VETERİNER REPRODÜKSİYONDA GÜNCEL YAKLAŞIMLAR:
ÜREME BİYOTEKNOLOJİLERİ VE KLİNİK UYGULAMALAR

EDİTÖR
VOLKAN KOŞAL





BİDGE Yayınları

BİDGE Yayınları

Veteriner Reprodüksiyonda Güncel Yaklaşımlar: Üreme Biyoteknolojileri ve Klinik Uygulamalar

Editör: VOLKAN KOŞAL

ISBN: 978-625-5474-57-5

1. Baskı
Sayfa Düzeni: Gözde YÜCEL
Yayınlama Tarihi: 2026-10-23
BİDGE Yayınları

Bu eserin bütün hakları saklıdır. Kaynak gösterilerek tanıtım için yapılacak kısa alıntılar dışında yayıncının ve editörün yazılı izni olmaksızın hiçbir yolla çoğaltılamaz.

Sertifika No: 71374
Yayın hakları © BİDGE Yayınları
www.bidgeyayinlari.com.tr - bidgeyayinlari@gmail.com
Krc Bilişim Ticaret ve Organizasyon Ltd. Şti.
Güzeltepe Mahallesi Abidin Daver Sokak Sefer Apartmanı No: 7/9 Çankaya / Ankara

DÖLERME VE SUNİ TOHUMLAMA: GÜNCEL YAKLAŞIMLAR

ÖNSÖZ

Hayvancılık sektörünün sürdürülebilirliği ve verimliliği açısından döl verimi, üretimin temel unsurlarından biridir. Yüksek ve sürdürülebilir bir üreme performansının sağlanması; genetik ilerlemenin sürdürülebilmesi, sürülerin verimli bir şekilde yönetilmesi ve ekonomik üretimin devamlılığı bakımından büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle üreme biyolojisinin anlaşılması ve yardımcı üreme tekniklerinin etkin biçimde kullanılması, modern hayvancılık uygulamalarının vazgeçilmez unsurlarından biri hâline gelmiştir.

Suni tohumlama, üstün genetik özelliklerin geniş hayvan popülasyonlarına aktarılmasına olanak sağlaması, yetiştirme programlarının etkinliğini artırması, döl veriminin planlanmasına katkıda bulunması ve hayvan sağlığı açısından çeşitli avantajlar sunması nedeniyle veteriner hekimlik ve hayvansal üretim alanında uzun yıllardır önemli bir uygulama olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, suni tohumlamada yüksek gebelik oranlarının elde edilmesi; hayvanın fizyolojik ve üreme özellikleri, gametlerin niteliği, uygulama zamanı, kullanılan yöntem ve materyaller, çevresel koşullar ve yetiştirme sisteminin birçok bileşeninin bir arada değerlendirilmesini gerektirmektedir.

Üreme biyolojisi ve yardımcı üreme teknolojileri alanındaki bilimsel gelişmeler, mevcut bilgi ve uygulamaların sürekli olarak gözden geçirilmesini ve güncel bilimsel veriler doğrultusunda geliştirilmesini gerekli kılmaktadır. Özellikle gamet biyolojisi, semen kalitesi, fertilizasyon süreçleri, üreme fizyolojisi ve biyoteknolojik uygulamalara ilişkin çalışmalar, hayvanlarda üreme başarısının daha iyi anlaşılmasına ve geliştirilmesine önemli katkılar sağlamaktadır.

Bu kitap, Dölerme ve Suni Tohumlama alanındaki temel bilgileri güncel bilimsel yaklaşımlarla birlikte sunmak amacıyla hazırlanmıştır. Bilimsel bilgi ile uygulama arasındaki ilişkinin ortaya konulması ve farklı disiplinlerden elde edilen güncel bilgilerin bir araya getirilmesiyle, veteriner hekimler, akademisyenler, araştırmacılar, lisansüstü öğrenciler ve konuya ilgi duyan öğrenciler için yararlanılabilecek kapsamlı bir kaynak oluşturulması amaçlanmıştır.

Bilimsel bilginin sürekli geliştiği ve yeni araştırmalarla mevcut yaklaşımların değişebildiği göz önünde bulundurulduğunda, bu kitabın yalnızca mevcut bilgi birikimini aktaran bir kaynak olmanın ötesinde, yeni araştırmalara ve bilimsel çalışmalara katkı sağlayan bir başvuru eseri olması hedeflenmiştir.

Bu eserin ortaya çıkmasında bilgi ve deneyimlerini paylaşarak katkı sağlayan tüm değerli yazarlarımıza teşekkür eder; kitabın Dölerme ve Suni Tohumlama alanında çalışan veteriner hekimlere, akademisyenlere, araştırmacılara ve öğrencilere yararlı olmasını dilerim.

Doç. Dr. Volkan KOŞAL

İÇİNDEKİLER

SUNİ TOHUMLAMADA MODERN ÜREME BİYOTEKNOLOJİLERİ 1
GÖKHAN KOÇAK

TEKE SPERMATOZOONLARINDA FERROPTOZİS 25
DIHYE HİKMET KOÇHİSARLI, NURDAN COŞKUN

HAYVANLARDA KİMYASAL KASTRASYON: MEKANİZMALARI, KULLANILAN AJANLAR VE İNTRATESTİKÜLER UYGULAMALAR 36
NURDAN COŞKUN

KEÇİLERDE KULLANILAN SUNİ TOHUMLAMA YÖNTEMLERİ 48
NURDAN COŞKUN

BÖLÜM 1

SUNİ TOHUMLAMADA MODERN ÜREME BİYOTEKNOLOJİLERİ

Dr. Öğr. Üyesi GÖKHAN KOÇAK[1]

GİRİŞ

Herhangi bir hayvancılık üretim sisteminde, özellikle süt, et, yük ve damızlık hayvanlarda, verimli üreme performansı ve izleme, sürdürülebilirlik için şarttır. Son zamanlarda, değişen iklimle birlikte verimliliği ve hastalıkları artırma konusunda artan zorluklar yaşanmaktadır. Bu hedeflere, bir ölçüde, geleneksel üreme teknikleriyle ulaşılabileceği düşünülmektedir. Modern üreme teknolojilerinin ortaya çıkması ve kullanımı, çeşitli evcil hayvan türlerinde üreme performansını iyileştirmek için hem in vitro hem de in vivo olarak üreme olgusunu incelemek, tedavi etmek ve manipüle etmek için birçok yol açmıştır. Üreme biyoteknolojileri alanındaki çeşitli gelişmeler aşağıda ele alınmıştır.

Sperm Transkriptomikleri

Transkriptomik, spermatogenez de dahil olmak üzere çeşitli gelişim aşamalarında mRNA'nın incelenmesini içerir. Sperm, babadan gelen genleri oosite taşır ve ayrıca spermatogenezden kaynaklanan artık haberci RNA'yı da taşır. Bu transkriptler, farklı hücresel ve biyolojik süreçlerle ilişkilidir. Mikroarraylar veya yeni nesil sekanslama teknolojileri kullanılarak bu transkriptlerin profillenmesi, sperm mRNA ekspresyon profili analizi ve ilgili

genlerdeki polimorfizmi incelemek için oldukça etkili bir araç olduğunu kanıtlamıştır. Çalışmalar, yüksek fertiliteye sahip boğalarda, düşük fertiliteye sahip boğalara kıyasla membran ve hücre dışı alan protein konumları için daha yüksek konsantrasyonlarda transkriptler ile ekspresyon profili transkriptlerinde bir farklılık olduğunu göstermiştir. Bu transkriptler arasında protamin 1, kazein beta 2 ve trombospondin reseptörü CD36 molekülü yer almaktadır (Feugang et al., 2010). Bu çalışmalar, spermatogenezdeki anormal gelişimle ilişkili transkriptomik değişikliklerin aydınlatılmasına ve yardımcı üreme teknolojilerinin geliştirilmesine olanak sağlayacak ve aynı zamanda doğurganlık belirteçleri olarak da hizmet edecektir (Miller, 2014; Bissonnette et al., 2009), ancak doğurganlıkla ilgili genler üzerindeki bu tür çalışmaların saha koşullarında doğrulanması gerekmektedir ki bu da muazzam maliyet ve insan gücü gerektirir.

Önemli Biyobelirteçler

Proteomik ve genomikteki atılımlar, doğurganlığı tahmin etmek için meni de dahil olmak üzere çeşitli biyolojik sıvılarda çeşitli biyobelirteçlerin tanımlanmasına yol açmıştır. Doğurganlıkla ilişkili meni biyobelirteçlerinden bazıları şunlardır: doğurganlıkla ilişkili antijen, CATSPER ailesi proteinleri, sistein açısından zengin salgılayıcı proteinler, A-kinaz çapa proteini 4, küme farklılaşma antijeni 9, sitokrom P450 aromataz, katepsin D, α-l-fukosidaz, fosfolipaz A2 sığır seminal plazma proteinleri, spermadhezin Z13, küsterin, osteopontin, heparin/jelatin bağlayıcı proteinler ve PDC-109 benzeri protein (Arangasamy et al., 2005; Srivastava et al., 2013). Bu proteinler normal sperm hareketliliği ve erkek doğurganlığı için kritiktir. Bu doğurganlık belirteçlerine dayanarak boğaları tanımlama yeteneği, daha yüksek gebelik oranına ve dolayısıyla artan buzağı verimine yol açabilir (Peddinti et al., 2008) ancak proteinleri içeren bu çalışmalar, doğrulama ve saha

koşullarında kullanım için büyük maliyet yatırımı ve gelişmiş enstrümantasyon gerektirmesi nedeniyle henüz başlangıç aşamasındadır.

Sperm Kapsüllemesi

Bu yöntem, sperm hücrelerinin *canlı organizmada* daha uzun süre korunması için kapsüllenmesini içerir. Bu teknoloji, sperm hücrelerinin vücut sıcaklığındaki ömrünü uzatmak ve insan dahil çeşitli evcil hayvan türlerinde birkaç gün boyunca canlı sperm hücrelerinin kademeli olarak salınımını sağlamak için tasarlanmıştır. Sığır sperminin mikroenkapsülasyonu, standart kapsülleme prosedürü kullanılarak kalsiyum aljinat, selüloz sülfat-poli-dialil-dimetil-amonyum klorür (CS-pDADMAC), poli-l-lizin, polivinilamin ve protamin sülfat membran bileşenlerinden oluşan kapsüller kullanılarak yapılır. Genellikle, sperm kapsülünün boyutu 0,75 ile 1,5 mm arasında değişir ve sperm konsantrasyonu mililitre başına 45-180 milyon arasındadır. Çalışmalar, sığır sperm hücrelerinin diğer polimerlere kıyasla CS-pDADMAC bazlı kapsüller içinde yüksek hareketlilik oranları gösterdiğini ortaya koymuştur. Sperm kapsülleme uzatıcıları olarak *CUE*, CAPROGEN ve yumurta sarısı-sitrat-gliserol, sperm üzerinde herhangi bir ciddi etki olmaksızın kullanılmıştır. Bu nedenle, kapsülleme sadece sperm salınımının sürdürülmesine yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda kriyokapasitasyonun önlenmesine de yardımcı olur ve gebelik oranının arttığı bildirilmiştir (Faustini, 2011). Bu teknik sığır ve domuzlarda geliştirilmiş olsada, diğer hayvancılık türlerinde saha koşullarında kullanılabilmesi için daha gelişmiş bir kapsülleme aletine ve standardizasyona ihtiyaç duyulmaktadır.

In Vitro Olgunlaştırma, Dölleme ve Kültürleme (IVMFC)

Bu, mezbaha yumurtalıklarından veya canlı hayvanlardan oosit toplanmasını, ardından canlı embriyoların üretimi için *in vitro olgunlaştırma ve döllenmeyi içerir. İn vitro* fertilizasyon (IVF) tekniğiyle üretilen ilk buzağı 1981 yılında üretilmiştir (Brackett et al., 1982). *İn vitro* olgunlaştırma, IVF ve *in vitro* kültür için çeşitli yöntemler, dünya çapında buzağı üretimiyle sığır ve mandalarda standartlaştırılmıştır (Hasler, 2003; Betteridge, 2006). 1990 yılında Hindistan'da ilk IVF manda buzağısı "Pratham" üretilmiş ve *İn vitro* embriyo üretimine (IVEP) ek olarak, farklı türler için çeşitli tanımlanmış ve yarı tanımlanmış ortamların geliştirilmesi sağlanmıştır. Ayrıca, IVMFC, embriyo transferi, klonlama, transgenetik ve diğer gelişmiş *in vitro* teknikler için mükemmel bir embriyo kaynağı sağlamıştır. Ayrıca, çeşitli evcil türlerde embriyoların gelişim potansiyelinin, gen ekspresyon paterninin, epigenetik modifikasyonların ve sitogenetik bozuklukların analizine olanak sağlamış ve insan embriyogenezi çalışmaları için bir model olarak kullanılmıştır (Warriach et at., 2015) IVEP verimliliğinin ana sınırlayıcı faktörü düşüktür, yani IVMFC sonrası oositlerden blastosist gelişim oranı %30-40'tır (Galli & Lazzari, 2008). Bu verimlilik, bu türde oositlerin daha düşük oranda geri kazanılmasının yanı sıra, mandalarda çok daha düşüktür. Düşük başarı oranı ve maliyetler, tekniği mandalarda ve diğer hayvancılık türlerinde saha koşullarında uygulanmasını daha az uygun hale getirmektedir (Drost, 2007).

