

Elektro-ejakülasyon yöntemiyle kediden sperma alınması ve sun'i tohumlama

Ali DAŞKIN

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Ankara

Özet: Bu çalışmada lokal ırk bir dişi kedi, aynı ırk bir erkek kediden elektro-ejakülasyonla alınan sperma ile 24 saat arayla intravaginal olarak iki kez tohumlandı ve gebelik elde edildi. Sperma erkek kediden elektro-ejekülatör yardımıyla, anestezi altında alındı ve Tris sulandırıcısı ile sulandırıldıktan sonra kimi spermatolojik özellikleri saptandı. Anamnez, klinik gözlem ve vaginal smear bulguları ile östrusta olduğu saptanan dişi kedi, 24 saat arayla iki kez, taze sperma ile intravaginal olarak tohumlandı. Tohumlamalardan sonra dişi kediye, ovulasyonu uyarmak amacıyla 50 IU HCG kas içi olarak uygulandı. Gebelik, ilk tohumlamadan sonraki 30. günde ultrasonografi ile saptandı ve 58. gün doğum gözlemlendi.

Anahtar kelimeler : Elektro-ejakülasyon, kedi, sun'i tohumlama

Semen collection by electro-ejaculation and artificial insemination in the cat

Summary: In this study, a local breed female cat was inseminated intravaginally with the semen taken by electro-ejaculation from a male cat of the same breed and it was obtained pregnancy. The semen were taken from the male cat by electro-ejaculator under the anesthesia, and examined for spermatological parameters after diluted with Tris extender. On the basis of anamnesis, clinical inspection and parameters of vaginal smear, the female cat was inseminated two times with fresh semen in an interval of 24 hours. Fifty IU HCG was injected intramuscularly to the female cat after the inseminations in order to provacate the ovulations. Pregnancy was determined by ultrasonography on the 30th day after the first insemination and whelping taked place on the 58th day.

Key words : Artificial insemination, cat, electro-ejaculation

Giriş

Diğer hayvan türlerinde olduğu gibi kedilerde de sun'i tohumlama uygulamalarında, kızgınlığın ve en uygun tohumlama zamanının doğru tespit edilmesi, kızgınlığı saptanan dişilerin uygun teknik ve yöntemlerle tohumlanmaları çok önemlidir.

Erkek kedilerden spermanın alınmasında, kedilerin sun'i vagina yönteminine kolayca alıştıramaması gibi bir takım zorluklar vardır. Kedilerden sperma alınmasında kullanılacak diğer bir yöntem ise elektro-ejakülasyon yöntemidir. Bu yöntem sedasyon ya da anestezi altındaki kedilerde elektriksel uyarımlar sağlayan, mekanizması diğer hayvanlardakine benzer bir gereç ve rektal proba yapılabilmektedir. Elektro-ejakülasyon yöntemi, anestezi altındaki her erkek kedide uygulanabilir olması ve ejakülatın sun'i vaginayla alınan spermaya göre daha fazla toplanabilmesi gibi avantajlar sağlamaktadır (1,5,6,14, 16). Elektro-ejekülatörle alınan spermalarda ejakülat miktarı 0.02 ile 0.50 ml arasında değişmektedir (12,16). Spermatozoa motilitesinin sperma örneklerine göre %50-90 arasında değiştiği; ejakülatta spermatozoon yoğunluğunun ise büyük farklılıklar gösterdiği ve $12 \times 10^6 - 147 \times 10^6$ arasında değişebildiği bildirilmektedir (2,10,12,15, 17).

