



The Investigation of the Effects Different Seminal Plasma Heating Processes on Short Term Storage of the Akkaraman Kangal Ram Sperm

Salih Narlıçay^{a,*}, Barış Atalay Uslu^b

Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, Türkiye

*Corresponding author

Research Article

Acknowledgment

This study is a part of master's Thesis.

History

Received: 11/05/2022

Accepted: 11/06/2022

ABSTRACT

This research, seminal plasma in sperm was examined to determine the effect on sperm and to evaluate the use of reproductive purposes. For the research, the sperm obtained from 24-36 months of age 8 rams were used. Sperm was collected with the help of an electro-ejaculator out of mating season. The sperm collected were divided into 3 equal volumes after combining. It was kept to process in a 28 °C water bath. The sperm were separated from the seminal plasma by centrifugation and combined with the sperm that is separated from after it was kept in 60 °C and 80 °C for 10 minutes and separated again in 28 °C medium. The untreated control group and 60 °C and 80 °C groups were kept in a 4 °C environment. Motility, live/dead ratio, and sperm abnormalities were recorded in 3 groups that were controlled once every 8 hours. According to the results of the study, when the control group and experimental groups were compared, the group with the longest duration of motility was determined as 80 °C groups. Results of this study prove that, the denaturation of various proteins and enzymes in the seminal plasma of sperm directly proportional to lifetime, abnormalities, and motility.

Keywords: Electro-ejaculator, Motility, Ram, Seminal plasma, Sperm.

Kangal Akkaraman Koçu Spermalarının Seminal Plazmasına Farklı Isı Uygulamalarının Kısa Süreli Saklanması Etkilerinin Araştırılması

Bilgi

Bu çalışma yüksek lisans tezinin bir parçasıdır.

*Sorumlu yazar

Süreç

Geliş: 11/05/2022

Kabul: 11/06/2022

Öz

Bu araştırma, koç spermalarında bulunan seminal plazmanın, spermeler üzerindeki etkisini incelemek ve reproduktif açıdan kullanımını değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. Araştırma için, 24-36 aylık yaşlarda, 8 adet ergin koçtan alınan spermalar kullanılmıştır. Spermalar çiftleşme mevsimi dışında olan koçlardan elektro ejakülatör yardımı ile alınmıştır. Spermalar seminal plazmalarından santrifüj edilerek ayrılıp, 60 °C'lik ve 80 °C'lik 10 dakikalık ısıtma işleminden geçirilmiştir. 60 °C'lik ve 80 °C'lik gruplar ile hiçbir işlem uygulanmayan kontrol gurubu 4 °C'lik ortamda bekletilmeye alınmıştır. Ortalama 8 saatte bir kontrol edilen 3 grupta gözlenen motilite, canlı/ölü oranı ve spermatazoon anormallikleri kaydedilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre, kontrol grubu ve deneme grupları karşılaştırıldığında en uzun süre canlılık ve motilitenin 80 °C'lik grup olduğu belirlenmiştir. Bu sonuca göre spermanın seminal plazmasının içerisinde bulunan çeşitli proteinlerin ve enzimlerin denatürasyonu ile yaşam süresinin, normal spermatazoon oranının ve motilitenin doğru orantılı bir şekilde arttığını kanıtlar niteliktedir.

Anahtar Kelimeler: Elektro ejakülatör, Koç, Motilite, Seminal plazma, Sperma.

Copyright



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License

^a snarlicay@cumhuriyet.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0001-8043-3807>

^a atalayuslu@cumhuriyet.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0003-1866-932X>

How to Cite: Narlıçay S, Uslu BA (2022) The Investigation of the Effects Different Seminal Plasma Heating Processes on Short Term Storage of the Akkaraman Kangal Ram Sperm, *Journal of Health Sciences Institute*, 7(2): 112-117

Giriş

Ülkemizde 2020 yılı verilerine göre 42,7 milyon baş koyun bulunmaktadır (TÜİK Bülten, 2020b). Ülkemizde toplam kırmızı et üretiminin sadece %9,1'ine karşılık gelen koyun etinin payı ise 109,382 ton'dur (TÜİK Bülten, 2020a).

Koyunculukta halk tarafından yıllardır üretimi yapılan düşük verimli yerli ırkların ıslahı için gerekli olan yüksek verimli koçların spermasının dondurularak saklanması büyük önem taşımaktadır. Damızlık bir erkek hayvandan elde edilen sperma ile bir yılda on binlerce dişi tohumlanabilmektedir. Bu şekilde ıslah için kısa sürede çok fazla yol alınır (Ak, 1996).

