

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOÇLARDA BAZI ANDROLOJİKAL PARAMETRELERİN VE  
BİYOKİMYASAL ÖZELLİKLERİN MEVSİMLE İLİŞKİSİ**

**Deniz YENİ**

DÖLERME ve SUN'İ TOHUMLAMA ANABİLİM DALI

(VETERİNER)

**DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

**Doç. Dr. Mustafa GÜNDOĞAN**

Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Komisyonu tarafından 07.VF.06 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 2010-002

**AFYONKARAHİSAR**

**2010**

**KABUL VE ONAY**

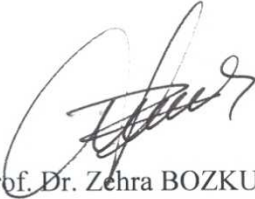
Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı  
Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

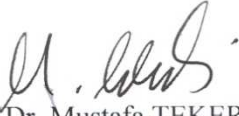
**Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Tez Savunma Tarihi : 26.03.2010

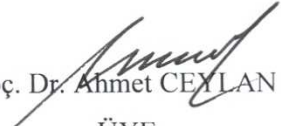
  
Prof. Dr. Melih AKSOY

Jüri Başkanı

  
Prof. Dr. Zehra BOZKURT  
ÜYE

  
Prof. Dr. Mustafa TEKERLİ  
ÜYE

  
Doç. Dr. Mustafa GÜNDOĞAN  
ÜYE

  
Doç. Dr. Ahmet CEYLAN  
ÜYE

Dölerme ve Sun'i Tohumlama Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi Deniz YENİ'nin "Koçlarda Bazı Androlojikal Parametrelerin ve Biyokimyasal Özelliklerin Mevsimle İlişkisi" başlıklı tezi 06/04/2010 günü saat 10.<sup>30</sup>... Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Zehra BOZKURT  
Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Koyunculuk Türkiye’de et, süt ve diğer ürünleriyle halkın beslenmesinde ve geleneksel yaşamında ayrı bir yere sahiptir. Bu hayvancılık alanında elde edilen ürünlere yılın her mevsiminde talep vardır. Turfanda kuzu üretimi ve besisine uygun ağırlık kazancı iyi, hızlı gelişen ve uzun süre sağlanabilen süt verimi yüksek koyun ırk ve tipleri ile bu talep karşılanabilir. Yerli koyun ırklarının bakım ve besleme yetersizliği ve belirli yönlerde ıslah edilmemiş olmaları nedeniyle hayvan başına sağlanan gelir koyun yetiştiricileri açısından tatminkar değildir. Bu verimleri artırmak için Türkiye koşullarına uygun yerli gen kaynaklarına optimal ortamlar sağlayıp gerçek verimlerini ortaya koymak, seleksiyon ve saf yetiştirme ile belirli verim yönlerinde geliştirmek ve yabancı gen kaynakları kullanarak bölge şartlarında en fazla ekonomik kazanç sağlayacak melez genotipleri üretmek hedeflenmelidir.

Çiftlik hayvanlarından elde edilen tüm verimler doğrudan hayvanların dölverimi ile ilgilidir. Bundan dolayı dölverimi hayvansal üretimin temelini oluşturmaktadır. Döl verim özellikleri her ırka özgü olarak tanımlanması, özelliklerin birbirleriyle ve diğer verimlerle ilişkilerinin ortaya konması verimliliği arttırmaktadır. Sürü hayvanı olması nedeniyle koçların dölverimlerinin bilinmesi erkek hayvanların sonraki genetik materyale katkısı bakımından dişilerden daha çok önem taşımaktadır. Bu bağlamda koçların testis, spermatolojik özellikleri, spermatozoon DNA hasarı, kan biyokimyasal özellikleri ve hormonal düzeylerinin bilinmesi dölveriminin daha kolay ve hızlı bir şekilde gelişimine olanak sağlamaktadır.

