

FARKLI IRKLARA AİT KOÇ SPERMALARININ DONDURMA İŞLEMİ AŞAMALARINDA ve ÇÖZÜM SONU ŞEKİLLENEN MORFOLOJİK BOZUKLUKLARININ TESPİTİ

M. Bozkurt ATAMAN¹

Hüseyin DÜZGÜN³

Cengiz YILDIZ²

Necdet C. LEHİMCİOĞLU⁴

Abdullah KAYA¹

Comparison of morphological abnormalities at the stage of freezing and after thawing in different breed of rams

SUMMARY

The aim of this study was to compare the morphological abnormalities at the stage of freezing and after thawing in different breed rams.

In this purpose, 6 Merino, 5 Akkaraman and 4 Awassi rams were used as materials. Semen was collected six-times by artificial vagina every other day and spermatological characteristics were determined after the semen was placed in a water bath. Following this, semen was diluted with Tris extender and was frozen in 0.25 ml paillet. Spermatological characteristics were determined at the stages (after dilution, gliserization, and equilibration) prior to freezing and after thawing.

There was no statistical difference ($p>0.05$) among the breeds on the spermatological characteristics at the stages of freezing and after thawing.

KEY WORDS: Frozen semen, different breeds, ram

GİRİŞ

Koç spermasının düşük ısılarda saklanması ve derin dondurulması aşamalarında ve dondurulan koç sperması ile yapılan tohumlamalardan elde edilen döl veriminde bazı sorunların bulunduğu yapılan araştırmalarda ortaya konmuştur (Eppleston ve Maxwell 1993, Mathur ve ark. 1992).

Bu sorunların başlıcaları; spermatazoon motilitesinde düşme (Foote 1988, Mathur ve ark. 1992), spermatazoon akrozomunda ve hücre membranında çeşitli derecelerde bozukluklar ve dölverimi düşüklüğü olarak sayılabilir (Foote 1988, Evans ve Maxwell 1987).

Dünyada koç spermasını dondurmaya ilk defa deneyen Emmens ve Blackshaw (1950) yaptıkları çalışmada, spermayı sodyum sitrat sulandırıcısıyla ampullerde dondurmuşlar, en iyi motiliteyi %7.5-10 arasında gliserol ve %12.5 Arabinoz, Ramnoz veya Ksiloz katmakla elde ettiklerini bildirmişlerdir.

ÖZET

Bu çalışmada farklı ırklara ait koç spermalarının dondurulması, dondurma işlemi aşamalarında şekillenen morfolojik bozuklukların ve hangi aşamalarda şekillendiği ve varsa ırk farklılıklarının ortaya konması amaçlandı.

Materyal olarak 6 baş Merinos, 5 baş Akkaraman ve 4 baş İvesi ırkı koç kullanıldı. Sperma, koçlardan gün aşırı olarak 6 kez alındı. Alınan spermalar derhal 32°C'lik su banyosuna nakledildi ve spermatolojik özellikleri saptandıktan sonra Tris-glikoz solüsyonu ile sulandırılarak 0.25 ml'lik payetlerde donduruldu. Spermatolojik özellikler, dondurma işleminin tüm aşamalarında ve çözüm sonrasında tekrar incelendi.

Taze sperma, dondurma işlemi aşamaları ve çözüm sonu spermatolojik özellikler açısından ırklar arasında istatistiksel farklılık gözlenmedi ($p>0.05$).

ANAHTAR KELİMELER: Dondurulmuş sperma, farklı ırk, koç

Gökçen ve ark. (1987), süt tozu, yumurta sarısı sulandırıcısına vit-E ve vit-E-selenyum ilave ederek payet yöntemiyle dondukları spermalarda, kontrol grubu, vit-E ve vit-E-selenyum gruplarında sırasıyla sulandırma sonrası %90, %90 ve %10, gliserizasyon sonrası %80, %85 ve %0, çözdürme sonrası ise %45, %65 ve %0 motilite oranı tespit ettiklerini bildirmektedirler.

