

ANKARA TEKE SPERMASININ FARKLI ORANLARDA YUMURTA SARISI İÇEREN YAĞSIZ SÜT TOZU SULANDIRICISI İLE DONDURULMASI

(Freezing of Angora Buck Semen with Skimmed Milk Based Extender Containing Various Amounts of Egg Yolk)

Recai KULAKSIZ¹

Ali DAŞKIN²

¹Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, KARS.

²Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı, ANKARA.

Geliş Tarihi: 22.10.2010

Kabul Tarihi: 15.12.2010

ÖZET

Bu çalışma Ankara tekesi spermasının farklı oranlarda yumurta sarısı içeren yağsız süt tozu sulandırıcısı ile sulandırılıp dondurulması ve dondurma sonrası spermatolojik özelliklerin saptanması amacıyla yapılmıştır. Çalışmada, 3 baş ergin Ankara keçisi tekesinden alınan ejakülatlar kullanılmıştır. Ejakülatlar çiftleştirme mevsiminde suni vajen kullanılarak haftada iki kez, üç hafta süresince toplanmıştır. Alınan ejakülatlar birleştirildikten sonra 5 eşit hacme bölünmüş ve 37°C'deki su banyosunda % 5, 10, 15, 20 oranında yumurta sarısı içeren ve içermeyen (kontrol) yağsız süt tozu sulandırıcısıyla sulandırılmıştır. Sulandırılan spermalar payetlere (0.25 ml) çekilerek 5°C'de ekilibrasyona bırakılmıştır. Ekilibrasyonu izleyen süreçte payetler sıvı azot buharında dondurularak daha sonra değerlendirilmek üzere -196° C'deki sıvı azotta saklanmıştır. Çözdürme sonrası en yüksek spermatozoa motilitesi (% 65.0±4.53) % 10 yumurta sarısı içeren yağsız süt tozu sulandırıcısında bulunurken, en düşük spermatozoa motilitesi (% 30.0±3.56) yumurta sarısı içermeyen yağsız süt tozu sulandırıcısından elde edilmiştir. Anormal spermatozoa bakımından % 10 ve 15 yumurta sarısı içeren gruplar (% 22.6±4.01 ve 24.5±3.70) arasındaki istatistiksel farklılıklar önemsiz, yumurta sarısı içermeyen kontrol grubundaki anormal spermatozoa oranı (% 44.6±4.41) diğer sulandırıcı gruplarından istatistiksel açıdan önemli oranda yüksek bulunmuştur (P<0.05). Canlı spermatozoa oranı bakımından en yüksek oran (% 74.5±2.86) % 10 yumurta sarısı içeren sulandırıcı grubundan elde edilmiştir. Sonuç olarak, Ankara tekesi spermasının dondurulmasında kullanılan yağsız süt tozu sulandırıcısına % 10 yumurta sarısı ilavesinin çözdürme sonrası spermatolojik parametreler üzerine önemli katkılar sağladığı saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Ankara Keçisi, Teke sperması, Yumurta sarısı, Spermanın dondurulması, Spermatolojik parametreler

SUMMARY

This study was carried out to determine the effects of different amount of egg yolk added to skimmed milk extender of Angora buck semen on spermatologic parameters after frozen-thawed semen. Ejaculate samples were obtained from three mature Angora bucks were used in this study. Ejaculates were collected using an

artificial vagina twice a week, for three weeks running, during the breeding season. After pooling, each pooled ejaculate was split into five equal aliquots and diluted with based extender containing egg yolk (5, 10,15, 20 %) or no egg yolk (control). Diluted samples were aspirated into 0.25 ml straws, equilibrated at 5°C. Following equilibration, the straws were frozen in liquid nitrogen vapour and stored at -196°C until evaluation. Highest motility after post-thaw was obtained from skimmed milk extender containing 10 % egg yolk as 68.5±4.53 % and lowest motility was obtained from skimmed milk extender containing 0 % egg yolk as 30.0±3.56 %. At abnormal spermatozoa rates, while there was not statistically significant difference between the groups including 5, 10 % egg yolk extenders (24.5±3.70, 22.6±4.01 %, respectively), in control group (0 % egg yolk) fairly higher rate (44.6±4.41 %) were obtained than in other groups and differences between groups containing egg yolk and no egg yolk were important (P<0.05). Live spermatozoa with the highest rate was obtained at group with 10 % egg yolk. In conclusion, it was seen that skimmed milk extender containing 10 % egg yolk of Angora buck semen provided the significant contributions on spermatological parameters after thawing.