Yumurta Toplama (OPU)

Bu, canlı hayvanların antral foliküllerinden çok sayıda yetkin oosit elde etmek için kullanılan invaziv olmayan ve tekrarlanabilir bir tekniktir. Bu prosedür ilk olarak Galli et al. (2001) tarafından sığırlarda yapılmış ve daha sonra diğer türlerde

de denenmiştir. Yumurta toplama oositlerinden embriyo üretimi yaş, mevsim, folikül uyarıcı hormon (FSH) uyarımından etkilenir ve seans başına toplanan oositlerden ortalama 1-3 embriyo gelişebilir (Verma et al., 2012). Ayrıca, tekrarlanan OPU'nun hem sığırlarda hem de mandalarda hayvana minimum stresle yan etki olmaksızın gerçekleştirilebileceği de açıktır (Boni, 2012). Hindistan'da, bu teknikle ilk manda yavrusu (Saubhagya) Prasad et al., (2013). tarafından üretilmiş ve daha sonra ilk sığır yavrusu (Holi) ICAR-Ulusal Süt Araştırma Enstitüsü'nde üretilmiştir. OPU, hayvanlardan daha az invaziv yöntemle oosit toplama ve embriyo transferinde üstün hayvanların oosit donörü olarak kullanılması avantajına sahiptir (Purohit et al., 2003). Bu yöntem sadece yaşam boyu üreme verimliliğini artırmakla kalmaz, aynı zamanda embriyo transfer protokolü sırasında folikül dönüşümüne yardımcı olmak için folikül ablasyonunda da kullanılabilir. Foliküler aspirasyon ayrıca folikülogenez sırasında moleküler karmaşıklığı ve çeşitli sitokinlerin rolünü incelemeye olanak tanır. Bu tekniğin sınırlamalarından biri, yumurtalık başına düşük oosit verimi ve bu tekniği uygulamak için gelişmiş bir alete duyulan ihtiyaçtır (Machado et al., 2006).

Embriyo Transfer Teknolojisi (ETT)

ETT, hayvancılığı daha hızlı bir oranda iyileştirmenin yanı sıra hem erkek hem de dişi genetik katkısından yararlanma fırsatı sağlayan önemli bir araçtır (Mapletoft, 2013; Hasler, 2014). ETT, üstün donörlerden oosit sayısını artırmak için önemli bir adım olan süperovülasyonu içerir (Mapletoft, 1985). Memeli embriyolarının transferi ilk olarak 1890 yılında Walter Heape tarafından gerçekleştirilmiştir. Daha sonra, çeşitli evcil türlerde embriyo transferinde ilerlemeler bildirilmiştir (Hasler, 2003; Drost, 2007; Hasler, 2003). Embriyo transferi yoluyla ilk buzağı doğumu Betteridge tarafından gerçekleştirilmiştir (Betteridge, 2006).

Mandalarda süperovülasyon otuz yıl önce başlamış olsa da (Drost et al., 1976), manda embriyolarından doğan ilk canlı buzağılar 1983 yılında ABD'de ve daha sonra Hindistan'da doğmuştur (Purohit et al., 2003). Mandalar arasında süperovülasyon üzerine çalışmalar, Hindistan da dahil olmak üzere çeşitli ülkelerde hem nehir hem de bataklık mandalarında yapılmıştır (Drost et al., 1976; Nandi et al., 2002). Sığır ve manda süperovülasyonu için çeşitli protokoller, yani çoklu ovülasyon ve embriyo transferi (MOET) kavramı 1987 yılında oluşturulmuştur (Smith, 2001) MOET programlarının, artan seleksiyon yoğunluğu ve azalan nesil aralıkları ile sonuçlanarak genetik kazancı artırabileceği açıktı. Süperovülasyon, donörlerde hormonal preparatlar kullanılarak gerçekleştirilir (Mapletoft, 2013), esas olarak domuz hipofizinden saflaştırılmış folikül uyarıcı hormonlar (FSH-P) veya gebe kısrak serum gonadotropini (PMSG). PMSG'nin yanıtı daha fazlaydı ancak embriyo geri kazanımı üzerinde olumsuz etkisi vardı, bu nedenle FSH preparatları tercih edildi. Süperovülasyonda, foliküllerde artış ve birden fazla folikülden çok sayıda yumurtanın salınımı olur ve bu nedenle üstün boğadan alınan sperm ile çift tohumlama yapılmalıdır. Bunu, sığırlarda 6/7. günde ve mandalarda 5/6. günde embriyoların yıkanması izler. İki yöntem izlenmiştir, yani cerrahi ve cerrahi olmayan. Cerrahi yıkama, cerrahi olmayan yıkamaya kıyasla embriyo sayısında artışa neden olur ancak cerrahi yıkama daha fazla zaman ve emek gerektirir ve genellikle küçük geviş getiren hayvanlarda yapılır (Drost et al., 1976). Cerrahi olmayan yıkama yönteminde, Foley veya Rusch kateteri kullanılır ve uygun yıkama ortamı, östrus sonrası uygun zamanda embriyoları toplamak için uterusun içine ve dışına akıtılır. Embriyolar toplandıktan sonra, kompaktlık, dejenerasyon derecesi ve donörlerle birlikte programlanan alıcılara transfer için uygunluk gibi özellikler açısından değerlendirilir veya gelecekteki transfer için dondurulabilir. Sığır ve mandalarda embriyo transferi sonrası

gebelik oranı yaklaşık %35-45'tir ve ETT için en büyük sınırlayıcı faktör, bu tekniğin özellikle mandalarda zayıf süperovülasyon yanıtı ve gebelik sonuçlarına ek olarak pahalı hormonlar, emek yoğun protokoller ve uzmanlık gerektirmesidir.

Embriyo Kriyoprezervasyonu

Fare embriyosu dondurularak saklanan ilk embriyodur. Embriyoların dondurulması için genellikle kontrollü soğutma hızlarına sahip dondurma makineleri ve kriyoprotektan olarak gliserol içeren geleneksel denge yöntemleri izlenir. Bununla birlikte, dondurulmuş embriyoların transferinden sonra elde edilen gebelik oranları düşüktür (Leibo, & Mazur, 1978; Sirisha et al., 2013). Bu sorunu gidermek için, Rall ve Fahy (1985) tarafından tanıtılan vitrifikasyon, geleneksel kriyoprezervasyon protokolünün yerini almıştır. Bu yöntem, dondurma ekipmanı olmadan gliserol, etilen glikol ve sukroz, glikoz ve fruktoz gibi geçirgen olmayan maddelerin yüksek konsantrasyonlu sulu çözeltisinin kullanımını içerir ve bu nedenle yavaş dondurmaya kıyasla üstün kabul edilir (Rall & Fahy, 1985). Vitrifikasyon, çeşitli gelişim aşamalarındaki sığır embriyolarının dondurulması için %88-89'luk bir geri kazanım oranıyla başarıyla kullanılmıştır. Bu teknik, pahalı hayvanların taşınmasındaki riski ve masrafı azalttığı için avantajlıdır; Hastalık bulaşmasını azaltır ve tehlike altındaki türlerin genetik materyalinin korunmasını sağlar, ancak dondurulmuş embriyoların hayatta kalma oranı azalır ve bu da embriyo transferinden sonra düşük gebelik oranlarına neden olur (Rall & Fahy, 1985; Yavin et al.,2009).

Embriyo Cinsiyet Belirleme

Embriyo cinsiyetinin belirlenmesi, üreme biyoteknolojisinde pratik uygulamaları olan bir tekniktir. Embriyo cinsiyetinin belirlenmesi için biyopsi veya hücre aspirasyonu gibi

çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Bu teknik için embriyolar 7. günde toplanır ve tamponlu salin çözeltisinde yıkanır. Sadece mükemmel veya iyi embriyolardan biyopsi veya aspirasyon yapılır. Genellikle 8-10 hücre toplanır (Thibier & Nibart 1995). Böylece cinsiyet belirleme için gereken toplam süre yaklaşık 5 saattir. Cinsiyet belirleme, Y kromozomuna özgü DNA prob teknolojisi ile spesifik Y kromozomu bölgesinin polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) amplifikasyonu birleştirilerek gerçekleştirilir. Diğer yöntemler, embriyolarda embriyonik HY antijeninin saptanmasını ve döngü aracılı izotermal amplifikasyon ve %95'ten fazla doğruluk gösteren dupleks PCR tabanlı testin kullanılmasını içerir (Rao et al., 1993; Sood et al., 2001), ancak bu protokollerin uygulanması yüksek maliyet, zaman ve uzmanlık gerektirir.

İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI)

ICSI, erkek kısırlığının tedavisinde kullanılan bir mikromanipülasyon tekniğidir. İstenilen embriyoyu üretmek için seçilen bir spermin oositin sitoplazmasına mekanik olarak yerleştirilmesini içerir. Bu teknik, döllenmenin farklı aşamalarını aydınlatmaya yardımcı olur. İlk memeli yumurta enjeksiyon prosedürü, Lin (1966), tarafından altın hamster sperminin hamster yumurtalarına mikroenjeksiyonu ile bildirilmiştir. ICSI başarısının ilk raporundan bu yana, ICSI tavşanlar, fareler, koyunlar, insanlar, atlar, sığırlar ve bufalolar dahil olmak üzere domuzlar gibi diğer türlerde de yapılmıştır (Liang et al., 2011). Bu teknik, hayvan transgenikleri için sperm vektör sistemi için de kullanılır. ICSI ayrıca, taze ve dondurulmuş-çözülmüş meni kullanılarak sığırlarda %80 ve küçük ruminantlarda %48-63 başarı oranıyla cinsiyetlendirilmiş meni ile de yapılmıştır (Betteridge, 2006; Ohlweiler et al., 2013). Bu teknik, yumurtalıklardan aspirasyon yoluyla toplanan oositlerle enjeksiyon için oositlerin ve spermin hazırlanması gibi adımları içerir .Toplanan oositler daha sonra

incelenir ve dondurulmuş veya taze meniden elde edilen spermler, "swim-up" yöntemi kullanılarak hazırlanır ve hareketsiz hale getirilir. Hareketsiz hale getirilmiş sperm, kuyruğu önde olacak şekilde aspire edilir ve tutucu pipete karşı konumlandırılarak oosite enjekte edilir. Sperm, zona pellucidayı delerek polar cismin bulunduğu yere doğrudan enjekte edilir. Genellikle, spermin oosite enjekte edilmesi yaklaşık 5 saniye sürer. Daha sonra, oositler ortam değiştirilerek yıkanır ve ardından mineral yağ altında uygun bir ortamda bir gece boyunca kültüre edilir. Döllenmiş oositler, enjeksiyondan 15-17 saat sonra döllenme belirtileri açısından incelenir. Bu teknik, döllenmenin erken aşamalarındaki moleküler yolların incelenmesi için önemlidir. Evcil türlerde ICSI, model eğitim aracı olarak ve meni kalitesinin bozulduğu üstün boğalardan elde edilen spermlerin kullanımında kullanılabilen insanlara benzerdir; ancak bu teknik, hem araştırma hem de saha koşullarında uygulanması için gelişmiş aletler ve uzmanlık gerektirir.

Embriyogenomik

Bu, yeni biyoteknolojik araçlar aracılığıyla doğal ve değiştirilmiş çevresel koşullar altında çeşitli gelişim evrelerindeki embriyolarda gen ekspresyonunun incelenmesini içerir (Graf et al., 2014-a). Bu yöntemlerle, erken farklılaşma, başarılı implantasyon ve fetal gelişim için önemli olan embriyonik genom aktivasyonu ve gelişimi sırasındaki olaylar zinciri incelenebilir (Graf et al., 2014-b). Transkriptomikleri incelemek için diferansiyel gösterim ters transkripsiyon-PCR, çıkarıcı cDNA kütüphaneleri, kantitatif gerçek zamanlı PCR ve mikrodizi gibi teknikler, çeşitli türlerde implantasyon öncesi embriyo gelişimi boyunca mRNA ekspresyon modellerindeki farklılıkları ortaya çıkarma olanaklarını önemli ölçüde genişletmiştir. İşaretleyici genlerin ekspresyonu üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır; örneğin, glikoz taşıyıcı Tip 1, ısı şok

proteini HSPA-1A, MATER, zigot durdurma 1, büyüme farklılaşma faktörü 9, lösemi inhibitör faktörü ve kemik morfogenetik protein 15 embriyo/oosit (Niemann & Wrenzycki, 2000; Eswari et al., 2013). Genlerin analizi, kaliteli embriyoyu belirlemek için belirteçlerin seçilmesine yardımcı olacak ve embriyo normalliğini değerlendirmek ve yardımcı üreme teknolojilerini optimize etmek için faydalı olacaktır (Sharma et al., 2012; Gad et al., 2012). Bununla birlikte, bu belirteçlerin keşfinin, embriyo büyümesine katkıda bulunabilecek diğer genlere ek olarak, saha koşullarında doğrulanması gerekmektedir; bu da muazzam bir finansal yatırım ve uzmanlık gerektirir.

