



**T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
DÖLERME VE SUNİ TOHURLAMA (VETERİNER) ANA BİLİM DALI**

**FARKLI SICAKLIKLARDA ÇÖZDÜRÜLEN BOĞA
SPERMASININ ÇÖZÜM SONRASI FARKLI PERİYOTLARDA
SPERMATOLOJİK PARAMETRELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Fatma Nur ULUNÇ

Danışman
Doç. Dr. Murat SELÇUK

SAMSUN
2023

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
DÖLERME VE SUNİ TOHUMLAMA (VETERİNER) ANA BİLİM DALI



**FARKLI SICAKLIKLARDA ÇÖZDÜRÜLEN BOĞA
SPERMASININ ÇÖZÜM SONRASI FARKLI PERİYOTLARDA
SPERMATOLOJİK PARAMETRELERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Fatma Nur ULUNÇ

Danışman

Doç. Dr. Murat SELÇUK

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.VET.1904.21.043 proje numarası ile desteklenmiştir.

SAMSUN
2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Fatma Nur ULUNÇ tarafından, **Doç. Dr. Murat SELÇUK** danışmanlığında hazırlanan “**FARKLI SICAKLIKLARDA ÇÖZDÜRÜLEN BOĞA SPERMASININ ÇÖZÜM SONRASI FARKLI PERİYOTLARDA SPERMATOLOJİK PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 21.2.2023 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı Adı Soyadı Üniversitesi Ana Bilim/Ana Sanat Dalı	Sonuç
Başkan	Prof. Dr. Mesut ÇEVİK Ondokuz Mayıs Üniversitesi Dölerme ve Suni Tohumlama Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Murat SELÇUK Ondokuz Mayıs Üniversitesi Dölerme ve Suni Tohumlama Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
Üye	Doç. Dr. Fatih AVDATEK Ondokuz Mayıs Üniversitesi Dölerme ve Suni Tohumlama Ana Bilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

Prof. Dr. Ahmet TABAK
Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

HazırladığımYüksek Lisans tezinin bütün aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara riayet ettiğimi, çalışmada doğrudan veya dolaylı olarak kullandığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin Kaynaklar'da gösterilenlerden oluştuğunu, her unsurun enstitü yazım kılavuzuna uygun yazıldığını ve TÜBİTAK Araştırma ve Yayın Etiği Kurulu Yönetmeliği'nin 3. bölüm 9. maddesinde belirtilen durumlara aykırı davranılmadığını taahhüt ve beyan ederim.

Etik Kurul Gerekli mi?

Evet ☐ (Gerekli ise ekler kısmına ekleyiniz)

Hayır ☒

05 /01 / 2023

Fatma Nur ULUNÇ

TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORU BEYANI

Tez Başlığı :FARKLI SICAKLIKLARDA ÇÖZDÜRÜLEN BOĞA SPERMASININ ÇÖZÜM SONRASI FARKLI PERİYOTLARDA SPERMATOLOJİK PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Yukarıda başlığı belirtilen tez çalışması için şahsım tarafından 05.01.2023 tarihinde intihal tespit programından alınmış olan özgünlük raporu sonucunda;

Benzerlik oranı : % 12

Tek kaynak oranı : % 3 çıkmıştır.

05/01/2023

Doç. Dr. Murat SELÇUK

ÖZET

FARKLI SICAKLIKLARDA ÇÖZDÜRÜLEN BOĞA SPERMASININ ÇÖZÜM SONRASI FARKLI PERİYOTLARDA SPERMATOLOJİK PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Fatma Nur ULUNÇ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Dölerme ve Suni Tohumlama (Veteriner) Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans, Ocak/2023

Danışman: Doç. Dr. Murat SELÇUK

Suni tohumlama uygulamasını saha koşullarında yapacak veteriner hekimlerin donmuş sperma payetini çözündürürken uygun koşulları göz önünde bulundurarak çözündürme işlemini yapmaları suni tohumlama başarısını arttıran önemli faktörlerden biridir. Çözündürme prosedürü, spermatozoanın hayatta kalması üzerindeki etkisi açısından dondurma prosedürü kadar önemlidir. Bu çalışmanın amacı, dondurulmuş ve çözündürülmüş sperma muayenesinde kullanılan ve tercih edilen iki farklı çözüm sıcaklığının kullanılabilirliği, geçerliliği ve doğrulukları hakkında karşılaştırmalar ve değerlendirmeler yapmaktır. Ayrıca spermanın çözüm sonrası farklı sürelerde bekletilmesi ile spermatolojik parametrelerden elde edilen bulgular arasındaki farklılıkları ve benzerlikleri istatistiksel olarak ortaya koymaktır.

Çalışmada aynı boğaya ait, aynı tarihte dondurulmuş ve aynı şartlar altında saklanan 20 payet dondurulmuş sperma örneği kullanıldı. Çalışma dizaynı için 2 farklı grup oluşturuldu. İlk grup için 10 payet sperma örneği 37°C'deki su banyosunda 30 saniyede ve ikinci grup için 10 payet sperma örneği 70°C'de 5-6 saniyede çözündürülecek şekilde planlanmıştır. Çözündürülen tüm sperma örnekleri +4°C'ye bırakıldı ve 0,3,6,12,24 ve 48. saatlerde spermatolojik muayeneleri yapıldı. Yapılmış olan bu çalışmada farklı çözüm sıcaklıkları olan 37°C ve 70°C'de çözündürülen spermaların, spermatolojik muayenesi sonucunda sırasıyla; motilite, canlılık oranı ve spermatozoon morfolojisi olarak değerlendirildiğinde bekleme sürelerinin büyük farklar doğurabildiği görülmüştür. Çözündürüldükten sonra bekleme süresi arttıkça spermada total motilitenin azaldığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda sperma çözümünden sonra bekleme süresi arttıkça spermatozoon morfolojisinin olumsuz etkilendiği ortaya konulmuştur. Bu çalışma suni tohumlama uygulamalarında kullanılan spermaların çözüm sonrası verimliliğini artırmak amacıyla daha fazla sayıda in vitro ve in vivo araştırmaların yapılması gerekliliği ortaya koymuştur. Bu veriler üzerine yapılacak farklı çalışmalar ile daha kapsamlı sonuçlar elde edilmesi mümkün olacaktır.

Anahtar Sözcükler:Boğa, CASA, Çözündürme, Sıcaklık, Sperma,

ABSTRACT

EVALUATION OF THE SPERMATOLOGICAL PARAMETERS OF THE BULL SPERM THROUGH DIFFERENT TEMPERATURES AT DIFFERENT PERIODS AFTER THAWING

Fatma Nur ULUNÇ

Ondokuz Mayıs University

Institute of Graduate Studies

Department of Reproduction and Artificial Insemination

Master, January/2023

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Murat SELÇUK

An important factor that increases the success of artificial insemination is that veterinarians who perform artificial insemination practice under field conditions take into account the appropriate conditions while thawing frozen semen straws. Regarding its effect on the survival of the spermatozoa, the thawing procedure is just as significant as the freezing procedure. In this study, two alternative thawing temperatures will be compared and evaluated for their usability, validity, and accuracy in frozen and thawed semen exams. Additionally, it is to statistically compare and contrast the results from spermatological parameters with the semen parameters waiting at various intervals after thawing.

In the study, 20 straws of frozen semen from the same bull, frozen on the same date and stored under the same conditions, were used. Two different groups were formed for the study design. First group, 10 straws of semen samples were thawed in a 37°C water bath for 30 seconds, and second group, 10 straws of semen samples were thawed at 70°C for 5-6 seconds. All thawed semen samples were left at +4°C, and spermatological examinations were performed at 0, 3, 6, 12, 24, and 48 hours. In this study, as a result of spermatological examination of semen thawed at different thawing temperatures of 37°C and 70°C, respectively, motility, viability rate, and sperm morphology are evaluated, and it has been observed that waiting times can cause significant differences. It was determined that as the waiting time increased after thawing, total motility in semen decreased. At the same time, it was revealed that sperm morphology was negatively affected as the waiting time increased after the semen thawing. This study demonstrated the necessity of doing more in vitro and in vivo studies to increase the post-thaw efficiency of semen used in artificial insemination applications.

Keywords: Bull, CASA, Thawing, Temperatur, Semen

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Lisans ve Yüksek Lisans öğrenimim boyunca tecrübe ve birikimlerinden ders aldığım, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer yüksek lisans danışmanım Doç. Dr. Murat SELÇUK başta olmak üzere, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mesut ÇEVİK'e, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Eser AKAL'a ve Doç. Dr. Alper KOÇYİĞİT'e, çalışmalarımda yardıma ihtiyaç duyduğum her an yanımda olan Araş. Gör. Burcu ESİN, Vet. Hek. Melih AKAR ve Vet. Hek. Deniz ERDURDU'ya çok teşekkür ederim.

Beni her konuda destekleyen, pes etsem bile cesaretlendiren canım dostum Araş. Gör. Cumali KAYA'ya çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca destekleriyle yanımda olan “değerli aileme” sonsuz teşekkür ederim.

Kadınlara ikinci sınıf insan muamelesi yapan algıları yok edip; Türk kadınını yücelten ve eşit şartlarda eğitim alması için öncü olan Ulu Önder Mustafa Kemal ATATÜRK'e saygı ve minnetlerimi sunarım.

Fatma Nur ULUNÇ

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAYI	i
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	ii
TEZ ÇALIŞMASI ÖZGÜNLÜK RAPORUBEYANI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Suni Tohumlama	2
1.1.1. Türkiye’de Hayvancılık ve Suni Tohumlama	2
1.1.2. Boğa Spermasının Dondurulması	6
1.1.3. Spermanın Çözdürülmesi	9
1.1.4. Spermatolojik Muayeneler	10
1.1.5. Spermatolojik Muayene Yöntemleri	10
2. MATERYAL VE YÖNTEM	17
2.1. Materyal	17
2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	17
2.3. Spermatolojik Muayeneler	17
2.3.1. Spermanın Çözdürülmesi	17
2.3.2. Spermatozoa Motilitesi	18
2.3.3. Spermatozoon Plazma Membran Bütünlüğü Tespiti	18
2.3.4. Spermatozoa Morfolojisi	19
2.3.5. Spermatozoa Canlılığı Oranı	20
2.3.6. İstatistiksel Analiz	20
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	21
4. SONUÇ	34
KAYNAKÇA	35
ÖZ GEÇMİŞ	41

SİMGELER VE KISALTMALAR

ALH	: Amplitude Of Lateral Head Displacement
BCF	: Frequency of Head Displacement
CASA	: Computer Assisted Sperm Analysis
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
HOST	: Hypoosmotic Swelling Test
LIN	: Linearity Coefficient
PM	: Progressive Motilite
SLC	: Single Layer Centrifugation
ST	: Suni Tohumlama
STR	: Straightness Coefficient
TM	: Total Motilite
VAP	: Average Path Velocity
VCL	: Curvilinear Velocity
VSL	: Straight-Line Velocity
WOB	: Wobble Coefficient

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Normal spermatozoonun bölümleri.	7
Şekil 2.1. Spermanın su banyosunda çözündürülmesi	17
Şekil 2.2. CASA ile spermatozoa total motilitesi, progresif motilite ve kinematik parametrelerin belirlenmesi	18
Şekil 2.3. HOS testi, Spermatozoon Plazma Membran Bütünlüğü Tespiti.....	19
Şekil 2.4. Spermac Boyama ile Spermatozoon Morfoloji Değerlendirme.....	19
Şekil 2.5. Eosin Boyamayla Spermatozoa Canlılığı Analizi.....	20



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Ölçeklerine Göre Sığır İşletmelerinin Sayıları	5
Tablo 3.1. Çözdürme Sonrası Farklı Sürelerdeki Spermatolojik Parametre Değerleri (ortalama $\pm$ standart hata).....	22
Tablo 3.2. Çözdürme Sonrası Farklı Sürelerdeki Anormal Spermatozoa Parametre Değerlerinin Karşılaştırması.....	24
Tablo 3.3. Çözdürme Sonrası Farklı Sürelerdeki Kinematik Parametre Değerleri.....	27



1. GİRİŞ

Hayvancılık sektöründe vazgeçilmez öneme sahip olan reproduksiyon biyoteknolojisi; suni tohumlama, in vitro fertilizasyon, gen transferi ve klonlama gibi birtakım yenilikleri kapsamaktadır. Bu teknikler arasında en etkin ve yaygın olanı, verimli erkek gamet hücrelerinin damızlık olarak kullanılmak amacıyla dondurulması ve dişi hayvanların suni yolla tohumlanması esasına dayanan suni tohumlama biyoteknolojisidir (Nur ve Ak, 2003).

Günümüzde hayvan ıslahı ve sığır yetiştiriciliği ile ilgili yapılan çalışmalarda suni tohumlama önemli bir yere sahip olmuştur. Suni tohumlamanın yapılabilmesi için genellikle dondurulmuş sperma kullanılır ve çeşitli yöntemlerle çözülmesi gerekir. Kullanılan yöntemlerdeki farklılıklar aynı zamanda sperma motilitesi, sperma canlılığı, mebran ve akrozom bütünlüğü gibi özellikler üzerinde etkili olmaktadır. Bu yöntemlerden motilite spermanın hareket etme kalitesi ile ilgili olup spermatozoonların hareketlilik oranını açıklayan bir parametredir. Spermatozoonun hareket yeteneği dişi üreme organındaki kanallarda hareket edebilmesi için gerekli bir özelliktir. Dolayısıyla spermada motilitenin belirlenmesi progresif ve total motilitenin hesaplanması son derece önemlidir. Dondurulmuş spermanın çözümü sırasında ortaya çıkan önemli sorunlardan biri, araştırmacının tahminlerine bağlı subjektif özelliklerdir. Işık mikroskopunda inceleme sonrası bu özellikler araştırmacı tarafından değerlendirilerek sonuçlar tahmini bir şekilde raporlanmaktadır. Hızlı ve etkili sonuçlar ortaya koymasına karşılık, kişisel tahminlerin bulguları etkilemesi söz konusudur. Bu bakımdan muayeneyi yapan kişilerin bilgi birikimi ve tecrübesinin iyi düzeyde olması gerekmektedir (Özkoca, 1984).

Günümüzde sığır yetiştiriciliği ile ilgili kullanılan suni tohumlama yöntemi sayesinde fertilite oranları yükselmiştir. Hatta doğal yöntemlerle gerçekleşen fertilite oranları ile rekabet edebilecek düzeye ulaşmıştır. Buna bağlı olarak suni tohumlama yöntemi bir ticari alan olarak da ortaya çıkmıştır (Özkoca, 1984).

Hayvanların sahip olduğu mevcut popülasyon ve genetik özellikler üzerinde yine doğal bir şekilde fakat suni yöntemlerle popülasyon özelliklerinin değişiminin sağlanması amaçlanmıştır. Suni tohumlama sayesinde yetiştiriciler damızlık erkek hayvan besleme konusunda bir kaygı yaşamamaktadır (Özkoca, 1984).

Bu yöntemin sağladığı faydalardan biri de hayvanların sağlığının korunması ve veneral yollarla bulaşabilen hastalıkların önlenmesi olmuştur (Kaya ve ark., 2021).

Dondurulmuş spermanın 0°C'nin altındaki çok düşük ısılarda saklanması biyolojik aktivitelerinin minimuma indirilmesi temeline dayanır. Hücreyi soğuk şokunun etkilerinden koruyan kriyoprotektif maddelerle sulandırılan sperma, ampul (etil alkol banyosunda), pellet (-79°C kuru buzda) veya payet (-110°C sıvı azot buharında) yöntemiyle dondurularak -196°C'ta saklanır (Barth ve ark., 1988; Blackshaw ve ark., 1995). Uygun saklama koşullarında spermanın potansiyel fertilitesi yıllarca korunabilmektedir (Tekeli ve Çoyan, 1996).

Dondurulmuş spermanın çözündürülmesi sırasında oluşan manipülasyon kaynaklı hataların spermatolojik özellikleri olumsuz yönde etkilediği araştırmacılar tarafından ortaya konulmaktadır. Saha koşullarında suni tohumlama yapacak veteriner hekimlerin donmuş spermayı çözündürürken uygun koşulları göz önünde bulundurarak çözündürme işlemini yapmaları suni tohumlama başarısını artırmaktadır. Çözündürme prosedürü, spermatozoanın hayatta kalması üzerindeki etkisi açısından dondurma prosedürü kadar önemlidir (İleri ve Ak, 1993; Nur ve ark., 2003).

