

# HİNDİ SPERMASININ DEĞİŞİK SULANDIRICILARDA 4<sup>0</sup> C' de SAKLANMASI

Ergun Akçay<sup>1</sup>

Necmettin Tekin<sup>2</sup>

Murat Selçuk<sup>3</sup>

Mesut Çevik<sup>4</sup>

## Preservation in various diluents of Turkey Semen at 4<sup>0</sup>C

### Summary

*The aim of this research was to investigate the effects on sperm motility and semen pH various diluent during the short -term preservation of turkey semen.*

*During the research, semen was collected from turkeys by manual massage method twice a week, the spermatological parameters of samples which were collected from turkeys were assessed and ejaculate volume (ml), sperm motility (%), sperm concentration ( $\times 10^9$ /ml), the percentage of abnormal sperm and semen pH were recorded as averaged  $0.24 \pm 0.02$ ,  $75.22 \pm 1.90$ ,  $5.36 \pm 0.42$ ,  $8.29 \pm 0.65$ ,  $7.87 \pm 0.04$  respectively.*

*Diluted semen with S-2, Ringer, Avian, FTS and skimmed milk was stored at 4<sup>0</sup>C. Sperm motility of semen held at 4<sup>0</sup>C after 7 hours was averaged  $29.0 \pm 5.26$ ,  $41.0 \pm 1.8$ ,  $7.0 \pm 2.71$ ,  $32.5 \pm 5.01$ ,  $2.0 \pm 1.11$  resp. Nevertheless the motility of undiluted semen (control group) was found  $6.0 \pm 6.0$  at the end of this time.*

*pH values of semen held 4<sup>0</sup>C after 7 hours were recorded as averaged  $7.45 \pm 0.09$ ,  $6.37 \pm 0.05$ ,  $7.21 \pm 0.21$ ,  $6.46 \pm 0.08$ ,  $6.43 \pm 0.05$  for diluted semen with S-2, Ringer, Avian, FTS and skimmed milk respectively and  $7.47 \pm 0.08$  for undiluted semen.*

*With this study, it was concluded that Ringer diluent was superior to the other diluents.*

**Key Words:** Turkey, Preservation of Semen, Diluents

### Özet

*Bu çalışma, hindi spermasının kısa süreli saklanması sırasında farklı sulandırıcıların spermatozoa motilitesi ve sperma pH sı üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.*

*Araştırma süresince, ejakülatlar hindilerden haftada iki kez masaj yöntemiyle alınmıştır. Hindilerden elde edilen örneklerin başlıca spermatolojik özellikleri değerlendirilmiş ve ortalama ejakülat miktarı (ml), motilite (%), yoğunluk ( $\times 10^9$ /ml), anormal spermatozoa oranı (%) ve spermanın*

<sup>1</sup> Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Ankara.

<sup>2</sup> Prof. Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Ankara.

<sup>3</sup> Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Ankara.

<sup>4</sup> Araş. Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Ankara.

pH değerleri sırasıyla  $0.24 \pm 0.02$ ,  $75.22 \pm 1.90$ ,  $5.36 \pm 0.42$ ,  $8.29 \pm 0.65$ ,  $7.87 \pm 0.04$  olarak kaydedilmiştir.

S-2, Ringer, Avian, FTS ve yağsız süt ile sulandırılan spermalar  $4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmışlardır.  $4^{\circ}\text{C}$ 'de tutulan sulandırılmış spermaların 7 saat sonra ortalama spermatozoa motilitesi sırasıyla  $29.0 \pm 5.26$ ,  $41.0 \pm 1.80$ ,  $7.0 \pm 2.71$ ,  $32.5 \pm 5.01$ ,  $2.0 \pm 1.11$  olmuş, kontrol grubu olarak tutulan sulandırılmamış spermaların ise, motilitesi  $6.0 \pm 6.0$  bulunmuştur.

S-2, Ringer, Avian, FTS, yağsız süt ile sulandırılan ve  $4^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan spermaların 7 saat sonra ortalama pH değerleri sırasıyla  $7.45 \pm 0.09$ ,  $6.37 \pm 0.05$ ,  $7.21 \pm 0.21$ ,  $6.46 \pm 0.08$ ,  $6.43 \pm 0.05$  olmuş, sulandırılmamış spermaların pH'si ise,  $7.47 \pm 0.08$  bulunmuştur.

Bu çalışma ile, hindi spermalarının kısa süreli saklanmasında Ringer sulandırıcısının diğerlerine göre üstün olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Hindi, Spermaların saklanması, sulandırıcı

### Giriş

Dünyada olduğu gibi ülkemizde de nüfusun hızla artışı, buna karşılık üretilen hayvansal proteinin bu artışa ayak uyduramaması sonucunda, hayvansal protein açığı gittikçe büyümektedir. Bu nedenle değişik ve ekonomik çözüm yolları bulmaya yönelmek zorunlu hale gelmiştir.

Hayvansal protein açığının kapatılmasında son yıllarda üzerinde dikkatle durulan bir konu, hindi yetiştiriciliğidir.

Türkiye'de de uzun yıllardır hindi yetiştiriciliği yapılmasına karşın, bilimsel ve ekonomik olarak hindi yetiştiriciliği girişimleri çok yenidir. Geçmişten beri yapılagelen hindi yetiştiriciliği küçük aile işletmeciliği biçimindedir. Ancak son yıllarda sürü yetiştiriciliği gündeme gelmiştir.

Hindi yetiştiriciliği hem entansif hemde ekstansif yetiştiriciliğe uygundur. Ekstansif yetiştiricilikte; hibrit yetiştirme, yem, barınak vb masraflardan önemli ölçüde tasarruf sağlanır. Sürünün idareside diğer tür hayvanlara göre daha kolaydır. Hindi etinin tüketilme alışkanlığının pek fazla olmamasına karşın yağsız oluşu, kolesterol yönünden fakir oluşu ve vitaminlerce zengin oluşu diğer etlere karşı üstünlük sağlar.

