

A.Ü. Veteriner Fakültesi Dölerme-Sun'i Tohumlama ve Histoloji-Embriyoloji
Kürsüleri

Prof. Dr. Afif Sevinç-Prof. Dr. Osman Hassa

SIVI AZOT BUHARINDA DONDURMA YÖNTEMİNİN ÇEŞİTLİ EVRELERİNDE, KOÇ SPERMATOZOİTLERİNDEKİ AKROZOM BOZUKLUKLARININ SAPTANMASI

Hazım Gökçen*

Reşat Nuri Aştı*

Determination Of The Occurrence Of Acrosomal Deformities In Ram Spermatozoa During The Different Stages Of Freezing The Semen Over Liquid Nitrogen

Summary: *The morphology and percent of acrosomae deformities in total of 12 ejaculates from 4 Merino rams were determined at different stages during freezing procedure.*

The sperm were frozen in straws and semen smears were and stained by Giemsa taken at the different stages of freezing process. The examinations were made under the microscope.

The acrosomal deformations in the fresh semen were increased after glycerol adding, but no relation was between the rates of the deformities and sperm motilities.

Özet: *Bu çalışmada, 4 merinos koçunun toplam 12 ejakulatında düşük ısıda dondurma yönteminin çeşitli evrelerinde spermatozoitlerde oluşan akrozom bozukluklarının biçimleri ve oranları saptandı.*

Sperma, payet yöntemiyle donduruldu. Dondurmanın çeşitli evrelerinden frotiler yapılarak Giemsa ile boyandı ve ışık mikroskopunda incelendi. Ayrıca, motilite oranları da saptandı.

* Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Uzmanlık Yüksek Okulu Dölerme ve Sun'i Tohumlama Bilim Dalı, Ankara, Türkiye.

** Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Kürsüsü, Ankara, Türkiye.

Koç spermatozoitlerindeki akrozom bozukluklarının, spermaya gliserol katılmasıyla arttığı ve bu bozukluklarla spermatozoit motilitesi arasında bir ilişkinin bulunmadığı saptandı.

Giriş

Ülkemizdeki koyun varlığı son sayımlara göre 45 milyon dolayındadır (12). Türkiye'deki toplam et üretiminin % 38'i, süt üretiminin de % 23'ü koyunculuktan sağlanır (17).

Koyunlardan elde edilen ürünlerin halkın beslenmesine ve ülke ekonomisine büyük katkıları vardır. Koyunculugumuzun dışsattım gelirleri içerisinde önemli bir payı vardır.

Ülkemizde koyun başına elde edilen verimin çokluk yeterli düzeyde bulunmadığı bilinmektedir. Bunun da başlıca nedeni, çevre koşullarının yetersizliği yanında, çoğu yerli koyun ırklarımızın, kimi ülkelerdeki koyunlara bakınca genotipik verim yapılarının düşük olmasıdır.

Türkiye'de, ilkin 1930'larda Karacabey Harasında ve çevresinde dar ölçüde başlatılan yerli koyun ırkları genotiplerinin merinos melezlemesi yoluyla geliştirilmesi çalışmalarına 1949 yılında daha geniş ölçüde geçilmiştir. Her ne kadar o zamanın dar koşulları ve sınırlı teknik olanakları yanında alınan sonuçlar önemsenecek ölçüde olmakla beraber, yurttan giderek çoğalan koyun varlığının gerçek potansiyelini geliştirmek bakımından yeter ölçüye ulaşamamıştır.

Yerli koyunlarımızın genotopik verim potansiyelini yaygın, pratik ve ekonomik biçimde artırmada en etkin aracın sun'i tohumlama olduğunda kuşku yoktur.

Ülkemizde, merinosla melezlemeye yönelik Koyun Sun'i Tohumlama Uygulamasında baştan beri uygulanagelen teknik Merinos koçlardan alınan spermanın taze olarak yerli koyunlara verilmesi biçiminde olmuştur. Uygulanan yöntem bu olunca, koç spermasının belli kimi teknikler kullanılarak dondurulması ve tohumlamada kullanılmasının yalnız teknik ve pratik yönlerden değil çeşitli ekonomik yönlerden de büyük yararlar sağlayacağı kuşkusuzdur.

Koyunculugunu geliştirmiş ülkelerde koyun sun'i tohumlamasının teknik ve ekonomik açılardan geliştirilmesi amacıyla son yıllarda, özellikle koç spermasının sulandırılması ve düşük ısı dere-

celerinde dondurulması çalışmaları yoğunlaşmaktadır (2, 5, 7, 11). Ülkemizde de bu konuda yeni çalışmalar başlamıştır (3, 10). Bununla beraber gerek Dünya'da gerek ülkemizde yapılmış bu tür çalışmalardan, beklenen verimli sonuçlara henüz ulaşamamıştır. Bunun başlıca nedeni dondurulan koç spermatozoitlerinin dölleme gücünün azalmasıdır.

