

Değişik Düzeylerde Vitamin-E Katılarak Sulandırılan Koç Spermasının Spermatolojik Özellikleri ve Dölverimi Üzerinde Araştırmalar

Hüseyin TÜMEN*

Hazım GÖKÇEN**

M. Kemal SOYLU***

İbrahim DOĞAN****

Müslüm KARAMUSTAFAOĞULLARI*****

ÖZET

Bu araştırmada Merinos ırkından 2 koç ve 160 koyun kullanıldı. Her iki koçtan alınan spermalar 4 eşit bölüme ayrıldıktan sonra her bölüm Vitamin-E içermeyen ve 0.3; 0.4; 0.6 cc/ml. düzeyinde Vitamin-E içeren glüköz-fosfat sulandırıcısı ile 0.2 cm³'lük tohumlama dozunda 150x10⁶ motil spermatozoon bulunacak biçimde sulandırıldı ve ısı 5°C'ye düşürüldü. Spermatolojik muayeneler sulandırmadan önce, sulandırdıktan sonra ve 5°C'de olmak üzere üç aşamada gerçekleştirildi. Her koçun 4 ayrı şekilde hazırlanan spermaları ile 20'şer koyun servikal yolla tohumlandı.

* Dr.; U.Ü. Vet. Fak., Doğum ve Reprodüksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

** Prof. Dr.; U.Ü. Vet. Fak., Doğum ve Reprodüksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

*** Yard. Doç. Dr.; U.Ü. Vet. Fak., Doğum ve Reprodüksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

**** Araş. Gör.; U.Ü. Vet. Fak., Doğum ve Reprodüksiyon Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa-Türkiye.

***** Vet. Hek.; Karacabey Tarım İşletmesi, Bursa-Türkiye.

Vitamin E içermeyen ve 0.3; 0.4; 0.6 cc/ml. Vitamin-E içeren sulandırıcı gruplarında gebelik oranı birinci koçta sırasıyla % 50, 70, 55, 70; ikinci koçta sırasıyla % 55, 50, 65, 40 bulunmuştur.

SUMMARY

Investigations of Spermatological Characteristics and Fertility of Ram Semen Diluted By Adding Various Levels of Vitamin E

In this research two Merino rams and 160 Merino ewes were used. After collection from both rams, samples were divided into four equal parts, each part was diluted with pure and 0.3, 0.4 and 0.6 cc/ml. Vitamin E added glucose-phosphate diluent. Each insemination dose was 0.2 cm³ and has 150 x 10⁶ motil spermatozoon. After dilution samples were cooled to 5°C. Spermatological examinations were performed before and after dilution and at 5°C. With semen, prepared by four different ways from both rams, 20 ewes were inseminated by cervically for each group.

Pregnancy rates for pure and 0.3, 0.4 and 0.6 cc/ml. Vitamin-E added semen were found as 50, 70, 55 and 70 % for first ram and 55, 50, 65 and 40 % for second ram respectively.

Key words: Vitamin-E, addition, ram semen.

GİRİŞ

Ülkemizde sayısal bakımdan güçlü bir potansiyeli bulunan koyunculüğün günümüzdeki en önemli sorunlarından birisi de verim düşüklüğüdür. Koyunların, başta dölverimi olmak üzere ekonomik değer taşıyan öteki verimlerinin artırılmasında sun'i tohumlamanın vazgeçilmez bir yeri ve önemi vardır. Etkin ve yaygın bir koyun sun'i tohumlama uygulamalarında koç spermasının dondurularak kullanılmasının yararı kuşkusuzdur. Ne var ki, bu teknik koyunlarda, sığırlarda olduğu gibi başarılı olamamakta, çözümlenmesi gerekli daha birçok sorunu bulunmaktadır. Halen kullanılmakta olan taze sperma ile tohumlama yöntemi de ekonomik, pratik ve verimli değildir. Koç spermasının sulandırılıp ısı 5°C'ye düşürüldükten sonra sun'i tohumlamada kullanılması tekniği bir süreden beri koyunculugu gelişmiş bazı ülkelerde başarıyla uygulanmaktadır. Hele spermaya antioksidan olarak kimi katkı maddelerinin, o arada da Vitamin-E'nin katılması spermatolojik özelliklerde iyileşmeye neden olarak dölverimini arttırmaktadır. Bu alanda yapılan araştırmalarda değişik sonuçlar alınmış olmakla birlikte Vitamin-E'nin hangi düzeyde katılmasının gerek spermatolojik özellikleri, gerekse dölverimini ne ölçüde etkileyeceği konusunda yeterince çalışma bulunmamaktadır. Bu araştırmada öncekilerden farklı olarak Vitamin-E'nin düzeyi ile, sulandırılan