Evcil hindi (Meleagridis Gallopava), Galliformes takımının Meleagrididae familyasındadır. Evcilleştirilmemiş olan Meleagridis Ocelate Orta Amerika'da yaşar. Hindi büyük bir olasılıkla ilk kez Meksika'da evcilleştirilmiş ve 16. yüzyılın başlarında İspanyollar tarafından Avrupa'ya getirilmiştir. 17. yüzyılda İngiltere'de İslam ülkelerinin tümü "Türkiye" olarak anılıyor ve Kuzey Afrika kökenli Beç tavuğunada İngilizce "Türkiye tavuğu" deniliyordu. Beç tavuğuna benzemesi nedeniyle hindiye de bu ad verilmiş ve zamanla hindi yalnız "Turkey" adıyla anılmaya başlanmıştır (12).

Hindilerde cinsel olgunluğa (puberta) ulaşma yaşı 24-28. haftalar arasındadır (6-7 ay) Yetiştirmede kullanılma yaşı ise 30. hafta ve sonrasıdır. Kanatlılarda ilk sun'i tohumlama çalışmalarını İvanov (13) başlatmıştır. Araştırmacı kesilen bir horozun ductus deferensinden basınçla sperma almış ve bu sperma ile tohumlama yapmıştır. Payne (20) ise, spermayı bir pipet yardımıyla aşım sonrası tavuğun kloakasından elde etmiştir.

Burrows ve Quinn (7), kanatlılarda yeni bir yöntem geliştirerek, spermayı karın ve sırt bölgelerine uygulanan masaj ile almayı başarmışlardır. Bu yöntemin ilkeleri esas alı-

arak masaj yöntemi zamanla hindi de uygulanmıştır (12).

Kanatlılarda reproduktif sistemin anatomisi ve fizyolojisine ilişkin temel bulgular masaj yoluyla sperma alma yönteminin gelişmesine yol açmıştır. Lake ve ark. (16), lenf bezlerinin salgılarının spermaya karışmasını önlemek için basınçla sperma alma yöntemini bırakmış, bu amaçla sperma toplama kabına bağladığı özel bir vakumlu sistemle, spermayı dışkı ve diğer kirlenici etkilerden koruduğunu bildirmiştir.

Araştırmacılar (1,7,15,24), masaj yöntemi ile alınan sperma miktarının, doğal olarak bırakıldan (ejekule edilen) daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Kanatlılarda sun'î tohumlama ile ilgili çalışmalar yapan Lake ve Stewart (15), masaj yöntemi ile hafif hindilerden alınan sperma miktarını 0.08-0.30 ml, ağır hindilerde ise, 0.1-0.33 ml olarak bildirmişlerdir.

Yapılan bir araştırma da, geniş göğüslü beyaz hindilerde ortalama sperma miktarı 0.28 ml olarak saptanmıştır (5).

Doğal aşımında özellikle farklı fiziki yapıları nedeniyle düşük dölverimi elde edilen hayvanlarda, sun'î tohumlama bu durumu giderici bir rol oynayarak dölverimini yükseltmektedir. Bu durum özellikle hindi yetiştiriciliğinde gözlenmektedir. Büyüme ve gelişme yönünde yapılan yoğun bilimsel araştırmalarla selekte edilen hindiler, geniş göğüslü ve kısa bacaklı hale gelmişlerdir. Böylesi hindi tiplerinde dölleme organları normal fonksiyonlarını göstermesine karşın, normalden fazla ağırlığa sahip olmaları nedeniyle çiftleşmeleri başarılı olmamaktadır. Sun'î tohumlama yoluyla geniş göğüslü hindilerde dölverimi %80'in üzerine çıkarılmıştır.

Hindi sun'î tohumlamasında, erkekten alınan sperma, sulandırılmadan taze olarak

yada değişik sulandırıcılarla sulandırılarak kullanılabilir. Ancak hindi spermasının miktarının çok az, yoğunluğunun çok yüksek olması ve çok sayıda dişinin tohumlamada kullanılacak olması nedeniyle, uygun sulandırıcılarla sulandırılarak tohumlamada kullanılması gereklidir. Araştırmacılar, uygun sulandırıcılar ile sulandırılan spermanın 5-15°C arasında 6-48 saat fertilité yeteneğini kaybetmeden kalabildiğini bildirmişlerdir (16,22). Sperma sulandırıcıları vizkozitesi yüksek olan spermayı kullanılabilir hale getirmekle birlikte, spermatozoonlara enerji kaynağı sağlamakta ve hücrelerin transportunda rol oynamaktadır. Kimi durumlarda sulandırıcı, sperma alınmadan önce cam kadehlere konulabilir. Çünkü sperma alınırken miktarı çok az olduğundan sadece kadehin kenarına bulaşır ve işlenmesi çok zor olur. Alınan sperma hemen tohumlamada kullanılacaksa herhangi bir fizyolojik sulandırıcı ile sulandırılarak kullanılır. Sulandırılmış spermanın in vitro ortamlarda uzun süreler saklanması olası değildir.

Sulandırıcı olarak; sodyum sitrat solusyonu, Ringer solusyonu, serum fizyolojik, yağsız süt tozu, fosfat buffer solusyonu ve değişik araştırmacıların formüle ettikleri sulandırıcılar (BPSV, Van Wanbeke, Minnesota) kullanılmaktadır.

Kanatlı spermasının sulandırılması ve saklanması, araştırma alanında oldukça geniş yer tutmuştur. İlk sulandırma denemeleri eksik bilgiler nedeniyle özellikle doğal sulandırıcılar (seminal plazma) üzerinde yürütülmüştür (2,6). Ancak sonraları motilitenin ve morfolojik yapı bütünlüğünün korunması amacıyla seminal plazmanın yapısına uygun sulandırıcılar formüle edilmiştir. Bu gelişmelerle birlikte spermatozoanın oksijen alımı için albumin, enerji gereksinimi için fruktoz, sulandırıcının tonusu için sülfat iyonları,

ozmotik basıncın devamlılığı için glutamat, motilitenin düzenlenmesi için kalsiyum iyonlarının gerekliliği ortaya çıkarılmıştır. Bunun yanında spermatolojik özelliklerin korunması bakımından pH değişimlerinin de öneminin çok büyük olduğu ve bu değişimlerin dölverimini önemli ölçüde düşürdüğü bildirilmiştir (4,11).

