davranışlara, ineğin östrusta olup olmamasına, sperma alma mevsimine ve zamanına farklı yerde sperma alınmasına, hormon uygulanmasına bağlı olabilir.

Bu çalışmada elde edilen ortalama sperma miktarı boğalara vitamin A uygulanmadan önce 4.4 ± 0.33 ml ve vitamin A uygulandıktan sonra 4.4 ± 0.16 ml olmuş ve bu iki değer birbirine yakın bulunmuştur.

Kupfer ve ark. (26)' nin kontrol grubunda sperma miktarını ortalama 4.42 ml, araştırma grubunda ortalama 4.18 ml, Afiefy ve ark. (2)' nin 12 Buffalo ve Friesian boğalarının kontrol gruplarında ırklara göre sırasıyla ortalama 3.79 ile 4.76 ml, uygulama gruplarında da ırklara göre sırasıyla ortalama 3.96 ml ile 5.86 ml olarak bildirdikleri sperma miktarları bulgularımıza yakın, Swarup ve ark. (46)' nin dölverimi düşük boğalarda 6 ml ile dölverimi yüksek boğalarda 8.5 ml, Vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonraki sıraya göre, Kozicki ve

ark. (25)' nin 12.29 ml ile 12.42 ml , Venci ve ark. (48)' nin 5.8 ml ile 7.8 ml, Roussel ve ark. (40)' nin 5.4 ml ile 5.9 ml olarak bildirdikleri sperma miktarı bulgularımızdan fazla, Didkovskii (11)' nin kontrol grubu boğalarda 1.27 ml, deneme grubu boğalarda ise 1.90 ml ve 2.30 ml, Fayez ve ark.(15)' nin 3.6 ml olarak bildirdikleri sperma miktarları da bulgularımızdan az olmuştur. Sperma miktarının belli parametreler arasında artıp azalması hayvanın ırkına, yaşına, genetik yapısına, ejakulasyon sıklığına, sperma alma metoduna, sexüel presitümülasyona, beslenmeye, hastalıklara ve mevsime bağlı olabilir.

Bu çalışmada spermanın pH'sı vitamin A uygulanmadan önce boğalara göre 6.32 ± 0.05 ile 6.49 ± 0.05 arasında değişmiş 5 boğa için ortalama 6.40 ± 0.03 bulunmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra ise bu değerler 6.09 ± 0.07 ile 6.28 ± 0.09 arasında değişmiş ve 5 boğada ortalama 6.18 ± 0.03 olmuştur. Hafez (19), boğa spermasının pH'sının 6.4 ile 7.8 arasında değiştiğini ortalama 6.5 olduğunu bildirirken, Erdinç ve ark. (14) vitamin A uygulanan koç spermalarında pH'nın 7.08 ile 7.14 arasında değiştiğini, kontrol grubunda ise 7.0 olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen pH değerinin Hafez (19)'in bildirdiği değerlerden biraz düşük olması pH'yı tayin etme metoduna, hayvanların beslenmesine, ırkına, spermaya karışabilecek kimi yabancı maddelere bağlı olabilir.

Sunulan çalışmada boğalara vitamin A uygulanmadan önce tespit edilen anormal spermatozoid oranı % 11.50, vitamin A uygulandıktan sonra tespit edilen anormal spermatozoid oranı ise % 8.56 olmuştur. Bu iki oran arasındaki fark vitamin A uygulanmasına bağlı olabileceği gibi, spermanın farklı mevsimlerde alınmasından, sperma sulandırıcılarından, frotilerin hazırlanması esnasındaki ısı farklılığından ileri gelebilir.

Vitamin A uygulanmadan önce elde ettiğimiz anormal spermatozoid oranı Roussel ve ark. (40)' nin % 11.8 olarak buldukları anormal spermatozoid oranına

paralellik gösterirken, kontrol grubu hayvanlarda Kupfer ve ark. (26)' nin % 9.8, Jaczewski ve ark. (22)' nin birinci grupda % 5.1 ve ikinci grupda % 9.6, Munro (34)' nun % 10.1 olarak bildirdiklerinden fazla, Fayez ve ark. (15)' nin % 15.3, Venci ve ark. (48)' nin %14.39 , Munro (34)' nun % 32 olarak bildirdiklerinden az olmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra tespit edilen anormal spermatozoid oranı (% 8.56), Jaczewski ve ark. (22)' nin boğalara vitamin A enjekte ettikten 51 gün sonra % 4.4 ile 73 gün sonra % 7.8 ve ikinci grupda 51 gün sonra % 7.6 oranında elde ettikleri anormal spermatozoid oranından fazla, Kupfer ve ark. (26)' nin % 12.9, Venci ve ark. (48)' nin % 15.52, Roussel ve ark. (40)' nin % 9.7, Jaczewski ve ark. (22)' nin ikinci grup boğalara vitamin A enjekte ettikten 73 gün sonra elde ettiği % 9.6 değerlerinden az olmuştur.

Anormal spermatozoid oranının bizim bulgularımızdan az veya fazla olmasının sebebi hayvanın genetik yapısına, beslenmesine, ejakulasyon sıklığına, sperma alma mevsimine, froti hazırlama tekniğine, sulandırıcılara, kullanılan boğaların farklı ırktan olmasına, muayeneyi yapan kişiye göre değişebilmektedir. Tüm bu kriterler göz önüne alınarak elde edilen sonuçları karşılaştırmak, güvenilir ve kesin sonuç çıkarmak pek kolay değildir.

Bu çalışmada spermatozoid yoğunluğu vitamin A uygulanmadan önce $0.967 \pm 0.05 \times 10^9$ / ml, vitamin A uygulandıktan sonra $1.115 \pm 0.04 \times 10^9$ / ml olarak hesaplanmıştır. Bu iki değer arasındaki fark uygulanan vitamin A'ya bağlı olabileceği gibi boğaların sexuel prestimulasyonuna ve sperma alma mevsimine de bağlı olabilir.

