



T.C.

**ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Dölerme ve Sun'î Tohumlama Anabilim Dalı**

**ATLARDA SULANDIRILMIŞ VE DONDURULMUŞ  
SPERMA İLE SUN'İ TOHURLAMA UYGULAMALARI**

T 58863

**(DOKTORA TEZİ)**

**FERUDUN ERZURUM**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. Meltem Çetin**

**BURSA - 1997**

## İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	2
GİRİŞ.....	3
GEREÇ ve YÖNTEM.....	15
BULGULAR.....	20
TARTIŞMA ve SONUÇ.....	25
KAYNAKLAR.....	34
TEŞEKKÜR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	44

## ÖZET

Bu çalışmada Karacabey Tarım İşletmesi Müdürlüğü At Yetiştirme Şubesinde bulunan safkan Haflinger 4 adet aygır ve 20 adet kısrağ kullanıldı. Çiftleşme mevsiminde sun'i vajen yardımıyla alınan sperma yağı alınmış kısrağ sütüyle sulandırıldı. Sulandırma sonrası ve dondurma sonrası spermatolojik özellikler ile tohumlamalardan elde edilen gebelik oranları incelendi.

Aygırlardan toplam 12 ejakülat alındı ve ortalama  $20 \pm 0.42$  ml. hacim,  $170.41 \pm 2.85 \times 10^6$ /ml. spermatozoon yoğunluğu,  $\%60.83 \pm 2.28$  motilite,  $6.8 \pm 0.01$  pH,  $\%14.91 \pm 0.94$  ölü spermatozoa ve  $\%13.16 \pm 0.68$  anormal spermatozoa saptandı.

Sulandırılmış spermayla yapılacak tohumlamalar için sperma 1000 IU/ml. penisilin, 1250 µg/ml. streptomisin içeren yağı alınmış kısrağ sütüyle ml.de  $50 \times 10^6$  motil spermatozoa olacak şekilde sulandırıldı. Sulandırılmış sperma 37°C'de 15 dakika bekletildikten sonra spermatolojik özellikleri incelenerek tohumlama uygulamaları gerçekleştirildi. Dondurulmuş spermayla yapılacak tohumlamalar için ise sperma %7 final gliserol içeren aynı sulandırıcıyla  $25 \times 10^6$  motil spermatozoa olacak şekilde sulandırıldı. Makrotüplerde -125 ile -130°C'de dondurulmuş sperma 45°C'deki su banyosunda 30 saniyede eritildi. Spermatolojik özellikleri incelendi ve tohumlamalar gerçekleştirildi. Sulandırma sonrası %60, eritme sonrası %40 ortalama motilite bulundu. Prostaglandin enjeksiyonundan sonra 3-13 gün içinde ovulasyon yapan kısrağlara ovulasyon anında veya hemen önce bir kez intrauterin tohumlama yapıldı. On kısrağ 10 ml. sulandırılmış, 10 kısrağ da 4 ml. dondurulmuş sperma ile tohumlamalar yapıldı. Sulandırılmış ve donmuş sperma için sırasıyla %70 ve %50 gebelik oranı saptandı.

**Anahtar Kelimeler :** At, Sperma, Sulandırma, Dondurma, Tohumlama.

## SUMMARY

### Studies on Artificial Insemination With Diluted and Frozen Semen in Horses

In the present study, purebred 4 Haflinger stallions and 20 mares, bred in Karacabey Stud Farm Department of Horse Breeding, were used. Semen collected by means of artificial vagina in breeding season was diluted with skimmed mare milk. Spermatological characteristics were examined after dilution and thawing, and conception rates were determined. The averages of volume, spermatozoon concentration, motility, pH, dead spermatozoa and abnormal spermatozoa of total of 12 semen collected from stallions were determined as  $20 \pm 0.42$  ml.,  $170.41 \pm 2.85 \times 10^6$ /ml.,  $60.83 \pm 2.28\%$ ,  $6.8 \pm 0.01$ ,  $14.91 \pm 0.94\%$  and  $13.16 \pm 0.68\%$ , respectively. Semen was diluted with skimmed mare milk, contained 1000 IU/ml. penicillin and 1250  $\mu$ g/ml. streptomycin as  $50 \times 10^6$  motil spermatozoa per insemination dose. Diluted semen stored in water bath at  $37^\circ\text{C}$  for 15 minutes, spermatological characteristics were determined and used for inseminations. Semen was diluted with the same diluent contained 7% final glycerol concentration as  $25 \times 10^6$  spermatozoa per insemination dose for inseminations with frozen semen. Semen, frozen in macrotubes at  $-125$  to  $-130^\circ\text{C}$ , was thawed in a water bath at  $45^\circ\text{C}$  for 30 seconds. Spermatological characteristics were determined and inseminations were performed. Motility averages were 60% and 40% after dilution and thawing, respectively. Single intrauterin inseminations were performed at the ovulation time or just before the ovulation to the mares ovulated 3-13 days after prostaglandin injections. Ten mares were inseminated with 10 ml. diluted semen and 10 mares were inseminated with 4 ml. frozen semen. Conception rates were found 70% and 50% for diluted and frozen semen, respectively.

**Key Words:** Horse, Semen, Dilution, Freezing, Inseminations.

## GİRİŞ

Yüzyılımıza kadar savaşlarda hayati önem taşıyan at tarihsel gelişim sürecinde besin kaynağı, iş, konkur, dresaj ve yarış hayvanı olarak kullanılmıştır. Bütün ülkelerde olduğu gibi ülkemizde de daha çok ulaşım, yük taşıma ve tarımsal faaliyetlerde kullanılmakla beraber, son yıllarda spor ve gösteri amacı ile yetiştirilmesi ile birlikte at yetiştiriciliği büyük bir endüstri haline dönüşmüştür (1,2).

Atlar reproduksiyon açısından özellik gösteren hayvanlardır. Bu ayrıcalıklar gerek yetiştirici ve gerekse Veteriner Hekimler tarafından aşılması kolay olmayan zorlukları beraberinde getirmektedir (3).

Genellikle doğal aşım ile gerçekleştirilen üreme işlemi sun'i tohumlama çalışmalarının başlaması ile çok daha bilimsel olarak yürütülmeye başlanmıştır. Dünyada ilk sun'i tohumlama uygulamasının 14. yy.'da Arap aşiretleri tarafından kısraklarda yapıldığı bildirilmiştir (4,5).

Evcil memeli hayvanlarda sun'i tohumlama alanında ilk ciddi bilimsel çalışma 1780 yılında İtalyan fizyolog Lazzaro Spallanzani tarafından gerçekleştirilmiştir. Ülkemizde 1926 yılında Mihailow adlı araştırmacı Karacabey Harasında yaptığı çalışmalar ile ilk at sun'i tohumlama uygulamasını başlatmıştır. Karacabey Harasında başlayan ilk sun'i tohumlama uygulaması sonradan Çifteler Harası ve diğer haralarda da uygulamaya konulmuştur (4).

Atlarda uygulanan sun'i tohumlama doğal aşım göre bir takım avantajlara sahiptir. Sun'i tohumlama ile saldırganlık, doku hasarı, enfeksiyonlar gibi komplikasyonlara engel olunmaktadır. Bir ejakülatın bölündükten sonra taze veya sulandırılarak kullanılması sonucu birden fazla sayıda kısrağa tohumlanabilmektedir. Sperma sulandırılarak daha uzağa

taşınmakta ve böylece kısırakların çiftleşme amacıyla taşınmaları ile ilgili problemler ortadan kalkmaktadır. Aygırlardan alınan spermanın sulandırılması ve daha sonra dondurulması spermanın uzun süre saklanmasına olanak vermektedir. Ayrıca aygır spermasının dondurulup saklanması ile aygırların sperma kalitesinin düşmesi ve aygırın ölümünden sonra bile spermaları kullanılabilir (2,6).

Aygırların fertilizasyon kapasitesinin belirlenmesi bu aygırla çiftleştirilmiş kısıraklardan elde edilen tay sayısı ile ölçülmektedir. Bunun için öncelikle sperma alma yöntemleri ve sperma muayenesi ile fekondasyon güçlerinin saptanması gerekmektedir (7).

Aygırlarda sperma muayenesi yapmak için sun'i vajen, elektroejakülasyon ve ampullaların masajı yöntemleri kullanılmaktadır. Aygır spermasının alınmasında en yaygın yöntem olarak sun'i vajen ile sperma alma yöntemi kullanılmaktadır. Atlarda sun'i vajenin ilk defa 1930'lu yıllarda Salzman tarafından kullanıldığı belirtilmektedir. Daha sonra değişik tip ve modellerde sun'i vajenler geliştirilmiştir (4,5). Ülkemizde kullanılan aygır sun'i vajeni Rus modelinin geliştirilmiş şeklidir (8).

#### **Aygır Spermasının Değerlendirilmesi :**

Atlarda sun'i tohumlama uygulamalarında jelden arındırılmış sperma kullanılmaktadır (1,4-7).

Spermanın muayenesi ve değerlendirilmesi (Spermiogram) yetiştiricilikte ve özellikle damızlık seçiminde önemli yer tutmaktadır. Spermanın makroskobik muayenesinde ejakülat miktarı, spermanın rengi, kıvamı ve kokusu kontrol edilmektedir. Spermanın mikroskobik muayenesinde kitle hareketi, spermatozoon yoğunluğu, ölü ve anormal spermatozoa oranı araştırılmaktadır. Spermanın fiziksel ve kimyasal özelliklerinin muayenesinde ise akrozom defekti ve pH değeri kontrol edilmektedir. Bilimsel çalışmalarda ve spermanın değişik amaçlı kullanımlarında spermatozoa metabolizmasına bağlı olarak

belirli süre içinde pH değerinin değişmesi spermanın değerlendirilmesinde kriter olarak kullanılmaktadır (9).

Ayır spermalarının ortalama hacmi 60 ml., spermatozoon yoğunluğu  $0.3 \times 10^6$  /ml., pH değeri 6.3-7.8 ve bir ejakülattaki total spermatozoa sayısı  $9.0 \times 10^9$  olarak bildirilmektedir (9).

Gerloff (10), ayır spermalarının hacmi 60ml., spermatozoon yoğunluğu  $0.15 \times 10^6$ /ml., bir ejakülattaki total spermatozoon yoğunluğu  $9.0 \times 10^9$ , spermatozoa motilitesi %70, normal morfolojik yapıdaki spermatozoa oranı %70 ve aygırlardan sperma alma aralığının haftada 3-10 kez olduğunu bildirmiştir.

Yurdaydın ve ark. (6), aygırlarda ortalama sperma hacmini 28.12 ml., spermatozoa motilitesini %75, pH değerini 7.07, spermatozoon yoğunluğunu  $202.500 \times 10^6$  /ml., ölü spermatozoa oranını %23.75 ve anormal spermatozoa oranını %15.47 olarak belirtmektedirler.

Yurdaydın (11), safkan Haflinger aygırlarda sperma hacmini, motilitesini, yoğunluğunu, pH değerini, anormal spermatozoa oranlarını sırası ile 30 ml., %78.94,  $214.277 \times 10^6$  /ml., 6.9, %23.33 olarak ifade etmektedir.

Yurdaydın ve ark. (12), bir başka çalışmalarında, Karacabey Harası yetiştirilmesi 6 adet safkan Haflinger aygırın gün aşırı 3'er ejakülattının muayenesi sonucu sperma hacminin 53.36 ml., pH değerinin 7.1, spermatozoon yoğunluğunun  $194.33 \times 10^6$  /ml., motilitesinin %68.05 olarak bulunduğunu bildirmektedir.