Ashizawa ve Okauchi (2), %20 ve %40 seminal plazma içeren farklı sulandırıcılarla sulandırılan spermada motilite ve oksijen tüketiminin %40 seminal plazma içeren grupta daha yüksek gözlediklerini bildirmişlerdir.

Blesbois ve Caffin (6), immunoelktroforetik ve immunodiffüzyon metodları ile kanatlı seminal plazmasında total proteinin (8mg/ml) yarısının (4mg/ml) albumin olduğu saptanmış ve buna bağlı olarak albumin içeren sulandırıcılar ile spermatozoa motilitesinin arttığını bildirmişlerdir.

Sexton (22), sulandırılmamış hindi sperması için optimum ısıyı 15°C olarak, sulandırılmış sperma için ise, en iyi sonucun 5°C den 15°C'ye kadar olan sıcaklık değişimlerinde 6 saat saklama ile alındığını bildirmiştir. Buna bağlı olarak, yapmış olduğu bir çalışmada 5, 15 ve 25°C'de spermatozoa motilitesinin ve fertilitésinin etkilenmediğini ortaya koymuştur. Yine yapılan başka bir çalışmada (23), spermatozoon viabilitesinin sulandırılmış spermada, sulandırılmamış spermaya oranla daha yüksek gözlendiği bildirilmiştir.

Lake ve ark.(16 ), hindi spermasının kısa süreli saklanması üzerine yaptıkları bir çalışmada, sulandırılmış hindi spermasını 5°C'de 24 saat beklettikten sonra tohumlama yaparak % 79 dölverimi saptamışlardır.

Giesen ve Sexton (10), yapmış oldukları bir çalışmada ejakülatları 5°C'de 24 saat saklamak suretiyle farklı kompozisyonlarda olan BPSE (Beltsville Poultry Semen Extender), IMV (Instruments for Veterinary

Medicine) ve Minnesota sulandırıcılarını karşılaştırmış ve en yüksek fertilitiye BPSE sulandırıcısında ulaştıklarını bildirmişlerdir.

Hindi spermasının pH'sını, Watanabe (26) 7.8 olarak, Ilgaz ve Tekin (12) ise, 7.56 olarak bildirmişlerdir.

Bu çalışma, hindi spermasının sulandırılması ve in vitro 4°C'de kısa süreli saklanması sırasında farklı sulandırıcıların spermatozoa motilitesi ve pH üzerine etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

### Materyal ve Metod

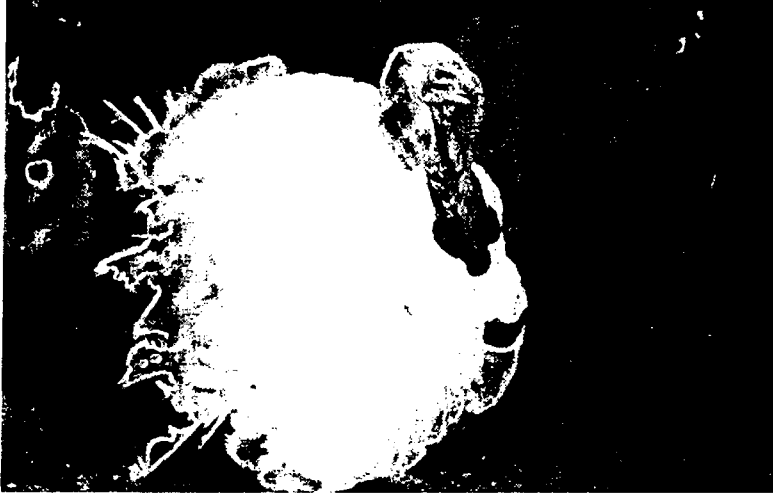
Çalışmada, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama çiftliğinde barındırılan 32 haftalık 5 adet California ırkı geniş göğüslü beyaz hindi kullanılmıştır (Resim 1).

#### *Spermanın Alınması:*

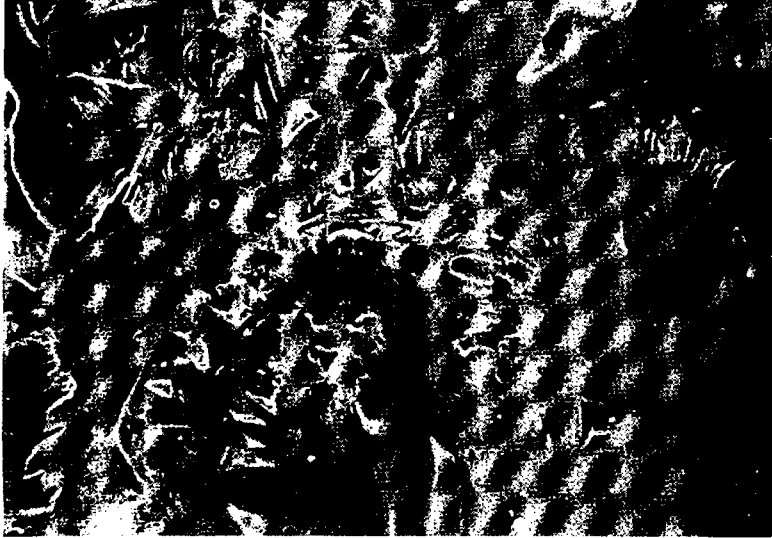
Araştırmanın başlangıcında hindiler iki hafta süreyle sperma vermeye alıştırmışlardır. Araştırma süresince spermalar masaj yöntemiyle haftada iki kez alınmıştır. Hindilerden sperma alma işlemi yalnız bu iş için kullanılan özel bir bölmede yapılmıştır. Bir yardımcı personel tarafından bacaklarından tutularak tesbit edilen hindiler, kloaka bölgesine kuyruk sokumundan dorso-ventral, abdomene ise cranio-caudal yönde yapılan masajlarla uyarılmış, erekte olan kopulasyon organına (phallus) baş ve işaret parmağıyla yapılan basınçla ejakulatın bir cam kadeh içerisine toplanması sağlanmıştır (Resim 2).