Somatik Hücre Nükleer Transferi

Somatik hücre nükleer transferi, "klonlama" olarak da adlandırılır ve çok hücreli embriyonun veya somatik hücrenin blastomerlerinin çekirdeği çıkarılmış oositlere aktarılması için mikromanipülasyon tekniği ve hücre füzyonunun kullanılmasını içerir (Tesfaye et al., 2004). Bu teknikte, blastomerin çekirdeği yeni embriyonun gelişimi için yeniden programlanır. Minimal genetik varyasyona sahip seçkin hayvanların çoğaltılması için kullanılan faydalı bir tekniktir (Abdoon et al., 2012; Singla et al., 2015). Hayvan klonlaması, değerli genotiplerin çoğaltılması, genetik modifikasyonların indüklenmesi ve transgeniklerin üretilmesi için kullanılmıştır. Somatik klonlama ile elde edilen ilk hayvan bir koyun olan "Dolly" idi (Vajta, et al, 2003). O zamandan beri, manda ve devenin yanı sıra sığır, domuz, keçi ve at gibi çeşitli hayvanlarda klonlama yapılmıştır (Verma et al., 2012). Embriyonik kök hücreler (ES) kullanılarak yapılan klonlama işlemine nükleer transferden türetilen ES hücresi denir. Somatik klonlamada donör olarak çok sayıda somatik hücre tipi kullanılmaktadır; bunlar arasında fetal fibroblastlar, yetişkin fibroblastlar, granüloza hücreleri, hepatositler ve lenfositler yer almaktadır (Vajta et al.,

2003; Vajta, & Gjerris, 2006). Özellikle el yapımı klonlanmış embriyoların üretimiyle ilgili olarak klonlama prosedürlerinin optimizasyonu için çeşitli çalışmalar rapor edilmiştir (Vajta & Gjerris 2006; Campbell et al., 1996). Hindistan'da el yapımı klonlama tekniği kullanılarak klonlanmış manda "Garima"dan dişi buzağı "Garima-I", "Garima-II", "Mahima" ve erkek buzağılar "Shresth" ve "Swaran" üretilmiştir (Shah et al., 2008-a; Shah et al., 2009-b). Son zamanlarda, üstün genetik değere sahip, soy testi yapılmış bir boğadan elde edilen kuyruğun yetişkin somatik hücrelerinden, enstitümüz ICAR-CIRB, Hisar'da erkek klonlanmış bir buzağı "Hisar Gourav" üretilmiştir. Klonlama, genetik olarak tasarlanmış hayvanların binlerce kopyasının oluşturulmasına olanak tanıyarak geleneksel üreme prosedürlerini atlama vaadini taşımaktadır. Tehlike altındaki türlerin korunması ve çoğaltılması için kullanılabilir. Terapötik klonlama için kök hücre üretimi aracı olarak kullanılabilir. Bu teknik, genetik mühendisliği, hayvan genetik çeşitliliğinin korunması, doku rejenerasyonu ve terapötikler için hedeflenmiş ES hücrelerinin geliştirilmesi için yeni fırsatlar açmıştır. Bu teknik, adaptasyon, ısı toleransı ve hastalık direnci sağlayan genleri içeren yerel ırklarda da kullanılabilir. Gelecekte, klonlamanın kapsamı ksenotransplantasyonda olabilir, çünkü araştırma ve terapötikler için insanlaştırılmış hayvan modellerinin çoğaltılmasına olanak tanıyacaktır (Verma et al., 2012).

Nanoteknoloji

Nanoteknoloji, hücresel ve moleküler biyoteknolojinin yanı sıra üreme de dahil olmak üzere biyolojinin çeşitli dallarındaki uygulamalarının anlaşılmasında son zamanlarda ortaya çıkan bir gelişmedir. Bu teknoloji, araştırmacıların biyolojik materyalleri, yani hücreleri ve sıvıları çok küçük miktarlarda işlemelerine ve incelemelerine olanak tanır. Hücresel biyoloji, biyoteknoloji, terapötik tıp ve genetik gibi diğer alanlara ek olarak, çiftlik

hayvanlarının üremesinde de yararlı bir teknik olabilir (Selokar et al., 2014). Üremede, mikroakışkanlar ve nanoakışkanlar (McNeil, 2005) geleneksel IVF ve IVEP prosedürlerini basitleştirmek için son zamanlarda kullanılan araçlardır. Daha yakın zamanlarda, mikroakışkanların hareketli sperm izolasyonunda kullanımının gösterildiği raporlar yayınlanmıştır. Bu teknikle in vitro koşullar altında oosit manipülasyonu da mümkündür (Beebe et al., 2002). Mikroakışkanlar, sperm ve embriyoların ayrıştırılmasında kullanılabilir (Knowlton et al., 2015). Bu sistemler, bir dizi mikro ve nano ölçekli sistem aracılığıyla sıvı veya gaz akışını kontrol eder; bu sistemler de veri analizine yardımcı olan bilgisayar devre sistemleri tarafından kontrol edilir. Ayrıca, çeşitli belirteçler için biyosensörlerin geliştirilmesi, elit damızlıkların belirlenmesine ve genetik hastalıkların taranmasına olanak sağlamıştır. Çiftlik hayvanlarında, bu tür sensörler, kandaki östradiol seviyesindeki değişiklikleri tespit etmek için deri altına yerleştirilen nanotüp ile kızgınlık tespitinde kullanılmıştır. 0 ile 5 ng/ml arasında tespit limitine sahip sığır sütü progesteronu için biyosensörler geliştirilmiştir. Ek olarak, östrojen biyosensörü 10-150 pg'ye kadar tespit yapabilir ve hormon spesifik biyosensörler kullanılarak FSH ve LH için tespit limitleri sırasıyla 1-2 ng ve 1-1,8 ng olmuştur (Rishpon & Ivnitski 1997). Şu anda bu teknolojinin kullanımındaki en büyük sınırlama, bu biyosensörlerin geliştirilmesi için gereken gelişmişlik düzeyidir. Ayrıca, çeşitli türlerdeki çeşitli biyomoleküller için bu tür sensörlerin tasarlanması muazzam maliyet ve zaman gerektirmektedir.

Kök Hücre Teknolojisi

Kök hücreler, canlı sistemde çeşitli diğer hücre tiplerinin öncüsü olma kapasitesine sahip hücrelerdir. Bu kök hücreler, uzmanlaşmamış veya farklılaşmamış hücrelerdir ve uygun veya uyarılmış koşullar altında uzmanlaşmış hücrelere dönüşme

yeteneğini korurlar. Potansiyellerine göre kök hücreler farklı tiplere ayrılır; örneğin, totipotent kök hücreler, yani döllenmiş yumurtadan türetilen ve embriyonik ve ekstraembriyonik hücre tiplerine farklılaşabilen hücrelerdir. Diğer tip olan pluripotent kök hücreler, totipotent hücrelerin soyundan gelir ve üç farklı germ tabakasının hücrelerine farklılaşabilir. Öte yandan, multipotent kök hücreler yalnızca yakından ilişkili hücre tiplerini üretebilir (Avasthi et al., 2008; Tecirlioglu & Trounson, 2007) ve unipotent kök hücreler yalnızca bir hücre tipine yol açan, ancak kendini yenileme özelliğine sahip olan hücrelerdir. Benzer şekilde, kaynaklarına göre kök hücreler üç tipe ayrılmıştır: embriyonik, yetişkin ve fetal kök hücreler. ES hücreleri, rahimde implantasyon zamanından önceki gelişim evresindeki embriyolardan elde edilir. Bu genellikle blastosist evresindedir (32 hücreli evre) ve bu ES hücreleri, Oct4, Nanog ve Sox2 gibi pluripotent belirteçlere sahip oldukları için üç embriyonik germ tabakasının tümünden hücrelere yol açabilir. ES hücreleri, vücuda transfer edildiklerinde tümör oluşturmadıkları için avantajlıdır ve bu da transplantasyonda kullanımlarını güçlendirir. Öte yandan, yetişkin kök hücreler, vücutta bulunan ve hasar görmüş herhangi bir dokudaki hücreleri yenilemek ve yeniden oluşturmak için gerekli olan farklılaşmamış hücrelerdir. Bu tür kök hücreler kemik iliği, sinir, yağ ve koku alma yetişkin kök hücrelerinde bulunur. Ayrıca, fetal kökenli, yani amniyotik sıvı, göbek kordonu ve kandan elde edilen fetal kök hücreler de vardır (Talbot & Blomberg,n 2008). Bu hücreler güvenli ve güvenilirdir ve tüm farklılaşma soylarının öncüllerine sahip oldukları için biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ve özelliklerinde değişiklik olmaksızın uzun süreli depolama için saklanabilirler. Bu kök hücreler, hem insan hem de hayvan türlerinde rejeneratif tıpta büyük bir umut vaat etmektedir ve laboratuvar hayvanlarında kullanımları, insan hastalıklarının incelenmesi için bir model olarak düşünülebilir. Bununla birlikte,

bu hücrelerin kullanımındaki temel sınırlamalar, kök hücre hatlarının geliştirilmesinin zor olması, hücreye özgü belirteçlerin eksikliği ve şu anda uzun süreli kültür ve çok yönlülüğün korunması için yöntemlerin bulunmamasıdır. Ayrıca, bu hücrelerin hayvan türlerinde hem tanısal hem de terapötik olarak kullanımına ilişkin etik kaygıların da ele alınması zorunludur (Nowak-Imialek et al., 2011; Yadav, et al., 2012).

Transgenikler

Transgenikler, transgenik hayvanlar üretmek için genom içinde çeşitli yöntemler kullanılarak gen transferini içerir. Transgenik hayvanlar, müdahale yoluyla genomlarına yerleştirilen rekombinant DNA taşırlar (George et al., 2011). Aktarılan gen iki kısımdan oluşur: Fonksiyonel bir kısım ve transfer konakçısında işlevi yerine getirmek için bir promotör bölgesi. Transgenetik, fare, domuz, koyun, keçi ve sığır gibi çeşitli hayvanlarda gerçekleştirilmiştir (Selokar et al., 2014). İn vitro döllenmiş ve klonlanmış blastosistlerden izole edilen ES hücre benzeri hücreler kullanılarak manda üzerinde çalışmalar yapılmıştır (Shah et al., 2008). Gen transferi için çeşitli yöntemler kullanılmıştır; bunlar arasında pro-nükleer mikroenjeksiyon, retrovirüs tabanlı vektörler, sitoplazmik mikroenjeksiyon, retroviral vektörler yoluyla embriyolara veya ES hücrelerine DNA transferi, sperm aracılı gen transferi ve RNA interferansı yer almaktadır. Transgenik hayvanlar hem üreme hem de biyoreaktörlerde kullanılabilir (Wall, 1996). Transgenik hayvanlar, hastalık direnci, mastitis direnci ve iyileştirilmiş nicel ve nitel özellikler için hayvan modelleri üretmek amacıyla kullanılır (Niemann & Kues, 2003). Transgenik çiftlik hayvanlarının bir diğer kullanımı ise meme bezinde insan rekombinant proteinleri üretmek için biyoreaktör olarak kullanılmasıdır (Robl et al., 2007; Verma et al., 2008). Biyoreaktör olarak transgenik hayvanlar, insan büyüme hormonu, yüksek

kazein içeriği ve insan hemoglobini, antitrombin III ve antitripsin içeren süt üretmek (Niemann & Kues, 2003). ve daha yüksek yün üretimi sağlamak üzere tasarlanabilir. Transgenik domuzlar, ksenotransplantasyon çalışmalarında kullanılır (Purohit et al., 2003). Bu teknoloji, hayvanlardaki çeşitli fizyolojik süreçleri anlamak için transgenik modellerde de kullanılmıştır. Sınırlama faktörleri arasında, uygunsuz genom düzenlemesi nedeniyle oluşturulan embriyo transferini takiben çok düşük gebelik başarısına ek olarak, gelişmiş enstrümantasyon, maliyet ve uzmanlık ihtiyacı yer almaktadır (Wells, 2010; Ebert et al., 1991).

Kaynaklar

Abdoon, A. S., Ghanem, N., Kandil, O. M., Gad, A., Schellander, K., & Tesfaye, D. (2012). cDNA microarray analysis of gene expression in parthenotes and in vitro produced buffalo embryos. Theriogenology, 77(6), 1240-1251.

Arangasamy, A., Singh, L. P., Ahmed, N., Ansari, M. R., & Ram, G. C. (2005). Isolation and characterization of heparin and gelatin binding buffalo seminal plasma proteins and their effect on cauda epididymal spermatozoa. Animal Reproduction Science, 90(3-4), 243-254.

Avasthi, S., Srivastava, R. N., Singh, A., & Srivastava, M. (2008). Stem cell: past, present and future--a review article. Internet Journal of Medical Update, 3(1), 22-31.

Beebe, D., Wheeler, M., Zeringue, H., Walters, E., & Raty, S. (2002). Microfluidic technology for assisted reproduction. Theriogenology, 57(1), 125-135.

Betteridge, K. J. (2006). Farm animal embryo technologies: achievements and perspectives. Theriogenology, 65(5), 905-913.

Betteridge, K. J. (2006). Farm animal embryo technologies: achievements and perspectives. Theriogenology, 65(5), 905-913.
Betteridge, K. J. (2006). Farm animal embryo technologies: achievements and perspectives. Theriogenology, 65(5), 905-913.
Bissonnette, N., Lévesque-Sergerie, J. P., Thibault, C., & Boissonneault, G. (2009). Spermatozoal transcriptome profiling for bull sperm motility: a potential tool to evaluate semen quality. Reproduction, 138(1), 65-80.

