

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
REPRODÜKSİYON VE SUNİ TOHUMLAMA
DOKTORA PROGRAMI
DR-2026-0005

KOÇ SPERMASININ DONDURULMASINDA SERİSİN VE
GLİSEROL KOMBİNASYONUNUN ÇÖZÜM SONRASI
SPERMATOLOJİK ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ

BEGİMAY AYANA
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Melih AKSOY

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-22038 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2026

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı Doktora Programı çerçevesinde Begimay AYANA tarafından hazırlanan “Koç Spermasının Dondurulmasında Serisin ve Gliserol Kombinasyonunun Çözüm Sonrası Spermatolojik Özellikler Üzerine Etkisi” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 19/01/2026

Üye (T.D.) : Prof. Dr. Melih AKSOY

Aydın Adnan Menderes
Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Ahmet CEYLAN

Aydın Adnan Menderes
Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Hayrettin ÇETİN

Aydın Adnan Menderes
Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Sema BİRLER

İstanbul Üniversitesi
-Cerrahpaşa

Üye : Prof. Dr. Serhat PABUCCUOĞLU

İstanbul Üniversitesi
-Cerrahpaşa

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün tarih ve sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamda ilgi, yardım ve hoşgörüsünü esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Melih AKSOY'a,

Ayrıca bana her konuda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen hocam Prof. Dr. Ahmet CEYLAN'a,

Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. İlker SERİN'e, Doç. Dr. Niyazi KÜÇÜK'e ve Dr. Öğr. Üyesi Uğur UÇAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Selçuk Üniversitesinin Veteriner Fakültesinde, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalında kazandığım deneyimler, öğrendiğim bilgiler için değerli hocalarım Prof. Dr. Mehmet Bozkurt ATAMAN, Prof. Dr. Mustafa Numan BUCAK, Doç. Dr. Mustafa BODU'ya ve diğer tüm hocalarıma teşekkürü borç bilirim.

Anabilim Dalımız doktora ve yüksek lisans öğrencileri Tanay ÖZCAN, Büşra ARABACIOĞLU, Deniz DOĞAN ve diğer lisansüstü arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük emeği olan, bana inanan ve her koşulda kayıtsız şartsız beni destekleyen, dualarını esirgemeyen en kıymetlim annem Burulalı ZHOLDOSHOVA'ya ve rahmetli babama, tez çalışmam süresince gösterdiği sabır, özveri ve destekleri için eşim Vet. Hek. Mevlüt AYANA'ya ve ailesine, tüm eğitim sürecimde destekleyen abim Erulanbek AZHIBAEV'e ve diğer kardeşlerime, sevgili kızlarım Behiye AYANA ve Sofia AYANA'ya teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Koyunlarda Suni Tohumlamanın Önemi	3
2.2. Spermada Soğutma, Dondurma ve Çözünme Sırasında Görülen Hasarlar	4
2.3. Koçlarda Puberte	5
2.4. Koçlarda Spermatogenezis	5
2.5. Koçlarda Spermatolojik Parametreler	6
2.6. Koçlarda Sperma Alma Yöntemleri.....	7
2.6.1. Suni Vajen Yöntemi	7
2.6.2. Elektroejakülasyon Yöntemi	8
2.7. Spermanın Saklanması	9
2.7.1. Spermanın Kısa Süreli Saklanması.....	9
2.7.2. Spermanın Uzun Süreli (Dondurularak) Saklanması	10
2.8. Serisin	12
2.8.1. Serisin'in Biyolojik Fonksiyonları ve Kullanım Alanları	13

2.8.2. Antioksidan Özelliği	13
2.8.3. Anti-enflamatuvar Etkisi	14
2.8.4. Anti-viral Etkisi	14
2.8.5. Hipoglisemi/Hipokolesterolemik Etkisi	15
2.8.6. Nöroprotektif Etkisi	15
2.8.7. Anjiyojenik Aktivitesi	16
2.8.8. Osteojenik Farklılaşma Üzerine Etkisi	16
2.8.9. Biyomedikal Malzemelerde Kullanımı	16
2.8.10. Serisin'in Üreme Sistemindeki Önemi	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	19
3.1. Gereç	19
3.2. Yöntem	19
3.2.1. Spermanın Alınması	19
3.2.2. Spermanın Sulandırılması ve Dondurulması	19
3.2.3. Spermatolojik Parametrelerin Belirlenmesi	21
4. BULGULAR	26
4.1. Progresif Motilite Değerlendirmesi	26
4.2. Toplam Motilite Değerlendirilmesi	26
4.3. Normal Spermatozoon Oranı	27
4.4. Membran Bütünlüğüne Sahip Spermatozoon Oranı	27
4.5. Canlı Spermatozoon Değerlendirilmesi (Eozin-nigrosin)	28
4.5. Canlı Spermatozoon Değerlendirilmesi (PI)	29
4.6. Prematür Akrozom Reaksiyonuna Giren Spermatozoon Oranları	30
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	37
KAYNAKLAR	38
EKLER	56

BİLİMSEL ETİK BEYANI	57
ÖZ GEÇMİŞ.....	59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µl	: Mikrolitre
4HNE	: 4-hidroksinonenal
ABP	: Androjen Bağlayıcı Protein
ALT	: Alanin Aminotransferaz
C/OH	: Karbon/hidroksil grubu
°C	: Derece
CASA	: Computer Assisted Sperm Analysis
CAT	: Katalaz
CSNK1G2	: Casein Kinase 1 Gamma 2
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FITC-PNA	: Flourescein isothiocyante peanut agglutinin
FSH	: Folikül Stimüle edici Hormon
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
HOS testi	: Hipo-Ozmotik şişme testi
ICA	: Karbonik anhidraz benzeri X3 izoform inhibitörü
IU	: International Unit
kDa	: Kilo Dalton
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
LH	: Lüteinleştirici Hormon
LOC101123216	: Disintegrin ve metalloproteinaz alanı içeren protein 20-benzeri

MDA	: Malondialdehit
Mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar
pH	: Power of Hidrojen
PI	: Propodium Iodide
RNA	: Ribo Nükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences
TCG	: Tris Sitrik asit Glikoz
TCP1	: T-Complex Protein 1
TOM1L1	: TOM1-benzeri protein 1 izoform X2

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Dondurulmuş-çözdürülmüş sperma örneklerinde grupların progresif motilite ve total motilite oranları.	26
Şekil 2. Dondurulmuş-çözdürülmüş sperma örneklerinde gruplarda morfolojik olarak normal ve membran bütünlüğü sağlam spermatozoon oranları	28
Şekil 3. Dondurulmuş-çözdürülmüş sperma örneklerinde grupların eozin-nigrosin (E/N) ve propidium iodide (PI) boyama tekniği ile canlı spermatozoon oranları	29
Şekil 4. Dondurulmuş-çözdürülmüş sperma örneklerinde gruplarda prematür akrozom reaksiyonuna giren spermatozoon oranları.....	30

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Progresif ve total motilite oranlarının belirlenmesinde CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) programının görüntüsü. Kırmızı-hızlı progresif, yeşil-orta progresif, mavi-progresif olmayan, sarı-motilitesi olmayan spermatozoon.....	21
Resim 2. Normal spermatozoon oranının belirlenmesinde faz-kontrast mikroskop altında görüntüsü.	22
Resim 3. Eozin-nigrosin boyaması sonrası aynı alanın ışık mikroskobu görüntüsü.....	23
Resim 4. PI boyaması sonrası aynı alanın ışık mikroskobu ve PI filtre görüntüsü.....	23
Resim 5. FITC-PNA boyaması sonrası aynı alanın ışık mikroskobu ve FITC-PNA.....	24
Resim 6. Hipo-ozmotik şişme testi (HOS testi) sonrası faz-kontrast mikroskop altında görüntüsü.	25

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Sulandırıcı Kompozisyonu.....	20
Tablo 2. Deneme gruplarında çözüm sonu elde edilen total motilite, progresif motilite, morfoloji, membran bütünlüğü (HOS), canlılık oranı (E/N), PI (propidium iodide), akrozom bütünlüğü FITC-PNA (fluorescein izotiyosiyanat) sonuçlarına ilişkin bulgular	31

ÖZET

KOÇ SPERMASININ DONDURULMASINDA SERİSİN VE GLİSEROL KOMBİNASYONUNUN ÇÖZÜM SONRASI SPERMATOLOJİK ÖZELLİKLER ÜZERİNE ETKİSİ

Ayana B. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Programı, Doktora Tezi, Aydın, 2026.

Amaç: Bu çalışmada, koç spermasının konvansiyonel dondurulmasında sperma sulandırıcılarına serisin ve farklı seviyelerde gliserol ilavesinin spermatolojik parametreler üzerine etkileri belirlendi.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 1. Grup: TCG (Tris Sitrik asit Glikoz), %15 yumurta sarısı (Kontrol), 2. Grup: TCG, %15 yumurta sarısı, %5 gliserol (%5G), 3. Grup: TCG, %15 yumurta sarısı, %0.1 serisin (%0.1 S), 4. Grup: TCG, %15 yumurta sarısı, %0.1 serisin+%5 gliserol (%5G+S), 5. Grup: TCG, %15 yumurta sarısı, %0.1 serisin+%3 gliserol (%3G+S) olarak belirlendi. Koçlardan alınan sperma örnekleri spermatolojik açıdan normal oldukları tespit edildikten sonra 5 eşit hacime bölünerek, 1+5 oranında sulandırılarak donduruldu. Spermanın çözündürülmesinin ardından bazı spermatolojik parametreler (motilite, normal spermatozoon, canlılık, prematür akrozom reaksiyonuna giren spermatozoon oranı ve membran bütünlüğü) yönünden analiz edildi. Bu değerler gruplar arasında tek tek karşılaştırılarak serisin'in koruyucu etkinliği belirlendi.

Bulgular: Sonuç olarak, serisin'in %0.1 dozunun tek başına koç spermasının dondurulmasında tüm spermatolojik parametreler üzerinde kontrol grubuna göre olumlu bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ancak, %3 ve %5 gliserol içeren %0.1 serisin içeren gruplar karşılaştırıldığında total motilite, membran bütünlüğü, canlı spermatozoon oranında istatistiksel benzer sonuçların elde edilmesi, koç spermasının dondurulmasında %0.1 serisin ilave edilerek gliserolün dozları azaltılarak gliserolün sitotoksik etkisinin azaldığını göstermektedir.

Sonuç: Elde edilen sonuçlar, farklı dozlarda ve daha fazla sayıda örnek kullanılarak yapılacak çalışmalar ile serisin'in çözüm sonu sperma kalitesi üzerine etkilerinin daha ayrıntılı

araştırılması gerektiği ifade edilebilir. Serisin'in sperma sulandırıcısına katılabilecek düşük toksisiteye sahip bir antioksidan olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gliserol, Koç, Serisin, Sperma dondurma.

ABSTRACT

EFFECT OF SERICIN AND GLYCEROL COMBINATIONS ON POST THAW SPERMATOLOGICAL CHARACTERISTICS FOR FREEZING RAM SEMEN

Ayana B. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Reproduction and Artificial Insemination Program, Doctoral Thesis, Aydın, 2026.

Objective: In this study, the effects of the sericin supplementation to the extender along with two different glycerol rates on post thaw spermatological parameters were evaluated in conventionally frozen ram semen.

Material and Methods: In the study, the following groups were assigned: Group 1: TCG (Tris Citric acid Glucose), 15% egg yolk (Control), Group 2: TCG, 15% egg yolk, 5% glycerol (5% G), Group 3: TCG, 15% egg yolk, 0.1% sericin (0.1% S), Group 4: TCG, 15% egg yolk, 0.1% sericin+5% glycerol (5% G+S), Group 5: TCG, 15% egg yolk, 0.1% sericin+3% glycerol (3% G+S). The sperm samples collected from clinically normal rams were divided into 5 equal aliquotes, diluted 1+5 and were frozen. After thawing the sperm parameters (motility, morphologically normal sperm rate, viability, proportion of prematur acrosome reacted sperm cells and those membrane intact sperm cells) were assessed. These values were compared among the groups to determine the protective effect of sericin.

Results: It was determined that sericin supplementation into the extender does not have a protective effect on the proportion of live spermatozoa, acrosome and plasma membrane integrity compared to the control group. However, when comparing the groups containing 0.1% sericin with 3% or 5% glycerol provided statistically similar results in terms of total motility, membrane integrity, and live spermatozoon rates, and the cytotoxic effect of glycerol was reduced by adding 0.1% sericin in freezing ram sperm.

Conclusion: The results indicate that further studies using different serisin doses and more replicates are needed to investigate the effects of sericin on post-thaw sperm quality. It was concluded that sericin is a low-toxicity antioxidant that can be added to sperm diluents.

Keywords: Glycerol, Ram, Sericin, Sperm freezing.

1. GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusu, gıda ve gereksinimlerin büyümesi bilim insanlarını hayvan yetiştiriciliğinde verimliliğin yükseltilmesi ve sürdürülebilirliği üzerinde araştırmaya yöneltmiştir (Béné ve diğerleri, 2015). Gerek hayvan yetiştiriciliğinde gerekse hayvan ıslahı çalışmalarında dikkate alınması gereken en önemli verim özelliklerinden birisi dölverimidir. Amacına uygun ve karlı bir yetiştiricilik yapılabilmesi için hayvanlardan normal sınırlar içerisinde maksimum sayıda yavru elde edilmesi gereklidir. Bu nedenle, yeni geliştirilen teknik yöntemlerin öğrenilmesi ve bunların saha şartlarında pratik olarak uygulanabilirliğinin sağlanması önemlidir (Sönmez, 2013).

Yapılan araştırmalar dondurarak saklamanın sperma hücreleri üzerindeki geri dönüşü olmayan zararlarını ortadan kaldırmak veya azaltmak, ayrıca çözülme sonrası sperm kalitesini ve döl verimini iyileştirmeyi hedeflemiştir. Sulandırıcılara katılan şeker (Uçan ve diğerleri, 2016), antioksidan (Büyükleblebici ve diğerleri, 2014), protein (Raza ve diğerleri, 2019) gibi kriyoprotektif katkı maddeleri (Saha ve diğerleri, 2022) sayesinde hücreler ozmotik değişikliklerden, apoptozdan, oksidatif stresten, DNA hasarından, buz kristalleri nedeniyle mekanik zararlardan ve donma çözülme işlemi sırasında soğuk şokundan korunabilmektedir (Ezzati ve diğerleri, 2020). Hücre zarını geçebilen kryoprotektanların arasında yer alan ve yüksek oranda hidrofilik özellikgösteren gliserol sperma dondurulmasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Yapısındaki C/OH (karbon atomuna bağlı hidroksil grubu) oranının eşit dağılımı gliserolün hücre üzerinde olan koruyucu etkisini artırır. Ancak gliserolün metabolik dönüşümü sırasında oluşan metil glikoz ve ozmotik stres bazı türlerde (aygır, tavşan, kanatlı ve balık) sitotoksik etkiye neden olur (Alvarenga ve diğerleri, 2000; Morrell ve Hodges, 1998). Sperma dondurmasında gliserolün hücre membranı üzerindeki zararının en aza indirilmesi ve engellenmesi için farklı içerikte sulandırıcılar denenmiştir (Silva ve diğerleri, 2012; Yıldız ve diğerleri, 2017).

Serisin'in çeşitli memeli hayvan türlerinde, değişik doku ve hücrelerinde başarılı dondurma araştırmaları yapılmıştır. Ancak; koç spermasının dondurulabilirliği üzerine etkilerini inceleyen herhangi bir çalışmanın olmaması yanında serisin'in olumlu etkilerinin mekanizması ve sınırları henüz tam anlamıyla çözülmüş değildir. Bu bilgiler doğrultusunda koç

spermasının dondurulmasında sulandırıcılara serisin ilavesi ile birlikte sulandırıcı içindeki gliserol, miktarlarının incelenmesi ve mümkün mertebe en aza indirerek ekilibrasyon ve çözdrme sonrası spermatozoon motilitesi ve plazma membranlarındaki hasarın ve oluşacak ozmotik şokun minimize edilerek çözüm sonu sperma kalitesinin arttırılması amacıyla bu çalışma planlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Koyunlarda Suni Tohumlamanın Önemi

Koyun yetiştiriciliği et, süt, yün, deri üretimi açısından diğer ülkelerde olduğu gibi ülkemiz ekonomisinde de önemli yer tutmaktadır. Dilimizdeki “Buğdayla Koyun Gerisi Oyun” atasözü, Türkiye’nin uzun yıllardır koyun yetiştiriciliğinin ekonomik güvence ve geleneksel bir öneme sahip olduğunu anlatır. Koyunlarda suni tohumlama üzerine yapılan ilk çalışmalar yirminci yüzyılın başında Rusya’da Ivanov tarafından yapılmıştır ve çiftlik hayvanlarında suni tohumlamanın geliştirilmesi ve uygulanmasına yol açmıştır (Salamon ve Maxwell, 2000). Türkiye’de ise 1926 yılında, Türk hekimleri tarafından Macaristan ve Almanya’dan getirilen Merinos koçlarından elde edilen sperma ile suni tohumlama yapılarak melezleme çalışmaları başlatılmıştır (İleri ve diğerleri, 2000). Gelişmiş ülkeler başta olmak üzere tüm dünya ülkelerindeki koyun yetiştiriciliğinde önemli gelişmeler ve hayvan sayılarında artışlar görülmektedir. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre Dünyada 1961 yılında 994 milyon baş koyun, 2023 yılında ortalama %33’lük bir artışla 1,32 milyar baş koyun varlığına ulaşmıştır. Bu durum Türkiye’de 2023 yılında 2010 yılına oranla %82 artış göstermiştir (Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) 2023).

Koyunlarda diğer çiftlik hayvanlarına kıyaslandığında serviksin sahip olduğu anatomik özelliklerin vaginal yolla intrauterin tohumlama için engel teşkil etmesi ve koç spermasının henüz arzu edilen başarıyla dondurulamaması, donmuş spermayla tohumlama sonrası gebelik oranlarının düşük olmasına, dolayısıyla uygulamanın saha koşullarında kısıtlı kalmasına neden olmaktadır (Marco-Jimenez ve diğerleri, 2005). Buna ek olarak, spermanın donmasındaki başarıyı belirleyen ana faktörlerden biri olan spermatozoon membran yapısındaki kolesterol-fosfolipid oranı koç spermatozoonunda oldukça düşüktür (White, 1993). Ayrıca, koç spermatozoon membranının doymamış yağ asidi miktarı oransal olarak yüksektir ve donma sırasında oluşan faz değişiklikleri hücre içi molekül kayıplarına sebep olur. Sonuç olarak da geri dönüşü olmayan membran hasarları ve motilite kayıpları ortaya çıkar (Drobnis ve diğerleri, 1993).

2.2. Spermada Soğutma, Dondurma ve Çözünme Sırasında Görülen Hasarlar

Yaygın inanın aksine canlı hücre ve dokuları dondurarak saklama sırasında asıl zorluk, onları çok düşük sıcaklıklarda (-196°C) muhafaza edebilmek yerine onların soğuma ve çözünürken iki kez maruz kaldığı ara sıcaklıklarda (-15°C ile -130°C) kütle ve enerji taşınmasıyla oluşan zararlardan koruyabilmektir (Öztürk ve diğerleri, 2019). Sperma dondurma işlemi spermatozoon farklı bölgelerinde ani zararlara; motilite, canlılık, akrozom bütünlüğü, dölleme kapasitesinin azalmasına neden olur (Alvarenga ve diğerleri, 2005; Bailey ve diğerleri, 2000; Holt ve diğerleri, 2000).