Merinos ırkı koçlar üzerinde yürüttükleri bir araştırmada Ataman ve ark.(1996), taze spermada motilite, ölü ve anormal spermatazoon oranlarını sırasıyla %57.5-87.5, %2.5-5.9 ve %4.3-34.2 olarak belirlemişlerdir.

Karacabey Merinosu koçlar üzerinde yürüttüğü araştırmalarında Gökçen ve ark. (1985), elde ettikleri spermayı PGF₂α ve Vit-E katarak dondurduklarını bildirmektedirler. Araştırmacılar prostaglandin, vit-E ve kontrol gruplarında akrozom bozukluklarını sırasıyla ilk sulandırma %0, %0 ve %0, +5°C' de %0, %0 ve %0, gliserizasyondan sonra %21, %14 ve %27 ve çözüm sonrası %14, %13 ve %18 oranında saptadıklarını ifade etmektedirler.

Gökçen ve Aştı (1980), Karacabey ve Konya Merinosu ırkı koçlardan elde ettikleri spermayı payette dondurduklarını, sulandırma, +5°C'de, gliserizasyon, ekilibasyon ve çözüm sonu sırasıyla %2.9, %4.6,

Yayına Kabul Tarihi: 06.07.1999

1: S.Ü. Veteriner Fakültesi – KONYA

2: Y.Y.Ü Veteriner Fakültesi – VAN

3: Hayvancılık Araştırma Enstitüsü – KONYA

4: K.Ü. Veteriner Fakültesi – KARS

%20.7, %23.8 ve %27.7 oranında akrozom bozukluğu tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

Koçlar üzerinde yürüttüğü bir çalışmada İleri (1981), elde ettiği ejakülatı rafinoz-sodyum sitrat-yumurta sarısı sulandırıcısı ile dondurduğunu ve çözüm sonu %23.7-38.7 arasında değişen oranlarda motilite elde ettiğini belirtmektedir.

Gökçen ve ark. (1983), Merinos ırkı koçlarda Nasitrat-glikoz-yumurta sarısı sulandırıcısı kullanarak dondurduğu spermallerden, dondurma işleminin ilk sulandırma, +5°C'ye kadar soğutma, gliserizasyon ve 50°C'de 10 sn süre ile çözündürme sonrası sırasıyla motilite oranlarını %82, %76, %75.5 ve %39; akrozom bozukluğu oranlarını ise %3.17, %7.3, %14.5 ve %14 olarak tespit ettiklerini ifade etmektedirler.

Davidenko ve ark. (1983), 10 baş Askanian koçundan elde ettiği spermayı 2.2 ml'lik payetlerde rafinoz-sodyum sitrat-metionin-yumurta sarısı-gliserol-glutamik asit sulandırıcısı kullanarak -60, -80, -100 ve -120 °C'de dondurmuşlar ve çözüm sonu sırasıyla, %32, %46, %66 ve %50 motilite elde etmişlerdir.

Fiser ve ark. (1987), Tris-fruktoz-sitrik asit-gliserol, Tris-Dextran B-Rafinoz-fruktoz-gliserol ve yağsız süt tozu-sodyum sitrat sulandırıcıları kullanarak payet yöntemine göre dondurduğu spermallerden çözüm sonu sırasıyla %42.5, %41.5 ve %43 oranında motilite elde ettiklerini bildirmektedirler.

Lopryin ve Laginova (1958), Merinos ırkı koçlardan elde ettikleri spermayı hipertonic glikoz-yumurta sarısı-sitrat-gliserol'den oluşan sulandırıcı kullanarak dondurmuşlar ve çözüm sonu %44-46 arasında değişen motilite oranı elde etmişlerdir.

Vivanco ve Valera (1980), koçlardan elektroejekülatör yardımı ile elde ettikleri spermayı Tris-glikoz sulandırıcısı ile sulandırıp sıvı azot içerisinde payetlerde dondurduklarını ve çözüm sonu %29 motilite oranı elde ettiklerini ifade etmektedirler.

