

ARAP AYGIRLARINDA SEMİNAL PLAZMANIN SPERMATOLOJİK ÖZELLİKLERE ETKİSİ

Kemal AK¹

Alper BARAN¹

Yavuz ÖZTÜRKLER¹

Mehmet KOÇ²

İ. Kamuran İLERİ¹

The effect of seminal plasma on spermatological characteristics in Arab stallions.

SUMMARY

The effects of extending, centrifugation and seminal plasma on the motility, morphology and live spermatozoa rate of stallion spermatozoa were investigated.

34 ejaculates collected from 17 pure bred Arab Stallions were used in the study. Carrying out the spermatological tests, 6 ml of semen were taken from every stallion and divided into three to form the experiment groups.

No application was made to group 1. Semen of group 2 was extended in ratio 1:1 by milk powder glucose extender and stored at room temperature (22°C) for 2 hours. Semen of the 3rd group was centrifuged at 350 x g for 5 minutes and seminal plasma was separated. The remaining part was extended 1:1 by milk powder-glucose extender.

All 3 groups were tested for motility, morphology and live spermatozoa rates before and after storage. Centrifugation was harmful to morphology (P<0.05). However, after storage the highest motility was of the 3rd group (P<0.05). Seminal plasma had a reverse effect on live spermatozoa and morphology but this effect was not statistically significant. Extending the semen samples of 2 and 3rd groups, had been found beneficial the characteristics of spermatozoa compare to group 1 (P<0.05).

KEY WORDS: Arap stallion, semen, ejaculate, seminal plasma, morphology.

ÖZET

Bu çalışmada, seminal plazmanın yanısıra sulandırmanın ve santrfüj işleminin aygır spermatozoitlerinin motilitesine, canlılığına ve morfolojisine etkileri incelendi.

Araştırma, 17 safkan Arap aygırından sun'i vajen yardımıyla alınan 34 ejakulat kullanıldı. Ejakulatlarda spermatolojik testler yapıldıktan sonra her aygır için 6 ml sperma kullanıldı ve 3 çeşit hacime ayrılarak gruplar oluşturuldu. 1. gruptaki spermaya hiç bir işlem yapılmadı. 2. grup sperma 1:1 oranında süt tozu glikoz sulandırıcı ile işlem gördükten sonra oda ısısında (22°C) 2 saat süreyle saklandı. 3. grup sperma ise 5 dakika süreyle 350 devirde santrfüj edilerek seminal plazması ayrıldı. Üstte kalan seminal plazmanın % 50'si alındı. Kalan kısım 1:1 oranında süt tozu glikoz ile sulandırıldı. Oda ısısında 2 saatlik süreyle saklanan her 3 grubu oluşturan spermalara saklama öncesi ve sonrası motilite, canlı spermatozoit oranı ve morfolojik incelemelerden oluşan spermatolojik testler uygulandı.

Elde edilen sonuçlara göre santrfüj işleminin spermatozoit morfolojisine zarar vermesine rağmen 2 saatlik depolamadan sonra en yüksek motilite aynı grupta (3. grup) saptandı (P<0.05). Seminal plazmanın varlığı gerek canlı spermatozoit ve gerekse morfolojik bütünlük oranlarını azaltmasına rağmen bu farkın istatistiksel açıdan önemsiz olduğu bulundu. 2. ve 3. gruptaki sulandırma işlemleri 1. gruba göre bütün spermatolojik özelliklere yararlı etki gösterdi (P<0.05).

ANAHTAR KELİMELER: Arap aygırı, sperma, ejakulat, seminal plazma, morfoloji.

GİRİŞ

Aygır sperması, diğer hayvan türlerine göre fruktoz gibi enerji sağlayan maddeleri çok daha az içermekte ve jelli kısımda tüketimi fazla olmaktadır (2, 4, 7). Ayrıca aygır seminal plazmasında bulunan bazı faktörlerin motiliteyi azalttığı saptanmıştır (3, 5).

Seminal plazmanın spermatozoitlere olumsuz etkisi, spermanın sulandırılmasıyla bir ölçüde giderebilmektedir. Aynı amaçla, ortamdaki seminal plazmanın uzaklaştırılması sonrasında sulandırma teknikleri kullanılabilir (1, 5, 9).

