

54879

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KOYUNLARIN DONMUŞ-ÇÖZÜNMÜŞ SPERMA
KULLANILARAK LAPAROSKOP YARDIMI İLE
İNTRAUTERİN TOHUMLANMASI

(DOKTORA TEZİ)

Araştırma Görevlisi
Mehmet Bozkurt ATAMAN

Danışman Öğretim Üyesi
Doç. Dr. Kenan ÇOYAN

KONYA-1996

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİ.....	4
2.1. Dünya'da ve Türkiye'de Sun'i Tohumlama'nın Tarihçesi.....	4
2.2. Koyunlarda Seksüel Siklus.....	5
2.3. Sun'i Tohumlama Yöntemleri.....	7
2.3.1. Vajinal Tohumlama.....	7
2.3.2. Servikal Tohumlama.....	7
2.3.3. İntrauterin Tohumlama.....	8
2.3.3.1. Transservikal İntrauterin Tohumlama.....	8
2.3.3.2. Laparatomik İntrauterin Tohumlama.....	8
2.3.3.3. Laparoskop Yardımı İle İntrauterin Tohumlama.....	8
2.4. Sperma Saklama Yöntemleri.....	9
2.4.1. Spermanın Taze Olarak Saklanması.....	9
2.4.2. Spermanın Sulandırılarak Kısa Süreli Saklanması.....	9
2.4.3. Spermanın Uzun Süreli Saklanması.....	10
2.4.3.1. Pellet Yöntemi.....	10
2.4.3.2. Payet Yöntemi.....	10
2.5. Donmuş-Çözünmüş Sperma Kullanımının Fertilite Üzerine Etkisi.....	12
2.5.1. Sperma Sulandırıcılarının Fertilite Üzerine Etkisi.....	12
2.5.2. Doz-Çözünme Sonrası Motilitenin Fertilite Üzerine Etkisi.....	14
2.5.3. Sperma Dondurma Şeklinin Fertilite Üzerine Etkisi.....	15
2.5.4. Tohumlama Tekniğinin Fertilite Üzerine Etkisi.....	16
2.5.5. Tohumlama Sayısının Fertilite Üzerine Etkisi.....	19
2.5.6. Östrüs Senkronizasyonu ve Ovulasyon Uyarımlarının Fertilite Üzerine Etkisi.....	20
2.5.7. Tohumlama Sezonunun Fertilite Üzerine Etkisi.....	22

3. MATERYAL VE METOT.....	26
3.1. Materyal.....	26
3.2. Metot.....	26
3.2.1. Spermanın Alınması.....	26
3.3. Sperma Muayenesi.....	26
63.3.1. Sperma Rengi.....	26
63.3.2. Sperma Miktarı.....	26
3.3.3. Kitle Hareketi.....	27
3.3.4. Spermatozoa Motilitesi.....	27
3.3.5. Spermatozoa Yoğunluğu.....	27
3.3.6. Ölü-Canlı Spermatozoon Oranı.....	28
3.3.7. Morfolojik Muayene.....	28
3.4. Spermanın Sulandırılması ve Dondurulması.....	29
3.4.1. Sulandırıcının Hazırlanması.....	29
3.4.2. Spermanın Sulandırılması.....	30
3.4.3. Spermanın Dondurulması.....	30
3.5. Östrüs Tespiti.....	31
3.6. Tohumlama.....	31
3.6.1. Servikal Tohumlama.....	31
3.6.2. Laparoskop Yardımı İle İntrauterin Tohumlama.....	31
3.7. Gebelik Muayenesi.....	33
3.8. Şekiller.....	34
4. BULGULAR.....	36
4.1. Spermatojik Özellikler.....	36
4.2. Fertilite Sonuçları.....	37
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	41
6. TÜRKÇE ÖZET.....	57
7. SUMMARY.....	59
8. LİTERATÜR LİSTESİ.....	61
9. TEŞEKKÜR.....	74
10. ÖZGEÇMİŞ.....	75

1. GİRİŞ

Türkiye' de hayvancılık gelirlerinin milli gelirimize katkısı yaklaşık olarak % 10, tarım gelirlerine katkısı da % 30 dolaylarındadır. Hayvancılık sektörü içerisinde de koyunculuk önemli paya sahiptir. 1992 sayımına göre yurdumuzda bulunan koyun sayısı 39.416.000'dir. Yıllık toplam et üretiminin % 27' si, süt üretiminin de % 10' u koyunlardan sağlanmaktadır. Sanayi alanında da önemli görevler üstlenen koyunculugumuz dokuma sanayiinin temel ihtiyacı olan yapağı ihtiyacının % 20' sini karşılamaktadır (98).

Ülkemizde oldukça fazla miktarda koyun eti tüketilmektedir. Buna karşın koyun eti üretimiyle tüketimi arasındaki açık büyük boyutlara ulaşmıştır. Ayrıca hızla gelişen yünlü dokuma sanayiinin ihtiyaçlarına yeterli ölçüde cevap verilememektedir. Oysa, ülkemiz koyunculugu et ve yapağı ihtiyacını karşılayacak alt yapıya sahiptir. Bu ihtiyaçların giderilebilmesi için ülkemizde de yeni ve modern yetiştirme metodlarının kullanılması kaçınılmaz olmuştur.

Ülkemiz koyunculuk alanında güçlü bir potansiyele sahip olmasına karşılık yanlış uygulamalar sonucu bu konuda yeterli gelişme gösterememektedir.

Erken kuzu kesimi, dölverimi düşüklüğü ve ırk ıslah çalışmalarındaki yetersizlikler, et ve yapağı fiyatlarındaki dengesizlikler bu yanlış uygulamalardan sadece birkaçıdır.

Verim düzeylerinin arttırılabilmesi için genotipik yapının ıslahı ve üstün özelliklere sahip generasyonların elde edilmesi gerekmektedir.

Hijyen, çevre ve bakım-besleme şartlarının iyileştirilmesi de, en az genotipik yapının ıslahı kadar önemli bir faktördür. Zira çevre şartları düzeltilmediği, bakım-besleme koşulları iyileştirilmediği sürece üstün verimli hayvanlar elde etmek mümkün olmamaktadır.

Birçok avantajlarından dolayı sun'i tohumlama ile, üstün genotipik yapı ve verim özelliklerine sahip erkek hayvan spermalarıyla kısa sürede fazla sayıda dişi hayvanın tohumlanması mümkündür. Bu nedenle verim özellikleri düşük olan koyunların, doğan yavrularının verimlerinin yükseltilebilmesi, tabii aşımaya göre daha kısa süre içerisinde mümkün olacaktır. Yine ülkemizde yerli koyun ırklarının ço-

ğunun kuyruklarının aşırı yağlı oluşu, kuyruğu yağsız koçların bu konyunlara doğal aşım yapmalarının güç olmasından dolayı melezleme çalışmalarında sun'i tohumlama uygulamalarını zorunlu kılmaktadır.

Ülkemizde koyun sun'i tohumlaması başlangıcından günümüze kadar taze sperma ile yapılmaktadır. Dünya' da da ilk sun'i tohumlama çalışmalarında taze sperma kullanılmaktaydı. Daha sonraki çalışmalarda spermanın sulandırılması yoluna gidilmiştir. Bu amaçla ilk kez 1939 yılında yumurta sarısı ve fosfat tuzları içeren sulandırıcılar kullanılmıştır. Böylece taze spermaya oranla, bir ejakülat ile daha fazla sayıda dişi hayvan tohumlama imkanı olduğu gibi spermanın birkaç saat canlı olarak saklanması sağlanabilmiştir.

Bundan sonraki çalışmalarda ise araştırmacılar; +4 ila +5 C' de spermayı birkaç gün saklamayı denemişler, ancak 3. günden sonra sperma fertilitasını kaybetmeye başladığından dolayı daha sonraki günlerde bu sperma tohumlamada kullanılamıyordu. Bu nedenle araştırmacılar spermayı çok daha düşük ısılarda dondurmayı ve saklamayı denemişlerdir.

Bu konudaki ilk çalışmalar Emmens ve Blackshaw (18) tarafından gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar yaptıkları denemede spermayı kuru buz ve etil alkol banyosunda -79 C' de dondurduklarını bildirmektedirler. Son yıllarda yapılan çalışmalarda ise koç sperması daha çok kuru buz üstünde pellet formunda ve sıvı azot buharında pa-yetlerde dondurulmaktadır.

Bu konudaki çalışmalar göstermiştir ki; koyun sun'i tohumlamasında en etkin ve pratik yöntem koç spermasının dondurularak kullanılmasıdır. Yalnız bu yöntemle spermanın uzun süre saklanması ve ihtiyaç duyulan bölgelere zamanında ulaştırılması mümkün olabilmektedir. Fakat koç spermasının dondurulmasındaki zorluklar halen çözüm getirilmesi gereken bir sorun olarak devam etmektedir.

Ülkemizde de ıslah çalışmalarında önemli bir yer tutan sun'i tohumlama çalışmalarına yeni bir yön verilmesi gerekmektedir. Çünkü halen yapılagelen sun'i tohumlama çalışmaları, taze spermayla ve vaginal tohumlama yöntemi ile devam etmektedir. Değerli damızlık hay-

vanlardan yeterince yararlanılması, spermanın değişik bölgelere nakli ancak spermanın dondurulması ile, fertilitenin artırılması ise uygun tohumlama tekniğinin seçilmesi ile mümkün olabilir.

Koç spermasının dondurulması ve donmuş-çözünmüş sperma ile koyunlarda yapılan servikal tohumlamalarda serviksin kompleks yapısından dolayı uterusu ulaşılamamasına bağlı olarak başarısız sonuçlar elde edilmesi, araştırmacıları yeni bir tohumlama tekniği geliştirmeye yönlendirmiştir.

Bu konuda yapılan çalışmalarda; koyunlarda çeşitli tohumlama teknikleri ve bunların dölverimi üzerine etkileri araştırılmıştır. Günümüze kadar denenen teknikler arasında, vaginal, servikal, transservikal intrauterin, laparatomik intrauterin, laparoskopik intraoviduktal ve laparoskopik intrauterin tohumlama yöntemleri sayılabilir.

Bu çalışmada da donmuş-çözünmüş koç sperması kullanarak diğer tohumlama tekniklerine alternatif olarak geliştirilen laparoskop yardımıyla intrauterin tohumlama yönteminin uygulanabilirliği ve dölverimi üzerine katkısının araştırılması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1. Dünya'da ve Türkiye'de sun'i tohumlamanın tarihçesi

Bilimsel anlamda ilk sun'i tohumlama uygulaması evcil hayvanlarda sun'i tohumlamanın kurucusu olarak kabul edilen İtalyan fizyolog Lazaro Spallanzani tarafından 1780 yılında gerçekleştirilmiştir. Araştırmacı, evine kapattığı dişi bir köpeğin östrüs göstermesi üzerine, erkek köpekten aldığı spermayı vücut ısısında tutarak bir şırınga yardımı ile dişi köpeğin serviksine bırakmış, dişi köpek tohumlamadan 62 gün sonra üç adet yavru doğurmuştur. Doğan yavruların hem anneye hemde babaya benzediği gözlenmiştir. Adı geçen araştırmacı, spermanın dölleme gücünün içerdiği spermatozoonlardan kaynaklandığını belirtmiştir (91).

Koyun, sığır ve atlarda ilk sun'i tohumlama uygulaması Rus veteriner Elia Iwanow tarafından Rus çarlığına ait çiftliklerde gerçekleştirilmiştir. 1926 yılında Rusya' da evcil hayvanlarda sun'i tohumlama uygulamasının başarılı sonuçlar vermesi, zamanın Tarım Bakanı Sabri Toprak Bey'in dikkatini çekmiştir. Bunun üzerine sun'i tohumlamanın ülkemizde hayvanların ıslahı ve hayvansal üretimin arttırılması amacıyla kullanılabileceği düşüncesiyle Rus araştırmacı Prof. Mihailow ülkemize davet edilerek ilk sun'i tohumlama uygulamalarının atlarda Karacabey harasında gerçekleştirilmesi sağlanmıştır (83).

Koyunlarda ilk sun'i tohumlama uygulaması ise, 1928 yılında yerli koyunların Merinos koçlar ile çevirme melezlemesi çalışmalarında kullanılmasıyla gerçekleştirilmiştir.

Bir taraftan çeşitli kurslar ile yeni sun'i tohumlamacılar yetiştirilirken diğer taraftan da haralardaki sun'i tohumlama çalışmaları sürdürülmüş ve başarılı sonuçlar alınması üzerine 1936 yılında Bursa'da kurulan seyyar ve sabit sun'i tohumlama istasyonlarında halk koyunları tohumlanarak ilk saha uygulamaları başlatılmıştır. Ancak sosyal, teknik ve ekonomik nedenlerden dolayı bu uygulamalara devam edilememiştir. Daha sonra 1948 yılından itibaren özellikle Merinos koyun yetiştiriciliğinin geliştirilmesi için haralarda ve halk

elindeki koyunlarda, 1949 yılında da sığırlarda sun'i tohumlama çalışmalarına yeniden başlanmış, kesintisiz olarak ve gelişerek günümüze kadar devam etmiştir. 1950 yılından itibaren ise sun'i tohumlama uygulamalarında buffer tabletleri ve sitratla sulandırılmış sperma kullanılmaya başlanmıştır (42).

1957 yılında Lalahan Sun'i Tohumlama Laboratuvarı'nın faaliyete geçmesi ve Prof. Dr. Adnan Özkoca'nın 1958 yılında Almanya'ya giderek sperma dondurma tekniğini öğrenmesini takiben 1959 yılından itibaren ülkemizde ilk sperma dondurma çalışmalarına başlanılmıştır(42).

2.2. Koyunlarda seksüel siklus

Koyun ırklarının çoğu mevsimsel poliöstrik hayvanlar olup, coğrafik bölge ve ırklara bağlı olarak 4-7 ay süreyle anöstrüs gösterirler. Aşırı mevsim değişiklikleri görülmeyen bölgelerde ise mevsime bağlı olmayan seksüel aktivite gösterirler. Kuzey yarım küresinde koyunlar, günlerin kısaltmaya başladığı yaz sonu, sonbahar ve kış başlangıcında östrüs gösterirler. Güney yarım küresinde ise bu durumun tam tersi mevcuttur. Ancak Merinos ırkı ile bu ırkın melezlerinde ve Akdeniz bölgesi koyunlarında yıl boyunca siklik aktivite görülebilmektedir (13).

Çiftleşme sezonunun başlaması üzerine günlerin kısaltmaya başlaması, koyunların süttten çıkarılarak prolaktin seviyesinin düşmesi, ırk, bakım-besleme şartları ve koçun sürüye katılması etkilidir.

Ülkemizin de bulunduğu kuzey yarım küresinde 21 Haziran en uzun gündür. Bu tarihten üç hafta sonra günlerin kısaltmaya başlaması ile koyunlarda siklik aktivite başlar. Bunun nedeni çevre-hipotalamus-hipofiz ön lobunun etkisiyle ovaryumların uyarılmasıdır. Buna bağlı olarak siklik aktivitenin uyarılması Batı Anadolu'da Temmuz-Eylül, doğuya doğru ise Ekim- Aralık aylarına doğru sarkmaktadır (13, 50, 55).

Gün uzunluğunun kısaltmaya başladığı dönemde ovaryumların aktivite göstermesi "Fotoperiodik Etki" ile oluşmaktadır. Işık uyarımlarının neuro-endokrin sistem üzerine etkisi tam olarak açık-

lanamamıştır. Ancak pineal bezden salgılanan Melatonin hormonunun hipotalamusta özel bir bölgeyi gün ışığına duyarlı hale getirdiği ileri sürülmektedir. Günün karanlık saatleri arttıkça, Melatonin salgısında artmaktadır. Melatonin seviyesindeki bu farklılıklar neuro-endokrin sisteme gün uzunluğunu ileten sinyal olarak ulaşmaktadır (55).

Koyunlarda seksüel siklus ortalama 16-17 (14-21 gün) gündür. Özellikle çiftleşme sezonunun başlangıcı ve bitiş dönemlerinde ortalama değerlerden sapmalar görülmektedir.

Siklustaki dağılım ise; 2 gün proöstrüs, 30-36 saat östrüs, 2 gün metöstrüs ve 11 gün diöstrüs şeklindedir. Proöstrüs ve östrüs evresi folliküler faz, metöstrüs ve diöstrüs evresi ise luteal faz dönemini oluşturmaktadır.

Östrüsten 24 saat kadar önce ovaryumlarda FSH' nın etkisine bağlı olarak gelişen folliküllerden salgılanan $17-\beta$ östradiol östrüs davranışlarının ortaya çıkmasını sağlar. Östrüs yaklaşık olarak 30-36 saat devam eder. Ovulasyon östrüs başlangıcından ortalama 24-30 saat sonra LH' nın etkisiyle oluşur. Ovulasyondan sonra şekillenen corpus luteum'dan progesteron salgılanır. Progesteron salgısı siklusun 3. gününden 9. gününe kadar artarak devam eder. Daha sonra siklusun 13. gününe kadar en üst seviyede kalır. Gebelik şekillenmediği takdirde siklusun 13. gününden itibaren $PGF_{2\alpha}$ periferik dolaşımında artmaya başlar. Buna paralel olarak corpus luteum küçülmeye başlar ve progesteron konsantrasyonu hızla düşerek siklusun 16. gününde en düşük düzeye erişir. Gebeliğin oluşması halinde ise 12. günde trofoblast proteinleri endometriyumda $PGF_{2\alpha}$ salgısını engelleyerek corpus luteum'un kalıcı hale gelmesini sağlar (13, 50, 55).

Koyunlarda östrüs tespiti genellikle penis bölgelerine bez bağlanmış arama koçu yardımıyla yapılmaktadır. Arama koçları, östrüsteki koyunları daha çok anal bölgede yer alan ter ve yağ bezlerince salgılanan özellikle idrarlarında yoğunlaşan feromonler yardımıyla tespit edebilmektedirler (24).

2.3. SUN'I TOHUMLAMA YÖNTEMLERİ

Koyunlarda tohumlamalar daha çok taze ve sulandırılmış taze sperma ile servikal ve nadir olarakta donmuş sperma kullanılarak intrauterin yolla yapılmaktadır (24, 57).

2.3.1. Vaginal tohumlama

Vaginal tohumlama, servikse herhangi bir maniplasyon yapılmaksızın spermanın vaginanın anterioruna bırakılması ile gerçekleştirilir. Aynı zamanda "kör tohumlama" olarakta adlandırılmaktadır. Tohumlama işleminde; tohumlama yapılacak hayvanın zaptı-rapt altına alınmasından sonra vulva dudaklarının kuru temizliği yapılır. Tohumlama kateterine 0.2 ml hava çekildikten sonra 0.2 ml sperma çekilir. Katetere hava çekilmesinin amacı, spermanın tamamının vagina içerisine aktarılabilmesini sağlamaktır. Tohumlama kateteri vagina içerisinde dikkatli bir şekilde ilerletilerek sperma vaginanın anterioruna bırakılır. Yalnız kateterin orificium uretra' ya girmemesine ve vagina mukozasının zedelenmemesine özen gösterilmelidir. Daha çok taze sperma ile yapılan tohumlamalarda kullanılan bir yöntemdir (24, 43).

2.3.2. Servikal tohumlama

Servikal tohumlama; kateterin serviks içinde yaklaşık olarak 2-6 mm ilerletilerek depo edilmesi ile gerçekleştirilir. Bazı hayvanlarda kateterin serviks içerisinde ilerletilmesi mümkün olmamakla birlikte bazı hayvanlarda kateter tüm serviks boyunca ilerletilebilir. Bu tohumlama tekniğinde zaptı-rapt, hayvanın özel olarak yapılmış travaya alınmasından sonra arka kısmının yukarıya doğru kaldırılmasıyla sağlanır. Vulva dudaklarının kuru temizliğini takiben flambe edilmiş ve steril vazelinle kayganlaştırılmış spekülüm vagina içerisine yerleştirilir. Işık kaynağı yardımı ile spekülüm hareket ettirilerek serviksin bulunması sağlanır. Dış kısmı önce kuru ve daha sonra alkollü pamuk ile silinen kateter, sırasıyla alkol-saf su-distile su dizemlerinden geçirilerek temizlenir ve kurutulur. 0.2 ml sperma çekilen kateter spekülüm içerisinden geçirilerek orificium cervix ex-

terna'dan canalis cervixe girilerek mümkün olduğunca ilerletildikten sonra sperma depo edilir. Servikal tohumlama tekniği daha çok taze ve sulandırılmış sperma ile yapılan tohumlamalarda kullanılmaktadır (24).