Bu çalışmada belirlenen hedefler doğrultusunda Pırlak ırkına ait koçların Afyonkarahisar koşullarındaki dölverim özellikleri ve mevsimlerin dölverimi özellikleriyle ilişkileri tanımlanmaya çalışılmıştır. Elde edilen bulguların özellikle Afyonkarahisar ili ve çevresinde yürütülen ıslah çalışmalarına ve biyoteknolojik uygulamalara kaynak oluşturması bakımından damızlık değeri yüksek olan erkek hayvanların belirlenerek daha etkin bir şekilde kullanılması sonucunda daha hızlı bir genetik ilerlemeye sağlayacağı katkı bizleri ancak sevindirecektir.

Tüm akademik yaşamım ve doktora çalışmam süresince tecrübe ve birikimlerini benden esirgemeyen değerli hocam Sayın Doç. Dr. Mustafa GÜNDOĞAN’a şükranlarımı sunarım. Doktoram boyunca birlikte çalışma fırsatı

bulduğum mesai arkadaşım öğretim elemanı Arş. Grv. Fatih AVDATEK'e, Comet Analiz yöntemindeki desteklerinden dolayı Biyokimya Anabilim Dalı öğretim elemanı Dr. A. Fatih FİDAN ve Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ'ye, örneklerin alınması sırasında yardımlarını esirgemeyen Vet. Hek. Özkan FİDAN ve Vet. Hek. Sezer CAN'a, A.K.Ü. Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi idari personeli ve çalışanlarına ve ayrıca bu çalışmayı 07.VF.06 no'lu proje olarak destekleyen A.K.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca bugüne kadar maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen anne ve babama, gösterdikleri sabır ve destek için eşim Aylin BAYLAV YENİ ve kızım Duru YENİ'ye şükranlarımı sunarım.

**İÇİNDEKİLER**

	<b>Sayfa No</b>
<b>KABUL ONAY SAYFASI</b>	<b>II</b>
<b>ÖNSÖZ</b>	<b>III</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>V</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	<b>VIII</b>
<b>ŞEKİLLER</b>	<b>XI</b>
<b>ÇİZELGELER</b>	<b>XII</b>
<b>RESİMLER</b>	<b>XIV</b>
<b>ÖZET</b>	<b>XV</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>XVII</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Morfometrik Testis Ölçümleri	2
1.2. Spermatolojik Özellikler	6
1.3. Biyokimyasal ve Hormonal Özellikler	18
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>22</b>
2.1. Gereç	22
2.2. Yöntem	23
2.2.1. Koçların Bakım ve Beslenmesi	23
2.2.2. Morfometrik Testis Ölçümleri	23
2.2.2.1. Testis Uzunluğu	23
2.2.2.2. Testis Kalınlığı	23
2.2.2.3 Scrotum Çevresi	23
2.2.2.4. Scrotum Kalınlığı	24
2.2.2.5. Relatif Testis Hacmi	24
2.2.3. Sun'i Vagenin Hazırlanması	24
2.2.4. Reaksiyon Süresi	25
2.2.5. Spermanın Alınması	25
2.2.6. Spermanın Muayenesi	25
2.2.6.1. Spermanın Makroskopik Muayenesi	25
2.2.6.1.1. Spermanın Miktarı	25
2.2.6.1.2. Spermanın Viskozitesi	25
2.2.6.1.3. Spermanın pH'sı	25