Günümüzde koç spermasının boğa sperması gibi sıvı azot buharında dondurularak saklanması ve suni tohumlamada kullanılması ile elde edilen başarı oranları boğa spermasındaki başarı oranlarından oldukça uzaktır. Bunun en önemli nedeni koç spermasının donmaya karşı oldukça hassas olmasıdır. Koç spermalarının membran yapısının yüksek oranda doymamış yağ asidi içermesi dondurma-çözdürme süreci içerisinde yüksek oranda ölmesi, düşük ısılarla daha duyarlı olması, tüm bu başarısızlıkların sebebi olarak öne sürülmektedir (Geva ve ark., 1998; Avdatek, 2013).

Bu çalışmada, koç spermasının kısa süreli saklanmasında, eklenti bezi sıvıları içerisindeki kimi enzimlerin etkinliğinin belirlenmesi amacıyla; seminal plazma santrifüj ile spermadan ayrılmış, iki grupta, 60 °C'de ve 80 °C'de 10 dakika bekletilmiş, aynı sıcaklıkta tekrar spermaya eklenmiş ve spermatolojik parametreler incelenmiştir.

Materyal ve Yöntem

Hayvan materyali

Bu araştırmada; Siirt Üniversitesi Veteriner Fakültesi Çiftliğinde bulundurulmuş 24-36 aylık 8 adet koçtan alınan spermalar kullanılmıştır. Koçların bakım ve beslenmesi çiftlikte sorumlu görevliler tarafından gerçekleştirilmiştir. Sperması alınacak koçlar, çiftlikteki koçlar arasından rastgele seçilmiştir.

Kullanılan alet ve malzemeler SÜ. Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı'ndan temin edilmiştir.

Spermanın alınması, muayenesi ve analizi

Koçlardan spermalar Cameron (1977)'un bildirdiği elektro ejakülatör (EE) yöntemi ile alınmıştır. Alınan spermalar gerekli muayenelerin yapılabilmesi için 28 °C'ye ayarlanmış su banyosuna yerleştirildi. Çalışmada, 8 adet koçtan birer ejakulat alındı. Koçlardan sperma alındıktan sonra elde edilen ejakulatların bireysel olarak makroskopik ve mikroskopik muayeneleri yapıldı. Sperma numunelerinin muayenesinde kullanılan bütün cam ve plastik malzemeler önceden sterilize edildi. Daha sonra tüm spermalar birleştirildi (pooling).

Makroskopik muayene

Koçlardan alınan ejakulatlar sperma miktarının belirlenmesi için derecelendirilmiş bir toplama kadehine alındı ve ölçümü yapıldı. Rengine bakıldı. Sperma miktarı mililitre (ml) olarak hesaplandı. Spermanın pH değeri, pH indikatör kâğıdı kullanılarak (pH 5,5–9,0 Merck) belirlendi (Demirci, 2002).

Mikroskopik muayene

Spermatozoon motilitesi

Muayene için ısıtma tablalı faz-kontrast mikroskop kullanıldı. Lam ve lamel ile tüm spermaya temas edecek malzemelerin ısısının 37 °C olmasına dikkat edildi. Isıtılan lam üzerine küçük bir sperma damlası bırakılarak lamel kapatılmıştır ve (Axioscope A1, Zeiss, Almanya) x20 büyütmede en az üç değişik mikroskop sahasında muayene edilerek her alandaki ileri yönde güçlü düzgün doğrusal hareket eden spermatozoonların diğerlerine (duran, titreşen, küçük, büyük daireler çizen) oranı saptandı. Bulunan ortalama değer yüzde (%) olarak kaydedildi (Bearden ve ark., 2004).

Sperma yoğunluğu

Yaptığımız çalışmada sperma yoğunluğu tespitinde fotolometrik yöntem kullanıldı. 40 µl nativ sperma, 3960 µl NaCl solüsyonu ile 1/100 oranında sulandırılarak fotolometreye (IMV-Accucell) yerleştirildi. Elde edilen veri kaydedildi. (Demirci, 2002).

