

KOYUNLARIN DONMUŞ - ÇÖZÜNMÜŞ SPERMA KULLANILARAK LAPAROSKOP YARDIMI İLE İNTRAUTERİN TOHURLANMASI*

Mehmet B. ATAMAN¹

Kenan ÇOYAN¹

Artificial insemination in sheep using frozen-thawed semen by laparoscopic technique.

SUMMARY

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

For this purpose, 3 rams of 4 years old, and 70 ewes aging between 3 and 5 years old belonging to Animal Central Research Institute were used as materials. The ewes were randomly divided into two groups. Group I consisted of 47 ewes in which laparoscopic intrauterine insemination was performed. Group II consisted of 23 ewes in which cervical artificial insemination was performed.

Two consecutive ejaculate were taken from each rams and were examined immediately. Samples were diluted with Tris solution and straws were prepared in a way that each straw has 100x106 motile spermatozoa in each 0.25 ml.

Teaser rams were used to find the ewes display oestrus and then, these ewes were inseminated with either cervical or laparoscopic intrauterine methods.

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

Pregnancy and lambing rates in laparoscopic intrauterine group were 63.83 and 55.32%, respectively. Pregnancy and lambing rates in cervical group were 34.78 and 26.09%, respectively.

There was a statistical significance ($P<0.05$) in pregnancy and lambing rates between the two groups.

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

KEY WORDS: Laparoscopy, intrauterine insemination, frozen semen, sheep.

ÖZET

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

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

Koçlardan sperma, arka arkaya iki ejakülat olmak üzere alınıp muayene edildikten sonra Tris solüsyonu ile sulandırılarak bir tohumlama dozunda 100x106 aktif spermatozoon içerecek şekilde 0.25 ml'lik payetler içerisinde donduruldu.

Doğal östrüs gösteren koyunlar arama koçları yardımı ile belirlenerek servikal ve laparoskop yardımıyla intrauterin olarak tohumlandılar.

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

Intrauterin tohumlama grubuna ait gebelik ve doğum oranları sırasıyla % 63.83 ve % 55.32 olarak belirlendi. Servikal tohumlama grubuna ait gebelik ve doğum oranları sırasıyla % 34.78 ve % 26.09 olarak tespit edildi.

Her iki grupta gebelik ve doğum oranları arasındaki fark önemli bulundu ($P<0.05$).

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

ANAHTAR KELİMELER: Laparoskopi, intrauterin tohumlama, donmuş sperma, koyun.

GİRİŞ

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

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

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

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

Colas (4), çözünme sonrası ortalama % 36.9 motilité ve 180 x 10⁶ spermatozoon içeren tohumlama dozuyla yaptığı servikal tohumlamalardan

% 38.5 oranında gebelik elde ettiğini bildirmektedir.

Bir başka çalışmada (22) ise; tris, glikoz ve laktöz ile hazırlanan sulandırıcılar kullanılarak pellet formunda dondurulan sperma ile yapılan servikal tohumlamalardan sonra sırasıyla % 20, % 13.6 ve % 9 oranında doğumlar şekillendiği belirtilmektedir.

Findlater ve ark. (10), 5.2, 10.4, 20.8 ve 51.6 x 10⁶ spermatozoon içeren tohumlama dozuyla her bir kornuya olmak üzere laparoskop yardımıyla intrauterin olarak yaptıkları tohumlamalardan sırasıyla % 52, % 53, % 56 ve % 67 oranlarında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler.

Luz ve Neves (18), Corriedale ırkı koyunlarda çözünme sonrası > % 50, %40-50, < % 30 motilité ve 50 x 10⁶ spermatozoon içeren tohumlama dozuyla, laparoskop yardımıyla yaptıkları intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 66.94, % 57.52 ve % 17.95 oranlarında gebelik tespit ettiklerini bildirmektedirler.

Ritar ve Ball (20), payet ve pellet formunda dondurdukları sperma ile, Merinos ırkı koyunları 200 x 10⁶ spermatozoon içeren tohumlama dozuyla ve sekiz saat ara ile iki kez servikal, 25 x 10⁶ spermatozoon içeren tohumlama dozuyla ve laparoskop yardımıyla intrauterin yolla tohumladıklarını ve sırasıyla % 14 ve % 47.2 doğum oranı elde ettiklerini, pellet biçiminde dondurdukları spermalardan payet biçimine göre çözünme sonrası motilitenin daha yüksek olduğunu bildirmektedirler.