2.2.6.2. Spermanın Mikroskopik Muayenesi	26
2.2.6.2.1. Spermatozoonların Kitle Hareketi	26
2.2.6.2.2. Spermatozoa Motilitesi	26
2.2.6.2.3. Spermatozoa Yoğunluğu	26
2.2.6.2.4. Ölü Spermatozoa Oranı	27
2.2.6.2.5. Anormal Spermatozoa Oranı	28
2.2.6.2.6. Hipo-ozmotik Şişme Testi (HOS Testi)	28
2.2.7. Spermatozoon DNA Hasarının Belirlenmesi	29
2.2.7.1. Spermanın Yıkanması	30
2.2.7.2. Slaytların Hazırlanması	31
2.2.7.3. Hücre Lizisi	31
2.2.7.4. Slaytların Elektroforezi	31
2.2.7.5. Slaytların Nötralizasyonu	31
2.2.7.6. Slaytların Boyanması	32
2.2.7.7. Slaytların Değerlendirilmesi	32
2.2.8. Kan Örneklerinin Toplanması	33
2.2.9. Biyokimyasal Özellikler	33
2.2.9.1. Total Protein	33
2.2.9.2. Albumin	33
2.2.9.3. Globulin	33
2.2.9.4. A/G Oranı	33
2.2.9.5. Trigliserid	34
2.2.9.6. Kolesterol	34
2.2.9.7. Enzim Aktivitesi	34
2.2.9.7.1. Aspartat aminotransferaz (AST)	34
2.2.9.7.2. Alanin aminotransferaz (ALT)	34
2.2.9.7.3. AST/ALT Oranı	34
2.2.10. Kan Serum Hormon Tayini	34
2.2.10.1. Testosteron	34
2.2.10.2. T <sub>3</sub>	35
2.2.11. İstatistiksel Analiz	35

<b>3. BULGULAR</b>	36
3.1. İklimsel Veriler	36
3.2. Morfometrik Testis Ölçümleri	36
3.3. Spermatolojik Özellikler	41
3.4. Biyokimyasal Özellikler	51
3.5. Hormonal Özellikler	57
3.6. Korelasyon Bulguları	60
<b>4. TARTIŞMA</b>	68
<b>5. SONUÇ</b>	86
<b>6. KAYNAKLAR</b>	87

**SİMGELER VE KISALTMALAR**

$\pm$	Artı-eksi
>	Büyüktür
°	Derece
<	Küçüktür
°C	Santigrat Derece
%	Yüzde
<b>ALT</b>	Alanin aminotransferaz
<b>AST</b>	Aspartat aminotransferaz
<b>ark.</b>	Arkadaşları
<b>AU</b>	Arbitrary Unit
<b>Ca<sup>+2</sup></b>	Kalsiyum iyonu
<b>cm</b>	Santimetre
<b>cm<sup>3</sup></b>	Santimetre küp
<b>COMET</b>	Tek hücre jel elektroforez yöntemi
<b>dk</b>	Dakika
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>DTT</b>	Dithiothreitol
<b>EDTA</b>	Etilen diamin tetraasetik asid
<b>ELISA</b>	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
<b>g</b>	Gram
<b>Gy</b>	Gray
<b>HCl</b>	Hidroklorik asit
<b>HOS</b>	Hipo-ozmotik şişme
<b>kg</b>	Kilogram
<b>LDL</b>	Düşük dansiteli lipoprotein



<b>LMA</b>	Düşük kaynama dereceli agaroz
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	Potasyum fosfat
<b>ml</b>	Mililitre
<b>mOsm</b>	Miliozmol
<b>mM</b>	milimolar
<b>µl</b>	mikrolitre
<b>Mg<sup>+2</sup></b>	Magnezyum iyonu
<b>NaCl</b>	Sodyum klorür
<b>NaOH</b>	Sodyum hidroksit
<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	Sodyum fosfat
<b>NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O</b>	Sodyum sitrat
<b>NMA</b>	Normal kaynama dereceli agaroz
<b>P</b>	Probability
<b>PBS</b>	Fosfat tamponlu tuz
<b>rT3</b>	Revers triiodothyronine
<b>RIA</b>	Radioimmunoassay
<b>RNA</b>	Ribonükleik asit
<b>ROS</b>	Reaktif oksijen türleri
<b>RPM</b>	Revolutions Per Minute
<b>s</b>	Saniye, second
<b>SCD</b>	Sperm chromatin dispersion
<b>SCSA</b>	Sperm chromatin structure assay
<b>S.E.M.</b>	Standart hata
<b>T<sub>3</sub></b>	Triiodothyronine
<b>T<sub>4</sub></b>	Thyroxine

