

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Keçi (Teke) Spermelerinde Sıcaklığa Bağlı Hareketliliğinin
"Thermotaxis (Termotaksi)" Araştırılması

Uğur ŞEN

Zootekni Anabilim Dalı

Aralık, 2025

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZ ONAYI

Keçi (Teke) Spermelerinde Sıcaklığa Bağlı Hareketliliğinin
"Thermotaxis (Termotaksi)" Araştırılması

Uğur ŞEN

Zootekni Anabilim Dalı

Bu Yüksek Lisans Tezi 29/12/2025 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından
Değerlendirilmiş ve Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.

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

: Prof. Dr. Sabri GÜL

: Dr. Öğr. Üyesi Murat DURMUŞ

Bu Tez Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.

Tez No:

Prof. Dr. Sadık DİNÇER
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Ç.Ü. Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir.
Proje No: FYL-2024-16796

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

İÇİNDEKİLER

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR.....	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	V
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
2.1. Keçilerde Üreme Sistemi	3
2.2. Tekelerde Üreme Sistemi.....	4
2.3. Sperm Yönelim Mekanizmaları	5
2.4. Termotaksinin Diğer Memeli Türlerindeki Rolü	6
2.5. Keçi Sperm Özellikleri	7
2.6. Termotaksinin Üreme Teknolojilerindeki Potansiyeli	8
3. MATERYAL VE METOT	9
3.1. Sperma Toplama İşlemleri	9
3.2. Bilgisayarlı Sperm Analizi (CASA) ile Motilite ve Konsantrasyon Ölçümü	9
3.3. Sperm Canlılık ve Zar Bütünlüğü Değerlendirmesi.....	10
3.4. Deneysel Düzenğin Kurulumu ve Termotaksi Modeli.....	12
3.5. Örneklerin Hazırlanması ve İnkübasyon Koşulları.....	14
3.6. Termotaksi Sonunda Örnek Toplama ve Analiz.....	16
3.7. İstatistiksel Analiz.....	16
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	17
4.1. Sperm Konsantrasyonu	17
4.2. Sperm Motilitesi ve Kinetik Parametreler.....	19
4.3. Sperm Zar Bütünlüğü (HOST Testi).....	22
4.4. Sperm Canlılığı (Nigrosin-Eozin Testi).....	24
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	27
KAYNAKLAR	29
ÖZGEÇMİŞ	31

Keçi (Teke) Spermlerinde Sıcaklığa Bağlı hareketliliğinin "Thermotaxis (Termotaksi)" Araştırılması

Uğur ŞEN

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ali Galip ÖNAL

Zootekni Anabilim Dalı

ÖZ

Termotaksi, spermatozoaların sıcaklık gradyanlarına karşı yönelim göstermesi olarak tanımlanan ve fertilizasyon sürecinde önemli rol oynadığı bildirilen bir biyolojik mekanizmadır. İnsan, tavşan ve fare gibi çeşitli memeli türlerinde termotaksinin varlığı ortaya konmuş olmasına rağmen, küçükbaş hayvanlarda ve özellikle keçi spermatozoalarında bu olgunun varlığına dair bilimsel bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışma, taze ejakülatlardan elde edilen keçi spermalarının laboratuvar ortamında oluşturulan dikey termal gradyanlar (33°C, 38°C ve 41°C) içerisinde gösterdikleri yönelimi incelemeyi ve farklı sıcaklıkların sperm morfolojisi, zar bütünlüğü, canlılık ve kinetik özellikler üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

Alpin tekelerden elde edilen ejakülatlar, belirlenen sıcaklık koşullarında 45 dakika süreyle inkübe edilmiş ve her sıcaklık fraksiyonunda konsantrasyon, zar bütünlüğü (HOST testi), canlılık (Nigrosin-Eozin boyama) ve CASA sistemiyle kinetik parametreler ayrıntılı biçimde analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, spermilerin büyük oranda 33°C sıcaklık bölgesine yöneldiğini ve bu bölgede daha yüksek motilite (%78,4), progresif motilite (%73,1) ile daha iyi zar bütünlüğü (%61,7) ve canlılık (%67,1) sergilediğini göstermiştir. Buna karşın, 41°C bölgesinde motilite (%66,6), progresif motilite (%60,9), zar bütünlüğü (%56,4) ve canlılık (%57,2) anlamlı düzeyde azalmıştır ($P<0.05$). Ayrıca, VCL ve ALH gibi bazı kinetik parametrelerde de sıcaklık artışına bağlı belirgin düşüşler kaydedilmiştir.

Bu bulgular, keçi spermatozoalarının sıcaklığa duyarlı olduğunu, 33°C'nin fizyolojik açıdan daha elverişli bir mikro çevre sağladığını ve termotaksinin sperm seçimi için potansiyel bir biyolojik belirteç olabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Termotaksi, teke spermi, konsantrasyon, sperm kinetiği.

Evaluation of Temperature-Dependent “Thermotaxis (Termotaksi)” Behavior in Goat Sperm

Uğur ŞEN

Advisor: Dr. Öğr. Üyesi Ali Galip ÖNAL

Department of Animal Science

ABSTRACT

Thermotaxis is defined as the directional movement of spermatozoa in response to temperature gradients, and it has been reported to play a significant role in the fertilization process. While the presence of thermotaxis has been well-documented in several mammalian species such as humans, rabbits, and mice, there is a lack of scientific information on this phenomenon in small ruminants, particularly in goat spermatozoa. This study aimed to investigate the thermotactic orientation of goat spermatozoa obtained from fresh ejaculates under controlled laboratory conditions using vertical thermal gradients (33°C, 38°C, and 41°C), and to evaluate the effects of different temperatures on sperm morphology, membrane integrity, viability, and kinetic parameters.

Ejaculates collected from Alpine bucks were incubated at the specified temperatures for 45 minutes, and sperm samples from each thermal fraction were assessed in detail for concentration, membrane integrity (HOST test), viability (Nigrosin-Eosin staining), and kinetic parameters using the CASA system. The results demonstrated that spermatozoa predominantly migrated toward the 33°C compartment, where they exhibited higher motility (78.4%), progressive motility (73.1%), better membrane integrity (61.7%), and viability (67.1%). In contrast, the spermatozoa in the 41°C compartment showed significantly reduced motility (66.6%), progressive motility (60.9%), membrane integrity (56.4%), and viability (57.2%) ($P<0.05$). Moreover, temperature-dependent declines were observed in certain kinetic parameters such as VCL and ALH.

These findings suggest that goat spermatozoa are sensitive to temperature changes, with 33°C providing a more favorable microenvironment for physiological function. Furthermore, thermotaxis may serve as a potential biological marker for sperm selection in assisted reproductive technologies.

Keywords: Thermotaxis, goat sperm, concentration, sperm kinetic

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim süresince tez konusunun belirlenmesinden bitimine kadar geçen tüm süreçte yardım, destek ve yakın ilgilerinden dolayı danışman hocam Sayın Dr. Öğretim Üyesi Ali Galip Önal'a, teşekkür ederim. Tezin birçok aşamasında bilgi ve yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocalarım Sayın Dr. Öğretim Üyesi Murat Durmuş'a, Sayın Dr. Öğretim Üyesi Harun Kutay'a, Sayın Dr. Öğretim Üyesi Gökhan Gökçe'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gerek tez çalışması süresince gerek yazım aşamasında destek ve yardımlarını benden esirgemeyen çok kıymetli meslektaşlarım Zir. Yük. Müh. Zafer Tabur ve Zir. Müh. Kürşat Soydan'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu günlere gelmemde büyük paya sahip olan, her zaman en büyük destekçilerim annem Döne ŞEN ve babam Ali ŞEN (merhum) başta olmak üzere, tüm aileme minnet ve şükranlarımı sunarım.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Taze teke sperminin kinetik özellikleri.....	19
Çizelge 4.2. Teke sperminin kinetik özellikleri üzerine sıcaklığın (Kontrol) etkisi	20
Çizelge 4.3. Teke sperminin kinetik özellikleri üzerine sıcaklığın (33 °C vs. 41 °C) Etkisi	21
Çizelge 4.4. Benzer sıcaklık gradyanlarının HOST pozitif sperm oranları.....	23
Çizelge 4.5. Farklı sıcaklık gradyanlarının HOST pozitif sperm oranları	23
Çizelge 4.6. Kontrol sıcaklık gradyanlarının canlı/ölü sperm oranları üzerindeki etkisi.....	24
Çizelge 4.7. Farklı sıcaklık gradyanlarının Canlı/Ölü sperm oranları üzerindeki etkisi.	25



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Keçi üreme sisteminin anatomik yapısı	4
Şekil 2.2. Teke üreme sisteminin anatomik yapısı.....	5
Şekil 2.3. Keçi Spermatozoonunun özellikleri.....	7
Şekil 3.1. Bilgisayarlı destekli sperm analiz sistemi.....	10
Şekil 3.2. Nigrosin-Eozin boyama tekniği ile sperm canlılık değerlendirmesi.....	11
Şekil 3.3. Hipoozmotik Şişme Testi (HOST) ile sperm zar bütünlüğü analizi	12
Şekil 3.4. Termotaksi modelin deneysel tasarımın	13
Şekil 3.5. Strafor bariyer yerleşimi	13
Şekil 3.6. 100 µL'lik sperm örneğinin tüplere aktarımı	15
Şekil 4.1 Farklı sıcaklık gradyanlarında (33 ° C ve 41 ° C) teke sperm konsantrasyonunun karşılaştırılması	18

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

1. GİRİŞ

Memeli hayvanlarda başarılı fertilizasyonun gerçekleşebilmesi için spermatozoaların dişi üreme sisteminde oosite ulaşması gereklidir. Bu yolculuk, ejakülasyon sonrası serviks, uterus ve oviduktan geçişi kapsar ve çeşitli biyolojik engeller içerir. Bu zorlu süreçte spermatozoaların, yalnızca motil olmaları değil, aynı zamanda çevresel sinyalleri algılayarak yönlerini belirlemeleri de önemlidir. Özellikle küçük ruminant türlerinde, bu fizyolojik engeller daha belirgin olup, sınırlı sayıdaki sperm hücresi fertilizasyon bölgesine ulaşabilmektedir. Sperm yönlendirme süreçleri içerisinde termotaksi, sperm hücrelerinin sıcaklık farklılıklarına yanıt vererek belirli yönlere hareket etmesi olarak tanımlanır. Bu yönelim; kemotaksi ve reotaksi gibi diğer mekanizmalarla birlikte, spermatozoaların hedefe ulaşmasını kolaylaştıran önemli bir biyolojik stratejidir. Termotaktik yanıt, özellikle kapasite kazanmış spermatozoalarda belirgin olup; bu hücrelerin, çok küçük sıcaklık değişimlerini bile algılayabildiği çeşitli türlerde yapılan çalışmalarda ortaya konmuştur. Örneğin tavşan, insan ve fare spermatozoalarında termotaksiye dair *in vitro* ve *in vivo* bulgular mevcuttur. Yönelime duyarlı sperm hücrelerinin, yüksek motilite ve zar bütünlüğü gibi fizyolojik avantajlara sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, termotaktik yanıtların bazı iyon kanalları ve opsin gibi termosensör proteinler aracılığıyla oluştuğu bildirilmiştir. Bu moleküler sinyal yolları, spermatozoaların yalnızca yön bulmasını değil, aynı zamanda döllenme kapasitesi yüksek hücrelerin doğal olarak seçilmesini sağlar. Bu nedenle termotaksi, yalnızca yönelim mekanizması değil, aynı zamanda potansiyel bir sperm seçme stratejisi olarak değerlendirilmektedir.