1.1. Suni Tohumlama

1.1.1. Türkiye'de Hayvancılık ve Suni Tohumlama

Suni tohumlamanın amacı yavru veriminin kontrollü bir şekilde artırılmasını sağlamak, bunu yaparken de damızlık erkek hayvanlardan elde edilen spermaların, saklanması ve gerektiğinde kontrolü yapılarak uygun koşullarda dişi hayvanın üreme kanalına aktarılmasını sağlamaktır. Bu aşamada gebelik durumu, hayvanın metabolizması ve genel sağlık durumu ile de ilişkilidir. Hayvanın bakımı ve beslenmesi gibi durumlar suni tohumlamanın başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesi etkilemektedir (Daşkın, 2005).

Suni tohumlama çalışmaları ilk olarak 1677 yılında Van Loenhoek tarafından keşfedilmiş olan mikroskopta spermatozoonların incelenmesi ile başlamıştır. Bu aşama suni tohumlama çalışmalarının başlangıcı olması bakımından önemlidir. 1780 yılına gelindiğinde Spallanzani tarafından yapılan çalışmada suni tohumlama yöntemi ile gebe kalmış ve suni tohumlama yönteminin etkililiği bu şekilde ispatlanmıştır. Sonraki dönemlerde konu ile ilgili yapılan araştırmalar artış göstermiş, Rus Profesör İlia İvanoviç İvanov tarafında Çiftlik hayvanlarının üretilmesinde suni tohumlama yöntemine odaklanılmıştır (Korkmaz Yavaş, 2009; Büyükleblebici, 2012). 1925 yılında Tarım Bakanı Sabri Toprak, Sovyetler Birliğine yapmış olduğu ziyarette kendisine atlarda uygulanan suni tohumlama uygulaması gösterilmiştir. Bu bağlamda Sovyetler Birliğinde suni tohumlamanın kurucusu sayılan Profesör İlia İvanoviç

İvanov'un asistanlarından Mihailov'un 1926 yılında Karacabey Harasında, Veteriner Hekimlere atlarda suni tohumlama kursu düzenlemiştir. Bu gelişmeler ışığında ülkemiz, çiftlik hayvanlarında suni tohumlamanın uygulandığı ikinci ülke olmuştur (Gökçen, 2015; Temel, 2015).

İzmir İktisat Kongresinde yerli koyun ırklarımızdan elde edilen yapağının, kalın olması ve sadece halı üretiminde kullanılabilmesi nedeniyle, Atatürk'ün emri ile yapağısı yünlü dokumaya uygun Macaristan ve Almanya'dan merinos ırkı koçlar ithal edilmiştir. Bu merinos ırkı koçların, sulandırılan ve ısısı +5°C düşürülen sperması ile halk elinde bulunan kıvırcık ırkı koyunlara suni tohumlama yapılmıştır. Yürütülen, yerli kıvırcık ırkı koyunların çevirme melezlemesi ıslah projesi ile suni tohumlama metodu, ilk kez hayvancılık politikalarında yerini almıştır. Bu proje kapsamında Bursa ve çevresinde gezici ve sabit suni tohumlama istasyonları ile 1925-1935 yılları arasında 20.000 koyuna suni tohumlama yapıldığı belirtilmektedir. İlerleyen yıllarda benzer bir proje yerli sığır ırklarımız için hayata geçirilmiştir. Bu amaçla Simental ve İsviçre Esmeri ırkı boğalar ithal edilmiştir. 1930'lu yıllarda, Simental ırkı hayvanların ülkemiz koşullarına uyum sağlayamadığı ve tüberküloz hastalığına duyarlılığı nedeniyle, suni tohumlama amacıyla İsviçre Esmeri ırkı boğalardan alınan spermalar kullanılmıştır. Bu uygulamada, Karacabey Harası Suni Tohumlama İstasyonunda hazırlanan sulandırılmış boğa spermaları soğuk zincir içeren çeşitli vasıtalarla hayvancılık bölgelerine götürülmüş ve günlük tur sistemi ile suni tohumlama uygulamaları yapılmıştır (Sevinç, 1979; Gökçen, 2015; Koç, 2016; Çolak ve Javorka 2017; Genç ve Özgür 2017).

Türkiye'de devam eden hayvan ıslahı çalışmaları, İkinci Dünya Savaşı nedeniyle önemli düzeyde kesintiye uğramıştır. Özellikle teknik elemanların askere/cepheye gönderilmesi bu alanda çalışma yapabilecek bireylerin bulunmamasına yol açmıştır. Ayrıca ülkenin içerisinde bulunduğu ekonomik şartlar nedeniyle bu yönde yapılan çalışmalara destek verilmemiş çalışmalar durma noktasına gelmiştir. Savaş sonrasında ekonomik iyileşmeleri ne yaşandığı 1950-60'lı yıllarda suni tohumlama çalışmaları yeniden başlamıştır (Gül, 2004; Gökçen, 2015).

1950'li yıllardan itibaren suni tohumlama ve hayvan ıslahı ile ilgili reformlar gerçekleştirilmiş, ülke genelinde suni tohumlamayı ücretsiz bir şekilde gerçekleştiren merkezler yaygınlaştırılmıştır. Personelin çeşitli motorlu araçlar temin edilmek suretiyle bu hizmetlerin kapsamının genişletilmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır (Temel, 2015; Genç ve Özgür, 2017).

Bu dönemin ilk yıllarında, 7 merkezde %71,2 başarı ile 2.892 ineğe ve 4 merkezde %90 başarı ile 5.523 koyuna suni tohumlama yapılırken, 1959 yılında 58 merkez, 67 istasyonda 34.500 ineğe (10 yılda 233.895), 161 istasyonda da 134.000 koyuna (10 yılda 548.936) sulandırılan ve ısısı +5°C düşürülen boğa ve koç spermaları ile suni tohumlama yapılmıştır. Bu alanda hizmet vermek amacıyla, enstitü kurulması, uzmanlık kursu düzenlenmesi, suni tohumlama laboratuvarları açılması gibi gelişmeler kamu nezdinde yapılırken benzer haklar gerçek ve tüzel kişilere de tanınmıştır. Bu gelişmeler ışığında suni tohumlama hizmeti Marmara ve Ege bölgesinden tüm ülke coğrafyasına uzanmıştır (Osmanağaoğlu, 2006; Genç, 2011; Gökçen, 2015).

1930 yılında Macar Profesör Oszkar Wellamann'ın incelemeleri sonucu bulunduğu, ideal bölgelerde yerli ırk ineklerin, İsviçre Esmeri boğalarla tabii veya suni tohumlama amacıyla kullanılarak melezlenmesi, iklim şartlarının zor olduğu bölgelerde ise yerli ırk sığırların ıslahının geliştirilmesine yönelik olan havza modeli 1970'li yılların başına kadar devam etmiştir. 1972 yılında bu havza modeli yayınlanan Islahı Hayvanat Komisyonu kararıyla genişletilmiştir (Çolak ve Javorka, 2017). Bu karara göre sıcak iklim ve mikroklima iklim görülen bölgelerde Holstein, Karadeniz bölgesinde Jersey, İç Anadolu ve soğuk iklim görülen bölgelerde ise İsviçre Esmeri boğaların tabii veya suni tohumlama ile kullanılarak yerli ırk hayvanların ıslah stratejisi benimsenmiştir. Ayrıca bu amaçla damızlık materyal ithalatına izin verilmiştir. Bu dönemde (1960-1975) yaklaşık 200 suni tohumlama merkezinde %66 başarı ile 2 milyona yakın ineğe ve %77 başarı ile 3 milyona yakın koyuna suni tohumlama uygulaması yapılmıştır (Osmanağaoğlu, 2006; Gökçen, 2015).

Yakın geçmişe dair hayvancılık politikalarını da incelediğimizde, benzer suni tohumlama ile hayvan ıslahını amaçlayan projeler ve suni tohumlamanın yaygınlaşmasını hedefleyen teşvikler görülmektedir. Bu uygulamalara; Tarım ve Orman Bakanlığının ilgili birimleri tarafından sürdürülen, suni tohumlamadan doğan buzağılara maddi desteğin arttırılması, Kaliteli Besi Materyali Üretimi ve Jersey Irkı Geliştirilmesi Projesi, Buzağı Kayıplarının Önlenmesi Projesi ile örnek verebiliriz. Ayrıca kamu ve özel sektör ile yürütülen, suni tohumlama biyoteknolojisinin odak alındığı birçok Ar-Ge çalışmaları da devam etmektedir. Sonuç olarak Cumhuriyet tarihi boyunca suni tohumlama, hayvan ıslahının geliştirilmesi için önemli bir stratejik plan olarak görülmüştür. Bu amaçla uzman personel yetiştirilmesi, kamu veya özel sektörün bu alandaki Ar-Ge çalışmalarının desteklenmesi ile suni tohumlamadan

doğın buzağlarının desteklenmesi gibi faaliyetleri, Tarım ve Orman bakanlığının bu yöndeki değişmez politikası olmuştur (Anonim, 2019).

Sığır işletmeleri, hayvan mevcudunu arttırmak ve sürdürülebilir bir kazanç elde etmek için reproduktif stratejilerini doğru planlanmalıdır. Türkiye’deki sığır işletmelerinin reproduktif prognozunu tespit etmek için işletme kapasitelerini değerlendirmek önemli bir belirteçtir. Çünkü işletmeler mevcut hayvan sayılarına göre, sürü yönetim sistemlerinden yararlanmakta ve veteriner hekim hizmeti talep etmektedir. Yaklaşık 14 milyon büyükbaş bulunan ülkemizde, hayvan varlığına göre işletmelerin dağılımı Çizelge 1.1’de belirtildiği gibi 200 baş ve üzeri %6,08, 50-199 baş arası %16,45, 1-50 baş arası %77,47 oranındadır (Aytekin, 2011).

Tablo 1.1. Ölçeklerine Göre Sığır İşletmelerinin Sayıları (Baştan, 2020)

İşletme Hayvan Kapasitesi (Baş)	İşletme Sayısı (Adet)	(%)	Hayvan Sayısı (Baş)	Hayvan Varlığına Göre Dağılım (%)
01-09	1.155.958	75,77	4.251.049	31,35
10-49	339.306	22,24	6.252.878	46,12
50-199	28.580	1,87	2.231.149	16,45
200 Baş Ve Üzeri	1.757	0,11	823.466	6,08
Toplam	1.525.601		13.558.542	

Hayvan sayılarına göre orta ve büyük ölçekli işletmeler, 50 baş ve üzeri sağmal hayvan bulunduran işletmelerdir. Bu işletmeler, genel olarak bünyesinde veteriner hekim istihdam eden veya veteriner hekim danışmanlık hizmeti alan entansif süt sığırı işletmelerdir. Bu işletmelerin, belirli bir östrus takip yöntemi ve sürü takip programı vardır. Nitekim veteriner hekim desteği aldığı için genellikle düzenli bir reproduktif stratejileri vardır ve genetik ilerleme için suni tohumlama biyoteknolojisini tercih ederler. Yüksek süt veriminin yanı sıra, işletmelerindeki zayıf fenotip özelliklerini elimine edecek karakterde boğa sperması seçiminde bulunurlar. Ayrıca bazıları cinsiyeti belirlenmiş sperma kullanarak damızlık dişi hayvan sayılarını artırma eğilimindedirler. Böylece sürü ıslahını pozitif yönde geliştirmeye çalışan bu işletmeler, ekonomik olarak daha uygun bulduğu ancak tereddütlü yaklaşıtları yerli üretim spermaları ise laktasyon sayısı yüksek veya döl tutma problemi görülen ineklerde kullanılmaktadırlar. Nitekim ülkemizde sperma üretiminde kullanılan Holstein boğaların çoğu, en iyi 100’de yer alan boğaların ithal embriyolarından elde edilen boğalardır. Ülkemiz süt gereksiniminin karşılanmasında büyük paya sahip ve genelde ithal sperma kullanım eğiliminde olan bu işletmelerin, yerli spermadan doğan buzağlarının verim özellikleri daha güvenilir ve yüksek sayıda sunularak, yerli sperma

kullanımına yönelik eğilim arttırılmalıdır (Ata ve Ata, 2004; Evirgen, 2009; Özyurt, 2009; Pothmann ve ark., 2014; Tüzemen, 2015; Yırtıcı ve ark., 2018).

Aile tipi işletmeler olarak da sınıflandırılan, küçük ölçekli işletmeler, 1-50 baş arası büyükbaş bulunduran işletmelerdir. Genel olarak, yarı entansif olarak bakım ve besleme yapan, yaygın olarak kombine ırk ve yerli ırk sığır melezlerinin bulunduğu işletmelerdir. Yüksek süt verimi elde etmekten ziyade besi materyali almayı amaçlayan bu işletmelerin geneli özel veteriner hekimlerden hizmet alımı yaparak sürü sağlığı ve suni tohumlama gereksinimlerini karşılamaktadırlar. Belli bir östrus takip sistemine sahip olmayan daha çok gözlem yolu ile östrus takibi yapmaya çalışan, işletmelerdir. Ülkemiz büyükbaş hayvan varlığının %77,47'sini bu işletmeler oluşturmaktadır. Östrus takip sistemi olmayan, kızgınlık gözlemini sabah ve akşam yem veya sağımlarında yapılan bu işletmelerde suni tohumlama uygulamaları ciddi bir komplikasyondur (Önal ve Özder, 2008; Roelofs ve ark., 2010; Aksoy ve Yavuz, 2011; Aytekin, 2011; Pothmann ve ark., 2014; Tüzemen, 2015; Yener, 2017). Ne yazık ki bu işletmeler suni tohumlama uygulamasını, genetik ilerlemeden ziyade gebelik elde etme aracı olarak görmektedirler. Bu yüzden düşük bir ST başarı oranında, damızlık boğa kullanma eğilimindedirler. Planlama ve sağlık kontrolü yapılmadan boğaların damızlık amacıyla kullanımı, kalıtsal ve zoonoz hastalıkların yaygınlaşmasına yol açarak önemli ekonomik kayıplara neden olabilir (Cirit ve ark., 2017). Nitekim sosyal medya aracılığı ile paylaşılan patolojik olgular bu durumu doğrular niteliktedir (VHTP, 2018). Ayrıca özel veteriner hekimin iş yoğunluğu ve işletmeye uzaklığı, aile tipi işletmeler için zamanında reproduktif muayeneyi aksatan diğer unsurlardır (Şeker ve ark., 2012; Demir ve ark., 2014).

1.1.2. Boğa Spermasının Dondurulması

Suni tohumlamanın ilk uygulandığı yıllarda, damızlık hayvanlarda toplanan spermalar taze olarak kullanılmaktaydı. Farklı kimyasallar ile sulandırılan (fosfat, sodyum sitrat, vb.) ve ısısı +5°C ye düşürülen taze sperma numunelerinin 48 saat içerisinde kullanılması gerekmekteydi. Bu kısa kullanım süresi, tohumlama doz hacminin yüksek olması, çiftlik hayvanlarında kısa sürede artan suni tohumlama talebinin karşılanmasını, oldukça zor kılmıştır. Bu nedenle bilim insanları, spermatozoonların morfolojik özellikleri (Şekil 1.1), motilite ve fertilite yeteneğini kaybetmeden uzun süre saklama olanakları üzerine, araştırmalara yoğunlaşmıştır. Bu amaçla spermanın kriyoprezervasyonu, bilim insanları tarafından kabul gören ve suni tohumlama biyoteknolojisi ile özdeş bir yöntem olmuştur (Sönmez, 2010).



Şekil 1.1. Normal spermatozoonun bölümleri (Erdemir ve ark., 2011).

1949 yılında Polge ve arkadaşlarının, gliserolün kriyoprotektan özelliğini keşfederek sperma sulandırıcısında kullanmaları, spermatozoon kriyoprezervasyon sürecinde milat olarak kabul edilmektedir. Bu aşamadan sonra birçok kimyasal madde kriyoprotektan olarak denenmiştir. Tüm bu çalışmaların sonucunda; gliserol, dimetil sülfoksit, 1-2 propaneidol, etilen glikol ve propilen glikol (hücre içerisine girebilen) ve polivinilprolidon, glikoz, fruktoz, fikor, dekstran, sorbitol, sükröz, laktoz, trehaloz ve diğer şeker türevleri (hücre içerisine giremeyen) boğa spermasının kriyoprezervasyonunda başarıyla kullanılmıştır (Benson et al., 2012; Grötter ve ark., 2019). Spermanın kriyoprezervasyonu, kriyoprotektanların eklenmesi ve dengeleme, spermanın dondurulması (genellikle sıvı nitrojen içerisinde -196°C içerisinde) ve spermanın çözündürülmesi işlemlerinden oluşmaktadır (Si ve ark., 2006; Grötter ve ark., 2019).