Öbür kimi tür hayvanların spermalarının düşük ısı derecelerinde dondurulması, tohumlamada kullanılması sonucu elde edilen motilite ve dölveriminin yüksek olmasına karşılık, koç spermasının dondurularak tohumlamada kullanılmasında elde edilen motilite ve dölveriminin düşük bulunması kimi araştırmacıları bu konuları incelemeye yöneltmiştir (4, 9).

Bu konuda yaptığımız bir çalışmada (1) sıvı azot buharında, düşük ısı derecelerinde dondurulup çözülmüş koç spermatozoitlerinin (spermatozoonlarının) akrozomlarında ince yapı düzeyinde kimi bozuklukların oluştuğunu saptadık. Bu bozuklukların, koç spermatozoitlerinin baş kısmında, özellikle akrozomlarında şişmeler, madde yitimi ve mebrana bağlı değişiklikler biçiminde olduğunu gözledik.

Bu çalışmamızda, şimdiye değin koçlarda ve öbür tür hayvanlarda rutin olarak uygulanagelen spermanın sıvı azot buharında ve düşük ısı derecelerinde dondurulması tekniğinin hangi evrelerinde, anılan akrosomal bozuklukların oluştuğunu oransal olarak saptamak amacı güdülmüştür.

Materyal ve Metod

Bu çalışma, Lalahan Veteriner zootekni Araştırma Enstitüsündeki Karacabey ve Konya Merinosu ırklarından 4 koçtan alınan toplam 12 ejekülatta yapıldı.

Sperma, koçlardan Sun'i vajenle alındı. Alınan ejekülatlar, gerekli makroskopik ve mikroskopik muayenelci yapıldıktan sonra sulandırıldı. Sulandırıcı olarak Milowanov'un sodyum sitrat-glikozyumurta sarısı sulandırıcısı kullanıldı (6). Bu sulandırıcıya % 7 oranında gliserol katıldı. Sulandırma işlemi iki aşamada yapıldı. Birinci aşamada sperma, sulandırıcının gliserol'süz bölümü ile 1/5 oranında sulandırılarak buzdolabına konuldu ve ısı 45 dakika içinde 5° C'ye düşürüldü. Isısı 5° C'ye düşürülen bu spermaya, dondurma kabini içerisinde daha önceden ısı 5° C düşürülmüş gliserollü sulandırıcı

bölümü 30 dakikada, azar azar ve eşit zaman aralıklarında katıldı (Gliserolizasyon). Gliserolizasyonu tamamlanan sperma, payetlere çekilerek 5° C'deki su banyosunda iki saat bırakıldı (Ekilibrasyon). Ekilibrasyondan sonra sperma sıvı azot buharında dondurularak, -196° C'deki sıvı azot içinde saklandı. Örnek alma esnasında, sıvı azottan alınan payetler 34° C'lik ılık su banyosunda 15 saniye bırakılarak spermanın çözülmesi sağlandı.

Fransızların Payet yöntemi olarak adlandırılan teknik başlıca 5 evrede uygulanmaktadır:

1- İLK SULANDIRMA EVRESİ: Spermanın, sulandırıcının gliserolsüz bölümü ile sulandırılması

2- 5° C'YE SOĞUTMA EVRESİ: İlk sulandırması yapılan spermanın ısısının 5° C'ye düşürülmesi

3- GLİSEROLİZASYON (GLİSEROLLEME) EVRESİ: Isısı 5° C düşen spermaya, aynı ısı derecesinde bulunan sulandırıcının gliserol içeren bölümünün katılması

4- EKİLİBRASYON (ALİŞİM) EVRESİ: Spermanın, gliserole alışması için payetler içinde ve belli bir süre 5° C'deki soğuk su içerisinde tutulması

5- DONDURUP ÇÖZME EVRESİ: Ekilibrasyondan sonra spermanın payetler içinde sıvı azot buharında dondurulup, sıvı azot içinde saklanması ve kullanılacağı zaman ılık suda çözülmesi.

Tüm ejakülatların yukardaki tekniğe göre dondurulması sırasında gerek taze spermadan, gerek yukarıda anılan dondurma evrelerinin her birinden örnek alınarak yapılan frotiler, spesifik akrozom boyası olan Giemsa ile boyandı (14).