Bununla birlikte, koyun ve keçi gibi küçükbaş hayvanlarda termotaksinin işleyişine dair mevcut literatür oldukça sınırlıdır. Sığır ve domuz gibi türlerde olumlu etkileri gösterilen bu yönelimin, küçük ruminantlarda benzer bir rol oynayıp oynamadığı henüz netleşmemiştir. Keçi sperminin termotaktik davranışlarını anlamak, özellikle yardımcı üreme tekniklerinin geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

Bu tez çalışması, Alpin keçilerine ait taze ejakülat örneklerinden elde edilen spermatozoaların, laboratuvar koşullarında oluşturulan farklı sıcaklık gradyanlarına karşı verdikleri termotaktik tepkileri ve bu yanıtların motilite, canlılık, zar bütünlüğü gibi fizyolojik parametrelerle ilişkisini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Elde edilecek bulguların hem temel sperm fizyolojisine hem de *in vitro* fertilizasyon uygulamalarında kullanılabilecek yeni sperm seçim tekniklerinin geliştirilmesine katkı sağlaması beklenmektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Keçilerde Üreme Sistemi

Keçiler (*Capra hircus*), dünya genelinde küçükbaş hayvan yetiştiriciliğinde önemli bir yer tutmakta olup; süt, et, deri ve lif üretimi gibi pek çok alanda ekonomik katkı sağlamaktadır. Bu türün üreme performansı, sürü yönetimi ve genetik seleksiyon programlarının başarısı açısından kritik öneme sahiptir (Leboeuf ve ark., 2000). Keçilerin üreme fizyolojisinin tam ve detaylı biçimde anlaşılması hem doğal çiftleştirme hem de yardımcı üreme teknolojileri (YÜT) uygulamalarının başarısını doğrudan etkilemektedir. Dişi keçi üreme sistemi, temel olarak ovaryumlar (yumurtalıklar), oviduktlar (fallop tüpleri), uterus (rahim), serviks (rahim ağzı), vajina ve vulva gibi yapıların bir bütünüdür. Bu anatomik yapıların her biri, fertilizasyon ve gebelik sürecinde özel ve tamamlayıcı işlevlere sahiptir.

Ovaryumlar (Yumurtalıklar): Ovaryumlar, folikülogenez, ovulasyon ve korpus luteum oluşumu gibi dinamik süreçlerin gerçekleştiği primer üreme organlarıdır. Aynı zamanda östrojen ve progesteron gibi temel steroid hormonların üretildiği yerdir. Dişi keçiler, her bir ovaryumda farklı evrelerdeki foliküller barındırabilir (Fatet ve ark., 2011).

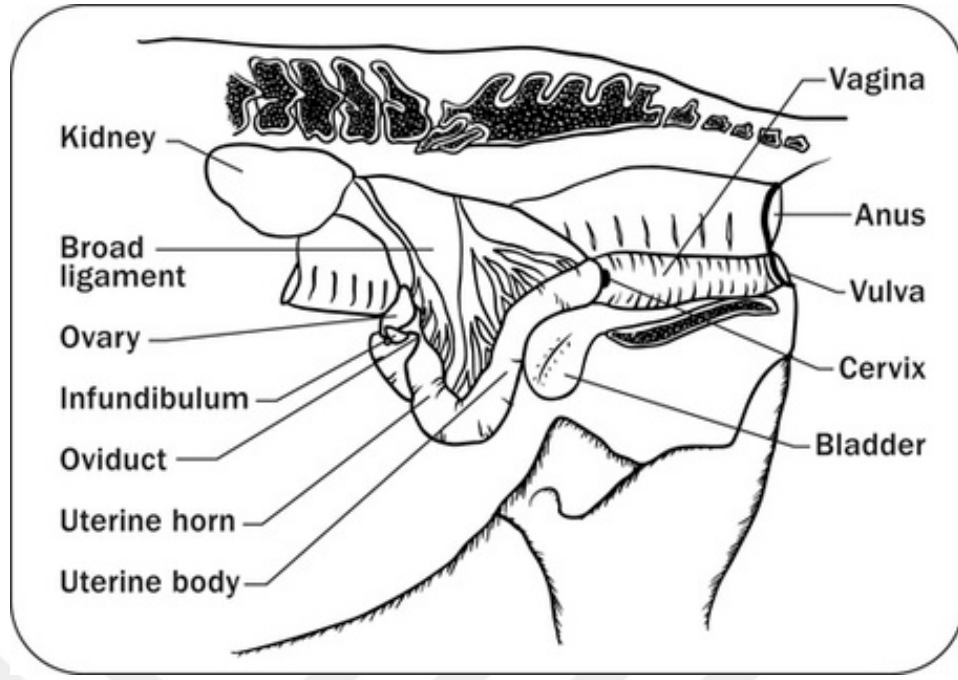
Oviduktlar (Fallop Tüpleri): Ovaryumlardan salınan oositin, spermle karşılaşım döllenmenin gerçekleştiği yerdir. İfundibulum, ampulla ve isthmus olmak üzere üç ana bölümden oluşur. Ampullada döllenme gerçekleşir; isthmus ise embriyonun uterusu geçişini sağlar.

Uterus: Dişi keçide uterus, iki uterin boynuzdan (cornua uteri) oluşmuş bikornuat yapıda olup embriyonun implantasyonu ve gebeliğin devamı için gerekli ortamı sağlar. Uterus duvarı, myometrium (kas tabakası) ve endometrium (mukozal tabaka) olmak üzere iki ana katmandan oluşur. Endometrium, prostaglandin F2 α gibi hormonları salgılayarak luteal regresyonu kontrol eder (Noakes ve ark., 2019).

Serviks: Sıklıkla birkaç halkasal kıvrımdan oluşan bu yapı, vajina ile uterus arasında yer almakta olup, hem doğal çiftleşmede hem de suni tohumlamada kritik rol oynamaktadır. Servikal kanal, östrus döneminde daha geçirgen hâle gelerek sperm geçişine izin verir (Evans & Sack, 1973).

Vajina ve Vulva: Vajina, serviks ile dış genital açıklık (vulva) arasında uzanır ve hem çiftleşme hem de doğum kanalı görevini üstlenir. Vulva ise dış genital yapıyı oluşturur ve östrus belirtilerinin gözlemlendiği ilk bölgedir (Senger, 2012).

Dişi keçi üreme sistemi anatomik olarak diğer ruminantlarla benzerlik göstermekte birlikte, foliküler dinamikler, östrus süresi ve servikal yapı açısından bazı tür spesifik farklılıklar da barındırmaktadır. Bu yönleriyle türlere özgü üreme fizyolojisinin iyi anlaşılması, suni tohumlama, embriyo transferi ve termotaksi gibi yardımcı üreme teknolojilerinin etkin uygulanabilirliği açısından büyük önem taşımaktadır.



Şekil 2.1. Keçi üreme sisteminin anatomik yapısı

2.2. Tekelerde Üreme Sistemi

Tekelerde (buck), üreme sistemi temel olarak spermatogenez ve testosteron üretimini sağlayan testisler ile spermin olgunlaşması, depolanması ve taşınması süreçlerini yöneten epididimis, vas deferens ve yardımcı bezlerden oluşmaktadır. Bu sistemin temel görevi, döllenmeyi sağlayacak nitelikte ve yeterlilikte spermatozoa üretmek ve bunu uygun bir taşıyıcı sıvı olan semen (ejakül) içerisinde dış ortama ulaştırmaktır (Hafez & Hafez, 2000).

Testisler (Erbezleri): Testisler, arka bacaklar arasında skrotum içerisinde yer alan çift yapıda organlardır. Bu organlar hem gamet üretiminden (spermatogenez) hem de androjenik hormonların (özellikle testosteron) sentezinden sorumludur. Testislerin seminifer tübüllerinde spermatogenez süreci gerçekleşirken, interstisyel (Leydig) hücreler testosteron üretir. Tekelerde testislerin büyüklüğü mevsime, yaşa ve genetik yapıya bağlı olarak değişiklik gösterebilir.

Epididimis (Epididim Kanalı): Testiste üretilen olgunlaşmamış sperm, epididimis kanalına geçerek burada morfolojik, biyokimyasal ve fonksiyonel olgunlaşmalarını tamamlar. Epididimis; baş (caput), gövde (corpus) ve kuyruk (cauda) olmak üzere üç bölümden oluşur. Kuyruk kısmı, ejakülasyon öncesi spermin depo edildiği bölgedir.

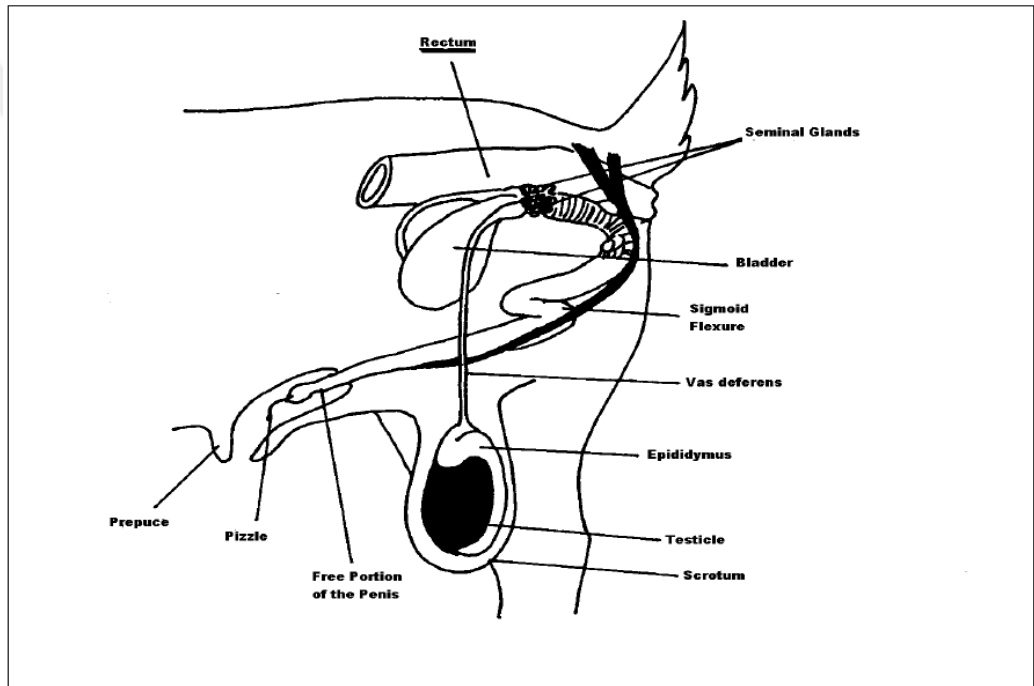
Vas Deferens (Ductus Deferens): Vas deferens, epididimis kuyruk bölgesinden başlayarak sperm, uretraya taşıyan, kalın duvarlı ve düz kaslardan oluşan bir kanaldır. Ejakülasyon sırasında kasılmalarla sperm hızla ampullaya ve oradan uretraya taşır. Aynı zamanda yardımcı bezlerin salgılarıyla birleşen sperm burada semeni oluşturur.

