

## Farklı antioksidanlarla dondurulan Saanen teke spermasının in vitro ve in vivo değerlendirilmesi

Recai KULAKSIZ<sup>1</sup>, Ali DAŞKIN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, Ankara.

**Özet:** Çalışmada, Saanen teke spermasının farklı antioksidanlar içeren yağsız süt tozu sulandırıcısı ile dondurulmasının başlıca spermatolojik özellikler ve fertilité parametreleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlandı. Araştırmada toplam 4 adet Saanen tekesinden sun'i vajen ile alınan ejakülatlar kullanıldı. Çift ejakülat olarak alınan spermalarda başlıca spermatolojik özellikler saptandı ve normospermi kalitesine sahip ejakülatlar birleştirildi. Araştırma ve kontrol gruplarında sperma örnekleri split ejakülat biçiminde değerlendirildi. Split örnekler farklı antioksidanlarla desteklenmiş (5 mM sistein ve 1000 µg/ml hyaluronik asit) % 5 gliserol ve % 10 yumurta sarısı içeren yağsız süt tozu (YST) sulandırıcısı ile sulandırıldı. Sulandırılmış sperma içeren payetler +4 °C'de 2 saat ekilibre edildi, sıvı azot buharında (-120 °C'da 15 dakika) donduruldu ve sıvı azot (-196 °C) içinde saklandı. Dondurulmuş spermalar su banyosunda 37 °C'de 30 saniyede çözdüldü. Çözdürme sonrası değerlendirmelere göre, sistein, hyaluronik asit antioksidanları içeren ve antioksidan içermeyen (kontrol grubu) gruplarda spermatozoa motilitesi sırasıyla % 44.0, % 30.5, % 39.5 olarak kaydedildi. Anormal spermatozoa oranı ve anormal akrozom oranı sırasıyla % 52.8, % 53.6, % 59.1, % 35.9, % 38.3, % 40.4 bulundu. Ölü spermatozoa oranı ise % 48.8, % 58.1, % 53.8 olarak saptandı. Spermatozoa motilitesi yönünden sistein ve yağsız süt tozu (kontrol) sulandırıcıları ile hyaluronik asit arasında istatistiki olarak önemli bir fark belirlenirken (p<0.01), ölü spermatozoa oranı, anormal spermatozoa ve akrozoma bağlı anormal oranı yönünden istatistiki olarak önemli bir fark belirlenmedi (p>0.05). Sistein, hyaluronik asit içeren ve içermeyen (kontrol) yağsız süt tozu ile dondurulmuş spermalarla servikal tohumlamalardan elde edilen gebelik oranları sırasıyla % 50, % 50, % 40, doğum oranları ise % 33.3, % 16.6, % 20 olarak belirlendi. Sistein, hyaluronik asit ve yağsız süt tozu (kontrol) sulandırıcıları ile tohumlanan keçilerde, gebelik ve doğum oranları arasında istatistiki olarak önemli bir fark bulunmadı (p>0.05). Sonuç olarak, sisteinin spermatolojik özellikleri geliştirdiği ve fertilité parametreleri üzerine olumlu bir etki yaptığı belirlendi.

Anahtar sözcükler: Antioksidanlar, dölvörümü, spermanın dondurulması, teke sperması