#### *Spermatolojik Parametrelerin Saptanması:*

Hindilerin her birinden haftada iki kez olmak üzere toplam 45 ejakülat alınmıştır. Alınan ejakülatlar laboratuvarında muayene edilerek miktar, motilite, yoğunluk, pH, anormal spermatozoa oranları değerlendirilmiştir (12).



**Resim 1: Geniş göğüslü beyaz hindi (Kalifornia hindsisi)**  
**Picture 1: Broad breasted white turkey (California turkey)**



**Resim 2: Hindilerden masaj yöntemiyle sperma alınması**  
**Picture 2: Semen collection by massage method in turkey**

### Spermanın Sulandırılması:

Spermatolojik özellikleri tesbit edilen ejakülatlar mix ejakülat haline getirilerek, 6 eşit kısma bölünmüş ve biri kontrol grubu (sulandırılmamış) olacak şekilde 37°C'deki su

banyosunda bulunan S-2, Ringer solusyonu, avian, fizyolojik tuzlu su (FTS) ve yağsız süt tozu (%10) sulandırıcıları ile 1:10 oranında sulandırılmıştır.

S-2 Sulandırıcısı		Ringer Sulandırıcısı		Avian sulandırıcısı	
Sakkaroz	4.0 g	NaCl	9.5 g	NaCl	0.8 g
Glukoz	0.5 g	KCl	0.2 g	TES	1.37 g
NaCH <sub>3</sub> COO.3H <sub>2</sub> O	1.0 g	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.26 g	NaOH	2.75 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.15 g	NaHCO <sub>3</sub>	0.1 g	Glukoz	0.6 g
NaHCO <sub>3</sub>	0.2 g	Glukoz	1.0 g	Add. Dist.Su	100 ml
Asetik Asit (%10)	0.2 ml	Yumurta Sarısı	%20		
Add. Dist. Su	100 ml	Add. Dist. Su	1000 ml		

Daha sonra yukarıda sözü edilen sulandırıcılar ile sulandırılan spermalar 4°C'de 7 saat süre bekletilerek her saat başı motilite ve pH yönünden muayene edilmiştir.

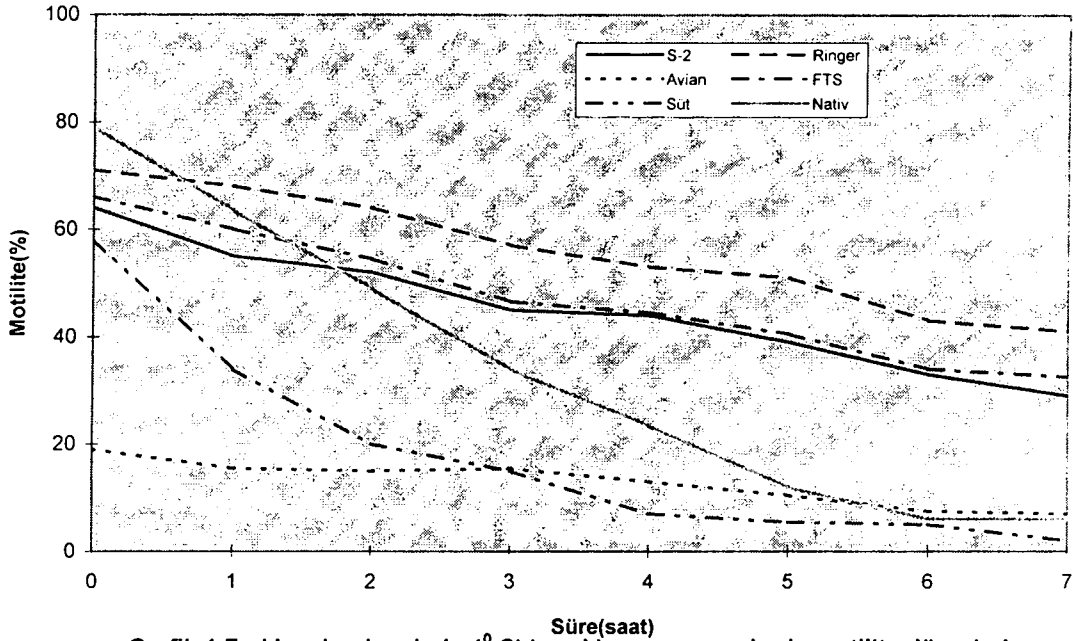
Çalışmada elde edilen verilerin ortalama değerleri ve standart hataları hesaplanmış, tek yönlü varyans analizi uygulanarak gruplar arası farklılıklar değerlendirilmiştir. Farklı olan gruplar ise Duncan testi kullanılarak tesbit edilmiştir.

### Bulgular

Çalışmada, geniş göğüslü beyaz ırk 5 hindiden toplam 45 ejakülat alındı. Her hindiden alınan ejakülatlara ilişkin başlıca spermatolojik özellikler değerlendirildi ve bu değerler Tablo 1'de verildi. Buna göre genel olarak ortalama ejakülat miktarı 0.24 ± 0.02

ml., spermatozoa motilitesi % 75.22 ± 1.90, spermatozoa yoğunluğu 5.36 ± 0.42 x 10<sup>9</sup> / ml., anormal spermatozoa oranı % 8.29 ± 0.65 ve spermanın pH değeri 7.87 ± 0.04 bulunmuştur.

S-2, Ringer, Avian, fizyolojik tuz solusyonu ve yağsız süt tozu sulandırıcıyla sulandırılarak 4°C'de saklanan hindi spermalarında 0. saatte saptanan spermatozoa motilitesi (%) sırasıyla 64.0 ± 5.4, 71.0 ± 2.3, 19.0 ± 2.7, 66.0 ± 4.2, 58.0 ± 6.6 iken, 7. saatte saptanan spermatozoa motilitesi (%) sırasıyla 29.0 ± 5.2, 41.0 ± 1.8, 7.0 ± 2.7, 32.5 ± 5.0, 2.0 ± 1.1 olarak kaydedilmiştir. Sulandırılmamış spermada ise bu değerler 0. saatte 79.0 ± 2.7, 7. saatte 6.0 ± 6.0 olarak bulunmuştur (Tablo 2). Farklı sulandırıcılar ile sulandırılan spermaların motilite düzeyleri Grafik 1 de verilmiştir.