Spermanın dondurularak saklanması plazma membran akışkanlığında, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artmasına, akrozom bütünlüğünün azalmasına, mitokondriyal membran potansiyelinin bozulmasına ve boğa (Khalil ve diğerleri, 2017), manda (Rasul ve diğerleri, 2001), teke (Ahmad ve diğerleri, 2014) ve koçta (Nur ve diğerleri, 2010) daha düşük sperm motilitesine neden olduğu bildirilmiştir. Ruminantlarda spermatozoon plazma membranı yüksek düzeyde doymamış yağ asitleri içermesi, özellikle kolesterolün düşük olması, spermanın donma-çözülme sürecine karşı direncini azaltır (Darin-Bennett ve diğerleri, 1977). Dondurma sırasında, yağ asitleri membran boyunca yeniden dağılıma uğrar ve bazıları yapısal farklılıklar nedeniyle sıvı halden jel haline diğerlerinden daha erken geçer ve bu da lipid faz ayırımına neden olur (Grötter ve diğerleri, 2019). Bundan dolayı uygun membran aktivitesine gerekli olan lipid-protein etkileşimi bozulur bazı yüzey proteinleri ve membran proteinleri kaybolur veya yer değiştirir ve bunun sonucunda işlevler bozulur. Koç spermasının dondurulmasından sonra kapasitasyon ve fertilizasyonda rol oynayan T-Kompleksi Proteini 1 (TCP1), Kazein Kinaz 1 Gama 2 (CSNK1G2), Karbonik Anhidraz benzeri X3 İzofom inhibitörü (ICA), Disintegrin ve metalloproteinaz alanı içeren protein 20-benzeri (LOC101123216), TOM1-benzeri protein 1 izofom X2 (TOM1L1) gibi proteinlerinin azaldığı belirlenmiştir (Pini ve diğerleri, 2018). Ayrıca koç spermatozoon yüzeyinde reaktif oksijen türlerinden (ROS) koruyan proteinler ve glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzimlerin yeniden dağılım göstermesi hücreyi oksidatif strese daha hassas hale getirir (Marti ve diğerleri, 2008). Bununla birlikte lipid peroksidasyonu sonucu oluşan 4-hidroksinonenal (4HNE) ve malondialdehit (MDA) gibi lipid peroksidleri özellikle aksonem ve mitokondriyal proteinlerin değişimine yol açarak motiliteyi ve enerji üretimini olumsuz etkiler (Aitken ve diğerleri, 2015).

2.3. Koçlarda Puberte

Puberte, prenatal dönemde başlayıp doğum sonrasına kadar devam eden primer ve sekonder cinsiyet organları ile seksüel davranışların türe özgü hal almasıdır. Hayvanların cinsel olgunluğa erişmelerinde ırk, bakım, beslenme, iklim, stres, ışık, belirli vücut ağırlığına ulaşma, eksojen uyarımlar, epifiz ve böbrek üstü bezinin fonksiyonları gibi faktörler etkili olmaktadır (Çoyan ve diğerleri, 2002). Bazı bilim insanlarına göre puberte, erkek hayvanların kızgınlık gösteren dişi hayvana ilgi göstermesi ve ejakülasyon yapma zamanı olarak (Belibasaki ve Kouimtzi, 2000), bazılarına göre de fertil gamet hücresi üretebildiği cinsel olgunluk evresi olarak tanımlanır (Price ve diğerleri, 1991). Louda ve diğerleri (1981), verimli ırklarda (Romanov ve Finnish Landrace) sperma üretiminde testis büyümesi, vücut ağırlığında artış ve cinsel aktivitelerde, küçük ama tutarlı farklılıkların genç koçların gelecekte üreme performanslarını etkileyebileceğini belirlemiştir (Emsen, 2005; Elmaz ve diğerleri, 2008). Kuzulama mevsiminin başında (Şubat, Mart) doğan hayvanlar 4 aylık yaşta puberteye ulaşırken, kuzulama mevsiminin sonlarına doğru (Nisan, Mayıs) doğan hayvanlarda 9-12 aya kadar gecikebilir (Langford ve diğerleri, 1987; Lozano ve diğerleri, 2024; Sanford ve diğerleri, 2000).

2.4. Koçlarda Spermatogenezis

Spermatogenezis, haploid hücrelerin oluşumu ile sonuçlanan germ hücrelerinin bir dizi bölünme ve farklılaşmasını (spermatogonyum, primer spermatosit, sekonder spermatosit, erken spermatosit ve geç spermatosit) içeren senkronize ve hormonal olarak denetlenen ardışık olaylar dizisidir. Matematiksel olarak, bir spermatogonyumdan 64 adet spermatozoon oluşur. İlk spermatogonyal bölünmeden, sperma hücrelerinin seminifer tubullerin lümeni içine bırakılmasına kadar 49 gün geçer. Spermatogenezis döngüsü, pubertas ile başlar ve erkek hayvanın bütün yaşamı boyunca belirli aralıklarla yenilenir. Sertoli hücreleri, spermatogonyumun spermatozoona dönüşümünde germ hücreleri ile yakın ilişki içindedir ve önemli görevleri üstlenir. Koç ve tekelerde, germ hücreleri kan dolaşımdaki düzeyinin 50-100 katı fazla testosterona gereksinim duyar. Ayrıca testosteron, seminal plazma üretimi, sperma hücrelerinin epididimisteki gelişimi ve sürekliliği için gereklidir. Vücuttaki toplam testosteronun %90'ı Leydig hücrelerince üretilir. Hipotalamus, lutein hormon uyarıcı faktör

salgılar ve bu faktör hipofizden LH (Luteinleştirici Hormon) salgılatır. LH da Leydig hücrelerinden testosteron üretimini uyarır. Testosteronun hipotalamus ve hipofiz üzerinde negatif başa tepki (feedback) etkisi ile vücuttaki testosteronun homeostatik düzeyi korunur. Seminifer tubullerden ayrıldıktan sonra olgunlaşan spermatozoonlar rete testis, duktus eferent, kaput ve korpus epididimisten geçerek ejakülasyona kadar, bir depo görevi gören kauda epididimise gelir. Spermatozoon bu kanallardan geçerken durağandır. Spermatozoonların taşınması, öncelikle kanalları çevreleyen düz kas hücrelerinin peristaltik kontraksiyonlarıyla gerçekleşir. Bu taşınma, 10-15 gün içinde tamamlanır.

Epididimis başta olmak üzere, diğer taşıyıcı kanallardan geçerken spermatozoonlar ileri yönde gidebilme, ovumu penetre ve fertilize edebilme yeteneği kazandıkları olgunlaşma (maturasyon) aşaması geçirir. Spermatozoonların maturasyonundan sorumlu mekanizma tam bilinmemesine karşın, genel olarak epididimal salgıların, özellikle de glikoproteinlerin spermatozoonların yüzeyini kapladığına ve böylelikle hücrelerin fonksiyonel değişikliğe uğradığına inanılmaktadır. Epididimal proteinlerin salgılanması androjene bağlıdır ve bunların sentezinde veya salgılanmasındaki sorunlar fertilitayı etkiler. Spermatozoonlar kauda epididimiste depolanır (Soylu ve diğerleri, 2023).

2.5. Koçlarda Spermatolojik Parametreler

Koçlarda spermatolojik parametreler, koç spermasının kalitesini ve fertilitate potansiyelini değerlendirmek için kullanılan temel ölçülebilir faktörleri ifade eder. Koçların sperma üretimi ırk, yaş, beslenme, gün ışığı saatleri, üreme yönetimi, sperma alma sıklığı ve yöntemi, sıcaklık ve nem oranı gibi çevre koşullarından direk olarak etkilenir ve spermatolojik parametrelerde farklılık göstermesine neden olur (Zaher ve diğerleri, 2020).

Genel olarak sağlıklı ve ergin bir koçun sperması ortalama 1 mL hacminde olup, pH değeri 6,2-6,9 arasındadır ve rengi beyazdan krem rengine değişiklik gösterebilmektedir. Spermatozoon motilitesi %80-90, mass (kitle) aktivitesi +++++, konsantrasyonu $2-3 \times 10^9$ /mL, anormal spermatozoon oranı %5-15 ve ölü spermatozoon oranı %10 civarındadır (Ak, 2005).

Koç sperması üzerine yapılan bazı çalışmalarda sperma hacminin Karagül ırkında $1,2 \pm 0,30$ mL, Kıvırcık koçlarında $0,7 \pm 0,03-0,9 \pm 0,05$ mL, Chios ve Friesian ırkında $1,1 \pm 0,06-1,6 \pm 0,08$ mL, spermatozoon yoğunluğu Karagül koçlarında $4,4 \pm 1,20 \times 10^9$ /mL, Chios ve

Friesian ırkında $3,3\pm0,12-4,4\pm0,12\times10^9/\text{mL}$, Pırlak ırkında $2,9\pm0,30-4,5\pm0,23\times10^9/\text{mL}$ olarak belirlenmiştir. Sperma motilitesi değerleri sırasıyla; Chios ve Friesian ırkında $\%69,2\pm1,78-75,0\pm1,54$, Pırlak ırkında $\%71,0\pm2,33-89,0\pm1,00$ olarak bildirilmiştir. Buna ek olarak, Pırlak ırkı koçlarda ölü spermatozoon oranı $\%7,1\pm0,47-12,7\pm0,61$ ve membran bütünlüğü $\%59,4\pm3,43-70,3\pm1,61$, anormal spermatozoon oranı ise $\%3,5\pm0,43-9,0\pm0,52$ olduğu belirtilmiştir (Elmaz ve diğerleri, 2007; Karagiannidis ve diğerleri, 2000; Kafi ve diğerleri, 2004; Yeni, 2010).

Çeşitli proteinler, lipitler, organik tuzlar, enzimler, şekerler, inorganik iyonlar, prostaglandinler ve diğer faktörlerden zengin olan koç seminal plazması, spermatozoonların yaşam süresinin uzaması, spermatolojik değerlerinin korunması, oksidatif stres ve soğuk şokuna karşı direncinin artırılmasında önemli yere sahiptir (Leahy, 2019; Muiño-Blanco ve diğerleri, 2008; Soleilhavoup ve diğerleri, 2014).

2.6. Koçlarda Sperma Alma Yöntemleri

2.6.1. Suni Vajen Yöntemi

Suni vajen kullanılarak sperma alınması, bilinen yöntemler içerisinde yaygın olarak kullanılan sağlık açısından en uygun, pratik, tabii çiftleşmeye en yakın ve güvenilen yöntemdir. Suni vajen, tabii vajenin iyi bir taklidinden ibaret olup içi boş, sert plastik maddeden yapılan bir silindirin (uzunluğu 20-22 cm ve çapı 6-8 cm) içine yerleştirilen ince bir kauçuk astar, sperma toplama kabı ve suni vajen silindirini birbirine bağlayan kauçuk huniden oluşur. Suni vajen silindirinin bir ucundan 10 cm kadar uzaklıkta, 1 cm çapında özel musluğu ile açılıp kapanabilen, içerisine sıcak su koymaya yarayan bir valf vardır. Hazırlanan suni vajende; sıcaklık, basınç ve kayganlık özelliklerinin sağlanması gereklidir. Suni vajene konulan sıcak su ($40-42^{\circ}\text{C}$) ile gerekli olan sıcaklık sağlanabilir. Bunun için vidalı delik üst tarafta olacak şekilde suni vajen 45° meyilli olarak tutulur. Bir huni veya enjektör ile delikten akıncaya kadar sıcak su doldurulur. Böylece suni vajenin yaklaşık olarak $2/3$ 'ü su ile doldurulmuş olur. Suni vajen basıncı, özel musluğun üst kısmındaki delikten üflenen bir miktar hava ile sağlanır. İç lastiğin ön kısmına bakıldığında “Y” şeklini alması basıncın yeterli olduğunun göstergesidir. Musluğu kapatılıp silindir aşağı yukarı hareket ettirilerek suyun sıcaklığının tüm suni vajen boyunca dağılması sağlanır. Sperma alınmadan önce penisin gireceği ön kısımdan itibaren iç lastiğin

yaklaşık 1/3'lük kısmına vazelin gibi uygun kayganlaştırıcı madde sürülür. Sperma alma esnasında sperma toplama kadehi sıcaklığı vücut sıcaklığına yakın olarak muhafaza edilmelidir.

Suni vajen ile sperma alınabilmesi için koçların normal aşım sırasında bir koyuna atlamasını çağırtıran canlı bir koyuna atlatma yapılması gereklidir. Bu amaçla östrus döneminde olan bir dişi, normal veya kastre edilmiş erkek, fantom kullanılabilir (Sönmez, 2013).

2.6.2. Elektroejakülasyon Yöntemi

Elektroejakülasyon yöntemi temel olarak koçlardan sperma almak için geliştirilmiş olmakla birlikte, ejakülasyonu kısa süren hayvan türlerinde de kullanılabilir (Çoyan ve diğerleri, 2002). Bu amaçla 10-15 Volt'a kadar ayarlanabilir bipolar rektal elektrotlu elektriksel stimülatörler kullanılır. Bu işlem sırasında koçlar gaz birikimini önlemek amacıyla rumen üstte kalacak şekilde yan yatırılarak baş ve ön bacak öne, arka bacaklar ise arkaya doğru çekilerek gerili vaziyette tutulur. Rektumda biriken dışkının elektrik iletimini zorlaştırmasından dolayı işlem öncesi dışkının boşaltılması yararlı olur. Glans penisin bir parça gazlı bezle tutulup prepusyum dışına çekilmesi sigmoid fleksura'yı düzleştirilerek penisi uzatır. Bir yardımcı elinde sperma toplama kadehini prepusyumun altında tutarken, diğeri rektal probu jel yardımıyla kayganlaştırdıktan sonra rektumun 15-20 cm derinliğine kadar pelvis tabanına doğru yerleştirir. Elektrik akımı uygulaması sırasında, 3 ya da 5 Volt düşük bir akımla her defasında tekrar 0'a inmek koşuluyla 7-8 saniye aralıklarla ve 1'er Voltluk artışlarla bir uyarının yapılması tavsiye edilmektedir. Bu işleme ereksiyon ve ejakülasyon oluşuncaya kadar devam edilir. Genellikle ejakülasyon, 5 ya da 7 uyarım sonucu şekillenir.

Genelde elektroejakülatör ile elde edilen ejakülatlar, suni vajenle elde edilen ejakülatlara göre hacim yönünden daha fazla, ancak spermatozoon yoğunluğu açısından ise daha düşüktür. Bu uygulama, hayvanın canını yakan, acı verici ve önemli bazı riskler taşıyan bir yöntem olduğundan zorunlu bir durumla karşılaşılmadığı sürece kullanılmamalıdır (Steyn, 2003; Sönmez, 2013).

2.7. Spermanın Saklanması

Spermanın alınmasından dişi hayvanın genital kanalına aktarılincaya kadar geçen zaman ve bu süre içerisindeki işlemler suni tohumlama uygulamalarının başarısı açısından oldukça önemlidir. Spermanın saklanması, ancak uygun sulandırıcı içinde sıcaklığının düşürülmesiyle spermatozoonların hareketlerinin ve metabolizmasının sınırlandırılmasını sağlamak suretiyle mümkündür. Bu amaçla günümüzde sperma kısa ve uzun süreli olarak saklanabilmektedir.

2.7.1. Spermanın Kısa Süreli Saklanması

Spermanın kısa süreli saklanması temel yöntemi uygun bir sulandırıcı ile sulandırdıktan sonra spermanın geri dönüşümlü inaktive edilerek, 0-5°C ile 10-15°C ler arasında veya oda sıcaklığında 48-72 saate kadar bekletmektir (Salamon ve Maxwell, 2000). Bu süre içinde hücreler için enerji kaynağı, soğuk şokuna ve oksidatif strese karşı koruyucu olarak sodyum sitrat-yumurta sarısı, Tris-yumurta sarısı, yağsız süt sulandırıcısının yanı sıra çeşitli basit şekerler, antioksidanlar, pH düzenleyici buffer özellikli kimyasallar ilave edilmektedir. Kısa süreli saklamanın diğer bir yöntemi ise sulandırılmış spermanın 35°C'deki su dolu bir kap içerisine yerleştirilip 30 dakika içerisinde sıcaklığının 20°C'ye düşürülmesi esasına dayanır. Ancak bu şekilde saklanan koç spermasının 6 saat içerisinde kullanılması gerekir (Sönmez, 2013).

Spermanın kısa süreli saklanması, spermanın dondurulması esnasında gelişen kristalleşmenin yarattığı ozmotik ve mekanik stresin etkilerini gidermekte, donma işlemine nazaran membran fosfolipitleriyle tepkime veren serbest radikallerin oluşum oranını belirgin oranda düşürerek serbest radikal kaynaklı yıkımı hafifletmektedir (Bucak ve diğerleri, 2007b).

Bazı araştırmacılar koç spermasının kısa süreli saklanmasında spermatozoon parametrelerinde farklılıklar belirlemiştir. Rahman (2014), yağsız süt sulandırıcısının, koç spermasının soğutma aşamasında yumurta sarısı bazlı sulandırıcıya göre daha iyi koruma sağladığını ifade etmektedir. Kulaksız ve diğerleri (2012) tarafından yapılan çalışmada, koç spermasının kısa süreli saklanmasında en iyi motilite ve en düşük anormal spermatozoon oranının yumurta sarısı içeren yağsız süt sulandırıcısında sağlandığını göstermiştir (Kulaksız

ve diğ erleri, 2012; Maksimović ve diğ erleri, 2018; Rahman, 2014; Soltanpour ve Moghaddam, 2014).

2.7.2. Spermanın Uzun Süreli (Dondurularak) Saklanması

Spermatozoonlar dondurulduktan sonra canlı olarak uzun yıllar saklanabilir ve istenildiğinde çözülerek tekrar kullanılabilir. Canlı hücrelerin dondurularak saklanmasına kriyoprezervasyon denir (Kaya ve diğ erleri, 2021). Damızlık olarak kullanılan, genetik olarak üstün nitelikli erkek hayvanların spermasının çeşitli yöntemlerle dondurulması sayesinde, yıllar boyu yavru alınabilme ve genetik özelliklerinin sınırsız olarak tüm dünyaya yayılma olanağı bulunmaktadır. Sperma dondurmanın temel prensibi spermatozoonların metabolizmasını sıvı azotta -196°C 'de dondurarak durdurmak ve ardından çözerek fonksiyonlarını geri kazandırmaya dayanır (Ruane, 2000). Kriyoprezervasyon işleminde çok düşük sıcaklıkta (-196°C) canlı bir hücre veya dokunun, en az hasarla ve fonksiyon kaybı olmaksızın uzun süreli saklanması hedeflenir (Wetzels ve diğ erleri, 1996).

Spermanın kriyoprezervasyonu ilk kez 1776 yılında İtalyan fizyolog Spallanzani tarafından (insan, kurbağa, aygır) uygulanmıştır ve 1938 yılında yayınlanmıştır (Arthur ve diğ erleri, 1996). Bilimsel ve modern anlamda canlı hücre dondurma çalışmaları, 1949 yılında Polge ve arkadaşlarının gliserolün kriyoprotektan (soğuk şokuna karşı koruyucu) özelliğini bulmasından sonra başlamıştır (Polge ve diğ erleri, 1949). Koç spermasının dondurulmasına ilişkin ilk çalışmalar arasında, Bernstein ve Petropavlovsky (1937) tarafından yürütülen araştırma önemli bir yer tutmaktadır. Araştırmacılar, memelilere (koç, at, boğa, tavşan, sıçan ve domuz) ve kanatlılara ait (tavuk ve ördek) spermatozoonların 1 M (%9,2) gliserol kullanılarak -18°C 'de başarılı bir şekilde saklanabildiğini bildirmiştir. Ayrıca, %18 gliserol konsantrasyonunun sperm hücreleri üzerinde toksik etki oluşturduğunu da ortaya koymuşlardır. Smirnov'un 1949 yılında yaptığı bir çalışmada gliserolsüz ortamda küçük hacimlerde -78°C 'de vitrifikasyon yöntemi ile dondurulmuş ve 15 dakika boyunca bekletildikten sonra çözülmüş koç sperması ile 19 koyuna 3 ve 5 kez suni tohumlama yapılmış ve tohumlama yoluyla 11 kuzu elde edilmiştir (Salomon ve Maxwell, 2000).

