

## KIVIRCIK KOÇLARINDA DONMA VE ERİTME SONRASI SPERMATOLOJİK ÖZELLİKLER ÜZERİNE MEVSİMİN ETKİSİ

### The Effect of Season on Spermatological Characteristics of Frozen-Thawed Semen in Kıvırcık Rams

Yavuz ÖZTÜRKLER\* Kemal AK\*\* İ.Kamuran İLERİ\*\*\*

#### ÖZET

Bu çalışmanın amacı dondurulmuş koç spermasını eritme sonrası mevsim içi ve mevsim dışı spermatolojik özellikler açısından karşılaştırmaktır. Çalışmada 6 Kıvırcık koç kullanıldı. Koçlardan elektroejakülatörle sperma alındı ve bireysel spermatolojik özellikleri saptandı. Çalışma aşamasında alınan koç sperması pooling yapıldı ve süt tozu-yumurta sarısı-fruktoz sulandırıcısı ile 1:1 oranında sulandırılarak pellet yöntemine göre -79 °C'da donduruldu. Pelletler % 2.9'luk Sodyum Sitrat-Dihitrat solüsyonunda 37 °C'de eritildi ve spermatolojik özellikler saptandı. Belirtilen işlemler hem mevsim içi, hem de mevsim dışında tekrarlandı. Donma öncesi pooling aşamasında hacim hariç, diğer spermatolojik özellikler donma aşamasına kadar (sulandırma, soğutma, gliserolizasyon, ekilibrasyon) mevsimden etkilenmedi. Hacim ise mevsim içinde daha yüksek olarak saptandı (P< 0.05).

Mevsim içinde eritme sonrası motilite % 52.60±10.97 olarak bulundu. Morfolojik olarak % 49.60±14.58 akrozom ve toplam % 50.03±14.52 bozukluk saptandı. Mevsim dışında % 35.5±12.33 motilite bulundu. % 55.41±11.66 akrozom ve toplam % 55.24±12.59 morfolojik bozukluk tespit edildi. Mevsim içinde motilite, mevsim dışına göre daha yüksek olarak saptandı (P< 0.05). Akrozoma ait ve toplam morfolojik bozukluklar ise mevsim dışında daha yüksek olarak bulundu (P< 0.05).

Sonuç olarak, koç spermasında mevsimin etkisi donma ve eritme sonrası daha belirgindi ve mevsim içinde alınan koç sperması, dondurulabilme başarısı yönünden daha üstün bulundu.

**Anahtar Sözcükler** : Koç, Donmuş Sperma, Çiftleşme mevsimi, Anöstrus mevsimi.

#### SUMMARY

The aim of this survey was to compare breeding and anoestrus season in view of the spermatological characteristics in frozen - thawed semen in rams.

In this study, 6 Kıvırcık rams was used as material. The ram semen was collected by electroejaculator and spermatological characteristics of each ram were determined. In the stage of experimental studies, collected ram semen was pooled in a tube (pooling) and diluted with skimmed milk powder-egg yolk-fructose extender at the ratio of 1:1. After then, extended semen was frozen at -79°C by the method of pellet. The pellets thawed in a 2.9% sodium citrate solution at 37°C and spermatological characteristics were examined. Above mentioned processes were repeated in both breeding and anoestrus season.

At the all stages of prior to freezing (dilution, cooling, gliserolisation, equilibration), season was uneffected on spermatological characteristics, except for volume of pooled semen. However, the volume of pooled semen in breeding season was higher than anoestrus season (P<0.05).

In breeding season, post-thaw motility was 52.6%±10.97. The acrosomal abnormalities and total morphological abnormalities were 49.60%±14.58 and 50.03%±14.52 respectively. In anoestrus season, post-thaw motility was 35.5%±12.33. The acrosomal abnormalities and total morphological abnormalities were 55.41%±11.66 and 55.24%±12.59, respectively. Post-thaw motility in breeding season was higher than anoestrus season (P<0.05). In anoestrus season, acrosomal and total morphological abnormalities were higher than breeding season (P<0.05).

It is concluded that the spermatological characteristics of frozen semen is improved when collected during active breeding season as compared to semen during the period of sexual quiescence, and the effect of season was more remarkable on frozen-thawed spermatological characteristics in rams.

