

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DÖLERME VE SUNİ TOHUMLAMA ANABİLİM DALI



**TEKELERDE İKİ FARKLI SULANDIRICI İLE SULANDIRILAN  
SPERMAYA DEĞİŞİK ORANLARDA BAL İLAVESİNİN KISA  
SÜRELİ SAKLAMAYA ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Nurdan COŞKUN ÇETİN

**Danışman**

Prof. Dr. Fikret KARACA

**HATAY-2017**

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DÖLERME VE SUNİ TOHUMLAMA ANABİLİM DALI

**TEKELERDE İKİ FARKLI SULANDIRICI İLE SULANDIRILAN  
SPERMAYA DEĞİŞİK ORANLARDA BAL İLAVESİNİN KISA  
SÜRELİ SAKLAMAYA ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Nurdan COŞKUN ÇETİN

**Danışman**

Prof. Dr. Fikret KARACA

Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
15045 nolu proje olarak desteklenmiştir.

**HATAY-2017**

T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
DÖLERME VE SUNİ TOHURLAMA ANABİLİM DALI

**TEKELERDE İKİ FARKLI SULANDIRICI İLE SULANDIRILAN  
SPERMAYA DEĞİŞİK ORANLARDA BAL İLAVESİNİN KISA  
SÜRELİ SAKLAMAYA ETKİSİ**

Yüksek Lisans Tezi  
Nurdan COŞKUN ÇETİN

Bu tez aşağıda isimleri yazılı tez jürisi tarafından .../.../... günü sözlü yapılan tez savunma sınavında oybirliği ile kabul edilmiştir.

Tez Jürisi;      **Jüri Başkanı:** Prof. Dr. M. Bozkurt ATAMAN  
   **Üye:** Prof. Dr. Fikret KARACA  
   **Üye:** Prof. Dr. Cengiz YILDIZ

Bu tez, Enstitümüz Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

.../.../2017

Prof. Dr. İ. Halil ÇERÇİ  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Tez aŐamasındaki çalışma s¼recinde yardımlarını esirgemeyen baŐta danışman hocam Prof. Dr. Fikret KARACA'ya; Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Cengiz YILDIZ ve Doç. Dr. İlker YAVAŐ'a; çalışmada kullanılan tekelerin teminini sağlayan Pan Hayvancılık Damızlık Damascus Keçi İşletmesi sahibi Veteriner Hekim Haydar DEMİREZER'e, çalışma süresince tekelerin barındırılması için yer sağlayan MKÜ Veteriner Fak¼ltesi Dekanlığı'na, verilerin istatistiki değerlendirilmesinde özverili yardımları için Zootekni Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Cafer Tayyar ATEŐ'e, tezin laboratuvar çalışmalarında destek olan MKÜ Teknoloji ve Araştırma Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü Doç Dr. Fatih SAKİN'e ve Müdür Yardımcısı Yrd. Doç. Dr. Cemil KÜREKÇİ'ye teŐekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme, tez çalıŐmalarım sırasında manevi destekleri olan eŐime çok teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER .....	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	VIII
ÖZET .....	IX
ABSTRACT.....	X
1.GİRİŞ .....	1
2.GENEL BİLGİLER .....	3
2.1.Damascus (Şami, Halep ) Keçisinin Özellikleri .....	3
2.2.Tekelerde Pubertas.....	4
2.3.Tekelerde Çiftleşme Mevsimi .....	4
2.4.Tekelerde Sperma Verimi ve Spermatolojik Özellikler .....	5
2.5.Tekelerden Spermanın Alınması .....	5
2.5.1.Suni Vajenle Spermanın Alınması .....	6
2.5.2.Elektroejakulasyon ile Spermanın Alınması .....	6
2.6.Tekelerde Spermanın Değerlendirilmesi .....	7
2.7.Tekelerde Spermanın Sulandırılması ve Kısa Süreli Saklanması.....	8
2.8.Sperma Sulandırıcılarına Katılan Antimikrobiyel Maddeler.....	10
2.9.Sperma Sulandırıcılarına Katılan Antioksidan Maddeler ve Şekerler.....	11
2.9.1.Antioksidan Maddeler .....	11
2.9.1.1.Nonenzimatik Antioksidanlar.....	11
2.9.1.1.1.Glutatyon .....	12
2.9.1.1.2.Sistein .....	12
2.9.1.1.3.Vitamin E ( $\alpha$ -Tokoferol).....	12
2.9.1.1.4.Vitamin C (Askorbik asit) .....	12
2.9.1.1.5.Karotenler .....	13
2.9.1.1.6.Hyaluronik asit (Hyaluran).....	13
2.9.1.1.7.Melatonin.....	13
2.9.1.1.8.Ürik asit .....	13
2.9.1.1.9.Taurin .....	13
2.9.1.1.10.Trehaloz.....	14
2.9.1.1.11.Alfa Lipoik Asit.....	14
2.9.1.2.Enzimatik Antioksidanlar .....	14
2.9.1.2.1.Katalaz .....	14
2.9.1.2.2.Süperoksit Dismutaz.....	14
2.9.1.2.3.Glutatyon Peroksidaz.....	15

2.9.1.2.4.Glutatyon Redüktaz .....	15
2.9.2.Şekerler .....	15
2.10.Balın Özellikleri.....	16
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	20
3.1.Gereç .....	20
3.2.Yöntem.....	21
3.2.1.Spermanın Alınması .....	21
3.2.2.Spermatolojik Özelliklerin Belirlenmesi .....	23
3.2.2.1.Spermanın Miktarı .....	23
3.2.2.2.Spermanın Rengi .....	23
3.2.2.3.Spermanın pH Değeri .....	23
3.2.2.4.Spermanın Viskozitesi .....	23
3.2.2.5.Taze Spermada Kitle Hareketi.....	23
3.2.2.6.Spermatozoa Motilitesi.....	24
3.2.2.7.Ölü Spermatozoa Oranı .....	24
3.2.2.8.Spermatozoa Yoğunluğu .....	25
3.2.2.9.Morfolojik Muayene.....	25
3.2.2.10.Hipo Osmotik Swelling Test (HOS).....	26
3.2.3.Spermanın Sulandırılması, Soğutulması ve Saklanması .....	26
3.2.4.İstatistiksel Analiz .....	28
4.BULGULAR.....	29
4.1.Taze Spermada Saptanan Spermatolojik Özellikler .....	29
4.2.Deneme ve Kontrol Gruplarında Sulandırma ve Saklama Süresince Elde Edilen Spermatolojik Bulgular.....	29
4.2.1.Motilite Değerleri .....	29
4.2.2.HOS Test Değerleri .....	32
4.2.3.Anormal Spermatozoon Oranları .....	34
4.2.4.Ölü Spermatozoon Oranları.....	36
4.2.5.pH Değerleri .....	38
4.2.6.Sulandırılıp Soğutulmuş Spermada Gruplar Arası Yaşam Süresi... ..	40
5.TARTIŞMA .....	41
6.SONUÇ .....	58
7.KAYNAKLAR .....	59
ÖZGEÇMİŞ .....	65

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 3.1.</b> Araştırmada kullanılan tekeler ve barındırılma yeri.....	20
<b>Şekil 3.2.</b> Tekeye elektroejakülatörün uygulanması.....	22
<b>Şekil 3.3.</b> Tekeden elektroejakülasyon ile spermanın toplanması.....	22



## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Çizelge 4.1.</b> Sulandırma öncesi birleştirilmiş ejakulatlardaki ortalama spermatolojik özellikler.....	29
<b>Çizelge 4.2.</b> Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C'de zamana bağlı motilite değerleri.....	31
<b>Çizelge 4.3.</b> Deneme ve kontrol gruplarında elde edilen motilite değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	31
<b>Çizelge 4.4.</b> Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C'de zamana bağlı HOS test değerleri.....	33
<b>Çizelge 4.5.</b> Deneme ve kontrol gruplarında elde edilen HOS test değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	33
<b>Çizelge 4.6.</b> Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C'de zamana bağlı anormal spermatozoon oranları.....	35
<b>Çizelge 4.7.</b> Deneme ve kontrol gruplarında elde edilen anormal spermatozoon oranlarının gruplar arası karşılaştırılması.....	35
<b>Çizelge 4.8.</b> Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C'de zamana bağlı ölü spermatozoon oranları.....	37
<b>Çizelge 4.9.</b> Deneme ve kontrol gruplarında elde edilen ölü spermatozoon oranlarının gruplar arası karşılaştırılması.....	37
<b>Çizelge 4.10.</b> Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C'de zamana bağlı pH değerleri.....	39
<b>Çizelge 4.11.</b> Deneme ve kontrol gruplarında elde edilen pH değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	39
<b>Çizelge 4.12.</b> Süt ve Tris sulandırıcılı deneme ve kontrol gruplarının ortalama spermatozoon yaşam sürelerinin karşılaştırılması.....	40



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Ca	Kalsiyum
Cm	Santimetre
cm <sup>3</sup>	Santimetreküp
°C	Santigrat derece
Dk	Dakika
EYCE	Yumurta sarısını Koagüle Edici Enzim
Fe	Demir
FSH	Folikül Stimüle Edici Hormon
g	Gram
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
HOS	Hipoosmotik Şişme
IU	Internasyonal Unite
K	Potasyum
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
LH	Luteinleştirici Hormon
M	Molar
Mg	Magnezyum
mm	Milimetre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mOsm	Miliosmol
mm <sup>3</sup>	Milimetreküp
NaCl	Sodyum Klorür
PO <sub>4</sub>	Fosfat
S	Kükürt
SBUIII	Bulboüretal kökenli bir protein
sn	Saniye
UHT	Çok yüksek ısıda işlem görmüş
V	Volt
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre
%	Yüzde
10 <sup>6</sup>	Milyon
10 <sup>9</sup>	Milyar
°	Derece
'	Dakika
"	Saniye

## ÖZET

### **Tekelerde İki Farklı Sulandırıcı İle Sulandırılan Spermaya Değişik Oranlarda Bal İlavesinin Kısa Süreli Saklamaya Etkisi**

Çalışmada, süt ve Tris temelli sulandırıcılar ile sulandırılan teke spermasına farklı oranlarda bal ilavesinin kısa süreli saklamada spermatolojik özelliklere ve yaşam süresine etkisi incelendi.

Araştırma, 2 ergin teke üzerinde yürütüldü. Tekelerden sperma elektrojekulasyon yöntemiyle alındı. Sperma Tris-yumurta sarısı (Kontrol, % 1, % 2.5 ve % 5 bal ilavesi) ve yağsız süt sulandırıcısı (Kontrol, % 1, % 2.5 ve % 5 bal ilavesi) ile sulandırılarak gruplar oluşturuldu. Sulandırma sonrası sperma örnekleri +4-6 °C'de saklandı ve 12 saat aralıklarla spermatolojik muayeneleri yapıldı.

Motilite değeri, süt kontrol grubunda 24. saat ve 60. saat arasında bal içeren gruplara göre yüksekti. Tris sulandırıcı grubunda, 48. saate kadar kontrol grubu bal içeren gruplardan yüksek, % 5 bal ilaveli grup ise diğer bal oranlarından düşük bulundu. HOS test değeri, süt kontrol grubunda 12. ve 24. saatlerde % 2.5 ve % 5 bal ilaveli gruplardan yüksek, % 1 bal ilaveli grup ile benzerdi. 36 ve 60. saatler arasında kontrol grubu bal ilaveli gruplardan yüksekti. HOS test değeri tris sulandırıcılı kontrol grubunda 48. saate kadar yüksek, 60. saatte % 1 bal ilaveli gruba benzerdi. Tris sulandırıcılı % 5 bal ilaveli grup, diğer bal ilaveli gruplardan 0. ve 60. saatler dışında düşük bulundu. Anormal spermatozoon oranı 60. saate kadar süt kontrol grubu ile bal ilaveli gruplar arasında önemli bir fark bulunmadı. Tris sulandırıcı gruplarda anormal spermatozoon oranı, 36. saate kadar % 1 bal içeren gruptan, 48. saatte % 1 ve % 5 bal ilaveli gruplardan düşük bulundu. Ölü/canlı spermatozoon oranı, süt kontrol grubunda 0. saatte % 5 bal ilaveli gruptan, 12. saatte % 2.5 ve % 5 bal ilaveli gruptan, 24. saat ile 72. saatler arasında ise bal ilaveli gruplardan düşük bulundu. Tris sulandırıcılı kontrol grubu 60. saate kadar bal ilaveli gruplardan, 72. saatte ise % 5 bal ilaveli gruptan düşük bulundu.

Sonuç olarak her iki sulandırıcı grubunun kontrol grupları spermatolojik kalite bakımından daha üstün olduğu, grup içi değerlendirmede genel olarak ilave edilen bal oranı arttıkça sperm kalitesinin azaldığı gözlemlendi. Gruplar arası değerlendirmede teke spermasının kısa süreli saklanmasında Tris sulandırıcısının daha üstün olduğu ve bal ilavesinin herhangi bir başarı sağlamadığı saptandı.

**Anahtar kelimeler:** Teke, sperma, elektrojekulasyon, kısa süreli saklama, bal ilavesi.

## ABSTRACT

### **The Effect of Different Rates of Honey Supplementation on Short Term Storage Semen Diluted with Two Different Diluents in Goats**

In the study, goat semen which was diluted with milk and tris based diluents were investigated different ratios of honey supplementation effects on spermatological characteristics and life span in short-term storage.

The research was conducted on 2 adult goats. The semen was collected by means of electroejaculator method in goats. Groups were formed by diluting with semen Tris-egg yolk (Control, 1 %, 2.5 % and 5 % honey addition) and skim milk diluent (Control, 1 %, 2.5 % and 5 % honey addition). Sperm samples were stored at +4-6 °C after dilution and spermatological examinations were performed at 12 hours intervals.

The motility value was higher in the milk control group than in the honey added groups between 24th and 60th hours. In the tris diluent group, up to 48th hour, the control group was higher than the honey added group and the 5 % honey group was lower than the other honey added groups. The HOS test value was similar in the milk control group with 1 % honey group, in milk control group was higher than the 2.5 % and 5 % honey group at 12nd and 24th hours. Between 36th hour and 60th hour, the control group was higher than the honey supplement groups. The HOS test value was high tris-diluted control group up to 48th hour, at the 60th hour similar to the tris-diluted control group with 1 % honey group. The 5 % honey supplemented group with Tris diluted was lower than the other honey supplemented groups except for at 0th and 60th hours. Abnormal spermatozoon ratio did not show any significant difference between milk control group and honey supplemented groups up to 60th hour. The abnormal spermatozoon ratio in the Tris diluent groups was lower than 1 % honey group until 36th hour, 1 % and 5 % honey supplement groups at 48th hour. The dead/live spermatozoon ratio was lower in the milk control group than in the 5 % honey supplement group at 0th hour, 2.5 % and 5 % honey supplement group at 12nd hour, between 24th hour and 72nd hours honey supplemented groups. The Tris diluent control group was lower than the honey supplement group up to 60th hour and lower than the 5 % honey supplement group at 72nd hour.

As a result, it was observed that the control groups of both diluent groups were superior in spermatological quality, in the group evaluation, the sperm quality decreased as the honey supplement ratio increased generally. It was determined that the Tris diluent was superior to the short-term storage of the goat spermatozoa in the between groups evaluation and the honey supplementation did not achieve any success.

**Keywords:** Damascus goat, semen, elektroejaculation, short time storage, honey supplementation.

# 1. GİRİŞ

Türkiye’de keçi yetiştiriciliği yüzyıllardır geleneksel olarak yapılan bir üretim dalı olup; gerek bölgenin ekonomisine, gerekse sosyo-kültürel yapısına önemli düzeyde katkıda bulunan bir yetiştiricilik türüdür (Dellal ve ark. 2010). Keçilerin yemden yararlanma oranının yüksek olması ve diğer hayvanlar tarafından değerlendirilemeyen yem kaynaklarını kullanarak verim elde etmesi keçi yetiştiriciliğinin önemini arttırmaktadır (Koluman ve Daşkiran 2010). Keçiler et, süt, kıl, tiftik, deri, post, barsak, gübre gibi çeşitli amaçlarla kullanılabilen çok sayıda ürüne sahiptirler (Kaymakçı ve Aşkın 1997).

Dünyada keçi yetiştiriciliği büyük oranla Asya ve Afrika ülkelerinde gerçekleştirilmektedir. Bu ülkelerdeki keçi ırkları yetersiz bakım ve beslenme koşullarına, hastalıklara karşı uyum sağlamış olmasına rağmen verim kabiliyetleri düşüktür. Avrupa ve Amerika’da ise özellikle süt ve döl verimi yüksek keçi ırkları bulunmaktadır (Kaymakçı ve Aşkın 1997). Türkiye’de keçi yetiştiriciliğinin durumuna bakıldığında TÜİK verilerine göre 44 milyon 34 bin küçükbaş hayvan içerisinde koyun sayısı 33 milyon 239 bin baş iken 10 milyon 795 bin baş keçi bulunmaktadır (Tük 2016).

Gerek keçi sayısının ve gerekse hayvan başına düşen verim özelliklerinin artırılması, bilimsel ıslah programlarının uygulanabilirliği ölçüsünde mümkün olmaktadır. Yetiştiricilikte nesillerin devamı ve hayvansal gıdaların sağlanması hayvanların döl verimi özelliğine bağlıdır. Hayvanlardan sürekli ve iyi bir dölverimi alınabilmesi ise büyük ölçüde döl verimini etkileyen faktörlerin kontrol edilebilmesine bağlıdır (Aytuğ ve ark. 1990).

Hayvan yetiştiriciliğinde suni tohumlama yöntemi sürüde genetik ilerlemenin hızlı bir şekilde olmasını sağlayan modern bir tekniktir. Bu nedenle keçilerde suni tohumlama yönteminden yararlanarak üstün özellikli tekelerin spermalarının yaygın kullanımı, yetiştirme programlarında hızlı bir genetik ilerleme elde edilmesi bakımından önem taşımaktadır (Üstüner ve Günay 2009).

Ülkemizde 1935 yılında Çifteler Harasında Tiftik keçilerinde suni tohumlama uygulanmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Daha sonra ve 1957 yılından itibaren de Lalahan Zootečni Araştırma Kurumu’nda yine Tiftik keçilerinde suni tohumlama uygulamaları yapılmıştır (Özkoca 1984). Ancak ülkemizde koyun ve keçi yetiştiriciliğinin geliştirilmesinde zaman zaman başvurulan suni tohumlama uygulamalarında bir süreklilik

sağlanamamıştır. Ekonomik, sosyal ve teknik birçok neden yüzünden uygulamalar ya tamamen son bulmuş, ya da sınırlı düzeyde kalmıştır. Ancak yetiştiricilerin bu türlerde suni tohumlama istemleri devam etmektedir. Günümüzde teke spermasının sulandırılarak kısa süre muhafaza edilmesi ve dondurulmasındaki ilerlemeler ile tohumlama tekniklerinde sağlanan gelişmelere paralel olarak, koyun ve keçi yetiştiriciliğinde ileri ülkelerde suni tohumlama uygulamalarının yaygınlaştığını görmekteyiz (Corteel ve ark. 1988). Teke spermasının başarılı bir şekilde dondurulamaması ve dondurulmuş teke sperması ile yapılan servikal tohumlamalarda elde edilen gebelik sonuçlarının yeterli düzeyde olmaması araştırmacıları spermanın kısa süreli saklanması işlemi ile suni tohumlama uygulamalarına yöneltmiştir. Spermanın kısa süreli saklanmasında hedef; kabul edilebilir bir fertilité düzeyi elde edilmesi için, in vitro ortamda sperma kalitesinin ve yaşam süresinin uzun süre muhafaza edilebilmesidir. Çalışmada, süt ve TRİS temelli sulandırıcılar ile sulandırılan teke spermasına farklı oranlarda bal ilavesinin kısa süreli saklama süresinde spermatolojik özellikler ve yaşam süresine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Damascus (Şami, Halep ) Keçisinin Özellikleri

Ülkemizde Halep keçisi ya da Şami olarak bilinen Damascus ırkı keçiler Ortadoğu ülkelerinde hatta illerinde kendi ismi ile isimlendirmişlerdir. Ortadoğu ülkelerinde ismi Suriye keçisi, Şam Keçisi, Filistin keçisi, Şami keçisi vs. gibi birçok isimle anılmaktadır. Arap ülkelerinde “Şami”, İngilizce literatürde “Damascus” olarak adlandırılan Halep keçisi, Türkiye’de Hatay’dan başlayarak Urfa’ya kadar, ülke dışında Suriye’den Mısır’a kadar olan Akdeniz şeridinde yetiştirilmektedir. Damascus keçileri kurak ve yarı kurak iklim koşullarına adaptasyon sürecini tamamlamıştır ve bu iklim koşullarında nispeten yüksek süt ve döl verimine sahiptirler. Bu nedenle iklim koşulları ve topoğrafik yapısı sebebiyle Güneydoğu Anadolu Bölgesi için uygun ırk olma niteliği taşıdığı söylenebilir. Ayrıca, bölgede yetiştiriciliği yapılan bazı ırkların et, süt ve döl verimlerinin ıslahında bu ırktan geniş ölçüde yararlanılması da mümkündür. Halep keçisinin en önemli özelliği, yüksek sıcaklığa dayanıklı bir ırk olmasıdır. Düz ovalardaki kısa bitki örtüsünden yeterince faydalanabilmesi, verimli olmayan meralardan koyuna göre daha iyi faydalanması ve hasat sonrası anız alanlarını etkili bir şekilde değerlendirmesi diğer önemli özellikleridir (Barıtcı ve Adıgüzel 2017).

Damascus keçileri uzun vücut yapılı ve yüksek bacaklı bir keçi ırkıdır. Türkiye’de sayıca fazla olan koyu kestane (kırmızı kahverengi) renkli kıllı ve siyah renkte kıllı olmak üzere iki çeşittir. Ancak Damascus keçilerinin beyaz, kül rengi ve kırmızı-beyaz lekeli varyeteleri de vardır (Barıtcı ve Adıgüzel 2017).

Damascus keçisinin yetiştirildiği bölgelerde yapılan araştırmalarda bu ırkın yüksek verim seviyesini farklı özelliklere sahip bölgelerde muhafaza ettiğinin anlaşılması nedeniyle adaptasyon özelliğinin iyi olduğu söylenebilir. Bu ırk döl verim özellikleri bakımından da iyi ve adaptasyon kabiliyeti yüksek olması yönüyle de diğer keçi ırklarından ayrılabilir (Keskin 2000). Damascus keçilerinin süt verimi özellikleri yüksektir. Ancak keçilerin meme yapısının sarkık olması, çalılık ve taşlık arazilerde yetiştiriciliğinde dikkate alınması gereken bir durumdur. Bu konuda yapılacak seleksiyon ve tip sabitleştirilmesi ile bu sorun ortadan kaldırıldığında bu keçiler dağlık ve çalılık

arazilerde de süt verimi için rahatlıkla yetiştirilebileceği belirtilmektedir (Barıtcı ve Adıgüzel 2017).

## **2.2. Tekelerde Pubertas**

Tekelerde pubertas ergin ağırlığının % 40-60'ına ve 4-6 aylık yaşa ulaşıldığında Őekillenmektedir (Hafez 2000). Spermatozoon retim yeteneğini gösteren testis büyüklüğünün, gonadotropin konsantrasyonlarındaki değişiklikten daha çok, öncelikli olarak beslenmeden ve büyümeden etkilendiği belirtilmiştir (Gordon 1999). Tekelerde pubertas yaşı, ırka ve çevresel etkilere bağlı olarak farklılıklar gösterir. Doğumdan sonra, hipofiz bezi, testis ve epididimisin ağırlığı pubertasa kadar yavaş bir artış gösterirken 5. ayda oldukça hızlanır. Tekelerde penisin dolayısıyla prosessus üretranın prepusyumdan ayrılması genç erkek keçinin pubertasa ulaştığının bir göstergesidir. Erkek keçilerde penis ve prepusyumun tam olarak ayrılması erkek keçinin damızlıkta kullanılma zamanına denk gelmekte ve genellikle 8. ayda gerçekleşmektedir (Hafez 1987). Cinsel istek ya da libido kendini "flehmen" ya da "olfaktorik refleks" ile belli eder. Genellikle kızgın dişinin perineum bölgesinin ya da idrarının koklanmasından sonra Şekillenir (Fraser 1980).

## **2.3. Tekelerde iftleşme Mevsimi**

Teke, yılın her mevsiminde dlerimsel aktivite göstermekle birlikte, sperma veriminde ve kalitesinde fotoperiyoda bağlı olarak değişimler gözlenir. Gün ışığının azalmaya başladığı üreme sezonunda, testosteron ve LH'nin kandaki düzeylerinde, testis ağırlığında ve dolayısıyla spermatolojik aktivite de artışlar görülür (Bon Durant 1979, Muduuli ve ark. 1979). Aşım mevsimi boyunca sperma kalitesindeki artışın, LH ve testosteron düzeyini artıran pineal melatonin sekresyonundaki değişime bağlı olduğu bildirilmektedir. Kısalan günlerin LH sekresyonunu stimüle ettiği ve bu yolla testiküler büyümenin indüklenerek testosteronun salgılandığı, uzayan günlerin ise LH sekresyonunu, testiküler büyümeyi ve testosteron salgılanmasını deprese ettiği kaydedilmektedir (Miyamoto ve ark. 1987).

## **2.4. Tekelerde Sperma Verimi ve Spermatolojik Özellikler**

Tekelerde her bir testisin günlük ürettiği spermatozoon sayısı, 2,76 ile 7,23 milyar arasında değişmektedir (Walkden-Brown ve ark. 1994). Tekelerde sperma verimi ve kalitesi üzerine mevsimin, yaşın, ırkın ve bireysel ayırım gibi etmenlerin payı vardır. Tekelerde sperma üretimi bütün yıl boyunca aralıksız devam etmesine rağmen mevsimsel değişikliklerden etkilenebilir (Devendra ve Burns 1983). Spermatogenezis ve libido yazın düşük olmakla birlikte gün uzunluğu, östrusta bir dişinin bulunması gibi uyarıcı etmenlerle bu dönemde de çiftleşebilirler. Spermatozoonların motilitesi kışın düşük, spermatogenezis ve spermatozoon motilitesi sonbaharda en yüksek olup, daha sonra görelî olarak azalır. Gün uzunluğunun azalmasıyla birlikte üreme etkinliği, yaz mevsiminin sonlarında ve sonbahar mevsiminde en yüksek düzeye yaklaşır. Bu dönemlerde, testosteron salgısı en üst seviyeye ulaşmaktadır (Hafez 2000).

