

# MEZBAHADAN ELDE EDİLEN SIĞIR OVARYUMLARINDA YÜZEYSEL FOLLİKÜL POTANSİYELİNİN BELİRLENMESİ VE OOSİT ASPİRASYONU

Şükrü KÜPLÜLÜ<sup>1</sup> Mustafa ÜN<sup>2</sup>

## *Determination of the peripheral follicle potential of the slaughtered bovine ovaries and oocyte aspiration*

**Summary:** *The aim of this study was to investigate the mean ovary dimensions of different age and pregnancy status cows and the potential of the all and good quality oocytes obtained by follicle aspiration.*

*The dimentions of 233 ovaries obtained from age grouped animals (Group I, pregnant cows; Group II, prepubertal calves; Group III, non-pregnant heifers and Group IV, non-pregnant cows) were measured and recorded. The follicles on the ovaries (2, 2-5 and 5-8 mm diameter) were counted and punctured separately with a 18 G neddle held on a 5-ml syringe.*

*The mean ovary dimensions, number of visible follicles per ovary, number of oocytes per ovary, mean aspiration rate and the rate of morphologically good oocyte in study groups were; 29.1x17.05x14, 11.05, 3.8, %34.5 and %45.2 in Group I; 21.8x15.4x10.6, 4.3, 1.6, %39.5 and %20 in Group II; 24.5x16.6x15.2, 11.8, 6.8, %58.1 and %53.9 in Group III and 32x27.6x21.2, 10.7, 7, %68 and %53.2 in Group IV.*

*As a result, a positive correlation between the ovary dimentions and the oocyte yield was observed, as the oocyte potential of the ovaries decreased in prepubertal calves (Group II). Parameters like ovary dimentions and oocyte yield were found similar in all groups except Group II, and a correlation between aspiration rate and operator's practice was evident.*

**Key words:** *Bovine, oocyte aspiration, oocyte quality, ovary, slaughterhouse*

**Özet:** *Sunulan çalışmanın amacı, mezbahada kesilen sığırlardan elde edilen ovaryumların boyutları ile yüzeysel follükül potansiyelinin belirlenmesi ve aspirasyon tekniği ile in vitro fertilizasyonda kullanılabilir oosit oranının saptanmasıdır.*

*Gebe (Grup I), prepubertal dişi (Grup II), düve (Grup III) ve gebe olmayan ineklerden (Grup IV) elde edilen toplam 233 ovaryumun boyutları ölçüldü. Ovaryum yüzeyindeki 2 mm, 2-5 mm ve 5-8 mm'lik follüküller sayılıp, 18 gauge'luk iğnelerle oositler aspire edildi.*

*Çalışma gruplarında ortalama ovaryum boyutları, sayılan follükül sayıları, aspire edilen oosit sayıları, aspirasyon başarısı ve in vitro fertilizasyonda kul-*

1. Prof. Dr.. AÜ Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Ankara.  
2. Araş. Gör.. EÜ Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

lanılabilir oosit (iyi kalite oosit) oranları sırasıyla; I. grupta, 29.1x17.05x14, 11.05, 3.8, %34.5 ve %45.2; II. grupta, 21.8x15.4x10.6, 4.3, 1.6, %39.5 ve %20; III. grupta, 24.5x16.6x15.2, 11.8, 6.8, %58.1 ve %53.9 ve IV. grupta 32x27.6x21.2, 10.7, 7, %68 ve %53.2 olarak bulundu.

Sonuç olarak ovaryum boyutu ile oosit potansiyeli arasında ilişki olduğu, en küçük ovaryum boyutlarına sahip prepubertal danalarda oosit potansiyelinin sınırlı kaldığı, benzer ovaryum boyutlarına sahip diğer gruplarda yüzeysel follikül ve oosit potansiyelinin yüksek olduğu, aspirasyon başarısının ise kişisel tekniğe bağlı olarak artabileceği kanaatine varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Mezbaha, oosit aspirasyonu, oosit kalitesi, ovaryum, sığır

### Giriş

Genetik özellikleri iyi olan ineklerin sayısını arttırmak amacı ile yaygın olarak kullanılan güncel yöntemlerden bir tanesi de, embriyo üretimi ve transferidir. İneklerden süperovulasyon uygulanarak elde edilen embriyoların sayılarının sınırlı ve maliyetlerinin yüksek oluşu, son yıllarda araştırmacıları *in vitro* embriyo üretimine yönlendirmiştir (6, 24).