<b>TSH</b>	Tiroid stimulating hormon
<b>TUNEL</b>	TdT-mediated dUTP nick end labeling
<b>VLDL</b>	Çok düşük dansiteli lipoprotein

## ŞEKİLLER

	Sayfa No
Şekil 1. SCGE Yönteminin Genel Aşamaları	30
Şekil 2. Koçların Aylara Göre Ortalama Sağ ve Sol Testis Uzunlukları	39
Şekil 3. Koçların Aylara Göre Ortalama Sağ ve Sol Testis Kalınlıkları	39
Şekil 4. Koçların Aylara Göre Ortalama Scrotum Çevreleri	40
Şekil 5. Koçların Aylara Göre Ortalama Scrotum Kalınlıkları	40
Şekil 6. Koçların Aylara Göre Ortalama Relatif Testis Hacimleri	41
Şekil 7. Koçların Aylara Göre Ortalama Reaksiyon Süreleri	43
Şekil 8. Koçların Aylara Göre Ortalama Sperma Miktarları	43
Şekil 9. Koçların Aylara Göre Ortalama Sperma Viskoziteleri	44
Şekil 10. Koçların Aylara Göre Ortalama Sperma pH'ları	44
Şekil 11. Koçların Aylara Göre Ortalama Spermatozoon Kitle Hareketleri	46
Şekil 12. Koçların Aylara Göre Ortalama Spermatozoon Motiliteleri	46
Şekil 13. Koçların Aylara Göre Ortalama Spermatozoon Yoğunlukları	47
Şekil 14. Koçların Aylara Göre Ortalama Ölü Spermatozoon Oranları	47
Şekil 15. Koçların Aylara Göre Ortalama Anormal Spermatozoon Oranı	48
Şekil 16. Koçların Aylara Göre Ortalama Spermatozoon HOS Testi Oranları	49
Şekil 17. Koçların Aylara Göre Ortalama Spermatozoon DNA Hasarları	50
Şekil 18. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumunda Total Protein Miktarları	53
Şekil 19. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumunda Albumin Miktarları	53
Şekil 20. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumunda Globulin Miktarları	54
Şekil 21. Koçların Aylara Göre Ortalama A/G Oranları	54
Şekil 22. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumunda Trigliserid Miktarları	55
Şekil 23. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumunda Kolesterol Miktarları	55
Şekil 24. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumunda AST Miktarları	56
Şekil 25. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumunda ALT Miktarları	56
Şekil 26. Koçların Aylara Göre Ortalama AST/ALT Oranları	57
Şekil 27. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumunda Testosteron Miktarları	59
Şekil 28. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumunda T <sub>3</sub> Miktarları	59

**ÇİZELGELER**

	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 1. Afyonkarahisar ili 2008 yılı meteorolojik verilerinin aylık ortalamaları	36
Çizelge 2. Araştırmada kullanılan koçların aylara göre tespit edilen morfometrik testis ölçümlerine ait ortalama değerler (Ortalama $\pm$ S.E.M.) (n:10)	38
Çizelge 3. Araştırmada kullanılan koçların 1 yıl boyunca aylara göre tespit edilen reaksiyon süreleri ile spermanın makroskopik bulgularına ait ortalama değerler (Ortalama $\pm$ S.E.M. (n: 10)	42
Çizelge 4. Araştırmada kullanılan koçların 1 yıl boyunca aylara göre tespit edilen spermatozonların mikroskopik bulgularına ait ortalama değerler (Ortalama $\pm$ S.E.M.) (n: 10)	45
Çizelge 5. Araştırmada kullanılan koçların aylara göre tespit edilen kan serumu biyokimyasal özelliklerine ait ortalama değerler (Ortalama $\pm$ S.E.M.) ( n : 10)	52
Çizelge 6. Araştırmada kullanılan koçların aylara göre tespit edilen kan serumu Testosteron ve T <sub>3</sub> miktarlarına ait ortalama değerler (Ortalama $\pm$ S.E.M.) ( n : 10)	58
Çizelge 7. Araştırma süresince koçların morfometrik testis ölçümleri arasındaki korelasyon bulguları	62
Çizelge 8. Araştırma süresince koçların spermatolojik özellikleri arasındaki korelasyon bulguları	63
Çizelge 9. Araştırma süresince koçların kan serumu biyokimyasal özellikleri ve hormon miktarları arasındaki korelasyon bulguları	64
Çizelge 10. Araştırma süresince koçların morfometrik testis ölçümleri ile spermatolojik özellikleri arasındaki korelasyon bulguları	65