Grafik 1. Farklı sulandırıcılarla 4<sup>0</sup> C'de saklanan spermalarda motilite düzeyleri  
 Graphic 1. Motility levels of semen stored in various diluents at 4<sup>0</sup> C

Tablo 1. Hindi ejakulatlarında saptanan başlıca spermatojistik parametrelerin ortalama değerleri.  
 Table 1. Determinated average values of essential spermatojistik parameters in turkey ejaculates

Hindi No.	Ejakulat sayısı (n)	Miktar (ml) X ± Sx	Motilite-(%) X ± Sx	Yoğunluk (X10 <sup>9</sup> /ml) X ± Sx	Anormal spermatozoa -Oranı (%) X ± Sx	Ph - X ± Sx
1	9	0.21±0.05	67.68±4.34	5.33±1.15	9.33±0.88	7.92±0.07
2	8	0.23±0.05	68.75±4.70	3.81±0.80	6.94±0.72	7.83±0.12
3	10	0.23±0.03	72.50±3.67	4.41±0.62	7.60±1.00	7.82±0.06
4	8	0.24±0.03	85.0±2.11	5.37±0.82	12.62±2.66	7.95±0.03
5	10	0.28±0.04	82.0±3.27	7.55±0.90	5.65±0.55	7.84±0.11
Toplam	45	0.24±0.02	75.22±1.90	5.36±0.42	8.29±0.65	7.87±0.04

**Tablo 2.** 4 °C de saklanan hindi ejakülatlarında saptanan ortalama motilite değerleri.**Table 2.** Determinated average values of motility in tukey ejaculates that preserved at 4 °C

Sulandırıcı	$\frac{S-2}{X \pm Sx}$	$\frac{Ringer}{X \pm Sx}$	$\frac{Avian}{X \pm Sx}$	$\frac{FTS}{X \pm Sx}$	$\frac{Süt}{X \pm Sx}$	$\frac{Nativ}{X \pm Sx}$
0. saat	64.0±5.4 <sup>b</sup>	71.0±2.3 <sup>b</sup>	19.0±2.7 <sup>a</sup>	66.0±4.2 <sup>b</sup>	58.0±6.6 <sup>b</sup>	79.0±2.7 <sup>b</sup>
1. saat	55.0±7.9 <sup>bc</sup>	68.0±2.9 <sup>c</sup>	15.5±2.6 <sup>a</sup>	60.0±4.9 <sup>c</sup>	34.0±7.0 <sup>ab</sup>	63.5±3.8 <sup>c</sup>
2. saat	52.0±7.2 <sup>b</sup>	64.0±3.4 <sup>b</sup>	15.0±2.5 <sup>a</sup>	54.5±6.5 <sup>b</sup>	20.0±5.1 <sup>a</sup>	49.0±4.1 <sup>b</sup>
3. saat	45.0±6.5 <sup>b</sup>	57.0±3.0 <sup>b</sup>	15.5±3.3 <sup>a</sup>	46.5±6.2 <sup>b</sup>	15.0±3.9 <sup>a</sup>	34.0±3.4 <sup>b</sup>
4. saat	44.0±5.8 <sup>b</sup>	53.0±3.0 <sup>b</sup>	13.0±4.2 <sup>a</sup>	44.5±5.7 <sup>b</sup>	7.0±2.0 <sup>a</sup>	23.5±4.6 <sup>b</sup>
5. saat	39.0±5.6 <sup>b</sup>	51.0±2.3 <sup>b</sup>	10.5±4.2 <sup>a</sup>	40.5±5.3 <sup>b</sup>	5.5±2.0 <sup>a</sup>	12.0±5.5 <sup>a</sup>
6. saat	33.0±5.7 <sup>b</sup>	43.0±2.1 <sup>b</sup>	7.5±2.7 <sup>a</sup>	34.0±4.9 <sup>b</sup>	5.0±2.1 <sup>a</sup>	6.0±6.0 <sup>a</sup>
7. saat	29.0±5.2 <sup>b</sup>	41.0±1.8 <sup>b</sup>	7.0±2.7 <sup>a</sup>	32.5±5.0 <sup>b</sup>	2.0±1.1 <sup>a</sup>	6.0±6.0 <sup>a</sup>

\* Aynı satırda değişik işaretleri taşıyan sulandırıcılar arası fark P<0.001 düzeyinde önemlidir.

S-2, Ringer, Avian, fizyolojik tuz solüsyonu ve süt sozu sulandırıcılarıyla sulandırılarak 4 °C'de saklanan hindi spermalarında 0. saatte saptanan pH değerleri sırasıyla 7.37 ± 0.12, 6.46 ± 0.11, 7.04 ± 0.17, 6.73 ± 0.11, 6.48 ±

0.6; 7. saatte ise, 7.45 ± 0.9, 6.37 ± 0.5, 7.21 ± 0.21, 6.46 ± 0.08, 6.43 ± 0.05 şeklinde bulunmuştur. 0. ve 7. saatlerde sulandırılmamış spermada ise pH değerleri sırasıyla 7.47 ± 0.04 ve 7.47 ± 0.08 olarak kaydedilmiştir (Tablo 3).