İlerleyen yıllarda spermanın dondurulma sürecine gliserilizasyon işlemi dâhil olarak, ampul veya pellet yöntemiyle spermanın kuru buz (-79°C) tekniği ile veya azot

buharında (-120°C) uzun süreli kriyoprezervasyonu mümkün kılınmıştır (Özkoca, 1984).

Ampul veya pellet şeklinde, kuru buzda dondurulan sperma numuneleri taze spermaya kıyasla daha uzun süre saklama imkânı sağlamaktaydı. Ancak kuru buzda dondurulan spermaların, nakil ve kullanıma hazırlama sürecinde yaşanan komplikasyonlar, suni tohumlama biyoteknolojisinin yaygınlaşması açısından, kabul edilebilir değildi. Bu durumu ortadan kaldıracak gelişme, 1960 yılların başında Fransız IMV firmasından geldi. Geliştirilen 0,5 ml hacimli 13 cm boyunda polivinil klorid den üretilen “payet” adı verilen tüp sayesinde, suni tohumlama biyoteknolojisi yeni bir döneme girmişti. Böylece spekulum-serviks pensi yöntemi yerine hala günümüzde kullanılan rekto-vaginal yöntemle uygulama yapılması mümkün kılınmıştır. Ayrıca bu gelişme, spermanın -196°C de pratik saklama imkânı sağladığı gibi dondurulmuş spermanın kıtalar arası ticaretini mümkün kılarak, ülkeler arasında soluksuz rekabetle devam edecek olan dondurulmuş sperma endüstrisinin temelini oluşturmuştur (Gökçen, 2015).

Türkiye dondurulmuş sperma üretimindeki bu gelişmeleri hep yakından takip etmiştir. Bu tekniğin öğrenilmesi ve ülkemize uyarlanması amacıyla Avrupa’nın farklı ülkelerine Veteriner Hekimler gönderilmiştir. Gerekli altyapının oluşturulması ve çalışmaların tamamlanması neticesinde 1972 yılının sonlarında dondurulmuş boğa sperması üretimi bugün ki adıyla Lalahan Uluslararası Hayvancılık Araştırma ve Eğitim Merkezi Müdürlüğünde gerçekleştirilmiştir. Daha sonra benzer boğa istasyonları İstanbul, Samsun ve İzmir’de kurularak dönemin dondurulmuş boğa sperması talebi karşılanmıştır. Günümüzde dondurulmuş boğa sperması, Ankara Lalahan (UHAEM), Malatya Tigem Sultansuyu işletmeleri, özel sektörde İzmir Egevet, Konya Selfarma işletmeleri ve İzmir Menemen Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği tarafından üretilmekte ve satışa sunulmaktadır (Gökçen, 2015).

Nitekim dondurulmuş boğa sperması endüstrisi güncel teknolojik gelişmelerin paralelinde hızla ilerlemekte ve pazar payı giderek artmaktadır. Progeny testin yanı sıra genomik seleksiyon verileri ile sperması üretilen boğaların, tahmini genetik aktarımı ve kızlarının geniş kapsamlı verim kompozisyonu, boğa kataloglarında belirtilmektedir (Tırpan ve Tekin, 2014; İnanç ve Daşkın, 2015; Nur ve ark., 2017). Bunun yanı sıra satışa sunulan, cinsiyeti belirlenmiş, mikro akışkan spermatozoon ayrıştırma çipi ile seçilen veya yavaş salınımla çözünen gibi farklı dondurma standartlarındaki dondurulmuş spermalar işletmelerin talepleri doğrultusunda pazar

bulmaktadır. Bu global pazarda, yıllık ortalama 25 milyon doz sperma ihracatı ile yaklaşık 200 milyon dolar gelir elde eden Amerika Birleşik Devletleri bu sektörün önde gelenlerindendir (Schuster ve ark., 2003; Knowlton ve ark., 2015; Enginler ve Özdaş, 2016; Perteghella ve ark., 2017).

Buzağı desteği gibi, sperma üretiminde kullanılan boğaların yetiştiricilerine destek sağlanmasının, sperma üretimi için aday boğa arayışında bulunan, yerli dondurulmuş boğa sperması üreten firmalara, geniş bir boğa popülasyonundan suni tohumlama boğası seçilmesine fırsat vereceği muhtemeldir. Benzer gelişmelerin doğrultusunda, yakın gelecekte yerli sperma üretim miktarının artarak, ithal sperma miktarının azalması ve böylece bölge ülkelere sperma ihracatının gelecekte olağan olduğu düşünülmektedir (HAYGEM, 2019).

1.1.3. Spermanın Çözdürülmesi

Sperma çözündürme işlemi, spermatozoanın canlılığı üzerindeki etkisi açısından dondurma işlemi kadar hayati öneme sahiptir (Nur ve ark., 2003). Çözülme hızı, spermatozoanın canlılığını önemli ölçüde etkiler ve uygun çözülme hızının, seyreltici tipi, gliserol konsantrasyonu ve dondurma hızı gibi kriyoprezervasyon prosedürlerinin birçok faktöründen etkilendiği bilinmektedir (Rodriguez ve ark., 1975). Çözüm sonrası en yüksek canlı sperm yüzdesinin elde edileceği optimal çözülme sıcaklığı ve zamanı üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Dhami&Sahni, 1993; Correa ve ark, 1996).

Sulandırıcı tipi ve soğutma hızı ne olursa olsun, laboratuvar ve çiftlik uygulamalarında donmuş spermanın 33-37°C'de 30-40 saniye (yavaş çözülme) su banyosunda çözündürülmesi tavsiye edilmektedir (De Jarnette ve ark., 2000). Bununla birlikte, birçok çalışma, 60-80°C'de daha hızlı çözdürmenin de çözülme sonrası motiliteyi arttırdığını ve akrozom bütünlüğünü koruduğunu göstermiştir (Rodriquez ve ark, 1975; Nur ve ark., 2003; Hernandez ve ark., 2007). Spermanın hızlı çözülmesi, yeniden kristalleşme süreçlerinin ve hidrasyonun zararlı etkilerini azaltarak, sperm membranına ve sitoplazmaya zarar gelmesini önler (Bearden ve ark., 2004). Öte yandan, 35°C'nin üzerindeki sıcaklıklar daha olumlu etkiler doğuruyor gibi görünse de çözülme süresinin dikkatli bir şekilde zamanlanması gerekir. Çünkü spermatozoa, protein denatürasyonu nedeniyle uzun süre yüksek sıcaklıklara maruz kaldığında canlılığını kaybeder (Nur ve ark. 2003). Bu nedenle, çözüm sonrası parametreleri iyileştirmek için spermanın çözüm hızı ve sıcaklığı dikkat edilmesi gereken noktalardır (Lyashenko, 2015).

İleri ve ark. 25°C, 15°C, 5°C ve 0°C gibi düşük ısılarda çözündürme tekniklerine

göre 37°C'dekisi banyosunda payetlerin çözdürülmesiyle en iyi sonuç elde edildiğini bildirmişlerdir. Payetlerde dondurulan spermanın, payetlerin hacim/yüzey alanı oranının oldukça yüksek olması nedeniyle ısı değişikliğine karşı oldukça duyarlı olduğunu bildiren Senger (1980), su banyosu ısısının yükseltilmesiyle çözdürme hızının arttığını ve dolayısıyla canlı hücre sayısının olumlu yönde etkilendiğini saptamış, saha koşullarında spermanın 37°C'ta çözdürülmesi gerektiğini, yüksek ısılarda çözüm tekniklerinin canlılık oranını artırsa da sürenin aşılması halinde spermatozoonlarda ölümlere yol açtığından riskli olduğunu açıklamıştır. Correa ve ark. (1997) fizyolojik ısıda (37°C'de) çözdürmenin motilitenin devamlılığı için zorunlu olduğunu bildirmişlerdir.

1.1.4. Spermatolojik Muayeneler

Sığır yetiştiriciliğinin başarılı olmasını etkileyen çok sayıda değişkenden söz etmek mümkündür. Bununla birlikte hayvanların beslenmesi, sağlık durumları, bakım, östrus takibi, çözdürülmüş spermanın kalitesi ile teknik personelin bilgi ve beceri düzeyi gibi değişkenler son derece önemlidir (Gökçen, 2020). Bu yöntemler içerisinde, dondurulmuş boğa spermasının sağlıklı olması ve en etkili yöntemlerle çözdürülmesi sağlanmalıdır (HAYGEM, 2019).

Fazla sayıda dışı materyal kullanım gereksinimi ve saha şartlarının optimize edilmesindeki zorluklar, araştırmacıları sperma kalitesinin tespitinde in vivo analizler yerine in vitro analizlere yönlendirmiştir. Her geçen zaman içerisinde in vitro analizlere yeni parametreler eklenerek, spermatozoonların fertilité ile ilişkin fonksiyonları, morfolojisi ve moleküler yapısının, ileri teknoloji analiz sistemleri ile objektif incelenmesi hedeflenmektedir. Spermaya bağlı başarısız bir ST uygulaması, bir süt sığırı için işletmesine büyük ekonomik kayba neden olmaktadır. Sığır mevcudumuzun en az %1'nin bu durumla karşılaştığını düşünürsek ulusal bazda oldukça büyük bir ekonomik kayıp söz konusudur. Dolayısıyla sperma analiz sürecinde, ileri teknoloji analiz sistemleri ile objektif değerlendirme yapılması, sığır yetiştiriciliğinde olası ekonomik kayıpları önlemek adına elzemdir (İnanç ve Daşkın, 2015).

1.1.5. Spermatolojik Muayene Yöntemleri

1.1.5.1. Sperma Motilitesi

Sperma motilitesi, fertilitenin sağlanmasında önemli bir faktördür (King et al., 2000). Spermatozoa motilitesi subjektif olarak ısıtma tablalı faz kontrast mikroskopta

40X büyütmede muayene edilmektedir (Keskin vd., 1997). Sperma motilite tayininde kullanılan bir diğer teknik ise bilgisayar destekli sperma analiz (CASA, Computer Assisted Sperm Analysis) sistemidir (Holt et al., 1997; Larsen et al., 2000).

Bilgisayar Destekli Spermatozoon Analiz Sistemleri (CASA)

İn vitro ortamda, spermatozoon morfolojisi ve kinetik parametrelerini, ayrıntılı ve sistematik şekilde ortaya koyan bilgisayar destekli spermatozoon analiz sistemleri (CASA) spermatozoon kalitesinin değerlendirilmesinde yaygın kullanılan teknolojilerden biridir (Şerefoğlu, 2011). Bu teknoloji mikroskop ve mikroskoptan elde edilen görüntülerin video olarak kaydedilmesi ile spermatozoon morfolojik ve kinetik değerlerini nicel verilere dönüştüren bir özelliğe sahiptir (Vincent ve ark., 2018). Bu aşamada bilgisayar sistemine bağlı mikroskop tablasına, cihaza özgü lam veya konvansiyonel lam, lamel arasına konulan sperma numunesi yerleştirilir. Lam üzerinde bulunan spermatozoon hareketlerinin videosu kaydedilir. Ayrıca bu aşamada yoğunluk ve uygun boyama prosedürlerinin kullanılmasıyla, Lam içerisindeki spermatozoon daha önce bilgisayar yazılımına işlenen referans değerlere göre, yaşam yeteneği hakkında objektif bir tahmin değeri sunmaktadır. Yapılan bu işlem ortalama on dakika sürmektedir (İnanç ve ark., 2017; Sergeant ve ark., 2019).

Spermatozoon hareket parametreleri içerisinde toplam motilite ve progresif motilite spermatozoon yüzdeleri, spermatozoon kalitesinin değerlendirilmesinde önemli parametrelerdir (King et al., 2000).

Spermatozoonun oositin katmanlarını ve zona pellucidayı geçmesi için motil olması ve gerekli enzimleri bu bölgeye ulaştırması gerektiği için spermatozoon motilitesi fertilizasyon esnasında kritik öneme sahiptir. Toplam motil spermatozoon; herhangi bir şekilde hareket kabiliyetine sahip spermatozoon toplamı olarak tanımlanır. Progresif motil olarak kabul edilen spermatozoonlar ise toplam motil spermatozoon içerisinde ileri doğru düzgün doğrusal hareket eden spermatozoonu tanımlar. Progresif olmayan motil spermatozoon ise hareket yeteneğine sahip ancak güçsüz, dairesel ya da anormal bir yörüngede hareket eden motil spermatozoondur (Sutovsky ve ark., 2003).

Ülkemizde ithal edilen ve üretilen dondurulmuş-çözdürülmüş boğa spermalarının analizinde, 2019 yılı Tarım ve Orman Bakanlığı talimatlarına göre, CASA toplam motilite değeri en az %40 ve bir payetteki motil spermatozoon sayısı en az 5 milyon olmalıdır (Tekin, 2011; İnanç ve ark., 2017; Vincent ve ark., 2018).

Motil spermatozoon hareketlerinin doğru tanımlanması, spermatozoon yaşam yeteneğinin tahmini açısından önem arz etmektedir. Nitekim spermatozoon baş ve kuyruk salınımları ile oluşturduğu hareket izdüşümü, lateral (x ve y ekseninde) ve longitudinal (z ekseninde) düzlemde, iki boyutlu olarak detaylı bir şekilde analiz edilir, zaman, hız ve aldığı yol cinsinden nicel verilere çevrilir (İnanç ve ark., 2017).

Belirli bir yörüngede spermatozoon salınımının, nicel veri olarak tanımları şunlardır;

VCL (Curvilinear Velocity): Eğrisel Hız ($\mu\text{m/s}$). Spermatozoon başının ilerlerken kat ettiği 2-boyutlu gerçek eğrisel yoldaki hızıdır. Spermatozoon canlılığının bir göstergesidir.

VSL (Velocity Straight Line): Doğrusal Hız ($\mu\text{m/s}$). Spermatozoon başının tespit edilen ilk noktadan son noktaya gidene kadar olan hızıdır. VSL yörüngesinin ilk ve son noktası arasındaki mesafeden belirlenir ve gözlem periyodunda kazanılan net alanı verir (Mortimer, 2000).

VAP (Velocity Average Path): Ortalama yol hızı ($\mu\text{m/s}$). Spermatozoon başının ortalama yolaktaki hızıdır. Bu yolak eğrisel yolun CASA cihazlarındaki algoritmalara göre düzleştirilmesi ile hesaplanır. VAP spermatozoonun gözlem periyodu içinde hareket yönünde kat ettiği ortalama mesafedir. VAP anlaşılması en zor hız değeridir, çünkü VSL ile benzerlik gösterir (Mortimer, 2000).

Spermatozoon başının çok düzenli doğrusal ve çok hafif yanal hareket ettiği durumlarda VAP neredeyse VSL ile aynı olmaktadır. Ancak doğrusal olmayan yörüngeler gibi düzensiz yollar olduğunda ya da spermatozoon başının aşırı derecede yana sapmasında VAP, VSL den çok daha yüksek çıkmaktadır. Ortalama yol rota düzleştirme kullanılarak CASA tarafından belirlenmektedir. Basitçe bu, (x,y) koordinatlarının her iki tarafındaki nokta izlerinin ortalamasının alınması anlamına gelmektedir. Bu düzeltme o iz noktası için (x,y) koordinatı vermektedir. Prosedür düz bir yol elde edilene kadar rota boyunca her nokta için tekrarlanmaktadır. Gözlem süresi zarfında bu yolun uzunluğuna VAP denilmektedir. Bu algoritmalar cihazlar arasında farklılık gösterebileceği için VAP farklı CASA sistemleri arasında mukayese edilebilir bir ölçüt olarak kabul edilmemektedir (Mortimer, 2000).

ALH (Lateral Head Displacement): Spermatozoon başının ortalama yolda ilerlerken laterale doğru saptığı uzaklıktır (μm). ALH genliği, spermatozoon başının yanal hareket genişliği olarak tanımlanır. Spermatozoon başının toplam yol genişliği olarak hesaplanır ve mikrometre olarak ifade edilmektedir (David ve ark., 1981).