Sulandırılmamış spermadan ve dondurmanın çeşitli evrelerinden hazırlanan frotiler ışık mikroskopunda ve immersiyonla incelendi. Her frotiden 333 spermatozoit sayılarak, her evredeki akrozom bozukluklarının biçimleri ve oranları saptandı. Ayrıca ejakülatların dondurulması sırasında, anılan evrelerin her birinde bir yönde, güçlü hareketli spermatozoit oranları da bulundu (Molilite).

Bulgular

Sulandırılmamış spermadan hazırlanan frotilerde spermatozoitlerin akrosomlarında hiç bir bozukluğa rastlanmadı. Spermatozoit-

lerin baş bölümünde membranların bütünlüğünü koruduğu ve akrozomda madde yitiminin bulunmadığı görüldü (Resim 1).

Dondurma yönteminin değişik evrelerinden hazırlanan frotilerde spermatozoitlerin akrozomlarında başlıca şu tip bozukluklar gözlemlendi.

1- Akrozomun şişmesi ve girintili çıkıntılı bir biçim alması (Resim 2, 3, 4).

2- Akrosomun ön bölgesinde içeri doğru çökme ya da katlanma (Resim 5, 8).

3- Akrosomda madde yitimi ve daha ileri derecede akrosomun tümüyle kaybolması (Resim 3, 5, 6, 7).

Anılan bu bozuklukların tümünü ya da herhangi birini taşıyan spermatozoitler sayılarak, her ejakülatın değişik dondurma evrelerinde oluşan akrozom bozuklukları oransal olarak saptandı ve çizelge-1 de topluca gösterildi.

Çizelge 1. Koç ejakülatlarında dondurma yönteminin çeşitli evrelerinde saptanan akrozom bozuklukları oranları (%).

Ejekülat Sayısı	İlk sulandırma	5°C'ye Soğutmada	Gliserolizasyondan son.	Ekilibrazyondan sonra	Dondurupçözüldükten sonra
1	2.6	3.4	21.5	24.2	28.3
2	3.2	4.7	24.6	29.3	35.4
3	4.2	5.3	25.4	28.2	37.4
4	1.6	2.1	19.8	21.0	23.2
5	2.3	2.9	21.3	23.5	27.1
6	1.8	2.7	22.8	24.0	26.1
7	2.9	3.1	18.4	20.2	22.4
8	3.6	2.7	11.7	12.0	13.5
9	4.8	3.9	19.5	24.3	24.1
10	1.2	9.9	26.4	29.4	30.9
11	5.1	5.4	6.6	24.0	20.2
12	1.5	2.7	20.7	26.4	39.9
Ortalama	2.90	4.66	20.70	23.87	22.77

Çizelgeden izlenebileceği gibi 4 koçtan alınan toplam 12 ejakülatla, dondurma yönteminin çeşitli evrelerinde saptanan akrozom bozuklukları oranları ortalaması ilk sulandırmada, 5° C ısıda, gliserolizasyondan sonra, ekilibrazyondan sonra ve dondurup çözüldükten sonra sırasıyla % 2.90, % 4.66, % 20.70, % 23.87 ve % 27.77 olarak saptandı. Yine çizelgeden görüleceği üzere akrozom bozukluklarındaki artış oranları ilk sulandırma ile 5° C ye soğutma evreleri arasında çok

düşük düzeyde bulundu. Oysa gliserolizasyondan sonra bunun önemli ölçüde arttığı ve bunu izleyen evrelerde az da olsa artışın sürdüğü saptandı.

Dondurma yönteminin değişik evrelerinde saptanan bir yönde, güçlü hareketli spermatozoit oranları (molilite) çizelge-2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Koç ejekülatlarında dondurma yönteminin çeşitli evrelerinde saptanan motilite oranları (%)

Ejekülat Sayısı	İlk Sulandırma	5°C'ye Soğutma	Gliserolizasyondan son.	Ekilibrazyondan sonra	Dondurup çözüldükten s.
1	80	75	70	70	30
2	80	75	75	70	35
3	80	70	70	70	35
4	85	75	70	65	30
5	75	70	65	65	25
6	80	75	65	60	30
7	85	75	70	70	40
8	85	80	75	70	40
9	80	75	65	65	30
10	85	80	75	70	40
11	80	75	70	70	35
12	85	75	70	65	30
Ortalama	81.7	75.0	70.0	67.5	33.3

Çizelgeden görüleceği gibi, değerlendirilen toplam 12 ejekülatla, dondurma yönteminin çeşitli evreleri olan ilk sulandırmada, 5° C ye soğutmada, gliserolizasyondan sonra, ekilibrazyondan sonra ve dondurup çözüldükten sonra saptanan bir yönde, güçlü hareketli spermatozoit oranları (motilite) ortalaması sırasıyla % 81.7, % 75.0, % 70.0, % 67.5, ve % 33.3 olarak bulundu. İzlenebileceği üzere evreler arasında Motilite yönünden ortaya çıkan farklılıklar dondurmaya değin nisbeten düşük düzeyde bulundu, spermanın dondurulup çözüldükten sonra motilitede önemli ölçüde düşme görüldü.

