



**ARI SÜTÜNÜN ANTiOKSiDANT ÖZELLİĞİNİN
KOÇ SPERMASININ MUHAFAZASINDA
BAZI FİZYOLOJİK ÖZELLİKLER
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Çağrı ÖZÇELİK

**Yüksek Lisans Tezi
Zootekni Anabilim Dalı
Hayvan Yetiştirme Bilim Dalı
Doç. Dr. Berna EMSEN STEİNMAN
2016
Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ARI SÜTÜNÜN ANTİOKSİDANT ÖZELLİĞİNİN KOÇ
SPERMASININ MUHAFAZASINDA BAZI FİZYOLOJİK
ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİLERİ**

Çağrı ÖZÇELİK

**ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI
Hayvan Yetiştirme Bilim Dalı**

**ERZURUM
2016**

Her hakkı saklıdır



**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



TEZ ONAY FORMU

**ARI SÜTÜNÜN ANTİOKSİDANT ÖZELLİĞİNİN KOÇ SPERMASININ
MUHAFAZASINDA BAZI FİZYOLOJİK ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİLERİ**

Doç. Dr. Berna EMSEN STEİNMAN danışmanlığında Çağrı ÖZÇELİK tarafından hazırlanan bu çalışma 07/10/2016 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı – Hayvan Yetiştirme Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...) ile kabul edilmiştir.**

Başkan : Prof. Dr. Ahmet DODOLOĞLU

İmza :

Üye : Doç. Dr. Berna EMSEN STEİNMAN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Yaşar ERDOĞAN

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 20/10/2016 tarih ve 40/22 nolu kararı ile onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Cavit KAZAZ
Enstitü Müdürü**

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No:2014/104

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ARİ SÜTÜNÜN ANTİOKSİDANT ÖZELLİĞİNİN KOÇ SPERMASININ MUHAFAZASINDA BAZI FİZYOLOJİK ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Çağrı ÖZÇELİK

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Zootekni Anabilim Dalı
Hayvan Yetiştirme Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Berna EMSEN STEİNMAN

Bu çalışma, sulandırıcıya farklı oranlarda katılan arı sütünün koç spermatozoonlarının soğuk muhafazası sırasında koruyucu etkisini ve bu spermatozoonlarla yapılan intra uterine tohumlamalardan elde edilen gebelik oranlarının araştırılması amacıyla yapılmıştır. Arı sütü 2, 3, 4 ve 5 yaşlı Romanov melezi koçlardan suni vajina ile toplanan spermaya %0, 0,5; 1; 1,5 ve 2 oranlarında eklenerek sperma nihai sperm konsantrasyonu 100×10^6 sperm/0,25mL şeklinde payetlere alınmıştır. Farklı sürelerde (24, 48, 72, 96 ve 120 saat) $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilen 0,25 cc ölçeğinde payetler içindeki spermalarda, spermatozoon motilitesi test edilmiştir. Denemenin ikinci grubunda en ideal arı sütü oranının ilave edildiği 50×10^6 , 100×10^6 ve 200×10^6 sperm/0,25mL konsantrasyonundaki spermalar ile laparoskopik suni tohumlama gerçekleştirilmiştir. Son deneme grubunda ise 100×10^6 sperm/0,25mL ve %1,5 arı sütü ilaveli spermalar derin dondurma (-196°C) sonrası (en az 7 gün) çözündürülerek test edilmiş ve laparoskopik suni tohumlamada kullanılmıştır.

Arı sütünün artan oranlarda spermaya ilavesi 24. saatten itibaren ≥ 1 oranında ilave edilen spermalarda diğer oranlara göre daha ($P < 0,05$) yüksek motilite sağlamıştır. Arı sütünün 120. saatteki en yüksek koruyucu etkisi %1,5 (68%) ve 2 (69%) RJ ilave edilen spermada tayin edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda soğutulmuş sperma ile yapılan laparoskopik tohumlamalarda gebelik oranları sırasıyla %23, 40 ve 57 olarak gerçekleşmiş ve gruplar arası fark istatistiki olarak önemli ($P < 0,05$) bulunmuştur. Dondurulmuş sperma ile yapılan tohumlamalarda gebelik oranı %40 olarak tayin edilmiştir.

Elde edilen veriler sonucunda, ideal motilite oranları için arı sütü oranı en az %1,5 ve en az sperm konsantrasyonu 100×10^6 sperm/0,25ml olduğu tayin edilmiştir. Koç spermasının 120. saate kadar 4°C 'deki muhafazasında %1,5 oranında arı sütünün ilavesiyle, spermada motilite kaybına yol açmadan laparoskopik suni tohumlamada kullanılabileceği sonucu ortaya çıkmıştır.

2016, 35 sayfa

Anahtar Kelimeler: Arı sütü, koyun, laparoskopik tohumlama, motilite

ABSTRACT

MS. Thesis

ROYAL JELLY PRESERVATION OF THE ANTIOXIDANT PROPERTIES IN THE RAM SEMEN EFFECTS ON SOME PHYSIOLOGICAL PROPERTIES

Çağrı ÖZÇELİK

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Animal Science
Animal husbandry Department

Supervisor: Doç. Dr. Berna EMSEN STEİNMAN

This study was conducted to investigate, the protective effect of royal jelly which was added to semen diluent in different ratios during the cold storage of ram spermatozoa and the effect on pregnancy rates obtained from intra uterine insemination using semen added royal jelly. Royal jelly was added to semen that was collected by artificial vagina from 2, 3, 4, and 5 old Romanov crossbred in a ratio of 0; 0,5; 1; 1.5 and 2 % and transferred to straws for the final sperm concentration in a ratio of 100×10^6 sperm/ 0.25 ml. Sperm motility was tested during the liquid storage of ram semen at 4°C in 0.25 cc straws, for various periods of time (0, 24, 48, 72, 96 and 120 h). In the second trial, laparoscopic artificial insemination was conducted with at a final concentration of 50×10^6 , 100×10^6 and 200×10^6 sperm/0.25ml supplemented with ideal ratio of royal jelly. In the last trial group, semen with 100×10^6 sperm / 0,25ml concentration supplemented with 1,5% royal jelly was thawed following deep freezing (-196°C) after (at least 7 days) to test motility and was used in laparoscopic artificial insemination. The RJ supplementation resulted in a significant ($P < 0.05$) increase of sperm viability with the ratio of $\geq 1\%$ RJ after 24 h compared to lower ratio of RJ supplemented semen. A significant protective effect of RJ was obtained at 1.5% (68%) and 2% (69%) concentrations in 120h incubated time point. The pregnancy rate in laparoscopic artificial insemination with different concentration of chilled semen was found significantly different ($P < 0.05$) among groups (23, 40 ve 57%). The pregnancy rate with frozen semen was found as 40%. Our data suggest that the minumum required RJ supplementation is 1.5% for ideal ram sperm motility and the lowest semen concentration is 100×10^6 sperm/0.25ml. Ram semen stored at 4°C by 120h with the supplementation of 1.5% RJ can be used in laparoscopic artificial insemination without decreasing sperm motility.

2016, 35 pages

Keywords: Royal jelly, sheep, laparoscopic insemination, motility

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesi ve çalışmalarım sırasında yol gösterici olarak her türlü desteğini gördüğüm, bilimsel anlamda bilgi ve becerisini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Berna EMSEN STEİNMAN'a en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

Çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen hocalarım Sayın Prof. Dr. Ebru EMSEN ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Müzeyyen KUTLUCA KORKMAZ'a içten duygularım ile teşekkür ederim.

Maddi ve manevi anlamda her zaman yanımda olarak desteklerini hiçbir zaman benden esirgemeyen anneme ve babama en kalbi duygularım ile minnettarlığımı sunarım.

Çağrı ÖZÇELİK

Eylül, 2016

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	8
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	19
3.1. Materyal.....	19
3.1.1. Hayvan materyali	19
3.1.2. Hormon materyali.....	19
3.1.3. Yem materyali	19
3.1.4. Laboratuvar malzeme ve ekipmanları	20
3.1.4.a. Arı sütü temini üretiminde kullanılan malzemeler	20
3.1.4.b. Sperma toplama sırasında kullanılan malzemeler	20
3.1.4.c. Sperma değerlendirme ve sulandırma	21
3.1.4.d. Suni tohumlama esnasında kullanılan malzemeler	22
3.1.4.e. Gebelik teşhisinde kullanılan malzemeler	23
3.2. Yöntem	23
3.2.1. İncelenen parametreler	25
3.2.1.a. Motilite	25
3.2.1.b. Arı sütü oranı.....	25
3.2.1.c. Sperma Konsantrasyonu	25
3.2.1.d. Gebelik oranı	26
3.2.2. İstatistiksel analizler	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	27
5. SONUÇ	31
KAYNAKLAR	33
ÖZGEÇMİŞ	36

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

%	Yüzde
<	Küçük
>	Büyük
≥	Büyük eşit
Gr	Gram
Kg	Kilogram
Lt	Litre
Mg	Miligram
ml	Mililitre
mM	Milimolar
Mm	Milimetre
µg	Mikrogram
µl	Mikrolitre

Kısaltmalar

CIDR	Kontrollü Progesteron Salıcı Alet
I.U.	Uluslar Arası Ünite
K.Ç.O.	Kuru çayır otu
Mhz	Megahertz
10HDA	10-hidroksi-2-Decenoic Asit
PGF2α	Prostaglandin F2 alfa
PMSG (eCG)	Gebe Kısırak Serum Gonadotropini
RJ	ROYAL jelly

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Kuru çayır otunun ham besin madde içeriği.....	19
Çizelge 3.2. Toklu besi yeminin besin madde içeriği.....	20
Çizelge 4.1. Farklı oranlarda arı sütü ilavesinin Ovipro sulandırıcısıyla sulandırılan ve 4°C’de muhafaza edilen koç spermalarının motilite oranlarına etkisi.....	27



1. GİRİŞ

Besin maddeleri yönünden zengin olan arı sütü 5-15 günlük yaştaki genç işçi arıların (Karacaoğlu vd 2004) (*Apis mellifera*) hypopharyngeal ve mandibular bezlerinden salgılanmakta (Goewie 1978; Yıldız ve Umudum 2000; Kamakura *et al.* 2001; Moradia *et al.* 2013) ve arıların cinsiyetlerinin belirlenmesinde rol oynamaktadır. Arı sütü genç larvaların beslenmesinde kullanılmakta ve sosyal sınıfların farklılaşmasında temel role sahip olmaktadır (Balkanska and Kashamov 2011).

Arı sütünün içeriği arıların beslenmesi, yaşı, mevsim ve larvaların yaşına göre farklılık göstermektedir (Karacaoğlu vd 2004). Hafif ekşimtrak, koyu kıvamda özel bir aromaya sahip olan arı sütü güçlü bir besin maddesi özelliği taşımaktadır. İçeriğinde %66,05 oranında su, %12,34 protein, %5,46 yağ, %12,49 şeker (Yıldız ve Umudum 2000), esansiyel amino asit, vitamin ve mineral madde vardır (Sabatini *et al.* 2009). Suda eriyen pH'sı 3 olan arı sütü antibiyotik etkisi olan 10HDA (10-hidroksi-2-Decenoic Asit) içermesinin yanı sıra (Erdoğan 2010), antibakteriyel protein ve erkek farelerde genital organların gelişmesini uyarıcı faktörler de içerdiği bildirilmiştir (Kamakura *et al.* 2001).

Arı sütünün yapısında temel yağ asitleri, amino asitler, kollajen, lesitin, mineral maddeler, A, B5, B6, C, D, E vitaminleri yer almaktadır. Farmakolojik açıdan kan damarlarını genişleten ve kan basıncını düşüren, yangı gideren, tümör önleyen, yorgunluk gideren, antialerjik, antioksidatif, antibakteriyel ve bağışıklık sistemini uyaran birçok faydası bulunmaktadır. Yine, arı sütünün gelişme ve büyüme üzerine hızlandırıcı etkisinin yanı sıra, hormonları düzenleyici, cinsel gücü ve döl verimini arttırıcı etkileri de bulunmaktadır (Karaçal Temamoğulları vd 2006).