LIN (Linearity %): Lineerlik/Çizgisellik (%). Spermatozoonun doğrusal yer değiştirmesini ($VSL/VCL \times 100$) belirtir. Spermatozoonun 2-boyutlu alanda gösterdiği lineer çizgi, 3-boyutlu ortam algoritması ile hesaplanmaktadır. Dairesel hareketi yüksek olan spermatozoonun linearitesi düşük değerde çıkmaktadır. Yüksek lineariteye sahip spermatozoon ise düşük ALH'ye sahip olmaktadır (Mortimer, 1999).

WOB (Wobble %): Spermatozoonun aldığı toplam yol zamanı boyunca sola, sağa sendeleme derecesini ($VAP/VCL \times 100$) belirtir (Mortimer, 2000).

STR (Straightness %): Doğrusallık. Spermatozoonun doğrusal bir yörünge boyunca aldığı mesafeyi ($VSL/VAP \times 100$) ifade etmektedir. (Mortimer, 2000).

BCF (Beat Cross Frequency): Çapraz atım sıklığı. Spermatozoon kuyruğunun ritim frekansını tanımlamak için kullanılmaktadır (Mortimer, 2000).

CASA tarafından ortaya konulan spermatozoon kinetik parametreleri ile in vitro veya in vivo fertilizasyon arasındaki ilişkiyi araştıran birçok araştırma bulunmaktadır. Amann (1989), dondurulmuş-çözdürülmüş boğa spermalarında motilite kinetik parametrelerini incelemiş ve VCL, VSL, LIN, ALH ve BCF'nin fertilite indeksi ile ilişkili olduğunu tespit etmiştir. Benzer sonuçlar Farrell ve ark. (1998) tarafından da elde edilmiştir.

CASA ile spermatozoon analizinde ideal mikroskop tablası sıcaklığı 37°C dir. Oda sıcaklığında veya 30°C yapılan analizlerin spermatozoon kinetik değerlerini önemli derecede etkilediği belirtilmiştir. Spermatozoon hız ve yol değerlerini analiz etmek için 30 veya 60 Hz kare hızı tercih edilir. Doğrusal hareketi düşük, hızlı bir sperma numunesinin değerlendirilmesinde yüksek kare hızının alınması objektif bir analiz için önemlidir (Castellini ve ark., 2011; Mortimer ve Swan, 1999).

CASA analiz teknolojileri objektif bir analiz potansiyeline sahip olmasına rağmen, her bir CASA sisteminin farklı yazılıma sahip olması ve CASA sistemlerinin belirli bir standardizasyonunun olmaması, analizden önce sperma optimizasyonu gibi temel işlemlerde kullanıcıların uzmanlığı ve tecrübesine bağlı olarak analiz sonuçlarının değişebilmesi bu teknolojinin dezavantajlarıdır (Comhaire ve ark., 1992; Holt ve ark., 1994; Amann ve Waberski, 2014; Vincent ve ark., 2018).

Türlere göre farklılık gösteren spermatozoon analiz ayarları, kullanılan derinlikli lam, derinlikli lam odacık sayısı, incelenen alan, görüntü alma hızı, analiz sırasındaki sıcaklık, örnek alma ile analiz arasında geçen süre gibi birçok öge analiz sonucunu etkilemektedir (Mortimer ve ark., 1986; Ginsburg ve Armant, 1990; Le Lannou ve ark., 1992; Davis ve Gravance, 1993; Holt ve ark., 1994; Morris ve ark., 1996).

Sperma dondurma sürecinde kullanılan sulandırıcılar, analiz öncesinde dikkate alınmalıdır. Yumurta sarısı ve süt tozu bazlı sperma sulandırıcıları, spermatozoon başına benzer partikül kalıntıları olduğu için CASA sistemlerinin doğru bir analiz yapmasına engel olabilir. Buna karşı, sperma numunesi analiz öncesi DNA bağlayıcı florokrom boyalar (Hoechst 3342 vb.) ile boyanarak, floresan mikroskop özelliği olan CASA cihazlarında güvenilir bir şekilde analiz edilebilir (Zinaman ve ark., 1996).

1.1.5.2. Ölü – Canlı Spermatozoon Oranı

Boğa spermasında yaygın olarak kullanılan ölü-canlı muayene yöntemi eosin-nigrosin ile boyama yöntemidir. Bu yöntem, plazma membranı sağlam olan spermatozoanın boyayı almamasıyla birlikte canlı olarak kabul edilmesi ve plazma membranı sağlam olmayan spermatozoanın boyayı almasıyla birlikte ölü olarak kabul edilmesi ilkesine dayanmaktadır (Bakst and Cecil, 1997).

1.1.5.3. Spermatozoon Morfolojisi

Sperma muayenesinde morfolojik bozukluklar spermatozoonlarda bulundukları bölümüne göre sınıflandırılmaktadır. Bunlar; akrozom, baş, orta ve kuyruk anomalileridir. Bu bozuklukların toplam oranı en fazla %15-20 arasında olmalıdır (İleri vd., 2000).

Spermatozoonlardaki anormal yapılar başlıca üç başlık altında sınıflandırılabilir. Bunlar;

Primer bozukluklar: Spermatogenezis sırasında oluşan anormal yapılardır. Daha çok başa bağlı anormallikler ve yapısal bozukluklar bu sınıfa girer (Diemer and Desjardins, 1999).

Sekonder bozukluklar: Spermatozoonların epididimisten geçişi ile olgunlaşması sırasında ve üretraya kadarki taşınmaları boyunca ortaya çıkan anomalilerdir (Hafez, 1993).

Tersiyer Bozukluklar: Spermanın alınması, sulandırılması ve diğer işlemler sırasında ortaya çıkan uygunsuz koşullara bağlı olarak ortaya çıkan anomalilerdir. Daha çok kuyrukla ilgili olarak oluşurlar (Hafez, 1993).

Spermatozoonlarda görülen başlıca morfolojik bozuklukları ise şu şekilde sıralayabiliriz;

Başa Ait Bozukluklar

Akrozom Bozuklukları: Çözülmüş akrozom, dejenere akrozom, eğik akrozom, küçük akrozom, granüllü akrozom, akrozom olmaması (Hafez, 1993).

Şekil Bozuklukları: Dar başlı, yuvarlak başlı, armut başlı, kopuk baş, dev başlı,

gelişmemiş baş, küçükbaşlı, kürek şekilli baş, mızrak şekilli baş (Sönmez, 2016).

Orta Bölüme Ait Bozukluklar

Protoplazmik damlacık, boyun kırılması, boyun kopması, kısa boyun, ince boyun, uzun boyun, katlanmış boyun, deforme boyun olarak değerlendirilir (Shahani et al., 2010).

Bağlantı bozuklukları ise Abaxial, para axial, retroaxial bağlanmalar olarak değerlendirilir (Chenoweth, 2005; Shahani et al., 2010).

Kuyruğa ait bozukluklar

Kıvrılmış kuyruk, kırılmış kuyruk, fibrinli kuyruk, kendi etrafına sarılmış kuyruk, başsız kuyruk, başa sarılmış kuyruk (Hafez, 1993).

Yapısal Anomaliler

Tek baş- çift kuyruk, çift baş- tek kuyruk, çift baş, üç kuyruk, tek baş-üç kuyruk, çift baş- çift kuyruk olarak değerlendirilir (Sönmez, 2016).

1.1.5.4. Spermatozoon Plazma Membran Bütünlüğü

Spermatozoonların bulundukları ortamdaki madde alışverişinin sağlanması, kapasitasyon, akrozom reaksiyonu ve fertilizasyon sırasında oosit membranına tutunabilmesi için sağlam bir plazma membranına ihtiyaç bulunmaktadır (Töpfer-Petersen ve ark. 1990).

Plazma membranı, spermatozoonda hücre içi bileşenleri bir arada tutar ve yarı geçirgen özelliği ile iyon ve diğer çözünür bileşenlerin kimyasal gradyanını korur. Spesifik plazma membran proteinleri, glukoz ve fruktozun hücre dışı ortamdan spermatozoon içine taşınmasını kolaylaştırır (Burant and Davidson, 1994; Schürmann et al., 2002).

Spermatozoon plazma membranı işlevsel olarak sağlam değilse, spermatozoon bozulmuş/ölü spermatozoon olarak kabul edilir ve fertilizasyon yeteneğine sahip değildir (Kusakabe and Kamiguchi, 2004).

Spermatozoa membran işlevselliğini test etmenin alternatif bir yolu, onları hipoozmotik bir ortama maruz bırakmaktır (Jeyendran and Graham 1980). Spermatozoon plazma membranının hipoozmotik ortama maruz bırakılması halinde ozmotik basınçlar eşitleninceye kadar hücre içine su girmektedir. Bu su girişinden dolayı hücrenin hacmi ve hücre zarı hacmen büyür ve bunun sonucunda plazma membranında şişlikler oluşur (Nur ve Soylu, 2003). Spermatozoon kuyruğunun fibril kısmını kaplayan hücre zarı, baş kısmına göre daha gevşektir. Bu nedenden dolayı kuyruk kısmı diğer bölgelere göre daha bariz şekilde şişer. Kıvrılma plazma

membranının şişmesinden ileri gelir. Düşük ozmotik basınca sahip ortamlarda, kimyasal ve fiziksel yönden sağlam spermatozoonun kuyruk kısmında şişmeler oluşurken, sağlam membrana sahip olmayan spermatozoonda bu reaksiyonlar görülmez (Nur ve Soylu, 2003).

Bu tez çalışmasında dondurulmuş ve çözündürülmüş sperma muayenesinde kullanılan ve tercih edilen iki farklı çözüm sıcaklığının kullanılabilirliği, geçerliliği ve doğrulukları hakkında değerlendirmeler yapılarak sahada yaşanabilecek çeşitli nedenlere bağlı olarak farklı sıcaklıklarda çözündürülen spermalarda, çözüm sonrası farklı sürelerde bekletilen spermalardan elde edilecek bulgular ile en ideal çözüm sıcaklığının belirlenmesi ve çözündürüldükten sonra +4°C’de spermatolojik parametrelerin hangi sürelerde devamlılığının sağlanacağını belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

Bu tez çalışmasında, aynı boğadan aynı tarihlerde toplanan ve ticari bir firmadan alınan 0,25 mL hacimli payetlerde dondurularak aynı koşullarda saklanan donmuş boğa spermalarından (Boğa adı: WILDMAN, Boğa ırkı: Simental, Dondurulma Tarihi:12.03.2012) toplamda 20 adet payet çalışma materyalini oluşturmaktadır.

2.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Bu çalışma için iki farklı grup oluşturulmuştur.

Bir grupta 10 adet payet 37°C’de 30 saniye ve diğer grupta 10 adet payet 70°C’de 5-6 saniye su banyosunda çözdürüldükten sonra 0.saatte ve ardından 4°C’ye kaldırıldıktan sonra 3., 6., 12., 24. ve 48. saatlerde spermatolojik muayeneleri yapıldı ve iki farklı çözdürme sıcaklığı birbiriyle karşılaştırıldı.

2.3. Spermatolojik Muayeneler

2.3.1. Spermanın Çözdürülmesi

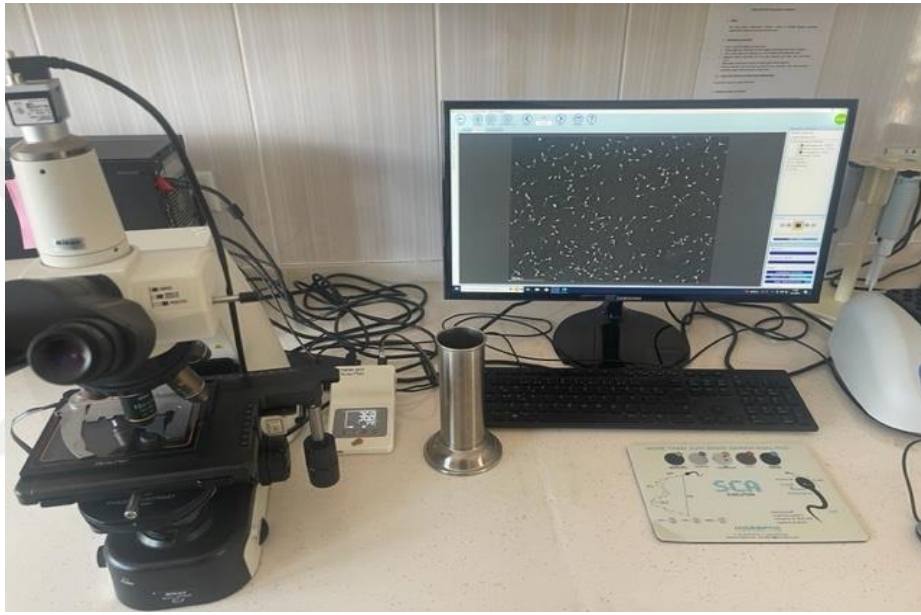
Sıvı azot içerisinde (-196°C’de) saklanan ve dondurulmuş boğa spermaları içeren payetler, aynı laboratuvar koşullarında önceden hazırlanmış olan 37°C’lik su banyosunda 30 saniye ve 70°C’lik su banyosunda 5-6 saniye çözdürüldü (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Spermanın su banyosunda çözdürülmesi

2.3.2. Spermatozoa Motilitesi

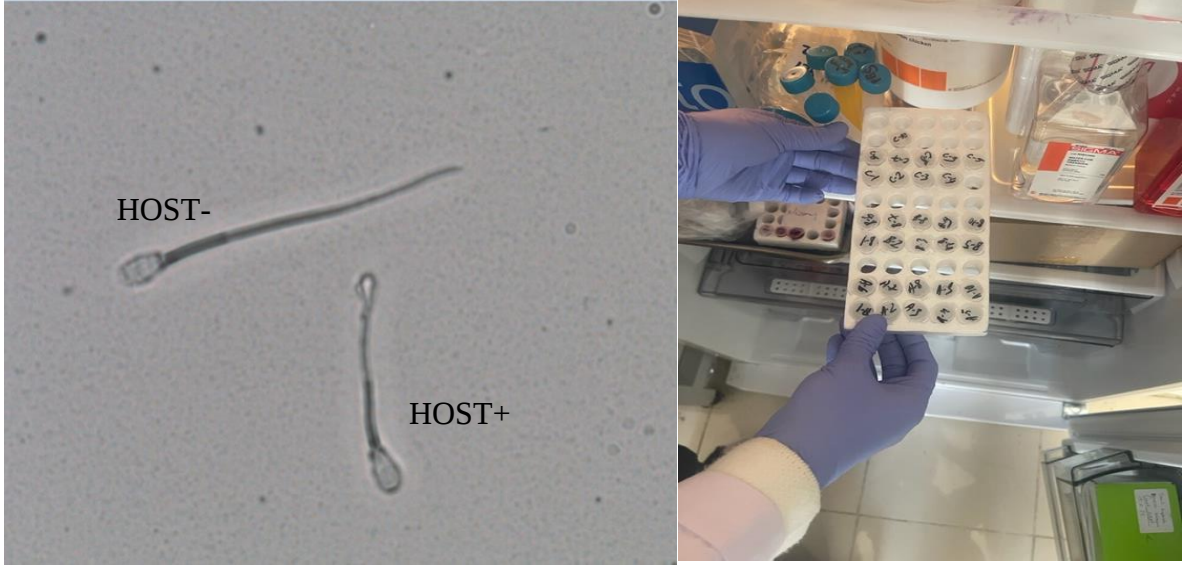
Spermatozoa motilitesi, progresif motilite ve kinematik parametreler, Bilgisayarlı Sperm Analiz Sistemi (CASA) (Sperm Class Analyzer® (SCA), Version 6.3.0.59, Microptic, Barcelona, Spain) ile değerlendirildi. Isıtma tablalı faz-kontrast mikroskop üzerine konulan lama 0,7 µl sperma numunesinden konularak 10x büyütmedeki mikroskop altında en az beş farklı alanda sistematik okutmalar yapılarak spermatozoa motilitesi, progresif motilite ve kinematik parametreler değerlendirildi. Bu süreçte yaklaşık 500 adet spermatozoon analiz edilmiştir. CASA sistemi üzerinden tüm veriler alınarak yüzde (%) olarak kaydedildi (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. CASA ile spermatozoa total motilitesi, progresif motilite ve kinematik parametrelerin belirlenmesi