Ölü-canlı spermatozoon oranı

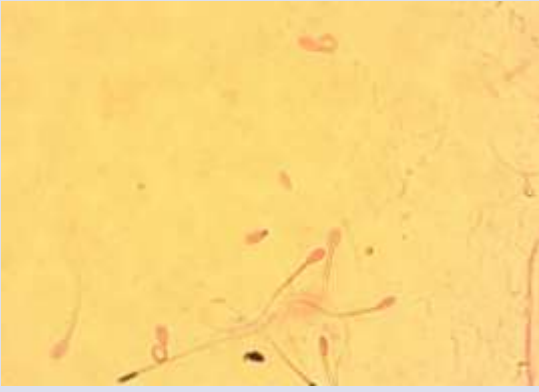
Ölü-canlı spermatozoon oranını belirlemek için % 3'lük Sodyum-sitrat ile hazırlanmış, % 2'lik eosin-nigrosin boyası kullanıldı. Lam üzerine konulan bir damla spermanın yanına birkaç kat büyüklükte eosin-nigrosin boyası kondu, boya ile sperma lamel aracılığı ile karıştırıldı ve hızlıca froti çekildi. Fiksasyon amacı ile hazırlanan frotiler sıcak tablada hızla kurutuldu. Hazırlanan preparatlar mikroskopta x40 büyütmede 400 spermatozoon sayılarak değerlendirildi. Ölü spermatozoon oranı yüzde (%) olarak ifade edildi. Preparatların değerlendirilmesinde baş kısmı boya alan spermatozoonlar ölü, boya almamış spermatozoonlar canlı olarak değerlendirildi (Tekin, 1994).

Anormal spermatozoon oranı

Bu çalışmada sıvı fiksyon yöntemi kullanıldı. Yöntemde ise Hancock solüsyonundan faydalanıldı (Hancock, 1952). Sonuçlar her sperma örneğinde 400 spermatozoon incelenerek belirlendi (Tekin, 1994)(Resim 1).

İstatistiksel değerlendirme

Mikroskopik veriler Microsoft Office Excel programı kullanılarak % olarak hesaplandı.



Resim 1: Grup 2'de 54. saatte sayılan anormal ve normal sperm örneği.

Picture 1: Abnormal and normal sperm sample counted at the 54th hour in Group 2.

Bulgular ve Tartışma

Koçların spermatolojik parametreleri

Sperma miktarları koç başına 2,46 ml olarak tespit edildi. pH değeri ortalama 6,24 bulundu. Spermatazoon motilitesi, spermalar alındıktan hemen sonra ortalama % 85 olarak belirlendi. Sperma yoğunluğu fotolometrik yöntem kullanılarak, (IMV-Accucell) $1,9 \times 10^9$ /ml olarak saptandı. Anormal spermatazoon oranı % 5,87 olarak belirlendi. Ölü canlı spermatazoon oranı ise % 3'lük sodyum sitrat ile hazırlanıp, % 2'lik eosin boyası kullanılarak bakıldı ve % 6,37 olarak kaydedildi. Koçlardan alınan sperma verileri Çizelge 1'de gösterilmiştir.

Spermanın gruplara ayrılması ve mikroskopik muayene süreci

Sekiz adet koçtan alınan sperma numuneleri, alındıktan hemen sonra, 28 °C'lik su banyosuna kondu. Spermatolojik muayenelerden sonra spermanın gruplandırılmasına geçildi. 1. Grup kontrol grubu, 2. Grup 60 °C'lik grup ve 3. Grup 80 °C'lik grup olarak isimlendirilerek her grupta, 4'er ml olacak şekilde ayrıldı. 1. Grup kontrol grubu spermaya hiçbir işlem uygulanmadı. 2. Grup 60 °C'lik grup, bu gruptaki 4 ml sperma bir adet tüp içerisinde seminal plazmasının ayrılması için 5000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası spermadan ayrılan seminal plazma 60 °C'lik etüvde 10 dakika bekletildi, tekrar 28 °C'ye soğutulmuş spermaya katıldı. 3. Grup 80 °C'lik gruptur. Bu gruptaki 4 ml sperma bir tüp içerisinde seminal plazmasını ayrılması için 5000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası spermadan ayrılan seminal plazma 80 °C'lik etüvde 10 dakika bekletildi, tekrar 28 °C'ye soğutulmuş spermaya katıldı. Bu işlemlerin sonunda tüm gruplar kısa süreli saklama koşulları sağlanması için +4 °C'ye kademeli olarak (dakikada 1°C olacak şekilde) soğutuldu. Periyodik olarak motilite, canlı/ölü spermatazoon oranı ve anormal spermatazoon oranları tespit edildi. Motilite muayenesi ve canlı/ölü oranı saati geldiğinde, anormal spermatazoon oranı için ise hazırlıklar yapıp numuneler Hancock