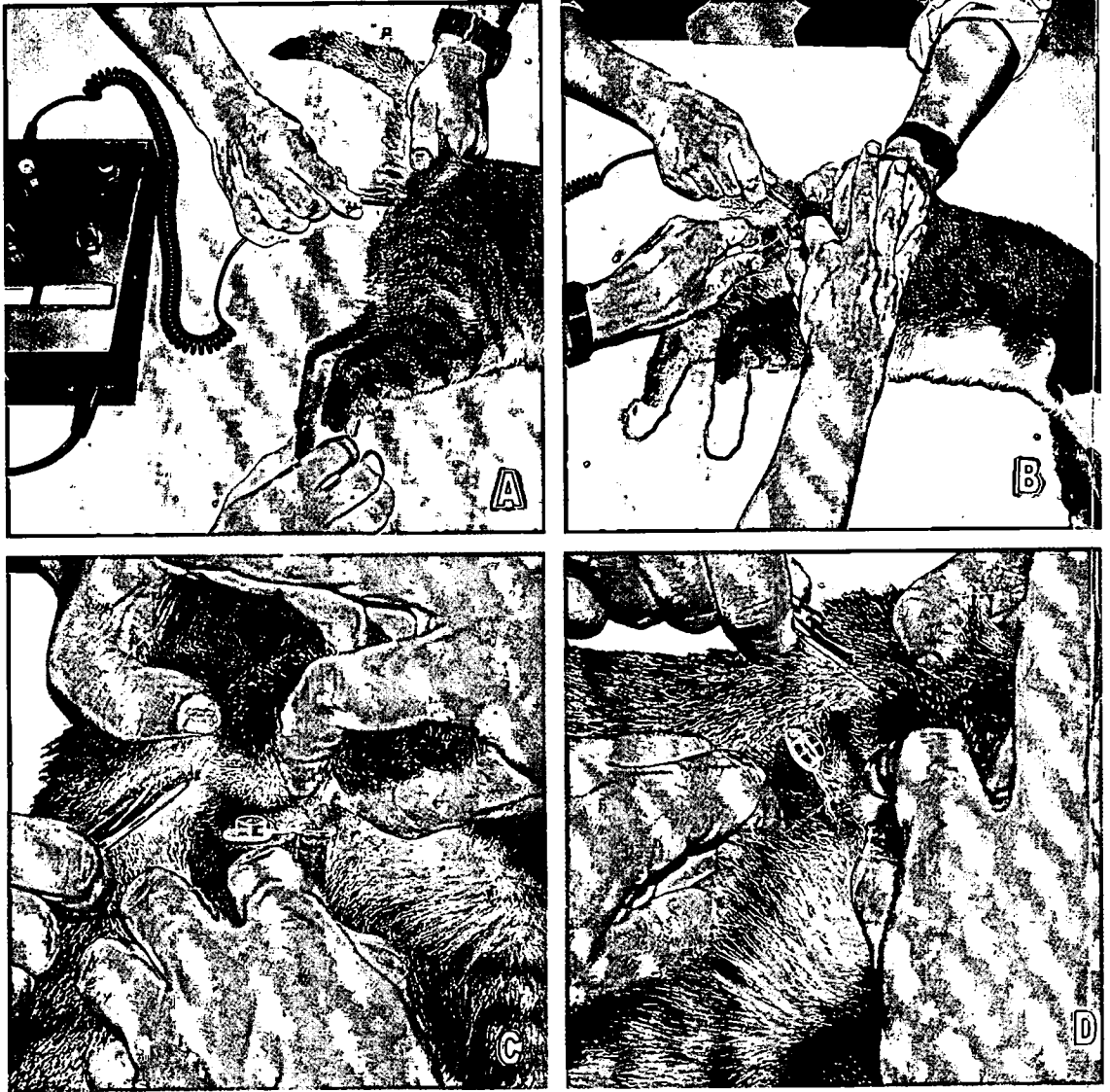
Pubertaya ulaşmış dişilerin, çevresel ve hormonal faktörlerin etkisiyle kimi özel davranışlar göstererek erkeği kabul etmesine östrus denmektedir. Östrustaki dişi kedilerde sık sık miyavlama, yerde yuvarlanma, spray tarzında idrar çıkarma ve alçak yürüme gibi davranışlar gözlenmektedir. Dişi kedilerde östrusun saptanmasında, pratik olarak klinik gözlem bulgularına ilaveten vaginal smear yapılabilmektedir. Dişi kedilerde östrusun saptanması, kızgınlık davranışlarının gözlenmesi ve bu belirtilerin vaginal sitoloji bulguları ile doğrulanması ve desteklenmesi ile daha olumlu sonuçlar alınabilmektedir (3,4).

Vaginal sitoloji, östrusa neden olan hormonların vagina mukozasında meydana getirdiği değişikliklerin saptanmasına dayanmaktadır. Ancak, vaginal sitoloji kedilerde optimum çiftleşme zamanı için çok belirleyici değildir (8,16). Vaginal smear örneklerinde köpeklerde olduğu gibi proöstrusta çekirdekli ve kornifiye hücreler ile lökositler görülürken eritrositlere rastlanmaz. Kedilerde gözlenen kornifikasyon, köpeklerde olduğu gibi östrus başlangıcını göstermek için çok tanımlayıcı değildir (13). Bazal hücreler, vaginal smear örneklerinde östrus ve erken metaöstrus dönemlerinde görülmezken siklusun diğer dönemlerinde sınırlı sayıda görülebilirler.