Aksesuar Bezler (Yardımcı Üreme Bezleri): Keçilerde başlıca aksesuar bezler arasında ampulla, vezikula seminalis (seminal vesikül), prostat bezi ve bulboüretral bez (Cowper bezi) bulunur. Bu bezler, spermatozoidlerin taşınması, korunması ve beslenmesi için gerekli olan sıvı

bileşenleri üretir. Bu salgılar semen hacminin büyük bir kısmını oluşturur ve spermin fizyolojik aktivitesini destekler.

Üretra ve Penis: Sperm ve yardımcı bez salgılarının dış ortama taşındığı son kanal üretradır. Penis, fibroelastik yapıda olup keçilerde sigmoid flexure olarak bilinen karakteristik bir kıvrıma sahiptir. Üretral çıkıntı (Urethral proses), ejakülasyon sırasında spermin yönünü belirler ve suni tohumlamada anatomik olarak önemli bir noktadır.

Erkek keçi üreme sistemi, mevsimsel olarak değişen hormonal ritmlere duyarlı olup, özellikle üreme sezonu dışında testis hacminde ve spermatogenez hızında azalma görülebilir (Fatet ve ark., 2011). Bu nedenle suni tohumlama ve diğer yardımcı üreme teknolojilerinin uygulanmasında mevsimsel faktörlerin dikkate alınması önem arz etmektedir..



Şekil 2.2. Teke üreme sisteminin anatomik yapısı

2.3. Sperm Yönelim Mekanizmaları

Döllenme sürecinin başarılı bir şekilde gerçekleşebilmesi, yalnızca spermatozoaların canlı ve hareketli olmasıyla sınırlı değildir. Aynı zamanda sperm hücrelerinin dışı üreme sistemi içerisinde hedefe yönelik doğru yönelim sergileyebilmesi, çevreden gelen biyokimyasal ve fizyolojik sinyalleri algılayarak uygun bölgelere ilerleyebilmesi gerekmektedir. Ali ve ark., (2021), köpek spermatozoalarında yer alan koku ve tat reseptörlerinin kemotaktik mekanizmalarda görev aldığını ve bu reseptörlerin, spermilerin yumurtaya yönlendirilmesinde çoklu duyuşal sistemlerin etkileşimli bir şekilde işlev gördüğünü ifade etmiştir. Bu bulgu, kemotaksi ile termotaksinin birlikte çalışarak spermatozoanın oosit yönelimine katkı sağlayabileceğini ortaya koymaktadır.

Sperm yönelimiyle ilgili mekanizmalar literatürde genellikle üç ana başlık altında sınıflandırılmaktadır. Bunlardan ilki olan kemotaksi, spermatozoaların kimyasal sinyaller aracılığıyla yön tayin etmesini ifade eder. Dişi üreme kanalında bulunan oosit ya da ona eşlik eden kümülüs hücrelerinden salınan moleküller (örneğin progesteron, peptitler, prostaglandinler) spermier tarafından algılanarak konsantrasyon gradyanı doğrultusunda yönelimi sağlar. Özellikle kapasitasyon sürecini tamamlamış spermierin bu sinyallere yanıt verdiği ve bu mekanizmanın döllenme potansiyeli yüksek hücrelerin seçilmesinde etkili olduğu bildirilmektedir (Teves ve ark., 2006).

Reotaksi, spermatozoaların sıvı akışına karşı yüzme davranışı göstermesidir. Uterus ve ovidukt gibi yapılarda mevcut olan sıvı akımı, spermier tarafından mekanosensör reseptörler aracılığıyla algılanarak yön tayini sağlanır. Bu yönelim şekli, fizyolojik olarak daha dayanıklı ve güçlü spermatozoaların seçilmesine katkı sağlar (Hwang ve ark., 2019; Kang ve ark., 2019).

Üçüncü mekanizma olan termotaksi, spermierin sıcaklık farklılıklarına duyarlı olarak hareket etmesini ifade eder. Ovulasyon döneminde oositin bulunduğu bölgenin (ampulla) diğer yapılara göre daha sıcak olması (~1-2°C fark), spermier için bir yönlendirme işareti niteliğindedir. Termotaksi, genellikle kapasitasyon geçirmiş spermierde görülmekte ve TRPV1 gibi ısıya duyarlı iyon kanallarının aktivasyonu ile gerçekleşmektedir (Boryshpolets ve ark., 2015). Bu süreç aynı zamanda sperm kalitesinin doğal bir seçimini de sağlamaktadır. Yapılan araştırmalar, sıcaklık farkına duyarlılık gösteren spermierin mitokondriyal aktivite, zar bütünlüğü ve motilite gibi parametrelerde daha üstün olduğunu göstermektedir. Bu yönüyle termotaksinin, *in vitro* fertilizasyon ve sperm seçimi gibi yardımcı üreme tekniklerinde uygulanabilirliği dikkat çekicidir (Pérez-Cereales ve ark., 2018).

2.4. Termotaksinin Diğer Memeli Türlerindeki Rolü

Memeli türlerinde, özellikle insan, fare, koyun ve domuz gibi deneysel çalışmalarda sıklıkla kullanılan modellerde, spermatozoaların yönelim mekanizmalarının varlığı ve bunların fizyolojik işlevleri üzerine çok sayıda bilimsel araştırma yürütülmüştür. Bu yönelim mekanizmalarından biri olan termotaksi, spermatozoanın, çevresindeki sıcaklık farklarını algılayarak daha sıcak bölgelere yönelmesi şeklinde tanımlanmaktadır. Termotaksi, yalnızca yumurtaya ulaşma sürecinde yol gösterici bir işlev görmekle kalmayıp aynı zamanda daha kaliteli spermatozoaların seçilmesine olanak tanıyan biyolojik bir filtreleme mekanizması olarak da değerlendirilmektedir (Bahat & Eisenbach, 2006; Pérez-Cereales ve ark., 2018). Bahat ve Eisenbach (2006) tarafından farelerde gerçekleştirilen bir çalışmada, ovulasyon sonrasında oviduktun ampulla bölgesinin isthmus bölgesine göre yaklaşık 2°C daha sıcak olduğu ve bu sıcaklık farkının, spermatozoalar için doğal bir yönlendirme sinyali oluşturduğu bildirilmiştir. Bu farklılık sayesinde spermierin ampulla yönünde toplanma eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. İnsan spermierleriyle yapılan benzer *in vitro* çalışmalar da bu sonuçları desteklemektedir. Pérez-Cereales

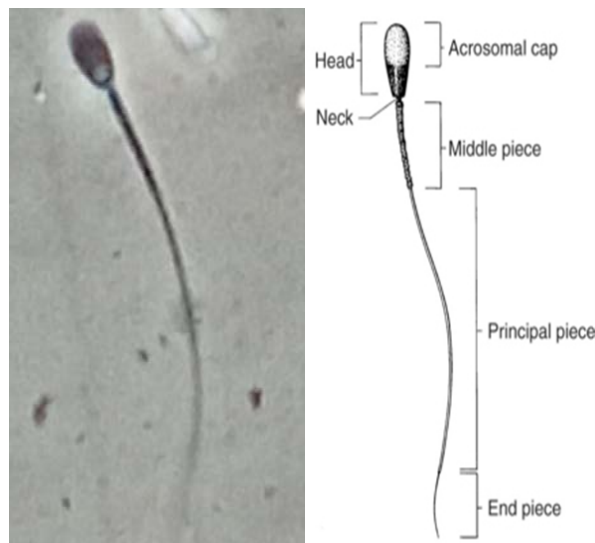
ve ark., (2018) fare ve insan spermeleri üzerinde yürüttüğü bir çalışmada, termal gradyanlara yönelen spermelerin DNA bütünlüğünün daha yüksek olduğu, kromatin yoğunluğunun ise daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu spermeler kullanılarak yapılan intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) işlemlerinde daha kaliteli embriyolar elde edilmiştir.

Buna ek olarak, sığır (bovine) ve koyun (ovine) türlerinde yapılan *in vitro* termotaksi deneylerinde, termotaksis gösteren spermelerin kontrol gruplarına göre daha yüksek motiliteye, sağlam zar bütünlüğüne ve daha düşük DNA hasarına sahip oldukları gösterilmiştir (De Oliveira ve ark., 2021).

Bu bulgular, termotaksinın yalnızca yön bulma değil, aynı zamanda seçici bir sperm kalitesi belirleyici mekanizma olduğunu göstermektedir. Bu yönüyle, termotaksi mekanizmasının hem doğal çiftleşmede hem de yardımcı üreme teknolojilerinde (ART) kullanımı, döllenme oranlarının artırılması açısından büyük potansiyel taşımaktadır. Termal gradyanlara duyarlı sperm seçimi, IVF ve ICSI gibi tekniklerde kaliteli gamet kullanımı ile daha yüksek başarı oranlarına ulaşılmasını mümkün kılmaktadır. Bu nedenle termotaksinın işlevsel yapısının ve moleküler temellerinin aydınlatılması hem temel bilim hem de klinik uygulamalara katkı sağlayacaktır.

2.5. Keçi Sperm Özellikleri

Keçi spermatozoası, morfolojik olarak baş, boyun ve kuyruk olmak üzere üç temel bölümden oluşur. Baş bölgesinde, genetik materyali taşıyan çekirdek ve döllenme sürecinde zona pellucida'yı aşmak için gerekli hidrolitik enzimleri içeren akrozom yer alır. Baş ile kuyruk arasında konumlanan boyun kısmı, mitokondriyel kılıfın başladığı bölge olup spermin enerji üretimi ve hareket fonksiyonu açısından kritik rol üstlenir. Kuyruk kısmı ise mikrotübül yapı sayesinde spermin ileri hareketini ve yönünü belirleyen ana yapıdır. Keçi spermeleri, sıcaklık başta olmak üzere çeşitli çevresel faktörlere karşı oldukça duyarlıdır. Optimal hareketlilik için genellikle 33°C ile 38°C arasındaki sıcaklık aralığı ideal olarak kabul edilir. (Resim 2.2).