Tekelerde ejakulat miktarı az olurken spermatozoa yoğunluğu yüksektir. Sperma kıvamı diğer etkiler yanında daha çok spermatozoon sayısına bağlı olarak sulu kıvamdan koyu kıvama kadar değişir. Teke sperması beyaz, krem, ya da açık sarı renktedir. Teke sperması ortalama 1 ml hacminde, % 80 motiliteye sahip, 4 milyar yoğunlukta, morfolojik olarak normal spermatozoon oranı ise ortalama % 80'dir (Hafez 2000).

## **2.5. Tekelerden Spermanın Alınması**

Tekelerden çeşitli yöntemlerle sperma alınabilir. Ancak genelde 2 yöntem kullanılmaktadır (Çoyan 2002).

Suni tohumlama amacıyla kullanılacak damızlıklardan kaliteli sperma alabilmek için, özel besleme ve bakıma alınması gerekir. Normal yem rasyonları sperma alma dönemine girilmeden 2 hafta öncesinden başlayarak protein, vitamin ve mineral madde bakımından yoğunlaştırılmalıdır. Yeşil ve kuru ot verilmesinin yanında yem belli bir ölçüde arttırılmalıdır. Erkek damızlıkların beslenmesi kadar barındırılması, bakımı ve egzersizi sperma verimleri için çok önemlidir. Ayrıca hayvanların kırkımlarının yapılmış ve tırnaklarının kesilmiş olması gerektiği de kaydedilmektedir (Sevinç 1979, Leboeuf ve ark. 2000).



### **2.5.1. Suni Vajenle Spermanın Alınması**

Tekelerden sperma alınırken boğalarda kullanılan suni vajenin daha küçük bir modeli kullanılmaktadır. Suni vajenin boyu 19-20 cm ve iç çapı 5 cm'dir. Suni vajendeki diğer tüm özellikler ve hazırlama teknikleri boğalara benzerdir. Suni vajenin ısısı 41-44 °C olmalı, sperma alma anında bu ısı 41 °C'yi geçmemelidir (Çoyan 2002). Bu hayvanlar hızlıca aşım yaptıklarından dolayı spermayı alacak kişi tecrübeli ve çevik olmalıdır. Seksüel uyarılar için 5-6 dakika yeterlidir. Tekelerden spermanın alınmasında başlangıçta östrüsteki bir dişi kullanımı gerekmektedir. İlk zamanlarda teke insanlardan ürktüğünden kızgında olsa atlatma hayvanına yaklaşmak istemeyebilir. Bu durumlarda hayvana kızgın dişinin genital bölgesinin koklatılması libidonun uyarılmasına yardımcı olabilir. Suni vajene alıştıran tekelerde partner hayvan olarak östrüste olmayan bir keçi ya da başka bir teke de kullanılabilir. Hayvandan sperma alma esnasında prepusyum yönlendirilerek penis suni vajen içerisine girer ve yüklenme hareketinin ardından ejakulasyon şekillenir (Sönmez 2013).

### **2.5.2. Elektroejakulasyon ile Spermanın Alınması**

Bu yöntemin özelliği, bel ve sağrı bölgesinden kök alan ve genital organları besleyen sinirlerin uyarılması sonucu, ereksiyon ve ejakulasyonun oluşmasının sağlanmasıdır. Bu yöntemle, rektum içerisine sokulan bir prob yardımıyla giderek artan oranlarda elektrik akımı verilerek ereksiyon ve ejakulasyon oluşturulmaktadır. Probun ucu bel omurlarının ventraline dayandırılarak uyarım dahada arttırılabilmektedir. Zorunlu durumların dışında sık kullanılan bir yöntem değildir. Sperması alınacak erkeğin çok iyi tespit edilmesi, iyi bir elektrik akımı etkisi elde etmek için de rektumun iyice temizlenmesi gerektiği belirtilmektedir (Tekin 1990).

Elektroejakulasyonla sperma alma yönteminde elektroejakülatör ismi verilen alet kullanılmaktadır. Elektroejakülatörler, küçük amper aralıklarında (0,5-1 V) çalışan 0-30 V arasında kademeli olarak elektrik verebilen sandıklı tip ya da pille çalışan daha düşük ve sabit akımlı voltaj üreten (6-12 V), kullanımı pratik farklı elektroejakülatör tipleri bulunmaktadır (Sönmez 2013). Elektroejakülatörün probu (19x3.5 cm) kayganlaştırılarak rektuma yerleştirilmesi ve 2-5 saniye aralıklarla kontrollü uyarımların verilmesi sonucu ejakulasyon sağlanabilmektedir. Yine elektrik akımının uygulamasına 3 ya da 5 V'luk

düşük akımla başlayıp her defasında tekrar 0 V'a inmek koşuluyla 7-8 sn aralıklarla ve 1 V'luk artışlarla uyarımların yapılması tavsiye edilmektedir. Bu işleme ereksiyon ve ejakulasyon oluşuncaya kadar devam edilir. Genellikle 5-7 uyarımda sonuç alındığı ifade edilmektedir (Sönmez 2013).

Başarılı bir elektroejakulasyon yönteminde rektal prob, tekenin rektumuna zarar vermeden yerleştirilmeli, 30 saniye kadar beklenildikten sonra 8 ile 10 saniye direkt uyarımlar verilmelidir. Genelde spermanın bir uyarımla alındığı, ilk seferde alınmadığı durumlarda 30 ile 60 saniye beklendikten sonra duruma göre uyarımların bir veya birden fazla tekrarlanması gerektiği bildirilmektedir (Younquist 1997). Elektrik akımının etkisiyle ereksiyon ve ejakulasyon başlayınca prepusyumun ucuna sperma toplama kadehi tutularak sperma alınmaktadır. Bazı durumlarda ereksiyon gerçekleşmeden ejakulasyon gerçekleşebilmektedir (Tekin 1990). Alınan sperma direkt güneş ışığından ya da soğuk şokundan korunmalı ve sperma alımından sonra en fazla 10 dakika içinde motilite değerlendirilmesinin yapılması gerekmektedir (Younquist 1997).

## **2.6. Tekelerde Spermanın Değerlendirilmesi**

Teke sperması beyaz, krem ya da açık sarı renktedir. Sperma kıvamı, diğer etkiler yanında daha çok spermatozoon sayısına bağlı olarak sulu kıvamdan koyu kıvama kadar değişir (Tekin ve Muyan 1985, Hafez 2000). Teke seminal plazması, diğer türden erkeklerden farklı olarak, bulbourethral bez kökenli “yumurta sarısı koagüle edici enzim” diye nitelenen bir enzim içerir. Bu enzim, yumurta sarısı ile reaksiyona girerek spermatozoa'lar için toksik bir ürün oluştururlar. Teke sperması çiftleşme sezonunda yüksek testosteron aktivitesine bağlı olarak, vesikula seminalis kökenli olan fruktozu, diğer tür erkeklerle oranla 10 kez fazla içermektedir. Çiftleşme sezonu dışında düşen fruktoz miktarı, spermatozoa viabilitesini ve motilitesini azalttığından dölverimi düşüklüğüne neden olduğu bildirilmektedir (Tekin ve Muyan 1985).

Sperma hacmi, motilite, yoğunluk ve anormal spermatozoon oranı gibi birçok özellik sperma kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Spermanın kalitesi ve kantitesi yaş, mevsim, sıcaklık, ırk ve hatta aynı sürü içindeki tekeler arasında bireyselliğe bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Gordon 1999). Genellikle teke spermasının düşük miktarlarda olduğu ve yüksek yoğunlukta spermatozoon içerdiği belirtilmekte ve

yetiştirme yaşındaki bir tekenin spermasında olması gereken spermatolojik değerler; hacim 1.0 ml (0.5 ml-1.5 ml), motilite % 80 (% 70-% 90), yoğunluk  $4 \times 10^9$  ( $2-5 \times 10^9$ )/ml, morfolojik olarak normal spermatozoon oranı % 80 (% 70-% 90) olarak bildirilmektedir (Younquist 1997).

## **2.7. Tekelerde Spermanın Sulandırılması ve Kısa Süreli Saklanması**

Keçilerde suni tohumlama üzerine yapılan araştırma ve çalışmalar diğer çiftlik hayvanlarına göre daha azdır. 1950li yıllardan sonra gerek ülkemizde gerekse dünyada çeşitli bilimsel araştırmalar yapılmış ve halende yapılmaya devam etmektedir (Kulaksız ve Daşkın 2007).

Teke spermasının sulandırılmasında yumurta sarısı ya da yağsız süt tozu yaygın olarak kullanılmaktadır. Yumurta sarısı katılmasındaki amaç spermatozoonları  $37^{\circ}\text{C}$ 'den  $5^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar soğutulması esnasında meydana gelebilecek soğuk şokundan korumaktır (Sönmez 2013). Yumurta sarısı içeriğinde bulunan fosfolipit, kolesterol ve düşük yoğunluktaki lipoproteinler soğuk şokundan koruyucu özelliktedir. Yumurta sarısı membran koruyucu özelliktedir ancak oranının fazla olması membran destabilizasyonuna ve akrozom bozukluğuna sebep olur. Süt içerdiği protein fraksiyonları özellikle kazein miselleri ile pH değişikliklerine karşı ve ağır metallerle etkileşime girip şelat oluşturma özelliği ile koruyucu etki göstermektedir. Ancak kullanım öncesinde  $92-95^{\circ}\text{C}$  ısıda 8-10 dk süresince tutularak içeriğinde bulunan ve spermatozoonlara toksik etkili olan laktenin inaktive edilmelidir. Bu sebeple yağsız süt daha fazla tercih edilmektedir (Salamon ve Maxwell 2000, Sönmez 2013). Bununla birlikte belirtilen sulandırıcılar teke sperması için zararlı olabilmektedir. Seminal plazma ve yumurta sarısı arasındaki zararlı ilişki ilk olarak Roy (1957) tarafından, seminal plazma ve süt arasındaki zararlı ilişki ise ilk olarak Nunes ve ark. (1982) tarafından bildirilmiştir (Purdy 2006).

Roy (1957), seminal plazma ortamdan uzaklaştırıldığında spermatozoon motilitesinin yumurta sarısı içeren sulandırıcılarda devam ettiğini, fakat seminal plazmayı ayırmadan gerçekleştirilen sulandırmalarda yumurta sarısının koagüle olduğunu ve spermatozoonların öldüğünü saptamıştır. Ayrıca bulbouretral bezden salgılanan EYCE (egg yolk coagulating enzyme) enziminin yumurta sarısını koagüle ettiğini bildirmiştir. Yumurta sarısı içeren sulandırıcılarla ilişkilendirilen problem, bulboüretal bez sekresyonunda bulunan ve

seminal plazmada yer alan, yumurta sarısı koagüle edici özellik taşıyan enzime (EYCE) bağlanmıştır. Bu enzim yumurta sarısı lesitinini yağ asitlerine dönüştüren ve lisolesitin hidrolizini katalizleyen fosfolipaz A olarak tanımlanmıştır. Lisolesitin bileşiği teke sperması için toksik özelliindedir.

Nunes ve ark. (1982) teke bulbourethral bezinden bir protein (SBUIII) identifiye ederek bu proteinin, sütlü sulandırıcılar ile soğutma ya da donma aşamasında teke spermasının canlılığını azalttığını belirtmişlerdir. Bu protein fraksiyonunun motilitede düşüşe sebep olduğu, akrozomal ve hücrel bozulmayı artırdığı gözlemlenmiştir (Mara ve ark. 2007). Teke spermasındaki söz konusu bu iki bileşiğin spermatozoonlar üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için, teke spermaları santrifüj edilerek seminal plazması uzaklaştırıldıktan, yani birkaç kez yıkandıktan sonra yumurta sarısı ya da süt temelli sulandırıcılarla sulandırılması önerilmektedir. Ancak, seminal plazma içerisindeki bileşiklerin mevsime bağlı olarak değişebileceğini, üreme mevsiminde alınan spermaların yumurta sarısı ve süt temelli sulandırıcılar ile seminal plazma çıkarılmadan yapılan sulandırmalarda daha az olumsuz etki yaptığı kaydedilmektedirler (Corteel ve ark. 1980). Teke spermasının yıkanması ile ilgili olarak, kompleks ve zaman alıcı bir işlem olması, bu işlem sırasında spermatozoon kayıplarının da göz önünde bulundurulması gerektiği bildirilmektedir. Ayrıca, bu uygulamanın keçilerde fertilitate artışına neden olmadığı vurgulanmaktadır (Leboeuf ve ark. 2000).

Teke sperması sulandırıldıktan sonra 2-15 °C'lerdeki sıcaklıklar arasında kısa süreli saklanabilmektedir. Ancak 4-5 °C ise kısa süreli saklama için en çok tercih edilen ve en uygun sıcaklık olarak belirtilmektedir. Seminal plazması ayrılmadan soğutularak saklanan sperma örneklerinde canlılık ve fertilitelerinin 5-8 saat süresince korunduğu, daha uzun bir saklama periyodunun (12-24 saat) ise fertilitenin düşmesine neden olduğu belirtilmektedir (Leboeuf ve ark. 2000). Teke spermasının kısa veya uzun süreli saklanmasında en yaygın olarak kullanılan sulandırıcılar arasında, yağsız inek sütü - 0,5 M glukoz, Tris - sitrik asit - glukoz-yumurta sarısı ve sodyum sitrat - glukoz - yumurta sarısı sulandırıcıları sayılabilir. Teke spermasının kısa süreli saklanmasında kullanılan sulandırıcılar arasında fizyolojik tuzlu su, sodyum sitrat-yumurta sarısı, sodyum sitrat-fruktoz-yumurta sarısı, yumurta sarılı veya yumurta sarısız yağlı, yağsız veya bileşenleri ayarlanmış süt yanında ticari sulandırıcılar da sayılabilir (Kulaksız ve Daşkın 2007).

Son zamanlarda en çok kullanılan sulandırıcılar yağsız süt, sodyum sitrat ve Tris bazlı sulandırıcılardır (Üstüner ve Günay 2009). Tris-yumurta sarısı sulandırıcılarının kullanımının daha yararlı olduğu, bu sulandırıcının avantajları arasında kullanımının kolay olması özellikle sperma santrifüjünün ve süt sulandırıcısındaki gibi kaynatma adımının gerekli olmaması ve tek adım sulandırma yapılması gibi özellikler sayılabilir (Purdy 2006). Ayrıca, Tris sulandırıcısında toplam motilite ve hız parametrelerinin daha fazla olduğu belirtilmektedir (Dorado ve ark. 2007). Farklı sulandırıcıların kullanıldığı kısa süreli (5-72 saat) saklama çalışmalarında in vitro canlılık ve fertilitate oranları büyük farklılık göstermektedir (Üstüner ve Günay 2009).

Spermanın sulandırma oranı, optimum tohumlama dozunun eldesinde önemli olmaktadır. Sulandırma işlemi 1:1-1:23 oranları yapılabilmektedir (Purdy 2006). Bazı araştırmacılar da başarılı dondurma ve fertilitate oranının ml'de  $80-250 \times 10^6$  oranında spermatozoaya sahip numunelerden elde edildiğini bildirmişlerdir (Rıtar ve ark. 1992). Servikal tohumlamada kullanılacak dondurulmuş çözündürülmüş spermanın bir tohumlama dozunda yaklaşık  $200 \times 10^6$ , serviks aracılığıyla intrauterin tohumlamada  $60 \times 10^6$ , laparoskopik tohumlamada ise  $20 \times 10^6$  motil spermatozoa olması gerektiği belirtilmektedir (Evans ve Maxwell 1987).

## **2.8. Sperma Sulandırıcılarına Katılan Antimikrobiyel Maddeler**

Ejaküle edilen spermadaki mikroorganizma sayısı oldukça değişkenlik göstermektedir. Bu organizmaların sayısı, sperma alma işleminden önce prepusyum ve çevresinin uygun temizliği yapılarak azaltılabilir. Ayrıca spermanın işlenmesi sırasında kullanılan tüm malzemelerin steril olması ve dışarıdan bulaşmalara engel olunması gerekmektedir (Sönmez 2013).

Spermadan mikroorganizmaların çok değişik türleri izole edilmiştir. Bu organizmaların çoğu apatojeniktir. Fakat bunlar besin maddelerin tüketimi konusunda spermatozoonlarla yarışa girerler. Ayrıca ürettikleri metabolizma yan ürünlerinin etkisiyle spermatozoonların canlılığı üzerine olumsuz etkileri vardır. Bu etkilerin önlenmesinde ve venereal hastalıklarla mücadele edilerek döl veriminin artırılması amacıyla sulandırıcılara antimikrobiyel maddelerin ilavesi yapılmaktadır. 1940'ların sonlarından başlayarak günümüze kadar penicilin ve streptomisin spermada hem patojenik hem de apatojenik

bakterileri kontrol etmede etkili olarak kullanılmıştır (1000 IU penicilin; 1mg/ml streptomisin). Bunun dışında başka bazı antibiyotiklerde değişik sulandırıcılara katılarak denenmiş ve başarılı olmuşlardır. İlave edilecek antibiyotikler 35°C’de ön sulandırma işlemi sırasında sulandırıcıya katılmak suretiyle eklenebilmektedir (Sönmez 2013).

Tavsiye edilen antibiyotiklerin isimleri ile sulandırılmış spermanın her 1 ml’si için gereken miktarları; birinci kombinasyon penisilin 1000 IU/ml, streptomisin 1 mg/ml, ikinci kombinasyon gentamisin 500 mcg/ml tylosin, 100 mcg/ml, lincomisin 300 mcg/ml spektinomisin 600 mcg/ml şeklinde kullanılabileceği kaydedilmektedir (Sönmez 2013).

## **2.9. Sperma Sulandırıcılarına Katılan Antioksidan Maddeler ve Şekerler**

### **2.9.1. Antioksidan Maddeler**

Serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmada koruyucu mekanizmalar vardır. Bu mekanizmalardan bir kısmı serbest radikal oluşumunu, bir kısmı ise oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önler. Bu işlevleri yapan maddelerin tümüne birden genel olarak antioksidanlar ismi verilmektedir (Akkuş 1995).

Antioksidanlar endojen (doğal) ve ekzojen kaynaklı olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Ayrıca yapı ve işleyiş mekanizmaları yönünden antioksidanlar nonenzimatik ve enzimatik antioksidanlar şeklinde de sınıflandırılmaktadır (Gutteridge 1995).

Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkilerine karşı koymak için, spermatozoa ve seminal plazma lipit peroksidasyonuna karşı bir takım antioksidanları içermektedir (Alvarez ve Storey 1983). Fakat bu antioksidan sistemi, reaktif oksijen türlerinin olası toksik etkilerine ve oksidatif hasara karşı koymada yeterli gelmemektedir (Taylor 2001). Antioksidan ilavesi spermatozoitlerin saklanması işlemi süresince oksidatif stresi azaltarak soğutulmuş veya dondurulmuş spermanın kalitesini arttırdığı belirtilmektedir (Bilodeau ve ark. 2001).

#### **2.9.1.1. Nonenzimatik Antioksidanlar**

Sperma sulandırıcılarına yaygın olarak katılan glutatyon, sistein, vitamin E, vit C, karotenler, hyaluronik asit, melatonin, ürik asit, taurin, trehaloz ve alfa lipoik asit enzimatik özelliği olmayan moleküler antioksidanlardır (Carlberg ve Mannervik 1985, Frei 1994, Akkuş 1995, Halliwell ve Gutteridge 2000).

#### **2.9.1.1.1. Glutasyon**

Redükte glutasyon (GSH); glutamik asit, sistein ve glisin içeren bir tripeptit olup, aktif bir sülfidril (-SH) grubuna sahiptir. Vücuttaki GSH'nun büyük bölümü karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan iki aşamada sentezlenebilen bir tripeptittir. Vücutta enzimatik olmayan önemli bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korurlar (Akkuş 1995).

#### **2.9.1.1.2. Sistein**

Tiol terimi sülfür içeren bileşikleri ifade etmektedir ve tüm vücut hücrelerinde bulunmaktadır. Tiol içeren antioksidan bileşiklerden bazıları sistein, metionin, taurin, glutatyonudur. Tiol içeren bileşikler çeşitli oksidanları indirgeyerek ve temizliyerek biyolojik sistemleri korurlar (Parcell 2002).

Tiol içeren aminoasitlerden biri olan sistein, GSH (Glutasyon) sentezinde temel rol oynar. Sistein, GSH ve taurin sentezi için hız belirleyici bir aminoasit olarak kabul edilebilir. Aynı zamanda hücre dışı indirgeyici ajan olarak önemli rol oynadığı ifade edilmektedir (Kim ve ark. 2003).

#### **2.9.1.1.3. Vitamin E ( $\alpha$ -Tokoferol)**

Vitamin E, doğada en yaygın bulunan çok güçlü bir antioksidan olup en önemli görevi serbest oksijen radikallerinin ataklarına karşı membran lipitlerindeki doymamış yağ asitlerini korumakta ve dolayısıyla lipid peroksidasyonunu önlemektedir (Rıce ve Kennedy 1988, Wefers ve Sies 1988, Burton ve Traber 1989, Evans 2000).

#### **2.9.1.1.4. Vitamin C (Askorbik asit)**

Sulu ortamda etkin olan bu antioksidan, serbest radikal temizleyici işleve sahiptir. İndirgeyici özellikli ve okside olmuş vitamin E'nin antioksidan özelliğini restore etmektedir. Diğer suda çözünür antioksidanlarla karşılaştırıldığında, vitamin C plazma lipid peroksidasyonuna karşı en etkili korumayı sağlamaktadır (Frei ve ark. 1990, Evans 2000).

#### **2.9.1.1.5. Karotenler**

Doğada yaygın olarak bulunan ve hücreleri korumada önemli görevleri olan pigmentlerdir. A vitamininin metabolik ön maddesi olan  $\beta$ -karotenin, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksi radikalleri ile direkt olarak etkileşerek antioksidan olarak rol oynadığı tesbit edilmiştir (Frei 1994, Akkuş 1995).

#### **2.9.1.1.6. Hyaluronik asit (Hyaluran)**

Hyaluronan ya da hyaluronik asit bir glikozaminoglikan olup, antioksidan özelliklere sahiptir. Radikal oluşumuna neden olan demir ve bakır gibi ağır metallerle şelat yaparak, etkinlik gösterir (Balogh ve ark. 2003).

#### **2.9.1.1.7. Melatonin**

Hidroksil radikalini yakalayıp ortadan kaldıran çok güçlü bir lipofilik antioksidandır (Okotani ve ark. 2000).

#### **2.9.1.1.8. Ürik asit**

Suda çözünen bir antioksidan olup metal iyonlarıyla şelat yapar ve oksidasyona karşı askorbik asidi korur (Niki 1987).

#### **2.9.1.1.9. Taurin**

Dişi genital sıvısında ve seminal plazmada yüksek konsantrasyonda bulunan taurin, glutamin, glutamat ve glisin gibi bazı aminoasitleri içermekte olup penetrasyonda, akrozom reaksiyonunda, kapasitasyonda ve embriyo gelişimi ile preimplantasyonda rol oynamaktadır (Barna ve ark. 1998). Antioksidan özellikli, koruyucu ve destekleyici etkileri bakımından önemlidir (Parcell 2002).



#### **2.9.1.1.10. Trehaloz**

Suda çözünebilen ve osmotik profili maltoza benzeyen bir disakkarit olan trehaloz, özellikle spermatozoanın plazma membranına penetre olarak soğuk şokuna karşı koruma sağlayan antioksidan özellikli bir moleküldür (McWilliams ve ark. 1995, Aboagla ve Terada 2003, Purdy 2006).

#### **2.9.1.1.11. Alfa Lipoik Asit**

Hücre içi glutatyon ve koenzim Q<sub>10</sub> miktarının artmasını sağlayan vitamin benzeri bir antioksidan olan alfa lipoik asit, hücre içi ve dışında etkili olarak serbest oksijen türlerine karşı hücreyi korumaktadır (Suzuki ve ark. 1991).

#### **2.9.1.2. Enzimatik Antioksidanlar**

Spermatozoitlerde bulunan katalaz, süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz lipid peroksidasyona karşı bir savunma aracı olarak çalışan enzimatik özellikli antioksidanlardır (Poul ve ark. 1993, Akkuş 1995, Irvine 1996, Baumber ve ark. 2000).

##### **2.9.1.2.1. Katalaz**

Katalaz tüm hücre tiplerinde değişik konsantrasyonlarda bulunan dört hem grubu içeren bir hemoprotein olup molekül ağırlığı 248,000 Dalton'dur. Hidrojen peroksidi moleküler oksijene ve suya katalizler (Akkuş 1995).

##### **2.9.1.2.2. Süperoksit Dismutaz**

Süperoksit dismutazlar, süperoksit radikallerinin hidrojen peroksite dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzim grubudur. Hücrelerin sitosolünde, mitokondrilerinde ve plazmada bulunurlar (Poul ve ark. 1993).

### **2.9.1.2.3. Glutasyon Peroksidaz**

İlk defa 1957 yılında Mills tarafından keşfedilmiş olan bu enzim indirgenmiş glutasyon (GSH) varlığında hidrojen peroksit ve lipid peroksitlerinin parçalanmasında rol alır. Aktif bölgesinde prostetik grup olarak selenyum bulunur. Membran lipidlerini lipid peroksidasyonunun zararlı etkilerinden korur (Poul ve ark. 1993).

### **2.9.1.2.4. Glutasyon Redüktaz**

Lipid peroksidasyon sonucu oluşan reaktif oksijen türlerine karşı koruyucu etki gösteren bir tiol bileşimidir. Antioksidan sistemdeki rolü suda çözünen antioksidanları rejenere etme yeteneğine sahip olmasındandır. Bu nedenle antioksidanlarla birlikte kullanılmaktadır (Irvine 1996, Baumber ve ark. 2000).