2.3.3. Intrauterin Tohumlama

2.3.3.1. Transservikal intrauterin tohumlama

Bu yöntemde koyun, servikal tohumlamada olduğu gibi zaptı-rapt altına alındıktan sonra vulva dudaklarının kuru temizliği yapılır. Serviks mekanik dilatör (serviks pensi), hormon (PGE_2) veya tokolitik ilaçlar kullanılarak genişlemesi sağlanır, kateter tüm serviks boyunca ilerletilerek sperma uterusu depo edilir. Fischer ve ark. (31), tokolitik enjekte ettikleri koyunlarda derin servikal tohumlamanın, tokolitik enjekte edilmeyen koyunlara göre daha kolay olduğunu ancak tokolitik uygulamasının sperm transportunu azalttığını bildirmektedirler. Bu yöntemde koyunların yaklaşık % 80-90'ında serviks yoluyla uterusu ulaşılması mümkün olmaktadır. Daha çok donmuş sperma ile yapılan tohumlamalarda kullanılmaktadır (24).

2.3.3.2. Laparotomik intrauterin tohumlama

Bu yöntemde hayvan operasyon masası üstüne sırt üstü yatırılarak tespit edilir. Operasyon bölgesinin traş, asepsi ve antisepsisi sağlandıktan sonra lokal infiltrasyon ya da paravertebral anestezi uygulanır. Median hattın yapılan bir ensizyon ile karın boşluğuna girilir. Uterus ve ovaryumlar bulunarak tonus ve follikülün varlığı kontrol edilir. Tohumlama, ucuna enjeksiyon kanülü yerleştirilmiş kateter yardımı ile corpus uteri ya da follikülün bulunduğu cornu uteriye spermanın verilmesi ile gerçekleştirilir. Tohumlamayı takiben karın bölgesi kapatılarak tohumlaması yapılan koyuna i.m. olarak geniş spektrumlu antibiyotik enjeksiyonu yapılır (24, 68).

2.3.3.3. Laparoskop yardımı ile intrauterin tohumlama

Bu yöntemde de laparotomik yöntemde olduğu gibi hayvan tespit edilir. Yalnız bu yöntemde operasyon masasına aşağıya doğru 45 'lik bir eğim verilerek karın organlarının crainale doğru yer değiştirmeleri

sağlanır. Memelerin ön kısmından itibaren 10 cm' lik bir alan traş edilir, bu bölgenin asepsi ve antisepsisi sağlandıktan sonra trokarlar ile girilecek noktalara lokal infiltrasyon anestezisi uygulanır. Daha sonra her iki memenin yaklaşık 8-10 cm önünde bir noktadan laparoskop' un gireceği tokar, diğer bir noktadan ise kateterin gireceği trokar yerleştirilir. Omentum yağlarının uzaklaştırılabilmesi için memelerden birinin yaklaşık 10 cm caudo-lateraline bir kanül yerleştirilerek filtre edilmiş hava verilir. Trokarın birinden laparoskop diğerinden de stile sokularak uterus ve ovaryumlar açığa çıkarılır. Uterus ve ovaryumların muayenesini takiben stile, sokulduğu trokardan çekilerek yerine ucunda enjeksiyon kanülü bulunan kateter yerleştirilir ve tohumlama, kateterin sert bir darbe ile uterus lümenine girmesinin sağlanmasıyla gerçekleştirilir. Kanülün uterus lümenine tam olarak girmesine dikkat edilmelidir. Daha çok donmuş sperma ile yapılan tohumlamalarda kullanılır ve laparotomik yöntemle göre post-operatif doku adhezyonlarının oluşmaması, bakteriyel enfeksiyon riskinin daha az olması, anestezide ihtiyaç göstermemesi ve uygulama kolaylığı gibi birçok avantajlarından dolayı daha çok tercih edildiği belirtilmektedir (24, 57).

2.4. SPERMA SAKLAMA YÖNTEMLERİ

2.4.1. Spermanın taze olarak saklanması

Spermanın sun'i vajen ya da elektro ejakülatör yardımı ile erkek damızlık hayvandan sperma toplama kadehine alınarak +28 ila +32 C deki su banyosuna nakledilmesi ile gerçekleştirilir. Alınan ejakülatın birkaç saat içerisinde kullanılması gerekmektedir. Spermanın bu şekilde uzun süre saklanması mümkün olmadığından eğer yeterli sayıda tohumlanacak dişi hayvan bulunamazsa spermanın israfı söz konusudur (43, 55).

2.4.2. Spermanın sulandırılarak kısa süreli saklanması

Ejakülatın, sodyum sitrat-glikoz-yumurta sarısı, tris, süt, glikoz-fosfat solusyonu gibi çeşitli sulandırıcılar ile +28 ila +32 C'deki su

banyosunda 1/1'den 1/10'a kadar değişen oranlarda sulandırılmasından sonra ısısının yaklaşık olarak 1-1.5 saat içerisinde +5 C' ye düşürülmesi ile gerçekleştirilir. Isısı +5 C' ye düşürülen sulandırılmış sperma 10 cm³' lük cam tüpler içerisinde kullanıma kadar üç gün süre ile buzdolabında saklanabilmekle birlikte, uzak bölgelere +5 C' de termos içerisinde nakli mümkün olmaktadır (43).

2.4.3. Spermanın uzun süreli saklanması

Spermanın uzun süreli saklanması; ejakülatın uygun bir sulandırıcı ile sulandırılmasından sonra pellet formunda veya payetler içerisinde dondurulması ile gerçekleştirilebilmektedir.

2.4.3.1. Pellet yöntemi

Bu yöntem, spermanın -79 C' deki kuru buz disklerinde şok dondurulmasıdır. CO₂ gazından elde edilen kuru buz diskleri üzerinde açılan küçük oyuklar içerisine +5 C' de ekilibrasyonunu tamamlamış 0.1 ml sıvı sperma damlatılır. 2-3 dakika içerisinde dondurulan sperma pellet formunu alır ve özel pellet taşıyıcılarına yerleştirildikten sonra kullanıma kadar -196 C' de sıvı azot içerisinde saklanılmaktadır (55).

2.4.3.2. Payet yöntemi

Bu yöntem; ilk sulandırma, sperma ısısını +5 C' ye düşürme, gliserizasyon, ekilibrasyon, dondurma ve çözündürme evrelerinden oluşmaktadır.

İlk sulandırma evresi, ejakülatın makroskopik ve mikroskopik muayenesini takiben elde edilecek doz ve gerekli sulandırıcı miktarı belirlenerek sulandırıcının birinci kısmı ile, +28 ila +32 C' deki su banyosunda sulandırıcının spermaya katılması şartıyla yavaş yavaş sulandırılmasıdır.

Spermanın ısısının +5 C' ye düşürülmesi, birinci sulandırılması yapılmış solusyonun ısısının +5 C' ye, ya su banyosu içine buz atarak ya da otomatik soğutucularda 45-60 dakika içerisinde indirilmesi ile gerçekleştirilir.

Gliserizasyon evresi, ilk sulandırılması yapılmış ve ısısı +5 C' ye düşürülmüş sperma ile gliserol ihtiva eden ve ısısı +5 C olan ikinci sulandırıcı kısım ile 4-5 porsiyonda ve her porsiyon arası 10-15 dakika olacak şekilde yavaş yavaş sulandırılmasıdır (43). Gökçen ve ark. (46), sulandırıcıya katılan değişik gliserol oranları arasında gerek motilite ve gerekse akrozom morfolojisi açısından önemli bir fark olmadığını, ancak % 5 oranında gliserol katmanın daha iyi sonuç verdiğini bildirmektedirler.

Ekilibrasyon, tüm sulandırma işlemleri tamamlanmış ve ısısı +5 C' ye düşürülmüş spermanın payetlere çekilerek bu ısıda 2-10 saat arasında bekletilmesidir. Bu süre spermanın gliserole alışması için geçen süredir (43). Gökçen ve ark. (45), spermatozoon motilitesi ve akrozom morfolojisi bakımından optimum ekilibrasyon süresinin 3 saat olduğunu bildirmektedirler.

Dondurma evresi, ekilibrasyonunu tamamlamış payetlerin raflara dizilerek dondurma kazanlarında sıvı azot yüzeyinin yaklaşık 5 cm üzerine yerleştirilip, 7-8 dakika süreyle azot buharında tutulmasıdır. -120 C' de dondurulan payetler gobletlere yerleştirilir ve sıvı azot içerisine daldırılarak kullanılıncaya kadar azot içersinde muhafaza edilirler (43). Fiser ve ark. (35), ısısını ani olarak +16 C' ye düşürdükleri koç spermasını daha sonra 0.2 C/dak. oranla dondurduklarını ve spermatozoonların yaşama kabiliyetleri üzerine negatif bir etki gözlemediklerini bildirmektedirler.

Çözdürme evresi ise, tohumlamada kullanılacak payetlerin tekniyen termoslarına nakledilip, uygun ısı ve sürede su banyosunda çözdürülmesinden oluşmaktadır. Spermatozoonların canlılığının korunmasında dondurma tekniği kadar çözdürme tekniğininde önemli olduğu, hatta membranda oluşan yapı değişikliklerinin çözdürme sırasında ve sonrasında olduğu bildirilmektedir. Yüksek ısıda kısa süre içerisinde çözdürmede daha iyi çözdürme sonuçları elde edilmekle beraber, payetin uzun süre yüksek ısıda tutulmasının spermatozoonlar üzerine olumsuz etki yaptığı ifade edilmektedir (11). Pratikte ise 10 sn altındaki çözdürme sürelerinde güçlüklerle karşılaşıldığı belirtilmektedir (53). Evans ve Maxwell (24), çözdürme iş-

leminde payetlerin 37 C'deki su banyosunda 30 sn süre ile tutulmasını önermektedirler. Gökçen ve ark. (45), çözünme sonrası motilite açısından en iyi çözünme ısı ve süresini 50 C'de 10 saniye olarak bildirmektedirler.

Davidenko ve ark. (15), payet formunda dondurdukları spermaları aynı sürede 40, 50, 60, 70 ve 80 C'lik su banyosunda çözdürdüklerini ve sırasıyla % 48, % 40, % 60, % 52 ve % 46 oranında motilite elde ettiklerini ifade etmektedirler.

Zheltobryukh ve ark. (117), 38-60 C arasında değişen ısılarda çözdürdükleri spermalardan çözünme sonrası en yüksek motiliteyi 60 C'de (% 68), en düşük motilite oranında 38 C'de (% 60) elde ettiklerini bildirmektedirler.

2.5. DONMUŞ - ÇÖZÜNMÜŞ SPERMA KULLANIMININ FERTİLİTE ÜZERİNE ETKİSİ

2.5.1. Sperma sulandırıcılarının fertilite üzerine etkisi

Koç sperması uzun veya kısa süreli olarak saklanmak istendiğinde, spermanın sulandırılması zorunludur. Sulandırıcıların, içerdikleri besin ve koruyucu maddeler ile, spermatozoonların pH, ozmotik basınç değişiklikleri ve soğuk şokuna karşı korunmalarını sağladığı belirtilmektedir. Sentetik sulandırıcılar tampon çözeltiler ile enerji kaynağı içermektedirler (53). Yumurta sarısının içerdiği fosfolipidler ve lesitin ile membran dayanıklılığını arttırarak spermatozoonları soğuk şokuna karşı koruduğu bildirilmektedir (53, 112).

Sulandırma işleminin ejakülata alınmasından hemen sonra gerçekleştirilmesi gerektiği, aksi takdirde +30 C' de uzun süreli inkübasyonun spermatozoon ve akrozom membranlarının stabil kalmasını sağlayan litik enzimlerin kaybına yol açtığı belirtilmektedir (53).

Menger ve ark. (76), sulandırıcıların kıyaslanmasındaki problemin, her sulandırıcının kendine has dondurma ve çözdürme tekniği olduğunu ancak sulandırıcılardan, dondurma ve çözdürme tekniklerinin değiştirilmesi ile daha iyi sonuçlar alınabileceğini, sulandırıcının kimyasal yapısı ile dondurma ve çözdürme tekniği arasındaki ilişkinin belirlenmesi gerektiğini bildirmektedirler.

Muhammad Abdel Aziz (1), tris ve laiciophous sulandırıcıları kullanarak servikal yolla yaptığı tohumlamalardan sırasıyla % 2.43 ve % 0 oranında gebelik elde ettiğini bildirmektedir.

Fiser ve ark. (34), hücre içine nüfuz eden (Gliserol) ve nüfuz etmeyen (Dextran) iki kryoprotektan madde ile sulandırıp 750×10^6 dozla 0.5 ml' lik payetlerde iki aşamalı olarak dondurdukları sperma ile senkronize koyunlarda çift doz olarak yaptıkları tohumlamalardan % 80 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler.

Gökçen (41), sodyum sitrat-glikoz-yumurta sarısı sulandırıcısı ile sulandırıp dondurduğu koç spermalarıyla yaptığı tohumlamalardan % 27 oranında doğum elde ettiğini bildirmektedir.

Olesen (81), son on yılda süt sulandırıcısı kullanarak dondurduğu spermalar ile yaptığı servikal tohumlamalardan % 53-64 arasında değişen geri dönmeme oranına ulaştığını bildirmektedir.

Rodrigues ve ark. (88), tris ve aloe vera sulandırıcısı kullanarak dondurdukları sperma ile servikal ve laparoskop yardımıyla intrauterin tohumlamalar yaptıklarını bildirmektedirler. Araştırmacılar trisle dondurdukları sperma ile servikal ve intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 40 ve % 70, aloe vera ile dondurdukları sperma ile yaptıkları servikal tohumlamalardan % 40, intrauterin tohumlamalardan ise % 87.5 oranında fertilizasyon sağladıklarını bildirmektedirler.

Sevinç ve ark. (92), laiciophous ve tris ile dondurdukları sperma ile yaptıkları servikal tohumlamalardan sırasıyla % 27 ve % 27 gebelik, % 19 ve % 14 doğum oranı elde ettiklerini bildirmektedirler.

Bir başka çalışmada (105) ise; tris, glikoz ve laktoz ile hazırlanan sulandırıcılar kullanılarak pellet formunda dondurulan sperma ile yapılan servikal tohumlamalardan sonra sırasıyla % 20, % 13.6 ve % 9 oranında doğumlar şekillendiği belirtilmektedir.

Tekin (100) Tris, Test-M ve Test-M/QEP sulandırıcılarını kullanarak dondurduğu koç spermaları ile yaptığı tohumlamalardan sırasıyla % 12, % 10 ve % 14 oranında gebelik ve her grup için % 6 doğum oranı elde ettiğini açıklamıştır.

2.5.2. Doz ve çözünme sonrası motilitenin fertilité üzerine etkisi

Berg (6), yağısız süt sulandırıcısı ile sulandırıp 150×10^6 doz ile dondurmadan önce santrifüj ederek konsantrasyonunu arttırdığı spermaları payetlerde dondurduktan sonra 70 C' de 7 sn süre ile çözürmesinden sonra % 50 motilite elde ettiğini ifade etmektedir. Araştırmacı östrüsün başlamasından 12-24 saat sonra iki kez yaptığı servikal tohumlamalardan % 78.1 geri dönmeyenler oranı tespit ettiğini bildirmektedir.

Evans ve Maxwell (24) elde ettikleri ejakülatı, tris sulandırıcısı ile değişik oranlarda sulandırarak pellet şeklinde dondurmuşlardır. Araştırmacılar düşük sulandırma derecelerinde yüksek motilite ve intraservikal tohumlamalardan da % 55 oranında gebelik elde ettiklerini, aynı sulandırıcınının payet şeklinde dondurma içinde uygun olduğunu bildirmektedirler.

Dickie (16), donmuş sperma kullanarak 180×10^6 dozla yaptığı servikal tohumlamalardan % 17.4 oranında gebelik elde ettiğini bildirmektedir. Colas (10) ise, çözünme sonrası ortalama % 36.9 motilite ve 180×10^6 dozla yaptığı servikal tohumlamalardan % 38.5 oranında gebelik elde ettiğini bildirmektedir.

Gökçen ve ark. (44), donmuş sperma kullanarak yaptıkları bir çalışmada, 100×10^6 doz ve çözünme sonrası ortalama % 61-71 motiliteye sahip sperma ile yaptıkları servikal tohumlamalardan % 33 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler. Azzarani ve Valledor (4) ise, 90×10^6 lık doz kullanarak genç ve erişkin koyunlarda yaptıkları servikal tohumlamalardan sırasıyla % 8 ve % 8.7 gebelik oranı şekillendiğini ifade etmektedirler.

Zheltobryukh ve ark. (117), pellet formunda dondurup 40 ve 70 C' lik su banyolarında çözdürdüklerini ve çözünme sonrası ortalama % 60 motilite gösteren sperma ile yaptıkları servikal tohumlamalardan sırasıyla % 50 ve % 33 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler.

Miljkovic ve ark. (78), yaptıkları bir çalışmada çözünme sonrası % 50-55 motilite elde ettikleri sperma ile koyunları 200×10^6 dozla

servikal veya transservikal yolla intrauterin olarak tohumladıklarını, sırasıyla % 30.12 ve % 33.33 oranında doğumlar şekillendiğini bildirmektedirler.

Findlater ve ark. (28), 5.2, 10.4, 20.8 ve 51.6 x 10⁶ 'lık dozlar kullanılarak her bir kornuya olmak üzere laparoskop yardımıyla intrauterin olarak yaptıkları tohumlamalardan sırasıyla % 52, % 53, % 56 ve % 67 oranlarında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler.

Diğer bir çalışma da (95) ise, 30, 50, 100 ve 150 x 10⁶ dozlarla laparoskop yardımıyla yapılan intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 56.1, % 44.7, % 51.8 ve % 55 geri dönmeme oranı sağlandığı belirtilmektedir. Vallet ve ark. (108) ise, laktoz ile sulandırıp dondurdukları sperma ile 900 x 10⁶ dozla servikal, 40 x 10⁶ doz ile intrauterin olarak tohumladıkları koyunlardan sırasıyla % 54 ve % 77 fekondasyon oranı elde ettiklerini bildirmektedirler.

Luz ve Neves (65), Corriedale ırkı koyunlarda çözünme sonrası > % 50, % 40-50, < % 30 motilite ve 50 x 10⁶ dozlarla, laparoskop yardımıyla yapılan intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 66.94, % 57.52 ve % 17.95 oranlarında gebelik tespit ettiklerini bildirmektedirler.

Diğer bir araştırmada (26) ise, çözünme sonrası % 20-30 motilite gösteren sperma ile yapılan laparoskopik intrauterin tohumlamalardan % 44 doğum oranı elde edildiği bildirilmektedir.

2.5.3. Spermanın dondurulma şeklinin fertilité üzerine etkisi

Evans ve Maxwell (24), koç spermasınının daha çok pellet veya payet formunda dondurulduğunu, pellet şeklinde dondurmanın payet şeklinde dondurmaya göre kolay, ucuz ve daha iyi çözdürme sonrası motiliteye sahip olduğunu bildirmektedirler. Buna karşın Evans (23), pellet biçiminde dondurmanın, saklama sırasında kontaminasyon ihtimalinin olması ve çözdürme işleminin zaman alması gibi dezavantajları olduğunu belirtmektedir.

Dziuk ve ark. (17), pellet formunda dondurdukları koç spermaları ile 0.3 ml dozla yaptıkları servikal tohumlamalardan % 13 oranında doğum elde ettiklerini bildirmektedirler. Tasseron ve ark. (99) ise,

yine pellet şeklinde dondurup 120×10^6 yaptıkları servikal tohumlamalardan % 20.6 oranında doğum elde ettiklerini bildirmektedirler.

Ritar ve Ball (86), payet ve pellet formunda dondurdukları sperma ile, Merinos ırkı koyunları senkronizasyon sonrası 200×10^6 doz ve sekiz saat ara ile iki kez servikal, 25×10^6 doz ile laparoskop yardımıyla intrauterin yolla tohumladıklarını ve sırasıyla % 14 ve % 47.2 doğum oranı elde ettiklerini, pellet biçiminde dondurdukları spermalarda payet biçimine göre çözünme sonrası motilitenin daha yüksek olduğunu bildirmektedirler.