spermadaki spermatolojik özellikler ve dölverimi arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gökçen et al.¹, süttozu sulandırıcısı ile 0.2 cm³lük bir tohumlama dozunda 100x10⁶ motil spermatozoon bulunacak biçimde sulandırdıkları ve Vitamin-E kattıkları koç spermasını dondurmuşlardır. Yazarların bildirdiğine göre deneme ve kontrol grupları arasında motilite oranları bakımından önemli bir fark yoktur. Dondurma sürecinin çeşitli evrelerinde yapılan muayenelerde akrozom bozukluk oranı Vitamin-E katılan bölümde kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Bu spermalar ile yaptıkları tohumlamalardan elde ettikleri gebelik oranları da deneme grubunda % 50.0, kontrol grubunda % 33.0 olmuştur. Yazarlar spermaya katılan Vitamin-E'nin, spermatozoon membranının dayanıklılığını artırarak akrozom bozukluklarının oluşmasını önlediğini ve bu suretle daha yüksek oranda dölverimi alınmasını sağladığını öne sürmektedirler.

Danov et al.², spermaya katılan Vitamin-E'nin spermatozoonlarda ince yapı düzeyinde bir değişime neden olabilecek etkiye sahip olmadığını savunmaktadır. Oysa Surai³, α -tokoferol'ün spermada lipit peroxidasyon oranı ile sperma enzimlerinin salgılanmasında azalmaya neden olduğunu bildirmiştir.

Srivastava et al.⁴, koç spermasına 10, 20, 30, 40 mg/ml. düzeyinde α -tokoferol kattıklarını ve bu sperma bölümleri arasında motilite oranının çok farklı olmadığını ancak 30 mg/ml. düzeyinde katılmış olan sperma bölümünde motilite oranının kontrol grubundan daha yüksek olduğunu, 40 mg/ml. katılan bölümde ise canlı spermatozoon oranının daha yüksek, anormal spermatozoon oranının da daha düşük olduğunu bildirmektedirler. Buna karşın Marinov et al.⁵ koç spermasına değişik antioksidan maddeler ilave ederek dondurduklarını, çözüm sonu en düşük motilitenin α -tokoferol katılan sperma bölümünde saptandığını bildirmişlerdir.

Tümen⁶ koç spermasını, bir mililitresinde 37.5 mg. Vitamin-E bulunan glikoz-fosfat sulandırıcısı ile sulandırıldığını, deneme ve kontrol grupları arasında motilite oranı bakımından fark olmadığını bildirmiştir. Kontrol ve deneme grubu spermalar ile yaptığı tohumlamalardan da sırasıyla % 65 ve 83 gebelik oranı elde etmiştir.

MATERYAL VE METOD

Bu araştırmada materyal olarak Merinos ırkından 2 koç ve 160 koyun kullanılmıştır. Koçlar ve koyunlar Karacabey Tarım İşletmesinde yetiştirilen baba koçlar ve anaç koyunlar arasından tesadüfi örnekleme yöntemiyle seçilmiştir.

Koyunlar önce her birinde 80 koyun bulunan 2 gruba ayrıldı. Birinci grup, 1 nolu koçun farklı düzeylerde Vitamin-E katılmış sulandırıcı ile sulandırılan sperması ile, ikinci grup da, 2 nolu koçun anılan şekilde hazırlanan sperması ile tohumlanmak üzere 20'şer başlık 4 alt gruba ayrıldı ve işaretlendi.