### In vivo and in vitro evaluation of Saanen buck semen frozen with different antioxidants

**Summary:** In this study, it was aimed to investigate the effect on principle sperm characteristics and fertility parameters of freezing of Saanen buck semen with skimmed milk powder extender containing different antioxidants. Ejaculates collected by artificial vagina from a total of 4 Saanen buck were used in the study. Principle spermatological characteristics were determined in semen collected as double ejaculation and ejaculates having normospermie quality were pooled. Semen samples were evaluated as split ejaculate in the experiment and control groups. Split samples were extented with skimmed milk powder (SMP) extender containing 5 % glycerol, 10 % egg yolk and supplemented with different antioxidants (5 mM cysteine and 1000 µg/ml hyaluronic acid). Straws contain extended semen was equilibrated at +4 °C for 2 h, frozen in vapor of (15 min at -120 °C) liquid nitrogen and stored in liquid nitrogen. Frozen semen was thawed in a water bath at 37 °C for 30 seconds. According to post-thawing assessments, the sperm motilities in semen extended with skimmed milk powder containing antioxidants cysteine or hyaluronic acid or without any antioxidant (control group) were recorded as 44.0 %, 30.5 % and 39.5 % respectively. The percentage of abnormal spermatozoa and abnormal acrosome were found 52.8 %, 53.6 %, 59.1 %, 35.9 %, 38.3 %, 40.4 % respectively. The percentage of dead spermatozoa was recorded as 48.8 %, 58.1 %, 53.8 %. Regarding the spermatozoal motility, it was significantly (p<0.01) higher for the extenders containing cysteine or skimmed-milk powder (control) as compared to the extender containing hyaluronic acid, however there was no such difference (p>0.05) between the there extenders given based on the rates of dead spermatozoa, abnormal spermatozoa and abnormal acrosome. Pregnancy and parturition rates obtained from semen frozen with skimmed milk powder extender contains cysteine, hyaluronic acid and no additive (control) were determined 50 %, 50 %, 40 % and 33.3 %, 16.6 %, 20 % respectively. No significant differences were determined statistically between pregnancy and parturition rates in goat which were inseminated with cysteine, hyaluronic acid and skimmed milk powder (control) extenders (p>0.05). In conclusion, it was determined that cysteine had a favourable effect upon the improvement of spermatological characteristics and fertility parameters.

Key words: Antioxidants, buck semen, fertility, freezing of semen.

## Giriş

Ülke hayvancılığının potansiyelinde önemli bir yere sahip olan keçi yetiştiriciliğimizin et, süt, tiftik, deri, kıl gibi verimlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Hayvansal üretimin artırılması, çevre koşullarının iyileştirilmesi yanında, hayvan ırklarının genotiplerinin ıslahı ile mümkündür ve ıslah çalışmalarının yürütülmesindeki en önemli araç suni tohumlamadır (25). Ülkemizde süt keçiciliğine karşı giderek artan bir talep vardır. Keçi yetiştiriciliğinde damızlık gereksinimini karşılamak üzere Saanen ırkı sütçü genotipler gerekmektedir. Bu noktada dondurulmuş teke sperması ile yapılacak sun'i tohumlamaların önemi daha da artmaktadır (13).

Teke spermasının kısa veya uzun süreli saklanması yaygın olarak kullanılan sulandırıcılar yağsız inek sütü- glukoz, tris-sitrik asit-glukoz- yumurta sarısı ve Na-sitrat-glukoz-yumurta sarısı sayılabilir (7, 20). Spermanın dondurulmasında kullanılacak sulandırıcıda kriyoprotektif maddelerin bulunması gereklidir. Sulandırıcıda antioksidanların kullanılması, yumurta sarısı, gliserol gibi kriyoprotektanların daha düşük konsantrasyonlarında kullanılmasını sağlamaktadır. Antioksidan maddelerin aynı zamanda kriyoprotektan da olması, bu maddelerle dondurulan spermalardan daha iyi sonuçlar alınmasını sağlamaktadır (15,19).

Dondurulmuş-çözdürülmüş spermada azalan antioksidan kapasite ve artan reaktif oksijen radikal oluşumu, spermatolojik özellikleri ve fertilitiyi olumsuz etkiler. Dondurulmuş- çözdürülmüş sperma, taze spermaya göre peroksidasyona daha duyarlıdır. Son zamanlardaki araştırmalar spermanın saklanması sırasında fertilitiyeye yol açan en önemli sebep olarak spermatozoon membran lipidlerinin peroksidasyonunu göstermektedir. Bu nedenle teke spermasının dondurulmasında, çözdürme sonrası spermatolojik parametreler üzerine olumlu etkileri olabileceği düşünüldüğünden, sperma sulandırıcılarına antioksidan maddeler katılmaktadır (5, 22).