Boni, R. (2012). Ovum pick-up in cattle–a 25-yr retrospective analysis. Animal Reproduction, 9(3), 362-369.

Brackett, B. G., Bousquet, D., Boice, M. L., Donawick, W. J., Evans, J. F., & Dressel, M. A. (1982). Normal development following in vitro fertilization in the cow. Biology of reproduction, 27(1), 147-158.

Campbell, K. H., McWhir, J., Ritchie, W. A., & Wilmut, I. (1996). Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. Nature, 380(6569), 64-66.

Drost, M. (2007). Advanced reproductive technology in the water buffalo. Theriogenology, 68(3), 450-453.
Drost, M. (2007). Advanced reproductive technology in the water buffalo. Theriogenology, 68(3), 450-453.
Drost, M., Brand, A., & Aarts, M. H. (1976). A device for nonsurgical recovery of bovine embryos. Theriogenology, 6(5), 503-507.

Ebert, K. M., Selgrath, J. P., DiTullio, P., Denman, J., Smith, T. E., Memon, M. A., ... & Gordon, K. (1991). Transgenic production of a variant of human tissue-type plasminogen activator in goat milk: generation of transgenic goats and analysis of expression. Bio/technology, 9(9), 835-838.

Eswari, S., Kumar, G. S., & Sharma, G. T. (2013). Expression of mRNA encoding leukaemia inhibitory factor (LIF) and its receptor (LIFRβ) in buffalo preimplantation embryos produced in vitro: markers of successful embryo implantation. Zygote, 21(2), 203-213.

Faustini, M. (2011). New aspects of boar sperm encapsulation. Reproduction in Domestic Animals, 46, 52-54.

Feugang, J. M., Rodriguez-Osorio, N., Kaya, A., Wang, H., Page, G., Ostermeier, G. C., ... & Memili, E. (2010). Transcriptome analysis of bull spermatozoa: implications for male fertility. Reproductive BioMedicine Online, 21(3), 312-324.

Gad, A., Hoelker, M., Besenfelder, U., Havlicek, V., Cinar, U., Rings, F., ... & Tesfaye, D. (2012). Molecular mechanisms and pathways involved in bovine embryonic genome activation and their regulation by alternative in vivo and in vitro culture conditions. Biology of reproduction, 87(4), 100-1.

Galli, C., & Lazzari, G. (2008). The manipulation of gametes and embryos in farm animals. Reproduction in domestic animals, 43, 1-7.

Galli, C., Crotti, G., Notari, C., Turini, P., Duchi, R., & Lazzari, G. (2001). Embryo production by ovum pick up from live donors. Theriogenology, 55(6), 1341-1357.

George, A., Sharma, R., Singh, K. P., Panda, S. K., Singla, S. K., Palta, P., ... & Chauhan, M. S. (2011). Production of cloned and transgenic embryos using buffalo (Bubalus bubalis) embryonic stem cell-like cells isolated from in vitro fertilized and cloned blastocysts. Cellular reprogramming, 13(3), 263-272.

Graf, A., Krebs, S., Heininen-Brown, M., Zakhartchenko, V., Blum, H., & Wolf, E. (2014-a). Genome activation in bovine embryos: review of the literature and new insights from RNA

sequencing experiments. Animal reproduction science, 149(1-2), 46-58.

Graf, A., Krebs, S., Zakhartchenko, V., Schwalb, B., Blum, H., & Wolf, E. (2014-b). Fine mapping of genome activation in bovine embryos by RNA sequencing. Proceedings of the National Academy of Sciences, 111(11), 4139-4144.

Hasler, J. F. (1998). The current status of oocyte recovery, in vitro embryo production, and embryo transfer in domestic animals, with an emphasis on the bovine. Journal of Animal Science, 76(suppl_3), 52-74.

Hasler, J. F. (2003). The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. Animal reproduction science, 79(3-4), 245-264.

Hasler, J. F. (2003). The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. Animal reproduction science, 79(3-4), 245-264.

Hasler, J. F. (2014). Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal Theriogenology, the growth of the industry in North America, and personal reminisces. Theriogenology, 81(1), 152-169.

Knowlton, S. M., Sadasivam, M., & Tasoglu, S. (2015). Microfluidics for sperm research. Trends in biotechnology, 33(4), 221-229.

Leibo, S. P., & Mazur, P. E. T. E. R. (1978). Methods for the preservation of mammalian embryos by freezing.

Liang, Y. Y., Ye, D. N., Laowtammathron, C., Phermthai, T., Nagai, T., Somfai, T., & Parnpai, R. (2011). Effects of chemical activation treatment on development bubalis) oocytes matured in vitro and fertilized by intracytoplasmic sperm injection. Reproduction in Domestic Animals, 46(1), e67-e73.

Lin, T. P. (1966). Microinjection of mouse eggs. Science, 151(3708), 333-337.

Lonergan, P. (2007). State-of-the-art embryo technologies in cattle. Society of Reproduction and Fertility supplement, 64, 315.

Machado, S. A., Reichenbach, H. D., Weppert, M., Wolf, E., & Gonçalves, P. B. D. (2006). The variability of ovum pick-up response and in vitro embryo production from monozygotic twin cows. Theriogenology, 65(3), 573-583.

Mapletoft, R. J. (1985). Embryo transfer in the cow: general procedures.

Mapletoft, R. J. (2013). History and perspectives on bovine embryo transfer. Animal Reproduction, 10(3), 168-173.

Mapletoft, R. J. (2013). History and perspectives on bovine embryo transfer. Animal Reproduction, 10(3), 168-173.

McNeil, S. E. (2005). Nanotechnology for the biologist. Journal of leukocyte biology, 78(3), 585-594.

Miller, D. (2014). Sperm RNA as a mediator of genomic plasticity. Advances in Biology, 2014(1), 179701.

Nandi S, Raghu H.M, Ravindranatha B.M, Chauhan M.S. Production of buffalo (Bubalus bubalis) embryos in vitro: Premises and promises. Reprod. Domest. Anim. 2002;37:65–74. doi: 10.1046/j.1439-0531.2002.00340.x.

Niemann, H., & Kues, W. A. (2003). Application of transgenesis in livestock for agriculture and biomedicine. Animal reproduction science, 79(3-4), 291-317.

Niemann, H., & Wrenzycki, C. (2000). Alterations of expression of developmentally important genes in preimplantation bovine embryos by in vitro culture conditions: implications for subsequent development. Theriogenology, 53(1), 21-34.

Nowak-Imialek, M., Kues, W., Carnwath, J. W., & Niemann, H. (2011). Pluripotent stem cells and reprogrammed cells in farm animals. Microscopy and Microanalysis, 17(4), 474-497.

Ohlweiler, L. U., Brum, D. S., Leivas, F. G., Moyses, A. B., Ramos, R. S., Klein, N., ... & Mezzalira, A. (2013). Intracytoplasmic sperm injection improves in vitro embryo production from poor quality bovine oocytes. Theriogenology, 79(5), 778-783.

Peddinti, D., Nanduri, B., Kaya, A., Feugang, J. M., Burgess, S. C., & Memili, E. (2008). Comprehensive proteomic analysis of bovine spermatozoa of varying fertility rates and identification of biomarkers associated with fertility. BMC systems biology, 2(1), 19.

Prasad, S., Singh, B., Singhal, S., Khan, F. A., Prasad, J. K., & Gupta, H. P. (2013). Production of the first viable ovum pick–up and in vitro embryo produced (OPU–IVEP) buffalo calf in India. Asian Pacific Journal of Reproduction, 2(2), 163-165.

Purohit, G. N., Duggal, G. P., Dadarwal, D., Kumar, D., Yadav, R. C., & Vyas, S. (2003). Reproductive biotechnologies for improvement of buffalo: The current status. Asian-Australasian Journal of animal sciences, 16(7), 1071-1086.

Purohit, G. N., Duggal, G. P., Dadarwal, D., Kumar, D., Yadav, R. C., & Vyas, S. (2003). Reproductive biotechnologies for improvement of buffalo: The current status. Asian-Australasian Journal of animal sciences, 16(7), 1071-1086.

Purohit, G. N., Duggal, G. P., Dadarwal, D., Kumar, D., Yadav, R. C., & Vyas, S. (2003). Reproductive biotechnologies for improvement of buffalo: The current status. Asian-Australasian Journal of animal sciences, 16(7), 1071-1086.

Purohit, V., Gautam, S. K., Palta, P., Manik, R. S., Singla, S. K., & Chauhan, M. S. (2008). Development of a pronuclear DNA microinjection technique for production of green fluorescent protein-expressing bubaline (Bubalus bubalis) embryos. Theriogenology, 69(6), 655-665.

Rall, W. F., & Fahy, G. M. (1985). Ice-free cryopreservation of mouse embryos at− 196 C by vitrification. Nature, 313(6003), 573-575.

Rao, K. A., Pawshe, C. H., & Totey, S. M. (1993). Sex determination of in vitro developed buffalo (Bubalus bubalis) embryos by DNA amplification. Molecular reproduction and development, 36(3), 291-296.

Rishpon, J., & Ivnitski, D. (1997). An amperometric enzyme-channeling immunosensor. Biosensors and Bioelectronics, 12(3), 195-204.

Robl, J. M., Wang, Z., Kasinathan, P., & Kuroiwa, Y. (2007). Transgenic animal production and animal biotechnology. Theriogenology, 67(1), 127-133.

Selokar, N. L., Saini, M., Palta, P., Chauhan, M. S., Manik, R., & Singla, S. K. (2014). Hope for restoration of dead valuable bulls through cloning using donor somatic cells isolated from cryopreserved semen. PloS one, 9(3), e90755.

Selokar, N. L., Saini, M., Palta, P., Chauhan, M. S., Manik, R., & Singla, S. K. (2014). Hope for restoration of dead valuable bulls through cloning using donor somatic cells isolated from cryopreserved semen. PloS one, 9(3), e90755.

Shah, R. A., George, A., Singh, M. K., Kumar, D., Anand, T., Chauhan, M. S., ... & Singla, S. K. (2009-b). Pregnancies established from handmade cloned blastocysts reconstructed using skin fibroblasts in buffalo (Bubalus bubalis). Theriogenology, 71(8), 1215-1219.

Shah, R. A., George, A., Singh, M. K., Kumar, D., Chauhan, M. S., Manik, R., ... & Singla, S. K. (2008). Hand-made cloned buffalo (Bubalus bubalis) embryos: comparison of different media and culture systems. Cloning and Stem cells, 10(4), 435-442.

Shah, R. A., George, A., Singh, M. K., Kumar, D., Chauhan, M. S., Manik, R., ... & Singla, S. K. (2008-a). Hand-made cloned buffalo (Bubalus bubalis) embryos: comparison of different media and culture systems. Cloning and Stem cells, 10(4), 435-442.

Sharma, G. T., Nath, A., Prasad, S., Singhal, S., Singh, N., Gade, N. E., ... & Saikumar, G. (2012). Expression and characterization of constitutive heat shock protein 70.1 (HSPA-1A) gene in in vitro produced and in vivo-derived buffalo (Bubalus bubalis) embryos. Reproduction in domestic animals, 47(6), 975-983.

Singla, S. K., Selokar, N. L., Saini, M., Palta, P., Chauhan, M. S., & Manik, R. S. (2015). Buffalo cloning: What we have achieved so far. Curr Sci, 109(4), 670-671.

Sirisha, K., Selokar, N. L., Saini, M., Palta, P., Manik, R. S., Chauhan, M. S., & Singla, S. K. (2013). Cryopreservation of zona-free cloned buffalo (Bubalus bubalis) embryos: Slow freezing vs open-pulled straw vitrification. Reproduction in Domestic Animals, 48(4), 538-544.

Smith, A. K. (2001). Retrospective study of the effect of superovulation on subsequent fertility in embryo-transfer donors.

Sood, S. K., Chauhan, M. S., & Tomer, O. S. (2001). A direct duplex PCR assay for sex determination of murrah buffalo (Bubalus bubalis) embryos.

Srivastava, N., Jerome, A., Srivastava, S. K., Ghosh, S. K., & Kumar, A. (2013). Bovine seminal PDC-109 protein: An overview of biochemical and functional properties. Animal Reproduction Science, 138(1-2), 1-13.

Talbot, N. C., & Blomberg, L. A. (2008). The pursuit of ES cell lines of domesticated ungulates. Stem Cell Reviews, 4(3), 235-254.

Tecirlioglu, R. T., & Trounson, A. O. (2007). Embryonic stem cells in companion animals (horses, dogs and cats): present status and future prospects. Reproduction, Fertility and Development, 19(6), 740-747.

Tesfaye, D., Ponsuksili, S., Wimmers, K., Gilles, M., & Schellander, K. (2004). A comparative expression analysis of gene transcripts in post-fertilization developmental stages of bovine embryos produced in vitro or in vivo. Reproduction in Domestic Animals, 39(6), 396-404.

Thibier, M., & Nibart, M. (1995). The sexing of bovine embryos in the field. Theriogenology, 43(1), 71-80.

Vajta, G., & Gjerris, M. (2006). Science and technology of farm animal cloning: state of the art. Animal reproduction science, 92(3-4), 211-230.