Şekil 2.3. Keçi Spermatozoonunun özellikleri

2.6. Termotaksinin Üreme Teknolojilerindeki Potansiyeli

Termotaksi, sadece doğal fertilizasyon sürecinde değil, aynı zamanda yardımcı üreme teknolojileri (ART) kapsamında da uygulanabilirliği bulunan önemli bir yönelim mekanizmasıdır. Özellikle keçi gibi küçük ruminant türlerinde yapay tohumlama, *in vitro* fertilizasyon (IVF) ve embriyo transferi gibi uygulamaların yaygınlaşması, döllenme yeteneği yüksek, kaliteli spermatozoaların seçimini daha kritik hale getirmiştir (Pérez-Cereales ve ark., 2018; Heras ve ark., 2023).

Termotaksiye dayalı sperm seçimi, geleneksel yüzdürme veya santrifüjleme yöntemlerine kıyasla daha fizyolojik koşullarda gerçekleştirilmekte ve hücre yapısına daha az zarar vermektedir. Nitekim son yıllarda geliştirilen mikroakışkan sistemler kullanılarak yapılan çalışmalarda, termal gradyana doğru yönelim gösteren spermilerin daha yüksek motiliteye, daha iyi mitokondriyal fonksiyona ve düşük DNA fragmentasyonuna sahip olduğu gösterilmiştir (Huang ve ark., 2024; Díaz ve ark., 2023). Bu parametrelerin embriyo gelişimi ve gebelik oranları üzerinde doğrudan etkili olduğu göz önüne alındığında, termotaksi tabanlı sperm seleksiyonu, ART başarı oranlarını artıracak potansiyele sahiptir (Pérez-Cereales ve ark., 2018; Rodríguez-Gil, 2019).

Keçi spermatozoalarında TRPV1 ve TRPV4 gibi ısıya duyarlı iyon kanallarının varlığı henüz moleküler düzeyde net biçimde gösterilememiştir. Ancak memeli spermelerinde bu kanalların yaygın olarak ifade edildiği bilinmektedir (De Toni ve ark., 2018; Mundt ve ark., 2018). TRPV kanalları, spermelerin ısı farklılıklarını algılamasında ve termotaksik yöneliminde merkezi rol oynamaktadır. Bu nedenle, özellikle keçilerde termotaksinin moleküler temellerini araştıran çalışmaların artırılması; hem temel üreme biyolojisine katkı sağlayacak hem de ART uygulamaları için daha hassas ve etkili sperm seçim tekniklerinin geliştirilmesine olanak tanıyacaktır (Xiao ve ark., 2022).

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Küçükbaş Hayvan Araştırma Birimi'nde bulunan tekelerden alınan spermalar üzerinde yürütülmüştür. Çalışmada kullanılan hayvanlarla ilgili tüm uygulamalar, Çukurova Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun etik ilke ve yönergelerine uygun olarak gerçekleştirilmiş olup (Onay numarası: 3-8-2024), ilgili mevzuata tam uyum sağlanmıştır.

3.1. Sperma Toplama İşlemleri

Bu çalışmada kullanılan sperma örnekleri, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nde barındırılan, 2 yaşında, cinsel olgunluğa erişmiş bir Alpin ırkı tekedden elde edilmiştir. Sperma toplama işlemleri, 2024 yılı sonbahar çiftleşme sezonu (Eylül–Kasım) boyunca haftada bir kez gerçekleştirilmiştir. Tüm uygulamalar, hayvan refahı ön planda tutularak ve stres düzeyini en aza indirecek şekilde planlanmıştır. Semen toplama sırasında, teke uygun pozisyonda sabitlenmiş ve uygulamanın güvenli şekilde yapılması sağlanmıştır. Penis, steril eldiven kullanılarak prepusyumdan dışarı çıkarılmış ve dikkatlice tutulmuştur. Ejakülasyon, transrektal prob yardımıyla gerçekleştirilen elektroejakülasyon (EE) yöntemi ile sağlanmıştır. İşlem süresince, sperm kalitesini ve hayvan konforunu korumak amacıyla düşük voltaj (2–3 V) ve düşük akım (≤ 100 mA) düzeylerinde uyarılar verilmiştir. Ejakülatlar, daha önce 38°C'ye ısıtılmış, steril 50 mL'lik plastik beherlere toplanmıştır.

Toplanan örnekler, spermatozoidlerin canlılığını koruyabilmesi amacıyla 38°C sabit sıcaklık sağlayan termal taşıma kabında derhal laboratuvara ulaştırılmıştır. Laboratuvara varışın ardından, ileri analizlere geçilmeden önce semen örneklerinin makroskobik değerlendirmesi yapılmıştır. Bu kapsamda, semen renginin, hacminin ve viskozitesinin değerlendirilmesi sağlanmış; örneklerin genel kalitesi ve analiz için uygunluğu önceden kontrol edilmiştir.

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

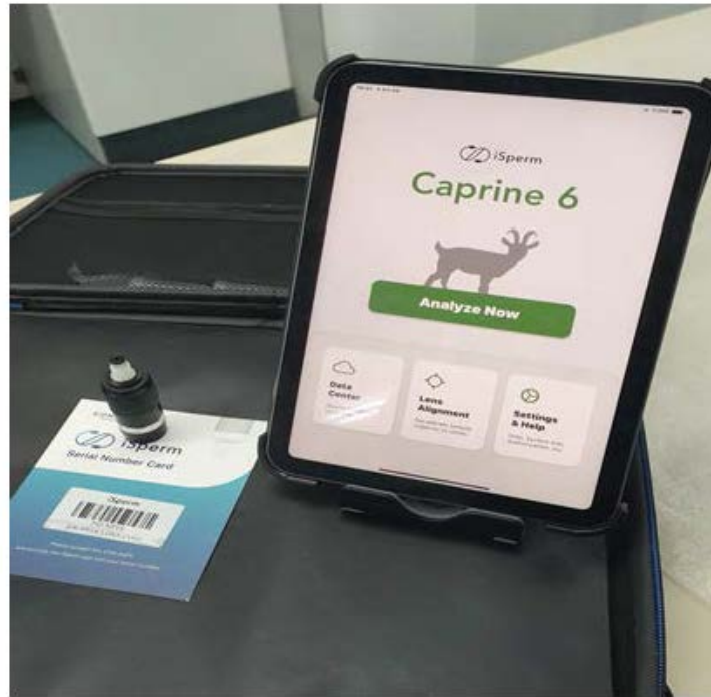
Bu araştırmada, her bir taze keçi semen örneği, taşınabilir özellikteki bilgisayar destekli sperm analiz sistemi olan iSperm (Aidmics Biotechnology, Tayvan) kullanılarak kapsamlı bir şekilde değerlendirilmiştir. iSperm cihazı, sperm hücrelerine ait hareketlilik ve çeşitli kinetik özelliklerin objektif ve yüksek hassasiyetle analiz edilebilmesini mümkün kılan gelişmiş bir mobil sistem olup, yüksek çözünürlüklü akıllı cihaz kamerası ve özel yazılım altyapısı ile donatılmıştır. Yazılım, türlere özgü algoritmalarla çalışmakta ve bu sayede analizlerin Caprine (keçi) spermine özgü modda gerçekleştirilmesine olanak tanımaktadır.

Analiz öncesinde, her semen örneği, ticari olarak temin edilen OviPlus AI sulandırıcısı (Minitube) ile 1:200 oranında seyreltilmiş ve spermatozoidlerin fizyolojik koşullara benzer bir ortamda değerlendirilmesini sağlamak amacıyla 38°C sıcaklıkta dengelenmiştir. Seyreltme işlemi,

hem sperm yoğunluğunu cihazın ölçüm aralığına uyumlu hale getirmek hem de analiz sırasında optimum görüntüleme sağlamak için gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 7–10 mikrolitre hacmindeki seyreltilmiş numune, tek kullanımlık özel bir mikroakışkan “çip” üzerine pipet yardımıyla dikkatlice yerleştirilmiş ve üzeri şeffaf kapakla kapatılarak eşit dağılım sağlanmıştır.

Çip, cihazın analiz bölümüne yerleştirildikten sonra ölçüm işlemi başlatılmış ve örnekler, iSperm Caprine 6 modu kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu analizde; toplam motilite, progresif motilite, eğrisel hız (VCL), ortalama yol hızı (VAP), doğrusal hız (VSL), lineerlik oranı (LIN), doğrusal ilerleme oranı (STR), baş salınım genliği (ALH) ve kuyruk vuru frekansı (BCF) gibi temel kinetik parametreler ayrıntılı biçimde ölçülmüştür.

Elde edilen veriler, analiz sırasında cihaz ekranında anlık olarak izlenmiş ve eş zamanlı olarak dijital ortamda kaydedilmiştir. Tüm ölçüm sonuçları, istatistiksel analizlerde kullanılmak üzere veri seti formatında dışa aktarılmıştır. Bu yöntem, analiz süresini kısaltmasının yanı sıra, insan hatasını minimize etmesi ve yüksek tekrarlanabilirlik sunması bakımından çalışmanın güvenilirliğini artırmıştır.



Şekil 3.1. Bilgisayarlı destekli sperm analiz sistemi

3.3. Sperm Canlılık ve Zar Bütünlüğü Değerlendirmesi

Spermatozoaların canlılık oranı, Nigrosin-Eozin çift boyama yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 3.2). Bu yöntem, sperm zarının geçirgenliğine dayalı olarak ölü ve canlı hücrelerin ayırt edilmesini sağlar. Her gruptan alınan 10 µL semen örneği, 10 µL Eozin ve 20 µL

Nigrosin boyasıyla karıştırılmış ve lam üzerine ince yayma şeklinde uygulanmıştır. Preparatlar oda sıcaklığında havada kurutulmuş ve 400x büyütmede Leica DMR faz-kontrast mikroskobu altında değerlendirilmiştir. Her örnekten en az 100 spermatozoa sayılarak, boyanmış (pembe/kırmızı) hücreler ölü, boyanmamış (beyaz) hücreler ise canlı olarak kaydedilmiştir.



Şekil 3.2. Nigrosin-Eozin boyama tekniği ile sperm canlılık değerlendirmesi

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

Test prosedürü şöyledir:

100 μ L semen, 900 μ L hipoozmotik fruktoz çözeltisi (100 mOsmol/kg) ile karıştırılmıştır.

Karışım 37°C’de 30 dakika inkübe edilmiştir.

