

**T.C.
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJESİ
KESİN RAPORU**

**FARKLI TAURİN DOZLARININ VE DONDURMA HIZININ
KOÇ SPERMASININ DONDURULMASI ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Proje yürütücüsü:
Prof. Dr. Necmettin Tekin**

**Proje no:
2003.08.10.052**

**Başlama ve bitiş tarihi:
01 Eylül 2003
01 Eylül 2004**

**Rapor tarihi:
21 Ekim 2004**

**Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Ankara - 2004**

I. Projenin Türkçe ve İngilizce Adı ve Özetleri

Koç Spermasının Antioksidan İçeren Farklı Sulandırıcılarda Dondurulması Ve İn Vitro Değerlendirilmesi.

Çalışmada koç spermalarının dondurulması/çözdürülmesi sonrası kimi spermatolojik değerler üzerine sperma sulandırıcısına katılan farklı dozlarda antioksidan (taurin) ile değişik hızlarda soğutmanın etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Araştırmada toplam 3 koçtan (Akkaraman, Sakız, Ramlıç) sun'i vagina ile alınan ejakülatlar kullanılmıştır. Çift ejakülat olarak alınan, başlıca spermatolojik özellikleri belirlenen ve normospermi gösteren ejakülatlar birleştirilmiştir. Spermaların sulandırılmasında Tris sulandırıcısına %4 oranında gliserin ilaveli ana solusyon kullanılmıştır. Araştırma gruplarında spermalar split ejakülat biçiminde değerlendirilmiştir. Spermaların sulandırılması ve dozlanması farklı taurin (20, 50 ve 80 mM) dozları içeren Tris sulandırıcısı ile yapılmıştır. Ayrıca taurin içermeyen kontrol grubu da oluşturulmuştur. Sulandırılan ve 0.25 ml lik payetlere çekilen spermalar programlanabilir makinada farklı soğutma hızlarında (I- 15 °C/dak; II- 10 °C/dak; III- 5 °C /dak) dondurulmuştur.

Dondurulan spermalar su banyosunda 40°C de 10 saniye tutularak çözdürülmüşlerdir. Çözdürme sonrası yapılan değerlendirmelerde sulandırıcıda 20, 50 ve 80 mM taurin içeren ve taurin içermeyen (kontrol) gruplarında spermatozoa motilitesi % 38.7, 31.1, 26.5 ve 34.4; anormal spermatozoa oranı %18.6, 18.4, 17.0 ve 18.9; ölü spermatozoa oranı %52.2, 60.3, 61.5 ve 54.7 olarak kaydedilmiştir. Soğutma hızı gruplarında (I, II, III) ise, çözdürme sonrası spermatozoa motilitesi %30.0, 33.1, 32.0; anormal spermatozoa oranı 17.7, 17.7, 23.0 ve ölü spermatozoa oranı 62.0, 54.0, 57.0 olarak saptanmıştır.

Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, koç spermasının dondurulmasında farklı taurin dozlarının ve dondurma hızlarının istatistik değerlendirmede önemli farklılıklar göstermediği belirlenmiştir.

Cryopreservation With Different Extenders Containing Antioxidant of Ram Semen and In Vitro Evaluation.

In this study, it was aimed that to investigate of effect of different doses antioxidant (taurine) added to extender and various cooling rates on some spermatological parameters after freezing/thawing of ram semen.

Ejaculates collected by artificial vagina from 3 rams (Akkaraman, Sakız, Ramlıç) were used in the study. Ejaculates collected double ejaculation, determined principle spermatological

properties and showed normospermie were pooled. It was used main solution that is Tris extender containing 4% glycerol in semen dilution. Samples were evaluated as split ejaculate in the experiment groups. Samples were extended with Tris extender containing different taurine doses (20, 50 ve 80 mM). Also It was formed control group that is not contain taurine. Diluted samples withdrawn to 0.25ml straws were frozen in programmable freezer at different cooling rates (I- 15 °C/min; II- 10 °C/min; III- 5 °C/min).