Vajta, G., Lewis, I. M., Trounson, A. O., Purup, S., Maddox-Hyttel, P., Schmidt, M., ... & Callesen, H. (2003). Handmade somatic cell cloning in cattle: analysis of factors contributing to high efficiency in vitro. Biology of Reproduction, 68(2), 571-578.

Verma, O. P., Kumar, R., Kumar, A., & Chand, S. (2012). Assisted Reproductive Techniques in Farm Animal-From Artificial Insemination to Nanobiotechnology. Veterinary World, 5(5), 301.

Verma, O. P., Kumar, R., Kumar, A., & Chand, S. (2012). Assisted Reproductive Techniques in Farm Animal-From Artificial Insemination to Nanobiotechnology. Veterinary World, 5(5), 301.

Wall, R. J. (1996). Transgenic livestock: progress and prospects for the future. Theriogenology, 45(1), 57-68.

Warriach, H. M., McGill, D. M., Bush, R. D., Wynn, P. C., & Chohan, K. R. (2015). A review of recent developments in buffalo reproduction—a review. Asian-Australasian journal of animal sciences, 28(3), 451.

Wells, D. J. (2010). Genetically modified animals and pharmacological research. Comparative and veterinary pharmacology, 213-226.

Yadav, P. S., Singh, R. K., & Singh, B. (2012). Fetal stem cells in farm animals: applications in health and production. Agricultural Research, 1(1), 67-77.

Yavin, S., Aroyo, A., Roth, Z., & Arav, A. (2009). Embryo cryopreservation in the presence of low concentration of vitrification solution with sealed pulled straws in liquid nitrogen slush. Human Reproduction, 24(4), 797-804.

BÖLÜM 2

TEKE SPERMATOZOONLARINDA FERROPTOZİS

DIHYE HİKMET KOÇHİSARLI[1]
NURDAN COŞKUN[2]

Giriş

Keçi yetiştiriciliği, özellikle kırsal bölgelerde yaşayan toplulukların geçim kaynaklarının sürdürülebilirliği açısından önemli bir hayvansal üretim faaliyetidir. Keçilerin farklı çevre koşullarına yüksek adaptasyon yetenekleri, zorlu iklim ve besleme koşullarına dayanıklılıkları ve düşük kaliteli yem kaynaklarından

[1]Araş. Gör., HMKÜ, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD., Orcid: 0009-0005-7202-281X
[2]Dr. Öğr. Üyesi, HMKÜ, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD., Orcid: 0000-0002-7120-8146

yararlanabilmeleri, bu türün özellikle kaynakların sınırlı olduğu bölgelerde yetiştirilmesini önemli kılmaktadır. Türkiye, sahip olduğu yüksek keçi varlığı ve farklı yetiştirme sistemleriyle keçi yetiştiriciliğinde öne çıkan ülkeler arasında yer almakta; keçiler başta süt, et, deri ve kıl olmak üzere çeşitli hayvansal ürünlerin üretimine katkı sağlamaktadır. Keçi yetiştiriciliği, ülkenin toplam kırmızı et ve süt üretimine katkısının yanı sıra özellikle deri ve kıl üretiminde de önemli bir paya sahiptir. Her ne kadar keçi sayısı ve sektörün ekonomik önemi geçmiş yıllara kıyasla azalmış olsa da, keçi yetiştiriciliği özellikle Türkiye'nin kırsal ve dağlık bölgelerinde yaşayan üreticiler açısından ekonomik ve sosyoekonomik önemini korumaktadır (Daşkıran ve ark. 2018).

Keçi yetiştiriciliğinde sürünün üretim ve üreme verimliliğini artırmada erkek damızlıkların üreme performansı önemli bir role sahiptir. Nitekim sürünün üreme etkinliğinin büyük ölçüde damızlık erkeklerin üreme kapasitesine bağlı olduğu ve bu nedenle tekelerin üreme performansını etkileyen faktörlerin dikkate alınması gerektiği bildirilmektedir (Cadena-Villegas ve ark. 2021).

Erkek damızlıkların sürü üreme performansındaki bu önemli rolü, damızlık olarak kullanılacak tekelerin üreme yeterliliklerinin çiftleştirme öncesinde değerlendirilmesini gerekli kılmaktadır. Erkek damızlıkların üreme yeterliliği, sürünün üreme performansı açısından kritik öneme sahip olup, bu değerlendirmede genel fiziksel durum, genital sistem ve testis özellikleri, skrotal çevre uzunluğu,

sperm motilitesi ve spermatozoon morfolojisi gibi çeşitli kriterler dikkate alınmaktadır. Bu kapsamda, tekelerin üreme performansını olumsuz yönde etkileyebilecek hastalık ve bozuklukların belirlenmesi ile sperma özelliklerinin değerlendirilmesi, damızlık erkeklerin üreme kapasitesinin ortaya konulması açısından önem taşımaktadır (Tibary & El Allali 2026).

Teke Spermasının Kalitesi ve Fertilite İlişkisi

Tekelerde sperma kalitesinin değerlendirilmesi, damızlık erkeklerin üreme performansının ortaya konulması ve suni tohumlama uygulamalarında kabul edilebilir fertilite düzeylerine ulaşılması açısından önemli bir yere sahiptir. Bununla birlikte, sperma değerlendirmesinde kullanılan mevcut yöntemlerin teke ejakülatlarının gerçek fertilizasyon kapasitesini ortaya koymadaki yeterliliği önemli bir araştırma konusu olmaya devam etmektedir. Spermatozoonların çeşitli özellikleri ile fertilite arasındaki ilişkinin incelendiği çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen, teke ejakülatlarının fertilizasyon kapasitesinin yalnızca in vitro sperma kalitesi değerlendirmeleriyle kesin olarak öngörülmesinin mümkün olmadığı bildirilmektedir. Bu nedenle spermatozoonların morfolojik özelliklerini ve fonksiyonel bütünlüğünü daha kapsamlı şekilde değerlendiren yöntemlerin geliştirilmesi, teke spermasının fertilizasyon kapasitesinin daha doğru biçimde belirlenmesi açısından önem taşımaktadır (Leboeuf ve ark. 2000).

Keçilerde suni tohumlama, genetik ilerlemenin ve üreme etkinliğinin artırılmasına olanak sağlayan önemli bir üreme biyoteknolojisidir. Bununla birlikte, suni tohumlama uygulamalarının başarısı; hayvanların seçimi, spermanın işlenmesi başta olmak üzere, tohumlama tekniği ve östrus senkronizasyonu gibi birbiriyle ilişkili çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Bu faktörler içerisinde kullanılan spermanın niteliği ve özellikle spermanın işlenme koşulları, spermatozoonların canlılık ve fonksiyonel özelliklerinin korunması bakımından önem taşımakta ve dolayısıyla suni tohumlama sonuçlarını doğrudan etkileyebilmektedir (Da Fonseca & Rodrigues 2025).

Keçilerde Suni Tohumlama Başarısının Sperma ile İlişkisi

Keçilerde suni tohumlama sonrası fertilite sonuçları ile sperm kalite parametreleri arasındaki ilişkinin değerlendirilmesi, başarılı uygulamalar açısından önem taşımaktadır. Toplam motil spermatozoon oranının fertilite ile ilişkili olduğu ve yüksek oranda motil spermatozoon içeren, düzenli hareket yörüngeleri gösteren sperma dozlarının tercih edilmesinin daha yüksek fertilite elde edilmesi açısından önem taşıdığı bildirilmiştir (Mocé ve ark. 2022).

Keçilerde suni tohumlama uygulamalarında yüksek kaliteli sperma dozlarının kullanılmasının önemi, spermatozoonların uygun koşullarda korunmasını da gerekli kılmaktadır. Bu kapsamda, teke spermatozoonlarının kriyoprezervasyonu; yardımcı üreme

teknolojilerinin geliştirilmesine, genetik materyalin korunmasına ve genetik ilerleme çalışmalarına katkı sağlayan önemli bir uygulamadır. Kriyoprezervasyon çalışmalarında temel amaç, dondurma ve çözündürme sonrasında spermatozoonların canlılığını ve fertilizasyon kapasitesini mümkün olduğunca korumaktır. Bu doğrultuda, spermatozoonların kriyoprezervasyona dayanıklılığını gösteren özelliklerin ve uygun sperma örneklerinin belirlenmesi, suni tohumlama sonuçlarının iyileştirilmesi açısından önem taşımaktadır (Bodu ve ark. 2025).

Bununla birlikte, spermatozoonların kriyoprezervasyonu sırasında hücrelerin önemli bir kısmının dondurma işleminden sonra canlılığını kaybettiği ve canlı kalan spermatozoonlarda da fizyolojik fonksiyonların bozulabildiği bildirilmektedir. Dondurma işlemi sırasında meydana gelen bu hasarın altında yatan hücresel ve biyolojik mekanizmalar henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamış olup, hücre ölümünün sperm dondurma hasarının temel bileşenlerinden biri olduğu bildirilmektedir. Bu süreçte apoptozis ve ferroptozis gibi düzenlenmiş hücre ölümü mekanizmalarının yanı sıra hücre içi buz kristali oluşumu gibi kazara gerçekleşen hücre ölümünün de rol oynayabileceği belirtilmektedir (Hai ve ark. 2024).

Teke Spermasında Kriyoprezervasyon Kaynaklı Ferroptozis

Ferroptozis, demire bağımlı lipid peroksidasyonunun ölümcül düzeylere ulaşmasıyla karakterize edilen düzenlenmiş bir

hücre ölümü biçimidir. Bu süreçte demir homeostazındaki bozulma ve antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kalması, membran lipidlerinde oksidatif hasarın ilerlemesine neden olmaktadır (Hai ve ark. 2024; Jiang ve ark. 2026).

Kriyoprezervasyon sırasında spermatozoonlarda meydana gelen hasarın başlıca nedenlerinden biri oksidatif strestir. Özellikle çözündürme sonrasında metabolik aktivitenin yeniden başlamasıyla reaktif oksijen türlerinde hızlı bir artış meydana gelebilmekte; buna bağlı olarak plazma membranında lipid peroksidasyonu, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve çeşitli oksidatif hasarlar ortaya çıkabilmektedir. Spermatozoon plazma membranının çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin olması, bu hücreleri oksidatif membran hasarına karşı oldukça duyarlı hâle getirmektedir. Oksidatif stres ile demir metabolizması ve lipid peroksidasyonu arasındaki yakın ilişki ise kriyoprezervasyon kaynaklı sperm hasarında ferroptozisin olası rolünü gündeme getirmiştir. Keçi spermatozoonlarında yapılan çalışmalar bu ilişkiyi destekleyen önemli bulgular ortaya koymuştur. Dondurma-çözündürme sonrasında lizofosfolipid düzeylerinde artış meydana geldiği, ferroptozisle ilişkili ferroz demir birikimi ve lipid peroksidasyonunun belirginleştiği bildirilmiştir. Buna karşılık ferroptozisin farmakolojik olarak inhibe edilmesi; toplam ve progresif motilite ile plazma membranı ve akrozom bütünlüğünde iyileşme sağlamış, aynı zamanda lipid peroksidasyonu ve ferroptozis belirteç düzeylerini azaltmıştır. Bu bulgular, ferroptozisin keçi

spermatozoonlarında kriyoprezervasyon kaynaklı hücresel hasarın önemli bileşenlerinden biri olduğunu göstermektedir (Hai ve ark. 2025).

Ferroptozis Hasarının Önlenmesinde Kullanılan Ajanlar

Ferroptozisin baskılanmasına yönelik yaklaşımların ortak amacı, kriyoprezervasyon sırasında oluşan oksidatif membran hasarını sınırlandırarak spermatozoonların yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü korumaktır. Yapılan bir çalışmada, organik bir selenyum kaynağı olan L-selenometiyoninin (L-SeMet) dondurma öncesinde teke sperması sulandırıcısına 6 µmol/L konsantrasyonunda eklenmesiyle, çözündürme sonrası toplam motilitenin yaklaşık %65'ten %74'e, progresif motilitenin ise yaklaşık %51'den %62'ye yükseldiği bildirilmiştir. Ayrıca plazma membranı ve akrozom bütünlüğü ile mitokondriyal membran potansiyelinin iyileştiği; hücre içi demir birikimi, reaktif oksijen türleri ve malondialdehit düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir. L-SeMet, bu etkileriyle kriyoprezervasyon kaynaklı sperm hasarının azaltılması ve çözündürme sonrası sperm kalitesinin korunması açısından umut vadetmektedir (Jiang ve ark. 2026).

Teke spermasının kriyoprezervasyonunda ferroptozisin rolünü belirlemek ve bu hücre ölümü yolunun baskılanmasının sperm kalitesi üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla yapılan bir çalışmada, dondurma öncesinde sperma sulandırıcısına ayrı gruplar hâlinde 2, 5 ve 10 µmol/L konsantrasyonlarında

deferoksamin (DFO), ferrostatin-1 (Fer-1) ve liproksstatin-1 (Lip-1) eklenmiştir. DFO ile demirin şelasyonu, Fer-1 ve Lip-1 ile lipid peroksidasyonunun baskılanması üzerinden ferroptozisin sınırlandırılması hedeflenmiştir. Çözündürme sonrasında, yalnızca sulandırıcı kullanılan kontrol grubunda toplam motilite %32,60 ± 2,29 iken, 2 µmol/L DFO, 2 µmol/L Fer-1 ve 5 µmol/L Lip-1 gruplarında sırasıyla %46,08±1,62, %50,16±4,39 ve %54,15±5,81 olarak belirlenmiş ve bu motilite artışları anlamlı bulunmuştur (Hai ve ark. 2025).