Halbert ve ark. (14), yaptıkları çalışmada koyunları taze ve donmuş

1. S.Ü. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama A.B.D.-Konya.

* Bu çalışma aynı adlı "Doktora Tezi"nden özetlenmiştir.

sperma kullanarak üç grupta tohumladıklarını, 1. grupta Suffolk ırkı koyunlarda taze sperma ile transservikal intrauterin, 2. grupta yine Suffolk ırkı koyunlarda donmuş - çözünmüş sperma ile transservikal-intrauterin ve laparoskop yardımıyla intrauterin, 3. grupta ise beyaz başlı melezi koyunlarda yine donmuş-çözünmüş sperma ile transservikal intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 50, % 50, % 70, % 68 gebelik ve % 50, % 55, % 65 ve % 40 doğum oranları elde ettiklerini bildirmektedirler.

Armstrong ve Evans (2), donmuş sperma kullanarak 200×10^6 spermatozoon içeren tohumlama dozuyla servikal ve her bir kornu için 100×10^6 spermatozoon içeren tohumlama dozuyla olmak üzere laparoskop yardımıyla intrauterin tohumlama yaptıklarını ve sırasıyla % 10 ve % 50 oranında fertilité elde ettiklerini bildirmektedirler.

Haresign (15), senkronize ettiği koyunları 200×10^6 spermatozoon içeren tohumlama dozuyla servikal yolla, her bir kornuya olmak üzere 20×10^6 spermatozoon içeren tohumlama dozuyla laparoskopik yöntemle tohumladığını, servikal tohumlamalardan % 30 ve laparoskopik tohumlamalardan % 55 oranında gebelik elde ettiğini belirtmektedir.

Windsor ve ark. (24), Merinos ırkı koyunlarda yaptıkları servikal, laparoskopik ve transservikal intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 9, % 48 ve % 32 oranlarında gebelik elde ettiklerini ifade etmektedirler.

Bir başka çalışmada (17) ise, donmuş-çözünmüş sperma kullanılarak senkronizasyonu takiben 54 ve 60. saatlerde iki kez servikal yoldan yapılan tohumlamalardan % 65 oranında gebelik ve % 43 doğum oranı elde edildiği bildirilmektedir.

Eppleston ve Roberts (7), koyunlarda donmuş-çözünmüş sperma kullanarak laparoskopik intrauterin tohumlama yaptıklarını ve % 49.8 oranında doğumlar elde ettiklerini ifade etmektedirler.

Gourley ve Riese (12), donmuş sperma kullanarak sezon içi ve sezon dışı laparoskopik intrauterin tohumlamalardan sırasıyla % 73 ve % 63 oranında gebelik elde ettiklerini belirtmektedirler.

Çoyan ve ark. (5) ise, sezon içerisinde doğal östrüste ki koyunları donmuş-çözünmüş sperma ile servikal ve laparoskop yardımıyla intrauterin yöntemle tohumladıklarını ve sırasıyla % 20 ve % 50 oranında gebelik elde ettiklerini bildirmektedirler.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışma Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ait üç baş Merinos ırkı koç ve aynı ırktan 70 baş koyun üzerinde gerçekleştirildi. Koyunların 47'si çalışma (intrauterin tohumlama), 23 adedi de kontrol (intracervikal tohumlama) grubu olarak 2 gruba ayrıldı. Önce koçlardan suni vajen yardımı ile alınan ejakülatlar makroskopik ve mikroskopik olarak muayene edildikten sonra Salomon ve Visser (21)' in bildirdiği Tris solusyonu ile sulandırıcının gliserol ihtiva etmeyen birinci kısmı ile sulandırıldı. Daha sonra karışımın ısı 45 dakikalık sürede 5°C 'ye düşürüldü ve karışımın gliserol oranı % 5 olacak şekilde sulandırıcının gliserol içeren ikinci kısmı ile 15' şer dakikalık aralıklarla dört eşit kısımda ilave edilerek sulandırıldı. Gliserizasyonu tamamlanan sperma her bir payette 100×10^6 motil spermatozoon düşecek şekilde payetlere çekildi ve üç saat süre ile 5°C 'de ekilibrasyona bırakıldı. Ekilibrasyonu takiben payetler önce azot buharında azot seviyesinin 5 cm üzerinde 7 dakika süreyle tutulduktan sonra sıvı azot içerisine bırakıldı ve kullanılıncaya kadar sıvı azot içerisinde saklandı.