Spermanın santrfüj edilmesi ile ayrılan seminal plazmanın alınması tekniği birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (1, 6, 8, 10, 11, 12). Ancak, motilite ve morfolojinin santrfüj uygulamasında bir ölçüde zarar gördüğü bilinmektedir (1, 8).

Jasko ve ark. (5), 500 g'de 18 dakikalık santrfüjden sonra seminal plazmayı almışlar ve süt tozu glikoz ile sulandırmışlardır. 5 °C'da 24 saatlik resistant testlerine motiliteyi inceleyen araştırmacılar, yüksek sulandırma oranlarının spermatozoit motilitesinin sürekliliğini koruduğunu, seminal plazma varlığının zararlı etki yaptığını, bu nedenle, santrfüjden sonra seminal plazmanın alınmasının yararlı olduğunu bildirmişlerdir.

Pruit ve ark. (9), 4 aygırdan aldıkları 3'er ejakulatu 6 eşit hacime bölmüşler ve her bir hacimi 400 g'de 10 dakikalık santrfüjden sonra değişik oranlarda seminal plazma içeren süt tozu ile sulandırmışlardır. 5 °C'da 48 saat veya 37 °C'da 4 saatlik inkubasyon sonrası seminal plazma oranları arttıkça motilitenin daha çok zarar gördüğünü bildirmişlerdir. Jasko ve ark. (6),

benzer bir çalışmada seminal plazmanın zararlı etkisini ortaya koymalarına rağmen, ortamdaki % 5-20 oranındaki seminal plazmanın spermatozoit motilitesini azaltmadığını açıklamışlardır.

Bu çalışma, seminal plazmanın, sulandırmanın ve santrfüj işleminin aygırların spermatolojik özelliklerine etkilerini incelemek amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada, Çifteler Anadolu Tarım İşletmesi'nde bulunan 17 safkan Arap aygırı kullanıldı. Tekniğine uygun olarak hazırlanan sun'i vajen yardımı ile her aygırdan 2 adet olmak üzere toplam 34 ejakulat alındı.

Sperma alındıktan sonra steril sargı bezinde filtre edildi ve jelli kısım ayrıldı. Sperma hacmi dereceli toplama kadehinde ve pH, pH metre yardımıyla saptandı. Spermatozoit motilitesini ısıtma tablalı binoküler ışık mikroskopunda incelendi (x 600). Canlı spermatozoit oranı eosin-nigrosin vital boyama (2), morfolojik bozukluklar ise Hancock tespit solusyonu kullanılarak saptandı (12). Spermatozoit canlılığı ölçümlerinde binoküler ışık mikroskobu (x 600), morfolojik incelemelerde faz kontrast mikroskop (x 1000) kullanıldı. Spermatozoit yoğunluğu hemositometrik yöntemle saptandı.

Her ejakulattan 6 ml alındı ve 3 eşit hacime ayrıldı. Birinci hacime hiçbir işlem uygulanmadan 22 °C'de saklandı ve 1. grubu oluşturdu. İkinci hacim 1:1 oranında süt tozu glikoz ile sulandırıldı (2. grup).

Süt tozu-glikoz sulandırıcısının bileşimi (2).	
Süt tozu.....	2.4 g
Glikoz.....	4.9 g
Kristal Penicillin.....	0.05 g

*: Bu çalışma Tarım ve Köyişleri Bakanlığı'nca desteklenmiştir.
1: İ.Ü. Veteriner Fakültesi Dölerme ve Sun'i Tohumlama ABD., İst.
2: Anadolu Tarım İşletmeleri, Çifteler, ESKİŞEHİR.

Tablo 1. Aygırlarda Saptanan Spermatojik Özellikler (n=34).

Ayır Sayısı	Hacim (ml)	Sperm Yoğunluğu (X10 ⁶ /ml)	pH	Motilite (%)	Canlı Sperm (%)	Anormal Sperm (%)
17	24.2± 2.67	159.0± 13.90	7.8± 0.03	65.9± 1.50	79.0± 1.07	17.1± 1.06

Kristal Streptomycin 0.15 g
Bidistile su + 100 ml

3. hacim ise 5 dakika sürede 350 q'de santrifüj edildi. Spermanın santrifüj sonrası üstte kalan seminal plazmasından 1 ml alındı ve geriye kalan kısım 1:1 oranında süt tozu, glikoz sulandırıcısı ile işlem gördü. Böylece seminal plazmanın yaklaşık % 50'si alınmış ve yerine sulandırıcı ilave edilmiş oldu.