Protein, yağlar, şekerler, hormonlar, vitamin ve mineral maddeler bakımından oldukça zengin olan arı sütünün içeriği, koloniyi oluşturan ana arı, işçi arı ve erkek arının larva dönemine göre farklılık göstermektedir. Ticari olarak üretimi ve pazarlaması yapılan arı

sütü işçi arılar tarafından ana arı üretmek amacıyla özel olarak üretilmektedir. Arı sütü genelde 0-24 saatlik larva transferinden 72 saat sonrasında, yüksük içerisinde maksimum miktara ulaştığı varsayılarak hasat edilmektedir. 3 günlük yoğun arı sütü beslemesi sonucunda ana arı 4-5 yıllık yaşam süresine, bahar aylarında kuluçka veriminin yüksek olduğu zamanda günlük ortalama 2000 yumurta bırakabilme yeteneğine sahip olmanın yanı sıra hastalık ve zararlılara karşı da yüksek direnç kazanabilmektedir (Köseoğlu vd 2013).

Arı sütünün yapısında biyolojik özellikler gösteren yağ asitleri ve steroller larva döneminde endokrin sistemi, diğer lipid ve proteinler hücre çoğalmasına etki ederek ana arı ve işçi arı arasında ki morfolojik ve fizyolojik farklılığa sebep olmaktadır (Kumova ve Korkmaz 2000).

Kolonide sağladığı faydaların insanlar üzerindeki etkileri ortaya çıkarıldıkça arı sütü üretimini artırmaya yönelik çalışmalar hız kazanmış ve gün geçtikçe daha çok sayıda arıcı arı sütü üretimine başlamıştır. Kullanım alanının genişlemesi ile birlikte üretim potansiyeli olan arıcılık gelişmiş ülkelerde bilimsel çalışmalara da bir ivme kazandırmıştır (Karacaoğlu vd 2004).

Arı sütü, ana arı ile işçi arı arasında cinsel farklılaşmada büyük rol oynayan biyolojik etkisi ile birlikte bilinen ve bilinmeyen içeriği ile de insanların iç salgı sistemini düzenleyici, bağışıklık sistemini geliştirici, stres ve hastalığa karşı vücut direncini artırıcı etkisi de bulunmaktadır. Çin'de oldukça uzun zamandan beri bilinmesine rağmen üretim, muhafaza ve tüketimi konusundaki araştırmalar 1950'li yıllardan itibaren gündeme gelmiştir. 1970'li yıllardan itibaren ise özellikle refah toplumlarında tüketici sayısının artması ile daha sağlıklı ve ekonomik arı sütü üretim imkânlarının geliştirilmesi gerekliliği ortaya çıkmıştır (Erdoğan 2010).

Arı sütü yaygın ticari bir medikal ürün olarak kullanılmaktadır. Yapılan önceki çalışmalarda arı sütünün fizyolojik etkilerinden örneğin antiinflamasyon, antitümör, antialerjik ve antioksidant etkileri belirlenmiştir. Ratlarda oral olarak günlük 300 mg/kg

arı sütü uygulamasının eritrositlerin sayısını ve çaplarını artırdığı bu yüzden anemi hastalarında destekleyici antioksidan molekül olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Yıldırım *et al.* 2012)

Arı sütünün medikal etkileri üzerine yapılan birçok çalışma bulunmakta ve bunların bazıları antibakteriyal etkileri üzerine yoğunlaşmıştır. Royalactin, apimisin, jeleines I,II, III, IV, 10-HDA ve apalbumin α içeren birçok antimikrobiyal peptid arı sütünün içeriğinde keşfedilmiştir. In vitro çalışmalar arı sütünden sağlanan royalactinin gram pozitif ve bazı gram negatif bakterilere karşı etkili olduğunu göstermiştir (Gunaldı *et al.* 2014).

Son yıllarda çeşitli bilim adamları arı sütünün antioksidant aktivitesi üzerine dikkat çekmişler ve birçok araştırmacı da in vitro ve in vivo olarak çalışmışlardır. Besin takviyesi olarak tüketilen arı sütü birçok ülkede ticari olarak medikal ürünler, sağlıklı gıdalar ve kozmetikte oldukça yaygın şekilde kullanılmaktadır. İşçi arıların hypopharyngeal ve mandibular bezlerinden üretilen arı sütünün içerdiği proteinler, şekerler, yağlar, vitaminler, minareller ve serbest amino asitler nedeniyle kraliçe arının gelişmesinde oldukça önemli bir besin olduğu bilinmektedir. Arı sütünün antioksidatif etkisi önemli fizyolojik fonksiyonlarından birisidir. Çünkü çeşitli kronik hastalıkları örneğin kanser ve kardiyovasküler hastalıkları önleyebilmeye yardımcı olmaktadır (Cihan ve Deniz 2014).

Üremeye yardımcı olan suni tohumlama, embriyo transferi ve in vitro fertilizasyon gibi yöntemlerin geliştirilmesi ile türlerin korunması ve klinik çalışmalar için spermanın saklanması gerekmektedir. Sperma dondurma sırasında motolite, canlılık ve dölleme yeteneği gibi özelliklerde azalma meydana getiren bir dizi yapısal, biyokimyasal ve işlevsel değişikliklere maruz kalmaktadır. Spermanın sulandırma ve soğutma işlemlerinde soğuk şokuna maruz kalması ve/veya ozmotik basınç nedeniyle önemli derecede fertilite kaybı yaşanabilir. Birçok araştırmacı koç spermasını dondurmada değişik yöntemler geliştirmelerine rağmen, fertilite oranları henüz taze sperma ve doğal çiftleştirmeyle karşılaştırılmayacak kadar düşük seviyededir. Dölleme yeteneğindeki

azalmanın çözündürme sonrası azalan motilite oranı ve morfolojik özellikle de akrozomal bozukluklardan kaynaklandığı bildirilmektedir (Alçay vd 2013).

Koyun yetiştiriciliği ve suni tohumlama uygulamalarının yoğunluk kazandığı Avustralya'da yürütülen çalışmalar, dondurulmuş sperma ile intrauterin olarak tohumlanan koyunlarda %48, trans-servikal tohumlamada %32, servikal tohumlamada ise %9'luk gebelik oranı elde edildiği bildirilmiştir. Koç spermasını dondurma çalışmalarının çoğunluğunda boğa spermasında uygulanan yöntemin koyunlara uygulanma şeklinde olmasına rağmen beklenen başarı sağlanamamıştır. Koyunlarda dondurulmuş spermayla yapılan tohumlama sonrasında ki fertilite oranlarının sığırlara göre düşük kalması, erkek ve dişiye ait çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Erkeğe ait faktörlerin başında spermanın donma sırasında gördüğü hasar gelir (Agas vd 2014).

Erkek fertilitesi açısından spermatozoonlarda plazma membran bütünlüğü oldukça önemli olmaktadır. Spermatozoonlar kendilerini kuşatan ortamla madde alışverişini sağlamalarının yanında kapasitasyon, akrozom reaksiyonu ve fertilizasyon olaylarında spermatozoonların oosit yüzeyine tutunabilmeleri için de yine aktif bir plazma membranına ihtiyaç duyulmaktadır (Uçan 2014).

Sperma dondurulurken intra-cellular ve extra-cellular buz oluşumu, ozmotik değişikliklere bağlı zararlar ve soğuk şokuna bağlı zararlar membran hasarlarının oluşmasına neden olan başlıca faktörlerdir. Dondurma esnasında çevre ısısında ki düşmeyle birlikte spermatozoonların plazma membranlarında bulunan lipidler fiziksel bir değişme sonucu yumuşak ve akışkan durumlarını yitirip, daha sert ve daha az akışkan bir hal alırlar. Bu durum değişikliği (faz geçişi) soğuğa maruz kalan spermatozoon membranındaki akışkanlığının azalmasının başlıca nedenidir. Soğutma ya da dondurma sırasında spermatozoon membranında meydana gelen hasarların, lipidlerin tekrar başlangıçtaki gibi bir araya gelememeleri veya normal dağılımlarına dönememeleri sonucunda meydana geldiği bildirilmektedir. Bu yüzden, spermatozoon plazma membranında durum değişikliği olgusu azaltılarak veya tamamen ortadan

kaldırılarak dolaylı yollardan soğuğa bağlı meydana gelecek hasarların da azaltılmasına imkân tanınabilir (Uçan 2014).

Koç spermasının dondurmaya karşı oldukça hassas olduğunu, bunun altında yatan nedenin ise sperma membranının büyük bir kısmının doymamış yağ asitlerinden (fosfolipitler) oluşması gösterilmiştir. Bununla bağlantılı olarak spermanın dondurulması esnasında uygulanan soğutmanın sperma membranının dönüşü olmayan sıvı fazdan jel fazına geçmesine sebep olduğu ve membran içi enzimlerin kinetiğinde değişimler meydana getirerek çözündürme sonrası sperma canlılığın düşmesine neden olduğu belirtilmektedir (Watson 1995).

Dondurulmuş-çözündürülmüş koç sperması ile sağlanan düşük fertilite oranları araştırmacıları bu konu üzerinde araştırma yapmaya yönlendirmiş ve çeşitli sulandırıcı formülasyonları, sulandırıcıya çeşitli hormon, vitamin, seker ve antioksidan maddeleri ilave ederek farklı alternatiflere yönelmişlerdir. Sulandırıcıya ilave edilen çeşitli kryoprotektif maddeler ise dondurulup çözündürülen spermanın fertilitasını olumsuz olarak etkilemektedir. Bu yüzden gliserol gibi kontraseptif (gebeliği önleyici) özelliğe sahip kryoprotektanların (soğuğa/donmaya karşı koruyucu) oranının azaltılabilmesinin ancak sulandırıcıya ilave edilecek antioksidanlara bağlı olduğu bildirilmektedir (Ömür 2011).

Serbest radikaller, eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküller olarak isimlendirilmektedir. Kararsız bir yapıya sahip olan bu radikaller, organizmada mevcut diğer kararlı moleküllerin yapılarını bozarak moleküllerin kararsız hale geçmelerine sebep olmaktadır. Serbest radikallere uygun elektronlar sağlayarak kararlı hale gelmelerini sağlayan moleküller ise antioksidanlardır. Organizma serbest radikallere ve bunların sebep olduğu zararlara karşı bir savunma sistemi geliştirmiş olup bu sistemin yapı taşları da antioksidan olarak isimlendirilmiştir (Aydemir ve Karadağ Sarı 2009).

Dimetilsülfoksit (DMSO), allopürinol, katalaz, deferoksamin, mannitol, süperoksit dismutaz, trombosit aktive edici faktör (PAF) antagonistleri, kafeik asit fenil ester,

melatonin, E vitamini, C vitamini ve beta karoten gibi antioksidanlar serbest radikallerin meydana getirdiği hasarı önlemede en çok kullanılanlarıdır (Durmuş ve Ünsaldı 2005).

Diğer türlere göre daha fazla oranda lipit içermesinden dolayı koç sperması, donma sırasında ortaya çıkan oksidatif strese karşı daha duyarlı hale gelmekte, sperma plazma membran hasarlarına, motilite kayıplarına, akrozomun bütünlüğünü kaybetmesine ve fertilite oranlarında azalmalara neden olmaktadır. Epididimis ve seminal plazmada doğal olarak yüksek oranlarda yer alan inositol, taurin, hipotaurin, askorbik asit, desferal, prolin, alfa-tokoferol, Bütil hidroksi tolüen (BHT), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi maddelerin antioksidan özellikleri son yıllarda kullanım alanı bulmuştur (Ömür 2015).

Dondurma-çözündürme sonrası spermada antioksidan kapasite azalmakta ve reaktif oksijen radikal oluşumu artarak spermatolojik özellikleri ve fertilitede olumsuzluklar meydana getirmektedir. Dondurulup çözündürülen sperma taze spermaya nazaran peroksidasyona daha hassas olmaktadır. Son zamanlarda yapılan araştırmalar spermanın muhafazası sırasında infertiliteye neden olan en önemli faktör olarak spermatozoa membran lipidlerinin peroksidasyonunu işaret etmektedir. Bu nedenle spermaların dondurma-çözündürme sonrasında spermatolojik özellikler üzerine pozitif etkileri olabileceği düşünülmekte ve sperma sulandırıcılarına antioksidan maddeler ilave edilmektedir (Kulaksız ve Daşkın 2009).

