

## EVCİL HAYVAN SPERMALARININ DONDURULMASINDA FARKLI KANATLI TÜRÜ YUMURTA SARILARININ KORUYUCU ETKİLERİ\*

Burcu YALÇIN<sup>1</sup>, Eser AKAL<sup>1</sup> ✍

<sup>1</sup>Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve  
Suni Tohumlama Anabilim Dalı Samsun/Türkiye

Geliş Tarihi: 02.05.2017 Kabul Tarihi: 13.07.2017

Makale Kodu: 289172

*\*Bu derlemenin bazı bilgileri 5-9 Ekim 2016 tarihleri arasında Manavgat/Antalya'da düzenlenen 8. Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Bilim Kongresi'nde POSTER olarak sunulmuştur.*

### ÖZET

Farklı türler için deneysel olarak tasarlanmış teknik ayarlamalar, günümüze kadar birçok alanda (suni tohumlama, tür koruma ve klinik tıp gibi) gereksinim haline gelen sperma dondurma işleminde kullanıma girmiştir. Memeli spermalarının dondurulmasında yumurta sarısı; içerdiği özel ajanların koruyucu etkileri sayesinde katkı maddesi olarak yerini almıştır. Bu amaçla geniş çapta kullanılmakta olup ve spermatozoon motilitesi, canlılığı ve fertilizasyon kapasitesi üzerinde olumlu etkilere sahiptir. Yumurta sarısında bulunan protein, lipid ve kolesterol dondurma sürecinde çeşitli aşamalar boyunca spermayı aktif olarak korumak için mevcuttur. Daha iyi çözüm sonu sperma kalitesi elde etmek amacıyla farklı kanatlı türlerinin yumurta sarılarının geleneksel olarak kullanılan tavuk yumurta sarısı yerine kullanımı denenmiş ve hayvan türlerine göre farklı olmakla birlikte olumlu sonuçlar alınmıştır. Bu durum yumurta sarılarının biyokimyasal içeriklerinin farklılığından kaynaklanabilir. Bu kimyasal farklılıklar; farklı kanatlı türlerinin yumurta sarılarının oluşturduğu sulandırıcılarla yapılan sperma dondurulması işlemindeki çözüm sonu motilitesi ve spermatozoon bütünlüğü farklılıklarıyla açıklanabilir. Aygır, manda, boğa, koç ve domuz spermalarının dondurulmasında tavuk yumurta sarısı yerine kullanılan ördek, kaz, bıldırcın, güvercin, hindi ve keklik yumurta sarıları ile olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Daha net değerlendirme yapılabilmesi için doz planlamalarının ayrı ayrı denenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** *Farklı kanatlı türleri, sperma dondurma, sulandırıcı, yumurta sarısı*



İletişim / Correspondence

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı,  
55270 Atakum-Samsun



0362 312 1919 - 1311



eserakal@omu.edu.tr

## THE PROTECTIVE EFFECTS OF DIFFERENT POULTRY SPECIES EGG YOLKS ON CRYOPRESERVATION IN DOMESTIC ANIMAL

### ABSTRACT

Until today, manifold experimentally designed technical adjustments have been introduced for semen freezing, required for artificial insemination, species protection and clinical medicine. Egg yolk, provided that it is added as an additive in many diluents for freezing mammalian sperm, has taken place thanks to the protective effects of the special agents. For this purpose, it is widely used and has an effect on motility, viability and fertilization capacity. Protein, lipid and cholesterol presented in the egg yolk are available to actively protect the sperm during various stages of freezing. In order to achieve better semen quality, the use of egg yolks of different poultry species instead of chicken egg yolks, have been tried and positive results have been obtained. This condition may be due to the differences in biochemical content of egg yolks. These chemical differences can be explained by post-thaw motility and integrity differences in semen freezing process with extenders, which produced from egg yolks of different poultry species. The positive results were obtained in freezing of stallion, buffalo, bull, ram and boar semen, using of duck, goose, quail, pigeon, turkey and partridge egg yolks instead of chicken egg yolk. It has been concluded that egg yolks of different poultry species can be used as an alternative cryoprotectants instead of chicken egg yolk. However, this assessment needs to be retried for dose planning to become more clear.