Vitamin A uygulanmadan önce elde edilen spermatozoid yoğunluğu Kupfer ve Ark. (26)' larının 982×10^6 / ml, Fayez ve ark. (15)' nin 930×10^6 / ml, Roussel ve ark. (40)' nin 963×10^6 / ml olarak belirttikleri bulgulara benzer bulunurken, Vitamin A uygulanmadan önce elde ettiğimiz spermatozoid yoğunluğu Swarup ve ark. (46)' nin 600-800 milyon / ml, Didkovskii (11) nin

0.62 x 10⁹ / ml, Jaczewski ve ark. (22)' nin birinci grupta 0,8 x 10⁹ / ml, ikinci grupta 0,8 x 10⁹ / ml olarak bildirdiklerinden fazla, Kozicki ve ark. (25)' nin 1,1925 x 10⁹ / ml, Venci ve ark. (48)' nin 1.48 x 10⁹ / ml olarak bildirdikleri değerlerden az olmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra tespit edilen spermatozoid yoğunluğu Jaczewski ve ark.(22)' nin birinci grupta vitamin A uygulanmasından 51 gün sonra 1,22 x 10⁹ / ml ve Kozicki ve ark. (25)' nin 1,243.4 x 10⁹ / ml olarak buldukları değerlere paralellik gösterirken, uygulamadan sonra Didkovskii (11)' nin 0.61 x 10⁹ / ml ile 0.52 x 10⁹ / ml , Roussel ve ark. (40)' nin 1.010 x 10⁹ / ml, Jaczewski ve ark. (22)' nin birinci grupta vitamin A uygulanmasından 73 gün sonra 0,81 x 10⁹ / ml ikinci grupta vitamin A uygulanmasından 51 gün sonra 1.0 x 10⁹ / ml, 73 gün sonra 0,98 x 10⁹ / ml ve Erb ve ark. (13)' nin 0.5 x 10⁹ / ml olarak tespit ettikleri değerlerden fazla, Swarup ve Ark. (46)' larının 0.8-1.75 milyar, Venci ve ark. (48)' nin 1.44 x 10⁹ / ml olarak bildirdikleri değerlerden az olmuştur. Spermatozoid yoğunluğunun bu çalışmadaki değerlerden az veya fazla olması, hayvanların beslenmesine, irkına, sperma alma metoduna, sperma alma aralığına, genetik yapısına, seksüel prestimulasyonuna, hayvanların yaşına ve mevsimlere bağlı olabilir.

Yapılan çalışmada vitamin A uygulanmadan önce spermatozoid motilitesi % 70.4, vitamin A uygulandıktan sonra % 79.8 olarak bulunmuştur. Vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonraki bu değerler arasındaki fark boğalara uygulanan vitamin A'ya, sperma sulandırıcısına ve mevsime bağlı olabilir.

Vitamin A uygulanmadan önce bulduğumuz spermatozoid motilitesi Kozicki ve Ark. (25)' larının % 68.05, Favez ve ark. (15)' nin % 63.2, Roussel ve ark. (40)' nin % 49.7 değerlerinden fazla, Kupfer ve ark. (26)' nin % 76.1, İdris ve ark. (20)' nin Buffalo boğalarında % 76.09, Friesian Boğalarında % 75.08, Venci ve

ark. (48)' nin % 87.26 olarak belirledikleri değerlerden de az olmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra elde ettiğimiz spermatozoid motilitesi Kupfer ve ark. (26)' nin % 74.7, Kozicki ve ark. (25)' nin % 64.40, Roussel ve ark. (40)' nin %49.5 olarak bildirdikleri değerlerden fazla, İdris ve ark. (20)' larının Buffalo boğalarında % 86.49, Friesian boğalarında % 86.98, Venci ve ark. (48)' nin % 87.30 olarak buldukları değerlerden az tespit edilmiştir.

Bu çalışmadaki spermatozoid motilitesinin diğer araştırmacıların bulgularından az veya fazla bulunması sperma sulandırıcılarının farklı oluşuna, hayvanların beslenmesine, yaşına, genetik yapısına, motilite tayinin farklı kişiler tarafından yapılmasına, muayene ortamının ısısına bağlı olarak değişebilir.

Yapılan bu çalışmada spermalar dondurulup çözüldükten sonra elde edilen spermatozoid motiliteleri vitamin A uygulanmadan önce % 60 ve uygulandıktan sonra % 64 olarak tayin edilmiştir. Bu iki değer arasındaki farklılık boğalara uygulanan vitamin A dan ileri gelebilir.

Vitamin A uygulanmadan önce elde ettiğimiz bulgular Kupfer ve ark. (26)' nin % 61.9 olarak buldukları değere paralellik gösterirken, Al-Hanak ve ark. (4)' nin spermaya vitamin A ilave etmeden dondurulup çözümlenerek elde ettikleri spermatozoid motilitesinden (% 36.5) fazla olmuştur. Vitamin A uygulandıktan sonra elde ettiğimiz bulgular, Kupfer ve ark. (26)' nin % 61.2 olarak buldukları değerlere paralellik gösterirken, Al-Hanak ve ark. (4)' nin spermaya vitamin A ilave ederek dondurulup çözüldükten sonra elde ettikleri spermatozoid motilitelerinden (%41.2 ile % 38.9) fazla bulunmuştur.

Bizim bulgularımızdaki değerlerin Al-Hanak ve ark. (4)' nin bulgularından fazla bulunması, hayvanların beslenmesine, sperma alma metoduna, sperma sulandırıcılarının farklı olmasına, spermanın dondurulma tekniğine, spermanın sulandırılması esnasındaki özen ve dikkate, motilite tayinin farklı kişiler tarafından yapılmasına, muayene esnasında ortamın ısısına bağlı olabilir.

Bu çalışmada boğalara vitamin A uygulanmadan önce alınan spermanın seminal plasmasındaki vitamin A ortalama 4.79 ng/ml bulunurken, vitamin A uygulandıktan sonra 6.45 ng/ml olarak tespit edilmiştir.