Parabazal hücreler ise östrusta neredeyse hiç görülmezlerken metöstrüsün son dönemlerinde maksimum seviyede bulunurlar. İntermedier hücrelerin sayıları östrusta azalırken erken metöstrusta hızla artmaya başlar. Çekirdeksiz süperfisiyal hücreler ise, siklus boyunca görülebilirken östrusta maksimum seviyeye ulaşır. Piknotik çekirdekli süperfisiyal hücrelerin pro-östrustan metöstrusa doğru sayıları azalır (3).

Kedilerde ilk başarılı sun'i tohumlama çalışmaları Sojka ve ark.(15) tarafından 1970 yılında yapılmıştır. Sun'i tohumlama nativ, nativ miks, sulandırılmış ve dondurulmuş sperma ile yapılabilmektedir. Tohumlamayı takiben ovulasyonu teşvik amacıyla 50-75 IU HCG injeksiyonu yapılmasının uygun olduğu bildirilmektedir. Tohumlama için, spermanın vulvadan 1.5 cm kadar girilerek serviksın ağzına 0.1-0.2 ml'lik volum içinde 5-300

$\times 10^6$ motil spermatozoa dozlarında bırakılarak yapılabileceği kaydedilmektedir (3,7). Suni tohumlama için kullanılacak taze sperma, alındıktan hemen sonra izotonik bir tuz solusyonu ile 1 ml'ye kadar sulandırılmalıdır. Bu spermanın 0.1 ml'si tohumlama için yeterli olabilir. Rutin çalışmalarda ise tohumlama dozunda $50 \times 10^6/ml$ spermatozoon içeren dozlar tavsiye edilmektedir. Tohumlamanın vaginanın derinlerine ya da servikse yapılması ve ovulasyonun indüklenmesi için de hormonal uyarımlarla desteklenmesi önerilmektedir. Bu şekilde %50 gebelik oranı elde edilebileceği; 24 saat sonra ikinci tohumlama ve 50 IU HCG injeksiyonu ile de gebelik oranının %75'e kadar çıkarılabileceği önerilmektedir (15). Ovulasyonun indüklenmesi için östrusun 1. ve 2. gününde HCG injeksiyonları ya da vazektomize erkek kedi kullanılabileceği de kaydedilmektedir (9).



Şekil 1. A. Elektro-ekajülatör probunun rektuma uygulanması. B. Prepusyumdan penisin dışarı çıkarılması. C ve D. Penisin ereksiyonu ve spermanın alınması.
Figure 1. A Application of prob to rectum. B. Take out of the penis from preaputium. C and D. Erection of the penis and semen collection.

Bu çalışma, kızgınlığı ve uygun tohumlama zamanı klinik gözlem ve vaginal smear bulguları ile tespit edilen kedinin, erkek kediden elektro- ejakülasyon yöntemiyle alınan sperma ile suni tohumlanması ve dölvürümü elde edilmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışmanın hayvan materyalini 3.7 kg ağırlığında 2.5 yaşında sağlıklı bir lokal ırk erkek kedi ve 2.2 kg ağırlığında 3 yaşında, sağlıklı ve bir doğum yapmış lokal ırk bir dişi kedi oluşturdur.

Dişi kedide kızgınlığın saptanması

Dişi kedinin kızgınlığı hayvan sahibinin gözlemine dayanan anamnez bilgileri, kedinin klinik belirtileri ve vaginal smear yöntemiyle tespit edildi.

Vaginal smear örneği alınması

İnce, pamuklu bir çubuk ile vaginadan alınan swab lam üzerine serilip toluidin mavisiyle 3-5 dk boyandıktan sonra lamel kapatılarak mikroskopta x100 büyütme ile incelendi.

Elektro- ejakülatör

Erkek kediden spermanın alınmasında 50 Hz frekans modülasyonunda 3 V/dk 300 mA elektriksel uyarım sağlayan bir elektro- ejakülatör kullanıldı.