Soltanpour ve Moghaddam (2014), dondurulmuş ve çözülmüş koç spermasının 3 güne kadar 4°C 'de bekletilmesinin ardından pH, canlılık ve motilite açısından değerlendirmiştir. Sonuç olarak, saklama süresi arttıkça sperma kalitesinin azaldığı ve %7 gliserol ve %20

yumurta sarısı içeren sulandırıcının, %5 gliserol ve %5 yumurta sarısı içeren sulandırıcıya kıyasla sperm motilitesi, pH ve canlılık oranları açısından daha iyi koruma sağladığı gösterilmiştir.

Genel olarak; spermanın dondurularak saklanması sulandırma, ekilibasyon, soğutma, sıvı azotta dondurarak depolama aşamalarından oluşmaktadır (Oldenhof, 2021; Zhang, 2024). En az tohumlama ve belirlenen spermatozoon sayısı ile en yüksek dölverimini elde etmek için spermanın en uygun şekilde sulandırılması gerekir. 1:1–1:23 (sperma:sulandırıcı) oranları arasındaki sulandırma oranlarının etkili bir biçimde kullanılabildiği bildirilmiştir. Karşılaştırma amacıyla değerlendirildiğinde, spermanın sulandırılmasında spermatozoon konsantrasyonu dikkate alınarak, 80 ile 500×10^6 spermatozoon/mL aralığında bulunan örneklerin uygun şekilde dondurulabildiği ve tatmin edici düzeyde fertilite sonuçları elde edildiği rapor edilmiştir (Evans ve Maxwell, 1987; Ritar ve diğerleri, 1990; Saha ve diğerleri, 2022).

Soğutma aşaması spermanın dondurulmasında derin bir etkiye sahiptir. Genel olarak dondurma hızının, hücre içi kristalizasyonu önlemek için suyun hücrelerden çıkmasına izin verecek kadar yavaş olması ve yoğunlaşmış çözünenlerin neden olduğu zararlardan koruyarak ciddi hücre dehidrasyonunu önleyecek kadar hızlı olması gerektiği kabul edilir (Ahmadi ve diğerleri 2022; Savvulidi ve diğerleri, 2021). Sperma dondurma teknolojisinin başlangıcından bu yana çeşitli geçirgen ve geçirgen olmayan kriyoprotektanların kullanılmasıyla birlikte tüm türlerde gliserol (Molekül ağırlığı: 92.10) sıklıkla tercih edilmektedir (Sieme ve diğerleri, 2016). Gliserol, hücre içinden suyun çekilmesine neden olarak hücre içi kristalizasyonu önleyebilir. Bazı çalışmalara göre, %5-20 yumurta sarısı içeren sulandırıcılara %3-7 gliserol eklenmesi ile koç spermalarında çözülme sonrası yüksek motilite (%44-85) değerlerine ulaşılmıştır (Anel ve diğerleri, 2003; Gil ve diğerleri, 2000; Moses ve diğerleri, 1997). Ancak, gliserolün koç sperması üzerinde toksik etkisi olduğundan daha yüksek döl verimi sağlamak amacıyla etilen glikol ve diğer kriyoprotektanlara yönelik çalışmalar yapılmıştır (Najafi ve diğerleri, 2017). Koç spermasının dondurulmasında %20 yumurta sarısı içeren Tris bazlı sulandırıcıda %6 gliserol, %6 propanediol, 62,5 mM sakkaroz ve 62,5 mM trehaloz gruplarını karşılaştırmıştır. Sonuç olarak, kullanılan tüm kriyoprotektanlar belirli bir düzeyde apoptozu önleyememiş ve gliserol grubu, sperm motilitesi açısından propandiol, sükroz, trehaloz ve kontrol gruplarına göre daha iyi performans göstermiş, ancak DNA bütünlüğü açısından üstünlük göstermemiştir (Nur ve diğerleri, 2010).

Silva ve diğerleri (2012), koç spermasının dondurulmasında Tris–yumurta sarısı sulandırıcısı içerisinde %5 gliserol, %3, %5 etilen glikol ya da %3, %5 asetamid içeren grupları

karşılaştırmıştır. %5 gliserol ile %3 veya %5 etilen glikolün, dondurma işleminin zararlı etkilerine karşı koruma sağladığı ve özellikle %5 gliserolün sperm plazma membranına daha yüksek düzeyde koruma sağladığı sonucuna varılmıştır.

Koç spermasının dondurulmasında ekilibasyon süresi kullanılan sulandırıcı ve kryoprotektana bağlı olarak 1-5 saat arasında değişebilmektedir (Galarza ve diğerleri, 2019; Jha ve diğerleri, 2019; Rekha ve diğerleri, 2016). Spermanın dondurulup çözündürülmesi esnasında spermatozoon membran hasarları özellikle kristalizasyon devresi olarak kabul edilen 0°C ile 20°C aralığının hızlı geçilmesi kristallerin oluşumunu hızlandırdığı için 10°C/dakika olması tavsiye edilmektedir. Daha sonraki sıcaklık dereceleri olan -20°C ile -100°C arası ise 20°C/dakika olacak şekilde ayarlanabilir. Spermanın dondurulması toplu şekilde özel sperma dondurma cihazını kullanarak yapılabilirken, aynı işlem tekli plastik payetler içine doldurularak ağzı geniş bir azot tankında sıvı azot seviyesinin yaklaşık 5,5-6 cm üzerinde bulunan ızgaralar üzerine dizilerek de yapılabilir. Dondurma işlemi ardından sperma payetleri hızlı bir şekilde plastik goblet içine alınarak -196°C sıcaklıktaki sıvı azot tankına depolanır (Sönmez, 2013).

2.8. Serisin

Serisin, bilimsel olarak holometabol (metamorfoz geçiren) bir ipek böceği olan *Bombycidae* ailesinin *Lepidoptera* takımına ait *Bombyx mori* tarafından üretilir. Serisin üretimi, ipek böceğinin ön, orta ve arka ipek bezleri tarafından düzenlenir (Mondal, 2007; Sehnal, 2008). Bu globüler protein (serisin), fibroin filamentlerini kaplar ve ipek ipliğini oluşturmak ve kozayı şekillendirmek için birleşir. Koza, larvanın ipek böceklerine dönüşümüne kadar koruma ve optimum çevre koşulları sağlar (Kundu ve diğerleri, 2008). Ser1, Ser2 ve Ser3 olarak isimlendirilen 3 gen tarafından sentezlenen serisin, kozanın toplam ağırlığının %25-30'unu kapsar (Garel ve diğerleri, 1997; Craig ve Riekel, 2002). Serisin'in organik bileşimi %46,5 karbon, %31 oksijen, %16,5 azot ve %6 hidrojenle oluşur (Rajput ve Kumar, 2015). Yapısındaki arjinin ve lizinden dolayı yapışkan özelliğe sahip serisin, yapısı zayıf, yumuşak ve parlak olan ipeğe dayanıklılık kazandırır. Serin ve treonin gibi amino asitlerden oluşan yapısı, onun antioksidan ve serbest radikal giderici özelliklerinde önemli bir rol oynar. Serisin'in hidrofilik yapısı, yüksek miktarda hidroksil, karboksil grupları ve polar amino asitler içermesi nedeniyle reaktif oksijen türlerini (ROS) nötralize etmesini sağlar (Aad ve diğerleri, 2024).

2.8.1. Serisin'in Biyolojik Fonksiyonları ve Kullanım Alanları

Serisin'in *B. mori* kozasından ekstrakte edilmesi ve kullanılması amacı ile bir kaç yöntem geliştirilmiştir. Yüksek sıcaklıkta, yüksek basınç altında otoklavda, asit (çoğunlukla sitrik asit çözeltisi) ve baz kullanımı (sodyum karbonat çözeltisi), enzimatik yöntem ile kozada bulunan diğer bileşenlerden ayrılarak elde edilen serisin'in moleküler ağırlığı 10 ile 400 kDa arasında değişmektedir. Uygulanan farklı yöntemlerdeki pH seviyesi, sıcaklık, işlem süresi ve kimyasal reaktifler gibi farklı faktörlerin, serisin'in amino asit içeriği, fiziko-kimyasal özelliği ve biyolojik aktivitesi üzerinde büyük etkisi vardır (Zhang, 2002). Piyasada *B.mori* 'nin farklı moleküler ağırlığına ve bileşime, farklı protein üretimi özelliğine sahip türleri bulunur ve her bir proteini farklı biyolojik özelliktedir (Gök ve diğerleri, 2019; Kunz ve diğerleri, 2016).

Daha önceki yıllarda serisin, faydalı özelliklerine rağmen ipek endüstrisinde bir atık ürün olarak görülmüştür. Dünya çapında yıllık koza üretiminin ortalama 400,000 ton, serisin atığının ise yaklaşık 50,000 ton olduğu ve bunun önemli derecede bertaraf zorlukları yarattığı tahmin edilmektedir (Seo ve diğerleri, 2023). Serisin nemi absorbe edebilme ve salabilme, antibakteriyel, antioksidan, UV ışınlarından koruyucu özellikte ve biyoyouyumlu bir polimer olmasından dolayı doku mühendisliği, ilaç, kozmetik, biyomedikal malzemelerin üretiminde, gıda sektöründe ve tekstil mühendisliğinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Aramwit ve diğerleri, 2011; Kuns ve diğerleri, 2016).

2.8.2. Antioksidan Özelliği

Kimyasal bileşim açısından serisin, hidroksillenmiş bir biyopolimerdir. Yaklaşık %40 serin ve treonin ile alkolik hidroksil grupları ve %3-5 tirozin ile fenolik hidroksil grupları içerir. Fenolik hidroksil grupları, hidrojen atomu transferi veya tek elektron transferi yoluyla serbest radikalleri temizleyebilir (Al-Mamary ve Moussa, 2021). Ek olarak, Fe^{2+} ve Cu^{+} gibi metal iyonları, Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikallerinin oluşumuna katkıda bulunan potansiyel faktörlerdir. Serisin, üzerindeki hidroksil grupları, karboksil ve amino grupları, bazı metal iyonlarını şelatlayarak serbest radikallerin ortadan kaldırılmasına yol açabilir (Khosa ve diğerleri, 2014). Serisin'in antioksidan kapasitesi kökeni ve ekstraksiyon yöntemine göre değişmektedir. Örneğin, renkli kozalardan elde edilen serisin, beyaz kozalardan elde edilen serisin'den daha yüksek serbest radikal temizleme etkisi göstermiştir (Takechi ve diğerleri,

2014). Çünkü renkli kozalarda bol miktarda bulunan ve kozaların renginin kaynağı olan fenol ve flavonoidler, serisin'in antioksidan kapasitesini güçlendirir. Bununla birlikte bazı in vivo ve in vitro çalışmalar, serisin uygulaması ile hücre veya hayvanlarda katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi hücre içi antioksidan enzimlerin aktivitesinin arttığını göstermektedir (Joyjamras, 2022; Thomas, 2021; Mahmoudi, 2021).

2.8.3. Anti-enflamatuvar Etkisi

Karragenan ile indüklenerek pençe ödemi oluşan sıçanlarda serisin'in topikal uygulaması sonrası dermal tabakadaki makrofaj infiltrasyonunu ve ödemi azalttığı, indometazin (nonsteroidal anti-enflamatuvar) ile karşılaştırılabilir düzeyde iyileştirici etkisi olduğu bildirilmiştir (Aramwit ve diğerleri, 2013). Ma ve diğerleri (2019, 2021) yaptıkları çalışmalarda serisin'in ülseratif kolit tedavisinde lipopolisakkarit (LPS) ile uyarılmış makrofajlarda tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini azalttığını belirtmiştir. Diğer bir araştırmada LPS enjekte edilen farede ipek peptitlerinin oral yolla uygulamasının dalakta pro-inflamatuvar faktör IL-1 β , Toll benzeri reseptör 4'ün (TLR4) protein ekspresyonunu azalttığı ve monosit ve makrofaj artışını iyileştirdiği gösterilmiştir (Chei ve diğerleri, 2020).

2.8.4. Anti-viral Etkisi

Li ve diğerleri (2021) farelerde veziküler stomatit virüsü ve enterovirüs tedavisinde serisin'in intranazal ve intragastrik uygulamasının, akciğerdeki interferon- β (IFN- β) salınımını yükselterek hayatta kalma oranını önemli ölçüde artırdığını göstermiştir. Bununla birlikte serisin'in antiviral spektrumu DNA virüslerinden ziyade yalnızca RNA virüsleriyle sınırlı olup, hücresel glikolizi baskılar ve laktat oluşumunu azaltır (Li ve diğerleri, 2021). Düşük laktat seviyesi, interferon aktivasyonunu artırmak için RIG-I-MAVS sinyal yolunu kolaylaştırır (Zhang ve diğerleri, 2019).

2.8.5. Hipoglisemi/Hipokolesterolemik Etkisi

Tip II diyabetli ratlarda serisin'in oral yoldan uygulanması kan glikoz seviyesinin düşmesinde ve glikojenin artmasında önemli derecede etki etmiştir. Bununla birlikte glikolizisi hızlandırarak glikoneogenezi inhibe etmektedir (Wang ve diğerleri, 2021). Bazı bilim insanları, serisin'in glikojen sentezini artırmak, glikolizi hızlandırmak ve glukoneogenezi inhibe etmek için insülin-PI3K/AKT sinyal yolunu aktive ettiği düşüncesini öne sürmektedir (Wei ve diğerleri, 2022). Anti-oksidatif özelliğe sahip serisin, ratlarda lipid peroksidasyonunu ve bağırsaklardaki kolesterolün emilimini azaltarak serum kolesterol seviyesini düşürebilir (Deori ve diğerleri, 2016). Ampawong ve arkadaşları (2017), serisin uygulamasının karaciğer mitokondrisinde ROS üretimini azalttığı ve karaciğer mitokondrisinde iki antioksidan proteinin artışına neden olduğunu proteomik bir analiz ile belirlemiştir (Ampawong ve diğerleri, 2018).

2.8.6. Nöroprotektif Etkisi

Serisin antioksidan özelliği nedeniyle, galaktoz kaynaklı Alzheimer hastalığı olan ratlarda, 3 ay boyunca ağız yoluyla uygulaması ile bilişsel performansı iyileştirmiştir. SOD, CAT ve glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin aktiviteleri, serisin ile tedavi edilen hayvanların hem serebral korteks hem de hipokampusunda iyileştirici etki gösterirken, lipid peroksidasyonu önemli ölçüde engellemiştir (Yellamma, 2014). Son zamanlarda, serisin'in terapötik endeksi, uyku yoksunluğu kaynaklı hafıza bozukluğu, depresyon, anksiyete ve yaşlanmaya bağlı çeşitli nörolojik bozukluklar üzerinde araştırılmıştır. Serisin'in sadece oksidatif stresi ve hipokampal nöroinflamatuvar yanıtı bastırmakla kalmayıp, aynı zamanda sinaptofizin (nöronların veziküllerinde bulunan bir membran glikoproteindir) gibi hipokampustaki sinaptik entegrasyon proteinlerini düzenleyen nöroprotektif etkisi görülmüştür (Farajdokht ve diğerleri, 2021; Banagozar Mohammadi ve diğerleri, 2019; Seyedaghamiri ve diğerleri, 2021; Vatandoust ve Meftahi, 2022).

2.8.7. Anjiyojenik Aktivitesi

Anjiyogenez, yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonu sırasında hayati bir süreçtir. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), anjiyogenezin önemli düzenleyicisidir. Serisin tedavisinin fibroblastlarda, Ras-MEK-ERK sinyal yolu aracılığıyla VEGF'nin mRNA ekspresyonunu iyileştirdiği belirlenmiştir (Ersel ve diğerleri, 2016). Buna ek olarak, serisin makrofajlarda hipoksiye duyarlı faktörün (HIF) ekspresyonunu da indükleyebilir, böylece VEGF-A, VEGF-C ve anjiyogenin seviyelerini artırabilir (Jo ve diğerleri, 2019).

2.8.8. Osteojenik Farklılaşma Üzerine Etkisi

Serisin güçlü bir osteojenik uyarıcıdır. Osteojenik hücrelerin osteoblastlara farklılaşması kemik rejenerasyonu için gereklidir. Serisin'in implantların üzerine/içine kaplanması alkalın fosfataz, runt ilişkili transkripsiyon faktörü 2 ve osteokalsin gibi osteojenik belirteçlerin çeşitli mezenkimal kök hücrelerde ekspresyonunu artırabilir (Iranpour ve diğerleri, 2022; Nayak ve diğerleri, 2013). Serisin, osteojenik farklılaşmayı doğrudan uyarmasının yanı sıra, kemik rejenerasyonunu başlatmak için makrofajları da düzenleyebilir. Jo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2021), serisin TLR (Toll benzeri reseptör) aracılığıyla makrofajlarda ve monositlerde osteojenik farklılaşmayı başlatmak için güçlü bir madde olan kemik morfogenetik protein 2'nin (BMP-2) ekspresyonunu başlatabildiğini göstermiştir. Kalvaryal bozukluğu olan ratlarda, serisin ile birleştirilmiş jelatin süngerle tedavi edilen ratların kemik hacmi, saf jelatin süngerle tedavi edilen ratlardan belirgin düzeyde daha yüksek olduğu, bu da serisin'in daha iyi kemik rejenerasyonuna neden olduğunu göstermektedir.

2.8.9. Biyomedikal Malzemelerde Kullanımı

Makromolekül biyopolimer yapısında olan serisin, günümüzde doku mühendisliği ve ilaç dağıtım alanında filmler (Jo ve Um, 2015; Wang ve diğerleri, 2019), lif matları (Yang ve diğerleri, 2014), hidrojeller (Chen ve diğerleri, 2018; Zhang ve diğerleri, 2008), iskeleler (Tao ve diğerleri, 2019), parçacıklar (Liu ve diğerleri, 2021; Orlandi ve diğerleri, 2020),

mikroiğneler (Deng ve diğerleri, 2022), kaplamalar (Iranpour ve diğerleri, 2022; Gök ve diğerleri, 2021) gibi çeşitli biyomalzemelerin üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır.

Genel olarak, hidrofilik yüzeye sahip implante edilen malzemeler, hidrofobik olanlardan daha zayıf bağışıklık tepkilerine neden olur (Visalakshan ve diğerleri, 2019), bu da gelişmiş biyouyumluluk anlamına gelir. Diğer doğal biyopolimerlerin aksine, serisin'in hidrofilik özelliği, serisin bazlı biyomalzemelere mükemmel biyouyumluluk niteliği kazandırır. Bu özelliğinden dolayı, yabancı cisim tepkisini değerlendirmek için iki poliserin hidrojelini sentezlenmiştir. Poliserin, protein emiliminde, yüksek çürüme önleyici biyomalzemesi olan poli etilen glikol (PEG) kadar dirençlidir. Poliserin hidrojelini, PEG ile karşılaştırıldığında, deri altı implantasyon fare modelinde daha az inflamatuvar makrofaj infiltrasyonu ve daha az kollajen birikimi görülmüştür (Zhang ve diğerleri, 2020; 2021). Damar içi uygulama amacıyla tasarlanan ilaç yüklü nanoparçacıklar kana temas ettiğinde serum proteinleriyle kaplanarak uzaklaştırılması taşıma verimliliğini azaltmaktadır. Serisin bazlı ilaç taşıyıcı nanoparçacıklar yüksek düzeyde hidrofilik özelliğinden dolayı serum protein adsorpsiyonunu azaltmak amacıyla tasarlanmıştır (Hu ve diğerleri, 2018).

Yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda serisin'in yara iyileşmesini hızlandırdığı (Aramwit ve diğerleri, 2013), hücre bölünmesini uyardığı (Terada ve diğerleri, 2003), aşı üretiminde kullanılabileceği (He ve diğerleri, 2018), anti tümör etkisi gösterdiği (Sasaki ve diğerleri, 2000; Zhaorigetu ve diğerleri, 2001), antioksidan (Kumar ve diğerleri, 2015; Zhaorigetu ve diğerleri, 2001), antimikrobiyal (Aramwit ve diğerleri, 2013) ve hücrelerin hidrasyon yeteneğini artırıcı (Padamwar ve Pawar, 2005) özelliğe sahip olduğu belirtilmiştir.