Tartışma ve Sonuç

Düşük ısı derecelerinde dondurmanın koç spermatozoitlerinin akrozomlarında bozukluğa neden olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (4, 8, 9, 16).

Çizelge-1'den izlenebileceği gibi dondurduğumuz ejekülatlarda, koç spermatozoitlerindeki akrozom bozuklukları oranı ilk sulandırmada % 2,90 ve 5° C ye soğutmada % 4.66 gibi oldukça düşük dü-

zeylerde bulundu; gliserolizasyondan sonra ortalama % 16.04 oranında bir artışla % 20.70'e yükseldi. Gliserolizasyonu izleyen evrelerde artış oranları nisbeten düşük düzeylerde oldu. Sperma dondurulup çözüldükten sonra tüm ejakülatlarda ortalama % 27.77 oranında akrozom bozuklukları saptandı. Tasseron et al. (13) düşük ısı derecelerinde dondurdukları ve ışık mikroskobunda inceledikleri koç spermatozoitlerindeki akrozom bozuklukları oranını % 39.8, Watson ve Martin (15) % 48.3 olarak bildirmektedirler.

Gerek bizim, gerek diğer araştırmacıların sonuçları düşük ısının koç spermatozoitlerinin akrozomlarında bozukluğa neden olduğunu kanıtlamaktadır. Ayrıca biz, özellikle gliserolizasyon evresinde akrozom bozukluklarının yüksek düzeyde oluştuğunu saptadık.

Spermanın düşük ısı derecelerinde dondurulmasında sulandırıcıya gliserol katılmaktadır. Gliserolün, donma esnasında büyük kristal oluşumunu önleyerek spermatozoitleri fiziksel bozukluklardan korumak, donma noktasını düşürmek ve su çekici özelliği yüzünden donmayı kolaylaştırmak gibi işlevlerinin bulunduğu çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (18).

Gliserolün spermatozoitleri düşük ısının zararlı etkisinden koruma işlevi, değişik tür hayvanların spermalarında farklar göstermektedir. Örneğin boğa spermasının düşük ısıda dondurulmasında gliserolün zararlı bir etkisinin görülmemesine karşılık, koç spermasının dondurulmasında çeşitli araştırmalarda da kanıtlandığı gibi spermatozoitlerin akrozomlarında yapısal değişiklikler ortaya çıkmaktadır (4, 14). Kanımızca, koç spermatozoitlerinin membranının, gliserolün su çekici etkisinden ötürü oluşan hücre içi ve hücre dışı ozomotik basınç farklılıklarına dayanıklılığının düşük olması sonucu geçirgenlik (permeabilite) bozulmakta, hücre zarında ve akrozomda, girintili çıkıntılı hal alma, şişme, madde yitimi ve akrozomun tümüyle kaybolmasına değin varan bozukluklar oluşmaktadır.

Spermatozoit motilitesini Çizelge-2'de görüleceği gibi dondurduğumuz ejakülatlarda ilk sulandırma, 5° C'ye soğutma, gliserolizasyon ve ekilibasyon evrelerinde sırasıyla ortalama % 81.7, % 75.0, ve % 67.5 gibi yüksek düzeylerde bulmamıza karşın, dondurulup çözüldükten sonra bunun çok önemli ölçüde düştüğünü (% 33.3) gördük. Bu konuda çalışan araştırmacıardan Zheltobruyukh (16) koç spermasını hipertonic sulandırıcılarla 1/5 oranında sulandırmış, gliserolizasyondan sonra % 80 olan motilitenin, dondurulup çözüldük-

ten sonra % 45'e düştüğünü bildirmiştir. Watson ve Martin (15) gliserolün koç spermatozoitlerinde motilite düşüklüğüne neden olmadığını saptamışlardır. Gerek bizim, gerek diğer araştırmacıların sonuçları koçlarda spermatozoit motilitesinin gliserolizasyondan etkilenmediğini kanıtlamaktadır.

Polge (8) gliserolün koç spermatozoitlerinde akrozom bozukluğuna neden olduğu halde, motilitede herhangi bir değişiklik meydana getirmediğini saptadı. Bizim elde ettiğimiz sonuçlar da, koç spermatozoitlerindeki akrozom bozuklukları ile motilite arasında önemli bir ilişkinin bulunmadığını ortaya koymuştur.