Ak ve ark. (13), 13 adet safkan İngiliz ve 30 adet safkan Arap aygırının toplam 82 ejakülatında yaptıkları değerlendirmede ortalama sperma hacmini 28.71 ml., pH değerini 7.62-7.86, spermatozoa motilitesini %57.27-62.45, canlı spermatozoa oranını %70.92-79.29, spermatozoon yoğunluğunu  $159.08-197.27 \times 10^6$  /ml. olarak saptadıklarını belirtmektedirler.

Özkoca (14), Pony ve sıcakkanlı atlarda ortalama sperma hacminin 40-150 ml., spermatozoa motilitesinin %60, doğal aşım için en düşük tohumlama dozunun  $500 \times 10^6$ , normal pH değerinin 7.35 olduğunu bildirmektedir.

Gülyüz (15), 40 adet safkan Arap aygırı ile yaptığı çalışmada ortalama sperma hacmini 31.95 ml., spermatozoa motilitesini %51.60, spermatozoon yoğunluğunu  $162.8 \times 10^6$  /ml. ve pH değerini 6.74 olarak belirtmektedir.

Sevinç ve ark. (16), Karacabey Harasında yaptıkları çalışmada 3 adet safkan Haflinger aygıra ait ortalama sperma hacmini 30 ml., spermatozoon yoğunluğunu  $214.277 \times 10^6$  /ml., pH değerini 6.9, spermatozoa motilitesini %78.9, anormal spermatozoa oranını % 23.33 olarak saptadıklarını ifade etmektedirler.

#### **Spermanın Sulandırılması :**

Aygır spermasını sulandırmak ve saklamak için bir çok sperma sulandırıcısı kullanılmıştır. Bu sulandırıcıların büyük çoğunluğunu yumurta sarısı, süt, süt ürünlerinin yanı sıra osmoliteyi ve pH değerini ayarlamak için yararlanılan kimyasallar oluşturmaktadır. Bu çalışmaların büyük bir kısmında fertilitenin belirleyicisi olarak gebelik oranı yerine spermatazoa motilitesi kullanılmıştır. Spermatozoa motilitesi fertilité ile ilgili olarak önemli bilgiler vermesine rağmen tek başına yeterli olmayabilir. Gebelik oranını birkaç faktör etkileyebileceğinden fertilité çalışmalarında uygun kontroller yapılmalıdır (17).

Spermanın korunması için, soğutma işleminden önce uygun bir sulandırıcı ile sulandırılması gereklidir (17). Spermanın sulandırılmasında Glikoz-EDTA (18-21), Merck-EDTA (22), Merck-laktoz (23,24), Modifiye Merck-laktoz (24), Kenney (22,25-28), Modifiye Kenney (26,28,29), Yağı alınmış süt (6,25,30-36), Yağsız süt tozu-glikoz (8,10,32,37), Yağsız süt tozu-yumurta sarısı-tikarsilin (38), Glisin-yumurta sarısı (30,39,40), Yumurta sarısı-laktoz (41), Tris (7,41), Bis-tris (42), Inra-82, Yumurta sarısı-sitrat-taurin,

EZ-mixin, Dimitro poulus onze (29), Colorado (CO3) (31), Cornell Univercity extender (CUE) (32), CGH-27, Baken-II, %5 Glikoz (43), Krem jel (7) gibi çok sayıda sperma sulandırıcısı kullanıldığı bildirilmektedir. Aşırı sulandırmanın spermatozoa canlılığını azalttığı belirtilmektedir. Bu durumun ancak spermatozoon yoğunluğu  $20 \times 10^6$  ml.'den düşük olduğunda belirlenebileceği ve süt, yumurta sarısı, serum içindeki proteinlerin spermanın sulandırılması ile oluşabilecek sulandırma etkilerine karşı spermatozoonların dayanıklılığını arttırabileceği vurgulanmaktadır (44).

Sperma sulandırma çalışmalarında bakteriyel kontaminasyonu engellemek amacı ile sulandırıcılara Penisilin (1000 İ.Ü./ml.), Dihidreptostreptomisin (1000 mg/ml.), Polimiksin-B sülfat (1000 µg/ml), Gentamisin sülfat (1000 µg/ml), Amisiklin sülfat (1000 µg/ml) gibi antibiyotikler katıldığı belirtilmektedir (45).

#### **Spermanın Dondurulması:**

Spermanın düşük ısı derecelerinde dondurulup uzun süreli saklanması üstün genotipik yapılı erkek hayvanlardan daha geniş ve yaygın ölçüde yararlanılması sonucunu doğurmaktadır. Ayrıca fazla sayıda erkek damızlık besleme sorunu da ortadan kalkarak hayvan yetiştiriciliğinde verimlilik artmakta ve hijyenik koşullarda hazırlanan dondurulmuş sperma ile tohumlanan dişilerde genital hastalıkların bulaşma olasılığı azalmaktadır. Başlangıçtan bugüne kadar spermanın sulandırılarak dondurulması konusunda başlıca üç yöntem kullanılmaktadır;

- 1- Spermanın ampullerde, kuru buz alkol ile dondurulması (4,5),
- 2- Spermanın pellet yöntemi ile kuru buz üzerinde dondurulması (4,5,42,46,47),
- 3- Spermanın payet yöntemi ile azot buharı üzerinde dondurulması (4,5,12,16,19-21,30,40,43).

Günümüzde aygır sperması daha çok payet yöntemi kullanılarak makrotüpler içinde dondurulmaktadır (4,5,12,16,19-21,30,40,43).

Değerli aygırlardan alınıp dondurularak saklanan aygır spermaları aygırın spermatolojik değerleri değiştiğinde veya öldüğünde kullanılması açısından ayrı bir öneme sahiptir (34).

Aygır spermalarının dondurulmasında dondurma sulandırıcısı olarak Laktoz-yumurta sarısı-gliserol (12,19,30,34,40,47-49), Merck-laktoz-yumurta sarısı-equex STM-gliserin (12,24,48,49), Laktoz-EDTA (50), Merck (16,21,23), Kenney (27), Yağsız süt tozu-yumurta sarısı-tikarsilin ve ayrı ayrı glikoz, sükroz, rafinoz, trehaloz, inositol- gliserol (38), Yumurta sarısı- (39), Glisin-yumurta sarısı-gliserol (40), her biri ayrı ayrı Bis-tris, Best, GGT, GGBT, TCA<sub>325</sub>, TCA<sub>390</sub> ve %2'den %7'ye kadar gliserol katılan sulandırıcılar (42), HF-20-gliserol (43), Modifiye Tischner (51), gibi çok sayıda sulandırıcı kullanıldığı belirtilmektedir.

Sulandırılarak makrotüpler içinde dondurulan spermaların bir tohumlama dozunda eritme sonu en az  $100 \times 10^6$  motil spermatozoa olacak şekilde ayarlandığı, sıvı azot buharında dondurularak, sıvı azot içinde saklandığı ifade edilmektedir (4,5,16).

Sulandırılarak makrotüpler içinde dondurulmuş aygır spermalarının su banyosunda 50 °C'de 40 saniye sürede eritildiğinde Arap aygırlarında eritme sonu motilitenin %48.58 ve Haflinger aygırlarında ise %49.99 olduğu belirtilmektedir (16).

Yedi adet aygırdan elde edilen 35 ejakülatın sulandırılıp dondurularak, dondurma sonrası 45 °C'deki su banyosunda 30 saniye süre ile eritilmesi ile elde edilen motilitenin %44.28 olarak saptandığı belirtilmektedir (49).

Makrotüpler içinde azot buharında dondurulan 6 adet sıcak kanlı aygır spermalarının eritme teknikleri araştırılmış; en düşük spermatozoa motilitesi 40 °C'de 35 saniyede

%26.60, en yüksek spermatozoa motilitesi ise 50 °C'de 35 saniyede %45 ve 45 °C'de 30 saniyede eritilen aynı spermada ise %42.80 olarak bulunduğu ifade edilmektedir (48).

Ayır spermalarının makrotüpler dışında ayrıca büyük hacimli (20-25ml.) alüminyum makrotüpler içinde de azot buharında dondurulduğu bildirilmektedir (50).

### **Kısrakların Senkronizasyonu:**

Kısrakların yetiştirme çağına 24-60. aylarda eriştikleri, mevsimsel poliöstrik hayvanlar olduğu (11,52), ülkemiz şartlarında ilkbahar aylarında kızgınlık gösterdikleri ve siklus sürelerinin ortalama 21-22 gün olduğu, ancak bu sürenin 14-24 gün arasında değişebileceği (14), havaların ısınması ile bu sürede kısaltmalar gözlenebileceği belirtilmektedir.

Artan veya azalan gün ışığının optik sinirler aracılığı ile Hipotalamus'ta bulunan Chiazma Opticum'u uyarması ve bazı çevresel faktörlerin de etkisi ile kısraklarda seksüel faaliyetlerin başladığı ifade edilmektedir (3,11,16).

Alaçam (53), aşım sezonunda kısraklarda ovaryum işlevlerinin denetlenmesi amacı ile ovaryumlarında aktif Corpus Luteum (CL.) bulunan kısraklarda Prostaglandinler ( $PGF_2\alpha$ ) ve analogları kullanıldığında bu hayvanlarda 2-5 gün sonra kızgınlık görüldüğünü ve enjeksiyonu izleyen 7-12. günlerde ovulasyon şekillendiğini ifade etmektedir. Araştırmacı  $PGF_2\alpha$  ve analogları uygulanan bazı kısraklarda enjeksiyonu izleyen 7-12 gün sonra kızgınlık belirtileri fark edilmeden ovulasyonun oluşabileceğini,  $PGF_2\alpha$  ve analoglarının çiftleşme mevsiminde de kızgınlık senkronizasyonu amacıyla başarı ile kullanılabileceğini bildirmiştir.

$PGF_2\alpha$  ve analogları ovaryumlarında aktif CL. bulunan kısraklarda uygulandığında kısa sürede kızgınlığı uyarmaktadır.  $PGF_2\alpha$  ve analoglarının uygulanmasını takibeden 48 saat içinde oldukça yüksek kızgınlık oranına ulaşabilmektedir.  $PGF_2\alpha$  uygulamaları ile

elde edilen kızgınlıklarda yapılan tohumlamalarda normal sınırlar içinde dölverimi elde edilmektedir (14,39,52,54-58).

Kısraklarda 21 günlük kızgınlık siklusunun 16. gününde  $PGF_2\alpha$  ve analoglarının uygulanması sonucu kızgınlık uyarılabilmesine rağmen, bu dönemde ovaryumlar üzerindeki CL. palpe edilemediğinden rektal muayene ile CL.'un regresyonu da belirlenemez (3).

Kısraklarda ovaryum işlevlerini artırmak amacı ile ışık rejimi uygulamaları veya GnRH, FSH, eCG gibi hormonların kullanılması ile başarılı sonuçlar alınabilmektedir. Çiftleşme mevsimine girmiş kısraklar için Progestagenler yardımı ile kan progesteron oranı yüksek tutulup kızgınlık ve ovulasyon bloke edilebilirken diöstrus CL.'u,  $PGF_2\alpha$  veya analogları kullanılarak luteinize edilip yeni bir kızgınlık ve ovulasyon oluşturulabilmektedir (56).

Ovaryumlarında aktif CL. bulunan kısraklar,  $PGF_2\alpha$  ve analoglarının uygulanmasını izleyen 2-5 gün sonra kızgınlık belirtileri göstermekte ve 7-12 gün sonra da ovulasyon oluşmaktadır (56,59).

