



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2019; 33 (2): 95 - 101
http://www.fusabil.org

Nurdan COŞKUN ÇETİN^{1, a}
Fikret KARACA^{1, b}

¹ Hatay Mustafa Kemal
Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Dölerme ve Suni
Tohumlama Anabilim Dalı,
Antakya, TÜRKİYE

^a ORCID: 0000-0002-7120-8146

^b ORCID: 0000-0002-1765-4655

Tekelerde İki Farklı Sulandırıcı ile Sulandırılan Spermaya Değişik Oranlarda Bal İlavesinin Kısa Süreli Saklamaya Etkisi^{*, **}

Çalışmada, yağsız süt ve Tris-yumurta sarısı sulandırıcıları ile sulandırılan teke spermasına farklı oranlarda bal ilavesinin kısa süreli saklamada spermatolojik özelliklere ve yaşam süresine etkisi incelendi. Sperma 2 ergin tekedeki elektroejakulatör ile haftada 2 kez alındı ve + 4-6 °C'de saklanan sperma örnekleri 12 saat aralıklarla değerlendirildi. Motilite, süt kontrol grubunda 24. saat ve 60. saat arasında bal içeren gruplardan, Tris kontrol grubunda ise 48. saate kadar bal içeren gruplardan yüksek bulundu. Hipo osmotik swelling (HOS) test değeri, süt kontrol grubunda 12. ve 24. saatlerde %2.5 ve %5 bal ilaveli gruplardan yüksek, %1 bal ilaveli grup ile benzer, 36 ve 60. saatler arasında kontrol grubu bal ilaveli gruplardan yüksekti. HOS test değerleri, Tris kontrol grubunda 48. saate kadar yüksek, 60. saatte %1 bal ilaveli gruba benzerdi. Anormal spermatozoon oranı, Tris kontrol grubunda 48. saate kadar %1 bal içeren gruptan, 48. saatte ise %1 ve 5 bal ilaveli gruptan düşük bulundu. Ölü/canlı spermatozoon oranı, süt kontrol grubunda 0. saatte %5 bal ilaveli gruptan, 12. saatte %2.5 ve %5 bal ilaveli gruptan, 24. saat ile 72. saatler arasında ise bal ilaveli tüm gruplardan düşük, Tris kontrol grubu 60. saate kadar bal ilaveli gruplardan, 72. saatte ise sadece %5 bal ilaveli gruptan düşük bulundu.

Sonuç olarak, teke spermasının kısa süreli saklanmasında, Tris ve süt sulandırıcılı kontrol gruplarının spermatolojik kalite ve yaşam süresi bakımından deneme gruplarına göre daha iyi olduğu, gruplar arası değerlendirmede Tris sulandırıcısının üstün olduğu ve sulandırıcılara bal ilavelerinin spermatolojik özelliklerde herhangi bir ilerleme sağlamadığı saptandı.

Anahtar Kelimeler: Teke, sperma, elektroejakulasyon, kısa süreli saklama, bal

Effect of Different Rates of Honey Supplementation on Short Term Storage Semen Diluted with Two Different Diluents in Male Goats

In this study, the effect of addition of honey at different ratios to goat semen diluted with skim milk and tris+egg yolk extenders on spermatological characteristics and lifespan during short term storage was investigated. The semen samples stored at 4-6°C. The motility between 24th and 60th hour in milk control group and up to 48th hour in tris control group was found higher than all honey groups. The HOS test value was similar in milk control with 1% honey group and was higher than other groups at 12nd and 24th hour. Between 36th and 60th hour, the control was higher than other groups. The HOS test values were high in tris control group up to 48th hour than all honey groups but similar to 1% honey group at 60th hour. The abnormal spermatozoon ratio in Tris control was lower than 1% honey group until 48th, 1% and 5% honey group at 48th hour. The dead/live spermatozoon ratio was lower in the milk control than in 5% honey group at 0st, 2.5% and 5% honey group at 12nd, between 24th and 72nd hour all trial groups. Tris control was lower than other groups up to 60th, only 5% honey group at 72nd hour.

As a result, the control groups of tris and milk extenders were better than trial groups during short term storage with regard to spermatological quality and lifespan. It was concluded that tris extender was superior considering the intergroup comparisons and honey didn't provide any improvement in the spermatological features.

Key Words: Goat, semen, elektroejaculation, short time storage, honey

Geliş Tarihi : 10.04.2019
Kabul Tarihi : 04.09.2019

Yazışma Adresi Correspondence

Nurdan COŞKUN ÇETİN
Hatay Mustafa Kemal
Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Dölerme ve Suni
Tohumlama Anabilim Dalı,
Antakya – TÜRKİYE

nurdancoskun88@gmail.com

Giriş

Bal, arıların topladıkları çiçeklerin nektarlarından oluşturdukları, birçok şeker (sükroz, fruktoz ve glikoz gibi), mineral (Mg, K, Ca, NaCl, S, Fe, PO₄), vitamin (A, B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, C, E), fenolik asitleri ve flavonoidleri ihtiva eden, serbest radikallere karşı koruyucu etkili doğal bir üründür (1-3). Balın antibakteriyel, antialerjik, antitrombotik, antiinflamatuar, antitümör, antimetastazik, maya, mantar ve viruslar üzerine inhibitör etkisi gibi birçok biyolojik özellikleri bulunmaktadır (1, 4, 5). Yapılan çalışmalarda (2, 3, 6-16) bal tüketiminin veya sulandırıcılara ilavesinin spermatogenezde, epididimis ağırlığında, epididimal sperm sayısında, sperm kalitesinde ve canlı spermatozoon sayısında artış yaptığı, motilite ve sperm morfolojisinde iyileşme sağladığı, antioksidan etkisi ile testiküler hasarların önlenmesinde etkili olduğu bildirilmiştir. Erkek ratlarda yapılan bir