Taze sperma ile yapılan tohumlamalardan yüksek gebelik oranı elde edilirken, donmuş spermallerle henüz başarılı olunamaması, araştırmaları spermanın dondurulmasında etkili olabilecek faktörleri araştırmaya yönlendirmiştir. Ayrıca dondurulmuş koç spermasının çözünme sonucunda farklı spermatozojik özellikler göstermesi, bu farklılığa spermanın dondurulması aşamalarının hangisinin sebep olduğunun ya da herhangi bir ırk için farklılık olup olmadığının ortaya konulmasını zorunlu kılmıştır.

Sunulan bu çalışmada da farklı ırklara mensup koçların spermalarının dondurulması, koç spermasının dondurulabilirliği üzerine ırk farklılığının etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada materyal olarak, Merinos ırkı 6 baş, Akkaraman ırkı 5 baş ve İvesi ırkı 4 baş olmak üzere toplam 15 baş koç kullanıldı. Sperma koçlardan suni vajen yardımı ile gün aşırı olmak üzere toplam altı kez alındı. Alınan spermaller derhal 32°C'lik su banyosuna nakledildi ve spermatozojik özellikleri saptandıktan sonra Tris-glikoz solüsyonu ile sulandırılarak 0.25 ml'lik payetlerde Evans ve Maxwell'e (1987) göre

donduruldu. Dondurma işlemi her bir koçun ejakülatının ayrı ayrı dondurulmasıyla gerçekleştirildi. Çözündürme işlemi 38°C'lik su banyosunda 25 sn. süre ile gerçekleştirildi. Spermanın sulandırma, gliserizasyon, ekilibrasyon ve dondurma-çözündürme aşamalarında motilite, ölü ve anormal spermatozoon oranları belirlendi.

İstatistiksel hesaplamalarda t-testinden yararlanıldı.

BULGULAR

Çalışmada spermanın dondurulma aşamalarında (taze, sulandırma, gliserizasyon, ekilibrasyon, çözünme sonrası) spermatozojik özellikler Tablo 1'de sunulmuştur.

Tablo 1'den de izlenebileceği gibi spermanın dondurulma aşamalarında (taze, sulandırma, gliserizasyon, ekilibrasyon, çözünme sonrası) spermatozojik özellikler açısından ırklar arasında istatistiksel fark gözlenmedi ($p>0.05$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Gündoğan ve ark. (1997), Akkaraman ırkı koçlar üzerinde yürüttüğü bir çalışmada %80.9 motilite ve %3.63 anormal spermatozoon oranı tespit ettiğini belirtmektedir. Aksoy ve ark. (1994), İvesi, Akkaraman, ve Merinos ırkı koçlar üzerinde yürüttükleri bir çalışmada ortalama motilite, ölü ve anormal spermatozoon oranlarını sırasıyla %65.5, %65.7, %65.4; %10.7, %6.6, %13; %11.7, %7.2 ve %9 olarak tespit ettiklerini bildirmektedirler. Araştırmada İvesi, Akkaraman ve Merinos ırkı koçlar için elde edilen motilite bulgusu, Aksoy ve ark. (1994)'nin aynı ırk koçlar için bildirdikleri motilite oranlarından yüksek, yine aynı ırklar için elde edilen ölü ve anormal spermatozoon oranları da, araştırmacıların değerlerinden düşük olarak bulunurken, Akkaraman ırkı koçlardan elde edilen motilite ve anormal spermatozoon oranları Gündoğan ve ark. (1997)'in verilerine yakın olarak tespit edilmiştir. Çalışmada İvesi ırkı koçlarda taze spermada tespit edilen %1.1'lik spermatozoon baş anormalitesi oranı, aynı ırk için %1.22 oranında baş anormalitesi bildiren Demirci (1993)'nin bulgusuna benzer olarak tespit edilmiştir.