**Tablo 3.** 4<sup>0</sup> C de saklanan hindi ejakülatlarında saptanan ortalama pH değerleri.**Table 3.** Determinated average values of pH in turkey ejaculates that preserved at 4<sup>0</sup> C

Sulandırıcı	_S-2_ X ± Sx	_Ringer_ X ± Sx	_Avian_ X ± Sx	_FTS_ X ± Sx	_Süt_ X ± Sx	_Nativ_ X ± Sx
0. saat	c 7.37±0.12	a 6.46±0.11	b 7.04±0.17	ba 6.73±0.11	a 6.48±0.06	c 7.47±0.04
1. saat	cd 7.29±0.07	a 6.29±0.05	c 7.17±0.15	b 6.59±0.10	ab 6.44±0.03	d 7.42±0.02
2. saat	b 7.42±0.05	a 6.36±0.05	b 7.23±0.17	a 6.53±0.10	a 6.46±0.03	b 7.46±0.02
3. saat	b 7.44±0.06	a 6.33±0.06	b 7.19±0.17	a 6.44±0.09	a 6.45±0.05	b 7.43±0.05
4. saat	c 7.43±0.05	a 6.40±0.03	b 7.16±0.17	a 6.50±0.10	a 6.46±0.02	c 7.43±0.05
5. saat	c 7.44±0.05	a 6.40±0.04	b 7.18±0.17	a 6.46±0.08	a 6.46±0.03	c 7.44±0.05
6. saat	b 7.46±0.09	a 6.34±0.05	b 7.26±0.18	a 6.44±0.08	a 6.45±0.03	b 7.47±0.08
7. saat	b 7.45±0.09	a 6.37±0.05	b 7.21±0.21	a 6.46±0.08	a 6.43±0.05	b 7.47±0.08

\* Aynı satırda değişik işaretleri taşıyan sulandırıcılar arası fark P<0.001 düzeyinde önemlidir.

### Tartışma ve Sonuç

Masaj yöntemi ile 5 erkek hindiden alınan toplam 45 ejakülatta başlıca spermatolojik özellikler hem her hindinin kendi ejakülatları arasında hemde değişik hindilerden elde edilen ejakülatlar arasında değerlendirilmiştir (Tablo 1) . Tür, ırk, birey, yaş, çevre ısı, ışık ve sperma alma sıklığı gibi faktörlerden kolaylıkla etkilenebilen spermatolojik özellikler araştırma süresince değişiklikler göstermekle birlikte fizyolojik sınırlar içinde kalmıştır.

Hindilerden elde edilen ejakülatlarda genel ortalama sperma miktarı 0.24±0.02 ml

olarak saptanmıştır. Çalışmada elde edilen sperma miktarı ile ilgili bulgular birçok araştırmacının bulguları ile benzerlik göstermektedir(1,5,7,8,24).

Spermatozoa motilitesi 1 nolu hindide %67.68 ile en düşük, 4 nolu hindide %85.00 ile en yüksek değerde bulunmuştur. Genel ortalama spermatozoa motilitesi ise %75.22 olarak birçok araştırmacının bulguları ile benzerlik göstermekle birlikte (1,21), kimi araştırmacıların bulgularından düşük (5) , kimilerinden ise yüksek (12,15,26) bulunmuştur. Spermatozoa motilitesi çevre şartlarından özellikle saklama yöntemi ve ısı, sulandırıcı, O<sub>2</sub> ve ışıktan ko-

laylıkla etkilenebilmekte ve bu nedenlerle de çok farklı bulgular saptanmaktadır. Araştırmada, taze spermada ortalama spermatozoa motilitesinin %75.22 saptanmasına karşın Stenova (25), %66, Kamerer ve ark. (14), %56 bildirdikleri halde, Besulin (5), %89, Ansah ve ark. (1) %82.87, %80.39 ve %75.56 olarak bildirmektedirler.

Spermatozoa yoğunluğu, ortalama olarak  $5.36 \times 10^9$ /ml saptanmıştır. Araştırmacılar hindi spermasının yoğunluğunu ortalama olarak  $7.9 \times 10^9$ /ml olarak bildirmişlerdir (1,24).

Anormal spermatozoa oranı ise, %8.29 ile normal sınırlar içerisinde kalmıştır.

Ejekülatların pH değerleri birbirlerine oldukça yakın değerlerde belirlenmiş, bireyler arasında önemli farklılıklar göstermemiş ve fizyolojik sınırlar içerisinde saptanmıştır. Elde edilen ejekülatların ortalama pH değeri 7.87 olarak ölçülmüş ve bu konuda çalışma yapan araştırmacıların bulguları ile benzerlik göstermiştir. Ilgaz ve Tekin (12), hindi spermının pH'sını 7.56 olarak, Watanabe (26) ise 7.80 olarak bildirmiştir.

Hindi sperması üzerinde çalışmış olan araştırmacıların bulguları ile bu araştırmada ortaya çıkan değerler arasında kimi farklılıkların gözlenmesinin en önemli sebeplerinden birisi olarak değişen çevre koşulları gösterilebilir. Çünkü kanatlılar özellikle ısı, ışık ve beslenme şartlarından çok çabuk etkilenmektedirler. Bu konuda özellikle Williams ve Siopes (28), ışığın sperma kalitesi üzerine pozitif etkisini bildirmektedirler.

Spermanın kısa süreli saklanması amacıyla, sulandırılmış spermanın  $5^{\circ}\text{C}$ 'de birkaç saat yada birkaç gün inkube edilerek fertilizasyon yeteneğinin korunmasıdır. Spermanın saklanması için kullanılan sulandırıcının bileşimi seminal plazma örnek alınarak oluşturulmaktadır. Bu yönde yapılan bir araş-

tırmada (2), %20 ve %40 seminal plazma içeren farklı sulandırıcılarla sulandırılan spermada motilite ve oksijen tüketiminin %40 seminal plazma içeren grupta daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Blesbois ve Caffin (6), immunoelektroforetik ve immunodiffüzyon metodları ile kanatlı seminal plazmasında total proteinin (8mg/ml) yarısının (4mg/ml) albumin olduğu saptanmış ve buna bağlı olarak albumin içeren sulandırıcılar ile spermatozoa motilitesinin arttığını bildirmişlerdir.

Yapılan bu araştırmada,  $4^{\circ}\text{C}$ 'de 7 saat süre ile beş farklı sulandırıcı ile saklanan spermalar, özellikle 0. ve 7. saat sonunda motilite ve pH yönünden değerlendirilmiştir.