* Bu çalışma Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 15045 nolu yüksek lisans projesi olarak desteklenen aynı isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

** 9. Ulusal Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Bilim Kongresi, 5-9 Eylül 2018, Hatay/TÜRKİYE.

çalışmada (17) ise uzun süreli aşırı bal tüketiminin sperm parametreleri ve fertilité potansiyelinde zararlı bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.

Teke spermasının başarılı bir şekilde dondurulamaması ve dondurulmuş sperma ile yapılan servikal tohumlamalarda elde edilen gebelik sonuçlarının yeterli düzeyde olmaması araştırmacıları spermanın kısa süreli saklanması yöneltmiştir. Teke spermasının sulandırılmasında yaygın olarak yağsız süt, sodyum sitrat ve Tris kullanılmaktadır. Yumurta sarısı içeriğinde bulunan fosfolipit, kolesterol ve düşük yoğunluktaki lipoproteinler ile soğuk şokundan koruyucu, süt ise özellikle kazein miselleri ile pH değişikliklerine karşı koruyucu özelliktedir (18-21). Ancak tekelerde bulbouretral bezden salgılanan yumurta sarısı koagüle edici enzimi (egg yolk coagulating enzyme, EYCE) ve bir proteinin (SBUIII) belirtilen sulandırıcılar ile tepkimeye girmesi sonucunda motilitede düşüş, toksikasyon, akrozomal ve hücrel bozulmayı artırdığı gözlemlenmiştir (22-25).

Son yıllarda teke spermasının saklanması için kullanılacak yeni sulandırıcı çeşitlerinin geliştirilmesi, mevcut sulandırıcıların modifikasyonu ve sulandırıcılara antioksidan ilavesine yönelik araştırmalar yapılmaktadır. Çalışmada, süt ve Tris temelli sulandırıcılar ile sulandırılan teke spermasına farklı oranlarda bal ilavesinin kısa süreli saklama süresinde spermatolojik özellikler ve yaşam süresine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Çalışma, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinikleri, Dölerme ve Suni Tohumlama Ana Bilim Dalı laboratuvarı, Teknoloji ve Araştırma Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde üreme mevsimi içerisinde (Ekim-Kasım, 2016) gerçekleştirildi. Hayvan materyali olarak döl verimi problemi olmayan, canlı ağırlıkları birbirine yakın (50-55 kg) 3 yaşlı 2 ergin teke kullanıldı. Tekelerden sperma elektroejakulasyon yöntemi ile 5 hafta süresince haftada iki kez toplamda 10 tekrar olacak şekilde alındı. Taze spermada miktar, mass aktivite (26) ve motile (21) muayeneleri yapıldı. Ejakulatların birleştirilmesinden sonra mass aktivite, motilite, hacim, viskozite (27), yoğunluk (28) ve pH değerleri tespit edildi. Sulandırma işlemi yapıldığında, sulandırılan spermanın sıcaklığı 4-6 °C'ye düşürüldüğünde ve takip eden süreçte 12 saatte aralıklarla motil spermatozoon kalmayınca kadar motilite, ölü ve anormal spermatozoon oranları (29, 30), membran bütünlüğü ile pH değerleri belirlendi. Tekelerden alınan her ejakulatın miktarları, ölçeklendirilmiş sperma toplama kadehinde ml olarak belirlendi. Spermanın pH değerleri, pH metre (Hanna HI 83141) kullanılarak ölçüldü. Hipo osmotik swelling testi (HOS), Jeyendran ve ark. (29)'nın bildirdiği yöntem modifiye edilerek, kısaca 100 mL distile suda 1.1 g früktoz ve 0.55 g sodyum sitrat 100 mOsm/L olacak şekilde hazırlanan HOS test solüsyonu ile hesaplandı.

Birleştirilmiş sperma örnekleri, spermatolojik muayeneler yapıldıktan sonra 28-32 °C'deki su