Hunton ve ark. (54), pellet ve payet formunda dondurdukları sperma ile laparoskop yardımıyla yaptıkları intrauterin tohumlamalardan % 50.3 ve % 58.4 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler.

Gökçen (41), payetlerde sıvı azot buharında dondurduğu sperma ile yaptığı servikal tohumlamalardan % 27 oranında gebelik elde ettiğini bildirmektedir.

Tekin (100), farklı sulandırıcılar kullanarak minitüblerde dondurduğu sperma ile yaptığı tohumlamalardan sırasıyla % 12, % 10 ve % 14 oranında gebelik elde ettiğini bildirmektedir.

2.5.4. Tohumlama tekniğinin fertilité üzerine etkisi

Beaden ve Fuguay (5), donmuş sperma kullanılarak yapılan servikal tohumlamalardan % 20-70 arasında değişen oranlarda gebelik elde edilebileceğini bildirmektedirler.

Fischer ve ark. (31), donmuş sperma kullanarak yaptıkları derin servikal tohumlamalardan % 23.6 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler.

Fukui (37), Merinos ırkı koyunları servikal, derin servikal, intrauterin yollarla tohumladığını ve tohumlama sonrası 21. güne kadar yaptığı östrüs takibiyle geri dönmeme oranlarını sırasıyla % 27, % 24.4 ve % 54.5 olarak tespit ettiğini ifade etmektedir.

Lighfoot ve Salamon (63), Merinos ırkı koyunlarda taze ve donmuş-çözünmüş sperma ile servikal, derin servikal ve intrauterin yollarla yaptıkları tohumlamalardan doğum ve embrionik ölüm oranlarını sı-

rasıyla taze sperma ile yapılanlar için % 68.6, % 75, % 54.8 ve % 10, % 0, % 38.8, donmuş sperma ile yapılanlar için ise % 50, % 29.7, % 40 ve % 13.6, % 30.8, % 55.8 olarak tespit ettiklerini bildirmektedirler.

Aynı araştırmacılar başka bir çalışmalarında (62) ise, Merinos ırkı koyunları servikal ve laparatomik intrauterin yolla donmuş sperma kullanarak tohumladıklarını ve sırasıyla % 10.9 ve % 62.5 oranında fertilizasyon sağladıklarını bildirmektedirler.

Halbert ve ark. (49), yaptıkları çalışmada koyunları taze ve donmuş sperma kullanarak üç grupta tohumladıklarını, 1. grupta taze sperma ile transservikal intrauterin, 2. grupta donmuş - çözülmüş sperma transservikal intrauterin ve laparoskop yardımıyla intrauterin, 3. grupta ise yine donmuş-çözülmüş sperma ile transservikal intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 50, % 50, % 70, % 68 gebelik ve % 50, % 55, % 65 ve % 40 doğum oranları elde ettiklerini bildirmektedirler.

Garde ve ark. (39) ise, senkronize koyunlarda donmuş-çözülmüş sperma kullanılarak yapılan intrauterin tohumlamalardan % 67.8 oranında gebelik sağladıklarını ifade etmektedirler.

Halbert ve ark. (48), donmuş sperma ile transservikal intrauterin yolla yaptıkları tohumlamalardan % 57 oranında gebelik elde ettiklerini, bu yöntemle koyunların yaklaşık olarak % 82' sinde uterusu spermayı depo etmeye muvaffak olduklarını, bu yöntemin rutin olarak başarılı bir şekilde uygulandığı zaman gebelik oranlarının % 80-90 seviyelerine ulaşabileceğini ifade etmektedirler. Bir başka çalışmada (8) ise, donmuş-çözülmüş sperma ile yapılan transservikal intrauterin tohumlamalardan % 41.2 doğum oranı sağlandığı bildirilmektedir.

Evans ve Maxwell (24), donmuş-çözülmüş sperma kullanılarak yapılan servikal tohumlamalardan % 25-45, ideal şartlarda ve iyi bir laparoskopi uygulamasını takiben ise % 60-75 oranında doğumlar elde edilebileceğini ifade etmektedirler.

Eppleston ve ark. (21), donmuş sperma kullanarak 5×10^6 dozla laparoskop yardımıyla yaptıkları intrauterin tohumlamalardan % 50 oranında gebelik tespit ettiklerini belirtmektedirler.

Bir başka çalışmada (107) ise, donmuş-çözünmüş sperma kullanılarak 100×10^6 dozla yapılan laparoskopik intrauterin tohumlamalardan % 70.7 oranında gebelik elde edildiği ifade edilmektedir.

Armstrong ve Evans (3), donmuş sperma kullanarak 200×10^6 dozla servikal ve her bir kornu için 100×10^6 doz olmak üzere laparoskop yardımıyla intrauterin tohumlama yaptıklarını ve sırasıyla % 10 ve % 50 oranında fertilité elde ettiklerini bildirmektedirler.

Haresign (51), senkronize ettiği koyunları 200×10^6 dozla servikal yolla, her bir kornuya olmak üzere 20×10^6 dozla laparoskopik yöntemle tohumladığını, servikal tohumlamalardan % 30 ve laparoskopik tohumlamalardan % 55 oranında gebelik elde ettiğini açıklamaktadır.

Maxwell ve Butler (71), Merinos ırkı koyunlarda yaptıkları çalışmada iki grup oluşturup senkronizasyon ve PMSG hormonu uygulamasını takiben donmuş sperma kullanarak farklı yöntemlerle tohumlama yapmışlardır. Araştırmacılar 1. grupta kontrol grubunu taze spermayla servikal, çalışma grubunda donmuş sperma ile laparoskopik yöntemle intrauterin olarak tohumladıklarını, 2. grupta ise kontrol grubunu taze sperma ile servikal yolla tohumladıklarını ve doğal çiftleşme yaptırdıklarını, çalışma grubunda da donmuş sperma kullanarak transservikal ve laparoskopik yöntemle intrauterin olarak tohumladıklarını ve sırasıyla 1. grupta % 71.7, % 52.2; 2. grupta ise % 49.5, % 42.3, % 2, % 53 doğum oranları elde ettiklerini bildirmektedirler.

Windors ve ark. (115), Merinos ırkı koyunlarda yaptıkları servikal, laparoskopik ve transservikal intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 9, % 48 ve % 32 oranlarında gebelik elde ettiklerini ifade etmektedirler.

Maxwell ve ark. (73), senkronize ettikleri koyunları, çalışma grubunda donmuş sperma kullanarak laparoskop yardımı ile intrauterin ve intraoviduktal yolla, kontrol grubunu ise aynı yollarla taze sperma kullanarak tohumladıklarını, çalışma grubunda intrauterin tohumlamalardan % 4, oviduktal tohumlamalardan % 47 ve kontrol grubunda ise intrauterin tohumlamalardan % 35, oviduktal tohumlamalardan % 75 fertilitasyon elde ettiklerini bildirmektedirler.

2.5.5. Tohumlama sayısının fertilité üzerine etkisi

Visser ve Salamon (110), donmuş sperma kullanarak 85-95 x 10⁶ dozla yaptıkları tek tohumlamalardan % 22.9, 8 saat ara ile iki kez tohumladıkları koyunlardan % 57.1 ve ortalama olarakta % 40 oranında doğum oranları elde ettiklerini bildirmektedirler.

Olesen (82) ise, donmuş sperma kullanarak 150 x 10⁶ dozla servikal olarak yaptığı tek tohumlamalardan % 56.1, çift tohumlamalardan ise % 63.9 geri dönmeme oranı tespit ettiğini belirtmektedir.

Bir başka çalışmada (6) ise ; koyunların donmuş sperma kullanılarak östrüs tespitinden 14-28 saat sonra tek veya 14-28 ve 26-40. saatler arasında olmak üzere iki kez servikal tohumlanmalarından sırasıyla % 78.1 ve % 80 oranlarında geri dönmeme oranı sağlandığı bildirilmektedir.

Zheltobryukh ve ark. (118), donmuş sperma kullanarak 0.2 ml sperma ile 2 veya 3, 0.1 ml sperma ile 3, 0.1 ml sperma ile 2 veya 3 kez servikal yolla yaptıkları tohumlamalardan sırasıyla % 36.7, % 44.1, % 40, % 45.8 ve % 47.5 oranında doğumlar şekillendiğini belirtmektedirler.

Bir başka çalışmada (59) ise, donmuş-çözünmüş sperma kullanılarak senkronizasyonu takiben 54 ve 60.saatlerde iki kez servikal yoldan yapılan tohumlamalardan % 65 oranında gebelik ve % 43 doğum oranı elde edildiği bildirilmektedir.

Zanwar ve ark. (116) ise, donmuş-çözünmüş sperma kullanarak doğal östrüslerde, östrüs tespitinden 10 saat sonra yaptıkları servikal tohumlamalardan ortalama % 40 oranında gebelik sağlandığını bildirmektedirler.

Vazquez ve ark. (109), koyunları donmuş sperma kullanarak östrüs tespitinden sonra sekiz saat ara ile iki kez tohumladıklarını, tohumlamadan 70 gün sonra kan-progesteron testi ile % 57 oranında gebelik tespit ettiklerini fakat % 46.6 oranında doğumların şekillendiğini ifade etmektedirler.

2.5.6. Östrüs senkronizasyonu ve ovulasyon uyarılarının fertilite üzerine etkisi

Colas (10), laktoz sulandırıcısı ile iki aşamalı olarak sulandırıp, 180×10^6 motil spermatozoon içeren 0.45 ml' lik payetlerde dondurduğu sperma ile doğal östrüslerde, progesteron içeren vaginal sünger kullanarak senkronize ve PMSG ile ovulasyonu uyardığı östrüslerde yaptığı servikal tohumlamalardan sırasıyla % 68.3 ve % 75 doğum oranı elde ettiğini bildirmektedir.

Langford ve ark. (59), aynı sulandırıcıyı kullanarak 450×10^6 lık dozla 0.5 ml' lik payetlerde dondurdukları spermadan çözündürme sonrası % 25 motilite sağladıklarını, östrüsleri senkronize edilen koyunların iki kez tohumlanmasından % 65 geri dönmeme ve % 43 doğum oranı elde ettiklerini bildirmektedirler. Araştırmacılar geri dönmeme ve doğum oranı arasındaki farkı, donmuş sperma kullanılarak yapılan tohumlamalarda embrionik ölüm oranının yüksek olmasına bağlamaktadırlar.

Miljkovic ve ark. (77), senkronizasyonu takiben donmuş-çözünmüş sperma kullanarak östrüs bitimine yakın yaptıkları servikal tohumlamalardan % 35 oranında gebelik elde ettiklerini belirtmektedirler.

Rodrigues ve ark. (88), senkronize ve süperovule edilmiş östrüslerde donmuş-çözünmüş sperma ile yapılan servikal tohumlamalardan % 40, doğal östrüslerde yapılan servikal tohumlamalardan ise ancak % 22.2 oranında fertilize olmuş ovum elde edebildiklerini ifade etmektedirler.

Tekin ve ark. (102), Merinos, Dağlıç ve Ramlıç ırkı koyunları progesteron+PMSG ve prostaglandin analogları kullanarak senkronize ettikleri koyunları donmuş sperma ile servikal olarak tohumlamışlardır. Koyunları tohumlamayı takiben iki siklus boyunca arama koçu yardımıyla takip etmişler ve geri dönmeyenleri gebe olarak kabul etmişlerdir. Buna göre araştırmacılar; tüm ırklar için sırasıyla progesteron+PMSG grubunda % 39.3, % 29.4 ve % 35.5, prostaglandin grubunda ise % 35.2, % 21.4 ve % 29.2 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler.

Lawrenz (60) yaptığı bir çalışmada, koyunları senkronize ettikten sonra ikinci östrüslerinde donmuş-çözünmüş sperma ile intrauterin olarak tohumladığını ve % 71 gebelik oranı elde ettiğini belirtmektedir. Shackell ve ark. (93) ise, yine donmuş-çözünmüş sperma ile, senkronize ve doğal östrüs gösteren koyunlarda yaptıkları intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 70 ve % 40 oranında geri döneme oranı sağladıklarını belirtilmektedirler.

Eppleston ve Roberts (22), östrüslerini vaginal sponj kullanarak senkronize ettikleri ve PMSG ile ovulasyonu uyardıkları koyunlarda donmuş-çözünmüş sperma kullanarak laparoskopik intrauterin tohumlama yaptıklarını ve % 49.8 oranında doğumlar elde ettiklerini açıklamaktadırlar. Eppleston ve ark. (19) ise; Merinos ırkı koyunlarda yaptıkları bir çalışmada iki grup oluşturarak senkronizasyonu takiben 1. gruba sponjun uzaklaştırılmasından 24 saat önce PMSG hormonu ve 2. grubada sponj uzaklaştırılmasından 36 saat sonra GnRH hormonu enjekte etmişlerdir. Araştırmacılar tohumlamaları her bir kornu için 20×10^6 doz olmak üzere laparoskop yardımıyla intrauterin yöntemle yaptıklarını ve 1. grupta % 50, 2. grupta ise % 65 gebelik oranı elde ettiklerini bildirmektedirler.

Haresign ve ark. (52), progesteron içeren vaginal sponj ile senkronize ettikleri koyunları, donmuş sperma kullanarak bir grubu sponjun uzaklaştırılmasını takiben 50 ve 60. saatlerde olmak üzere iki kez servikal, diğer grubu ise senkronizasyondan 60 saat sonra laparoskop yardımı ile intrauterin olarak bir kez tohumladıklarını, tohumlamadan sonra 19.günde kan progesteron testi ile sırasıyla % 48.3 ve % 50 oranlarında gebelik elde ettikleri halde doğum oranlarının sırasıyla % 48.3 ve % 36.7 oranında olduğunu belirtmektedirler. Araştırmacılar intrauterin tohumlama grubunda fertilité sonuçlarının düşük olmasını, embrionik kayıplara ve tohumlama zamanının optimal olmamasına bağladıklarını, çünkü tohumlamayı takiben 19. günde kan-progesteron testine göre gebe olan hayvanların 25. ve daha sonraki günlerde östrüs gösterdiklerini ifade etmektedirler.

Walker ve ark. (111), östrüslerini vaginal sponj ile senkronize ettikleri koyunlarda, deneme grubunda laparoskopik intrauterin tohumlama ve tohumlama anında GnRH enjeksiyonu, kontrol grubunda ise sadece laparoskop yardımıyla intrauterin tohumlama yaptıklarını ve sırasıyla % 54.7 ve % 49 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler.

2.5.7. Tohumlama sezonunun fertilité üzerine etkisi

Berg ve Aamdal (7), Dala ve Spel ırkı koyunları doğal östrüslerinde sezon başı (1-15 Kasım), sezon ortası (15-25 Kasım) ve sezon sonunda (25-Kasım, ve sonrası) servikal olarak tohumladıklarını, her iki ırka ait geri dönmeme oranlarını sırasıyla % 44.3, % 53.75, % 61.4 ve % 57.3, % 60.1, % 71 olarak bulduklarını bildirmektedirler.

Curnock ve ark. (12), yaptıkları bir çalışmada; 1. gruptaki koyunları sezon içi ve sezon dışında vaginal sponj kullanarak senkronize ettiklerini, ovulasyonu uyarmak amacıyla PMSG uyguladıklarını bildirmektedirler. Araştırmacılar koyunları senkronizasyondan 50-60 saat sonra donmuş sperma kullanarak servikal yolla tohumlamışlardır. İkinci grubu ise sadece sezon içinde senkronizasyon ve PMSG enjeksiyonunu takiben 57. saatte tek veya 50 ve 60. saatlerde olmak üzere iki kez donmuş sperma kullanarak servikal yolla tohumlamışlardır. Araştırmacılar, sırasıyla 1. grupta % 41 ve % 38, 2.grupta ise % 28 ve % 48 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler.

Emmens ve Blackshaw (18), sezon içerisinde doğal östrüs gösteren Merinos ve Corriedale ırkı koyunlarda donmuş sperma kullanarak yaptıkları servikal tohumlamalar sonrası % 0-5 arasında değişen doğumlar şekillendiğini bildirmektedirler. Çoyan ve ark. (14) ise, sezon içerisinde doğal östrüsteki koyunları donmuş-çözünmüş sperma ile servikal ve laparoskop yardımıyla intrauterin yöntemle tohumladıklarını ve sırasıyla % 20 ve % 50 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler.

Gourley ve Riese (40), donmuş sperma kullanarak sezon içi ve sezon dışı laparoskopik intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 73 ve % 63 oranında gebelik elde ettiklerini belirtmektedirler.

Magyar ve ark. (66), sezon dışında östrüslerini progesteron içeren vaginal sponjlarla senkronize ettikleri koyunlarda senkronizasyonu takiben 50-52. saatlerde donmuş sperma kullanarak yaptıkları laparoskopik tohumlamalardan % 55.8 oranında gebelik ve % 53.5 oranında doğum elde ettiklerini bildirmektedirler.

Koyunlarda donmuş-çözünmüş sperma kullanılarak yapılan araştırmalarda elde edilen fertilité sonuçları Tablo 2.1.'de sunulmuştur.



Tablo 2.1. Koyunlarda donmuş- çözünmüş sperma kullanılarak yapılan tohumlamalardan elde edilen fertilité bulguları

Araştırıcı	Sulandırıcı	Doz (10 ⁶)	Çözünme sonrası motilité (%)	Dondurma biçimi	Tohumlama şekli	Tohumlama sayısı	Östrüs şekli	Sezon	Geri Döneme (GD) Gebelik (G) Doğum (D) Oranı (%)
Emmens ve Blackshaw (1955)	Arabinose	0.8 (ml)	40	Payet	S	1	-	-	3 D
First ve ark. (1961)	Yağsız süt	500 213	15 38	-	S	1	Senk.	-	17 D 30
Lightfoot ve Salamon (1969)	Rafinose	0.1 (ml)	-	Pellet	S	1	Senk.	-	39 D
Visser ve Salamon (1973)	Tris	95	-	Pellet	S	1 2	Senk.	ASİ	22.9 D 57.1
Lillo (1984)	Yağsız süt	200	-	Payet	S	1	Doğal	-	51.5 D
Maxwell ve ark. (1984)	Tris	40	-	Pellet	LİU	1	Senk.	-	71.7 G 54.28 D
Gökçen ve ark. (1985)	Süt tozu	100	61-71	Payet	S	1	Doğal	ASİ	33 G
Lawrenz ve ark. (1985)	-	200	-	Minitüb	TSİ	1	Senk.	-	70 G
Sevinç ve ark. (1985)	Tris Lactiophous	100	42.2 31.9	Minitüb	S	1	Doğal	ASİ	14 D 19
Takenaka ve ark. (1985)	Tris	360	-	Pellet	S DS TSİ LİU	1	Doğal	ASİ	33.3 D 0 66.7 80
Trejo ve ark. (1985)	Tris Glikoz Laktoz	-	40.76 33.65 36.48	Pellet	S	1	Senk.	-	20 D 13.6 9
Maxwell (1986 a)	Tris	20	-	Pellet	LİU	1	Senk.	-	57.4 D
Maxwell (1986 b)	Tris	20	-	Pellet	LİU	1 2	Senk.	-	44.9 D 76.8
Maxwell ve Hewith (1986)	Tris	0.1 (ml)	-	Pellet	S V LİU	1	Senk.	-	18.8 G 17 55.6
Findlater ve ark. (1988)	Tris	0.04 (ml)	20-30	Pellet	LİU	1	Senk.	-	63 D

Tablo 2.1. Koyunlarda donmuş- çözünmüş sperma kullanılarak yapılan tohumlamalardan elde edilen fertilitite bulguları (devamı)

Trejo ve ark. (1988)	Tris	300	-	Payet	S	1	Senk.	ASİ	35 D
Vallet ve ark. (1988)	Buffer	450 80	-	Payet	S LİU	2 1	Senk.	ASİ	54 G 70.7
Vazquez ve ark. (1988)	Y. sarısı gliserol test	0.35 (ml)	25-45	Pellet	TSİ	1	Doğal	ASİ	57 G 46.6 D
Dickie (1989)	Tris	180	-	Minitüb	S	1	Senk.	ASD	17.4 G
Kandasamy ve ark. (1989)	Tris	-	40	Payet	S	1 2	Doğal	-	31.43 D 40
Miljkovic ve ark. (1989)	Tris	120	-	Minitüb	S	2	Senk.	ASİ ASD	30.12 D 33.33
Nehring ve ark. (1989)	Fructose	0.2 0.5 (ml)	10-55	Pellet	S LİU	2	Senk.	ASİ	29.8 G 50
Reinhold ve ark. (1990)	-	100	25-35	Payet	LİU	1	Senk.	-	59.6 GD
Berg ve Aamdal (1991)	Yağsız süt	150	45-50	Payet	S	1	Doğal	ASİ	70 GD
Findlater ve ark. (1991)	Tris	20.8	-	Pellet	LİU	1	Senk.	-	55 G
Mrvos ve ark. (1991)	Laktoz-B	300	50-55	Pellet	S	2	Senk.	-	26.26 D 42.85
Perrenoud ve ark. (1991)	-	-	-	Payet	LİU	1	Senk.	-	73 GD
Anel ve ark. (1992)	Test/ Fructose	80	-	Payet	LİU	1	Senk.	ASD	68.3 G
Buckrell ve ark. (1992)	Triladly	150	50	Payet	TSİ	1	Senk.	ASİ	41.2 D
Fieni ve ark. (1992)	-	200 100	-	Payet	S LİU	1	Senk.	-	52 G 82
Olesen (1993)	Yağsız süt	150	-	Pellet	S	1 2	Doğal	ASİ	56.1 GD 63.9

- : veri belirtilmemiş, ASİ : Aşım sezonu içerisinde, ASD : Aşım sezonu dışında

S : Servikal, LİU : Laporoskopik intrauterin, TSİ : Transservikal intrauterin, V : Vajinal
DS : Derin servikal, Senk. : Senkronize

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Araştırmada hayvan materyali olarak; Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü' ne ait Merinos ırkından dört yaşlı üç baş koç ve yaşları 3-5 arasında değişen 75 baş koyun kullanıldı. Koçlar ve koyunlar açık besi şartlarında yetiştirilen damızlık hayvanlar arasından tesadüfi örnekleme yöntemi ile seçildi. Koyunlar seçilirken en az bir doğum yapmış, koçların ise sun'i vajene alışık olmalarına özen gösterildi.