Koçlardan aldıkları spermada başlangıç motiliteleri %70-80 oranında olanları Tris solüsyonu kullanarak donduran Zamfirescu ve ark. (1979), çözüm sonrası ortalama %39 motilite elde etmişlerdir. Çalışmada elde edilen %31.8-33.7 arasında değişen motilite oranları araştırmacıların bildirdikleri orandan düşük olarak tespit edilmiştir. Ivakhnenko ve Aibazov (1982), dondurdukları spermayı 70°C'de hızlı ve 40°C'de yavaş olarak çözdürdüklerini, çözüm sonu motilite ortalamalarının hızlı çözündürme işleminde, yavaş çözündürme işlemine göre %10-15 oranında daha fazla tespit ettiklerini bildirmektedirler. Sunulan çalışmada da 38°C'lik su banyosunda 25 saniye süre ile yavaş çözündürme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çözündürme yönteminin motilite oranını düşürdüğü düşünülebilir.

Tablo 1. Spermanın Dondurulma Aşamalarında (taze, sulandırma, gliserizasyon, ekilibrasyon, çözünme sonrası) Spermatolojik Özellikler.

TAZE SPERMADA SAPTANAN SPERMATOLOJİK ÖZELLİKLER*							
	Motilite (%)	Ölü spz. O. (%)	Akrozom (%)	Anormal Spermatozoon Oranı			Toplam (%)
				Baş (%)	Orta (%)	Kuyruk (%)	
Merinos	86.4±0.82	3.8±0.43	0.8±0.19	1.3±0.14	1.7±0.20	1.2±0.22	4.5±0.40
Akkaraman	88.2±0.81	3.2±0.19	0.6±0.14	1.3±0.11	1.3±0.19	1.3±0.18	4.7±0.27
İvesi	87.3±0.96	2.8±0.19	0.5±0.16	1.1±0.15	1.5±0.13	1.4±0.15	4.1±0.26
SULANDIRMA SONRASI SAPTANAN SPERMATOLOJİK ÖZELLİKLER*							
	Motilite (%)	Ölü spz. O. (%)	Akrozom (%)	Anormal Spermatozoon Oranı			Toplam (%)
				Baş (%)	Orta (%)	Kuyruk (%)	
Merinos	84.6±1.11	4.3±0.46	1.5±0.12	1.0±0.10	1.2±0.18	2.1±0.21	5.6±0.24
Akkaraman	87.4±1.16	3.5±1.18	1.3±0.11	0.8±0.13	1.6±0.20	1.7±0.16	5.1±0.38
İvesi	86.0±1.4	3.5±0.24	1.2±0.14	1.1±0.24	1.3±0.27	1.8±0.24	5.1±0.47
GLISERİZASYON SONRASI SAPTANAN SPERMATOLOJİK ÖZELLİKLER*							
	Motilite (%)	Ölü spz. O. (%)	Akrozom (%)	Anormal Spermatozoon Oranı			Toplam (%)
				Baş (%)	Orta (%)	Kuyruk (%)	
Merinos	81.8±1.13	7.3±0.76	7.2±0.93	2.3±0.20	1.5±0.39	1.9±0.10	13.0±1.03
Akkaraman	83.4±1.35	6.6±0.36	6.0±0.30	2.0±0.12	1.9±0.18	1.8±0.17	11.7±0.50
İvesi	83.3±1.35	6.5±0.56	6.8±0.82	2.4±0.20	2.1±0.21	2.3±0.23	13.6±0.97
EKILIBRASYON SONRASI SAPTANAN SPERMATOLOJİK ÖZELLİKLER*							
	Motilite (%)	Ölü spz. O. (%)	Akrozom (%)	Anormal Spermatozoon Oranı			Toplam (%)
				Baş (%)	Orta (%)	Kuyruk (%)	
Merinos	72.5±1.26	9.3±0.96	7.5±0.19	2.6±0.11	2.3±0.11	2.2±0.15	14.9±0.29
Akkaraman	71.8±1.38	7.9±0.37	7.2±0.19	2.6±0.15	2.6±0.29	2.5±0.19	14.4±0.16
İvesi	73.7±1.5	9.5±0.43	7.1±0.19	2.7±0.10	2.3±0.14	2.5±0.18	14.6±0.18
ÇÖZÜNME SONRASI SAPTANAN SPERMATOLOJİK ÖZELLİKLER*							
	Motilite (%)	Ölü spz. O. (%)	Akrozom (%)	Anormal Spermatozoon Oranı			Toplam (%)
				Baş (%)	Orta (%)	Kuyruk (%)	
Merinos	31.8±2.32	24.8±1.66	12.4±1.13	4.2±0.26	2.7±0.16	2.5±0.26	22.8±1.01
Akkaraman	33.8±1.23	21.7±1.82	12.7±0.47	4.4±0.35	2.5±0.14	2.7±0.17	22.5±0.61
İvesi	33.7±1.58	21.8±1.57	13.2±0.64	4.6±0.58	2.4±0.19	2.5±0.18	21.7±1.15

