

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Doberman ve Amerikan Bully Irkı Köpeklerden Elde Edilen
Spermlerde Termotaksi Etkisi**

Osman Kürşat SOYDAN

Zootekni Anabilim Dalı

Kasım, 2025

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAYI

**Doberman Amerikan Bully Irkı Köpeklerden Elde Edilen
Spermelerde Termotaksi Etkisi**

Osman Kürşat SOYDAN

Zootekni Anabilim Dalı

Bu Yüksek Lisans Tezi 21/10/2025 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Değerlendirilmiş ve Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.

Jüri : Dr. Öğr. Üyesi Ali Galip ÖNAL (Danışman)

: Dr. Öğr. Üyesi Murat DURMUŞ

: Doç. Dr. Yusuf Ziya GÜZEY

Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

**Bu çalışma BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ BAŞKANLIĞI Birimi Tarafından
Desteklenmiştir.**

Proje No: FYL-2024-16797

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak
gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Dişi Köpek Üreme Sistemi	3
2.2. Erkek Köpek Üreme Sistemi	3
2.3. Sperm Yönelim Mekanizmaları: Kemotaksi, Reotaksi ve Termotaksi	4
2.4. Termotaksinin Moleküler ve Hücrel Temelleri	6
2.5. Termotaksinin Diğer Memeli Türlerindeki Rolü	7
2.6. Köpeklerde (<i>Canis lupus familiaris</i>) Sperm Özellikleri	8
2.7. Köpek Spermlerinde Termotaksi	9
2.8. Termotaksinin Üreme Teknolojilerindeki Potansiyeli	9
3. MATERYAL VE METOT	11
3.1. Sperma Toplama İşlemleri	11
3.2. Bilgisayarlı Sperm Analizi (CASA) ile Motilite ve Konsantrasyon Ölçümü	11
3.3. Sperm Canlılık ve Zar Bütünlüğü Değerlendirmesi	12
3.4. Deneysel Düzenin Kurulumu ve Termotaksi Modeli	14
3.5. Örneklerin Hazırlanması ve İnkübasyon Koşulları	16
3.6. Termotaksi Sonunda Örnek Toplama ve Analiz	17
3.7. İstatistiksel Analiz	17
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	19
4.1. Sperm Konsantrasyonu	19
4.2. Sperm Motilitesi ve Kinetik Parametreler	20
4.3. Sperm Zar Bütünlüğü (HOST Testi)	22
4.4. Sperm Canlılığı (Nigrosin-Eozin Testi)	22
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	25
KAYNAKLAR	27
ÖZGEÇMİŞ	29

Doberman ve Amerikan Bully Irkı Köpeklerden Elde Edilen Spermelerde Termotaksi Etkisi

Osman Kürşat SOYDAN

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Ali Galip ÖNAL

Zootekni Anabilim Dalı

ÖZ

Memelilerin çoğunda başarılı döllenme için sperm taşınımı, üreme kanalında kritik bir süreçtir. Ejakülasyondan sonra spermatozoonlar, üreme kanalındaki karmaşık fizyolojik bariyerleri ve farklı çevresel koşulları aşmak zorundadır. Ayrıca, spermatozoonların sıcaklık da dahil olmak üzere birçok çevresel faktöre yanıt vermesi gerekmektedir. Bu çalışma, American Bully ve Doberman ırkı köpeklerden toplanan spermatozoonların termotaktik tepkisini incelemeyi ve farklı sıcaklıklarda (34°C, 38°C ve 40°C) inkübasyonun motilite, canlılık, membran bütünlüğü ve konsantrasyon üzerindeki etkisini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Semen örnekleri, olgun erkek köpeklerden toplanmış ve özel olarak tasarlanmış bir termotaksis modeli içinde 60 dakika boyunca inkübe edilmiştir. Çeşitli sperm parametreleri, bilgisayar destekli sperm analiz sistemi (iSperm CASA), Nigrosin-Eosin boyama ve Hipo-Ozmotik Şişme Testi (HOST) kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar, 34°C ve 38°C sıcaklıklarında sperm motilitesi ve konsantrasyonunda artış olduğunu, ancak 40°C'ye maruz kalmanın motilite, progresif motilite ve konsantrasyonda önemli bir düşüşe yol açtığını göstermiştir. 38°C'de gözlemlenen daha yüksek eğrisel hız (VCL) ve düz çizgi hızı (VSL), bu sıcaklığın optimal motiliteyi desteklediğini göstermektedir. Membran bütünlüğü (HOST-pozitif sperm oranı), 40°C'de önemli ölçüde bozulmuş ve bu durum Nigrosin-Eosin boyaması ile doğrulanan canlılık azalması ile paralellik göstermiştir. Örneklerde sperm yönelimi, sıcaklığa bağlı olarak değişmiş, en yüksek sperm konsantrasyonu 34°C'de, ardından 38°C'de gözlenirken, en düşük konsantrasyon 40°C'de tespit edilmiştir. Bu durum, yüksek sıcaklıkların artan oksidatif stres ve metabolik tükenme nedeniyle köpek spermatozoonları için elverişli olmadığını düşündürmektedir.

Ayrıca, yapılan kriyoprezervasyon analizleri, dondurma-çözme işleminin sperm motilitesi ve kinetik özellikler üzerinde anlamlı bozulmalara yol açtığını ve bu nedenle sperm kalitesini önemli ölçüde azalttığını ortaya koymuştur.

Sonuç olarak, bu çalışma köpek spermatozoonlarının sıcaklığa bağlı olarak hayatta kalma modelleri sergilediğini ve optimal sıcaklık aralığının 34°C ile 38°C arasında olduğunu göstermektedir. Spermatozoonların termotaksisi, doğal sperm seçiminde önemli bir rol oynayabilir ve döllenme başarısını etkileyebilir. Gelecekteki çalışmalar, termotaksisin moleküler mekanizmalarını araştırarak, bu olgunun fertiliteyi artırmaya yönelik sperm seçiminde nasıl kullanılabileceğini belirlemeye odaklanmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Termotaksi, köpek sperm, dondurma, sperm kinetik.

Effects of Thermotaxis on Sperm Collected from Doberman and American Bully Breed Dogs

Osman Kürşat SOYDAN

Advisor: Dr. Öğr. Üyesi Ali Galip ÖNAL

Department of Animal Science

ABSTRACT

Sperm transfer through the reproductive tract is crucial for successful fertilization in most of mammals. After ejaculation, spermatozoa need to go through a complex physiological barrier and environments in the reproductive tract. Also, sperm must respond to many environmental conditions, including temperature. The present study aims to investigate the thermotactic response of sperms collected from American Bully dogs and its impact on motility, viability, membrane integrity, and concentration at different temperatures. Evaluated semen samples, collected from mature dogs incubated at 34°C, 38°C, and 40°C for 60 minutes in a custom-designed thermotaxis model. Some sperm parameters were assessed using computer-assisted sperm analysis (iSperm CASA), Nigrosin-Eosin staining, and the Hypo-Osmotic Swelling Test (HOST).

Results showed that sperm motility and concentration were increased at 34°C and 38°C, while exposure to 40°C resulted in a significant decline in motility, progressive motility, and concentration. Slightly higher curvilinear velocity (VCL) and straight-line velocity (VSL) at 38°C suggests optimal motility at this temperature. Membrane integrity (HOST-positive sperm) was significantly compromised at 40°C, with a corresponding decrease in viability, as confirmed by Nigrosin-Eosin staining. Sperm direction towards to different temperature for the sample was also affected, with the highest sperm concentration observed at 34°C, followed by 38°C, and the lowest at 40°C, indicating that higher temperatures (likely due to increased oxidative stress and metabolic exhaustion) are not favourable for canine sperm.

As conclusion, the results showed that canine spermatozoa exhibit temperature-dependent survival patterns, with an optimal range between 34°C and 38°C. The thermotaxis for spermatozoa may play a role in natural sperm selection, influencing fertilization efficiency. Future studies should be set up to investigate the molecular mechanisms underlying thermotaxis and its potential use in sperm selection for improved fertility outcomes.

Keywords: Thermotaxis, dog sperm, cryopreservation, sperm kinetic

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezimin ilerlemesinde her türlü bilgi ve becerisi ile destek olan danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Ali Galip ÖNAL'a, ve eğitime başladığım günden beri her türlü konuda bana destek olup bilgilerini esirgemeyen kıymetli emekleri için değerli hocam. Dr. Öğretim Üyesi Murat DURMUŞ'a sonsuz teşekkürü borç bilirim.



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Farklı sıcaklık gradyanlarının Amerikan Bully ve Doberman spermlerinin motilite ve kinetik parametreleri üzerine etkisi	21
Çizelge 4.2. Farklı sıcaklık gradyanlarının HOST pozitif sperm oranları	22
Çizelge 4.3. Sıcaklık gradyanlarının Canlı/Ölü sperm oranları üzerindeki etkisi.....	22



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Dişi Köpek (Canis lupus familiaris) Üreme Sisteminin Anatomik Yapısı	3
Şekil 2.2. Erkek Köpek (Canis lupus familiaris) Üreme Sisteminin Anatomik Yapısı	4
Şekil 2.3. Köpek Spermatozoonunun Morfolojik Özellikleri	8
Şekil 3.1. Bilgisayarlı Sperm Analiz Sistemi (Computer-Assisted Sperm Analysis- CASA)	12
Şekil 3.2. Nigrosin-Eozin Boyama Tekniği ile Sperm Canlılık Değerlendirmesi	13
Şekil 3.3. Hipoozmotik Şişme Testi (HOST) ile Sperm Zar Bütünlüğü Analizi	14
Şekil 3.4. Termotaksi Modelin Deneysel Tasarımın.....	14
Şekil 3.5. Strafor bariyer yerleşimi	15
Şekil 3.6. 100 µL'lik sperm örneğinin tüplere aktarımı	16
Şekil 4.1 Farklı Sıcaklık Gradyanlarında Amerikan Bully ve Doberman Sperm Konsantrasyonunun Karşılaştırılması	19

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALH	:Baş Salınım Genliği (Amplitude of Lateral Head Displacement)
ATP	:Adenozin Trifosfat
BCF	:Kuyruk Vuruş Frekansı (Beat Cross Frequency)
CASA	:Bilgisayar Destekli Sperm Analizi (Computer-Assisted Sperm Analysis)
HOST	:Hipoozmotik Şişme testi
IVF	:In vitro Fertilizasyon
ICSI	:Intrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
LIN	:Lineerlik
PKA	:Protein Kinaz A
STR	:Doğrusal ilerleme (Straightness)
TRPV	:Transient Receptor Potential Vanilloid
VAP	:Ortalama Yol Hızı (Average Path Velocity)
VCL	:Eğrisel Hız (Curvilinear Velocity)
VSL	:Doğrusal Hız (Straight Line Velocity)
WOP	:Sallanma Katsayısı (Wobble)

1. GİRİŞ

Üreme biyolojisi, özellikle memeli türlerinde karmaşık fizyolojik süreçlerden oluşan bir bütündür ve başarılı bir döllenmenin gerçekleşebilmesi için spermatozoaların dişi üreme kanalında uzun ve zorlu bir yolculuğu başarıyla tamamlamaları gerekmektedir. Bu yolculuk sırasında spermatozoalar, çeşitli fiziksel ve kimyasal bariyerleri aşarak oosit ile birleşme noktasına ulaşmaya çalışırlar. Bu süreçte yön bulma ve seçim mekanizmaları, spermatozoaların hedefe ulaşmasında kritik rol oynar. Bu yönlendirme sistemlerinin işleyişini anlamak, yalnızca temel üreme biyolojisi açısından değil, aynı zamanda yardımcı üreme teknolojilerinin (ART) geliştirilmesi açısından da son derece önemlidir (Suarez ve Pacey, 2006).