**Key Words**: Ram, Frozen semen, Breeding season, Anoestrus season.

#### GİRİŞ

Spermatolojik özelliklerin tespiti, erkeğin fertilitasını değerlendirmede önemli bir yer tutmaktadır (1). Fertilitate direkt olarak erkeklerin libido, sperma kalitesi ve sperma üretimine bağlıdır (2). Sperma kalitesi ve kantitesi yaşa, ısıya, ırka, genetik ve bireysel etkenlere bağlı olarak değişebilir (3-8).

Birçok çalışma göstermiştir ki, spermatolojik özellikleri mevsimsel değişiklikler büyük ölçüde etkilemektedir (2,3,8-10).

Sezon ile spermatozoit yoğunluğu arasında önemli bir ilişki olduğunu vurgulayan Amir ve ark. (9), anormal spermatozoit yüzdesinin, Mart ayında alınan ejakülatlarda Haziran, Ağustos-Eylül ve Kasım-Aralık aylarında alınan ejakülatlardan daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca Fiser ve ark. (11), çiftleşme sezonunda alınıp dondurulan koç spermasının dondurabilme başarısının arttığını bildirmişlerdir.

\* Arş.Gör.Dr. KAÜ Vet. Fak. Dölerme ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı, Kars-Türkiye

\*\* Doç.Dr. İÜ Vet. Fak. Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, İstanbul-Türkiye

\*\*\*Prof.Dr. İÜ Vet. Fak. Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, İstanbul-Türkiye

Bu çalışmada, koç spermasının donma ve eritme sonrası spermatolojik özellikleri üzerine sezonun etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Canlı materyal olarak çalışmada İÜ Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalında aynı besleme ve bakım şartlarında barındırılan 6 kıvrıkcık koç kullanıldı.

### Metot

#### Spermanın Alınması:

Araştırma boyunca koçlardan haftada iki kez sperma alındı. Sperma koçlardan elektroejakülatör yardımı ile elde edildi (5). Yan yatırılan koçun arka ve ön ayakları ile başı 2 veya 3 yardımcı tarafından tespit edildi. Probenin ucu vazelin ile kayganlaştırıldı ve serum fizyolojik bulunan bir kaba daldırıldıktan sonra rektuma 8-10 cm kadar sokuldu. Elektrik uyarımları başlamadan önce flexura sigmoidea düzelterek penis uzatıldı. Diğer bir yardımcı tarafından tutulan dereceli sperma toplama kadehi bir huni yardımıyla penise yönlendirildi. Elektrik uyarımları 2 volttan 8 volta kadar kademeli bir şekilde artırıldı ve birkaç saniye aralıklarla gerçekleştirilen uyarımlardan sonra ejakülasyon sağlandı.

Sperma alma sırasında hijyenik kurallara özen gösterildi. Ejakülat dereceli sperma toplama kadehine alındı.

Gerek çalışma öncesi ve gerekse çalışma sırasında koçların bireysel spermatolojik özelliklerini incelemek ve elverişli olup olmadığını kontrol etmek amacıyla her bir koçtan toplam 10'ar ejakülat alındı ve spermatolojik özellikleri saptandı.

### Spermatolojik Özelliklerin İncelenmesi

*a-Sperma Hacmi:* Dereceli toplama kadehinde sperma "ml" değerinden ölçüldü.

*b-Kitle Hareketi:* Isıtma tablalı binoküler phase-contrast mikroskopunda 150 büyütmede saptandı. Değerlendirme 1-4 arasında yapıldı.

*c-Spermatozoa Motilitesi:* Bir damla sperma lam üzerinde serum fizyolojik ile sulandırılıp, üzerine lamel kapatılarak ısıtma tablalı (38°C) binoküler phase-contrast mikroskopunda 300 büyütmede incelendi. Motilite,

ileri yönde ve güçlü olan spermatozoitler dikkate alınarak tespit edildi.

*d-Spermatozoit Yoğunluğu:* Hemositometrik yöntemle saptandı ( $\times 10^9/ml$ ).

*e-Spermatozoit Morfolojisi:* Sperma Hancock'un Formol-tuz solusyonunda tespit edildi (5). Phase-contrast mikroskopta 1500 büyütmede her örnek için 200 spermatozoit sayıldı ve yüzdesi alındı.