Key words: Angora Buck semen, egg yolk, semen cryopreservation, spermatologic parameters

GİRİŞ

Türkiye'nin öz varlığı olan Ankara Keçisi (*Capra hircus ancyrensis*) başlıca tiftik verimi için üretilir. Son yıllarda ülkemizde Ankara keçisi sayısında hızlı bir azalma söz konusudur. Bu durumun ortaya çıkmasında tiftik fiyatlarının hızla düşmesinin yanında, üretimin ekstansif niteliği ve Türkiye'de kamunun tarıma bakış tarzının da payı olduğu düşünülmelidir. Etkin bir ıslah programının uygulanması bir yana, bazı bölgelerde zaman zaman melezlemeden de söz etmek mümkündür (6, 12). Bütün bu olumsuzluklar Ankara keçisi yetiştiriciliğini ve geleceğini tartışılır hale getirmiştir. Bu noktada Ankara keçilerinin başta tiftik verimi olmak üzere önemli verim özelliklerinin artırılması için, genetik yapılarını geliştirecek ıslah programlarını sistemli bir şekilde uygulamak ve bunu bakım besleme koşullarını düzelterek desteklemek gerekmektedir. Islah çalışmalarının yürütülmesindeki en önemli araç

suni tohumlamadır. Bu noktada dondurulmuş teke sperması ile yapılacak suni tohumlamaların önemi daha da artmaktadır.

Spermanın kalite ve fertilitesi dikkate alındığında en iyi sperma sulandırıcısı mevcut olmamakla birlikte, teke spermasının dondurulmasında genellikle yağsız süt tozu-glukoz-yumurta sarısı-gliserol ve tris- sitrik asit- glukoz- yumurta sarısı-gliserol içeren sulandırıcılar kullanılmaktadır (17). Soğutmanın zararlı etkilerine karşı spermatozoayı korumanın en etkili yolu spermaya yumurta sarısı, süt veya bunların yapısında bulunan lipoprotein, lesitin, sefalin ve protein gibi büyük molekül ağırlıklı benzer bileşiklerin katılmasıdır. Sulandırıcılara katılan yumurta sarısı fosfolipit yapısında olup spermatozoayı soğuk şokundan koruduğu ve düzenli olarak sulandırıcılara katılması gerektiği bildirilmektedir. Ayrıca, yumurta sarısının seminal plazma proteinlerine bağlanarak, spermatozoon membranını seminal

plazma proteinlerinin zararlı etkilerinden koruduğu bildirilmektedir (5). Teke spermasının dondurulmasında sulandırıcılara katılan yumurta sarısının optimal yoğunluğu henüz tam anlamı ile tespit edilememiştir. Tris ve sütlü sulandırıcılarda, çok düşük yumurta sarısı çözümü sonrası yeterli koruyucu etkiyi sağlamada başarısızken, yüksek yumurta sarısı oranları ise membranın destabilizasyonu, kapasite ve kapasite benzeri değişimler ve akrozomal bozukluklar meydana getirmektedir (1, 18). Sulandırıcılara katılan yumurta sarısı oranları % 2.5 ile % 20 arasında değişmektedir.

Teke spermanın dondurulmasında sulandırıcıya katılan yumurta sarısı ve sütlü spermatozoonlara zararlı etkileri olduğu belirtilmektedir. Söz konusu etkinin; yumurta sarısında bulunan lesitin seminal plazmada bulunan fosfolipaz A2 enzimiyle ve süt sulandırıcısında bulunan bir komponent ile de bulbouretral bez kökenli SBUIII olarak adlandırılan protein fraksiyonunun reaksiyona girerek, spermanın soğutulması ve dondurulmasında yaşamını baskıladığı, akrozom reaksiyonunu uyardığı ve hücre kromatinlerinde ayrışmalara neden olduğu bildirilmektedir (14, 15,16, 19). Belirtilen olumsuz etkilerin giderilmesi için, spermanın yıkanarak seminal plazmadan ayrılması gerektiği bildirilmektedir (15). Fakat bazı yazarlar yıkama işleminin zaman kaybettirici bir işlem olduğunu, yıkamayla seminal plazmadaki bazı yararlı bileşenlerin kaybedildiği ve yıkama işlemi olmaksızın yapılacak dondurma işleminde diğer işleme

göre çözündürme sonrası spermatozoa kalitesi üzerine herhangi bir farklılığın olmadığını belirtmektedirler (18).