Yapılan çalışmalar, spermatozoaların yalnızca pasif bir şekilde hareket etmediğini, aynı zamanda çevresel sinyallere karşı aktif olarak yön değiştirme kabiliyetine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Dişi üreme kanalında karşılaşılan pH değişimleri, sıvı akışı, viskozite farkları ve kimyasal sinyaller gibi çeşitli çevresel faktörler, bu hücrelerin yönelim davranışları üzerinde belirleyici etkilere sahiptir. Bu faktörler arasında en dikkat çekici olanlardan biri, sıcaklık gradyanına karşı gösterilen yönelme davranışı, yani termotaksidir (Bahat ve Eisenbach, 2006; Pérez-Cereales, Boryshpolets ve Eisenbach, 2015).

Termotaksi, spermatozoaların dişi üreme sistemi içerisindeki sıcaklık farklarına duyarlı bir şekilde yön değiştirerek oositin bulunduğu bölgeye doğru ilerlemesi olarak tanımlanır. Bu davranış, yalnızca yön bulma açısından değil, aynı zamanda kaliteli ve fertil potansiyele sahip spermatozoaların doğal olarak seçilmesine hizmet etmesi bakımından da önemlidir (Pérez-Cereales ve ark., 2018). Dolayısıyla termotaksi, fizyolojik bir yönelme mekanizmasının ötesinde, doğal bir “sperm seçimi” yöntemi olarak değerlendirilmektedir.

Suni tohumlama, in vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) gibi ART tekniklerinde, fertil potansiyeli yüksek spermatozoaların seçilmesi döllenme başarı oranlarını doğrudan etkilemektedir. Literatürde, termotaksiye duyarlı spermatozoaların daha yüksek motiliteye sahip oldukları, zar bütünlüklerini korudukları, mitokondriyal fonksiyonlarının daha güçlü olduğu ve DNA bütünlüklerinin daha az zarar gördüğü gösterilmiştir (Plessis ve ark., 2015; Turner, 2005). Bu bulgular, termotaksinin yalnızca doğal döllenme sürecinde değil, aynı zamanda laboratuvar koşullarındaki uygulamalarda da değerlendirilebilecek biyolojik bir mekanizma olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada ele alınan konu, özellikle evcil köpeklerde (*Canis lupus familiaris*) ve özel olarak da Amerikan Bully ırkı gibi genetik olarak farklılaşmış köpeklerde termotaksinin işleyişi üzerinedir. Evcil köpekler, genetik ve fizyolojik yönlerden önemli model organizmalardan biri olarak bilimsel çalışmalarda yaygın olarak kullanılsa da sperm yönelimi ve özellikle sıcaklığa bağlı yönelme davranışları konusunda mevcut literatür sınırlıdır. Köpeklerde yardımcı üreme

teknolojilerinin başarı oranlarının artırılabilmesi için bu mekanizmaların daha ayrıntılı şekilde anlaşılması gerekmektedir (Van de Hoek, Rickard ve de Graaf, 2022).

Bu bağlamda bu tezin amacı, Amerikan Bully ırkına ait köpeklerden elde edilen spermatozoaların farklı sıcaklık gradyanlarına karşı verdikleri davranışsal ve fizyolojik yanıtları detaylı olarak incelemek ve bu yanıtların motilite, canlılık, zar bütünlüğü ve konsantrasyon üzerindeki etkilerini ortaya koymaktır. Böylece hem temel biyolojik bilgiye katkı sağlanacak hem de gelecekte geliştirilecek ART uygulamalarında bu verilerin kullanımı mümkün olabilecektir.

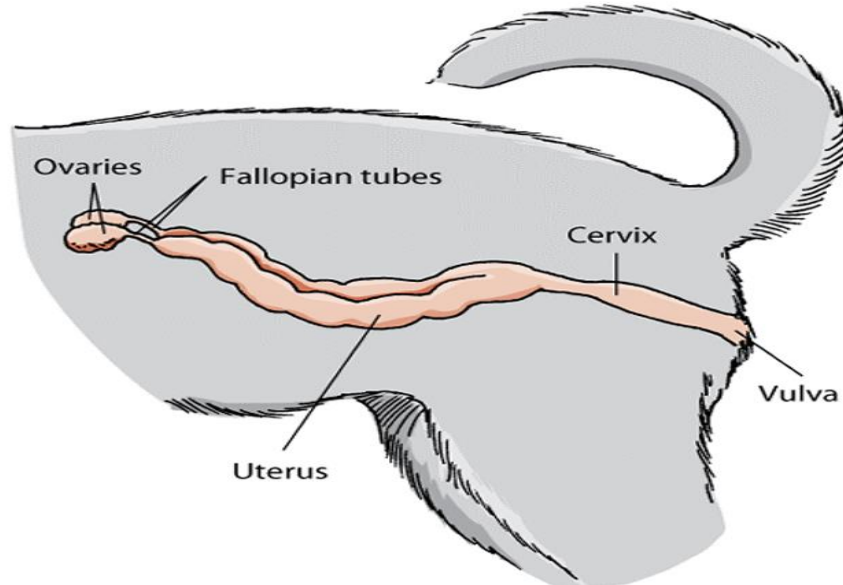


2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Dişi Köpek Üreme Sistemi

Dişi köpeklerde (*Canis lupus familiaris*) üreme sistemi, birbiriyle işlevsel ve anatomik olarak bağlantılı olan ovaryumlar, yumurtalık kanalı (ovidukt), uterus, serviks ve vajinadan oluşur. Bu organlar üreme döngüsünün farklı fazlarında (pro-östrus, östrus, diöstrus ve anöstrus) hem yapısal (histolojik) hem de işlevsel (sekresyon, sıvı akışı) değişiklikler göstermektedir. Örneğin östrus evresinde östrojen artışı ovidukt ve mukozasında önem ve artmış sekresyon değişimlerine neden olur.

Ovulasyon döneminde olgun ulaşmakta olan yumurta hücreleri ovaryumda bulunan foliküllerden ovule olurlar. Bu salınımın ardından yumurta hücreleri infundibulum bölgesinden geçerek ampul kısmına gelirler. Ampulla bölgesinde memelilerde fertilizasyon gerçekleştiği birinci bölgedir (Hunter, 2005). Köpeklere özgün özelliklerden biri şudur, ovulasyonla birlikte tam olgunlaşmamış yumurta hücreleri henüz germinal vezikül evresinde salınır ve yumurtaların döllenabilir olgunluğa ulaşması için ovulasyon sonrası 48-72 saat bir olgunlaşma süresi gerekmektedir (Nagashima and Songsasen, 2021). Dolayısıyla spermin bu süre zarfında yumurtalık kanalında bulunan mikro çevrede canlı ve fonksiyonel durumda bulunması fertilizasyon oluşması için gereklidir.

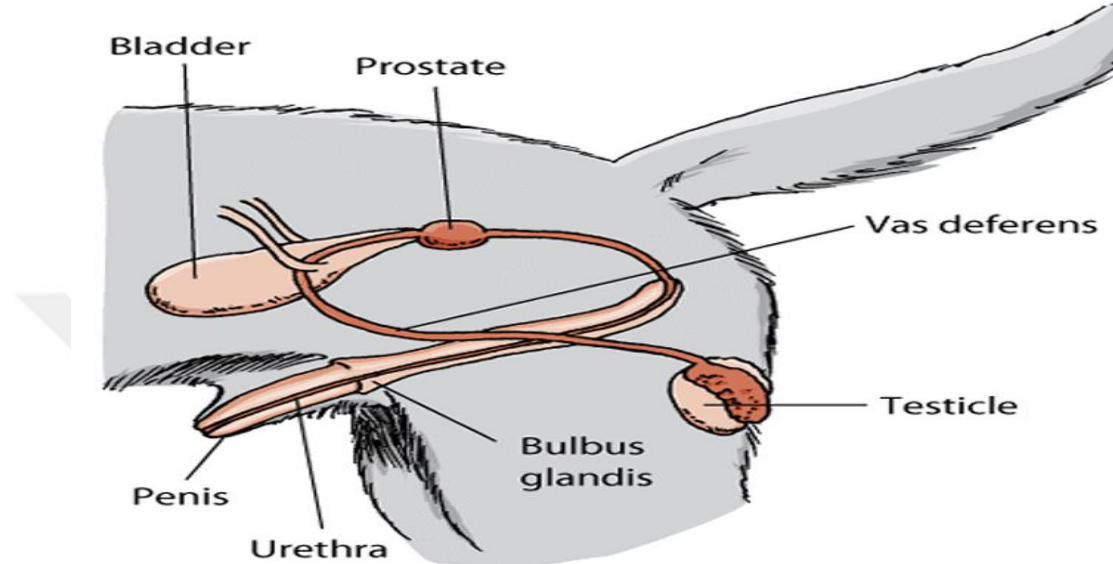


Şekil 2.1. Dişi Köpek (*Canis lupus familiaris*) Üreme Sisteminin Anatomik Yapısı

2.2. Erkek Köpek Üreme Sistemi

Erkek köpeklerde üreme sistemi, skrotum içerisinde yer alan ve sperm ile testosteron üreten çift testisten oluşur. Sperm hücreleri epididimiste olgunlaşır ve depolanır. Epididimis, spermi ejakülasyon sırasında taşıyan ductus deferens ile testisi birbirine bağlar. Köpeklerde

bulunan tek yardımcı seks bezi prostat bezidir ve ejakülatın sıvı kısmının büyük bölümünü üretir. Çiftleşme sırasında, sperm ve prostat salgıları üretra aracılığıyla dışarı atılır. Erkek üreme sistemine ait hastalıklar; prostat iltihabı, testis tümörleri veya infertilite gibi durumlar fiziksel muayene, ultrasonografi ve semen analizi gibi yöntemlerle değerlendirilebilir. Bu değerlendirmeler, erkek köpeklerin üreme sağlığının belirlenmesinde önemlidir.