#### Değerlendirme 4 kategoride yapıldı:

- Akrozoma ait bozukluklar
- Başa ait bozukluklar
- Orta kısma ait bozukluklar
- Kuyruk bozuklukları
- Toplam morfolojik bozukluklar

*f-Ölü-Canlı Muayenesi:* Spermadaki ölü spermatozoa oranının değerlendirilmesi eosin-nigrosin vital boyama yöntemiyle yapıldı. Nigrosin fon boyası üzerinde, eosin boyayı alan kırmızı renkli hücreler ölü, boya almamış renksiz görülen spermatozoalar canlı olarak değerlendirildi. Frotiler binoküler ışık mikroskopunda 600 büyütmede 333 spermatozoa sayılarak değerlendirildi. Canlı spermatozoa oranı; canlı spermatozoa sayısı 3 ile çarpılıp 10'a bölünerek hesaplandı ve yüzde olarak kaydedildi.

### Çalışma Düzeni

*Spermanın Sulandırılması ve Soğutulması:* Koçlardan elektroejakülatörle alınan spermalar bir kadehte toplanarak pooling yapıldı. Pooling yapılan sperma süt tozu-yumurta sarısı-fruktoz sulandırıcısı ile (modifiye sulandırıcı A) 26°C'de 1:1 oranında sulandırıldı.

*Modifiye süt tozu-yumurta sarısı-fruktoz (modifiye sulandırıcı A) sulandırıcısının hazırlanması:*

Yağsız süt tozu	11.0 gr
Sodyum Sitrat Dihidrat ( $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 2H_2O$ )	0.69 gr
Fruktoz	1.25 gr
Vitamin-E ( $\alpha$ -tocopherol acetate)	37.5gr/ml
Penicillin G	500 IU/ml
Dehidrostreptomisin	500 $\mu$ g/ml
Linkomisin	150 $\mu$ g/ml
Spektinomisin	300 $\mu$ g/ml
Distile (Deiyonize) su	q.s.p. 100 ml

Karışımdan 10 ml alınıp atıldıktan sonra 10 ml yumurta sarısı eklendi ve iyice karıştırıldı.

Tüp içindeki sulandırılmış sperma, icinde 26 °C'de su bulunan plastik kaba aktarıldı ve soğuk vitrine yerleştirildi. Spermanın ısı kademeli olarak 2 saat süresince +5°C'ye soğutuldu.

*%5 gliserollü süt tozu-yumurta sarısı-fruktoz sulandırıcısının hazırlanması ve gliserolizasyonu:*

+5 °C'ye soğutulan sulandırılmış spermaya % 10 gliserol içeren süt tozu-yumurta sarısı-fruktoz sulandırıcısı (sulandırıcı B) 1:1 oranında ilave edildi. Gliserolizasyon işlemi 5'er dakika aralıklarla 1/10 eşit hacimlerde ilave edilerek gerçekleştirildi. 50 dakikada tamamlanan gliserolizasyon işleminden sonra finalde gliserol oranı % 5 oldu.

*%10 gliserollü sulandırıcının hazırlanması (sulandırıcı B):*

Sulandırıcı A	9.0 ml
Gliserol	1.0 ml

Gliserolizasyon sonrası sperma +5 °C'da 2 saat süreyle ekilibrasyona bırakıldı. Sulandırma, gliserolizasyon ve ekilibrasyon sonrası motilite ve morfolojik muayenelerden oluşan spermatolojik testler uygulandı.

*Spermanın Dondurulması:* Ekilibrasyonu takiben zaman geçirilmeksizin dondurma işlemine geçildi. Bir pipet yardımıyla alınan sperma 0.2 ml hacimlerde kuru CO<sub>2</sub> buzu disklerinde (-79 °C) 2-3 dakika süreyle pellet şeklinde donduruldu ve en az 10 pellet elde edildi. Etiketlenmeden sonra donmuş pellet sıvı azot konteynerine aktarılarak -196 °C'de depolandı.

Çalışma 20 kez tetarlandı. Böylece 200 pellet elde edildi. Çalışmanın ilk 10 tekrarı anöstrus mevsiminde (Mayıs - Haziran 1996), son 10 tekrarı ise aşım mevsimi içerisinde (15 Temmuz -15 Ağustos 1996) yapıldı.

