

Farklı Antioksidanlarla Dondurulan Boğa Spermasının İn Vitro Ve İn Vivo Değerlendirilmesi

Bu projede, Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğü Sun'i Tohumlama Şubesi'nden sağlanan en az 2 yaşlı 3 baş Simental ırkı boğa kullanılacaktır. Boğalardan suni vajen yöntemiyle haftada 3 kez ejakülat alınacaktır. Sperma alma işlemleri 8 kez tekrarlanacaktır. Toplam 72 ejakülat alınacaktır. Alınan ejakülatlardan uygun özellik gösterenler sperma dondurma işlemlerinde kullanılacaktır. Her bir boğadan alınan ejakülatlar 9 eşit hacme bölünerek farklı antioksidan [*Carnosic acid from Rosmarinus officinalis (CR) 1 mM-3 mM*), *glutamin 2.5 mM-7.5 mM*, *Trehaloz 30 mM- 60 mM*), *CR 1 mM + glutamin 2.5 mM + Tr 60 mM- CR 3 mM + glutamin 7.5 mM + Tr 30 mM*]] içeren ve antioksidan içermeyen Tris [*A Tris- Trizma 254 mM*, *citric acid monohydrate 78 mM*, *D-fruktoz 70 mM*, *yumurta sarısı 20% (v/v)*, *gliserol 6% (v/v)*, *pH 6.8-7.2*] sulandırıcısıyla 60×10^6 motil spermatozoa/mililitre olacak şekilde dozlanıp sulandırılacaktır.

Sulandırılan spermalar 2 saat ekilibrasyonu takiben 0.25 ml'lik payetlere çekilerek, kontrollü dondurma cihazında dondurulacak ve sıvı azotta saklanacaktır. En az 24 saat sıvı azotta saklanan payetler çözündürülerek spermatolojik parametreler (motilite, akrozomal bütünlük, mitokondriyel aktivite, DNA bütünlüğü) ve in vitro-in vivo fertilité yönünden değerlendirilecektir.

Dondurulan payetlerde in vivo fertilité değerlendirmesi amacıyla, 8 farklı sulandırıcıyla dondurulan ve en iyi çözüm sonu spermatolojik değerleri veren iki antioksidan katkılı sulandırıcı ile antioksidan içermeyen sulandırıcı (kontrol) gruplarıyla üç grup oluşturulacaktır. Üç boğaya ait dondurulan spermalarla, her bir sulandırıcı grubu için 20 baş dişi inek olmak üzere, toplamda 180 baş damızlık ineğin rutin saha uygulaması ile suni tohumlanmasında kullanılacaktır. Gebelik kontrolleri tohumlamadan sonraki 35 ila 60. günde rektal palpasyon/ultrason ile yapılacaktır.

In vitro fertilizasyon denemeleri için, mezbahadan elde edilen oositlerin 20-22 saat süre ile %10 Föetal Buzağı Serum (FCS) ve 2µg/ml FSH katkılı TCM-199 solüsyonunda maturasyonunu takiben, her biri boğaya ait ve üç farklı sulandırıcı ile dondurulan spermalar fertilizasyon işleminde kullanılacaktır. Bundan sonraki işlemde fertilize oositlerin in vitro kültürü amacıyla Charles Rosencrans (CR1aa) mediumu kullanılacak, blastosist gelişimleri takip edilecektir. Oositlerin kültür periyotlarında uterus ortamı taklit edilmesi amacıyla 38.5 °C, % 5 CO₂ ve % 95'in üzerinde nem sağlayan inkubator kullanılacaktır. In vitro fertilizasyon denemeleri 5 kez tekrarlanacaktır. Elde edilen veriler uygun istatistiksel yöntemlerle karşılaştırılacak ve değerlendirilecektir.