

## Hindi spermasının dondurulmasında farklı sulandırıcıların spermatozoa motilitesi üzerine etkisi

Ergun AKÇAY, Ömer VARIŞLI, Mustafa Numan BUCAK, İlker YAVAŞ, Necmettin TEKİN

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, 06110 Ankara

**Özet:** Bu çalışma, hindi spermasının dondurulmasında farklı sulandırıcıların çözüm sonrasında spermatozoa motilitesi üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır. Çalışmada kullanılan beş adet hindiden sperma, beş hafta süresince haftada iki kez, masaj yöntemi ile alındı. Hindilerden alınan nativ spermanın bazı spermatolojik özellikleri değerlendirildi ve ortalama ejakülat miktarı (ml), motilite (%) ve yoğunluk ( $\times 10^9/\text{ml}$ ) sırasıyla  $0.28 \pm 2.8$ ,  $84.8 \pm 1.12$  ve  $5.1 \pm 0.34$  olarak belirlendi. Değerlendirmeleri yapılan sperma 4 eşit parçaya bölünerek 1:3 oranında; %10 Dimethyl sulphoxide (DMSO) içeren Graham, Glikoz, Ringer ve Tris+Glikoz sulandırıcıları ile sulandırılıp  $+4^\circ\text{C}$  de 90 dakika alışıma tabi tutulduktan sonra,  $-120^\circ\text{C}$  de sıvı azot buharında 15 dakikada donduruldu. Sulandırma sonrası ortalama motilite değerleri sırasıyla %  $74 \pm 2.6$ ,  $78 \pm 2.0$ ,  $84 \pm 2.2$ ,  $62 \pm 2.9$  ve çözündürme sonrasında ise %  $31 \pm 2.4$ ,  $40.5 \pm 2.8$ ,  $17 \pm 2.0$ ,  $11 \pm 1.4$  olarak elde edildi. Elde edilen sonuçlara göre glikoz tabanlı sulandırıcının hindi spermasının dondurularak saklanması diğer sulandırıcılara göre daha iyi sonuçlar verdiği saptandı ( $p < 0.001$ ).

Anahtar sözcükler: Hindi, motilite, sperma, sperma sulandırıcısı, spermanın dondurulması

### Effect of different diluents on the motility of turkey semen during cryopreservation

**Summary:** The aim of this study was to investigate the effect of different extenders on sperm motility in cryopreservation of turkey semen. Semen was collected from five toms by manual massage method twice a week for five weeks. Some spermatological parameters of collected semen was assessed and mean ejaculate volume (ml), sperm motility (%) and sperm concentration ( $\times 10^9/\text{ml}$ ) were recorded as  $0.28 \pm 2.8$ ,  $84.8 \pm 1.12$  and  $5.1 \pm 0.34$  respectively. Pooled semen were divided into four equal parts and diluted 1:3 with extenders (Graham, Glucose, Ringer and Tris + Glucose) containing 10% Dimethyl sulphoxide (DMSO) and equilibrated at  $4^\circ\text{C}$  for 90 min. Samples were frozen at  $-120^\circ\text{C}$  on liquid nitrogen vapour for 15 min. Sperm motility after dilution was averaged  $74 \pm 2.6$ ,  $78 \pm 2.0$ ,  $84 \pm 2.2$ ,  $62 \pm 2.9$  % and post-thaw motility was  $31 \pm 2.4$ ,  $40.5 \pm 2.8$ ,  $17 \pm 2.0$ ,  $11 \pm 1.4$  % respectively. According to the obtained results, glucose extender provided better environment for turkey semen undergoing cryopreservation than the others ( $p < 0.001$ ).

Key words: Cryopreservation, extender, motility, semen, turkey.