Sığır ovaryumları canlının doğumundan ölümüne kadar oosit deposu olarak görev yapmaktadır. *In vitro* embriyo üretiminde yeni doğan buzağı, dive, gebe ve gebe olmayan ineklerin ovaryumlarındaki genellikle 2-8 mm çapındaki folliküllerden elde edilen oositler kullanılmaktadır (25). İki mm'nin altındaki folliküllerden elde edilen oositlerin hormon reseptörlerinin olmaması, gıda alış-verişini yeterli düzeyde yapamaması, mayoz bölünmeyi engellemekte, 8 mm'nin üstündeki folliküllerden elde edilen oositler ise atrezi dalgasına girmeleri nedeniyle *in vitro* embriyo üretiminde sınırlı olarak kullanılmaktadır (7).

Prado ve ark. (15), yeni doğan buzağuların ovaryumunda 44-65 follikül bulunduğu ve bunların 16-20 adedinin 2-3 mm ve üzerinde olduğunu belirtmektedirler. Gordon (5) ise; pubertastan itibaren hormonal uyarıya bağlı olarak gelişen follikül popülasyonunda, 2-8 mm çapındaki folliküllerin sayısının 21-24 arasında değiştiğini belirtmektedir.

Gebe ineklerde follikül dalgaları devam etmekte, folliküllerin gelişim hızları azalırken, atrezi dalgasının etkinliği artmaktadır (16, 19).

Günümüz teknolojileri ile inek ovaryumunun sahip olduğu binlerce oositten sadece sınırlı sayıda veziküler follikülden faydalanabilmekte ve oositler bu folliküllerden aspirasyon yöntemi ile toplanmaktadır (10). Canlı hayvanlarda seksüel siklus ve gebelik sırasında gelişen her follikül dalgasında, laparoskopi/endoskopi ve transvaginal ultrasonografi yöntemiyle folliküllerden oositler aspire edilmektedir. Mezbahada kesilen hayvanlardan ise toplanan ovaryumlardan yüzeysel folliküllerin direkt aspirasyonu ucuz ve önemli bir oosit kaynağıdır (5).

Aspirasyon işlemi canlı hayvanlarda otomatik aspiratörlerle yapılırken, mezbahadan elde edilen ovaryumlardan oositler enjektörlerle toplanmaktadır. Aspirasyon başarısını, kişisel teknik, kullanılan iğne çapı, aspirasyon vakum gücü ve follikül çapı etkilemektedir. Yapılan çalışmalara göre optimum vakum 70-100 mmHg basınç, aspirasyon iğnesinin çapı ise 17-18 gauge olmalıdır (2, 3, 27).

Periferik folliküllerden aspire edilen oositler etrafları değişik sayıda (0-5 katlı) cumulus hücreleriyle sıkıca çevrili, kumlu ya da homojen bir ooplasmaya sahip şekilde görünürler. Küçük çaplı iğnelerle, yüksek aspirasyon basıncıyla veya deneyimsiz operatörler tarafından aspire edilen oositler, etraflarındaki cumulus

hücreleri ayrılmış, çıplak oositler olarak görülmüşler ve *in vitro* embriyo üretiminde kullanılamazlar (18).

Sunulan çalışmada, mezbahada kesilen sığırların ovaryum boyutları ile oosit potansiyeli arasındaki ilişkinin belirlenmesi, aspirasyon tekniğinin geliştirilmesi ve aspire edilen oositlerin morfolojileri ölçüt alınarak, *in vitro* fertilizasyonda kullanılabilir oosit oranlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

Bu çalışma Çubuk mezbahasında kesilen sığırlardan elde edilen toplam 233 ovaryum kullanılarak gerçekleştirildi. Gebe olan sığırlardan (Grup I), prepubertal dişilerden (Grup II), düvelerden (Grup III) ve gebe olmayan ineklerden (Grup IV) elde edilen ovaryumlar incelendi.

Her gruba ait sağ ve sol ovaryumların uzunlukları, genişlikleri ve derinlikleri kompasla ölçüldü. Ovaryumların üzerindeki küçük (2 mm), orta (2-5 mm) ve büyük (5-8 mm) boyuttaki atrezi sürecine girmemiş folliküller sayıldı. Gordon (5)'un belirttiği yöntemle göre, ucuna 19-20 gauge'lik iğne takılmış 5 ml'lik plastik enjektörle, follikül duvarının üst kısmından, 45°'lik bir açıyla punksiyon yapılarak aspirasyon gerçekleştirildi. Aspire edilen folliküller sıvı ve cumulus-oosit kompleksleri follikül büyüklüklerine ve sağ-sol ovaryuma göre ayrı olarak toplandı ve aspirasyon başarısı araştırıldı.