Memeli hayvanlarda vücut sıvıları ve üreme dokularında yüksek miktarda bulunan antioksidan maddeler, sperma sulandırıcılarına ilave edildiğinde spermadaki serbest radikallerin sebep olduğu hücre membranlarındaki yağ asitleri ve fosfolipitlerin peroksidasyonunu asgari seviyeye düşürmektedir. Böylelikle lipit peroksidasyonunun spermatozoa akrozomunda sebep olduğu zarar azaltılarak sağlanan döl verimi büyük ölçüde artırılabilir (Ömür 2011).

Antioksidan maddelerin etki şekli ve etkinlik seviyeleri oldukça farklılık göstermektedir. Genellikle antioksidanlar, reaktif oksijen ve nitrojen türevlerinin

temizlenmesinde, oksidatif stresle zarar görmüş dokuların onarımında, diğer antioksidanların onarımı yada yenilenmesinde ve metal şelasyonu gibi farklı etki şekillerinden birini veya birden fazlasını ortaya koymaktadırlar. Bilinen bu etki mekanizmalarından birçoğunu yerine getirebilme özelliğinde olan antioksidan ideal bir antioksidandır (Kulaksız ve Daşkın 2009).

Koyun ve keçilerdeki suni tohumlama uygulaması sığırlardaki uygulama alanı kadar geniş olmamasına rağmen bugün dünyada pek çok ülkede tarafından geniş çapta ilgi alanı bulmaya başlamıştır. Suni tohumlamada amaç, üstün erkek damızlıkların geniş bir popülasyonda kullanımına olanak sağlamaktır. Bu amaçla hem spermaların başarılı bir şekilde dondurulabilmesi için gerekli teknolojiler oluşturulmaya çalışılırken hem de mevcut suni tohumlama metotları ile en yüksek gebelik oluşturma yönünde araştırmalara devam edilmektedir. Koyunlarda serviksin anatomik yapısı nedeniyle bu yolla uterusu ulaşmak mümkün olmamaktadır. Bu yüzden dondurulup çözündürülen sperma ile intraservikal uygulanan tohumlamalarda sağlanan başarı tatmin edici düzeyde olmazken (Kulaksız 2015), günümüzde dondurulmuş koç spermasından başarı sayılabilecek (>%45) gebelik oranı sağlayacak uygulamalar ancak laparoskopik suni tohumlama yöntemi ile intrauterin olarak yapılan tohumlamalar ile mümkün olmaktadır (Emsen ve Koşum 2009; Kulaksız 2015).

Bu çalışma, sulandırıcıya farklı oranlarda katılan arı sütünün koç spermatozoonlarının +4°C’de soğutulmuş ve -196°C’de uzun süreli saklanması sırasında koruyucu etkisi ve bu spermatozoonlarla yapılan intra uterine tohumlamalardan elde edilen gebelik oranlarının araştırılması amacıyla yapılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Larva transferinden 24, 48 ve 72 saat sonra hasadı yapılan arı sütlerinde bazı biyokimyasal değişimleri ortaya koyabilmek ve arı sütünde fruktoz glikoz ve sakkaroz gibi temel şeker bileşenleri, 10-HDA, nem ve bazı iz elementler analiz edilerek bu değişimlerin arı sütü kalitesine etkilerini belirlemek üzere bir çalışma yapılmıştır. Oluşturulan çalışma gruplarında 1.grupatki kolonilerde larva transferinden 24 saat, 2. grupta 48 saat ve 3. gruptaki kolonilerde 72 saat sonra arı sütü hasadı yapılmıştır. Araştırma gruplarından hasadı yapılan arı sütleri için fruktoz, glikoz, sakkaroz, 10-HDA ve nem düzeyleri arasındaki farkın önemli ($P<0,05$) olduğu bulunmuştur. Larva transferinden 72 saat sonra hasadı yapılan arı sütlerinde analizi yapılan şeker bileşenlerinin, 10-HDA ve nem seviyelerinin, transferden 24 saat sonra hasadı yapılanlara nazaran artış gösterdiği ve sonuç olarak arı sütünde biyokimyasal yapının hasat zamanına göre farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Kösoğlu vd 2013).

Erkek farelerde arı sütünün bazı spermatolojik özellikler üzerine etkisini belirlemek üzere yapılan bir çalışmada 20 adet Swiss albino ırkı ergin erkek fare (25 ± 5 gr, 3 aylık) kullanılmıştır. Bir hafta süresince serbest yemleme ve su verilen deney hayvanlarının birinci grubuna ($n=10$) 60 gün süreyle mide içi tüple 240 µl distile su içinde 20 µl arı sütü verilirken kontrol grubuna ($n=10$) sadece mide içi tüple distile su verilmiştir. Çalışmanın sonunda, deneme ve kontrol grubu erkek farelerde sırasıyla spermatozoon yoğunluğunun ($\times 10^6/\text{ml}$) $19,58\pm 6,53$ ve $11,45\pm 10,32$; spermatozoon motilitesinin (%) $75,00\pm 10,60$ ve $35,00\pm 20,3$; anormal spermatozoon oranının ise (%) $14,53\pm 5,86$ ve $28,00\pm 7,86$ olarak tespit edildiği bildirilmiştir. Bu özellikler üzerine arı sütünün etkisinin önemli olduğu ($P<0,05$) vurgulanmıştır. Sonuçta, arı sütü uygulamasının spermatozoon yoğunluğu ile motiliteyi artırarak, anormal spermatozoon oranını da azaltarak sperma kalitesi üzerine pozitif etkilerde bulunduğu bildirilmiştir (Karaçal Temamoğulları vd 2006).

Arı sütünün farklı saklama süreleri ve farklı oranlarının koç spermasında sperm kinematiği, plazma membran fonksiyonu, nitrik asit üretimi, toplam antioksidant

etkilerini belirlemek üzere yapılan bir çalışmada, 120. saate kadar +4°C’de saklanan sperma örneklerinde 120. saatte sperm yaşama gücünün %1 oranındaki arı sütü ile artış sağladığı bildirilmiştir. Sperm membran fonksiyonu üzerine arı sütünün etkisinin en düşük konsantrasyonlarda (%0,5 ve 1) sağlandığı, sperm motilitate parametreleri üzerine arı sütünün en öne çıkan koruyucu etkisinin 72 saat sonrasında elde edildiği bildirilmiştir. Araştırma sonucunda arı sütünün düşük konsantrasyonlarının (%0,5 ve 1) soğuk saklama süresince sperm kinetiği ve plazma membran fonksiyonlarında gelişmeler sağladığı ve arı sütünün koruyucu etkisinin antioksidant özelliğine atfedilebileceği bildirilmiştir (Moradi *et al.* 2013).

Sisplatinin (kanser tedavisinde kullanılan önemli ilaçlardan biri) karaciğerde neden olduğu aktiviteler üzerinde arı sütünün koruyucu etkilerini değerlendirmek üzere 24 adet Sprague-Dawley sıçanı ile bir araştırma yapılmıştır. Oluşturulan 4 deneme grubu, Kontrol; arı sütü (300 mg/kg/gün); sisplatin (7 mg/kg vücut ağırlığı) ve arı sütü (300 mg/kg/gün) + tek doz sisplatin (7 mg/kg vücut ağırlığı) şeklinde olmuştur. Araştırma sonucunda sisplatin enjeksiyonu öncesi arı sütü uygulanan hayvanlarda, sisplatinin neden olduğu paraoksonaz-1 ve arilesteraz aktivitelerinde azalmanın kayda değer düzeyde önlendiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte biyokimyasal gözlemler, histolojik bulgularla desteklenmiş ve antioksidan, radikal toplayıcı ve antiapoptotik etkileri sayesinde arı sütünün, sisplatinden kaynaklı karaciğer dokusunda meydana gelen yapısal değişiklikleri engellediği görülmüştür. Sonuç olarak arı sütünün, sisplatin tedavisiyle ilgili oluşan karaciğer toksisitesine karşı potansiyel koruyucu ilaç olarak kullanılabileceği bildirilmiştir (Yıldırım *et al.* 2012).

Yapılan bir çalışmada tüm vücut ışınlaması uygulanan sıçanlarda arı sütünün akciğer ve karaciğer hasarına karşı koruyucu rolü olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır. Araştırma sonucunda radyasyon ile birlikte arı sütü verilen gruplarda antioksidan aktivitelerde artış; biyokimyasal parametrelerde ve MDA (malondialdehit)(lipitlerin oksidasyonu sonucu meydana gelen bir bileşik)’da anlamlı düşme olduğu tespit edilmiştir. Tedavi öncesinde ve sonrasında uygulanan arı sütünün, tedavi öncesi verilen gruba göre daha etkili olduğu görülmüştür. Araştırma sonucuna göre arı sütünün tüm

vücut ışınlaması yapılan sıçanlarda akciğer ve karaciğer hasarına karşı koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (Cihan *et al.* 2013).

Najafi *et al.* (2014) tarafından fare testislerinde oxymetholonenin (OXM) sebep olduğu oksidatif hasarlarda arı sütünün etkisini belirlemek üzere bir çalışma yapılmıştır. Erkek fareler iki gruba ayrılarak 28 gün süresince OXM (5mg/kg/gün) uygulanmış ve eşzamanlı olarak bu gruplardan biri arı sütü (100 mg/kg/gün) grubu olarak diğeri de kontrol grubu olarak oluşturulmuştur. Araştırma sonucunda OXM uygulanan grupta bir çok histolojik değişikliklerle birlikte, spermatogenik aktiviteler ve serum testesteron seviyesinde önemli azalmalar tespit edilmiştir. OXM uygulamasının aynı zamanda fare testislerinde lipit peroxidasyonunda artışla katalaz aktivitesinde önemli azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir. Yukarıda belirtilen parametrelerin arı sütü uygulaması ile normale yakın seviyelere döndüğü ve sonuçta arı sütünün OXM kaynaklı üreme toksisitesine karşı koruyucu etkisi olduğu bildirilmiştir.

Sıçanlarda baş-boyun bölgesine uygulanan radyoterapiye bağlı oluşan oral mukoziteye karşı arı sütünün etkisini belirlemek üzere yapılan bir çalışmada ışınlama ile birlikte 50 mg/kg arı sütü verilen grup, sadece ışınlama yapılan grubu ile kıyaslandığında kantitatif, biyokimyasal ve histopatolojik parametrelerde normalizasyon sağladığı bildirilirken, ışınlama ile birlikte 100 mg/kg arı sütü verilen grupta radioprotektif etkinin doza bağımlı olarak artmadığı gözlenmiştir. Arı sütünün uygun dozlarda uygulandığında oral mukoziti azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir (Cihan ve Deniz 2014).

Azab *et al.* (2011) tarafından erkek Wister albino sıçanlarında gamma radyasyonu verilmesi sonucu oksidatif strese karşı arı sütünün koruyucu etkisini belirlemek üzere bir çalışma yapılmış ve çalışma sonucunda radyasyon verilen sıçanlarda arı sütü uygulaması sonrasında arı sütünün aktif bileşenlerinin antioksidant kapasitesi nedeniyle biyokimyasal, hematolojik ve histolojik iyileşmelerin gözlendiği bildirilmiştir.

Yapılan klinik çalışmalar arı sütünün osteoporosis ve menepozal semptomları azaltabildiğini göstermiştir. Bazı bulguların ise arı sütünün diğer eksogen steroid hormonlar ile benzer estrojenik aktiviteye sahip olduğunu öne sürdüğü bildirilmiştir (Yang *et al.* 2012).

Kantitatif, biyokimyasal ve histopatolojik değerlendirmeler yapılarak sisplatin (SP) (kemoterapide kanseri tedavi etmek için kullanılan bir ilaç) kaynaklı spermiotoxicity üzerine arı sütünün antioksidan etkisini belirlemek üzere bir çalışma yapılmıştır. Ratlara tek doz olarak SP uygulamasından sonra, 10 gün boyunca 50 ve 100 mg/kg arı sütü uygulanmıştır. Sperm karakterleri, testis ile ilgili histolojik bulgular, plazma testosteron seviyeleri ve testis dokusunda oksidatif stresin durumu gibi özellikler belirlenmiştir. Arı sütü SP kaynaklı azalan testis, epididimis, seminal vesicle ve prostat ağırlığı ile epididimal sperm konsantrasyonu ve motilitede iyileştirmeler sağladığı bildirilmiştir (Silici *et al.* 2009).