- Çizelge 11. Araştırma süresince koçların morfometrik testis ölçümleri ile kan serumu biyokimyasal özellikleri ve hormon miktarları arasındaki korelasyon bulguları 66
- Çizelge12. Araştırma süresince koçların kan serumu biyokimyasal özellikleri ve hormon miktarları ile spermatolojik özellikleri arasındaki korelasyon bulguları 67

**RESİMLER**

	<b>Sayfa No</b>
Resim 1. Araştırmanın yapıldığı merkez ve koçların genel görünümü	22
Resim 2. Görsel skorlama tekniği ile hücrelerin sınıflandırılması	32
Resim 3. Koçların spermalarında gözlenen bazı anormal morfolojili spermatozoonlar	48
Resim 4. Spermatozoonlarda HOS testi sonucunda gözlenen şişme ve kıvrılmalar	49
Resim 5. Araştırma sonucunda gözlenen spermatozoon DNA hasarları	50

## ÖZET

### **Koçlarda Bazı Androlojik Parametrelerin ve Biyokimyasal Özelliklerin Mevsimle İlişkisi**

Afyonkarahisar koşullarında yetiştirilen yaşları ortalama 18-20 ay arasındaki Pırlak ırkına ait toplam 10 koç üzerinde bazı androlojik, biyokimyasal ve hormonal özelliklerdeki mevsimsel değişimlerin araştırılması amacıyla yapılan bu çalışmada 1 yıl süre ile morfometrik testis ölçümleri, spermatolojik özellikler, spermatozoa DNA hasarı, kan biyokimyasal özellikleri ve hormonal düzeyleri ile birlikte iklimsel veriler aylık olarak değerlendirilmiştir.

Morfometrik testis ölçümleri ile ilgili olarak testis uzunluğu ve kalınlığı, scrotum çevresi ve kalınlığı ile relatif testis hacmi tüm koçlar için yıl boyunca ortalama sırasıyla  $9.07 \pm 0.10$  cm,  $6.18 \pm 0.07$  cm,  $31.45 \pm 0.29$  cm,  $0.42 \pm 0.01$  cm ve  $10.97 \pm 0.22$  ml/kg olarak bulunmuş ve koçların reaksiyon süreleri yıl boyunca ortalama  $8.65 \pm 0.25$  sn olmuştur. Spermatolojik özelliklerden spermanın miktarı, viskozitesi ve pH'sı ile spermatozoitlerin kitle hareketleri, motiliteleri ve yoğunlukları ortalama yıl boyunca sırasıyla  $1.06 \pm 0.03$  ml,  $3.78 \pm 0.07$ ,  $6.63 \pm 0.04$ ,  $3.67 \pm 0.08$ , %  $77.67 \pm 0.77$  ve  $3.59 \pm 0.08 \times 10^9$ /ml olarak bulunmuştur. Anormal ve ölü spermatozoa oranları ile HOST değerleri ise sırasıyla ortalama yıl boyunca %  $6.52 \pm 0.19$ , %  $10.39 \pm 0.30$  ve %  $66.34 \pm 0.81$  olarak bulunmuş ve koçlar arası fark gözlenmemiştir. Bunun yanında DNA hasar düzeyleri yıl boyunca ortalama  $30.15 \pm 1.17$  AU olarak bulunmuştur. Koçların yıl boyu testosteron ve  $T_3$  düzeyleri ise  $3.94 \pm 0.09$  g/dL ve  $1.05 \pm 0.07$  g/dL olarak tespit edilmiştir. Bunun yanında yıl boyunca koçların kan serumlarındaki total protein, albumin, globulin, A/G oranları, trigliserid, kolesterol, AST, ALT ve AST/ALT oranlarına ait ortalama değerler sırasıyla  $7.74 \pm 0.10$  g/dL,  $47.81 \pm 0.97$  mg/dL,  $21.02 \pm 0.82$  mg/dL,  $92.20 \pm 1.66$  U/L,  $21.82 \pm 0.43$  U/L,  $4.31 \pm 0.07$  ve  $3.80 \pm 0.07$  g/dL olarak bulunmuştur. Değerlendirilen bütün parametrelerde aylık olarak değişimler gözlenmiş olup koçların morfometrik testis ölçümleri Ağustos ile Ekim ayları arasındaki dönemde diğer aylara göre önemli düzeyde ( $p < 0.05$ ) yüksek bulunurken Ocak ile Nisan ayları arasındaki dönemde en düşük değerler elde edilmiştir. Bununla beraber koçların scrotum kalınlıkları ve reaksiyon süreleri ile ilgili değerlerdeki değişimlerde fark gözlenmemiştir.