Later on, the straws were thawed in a water bath at 40 °C for 10 seconds. After the examinations were performed, in the semen which was diluted with tris diluent containig 20, 50, 80 mM taurine and control group, the spermatozoal motility values were 38.7, 31.1, 26.5 and 34.4 %; the percentages of abnormal spermatozoa were 18.6, 18.4, 17.0 and 18.9 %; the percentage of dead spermatozoa were 52.2, 60.3, 61.5 and 54.7 % respectively. If groups of cooling rate (I, II, III), post-thaw motility values were 30.0, 33.1, 32.0 %; the percentages of abnormal spermatozoa were 17.7, 17.7, 23.0 % and the percentages of dead spermatozoa were 62.0, 54.0, 57.0 %.

According to the obtained results, it was determined that different taurine doses and cooling rates were not showed significant differences as statistically in the cryopreservation of ram semen.

II. Amaç ve Kapsam

Koç sperması kısa süreli (likid saklama) ya da uzun süreli (dondurularak) payet, pelet ve ampul biçiminde saklanabilmektedir (8). Ancak koç sperması dondurma işlemleri ve soğuk şokuna karşı oldukça dayanıksız olduğundan, çözdürme sonrası spermatozoa motilitesi belirli bir ölçüde düşmekle birlikte, özellikle akrozom bütünlüğünün bozulması nedeniyle spermalardan elde edilen dölverimi de düşmektedir (16). Koç spermasının dodurulmasında şimdilerde üzerinde en çok çalışılan konu dondurma hızı, sperma sulandırıcıları ve içerisine katılan antioksidan maddelerdir. Bugüne kadar koç spermasının sulandırılmasında TRIS ve benzeri geleneksel solusyonlar yanında son yıllarda zwitterion bufferlar denilen TES, HEPES, PIPES veya MOPS gibi buffer özelliğine sahip solusyonlar tercih edilmektedir (14, 18). Memeli hayvanların vücut sıvıları ve reproduktif dokularında da yüksek konsantrasyonlarda bulunan antioksidan maddeler eksojen olarak sperma sulandırıcılarına katıldığında lipid peroksidasyonunun spermatozoa akrozomunda neden olduğu hasarı azaltmakta ve spermatozoa motilitesinin korunmasına yardımcı olmaktadır (3).

Bu bilgiler ışığında oluşturulan çalışmada daha değişik dondurma sürelerinde uygun buffer özelliğine sahip sulandırıcı ve antioksidan maddelerle spermatozoon membranında lipid

peroksidasyonunu önleyerek dondurmanın olumsuz etkilerinden korunması ile koç spermasının daha başarılı dondurulması ve dolayısıyla dölveriminin yükseltilmesi amaçlanmıştır.

Bu araştırmada, koçlardan sperma sun'i vajen ile alınarak başlıca spermatolojik özellikler saptanmış ve split ejakülat biçiminde spermalar farklı miktarlarda antioksidan (taurine) içeren Tris sulandırıcısı kullanılarak farklı dondurma prosedürleri ile dondurulmuştur. Dondurulan spermalarda antioksidan olarak katılan farklı dozlarda taurine'in ve dondurma hızının etkileri çözündürme sonrası spermatozoa motilitesi, anormal spermatozoa, akrozom morfolojisi, ölü spermatozoa değerleri ile ortaya konmuştur. Böylece koç spermasının dondurulma ve çözündürülmesinde en uygun taurin dozunun ve dondurma hızının spermatozoonlar üzerine etkisinin in vitro yöntemlerle belirlenmesine çalışılmıştır.

III. Materyal ve Yöntem

Araştırmada kullanılan spermalar Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Eğitim Araştırma ve Uygulama çiftliğinde bulunan Akkaraman, Sakız ve Ramlıç ırkı üç baş koçtan alınmıştır. Koçlar Fakülte çiftliği koşullarında tutulmuş, bakım ve beslenmeleri buldukları sürü içinde yapılmıştır.