Pubertideki erkek sıçanlarda arı sütünün olumsuz etkisini belirlemek üzere bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada günlük 200, 400 ve 800 mg/kg dozundaki arı sütü 4 hafta boyunca gavajla oral olarak uygulanmış vücut ağırlığı ve organ sistemleri değerlendirilmiştir. Sperm sayımı, spermatozoa anormallliği ve testis histopatolojisi ise mikroskop altında incelenmiştir. Arı sütü uygulaması vücut ağırlığını etkilememiş fakat yüksek doz grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında organ sistemlerinden hipofiz ve testiste azalmalar meydana gelmiş ve testisin mikro yapısında önemli değişiklikler gözlenmiştir. Sperm sayımında gruplar arasında farklılık gözlenmemiş, bununla beraber sperm deforme oranının yüksek doz grubunda önemli bir şekilde arttığı tespit edilmiştir. Arı sütü uygulaması 14 gün süreyle durdurulduktan sonra olumsuz etkilerin kısmen düzeliş eski seviyelere dönerek kontrol grubu ile uyumluluk göstermiştir. Sonuç olarak 4 hafta boyunca yüksek dozda oral olarak uygulanan arı sütünün pubertideki erkek sıçanların üreme sistemini olumsuz etkilediği fakat olumsuz etkilerin uygulamaların sonlandırılması ile ortadan kalktığı bildirilmiştir (Yang *et al.* 2012).

Kafadar *et al.* (2012) tarafından ooferektomi (overectomy) yapılan sıçanlarda arı sütü ve arı polenin osteoporoza bağlı kemik kaybında bir azalmaya neden olup olmadığını tespit etmek amacıyla bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada 6 aylık 32 adet Sprague-Dawley cinsi dişi sıçan 4 gruba ayrılarak Sham-operasyon grubu, sadece ooferektomi yapılan grup, ooferektomi ile birlikte arı sütü uygulaması yapılan grup ve ooferektomi ile birlikte arı poleni uygulanan grup şeklinde araştırma planı oluşturulmuştur. Cerrahi işlemden 12 hafta sonra sıçanlar sakrifiye edilmeden önce kemik mineral yoğunluğu (KMY) ölçülerek biyokimyasal analizler için kan örnekleri alınmıştır. Sakrifikasyondan sonra ise uterus ağırlıkları ölçülmüş ve taramalı elektron mikroskopunda kemik dokudan kalsiyum ve fosfor düzeyini belirlemek için örnekler alınmıştır. Çalışma sonucunda, uterus ağırlıkları bakımından sham-operasyon grubu diğer gruplara göre daha fazla bulunmuş olup gruplar arasındaki farkın önemli olduğu bildirilmiştir. Lomber vertebra ve proksimal femurda kemik mineral yoğunluğu sonuçları açısından, arı sütü ve arı poleni uygulanan gruplarda sadece ooferektomi yapılan gruba oranla istatistiki açıdan önemli oranda yüksek bulunmuştur. Kemik dokusunda kalsiyum ve fosfor seviyeleri arı sütü ve poleni uygulanan gruplarda daha yüksek tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda arı sütü ve arı polenin ooferektomi yapılan sıçanlarda osteoporoza bağlı kemik kaybında azalma sağladığı ve elde edilen sonuçların klinik uygulamaya katkısı olabileceği vurgulanmıştır.

Koç sperması sulandırıcısına ilave edilen çeşitli antioksidanların spermanın sulandırma, ekilibrasyon ve dondurma-çözdürme sonrasında bazı spermatolojik özellikler üzerine etkilerini belirlemek üzere bir araştırma yapılmıştır. Araştırmada antioksidan içeren ve içermeyen sperma numuneleri, sulandırma, ekilibrasyon ve dondurma/çözdürme sonrası spermatolojik muayenelerden spermatozoa motilitesi, anormal spermatozoa oranı ve hipoozmotik şişme testi (HOST) açısından değerlendirilmiştir. Sperma sulandırmada temel Tris sulandırıcısına (297,58 mM tris, 96,32 mM sitrik asit, 82.66 mM fruktoz) %15 yumurta sarısı, gliserol %5, penisilin 500 IU/ml, streptomisin 500 I.U/ml ilave edilmiş ve ejakülatlar 32°C'ta 10 eşit hacme bölünmüştür. Bölünen ejakülatlar curcumin (C) (1 mM, 2 mM, 4 mM), ellagik asit (E) (1 mM, 2 mM, 4 mM), methionin (M) (1 mM, 2 mM, 4 mM) içeren ve antioksidan içermeyen (kontrol) Tris sulandırıcısıyla

ml'de yaklaşık 4×10^8 spermatozoa olacak şekilde sulandırılmıştır. Çalışma sonucunda mevsim içinde sulandırma sonrası sperma örneklerinde, baş ve akrozom haricindeki bölgeler açısından anormal sperma oranında en düşük değeri C4 mM ($10,1 \pm 0,6$) gösterdiği bildirilmiştir. Yine mevsim içi ekilibrasyon sonrasında HOST değerleri açısından M 2 mM ($65,0 \pm 2,6$) grubunun kontrol ($58,1 \pm 3,7$) grubuna göre yüksek sonuç verdiği tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Anormal baş oranları açısından en düşük değerin E1 mM ($2,1 \pm 0,8$) grubunun gösterdiği ($P < 0,05$) görülmüştür. Mevsim içi dondurma-çözdürme sonrasında ki, anormal baş oranı açısından E1 mM ($2,3 \pm 0,9$) en düşük değeri göstermiştir. Ayrıca baş ve akrozom haricindeki bölgeler açısından anormal sperma düzeyleri için kontrol ($13,7 \pm 1,0$) ve M1 mM ($13,8 \pm 0,8$) grupları, C4 mM ($12,2 \pm 0,4$) ve E4 mM ($12,2 \pm 0,7$) gruplarına göre önemli ölçüde yüksek belirlendiği ($P < 0,05$) bildirilmiştir. Mevsim dışı sulandırma sonrasında HOST değerleri açısından M2 mM'nin ($64,3 \pm 1,7$) en yüksek değeri gösterdiği tespit edilmiştir. Anormal baş oranları açısından M 4 mM ($2,5 \pm 0,5$) ile kontrol ($3,5 \pm 0,5$) grupları arasında farkın olduğu ($P < 0,05$), baş ve akrozom haricindeki bölgelerde anormal sperma oranları incelendiğinde C4 mM'nin ($15,6 \pm 1,0$) en düşük değeri verdiği bildirilmiştir. Yapılan çalışma sonuçlarına göre mevsim içi ve mevsim dışı dönemlerde farklı antioksidan ve dozlarının, spermatolojik özellikler üzerinde farklı etkinlikler gösterdiğinin tespit edildiği vurgulanmıştır (Ömür 2011).

Farklı antioksidan içeren yağsız süt tozu sulandırıcısının Saanen teke spermasında dondurma sonrasında spermatolojik özellikler ve fertilité parametreleri üzerine etkilerini belirlemek üzere bir çalışma yapılmıştır. 4 adet Saanen tekesinden çift ejakülat olarak alınan spermalarda temel spermatolojik özellikler belirlenmiş ve normospermi kalitesinde olan ejakülatlar birleştirilip daha sonra araştırma ve kontrol grubu olarak bölünmüşlerdir. İkiye ayrılan sperma örnekleri farklı antioksidanlarla desteklenen (5 mM sistein ve 1000 µg/ml hyaluronik asit) %5 gliserol ve %10 yumurta sarısı içeren yağsız süt tozu (YST) sulandırıcısı ile sulandırılmıştır. Sulandırma sonrası $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 2 saat ekilibre edilip, sıvı azot buharında (-120°C 'da 15 dakika) dondurularak sıvı azot (-196°C) içerisinde saklanan spermalarda çözündürme sonrası değerlendirmede sistein, hyaluronik asit antioksidanları içeren ve antioksidan içermeyen (kontrol grubu)

gruplarda spermatozoa motilitesi sırasıyla %44,0; %30,5 ve %39,5 olarak bildirilmiştir. Anormal spermatozoa oranı ve anormal akrozom oranları sırasıyla %52,8; %53,6 ve %59,1 ile %35,9; %38,3 ve %40,4 olarak tespit edilmiştir. Ölü spermatozoon oranı ise %48,8, %58,1 ve %53,8 olarak bildirilmiştir. Spermatozoa motilitesi açısından sistein ve yağsız süt tozu (kontrol) sulandırıcıları ile hyaluronik asit arasında önemli bir fark tespit edilmişken ($p<0,01$), ölü spermatozoa, anormal spermatozoa ve akrozoma bağlı anormal oranı bakımından istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı bildirilmiştir ($p>0,05$). Sistein, hyaluronik asit içeren ve kontrol grubunda yağsız süt tozu ile dondurulup çözündürülen spermalarla yapılan servikal tohumlamalarla sağlanan gebelik oranları sırasıyla %50, %50, %40, doğum oranlarının ise %33,3; %16,6 ve %20 olarak gerçekleştiği, her iki parametre açısından istatistiksel farkın olmadığı bildirilmiştir ($p>0,05$). Araştırma sonucuna göre, sisteinin spermatolojik özellikleri geliştirdiği ve fertilité değişkenleri üzerine olumlu bir etki oluşturduğu vurgulanmıştır (Kulaksız ve Daşkın 2009).

Ceylan vd (2013) tarafından koç spermasına sulandırıcı olarak ilave edilen butylated hydroxytoluene (BHT) ve trehaloz'un spermanın $+5^{\circ}\text{C}$ 'de kısa süreli saklanması spermatozoonlar üzerine koruyucu etkilerini ve bu spermalar ile yapılan suni tohumlama sonucunda elde edilecek gebelik oranlarını belirlemek üzere bir araştırma yapılmıştır. 3 baş Kıvrıcık koçundan alınan spermalar birleştirilerek üç eşit parçaya bölünmüş ve sonrasında tris-citric acid-glucose (TCG), TCG+trehaloz (50 mM) veya TCG+BHT (0,6 mM) içeren sulandırıcılar ile sulandırılarak 3 araştırma grubu oluşturulmuştur. Yaklaşık ml'de 200×10^6 spermatozoa konsantrasyonu olacak şekilde sulandırılıp 5°C 'de tutulan spermalar 0, 24, 48 ve 72. saatlerde motilite, canlı ve anormal spermatozoa oranları, spermatozoa membran bütünlüğü ve akrozom reaksiyonuna giren spermatozoa oranları belirlenmiştir. Araştırma sonucunda bu özellikler açısından gruplar arasından istatistiksel açıdan bir farklılığın olmadığı, ancak en düşük anormal spermatozoa oranının 72. saat sonunda trehaloz grubunda tespit edildiği, en yüksek anormal spermatozoa oranının ise kontrol grubunda tespit edildiği bildirilmiştir. 0 ve 24. saatlerde Trehaloz ve kontrol grupları arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olduğu ($P<0,05$) tespit edilmiştir. 5°C 'de 24 saat saklanan edilen sperma

örnekleriyle laparoskopik suni tohumlama ile intrauterin olarak gerçekleştirilen tohumlamalar sonucunda BHT grubunda %50, trehaloz grubunda %20 ve kontrol grubunda ise %40 olarak gebelik sağlandığı ve gruplar arasındaki farkın önemli olmadığı bildirilmiştir. Araştırma sonucunda sulandırıcıya eklenen trehalozun yalnızca anormal spermatozoa oranının düşük olmasında önemli katkı sağladığı bildirilmiştir.