Tohumlamada kullanılan payetler 50°C 'de 15 saniye süre ile çözdürüldü. Östrüste ki koyunlar arama koçları yardımıyla tespit edildi.

Çalışma grubundaki koyunlar donmuş-çözünmüş sperma ile laparoskop yardımıyla intrauterin, kontrol grubunda bulunan koyunlar ise servikal yolla donmuş-çözünmüş sperma kullanılarak tohumlandılar.

Laparoskop yardımı ile intrauterin tohumlama: Östrüste oldukları tespit edilen koyunlar laparoskopik tohumlamalar için özel olarak hazırlanmış

tohumlama sehpasında zaptı-rapt altına alındı. Daha sonra tohumlama sehpasına 45° 'lik eğim verildi. Böylelikle sehpanın üzerinde bulunan koyunun karın organlarının ventrale doğru yer değiştirmeleri sağlandı. Her iki memenin 10 cm cranialinde el ayası kadar alanın traşi ile aynı bölgenin alkol ve tentürdiyot vasıtasıyla dezenfeksiyonu yapıldı. Şekil 1'de gösterilen "a" ve "b" noktalarına % 2' lik Lidocain HCL + Epinephrin (Jetocain®) ile lokal infiltrasyon anestezisi uygulandı. Tohumlama için, deri gerdirilerek şekildedeki "a" noktasından bir trokar, yine aynı şekilde "b" noktasından diğer trokar ile karın boşluğuna girildi (Şekil 2). Şekil 1' de belirtilen "c" noktasından filtre edilmiş hava verilerek omentum yağlarının ve iç organların ventrale doğru yer değiştirmeleri sağlandı. Laparoskop "a" noktasına yerleştirilen trokarın içinden, stile ise "b" noktasına yerleştirilen trokardan sokularak karın boşluğunda bulunan uterus ve ovaryumlar bulundu. Uterus ve ovaryumların bulunmasını takiben ovaryumlar follikül sayısı ve büyüklüğü açısından muayene edildi. Muayenenin tamamlanmasından sonra "b" noktasından yerleştirilen stile dışarı alındı. Aynı noktadan ucunda enjeksiyon kanülü bulunan kateter ile girildi. Laparoskop yardımıyla enjeksiyon kanülünün corpus uteri üzerine yerleştirilmesi ve tek darbe ile kanülün uterus lümenine girmesi sağlandı. Sperma uterus lümenine verilmesi esnasında ve sonrasında uterus duvarının zedelenmemesine ve kanamaya yol açmama üzere gösterildi. Trokar ile girilen her iki noktaya Kloramfenikol+Jansien moru içeren sprey (Piyedif aerosol®) püskürtüldü. Tohumlaması biten her koyuna koruyucu amaçla 100 mg/ml Enroflaxacin (Baytril®) 1 ml kas içi olarak enjekte edildi.

Laparoskop yardımı ile intrauterin tohumlamalarda kullanılan alet ve ekipman şekil 3' te gösterilmiştir.

Tüm tohumlamalar bittikten sonra ortalama olarak tohumlamayı takiben 45-85. günlerde 5 MHz B-model real-time ultrason yardımı ile gebe koyunlar belirlendi. Tohumlamayı takiben 160. güne kadar doğum yapan koyunlar kaydedildi.

BULGULAR

Çalışmada servikal ve laparoskopik intrauterin tohumlamalardan elde edilen gebelik ve doğum oranlarına ait bulgular Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1. Kontrol ve Çalışma Gruplarına Ait Gebelik ve Doğum Oranları

Grup	Laparoskopik (n=47)	Servikal (n=23)	Önem
Gebelik oranı, %	63.83 a 30/47	34.78 b 8/23	*
Doğum oranı, %	55.32 a 26/47	26.09 b 6/23	*

Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası fark önemlidir, *: $P<0.05$.

Tablo 1'de de görüldüğü gibi intrauterin olarak tohumlanan 47 koyunun 30' unda (% 63.83) gebelik, 26'sında (55.32) ise doğum şekillendi. Kontrol grubunda 23 koyunun 8'inde (% 34.78) gebelik, 6'sında (% 26.09) ise doğum elde edildi. İki grup arasında gebelik ve doğum oranları arasındaki fark istatistiki açıdan önemli bulundu ($P<0.05$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

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

Bazı araştırmacılar (13, 16), koyunlardaki serviks yapısının bireysel

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

farklılıklar gösterdiğini, özellikle canalis serviks transservikal tohumlamalar için uygun olmadığını belirtmektedirler. Bazı araştırmacılar ise, (13, 19) koyunlarda kompleks serviks yapısının sperma transportunu zorlaştırdığını bildirmektedirler.