Çalışmada kullanılan ejakülatlar, sağlıklı ve normospermie özelliği gösteren koçlardan sun'i vajen yardımıyla alınmıştır. Elde edilen ejakülatlarda başlıca spermatolojik özellikler (ejakülat miktarı, spermatozoa motilitesi, spermatozoa yoğunluğu, anormal spermatozoa, ölü spermatozoa, spermanın pH değeri) belirlenmiştir.

Spermaların dondurulmasında Tris-sitrat-fruktoz sulandırıcısı (16) kullanılmıştır. Kryoprotektan etki %4 gliserol ile antioksidan etki ise her sulandırıcı grubu için 20 mM, 50 mM, 80 mM Taurine ile sağlanmıştır. Böylece, biri kontrol üçü antioksidan olmak üzere toplam dört grup oluşturulmuştur. Dondurulacak ejakülatlar birleştirilerek (miks ejakülat), homojen karışımdan kontrol ve her antioksidan grubu için spermalar split ejakülat biçiminde kullanılmıştır.

Spermaların sulandırma, dozlama (400×10^6 /ml) ve alıştırma işlemleri (2.5 saat) 5-6°C lik ortamda gerçekleştirildikten sonra, dondurulacak spermalar 0.25 ml'lik payetlere çekilmiş ve dondurma süresi ve sıcaklığı ayarlanabilen sıvı azotla çalışan otomatik programlanabilir aletle dondurma işlemi gerçekleştirilmiştir. Dondurma işleminde her antioksidan grubu için üç farklı dondurma prosedürü uygulanmıştır: 1. Dondurma: 8 dakikada -120°C (15°C/dakika); 2. Dondurma: 12 dakikada -120°C (10°C/dakika); 3. Dondurma: 24 dakikada -120°C (5°C/dakika) olarak belirlenmiştir. Dondurma işlemi tamamlandıktan sonra payetler sıvı azot içinde (-196°C) depolanmıştır.

Sıvı azotta saklanan dondurulmuş spermalar su banyosunda 40°C de ve 10 saniye içinde çözdürülmüştür. Çözdürme sonrası spermalarda spermatozoa motilitesi, anormal spermatozoa, ve ölü spermatozoa değerlendirmeleri yapılmıştır.

Her antioksidan grubu ve dondurma prosedürleri için elde edilen bulgular karşılaştırmalı olarak değerlendirilerek, istatistiki önemleri ortaya konmuştur.

IV. Analiz ve Bulgular

Bu araştırmanın istatistik çalışmalarında gruplara Kruskal Wallis testi ve ANOVA uygulanmıştır.

Tablo 1’de üç farklı ırk koçtan alınmış nativ ejakülatlarda değerlendirilen başlıca spermatozoa özelliklerine ilişkin değerler verilmektedir. Her üç koçun ejakülat miktarı, spermatozoa motilitesi, spermatozoa yoğunluğu, anormal spermatozoa oranı, ölü spermatozoa oranı ve spermanın pH değeri fizyolojik sınırlar içinde bulunmuştur. Bununla beraber ejakülat miktarı, spermatozoa yoğunluğu ve anormal spermatozoa oranı yönüyle koçlar arasında istatistik olarak önemli farklılıklar gözlenmiştir.

Tablo 1 : Nativ koç ejakülatlarında başlıca spermatozoa özelliklerine ilişkin değerler (n=10).