banyosunda 8 eşit kısma ayrılarak farklı bal oranları içeren Tris-yumurta sarısı sulandırıcısı (Tris 3.634 g, früktoz 0.5 g, sitrik asit monohidrate 1.99 g, yumurta sarısı 10 mL, 1000 IU penisilin G /mL, 1 mg streptomisin/mL distile su ile 100 mL'ye tamamlandı) ve yağsız süt sulandırıcısı (UHT yağsız inek sütü 100 mL, 1000 IU penisilin G /mL, 1 mg streptomisin/mL) ile 200x10⁶/mL motil spermatozoon olacak şekilde sulandırıldı. Gruplar oluşturulurken Türk Gıda Kodeksi'nde çiçek balı olarak tanımlanan ticari ambalajlı (Balparmak, Altıparmak Gıda Sanayi ve Ticaret Anonim Şirketi, İstanbul) bal kullanıldı. 10 mL bal ve 90 mL distile su ilave edilerek %10 oranında bal içeren stok solüsyon (15, 31) hazırlandı. Farklı bal oranlarının elde edilmesinde bu stok solüsyon kullanıldı. Çalışma grupları olarak Tris (%0, %1, %2.5 ve %5 bal) ile süt (%0, %1, %2.5 ve %5 bal) grupları oluşturuldu, 10 mL'lik cam tüplere alınarak soğutmalı inkübatöre konuldu ve sıcaklıkları 1.5-2 saatlik bir süre içerisinde 4-6 °C'ye düşürüldü. Sulandırılan sperma örneklerinde 12 saatlik aralıklarla motil spermatozoon kalmayınca kadar muayeneler gerçekleştirildi.

İstatiksel analizler SPSS 23.0 paket programı ile yapıldı. Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandı. Analiz sonucunda gruplar arası farkın önemini belirtmek için Duncan testi kullanıldı.

Bulgular

Birleştirilen sperma örneklerinde ortalama hacim 2.72±0.33 (mL), viskozite 2.94±0.13 (0-5), pH 6.61±0.09, mass aktivite 3.56±0.18 (0-5), motilite 81.11±1.39 (%), yoğunluk 3898±0.071 (x10⁶) olarak belirlendi. Süt kontrol grubu (Tablo 1) 12. saatte %2.5 ve %5 bal ilaveli gruplardan, 24. saatten 60. saate kadar bal ilaveli sulandırıcı gruplarından yüksek (P<0.05), %1 bal ilaveli grubuna benzerdi. Tris sulandırıcı gruplarındaki (Tablo 1) motilite değeri, kontrol grubunda bal içeren gruplara göre 48. saate kadar yüksek, 60. saate %1 bal grubu ile benzer, %2.5 ve %5 bal grubundan ise yüksekti (P<0.05). Gruplar arası değerlendirmede, 0. saatte Tris kontrol grubu süt kontrol grubundan ve 60. saatte Tris %1 bal grubu süt %1 bal grubundan daha yüksek motiliteye sahip olduğu görüldü (P<0.05).

HOS test yönünden süt sulandırıcı grubunda (Tablo 2) 0. saatte kontrol ve bal içeren gruplarda farklılık gözlenmedi. Kontrol grubu 12. ve 24. saatlerde %1 bal grubu ile benzer, %2.5 ve %5 bal grubundan yüksek, 36, 48 ve 60. saatlerde ise bal ilaveli gruplardan yüksekti (P<0.05). Tris sulandırıcılı gruplarda (Tablo 2), kontrol grubunda HOS test değeri 48. saate kadar bal ilaveli gruplardan yüksek, 60. saatte ise %1 bal ilaveli gruba benzer %5 ve %2.5 bal ilaveli gruplardan daha yüksek bulundu (P<0.05). Gruplar arası HOS test değerleri incelendiğinde 0. ve 12. saatte Tris kontrol grubu süt kontrol grubundan ve 60. saatte Tris %1 bal grubu süt %1 bal grubundan yüksek bulundu (P<0.05).

Anormal spermatozoon oranı bakımından süt sulandırıcı grupları arasında farklılık bulunmazken, Tris kontrol grubu anormal spermatozoon oranı (Tablo 3) 48.

Tablo 1. Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C'de zamana bağlı motilite değerleri

Gruplar		0.saat	12.saat	24. saat	36.saat	48.saat	60.saat	72. saat	84.saat	96.saat	108.saat
Süt	Kontrol	70.5±1.8	63.3±2.0 ^a	55.0±2.5 ^a	46.6±2.9 ^a	39.4±2.8 ^a	29.4±2.3 ^a	18.8±2.2 ^a	11.6±1.9	8.0±1.2	
	%1	66.6±3.5	55.5±3.6 ^{ab}	40.5±3.7 ^b	25.5±2.6 ^b	15.6±1.9 ^b	6.80±1.3 ^c	5.00±0.0 ^b	-	-	
	%2.5	61.1±3.6	46.6±4.3 ^b	35.5±5.2 ^b	25.5±5.2 ^b	19.2±3.9 ^b	15.0±2.6 ^b	9.10±2.4 ^b	10.0±2.9	5.0±0.0	
	%5	60.5±3.2	47.2±2.1 ^b	31.1±4.3 ^b	18.7±4.7 ^b	10.7±2.5 ^b	6.20±1.3 ^c	-	-	-	
	P	0.091	0.002	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007	0.658	0.203
Tris	Kontrol	77.7±1.5 ^a	68.8±1.8 ^a	58.3±2.2 ^a	48.3±2.0 ^a	38.3±3.3 ^a	28.8±3.9 ^a	20.5±3.6	15.6±2.4	10.0±1.8	6.2±1.3
	%1	67.7±2.5 ^b	55.0±2.6 ^b	45.5±3.4 ^b	33.8±4.5 ^b	24.4±4.5 ^b	17.8±3.4 ^{ab}	13.3±3.6	10.0±2.7	10.0±0	5.0±0
	%2.5	66.1±2.9 ^b	56.6±2.5 ^b	43.3±3.8 ^b	28.8±5.5 ^b	23.3±3.9 ^b	16.8±2.9 ^b	12.1±2.4	7.0±1.2	5.00±0	-
	%5	60.5±2.8 ^b	45.5±3.5 ^c	28.8±3.6 ^c	16.1±2.6 ^c	10.7±2.0 ^c	8.70±3.8 ^b	15.0±-	10.0±-	10.0±-	5.0±-
	P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.283	0.099	0.465	0.766

a-c: Her bir sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler istatistiki açıdan önemlidir (P<0.05).

