

TAVŞANLARDA SUN'İ TOHURLAMA

Afif Sevinç*

Kemirici hayvanlarda (tavşan, kobay, sıçan ve fare), çeşitli tekniklere başvurulmuş sun'î tohumlamanın uygulanmasına çalışılmıştır. Yarım yüzyıldan beri, oldukça yoğun ölçüde yapılagelen bu çalışmalar, sun'î tohumlamanın, kemiricilerden yalnız tavşanlarda, pratik değer taşıyan bir kolaylıkla uygulanabildiğini ortaya koymuştur.

Tavşanlarda sun'î tohumlama, genellikle kimi bilimsel araştırmaların (dölverimi, spermatoloji, genetik, cinsiyetin kontrolü v.b. konularda) gereğince yürütülebilmesinde başvurulmuş bir yöntem olmakla beraber, bir ölçüde tavşan yetiştirilmesinde de uygulanmaktadır. Dünyadaki et üretiminin sınırlılığı karşısında, uzak olmayan bir gelecekte, sun'î tohumlamanın tavşan yetiştiriciliğinde daha yaygın bir şekilde kullanılması zorunluğu doğabilir.

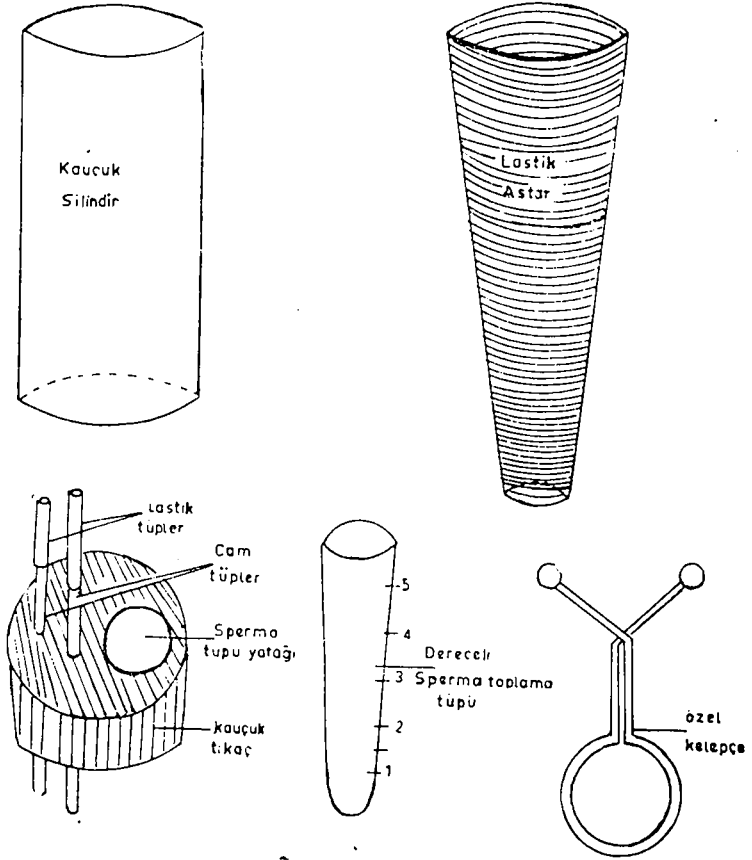
Tavşanlarda sun'î tohumlama, Türkiye'de uygulanmamaktadır. Yurdumuzda, gerek bilimsel araştırma nedeni ile, gerek yoğun tavşan yetiştiriciliğinde sun'î tohumlama yöntemini uygulamaya duyulacak ihtiyacı karşılamak için, bu konunun belli başlı yanlarını ve uygulama tekniklerini özet halinde de olsa, vermenin yararlı olacağı kanısındayız. Öbür tür hayvanlarda olduğu gibi tavşanlarda da sun'î tohumlama, spermanın alınması, spermanın değerlendirilmesi ve dişilerin bu sperma ile tohumlanması ana bölümlerini kapsar.