2.8.10. Serisin'in Üreme Sistemindeki Önemi

Serisin, yüksek moleküler heterojeniteye sahip bir proteindir ve güçlü antioksidan özelliğinden dolayı tercih edilir, aynı zamanda hücrelerin soğuk şokuna karşı başarılı bir şekilde korunmasını sağlar (Aramwit ve diğerleri, 2011; Kumar ve diğerleri, 2015). Horoz spermasında yapılan bir çalışmada, serisin'in sadece dondurma sırasında değil aynı zamanda spermanın +4 °C ye soğutulmuş kısa süreli (72 saat) saklanması sürecinde de spermayı koruduğunu göstermiştir (Sonseeda ve diğerleri, 2015). Yasmin ve arkadaşları (2015), koyun oositleri üzerinde yaptıkları çalışmada, olgunlaşma medyumuna %0,1 serisin ilavesinin, hücresel olgunlaşmaya ve fertilitate olumlu katkıda bulunabileceğini göstermiştir. Buna ek olarak, BSA

yerine kimyasal tercih olarak hastalık taşıma riski bulunmayan serisin kullanılabileceğini bildirmişlerdir (Yasmin ve diğerleri, 2015). Manda spermasında yapılan bir çalışmada, sperma sulandırıcılarına %0.25-0.5 serisin ilavesinin dondurma-çözdürme sırasında meydana gelen oksidatif strese karşı spermatozoonları koruduğu bildirilmiştir (Kumar ve diğerleri, 2015). Tavşan spermasının kısa süreli saklanması %0.1 ve %0.5 serisin ilavesinin, toplam motilite, canlılık oranı, membran ve akrozom bütünlüğü oranlarını anlamlı derecede yükselttiği bulunmuştur ($P < 0.05$. Raza ve diğerleri, 2024).

Serisin'in koç spermasının dondurulmasında kullanımının amacı dondurma ve çözünme sırasında serisin ilavesinden kaynaklanabilecek koruyucu etkinin motilite, canlılık, membran ve akrozom bütünlüğü üzerindeki etkisini incelemektir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

Araştırmada yaşama payı beslenme gereksinimlerini karşılayacak şekilde dengelenmiş, kaba yem (yonca kuru otu) ve arpa peleti karışımından oluşan rasyon ile beslenen 24-36 ay aralığında, 5 adet Kıvırcık melezi koç kullanıldı. Hayvanlar Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Çiftliği'nde bulunan Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı'na ait açık alanda üstü kapalı padoklarda barındırıldı. Hayvanlara herhangi bir yapay ışık düzenlemesi yapılmadı. Spermatolojik analizler Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirildi. Koçlarda çalışma süresi boyunca 1 kez Mayıs ayında kırkım ve tırnak kesimi yapıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Spermanın Alınması

Çalışmada kullanılan koçlardan haftada iki kez (10 hafta boyunca) suni vajen yardımıyla sperma alındı. Alınan spermaların mikroskopik kontrolleri yapıldıktan sonra bireysel farklılıkları elimine edebilmek amacıyla kitle hareketi 3 ve üstü (0-5 skala), motilitesi %70 ve üstü, anormal spermatozoon oranları ise %20'nin altında olan ejakulatlar deneylerde kullanıldı. Bu kriterlere sahip spermalar toplama kadehlerinden otomatik pipet ile eşit miktarlarda alınarak önceden 37°C' lik su banyosunda bekletilerek ısıtılmış bir deney tüpünde birleştirildi.

3.2.2. Spermanın Sulandırılması ve Dondurulması

Elde edilen spermalar muayenelerden sonra 37°C' ye ısıtılmış temel sulandırıcıda, %15 Yumurta Sarısı (YS) ve %0.1 serisin, %3 ve %5 oranlarında gliserol ve bunların kombinasyonlarını içeren sulandırıcıyla ml de 400×10^6 hücre olacak şekilde sulandırıldı.

Tablo 1. Sulandırıcı Kompozisyonu (Salamon ve Maxwell, 2000).

Sulandırıcı Maddeler	Miktar
Tris (g)	3.634
Glikoz (g)	0.500
Sitrik Asit (g)	1.990
Yumurta Sarısı (%)	15 (hacmen)
Penisilin (IU)	100,000/100 mL
Streptomisin (mg)	100/100 mL

Çalışmada spermanın muayenesini takiben aşağıdaki deney gruplarına göre sulandırıldı.

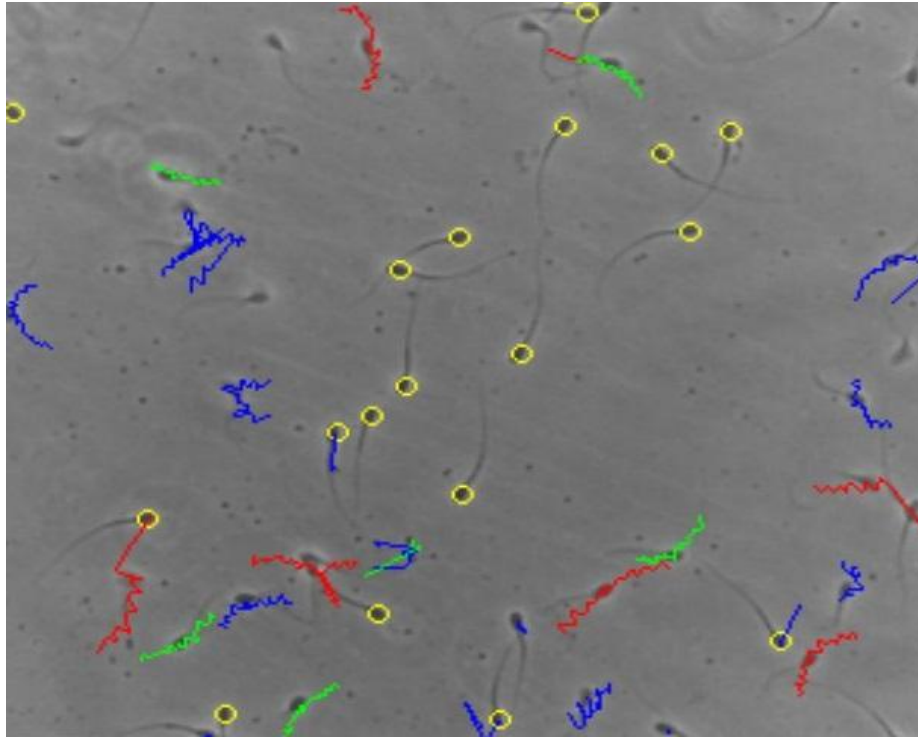
- 1.Grup: TCG+%15 YS (Kontrol)
- 2.Grup: TCG+%15 YS+%5 gliserol (%5G)
- 3.Grup: TCG+%15 YS+%0.1 serisin (%0.1 S)
- 4.Grup: TCG+%15 YS+%0.1 serisin+%5 gliserol (%5G+S)
- 5.Grup: TCG+%15 YS+%0.1 serisin+%3 gliserol (%3G+S)

Grupların sulandırma işlemlerinden sonra, spermalar 0.25 mL’lik payetler içine çekildikten sonra ekilibrasyon işlemi için soğutmalı inkübatörde yaklaşık 2.5 saat süresince 37°C den kademeli bir şekilde 4°C ye düşürüldü ve 4°C’de 2 saat daha inkübatörde bekletildi. Ekilibrasyon işleminden sonra payetler 7 dakika süre ile sıvı azot seviyesinin üzerinde (5 cm üzerinde olacak şekilde) yatay bir şekilde dizildi (Uçan ve diğerleri, 2016). Bu sürenin bitiminden sonra depolama için sıvı azotun içine daldırıldı ve bir süre sonra konteynerlere aktarıldı. Spermatolojik parametrelerin belirlenmesine kadar konteynerlerde saklandı. Spermatolojik muayenelerin yapılmasından hemen önce payetler 37°C’ ye ayarlanmış bir su banyosunda 30 saniye boyunca çözündürüldü.

3.2.3. Spermatolojik Parametrelerin Belirlenmesi

3.2.3.1. Motilite Muayenesi

Payetlerin çözümünden sonra 1:6 oranında TCG sulandırıcısı ile sulandırıldıktan sonra uygun şekilde lam-lamel arasına yerleştirilerek ısıtma tablalı faz-kontrast mikroskopta kamera ile bağlantılı CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) programı (Microptic, Spain) yardımıyla progresif motilite ve toplam motilite oranları belirlendi. Bu amaçla en az 4 farklı alandan en az 1000 hücre değerlendirildi. Değerlendirmelerin ortalaması alınarak hesaplamalarda kullanıldı.



Resim 1. Progresif ve toplam motilite oranlarının belirlenmesinde CASA (Computer Assisted Sperm Analysis) programının görüntüsü. Kırmızı-hızlı progresif, yeşil-orta progresif, mavi-progresif olmayan, sarı-motilitesi olmayan spermatozoon.

3.2.3.2. Normal Spermatozoon Oranı (Morfoloji)

Sperma numunelerindeki normal spermatozoon oranı sıvı fikzasyon yöntemiyle belirlendi. Bu yöntemde 990 µL Hancock (Hancock, 1952) ve 10 µL sperma eklenerek fikse

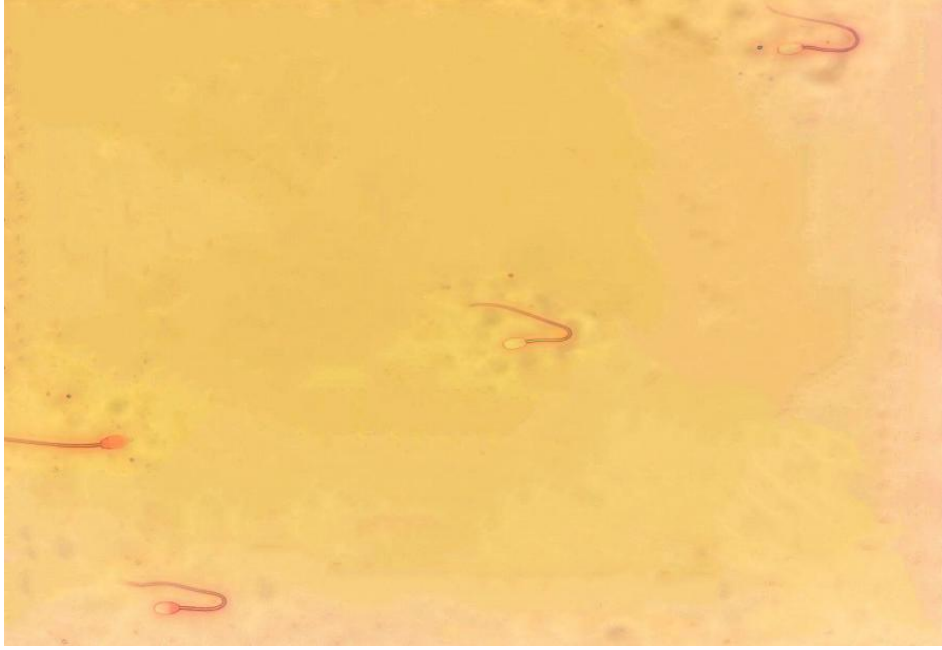
edildi. Ardından hücreler 40x objektifte lam-lamel arasında bir faz-kontrast mikroskop altında incelendi. En az 200 spermatozoonun çeşitli kısımlarının (akrozom, baş, orta kısım ve kuyruk) incelenmesi sonunda normal yapı gösteren spermatozoa oranı yüzde (%) olarak belirlendi.



Resim 2. Normal spermatozoon oranının belirlenmesinde faz-kontrast mikroskop altında görüntüsü.

3.2.3.3. Canlı Spermatozoon Oranı (Eozin-nigrosin)

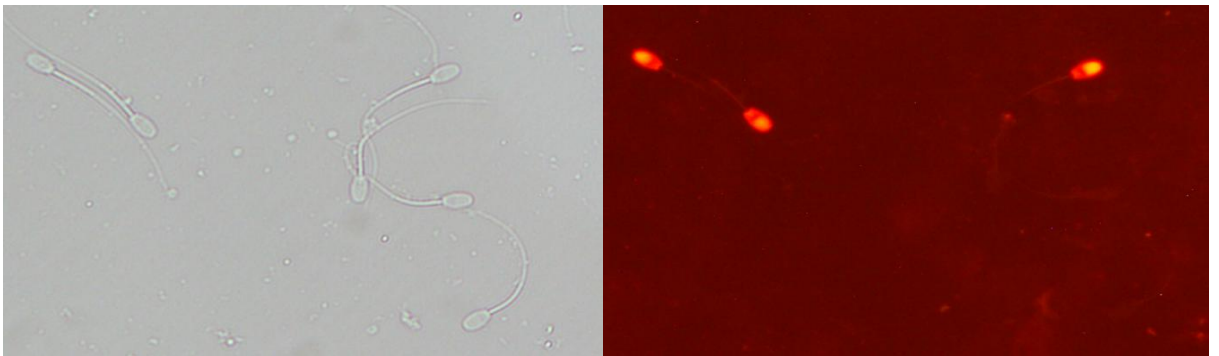
Canlı spermatozoon oranını belirlemek amacıyla 37°C’de ısıtma tablasına yerleştirilen lam üzerine 3.5 µL sperma ve 3.5 µL eozin-nigrosin boyası damlatılarak lamel ile froti çekilmesinin ardından ışık mikroskopunda, 40x objektifte, pembe renkli spermatozoonlar ölü, boya almayan beyaz hücreler canlı olarak belirlenerek toplam 200 hücre sayıldı.



Resim 3. Eozin-nigrosin boyaması sonrası aynı alanın ışık mikroskobu görüntüsü.

3.2.3.4. Canlı Spermatozoon Oranı (Propidium iodide)

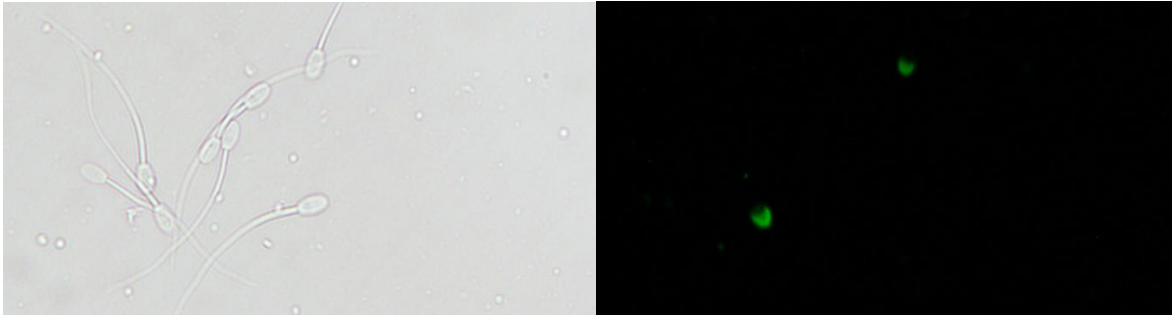
Çözdürülmüş sperma örneklerinde spermatozoon canlılık oranının floresan boyama tekniği ile belirlenmesinde Propidium iodide (PI) boyası kullanıldı. Çözünmüş sperma örneği tekrar 1:10 oranında TCG sulandırıcısı ile sulandırılmasının ardından 50 μ L sperma numunesine 2.5 μ L PI (200 μ g/mL) ilave edildi. Oda sıcaklığında 10 dakika bekletildikten sonra 5 μ L %4 lük fiksatif (PBS içinde çözünmüş %4 Paraformaldehyde) damlatıldıktan sonra lamel ile kapatılarak floresan mikroskop altında incelendi. Hiç floresan vermeyen hücreler canlı ve kırmızı floresan veren hücreler ölü olarak sınıflandırıldı (Küçük ve diğerleri, 2021).



Resim 4. PI boyaması sonrası aynı alanın ışık mikroskobu (solda) ve PI filtre görüntüsü (sağda).

3.2.3.5. Prematür Akrozom Reaksiyonuna Giren Spermatozoon Oranının Belirlenmesi

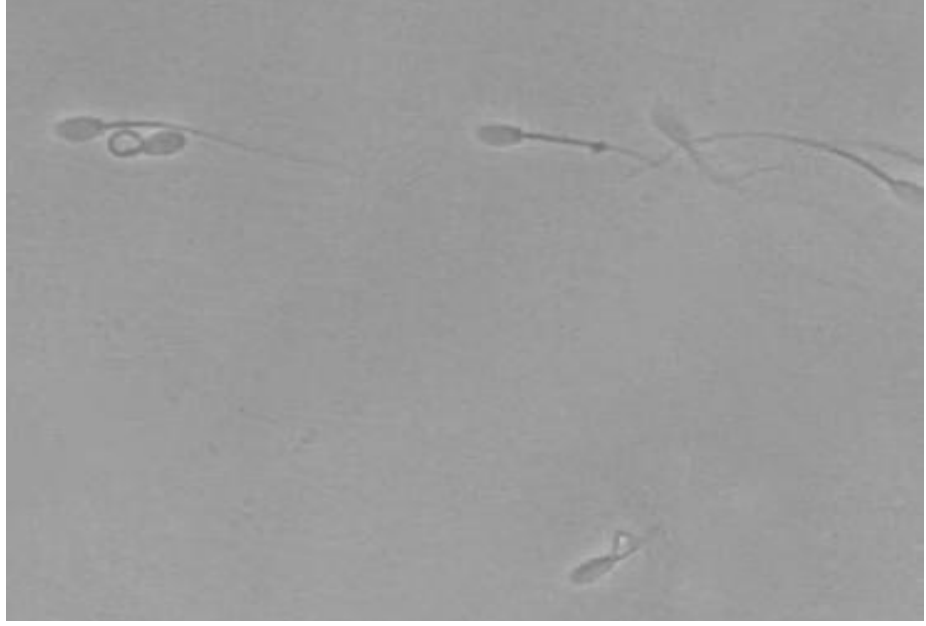
Çözdürülmüş sperma örneklerinde spermatozoon akrozom bütünlüğü fluorescein-labelled lectin from the peanut plant, *Arachis hypogaea* (FITC-PNA, L7381) boyaması yapılarak belirlendi (Gadea ve diğerleri, 2008). Bu amaçla, 50 μ L çözdürülmüş sperma örneği üzerine 5 μ L FITC-PNA (200 μ g/mL) ilave ederek oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Daha sonra üzerine 2.5 μ L fiksatif solusyonu damlatıldıktan sonra lamel ile kapatılarak floresan mikroskop altında incelendi. Floresan mikroskop altında hazırlanan preparatlardan toplam 200 hücre sayılarak, akrozom reaksiyonuna giren hücre oranı belirlendi. Hücrelerin akrozom kısmı hiç floresan vermeyen hücreler akrozom bütünlüğünü korumuş, sadece yeşil floresan veren hücreler akrozom bütünlüğü bozulmuş olarak sınıflandırıldı (Küçük ve diğerleri, 2021).



Resim 5. FITC-PNA boyaması sonrası aynı alanın ışık mikroskobu (solda) ve FITC-PNA filtre görüntüsü (sağda).

3.2.3.6. Spermatozoon Membran Bütünlüğünün Belirlenmesi

Spermatozoon membran bütünlüğünün belirlenmesi amacıyla hipo-ozmotik şişme testi (HOS testi) uygulandı. Jeyendran ve ark (1984) tarafından tanımlanan yöntemden yararlanılarak sperma örneklerinin 100 mOsm/L ye ayarlanmış (Aisen ve diğerleri, 2005) fruktoz solüsyonu içerisinde 15 dakika inkübe edilmesinden sonra preparatlar hazırlandı. Hazırlanan preparatlardan toplam 200 hücre sayılarak, kıvrık kuyruklu spermatozoonların oranı belirlendi ve bu hücreler membran bütünlüğüne sahip spermatozoonlar olarak kabul edildi.