**Key Words:** *Different poultry types, egg yolk, semen extender, semen freezing*

### GİRİŞ

Kriyoprezervasyon; hem sulandırma-soğutma-dondurma işlemleri hem de çözündürme işlemleri esnasında meydana gelen ozmotik ve termik şoklara karşı hücrelerin yüksek düzeydeki biyolojik uyumunu kapsayan fizyolojik olmayan bir yöntemdir (1). Yumurta sarısı içeriğindeki koruyucu ajanların keşfi, sperma dondurulma işleminin kilometre taşlarından (2).

Yumurta sarısında bulunan lipitlerin, boğa spermalarının dondurma işlemi sırasında spermatozoada oluşan soğuk şokuna karşı koruyucu etkilerinin olduğunu düşünülmesi, sulandırıcılardaki ilk gelişmelerdir. (3). Yıllar içinde, sperma dondurulmasında birçok tür için deneysel olarak tasarlanmış teknik ayarlamalar kullanıma girmiştir (4, 5).

Bu derlemede, farklı kanatlı türlerinin yumurta sarılarının kullanıldığı sulandırıcılarla yapılan sperma dondurma işlemlerinden elde edilen verilen ile hayvan türlerine

göre hangi yumurta sarısının daha etkin bir alternatif oluşturduğuna dair bilgiler sunulmuştur.

### Kriyoprezervasyonda kullanılan sulandırıcılar

Memeli spermalarının dondurulması için birkaç sulandırıcı tipi kullanılmakta ve bunlar kronolojik kullanımlarına ve gelişmelerine göre gruplandırılmaktadır (5). Sitrat-şeker bazlı sulandırıcılar (6), sakkaroz bazlı sulandırıcılar (7), tris bazlı sulandırıcılar (8), süt sulandırıcıları, laktoz bazlı sulandırıcılar, rafinoz bazlı sulandırıcılar ve tes, hepes ve pipes gibi diğer sulandırıcılar (5) yıllardır kullanılmaktadır.

Spermatozoanın şekil, hacim, organel boyutları ve kompozisyon farklılıklarından dolayı türler arasında dondurma protokolleri farklıdır (9) ve yumurta sarısı hayvan türlerinin çoğu için sperma sulandırıcılarında yaygın olarak kullanılan bir bileşendir (10).

### **Kriyoprezervasyonun etkileri**

Kriyoprezervasyon süreci; sulandırma, soğutma, dondurma ve saklama işlemlerini kapsamaktadır. Spermatozoa, kriyoprezervasyon işleminde maruz kaldığı düşük sıcaklığa uyum sağlayamaz ve bu nedenle spermatozoanın canlılığı ve fonksiyonu olumsuz etkilenir (9).

Soğutma işleminin etkisiyle oluşan hasar, membrandaki kolesterol/fosfolipit oranı, lipit içeriği, hidrokarbon zinciri doygunluğu ve protein/fosfolipit oranı gibi membran elementlerinin kombinasyonuna bağlıdır. Türler arası spermatozoon membranı farklarından dolayı (kolesterol/fosfolipit oranı, çift katlı olmayan lipidlerin içeriği, hidrokarbon zinciri doymuşluk derecesi ve protein/ fosfolipit oranı) soğuk şokundan etkilenme oranları türlere göre farklılık gösterir (9, 11). Domuz spermatozoası soğuk şokundan en hassas derecede etkilenirken, boğa, koç ve aygır spermatozoası daha az derecede duyarlı, köpek ve kedi spermatozoası daha da az duyarlıyken tavşan, insan ve horoz spermatozoası soğuk şoka bu türler içinde en az duyarlıdır.