Koçlar, genital bölgesine önlük bağlanarak Haziran ayının başlangıcından itibaren sürüye katıldı ve Temmuz ayının ikinci yarısından itibaren aşım mevsimine girilmiş olarak kabul edildi (12).

Dondurulmuş pelletler, 37°C'ye ayarlı Ben-Marey içerisine dizilmiş Ependorf tüplerinde bulunan eritici solusyonda 30 saniyede eritildi. Eritme sonrası spermaya motilite ve morfolojik muayenelerden oluşan testler uygulandı. Saptanan değerler kaydedildi. Sonuçlar her bir mevsim için ayrı ayrı olarak değerlendirildi.

#### *Eritici Solusyonun Hazırlanması:*

Sodyum sitrat dihidrat	2.9 gr
Distile su	q.s.p. 100 ml

*Sonuçların Değerlendirilmesi:* Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde Duncan Testi'nden yararlanıldı (13).

#### **BULGULAR**

Çalışmada kullanılan 6 baş koçun her birinden koçların potansiyel fertilitelerini değerlendirmek amacıyla 10 ejakülat alındı (Tablo 1). Genel ortalama olarak 0.75±0.33 ml hacim, 3.63± 0.68 mass aktivite, %80.33±11.11 motilite, 2.39±1.11x milyar/ml spermatozoa yoğunluğu, %77.45±10.81 canlı spermatozoa saptandı. Morfolojik olarak %5.81±5.16 akrozoma, %1.24±1.14 başa, %1.98±3.38 orta kısma ve %5.46± 5.38 kuyruğa ait olmak üzere toplam %14.39± 8.08 bozukluk bulundu. İstatistiksel değerlendirmelerde sadece 731 nolu koçta orta kısma ait ve toplam morfolojik bozuklukların yüksek olduğu saptandı.

Pooling sonrası spermatolojik özelliklerin ortalamaları mevsim içi ve mevsim dışında ayrı ayrı olarak saptandı (Tablo 2). Mevsim içinde; 3.95±0.46 hacim, 4.00±0.00 mass aktivite, 2.20±0.63 x milyar/ml konsantrasyon, % 82.60±4.71 canlılık, % 86.50±3.37 motilite bulundu. Morfolojik olarak; %2.30± 2.35 akrozoma, %1.30±1.82 başa, %0.30± 0.48 orta kısma ve %5.00±5.45 kuyruğa ait olmak üzere, toplam %8.80±6.35 bozukluk saptandı.

Mevsim dışında ise; 3.49±0.40 ml hacim, 3.99±0.21 mass aktivite, 2.67±0.80 x milyar/ml konsantrasyon, %82.00± 4.10 canlılık ve %87.00±2.58 motilite bulundu. Morfolojik olarak; %3.00±2.16 akrozoma, %1.40±2.06 başa, %0.20± 0.63 orta kısma, % 3.30±4.52 kuyruğa ait olmak üzere toplam %7.90±7.34 bozukluk saptandı. Mevsim içi ve mevsim dışı arasında spermatolojik özelliklerden sadece hacim farklı bulundu (P<0.05).

Pooling'den sonra donmaya kadar geçen aşamalarda spermatolojik özellikler ayrı ayrı saptandı (Tablo 3). Mevsim içinde 1:1 sulandırmadan sonra motilite %80.00±3.33 olarak bulundu.