Spermanın Alınması

Tavşanda sperma, sun'î vajenle alınır. Sun'î vajen, yaklaşık olarak uzunluğu 8-12 sm. çapı 4-6 sm. olan sert kavuçuk, yada ebonit bir silindir; 15. sm. çapında ve 8 sm. uzunluğunda dereceli bir sperma toplama tüpünün takılacağı, huni biçiminde ince bir lastik astar; ve sperma toplama cam tüpünün yerleştirilebileceği büyüklükte bir, vajene si-

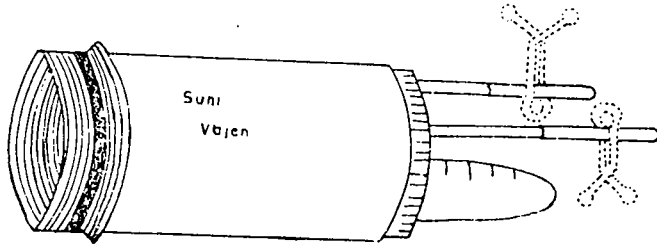
* Veteriner Fakültesi Zootečni Kürsüsü Profesörü.

cak su koymak için de uygun çapta iki deliği bulunan oldukça sert kavuk-
çuktan yapılmış, ana silindirin çapına uygun bir tıkaçtan oluşur (Şekil 1).



Şekil 1

Kavuçuk silindirin alt ucuna kavuçuk tıkaç yerleştirilir. Sıcak su deliklerine, o çapta, yaklaşık 6-8 sm. uzunluğunda, iki cam yada plastik boru yerleştirilir. İç lastik astara takılan dereceli sperma toplama tüpü, tıkaçta açılmış özel deliğine sıkıca geçirilir (Şeki 2).



Şekil 2

Lastik astarın üst ucu suni vajen silindirin açık ağzından dışarı alınarak silindirin üstüne kıvrılır. Ve kaymaması için ince bir lastik bantla sıkıca silindire tutturulur. Sıcak su konacak cam boruların uçlarına, uygun uzunlukta birer lastik tüp geçirilir ve şekil 1 ve 2 de gösterilen biçimdeki madeni kısıkaçlarla donatılır.

Suni vajene sıcak su, ya sürekli olarak ocak üzerinde bir büyük erlenmayerde ısıtılan suyun, basit bir düzenle suni vajene doldurulması ya da, bir kavuçok puvar aracılığıyla sıcak su, suni vajen doluncaya dek (öbür lastik tüpten su gelinceye dek) verilir.

Gerekli kayganlığı sağlamak için suni vajenin ağzına biraz steril vazelin sürülür. Vajende uygun basıncı, konan sıcak su sağlar.

Erkek tavşanlardan kolaylıkla sperma alınması için bunların önceden suni vajene sperma vermeye alıştırılmış olmaları gerekir. Genellikle, erkek tavşanlar, suni vajene, birkaç denemeden sonra sperma vermeye alışır. Seçilen uysal bir dişi tavşan erkek tavşanın bulunduğu yaklaşık 40 x 40 x 40 sm. boyutundaki kafese konur. Erkek tavşan dişiyi aşınca, dişinin art iki bacağı arasına, sağ elle tutulan vajen sokulur; ve penisin suni vajene girmesi sağlanır. Eğer, erkek ilk denemelerde suni vajene sperma vermezse; önce dişiyi tabii olarak aşmasına izin verilir. Belli bir süre geçtikten sonra (1/2-1 saat) tekrar dişi kafesine getirilir. Ve biraz önce belirtilen teknikle ve suni vajenle sperma alınmaya çalışılır. Bazan ilk denemede suni vajenle sperma vermeye alışan erkek tavşanlar olduğu gibi bazılarında ancak bu denemenin birkaç kez uygulanmasından sonra sperma alınabilir.

Tavşan Spermasının Özellikleri

Tavşan sperması, içinde tuttuğu spermatozoit yoğunluğuna bağlı olarak krem ya da açık krem renklidir. Çokluk, pensle alınabilecek yoğunlukta jelatini bir kısım ihtiva eder¹³.

Değişik ırk ve ağırlığa göre, tavşanda sperma verimi 0,4 ila 6 Sm³. arasında değişir²⁰. Orta cüsseli bir ırktan yaklaşık 3 kg. ağırlığındaki tavşanın, jelatini kısmı dışında verdiği ortalama sperma miktarı 0.8 sm³. tür¹.