Koç	Ejakülat miktarı(ml) x±sx	Spermatozoa motilitesi(%) x±sx	Spermatozoa yoğunluğu(x10 ⁹) x±sx	Anormal spermatozoa oranı (%) x±sx	Ölü spermatozoa oranı (%) x±sx	pH x±sx
Akkaraman	1.04±0.2 a	70.5±13.8	2.7±0.20 a	16.5±7.9 a	17.6±6.2	6.5±0.2
Sakız	1.5±0.4 b	75.0±11.8	3.1±0.5 b	5.8±1.25 b	14.3±5.4	6.6±0.2
Ramlıç	1.3±0.4 B	75.0±14.3	3.2±0.4 c	9.5±4.2 c	16.8±7.5	6.5±0.2
Ö.D	x	—	xx	xxx	—	—

x: P<0.05 Grup ortalamaları fark önemli
xx: P<0.01 Grup ortalamaları fark önemli
xxx: P<0.001 Grup ortalamaları fark önemli
-: P>0.05 Grup ortalamaları fark önemsiz
a,b,c: Aynı sütünde farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemli

Farklı antioksidan konsantrasyonlarıyla dondurulmuş koç spermalarında alışım ve çözdürme sonrası kimi spermatozoa değerler Tablo 2’de sunulmuştur. Alışım sonrası spermatozoa motilitesi, çözdürme sonrası spermatozoa motilitesi, anormal spermatozoa oranı ve ölü spermatozoa oranı yönüyle farklı taurin konsantrasyonları ve kontrol grubu arasında istatistik yönden farklılık saptanmamıştır. Ancak 20 mM taurinle dondurulmuş koç spermalarında alışım ve çözdürme sonrası değerlendirilen spermatozoa özelliklerinin diğer gruplara göre daha yüksek değerler gösterdiği gözlenmiştir.

Tablo 2. Farklı oranlarda antioksidan içeren koç spermalarında alışım ve çözdürme sonrası kimi spermatolojik değerler (n=15).

Antioksidan (Taurin) mM	Alışım sonrası	Çözdürme sonrası		
	Spermatozoa motilitesi(%) x±sx	Spermatozoa motilitesi (%) x±sx	Anormal spermatozoa oranı(%) x±sx	Ölü spermatozoa oranı(%) x±sx
20	64.3±14.7	38.7±9.4	18.7±4.9	52.2±9.2
50	60.0±15.5	31.1±16.4	18.4±4.8	60.3±14.1
80	57.0±12.5	26.5±15.0	17.0±4.6	61.5±16.9
Kontrol	60.7±16.8	34.4±10.1	19.0±6.9	54.7±12.4
Ö.D.	–	–	–	–

-. P>0.05 Grup ortalamaları arası fark önemsiz.

Tablo 3’de farklı soğutma hızlarıyla dondurulmuş koç spermalarında çözdürme sonrası kimi spermatolojik değerler görölmektedir. Bu çalışmada farklı soğutma hızlarının çözdürme sonrası spermatolojik değerler üzerine etkileri yönüyle istatistik açıdan bulunan farklılıklar önemsiz olarak kaydedilmiştir. Ancak II. dondurma protokolünün çözdürme sonrası kimi spermatolojik özellikler üzerine diğerlerinden daha olumlu etki yaptığı görölmektedir.

Tablo 3: Farklı soğutma hızları ile dondurulan koç spermalarının çözdürme sonrası kimi spermatolojik değerler (n=15).

Soğutma hızı	Çözdürme sonrası		
	Spermatozoa motilitesi(%) x±sx	Anormal spermatozoa oranı(%) x±sx	Ölü spermatozoa oranı(%) x±sx
I - 15 °C/dk	30.0±11.0	17.7±4.3	62.0±14.1
II - 10 °C/dk	33.1±13.5	17.7±4.6	54.0±13.8
III - 5 °C/dk	32.0±18.0	23.0±17.0	56.8±20.2
Ö.D	–	–	–

-. P>0.05 Grup ortalamaları arası fark önemsiz.

Akkaraman, Sakız ve Ramlıç olmak üzere farklı ırktan dondurulmuş koç spermalarının alışım ve çözdürme sonrası kimi spermatolojik değerleri de Tablo 4’de verilmiştir. Bu araştırmada, alışım sonrası spermatozoa motilitesi, çözdürme sonrası spermatozoa motilitesi ve anormal spermatozoa değerleri yönüyle koç ırkları arasında istatistik olarak önemli farklılıklar bulunmuştur.