1 nolu koçtan ardarda sun'i vajenle alınan 2 ejakulat spermatolojik muayeneleri yapıldıktan sonra birleştirildi ve tekrar split-sample tekniği ile 4 eşit bölüme ayrıldı. Spermanın birinci bölümü kontrol grubu olarak Vitamin-E katılmamış, kalan 3 sperma bölümü ise 0.3; 0.4; 0.6 cc/ml. Vitamin-E katılan glikoz-fosfat sulandırıcısı ile 0.2 cm³lük bir tohumlama dozunda 150 x 10⁶ motil spermatozoon bulunacak biçimde sulandırıldı. 2 nolu koçtan alınan sperma da aynı işlemlere tabi tutularak sulandırıldı. Sulandırılan spermalar, spermatolojik özellikleri kontrol edildikten sonra 5°C'ye kadar soğutuldu ve tekrar spermatolojik muayeneleri yapıldı. Birinci grubu oluşturan dört alt gruptan biri, 1 nolu koçun kontrol olarak ayrılan ve Vitamin-E katılmadan sulandırılan sperma bölümü ile, kalan üç alt gruptaki koyunlar ise 3 ayrı düzeyde Vitamin-E katılmış sperma bölümleri ile servikal yolla bir kızgınlıkta bir kez olmak üzere tohumlandı. İkinci grubu oluşturan 4 alt gruptaki koyunlar da 2 nolu koçun, dört ayrı şekilde sulandırılan spermaları ile aynı yöntemle tohumlandı.

Tohumlamayı izleyen iki östrus siklusu boyunca arama koçu katılarak yapılan kontrollerde kızgınlık göstermeyenler belirlendi ve bu yöntemle dölverimi düzeyi saptandı.

BULGULAR

1 ve 2 numaralı koçların spermalarında, alındıktan hemen sonra, spermalar sulandırıldığında ve ısıları 5°C'ye düşürüldüğünde yapılan muayenelerde saptanan spermatolojik özelliklere ilişkin değerler ile yapılan tohumlamalardan elde edilen dölverimi sonuçları, Tablo I ve II'de topluca sunulmuştur.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan bu araştırmada alınan sonuçların sergilendiği 1 ve 2 nolu tablolar incelendiğinde, her iki koçtan alınan spermaların 3 ayrı konsantrasyonda Vitamin-E katılan glikoz-fosfat sulandırıcısı ile sulandırıldıktan ve ısıları 5°C'ye düşürüldükten sonra yapılan spermatolojik muayenelerde saptanan bulguların, spermanın alınmasından hemen sonra saptanan değerlerden çok farklı olmadığı görülmektedir. Nitekim spermalar alındığında motilite oranı % 95, ölü spermatozoon oranı % 15, anormal spermatozoon oranı % 1.5 ve akrozom bozukluk oranı da % 0 olduğu halde spermaların ısıları 5°C'ye düşürüldüğünde bu özellikler çok az denilebilecek bir kayba uğrayarak sırasıyla % 85, 21, 1.2 ve 0.3 olarak saptanmıştır. Koç spermasının sulandırılması konusunda yapılan pek çok araştırmada elde edilen sonuçlar da benzer şekildedir^{6,7,8}.

Bunun yanı sıra üç ayrı konsantrasyonda Vitamin-E katılan sulandırıcı ile sulandırılan sperma bölümleri arasında da spermatolojik özellikler bakımından

Tablo: I

Bir Numaralı Koçun Değişik Düzeylerde Vitamin-E Katılarak Sulandırılan Spermında, Sulandırmadan Önce, Sulandırdıktan Sonra ve 5°C'de Saptanan Spermatojik Bulgular İle Yapılan Tohumlamalardan Alınan Dölverimi Sonuçları

YÖNTEM		Spermatojik Bulgular				Dölverimi Bulguları			
		Motilite Oranı (%)	Ölü Spermatozoon Oranı (%)	Akrozom Bozukluk Oranı (%)	Anormal Spermatozoon Oranı (%)	Tohumlanan Koyun Sayısı	Gebe Kalan Koyun Sayısı	Gebelik Oranı (%)	
Sulandırmadan Önce		95.0	15.3	—	1.8				
Sulandırdıktan Sonra	Vitamin-E Konsantrasyonu	Kontrol	95	17.4	—	1.2	20	10	50
		0.3 cc/ml	85	21.9	—	3.0			
		0.4 cc/ml	90	16.2	—	1.8			
		0.6 cc/ml	90	18.0	—	1.5			
5°C'de	Vitamin-E Konsantrasyonu	Kontrol	85	18.0	0.3	1.2	20	14	70
		0.3 cc/ml	85	20.1	0.6	1.5	20	11	55
		0.4 cc/ml	85	19.5	0.3	1.5	20	14	70
		0.6 cc/ml	85	19.8	0.3	1.5	20	14	70