Ejakülattaki jelatini kısım, ortalama 1,67 gr. olup, ejakülatına göre 0,34 - 4,19 gr. arasında değişir¹⁴.

Tavşanlarda sperma verimi ile ilgili olarak küçük ve büyük yapılı ırklarla, bunların karşılıklı birleşiminden elde edilen melezler üzerinde yapılan çalışmalar, ejakülat hacmi, spermatozoit yoğunluğu bakımlarından, hem ırklar arasında, hem de ırk içi fertler arasında

önemli farklar bulunduğunu ortaya koymuştur. Sperma hacmindeki bu önemli farkın daha çok vücut ağırlığına bağlı olarak şekillendiği, spermatozoit yoğunluğundaki farkın ise, büyük bir ihtimalle poligenik bir sistemin güdümü altında yer alan Heterozisten ileri geldiği sonucuna varılmıştır⁸.

Tavşandan sperma alırken spermaya arasına idrarın karıştığı olur. Buna, daha çok suni vajenin çok sıcak olduğu durumda sıkça rastlanır. İdrarla karışmış olan sperma ejakülatı sarımsak renktedir. Alt kısmında da yine sarımsak renkte bir tortu bulunur⁴.

Kısa bir süre içinde ardarda sperma alınması durumunda ejakülat hacmi giderek önemli ölçüde azalmakta, ancak spermanın yoğunluğu nisbeten sabit kalmaktadır¹². Tavşanlarda sperma alma aralığı farklarının spermatozoitlerin dölleme oranı ve libidoyla ilgili ilişkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar, erkek tavşandan, 10 ay süre ile, her gün bir defa sperma almanın, libidoya, sperma hacmine ve dölleme oranı yada dölverimine kötü bir etki yapmadığını ortaya koymuştur^{2,6,7,9}.

Tavşan spermasındaki spermatozoit yoğunluğu, öbür hayvanlarda olduğu gibi, geniş bir değişiklik gösterir. Bu durum, tavşan ırkına göre şekillendiği gibi, aynı ırktaki tavşanlar arasında, hatta bir tavşanın değişik ejakülatları arasında, çeşitli faktörlere bağlı olarak şekillenmektedir. Genellikle tavşan spermasındaki spermatozoit yoğunluğu, sm^3 .tc yaklaşık olarak 700 milyon olup, en az 100 milyon ve en çok 2 milyar olmaktadır²⁰.

Tavşan spermatozoitlerinin normal ve anormal şekilleri, çiftlik hayvanlarının spermatozoitlerinininkinden önemli bir ayrılık göstermez. Gerek bunları incelemek, gerek, canlı ve ölü spermatozoit oranlarını tesbit etmek, çiftlik hayvanlarında uygulanan tekniklerle yapılmaktadır.

Tavşan spermasında spermatozoit yoğunluğu Hemositometer tekniği ile saptanır. Bu teknik, kanadaki eritrosit sayımında kullanılan tekniğin, hemen hemen aynıdır.

Spermanın Değerlendirilmesi, Sulandırılması ve Muhafazası

Tavşan spermasının değerlendirilmesinde temel olarak alınan hususlar, öbür çiftlik hayvan spermalarının değerlendirilmesinde incelenen başlıca özellikleri kapsar. Bilindiği gibi bunlar: spermanın miktarı, spermatozoit yoğunluğu, spermatozoit hareketinin niteliği ve hareketli spermatozoit oranı, spermada canlı ve ölü spermatozoit oranı ve anormal spermatozoit çeşitleridir.

Tohumlama amacıyla kullanılacak tavşan spermasının değerlendirilmesi; genellikle alınan ejakülâtın hacmi, spermatozoit yoğunluğu ve bir yönde, güçlü hareket gösteren spermatozoitlerin oranına bakılarak yapılır. Bu bakımdan, normal ve normalin üstünde spermatozoit yoğunluğu ve güçlü bir spermatozoit hareket oranı gösteren ejakülâtlar kullanılır. Düşük nitelikteki spermalar ise, genellikle tohumlamada kullanılmaz.