Her bir boğadan vitamin A uygulanmadan önce ve sonra alınan 10'ar ejakülat spermanın seminal plasmasındaki vitamin A değerlerinin (Şekil 1-5) farklı pikler halinde bulunması her ne kadar hayvanların almış oldukları besin maddelerine bağlı olabilirse de boğalara vitamin A uygulandıktan sonraki 1.66 ng/ml lik ortalama artışın büyük ihtimalle uygulamadan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Swarup ve ark. (46)' nın dölverimi yüksek boğaların seminal plasmasında 8.099 ng/ml olarak buldukları vitamin A değeri bulgularımızın tümünden yüksek olmasına rağmen, dölverimi düşük boğaların seminal plasmasında tayin ettikleri 4.3 ng/ml'lik vitamin A değerleri, vitamin A enjekte etmeden önce bulduğumuz değerlere yakın bulunmuştur. Öte yandan Swarup ve ark. (46)' nın dölverimi düşük boğaların seminal plasmasında tespit ettikleri vitamin A değeri bu çalışmada boğalara vitamin A uygulanmasından sonra tespit edilen vitamin A değerlerinden az bulunmuştur. Seminal plasmada tayin edilen bu değerlerin birbirinden az veya fazla olması büyük ölçüde hayvanların farklı şekillerde beslenmesine yani vitamin A yönünden zengin veya yoksun rasyonla beslenmelerine, meraya çıkarılıp çıkarılmamalarına, vitamin A nın farklı metotla tayin edilmesine bağlanabilir.

Virji ve Ark. (49)' nın İnsan spermasında tayin ettikleri 13 ng/ml'lik vitamin A değeri de boğalarda tayin ettiğimiz değerlerden fazla olmuştur. Buldukları vitamin A değerinin bulgularımızdan fazla olması beslenmeye bağlı olmakla birlikte önemli derecede tür farkından ileri geldiği düşünülmektedir.

Diğer taraftan Gambhir ve ark. (17)' nın boğalarda bütünlüğü bozulmamış 10^9 spermatozoidde 294 ng , 10^9 spermatozoidin Akrosomunda 200 ng, 10^9

akrosomsuz spermatozoid de ise 80 ng olarak bildirdikleri değerlerin bizim bulgularımızdan farklı olması vitamin A'nın epitel dokular üzerindeki etkisinden dolayı A vitamininin seminal plasmadan ziyade spermatozoidlerde depolanmış olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada, boğaların spermalarıyla yapılan tek tohumlama sonucu elde edilen gebelik oranları vitamin A uygulanmadan önce % 62, vitamin A uygulandıktan sonra % 71 olarak tespit edilmiştir. Bu gebelik oranları arasındaki fark boğalara enjekte edilen vitamin A'nın spermatolojik özellikler üzerine olan etkisine bağlı olabileceği gibi, tohumlanan inek sayısının az oluşuna, tohumlamaların kızgınlığın farklı saatlerinde yapılmış olmasına, ineklerin farklı şekillerde beslenmiş olmasına da bağlanabilir.

Vitamin A uygulanmadan önce elde ettiğimiz gebelik oranı, Munro (34)'nin 3 ayda geriye dönmeyenlerin esasına göre tek tohumlama sonucunda elde ettiği gebelik oranlarının kimisinden az kimisinden fazla bulunurken, Kupfer ve ark. (26)'nin % 72.84, Abilov ve ark. (1)'nin % 71 olarak elde ettikleri gebelik oranlarından az olmuştur. Öte yandan boğalara vitamin A uygulandıktan sonra elde ettiğimiz gebelik oranı Kupfer ve ark. (26)'nin % 70.07 olarak buldukları gebelik oranına paralellik gösterirken, Abilov ve ark. (1)'nin % 77.8 olarak tespit ettikleri gebelik oranından az olmuştur.

Elde edilen gebelik oranlarının bizim bulgularımızdan az veya fazla bulunması tohumlama metoduna, tohumlama dozundaki spermatozoid motilitesi ve yoğunluğuna, tohumlama zamanına, tohumlamayı yapan uzmanın tecrübesine, gebelik teşhisi metoduna, ineklerin kızgınlığının teşhis edilmesine, hayvanların beslenmesine, tohumlama esnasında ineklerde bulunması muhtemel genital organ hastalıklarına bağlı olabilir.

Bu çalışmada, boğalardan alınan spermanın spermatozoid motilitesi, spermatozoid yoğunluğu ve seminal plasmada bulunan vitamin A düzeyi ile

boğaların dölverimi arasında yapılan korelasyonda pozitif bir ilişkinin olduğu bulunmuştur. Swarup ve ark. (46) bu çalışmadaki bulgulara paralel görüş bildirirken, Kozicki ve ark. (25) vitamin A uygulamalarının spermatozoid motilitesi üzerine negatif yönde bir etki oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada boğalardan alınan spermanın spermatozoid motiliteleri ile anormal spermatozoid oranları arasında yapılan korrelasyonda negatif bir ilişkinin olduğu bulunmuştur. Munro (34), benzer görüşle anormal spermatozoid oranındaki artışın hayvanların gebelik oranını azalttığını bildirmiştir. Yapılan çalışmada, vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra boğaların cinsel istekleri için tesbit edilen süreler arasında istatistiki olarak farkın önemli olmadığı bulunmuştur. Benzer olarak Weiss (51), boğalara beta karoten verilmeden önce ve verildikten sonra cinsel istekleri için geçen süreler arasındaki farkın önemli olmadığını belirtirken, Afiefy ve ark. (3) vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra boğaların cinsel istekleri arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olduğunu, Venci ve ark. (48), Madsen (30) ve Erb ve ark. (13) boğalarda vitamin A eksikliğinin boğaların seksüel isteklerinde bir azalma meydana getirdiğini, Dutt (12), vitamin A eksikliğinin boğalarda olduğu gibi koçların seksüel isteklerinde de bir azalma meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Sunulan çalışmada vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra boğalardan alınan spermaların miktarları arasında istatistiki olarak fark bulunamamıştır. Kupfer ve ark. (27), Kozicki ve ark. (24) yine başka bir çalışmada Kozicki ve ark. (25) benzer görüşle vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonraki sperma miktarları arasındaki farkın önemli olmadığını bildirirlerken, Vomer (50), vitamin A enjeksiyonunun sperma miktarını artırdığını, Afiefy ve ark. (2) vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra boğalardan alınan sperma miktarları arasında istatistiki olarak önemli bir artış olduğunu, Venci ve ark. (48) ile Weiss(51), beta karoten ilave edilmeden