Resim 6. Hipo-ozmotik şişme testi (HOS testi) sonrası faz-kontrast mikroskop altında görüntüsü.

3.2.3.7. İstatistiksel Analizler

Elde edilen bulguların istatistiksel analizleri SPSS® 20.0 (Statistical Package for the Social Sciences) programı aracılığıyla gerçekleştirildi. Gruplarda veriler $\text{mean} \pm \text{SEM}$ olarak sunuldu. Grupların spermatolojik parametreler yönünden karşılaştırılması maksadıyla ANOVA testi kullanıldı. Tüm analizlerde $P < 0,05$ fark anlamlı kabul edildi.

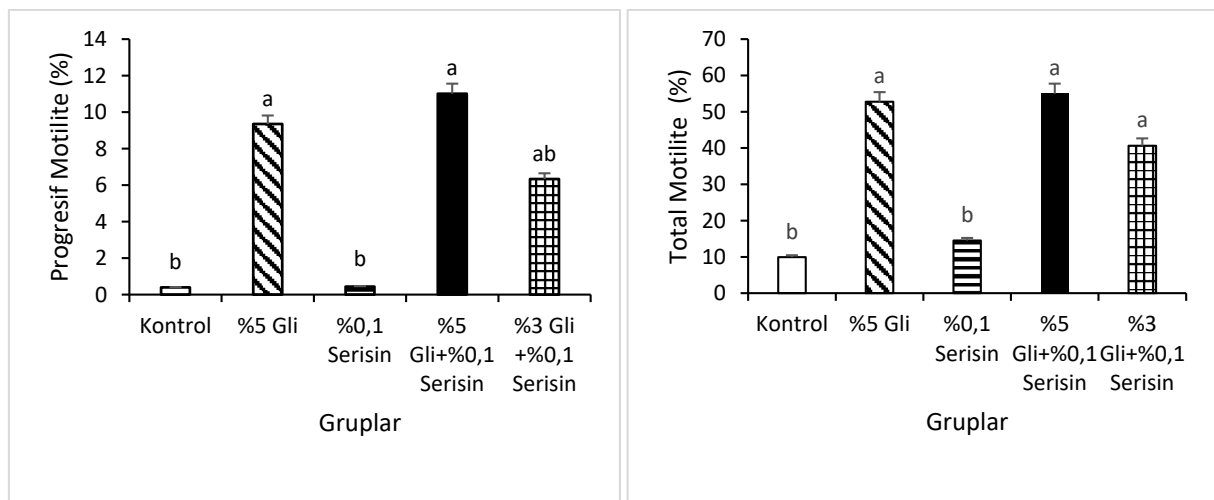
4. BULGULAR

4.1. Progresif Motilite Değerlendirmesi

Çözüm sonrası progresif motilite oranı kontrol, %5G, %0,1S, %5G+S, %3G+S gruplarında sırasıyla $0,4\pm0,09$; $9,4\pm1,29$; $0,4\pm0,15$; $11,0\pm1,01$; $6,3\pm1,67$ olarak belirlendi. %5G, %5G+S ve %3G+S grupları istatistiksel olarak benzer bulundu ($P>0,05$). Bu gruplar ile kontrol ve %0,1S grupları arasında istatistiksel anlamda fark olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

4.2. Toplam Motilite Değerlendirilmesi

Toplam motilite oranı %5G, %5G+S ve %3G+S gruplarında sırasıyla $52,8\pm5,29$, $55,0\pm4,39$ ve $40,6\pm5,49$ olarak belirlendi. Bu gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamadı ($P>0,05$). Kontrol ve %0,1S grubunun total motilite oranının ortalaması sırasıyla $10,0\pm1,66$ ve $14,5\pm1,50$ olarak belirlendi ve diğer gruplara göre istatistiksel fark bulunmuştur ($P<0,05$).



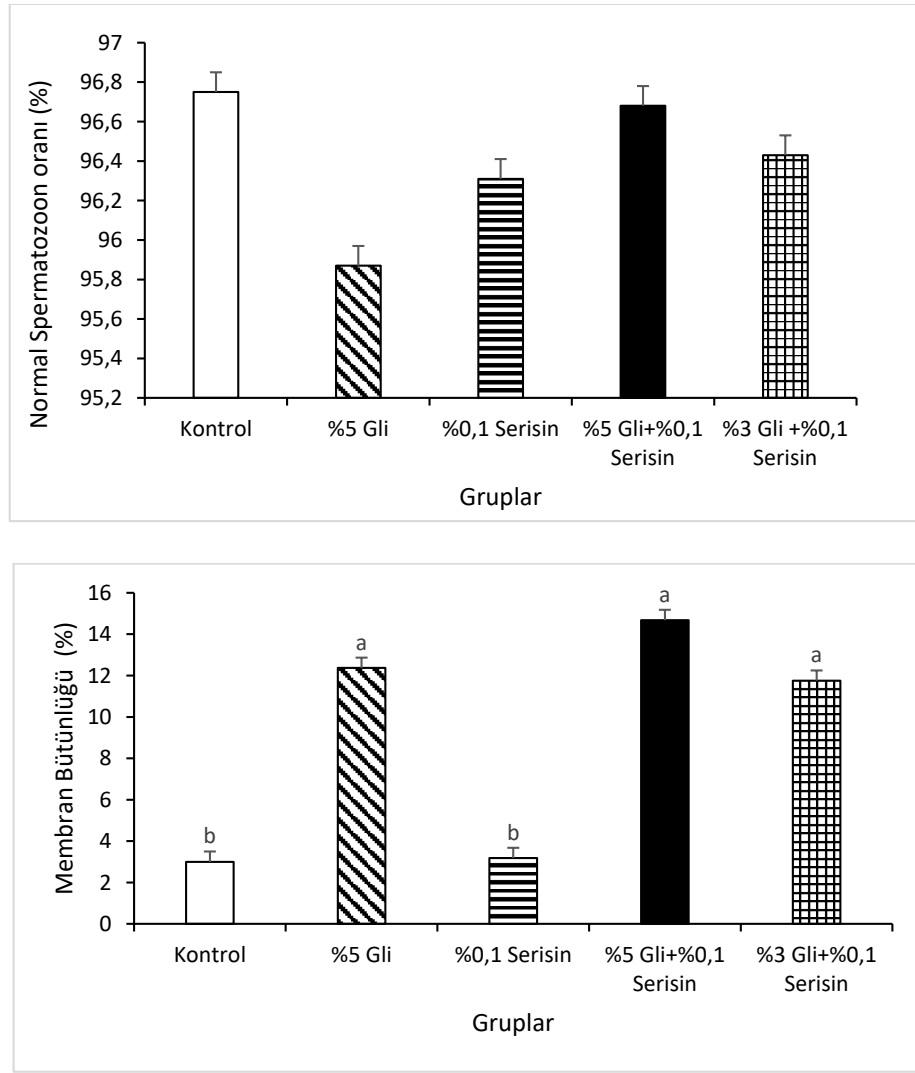
Şekil 1. Dondurulmuş-çözdürülmüş sperma örneklerinde grupların progresif motilite (sol) ve toplam motilite (sağ) oranları.

4.3. Normal Spermatozoon Oranı

Bu çalışmada morfolojik olarak normal spermatozoon oranı kontrol grubunda $96,8 \pm 0,64$; %5G grubunda $95,9 \pm 0,75$; %0,1S grubunda $96,3 \pm 0,80$; %5G+S grubunda $96,7 \pm 0,61$ ve %3G+S grubunda ise $96,4 \pm 0,47$ olarak tespit edildi. Bu parametre yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunamadı ($P > 0,05$).

4.4. Membran Bütünlüğüne Sahip Spermatozoon Oranı

Çözüm sonu spermatozoon membran bütünlüğü oranı kontrol, %5G; %0,1S; %5G+S; %3G+S gruplarında sırasıyla $3,0 \pm 0,57$; $12,4 \pm 1,49$; $3,2 \pm 0,64$; $14,7 \pm 2,60$; $11,8 \pm 1,90$ olarak belirlendi. Kontrol ve %0,1S gruplarında değerler diğer gruplardan önemli oranda farklı bulundu ($P < 0,05$).



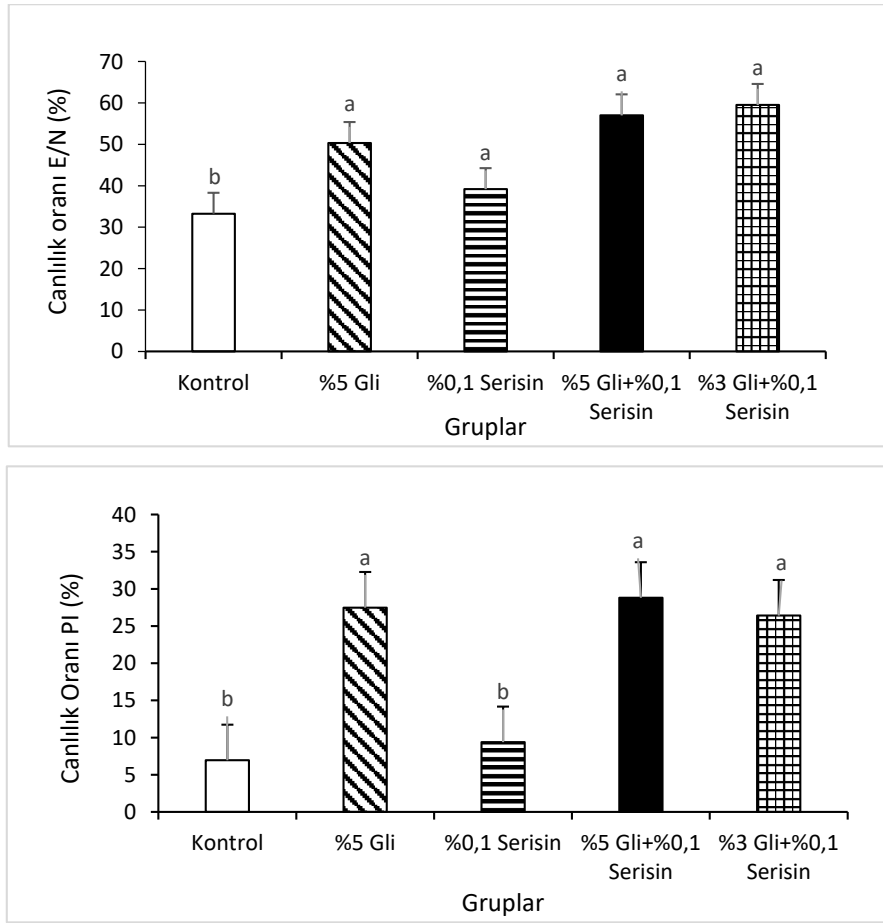
Şekil 2. Dondurulmuş-çözdürülmüş sperma örneklerinde gruplarda morfolojik olarak normal (üst) ve membran bütünlüğü sağlam (alt) spermatozoon oranları

4.5. Canlı Spermatozoon Değerlendirilmesi (Eozin-nigrosin)

Çözdürülmüş sperma örneklerinde eozin-nigrosin yöntemi ile elde edilen canlı spermatozoon oranları sırasıyla kontrol grubunda $33,3 \pm 5,66$; %5G grubunda $50,3 \pm 4,51$; %0,1S grubunda $39,2 \pm 6,50$; %5G+S grubunda $57,0 \pm 5,00$; %3G+S grubunda $59,5 \pm 5,35$ olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu ile %5G+S ve %3G+S grupları arasında istatistiksel olarak fark bulunurken ($P < 0,05$) diğer gruplarla istatistiksel fark bulunamadı ($P > 0,05$).

4.5. Canlı Spermatozoon Değerlendirilmesi (PI)

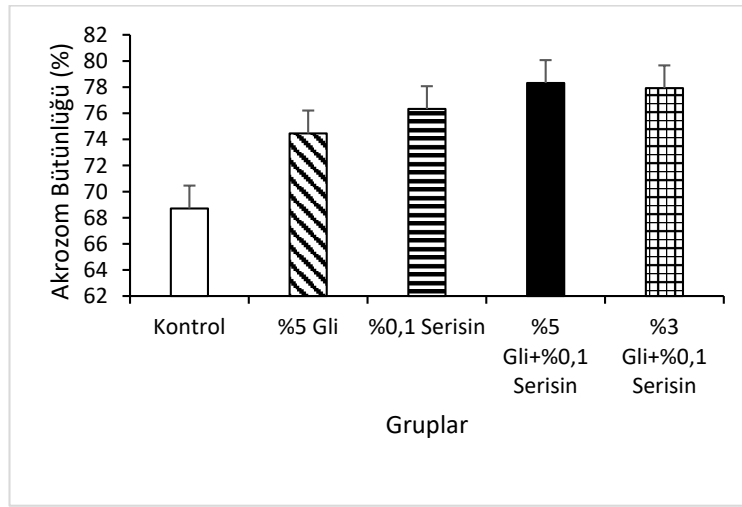
Çözüm sonu örneklerde PI boyamasıyla tespit edilen canlı spermatozoon oranları kontrol, %5G, %0,1S, %5G+S ve %3G+S gruplarında sırasıyla $7,0 \pm 2,67$; $27,5 \pm 5,01$; $9,4 \pm 3,48$; $28,8 \pm 6,02$ ve $26,4 \pm 5,26$ olarak belirlendi. Sonuçlar %5G; %5G+S; %3G+S grupları arasında istatistiksel anlamda benzer bulundu ($P > 0,05$). Ancak, kontrol ve %0,1S grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel fark bulundu ($P < 0,05$).



Şekil 3. Dondurulmuş-çözdürülmüş sperma örneklerinde grupların eozin-nigrosin (E/N-üst) ve propidium iodide (PI-alt) boyama tekniği ile canlı spermatozoon oranları

4.6. Prematür Akrozom Reaksiyonuna Giren Spermatozoon Oranları

Prematür akrozom reaksiyonu gösteren spermatozoon oranı kontrol grubu, %5G, %0,1S, %5G+S ve %3G+S gruplarına sırasıyla $68,8 \pm 1,40$; $74,5 \pm 2,20$; $76,3 \pm 2,53$; $78,3 \pm 3,68$ ve $77,9 \pm 1,75$ olarak belirlendi (Şekil 4). Gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunamadı ($P > 0,05$).



Şekil 4. Dondurulmuş-çözdürülmüş sperma örneklerinde gruplarda prematür akrozom reaksiyonuna giren spermatozoon oranları

Çalışma süresince çözüm sonu total ve progresif motilite, morfoloji, membran bütünlüğü (HOS), canlılık oranı (E/N), canlılık oranı (PI), akrozom bütünlüğü (FITC-PNA) değerleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Deneme gruplarında çözüm sonu elde edilen toplam motilite, progresif motilite, morfoloji, membran bütünlüğü (HOS), canlılık oranı (E/N), PI (propidium iodide), akrozom bütünlüğü FITC-PNA (fluorescein izotiyosiyanat) sonuçlarına ilişkin bulgular

Gruplar	Toplam motilite*	Progresif motilite*	Morfoloji*	Membran bütünlüğü HOS*	Canlılık oranı* E/N	Canlılık oranı PI*	Akrozom bütünlüğü FITC*
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Kontrol	10,0±1,66 ^b	0,4±0,09 ^b	96,8±0,64 ^a	3,0±0,57 ^b	33,3±5,66 ^b	7,0±2,67 ^b	68,8±1,40 ^a
%5 G	52,8±5,29 ^a	9,4±1,29 ^a	95,9±0,75 ^a	12,4±1,49 ^a	50,3±4,51 ^a	27,5±5,01 ^a	74,5±2,20 ^a
%0,1 S	14,5±1,50 ^b	0,4±0,15 ^b	96,3±0,80 ^a	3,2±0,64 ^b	39,2±6,50 ^a	9,4±3,48 ^b	76,3±2,53 ^a
%5G+S	55,0±4,39 ^a	11,0±1,01 ^a	96,7±0,61 ^a	14,7±2,60 ^a	57,0±5,00 ^a	28,8±6,02 ^a	78,3±3,68 ^a
%3G+S	40,6±5,49 ^a	6,3±1,67 ^{ab}	96,4±0,47 ^a	11,8±1,90 ^a	59,5±5,35 ^a	26,4±5,26 ^a	77,9±1,75 ^a

Aynı sütunda farklı harf taşıyan grup ortalamaları arasındaki farklılıklar önemlidir (P<0,05).

*SEM: Ortalamanın Standart Hatası

5. TARTIŞMA

Spermanın dondurulması üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde özellikle koç ve teke spermatozoonlarının hücre zarı yapısında doymamış çoklu yağ asitlerinin çokluğu ve kolesterol/fosfolipid ($C_{27}H_{46}O/C_3H_8NO_6P$) oranının düşük oluşu nedeniyle dondurma ve çözündürme işlemlerine karşı oldukça hassas olduğu gözlemlenmiştir (Bucak ve diğerleri, 2007a). Birçok kimyasalın sperma kriyoprotektanı olarak etkinliği test edilmiştir ancak çoğu spermanın dondurulmasında koruma protokolü hala kriyoprotektif ortamda gliserollü tercih etmektedir (Holt, 2000). Koç spermasının dondurulmasında kullanılan gliserol seviyesi, soğutma ve dondurma oranlarına, sulandırıcı bileşimine ve gliserolün eklenme yöntemine bağlıdır. Ancak, gliserolün toksik etkisi olması sebebiyle kullanılan gliserol seviyesinin çok yüksek olması istenmez (Fahy, 1986).

Seminal plazmada bulunan glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimler, reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif hasara karşı hücreleri koruyabilir. Ayrıca, hücre zarında bulunan lipidlerin lipid peroksidasyonunu (LPO) önlemek için çeşitli enzimatik ve non-enzimatik koruyucu mekanizmalara sahiptir. Ancak, spermanın soğutma işlemleri içsel savunma ve reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılması arasındaki kritik dengeyi bozabilir (Bilodeau ve diğerleri, 2000). Aşırı reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi spermada motilite, membran bütünlüğü, DNA bütünlüğünün bozulması, mitokondriyal işlevsel bozukluklara neden olur (Aitken ve diğerleri, 2016). Birçok çalışmada ROS'un neden olduğu zararlı etkileri ortadan kaldırmak için sulandırıcılara çeşitli antioksidanlar eklenmiştir (Najafi ve diğerleri, 2017). Geniş spektrumlu antioksidanlar kriyoprezervasyon sırasında koç spermatozoonu için bir miktar koruma sağlayabilmesine rağmen, koyunlarda servikal tohumlama uygulamalarında gebelik oranı henüz belirgin bir şekilde yükselmemiştir (Shi ve diğerleri, 2023).

Genel olarak spermanın kısa süreli saklanması ve dondurulmasına ilişkin çalışmalarda hayvan türü, sperma dondurma yöntemi, sulandırıcı, kriyoprotektan ve dozlarının değişikliğine bağlı en yaygın kullanılan ve etkili olduğu bulunan ortalama serisin dozu 0.25%-0.50% olmasına paralel olarak bu çalışmada, 15% YS, 3%-5% gliserollü TCG sulandırıcısına 0.1% serisin ilavesinin koç spermasının dondurulmasında spermatozoon motilitesi, canlılık ve membran bütünlüğü oranları üzerinde özellikle düşük gliserol gruplarında nümerik anlamda olumlu bir etkisi olduğu belirlenmiştir.