solüsyonu içerisine alınarak daha sonra incelendi. Anormal (baş, orta kısım ve kuyruk anomalisi) spermatazoon oranı, her grubunki ayrı ayrı olacak şekilde periyodik aralıklarla sayılarak yazılmıştır. Yapılan tüm muayeneler aynı kişi tarafından gerçekleştirilmiştir (Figür 1, Çizelge 2, Figür 2, Çizelge 3, Figür 3, Çizelge 4).

Bu çalışmada erkek eklenti bezleri içerisindeki proteinlerin ve enzimlerin fonksiyonu belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla alınan spermalar hiçbir işlem yapılmadan kontrol, eklenti bezleri sıvılarının spermadan ayrılarak 10 dakika boyunca 60 °C ısı uygulanan ve aynı şekilde 80 °C ısı uygulanan 2 deneme grubuna ayrılmıştır. Eklenti bezleri içerisindeki proteinlerin ve enzimlerin, denatüre olması için farklı ısı seçimleri yapılmıştır. Proteinler ve enzimler denatüre olduktan sonra spermaların yaşam ömrünü nasıl etkilediği araştırılmıştır.

Seminal plazma da denilen sıvı, çoğunluğu eklenti üreme bezlerinden salgılanan, çok az kısmında epididimis ve ductus deferenste üretilen ve ejakülasyon anında spermatazoon ile karışan sıvıdır. Organik, inorganik ve içeriğinde bulunan spesifik çeşitli biyokimyasal bileşenlerin kompleks bir karışımıdır ve spermaların fonksiyonlarını düzenlemekle görevlidir (Tombi, 2006).

Ejakulasyonda spermatazoon ile seminal plazmanın temas ettiğini, seminal plazmadaki koruyucu faktörlerin spermatazoon yüzeyine bağlandığını ve bu faktörlerin hücreden uzaklaştırılmasına kadar erken kapasitasyon olaylarının önlemediği, kapasitasyonu önleyen bu faktörlerin bazı spermatazoonlarda daha az olduğu bildirilmiştir. Ayrıca spermatazoon yüzeyinden erken ayrılıp spermatazoonların kapasitasyona maruz kaldığı da ifade edilmiştir (Yanagimachi, 1994; Perez ve ark., 1997).

Seminal plazmanın varlığı ve içerdiği proteinler spermatazoonların soğuk şokuna maruz kalma riskini azaltmaktadır (Perez ve ark., 2002; Medeiros ve ark., 2002). Bu sayede membran hasarları önlenir (Barrios ve ark., 2000) ve soğutmanın etkisiyle kapasitasyon benzeri olayların uyarılması engellenmiş olur (Vadnais ve ark., 2005).

Yapılan çalışmalarda, seminal plazmanın varlığı koç ve boğa spermalarının motilitesini ve yaşama kabiliyetini önemli ölçüde arttırdığı anlaşılmıştır. Ayrıca spermanın pH dengesini sağlayarak uzun süre canlı kalmasını sağlayacak birçok organik maddeyi içermektedir (Ollero ve ark., 1997; Maxwell ve ark., 1998; Sönmez, 2013). Motiliteyi stimüle eden bu faktörler, seminal plazmadaki düşük ağırlıklı moleküllerdir (Bass ve ark., 1983). Çalışmamızda kontrol grubunda motilitenin yaklaşık 18 saatte %50'lere kadar düşmesi 24. saatte %20 motilite olması, genital kanal sıvıları olmaksızın sperma içerisinde bulunan eklenti bezi sıvılarının katkısıdır.

Spermaların dışı genital kanalındaki transportunda, seminal plazmanın aktif rol oynadığını bildirmişlerdir. Seminal plazma olmadan yapılan dondurma işleminde ise spermatazoon transportunun olumsuz yönde etkilendiğini açıklamışlardır (Troedsson ve ark., 2005).

Alghamdi ve Foster (2005), seminal plazmada bulunan DNAase enziminin nötrofil DNA'larını sindirerek daha fazla spermatazoonun ovidukta ulaşmasını sağladığını açıklamışlardır.

Çizelge 1. Çalışma başında tüm koçlardan alınan spermaların spermatolojik parametreleri.