önce ve beta karoten ilave edildikten sonra alınan sperma miktarları arasında bir artışın olduğunu, Roussel ve ark. (40) vitamin A uygulamalarının boğaların sperma miktarında önemli derecede bir artış oluşturduğunu bildirmişlerdir. Sperma miktarındaki artış A vitamininin organizmadaki düzeyine bağlı olarak ek cinsel salgı bezlerini müspet yönde etkilemesinden kaynaklanabilir.

Bu çalışmada, vitamin A uygulanmadan önce ve vitamin A uygulandıktan sonra elde edilen ortalama sperma pH'ları arasında istatistiki olarak fark bulunamamıştır. Benzer görüşle Erdinç ve ark. (14) da vitamin A uygulanmayan ve uygulanan koçların sperma pH'ları arasında farkın bulunmadığını bildirmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada, vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra boğalardan alınan spermalarındaki anormal spermatozoid oranları arasında yapılan istatistiki hesaplamada önemli düzeyde ($P < 0.01$) bir fark bulunmuştur. Pivnyak ve ark. (37) boğaların rasyonuna ilave edilen mikrobiyal beta karotenin anormal spermatozoid oranında % 67'lik bir azalma meydana getirdiğini, Madsen ve ark. (30), Bratton ve ark. (8) vitamin A eksikliğinin anormal spermatozoid oranını arttırdığını, Lindley ve ark. (28) koçlarda vitamin A eksikliğinin anormal spermatozoid oranını arttırdığını bildirirlerken, Roussel ve ark. (40) vitamin A uygulamalarının anormal spermatozoid oranını azalttığını bildirmişlerdir. Kozicki ve ark. (24) ve başka bir çalışmada yine Kozicki ve ark. (25) vitamin A uygulamalarının anormal spermatozoidler üzerine etkisinin olmadığını, Vencil ve ark. (48) rasyona ilave edilen beta karotenin anormal spermatozoid oranı üzerine oluşturduğu farkın istatistiki olarak önemsiz olduğunu vurgulamışlardır.

Uygulanan vitamin A'nın anormal spermatozoid oranını azaltmış olması, germinatif epitel hücrelerinden spermatogenesis yoluyla spermatozoidlerin oluşması esnasında A vitamininin bu epitel hücreler üzerine müspet etkisinden kaynaklanabilir.

Bu çalışmada, vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra alınan spermaların spermatozoid yoğunlukları arasında yapılan istatistiki analiz sonucu fark bulunamamıştır. Bu çalışmadaki bulgulara benzer olarak Kupfer ve ark. (27), Kozicki ve ark. (24), başka bir çalışmada yine Kozicki ve ark. (25), Venci ve ark. (48) spermatozoid yoğunlukları bakımından uygulama grupları ile kontrol grupları arasında istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığını bildirmişlerdir. Golyarkin (16), boğaların rasyonuna vitamin A ilavesinin spermatozoid yoğunluğunu geliştirdiğini, Vomer (50), vitamin A enjeksiyonunun spermatozoid yoğunluğunu arttırdığını, Roussel ve ark. (40) ve Weiss (51), rasyona ilave edilen beta karotenin spermatozoid yoğunluğunu arttırdığını bildirmişlerdir. A vitamini uygulamasının spermatozoid yoğunluğunu artırmış olması yine A vitamininin spermatogenesisi kamçılamasından dolayı meydana gelebilir.

Sunulan bu çalışmada, boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra alınan spermanın spermatozoid motiliteleri arasında istatistiki olarak önemli düzeyde ($P<0.01$) bir fark bulunmuştur. Benzer görüşle İdris ve ark. (20) boğaların spermatozoid motiliteleri arasında önemli düzeyde ($P<0.01$) bir artışın olduğunu belirtmişlerdir. Vomer (50) ve Golyarkin (16), boğalara vitamin A uygulamalarının spermatozoid motilitesini artırdığını, Bratton ve ark. (8) ile Madsen ve ark. (30) boğalarda vitamin A eksikliğinin spermatozoid motilitesini azalttığını bildirirlerken, Weiss (51), boğaların rasyonuna ilave edilen beta karotenin spermatozoid motilitesini azalttığını belirtmiştir. Kupfer ve ark. (27) ile Venci ve ark. (48) rasyona ilave edilen beta karotenin spermatozoid motilitesi üzerinde etkisinin olmadığını vurgulamışlardır. Boğalara vitamin A uygulandıktan sonra spermatozoidlerin motilitesinin artmış olması A vitamininin spermatozoidlerin canlılıkları ve aktiviteleri üzerine olumlu etki etmesinden meydana gelebilir.

Yapılan bu çalışmada, vitamin A uygulanmadan önce ve vitamin A uygulandıktan sonra boğalardan elde edilen spermanın dondurulup çözüldükten sonraki spermatozoid motiliteleri arasındaki artışın istatistiki olarak önemsiz olduğu bulunmuştur. Benzer görüşle Kupfer ve ark. (27) rasyonuna beta karoten ilave etmeden önce ve ilave ettikten sonra boğalardan almış oldukları spermanın dondurulup çözüldükten sonraki spermatozoid motiliteleri arasında fark olmadığını bildirirken, Vomer (50), uzun süre vitamin A ve beta karoten yönünden yoksun rasyonla beslenen hayvanlara vitamin A enjekte ettikten sonra alınan spermaların dondurulup çözüldükten sonraki spermatozoid motilitelerinin önemli derecede arttığını, Stolbov ve Rimanova (44), vitamin A ilave ederek dondurdukları spermanın çözüldükten sonra spermatozoid motilitesinin, vitamin A katılmadan dondurulup çözülen spermatozoid motilitelerine göre arttığını tespit etmişlerdir. Boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve vitamin A uygulandıktan sonra alınan spermaların dondurulup çözüldükten sonraki spermatozoid motiliteleri arasındaki fark her ne kadar spermanın dondurulması metodundan etkilenebilirse de spermada bulunan A vitamini düzeylerinin farklı olmasından da oluşabilir.