Antioksidan bileşiklerin etki şekli ve etkinlik düzeyi oldukça farklıdır. Genelde antioksidanlar, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin temizlenmesi, oksidatif stresle hasarlanmış dokuların tamiri, diğer antioksidanların onarımı veya yenilenmesi ve metal şelasyonu gibi oldukça farklı etki şekillerinden birini veya bir kaçını ortaya koyarlar. İdeal bir antioksidan bilinen bu etki şekillerinden birçoğunu yerine getirebilme özelliğine sahiptir (5).

Tiol terimi sülfür içeren bileşikleri ifade eder ve sistein, metionin, taurin, glutatyon thiol bileşiklerdir. Tiol içeren aminoasitlerden biri olan sistein GSH (Glutatyon) sentezinde rol oynaması yanında, serbest radikallerle ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. Sistein ise, çeşitli oksidanları indirgeyerek ve temizleyerek antioksidan etkinlik gösterir (16).

Hyaluronan ya da hyaluronik asit bir glikozaminoglikan olup, antioksidan özelliklere sahiptir. Radikal oluşumuna neden olan  $Fe^{2+}$  ve  $Cu^{2+}$  gibi ağır metallerle şelat yaparak, etkinlik gösterir (2).

Bu çalışmada, Saanen teke spermasının sistein ve hyaluronik asit antioksidanları içeren yağsız süt tozu sulandırıcısı ile dondurulmasının çözdürme sonrası başlıca spermatolojik özellikler ve fertilitiyeye parametrelerine etkilerinin karşılaştırılması amaçlandı.

## Materyal ve Metot

Bu çalışmadaki hayvan materyalini Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zooteknik Bölümü Hayvancılık İşletmesinde bulunan 2 yaş ve üzerindeki 4 adet Saanen tekesi ve Ankara ili Haymana ilçesi Oyaca beldesindeki bir yetiştiriciye ait yaşları 2,5-5 arasında değişen 21 adet Saanen keçileri oluşturdu.

Bu çalışmada, her tekedan 10'ar ejakülat olmak üzere toplam 40 ejakülat alındı. Spermalar sun'i vajen yöntemiyle haftada iki kez alınarak, elde edilen ejakülatlar sperma alma yerinde hazırlanan laboratuvarında başlıca spermatolojik özelliklerden ejakülat miktarı (ml), spermatozoa motilitesi (%), spermatozoa yoğunluğu ( $\times 10^6/ml$ ), ölü spermatozoa oranı (%), anormal spermatozoa oranı (%), anormal akrozom oranı (%) ve pH yönüyle değerlendirildi.

Spermanın dondurulması için sistein ve hyaluronik içeren yağsız süt tozu sulandırıcısı (9 g yağsız süt tozu, 0.9 g glukoz, 100 IU/ml kristal penisilin ve 1mg/ml streptomisin) kullanıldı.

### Sulandırıcı kompozisyonları:

- 1) YST-1 : 5 mM sistein + % 5 gliserol + % 10 yumurta sarısı
- 2) YST-2 : 1000  $\mu g/ml$  hyaluronik asit + % 5 gliserol + % 10 yumurta sarısı
- 3) YST-3 (Kontrol) : % 5 gliserol + % 10 yumurta sarısı

Dört farklı Saanen tekesinden elde edilen spermalar deney tüpünde birleştirilip karışım elde edildikten sonra, üç eşit kısma ayrılarak split örnekler oluşturuldu. Split örnekler 3 farklı sperma sulandırıcısı ile bir tohumlama dozunda (0,25ml)  $200 \times 10^6$  motil spermatozoa bulunacak şekilde sulandırılarak dozlandı. Sulandırılan spermalar 0,25 ml'lik payetlere çekildikten sonra  $+4^\circ C$ 'de 2 saat ekilibrasyona bırakıldı. Ekilibrasyondan sonra payetler sıvı azot seviyesinin 4 cm üzerinde ( $-120^\circ C$ ) sıvı azot buharında 15 dakikada donduruldu ve sıvı azota daldırılarak saklandı.