Tavşan spermasının sulandırılması ve bu konuda kullanılacak sulandırıcılarla ilgili çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu bakımdan, boğa spermasının sulandırılmasında olduğu gibi, belli bir sulandırıcıyı ve belli sulandırma oranlarını tavsiye etmek olanağı yok gibidir. Bununla beraber, şimdiye kadar tavşan spermasının sulandırılmasında kullanılan ve iyi sonuç veren sulandırıcılardan biri, belli bir sulandırma oranı elde etmek amacıyla kullanılabilir.

Genellikle tavşan spermasının sulandırılmasında fizyolojik serum (% 09 NaCl) ve değişik sayıda, çeşitli tuzları içeren solüsyonlar, sulandırıcı olarak kullanılmaktadır. Yumurta sarısı ve süt gibi maddelerin bu konuda kullanılması üzerinde az durulmuş olması dikkat çekicidir.

Belli oranlarda çeşitli tuzlardan oluşturulmuş, tavşan spermasının sulandırılmasında da kullanılan Ringer, Krebs Ringer, Locke ve Locke Ringer adlarıyla tanınmış solüsyonlar bulunduğu gibi, kimi araştırmacılar tarafından bulunmuş ve geniş uygulama alanı bulmamış izotomik solüsyonlar da vardır. Cinsiyetin kontrolü konusunda yaptığımız çalışmalar için hazırladığımız çeşitli tavşan sperma sulandırıcıları içinde bir kısım % 09 NaCl, bir kısım 0,14 N sodyum fosfat ve iki kısım 0,1 N Glycine solüsyonlarından oluşan sulandırıcıdan iyi sonuç aldık²¹.

Biraz önce sözünü ettiğimiz solüsyonlardan bazılarının yapısındaki tuzların çeşit ve oranları şöyledir.

Ringer:	Yüzde
NaCl	0.70
KCl	0.03
CaCl	0.026
NaHCO ₃	0.003

Locke:(¹⁹)

Yüzde

	Yüzde
NaCl	0.92
KCl	0.042
CaCl ₂	0.012
NaHCO ₃	0.015
C ₆ H ₁₂ O ₆ (Glukose)	0.10

Locke-Ringer:

NaCl	9.0 gr.
KCl	0,42 gr.
CaCl ₂	0,24 gr.
MgCl ₂	0,2 gr.
Na ₂ CO ₃	0,5 gr.
Dextrose	0,5 gr.

alındıktan sonra damıtık su ile 1000 Sm³c tamamlanarak hazırlanır.

Özel bir sulandırıcının kullanılmasını gerektirmeyen çalışmalarda tavşan sperması serum fizyolojikle sulandırılarak tohumlamada kullanılır. Sulandırılmış sperma, fazla bekletilmeden, birkaç saat içinde kullanılmalıdır.

Tavşan spermatozoitlerini korumayı amaçlayan bir araştırmada 13 değişik sulandırıcı kullanılmıştır. Bunlardan 7 si değişik tuzlardan yapılmış solüsyonlar, üçü yumurta sarısı ve öbür üçü değişik serum preparatları katılmış sulandırıcılardır. Spermatozoit hareket ve canlılığını koruma bakımından yumurta sarılı sulandırıcılarla en iyi, çeşitli tuzlardan yapılmış solüsyonlarla ise, en kötü sonuçlar alınmıştır¹⁰.

Tavşan suni tohumlama uygulamasında spermanın uzun süre saklanması zorunluğu şimdiye dek doğmuş olmamakla beraber, bu alanda, daha önce belirtilen çeşitli sperma sulandırıcıları kullanılarak bilimsel araştırmalar yapılmıştır. Gerek dondurularak, gerek dondurulmadan değişik sürelerle saklanan spermallerden pratik değer taşıyan önemde sonuçlar alınmamıştır. Tavşan spermatozoitlerinin dondurma tekniğine ve özellikle bu teknik gereği spermaya katılan gliserol ve benzeri kimyasal maddelere karşı çok hassas olması nedeniyle bu konuda yapılan çalışmalar pek olumlu sonuç vermemiştir^{11, 15, 18}.

Tohumlama

Tavşanların tohumlanmasında en çok vaginal, yada intravaginal diye adlandırılan tohumlama metodu kullanılmaktadır. Kimi spermatolojik araştırmaların yapılmasında cerrahi ve intra-

peritoneal tohumlama metodları da uygulanır. Bu metodlar öbür kemirici laboratuvar hayvanlarında da kullanılır. Cerrahi tohumlama metodunda, laporotomi yapıldıktan sonra sperma, doğrudan doğruya uterus, yada oviduct'a verilir. İntraperitoneal metodda ise, sperma peritonun içine enjekte edilir^{16, 17}.