## **2.9.2. Şekerler**

Şekerlerin ekstrasellüler sıvıda bulunması, ozmotik basıncın ve spermatozoon membran bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynar. Şekerler spermatozoonların membran yapılarını membranlardaki fosfolipitlerle etkileşime girip yüzey artışı sağlayarak ve fosfolipitlerde meydana gelen sıcaklık değişimlerini azaltarak korumaktadırlar. Ayrıca hücreyle ortam arasında ozmotik basıncın tamponlayıcısı olarak görev yaparak soğuk şokuna karşı koruma sağlamaktadırlar. Ortamda kalsiyum iyonlarının bulunması şekerlerin koruyucu etkisini arttırmaktadır (Leeuw ve ark. 1993, Sönmez 2013).

Monosakkarit olarak, glukoz ve galaktoz; disakkarit olarak, sükroz, trehaloz; trisakkarit olarak da rafinoz gibi şekerler kriyoprotektan etkili şekerler olarak sayılabilir. Şekerlerin spermatozoonları soğuğa karşı koruma düzeyleri molekül ağırlıklarından, kullanılan dondurma yönteminden ve dondurmanın hızı ile sulandırıcıda diğer soğuğa karşı koruyucu olan maddelerin bulunması gibi faktörlerden etkilenir (McWilliams ve ark. 1995, Hafez 2000).

Spermanın başlıca enerji kaynağı fruktoz olmasına rağmen sulandırıcılara glikoz ve mannoz ilave edildiğinde spermatozoonlar bu şekerleri de metabolize edebilir. Bunun dışındaki şekerler enerji kaynağı olarak kullanılmazlar (Sönmez 2013).

Birçok sulandırıcıya spermatozoanın yaşaması için gerekli olan enerjiyi temin eden fruktoz ve glukoz gibi şekerler ilave edilmektedir. Türler arasında şekerlerin kullanma oranları değişmekle birlikte, genel olarak spermatozoa glukoz, fruktoz, mannoz ve arabinoz gibi basit şekerleri enerji kaynağı olarak kolayca değerlendirebilir (Arthur ve ark. 1996). Glukoz fruktoza göre hücre membranlarından daha iyi nüfus edebilir ve sulandırıcılarda yaygın olarak kullanılır. Glukoz gibi basit şekerlerin yokluğunda, spermatozoa hücrenin zararına hücrelerarası fosfolipitleri kullanır (Klemm 1993).

Sperma sulandırıcılarına şekerlerin katılmasının başlıca amaçları, spermanın saklanması sırasında spermatozoonlar için gerekli enerji rezervinin sağlanması, ekstrasellüler sıvıda bulunarak, osmotik basınç ve membran bütünlüğünün korunmasıdır (Sönmez 2013).

## **2.10. Balın Özellikleri**

Bal, bal arılarının (*Apis mellifera*) topladıkları çiçeklerin nektarlarından oluşturdukları doğal bir üründür (Mohamed ve ark. 2010). Bal sükröz, fruktoz ve glikoz gibi birçok şeker ihtiva etmektedir. Spermatozoonları soğuk şokuna karşı koruma özelliği bulunan balda birçok mineral (Mg, K, Ca, NaCl, S, Fe, PO<sub>4</sub>), vitaminleri (A, B1, B2, B3, B5, B6, C, E) ve fenolik asitleri içermektedir. Bal potansiyel bir antibakteriyel ve antioksidandır. Balın içeriğinde bulunan flavonoidler serbest radikallere karşı koruyucu etkilidir. Ayrıca balın yapısında glutatyon redüktaz ve katalaz gibi enzimler bulunmaktadır. Birçok mikroorganizma balda gelişmemektedir ve bunun nedeni balın düşük su aktivitesine (0.6) sahip olmasıdır (Asiyah ve ark. 2011). Balın birçok biyolojik özelliği arasında antibiyotik özelliği, yapısında bulunan glukoz oksidaz tarafından üretilen hidrojen peroksit ve fenolik bileşiklerle ilişkili antimikrobiyal aktivitesi, antibakteriyel özelliği, antialerjik, antitrombotik, anti-inflamatuar, antitümör ve antimetastazik özelliği, maya, mantar ve viruslar üzerine inhibitör etkisi ve antioksidan özelliği sayılabilir (Mohamed ve ark. 2010, Ulusoy 2012, Toyin ve ark. 2013). Balın antioksidan özelliği yapısındaki askorbik asit,  $\alpha$  tokoferoller, prolin içeriği,  $\beta$  karotenler, fenolik ve flavonoid içeriğinden kaynaklanmaktadır (Omotayo ve ark. 2012).

Bal tüketimi ile epididimal sperm sayısında artış (Gill-Sharma ve ark. 2003, Ulusoy 2012), epididimis ağırlığında artış (Abdul-Ghani ve ark. 2008), spermatogeneziste artış (Mohamed ve ark. 2010) saptanan çalışmalar yapılmıştır. Balın kriyoprotektan

medyumuna katılması ile ilgili olarak dondurulmuş ya da kısa süreli saklanmış örneklerde sperm parametreleri ve kalitesinde artış olduğu bildirilmiştir (Aljady ve ark. 2000, Olayemi ve ark. 2011, Reda ve ark. 2014).

Yetişkin ratlarla yapılan bir çalışmada 4 hafta boyunca günlük 0.2, 1.2 ve 2.4 g/kg Malezya balı verilmesi sonucunda epididimal sperm sayısında belirgin artış olduğu bulunmuştur (Ulusoy 2012). 1.2 g/kg bal grubunda olan ratlarda spermatogenezin arttığı belirlenmiştir. Epididimal sperm sayısındaki bu yükselmenin spermatogenezde anahtar rol oynayan ve bu çalışma sonucunda artan sorbitol dehidrojenaz ve azalan laktat dehidrojenaz aktivitesine bağlı olabileceği düşünülmüştür (Mohamed ve ark. 2010).

Geleneksel olarak Malezya halkı ve bazı diğer toplumlarda bal fertilitiyi arttıran etkisinden dolayı tüketilmektedir. Balın reproduktif parametreler üzerine etkisini araştıran çok az çalışma yapılmıştır ve daha detaylı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır (Toyin ve ark. 2013).

Gill - Sharma ve ark. (2003) Bonnet erkek maymunlarında yaptıkları bir çalışmada balın diğer seminal parametreleri ve hormonları etkilemeksizin sperm sayısını arttırdığını kaydetmektedirler. Benzer şekilde, Mohamed ve ark. (2012) erkek ratlarda Malezya balının reproduktif hormonları ve diğer sperm parametrelerini etkilemeksizin sperm sayısını arttırdığını belirtmektedirler.

Abdul - Ghani ve ark. (2008) yetişkin ratlarda yaptıkları bir çalışmada % 5 bal çözümü ile 20 gün oral olarak beslemenin epididimal sperm sayısında, epididimisin nispi ağırlığında ve spermatogenezde önemli olan testiküler sorbitol dehidrojenaz aktivitesinde artış yaptığını, laktat dehidrojenaz aktivitesinde ise azalma olduğunu belirlemişlerdir (Asiyah ve ark. 2011, Syazana ve ark. 2011, Omotayo ve ark. 2012, Toyin ve ark. 2013).

Balın reproduktif organlardaki etkilerini araştıran çalışmalarda, testiküler hasarların önlenmesinde balın antioksidan özelliğinin yararlı etkisi gösterilmiştir. 13 hafta boyunca bal verilen deneysel olarak nikotin kaynaklı hasar oluşturulan gruptaki ratlarda lipid peroksidasyon seviyesinin azaldığı bildirilmiştir. Balın ratlarda nikotin kaynaklı testiküler hasarı iyileştirmesi antioksidan etkinliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Omotayo ve ark. 2012).

İnsanlarda yapılan bir çalışmada 12 hafta boyunca günlük 20 g Tualang balı verilen grupta balın ortalama sperm konsantrasyonunu önemli derecede artırdığı, motilite ve sperm morfolojisinde iyileşme sağladığı bulunmuştur (Ismail ve ark. 2014)

Dare ve ark. (2013) Wistar erkek ratlarında yaptıkları çalışmada kronik bal tüketiminin sperm parametreleri ve fertilité potansiyelinde zararlı bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Yapılan çalışmada uzun süreli aşırı bal tüketiminin spermatogenezde aksama, motil spermatozoon oranında azalma ve ölü ve anormal spermatozoa oranında artış meydana getirdiği ifade edilmektedir.

Fakhrildin ve Rana (2013) insanlarda yaptıkları çalışmada ticari olarak satın alınan kriyoprotektan ortamına % 5 ve % 10 bal ilavesi yaparak dondurdukları örneklerde çözündürme sonrası sperm parametrelerini değerlendirmişlerdir ve % 10 bal ilavesi yapılan grupta sperm parametrelerinde iyileşmenin olduğunu ve sperm kalitesinin arttığını gözlemlemişlerdir.

Reda ve ark. (2014) yaptıkları bir çalışmada Tris sulandırıcısı ile dilue edilen boğa spermasına farklı konsantrasyonlarda (0.5/4.5, 1/4, 1.5/3.5, 2/3, 2.5/2.5 ml (v/v) ) % 10'luk bal ilavesinin etkisi araştırmışlar ve 7 gün 5 °C'de tutulan spermada sperm motilitesine bakmışlardır. Sperm motilitesi 1.5/3.5 ml oranlarında Tris % 10 bal kullanılan grupta daha fazla bulunmuştur ayrıca gebelik oranında artış meydana getirdiği belirlenmiştir.

Olayemi ve ark. (2011) sıvı olarak soğutulmuş keçi spermasında yumurta sarısı sulandırıcısına küçük miktarda bal ilavesinin (5 ml bal + 15 ml yumurta sarısı + 80 ml sodyum sitrat) sperm motilitesinde ve canlı spermatozoon sayısında artış yaptığını bulmuşlardır.

Aljady ve ark. (2000) balın antibakteriyel ve antioksidan olduğunu rapor etmişler ve Reda ve ark. (2014) çalışmalarında sulandırıcılara bal ilavesinin sperm kalitesinde iyileşme olarak sonuçlandığını kaydetmektedirler. Ancak balın teke spermasına in vitro ilavesinin sperma kalitesine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar yetersiz olup balın spermanın potansiyel fertilité parametrelere etkisinin ortaya konulacağı çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anormal spermatozoon oranı değerlendirmesinde, Asiyah ve ark. (2011) ratlarda yaptıkları çalışmada günlük 1 ml/100 g Gelam balı tüketiminin normal spermatozoon sayısında artış yaptığını ve motiliteye faydalı olduğunu bildirmişlerdir. İsmail ve ark. (2015) insanlarda yaptıkları çalışmada günlük 20 g oral Tualang balı alımının ortalama spermatozoon morfolojik kalitesini artırdığını bildirmişlerdir.

Oyelowo ve ark. (2014) ratlarda yaptıkları çalışmada günlük oral 10 ml Nijerya balı verilmesinin motilitede artış sağladığını bildirmişlerdir. Öğretmen ve İnanan (2014)'ın

Sazan balığı spermasının dondurulmasında Türk çam balının koruyucu etkisini inceledikleri çalışmada % 10 yumurta sarısı içeren dimetilsülfat sulandırıcısına sırasıyla 100, 200, 300, 400 ve 500 mg/ml bal eklemişler en yüksek çözündürme sonrası motilite oranını 300 mg/ml bal ilavesi yapılan grupta bildirmişlerdir.

Oyelowo ve ark. (2014) ratlarda oral olarak günlük 10 ml Nijerya balını kullandıkları çalışmada anormalitenin önemli oranda azaldığını bildirmişlerdir ve balın erkek reproduktif fonksiyonları üzerine koruyucu etkili olduğunu bildirmişlerdir. Mohamed ve ark. (2010) yetişkin ratlarda erkek reproduktif parametrelerine farklı dozlarda Malezya balının etkilerini değerlendirdikleri çalışmalarında 4 hafta süre ile kontrol grubuna yalnızca 0.5 ml distile su ve diğer gruplara sırasıyla 0.2, 1.2 and 2.4 g/kg bal vermişlerdir. Sonuç olarak 1.2 g/kg bal verilen grupta diğer gruplara kıyasla önemli derecede daha yüksek epididimal sperm sayısı bildirilse de anormal spermatozoon oranı bakımından gruplararası fark önemsiz bulunmuştur.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

Çalışma, MKÜ Veteriner Fakültesi klinikleri, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı laboratuvarı, Teknoloji ve Araştırma Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde üreme mevsimi içerisinde (Ekim-Kasım, 2016) gerçekleştirildi. Araştırma ünitesi 36°, 14, 40' Kuzey Enlemi, 36°,12, 3" Doğu Boylamı arasında bulunmaktadır ve yapılan çalışma en yüksek 22 °C, en düşük 10 °C sıcaklıkta yürütülmüştür. Hayvan materyali olarak Pan Hayvancılık Damızlık Damascus Keçi İşletmesine ait, döl verimi problemi olmayan, canlı ağırlıkları birbirine yakın 3 yaşlı 2 ergin teke kullanıldı. Hayvanların beslenmesi için işletmeden getirtilen rasyondan teke başına sabah 500 g akşam 500 g konsantre yem karması şeklinde ve sabah 750 g akşam 750 g kaba yem (yonca, mercimek samanı) verildi. Su ihtiyacı ise önlerinde suluklar sürekli dolu ve temiz tutularak sağlandı. Tekeler, barınmaları için hazırlanan yerde, ortama alışması için herhangi bir uygulama yapılmaksızın 15 gün süreyle tutuldular.



Şekil 3.1. Araştırmada kullanılan tekeler ve barındırılma yeri

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Spermanın Alınması

Tekelerden sperma elektroejekulasyon yöntemi ile alındı. Sperma almada teknik özellikleri 12 volt elektrik üretebilen, pil bataryalı, oldukça pratik kullanıma sahip elektroejakülatör (Ruakura Ram Probe, Manufactured For Shoof International Ltd, New Zealand) kullanıldı. Sperması alınacak teke yumuşak bir minder üzerine yatırıldıktan sonra elektrik uyarımları esnasında oluşacak kontraksiyonlara karşı ön ve arka bacaklardan tutulmak suretiyle tespit edildi. Elektroejakülatörün probu 8-10 cm kadar rektuma sokulduktan sonra 1 dakika kadar elektrik uyarımı verilmeksizin beklenildi. Daha sonra elektroejakülatörün arka kısmında bulunan uyarı düğmesi 4 saniye süre ile basılı tutularak elektrik uyarımlarının verilmesi ve 4 saniye süre çekilerek uyarıların kesilmesi şeklinde uygulandı. Bu işleme ejakulasyon şekilleninceye kadar devam edildi. Bir yardımcı tarafından, penisin ucuna yakın bir yerde tutulan sperma toplama kadehi ile sperma toplandı (Erarslan 2010, Sönmez 2013). Çalışma periyodu süresince tekelerden sperma haftada iki kez alındı. Sperma alındıktan sonra sperma toplama kadehlerinin ağızları parafilmle kapatılarak su banyosu (28-32 °C) içerisinde 10-15 dakika içerisinde laboratuvara ulaştırıldı.

Çalışma süresince her tekeden alınan sperma örneklerinde; sperma miktarı ve motile muayenesi, ejakulatların birleştirilmesinden sonra motilite, hacim, viskozite, yoğunluk, membran bütünlüğü ile pH değerleri tespit edildi. Ayrıca sulandırma işlemi gerçekleştirildiğinde, sulandırılan spermanın sıcaklığı 4-6 °C'ye düşürüldüğünde ve takip eden süreçte 12 saatte bir olmak üzere motil spermatozoon kalmayınca kadar motilite, ölü spermatozoon oranları, anormal spermatozoon oranları, membran bütünlüğü (HOS Test ) ile pH değerleri belirlendi.





Şekil 3.2. Tekeye elektroejakulatorün uygulanması



Şekil 3.3. Tekeden elektroejakulasyon ile spermanın toplanması

### **3.2.2. Spermatojik Özelliklerin Belirlenmesi**

#### **3.2.2.1. Spermmanın Miktarı**

Tekelerden alınan her ejakulatın miktarları, ölçeklendirilmiş sperma toplama kadehinde ml olarak belirlendi.

#### **3.2.2.2. Spermmanın Rengi**

Sperma rengi krem ve sarı renklerin tonlarına göre değerlendirildi. İçine idrar ya da kan karışmış olanlar çalışmaya dahil edilmedi.

#### **3.2.2.3. Spermmanın pH Değeri**

Spermmanın pH değerleri, birleştirilmiş sperma numunelerinde ve sulandırma sonrası + 4-6 °C'de muhafaza edilirken pH metre kullanılarak (Hanna HI 83141) ölçüldü.

#### **3.2.2.4. Spermmanın Viskozitesi**

Birleştirilen sperma örnekleri sulandırılmadan önce 1-5 arasında numara verilerek değerlendirildi. Buna göre 5 çok koyu, 4 krema koyuluğu, 3 sulu krema, 2 süt inceliği ve 1 ise sulu olarak değerlendirildi (Evans ve Maxwell 1987).

#### **3.2.2.5. Taze Spermada Kitle Hareketi**

Muayene için taze ve sulandırılmamış sperma örneklerinden mikropipet yardımıyla bir damla alınarak 37 °C'deki lam üzerine konuldu ve spermatozoonların toplu hareketleri mikroskopun 100X büyütme ile lamel kapatılmaksızın değerlendirildi. Gözlemlenen hareket biçimleri 0-5 arasında puanlama yapılarak belirlendi. Spermada bulunan ileri tek yönlü güçlü harekete sahip spermatozoonların hareketlerine ve yoğunluğuna bağlı olarak oluşturduğu kaynama ve dalgalanma hareketleri göz önüne alınarak puanları kaydedildi. Buna göre hareketin gözlenmediği durumlarda 0, çok az kitle hareketinin olduğu, dalgalanma hareketinin gözlenmediği durumlarda 1, düşük derecede kitle hareketi ile yüzeysel dalgalanma hareketinin gözlendiği durumlarda 2, orta derecede bir kitle hareketi

ile canlı dalgalanma hareketlerinin görüldüğü yer yer siyahlanmaların gözlemlendiği durumlarda 3, güçlü bir kitle hareketi ile siyah alanların olduğu, kuvvetli dalga hareketlerinin ve girdaplaşmaların gözlemlendiği durumlarda 4, kaynama ve dalgalanma hareketlerinin çok güçlü olduğu ve yoğun siyah alanların olduğu durumlarda 5 puan verilerek değerlendirildi (Tekin 1990, Sönmez 2013).

### **3.2.2.6. Spermatozoa Motilitesi**

Spermatozoon motilitesinin belirlenmesinde mikroskobun tablası üzerine yerleştirilmiş ve 37 °C'de lam üzerine 1-2 damla % 2.9'luk sodyum sitrat solüsyonu ile yeni alınan spermadan toplu iğne başı kadar sperma konularak karıştırıldı. Sulandırılmış olan bu sperma üzerine, hava kabarcıklarının oluşmasını önlemek için 45° eğimle tutulan lamel kapatıldı ve sperm hareketleri 400X büyütmede en az üç mikroskop sahasında incelendi. Bir yönde düzgün hareket eden spermatozoonların aynı alandaki tüm spermatozoonlara oranı yüzde (%) olarak ifade edildi (Sönmez 2013).

### **3.2.2.7. Ölü Spermatozoa Oranı**

Ölü spermatozoa oranını eosin boyama yöntemi ile tespit edildi. Eosinin % 3'lük sodyum sitratla hazırlanmış % 1'lik konsantrasyonu kullanıldı. Temiz bir lam üzerine konulan küçük bir damla sperma örneği eşit büyüklükte eosin boyasıyla nazik bir şekilde karıştırıldı. Bu karışımdan aynı lam üzerine sürme froti çekilerek 60 °C'deki inkübatörde kısa sürede kuruması sağlandı. Bu yöntemle hazırlanan sürme preparatlar, ışık mikroskobunda 400X büyütme ile muayene edildi. Sürme preparatların değerlendirilmesinde; baş kısmı boya almamış spermatozoonlar canlı, baş kısmı boya almış olanlar ise ölü olarak kabul edildi. Boyanan ve belirlenen hücrelerin sayımına preparatın ortasına yakın bir yerinden başlandı ve toplam 400 spermatozoon sayılarak ölü spermatozoon oranı % olarak belirlendi (Tekin 1990, Sönmez 2013).

Eosin boyasının hazırlanması;

Eosin-Y 1,67 g

Sodyum Sitrat 2,9 g

100 ml distile suya tamamlanarak hazırlandı (Jeyendran ve ark. 1984).

### 3.2.2.8. Spermatozoa Yoğunluğu

Spermatozoon yoğunluğu hemositometrik yöntem ile belirlendi. Bu işlem için spermayı sulandırmak maksadıyla önce 100 ml distile su içerisine 3-5 damla % 1'lik Eosin boyası damlatılarak Eosin ile boyanmış distile su solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyon hem spermatozoitleri öldürmekte hem de Thoma lamında spermatozoitleri sayarken şeffaf görünümü gidererek spermatozoitlerin iyi görünmesini sağlamaktadır. Spermatozoon yoğunluğunu tayin etmek için Alyuvar sayım pipetin 0.5 çizgisine kadar sperma ve bunun üzerine 101 çizgisine kadar hazırlanan sulandırıcı solüsyondan çekildi. Pipetin her iki ucu parmaklarla kapatılarak yatay konuma getirilip ileri-geri hareketle karışım sağlandı. Bu işlemi takiben pipetin kılcal borusunda spermatozoon bulunmayacağından bu hacme eşdeğer olarak karışımın 3-5 damlası atıldı. Pipetin ucu Thoma lamı üzerindeki kanala temas ettirilerek daha önceden üzerine lamel yapıştırılan Thoma lamı ile lamel arasına sulandırılmış spermanın akması sağlandı. Thoma lamı yatay konumda 3-5 dk. süre ile bekletilerek pasif sıvı akışının durması ve spermatozoonların yer değiştirmelerinin önlenmesi sağlandı. Spermatozoon yoğunluğu, ışık mikroskobunun 400X büyütmesinde Thoma lamının alt ve üst sayım sahalarında beşer orta karedeki (80 küçük kare) spermatozoonlar sayılarak aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı (Tekin 1994, Sönmez 2013).

Yoğunluğunun Hesaplanması;

(Sayılan Spermatozoon Sayısı / Sayılan Küçük Kare Sayısı) x Toplam Küçük Kare Sayısı (400) x Sulandırma oranı (200) x 10 (Thoma lamı ile lamel arasındaki yükseklik 0.1 mm) x 1000 (1cm<sup>3</sup> =1000 mm<sup>3</sup>) = Sayı/ ml

### 3.2.2.9. Morfolojik Muayene

Morfolojik muayene için küçük bir damla sperma örneği ile iki damla eozin-nigrosin boyası karıştırıldı ve sürme froti hazırlandı. Mikroskobun 1000X büyütmesi ile immersiyon yağı damlatılarak toplamda 400 spermatozoon sayıldı ve anormal spermatozoon oranı % olarak belirlendi (Sönmez 2013).

Eosin-Nigrosin boyasının hazırlanması;

1 g eosin 100 ml distile su

8 g nigrosin 100 ml distile su (Hafez 1987)

### 3.2.2.10. Hipo Osmotik Swelling Test (HOS)

Sperma örneklerindeki sperm membranı fonksiyonel bütünlüğünün belirlenmesi amacıyla HOS test uygulandı. Su banyosunda 37 °C'taki 100 mOsm'lük HOS sıvısından 100 µl alınarak, üzerine sperma örneğinden 10 µl eklendi. Bu karışımın 37 °C'ta 60 dakika inkübasyonu sonrası, lam üzerine bir damla alınıp froti çekilerek ısıtma tablası üzerine bırakıldı. Hazırlanan sürme preparatlar mikroskop altında (X400) incelenerek 200 hücre sayılıp ve kuyruktaki kıvrılmalar ve şişmeler dikkate alınarak HOS teste yanıt veren spermatozoonlar % olarak belirlendi (Hafez 2000). HOS test solüsyonu Jeyendran ve ark. (1984)'nın bildirdiği formül modifiye edilerek aşağıdaki şekilde hazırlandı.

HOS Test Solüsyonunun Hazırlanması;

100 ml distile su

1.1 g fruktoz

0.55 g sodyum sitrat

Bu solüsyon 100 mOsm/L olacak şekilde ayarlandı.

### 3.2.3. Spermanın Sulandırılması, Soğutulması ve Saklanması

Birleştirilmiş sperma örnekleri, spermatolojik muayeneler yapıldıktan sonra 28-32 °C'deki su banyosunda 8 eşit kısma ayrılarak farklı bal oranları içeren Tris-yumurta sarısı sulandırıcısı ve yağsız süt sulandırıcısı ile  $200 \times 10^6$ /ml motil spermatozoon olacak şekilde sulandırıldı. Her bir sulandırıcı için biri kontrol ve üçü bal ilaveli olmak toplam 8 grup oluşturuldu.

Araştırmada spermanın sulandırılmasında kullanılan sulandırıcıların bileşimi ve hazırlanması;

Tris Sulandırıcısının Hazırlanması;

Tris 3.634 g

Fruktoz 0.5 g

Sitrik asit monohidrate 1.99 g

Yumurta sarısı 10 ml

1000 IU Penisilin /ml

1 mg Streptomisin/ml

Distile su ile 100 ml'ye tamamlandı (Evans ve Maxwell 1987, Hafez 1987).

Yağsız Süt Sulandırıcısının Hazırlanması;

Uht yağsız inek sütü 100 ml

1000 IU Penisilin G /ml

1 mg Streptomisin/ml olacak şekilde hazırlandı (Hafez 1987).

Ballı Ana Stok ve Farklı Bal Oranlarının Hazırlanması;

10 ml bal + 90 ml distile su solüsyonu şeklinde % 10 oranında bal içeren ana solüsyon hazırlandı. Bu stok solüsyon farklı bal oranlarının hazırlanmasında aşağıda belirtildiği şekilde kullanıldı.

5 ml Ana Solüsyon + 5 ml sulandırıcı karıştırılarak % 5 oranında bal,

2,5 ml Ana Solüsyon + 7,5 ml sulandırıcı karıştırılarak % 2.5 oranında bal,

1 ml Ana Solüsyon + 9 ml sulandırıcı karıştırılarak % 1 oranında bal içeren sperma sulandırıcısı hazırlandı.