3.2. Metot

Çalışmada kullanılan hayvanlar I. grup servikal tohumlama (n=25) ve II. grup laparoskop yardımı ile intrauterin tohumlama (n=50) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Ancak her iki gruptan da ölen ve mecburi kesime sevk edilen hayvanlar olduğundan grup sayıları 23 ve 47' ye düştü.

3.3. Spermanın Alınması

Sperma alınmadan önce sun'i vajen hijyen kurallarına uygun olarak hazırlandı. Aşım partneri olarak kızgın dişi koyun kullanıldı. Sperması alınacak olan koça libidonun arttırılması amacıyla 2-3 kez kör atlayış yaptırılarak ön sekretin dışarı atılması sağlandı. Sperma, tekniğine uygun olarak sun'i vajen yardımı ile ve her koçtan üst üste iki ejakülat olmak üzere alındı. Elde edilen ejakülat derhal +30 C'deki su banyosuna konularak gerekli muayeneler yapıldı.

3.4. Sperma Muayenesi

3.4.1. Sperma rengi

Sperma toplama kadehi avuç içerisine alınarak ışığın arkadan gelmesi sağlandıktan sonra renk tespiti yapıldı.

3.4.2. Sperma miktarı

Dereceli sperma toplama kadehinden ml olarak saptandı.

3.4.3. Kitle hareketi

37 C' ye kadar ısıtılmış lam üzerine mercimek büyüklüğünde bir damla sperma konuldu. Lam üzerine lamel kapatılmaksızın 100' lük büyütmede muayene gerçekleştirildi. Değerlendirme, ileri yönlü güçlü harekete sahip spermatozoonların oluşturduğu kaynama ve dalgalanma hareketleri göz önüne alınarak 0-5 (+) puan arasında değerlendirildi (101).

3.4.4. Spermatozoa motilitesi

37 C' ye kadar ısıtılmış lam üzerine bir damla sperma, aynı ısıdaki serum fizyolojik ile 1/5 oranında sulandırıldı ve üzerine 45 eğimle lamel kapatıldı. Isıtma tablalı faz-kontrat mikroskopta 400' lük büyütmede üç farklı sahada ileri yönde hareket eden spermatozoonlar dikkate alınarak % olarak belirlendi (101).

3.4.5. Spermatozoa yoğunluğu

Spermatozoa yoğunluğu hemositometrik yöntem kullanılarak belirlendi. Bu amaçla eritrosit sayımında kullanılan pipetin 0.5 çizgisine kadar sperma, 101 çizgisine kadar da "Hayem Solusyonu" çekilerek 1:200 oranında sulandırma gerçekleştirildi. Daha sonra pipet, her iki ucu parmakla kapatılıp yatay konuma getirilerek dairevi hareketlerle karışım sağlandı. Bu işlemi takiben karışımdan bir iki damla dışarıya atıldı. Daha önceden hazırlanan "Thoma Lamı", sayım sahalarını örtecek şekilde sulandırılmış sperma ile dolduruldu ve thoma lamı yatay konumda 5 dakika süre ile tutularak spermatozoonların çökmeleri sağlandı.

Spermatozoa sayımı, 400' lük büyütmede, alt ve üst sayım sahalarında beşer büyük karedeki spermatozoon sayısının belirlenmesiyle gerçekleştirildi. Yoğunluk aşağıda belirtilen formülden yararlanılarak hesaplandı (101).

$$\text{Yoğunluk (mm}^3\text{)} = \frac{\text{Sayılan hücre sayısı}}{\text{Sayılan büyük kare x Büyük kare hacmi x Sulandırma oranı}}$$

Hayem Solusyonu

(1000 cc hazırlamak için)

Na ₂ SO ₄	25 g
NaCl	5 g
HgCl ₂	2.5 g
Bidistile ad.	1000 cc (101).

3.4.6. Ölü-canlı spermatozoon oranı

37 C' ye kadar ısıtılan lam üzerine bir damla sperma ve 2-3 damla eosin-nigrosin boyasından damlatılarak karıştırıldı. Bu karışımdan aynı lam üzerine froti çekilerek kısa sürede kuruması sağlandı.

Mikroskobun 400' lük büyütmesinde preparat ortasına yakın bir yerden başlanarak toplam 400 spermatozoon sayılmasıyla ölü spermatozoon sayısı yüzde olarak belirlendi. Başlı boya alan spermatozoonlar ölü, almayanlar ile yarı boya alanlar canlı olarak kabul edildi.

3.4.7. Morfolojik muayene

Spermatozoonların morfolojik yapılarının incelenmesi amacıyla "Hancock" kullanıldı. Bu amaçla 0.5 ml "Hancock Solusyonu" içeren deney tüpüne bir damla sperma damlatıldı. Daha sonra karışımdan bir damla lam üzerine damlatılarak üzerine lamel kapatıldı. Mikroskobun 1000' lik büyütmesinde immersiyon bakışla 400 spermatozoon sayılarak normal form dışında yapı gösterenler yüzde olarak belirlendi (101).

HANCOCK SOLUSYONU**1. SOLÜSYON**

NaCl	1.13 g
Bidistile ad.	62.50 ml

2. SOLÜSYON

a) Na ₂ HPO ₄ · 2H ₂ O	2.71 g
Bidistile ad.	62.50 ml

b) K ₂ HPO ₄	2.78 g
Bidistile ad.	62.50 ml

25 ml (a) + 10 ml (b) karıştırılır.

Hancock Solüsyonu

1. Solüsyon	18.75 ml
2. Solüsyon	12.50 ml
Formalin	7.81 ml
Bidistile ad.	62.50 ml (101).

3.5. Spermanın sulandırılması ve dondurulması

Sulandırıcı olarak aşağıda terkibi verilen Tris solusyonu kullanılmıştır.

Tris (hydroxymetyl) amino metan	3.6 g
Glikoz	0.5 g
Sitrik asit	1.7 g
Yumurta sarısı	15.0 ml
Distile su (Steril)	+100.0 ml (89).

3.5.1. Sulandırıcının hazırlanması

60 ml 40-50 C' deki distile su içerisinde tris, sitrik asit ve glikoz eritildi ve karışımın ısısı 36 C' ye düşürüldü. Günlük taze yumurtalar alkol ile dezenfekte edildikten sonra 15 ml yumurta sarısı, ak kı-

sımından ayrılarak elde edildi. Yumurta sarısı 36 C' deki distile su içerisinde eritildi. Daha sonra tris, sitrik asit ve glikozdan oluşan karışım ile yumurta sarısından oluşan kısım birbirleriyle karıştırıldı. Karışıma ml' ye 1000 I.U penisilin ve 1 mg streptomisin ilave edildi. Bu işlemleri takiben hacim distile su ile 95 ml' ye tamamlandı. Daha sonra hazırlanan sulandırıcı iki eşit kısma bölündü. Birinci kısım sulandırıcı I, ikinci kısma ise 5 ml gliserol ilave edilerek sulandırıcı II hazırlandı. Böylelikle gliserol oranının % 5 olması sağlandı. Sulandırıcı II ısısı + 5 C' ye düşürülmek üzere derhal otomatik soğutucuya yerleştirildi.

3.5.2. Spermanın Sulandırılması

Ejakülattan elde edilecek payet sayısı ve sulandırma oranı; bir tohumlama dozunda 100×10^6 aktif spermatozoon bulunacak şekilde hesaplandı ve ejakülat 30 C' deki sulandırıcı I ile sulandırıcının spermaya yavaş yavaş ilavesiyle sulandırıldı. I.sulandırılması yapılan sperma otomatik soğutucuya konularak ısısı 60 dakika içerisinde +5 C' ye düşürüldü. +5 C' deki sulandırıcı II, yine ısısı +5 C olan birinci sulandırılması yapılmış olan ejakülata dört eşit kısımda ve her kısım arası 15 dakika olmak şartıyla ilave edilerek son sulandırma işlemi tamamlandı. İkinci sulandırmanın tamamlanmasından sonra motilite muayenesi yapıldı.

3.5.3. Spermanın Dondurulması

Son sulandırılması yapılan ejakülat, 0.25 ml' lik ultraviole ışınlarından geçirilen ve işaretlenmesi yapılmış payetlere çekildi ve üç saat boyunca +5 C' de ekilibrasyona bırakıldı. Ekilibrasyonu tamamlanan payetler, raflara dizilerek sıvı azot tanklarında azot seviyesinden 5 cm yukarıya yerleştirildi. Payetler bu konumda 7 dakika süreyle sıvı azot buharına maruz bırakıldı. Daha sonra payetler gobletlere, gobletlerde kanisterlere yerleştirilerek sıvı azot içerisinde muhafaza edildiler. Muhtelif aralıklarla dondurma işleminin kontrolü payetlerin 50 C' deki su banyosunda 15 sn süre ile çözdürülerek muayene edilmesiyle gerçekleştirildi.

3.6. Östrüs tespiti

Östrüsler, hergün sabah saat 07⁰⁰ 'de 45 dakika süreyle 40 baş koyuna bir arama koçu oranı ile tarandı. Arama koçlarının penis bölgelerine bez bağlanarak aşım yapmaları engellendi. Ayrıca intrauterin tohumlamaların kolay uygulanabilmesi için koyunlara sabah yemleri verilmedi.

3.7. Tohumlama

Östrüste oldukları tespit edilen koyunlar, birinci grup (n:25) servikal, ikinci grup (n:50) laparoskopik intrauterin tohumlama grubu olarak tesadüfi örnekleme yöntemi ile iki gruba ayrıldı. Grup ayırımında günlük dağılımın 1:2 oranında olmasına özen gösterildi. Koyunlar östrüs tespit edilmesinden hemen sonra tohumlandılar. Her iki tohumlama yönteminde de payetler 50 C' de 15 saniyede çözdürüldü.

3.7.1. servikal tohumlama

Bu yöntemle yapılan tohumlamada, östrüste oldukları tespit edilen koyunlar travay içerisinde tespit edilerek bir yardımcı tarafından hayvanın tarsal eklemlerinden tutulmak suretiyle yukarıya doğru kaldırıldı. Böylelikle tohumlamanın daha kolay yapılması sağlandı. Vulva dudakları açılarak flambe edilmiş ve steril vazelinle kayganlaştırılan spekülüm vasıtasıyla vaginaya girildi ve ışık kaynağı yardımıyla orificium cervix bulundu. Başka bir yardımcı tarafından hazırlanan katater ile vaginadan girilerek sperma serviks içerisinde mümkün olduğunca ileriye depo edildi.

3.7.2. laparoskop yardımı ile intrauterin tohumlama

Östrüste oldukları tespit edilen koyunlar laparoskopik tohumlamalar için özel olarak hazırlanmış kuruma ait tohumlama sehpasında zaptı-rapt altına alındı. Daha sonra tohumlama sehpasına 45 'lik eğim verildi. Böylelikle sehpanın üzerinde bulunan koyunun karın organlarının ventrale doğru yer değiştirmeleri sağlandı. (Şekil 1). Her iki memenin 10 cm cranialinde el ayası kadar alanın traşı ile aynı

bölgenin alkol ve tentürdiyot vasıtasıyla dezenfeksiyonu yapıldı. Şekil 1'de gösterilen "a" ve "b" noktalarına % 2' lik Lidocain HCL + Epinephrin (Jetocain) ile lokal infiltrasyon anestezisi uygulandı. Tohumlama için, deri gerdirilerek şekildeki "a" noktasından bir trokar, yine aynı şekilde "b" noktasından diğer trokar ile karın boşluğuna girildi (Şekil 2). Şekil 1' de belirtilen "c" noktasından filtre edilmiş hava verilerek omentum yağlarının ve iç organların ventrale doğru yer değiştirmeleri sağlandı. Laparoskop "a" noktasına yerleştirilen trokarın içinden, stile ise "b" noktasına yerleştirilen trokardan sokularak karın boşluğunda bulunan uterus ve ovaryumlar bulundu. Uterus ve ovaryumların bulunmasını takiben ovaryumlar follikül sayısı ve büyüklüğü açısından muayene edildi (Şekil 3). Muayenenin tamamlanmasından sonra "b" noktasından yerleştirilen stile dışarı alındı. Aynı noktadan ucunda enjeksiyon kanülü bulunan kateter ile girildi. Laparoskop yardımıyla enjeksiyon kanülünün corpus uteri üzerine yerleştirilmesi ve tek darbe ile kanülün uterus lumenine girmesi sağlandı. Sperma uterus lümenine verilmesi esnasında ve sonrasında uterus duvarının zedelenmemesine ve kanamaya yol açmamaya özen gösterildi. Trokarla ile girilen her iki noktaya Klo-ramfenikol+Jansien moru içeren sprej (Piyedif aerosol) püskürtüldü. Tohumlaması biten her koyuna koruyucu amaçla 100 mg/ml Enroflaxacin (Baytril) 1 ml kas içi olarak enjekte edildi.

Laparoskop yardımı ile intrauterin tohumlamalarda kullanılan alet ve ekipman şekil 4' de gösterilmiştir.

-
1. Jetocain ®, ampul, ADEKA, Samsun
 2. Piyedif aerosol ®, sprej, D.İ.F., İstanbul
 3. Baytril % 10'luk ®, enjektabl, BAYER, İstanbul.

3.8. Gebelik Muayenesi

Her koyunun tohumlanmasını takiben 14. günden başlayarak 40 gün sonrasına kadar sabah ve öğleden sonra olmak üzere günde iki kez arama koçları yardımıyla östrüsler takip edildi. Geri dönen koyunlar kaydedildi.

Tüm tohumlamalar bittikten sonra ortalama olarak tohumlamayı takiben 45-85. günlerde 5 MHz B-model real-time ultrason yardımı ile gebe koyunlar belirlendi.

Tohumlamayı takiben 160. güne kadar doğum yapan koyunlar kaydedildi.



3.8. ŞEKİLLER

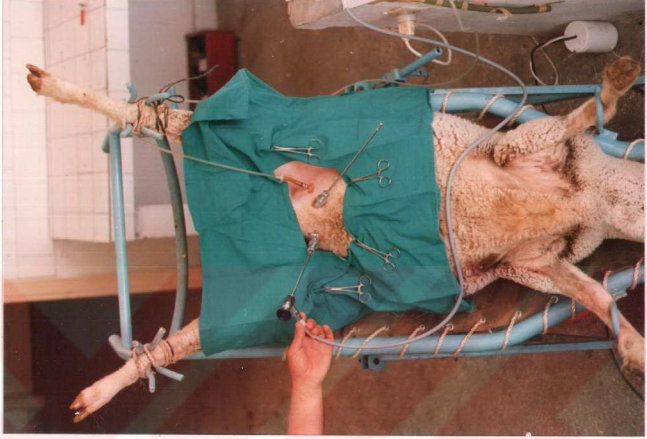
Şekil 1. İntrauterin tohumlama amacıyla
koyunun zaptı- rapta alınması



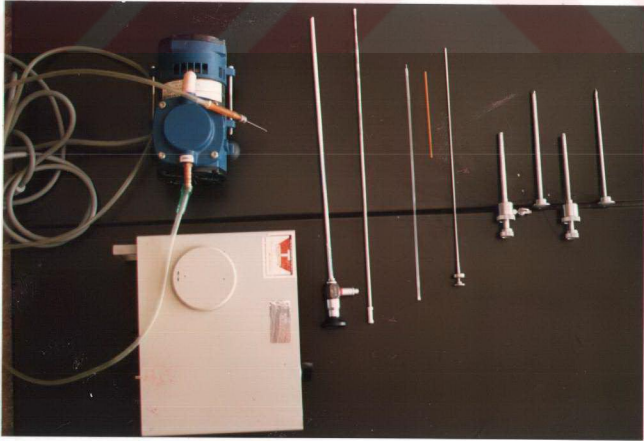
Şekil 2. İntrauterin tohumlama amacıyla
trokarların yerleştirilmesi



Şekil 3. Laparoskop yardımıyla uterus ve ovaryumların bulunması



Şekil 2. İntrauterin tohumlamada kullanılan alet ve ekipman



4. BULGULAR

4.1. Spermatolojik özellikler

Çalışmada kullanılan koçlara ait 1 ve 2. ejakülatlardaki renk, miktar, kitle hareketi, motilite, yoğunluk, ölü ve anormal spermatozoon oranı gibi spermatolojik bulgular ile dondurmada kullanılan tüm ejakülatların II. sulandırma ve dondurma-çözünme sonrası motilite bulguları Tablo 4.1' de verilmiştir.

Tablo 4.1' dende izlenebileceği gibi 1 no'lu koça ait 1. ejakülatın sulandırma öncesi renk, miktar, kitle hareketi, motilite, yoğunluk, ölü ve anormal spermatozoon oranı bulguları sırasıyla koyu krem, 0.8 ml, +++++, % 80, 3×10^9 /ml, % 6.6 ve % 6.3 olarak tespit edildi. Aynı koğun 1. ejakülatının II. sulandırma ve dondurma-çözünme sonrası motilite bulguları sırasıyla % 60 ve % 50 olarak bulundu.

Aynı koça ait 2. ejakülatın sulandırma öncesi renk, miktar, kitle hareketi, motilite, yoğunluk, ölü ve anormal spermatozoon oranı değerleri sırasıyla koyu krem, 0.7 ml, +++++, % 85, 2.605×10^9 /ml, % 7.3 ve % 7.2 olarak bulundu. Aynı ejakülatın II. sulandırma ve dondurma-çözünme sonrası motilite değerleri sırasıyla % 60 ve % 50 olarak belirlendi.

Tablo 4.1' den de izlenebileceği gibi 2 no'lu koça ait 1. ejakülatın sulandırma öncesi renk, miktar, kitle hareketi, motilite, yoğunluk, ölü ve anormal spermatozoon oranı bulguları sırasıyla koyu krem, 2 ml, +++++, % 85 ve 2.5×10^9 /ml, % 3.4 ve % 5.6 olarak belirlendi. Aynı koğun 1. ejakülatının II. sulandırma ve dondurma-çözünme sonrası motilite bulguları sırasıyla % 65 ve % 55 olarak bulundu.

Aynı koça ait 2. ejakülatın sulandırma öncesi renk, miktar, kitle hareketi, motilite, yoğunluk, ölü ve anormal spermatozoon oranı değerleri sırasıyla krem, 1.1 ml, +++++, % 75 ve 1.730×10^9 /ml, % 4.5 ve % 6.8 olarak bulundu. Aynı koça ait 2. ejakülatın II. sulandırma ve dondurma-çözünme sonrası motilite değerleri ise sırasıyla % 60 ve % 50 olarak tespit edildi.