Tavşanların tohumlanmasında yüksek bir başarı ile ve kolaylıkla uygulanabilen vaginal metod, şekil 3 te gösterilen biçimde, bir ucunda ufak bir kavuçük puvar bulunan, ilk üçte bir sınırında hafifçe eğik özel bir cam pipet yardımıyla uygulanır. Bu tohumlama pipeti, dış çapı, yaklaşık 6-7 mm. olan cam borudan kesilerek yapılır. Pipetin uzunluğu 15-18 sm.dir. Vaginaya sokulacak ucu alevde kütleştirilir; ve gerekirse, gene alevde 3-4 sm. lik uç kısmı inceltilir. İlk üçte bir sınırında da, alev yardımıyla yaklaşık 15°lik hafif bir büküntü yapılır.

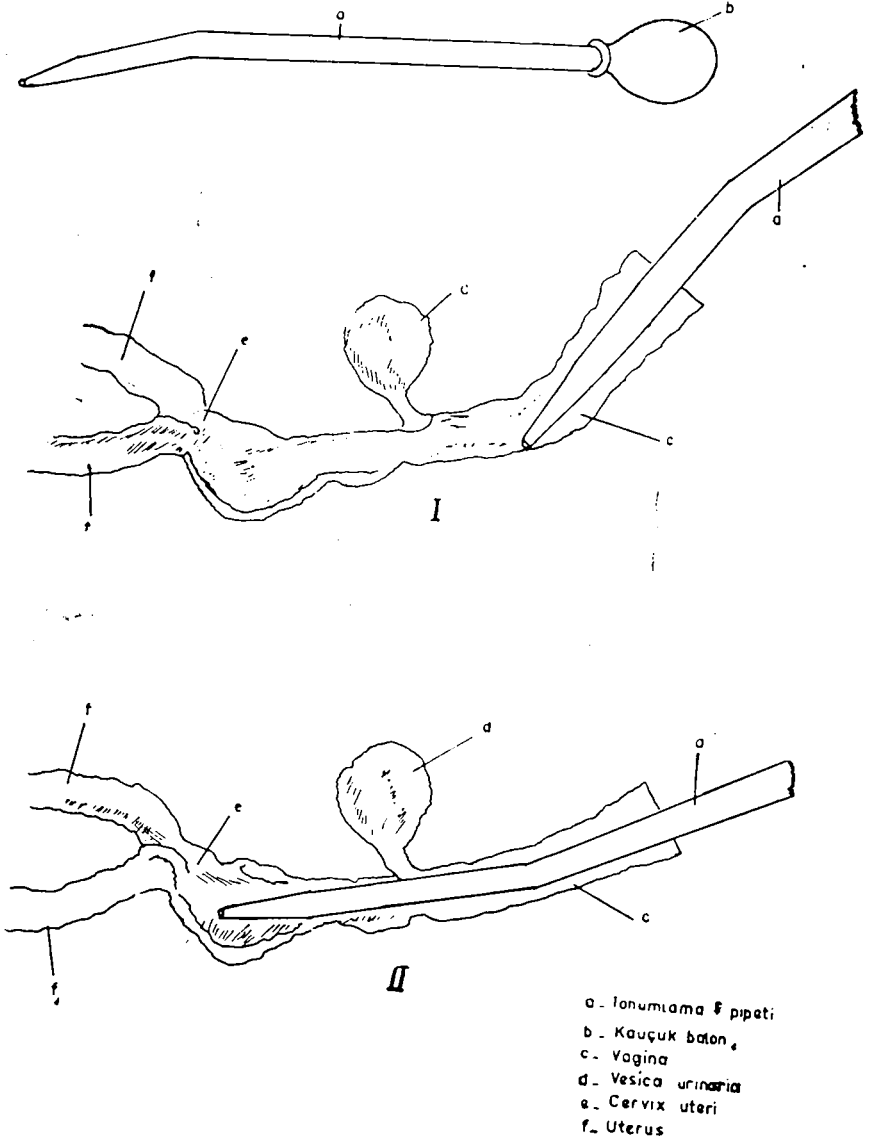
Sperma pipete çekildikten sonra tohumlanacak tavşan, teknisyenin baldır ve dizleri üzerinde sırt üstü zaptedilir. Pipetin dışa bükük kısmı üste gelecek biçimde tutulur; ve vaginaya, bir dirençle karşılaşınca kadar sokulur (Şekil 3-1). Bu noktada pipetin daha ileri gitmediği anlaşılınca, içe bükük kısmı üste gelmek üzere vagina içinde 180 derece döndürülür. Ve pipetin 8-10 sm. lik kısmı girinceye kadar ileri sürülür (Şekil 3-11). Pipetin dış ucunda bulunan puvar, baş ve şahadet parmakları arasında sıkılarak içindeki sperma vaginanın dip kısımlarına verilmekle tohumlanma tamamlanır.