Ardından 10 μ L’lik örnek lam üzerine alınarak faz-kontrast mikroskop altında değerlendirilmiştir.

Kuyruk kısmında şişme ve kıvrılma gözlemlenen spermatozoalar HOST-pozitif olarak değerlendirilmiş ve % oranları kaydedilmiştir.

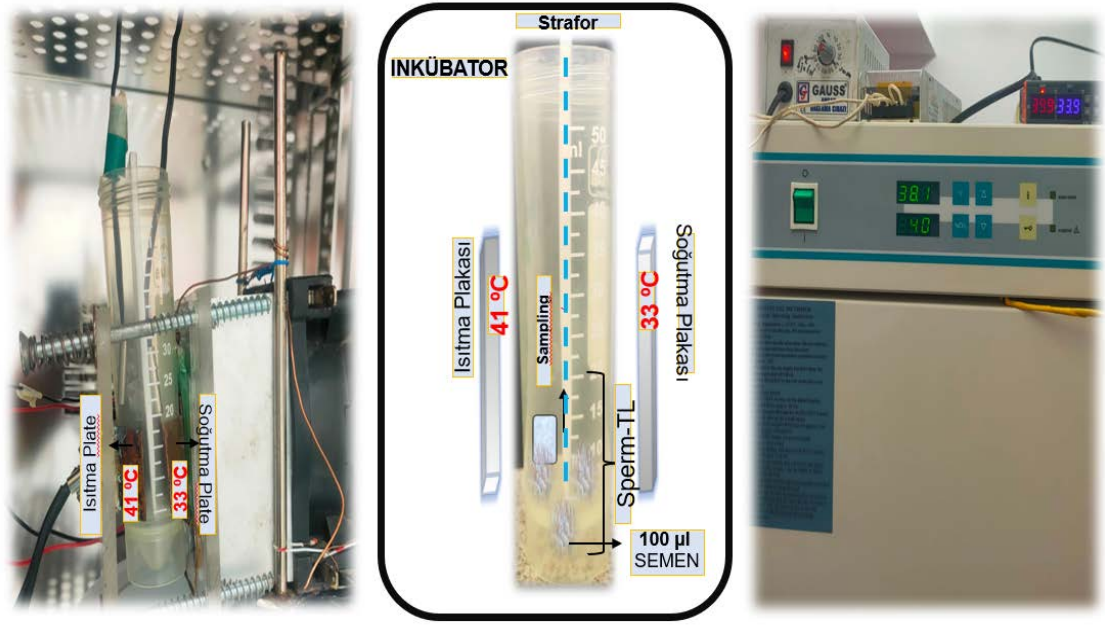
Bu iki test, spermilerin fizyolojik durumunu hem yapısal hem de fonksiyonel düzeyde değerlendirmeye imkân tanımaktadır.



Şekil 3.3. Hipoozmotik Şişme Testi (HOST) ile sperm zar bütünlüğü analizi

3.4. DeneySEL DüzenEğİN Kurulumu ve Termotaksi Modeli

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



Şekil 3.4. Termotaksi modelin deneysel tasarımının

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

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



Şekil 3.5. Strafor bariyer yerleşimi

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

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

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

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

Bu sistemde bir yarım küre 34°C’de, diğer yarım küre ise 40°C’de sabitlenerek yaklaşık $\pm 1^\circ\text{C}$ hassasiyetinde sabit bir dikey sıcaklık gradyanı oluşturulmuştur. Temel stabilitenin ve hedef sıcaklıkların sürekli konulabilmesi için her yarım küre içine dijital sıcaklık sensörler yerleştirilmiştir. Bu sensörler gerçek zamanlı veri sağlayarak STC3008 dijital termostat sistemi aracılığıyla ısıtma- soğutma birimlerinin dinamik olarak ayarlanmasına imkân sağlamıştır. Ayrıca, hazırlanan düzenek %5 CO₂ atmosferine sahip, 38°C’de çalışan nemlendirilmiş bir inkübatör içerisine yerleştirilmiştir. Bu koşullar altında Termotaksi testinin gerçekleşeceği 45 dakikalık inkübasyon süresi boyunca sistemdeki sıcaklık farklılıkları sabit tutulmuş ve çevresel kontrol sağlanmıştır.

3.5. Örneklerin Hazırlanması ve İnkübasyon Koşulları

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



Şekil 3.6. 100 μ L'lik sperm örneğinin tüplere aktarımı

Kontrol ve termostaksi deney tüplerinin her biri işlemiden en az 2 saat önce hazırlanmış ve 20 mL Sperm-TL çözeltisi ile doldurulmuştur. Böylece hem çözeltinin sıcaklık ve pH stabilitesinin sağlanması hem de ortamın homojenleşmesi amaçlanmıştır. Sperm-TL çözeltisi spermilerin fizyolojik motiliteyi sürdürülebilmesi için gerekli iyonik, bileşimi içeren ve sperm çalışmaları için yaygın olarak kullanılan bir ortamdır. Spermilerin eklenmesinin ardından her iki tüp de 5% CO₂ atmosferine sahip, yüksek nem kontrollü bir inkübatöre yerleştirilmiştir. Bu koşullar, spermin hem pH hem de osmolarite açısından fizyolojik olarak uygun ortam sağlamıştır. Kontrol grubuna ait tüp ise aynı inkübatör içerisinde 38°C inkübe edilmiştir (Şekil 2.6). Termotaksi grubuna ait deney tüpü ise aynı şartlarda ve inkübatörde bulunmakta ancak hazırlanan model içerisinde tüpler, 2 yarım küreye ayrılmış ve küreler arasındaki sıcaklık farkı, harici, ısıtma- soğutma yöntemiyle korunarak, 34°C ile 40°C arasında farklı ve dikey bir sıcaklık gradyana maruz bırakılmıştır. Böylece spermilerin farklı sıcaklık bölgelerine yönelim davranışı değerlendirilmiştir.

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

3.6. Termotaksi Sonunda Örnek Toplama ve Analiz

İnkübasyon süresi olan 45 dakika tamamlandıktan sonra, termotaksi model tüplerinin her iki yarım küresinden de örnek toplanmıştır. Her bir bölümden 1000 µL (1 mL) hacminde sperm süspansiyonu alınmıştır. Bu örnekleme, tüplerin iç yapısına zarar vermeden ve sıcaklık bölgelerinin karışmasına neden olmayacak şekilde, steril uçlu pipetler ile dikkatlice gerçekleştirilmiştir.

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

3.7. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, termal gradyanların teke spermi parametreleri üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla istatistiksel analizler gerçekleştirilmiştir. İncelenen parametreler arasında sperm konsantrasyonu, motilite düzeyi ve çeşitli kinetik özellikler yer almıştır. İki'den fazla sıcaklık grubunu içeren karşılaştırmalarda (örneğin 38,0°C, 38,1°C, 41°C ve 33°C), grup ortalamaları arasında anlamlı fark olup olmadığını belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) uygulanmıştır.

ANOVA sonrasında, gruplar arası ikili karşılaştırmalar için Tukey'nin Dürüstçe Önemli Fark Testi (Tukey's HSD) kullanılmıştır. Bu test, aynı bireysel örnek üzerinden elde edilen eşleştirilmiş ölçümlerin analizinde, bireyler arası varyasyonu kontrol altına alarak güvenilir karşılaştırmalar yapılmasını sağlamaktadır.

Elde edilen sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata (mean $\pm$ SEM) formatında sunulmuş ve $P < 0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edilmiştir. Ayrıca, sıcaklık grupları arasında sperm canlılığı (canlı/ölü) ve zar bütünlüğü (HOST pozitif/negatif) bakımından oluşan dağılımları karşılaştırmak için Ki-kare (χ^2) testi uygulanmıştır.

Tüm istatistiksel analizler Minitab 19 istatistik yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

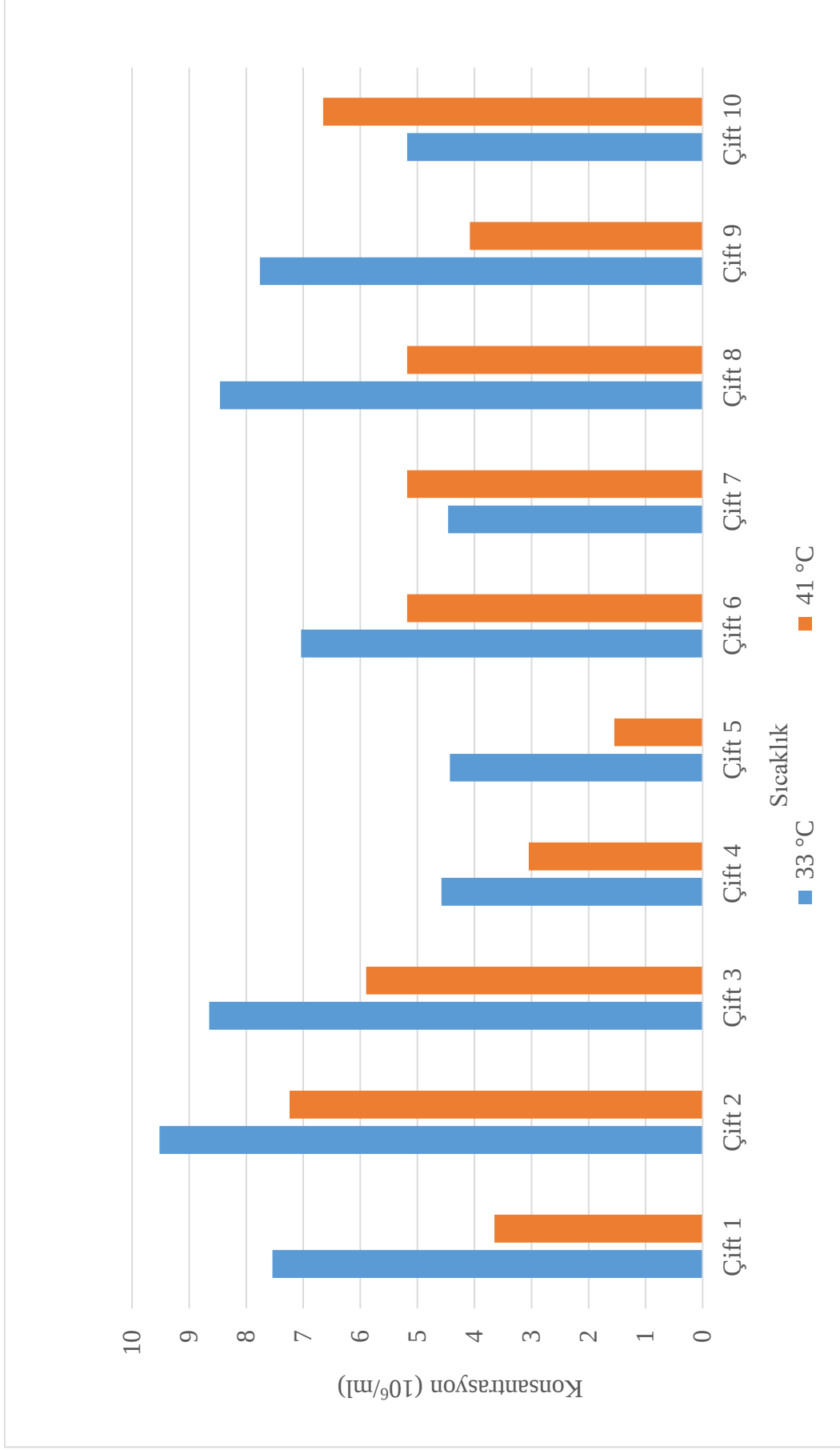
4.1. Sperm Konsantrasyonu

Bu çalışmada, laboratuvar şartlarında oluşturulan dikey sıcaklık gradyanları içerisinde, teke spermatozoalarının 33°C ve 41°C bölgelerine gösterdiği yönelim davranışları değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, spermatozoaların büyük oranda 33°C sıcaklık bölgesine yöneldiğini ve bu bölgede daha yüksek konsantrasyonla toplandığını göstermektedir.