Halkın beslenmesinde ve ülke ekonomisinde tartışılmaz işlevleri bulunan koyunculüğümüzün geliştirilmesinde büyük katkıları bulunan sun'i tohumlamanın yaygınlaştırılması ve etkinleştirilmesinde donmuş spermadan daha büyük ölçüde yararlanılacağı kanısındayız. Bu nedenle, bu türden çalışmaların sürdürülmesi gereği açıktır. Özellikle aşağıda sıralanan konuların araştırılmasına öncelik verilmelidir.

- 1- Hücre içi ve hücre dışı sıvılarda ozmotik basınç farklılıklarını ortadan kaldıracak sulandırıcıların geliştirilmesi,
- 2- Dondurma sırasında sulandırıcıya katılan gliserolün saflığı akışkanlığı ve spermaya katılma tekniğinin incelenmesi,
- 3- Çeşitli oranlarda gliserol içeren sulandırıcılarla, akrozom bozuklukları ve motilite yönünden karşılaştırmalı değerlendirmeler yapılması,
- 4- Gliserol yerine, aynı işlevi gören karbonhidrat, yumurta sarısı, DMSO (Dimetyl sulfoksit) gibi maddelerin sulandırıcılara katılmasıyla koç spermasının dondurulmasındaki etkilerinin araştırılması,

Teşekkür

Araştırmanın L.Z.A.E.'nde yürütülmesi sırasında yardımlarını gördüğümüz Suni Tohumlama Laboratuvar Şefi Uzm. Vet. Hek. Dr. Mehmet Kozandağı'na ve çalışma arkadaşlarına teşekkürlerimizi sunarız.

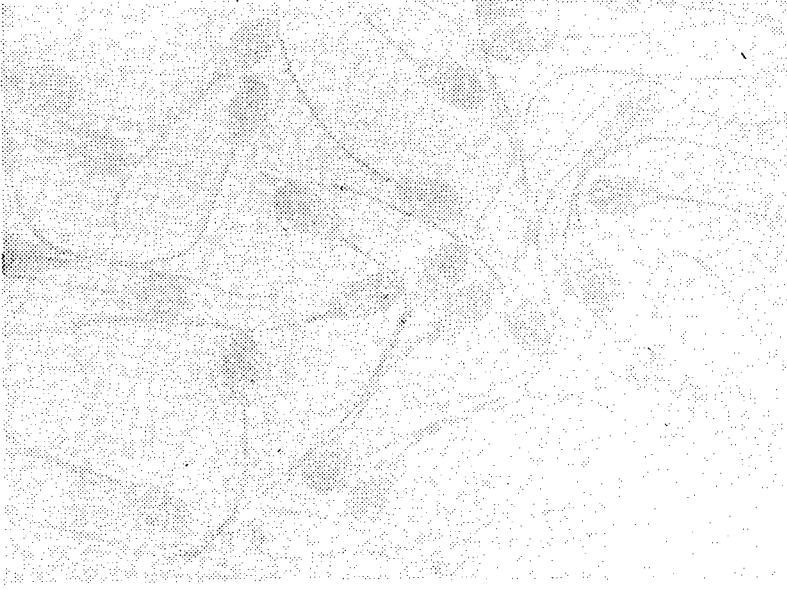
Frotillerin hazırlanmasında emeği geçen Histoloji ve Embriyoloji Kürsüsü teknisyeni Hüseyin Yılbant'a da teşekkürü borç biliriz.