Sıcaklıktaki düşüşler, hücre içi suyun donması ve sonucunda kristalizasyon oluşup hücre yapılarının bozulması riskinden dolayı kritik önemdedir (9). Ayrıca dondurma işlemleri, spermatozoanın aerobik oksijene maruz kalmasına ve reaktif oksijen türlerinin oluşması sonucu lipid peroksidasyon oluşumuna yol açmaktadır. Lipid peroksidasyon, hidroksil radikallerinin doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girmesiyle başlar ve oksijenle temas ettiklerinde lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar. Lipid peroksidasyon spermatozoada membran hasarına, respirasyonun inhibisyonuna ve hücre içi enzimlerin dışarı çıkmasına, deoksiribo nükleik asit (DNA) hasarına (12) ve motilite kaybına yol açmaktadır (5). Dondurma/çözdürme

işlemleri, spermatozoa ile seminal plazmada antioksidan enzim düzeylerinin azalmasına dolayısıyla spermatozoa membranları üzerinde kalıcı hasarlara yol açmaktadır. Bu durum, spermatozoanın fertilizasyon yeteneği dahil tüm fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilemektedir. Sperma sulandırıcılarına antioksidan ilavesi, dondurmadan kaynaklanan lipid peroksidasyonu kontrol altına almakta, çözüm sonu spermatozoa kalitesini artırmakta ve reaktif oksijen türlerinin spermatolojik fonksiyonlar üzerindeki yıkımlayıcı etkisini önleyerek spermatozoanın fertilizasyon yeteneğini korumaktadır (13).

### **Yumurta sarısının sperma sulandırıcılarındaki yeri ve önemi**

Tavuk yumurta sarısı, geniş kullanılabilirliğinden dolayı spermanın dondurularak saklanması için bir katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (10). Sperma dondurulma sürecinde yumurta sarısının soğuk şokuna karşı koruyucu özelliği ilk olarak 1939 yılında +10°C'de yapılan spermanın kısa süreli saklama işleminde keşfedilmiştir (15). Yumurta sarısının en önemli rolü soğutma ve dondurma işlemi sürecinde spermatozoada meydana gelebilecek zararları önlemesidir (10). Sperma dondurmada yumurta sarısının faydalı etkileri; spermayı soğuk şoka karşı korumakta olan rezistans faktör ve canlılığını sürdürmesine yardımcı olan depolama faktörü olarak sıralanabilir. Yumurta sarısının özellikle kolesterol, fosfolipit ve düşük yoğunluklu lipoprotein içeriği koruyucu bileşenler olarak tanımlanmıştır (16).

Yumurta sarısında bulunan fosfolipitler spermatozoanın soğuk şokundan korunması amacıyla sulandırıcılarda görev yapmaktadır ve bu lipitlerin koruyucu etkisi tam olarak bilinmemektedir (17). Ancak birkaç açıklama ortaya konmaktadır. İlk olarak; spermatozoa membranı ile fosfolipit vezikülleri birleşir ya

da fosfolipitler spermatozoa membranına girerek membranda protein ve kolesterol oranlarını artırırlar veya çoklu doymamış yağ oranını değiştirirler. İkinci olarak; eksojen fosfolipit yapıları hücre membranından kolesterol özütünü çıkarır, böylece spermatozoa membranında fosfolipit-kolesterol oranını değiştirir (18). Bu bilgiler dahilinde, fosfolipit yapıları kolayca spermatozoa membranı yüzeylerine bağlanabilir ve membrana bağlanan yapıları yeniden düzenleyebilir (19).

Ortalama bir tavuk yumurtasının (50-60g'lık) bazı bileşenleri Tablo 1'de belirtilmiştir (20).

### **Farklı kanatlı türlerinin yumurta sarılarının içerikleri**

Yapılan araştırmalarda tavuk haricindeki diğer kanatlı türlerinin (ördek, keklik, bildircin, güvercin) yumurta sarıları, bazı türlerin (aygır, manda, boğa, koç) spermalarının dondurulmasında başarılı şekilde denenmiştir. (23-26).