Bazı çalışmalarda (57,58,60), senkronize ovulasyon oluşturmak için  $PGF_2\alpha$  ve analoglarının kullanıldığı bildirilmektedir.

### **Kızgınlık ve Ovulasyonun Belirlenmesi:**

Ergenliğe ulaşmış dişi hayvanların belli fizyolojik ve psikolojik belirtiler göstererek erkeği kabul etme durumu kızgınlık, bir kızgınlığın başlangıcından onu izleyen ikinci kızgınlığın başlangıcına kadar geçen süre de kızgınlık siklusu olarak ifade edilmektedir (11,14).

Kısraklarda kızgınlık çok belirgin olup çeşitli evrelerden oluşmaktadır. Kızgınlığın kesin olarak saptanması için aygır muayenesinden geçirilmesi gerekmektedir. Kısraklarda kızgınlık belirtilerinin saptanması aygır kontrolü, spekulum ile serviks ve vajinanın

muayenesi ve rektal palpasyon ile uterus ve ovaryumların muayenesi ile yapılmaktadır (11,61,62).

Demirci (63), kısıraklarda kızgınlığın aygır muayenesi ve klinik muayene ile belirlendiğini bildirmektedir. Diğer bir çalışmada (64), kısıraklarda kızgınlığın rektal muayene, vajinoskopi ve ultrasonik muayene ile saptandığı belirtilmektedir.

### **Ovulasyon:**

Ovaryumların muayenesi ve ovulasyonun kontrolü elde edilecek fertilité oranlarında önemli bir rol oynamaktadır. Rektal palpasyon ve sonografi aracılığı ile ovulasyona ait bilgilerin edinilebileceği bildirilmektedir (3).

Kısıraklarda Graaf follikülünün maksimum büyüklüğe ovulasyondan 36 saat önce ulaştığı ve son 12 saat içinde biraz küçüldüğü, tüm folliküllerin yaklaşık %40'nın ovulasyondan 24 ile 12 saat önce form değişikliğine uğradığı ve en iyi fertilizasyon oranının ovulasyondan 24 saat önce ve 8-12 saat sonraki dönemde yapılan tohumlamalardan elde edildiği ifade edilmektedir (3).

Japonya'da yapılan çalışmada en yüksek fertilité oranının (%65), ovulasyondan bir gün önce ve ovulasyon anında yapılan tohumlamalardan elde edildiği bildirilmektedir. Ovulasyondan önce folliküllerin büyüklüğünün süratle arttığı (tahminen günde 5 mm çapında), canlı ağırlıkları 400-450 kg olan kısıraklarda folliküllerin genellikle 45-65mm çapa, 225-350 kg kısıraklarda ise 35-45mm çapa ulaştıklarında ovule oldukları belirtilmektedir. Aynı çalışmada tohumlamada kullanılan aygır spermasının kısa ömürlü olduğu biliniyor ise tohumlamanın tahmin edilen ovulasyon zamanından 6 saat önce veya sonra yapılması gerektiği ve ovulasyonun kızgınlık sona ermeden 24-48 saat içinde şekillendiği ifade edilmektedir (14).

Yurdaydın (62), normal sınırlar içinde dölverimi elde edebilmek için, kısıraklarda ovulasyon zamanının bilinmesinin gerekli olduğunu ve tohumlamaların rektal muayene ile Graaf follikülünün gelişmesi dikkate alınarak yapılması gerektiğini belirtmektedir.

### **Tohumlama Dozu:**

Kısıraklarda bir tohumlama dozundaki en az hacmin sulandırılmış sperma için 10 ml., dondurulmuş sperma için 4 ml. olması gerektiği ve bir tohumlama dozunda bulunması gereken motil spermatozoa sayısının en az  $100 \times 10^6$  olduğu belirtilmektedir (5,16,18,65).

Başka bir çalışmada (21), sulandırılıp dondurulan spermada bir tohumlama dozundaki motil spermatozoa sayısının  $175 \times 10^6$ 'dan  $249 \times 10^6$ 'ya yükseltilmesi ile gebelik oranında önemli bir artış olduğu bildirilmektedir.

### **Tohumlama Zamanı:**

Kısıraklarda en uygun tohumlama zamanının, ovulasyondan bir gün önce veya ovulasyon zamanında olduğu (3,5,8,11,14,26,42) ve kısırak ovumunun ovulasyonu izleyen 18 saat içinde fertilize olma yeteneğini koruduğu (3,14,42,66) belirtilmektedir.

### **Dölverimi:**

Taze sulandırılmış ve soğutulmuş spermalar ile yapılan tohumlamalarda dölverimi açısından iyi sonuçlar elde edilmiş olmasına rağmen, dondurulmuş sperma ile yapılan çalışmalardan kötü sonuçlar alındığı belirtilmektedir (2).

Kısıraklarda doğal aşım ile elde edilen gebelik oranları %26.0-94.3 arasında değişmektedir (2,8,11,50,64,67-73).

Çeşitli sulandırıcılarla sulandırılmış spermalar ile elde edilen gebelik oranlarının %30-87 arasında olduğu ifade edilmektedir (6,8,22,25,26,28,32,74).

Payet içinde dondurulmuş sperma ile elde edilen gebelik oranlarının %29-73 arasında olduğu belirtilmektedir (12,18,20,21,33,43,75,76).

Pellet yöntemi ile dondurulmuş spermalar ile yapılan tohumlamalardan elde edilen gebelik oranlarının %40-60 arasında değiştiği bildirilmektedir (13,39,74).

### **Kısrak Sütünün Özellikleri:**

Kısrak sütü mavimsi beyaz renkte olup, sulumsu bir görünüme sahiptir. Anormal bir kokusu yoktur ve kokusuz kabul edilmektedir (77,78). Kısrak sütü pH değerinin 6.6-7.1 arasında değiştiği, asitliğinin 1.8-3.09 Soksalet Henkel (SH) arasında olduğu belirtilmektedir (77,79). Kısrak sütünün en büyük özelliği laktoz içeriğinin yüksek, protein, yağ ve kül içeriğinin düşük olmasıdır (78). Kısrak sütü laktoz içeriğinin %6.00-6.95 arasında değişebildiği ifade edilmektedir (77-79). Doğumu izleyen 8-45. günler arasında alınan kısrak sütünde total protein %21.31, kazein %2.02 ve protein olmayan nitrojen (NPN) oranının ise %0.043 olduğu bildirilmektedir (80). Kısrak sütündeki yağ oranının %1.3-2.0 arasında değiştiği belirtilmektedir (77,78). Csapó ve ark. (81), laktasyonun 8-45. günlerinde kısrak sütündeki yağ oranını %1.32 olarak tespit ettiklerini ve kısrak sütünün inek sütüne oranla çığ olarak saklanmaya daha uygun olduğunu belirtmektedirler.

Kısrak sütünde bulunan vitamin ve mineraller ile bunların sütteki miktarları Tablo-1'de verilmiştir.

**Tablo-1: Kısrak sütü içeriğindeki vitamin ve minerallerin miktarları (77).**

<b>Vitaminler</b>	<b>Sütteki Miktarları</b>
Vit-A	0.825-0.892 mg
Vit-E	0.65-1.05 mg
Vit-C	86.94-135.0 mg
Vit-B1	291 mg
Vit-B2	261 mg
Vit-PP	299 mg
Vit-B12	3.3 mg

<b>Mineraller</b>	<b>Sütteki Miktarları (%)</b>
K	0.105
Na	0.014
Ca	0.124
Mg	0.013
Fe	0.002
P	0.131
Cl	0.031

Bu çalışmada kısrak sütü sulandırıcısı ile aygır spermasının taze sulandırılarak ve sulandırılıp dondurularak, kısrak tohumlamalarında kullanılması ile normal sınırlar içinde dölverimi alınıp alınamayacağının araştırılması amaçlandı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Sunulan çalışmada Karacabey Tarım İşletmesi Müdürlüğü yetiştirmesi safkan Haflinger ırkından 4 aygır ve 20 kısırak kullanıldı.

Kısıraklar senkronize edilerek 10 adedi taze sulandırılmış sperma ile 10 adedi ise sulandırılarak dondurulmuş sperma ile tohumlandı. Taze sulandırılarak kullanılan sperma kısırakların tohumlama cetveline göre 4 ayrı aygırdan, dondurularak kullanılan sperma ise 1 aygırdan alınarak kullanıldı.

### **Spermanın Alınması:**

Aygırlardan sperma tekniğine uygun olarak hazırlanan Hannover tipi sun'i vajen yardımıyla alındı. Östrusta olan kısrağa atlatmak suretiyle alınan spermanın jel kısmı steril gazlı bezle uzaklaştırıldı ve hacmi dereceli sperma toplama kadehlerinde ölçüldü.

### **Sperma Sulandırıcılarının Hazırlanışı:**

Taze olarak alınan spermanın sulandırılması işleminde sperma sulandırıcısı olarak safkan Haflinger kısırak sütü ve antibiyotik karışımı kullanıldı. Laktasyon periyodunun ortasındaki kısıraklardan elde edilen süt ayrı gruplar halinde 90 °C'de ki su banyosunda 10 dakika süreyle ısıtılıp soğutulduktan sonra filtre edilip yağı alınarak içerisine antibiyotik (her ml. için 1000 İ.Ü. penisilin ve 1.25 mg streptomisin) katıldı ve sperma sulandırıcısı olarak kullanıma hazırlandı. Yağı alınmış kısırak sütü gerektiğinde kullanılmak üzere 7-10 gün süre ile buzdolabında +3 ile +5 °C'de saklandı.

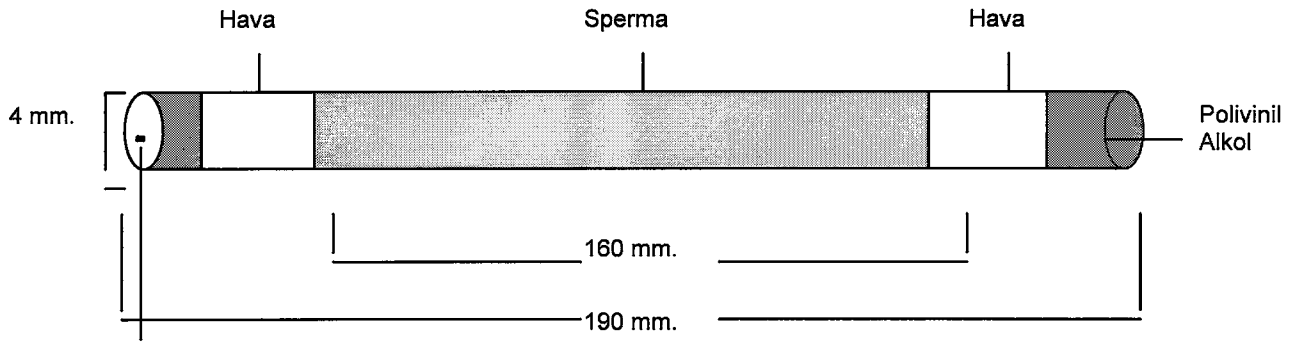
Sun'i vajen yardımı ile alınan sperma temel spermatolojik muayeneler yapıldıktan sonra sulandırıcı ve spermanın eşit ısılarla gelmelerini sağlamak için 37 °C'deki su banyosuna konuldu. Sulandırma işlemi; sulandırılmış spermayla yapılacak tohumlamalar için  $50 \times 10^6$  /ml. Spermatozoa ve dondurulmuş spermalar ile yapılacak tohumlamalar için  $25 \times 10^6$  /ml. olacak şekilde gerçekleştirildi. Sulandırıcı spermaya eşit ısılarda ve 15 dakika aralıklarla iki bölüm halinde katıldı. Spermanın sulandırılmasını takibeden 15 dakika sonrasında motilite muayenesi yapılarak motilitesi %50 ve yukarısında olan sulandırılmış spermalar tohumlamalarda kullanıldı.