Sunulan tez çalışmasındaki veriler diğer literatür bulgularıyla beraber değerlendirildiğinde; iki farklı gliserol düzeyinde serisin'in sulandırıcılara ilavesi farklı spermatolojik parameteler üzerinde istatistik açıdan anlamlı bir artış ya da değişime neden olmamıştır. Ancak, daha önce yayınlanan başka bir çalışmada tavşan spermasının dondurulmasında TCG, sukroz, Me2SO sulandırıcısına ilave edilen 0.1% ve 0.5% serisin'in çözüm sonu spermatozoon progresif ve total motilite, canlılık, akrozomal bütünlük ve ozmotik toleransını anlamlı şekilde artırdığı gösterilmiştir (Raza ve diğerleri, 2019). Yine başka bir çalışmada ise Tris-yumurta sarısı sulandırıcısına %0.1 ve %0.5 serisin ekleyerek boğa spermasının dondurma ve çözüm sonrası toplam ve progresif motilitenin, canlılık ve plazma membranı bütünlüğünün anlamlı şekilde arttığını göstermiştir (Dorji ve diğerleri, 2015). Sperma dondurulmasında serisin'in etkinliğinin; tür, yaş, coğrafi yerleşim, iklim koşulları, kullanılan sperma sulandırıcısının kompozisyonu ve uygulanan serisin konsantrasyonuna bağlı olarak değişkenlik gösterebildiği bildirilmektedir. Bununla birlikte, optimal doz aralığının aşılması durumunda serisinin sperm kalite parametreleri üzerinde olumsuz etkilere yol açabileceği vurgulanmaktadır. Yukarıda anılan çalışmalardan farklı olarak bu çalışmada elde edilen sonuçların daha önce belirtilen farklılıklardan kaynaklanması muhtemeldir.

Kumar ve diğerleri (2015), manda spermasının dondurulmasında farklı serisin konsantrasyonları (%0.25, 0.5, 1, 1.5, 2) kullanarak serisin'in %0.25, 0.5 ve 1'lik takviyesi ile çözüm sonu motilitenin arttığını, %0.25 ve 0.5 derişimlerinde ise, spermatozoonun plazma membranı bütünlüğünün korunmasında ve bir antioksidan enzim olan SOD'un (süperoksit dismutaz) aktivitesinde artışın olduğu görülmüştür. Bu çalışma, düşük doz serisin takviyesinin, sperma kalitesini koruduğu ve oksidatif stresi önlediğini göstermiştir (Kumar ve diğerleri, 2015).

Diğer bir çalışmada ise serisin'in (%0, 0.25, 0.5 ve 0.75) dozlarının fare epididimisinden elde edilen spermanın dondurulması sırasında koruyuculuğunun yanı sıra in vitro fertilizasyon ve sonrasında embriyo gelişimi üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bulgular, %0.5 serisin içeren gruptaki spermatozoonların, diğer gruplara kıyasla önemli ölçüde ($P \leq 0.0001$) yüksek canlılık ve motilite oranı, en iyi dölleme yeteneği ve 2 hücreli embriyo ve blastosist gelişimini göstermiştir. %0.75 serisin ve kontrol grupları arasında canlılık ($P=0.8781$), dölleme yeteneği ($P=0.2458$) ve 2 hücreli ($P=0.5136$) ve blastosist ($P=0.0896$) gelişimi açısından önemli bir fark gözlenmemiştir (Ghasemi ve diğerleri, 2018). Ratchamak ve diğerleri (2023) yaptıkları çalışmada serisin'i %0, %0.25, %0.50 ve %0.75 oranlarında ilave ederek horoz spermatozoonlarını 0.5 ml'lik payetler içinde dondurmuşlardır. Sonuçlar, %0,50 ila %0,75

serisin gruplarının, diğer gruplara kıyasla daha fazla toplam ve progresif motilite ve malondialdehit seviyelerinde azalma olduğunu göstermiştir ($P<0,05$). Ancak, %0,75 serisin grubunda canlılık, %0,50 serisin grubuna kıyasla azalmıştır ($P<0,05$). Toplam yumurta doğurganlığı ve kuluçka oranı, %0,50 serisin grubunda diğer gruplara kıyasla önemli ölçüde yükselmiştir ($P<0,05$, Ratchamak ve diğerleri, 2023).

Yangngam ve diğerleri (2021), yaptıkları çalışmada Holstein-Friesian melez boğalarından elde edilen spermanın dondurulmasında Tris-yumurta sarısı sulandırıcısına ilave edilen serisin'in %0.25 ve %0.5 gruplarının spermatozoonlarda en yüksek toplam motiliteyi sağladığını göstermektedir ($P<0.05$). Spermatozoon canlılığı, akrozom bütünlüğü ve mitokondriyal fonksiyonun %0,25 serisin grubunda, kontrol ve %1,0 lik gruba kıyasla daha yüksek olduğu belirtilmiştir ($P<0,05$). %0,25 ve %0,5 serisin takviyesi, kontrol ile karşılaştırıldığında MDA (malondialdehyde) konsantrasyonlarını önemli ölçüde azaltmıştır ($P<0,05$). İnsan spermasında yapılan çalışmada farklı serisin konsantrasyonları (%0, 0,5, 1, 2,5 ve 5) kullanılırken çözüm sonu, %2,5 ve %5 serisin eklenmesinin sperm canlılığını ve toplam motilite oranını önemli ölçüde artırdığını ve DNA bütünlüğünü koruduğunu ($P < 0,05$) göstermiştir (Aghaz ve diğerleri, 2020). Khye ve diğerleri (2021) köpek spermasının 4°C'de kısa süreli saklanması Tris-yumurta sarısı sulandırıcısına %0.25 ve %0.5 serisin ilavesi, 72. saatte diğer gruplara (%0, %0.1, %0.25 ve %0.5) kıyasla daha yüksek spermatozoon motilitesi ve canlılığı sağlanmıştır ($P<0.05$). Nasirabadi ve diğerleri (2019), yaptığı araştırmada aygır spermasının dondurulmasında kontrol grubu olarak INRA 82 sulandırıcısı, INRA 82 sulandırıcısı+%0.25 serisin, INRA 82 sulandırıcısı+1.5 mM glutatyon ve INRA 82 sulandırıcısı +%0.25 serisin+1.5 mM glutatyon ilave edilen deney gruplarını oluşturmuştur. Sonuç olarak, INRA 82 sulandırıcısı+%0.25 serisin grubundaki sperma örneklerinde katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi artarken, lipid peroksidasyonu ve normal orta kısım oranı diğer gruplarla karşılaştırıldığında azalmıştır ($P<0,05$). Aynı grubun spermatozoon anormal baş oranının, glutatyon ve serisin+glutatyon gruplarında distal damlacıklı spermatozoon oranlarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında azaldığını belirtmiştir ($P<0,05$). Kapasitasyon gösteren spermatozoon yüzdesi, serisin ve glutatyon ilave edilen gruplarda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur.

Barbari keçisi spermasının dondurulmasında sulandırıcılara serisin'in %0, %0.25 ve %0.50 dozlarında eklenmiştir. Sonuç olarak, %0.25 ve %0.50 serisin sperma motilitesi, plazma membranı ve akrozom bütünlüğü, antioksidan enzim aktivitelerini (SOD, GST, CAT) artırmış, lipid peroksidasyonunu (MDA) azaltmış ve hücre içi enzim sızıntısını (ALT, LDH) önlemiştir.

%0.25 serisin grubunda HSP70 gen ve protein düzeylerinin belirgin şekilde yükseldiğini göstermiştir (Reddy ve diğerleri, 2018). Yadava ve arkadaşları, Haryana boğa spermasının dondurulmasında %0,25-%0,5 oranında serisin içeren grupların kontrol grubuna (Yumurta sarısı-tris) kıyasla progresif motilite, canlılık, akrozom ve membran bütünlüğü açısından anlamlı düzeyde ($p<0.05$) olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Yadava ve diğerleri, 2019).

Saphungthong ve diğerleri (2023) yaptıkları çalışmada, boğa spermatozoonlarının tekrar dondurulmasında toplam motilitenin %0.5 serisin eklenen sulandırıcı grubunda kontrol grubundan (%20YS+Tris) daha yüksek olduğunu (%53.9'a karşılık %41.5, $P<0,05$) ancak, canlılık oranı, membran ve akrozom bütünlüğü, in vitro fertilizasyon yeteneği ve embriyonik gelişim oranlarının değişmediğini göstermiştir.

Yu ve diğerleri (2025), Chengde boynuzsuz kara keçisinin spermasının dondurulmasında OptiXcell® sulandırıcısına serisin %0.2, %0.4, %0.6, %0.8 ve %1.0 dozlarında eklenmiştir. Elde edilen sonuçlar, %0,6 serisin ilavesinin çözülme sonrası spermatozoon canlılığını %65,25'e kadar anlamlı biçimde artırdığını, aynı zamanda anormal spermatozoon oranı ($P<0.05$) ve hücre içi reaktif oksijen türleri (ROS) seviyesini ($P<0.05$) önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Bununla birlikte, glutamin, alanin ve aspartat metabolizmasında anlamlı zenginleşme gösterdiğini, buna paralel olarak antioksidan proteinlerin belirgin şekilde aktifleştiğini ortaya koymuştur.

Domuz spermasında yapılan çalışmada, sulandırıcıya %0, %0.25, %0.5, %0.75, %1 seviyelerinde serisin takviyesinin etkileri incelenmiştir. Sonuçlar, %0,5-%1 serisin takviyesinin dondurma ve çözüm sırasında spermatozoon canlılığının, akrozom bütünlüğünün ve mitokondriyal fonksiyonların korunmasında daha etkili olduğunu göstermiştir. %0,75 serisin grubunda spermatozoonlarda toplam ve progresif motilite oranı en yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, %0,25-%0,75 serisin takviyesi lipid peroksidasyon indeksiindeki artışları önemli ölçüde baskılamıştır. Domuz spermasının dondurulmasında koruyucu alternatif bir bileşen olarak %0,75 serisin önerilmiştir (Ratchamak ve diğerleri, 2020). Vijyeta ve diğerleri (2024) yaptıkları çalışmada Jaffarabadi manda spermasının dondurulmasında AndroMed® sulandırıcısına farklı oranlarda eklenen serisin'in (%0,0, %0,25, %0,50, %0,75 ve %1,0) kalite parametreleri, oksidatif durum ve döl verimi üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Sonuç olarak, sperma motilitesi, canlılığı, plazma membranı ve akrozom bütünlüğü açısından %0,25 ve %0,50 serisin gruplarında kontrol ve %0,75 serisin gruplarına göre anlamlı derecede daha yüksek ($P<0.01$) sonuçlar elde edilmiştir. En yüksek gebelik oranı %0,25 serisin grubunda

görüldüğü, %1,0 serisin grubunda ise tüm sperma parametrelerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu, yani zararlı bir etki gösterdiği belirlenmiştir (Vijyeta ve diğerleri, 2024).

Patel ve diğerleri (2019), Gir boğası ve Murrah mandası spermasının dondurulmasında tris-fruktoz-yumurta sarısı-gliserol sulandırıcısına %0.25 ve %0.5 oranlarında serisin takviyesinin diğer gruplara kıyasla (%0,0, %0,1 ve %1,0) spermatozoon motilitesini koruduğu, oksidatif hasara karşı ve SOD ile GPx enzim aktivitelerinin yükseldiğini göstermiştir. Diğer bir çalışmada ise Gir boğası ve Murrah mandası spermasının dondurulmasında mifepristone (10 µg/mL), taurin (4 mg/mL) içeren tris-fruktoz-yumurta sarısı-gliserol sulandırıcısına eklenen %0,5 serisin'in spermatozoon motilite oranını olumlu şekilde etkilediği gösterilmiştir (Chaturvedi ve diğerleri, 2022).

Asya fili spermasının dondurulmasında %20 yumurta sarısı ve %5 gliserol içeren sulandırıcıya %1 ve %1.5 oranlarında serisin takviye edilen gruplarda diğer gruplara (%0, %0.5) kıyasla spermatozoon motilitesi ve canlılık oranının arttığını göstermiştir ($P < 0.05$, Keatisak ve diğerleri, 2023).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak; koç spermasının dondurulmasında kullanılan %0.1 serisin'in kriyopreservasyon sırasında oluşan reaktif oksijen türleri ve buz kristalizasyonundan dolayı canlı spermatozoon oranı, akrozom ve plazma membran bütünlüğünün sürdürülmesi üzerine tek başına kontrol grubuna göre olumlu bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ancak, serisin'in %15 yumurta sarısı ve %3 gliserol içeren sulandırıcıya eklenmesi durumunda toplam motilite, membran bütünlüğü, canlı spermatozoon oranında serisin'siz %5 gliserol içeren gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel anlamda benzer sonuçların elde edilmesi, koç spermasının dondurulmasında kullanılan gliserolün dozları azaltılarak sitotoksik etkisinin azaldığını göstermektedir.

Çalışmamızdaki bulgular değerlendirildiğinde farklı dozlarda ve daha fazla sayıda örnek kullanılarak yapılacak çalışmalar ile serisin'in çözüm sonu sperma kalitesi üzerine etkilerinin daha ayrıntılı araştırılması gerektiği ifade edilebilir. Serisin'in sperma sulandırıcısına katılabilecek düşük toksisiteye sahip bir antioksidan olduğu kanaatine varılmıştır. Ancak koç spermasının dondurulmasında serisin kullanılarak yapılmış yeterli araştırma olmaması nedeniyle farklı sulandırıcılarla ve farklı dondurma teknik ve hızlarıyla daha kapsamlı araştırmalar yapılmasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aad, R., Dragojlov, I., Vesentini, S. (2024). Sericin Protein: Structure, Properties, and Applications. *Journal of Functional Biomaterials*, 15(11), 322. <https://doi.org/10.3390/jfb15110322>.
- Aghaz, F., Khazaei, M., Vaisi-Raygani, A., Bakhtiyari, M. (2020). Cryoprotective effect of sericin supplementation in freezing and thawing media on the outcome of cryopreservation in human sperm. *The aging male : the official journal of the International Society for the Study of the Aging Male*, 23(5), 469–476. <https://doi.org/10.1080/13685538.2018.1529156>.
- Ahmad, M., Nasrullah, R., Riaz, H., Sattar, A., Ahmad, N. (2014). Changes in motility, morphology, plasma membrane and acrosome integrity during stages of cryopreservation of buck sperm. *Journal of the South African Veterinary Association*, 85(1), 972. <https://doi.org/10.4102/jsava.v85i1.972>.
- Ahmadi, E., Shams-Esfandabadi, N., Nazari, H., Davoodian, N., Kadivar, A. (2022). Ram epididymal sperm frozen in an extender containing ethylene glycol have higher post-thaw longevity and in vitro fertility. *Andrology*, 10(3), 604–613. <https://doi.org/10.1111/andr.13137>.
- Aitken, R. J., Baker, M. A., Nixon, B. (2015). Are sperm capacitation and apoptosis the opposite ends of a continuum driven by oxidative stress?. *Asian Journal of Andrology*, 17(4), 633–639. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.153850>.
- Aitken, R. J., Gibb, Z., Baker, M. A., Drevet, J., Gharagozloo, P. (2016). Causes and consequences of oxidative stress in spermatozoa. *Reproduction, Fertility, and Development*, 28(1-2), 1–10. <https://doi.org/10.1071/RD15325>.
- Al-Mamary, M. ve Moussa, Z. (2021). Antioxidant Activity: The Presence and Impact of Hydroxyl Groups in Small Molecules of Natural and Synthetic Origin. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.95616.
- Alvarenga, M.A., Landim-Alvarenga, F.C., Moreira, R.M., Cesarino, M.M. (2000). Acrosomal ultrastructure of stallion spermatozoa cryopreserved with ethylene glycol using two

- packaging systems. *Equine Veterinary Journal*, 32(6), 541-545.
<https://doi.org/10.2746/042516400777584749>.
- Alvarenga, M.A., Papa, F.O., Landim-Alvarenga, F., Medeiros, A. (2005). Amides as cryoprotectants for freezing stallion semen: a review. *Animal Reproduction Science*, 89(1-4), 105-113.
- Ampawong, S., Isarangkul, D., Aramwit, P. (2017). Sericin ameliorated dysmorphic mitochondria in high-cholesterol diet/streptozotocin rat by antioxidative property. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 242(4), 411–421.
<https://doi.org/10.1177/1535370216681553>.
- Ampawong, S., Isarangkul, D., Reamtong, O., Aramwit, P. (2018). Adaptive effect of sericin on hepatic mitochondrial conformation through its regulation of apoptosis, autophagy and energy maintenance: a proteomics approach. *Scientific Reports*, 8(1), 14943.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-33372-4>.
- Anel, L., de Paz, P., Alvarez, M., Chamorro, C. A., Boixo, J. C., Manso, A., González, M., Kaabi, M., Anel, E. (2003). Field and in vitro assay of three methods for freezing ram semen. *Theriogenology*, 60(7), 1293–1308. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(03\)00140-7](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(03)00140-7).
- Aramwit, P., Palapinyo, S., Srichana, T., Chottanapund, S., Muangman, P. (2013). Silk sericin ameliorates wound healing and its clinical efficacy in burn wounds. *Archives of Dermatological Research*, 305(7), 585–594. <https://doi.org/10.1007/s00403-013-1371-4>
- Aramwit, P., Siritientong, T., Srichana, T. (2011). Potential applications of silk sericin, a natural protein from textile industry by products. *Waste Management & Research* 30(3), 217-224. DOI: 10.1177/0734242X11404733.
- Aramwit, P., Towiwat, P., Srichana, T. (2013). Anti-inflammatory potential of silk sericin. *Natural Product Communications*, 8(4), 501–504.
- Arthur, H. G., Noakes, D. E., Pearson, H., Parkinson, T. J. (1996). *Veterinary Reproduction and Obstetrics (7th ed.)*. WB Saunders Company Limited.
- Bailey, J.L., Bilodeau, J., Cormier, N. (2000). Semen cryopreservation in domestic animals: a damaging and capacitating phenomenon. *Journal of Andrology*, 21(1), 1-7.