Kanatlı türlerinin yumurta sarıları içerikleri türlere göre farklılık göstermektedir. Kanatlı türlerinin yumurta sarılarının kullanıldığı sulandırıcılarla yapılan sperma dondurma işlemlerinde, çözüm sonu sperma motilitesindeki/kalitesindeki artış veya düşüş yu-

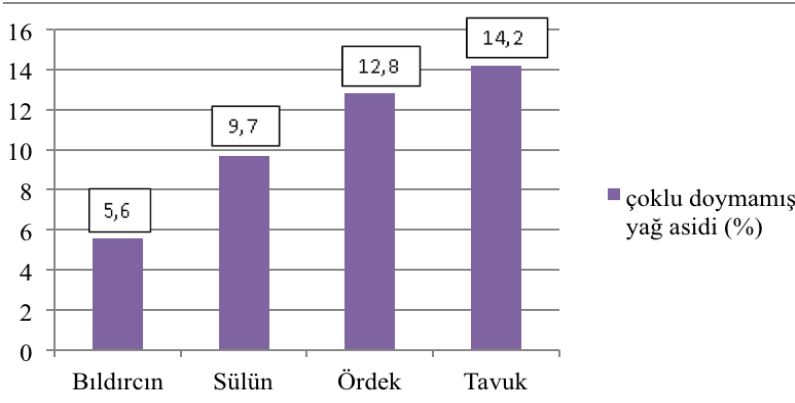
**Tablo 1.** Ortalama bir tavuk yumurta sarısının (50-60g'lık) bazı bileşenleri (20).

(g/100g taze yumurta)	
<b>Protein</b>	15,8 ± 0,4
<b>Toplam Lipit</b>	32,0 ± 0,4
<b>Trigliserit</b>	21,9 ± 0,3
<b>Fosfolipit</b>	8,8 ± 0,3
<b>Kolesterol</b>	1,3 ± 0,1

Daha özel olarak yumurta sarısı içeriğinde bulunan düşük yoğunluklu lipoproteinler (LDL), dondurulma işlemi boyunca spermının korunmasından sorumludur (16). Muhtemelen LDL, spermatozoanın membranına yapışır ve membranı sabitleyerek spermatozoanın korunmasını sağlar. İkinci hipotez; LDL içindeki mevcut fosfolipitler spermatozoanın yüzeylerine koruyucu film oluşturur veya spermatozoanın membran fosfolipitleriyle yer değiştirir ki böylece bu bileşenler zarar görür ve kaybolurlar (21). Üçüncü hipotez ise; LDL spermada zararlı proteinleri yakalar ve böylece spermatozoanın korunmasını sağlar (22).

murta sarılarının biyokimyasal içeriklerinin farklılığından kaynaklanabilir (10, 20). Tekli doymamış yağ asidi açısından bakıldığında ördek yumurta sarısı tavuk yumurta sarısına göre daha fazla miktarda sahipken, tavuk yumurta sarısı bildircin yumurta sarısına göre daha fazla tekli doymamış yağ asidine sahiptir (10). Grafik 1'de hayvan türlerine göre çoklu doymamış yağ asitlerinin yumurta sarısındaki oranları görülmektedir (27).

Bıldircin yumurta sarısı tavuk yumurta sarısına göre önemli derecede yüksek miktarda fosfatidilkolin, daha az miktarda fosfatidiletanolamin, düşük oranda çoklu doymamış yağ asidi içerir (20). Tavuk ve ördek



**Grafik 1.** Farklı hayvan türlerine göre çoklu doymamış yağ asitlerinin yumurta sarısındaki oranları (27).

yumurta sarıları toplam yumurta sarısı lipitleri açısından farklı oranda yağ asitlerine sahiptirler (28). Bu kimyasal farklılıklar; kanatlı türlerinin yumurta sarıları ile hazırlanan sulandırıcılarla yapılan sperma dondurulması işlemindeki çözüm sonu motilite ve spermatozoon akrozom bütünlüğü farklılıklarıyla açıklanmaktadır (10).