Koç spermasının dondurulabilirliği üzerine farklı oranlarda eklenen boğa (BSP) ve alabalık seminal plazmasının (ASP) etkilerini belirlemek üzere, 2-3 yaşlı 5 Kıvırcık ırkı koçla bir araştırma yapılmıştır. Çiftleşme mevsimi dışında haftada bir kez olmak üzere elektroejakülatörle 3 sefer sperma toplanmıştır. Spermatolojik özellikler incelenerek en az +++ kitle hareketi ve motilite oranları %70'ten fazla olan sperma örnekleri birleştirilip, son konsantrasyon 1/5 (sperma/sulandırıcı) olacak şekilde %15 ve %30 alabalık ve aynı oranlarda boğa seminal plazması ve seminal plazma ilave edilmeyen (kontrol) sulandırıcı ile iki aşamalı sulandırma yöntemi ile sulandırma yapıp ekilibre edilerek 0,25 ml'lik payetlerde dondurulmuştur. Gliserolsüz sulandırıcı (Sulandırıcı A) ile sulandırılıp 5°C'de soğutulularak ekilibrasyon ve çözündürme sonrasında motilite ve morfolojik bozukluk açısından oranlar belirlenmiştir. Dondurma ve çözündürmenin spermanın motilite ve akrozomal bütünlüğüne negatif etkisi tespit edilmiştir. Çözündürme sonrasında en düşük motilite ASP grubunda tespit edilirken, BSP grubunun ise kontrol grubuna göre daha yüksek motilite oranına sahip olduğu bildirilmiştir ($p<0,05$). Çözündürme sonrası kontrol grubunda akrozomal bozukluk oranı, diğer gruplara nazaran düşük tespit edilmiştir. Araştırma sonucunda koç spermasını dondurma aşamasında kullanılan sulandırıcılara ilave edilen boğa seminal plazmasının çözündürme sonrası spermatolojik özellikleri olumlu yönde etkileyebileceği kanısına varıldığı bildirilmiştir (Alçay vd 2013).

Agas vd (2014), İvesi spermaları üzerine anizo-ozmotik ortam ve kryoprotektanların etkilerini motilite, membran ve akrozom bütünlüğü açısından değerlendirmek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Çiftleşme mevsiminde iki İvesi koçundan toplanan ejakülatlar birleştirilerek iki aşamalı çalışmada kullanılmıştır. Çalışmanın birinci aşamasında sperma 75, 150, 225, 325, 425, 600 ve 900 ± 5 miliosmollük (mOsm)/kg sükröz

solüsyonu ile 5 dakika muamele edilip yeniden izo-ozmotik duruma getirilmiştir. İkinci aşamasında ise, sperma 0,5; 1,0 ve 1,5 M gliserol (Gly), dimetilsülfoksit (DMSO), etilen glikol (EG) ve propilen glikol (PG) içeren solüsyonlarla 5 dakika muamele edilip yeniden izoozmotik duruma getirilmiştir. Sperma motilite, akrozom ve membran bütünlüğü açısından değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda spermatozoon motilitesinin izoozmotik olmayan stres şartlarından önemli ölçüde etkilendiği tespit edilmiştir. Genel olarak izoozmotik olmayan ortam akrozom bütünlüğüne etki etmezken, 75 mOsm'lük sükröz solüsyonunun akrozom bütünlüğünü büyük ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Kryoprotektanın spermaya ilave edilmesi ve çıkarılması motilite ve akrozom bütünlüğünü (0,5 M Gly hariç) büyük ölçüde etkilediği ($P<0,05$), sonuçta İvesi koç spermasının değişik stres şartlarından çeşitli şekillerde etkilendiği bildirilmiştir.

İşlenen spermada ortaya çıkan membran hasarlarının, soğutma sırasında sıcaklığın özellikle 20°C den 5°C'e hızlı düşmesi nedeniyle soğuk şoku yaralanmalar ve/veya depolama sürecinde spermaların yaşlanmasına bağlı olarak şekillenen değişikliklerden kaynaklandığı bildirilmiştir. Ayrıca koç spermalarının fazla miktarda doymamış fosfolipit içeriklerinden dolayı soğuk şokuna karşı daha hassas olduğu bildirilmiştir (Ceylan vd 2013).

Boğalarda çözündürme sonrası inkübasyon süresince spermatozoonun motilite, canlılık ve akromozom bütünlüğü üzerine arı sütünün etkilerini belirlemek üzere bir çalışma yapılmıştır. Dondurulup-çözündürülen semen örnekleri %0,1; 0,2; 0,3 ve 0,4 oranında arı sütü içeren ve içermeyen Tris çözeltisinde 37°C'de inkübe edilmiştir. Sperm motilitesi, canlılık ve akromozal bütünlük 0; 0,5; 1; 1,5 ve 2. saatte belirlenmiştir. Sperm motilitesi, canlılık ve akrozom bütünlüğü oranları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en yüksek %0,4 arı sütü içeren Tris çözeltisinden sağlanmıştır ($p<0,05$). İnkübasyondan 2 saat sonrasında motilite, canlılık ve akrozom bütünlüğü %0,4 arı sütü içeren çözeltide sırasıyla %52,3; 52,5 ve 19,8 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçların %0,4 oranında arı sütü ilavesinin inkübasyon ortamında spermatozoonun daha iyi kalite ve uzun ömürlü kalabilmesini sağladığını bildirmişlerdir.

Arı sütünün sperm kalitesi ve fertilitiyi geliştirici olarak semen sulandırıcısı olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır (Abd-Allah 2010).

Abd-Allah (2012) tarafından Buffalo sığırlarında heparinle birlikte arı sütünün sperm motilitesi, akrozom bütünlüğü ve buffalo yumurtalarının *in vitro* fertilizasyonu üzerine etkilerini belirlemek üzere bir çalışma yapılmıştır. 5 boğadan alınıp dondurulup çözündürülen spermatazoalar 100 µg/ml heparin ile yıkanarak %0,4 oranında arı sütü ile 3 saat süresince muamele edilmiştir. Sperm motilitesi, akrozom bütünlük ve olgunlaşmış yumurtaların fertilizasyon oranları 1,2 ve 3. saatte belirlenmiştir. Bu değerler açısından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %0,4 oranındaki arı sütünden elde edilen değerler daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). İnkübasyondan 2 saat sonrasında motilite, akrozom bütünlüğü olgunlaşan yumurtalarda fertilizasyon oranları %0,4 arı sütünde sırasıyla %93,6; %77,6 ve %72,6 olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre heparin ile birlikte kombine olarak %0,4 arı sütü ile muamele edilen buffalo spermelerinde sadece sperm akrozom bütünlüğünde değil aynı zamanda *in vitro* fertilizasyon kapasitesinde de etkili olduğunu bildirmiştir.

Dondurulup çözündürülen buffalo spermelerinde sperm kalitesi, *in vitro* ve *in vivo* fertilizasyon üzerine arı sütünün etkilerini belirlemek üzere yapılan çalışmanın ilkinde toplanan ejakülatlar farklı oranlarda (%0; 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 veya 0,4) arı sütü ilavesi ile tris-sitrikasit sulandırıcısına eklenmişlerdir. Sulandırılan semen +4°C’de soğutulurak 0,5 ml’lik strawlarda dondurma prosedürüne göre dondurulmuşlardır. Strawlar çözündürülerek sperm motilite, canlılık, plazma membran, akrozom ve kromotin bütünlüğü açısından değerlendirilmiştir. Sonuçlar motilite açısından %0,05; 0,1; 0,2 ve 0,3 oranındaki arı sütünde %0,4 oranındaki arı sütü içeriği ve kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Sperm canlılığı, plazma membran ve akrozom bütünlüğünün %0,1 oranındaki arı sütü ilaveli grup ile diğer uygulama grupları karşılaştırıldığında önemli ölçüde geliştiği tespit edilmiştir ($p<0,05$). İkinci çalışmada ise, %0,1 oranında arı sütü ilaveli ve kontrol grubu (arı sütü ilavesi olmadan) sperm dondurularak *in vitro* fertilizasyon gücü ve *in vivo* fertilitiyi açısından değerlendirilmiştir. *In vitro* fertilizasyon metodu bölünme oranını belirlemek için planlanmışken *In vivo*

fertilite deneme süresince de suni tohumla planlanmıştır. Buffalolar kızgınlık belirtilerinden 12 saat sonra tohumlanmışlar ve ultrason ile gebelikleri teşhis edilmiştir. Sonuçlar, bölünme oranının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %0,1 oranındaki arı sütü grubunda daha yüksek olduğunu göstermiştir ($p<0,05$). Bununla beraber gebelik oranları %0,1 oranındaki arı sütü ile kontrol grubu arasında benzer bulunmuştur ($p>0,05$). Sonuçta arı sütünün dondurma işlemlerinde canlı kalma ve *in vitro* fertilizasyon kapasitesini geliştirebileceği vurgulanmıştır (Shahzad *et al.* 2016).



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Hayvan materyali

Araştırma kapsamında sperma elde etmede 1, 2, 3, 4 ve 5 yaşlı Romanov melezi koçlar kullanılmıştır. Dişi hayvan materyalini, 2–5 yaşlı, vücut kondisyon skorları bakımından homojen (2,5–3) sürüden şansa bağlı olarak seçilen toplamda 210 koyun oluşturmuştur. Ayrıca laparoskopik suni tohumla yöntemi için, kızgınlık senkronizasyonu sonrasında kızgınlık gösteren koyunları tespit edebilmek için vazektomi yapılmış 10 baş arama koçu kullanılmıştır.

3.1.2. Hormon materyali

Araştırmada kızgınlıkları senkronize etmek amacıyla CIDR (0,3 gr progesteron; Eazi-Breed CIDR, Pfizer, Yeni Zelanda) plastik cihaz ve çoklu ovulasyon sağlamak için de PMSG (Chronogest/PMSG, 6000 I.U., Intervet, Fransa) kullanılmıştır.

3.1.3. Yem materyali

Araştırmaya dâhil edilen hayvanların beslenmesinde kuru çayır otu ve toklu besi yemi kullanılmıştır. Bu yemlerle ilgili ham besin madde içeriği Çizelge 3.1 ve 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kuru çayır otunun ham besin madde içeriği

Yem	Kuru Madde %	Organik Madde %	Ham Protein %	Ham Yağ %	Ham Selüloz %	N’siz Öz Madde %	Ham Kül %
K.Ç.O.	90,00	84,42	9,1	2,00	32,15	37,08	5,18

Çizelge 3.2. Toklu besi yeminin besin madde içeriği

	Toklu Besi Yemi
Kuru Madde %	88
Ham Protein %	12
Ham Selüloz %	12
Ham Kül %	9
Kalsiyum %	1,1
Fosfor %	0,4
Sodyum %	0,25
NaCl %	1
HCL’de Çözülmeyen kül %	1
A Vitamini IU/kg	-
D3 Vitamini IU/kg	-
E Vitamini mg/kg	-
Metabolik Enerji	2750 kcal/kg

3.1.4. Laboratuvar malzeme ve ekipmanları

3.1.4.a. Arı sütü temini üretiminde kullanılan malzemeler

Arı sütü üretimi için 8-10 mm genişliğinde 10 mm derinliğinde, üzerinde 30 yüksük olan plastik ana arı yüksük çıtaları ve üç sıra yüksük çıtasının monte edildiği çerçeveler kullanılmıştır. Arı sütü üretimi için güçlü ve çok sayıda genç işçi arısı bulunan kovanlar seçilmiştir. Bu kovanlar ballı-polenli-açık yavrulu petekler-boşluk-açık yavrulu polenli-ballı ve şurupluklar şeklinde düzenlenmiştir. Çerçeveler üç sıralı ve yaklaşık 80-100 arası yüksük içerecek şekilde hazırlanmıştır. Üretilen arı sütünün -20°C’de depolanması için küçük renkli cam şişeler ve derin dondurucu kullanılmıştır. Arı sütü üretimi süresince üretim kolonilerine günlük besleme yapmak için şurupluklar kullanılmıştır.

3.1.4.b. Sperma toplama sırasında kullanılan malzemeler

Araştırmada, laparoskopik suni tohumlama yönteminde kullanılan spermanın toplanmasında suni vajen kullanılmıştır. Erkek hayvanın ejakulasyonunu sağlayan

sıcaklık, kayganlık ve basınca sahip olan suni vajen sperma toplamada kullanılan en yaygın ve en güvenilir yöntemdir. Bununla beraber, suni vajen yönteminde damızlık erkeklerin bu yönteme daha önceden alıştırılmış olması başarılı bir sperma toplama için gereklidir.

Spermanın suni vajen ile toplanması sırasında 1 adet dereceli sperma toplama kadehi (Minitube, Almanya), spermanın konsantrasyon tespiti için 1 adet Thoma lamı, motilite tespiti için lam, lamel ve spermanın mikroskopik değerlendirilmesi sırasında videolu mikroskop kullanılmıştır.

