

Tavukçuluk Araştırma Enstitüsünde Bulunan Kahverengi Yumurtacı Saf Hat Horozlarda Sperma Kalitesinin Değerlendirilmesi ^[1]

Ongun UYSAL * Zuhal DEMİR ** Çiğdem ÇEBİ * Şahnur ERDOĞAN DEMİRTAŞ **
Mehmet Borga TIRPAN * Muhammet TUNCA ** Serdar KAMANLI **

[1] Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenen 09B3338004 kod nolu projeden özetlenmiştir

* Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, TR-06110 Ankara - TÜRKİYE

** Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü, Haymana, TR-06860 Haymana, Ankara - TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2011-4340

Özet

Bu çalışmanın amacı, Tavukçuluk Araştırma Enstitüsünde bulunan kahverengi yumurtacı saf hat horoz spermalarında spermatolojik özelliklerin *in vitro* muayenelerini yapmak, saf hatlara özgü spermatolojik parametreleri belirlemek, hatlar arasındaki farklılıkları ortaya koymak ve sperma kalitesini değerlendirmektir. Araştırmada her saf hattın 7 olmak üzere 6 saf hattın (Line 54, Barred Rock 1, Colombian Rock, Barred Rock 2, Rhode Island Red 2, Rhode Island Red 1) 35 haftalık toplam 42 adet kahverengi yumurtacı horoz kullanıldı. Araştırma süresince horozlardan haftada iki olmak üzere üç hafta boyunca toplam altı kez abdominal masaj yöntemi ile sperma alındı ve spermalar spermatolojik özellikler yönüyle muayene edildi. Ortalama ejakülat miktarı (ml) Line 54, Barred Rock 1, Colombian Rock, Barred Rock 2, Rhode Island Red 2, Rhode Island Red 1 için sırasıyla 0.7 ± 0.2 , 0.9 ± 0.2 , 0.9 ± 0.2 , 0.6 ± 0.2 , 0.8 ± 0.2 , 0.7 ± 0.1 , spermatozoa motilitesi (%) 85.1 ± 8.2 , 87.6 ± 7.7 , 87.6 ± 12.2 , 87.6 ± 7.0 , 84.4 ± 10.4 , 85.0 ± 9.0 spermatozoa yoğunluğu ($X10^9/ml$) 3.1 ± 1.0 , 3.6 ± 1.0 , 2.8 ± 0.8 , 3.3 ± 1.2 , 3.3 ± 1.1 , 3.2 ± 0.7 , anormal spermatozoa oranı (%) 3.1 ± 2.7 , 3.0 ± 2.1 , 4.9 ± 3.4 , 4.5 ± 3.5 , 3.2 ± 2.6 , 4.8 ± 4.3 , ölü spermatozoa oranı (%) 14.0 ± 7.0 , 13.5 ± 5.9 , 14.6 ± 9.5 , 12.0 ± 3.9 , 15.2 ± 7.1 , 14.7 ± 6.4 ve sperma pH'sı 7.0 ± 0.3 , 7.0 ± 0.2 , 7.1 ± 0.3 , 7.0 ± 0.3 , 6.9 ± 0.3 , 7.0 ± 0.3 olarak kaydedildi. Hatlar arasında ejakülat miktarı ($P < 0.001$), spermatozoa yoğunluğu ($P < 0.01$) ve anormal spermatozoa ($P < 0.01$) oranı yönüyle farklılıklar istatistiksel açıdan önemli olurken, spermatozoa motilitesi, ölü spermatozoa oranı ve sperma pH'sı yönüyle farklılıklar önemsiz ($P > 0.05$) bulundu. Sonuç olarak, bu çalışma ile Tavukçuluk Araştırma Enstitüsünde bulunan 6 kahverengi yumurtacı saf hat horozlarında spermatolojik özelliklerin normal sınırlar içerisinde olduğu ve *in vitro* spermatolojik değerlendirmelere dayanarak sperma kalitelerinin iyi olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: Horoz, Spermatolojik özellikler, Sperma kalitesi

Evaluation of Semen Quality in Pure Lines of The Brown Laying Cocks in Poultry Research Institute