Tavuk yumurtasına göre keklik yumurtasındaki yüksek miktarda kolesterol, lipit ve protein dondurma-çözme işlemi sırasında yüksek progresif motilite, canlılık veya akrozomal bütünlüğe yol açarak daha fazla koruma kazandırmaktadır (14).

Keklik yumurta sarısı güvercin yumurta sarısı ile benzer içerik gösterirken (28), aynı zamanda bıldırcın yumurta sarısı ile benzer lipit yapıları göstermektedir (29). Tavuk yumurta sarısı içeren sulandırıcıyla dondurulan spermada düşük motilite değeri bulunması, tavuk yumurta sarısının diğer kanatlı türlerinin yumurta sarılarındaki oranlara göre daha az oranda fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin ve yüksek oranda doymamış yağ asidi içeriğinden dolayı olabilir (20, 29). Tablo 2’de farklı kanatlı türlerinin yumurta sarılarının kolesterol seviyeleri belirtilmiştir (27, 30).

Hindi yumurta sarısında bulunan yüksek miktardaki kolesterolün yararlı olduğu bildirilmiş olup (31), Purdy ve Graham’a (32) göre boğa spermasında kolesterol ilavesiy-

daha iyi çözündürme sonrası sperma kalitesi sağlandığı bildirilmiştir. Ayrıca ördek yumurta sarısının tavuk yumurtasına kıyasla daha yüksek miktarda protein, lipit, kolesterol içerdiği belirtilmektedir (29). Clulow ve ark., (24) aygır spermasında tavuk yumurta sarısı ile ördek yumurta sarısı karşılaştırılmalı olarak denemiş ve ördek yumurta sarısından çözüm sonunda daha iyi motilite sonuçları elde etmişlerdir.

### Hayvan türlerine göre spermmanın protein ve lipit içerikleri

Spermatozoa seminal plazma olarak adlandırılan sıvı medyum içinde bulunmaktadır. Seminal plazmanın biyokimyasal içeriği çok komplekstir ve türler arasında değişkendir. Reprodüktif teknolojiler seminal plazmada spermatozoonun korunduğunu ve beslendiğini ortaya koymaktadır. Seminal plazma spermatozoon fonksiyonunda, yaşamında ve dişi reprodüktif kanala taşınmasında spermatozoon metabolizması için çok önemlidir (33).

Seminal plazma; iyonlar ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ) enerji maddeleri (fruktoz, sorbitol, gliserilfosfokolin), organik bileşenler (sitrik asit, amino asitler, peptitler, düşük ve yüksek moleküler ağırlıklı proteinler, lipit, hormonlar, sitokinler) gibi maddelerden oluşmaktadır (33).

**Tablo 1.** Farklı kanatlı türlerinin yumurta sarılarının kolesterol seviyeleri (27, 30).

	(mg/g)
Tavuk	12,25
Bıldırcın	11,12
Kaz	15,81
Hindi	13,35
Sülün	6,82
Ördek	10,81

Seminal lipitlerden özellikle fosfolipitler ve kolesterol spermatozoanın plazma membranının yapı ve fonksiyonu ile ilgilidirler (10) ve spermatozoanın yapısı, metabolizması, kapasitasyonu ve fertilizasyonunda önemli rol oynamaktadırlar (34). Seminal plazma içerisinde farklı tip fosfolipitler mevcut olup Tablo 3'te belirtilmiştir (35, 36).

hastalıklarının teşhisi ve fertilité değerlendirilmesi için en önemli kriterlerdir. Seminal plazmanın bileşimi; sperma donör seçiminde yararlı araç ve belirteç olarak değerlendirilmektedir (33).