### Giriş

Modern hindi yetiştiriciliği ve seleksiyon metotları ergin hayvanların doğal aşım yapamayacak kadar fazla ağırlık kazanmalarına sebep olmuştur. Bu yüzden sun'i tohumlama hindi üretiminde, diğer kanatlı türlerine oranla daha yaygın kullanılır hale gelmiştir (1). Suni tohumlama 1960'dan sonra hindi yetiştiriciliğinde kullanılmış ve ticari yetiştirme ile üretimin en önemli unsurlarından birisi olmuştur. Erkek hindi ile dişi hindi arasındaki cüsse farklılığı dolayısıyla çiftleşememe ve sıklıkla ağır cüsseli hindilerde düşük fertilitte elde edilmesi ticari üretimin suni tohumlama ile desteklenmesini zorunlu kılmıştır (9, 26).

Günümüzde, kanatlı hayvanların suni tohumlamasında taze veya kısa süreli saklanmış sperma kullanılmaktadır. Ancak hindi endüstrisinin gelişmesi ve bu gelişmenin korunup devamı için spermanın dondurularak uzun süreli saklama metodunun geliştirilmesi gerekir (26). Söz konusu yöntemin başarısı için hindi spermasının fertilitte kabiliyetini koruyan veya kaybı düşük sevi-

yede tutan koruyucu bir sulandırıcıya (8) ve başarılı bir dondurma protokolüne ihtiyaç vardır.

Hindi sperması 6–24 saat (kısa süreli saklama) fertilitte kaybına uğramadan saklanabilmektedir (3, 23, 26). Ancak ticari amaçlı yetiştirmelerde ve gen kaynaklarının uzun süreli saklanması ve kullanılmasında spermanın dondurulmasına (uzun süreli saklama) gerek vardır. Bu alanda çalışmalar olmakla birlikte henüz hindi spermasının başarılı biçimde dondurulması gerçekleştirilememiştir (17).

Hindilerde ticari üretimin suni tohumlamaya önemli ölçüde bağlı olması ve yüksek genetik özelliğe sahip erkeklerden maksimum sperma elde ederek işletme için avantaj ve esneklik sağlaması, hindi spermasının uzun süreli saklanmasının geliştirilmesinin önemini artırmıştır (17). Ancak, günümüzde dondurulmuş kanatlı sperması ticari olarak çok az kullanılmaktadır. Tavukçuluk sektörü çok gelişmiş olmasına rağmen bu sektörde de durum benzerdir (9). Bunun nedeni ise horoz spermasının da başarılı şekilde dondurulamaması ve dondurulmuş sper-

madan elde edilen fertilité sonuçlarının düşük ve değişken olmasıdır.

Kanatlı spermatozoonları diğer memeli çiftlik hayvanlarının spermatozoonlarına göre morfolojik olarak farklıdır. Kanatlı spermatozoonlarının baş kısmı silindirik ve kuyruk kısmından fazla geniş değildir (yaklaşık 0,5 mikron). Sitoplazmik sıvısının az olması yüzünden kryoprotektanların spermatozoon içerisine hareket kabiliyeti azdır ve bu da kanatlı spermasının dondurma işlemlerinde canlılığını iyi koruyamamasının önemli sebeplerinden birisidir. Ayrıca spermatozoa kuyruğunun oldukça uzun olması ve (boğaların 50 mikron olmasına rağmen kanatlılarda 100 mikron) kendine özel yapısı dolayısı ile donmaya karşı hassastır (9).

Sperma dondurulmasında kullanılan en etkili kryoprotektan olan gliserol toksik etkisinden dolayı tohumlamadan önce oranının %0,7 den aşağıya indirilmesi gerekmektedir (10,18). Ancak, gliserolün dondurulmuş çözdürülmüş spermadan uzaklaştırılması için yapılan santrifüj, yeniden sulandırma ve dializ yöntemleri zaman alıcı ve hasar verici işlemlerdir (9). Kanatlı spermasının dondurulması için kryoprotektan olarak gliserol yanında, gliserol + DMSO (16), DMSO (15), dimethyl acetamide (6) ve DMSO + ethylene glycol (13) de etkilidir. Graham (13) %11.2 (1/1 DMSO + ethylene glycol) kryoprotektan kullanarak sulandırma sonrası %50 motilite elde etmiştir. Blanco ve ark. (6) ise kanatlılarda ozmotik stres, kryoprotektan (dimethyl acetamide), ekilibasyon zamanı ve dondurma hızını karşılaştırdığı çalışmada en iyi spermatozoa canlılığını %40 olarak elde etmiştir.