#### **Spermanın Dondurulması:**

Dondurulacak spermalar yağı alınmış kısırak sütüne 1000 İ.Ü./ml. Penisilin ve 1.25 mg/ml. Streptomisin katıldı. Bu sulandırıcı iki bölüme ayrılarak 1. bölüm 15 dakika aralıklarla iki aşamada spermaya katıldı. İkinci hacme ise %14 (v/v) gliserol ilave edildi. Sulandırılan sperma ve gliserol içeren 2. bölüm 105 dakika süre ile +5 °C'ye düşürüldü. Bu ısıda gliserol içeren 2. bölüm yine 15 dakika aralıklar ile iki aşamada katılarak 60 dakika ekilibrasyona bırakıldı ve final gliserol oranı %7 oldu. Gliserolizasyon ve ekilibrasyona tabi tutulan sperma 2 ml'lik makrotüplere çekilerek dondurulmaya hazır hale getirildi.

Dondurma sıvı azot buharı üzerinde -125 °C ile -130 °C'de 8-10 dakika süreyle yapıldı. Dondurulan makrotüpler -196 °C'deki sıvı azot içinde saklandı.

Dondurma işleminde sulandırılmış spermanın çekildiği plastik makrotüp Şekil-1'de görülmektedir.



Ortası mikro delikli kauçuk tıpa  
Makro tüp hacmi = 2 cm<sup>3</sup>

**Şekil-1:** Sulandırılmış spermanın dondurulmasında kullanılan makrotüp.

### **Dondurulmuş Spermanın Eritilmesi:**

Makrotüpler (2ml. hacminde) içinde dondurulmuş spermalar, muayene ve tohumlama amacıyla 45 °C'deki su banyosunda 30 saniye süre ile eritilerek eritme sonu motiliteleri %40 ve yukarısında olan sperma grupları tohumlamalarda kullanıldı.

### **Spermatolojik Muayeneler:**

pH, motilite, spermatozoon yoğunluğu, ölü ve anormal spermatozoa oranından oluşan incelemeler ejakülat alındıktan sonra gerçekleştirildi. Motilite incelemeleri ise sulandırma sonrası ve eritme sonrası yapıldı.

### **Kısırakların Muayenesi:**

Araştırmada kullanılan kısıraklar muayene edilerek anöstrusta olup olmadıkları ve gebelik durumları incelendi. Anöstrusta olmayan ve kızgınlık belirtisi göstermeyen kısıraklara tek Prostaglandin F<sub>2α</sub> analogu (Cloprestenol sodium Bp, 526 µg, İ.M.) uygulaması gerçekleştirildi ve kızgınlıklar bir ölçüde toplulaştırılmaya çalışıldı. Uygulama yapılan kısıraklar kızgınlık yönünden takibe alındı.

Kısırakların kızgınlıkları her gün merada ve tavlada yapılan aygır muayenesi ile, ovulasyon ise spekulum ile porsio vajinalis servisis'in kontrolü ve rektal palpasyon ile saptandı.

### **Tohumlama Yöntemi:**

Taze sulandırılarak ve dondurulmuş spermalarla yapılan tohumlamalarda vajinal yöntem kullanıldı. Bunun için kısрак zaptı rapta alındı, vulva dudakları uygun antiseptik solusyon ile temizlenerek tohumlamaya hazır duruma getirildi. Antiseptik solüsyondan geçirilen uzun konçlu sun'i tohumlama eldiveni giyilerek yaklaşık 50 cm. uzunluğundaki plastik tohumlama kateteri eldivenin giyildiği el içinde gizleyerek vulva dudaklarından vajinaya doğru ilerleyip baş ve işaret parmağı yardımı ile porsio vajinalis servisis bulundu. Diğer el kateterin dışarıda kalan kısmından tutularak vajina içindeki elin kılavuzluğunda tohumlama kateterinin servikse girmesi sağlandı. Bir yardımcı tarafından cam enjektörde bulunan sperma kateter ile uterusu enjekte edildi. Son olarak kateter boyunca kalan spermayı itmek için enjektör ile 2-3 ml. kadar hava verilerek işlem tamamlandı. Bir makrotüp hacmi 2ml. olduğundan her bir tohumlama için 2 adet makrotüp kullanıldı.

### **Tohumlama Dozu:**

Mililitrede  $50 \times 10^6$  motil spermatozoa olacak şekilde sulandırılan spermadan 10 ml., mililitrede  $25 \times 10^6$  motil spermatozoa olacak şekilde dondurulan sperma ile 2 makrotüp (4ml.) tohumlama uygulamalarında kullanıldı.

### **Tohumlama zamanı:**

Tohumlanacak kısraklar ovulasyona en yakın olduklarında veya ovulasyon zamanında bir kez tohumlandılar.

**Gebelik Kontrolleri:**

Kısrakların gebelik kontrolleri tohumlamaları izleyen her gün tavlada ve merada aygır muayenesi, tohumlamalar sonrasındaki 20. ve 40. günlerde spekulum muayenesi ile porsio vajinalis servisisin durumunun kontrolü ve 60. gün ile sonrasında rektal palpasyon muayeneleri ile saptandı. Porsio vajinalis servisis'in vajina tabanına lokalize olduğunda ve gül goncası görünümünde hiperemik, gevşek bir görünüm aldığıında kısrakın ovulasyona yakın olduğu kabul edildi.



## BULGULAR

Kısıraklar senkronizasyondan 1-7 gün (ortalama  $4.95\pm 0.36$  gün) sonra 2-7 gün (ortalama  $4.45\pm 0.39$  gün) süren kızgınlık belirtileri gösterdi ve 3-13 gün (ortalama  $9.40\pm 0.75$  gün) sonra da ovulasyon şekillendi.

Senkronize edilmek için  $PGF_{2\alpha}$  analogu enjekte edilen 20 kısıraftan 2'si ilk enjeksiyona cevap vermeyerek, ilk enjeksiyondan 16 gün sonra ikinci enjeksiyonları yapılarak kızgınlık yönünden takip edildi. İkinci enjeksiyonları yapılan bu iki kısıraftan birinin ikinci enjeksiyondan 7 gün (Tablo-2) diğerinin ise 3 gün (Tablo-3) sonra ovulasyon yaptıkları saptanarak tohumlandılar.

**Tablo-2:** Taze sulandırılmış sperma ile tohumlanan kısırakların  $PGF_{2\alpha}$  analogu ile enjeksiyon ve ovulasyon aralığı.

Kısırak Ad-No	$PGF_{2\alpha}$ Analogu enjeksiyonu ile ovulasyon aralığı (gün)
1- Belkıs 51-83	13
2- Banu 2-78	10
3- Kamer 109-86	13
4- Nazlı 31-90	10
5- Nazlı 43-91	12
6- Ceylan 42-84	12
7- Meltem 105-86	7
8- Gonca 36-91	7
9- Bursalı 29-91 **	7
10- Hilal 9-78	6

\*\* İlk  $PGF_{2\alpha}$  analogu enjeksiyonuna cevap vermeyerek 16 gün sonra ikinci enjeksiyon yapılan ve 7 gün sonra ovulasyon gösteren kısırak.

**Tablo-3:** Sulandırılarak dondurulmuş sperma ile tohumlanan kısırakların PGF<sub>2</sub>α analogu ile enjeksiyon ve ovulasyon aralığı.

Kısırak Ad-No	PGF <sub>2</sub> α analogu enjeksiyonu ile ovulasyon aralığı (gün)
1- Belkıs 41-89	9
2- Jale 52-90	11
3- Sevim 108-86	11
4- Güçlü 27-83	4
5- Hilal 91-90	4
6- Akın 34-85 **	3
7- Nazlı 65-85	9
8- Can 3-78	12
9- Gamsız 78-88	13
10-Gamsız 76-89	12

\*\* İlk PGF<sub>2</sub>α analogu enjeksiyonuna cevap vermeyerek 16 gün aralık ile ikinci enjeksiyon yapıldığından 3 gün sonra ovulasyon gösteren kısırak.

Taze olarak sulandırılıp tohumlamada kullanılan veya dondurulan spermalarda hacim, motilite, spermatozoon yoğunluğu, pH, ölü ve anormal spermatozoa oranları ortalamaları sırasıyla 20±0.42ml., %60.83±2.28, 170.41±2.85x10<sup>6</sup> /ml., 6.8±0.01, %14.91±0.94, %13.96±0.68 olarak saptandı (Tablo-4).

**Tablo-4:** Taze sulandırma yapılan ve sulandırılarak dondurulan spermaların ortalama spermatolojik değerleri.

<b>Spermatolojik Özellikler</b>	<b>Değerler</b>
Hacim (ml.)	<b>20±0.42</b>
Motilite (%)	<b>60.83±2.28</b>
Spermatozoon yoğunluğu (x10 <sup>6</sup> /ml.)	<b>170.41±2.85</b>
PH	<b>6.8±0.01</b>
Ölü spermatozoa (%)	<b>14.91±0.94</b>
Anormal spermatozoa (%)	<b>13.16±0.68</b>

n = 12

Yağı alınmış kısırak sütü ve antibiyotik karışımından oluşan sulandırıcı ile sulandırılan spermadaki spermatozoa motilitesi ile sulandırma öncesi bulunan motilite arasında belirgin bir farklılık oluşmadığı görüldü. Kullanılan sulandırıcının yapılan kontrollerinde pH değerinin 6.8 olduğu saptandı. Hazırlanan sulandırıcı içine antibiyotik katılmadan gereğinde kullanılmak üzere +3 ile +5 °C'de 7-10 gün süre ile saklandı.

Dondurulmuş sperma 45 °C'de 30 saniye süre ile su banyosunda eritildi. Eritme sonu spermatozoa motilitesinin, ölü ve anormal spermatozoa oranının sırası ile %40, %35, %28 olduğu saptandı (n=2).

Taze sulandırılmış sperma ile tohumlanan safkan Haflinger kısırakların tohumlamalar sonrası yapılan muayene sonuçları aşağıda sunulmuştur (Tablo-5).

**Tablo-5:** Taze sulandırılmış sperma ile tohumlanan kısırakların gebelik sonuçları.

Kısırak Ad-No	Tohumlama Aygırı	Tohumlama Sonrası Muayeneler			
		Spekulum Muayenesi		Aygır Muayenesi	Palpasyon Bulguları
		20.Gün	40.Gün		
1-Belkis 51-83	82-83	±	-	-	Gebe
2-Banu 2-78	82-83	±	-	-	Gebe
3-Kamer 109-86	68-83	+	-	+	Gebe Değil
4-Nazlı 31-90	68-83	-	-	-	Gebe
5-Nazlı 43-91	82-83	±	-	-	Gebe
6-Ceylan 42-84	68-83	±	+	+	Gebe Değil
7-Meltem 105-86	13-87	-	-	-	Gebe
8-Gonca 36-91	13-87	-	-	-	Gebe
9-Bursalı 29-91	10-83	-	±	±	Gebe Değil
10-Hilal 9-78	68-83	-	-	-	Gebe

+ : Kızgınlık belirtisi verenler.

- : Kızgınlık belirtisi vermeyenler.

±: Kızgınlık belirtisi açısından şüpheli olanlar.