Table 1. Spermatological parameters of semen taken from all rams at the beginning of the study.

Renk	Miktar (ml)	pH	Motilite (%)	Yoğunluk (10^9 /ml)	Anormal (%)	Ölü-Canlı (%)
Koyu krem	2,46± 0,69	6,24±0,31	85± 4,17	1,9x10 ⁹ ± 0,41/ml	5,87± 0,83	6,37± 0,74

Çizelge 2. Kontrol grubunda saatlere göre normal ve anormal sperm oranları

Table 2. Normal and abnormal sperm rates in the control group by hours

Kontrol Grubu	Baş Ano. (%)	Orta Kısım Ano. (%)	Kuyruk Ano. (%)	Normal Sper. (%)
0. Saat	0,26	0,23	9,51	90,10
6. Saat	0,38	0,62	9,27	89,73
12. Saat	0,33	0,63	9,92	89,12
18. Saat	0,35	0,5	10,15	88,50
24. Saat	0,33	0,87	10,60	88,20
30. Saat	0,40	0,48	11,60	87,52
36. Saat	0,26	0,75	11,64	87,35
42. Saat	0,32	0,64	12,34	86,70
48. Saat	0,20	1,38	12,25	86,17
54. Saat	0,18	0,74	17,74	81,33
66. Saat	0,23	0,68	18,95	80,14
74. Saat	0,45	0,45	16,37	82,74
88. Saat	0,37	0,55	17,31	81,77

Çizelge 3. Grup 2'de saatlere göre normal ve anormal sperm oranları.

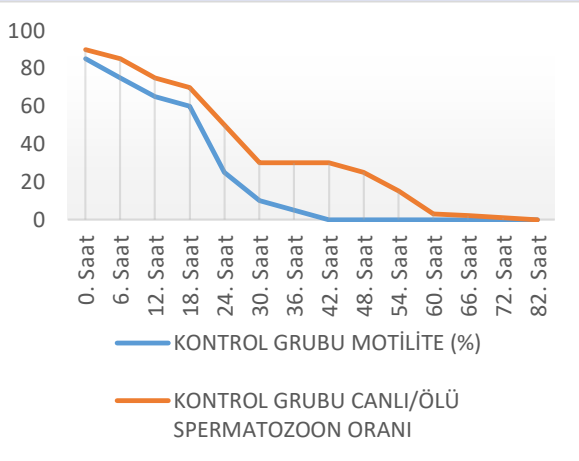
Table 3. Normal and abnormal sperm rates in group 2 by hours.

60 °C'lik Grup	Baş Ano. (%)	Orta Kısım Anor. (%)	Kuyruk Anor. (%)	Normal Sper. (%)
0. Saat	0,10	0,20	9,10	90,60
6. Saat	0,15	0,20	11,15	88,50
12. Saat	0,15	0,25	11,20	88,40
18. Saat	0,20	0,50	12,95	87,35
24. Saat	0,20	0,50	12,20	87,10
30. Saat	0,25	0,50	13,00	86,25
36. Saat	0,25	0,60	14,40	84,75
42. Saat	0,25	0,65	17,50	81,60
48. Saat	0,15	0,64	17,86	81,35
54. Saat	0,43	0,86	21,08	77,63
66. Saat	0,22	0,45	18,88	80,45
74. Saat	0,23	0,46	21,79	77,52
88. Saat	0,21	0,84	17,02	81,93

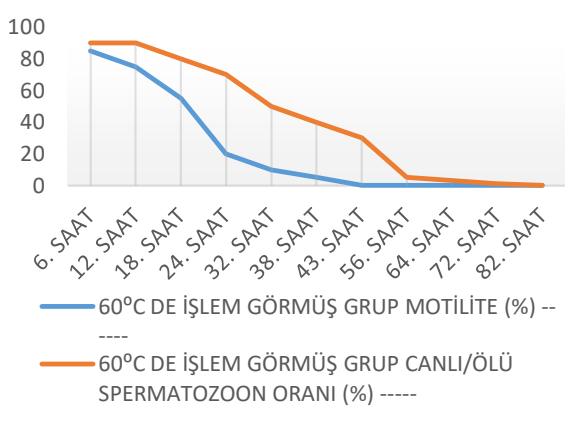
Çizelge 4. Grup 3'de saatlere göre normal ve anormal sperm oranları.

Table 4. Normal and abnormal sperm rates in group 3 by hours.