Spermatolojik özelliklerden sperma miktarları ile spermatozoitlerin kitle hareketi, motilite ve yoğunluk değerleri Ağustos ile Ekim ayları arasındaki dönemde ve HOST için ise yalnız Kasım ayında en yüksek değerler elde edilmiştir ( $p<0.05$ ). Bununla beraber anormal ve ölü spermatozoa oranları Eylül ve Ekim aylarında diğer aylara göre önemli düzeyde ( $p<0.05$ ) düşük bulunmuştur. Spermatozoa DNA hasarı yönünden en düşük değerler Ekim ayında elde edilmiştir. Kan serumu testosteron düzeyleri de Eylül ve Ekim aylarında diğer aylara göre önemli düzeyde ( $p<0.05$ ) yüksek bulunurken triiodotironin düzeylerinin en düşük değerleri Ağustos, Kasım ve Aralık aylarında tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Total protein, albumin, globulin miktarları Kasım ayında önemli düzeyde ( $p<0.05$ ) yüksek bulunurken trigliserid miktarları Kasım ayında en düşük düzeyde tespit edilmiştir. Bunun yanında AST ve ALT aktivitesi ise Aralık ve Ocak aylarında, diğer aylara göre önemli düzeyde ( $p<0.05$ ) yüksek gözlenmiştir. Bununla birlikte spermatolojik özelliklerin kendi aralarında korelasyonlar tespit edilmiş olup özellikle spermatozoa DNA hasarı ile sperma miktarı ( $r: 0.18$ ) ve anormal spermatozoa oranı ( $r: 0.30$ ) arasında pozitif yöndeki, sperma viskozitesi ( $r: -0.32$ ) ile negatif yöndeki ilişkiler ( $p<0.01$ ) önemli bulunmuştur. Ayrıca morfometrik testis ölçümleri, spermatolojik özellikler ve kan serumu biyokimyasal özellikler arasında da önemli düzeyde korelasyonlar tespit edilmiştir.

Sonuç olarak Pırlak ırkı koçlarda morfometrik testis ölçümleri, spermatolojik özellikler, kan biyokimyasal ve hormonal özelliklerdeki aylık değişimlerin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen bulguların optimal sınırlar içerisinde olduğu ve bu özelliklerin aylardan dolayısıyla mevsimlerden önemli düzeyde etkilendiği, istenilen değerlerin elde edildiği aşım sezonunun Ağustos ayının ikinci yarısından itibaren Kasım ayı ortalarına kadar devam ettiği ve morfometrik testis ölçümleri ile spermatolojik özellikler arasındaki korelasyon bulgularının damızlık seçiminde yararlı olabileceği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Androloji, DNA hasarı, Kan serumu, Koç, Mevsim



## SUMMARY

### **Some Andrological Parameters and Biochemical Properties in Relation to Season in Rams**

Averagely 18-20 months aged ten rams were used to evaluate the seasonal changes in certain andrological and hormonal parameters and blood biochemical properties under Afyonkarahisar condition. Testicle morphometric measurements, semen characteristics, spermatozoon DNA damage, blood biochemical properties and blood hormonal levels were monthly assessed together with climatic data.