Spermanın alınması

Elektro- ejakülasyon yöntemi ile sperma alınması esnasında erkek kediyeye 2.3 mg/kg xylazin hidroklorit ve 5 mg/kg ketamin hidroklorit anestezisi kas içi olarak uygulandı. Kedinin penis ve anus bölgesindeki uzun tüyler kesilerek temizlendi ve elektro- ejakülatörün rektal probu kayganlaştırılarak, yan yatırılan kedinin rektumuna yerleştirildi. Toplama kadehi olarak kullanılan plastik tüp, uyarımlar başladıktan sonra belirginleşen penisin glans penisini içine alacak şekilde yerleştirildi ve sperma alınana kadar kediye elektriksel uyarım verildi. Ejakülasyonla birlikte uyarım kesildi ve prob dışarı alındı. Sperma alma işlemi 24 saat sonra tekrarlandı.

Spermanın muayenesi

Alınan spermanın miktarı mikropipet yardımıyla ölçüldü. Kedide sperma miktarının azlığı dolayısıyla alınan ejakülatlar eşit miktarda Tris sulandırıcısı ile sulandırıldıktan sonra spermatozoon motilitesi ve yoğunluğu saptandı.

Dişinin tohumlanması

Tohumlanacak dişinin sakinleşmesini sağlamak amacıyla tohumlama öncesi 2.3 mg/kg xylazin hidroklorit kas içi olarak uygulandı. Sedasyondan sonra kedi yan yatırıldı ve vulva bölgesinin temizliği sağlandıktan sonra

adapte edilmiş ince, plastik bir pipet, vagina içinde yaklaşık 1.5 cm ilerletilerek nativ sperma vaginaya bırakıldı. Dişi kediyeye tohumlamadan hemen sonra ovulasyonu teşvik etmek amacıyla 50 IU HCG kas içi olarak uygulandı. Tohumlama işlemi 24 saat sonra tekrarlandı.

Bulgular

Araştırmada kullanılan erkek kediden 1. gün elektro- ejakülasyon yöntemiyle açık krem renğinde, 360 µl miktarında, %70 motiliteye sahip, $90 \times 10^6/ml$ yoğunlukta; 2. gün ise 246 µl miktarında %75 motiliteye sahip $65 \times 10^6/ml$ yoğunlukta spermatozoon içeren ejakülatlar alındı (Şekil 1).

Dişi kedinin gözleminde sık sık miyavladığı, alçak yürüme davranışı sergilediği bildirildi. Kedinin klinik muayenesinde genital ve sakral bölgeye yapılan masaja cevap olarak lordosis davranışı sergilediği ve vulvanın hafif ödemli ve açık pembe renkte olduğu tesbit edildi.

Vaginal smear örneklerinde %80 çekirdekli ve çekirdeksiz süperfisyal hücreler ile %20 oranında intermedier ve diğer hücre tipleri saptandı.

Östrusta olduğu tespit edilen dişi kedi sedasyon altında 24 saat arayla iki kez intravaginal olarak tohumlandı (Şekil 2). İlk tohumlamada $90 \times 10^6/ml$ yoğunlukta ve %70 motil spermatozoon içeren ejakülat ve ikinci tohumlamada $65 \times 10^6/ml$ yoğunlukta ve %75 motil spermatozoon içeren ejakülat ile dişi kedi intravaginal olarak tohumlandı. Gebelik, ilk tohumlamadan sonraki 30. gün ultrason bakı ile tespit edildi ve dişi kedi ilk tohumlamadan sonraki 58. gün 4 yavru doğurdu.



Şekil 2. Kedinin taze sperma ile intravaginal tohumlanması.
Figure 2. Artificial insemination of cat intravaginally with fresh semen.

Tartışma ve Sonuç

Suni vagenle sperma alma gibi diğer türlerde yaygın ve başarılı bir şekilde uygulanan sperma alma yöntemlerinin kedilerde uygulanabilirliğinin zorluğu yanında, bu yöntemlerle alınan sperma miktarının azlığı, kedilerden sperma almada elektro-ejakülatör yöntemini vazgeçilmez kılmaktadır (1,5,12,16). Hastalıkların kontrolü, erkek ve dişiye bağlı agresif ya da diğer antisosyal davranışlar, anormal dış genital organ anomalileri ile fizyolojik ya da fiziksel çiftleşme problemleri yanında teşhise ve araştırmaya yönelik olgular kedilerde sperma alma ve sun'i tohumlamayı gerektiren başlıca olguları oluşturmaktadır (9,15).