Şekil 2.2. Erkek Köpek (*Canis lupus familiaris*) Üreme Sisteminin Anatomik Yapısı

2.3. Sperm Yönelim Mekanizmaları: Kemotaksi, Reotaksi ve Termotaksi

Döllenme sürecinin başarılı bir şekilde gerçekleşebilmesi için yalnızca spermatozoanın canlı ve hareketli olması yeterli değildir. Aynı zamanda dişi üreme sistemi içerisinde doğru yönü tayin edebilmesi, çevresel sinyalleri algılayarak uygun yöne yönelmesi ve yumurtaya ulaşması gerekmektedir. Ali ve ark. (2021), köpek spermatozoalarında bulunan koku ve tat reseptörlerinin kemotaksis sürecine doğrudan katıldığını ve bu reseptörlerin spermelerin yönlendirilmesinde çoklu duyuşsal bir rehberlik mekanizmasına işaret ettiğini bildirmiştir. Bu bulgu, termotaksi ile kemotaksinin birlikte etkisinin spermatozoanın oosite doğru yöneliminde önemli bir role sahip olabileceğini göstermektedir. Bu süreçte spermatozoanın hedefe yönelme kabiliyeti, üreme başarısını doğrudan etkileyen temel faktörlerden biridir. Literatür bu yönelme davranışlarını genellikle 3 başlık altında sınıflandırılmaktadır:

a) Kemotaksi

Kemotaksi, spermatozoaların kimyasal sinyaller aracılığıyla yön tayin etmesi sürecidir. Bu mekanizmada dişi üreme kanalının da bulunan oosit ya da onu çevreleyen kümülüs hücreleri, ortamda çeşitli moleküller (örneğin progesteron, peptitler, lipid türevleri) salgırlar. Sperm hücreleri bu molekülleri algılayarak konsantrasyon gradyanı doğrultusunda oositin bulunduğu bölgeye doğru yönelirler. İnsan spermeleri üzerine yapılan çalışmalarda özellikle progesteronun güçlü bir kemotaksi faktör olduğu ve sperm hücrelerinin bu molekülü karşı yönelim gösterdiği

ortaya konmuştur (Teves ve ark., 2006). Ayrıca bazı türlerde östrojen türevleri ve PGF2 gibi prostaglandinlerin de kemotaksisi etkileyebileceği belirtilmiştir. Kemotaksinin gerçekleşebilmesi için spermatozoanın kapasitasyon sürecini tamamlamış olması gerektiği ve bu sürecin ardından çevresel sinyallere duyarlı hale geldiği belirlenmiştir. Kemotaksi yalnızca yön tayini değil, aynı zamanda kalite ve döllenme potansiyeli yüksek spermilerin seçimi açısından da önemli bir mekanizma olarak kabul edilir. Bu nedenle hem doğal çiftleşme hem de yardımcı üreme tekniklerinde bu mekanizmanın anlaşılması önemlidir.

b) Reotaksi

Reotaksi, spermatozoaların sıvı ortamda özellikle akış yönünü tersine doğru yüzme davranışdır. Dişi üreme sistemi özellikle uterus ve fallopian tüplerinde belirli bir sıvı akışı bulunmaktadır. Bu akış bazen hormonal etkilerle hızlanabilmekte veya yön değiştirebilmektedir. Reotaksi davranış gösteren spermatozoa bu akıma karşı yüzerek daha hızlı ve etkin bir şekilde fertilizasyon bölgesine ulaşabilmektedir. Reotaksinin temelinde spermin yüzeyinde bulunan “mekanosensör yapılar” ile akım yönünü algılayabilme özellikleri yatmaktadır. Yapılan araştırmalarda spermatozoaların akıma karşı yüzme eğiliminin yalnızca rastlandığı değil, aynı zamanda yönlendirilmiş bir davranış biçimi olduğu gösterilmiştir (Hwang ve ark., 2019; Kang ve ark., 2019).

Bu yönelim biçimi hem sperm hareketliliğini artırmakta hem de akışa karşı koyabilen, dolayısıyla daha sağlıklı ve güçlü spermilerin seçimini mümkün kılmaktadır. Bu da reotaksinin taksinin doğal bir filtrasyon mekanizması olarak işlev görmesini sağlamaktadır.

c) Termotaksi

Termotaksi, spermatozoaların dişi üreme sisteminde oluşan sıcaklık farklılıklarına duyarlı olarak yön tayin etmesi özelliği olarak ifade edilmektedir. Genellikle ovulasyon döneminde yumurtanın bulunduğu ampulla bölgesi, uterus ya da isthmus’a kıyasla daha yüksek bir sıcaklığa sahiptir. Bu sıcaklık (1-2 C) farkı spermatozoalar için doğal bir yönlendirme sinyali oluşturmaktadır. Termotaksi davranışı özellikle kapasitasyon sürecini tamamlamış, spermatozalarda görülür ve bu süreçte spermatozoaların ısıya duyarlı iyon kanalları (TRPV1) aktive edilir ve bu sayede sperm daha sıcak olan bölgelere yönelerek fertilizasyon şanslarının artması mümkün olur (Boryshpolets ve ark., 2015). Termotaksinin bir diğer önemli yönü ise tıpkı kemotaksi ve reotakside olduğu gibi fizyolojik olarak daha kaliteli spermilerin seçilmesini sağlamasıdır. Sıcaklık farklılığını algılayabilen spermilerin motilite, mitokondrial aktivite ve zar bütünlüğü bakımından daha avantajlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca termotaksi mekanizmasının *in vitro* fertilizasyon ve sperm seçimi tekniklerinde kullanılabileceği ve bu sayede yüksek kaliteli spermatozoa alanın ayrılabilceği bildirilmiştir (Pérez-Cereales ve ark., 2018).

Bu yönelme biçimleri, birbirinden bağımsız çalışabilen sistemler olmakla birlikte, fizyolojik olarak çoğu zaman eş zamanlı ve bütüncül bir şekilde işlev görürler.

2.4. Termotaksinin Moleküler ve Hücresel Temelleri

Sperm hücresinin sıcaklık farkını algılayabilme kapasitesi termotaksinin işleyişinde merkezi bir rol oynar. Bu algılama kabiliyeti bir dizi moleküler ve hücresel mekanizmanın birlikte çalışmasıyla mümkündür. Bu mekanizmalar;

a) TRPV1 (Transient Reseptör Potansiyel Vanilloid) Kanalları.

Bu iyon kanalları hücre zarında yer alır ve sıcaklık değişimlerine duyarlıdır. Özellikle TRPV1 kanalı ısıya duyarlı bir reseptör olarak tanımlanmıştır. İnsan spermatozoalarında yapılan çalışmalarda TRPV1 mRNA ve proteininin yüksek düzeyde ifade edildiği gösterilmiş ve sıcaklık gradyanına yönelme sırasında TRPV1 düzeyinin artmış olduğu saptanmıştır (De Toni ve ark., 2016). Ayrıca bazı memeli modellerinde TRPV 4 gibi diğer TRPV kanallarının da termotaksinde rol oynadığı öne sürülmektedir (Hamano ve ark., 2016). Bu kanalların etkinliği şu açıklanmaktadır, sıcaklık artışı, TRPV kanal aktivasyonunu tetikler ve hücre zarında kalsiyum iyonlarının girişi hızlandırır. Kalsiyum sinyali spermatozoların hareketleri ve yönetimi üzerine etki göstermektedir.

b) Mitokondrial Aktivite ve ATP üretimi.

Spermatozoa a'nın motilitesi büyük ölçüde mitokondride üretilen ATP ye bağlıdır. Sıcaklık arttıkça mitokondrial metabolizma hızlanır ve kısa süreli olarak sperm hareketliliğinde artış gözlenir. Ancak yüksek sıcaklıkların uzun süreli etkisi altında mitokondrial stres, oksidatif, hasar ve ATP rezervlerinin tükenmesi gibi olumsuz süreçler devreye girer (Plessis ve ark., 2015). Ayrıca bazı çalışmalar termal stresin sperm hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına yol açtığını ve bu durumun mitokondriyal fonksiyonu olumsuz etkilediğini göstermiştir (Catalán ve ark., 2020). Bu bağlamda termotaksinin termal sinyali algılama süreci sadece yön bulma değil, aynı zamanda enerji yönetimi ve hücresel dayanma kapasitesinin bir göstergesi olarak da düşünülebilir.

c) Hücre İçi Sinyal İletimi

Sıcaklık algısı sonucunda başlayan iyon akımları ve metabolik değişimler sperm hücresinde bir dizi sinyal yolunu harekete geçirmektedir. Örneğin kalsiyum artışı protein kinaz A (PKA) ve diğer fosforilasyon yollarındaki aktive edebilir, flagella hareketlerini modüler eder. Spermatozoa daha sıcak bölgeye yönelirken yaygın olarak "hipermotilit" hareket desteğini gösterir. Ayrıca sıcaklık algısına bağlı olarak aktive olan. G-proteinine bağlı reseptörler (GPCR) ve fosfolipaz C (PLC) yollarını incelendiğinde spermilerin yalnızca otomatik hareket etmesi değil, uyarılmış bir biçimde yön değiştirip hedefe yönelmekte olduğu bildirilmiştir (Pérez-Cereales ve ark., 2015).