#### **Farklı kanatlı türlerinin yumurta sarıları ile yapılan araştırma sonuçları** Farklı kanatlı türlerinin yumurta sarıları-

**Tablo 1.** Seminal plazma içerisinde farklı tip fosfolipitlerin yüzdelerinin dağılımları (35, 36).

	% Total Fosfolipit		
	Boğa	Keçi	Manda
Fosfatidilkolin	24,5-30,0	15,2-22,0	21,7-34,1
Fosfatidiletanolamin	5,4-10,5	1,6-4,3	4,1-4,9
Sifingomiyelin	11,6-16,3	10,6-19,8	13-13,8
Fosfatidilserin	1,3	1,1-5,9	2,8
Fosfatidilinositol	0,8	1,5-6,0	2,9
Lisofosfatidiletanolamin	1,2-2,2	4,3-14,2	5,6-6,6
Lisofosfatidilkkolin	1,2-2,2	3,2-9,8	3,1-3,9
Difosfatidilgliserol	5,0-8,8	0,3-0,5	3,5-7,4
Fosfatidik asit	0,4	0,2-1,4	0,5

Başarılı sperma dondurma işlemi için, dondurma işlemine karar vermeden önce ejakülatın sahip olduğu biyokimyasal yapıyı bilinmelidir. Dahası spermanın biyofiziksel ve biyokimyasal karakteri erkek üreme

nın memeli spermalarının dondurulmasında sulandırıcılara eklenmesi denenmiş ve hayvan türlerine göre farklı farklı olumlu sonuçlar elde edilmiştir. İlgili veriler Tablo 4'te verilmiştir.

**Tablo 1.** Seminal plazma içerisinde farklı tip fosfolipitlerin yüzdelere dağılımları (35, 36).

Hayvan türü	Araştırmayı yapan	Yumurta sarısı kullanılan hayvan türleri	Kullanılan metot	Çıkarım-sonuç
Ayrır	Humes ve ark., 2006 (23)	Tavuk ve keklik yumurta sarısı	Laktoz-EDTA sulandırıcısı %20'lik yumurta sarıları %5 gliserol %5 etilen glikol	Keklik yumurta sarısı kullanılarak sulandırılan aygır spermasında total motilite, progresif motilite ve dondurma-çözdürme sonrası doğrusal hız daha yüksek çıkmıştır.
	Clulow ve ark., 2007 (24)	Ördek ve tavuk yumurta sarısı	Laktoz-EDTA sulandırıcısı %20'lik yumurta sarıları	Ördek yumurta sarısı kullanılarak hazırlanan sulandırıcıyla motilite parametreleri daha yüksek sonuçlar göstermiştir.
Boğa	Su ve ark., 2008 (37)	Tavuk, ördek, kaz, Japon bildircini ve güvercin yumurta sarısı	Tris-Sodyum sitrat sulandırıcısı %20'lik yumurta sarıları	Güvercin yumurta sarısı (%20) kullanıldığında en iyi sonuç alınmıştır.
	Akhter ve ark., 2010 (25)	Güvercin, Beç tavuğu ve tavuk yumurta sarısı	Tris-sitrik asit-fruktoz sulandırıcısı %20'lik yumurta sarıları %7 gliserol	Boğa epididimal spermasında güvercin yumurta sarısı kullanılarak hazırlanan sulandırıcı ile daha yüksek çözüm sonu sperma kalitesi elde edilmiştir.
Domuz	Bathgate ve ark., 2006 (10)	Tavuk, ördek ve bildircin yumurta sarısı	%20 oranında yumurta sarıları %11 oranında laktoz ile muamele	Belirgin bir fark elde edilememiştir.
Koç	Kulaksız ve ark., 2010 (31)	Yerli tavuk, kaz, hindi, ördek, Japon bildircini ve keklik yumurta sarısı	Tris-sitrik asit-glikoz sulandırıcısı %15'lik yumurta sarıları %5'lik gliserol %5'lik gliserol	Keklik yumurta sarısı ile hazırlanan sulandırıcı ile en iyi donmaya karşı koruyucu sonuçlar alınmıştır.
	Gholami ve ark., 2012 (14)	Yerli tavuk, ördek, hindi ve güvercin yumurta sarısı	%5'lik gliserol	Sonuçlar güvercin yumurta sarısı ile hazırlanan sulandırıcı kullanıldığında en iyi sonuç alındığını ortaya koymuştur.