Summary

The aim of study was to do *in vitro* examination of spermatological characteristics in pure lines of cock semen, to determine spermatological parameters, to display differences between pure lines of Brown laying cock and to evaluate semen quality in Poultry Research Institute. In this study, in a total of 42 for 6 pure lines (Line 54, Barred Rock 1, Colombian Rock, Barred Rock 2, Rhode Island Red 2, Rhode Island Red 1), 7 cocks for each line, 35 weeks age brown laying cocks were used. During research, semen was collected from cocks by abdominal massage method in a total of six times, twice in a week throughout three weeks and semen was examined for spermatological characteristics. Averages of ejaculate volume (ml) sperm motility (%), sperm concentration ($X10^9/ml$), the percentage of abnormal sperm (%), the percentage of dead sperm (%) and semen pH were recorded as 0.7 ± 0.2 , 0.9 ± 0.2 , 0.9 ± 0.2 , 0.6 ± 0.2 , 0.8 ± 0.2 , 0.7 ± 0.1 ; 85.1 ± 8.2 , 87.6 ± 7.7 , 87.6 ± 12.2 , 87.6 ± 7.0 , 84.4 ± 10.4 , 85.0 ± 9.0 ; 3.1 ± 1.0 , 3.6 ± 1.0 , 2.8 ± 0.8 , 3.3 ± 1.2 , 3.3 ± 1.1 , 3.2 ± 0.7 ; 3.1 ± 2.7 , 3.0 ± 2.1 , 4.9 ± 3.4 , 4.5 ± 3.5 , 3.2 ± 2.6 , 4.8 ± 4.3 ; 14.0 ± 7.0 , 13.5 ± 5.9 , 14.6 ± 9.5 , 12.0 ± 3.9 , 15.2 ± 7.1 , 14.7 ± 6.4 and 7.0 ± 0.3 , 7.0 ± 0.2 , 7.1 ± 0.3 , 7.0 ± 0.3 , 6.9 ± 0.3 , 7.0 ± 0.3 for Line 54, Barred Rock 1, Colombian Rock, Barred Rock 2, Rhode Island Red 2, Rhode Island Red 1, respectively. Differences among lines were significant for ejaculate volume ($P < 0.001$), sperm concentration ($P < 0.01$) and abnormal sperm ($P < 0.01$), but were found no significant ($P > 0.05$) for sperm motility, dead sperm and semen pH statistically. It is concluded that sperm characteristics in pure lines brown laying cocks is within normal limits and semen quality is good according to *in vitro* sperm characteristics in Poultry Research Institute by this study.

Keywords: Rooster, Spermatological characteristics, Semen quality



İletişim (Correspondence)



+90 312 3170315/407 GSM: +90 506 7759921



cebi@veterinary.ankara.edu.tr

GİRİŞ

Horoz ve tavuğun evciltmeleri MÖ 2000 yıllarına kadar uzanmakla beraber, özellikle 19. yüzyılda farklı tavuk ırklarında ekonomik fayda gözetilerek yetiştirilmelerine önem verilmiş ve 20. yüzyılın başlarında ise Amerika ve İngiltere’de birçok kültür tavuk ırkı ortaya çıkmıştır ¹. Tavukçulukta melezleme yoluyla hibrit üretimi 1935 yılında gerçekleştirilmiştir. Bireysel seleksiyonun yanında familya seleksiyonunun da önemli olduğunun bu alanda çalışan genetikçiler tarafından anlaşılması, üstün özelliklere sahip hatların elde edilmesine olanak sağlamıştır. Seleksiyon ve istenen ölçüde genetik ilerleme, yalnızca dişi genotipini kontrol ederek değil, sperma kalitesi yüksek erkek damızlıkların seçilmesi ve bu horozlarla yapılan suni tohumlamalardan elde edilecek hatlarla sağlanabilir. Ayrıca dünyada birkaç çeşit bulunan saf hatların, gen kaynaklarının korunması kapsamında değerlendirilerek spermalarının dondurulması yoluyla gen bankası oluşturulması yoluna gidilebilir.

Horozlardan sun’i tohumlama ya da biyoteknolojik araştırmalar için çoğunlukla masaj yöntemiyle sperma alınmaktadır. Keskin ve ark.² Denizli horozlarında başlıca spermatozoa özelliklerinde ejakülat miktarını 0.6 ml, spermatozoa motilitesini %65.0, spermatozoa yoğunluğunu 2.0×10^9 /ml, anormal spermatozoa oranını %11.3 ve spermanın pH değerini 7.5 bildirirlerken, Ross ırkı horozlarda sperma kalitesini değerlendirdikleri bir başka çalışmada ³ aynı parametreleri sırasıyla 0.3 ml, %72.1, 3.0×10^9 /ml, %4.8 ve 7.5, Erbro ırkı horoz spermalarını dondurdıkları diğer bir araştırmalarında ³ ise sırasıyla 0.5 ml, %87.7, 2.2×10^9 /ml, %5.0 ve 7.4 olarak kaydetmişlerdir.