Dimitrov (8) yaptığı bir çalışmada, %8.5 gliserol içeren I<sub>8,5</sub> sulandırıcısı kullanarak kuru buzda dondurduğu hindi sperması ile çözüm sonrası yapılan tohumlamalarda oldukça yüksek (%62.97) fertilité oranı bildirmesine rağmen, Long (19) %11 oranında gliserol kullanarak yaptığı çalışmada en yüksek %37.17 fertilité oranı elde etmiştir.

Bu çalışmada hindi spermasının dondurulmasında kompleks sulandırıcılar ile basit şeker tabanlı sulandırıcının çözdürme sonrası spermatozoa motilitesi üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

Çalışmada 5 adet 28 haftalık Amerikan Bronz erkek hindi kullanılmıştır. Araştırma süresince aynı şartlarda barınan ve beslenen erkek hindilerden kloakal ve abdominal masaj yöntemi ile beş hafta süresince haftada iki defa olmak üzere, bir hindiden 10, toplam 50 ejakülat alınmıştır. Taze spermada ejakülat miktarı, motilite ve yoğunluk gibi özellikler belirlendikten sonra birleştirilmiştir (18).

Motilite değerlendirmesi ısıtma tablalı faz-kontrast mikroskop kullanılarak x400 büyütmede yapıldı ve % olarak ifade edildi. Bunun için 5µl sperma lam üzerine alınarak üzerine lamel kapatıldı ve en az 3 değişik mik-

roskop sahasında iki gözlemci tarafından incelendi. Nativ spermanın muayenesinde motilitenin daha iyi gözlemlenebilmesi için 1:1 oranında serum fizyolojik ile sulandırıldı. Sulandırma sonrası ve çözüm sonrası muayeneler için ekstra sulandırmaya ihtiyaç duyulmadı.

Spermatozoa yoğunluğu hemositometrik yöntem kullanılarak belirlendi ve  $\times 10^9$  sp/ml olarak ifade edildi. Bu amaçla 0,01 ml sperma 5 ml Hayem (24) solüsyonu ile 1/500 sulandırılarak Thoma lamında sayıldı.

Nativ muayenesi yapılan sperma dört ayrı tüpe eşit olarak bölünüp %10 DMSO içeren Graham (13) (4.70 gr sodium acetate, 3.39 gr potassium acetate, 9.23 gr TES, 0.353 gr sodium hydroxide, 0.492 gr potassium hydroxide, 32 gr glucose, 1000 ml distile su, 370 mOsm/kg, pH 7.2), Glikoz (0.3 M Glikoz, 300 mOsm/L Glukoz (D (+) Glucose-monohydrate), Ringer (5.0 gr dekstroz, 0.31 gr sodyum laktat, 0.03 gr potasyum klorür, 0.60 gr sodyum klorür, 0.02 kalsiyum klorür, 100 ml distile su) ve Tris+Glikoz (30mM/L tris(hydroxymethyl)-aminomethan) + 300 mM/L Glukoz(D(+)) Glucose-monohydrate) sulandırıcıları ile 1:3 (bir kısım sperma: 3 kısım sulandırıcı) oranında sulandırılıp, sulandırma sonrası motiliteyi kayıt edildi ve ayrı renkte 0,25 ml'lik payetlere çekildi. Daha sonra +4°C de 90 dakika ekilibasyona tabi tutuldu. Ekilibasyon sonrasında payetler azot buharında (-120°C) 15 dakika dondurulup -196 °C'de sıvı azot içinde depolandı.