Dondurulmuş spermalardan her grup için 10 olmak üzere 3 sulandırıcısı için toplam 60 payet  $37^\circ C$ 'lik su banyosunda 30 saniyede çözdürüldükten sonra spermatozoa motilitesi, anormal spermatozoa oranı, anormal akrozom oranı ve ölü spermatozoa oranı yönüyle değerlendirildi.

**Keçilerin senkronizasyonu:** 21 Keçiye ekim ayı ortasında (Ekim-2007) 11 gün süre ile intravaginal sünger (20 mg Florogeston asetat, FGA, Chorogest<sup>®</sup>, İntervet) uygulandı ve süngerlerin alınımından iki gün önce de 300 IU ECG (Folligonan, İntervet) ve 1 ml PGF<sub>2α</sub> analogu olarak cloprostenol sodyum (Estrumate<sup>®</sup>, DİF, 10 ml, 1 doz 526 mg=2ml) i.m olarak verildi. Sünger uygulanan keçilerden 4'ünün süngerleri düştüğünden araştırmaya 17 keçi dahil edildi.

**Keçilerin tohumlanması:** Keçiler süngerlerin çıkarılmasından 45 saat sonra kızgınlık tespiti yapılmadan sabit zamanlı olarak, bir tohumlama dozunda (0.25 ml) 200x10<sup>6</sup> motil spermatozoa bulunacak şekilde dozlanarak dondurulmuş spermalarla servikal yöntemle tohumlandı. Geri dönmeme oranı (NRR-30) süngerin uygulamasından 15 gün sonra başlanarak 30. güne kadar arama tekelerinin yardımı ile saptandı.

Araştırmada, her antioksidan ve kontrol grubuna ait spermatozoa motilitesi, anormal spermatozoa, anormal akrozom ve ölü spermatozoa oranlarının karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi test istatistiği kullanıldı. Farklılık çıkan grupların karşılaştırılmasında Duncan testi kullanıldı. Bu sulandırıcılarla yapılan tohumlamalar sonucunda elde edilen gebelik ve doğum oranlarının karşılaştırılmasında Fisher's Exact test istatistiği kullanıldı. İstatiksel analizlerde SPSS 14.0 (Lisans no:9869264) paket programı kullanıldı (24).

### Bulgular

Birleştirilmiş taze spermalarda, ortalama ejakülât miktarı 4.90±0.30 ml, spermatozoa motilitesi % 77±4.80, spermatozoa yoğunluğu 3.62±0.41 (x10<sup>9</sup>/ml), ölü spermatozoa oranı % 11.10, anormal spermatozoa oranı % 11.80 ±1.92, anormal akrozom oranı % 2.58±0.80, pH 6.50±0.04 olarak belirlendi.

Tablo 1. Farklı antioksidanlar içeren yağsız süt tozu sulandırıcısıyla dondurulmuş teke spermasında çözündürme sonrası başlıca spermatolojik özellikler (n=10)  
Table 1. Post-thawing principle spermatological characteristics in buck semen frozen with skimmed milk powder extender containing different antioxidants (n=10)

Spermatolojik özellikler	YST-1	YST-2	YST-3	p
Spermatozoa motilitesi (%)	44.00±1.44 <sup>a</sup>	30.50±1.57 <sup>b</sup>	39.50±3.11 <sup>a</sup>	p<0.01
Ölü spermatozoa oranı (%)	48.81±2.65	58.13±1.54	53.85±3.80	p>0.05
Anormal spermatozoa oranı (%)	52.81±2.55	53.67±1.92	59.14±2.20	p>0.05
Anormal akrozom oranı (%)	35.95±2.13	38.32±2.32	40.42±2.50	p>0.05

a, b: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemlidir

Sulandırıcılar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmelerde çözündürme sonrası spermatozoa motilitesi için grup ortalamaları oranı fark önemli olurken (p<0.01), ölü spermatozoa oranı, anormal spermatozoa ve akrozoma bağlı anormal spermatozoa oranları yönüyle gruplar arasında kaydedilen farklılıklar ise önemsiz (p>0.05) bulundu (Tablo 1).