Sulandırılarak dondurulmuş safkan Haflinger aygır spermalarıyla tohumlanan kısırakların tohumlamalar sonrası yapılan muayene sonuçları aşağıda sunulmuştur (Tablo-6).

**Tablo-6:** Sulandırılarak dondurulmuş spermalar ile tohumlanan kısırakların gebelik sonuçları.

Kısırak Ad-No	Tohumlama Aygırı	Tohumlama Sonrası Muayeneler			
		Spekulum Muayenesi		Aygır Muayenesi	Palpasyon Bulguları
		20.Gün	40.Gün		
1-Belkis 41-89	68-83	-	+	+	Gebe Değil
2-Jale 52-90	68-83	-	-	-	Gebe
3-Sevim 108-86	68-83	-	-	-	Gebe
4-Güçlü 27-83	68-83	±	±	±	Gebe Değil
5-Hilal 91-90	68-83	+	-	+	Gebe Değil
6-Akın 34-85	68-83	+	+	+	Gebe Değil
7-Nazlı 65-85	68-83	-	-	-	Gebe
8-Can 3-78	68-83	±	±	±	Gebe Değil
9-Gamsız 78-88	68-83	±	-	-	Gebe
10-Gamsız 76-89	68-83	-	-	-	Gebe

+ : Kızgınlık belirtisi verenler.

- : Kızgınlık belirtisi vermeyenler.

±: Kızgınlık belirtisi açısından şüpheli olanlar.

Ovulasyona en yakın veya ovulasyon zamanında tohumlanan kısraklar tohumlamalar sonrası 40 gün süre ile tavlada ve merada her gün aygır muayenesinden geçirilerek kızgınlık belirtisi gösterip göstermedikleri kontrol edildi. Tohumlamaları takiben 20. ve 40. günlerde spekulum muayenesi ile porsio vaginalis servisisin kontrolü yapılarak hiperemik, gevşek, açık veya vajina tabanına yayılmış olması gebelik yönünden negatif olarak, anemik, katı, vajina tavanına yakın, vajina salgılarının azalmış ve koyulaşmış olması ise gebelik açısından pozitif olarak değerlendirildi.

Ovulasyon yaparak tohumlanan kısraklar, tohumlamalar sonrası 60. günde rektal palpasyon yapılarak gebelikleri kontrol edildiğinde gebelik oranlarının taze sulandırılarak kullanılan sperma ile %70, sulandırılıp dondurularak kullanılan sperma ile %50 (Tablo-7) olduğu saptandı.

**Tablo-7:** Taze sulandırılarak ve sulandırılıp dondurularak kullanılan aygır sperması ile elde edilen gebelik sonuçları.

<b>Tohumlama Yöntemi</b>	<b>Tohumlanan Kısraak Sayısı</b>	<b>Gebe Kalan Kısraak Sayısı</b>	<b>Gebelik Oranı (%)</b>
<b>Taze Sulandırılmış Sperma</b>	<b>10</b>	<b>7</b>	<b>70</b>
<b>Dondurulmuş Sperma</b>	<b>10</b>	<b>5</b>	<b>50</b>

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Sunulan çalışmada 4 safkan Haflinger aygırdan alınan taze spermaların ortalama hacmi  $20\pm 0.42$  ml. olarak belirlendi. Ortalama sperma hacimlerinin safkan Arap aygırlarının kullanıldığı çalışmalarda (6,8,11,13,15,16,47,49) 28.2-56.25 ml., safkan İngiliz aygırlarının kullanıldığı çalışmalarda (1,13) 39.15-47.50, Karacabey Tarım İşletmesi safkan Haflinger aygırlarında yapılan çalışmalarda (11,12,16) 28.26-53.36 ml. arasında değiştiği bildirilmektedir. Yukarıda bahsedilen çeşitli çalışmalarda gerek farklı ırklardaki ve gerekse Haflinger aygırlardan elde edilen sperma hacmine göre, sunulan çalışmadaki Haflinger aygırlardan elde edilen sperma hacminin daha az olduğu görülmektedir.

Sunulan çalışmada safkan Haflinger aygırlardan elde edilen spermadaki ortalama spermatozoa yoğunluğu  $170\pm 2.85 \times 10^6$  /ml. olarak belirlendi.

Safkan Arap aygırların kullanıldığı çeşitli çalışmalarda (6,11,13,15,16,47,49), taze spermaların ortalama yoğunluğunun  $77.06-231.428 \times 10^6$  /ml. arasında değiştiği ifade edilmektedir. İngiliz aygırlarında taze sperma yoğunluğu  $50.5-197.27 \times 10^6$  /ml. arasında değişmektedir (1,13). Karacabey Tarım İşletmesindeki safkan Haflinger aygırlar üzerinde yapılan çalışmalarda (11,12,16), taze sperma ortalama yoğunluğunun  $194.333-214.277 \times 10^6$  /ml. arasında değiştiği bildirilmektedir. Sunulan çalışmadaki ortalama yoğunluk değeri safkan Arap aygırlarda yapılan bazı çalışmalardaki (9,11,13) ortalama yoğunluk değerleri ile benzerlik göstermektedir. Buna karşılık Haflinger aygırlarda yapılan çalışmalardaki değerlerin, sunulan çalışmadaki ortalama yoğunluk değerinden yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum bakım ve beslemeye bağlı olabileceği gibi mevsim ya da bireyden kaynaklanmış olabilir. Sunulan çalışma çiftleşme mevsimi sonunda yapılmış ve ikinci

ejakülat kullanılmıştır. Nitekim Pickett ve ark. (82) aygırların birinci ve ikinci ejakülatı arasında spermatozoa yoğunluğu bakımından geniş varyasyonlar olabileceğini ve sperma yoğunluğunun mevsim ve aygır gibi en az iki faktörden etkilenebileceğini bildirmektedirler.

Ortalama motilite değerlerinin safkan Arap aygırlarında %51.60-75 (11,13,15,16,49), İngiliz aygırlarında %57.7-69.5 (1), Karacabey Tarım İşletmesi Haflinger aygırlarında %68.50-78.94 (11,12,16) arasında değiştiği bildirilmiştir. Sunulan çalışmada elde edilen %60 motilite değeri anılan çalışmalarda bildirilen değerler ile paralellik göstermektedir.

Sperma pH değeri İngiliz aygırlarında 6.9-7.62 arasında (1,13), Arap aygırlarında 6.9-7.86 (6,11,13,15,16,47,49), Haflinger aygırlarda ise 6.9-7.1 (11,12,16) olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada 6.8 olarak saptanan pH değeri bahsedilen çalışmadaki pH değeri ile benzerlik göstermektedir.

Çeşitli ırklardaki aygır sperması ölü spermatozoa oranının %20.80-%34.91 arasında değiştiği belirtilmektedir (1,6,13,15,49). Bu değerler ile sunulan çalışmadaki %14.91'lik ölü spermatozoa oranı ile uyumlu görülmektedir.

Karacabey Tarım İşletmesi safkan Haflinger aygırlarında yapılan çeşitli çalışmalarda (11,16), anormal spermatozoa oranı %23.33 olarak tespit edilmiştir. Bu oran, sunulan çalışmadaki %13.16 değerinden yüksektir. Arap aygırlarının kullanıldığı çeşitli çalışmalarda (6,11,13,15,16,47,49), anormal spermatozoa oranının %6.1-36.12, safkan İngiliz aygır spermalarındaki anormal spermatozoa oranının %16.15-21.7 arasında değiştiği belirtilmektedir (1,13). Gerek İngiliz ve gerekse Arap aygırlarından elde edilen anormal spermatozoa oranlarının sunulan çalışmadaki oranlar ile uyumlu olduğu, bazı çalışmalardaki (10,11,15,16,47,49) değerlerden farklı olduğu görülmektedir. Bu farklılıkların ırka ve bireye bağlı olabileceği düşünülebilir. Anılan spermatolojik özellik ile

ilgili olarak Evans (83), anormal spermatozoa oranının %20-30 arasında değişebildiğini, bunun yanında bazı aygırların %20'den daha az anormal spermatozoa oranına sahip olduklarını belirtmektedir.

Sunulan çalışmada sperma sulandırıcısı olarak yağı alınmış kısırak sütü ve antibiyotik karışımı kullanılmıştır. Yapılan bir çok çalışmada sperma sulandırıcısı olarak Glikoz-EDTA (18-21), Merck-EDTA (22), Merck-laktoz (23,24), Modifiye Merck-laktoz (24), Kenney (22,25-28), Modifiye Kenney (26,28,29), Yağsız süt (Skim-milk -extender), (5-7,25,31-36), Yağsız süt tozu-glikoz (8,10,32,37), Yağsız süttozu-yumurta sarısı-tikarsilin (38), Glisin-yumurta sarısı (30,39,40), Yumurta sarısı-laktoz (41), Tris (7,41), Bis-tris (42), Inra-82 , Yumurta sarısı-sitrat-aurin ve EZ-miksin, Dimitro paulus-onze (29), Cornell University Extender (CUE) (32), Colorado extender (CO3) (31), CGH-27 ve Baken-II ve %5 Glikoz (43), Krem-jel (7), gibi çok sayıda sulandırıcı kullanıldığı belirtilmiştir.

Yukarıda belirtilen süt sulandırıcılarında kullanılan süt veya süt tozunun, sunulan çalışmadaki kısırak sütünden farklı olarak inek orijinli süt veya süt tozu olduğu bildirilmektedir (5,6,31,32,34,37,38). Literatürde yağı alınmış kısırak sütü ile yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Sunulan çalışmada, sulandırılarak kullanılan aygır spermasının bir tohumlama dozunun yoğunluğu  $500 \times 10^6$  motil spermatozoa ve hacmi 10 ml. olacak şekilde ayarlandı.

Sulandırılmış aygır spermasının kullanıldığı çalışmalarda (7,10,33), bir tohumlama dozunda bulunan motil spermatozoa yoğunluğunun sunulan çalışmadaki  $500 \times 10^6$  adet motil spermatozoa olan yoğunluğu ile aynı olduğu görülmektedir.

Bazı çalışmalarda (25,26,28,42) ise bir tohumlama dozunda bulunan motil spermatozoa yoğunluğunun  $575-2000 \times 10^6$  motil spermatozoa arasında değiştiğini ve bu değerin sunulan çalışmadaki değerden yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Bu durum anılan çalışmalarda kullanılan santrifüj işleminden kaynaklanmış olabilir. Sulandırılmış sperma

kullanılarak yapılan bazı çalışmalarda (5,6,22), bildirilen bir tohumlama dozundaki  $100-400 \times 10^6$  motil spermatozoa değeri sunulan çalışmadakinden düşüktür.

Bu çalışmada sulandırılmış aygır spermasının tohumlama dozu hacim olarak 10 ml. olarak kullanılmıştır. Bu hacim yapılan bir çok çalışmada (5,7,8,32,42), kullanılan 10 ml.'lik hacim ile aynıdır. Buna karşılık bazı çalışmalarda (25,26,28,33), bu çalışmadakinden daha yüksek olan 25-50 ml.'lik hacim değerleri kullanılmıştır.

Sulandırılmış aygır sperması ile yapılan çalışmalarda (5,6,22), sulandırma öncesi ve sulandırma sonrası spermatozoa motilitesinde önemli bir değişiklik olmadığı belirtilmektedir. Bu durum sunulan çalışmada elde edilen bulgular ile uyumludur.