Dondurulmuş spermalar, 37°C'da 30 saniyede su banyosunda çözdürülerek motilite muayenesi yapıldı.

Çalışmada elde edilen verilerin ortalama değerleri ve standart sapmaları tespit edildi. Grup ortalamaları arasındaki farklar tek yönlü varyans (ANOVA) analizi uygulanarak, farklılığı önemli olan gruplar Duncan testi ile belirlenmiştir.

### Bulgular

Hindilerden alınan nativ spermanın bazı spermatozolojik özellikleri değerlendirildi ve ortalama ejakülat miktarı (ml), motilite (%) ve yoğunluk ( $\times 10^9$ /ml) sırasıyla 0.29±2.33, 87.5±2.33 ve 5.2±0.55 olarak belirlendi.

Tablo 1. Hindilerden elde edilen nativ spermanın ortalama miktar, yoğunluk ve motilite verileri

Table 1. The mean data of fresh semen volume, concentration and motility of turkeys.

Hindi No:	n	Miktar (ml)	Yoğunluk ( $\times 10^9$ /ml)	Motilite (%)
1	10	0.29±1.7	4.8±0.3	85.5±2.1
2	10	0.36±6.8	4.4±0.4	85.0±2.2
3	10	0.24±3.7	6.1±0.3	82.0±2.0
4	10	0.32±2.9	4.5±0.4	83.0±2.6
5	10	0.20±3.6	5.8±0.2	88.5±1.5
x±sx	50	0.28±2.8	5.1±1.12	84.8±0.34

Graham, Glikoz, Ringer ve Tris+Glikoz sulandırıcıları ile sulandırılan taze spermanın sulandırma sonrası ortalama motilite değerleri ve dondurma-çözüm sonrasında spermatozoa motilitesi aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 2. Sulandırma ve dondurma-çözüm sonrası elde edilen ortalama motilite verileri.

Table 2. The motility data was obtained after dilution and cryopreservation.

Sulandırıcılar	Sulandırma sonrası motilite (%) x±sx	Çözüm sonrası motilite (%) x±sx
Graham	74±2.6 a	31±2.4 c
Glikoz	78±2.0 a	40.5±2.8 a
Ringer	84±2.2 c	17.5±2.0 b
Tris+Glikoz	62±2.9 b	11±1.4 a

a, b, c: Aynı sütunlarda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arasındaki fark önemli(p< 0.001).

Sulandırıcı grupları arasında hem sulandırma sonrası hem de çözüm sonrası elde edilen motilite değerleri arasında istatistiki olarak önemli farklar elde edildi. Sulandırma sonrası ortalama en yüksek motilite ringer sulandırıcısında (%84±2.2) elde edilirken dondurma sonrasında ise glikoz sulandırıcısından (%40.5±2.8) elde edildi.

### Tartışma ve Sonuç

Kanatlı spermasının dondurulma çalışmaları çok eski bir geçmişe sahiptir. İlk olarak Polge tarafından 1951 de gliserol kullanılarak yapılan dondurma çalışmalarında kanatlı sperması kullanılmıştır. Bundan sonraki yıllarda sperma dondurma teknolojisinin kanatlı sektörde hızla gelişmesi beklenirken, sperma dondurma yöntemleri ve teknoloji kanatlı sperması yerine memelilerde gelişmiştir. Günümüzde hala kanatlılarda elde edilen fertilite memelilerdeki oranlarına ulaşamamıştır. Bunun sebepleri olarak sınırlı ve değişken fertilite sonuçları ile kanatlı spermasının donmaya karşı hassasiyeti sayılabilir (9,10).