Bu çalışmada boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve vitamin A uygulandıktan sonra seminal plazmada elde edilen vitamin A değerleri arasında önemli düzeyde ($P<0.01$) fark bulunması, Pivnyak ve ark. (38)'nin rasyona ilave edilen beta karotenin boğaların spermasındaki vitamin A oranını arttırdığını belirttiği çalışmaya paralellik göstermektedir.

Yapılan bu çalışmada, vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra boğalardan elde edilen dölverimi oranları arasında istatistiki olarak farkın önemsiz olduğu bulunmuştur. Benzer görüşle Kupfer ve ark. (27), elde ettikleri gebelik oranları arasında istatistiki olarak önemli bir farkın olmadığını belirtirlerken, Erb ve ark. (13) vitamin A eksikliğinin boğaların dölverimini

azalttığını, Pivnyak ve ark. (37) rasyona ilave edilen beta karotenin spermatozoidlerin dölleme gücünü artırdığını vurgulamışlardır. Boğalara vitamin A uygulanmadan önce ve uygulandıktan sonra alınan spermalarla yapılan tohumlamalardan elde edilen dölverimi arasındaki farkın önemsiz olması veya vitamin A eksikliğinin dölverimini azaltması, Beta karotenin spermatozoidlerin dölleme gücünü artırması, A vitaminin organizmadaki düzeyine yani az veya çok bulunmasına bağlı olabilir.

Sonuç olarak damızlıkta kullanılan boğalara vitamin A uygulamalarının seminal plasmadaki vitamin A miktarını artırdığı görülürken, boğaların spermatozoid motilitesini artırdığı, spermadaki anormal spermatozoid oranında bir azalma meydana getirdiği izlenmiştir. Böylece damızlık boğalara verilen rasyona ilave olarak ekstradan vitamin A uygulamalarının dölverimi üzerine olumlu etki göstereceği ve artıracığı kanaatindeyiz.

5.ÖZET

Bu çalışma, boğaların seminal plasmasında vitamin A ve Beta Karoten düzeylerinin araştırılması, boğalara exogen olarak verilen A vitamininin spermatolojik özellikler üzerine etkisi ve bu spermalarla tohumlanan ineklerden elde edilen dölverimi sonuçlarını tespit etmek amacıyla yapılmıştır.

Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsünde damızlık olarak tutulan 5 Holştayn boğa ile Elazığ merkezi ve çevre köylerde yetiştirilen 200 Holştayn inek çalışmada kullanılmıştır.

Boğalardan sun'i vagen yardımıyla sperma örnekleri haftada iki defa ve her defasında iki ejakulat olmak üzere 5 hafta süreyle sperma alınmasına devam edildi. Sonra boğalara onar gün ara ile iki defa 4.000.000 IU vitamin A enjekte edildi. Enjeksiyondan 35-40 gün sonra benzer şekilde sperma alındı. Alınan spermaların muayeneleri yapıldıktan sonra birinci ejakulatlar tohumlamada kullanılincaya kadar dondurulup saklandı. İkinci ejakulatlar santrifüj edilerek elde edilen seminal plasma örnekleri vitamin A ve Beta karoten analizleri için derin dondurucuda saklandı.

Sperma sulandırıcısı olarak Laiciphos 488 kullanıldı. Bu sulandırıcıya 50 ml yumurta sarısı ilave edildi. Sperma sulandırılırken 0.25 ml'lik bir payette 20.000.000 motil spermatozoid içermesi esas alındı. Dondurma esnasında payetler sıvı azot buharında sıcaklığın 7 dakika içerisinde +4 °C den - 140 °C ye düşmesi için tutuldu. Sonra payetler sıvı azot içerisinde (-196 °C) saklandı. Payetlerdeki sperma 37 °C de 20-30 saniyede çözüldü. Pistole serviksi geçer geçmez sperma uterusu bırakılmak suretiyle ineklerin tohumlanması sağlandı.

Seminal plasmadaki vitamin A ve Beta karoten analizleri High Performance Liquid Chromatography cihazıyla yapıldı.

Vitamin A uygulanmadan önce boğaların sperma miktarı ortalama 4.4 ± 0.33 ml, spermanın pH'sı ortalama 6.40 ± 0.03 , toplam anormal spermatozoid oranı % 11.50 ve anomaliler içerisinde en sık % 10.32 ile kuyruğa bağlı anomalilere rastlandı. Spermatozoid yoğunluğu ortalama $0.967 \pm 0.05 \times 10^9$ /ml, spermatozoid motilitesi ortalama % 70.40, dondurulup çözüldükten sonraki spermatozoid motilitesi ise ortalama % 60 olarak bulunmuştur.

Vitamin A uygulandıktan sonra yine boğaların sperma miktarı ortalama 4.4 ± 0.16 ml, spermanın pH'sı ortalama 6.18 ± 0.03 , toplam anormal spermatozoid oranı % 8.56 ve anomaliler içerisinde en sık % 7.41 ile kuyruğa bağlı anomalilere rastlandı. spermatozoid yoğunluğu ortalama $1.115 \pm 0.04 \times 10^9$ /ml, spermatozoid motilitesi ortalama % 79.80, dondurulup çözüldükten sonraki spermatozoid motilitesi ise ortalama % 64 olarak tespit edilmiştir.