Bu kimyasal süreçlerin bir arada çalışması, termotaksiyi pasif bir fiziksel yönelim olayı olmaktan çıkarıp, spermier arasında kaliteli ve hedefe ulaşma potansiyeli yüksek olanların seçilmesini sağlayan aktif bir biyolojik seçim mekanizmasına dönüştürmektedir.

2.5. Termotaksinin Diğer Memeli Türlerindeki Rolü

Memelilerde özellikle fare insan, koyun ve domuz gibi yaygın çalışılan modellerde sperm yönelim mekanizmasının varlığı ve fizyolojik önemi üzerine sayısız araştırma bulunmaktadır. Bu bağlamda termotaksi yani spermin sıcaklık gradyanı algılayarak daha sıcak bölgelere. Yönelmesi hem yön bulma açısından hem de sperm kantin sesini elenmesi açısından kritik rol oynar. Örneğin Bahat ve Eisenbach (2006) tarafından fare modellerinde yapılan bir çalışmada ovulasyon sonrası oviduktun ampulla bölgesinin istmus bölgesine göre yaklaşık 2 derece daha sıcak olduğu gösterilmiştir. Bu sıcaklık farkının spermler için yönlendirici bir sinyal olabileceği ve spermlerin sıcak taraftaki ampulla yönünde toplanma gösterdiği rapor edilmiştir. İnsan spermleri üzerine yapılan *in vitro* çalışmalarda laboratuvar ortamında oluşturulan sıcaklık gradyanına karşı yönelme davranışı gözlenmiştir. Özellikle Cerezales ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada fare ve insan spermlerinde. Termotaksi yönelimle seçilmiş spermlerin DNA düzeyinin daha yüksek, kromatin sıkışmasının daha az olduğu ve. Intra sitoplazmik sperm injeksiyon uygulamasında (ICSI) daha başarılı embriyolar elde edildiği gösterilmiştir. Ayrıca sığır (bovine) ve koyun (ovine) modellerinde yapılan *in vitro* çalışmalarda benzer bulgular elde edilmiştir. Termotaksi olarak yönelmiş spermler kontrol grubundaki spermlere göre daha yüksek motilite daha sağlam zar bütünlüğü, daha düşük DNA hasarı sergilemişlerdir. Bu sonuçlar termotaksinın yalnızca spermin doğru bölgeye ulaşmasını sağlayan bir yön bulma mekanizması olarak değil, aynı zamanda daha kaliteli spermlerin doğal olarak seçildiği bir mekanizma olarak işlev gördüğünü ortaya koymaktadır. Bu veriler ışığında;

- Spermatozoalar için sıcaklık gradyanının algılanması, fertilizasyon sürecinin yalnızca rastgele bir yarıştan ibaret olmadığını, aktif yön bulma seçenekleri içerdiğini göstermektedir.
- Termotaksinın varlığı, spermlerin fizyolojik olarak daha uygun koşullara yönlendirilmesini sağlayarak döllenme başarısına katkı sağlayarak kaliteyi arttırmaktadır.
- Termotaksi, ART çerçevesinde özellikle sperm seçimi açısından büyük potansiyel taşımaktadır. Laboratuvar ortamında sıcaklık gradyanına duyarlı spermleri ayırmak daha yüksek kaliteli sperm kullanım ve dolayısıyla daha yüksek döllenme başarısıyla sonuçlanmaktadır.

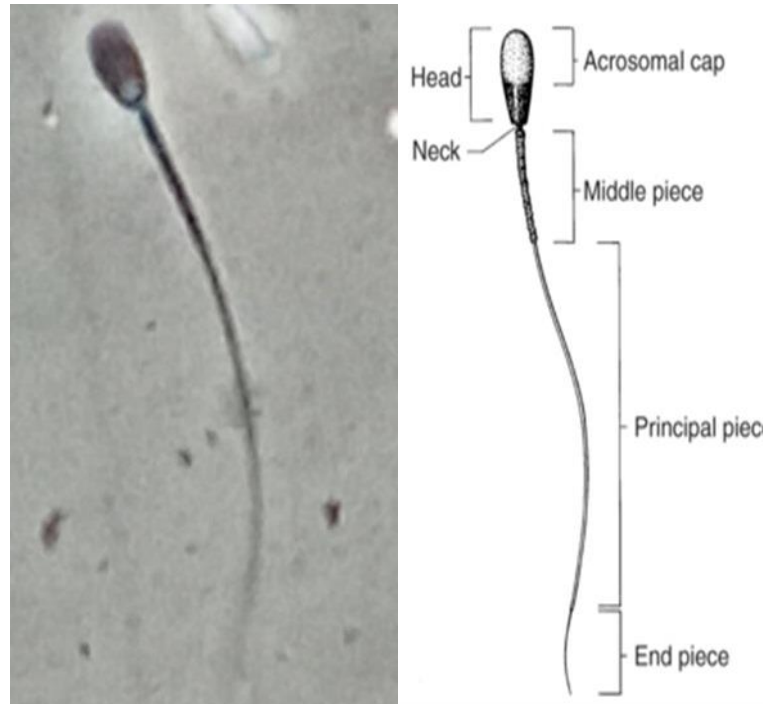
Dolayısıyla termotaksi üzerinde yapılan çalışmalar sperm yönelimi ve kalitesi arasındaki bağlantıyı netleştirerek hem temel üreme biyolojisi hem de pratik uygulamaları önemli katkılar sunacaktır.

2.6. Köpeklerde (*Canis lupus familiaris*) Sperm Özellikleri

Köpek spermi yapısal olarak Baş, boyun ve kuyruk olmak üzere 3 temel bölümden oluşur (Resim x). Baş kısmı çekirdek ve akrozomdan oluşur. Çekirdek babaya ait genetik materyali taşırken, akrozom döllenme sırasında yumurtayı geçmeyi sağlayan enzimleri içermektedir. Baş ile kuyruk arasında yer alan boyun bölgesi mitokondrial kılıfın başlangıç noktasıdır ve spermin hareket kabiliyetini sağlar. Kuyruk bölgesi ise spermin hareketini ve hareketin yönünü belirleyen mikrotübül yapıdadır.

Dişi köpeklerde spermatozoa, fizyolojisi memeli sınıfına ortak pek çok özelliği olsa da bazı özgün yapısal ve işlevsel farklılıklar içerir. Erkek köpekten alınan ejakülasyon un 3 ayrı fonksiyona ayrıldığı bilinmektedir. Pre-spermik sıvı (sperm açısından fakir, genellikle prostat ve üretra salgılar içerir), sperm açısından zengin ana fraksiyon ve prostatik fraksiyon (çoğunlukla sıvı ve yardımcı salgılar içerir). Söz konusu üç fraksiyonun varlığı köpeklerde ejakülasyonun özgün özelliklerinden biridir ve ejakulat hacmi, sperm yoğunluğu ve içerikleri bakımından farklılıklar gösterir. Ana fraksiyon sperm açısından en yoğun olan kısmı oluşturur ve bu yüzden sperm konsantrasyonunun en yüksek düzeyi burada görülür.

Buna ek olarak köpek spermlerin mobilitesi ve canlılığı çevresel faktörlere karşı oldukça hassastır ve sıcaklık özellikle önemli bir etkidir. 34- 38 C derece sıcaklık aralığı genellikle motilite için optimal bir aralık olarak görülürken, 40C derece ve üzerindeki sıcaklıkların sperm zar bütünlüğünü zarar verdiği ATP tüketiminin artırdığı ve oksidatif stres düzeyini yükselttiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Köpek Spermatozoonunun Morfolojik Özellikleri

2.7. Köpek Spermlerinde Termotaksi

Köpeklerde termotaksi üzerine yapılan çalışmalar son derece sınırlıdır. Mevcut çalışmalar çoğunlukla diğer türlerdeki bulguların köpeklere genellenmesi şeklindedir. Köpek spermalarında sıcaklık farklarını değerlendiren model sistemlerin eksikliği, konuya dair net ve tekrar edilebilir bulguların elde edilmesini zorlaştırmaktadır. Ayrıca köpeklerde TRPV kanallarının ekspresyonuna dair moleküler düzeyde yeterli veri bulunmamaktadır. Dolayısıyla termotaksinin fizyolojik temelleri köpeklerde büyük ölçüde teorik düzeyde kalmaktadır. Bu durum, yeni araştırmalara olan gereksinimi artırmaktadır.

2.8. Termotaksinin Üreme Teknolojilerindeki Potansiyeli

Termotaksi, yalnızca doğal döllenme süreçlerinde değil, aynı zamanda modern yardımcı üreme teknolojilerinde (ART) de kullanılabilecek bir biyolojik mekanizmadır. IVF ve ICSI gibi tekniklerde sperm kalitesi, başarı oranını doğrudan etkileyen bir faktördür. Termotaksiyi temel alan sperm seçim yöntemleri, geleneksel yüzdürme veya santrifüj yöntemlerine göre daha fizyolojik ve seçici bir alternatif sunar. Mikroakışkan sistemlerle yapılan deneyler, termotaksiye duyarlı spermaların daha düşük DNA hasarı ve yüksek mitokondri fonksiyonuna sahip olduğunu göstermektedir (Pérez-Cereales ve ark., 2018).

Bu teknolojilerin köpeklerde uygulanabilirliğini araştırmak, köpek yetiştiriciliği ve genetik koruma programları açısından önemli katkılar sunabilir.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Sperma Toplama İşlemleri

Bu çalışmada kullanılan sperma örnekleri, üreme açısından olgunluk seviyesine ulaşmış Amerikan Bully ırkı erkek köpeklerden elde edilmiştir. Hayvanlar, özel bir üretim çiftliğinde barındırılmış olup, araştırma protokolü hayvan refahı esaslarına uygun şekilde düzenlenmiştir.

Sperma toplama işlemi, köpeklere minimum stres uygulayacak şekilde manuel stimülasyon (elle uyarım) yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem hem invaziv olmaması hem de hayvanın fizyolojik yanıtını bozma riskinin düşük olması nedeniyle tercih edilmiştir. Ejakülasyon sonrası toplanan örnekler, önceden 38°C’de ısıtılmış, steril 50 mL’lik konik tüplere alınarak hızla laboratuvara taşınmıştır. Taşıma işlemi sırasında örneklerin canlılığını koruyabilmesi amacıyla ısı yalıtımı sağlanan termal termoslar kullanılmıştır.