* Aynı sütunda farklı değerler arasındaki fark önemsizdir (p>0.05)

Colas (1974), koçlar üzerinde yürüttüğü araştırmada spermayı payette dondurduktan sonra 35°C de çözdürmüş ve ortalama motiliteyi %30 olarak tespit etmiştir. Sunulan çalışmada da 38°C'lik su banyosunda 25 sn süre ile çözdürülen spermallerden elde edilen %31.8 -33.8 arasında değişen motilite oranları araştırmacının verileri ile uyum arz etmektedir.

First ve ark. (1961), spermayı %2 yumurta sarısı, %7 gliserol ve %1.25 arabinoz içeren homojenize süt ile sulandırıp dondurdukları spermada motilite oranlarını dondurmadan önce %80, dondurma sonrası ise %38 olarak tespit ettiklerini ifade etmektedir. Sunulan çalışmada da başlangıç motiliteleri birbirlerine yakın bulunurken çözüm sonrası elde edilen motilite araştırmacıların değerlerinden düşük olarak tespit edilmiştir. Sulandırıcı farklılıklarının çözüm sonrası motiliteyi etkilediği düşünülmektedir. Ayrıca motilite muayenelerinin subjektif olarak yapıldığında yüksek, videomikrografi ve fotolometrik

metotla yapılmasında ise düşük hata paylarının olabileceği vurgulanmaktadır (Riemke ve Leidl 1985, Risse 1990). Sunulan çalışmada da motilite muayenesinin subjektif olarak gerçekleştirilmiş olmasının hata payını artırabileceği düşünülmektedir.

Fornusek ve ark. (1981), Tris-glikoz-yumurta sarısı-gliserol ve laktöz-yumurta sarısı sulandırıcıları ile ayrı ayrı sulandırıp dondurduğu spermallerden çözüm sonu; Tris-glikoz solusyonu kullanarak dondurduğu spermada akrozom bozukluğunun daha fazla şekillendiğini belirtmektedir. Kullanılan sulandırıcı farklılıklarının Fornusek ve ark. (1981)'in belirttiği gibi oranları etkilediği düşünülmektedir.

Tasseron ve ark (1977), rafinoz-sodyum sitrat-yumurta sarısından oluşan sulandırıcı ile sulandırıp dondurdukları koç spermallerinden çözüm sonu %40 oranında akrozom bozukluğu tespit ettiklerini belirtmektedirler. Çalışmadan farklı ırklardan elde edilen çözüm sonu akrozom bozukluğu oranları araştırmacıların değerlerinden oldukça düşük olarak

bulunmuştur. Gökçen ve ark. (1983) ise, %5 gliserol içeren sodyum sitrat-glikoz ve yumurta sarısından oluşan sulandırıcı ile sulandırıp payetlerle dondurduğu spermallerden çözüm sonu %30 motilite ve %18 akrozom bozukluğu elde ettiğini bildirmektedir. Sunulan çalışmada çözüm sonu elde edilen %31.8-33.8 lik motilite oranları araştırmacıların bulgusuna benzerlik gösterirken akrozom bozukluğu bulgusu araştırmacıların değerlerinden düşük olarak bulunmuştur. Farrant (1965), spermatozoonların dış membranlarının değişik permabiliteye ve ozmotik basınç değişikliklerine karşı dirençlerinde bireysel farklılıkların olduğunu vurgulamaktadırlar. Müller ve ark. (1977) ise, plazma membranındaki değişikliklerin kullanılan vasatın ozmotik basınç değişikliklerinden kaynaklandığını bildirmektedirler. Sunulan bu çalışmada da permabilite ve ozmotik basınç değişikliklerine karşı değişen dirençlerin oranları etkilediği düşünülmektedir.