- Banagozar Mohammadi, A., Torbati, M., Farajdokht, F., Sadigh-Eteghad, S., Fazljou, S. M. B., Vatandoust, S. M., Golzari, S. E. J., Mahmoudi, J. (2019). Sericin alleviates restraint stress induced depressive- and anxiety-like behaviors via modulation of oxidative stress, neuroinflammation and apoptosis in the prefrontal cortex and hippocampus. *Brain Research*, 1715, 47–56. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.03.020>.
- Belibasaki, S. ve Kouimtzis, S. (2000). Sexual activity and body and testis growth in prepubertal ram lambs of Friesland, Chios, Karagouniki and Serres dairy sheep in Greece. *Small Ruminant Research : The Journal of the International Goat Association*, 37(1-2), 109–113. [https://doi.org/10.1016/s0921-4488\(99\)00131-5](https://doi.org/10.1016/s0921-4488(99)00131-5).
- Béné, C., Barange, M., Subasinghe. Feeding 9 billion by 2050 – Putting fish back on the menu. *Food Security*, 7, 261–274 (2015). <https://doi.org/10.1007/s12571-015-0427-z>.
- Bilodeau, J. F., Chatterjee, S., Sirard, M. A., Gagnon, C. (2000). Levels of antioxidant defenses are decreased in bovine spermatozoa after a cycle of freezing and thawing. *Molecular Reproduction and Development*, 55(3), 282–288. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2795\(200003\)55:3<282::AID-MRD6>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2795(200003)55:3<282::AID-MRD6>3.0.CO;2-7).
- Bucak, M. N., Ateşşahin, A., Varişli, O., Yüce, A., Tekin, N., Akçay, A. (2007a). The influence of trehalose, taurine, cysteamine and hyaluronan on ram semen Microscopic and oxidative stress parameters after freeze-thawing process. *Theriogenology*, 67(5), 1060–1067. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.12.004>.
- Bucak, M. N., Tekin, N., Kulaksız, R. (2007b). Koç spermasının kısa süreli saklanması antioksidanların etkisi. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 47(2), 15–21.
- Büyükblebici, S., Tuncer, P. B., Bucak, M. N., Eken, A., Sariözkan, S., Taşdemir, U., Endirlik, B. Ü. (2014). Cryopreservation of bull sperm: Effects of extender supplemented with different cryoprotectants and antioxidants on sperm motility, antioxidant capacity and fertility results. *Animal Reproduction Science*, 150(3–4), 77–83. [doi:10.1016/j.anireprosci.2014.09.006](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.09.006).
- Chei, S., Oh, H. J., Lee, K., Jin, H., Lee, J. Y., Lee, B. Y. (2020). Dietary Silk Peptide Inhibits LPS-Induced Inflammatory Responses by Modulating Toll-Like Receptor 4 (TLR4) Signaling. *Biomolecules*, 10(5), 771. <https://doi.org/10.3390/biom10050771>.
- Chen, C.S., Zeng, F., Xiao, X., Wang, Z., Li, X.L., Tan, R.-W., Liu, W.Q., Zhang, Y.S., She, Z.D., Li, S.J. (2018). Three-dimensionally printed silk-sericin-based hydrogel scaffold: A

- promising visualized dressing material for real-time monitoring of wounds. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10(39), 33879–33890.
- Craig, C.L. ve Riekel, C. (2002). Comparative architecture of silks, fibrous proteins and their encoding genes in insects and spiders. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 133(4), 493-507.
- Çoyan, K., Ataman, M.B., Kaya, A., Karaca, F. (2002). *Evcil Hayvanlarda Dölerme ve Suni Tohumlama*. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi.
- Darin-Bennett, A. ve White, I. G. (1977). Influence of the cholesterol content of mammalian spermatozoa on susceptibility to cold-shock. *Cryobiology*, 14(4), 466–470. [https://doi.org/10.1016/0011-2240\(77\)90008-6](https://doi.org/10.1016/0011-2240(77)90008-6).
- Deng, Y., Yang, C., Zhu, Y., Liu, W., Li, H., Wang, L., Chen, W., Wang, Z., Wang, L. (2022). Lamprey-Teeth-Inspired Oriented Antibacterial Sericin Microneedles for Infected Wound Healing Improvement. *Nano Letters*, 22(7), 2702–2711. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.1c04573>.
- Deori, M., Devi, D., Kumari, S., Hazarika, A., Kalita, H., Sarma, R., Devi, R. (2016). Antioxidant Effect of Sericin in Brain and Peripheral Tissues of Oxidative Stress Induced Hypercholesterolemic Rats. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 319. <https://doi.org/10.3389/fphar.2016.00319>.
- Dorji, P., Vongprolue, T., Pattarajinda, V., Chankitisakul, V., Chuawongboon, P. (2015). Effect of Sericin Supplement in Tris-egg Yolk Citrate Extender on Quality of Cryopreserved Semen from Thai Native Bulls. *Bhutan Journal of Natural Resources and Development*, 2(1), 11–18. <https://doi.org/10.17102/bjnr.v2i1.14>.
- Drobnis, E. Z., Crowe, L. M., Berger, T., Anchordoguy, T. J., Overstreet, J. W., Crowe, J. H. (1993). Cold shock damage is due to lipid phase transitions in cell membranes: a demonstration using sperm as a model. *Journal of Experimental Zoology*, 265(4), 432-437.
- Elmaz, Ö., Dikmen, S., Cirit, U., Demir, H. (2008). Prediction of Postpubertal Reproductive Potential According to Prepubertal Body Weight, Testicular Size, and Testosterone Concentration Using Multiple Regression Analysis in Kivircik Ram Lambs. *Turkish Journal Of Veterinary & Animal Sciences*, vol.32, no.5, 335-343.

- Elmaz, Ö., Cirit, Ü., Demir, H. (2007). Relationship of testicular development with age, body weight, semen characteristics and testosterone in Kivircik ram lambs. *South African Journal of Animal Science*, 37(4), 269–274.
- Emsen, E., (2005). Testicular development and body weight gain from birth to 1 year of age of Awassi and Redkaraman sheep and their reciprocal crosses.. *Small Ruminant Research* , Vol.59, No.1, 79-82.
- Ersel, M., Uyanikgil, Y., Karbek Akarca, F., Ozcete, E., Altunci, Y. A., Karabey, F., Cavusoglu, T., Meral, A., Yigitturk, G., Oyku Cetin, E. (2016). Effects of Silk Sericin on Incision Wound Healing in a Dorsal Skin Flap Wound Healing Rat Model. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 22, 1064–1078. <https://doi.org/10.12659/msm.897981>.
- Evans, G. ve Maxwell, W. M. C. (1987). Collection of semen; Handling and examination of semen; Dilution of semen; Frozen storage of semen; Insemination. In *Salmon's artificial insemination of sheep and goats* (pp. 85–166). Sydney, Australia: Butterworths.
- Ezzati, M., Shanehbandi, D., Hamdi, K., Rahbar, S., Pashaiasl, M. (2020). Influence of cryopreservation on structure and function of mammalian spermatozoa: an overview. *Cell and Tissue Banking*, 21(1), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s10561-019-09797-0>.
- Farajdokht, F., Vatandoust, S. M., Hosseini, L., Fekri, K., Rahigh Aghsan, S., Majdi, A., Sadigh-Eteghad, S., Mahmoudi, J. (2021). Sericin protects against acute sleep deprivation-induced memory impairment via enhancement of hippocampal synaptic protein levels and inhibition of oxidative stress and neuroinflammation in mice. *Brain Research Bulletin*, 174, 203–211. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2021.06.013>.
- Galarza, D. A., López-Sebastián, A., Woelders, H., Blesbois, E., Santiago-Moreno, J. (2019). Two-step accelerating freezing protocol yields better motility, membrane, and DNA integrities of thawed ram sperm than three-step freezing protocols. *Cryobiology*, 91, 84–89.
- Garel, A., Deleage, G., Prudhomme, J. C. (1997). Structure and organization of the Bombyx mori sericin 1 gene and of the sericins 1 deduced from the sequence of the Ser 1B cDNA. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 27(5), 469–477. [https://doi.org/10.1016/s0965-1748\(97\)00022-2](https://doi.org/10.1016/s0965-1748(97)00022-2).

- Ghasemi, M., Farshad, A., Hajarian, H., Banafshi, O., Asadollahi, V., Fathi, F. (2018). The effects of sericin on cryopreserved sperm cells and subsequent embryo development in mice. *International Journal of Reproductive Biomedicine*, 16(6), 405–412.
- Gil, J., Söderquist, L., Rodriguez-Martinez, H. (2000). Influence of centrifugation and different extenders on post-thaw sperm quality of ram semen. *Theriogenology*, 54(1), 93–108. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(00\)00328-9](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00328-9).
- Gök, G. Z., Yiğitoğlu, M., Vargel, İ., Şahin, Y., Alçıgır, M. E. (2021). Synthesis, characterization and wound healing ability of PET-based nanofiber dressing material coated with silk sericin capped-silver nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics*, 259, 1–14.
- Grötter, L. G., Cattaneo, L., Marini, P. E., Kjelland, M. E., Ferré, L. B. (2019). Recent advances in bovine sperm cryopreservation techniques with a focus on sperm post-thaw quality optimization. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 54(4), 655–665. <https://doi.org/10.1111/rda.13409>.
- Gün Gök, Z., Yiğitoğlu, M., Vargel, İ. (2019). İpek Serisin ve Potansiyel Uygulama Alanları. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*(15), 450-459. <https://doi.org/10.31590/ejosat.517226>.
- He, M., Hu, H., Wang, P., Fu, H., Yuan, J., Wang, Q., Fan, X. (2018). Preparation of a biocomposite of sericin-g-PMMA via HRP-mediated graft copolymerization. *International Journal of Biological Macromolecules* 117, 323-330.
- Nasirabadi, M., Shirazi, A., Kadivar, A., Shams-Esfandabadi, N., Mohebbi, A., Ahmadi, E. (2019). Sericin Ameliorates the Capacitation State and Chromatin Integrity of Frozen-Thawed Stallion Spermatozoa by Reducing Oxidative Stress. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 11(3), 245–252.
- Hancock, J.L. (1952). The morphology of bull spermatozoa. *The Journal of Experimental Biology* 29, 445-453.
- Holt, W. (2000). Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences. *Theriogenology*, 53(1), 47-58.
- Hu, D., Li, T., Xu, Z., Liu, D., Yang, M., Zhu, L. (2018). Self-stabilized silk sericin-based nanoparticles: In vivo biocompatibility and reduced doxorubicin-induced toxicity. *Acta Biomaterialia*, 74, 385–396. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2018.05.024>.

- Iranpour, S., Attari, F., Seyedjafari, E., Nourmohammadi, J. (2022). Coating of 3D-printed poly (ϵ -caprolactone) scaffolds with silk protein sericin enhances the osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Polymers for Advanced Technologies*, 33(5), 1211–1221.
- İleri, İ.K., Ak, K., Pabuccuoğlu, S., Birler, S. (2000). *Reproduksiyon ve Suni Tohumlama, Ders Notu*, 59, sayfa 75-90, İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Yayını, İstanbul.
- Jha, P. K., Shahi Alam, M. G., Mansur, A. A.(2019). Cryopreservation of Bangladeshi ram semen using different diluents and manual freezing techniques. *Cryobiology*, 89, 35–41.
- Jo, Y. N. ve Um, I. C. (2015). Effects of solvent on the solution properties, structural characteristics and properties of silk sericin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 78, 287–295. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.04.004>.
- Jo, Y. Y., Kim, D. W., Choi, J. Y., Kim, S. G. (2019). 4-Hexylresorcinol and silk sericin increase the expression of vascular endothelial growth factor via different pathways. *Scientific Reports*, 9(1), 3448. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40027-5>.
- Jo, Y. Y., Kweon, H., Kim, D. W., Baek, K., Chae, W. S., Kang, Y. J., Oh, J. H., Kim, S. G., Garagiola, U. (2021). Silk sericin application increases bone morphogenic protein-2/4 expression via a toll-like receptor-mediated pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*, 190, 607–617. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.021>.
- Joyjamras, K., Chaotham, C., Chanvorachote, P. (2022). Response surface optimization of enzymatic hydrolysis and ROS scavenging activity of silk sericin hydrolysates. *Pharmaceutical Biology*, 60(1), 308–318. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2033964>.
- Kafi, M., Safdarian, M., Hashemi, M. (2004). Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. *Small Ruminant Research*, 53(1–2), 133–139. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.07.007>.
- Karagiannidis, A., Varsakeli, S., Alexopoulos, C., Amarantidis, I., I (2000). Seasonal variation in semen characteristics of Chios and Friesian rams in Greece. *Small Ruminant Research : The Journal of the International Goat Association*, 37(1-2), 125–130. [https://doi.org/10.1016/s0921-4488\(99\)00143-1](https://doi.org/10.1016/s0921-4488(99)00143-1).

- Kaya, C., Akar, M., Akal, E. Çevik, M. (2021). Testiküler Doku Kriyoprezervasyonu. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Dergisi*, 6(1), 128-134.
- Khalil, W. A., El-Harairy, M. A., Zeidan, A. E. B., Hassan, M. A. E., Mohey-Elsaeed, O. (2017). Evaluation of bull spermatozoa during and after cryopreservation: Structural and ultrastructural insights. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 6(Suppl), S49–S56. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2017.11.001>.
- Khyye, K. C., Yusuf, T. L., Satrio, F. A., & Karja, N. W. K. (2021). Quality of chilled canine semen in Tris-egg yolk extender supplemented with sericin. *Jurnal Kedokteran Hewan - Indonesian Journal of Veterinary Sciences*, 15(1), 15–20.
- Khosa, M. A., Shah, S. S., Feng, X. (2014). Metal sericin complexation and ultrafiltration of heavy metals from aqueous solution. *Chemical Engineering Journal*, 244, 446-456. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.01.091>.
- Kulaksiz, R., Çebi, Ç., Akçay, E. (2012). The effect of different extenders on the motility and morphology of ram sperm frozen or stored at 4 °C. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 36(2), 177–182.
- Kumar, P., Kumar, D., Sikka, P., Singh, P. (2015). Sericin supplementation improves semen freezability of buffalo bulls by minimizing oxidative stress during cryopreservation. *Animal Reproduction Science*, 152, 26-31.
- Kundu, S.C., Dash, B.C., Dash, R., Kaplan, D.L. (2008). Natural protective glue protein, sericin bioengineered by silkworms: potential for biomedical and biotechnological applications. *Progress in Polymer Science*, 33(10), 998-1012.
- Kunz, R.I., Brancalhão, R.M.S., Ribeiro, L.F.C., Natali, M.R.M. (2016). Silkworm Sericin: Properties and Biomedical Applications. *BioMed Research International* 2016, 8175701, pp, 19. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8175701>.
- Langford, G. A., Ainsworth, L., Marcus, G. J., Shrestha, J. N. (1987). Photoperiod entrainment of testosterone, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and prolactin cycles in rams in relation to testis size and semen quality. *Biology of Reproduction*, 37(2), 489–499. <https://doi.org/10.1095/biolreprod37.2.489>.

- Leahy, T., Rickard, J. P., Bernecic, N. C., Druart, X., de Graaf, S. P. (2019). Ram seminal plasma and its functional proteomic assessment. *Reproduction (Cambridge, England)*, 157(6), R243–R256. <https://doi.org/10.1530/REP-18-0627>.
- Li, Y., Huang, Y., Pan, P., Che, X., Zhang, Y., Zhang, Y., Amal, A., Li, X., Niu, W., Luo, N. (2021). Sericin and sericin-derived peptide alleviate viral pathogenesis in mice through inhibiting lactate production and facilitating antiviral response. *Applied Materials Today*, 25, 1–10.
- Liu, J., Deng, Y., Fu, D., Yuan, Y., Li, Q., Shi, L., Wang, G., Wang, Z., Wang, L. (2021). Sericin microparticles enveloped with metal-organic networks as a pulmonary targeting delivery system for intra-tracheally treating metastatic lung cancer. *Bioactive Materials*, 6, 273–284.
- Lozano, H., Vargas, J., Chacón, L., Kirschvink, N. (2024). Factors Characterizing Puberty in Ram Lambs of Four Breeds Raised under High Altitude Conditions. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.110264.
- Ma, Y., Tong, X., Huang, Y., Zhou, X., Yang, C., Chen, J., Dai, F., Xiao, B. (2019). Oral Administration of Hydrogel-Embedding Silk Sericin Alleviates Ulcerative Colitis through Wound Healing, Anti-Inflammation, and Anti-Oxidation. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 5(11), 6231–6242. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.9b00862>.
- Ma, Y., Zhou, L., Yang, C., Wang, L., Yi, S., Tong, X., Xiao, B., Chen, J. (2021). Comparison of Sericins from Different Sources as Natural Therapeutics against Ulcerative Colitis. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 7(9), 4626–4636. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.1c00256>.
- Mahmoudi, J., Hosseini, L., Sadigh-Eteghad, S., Farajdokht, F., Vatandoust, S. M., Ziaee, M. (2021). Sericin alleviates thermal stress-induced anxiety-like behavior and cognitive impairment through regulation of oxidative stress, apoptosis, and heat shock protein-70 in the hippocampus. *Neurochemical Research*, 46, 2307–2316. <https://doi.org/10.1007/s11064-021-03376-4>.
- Maksimović, N., Milovanović, A., Barna, T., Caro Petrović, V., Pantelić, V., Lazarević, M., Stojanov, I. (2018). Short-term liquid storage of ram semen in various extenders. *South African Journal of Animal Science*, 48(4).

- Marco-Jiménez, F., Puchades, S., Gadea, J., Vicente, J. S., Viudes-de-Castro, M. P. (2005). Effect of semen collection method on pre-and post-thaw Guirra ram spermatozoa. *Theriogenology*, 64(8), 1756-1765. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.04.006>.
- Marti, E., Marti, J. I., Muiño-Blanco, T., Cebrián-Pérez, J. A. (2008). Effect of the cryopreservation process on the activity and immunolocalization of antioxidant enzymes in ram spermatozoa. *Journal of andrology*, 29(4), 459–467. <https://doi.org/10.2164/jandrol.107.003459>.
- Mondal, M. (2007). The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori* Linn. a review. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 5(2), 63-76.
- Morrell, J.M. ve Hodges, J.K. (1998). Cryopreservation of non-human primate sperm: priorities for future research. *Animal Reproduction Science*, 53(1), 43-63. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(98\)00126-2](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(98)00126-2).
- Moses, D., Martínez, A. G., Iorio, G., Valcárcel, A., Ham, A., Pessi, H., Castañón, R., Maciá, A., de las Heras, M. A. (1997). A large-scale program in laparoscopic intrauterine insemination with frozen-thawed semen in Australian Merino sheep in Argentine Patagonia. *Theriogenology*, 48(4), 651–657. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(97\)00281-1](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(97)00281-1).
- Muiño-Blanco, T., Pérez-Pé, R., & Cebrián-Pérez, J. A. (2008). Seminal plasma proteins and sperm resistance to stress. *Reproduction in Domestic Animals*, 43(Suppl 4), 18–31. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01228.x>.
- Najafi, A., Daghigh-Kia, H., Dodaran, H. V., Mehdipour, M., Alvarez-Rodriguez, M. (2017). Ethylene glycol, but not DMSO, could replace glycerol inclusion in soybean lecithin-based extenders in ram sperm cryopreservation. *Animal Reproduction Science*, 177, 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.12.004>.
- Nayak, S., Dey, T., Naskar, D., Kundu, S. C. (2013). The promotion of osseointegration of titanium surfaces by coating with silk protein sericin. *Biomaterials*, 34(12), 2855–2864. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.01.019>.
- Nur, Z., Zik, B., Ustuner, B., Sagirkaya, H., Ozguden, C. G. (2010). Effects of different cryoprotective agents on ram sperm morphology and DNA integrity. *Theriogenology*, 73(9), 1267–1275. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.12.007>.

- Oldenhof, H., Wolkers, W. F., Sieme, H. (2021). Cryopreservation of Semen from Domestic Livestock: Bovine, Equine, and Porcine Sperm. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 2180, 365–377. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0783-1_15.
- Orlandi, G., Bari, E., Catenacci, L., Sorrenti, M., Segale, L., Faragò, S., Sorlini, M., Arciola, C. R., Torre, M. L., Perteghella, S. (2020). Polyphenols-Loaded Sericin Self-Assembling Nanoparticles: A Slow-Release for Regeneration by Tissue-Resident Mesenchymal Stem/Stromal Cells. *Pharmaceutics*, 12(4), 381. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12040381>.
- Öztürk, A. E., Bucak, M. N., Bodu, M., Başpınar, N., Çelik, İ., Shu, Z., Gao, D. (2019). Cryobiology and cryopreservation of sperm. *Cryopreservation-Current Advances and Evaluations*, 75116.
- Padamwar, M.N. ve Pawar, A.P. (2004). Silk sericin and its applications: A review. *Journal of Scientific and Industrial Research* 63, 323-329.
- Patel, T. M., Dharni, A. J., Chaudhari, D. V., & Pathan, M. M. (2019). Influence of antioxidant sericin in Tris extender on oxidative markers during cryopreservation (−196°C) of bovine semen. *Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*, 15(2), 34–37.
- Pini, T., Rickard, J. P., Leahy, T., Crossett, B., Druart, X., de Graaf, S. P. (2018). Cryopreservation and egg yolk medium alter the proteome of ram spermatozoa. *Journal of Proteomics*, 181, 73–82. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.04.001>.
- Polge, C., Smith, A. U., Parkes, A. S. (1949). Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature*, 164 (4172), 666. <https://doi.org/10.1038/164666a0>.
- Price, E. O., Estep, D. Q., Wallach, S. J., Dally, M. R. (1991). Sexual performance of rams as determined by maturation and sexual experience. *Journal of Animal Science*, 69(3), 1047–1052. <https://doi.org/10.2527/1991.6931047x>.
- Rahman, S. (2014). *Preservation of indigenous ram semen with skim milk diluent (Master's thesis)*. Faculty of Veterinary Science, Bangladesh Agricultural University, Mymensingh.
- Rajput S.K., Kumar, M. (2015). Sericin-a unique biomaterial. *IOSR Journal of Polymer and Textile Engineering* 2(3), 29-35.