Oositlerin değerlendirilmesi ise Shamsuddin ve ark. (18)'nin tanımladığı yöntemle yapıldı. Oositi çevreleyen cumulus hücre katmanı sayısı 3-4 ise birinci, 2-3 ise ikinci, 1-2 ise üçüncü ve çıplak ise dördüncü kalite olarak nitelendirilerek *in vitro* fertilizasyonda kullanılabilir oosit oranları belirlendi.

Çalışma sonuçlarının istatistiki değerlendirilmesi  $\chi^2$  testiyle yapıldı.

### Bulgular

Gruplarda elde edilen ovaryum boyutları, ortalama follikül ve oosit sayıları ve bu oositlerin morfolojik dağılımı Tablo I, II, III ve IV'de sunulmuştur.

Çalışma gruplarında ölçülen ovaryum boyutları karşılaştırıldığında, gebe inek, gebe olmayan düve ve inekler arasında istatistiki olarak bir fark saptanamazken prepubertal dişilerde elde edilen ovaryum ölçüleri diğerlerinden belirgin ölçüde düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) (Tablo I).

Ovaryumlar üzerinde sayılan toplam ve ortalama follikül sayıları (2-8 mm) incelendiğinde prepubertal dişiler dışındaki tüm gruplarda elde edilen sonuçlar birbirine benzer bulunurken, prepubertal dişilerde ise diğerlerinden belirgin ölçüde düşük bulunmuştur ( $p < 0.01$ ) (Tablo I).

Değişik follikül büyüklüklerine göre (2, 2-5 ve 5-8 mm) gruplarda sayılan toplam ve ortalama follikül sayıları incelendiğinde; 2 mm'lik follikül sayısı gebe olmayan düve ve inekte birbirine yakın sayılar belirlenmiş, en düşük sayılar ise prepubertal dişilerde bulunmuştur ( $p < 0.01$ ) (Tablo II). Ovaryum üzerindeki 2-5 mm'lik follikül sayıları gebe inek, gebe olmayan düve ve gebe olmayan ineklerde birbirine benzer, prepubertal dişilerde ise düşük kaydedilirken ( $p < 0.01$ ) (Tablo 3), ovaryum yüzeyinde sayılan 5-8 mm'lik toplam follikül sayıları gebe olmayan ineklerde en yüksek, gebe inek ve gebe olmayan düvelerde birbirine benzer ve en düşük olarak prepubertal dişilerde bulunmuştur ( $p < 0.01$ ) (Tablo IV).

Gruplarda sayılan toplam folliküllere aspirasyon işlemi uygulandığında en yüksek oranlar gebe olmayan düve ve ineklerde elde edilirken, gebe inek ve prepubertal dişilerde ise benzer sonuçlar elde edilmiş ve istatistiki olarak gebe olmayan düve ve ineklerden düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) (Tablo I). Follikül büyüklüklerine göre aspirasyon başarısı incelendiğinde ise 2 mm'lik folliküllerde gebe olmayan düve ve inekte birbirine benzer so-

Tablo I. Gruplarda ortalama ovaryum boyutları, follikül sayıları, aspirasyon oranı ve oositlerin morfolojik dağılımları (X±SD).  
Table I. Mean ovary dimensions, follicle and oocyte counts, aspiration rates and morphological grades of aspirated oocytes. (X±SD).

Parametreler		Grup I (Gebe inek)		Grup II (Prepubertal Dişi.)		Grup III ( Gebe Olmayan Düve)		Grup IV (Gebe Olmayan İnek)	
		Sağ (n:22)	Sol (n:22)	Sağ (n:3)	Sol (n:3)	Sağ (n:30)	Sol (n:30)	Sağ (n:61)	Sol (n:62)
Ortalama Ovaryum Ölçüsü (mm)	Uzunluk	29 ±3,1	29,2 ± 4,1	21,6 ± 7,0	22 ± 4,7	24,4 ± 4,5	24,7 ± 2,7	31 ± 7,0	33 ± 6,7
	Genişlik	17.5 ± 4,2	16,6 ± 0,9	14,6 ± 5,9	16,2 ± 4,3	16,7 ± 3,8	16,6 ± 4,3	26,3 ± 4,7	29 ± 5,6
	Derinlik	15 ± 2,6	13 ± 5,3	11,0 ± 5,1	10,2 ± 3,7	15,5 ± 4,9	15 ± 6,1	21 ± 5,0	24,5 ± 6,1
2-8 mm çapında toplam ve ortalama follikül sayısı		238 (10,8± 4,3) <sup>a</sup>	250 (11,3 ± 6,3) <sup>a</sup>	13 (4,6 ± 2,2) <sup>b</sup>	12 (4,0 ± 2,1) <sup>b</sup>	364 (12,1 ± 5,3) <sup>a</sup>	346 (11,5 ± 5,4) <sup>a</sup>	631 (10,3 ± 5,7) <sup>a</sup>	690 (11,1 ± 4,0) <sup>a</sup>
Aspirasyon işlemi uygulanan follikül sayısı		237	250	13	12	360	343	610	669
Elde edilen toplam ve ortalama oosit sayısı		86 (3,9 ± 1,3) <sup>d</sup>	82 (3,7 ± 2,1) <sup>d</sup>	6 (2,0 ± 0,7) <sup>c</sup>	4 (1,3 ± 0,6) <sup>c</sup>	223 (7,4 ± 3,1) <sup>c</sup>	187 (6,2 ± 2,6) <sup>c</sup>	446 (7,3 ± 2,8) <sup>c</sup>	421 (6,7 ± 2,3) <sup>c</sup>
Aspirasyon başarısı (%)		36,2	32,8	46	33,3	61,9	54,4	73,1	62,9
I. Kalite oosit oranı (%)		45,2		20		53,9		53,2	
II. Kalite oosit oranı (%)		25,6		20		20,2		15,4	
III. Kalite oosit oranı (%)		13,6		20		17,3		13,3	
IV. Kalite oosit oranı (%)		15,4		30		10,7		17,9	