Sunulan araştırmada; Ankara keçisi teke spermasının dondurulmasında, yağsız süt tozu sulandırıcısında optimal yumurta sarısı oranını saptamak amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada 3-4 yaşlı 3 ergin Ankara tekesinden alınan spermalar kullanılmıştır. Tekelerin bakım ve beslemesi Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde standart yetiştirme koşullarında yapılmıştır. Sperma, yetiştirme mevsiminde (sonbahar) suni vajen yardımıyla haftada iki kez, üç hafta süresince toplanmıştır. Alınan ejakülatlardan uygun özellik (sperma yoğunluğu $>3 \times 10^9$ spermatozoa/ml; motilite $>90\%$; anormal spermatozoa oranı $<10\%$) gösterenler karıştırıldıktan sonra sulandırılmak üzere işleme alınmıştır.

Spermanın sulandırılmasında yağsız süt tozu sulandırıcısı (10 g yağsız süt tozu, 0.90 g glukoz, 5 ml gliserol/100 ml distile su - pH: 6.8) kullanılmıştır. Karıştırılan ejakülat 5 eşit hacime bölünerek % 5, 10, 15, 20 oranlarında yumurta sarısı içeren ve yumurta sarısı içermeyen yağsız süt tozu (kontrol) sulandırıcısıyla ml'de yaklaşık 800×10^6 spermatozoa olacak şekilde sulandırılmıştır.

Sulandırılan sperma 5 farklı renkte 0,25 ml'lik payetlere çekilmiş ve payetlerin uçları Polivinil alkol ile kapatılmıştır. Daha sonra spermalar 5°C' de 2 saat ekilibrasyona bırakılmıştır. Ekilibrasyonu sonrası, payetler

sıvı azot seviyesinin 4 cm üzerinde sıvı azot buharında 15 dakika süreyle dondurulmuştur. Dondurma işlemini takiben, payetler sıvı azot içine daldırılmıştır. Payetler spermatolojik değerlendirmelerin yapılacağı güne kadar sıvı azot tankında (sıvı azot içinde) depolanmıştır.

Spermatozoa motilitesi 37°C'de ısıtma tablalı faz kontrast mikroskopun 20x büyütmesinde lam-lamel arasına alınan bir damla sperma numunesinde en az 3 mikroskop sahasına bakılarak yapılmıştır. Sahalardaki motilite değerlerinin ortalaması motilite oranı olarak kaydedilmiştir. Ölü-canlı spermatozoa oranının belirlenmesinde Eosin boyama testinden yararlanılmıştır. Temiz bir lam üzerine konan bir sperma örneği eşit büyüklükte eosin boyasıyla karıştırılarak hemen sürme preperat hazırlanmış ve mikroskop altında 400x büyütmede 200 spermatozoon sayılarak % olarak kaydedilmiştir. Anormal spermatozoa oranı ependorf tüplerindeki Hancock sıvısına (0.5 ml hancock solüsyonuna 10 µl sperma eklenerek) alınan sperma numunesi faz-kontrast mikroskopun immersiyon objektifinde (100x) lam-lamel arasına konan bir damlasında akrozom, baş, orta ve kuyruk kısmı anomalilerin % olarak tespit edilmesiyle belirlenmiştir.

İstatistiksel analizde beş farklı uygulamadan elde edilen verilerin ortalamaları

kullanılmıştır. Gruplar arası farklılıkların önem kontrolü için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmıştır. Aradaki farklılıklar önemli olan grupların karşılaştırılmasında Tukey testi kullanılmıştır.

BULGULAR

Yağsız süt tozu sulandırıcısında farklı yumurta sarısı oranlarına ait çözüm sonrası tespit edilen spermatolojik parametrelerin genel ortalama değerleri ve bunlara ait istatistiksel değerlendirmeler Tablo 1'de verilmiştir. Spermatozoa motilitesi, canlı spermatozoa, anormal spermatozoa ve anormal akrozom oranları üzerine farklı yumurta sarısı oranlarının etkisi çözdürme sonrasında önemli (P<0.05) bulunmuştur.