**Tablo 1.** Koçlarda saptanan bireysel spermatojolojik özellikler (n=10)

Koç No	Hacim (ml)	Mass Aktivite (1-4)	Motilite (%)	Sp.yoğ (x10 <sup>9</sup> /ml)	Canlı (%)	Akrozom (%)	Baş (%)	Orta (%)	Kuyruk (%)	Toplam (%)
731	0.63±0.20 <sup>a</sup>	3.65±0.66 <sup>a</sup>	79.50±11.89 <sup>a</sup>	2.50±1.09 <sup>a</sup>	76.90±9.73 <sup>a</sup>	7.20±5.28 <sup>a</sup>	1.90±1.52 <sup>a</sup>	6.20±6.35 <sup>a</sup>	8.90±5.76 <sup>a</sup>	22.90±8.39 <sup>a</sup>
321	0.67±0.29 <sup>a</sup>	3.45±0.79 <sup>a</sup>	83.50±6.25 <sup>a</sup>	2.48±1.30 <sup>a</sup>	78.50±6.75 <sup>a</sup>	5.10±2.99 <sup>a</sup>	1.20±1.22 <sup>a</sup>	0.60±0.84 <sup>b</sup>	4.70±6.49 <sup>a</sup>	11.60±8.39 <sup>b</sup>
839	0.91±0.48 <sup>a</sup>	3.75±0.54 <sup>a</sup>	82.50±7.16 <sup>a</sup>	2.63±1.36 <sup>a</sup>	79.53±6.34 <sup>a</sup>	6.20±4.23 <sup>a</sup>	1.28±0.93 <sup>a</sup>	0.65±0.75 <sup>b</sup>	4.00±4.26 <sup>a</sup>	12.20±6.77 <sup>b</sup>
313	0.64±0.20 <sup>a</sup>	3.80±0.42 <sup>a</sup>	80.50±7.97 <sup>a</sup>	2.50±1.13 <sup>a</sup>	78.50±10.70 <sup>a</sup>	6.90±6.34 <sup>a</sup>	0.80±1.03 <sup>a</sup>	0.65±0.74 <sup>b</sup>	3.70±3.49 <sup>a</sup>	12.15±5.54 <sup>b</sup>
940	0.86±0.33 <sup>a</sup>	3.65±0.94 <sup>a</sup>	79.50±15.89 <sup>a</sup>	2.13±0.96 <sup>a</sup>	80.30±11.81 <sup>a</sup>	3.60±2.95 <sup>a</sup>	1.30±0.94 <sup>a</sup>	1.90±1.6 <sup>b</sup>	6.60±6.39 <sup>a</sup>	13.40±6.63 <sup>b</sup>
330	0.83±0.35 <sup>a</sup>	3.50±0.70 <sup>a</sup>	76.50±15.10 <sup>a</sup>	2.13±0.97 <sup>a</sup>	71.00±16.36 <sup>a</sup>	5.90±7.83 <sup>a</sup>	1.00±1.05 <sup>a</sup>	1.90±2.07 <sup>b</sup>	4.90±4.70 <sup>a</sup>	14.10±8.11 <sup>b</sup>
Genel	0.75±0.33	3.63±0.68	80.33±11.11	2.39±1.11	77.45±10.81	5.81±5.16	1.24±1.14	1.98±3.38 <sup>b</sup>	5.46±5.38	14.39±8.08

a, b sütunlarda değişik harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

**Tablo 2.** Polling aşamasında mevsim içi ve mevsim dışı spermatojolojik özellikler

Grup	Hacim (ml)	Mass (1-4)	Konst. (Milyar/ml)	Canlı (%)	Motilite (%)	Akrozom (%)	Baş (%)	Orta (%)	Kuyruk (%)	Toplam (%)
Mevsim içi	3.95 ± 0.46 a	4.00 ± 0.00 a	2.20 ± 0.63 a	82.60 ± 4.71 a	86.50 ± 3.37 a	2.30 ± 2.35 a	1.30 ± 1.82 a	0.30 ± 0.48 a	5.00 ± 5.45 a	8.80 ± 6.35 a
Mevsim Dışı	3.49 ± 0.40 b	3.90 ± 0.21 a	2.67 ± 0.80 a	82.00 ± 4.10 a	87.00 ± 2.58 a	3.00 ± 2.16 a	1.40 ± 2.06 a	0.20 ± 0.63 a	3.30 ± 4.52 a	7.90 ± 7.34 a

a, b sütunlarında farklı harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05)

Morfolojik olarak %2.30±1.82 akrozoma, %1.00±0.81 başa, %0.30±0.48 orta kısma ve %7.70±7.28 kuyruğa ait olmak üzere toplam %11.30±8.47 bozukluk saptandı. Mevsim dışında aynı özellikler sırasıyla %82.50±2.63, %4.30± 2.83, %1.00±1.24, %0.30±0.67, %7.60 ±4.88 ve %13.20±6.52 olarak bulundu. +5 °C'de mevsim içi motilite %77.50± 4.24, morfolojik olarak akrozom, baş, orta kısım, kuyruk ve toplam bozukluk oranları sırasıyla; %2.90±2.72, %0.50± 0.70, %0.50±0.52, %11.90±9.15 ve %15.50 ±10.73 olarak saptandı. +5 °C' da mevsim dışında aynı değerler sırasıyla; %80.00± 4.71, %5.00±2.70, %1.00±0.81, %0.10± 0.31, %6.00±6.11, %12.10±7.20 olarak bulundu.