Motilite yönünden yapılan değerlendirmede sulandırıcılar arasında büyük farklılıklar gözlenmiştir (Tablo 2). 0. saatte avian sulandırıcısı diğerlerinden farklı ( $P < 0.001$ ) bulunmuş ve en yüksek motilite ise %71 ile Ringer sulandırıcısında saptanmıştır. Ancak avian sulandırıcısı dışında diğer dört sulandırıcı arasında istatistiksel açıdan farklılık gözlenmemiştir. 1. saat sonunda Ringer, FTS ve nativ sperma arasında ilişki gözlenmiş, süt ve avian sulandırıcıları ise diğerlerinden  $P < 0.001$  düzeyinde farklılık göstermiştir. 2., 3. ve 4. saat sonunda S-2, Ringer, FTS ve nativ sperma kendi aralarında ilişkili bulunmuş, avian ve süt sulandırıcıları ise diğerlerinden önemli ölçüde düşük motilite göstermiştir. 5., 6. ve 7. saat sonunda ise avian, süt ve nativ sperma, S-2, Ringer ve FTS'den önemli derecede farklı bulunmuştur.

Bu sonuçlara göre, motilite yönünden birbirleri ile karşılaştırılan bu sulandırıcılar arasında 7. saat sonunda Ringer, FTS ve S-2 sulandırıcılarında diğerlerine göre daha yüksek motilite elde edilmiştir. En yüksek motilite %41 ile Ringer sulandırıcısında saptanmıştır.

S-2, FTS, avian, süt ve nativ spermada ise sırasıyla %29, %7, %32.5, %2 ve %6 olarak tesbit edilmiştir. Motilite oranlarındaki bu farklılıkların değişik sulandırıcıların yanısıra pH değişimlerinin de etkili olabileceği düşünülerek, saklama sırasında pH değişimlerinde belirlenmiş ve önemli bulgulara ulaşılmıştır (Tablo 3). Buna göre 7. saat sonunda yüksek motilite elde edilen Ringer ve FTS sulandırıcılarında pH değerleri (6.37-6.46) birbirleri ile ilişkili bulunmuş ve diğer sulandırıcılardan önemli derecede farklılık ( $P < 0.001$ ) göstermiştir. Başlangıç pH değerleri ise Ringer, FTS ve süt sulandırıcıları kendi aralarında, S-2 ve nativ sperma kendi arasında, avian ve FTS de kendi arasında ilişkili bulunmuş ve oluşan bu farklılıkların  $P < 0.001$  düzeyinde önemli olduğu saptanmıştır.

Bu sonuçlar dikkate alınarak motilite ve pH değerleri arasında ters bir ilişki olduğu düşünülebilir. Ancak motilitenin düşüklüğünü tamamen pH değişimlerine bağlamak olası değildir. Burada tüm çevre koşullarının etkisi dikkate alınmalıdır. Özellikle oksijen, ışık ve sulandırıcı iyon yapısının spermatozoa motilitesi üzerine direkt etkisi olduğu değişik araştırmacıların yapmış oldukları çalışmalarla (4,9,27) saptanmıştır.

Motilitenin korunması amacıyla spermatozoanın oksijen alımı için albumin, enerji gereksinimi için fruktoz, sulandırıcının tonusu için sülfat iyonları, ozmotik basıncın devamlılığı için glutamat, motilitenin düzenlenmesi için kalsiyum iyonlarının gerekliliği değişik araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (17).

Bu çalışmada kullanılan sulandırıcılardan farklı olarak Giesen ve Sexton (10), yapmış oldukları bir çalışmada ejakülatları 5°C'de 24 saat saklamak suretiyle farklı kompozisyonlarda olan BPSE (Beltsville Poultry

Semen Extender), IMV (Instruments for Veterinary Medicine) ve Minnesota sulandırıcılarını karşılaştırmış ve en yüksek fertilitiye BPSE sulandırıcısında ulaştıklarını bildirmişlerdir.

Williams ve Siopes (28), ışığın hindi sperması üzerine etkilerini araştırmış ve karanlıkta saklanan spermanın viabilitesinin düşük olduğunu, anormal ve ölü spermatozoa oranlarının artış gösterdiğini bildirmiştir. Buna bağlı olarak bu çalışmada, sulandırılarak 4°C'de buzdolabında karanlıkta saklanan spermaların motilitesinin olumsuz yönde etkilenmiş olabileceği düşünülmelidir.

Sperma alma yönteminin, özellikle de sperma toplama kadehinin sıcaklığının motilite ve fertilitiye üzerine etkisi olabileceğini düşünen Sexton (22), bu yönde yapmış olduğu çalışmasında 5, 15 ve 25°C'de spermatozoa motilitesinin ve fertilitesinin etkilenmediğini ortaya koymuştur. Çalışmada ise sperma oda sıcaklığında (20-22°C) alınmıştır. Yine yapılan başka bir araştırmada (23), spermatozoon viabilitesinin sulandırılmış spermada, sulandırılmamış spermaya oranla daha yüksek gözlemlendiği bildirilmiştir.

Yine yapılan çalışmadan farklı olarak, Bakst ve Cecil (3), BSA (Bovine Serum Albumin)'nin spermatozoa motilitesi üzerine etkisini araştırmış ve 7°C'de 24 saat sakladıkları spermaya %1 oranında BSA katarak motil spermatozoa oranının belirgin bir şekilde arttığını saptamışlardır.

Araştırmada, sulandırılmış sperma için kullanılan 4°C'lik ısı Sexton (22)'un bildirdiği, 5 - 15°C'ler arasının alt sınırındadır. Bununla birlikte Sexton'un elde ettiği sonuçlar ile benzerlik saptanmıştır. Ayrıca aynı araştırmacı, sulandırılmamış hindi sperması için optimum ısıyı 15°C olarak bildirmektedir.

Bu çalışmada elde edilen veriler birçok araştırmacının bulguları ile benzerlik göstermiştir. Ancak, kimi araştırmacıların verilerinden daha düşük, kimilerinden ise daha yüksek olması aynı yada farklı ırktan hindilerde, değişik sulandırıcılarla ve farklı amaçlarla çalışılmasından kaynaklanmıştır. Kanatlıların çevre koşullarına çok duyarlı olmaları, nedeniyle saptanan sonuçlar üzerinde çevre koşullarının etkisi de düşünülmelidir.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada 7 saatlik saklama süresi sonunda Ringer + yumurta sarısı sulandırıcısının motilite üzerine etkisinin diğer sulandırıcılara oranla daha iyi olduğu gözlemlendi.