3.1.4.c. Sperma değerlendirme ve sulandırma

Suni vajen yöntemi ile toplanan sperma soğuk şoku ve güneş ışığına maruz bırakılmadan 32°C'deki su banyosu içerisine konularak, arı sütü ve diğer sperma sulandırıcısının ilavesine kadar muhafaza altına alınmıştır. Spermaya arı sütünün farklı oranlarda ilavesi, farklı konsantrasyonda sulandırma işlemleri birbirini takip eden üç muamele grubunun oluşturulmasında etap etap gerçekleştirilmiştir.

Spermayı sulandırmak amacı ile OviPro (Minitüb GmbH, Almanya) kullanılmıştır. Aynı zamanda tohumlama sırasında spermanın uterus boynuzlarına verilmesini daha iyi gözlemleyebilmek için sulandırıcıya dâhil edilmek üzere mavi renkli BluePBS (Minitüb, Almanya) Thawing medyumunu spermayı renklendirmek amacı ile kullanılmıştır.

İlk deneme grubunda +4°C'de 120. saate kadar soğutulan spermada en ideal arı sütü oranının tayin edilmesi için intrauterine tohumlama için tavsiye edilen doz olan 100×10^6 spermatozoon/0,25 ml miktara %0; 0,5; 1; 1,5 ve 2 oranlarında arı sütü ilave edilmiştir. İkinci deneme grubunda en ideal arı sütü oranının belirlenmesinin ardından en uygun sperma konsantrasyonunun belirlenmesi aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada 50, 100 ve 200×10^6 spermatozoon/0,25 ml konsantrasyonundaki spermalar en ideal arı sütü oranı muamele edilerek laparoskopik suni tohumlamada kullanılmıştır. Üçüncü

deneme grubunda spermaların derin dondurma işlemi 0,25 ml spermada 100×10^6 spermatozoon konsantrasyonunda gerçekleştirilmiş ve laparoskopik suni tohumlamada kullanılmıştır.

Motilite testi sperma kalitesinin en önemli ölçütlerinden birisidir. Sperma kalitesinin belirlenmesinde, aynı yönde güçlü hareket eden spermatozoit oranının tespiti rol oynamaktadır. Sulandırılmadan sperma örneklerinde ve küçük (5x veya 10x) oküler büyütme ile kitle hareketi belirlenmiştir. Gözlemlene yapılarak çok iyiden hareketsiz doğru skorlama yapılmıştır. Mikroskop altında ileriye doğru, yerinde dönerek yaptığı dairesel, olduğu yerde titreşim ve geriye hareket şeklinde 4 tip spermatozoit hareketi görülmektedir. Yoğun sperma özelliğine sahip olan koç sperması gibi spermaların motilite açısından değerlendirmesinde spermanın izotonik tampon sulandırıcılar ile sulandırılması gerekmektedir. Sulandırılan bir miktar sperma lam üzerine damlatılıp üstü lamel ile kapatılarak ısıtma tablası üzerinde videolu mikroskopta incelenip ileriye doğru güçlü hareket eden spermlerin oranı yüzde cinsinden tahmini olarak belirlenmiştir. Suni tohumlama uygulamalarında bu oranın en az %70 olması gerekmektedir (Ömür 2015).

3.1.4.d. Suni tohumlama esnasında kullanılan malzemeler

Kızgınlıkları senkronize edilen koyunlarda laparoskopik suni tohumlama (LST) yöntemi uzman veteriner hekim tarafından gerçekleştirilmiştir. Kızgınlıkların senkronize edilmesinde CIDR plastik cihaz ile çoklu ovulasyonu sağlamak amacı ile de hayvan başına 500 I.U. PMSG kullanılmıştır. CIDR plastik cihazların vajinaya yerleştirilmesi ve suni tohumlama sırasında dezenfeksiyonu sağlamak amacıyla 2 lt dezenfektan (Dezen, Vetaş, Türkiye) kullanılmıştır. LST sırasında tohumlama için tohumlama pipeti (IMV, ABD), operasyon bölgesinin kapatılmasında titanyum klips (ASCULAP, Kanada), 1 adet laparoskop seti (0 derece rijit endoskop, ışık kaynağı, ışık kablosu, CO₂ insüflatoru, beş adet operasyon masası, üç adet otomatik kırkım makinası), su banyosu, videolu mikroskop, anestezi kokteyli (10 ml Alfamine, 0,2 ml Alfazyne, Hollanda), antibiyotik (Tenaline LA, Ceva-Dif, Fransa; hayvan başına 5 ml) kullanılmıştır.

Sulandırılıp arı sütü ilave edilen spermanın 120. saate kadar +4°C’de muhafazası için buzdolabı ve -196°C’de spermaları dondurmak için payet, dondurma sistemi ve sıvı azot kullanılmıştır.

3.1.4.e. Gebelik teşhisinde kullanılan malzemeler

Laparoskopik suni tohumlamadan 45 gün sonrasında bir gün önceden aç ve susuz bırakılan koyunlar gebelik testine tabi tutulmuşlardır. Bunun için koyunda açlık çukuru hizasında hemen memenin önünde yapağının olmadığı bölgeye ultrason jeli sürülerek Real Time Ultrason (Draminski, 5 Mhz; Polonya) ile abdominal gebelik muayenesi yapılmıştır.

3.2. Yöntem

Araştırmada arı sütü temini için güçlü iki katlı 5 adet arı kolonisi kullanılmıştır. Bu kolonilerin ana arıları alınmış ve arılar tek kata sıkıştırılmıştır. Her bir kovanda, 3 sıra plastik yüksüklü tek çerçevede 90 yüksük ile toplam 450 yüksük kullanılmıştır. Her 4-5 yüksükten 1 gr arı sütü üretimi dikkate alındığında yaklaşık 100 gr arı sütü üretimi gerçekleşmiştir. Arı sütü alımı larva transferinden 72 saat sonra hasat edilmiş ve depolanmıştır. Arı sütlerinin Temmuz-Ağustos aylarında üretimi yapılmıştır. Toplanan arı sütleri, renkli küçük cam şişelere konarak soğuk zincirde -20°C’de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Arı sütü üretimi süresince, üretim kolonilerinin günlük beslemeleri için yarım kg şeker şurubu (1:1) ile besleme yapılmıştır.

Arı sütünün antioksidant özelliğinin koç spermasının muhafazasında bazı fizyolojik özellikler üzerine etkilerini belirlemek üzere üç farklı araştırma grubu planlanmıştır. Bunun için üç deneme grubunda spermanın farklı konsantrasyon ve arı sütü oranlarının koyunlarda gebelik oluşturma üzerine etkileri incelenmiştir. Bu amaçla toplam 210 koyun kullanılmıştır. İlk deneme grubunda spermanın soğutulmuş olarak muhafazasının 72, 96 ve 120. saatlerinde laparoskopik suni tohumlama gerçekleştirmek üzere toplam 90 koyunda vajina içi CIDR 12 gün süre ile uygulanarak kızgınlık senkronizasyonu

yapılmıştır. CIDR uygulamasının sona erdirilmesinden hemen sonra 500 I.U. PMSG kas içi enjekte edilmiştir. Kızgınlıkları arama koçları ile belirlenen koyunlar kızgınlıklarının 48-52. saatlerinde en ideal arı sütü oranının belirlendiği ve üç farklı zamanda soğutulmuş sperma ile tohumlanmışlardır. İkinci deneme grubunda sperma konsantrasyonunun en ideal dozunun belirlenmesi için, üç farklı konsantrasyonda sperma ile tohumlanmak üzere 90 koyun kullanılmış ve I. deneme grubundaki kızgınlık senkronizasyon yöntemi uygulanmıştır. Son deneme grubunda en ideal konsantrasyon ve arı sütü oranı ile sperma -196°C'de dondurularak çözündürme sonrası 30 baş, kızgınlıkları senkronize edilen koyunlarda laparoskopik suni tohumlamada kullanılmıştır.

Sperma elde etmede 1, 2, 3, 4 ve 5 yaşlı Romanov melezi koçlar kullanılmıştır. Sperma almada suni vajen kullanılmış ve 1 yaşlı koçlar hariç diğer yaş gruplarındaki koçlarda sperma miktarı ve motilite oranları benzer bulunduğu için yaş faktörü elemine edilerek 1 yaş hariç tüm yaş gruplarındaki koçlardan toplanan spermalar birleştirilerek deneme planları kurulmuştur. Spermaya arı sütünün farklı oranlarda ilavesi, farklı konsantrasyonda sulandırma işlemleri birbirini takip eden üç muamele grubunun oluşturulmasında etap etap gerçekleştirilmiştir. İlk deneme grubunda +4°C'de 120. saate kadar soğutulan spermada en ideal arı sütü oranının tayin edilmesi için intrauterine tohumlama için tavsiye edilen doz olan 100×10^6 spermatozoon/0,25ml miktara %0; 0,5; 1; 1,5; 2 oranlarında arı sütü ilave edilmiştir. 120 saat boyunca her 24 saate bir olmak üzere motilite testleri gerçekleştirilmiştir. İkinci deneme grubunda, en ideal arı sütü oranının belirlenmesinin ardından en uygun sperma konsantrasyonunun belirlenmesi aşamasına geçilmiştir. Bu aşamada 50, 100 ve 200×10^6 spermatozoon/0,25 ml konsantrasyonundaki spermalar en ideal arı sütü oranı ile muamele edilerek laparoskopik suni tohumlamada kullanılmıştır. Üçüncü deneme grubunda en ideal konsantrasyon ve arı sütü oranı ile spermaların derin dondurma işlemi (-196°C'de) 0,25 ml spermada 100×10^6 spermatozoon konsantrasyonunda gerçekleştirilmiş ve dondurmadan 7 gün sonrasında laparoskopik suni tohumlamada kullanılmıştır.

Tüm tohumlama gruplarında gebelik muayenesi tohumlamanın 45. gününde Real Time ultrason ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. İncelenen parametreler

3.2.1.a. Motilite

Sperma kalitesinin belirlenmesinde önemli ölçütlerinden biri olan motilite açısından gözleme dayalı olarak değerlendirme yapılmıştır. Aynı yönde güçlü hareket eden spermatozoit oranına göre sperma kalitesi değerlendirilmiştir. Sulandırılmadan sperma örneklerinde ve küçük (5x veya 10x) oküler büyütmelemler ile kitle hareketi belirlenmiş ve çok iyiden hareketsize doğru skorlama yapılmıştır. Aynı zamanda 0,25 ml ölçeğindeki payetlerde + 4°C'de farklı sürelerde (24, 48, 72, 96 ve 120 saat) muhafaza edilen sperma örnekleri ile derin dondurma sonrası çözündürülen sperma örnekleri motilite açısından değerlendirilmiştir.

3.2.1.b. Arı sütü oranı

Koç spermasının soğutulmuş (120 saat süresince) ve dondurulmuş muhafazasında farklı oranlarda (%0; 0,5; 1; 1,5; 2) arı sütünün spermatozoa motilitesi üzerine etkilileri belirlenerek en ideal arı sütü oranı tespit edilmiştir.

3.2.1.c. Sperma Konsantrasyonu

En ideal arı sütü oranı ile 50×10^6 , 100×10^6 ve 200×10^6 sperm/0,25 ml konsantrasyonundaki spermalar ile koyunlarda laparoskopik suni tohumlama gerçekleştirilerek, farklı konsantrasyonlarda soğutulmuş spermanın gebelik oranları belirlenerek en iyi sperma konsantrasyonu tespit edilmiştir.

3.2.1.d. Gebelik oranı

Farklı saklama koşullarında, farklı arı sütü oranları ve farklı sperma konsantrasyonları ile laparoskopik suni tohumlama yöntemi ile tohumlanan koyunlarda tohumlamanın 45. gününde Real Time Ultrason ile abdominal gebelik muayenesi yapılmış ve bu sonuçlara göre gebelik oranları tespit edilmiştir. Gebelik oranının belirlenmesinde;

$$\text{Gebe kalanların sayısı} / \text{Çiftleştirilenlerin sayısı} \times 100 \quad (1)$$

denkleminde faydalanılmıştır.