Mevsim içi gliserolizasyon sonrası motilite, akrozom, baş, orta, kuyruk ve toplam morfolojik bozukluk oranları sırasıyla;

%76.50±3.37, %5.60±4.14, % 1.20±1.39, %0.00±0.00, %4.20±2.48, %11.00±3.55 olarak tespit edildi. Mevsim dışında aynı özellikler sırasıyla; % 75.50±7.24, %4.70 ±2.75, %0.30± 0.67, %0.10±0.31, %3.20± 2.20 ve %8.30± 3.68 oldu.

Mevsim içi ekilibrasyon sonrası motilite %74.00±2.10, morfolojik olarak akrozom, baş, orta, kuyruk ve toplam morfolojik bozuklukları sırasıyla %5.90±3.14 %1.10± 0.73, %0.00±0.00, %6.60 ±4.81 ve %12.60 ±5.10 olarak saptandı. Mevsim dışında aynı özellikler sırasıyla % 70.50±8.31, %6.00± 3.62, %0.80± 1.13, %0.20±0.42, %4.90± 3.75 ve % 11.90± 6.31 olarak bulundu.

Buraya kadar geçen bütün aşamalarda, mevsim içi ve dışı saptanan spermatojolojik özellikler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadı.

**Tablo 3.** Pooling sonrası donmaya kadar geçen aşamalarda saptanan spermatozojik özellikler (n=10)

26 °C'de 1:1 sulandırma sonrası saptanan spermatozojik özellikler						
Sezon	Motilite (%)	Akrozom (%)	Baş (%)	Orta (%)	Kuyruk (%)	Toplam (%)
Mevsim İçi	80.00 ± 3.33 a	2.30 ± 1.82 a	1.00 ± 0.81 a	0.30 ± 0.48 a	7.70 ± 7.28 a	11.30 ± 8.47 a
Mevsim Dışı	82.50 ± 2.63 a	4.30 ± 2.83 a	1.00 ± 1.24 a	0.30 ± 0.67 a	7.60 ± 4.88 a	13.20 ± 6.52 a
+5 °C'da saptanan spermatozojik özellikler						
Mevsim İçi	77.50 ± 4.24 a	2.90 ± 2.72 a	0.50 ± 0.70 a	0.50 ± 0.52 a	11.90 ± 9.15 a	15.50 ± 10.73 a
Mevsim Dışı	80.00 ± 4.71 a	5.00 ± 2.70 a	1.00 ± 0.81 a	0.10 ± 0.31 a	6.00 ± 6.11 a	12.10 ± 7.20 a
Gliserilizasyon sonrası saptanan spermatozojik özellikler						
Mevsim İçi	76.50 ± 3.37 a	5.60 ± 4.14 a	1.20 ± 1.39 a	0.00 ± 0.00 a	4.20 ± 2.48 a	11.00 ± 3.55 a
Mevsim Dışı	75.50 ± 7.24 a	4.70 ± 2.75 a	0.30 ± 0.67 a	0.10 ± 0.31 a	3.20 ± 2.20 a	8.30 ± 3.68 a
Ekilibrazyon sonrası saptanan spermatozojik özellikler						
Mevsim İçi	74.00 ± 2.10 a	5.90 ± 3.14 a	1.10 ± 0.73 a	0.00 ± 0.00 a	6.60 ± 4.81 a	12.60 ± 5.10 a
Mevsim Dışı	70.50 ± 8.31 a	6.00 ± 3.62 a	0.80 ± 1.13 a	0.20 ± 0.42 a	4.90 ± 3.75 a	11.90 ± 6.31 a

a, sütunlarda aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark önemsizdir.