Burada dikkat edilecek en önemli noktalar, pipeti vesika urinaria'ya sokmamak ve vaginayı zedeleyecek biçimde güçlü bir basınçla kullanmamaktır.

Bu tohumlama metodu, dişi tavşan, tohumlamayı yapacak teknisyenin iki baldırı arasında başaşağı, karnı dışa dönük biçimde, hayvanın iki arka ayağından tutup zaptedilerek te uygulanır.

Bir tohumlama dozunda verilecek sperma miktarı ve tutacağı spermatozoit yoğunluğu, çeşitli araştırmacılara göre değişiklik göstermektedir: Bir tohumlamada verilecek sperma miktarı 0,2-0,8 sm³. ve tutması gerekli spermatozoit yoğunluğu da 90,000 ila 50 milyon arasındadır. 1000-5000 misli sulandırılan ve dozunda 90 bin spermatozoit bulunan spermalarla yapılan tohumlamalardan normal dölverimi alınmıştır^{3, 5}.

Tavşanlarda ovulasyon, öbür çiftlik hayvanlarında olduğu gibi belli bir zamanda kendiliğinden olmaz. Bu nedenle ovulasyon için ya fiziksel, ya da dıştan verilecek hormonal bir uyarıcıya gerek vardır. Fiziksel uyarı kopulasyonla sağlanır. Erkek dişiyi aşınca



Sek II. 3

ovulasyon olur. Tabii çiftleşme için kendiliğinden geçerli ve doğal olan bu uyarı suni tohumlama uygulamasında, ancak vazektomize edilmiş erkek tavşanlarla yapılabilir. Sun'i olarak tohumlanacak dişi tavşanlarda, ovulasyonu sağlamak için en çok başvurulan teknik, interavenöz yolla (kulak venasına) 20 I. U. LH. (Luteinizing Hormone) verilmesidir. Hormon enjeksiyonu tohumlamadan önceki 5

saatlik ve tohumlamayı izleyen bir kaç saatlik süre içinde yapılabilir. LH. enjeksiyonunun tohumlamadan önce, yada tohumlamadan sonra yapılmış olması dölvverimini etkilememektedir¹.

Verilen bu sınırlı bilgilerden anlaşılacağı gibi, tavşanlarda suni tohumlamayı uygulamak çiftlik hayvanlarındaki uygulamalarla kıyaslanmıyacak ölçüde kolaydır. Cinsiyet kontrolüyle ilgili çalışmalarımız sırasında tavşanlarda suni tohumlama yöntemini geniş ölçüde uyguladık. Gerek, suni vajenle sperma almak, gerek dişileri tohumlama pratiğinin, birkaç denemeden sonra kazanılabildiğini hemen belirtmeliyiz. Ne varki, bu konuda bir başarısızlığa uğramamak için söz konusu teknik, yada yöntemlerin uygulanmasında gerekli olan özellik ve koşullara uyulması gerekmektedir.