Tablo 2. Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C'de zamana bağlı HOS test değerleri

Gruplar		0.saat	12.saat	24. saat	36.saat	48.saat	60.saat	72. saat	84.saat	96.saat	108.saat
Süt	Kontrol	72.8±1.5	65.7±2.0 ^a	57.5±2.5 ^a	49.2±2.9 ^a	42.4±2.9 ^a	32.7±2.2 ^a	22.0±2.1 ^a	14.8±2.2		
	%1	71.3±3.7	60.5±3.8 ^{ab}	47.1±3.6 ^{ab}	33.5±3.0 ^b	22.8±2.2 ^b	12.8±2.4 ^{bc}	9.5±1.5 ^b	-		
	%2.5	65.2±3.5	51.8±4.1 ^b	39.3±5.3 ^b	30.0±5.2 ^b	23.1±4.6 ^b	19.0±2.6 ^b	12.1±2.9 ^b	12.3±2.4		
	%5	65.6±3.1	53.5±2.1 ^b	36.8±4.3 ^b	26.1±4.5 ^b	15.0±2.7 ^b	9.50±1.9 ^c	-	-		
	P	0.205	0.013	0.005	0.002	0.000	0.000	0.015	0.542		
Tris	Kontrol	82.0±1.7 ^a	74.0±1.6 ^a	63.2±2.2 ^a	53.5±1.8 ^a	43.7±3.6 ^a	34.1±3.7 ^a	24.6±3.5	19.7±2.3	13.8±2.3	8.7±1.1
	%1	71.1±2.6 ^b	59.5±3.1 ^b	50.0±3.5 ^b	38.6±4.5 ^b	28.7±4.9 ^b	22.8±3.5 ^{ab}	18.1±3.9	14.2±3.6	14.0±3.0	9.5±0.5
	%2.5	70.4±2.8 ^b	61.1±2.7 ^b	48.2±3.9 ^b	33.2±5.8 ^b	28.1±4.1 ^b	21.1±3.8 ^b	16.0±2.2	10.8±1.2	7.00±0.0	-
	%5	65.5±2.7 ^b	49.5±3.4 ^c	33.1±3.8 ^c	21.3±3.0 ^c	14.2±2.4 ^c	13.7±2.9 ^b	17.0±-	13.0±-	10.0±-	8.0±-
	P	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.281	0.125	0.411	0.818

a-c: Her bir sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler istatistiki açıdan önemlidir (P<0.05).

Tablo 3. Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C'de zamana bağlı anormal spermatozoon oranları

Gruplar		0.saat	12.saat	24. saat	36.saat	48.saat	60.saat	72. saat	84.saat	96.saat	108.saat
Süt	Kontrol	17.1±1.9	18.4±1.9	20.1±1.9	21.4±1.9	23.6±2.0	25.7±1.9	27.3±1.8	29.2±1.6		
	%1	16.9±2.8	19.0±2.4	20.3±2.3	22.3±2.4	24.6±2.7	26.6±2.5	25.5±1.5	-		
	%2.5	18.6±1.8	20.4±1.9	21.6±1.9	23.8±1.8	26.4±1.9	27.3±1.5	28.8±1.4	33.6±0.7		
	%5	17.6±1.2	19.0±1.1	20.0±1.2	22.8±0.7	24.7±0.9	28.0±2.4	-	-		
	P	0.921	0.897	0.910	0.814	0.816	0.918	0.655	0.159		
Tris	Kontrol	13.0±1.1 ^b	15.6±1.3 ^b	16.6±1.3 ^b	19.0±1.3 ^b	21.4±1.2 ^b	24.3±1.3	25.5±1.4	28.2±1.5	31.5±1.7	33.5±1.2
	%1	21.2±2.0 ^a	22.3±2.1 ^a	24.2±2.0 ^a	27.0±1.9 ^a	28.2±1.7 ^a	28.7±1.9	30.6±2.4	33.0±2.6	31.5±3.5	33.0±3.0
	%2.5	16.7±1.4 ^{ab}	18.0±1.5 ^{ab}	20.4±1.4 ^{ab}	22.6±1.2 ^{ab}	24.8±1.1 ^{ab}	26.7±1.2	29.0±1.5	33.2±1.1	33.0±3.0	-
	%5	16.8±1.8 ^{ab}	18.0±1.5 ^{ab}	20.1±1.4 ^{ab}	23.1±1.5 ^{ab}	26.0±1.7 ^a	30.2±1.3	35.0±-	35.0±-	38.0±-	39.0±-
	P	0.012	0.048	0.017	0.007	0.016	0.067	0.105	0.149	0.568	0.310

a-b: Her bir sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler istatistikî açıdan önemlidir (P<0.05)