3.2.2. İstatistiksel analizler

Araştırmaların sonunda elde edilen verilerin istatistiksel analizinde General Linear Model yöntemiyle “MINITAB” paket programı (Ryan *et al.* 1985) ile muamele ortalamalarını karşılaştırmak için de Duncan Çoklu Karşılaştırma testi kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Yapılan çalışmada, koç spermasına farklı oranlarda ilave edilen arı sütünün soğutulmuş ve dondurulmuş olarak saklanan spermalarda motilite üzerine etkileri belirlenmiştir. Koç spermasının soğutulmuş saklanması (120 saat süresince) farklı oranlarda arı sütünün spermatozoa motilitesi üzerine etkili olduğu gözlenmiştir. Çizelge 4. 1’de görüldüğü üzere, motilite oranları arı sütü oranının artan dozlarında daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte ilk 24 saat içerisinde motilite oranlarında önemli oranda farklılık %1 ve daha fazla oranda arı sütü ilavesiyle elde edilirken 48. Saatte yalnızca %2 oranında arı sütü lehinde bir değişim gözlenmiştir. Saklama süresinin 72. Saate ulaştığı zaman yapılan motilite testinde arı sütü oranları birbirine yakın değerlerde motilite oranı sağlarken, 96 ve 120. saatlerde istenen motilite oranının %1,5 ve 2 oranındaki arı sütünden sağlandığı tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Farklı oranlarda arı sütü ilavesinin Ovipro sulandırıcısıyla sulandırılan ve 4°C’de muhafaza edilen koç spermalarının motilite oranlarına etkisi

Arı sütü Oranı	Muhafaza süresi (saat)					
	Taze	24	48	72	96	120
0	76 ^a	68 ^a	66 ^a	63 ^a	59 ^a	53 ^a
0,5	75 ^a	70 ^a	68 ^a	66 ^b	64 ^b	62 ^b
1	78 ^a	74 ^b	71 ^a	68 ^b	68 ^c	65 ^b
1,5	80 ^a	77 ^b	72 ^a	70 ^b	70 ^{cd}	68 ^c
2	79 ^a	76 ^b	75 ^b	72 ^b	72 ^d	69 ^c

^{a,b}: Farklı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemli, aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir.

İkinci deneme grubunda en ideal arı sütü oranı olarak tespit edilen %1,5 oranı ile 50×10^6 , 100×10^6 ve 200×10^6 sperm/0,25 ml konsantrasyonundaki spermalar, kızgınlıkları CIDR ile toplulaştırılıp 500 I.U. PMSG enjeksiyonu uygulanan koyunlarda

laparoskopik suni tohumlama gerçekleştirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda soğutulmuş sperma ile yapılan laparoskopik suni tohumlamalarda gebelik oranları sırasıyla %23, 40 ve 57 olarak gerçekleşmiş ve gruplar arası fark istatistiki olarak önemli ($P<0,05$) bulunmuştur.

Son deneme grubunda ise -196°C 'de dondurulup 7 gün sonra çözündürülen sperma ile yapılan tohumlamalarda gebelik oranı %40 olarak tespit edilmiştir.

Üç farklı aşamada yapılan bu araştırma sonuçlarına göre ideal motilite oranları için arı sütü oranı en az %1,5 ve sperm konsantrasyonu 100×10^6 sperm/0,25 ml olarak belirlenmiştir. Spermanın 120 saate kadar muhafazasında %1,5 oranında arı sütü ilavesinin gebelik oranlarında motilite kaybına yol açmadan kabul edilebilir oranların elde edilmesine olanak sağladığı tespit edilmiştir.

Koç spermasına farklı antioksidanlar ilave ederek dondurup çözündürme sonrası spermatozoa motilitesinin , 50 mM taurin ilave edilmiş %3-5 gliserol ihtiva eden Tris sulandırıcısıyla %60'ın üzerinde bulunduğu bildirilmiştir (Sanchez Partida *et al.*, 1997). Başka bir çalışmada, farklı antioksidanlar ilave ederek dondurulan koç spermalarının çözündürme sonrası en yüksek spermatozoa motilitesinin (%62,83), en düşük anormal spermatozoa oranının (%15,83) ve ölü spermatozoa oranının (%32,77) 50 mM taurin ihtiva eden Herpes sulandırıcısıyla elde edildiği bildirilmiştir (Uysal vd 2000).

Bu çalışmada en düşük motilite oranı, arı sütünün %0,5 gibi en düşük oranında bile 120. saatte %62 olarak diğer çalışmalara benzer, daha yüksek oranlarda arı sütü ilavesinin motilite oranlarının 120. saatte ideal sınır olan %70'lerde tutulmasına olanak sağlamıştır. Sentetik formda antioksidan ilavesinin arı sütü gibi doğal antioksidan bileşeninin motilite üzerindeki etkisinin sınırlı olduğu sonucu çıkmaktadır.

Moradi *et al.* (2013) tarafından yapılan benzer bir çalışmada 120. Saate sperm yaşama oranının %0,5 oranında %65 olduğu, 120. saatte arı sütünün artan oranları ile birlikte sperm yaşama gücünün de arttığı, %1 seviyesinde %68 ve %2 oranında %70'lik sperm

yaşama gücünün sağlanmış olması yaptığımız çalışmanın araştırma sonuçları ile uyumlu olduğunu göstermiştir.

Koç spermasına sulandırıcı olarak butylated hydroxytoluene (BHT) ve trehaloz ilave edilerek ml'de 200×10^6 spermatozoa olacak şekilde 0,25'lik payetlerde 5°C'de 24 saat süreyle muhafaza edildikten sonra bu örnekler ile laparoskopik suni tohumla yöntemi ile intrauterin tohumlama gerçekleştirilmiştir. Gebelik oranlarının BHT grubunda %50, trehalez 'da %20 ve kontrol grubunda ise %40 olarak tespit edildiği bildirilmiştir. Gebelik oranları açısından en yüksek değer BHT grubunda olduğu ancak gruplar arasındaki farkın istatistiki açıdan önemli olmadığı bildirilmiştir (Ceylan vd 2013). Bu araştırma sonuçları ile mevcut çalışmamız karşılaştırıldığı zaman 200×10^6 sperm/ml konsantrasyonu ile BHT grubu ile yakın değerler gösterdiği trehaloz ve kontrol grubuna göre ise daha yüksek gebelik oranı elde edildiği görülmektedir.

Yapılan bir çalışmada Akkaraman ırkı koçlardan elde edilen sperma 10 mM Vitamin C veya 50 mM taurin içeren Tris ve Hepes sulandırıcısı ile dondurulup çözündürülmüş ve çözündürme sonrası en iyi değerlerin hepes+taurinle elde ettiklerini bildirmişlerdir (Uysal vd 2000). Başka bir çalışmada ise koç spermasının dondurulması aşamasında 100 mM ve yukarıdaki konsantrasyonlarda taurin sulandırıcısının daha düşük dozlarının aksine spermatozoa motilitesini önemli derecede düşürdüğü bildirilmiştir (Sanchez-Partida *et al.* 1997). Koç spermasının antioksidan ilavesi ile sulandırılması sonucunda spermada antioksidanın akrozom bütünlüğünü sağlamada olumlu etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (Gökçen vd 1985).

Bu çalışmada akrozom bütünlüğü belirlenmemiş olmasına rağmen gebelik sonuçları bu tür bütünlüğe işaret eder niteliktedir.

Pomares *et al.* (1994) tarafından yapılan bir çalışmada, glutatyon peroksidaz ilave ettikleri sperma sulandırıcısı ile dondurulan koç spermasında çözündürme sonrasında akrozom bozukluklarının azaldığını bildirmişlerdir. Berlinguer *et al.* (2003) ise, antioksidan katarak sulandırdıkları koç spermasını, muhafaza süresince belli aralıklarla

kontrol etmişler ve bu kontroller sonucunda ilave edilen antioksidanların spermatozoa canlılığında olumlu katkılar sağladığını tespit etmişlerdir. Gökçen vd (1985) tarafından koçlarda yapılan başka bir araştırmada ise ejakülat üç kısma ayrılarak PGF2 α , Vitamin E ve kontrol grubu olarak 3 şekilde muamele edilmiştir. Dondurma-çözündürme sonrası akrozom bozukluğu oranının diğer gruplara göre Vitamin E grubunda önemli seviyede düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer bir çalışmada araştırmacıların koç spermasına ilave ettikleri superoksit Dismutaz (SOD), sitokrom-c, katalaz ve glutatyon peroksidazın spermatozoa motilitesinde zamana bağlı olarak gerçekleşen düşüşü azalttığını ve akrozom bütünlüğünde pozitif etkisinin olduğunu belirlemişlerdir (Maxwell and Stojanov 1996). Sarlos *et al.* (2002) koç spermasına antioksidan ilave ettikleri çalışmalarında antioksidanın 48. Saate kadar koruyucu etki gösterdiğini, 48.saatten sonra ise motilitede kayda değer bir azalmanın gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Arı sütünün antioksidan etkisinden faydalanmak amacıyla yürütüle bu çalışma da ise koruyucu etkinin 48. saatten sonra daha belirgin olduğu ve soğutulmuş spermanın 120. saate kadar muhafaza edilebileceği sonucu çıkmıştır.

Sperma sulandırıcısına ilave edilen ergotiyoninin koç permatozoonlarında motilite ve membran bütünlüğünde dondurma sırasında oluşabilecek olumsuzluklara karşı koruyucu olabildiği bildirilmiştir (Ari *et al.* 2012). Koç sperması üzerine yapılan bir çalışmada, farklı antioksidanlar kombine edilerek kullanılmış ve bu antioksidanların yalnız kullanıldığı gruplara göre daha iyi sonuç verdiği bildirilmiştir (Upreti *et al.* 1997). Bu çalışmada ilave antioksidan kullanılmadan elde edilen değerlerin, antioksidan etkili diğer bileşenlerle birlikte kullanılmasının daha uzun süre ve yüksek motilite oranlarının alınabileceği düşüncesini doğurmaktadır.

5. SONUÇ

Spermatozoa plazma membranı doymamış yağ asitleri bakımından zengin bir yapıya sahip olduğundan lipit peroksidasyonuna karşı oldukça hassas özellik göstermektedir. Spermaların kısa süreli muhafazaları sırasında hücreler lipit peroksidasyonuna uğrayabilmekte ve sonuçta spermatozoa motilitesi ve membran bütünlüğünde kayıplar ile fertilite oranlarında düşüşler ortaya çıkmaktadır. Bu istenmeyen durumlar, spermanın muhafaza öncesi sulandırıcılara ilave edilen bazı antioksidanlar ile azaltılmaya çalışılmaktadır (Ceylan vd 2013).

Sperma sulandırmayla ilgili yapılan çalışmalarda farklı değerlerin elde edilmesinde kullanılan sulandırıcı ve sulandırıcının içerdiği bileşimlerin miktar ve oranları rol oynamaktadır. Özellikle sperma sulandırmada kullanılan antioksidanların farklı konsantrasyonlarda olması, spermatozoa membran yapısının her türe özgü değişik yapıda olması, mevsimsel ve bireysel farklılıklar da yine farklı sonuçların elde edilmesini sağlamış olabilir (Ceylan vd 2013). Mevcut çalışmada +4°C'de 120 saate kadar muhafaza edilen sperma örnekleriyle laparoskopik suni tohumlama yöntemi ile intrauterin olarak gerçekleştirilen tohumlamalardan elde edilen gebelik oranı %1,5 arı sütü ilaveli 200×10^6 spermatozoa/0,25ml konsantrasyonunda %57 olarak elde edilmiştir. Bu oran BHT (butylated hydroxytoluene) ilave edilen ve 24 saat muhafaza edilen soğutulmuş sperma ile intrauterine tohumlanan koyunlarda elde edilen gebelik oranından (%50) yüksek bulunmuştur. Sulandırıcılara ilave edilen antioksidanlar kriyoprotektanların daha az konsantrasyonlarda kullanılmasını mümkün kılmaktadır. Ayrıca antioksidanların kriyoprotektan özelliğe sahip olması, bunlarla dondurulup çözündürülen spermalardan daha iyi sonuçlar elde edilmesini sağlamaktadır (Ömür 2015).