Literatür

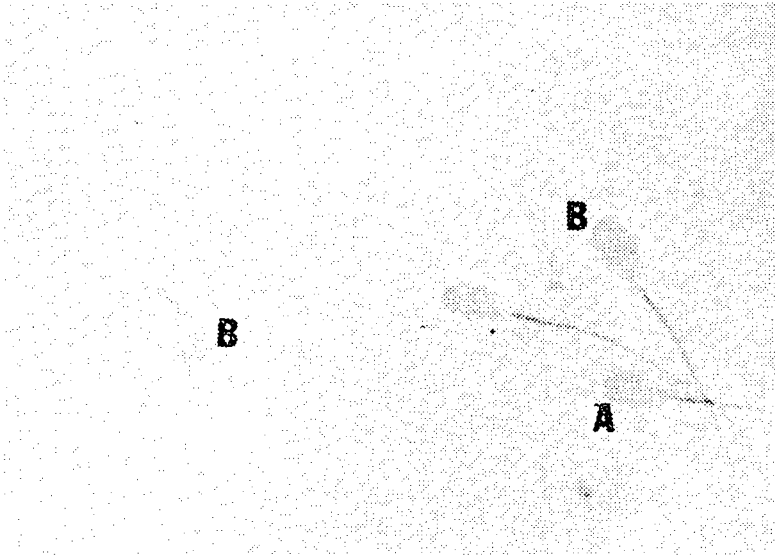
- 1- **Aştı, R.N., Gökçen, H.** (1980): *Sıvı azot buharından dondurmanın koç spermatozoa'larının ince yapısı üzerine etkisi.* A.Ü. Veteriner Fak. Derg., 26 (3-4): 30-35
- 2- **Colas, C., Brice, G.** *Seasonal variation of the fertilizing capacity of deep-frozen ram semen* A,B,A., 1977 (15): 2, 803
- 3- **Gökçen, H.** (1976): *Koç spermasının kimi özellikleri, dondurulması dondurulan spermanın dölvürümü üzerinde araştırmalar.* Doktora tezi. L.Z,A.E. Yayınları, yayın No. 48
- 4- **Healey, D.** (1969): *Effect of freezing on the ultrastructure of the spermatozoon of some domestic animals.* J. Reprod. Fert. 18, 21-27
- 5- **Mesaros' P., Gamcık, P., Schvarc, F.** (*Survial of ram spermatozoa using different diluents and deep freezing in liquid nitrogen*) A.B.A., 1978 (46): 11, 5489
- 6- **Milowanov, V.K.** (1962): *Biology and reproduction and artificial insemination of animals.* Izd. Selk. hoz. Lit. Moscow. (Asquated) in *Paufler, S.K. und Mitautoren* (1974): *Künstliche Besamung und Eitransplantation bei Tier und Mensch.* Verlag M.-H. Schaper, Hannover.
- 7- **Platov, E.M., Volkov, A.S.** (*The effectiveness of freezing ram semen*). A.B.A., 1979 (47): 9, 4890
- 8- **Polge, C.** (1968): *Observation on the freezing of ram semen.* VI Congr. Int. Reprod. Anim. Insem Artif., Paris. 1968
- 9- **Quinn, D.J, White, I.G, and Clelaud, K.W.** (1969): *Chemical and Ultrastructural changes ram spermatozoa after washing, cold-shock and freezing.* J. Reprod. Fert., 18, 209
- 10- **Sevinç, A., Gökçen, H., Çetinkaya, K., ve Yorul, O.** (1978) *Çeşitli sulandırıcılar ve ekilibasyon süreleri kullanarak sıvı azotta dondurulan koç spermasının dölvürümü üzerinde araştırmalar.* T.B.T.A.K. Veterinerlik ve Hayvancılık Grubu, Proje No, VHAG-384
- 11- **Smirnov, I.V., Davidenko, V.M., Shin Karenko, I.S., Ignatenko, O.I.** (*The effect of some physical and biological factors on freezing of ram semen*) A.B.A., 1978 (46); 9, 443

- 12- *Tarım istatistikleri özeti. 1978 Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü yayınları No : 886, DİE Matbaası, Ankara*
- 13- **Tasseron, F., Amir, D., Schindler, H.** (1977): *Acrozome damage of ram spermatozoa during dilution cooling and freezing* J. Reprod. Fert. (1977) 51, 461-462
- 14- **Watson, P.F., Martin, I.C.A.** (1972): *A comparison of changes in the acrosomes of deep frozen ram and bull spermatozoa* J. Reprod. Fert. 28, 99-101
- 15- **Watson, P.F., Martin, I.C.A.** *Effects of egg yolk, glycerol and the freezing rate on the viability and acrosomal structures of frozen ram spermatozoa.* Australian journal of Biological Sciences (1975), 28 (2), 153-159
- 16- **Zheltobryukh, N.A.** (1973): *Damage of ram spermatozoa during dilution, coling and freezing* J. Reprod. Fert. (1977) 51, 461-462
- 17- *Zirai ve İktisadi Durum Raporu. 1977. T.Z.O.B. Yayınları, no. 123*
- 18- **Wolfram, J. Bathe, E.** (1965): *Versuche zur Konzervierung von Bullen sperma mittels der Tiefgefrierung bei einer Aufbewahrungstemperatur von - 79° C (11).* Fortpfl. Haust. Bd. 1 s. 278-306