Tablo 4.1' dende izlenebileceği gibi 3 no'lu koça ait 1. ejakülatın sulandırma öncesi renk, miktar, kitle hareketi, motilite, yoğunluk, ölü ve anormal spermatozoon oranı bulguları sırasıyla koyu krem, 0.6 ml, +++++, % 80, 3.5×10^9 /ml, % 8 ve % 8.2 olarak saptandı.

Aynı koçun 1. ejakülatının II.sulandırma ve dondurma-çözünme sonrası motilite bulguları sırasıyla % 50 ve % 40 olarak belirlendi.

Aynı koça ait 2. ejakülatın sulandırma öncesi renk, miktar, kitle hareketi, motilite, yoğunluk, ölü ve anormal spermatozoon oranı değerleri sırasıyla krem, 0.5 ml, +++, % 75, 1.790×10^9 /ml, % 7.6 ve % 8.6 olarak bulundu. Aynı ejakülatın II. sulandırma ve dondurma-çözünme sonrası motilite değerleri sırasıyla % 45 ve % 35 olarak tespit edildi.

4.2. Fertilite sonuçları

Çalışmada kullanılan koçların fertilite oranları Tablo 4.2' de gösterilmiştir.

Tablo 4.2' den de incelenebileceği gibi 1 no' lu koça ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranları sırasıyla % 57.89, % 47.36 ve % 36.84 olarak bulundu.

2 no' lu koça ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranları sırasıyla % 73.33, % 73.33 ve % 60 olarak belirlendi.

3 no'lu koça ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranları sırasıyla % 28.57, % 23.80 ve % 19.04 olarak elde edildi.

Koçlar arası fertilite oranları arasındaki farklılıklarının istatistiki açıdan değerlendirilmesinde χ^2 testinde yararlanıldı. Netice olarak geri dönmeme oranları açısından koçlar arasında herhangi bir farklılık görülmezken, gebelik ve doğum oranları açısından 2 ve 3 no'lu koçlar arasında fertilite farklılıkları istatistiki açıdan önemli bulunmuştur.

1 ve 2 no'lu, 1 ve 3 no'lu koçlar arasında tüm oranlar açısından herhangi bir farklılık görülmedi.

Çalışmada uygulanan servikal ve intrauterin grubuna ilişkin geri dönmeyenler, gebe olanlar ve doğum yapanlara ait dölverimi bulguları tablo 4.3' te gösterilmiştir.

Tablo 4.3' ten de izlenebileceği gibi servikal tohumlama grubuna (n=23) ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranları sırasıyla % 43.48, % 34.78 ve % 26.09 olarak belirlendi.

İntrauterin tohumlama grubuna (n=47) ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranları sırasıyla % 70.21, % 63.83 ve % 55.32 olarak tespit edildi.

Her iki gruba ait fertilitte oranlarının istatistiki açıdan değerlendirilmesinde χ^2 testinden yararlanıldı. Buna göre, geri dönmeme oranları arasındaki fark istatistiki açıdan önemsiz bulunurken ($p>0.05$), gebelik ve doğum oranları arasındaki farklar istatistiki açıdan önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Ayrıca çalışmada intrauterin tohumlama grubunda bulunan kounlarda postoperatif komplikasyonlara rastlanılmadı.



Tablo 4. 1. Çalışmada kullanılan koçlara ait I ve II. ejakülatların sulandırma öncesi spermatozojik bulgular, II. sulandırma ve çözünme sonrası motilite değerleri

Koç no	Ejakülat no	Renk	Miktar (ml)	Kitle Hareketi (+)	Motilite (%)	Yoğunluk (x10 ⁹ /ml)	Ölü spermatozoon oranı (%)	Anormal spermatozoon oranı (%)	II.sulandırmadan sonra motilite (%)	Çözünmeden sonra motilite (%)
1	I	Koyu krem	0.8	++++	80	3	6.6	6.3	60	50
	II	Koyu krem	0.7	+++++	85	2.605	7.3	7.2	60	50
2	I	Koyu krem	2	+++++	85	2.5	3.4	5.6	65	55
	II	Krem	1.1	++++	75	1.730	4.5	6.8	60	50
3	I	Koyu krem	0.6	++++	80	3.5	8	8.2	50	40
	II	Krem	0.5	+++	75	1.790	7.6	8.6	45	35

Tablo 4. 2. Çalışmada kullanılan koçlara ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranı bulguları

Koç no	1	2	3	Önem
Geri dönmeme Oranı (%)	57.89 ⁻ (11 / 19)	73.33 ⁻ (21 / 30)	28.57 ⁻ (6 / 21)	-
Gebelik Oranı (%)	47.36 ^{ab} (9 / 19)	73.33 ^a (22 / 30)	23.80 ^b (5 / 21)	*
Doğum Oranı (%)	36.84 ^{ab} (7 / 19)	60 ^a (18 / 30)	19.04 ^b (4 / 21)	*

Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası fark önemlidir.

*: önemli ($P < 0.05$) , - : önemsiz ($P > 0.05$)

Tablo 4. 3. Çalışma ve kontrol grubuna ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranı bulguları

	SERVİKAL	LAPARASKOPİK	ÖNEM
Geri Dönmeme Oranı (%)	43.48 ⁻ (10 / 23)	70.21 ⁻ (33 / 47)	-
Gebelik Oranı (%)	34.78 ^a (8 / 23)	63.83 ^b (30 / 47)	*
Doğum Oranı (%)	26.09 ^a (6 / 23)	55.32 ^b (26 / 47)	*

Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası fark önemlidir.

*: önemli ($P < 0.05$) , - : önemsiz ($P > 0.05$)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Koyun yetiştiriciliğinde hayvan ıslahı açısından sun'i tohumlama uygulamalarında donmuş-çözünmüş sperma kullanılması ıslah çalışmalarının hızının arttırılabilmesi için büyük önem taşımaktadır. Ancak donmuş sperma kullanılarak yapılan servikal tohumlamalardan yeterli ölçüde fertilitate elde edilememesi, saha şartlarında sun'i tohumlama uygulamasının henüz yaygın olarak kullanılmasını engellemiştir.

Sunulan tez çalışmasında servikal yönteme alternatif olarak geliştirilen laparoskop yardımıyla intrauterin tohumlama yönteminin dölverimi üzerine etkisi ve uygulanabilirliği araştırıldı.

Bazı araştırmacılar (47, 58), koyunlardaki serviks yapısının bireysel farklılıklar gösterdiğini, özellikle canalis serviksin transservikal geçişler için uygun olmadığını belirtmektedirler. Bazı araştırmacılar ise, (47, 75) koyunlarda kompleks serviks yapısının sperma transportunu zorlaştırdığını bildirmektedirler. Fukui ve Roberts (38) ise, donmuş- çözünmüş spermanın, şirurjikal olmayan yöntemlerle uterusu depo edilmesi halinde, ovidukt bölgesine daha fazla sayıda spermatozoonun fertilitate kabiliyetini kaybetmeden ulaşabilme şansına sahip olduğunu bildirmektedirler.

Birçok araştırmacı (20, 23, 71, 75, 86) ise, donmuş çözünmüş sperma ile yapılan tohumlamalardan taze sperma ile yapılan tohumlamalara göre çok düşük oranlarda fertilitate elde edildiğini bildirmektedirler. Bazı araştırmalarda ise donmuş-çözünmüş sperma ile elde edilen düşük fertilitate sonuçlarının; spermanın sulandırılması ve dondurulması işlemleri esnasında oluşan motilitedeki azalmaya (9, 32, 33, 36, 67, 85, 99, 114), akrozom bozukluklarına (24, 36, 113), donmuş sperma ile yapılan erken tohumlamalarda spermatozoonların taze spermadaki spermatozoonlara göre daha kısa yaşam süresine sahip olmalarına (59, 60, 61, 111) ve yine donmuş-çözünmüş sperma ile yapılan tohumlamalarda erken embrionik ölümlerin artmasına (59, 61, 68) bağlı olarak şekillendiği bildirilmektedir.

Sunulan tez çalışmasında; donmuş-çözünmüş sperma kullanılarak yapılan servikal tohumlamalardan geri dönmeme, gebelik ve doğum oranları sırasıyla % 43.48, % 34.78 ve % 26.09 olarak tespit edilmiştir.

Çalışmada elde edilen % 43.48' lik geri dönmeme oranı Berg (6) % 78.1-80, Berg ve Aamdal (7) % 61.4-70, Olesen (81) % 53-64 ve Olesen (82) % 56.1-63.9, Shackell ve ark. (93) % 70, Takenaka ve ark. (97)'in % 50 bildirdikleri oranlardan düşük, Fukui (37) % 27, Sevinç ve ark. (92) % 27-27 ve Tekin ve ark. (102) % 39.3-35.2 bildirdikleri değerlerden yüksek bulunmuştur.

Araştırmada genelde düşük geri dönmeme oranı elde edilmesi; çalışmada kullanılan dozun diğer araştırmacıların kullandıkları dozdan düşük olması, tohumlamaların östrüs tespitinden hemen sonra ve sadece bir kez yapılması, tohumlamayı takiben geri dönmeyenler oranının belirlenmesi amacıyla östrüs taramalarının tohumlamayı takiben 45 gün gibi uzun süre yapılmasına bağlanabilir.

Souza ve ark. (94), donmuş sperma kullanarak sponj uzaklaştırılmasından sonra 1. grubu 36, II. grubu 48, III. grubu 60. saatlerde sabit zamanlı ve IV. grupta da östrüs gösteren hayvanlarda yaptıkları servikal tohumlamalardan sırasıyla % 68, % 57, % 35 ve % 46 geri dönmeme oranları elde ettiklerini bildirmektedirler. Çalışmada elde edilen % 43.48' lik geri dönmeme oranı araştırmacıların 36 ve 48. saatlerde yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri oranlardan düşük, östrüs gösteren koyunlarda yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri değere yakın ve 60. saatte yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri orandan yüksek olarak bulunmuştur. Sunulan % 43.48 'lik oranın araştırmacıların bildirdikleri bazı oranlardan düşük olması çalışmada senkronizasyon uygulanmaması ve sabit zamanlı tohumlama yapılmamasına bağlanmaktadır.

Berg ve Aamdal (7), koyunları çözünme sonrası ortalama % 45-50 motilite gösteren sperma ile 150×10^6 dozla sezon başı, sezon ortası ve sezon sonunda tohumladıklarını ve geri dönmeme oranlarını sırasıyla % 44.3, % 52.2 ve % 61.4 olarak tespit ettiklerini bildirmektedirler. Tez çalışmasında elde edilen % 43.48' lik oran araş-

tırmacıların sezon başında elde ettiklere değere yakın, diğer değerlerden düşük olarak bulunmuştur. Tez çalışmasında tohumlamaların büyük bir bölümünün sezon başında yapılması ve elde edilen değer araştırmacıların sezon başında yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri değerlere benzerlik göstermesi muhtemelen sezon başında yapılan tohumlamaların, sezon ortasında ve sonunda yapılan tohumlamalardan daha az başarı şansına sahip olduğunu göstermektedir.

Olesen (82), 150×10^6 doz kullanarak payetlerde dondurduğu sperma ile servikal yöntem ile yaptığı tek tohumlamalardan % 56.1, çift tohumlamalardan ise % 63.9' luk geri dönmeme oranı tespit ettiğini bildirmektedir. Takenaka ve ark. (97), 360×10^6 lık dozla yaptığı servikal tohumlamalardan % 50 geri dönmeme oranı elde ettiklerini bildirmektedirler.

Sunulan çalışmadaki % 43.48' lik oranın Olesen (82) ve Takenaka ve ark. (97) bildirdikleri değerlerden düşük olması; araştırmacıların yaptıkları çalışmalarda kullanılan dozun yüksek olmasına ve Olesen (82)' in araştırmasında çift tohumlama yapmasına bağlı olabileceği sanılmaktadır.

Araştırmada elde edilen % 34.78'lik gebelik oranı Abdel Aziz (1) % 2.43, Azzarani ve Valledor (4) % 8.7-8, Çoyan ve ark. (14) % 20, Dickie (16) % 17.4, Fischer ve ark. (31) % 23.6, Fukui (37) % 27, Haresign (51) % 30, Maxwell ve Hewith (74) % 18.8, Miljkovic ve ark. (78) % 30.12, Nehring ve ark. (80) % 29.8, Sevinç ve ark. (92) % 27, Tasseron ve ark. (99) % 20.6, Tekin (100) % 10-12-14, Trejo ve ark. (105) % 9-13.6-20 ve Windors ve ark. (115) % 9 bildirdikleri oranlardan yüksek, Gökçen ve ark. (44) % 33, Kandasamy ve ark. (56) % 31.43, Miljkovic ve ark. (77) % 35, Tekin ve ark. (102) % 35.2 ve Trejo ve ark. (103) % 32 bildirdikleri oranlarla benzerlik arzietmekte olup, Colas (10) % 38.5, Curnock ve ark.(12) % 41-48, Evans ve Maxwell (24) % 55, Fieni ve ark. (25) % 52, Fiser ve ark. (34) % 80, Halbert ve ark. (49) % 50, Haresign ve ark. (52) % 48.3, Langford ve ark. (59) % 65, Lighfoot ve Salamon (61) % 39, Lillo (64) % 51.5, Maxwell ve ark. (72) % 71.7, Vazquez ve ark. (109)

% 57, Visser ve Salamon (110) % 57.1, Zanwar ve ark. (116) % 40 ve Zheltobryukh ve ark. (117)'in % 50 bildirdikleri oranlardan düşük olarak bulunmuştur.

Araştırmada düşük gebelik oranlarının sebebi olarak; gebelik tespitinin ultrasonoğrafi yardımıyla tohumlamayı takiben 45-85. günlerde yapılarak muhtemel erken embrionik ölümlerin tespitinin yapılamaması, östrüs senkronizasyonunun yapılmamasına ve buna bağlı olarak ovulasyonun uyarılamaması, çalışmada kullanılan hayvanların sadece merada beslenip flushing uygulanmaması, bakım beslenme şartlarına herhangi bir müdahalede bulunulmaması gibi faktörleri düşündürmektedir.

Nehring ve ark. (80), yaptıkları bir çalışmada koyunları östrüs tespitinden hemen sonra ve bundan 10-14 saat sonra olmak üzere iki kez $2 \times 180 \times 10^6$ ve $2 \times 360 \times 10^6$ lık dozlarla senkronize östrüslerde, $2 \times 180 \times 10^6$ lık doz kullanarak doğal östrüslerinde tohumladıklarını ve sırasıyla % 29.8, % 26 ve % 22.8 oranlarında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler. Sunulan çalışmada bildirilen % 34.78' lik gebelik oranı araştırmacıların bildirdikleri her iki orandanda yüksek bulunmuştur. Araştırmacıların tohumlamaları senkronize östrüslerde yapmaları ve senkronizasyonla beraber yapılan tohumlamalarda sebepleri henüz tam olarak açıklanamayan bir şekilde sperm transport mekanizmasında bozukluk şekillenmesi ve bireysel farklılıkların fertilitite sonuçlarını değiştirdiği düşünülmektedir.

Trejo (103), farklı sürülerde donmuş sperma kullanarak doğal ve senkronize östrüslerde yaptığı servikal tohumlamalardan sırasıyla % 9-32 ve % 5-50 arasında değişen oranlarda gebelik elde ettiğini bildirmektedir. Araştırmada elde edilen % 34.78' lik gebelik oranı araştırmacının senkronize östrüslerde elde ettiği oranlardan yüksek, doğal östrüslerde elde ettiği gebelik oranları ile benzerlik arz etmektedir. Sunulan çalışmada da tohumlamaların doğal östrüs gösteren koyunlarda yapılması ve gebelik oranının araştırmacının bildirdiği değerlere benzerlik göstermesi olağandır.

Maxwell ve Hewitt (74), tris-glikoz solusyonu kullanarak dondukları sperma ile 100×10^6 ve 600×10^6 dozlarla yaptıkları ser-

vikal tohumlulardan sırasıyla % 18.8 ve % 42.2 oranlarında gebelikler elde ettiklerini bildirmektedirler. Çalışmada sunulan % 34.78' lik gebelik oranı araştırmacıların 100×10^6 doz kullanarak elde ettikleri orandan yüksek, 600×10^6 doz kullanarak elde ettikleri orandan düşük bulunmuştur. Kullanılan dozun yüksek olmasının fertilitiyi önemli ölçüde arttırdığı düşünülebilir.

Fieni ve ark. (25), koyunları 200×10^6 dozla tek veya aynı doz ile aynı anda iki kez tohumladıklarını, sırasıyla % 52 ve % 41 oranlarında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler. Bildirilen her iki gebelik oranında tez çalışmasında elde edilen orandan yüksek bulunmuştur. Araştırmacıların kullandıkları dozun çalışmada kullanılan 100×10^6 lık dozdan yüksek olması, tohumlama sayısının birden fazla olmasının gebelik oranlarını arttırdığı düşünülebilir.

Tez çalışmasında servikal tohumlamalardan elde edilen % 26.09 'luk doğum oranı Buckrell ve ark. (8) % 41.2, Colas (10) % 68.5-75, Haresing ve ark. (52) % 48.3, Langford ve ark. (59) % 43, Lighfoot ve Salamon (63) % 50, Miljkovic ve ark.(78) % 30.12, Mrvos ve ark. (79) % 42.85, Vazquez ve ark. (109) % 46.6, Visser ve Salamon (110) % 57.1 ve Takenaka ve ark. (97) % 33.3, Zheltobryukh ve ark. (118) % 36.7-47.5 bildirdikleri oranlardan düşük, Armstrong ve Evans (3) % 10, Dzuik ve ark. (17) % 13, Emmens ve Blackshaw (18) % 3, First ve ark. (29) % 17, Maxwell ve Butler (71) % 2, Ritar ve Ball (86) % 14, Sevinç ve ark. (92) % 14-19, Tasseron ve ark. (99) % 20.6, Tekin (100) % 6, Trejo ve ark. (105)'ın % 20-13.6-9 bildirdikleri oranlardan yüksek bulunmuştur.

Doğum oranları arasındaki farklılıkların; spermanın sulandırılması ve dondurulmasında kullanılan değişik sulandırıcılara, tohumlamalarda kullanılan koyunların farklı ırktan olmalarına, koçlar arasında bireysel farklılıkların görülmesine, çözünme sonrası motilite değerlerindeki değişikliklere, embrionik ölümler, abortuslar gibi faktörlere bağlı olabileceği düşünülebilir. Mrvos ve ark. (79), pellet biçiminde dondurdukları ve çözünme sonrası % 55 motilite gösteren sperma ile 300×10^6 doz kullanarak 12 saat arayla iki kez olmak üzere genç ve erişkin koyunlarda yaptıkları servikal tohumlamalardan

sırasıyla % 42.85 ve % 26.26 doğum oranı elde ettiklerini bildirmektedirler. Çalışmada sunulan % 26.09' luk doğum oranı araştırmacıların erişkin koyunlarda yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri orana paralellik göstermesine karşılık, genç hayvanlardan elde ettikleri değerden oldukça düşük bulunmuştur. Çalışmada kullanılan koyunların tamamına yakını erişkin koyunların oluşturması ve elde edilen oran araştırmacıların bulgularıyla uyum göstermektedir.

Lighfoot ve Salamon (61), koyunları östrüs tespitinden sonra tek veya 12 saat ara ile iki kez servikal yöntemle tohumladıklarını ve sırasıyla % 20 ve % 39 oranlarında doğumlar elde ettiklerini bildirmektedirler. Visser ve Salamon (110) ise, tris-glikoz solusyonu kullanarak dondurdukları sperma ile $85-95 \times 10^6$ dozlarla servikal olarak yaptıkları tek tohumlamalardan % 22.9, 8 saat ara ile iki kez yaptıkları tohumlamalardan % 57.1 oranlarında doğumlar elde ettiklerini belirtmişlerdir. Tez çalışmasında tris-glikoz solusyonu kullanılarak 100×10^6 dozla dondurulan spermalarla yapılan servikal tohumlamalardan sağlanan % 26.09 oranındaki doğum oranı; araştırmacıların sunulan çalışmada kullanılan doza yakın ve aynı solusyonla dondurup elde ettikleri sperma ile yaptıkları tek tohumlamalardan sağlanan orana benzerlik arzederken, 8-12 saat ara ile iki kez yaptıkları tohumlamalardan elde edilen orandan düşük bulunmuştur. Gerek 8-12 saat ara ile iki kez tohumlama yaparak tohumlama zamanını ovulasyon zamanına yaklaştırılması ve gerekse iki kez tohumlama ile kullanılan dozun iki kata çıkarılmasının fertilitiyi arttırdığı zannedilmektedir.