Elektro-ejakülasyon yöntemi bu çalışmada anestezi altındaki erkek kediden sperma alınmasında başarı ile uygulanmıştır (Şekil 1). Erkek kediden 24 saat arayla iki kez alınan ejakülatlarda saptanan sperma miktarı, spermatozoon motilitesi ve yoğunluğu, kimi araştırmacıların kedilerde bildirdikleri spermatolojik parametrelerle uyum içinde olmuştur (10,12,15-17). Dişi kedide uygun tohumlama zamanını belirlemeye yönelik vaginal smear bulguları ise, östrusun klinik bulgularını onaylar nitelikte bulunarak bu açıdan kimi araştırmacıları (3,4) desteklemektedir.

Elde edilen gebelik sonucuna kimi araştırmacıların (9,10,15) da bildirdiği gibi, tohumlamalardan sonra kas içi olarak uygulanan HCG injeksiyonlarının da etkili olduğu düşünülmüştür.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada erkek kedilerden elektro-ejakülasyonla sperma alınabileceği ve uygun nitelikli sperma ile kedilerde sun'i tohumlamanın başarıyla uygulanabileceği kanısına varılmıştır.

Kaynaklar

1. Arthur HG, Noakes DE, Pearson H (1983): *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 6th ed. 523. Bailliere and Tindall, London.
2. Axner E, Holst BS, Lindc-Forsberg C (1998): *Morphology of spermatozoa in the cauda epididymidis before and after electro-ejaculation and a comparison with ejaculated spermatozoa in the domestic cat*. *Theriogenology*, **15**, 973-979.
3. Christiansen IbJ (1984): *Reproduction in the Dog and Cat*. 1st ed. 225-262. Bailliere and Tindall, London.
4. Cupps PT (1991): *Reproduction in Domestic Animals*. 4th ed. 535-554. Academic Press Inc, California.
5. Getty R (1975): *Sisson and Grossman's The Anatomy of the Domestic Animals*. 5th ed. Vol 2. 1739. WB Saunders Co, Philadelphia.
6. Goodrowe KL, Howard J, Schimidt PM, Wild DE (1989): *Reproductive biology of the domestic cat with special reference to endocrinology, sperm function and in vitro fertilization*. *J Reprod Fert Suppl*. **39**, 73-90.
7. Hamner CE, Jennings LL, Sojka NJ (1970): *Cat (Felis catus L.) spermatozoa require capacitation*. *J Reprod Fert*, **23**, 477-480.
8. Herron MA (1977): *Feline reproduction*. *Vet Clin N Amer*, **7**, 715-722.
9. Platz CC, Wildt DE, Seager SWJ (1978): *Pregnancy in the domestic cat after artificial insemination with previously frozen spermatozoa*. *J Reprod Fert*, **52**, 279-282.
10. Scott PP (1970): *Cats*. 192-208. In: ESE Hafcz (Ed). *Reproduction and Breeding Techniques for Laboratory Animals*. Lea and Febiger, Philadelphia.
11. Scott PP (1972): *The Cat*. 328-353. In: The UFAW Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. 4th ed. Churchill Livingstone, London.
12. Seager SWJ (1977): *Semen Collection, Evaluation and Artificial Insemination of the Domestic Cat*. 1252-1254. In: RP Kirk (Ed), *Current Veterinary Therapy*. WB Saunders Co, Philadelphia.
13. Shille VM, Lundström KE, Stabenfeldt GH (1979): *Follicular function in the domestic cat as determined by estradiol-17 β concentrations in plasma: relation to estrus behaviour and cornification of exfoliated vaginal epithelium*. *Biol Reprod*. **21**, 953-963.
14. Smith FO (1989): *Examining male dogs and cats for breeding soundness*. *Vet Med*, June. 594-603.
15. Sojka NJ, Jennings LL, Hammer CE (1970): *Artificial Insemination in the cat (Felis catus)*. *Lab Anim Care*. **20**, 198-204.
16. Watson PF (1990): *Artificial Insemination and the Preservation of Semen*. 748-835. In: GE Lamming (Ed). *Mars-hall's Physiology of Reproduction: Reproduction in the Male*. Churchill Livingstone, Edinburg.
17. Wildt DE, Bush M, Howard JG, O'Brien SJ, Meltzer D, Vandyk A, Ebedes H, Brand DJ (1983): *Unique seminal quality in the South African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat*. *Biol Reprod*. **29**, 1019-1025.

Geliş tarihi : 20.9.2001 / Kabul tarihi : 1.10.2001

Yazışma adresi:

Doç.Dr. Ali Daşkın

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı
06110 Dışkapı, Ankara
daskin@veterinary.ankara.edu.tr