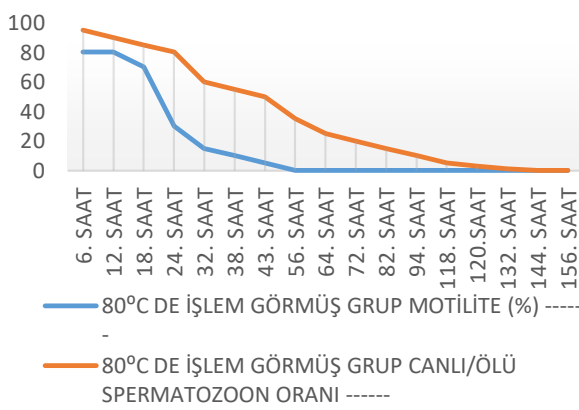
80 °C'lik Grup	Baş Ano. (%)	Orta Kısım Ano. (%)	Kuyruk Ano. (%)	Normal Sper. (%)
0. Saat	0,18	0,22	6,20	93,40
6. Saat	0,18	0,22	6,75	92,85
12. Saat	0,18	0,24	6,48	93,10
18. Saat	0,20	0,24	6,70	92,86
24. Saat	0,19	0,30	6,86	92,65
30. Saat	0,20	0,35	7,20	92,25
36. Saat	0,20	0,40	7,75	91,65
42. Saat	0,21	0,29	8,95	90,55
48. Saat	0,21	0,22	6,71	92,86
54. Saat	0,24	0,48	6,25	93,03
66. Saat	0,22	0,25	12,54	86,99
74. Saat	0,23	0,24	6,21	93,32
88. Saat	0,23	1,10	12,11	86,56
96. Saat	0,25	0,87	11,73	87,15
104. Saat	0,27	1,10	13,06	85,57
112. Saat	0,29	0,40	10,89	88,42
120. Saat	0,28	0,35	13,01	86,36



Figür 1: Kontrol grubu spermatolojik değerlerin zamana göre değişimi.
Figure 1: Alteration in control group spermatozoological data by time.



Figür 2: Grup 2'de spermatolojik değerlerin zamana göre değişimi.
Figure 2: Alteration in group 2 spermatozoological data by time.



Figür 3: Grup 3'de spermatolojik değerlerin zamana göre değişimi.
Figure 3: Alteration in group 3 spermatozoological data by time.

Maxwell ve ark. (1999), yaptıkları bir çalışmada çözdürülmüş koç spermasına % 30 seminal plazma eklemişler ve intraservikal tohumlama sonrası kontrol ve seminal plazmalı gruplarda sırasıyla; %24,3 ve %60,0 gebelik saptamışlardır. Araştırmacılar seminal plazmanın eritme sonrası spermatazoonlarda oluşan olumsuzlukları önlediğini ve dolayısıyla yüksek fertilitte oranlarının elde edildiğini açıklamışlardır. Bu çalışmada seminal plazma eklenmiş spermayla tohumlama gerçekleştirmişlerdir. Seminal plazma genital kanal sıvıları ile birlikte fertilizasyonu arttırmıştır. Çalışma sonunda eklenti bezinin asıl kötü etkisinin spermanın dondurulma aşamasında ortaya çıktığı bildirilmiştir (Maxwell ve ark., 1999).

Seminal plazma içerisinde yer alan Betadefensin 126 (DEFB126) isimli proteinin, kapasitasyon tamamlana kadar sperm hücrelerinin yüzeylerini tamamen örttüğünü belirtmişlerdir. Eğer bu protein kapasitasyon anında ya da kapasitasyon tamamlandıktan sonra ortamdaki uzaklaştırılırsa immün sistem tarafından hemen tanınarak yok edildiğini ifade etmişlerdir (Yudin ve ark., 2005).

Ollero ve ark. (1997), koç spermasındaki seminal plazmayı bir filtreleme yöntemi ile ayırmışlar, daha sonra Fisher sulandırıcısı ile spermayı dondurmuşlardır. Araştırmacılar her iki grupta da eritme sonrası spermaların canlılığını koruduğunu bildirmişlerdir. Araştırmamızda spermada yer alan eklenti bezi sıvılarının, içerisindeki ısıya duyarlı enzim ve proteinlerin bir kısmının, fertilitteye zarar verecek etkilerin bertaraf edilmesi amacıyla ısı uygulaması yapılmış ve spermanın canlılığının 60 °C ve 80 °C'lik gruplarda kontrol grubuna göre daha uzun sürdüğü belirlenmiştir. Çalışmamızda seminal plazma her ne kadar uzaklaştırılmasa da ısı etkisi ile birçok enzim denatüre edilmiştir. Bu çalışma ise bizim çalışmamızın sonuçlarını destekler niteliktedir.