First ve ark. (30), yaptıkları bir çalışmada ; koyunları donmuş sperma kullanarak çözünme sonrası % 15 motilite 500×10^6 ve % 38 motilite 213×10^6 doz ile tek, % 36 motilite 208×10^6 doz, % 30 motilite ve 300×10^6 dozlar kullanarak 12 saat arayla iki kez yapılan tohumlamalardan sırasıyla % 17, % 30, % 12.5 ve % 23 oranlarında doğumlar şekillendiğini ifade etmektedirler. Araştırmada elde edilen % 26.09' luk doğum oranı araştırmacıların elde ettiği oranların kimilerinden düşük, kimilerinden yüksek ve kimilerine de yakın olarak bulunmuştur. Doğum oranları arasındaki farklılıkların; kullanılan

sperma dozu, çözünme sonrası elde edilen motilite ve tohumlama sayısından kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

Lillo (64), farklı 12 baş koçtan elde ettiği ejakülatlar ile taze veya dondurarak östrüs tespitinden 24-30 saat sonra 200×10^6 'lık dozlarla servikal tohumlamalar yaptığını ve donmuş sperma ile yaptığı tohumlamalardan en düşük % 35.5, en yüksek % 62 ve ortalama olarakta % 51.5 oranında doğum elde ettiğini bildirmektedir. Araştırmacı koçlar arasında fertilitite açısından önemli farklılıklar olduğunu, bazı koçların sperması ile taze olarak yapılan tohumlamalardan yüksek oranda fertilitite elde edilirken, aynı koçun sperması dondurularak kullanıldığında fertilitenin düştüğünü, yine bazı koçların spermaları ile taze olarak yapılan tohumlamalardan elde edilen fertilitenin, o koçun spermasının dondurularak yapılan tohumlamalardan elde edilen fertiliteye yakın olduğunu vurgulamaktadır. Summermatter ve Fuschini (96), tohumlama teknisyenlerinin becerileri arasındaki farklılıkların fertilititeyi önemli ölçüde etkilediğini bildirmektedirler. Çalışmada elde edilen oran araştırmacının bildirdiği tüm oranlardan düşük bulunmuştur. Düşük fertilitite sonuçları Lillo (64)' nun da bildirdiği gibi koçlar arası farklılıklara, ejakülatların sulandırma ve dondurma işleminin tüm aşamalarında gösterdikleri hassayıtlara ve kullanılan ırk farklılıklarına bağlı olarak değiştiği düşünülmektedir. Nitekim tez çalışmasında kullanılan koçlardan elde edilen fertilitite oranları istatistiki açıdan farklılıklar arz etmektedir. Ayrıca teknisyen becerilerinde fertilititeyi etkilediği zannedilmektedir.

Trejo ve ark. (104), koyunları üç gruba ayırarak; I. grubu vaginal sponj kullanarak sadece senkronize, II. grubu vaginal sponjla senkronize edip, ilave olarak PMSG hormonu ile ovulasyonu uyarıdıklarını, III. grubu da doğal östrüslerinde olan koyunlardan oluşturduklarını, tüm gruplarda tohumlamaları östrüs tespitinden sonra 12 ve 24. saatlerde olmak üzere 300×10^6 'lık dozlar kullanarak servikal yöntemle yaptıklarını ve sırasıyla % 15.3, % 20 ve % 35 oranında doğum elde ettiklerini bildirmektedirler. Araştırmada belirtilen % 26.09' luk doğum oranı senkronizasyon ve ovulasyonun uyarıldığı

östrüslerde yapılan tohumlamalardan elde edilen oranlardan yüksek, doğal östrüslerde yapılan tohumlamalardan elde edilen orandan düşük bulunmuştur. Araştırmacıların 12 saat ara ile iki kez tohumlama yapmaları ve tez çalışmasında kullanılan dozun üç katı doz kullanmalarının doğal östrüslerden elde edilen fertilitiyi arttırdığı düşünülmektedir.

Kandasamy ve ark. (56), farklı ırklardaki koyunlarda yaptıkları çalışmada tris-glikoz solusyonu kullanarak payetlerde dondurdukları ve çözünme sonrası en az % 40 motilite gösteren sperma ile tek veya iki kez yaptıkları servikal tohumlamalardan ortalama olarak sırasıyla % 31.43 ve % 40 oranında doğum elde ettiklerini belirtmektedirler. Araştırmacılar bu oranları tek tohumlamalar için Niliagari ırklarında % 33.33, Merinos ırklarında % 14.28, iki kez tohumlamalarda aynı ırklar için doğum oranlarını sırasıyla % 50 ve % 0 olarak tespit ettiklerini ifade etmektedirler. Çalışmada sunulan % 26.09' luk doğum oranı araştırmacıların ortalama değerlerinden düşük, Merinos ırkı koyunlardan elde ettikleri değerlerden yüksek bulunmuştur. Fertilitelik farklılıkları; çalışmalarda kullanılan ırkların farklı olması, tohumlama sayılarının değişik olması ve bakım-beslenme koşullarından kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

Sunulan çalışmada laparoskop yardımıyla intrauterin tohumlamalardan % 70.21 geri dönmeme, % 63.83 gebelik ve % 55.12 doğum oranı elde edilmiştir.

Perrenoud ve ark. (84), östrüslerini vaginal sponj kullanarak senkronize ettikleri Merinos koyunlarda sponjun uzaklaştırılmasından hemen sonra I. gruba PMSG hormonu, II. grubunda HCG hormonu enjekte etmişler ve sponjun uzaklaştırılmasından 51-60 saat sonra laparoskop yardımı ile yaptıkları intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 73 ve % 34 geri dönmeme oranı elde ettiklerini bildirmektedirler. Çalışmada elde edilen % 70.21' lik geri dönmeme oranı PMSG hormonu enjekte edilen grupta bildirilen değere benzer, HCG hormonu enjekte edilen grupta bildirilen değerden yüksek bulunmuştur. PMSG grubunda elde edilen değer ile çalışmada elde edilen değer uyum göstermesi normal olarak değerlendirilirken, HCG grubundan yüksek

bulunması bu grupta HCG hormonunun direkt olarak LH etkili olmasının LH hormonu salınımını erken uyardığı ve dolayısıyla ovulasyonların tahmin edilen zamandan önce oluştuğu, sonuç olarak tohumlamaların geç kaldığı veya bireysel farklılıkların şekillendiği düşünülebilir.

Souza ve ark. (95), senkronize ettikleri koyunlarda 30, 50, 100, 150 x 10⁶ dozlar kullanarak laparoskop yardımıyla intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 56.1, % 44.7, % 51.8 ve % 55 oranında geri dönmeyenler oranı elde ettiklerini belirtmektedirler. Çalışmada bildirilen değer araştırmacıların bildirdiği değerlerin tümünden yüksek bulunmuştur. Trounson ve Moore (106), koyunlarda multiple ovulasyonları takiben doğal çiftleşme ve sun'i tohumlamalardan sonra fertilizasyon bozukluklarının arttığını bildirmektedirler. Çalışmada sunulan değer yukarıda bildirilen tüm değerlerden yüksek olması; araştırmacıların da senkronizasyon ve süperovulasyonu takiben tohumlama yapmalarının fertilizasyon bozukluklarını arttırdığı veya çalışmada kullanılan koçların farklı olmasından ileri gelebileceği düşünülmektedir.

Takenaka ve ark. (97), senkronize koyunlarda, östrüs tespitinden 12 saat sonra tris-glikoz solusyonu kullanarak pellet formunda dondurdukları sperma ile 360 x 10⁶ dozla yaptıkları intrauterin tohumlamalardan 21 gün sonra % 100 geri dönmeme oranı sağladıklarını ifade etmektedirler. Çalışmada elde edilen % 70.21' lik geri dönmeme oranı araştırmacıların bildirdiği % 100' lük orandan düşük bulunmuştur. Yukarıda bildirilen oranın oldukça yüksek olması; araştırmacıların tohumlama sonrası geri dönmeyenleri sadece 21. günü esas alarak yapmalarıyla siklus süresini uzatan muhtemel erken embrionik ölümleri tespit edememeleri, tohumlamada laparoskop yardımıyla intrauterin tohumlamalarda ihtiyaç duyulan dozdan çok daha yüksek sayıda spermatozoon kullanmaları, tohumlamaları östrüs tespitinden 12 saat sonra olmak üzere ovulasyon zamanına yakın olarak yapmaları ve teknisyen becerilerindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Reinhold ve ark. (85), çözünme sonrası ortalama % 25-35 motilite gösteren spermalar ile 100×10^6 doz kullanarak yaptıkları laparoskop yardımı ile intrauterin tohumlamalardan 25 gün sonrasına kadar % 59 oranında geri dönmeme oranı tespit ettiklerini bildirmektedirler. Sunulan çalışmada 100×10^6 doz ve çözünme sonrası ortalama % 40 motilite gösteren sperma ile yapılan tohumlamalardan elde edilen % 70.2'lik geri dönmeme oranı araştırmacıların bildirdiği orandan yüksek olarak bulunmuştur. Çalışmada elde edilen motilitenin Reinhold ve ark. (85)'in elde ettiği motiliteden yüksek olmasının geri dönmeme oranını arttırdığı tahmin edilmektedir.

Tez çalışmada laparoskop yardımı ile intrauterin tohumlamalardan elde edilen % 63.83'lük gebelik oranı Azzarani ve Valledor (4) % 52.9, Çoyan ve ark. (14) % 50, Eppleston ve Roberts (22) % 49.8, Eppleston ve ark. (21) % 50, Findlater ve ark. (27) % 55, Haresign (51) % 55, Haresign ve ark. (52) % 50, Hunton ve ark. (54) % 50.3-58.4, Magyar ve ark. (66) % 55.8, Nehring ve ark. (80) % 50, Walker ve ark. (111) % 49-54.7 ve Windors ve ark. (115)'nin % 48 bildirdikleri oranlardan yüksek, Anel (2) % 68.3, Eppleston ve ark. (19) % 65 bildirdiklerine benzer ve Garde ve ark. (39) % 67.8, Halbert ve ark. (49) % 70, Gourley ve Riese (40) % 73, Vallet ve ark. (107)'in % 70.7 bildirdikleri oranlardan düşük olarak bulunmuştur.

Anel ve ark. (2), Churra ırkı koyunlarda sezon dışında yaptıkları bir çalışmada, sponj uzaklaştırılmasından 58-59, 62-63 ve 68-69 saat sonra payetlerde dondurdukları koç spermaları ile 80×10^6 lık dozlar kullanarak yaptıkları intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 57.9, % 68.4 ve % 63.2 gebelik oranı elde ettiklerini bildirmektedirler. Çalışmada sunulan % 63.83 değerindeki gebelik oranı; araştırmacıların 58-59. saatlerde yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri orandan yüksek, 68-69. saatlerde yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri orana yakın ve 62-63. saatlerde yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri orandan düşük bulunmuştur. Findlater ve ark. (28), senkronize öst-rüslerde donmuş sperma ile intrauterin tohumlamalar için en uygun zamanın ovulasyondan 19 saat öncesi ve en geç 4 saat sonrası olduğunu bildirmektedirler. Schindler ve Amir (90) ise, sun'i tohumlama uy-

gulamalarında doğal aşımaya göre oldukça az sayıda spermatozoon kullanıldığını, özellikle donmuş-çözünmüş sperma kullanıldığında tohumlamaların östrüs başlangıcından 15-25 saat sonra yapılması gerektiğini, aksi takdirde donmuş-çözünmüş spermanın yaşam süresinin kısa olmasına bağlı olarak fertilité oranlarının düşeceğini bildirmektedirler.

Çalışmada sunulan oranın yukarıda bildirilen oranların kimilerinden düşük olması tohumlamaların, östrüs tespitinden hemen sonra yapılmasına ve tohumlamaların östrüslerin senkronize edilmeden yapılmasına bağlanmaktadır. Kimi oranlardan yüksek olması ise tez çalışmasının sezon içinde yapılması, kullanılan dozun yüksek olması, 58-59. saatlerde yapılan tohumlamaların erken olduğu ve ırklar arası farklılıklardan kaynaklanabileceği sanılmaktadır.

Maxwell ve Hewith (74), Merinos ırkı koyunlarda senkronize östrüslerde donmuş sperma ile 100 ve 600 x 10⁶ dozlar kullanarak laparoskop yardımıyla yaptıkları intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 55.6 ve % 64.6 gebelik oranları elde ettiklerini bildirmektedirler. Fieni ve ark. (25), donmuş sperma kullanarak 100 ve 200 x 10⁶ dozlarla yaptıkları laparoskopik tohumlamalardan sırasıyla % 65 ve % 82 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler. Çalışmada 100 x 10⁶ dozla elde edilen % 63.83 değerindeki gebelik oranı Maxwell ve Hewith (74)' in 100 x 10⁶ lık dozla elde ettikleri orandan yüksek, 600 x 10⁶ lık dozla elde ettikleri orana paralellik arzederken, Fieni ve ark. (25)' nin 100 x 10⁶ lık dozla elde ettikleri orana yakın, 200 x 10⁶ lık dozla elde ettikleri orandan düşük bulunmuştur. Gebelik oranının düşük bulunması araştırmacıların tez çalışmasında kullanılan dozun iki katını kullanmalarına bağlanmaktadır.

Luz ve Neves (65), Corriedale ırkı koyunlarda 50 x 10⁶ doz ve çözünme sonrası > % 55, % 40-50, < % 30 motilité gösteren sperma ile yaptıkları intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 66.94, % 57.52 ve % 17.95 oranlarında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler. Nehring ve ark. (80) çözünme sonrası % 10-55 motilité gösteren sperma ile 0.5 ml dozla yaptıkları laparoskopik intrauterin tohumlamalardan % 50 gebelik elde ettiklerini belirtmektedirler.

Azzarani ve Valledor (4) ise, tris kullanarak dondurdukları ve çözünme sonrası % 40 motilite gösteren sperma ile genç ve erişkin olarak gruplandırdıkları koyunları 36×10^6 'lık doz kullanarak intrauterin olarak tohumladıklarını, genç koyunlarda % 52.9, yaşlı koyunlarda ise % 43.2 oranında gebelikler elde ettiklerini ifade etmektedirler. Çalışmada çözünme sonrası ortalama % 40-55 motilite ile elde edilen % 63.83'lük gebelik oranı araştırmacıların < % 30 ve % 40-50 motilite gösteren sperma ile yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri gebelik oranından yüksek iken, > % 50 motilite gösteren spermalar ile yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri gebelik oranına yakın bulunmuştur. Motilite farklılıklarının fertilitayı önemli ölçüde etkilediği düşünülmektedir. Çalışmada sunulan % 63.83 değerindeki gebelik oranı, Azzarani ve Valledor (4)' un iki grupta da elde ettikleri orandan yüksek bulunmuştur. Gebelik oranının yüksek olması; çalışmada 3-6 yaşlı koyunların kullanılması, koyunların seçilirken en az bir doğum yapmış olmasına özen gösterilmesi ve kullanılan dozun araştırmacıların kullandıkları dozdan oldukça fazla olmasına bağlanabilir. Tez çalışmasında elde edilen gebelik oranının Nehring ve ark. (80)' in bildirdikleri orandan yüksek olması, araştırmacıların çözünme sonrası elde ettikleri motilite değerlerinin çok fazla oranda değişken olmasına bağlanmaktadır.

Maxwell ve ark. (72), trisle dondurdukları koç spermaları ile senkronizasyonu takiben 24, 36, 48 ve 60. saatlerde 20×10^6 'lık dozlarla yaptıkları laparoskopik intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 8.82, %17.64, % 50 ve % 54.28 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler. Vallet ve ark. (108), Merinos ırkı koyunlarda donmuş-çözünmüş sperma kullanarak sponj uzaklaştırılmasından 68 ve 72 saat sonra iki kez olmak üzere 80×10^6 'lık dozlarla yaptıkları laparoskopik intrauterin tohumlamalardan % 80, 40×10^6 'lık dozla yaptığı tohumlamalardan ise % 70 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler. Rodriques ve ark. (88), donmuş sperma ile senkronize östrüslerde yapılan tohumlamalardan; doğal östrüslerde yapılan tohumlamalara göre daha yüksek oranda fertilizasyon şekillendiğini vurgulamaktadırlar. Vallet ve ark. (108)' nın bildirdikleri her iki gebelik oranında çalışmada sunulan % 63.83' lük gebelik oranından yüksek bu-

lunmuştur. Tez çalışmasında gerek östrüs tespitinden hemen sonra tek tohumlama yapılması ve gerekse östrüs senkronizasyonu yapılmamasının gebelik oranlarını düşürdüğü, ayrıca teknisyen becerilerinin fertilitayı etkilediği düşünülmektedir. Maxwell ve ark. (72)'nin bildirdikleri tüm oranlar, çalışmada sunulan orandan düşük bulunmuştur. Sunulan değerlerden de izleneceği gibi senkronizasyonu takiben çok erken yapılan tohumlamalardan sonra gebelik oranları düşmektedir. Ayrıca tohumlamalarda çok düşük dozlar kullanılması ve muhtemel erken embrionik ölümler, gebelik oranının düşme nedenleri arasında sayılabilir.

Findlater ve ark. (28), tris-glikoz solusyonu kullanarak pellet formunda dondurdukları sperma ile sponjun uzaklaştırılmasını takiben I.grubu 48, II. grubu 60 ve III. grubu da 72 saat sonra 20.8×10^6 lık dozlar kullanarak intrauterin yöntemle tohumladıklarını, sponj uzaklaştırılması esnasında ovulasyonu uyarmak amacıyla PMSG enjekte ettiklerini ve sırasıyla % 65, % 63 ve % 46 oranlarında gebelik sağladıklarını belirtmektedirler. Çalışmada sunulan % 63.83'lük gebelik oranı araştırmacıların 48 ve 60.saatlerde yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri oranlara benzerlik gösterirken, 72. saatlerde yapılan tohumlamalardan elde ettikleri orandan yüksek bulunmuştur. Ritar ve Ball (86), Mathur ve ark. (67), pellet biçiminde sperma dondurulmasında çözünme sonrası motilitenin payet yöntemine göre daha fazla olduğunu belirtmektedirler. Araştırmacıların çok düşük dozlarla yüksek fertilita elde etmeleri; teknisyen becerilerinden kaynaklanan fertilita farklılıkları, senkronizasyon ve PMSG uygulamasıyla ovulasyonların kontrol altına alınmasına ve muhtemelen çözünme sonrası motilitenin yüksek olmasına bağlanabilir.

Lawrenz (60), yaptığı bir araştırmada koyunlarda senkronizasyonu takiben 2. östrüslerinde donmuş-çözünmüş sperma kullanarak yaptığı intrauterin tohumlamalardan % 71 oranında gebelikler elde ettiğini bildirmektedir. Berg ve Aamdal (7), donmuş sperma kullanarak ilk östrüslerde yapılan tohumlamalarda daha sonraki östrüslerde yapılan tohumlamalara göre daha düşük olduğunu vurgulamaktadırlar. Robinson ve ark. (87) ise, donmuş-çözünmüş sperma ile laparoskopik to-

humlamalardan yüksek oranda gebelik elde edilmesine rağmen embriyonik ölümlerin artmasına bağlı olarak doğum oranının düştüğünü bildirmektedirler. Çalışmada elde edilen % 63.83 değerindeki gebelik oranı araştırmacının bildirdiği orandan düşük bulunmuştur. Araştırmada kullanılan koyunların daima sezondaki ilk östrüslerinde tohumlanmasının ve embriyonik ölümlerin fertilitiyi düşürebileceği tahmin edilmektedir.