Tablo 4: Farklı ırktan koç spermalarının dondurulması/çözdürülmesi sonrası kimi spermatolojik değerler (n=20).

Koç ırkı	Alışım sonrası	Çözdürme sonrası		
	Spermatozoa motilitesi(%) x±sx	Spermatozoa motilitesi(%) x±sx	Anormal spermatozoa oranı(%) x±sx	Ölü spermatozoa oranı(%) x±sx
Akkaraman	48.0±15.1 a	23.4±13.8 a	15.4±2.6 a	60.7±14.6 a
Sakız	64.2±12.0 b	37.9±11.7 b	21.1±5.2 a	53.8±11.4 ab
Ramlıç	69.2±7.1 b	32.8±13.1 b	18.3±6.0 ab	51.7±13.5 b
Ö.D	xxx	xx	xx	-

xx: P<0.01 Grup ortalamaları arası fark önemli
xxx: P<0.001 Grup ortalamaları arası fark önemli
-: P>0.05 Grup ortalamaları arası fark önemsiz
a,b: Aynı sütünde farklı harfleri taşıyan grup ortalamaları arası fark önemli

V. Sonuç ve Öneriler

Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, koç spermalarının dondurulmasında farklı taurin dozlarının ve dondurma hızlarının farklılıklar göstermesine rağmen, istatistiki değerlendirmelerde önemli bulunmamıştır.

VI. Kaynaklar

1. Ayar, A.; Akdeniz, C.(1995):Ankara keçilerinde dondurulmuş sperma kullanılarak intrauterin ve intraservikal tohumlama uygulamaları.Lalahan Hay. Araş. Ens. Derg. 35, 79-86.
2. Colan, G.; Courot, M.(1977):Production of spermatozoa, storage of semen and Artificial insemination in the sheep.Proc. Symp. Management of Reproduction in Sheep and Goats.University of Wisconsin, Madison, p. 31-40.
3. Dziuk, P.T.; Lewis, J.M.;Graham, E.F.; Moyer, R.H.(1972):Comparison between natural service and artificial insemination with fresh or frozen sperm at an appointed time in the ewe.J. Anim. Sci.,35, 572-575.
4. Ewans, G.(1988):Current topics in artificial insemination of sheep.Aust. J. Biol. Sci.,41, 103-106.
5. Fitzgerald, J.A.; Stellflug, J.N.(1991):Effects of melatonin on seasonal changes in Reproduction of rams.J.Anim. Sci.,69, 264-275.
6. Graham, E.F.; Crabo, B.G.; Pace, M.M.(1978):Current status of semen preservation in the ram, boar and stallion.J Anim. Sci., 47, 80-119.
7. Kobayashi, T.; Miyasaki, T.; Natori, M.; Nozawa, S.(1991):Protective role of