Çalışmada sperma örneklerinde bal ilaveli sulandırıcılarla sulandırma işlemleri yapıldıktan sonra deneme grupları aşağıda belirtildiği şekilde oluşturuldu;

Tris Kontrol: Tris – Sitrik asit – fruktoz - % 10 yumurta sarısı – penicilin – streptomisin

Tris + % 1 Bal: Tris – Sitrik asit – fruktoz - % 10 yumurta sarısı – penicilin – streptomisin - % 1 bal

Tris + % 2,5 Bal: Tris – Sitrik asit – fruktoz - % 10 yumurta sarısı – penicilin – streptomisin - % 2,5 bal

Tris + % 5 Bal: Tris – Sitrik asit – fruktoz - % 10 yumurta sarısı – penicilin – streptomisin - % 5 bal

Süt Kontrol: Yağsız süt – penicilin – streptomisin

Süt + % 1 Bal: Yağsız süt – penicilin – streptomisin - % 1 bal

Süt + % 2,5 Bal: Yağsız süt – penicilin – streptomisin - % 2,5 bal

Süt + % 5 Bal: Yağsız süt – penicilin – streptomisin - % 5 bal

Birleştirilmiş sperma örneği 28-32 °C'deki su banyosunda 8 eşit kısma ayrılarak Tris-yumurta sarısı sulandırıcısı ve yağsız süt sulandırıcısı ile  $200 \times 10^6$ /ml motil spermatozoon olacak şekilde sulandırıldı. Her bir sulandırıcı için biri kontrol ve üçü bal ilaveli olmak üzere toplam 8 grup oluşturuldu. Sulandırılan spermalar 10 ml'lik cam tüplere alınarak soğutmalı inkübatöre konuldu ve sıcaklıkları 1.5-2 saatlik bir süre içerisinde 4-6 °C'ye düşürüldü. Bu sıcaklıkta buzdolabında muhafaza edildi. Sulandırılan sperma örneklerinde 12 saatlik aralıkla motilite, ölü-canlı spermatozoon oranı, anormal spermatozoon oranları,

HOS test, pH değerleri belirlendi. Muayeneler, motil spermatozoon kalmayıncaya kadar sürdürüldü.

#### **3.2.4. İstatistiksel Analiz**

Araştırmada elde edilen verilerin ortalama değerleri ve standart hataları hesaplandı. İstatistiksel analizler SPSS 23.0 paket proğramı ile yapıldı. Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandı. Analiz sonucunda gruplar arası farkın önemini belirtmek için Duncan testi kullanıldı.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Taze Spermada Saptanan Spermatojistik Özellikler

Tekelerin birleştirilmiş ejakulatlarındaki ortalama spermatojistik özellikleri çizelge 4.1.'de sunulmuştur. Birleştirilen sperma miktarı en fazla 3.5 ml en düşük 2 ml, kitle hareketi en yüksek 4 en düşük 3 olarak belirlendi. Viskozite en yüksek 3.5 en düşük 2 olarak belirlenirken pH değerleri en yüksek 6.9 en düşük 6.1 olarak bulundu. Spermanın rengi tekelerin birinde krem rengi ve tonları şeklinde iken diğerinde sarı ve tonları şeklinde tespit edildi. Spermatozoa motilitesi en yüksek % 85 en düşük % 75, spermatozoon yoğunluğu en yüksek  $4.240 \times 10^6/\text{ml}$  en düşük  $3.470 \times 10^6/\text{ml}$  olarak belirlendi.

**Çizelge 4.1.** Sulandırma öncesi birleştirilmiş ejakulatlardaki ortalama spermatojistik özellikler

Parametreler	Ortalama ( $\pm$ ss) Değerler
Toplam Hacim	2.72 $\pm$ 0.33
Viskozite	2.94 $\pm$ 0.13
pH	6.61 $\pm$ 0.09
Mass Aktivite	3.56 $\pm$ 0.18
Motilite (%)	81.11 $\pm$ 1.39
Yoğunluk ( $10^6$ )	3.898 $\pm$ 0.071

### 4.2. Deneme ve Kontrol Gruplarında Sulandırma ve Saklama Süresince Elde Edilen Spermatojistik Bulgular

#### 4.2.1. Motilite Değerleri

Deneme ve kontrol grubunda sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C'de saklama süresince elde edilen motilite değerleri çizelge 4.2'de görülmektedir. Motilite yönünden süt sulandırıcılı kontrol grubunun bal içeren sulandırıcı gruplarına göre 24. saatten 60. saate kadar belirgin bir üstünlük sağladığı gözlemlendi ( $P<0.05$ ). Süt sulandırıcılı kontrol grubunun motilite değerleri 0. saat ve 12. saatlerde % 1 bal grubuna benzer, % 2.5 ve % 5 bal ilaveli gruplardan yüksekti ( $P<0.05$ ). Bal ilave edilen gruplarının kendi içerisinde yapılan motilite değerlendirmesinde 0, 12, 24, 36 ve 48. saatlerde tüm bal ilaveli gruplar benzerken, 60.



saatte % 2.5 bal ilave edilen grubun % 5 ve % 1 bal ilave edilen gruplardan daha iyi motilite değerine sahip olduğu belirlendi ( $P<0.05$ ).

Tris sulandırıcılı gruplardaki motilite değeri incelendiğinde, kontrol grubunun bal içeren gruplara göre 48. saate kadar belirgin üstünlük sağladığı ( $P<0.05$ ), 60. saatte % 1 bal grubu ile benzer, % 2.5 ve % 5 bal grubundan ise yüksek olduğu görüldü. Motilite değeri; % 5 bal ilaveli grupta % 1 ve % 2.5 bal gruplarından düşük ( $P<0.05$ ), bu saatlerde % 1 ve % 2.5 bal grupları benzer bulundu. Kontrol grubu 60. saatte % 1 bal grubu ile benzer, % 2.5 ve % 5 bal grubundan ise yüksekti. Bal ilaveli gruplar kendi aralarında yorumlandığında 0. saatte ve 60. saatlerde tüm bal gruplarını motilite değerleri birbiri ile benzerken, 12, 24, 36 ve 48. saatlerde % 5 bal ilaveli grup, % 1 ve % 2.5 bal ilaveli gruplardan daha düşüktü ( $P<0.05$ ).

Araştırmada gruplarında elde edilen motilite oranlarının gruplar arası değerlendirilmesi çizelge 4.3'de verilmiştir. Gruplar arası değerlendirmelerde, 0. saatte süt kontrol grubu motilite değerleri, Tris kontrol grubundan daha düşüktü ( $P<0.05$ ). Motilite değerleri bakımından 24-108. saatler arasında süt kontrol grubu ile Tris kontrol grubu arasında farklılık bulunmadı. Motilite değeri 60. saatte Tris % 1 bal grubunda süt % 1 bal grubundan daha yüksekti ( $P<0.05$ ). 12. saatte Tris % 2.5 bal grubu motilite değeri, süt % 2.5 bal grubundan önemliye yakın daha yüksek tespit edilirken, % 5 bal ilaveli gruplarında fark gözlenmedi ( $P>0.05$ ).

Çizelge 4.2. Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C’de zamana bağlı motilite değerleri

Gruplar	0.saat	12. saat	24. saat	36. saat	48.saat	60.saat	72. saat	84.saat	96.sa	108.sa	
Süt	Kontrol	70.5±1.8 <sup>a</sup>	63.3±2.0 <sup>a</sup>	55.0±2.5 <sup>a</sup>	46.6±2.9 <sup>a</sup>	39.4±2.8 <sup>a</sup>	29.4±2.3 <sup>a</sup>	18.8±2.2	11.6±1.9	8.0±1.2	
	%1	66.6±3.5 <sup>ab</sup>	55.5±3.6 <sup>ab</sup>	40.5±3.7 <sup>b</sup>	25.5±2.6 <sup>b</sup>	15.6±1.9 <sup>b</sup>	6.80±1.3 <sup>c</sup>	5.00±0.0			
	%2.5	61.1±3.6 <sup>b</sup>	46.6±4.3 <sup>b</sup>	35.5±5.2 <sup>b</sup>	25.5±5.2 <sup>b</sup>	19.2±3.9 <sup>b</sup>	15.0±2.6 <sup>b</sup>	9.10±2.4	10.0±2.9	5.0±0.0	
	%5	60.5±3.2 <sup>b</sup>	47.2±2.1 <sup>b</sup>	31.1±4.3 <sup>b</sup>	18.7±4.7 <sup>b</sup>	10.7±2.5 <sup>b</sup>	6.20±1.3 <sup>c</sup>				
	<b>P</b>	<b>0,091</b>	<b>0,002</b>	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,007</b>	<b>0,658</b>	<b>0,203</b>	
Tris	Kontrol	77.7±1.5 <sup>a</sup>	68.8±1.8 <sup>a</sup>	58.3±2.2 <sup>a</sup>	48.3±2.0 <sup>a</sup>	38.3±3.3 <sup>a</sup>	28.8±3.9 <sup>a</sup>	20.5±3.6	15.6±2.4	10.0±1.8	6.2±1.3
	%1	67.7±2.5 <sup>b</sup>	55.0±2.6 <sup>b</sup>	45.5±3.4 <sup>b</sup>	33.8±4.5 <sup>b</sup>	24.4±4.5 <sup>b</sup>	17.8±3.4 <sup>ab</sup>	13.3±3.6	10.0±2.7	10.0±0	5.0±0
	%2.5	66.1±2.9 <sup>b</sup>	56.6±2.5 <sup>b</sup>	43.3±3.8 <sup>b</sup>	28.8±5.5 <sup>b</sup>	23.3±3.9 <sup>b</sup>	16.8±2.9 <sup>b</sup>	12.1±2.4	7.0±1.2	5.00±0	
	%5	60.5±2.8 <sup>b</sup>	45.5±3.5 <sup>c</sup>	28.8±3.6 <sup>c</sup>	16.1±2.6 <sup>c</sup>	10.7±2.0 <sup>c</sup>	8.70±3.8 <sup>b</sup>	15.0±-	10.0±-	10.0±-	5.0±-
	<b>P</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,010</b>	<b>0,283</b>	<b>0,099</b>	<b>0,465</b>	<b>0,766</b>

a-c: Herbir sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler istatistiki açıdan önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.3. Deneme ve kontrol gruplarında elde edilen motilite değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Saatler	Süt kontrol	Tris kontrol	P	Süt %1bal	Tris %1bal	P	Süt %2.5 bal	Tris %2.5 bal	P	Süt %5 bal	Tris %5 bal	P
<b>0.saat</b>	70.5±1.8	77.7±1.7	<b>0.006</b>	66.6±3.5	67.7±2.5	<b>0.801</b>	61.1±3.6	66.1±2.9	<b>0.294</b>	60.5±3.2	60.5±2.8	<b>1.000</b>
<b>12. saat</b>	63.3±2.0	68.8±1.8	<b>0.059</b>	55.5±3.6	55.0±2.6	<b>0.902</b>	46.6±4.3	56.6±2.5	<b>0.063</b>	47.2±2.1	45.5±3.5	<b>0.686</b>
<b>24. saat</b>	55.0±2.5	58.3±2.2	<b>0.332</b>	40.5±3.7	45.5±3.4	<b>0.331</b>	35.5±5.2	43.3±3.8	<b>0.247</b>	31.1±4.3	28.8±3.6	<b>0.698</b>
<b>36. saat</b>	46.6±2.9	48.3±2.0	<b>0.644</b>	25.5±2.6	33.8±4.5	<b>0.125</b>	25.5±5.2	28.8±5.5	<b>0.667</b>	18.7±4.7	16.1±2.6	<b>0.620</b>
<b>48. saat</b>	39.4±2.8	38.3±3.3	<b>0.802</b>	15.6±1.9	24.4±4.7	<b>0.118</b>	19.2±3.9	23.1±3.9	<b>0.497</b>	10.7±2.5	10.7±2.0	<b>1.000</b>
<b>60. saat</b>	29.4±2.3	28.8±3.9	<b>0.903</b>	6.8±1.3	17.8±3.4	<b>0.008</b>	15.0±2.6	16.8±2.9	<b>0.657</b>	6.2±1.3	8.7±3.8	<b>0.550</b>
<b>72. saat</b>	18.8±2.2	20.5±3.6	<b>0.696</b>	5.0±0.0	13.3±3.6	<b>0.249</b>	9.1±2.4	12.1±2.4	<b>0.402</b>			
<b>84. saat</b>	11.6±1.9	15.6±2.4	<b>0.207</b>									
<b>96. saat</b>	8.0±1.2	10.0±1.8	<b>0.407</b>									
<b>108. saat</b>	5.0±0.0	6.2±1.3	<b>0.541</b>									

(P<0.05): İstatistiki açıdan önemlidir.

#### 4.2.2. HOS Test Değerleri

Çalışma gruplarında elde edilen HOS Test değerleri çizelge 4.4'de verilmiştir. Buna göre HOS test yönünden değerlendirilmelerde süt sulandırıcı grubunda 0. saatte kontrol ve bal içeren gruplar arasında bir fark bulunamadı ( $P>0.05$ ). Kontrol grubu HOS test değerleri, 12. ve 24. saatlerde % 1 bal grubu ile benzer, % 2.5 ve % 5 bal grubundan ise yüksekti ( $P<0.05$ ). 36, 48 ve 60. saatlerde kontrol grubu HOS test değerleri bal ilavesi yapılmış tüm gruplardan yüksekti ( $P<0.05$ ). Süt sulandırıcılı bal ilavesi yapılan gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında HOS test değerleri sadece 60. saatte % 2.5 ve % 1 bal ilaveli gruplar birbirleri ile benzer % 5 bal ilaveli gruptan yüksek bulundu. 60. saat dışındaki tüm saatlerde ise farklı doz bal grupları arasında fark bulunmadı ( $P>0.05$ ).

Tris sulandırıcılı gruplarda, kontrol grubu HOS test değerleri 0. saatten 48. saate kadar bal ilaveli gruplardan daha yüksekti ( $P<0.05$ ). Kontrol grubu HOS test değerleri, 60. saatte % 5 ve % 2.5 bal ilaveli gruplardan yüksek bulundu ( $P<0.05$ ), % 1 bal ilaveli grup ile benzer olduğu kaydedildi. 0. saatte yapılan HOS test değerlendirmesinde tüm bal ilaveli gruplar benzer bulunurken, 12, 24, 36 ve 48. saatlerde % 5 bal ilaveli grup % 1 ve % 2.5 bal ilaveli gruplarından daha düşüktü.

Araştırma gruplarında elde edilen HOS test sonuçlarının gruplar arası değerlendirilmesi çizelge 4.5'de verilmiştir. Gruplararası değerlendirmelerde Tris kontrol grubu HOS test değerleri 0. saatte ve 12. saatte süt kontrol grubundan yüksekti ( $P<0.05$ ). Tüm gruplarda 24, 36, 48 ve 72. saatlerde gruplar arası farklılık gözlenmezken ( $P>0.05$ ), 60. saatte Tris % 1 bal grubu süt % 1 bal grubundan yüksek bulundu ( $P<0.05$ ).

**Çizelge 4.4.** Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C’de zamana bağlı HOS test değerleri

Gruplar	0.saat	12. saat	24. saat	36. saat	48.saat	60.saat	72. saat	84.saat	96.sa	108.sa	
Süt	Kontrol	72.8±1.5 <sup>a</sup>	65.7±2.0 <sup>a</sup>	57.5±2.5 <sup>a</sup>	49.2±2.9 <sup>a</sup>	42.4±2.9 <sup>a</sup>	32.7±2.2 <sup>a</sup>	22.0±2.1	14.8±2.2		
	% 1	71.3±3.7 <sup>a</sup>	60.5±3.8 <sup>ab</sup>	47.1±3.6 <sup>ab</sup>	33.5±3.0 <sup>b</sup>	22.8±2.2 <sup>b</sup>	12.8±2.4 <sup>bc</sup>	9.5±1.5			
	% 2.5	65.2±3.5 <sup>a</sup>	51.8±4.1 <sup>b</sup>	39.3±5.3 <sup>b</sup>	30.0±5.2 <sup>b</sup>	23.1±4.6 <sup>b</sup>	19.0±2.6 <sup>b</sup>	12.1±2.9	12.3±2.4		
	% 5	65.6±3.1 <sup>a</sup>	53.5±2.1 <sup>b</sup>	36.8±4.3 <sup>b</sup>	26.1±4.5 <sup>b</sup>	15.0±2.7 <sup>b</sup>	9.50±1.9 <sup>c</sup>				
	<b>P</b>	<b>0,205</b>	<b>0,013</b>	<b>0,005</b>	<b>0,002</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,015</b>	<b>0,542</b>		
Tris	Kontrol	82.0±1.7 <sup>a</sup>	74.0±1.6 <sup>a</sup>	63.2±2.2 <sup>a</sup>	53.5±1.8 <sup>a</sup>	43.7±3.6 <sup>a</sup>	34.1±3.7 <sup>a</sup>	24.6±3.5	19.7±2.3	13.8±2.3	8.7±1.1
	% 1	71.1±2.6 <sup>b</sup>	59.5±3.1 <sup>b</sup>	50.0±3.5 <sup>b</sup>	38.6±4.5 <sup>b</sup>	28.7±4.9 <sup>b</sup>	22.8±3.5 <sup>ab</sup>	18.1±3.9	14.2±3.6	14.0±3.0	9.5±0.5
	% 2.5	70.4±2.8 <sup>b</sup>	61.1±2.7 <sup>b</sup>	48.2±3.9 <sup>b</sup>	33.2±5.8 <sup>b</sup>	28.1±4.1 <sup>b</sup>	21.1±3.8 <sup>b</sup>	16.0±2.2	10.8±1.2	7.00±0.0	
	% 5	65.5±2.7 <sup>b</sup>	49.5±3.4 <sup>c</sup>	33.1±3.8 <sup>c</sup>	21.3±3.0 <sup>c</sup>	14.2±2.4 <sup>c</sup>	13.7±2.9 <sup>b</sup>	17.0±-	13.0±-	10.0±-	8.0±-
	<b>P</b>	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,010</b>	<b>0,281</b>	<b>0,125</b>	<b>0,411</b>	<b>0,818</b>

a-c: Herbir sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler istatistiki açıdan önemlidir (P<0.05).

**Çizelge 4.5.** Deneme ve kontrol gruplarında elde edilen HOS test değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Saatler	Süt kontrol	Tris kontrol	P	Süt %1bal	Tris %1bal	P	Süt%2.5bal	Tris %2.5bal	P	Süt %5bal	Tris %5bal	P
<b>0.saat</b>	72.8±1.5	82.0±1.7	<b>0.001</b>	71.3±3.7	71.1±2.6	<b>0.962</b>	65.2±3.5	70.4±2.8	<b>0.257</b>	65.6±3.1	65.5±2.7	<b>0.979</b>
<b>12. saat</b>	65.7±2.0	74.0±1.6	<b>0.006</b>	60.5±3.8	59.5±3.1	<b>0.840</b>	51.8±4.1	61.1±2.7	<b>0.080</b>	53.5±2.1	49.5±3.4	<b>0.338</b>
<b>24. saat</b>	57.5±2.5	63.2±2.2	<b>0.107</b>	47.1±3.6	50.0±3.5	<b>0.576</b>	39.3±5.3	48.2±3.9	<b>0.194</b>	36.8±4.3	33.1±3.8	<b>0.518</b>
<b>36. saat</b>	49.2±2.9	53.5±1.8	<b>0.225</b>	33.5±3.0	38.6±4.5	<b>0.358</b>	30.0±5.2	33.2±5.8	<b>0.685</b>	26.1±4.5	21.3±3.0	<b>0.380</b>
<b>48. saat</b>	42.4±2.9	43.7±3.6	<b>0.778</b>	22.8±2.2	28.7±4.9	<b>0.312</b>	23.1±4.6	28.1±4.1	<b>0.428</b>	15.0±2.7	14.2±2.4	<b>0.848</b>
<b>60. saat</b>	32.7±2.2	34.1±3.7	<b>0.760</b>	12.8±2.4	22.8±3.5	<b>0.031</b>	19.0±2.6	21.1±3.8	<b>0.679</b>	9.5±1.9	13.7±2.9	<b>0.259</b>
<b>72. saat</b>	22.0±2.1	24.6±3.5	<b>0.521</b>	9.5±1.5	18.1±3.9	<b>0.276</b>	12.1±2.9	16.0±2.2	<b>0.318</b>			
<b>84. saat</b>	14.8±2.2	19.7±2.3	<b>0.147</b>				12.3±2.4	10.8±1.2	<b>0.536</b>			
<b>96. saat</b>	10.8±1.9	13.8±2.3	<b>0.347</b>				6.5±0.5	7.0±0.0	<b>0.423</b>			
<b>108. saat</b>	7.5±0.5	8.7±1.1	<b>0.501</b>									

(P<0.05): İstatistiki açıdan önemlidir.

### 4.2.3. Anormal Spermatozoon Oranları

Çalışma gruplarında elde edilen anormal spermatozoon oranları çizelge 4.6'da verilmiştir. Süt sulandırıcılı kontrol grubu ile bal ilaveli gruplar arasında anormal spermatozoon oranları bakımından önemli bir farklılık bulunamadı ( $P>0.05$ ).

Tris sulandırıcılı kontrol grubundaki anormal spermatozoon oranı 0, 12, 24, 36. saatlerde % 1 bal ilaveli gruptan düşük ( $P<0.05$ ), % 2.5 ve % 5 bal ilaveli gruplarla benzerdi. 48. saatte kontrol grubu ile % 2.5 bal ilaveli grup benzer, diğer bal oranlarından düşük anormal spermatozoon oranına sahip bulundu. Kontrol grubu anormal spermatozoon oranı 60. saatte % 5 bal ilaveli gruptan daha düşük ( $P<0.05$ ), % 1 ve % 2.5 bal ilaveli gruplar ile benzerdi. Tris sulandırıcılı bal ilaveli gruplarda 60. saate kadar anormal spermatozoon oranları birbirine benzer olmakla beraber 48. saate kadar en yüksek anormal spermatozoon oranı % 1 bal grubunda, 60. saatte ise en yüksek % 5 bal grubunda belirlendi.

Araştırma gruplarında, anormal spermatozoon oranlarının gruplararası değerlendirilmesi çizelge 4.7'de verilmiştir. 12 saatlik aralıklarla yapılan muayenelerde motilitenin son bulunduğu ana kadar yapılan karşılaştırmalarında grupların tamamı için gruplar arası fark önemsiz bulundu ( $P>0.05$ ).

**Çizelge 4.6.** Deneme ve Kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C’de zamana bağlı anormal spermatozoon oranları

Gruplar		0.saat	12. saat	24. saat	36. saat	48.saat	60.saat	72. saat	84.saat	96. saat	108. saat
Süt	Kontrol	17.1±1.9	18.4±1.9	20.1±1.9	21.4±1.9	23.6±2.0	25.7±1.9	27.3±1.8	29.2±1.6		
	%1	16.9±2.8	19.0±2.4	20.3±2.3	22.3±2.4	24.6±2.7	26.6±2.5	25.5±1.5			
	%2.5	18.6±1.8	20.4±1.9	21.6±1.9	23.8±1.8	26.4±1.9	27.3±1.5	28.8±1.4	33.6±0.7		
	%5	17.6±1.2	19.0±1.1	20.0±1.2	22.8±0.7	24.7±0.9	28.0±2.4				
	<b>P</b>	<b>0.921</b>	<b>0.897</b>	<b>0.910</b>	<b>0.814</b>	<b>0.816</b>	<b>0.918</b>	<b>0.655</b>	<b>0.159</b>		
Tris	Kontrol	13.0±1.1 <sup>b</sup>	15.6±1.3 <sup>b</sup>	16.6±1.3 <sup>b</sup>	19.0±1.3 <sup>b</sup>	21.4±1.2 <sup>b</sup>	24.3±1.3 <sup>b</sup>	25.5±1.4	28.2±1.5	31.5±1.7	33.5±1.2
	%1	21.2±2.0 <sup>a</sup>	22.3±2.1 <sup>a</sup>	24.2±2.0 <sup>a</sup>	27.0±1.9 <sup>a</sup>	28.2±1.7 <sup>a</sup>	28.7±1.9 <sup>ab</sup>	30.6±2.4	33.0±2.6	31.5±3.5	33.0±3.0
	%2.5	16.7±1.4 <sup>ab</sup>	18.0±1.5 <sup>ab</sup>	20.4±1.4 <sup>ab</sup>	22.6±1.2 <sup>ab</sup>	24.8±1.1 <sup>ab</sup>	26.7±1.2 <sup>ab</sup>	29.0±1.5	33.2±1.1	33.0±3.0	
	%5	16.8±1.8 <sup>ab</sup>	18.0±1.5 <sup>ab</sup>	20.1±1.4 <sup>ab</sup>	23.1±1.5 <sup>ab</sup>	26.0±1.7 <sup>a</sup>	30.2±1.3 <sup>a</sup>	35.0±-	35.0±-	38.0±-	39.0±-
	<b>P</b>	<b>0.012</b>	<b>0.048</b>	<b>0.017</b>	<b>0.007</b>	<b>0.016</b>	<b>0.067</b>	<b>0.105</b>	<b>0.149</b>	<b>0.568</b>	<b>0.310</b>

a-b: Herbir sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler istatistiki açıdan önemlidir (P<0.05).