Sunulan çalışmada sperma dondurma sulandırıcısı olarak, yağı alınmış kısırak sütü, antibiyotik ve gliserol kullanıldı. Farklı çalışmalarda dondurma sulandırıcısı olarak, Laktoz, yumurta sarısı, gliserol (12,19,30,34,40,47-49), EDTA, yumurta sarısı, gliserol (18-20), Laktoz, EDTA (50,75,76), Merck, laktoz, yumurta sarısı, Equex STM, gliserin (12,24,48,49), Merck (16,21,23), Kenney (27), Yağsız süt tozu, yumurta sarısı, tikarsilin ve ayrı ayrı glikoz, sükroz, laktoz, rafinoz, trehaloz, inositol + gliserol (38), Yumurta sarısı (39), Glisin, yumurta sarısı, gliserol (40), Bis-Tris, Best, GGT, GBT, TCA<sub>325</sub>, TCA<sub>390</sub> (42), HF-20, gliserol (43), Modifiye Tischner (51) gibi çok sayıda farklı sulandırıcı kullanılmıştır.

Bu çalışmada dondurma öncesi motilite ortalama olarak %60 olarak bulundu. Bu oran çeşitli dondurma çalışmalarındaki (12,49,75) %57-68 sperma motilite oranları ile uyumlu görülürken buna karşılık çeşitli çalışmalarda (16,30,38,46,47,51), %70-85 arasında saptanan motilite oranlarından oldukça farklılık göstermektedir.

Sunulan çalışmadaki dondurma işlemi, makrotüpler içinde ve azot buharında -125 ile 130 °C'de 8-10 dakika içerisinde gerçekleştirildi. Bu metot aygır spermasının azot buharında -130 ile -140 °C'de 15-20 dakika süre ile dondurulduğu çalışmalarda (12,16,18,19,39) izlenen metot ile uyumludur. Buna karşılık aygır spermasının azot gazı buharında -150 °C

ile -180 °C'de 10 dakika süre ile tutulduğu çalışmalar da mevcuttur (40,43,76).

Bu çalışmada aygır sperması makrotüp içerisinde donduruldu. Bir çok çalışmada da (12,16,18,27,38,39,76) aygır spermasının makrotüp içerisinde dondurulduğu dikkati çekmektedir.

Payet kullanılarak aygır spermasının dondurulduğu çalışmalarda (19-21,40,43) sunulan çalışmada olduğu gibi dondurma işleminin azot buharında yapıldığı görülmektedir.

Sunulan çalışmada, aygır sperması dondurma sonrasında bütün çalışmalarda olduğu gibi (12,16,18-21,23,27,30,33,38-40,42,43,46-51,74-76,84), sıvı azot içerisinde (-196 °C) saklandı.

Bu çalışmada kullanılan dondurulmuş aygır sperması 45 °C'lik su banyosunda 30 saniyede eritildi. Bu işlem dondurulmuş aygır spermasını 37 °C'de 30 saniye veya 50 °C'de 40 saniyede eritildiği çalışmalarla (12,16,23,27,40,48-50,52,76) uygunluk göstermektedir. Diğer bazı çalışmalarda ise (19-21), dondurulmuş aygır sperması 70 °C'de 8 saniye veya 75 °C'de 10 saniyede eritilmiştir ve bu değerler sunulan çalışmadaki değerlerden farklıdır. Aygır spermasının 35 °C'de 3 saniyede eritildiği bazı çalışmalara (42) göre sunulan çalışmadaki eritme ısı ve süresi daha yüksektir.

Sunulan çalışmada kullanılan donmuş spermanın eritme sonu motilite ortalaması %40 olarak belirlendi. Bu ortalama çeşitli çalışmalarda (20,30,42,48-50,74) bildirilen %38-46.6 arasında değişen motilite değerleri ile paralellik göstermektedir. Buna karşılık bir çok çalışmada (23,40,42,47,48,51,75,76) %15.4-34.21 arasında saptanan değerlerden yüksektir. Sunulan çalışmadaki eritme sonu motilite değerinin, çeşitli çalışmalarda (12,16,18,33,46,48,76) %45-60 arasında değişen motilite değerlerinden düşük olduğu görülmektedir. Değerler arasındaki farklılıklar, farklı ırktaki aygır spermaları, farklı sulandırıcı ve farklı eritme ısı ve sürelerinin kullanılmasından kaynaklanmış olabilir.

Bu çalışmada kullanılan dondurulmuş aygır spermalarının motil spermatozoa yoğunluğu bir tohumlama dozunda (4ml.) en az  $100 \times 10^6$  adet olacak şekilde ayarlandı. Çalışmada kullanılan tohumlama dozu spermatozoa yoğunluğunun bazı çalışmalarla (16,39,42,46) aynı olduğu görülürken, bazı çalışmalarda (12,18,19,21,27,50,75,76) kullanılan  $200-1000 \times 10^6$  değerlerinden düşük olduğu dikkati çekmektedir. Bu farklılık tohumlama dozundaki hacim farklılığı ve spermaların dondurma öncesi santrifüj işlemi ile yoğunlaştırılmasından kaynaklanmış olabilir.

Bu çalışmada kullanılan eritilmiş spermanın bir tohumlama dozunun hacmi 4 ml. olacak şekilde ayarlandı. Aynı miktarın kullanıldığı bildirilen çalışmaların yanında (12,16,39), tohumlama dozunun 5-25 ml. olarak kullanıldığı çalışmalar da (38,50,51,75,76) bulunmaktadır.

Sunulan çalışmada,  $PGF_2\alpha$  analogu uygulanan kısıraklar, enjeksiyonu takip eden 1-7 gün içinde kızgınlık ve genel olarak 3-13 gün içinde de ovulasyon gösterdiler. Benzer çalışmalarda (14,53,54,56-58,85-89),  $PGF_2\alpha$  analogu uygulanan kısırakların 1-7 gün içinde kızgınlık ve 2-12 gün sonra da ovulasyon gösterdikleri ifade edilmektedir. Sunulan çalışmadaki değerler bu değerlerle uyumludur. Bu çalışmada aralıklı çift  $PGF_2\alpha$  analogu uygulanan iki kısrağı uygulamayı izleyen 1-3 gün içerisinde kızgınlık göstermiş ve 3-7 gün sonra da ovulasyon şekillenmiştir. Kısıraklarda yapılan çift  $PGF_2\alpha$  analogu uygulamalarını izleyen 2-4 gün içinde kızgınlık elde edildiği ve 5 gün sonra da ovulasyon şekillendiği ifade edilmektedir (60,87). Sunulan çalışmadaki  $PGF_2\alpha$  analogu uygulamasından kızgınlığa ve ovulasyona kadar geçen süreler ile bildirilen bu bulgular uyumlu görülmektedir.

Sunulan çalışmada Graaf follikülünün ovulasyon öncesi ulaştığı ortalama büyüklük 35-45 mm olarak saptanmış ve bu bulgunun çeşitli çalışmalardaki (3,50,68) değerlerle aynı olduğu görülmüştür.

Bir çok çalışmada olduğu gibi (3,4,8,19,50,51), sunulan çalışmada da sun'i tohumlama işlemi Vajinal Yöntem ile uygulanmıştır.

Hyland ve Bristol (54), doğumdan sonra kısırakları  $PGF_{2\alpha}$  ile senkronize ederek taze sperma ile tohumlamışlar ve %71.7 gebelik oranı elde etmişlerdir. Sunulan çalışmada saptanan %70 gebelik oranının bu sonuç ile uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Tay kızgınlığını izleyen 9. günde senkronize ettiği Arap kısıraklarını folliküler gelişimi takip ederek bir kez doğal olarak çiftleştiren Çelebi (56), % 60 oranında gebelik elde ettiğini bildirmektedir. Araştırmacının sonucu sunulan çalışmada elde edilen değerden düşüktür. Bu farklılık ırktan kaynaklanabileceği gibi senkronizasyonun yapıldığı dönemden de ileri gelmiş olabilir. Anılan çalışmada senkronizasyonun tay kızgınlığında yapıldığı bildirilmektedir. Oysa sunulan çalışmada kısıraklar normal düzenli sikluslarında senkronize edilmişlerdir. Bu olguyu, tay kızgınlığında senkronizasyondan sonra %60, düzenli kızgınlıkta senkronizasyondan sonra %81 gibi yüksek gebelik oranları elde ettiklerini bildiren Tolksdorff ve ark.nın (57) bulguları da desteklemektedir.

Kısıraklarda en yüksek dölverimini elde etmek için tohumlamaların ovulasyonun hemen öncesinde veya ovulasyondan sonraki kısa bir süre içinde yapılması gerektiği belirtilmektedir (3,11,26,66,70).

Sunulan çalışmada da kısıraklar follikül gelişimleri izlenerek ovulasyona en yakın zamanda veya ovulasyon zamanında bir kez tohumlandılar. Bir çok çalışmada (18,19,25,26,33), sunulan çalışma ile aynı şekilde olmak üzere yine follikül gelişimi izlenerek bir kez tohumlama uygulanırken, bazı çalışmalarda ise (6,7,10,20,28,42,51), sunulan çalışmadan farklı olarak birden fazla tohumlama yapıldığı bildirilmektedir.

Bu çalışmada sulandırılmış aygır sperması ile elde edilen gebelik oranı %70 olarak belirlendi. Farklı at ırklarında, değişik sulandırıcılar ile sulandırılmış aygır sperması ile yapılan tohumlama çalışmalarında %30-63 arasında değişen gebelik oranları

bildirilmektedir (7,8,32,37). Bu oranlar sunulan çalışmadaki %70'lik gebelik oranından daha düşüktür. Bazı çalışmalarda ise (6,25,26,28,33) sulandırılmış aygır sperması ile yapılan tohumlamalardan elde edilen %74-100 arasında değişen gebelik oranları sunulan çalışmadaki gebelik oranından daha yüksektir.

Sunulan çalışmada sulandırılarak dondurulmuş sperma ile yapılan tohumlamalardan %50 oranında gebelik elde edildi. Safkan Haflinger aygırların makrotüplerde dondurulan spermaları ile yapılan bir çalışmada %50 gebelik oranı elde edildiği ifade edilmektedir (16). Sunulan çalışmadaki gebelik oranı bu oran ile aynıdır.

Farklı at ırklarında değişik sulandırıcılar kullanılarak makrotüpler içinde dondurulan spermalar ile %19-47 arasında değişen oranlarda gebelik oranları elde edilmiştir (27,76). Bu oranlar sunulan çalışmadaki gebelik oranlarından düşüktür.

Çeşitli ırklarda, değişik dondurma sulandırıcıları kullanılarak payet içerisinde dondurulmuş spermalar ile elde edilen gebelik oranlarının %32-42.9 arasında değiştiği belirtilmektedir (18,19,50). Bu oran sunulan çalışmadaki %50'lik orandan düşüktür.

Bazı çalışmalarda ise (20,21,33,43), elde edilen gebelik oranları %56-67.9 arasında değişmektedir. Bu oran sunulan çalışmadaki gebelik oranından yüksektir.

Değişik at ırklarında farklı sperma sulandırıcıları kullanılarak ve pellet yöntemi ile dondurulan spermalar ile yapılan tohumlamalar sonucu %35-44 arasında değişen gebelik oranları elde edilmiştir (42,69). Bu değerler sunulan çalışmadaki gebelik oranlarından düşüktür. Bazı çalışmalarda (27,39,75), elde edilen %52-70 arasında değişen değerler sunulan çalışmadaki gebelik değerinden yüksektir.

Makrotüp içerisinde dondurulmuş aygır sperması ile yapılan tohumlamalarda (16,39,51,76), elde edilen %45-55 değeri ile sunulan çalışmadaki %50'lik gebelik oranı birbirine yakın görülmektedir.