#### Literatür

1. Ansağ.G.A.; Buckland, R.B.; Chan, C.W. and Touchburn, S.P. (1984) Effect of frequency of semen collection and insemination, and number of spermatozoa inseminated on reproductive performance of turkeys. *Can J of Anim Sci*, 64:2, 351-356.
2. Ashizawa, K. and Okauchi, K. (1984) Stimulation of sperm motility and oxygen consumption of fowl spermatozoa by a low molecular weight fraction of seminal plasma. *J Reprod Fertil*, 71(2): 593-598
3. Bakst, M.R. and Cecil, H.C. (1992) Effect of bovine serum albumin on motility and fecundity of turkey spermatozoa before and after storage. *J Reprod Fert*, 94, 287-293.
4. Bakst, M.R. and Cecil, H.C. (1992) Research note : effects of agitation and temperature changes on turkey sperm viability after twenty-four hour storage. *Poult Sci*, 71(2): 395-397
5. Besulin, V.; Karkach, B. and Kazakov, S. (1984) The regime for using turkey toms in artificial insemination. *Ptitsevodstvo No.7*, 18-20.
6. Blesbois, E. and Caffin, J.P. (1992) "Serum like" albumin of fowl seminal plasma and effects of albumin on fowl spermatozoa stored at 4 degrees C. *Br Poult Sci*, 33(3): 663-670
7. Burrows, W.H. and Quinn, J.P. (1937) The collection of spermatozoa from the domestic fowl and the turkey. *Poultry Sci*, 16: 19-24
8. Cecil, H.C. and Bakst, M.R. (1984) Testicular weights, ductus deferens semen volumes, and sperm concentration of turkeys with high and low ejaculate volumes. *Poult Sci*, 63: 1432-1437
9. Clarke, R.N.; Sexton, T.J. and Ottinger, M.A. (1982) Effect of holding temperature and storage time on respiratory rate, motility and fertility of chicken and turkey semen. *Poult sci*, 61(9): 1912-1917
10. Giesen, A.F. and Sexton, T.J. (1983) Beltsville poultry semen extender. 9. Effect of storage temperature on turkey semen held eighteen hours. *Poult Sci*, 62(7): 1305-1311
11. Huyghebaert, G. and De Groote, G. (1983) The effect of diluent, storage temperature and number of spermatozoa on fertility and hatchability results obtained with turkey semen stored for 6 hours. *Arch Geflügelk*, 47, 103-109.
12. Ilgaz, B. ve Tekin, N. (1990) Amerikan Bronzu Hindilerde spermatolojik özellikler ve sun'i tohumlama uygulaması üzerinde çalışmalar. *AÜ Vet Fak Derg*, 37 (3), 620-631.
13. Ivanov, E. (1912) Artificial insemination in birds. *J. Roy. Microsc. Soc.*, in: W. Busch., K. Löhle und W. Peter, *Künstliche Besamung beim Nutztieren* 494-514. VEB Gustav Fisher Verlag. 1982
14. Kammerer, D.M.; Moreng, R.E.; Muller, H.D. and Hobbs, H.W. (1971) Turkey semen evaluation for fertility prediction. *Poultry Sci*, 51: 77-82

15. Lake, P.E. and Stewart, J.M. (1978) Artificial insemination in poultry. Ministry of agriculture, fisheries and food. Bulletin 213
16. Lake, P.E.; Chermis, F.L. and Wishart G.J. (1984) Effect of aeration on the fertilising ability of turkey semen stored for 48 hours at 5 and 15 °C: A study from the 33rd to the 47th week of age. *Reprod Nutr Develop*, 24(2), 147-153.
17. Lake, P.E. and Ravic, O. (1987) Effect on fertility of low numbers of fowl spermatozoa inseminated in aqueous diluent or semen components of the fowl and turkey. *Br Poult Sci*, 28(1): 75-80.
18. Nestor, K.E. and Brown, K.I. (1971) Semen Production in turkeys. *Poult Sci*, 50: 1705-1712
19. Parker, J.E. (1942) *MO: Agric. Ex. Sta. Res. Bull. no. 347. Asquatein: E.S.E. Hafez, Reproduction in farm animals. Washington State University Pullman, Washington. Bailliere, Tindall and Cox 7 and 8, Henrietta St., Covent garden, W.C.Z. London. 209.*
20. Payne, L.; Kahrs, A. and Polly, C. (1959) A study of semen production in turkey. *Poultry Sci*, 39: 29-35
21. Schramm, G.P. (1986) Liquid and deep-freeze preservation of turkey semen. *Monatshefte für Veterinärmedizin* .41:13,460-463.
22. Sexton, T.J. (1984) Effect of temperature and method of semen collection on the viability of turkey spermatozoa. *Poult Sci* , 63(4): 844-846
23. Sexton, T.J. (1988) Comparison of commercial diluents for holding turkey semen 24 hours at 5°C. *Poult Sci* , 67(1): 131-134
24. Smirnov, S and Aleksev, S. (1990) Collecting semen from turkeys. *Ptitsevodstvo No.8*, 23-24
25. Stenova, M. and Ledec, M. (1980) Vyber moriakov pre umelu inseminaciu Zivacisna Vyroba, 25 (L111) 8 : 617-631
26. Watanabe, M. and Kato, S. (1970) Studies on deep freezing preservation of turkey semen. *J Fac Fish Anim Husb Hirosima Univ.* 9, 133.
27. Wishart, G. J. (1981) The effect of continuous aeration on the fertility of fowl and turkey semen stored above 0 degrees C *Br Poult Sci*, 22(5): 445-450.
28. Williams, C.J. and Siopes, T.D. (1985) Effects of artificial illumination on turkey sperm viability. *Poult Sci* , 64(12): 2351-2357
29. Woodard, A.E. and Alplanalp, H. (1967) Semen production and fertilizing capacity of semen broad breasted bronze turkeys maintained in cages and on the floor. *Poultry Sci*, 46: 832