Aynı satırda farklı harflerle işaretli sütunlar birbirinden farklıdır (a, b:p<0.01) (c, d, e:p<0.05)

nuçlar elde edilirken bu değer diğer gruplardan yüksek bulunmuştur ( $p<0.01$ ) (Tablo II). İki-beş mm'lik follüküllerde istatistiki açıdan gruplar arası önemli bir fark saptanamazken ( $p>0.05$ ) (Tablo III), 5-8 mm'lik follüküllerde Grup IV'de en yüksek, Grup I ve III'de benzer ve Grup II'de en düşük sonuçlar ( $p<0.01$ ) (Tablo IV) elde edilmiştir.

Gruplarda elde edilen oositlerin kaliteleri incelendiğinde; Birinci kalite oosit elde etme oranı gebe inek, gebe olmayan düve ve inekte benzer, prepubertal dişilerde ise diğer gruplardan düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Tablo I). İkinci ve III. kalite oosit elde etme oranları tüm gruplarda istatistiki olarak benzer ( $p>0.05$ ) ve çiplak oosit (IV. kalite) elde etme oranları pre-

Tablo II. Gruplarda ovaryum yüzeyindeki 2 mm'lik toplam ve ortalama follükül sayısı ve aspirasyonda elde edilen toplam ve ortalama oosit sayıları ( $X\pm SD$ ).

Table II. Mean and total follicle and oocyte counts obtained from 2 mm peripheral follicles in study groups ( $X\pm SD$ ).

GRUPLAR		Toplam ve Ortalama Follükül Sayısı	Punksiyon Yapılan Toplam Follükül Sayısı	Elde Edilen Toplam ve Ortalama Oosit Sayısı	Oosit Elde Etme Başarısı (%)
GRUP I (Gebe Hay.) (n=22)	Sağ (n=22)	71 (3.2 ± 1.1) <sup>b</sup>	70	40 (1.8 ± 0.4) <sup>c</sup>	56
	Sol (n=22)	92 (4.1 ± 2.0) <sup>b</sup>	92	29 (3.1 ± 0.9) <sup>c</sup>	31
GRUP II (Prepub. Dişi) (n=4)	Sağ (n=3)	7 (2.3 ± 1.6) <sup>c</sup>	7	3 (1.0 ± 0.7) <sup>c</sup>	42
	Sol (n=3)	8 (2.6 ± 0.4) <sup>c</sup>	8	2 (0.6 ± 0.2) <sup>c</sup>	25
GRUP III (Düve) (n=30)	Sağ (n=30)	156 (5.2 ± 1.1) <sup>a</sup>	153	100 (3.3 ± 0.9) <sup>d</sup>	65
	Sol (n=30)	124 (4.1 ± 2.1) <sup>a</sup>	124	60 (2.0 ± 0.3) <sup>d</sup>	48.3
GRUP IV (İnek) (n=62)	Sağ (n=61)	309 (5.0 ± 2.6) <sup>a</sup>	292	182 (2.9 ± 1.0) <sup>d</sup>	61.9
	Sol (n=62)	341 (5.5 ± 3.2) <sup>a</sup>	321	190 (3.0 ± 0.7) <sup>d</sup>	59

( $p<0.01$ ) Aynı kolonda farklı harflerle işaretli satırlar birbirinden farklıdır.

Tablo III. Gruplarda ovaryum yüzeyindeki 2-5 mm'lik toplam ve ortalama follükül sayısı ve aspirasyonda elde edilen toplam ve ortalama oosit sayıları ( $X \pm SD$ ).