Kanatlı sperması ile elde edilen fertilite sonuçlarının çok değişken olması (9), laboratuvar testleri ile fertilite arasında tam bir ilişki kurulamaması (5, 14), kanatlıların reproduktif fizyolojilerinin farklı olması gibi nedenlerden kaynaklanan handikaplar yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçların yorumlanmasını ve başarı ölçüsünün saptanmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle sonuçların ve değerlendirmelerin farklılığı hindi spermasının dondurulmasına ilişkin teknolojinin rutin olarak kullanılmasına mani olmaktadır.

Hindi spermasının dondurulmasında istenen başarının elde edilememesi dolayısı ile kısa süreli saklama üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Sexton (23) hindi

spermasının 12-24 saat süresince soğuk ortamda saklayarak başarılı sonuçlar almıştır. Aynı araştırmacı diğer bir çalışmada ise BPSE II (Beltsville Poultry Semen Extender), IMV (Instruments for Veterinary Medicine), MTGA (Minnesota Turkey Growers Association), BPSE+T (Tobramycin) ve MTGA+G (Gentamicin) sulandırıcıları kullanılarak en yüksek fertiliteyi BPSE (%77) sulandırıcısından elde ettiğini bildirmiştir (21). Benzer şekilde Alkan (1) 24. saatte BPSE ile %50, Giesen(11) 18. saatte %85 fertilite elde ettiğini belirtmiştir. Sexton (22) hindi spermasının, 24 saat 5°C'de saklanmasından sonra elde edilen %30 canlılığa sahip spermanın ovidukta uzun süre canlı kalabilmesinin mümkün olmadığını bildirmiştir. Buna karşılık Alkan(1) ise BPSE ile sulandırılıp 5°C'de 24 saat saklanan ve %38 motiliteye sahip spermadan %50 fertilite elde etmiştir.

Taze spermaya göre dondurulmuş sperma ile tohumlamalarda yaklaşık 5-10 kat daha fazla spermatozoa kullanmak gerektiği bildirilmiştir. Dondurulmuş sperma ile %50 fertilite elde etmek için her tohumlama dozunda 100 milyon spermatozoa gerekirken taze sperma için bu sayı sadece 1.5 milyondur (27).

Yapılan kısa süreli çalışmalarda BSA'nın motilite üzerine faydalı etkisinin olmasına rağmen fertilite oranlarını değiştirmediği (5) ve früktoz veya glikozun da olumlu bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (20). Akçay (2) S-2, Ringer, Avian, yağsız süt ve FTS sulandırıcıları kullanarak yaptığı kısa süreli saklamada 7. saatte ringer sulandırıcısının diğerlerine göre üstün olduğunu (%41 motilite) belirtmiştir.

Sunulan çalışmada kryoprotektan olarak %10 DMSO kullanılmıştır. Gliserolün en etkili kryoprotektan olup, DMSO kadar toksik olmamasına rağmen gebelik önleyici etkisinin olması sebebi ile tohumlamadan önce bu oranın azaltılması gerekmektedir. Bu işlemlerin pratik olmaması kanatlı sperması dondurulmasında değişik kryoprotektan kullanılmasına yol açmıştır. Han (15) ördek sperması üzerinde yaptığı çalışmada %4, 6, 8, 10 oranlarında gliserol, DMSO, DMA ve DMF (dimethyl formamide) kryoprotektanlarını karşılaştırmış ve en iyi sonucu %10 DMSO'nun verdiğini bildirmiştir. Benzer şekilde DMA ve DMSO+ethylene glycol gibi diğer kryoprotektanlardan da sonuçlar alınmıştır (13, 25)

Bu çalışmada ortalama en yüksek motilite %41 elde edilirken, Bakst (4) %40 motilite (%0 fertilite), Graham (12) %50 motilite, Blanco (7) %40 canlılık, Long (19) %49.5 fertilite, Tselutin (25) %80-90 fertilite ve Dimitrov (8) %62.97 fertilite elde ettiğini bildirmiştir. Çalışmalarda yüksek oranda motilite ve fertilite elde edildiği bildirilmesine rağmen hala rutin bir hindi sperması dondurma protokolünün kullanılıyor olmaması dikkat çekicidir.