Seminal plazmanın her zaman kötü etkilerinin olmadığı, özellikle dişi genital kanalda veya dondurulup çözdürülen spermanın korunmasında önemli etkisi olduğunu çalışan araştırmacılar da vardır (Maxwell ve ark., 1999; Belibasaki ve ark., 2000; Troedsson ve ark., 2005).

Belibasaki ve ark. (2000), donma öncesi süt tozlu koç sperma sulandırıcılarına %50 seminal plazma ilavesinin fertilitteye etkisini araştırmışlar, seminal plazma ilavesinin tohumlama sonrası fertilitte oranlarını artırdığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada; hiçbir işlem yapılmayan 1. Grup'ta (Kontrol), motilite değerinin % 85'ten 32 saat sonra % 10'a düştüğü izlenmiştir. 2. Grupta koç seminal plazmasının spermadan uzaklaştırılması ve 60 °C'de 10 dakika tutulup 28 °C'de tekrar spermaya eklenmesi ile kontrol grubuna göre motilitenin süresinde herhangi bir değişiklik olmamış yine 32. saatte % 10'a düşmüştür. Fakat 3. grupta, koç seminal plazmasının spermadan uzaklaştırılıp, 80 °C'de 10 dakika tutulup 28 °C'de tekrar spermaya eklendiği grupta, 32. saatte motilitenin % 15 olduğu ve 38. saatte % 10 motilitteye düştüğü izlenmiştir. Aradaki farkın daha iyi anlaşılabilmesi açısından 32. saatteki ölü- canlı spermatazoon oranları daha ilgi çekicidir. Ölü- canlı muayenesinde 32. saat muayeneleri incelendiğinde kontrol grubunda % 30, 2. grupta % 50, 3. grupta ise %60

gibi bir sonuç elde edilmiştir. Ayrıca kontrol grubunda ve 2. grupta canlılık 82. saate kadar devam ederken, 3. gruptaki canlılık 156. saate kadar devam etmiştir. Kontrol grubunda 48. saatte normal spermatozoon oranı % 86,17, 2. grupta % 80,85 iken 3. grupta % 92,86 gibi bir yüzde değer saptanması önemlidir.

Sonuç

Sonuç olarak; kontrol grubu ile deneme grupları karşılaştırıldığında, en iyi grubun 3. grup olması, sperma içerisinde seminal plazmanın ihtiva ettiği çeşitli proteinlerin denatürasyonu ile yaşam süresinin ve motilitenin doğru orantılı etkilendiğini kanıtlar niteliktedir. Bu sonuçlara göre; koç spermalarının dondurulması çalışmalarında, eklenti bezi sıvılarının 80 °C'de 10 dk. bekletilerek tekrar spermaya eklenmesi ile daha iyi sonuçlar alınabileceği kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