Table III. Mean and total follicle and oocyte counts obtained from 2-5 mm peripheral follicles in study groups ( $X \pm SD$ ).

GRUPLAR		Toplam ve Ortalama Follükül Sayısı	Punksiyon Yapılan Toplam Follükül Sayısı	Elde Edilen Toplam ve Ortalama Oosit Sayısı	Oosit Elde Etme Başarısı (%)
GRUP I (Gebe Hay.) (n=22)	Sağ (n=22)	103 (4.6 ± 0.9) <sup>a</sup>	103	31 (1.4 ± 0.8) <sup>c</sup>	30
	Sol (n=22)	86 (3.9 ± 1.4) <sup>a</sup>	86	25 (1.1 ± 0.7) <sup>c</sup>	29
GRUP II (Prepubertal Dişi) (n=4)	Sağ (n=3)	4 (1.3 ± 0.2) <sup>b</sup>	4	2 (0.6 ± 0.3) <sup>d</sup>	50
	Sol (n=3)	4 (1.3 ± 1.1) <sup>b</sup>	4	2 (0.6 ± 0.2) <sup>d</sup>	50
GRUP III (Düve) (n=30)	Sağ (n=30)	111 (3.7 ± 0.9) <sup>a</sup>	110	69 (2.3 ± 1.1) <sup>c</sup>	62.6
	Sol (n=30)	141 (4.7 ± 1.9) <sup>a</sup>	138	76 (2.5 ± 1.4) <sup>c</sup>	55
GRUP IV (İnek) (n=62)	Sağ (n=61)	169 (2.5 ± 1.5) <sup>a</sup>	165	125 (2.0 ± 0.7) <sup>c</sup>	75
	Sol (n=62)	187 (3.0 ± 2.2) <sup>a</sup>	186	128 (2.0 ± 0.85) <sup>d</sup>	68.8

Aynı kolonda farklı harflerle işaretli satırlar birbirinden farklıdır. (a, b;  $p<0.01$ ) ve c, d;  $p<0.05$ )

pubertal dişi, gebe olmayan düve ve ineklerde benzer, gebe ineklerde ise diğer gruplardan daha düşük bulunmuştur.

Sağ ve sol ovaryumların, yüzeylerindeki follikül sayıları ve elde edilen oosit kaliteleri karşılaştırıldığında belirgin bir fark bulunamadı. Beş-8 mm'lik folliküllerden elde edilen toplam ve ortalama oosit sayıları incelendiğinde gebe ineklerde sağ ve sol ovaryumlar arasında belirgin bir fark bulunmuştur ( $p < 0.01$ ) (Tablo IV).

### Tartışma ve Sonuç

Gordon (5), sığır ovaryumlarının büyüklüğü ve üzerlerindeki yüzeysel follikül sayısı ile ilgili pek çok faktörün etkili olduğunu bildirmiştir. Bu faktörlerin başında hayvanın yaşı, östrus siklusunun dönemi, gebelik durumu, ırkı, bakım ve besleme koşulları ve bireysel farklılıklar gelmektedir.

Vaissaire (22), ırk, yaş ve bakım ve besleme koşullarını dikkate almadan sığır ovaryumunun ortalama ölçülerini uzunluk, genişlik ve derinlik olarak sırasıyla 38, 25 ve 15 mm olarak bildirmiştir. Sunulan çalışmada ise gebe, prepubertal dişi ve düvelerden toplanan ovar-

yumların ortalama boyutları sırasıyla  $29 \times 17.5 \times 5$ ,  $22 \times 15.4 \times 10.6$  ve  $24.6 \times 16.6 \times 15$  olarak ölçülmüş; bu değerler anılan araştırmacının bildirdiği değerlerden düşük, gebe olmayan ineklerde elde edilen ortalama ovaryum boyutları ( $32 \times 25.6 \times 21$ ) ise belirtilen değerlere benzerlik göstermektedir.

Vajta ve ark. (23) gebe hayvanların ovaryumlarındaki follikül potansiyelinin, gebe olmayan hayvanlarla aynı olduğunu bildirirken, Moreno ve ark. (14) ise gebe hayvanlardan toplanan ovaryumlarda daha fazla sayıda follikül bulunduğunu ve bunun ovaryuma kan akımı hızı ile ilgili olabileceğini ileri sürmektedir. Çalışmada gebe (Grup I) ve gebe olmayan hayvanlarda (Grup III ve IV) yüzeysel follikül sayıları birbirine benzer olması Vajta ve ark. (23)'larının bulgularına uyum göstermektedir. Prepubertal dişilerden (Grup II) elde edilen değerlerin düşük bulunması ise, henüz bu gruba ait hayvanların hormon uyarımı almamış olmalarına ve ovaryum boyutlarının küçük olmasına bağlamaktadır.