Vitamin A uygulanmadan önce 5 boğanın seminal plasmasında bulunan vitamin A değerleri 4.35 ± 0.25 ile 5.14 ± 0.18 ng/ml arasında değişirken ortalama 4.79 ± 0.13 ng/ml olmuş ve aynı boğalara vitamin A uygulandıktan sonra ise 5 boğanın seminal plasmasında bulunan vitamin A değerler 5.52 ± 0.17 ile 7.46 ± 0.46 ng/ml arasında değişmiş ve ortalama 6.45 ± 0.31 ng/ml olarak bulunmuştur.

Vitamin A uygulanmadan önce boğalardan alınan spermalar ile, tohumlanan ineklerde ortalama % 62 gebelik oranı elde edilirken, vitamin A uygulandıktan sonra alınan spermalarla da tohumlanan ineklerde ortalama % 71 gebelik oranı sağlanmıştır.

Boğalara Vitamin A uygulanmadan önce ve sonra elde edilen seminal plazmalardaki A vitamini seviyeleri, ortalama spermatozoid motiliteleri ve anormal spermatozoid oranları arasındaki fark istatistiki yönden önemli ($p < 0.01$) bulunmuştur.

Boğaların spermatozoid motilitesi, yoğunluğu ve seminal plasmada bulunan vitamin A seviyeleri ile dölverimleri arasında pozitif bir ilişkinin olduğu tespit edilmiştir.



SUMMARY

The current study was conducted to determine vitamin A and beta carotene levels in seminal plasma of bulls, influence of exogenously administered vitamin A on spermatological parameters of semen and on fertility of cows inseminated artificially with these semen samples were assessed.

Five Holstein bulls housed at Lalahan Animal Research Institute and 200 Holstein cows raised by the farmers in and around Elazığ were used in this study.

Semen samples were taken with the help of an artificial vagina. Samples were taken twice a week and each time two consecutive ejaculates were taken. The first round of semen collection was continued for five weeks. Afterwards, two doses of vitamin A (each consist of 4.000.000 I.U. of vitamin A) were administered to the bulls at 10 days interval. After 35 or 40 days from second injection the second round of semen collection was carried out. Initially all the semen samples were examined and the first ejaculates from each collection were frozen and stored until usage for artificial insemination. The second ejaculates were centrifuged and seminal plasma samples were stored in deep freezer for determination of vitamin A and beta carotene levels.

Laiciphos 488 was used as semen diluent. Fifty ml of egg yolk was added into this diluent. The volume of semen paillett was 0.25 ml and each paillett contained 20 million active sperm. During the freezing, the paillettes were kept in the fume of liquid nitrogen for seven minutes in order to reduce the temperature of the samples from + 4 °C to - 140 °C. Afterwards the paillettes were stored in the liquid nitrogen. The thawing of the samples were carried out at + 37 °C in 20-30 seconds. Artificial inseminations were performed by depositing the semen samples into the uterus as soon as the tip of the pistole passed the cervix.

Vitamin A and beta carotene analysis of seminal plasmas were determined by High Performance Liquid Chromatography.

Before vitamin A administration, average semen volume of bulls was 4.4 ± 0.33 ml, average pH value was 6.40 ± 0.03 , total rate of abnormal sperm was 11.50 % and the most frequently encountered anomaly was associated with the tail and the rate of this anomaly was 10.32 %. Average sperm concentration was $0.967 \pm 0.05 \times 10^9$ /ml and average sperm motility was 70.40 %. The average motility of sperm after the freezing and thawing was 60 %.

Following vitamin A administration the average semen volume was 4.4 ± 0.16 ml and the average pH value was 6.18 ± 0.03 , total rate of abnormal sperm reduced to 8.56 % and again tail associated anomalies were the most frequently encountered anomalies with 7.41 % rate. Again in the vitamin A administered bulls average sperm concentration was $1.115 \pm 0.04 \times 10^9$ / ml and average sperm motility was 79.80 % and the average motility of sperm after the freezing and thawing was 64 %.

Before the vitamin A administration the level of vitamin A in the seminal plasma of five bulls ranged from 4.35 ± 0.25 ng/ml to 5.14 ± 0.18 ng/ml with the average level being 4.79 ± 0.13 ng/ml. After the vitamin A administration the level of vitamin A in the seminal plasma of five bulls ranged from 5.52 ± 0.17 ng/ml to 7.46 ± 0.46 ng/ml with the average level being 6.45 ± 0.31 ng/ml.

Average conception rate in cows inseminated with semen collected from bulls before vitamin A administration was 62 % and average conception rate in cows inseminated with semen collected from bulls after vitamin A administration was 71 %.

The difference between the sperm motility, abnormal sperm rates and the levels of vitamin A in seminal plasma of bulls before and after the vitamin A administration was found to be statistically significant ($p < 0.01$).

A positive correlation between the sperm motility, concentration of sperm, vitamin A level in seminal plasma and fertility of bulls was determined.



7.KAYNAKLAR

1- Abilov, A.I., Kochetkov, A.A., Sokolovskaya, I.I., Oivadis, R.N. and Stoyanov, V.K. (1989). Autoimmunity of Bulls and Their Reproductive Performance. Zootekhnika 5, 61-63.

2- Afiefy, M.N., İdris, A.A. and Zaki, K. (1984). Seasonal Variations in the Volume of the Ejakulate in Buffalo and Friesian Bulls with Special Reference to the Role of Vitamin A and Testosterone. 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination June 10-14. University of Illinois at Urbana-Champaign, Illinois, USA, Volume II. Brief Communications. No: 49

3- Afiefy, M.N., İdris, A.A. and Yousif, H.I. (1984). The Sexual Activity of Buffalo and Friesian Bulls as Influenced by Season Vitamin A and Testosterone. 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination June 10-14. University of Illinois at Urbana-Champaign, Illinois, USA, Volume III. Brief Communications. No: 282

4- Al-Hanak, H., Grudova, Ch., Zakhariev, Z., Iotova, M. and Dacheva, D. (1989). The Effect of Vitamin A on some Biological Traits of Bull Spermatozoa During Cryopreservation. Zhivotnov'dni-Navki, 26, (5), 80-83.