**Çizelge 4.7.** Deneme ve Kontrol gruplarında elde edilen anormal spermatozoon oranlarının gruplar arası karşılaştırılması

Saatler	Süt kontrol	Tris kontrol	P	Süt %1bal	Tris %1 bal	P	Süt %2.5bal	Tris %2.5 bal	P	Süt %5 bal	Tris %5 bal	P
<b>0.saat</b>	17.1±1.9	13.0±1.1	<b>0.075</b>	16.8±2.8	21.2±2.0	<b>0.223</b>	18.6±1.8	16.7±1.4	<b>0.409</b>	17.6±1.2	16.8±1.8	<b>0.725</b>
<b>12. saat</b>	18.4±1.9	15.6±1.3	<b>0.247</b>	19.0±2.4	22.3±2.1	<b>0.316</b>	20.4±1.9	18.0±1.5	<b>0.335</b>	19.0±1.1	18.0±1.5	<b>0.603</b>
<b>24. saat</b>	20.1±1.9	16.6±1.3	<b>0.145</b>	20.3±2.3	24.2±2.0	<b>0.216</b>	21.6±1.9	20.4±1.4	<b>0.611</b>	20.0±3.5	20.1±4.3	<b>0.953</b>
<b>36. saat</b>	21.4±1.9	19.0±1.3	<b>0.307</b>	22.3±2.4	27.0±1.9	<b>0.144</b>	23.8±1.8	22.6±1.2	<b>0.574</b>	22.8±0.7	23.1±1.5	<b>0.890</b>
<b>48. saat</b>	23.6±2.0	21.4±1.2	<b>0.360</b>	24.6±2.7	28.2±1.7	<b>0.261</b>	26.4±1.9	24.8±1.1	<b>0.475</b>	24.7±0.9	26.0±1.7	<b>0.524</b>
<b>60. saat</b>	25.7±1.9	24.3±1.3	<b>0.545</b>	26.6±2.5	28.7±1.9	<b>0.533</b>	27.3±1.5	26.7±1.2	<b>0.767</b>	28.0±2.4	35.0±2.3	<b>0.274</b>
<b>72. saat</b>	27.3±1.8	25.5±1.4	<b>0.450</b>	25.5±1.5	30.6±2.4	<b>0.279</b>	28.8±1.4	29.0±1.5	<b>0.937</b>			
<b>84. saat</b>	29.2±1.6	28.2±1.5	<b>0.673</b>				33.6±0.7	33.2±1.1	<b>0.767</b>			
<b>96. saat</b>	32.2±1.3	31.5±1.7	<b>0.755</b>				35.5±0.7	33.0±4.2	<b>0.497</b>			
<b>108. saat</b>	31.0±3.0	33.5±1.2	<b>0.384</b>									

(P<0.05): İstatistiki açıdan önemlidir.

#### 4.2.4. Ölü Spermatozoon Oranları

Süt ve Tris sulandırıcılı gruplarında elde edilen ölü spermatozoon oranları çizelge 4.8'de verilmiştir. Süt sulandırıcılı kontrol grubu ölü spermatozoon oranı 0. saatte % 1 ve % 2.5 bal gruplarına benzer, % 5 bal grubundan ise düşük bulundu ( $P<0.05$ ). 12. saatte kontrol grubu % 1 bal grubuyla benzer, % 2.5 ve % 5 bal grubundan ise düşük bulundu ( $P<0.05$ ). Kontrol grubu ölü spermatozoon oranları 24, 36, 48, 60 ve 72. saatlerde tüm bal gruplarından daha düşüktü ( $P<0.05$ ). Bal ilaveli gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde 0, 12, 24, 36 ve 48. saatlerde ölü spermatozoon oranlarında farklılık tespit edilmedi ( $P>0.05$ ). Ancak, % 5 bal grubu ölü spermatozoon oranı 60. saatte % 2.5 bal grubundan daha yüksekti.

Tris sulandırıcılı kontrol grubu ölü spermatozoon oranı; 0. saatten 60. saate kadar diğer tüm gruplardan düşük bulundu ( $P<0.05$ ). Kontrol grubu ölü spermatozoon oranı 72. saatte % 1 ve % 2.5 bal grupları ile benzer, % 5 bal grubundan ise daha düşük bulundu ( $P<0.05$ ). Ölü spermatozoon oranları Tris sulandırıcılı bal ilave edilen gruplarda 0. ve 72. saatlerde benzer ( $P>0.05$ ), 12, 24, 36 ve 48. saatlerde % 5 bal ilaveli grup % 2.5 ve % 1 bal gruplarından daha yüksek ölü spermatozoon oranına sahip olduğu görüldü ( $P<0.05$ ). % 5 bal ilaveli grup 60. saatte % 2.5 bal grubundan daha yüksek ölü spermatozoon oranına sahipken ( $P<0.05$ ), % 1 bal ilaveli grup ile benzer bulundu.

Çalışmada, gruplarda elde edilen ölü spermatozoon oranlarının gruplar arası değerlendirilmesi çizelge 4.9'da verilmiştir. Gruplar arası değerlendirmelerde süt kontrol grubu ölü spermatozoon oranı, 0. saatte Tris kontrol grubundan yüksek bulundu ( $P<0.05$ ). Süt sulandırıcılı % 2.5 bal ilaveli grup 12. Saatte Tris % 2.5 bal ilaveli gruptan önemliye yakın derecede daha yüksekti. Ölü spermatozoon oranı, 24 ve 36. saatlerde gruplar arası fark gözlenmedi ( $P>0.05$ ). 48. saatte süt % 1 bal ilaveli grupta, Tris % 1 bal grubundan önemliye yakın daha yüksek ölü spermatozoon oranı bulundu. Ölü spermatozoon 72. saatte süt % 1 bal ilaveli grupta, Tris % 1 bal ilaveli gruptan daha yüksekti ( $P<0.05$ ).

Çizelge 4.8. Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C’de zamana bağlı ölü spermatozoon oranları

Gruplar	0.saat	12. saat	24. saat	36. saat	48.saat	60.saat	72. saat	84.saat	96.saat	108.saat	120.saat	
Süt	Kontrol	24.4±1.9 <sup>b</sup>	31.5±2.1 <sup>b</sup>	42.0±2.1 <sup>b</sup>	48.1±3.2 <sup>b</sup>	53.7±2.9 <sup>b</sup>	65.2±2.3 <sup>c</sup>	76.4±2.3 <sup>c</sup>	83.5±1.9	92.6±2.4	96.8±1.9	
	%1	29.1±3.7 <sup>ab</sup>	39.6±3.6 <sup>ab</sup>	54.4±4.1 <sup>a</sup>	68.7±3.3 <sup>a</sup>	82.0±2.8 <sup>a</sup>	88.5±1.2 <sup>ab</sup>	97.6±1.6 <sup>a</sup>	100±0.0			
	%2.5	33.0±3.8 <sup>ab</sup>	47.7±4.2 <sup>a</sup>	59.6±5.6 <sup>a</sup>	69.5±5.7 <sup>a</sup>	81.6±4.6 <sup>a</sup>	82.8±3.9 <sup>b</sup>	86.1±2.5 <sup>b</sup>	93.5±3.1	94.6±2.7	100±0.0	
	%5	35.5±3.3 <sup>a</sup>	47.4±2.6 <sup>a</sup>	63.5±4.3 <sup>a</sup>	78.8±5.1 <sup>a</sup>	87.2±2.9 <sup>a</sup>	94.5±1.9 <sup>a</sup>	100±0.0 <sup>a</sup>				
	<b>P</b>	<b>0.105</b>	<b>0.003</b>	<b>0.006</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.006</b>	<b>0.650</b>	<b>0.380</b>	
Tris	Kontrol	18.0±1.6 <sup>b</sup>	26.8±2.1 <sup>c</sup>	36.6±2.4 <sup>c</sup>	47.1±2.4 <sup>c</sup>	57.6±3.3 <sup>c</sup>	67.0±3.7 <sup>c</sup>	75.4±3.8 <sup>b</sup>	82.3±2.9	89.5±2.6	94.3±2.2	100±0
	%1	28.3±2.7 <sup>a</sup>	39.6±3.1 <sup>b</sup>	50.0±3.3 <sup>b</sup>	62.1±4.5 <sup>b</sup>	73.2±4.6 <sup>b</sup>	83.4±4.1 <sup>ab</sup>	84.0±4.1 <sup>ab</sup>	89.1±3.1	93.8±3.8	90.5±0.5	100±0
	%2.5	29.0±3.4 <sup>a</sup>	37.2±3.2 <sup>b</sup>	51.5±4.1 <sup>b</sup>	65.8±6.1 <sup>b</sup>	75.1±4.4 <sup>b</sup>	79.2±3.1 <sup>b</sup>	85.8±3.0 <sup>ab</sup>	90.5±2.6	97.2±1.8	100±0.0	-
	%5	34.2±2.4 <sup>a</sup>	49.7±3.8 <sup>a</sup>	67.1±3.8 <sup>a</sup>	79.2±2.6 <sup>a</sup>	88.6±2.7 <sup>a</sup>	93.8±3.0 <sup>a</sup>	95.5±4.5 <sup>a</sup>	84.0±-	87±-	93.0±	100±-
	<b>P</b>	<b>0.001</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	<b>0.021</b>	<b>0.197</b>	<b>0.256</b>	<b>0.277</b>	-

a-c: Herbir sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler istatistiki açıdan önemlidir (P<0.05).

Çizelge 4.9. Deneme ve Kontrol gruplarında elde edilen ölü spermatozoon oranlarının gruplar arası karşılaştırılması

Saatler	Süt kontrol	Tris kontrol	P	Süt %1 bal	Tris %1 bal	P	Süt %2.5 bal	Tris %2.5 bal	P	Süt %5 bal	Tris %5 bal	P
<b>0.saat</b>	24.4±1.9	18.0±1.6	<b>0.019</b>	29.1±3.7	28.3±2.7	<b>0.866</b>	33.0±3.8	29.0±3.4	<b>0.445</b>	35.5±3.3	34.2±2.4	<b>0.747</b>
<b>12. saat</b>	31.5±2.1	26.8±2.1	<b>0.139</b>	39.6±3.6	39.6±3.1	<b>1.000</b>	47.7±4.2	37.2±3.2	<b>0.060</b>	47.4±2.6	49.7±3.8	<b>0.619</b>
<b>24. saat</b>	42.0±2.1	36.6±2.4	<b>0.111</b>	54.4±4.1	50.0±3.3	<b>0.407</b>	59.6±5.6	51.5±4.1	<b>0.257</b>	63.5±4.3	67.1±3.8	<b>0.541</b>
<b>36. saat</b>	48.1±3.2	47.1±2.4	<b>0.806</b>	68.7±3.3	62.1±4.5	<b>0.247</b>	69.5±5.7	65.8±6.1	<b>0.666</b>	78.8±5.1	79.2±2.6	<b>0.954</b>
<b>48. saat</b>	53.7±2.9	57.6±3.3	<b>0.387</b>	82.0±2.8	71.5±4.6	<b>0.069</b>	81.6±4.6	75.1±4.4	<b>0.317</b>	87.2±2.9	88.6±2.7	<b>0.729</b>
<b>60. saat</b>	65.2±2.3	67.0±3.7	<b>0.687</b>	88.5±1.2	83.4±4.1	<b>0.282</b>	82.8±3.9	79.2±3.1	<b>0.480</b>	94.5±1.9	93.8±3.0	<b>0.846</b>
<b>72. saat</b>	76.4±2.3	75.4±3.8	<b>0.823</b>	97.6±1.6 <sup>a</sup>	84.0±4.1 <sup>b</sup>	<b>0.006</b>	86.1±2.5	85.8±3.0	<b>0.944</b>	100±0.0	84.0±-	-
<b>84. saat</b>	83.6±1.9	82.3±2.9	<b>0.709</b>				93.5±3.1	90.5±2.6	<b>0.487</b>			
<b>96. saat</b>	92.6±2.4	89.5±2.6	<b>0.396</b>				94.6±2.7	97.2±1.8	<b>0.452</b>			
<b>108. saat</b>	96.8±1.9	94.3±2.2	<b>0.429</b>				100±0.0	100±0.0	-			
<b>120. saat</b>	100±0.0	100±0.0	-									

(P<0.05): İstatistiki açıdan önemlidir.



#### 4.2.5. pH Değerleri

Deneme gruplarında elde edilen pH değerleri izelge 4.10’da verilmiştir. Buna göre süt sulandırıcı ve Tris sulandırıcı gruplarda kontrol grupları ve bal ilaveli ( % 5, % 2.5 ve % 1) gruplar arasında farklılık gözlenmedi ( $P>0.05$ ).

Araştırma gruplarında elde edilen pH değerlerinin gruplararası değerlendirilmesi izelge 4.11’de verilmiştir. Motilitenin son bulduğu ana kadar 12 saatlik aralıklarla yapılan muayenelerde 96. saat hariç grupların tamamında pH değerleri arasındaki fark önemsizdi ( $P>0.05$ ).



**Çizelge 4.10.** Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C'de zamana bağlı pH değerleri

Gruplar		0.saat	12. saat	24. saat	36. saat	48.saat	60.saat	72. saat	84.saat	96.saat	108.saat
Süt	Kontrol	6.4±0.1	6.5±0.1	6.4±0.1	6.4±0.1	6.4±0.1	6.3±0.1	6.3±0.1	6.2±0.1	6.3±0.0	
	%1	6.4±0.1	6.4±0.1	6.3±0.1	6.3±0.1	6.3±0.1	6.2±0.1	6.2±0.0			
	%2.5	6.5±0.1	6.5±0.1	6.4±0.1	6.4±0.1	6.4±0.1	6.3±0.1	6.2±0.1	6.3±0.2	6.3±0.2	
	%5	6.4±0.1	6.4±0.1	6.4±0.1	6.3±0.1	6.3±0.1	6.3±0.1				
	<b>P</b>	<b>0.656</b>	<b>0.623</b>	<b>0.610</b>	<b>0.347</b>	<b>0.659</b>	<b>0.807</b>	<b>0.725</b>	<b>0.812</b>	<b>0.544</b>	
Tris	Kontrol	6.5±0.1	6.4±0.1	6.4±0.1	6.3±0.1	6.3±0.1	6.3±0.0	6.2±0.1	6.2±0.1	6.1±0.1	6.1±0.1
	%1	6.4±0.1	6.4±0.1	6.3±0.1	6.3±0.1	6.2±0.1	6.2±0.1	6.2±0.1	6.1±0.1	6.2±0.1	6.1±0.1
	%2.5	6.4±0.1	6.4±0.1	6.3±0.1	6.3±0.1	6.2±0.1	6.2±0.1	6.2±0.1	6.2±0.1	6.1±0.2	
	%5	6.4±0.1	6.4±0.1	6.4±0.1	6.3±0.1	6.3±0.1	6.2±0.1	6.4±-	6.3±-	6.2±-	6.2±-
	<b>P</b>	<b>0.920</b>	<b>0.912</b>	<b>0.682</b>	<b>0.970</b>	<b>0.684</b>	<b>0.863</b>	<b>0.687</b>	<b>0.751</b>	<b>0.926</b>	<b>0.766</b>

a-c:Herbir sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler istatistiki açıdan önemlidir (P<0.05).

**Çizelge 4.11.** Deneme ve Kontrol gruplarında elde edilen pH değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Saatler	Süt kontrol	Tris kontrol	P	Süt %1bal	Tris %1 bal	P	Süt %2.5bal	Tris %2.5 bal	P	Süt %5 bal	Tris %5bal	P
<b>0.saat</b>	6.5±0.1	6.5±0.1	<b>0.729</b>	6.4±0.1	6.4±0.1	<b>0.685</b>	6.5±0.1	6.4±0.1	<b>0.366</b>	6.4±0.1	6.4±0.1	<b>0.675</b>
<b>12. saat</b>	6.5±0.1	6.4±0.1	<b>0.829</b>	6.4±0.1	6.4±0.1	<b>0.760</b>	6.5±0.1	6.4±0.1	<b>0.157</b>	6.4±0.1	6.4±0.1	<b>1.000</b>
<b>24. saat</b>	6.4±0.1	6.4±0.1	<b>0.904</b>	6.3±0.1	6.3±0.1	<b>0.921</b>	6.4±0.1	6.3±0.1	<b>0.161</b>	6.4±0.1	6.4±0.1	<b>0.819</b>
<b>36. saat</b>	6.4±0.1	6.3±0.1	<b>0.335</b>	6.3±0.1	6.3±0.1	<b>0.742</b>	6.4±0.1	6.3±0.1	<b>0.343</b>	6.3±0.1	6.3±0.1	<b>0.940</b>
<b>48. saat</b>	6.4±0.1	6.3±0.1	<b>0.569</b>	6.3±0.1	6.2±0.1	<b>0.445</b>	6.4±0.1	6.2±0.1	<b>0.191</b>	6.3±0.1	6.3±0.1	<b>0.903</b>
<b>60. saat</b>	6.3±0.1	6.3±0.1	<b>0.483</b>	6.2±0.1	6.2±0.1	<b>0.776</b>	6.3±0.1	6.2±0.1	<b>0.470</b>	6.3±0.1	6.2±0.1	<b>0.675</b>
<b>72. saat</b>	6.3±0.1	6.2±0.1	<b>0.536</b>	6.2±0.0	6.2±0.1	<b>0.907</b>	6.2±0.1	6.2±0.1	<b>0.453</b>			
<b>84. saat</b>	6.2±0.1	6.2±0.1	<b>0.596</b>				6.3±0.2	6.2±0.1	<b>0.606</b>			
<b>96. saat</b>	6.3±0.0	6.1±0.1	<b>0.004</b>				6.3±0.2	6.1±0.2	<b>0.609</b>			
<b>108. saat</b>	6.3±0.1	6.1±0.1	<b>0.137</b>									

(P<0.05): İstatistiki açıdan önemlidir.

#### 4.2.6. Sulandırılıp Soğutulularak Saklanan Spermada Gruplar Arası Yaşam Süresi

Süt ve Tris sulandırıcılı deneme ve kontrol gruplarının ortalama spermatozoon yaşam süreleri çizelge 4.12’de verilmiştir. Bu sonuçlara göre Tris sulandırıcılarıyla sulandırılan sperma örneklerinde elde edilen ortalama spermatozoon yaşam süresi, süt sulandırıcısı sulandırılan örneklerden rakamsal olarak daha yüksekti.

**Çizelge 4.12.** Süt ve Tris sulandırıcılı deneme ve kontrol gruplarının ortalama spermatozoon yaşam sürelerinin karşılaştırılması

<b>Gruplar</b>	<b>Ortalamalar (saat)</b>	<b>Standart Hata</b>	<b>P</b>
SÜT (n=40)	79.7	3.7	<b>0.110</b>
TRİS (n=40)	88.3	3.9	

## 5. TARTIŞMA

Çalışmasında tekelerden elektroejakulasyon yöntemiyle alınan 40 ejakulatın ortalama sperma hacmi  $1.36\pm 0.16$  ml olarak tespit edildi. Bulunan bu değer Damascus ırkı tekelerde çalışmalar kaydeden diğer araştırmacıların bildirdikleri ortalama sperma miktarı değerleri ile uyumlu bulundu (Karatzas ve ark. 1997, Karagiannıdı ve ark. 1999, Al-Ghalban ve ark. 2004, Kridli ve ark. 2007, Ramadan ve ark. 2009).

Taze spermada ortalama  $6.61\pm 0.09$  olarak bulunan pH değeri tekelerde çalışmalar yapmış bazı araştırmacıardan (Türk ve ark. 2005, Choe ve ark. 2006, İnanç ve ark. 2014) daha düşük bulunurken, çoğu araştırmacılar (Daniel 1991, Azevedo ve Toniolli 2005, Dorado ve ark. 2007, Kulaksız 2009, Bayraktar ve Uysal 2011, Ferdinand ve ark. 2012, Wahjuningsih ve ark. 2012) ile benzer bulundu. Taze spermadaki pH değerleri araştırmada kullanılan tekelerin ırkına, sperma alma yöntemine, sezonsal farklılıklara bağlı olarak değişebilir (Tekin ve ark. 1996, Hafez 2000, Sönmez 2013).

Çalışmada taze spermada ortalama  $3.56\pm 0.18$  olarak saptanan kitle hareketi değeri bazı araştırmacıların (Al-Ghalban ve ark. 2004, Türk ve ark. 2005, Azevedo ve Toniolli 2005, İnanç ve ark. 2014) tekelerde bildirdikleri değerler ile benzer, bazı araştırmacıardan (Daniel 1991, Khalili ve ark. 2009, Ferdinand ve ark. 2012) düşük, bazı araştırmacıardan (Bera ve Singh 1999, İnanç ve ark. 2014) ise daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılıkların çalışmanın yapıldığı mevsim, teke farklılığı, spermanın alınmasında kullanılan yöntem, sperma alma sıklığı gibi faktörlerden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Memon ve ark. 1986, Al-Ghalban ve ark. 2004, Shamsuddin ve ark. 2000).

Taze spermada ortalama %  $81.11\pm 1.39$  olarak bulunan spermatozoa motilitesi değeri Damascus tekelerinde çalışmalar yürüten araştırmacıların (Karatzas ve ark. 1997, Karagiannıdı ve ark. 1999, Al-Ghalban ve ark. 2004, Ramadan ve ark. 2009) bildirdiği motilite değerlerinden daha yüksek bulundu. Motilite değerleri arasındaki bu farklılıkların araştırmacılar arası sübjektif motilite değerlendirmeleri farklılıklarından, mevsim, sperma alma yöntemi, bakım besleme şartları, yaşa bağlı olarak değişkenlik gösterdiği düşünülmektedir (Karatzas ve ark. 1997, Karagiannıdı ve ark. 1999, Al-Ghalban ve ark. 2004, Ramadan ve ark. 2009).

Yapılan çalışmada taze spermada ortalama  $3.898 \pm 0.071 \times 10^6$ /ml olarak belirlenen spermatozoon yoğunluğu değeri Damascus keçilerinde çalışmalar yapan bazı araştırmacılar (Karatzas ve ark. 1997, Karagiannidis ve ark. 1999) ile benzer, tekelerde yapılan bazı araştırma (Türk ve ark. 2005, Arı 2006, Bucak 2007, Dorado ve ark. 2007, Kridli ve ark. 2007, Kulaksız 2009, Ramadan ve ark. 2009, Wahjuningsih ve ark. 2012, Aguiar ve ark. 2013, İnanç ve ark. 2014, Şen ve ark. 2015) sonuçlarından daha yüksek diğer bazı araştırmacıardan ise daha düşük bulundu (Al-Ghalban ve ark. 2004, Peterson ve ark. 2007, Khalili ve ark. 2009, Bayraktar ve Uysal 2011, Ferdinand ve ark. 2012). Bildirilen değerler tekelerin ırk özelliklerine, çalışmanın yapıldığı mevsime, tekelerin beslenme durumuna, sperma alma yöntemi ve sıklığına bağlı olarak değişebilmektedir (Karagiannidis ve ark. 1999, Shamsuddin ve ark. 2000, Aguiar ve ark. 2013).

Yapılan çalışmada bulunan değerler, teke sperması için bildirilen gri-beyaz ile sarı renk aralığı, 0.5-1.2 ml arası hacim değeri, suludan kremaya kadar değişen sperma kıvamı,  $2.5 \times 10^9$  ile  $5 \times 10^9$ /ml aralığında olan sperm konsantrasyonu, % 60-% 80 arası motilite değeri, 5.9-7.3 arasındaki pH değeri, 3 ve daha fazla mass aktivite değerleri bakımından literatür verileri ile uyumluydu (Hafez 2000, Sönmez 2013).

Sulandırılmış spermada süt sulandırıcısında bulunan motilite değeri Şen ve ark. (2015)'nin Norduz keçi spermasını yağsız süt tozu kullanılarak sulandırdıkları ve % 10 yumurta sarısı içeren sulandırıcı grubunda  $65.65 \pm 2.80$  olarak bildirdikleri değerden daha yüksek bulundu. Bu farklılık ırk özelliğinden ve sperma alma yönteminin farklı olmasından kaynaklanabilir (Tekin ve ark. 1996, Karagiannidis ve ark. 1999).

Süt sulandırıcısı grubunda bulunan değerler Mara ve ark. (2007)'nin Sarda tekelerinde 4 °C'de yağsız süt sulandırıcısında 0. saatte %  $81.5 \pm 2.1$  olarak bildirdikleri değerden daha düşük ve 24. saatte %  $51.5 \pm 2.1$  olarak bildirilen değerden yüksek bulundu. Salvador ve ark. (2007) Murciano-Granadia teke spermasını süt bazlı sulandırıcı ile sulandırıp 5 °C'de sakladıkları çalışmalarında motilite değerini 0. saatte % 73, 24. saatte % 60, 48. saatte % 60 ve 72. saatte % 56 olarak bildirmişlerdir. Bu değerler 0. ve 24. saatte bildirilen değerler ile benzer, 48 ve 72. saatte saptanan değerlerden belirgin yüksek bulunmuştur. Bu farklılıklar kullanılan tekelerin ırk farklılığından kaynaklı olabilir (Al-Ghalban ve ark. 2004, Ramadan ve ark. 2009).

Xu ve ark. (2009)'nın Lubei White ve Boer ırkından suni vajen yöntemiyle aldıkları teke spermasını 5 °C'de sakladıkları ve sulandırıcı olarak glikoz içeren Tris sulandırıcısı (yumurta sarısı içermeyen) kullandıkları çalışmada bildirilen değerler 0. saatte, 48. saatte ve 96. saatte bulunan motilite değerinden yüksek bulundu. Değerlerdeki farklılıklar sulandırıcı kompozisyonunda kullanılan şeker farklılığı, sulandırıcının ihtiva ettiği yumurta sarısı oranına, sperma alma yöntemine, teke ırk farklılığına bağlanabilir (Cabrera ve ark. 2005, Santiago-Moreno ve ark. 2009, Naing ve ark. 2010).

Tris sulandırıcısında bulunan motilite değerleri Roca ve ark. (1997)'nin Murciano-Granadina tekelerinde % 2 yumurta sarısı içeren Tris sulandırıcısında 5 °C'de sakladıkları spermada 0, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde bildirdikleri değerlerden daha düşük bulundu. Değerlerdeki bu farklılık ırk farklılığından ve sulandırıcıda farklı yumurta sarısı oranından kaynaklı olabilir (Shamsuddin ve ark. 2000, Jimenez-Rabadan ve ark. 2012). Teke spermasının farklı yumurta sarısı konsantrasyonlarında saklanması inceleyen Cabrera ve ark. (2005), en iyi sperma kalitesini inceledikleri çalışmada % 1,5 yumurta sarısı, % 6 ve % 12 yumurta sarısı oranlarını karşılaştırmışlar ve dondurma çözündürme sonucunda % 12 yumurta sarısı oranını tavsiye etmişlerdir. Azawı ve ark. (1993) Şami keçilerinde 4 °C'de kısa süreli saklama yaptıkları çalışmalarında Tris sulandırıcısına % 10 yumurta sarısı oranında en yüksek motilite ve canlı spermatozoon oranı bildirmişlerdir. Bunun aksine Roca ve ark. (1997), Murciano-Granadina tekelerinde 5 °C'de Tris sulandırıcısında % 2 ve % 12 yumurta sarısını incelemişler ve % 2 yumurta sarısı oranını tavsiye etmişlerdir.