Laboratuvara ulaşılan ilk aşamada, örneklerin makroskopik değerlendirmesi yapılmıştır. Bu değerlendirme kapsamında; semen hacmi, rengi, kokusu, pH seviyesi ve viskozite özellikleri incelenmiştir. Bu ön analiz, örneklerin ileri analizlere uygun olup olmadığının belirlenmesi açısından önemlidir. Ayrıca kontaminasyon veya hematospermi gibi durumların da dışlanmasını sağlar.

3.2. Bilgisayarlı Sperm Analizi (CASA) ile Motilite ve Konsantrasyon Ölçümü

Bu çalışmada, her bir taze semen örneği, taşınabilir bilgisayar destekli sperm analiz sistemi (Computer Assisted Sperm Analysis, CASA) olan iSperm (Aidmics Biotechnology) cihazı kullanılarak detaylı bir şekilde değerlendirilmiştir (Şekil 3.1). iSperm cihazı, sperm kalite parametrelerini objektif, hızlı ve yüksek doğrulukla analiz etmek amacıyla tasarlanmış olup, yüksek çözünürlüklü akıllı cihaz kamerası ve özel olarak geliştirilmiş yazılım ara yüzü ile donatılmıştır. Cihazın sahip olduğu yazılım, sperm hücrelerinin hareketliliğini ve çeşitli kinetik parametrelerini tür spesifik algoritmalar üzerinden değerlendirebilme kapasitesine sahiptir.

Analiz öncesinde, her semen örneği 1:200 oranında CaniPlus AI (Minitube) sulandırıcısı kullanılarak seyreltilmiş ve sperm hücrelerinin fizyolojik koşullara en yakın ortamda değerlendirilmesini sağlamak amacıyla 38°C sıcaklıkta tutulmuştur. Seyreltme işlemi, sperm konsantrasyonunu cihazın ölçüm sınırları içerisine çekmek ve hareket analizlerinin sağlıklı yapılabilmesini temin etmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 7–10 µL hacmindeki seyreltilmiş semen örneği, tek kullanımlık bir “chip” üzerine dikkatli bir şekilde pipetlenmiş ve numunenin düzgün bir şekilde yayılmasını sağlamak için özel kapağı ile kapatılmıştır. Bu mikroakışkan çip, sperm hücrelerinin sabit bir yüzey üzerinde düzenli bir dağılım göstermesine ve doğru görüntüleme yapılmasına olanak tanır.

Hazırlanan çip, iSperm analizörüne yerleştirildikten sonra analiz işlemi başlatılmıştır. Kullanılan yazılım, örnekleri ram (koç) spermi için optimize edilmiş iSperm Canine 6 modunda

değerlendirmiştir. Bu tür spesifik mod, analiz sırasında hareketlilik (motilite), progresif motilite, eğrisel hız (VCL), ortalama yol hızı (VAP), doğrusal hız (VSL), lineerlik oranı (LIN), doğrusal ilerleme oranı (STR), baş salınım genişliği (ALH) ve kuyruk vuru frekansı (BCF) gibi bir dizi kinetik parametreyi detaylı biçimde ölçmüştür.

Analiz sonuçları, cihaz ekranında grafiksel olarak görüntülenmiş ve aynı zamanda dijital olarak kaydedilmiştir. Bu veriler daha sonra istatistiksel analizlerde kullanılmak üzere dışa aktarılmıştır.

Bu yöntem, analiz süresini kısaltmasının yanı sıra, insan hatasını minimize etmesi ve yüksek tekrarlanabilirlik sunması bakımından çalışmanın güvenilirliğini artırmıştır.



Şekil 3.1. Bilgisayarlı Sperm Analiz Sistemi (Computer-Assisted Sperm Analysis- CASA)

3.3. Sperm Canlılık ve Zar Bütünlüğü Değerlendirmesi

Spermatozoların canlılık oranı, Nigrosin-Eozin çift boyama yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 3.2). Bu yöntem, sperm zarının geçirgenliğine dayalı olarak ölü ve canlı hücrelerin ayırt edilmesini sağlar. Her gruptan alınan 10 μ L semen örneği, 10 μ L Eozin ve 20 μ L Nigrosin boyasıyla karıştırılmış ve lam üzerine ince yayma şeklinde uygulanmıştır. Preparatlar oda sıcaklığında havada kurutulmuş ve 400x büyütmede Leica DMR faz-kontrast mikroskobu altında

değerlendirilmiştir. Her örnekten en az 100 spermatozoa sayılarak, boyanmış (pembe/kırmızı) hücreler ölü, boyanmamış (beyaz) hücreler ise canlı olarak kaydedilmiştir.



Şekil 3.2. Nigrosin-Eozin Boyama Tekniği ile Sperm Canlılık Değerlendirmesi

Sperm zar bütünlüğü değerlendirmesi için Hipoozmotik Şişme Testi (HOST) uygulanmıştır (Şekil 3.3). Bu test, spermatozoanın kuyruk kısmındaki membran yapısının sağlamlığını değerlendirir. Hipoozmotik ortamda su geçişi zar aracılığıyla olur ve zar sağlam ise şişme ve kıvrılma gözlenir.

Test prosedürü şöyledir:

- 100 μ L semen, 900 μ L hipoozmotik fruktoz çözeltisi (100 mOsmol/kg) ile karıştırılmıştır.
- Karışım 37°C’de 30 dakika inkübe edilmiştir.
- Ardından 10 μ L’lik örnek lam üzerine alınarak faz-kontrast mikroskop altında değerlendirilmiştir.
- Kuyruk kısmında şişme ve kıvrılma gözlemlenen spermatozoalar HOST-pozitif olarak değerlendirilmiş ve % oranları kaydedilmiştir.

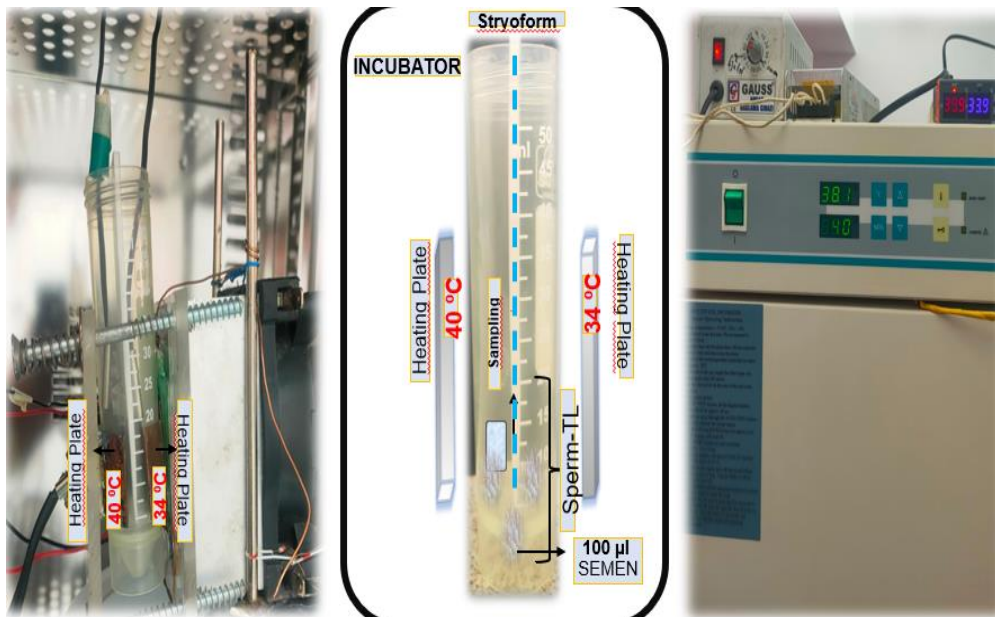
Bu iki test, spermelerin fizyolojik durumunu hem yapısal hem de fonksiyonel düzeyde değerlendirmeye imkân tanımaktadır.



Şekil 3.3. Hipoozmotik Şişme Testi (HOST) ile Sperm Zar Bütünlüğü Analizi

3.4. Deneysel Düzeneğin Kurulumu ve Termotaksi Modeli

Çalışmada spermatozoaların sıcaklık gradyanlarına karşı gösterdikleri davranışsal tepkileri değerlendirmek amacıyla özel olarak tasarlanmış bir Termotaksi model sistemi geliştirilmiştir. Bu model modifiye edilmiş 50 mL hacmindeki Falcon tüplerine dayanmaktadır. Her bir tüp içerisine 5 ml seviyesine kadar uzanan 2 mm kalınlığında strafor (polistiren) bir bariyer yerleştirilerek iki eşit yarım küreye ayrılmıştır (Şekil.3.4)



Şekil 3.4. Termotaksi Modelin Deneysel Tasarımın

Bu strafor bariyer (Şekil 3.5) çift işlevli olarak görev yapmaktadır:

1. Yarım küreler arasında ısı iletimini azaltmak,
2. Spermilerin tüpün ortasından geçerek karşı bölgeye ulaşmalarını fiziksel olarak engellemek.



Şekil 3.5. Strafor bariyer yerleşimi

Bu sayede tüp içerisinde termal ayrışmanın korunması ve gradyan boyunca net bir sıcaklık farkının oluşması sağlanmıştır.

Her bir yarım küre de farklı sıcaklık ortamları oluşturmak amacıyla tüplerin dış yüzeylerine bağımsız olarak kontrol edilen bakır, ısıtma ve soğutma plakaları entegre edilmiştir (Şekil 2.6). Bu plakalar tüplerin 5 ml çizgisinden yukarıya kadar olan kısmını kapsayacak şekilde konumlandırılmış ve lokal sıcaklık modülasyonu sağlamaktadır.

Isıtma işlemi, düşük voltaj ve düşük akımla çalışan bir güç adaptörü (Gauss, TR) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

Soğutma işlemi ise, 2V gerilimde çalışan ve 49W güç kapasitesine sahip, 40×40 mm boyutlarındaki termoelektrik (Peltier) soğutucu modülü (Multicomp Pro) ile sağlanmıştır.