5- Anon. (1996). Çiftlik Dergisi 147, 44-45.

6- Aras, K., Erşen, G. ve Karahan, S. (1976). Vitaminler. Tıbbi Biyokimya. Ankara Üniversitesi Basımevi, 6 rd Ed. Sayfa no: 216 Ankara

7- Bearden, H.J. and Fuguay, J.W. (1992). Applied Animal Reproduction. 3rd. Ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

8- Bratton, R.W., Salisbury, G.W., Tanabe, T., Branton, C., Mercier, E. and Loosli, J.K. (1948). Breeding Behavior Spermatogenesis and Semen Production of Mature Dairy Bulls Fed Rations Low in Carotene. J. Dairy Sci. 31, 779-791.

9- Catignani, G.L. (1983). Simultaneous Determination of Retinol and Alfa-Tocopherol in Serum or Plasma by Liquid Chromatography. Clin. Chem. 29 ,(4), 708-712.

10- Çetinkaya, N. and Özcan, H. (1991). Investigation of Seasonal Variations in Cow Serum Retinol and Beta Carotene by High Performance Liquid Chromatographic Method. Comp. Biochem. Physiol. 100, (4), 1003-1008.

11- Didkovskii, N.R. (1984). Plane of Feeding and Breeding Potential of Young of Replacement Bulls. Zhivotnovodstvo 7, 31-32.

12- Dutt, B. (1959). Effect of Vitamin A Deficiency on the Testes of Rams " The British Vet. J. 115, 236-239.

13- Erb, R.E., Andrews, F.N., Havge, S.M. and King, W.A. (1957) Observations on Vitamin A Deficiency in Young Dairy Bulls. J. Dairy Sci. 40, 687-702.

14- Erdinç, H., Gökçen, H., Çamaş, H., Çekgöl, E. ve Şener, E. (1987). Değişik Düzeylerde Vitamin A ve Vitamin E İçeren Rasyonlarla Beslenen Koçların Sperma Verimi ve Özellikleri Üzerinde Araştırmalar. Uludağ Üniv. Vet. Fak. Derg. 5-7, (1-3), 97-101.

15- Fayez, I., Marai, M., Daader, A.H. and Nasr, A.E (1985). Some physical and Biochemical Attributes of Buffalo Semen. Egyptian J. of Anim. Prod. 25, (1), 99-104.

16- Golyarkin, F.(1981). Effects of Vitamins A and D on Sexual Function of Breeding Bulls. Zhivotnovodstvo (2), 57.

17- Gambhir, K.K. and Ahluwalia, B.S. (1975). Vitamin A in Bovine Sperm Acrosomes. J. Reprod. Fert. 43, 129-132.

18- Goodman, D.S. (1980). Vitamin A Metabolism. Federation Proceed. 39, 2716-2722.

19- Hafez, E.S.E. (1985). *Reproduction in Farm Animals*. 5th Edition Lea and Febiger, Philadelphia.

20- İdris, A.A. and Afiefy, M.M. (1979). The Influence of Season, Vitamin A and Testosterone on the Motility of Spermatozoa of Buffalo and Friasian Bull Semen. *Journal-of-the-Egyptian-Vet.- Med-Assoc.* 39, (1), 161-170.

21- İnal, T.(1995). *Kesim Hayvanı ve Et Muayenesi*. Saray Kitapçılık Basım Yayım Dağıtım Pazarlama Bornova/İzmir.

22- Jaczewski, S., Mankiewicz, J., Zwdinska-Bartczak, I., Nowicki, B. and Galant, K.(1979). The Effect of Various Doses of Vitamin A on Bull Semen Quality. *Medycyna-Waterynarynia.* 35, (4), 239-242.

23- Kenneth, W.M., Nancy, A.L. and Chung, S.V. (1984). Simultaneous Determination of Plasma Retinol, Alfa-Tocopherol, Lycopene, Alfa-Cerotene and Beta Carotene by High Performance Liquid Chromotography. *Analytical Bioch.* 138, 340-345.

24- Kozicki, L., Barnabe, R.C., Casagrande, J.F. and Almeida, C.A.(1978). High Level Effects of Vitamins A, D3, E and C upon Semen Quality of Bulls. *Revista-da-Faculdade-de-Medicina-Veterinaria-e-Zootecnia-da-Universidade - de-Sao-Paulo.* 15, (2), 171-180.

25- Kozicki, L., Silva, R.G. and Barnabe, R.C. (1981). Effects of Vitamins A, D3, E and C on the Characteristics of Bull Semen. *Zentralblatt- Fur-Vetarinarmedizin.* 28, (7), 538-546.

26- Kupfer, U., Kupferschmied, H., Bochmann, Ph., Gaillard, C. und Schwab, W. (1986). Importance of Beta Carotene in Artificial Insemination Bulls. *Zuchthyg* 21, 71-76.

27- Kupfer, U., Kupferschmied, H., Bochmann, Ph., Gaillard, C. und Schwab, W. (1986). Investigations to the Significance of Beta Carotene in Bulls. *Simmental - News.* 44, p. 34.

28- Lindley, C.E., Brugman, H.H., Cunha, T.J. and Warwick, E.J. (1949). The Effect of Vitamin A Deficiency on Semen Quality and the Effect of Testosterone and Pregnant Mare Serum on Vitamin A Deficient Rams. *J. Anim. Sci.* 8, 590-602.

29- Linder, M.C. (1991). *Nutritional Biochemistry and Metabolism.* 2nd Ed. Newyork .

30- Madsen, L.L., Eaton, O.N., Hcemsstra, L., Davis, R.E., Cabell, C.A. and Krapp, B. (1948). Effectiveness of carotene and Failure of Ascorbic Acid to Increase sexual activity and Semen Quality of vitamin A Deficient Beef Bulls. *J. Anim. Sci.* 7, 60-69.

31- McDonald, P., Edwards, R.A. and Greenhalgh, J.F.D (1986). *Animal Nutrition.* Forth Edition. 60-64.