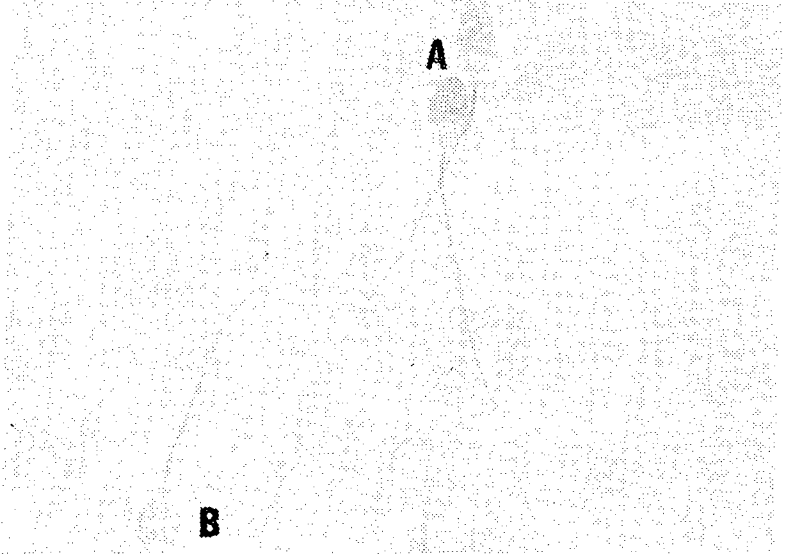
Yazı 22.1.1981 günü alınmıştır.



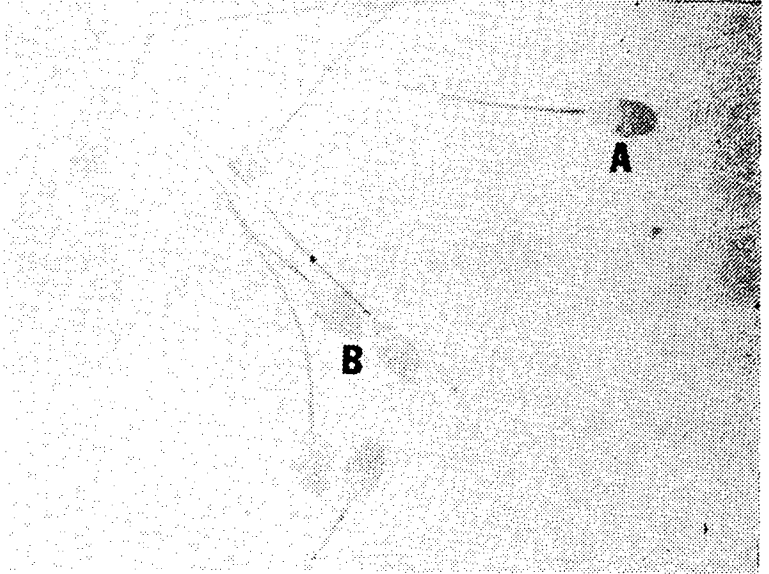
Resim 1. Sulandırılmamış koç spermasında normal spermatozoitler., $\times 990$.



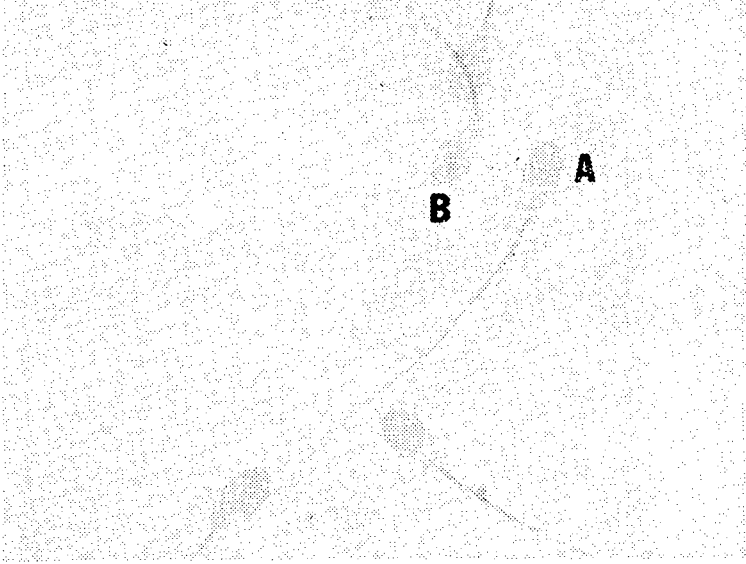
Resim 2. A. Normal spermatozoit B. Membranı girintili-çıkıntılı spermatozoit., $\times 990$.