Bu sistemde bir yarım küre 34°C’de, diğer yarım küre ise 40°C’de sabitlenerek yaklaşık $\pm 1^\circ\text{C}$ hassasiyetinde sabit bir dikey sıcaklık gradyanı oluşturulmuştur. Temel stabilitenin ve hedef sıcaklıkların sürekli konulabilmesi için her yarım küre içine dijital sıcaklık sensörler yerleştirilmiştir. Bu sensörler gerçek zamanlı veri sağlayarak STC3008 dijital termostat sistemi aracılığıyla ısıtma- soğutma birimlerinin dinamik olarak ayarlanmasına imkân sağlamıştır. Ayrıca, %5 CO₂ atmosferine sahip, 38°C’de çalışan nemlendirilmiş bir inkübatör içerisine yerleştirilmiştir.

Bu koşullar altında Termotaksi testinin gerçekleşeceği 60 dakikalık inkübasyon süresi boyunca sistemdeki sıcaklık farklılıkları sabit tutulmuş ve çevresel kontrol sağlanmıştır.

3.5. Örneklerin Hazırlanması ve İnkübasyon Koşulları

Çalışmada kullanılan taze sperm örnekleri en az %75 canlılık oranına sahip olacak şekilde seçilmiştir. Spermier toplandıktan hemen sonra laboratuvara getirilmiş ve değeriendirme için hazırlanmıştır. Çalışmada her örnekten 100 µL'lik bir alikot alınmış ve bu alikodlar 200 µL'lik Eppendorf tipli manuel pipet kullanılarak hem kontrol hem de termotaksi tüplerinin konik dip kısımlarına dikkatlice bırakılmıştır. Bu işlem sırasında spermin tüp içerisinde gereksiz yere dağılmasını, yüzeylere tutunmasını veya mekanik hasar görmesini önlemek amacıyla pipetleme yavaşça yapılarak uçlarının duvara temasından kaçınılmıştır (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. 100 µL'lik sperm örneğinin tüplere aktarımı

Kontrol ve termotaksi deney tüplerinin her biri işlemiden en az 2 saat önce hazırlanmış ve 20 mL Sperm-TL çözeltisi ile doldurulmuştur. Böylece hem çözeltinin sıcaklık ve pH stabilitesinin sağlanması hem de ortamın homojenleşmesi amaçlanmıştır. Sperm-TL çözeltisi spermierin fizyolojik motiliteyi sürdürülebilmesi için gerekli ironik, bileşimi içeren ve sperm çalışmaları için yaygın olarak kullanılan bir ortamdır. Spermierin eklenmesinin ardından her 2 tüp de 5% CO₂ atmosferine sahip, yüksek nem kontrollü bir inkübatöre yerleştirilmiştir. Bu koşullar, spermin hem pH hem de osmolarite açısından fizyolojik olarak uygun ortam sağlamıştır. Kontrol grubuna ait tüp

ise aynı inkübatör içerisinde 38°C inkübe edilmiştir (Şekil 2.6). Termotaksi grubuna ait deney tüpü ise aynı şartlarda ve inkübatörde bulunmakta ancak hazırlanan model içerisinde tüpler. 2 yarım küreye ayrılmış ve küreler arasındaki sıcaklık farkı, harici, ısıtma- soğutma yöntemiyle korunarak. 34°C ile 40°C arasında farklı ve dikey bir sıcaklık gradyanı maruz bırakılmıştır. Böylece spermilerin farklı sıcaklık bölgelerine yönelim davranışı değerlendirilmiştir.

Termotaksi davranışın analizi için inkübasyon süresinin sonunda “swim-up (yüzme-yükselme)” prensibinden yararlanılmıştır. Bu yöntem, motil ve canlı spermilerin daha sıcak veya daha uygun bölgeye doğru aktif şekilde hareket etmesi esasına dayanır ve termotaksiyi belirlemede güvenilir bir göstergedir.

3.6. Termotaksi Sonunda Örnek Toplama ve Analiz

İnkübasyon süresi olan 60 dakika tamamlandıktan sonra, termotaksi model tüplerinin her iki yarım küresinden de örnek toplanmıştır. Her bir bölümden 1000 µL (1 mL) hacminde sperm süspansiyonu alınmıştır. Bu örnekleme, tüplerin iç yapısına zarar vermeden ve sıcaklık bölgelerinin karışmasına neden olmayacak şekilde, steril uçlu pipetler ile dikkatlice gerçekleştirilmiştir.

Toplanan örnekler, öncelikle sperm konsantrasyonu, motilite düzeyleri ve morfolojik yapı açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca her bir bölümden sperm sayısının ve hareket özelliklerinin karşılaştırılması yoluyla, spermilerin sıcaklık gradyanına karşı gösterdikleri yönelme (Termotaksi) eğilimi belirlenmiştir. Böylece spermin daha sıcak alana mı, daha soğuk alana mı yoksa gradyan boyunca eşit dağılıma mı yöneldiği analiz edilmiştir.

Bu veriler, sıcaklık farkının sperm davranışı üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla kaydedilmiş ve sonraki istatistiksel analizlerde kullanılmıştır.

3.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, Amerikan Bully ırkı köpeklerden elde edilen spermilerin farklı sıcaklık gradyanlarına (34°C, 38°C ve 40°C) maruz bırakılmasının ardından spermatolojik parametrelerde meydana gelen değişimlerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, hem sürekli değişkenler (motilite, konsantrasyon, kinetik parametreler gibi) hem de kategorik değişkenler (canlı/ölü sperm oranı, zar bütünlüğü – HOST) dikkate alınarak uygun istatistiksel yöntemler kullanılmıştır.

Sürekli değişkenlere ait verilerin analizinde, grup ortalamaları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığını belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır. Varyans analizi sonucunda gruplar arasında anlamlı farklılıklar tespit edildiğinde, hangi gruplar arasında bu farkın bulunduğunu ortaya koymak için Tukey’in Honestly Significant Difference (HSD) çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Verilerin normal dağılım ve varyans homojenliği koşullarının sağlandığı belirlenmiştir.

Sperm canlılığı (canlı/ölü oranı) ve zar bütünlüğü (HOST testi pozitif/negatif) gibi ikili kategorik verilere ait gruplar arası farkların değerlendirilmesinde ise Ki-kare testi (χ^2 test) kullanılmıştır. Her sıcaklık grubundaki canlı-ölü ve HOST-pozitif-negatif sperm sayıları ayrı ayrı incelenmiş ve gruplar arası dağılımlar karşılaştırılmıştır.

Tüm istatistiksel analizler, Minitab 19 istatistik yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiş, anlamlılık düzeyi olarak $p < 0.05$ değeri esas alınmıştır. Veriler, ortalama $\pm$ standart sapma (mean $\pm$ SD) şeklinde sunulmuştur. Elde edilen sonuçlar tablolar ve grafiklerle desteklenerek raporlanmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

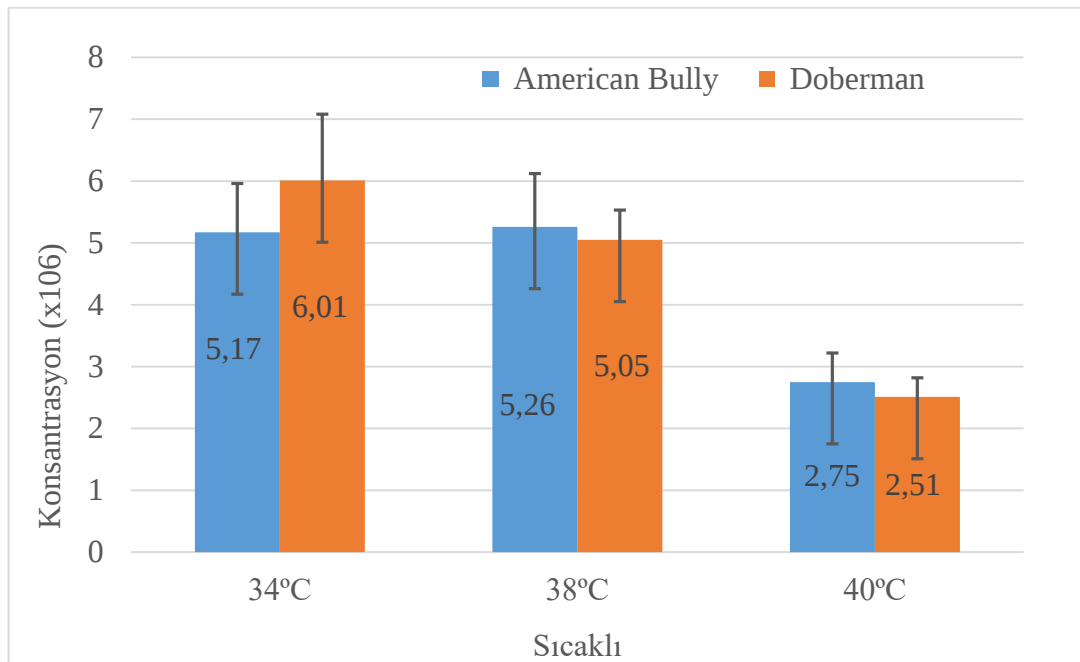
Bu bölümde, farklı sıcaklıklara maruz bırakılan Amerikan Bully ve Doberman ırkı köpek spermlerinin motilite, konsantrasyon, zar bütünlüğü ve canlılık gibi temel fizyolojik parametreleri karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, belirlenen sıcaklık grupları olan 34°C, 38°C ve 40°C için analiz edilmiştir. Ayrıca başlangıçtaki taze örnek de referans olarak değerlendirmelere dahil edilmiştir.

4.1. Sperm Konsantrasyonu

Bu çalışmada Amerikan bulı ve Doberman ırkı köpeklere ait bölümlerin iki farklı dikey sıcaklık gradyanına bırakılması sonrası elde edilen konsantrasyon değerleri karşılaştırılmıştır. Her 2 ırk için de en yüksek sperm konsantrasyonu 34°C grubunda ölçülmüş, sıcaklık arttıkça konsantrasyon değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir.

Amerikan Bully grubunda ortalama sperm konsantrasyonu. 34°C’de $5,17 \times 10^6$, 38°C’de $5,26 \times 10^6$, ve 40°C’de $2,75 \times 10^6$ olarak ölçülürken; Doberman grubunda bu değerler sırasıyla $6,01 \times 10^6$, $5,05 \times 10^6$, ve $2,51 \times 10^6$ olarak belirlenmiştir. Özellikle 34°C ile 40°C arasındaki fark her iki ırk içinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$).