Tablo 4. Deneme ve kontrol grubu sulandırılmış sperma örneklerinin +5 °C'de zamana bağlı ölü spermatozoon oranları

Gruplar		0.saat	12.saat	24. saat	36.saat	48.saat	60.saat	72. saat	84.saat	96.saat	108.saat	120.saat
Süt	Kontrol	24.4±1.9	31.5±2.1 ^b	42.0±2.1 ^b	48.1±3.2 ^b	53.7±2.9 ^b	65.2±2.3 ^c	76.4±2.3 ^c	83.5±1.9 ^b	92.6±2.4	96.8±1.9	
	%1	29.1±3.7	39.6±3.6 ^{ab}	54.4±4.1 ^a	68.7±3.3 ^a	82.0±2.8 ^a	88.5±1.2 ^{ab}	97.6±1.6 ^a	100±0.0 ^a	-	-	
	%2.5	33.0±3.8	47.7±4.2 ^a	59.6±5.6 ^a	69.5±5.7 ^a	81.6±4.6 ^a	82.8±3.9 ^b	86.1±2.5 ^b	93.5±3.1 ^a	94.6±2.7	100±0.0	
	%5	35.5±3.3	47.4±2.6 ^a	63.5±4.3 ^a	78.8±5.1 ^a	87.2±2.9 ^a	94.5±1.9 ^a	100±0.0 ^a	-	-	-	
	P	0.105	0.003	0.006	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.006	0.650	0.380
Tris	Kontrol	18.0±1.6 ^b	26.8±2.1 ^c	36.6±2.4 ^c	47.1±2.4 ^c	57.6±3.3 ^c	67.0±3.7 ^c	75.4±3.8 ^b	82.3±2.9	89.5±2.6	94.3±2.2	100±0
	%1	28.3±2.7 ^a	39.6±3.1 ^b	50.0±3.3 ^b	62.1±4.5 ^b	73.2±4.6 ^b	83.4±4.1 ^{ab}	84.0±4.1 ^{ab}	89.1±3.1	93.8±3.8	90.5±0.5	100±0
	%2.5	29.0±3.4 ^a	37.2±3.2 ^b	51.5±4.1 ^b	65.8±6.1 ^b	75.1±4.4 ^b	79.2±3.1 ^b	85.8±3.0 ^{ab}	90.5±2.6	97.2±1.8	100±0.0	-
	%5	34.2±2.4 ^a	49.7±3.8 ^a	67.1±3.8 ^a	79.2±2.6 ^a	88.6±2.7 ^a	93.8±3.0 ^a	95.5±4.5 ^a	84.0±-	87±-	93.0±-	100±-
	P	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.021	0.197	0.256	0.277	-

a-c: Her bir sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler istatistikî açıdan önemlidir (P<0.05).

saate kadar %1 bal ilaveli gruptan düşük ($P<0.05$), %2.5 ve %5 bal ilaveli gruplarla benzerdi. Süt grupları ile tris grupları arasında anormal spermatozoon oranı yönünden farklılık gözlenmedi ($P>0.05$).

Ölü spermatozoon oranı (Tablo 4) süt kontrol grubunda 12. saatte %1 bal grubuyla benzer, %2.5 ve %5 bal grubundan ise düşük, 24 ve 72. saatler arasında bal ilaveli tüm gruplardan daha düşük bulundu ($P<0.05$). Tris kontrol grubunda (Tablo 4) ölü spermatozoon oranı 60. saate kadar diğer gruplardan düşük, 72. saatte %1 ve %2.5 bal grupları ile benzer % 5 bal grubundan daha düşüktü ($P<0.05$). Gruplar arası değerlendirmede 0. saatte süt kontrol grubu ölü spermatozoon oranı Tris kontrol grubundan ve 72. saatte süt %1 bal ilaveli grup Tris %1 bal ilaveli gruptan daha yüksekti ($P<0.05$).

pH değerleri bakımından süt ve Tris sulandırıcı gruplarında grup içi farklılık gözlenmez iken gruplar arasında sadece 96. saatte süt kontrol grubu Tris kontrol grubundan daha yüksekti ($P<0.05$). Yaşam süreleri bakımından sulandırıcı grupları arasındaki fark önemsiz ($P>0.05$) olmakla beraber tris grubunda yaşam süresi rakamsal olarak daha uzundu.