Abu ve ark.⁴ Nijerya’nın yerel ırkı horozlarda sperma kalitesini değerlendirdikleri araştırmalarında başlıca spermatozoa özelliklerinden ejakülat miktarını 0.13 ml, spermatozoa motilitesini %48.3, canlı spermatozoa oranını %44.2, anormal spermatozoa oranını %15.7, ölü spermatozoa oranını %21.1 ve spermatozoa yoğunluğunu $1.98-2.47 \times 10^9$ /ml saptamışlardır.

Bu çalışmanın amacı, Tavukçuluk Araştırma Enstitüsünde bulunan 6 kahverengi yumurtacı saf hattın horozlarında spermanın *in vitro* muayenelerinin yapılarak saf hatlara özgü spermatozoa parametreleri, hatlararası farklılıkları ve sperma kalitelerini belirlemektir.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada Ankara Tavukçuluk Araştırma Enstitüsünde bulunan ve her hattın 7 olmak üzere 6 saf hattın 35 haftalık toplam 42 kahverengi yumurtacı horoz kullanıldı. Araştırmaya başlamadan önce iki hafta süreyle horozlar sperma vermeye alıştırdılar. Araştırma süresince her horozdan abdominal masaj yöntemi ile haftada üç kez olmak üzere, iki hafta süreyle toplam 252 ejakülat alındı ⁵.

Sperma almadan altı saat önce spermanın idrar ve dışkı ile bulaşmaması için horozların suyu kesildi. Elde edilen ejakülatlar sperma alma yerinde hazırlanan laboratuvarda ejakülat miktarı, spermatozoa motilitesi ve spermanın pH değeri yönüyle değerlendirildi ³. Spermatozoa yoğunluğu, anormal spermatozoa oranı ve ölü spermatozoa oranı için numuneler alındı ve Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı Laboratuvarında muayene edildi.

Ejakülat miktarı, sperma toplama kadehinden direkt okunarak belirlendi. Spermatozoa motilitesi, spermatozoa yoğunluğu, anormal spermatozoa oranı ve ölü spermatozoa oranı mikroskopta muayene edilerek değerlendirildi. Spermanın pH’sı ise, renk skalası bulunduran pH metre kullanılarak ölçüldü. Bu çalışmada, spermatozoa özellikleri yönüyle gruplar arası farklılıkların saptanmasında tekrarlı ölçümlerde ANOVA (Tek yönlü varyans analizi) tekniği, arasındaki farklılık önemli bulunan grupların karşılaştırılmasında Duncan testi kullanıldı ⁶.

BULGULAR

Araştırmada kullanılan 6 saf ve her hattın 7 olmak üzere toplam 42 kahverengi yumurtacı horozla ait ortalama spermatozoa parametreleri *Tablo 1*’de verildi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu araştırmada, Tavukçuluk Araştırma Enstitüsünde bulunan 35 haftalık kahverengi yumurtacı saf hat horozlardan öğleden sonraları alınan ejakülatlarda spermatozoa parametreleri saptandı. Sperma kalitesini etkilemesi nedeniyle, horozlardan düzenli aralıklarla sperma alınmalıdır. Otuzbeş-ellidokuz haftalık horozlardan haftada üç, beş ve on kez sperma alan Fuguay ve Renden ⁷ ejakülat miktarı ve spermatozoa yoğunluğu bakımından haftada üç ve beş kez sperması alınan horozlar arasında hiçbir fark saptanmışlardır. Araştırmada horozlardan haftada 2 kez olmak üzere 3 hafta süreyle düzenli olarak sperma alındı. Barred Rock 1, Colombian Rock, Rhode Island 2 hatları arasında, ayrıca Line 54 ve Rhode Island 1 hatları arasında ortalama ejakülat miktarı yönüyle benzerlik varken, ırklar arasında ortalama ejakülat miktarı yönüyle saptanan farklılıklar önemli ($P < 0.001$) kaydedildi

Spermatozoa motilitesi; bir yönde ve güçlü hareket eden spermatozoonların hareketsiz veya diğer hareket biçimi gösterenlere oranı olarak tanımlanır. Sunulan çalışmada Colombian Rock hattından üç numaralı horozun ejakülatlarında ortalama spermatozoa motilitesi (62.5 ± 10.4) çalışma süresince diğerlerine göre düşük gözlemlendi. Ortalama spermatozoa motilitesi yönüyle farklılıklar istatistik açıdan önemsiz ($P > 0.05$) kaydedildi.