- Superoxide dismutase in human sperm motility: superoxide dismutase activity and Lipid peroxidase in human seminal plasma and spermatozoa. *Hum. Reprod.*, 6, 987-
8. Maxwell, W.M.C.; Salamon, S.(1993):Liquid storage of ram semen. *Reprod. Fertil. Dev.*, 5, 613-638.
 9. Milovanov, V.K.; Sokolovskaya, I.I.(1980):Long-term storage of ram semen and new possibilities of large scale selection in sheep breeding. *Vestnic. Selskok. Nauki.*, 12, 122-132.
 10. Molinia, F.C., Ewam,G.; Maxwell, W.M.(1996):Fertility of ram spermatozoa pellet Frozen in zwitterion-buffered diluents. *Reprod. Nutr. Dev.*, 36, 21-29.
 11. Neues, J.P.(1980):Untersuchungen zur Samenübertragung beim Schaf under Besonder Berücksichtigung der Spermatiefgefrierkonservierung. Hannover Tierarztl. Hochschule Diss.
 12. Pontbriand,D.; Howard, J.G.; Schiewe, M.C.; Stuart, L.D.; Wildt, D.E.(1989):Effect of cryoprotective diluent and method of freeze-thawing on survival and acrosomal integrity of ram spermatozoa. *Cryobiology*, 26, 341-354.
 13. Sanchez-Partida, L.G.; Setchell, B.P.; Maxwell, M.C.(1997):Epididymal compounds and antioxidants in diluents for the frozen storage of ram spermatozoa. *Reprod. Fertil. Dev.*, 9, 689-696.
 14. Sevinç, A.; Tekin, N. ; Yurdaydın, N.; Kale, N. (1985) Çifteler Harası Tiftik Yekelerinin Başlıca Spermatolojik Özellikleri Üzerine Araştırmalar. *Doğa Bilim Dergisi*. 9 (3), 264-273.
 15. Shannon, P.; Curson, B.(1982):Kinetics of the aromatic L-amino acid oxidase from dead bovine spermatozoa and the effect of catalase on fertility of diluted bovine semen storage at 5⁰ and ambient temperatures. *J. Reprod. Fertil.*, 64. 463-467.
 16. Tekin, N.; Rose, A.G.Apel; Yurdaydın, N.; Yavaş, Y.;Daşkın, A.; Keskin, O.;Ethem,H.(1991):Östruları sinkronize edilen koyunlarda sun' i tohumlama yöntemiyle elde edilen dölverimi. *Ankara Univ. Vet. Fak. Derg.*, 38, 60-73.
 17. Tekin, N.; Günzel, A.R.(1986):Koç spermasının değişik sulandırıcılarda dondurulması ve in vitro değerlendirme yöntemleri üzerinde araştırmalar. *Ankara Univ. Vet. Fak. Derg.*, 33, 381-393.
 18. Tekin, N.(2000):Yetiştiricilikte sun' i tohumlamanın önemi. *Türkiye-2000 Hay. Kongr.*, 57-64, Kızılcahamam, ankara.

19. Uysal, O.; Kinet, H.; Çevik, M.; Çetinkaya, S. (2000): Değişik antioksidanlar içeren farklı sulandırıcılarla dondurulmuş koç spermalarından elde edilen dölverimi. Ankara Univ. Vet. Fak. Derg., 47, 177-189.
20. Windsor, P.P.; Szell, A.Z.; Buschbeck, C.; Edward, A.Y.; Milton, T.T.B.; Buchrell, B.C. (1994): Transservical artificial insemination of Western Australian Merino ewes with frozen-thawed semen. Theriogenology, 42, 147-157.
21. İleri İ.K. (1982): Untersuchungen zur Tiefkühlkonservierung von Schafbockspermien unter besonderer Berücksichtigung der dadurch verursachten Kopfkappenschädigungen (Doktora tezi özeti). Istanbul Univ. Vet. Fak. Derg. 8 (1), 79-95.
22. Öztürkler Y, Ak K, İleri İK (1999) Koç spermasının yoğun gliserollü sulandırıcılarda dondurulması. Istanbul Univ. Vet. Fak. Derg. 25 (2), 339-414.
23. Öztürkler Y, Ak K, İleri İK (1997) Kıvrıkcık koçlarında donma ve eritme sonrası spermatolojik özellikler üzerine mevsimin etkisi. Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg. 3 (1), 73-79.
24. Ataman, B.M., Çoyan, K. (1996): Koyunların donmuş-çözünmüş sperma kullanılarak laparoskop yardımı ile intrauterin tohumlanması. Hay. Araş. Derg., 6, 1-2:1-7.
25. Çoyan K, Aksoy M, Tekeli T, Ayar A, Ataman M (1992) Laparaskopi yardımı ile koyunların donmuş sperma kullanılarak intrauterin tohumlanması. Hay. Araş. Derg., 1, 2, 15-17.
26. Bag, S.; Joshi, A.; Naqvi, S.M.; Rawat, P.S.; Mittal, J.P. (2002) Effect of freezing temperature, at which straws were plunged into LN, on the post-thaw motility and acrosomal status of ram spermatozoa. Anim. Reprod. Sci. 72(3-4), 175-83.
27. Curry, M.R.; Millar, J.D.; Watson, P.F. (1994) Calculated optimal cooling rates for ram and human sperm cryopreservation fail to conform with empirical observations. Biol. Reprod. 51 (5) 1014-21.
28. Watson, P.F.; Duncan A.E. (1988) Effect of salt concentration and unfrozen water fraction on the viability of slowly frozen ram spermatozoa.
29. Fiser, P.S.; Fairfull, R.W.; Marcus, G.J. (1986) The effect of thawing velocity on survival and acrosomal integrity of ram spermatozoa frozen at optimal and suboptimal rates in straws. Cryobiology, 23(2) 141-9.
30. Fiser, P.S.; Fairfull, R.W. (1984) The effect of glycerol concentration and cooling velocity on cryosurvival of ram spermatozoa frozen in straws. Cryobiology, 21(5) 542-51.