2. ve 3. gruplardaki sulandırma işlemlerinin bitimi 0. saat olarak kabul edildi ve motilite, canlı spermatozoit, morfolojik incelemelerden oluşan spermatojik testler uygulandı. Oda ısısında (+22°C) 2 saatlik saklamadan sonra belirtilen spermatojik testler tekrarlandı. Elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirilmesinde Duncan testinden yararlanıldı.

BULGULAR

17 aygırdan alınan 34 ejakulatta saptanan spermatojik özellikler Tablo 1'de verilmiştir.

Sulandırılmamış (1. grup), 1:1 sulandırılmış (2. grup) ve santrifüj sonrası 1:1 sulandırılmış (3. grup) spermalarda sırasıyla % 65.9±1.50, % 53.7±1.92, % 52.8±1.77 motilite ve % 79.0±1.07, % 77.7±1.52, % 78.7±1.57 canlı spermatozoit oranı bulundu (Tablo 2). Motilite ve canlı spermatozoit oranları her üç grupta benzer bulunurken, santrifüj sonrası elde edilen % 22.1±1.00 morfolojik bozukluk oranının diğer iki gruptan daha yüksek olduğu saptandı (P<0.05).

Oda ısısında 2 saatlik saklama sonrası 1. grupta % 8.1±0.86 motilite saptanırken, 2. ve 3. gruplarda bu oran sırasıyla % 31.0±2.10, % 37.5±2.31 olmuştur. 2. ve 3. gruplarda sulandırma işlemleri motilitenin sürekliliğinde etkili bulunmuştur (P<0.05). Santrifüj sonrası sulandırılmış spermada (3. grup), 1:1 sulandırılmış spermaya göre (2. grup) yüksek motilite oranları belirendi (P<0.05). Gruplara göre sırasıyla % 43.3±2.07, % 61.9±2.57, % 67.7±1.90 canlı spermatozoit oranları, % 32.0±1.25, % 27.6±1.06, % 26.5±1.01 morfolojik bozukluklar saptandı (Tablo 2). Gerek canlı spermatozoit ve gerekse anormal spermatozoit oranları 2. ve 3. gruplardaki sulandırma işlemlerinin 1. grup ile karşılaştırıldığında, spermatozoit canlılığına ve morfolojik bütünlüğüne olumlu etki yaptığı görüldü (P<0.05).

Tablo 2. Oda Isısında Saklamada 0. ve 2. Saatlere Saptanan Spermatojik Özellikler, n=34.

Spermatojik özellik (%)	Grup	0. Saat	2. Saat
Motilite	1	65.9±1.50 a	8.1±0.86 c
	2	53.7±1.92 a	31.0±2.10 b
	3	52.8±1.77 a	37.5±2.31 a
Canlı Spermatozoit	1	79.0±1.07 a	43.3±2.07 b
	2	77.7±1.52 a	61.9±2.57 a
	3	78.7±1.57 a	67.7±1.90 a
Anormal Spermatozoit	1	17.1±1.06 b	32.0±1.25 a
	2	19.2±1.17 b	27.6±1.06 b
	3	22.1±1.00 a	26.5±1.01 b

a,b,c Her bir alt grupta farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklı önemlidir (P<0.05).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Oda ısısında saklama öncesi (0. saat) saptanan motilite ve canlı spermatozoit oranları her üç grupta istatistiksel açıdan benzer bulunmuştur. Ancak, santrifüj sonrası sulandırma işleminin yapıldığı 3. grupta, diğer gruplara göre yüksek oranlarda morfolojik bozukluklar saptanmıştır (P<0.05). Bu durum, santrifüj uygulamasının spermatozoitlerin motilite ve canlılığını etkilemediği, buna karşın morfolojik bütünlüğe zararlı olduğu şeklinde açıklanabilir. Keza Ahlenmeyer (1), santrifüj işlemindeki mekanik etkinin daha çok akrozomal bozukluklara neden olduğu bildirilmiştir.