Khalıfa ve Saıdy (2006)'nin Damascus keçilerinde Tris sulandırıcısında farklı sulandırma oranlarının (1:2, 1:4 ve 1:19) etkisini inceledikleri ve en yüksek motilite değerini sulandırma sonrası 1:19, dondurma öncesi ise en düşük 1:19 bildirdikleri çalışmada bildirdikleri her bir sulandırma oranındaki motilite değerleri mevcut tez çalışmasındaki motilite değerinden daha yüksek bulundu. Bu farklılığın hayvanların beslenme, çalışmanın yapıldığı coğrafi konum, spermanın alınma yöntemine bağlı olabileceği düşünülmektedir (Aguar ve ark. 2013).

Shamsuddin ve ark. (2000) Siyah Bengal keçilerinde yaptıkları çalışmada % 2.5 yumurta sarısı içeren Tris sulandırıcısında 48. saatte ve sonrasında 72. saatte % 50 üstü motilite bildirmişlerdir. Bu değerler çalışmadaki değerlere kıyasla oldukça yüksektir. Bu farklılık yumurta sarısı miktarının, keçi ırkının ve sperma alma yönteminin farklılığından

kaynaklı olabilir (Karagiannidis ve ark. 1999, Cabrera ve ark. 2005). Yumurta sarısının farklı oranlarını çalışan Roca ve ark. (1997) % 2 ve % 12 yumurta sarısının kısa süreli teke spermasının saklanması etkilisini inceledikleri çalışmada Tris sulandırıcısına % 2 yumurta sarısı oranında daha yüksek sperma kalitesi bildirmişlerdir.

El-Nattat ve ark. (2016)'nın buffalo ırkı boğalarda 5 °C'de kısa süreli saklama Tris sulandırıcısına farklı bal oranlarının etkisini araştırdıkları çalışmada 2. saatteki spermatolojik değerlendirmede kontrol grubunda motilite  $78.75 \pm 5.54$ , % 1 bal ilaveli grupta  $88.75 \pm 2.39$ , % 2 bal ilaveli grupta  $82.50 \pm 1.44$ , % 3 bal ilaveli grupta  $91.25 \pm 2.39$ , % 4 bal ilaveli grupta  $86.25 \pm 3.15$ , % 5 bal ilaveli grupta ise  $78.75 \pm 3.15$  olarak bildirilmiştir. Bu değerler arasında fark bulunmamakla beraber en yüksek motilite değeri % 3 bal grubunda saptanmıştır. 7. günde yapılan ikinci değerlendirmede ise motilite değerleri kontrol grubunda  $41.67 \pm 1.67$ , % 1 bal ilaveli grupta  $60.00 \pm 2.89$ , % 2 bal ilaveli grupta  $26.67 \pm 4.41$ , % 3 bal ilaveli grupta  $23.33 \pm 3.33$  bulunmuştur. % 4 ve % 5 bal ilaveli gruplarda ise motilite sonlanmıştır. 7 gün sonrasında kısa süreli saklamada % 1 bal ilaveli grup belirgin şekilde yüksek olarak bildirilmiştir. Daha yüksek oranlarda bal ilavesinin yapıldığı gruplarda kısa süreli saklamada motilite değerinin daha önce sonlanması ve bu değerlerin daha düşük olması yapılan tez çalışmasıyla uyumlu olmakla beraber kontrol grubunda motilite değerinin % 1 bal ilaveli grubun gerisinde kalması yapılan tez çalışması ile zıtlık göstermektedir. Bu farklılıkların kullanılan hayvan türünün ve katılan bal oranlarının farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Farklı hayvan türlerinde enerji için kullanılan ve membran stabilizasyonu sağlayan şekerlerin etkileri farklı olmaktadır. Tris sulandırıcısına farklı şekerlerin ilavesinin etkisinin incelendiği bir çalışmada Boer keçilerinde dondurma öncesi ve çözündürme sonrasında glukozun en iyi motilite sağladığını bildirilmiştir (Naing ve ark. 2010). Ayrıca koçlarda da glukoz şekerinin Tris sulandırıcısında kullanımının fruktoz, laktoz veya raffinoza kıyasla daha ideal olduğu bildirilmiştir (Salamon ve Visser 1972). Köpek spermasında ise trehaloz, ksiloz ve fruktozun diğer şekerlere kıyasla dondurma çözündürme sonrasında en iyi sperma kalitesi sağladığı bildirilmektedir (Yıldız ve ark. 2000). Keçilerde en iyi metabolize edilebilen şeker glukoz olarak bildirildiğinden ve bal içeriğinde fruktoz seviyesi glukoz göre daha baskın olduğundan keçilerde yapılan mevcut tez çalışmasında bal ilavesinin olumlu etkisinin gözlenemediği düşünülmektedir.

El-Nattat ve ark. (2016)'nın buffalo ırkı boğalarda Tris sulandırıcısına farklı bal oranlarının dondurma çözdürme sonrası sperma kalitesine etkisini araştırdıkları çalışmada motilite değeri % 2 bal ilaveli grupta  $55.00 \pm 2.89$  ile en yüksek, % 1 bal ilaveli grupta ise  $35.00 \pm 5.00$  ile en düşük bildirilirken; kontrol grubu ( $37.50 \pm 4.79$ ) ile % 1 bal ilaveli grup arasında farklılık bulunmamıştır. Benzer şekilde % 2, % 3, % 4 ve % 5 oranında bal ilaveli gruplar arasında da farklılık gözlenmemiştir. Çalışmada bal ilavesinin artan miktarlarının motiliteye etkisinin ters yönde olması, hayvan türünün farklı olması ve saklama yöntemi ile ilgili olabilir.

Fakhrildin ve Rana (2013) 30 infertil insanda yaptıkları çalışmada hazır dondurma medyuma (Ferti-Pro) % 5 ve % 10 bal ilave ettikleri çalışmalarında spermayı dondurarak 6 ay süresince sakladıkları çalışmalarında çözdürme sonrası sperma motilitesini % 10 bal ilavesi yapılan grupta  $52.82 \pm 6.78$  ile en yüksek, kontrol grubunda  $34.50 \pm 9.64$  ile en düşük ve % 5 bal ilaveli grupta  $38.01 \pm 7.68$  olarak bildirmişlerdir. Dondurma öncesi sperma motilitesi ile çözdürme sonrası % 10 bal ilaveli grupta saptanan motilite değeri arasında fark önemsiz bulunmuş ve % 10 bal ilavesi tavsiye edilmiştir. Yapılan tez çalışmasında ise bu sonuçların tersi olarak her iki sulandırıcı grubunda kontrol gruplarında saptanan motilite değerleri daha yüksek bulundu ayrıca Tris sulandırıcı grubunda gruplar içerisinde yapılan değerlendirmelerde sulandırıcıya katılan bal oranı arttıkça motilitenin daha da azaldığı belirlendi. Sonuçlardaki farklılıkların sebebi olarak kullanılan spermanın farklı türlere ait olması, kısa süreli saklama ile dondurularak saklama arasındaki farklılıklar, kullanılan balın içeriği ve oranlarının farklı olması, kullanılan medyumun farklı olması gösterilebilir (Salman ve ark. 2013, El-Nattat ve ark. 2016).

Jerez-Ebensperger ve ark. (2015)'nin koç spermasında % 25 yumurta sarısı içeren Tris+fruktoz sulandırıcısını kontrol grubu olarak belirlemişler, yumurta sarısı yerine pastörize yumurta sarısı olan grup, fruktoz şekeri yerine % 5 biberiye balı eklenen grup, hem pastörize yumurta sarısı hem de % 5 bal ilaveli gruplar oluşturmuşlardır. Çözdürme sonrası motilite değerlendirmesinde en iyi sonuç  $59.78 \pm 2.23$  ile % 5 bal ve pastörize yumurta sarısı grubunda bildirilmiştir. Diğer gruplarda, kontrol grubu  $52.30 \pm 1.99$ , pastörize yumurta sarısı grubu  $57.73 \pm 1.34$ , % 5 bal eklenen grup  $48.82 \pm 1.93$  olarak bildirilmiştir. Sonuçta pastörize yumurta sarısı tavsiye edilirken, bal ilaveleri sonucu pek etkilememiştir. Bu sonuçlar çalışmamızdaki Tris sulandırıcısına % 5 bal ilavesinin kontrol grubundan düşük olması ile tersi bir durum göstermektedir. Tris sulandırıcısında kullanılan



yumurta sarısının pastörize olması ve yüksek oranda kullanımı, hayvan türü farklılığının sonuçların farklı olmasında etkili olabileceği düşünülmektedir (Cabrera ve ark. 2005, Santiago-Moreno ve ark. 2009).

El-Sheshtawy ve ark. (2016)'nın Arap atlarında yaptıkları INRA-82 sulandırıcısına farklı konsantrasyonlarda (% 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5) bal ilavesinin çözdürme sonrası sperma kalitesine etkisini inceledikleri çalışmalarında motilite değerlerini; kontrol grubuna kıyasla % 2, % 3, % 4 bal ilavesi yapılan gruplarda önemli derecede daha yüksek bildirmişlerdir. % 1 ve % 5 bal ilaveli gruplar ile kontrol arasında fark önemsiz bulunmuştur. Bu çalışma, mevcut tez çalışmasında kontrol gruplarında motilite değerlerinin daha yüksek olması ile farklılık teşkil etmektedir. Hayvan türü, sulandırıcı çeşidi, kullanılan bal çeşidi ve oransal farklılıklar sonuçların değişik çıkmasında etkili olmuş olabilir (Salman ve ark. 2013, El- Nattat ve ark. 2016).

El-Sheshtawy ve ark. (2014)'nin boğalarda soğutulmuş ve dondurulmuş spermada Tris yumurta sarısı sulandırıcısına bal ilavesinin etkisini inceledikleri çalışmalarında farklı oranlarda (% 1, % 2, % 3, % 4, % 5) bal ilavesi yaparak sakladıkları spermada, 7 günlük kısa süreli saklama sonunda motiliteyi % 3 oranında bal ilaveli grupta % 55.55 ile belirgin şekilde yüksek olarak saptamışlardır. Dondurarak saklama sonrasında ise çözdürme sonrası % 1 bal ilavesi yapılan grupta motilite değeri % 62.50 ile en yüksek, % 5 bal grubunda % 20.0 ile en düşük bulunmuştur. Bildirilen bu sonuçlar, çalışmamızda bal ilaveli gruplarda motilite değerlerinin kontrol grubuna göre düşük olması ve motilitenin 4.5 günün sonunda bitmesiyle farklılık arz etmektedir. Tür ve bal içeriğinin farklılığı sonuçların değişik çıkmasına etkili olduğu düşünülebilir (Fakhrildin ve Rana 2013, Salman ve ark. 2013).

Olayemi ve ark. (2011)'nin Batı Afrika Dwarf keçilerinde yumurta sarısı ve sodyum sitrat sulandırıcısına % 5, % 10 ve % 20 oranında bal ilavesini ve farklı oranlarda yumurta sarısı etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında, spermayı 5 °C'de 6 saat süreli saklamışlar ve 2 saat aralıklarla değerlendirmişlerdir. Çalışma grupları olarak kontrol grubu 20 ml yumurta sarısı+80 ml sodyum sitrat sulandırıcısı olarak belirlenmiştir. Diğer gruplar ise sırasıyla 5 ml bal+15 ml yumurta sarısı+80 ml sodyum sitrat, 10 ml bal+10 ml yumurta sarısı+ 80 ml sodyum sitrat, 20 ml bal+80 ml sodyum sitrat olarak belirlenmiştir. % 5 bal ilavesinin sperma parametrelerine etkisi en iyi bulunmuştur. Kontrol grubunda 0. saat motilite  $92.5 \pm 2.50$  iken, % 5 bal+15 ml yumurta sarısı grubunda  $95.0 \pm 0.00$ , % 10 bal+10

ml yumurta sarısı grubunda  $22.5 \pm 2.50$  ve % 20 bal grubunda motilitenin olmadığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise 48. saate kadar kontrol grupları bal ilaveli gruplarda belirgin şekilde üstün bulunmuştur. 2. saat değerlendirmesinde kontrol grubu motilitesi  $82.5 \pm 2.50$ , % 5 bal grubunda  $90.0 \pm 0.00$ , % 10 bal grubunda  $10.00 \pm 0.00$  olarak bildirilmiştir. 4. saat değerlendirmesinde kontrol grubu  $80.0 \pm 0.00$ , % 5 bal grubu  $87.5 \pm 2.50$  olarak bildirilirken % 10 bal grubunda motilite sonlanmıştır. 6. saat değerlendirmesinde ise kontrol grubu  $77.50 \pm 2.50$  ve % 5 bal grubu  $85.38 \pm 0.00$  olarak bildirilmiştir. Motilite sonuçları bizim çalışmamızda kontrol gruplarının bal ilaveli gruplardan daha üstün olması yönüyle farklılık teşkil etmekle beraber yüksek bal oranlarında daha düşük motilite olması yönü ile benzerdir. Yukarıda belirtilen çalışmada bal ilavesinin motilite üzerine doza bağlı olarak olumlu olabileceği bildirilmiştir. Kullanılan hayvanın ırkı, sulandırıcı kompozisyonundaki bal oranları, sulandırıcı ve balın bileşimi sonuçların farklı olmasına etki etmiş olabilir (Hafez 2000, Salman ve ark. 2013, El-Nattat ve ark. 2016).

Yimer ve ark. (2015)'nin boğa spermasını dondurarak 24 saat süreyle sakladıkları çalışmada % 20 yumurta sarısı içeren Tris sulandırıcısına % 2.5, % 5 ve % 10 bal ilavesi yapmışlar ve bunu Bioxcell sulandırıcısı ile karşılaştırmışlardır. % 5 ile % 10 bal ilaveli gruplarda dondurmaya takiben çözündürme sonrası önemli oranda düşük sperma kalitesi bildirilirken % 2.5 bal ilavesi yapılan grupta en iyi sperma kalitesi bildirilmiştir. Aynı çalışmada 5 °C'de 3 saat tutulup bu süre sonunda yapılan değerlendirmelerde sulandırma sonrası ise motilite Tris kontrol sulandırıcısında  $77.3 \pm 4.1$ , % 2.5 bal ilaveli Tris sulandırıcısında  $81.6 \pm 3.1$ , % 5 bal ilaveli Tris sulandırıcısında  $66.7 \pm 2.8$  ve % 10 bal ilaveli Tris sulandırıcısında  $46.0 \pm 1.3$  bulunmuştur. Bioxcell sulandırıcısı ile sulandırılan grup  $82.0 \pm 3.5$  değeri ile en yüksek motiliteye sahip bulunmuş ve Tris % 2.5 bal ilaveli grup ile arasında fark önemsiz olarak bildirilmiştir. % 2.5 bal ilavesinin Bioxcell sulandırıcı yerine ucuz bir alternatif olabileceği bildirilirken, diğer bal oranları önerilmemiştir. Bildirilen bu sonuçlar yapılan tez çalışmasında bal oranı arttıkça düşen motilite değerleri ile uyumlu olmakla birlikte, kontrol grubunun motilitesinin % 2.5 bal ilaveli gruptan daha düşük olması ile farklılık göstermektedir. Bu farklılıkların hayvan türü, sulandırıcının ihtiva ettiği yumurta sarısı oranı, sulandırıcıya katılan bal oranları ve saklama sürelerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Santiago-Moreno ve ark. 2009, El-Sheshtawy ve ark. 2014, El-Nattat ve ark. 2016).

Akandi ve ark. (2015)'nin sodyum sitrat ve bikorbonat içerikli sulandırıcıyla sulandırdıkları domuz spermasının saklanması oda sıcaklığında 24 saat süresince gözlemledikleri spermaya % 1.0, % 1.5, ve % 2.0 bal ilavesi yapmışlar ve ortalama motil spermatozoon oranını en yüksek % 1.5 ve % 2.0 grubunda bildirmişlerdir. Bal oranı arttıkça yüksek motilite değerinin bildirilmesi çalışmamızla zıt olup bunun sebebi olarak kullanılan hayvan türü farklılığı, saklama ısısı ve sulandırıcı bileşiminin farklı olması düşünülmektedir (Jerez-Ebensperger ve ark. 2015, El-Nattat ve ark. 2016).

Gruplar arası motilite değerlendirmesinde, Dorado ve ark. (2007) Florida tekelerinde Tris sulandırıcısı ve yağsız süt sulandırıcısı ile sulandırıp dondurdukları keçi spermasında Tris sulandırıcısında motilite oranının süte kıyasla daha iyi bulunduğunu bildirmişlerdir. Paulenz ve ark. (2001) koçlarda yaptıkları çalışmada süt grubunda % 72.0 motilite bildirirken Tris grubunda % 75.4 motilite bildirmişlerdir. Paulenz ve ark. (2005) ve Gündoğan (2009) tekelerde sperma motilitesi açısından Tris sulandırıcısını sodyum sitrat ve yağsız süt sulandırıcısından daha üstün bildirmişlerdir. Soylu ve ark. (2007) en iyi spermatozoa motilitesini Tris sulandırıcısında bildirmişlerdir. Rakha ve ark. (2013) Punjab koçlarında 5 °C'de kısa süreli saklamada Tris ve süt sulandırıcısı gruplarında 24. saatte motilite değerini benzer, 48. saatte ve 72. saatte motilite Tris grubunda en yüksek bulunmuştur. Bildirilen bu sonuçlar çalışma bulgularımız ile paralel yöndedir.

Naim ve ark. (2014) boğa spermasının dondurulmasında % 2.5 oranında bal ilaveli Tris sulandırıcısı ile ticari Bioxcell® sulandırıcısını karşılaştırdıkları çalışmalarında çözündürme sonrasında sperma motilitesi değerlendirmesinde gruplar arası önemli bir farklılık bulmamışlar ve % 2.5 bal ilaveli Tris sulandırıcısının Bioxcell® ticari sulandırıcısı kadar etkili olduğunu ve Bioxcell'e ucuz bir alternatif olabileceğini bildirmişlerdir. Yapılan tez çalışmasında gruplararası motilite değerlendirmesinde 12. saatte Tris % 2.5 bal ilaveli grubun süt % 2.5 bal ilaveli gruptan yüksek olması ile paralel olup kullanılan hayvan türünün boğa olması, kısa süreli saklama yerine dondurulma yönteminin kullanılması, Tris sulandırıcısının farklı bir sulandırıcı ile kıyaslanması ile farklıdır.

Kulaksız ve ark. (2012) Akkaraman koç spermasını Tris, yağsız süt tozu ve sodyum sitrat sulandırıcısı ve Bioxcell kullanılarak sulandırmışlar, 4 °C'de kısa süreli saklamada 24. ve 48. saatlerde en yüksek motiliteyi yağsız süt tozu sulandırıcısında bulmuşlardır. Sulandırma sonrası Tris sulandırıcısında 82.5±0.1 motilite, süt tozu sulandırıcısında ise

84.0±0.1 motilite bildirmişlerdir. 24 saat sonra yapılan muayenelerde Tris grubunda 48.7±0.3 motilite, süt tozu sulandırıcısında 68.5±0.3 motilite bildirmişlerdir. 48 saat sonrasında Tris sulandırıcısı 36.5±0.2 motilite, süt tozu sulandırıcısı için 47.5±0.4 motilite bildirilmiştir. Bu sonuçlar mevcut tez çalışmasında 0. saatte süt kontrol grubunun Tris kontrol grubundan daha düşük motilite göstermesi ve 24 ile 48. saatlerde gruplararası fark olmaması ile ayrılmaktadır. Tekin ve Daşkın (2016) Norduz keçilerinde yaptıkları çalışmada yağsız süt sulandırıcısında motiliteyi daha yüksek bulmuşlardır. Çalışmada elde edilen motilite değeri sırasıyla süt sulandırıcısında 60.1±2.8 ve Tris sulandırıcısında 48.1±1.1 olarak bildirilmiştir. Bu sonuçlar çalışma bulgularımızda Tris sulandırıcısının daha üstün olması ile farklılık arz etmektedir. Bulguların farklı olmasında hayvan türü, ırkı, yaşı, sperma sulandırıcısının kompozisyonu, spermanın alınma şekli, spermanın saklama şekli gibi faktörlerin etkili olabileceği düşünülmektedir (Karagiannidis ve ark. 1999, Hafez 2000, El-Nattat ve ark. 2016).

Salvador ve ark. (2007) tekelerde yaptıkları çalışmada 5 °C'de saklanan spermada 72. saatte motilite değerini süt sulandırıcısında % 65 bulurken Tris sulandırıcısında ise % 60 bildirmişlerdir. Bu değerler bu saatlerde saptadığımız bulgularımızdan çok yüksek bulunmuş olup, süt sulandırıcısının daha yüksek motilite göstermesi yönü ile aksi yöndedir. Sonuçlardaki bu farklılıklara tekelerin ırkı, sulandırıcıları oluşturan maddelerin içeriği, spermanın alınma şekli ve sıklığı, yaş ve beslenme şeklinin etki ettiği düşünülmektedir (Karagiannidis ve ark. 1999, Aguiar ve ark. 2013, Jerez-Ebensperger ve ark. 2015).

Bulunan HOS test değerleri Salvador ve ark. (2007) 5 °C'de sakladıkları Murciano-Granadia tekelerinde süt bazlı sulandırıcıda HOS test değerini 0. saatte % 48, 24. saatte % 30, 48. saatte % 31 ve 72. saatte ise % 21 olarak bildirmişlerdir. Çalışmada bulunan değerler 0, 24 ve 48. saatlerde bildirilen bu değerden belirgin yüksek iken 72. saatte bildirilen değer ile benzer bulundu. Değerlerdeki farklılar üzerine tekelerin ırkı, spermanın alınma yöntemi ve sıklığının farklı oluşunun etkili olduğu düşünülmektedir (Jimenez-Rabadan ve ark. 2012).

Jerez-Ebensperger ve ark. (2015)'nin koç spermasında yaptıkları çalışmalarında % 25 yumurta sarısı içeren Tris+fruktoz sulandırıcısını kontrol grubu olarak belirlemişler, yumurta sarısı yerine pastörize yumurta sarısı olan grup, fruktoz şekeri yerine % 5 bal

eklenen grup, hem pastörize yumurta sarısı hem de % 5 bal ilaveli gruplar oluşturmuşlardır. % 5 bal ilavesi yapılan grupta çözdürme sonrası HOS değerleri belirgin daha düşük bulunurken, diğer gruplar arasında fark bulunmamıştır. Bu sonuçlar çalışmamızdaki tüm gruplarda elde edilen sonuçlar ile paralel yöndedir.

Bulunan HOS test değeri Aguiar ve ark. (2013)'nın Brezilya teke spermasında Hindistan cevizi suyu içeren sulandırıcında 24. saatte ve 48. saatte bildirdikleri sırasıyla  $81.8 \pm 2.0$  ve  $81.9 \pm 1.7$  değerlerinden belirgin daha düşük bulundu. Bu farklılık öncelikle sulandırıcı çeşidinden kaynaklanmış olabilir (Hafez 2000, Jimenez-Rabadan ve ark. 2012).

El-Sheshtawy ve ark. (2014) boğalarda Tris sperma sulandırıcısına farklı oranlarda bal ilavesi (% 1, % 2, % 3, % 4, % 5) yaptıkları çalışmada, dondurma çözdürme sonrası en yüksek HOS test değerini % 5 bal grubunda, en düşük olarak kontrol grubunda bildirmişlerdir. El-Nattat ve ark. (2016) buffalo ırkı boğalarda yaptıkları çalışmada Tris sulandırıcısına farklı oranlarda (% 1, % 2, % 3, % 4, % 5) bal ilavesi yapmışlar ve dondurma çözdürme sonrası spermatozoon membranlarını değerlendirmişlerdir. HOS test değerlendirmesi sonucu % 1 bal ilaveli grup en düşük, % 2 ve % 3 birbirine çok yakın iki yüksek değer olarak, kontrol grubu, % 4 ve % 5 bal ilaveli gruplar ise birbirine çok yakın ortalama değerler sahip oldukları bildirilmektedir. Bal oranı ilavelerinin kontrol grubundan daha yüksek bulunması, tez çalışmasında elde edilen sonuçlar ile uyumlu değildir. Hayvan türü ve sulandırıcı kompozisyonu bu farklılığın nedenleri olarak düşünülmektedir (Nur ve ark. 2005, Salman ve ark. 2013, El-Nattat ve ark. 2016).

El-Sheshtawy ve ark. (2016)'nın Arap atlarında yaptıkları INRA-82 sulandırıcısına farklı konsantrasyonlarda (% 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5) bal ilavesinin çözdürme sonrası sperma kalitesine etkisini inceledikleri çalışmalarında HOS test değerlerini; kontrole kıyasla % 2, % 3, % 4 bal ilavesi yapılan gruplarda önemli derecede daha yüksek bildirmişlerdir. % 1 ve % 5 bal ilaveli gruplar ile kontrol arasında fark önemsiz bulunmuştur. Ortalama oranlarda bal ilavelerinin HOS test için olumlu olması, kontrol grubu ile en yüksek bal oranı arasındaki farkın önemsiz olması yönleri ile çalışmamızla farklılık göstermektedir. Bu farklılığın öncelikle hayvan türü ve sulandırıcı çeşidinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (Hafez 2000).

Gruplar arası HOS testi değerlendirmelerde, Paulenz ve ark. (2001) koçlarda akrozom ve membran bütünlüğünü Tris grubunda 30. saate kadar yağsız süt grubundan yüksek

bildirmişlerdir. Rakha ve ark. (2013) Punjab koçlarında 5 °C’de kısa süreli saklamada Tris ve süt grubunda sperma örneklerinde 24. saatte plazma membran bütünlüğü değerini benzer, 48. ve 72. saatte ise plazma membran bütünlüğü Tris grubunda en yüksek bulmuşlardır. Paulenz ve ark. (2005), Soylu ve ark. (2007), Gündoğan (2009) membran bütünlüğü açısından tekelerde Tris sulandırıcısının daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Bildirilen bu sonuçlar mevcut çalışma bulgularına paralellik göstermektedir.