Birçok araştırmacı (6, 8) ise, donmuş çözünmüş sperma ile yapılan tohumlamalardan taze sperma ile yapılan tohumlamalara göre çok düşük oranlarda fertilité elde edildiğini bildirmektedirler. Bazı araştırmalarda ise donmuş-çözünmüş sperma ile elde edilen düşük fertilité sonuçlarının; spermanın sulandırılması ve dondurulması işlemleri esnasında oluşan motilitédeki azalmaya (3, 11), akrozom bozukluklarına (9, 23), donmuş sperma ile yapılan erken tohumlamalarda spermatozonların taze spermadaki spermatozoonlara göre daha kısa yaşam süresine sahip olmalarına (17) ve yine donmuş-çözünmüş sperma ile yapılan tohumlamalarda erken embriyonik ölümlerin artmasına (17) bağlı olarak şekillendiği bildirilmektedir.

Çalışmada servikal tohumlamalardan elde edilen % 34.78'lik gebelik oranı Abdel Aziz (1) % 2.43, Çoyan ve ark. (5) % 20, Haresign (15) % 30, Windors ve ark. (24) % 9 bildirdikleri oranlardan yüksek, Colas (4) % 38.5, Langford ve ark. (17) % 65 bildirdikleri değerlerden düşük bulunmuştur.

Çalışmada servikal tohumlamalardan elde edilen % 26.09'luk doğum oranı Armstrong ve Evans (2) % 10, Ritar ve Ball (20) % 14 ve Trejo ve ark. (22) % 13.6-20 bildirdikleri oranlardan yüksek ve Langford ve ark. (17)'in % 43 bildirdiği değerden düşük bulunmuştur.

Laparoskopik intrauterin tohumlamalardan elde edilen % 63.83'lük gebelik oranı Findlater ve ark. (10) % 67, Gourley ve Riese (12) % 73, Halbert ve ark. (14) % 70, Luz ve Neves (18)'in % 66.94 bildirdikleri değerlerden düşük, Gourley ve Riese'nin (12) % 63 bildirdiği değere benzer, Çoyan ve ark. (5) % 50, Findlater ve ark. (10) % 52-53, Haresign (15) % 55, Luz ve Neves (18) % 17.95-57.52 ve Windors ve ark.'nın (24) % 48 bildirdikleri değerlerden yüksek bulunmuştur.

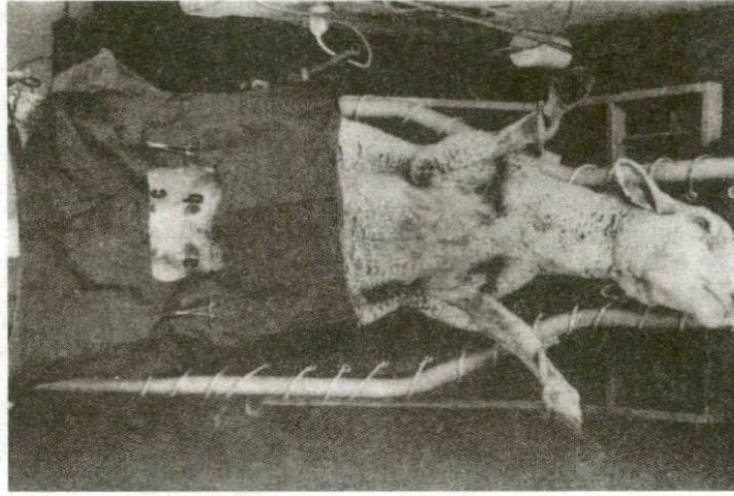
Laparoskopik intrauterin tohumlamalardan elde edilen % 55.32'lik doğum oranı Armstrong ve Evans (2) % 50, Eppleston ve Roberts (7) % 49.8 ve Ritar ve Ball (20)'in % 47.2 bildirdikleri oranlardan yüksek, Halbert ve ark.'nın (14) % 65 bildirdikleri orandan düşük bulunmuştur.