**Tablo 4.** Eritme sonrası saptanan spermatozojik özellikler (n=100)

Sezon	Motilite (%)	Akrozom (%)	Baş (%)	Orta (%)	Kuyruk (%)	Toplam (%)
Mevsim İçi	52.60 ± 10.97 a	49.690 ± 14.58 b	0.74 ± 1.10 a	0.57 ± 1.05 a	0.93 ± 1.34 a	50.03 ± 14.52 b
Mevsim Dışı	35.35 ± 12.33 b	55.41 ± 11.66 a	0.86 ± 1.19 a	0.45 ± 0.72 a	1.28 ± 1.88 a	55.24 ± 12.59 a

a, b, sütunlarda değişik harf taşıyan değerler arasındaki fark önemlidir (P<0.05).

Her bir sezon için toplam 100 pellet eritilerek spermatolojik özellikler saptandı (Tablo 4). Mevsim içinde eritme sonrası motilite  $52.60 \pm 10.97$  olarak bulundu. Morfolojik olarak  $49.60 \pm 14.58$  akrozoma,  $0.74 \pm 1.10$  başa,  $0.57 \pm 1.05$  orta kısma,  $0.93 \pm 1.34$  kuyruğa ait olmak üzere toplam  $50.03 \pm 14.52$  bozukluk saptandı. Mevsim dışında  $35.5 \pm 12.33$  motilite bulundu.  $55.41 \pm 11.66$  akrozoma,  $0.86 \pm 1.19$  başa,  $0.45 \pm 0.72$  orta kısma ve  $1.28 \pm 1.88$  kuyruğa ait olmak üzere toplam  $55.24 \pm 12.59$  morfolojik bozukluk tespit edildi. Mevsim içinde motilite, mevsim dışına göre daha yüksek olarak saptandı ( $P < 0.05$ ). Akrozoma ait ve toplam morfolojik bozukluklar ise mevsim dışında daha yüksek olarak bulundu ( $P < 0.05$ ) (Tablo 4).

#### TARTIŞMA ve SONUÇ

Koyunlarda fotoperiyodik etki seksüel aktivite üzerinde oldukça etkilidir (5,11,14,17). Koyun ve keçilerin çiftleşme sezonuna girmeleri ışığın da etkisiyle epifiz bezinden melatonin salgılanmasına bağlı olarak riprodüktif faaliyetlerin gelişmesiyle gerçekleşmektedir (5,14,16). Bu etkinin koçların spermatolojik özellikleri üzerinde de büyük ölçüde etkili olduğu bir gerçektir (2,3,8-10,17).

Çalışmamızda donma öncesi aşamalarda (sulandırma,  $+5$  °C, gliserolizasyon, ekilibrasyon), spermatolojik özellikler açısından mevsim içi mevsim dışı arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmadı. Sadece pooling aşamasında hacim, mevsim içinde daha yüksek olarak saptandı ( $P < 0.05$ ). Kimi araştırmacılar (2-4,8,10), mevsimin bütün spermatolojik özellikleri etkilediğini belirtmişlerdir. Hocheau de Rewers ve ark. (16), kısa süreli ışık periyoduna tabi tutulan koçlarda spermatogenezis ve stereoidge-neziste önemli değişiklikler olduğunu, spermatosit ve spermatid üretiminde artış olduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda pooling aşamasında hacim dışında, donmaya kadar geçen diğer bütün aşamalarda spermatolojik özellikler üzerinde mevsimin etkisinin görülmemesinin sebebini, ırk, sperma alma metodu, genetik, çevresel faktörler gibi etkenlere bağlayabiliriz. Belirtilen faktörlerin spermatolojik özellikler üzerinde etkili olduğu bilinmektedir (4,7,8,17,18).

Çalışmada donma ve eritme sonrası mevsim içi spermatolojik özelliklerden motilite daha yüksek, anormal akrozom yüzdesi ve toplam morfolojik bozuklukları daha düşük olarak saptandı ( $P < 0.05$ ). Çiftleşme sezonunda alınan ve dondurulan koç spermasının dondurulabilme başarısının daha yüksek olduğunu belirten Fiser ve ark. (11), çalışmamızın sonucunu desteklemektedirler. Öte yandan Vijil ve ark. (10), motilite ve anormal spermatozoit yüzdesi üzerinde mevsimin oldukça etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Sonuç olarak, mevsim içinde alınan koç spermasının donmaya daha elverişli olduğu, mevsimin etkisinin donma ve eritme sonrası daha belirgin hale geldiği söylenebilir.