Spermatozoa yoğunluğu; birim hacim spermada bulunan spermatozoa sayısına denir. Benoff ve ark.⁸ bireyler

Tablo 1. Saf hat horoz spermalarına ait ortalama (\pm standart hata) spermatozojik özellikler**Table 1.** The mean (\pm standard error) of spermatological characteristics in pure lines of cock's semen

Horoz (Hat)	Ejakulat Miktarı (ml)	Spermatozoa Motilitesi (%)	Spermatozoa Yoğunluğu ($\times 10^9$ /ml)	Anormal Spermatozoa Oranı (%)	Ölü Spermatozoa Oranı (%)	pH
Line 54 (n=7)	0.7 \pm 0.2 ^b	85.1 \pm 8.2	3.1 \pm 1.0 ^{ab}	3.1 \pm 2.7 ^{ab}	14.0 \pm 7.0	7.0 \pm 0.3 ^{ab}
Barred (n=7) Rock 1	0.9 \pm 0.2 ^c	87.6 \pm 7.7	3.6 \pm 1.0 ^c	3.0 \pm 2.1 ^a	3.5 \pm 5.9	7.0 \pm 0.2 ^{ab}
Colombian (n=7) Rock	0.9 \pm 0.2 ^c	87.6 \pm 12.2	2.8 \pm 0.8 ^a	4.9 \pm 3.4 ^c	14.6 \pm 9.5	7.1 \pm 0.3 ^b
Barred (n=7) Rock 2	0.6 \pm 0.2 ^a	87.6 \pm 7.0	3.3 \pm 1.2 ^c	4.5 \pm 3.5 ^{bc}	12.0 \pm 3.9	7.0 \pm 0.3 ^{ab}
Rhode (n=7) Island Red 2	0.78 \pm 0.2 ^c	84.4 \pm 10.4	3.3 \pm 1.1 ^c	3.2 \pm 2.6 ^{ab}	15.2 \pm 7.1	6.9 \pm 0.3 ^a
Rhode (n=7) Island Red 1	0.73 \pm 0.2 ^b	85.0 \pm 9.0	3.2 \pm 0.9 ^c	4.8 \pm 4.3 ^c	14.7 \pm 6.4	7.0 \pm 0.3 ^{ab}
Toplam	0.8\pm0.2	86.2\pm9.3	3.2\pm1.0	3.9\pm3.2	14.0\pm6.8	6.97\pm0.3
P	P<0.001	-	P<0.01	P<0.01	-	-

-: Önemsiz (P>0.05)

a, b, c: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan ortalamalar arası fark önemlidir

arasında ejakulat miktarı ve spermatozoa yoğunluğu yönüyle geniş varyasyon saptamışlardır. Ross ırkı horozlarda sperma kalitesini değerlendiren Keskin ve ark.² spermatozoa yoğunluğunu 3.0×10^9 /ml, kaydederken, spermatozoa yoğunluğu, Colombian Rock ırkında $2.8 \pm 0.8 \times 10^9$ /ml ile diğer horoz hatlarından önemli ölçüde (P<0.01) düşük bulunmuştur.

Anormal yapılı spermatozoonların dölleme güçleri olmadığı gibi, morfolojik bozukluklar fertilitiyi motiliteden daha fazla etkilediğinden diğer spermatozojik özelliklerle birlikte sperma kalitesinin belirlenmesinde en önemli kriterlerden birini oluşturur⁹. Partyka ve ark.¹⁰ taze ve dondurulmuş horoz spermalarını flow sitometri yöntemiyle incelemişler ve taze spermalarda sağlam akrozomlu ölü, yırtılmış akrozomlu ölü, sağlam akrozomlu canlı ve yırtılmış akrozomlu canlı spermatozoa oranlarını sırasıyla %2.1, %0.9, %93.1 ve %3.9 bulmuşlardır. Sunulan çalışmada anormal spermatozoa oranları fertilitiyi etkileyecek düzeylere (%20) ulaşmadı ve ırkların genel ortalama anormal spermatozoa oranı (3.9 ± 3.2) oldukça düşük bulundu. Araştırma süresince tüm ırklardaki horozlarda anormal spermatozoa tiplerinden en çok gözlenen bozukluk orta kısımdaki protoplazmik damlacık oldu. Barred Rock 2, Rhode Island Red 2 için önemli (P<0.001) farklılıklar kaydedildi.