Payetlerle dondurduğu spermada Das ve Rajkonwar (1996), çözüm sonu akrozom bozukluğu oranını; %5 gliserol oranlarında %14.99, %6 gliserol oranlarında; %16.89 ve %7 gliserol oranlarında ise %17.3 olarak tespit ettiklerini bildirmektedirler. Çalışmada %5 gliserol oranlarında %12.4-13.2 arasında değişen akrozom bozukluğu oranı araştırmacıların değerlerine yakın olarak tespit edilmiştir.

Kıvırcık ırkı koçlardan elde ettiği spermayı süt tozu-yumurta sarısı-fruktozdan oluşan sulandırıcı ile pelet biçimde dondurduklarını belirten Öztürkler ve ark. (1997), çözüm sonu %52 motilite ve %49.6 akrozom bozukluğu elde ettiklerini ifade etmektedirler. Çalışmada elde edilen çözüm sonu motilite ve akrozom bozukluğu oranları araştırmacıların değerlerinden düşük olarak bulunmuştur. Ritar ve Ball (1993), pellet biçiminde sperma dondurulmasında çözümme sonrası motilitenin payet yöntemine göre daha yüksek olduğunu belirtmektedirler. Değerler arası farklılıkların dondurma yöntemi ve sulandırıcı farklılıklarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Gökçen ve ark.(1987), koçlardan elde ettikleri spermaya Vit-E katarak dondurduklarını ve çözüm sezonu %45 motilite ve %10 akrozom defektli spermatozoon oranı elde ettiklerini ifade etmektedirler. Çalışmada elde edilen motilite oranı araştırmacıların bildirdikleri motilite oranlarından düşük, akrozom bozukluğu oranı ise yakın olarak bulunmuştur. Vitamin E, antioksidan bir madde olup, A vitamininin oksidasyonu önlemesi yanında lipoprotein yapıdaki hücre membranını düşük ısıya karşı korumakta ve bütünlüğünü sağlamaktadır. Spermaya Vit-E katılmasının gerek motilite gerekse akrozom morfolojisi üzerine olumlu etkisi olduğu düşünülmektedir.

Soylu (1988), tris sulandırıcısı kullanarak payetlerde dondurduğu spermada; ilk sulandırma, gliserizasyon, ekilibrasyon ve çözüm sonrası aşamalarında motilite, ölü spermatozoon oranı, akrozom, baş, orta ve kuyruk kısmı anomalilerini sırası ile ilk sulandırmada %80.4, %3.4, %2.3, %0.8, %0.5 ve %1.8; gliserizasyon sonrasında %69.1, %5.7, %4.2, %1.3, %0.7 ve %2.9; ekilibrasyon sonrası %58.9, %7.5, %5.5, %2.2, %1.1 ve %3.8; çözüm

sonrasında ise %24.8, %30, %34.1, %6.9, %1.8 ve %8.3 olarak tespit etmiştir. Çalışmada sulandırma ve çözümme sonrası motilite oranları araştırmacının motilite oranına benzer olarak bulunurken, gliserizasyon ve ekilibrasyon aşamalarındaki bulgusundan yüksek olarak bulunmuştur. Ölü spermatozoon oranı ilk sulandırma ve çözümme sonrası benzer, gliserizasyon ve ekilibrasyon aşamalarında yüksek bulunmuştur. Akrozom bozukluğu oranı ekilibrasyon aşamasında benzer, diğer aşamalarda ise düşük bulunmuştur. Baş bozukluğu oranları sulandırma, gliserizasyon ve ekilibrasyon aşamalarında yakın, çözümme sonrası ise düşük bulunmuştur. Orta kısım bozuklukları oranı çözümme sonrası yakın, diğer aşamalarda ise yüksek olarak bulunmuştur. Kuyruk anomalileri oranı ise, sulandırma ve gliserizasyon aşamalarında yakın diğer aşamalarda düşük olarak tespit edilmiştir. Çalışmada tespit edilen oranların kimileri araştırmacının oranlarına uyum gösterirken, kimi oranlar düşük, kimi oranlar ise yüksek olarak tespit edilmiştir. Oranlar arasındaki farklılıkların yaş, kullanılan sulandırıcının kimyasal kompozisyonu ve dondurma yöntemindeki farklılıklar, spermanın dondurma işlemine karşı gösterdiği bireysel duyarlılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sonuç olarak; farklı ırklara ait spermanın dondurulması sonucu elde edilen bulgular arasında, spermanın dondurulması aşamalarında istatistiksel fark elde edilememesi, çalışmada kullanılan farklı ırktan koçların spermasının dondurulmasındaki sorunun ırk farklılıklarından değil, dondurma yöntemi ve dondurma işleminin kendi aşamalarından kaynaklandığı kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