Saanen ırkı keçilerde YST-1, YST-2, YST-3 sulandırıcıları ile dondurulmuş spermalarla elde edilen gebelik ve doğum oranları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli (p>0.05) bulunmadı (Tablo 2).

Tablo 2. Farklı farklı antioksidanlar içeren yağsız süt tozu sulandırıcısıyla dondurulmuş teke spermalarından elde edilen fertilité parametreleri

Table 2. Fertility parameters from buck semen frozen with skimmed milk powder extender containing different antioxidants

Fertilité parametreleri	YST-1	YST-2	YST-3	p
Gebelik oranı (%)	3/6 (%50)	3/6 (%50)	2/5 (%40)	p>0.05
Doğum oranı (%)	2/6 (%33.3)	1/6 (%16.6)	1/5 (%20)	p>0.05

### Tartışma ve Sonuç

Keçilerde dondurulmuş spermayla ile yapılan tohumlamalardan elde edilen fertilité oranı büyükbaş hayvanlardaki tohumlamalardan daha düşüktür. Bunun nedeni kullanılan sulandırıcıların, sperma dondurma ve tohumlama tekniklerinin yeterince geliştirilmemiş olmasıdır. Teke sperması için kullanılan sperma yıkama, sulandırma, dondurma tekniklerinin optimum motilité ve fertilitéyi sağlayacak niteliğe kavuşturulması için bu yönde araştırmalar devam etmektedir (8).

Son yıllarda seminal plazmanın da doğal komponentleri olan taurin, hypotaurin, BSA, inositol, prolin, SOD, catalase, BHT, desferal, askorbik asit ve alfa-tokoferol gibi maddelerin antioksidan özelliklerinden faydalanma yoluna gidilmiştir (18).

Uysal ve Bucak (27)'in koç spermasını 5 mM, 10 mM ve 20 mM sistein ekledikleri ve sisteinsiz tris (kontrol) sulandırıcılarıyla dondurdukları çalışmadan elde ettikleri spermatozoa motilitesi, 10 mM sistein içeren sulandırıcı grubu hariç paralellik göstermektedir.

Pena ve ark. (17) sperma sulandırıcılarına hyaluronik asit katılmasının motilité kaybını azalttığı ve spermatozoon membran bütünlüğünü daha iyi koruduğunu saptamışlardır. Mara ve ark. (14) teke spermasını yağsız süt tozu, tempol ve tempol+hyaluronik asit sulandırıcıları kullanarak 4°C 'de 24 saat kısa süreli olarak saklamışlar ve hyaluronik asit eklenmiş sulandırıcı grubunun spermatozoa motilitesini daha iyi koruduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada hyaluronik asit eklenen sulandırıcıdaki spermatozoa motilitesi, sistein eklenmiş

ve yağsız süt tozu (kontrol) sulandırıcılarından düşük bulunmuştur. Bu durum, hyaluronik asitin dozunun yüksek olmasından kaynaklanmış olabileceği gibi, yağsız süt tozu sulandırıcısı ile olumsuz etkileşimi neden olmuş olabilir.

Salvador ve ark. (21) teke spermasını 5 mM sistein ve yağsız süt tozu (kontrol) sulandırıcıları kullanarak 4°C 'de 72 saat kısa süreli olarak saklamışlar, sistein eklenmiş sulandırıcı gruplarıyla kontrol grubu arasında 72. saatin sonunda spermatozoa motilitesi bakımından istatistiksel bir fark bulunmadığını ifade etmişlerdir.

Bucak ve Uysal (3) Saanen teke spermasını 5 mM sistenli, 25 mM taurin, 50 mM trehaloz katılan ve antioksidansız tris sulandırıcılarıyla dondurdukları spermallerden çözündürme sonrası elde ettikleri % 64, % 46, % 54, % 53'lük motilite, Sinha ve ark. (22)'nin, tris, 2mM glutatyon ve 5 mM glutatyon içeren tris sulandırıcıları kullanarak Beetal, Black Bengal ve Melez olmak üç farklı ırka ait teke spermasını dondurdukları çalışmadan elde ettikleri % 47.80, % 48.90, % 53.63'lik spermatozoa motilitesinden düşüktür.