- Ak, K. (1996). Evcil hayvanlarda reproduksiyon ve suni tohumlama. İÜ Vet Fak Yayını.
- Alghamdi, A. S., & Foster, D. N. (2005). Seminal DNase frees spermatozoa entangled in neutrophil extracellular traps. *Biology of reproduction*, 73(6), 1174-1181.
- Amiridis, G. S., Lymberopoulos, A., Varsakeli, S., Kouskoura, T., & Belibasaki, S. (2000). Ram seminal plasma and fertility: results from an ongoing field study. *Acta Veterinaria Hungarica*, 48(3), 335-341.
- Avdatek, F. (2013). Koç Spermalarına Katılan Bazı Antioksidanların Dondurma ve Çözdürme Sonrası Spermatolojik Parametreler, Oksidatif Stres ve DNA Hasarı Üzerine Etkileri.
- Baas, J. W., Molan, P. C., & Shannon, P. (1983). Factors in seminal plasma of bulls that affect the viability and motility of spermatozoa. *Reproduction*, 68(2), 275-280.
- Barrios, B., Pérez-Pé, R., Gallego, M., Tato, A., Osada, J., Muino-Blanco, T., & Cebrián-Pérez, J. A. (2000). Seminal plasma proteins revert the cold-shock damage on ram sperm membrane. *Biology of reproduction*, 63(5), 1531-1537.
- Bearden, H. J. (2004). In Fuquay, JW and Willard, ST (eds). *Applied Animal Reproduction*, 6th Edition.
- Cameron, R. D. A. (1977). Semen collection and evaluation in the ram: The effect of method of stimulation on response to electroejaculation. *Australian veterinary journal*, 53(8), 380-383.
- Demirci, E. (2002). Evcil hayvanlarda reproduksiyon, suni tohumlama ve androloji ders notları. FÜ Vet Fak Ders Teksiri, (53).
- Geva, E., Lessing, J. B., Lerner-Geva, L., & Amit, A. (1998). Free radicals, antioxidants and human spermatozoa: clinical implications. *Human reproduction (Oxford, England)*, 13(6), 1422-1424.
- Hancock, J. L. (1952). The morphology of bull spermatozoa. *Journal of Experimental Biology*, 29(3), 445-453.
- Maxwell, W. M. C., Evans, G., Mortimer, S. T., Gillan, L., Gellatly, E. S., & McPhie, C. A. (1999). Normal fertility in ewes after cervical insemination with frozen-thawed spermatozoa supplemented with seminal plasma. *Reproduction, Fertility and Development*, 11(2), 123-126.
- Maxwell, W. M. C., Long, C. R., Johnson, L. A., Dobrinsky, J. R., & Welch, G. R. (1998). The relationship between membrane status and fertility of boar spermatozoa after flow cytometric sorting in the presence or absence of seminal plasma. *Reproduction, Fertility and Development*, 10(5), 433-440.
- Medeiros, C. M. O., Forell, F., Oliveira, A. T. D., & Rodrigues, J. L. (2002). Current status of sperm cryopreservation: why isn't it better?. *Theriogenology*, 57(1), 327-344.
- Ollero, M., Cebrian-Perez, J. A., & Muño-Blanco, T. (1997). Improvement of cryopreserved ram sperm heterogeneity and viability by addition of seminal plasma. *Journal of andrology*, 18(6), 732-739.
- Pérez, L. J., Valcárcel, A., de Las Heras, M. A., Moses, D., & Baldassarre, H. (1997). The storage of pure ram semen at room temperature results in capacitation of a subpopulation of spermatozoa. *Theriogenology*, 47(2), 549-558.
- Pérez-Pé, R., Grasa, P., Fernández-Juan, M., Peleato, M. L., Cebrián-Pérez, J. Á., & Muño-Blanco, T. (2002). Seminal plasma proteins reduce protein tyrosine phosphorylation in the plasma membrane of cold-shocked ram spermatozoa. *Molecular Reproduction and Development*, 61(2), 226-233.
- Sönmez, M. (2013). Reproduksiyon Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayını, Elazığ, 237-287.
- Tekin, N. (1994). Spermanın muayenesi ve değerlendirilmesi. Evcil Hayvanlarda Reproduksiyon, Suni Tohumlama, Doğum ve İnfertilite. Dizgievi: Konya, 7.
- Tombi, A. S. J. (2006) Koç spermalarının dondurulmasında seminal plazma ve soğutma öncesi gliserol ilavesinin spermatolojik özelliklere etkisi. Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Troedsson, M. H. T., Desvougues, A., Alghamdi, A. S., Dahms, B., Dow, C. A., Hayna, J., ... & Buhi, W. C. (2005). Components in seminal plasma regulating sperm transport and elimination. *Animal Reproduction Science*, 89(1-4), 171-186.
- TÜİK, Bülten. (2020a). <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=33680>. Yayın tarihi: 11.02.2020.
- TÜİK, Bülten. (2020b). <https://tuikweb.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=33874>. Yayın tarihi 07.08.2020.
- Vadnais, M. L., Kirkwood, R. N., Tempelman, R. J., Sprecher, D. J., & Chou, K. (2005). Effect of cooling and seminal plasma on the capacitation status of fresh boar sperm as determined using chlortetracycline assay. *Animal reproduction science*, 87(1-2), 121-132.
- Yanagimachi, R. (1994). Mammalian fertilization. *The physiology of reproduction*.
- Yudin, A. I., Generao, S. E., Tollner, T. L., Treece, C. A., Overstreet, J. W., & Cherr, G. N. (2005). Beta-defensin 126 on the cell surface protects sperm from immunorecognition and binding of anti-sperm antibodies. *Biology of reproduction*, 73(6), 1243-1252.