Yukarıda sözü edilen çalışmaların tümünde dondurma sulandırıcısı olarak sunulan çalışmadaki sulandırıcıdan farklı sulandırıcılar kullanılmıştır.

Sunulan çalışmada elde edilen sonuçlar benzer çalışmalarda elde edilen değerler ile uyumlu görülmekle birlikte çeşitli çalışmalarda farklı sulandırıcılar ile sulandırılmış ve dondurulmuş aygır spermasıyla PGF<sub>2</sub>α analogları uygulanması sonucu kızgınlık ve ovulasyonları uyarılarak tohumlanan kısıraklarda elde edilen gebelik oranları arasındaki farklar; aygır ve kısrağa bağlı bireysel farklılıklar, değişik sperma sulandırıcılarının kullanılması, sulandırma ve dondurma yöntemi arasındaki farklılıklar, dondurulmuş spermanın eritme ısısı ve süresi arasındaki farklılıklar, tohumlama zamanı ve dozundaki (hacim ve yoğunluk) farklılıklar, PGF<sub>2</sub>α analogları uygulamasından doğan farklılıklardan kaynaklanmış olabilir.

Sunulan çalışmada kullanılan sperma sulandırıcısı ile sulandırılan ve sulandırılarak dondurulan aygır spermaları ile tohumlanan kısıraklardan normal sınırlar içerisinde dölverimi alınabileceği sonucuna varılmıştır.

Kısırak sütü sulandırıcısı kullanılarak sulandırılmış ve sulandırılarak dondurulmuş aygır sperması ile daha yüksek dölverimi sonuçları alınabilmesi için kısрак sütünün sulandırıcı olarak kullanıldığı daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. GÖKÇEN, H., TÜMEN, H., DOĞAN, İ., BİLGİN, B., SÖNMEZ, C., DEMİREL, M.: Aygır ve merkeplerde spermatolojik özellikler, U. Ü., Vet. Fak. Derg., 12: (1), 65-72, 1993.
2. RICKETTS, S. V.: Artificial insemination and the non Thoroughbred horse breeding industry, Equine Vet. Educ., 2: (3), 147-150, 1990.
3. LEIDL, W.: Atlarda Dölverimi Sorunları, İLERİ, İ. K.: İ. Ü. Vet. Fak. Türk Alman Günleri; İstanbul, 1993, 51-57.
4. GÖKÇEN, H.: Dölerme ve Sun'i Tohumlama, U. Ü. Vet. Fak., Bursa, 1989, 1-148.
5. YURDAYDIN, N.: Spermanın Alınması, Saklanması ve Sun'i Tohumlama, Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Doğum ve İnfertilite Ed. ALAÇAM, E., Dizgievi, Konya, 1994, 89-102.
6. YURDAYDIN, N., DAŞKIN, A., GÜLYÜZ, F., AKSOY, Z.: Sulandırılarak +4 °C'de Saklanan aygır spermasının spermatolojik özellikleriyle dölverimi üzerinde araştırmalar, L. H. A. E. D., 32: (1-4), 63-72, 1992.
7. PICKETT, B. W.: Seminal Extenders and Cooled Semen, Equine Reproduction Ed. McKINNON, A. O., VOSS, J. L., Lea & Febiger, Philadelphia, London, 1993, 746-753.
8. ÖNCÜL, S., ÖZKOCA, A.: Tek Tırnaklılarda Dölerme Fiyolojisi ve Sun'i Tohumlama, Yeni Desen Matbaası, Ankara, 1964, 1-83.
9. TEKİN, N.: Spermanın Muayenesi ve Değerlendirilmesi, Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Doğum ve İnfertilite Ed. ALAÇAM, E., Dizgievi, Konya, 1994, 69-79.
10. GERLOFF, B.: Averages of Semen Characteristics of Domestic Animals, Current Therapy in Theriogenology 2, Ed. MORROW, D. A., W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1986, 1084.

11. YURDAYDIN, N.: Atlarda dölleme özellikleri, A.Ü.Vet.Fak.Derg., 33:(2), 210-224, 1986.
12. YURDAYDIN, N., SEVİNÇ, A., WLADAR, W.: Değişik ırktan aygırların spermalarının dondurulması üzerine araştırmalar, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 32: (3), 446-455, 1985.
13. AK, K., ÖZKOCA, A., İLERİ, İ. K., BARAN, A., ÖZTÜRKLER, Y., CARIÖĞLU, B. ÇELEBİ, M.: Arap ve İngiliz aygırlarında spermatolojik özellikler, İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg., 20: (2-3), 311-315, 1994.
14. ÖZKOCA, A.: Atlarda Reprodüksiyon ve İnfertilite, T. J. K. Matbaası, İstanbul, 1993, 10-101.
15. GÜLYÜZ, F.: Aygırların Androlojik ve Bakteriyolojik Muayeneleriyle Dölverimleri Üzerinde Araştırmalar, Doktora Tezi, Ankara, 1991.
16. SEVİNÇ, A., YURDAYDIN, N., TEKİN, N.: Karacabey Harası safkan Arap ve Haflinger aygırlarından alınan spermaların dondurulması ve Haflinger kısıraklarından elde edilen dölverimi, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 31: (2), 304-315, 1985.
17. MAGISTRINI, M., VIDAMENT, M.: L'insémination artificielle chez les Equidés, Rec. Med. Vét., 168: (11-12), 959-967, 1992.
18. THOMASSEN, R.: Bruk av frossen saed til inseminasjon av hest, Norsk Veterinaertidsskrift, 103: (3), 213-216, 1991.
19. THOMASSEN, R.: Insemination with stallion semen frozen in 0.5 ml. straws, Reprod. Dom. Anim., 28: 289-293, 1993.
20. CRISTANELLI, M. J., SQUIRES, E. L., AMANN, R. P., PICKETT, B. W.: Fertility of stallion semen processed, frozen and thawed by a new procedure, Theriogenology, Vol. 22: (1), 39-45, 1984.
21. WOLKMANN, D. H., DEBORAH, V. Z.: Fertility of stallion semen frozen in 0.5-ml. straw, J. Reprod. Fert., Suppl., 35: 143-148, 1987.

22. WITTE, A.: Untersuchungen zur Flüssigkonservierung von Pferdesperma unter Verwendung verschiedener Verdünnungsmethoden, Thesis, Hannover, 1989.
23. ADVENA, I.: Zur Tiefgefrierkonservierung von Hengstsamen; Vergleich der Kofektionierungsform Flachbehältnis mit dem Makrotüpverfahren® hinsichtlich ihres Einflusses auf Motilität und Kopfkappenintegrität der Samenzellen, Thesis, Hannover, 1990.
24. RÖBBELEN, I.: Vergleichende Untersuchungen an Unterschiedlich aufbereitetem Pferdiefgefriersamen. Einfluß verschiedener Tiefgefriergeschwindigkeit auf Motilität und Membranintegrität der Samenzellen, Thesis, Hannover, 1993.
25. HEISKANEN, M. L., HUHTINEN, M., PIRHONEN, A., MÄENPÄÄ, P. H.: Insemination results with slow-cooled stallion semen stored for 70 or 80 hours, *Theriogenology*, 42: 1043-1051, 1994.
26. HEISKANEN, M. L., HUHTINEN, M., PIRHONEN, A., MÄENPÄÄ, P. H.: Insemination results with stallion semen stored for two days, *International Journal of Thymology*, Vol. 1: 48-49, 1993.
27. SAMPER, J. C., HELLANDER, J. C., CRABO, B-G.: Relationship between the fertility of fresh and frozen stallion semen quality, *J. Reprod. Fert., Suppl.*, 44: 107-114, 1991.
28. HEISKANEN, M. L., HUHTINEN, M., PIRHONEN, A., MÄENPÄÄ, P. H.: Insemination results with slow-cooled stallion semen stored for approximately 40 hours, *Acta Vet. Scand.*, 35: (3), 257-262, 1994.
29. IJAZ, A., DUCHARME, R.: Effect of various extenders and taurine on survival of stallion sperm cooled to 5 °C, *Theriogenology*, 44: 1039-1050, 1995.
30. KAMP, B. O. D., WÖCKENER, A., MALMGREN, L., BOYLE, M., BADER, H., COLENBRANDER, B.: Liquid storage and freezing of semen from new frost and Welsh pony stallion, *12 th. Int. Cong. On. Anim. Repr.*, Vol. 4: 1903-1905, 1992.

31. BEDFORD, S. J., GRAHAM, J. K., AMANN, R. P., SQUIRES, E. L., PICKETT, B. W.: Use of two freezing extenders to cool stallion spermatozoa to 5 °C with and without seminal plasma, *Theriogenology*, 43: 939-953, 1995.
32. PROVINCE, C. A., SQUIRES, E. L., PICKETT, B. V., AMAN, R. P.: Cooling rates storage temperatures and fertility of extended equine spermatozoa, *Theriogenology*, 23: (6), 925-935, 1985.
33. JASKO, D. J., SQUIRES, E. L., MORAN, D. M. FARLIN, M. E.: Comparison of pregnancy rates utilizing fresh, cooled and frozen semen, 12 th. Int. Cong. On. Anim. Repr., Vol. 3: 1439-1441, 1992.
34. KRÖGER, B., BADER, H., KLUG, E., MERKT, H.: The swim-up test as criterium for the judgement of stallion semen, 12 th. Int. Cong. On. Anim. Repr., Vol. 4: 1882-1884, 1992.
35. MALMGREN, L., KAMP, B. O. D., WÖCKENER, A., BOYLE, M., COLENBRANDER, B.: Motility patterns of equine spermatozoa stored under different condition, 12 th. Int. Cong. On. Anim. Repr., Vol. 4: 1891-1897, 1992.
36. BLACH, E. L., AMANN, R. P., BOWEN, R. A., FRANTZ, D.: Changes in quality of stallion spermatozoa during cryopreservation: plasma membrane integrity and motion characteristics, *Theriogenology*, Vol. 31: (2), 283-297, 1989.
37. DOUGLAS-HAMILTON, D. H., BURNS, P. J., DRISCOLL, D. D., VIALE, K. M.: Fertility and characteristics of slow-cooled stallion semen, *J. Reprod. Fert., Suppl.* 35: 649-650, 1987.
38. BURNS, P. J.: Modification of Kenney's extender for cryopreservation of equine spermatozoa, 12 th. Int. Cong. On. Anim. Repr., Vol 4: 1849-1851, 1992.
39. LOVC, C. C., LOCH, W. L., BRISTOL, F., GARCIA, M. C., KENNEY, R. M.: Comparison of pregnancy rates achieved with frozen semen using two packaging methods,

Theriogenology, Vol. 31: (3), 613-621, 1989.

40. WÖCKENER, A., MALMGREN, L., KAMP, B. O. D., BOYLE, M., BADER, H., COLENBRADER, B.: Freezing of stallion semen-effects on sperm motility and morphology, 12 th. Int. Cong. On. Anim. Repr., Vol. 4: 1933-1935, 1992.

41. SAMPER, J. C., CRABO, B. G.: Assay of capacitated, freeze-damaged and extended stallion spermatozoa by filtration, Theriogenology, 39: 1209-1220, 1993.

42. PACE, M. M., SULLIVAN, J. J.: Effect of timing of insemination, numbers of spermatozoa and extender components on the pregnancy rate in mares inseminated with frozen stallion semen, J. Repr. Fert., Suppl. 23: 115-121, 1975.