VII. Ekler

a) Mali Bilanço ve Açıklamaları

2003.08.10.052 NOLU PROJE BÜTÇESİ

MAKİNA TEÇHİZAT	55.000.000.000 TL
Harcanan	<u>45.000.000.000 TL</u>
Kalan	10.000.000.000 TL
KİMYASAL VE SARF	3.750.000.000 TL
Harcanan	3.410.000.000 TL
	<u>340.000.000 TL</u>
Kalan	<u>0.000.000.000 TL</u>

b) Makine ve Teçhizatın Konumu ve İlerideki Kullanımına Dair Açıklamalar (BAP Demirbaş numaraları dahil)

Araştırmada kullanılmak üzere proje desteği ile satın alınan programlanabilir sperma dondurma cihazının BAP demirbaş numarası 2224'tür.

c) Teknik ve Bilimsel Ayrıntılar (varsa Kesim III'de yer almayan analiz ayrıntıları)

d) Sunumlar (bildiriler ve teknik raporlar)

Koç Spermasının Dondurulmasında Antioksidan Ve Soğutma Hızının Etkisi.

(III. Ulusal Reprodüksiyon ve Sun'i Tohumlama Kongresi)

III. ULUSAL REPRODÜKSİYON VE SUN'İ TOHURLAMA KONGRESİ

30-EYLÜL-2 EKİM 2004/SİDE-ANTALYA

KOÇ SPERMASININ DONDURULMASINDA ANTIOKSİDAN VE SOĞUTMA HIZININ ETKİSİ*

Necmettin Tekin**, Ongun Uysal**, Ergun Akçay**, İlker Yavaş**

**Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Ankara, 06110Türkiye
Çalışmada koç spermalarının dondurulması/çözdürülmesi sonrası kimi spermatolojik değerler üzerine sperma sulandırıcısına katılan farklı dozlarda antioksidan (taurin) ile değişik hızlarda soğutmanın etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Araştırmada toplam 3 koçtan (Akkaraman, Sakız, Ramlıç) sun'î vagina ile alınan ejakülatlar kullanılmıştır. Çift ejakülat olarak alınan, başlıca spermatolojik özellikleri belirlenen ve normospermi gösteren ejakülatlar birleştirilmiştir. Spermaların sulandırılmasında Tris sulandırıcısına %4 oranında gliserin ilaveli ana solusyon kullanılmıştır. Araştırma grublarında spermalar split ejakülat biçiminde değerlendirilmiştir. Spermaların sulandırılması ve dozlanması farklı taurin (20, 50 ve 80 mM) dozları içeren Tris sulandırıcısı ile yapılmıştır. Ayrıca taurin içermeyen kontrol grubu da oluşturulmuştur. Sulandırılan ve 0.25 ml lik payetlere çekilen spermalar programlanabilir makinada farklı soğutma hızlarında (I- 15 °C/dak; II- 10 °C/dak; III- 5 °C /dak) dondurulmuştur.