2. ve 3. gruptaki sulandırma işlemleri iki saatlik saklama sonrasında bütün spermatojik özelliklere olumlu yönde etkilemiştir (P<0.05). Bu sonuçlar çoğu araştırmacının açıkladığı bilgileri destekler niteliktedir (3, 6, 9).

2 saatlik saklama sonrası canlı spermatozoit ve morfolojik bozukluk oranları 2. ve 3. gruplarda istatistiksel açıdan benzer bulunmuştur. Ancak seminal plazması alınmış 3. grup lehine saptanan % 5.0'lık canlı spermatozoit oranı farkı dikkat çekicidir. Keza % 5.8 saklama süresinde 2. grupta % 8.4 oranında morfolojik bozukluklar artarken, bu artış 3. grup için sadece % 4.4 olmuştur.

Motilite değerleri ele alındığında, seminal plazmanın yaklaşık % 50'si alınmış ve sulandırılmış 3. grupta santrifüj işleminin spermatozoit morfolojisini olumsuz etkilemesine rağmen, motilitenin sürekliliğini daha iyi koruduğu saptanmıştır (P<0.05). Aygır seminal plazmasının spermatozoitlere etkisini araştıran çoğu çalışmacı da benzer sonuçlar elde etmişler ve seminal plazmanın zararlı etkisini vurgulamışlardır (1, 4, 5, 8).

Sonuç olarak;

1. Aygır Spermatozoitlerinin uzun süre özelliklerini koruyabilmesinde sulandırma işlemlerinin üstün yararları vardır.
2. Bu yararlı etki seminal plazma oranı düşürüldüğünde daha da artmaktadır.
3. Seminal plazmanın alınmasında kullanılan santrifüj uygulaması spermatozoit morfolojisine zararlıdır. Ancak bu zararlı etki, oda ısısında 2 saatlik saklama sonrası önemini kaybetmektedir.

KAYNAKLAR

1. Ahlenmeyer B (1991) Freezing of stallion semen. Effect of seminal plasma on sperm motility and acrosome integrity. (Thesis). Tierärztlicher Hochschule, Hannover, Germany.
2. Allen WE (1991) Fertility and obstetrics in the horse. Blackwell Scientific Publications, London.
3. Baas JW, Molan PC, Shannon P (1983) Factors in seminal plasma of bulls that affect the viability and motility of spermatozoa. S. reprod. Fert., 68: 275-280.
4. İleri İK, Ak K, Pabuçcuoğlu S, Usta S (1994) Reprodüksiyon ve Sun'İ Tohumlama. İ.Ü. Veteriner Fak. Yayınları. Ders Notu No: 23, İstanbul.
5. Jasko DJ, Moran DM, Farin ME, Squires EL (1991) Effect of seminal plasma dilution or removal on spermatozoal motion characteristics of cooled semen. Theriogenology, 35 (6) 1059-1067.
6. Jasko DJ, Hathaway JA, Shaltenbrand VL, Simper WD, Squires EL (1991) Effect of seminal plasma and egg yolk on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa. Theriogenology, 37 (6) 1241-1252.
7. Özkoca A (1993) Atlarda Reprodüksiyon ve infertilite. Türkiye Jokey Kulübü, İstanbul.
8. Padilla AIW, Foote RH (1991) Extender and Centrifugation effects on the motility patterns of slow cooled stallion spermatozoa. J. Anim. Sci., 69: 3308-3313.
9. Pruit JA, Arns MJ, Pool KC (1993) Seminal influences recovery of equine spermatozoa following in vitro culture (37 °C) and cold stroge (5 °C). Theriogenology, 39: 291.
10. Sevinç A, Yurdaydın N, Tekin N (1984) Karacabey Harası safkan Arap ve Haflinger aygırlarından alınan spermaların dondurulması ve haflinger kısırağlarından elde edilen döl verimi. A.Ü. Vet. Fak. Dergisi, 31 (2) 304-315.
11. Vamer DD, Blanchard TL, Love CL, Garcia MC, Kenney RM (1988) Effects of cooling rate and storage temperature on equine spermatozoal motility parameters. Theriogenology, 23: 925-934.
12. Yurdaydın N, Sevinç A, Wlader W (1985) Değişik ırktan aygırların spermalarının dondurulması üzerinde araştırmalar. A.Ü. Vet. Fak. Dergisi, 32 (3) 446-455.