Sunulan tez çalışmasında laparoskopik intrauterin tohumlamalardan elde edilen % 55.32' lik doğum oranı, Armstrong ve Evans (3) % 50, Eppleston ve Roberts (22) % 49.8, Findlater ve ark. (26) % 44, Haresign ve ark. (52) % 36.7, Reinhold ve ark. (85) % 47.4 ve Ritar ve Ball (86)'ın % 47.2 bildirdikleri oranlardan yüksek, Findlater ve ark. (28) % 55, Magyar ve ark. (66) % 53.5, Maxwell (69) % 57.4, Maxwell ve Butler (71) % 53, Maxwell ark. (72)' in % 54.28 bildirdiklerine benzer, Findlater ve ark. (27) % 63, Halbert ve ark. (49) % 65, Maxwell (70) % 76.8, Takenaka ve ark. (97) 'nın % 80 bildirdikleri orandan düşük bulunmuştur.

Maxwell (70), yaptığı bir çalışmada donmuş sperma ile 20×10^6 lık dozlarla tek veya her iki kornuya yaptığı tohumlamalardan sırasıyla % 44.9 ve % 76.8 oranında doğumlar elde ettiğini bildirmektedir. Araştırmacı ayrıca çalışmanın 2. bölümünde ise kornunun kranialine, ortasına ve kaudaline yaptığı tohumlamalardan sırasıyla % 43.6, % 52.8 ve % 41.2 oranlarında doğum sağladığını bildirmektedir. Tez çalışmasında bildirilen % 55.32' lik doğum oranı araştırmacının tek kornuya yaptığı tohumlamalardan elde ettiği orandan yüksek, her iki kornuya yapılan tohumlamalardan elde ettiği orandan düşük bulunmuştur. Tez çalışmasında yapılan intrauterin tohumlamalarda sperma korpus uteriye bırakılmış olduğundan, araştırmacının farklı bölgelerden yaptığı tohumlamalardan elde ettiği doğum oranları ile, tohumlama bölgeleri açısından bir karşılaştırma imkanı bulunamamıştır. Ancak spermanın her iki kornuya ayrı ayrı bırakılmasının fertilitiyi arttırdığı kanısına varmak mümkündür. Çünkü bikornual tohumlama yapılarak follikülün geliştiği ovaryum gözlenmeksizin fertilizasyon bölgesine daha çok sayıda spermatozoonun ulaştığı düşünülebilir.

Maxwell (69), diğ er bir ç alışmasında ise senkronizasyonu takiben farklı gruplarda 20×10^6 'lık dozlar kullanarak 48, 60, 72 ve 78. saatlerde yaptığı laparoskopik intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 45.9, % 55.1, % 57.4 ve % 39.3 oranlarında doğ umlar elde ettiğini bildirmektedir. Ç alışmada sunulan % 55.32'lik doğ um oranı araştırmacının 48 ve 78. saatlerde tohumlamalardan elde ettiği oranlardan yüksek, 60. saatte yaptığı tohumlamalardan elde ettiği orana benzer ve 72. saatte yaptığı tohumlamalardan elde ettiği orandan düşük olarak bulunmuştur. Araştırmacının tohumlama dozunun ç ok düşük olması, 48. saatte tohumlamanın erken ve 78. saatte ise geç olmasının fertilitiyi azalttığı düşünölmektedir. Ayrıca araştırmacının senkronizasyon uygulaması ve sabit zamanlı tohumlamalar yapmasında fertilitiyi arttırdığı tahmin edilmektedir.

Findlater ve ark. (27), senkronizasyonu ve süperovulasyon takiben 48, 60 ve 72. saatlerde tohumlama öncesi tohumlama kateterini 37 C'ye ısıtarak yaptıkları laparoskopik intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 62, % 63 ve % 44 oranlarında doğ umlar elde ettiklerini bildirmektedirler. Tez ç alışmasında elde edilen oran araştırmacıların 48 ve 60. saatlerde yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri oranlardan düşük, 72. saatlerde yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri orandan yüksek bulunmuştur. Araştırmacıların tohumlama öncesi; tohumlama kataterini 37 C' ye kadar ısıtmalarının uygulama esnasındaki gecikmelere bağlı olarak muhtemelen şekillenebilecek soğuk şokunu önlemeleri ve süperovulasyon oluşturarak ovulasyonları kontrol altına almaları ve ovulasyona yakın olarak tohumlama yapmalarının fertilitiyi arttırdığı tahmin edilmektedir.

Sonuç olarak; laparoskop yardımı ile intrauterin tohumların ekipman gerektirmesi, bir koyunun tohumlanabilmesi için 10-15 dakikalık süreye ihtiyaç duyulması, tohumlama sonrası komplikasyonların önlenebilmesi amacıyla antibiotik enjeksiyonuna ihtiyaç duyulması gibi dezavantajlarının yanısıra tez ç alışmasından elde edilen fertilitie oranları göz önüne alındığında; koç spermasının sulandırılması ve dondurulması aşamalarında oluşan akrozom bozuklukları, motilite kaybı gibi spermaya bağlı faktörlerin yol açtıkları fertilitie kayıplarını azalt-

tığı söylenebilir. Ayrıca iyi bir bakım besleme şartları sağlanması ve teknisyen becerilerinin arttırılmasına bağlı olarak laparoskopik intrauterin tohumlamalardan ümit verici sonuçlar alınabileceği ve koyun sun'i tohumlamalarında kullanılabileceği kanısına varmak mümkündür.



6. TÜRKÇE ÖZET

Bu çalışmada, koyunların donmuş-çözünmüş sperma kullanılarak servikal yöntemle tohumlanmasına alternatif olarak geliştirilen laparoskopik intrauterin yöntemin uygulanabilirliği ve başarı şansı araştırıldı.

Materyal olarak, Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ait dört yaşlı 3 baş koç ve yaşları 3-5 arasında değişen 75 baş koyun kullanıldı. Çalışmada kullanılan koyunlar servikal tohumlama grubu (n=25) ve laparoskopik intrauterin tohumlama grubu (n=50) olarak ikiye ayrıldı.

Koçlardan sperma, arka arkaya iki ejakülat olmak üzere alınıp muayene edildikten sonra Tris solusyonu ile sulandırılarak bir tohumlama dozunda 100×10^6 aktif spermatozoon olacak içerecek 0.25 ml'lik payetler içerisinde donduruldu.

Doğal östrüs gösteren koyunlar arama koçları yardımı ile belirlenerek servikal ve laparoskop yardımıyla intrauterin olarak tohumlandılar. Koyunlar, tohumlamayı takiben östrüs tespiti amacıyla sabah ve öğleden sonra olmak üzere 40 gün süreyle takip edildi. Geri dönen koyunlar kaydedildi.

Gebelik muayeneleri B-model 5 MHz real-time ultrason yardımı ile tohumlamayı takiben 45-85. günler arasında yapıldı.

Çalışmada kullanılan 1'nolu koça ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranı sırasıyla % 57.89, % 47.36 ve % 36.84 olarak bulundu.

2'nolu koça ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranı sırasıyla % 73.33, % 73.33 ve % 60 olarak tespit edildi.

3'nolu koça ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranı sırasıyla % 28.57, % 23.80 ve % 19.04 olarak belirlendi.

Koçlar arasında geri dönmeme oranları açısından önemli bir fark bulunamaz ($p>0.05$) iken, gebelik ve doğum oranları açısından 2 ve 3 nolu koçlar arasındaki fark önemli ($p<0.05$) bulundu. 1 ve 2, 1 ve 3 nolu koçlar arasında herhangi bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

Servikal grubuna ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranı sırasıyla % 43.48, % 34.78 ve % 26.09 olarak tespit edildi.

İntrauterin tohumlama grubuna ait geri dönmeme, gebelik ve doğum oranı sırasıyla % 70.21, % 63.83 ve % 55.32 olarak belirlendi.

Her iki grupta geri dönmeme oranları arasında istatistiki açıdan önemli bir fark ($p>0.05$) bulunmamasına rağmen, gebelik ve doğum oranları arasındaki fark önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Sonuç olarak, elde edilen fertilitite oranları göz önüne alındığında laparoskopik intrauterin tohumlama yönteminin koyunlarda donmuş-çözülmüş sperma kullanılarak yapılan tohumlamalarda başarı şansını arttırdığı kanısına varıldı.



7. SUMMARY

This study was undertaken to evaluate the applicability and the result of laparoscopic artificial insemination which has been developed as an alternative method to cervical artificial insemination with frozen-thawed semen in sheep.

For this purpose, 4 years old of 3 rams, and 75 ewes aging between 3 and 5 years old belonging to Animal Central Research Institute were used as materials. The ewes were randomly divided into two groups. Group I consisted of 25 ewes in which cervical artificial insemination was performed. Group II consisted of 50 ewes in which laparoscopic intrauterine insemination was performed.

Two consecutive ejaculate were taken from each rams and were examined immediately. Samples were diluted with Tris solution and paillets were prepared in a way that each paillet has 100×10^6 motile spermatozoa in each 0.25 ml.

Teaser rams were used to find the ewes showing oestrus and then, these ewes were inseminated with either cervical or laparoscopic intrauterine methods. The ewes monitored twice in a day (in the morning and in the afternoon) for 40 days to detect the oestrus. The ewes returned to oestrus, were recorded.

Ultrasonographic examination was performed between the 45th and 85th days of post insemination with an ultrasound system and 5 MHz real time linear transducer for diagnosing of pregnancy.

Non-return, pregnancy and lambing rate of ram 1, 2 and 3 were; 57.89 %, 47.36 %, 36.84 % ; 73.33 %, 73.33 %, 60 % and 28.57 %, 23.80 %, 19.04 %, respectively.

There was no statistical difference ($p > 0.05$) in non-return rates among the rams. On the other hand, there was a statistical significance ($p < 0.05$) in both pregnancy and lambing rates between ram 1 and 2. No statistical significance in any rates was observed between ram 1 and 2, and also 1 and 3.

Non-return, pregnancy and lambing rates in cervical group were 43.48 %, 34.78 % and 26.09 % respectively.

Non-return, pregnancy and lambing rates in laparoscopic intrauterine group were 70.21 %, 63.83 % and 55.32 % respectively.

There was no statistical significance ($p>0.05$) in non-return rate between group 1 and 2. However, statistical significance ($p<0.05$) in pregnancy and lambing rates between the two groups were significant.

It was concluded that the use of laparoscopic intrauterine artificial insemination with frozen-thawed semen could increase the fertility rate in ewes.



8. LİTERATÜR LİSTESİ

1. ABDEL AZİZ, M. (1981) Experiments with deep frozen semen. 14 th. FAO/SIDA International Postgradual Course on Animal Reproduction, Volume I, College of Veterinary Medicine, Upsala.
2. ANEL, L., BOIXO, E., ANEL, E., CARBAJO, M., DOMÍNGUEZ, J.C., OLMEDO, J.A. and MELCON, C. (1992) Fertility of Churra ewes following intrauterine insemination by laparoscopy with frozen-thawed semen. 12th. Int. Congr. on Animal Reprod. A.I., August 23th-27th 1992, The Hague-The Netherlands, 3, 1384-1387.
3. ARMSTRONG, D.T. and EVANS, G. (1984) Intrauterine insemination enhances fertility of frozen semen in superovulated ewes. *J. Reprod. Fert.*, 71, 89-94.
4. AZZARANI, M. and VALLEDOR, F. (1988) Inseminacion intrauterina o cervical con semen congelado o fresco en ovejas en celo natural. *Produccion Ovina*, 1, 1-8.
5. BEADEN, J.H. and FUGUAY, J. (1984) Semen processing, storage, thawing and handling, In " Applied Animal Reproduction" 2nd Edition, 195-212, Reston Publishing Company, Reston, Virginia.
6. BERG, A.K. (1989) Künstliche Besamung (KB) mit Gefriersperma beim Schaf-Inseminationszeitpunkt und ein-oder zweimalige Besamung. *Tierarztl. Umschau*, 44, 322-325.
7. BERG, A.K. and AAMDAL, J. (1991) Artificial insemination with frozen semen in ewes at different times of the breeding season. *Reprod. Dom. Anim.*, 26, 27-30.
8. BUCKRELL, B.C., BUSCHBECK, C., GARTLEY, C.J., KROETSCH, T., McCUTCHEON, W., MARTÍN, J., PENNER, W.K. and WALTON, J.S. (1992) A breeding trial using a transcervical technique for artificial insemination in sheep. 12th. Int. Congr. on Anim. Reprod., August 23th-27th 1992, The Hague-The Netherlands, 3, 1531-1533.
9. COCHRAN, R.C., JUDY, J.K., PARKER, C.F. and HALLFORD, D.M. (1985) Prefreezing and post-thaw semen characteristics of five ram breeds collected by electroejaculation. *Theriogenology*, 23, 3, 431-440.

10. COLAS, G. (1975) Effect of initial freezing temperature, addition of glycerol and dilution on the survival and fertilizing ability of deep-frozen ram semen. *J. Reprod. Fert.*, 42, 277-285.
11. COLAS, G. (1979) Fertility in the ewe after artificial insemination with fresh and frozen semen at the induced oestrus, and influence of the photoperiod on the semen quality of the ram. *Livest. Prod. Sci.*, 6, 153-166.
12. CURNOCK, R.M., REED, H.C.B. and LOGUE, D.N. (1984) Artificial insemination of ewes with ram semen frozen by the pellet method. *Animal Production*, 38, 546.
13. ÇOYAN, K. (1994) Evcil hayvanlarda seksüel sikluslar. In " Reprodüksiyon, Sun'i Tohumlama, Doğum ve İnfertilite " Editör: E. Alaçam, 1. baskı, 3, 25-36, Dizgievi, Konya
14. ÇOYAN, K., AKSOY, M., TEKELİ, T., AYAR, A. ve ATAMAN, M.B.(1992) Laparoskopî yardımı ile koyunların donmuş sperma kullanılarak intrauterin tohumlanması. *Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 2, 1, 15-17.
15. DAVIDENKO, V.M., SHINKARENKO, I. S. and IGNETANKO, O.I. (1986) Freezing ram semen in polypropylene straws. *Anim. Breed. Abstr.*, 55, 909.
16. DÍCKIE, M. (1989) Östrussynchronisation und künstliche Besamung mit Kryosperma beim Schaf. *Tierarztl. Umschau*, 44, 254-259.
17. DZIUK, P.J., LEWIS, J.M., GRAHAM, E.F. and MOVER, R.H. (1972) Comparison between natural service and artificial insemination with fresh or frozen sperm at an appointed time in the ewe. *Journal of Animal Science*, 35, 3, 572-575.
18. EMMENS, C.W. and BLACKSHAW, A.W. (1955) The fertility of frozen ram and bull semen. *The Australian Veterinary Journal*, March, 76-79.
19. EPPLESTON, J., EVANS, G. and ROBERTS, E. M. (1991) Effect of PMSG and GnRH on time of ovulation, LH secretion and reproductive performance after intrauterine insemination with frozen ram semen. *Animal Reproduction Science*, 26, 227-237.

20. EPPLESTON, J. and MAXWELL, W.M.C. (1993) Recent attempts to improve the fertility of frozen ram semen inseminated into cervix. *Wool Tech. Sheep Breed.*, 41, 3, 291-302.
21. EPPLESTON, J., MAXWELL, W. M. C., BATTYE, K. M., and ROBERTS, E. M. (1986) Effect of thawed motility and intrauterine dose of motile sperm on fertility in ewes. *Proc. 18 th Annu. Conf. Aust. Soc. Reprod. Biol.*, Canberra.
22. EPPLESTON, J. and ROBERTS, E.M. (1986) The effect of progestagen, PMSG and time of insemination on fertility in ewes following intrauterine insemination with frozen semen. *Australian Veterinary Journal*, 63, 4, 124-125.
23. EVANS, G. (1988) Currents topics in artificial inseminations in sheep. *Aust. J. Biol. Sci.*, 41, 103-116.
24. EVANS, G. and MAXWELL, W.M.C. (1987) Salaman's artificial insemination of sheep and goats. Butterworths, Sydney.
25. FIENI, F., ROQUES, J.M., TAINTURIER, D. and BRUYAS, J. F. (1992) Utilisation du controle endoscopique pour l'insemination intrauterine chez les petits ruminants. *Rec. Med. Vet.*, 168, 3/4, 295-302.
26. FINDLATER, R.C.F., HARESIGN, W. and CURNOCK, R. M. (1987) Effect of timing of intrauterine insemination with frozen-thawed semen on conception rates in ewes. *British Society of Animal Production Winter Meeting, 23-25 March, Grand Hotel, Scarborough Programme and summaries*, 27.
27. FINDLATER, R.C.F., HARESIGN, W., CURNOCK, R. M. and BECK, N.F.G. (1988) Effect of timing of intrauterine insemination with frozen-thawed semen on fertility rates in ewes. *11'th Int. Congr. on Anim. Reprod. and A. I., June, 26'th-30'th, 1988, Dublin*, 3, 242.
28. FINDLATER, R.C.F., HARESIGN, W., CURNOCK, R. M. and BECK, N.F.G. (1991) Evaluation of intrauterine insemination of sheep with frozen semen: effects of time of insemination and semen dose on conception rates. *Anim. Prod.*, 53, 89-96.

29. FIRST, N.L., HENNEMAN, H.A., MAGEE, W.T. and WILLIAMS, J.A. (1961) The frozen storage of ram semen. *J. Anim. Sci.*, 20, 1, 74-78.
30. FIRST, N.L., SEVINGE, A. AND HENNEMAN, H.A. (1961) Fertility of frozen and unfrozen ram semen. *J. Anim. Sci.*, 20, 1, 79-85.
31. FISCHER, P., NEHRING, H. and MÜLLER, K. (1992) Passage of deep frozen ram semen in the cervix of the ewe. 12'th Int. Congr. on Anim. Reprod. A.I., August 23-27, 1992, The Hague-The Netherlands, 1, 450-451.
32. FISER, P.S. and FAIRFULL, R.W. (1986 a) Combined effects of glycerol concentration, cooling velocity, and osmality of skim milk diluents on cryopreservation of ram spermatozoa. *Theriogenology*, 25, 3, 473-484.
33. FISER, P.S. and FAIRFULL, R.W. (1986 b) The effects of rapid cooling (cold shock) of ram semen, photoperiod, and egg yolk in diluents on the survival of spermatozoa before and after freezing. *Cryobiology*, 23, 518-524.
34. FISER, P.S., AINSWORTH, L. and FAIRFULL, R.W. (1982) Cryosurvival of ram spermatozoa in hypertonic and isotonic diluents. *Can. J. Anim. Sci.*, 62, 425-428.
35. FISER, P.S., AINSWORTH, L. and FAIRFULL, R.W. (1987) Evaluation of a new diluent and different processing procedures for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology*, 28, 599-607.
36. FOOTE, R.H. (1988) Preservation and fertility prediction of spermatozoa. 11'th Int. Congr. on Anim. Reprod. and A. I., June, 26'th-30'th, 1988, Dublin, 5, 127-134.
37. FUKUI, Y. (1977) Effect of nonsurgical intrauterine insemination on fertility at first estrus synchronised with prostaglandin $F_{2\alpha}$. *Japan. J. Anim. Reprod.*, 23, 3, 116-127.
38. FUKUI, Y. and ROBERTS, E.M. (1977) Sperm transport after non-surgical intrauterine insemination with frozen semen in ewes treated with prostaglandin $F_{2\alpha}$. *J. Reprod. Fert.*, 51, 141-143.

39. GARDE, J., PEREZ, S., GARRİDO, D., AGUADO, M.J., ANGULO, C., PEREZ GUZMAN, M.D., JİMENEZ, J. and MONTORO, V. (1994) Use of frozen semen for the intrauterine insemination of selected Manchega ewes in the breed selection scheme. Anim. Breed. Abstr., 62, 6, 443.
40. GOURLEY, D.D. AND RIESE, R.L. (1990) Laparoscopic artificial insemination in sheep. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, 6, 3, 615-633.
41. GÖKÇEN, H. (1976) Koç spermasının kimi özellikleri, dondurulması ve dondurulan spermanın dölverimi üzerinde araştırmalar. Doktora tezi, Ankara.
42. GÖKÇEN, H. (1985) Dölerme ve sun'i tohumlama. Ders notları, Bursa.
43. GÖKÇEN, H. (1990) Koyunlarda sun'i tohumlama. In " Koyun-Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği " 31, 485-503, Teknoğrafik Matbaası, İstanbul.
44. GÖKÇEN, H., AŐTI, R., ÇEKGÜL, E. ve ŞENER, E. (1985) Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ve Vit. E katılarak dondurulan koç spermalarında akrozom morfolojisi ve dölverimi üzerinde araştırmalar. Uludađ Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi, 1-2-3, 4, 5, 77-80.
45. GÖKÇEN, H., AŐTI, R.N. and KOZANDAđI, M. (1983 a) Çeşitli ekilibrasyon süreleri ve çözme ısılarının donmuş koç spermatozoonlarının motilitesi ve akrozom bozuklukları üzerine etkisi. Uludađ Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi, 1, 2, 51-58.
46. GÖKÇEN, H., AŐTI, R.N. ve KOZANDAđI, M. (1983 b) Sulandırıcıya değişik oranlarda katılan gliserolün dondurma işleminin çeşitli evrelerinde koç spermatozoonlarının motilitesi ve akrozom morfolojisi üzerine etkisi. Uludađ Üniversitesi Veteriner Fakóltesi Dergisi, 1, 2, 59-64.
47. HALBERT, G.W., DOBSON, H., WALTON, J.S. and BUCKRELL, B.C. (1990 a) The structure of the cervical canal of the ewe. Theriogenology, 33, 5, 976-992.