önemli derecede farklılıklar görülmemiştir. Bu durum, Danov et al.²'un da belirttiği gibi anılan düzeylerde spermaya katılan Vitamin-E'nin, spermatozoonlar üzerine olumsuz bir etkisinin bulunmadığını akla getirmektedir. Diğer taraftan spermatozoonların özellikle düşük ısı derecelerinden büyük ölçüde etkilendiği ve

Tablo: II

İki Numaralı Koçun Değişik Düzeylerde Vitamin-E Katılarak Sulandırılan Spermında, Sulandırmadan Önce, Sulandırdıktan Sonra ve 5°C'de Saptanan Spermatojik Bulgular İle Yapılan Tohumlamalardan Alınan Dölverimi Sonuçları

YÖNTEM			Spermatojik Bulgular				Dölverimi Bulguları		
			Motilite Oranı (%)	Ölü Spermatozoon Oranı (%)	Akrozom Bozukluk Oranı (%)	Anormal Spermatozoon Oranı (%)	Tohumlanan Koyun Sayısı	Gebe Kalan Koyun Sayısı	Gebelik Oranı (%)
Sulandırmadan Önce			95.0	15.0	-	1.5			
Sulandırdıktan Sonra	Vitamin-E Konsantrasyonu	Kontrol	90	15.0	-	1.5	Tohumlanan Koyun Sayısı	Gebe Kalan Koyun Sayısı	Gebelik Oranı (%)
		0.3 cc/ml	90	16.5	-	1.2			
		0.4 cc/ml	90	16.8	-	1.8			
		0.6 cc/ml	90	16.5	-	2.1			
5°C'de	Vitamin-E Konsantrasyonu	Kontrol	85	21.0	0.3	1.2	20	11	55
		0.3 cc/ml	85	19.2	0.3	1.5	20	10	50
		0.4 cc/ml	85	20.4	0.3	1.5	20	13	65
		0.6 cc/ml	85	22.2	0.3	1.5	20	8	40

spermatojik özelliklerin zarar gördüğü bilinmektedir. Bu durum gözönüne alınrsa araştırmada elde edilen taze ve sulandırılıp 5°C'ye kadar soğutulan spermaların spermatojik özelliklerine ilişkin değerler arasında çok fazla kaybın bulunmaması, Vitamin-E'nin olumlu ve koruyucu etkilerinin de var olabileceğini

düşündürmektedir. Nitekim Gökçen et al.¹ Vitamin-E katarak dondurdukları koç spermalarında akrozom bozukluk oranının azaldığını saptamışlar ve bu durumu da Vitamin-E'nin membran koruyucu ve antioksidan özellikleri ile açıklamaya çalışmışlardır. Diğer taraftan Vitamin-E'nin bulunduğu ortamda peroksitlerin yıkımlandığı, şekillenmesinin azaldığı, oksidasyon olaylarının da yavaşladığı bildirilmektedir^{3,9}. Peroksitler ise spermatozoonlar için son derece toksik etkilidir¹⁰. Bu nedenle Vitamin-E'nin, anılan biyo-kimyasal özelliklerinden dolayı spermatozoonlar üzerine koruyucu etkisinin olabileceğini düşünmek olasıdır.

Bir nolu koçun kontrol ve 0.3; 0.4; 0.6 cc/ml. Vitamin-E içeren sulandırılmış sperma bölümleri ile yapılan tohumlamalardan sırasıyla % 50, 70, 55, 70; iki nolu koçun aynı şekilde hazırlanan spermaları ile de yine sırasıyla % 55, 50, 65 ve 40 gebelik oranı sağlanmıştır.