2.3.3. Spermatozoon Plazma Membran Bütünlüğü Tespiti

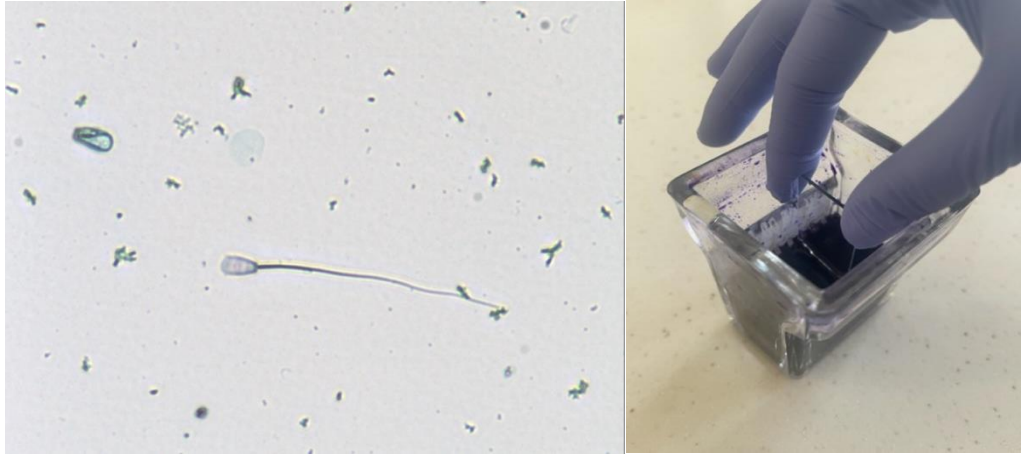
Spermatozoon plazma membran bütünlüğünün tespiti için HOS testi kullanıldı (Mansour, 2009; Gündoğan vd., 2010). 37°C derecede bulunan HOST solüsyonundan 1 ml alınarak eppendorf tüp içerisine konuldu. HOST solüsyonunun (fruktoz (0,05 M) + sodyum sitrat (0,023 M, osmolarite: 100 mOsm/kg) 100 ml distile su içerisinde hazırlandı, üzerine ise sperma numunesinden 10 µl eklendikten sonra karışım 37°C derecede bulunan inkübatörde 30 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından lam üzerine karışımdan 10 µl damlatılarak froti çekildi. Lam 45 derecelik bir açıda kurumaya bırakıldı ve ardından 40x objektifte 200 spermatozoon sayıldı. HOS-pozitif sperm yüzdesi, baş kısmı şişmiş ve kıvrık kuyruklu spermatozoa oranlarına göre hesaplandı (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. HOS testi, Spermatozoon Plazma Membran Bütünlüğü Tespiti

2.3.4. Spermatozoa Morfolojisi

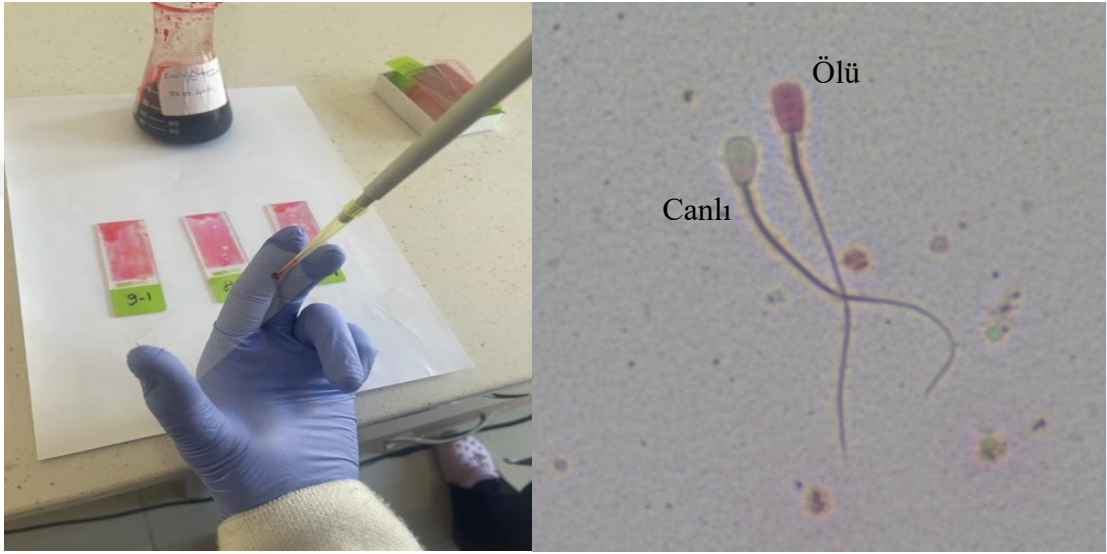
Spermatozoonların morfolojisi Spermac® (Stain Enterprises, Wellington, Güney Afrika) boya ile değerlendirildi. Sperma numunesinden 10 µl alınarak özel lam üzerine froti çekildi ve 45 derecelik bir açıda kurutmaya bırakıldı. Smearlar, spermac boyama prosedürüne uygun olarak boyandı ve 200 spermatozoa, Axner ve ark. (1999) tarafından açıklanan yöntemle göre ışık mikroskobu altında değerlendirildi (Shafer-Somi ve Holzmann, 2000) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Spermac Boyama ile Spermatozoon Morfoloji Değerlendirme

2.3.5. Spermatozoa Canlılığı Oranı

Payetler 37°C ve 70°C’lerde çözdürülen payetlerdeki spermalarda Eozin boyama yöntemiyle (%3’lük sodyum sitrat içinde %2’lik olarak hazırlanan Eozin solüsyonu) ölü/canlı spermatozoa oranları yüzde olarak belirlendi. Bir damla sperma, iki damla Eozin ile karıştırılıp bir lam üzerine froti çekildi. 15 saniye boyunca kurumaya bırakılan slaytlar mikroskopta 20X büyütme ile 400 spermatozoon sayıldı ve boya almayan spermatozoonlar, boya alanlara (ölü olanlar) oranlanarak yüzde olarak belirlendi (Tekin,1994) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Eozin Boyamayla Spermatozoa Canlılığı Analizi

2.3.6. İstatistiksel Analiz

Proje çalışmasında ölçülecek olan parametrelerin grup içi ve gruplar arası değerlerin özetlenmesi amacıyla tanıtıcı istatistikleri hesaplandı. Total motilite, progresif motilite, kinematik parametreler ve HOST için normal dağılıma uygunluk testi yapıldıktan sonra tek yönlü varyans analizi uygulandı. Ortalamalar arası farkın önemli bulunduğu durumlarda DUNCAN Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanarak ortalamalar arası farklar belirlendi. Baş, akrozom, kuyruk ve toplam anormal spermatozoa oranı gibi sayılarla elde edilen gözlem değerleri için Poisson ve Binom dağılımına uygunluk testi yapıldıktan sonra, Genelleştirilmiş Doğrusal Modeller yöntemine göre logaritmik bağlantı fonksiyonu kullanılarak analiz edildi. Ortalamalar arası farkların önemli bulunduğu durumlarda grup ortalamaları arasındaki farklılıklar t oran testi ile belirlendi (Moore ve McCabe 1993). İstatistik analizler ve tanıtıcı istatistikler SAS (2009) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Aynı boğadan aynı tarihlerde toplanan ve ticari bir firmadan alınan 0,25 mL hacimli payetlerde dondurularak aynı koşullarda saklanan donmuş boğa spermalarından iki ayrı grupta (37°C’de 30 saniye ve 70°C’de 5-6 saniye su banyosunda) çözündürülen spermalarda 0, 3, 6, 12, 24 ve 48. saatlerde spermatolojik muayeneler yapıldı ve iki farklı çözündürme sıcaklığı birbiriyle karşılaştırıldı. Araştırmada total spermatozoa motilitesi (%), progresif motilite (%), kinematik parametrelerden VCL ($\mu\text{m/s}$), VAP ($\mu\text{m/s}$), VSL ($\mu\text{m/s}$), STR (%), LIN (%), WOB (%), ALH (μm), BCF (Hz) parametreleri, spermatozoon membran bütünlüğü (%), spermatozoa morfolojisi (%), spermatozoa canlılığı oranı (%) değerlendirildi. Her iki gruba ait, total spermatozoa motilitesi (%), progresif motilite (%), spermatozoon membran bütünlüğü (%), spermatozoa canlılığı oranı (%) değerleri tablo 3.1. de gösterildi.

Total motilite değerleri bakımından; 0, 12 saat, 24 saat ve 48 saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37 °C ve 70 °C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). 48 saat sonra yapılan ölçümlerde 70°C’de çözündürülen spermanın TM değeri daha yüksek iken; 0, 12 saat ve 24. saat sürede yapılan ölçümlerde 37 °C sıcaklıkta çözündürülen spermanın TM değerleri daha yüksektir. Buna karşılık 3. saat ve 6. saatte yapılan ölçümlerde 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Ayrıca 37 °C ve 70 °C’de çözündürülen spermalarda yapılan ölçümlerde ayrı ayrı TM bakımından fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37 °C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. ve 24. saate göre, 12. ve 24. saat ise 48. saate göre daha yüksek TM değerine sahiptir. Benzer şekilde 70°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12 ve 24. saate göre, 12 ve 24. saat ise 48. saate göre daha yüksek TM değerine sahiptir. Buna göre test süresi arttıkça sperm hücrelerinin toplam motilite düzeylerinin azaldığı söylenebilir.

Progresif motilite (PM) puanları bakımından 0. saat, 3. saat, 24. saat ve 48. saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37 °C ve 70 °C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana gelmediği belirlenmiştir ($p > 0,05$). 6. saat ve 12. saat sürede yapılan ölçümlerde 37°C sıcaklıkta çözündürülen spermaların PM değerleri 70 °C sıcaklıkta olanlara göre daha yüksektir.

Ayrıca 37 °C ve 70 °C’de çözündürülen spermaların muayenesinde ayrı ayrı PM

bakımından fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37 °C sıcaklıkta 0, 3 ve 6. saate göre, 3 ve 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha yüksek PM değerine sahiptir. Benzer şekilde 70°C sıcaklıkta 0, 3 ve 6. saate göre, 3 ve 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha yüksek PM değerine sahiptir.

Tablo 3.1. Çözdürme Sonrası Farklı Sürelerdeki Spermatolojik Parametre Değerleri (ortalama $\pm$ standart hata)

		0. saat	3. saat	6. saat	12. saat	24. saat	48. saat	P
Parametre	Sıcaklık (°C)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	
TM (%)	37	84.68 $\pm$ 2.35 ^a	71.91 $\pm$ 2.59 ^b	68.43 $\pm$ 2.78 ^{bc}	61.78 $\pm$ 2.98 ^c	62.91 $\pm$ 3.47 ^{bc}	38.96 $\pm$ 4.09 ^d	<0.001
	70	76.16 $\pm$ 2.29 ^a	70.28 $\pm$ 1.38 ^b	63.31 $\pm$ 1.35 ^c	53.46 $\pm$ 1.99 ^d	48.01 $\pm$ 0.91 ^e	39.37 $\pm$ 0.75 ^f	<0.001
P		0,0183	0,5853	0,1159	0,0325	0,0006	0,9231	
PM (%)	37	58.83 $\pm$ 3.35 ^a	47.02 $\pm$ 3.26 ^b	48.06 $\pm$ 2.89 ^b	42.94 $\pm$ 2.47 ^b	30.58 $\pm$ 5.05 ^c	23.38 $\pm$ 3.08 ^c	<0.001
	70	58.98 $\pm$ 3.53 ^a	51.59 $\pm$ 1.28 ^b	36.94 $\pm$ 2.08 ^c	32.81 $\pm$ 2.27 ^{cd}	29.59 $\pm$ 2.26 ^{de}	23.58 $\pm$ 2.64 ^e	<0.001
P		0,9764	0,2095	0,0059	0,0075	0,8597	0,9613	
HOST (%)	37	75.70 $\pm$ 1.54 ^a	70.10 $\pm$ 0.87 ^b	68.00 $\pm$ 1.34 ^b	62.70 $\pm$ 1.77 ^c	58.60 $\pm$ 1.41 ^c	49.50 $\pm$ 2.09 ^d	<0.001
	70	66.10 $\pm$ 1.70 ^a	60.50 $\pm$ 1.39 ^b	59.70 $\pm$ 1.82 ^b	60.40 $\pm$ 0.80 ^b	53.40 $\pm$ 1.23 ^c	41.90 $\pm$ 0.76 ^d	<0.001
P		0,0006	<0,0001	0,0018	0,2537	0,0126	0,0031	
Canlılık (%)	37	72.60 $\pm$ 1.13 ^a	66.60 $\pm$ 2.20 ^b	65.80 $\pm$ 2.24 ^b	63.20 $\pm$ 1.40 ^{bc}	59.20 $\pm$ 0.98 ^c	47.70 $\pm$ 2.22 ^d	<0.001
	70	75.60 $\pm$ 0.99 ^a	68.80 $\pm$ 1.45 ^b	63.20 $\pm$ 0.86 ^c	59.50 $\pm$ 0.90 ^d	58.50 $\pm$ 1.06 ^d	47.40 $\pm$ 1.90 ^e	<0.001
P		0,0622	0,4158	0,2951	0,0402	0,6359	0,9196	

a, b, c,d,e,f: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan değerler arası fark önemlidir.

TM: Total motilite, PM: Progressiv motilite, HOST: Hipoosmotik şişme testi

Hipoosmotik şişme testi (HOST) değerleri bakımından; 0, 3 saat, 6 saat, 24 saat ve 48 saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Yapılan ölçümlerde 0, 3 saat, 6 saat, 24 saat ve 48 saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C sıcaklıkta yapılan HOST değerleri 70°C yapılanlara göre daha yüksektir. Buna karşılık 12 saat süreli 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Ayrıca 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde ayrı ayrı HOST bakımından fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha yüksek HOST değerine sahiptir. Benzer şekilde 70°C sıcaklıkta 0, 3, 6, 12. saate göre, 3, 6, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha yüksek HOST değerine sahiptir.

Canlılık değerleri bakımından; 0, 3 saat, 6 saat, 24 saat ve 48. saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana gelmediği belirlenmiştir ($p > 0,05$). Buna karşılık 12. saatte yapılan değerlendirmede 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana geldiği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Yapılan ölçümlerde 12. saatte 37°C sıcaklıkta yapılan ölçümle 70°C'de yapılanlara göre sperma hücresi canlılığı daha yüksektir.

Ayrıca 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde ayrı ayrı canlılık bakımından fark meydana geldiği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). 37°C sıcaklıkta 0. saat 3. ve 6. saate göre, 3 ve 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha yüksek canlılık değerine sahiptir. Benzer şekilde 70°C sıcaklıkta 0. saat 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12 ve 24. saate göre, 12 ve 24. saat ise 48. saate göre daha yüksek canlılık değerine sahiptir.

Bulgular genel olarak değerlendirildiğinde 70°C'de çözdürülen spermaların Total motilite, Progresif motilite, Hipoosmotik şişme testi ve canlılık değerlerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bekleme süresi arttıkça genel olarak Total motilite, Progresif motilite, Hipoosmotik şişme testi ve canlılık değerlerinde azalma meydana geldiği belirlenmiştir.

Gruplara ait spermatozoa morfolojisi değerlendirmesinde elde edilen anormal spermatozoa oranları tablo 3.2. de verilmiştir.