32- McDowell, L.R.(1989). *Vitamins in Animal Nutrition Comparative Aspects to Human Nutrition.* Vitamin A Academic Press. London.

33- Mengi, A. (1991). *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Ders Kitabı.* İ. Ü. basımevi.

34- Munro, I.B. (1961). Bovine Semen characteristics and Fertility. *J. Reprod. Fertil.*, 2, 513-515.

35- Olson, J.A. (1969). Metabolism and Function of Vitamin A. *Federation Proceed.* 28, (5), 1670-1677.

36- Olson, J.A. (1988). Provitamin A Function of Carotenoids: The Conversion of Beta Carotene into Vitamin A . *Am. J. Clinic Nutrition.* 13, 105-108.

37- Pivnyak, I.G., Zabolotskii, V.A., Belonoshkii, V.P. and Stoyanov, V.K. (1986). Microbial Beta Carotene in Rations for Breeding Bulls. *Zhivotnovodstvo.* , 4, 50-51.

38- Pivnyak, I.G., Zabolotskii, V.A. and Stoyanov, V.K. (1990). Effect of Microbial Beta Carotene on Semen Quality in Bulls. *Zootekhniya.* 8, 48-49.

39- Rode, L.M., Coulter, G.H., Kastelic, J.P. and Bailey, D.R.C. (1994). Seminal Quality and Sperm Production in Beef Bulls with Chronic Dietary Vitamin A Deficiency and Subsequent Re-Alimentation. *Theriogenology* 17, 1269-1277.

40- Roussel, J.D., Patrick, T.E., Kellgren, H.C., Randel, P.F. and Rusoff, L.L. (1963). Influence of High Level Vitamin A Supplement on Semen Characteristics and Blood Composition of Breeding Bulls. *J. Dairy Sci.* 46, 583-585.

41- Sevinç, A. (1977). Dölerme ve Sun'i Tohumlama. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları No 12 Ankara.

42- Smith, J.E. and Goodman, D.S. (1976). Retinol Binding Protein and The Regulation of Vitamin A Transport. *Federation. Proceed.* 38, 2504-2509.

43- Snedecor, G.W. and Cochran, W.G. (1967). *Statistical Methods*. 6th. ed. Iowa State Univ. Press. Ames Iowa.

44- Stolbov, V.M. and Rimanova, L.D. (1983). The Effect of Vitamins in the Diluent on the Quality of Thawed Bull Semen. *Kriokonservatsiya Gameti Embryonov sel'khoz. Zhivotnykh*, 54-57.

45- Sümbüllüoğlu, K. ve Sümbüllüoğlu, V.D. (1993). *Biyoistatistik* . 4. Baskı Özdemir Yayıncılık Ltd. Şti. Ankara.

46- Swarup, D. and Sekhon, H. (1976). Correlation of Vitamin A and Zinc Concentration of Seminal Plasma to Fertility of Bovine Semen. *Nutrition Reports Int.* 13, (1), 37-42.

47- Ullrey, D.E. (1972). Biological Availability of Fat-Soluble Vitamins: Vitamin A and Carotene. *J. Anim. Sci.* 35, (3), 648-657.

48- Venci, B., Jiranek, E. and Tluchor, V.(1991). The Effect of Synthetic Beta Carotene Supplementation on Semen Quality in Breeding Bulls. *Scientia Agriculturae Bohemoslovaca* 4, 343-349.

49- Virji, N., Vahlquist, A. and Eliasson, R. (1981). Vitamin A in Human Semen. *Experientia* 37, (12), 1267-1268.

50- Vomer, I. (1972). Effect of Vitamin A on the Quality of Bull Sperm. Veterinaria- Yugoslavia. 21,(1-2), 161-170.

51- Weiss, R.R. (1975). Influence of Beta Carotene and Vitamin A on Defined Sexual Functions of Young Bulls. Inaugural-Dissertation, Tierarztliche Hochschule Hannover.

52- Young, D.C., Foote, R.H., Turheimer, A.R. and Hafs, H.D. (1960). A Photoelectric Method for Estimating the Concentration of Sperm in Boar Semen. J. Anim. Sci, 19, 20-25.



.8.ÖZGEÇMİŞ

Elazığ,1966 doğumluyum İlk ve orta öğrenimimi Elazığ da tamamladım. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesine 1983 yılında girerek 1989 yılında mezun oldum. 1990 yılı Nisan-Kasım ayları arasında kısa dönem olarak askerlik görevimi yaptım. Eylül 1991 de F.Ü. Veteriner Fakültesi Dölerme ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalında doktora çalışmalarına başladım. Mart 1993 de F.Ü. Veteriner Fakültesi'nin Dölerme ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalına Araştırma Görevlisi olarak atandım. Halen aynı görevime Anabilim Dalı adı altında devam etmekteyim.

Arş. Gör. Seyfettin Gür

9. TEŞEKKÜR

Doktora çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof.Dr. Eşref DEMİRCİ başta olmak üzere, çalışmamda büyük yardımlarını gördüğüm Lalahan Zootečni Araştırma Enstitüsü müdürü Sayın Doç. Dr. Orhan ÇETİN, Sun'i Tohumlama Laboratuvarında çalışan Veteriner Hekimler Hüseyin KİNET, Azmi EROĞLU, Haluk AŞHAROĞLU ve diğer personele en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca doktora tez çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen T.A.E.K. Lalahan Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsü Müdürü Sayın Prof. Dr. Burhan DİNÇER, Hayvan Besleme Bölüm Başkanı Sayın Doç. Dr. Nurcan ÇETİNKAYA ve kimyager Sayın Serap ULUTÜRK Sun'i Tohumlama hususunda yardımlarını esirgemeyen Elazığ Tarım İl Müdürü Sayın Yılmaz YAPAR, Proje İstatistik Şube Müdürü Sayın Veteriner Hekim Remzi KOÇ ve Sun'i Tohumlama teknisyenlerine teşekkürlerimi sunarım.