Literatür

1. **Adams, C. E.** 1956. *A Study of fertilization in the rabbit : the effect of post-coital ligation of the Fallopian tube or uterine horn.* J. Endocrin., 13, 296-308. (A.B.A., 25, No. 301)
2. **Aslanjan, M. M.** 1956. *Vlijanize rezima ispolzovanija samcov krilikov na kacestvo ih semeni i kacestvo potomstva.* (The effect of regime of using rabbit bucks on the quality of their semen and progeny.) Bjull. nauc.-teh. Inform. ukr. nauch. -issled. Inst. Zivotn. Stepn. Raion. Akad. Ivanova "Askanija-Nova" (Askanija-Nova), 1 (2), 21-25. (A. B. A., 26, No. 951)
3. **Chang, M. C.** 1951 a. *Fertilization in relation to the number of spermatozoa in the Fallopian tubes of rabbits.* Ann. Ostet. Gincc., 2, 918-925.
4. ——— 1959. *Fertilizing capacity of spermatozoa.* Recent progres in the endocrinology of reproduction. Ed. by C. W. Lloyd. New York and London: Academic Press Inc. Pp. 131-163. Discussion: 163-165. (A. B. A., 28, No. 1694).
5. **Cheng, P., and Casida, L. E.** 1948. *Fertility in rabbits as affected by the dilution of semen and the number of spermatozoa.* Proc. S c. exp. Biol. (N. Y.), 69, 36-39. (A. B. A., 17, No. 596).
6. **Doggett, V. C.** 1956. *Periodicity in the fecundity of male rabbits.* Amer. J. Physiol., 187, 455-450. (A. B. A., 26, No. 956.)
7. ——— 1958. *Libido and its relationship to periodicity in the fecundity of male rabbits.* Fed. Proc., 17, 36. (A. B. A., 26, No. 1543.)
8. **Frölich, A., and Venge, O.** 1948. *Semen production in different breeds of rabbit.* Acta agric. suecana, 3 83-88. (A. B. A., 16, No. 1500.)

9. **Gregoire -- A. T., Bratton, R. W., and Foote, R. H.** 1958. *Sperm output and fertility of rabbits ejaculated either once a week or once a day for forty-three weeks.* J. Anim. Sci., 17, 243-248. (A. B. A., 26, No. 1546).
10. **Kordts, E. and Scholtyssek, S.** 1952. *Untersuchungen über die Eignung verschiedener Sperma-Verdüner (Nahr-und Salzlösungen, Eig-elb-Verdüner und Serum präparate).* Kiel. milchw. ForscBer., 4, 701-708. (A. B. A., 21, No. 1413)
11. **Lovelock, J. E., and Polge, C.** 1954. *The immobilisation of spermatozoa by freezing and thawing and the protective action of glycerol.* Biochem. J., 58, 618-622.
12. **Macirone, C., and Walton, A.** 1938. *Fecundity of male rabbits as determined by "dummy matings".* J. Agric. Sci., 28, 122-134. (A. B. A., 4, 403).
13. **Maule, J. P.** 1962. *The semen of animals and artificial Insemination.* 316-327. Commonwealth agricultural bureaux farnham royal, Bucks., England.
14. **Mukherjee, D. P., Johari, M. P., and Bhattacharya, P.** 1951. *The gelatinous mass in rabbit semen.* Nature (Lond.), 168, 422-423. (A. B. A., 19, No. 1882.)
15. **Polge, C.** 1957. *Low-temperature storage of mammalian spermatozoa* Proc. roy. Soc., B, 147, 498-508. (A. B. A., 26, No. 1155.)
16. **Rowlands, I. W.** 1957. *Insemination of the guinea-pig by interaperitoneal injection.* J. Endocrin., 16, 98-106. (A. B. A., 26, No. 963.)
17. ——— 1958. *Insemination by intraperitoneal injection.* Proc. Soc. Stud. Fertil., 10, 150-157, (A. B. A., 27, No. 1000).
18. **Smith, A. U., and Polge, C.** 1950. *Survival of spermatozoa at low temperatures.* Nature (Lond.), 166, 668-669. (A. B. A., 19 No. 24).
19. **Dakes, H. H.** 1955. *The Physiology of Domestic Animals.* 7 th. Ed., P. 125-126. Comstock Publishing Association, Ithaca, N. Y.
20. **Mann, T.** 1954. *The Biochemistry of Semen.* P. 2., Methuen and CO. LTD., London.
21. **Sevinç, A.** 1968. *Experiments On Sex Control by Electrophoretic Separation of Spermatozoa In The Rabbit.* J. Reprod. Fert., 16, 7-14.

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 5.5.1973 günü gelmiştir.