Tartışma

Balın sperma kalitesi üzerine etkileri boğa (15, 31), koç (32), teke (12, 33), aygır (34), domuz (35), balık (14), insan (8), rat (16, 17) gibi birçok türde çalışılmış ve farklı sonuçlar elde edilmiştir. Çalışmada, her iki sulandırıcıda da, bal ilave edilen gruplardaki motilite değerleri, kontrol gruplarından yaklaşık %10 daha düşük bulundu. Benzer şekilde Maidin ve ark. (33) tekelerde tris yumurta sarısı sulandırıcısına %2 bal ilavesi yaptıkları çalışmada, 1.5 ve 2. saatlerdeki motilite değerlerinin kontrol grubundan ortalama %14 daha düşük olduğunu kaydetmektedirler. Tris temelli sulandırıcıya bal ilave ederek yapılan çalışmalarda; Yimer ve ark. (36) boğalarda spermanın kısa ve uzun süreli saklamada motilite değerini %2.5 bal ilaveli grupta en yüksek, % 10 bal ilaveli grupta en düşük, El-Nattat ve ark. (31) ile El-Sheshtawy ve ark. (15) boğalarda kısa süreli saklamada 7. günde yapılan muayenelerde, yüksek bal oranlarında en düşük motilite elde ettiklerini bildirmektedirler. Olayemi ve ark. (12) ise tekelerde sodyum sitrat yumurta sarısı sulandırıcısına %5, %10 ve %20 oranlarında bal ilave ederek yaptıkları kısa süreli saklamada, motilite oranlarının %5 bal ilaveli grupta, %10 ve %20 bal gruplarına göre önemli derecede yüksek olduğunu kaydetmektedirler. Aygırlarda, INRA-82 ticari sperma sulandırıcısına farklı oranlarda (%1, 2, 3, 4 ve 5) bal ilave edilerek yapılan çalışmada (34), çözündürme sonrası %2, %3 ve %4 gruplarında motilite değeri kontrol grubuna göre yüksek, kontrol grupları ile %1 ve %5 bal ilaveli gruplar arasında farklılığın olmadığı saptanmıştır. Genel olarak bal oranı arttıkça motilitenin azalmasının, bal oranlarında farklılık olmakla birlikte çalışma bulguları ile uyumlu olduğu görüldü. Bal oranlarındaki farklılıklar, hayvan türü (36) ve sulandırıcı çeşidi (12,34) ile ilgili olabilir. Yimer ve ark. (36), balın yüksek yoğunluğu sebebiyle hücre dışı hiperosmotik ortam oluşturarak motiliteyi azaltabileceğini, boğalarda

tris-yumurta sarısı ile sulandırılan spermanın kısa süreli saklanmasında en düşük bal oranının tercih edilmesi gerektiğini belirtmektedirler. Gruplar arası karşılaştırmada tris sulandırıcısında daha yüksek bulunan motilite değerleri Azawı ve ark. (37), Ferdinand ve ark. (38) ile uyumlu iken Tekin ve Daşkın (39) ile uyumsuzdu. El-Sheshtawy ve ark. (34)'nın atlarda sulandırıcıya %2, %3, %4 bal ilavesi yapılan gruplarda çözündürme sonrası önemli derecede yüksek HOS değeri, El-Nattat ve ark. (31)'nin ise boğalarda tris sulandırıcısına %1 bal ilavesi yapılan grupta çözündürme sonrası daha düşük HOS değeri elde etmeleri ve yüksek bal ilaveli gruplarda yüksek membran bütünlüğünün gözlenmesi çalışma bulguları ile uyumlu değildir. Ancak, Jerez-Ebensperger ve ark. (32) koçlarda tris sulandırıcısına %5 bal ilaveli grupta çözündürme sonrası HOS değerlerini belirgin düşük bildirmeleri çalışma bulguları ile paralel yöndedir. Hayvan türü, sulandırıcı çeşidi ve kompozisyonu ile kullanılan balın içeriği farklılıkların sebebi olarak düşünülebilir (40, 41). Çalışmada, tris deneme gruplarında en yüksek anormal spermatozoon oranının en düşük bal oranında elde edilmesi, Fakhridin ve Rana (8)'nin insanlarda ticari sulandırıcıya düşük oranda bal ilavesinin çözündürme sonrasında anormal spermatozoon morfolojisini artırdığını bildirdikleri çalışmalarıyla uyumluydu. Ancak, El-Nattat ve ark. (31)'nin boğalarda tris sulandırıcısında anormal spermatozoon oranını çözündürme sonrası en yüksek %4 bal grubunda, El-Sheshtawy ve ark. (15)'nin boğalarda tris sulandırıcısında dondurma çözündürme sonrası anormal spermatozoon oranını en düşük %1 bal grubunda bildirmeleri çalışma bulguları ile uyumlu değildir. Farklılığın, hayvan türü, spermanın saklanma şekli ve kullanılan balın özelliklerinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Jerez-Ebensperger ve ark. (32)'nin koçlarda sulandırıcıya %5 bal ilavesi yapılan grupta çözündürme sonrası ölü spermatozoon oranını yüksek bildirmesi, çalışmada yüksek bal oranında ölü spermatozoon oranının artması ile uyumlu, boğalarda tris sulandırıcısında dondurma çözündürme sonrası canlılık oranını araştıran El-Sheshtawy ve ark. (15)'nin en yüksek canlılık oranını %5 bal ilaveli grupta, El-Nattat ve ark. (31)'nin en düşük canlılık oranını %1 bal ilaveli grupta elde etmeleriyle çelişmektedir. Bu farklılığın nedeni, hayvan türü ve sperma saklama yöntemi ile ilgili olabilir. Hayvan türleri arasında spermanın kısa ve uzun süreli saklanma koşullarına tepkileri oldukça farklıdır. Boğa spermasının saklanabilirliği oldukça iyi olmasına karşın (42), koç ve teke spermasında bu başarı henüz sağlanamamıştır (43, 44, 45). Çalışmada, spermanın yaşam süresi tris sulandırıcılı gruplarda süt sulandırıcılı gruplara göre, ayrıca her iki sulandırıcı çeşidinde de kontrol ve % 2.5 bal ilave edilen gruplarda yaşam sürelerinin rakamsal olarak daha uzun olduğu görüldü. Spermanın yaşam süresi üzerine yapılan çalışmalarda, Olayemi ve ark. (12) tekelerde kısa süreli saklamada sodyum sitrat sulandırıcısına en düşük bal ilaveli grupta en yüksek canlılık, Yimer ve ark. (36) boğalarda tris sulandırıcısında kısa süreli saklamada %10 bal grubunda en düşük canlılık bildirirken en yüksek canlılığı %2.5 bal ilaveli gruplarda kaydetmişlerdir. Doza bağlı