Tablo 3.2. Çözdürme Sonrası Farklı Sürelerdeki Anormal Spermatozoa Parametre Değerlerinin Karşılaştırması

			0	3	6	12	24	48	P
	Parametre	Sıcaklık (°C)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	
Anormal Spermatozoa Oranı (%)	Akrozom	37	1.10±0.23 ^d	1.40±0.16 ^{cd}	2.00±0.25 ^{bc}	2.50±0.22 ^{ab}	2.30±0.21 ^{ab}	2.70±0.21 ^a	<0.001
		70	0.30±0.15 ^f	1.00±0.21 ^e	1.70±0.21 ^d	2.80±0.20 ^c	3.40±0.16 ^b	4.10±0.17 ^a	<0.001
	P		0,0102	0,1510	0,3823	0,3306	0,0007	<0,0001	
	Baş	37	5.00±0.44 ^c	6.10±0.31 ^{bc}	6.70±0.36 ^b	8.30±0.36 ^a	8.90±0.64 ^a	9.70±0.76 ^a	<0.001
		70	5.90±0.40 ^e	7.40±0.30 ^d	8.00±0.36 ^{cd}	8.90±0.23 ^c	10.00±0.29 ^b	12.00±0.29 ^a	<0.001
	P		0,1539	0,0083	0,0217	0,1843	0,1368	0,0115	
	Orta Kısım	37	2.80±0.38 ^d	3.70±0.30 ^{cd}	4.10±0.23 ^c	5.20±0.24 ^b	5.40±0.30 ^b	6.60±0.45 ^a	<0.001
		70	3.30±0.30 ^d	4.10±0.23 ^d	5.00±0.42 ^c	6.40±0.37 ^b	7.20±0.20 ^b	9.10±0.23 ^a	<0.001
	P		0,3220	0,3065	0,0782	0,0152	0,0001	0,0001	
	Kuyruk	37	6.30±0.51 ^d	7.70±0.44 ^{cd}	8.30±0.66 ^c	11.30±0.62 ^b	12.10±0.62 ^{ab}	13.60±0.47 ^a	<0.001
		70	5.30±0.55 ^e	8.20±0.48 ^d	8.90±0.27 ^d	10.20±0.32 ^c	11.40±0.33 ^b	13.70±0.36 ^a	<0.001
	P		0,2057	0,4613	0,4173	0,1753	0,3369	0,8697	
	Toplam	37	15.20±1.07 ^d	18.90±0.56 ^c	21.10±0.91 ^c	27.20±0.85 ^b	28.70±1.06 ^b	32.60±1.40 ^a	<0.001
		70	14.80±0.82 ^f	20.70±0.78 ^e	23.60±0.90 ^d	28.30±0.51 ^c	32.00±0.59 ^b	38.90±0.70 ^a	<0.001
	P		0,7479	0,0805	0,0681	0,2850	0,0145	0,0008	

(ortalama ± standart hata)

a, b, c,d,e,f: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan değerler arası fark önemlidir.

Çözdürme sonrası farklı sürelerdeki anormal spermatozoa parametre değerlerinin karşılaştırması sonucunda aşağıdaki bulgulara ulaşılmıştır.

Akrozom kısmındaki anomali değerleri bakımından; 0. saat, 24. saat ve 48. saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C ve 70°C’de çözdürülen spermatolojik muayenede anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). 0. Saat ölçümlerinde 37°C sıcaklıktaki Akrozom 70°C sıcaklıktakine göre daha fazla iken, 12 ve 24. saat sürede yapılan analizde 70°C’de, 37°C sıcaklıkta yapılanlara göre Akrozom değerleri daha yüksektir. Buna karşılık 3.saat, 6. saat ve 12. saat süreli yapılan ölçümlerde 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Ayrıca 37°C ve 70°C sıcaklıkta çözdürülen spermalarda ayrı ayrı Akrozom değerleri bakımından fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C’de 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha düşük Akrozom değerine sahiptir. Benzer şekilde 70°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha düşük Akrozom değerine sahiptir.

Baş kısmındaki anomali değerleri bakımından 3. saat, 6. saat ve 48. saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan analizlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Ölçümlere ilişkin değerler incelendiğinde 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerin 37°C sıcaklıkta yapılanlara göre anormal baş değerleri daha yüksektir. Buna karşılık 0. saat, 12. saat ve 24. saat süreli 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Ayrıca 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde ayrı ayrı baş değerleri bakımından fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha düşük baş değerine sahiptir. Benzer şekilde 70°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha düşük baş değerine sahiptir. Buna göre test süresi arttıkça baş değerlerinin arttığı söylenebilir.

Orta kısımdaki anomali değerleri bakımından 12. saat, 24. saat ve 48. saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Ölçümlere ilişkin değerler incelendiğinde 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerin 37°C sıcaklıkta yapılanlara göre orta kısım değerleri daha yüksektir. Buna karşılık 0., 3. ve 6. saat süreli 37°C ve 70°C

sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p>,05$).

Ayrıca 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde orta kısım değerleri bakımından fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha düşük orta kısım değerine sahiptir. Benzer şekilde 70°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha düşük orta kısım değerine sahiptir.

Kuyruk kısmındaki anomali değerleri bakımından 0. saat, 3. saat, 6. saat, 12. saat, 24. saat ve 48. saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana gelmediği belirlenmiştir ($p>,05$).

Buna karşılık 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde kuyruk değerleri bakımından fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha düşük kuyruk değerine sahiptir. Benzer şekilde 70°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha düşük kuyruk değerine sahiptir.

Toplam anomali bakımından 24. saat ve 48. saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p\leq,05$). Ölçümlere ilişkin puanlar incelendiğinde 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerin 37°C sıcaklıkta yapılanlara göre toplam puanlarının daha yüksek olduğu görülmüştür. Buna karşılık 0., 3., 6. saat ve 12. saat süreli 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p>,05$).

Ayrıca 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde toplam anomali değerleri bakımından fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha düşük toplam anomali değerine sahiptir. Benzer şekilde 70°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre, 12. saat 24. saate göre, 24. saat ise 48. saate göre daha düşük toplam puan değerine sahiptir.

Bulgular genel olarak değerlendirildiğinde 70°C sıcaklıkta anormal spermatozoa parametre değerlerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca test süresi arttıkça genel olarak anormal spermatozoa parametre değerlerinde artış meydana geldiği belirlenmiştir.

Çözdürme sonrası her iki grupta belirlenen kinematik parametreler tablo 3.3.'te sunulmuştur.

Tablo 3.3. Çözdürme Sonrası Farklı Sürelerdeki Kinematik Parametre Değerleri

			0. saat	3	6	12	24	48	P
	Parametre	Sıcaklık (°C)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$	
Kinematik Parametreler	VCL (µm/s)	37	90.51±3.87 ^b	99.30±8.84 ^b	165.41±6.82 ^a	168.42±3.70 ^a	60.27±6.89 ^c	104.55±9.92 ^b	<0.0001
		70	161.61±14.63 ^a	103.27±10.30 ^c	72.63±3.12 ^d	145.32±4.68 ^{ab}	72.46±5.38 ^d	134.96±7.47 ^b	<0.0001
	P		0,0002	0,7732	<0,0001	0,0011	0,1801	0,0248	
	VAP (µm/s)	37	68.84±3.64 ^b	67.25±3.58 ^b	85.52±3.92 ^a	81.48±2.13 ^a	34.90±4.18 ^d	53.06±3.96 ^c	<0.0001
		70	92.11±6.48 ^a	69.72±4.39 ^b	42.64±2.61 ^c	66.03±2.17 ^b	44.98±4.68 ^c	64.07±3.82 ^b	<0.0001
	P		0,0058	0,6690	<0,0001	0,0003	0,1263	0,0612	
	VSL (µm/s)	37	56.82±3.29 ^{ab}	54.05±2.75 ^b	65.99±3.93 ^a	60.57±2.22 ^{ab}	26.76±3.65 ^d	40.16±3.24 ^c	<0.0001
		70	77.05±5.53 ^a	56.96±3.87 ^b	33.73±2.45 ^d	45.33±2.70 ^{bcd}	35.72±4.58 ^{cd}	47.34±4.78 ^{bc}	<0.0001
	P		0,0057	0,5489	<0,0001	0,0004	0,1339	0,2305	
	STR (%)	37	73.10±1.35 ^{ab}	74.77±1.90 ^a	69.75±1.16 ^{abc}	68.15±1.05 ^{bc}	65.79±2.66 ^c	67.60±2.36 ^{bc}	0.009
		70	76.40±1.89 ^a	72.75±1.49 ^{ab}	69.51±1.88 ^{bc}	64.45±1.29 ^c	69.03±2.20 ^{bc}	68.34±3.23 ^{bc}	0.0052
	P		0,1740	0,4142	0,9154	0,0397	0,3605	0,8549	
	LIN (%)	37	55.25±2.15 ^a	54.78±4.66 ^a	37.97±1.40 ^{bc}	32.14±2.87 ^c	41.19±3.28 ^b	35.76±1.36 ^{bc}	<0.0001
		70	45.90±1.65 ^{ab}	50.89±1.83 ^a	43.93±2.07 ^b	31.56±0.87 ^c	44.56±2.76 ^b	34.93±2.26 ^c	<0.0001
	P		0,0029	0,4480	0,0286	0,8495	0,4413	0,7585	
	WOB (%)	37	71.61±2.00 ^a	70.22±4.71 ^a	52.33±1.23 ^{bc}	49.49±0.70 ^c	58.09±2.65 ^b	51.09±0.85 ^{bc}	<0.0001
		70	57.85±1.69 ^b	66.45±2.28 ^a	60.04±1.60 ^b	47.16±0.76 ^c	60.56±2.61 ^b	49.80±1.03 ^c	<0.0001
	P		<0,0001	0,4816	0,0013	0,0392	0,5164	0,3510	
	ALH (µm)	37	2.96±0.14 ^{cd}	2.73±0.22 ^d	3.79±0.14 ^{ab}	4.10±0.11 ^a	2.67±0.26 ^d	3.31±0.15 ^{bc}	<0.0001
		70	3.60±0.18 ^{ab}	3.14±0.14 ^{bc}	3.15±0.09 ^{bc}	3.95±0.08 ^a	2.99±0.21 ^c	3.45±0.16 ^{bc}	0.0004
	P		0,0133	0,1394	0,0015	0,3233	0,3677	0,5504	
	BCF (Hz)	37	7.24±0.23 ^c	12.66±2.51 ^b	25.83±1.80 ^a	21.80±0.90 ^a	6.03±0.60 ^c	16.20±2.63 ^b	<0.0001
		70	24.44±3.16 ^a	11.94±2.95 ^b	6.71±0.30 ^b	20.21±0.70 ^a	6.89±0.41 ^b	23.02±1.69 ^a	<0.0001
	P		<0,0001	0,8483	<0,0001	0,1813	0,2576	0,0431	

(ortalama ± standart hata).

a, b, c,d: Aynı satırda değişik harfleri taşıyan değerler arası fark önemlidir.

VCL: Eğrisel hız, VAP: Ortalama yol hızı, VSL: Doğrusal hız, STR: Düz ilerleyiş (VSL/VAP × 100), LIN: Doğrusallık (VSL/VCL × 100), WOB: Yalpalama (VAP / VCL × 100),

ALH: Yanal kafa deplasmanı genişliği, BCF: Çapraz frekans ritmi

Çözdürme sonrası farklı sürelerdeki Kinematik Parametre değerlerinin karşılaştırması sonucunda aşağıdaki bulgulara ulaşılmıştır.

VCL değerleri bakımından; 0. saat, 6. saat, 12. saat ve 48. saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). VCL ölçümlerinde 37°C sıcaklıktaki değerleri 6 ve 12. saatlerde daha fazla iken, 0. saat ve 48. saat sürede 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerin 37°C sıcaklıkta yapılanlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık 3. saat ve 24. saat süreli yapılan ölçümlerde 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Ayrıca 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde ayrı ayrı VCL bakımından fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre daha düşük VCL değerine sahip iken; 24. saat ve 48. saat olanların VCL değerlerinin daha düşük olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde 70°C sıcaklıkta 0. saat 3. saate göre, 3. saat 6. saate göre, 6. saat 12. saate göre daha yüksek VCL değerine sahip iken; 12. ve 48. saat olanların 6. ve 24. saat olanlara göre VCL değerleri daha yüksektir.

VAP değerleri bakımından; 0. saat, 6. saat ve 12. saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). VAP ölçümlerinde 0. saat değerleri bakımından 37°C sıcaklıktaki ölçümlerin 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlere göre daha yüksek olduğu, 6. ve 12. saatte yapılan ölçümlerde ise 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerin 37°C sıcaklıktaki ölçümlere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık 3. saat, 24. saat ve 48. saat 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Ayrıca 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde ayrı ayrı VAP değerlerinde fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta 6. ve 12. saat olanlar 0. saat, 3. saat, 24. saat ve 48. saate göre daha yüksek VAP değerine sahiptir. Benzer şekilde 70°C sıcaklıkta 0. saat değerleri diğer saatlere göre daha yüksek, 6. ve 24. saat olanlar diğerlerine göre daha düşüktür.

VSL değerleri bakımından 12. saat, 24. saat ve 48. saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). VSL değerlerinde 0. saat değerleri bakımından 70°C sıcaklıktaki ölçümlerin 37°C sıcaklıkta yapılan ölçümlere göre daha yüksek olduğu, 6. ve 12. saatte yapılan ölçümlerde ise 37°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerin 70°C

sıcaklıktaki ölçümlere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık 3.saat, 24. saat ve 48. saat 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p>,05$).

Ayrıca VSL değerlerinde 37°C sıcaklıkta 24. saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha düşük olduğu, 6. ve 12. saatte yapılan ölçümlerin ise diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde VSL ölçümlerinde 70°C sıcaklıkta 24. saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha düşük olduğu, 0. saatte yapılan ölçümlerin ise diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

STR değerleri bakımından 12. saat süre ile yapılan karşılaştırmalarda 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p\leq,05$). STR ölçüm değerleri bakımından 37°C sıcaklıktaki ölçümlerin 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlere göre daha yüksek belirlenmiştir. Buna karşılık 0. saat, 3.saat, 6. saat, 24. saat ve 48. saat 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p>,05$).

Ayrıca STR ölçümlerinde 37°C sıcaklıkta 0. saat ve 3saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha yüksek olduğu, belirlenmiştir. Benzer şekilde STR ölçümlerinde 70°C sıcaklıkta 0. saat ve 3.saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

LIN değerleri bakımından 0. saat ve 6. saat süre 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p\leq,05$). LIN ölçüm değerleri bakımından 37°C sıcaklıkta 0. saat, 70°C sıcaklıkta ise 6. saatte yapılan ölçümlerin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık 3.saat, 12. saat, 24. saat ve 48. saat 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p>,05$).

Ayrıca LIN ölçümlerinde 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta 0. saat ve 3. saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde LIN ölçümlerinde 70°C sıcaklıkta 12. ve 48. saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir.

WOB değerleri bakımından 0. saat, 6. saat ve 12. saat süre 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p\leq,05$). WOB ölçüm değerleri bakımından 37°C sıcaklıkta 0. saat ve 12. saat, 70°C sıcaklıkta ise 6. saatte yapılan ölçümlerin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Buna karşılık 3.saat, 24. saat ve 48. saat 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde

farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p>,05$).

Ayrıca WOB ölçümlerinde 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta 0. saat ve 3. saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde LIN ölçümlerinde 70°C sıcaklıkta 0. saat, 3. saat ve 6. saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

ALH değerleri bakımından 0. saat ve 6. saat süre 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p\leq,05$). ALH ölçüm değerleri bakımından 37°C sıcaklıkta 0. saat, 70°C sıcaklıkta ise 6. saatte yapılan ölçümlerin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık 3. saat, 12. saat, 24. saat ve 48. saat 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p>,05$).

Ayrıca ALH ölçümlerinde 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta 6. ve 12. saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde ALH ölçümlerinde 70°C sıcaklıkta 0. saat, 12. saat ve 48. saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

BCF değerleri bakımından 0. saat, 6. saat ve 48. saat süre 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde anlamlı farklılık meydana geldiği belirlenmiştir ($p\leq,05$). BCF ölçüm değerleri bakımından 37°C sıcaklıkta 6. saatte yapılan ölçümlerin, 70°C sıcaklıkta ise 0. saat ve 48. saatte yapılan ölçümlerin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık 3. saat, 12. saat ve 24. saat 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde farklılıklar meydana gelmediği belirlenmiştir ($p>,05$).