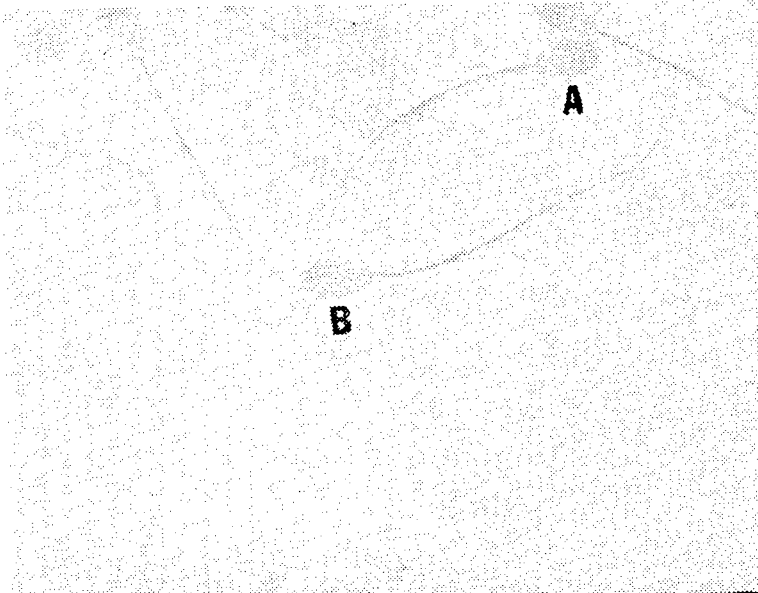
Resim 3. A. Normal spermatozoid B. Membranı girintili-çıkıntılı ve madde yitimine uğramış spermatozoid., $\times 990$.



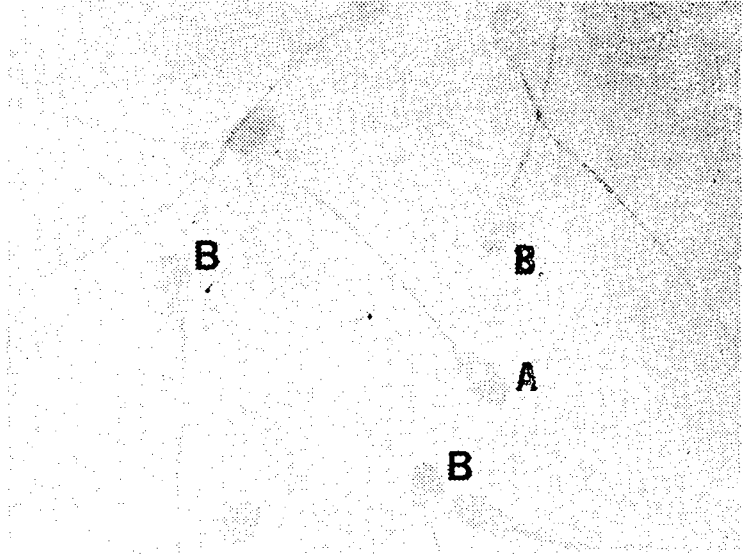
Resim 4. A. Normal spermatozoid B. Akrozomu şişmiş spermatozoid., $\times 990$.



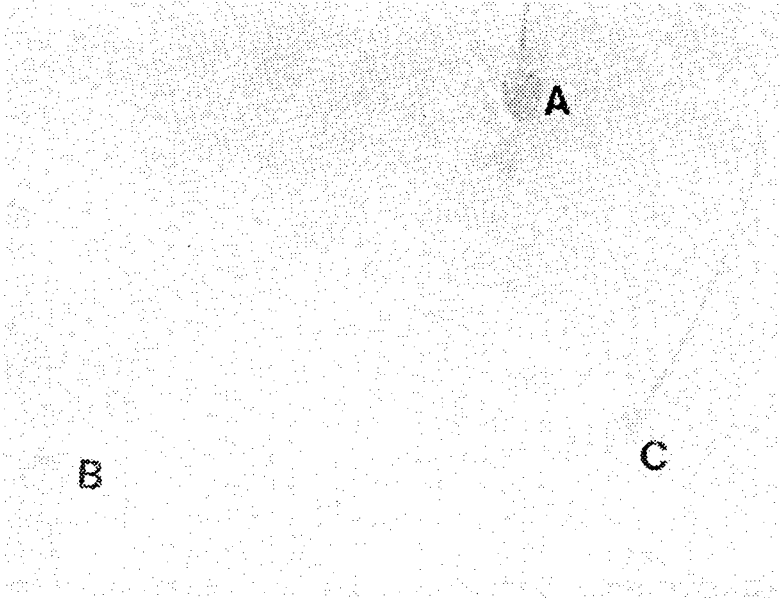
Resim 5. A. Normal spermatozoit B. Membrani parçalanmış ve madde yitimine uğramış spermatozoit., $\times 990$.



Resim 6. A. Normal spermatozoit B. Membrani girintili-çıkıntılı spermatozoit., $\times 990$.



Resim 7. A. Normal spermatozoit B. Akrozomu çökmüş ya da katlanmış spermatozoit.,
× 990.



Resim 8. A. Normal spermatozoit B. Orta derecede madde yitimine uğramış spermatozoit
C. Yüksek derecede madde yitimine uğramış spermatozoit., × 990.