Bir başka ajan olan klorokin, hücre içi proteinlerin parçalanmasında rol oynayan otofaji sürecini baskılayan bir inhibitördür. Teke spermasının dondurulması öncesinde sulandırıcıya 5 µmol/L klorokin eklenmesinin, çözündürme sonrası plazma membranı bütünlüğünü koruduğu, lipid peroksidasyonunu ve hücre içi demir birikimini azaltarak ferroptotik hasarı sınırlandırdığı bildirilmiştir (Hai ve ark. 2025).

Sonuç olarak, ferroptozisi hedefleyen ajanların kullanımı, teke spermasının kriyoprezervasyonunda sperm kalitesinin korunması ve daha etkili saklama protokollerinin geliştirilmesi açısından umut vadetmektedir. Gelecekteki çalışmaların, bu ajanların uygun konsantrasyonlarının ve uygulama aşamalarının belirlenmesine, farklı sulandırıcılarla uyumlarının değerlendirilmesine ve birlikte kullanımlarının sağlayabileceği olası yararların araştırılmasına odaklanması önem taşımaktadır. Ayrıca

laboratuvar ortamında sperm kalitesinde gözlenen iyileşmelerin fertilizasyon kapasitesi, embriyonik gelişim ve gebelik oranlarıyla desteklenmesi, bu yaklaşımların saha uygulamalarına aktarılabilmesi için gereklidir. Bu yönde elde edilecek bulguların, değerli erkek damızlıkların genetik materyalinin daha etkin korunmasına ve keçilerde suni tohumlama uygulamalarının başarısının artırılmasına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (Hai ve ark. 2025; Jiang ve ark. 2026).

Kaynakça

Bodu, M., Hitit, M., Greenwood, O. C., Murray, R. D., & Memili, E. (2025). Extender development for optimal cryopreservation of buck sperm to increase reproductive efficiency of goats. *Frontiers in Veterinary Science*, *12*, 1554771.

Cadena, S., Hernández, J., Gallegos, J., Germán, C., & Pérez, P. (2021). *Reproductive Management of the Male Goat: A Review. Agro Productividad*.

Da Fonseca, J. F., & Rodrıgues, J. (2025). Artificial insemination (AI) in goats and sheep.

Daskiran, I., Savas, T., Koyuncu, M., Koluman, N., Keskin, M., Esenbuga, N., ... & Bingöl, M. (2018). Goat production systems of Turkey: Nomadic to industrial. *Small Ruminant Research*, *163*, 15-20.

Hai, E., Li, B., Song, Y., Zhang, J., & Zhang, J. (2025). Ferroptosis emerges as the predominant form of regulated cell death in goat sperm cryopreservation. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, *16*(1), 26.

Hai, E., Li, B., Song, Y., Zhang, J., Xu, B., Liu, Y., & Zhang, J. (2025). Superoxide anion-induced ferritinophagy is involved in ferroptosis occurrence of cashmere goat sperm during cryopreservation. *Journal of Integrative Agriculture*.

Hai, E., Li, B., Zhang, J., & Zhang, J. (2024). Sperm freezing damage: the role of regulated cell death. *Cell Death Discovery*, *10*(1), 239.

Jiang, Z. T., Yang, S. K., Zhou, X. D., Zhang, X., Hu, Z. T., Guo, S. M., ... & Hu, J. H. (2026). L-Selenomethionine Alleviates Cryo-Induced Ferroptosis Through the NRF2–SLC7A11–GPX4 Pathway, Improving Post-Thaw In Vitro Quality of Dairy Goat Spermatozoa. *Antioxidants*, *15*(3), 392.

Leboeuf, B., Restall, B., & Salamon, S. (2000). Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal reproduction science*, *62*(1-3), 113-141.

Mocé, E., Mocé, M. L., Lozano-Palazón, S. A., Bernácer, J., Martínez-Granell, M. M., Esteve, I. C., ... & Gómez, E. A. (2022). Fertility prediction in dairy goats from Murciano-Granadina breed: The role of sperm evaluation and female traits. *Animal*, *16*(5), 100525.

Tibary, A. and El Allali, K. (2026). Ram and Buck Breeding Soundness Examination. In Small Ruminant Theriogenology (eds A. Tibary and K. El Allali).

BÖLÜM 3

HAYVANLARDA KİMYASAL KASTRASYON: MEKANİZMALARI, KULLANILAN AJANLAR VE İNTRATESTİKÜLER UYGULAMALAR

CAN TOPALOĞLU[1]
NURDAN COŞKUN[2]
FİKRET KARACA[3]

Giriş

Hayvanlarda kastrasyon kavramı MÖ 7000'li yıllara dayanmaktadır. Hayvanların sterilizasyonu, hayvan sayısını kontrol etmek, genetik seleksiyon yapmak, hayvanların refahını kontrol

[1] Y.Lisans Öğrencisi, HMKÜ, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD., Orcid: 0009-0009-6190-8550
[2]Dr. Öğr. Üyesi, HMKÜ, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD., Orcid: 0000-0002-7120-8146
[3]Prof. Dr., HMKÜ, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD., Orcid: 0000-0002-1765-4655

etmek ve en önemlisi insan ihtiyaçlarından biri olan kaliteli et üretimini sağlamak için yüzyıllardır uygulanmaktadır (Cavalieri 2017). Kastrasyon, cerrahi olarak testislerin çıkartılması ya da farklı kimyasal maddelerle testis dokularının işlevlerini etkileyerek kan akışının azaltılması, testiküler dokunun bozulması veya atrofisi ile sonuçlanan yaklaşımlar olarak tanımlanmaktadır. Kimyasal kastrasyon birçok erkek hayvan türünde başarılı bir şekilde uygulanmıştır (Canpolat ve ark. 2006; Ijaz ve ark. 2000; Jana ve ark. 2005).

Kimyasal Kastrasyon

Kimyasal kastrasyonun, ideal sterilizasyon koşullarının sağlanması, uygulanmasının kolay ve ekonomik olması, hayvanın normal fiziksel aktivitelerine kısa süre içerisinde dönebilmesi nedeniyle, diğer kastrasyon yöntemlerine göre tercih edilme potansiyeli yüksektir (Capucille ve ark. 2002; Oliveira ve ark. 2012). Kimyasal kastrasyon sonrasında testislerde hormon üretiminin azalmasına bağlı olarak kandaki testosteron ve androjenik hormon seviyelerinin düştüğü gözlenmektedir (Jana & Samanta 2007; Oliveria ve ark. 2007; Wang 2002). Kimyasal kastrasyonda kullanılan ajanın toksik veya diğer yan etkileri olmaksızın libido, spermatogenez ve androjenezi etkili bir şekilde durdurabilme özelliğine sahip olması istenmektedir. Yapılan çalışmalarda deney

hayvanları ve evcil hayvanlarda kadmiyum klorür, demir klorür, demir sülfat, gliserol ve laktik asit gibi çeşitli ajanların intratestiküler enjeksiyonları test edilmiştir. Sodyum klorür, çinko glukonat, kalsiyum klorür ve formalin farklı araştırmacılar tarafından en yaygın olarak kullanılan kimyasal ajanlardır (Fesseha 2019).

Kimyasal kastrasyonun mekanizması

Kimyasal kastrasyon, testis veya epididimise kimyasal bir ajanın uygulanması yoluyla sperm üretiminin baskılanması ve infertilite oluşturulması esasına dayanmaktadır. Kimyasal kastrasyonda testis üzerine doğrudan uygulamalar ön planda olmakla birlikte, bazı yöntemlerde epididimis veya vas deferens hedeflenmektedir. Uygulama yolları arasında doku içi enjeksiyonun yanı sıra oral, subkutan ve intramüsküler uygulamalar da bulunmaktadır. Ancak doğrudan intratestiküler uygulama, kullanılan ajanın hedef dokuya ulaştırılmasına olanak vermesi nedeniyle kimyasal kastrasyon araştırmalarında özel bir yere sahiptir (Hassan & Fromsa 2017; Silveira ve ark. 2021). İntratestiküler uygulamanın bir diğer önemli özelliği, testiküler hücreler üzerindeki doğrudan etkinin değerlendirilmesine olanak sağlamasıdır. Sistemik yolla verilen bir maddenin testise ulaşmasından önce diğer organlarda oluşturabileceği etkiler, testiküler hedef üzerindeki spesifik etkinin değerlendirilmesini güçleştirebilmektedir. Buna karşılık intratestiküler enjeksiyon ile kimyasal ajanın hedef organa doğrudan

verilmesi, lokal toksisite ve doku yanıtının incelenmesini kolaylaştırır. Bu nedenle intratestiküler uygulama, hem kimyasal sterilizasyon hem de testiküler toksikoloji çalışmalarında kullanılan bir yaklaşım olarak tanımlanmaktadır. Bazı kimyasal ajanlar tek bir uygulama sonrasında etkili olurken, bazıları tekrarlayan uygulamalar gerektirebilmektedir. Bu nedenle ajanın etkisinin değerlendirilmesinde yalnızca kimyasalın kendisi değil, hedef organ, uygulama yolu, doz ve uygulama sıklığı da birlikte ele alınmalıdır.

Yaygın Kullanılan Kimyasal Kastrasyon Ajanları

Kimyasal sterilizasyon amacıyla farklı hayvan türlerinde çok sayıda kimyasal ajan araştırılmıştır. Literatürde farklı hayvan türlerinde, etanol, klorheksidin, formaldehit, gliserol, asetik asit, laktik asit, sodyum klorür, kalsiyum klorür, glukoz, çinko içeren bileşikler, normal salin, hipertonik salin ve mannitol gibi maddelerin kullanıldığı bildirilmektedir. Ajanların etkileri; sperm üretiminin baskılanması, seminifer tübüllerde nekroz, fibrozis, germ hücre kaybı, epididimal skleroz ve testiküler atrofi gibi farklı patolojik sonuçlar üzerinden ortaya çıkabilmektedir.

Sodyum Klorür

Sodyum klorürün özellikle hipertonik uygulaması, rahat ve kolay bulunabilen, maliyeti de düşük bir solüsyondur. %20'lik NaCl enjeksiyonu sonrası pıhtılaşma nekrozu, testis seminifer tübüllerinde

şiddetli dejeneratif değişiklikler ve inflamatuar immün hücrelerin yoğun infiltrasyonu, Leydig hücrelerinde ve seminifer tübüllerde koagülatif nekrozun yanı sıra infertilite gözlenmiştir (Fesseha 2019; Kwak & Lee 2013). Ratlarda %20 hipertonik salin uygulamalarının testiküler atrofi ve histolojik değişikliklerle ilişkili olduğu; hipertonik salin enjeksiyonunun cerrahiye alternatif, non-invaziv bir kastrasyon modeli olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Emir ve ark. 2008; Kwak ve ark. 2010; Kwak & Lee 2013).

Çinko Glukonat

Çinko glukonat; ilk olarak köpeklerde başarıyla kullanılmıştır (Fahim ve ark. 1993). Kedilerde testislere çinko glukonat enjeksiyonunun spermatogenezi bozduğu ve potansiyel olarak geri dönüşümsüz kontraseptif etki oluşturabildiği bildirilmiştir (Fagundes ve ark. 2014). Bununla birlikte çinko glukonat uygulamalarında orşitis, skrotal dermatit ve skrotal doku dökülmesi gibi ciddi lokal komplikasyonlar da bildirilmiştir (Forzán ve ark. 2014).

Kalsiyum Klorür

Kalsiyum klorür, 1970'lerden bu yana cerrahi olmayan kısırlaştırma amacıyla kullanılan kimyasal ajanlardan biridir ve köpek, kedi, kemirgen ve sığır gibi farklı türlerde uygulanmıştır. İntratestiküler kalsiyum klorür uygulamasının seminifer tübüllerde

yaygın nekroz, fibrozis ve germ hücre kaybına neden olabildiği, etkinliğinin doza bağlı olduğu bildirilmiştir. Özellikle %20 konsantrasyonun daha etkili olduğu ve bu dozda testosteron düzeylerinde azalma görülebildiği belirtilmiştir (Fesseha 2019; Jana & Samanta 2011; Silveira ve ark. 2021). Ratlarda kalsiyum klorürün tek doz intratestiküler uygulamasının nonsürjik sterilizasyon amacıyla değerlendirildiği çalışmalar, doz bağımlı yanıtın bu yaklaşımda önemli olduğunu göstermektedir.

Formalin

Tavşanlarda intratestiküler formalin uygulamasının seminifer tübüllerde atrofi, sertoli hücrelerinde dejenerasyon ve Leydig hücrelerinde fibrozis oluşturduğu bildirilmiştir. Uygulama sonrasında testislerde kısa süreli ödem ve ağrı gözlenmiş, lezyonların zaman içerisinde gerileyebildiği belirtilmiştir. Koç ve tekelerde ise testis ağırlığı, uzunluğu ve çapında azalma ile birlikte histopatolojik dejenerasyonlar bildirilmiştir (Awal ve ark. 2004; Ijaz ve ark. 2000; Majeed 2011).