Ovaryumların alındığı hayvanların yaşı, ırkı ve hayvanların fizyolojik durumları gözlemlenmeden yapılan çalışmalarda, Fry ve ark.

Tablo IV. Gruplarda ovaryum yüzeyindeki 5-8 mm'lik toplam ve ortalama follikül sayısı ve aspirasyonda elde edilen toplam ve ortalama oosit sayıları ( $X \pm SD$ ).

Table IV. Mean and total follicle and oocyte counts obtained from 5-8 mm peripheral follicles in study groups ( $X \pm SD$ ).

GRUPLAR		Toplam ve Ortalama Follikül Sayısı	Punksiyon Yapılan Toplam Follikül Sayısı	Elde Edilen Toplam ve Ortalama Oosit Sayısı	Oosit Elde Etme Başarısı (%)
GRUP I (Gebe Hay.) (n=22)	Sağ (n=22)	64 (2.9 ± 1.2) <sup>b</sup>	64	15 (0.6 ± 0.3) <sup>f</sup>	24
	Sol (n=22)	72 (3.2 ± 0.6) <sup>b</sup>	72	28 (1.2 ± 0.2) <sup>e</sup>	39
GRUP II (Prepubertal Dişi) (n=4)	Sağ (n=3)	2 (0.6 ± 0.4) <sup>c</sup>	2	1 (0.3 ± 0.2) <sup>f</sup>	50
	Sol (n=3)	-	-	-	-
GRUP III (Düve) (n=30)	Sağ (n=30)	97 (3.2 ± 1.8) <sup>b</sup>	97	54 (1.8 ± 0.4) <sup>e</sup>	55.6
	Sol (n=30)	81 (2.7 ± 1.7) <sup>b</sup>	81	51 (1.7 ± 0.6) <sup>e</sup>	62.9
GRUP IV (İnek) (n=62)	Sağ (n=61)	153 (2.5 ± 1.5) <sup>a</sup>	153	140 (2.2 ± 0.3) <sup>d</sup>	91.5
	Sol (n=62)	162 (2.6 ± 1.9) <sup>a</sup>	162	103 (1.6 ± 0.9) <sup>d</sup>	63.5

Aynı kolonda farklı harflerle işaretli satırlar birbirinden farklıdır. (a, b;  $p < 0.05$ ) ve d, e, f;  $p < 0.01$ )

(4) mezbahadan topladıkları 968 siğir ovaryumunda, 2-10 mm çapında ortalama follikül sayısını 7.4 olarak belirlemişler ve bu follikül popülasyonunun büyük bir çoğunluğunun 2-5 mm'lik folliküllere ait olduğunu saptamışlardır. Lonergan ve ark. (13), 10 adet inek ovaryumunda 2-6 mm follikül sayısını ortalama 19.9, 6-10 mm'lik çapındaki follikül sayısını ise 3.8 bulmuşlardır. Thompson (21) ise mezbahadan topladığı 646 inek ovaryumunda, ortalama punksiyon yapılabilir follikül sayısını 9.4 olarak bildirmektedir. Sunulan çalışmada 2-8 mm çapındaki ortalama follikül sayıları, gruplara göre 4.0-12 follikül arasında değişken bulunmuştur. Prepubertal hayvanlara ait (Grup II) ovaryumlardaki follikül sayılarının yukarıda anılan araştırmacıların verilerinden düşük bulunması, bu hayvanların henüz ovaryum faaliyetlerinin başlamamış olmamasından ileri geldiği kanaatindeyiz. Grup I (11.05), Grup III (11.8) ve Grup IV (10.7)'deki follikül sayıları ise Fry ve ark. (4)'dan yüksek ve Thompson (21)'e benzer bulundu. Lonergan ve ark. ise (13)'den düşük bulunması, kullanılan hayvanların bireysel besleme ve ırk özelliklerinden ve bazı araştırmacıların saydıkları folliküllerin çaplarını belirtilmemesinden kaynaklandığı kanaati ortaya çıkmaktadır.