#### KAYNAKLAR

1. Hafez, E.S.E.: Semen evaluation. In: Reproduction in Farm Animals. 455-480, Ed., Hafez, E.S.E. Lea and Febiger. Philadelphia, 1987.
2. Raadsma, H.W., Edey, T.N.: Mating performance of paddock-mated rams. I. Changes in mating performance, ejaculate characteristics and testicular size during the joining period. Anim. Repr. Sci., 8, 79-99, 1985.
3. Artiga, C.G., Garde, J., Gutierrez, A., Vaquez, I.: Seminal Characteristics of Manchego ram. 12th. Int. Cong. on Anim. Repr., 1, 399-401, 1992.
4. Colas, G., Lefebvre, J., Guerin, Y.: Etude de la transmission Perefils des variations sai-sonieres du diametre testiculaire et du pourcentage de spermatozoides anormaux chez le belier Ile-de France., 1. Fils nes en Fevrier. Repr. Nutr. Rev. 30, 589-603, 1990.
5. İleri, İ.K., Ak, K., Pabuççuoğlu, S., Usta, S.: Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama. Ders notu: 23, İÜ Vet. Fak. Yay. İstanbul, 1994.
6. Özkoca, H.: Çiftlik Hayvanlarında Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama. İÜ Vet. Fak. Yay. Fen Fakültesi Prof.Dr. Nazım Terzioğlu Basım Atölyesi, İstanbul, 1984.
7. Sevinç, A.: Dölerme ve Sun'i Tohumlama. Ders kitabı: 254. AÜ Vet. Fak. Yay. 356, AÜ Basımevi, Ankara, 1979.

8. Trejo, G.A., Gonzales, P.E., Vasquez, P.C.: Seasonal effects on fertility in rams of five breeds on the high plateau in Mexico. 2 semen traits. Memoria, III. Congreso Nacional de Production Ovina. 193-197. (Animal Breeding Abstracts. 1991, 059-01084), 1990.
9. Amir, D., Gacitua, H., Ron, M., Lehrer, A.R.: Seasonal variation in semen characteristics and the fertility of Finn cross rams subjected to frequent ejaculation. Anim. Repr. Sci., 10, 75-84, 1986.
10. Vijil, E., Gonzalo, C., Ruizpoveda, J., Rodriguez, M., Boixo, J.C.: Seasonal variations in the testicular diameter, libido and seminal characteristics in Manchego rams. 38th. Annual meeting of the European Association for Animal Production. Lisbon, Portugal. 28 Sept. 1Oct. 2, (Animal Breeding Abstracts. 1888, 056-02754), 1984.
11. Fiser, P.S., Fairfull, R.W.: Effect of changes in photoperiod on freezability of ram spermatozoa. Cryobiology. 20, 684-689, 1983.
12. Ak, K., Horoz, H., İleri, K., Alkan, S., Baran, A., Öztürkler, Y., Çörekçi, Ş.: Kıvırcık koyunlarında aşım mevsimi ve anöstrus döneminde progesteron -PGF $2\alpha$  kombinasyonu ile östrus senkronizasyonu. Hayvancılık Araştırma Dergisi, 5(1-2): 74-76, 1995.
13. Duncan, D.B.: Multiple range, Multiple F-tests. Biometrics. 11:1-42, 1955.
14. Hafez, E.S.E., Jainudeen, M.R.: Sheep and goats. In: Reproduction in Farm Animal. 315-323, Ed. Hafez, E.S.E. Lea and Febiger, Philadelphia, 1987.
15. Roberts, S.J.: Infertility in ewes and does ch. XVI, in Veterinary obstetrics and Genital Diseases (Theriogenology). Third Edition, 655-669, 1991.
16. Hochereau de Reviere, M.T., Perea, C., Lincoln, A.: Photoperiodic variations of somatic and germ cell populations in the Soay ram testis. J. Repr. and Fertility, 74, 329-334, 1985.
17. Maxwell, W.M.C.: Artificial insemination of ewes with frozen thawed semen at a synchronised oestrus. 1. Effect of dose of spermatozoa and site of intrauterine insemination on fertility. Anim. Repr. Sci. 10, 309-316, 1986.
18. Martner, P.E., Voglmayr, J.K.: Comparison of ram semen collected by the artificial vagina and by electroejaculation. Aust. J. Exp. Agric. and Anim. Husb. 2, 78, 1962.