Etanol

İntratestiküler etanol uygulamasının testis dokusunda inflamasyon, atrofi ve spermatogenez bozukluğu oluşturduğu bildirilmiştir. Boğalarda intratestiküler etanol uygulanan grupta ilerleyen dönemde testiküler atrofi gelişmiştir. Bununla birlikte,

infertilitenin tüm hayvanlarda oluşmaması yöntemin etkinliğinin değişken olabileceğini göstermiştir (Canpolat ve ark. 2006; Majeed 2011).

Gliserol

Gliserol, spermatogenezi baskılamak amacıyla araştırılan ajanlardan biridir. Gliserolün intratestiküler uygulanmasıyla spermatogenezin hızlı şekilde durdurulabildiği, ancak bazı çalışmalarda libido, aksesuar genital organlar, gonadal steroidogenez ve serum testosteron, LH ve FSH düzeylerinde belirgin değişiklik meydana gelmeden sperm üretiminin baskılanabildiği bildirilmiştir (Wiebe & Barr 1984). Erkek maymunlarda intratestiküler gliserol uygulamasıyla sürdürülebilir azoospermi oluşturulduğu bildirilmiştir (Wiebe ve ark. 1989).

İntratestiküler Enjeksiyon Yöntemi

Kimyasal ajanların doğrudan testis içerisine enjeksiyonu, oral yolla, subkutan veya intramüsküler enjeksiyonla verilmesi durumunda diğer organlarda tipik olarak gözlenebilecek olumsuz sistemik reaksiyonları potansiyel olarak ortadan kaldırabilecek bir

yöntem olarak geliştirilmiştir. Testis içine doğrudan enjeksiyon yoluyla yapılan uygulama, teorik olarak bir bileşiğin etkili dozunu azaltabilmektedir. Örneğin, $CaCl_2$'nin subkutan enjeksiyonlarıyla testiküler hasar oluşturulabilmesi için yaklaşık 2,5 mg/kg doz gerekli iken, testis içine doğrudan 0,15 mg/kg enjeksiyon yapılması testiküler atrofi oluşturmak için yeterli olmuştur. İntratestiküler enjeksiyonlar toksikoloji çalışmalarında da kullanılmaktadır; çünkü sistemik maruziyetler, testise dolaylı olarak zarar veren yolakları inhibe edebilmekte veya testiküler hücreler üzerindeki spesifik etkiler analiz edilmeden önce ölüme neden olabilmektedir (Russell ve ark. 1987).

Dikkate alınması gereken bir diğer nokta, enjeksiyon işleminin kendisinin potansiyel etkileridir. Russell ve ark. (1987) ratlarda 50 µL'den daha büyük bir hacmin enjeksiyonunun testiküler şişmeye ve testis turgorunda artışa neden olduğunu, 75 µL'den daha büyük hacimlerin ise testis içerisinde sıvı geri akışına yol açabildiğini bildirmiştir. Yalnızca artmış basınca bağlı hasar oluşturmak için gereken hacim araştırılmamış olmakla birlikte, geri basınca bağlı testiküler şişliğin seminifer epitele hızlı hasar verebildiği iyi bilinmektedir (Hess 2014; Hess 2018).

Kaynakça

Awal AM, Rahman MM, Das SK, Siddiki NH, Kurohmaru M, Bibin AB, et Hayashi Y. Formalin affects the male reproduction of black bengal goats during prepubertal stage even at low concentration: In vivo study. Journal of Medicine Science, 2004, 4(1): 84-89.

Canpolat I, Gur S, Gunay C, Bulut S, Eroksuz H. An evaluation of the outcome of bull castration by intra-testicular injection of ethanol and calcium chloride. Revue de Médecine Vétérinaire, 2006, s. 157(8/9): 420.

Capucille DJ, Poore MH, Rogers GM. Castration in cattle: Techniques and animal welfare issues. Compendium, 2002, s.24:66-73.

Cavalieri J. Chemical sterilisation of animals: A review of the use of zinc-and CaCl2 based solutions in male and female animals and factors likely to improve responses to treatment. Anim Reprod Sci, 2017, s. 181:1-8.

Emir L, Dadali M, Sunay M, Erol D, Caydere M ve ark. (2008) Chemical castration with intratesticular injection of 20% hypertonic saline: a minimally invasive method. Urol Oncol 26(4):392-396.

Fagundes AKF, Oliveira ECS, Tenorio BM, Melo CCS, Nery LTB, Santos FAB, et al. Injection of a chemical castration agent, zinc gluconate, into the testes of cats results in the impairment of spermatogenesis: A potentially irreversible contraceptive approach for this species? Theriogenology 2014;81:230–6.

Fahim MS, Wang M, Suteu M, P Fahim, Z and Youngquist RS. Sterilization of dogs with intraepididymal injection of zinc arginine. Contraception Stoneham,1993, s.47(1): 107-122.

Fesseha H. Non-surgical sterilization methods in male animals: A review. *Vet Med Open J*,2019,s.4(1):49-56.

Forzán MJ, Garde E, Perez GE, Vanderstichel RV. Necrosuppurative orchitis and scrotal necrotizing dermatitis following intratesticular administration of zinc gluconate neutralized with arginine (EsterilSol) in 2 mixed-breed dogs. Vet Pathol. 2014;51:820–3.

Hassan A, Fromsa A. Review on chemical sterilization of male dogs. Int. J. Adv. Res. [Internet]. 2017; 5(11):758–770.

Hess RA. Disruption of estrogen receptor signaling and similar pathways in the efferent ductules and initial segments of the epididymis. Spermatogenesis. (2014) 4:e979103.

Hess RA. Endocrinology and pathology of rete testis and efferent ductules In: MK Skinner, editor. Encyclopedia of reproduction. Oxford: Academic Press (2018). 279–85.

Ijaz A., A. A. Abalkhail, W. A. H. Khamas. Effect of Intra Testicular İnjection of Formalin on Seminiferous Tubules in Awassı Lambs, Pakistan Vet. J, 2000, s.20(3).

Jana K, Samanta PK. and Ghosh D. Evaluation of single intratesticular injection of calcium chloride for nonsurgical sterilization of male Black Bengal goats (Capra hircus): a dosedependent study. Anim. Reprod. Sci, 2005, s.86(1- 2): 89-108.

Jana K, Samanta PK. Clinical evaluation of non-surgical sterilization of male cats with single intra-testicular injection of calcium chloride. BMC Vet Res. 2011;7:39.

Jana K, Samanta PK. Sterilization of male stray dogs with a single intratesticular injection of calcium chloride: A dose-dependent study. Contraception,2007, s.75(5): 390-400.

Kwak BK, Lee CS, Lee SH. Histological changes in rat testis by injection of hypertonic saline. Development and Reproduction 2010; 14: 281-286.

Kwak BK, Lee SH. Intratesticular injection of hypertonic saline: Non-invasive alternative method for animal castration model. Dev Reprod, 2013, s.17(4): 435-440.

Majeed AA. chemical castration of rabbits via ıntratesticular injection of ethanol or formalin. The IraqiJournal of Veterinary Medicine, 2011, 35(1): 10-15.

Oliveira E, Moura MRP, de Sá MJ, Silva Jr VA, Kastelic JP ve ark. Permanent contraception of dogs induced with intratesticular injection of a zinc gluconate-based solution. Theriogenology 2012; 77:1056–63.

Oliveira ECS, Moura MR, Silva VA, Peixoto CA, Saraiva KLA, Cavalcanti de Sá MJ, Douglas RH and de Pinho Marques JrA. Intratesticular injection of a zinc-based solution as a contraceptive for dogs. Theriogenol, 2007, s. 68(2): 137-45.

Russell LD, Saxena NK, Weber JE. Intratesticular injection as a method to assess the potential toxicity of various agents and to study mechanisms of normal spermatogenesis. Gamete Res. (1987) 17:43–56.

Silveira VCA, Colla ACN, de Arruda Mestieri ML. Chemical castration of small animals: Where are we?Pubvet [Internet]. 2021; 15(3):1–7.

Wang M. Neutersol: Intratesticular injection induces sterility in dogs. Paper presented at: 1st ACC&D International Symposium on Non-surgical Methods for Pet Population Control; OR, USA,2002.

Wiebe JP, Barr KJ, Buckingham KD. Sustained azoospermia in squirrel monkey, resulting from a single intratesticular glycerol injection. Contraception 1989;39: 447–57.

Wiebe JP, Barr KJ. The control of male fertility by 1,2,3-trihydroxypropane (THP; glycerol): Rapid arrest of spermatogenesis without altering libido, accessory organs, gonadal steroidogenesis, and serum testosterone, LH and FSH. Contraception 1984;29:291–302.

BÖLÜM 4

KEÇİLERDE KULLANILAN SUNİ TOHUMLAMA YÖNTEMLERİ

NURDAN COŞKUN[1]

GİRİŞ

Keçilerde suni tohumlama, spermanın erkek hayvandan belirli yöntemlerle alınarak dişi hayvanın üreme kanalına mekanik yollarla iletilmesidir. Suni tohumlama genellikle taze ve soğutulmuş sperma ile servikal olarak veya dondurulup çözdürülmüş sperma ile intrauterin yolla yapılmaktadır (Doğan ve ark. 2008).

Vaginal Tohumlama

Vajinal tohumlama veya diğer bir adıyla periservikal tohumlama, genellikle taze veya soğutulmuş teke sperması kullanılarak uygulanan bir yöntemdir. Bu yöntemde sperma,

[1] Dr. Öğr. Üyesi, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Dölerme ve Suni Tohumlama ABD, Orcid: 0000-0002-7120-8146

serviksin yeri belirlenmeye çalışılmaksızın östrustaki keçinin vajinasının kraniyaline bırakılır. Vajinal tohumlama, taze sperma doğrudan kullanıldığında keçilerde etkili bir yöntemdir. Ancak soğutulmuş veya dondurulup çözdürülmüş teke sperması kullanıldığında gebelik oranları daha düşük olmaktadır (Leboeuf ve ark. 2000). Bu uygulama aynı zamanda oldukça hızlı ve kolay bir uygulama olup tohumlama sonrası gebelik oranları %30–50 arasındadır. Uygulamanın dondurulup çözdürülmüş sperma ile yapılması durumunda gebelik oranı oldukça düşüktür (%5–15). Bu uygulama üreme mevsiminde östrüs tespitinin sonrasında yapılabilir. İdeal tohumlama zamanı ovulasyondan önce, östrüs belirtilerinden 12-18 saat sonradır (Evans ve Maxwell 1987). Vajinal tohumlama uygulamasının başarısı için 0,2 ml sperma ve 400 milyon kadar spermatozoon önerilmektedir (Cseh ve ark. 2012).

Servikal Tohumlama

Servikal veya intraservikal tohumlama, küçük ruminantlarda en yaygın, en ekonomik ve tercih edilen suni tohumlama tekniğidir. Bu yöntemde ostium cervicale externum, bir ışıklandırma cihazı yardımıyla görüntülenir ve ardından tohumlama kateteri vajinal spekulum içinden geçirilerek doğrudan servikse yerleştirilir. Bu teknikte keçinin zaptı raptı için özel olarak yapılmış olan travaya hayvanın arka tarafı yukarıda olacak şekilde tespit edilir. Vulva dudakları nemsiz şekilde temizlendikten sonra kayganlaştırılmış bir spekulum vajinaya yerleştirilir. Bir ışık kaynağı ile spekulumun

içerisinden serviks bulunur. İçerisinde ortalama 0,2 ml sperma bulunan kateter spekulumun içerisinden geçirilerek serviks girişinden mümkün olduğunca ilerletildikten sonra sperma buraya bırakılır. Bu tohumlama tekniğinde genellikle taze ve sulandırılmış sperma kullanılmaktadır (Çoyan 2002).

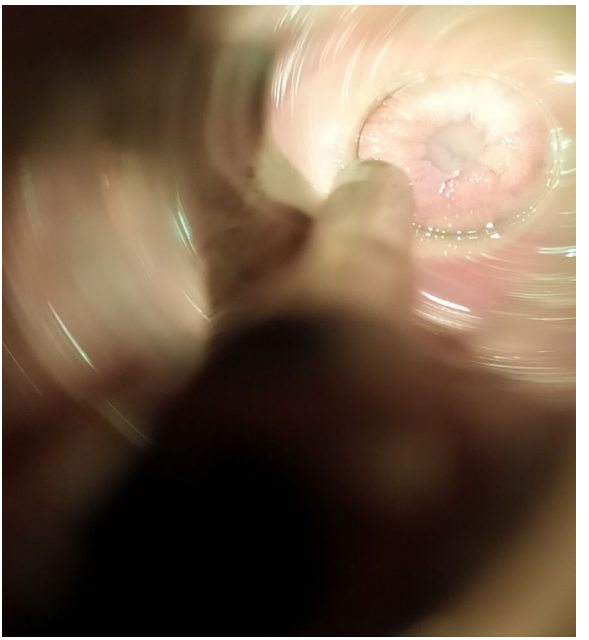
Keçilerde suni tohumlama işlemi genel olarak koyunlardaki uygulamaya benzemektedir. Ancak keçilerde serviks yoluyla intrauterin tohumlama yapmak koyunlara göre daha kolaydır; çünkü keçi serviksi, koyun serviksine kıyasla daha kolay geçilebilen bir yapıya sahiptir. Spermanın bırakıldığı bölge gebelik oranlarını önemli ölçüde etkilemektedir. Sperma genital kanalın içerisinde ne kadar derine bırakılırsa, elde edilen gebelik oranı da o kadar yüksek olmaktadır. Özellikle kateterin uterusa ulaşabildiği durumlarda gebelik oranlarının daha yüksek olduğu bildirilmektedir. Örneğin, keçilerde gerçekleştirilen bir çalışmada, dondurulup çözdürülmüş sperma ile yapılan post-servikal tohumlamalarda gebelik oranı %57 olarak bulunmuştur (Salvador ve ark. 2005).