- Rasul, Z., Ahmad, N., Anzar, M. (2001). Changes in motion characteristics, plasma membrane integrity, and acrosome morphology during cryopreservation of buffalo spermatozoa. *Journal of Andrology*, 22(2), 278–283.
- Ratchamak, R., Authaida, S., Boonkum, W., Chankitisakul, V. (2023). Improvement of rooster semen freezability and fertility rate after sericin supplementation in freezing semen extender. *Animal Bioscience*, 36(10), 1530–1535. <https://doi.org/10.5713/ab.23.0016>.
- Ratchamak, R., Ratsiri, T., Kheawkanha, T., Vongpralub, T., Boonkum, W., Chankitisakul, V. (2020). Evaluation of cryopreserved boar semen after supplementation of sericin from silkworm (*Bombyx mori*) in semen extender. *Animal Science Journal*, 91, e13428. <https://doi.org/10.1111/asj.13428>.
- Raza, S., Uçan, U., Aksoy, M., Erdoğan, G., Ceylan, A., Serin, I. (2019). Silk protein sericin pretreatment enhances osmotic tolerance and post-thaw sperm quality but reduces the ability of sperm cells to undergo in vitro induced acrosome reaction in rabbit. *Cryobiology*, 90, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2019.09.008>.
- Raza, S., Uçan, U., Aksoy, M., Erdoğan, G., Naseer, Z., Khan, K. (2024). Sericin-Enriched Rabbit Semen Preservation: Implications for Short-Term Storage Quality and Fertility at 4 or 15 °C. *Animals*, 14(23), 3429. <https://doi.org/10.3390/ani14233429>.
- Rekha, A., Zohara, B. F., Bari, F., Alam, M. G. S. (2016). Comparison of commercial triladyl extender with a tris-fructose-egg-yolk extender on the quality of frozen semen and pregnancy rate after transcervical AI in Bangladeshi indigenous sheep (*Ovis aries*). *Small Ruminant Research*, 134, 39–43.
- Reddy, V. S., Yadav, B., Yadav, C. L., Anand, M., Swain, D. K., Kumar, D., Kritania, D., Madan, A. K., Kumar, J., Yadav, S. (2018). Effect of sericin supplementation on heat shock protein 70 (HSP70) expression, redox status and post thaw semen quality in goat. *Cryobiology*, 84, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2018.08.005>.
- Ritar, A. J., Ball, P. D., O'May, P. J. (1990). Artificial insemination of Cashmere goats: effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time of insemination, semen freezing process, number of motile spermatozoa and age of females. *Reproduction, Fertility, and Development*, 2(4), 377–384. <https://doi.org/10.1071/rd9900377>.

- Ruane, J. (2000). A framework for prioritizing domestic animal breeds for conservation purposes at the national level: A Norwegian case study. *Conservation Biology*, 14(5), 1385–1393.
- Saha, A., Asaduzzaman, M., Bari, F. Y. (2022). Cryopreservation Techniques for Ram Sperm. *Veterinary Medicine International*, 2022, 7378379. <https://doi.org/10.1155/2022/7378379>.
- Salamon, S. ve Maxwell, W. M. (2000). Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 62(1-3), 77–111. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(00\)00155-x](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(00)00155-x).
- Sanford, L. M., Moore, C., Voglmayr, J. K., Fahmy, M. H. (2000). Sexual maturational changes circulatory inhibin concentration in relation to FSH concentration and testicular size in Suffolk and DLS rams. *Theriogenology*, 54(5), 719–730. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(00\)00385-x](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(00)00385-x).
- Saphungthong, B., Thammawung, S., Sirisathien, S. (2023). Cryoprotective effect of sericin on re-freezing of bull spermatozoa and subsequent embryonic development after in vitro fertilization. *Veterinary Integrative Sciences*, 21(2), 495–506. <https://doi.org/10.12982/VIS.2023.035>.
- Sasaki, M., Kato, N., Watanabe, H., Yamada, H. (2000). Silk protein, sericin, suppresses colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine in mice. *Oncology Reports* 7(5), 1049-1052.
- Savvulidi, F. G., Ptacek, M., Malkova, A. (2021). Optimizing the conventional method of sperm freezing in liquid nitrogen vapour for Wallachian sheep conservation program. *Czech Journal of Animal Science*, 66(2), 55–64.
- Sehnal, F. (2008). Prospects of the practical use of silk sericins. *Entomological Research*, 38, S1-S8.
- Seo, S. J., Das, G., Shin, H. S., Patra, J. K. (2023). Silk Sericin Protein Materials: Characteristics and Applications in Food-Sector Industries. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4951. <https://doi.org/10.3390/ijms24054951>.
- Seyedaghamiri, F., Farajdokht, F., Vatandoust, S. M., Mahmoudi, J., Khabbaz, A., Sadigh-Eteghad, S. (2021). Sericin modulates learning and memory behaviors by tuning of antioxidant, inflammatory, and apoptotic markers in the hippocampus of aged mice.

Molecular Biology Reports, 48(2), 1371–1382. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06195-2>.

Shi, L., Shi, J., Feng, J., Zhang, P., Ren, Y. (2023). Proteomic analysis reveals the potential positive effects of Mito-TEMPO on ram sperm motility and fertility during cryopreservation. *Theriogenology*, 205, 27–39. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.04.015>.

Sieme, H., Oldenhof, H., Wolkers, W. F. (2016). Mode of action of cryoprotectants for sperm preservation. *Animal Reproduction Science*, 169, 2–5. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.02.004>.

Silva, E. C., Cajueiro, J. F., Silva, S. V., Soares, P. C., Guerra, M. M. (2012). Effect of antioxidants resveratrol and quercetin on in vitro evaluation of frozen ram sperm. *Theriogenology*, 77(8), 1722–1726. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2011.11.023>.

Silva, E. C., Cajueiro, J. F., Silva, S. V., Vidal, A. H., Soares, P. C., Guerra, M. M. (2012). In vitro evaluation of ram sperm frozen with glycerol, ethylene glycol or acetamide. *Animal Reproduction Science*, 132(3-4), 155–158. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.05.014>.

Soleilhavoup, C., Tsikis, G., Labas, V., Harichaux, G., Kohnke, P. L., Dacheux, J. L., Guérin, Y., Gatti, J. L., de Graaf, S. P., Druart, X. (2014). Ram seminal plasma proteome and its impact on liquid preservation of spermatozoa. *Journal of Proteomics*, 109, 245–260. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.07.007>.

Soltanpour, F. ve Moghaddam, G. (2014). Effect of diluents on storage of ram semen. *Journal of Applied Animal Science*, 2(6), 179–183.

Sonseeda, P., Somtao, S., Laophaiboon, B., Duangjinda, M., Vongpralub, T. (2015). Effects of sericin supplementation on the sperm survival of cooled stored chicken semen. *Khon Kaen Agricultural Journal*, 43(2), 103–106.

Sönmez, M. (2013). *Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama ve Androloji ders notları*. Elazığ. Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi yayınları. İkinci ön basım.

Soylu, M. K., Ak, K., Akçay, E., Baran, A., Evecen, M., Tırpan, M. B. (2023). *Hayvanlarda Reprodüksiyon, Androloji ve Yardımcı Üreme Teknikleri*. Ankara: Reprodüksiyon ve Suni Tohumlama Bilim Derneği. Ankara Nobel Tıp Kitapevleri.

- Steyn, J. J. (2003). Application of artificial insemination (AI) on commercial sheep and goat production. *Proceeding Simpósio Internacional sobre Caprinos e Ovinos de Corte 2*, 367–379.
- Takechi, T., Wada, R., Fukuda, T., Harada, K., Takamura, H. (2014). Antioxidant activities of two sericin proteins extracted from cocoon of silkworm (*Bombyx mori*) measured by DPPH, chemiluminescence, ORAC and ESR methods. *Biomedical Reports*, 2(3), 364–369. <https://doi.org/10.3892/br.2014.244>.
- Tao, G., Cai, R., Wang, Y., Liu, L., Zuo, H., Zhao, P., Umar, A., Mao, C., Xia, Q., He, H. (2019). Bioinspired design of AgNPs embedded silk sericin-based sponges for efficiently combating bacteria and promoting wound healing. *Materials & Design*, 180, 1–14.
- Terada, S., Nishimura, T., Sasaki, M., Yamada, H., Miki, M. (2003). Sericin, a protein derived from silkworms, accelerates the proliferation of several mammalian cell lines including a hybridoma. *Cytotechnology* 40, 3-12.
- Thomas, D. S., Manoharan, C., Rasalkar, S., Mishra, R. K., Gopalapillai, R. (2021). Enhanced antioxidant properties of sericin-cecropin fusion protein against oxidative stress in human adult dermal fibroblasts. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 36(1), 3–12. <https://doi.org/10.1177/0883911520975448>.
- Uçan, U., Küçük, N., Ahmad, E., Naseer, Z., Aksoy, M., Serin, I., Ceylan, A. (2016). Effect of different sugars supplemented to the extender in combination with cholesterol-loaded cyclodextrin (CLC) on post-thaw quality of ram spermatozoa. *Small Ruminant Research*, 136, 243–246. doi:10.1016/j.smallrumres.2016.01.021.
- Vatandoust, S. M., Meftahi, G. H. (2022). The Effect of Sericin on the Cognitive Impairment, Depression, and Anxiety Caused by Learned Helplessness in Male Mice. *Journal of Molecular Neuroscience : MN*, 72(5), 963–974. <https://doi.org/10.1007/s12031-022-01982-3>.
- Visalakshan, R. M., MacGregor, M. N., Sasidharan, S., Ghazaryan, A., Mierczynska-Vasilev, A. M., Morsbach, S., Mailänder, V., Landfester, K., Hayball, J. D., Vasilev, K. (2019). Biomaterial surface hydrophobicity-mediated serum protein adsorption and immune responses. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11(30), 27615–27623.
- Vijyeta, H. P., Kavani, F. S., Vagh, A. A., Solanki, G. B., Vala, K. B., Singh, V. K., Dham, A. J. (2024). Effect of supplementation of antioxidant sericin in semen extender on post-thaw

- sperm quality, oxidative status, and fertility of Jaffarabadi buffalo bull semen. *Indian Journal of Veterinary Science and Biotechnology*, 20(2), 79–84.
- Wang, H. D., Zhong, Z. H., Weng, Y. J., Wei, Z. Z., Zhang, Y. Q. (2021). Degraded Sericin Significantly Regulates Blood Glucose Levels and Improves Impaired Liver Function in T2D Rats by Reducing Oxidative Stress. *Biomolecules*, 11(8), 1255. <https://doi.org/10.3390/biom11081255>.
- Wang, P., He, H., Cai, R., Tao, G., Yang, M., Zuo, H., Umar, A., Wang, Y. (2019). Cross-linking of dialdehyde carboxymethyl cellulose with silk sericin to reinforce sericin film for potential biomedical application. *Carbohydrate Polymers*, 212, 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.069>.
- Wei, Z. Z., Weng, Y. J., Zhang, Y. Q. (2022). Investigation of the Repairing Effect and Mechanism of Oral Degraded Sericin on Liver Injury in Type II Diabetic Rats. *Biomolecules*, 12(3), 444. <https://doi.org/10.3390/biom12030444>.
- Wetzels, A. M. M., Bras, M., Lens, J. W., Piederiet, M. H., Rijnders, P. M., Zeilmaker, G. H. (1996). Laboratory aspects of in vitro fertilization. *Cryopreservation/Theory*, 229–244.
- White, I., G. (1993). Lipids and calcium uptake of sperm in relation to cold shock and preservation: a review. *Reproduction, Fertility, and Development*, 5(6), 639–658. <https://doi.org/10.1071/rd9930639>.
- Yadava, C.L., Saxena, A., Yadav, B., Singh, V., Reddy, A.V.S., Patel, A., Kumar, A., Yadav, S., 2018. Effect of sericin supplementation on the semen quality of cryopreserved Haryana bull semen. *Ruminant Science* 7(1), 93-96.
- Yang, M., Shuai, Y., Zhou, G., Mandal, N., Zhu, L., Mao, C. (2014). Tuning molecular weights of Bombyx mori (B. mori) silk sericin to modify its assembly structures and materials formation. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6(16), 13782–13789. <https://doi.org/10.1021/am503214g>.
- Yangngam, Y., Chapanya, S., Vongpralub, T., Boonkum, W., Chankitisakul, V. (2021). Effect of semen extender supplementation with sericin on post-thaw dairy bull sperm quality and lipid peroxidation. *Czech Journal of Animal Science*, 66(1), 13-20. doi: 10.17221/104/2020-CJAS.

- Yellamma, K. (2014). Silk protein, sericin as a cognitive enhancer in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease & Parkinsonism*, 4, 1–13.
- Yeni, D. (2010). *Koçlarda bazı androlojik parametrelerin ve biyokimyasal özelliklerin mevsimle ilişkisi* (Doktora tezi). Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon.
- Yildiz, C., Ottaviani, P., Law, N., Ayearst, R., Liu, L., McKerlie, C. (2007). Effects of cryopreservation on sperm quality, nuclear DNA integrity, in vitro fertilization, and in vitro embryo development in the mouse. *Reproduction (Cambridge, England)*, 133(3), 585–595. <https://doi.org/10.1530/REP-06-0256>.
- Yu, Y., Xia, W., Zhang, W., Tao, C., Tian, X., Li, M., Zhang, X., Zhang, J., Zhao, S., Qi, Y., Qin, T., Li, J. (2025). Sericin Enhances Cryopreserved Sperm Quality in Chengde Hornless Black Goats by Increasing Glutamine Metabolism. *Animals*, 15(19), 2830. <https://doi.org/10.3390/ani15192830>.
- Zaher, H. A., Alawaash, S. A., Swelum, A. A. (2020). Effects of season and breed on the reproductive performance of sheep. *Journal of Animal Reproduction and Biotechnology*, 35(2), 149–154. <https://doi.org/10.12750/JARB.35.2.149>.
- Zhang Y. Q. (2002). Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. *Biotechnology advances*, 20(2), 91–100. [https://doi.org/10.1016/s0734-9750\(02\)00003-4](https://doi.org/10.1016/s0734-9750(02)00003-4).
- Zhang, D., Chen, Q., Bi, Y., Zhang, H., Chen, M., Wan, J., Shi, C., Zhang, W., Zhang, J., Qiao, Z. (2021). Bio-inspired poly-DL-serine materials resist the foreign-body response. *Nature Communications*, 12, 1–12.
- Zhang, D., Chen, Q., Zhang, W., Liu, H., Wan, J., Qian, Y., Li, B., Tang, S., Liu, Y., Chen, S., Liu, R. (2020). Silk-Inspired β -Peptide Materials Resist Fouling and the Foreign-Body Response. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 59(24), 9586–9593. <https://doi.org/10.1002/anie.202000416>.
- Zhang, H., Yang, M., Min, S., Feng, Q., Gao, X., Zhu, L. (2008). Preparation and characterization of a novel spongy hydrogel from aqueous Bombyx mori sericin. *e-Polymers*, 8, 1–10.
- Zhang, W., Wang, G., Xu, Z. G., Tu, H., Hu, F., Dai, J., Chang, Y., Chen, Y., Lu, Y., Zeng, H., Cai, Z., Han, F., Xu, C., Jin, G., Sun, L., Pan, B. S., Lai, S. W., Hsu, C. C., Xu, J., Chen,

- Z. Z., Lin, H. K. (2019). Lactate Is a Natural Suppressor of RLR Signaling by Targeting MAVS. *Cell*, 178(1), 176–189.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.05.003>.
- Zhang., Wang, X., Jiang, C., Sohail, T., Sun, Y., Sun, X., Wang, J., Li, Y. (2024). Effects of Different Diluents and Freezing Methods on Cryopreservation of Hu Ram Semen. *Veterinary Sciences*, 11(6), 251. <https://doi.org/10.3390/vetsci11060251>.
- Zhaorigetu, S., Sasaki, M., Watanabe, H., Kato, N. (2001). Supplemental silk protein, sericin, suppresses colon tumorigenesis in 1,2-dimethylhydrazine-treated mice by reducing oxidative stress and cell proliferation. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 65(10), 2181-2186.

EKLER

EK 1 :Bilimsel Etik Beyanı

EK 2 : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

EK 3 :Öz Geçmiş

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Koç Spermasının Dondurulmasında Serisin ve Gliserol Kombinasyonunun Çözüm Sonrası Spermatolojik Özellikler Üzerine Etkisi” başlıklı Doktora tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Begimay AYANA

Öğrencinin Adı ve Soyadı

... / ... / ...



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HADYEK)



Aydın 22/06/2023

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2023 Yılı VI. Oturum
Sayı : 64583101/2023/91
Proje Başlığı : Koç Spermasının Dondurulmasında Serisin ve Gliserol Kombinasyonunun Çözüm Sonrası Spermatolojik Özellikler Üzerine Etkisi

Proje : Melih AKSOY
Yürütücüsü

Proje Ekibi : Begimay AYANA

Hayvan Çalışması

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde
İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. Murat SARIERLEN
Başkan

Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Turhan DOST
Üye

Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

Prof. Dr. Serkan BAKIRCI
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAARSLAN
Üye (İzinli)

Dr. Öğr. Üyesi A. Önder
ÜSTÜNDAĞ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ
GÜLTEKİN
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Asude Gülce ORYAŞIN
Sor. Vet. Hek.
Üye

Hüseyin YAMAN
Sor. Vet. Hek. Üye

Öğr. Gör. Dr. Mehmet ÖZTÜRK
AYDIN
Sor. Vet. Hek. Üye

Şenay TEKİNBAŞ
HAYTAP Üye.

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : AYANA Begimay
Uyruk : Türkiye Cumhuriyeti, Kırgızistan Cumhuriyeti.
Doğum yeri ve tarihi : Kırgızistan, Oş / 21.03.1990
Telefon : 0 545 397 52 23
E-posta : begimai.azhibaeva@gmail.com
Yabancı dil : İngilizce, Rusça

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Doktora	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	2026
Y. Lisans	Kırgızistan Türkiye Manas Üniversitesi	2014

BURSLAR ve ÖDÜLLER

KESKİN, N., BUCAK, M, N., BAŞPINAR, N., DURSUN, Ş., İLİ, P., BODU, M., ACİBAEVA, B. (2016). (Bursiyer) Koç spermasının dondurulmasında katkı maddelerinin etkisi. Tübitak. Proje kodu: 1001, Proje No: 114O642.

AKSOY, M., CEYLAN A., UÇAN, U., AYANA, B. (2025). (Bursiyer). Yeni Nesil Antifriz Protein Cpl'nin Koç Spermasının Dondurulmasında Kriyoprotektan Molekül Olarak Kullanılması. Tübitak. Proje No: 219O208.

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan
2016-2018	Kırgızistan Türkiye Manas Üniversitesi	Araş.Gör

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

Bucak, M. N., Bodu, M., Başpınar, N., Güngör, Ş., İli, P., Acibaeva, B., Topraggaleh, T. R., Dursun, Ş. (2019). Influence of Ellagic Acid and Ebselen on Sperm and Oxidative Stress Parameters during Liquid Preservation of Ram Semen. *Cell journal*, 21(1), 7–13. <https://doi.org/10.22074/cellj.2019.5593>.

Aköz, M., Bodu, M., Acibaeva, B. (2015). Koyun ve keçilerde östrus senkronizasyonunda güncel yöntemler. *Türkiye Klinikleri Journal of Reproduction and Artificial Insemination - Special Topics*, 1(2), 1–8.

Akalın, P. P., Başpınar, N., Çoyan, K., Bucak, M. N., Ataman, M. B., Ömür, A. D., Bilgili, A., Güngör, Ş., Sarıözkan, S., Öztürk, C., Bodu, M., Acibaeva, B. (2015). Metiyonin ve Trehaloz İçeren Sulandırıcıların Koç Spermasının Dondurma-Çözdürme Sonrası Sperm Akrozom Bütünlüğü ve Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri. *Bahri Dağdaş Hayvancılık Araştırma Dergisi*, 3(1), 7-15.