Tez kapsamında yapılan çalışmalar kapsamında incelenen tüm eşleştirilmiş örnek çiftlerinde (Şekil 4.1), 33°C’bulunan sperm konsantrasyonu 41°C’ye göre belirgin şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Örneğin; 1. çiftte 33°C’de ölçülen sperm konsantrasyonu yaklaşık $7,5 \times 10^6/\text{ml}$ iken, 41°C’de bu değer $3,8 \times 10^6/\text{ml}$ ’ye düşmüştür. En dikkat çekici farklardan biri 5. örnek çiftinde görülmüştür; burada 33°C’de sperm konsantrasyonu $4,5 \times 10^6/\text{ml}$ civarındayken, 41°C’de bu oran $2 \times 10^6/\text{ml}$ ’nin altına gerilemiştir. Bazı çiftlerde fark daha az belirgin olsa da (örneğin 2. ve 10. çiftler), genel eğilim değişmemiştir: sperm hücreleri, tutarlı bir şekilde 33°C bölgesine yönelmiştir. Elde edilen bu sonuçlar, teke spermatozoalarının daha düşük sıcaklık bölgelerine yönelme eğiliminde olduğunu ve yüksek sıcaklıktan kaçındığını göstermektedir. Sıcaklığın artmasıyla oluşabilecek termal stresin, sperm canlılığı, zar bütünlüğü ve hareket yeteneği üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceği bildirilmiştir (Hidalgo ve ark., 2018; Díaz ve ark., 2023). Ayrıca bu sonuçlar davranışın yalnızca pasif bir kaçınma değil, aktif bir termotaktik yanıt olabileceğini ortaya koymaktadır.

Çalışmada kullanılan deney düzeneğinde sperm hücreleri, başlangıçta kullanılan tüpün orta noktasına yerleştirilmiş ve her iki yöne hareket etme özgürlüğüne sahip olmuşlardır. Bu koşullar altında spermatozoaların çoğunlukla 33°C yönüne ilerlemesi, termal stresten kaçınma dışında bir yönelim davranışı olduğunu desteklemektedir. Ayrıca, 33°C bölgesinde hem motilite hem de canlılık oranlarının daha yüksek olması, bu bölgenin sperm fizyolojisi açısından daha elverişli bir ortam sunduğunu göstermektedir (Cerezales ve ark., 2018; Bahat ve ark., 2006).

Sperm termotaksisinin klasik tanımında, spermatozoaların hafif daha sıcak bölgelere yöneldiği bildirilmiştir (Bahat & Eisenbach, 2006; Bahat ve ark., 2006; Cerezales ve ark., 2018). Ancak bu çalışmada gözlenen, daha soğuk bölgeye yönelim davranışı, sıcaklık farkının büyüklüğü ve mutlak sıcaklık değerlerinin sperm yanıtında belirleyici rol oynayabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde, Swain ve ark., (2025) 41°C’nin keçi spermi için fizyolojik olarak sınır değerleri aştığı ve termal hasar oluşturduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır.



Şekil 4.1 Farklı sıcaklık gradyanlarında (33 ° C ve 41 ° C) teke sperm konsantrasyonunun karşılaştırılması

4.2. Sperm Motilitesi ve Kinetik Parametreler

Bu çalışmada, aynı zamanda taze ejakülat örneklerinden elde edilen kinetik verilerle karşılaştırma yapıldığında, 33°C bölgesindeki sperm parametrelerinin taze sperm değerlerine oldukça yakın olduğu; buna karşın 41°C'de bu parametrelerin önemli ölçüde gerilediği görülmektedir. Örneğin, taze spermde motilite %83,8 ve progresif motilite %76,0 iken, 41°C ortamda bu değerlerin sırasıyla %66,6 ve %60,9'a düşmesi, ısıya bağlı fonksiyon kaybını açıkça ortaya koymaktadır. Kontrol grubu olarak oluşturulan 38°C vs. 38°C sıcaklık koşulunda (Table 4.2), taze spermle kıyaslandığında hafif bir motilite düşüşü gözlemlenmişse de bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu durum, sperm hücrelerinin zamana bağlı enerji kaybı ve *in vitro* koşullarda maruz kaldığı hafif stresin etkisiyle açıklanabilir. Ancak burada sıcaklık farkı olmaması, yönelim davranışını tetiklememiş ve sperm konsantrasyonları her iki bölmede benzer dağılmıştır. Bu gözlem, termotaktik yanıtın bir gradyana bağlı olarak geliştiğini, homojen sıcaklıkta ise yönelimin olmadığını göstermektedir.

Çizelge 4.1. Taze teke sperminin kinetik özellikleri.

Kinetik Parametreler	Taze Semen
Motility (%)	83.830 ± 2.63
Progressive Motility (%)	76.000 ± 4.42
Curvilinear Velocity (um/s)	156.600± 5.19
Average Path Velocity (um/s)	115.800 ± 6.74
Straight Line Velocity (um/s)	106.300 ± 5.90
Linearity (%)	69.200 ± 4.72
Straightness (%)	90.800 ± 1.54
ALH (um)	8.300 ± 0.69
BCF (Hz)	32.100 ± 3.13
WOB (%)	75.200 ± 4.839

Çizelge 4.2. Teke sperminin kinetik özellikleri üzerine sıcaklığın (Kontrol) etkisi

Sıcaklık/ Kinetik Parametreler	38a °C n=7	38b °C n=7	P (temp)
Motility (%)	69.00 ± 3.61	65.80 ± 5.96	NS
Progressive Motility (%)	61.40 ± 3.71	56.40 ± 5.50	NS
Curvilinear Velocity (um/s)	155.40 ± 2.69	158.60 ± 3.49	NS
Average Path Velocity (um/s)	92.20 ± 3.48	88.80 ± 2.62	NS
Straight Line Velocity (um/s)	88.00 ± 8.84	86.60 ± 5.48	NS
Linearity (%)	53.59 ± 2.89	55.20 ± 2.78	NS
Straightness (%)	89.40 ± 0.51	91.80 ± 1.02	NS
ALH (um)	8.63 ± 0.45	7.08 ± 0.44	NS
BCF (Hz)	31.03 ± 1.80	33.20 ± 2.79	NS
WOB (%)	63.40 ± 2.16	59.00 ± 2.30	NS

^{a,b} Aynı sütunda farklı üstsimgе harfleri taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P <0,05).

Sonuçlar, 41°C'nin keçi spermatozoaları için fizyolojik sınırın üzerinde bir sıcaklık olduğu ve termal stresin hem hareketliliği hem de canlılığı belirgin şekilde azalttığı göstermektedir. Bu durum, önceki çalışmalarda küçükbaş hayvanlarda spermlerinin yüksek ısıya karşı hassasiyetini ortaya koyan bulgularla da uyumludur (Söderquist ve ark., 1997; Hidalgo ve ark., 2018).

Termotaksinin moleküler temeline bakıldığında, TRPV1 ve TRPV4 gibi sıcaklığa duyarlı transient reseptör potansiyel (TRP) kanallarının sperm hücrelerinde görev aldığı, bu kanalların sıcaklık değişimlerine bağlı olarak Ca²⁺ akışını düzenlediği bilinmektedir (De Toni ve ark., 2018; Mundt ve ark., 2018). Ayrıca, yakın zamanda yapılan araştırmalar, opsinlerin (rodopsin, melanopsin) spermatozoalarda termal algılamada görev alabileceğini de göstermiştir (Cerezales & Álvarez, 2017).

Çizelge 4.3. Teke sperminin kinetik özellikleri üzerine sıcaklığın (33 °C vs. 41 °C) Etkisi

Sıcaklık/ Kinetik Parametreler	33 °C n=18	41 °C n=18	P (temp)
Motility (%)	78.40 ± 4.49	66.60 ± 2.91	0.01
Progressive Motility (%)	73.10 ± 4.41	60.90 ± 2.57	0.01
Curvilinear Velocity (um/s)	147.40 ± 13.62	124.30 ± 8.80	NS
Average Path Velocity (um/s)	118.00 ± 8.22	104.50 ± 6.08	NS
Straight Line Velocity (um/s)	89.20 ± 5.01	87.90 ± 5.37	NS
Linearity (%)	59.50 ± 2.77	58.70 ± 2.92	NS
Straightness (%)	88.50 ± 2.43	83.60 ± 3.56	NS
ALH (um)	7.54 ± 0.32	6.84 ± 0.24	0.02
BCF (Hz)	25.48 ± 1.18	23.89 ± 1.21	NS
WOB (%)	66.20 ± 2.73	63.80 ± 2.63	NS

^{a,b} Aynı sütunda farklı üstsimgе harfleri taşıyan değеrler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P <0,05).

Sonuç olarak, kinetik veriler keçi spermatozoalarının termal gradyanlara duyarlı olduğunu ve bu duyarlılığın, daha düşük sıcaklık bölgelerine yönelim şeklinde ortaya çıktığını göstermektedir. 33°C ortamın spermier için daha uygun bir mikro sıcaklık ortamı sunmaktadır. Bu bulgular, sperm seçimi ve yardımcı üreme teknolojilerinde (örneğin IVF ve mikroakışkan sistemlerde) termotaksiye dayalı stratejilerin geliştirilmesi açısından umut verici bir temel oluşturabilecektir (Díaz ve ark., 2023; Huang ve ark., 2024). Küçükbaş hayvanlarda bu yönde yapılacak ileri moleküler ve fizyolojik çalışmalar, tür spesifik termotaksik yanıtların daha net anlaşılmasına olanak sağlayacaktır.