Transservikal İntrauterin Tohumlama

Bu yöntemde spermanın uterus lumenine ağrısız ve doğrudan transferi için özel olarak tasarlanmış kateterler kullanılır. Bu teknikte hayvanın uygun bir pozisyonda sabitlenmesi, servikal bölgenin geriye doğru çekilerek stabilize edilmesi ve suni tohumlama kateterinin serviks boyunca ilerleyebilmesine imkân tanıyacak özel ekipmanlarla hayvanın uygun şekilde tutulması gereklidir. Bu

yöntemde amaç, spermanın mümkün olan en derin noktaya ulaştırılması ve uterin lümene yakın bir bölgeye depo edilmesidir. Tohumlama derinliği arttıkça gebelik ve doğum oranlarının yükseldiği bildirilmiştir. Transservikal tohumlamanın başarısı, servikal penetrasyonun kolaylığı ile yakından ilişkilidir. Ancak serviksin kompleks anatomik yapısı, kateterin servikal kanaldan geçişini zorlaştırmaktadır. Ayrıca, pistolenin geçişi sırasında servikal epitelde mikro düzeyde yaralanmalar oluşabilmekte ve bu durum fertiliteyi olumsuz etkileyebilmektedir. Buna rağmen, transservikal suni tohumlama keçilerde kabul edilebilir doğum oranları sağlamaktadır. Bununla birlikte, servikal kanal boyunca doku hasarı oluşturmadan daha derin penetrasyonun sağlanmasına yönelik ek çalışmalara ihtiyaç olduğu bildirilmiştir (Dhara ve ark. 2023).

Resim 1 Cervix girişinin spekulum içerisinde gözlenmesi



Kaynak: Orijinal

Geleneksel yöntemlerin saha koşullarındaki zorluklarını aşmak için geliştirilen görsel endoskop destekli transservikal tohumlama, video endoskop aracılığıyla serviksin gerçek zamanlı izlenmesini sağlayarak işlem süresini %40 oranında kısaltmakta ve uygulamaların %78'inin 1 dakikanın altında tamamlanmasına olanak tanımaktadır. Literatürde dondurulmuş sperma kullanılarak yapılan transservikal tohumlamalarda %71'e varan yüksek gebelik ve yavrulama oranları bildirilmiş olup, en yüksek başarı oranlarına spermanın uterusun içerisine bırakıldığı koşullarda ulaşılmaktadır. Transservikal tohumlamanın genel anestezi veya cerrahi müdahale gerektirmemesi, daha az invaziv olması ve düşük maliyetli

ekipmanlarla uygulanabilmesi bu yöntemin en önemli avantajlarıdır. Bununla birlikte, servikal kanalın geçilmesi sırasında mukoza zedelenmeleri ve travma riski bulunsa da, endoskopik rehberlik bu riskleri minimize ederek saha şartlarında rutin suni tohumlama programları için pratik ve etkili bir alternatif sunmaktadır (Sringam ve ark. 2026). Transservikal intrauterin suni tohumlama sırasında sperma, inseminasyon pipetinin servikal kanal boyunca ilerletilmesiyle uterusa ulaşmasıyla bırakılır (Leethongdee & Ponglowhapan 2014).

Laparoskopik Tohumlama

Laparoskopik suni tohumlama, ışık kaynağı ile genital organların görüntülenmesini sağlayan ve spermanın uterus içine verilmesi ile gerçekleştirilen bir yöntem olup spermanın laparoskop yardımıyla uterin duvar üzerinden doğrudan uterus lümenine bırakıldığı bir suni tohumlama yöntemidir. Bu yöntemde taze veya dondurulmuş-çözdürülmüş sperma kullanılabilmekte olup, yüksek fertilite ve gebelik oranları elde edilebilmektedir. Ayrıca inseminasyon başına daha düşük sayıda spermatozoon kullanılabilmekte ve genellikle 40 –80×10^6 spermatozoon yeterli olmaktadır. Laparoskopik suni tohumlama yöntemi, intraservikal tohumlama sırasında karşılaşılan birçok zorluğun aşılmasını sağlamaktadır. Bu yöntemde tohumlama için gerekli spermatozoon sayısı daha az olmasına rağmen yüksek gebelik oranları elde edilmektedir. Sağladığı yüksek fertilite ve gebelik oranları nedeniyle bu yöntem, özellikle üstün genetik değere

sahip keçilerin tohumlanmasında etkili bir seçenek olarak değerlendirilmektedir. (Cseh ve ark. 2012; Dhara ve ark. 2023)

Keçilerde laparoskopik suni tohumlama süreci, ilk olarak 0. günde vajinal bir gereç olan CIDR yerleştirilmesi, 9. günde kas içi PGF2α ve PMSG enjeksiyonları ve 11. günde CIDR'ın çıkarılmasıyla başlayan titiz bir östrus senkronizasyonu protokolü ile başlar. Operasyondan 24 saat önce hayvanlara açlık uygulanır ve asıl uygulama, CIDR çıkarıldıktan yaklaşık 55 saat sonra gerçekleştirilir. Cerrahi aşamada hayvanlar, xylazine, atropin ve Zoletil 50 ile indüklenen, ardından isofluran gazı ile sürdürülen genel anestezi altında, arka bacaklarından sabitlenerek 60 derecelik Trendelenburg pozisyonuna (baş aşağı eğimli) alınır. Bölgesel temizlik ve lokal anesteziyi takiben meme başlarının 2-3 cm önünden açılan iki adet 1 cm'lik kesiden karın boşluğu CO_2 gazı ile şişirilir; ardından bir kanülden görüntüleme için laparoskop, diğerinden ise tohumlama kılıfı içeri yerleştirilir. 37 °C'de su banyosunda 30 saniye çözdürülen dondurulmuş spermalar, doğrudan uterus boynuzuna veya gövde birleşim noktasına enjekte edilirken, işlemin başarısı uterusun genişlemesi gözlemlenerek teyit edilir. Operasyon sonunda kesiler ipek dikişlerle kapatılıp beş gün boyunca enfeksiyonu önlemek amacıyla antibiyotik tedavisi uygulanır ve gebelik durumu uygulamadan 45 gün sonra ultrason ile kontrol edilerek süreç tamamlanır. Ayrıca spermanın uterusun tek bir tarafına bırakılmasının (unilateral), çift taraflı uygulamaya (bilateral) kıyasla

üreme sonuçlarını olumsuz etkilemediği ve zaman açısından daha verimli bir alternatif sunduğu ortaya konmuştur (Kang ve ark. 2025).

Suni Tohumlama Metotlarının Fertilizasyon Başarıları

Keçilerde suni tohumlama uygulamalarından elde edilen başarı oranları, spermanın bırakıldığı anatomik bölgeye, kullanılan spermanın taze, soğutulmuş veya dondurulmuş olmasına, spermatozoon dozuna ve senkronizasyon protokollerine bağlı olarak geniş bir varyasyon sergilemektedir. Literatür verilerine göre, en yüksek gebelik oranları spermanın doğrudan uterus kornularına bırakıldığı laparoskopik intrauterin tohumlama yöntemi ile elde edilmekte olup, bu teknikte başarı oranları genellikle %60 ile %80 arasında değişmektedir (Dhara ve ark. 2023; Kang ve ark. 2025; Sringam ve ark. 2026).

Laparoskopik yöntemin ardından en başarılı sonuçları veren transservikal intrauterin tohumlama yönteminde ise dondurulmuş sperma kullanımıyla %71 civarında bir gebelik oranı bildirilmiştir. Özellikle modern bir yaklaşım olan görsel endoskop destekli transservikal tohumlama uygulamalarında, Alpine keçilerinde %57 ile %83 arasında değişen oldukça yüksek başarı düzeylerine ulaşılmıştır. Dünya genelinde en yaygın ve ekonomik olarak tercih edilen servikal (intraservikal) tohumlama yönteminde genel başarı oranı teorik olarak %40 ile %80 arasında kaydedilse de, dondurulmuş sperma kullanılan saha çalışmalarında bu oranların çok

daha değişken olduğu ve genellikle %15,8 ile %71 arasında seyrettiği gözlemlenmektedir. Örneğin, dondurulmuş sperma ile yapılan intraservikal tohumlamalarda gebelik oranları Damascus keçilerinde %20 ile %26,6 arasında saptanırken, Bulgar yerel keçilerinde %22,8 ve Saanen keçilerinde %42,3 gibi farklı saha değerleri rapor edilmiştir (Karaca ve ark. 2021; Karadaev & Yotov 2026; Wani ve ark. 2023). Diğer yandan, dondurulmuş spermanın intraservikal olarak çift doz uygulanması durumunda gebelik oranının tek uygulamaya göre önemli düzeyde arttığı; tek uygulama için %15,8 olan oranın çift uygulamada %38,7'ye çıktığı tespit edilmiştir. En basit yöntem olan vajinal (periservikal) tohumlamada ise özellikle dondurulmuş sperma kullanımıyla elde edilen başarı oranı %5 ile %15 gibi oldukça düşük seviyelerde kalmaktadır. Ancak dondurulmuş sperma yerine taze veya soğutulmuş sperma tercih edildiğinde vajinal yöntemde dahi %71 ile %78 arasında değişen kabul edilebilir fertilite sonuçlarına ulaşılabilmektedir. Sonuç olarak, spermanın genital kanalda bırakılma derinliği arttıkça döllenme şansının da arttığı, özellikle spermanın uterus gövdesine bırakıldığı durumlarda en optimal sonuçların (%55,9) alındığı görülmektedir (Leethongdee & Ponglowhapan 2014; Perera ve ark. 2026).

Kaynakça

Cseh, S., Faigl, V., & Amiridis, G. S. (2012). Semen processing and artificial insemination in health management of small ruminants. *Animal reproduction science*, *130*(3-4), 187-192.

Çoyan, K., Ataman, M. B., Kaya, A., & Karaca, F. (2002). Evcil hayvanlarda dölerme ve sun'i tohumlama. *Selçuk Üni, Vet Fak Yayın Ünitesi*.

Dhara, S., Thakur, S., Anwar, S. M. S., Gupta, M. D., & Sinha, S. (2023). Artificial Insemination in Goat: A New Prospect for Scientific Goat Breeding. *Animal Reproduction Update*, *3*(2), 1.

Dogan, I., Konyali, A. Y. N. U. R., Tolu, C., & Yurdabak, S. (2008). Different estrous induction protocols during the transition period in lactating Turkish Saanen does following AI. *Acta veterinaria*, *58*(2/3), 259.

Evans, G., Maxwell, W. M. C. (1987) Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. 2 th Ed., Butterworths, Sidney, s. 8-21: 107-141.

Kang, T. C., Tseng, K. F., Lin, H. H., Chen, T. T., Lai, I. L., & Shen, P. C. (2025). Optimizing artificial insemination in goats: semen deposition site and vaginal mucus characteristics as predictive biomarkers. *Frontiers in Veterinary Science*, *12*, 1667834.

Karaca, F., Çetin, N. C., Demirezer, H., Yalçin, O. K., & Ateş, C. T. (2021). The effect of intracervical insemination performed in different times with cryopreserved semen on pregnancy rates in goats synchronized in the breeding season.

Karadaev, M., & Yotov, S. (2026). Reproductive Parameters in Local Goats After Estrus Synchronization and Artificial Insemination with Frozen Semen During Breeding Season (Case report). *Veterinarija ir Zootechnika*, *83*(2), 1-4.

Leboeuf, B., Restall, B., & Salamon, S. (2000). Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal reproduction science*, *62*(1-3), 113-141.

Leethongdee, S., & Ponglowhapan, S. (2014). Artificial insemination in goats: an update.

Perera, W. P. P. S. I., Pushpakumara, P. G. A., Alexander, P. A. B. D., & Perera, G. D. R. K. (2026). Effect of exogenous GnRH, semen volume, and artificial insemination technique on reproductive performance of Saanen goats in Sri Lanka. *Ceylon Journal of Science*, *55*(1).

Salvador, I., Viudes-de-Castro, M. P., Bernacer, J., Gómez, E. A., & Silvestre, M. A. (2005). Factors Affecting Pregnancy Rate in Artificial Insemination with Frozen Semen During Non-Breeding

Season in Murciano–Granadina Goats: a Field Assay. *Reproduction in Domestic Animals*, *40*(6), 526-529.

Sringam, S., Suwannathada, P., Kunkitti, P., Deesuk, P., Wichaiwong, A., & Sringam, P. (2026). Field evaluation of visual endoscope-assisted transcervical artificial insemination in goats: Effects on insemination time and pregnancy outcomes under tropical conditions. *Veterinary World*, *19*(1), 169.

Wani, A. Y., Ahanger, S. A., Khan, S. A., Rather, M. A., Magray, S. N., Baba, J. A., & Shah, M. A. (2023). Artificial insemination in backyard goat farming: A new prospect for scientific Goat breeding in changing scenario of Kashmir. *The Pharma Innovation Journal*, *12*(9), 1010-1012.


BİDGE