Bu sonuçlar köpek spermilerin yüksek sıcaklıktan kaçınarak daha düşük sıcaklık bölgelerinde yoğunlaştığı, yani Termotaksi davranış sergilediğini göstermektedir. 34°C, spermier için daha uygun bir mikro çevre sunarak hareketlerini o bölgeye yönlendirmiş olabilir. Bu bulgu termotaksinin canlı sperm seçiminde önemli bir mekanizma olabileceğini desteklemektedir.



Şekil 4.1 Farklı Sıcaklık Gradyanlarında Amerikan Bully ve Doberman Sperm Konsantrasyonunun Karşılaştırılması

Tek yönlü (One-Way ANOVA) varyans analizi sonuçlarına göre, sıcaklığın sperm konsantrasyonu üzerine anlamlı etkisi olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Ancak, iki ırk arasında genel eğilim benzer olup ırklar arasında farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışmadan elde edilen bulgular, sperm termotaksisinin klasik tanımıyla çelişmektedir; klasik tanıma göre spermatozoonlar, ” yatay” bir sıcaklık gradyanında (daha yüksek sıcaklıklara doğru) hareket ederler. İnsan, tavşan ve farelerde yapılan çalışmalarda, kapasitasyon geçirmiş sperm hücrelerinin yüzme davranışlarını modüle ederek daha sıcak olan (yatay) bölgelere aktif olarak yüzdükleri gösterilmiştir (Bahat ve ark., 2006; Bahat ve ark., 2012; Boryshpolets ve ark., 2015; Xiao ve ark., 2022)

4.2. Sperm Motilitesi ve Kinetik Parametreler

Bu çalışmada Amerikan Bully ve Doberman ırkı köpeklerden elde edilen sperm örneklerinin farklı iki dikey sıcaklık gradyanına (34 ile 40) yönlendirilmesinin (swim up), sperm hareketliliği bazı sperm kinetik özellikleri değerlendirilmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda incelenen parametrelerin ırk ve sıcaklık değişkenine göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği belirlenmiştir ($p > 0.05$).

Bununla birlikte, elde edilen ortalama değerlere bakıldığında her iki ırkta da 34 °C ve 38 °C sıcaklıklarında sperm motilitesi (%), progresif motilite (%) ve hız parametrelerinin (VCL, VSL, VAP) 40 °C'ye göre daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Özellikle Amerikan Bully ırkında, 38 °C'de Curvilinear Velocity (VCL) $112,3 \pm 8,33 \mu\text{m/s}$ olarak ölçülmüş ve bu sıcaklıkta sperm hareketliliği açısından optimal değerler elde edilmiştir. Benzer şekilde, Doberman ırkında da en yüksek VCL değeri $110,2 \pm 7,91 \mu\text{m/s}$ ile 34 °C'de ölçülmüştür.

Straightness (%), Linearity (%), BCF (Hz) ve ALH (μm) gibi parametreler açısından da 34 °C ve 38 °C gruplarında 40 °C'ye göre daha yüksek değerler kaydedilmiştir. 40 °C sıcaklığına maruziyet sonrası motilite, progresif motilite ve yönelime ilişkin parametrelerde düşüş gözlemlenmiş, bu da yüksek sıcaklığın sperm hareket yeteneği üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceğini düşündürmektedir.

VSL ve VAP, sperm yöneliminin doğruluğunu ve etkinliğini gösterir. Bu parametreler 38°C'de en yüksek olmakla birlikte 40°C'de belirgin fakat istatistiksel olarak önemli olmayan azalma göstermiştir. ALH (Baş salınımı genliği) ve WOB (denge katsayısı) gibi parametreler, hareket verimliliğini yansıtır. Bu değerler 40°C'de düşüş göstermiştir. STR (Straightness) en yüksek 38°C'de olup, bu sıcaklığın ileriye doğru yönelimi desteklediğini göstermektedir.

Sonuç olarak, her iki ırkta da 34 °C ve 38 °C sıcaklıklarının sperm hareketliliği ve kinetik parametreleri açısından daha uygun olduğu, 40 °C'de ise parametrelerin belirgin şekilde azaldığı fakat bu farkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır

Çizelge 4.1. Farklı sıcaklık gradyanlarının Amerikan Bully ve Doberman spermlerinin motilite ve kinetik parametreleri üzerine etkisi

Temperature/ Kintetic Parameters	Amarikan Bully			Doberman			İrk	Sıcaklık
	34 °C	38 °C	40 °C	34 °C	38 °C	40 °C		
Motility (%)	55,7±5,18	55,4±7,36	45,4±5,66	53,0±6,22	53,2±4,98	43,8±5,12	P	P
Progressive Motility (%)	55,5±5,46	54,7±8,18	44,4±8,84	52,8±6,78	53,0±5,02	42,7±6,95	NS	NS
Curvilinear Velocity (um/s)	109,3±4,66	112,3±8,33	102,6±9,30	110,2±7,91	107,1±5,55	100,1±8,90	NS	NS
Average Path Velocity (um/s)	47,4±2,22	48,3±3,21	44,8±4,62	47,6±3,00	46,2±2,12	43,2±4,10	NS	NS
Straight Line Velocity (um/s)	32,8±2,47	35,3±2,96	31,9±4,25	34,3±2,78	31,5±2,45	30,7±3,92	NS	NS
Linearity (%)	32,1±3,21	21,2±1,49	27,5±2,27	20,3±1,41	31,0±2,84	26,8±2,05	NS	NS
Straightness (%)	63,6±3,67	69,1±2,04	60,6±4,39	67,0±1,89	61,5±3,20	58,5±4,10	NS	NS
ALH (um)	7,8±0,92	7,2±0,45	6,4±0,44	6,9±0,41	7,5±0,87	6,1±0,41	NS	NS
BCF (Hz)	21,2±1,54	21,6±1,19	22,3±1,80	21,2±1,10	20,8±1,42	22,0±1,70	NS	NS
WOB (%)	43,3±1,26	43,8±1,19	40,6±2,62	42,9±1,10	42,1±1,22	39,4±2,20	NS	NS

4.3. Sperm Zar Bütünlüğü (HOST Testi)

Sperm zarının sağlamlığı hem canlılık hem de döllenme yeteneği açısından kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada HOST testi ile zar bütünlüğü değerlendirilmiştir. Taze örneklerde HOST-pozitif sperm oranı $85,7 \pm 6,18$ olarak saptanmıştır. 34°C grubunda bu oran $65,4 \pm 4,36$, 38°C’de $67,4 \pm 3,16$, 40°C’de ise $45,4 \pm 4,61$ olarak bulunmuştur.

Yüksek sıcaklık, sperm hücresinin membran geçirgenliğini bozarak su-elektrolit dengesini değiştirir ve bu da zarın şişmesini engeller. 40°C’de HOST pozitif oranındaki düşüş, hücre zarlarının sıcaklık nedeniyle hasar gördüğünü göstermektedir.

Çizelge 4.2. Farklı sıcaklık gradyanlarının HOST pozitif sperm oranları

	HOST-Positive Sperm (%)
Start (Fresh)	85,7±6,18 ^a
34 °C	65,4±4,36 ^b
38 °C	67,4±3,16 ^b
40 °C	45,4±4,61 ^c

4.4. Sperm Canlılığı (Nigrosin-Eozin Testi)

Spermin canlılık durumu, zar bütünlüğü ile doğrudan ilişkilidir. Nigrosin-Eozin boyası ile yapılan değerlendirmede;

Taze örneklerde canlı sperm oranı %88,1 (185/25) olarak bulunmuştur. 34°C’de bu oran %69,8 (155/67), 38°C’de %66,6 (140/70), 40°C’de ise %57,4 (120/89) olarak belirlenmiştir.

Canlılık oranları sıcaklıkla ters orantılı şekilde azalmıştır. Bu durum, yüksek sıcaklıkta spermde oksidatif stresin arttığını, zar geçirgenliğinin bozulduğunu ve metabolik yıkımın hızlandığını göstermektedir. Özellikle 40°C’deki canlılık kaybı, döllenme potansiyelinin düşmesine neden olabilir.

Çizelge 4.3. Sıcaklık gradyanlarının Canlı/Ölü sperm oranları üzerindeki etkisi.

	% Sperm (Live/Dead)
Start (Fresh)	88,1 (185/25) ^a
34 °C	69,8 (155/67) ^b
38 °C	66,6 (140/70) ^b
40 °C	57,4 (120/89) ^b

Sperm motilitesi ve konsantrasyonu, döllenme başarısını etkileyen kritik parametrelerdir. Motilite, spermatozoanın oosite ulaşma ve onu dölleme işlevini yerine getirme kapasitesini

yansıtırken; konsantrasyon ise farklı fizyolojik koşullar altında spermilerin hayatta kalma ve korunma düzeyine dair önemli bilgiler sunar. Bu çalışmada, sıcaklığın sperm konsantrasyonu üzerinde anlamlı düzeyde etkili olduğu gösterilmiştir. En yüksek sperm korunumu 34°C’de, ardından 38°C’de gözlenmiş; en düşük konsantrasyon ise 40°C’de kaydedilmiştir. Bu bulgular, aşırı ısıya maruz kalmanın sperm hayatta kalma yeteneği üzerinde olumsuz etkiler yarattığını, bunun muhtemelen hücrel stresin artması ve metabolik tükenme ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Köpeklerde ve diğer memeli türlerinde yapılan önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında, spermilerin sıcaklığa bağlı olarak farklı hayatta kalma desenleri gösterdiği ve bu desenlerin metabolik aktivite ile ısı stresine duyarlılıkla yakından ilişkili olduğu görülmektedir. Bu bağlamda, 34°C ve 38°C’de gözlenen yüksek sperm konsantrasyonu, sığır ve koyun spermileriyle yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir. Bu çalışmalar, orta düzey sıcaklıkların (34°C–38°C) sperm korunumu ve depo edilmesini desteklediğini ortaya koymuştur (García ve ark., 2021; Van de Hoek ve ark., 2022).

Buna karşılık, 40°C’de sperm konsantrasyonundaki keskin düşüş, ısı stresinin spermelerde dejenerasyonu hızlandığını düşündürmektedir. Bu durum; artan apoptozis, zar hasarı ve oksidatif stres aracılığıyla gerçekleşiyor olabilir. İnsan ve fare spermeleri üzerine yapılan araştırmalar, kapasiteye uğramış spermilerin aktif olarak 35–38°C sıcaklık aralığına göç ettiğini bildirmektedir (Pérez-Cereales ve ark., 2018).