Cabrera ve ark. (4)'nin Kanarya ırkı tekelerde yaptıkları çalışmada ise çözündürme sonrası yıkanmış ve yıkanmamış spermada buldukları % 72 ve % 69,6 ölü spermatozoa oranları ile Choe ve ark. (6)'nin Kore'nin yerli tekelerinde yaptıkları çalışmada, çözündürme sonrası % 97'lik ölü spermatozoa oranlarından düşük bulunmuş, Bucak ve Uysal (3)'in Saanen teke spermasını 5 mM sistenli ve tris (kontrol) sulandırıcılarıyla çözündürme sonrası, % 18.25 ve % 27.60'lik ölü spermatozoa oranlarından yüksek bulunmuştur. Funahashi ve Sano (10) domuz spermasını sulandırmak için 5 mM sistein katılmış sulandırıcının spermatozoonların membran bütünlüğünü daha iyi koruduğunu ortaya koymuşlardır.

Uysal ve ark. (26) farklı antioksidanlar eklenmiş sulandırıcıyla boğa spermasını dondurmuşlar ve hyaluronik asit ve sistein eklenmiş gruplarda anormal spermatozoa oranlarını sırasıyla % 8.1 ve % 11 olarak tespit etmişlerdir. Ateşşahin ve ark. (1) Ankara teke spermasını 5 mM, 10 mM ve 15 mM sistein ekledikleri ve sisteinsiz tris (kontrol) sulandırıcılarıyla dondurdukları çalışmadan elde ettikleri akrozoma bağlı anormal spermatozoa oranlarını % 9, % 9.5, % 6.6 ve % 8.7 olarak bulmuşlardır. Bu değerler, çalışmadaki gruplarda belirlenen anormal akrozom oranlarının çok altındadır.

Çözündürme sonrası, spermatolojik özelliklerde gözlenen farklılıklar, dondurma işleminde kullanılan sulandırıcılar ile, sulandırıcıların içerdiği komponentlerin miktar ve oranlarının, özellikle sperma sulandırıcılarına katılan antioksidanların miktar, oran ve türünün farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca spermanın sulandırılmasında ve dondurulmasında kullanılan tekniklerdeki farklılıklara, çözüm süresi ve sıcaklığındaki

değişimlere, analizi yapan kişi veya cihaza bağlı olarak meydana gelmiş olabilir. Tüm bu faktörlerin yanında, tür, ırksal, mevsimsel ve bireysel farklılıklar da spermatozoa motilitesi, ölü spermatozoa oranı, total anormal spermatozoa ve akrozoma bağlı anormal spermatozoa oranlarında farklılığa neden olmuş olabilir.

Sinha ve ark. (22) teke spermasını 2 mM, 5 mM glutatyon ve tris (kontrol) sulandırıcılarıyla dondurmuşlar sırasıyla % 49, % 51, % 59 gebelik oranları saptamışlardır. Sulandırıcı grupları arasında istatistiksel bir fark belirlenmemiştir.

Gacitua ve Arav (11) Saanen tekelerinde Andromed® sulandırıcısıyla dondurdukları spermallerden çalışmada % 39 gebelik oranı ve Çetinkaya ve ark. (9)'nin glikoz-yumurta sarısı-sodyum sitrat ile dondurdukları spermallerden, Ankara keçilerinde % 37.5 ve % 22 oranlarında elde ettikleri gebelik ve doğum oranları bu çalışmadaki gruplardan elde edilen gebelik ve doğum oranlarıyla paralellik göstermektedir.