Ayrıca BCF ölçümlerinde 37°C ve 70°C sıcaklıkta yapılan ölçümlerde fark meydana geldiği belirlenmiştir. 37°C sıcaklıkta 6. ve 12. saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde BCF ölçümlerinde 70°C sıcaklıkta 0. saat, 12. saat ve 48. saatte yapılan ölçümlerin diğerlerine göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Literatür incelendiğinde araştırmada ulaşılan bulgulara benzer şekilde araştırma bulgularına ulaşıldığı görülmektedir. Bu kapsamda Lima-Verde ve diğerleri (2022) tarafından yapılan araştırmada genç boğalardan alınan spermanın Bovicoll koloidi aracılığıyla santrifüjlenmesinin, donmuş spermanın suni tohumlama için kabul edilebilir olması için sperm kalitesini yeterince iyileştirip iyileştirmediği araştırılmıştır. Araştırmada 9 genç boğadan alınan ejakülatlar ayrılmış ve

dondurulmadan önce Tek Katmanlı Santrifüjleme (SLC) ile işlenmiştir. Çözdürme işleminden sonra sperma kalitesi, membran bütünlüğü, mitokondriyal membran potansiyeli, DNA bütünlüğü, reaktif oksijen türlerinin üretimi, sperma morfolojisi ve hareketliliği belirlenerek değerlendirilmiştir. Araştırmada çözülme sonrası kaliteye (membran bütünlüğü $\geq$ %40) ulaşmış, diğer örneklerde SLC ile sperm kalitesi iyileştirilmiş ve bunların %45'i çözülme sonrası kabul edilebilir kaliteye ulaşmıştır. Genç boğalar tarafından üretilen ejakülatlar, sperma kalitesinde önemli ölçüde farklılık göstermiş, ancak bazı durumlarda, bu kalite, dondurma öncesi kalite standartlarına ulaşmak için SLC ile iyileştirilebilir olarak belirtilmiştir. Serin ve Tekin (2003) dondurulmuş boğa spermasının in vitro kapasitasyonuna ilişkin yaptıkları araştırmada, inkübasyon süresinin ve dozun artması ile spermatozoonların kapasitesinde artış meydana geldiği belirlenmiştir.

Selçuk ve diğerleri (2014) farklı sistemlerde çözdürülen dondurulmuş boğa spermasının in vitro değerlendirmesine ilişkin yaptıkları araştırmada, hiposmotik şişme testi (HOST), baş, orta, kuyruk ve toplam anormal spermatozoa bakımından yöntemler arasında farklılık bulunmamıştır. Uygulanan yöntemlerde akrozom değerlerinde farklılıklar meydana geldiği görülmüştür. Ayrıca aynı şartlarda dondurulan fakat kuru sistemlerde çözdürülen sperma hücrelerinin sulu sistemlere göre akrozom bozukluk durumları daha yüksektir. Kuru sistemlerde ısının daha uzun süre korunması, çözdürme sırasında spermaya su karışma riskinin azaltılması gibi özellikler bakımından kuru sistemler kullanılarak çözdürmenin daha avantajlı olduğu belirtilmiştir.

Sönmez ve Fırat (2022) CASA kullanılarak yapılan incelemelerde spermatozoonların motilitesini ve kinematik değerlerini etkileyen faktörler araştırılmıştır. Yapılan araştırma sonucunda analizlerde kullanılan sulandırıcıların özelliği, sulandırmada kullanılan oransal değişimler, analiz süresi ve görüntüleme ortamın seçilmesi gibi değişkenlerin spermatozoonların motilite oranları ile kinematik değerlerinin belirlenmesinde etkili olduğu ifade edilmiştir. CASA sistemlerinde elde edilen değerlerin doğruluk düzeyi görüntü sayısı ve farklı hızda kareler kullanıldığında değişiklik gösterdiği belirtilmiştir.

Demirhan (2020) farklı sıcaklık ve sürelerde çözdürdüğü spermalar üzerinde yaptığı çalışmada 37°C'de 30 sn çözdürdüğü spermaların motilite ve progresif motilite sonuçlarını $67,20 \pm 3,20$, $11,96 \pm 1,63$ bulmuşken, 70°C'de 6 sn sonuçlarını $66,34 \pm 9,67$, $14,16 \pm 3,60$ olarak elde etmiştir. Çalışmaya benzer olarak elde ettiğimiz

sonuçlarda 37 °C’de 30 saniyede, 70 °C’de 6 saniyeye göre daha yüksek motilite ve progresif motilite değerleri elde edilmiştir.

Selcuk et al (2021), yaptığı çalışmada 37°C’de çözdürülen spermalarda kinematik parametreler incelendiğinde VCL (75.20 ± 2.96), VSL (35.54 ± 2.48), VAP (51.23 ± 3.29), STR (57.88 ± 2.17), LIN (38.37 ± 2.21), WOB (60.00 ± 2.43) değerleri çalışmamızın aynı çözüm sıcaklığındaki 0. saatte elde edilen değerlerden daha düşük çıkmışken, yine aynı çalışmada ALH (2.78 ± 0.13) ve BCF (6.25 ± 0.35) değerleri çalışmamızdan daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni olarak farklı boğaya ait spermaların kullanılması ve spermanın dondurulma ve saklanma koşullarının etkili olduğu düşünülmektedir.

Yılmaz (2017), farklı sıcaklıklarda çözüm işleminin sperma motilitesi üzerindeki etkisini araştırdığı çalışmasında sonuçlarımızla uyumlu olarak 37°C’de çözdürdüğü spermaların motilite sonuçlarını 70°C’de çözdürdüklerine oranla ($54,62 \pm 3,02$ ’ karşı $50,82 \pm 3,46$) daha yüksek bulmuştur. Çalışmamızda 37°C’de çözdürülen spermalar 48. Saat dışındaki tüm periyotlarda 70°C’de çözdürülen spermaya göre daha yüksek motilite sonuçları elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar ve bu konuda yapılan daha önceki çalışmalar göz önüne alındığında 37 °C’de 30 saniyenin çözüm için optimum sıcaklık ve zaman olduğu saptanmıştır.

Daha hızlı çözülme sıcaklıkları, yeniden kristalleşme ve hidrasyonun olumsuz etkilerini azaltarak, çözdürme işleminin spermatozoa canlılığı üzerindeki negatif etkilerini azaltır. Farklı yıllarda çözüm sıcaklıklarının karşılaştırıldığı çalışmalarda 70°C’de yapılan çözdürme işleminin 37°C’ye kıyasla daha yüksek canlılık oranlarının elde edildiği bildirilmiştir (Nur ve ark., 2003; Rastegarnia ve ark., 2013). Çalışmamızda elde edilen canlılık oranları 70°C’de (75,60), 37°C’de (72,60) olarak elde edilerek yapılan diğer çalışmalarla uyumludur.

Foot (1998), spermanın çözüm işlemleri sırasında buz kristallerindeki değişikliklerin neden olduğu zararı azaltmak, plazma membran bütünlüğü, sperm morfolojisi ve potansiyel fertilite olasılığını mümkün olan en yüksek düzeyde korumak için çözüm işleminin hızlı bir şekilde gerçekleşmesi gerektiğini belirtmiştir. Çalışmamızdan elde edilen ve bu bilgiyi doğrulayan verilerimiz, 70°C’deki çözümün 37°C’deki çözüme göre, anormal akrozom değerlerinde ($14,80 \pm 0,28$ ’ye karşı $15,20 \pm 1,07$), azalmalara yol açtığını göstermiştir. Bununla birlikte akrozom, kuyruk ve toplam anormal spermatozoon oranı Esin vd. (2022)’nin yapmış oldukları çalışma bulgularıyla paralel olacak şekilde 70°C’de 6 sn’de yapılan çözümde daha düşük

bulunmuşken, plazma membran bütünlüğü, baş ve orta kısım anomaliliklerinde elde ettikleri sonuç çalışmamızla uyumlu değildir. Bu durum kullanılan sulandırıcıların bileşimindeki farklılıklar, dondurma prosedüründeki değişiklikler ve en önemlisi kullanılan sperma analiz sistemi ve manipülasyona bağlı farklılıklardan kaynaklanabilir.



4. SONUÇ

Bu çalışmada, 37°C ve 70°C’de çözdürülen spermaların, spermatolojik muayeneleri sonucunda; motilite, kinematik parametreler, canlılık oranı ve spermatozoon morfolojisi olarak değerlendirildiğinde bekleme sürelerinin büyük farklar doğurabildiği görülmüştür.

Çalışmada incelenen tüm parametreler ele alındığında elde edilen sonuçlara göre 37°C ve 70 °C’de çözdürülen spermaların çözüm sonrası 24. saate kadar saha şartlarında uygun saklama koşulları sağlandığı takdirde suni tohumlama uygulamalarında kullanılabilir olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte çözüm sonrası bekleme süresi arttıkça spermaların motilite ve canlılık oranının azaldığı, anormal spermatozoon oranının arttığı belirlenmiştir.

Motil olan ve belli bir motilite değerine sahip olan spermatozoonlar başarılı bir fertilizasyon açısından yeterli olmayabilir. Motilitesi yüksek olan spermatozoonların morfolojik açıdan normal ya da anormal oluşu fertilizasyon yeteneğini etkilediği için spermatozoon morfolojisi önemli bir parametreyi oluşturmaktadır. Fertil bir spermatozoonun motil olması kadar morfolojik olarak da normal olması gerekmektedir. Çalışmada da görülmüştür ki; motilite olarak yüksek yüzdeye sahip olan spermatozoonlar morfolojik olarak normal olmayabilmektedir. Bu durum çözdürme sıcaklığının ve bekleme süresinin önemini de ortaya koymaktadır. İstatiksel olarak da sperma çözümünden sonra bekleme süresi arttıkça spermatozoon morfolojisinin olumsuz etkilendiği ortaya konulmuştur.

Bu çalışma saha şartlarında suni tohumlama yapan uygulayıcının spermayı çözdürdükten sonra bekleme süresine önem vermesinin gerekliliğini ortaya koymuştur. Sperma çözdürüldükten sonra bekleme süresi arttıkça spermatozoonların fertilite oranları düşer ve tohumlamaların gebelikle sonuçlanmasını engelleyebilmektedir. Spermatozoonların zarar görebileceği şartların önüne geçilmesi adına dondurulmuş spermanın çözdürme aşamasına azami özen göstermek gerekmektedir.

Bu çalışma suni tohumlama uygulamalarında kullanılan spermaların çözüm sonrası verimliliğini artırmak amacıyla daha fazla sayıda in vitro ve in vivo araştırmaların yapılması gerekliliğini ortaya koymuştur. Bu veriler ışığında yapılacak farklı çalışmalar ile daha kapsamlı sonuçlar elde edilmesi mümkün olacaktır.

KAYNAKÇA

- Aksoy, A., Yavuz, F. (2011). Büyükbaş hayvan üreticilerinin suni tohumlama yaptırma kararlarını belirleyiciler üzerine bir analiz: Doğu Anadolu bölgesi örneği. Atatürk Ü. İİBF Dergisi, 10. Ekonometri ve İstatistik Sempozyumu Özel Sayısı, 33-41.
- Amann RP, Waberski D (2014). Computer-assisted sperm analysis (CASA): capabilities and potential developments. *Theriogenology*, 81(1): 5-17.
- Anonim (2019). Buzağı kayıplarının önlenmesi projesi. Erişim adresi: <https://www.haberler.com/buzagi-kayıplarına-karsi-ultrason-ve-suni-12588121-haberi/> Erişim tarihi: 19.01.2020.
- Ata, A., ve Ata, N. (2005). 1995- 2004 yılları burdur ili hayvancılığının ve sığırlarda suni tohumlama uygulamalarının değerlendirilmesi. 1. Burdur Sempozyumu 16-19 Kasım, Burdur.
- Axner, E., Linde-Forsberg, C., Einarsson, S. (1999). Morphology and motility of spermatozoa from different regions of the epididymal duct in the domestic cat. *Theriogenology*, 52: 767-778.
- Aytekin, Ö. (2011). Saha şartlarında gerçekleştirilen suni tohumlama uygulamalarının retrospektif analizi. Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, (2): 44-49.
- Bakst, M. R., and Cecil, H. C. (1997). Techniques for semen evaluation, semen storage, and fertility determination. Poultry Science Association Savoy, IL.
- Barth, A. D., Bowman, A. P. (1988). Determination of the best practical method of thawing bovine semen. *Canadian Veterinary Journal*, 29:366-369, 1988
- Bearden, H. J., Fuquay, J. W., & Willard, S. T. (2004). *Applied Animal Reproduction*, 6th ed Pearson. Princeton, New Jersey.
- Blackshaw, A.W. (1995). Factors effecting the reveal of bull and ram spermatozoa after freezing to – 79°C. *The Australian Veterinary Journal*, September 238-241.
- Büyükleblebici, S. (2012). Farklı sulandırıcılar ile dondurulan boğa spermasında in vitro ve in vivo değerlendirmeler. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Castellini, C., Dalbosco, A., Ruggeri, S., Collodel, G. (2011). What is the best frame rate for evaluation of sperm motility in different species by computer-assisted sperm analysis? *Fertil Steril* 96: 24-27.
- Cirit, Ü., Özmen, M.F., AK, K. (2017). Suni tohumlamanın başarısını etkileyen faktörler, sahada tohumlama uygulamalarında sıkça yapılan hatalar ve çözüm önerileri. *Türkiye Klinikleri J Reprod Artif Insemin Special Topics*, 3(1): 30-43.
- Comhaire, F.H., Huysse, S., Hinting, A., Vermeulen, L., Schoojans, F. (1992). Objective sperma analysis: Has the target been reached? *Hum Reprod*, 7: 237-241
- Correa, J. R., Rodriguez, M. C., Patterson, D. J., Zavos, P. M. (1996). Thawing and processing of cryopreserved bovine spermatozoa at various temperatures and their effects on sperm viability, osmotic shock and sperm membrane functional integrity. *Theriogenology*, 46(3), 413-420.
- Correa, J.R., Pace, M.M., Zavos, P.M. (1997). Relationships among frozen-thawed sperm characteristics assessed via the routine semen analysis, sperm functional tests and fertility of bulls in an artificial insemination program. *Theriogenology*, 48(5): 721-731.
- Çolak, M., Javorka, L. (2017). Hungarian Expert Oszkár Wellmann's Report in the Establishment Years of the Republic of Turkey. 1st ed. p.115-155.

- Daşkın, A. (2005). Sığırcılık İşletmelerinde Reprodüksiyon Yönetimi ve Suni Tohumlama. Aydan Web Ofset. Ankara
- David, G., Severs, S., Jouannet, P. (1981). Kinematic of human spermatozoa. Gamete Res, 4: 83-86.
- Davis, R.O., Gravance, C.G. (1993). Standardization of specimen preparation, staining, and sampling methods improves automated sperm-head morphometry analysis. Fertil Steril, 59: 412-417.
- DeJarnette, J. M., Barnes, D. A., Marshall, C. E. Effects of pre- and post-thaw thermal insults on viability characteristic of cryopreserved bovine semen. Theriogenology. 2000; 53: 1225-1238.
- Delehedde, M., Bloomaert, D., Jouy, N., Scabello, J., Miersman, H., Franck, T., ve Sergeant, N. (2018). Concentration of proAKAP4 as a pertinent read-out of sperm quality in mammals. Animal Reproduction Science, 194: 24.
- Demir, P., Aral, Y., ve Sarıözkan, S. (2014). Kars ili süt sığırcılık işletmelerinin sosyo-ekonomik yapısı ve üretim maliyetleri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 25(1): 1-6.
- Dhami, A. J., & Sahni, K. L. (1993). Evaluation of different cooling rates, equilibration periods and diluents for effects on deep-freezing, enzyme leakage and fertility of taurine bull spermatozoa. Theriogenology, 40(6), 1269-1280.
- Dieme, T. and Desjardins, C. (1999). Developmental and genetic disorders in spermatogenesis. Human Reproduction Update, 5(2), 120-140.
- Enginler, S.Ö., ve Özdaş ÖB (2016). Cinsiyeti belirlenmiş yavru üretiminin ekonomiye katkısı. Türkiye Klinikleri J Reprod Artif Insemin Special Topics, 2(2): 9-14.
- Erdemir, F., Fırat, F., Gençten, Y. (2011). Sperm Morfolojisinin Değerlendirilmesi ve Klinik Önemi. Turk Urol. Sem., 2: 11-17.
- Esin, B., Akar, M., Tağrikulu, M. D., Kaya, C., & Çevik, M. (2022). The Effects of Fast and Slow Thawing on Spermatological Parameters and Detect of Chromatin Condensation by Toluidine Blue Staining in Frozen-Thawed Bull Sperm. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 28(3).
- Evirgen, S.E. (2009). Aydın ilinde yaygın olarak kullanılan siyah alaca boğaların değerlendirilmesi. Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Aydın.
- Foot, R.H.: Artificial insemination to cloning: Tracing 50 years of research. Internet-First University Press, 1998.
- Genç, S. V. (2011). Demokrat Parti dönemi hayvancılık politikaları ve veteriner hekimliği hizmetleri. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Ankara.
- Genç, S. V., ve Özgür, A. (2017). Demokrat Parti dönemi hayvancılık politikaları ve veteriner hekimliği hizmetleri. Veteriner Hekimler Derneği Dergisi, 88(2): 38-50.
- Ginsburg, K.A., Armant, D.R. (1990). The influence of chamber characteristics on the reliability of sperm concentration and movement measurements obtained by manual and videomicrographic analysis. Fertil Steril, 53: 882-887.
- Gökçen, H. (2015). Türkiye’de suni tohumlamanın tarihsel gelişim süreci. Erişim Adresi: <http://www.hazimgokcen.net/mesleki-tarih/turkiyede-suni-tohumlamanin-tarihsel-gelisim-sureci/>. Erişim Tarihi: 30.08.2019.
- Grotter, G.L., Cattaneo, L., Marini, P.E., Kjelland, M.E., Ferre, L.B. Recent advances in bovine sperm cryopreservation techniques with a focus on sperm post-thaw quality optimization. Reprod Domest Anim 2019;54:655–665.