Çalışmadan elde edilen veriler (Tablo 3), Termotaksi yöneliminin yalnızca hareket yönü değil; aynı zamanda hücresel fonksiyonlar üzerinde de doğrudan etkilendiğini göstermektedir. 33°C bölgesinde toplanan spermatozoaların toplam motilite (%78,4) ve progresif motilite (%73,1) değeri, 41°C bölgesine kıyasla anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (%66,6 ve %60,9; P=0.01). Bu bulgular, artan sıcaklığın spermatozoaların ileriye dönük hareket kabiliyetini ve

kuyruksak hareketin yapısal bütünlüğünü bozduğunu göstermektedir. Literatürde, yüksek sıcaklıkların sperm hareketini hipermotiliteye sürüklediği veya fizyolojik strese yol açtığı rapor edilmiştir (Hidalgo ve ark., 2018). Aynı zamanda, 41°C'de ALH (amplitüd) parametresinde anlamlı bir azalma (7,54 μm $\rightarrow$ 6,84 μm ; $P=0.028$), kuyruksak hareketin genliğinde bozulmaya neden olduğunu göstermektedir.

Elde edilen sonuçlar, hız parametrelerinde (VCL, VAP, VSL) anlamlı fark gözlenmemekle birlikte, özellikle VCL'de gözlenen düşüş (147,4 $\mu\text{m}/\text{sn}$ den 124,3 $\mu\text{m}/\text{sn}$) dikkat çekicidir ve yüksek sıcaklığın sperm hareket modelini olumsuz etkileyebileceğine işaret etmektedir. Ayrıca, BCF ve WOB değerlerinde önemsiz düşüşler gözlenmiştir. Kinetik değişiklikler, sıcaklığa bağlı olarak kuyruksak hareketlilik yapısında meydana gelen bozulmaları yansıtmakta olup, literatürde sıcaklıkla aktive olan kalsiyum kanalları (özellikle CatSper) üzerinden açıklanmaktadır. CatSper kanalı yaklaşık 33–34°C'de aktive olmakta ve sıcaklık artışına bağlı Ca^{2+} akışını tetikleyerek hiperaktivasyon benzeri hareketlere yol açabilmektedir (Mundt ve ark., 2018; Swain ve ark., 2025).

4.3. Sperm Zar Bütünlüğü (HOST Testi)

Bu bölümde, farklı sıcaklık koşullarında inkübe edilen keçi spermalarının zar bütünlüğü (membran bütünlüğü) değerlendirilmiş ve sonuçlar HOST (Hypoosmotic Swelling Test) testi ile analiz edilmiştir. HOST pozitif spermatozoalar, canlı ve işlevsel hücreler olarak kabul edildiğinden, bu parametre fertilizasyon yeteneğinin dolaylı bir göstergesi olarak önem arz etmektedir.

Benzer sıcaklık ortamlarındaki (Kontrol Grubu: 38°C ve 38°C) HOST Pozitif Oranlar Çizelge 4.4'te sunulmuştur. Sonuçlara göre, taze sperm örneğinde başlangıçta HOST pozitif oranı $\%88,1 \pm 7,15$ olarak belirlenmiştir. Bu oran, 45 dakikalık inkübasyon süresinin ardından her iki 38°C bölmesinde de anlamlı şekilde azalmıştır. Spesifik olarak: 38a°C bölümünde HOST pozitiflik oranı $\%64,3 \pm 3,16$ ve 38b°C bölümünde ise $\%65,5 \pm 3,11$ olarak kaydedilmiştir. İstatistiksel analizler, hem 38a°C hem de 38b°C gruplarındaki değerlerin, başlangıç değerine göre anlamlı düzeyde düşük olduğunu göstermektedir ($P < 0.05$). Bu sonuç, homojen sıcaklık koşullarında bile zamanla zar bütünlüğünde azalma meydana geldiğini ve sperm hücrelerinin *in vitro* ortamda belirli bir sürenin sonunda canlılıklarını kaybetmeye başladıklarını göstermektedir. Homojen sıcaklık ortamında bile gözlenen bu düşüş, spermatozoların *in vitro* koşullarda enerji rezervlerini tüketmeye başlaması ve termal-oksidatif stres ile karşılaşmaları sonucunda canlılıklarını kaybettiklerini bildirilmiştir (Hidalgo ve ark., 2018)

Çizelge 4.4. Benzer sıcaklık gradyanlarının HOST pozitif sperm oranları

	HOST-Pozitif Sperm (%)
Start (Taze)	88,1±7,15 ^a
38a °C (45min)	64,3±3,16 ^b
38b °C (45min)	65,5±3,11 ^b

^{a,b} Aynı sütunda farklı üstsimge harfleri taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P <0,05).

Farklı sıcaklık gradyanlarındaki (33°C vs 41°C) HOST Pozitif Oranları Çizelge 4.5'te sunulmaktadır. Başlangıçta, taze sperm örneğinde HOST pozitiflik oranı yine %88,1 ± 7,15 olarak tespit edilmiştir. Ancak sıcaklık farkı olan gruplarda bu oranlar şu şekilde değişmiştir: 33°C grubunda: HOST pozitif oranı %61,7 ± 2,86, 41°C grubunda: oran %56,4 ± 3,21 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, her iki sıcaklık bölümünde de zar bütünlüğünde önemli derecede düşüş olduğunu ortaya koymakla birlikte, 41°C'nin 33°C'ye kıyasla daha fazla zararlı etki yarattığını göstermektedir. İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, 41°C'deki HOST pozitiflik oranı, 33°C'ye kıyasla anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur (P <0,05). Bu veriler, özellikle yüksek sıcaklığın (41°C) spermatozoa zar bütünlüğü üzerinde olumsuz etkiler yarattığını, hücre zarı geçirgenliğinin bozulduğunu ve bu nedenle canlılığın azaldığını göstermektedir. 33°C ortamında ise zar bütünlüğü daha iyi korunmuş ve sperm fizyolojisi açısından daha elverişli bir mikro ortam sağlanmıştır. 41°C'nin teke spermi için termal stres oluşturduğunu ve zar yapılarında hasara neden olduğunu açıkça göstermektedir. Yüksek sıcaklık, hücre zarının geçirgenliğini bozarak iyon dengesini değiştirmekte, zar potansiyelini olumsuz etkilemekte ve sonuç olarak sperm hücresinin yaşamını sürdürememesine neden olmaktadır (Söderquist ve ark., 1997; Hidalgo ve ark., 2018).

Çizelge 4.5. Farklı sıcaklık gradyanlarının HOST pozitif sperm oranları

	HOST-Pozitif Sperm (%)
Start (Taze)	88,1±7,15 ^a
33 °C (45min)	61,7±2,86 ^b
41 °C (45min)	56,4±3,21 ^b

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı üstsimge harfleri taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P <0,05).

4.4. Sperm Canlılığı (Nigrosin-Eozin Testi)

Sperm hücrelerinin canlılığı, dölleme kapasitesinin sürdürülebilirliği açısından temel bir parametre olup, aynı zamanda zar bütünlüğü ile doğrudan ilişkilidir. Çalışmada, farklı sıcaklık koşullarının sperm canlılığı üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla Nigrosin-Eozin boyama testi uygulanmıştır. Bu testte canlı hücreler (Şekil 3.2) boyayı geçirmeyerek renksiz kalırken, ölü hücreler zarsal bütünlük kaybı nedeniyle eozin tarafından boyanmakta ve mikroskopik olarak ayırt edilebilmektedir.

Benzer sıcaklık koşullarındaki (38°C ve 38°C) canlılık oranları Çizelge 4.6'da sunulmaktadır. Sonuçlara göre, taze ejakülat örneklerinde canlı sperm oranı %89,5 (188/22) olarak ölçülmüştür. Bu oran, 45 dakikalık inkübasyon süresi sonunda her iki 38°C bölmesinde anlamlı düzeyde düşüş göstermiştir. Bu düşüşler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($P < 0.05$) ve zaman içerisinde homojen sıcaklık koşullarında dahi canlılık oranlarının azalabileceğini göstermiştir. Bu durum, spermatozoların *in vitro* koşullarda enerji rezervlerini tüketmeleri ve termal oksidatif stres ile karşılaşmaları sonucu hücresel fonksiyonlarını kaybettiklerini göstermektedir (Hidalgo ve ark., 2018; Díaz ve ark., 2023). Membran bütünlüğü ile canlılık arasındaki bu korelasyon, termal stresin morfolojik olarak izlenebilen hücresel zar hasarı ile sonuçlandığını da desteklemektedir.

Çizelge 4.6. Kontrol sıcaklık gradyanlarının canlı/ölü sperm oranları üzerindeki etkisi.

	% Sperm (Canlı/Ölü)
Start (Fresh)	89,5 ^a (188/22)
38a °C (45min)	62,8 ^b (125/74)
38b °C (45min)	63,2 ^b (131/76)

^{a,b} Aynı sütunda farklı üstsimge harfleri taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0,05$).

Dikey sıcaklık farkı oluşturularak yapılan deney grubunda (Çizelge 4.7), inkübasyon süresince farklı sıcaklıkların morfolojik canlılık üzerinde farklı etkiler yarattığı belirlenmiştir. Taze örnekteki canlılık oranı yine %89,5 (188/22) iken; 33°C bölmesinde: %67,1 (130/72), 41°C bölmesinde: %57,2 (118/88) şeklinde ölçülmüştür. Sıcaklığın 33°C olan grupta gözlemlenen düşüş, taze örneğe kıyasla belirgin olsa da 41°C grubundaki düşüş daha yüksek oranda olup ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0.05$). Bu bulgu, yüksek sıcaklığın sperm hücre zarı geçirgenliğini bozarak canlılık kaybına neden olduğunu, dolayısıyla 41°C'nin keçi spermatozoları açısından zararlı bir çevresel faktör olduğunu göstermektedir.

Özellikle 41°C ortamındaki canlılık oranının %57 seviyesine gerilemiş olması, sperm hücrelerinin ciddi morfolojik zarar gördüğüne işaret etmektedir. Bu zararlar hücre zarında yapısal

bozulma, iyon dengesi kaybı, mitokondriyal fonksiyonların bozulması ve hatta apoptotik süreçlerin başlaması gibi olgularla açıklanabilir (Hidalgo ve ark., 2018). Söderquist ve ark. (1997) tarafından koç spermiyle yapılan benzer bir çalışmada, 40°C üzerindeki sıcaklıkların sperm canlılığı üzerinde baskılayıcı etkiler yarattığını göstermiştir. Bu çalışmadaki veriler, küçük ruminant spermlerinin sıcaklığa karşı yüksek duyarlılığını bir kez daha ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.7. Farklı sıcaklık gradyanlarının Canlı/Ölü sperm oranları üzerindeki etkisi.