% 10 yumurta sarısı içeren sulandırıcı grubunun motilite değeri ile % 0, % 5, % 20 yumurta sarısı içeren sulandırıcı gruplarının motilite değerleri arasında istatistiksel olarak önemli (P<0.05) farklılıklar tespit edilirken, % 15 yumurta sarısı içeren grupla istatistiksel olarak farklılık önemli bulunmamıştır (P>0.05). Ayrıca canlı spermatozoa, anormal spermatozoa ve anormal akrozom oranı oranları yönünden değerlendirildiğinde % 10 yumurta sarısı içeren grupla % 0, % 5, % 20 yumurta sarısı içeren sulandırıcı grupları arasında istatistiksel olarak farklılık önemli (P<0.05) olmuştur (Tablo 1).

Tablo 1. Yağsız süt tozu sulandırıcısına farklı oranlarda yumurta sarısı ilavesinin çözüm sonrası spermatolojik parametreler üzerine etkisi

Sulandırıcı	Spermatozoa Motilitesi (%)	Canlı spermatozoa oranı (%)	Anormal spermatozoa oranı (%)	Anormal akrozom oranı (%)
% 0 YS. Süt tozu	30.0 ± 3.56 ^a	41.4 ± 3.85 ^a	44.6 ± 4.41 ^a	41.2 ± 2.80 ^a
% 5 YS. Süt tozu	55.0 ± 6.08 ^b	62.6 ± 5.30 ^b	28.7 ± 3.42 ^b	25.2 ± 2.45 ^b
% 10 YS. Süt tozu	65.0 ± 4.53 ^c	74.5 ± 2.86 ^c	22.6 ± 4.01 ^c	20.5 ± 1.56 ^c
% 15 YS. Süt tozu	57.5 ± 4.10 ^{bc}	68.5 ± 5.21 ^{bc}	24.5 ± 3.70 ^{bc}	22.0 ± 2.34 ^{bc}
% 20 YS. Süt tozu	45.0 ± 5.52 ^d	53.8 ± 4.60 ^d	29.8 ± 3.39 ^b	25.9 ± 3.02 ^b

^{a,b,c,d}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0.05).

YS: Yumurta sarısı

TARTIŞMA VE SONUÇ

Spermanın başarıyla dondurulması, bir çok faktörün dengelenmesini gerektiren kompleks bir yöntemdir. Bir türün sperması için optimize edilen bir dondurma protokolü diğer tür için ideal olmayabilir. Teke sperması bu konu için ideal bir örnektir. Teke sperması diğer evcil türlerin sperması arasında, dondurma medyumunu, kriyoprotektanlar, dondurma ve çözündürme hızları gibi ortak noktalar olmasına karşın, çözündürme sonrası maksimum canlılık elde edebilmek için bu türe özgü ayrı bir modifikasyona gereksinim vardır.

Bu çalışmada % 5 yumurta sarısının çözündürme sonrası motiliteyi korumak için yeterli olmadığı, en yüksek çözündürme sonrası spermatozoa motilitesinin % 10 ve % 15 yumurta sarısı içeren sulandırıcılarla dondurulan gruplarda elde edildiği gözlemlenmiştir. Aşım mevsimi içinde yağsız süt tozu sulandırıcısına yumurta sarısı eklenmemesi (% 0) çözündürme sonrası spermatolojik parametrelere olumsuz etki yaptığı saptanmıştır. Ayrıca, yağsız süt tozu

sulandırıcısına % 15'in üzerindeki yumurta sarısı ilavesinin çözündürme sonrası spermatolojik parametrelere olumsuz etkilerinin olabileceği gözlenmiştir.