43. NISHIKAWA, Y.: Studies on the preservation of raw and frozen horse semen, J. Repr. Fert., Suppl. 23: 99-104, 1975.

44. VARNER, D. D.: Effects of semen dilution on sperm motility, Theriogenology, 28: 709-723, 1987.

45. PASCOE, D. R.: Techniques for artificial insemination and semen transport, Vet. Cont. Educ., Massey U. 143: (8), 155-161, 1992.

46. MERKT, H., KLUG, E., KRAUSE, D., BADER, H.: Results of long-term storage of stallion semen frozen by the pellet method, J. Repr. Fert., Suppl. 23: 105-106, 1975.

47. SAYIN, T., İLERİ, İ. K., ÖZKOCA, A.: Aygır spermasının pellet yöntemi ile dondurulması ve saklanması üzerinde araştırmalar, İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg., 19: (1), 55-65, 1993.

48. YURDAYDIN, N., POHL, W.: Değişik süre ve ısılarda eritilmiş aygır spermasının başlıca spermatolojik özellikleri üzerinde çalışmalar, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 34: (3), 479-485, 1987,

49. YURDAYDIN, N., ÇELEBİ, M., HOLZMANN, A.: Aygır spermasının dondurulması üzerinde çalışmalar, L. H. A. E. D., 29: (1), 98-106, 1989.

50. TISCHNER, M.: Evaluation of deep-frozen semen in stallions, J. Repr. Fert., Suppl. 27: 53-59, 1979.
51. MÜLLER, Z.: Fertility of frozen equine semen, J. Repr. Fert., Suppl. 32: 47-51, 1982.
52. ÇOYAN, K.: Evcil hayvanlarda sexuel sikluslar, Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Doğum ve İnfertilite Ed. ALAÇAM, E., Dizgievi, Konya, 1994, 25-36.
53. ALAÇAM, E.: Üremenin denetlenmesi, Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Doğum ve İnfertilite Ed. ALAÇAM, E., Dizgievi, Konya, 1994, 81-88.
54. HYLAND, J. H., BRISTOL, F.: Synchronization of oestrus and timed insemination of mares, J. Repr. Fert., Suppl. 27: 251-255, 1979.
55. BURNS, S. J., IRVINE, C. G. H., AMOSS, M. S.: Fertility of prostaglandin-induced oestrus compared to normal post-partum oestrus, J. Repr. Fert., Suppl. 27: 245-250, 1979.
56. ÇELEBİ, M.: Kısıraklarda Tay Kızgınlığında ve PGF<sub>2</sub>α ile Kontrollü Tohumlama Sonuçları ve Enzimimmunoassay Yöntemi ile Gebelik Tanısı, Doktora Tezi, Konya, 1993.
57. TOLKSDORFF, E., JÖCHLE, W., LAMOND, D. R., KLUG, E., MERKT, H.: Induction of ovulation during the postpartum period in the thoroughbred mare with a prostoglandin analogue, synchrocept™, Theriogenology, Vol. 6: (4), 403-412, 1976.
58. BOOTH, L. C., OXENDER, W. D., DOUGLAS, R. H., WOODLEY, S. L.: Estrus, ovulation, and serum hormones in given prostaglandin F<sub>2</sub>α-estradiol, and gonadotropin-releasing hormone, Am. J. Vet. Res., Vol. 41: (1), 120-122, 1979.
59. HYLAND, J. H.: Reproductive endocrinology: its role in fertility and in the horse, Br. Vet. J., 146: (1), 1-6, 1990.
60. BRISTOL, F.: Synchronization of ovulation, Equine Reproduction Ed. McKINNON, A. O., VOSS, J. L., Lea & Febiger, Philadelphia, London, 1993, 348-351.
61. DEMİRCİ, E.: Sultansuyu harasında yetiştirilen safkan Arap kısıraklarında kızgınlık ve kızgınlık siklusu süreleri, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 32: (1), 23-32, 1985.

62. YURDAYDIN, N.: Karacabey Harası Yetiştirilmesi Safkan Arap, Safkan Haflinger ve Yarımkarı Haflinger Kısıraklarının Kızgınlık ve Kızgınlık Siklusu Süreleriyle Dölverimleri Üzerindeki Araştırmalar, Doktora Tezi, Ankara, 1982.
63. DEMİRCİ, E.: Doğum sonrası normal kızgınlıklarda tohumlanan safkan Arap kısıraklarda dölverimi ve gebelik süresi, Selçuk Üniv. Vet. Fak. Derg., 75: 1-10, 1989.
64. KATILA, T., KOSKINEN, E., OIJALA, M.: Evaluation of the post partum mare in relation to foal heat breeding, J. Vet. Med. A., 35: 92-100, 1988.
65. LEY, W. B.: Method of predicting stallion to mare ratio for naturel and artificial insemination programs, Theriogenology, Vol. 5: (3), 143-146, 1985.
66. KOSKINEN, E., LINDEBERG, H., KUNTSI, H., RUOTSALAINEN, L., KATILA, T.: Fertility of mares after postovulatory insemination, J. Vet. Med. A., 37: 77-80, 1990.
67. TEKİN, N., YURDAYDIN, N., KLUG, E., YAVAŞ, Y., AKSU, A., GÜLYÜZ, F.: Erhebung von fortpflanzungsmerkmalen sowie besamungs/bedeckungsergebnissen in vollblutaraber-und Haflingerstutenherden in gestüten in west-und mittelanatolien, Dtsch. Tierärztl. Wschr., 98: 325-364, 1991.
68. OIJALA, M., KATILA, T., KOSKINEN, E.: Suomenhevosen varsomisen jälkeisen ajan ja alkutiineyden seruanta ultraäänitutkimuksen, Suomen Eläinlääkärilehti, 93: (7-8), 296-304, 1987.
69. DEMİRCİ, E.: Fertility in purebred Arab horses in Turkey, Anim. Repr. Scie., 15: 265-271, 1987.
70. KESKİNTEPE, L., ALPAR, R., KÜPLÜLÜ, Ş.: Çifteler Anadolu Tarım İşletmesindeki safkan Arap kısırakların bazı reprodüktif özellikleri üzerinde incelemeler, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 35: (2-3), 488-496, 1988.
71. YURDAYDIN, N., SEVİNÇ, A.: Karacabey Harasında yetiştirilen değişik ırktan kısıraklarda dölverimi, A. Ü. Vet. Fak. Derg., 30: (2), 283-291, 1983.

72. DEMİRTEL, E.: Karacabey Harasında Yetiştirilen Hafflinger ve Yarımkın Hafflinger Atların Gelişme, Beden Yapıları ve Çeşitli Verim Özellikleri, Doktora Tezi, Ankara, 1975.
73. KÜÇÜK, H.: Karacabey Tarım İşletmesinde Yetiştirilen Arap, Hafflinger ve Yarımkın Hafflinger Atlarının Çeşitli Verim Özellikleri Üzerinde Araştırmalar, Doktora Tezi, İstanbul, 1990.
74. KLUG, E., TREU, H., HILLMANN, H., HEINZE, H.: Results of insemination of mares with fresh and frozen stallion semen, J. Repr. Fert., Suppl., 23: 107-110, 1975.
75. MÜLLER, Z.: Practicalities of insemination of mares with deep-frozen semen, J. Repr. Fert., Suppl., 35: 121-125, 1987.
76. LOOMIS, P. R., AMANN, R. P., SQUIRES, E. L., PICKETT, B. W.: Fertility of unfrozen and stallion spermatozoa extended in EDTA- lactose-egg yolk and packaged in straws, J. of Anim. Scie., Vol. 56: (3), 687-693, 1983.
77. YAYGIN, H.: Kıymız ve özellikleri, Yeni Matbaa, Antalya, 1992, 15-25.
78. SEVDA, K.: Bir Türk içeceği: Kıymız, Hasad Derg., 111: 11-15, 1994.
79. MARIANI, P., MARTUZZI, F., CATALANO, A. L.: Composizione e proprieta' fisico-chimchedel latte di cavalla: variazione dei costituenti azotati e minerali nel corso della lattazione, Annali della facolta' di medicina Veterinaria, Universita di parma Vol. XIII: 43-58, 1993.
80. CSAPÓ-KISS, Zs., STEFLER, J., MARTIN, T. G., MAKRAY, S., CSAPÓ, J.: Composition of mares' colostrum and milk. Protein content, aminoacid composition and contents of macro and micro-elements, Int. Dairy J., 5: 403-415, 1995.
81. CSAPÓ, J., STEFLER, J., MARTIN, T. G., MAKRAY, S., CSAPÓ-KISS, Zs.: Composition of mares' colostrum and milk. Fat content, fatty acid composition and vitamin content, Int. Dairy J. 5: 393-402, 1995.

82. PICKETT, B. W., FAULKNER, L. C., SUTHERLAND, T. M.: Effect of month and stallion on seminal characteristics and sexual behavior. *J. Anim. Sci.* 31: 713. Alınmıştır: Reproductive Physiology of the stallion. in *The Horse*, Ed. EVANS, J.W., BORTON, A. HİNTZ, H.F., VAN VLECK, L.D., H. Freeman and Company, New York, 1990, 365.
83. EVANS, J.W.: Reproductive Physiology of the stallion. in *The Horse*, Ed. EVANS, J.W BORTON, A. HİNTZ, H.F. VAN VLECK, L.D., W.H. Freeman and Company, New York, 1990, 365.
84. PICKETT, B. W., AMANN, R. P.: Cryopreservation of semen, *Equine Reproduction* Ed. McKINNON, A. O., VOSS, J. L., Lea & Febiger, Philadelphia, 1993, 769-787.
85. HUGHES, J. P., STABENFELT, G. H.: The use of hormones in reproductive management of the mare, *Australian Vet. J.*, Vol. 53: 258-261, 1977.
86. IRVINE, C. H. G.: Prostaglandins, *Equine Reproduction* Ed. McKINNON, A. O., VOSS, J. L., Lea & Febiger, Philadelphia, 1993, 319-323.
87. BRISTOL, F.: Synchronization of estrus, *Current Therapy in Equine Medicine 2 Ed.* ROBINSON, N. E., W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1987, 495-498.
88. BRISTOL, F.: Estrous Synchronization in mares, *Current Therapy in Theriogenology 2 Ed.* MORROW, D. A., W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1986, 661-664.
89. HOPKINS, S. M.: Ovulation management, *Current Therapy in Equine Medicine 2 Ed.* ROBINSON, N. E., W. B. Saunders Co. Philadelphia, 1987, 498-500.

## TEŞEKKÜR

Bu araştırmam sırasında bana yol gösteren ve emekliliğine kadar danışman hocam olan sayın Prof. Dr. Hazım GÖKÇEN'e, yakın ilgi ve desteği ile çalışmamın sonuçlanmasında büyük emeği geçen Doç. Dr. M. Kemal SOYLU'ya, danışman hocam Doç. Dr. Meltem ÇETİN'e en içten teőekkürlerimi sunarım.

Araştırmanın yapılması esnasında bana yardımcı olan Dr. Yavuz NAK ve Dr. Deniz NAK'a, Karacabey Tarım İşletmesi Müdürlüğü At Yetiştirme Őubesi alışanlarına, Vatan Konserve çalışanlarına en derin teőekkürlerimi sunarım.

## ÖZGEÇMİŞ

1963 Yılı Göksun Kahramanmaraş doğumluyum. İlk, orta ve lise öğrenimi burada tamamladım. 1987 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesiden mezun oldum. 1988-1989 yılları arasında Yedek Subay olarak Askerlik görevimi yaptım. 1989 yılında Karacabey Tarım İşletmesi Müdürlüğünde (TİGEM) göreve başladım. Halen aynı işletmede Hayvancılık Şube Şefi olarak görev yapmaktayım.