Fertilité oranları arasındaki farklılıkların; kullanılan hayvan materyalinin farklı ırk ve yaşta olması, kullanılan sulandırıcıların farklı olması, ejakülatların dondurma-çözünme işlemlerine karşı farklı hassasiyet göstermeleri, teknisyen becerilerindeki değişiklikler, tohumlama sayısı ve tohumlama yerlerinin değişik olması, seksüel siklusların senkronizasyonu ve ovulasyon uyarımlarının yapıp yapılmamasına, donmuş-çözünmüş sperma ile laparoskopik tohumlamaları takiben artan embriyonik ölümlere bağlı olarak değiştiği söylenebilir.

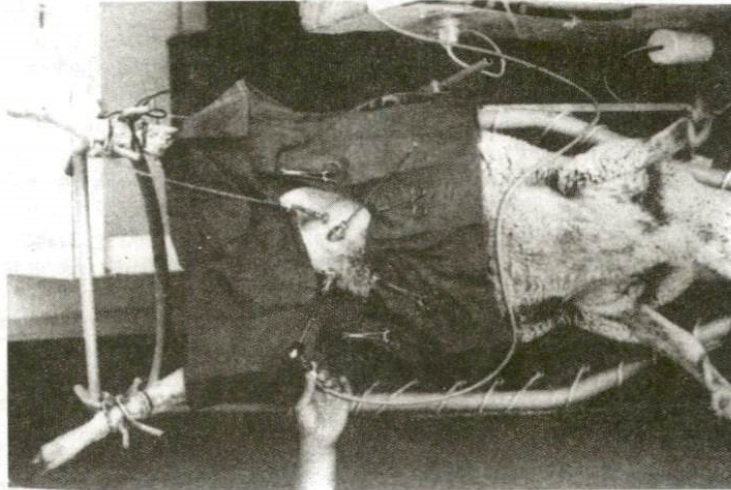
Sonuç olarak; laparoskop yardımı ile intrauterin tohumların ekipman gerektirmesi, bir koyunun tohumlanabilmesi için 10-15 dakikalık süreye ihtiyaç duyulması, tohumlama sonrası komplikasyonların önlenmesi amacıyla antibiotik enjeksiyonuna ihtiyaç duyulması gibi dezavantajlarının yanısıra sunulan çalışmadan elde edilen fertilité sonuçları göz önüne alındığında; koç spermasının sulandırılması ve dondurulması aşamalarında oluşan akrozom bozuklukları, motilité kaybı gibi spermaya bağlı faktörlerin yol açtıkları fertilité kayıplarını azalttığı söylenebilir. Ayrıca iyi bir bakım besleme şartları sağlanması ve teknisyen becerilerinin artırılmasına bağlı olarak laparoskopik intrauterin tohumlamalardan ümit verici sonuçlar alınabileceği ve koyun sun'i tohumlamalarında kullanılabilmesi kanısına varmak mümkündür.