- Aksoy M, Ataman MB, Karaca F, Kaya A, Tekeli T (1994) Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ait çeşitli ırklardan koçların spermatolojik özellikleri üzerinde araştırmalar. Vet. Bil. Derg., 10, 1-2, 111-112.
- Ataman MB, Kaya A, Karaca F, Yıldız C, Çoyan K, Ergin A, Aksoy M (1996) Toklularda testisin sezon içi ve sezon dışı morfometrik ölçümleriyle spermatolojik özellikleri arasındaki ilişkinin belirlenerek damızlık seçiminde kullanılabilirliğinin araştırılması. Hay. Araş. Derg., 6, 1-2, 1-7.
- Colas G (1974) Fertility of deep-frozen ram semen: Effect of glycerol concentration and type of diluents. In Proc. of the Int. Smposium on Physiopathology of Reproduction and AI in small ruminants. Thessalonidi, 16-19 May, 1974.
- Das KK, Raskonwar CK (1996) Acrosomal changes of buck spermatozoa after equilibration and freezing in egg yolk citrate glycerol extender. Ind. Vet. J., 73, 35-40.
- Davidenko VM, Shinkarenko IS, Ignatenko OI (1983) Freezing ram semen in polypropylene straws. Anim. Breed. Abstr., 55, 909.
- Demirci E (1993) İvesi koçlarının spermatolojik özellikleri ve sperma miktarının hayvanın yaşı ve testis hacmi ile ilişkisi. U.Ü. Vet. Fak. Derg., 12, 3, 98-106.