Ovaryum üzerindeki follikülleri çaplarına göre sınıflandıran araştırmacılar, Fry ve ark. (4) 2-5 mm çapındaki folliküllerin toplam popülasyonun %92'sini, 5-10 mm'lik folliküllerin ise %6'sını oluşturduğunu bildirmişlerdir. Carolan ve ark. (2) ineklerdeki folliküllerin %59'unun 6 mm'den küçük, %25'inin 6-8 mm arasında, %15.7'sinin 8 mm'den büyük olduğunu; Younis ve ark. (28) ise 2-5 mm çapındaki folliküllerden ovaryum başına 5 adet saydıklarını ileri sürmektedirler. Sunulan çalışmada, 2 mm, 2-5 mm, 5-8 mm çapındaki ortalama follikül sayılarında gruplar arasında istatistiksel farklılık Tablo II, III ve IV'de ilgili sütunlarda sunulmuştur. Çalışmada küçük follikül sayılarının toplam folliküllerin büyük bir bölümünü (%74) oluşturması, araştırmacılar ile paralellik göstermektedir. Ovaryum başına

düşen follikül sayısının 5 olarak bulunması da Younis ve ark. (28) ile uyum göstermektedir.

Mezbahadan toplanan inek ovaryumlarından aspirasyon tekniğinin kullanıldığı çalışmalarda ovaryum başına ortalama oosit miktarını; Katska ve Smorag (9) 10.2, Iwasaki ve ark. (8) 9.4, Suss ve ark. (20) 11.5, Berg ve Brem (1) 15.0, Preinberg ve ark. (16) 16.0, Sato ve ark. (17) 10.0, Vergos (26) 14.2 ve Lonergan (12) 9.7 olarak bildirmektedirler. Sunulan çalışmada toplam 233 ovaryumda, punksiyon işlemi uygulanan 2494 follikülden, %58'lik bir aspirasyon başarısı (en düşük %24 ve en yüksek %91.5) ile, ovaryum başına ortalama 6.2 oosit aspire edilmiştir. Elde edilen oosit sayısı yukarıda anılan çalışmalarda bildirilenlerden düşük olmasına rağmen, aspirasyon başarıları incelendiğinde sunulan çalışmada elde edilen %58'lik başarı, Katska ve Smorag (9)'nın %43'lük, Leibfried-Rutledge ve ark. (11)'nin %60'lık ve Vergos (26)'un %60'lık başarısına benzerlik göstermektedir. Ovaryum başına elde edilen oosit sayısının düşük bulunmasının prepubertal dişilerden toplanan 6 ovaryumdaki düşük follikül sayısı ile ilgili olabileceği kanaatine varıldı.

Carolan ve ark. (2) inek ovaryumlarında ovaryum başına aspire ettikleri ortalama 13.9 oositin %30.9'unu, I ve II. kalite, %32.4'ünü ise çıplak oosit olarak sınıflandırmışlardır. Lonergan (12) ise yine inek ovaryumlarındaki 2-6 mm'lik folliküllerden aspire edilen oositlerin %46.8'inin, 6 mm'den büyük folliküllerden aspire edilenlerin ise %70.2'sinin iyi kalitede olduğunu bildirmiştir. Sunulan çalışmada, 2 mm'lik follikül grubundaki oositlerin %21'inin, 2-5 mm'lik follikül grubundaki oositlerin %33'ünün ve 5-8 mm'lik follikül grubundaki oositlerin ise %51.6'sının iyi kalitede olduğu saptandı. Bu sonuçlar Lonergan ve ark. (13)'nin sonuçlarına benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak; gebe, gebe olmayan inek ve düvelerin benzer boyutlara sahip ovaryumlarının iyi bir oosit potansiyeline sahip olduğu, daha küçük ovaryum boyutlarına sahip olan prepubertal dişilerin yüzeysel folliküllerinin oosit kaynağı olarak sınırlı kaldığı, 19 gauge'luk iğne ile yapılan aspirasyonda ki-

şisel tekniğin geliştirilmesi ile follüküllerden %90 oranında oosit aspire edilebileceği, aspire edilen oositlerin %43'ünün *in vitro* fertilizasyonda kullanılabilir nitelikte bulunması ile mezbaha materyalinin ucuz bir oosit kaynağı oluşturduğu kanaatine varıldı.