Spermatozoonun membran bütünlüğü, dışı reproduktif sisteminde ve oositin perivitellin katına penetrasyonunda spermatozoa fonksiyonlarının sürdürülmesi için gerekli bir

koşuldur¹⁰. Abu ve ark.⁴ Nijerya'nın yerel ırkı horozlarda ölü spermatozoa oranını %21.1 belirlemişlerdir. Sunulan çalışmada ortalama ölü spermatozoa oranı yönüyle, hatlar arasındaki farklılıklar önemsizdi (P>0.05).

Horoz ve hindi sperması 6.0-8.0 pH aralığını tolere edebilir. pH'nın düşmesi oksijen alınımı ve laktik asit üretimini, spermatozoonun metabolik hızını ve motilitesini düşürür. Oysa yüksek pH *in vitro* metabolik hızı artırır⁵. Reid ve ark.¹¹ ifade ettiği gibi en yüksek dölverimi 6.5-8.0 pH değerleri arasında elde edilmekte, daha yüksek ve daha düşük pH'lar dölveriminin düşmesine neden olmaktadır. Bu çalışmada genel olarak pH değerlerine bakıldığında horozlar için kabul edilen normal sınırlar içerisinde olduğu görülmektedir. Ancak ortalama pH değerleri yönüyle hatlar arasındaki (P>0.05) farklılıklar önemsiz bulundu.

Sonuç olarak, bu çalışma ile saf hatlarda spermatozojik özelliklerin *in vitro* muayeneleri yapıldı, saf hatlara özgü spermatozojik özellikler saptandı ve hatlar arasındaki farklılıklar ortaya konuldu.

KAYNAKLAR

1. Aksoy T: Tavuk Yetiştiriciliği. Şahin matbaası, 1. Baskı, Ankara, 1991.
2. Keskin O, Tekin N, Akçay E: Denizli horozlarında başlıca spermatozojik özellikler. *Lalahan Hay Arş Ens Der*, 35, 87-100, 1995.
3. Keskin O, Tekin N, Yurdaydın N, Selçuk M, Kaya M: Horozlarda sperma kalitesinin değerlendirilmesi. *Lalahan Hay Arş Enst Der*, 37, 82, 1997.
4. Abu AH, Ameh M, Iheukwumere FC: Semen quality of Nigerian local cocks treated with human menopausal gonadotropin (Pergonal).

Livestock Research for Rural Development, 18, 113-114, 2006.

- 5. Donoghue AM, Wishart GJ:** Storage of poultry semen. *Anim Reprod Sci*, 62: 213-232, 2000.
- 6. Daniel WW:** Analysis of variance. In, WW Daniel (Ed): *Biostatistic: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. pp. 274-320, John Wiley & Sons, Hoboken, 1991.
- 7. Fuguay JI, Renden JA:** Reproductive performance of broiler breeders maintained in cages or on floors through 59 weeks of age. *Poultry Sci*, 59, 2525-2530, 1980.
- 8. Benoff FH, Rowe KE, Fuguay JI, Renden JA, Arcsott GH:** Effect of semen collector on semen volume and sperm concentration in broiler males. *Poultry Sci*, 60, 1062-1070, 1981.
- 9. Partyka A, Nizański W, Łukaszewicz E:** Evaluation of fresh and frozen-thawed fowl semen by flow cytometry. *Theriogenology*, 74 (6): 1010-1016, 2010.
- 10. Saacke RG, White, JM:** Acrosomal alterations of freeze-thawed bovine sperm. *J Anim Sci*, 31, 229-230, 1970.
- 11. Reid JT, Ward GM, Salisbury RI:** The relationship in the change in pH effected by incubation to other semen characteristics. *J Dairy Sci*, 31, 383-388, 1948.