Sungur ve ark. (23)'nin Ankara tekesi spermasını, yağsız süt tozu sulandırıcısı ile bir tohumlama dozunda  $200 \times 10^6$  motil spermatozoon bulunacak şekilde dondurdukları spermayla servikal tohumlamalardan sırasıyla % 73.33 gebelik, % 60 doğum oranı ile Karatzas ve ark. (12)'nin, Saanen teke spermasını tris-sitrik asit-fruktoz-gliserol sulandırıcıyla sulandırıp, 0,25 ml payetlerde  $250-300 \times 10^6$  motil spermatozoon olacak şekilde payetlere çekildikten dondurdukları spermallerden elde ettikleri % 55 doğum oranı bu çalışmadaki gebelik ve doğum oranlarından yüksektir.

Bu çalışmadaki gruplardan elde edilen gebelik ve doğum oranları ile diğer araştırmacıların bildirdikleri bulgular arasındaki kimi farklılıklar, değişik ırk keçilerde çalışılmış olmasından kaynaklanabileceği gibi, tohumlama dozu, tohumlama yöntemi, tohumlama sayısı, tohumlanan keçi sayısı ve gebelik saptama yöntemlerinin değişik olmasından ileri gelmiş olabilir. Ayrıca değişik sperma sulandırıcılarına katılan antioksidanların miktar, oran ve türünün farklı olması, sulandırma ve dondurma teknikleri ve senkronizasyon yöntemleri etki etmiş olabilir.

Sonuç olarak, tekelerde dondurulmuş spermanın fertilité yeteneğini artırmak için, sulandırıcılara bazı antioksidan maddeler katılmaktadır. Genel olarak olumlu etkileri olmakla birlikte, antioksidanların etkinlikleri hayvan türüne, sulandırıcı bileşenlerine ve dondurma protokollerine göre değişmektedir. Bu çalışmada sperma sulandırıcılarına katılan antioksidanlardan sisteinin dondurma-çözündürme sonrası spermatolojik özellikleri hyaluronik asitten daha iyi koruduğu ve fertilité parametreleri üzerine daha olumlu etki yaptığı belirlendi.