Yaptıkları araştırmalarda Gökçen et al.¹ Vitamin-E kattıkları dondurulmuş sperma ile % 50.0, kontrol grubunda ise % 33.0, Tümen⁶ ise deneme ve kontrol gruplarında % 83 ve % 65 oranında gebelik oranı elde etmişlerdir. Bir nolu koçun spermaları ile elde edilen gebelik oranları, Tümen⁶'in bulguları ile iki yönlü benzerlik göstermektedir: Hem Vitamin-E katılan sperma bölümleri ile sağlanan gebelik oranları birbirine yakındır, hem de deneme grubunda alınan sonuçlar kontrol grubundan daha yüksektir. Buna karşın 2 numaralı koçun deneme grubu spermaları ile elde edilen gebelik oranları kontrol grubunda alınan sonuçla çok yakındır. Hatta 0.6 cc/ml. Vitamin-E katılan sperma ile alınan dölvrimi en düşük olmuştur. Deneme gruplarından sadece birinde görülen bu dölvrimi düşüklüğünün nedenini, o grubu oluşturan koyunların gizli seyreden ve farkedilemeyen genital enfeksiyonlarına bağlamak mümkündür. Bunun yanısıra günde bir kez yapılan kızgınlık tespiti sonucu, östrusun başlangıcının tam olarak bilinmemesi nedeniyle, tohumlamaların, en uygun tohumlama zamanına isabet etmeyişi de bu düşüklüğün nedeni olabilir. Diğer deneme gruplarında, kontrol grubundan daha yüksek gebelik oranı elde edilmesi, Vitamin-E'nin daha önce anılan biyokimyasal özelliklerinden dolayı ortaya çıkmış olabilir.

Sonuç olarak, gerek anılan literatürlerde yer alan bilgilere, gerekse bu araştırmada elde edilen sonuçlara dayanarak, sulandırılmış taze spermaya dayalı tohumlama çalışmalarında sulandırıcının bileşimine 45-90 mg/ml. düzeyinde Vitamin-E katılmasının yararlı olabileceğini söyleyebiliriz. Bunun yanısıra Vitamin-E'nin daha değişik yöntem ve konsantrasyonlarda kullanılarak çok sayıda materyal üzerinde tekrar denenmesi de olumlu bir çaba olacaktır.

KAYNAKLAR

1. GÖKÇEN, H., AŞTI, R.N., ÇEKGÜL, E., ŞENER, E.: Prostaglandin F₂ α ve Vitamin-E katılarak dondurulan koç spermalarında akrozom morfolojisi

- ve dölverimi üzerinde araştırmalar. U.Ü. Vet. Fak. Derg., 4: (1-2-3) 77-82, (1985).
2. DANOVA, D.T., KOVACHEV, K.D., POPOV, D.V.: Changes in ultrastructure of ram spermatozoa due to freezing. I. The effect of the Triladyl and saccharose-based semen diluents. In Kriobiologiya na polovite kletki, Sofia, Bulgaria, Izdatelstvo na Bułgarskata Akademiya na Naukite 155: 173, (1983).
 3. SURAI, P.F.: Peroxidation of lipids in turkey semen and its control. Anim. Breed. Abstr. 57: 5323, (1988).
 4. SRIVASTAVA, R.S., MATHUR, A.K., KALRA, D.B.: Effect of alphatocopherol on preservability of ram semen. Indian Journal of Animal Sciences, 57(6): 553-554, (1987).
 5. MARINOV, P.I., GRUDOVA, C.H. N., SEMKOV, M.M., ZALATAREO, S.T.: The effect of semen diluents containing antioxidants on freezing ability of ram spermatozoa. Anim. Breed. Abstr. 54: 1656, (1986).
 6. TÜMEN, H.: Çeşitli tekniklerle sulandırılıp tohumlamada kullanılan koç spermalarının spermatolojik özellikleri ve dölverimi üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul, (1990).
 7. GÖKÇEN, H.: 5°C'de değişik sürelerde saklanan sulandırılmış koç spermalarının kimi spermatolojik özellikleri ile dölverimi üzerinde araştırmalar. Doçentlik Tezi, Ankara, (1981).
 8. SOYLU, K.: Çeşitli sulandırıcılar ve yöntemler kullanılarak dondurulan koç spermalarının bazı spermatolojik özellikleri üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul, (1988).
 9. ERSOY, E., BAYŞU, N., ERTÜRK, K., ÜSTDAL, M.: Biyokimya. A.Ü. Vet. Fak. Yayınları, No: 358, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, (1979).
 10. HAFEZ, E.S.E.: Reproduction in farm animals. LeaFebiger, Philadelphia, (1980).