## SONUÇ

Farklı kanatlı türlerinin yumurta sarılarının kullanıldığı sulandırıcılarla yapılan sperma dondurma işlemlerinde, çözüm sonu sperma kalitesindeki farklılıklar yumurta sarılarının biyokimyasal içeriklerinin farklılığından kaynaklanabilmektedir.

Başarılı bir sperma dondurma işlemi için, dondurma işlemine karar vermeden önce ejakülata sahip olduğu biyokimyasal yapı iyi bilinmelidir. Kullanılan yumurta sarısının içerdiği kolesterol, lipid ve protein yapılarının farklılıkları hayvan türüne göre spermayı çözüm sonu değerler açısından etkilemektedir. Bu açıdan yapılan birçok araştırma so-

nucunda hayvan türlerine göre farklı farklı olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Fakat bu araştırmaların doz planlaması ile daha kesin sonuçlar elde etmek mümkün olabilir. Böylece hayvan türlerine göre hangi yumurta sarısının hangi dozunun daha etkin bir alternatif oluşturacağı ortaya çıkarılmış olabilir.

## KAYNAKLAR

- 1- Holt WV. Basic aspects of frozen storage of semen. *Anim Reprod Sci.* 2000; 62: 3–22.
- 2- Phillips PH, Lardy HA. A yolk-buffer pabulum for the preservation of bull semen. *J Dairy Sci.* 1940; 23: 399-404.
- 3- Watson P, Martin I. Effects of egg yolk, glycerol and the freezing rate on the viability and acrosomal structures of frozen ram spermatozoa. *Aust J Biol Sci.* 1975; 28: 153-9.
- 4- Johnson LA, Weitze KF, Fiser P, Maxwell WM. Storage of boar semen. *Anim Reprod Sci.* 2000; 62: 143-172.
- 5- Salamon S, Maxwell WM. Storage of ram semen. *Anim Reprod Sci.* 2000; 62: 77–111.
- 6- Barbas JP, Mascarenhas RD. Cryopreservation of domestic animal sperm cells. *Cell Tissue Bank.* 2009; 10: 49–62.
- 7- Milovanov VK, Sokolovskaja II. The results and perspectives of scientific research. *Zhivotnovodstvo.* 1980; 10: 48–50.
- 8- Purdy PH. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Rum Res.* 2006; 6: 215–25.
- 9- Medeiros CM, Forell F, Oliveira AT, Rodrigues JL. Current status of sperm cryopreservation: why isn't better. *Theriogenology.* 2002; 57: 327–44.
- 10- Bathgate R, Maxwell WMC, Evans G. Studies on the effect of supplementing boar semen cryopreservation media with different avian egg yolk types on in vitro post-thaw sperm quality. *Reprod Dom Anim.* 2006; 41: 68–73.
- 11- Cross NL. Role of cholesterol in sperm capacitation. *Biol Reprod.* 1998; 59: 7–11.
- 12- Bailey JL, Bilodeau JF, Cormier N. Semen cryopreservation in domestic animals: A damaging and capacitating phenomenon. *J Androl.* 2000; 21: 1-7.
- 13- Agarwal A, Prabakaran SA, Said TM. Prevention of oxidative stress injury to sperm. *J Androl.* 2005; 26: 654-60.
- 14- Gholami M, Faraji Z, Zamiri MJ. Effect of egg yolk of four avian species on the cryopreserved ram spermatozoa. *Iran J Agric Res.* 2012; 13(1) : 23-7.
- 15- Phillips PH. Preservation of bull semen. *J Biol Chem.* 1939; 130: 415.
- 16- Pace MM, Graham EF. Components in egg yolk which protect bovine spermatozoa during freezing. *J Anim Sci.* 1974; 39: 1144–9.
- 17- Blackshaw AW. The prevention of temperature shock of bull and ram semen. *J Biol Sci.* 1954; 7: 573-82.
- 18- Madden TD, Chapman D, Quinn PJ. Cholesterol modulates activity of calcium-dependent ATPase of the sarcoplasmic reticulum. *Nature Lond.* 1979; 279: 538-41.
- 19- Quinn PJ, White IG, Cleland KW. Chemical and ultrastructural changes in ram spermatozoa after washing, cold shock and freezing. *J Reprod Fert.* 1969; 18: 209-20.
- 20- Trimeche A, Anton M, Renard P, Gaudemer G, Tainturier D. Quail egg yolk: a novel cryoprotectant for the freeze preservation of Poitou jackass sperm. *Cryobiol.* 1997; 34: 385–93.
- 21- Foulkes JA, Sweasey D, Goodey RG. Fertility of bull spermatozoa in egg-yolk diluents of varied lipid fatty acid composition. *J Reprod Fertil.* 1980; 60: 165–9.
- 22- Bergeron A, Manjunath P. New insights towards understanding the mechanisms of sperm protection by egg yolk and milk. *Mol Reprod Dev.* 2006; 73: 1338–44.
- 23- Humes R, Webb G. Use of chicken or chukar egg yolk with two cryoprotectants for preservation of stallion semen. *Anim Reprod*