olarak bal ilavelerinin yüksek konsantrasyonlarının canlılığa negatif etkisi bulgularımızla benzerdir.

Sonuç olarak, her iki sulandırıcı grubunda da kontrol gruplarının bal ilaveli gruplardan motilite, membran bütünlüğü ve canlılık bakımından daha üstün olduğu, bal oranı arttıkça sperma kalitesinin düştüğü saptandı. Anormal spermatozoon oranı bakımından Tris sulandırıcısına bal ilavesi tavsiye edilmezken, süt sulandırıcısına yapılan bal ilavelerinde gruplar arasında

farklılık saptanmadı. Halep tekelerinde spermanın kısa süreli saklanması tris sulandırıcısının tavsiye edilebileceği, ancak ticari olarak pazara sunulan bal ilavesinin spermatolojik kaliteyi artırmadığı kanaatine varıldı. Ayrıca, konunun açıklığa kavuşturulması için, teke spermasının kısa süreli saklanması, farklı bal çeşitlerinin (ticari ve yerel) kullanılacağı araştırmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Asiyah HA, Syazana NS, Hashida NH, Durriyyah Sharifah HA, Kamaruddin MY. Effects of nicotine and Gelam honey on testis parameters and sperm qualities of juvenile rats. *Sci Res Essays* 2011; 6: 5471-5474.
2. Mohamed M, Sirajudeen KNS, Swamy M, Yaacob M, Sulaiman S. Studies on the antioxidant properties of Tualang honey of Malaysia. *Afr J Trad* 2010; 7: 59-63.
3. Erejuwa OO, Sulaiman SA, Ab Wahab MS. Honey: A novel antioxidant. *Molecules* 2012; 17: 4400-4423.
4. Ulusoy E. Bal ve Apiterapi. *U Anı Drg* 2012; 12: 89-97.
5. Salman TM, Alagbonsi IA, Olayaki LA, et al. Honey increases sperm count in male albino rats by enhancing testosterone production. *Biochemistry* 2013; 25: 39-44.
6. Abdul-Ghani AS, Dabdoub N, Muhammad R, Abdul-Ghani R, Qazzaz M. Effect of Palestinian honey on spermatogenesis in rats. *Journal of Medicinal Food* 2008; 11: 799-802.
7. Aljady AM, Kamaruddin MY, Jamal AM, Mohd Yassim MY. Biochemical study on the efficacy of Malaysian honey on inflicted wounds: An animal model. *Med J Islam Acad Sci* 2000; 13: 125-132.
8. Fakhridin MBN, Alsaadi RA. Honey supplementation to semen-freezing medium improves human sperm parameters post-thawing. *Journal of Family and Reproductive Health* 2014; 8: 27-31.
9. Gill-Sharma MK, D'Souza S, Parte P, et al. Effect of oral tamoxifen on semen characteristics and serum hormone profile in male bonnet monkeys. *Contraception* 2003; 67: 409-413.
10. Ismail SB, Bakar MB, Nik Hussain NH, et al. Comparison on the effects and safety of Tualang honey and Tribestan in sperm parameters, erectile function, and hormonal profiles among oligospermic males. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014; 1-10.
11. Mohamed M, Sulaiman SA, Jaafar H, Sirajudeen KNS. Effect of different doses of Malaysian honey on reproductive parameters in adult male rats. *Andrologia* 2012; 44: 182-186.
12. Olayemi, FO, Adeniji DA, Oyeyemi MO. Evaluation of sperm motility and viability in honey-included egg yolk based extenders. *Global Vet.* 2011; 7: 19-21.
13. Oyelowo OT, Adekunbi DA, Dada KA. Protective role of Nigerian honey on sperm indices and testis in sucrose-fed rats. *Bangladesh Journal of Medical Science* 2014; 13: 180-189.
14. Öğretmen F, İnanan BE. Evaluation of cryoprotective effect of Turkish pine honey on common carp (*Cyprinus carpio*) spermatozoa. *CryoLetters* 2014; 35: 427-437.
15. El-Sheshtawy RI, El-Nattat WS, Sabra HA, Ali AH. Effect of honey solution on semen preservability of local breeds of cattle bulls. *World Applied Sci Journal* 2014; 32: 2076-2078.
16. Majid AM, Durriyah Sharifah HA, Kamaruddin MY. Effects of gelam honey on sperm quality and testis of rat. *Sains Malaysiana* 2011; 40: 1243-1246.
17. Dare WN, Igbigbi PS, Avwioro OG. The effects of chronic honey intake on sperm parameters and fertility potential in adult male wistar rats. *World Applied Sciences Journal* 2013; 22: 657-661.
18. Üstüner B, Günay Ü. Teke spermasının saklanması ve suni tohumlama. *Uludag Univ Vet Fak Derg* 2009; 28: 53-58.
19. Kulaksız R, Daşkın A. Teke spermasının kısa ve uzun süreli saklanması. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi* 2007; 78: 51-56.
20. Salamon S, Maxwell WMC. Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science* 2000; 62: 77-111.
21. Sönmez M. Reprodüksiyon Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları. Elazığ: Fırat Üniversitesi, 2013.
22. Mara L, Dattena M, Pilichi S, et al. Effect of different diluents on goat semen fertility. *Anim Rep Sci* 2007; 102: 152-157.
23. Nunes JF, Corteel JM, Combarous Y, Baril G, Leboeuf B. Role of seminal plasma in the in vitro survival of goat sperm. *Reproduction Nutrition Development* 1982; 22: 611-620.
24. Purdy PH. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Rum Res* 2006; 63: 215-225.
25. Roy A. Egg yolk coagulating enzyme in the semen and Cowper's gland of the goat. *Nature* 1957; 179: 318-319.
26. Tekin N. Erkek üreme organlarının muayenesi (Androlojik muayeneler). Ankara: Nurol Matbacılık, 1990.
27. Evans G, Maxwell WMC. Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Sidney: Butterworths, 1987; 8: 107-141.
28. Tekin N. Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama. Doğum ve İnfertilite, Konya: Dizgiyevi 1994.
29. Jeyendran RS, Van der Ven HH, Perez-Pelaez M, Crabo BG, Zaneveld LJD. Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *Reproduction* 1984; 70: 219-228.
30. Hafez ESE. *Reproduction in Farm Animals*. 7th Edition, Philadelphia: Lea and Febiger, 2000.