Araştırmada Graham sulandırıcısı ile dondurulan spermada çözüm sonrası ortalama %31 motilite elde edildi. Graham (12) ise aynı sulandırıcı ile çözüm sonucu %50 motilite elde ettiğini bildirmiştir. Ancak araştırmacı

çalışmasında kryoprotektan olarak %11.2 oranında DMSO + Ethlene Glycol (1/1) kullanmış ve ekilibrasyonu 30 dakika olarak belirlemiştir. Bu sonuçlar arasındaki farklılığa bireysel faktörlerle birlikte kryoprotektan konsantrasyonu, ekilibrasyon süresi ve sıcaklığı etkili olmuş olabilir.

Tris katkılı Glikoz, Graham ve Ringer sulandırıcıları daha kompleks yapıya sahip olmalarına rağmen, bu sulandırıcılardan düşük motilite verileri elde edildi. En iyi sonuç ise glikoz tabanlı (300 mM) sulandırıcıdan alındı. Bu sonuçlara paralel olarak, Akçay (3) hindi spermasını ringer ve 300 mM/L glikoz ile sulandırıp 48 saat +4°C bekletip yaptığı tohumlamalarda en yüksek fertilitite oranının glikoz sulandırıcısı elde ettiğini bildirmiştir.

Sonuç olarak %10 DMSO katkılı 300 mM/L glikoz sulandırıcısı basit ama diğer sulandırıcılara göre etkin olduğu saptanmıştır. Ancak elde edilen veriler dondurulmuş hindi spermasının ticari olarak kullanılacak seviyede olmadığını göstermekle birlikte glikoz tabanlı sulandırıcıya değişik kryoprotektanlar, antioksidanlar eklenerek ve ekilibrasyon süresi, dondurma metodu, çözüm sıcaklığı ve zamanı değişiklikleri yapılarak geliştirilebileceği kanısına varılmıştır. Bunun yanında elde edilen verilerin fertilitite denemeleri yapılarak desteklenmesi gerekmektedir.