Dondurma işleminde geleneksel protokolün izlenmesi arı sütünün antioksidan etkisinin kriyoprotektan oranının sabit kalmasıyla gölgelendiği ve literatür bildirişlerine benzer oranlarda gebelik sağlandığı görülmüştür. Bu nedenle arı sütü ilaveli sulandırıcının

derin dondurma işleminde kriyoprotektan oranını düşürecek yeni protokollerinin geliştirilmesi gerektiği sonucu doğmaktadır.

Sonuç olarak, çeşitli hayvan türlerinde spermanın kısa ve uzun süreli saklanması fertilite yeteneğini olumsuz etkilerden koruyarak fertilite oranlarındaki azalmanın önüne geçebilmek için sulandırıcılara çeşitli antioksidan bileşikler ilave edilmektedir. Yapılan çalışmalar ile olumlu etikleri tespit edilmekle beraber, antioksidanların etki mekanizmaları hayvan türü, sulandırıcıların içeriklerine ve dondurma sırasında izlenen adımlara bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Yapılan bu çalışmada sperma sulandırıcısına katılan arı sütünün spermatozoa motilite oranı üzerine pozitif bir etki yaptığı, arı sütünün ideal dozda koç spermasına ilave edilmesinin gebelik oranları üzerine sayısal olarak olumlu bir katkı sağladığı gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- Abd-Allah, S.M., 2010. Effect of royal jelly on bovine sperm characteristics during post-thaw incubation in vitro. *Rev. vet.* 21: 2, 81–85.
- Abd-Allah, S.M., 2012. Effect of Royal Jelly on the Fertilizing Ability of Buffalo Spermatozoa In Vitro. *Journal of Buffalo Science.* 1, 1-4.
- Agas, İ.H., Varışlı, Ö. ve Yurdaydın, N., 2014. Değişik Ozmotik Basınç Düzeyleri ve Kryoprotektif Maddelerin İvesi Koç Sperması Üzerine Etkisi. *Harran Üniv Vet Fak Derg.* 3(2) 84-88.
- Alçay, S., Soylu, M.K. ve Üstüner, B., 2013. Boğa ve Alabalık Seminal Plazmasının Koç Spermasının Dondurulması Üzerine Etkisi. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.* 10(1) 7-14.
- Ari, U.C., Kulaksız, R., Ozturkler, Y., Yildiz, S. and Lehimcioglu, N.C., 2012. Effect of L-(+)-ergothioneine (EGT) on freezability of Tushin ram semen extended with milk based extender. *Reproduction in Domestic Animals. Abstract*, 47 (5): 74.
- Aydemir, B. ve Karadağ Sarı, E., 2009. Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Vet J.* 2 (2):56-60.
- Azab, K.S., Bashandy, M., Salem, M., Ahmed, O., Tawfik, Z., Helal, H., 2011. Royal jelly modulates oxidative stress and tissue injury in gamma irradiated male Wister Albino rats. *North American Journal of Medical Sciences*, Volume 3, No. 6, 268-276.
- Balkanska, R. and Kashamov, B., 2011. Composition And Physico-Chemical Properties Of Lyophilized Royal Jelly. *Uludag Bee Journal.* November ,11(4):114-117.
- Berlinguer, F., Ledda, S., Rosati, I., Bogliolo, L., Leoni, G. and Naitana, S., 2003. Superoxide dismutase affects the viability of thawed European mouflon (*Ovis g. musimon*) semen and the heterologous fertilization using both IVF and intracytoplasmatic Sperm injection. *Reproduction, Fertility and Development.* 15 (1-2), 19-25.
- Ceylan, A., Aksoy, M., Serin, İ., Küçük, N., Uçan, U., Ahmed, E. ve Naseer, Z., 2013. Farklı Antioksidanlarla Kısa Süreli Saklanan Kıvrıkcık Koç Spermasının In Vitro ve In Vivo Değerlendirilmesi. *Animal Health Prod and Hyg.* 2(2) : 216 – 220.
- Cihan, Y.B., Ozturk,A. and Gokalp, S.S., 2013. Protective Role of Royal Jelly Against Radiation-Induced Oxidative Stress in Rats. *International Journal of Hematology and Oncology.* Number: 2 Volume: 23, 79-87.
- Cihan, Y.B. and Deniz, K., 2014. The Effects of Royal Jelly Against Radiation-Induced Acute Oral Mucositis. *International Journal of Hematology and Oncology.* Number: 1 Volume: 24, 36-44.
- Durmuş, A.S. ve Ünsaldı, E., 2005. Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar Ve Kırık İyileşmesi. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi*, 3(3): 20-27.
- Emsen, E. ve Koşum, N., 2009. Koyunculukta Yeni Üretim Teknikleri. *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi.* Cilt 23, Sayı 2, 33-42.
- Erdoğan, A., 2010. Anadolu Arısı Ege Ekotipi (*Apis mellifera anatoliaca*) ve İtalyan (*Apis mellifera ligustica*) X Ege Melezi Bal Arılarının Ve Farklı Yüksük

- Sayılarının Arı Sütü Verimleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Goewie, E.A., 1978. Regulation of caste differentiation in the honey bee (*Apis mellifera*). Landb. Hogesch. Wageningen, 78: 1-75.
- Gökçen, H., Aştı, R.N., Çekgöl, E. ve Şener E., 1985. Prostaglandin F2 alfa ve Vit.E katılarak dondurulan koc Spermalarında akrozom morfolojisi ve döl verimi üzerinde araştırmalar Uludağ Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.4:1-3.
- Gunaldı , O., Daglıoğlu, Y.K., Tugcu, B., Kızılyıldırım, S., Postalıcı, L., Ofluoglu, E. and Koksall, F.,2014. Antibacterial Effect of Royal Jelly for Preservation of Implant-Related Spinal Infection in Rat Turkish Neurosurgery. Vol: 24, No: 2, 249-252
- Kafadar, İ.H., Güney, A., Türk, C.Y., Öner, M. and Silici, S., 2012. Royal jelly and bee pollen decrease bone loss due to osteoporosis in an oophorectomized rat model. Eklem Hastalık Cerrahisi. 23(2):100-105.
- Kamakura, M., Mitani, N., Fukuda, T. and Fukushima, M., 2001. Antifatigue Effect of Fresh Royal Jelly in Mice. J Nutr Sci Vitaminol, 47, 394-401.
- Karacaoğlu, M., Kösoğlu, M. ve Uçak Koç, A., 2004. Farklı Yöntemlerin Ege Ekotipi (*A.m. anatolica*) ve Kafkas (*A. m. aucasica*) x Ege Melezi Balarılarının Arı Sütü Verimleri Üzerine Etkileri. ADÜ Ziraat Fakültesi Dergisi. 1(1) : 29 – 33
- Karaçal Temamoğulları, F., Aral, F. ve Demirkol, R., 2006. Erkek Farelerde Arı Sütünün Uzun Süreli Uygulanmasının Bazı Spermatolojik Özellikler Üzerine Etkisi F.Ü. Sağ. Bil. Derg.: 20 (5): 341 – 344.
- Kösoğlu, M., Yücel, B., Gökbulut, C., Konak, R. ve Bircan, C., 2013. Hasat Zamanının Arı Sütünün Kimi Biyokimyasal ve İz Element Kompozisyonları Üzerine Etkisi. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 19 (2): 233-237.
- Kulaksız, R. ve Daşkın, A., 2009. Farklı antioksidanlarla dondurulan Saanen teke spermasının in vitro ve in vivo değerlendirilmesi. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 56: 201-205.
- Kulaksız, R., 2015. Koyun Ve Keçilerde Laparoskopik Suni Tohumlama. II. Koyun Keçi Sağlığı Ve Yönetimi Sempozyumu, 15-18 Nisan, Marmaris.
- Kumova, U. ve Korkmaz, A., 2000. Doğanın Harika Ürünü Arı Sütü Konusunda Bilinen Ve Bilinmeyen Son Gelişmeler. Bilim ve Teknik. 395:96-101.
- Maxwell, W.M.C., Stojanov, T., 1996. Liquid storage of ram semen in the absence or presence of some antioxidants. Reprod. Fertil. Dev. 8, 1013–1020.
- Moradia, A.R., Malekinejad, H., Farrokhi-Ardabili, F. and Bernousic, I.,2013. Royal Jelly improves the sperm parameters of ram semen during liquid storage and serves as an antioxidant source. Small Ruminant Research 113; 346–352.
- Najafi, G., Nejati, V., Jalali, A.S. and Zahmatkesh, E., 2014. Protective Role of Royal Jelly in Oxymetholone-induced Oxidative Injury in Mouse Testis. Iranian Journal of Toxicology Volume 8, No 25, 1073-1080.
- Ömür, A.D., 2011. Sezon İçi ve Sezon Dışında Koç Spermasının Dondurulmasında Antioksidanların Etkisi. Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Ömür, A.D. 2015. Koç Spermasının Dondurulmasında Antioksidanların Etkisi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg. 10(1): 61-69.
- Pomares, C.C., Stojanov, T., Epplenton, J. and Maxwell, W.M.C., 1994. Effect of glutathion peroxidase on the survival of goat and ram spermatozoa during liquid storage. Proc 7th International Symposium of Spermatology Abstracts, 9, 24-28.

- Ryan, B.F., Joiner, B.L. and Ryan, T.A., 1985. Minitab handbook. Boston, Massachusetts, Duxbury Press, PWS Publishers, 374 p.
- Sabatini, A.G., Marcazzan, G., Caboni, M.F., Bogdanov, S., Almeida-Muradian, L.B. 2009. Quality and standardisation of royal jelly. JAAS, 1: 1-6.
- Sanchez-Partida, L.G., Setchell, B.P., Maxwell, M.C., 1997. Epididymal compounds and antioxidants in diluents for the frozen storage of ram spermatozoa. Reproduction, Fertility and Development. 9;689-696.
- Sarlos, P., Molnar, A., Kokai, M., Gabor, G. and Ratky, J., 2002. Comparative evaluation of the effect of antioxidants in the conservation of ram semen. Acta Veterinaria Hungarica, 50(2), 235-245.
- Silici, S., Ekmekcioglu, O., Eraslan, G. and Demirtas, A., 2009. Antioxidative Effect of Royal Jelly in Cisplatin-induced Testes Damage. Urology, 74(3): 545–55.
- Shahzad, Q., Mehmood, M.U., Khan, H., Husna, A., Qadeer, S., Azam, A., Naseer, Z., Ahmad, E., Safdar, M. And Ahmad, M., 2016. Royal jelly supplementation in semen extender enhances post-thaw quality and fertility of Nili-Ravi buffalo bull sperm. Animal Reproduction Science 167:83–88.
- Uçan, U., 2014. Fruktöz , Trehaloz Ve Sükröz İçeren Tris Bazlı Sulandırıcıya Kolesterol Yüklü Siklodekstrin (CLC) İlavesinin Koç Spermasının Dondurulabilirlik Ve Çözüm Sonu Spermatolojik Parametreler Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Upreti, G.C., Jensen, K., Oliver, J.E., Duganzich, D.M., Munday, R. and Smith, J.F., 1997. Motility of ram spermatozoa During storage in a chemically--- defined diluent containing antioxidants. Animal Reproduction Science. 48(2-4), 269-78.
- Uysal, O., Kinet, H., Çevik, M., Çetinkaya, S., 2000. Değişik antioksidanlar içeren farklı sulandırıcılarla dondurulmuş koç spermalarından elde edilen dölverimi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 47;177-189
- Watson, P.F., 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. Reprod Fertil Dev. 7(4):871-891.
- Yang, A., Zhou, M., Zhang, L., Xie, G., Chen, H., Liu, Z. and Mab, W., 2012. Influence of royal jelly on the reproductive function of puberty male rats. Food and Chemical Toxicology 50: 1834–1840.
- Yıldırım, S., Karadeniz, A., Karakoç, A., Yıldırım, A., Kalkan, Y. and Şimşek, N., 2012. Effects of royal jelly on liver paraoxonase activity in rats treated with cisplatin. Turk J Med Sci. 42 (3): 367-375.
- Yıldız, L. ve Umudum, Z., 2000. Arı Sütünün Serum Kolesterol ve Trigliserid Seviyeleri Üzerine Etkisi. T Klin J Med Sci. 20:261-263.

ÖZGEÇMİŞ

1990 yılında Erzurum Yenişehir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum’da tamamladı. 2009 yılında başladığı Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü’nden 2014 yılında mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Hayvan Yetiştirme Ana Bilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.