- Emmens CW, Blackshaw AW (1950) The low temperature storage of ram, bull and rabbit spermatozoa. *Aust. Vet. J.*, 26, 226-228.
- Eppleston J, Maxwell WMC (1993) Recent attempts to improve the fertility of frozen ram semen inseminated into cervix. *Wool Tech. Sheep Breed.*, 41, 3, 291-302.
- Evans G, Maxwell WMC (1987) *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths, Sydney.
- Farrant J (1965) Mechanism of cell damage during freezing and thawing and its prevention. *Nature*, 205, 1284.
- First NL, Sevinge A, Henneman HA (1961) Fertility of frozen and unfrozen ram semen. *J. Anim. Sci.*, 20, 79-84.
- Fiser PS, Ainsworth L, Fairfull RW (1987) Evaluation of a new diluent and different processing procedures for cryopreservation of ram semen. *Theriogenology*, 28, 5, 599-607.
- Foot RH (1988) Preservation and fertility prediction of spermatozoa. 11th Int. Congr. on Anim. Reprod. and A. I., June, 26th-30th, 1988, Dublin, 5, 127-134.
- Fornusek L, Letvicka V, Petelikova J (1981) The effects of diluents for long-term storage of ram semen on acrosomes of ram spermatozoa. *Anim. Breed. Abstr.*, 52, 5303.
- Gökçen H, Aştı RN (1980) Sıvı azot buharında dondurma yönteminin çeşitli evrelerinde, koç spermatozoitlerindeki akrozom bozukluklarının saptanması. *A.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 27, 3-4, 501-514.
- Gökçen H, Aştı RN, Çekgöl E, Şener E (1985) Protoglandin F₂α katılarak dondurulan koç spermalarında akrozom morfolojisi ve dölverimi üzerinde araştırmalar. *U.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 4, 5, 77-82.
- Gökçen H, Aştı RN, Kozandağı M (1983) Çeşitli ekilibasyon süreleri ve çözme ısılarının donmuş koç spermatozoonlarının motilitesi ve akrozom bozuklukları üzerine etkisi. *U.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 1, 2-3, 51-58.
- Gökçen H, Aştı RN, Kozandağı M (1983) Sulandırıcıya değişik oranlarda katılan gliserolün dondurma işleminin çeşitli evrelerinde koç spermatozoonlarının motilitesi ve akrozom morfolojisi üzerine etkisi. *U.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 1, 2, 59-64.
- Gökçen H, Çamaş H, Erdinç H, Aştı NR, Çekgöl E, Şener E (1987) Koçlarda rasyona ve spermaya katılan vitamin-E ve Selenyum'un dondurulmuş spermatozoonların akrozom morfolojisi, enzim aktivitesi ve dölverimi üzerinde araştırmalar. *Doğa*, 14, 207-208.
- Gündoğan M, Demirci E, Bozkurt T, Sönmez M (1997) Aşım mevsimi öncesi esnası koçların spermatozolojik özelliklerindeki değişimler. *Y.Y.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 8, 1-2, 40-42.
- Ivakhnenko VK, Aibazov MM (1982) The effect of electrolytes in sugar-egg yolk media on the quality of frozen ram semen. *Anim. Breed. Abstr.*, 52, 5305.
- İleri İK (1981) Untersuchungen zur Tiefkühlkonservierung von Schafbockspermien unter besonderer Berücksichtigung der dadurch verursachten Kopfkappenschädigungen. *I.Ü. Vet. Fak. Derg.*, 8, 1, 79-95.
- Loprin AI, Loginova (1958) The method of freezing ram semen. *Anim. Breed. Abstr.*, 27.72.
- Mathur AK, Joshi A, Srivastava RS (1992) Effect of incorporation of tris in "EYLRCG" extender for straw freezing of ram spermatozoa. 12th Int. Congr. on Anim. Reprod. A.I., August 23-27, 1992, The Hague-The Netherlands, 3, 1454-1456.
- Müller H, Sterba G, Brückner G, Hofmann I, Lahmann J (1977) Zur Genese der Plasmamembran Veränderungen bei Schafbockspermien. *Biologisches Lentrallatt*, 96, 5, 571-588.
- Öztürkler Y, Ak K, İleri İK (1997) Kıvırcık koçlarında donma ve eritme sonrası spermatozolojik özellikler üzerine mevsimin etkisi. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 3, 1, 73-59.
- Riemke P, Leidl W (1985) Motilitätsbeurteilung der spermien mit videomikrografi und Computerauswertung. *Zuchthygiene*, 20, 106.
- Risse S (1990) Die bisherigen Möglichkeiten zur Einschätzung der Qualität und Fertilität von Samenzellen. *Mh. Vet. Med.*, 45, 348-352.
- Ritar AJ, Ball PD (1993) The effect of freeze-thawing of goat and sheep semen at a high density of spermatozoa on cell viability and fertility after insemination. *Anim. Reprod. Sci.*, 31, 249-262.
- Soylu MK (1988) Çeşitli sulandırıcılar ve yöntemler kullanılarak dondurulan koç spermalarının bazı spermatozolojik özellikleri üzerine araştırmalar. *Doktora Tezi*, I.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Tasseron F, Amir D, Schindler H. (1977). Acrosome damage of ram spermatozoa during dilution, cooling and freezing. *J. Reprod. Fert.* 18, 21.
- Vivanco W, Valera V (1980) Freezing of ram semen diluted in Tris diluent and dispensed into different containers. 9th Int. Congr. Anim. Reprod. And AI., 16th-20th, June 1980, III. Symposia, Free Communication.
- Zamfirescu S, Ionescu F, Bogdan AT (1979) Results obtained in freezing ram semen. *Anim. Breed. Abstr.*, 48, 6052.