Daşkın ve Tekin (9), aşım sezonunda Ankara tekelerinden elektroejakülatör yöntemi ile aldıkları spermaları yumurta sarısı içermeyen Tris-gliserol sulandırıcısı ve % 20 yumurta sarısı içeren Tris-gliserol-yumurta sarısı sulandırıcısı ile sulandırmıştır. Tris-gliserol sulandırıcısı ile sulandırılan spermada çözündürme sonrası motilite % 19 olarak saptanırken çözündürme sonrası akrozomal bozukluk oranı % 32 olarak bulunmuştur. Tris-gliserol-yumurta sarısı ile dondurulan spermada motilite çözündürme sonrası % 47.4 ve çözündürme sonrası akrozomal bozukluk oranı ise % 24.9 olarak saptanmıştır. Tris-gliserol-yumurta sarısı sulandırıcısında Tris-gliserol sulandırıcısından elde edilen sonuçlardan daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır. Araştırmacılar çalışmanın sonucunda sulandırıcıya katılan yumurta sarısının teke sperması üzerinde kriyoprotektan etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Sungur ve arkadaşları (21) ile Ayar ve Akdeniz (3)'in Ankara tekesi spermasını yağsız süt tozu (glukoz 0,9 g yumurta sarısı 20 ml-yağsız süt tozu 10 g-gliserol 7,0 ml-Bidistile su 100 ml) sulandırıcısı ile, tek aşamada ve bir tohumlama dozunda 200×10^6 motil spermatozon bulunacak şekilde sulandırıp, dondurmuşlar ve çözündürme sonrası spermatozoa motilitesini % 45 olarak tespit etmişlerdir. Araştırmacıların saptadığı motilite oranları, bu çalışmadaki % 20 yumurta sarısı içeren yağsız süt tozu ile dondurulmuş sulandırıcı grubunun ortalama spermatozoa motilitesi (% 45) oranıyla örtüşmektedir.

Deka ve Rao'un (11) teke spermasını farklı oranlarda (% 7, 10, 20) yumurta sarısı katılmış tris-sitrikasit-fruktoz-gliserol sulandırıcısıyla dondurdukları çalışmadan elde ettikleri % 58, 67, 68'lik motilite oranları bu çalışmadaki % 5, 10, 15 yumurta sarısı içeren gruplardaki spermatozoa motilitesiyle paralellik gösterirken, % 0 ve % 20 yumurta sarısı içeren sulandırıcı gruplarından düşük tespit edilmiştir.

Ritar ve Salamon (18) aşım mevsimi içinde 6 baş Ankara tekesinden suni vajen ile aldıkları sperma örneklerini iki gruba ayırarak ilk grubu santrifüj etmeden diğer grubu ise 900g'de 10 dakika santrifüj ettikten sonra 1:2 oranında % 0, % 1.5, % 6 ve % 12 oranında yumurta sarısı içeren Tris-glukoz-sitrik asit-gliserol sulandırıcısı ile sulandırarak kuru buzda dondurmuşlardır. % 1.5 ve % 6 yumurta sarısı içeren gruplarda spermatozoon canlılığı yumurta sarısı olmayan gruba göre daha yüksek tespit edilmiş olup seminal plazması

ayrılmış grupta bu oran seminal plazması ayrılmamış gruba göre daha yüksek saptanmıştır. Araştırmacılar, yumurta sarısı oranının % 1.5'in üzerinde olduğu zaman bazı tekelerde spermatozoonların canlılıklarının özellikle aşım mevsiminin sonuna doğru önemli ölçüde düştüğünü belirtmektedirler.

Üstüner ve arkadaşları (22) Saanen tekelerinde aşım mevsimi içinde % 6, 12, 18 yumurta sarısı içeren Tris sulandırıcılarla dondurma-çözündürme sonrası motilite ve canlı spermatozoon oranları bakımından farklar bulmuştur. Spermanın % 18 yumurta sarısı içeren Tris sulandırıcısı ile dondurulmasının % 6 ve % 12'lik gruplara göre çözündürme sonrası motiliteyi önemli ölçüde düşürdüğünü belirtmişlerdir.

Salamon ve Ritar (20) tarafından mart ve mayıs (aşım mevsimi) ayları arasında Ankara tekelerinden suni vajina ile aldıkları spermalarda çözündürme sonrası ortalama spermatozoa motilitesi (% 23), sunulan bu araştırmada belirlenen motilite değerlerinden düşük bulunmuştur.

Cabrera ve arkadaşları (7)'nin Kanarya tekelerinin sperması üzerinde yapmış oldukları çalışmada, sonbahar ve kış mevsimlerinde seminal plazması ayrılarak % 6 ve % 12 yumurta sarısı içeren sulandırıcılarla dondurulan örneklerin çözündürme sonrası tespit edilen motilite ve akrozomal bütünlük oranları incelendiğinde, bu çalışmadaki sulandırıcı gruplarında çözündürme sonrası saptanan motilite ve akrozomal bütünlük yönünden düşük bulunmuştur.