### Kaynaklar

1. **Ateşşahin A, Bucak MN, Tuncer PB, Kızıl M** (2008): *Effect of anti-oxidant additives on microscopic and oxidative parameters of Angora goat semen following the freeze-thawing process*. Small Rum Res, **77**, 38-44.
2. **Balogh GT, Illes J, Szekely Z, Forrai E, Gere A** (2003): *Effect of different metal ions on the oxidative damage and antioxidant capacity of hyaluronic acid*. Arch Biochem Biophys, **410**, 76-82.
3. **Bucak MN, Uysal O** (2008): *The role of antioxidants in freezing of Saanen goat semen*. Indian Vet J, **85**, 148-150.
4. **Cabrera F, Gonzalez F, Batista M, Calero P, Medrano A, Gracia A** (2005): *The effect of removal of seminal plasma, egg yolk level and season on sperm freezability of Canary buck (Capra hircus)*. Reprod Dom Anim, **40**, 191-195.
5. **Chen HJ, Wu SB, Chang CM** (2003): *Biological and dietary antioxidants protect against DNA nitration induced by reaction of hypochlorous acid with nitrite*. Arch Biochem Biophys, **415**, 109-116.
6. **Choe CY Kim, JG, Cho SR, Son DS, Kim YK, Balasubramanian S, Choe SY, Rho GJ** (2006): *Influence of seasons, extenders, slow and rapid freezing on seminal characters in Korea native bucks*. Reprod Dom Anim, **41**, 55-60.
7. **Corteel JM** (1977): *Production, storage and artificial insemination of goat semen*. In: Management of Reproduction in sheep and Goats Symposium, Madison, July 24-25, pp. 41-57.
8. **Çetin A** (2006): *Teke Spermasının Fruktöz ve Laktoz Şeker İçeren Tris Tamponlu Sulandırıcıda Seyreltilmesi ve Dondurulmasının Spermatozoa Kalite Özelliklerine Etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
9. **Çetinkaya K, Çekgöl E, Ekici A** (1980): *Ankara keçisi teke spermasının spermatojistik özellikleri ve donmuş teke spermasından elde edilen döl verimi sonuçları*. Lalahan Zootekni Araştırma Derg, **20**, 68-88.
10. **Funahashi H, Sano T** (2005): *Select antioxidants improve the function of extended boar semen stored at 10°C*. Theriogenology, **63**, 1605-1616.
11. **Gacitua H, Arav A** (2005): *Successful pregnancies with directional freezing of large volume buck semen*. Theriogenology, **63**, 931-938.
12. **Karatzas G, Karagiannidis A, Varsakeli S, Brikas P** (1997): *Fertility of fresh and frozen-thawed goat semen during the nonbreeding season*. Theriogenology, **48**, 1049-1059.
13. **Kaymakçı M, Taşkın T** (2001): *Süt tipi keçi yetiştiriciliği ve kıl keçilerinde verimliliği artırma yolları*. Çivril Tarımı ve Sorunları Sempozyumu, 13-14 Eylül, Çivril- Denizli.
14. **Mara L, Dattena M, Pilichi S, Sana D, Branca A, Cappai P** (2007): *Effect of different diluents on goat semen fertility*. Anim Reprod Sci, **102**, 152-157.
15. **Milovano VK, Sokolovskaya II** (1980): *Long-term storage of ram semen and new possibilities of large scale selection in sheep breeding*. Vestnik Selskok Nauki, **12**, 122-132.
16. **Parcell, S** (2002): *Sulfur in human nutrition and applications in medicine*. Altern Med Rev, **7**, 22-44.
17. **Pena, FJ, Johannisson AM, Rodriguez-Martinez H** (2004): *Effect of hyaluronan supplementation on boar sperm motility and membrane lipid architecture status after cryopreservation*. Theriogenology, **61**, 63-70.
18. **Pomares CC, Stojanov T, Eppleton J, Maxwell VMC** (1996): *Effect of glutathione peroxidase on the survival of the goat and ram spermatozoa during liquid storage*. Proc 7 th. Int Symp Spermatoz Abstr, **9**, 24-28.
19. **Purdy PH** (2006): *A review on goat sperm cryopreservation*. Small Rum Res, **63**, 215-225.
20. **Ritar AJ, Ball PD, O'may PJ** (1990): *Examination of methods for the deep freezing of goat semen*. Reprod Fertil Dev, **2**, 27-34.
21. **Salvador I, Yániz J, Viudes-de-Castro MP, Gómez EA, Silvestre MA** (2006): *Effect of solid storage on caprine semen conservation at 5°C*. Theriogenology, **66**, 974-981.
22. **Sinha MP, Sinha AK, Prasad RL** (1996): *The effect of glutathione on motility, enzyme leakage and fertility of frozen goat semen*. Anim Reprod Sci, **41**, 237-243.
23. **Sungur H, Goncagül T, Özsar S** (1993): *Ankara keçilerinde sıfat mevsiminde dondurulmuş ve taze sperma ile sun'i tohumlama çalışmaları ve fertilitate kontrolü*. Lalahan Hay Arş Ens Der, **33**, 59-64.
24. **Sümbüloğlu K, Sümbüloğlu V** (1993): *Biyostatistik*. 4.Baskı, Özdemir Yayıncılık.
25. **Tekin N, Muyan M** (1985): *Keçilerde başlıca dölerme özellikleri*. Doğa, **9**, 208-218.
26. **Uysal O, Bucak MN, Yavaş İ, Varışlı Ö** (2007): *Effects of various antioxidants on the quality of frozen-thawed bull semen*. J Anim Vet Adv, **6**, 1362-1366.
27. **Uysal O, Bucak MN** (2007): *Effects of oxidized glutathione, bovine serum albumin, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen*. Acta Vet Brno, **76**, 383-390.

Geliş tarihi: 29.04.2008 / Kabul tarihi: 15.07.2008

#### Yazışma adresi:

Recai Kulaksız  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı  
06110 Dışkapı/Ankara  
e-posta: recaikulaksiz@gmail.com