31. El-Nattat WS, El-Sheshtawy RI, El-Batawy KA, Shahba MI, El-Seadawy IE. Preservability of buffalo bull semen in Tris-citrate extender enriched with bee's honey. *J Innov Pharm Biol Sci* 2016; 3: 180-185.
32. Jerez-Ebensperger RA, Luño V, Olaciregui M, et al. Effect of pasteurized egg yolk and rosemary honey supplementation on quality of cryopreserved ram semen. *Small Ruminant Research* 2015; 130: 153-156.
33. Maidin MS, Padlan MH, Azuan SAN, et al. Supplementation of Nigella sativa oil and honey prolong the survival rate of fresh and post-thawed goat sperms. *Tropical Animal Science Journal* 2018; 41: 94-99.
34. El-Sheshtawy RI, El-Badry DA, Gamal A, El-Nattat WS, Almaaty AMA. Natural honey as a cryoprotectant to improve Arab stallion post-thawing sperm parameters. *Asian Pacific Journal of Reproduction* 2016; 5: 331-334.
35. Akandi A, Ugwu SO, Machebe NS. Survivability of boar sperm stored under room temperature in extenders containing some natural products. *Open Access Anim Physiol* 2015; 7: 57-64.
36. Yimer N, Muhammad N, Sarsaifi K, et al. Effect of honey supplementation into Tris Extender on Cryopreservation of Bull Spermatozoa. *Malaysian Journal of Animal Science* 2015; 18: 47-54.
37. Azawı OI, Al-Dahash SYA, Juma FT. Effect of different diluents on Shami goat semen. *Small Ruminant Research* 1993; 9: 347-352.
38. Ferdinand N, Thomas TT, Augustave K, et al. Effects of buck age, storage duration, storage temperature and diluent on fresh West African dwarf buck semen. *Journal of Reproduction and Infertility* 2012; 3: 58-66.
39. Tekin K, Daşkın A. Effect of different extenders on motility and some sperm kinematics parameters in Norduz goat semen. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 2016; 40: 490-495.
40. Naing SW, Wahid H, Azam KM, et al. Effect of sugars on characteristics of Boer goat semen after cryopreservation. *Animal reproduction science* 2010; 122: 23-28.
41. Hafez ESE, Hafez B. *Spermatozoa and Seminal Plasma*. 7th Edition, Philadelphia: Lea and Febiger, 2000.
42. Holt WV. Basic aspects of frozen storage of semen. *Animal Reproduction Science* 2000; 62: 3-22.
43. Kulaksız R, Daşkın A. Farklı antioksidanlarla dondurulan Saanen teke spermasının in vitro ve in vivo değerlendirilmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2009; 56: 201-205.
44. Coşkun N, Karaca F. Dondurmanın (Kriyopreservasyon) sperma kalitesi ve fertilité üzerine etkileri. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi* 2016; 56: 32-39.
45. Tekin N, Uysal O, Akçay E, Yavaş İ. Farklı taurin dozlarının ve dondurma hızının koç spermasının dondurulması üzerine etkileri. *Ankara Univ Vet Fak Derg* 2006; 53: 179-184.