KAYNAKLAR

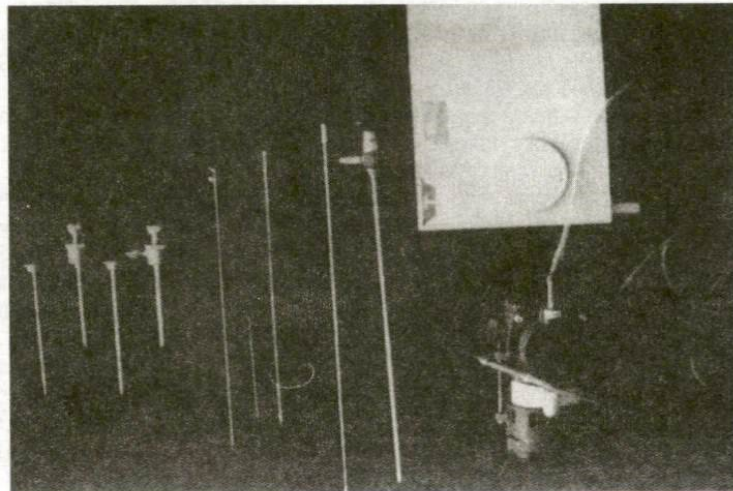
1. Abdel Aziz M (1981) Experiments with deep frozen semen, 14 th. FAO/SIDA International Postgraduate Course on Animal Reproduction, Volume I, College of Veterinary Medicine, Upsala.
2. Armstrong DT, Evans G (1984) Intrauterine insemination enhances fertility of frozen semen in superovulated ewes, J. Reprod. Fert., 71, 89-94.
3. Cochran RC, Judy JK, Parker CF, Hallford DM (1985) Prefreezing and post-thaw semen characteristics of five ram breeds collected by electroejaculation, Theriogenology, 23 (3) 431-440.
4. Colas G (1975) Effect of initial freezing temperature, addition of glycerol and dilution on the survival and fertilizing ability of deep-frozen ram semen, J. Reprod. Fert., 42, 277-285.
5. Çoyan K, Aksoy M, Tekeli T, Ayar A, Ataman MB (1992) Laparoskopik yardımı ile koyunların donmuş sperma kullanılarak intrauterin tohumlanması, Hay. Araş. Derg., 2 (1) 15-17.
6. Eppleston J, Maxwell WMC (1993) Recent attempts to improve the fertility of frozen ram semen inseminated into cervix, Wool Tech. Sheep Breed., 41 (3) 291-302.
7. Eppleston J, Roberts EM (1986) The effect of progestagen, PMSG and time of insemination on fertility in ewes following intrauterine insemination with frozen semen, Aust. Vet. J., 63 (4) 124-125.
8. Evans G (1988) Currents topics in artificial inseminations in sheep Aust. J. Biol. Sci., 41, 103-116.
9. Evans G, Maxwell WMC (1987) Salamon's artificial insemination of sheep and goats, Butterworths, Sydney.
10. Findlater RCF, Haresign W, Cumock RM, Beck NFG (1991) Evaluation of intrauterine insemination of sheep with frozen semen: effects of time of insemination and semen dose on conception rates, Anim. Prod., 53, 89-96.
11. Fiser PS, Fairfull RW (1986) Combined effects of glycerol concentration, cooling velocity, and osmality of skim milk diluents on cryopreservation of ram spermatozoa, Theriogenology, 25 (3) 473-484.
12. Gourley DD, Riese RL (1990) Laparoscopic artificial insemination in sheep, Veterinary Clinics of North America, Food Anim. Prac., 6 (3) 615-633.
13. Halbert GW, Dobson H, Walton JS, Buckrell BC (1990) The structure of the cervical canal of the ewe, Theriogenology, 33 (5) 976-992.
14. Halbert GW, Dobson H, Walton JS, Sharpe P, Buckrell BC (1990) Field evaluation of a technique for transcervical intrauterine insemination of ewes, Theriogenology, 33 (6) 1231-1243.
15. Haresign W (1992) Manipulation of reproduction in sheep, J. Reprod. Fert. Suppl., 45, 127-139.
16. Kristinsson G, Wißdorf H (1985) Bau der Cervix uteri und Verlauf des Canalis cervicis uteri beim, Schaf. Tierarztl. Prax., 13, 299-305.
17. Langford GA, Marcus GJ, Hackett, AJ, Ainsworth MS, Wolynetz MS, Peters HF (1979) A comparison of fresh or frozen semen in the insemination of confined sheep, Can. J. Anim. Sci., 59, 685-691.
18. Luz SLN, Neves JP (1992) Effect of the quality of frozen semen on the conception rate of ewes inseminated into the uterus by means of laparoscopy, Anim. Breed. Abstr. 60 (6) 484.
19. Maxwell WMC, Salamon S (1993) Liquid storage of ram semen, Reprod. Fert. Dev., 5, 613-638.
20. Ritar AJ, Ball PD (1993) The effect of freeze-thawing of goat and sheep semen at a high density of spermatozoa on cell viability and fertility after insemination, Anim. Reprod. Sci., 31, 249-262.
21. Salamon S, Visser D (1972) Effect of composition of tris-based diluent and of thawing solution on survival of ram spermatozoa frozen by the pellet method, Aust. J. Biol. Sci., 25, 605-618.
22. Trejo GA, Soto GR, Neria VB, Pena VM (1985) Artificial insemination in sheep using frozen semen, Anim. Breed. Abstr., 53, 883.
23. Watson PF, Martin ICA (1972) A comparison of changes in the acrosomes of deep-frozen ram and bull spermatozoa, J. Reprod. Fert., 28, 99-101.
24. Windors DP, Szell AZ, Buschbeck C, Edward AY, Milton JTB, Buckrell BC (1994) Transcervical artificial insemination of Australian merino ewes with frozen-thawed semen, Theriogenology, 41 (4) 145-157.



Şekil 1. Laparoskopik tohumlama için koyunun zaptı-rapt altına alınması



Şekil 2. Laparoskop yardımıyla uterus ve ovaryumların gözlenmesi



Şekil 3. Laparoskopik tohumlamada kullanılan alet ve ekipman