### Kaynaklar

1. **Alkan S, Pabuççuoğlu S, Baran A, Özdaş B, İleri K** (1998): *BPSE ve PBS sulandırıcılarının hindi spermasının soğukta saklanması ve fertilitite üzerine etkisi*. İstanbul Üniv Vet Fak Derg, **24**, 213-222.
2. **Akçay E, Tekin N, Selçuk M, Çevik M** (1997): *Hindi spermasının değişik sulandırıcılarda 4°C'de saklanması*. Ankara Üniv Vet Fak Derg, **44**, 137-149.
3. **Akçay E, Varışlı Ö, Tekin N** (2006). *Fertilizing ability of turkey semen diluted with simple sugar-based extenders after cooled storage*. XII European Poultry Conference, 11-13 September Verona / Italy (accepted, in press).
4. **Bakst MR, Sexton TJ** (1979): *Fertilizing capacity and ultrastructure of fowl and turkey spermatozoa before and after freezing*. J Reprod Fertil, **55**, 1-7.
5. **Bakst MR, Cecil HC** (1992): *Effect of bovine serum albumin on motility and fecundity of turkey spermatozoa before and after storage*. J Reprod Fertil, **94**, 287-293.
6. **Blanco JM, Gee G, Wildt DE, Tselutin K and Donoghue AM** (2000) :*Semen cryopreservation in poultry and non-domestic species: a comparative approach to understanding the fundamentals of avian spermatozoa cryobiology*. Br Poult Sci, **41**, 6-7.
7. **Blanco JM, Gee G, Wildt DE and Donoghue AM** (2000): *Species variation in osmotic, cryoprotectant, and cooling rate tolerance in poultry, eagle and peregrine falcon spermatozoa*. Biol Reprod, **63**, 1164-1171.
8. **Dimitrov SG, Georgiov SK and Atanasov VK** (2000): *A new diluent (I<sub>8.5</sub>) and method for freezing turkey semen: fertility data*. Br Poult Sci, **41**, 11.
9. **Donoghue AM, Wishart JG** (2000): *Storage of poultry semen*. Anim Reprod Sci, **62**, 213-232.
10. **Gill SP and Barbato GF** (2006): *Cryopreservation of Rooster sperm: influence of genotypes and methodologies*. Erişim: <http://www.fass.org/fass01/pdfs/Gill.pdf> 03.02.2006
11. **Giesen AF, Sexton TJ** (1983): *Beltsville poultry semen extender 9. Effect of storage temperature on turkey semen held eighteen hours*. Poult Sci, **62**, 1305-1311.
12. **Graham EF, Nelson DS, Schmehl MK** (1982a): *Development of extender and techniques for frozen turkey semen. 1. development*. Poult Sci, **61**, 550-557.
13. **Graham EF, Nelson DS, Schmehl MK** (1982b): *Development of extender and techniques for frozen turkey semen. 2. fertility trials*. Poult Sci, **61**, 558-563.
14. **Graham JW and Palmer FH** (1986): *The effect of cryopreservation at -196° C on the viability of fowl and turkey spermatozoa assessed in vitro*. Anim Reprod Sci, **10**, 317-324.
15. **Han XF, Niu ZY, Liu FZ and Yang CS** (2005): *Effect of diluents, cryoprotectants, equilibration time and thawing temperature on cryopreservation of duck semen*. Int J Poult Sci, **4**, 197-201.
16. **Keskin O, Tekin N, Akçay E** (1995): *Erbro ırkı horoz spermalarının farklı sulandırıcı ve kryoprotektanlarla dondurulması*. Lalahan Hay Arş Ens Derg, **35**, 110-125.
17. **Laffaldano N, Meluzzi A** (2003): *Effect of dialysis on quality characteristics of turkey semen during liquid storage*. Theriogenology, **60**, 421-427.
18. **Lake PE, Stewart JM** (1978): *Artificial Insemination in Poultry*. London Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Bulletin 213.
19. **Long JA, Kulkarni G** (2004): *An effective method for improving the fertility of glycerol-exposed poultry semen*. Poult Sci, **83**, 1595-1601.
20. **Pinto O, Amir D, Schindler H, Hurwitz S** (1985): *Fertility of fresh and stored turkey spermatozoa in the presence or absence of glucose or fructose in the suspension medium*. Poult Sci, **64**, 1388-1390.
21. **Sexton TJ** (1988a): *Comparison of commercial diluents for holding turkey semen 24 hours at 5°C*. Poult Sci, **67**, 131-134.
22. **Sexton TJ** (1988b): *Research note: influence of damaged spermatozoa on the fertility turkey semen stored for 24 hours at 5°C*. Poult Sci, **67**, 1483-1485.
23. **Sexton TJ** (1976): *Studies on the dilution of turkey semen*. Br Poult Sci, **17**, 179-184.
24. **Tekin N** (1990): *Erkek üreme organlarının muayenesi (Androlojik Muayeneler)*. 61-62. In: Erol Alaçam (Ed), Theriogenoloji. Nurol Matbacılık, Ankara.
25. **Tselutin K, Narubina L, Mavrodina T, Tur B** (1995): *Cryopreservation of poultry semen*. Br Poult Sci, **36**, 805-811.
26. **Wambeke FV and Huyghebaert G** (1989): *Current role of semen storage and artificial insemination in the turkey industry*. Br Poult Sci, **30**, 461-469.
27. **Wishart, GJ** (1985): *Quantitation of the fertilizing ability of fresh compared with frozen and thawed fowl spermatozoa*. Br Poult Sci, **26**, 375-380.

Geliş tarihi: 03.05.2006 / Kabul tarihi: 06.06.2006

### Yazışma adresi:

Doç. Dr. Ergun Akçay  
Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı  
Ankara 06110