- Gül, R.T.B. (2004). Türkiye'de iki dünya savaşı arasında veteriner hekimliği hizmetleri ve hayvancılık politikaları üzerine araştırmalar. Ankara Üniversitesi Osmanlı Tarihi Araştırma ve Uygulama Merkezi Dergisi 15(15): 227-255.
- Gündoğan, M., Yeni, D., Avdatek, F., Fidan, A. F. (2010). Influence of sperm concentration on the motility, morphology, membrane and DNA integrity along with oxidative stress parameters of ram sperm during liquid storage. *Animal Reproduction Science*, 122, 200-207.
- Hafez, E. (1993). Semen evaluation. *Reproduction in Farm Animals*, 5, 405-423.
- Haygem. Hayvancılık Genel Müdürlüğü (2019). Erişim adresi: <https://www.tarimorman.gov.tr/sgb/Belgeler/SagMenuVeriler/HAYGEM.pdf>. Erişim tarihi: 29.10.2019.
- Hernández, M., Roca, J., Gil, M. A., Vázquez, J. M., & Martínez, E. A. (2007). Adjustments on the cryopreservation conditions reduce the incidence of boar ejaculates with poor sperm freezability. *Theriogenology*, 67(9), 1436-1445.
- Holt, C., Holt, W. V., Moore, H. D., Reed, H. C., and Curnock, R. M. (1997). Objectively measured boar sperm motility parameters correlate with the outcomes of on-farm inseminations: results of two fertility trials. *Journal of andrology*, 18(3), 312-323.
- Holt, W., Watson, P., Curry, M., Holt, C. (1994). Reproducibility of computer-aided sperma analysis: Comparison of five different systems used in a practical workshop. *Fertil Steril*, 62: 1277-1282
- İleri İK, Ak K, Pabuççuoğlu S, ve Birler S (2000): Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama. İ.Ü. Vet. Fak. Yayını, Ders Notu No: 112.
- İleri, İ.K., Ak, K. (1993). Payet yöntemine göre dondurulmuş boğa spermasının eritilmesinde eritme ısısı ve sürelerinin spermatozoitlerin motilite ve akrozom yapıları üzerine etkileri. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi ve Münih LudwigMaximilian Üniversitesi Veteriner Fakültesi TürkAlman Günleri 29-30 Nisan Mayıs Tebliğler, 58-62.
- İnanç, M., ve Daşkın, A. (2015). Sığırlarda suni tohumlama uygulamaları yönünden genomik seleksiyonun önemi. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 10(2): 139-145.
- İnanç, M.E., Güngör, Ş., Ata, A. (2017). Spermatozoa motilitesinin değerlendirilmesinde bilgisayar destekli sperm analiz sisteminin kullanımı. *Türkiye Klinikleri Reproduction and Artificial Insemination-Special Topics*, 3(2): 73-78.
- Jeyendran, R.S. and Graham, E.F. (1980). An evaluation of cryoprotective compounds on bovine spermatozoa. *Cryobiology*, 17: 458-464.
- Kabakçı, R., Varışlı, Ö., Kaya, A., Baştan, İ., & Şimşek, S. (2019). Boğa sperması motilite parametreleri üzerine dietilheksil fitalatın etkisi. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 4(2), 62-68.
- Kaya, C., Akar, M. Burcu, E. (2021). Diseases Transmission Via Semen In Cattle: Importance and Control Strategies, *Turkey J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(3), 409-413.
- Keskin, O., Tekin, N., Yurdaydın, N., Selçuk, M., and Mustafa, K. (1997). Horozlarda sperma kalitesinin değerlendirilmesi. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 37(1), 74-82.
- King, L. M., Holsberger, D. R., and Donoghue, A. M. (2000). Correlation of CASA velocity and linearity parameters with sperm mobility phenotype in turkeys. *Journal of Andrology*, 21(1), 65-71.
- Knowlton, S.M., Sadasıvam, M., Taşoğlu, S. (2015). Microfluidics for sperm research. *Trends in biotechnology*, 33(4): 221-229.

- Koç, A. (2016). Simmental yetiştiriciliğinin değerlendirilmesi: 1. Dünyada ve Türkiye'deki yetiştiriciliği. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 13(2): 97 – 102.
- Korkmaz Yavaş, T. (2009). Alternatif dondurma ve saklama yöntemlerinin boğa sperması üzerine etkisi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kusakabe, H., & Kamiguchi, Y. (2004). Chromosomal integrity of freeze-dried mouse spermatozoa after ^{137}Cs γ -ray irradiation. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 556(1-2), 163-168.
- Larsen, L., Scheike, T., Jensen, T. K., Bonde, J. P., Ernst, E., Hjollund, N. H., Zhou, Y., Skakkebaek, N. E., Giwercman, A., and Team, D. F. P. P. S. (2000). Computer-assisted semen analysis parameters as predictors for fertility of men from the general population. Human Reproduction, 15(7), 1562-1567.
- Le Lannou, D., Griveau, J.F., Le Pichon, J.P., Quero, J.C. (1992). Effects of chamber depth on the motion pattern of human spermatozoa in sperma or in capacitating medium. Hum Reprod, 7: 1417-1421.
- Lima-Verde, I., Hurri, E., Ntallaris, T., Johannisson, A., Stålhammar, H., & Morrell, J. M. (2022). Sperm Quality in Young Bull Semen Can Be Improved by Single Layer Centrifugation. Animals, 12(18), 2435.
- Lyashenko, A. (2015). Effect of different thawing procedures on the quality and fertility of the bull spermatozoa. Asian Pacific Journal of Reproduction, 4(1), 17-21.
- Mansour, M. (2009). Modification of Hypo-Osmotic Swelling Test to Evaluate the Integrity of Stallion Sperm Plasma Membrane. Global Veterinaria, 3 (4), 302-307.
- Morris, A. R., Coutts, J. R. T., & Robertson, L. (1996). A detailed study of the effect of videoframe rates of 25, 30 and 60 Hertz on human sperm movement characteristics. Human Reproduction, 11(2), 304-310.
- Mortimer, D., Shu, M. A., & Tan, R. (1986). Standardization and quality control of sperm concentration and sperm motility counts in semen analysis. Human Reproduction, 1(5), 299-303.
- Mortimer, S. T. (2000). CASA—practical aspects. Journal of andrology, 21(4), 515-524.
- Mortimer, S. T., & Swan, M. A. (1999). Effect of image sampling frequency on established and smoothing-independent kinematic values of capacitating human spermatozoa. Human Reproduction, 14(4), 997-1004.
- Nur, Z., Ak, K. (2003). Donmuş spermanın saklanması ve eritilmesi. Uludağ Univ. J. Fac. Vet. Med, 22, (1-2-3), 97-102.
- Nur, Z., Dogan, I., Soylu, M. K., Ak, K. (2003). Effect of different thawing procedures on the quality of bull semen. Revue de Medecine Veterinaire, 154(7), 487-490.
- Nur, Z., Gökçe E, Cirit, Ü. (2017). Sperm selection for sustainable livestock and genetic progress. Türkiye Klinikleri J Reprod Artif Insemin Special Topics, 3(1): 22-29.
- Osmanağaoğlu, Ş. (2006). Karaköy tarım işletmesinin tarihsel gelişimi. Vet. Bil. Derg. 3-4: 79-84.
- Önal, A.R., ve Özder, M. (2008). Edirne ili damızlık sığır yetiştiricileri birliğine üye işletmelerin yapısal özellikleri. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 5(2): 197-203.
- Özkoca, A. (1984). Çiftlik hayvanlarında reproduksiyon ve suni tohumlama. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, (4), 79-89.
- Özkoca, A. (1984). Çiftlik hayvanlarında reproduksiyon ve suni tohumlama. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları. Bölüm 8.

- Özyurt, A. (2009). TİGEM Esmer populasyonunda döl kontrolü (Progeny Testing) ve uygulama olanakları. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 6(3), 257-264.
- Perteghella, S., Gaviraghi, A., Cenadelli, S., Bornaghi, V., Galli, A., Crivelli, B. & Torre, M. L. (2017). Alginate encapsulation preserves the quality and fertilizing ability of Mediterranean Italian water buffalo (*Bubalus bubalis*) and Holstein Friesian (*Bos taurus*) spermatozoa after cryopreservation. *Journal of Veterinary Science*, 18(1), 81-88.
- Pothmann, H., Nechanitzky, K., Sturmlechner, F., & Drillich, M. (2014). Consultancy to dairy farmers relating to animal health and herd health management on small-and medium-sized farms. *Journal of dairy science*, 97(2), 851-860.
- Rastegarnia, A., Shahverdi, A., Topraggaleh, T. R., Ebrahimi, B., Shafipour, V. (2013). Effect of different thawing rates on post-thaw viability, kinematic parameters and chromatin structure of buffalo (*Bubalus bubalis*) spermatozoa. *Cell Journal (Yakhteh)*, 14(4), 306
- Rodriguez, O. L., Berndtson, W. E., Ennen, B. D., & Pickett, B. W. (1975). Effect of rates of freezing, thawing and level of glycerol on the survival of bovine spermatozoa in straws. *Journal of Animal Science*, 41(1), 129-136.
- Roelofs, J., López-Gatius, F., Hanzen, C. (2010). When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology*, 74(3): 327-344.
- Schäfer, S., Holzmann, A. (2000). The use of transmigration and SpermacTM stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. *Anim Reprod Sci*, 59 (3-4): 201-211.
- Schuster, T.G., Cho, B., Keller, L.M., Takayama, S., Smith, G.D. (2003). Isolation of motile spermatozoa from semen samples using microfluidics. *Reproductive BioMedicine Online*, 7(1): 75-81.
- Schürmann, A., Axer, H., Scheepers, A., Doege, H., & Joost, H.-G. (2002). The glucose transport facilitator Glut8 is predominantly associated with the acrosomal region of mature spermatozoa. *Cell and Tissue Research*, 307(2), 237-242.
- Selçuk, M., Akal, E., Çelebi, M. (2014). Farklı sistemlerde çözdürülen dondurulmuş boğa spermasının invitro değerlendirilmesi. *Kocatepe Veterinary Journal*, 7(1), 33-37.
- Selcuk, M., Akal, E., Esin, B., NİZAM, M. Y., Genc, M. D. (2020). Comparative evaluation of the effects of different thawing methods on bull sperm characteristics with computer-assisted semen analysis. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 44(6), 1316-1321.
- Sergeant, N., Briand-Amirat, L., Bencharif, D., Delehedde, M. (2019). The Sperm Specific Protein Proakap4 as an Innovative Marker to Evaluate Sperm Quality and Fertility. *Dairy and Vet Sci J*, 11(1): 555803.
- Serin, İ. ve Tekin, N. (2003). Dondurulmuş boğa spermasının değişik kapasitör maddelerle in vitro kapasitasyonu. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 50(1), 39-46.
- Sevinç, A. (1979). Dölerme ve suni tohumlama. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları*: 356. 2. Baskı, Bölüm: 2.
- Sharma, R., Masaki, J., Agarwal, A. (2013). Sperm DNA fragmentation analysis using the TUNEL assay. *Spermatogenesis*, 297: 121-136.
- Sönmez, M. (2010). Reprodüksiyon, suni tohumlama, androloji. *Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi*. 2. Baskı, Bölüm 20-23.
- Sönmez, M. (2016). Reprodüksiyon Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları. ELAZIĞ.
- Sönmez, M., & Fırat, F. (2022). Bilgisayar Destekli Sperma Analiz (CASA) Sistemiyle Yapılan İncelemelerde Spermatozoonların Motilitesini ve Kinematik Değerlerini

- Etkileyen Faktörler. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 36(2), 153-164.
- Sutovsky, P., Manandhar, G., Wu, A., Oko, R. (2003). Interactions of sperm perinuclear theca with the oocyte: Implications for oocyte activation, anti-polyspermy defense, and assisted reproduction. *Microscopy research and technique*, 61(4): 362-378.
- Şeker, İ., Tasalı, H., Güler, H. (2012). Muş ilinde sığır yetiştiriciliği yapılan işletmelerin yapısal özellikleri. *FÜ Sağ. Bil. Vet. Derg*, 26(1): 09-16.
- Şerefoglu, E.C. (2011). Bilgisayar yardımlı sperm analizi. *Türk Üroloji Seminerleri*, 2: 8-10.
- Tekeli, T., Çoyan, K. (1996). İneklerde Sun'i Tohumlama. *Bahçıvanlar Basım San. A. Ş. Konya*.
- Tekin, N., (1994). Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Suni Tohumlama Doğum ve İnfertilite Dizgi Evi Ankara.
- Temel, M. (2015). Atatürk dönemi hayvancılık politikası. *Muğla Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi*, 24: 1-33.
- Tırpan, M.B., ve Tekin, N. (2014). Türkiye'deki progeny test çalışmalarına genel bir bakış. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 11(3), 197-203.
- Töpfer-Petersen, E., Cechová, D., Henschen, A., Steinberger, M., Friess, A. E. ve Zucker, A. (1990): A.Cell biology of acrosomal proteins. *Andrologia*, 22 (1): 110-121.
- Vincent, P., Underwood, S.L., Dolbec, C., Bouchard, N., Kroetsch, T., Blondin, P. (2018). Bovine semen quality control in artificial insemination centers. *Animal Reproduction*, 9(3): 153-165.
- World Health Organization (WHO), (2010). WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Sperm, 5th ed. Geneva.
- Yener, A. (2017). Konya ilinde süt sığırcılığı yapan aile işletmelerinde yeniliklerin benimsenmesi ve yayılmasına etki eden faktörler. *Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya*.
- Yılmaz, F. (2020). Sperm değerlendirme testleri: Düünden bugüne. *Journal of Health Sciences and Medicine*, 3(1), 71-76.
- Yırtıcı, S., Şahin, D., Korkmaz, F., Baştan, İ., Kinet, H. (2018). Ülkemizde üretilen ve ithalatına izin verilen dondurulmuş boğa spermalarının yoğunluk ve motilite değerlerinin karşılaştırılması. 9. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Kongresi, Hatay.
- Zinaman, M., Uhler, M., Vertuno, E., Fisher, S., Clegg, E. (1996). Evaluation of computer-assisted semen analysis (CASA) with IDENT stain to determine sperm concentration. *J Androl*, 17: 288-292.

ÖZ GEÇMİŞ

Fatma Nur ULUNÇ, İskilip Anadolu Lisesi’ni bitirdikten sonra Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nden 30.05.2018 tarihinde mezun oldu. 2018 yılında Ondokuz Mayıs Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Dölerme ve Suni Tohumlama (Veteriner) AnaBilim Dalı Yüksek Lisans programına girdi. Lisans mezuniyetinden bu yana Veteriner Hekimliğin çeşitli alanlarında görev yaptı.

İletişim Bilgileri

ORCID ID: 0000-0003-0471-7634

Yayınlar:

1. ULUNÇ F. N., SELÇUK M.: Causes of Infertility in Male Dogs. International Conference on Global Practice of Multidiciplinary Scientific Studies, Pages 667-668. Online 24-26 June 2022, Oral Presentation (Tam Metin Bildiri basıldı). Published: 30/07/2022.ISBN: 978-625-8323-63-4 [Uluslararası].