Şen ve ark. (2015) yağsız süt tozu kullanılarak sulandırdıkları Norduz keçilerinde yaptıkları çalışmada anormal spermatozoon oranını 22.65±3.70 olarak, Al- Ghalban ve ark. (2004) Damascus keçilerinde anormal spermatozoon oranını 22.19±0.78 olarak bildirmişlerdir. Aquino ve ark. (2014) Anglo Nubin tekelerinde 5 °C’de Tris sulandırıcısıyla sulandırarak kısa süreli saklamada normal spermatozoon sayısını 0 ve 48. saatlerde sırasıyla % 73.80, % 67.08 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki değerler, belirtilen çalışmalardaki değerler ile benzer, Tekin ve ark. (1996)’nın Ankara keçilerinde % 4.2 olarak bildirdikleri değerden daha yüksek bulundu. Değerler arası farklılıkların tekelerin ırk farklılıklarından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir (Karagiannidis ve ark. 1999).

Nam ve ark. (2014) boğa spermasının dondurulmasında % 2.5 oranında bal ilaveli Tris sulandırıcısı ile ticari Bioxcell sulandırıcısını karşılaştırdıkları çalışmalarında anormal spermatozoon oranı değerlendirmesinde gruplar arası önemli bir farklılık bulmamışlardır. Bu sonuca göre bal ilaveli grupta morfolojik özelliklerin ticari sulandırıcı kadar iyi olması ve bal ilavesinin tavsiye edilmesi, çalışma bulgularımızda Tris sulandırıcısının bal ilavesiz kontrol grubunda daha düşük olması ile uyumsuzluk göstermektedir. Bu farklılığın hayvan türü, sulandırıcı farklılıkları gibi etmenlere bağlı olabileceği düşünülmektedir (Jimenez-Rabadan ve ark. 2012).

Fakhrildin ve Rana (2013) insan spermasında yaptıkları ticari kriyoprotektan dondurma medyuma % 5 ve % 10 bal ilave ettikleri çalışmalarında, normal spermatozoon morfolojisi % 10 bal grubunda (63.60±12.78) % 5 ve kontrol grubuna kıyasla (sırasıyla 48.67±12.15, 51.47±11.02) önemli derecede daha yüksek bulunmuştur ve % 10 bal ilavesinin sperma kalitesini artırdığı bildirilmiştir. Bildirilen bu sonuç çalışmamızdaki bal ilavesinde gözlenen daha yüksek anormallik oranları ile aksi yöndedir. Bu farklılığın katılan bal oranı,

hayvan türü ve saklama çeşidi gibi faktörlerden kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Hafez 2000, El-Nattat ve ark. 2016).

El-Nattat ve ark. (2016) bufalo ırkı boğalarda Tris sulandırıcısına farklı oranlarda bal ilavesini araştırdıkları çalışmalarında anormal spermatozoon oranını çözündürme sonrası en düşük olarak ( $9.46\pm 0.54$ ) kontrol grubunda, en yüksek oranı ise % 4 bal grubunda ( $34.22\pm 3.73$ ) bildirmişlerdir. Bu değerler arasında yer alan % 1, % 2, % 3 ve % 5 bal ilaveli gruplarda ise farklılık bulunmamıştır. Bildirilen sonuçlar mevcut çalışmada Tris kontrol grubunda belirtilen düşük anormal spermatozoon oranı ile paralellik göstermektedir.

El-Sheshtawy ve ark. (2014) boğalarda Tris sperma sulandırıcısına farklı oranlarda bal ilavesi (% 1, % 2, % 3, % 4, % 5) yaptıkları çalışmada, dondurma çözündürme sonrası anormal spermatozoon oranını en yüksek kontrol grubunda, en düşük olarak % 1 bal grubunda bildirmişlerdir. Mevcut tez çalışmasında ise Tris kontrol grubunda 36. saate kadar % 1 bal ilaveli gruptan belirgin şekilde daha düşük anormal spermatozoon oranı gösterdi. Sonuçların farklı çıkmasında hayvan türünün farklı olması etkili olmuş olabilir (Hafez 2000).

Yimer ve ark. (2015) boğa spermasında % 20 yumurta sarısı içeren Tris sulandırıcısına % 2.5, % 5 ve % 10 bal ilavesi yapmışlar ve bunu Bioxcell sulandırıcısı ile karşılaştırmışlardır. 5 °C'de 3 saat saklama sonrası en yüksek normal spermatozoon oranı Bioxcell sulandırıcısında ( $83.9\pm 1.7$ ) bulunmuş olup % 2.5 bal ilaveli Tris sulandırıcısı ( $81.9\pm 1.4$ ) ile arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Mevcut tez çalışmasında 0. saatte yapılan değerlendirmede en düşük anormal spermatozoon oranı kontrol grubunda bildirilmiş, bu değer % 1 bal ilaveli gruptan belirgin daha düşük bulunurken, diğer bal oranları kontrole benzer bulunmuştur. Bu sonuçlar en düşük bal oranında (% 2.5) tris kontrol grubundan daha yüksek sperma kalitesi bulunması ile sonuçlarımızla zıtlık göstermektedir. Kullanılan hayvan türü, sulandırıcının yumurta sarısı oranı sonuç farklılıklarında etkili olmuş olabilir (Hafez 2000, Cabrera ve ark. 2005, Santiago-Moreno ve ark. 2009).

Gruplar arası anormal spermatozoon oranı bakımından yapılan çalışmada farklılık bulunamadı. Kulaksız ve ark. (2012) Akkaraman koç spermasını Tris, yağsız süt tozu ve sodyum sitrat sulandırıcısı ve Bioxcell kullanılarak sulandırmışlar ve 4 °C'de kısa süreli saklamışlar, 24. saatte anormal spermatozoon oranı bakımından yağsız süt tozu, Tris ve

sodyum sitrat sulandırıcı grupları arasında fark önemli bulunmuştur. Sulandırma sonrası Tris sulandırıcısında  $10.2 \pm 0.3$  anormal spermatozoon oranı; süt tozu sulandırıcısında  $8.5 \pm 0.2$  anormal belirlenmiştir. 24 saat sonra yapılan muayenelerde, süt tozu sulandırıcısında  $18.7 \pm 0.2$  anormal spermatozoon ve Tris sulandırıcı grubunda  $26.5 \pm 0.4$  anormal spermatozoon oranı bildirmişlerdir. 48 saat sonrasında Tris sulandırıcısında  $37.3 \pm 0.3$  anormal oranı, süt sulandırıcısında ise  $45.5 \pm 0.6$  anormal spermatozoon bulunmuştur. Bildirilen sonuçlar 24. saatte gruplararası farkın önemli olması yönüyle ve sulandırma sonrasında ve 24. saatte bildirilen Tris sulandırıcısının anormal spermatozoon oranının daha yüksek olması ile çalışmamız ile uyumsuz iken 48. saatte süt sulandırıcısının daha yüksek anormal spermatozoon ihtiva etmesi ile benzerdir.

Araştırmada sulandırma sonrası ölü spermatozoon oranları değerlendirmesinde, Dare ve ark. (2013) ratlarda yaptıkları çalışmada kronik bal tüketiminin ölü spermatozoon sayısını artırdığını bildirmişlerdir. Bu sonuç çalışmamızda kontrol gruplarında daha düşük ölü spermatozoon oranı ile benzer niteliklere sahiptir.

Aquino ve ark. (2014) Anglo Nubin tekelerinde Tris sulandırıcısıyla  $5^{\circ}\text{C}$ 'de kısa süreli saklamada canlılık değerlerini 0. saatte % 73.32, 48. saatte % 58.96, 96. saatte % 36.52 olarak bildirilmiştir. Araştırmamızda 0. ve 48. saatlerde elde edilen canlılık oranları ile benzer, 96. saatte bildirilen değerden ise daha düşük bulunmuştur.

Jerez-Ebensperger ve ark. (2015)'nin koç spermasında pastörize yumurta sarısı ve biberiye balının etkisini inceledikleri çalışmalarında, % 5 bal ilavesi yapılan grupta çözündürme sonrası ölü spermatozoon oranı daha yüksek, diğer gruplar arasında farklılığın olmadığını bildirmektedirler. Kontrol grubunda en yüksek canlılık olması ve % 5 bal ilavesinde en yüksek ölü spermatozoon oranının gözlenmesi, çalışmada elde edilen bulgularımızla paralellik göstermektedir.

El-Sheshtawy ve ark. (2014) boğalarda Tris sperma sulandırıcısına farklı oranlarda bal ilavesi (% 1, % 2, % 3, % 4, % 5) yaptıkları çalışmada, dondurma çözündürme sonrası canlılık oranını en yüksek % 5 bal grubunda saptarken, en düşük kontrol grubunda bildirmişlerdir. Bu sonuçlar, çalışmamızda kontrol grubunda en düşük ölü spermatozoon oranı bulunması ve % 5 bal ilaveli grupta en yüksek ölü spermatozoon bulunması yönü ile farklılık arz etmektedir. Hayvan türü, saklama süresi gibi farklılıklar sonuçlara etki edebilmektedir (Hafez 2000).



Akandi ve ark. (2015) sodyum sitrat ve bikorbonat içerikli sulandırıcıyla sulandırdıkları domuz spermasının saklanmasında oda sıcaklığında 24 saat süresince sakladıkları spermaya % 1.0, % 1.5, ve % 2.0 bal ilavesi yapmışlar ve bal gruplarında canlılık oranını en yüksek olarak bildirmişlerdir. El-Sheshtawy ve ark. (2016)'nın Arap atlarında yaptıkları INRA-82 sulandırıcısına farklı konsantrasyonlarda (% 1, % 2, % 3, % 4 ve % 5) bal ilavesinin çözdürme sonrası sperma kalitesine etkisini inceledikleri çalışmalarında canlılık oranını; kontrole kıyasla % 2, % 3, % 4 bal ilavesi yapılan gruplarda önemli derecede daha yüksek bildirmişlerdir. % 1 ve % 5 bal ilaveli gruplar ile kontrol arasında fark önemsiz bulunmuştur. Sonuç olarak ölü spermatozoon oranı en düşük olarak % 2, % 3 ve % 4 bal gruplarında bildirilmiştir. Bildirilen bu sonuçlar çalışma gruplarımızda elde edilen ölü spermatozoon oranları ile farklılık göstermektedir. Hayvan türlerinin farklı olması, sulandırıcı kompozisyonu, bal oranları, saklama süresi ve sıcaklığındaki farklılıklar sonuçlara etkili olabilmektedir (Jerez-Ebensperger ve ark. 2015, El-Nattat ve ark. 2016).

Olayemi ve ark. (2011)'nin Batı Afrika Dwarf keçilerinde yumurta sarısı ve sodyum sitrat sulandırıcısına % 5, % 10 ve % 20 oranında bal ilavesini ve farklı oranlarda yumurta sarısı etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında, spermayı 5 °C'de 6 saat süreli saklamışlar ve 2 saat aralıklarla değerlendirmişlerdir. Çalışma grupları olarak kontrol grubu 20 ml yumurta sarısı+80 ml sodyum sitrat sulandırıcısı olarak belirlenmiştir. Diğer gruplar ise sırasıyla 5 ml bal+15 ml yumurta sarısı+80 ml sodyum sitrat, 10 ml bal+10 ml yumurta sarısı+ 80 ml sodyum sitrat, 20 ml bal+80 ml sodyum sitrat olarak belirlenmiştir. % 5 bal ilavesinin sperma parametrelerine etkisi en iyi bulunmuştur. Canlılık 0. saatte kontrol grubunda 95.0±0.00, % 5 bal grubunda 98.0±0.00 ve % 10 bal grubunda 22.5±2.50 iken en yüksek bal oranı (% 20) grubunda canlı spermatozoon kalmamıştır. 2. saat değerlendirmesinde canlılık kontrol grubunda 90.0±0.00, % 5 bal grubunda 95.0±0.00 ve % 10 bal grubunda 10.0±0.00 olarak, 4. saat değerlendirmesinde canlılık kontrol grubunda 82.5±2.50, % 5 bal grubunda 90.0±0.00 ve % 10 bal grubunda canlılık sonlanmıştır. 6. saat değerlendirmesinde kontrol grubunda 80.0±0.00, % 5 bal grubunda 87.5±0.00 canlılık bildirilmiştir. Kısa süreli saklamada doza bağımlı olarak bal ilavesinin yüksek konsantrasyonları canlılığa negatif etkili bulunmuştur. En yüksek bal oranında ölü spermatozoon oranının yüksek olması bulgularımızla benzer olmasına rağmen, % 5 bal ilavesinin yapıldığı grupta kontrol grubundan daha yüksek canlılık bildirilmesi yönü ile bulgularımızla uyumsuzdur. Teke ırkı farklılığı, coğrafi konum, yaş, beslenme, farklı bir

sulandırıcının kullanılması ve değerlendirmenin 6 saat ile sınırlı tutulması gibi faktörler sonuçların farklı bulunmasında etkili olabilmektedir (Karagiannidis ve ark. 1999, Hafez 2000, Jerez-Ebensperger ve ark. 2015).

Yimer ve ark. (2015) boğa spermasında yaptıkları çalışmada % 20 yumurta sarısı içeren Tris sulandırıcısına % 2.5, % 5 ve % 10 bal ilavesi etkisi ile Bioxcell sulandırıcısını kıyaslamışlar, 5 °C'de 3 saat sonrasında yapılan değerlendirmede canlılık önemli oranda en düşük % 10 bal grubunda bildirilmiştir. En yüksek canlılık Bioxcell grubunda iken Tris kontrol ve % 2.5 bal ilaveli grup ile arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. Bu sonuçlar çalışmamızın bulgularına göre en yüksek bal oranında ölü spermatozoon sayısının en yüksek olması yönüyle paralellik göstermektedir.

Eswaramohan ve ark. (2013) Saanen ve Jamunapari tekelerinde 5-9 °C sıcaklığında sodyum sitrat sulandırıcısıyla sulandırıp kısa süreli sakladıkları spermada canlılığı 0, 24, 48 ve 72. saatlerde sırasıyla Saanen tekeleri için 93.02±0.69, 86.18±0.62, 80.96±0.75 ve 76.64±0.53 olarak bildirmişlerdir. Jamunapari tekelerinden ise spermada canlılığı 0, 24, 48 ve 72. saatlerde sırasıyla 91.13±0.26, 87.74±0.22, 91.91±0.22 ve 77.57±0.24 olarak bildirmişlerdir. Bildirilen bu değerler, çalışmamızda elde edilen değerlerden her iki sulandırıcı grubu içinde daha yüksek bulunmuştur. Teke ırkı, sulandırıcı özellikleri, mevsim, besleme, yaş gibi faktörlerin sonuçların farklı çıkmasında etkili olabileceği düşünülmüştür (Kridli ve ark. 2007, Jerez-Ebensperger ve ark. 2015).

Fakhrildin ve Rana (2013) insanda hazır dondurma medyumuna (Ferti-Pro) % 5 ve % 10 bal ilavesinin etkisini inceledikleri çalışmalarında dondurma çözündürme sonrasında ölü spermatozoon oranını en yüksek kontrol grubunda (65.50±9.64) bildirmişlerdir, sırasıyla % 5 bal ilaveli grubun ölü spermatozoon oranını 61.67±7.87 ve % 10 bal ilaveli grupta ise 47.18±2.39 değeri ile % 10 bal ilaveli grupta en düşük ölü spermatozoon oranı bildirilmiştir. % 10 bal ilavesinin çözündürme sonrası sperm kalitesini artırdığı sonucuna varılmıştır. Bulunan sonuçlar çalışmamızdaki iki sulandırıcı grubu içinde kontrol gruplarında daha düşük ölü spermatozoon oranı bulunması yönü ve en yüksek bal ilavesinde en yüksek ölü spermatozoon bulgularımızla farklılık göstermektedir. Bu farklılıkta öncelikle hayvan türü, saklama ve sulandırıcı çeşidi etkili olduğu düşünülmektedir (Hafez 2000).

El-Nattat ve ark. (2016) buffalo ırkı boğalarda Tris sulandırıcısına farklı oranlarda balın etkisini inceledikleri çalışmalarında, çözdürme sonrası en yüksek ölü spermatozoon oranını % 1 bal grubunda bildirmişlerdir. Ölü spermatozoon oranı değerlendirmesinde kontrol, % 2 ve % 5 bal grubu aralarındaki fark önemsiz ve en düşük olarak kaydedilmiştir. % 3 ve % 4 bal ilaveli gruplar arasındaki fark önemsiz ve % 1 grubundan daha düşük ölü spermatozoon oranı bildirilmiştir. Kontrol grubunda en düşük ölü spermatozoon sayısı bildirilmesi yönü ile çalışmamız ile paralellik göstermektedir.

Gruplar arası ölü spermatozoon oranları değerlendirmesinde, Rakha ve ark. (2013) Punjab koçlarında 5 °C'de kısa süreli saklamada Tris ve süt grubunda sperma örneklerinde 24. saatte canlılık değerleri iki grup için benzer bulunmuştur. 48. saatte ve 72. saatte Tris grubunda yüksek bulunmuştur. Bildirilen sonuçlar yapılan çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Naim ve ark. (2014) boğa spermasının dondurulmasında % 2.5 oranında bal ilaveli Tris sulandırıcısı ile ticari Bioxcell sulandırıcısını karşılaştırdıkları çalışmalarında çözdürme sonrası spermatozoon canlılığında gruplar arası önemli bir farklılık bulmamışlardır. Tris sulandırıcısındaki canlılık oranının daha yüksek oluşu çalışmamız bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Araştırmada gruplar arası yaşam süreleri karşılaştırıldığında Tris sulandırıcısı gruplarında elde edilen ortalama değer daha yüksek olmakla birlikte, Tris ve süt sulandırıcıları arasında fark istatistiki olarak önemsiz bulundu. Roca ve ark. (1997) Murciano-Granadina tekelerinde yaptıkları çalışmada 96. saate kadar Tris sulandırıcısını süt sulandırıcısından daha üstün bulmuşlardır. Aynı şekilde Chauhan ve Anand (1990) Jamunapari tekelerinde ve Azawı ve ark. (1993) Şami tekelerinde yaptıkları çalışmada Tris bazlı sulandırıcılar ile sulandırılan spermanın düşük sıcaklıklarda saklanması sütte kıyasla daha uygun olduğunu bildirmişlerdir. Paulenz ve ark. (2001) koçlarda yaptıkları çalışmada Tris sulandırıcı grubunda motilitenin daha uzun sürdüğünü bildirmişlerdir. Bildirilen sonuçlar araştırma bulgularımızla uyumludur. Lopez-Saez ve ark. (2000) ve Kulaksız ve ark. (2011) süt sulandırıcısının Tris sulandırıcısında kıyasla daha ideal bir sulandırıcı olduğunu bildirmişlerdir.

Kulaksız ve ark. (2012) Akkaraman koç spermasını Tris, yağsız süt tozu, sodyum sitrat sulandırıcısı ve Bioxcell kullanılarak sulandırmış ve 4 °C'de kısa süreli saklamışlar, yağsız

süt tozu sulandırıcısının sperm motilitesi bakımından diğer sulandırıcılardan daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Bu sonuçlar çalışma bulgularımızın aksi yönündedir. Hayvan türü seminal plazma içerik farklılıkları, Tris sulandırıcısına % 20 yumurta sarısı ilave edilmesi ve şeker olarak glukoz kullanılması, yağsız süt yerine süt tozu kullanılması ve çalışmaların sezon dışında yapılması sonuçların farklılığında etkili olabilir (Cabrera ve ark. 2005, Kridli ve ark. 2007).

O'Hara ve ark. (2010) koçlarda yaptıkları çalışmada 5 °C'de 72 saate kadar süt sulandırıcısında motilite devam ettiğini bildirmişlerdir. Bildirilen sonuç bizim çalışmamızla uyumlu olup çalışmamızda motilite devamlılığının süt sulandırıcısında 108. saate kadar devam etmiştir. Ferdinand ve ark. (2012) Dwarf tekelerinde yaptıkları çalışmada süt sulandırıcısında 60 saat, Tris sulandırıcısında ise 105 saat yaşam süresi bildirmişlerdir. Tris temelli sulandırıcıların teke spermasının kısa süreli saklanması yağsız süt sulandırıcısından daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Bildirilen bulgular bizim çalışmamızdaki Tris sulandırıcısı gruplarında elde edilen  $88.33 \pm 3.92$  ortalama değeri ile süt sulandırıcısı gruplarında elde edilen ortalama değer olan  $79.67 \pm 3.65$  ile paralellik arz ederken süt sulandırıcı grubunda bulduğumuz yaşam süresi belirtilen araştırmacılar daha uzun, Tris sulandırıcı grubumuzda ise daha kısadır. Çalışmamızdaki yaşam süreleri Hafez (1987), Baldassarre ve Karatzas'ın (2004) yaptıkları çalışmalarla uyumludur.

Eppleston ve ark. (1994) teke spermasında 5 °C'de Tris sulandırıcısında 192 saate kadar yaşam ömrü bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada Tris sulandırıcısında yaşam ömrü bu araştırmacıların çalışmalarında bildirdikleri sonuçtan oldukça kısa bulunmuştur. Sulandırıcı bileşimindeki farklılıklar ayrıca çalışmamızda katılan balın spermatolojik parametrelere negatif etkisi neticesinde Tris grubundaki ortalamaı düşürmesi bu sonucun alınmasında etkili olmuş olabilir.

Palomino ve ark. (2001) teke spermasını 4 °C'de sakladıkları süt sulandırıcısında 72 saat süresince spermatolojik parametreleri, Tris sulandırıcısında daha iyi bulmuşlardır. Bu sonuç Tris sulandırıcısında belirttiğimiz yaşam süresinin daha uzun olması durumuyla paralellik göstermektedir. Dorado ve ark. (2007) Florida teke spermasını Tris sulandırıcısı ve yağsız süt sulandırıcısı ile sulandırıp dondurdukları çalışmalarında, Tris sulandırıcısında süte kıyasla daha iyi sperma kalitesi bildirmişlerdir. Bildirilen bu sonuçlar çalışma bulgularımızla uyumludur.

## 6. SONUÇ

Tekelerde spermanın kısa süreli saklanması farklı oranlarda bal ilavesinin etkilerini incelemek amacıyla yapılan tez çalışmasında; her iki sulandırıcı grubunda da kontrol gruplarının bal ilaveli gruplardan motilite, HOS test değerleri, ölü canlı spermatozoon oranı bakımından daha iyi olduğu görülmüştür. Anormal spermatozoon oranı bakımından Tris sulandırıcısına bal ilavesi tavsiye edilmezken, süt sulandırıcısına yapılan bal ilavelerinde gruplar arasında farklılık saptanmadı. Grup içinde motilite, HOS test, anormal ve ölü canlı spermatozoon bakımından yapılan değerlendirmelerde bal ilave oranı arttıkça sperma kalitesinin düştüğü saptandı. Gruplar arası değerlendirmelerde Tris sulandırıcı grupları bal ilavesine bakılmaksızın süt sulandırıcı gruplarından daha üstün bulundu. Halep tekelerinde spermanın + 4-6 °C de kısa süreli saklanması, Tris ve süt temelli sulandırıcılara % 1, 2.5 ve 5 oranlarında bal ilavelerinin herhangi bir alternatif üretmediği kanaatine varılmıştır.

## 7. KAYNAKLAR

1. **Abdul-Ghani AS, Dabdoub N, Muhammad R, Abdul-Ghani R ve Qazzaz M.** Effect of Palestinian honey on spermatogenesis in rats. *Journal of Medicinal Food*, **2008**, 11: 799-802.
2. **Aboagla EM, Terada T.** Trehalose enhanced fluidity of the goat sperm membrane and its protection during freezing. *Biology of Reproduction*, **2003**, 69(4):1245-1250.
3. **Aguiar GV, Van Tilburg MF, Catunda AGV, Celes CKS, Lima ICS ve ark.** Sperm parameters and biochemical components of goat seminal plasma in the rainy and dry seasons in the Brazilian Northeast: the season's influence on the cooling of semen. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, **2013**, 65(1): 6-12.
4. **Akandi A, Ugwu SO, Machebe NS.** Survivability of boar sperm stored under room temperature in extenders containing some natural products. *Dove Med Press Ltd*, **2015**, 7: 57-64.
5. **Akkuş İ.** Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza yayınları, Kuzucular ofset, Konya, **1995**.
6. **Al-Ghalban Ahmed M, Tabbaa Mohammad J, Kırıklı Rami T.** Factors affecting semen characteristics and scrotal circumference in Damascus bucks. *Small Ruminant Research*, **2004**, 53(1): 141-149.
7. **Aljady AM, Kamaruddin MY, Jamal AM ve Mohd Yassin MY.** Biochemical study on the efficacy of Malaysian honey in infected wounds: An animal model. *Med. J. Islam. Acad. Sci*, **2000**, 13(3): 125-132.
8. **Alvarez JG, Storey BT.** Taurine, hypotaurine, epinephrine and albumin inhibit lipid peroxidation in rabbit spermatozoa and protect against loss of motility. *Biol. Reprod*, **1983**, 29 (3): 548-555
9. **Aquino FP, Vergara KG, Ocampo LC.** Viability of Extended Goat Semen Stored at Refrigerated Condition. *Journal of Agricultural Science and Technology*, **2014**, 4(2): 169-176.
10. **Arı UÇ.** Yıkanmış Ankara teke spermasının boğa ve koç seminal plazması eklenmiş sulandırıcıyla dondurulması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2006**.
11. **Arthur GH, Noakes DE, Pearson H, Parkinson TJ.** Veterinary Reproduction and Obstetrics, **1996**, 621-654.
12. **Asiyah HA, Syazana NS, Hashida NH, Durriyyah S, Kamaruddin MY.** Effects of nicotine and Gelam honey on testis parameters and sperm qualities of juvenile rats. *Sci. Res. And Essays*, **2011**, 6(26): 5471-5474.
13. **Aytuğ CN, Yalçın BC, Alaçam E, Türker H, Özkoç Ü, Gökçen H.** Koyun-Keçi Hastalıkları ve Yetiştiriciliği. 2. baskı, Tüm Vet Hayvancılık Hizmetleri Yayını, İstanbul, **1990**, 450-468.
14. **Azawı OI, Al-Dahash SYA, Juma FT.** Effect of different diluents on Shami goat semen. *Small Ruminant Research*, **1993**, 9(4): 347-352.
15. **Azevedo DMMR, Tomioli R.** Seminal characteristics of Maroto bucks in the Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Ciencia Veterinaria*, **2005**, 12: 127-130.
16. **Baldassarre H, Karatzas CN.** Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Animal Reproduction Science*, **2004**, 82: 255-266.
17. **Balogh GT, Illes J, Szekely Z, Forrai E, Gere A.** Effect of different metal ions on the oxidative damage and antioxidant capacity of hyaluronic acid. *Arch. Biochem. Biophys*, **2003**, 410: 76-82.
18. **Barıtcı İ, Adıgüzel C.** Halep (Damascus, Şam) Keçisi Yetiştiriciliği. *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **2017**, 6(1): 39-42.
19. **Barna J, Ashizawa K, Boldizsar H, Inoue M.** Effects of taurine on the motility and intracellular free Ca<sup>2+</sup> concentration of fowl spermatozoa in vitro. *Journal of reproduction and fertility*, **1998**, 114(2): 225-229.
20. **Baumber J, Ball BA, Gravance CG, Medina V, Davies-Morel MC.** The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential, and membrane lipid peroxidation. *Journal of andrology*, **2000**, 21(6): 895-902.
21. **Bayraktar E, Uysal O.** Teke spermasının dondurulmasında sukrozun etkisi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2011**.
22. **Bera TK, Singh SV.** Relationship between physical and biochemical constituents of crossbred buck semen. *Indian Journal of Animal Sciences*, **1999**, 69: 235-236.
23. **Bilodeau JF, Blanchette S, Gagnon C, Sirard MA.** Thiols prevent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-mediated loss of sperm motility in cryopreserved bull semen. *Theriogenology*, **2001**, 56(2): 275-286.