- Sci. 2006; 94: 62–3.
- 24- Clulow JR, Maxwell WMC, Evans G, Morris LHA. A comparison of duck and chicken egg yolk for cryopreservation of stallion sperm. *Aust Vet J.* 2007; 85(6) : 232-5.
- 25- Akhter S, Rakha BA, Andrabi SMH, Ansari MS. Comparison of egg yolks from three avian species in extender for cryopreservation of Sahiwal bull epididymal spermatozoa. *Anim Sci Pap Rep Anim.* 2010; 29(2) : 131-8.
- 26- El-Sheshtawy RI, El-Sisy, G, Mohamed A, El-Natat WS. Effect of egg yolk from different avian species on cryopreservability of buffalo semen. *Global J Biotechnol Biochem.* 2010; 5: 211-5.
- 27- Kazmierska M, Jarosz B, Korzeniowska M, Trziszka T, Dobrzanski Z. Comparative analysis of fatty acid profile and cholesterol content of egg yolks of different bird species. *Pol J Food Nutr Sci.* 2005; 14(55) : 69-73.
- 28- Bair CW, Marion WW. Yolk cholesterol in eggs from various avian species. *Poult Sci.* 1978; 57: 1260–5.
- 29- Choi Y, Park Y, Pariza MW, Ntambi JM. Regulation of stearyl-CoA desaturase activity by the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid in HepG2 cells. *Biochem Bioph Res Co.* 2001; 284: 689-93.
- 30- Golzar Adabi SH, Ahbab M, Fani AR, Hajbabaie A, Ceylan N, Cooper RG. Egg yolk fatty acid profile of avian species – influence on human nutrition. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 2013; 97: 27-38.
- 31- Kulaksiz R, Cebi C, Akcay E, Daskin A. The protective effect of egg yolk from different avian species during the cryopreservation of Karayaka ram semen. *Small Rumin Res.* 2010; 88: 12-15.
- 32- Purdy PH, Graham JK. Effect of adding cholesterol to bull sperm membranes on sperm capacitation, the acrosome reaction and fertility. *Biol Reprod.* 2004; 71: 522-7.
- 33- Juyena N, Stelletta C. Review seminal plasma: an essential attribute to spermatozoa. *J Androl.* 2012; 33(4) : 536-51.
- 34- Hafez ESE. Semen evaluation reproduction in farm animals. 5nd ed. Philadelphia: Lea and Febiger Press; USA, 1987.
- 35- Jain YC, Anand SR. The lipids of buffalo spermatozoa and seminal plasma. *J Reprod Fertil.* 1976; 47: 255–60.
- 36- Andrabi SMH. Factors affecting the quality of cryopreserved buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. *Reprod Dom Anim.* 2009; 44: 552–69.
- 37- Su L, Li X, Quan J, Yang S, Li Y, He X, Tang X. A comparison of the protective action of added egg yolks from five avian species to the cryopreservation of bull sperm. *Anim Reprod Sci.* 2008; 104: 212-9.