	% Sperm (Canlı/Ölü)
Start (Fresh)	89,5 ^a (188/22)
33 °C (45min)	67,1 (130/72) ^b
41 °C (45min)	57,2 (118/88) ^c

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı üstsimge harfleri taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P <0,05).



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, teke spermatozoalarının dikey sıcaklık gradyanlarına karşı gösterdiği termotaktik davranış ilk kez detaylı şekilde incelenmiştir. Yapılan deneylerde, sperm hücrelerinin 33°C'lik ortama yönelerek bu bölgede daha yüksek konsantrasyonla biriktiği, buna karşılık 41°C bölgesinden kaçındığı açıkça gözlemlenmiştir. Bu durum, spermilerin yalnızca pasif bir kaçınma davranışı göstermediğini, aynı zamanda aktif bir termotaktik yönelimde bulunduğunu ortaya koymaktadır.

Sperm zar bütünlüğü (HOST testi) ve canlılık (Nigrosin-Eozin testi) verileri, sıcaklığın morfolojik parametreler üzerindeki etkisini açıkça göstermektedir. HOST testi sonuçlarına göre, hem homojen (38°C vs 38°C) hem de farklı sıcaklık gradyanı (33°C vs 41°C) koşullarında sperm zar bütünlüğünde inkübasyon süresine bağlı olarak anlamlı azalmalar meydana gelmiştir. Özellikle 41°C'de zar bütünlüğü anlamlı düzeyde bozulmuş ve bu durum membran geçirgenliğinin zarar gördüğünü göstermektedir. Benzer şekilde canlılık testinde, taze örneklerde %89,5 olan canlı sperm oranı, 41°C bölgesinde %57,2'ye düşmüş ve bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Bu bulgular, sıcaklık kaynaklı zar hasarlarının sperm hücre membranı üzerinde ciddi etkiler yarattığını ve hücrelerin canlılığını azalttığını göstermektedir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması, keçi spermatozoalarının sıcaklık değişimlerine karşı oldukça hassas olduğunu, özellikle zar bütünlüğü ve canlılık gibi morfolojik parametrelerde yüksek sıcaklığın ciddi hasarlara yol açtığını ve bu hücrelerin fizyolojik olarak 33°C gibi daha düşük sıcaklıklarda daha iyi korunduğunu göstermektedir. Spermatozoaların daha düşük sıcaklık ortamlarına yönelmesi, bu bölgelerin daha elverişli mikro çevreler sunduğuna işaret etmekte ve termotaksinin morfolojik bütünlük açısından avantaj sağladığını göstermektedir.

Elde edilen bulgular, yardımcı üreme teknolojilerinde (YÜT) termotaksis bazlı sperm seçim yöntemlerinin küçükbaşlarda da uygulanabilirliğini ortaya koymaktadır. Özellikle sperm zar bütünlüğü ve canlılığı açısından daha elverişli koşullar sunan sıcaklık aralıklarının belirlenmesi, IVF ve tohumlama başarılarını artırabilecektir.

Gelecekte yapılacak araştırmalarda, TRPV1, TRPV4 ve CatSper gibi sıcaklıkla ilişkili iyon kanallarının teke spermierindeki ifade düzeylerinin belirlenmesi, termotaksik davranışların moleküler temellerini açıklığa kavuşturabilecektir.

Keçilerin genital sistemindeki sıcaklık gradyanlarının ovulasyon döneminde ayrıntılı olarak incelenmesi, bu türün doğal termotaksik yönelim mekanizmasının anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

In vitro çalışmalar sırasında uzun süreli inkübasyonun sperm hücreleri üzerinde zararlı etkiler yarattığı göz önünde bulundurularak, bu sürelerin minimal düzeyde tutulması önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- Ali, M. A., Wang, Y., Qin, Z., Yuan, X., Zhang, Y., & Zeng, C. 2021. Odorant and taste receptors in sperm chemotaxis and cryopreservation: Roles and implications in sperm capacitation, motility and fertility. *Genes*, 12(4), 488. <https://doi.org/10.3390/genes12040488>
- Bahat, A., & Eisenbach, M. 2006. Sperm thermotaxis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 252(1–2), 115–119. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2006.03.023>.
- Bahat, A., Fertil B and Eisenbach, M. 2012. Thermotaxis of human sperm cells in extraordinarily shallow temperature gradients over a wide range. *PLoS ONE*, 7: e41915. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0041915>
- Boryshpolets, S., Cerezales, P.S., Eisenbach, M. 2015. Behavioral mechanism of human sperm in thermotaxis: a role for hyperactivation, *Hum Reprod.*, 30: 884–892. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev002>.
- Cerezales, P.S., and Álvarez, B.P. 2017. TRPV1: A channel for mammalian sperm thermotaxis? *Translational Cancer Research*, 6 (Suppl 2): S395-S398. <https://doi.org/10.21037/tcr.2017.03.17>
- De Toni, L., Cosci, I., Finocchi, F., Magagna, S., Carpi, A., Galfano, A., Lombardo, F., Garolla, A., & Foresta, C. Heat detection in human sperm: A role for transient receptor potential vanilloid type-1 (TRPV1) channels. 2018. *Molecular Human Reproduction*, 22(11), 713–723. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaw047>
- Díaz, R.S., Mazzarella, R., López, N.P., Gonzalez, F.R., de Frutos, C., Morato, M., Cucala, C., Brena, B.P., Lumbo, M., Rizos, D., and Adan, G.A. 2023. Bull spermatozoa selected by thermotaxis exhibit high DNA integrity, specific head morphometry, and improve ICSI outcome. *Journal of Animal Science and Biotechnology* 14:11. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00810-3>
- Evans, H. E., and Sack, W. O. 1973. Prenatal development of domestic and laboratory mammals: Anatomy and physiology. Cornell University Press.
- Fatet, A., Pellicer-Rubio, M. T., & Leboeuf, B. 2011. Reproductive cycle of goats. *Animal Reproduction Science*, 124(3–4), 211–219
- Hafez, B., and Hafez, E. S. E. 2000. Reproduction in Farm Animals (7th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Hidalgo M.D., Gil M.C., de Llera H.A., Perez C.J., Bragado M.J., Marin G.L.J. 2018. Boar sperm hyperactivated motility is induced by temperature via an intracellular calcium-dependent pathway. *Reprod Fertil Dev.* 30:1462-1471. <https://doi.org/10.1071/RD17549>
- Hoang H.D., Miller M.A., 2017. Sperm navigation mechanisms in the female reproductive tract. *Results Probl Cell Differ.* 59:241-267. https://doi.org/10.1007/978-3-319-44820-6_9

- Huang T.K., Huang C.H., Chen P.A., Chen C.H., Lu F., Yang W.J., Huang J.Y.J., Li B.R. 2024. Development of a thermotaxis and rheotaxis microfluidic device for motile spermatozoa sorting. *Biosens Bioelectron.* 258:116353. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2024.116353>
- Hwang, B., Lee, D., Hwang, S. J., Baek, J. H., & Kim, B. 2019. Rheotaxis-based high-throughput motile sperm sorting device. *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing*, 20(6), 1037–1045. <https://doi.org/10.1007/s12541-019-00117-w>.
- Kang, H., An, T., Lee, D., & Kim, B. 2019. Gravity and rheotaxis-based sperm sorting device employing a cam-actuated pipette mechanism. *Review of Scientific Instruments*, 90(8), 084101. <https://doi.org/10.1063/1.5109980>
- Leboeuf B., Restall B., and Salamon S. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination, *Animal Reproduction Science*, Volume 62, Issues 1–3, 2000, Pages 113-141
- Mundt F., Spehr M., Lishko P.V. 2018. TRPV4 is the temperature-sensitive ion channel of human sperm. *eLife*. 7: e35853. <https://doi.org/10.7554/eLife.35853>
- Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W. (2019). *Veterinary Reproduction and Obstetrics* (10th ed.). Elsevier Health Sciences.
- Pérez-Cerezales, S., Boryshpolets, S., & Eisenbach, M. 2015. Behavioral mechanisms of mammalian sperm guidance. *Asian Journal of Andrology*, 17(4), 628–632. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.153303>
- Pérez-Cerezales, S., Laguna-Barraza, R., de Castro, A. C., Sánchez-Calabuig, M. J., Cano-Oliva, E., de Castro-Pita, F. J., Montoro-Buils, L., Pericuesta, E., Fernández-González, R., & Gutiérrez-Adán, A. 2018. Sperm selection by thermotaxis improves ICSI outcome in mice. *Scientific Reports*, 8(1), 2902. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21276-5>.
- Senger, P. L. 2012. *Pathways to Pregnancy and Parturition* (3rd ed.). Current Conceptions Inc.
- Söderquist L., Madrid-Bury N., Rodriguez-Martinez, H., 1997. Assessment of ram sperm membrane integrity following different thawing procedures. *Theriogenology*. 48:1115-1125. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(97\)00344-0](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(97)00344-0)
- Swain DK., Vergara C., Castro-Arnau J. 2025. The essential calcium channel of sperm CatSper is temp gated. *Nat Commun.* 16, 3657. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-58824-0>
- Heras, S.S., Sakkas, D., and Miller, D.J. 2023. Sperm selection by the oviduct: Perspectives for male fertility and assisted reproductive technologies. *Biology of Reproduction* 108:553-562. <https://doi.org/10.1093/biolre/ioac224>
- Teves, M. E., Guidobaldi, H. A., Uñates, D. R., Sánchez, R., Miska, W., Publicover, S. J., Morales, P., & Giojalas, L. C. 2006. Molecular mechanism for human sperm chemotaxis mediated by progesterone. *PLoS ONE*, 4(12), e8211. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008211>.
- Xiao W, Yu M, Yuan Y, Liu X, Chen Y. Thermotaxis of mammalian sperm. *Mol Hum Reprod.* 2022; 28: gaac027. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaac027>.

ÖZGEÇMİŞ

Uğur ŞEN. İlköğretim ve Ortaöğretim eğitimini 1985-1993 yılları arasında Adana Yüreğir İlçesine bağlı Töbank ilköğretim okulunda tamamladı. Lise eğitimini 1993-1996 yılları arasında Adana Yüreğir ilçesine bağlı Mobil Ticaret Meslek Lisesi Bilgisayarlı Muhasebe bölümünde tamamladı. Daha sonra 1999 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni bölümünü kazanıp 1999-2003 yılları arasında lisans eğitimini tamamlayarak Ziraat Mühendisi ünvanını aldı. 2004-2017 yılları arası Zirve Tarım Hayv. A.Ş de Antalya Bölge satış müdürü olarak çalıştı. 2017 yılından günümüze kadar kendisine ait tarımsal proje ve hibe danışmanlık faaliyet konulu şirkette faaliyetlerine devam etmektedir.