Ahmed ve arkadaşları (2) tarafından Saanen tekelerinin spermasını çiftleşme mevsiminde Tris-yumurta sarısı (%20) ile dondurmuşlardır. Çözdürme sonrası saptanan motilite değerine bakıldığında (%33), bu çalışmadaki aşım mevsimi içi tespit edilen sulandırıcı gruplarının motilite değerlerinden düşük düzeydedir.

Bane ve arkadaşları (4)'nın teke spermasını % 8 oranında gliserol içeren sitrat-yumurta sarısı sulandırıcısında Çözdürme sonrası saptadıkları motilite ve canlı spermatozoon oranlarından (% 29.1 ve % 36.8), aşım mevsimi dışı tespit edilen aynı spermatolojik değerler (% 21.5 ve % 26.2) düşük bulunmuştur. Aynı araştırmacıların tespit ettikleri anormal spermatozoa oranı (%10.2), bu çalışmada saptanan anormal spermatozoa oranlarından düşük tespit edilmiştir. Akrozom bütünlük oranları da araştırmacılarınkinden düşük tespit edilmiştir.

Farshad ve arkadaşları (13), Markhoz teke spermasını, tris bazlı sulandırıcıya % 2,5 5, 10, 15, 20 oranlarında yumurta sarısı ekleyerek dondurmuşlar ve en iyi motilite ve canlılık oranlarını (% 55, % 60) % 5 yumurta sarılı sulandırıcıda bulmuşlardır. Ayrıca, yumurta sarısı oranı arttıkça çözdürme sonrası spermatolojik parametrelerin olumsuz etkilendiğini bildirmişlerdir.

Eiman ve arkadaşlarının (8) Shiba tekelerinden almış oldukları spermaların seminal plazmasını ayırarak % 100 oranında trehaloz ilave edilmiş Tris sulandırıcı eklediklerinde elde ettikleri çözdürme sonrası motilite değeri (% 78) incelendiğinde, bu

çalışmada aşım mevsimi sulandırıcı gruplarda ertime sonrası motilite değerlerinden yüksektir.

Bu çalışmada aşım mevsimi içi seminal plazması ayrılmadan % 5 ve % 10 yumurta sarısı içeren sulandırıcı grubunda saptanan çözdürme sonrası motilite değeri (% 55.0, % 65.0) Ritar ve Salamon (65)'un aşım mevsimi içinde seminal plazması ayrılmadan % 6 ve % 12 yumurta sarısı içeren sulandırıcı grubunda tespit ettikleri çözdürme sonrası motilite (%36.9; % 34.7) değerlerinden yüksek saptanmıştır.

Sunulan çalışmada çözdürme sonrası spermatozoa motilitesi, canlı spermatozoa oranı, anormal spermatozoa oranı ve anormal akrozom oranları bazı araştırmalarla uyum sağlamakta iken, diğer bazı çalışmalarla uyum sağlamamaktadır. Gözlenen bu farklılıklar, seminal plazmanın ayrılıp ayrılmamasına, dondurma işleminde kullanılan sulandırıcılar ile, sulandırıcıların içerdiği komponentlerin miktar ve oranlarının, özellikle sperma sulandırıcısının içerdiği yumurta sarısı oranlarının farklılığından kaynaklanmış olabileceği gibi, ırksal, mevsimsel ve bireysel farklılıklarda çözdürme sonrası spermatolojik parametrelerde farklılığa neden olmuş olabilir.

Sonuç olarak, Ankara keçisi spermasının çözdürme sonrası spermatolojik özelliklerine yumurta sarısı oranlarının etkisinin önemli olduğu ve teke spermasını dondurmak için kullanılan yağsız süt tozu sulandırıcısına % 10 yumurta sarısı ilavesinin çözdürme sonrası spermatolojik parametreler üzerine önemli katkılar sağladığı gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