### Kaynaklar

- Berg U, Brem G (1989) *In vitro* production of bovine blastocysts by *in vitro* maturation and fertilization of oocytes and subsequent *in vitro* culture. *Zuchthygiene*, **24**, 134-139.
- Carolan C, Monaghan P, Gallagher M, Gordon I (1994) *Effect of recovery method on yield of bovine oocytes per ovary and their developmental competence after maturation, fertilization and culture in vitro*. *Theriogenology*, **41**, 1061-1068.
- Catt JW (1996) *Intracytoplasmic sperm injection and related technology*. *Anim Reprod Sci*, **42**, 239-250.
- Fry RC, Niall EM, Simpson TL, Squires TJ, Reynolds J (1997) *The collection of oocytes from bovine ovaries*. *Theriogenology*, **47**, 977-987.
- Gordon I (1994) *Laboratory Production of Cattle Embryos*. CAB International Ltd.Co. , Philadelphia.
- Greve T, Madison V (1991) *In vitro* fertilization in cattle: A review. *Reprod Nutr Dev*, **31**, 147-157.
- Greve T, Madison V, Avery B, Callesen H, Hyttel P (1993) *In vitro* production of bovine embryos: A progress report and the consequences on the genetic upgrading of cattle populations. *Anim Reprod Sci*, **33**, 51-69.
- Iwasaki S, Kono T, Nakahara T, Shioya Y, Fukushima M, Hanada A (1987) *New methods of recovery of oocytes from bovine ovarian tissue in relation to *in vitro* maturation and fertilization*. *Jap J Anim Reprod*, **33**, 188-192.
- Katska L, Smorag Z (1984) *Number quality of oocytes in relation to age of cattle*. *Anim Reprod Sci*, **9**, 205-212.
- Le van Ty, Chupin D, Driancourt MA (1989) *Ovarian follicular population in buffaloes and cows*. *Anim Reprod Sci*, **19**, 171-178.
- Leibfried-Rutledge M L, Critser ES, Parrish JJ, First NL (1989) *In vitro* maturation and fertilization of bovine oocytes. *Theriogenology*, **31**, 61-74.
- Lonergan P (1992) *Studies in the *in vitro* maturation, fertilization and culture of bovine follicular oocytes*. PhD thesis, University College, Dublin.
- Lonergan P, Monaghan P, Rizoş D, Boland MP, Gordon I (1994) *Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization and culture in vitro*. *Mol Reprod Dev*, **37**, 48-53.
- Moreno JF, Flores-Foxworth G, Westhusin M, Kraemer DC (1993) *Influence of pregnancy and presence of a CL on quantity and quality of bovine oocytes obtained from ovarian follicles aspirated post-mortem*. *Theriogenology*, **39**, 271.
- Prado R, Rhind SM, Wright IA, Russel AJF, McMillen SM, Smith AL, McNeilly AS (1989) *Ovarian follicular populations, steroidogenic capacity and physiological status in post-partum suckling beef cows in high and low body condition*. *British Society of Animal Production (Winter Meeting)*, paper no.149.
- Preinberg GA, Tirmanis IY, Turka LK (1989) *Quantative and qualitative evaluation of isolated oocytes in cows*. *Referativnyi Zhurnal*, **2**, 349.
- Sato E, Matsumo M, Miyamoto H (1990) *Meiotic maturation of bovine oocytes in vitro*. *J Anim Sci*, **68**, 1182-1187.
- Shamsuddin M, Larsson G, Rodriguez-Martinez H (1993) *Maturation-related changes in bovine oocytes under different culture conditions*. *Anim Reprod Sci*, **31**, 49-60.
- Sivakumaran K, Calder M, Rajamahendran R (1991) *The influence of reproductive status on oocyte number and maturation in vitro and the effect of co-culture systems on fertilization and subsequent development*. *J Anim Sci*, **69**, 438.
- Suss U, Wuthrich K, Stranzinger G (1988) *Chromosome configuration and time sequence of the first meiotic division in bovine oocytes matured in vitro*. *Biol Reprod*, **38**, 871-880.
- Thompson A (1997) *Comparison between *in vivo* derived and *in vitro* produced preelongation embryos from domestic ruminants*. *Reprod Fertil Dev*, **9**, 341-354.
- Vaissaire JP (1977) *Sexualite et Reproduction des Mammiferes Domestiques et de Laboratoire*. Maloine SA, Paris.
- Vajta G, Macharty Z, Barandi Zs, Varga Zs (1992) *Embryos derived from the *in vitro* fertilization of oocytes of pregnant cows*. *Theriogenology*, **37**, 811-815.
- van Soom A, de Kruif A (1996) *Oocyte maturation, sperm capacitation and preimplantation development in the bovine: Implications for *in vitro* production of embryos*. *Reprod Dom Anim*, **31**, 687-701.
- van Soom A, de Kruif A (1998) *Bovine embryonic development after *in vivo* and *in vitro* fertilization*. *Reprod Dom Anim*, **33**, 261-265.
- Vergos E (1990) *In vitro* fertilization and embryo culture in cattle. PhD thesis, National University of Ireland, Dublin.
- Yang X, Jiang S, Foote RH (1993) *Bovine oocyte development following different oocyte maturation and sperm capacitation procedures*. *Mol Reprod Dev*, **34**, 94-100.
- Younis AI, Brackett BG, Fayrer-Hosken RA (1989) *Influence of serum and hormones on bovine oocyte maturation and fertilization in vitro*. *Gam Res*, **23**, 189-201.

### Yazışma Adresi:

Prof. Dr. Şükrü KÜPLÜLÜ  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı  
06110 / Dışkapı Ankara