48. HALBERT, G.W., DOBSON, H., WALTON, J.S. AND BUCKRELL, B.C. (1990 b) A technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. *Theriogenology*, 33, 5, 993-1010.
49. HALBERT, G.W., DOBSON, H., WALTON, J.S., SHARPE, P. and BUCKRELL, B.C. (1990) Field evaluation of a technique for transcervical intrauterine insemination of ewes. *Theriogenology*, 33, 6, 1231-1243.
50. HARESİGN, W. (1990) Controlling reproduction in sheep. In "New Developments in Sheep Production", Ed. C.F.R. Slade and L.J. Lawrence, 14, 23-27. British Society of Animal Production Occasional Publication, U.K.
51. HARESİGN, W. (1992) Manipulation of reproduction in sheep. *J. Reprod. Fert., Suppl.*, 45, 127-139.
52. HARESİGN, W., READ, S.R., CURNOCK, R.M. and REED, H.C.B. (1986) A note on the use of laparoscopy for intrauterine insemination of frozen-thawed semen in the ewe. *Anim. Prod.*, 43, 553-556.
53. HOLLERRİEDER, J. (1991) Untersuchungen zur Tiefgefrierkonservierung von Schafbocksperma unter besonderer Berücksichtigung von Kopfkappenmorphologie und videomikrographischer Computeranalyse. *Vet. Med. Diss., München*.
54. HUNTON, J.R., FLACKER, S. E. and MAXWELL, W.M.C. (1987) Pregnancy rates following intrauterine insemination with pellet or straw frozen ram semen. *J. agric. Sci. Camb.*, 109, 189-191.
55. İLERİ, İ.K., AK, K., PABUÇÇUOĞLU, S. ve USTA, S. (1994) "Reproduksiyon ve Sun'i Tohumlama " İ.Ü. Vet. Fak. Ders Notu, No: 23, İ. Ü. Vet. Fak. Masaüstü Yayımcılık Ünitesi, İstanbul.
56. KANDASAMY, N., IYUE, M. ve ULAGANATHAN, V. (1989) Post-thaw motility and fertility of ram spermatozoa frozen in tris diluent. *Indian Journal of Animal Sciences*, 59, 8, 972-974.
57. KILLEN, I.D. and CAFFERY, G.J. (1982) Uterine insemination of ewes with the aid of a laparoscope. *Australian Veterinary Journal*, 59, 95.

58. KRISTINSSON, G. und WİBDORF, H. (1985) Bau der Cervix uteri und Verlauf des Canalis cervicis uteri beim Schaf. Tierarztl. Prax., 13, 299-305.
59. LANGFORD, G.A., MARCUS, G.J., HACKETT, A.J., AINSWORTH, M.S., WOLYNETZ, M.S. and PETERS, H.F. (1979) A comparison of fresh or frozen semen in the insemination of confined sheep. Can. J. Anim. Sci., 59, 685-691.
60. LAWRENZ, R. (1985) Preliminary results of non-surgical intrauterine insemination of sheep with thawed frozen semen. Journal of the South African Veterinary Association. 56, 2, 61-63.
61. LIGHTFOOT, R.J. and SALAMON, S. (1969) Fertility of deep frozen ram spermatozoa. J. Reprod. Fert., 21, 366-367.
62. LIGHTFOOT, R.J. and SALAMON, S. (1970 a) Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. I. Transport and viability of spermatozoa within the genital tract of the ewe. J. Reprod. Fert., 22, 385-398.
63. LIGHTFOOT, R.J. and SALAMON, S. (1970 b) Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. I. The effects of method of insemination on fertilization and embryonic mortality. J. Reprod. Fert., 22, 399-408.
64. LILLO, A. (1984) Lambing rates after single inseminations of with liquid or deep frozen semen. 10th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., 3, 373-374, Urbana, Champaign.
65. LUZ, S.L.N. and NEVES, J.P. (1992) Effect of the quality of frozen semen on the conception rate of ewes inseminated into the uterus by means of laparoscopy. Anim. Breed. Abstr. 60, 6, 484.
66. MAGYAR, K., KOMLOSI, I. and VERESS, L. (1989) Laparoscopic intrauterine insemination of sheep with deep frozen semen. Magyar Allatorvosok Lapja, 44, 8, 475-477.
67. MATHUR, A.K., JOSHI, A. and SRIVASTAVA, R.S. (1992) Effect of incorporation of tris in "EYLRCG" extender for straw freezing of ram spermatozoa. 12th Int. Congr. on Anim. Reprod. A.I., August 23-27, 1992, The Hague-The Netherlands, 3, 1454-1456.

68. MATTNER, P.E., ENTWISTLE, K.W. and MARTIN, I.C.A. (1969) Passage, survival and fertility of deep frozen ram semen in the genital tract of the ewe. *Aust. J. biol. Sci.*, 22, 181-187.
69. MAXWELL, W.M.C. (1986 a) Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at synchronised oestrus. 1. effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. *Animal Reproduction Science*, 10, 301-308.
70. MAXWELL, W.M.C. (1986 b) Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at synchronised oestrus. 1. effect of dose of spermatozoa and site of intrauterine insemination on fertility. *Animal Reproduction Science*, 10, 309-316.
71. MAXWELL, W.M.C. and BUTLER, L.G. (1984) Fertility of ewes following intrauterine insemination using a laparoscope compared with other methods. *Proc. 4th Congr. Aust. Assoc. Anim. Breed. Genet.*, 4-6 June, Adelaide-Australia, 192-193.
72. MAXWELL, W.M.C., BUTLER, L.G. and WILSON, H.R. (1984) Intrauterine insemination of ewes with frozen semen. *J. agric. Sci., Camb.*, 102, 233-235.
73. MAXWELL, W.M.C., EVANS, G., RHODES, S.L., HILLARD, M.A. and BINDON, B.M. (1993) Fertility of superovulated ewes after intrauterine or oviducal insemination with low numbers of fresh or frozen-thawed spermatozoa. *Reprod. Fertil. Dev.*, 5, 57-63.
74. MAXWELL, W.M.C. and HEWITT, L.J. (1986) A comparison of vaginal, cervical and intrauterine insemination of sheep. *J. agric. Sci., Camb.*, 106, 191-193.
75. MAXWELL, W.M.C. and SALAMON, S. (1993) Liquid storage of ram semen. *Reprod. Fertil. Dev.*, 5, 613-638.
76. MENGER, H., BRÜCKNER, G. and NEUBERT, L. (1982) In-vitro- und In-vivo- Untersuchungen zur Tieftemperaturkonservierung von Schafbocksperma. *Arch. Exper. Vetmed.*, 36, 151-157.

77. MİLKOVİĆ, V., PETRUJKIĆ, T., VESELINOVIĆ, S., MRVOS, G., VESELINOVIĆ, SNEZANA., KOSARCIĆ, D., MARKOVIĆ, B. and PAVLOVIĆ, V. (1988) Fiziologija reprodukcije kao faktor povećanja ovcarske proizvodnje. (Reproduction psysiology as a factor to increase ovine production). Veterinarski Glasnik, 42, 2-3,161-168.
78. MİLKOVİĆ, V., PETRUJKIĆ, T., VUSOSEVIĆ, J., MRVOS, G., MIHAJLOVSKI, P., PREDOJEVIĆ, M., NAUMOV, N., TANEV, D., STANOJEVIĆ, T. and JOVANOVIĆ, V. (1989) Savremeni aspekti na fiziologiju razmnozavanja i vestacko osemenjavanje malih prezivara.(Modern rearing conditions and their effects on reproduction psysiology and artificial insemination in small ruminants). Veterinarski Glasnik, 43, 10, 875-881.
79. MRVOS, G., PETRUJKIĆ, T., PREDOJEVIĆ, M., VUKOVIĆ, D., JAKSIĆ, Z., PAVLOVIĆ, D. and ANDRIĆ, N. (1991) Zamrzavanje sperme ovna u pajetama. (Deep frozen pellets of ram semen). Veterinarski Glasnik, 45, 6-7, 46-459.
80. NEHRING, H., REINHARDT, P., FISCHER, P., PETER, W. und EHLERT, F. (1989) Befruchtungsergebnisse beim Schaf nach Insemination gefrierkonservierten Spermas unter besonderer Berücksichtigung einer intrauterinen transmuralen Deponierung. Mh. Vet. Med., 44, 601-604.
81. OLESEN, I. (1992) Artificial insemination with frozen ram semen in Norway. 12th Int. Congr. on Anim. Reprod. A.I., August 23-27, 1992, The Hague-The Netherlands, 3, 1557-1559.
82. OLESEN, I. (1993) Effects of cervical insemination with frozen semen on fertility and litter size of Norwegian sheep. Livestock Production Science, 37, 169-184.
83. ÖZKOCA, A. (1984) "Çiftlik Hayvanlarında Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama" İ.Ü. Vet. Fak. Yayınları, No: 3209/4, İ.Ü. Fen Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi Prof. Dr. Nazım Terzioğlu Basımevi, İstanbul.

84. PERRENOUD, V.M., SALVADOR, S.M. and RODRIGUES, J.L. (1991) Efficiency of HCG treatment in sheep laparoscopy AI programmes. *Anim. Breed. Abstr.*, 1992, 60, 1, 43.
85. REINHOLD, G., RICHTER, A., SCHULZ, J. und MENGER, H. (1990) Ergebnisse der Besamung von Schafen mit gefrierkonserviertem Sperma unter Anwendung der Laparoskopie. *Mh. Vet. Med.*, 45, 452-456.
86. RITAR, A.J. and BALL, P.D. (1993) The effect of freeze-thawing of goat and sheep semen at a high density of spermatozoa on cell viability and fertility after insemination. *Animal Reproduction Science*, 31, 249-262.
87. ROBINSON, J.J., JACQUELINE, M.W. and AITKEN, R.P. (1989) Fertilization and ovum recovery rates in superovulated ewes following cervical insemination or laparoscopic intrauterine insemination at different times after progestagen withdrawal and in one or both uterine horns. *J. Reprod. Fert.*, 87, 771-782.
88. RODRIGUES, F., BALDASSARRE, H., SIMONETTI, J., ASTE, F. and RUTTLE, J.L. (1988) Cervical versus intrauterine insemination of ewes using fresh or frozen semen diluted with aloe vera gel. *Theriogenology*, 30, 5, 843-854.
89. SALAMON, S., and VISSER, D. (1972) Effect of composition of tris-based diluent and of thawing solution on survival of ram spermatozoa frozen by the pellet method. *Aust. J. biol. Sci.*, 25, 605-618.
90. SCHINDLER, H. and AMIR, D. (1973) The conception rate of ewes in relation to sperm dose and time of insemination. *J. Reprod. Fert.*, 34, 191-196.
91. SEVINÇ, A. (1984) Dölerme ve Sun'i Tohumlama. 3. baskı, A.Ü. Vet. Fak. Yayınları, No: 397, A.Ü. Basımevi, Ankara.
92. SEVINÇ, A., TEKİN, N. ve ŞENER, E. (1985) Befruchtungsergebnisse nach Samenübertragung mit tiefgefrorenem Schafbock-Sperma (Minitüb) unter Verwendung verschiedener Verdüner. *Dtsch. tierarztl. Wschr.*, 92, 449-504.

93. SHACKELL, G.H., KYLE, B. ve LITTLEJOHN, R.P. (1990) Factors influencing the success of a large scale artificial insemination programme in sheep. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production, 50, 427-430.
94. SOUZA, C. J.H., CHAGAS, L. M., BARTOLINI, M., AGUIAR, P. R. L. and RODRIGUES, J. L. (1991 a) Effect of time of onset of synchronized oestrus in ewes on the NR rate to insemination with frozen semen. Anim. Breed. Abstr., 1992, 60, 1, 45.
95. SOUZA, C. J.H., CHAGAS, L. M., BARTOLINI, M., AGUIAR, P. R. L. and RODRIGUES, J. L. (1991 b) Effect of sperm concentration on the non-return rate of ewes inseminated by means of laparoscopy. Anim. Breed. Abstr., 1992, 60, 1, 45.
96. SUMMERMATTER, P. und FUSCHINI, E. (1990) Praxisorientierte Ziegenbesamung integriert in eine Rinderbesamungsstation. Wien. Tierarztl. Mschr., 77, 399-406.
97. TAKANEKA, S., YUTAKA, F. and ONO, H.(1985) Intrauterine insemination with frozen semen in the ewe using a laparoscope. Japan. J. Anim. Reprod., 31, 1, 25-27.
98. TARIM İSTATİSTİKLERİ ÖZETİ (1992) T.C. Devlet İstatistik Enstitüsü Yayınları, No:1685, Devlet İstatistik Enstitüsü Matbaası, Ankara.
99. TASSERON, F., AMİR, D. and SCHINDLER, H. (1977) Acrosome damage of ram spermatozoa during dilution, cooling and freezing. J. Reprod. Fert., 51, 461-462.
100. TEKİN, N. (1982) Untersuchungen zur Samenübertragung beim Schaf mit tiefgefrorenem Sperma: Einflub verschiedener Verdüner auf Motilitat, Kopfkappenintegritat und Sephadex-Filtration von in Minitüb konfektionierten Sperma. Vet. Med. Diss., Hannover.
101. TEKİN, N. (1994) Spermmanın muayenesi ve değerlendirilmesi. In "Reproduksiyon, Sun'i Tohumlama, Doğum ve İnfertilite " Editör: E. Alaçam, 7, 69-79, Dizgievi, Konya.

102. TEKİN, N., GÜNZEL-APEL, A.R., YURDAYDIN, N., YAVAŞ, Y., DAŞKIN, A., KESKİN, O. ve ETEM, H. (1991) Östrüsleri sinkronize edilen koyunlarda sun'i tohumlama yöntemiyle elde edilen dölverimi. A.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi, 38,1-2, 60-73.
103. TREJO, G. A. (1988) Advances in artificial insemination of sheep. Anim. Breed. Abstr., 56, 12, 1000.
104. TREJO, G.A., MUNOZ, L.M., RÍCO, P.O. and SÍLVA, M.C. (1988) Artificial insemination with frozen semen in progesterone synchronized ewes. 11th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., June, 26-30, 1988, Dublin, 3, 302.
105. TREJO, G.A., SOTO, G.R., NERÍA, V.B. and PENA, V.M.(1985) Artificial insemination in sheep using frozen semen. Anim. Breed. Abstr., 53, 883.
106. TROUNSON, A.O. and MOORE, N.W. (1974) Fertilization in the ewe following multiple ovulation and uterine insemination. Aust. J. Biol. Sci., 27, 301-304.
107. VALLET, J.C., BARİL, G., LEBOEUF, B. and PERRİN, J. (1992) Insemination artificielle intrauterine sous controle laparoscopique chez les petits ruminants domestiques. Ann. Zootech., 41, 305-309.
108. VALLET, J.C., CASSOU, B., DESPIERRES, E. and KOYUMJİEV, S. (1988) Practical method of improving the use of frozen ram semen by intrauterine insemination under laparoscopic control. 11th. Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., June 26-30, 1988, Dublin, 3, 303.
109. VAZQUEZ, I., GRAHAM, E.F., MARTÍNEZ, F., ALCAÍDE, M. and SORIANO, I. (1988) Fertility with frozen ram semen in Manchego sheep. 11th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I., June, 26-30, Dublin, 3, 305.
110. VISSER, D. and SALAMON, S. (1973) Fertility of ram spermatozoa frozen in a tris-based diluent. Aust. J. Biol. Sci., 26, 513-516.
111. WALKER, S.K., SMİTH, D.H., ANCELL, P. and SEAMARK, R.F. (1989) Time of ovulation in the South Australian Merino ewe following synchronization of estrus. 2. efficacy of GnRH treatment and its relevance to insemination programs utilizing frozen-khawed semen. Theriogenology, 31, 3, 555-564.

112. WATSON, P.F. and MARTIN, I.C.A. (1970) The influence of fractions of egg yolk on the survival of ram spermatozoa at 5 C. *J. Reprod. Fert.*, 21, 366.
113. WATSON, P.F. and MARTIN, I.C.A. (1972) A comparison of changes in the acrosomes of deep-frozen ram and bull spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 28, 99-101.
114. WEITZE, K.F. and PETZOLDT, R. (1992) Preservation of semen. *Animal Reproduction Science*, 28, 229-235.
115. WINDORS, D.P., SZELL, A.Z., BUSCHBECK, C., EDWARD, A.Y., MILTON, J.T.B. and BUCKRELL, B.C. (1994) Transcervical artificial insemination of Australian merino ewes with frozen-thawed semen. *Theriogenology*, 41, 4, 145-157.
116. ZANWAR, S.G., AGARWALL, S.K. and TOTEY, S.M. (1984) Fertility of cross-bred ewes inseminated with frozen semen. *Indian Vet. J.*, 61, 786-788.
117. ZHELTOBRYUKH, N.A., IVAKHNENKO, V.K. and AIBAZOV, M.M. (1984) The effect of the thawing regime on the quality and fertilizing ability of frozen ram semen. *Anim. Breed. Abstr.*, 1987, 55, 4, 290.
118. ZHELTOBRYUKH, N.A., IVAKHNENKO, V.K. and AIBAZOV, M.M. (1985) The effect of the volume and number of inseminations with frozen semen on conception rate of ewes. *Anim. Breed. Abstr.*, 1987, 55, 4, 290.

9. TEŞEKKÜR

Doktora programım süresince ve bu çalışmanın gerçekleşmesinde değerli yardım ve desteklerini esirgemeyen hocam sayın Doç. Dr. Kenan ÇOYAN' a şükranlarımı sunarım.

Doktora öğrenimim boyunca tecrübe ve bilgilerinden faydalandığım Doç. Dr. Melih AKSOY, Prof. Dr. Tefvik TEKELİ, Doç. Dr. D. Ali Dinç ve Doğum ve Reprodüksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı' ındaki öğretim elamanlarına, birlikte ahenkli çalışma fırsatı sağlayan Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı Araştırma Görevlileri Fikret KARACA, Abdullah KAYA ve Cengiz YILDIZ'a içtenlikle teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmada spermanın dondurulması aşamasında gerekli izni sağlayan zamanın Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü müdürü Doç. Dr. Orhan ÇETİN'e, spermanın alınması, sulandırılması ve dondurulması aşamalarında yardımlarını gördüğüm Cevdet AKDENİZ, Hüseyin KİNET ve Azmi EROĞLU'na, çalışma materyalinin teminini sağlayan Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü müdürü Dr. Ramazan KADAK'a, koyunculuk şube şefi Ali ERGİN ve koyunculuk şubesinde çalışan elaman arkadaşlara teşekkürlerimi sunarım.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Mehmet Bozkurt Ataman

Doğum tarihi ve yeri : 31. 01. 1966, Konya

ÖĞRENİM GÖRDÜĞÜ OKULLAR

1973-78 Necatibey İlkokulu, Konya

1978-81 Meram Ortaokulu, Konya

1981-84 Gazi lisesi, Konya

1984-85 İ.Ü. Siyasal Bilgiler Fakültesi Kamu Yönetimi, İstanbul

1985-90 S.Ü. Veteriner Fakültesi, Konya

1991 S.Ü. Veteriner Fakültesi Reprodüksiyon ve

Sun'i Tohumlama Bilim Dalı

Araştırma Görevlisi

1991 S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde doktora başlangıcı

Medeni Hali : Evli ve iki çocuk babası