Bu eğilimi açıklayan olası bir mekanizma, yüksek sıcaklıkların spermelerde erken metabolik aktivasyonu tetiklemesi ve bunun sonucunda ATP rezervlerinin hızla tükenmesidir (Turner, 2006). Bilindiği üzere, spermatozoalar enerji üretiminde oksidatif fosforilasyon ve glikoliz yollarına bağımlıdır. Aşırı sıcaklık koşullarına uzun süre maruz kalmak, mitokondriyal aktiviteyi aşırı yükleyerek metabolik bir kriz başlatabilir; bu da canlılıkta azalma ve sperm kaybında artışa neden olur (Plessis ve ark., 2015). Bu hipotez, Van de Hoek ve arkadaşlarının (2022) çalışmasıyla da desteklenmektedir; bu çalışmada, yüksek sıcaklıklarda artan metabolik taleplerin sperm dayanıklılığını azalttığı ve inkübasyon sonrası örneklerdeki sperm sayısının düştüğü gösterilmiştir.

Çalışmamızda uygulanan Nigrosin-Eozin boyama ve HOST testleri, sıcaklığa bağlı olarak sperm konsantrasyonundaki azalmaya dair ek bulgular sağlamıştır. Özellikle 40°C’de HOST-pozitif sperm oranındaki anlamlı düşüş, ısıya maruz kalmanın zar bütünlüğünü zayıflattığını ve spermeleri lizis (çözülme) ve kayba karşı daha duyarlı hale getirdiğini göstermektedir. Bu durum, Rickard ve arkadaşlarının (2022) bulgularıyla da örtüşmektedir; onların çalışmasında yüksek sıcaklıkların sperm lipid zarlarını bozarak ozmotik strese dayanma kapasitelerini azalttığı gösterilmiştir.

Ayrıca, 40°C’de gözlenen sperm azalması, yüksek sıcaklığa bağlı DNA parçalanması ile de açıklanabilir. İnsan, sığır ve köpek spermelerinde yapılan çalışmalarda, termal stresin oksidatif hasarı artırarak DNA bütünlüğünü bozduğu ve bunun sperm ömrünü olumsuz etkilediği

gösterilmiştir (Pérez-Cereales ve ark., 2015). Bu mekanizma, çalışmamızda 40°C grubunda gözlenen belirgin sperm kaybını açıklayabilir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışma, sıcaklığın sperm konsantrasyonu, motilitesi ve canlılığı üzerinde belirleyici bir rol oynadığını açıkça ortaya koymaktadır. Sperm tutulumu, en yüksek düzeyde 34°C ve 38°C sıcaklıklarında gerçekleşmiş; buna karşılık, 40°C'ye maruz bırakılan örneklerde belirgin sperm kaybı gözlenmiştir. Bu kaybın başlıca nedenleri arasında ısıya bağlı metabolik tükenme, zar bütünlüğünün bozulması ve oksidatif stresin artması yer almaktadır.

Elde edilen bulgular, sığır, insan ve kemirgen spermleri üzerine yapılan önceki çalışmalarla büyük ölçüde örtüşmekte; bu durum, sıcaklığa bağlı sperm hayatta kalma mekanizmalarının türler arasında korunduğunu ve evrimsel olarak benzer biyolojik tepkilerin varlığını desteklemektedir.

Çalışma sonuçları, özellikle köpeklerde uygulanan yardımcı üreme teknolojileri (ART) açısından önemli çıkarımlar içermektedir. Spermin toplanması, işlenmesi ve suni tohumlama sürecinde sıcaklık kontrolünün hassas bir şekilde sağlanması, fertilizasyon başarısını doğrudan etkileyebilir. Bu bağlamda, sperm işleme protokollerinde tercih edilen sıcaklık aralıklarının bilimsel verilerle desteklenmesi gerektiği bir kez daha vurgulanmıştır.

İleriye dönük olarak yapılacak araştırmaların, termotaksiye dayalı sperm seçimi stratejilerine odaklanması önerilmektedir. Bu yaklaşım, yalnızca yüksek kaliteli ve canlı spermlerin seçilmesini değil, aynı zamanda daha fizyolojik ve başarılı döllenme süreçlerinin sağlanmasını mümkün kılabilir. Böylelikle, hem doğal çiftleşmeye yakın koşullarda döllenme elde edilebilir hem de köpek ırklarında üreme verimliliği artırılabilir.



KAYNAKLAR

- Ali, M. A., Wang, Y., Qin, Z., Yuan, X., Zhang, Y., & Zeng, C. 2021. Odorant and taste receptors in sperm chemotaxis and cryopreservation: Roles and implications in sperm capacitation, motility and fertility. *Genes*, 12(4), 488. <https://doi.org/10.3390/genes12040488>
- Bahat, A., & Eisenbach, M. 2006. Sperm thermotaxis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 252(1–2), 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2006.03.023>.
- Bahat A, Fertil B and Eisenbach M. Thermotaxis of human sperm cells in extraordinarily shallow temperature gradients over a wide range. *PLoS ONE* 2012; 7: e41915. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041915>
- Boryshpolets S, Cerezales PS, Eisenbach M. 2015. Behavioral mechanism of human sperm in thermotaxis: a role for hyperactivation, *Hum Reprod.* 2015; 30: 884–892. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev002>.
- Catalán, J., Pérez-Patiño, C., Barranco, I., Parrilla, I., Vergara-Barberán, M., Martínez, E. A., & Rodríguez-Martínez, H. 2020. Impact of oxidative stress on the male reproductive tract and its role in sperm physiology. *Theriogenology*, 150, 172–183. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.02.014>
- De Toni, L., Cosci, I., Finocchi, F., Magagna, S., Carpi, A., Galfano, A., Lombardo, F., Garolla, A., & Foresta, C. (2016). Heat detection in human sperm: A role for transient receptor potential vanilloid type-1 (TRPV1) channels. 2018. *Molecular Human Reproduction*, 22(11), 713–723. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaw047>
- García, B. M., Fernández, L. G., Ferrusola, C. O., & Tapia, J. A. 2021. Temperature and sperm function in livestock species: Role of oxidative stress. *Reproduction in Domestic Animals*, 56(4), 491–502. <https://doi.org/10.1111/rda.13865>.
- Hamano, M., Hayakawa, H., & Nakagawa, H. 2016. The roles of transient receptor potential channels in mouse spermatozoa. *Biological Research in Pregnancy and Perinatology*, 7, 1–8.
- Hwang, B., Lee, D., Hwang, S. J., Baek, J. H., & Kim, B. 2019. Rheotaxis-based high-throughput motile sperm sorting device. *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing*, 20(6), 1037–1045. <https://doi.org/10.1007/s12541-019-00117-w>.
- Kang, H., An, T., Lee, D., & Kim, B. (2019). Gravity and rheotaxis-based sperm sorting device employing a cam-actuated pipette mechanism. *Review of Scientific Instruments*, 90(8), 084101. <https://doi.org/10.1063/1.5109980>
- Khodamoradi, M., Rafizadeh Tafti, S., Mousavi Shaegh, S. A., Aflatoonian, B., Azimzadeh, M., & Khashayar, P. 2021. Recent microfluidic innovations for sperm sorting. *Chemosensors*, 9(5), 126. <https://doi.org/10.3390/chemosensors9050126>.

- Nagashima, J. B., & Songsasen, N. 2021. Reproductive physiology and assisted reproduction in canids. In *Reproductive Sciences in Animal Conservation* (pp. 313–342). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-68652-9_12.
- Pérez-Cerezales, S., Boryshpolets, S., & Eisenbach, M. 2015. Behavioral mechanisms of mammalian sperm guidance. *Asian Journal of Andrology*, 17(4), 628–632. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.153303>
- Pérez-Cerezales, S., Laguna-Barraza, R., de Castro, A. C., Sánchez-Calabuig, M. J., Cano-Oliva, E., de Castro-Pita, F. J., Montoro-Buils, L., Pericuesta, E., Fernández-González, R., & Gutiérrez-Adán, A. 2018. Sperm selection by thermotaxis improves ICSI outcome in mice. *Scientific Reports*, 8(1), 2902. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21276-5>.
- Plessis, S. S. D., Agarwal, A., Mohanty, G., & van der Linde, M. 2015. Oxidative phosphorylation versus glycolysis: What fuel do spermatozoa use? *Asian Journal of Andrology*, 17(2), 230–235. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.135123>.
- Rickard, J. P., Leahy, T., Soleilhavoup, C., Tsikis, G., Labas, V., Harichaux, G., Lynch, G. W., Druart, X., & de Graaf, S. P. 2022. Influence of temperature on ram spermatozoa lipid composition and membrane stability. *Biology*, 11(12), 1715. <https://doi.org/10.3390/biology11121715>.
- Suarez, S. S., & Pacey, A. A. 2006. Sperm transport in the female reproductive tract. *Human Reproduction Update*, 12(1), 23–37. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmi047>.
- Teves, M. E., Guidobaldi, H. A., Uñates, D. R., Sánchez, R., Miska, W., Publicover, S. J., Morales, P., & Giojalas, L. C. 2006. Molecular mechanism for human sperm chemotaxis mediated by progesterone. *PLoS ONE*, 4(12), e8211. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008211>.
- Turner, R. M. Moving to the beat: A review of mammalian sperm motility regulation. 2005. *Reproduction, Fertility and Development*, 18(2), 25–38. <https://doi.org/10.1071/RD05112>
- Van de Hoek, M., Rickard, J. P., & de Graaf, S. P. 2022. Motility assessment of ram spermatozoa. *Biology*, 11(12), 1715. <https://doi.org/10.3390/biology1112>
- Xiao W, Yu M, Yuan Y, Liu X, Chen Y. Thermotaxis of mammalian sperm. *Mol Hum Reprod*. 2022; 28: gaac027. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaac027>.

ÖZGEÇMİŞ

Osman Kürşat SOYDAN. İlk, Orta ve Lise öğrenimini İskenderun ilçesinde tamamladı. 2017 yılında Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü'nde lisans eğitimine başladı ve 2021 yılında mezun oldu. 2021 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootečni Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı ve 2024 yılında Karadağ da kendi işletmesinde faaliyetlerine devam etmektedir.