24. **Bon Durant RH.** Reproduction in the Dairy Goat. A Syllabus Department of Reproduction, School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, **1979**.
25. **Bucak MN.** Ankara Tekesi Spermasının Dondurulmasında Bazı Kriyoprotektanların Etkisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2007**.
26. **Burton G, Traber M.** Antioxidant actions of caretenoids. *J. Nutr*, **1989**, 119:109-11.
27. **Cabrera F, Gonzalez F, Batista M, Calero P, Medrano A ve ark.** The effect of removal of seminal plasma, egg yolk level and season on sperm freezability of canary buck (*Capra hircus*). *Reproduction in domestic animals*, **2005**, 40(3), 191-195.
28. **Carlberg I, Mannervik B.** Glutathione reductase assay. *Methods in Enzymol.* Academic Press, Orlando FL. **1985**, 113, 484-495.
29. **Chauhan MS, Anand SR.** Effect of egg yolk lipids on the freezing of goat semen. *Theriogenology*, **1990**, 34(5): 1003-1013.
30. **Choe CY, Kim JG, Cho SR, Son DS, Kim YK, Balasubramanian S, Choe SY, Rho GJ.** Influence of seasons, extenders, slow and rapid freezing on seminal characters in Korea native bucks. *Reprod. Dom. Anim*, **2006**, 41: 55-60.
31. **Corteel JM, Baril G, Leboeuf B.** Residual seasonal variations in fertility in selected deep-frozen ejaculates of European dairy male goats, 9th Int. Congr. Anim. Reprod, AI. Madrid, **1980**, 422-425.
32. **Corteel JM, Leboeuf B ve Baril G.** Artificial breeding of adult goats and kids induced with hormones to ovulate outside the breeding season. *Small Ruminant Res*, **1988**, 1(1): 19-35.
33. **Çoyan K.** Evcil Hayvanlarda Dölerme ve Suni Tohumlama. SÜ. Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya, **2002**.
34. **Daniel WW.** Analysis of Variance. Bioistatistic: A foundation for Analysis in the Healt Sciences. *WHO*, **1991**, 274-320.
35. **Dare WN, Igbigbi PS, Avwioro OG.** The effects of Choronic Honey Intake on Sperm Parameters and Fertility Potential in Adult Male Wistar Rats. *World Applied Sci. Jour*, **2013**, 22(5): 657-661.
36. **Dellal G, Ertuğrul M, Tekel N, Pehlivan E.** Türkiye’de dağlık ormanlık alanlarda keçi yetiştiriciliği mevcut durum ve gelecek. Ulusal Keçicilik Kongresi Bildiriler Kitabı, Çanakkale, **2010**, 42-59.
37. **Devendra C, Burns M.** Goat Production in The Tropics. Chapter 6, Commonwealth Agricultural Bureaux, London, **1983**.
38. **Dorado J, Rodriguez I, Hidalgo M.** Cryopreservation of goat spermatozoa: comparison of two freezing extenders based on post-thaw sperm quality and fertility rates after artificial insemination. *Theriogenology*, **2007**, 68: 168-177.
39. **El-Nattat WS, El-Sheshtawy RI, El-Batawy KA, Shahba MI, El-Seadawy IE.** Preservability of buffalo bull semen in Tris-citrate extender enriched with bee’s honey. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, **2016**, 3(1): 180-185.
40. **El-Sheshtawy RI, El-Badry DA, Gamal A, El-Nattat WS, Almaaty AMA.** Natural honey as a cryoprotectant to improve Arab stallion post-thawing sperm parameters. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, **2016**, 5(4): 331-334.
41. **El-Sheshtawy RI, El-Nattat WS, Sabra HA, Ali AH.** Effect of honey solution on semen preservability of local breeds of cattle bulls. *Wld Appl Sci J*, **2014**, 32(10): 2076-2078.
42. **Eppleston J, Pomares CC, Stojanov T, Maxwell WMC.** In vitro and in vivo fertility of liquid stored goat spermatozoa. *Proc. Aust Soc. Reprod. Biol*, **1994**, 26: 111.
43. **Eswaramohan T, Nilani K, Sureka P, Mahadhevan P, Balasubramaniam K.** A study on the effects of chilling period on sperm quality of Sannan and Jamunapari goats. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, **2013**, 4(1): 107-141.
44. **Evans G, Maxwell WMC.** Salamon’s Artificial Insemination of Sheep and Goats. Sidney: Butterworths. **1987**, 8(21): 107-141.
45. **Evans WJ.** Vitamin E, vitamin C, and exercise. *Am J Clin Nutr*, **2000**, 72: 647-52.
46. **Fakhrildin MB, Rana AR.** Honey Supplementation to Semen-Freezing Medium Improves Human Sperm Parameters Post-Thawing. *Jour. of Family and Reproductive Health*, **2013**, 8(1):84-87.
47. **Ferdinand N, Thomas TT, Augustave K, Henry DF, Fernand T, Etienne PT.** Effects of Buck Age, Storage Duration, Storage Temperature and Diluent on Fresh West African Dwarf Buck Semen. *Journal of Reproduction and Infertility*, **2012**, 3(3): 58-66.
48. **Fraser AF.** Farm animal behaviour. Baillere Tindall, London, **1980**.
49. **Frei B.** Reactive oxygen species and antioxidant vitamins mechanisms of action. *Am. J. Med*, **1994**, 97: 5-13.

50. **Frei BR, Stocker L, Englund A, Ames BN.** Ascorbate: the most effective antioxidant in human plasma. *Adv. Expl. Med. Biol*, **1990**, 264: 155-163.
51. **Gill-Sharma MK, Souza S, Parte P, Balasinor N, Choudhuri J, Majramkar DD, Aleem M ve Junera HS.** Effect of oral tamoxifen on semen characteristics and serum hormone profile in male bonnet monkeys. *Contraception*, **2003**, 67: 409-413.
52. **Gordon I.** Controlled reproduction in sheep and goats, 2nd edition, CABI Publishing, **1999**, 351-359.
53. **Gutteridge JM.** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical chemistry*, **1995**, 41(12): 1819-1828.
54. **Gündoğan M.** Short term preservation of ram semen with different extenders. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg*, **2009**, 15: 429- 435.
55. **Hafez ESE.** Reproduction in Farm Animals. Philadelphia, Chapter 5, Semen Evaluation, **1987**.
56. **Hafez ESE.** Reproduction in farm animals, 7th edition, Philadelphia, **2000**.
57. **Halliwell B, Gutteridge JMC.** Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press New York USA. **2000**, 107-208.
58. **Irvine DS.** Glutathione as a treatment for male infertility. *Reviews of Reproduction*, **1996**, 1(1): 6-12.
59. **Ismail SB, Bakar MB, Nik Hussain NH, Norhayati MN, Sulaiman SA ve ark.** Comparison on the effects and safety of Tualang honey and Tribestan in sperm parameters, erectile function, and hormonal profiles among oligospermic males. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2014**, 1-10.
60. **İnanç ME, Uysal O, Gürcan IS.** Farklı Irklardan Tekelerde Başlıca Spermatolojik Parametreler. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **2014**, 2(1): 13-19.
61. **Jerez-Ebensperger RA, Luño V, Olaciregui M, González N, Blas I, Gil L.** Effect of pasteurized egg yolk and rosemary honey supplementation on quality of cryopreserved ram semen. *Small Ruminant Research*, **2015**, 130: 153-156.
62. **Jeyendran RS, Van der Ven HH, Perez-Pelaez M, Crabo BG, Zaneveld LJD.** Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *Journal of reproduction and fertility*, **1984**, 70(1): 219-228.
63. **Jiménez-Rabadán P, Ramón M, García-Álvarez O, Maroto-Morales A, Del Olmo E. ve ark.** Effect of semen collection method (artificial vagina vs. electroejaculation), extender and centrifugation on post-thaw sperm quality of Blanca-Celtibérica buck ejaculates. *Animal reproduction science*, **2012**, 132(1), 88-95.
64. **Karagiannidis A, Varsakeli S, Karatzas G.** Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology*, **1999**, 53(6): 1285-1293.
65. **Karatzas G, Karagiannidis A, Varsakeli S, Brikas P.** Fertility of fresh and frozen-thawed goat semen during the nonbreeding season. *Theriogenology*, **1997**, 48: 1049-1059.
66. **Kaymakçı M, Aşkın Y.** Keçi yetiştiriciliği. Ankara, **1997**.
67. **Keskin M.** Hatay Bölgesinde Yoğun Yetiştirme Koşullarında Şam (Damascus) Keçilerinin Morfolojik Özellikleri ve Performanslarının Saptanması. Doktora Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay, **2000**.
68. **Khalifa TAA, El-Saidy BE.** Pellet-freezing of Damascus goat semen in a chemically defined extender. *Animal reproduction science*, **2006**, 93(3): 303-315.
69. **Khalili B, Farshad A, Zamiri MJ, Rashidi A, Fazeli P.** Effects of sucrose and trehalose on the freezability of Markhoz goat spermatozoa. *Asian-australas J Anim Sci*, **2009**, 22: 1614-1619.
70. **Kim YG, Kim SG, Kwon JW, Park OJ, Kim SK.** Effect of cysteine on amino acid concentration and transsulfuration enzyme activities in rat liver with protein-calorie malnutrition. *Life Sci*, **2003**, 72: 1171-1181.
71. **Klemm S.** Processing semen-quality control. Bovine Artificial Insemination Technical Manual. Ed: P. Penner. 2nd Ed. Reproduction Technology Semex Canada Guelph, Ontario, Canada, **1993**, 59-67.
72. **Koluman DN, Daşkiran İ.** Keçi yetiştiriciliğinin küresel iklim değişimine adaptasyonu ve etkileri azaltmaya yönelik stratejiler. Ulusal Keçicilik Kongresi Bildiriler Kitabı, Çanakkale, **2010**, 60-67.
73. **Kridli RT, Tabbaa MJ, Barakeh FS.** Seasonal variation in scrotal circumference and semen characteristics of Black Bedouin and Black Bedouin-Damascus crossbred bucks. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, **2007**, 20(3), 359.



74. **Kulaksız R, Bucak MN, Akçay E, Sakin F, Daşkın A, Ateşşahin A.** The effects different extenders and myo-inositol on post-thaw quality of ram semen. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg*, **2011**, 17: 217-222.
75. **Kulaksız R, Çebı Ç, Akçay E.** The effect of different extenders on the motility and morphology of ram sperm frozen or stored at 4°C. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **2012**, 36(2): 177-182.
76. **Kulaksız R, Daşkın A.** Teke Spermasının Kısa ve Uzun Süreli Saklanması. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, **2007**, 78(4): 51-56.
77. **Kulaksız R.** Farklı Antioksidanlar Eklenmiş Sulandırıcılarla Dondurulmuş Saanen Teke Spermasının In Vitro Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2009**.
78. **Leboeuf B, Restall B, Salamon S.** Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, **2000**, 62: 113-141.
79. **Leeuw FED, Leeuw AMD, Daas JHG, Colenbrander BV, Erkleij AJ.** Effects of various cryoprotective agents and membrane-stabilizing compounds on bull sperm membrane integrity after cooling and freezing. *Cryobiology*, **1993**, 30(1):32-44.
80. **Lopez-Saez A, Ortiz N, Gallego L, Gadre JJ.** Liquid storage (5°C) of ram semen in different diluents. *Arch. Androl*, **2000**, 44: 155-164.
81. **Mara L, Dattena M, Pilichi S, Sana D, Branca A, Cappai P.** Effect of different diluents on goat semen fertility. *Anim. Rep. Sci*, **2007**, 102: 152-157.
82. **McWilliams RB, Gibbons WE, Leibo SP.** Osmotic and physiological responses of Mouse zygotes and human oocytes to mono- and disaccharides. *Human Reproduction*, **1995**, 10(5):1163-1171.
83. **Memon MA, Bretzlaff KN, Ott RS.** Comparison of semen collection techniques in goats. *Theriogenology*, **1986**, 26, 823-827.
84. **Miyamoto A, Umezu M, Hamano K, Massaki J.** Seasonal changes in inhibin activity in seminal plasma and serum concentrations of FSH, LH and testosterone in male goat (*Capra hircus*). *Theriogenology*, **1987**, 28: 67-76.
85. **Mohamed M, Sirajudeen KNS, Swamy M, Yaacob N, Sulaiman SA.** Studies on the antioxidant properties of Tualang honey of Malaysia. *Afr. J. Trad*, **2010**, 7(1): 59-63.
86. **Mohamed M, Sulaiman SA, Jaafar H, Sirajudeen KNS.** Effect of different doses of Malaysian honey on reproductive parameters in adult male rats. *Andrologia*, **2012**, 44: 182-186.
87. **Muduuli DS, Senford LM, Polmer WM.** Secretory patterns and circadian and seasonal changes in lh, fsh, prolactin and testosterone in male pygmy goat. *J. Animal. Sci*, **1979**, 49: 543-553.
88. **Naim M, Yimer N, Yusoff R, Haron AW.** Addition of 2.5 % honey into tris extender provides a comparable semen cryopreservation result with bioxcel extender. *Veterinary Research*, **2014**, 336.
89. **Naing SW, Wahid H, Azam KM, Rosnina Y, Zuki AB. ve ark.** Effect of sugars on characteristics of Boer goat semen after cryopreservation. *Animal reproduction science*, **2010**, 122(1), 23-28.
90. **Niki E.** Antioxidants in relation to lipid peroxidation. *Chem. Phys. Lip*, **1987**, 44: 227-253.
91. **Nunes JF, Corteel JM, Combarous Y, Baril G.** Role du plasma seminal dans la survie in vitro des spermatozoïdes de bouc. *Reproduction Nutrition Development*, **1982**, 22: 611-620.
92. **O'Hara L, Hanrahan JP, Richardson L, Donovan A, Fair S, Evans ACO, Lonergan P.** Effect of storage duration, storage temperature, and diluent on the viability and fertility of fresh ram sperm. *Theriogenology*, **2010**, 73(4): 541-549.
93. **Okotani Y, Wakatsuki A, Kaneda C.** Melatonin increases activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in fetal rat brain. *J. Pineal. Res*, **2000**, 28: 89-96.
94. **Olayemi, F, Adeniji D, Oyeyemi M.** Evaluation of sperm motility and viability in honey-included egg yolk based extenders. *Global Veterinaria*, **2011**, 7(1): 19-21.
95. **Omotayo OE, Siti AS, Mohd SA.** Honey: A Novel Antioxidant. *Molecules*. **2012**, 17: 4400-4423.
96. **Oyelowo OT, Adekunbi DA, Dada KA.** Protective Role of Nigerian Honey on Sperm indices and Testis in Sucrose-Fed Rats. *Bangladesh Journal of Medical Science*, **2014**, 13(2): 180.
97. **Öğretmen F, İnanan BE.** Evaluation of Cryoprotective Effect Of Turkish Pine Honey on Common Carp (*Cyprinus Carpio*) Spermatozoa. *CryoLetters*, **2014**, 35(5), 427-437.
98. **Özkoca A.** Çiftlik Hayvanlarında Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Ders Notları. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi, İstanbul, **1984**.
99. **Parcell S.** Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Altern Med Rev*, **2002**, 7: 22-24.
100. **Paulenz H, Soltun K, Ådnøy T, Andersen Berg K, Söderquist L.** Effect of different extenders on sperm viability of buck semen stored at room temperature. *Small Rumin. Res*, **2005**, 59: 89-94.

101. **Paulenz H, Söderquist L, Pérez-Pé R, Berg KA.** Effect of different extenders and storage temperatures on sperm viability of liquid ram semen. *Theriogenology*, **2001**, 57(2): 823-836.
102. **Peterson K, Kappen MAPM, Ursem PJF, Nöthling JO, Colenbrander B ve ark.** Microscopic and flow cytometric semen assessment of Dutch AI-bucks: Effect of semen processing procedures and their correlation to fertility. *Theriogenology*, **2007**, 67(4): 863-871.
103. **Poul JL, Sall ND, Soni T.** Lipit peroxidation abnormalites. *Nephron*, **1993**, 64: 106-109.
104. **Purdy PH.** A review on goat sperm cryopreservation. *Small Rum. Res*, **2006**: 63, 215-225.
105. **Rakha BA, Hussain I, Akhter S, Ullah N, Andrabi SM, Ansari MS.** Evaluation of Tris–citric acid, skim milk and sodium citrate extenders for liquid storage of Punjab Urial (*Ovis vignei punjabiensis*) spermatozoa. *Reproductive biology*, **2013**, 13(3): 238-242.
106. **Ramadan TA, Taha TA, Samak MA, Hassan A.** Effectiveness of exposure to longday followed by melatonin treatment on semen characteristics of Damascus male goats during breeding and non-breeding seasons. *Theriogenology*, **2009**, 71(3): 458-468.
107. **Reda ES, Walid EN, Sabra HA, Amal HA.** Effect of Honey Solution on Semen Preservability of Local Breeds of Cattle Bulls. *World Applied Sci. Jour*, **2014**, 32(10): 2076-2078.
108. **Rice D, Kennedy S.** Vitamin E: function and effects of deficiency. *Br. Vet. J*, **1988**, 144: 482-492.
109. **Ritar AJ, Mendoza G, Salamon S, White IG.** Frequent semen collection and sperm reserves of the male Angora goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fert*, **1992**, 95: 97-102.
110. **Roca J, Carrizosa JA, Campos I, Lafuente A, Vazquez JM, Martinez E.** Viability and fertility of unwashed Murciano-Granadina goat spermatozoa diluted in Tris-egg yolk extender and stored at 5°C. *Small Ruminant Research*, **1997**, 25(2): 147-153.
111. **Roy A.** Egg yolk coagulating enzyme in the semen and Cowper’s gland of the goat. *Nature*, **1957**, 179: 318-319.
112. **Salamon S, Maxwell WMC.** Storage of ram semen. *Animal reproduction science*, **2000**, 62(1): 77-111.
113. **Salamon S, Visser D.** Effect of composition of Tris-based diluents and thawing solution on survival of ram spermatozoa frozen by the pellet method. *Aust. J. Biol. Sci.* **1972**, 25, 605.
114. **Salman TM, Alagbonsi IA, Olayaki LA, Biliaminu SA, Salahdeen HM ve ark.** Honey increases sperm count in male albino rats by enhancing testosterone production. *Biokemistri*, **2013**, 25(2): 39-44.
115. **Salvador I, Viudes-de-Castro MP, Yaniz J, Gomez EA, Silvestre MA.** Effect of different extenders and washing of seminal plasma on buck semen storage at 5°C. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **2007**, 6(2): 272-277.
116. **Santiago-Moreno J, Coloma MA, Dorado J, Pulido-Pastor A, Gómez-Guillamon F ve ark.** Cryopreservation of Spanish ibex (*Capra pyrenaica*) sperm obtained by electroejaculation outside the rutting season. *Theriogenology*, **2009**, 71(8), 1253-1260.
117. **Sevinç, A.** Dölerme ve Suni Tohumlama. Ankara Üniversitesi Basımevi, **1979**, (2): 65-70.
118. **Shamsuddin M, Amrı Y, Bhuiyan MMU.** Characteristics of buck semen with regard to ejaculate numbers, collection intervals, diluents and preservation periods. *Reproduction Domestic Animals*, **2000**, 35: 53-57.
119. **Soylu MK, Nur Z, Ustuner B, Dogan I, Sagirkaya H, Gunay U, Ak K.** Effects of various cryoprotective agents and extender osmolality on post-thawed ram semen. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, **2007**, 51: 241-246.
120. **Sönmez M.** Reprodüksiyon Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları. Fırat Üniversitesi, Elazığ, **2013**.
121. **Suzuki YJ, Masahiko T, Lester P.** Thiocetic acid and dihydrolipoic acid are novel antioxidants which interact with reactive oxygen species. *Free radical research communications*, **1991**, 15(5): 255-263.
122. **Syazana NS, Hashida NH, Majid AM, Duriyyah HA, Kamaruddin MY.** Effects of Gelam Honey on Sperm Quality and Testis of Rat. *Sains Malaysiana*, **2011**, 40(11): 1243-1246.
123. **Şen ÇÇ, Tekin K, Akçay E.** Effect of Egg Yolk and Removal of Seminal Fluid on Semen Cryopreservation in Norduz Goat. *Harran Üniv Vet Fak Derg*, **2015**, 4(2): 64-67.
124. **Taylor CT.** Antioxidants and reactive oxygen species in human infertility. *Environ. Toxicol. Pharmacol*, **2001**, 10: 189-198.
125. **Tekin K, Daşkın A.** Effect of different extenders on motility and some sperm kinematics parameters in Norduz goat semen. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **2016**, 40(4): 490-495.

126. **Tekin N, Muyan M.** Keçilerde Başlıca Dölerme Özellikleri. *Doğa Bilim Derg*, **1985**, 9(2): 208-219.
127. **Tekin N, Yurdaydın N, Daşkın A.** Ankara keçilerinden değişik yöntemlerle sperma alınması ve değerlendirilmesi. *AÜ Vet Fak Derg*, **1996**, 43: 397-403.
128. **Tekin N.** Erkek Üreme Organlarının Muayenesi. In: *Theriogenoloji*, Nurol Matbacılık A.Ş., Ankara, **1990**, 53-70.
129. **Tekin N.** Spermanın Muayenesi ve Değerlendirilmesi. In: *Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama, Doğum ve İnfertilite*, Dizgievi, Konya, **1994**, 69-79.
130. **Toyin MS, Isıaka AA, Lukman AO, Sikiru AB, Hussein MS, Olumide AO.** Honey increases sperm count in male albino rats by enhancing testosterone production. *Biochemistry*, **2013**, 25(2): 39-44.
131. **Tüik**, Hayvansal Üretim İstatistikleri 2016, Erişim: <http://www.tuik.gov.tr> **10.02.2017**.
132. **Türk G, Sönmez M, Şimsek UG.** Kıl keçisi tekeleri ve SaanenxKıl keçisi (F1) melezi tekelerinin bazı üreme özelliklerinin karşılaştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, **2005**, 19: 87-92.
133. **Ulusoy E.** Bal ve Apiterapi. *U. Arı Drg*, **2012**, 12(3): 89-97.
134. **Üstüner B, Günay Ü.** Teke Spermasının Saklanması ve Suni Tohumlama. *Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med*, **2009**, 28(1): 53-58.
135. **Wahjuningsih S, Hermanto N, Budiarto A, Bhintoro P.** Effect of Sperm Concentration and Length of Storage. *World Academy of Science, Engineering and Technology International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, **2012**, 6: 6.
136. **Walkden-Brown SW, Restall BJ, Taylor WA.** Testicular and epididymal sperm content in grazing cashmere bucks seasonal variation and prediction from measurements in vivo. *Reprod. Fertil. Dev*, **1994**, 6: 727-736.
137. **Wefers H, Sies H.** The protection by ascorbate and glutathione against microsomal lipid peroxidation is dependent on vitamin E. *Eur. J. Biochem*, **1988**, 174: 353-357.
138. **Xu CL, Zhou JB, Zhao BT, Lan GC, Luo MJ ve ark.** Liquid storage of goat semen in chemically defined extenders. *Reproduction in domestic animals*, **2009**, 44(5): 771-778.
139. **Yıldız C, Kaya A, Aksoy M, Tekeli T.** Influence of sugar supplementation of the extender on motility, viability and acrosomal integrity of dog spermatozoa during freezing. *Theriogenology*, **2000**, 54 (4), 579-585.
140. **Yimer N, Muhammad N, Sarsaifi K, Rosnina Y, Wahid H ve ark.** Effect of honey supplementation into Tris Extender on Cryopreservation of Bull Spermatozoa. *Malaysian Journal of Animal Science*, **2015**, 18(2): 47-54.
141. **Youngquist RS.** Current therapy in large animal theriogenology. Philadelphia, **1997**, 1: 481-499.

## ÖZGEÇMİŞ

Coşkun Çetin 05.10.1988 yılında Diyarbakır'da doğdu. İlkokulu İskenderun Mithat Paşa İlköğretim Okulu'nda okudu. Orta öğrenimini İskenderun Doktor Gani Bahadırlı İlköğretimokulu'nda, lise öğreniminde üç yıl süreli İskenderun Demir Çelik Anadolu Lisesi'nde okudu ve son yılını Mersin Adnan Özçelik Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2006 yılında kazandığı Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nden 2011 yılında mezun oldu. 2012-2013 tarihleri arasında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalıştı. 2014 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı'nda açılan bilim Araştırma Görevlisi sınavını kazandı. Aynı yıl Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Coşkun Çetin 2015 yılında Doğum Jinekoloji ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı'nda doktora başladı ve halen doktora eğitimini sürdürmektedir.