1. **Aboagla EME, Terada T** (2004) *Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa*. Theriogenology, 62: 1160-1172.
2. **Ahmed MMM, Makawi SA, Gadir AA** (1997) *Reproductive performance of saanen bucks under tropical climate*. Small Ruminant Research, 26: 151–155.
3. **Ayar A, Akdeniz C** (1995) *Ankara keçilerinde dondurulmuş sperma kullanılarak intrauterin ve intraservikal tohumlama uygulamaları*. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 35:79–86.
4. **Bane KB, Takarhede RC, Sahatpure SK, Kuralkar SV, Mangle NS** (2005) *Effect of different glycerol levels in egg yolk citrate diluent on freezability of buck semen*. Indian Veterinary Journal, 82:507-509.
5. **Bergeron A, Manjunath P** (2006) *New Insights Towards Understanding The mechanisms Of Sperm Protection By Egg Yolk And Milk*. Molecular Reproduction Development, 73: 1338-1344.
6. **Bilgen A, Akman N, Erol H, Ankaralı B, Aytaç M** (2008) *Lalahan hayvancılık merkez araştırma enstitüsü'nde yetiştirilen Ankara keçilerinde bazı tiftik özellikleri ve kırkım sonu canlı ağırlığı*. Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 48(1): 25–33.
7. **Cabrera F, Gonzalez F, Batista M, Calero P, Medrano A, Gracia A** (2005) *The effect of removal seminal plasma, egg yolk level and season on sperm freezability of Canary Buck (Capra hircus)*. Reproduction Domestic Animals, 40: 191–195.
8. **Eiman M, Aboagla E, Terada T** (2003) *Trehalose-Enhanced Fluidity of the goat sperm membrane and its protection during freezing*. Biology of Reproduction, 69:1245–1250.
9. **Daşkın A, Tekin N** (1996) *The effect of egg-yolk on the quality of frozen Angora Buck semen*. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 20: 395–398.
10. **Daşkın A** (1991) *Teke spermasının dondurulması ve değişik yöntemlerle östrusları sinkronize edilen Ankara Keçilerinin tohumlamalarından elde edilen dölverimi*. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
11. **Deka BC, Rao AR** (1986) *Effect of egg yolk levels on quality of frozen semen*. Indian Veterinary Journal, 63: 909–912.
12. **Ertugrul M, Öztürk A** (1993) *Türkiye'de Ankara keçisi yetiştiriciliği ve tiftik üretimi*. Ankara Keçisi ve Tiftik Kongresi Ekim 20–21, Ankara.
13. **Farshad A, Fazeli P, Akhondzadeh S** (2008) *Effects of different egg yolk concentrations on the motility and viability of Markhoz goat sperm after freezing step of cryopreservation and thawing*. Journal Agricultural Science and Natural Resources, 15(2): 1-5.
14. **Iritani A, Nishika WA** (1963) *Studies on the egg-coagulating enzyme in goat semen: IV. On the position of yolk constituents attacked by the coagulating enzyme*. Japon Journal Animal Reproduction, 8(4):113-117.
15. **Lebouf B, Restall B, Salamon S** (2000) *Production and storage of goat semen for artificial insemination*. Animal Reproduction Science, 62:113-141.

16. **Pellicer-Rubio MT, Magallon T, Combarrous Y** (1997) *Deterioration of goat sperm viability in milk extenders is due to a bulbourethral 60-kilodaltonglycoprotein with triglyceride lipase activity.* *Biology of Reproduction*, 57:1023-1031.
17. **Purdy PH** (2006) *A review on goat sperm cryopreservation.* *Small Ruminant Research*, 63: 215- 225.
18. **Ritar AJ, Salamon S** (1982) *Effects of seminal plasma and of its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen-thawed spermatozoa of the Angora goat.* *Australian Journal Biology Science*, 35: 305–312.
19. **Roy A** (1957) *Egg yolk coagulating enzyme in the semen and cowper's gland of the goat.* *Nature*,179: 318-319.
20. **Salamon S, Ritar AJ** (1982) *Deep freezing of Angora goat semen: effects of diluent composition and method and rate of dilution on survival of spermatozoa.* *Australian Journal Biology Science* 35: 295–303.
21. **Sungur H, Goncagül T, Özsar S** (1993) *Ankara keçilerinde sıfat mevsiminde dondurulmuş ve taze sperma ile sun'i tohumlama çalışmaları ve fertilité kontrolü.* *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 33: 59–64.
22. **Üstüner B, Günay Ü, Nur Z** (2009) *Effect of seminal plasma, egg yolk, and season on the freezability of Saanen buck semen.* *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 53: 369-374.