Dondurulan spermalar su banyosunda 40°C de 10 saniye tutularak çözdürülmüşlerdir. Çözdürme sonrası yapılan değerlendirmelerde sulandırıcıda 20, 50 ve 80 mM taurin içeren ve taurin içermeyen (kontrol) grublarda spermatozoa motilitesi % 38.7, 31.1, 26.5 ve 34.4; anormal spermatozoa oranı %18.6, 18.4, 17.0 ve 18.9; ölü spermatozoa oranı %52.2, 60.3, 61.5 ve 54.7 olarak kaydedilmiştir. Soğutma hızı grublarında (I, II, III) ise, çözdürme sonrası spermatozoa motilitesi %30.0, 33.1, 32.0; anormal spermatozoa oranı 17.7, 17.7, 23.0 ve ölü spermatozoa oranı 62.0, 54.0, 57.0 olarak saptanmıştır.

Çalışmadan elde edilen bulgulara göre, koç spermasının dondurulmasında farklı taurin dozlarının ve dondurma hızlarının istatistik değerlendirmede önemli farklılıklar göstermediği belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Koç sperması, antioksidan, soğutma hızı, spermanın dondurulması

*Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü tarafından desteklenmiştir (2003.08.10.052).

III. NATIONAL REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION CONGRESS

30 SEPTEMBER-2 OCTOBER 2004/SİDE-ANTALYA

THE EFFECT OF ANTIOXIDANT AND COOLING RATE IN CRYOPRESERVATION OF RAM SEMEN*

Necmettin Tekin**, Ogun Uysal**, Ergun Akçay**, İlker Yavaş**

**Department of Animal Reproduction and Artificial Insemination, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ankara, Turkey

In this study, It was aimed that to investigate of effect of different doses antioxydant (taurine) added to extender and various cooling rates on some spermatological parameters after freezing/thawing of ram semen.

Ejulates collected by artificial vagina from 3 rams (Akkaraman, Sakız, Ramlıç) were used in the study. Ejulates collected double ejaculation, determined principle spermatological properties and showed normospermie were pooled. It was used main solution that is Tris extender containing 4% glycerol in semen dilution. Samples were evaluated as split ejaculate in the experiment groups. Samples were extended with Tris extender containing different taurine doses (20, 50 ve 80 mM). Also It was formed control group that is not contain taurine. Diluted samples withdrawn to 0.25ml straws were frozen in programmable freezer at different cooling rates (I- 15 °C/min; II- 10 °C/min; III- 5 °C/min).

Later on, the straws were thawed in a water bath at 40 °C for 10 seconds. After the examinations were performed, in the semen which was diluted with tris diluent containig 20, 50, 80 mM taurine and control group, the spermatozoal motility values were 38.7, 31.1, 26.5 and 34.4 %; the percentages of abnormal spermatozoa were 18.6, 18.4, 17.0 and 18.9 %; the percentage of dead spermatozoa were 52.2, 60.3, 61.5 and 54.7 % respectively. If groups of cooling rate (I, II, III), post-thaw motility values were 30.0, 33.1, 32.0 %; the percentages of abnormal spermatozoa were 17.7, 17.7, 23.0 % and the percentages of dead spermatozoa were 62.0, 54.0, 57.0 %.

According to the obtained results, it was determined that different taurine doses and cooling rates were not showed significant differences as statistically in the cryopreservation of ram semen.

Key words: Ram semen, antioxidant, cooling rate, cryopreservation

*This research was funded by Ankara university, BAP (2003.08.10.052).

e) Yayınlar (hakemli bilimsel dergiler) ve tezler