The length and thickness of testes about morphometric measurement of testes, the circumference of scrotum, relative testes volume for all the rams were found averagely  $9.07 \pm 0.10$  cm,  $6.18 \pm 0.07$  cm,  $31.45 \pm 0.29$  cm,  $0.42 \pm 0.01$  cm and  $10.97 \pm 0.22$  ml/kg respectively and the reaction times of the rams were averagely  $8.65 \pm 0.25$  s all year long. As to spermatological features the volume, viscosity, pH and mass activity, motility and density of semen were found averagely  $1.06 \pm 0.03$  ml,  $3.78 \pm 0.07$ ,  $6.63 \pm 0.04$ ,  $3.67 \pm 0.08$ ,  $77.67 \pm 0.77\%$  and  $3.59 \pm 0.08 \times 10^9$ /ml respectively all year long. Abnormal and dead sperm rates and HOST values were found averagely  $6.52 \pm 0.19\%$ ,  $10.39 \pm 0.30\%$  and  $66.34 \pm 0.81\%$  respectively and it wasn't observed any difference between the rams. However, the DNA damage was obtained as  $30.15 \pm 1.17$  AU during a whole year. Testosterone and  $T_3$  levels of the rams were determined as  $3.94 \pm 0.09$  g/dL and  $1.05 \pm 0.07$  g/dL all year long. However, total protein, albumin, globulin, A/G ratios, triglyceride, cholesterol, AST, ALT and AST/ALT ratios in the blood sera of the rams were found averagely  $7.74 \pm 0.10$  g/dL,  $47.81 \pm 0.97$  mg/dL,  $21.02 \pm 0.82$  mg/dL,  $92.20 \pm 1.66$  U/L,  $21.82 \pm 0.43$  U/L,  $4.31 \pm 0.07$  and  $3.80 \pm 0.07$  g/dL respectively. Monthly changes were determined in all evaluated parameters. While the morphometric testes measurements of the rams were high degree significant ( $p < 0.05$ ) in the period between August and October according to other months, the lowest values were obtained in the period between January and April. However, it wasn't observed any difference in the changes of the values about scrotum thickness and reaction times of the rams. The highest values of volume, mass activity, motility and density levels, as to the spermatological features were obtained in the period between August and October and the highest values only HOST were obtained November ( $p < 0.05$ ). Nevertheless, abnormal and dead sperm

ratios were found to be significantly lower ( $p < 0.05$ ) in September and October than the other months. Blood sera levels were found to be significantly high in September and October according to the other months, too. The lowest values of triiodothyronine levels were found in August, November and December ( $p < 0.05$ ). While total protein, albumin, globulin volumes were found to be significantly high ( $p < 0.05$ ) in November, triglyceride volumes were obtained at the lowest level in November. However, AST and ALT activity were found to be significantly high ( $p < 0.05$ ) in December and January. Nevertheless, the correlations were obtained between spermatological features on their own. Especially, the positive relationships between sperm DNA damage, sperm volume ( $r: 0.18$ ) and abnormal sperm ratio ( $r: 0.30$ ), the negative relationships between sperm DNA damage and semen viscosity ( $r: -0.32$ ) were found to be significant ( $p < 0.01$ ). Moreover the significant correlations were obtained between morphometric testes measurements, spermatological features and blood sera biochemical properties.

In this study, morphometric measurements of testes, spermatological features, blood biochemical and hormonal properties were investigated. The desired values were reached from mid August to mid November. It was concluded that the correlations between the morphometric testes measurements and spermatological features may be used in selection of stud rams.

**Key Words:** Andrology, DNA damage, Blood Sera, Ram, Season

## 1. GİRİŞ

Koyun sayısının ülkemizde toplam memeli hayvan sayısı içerisindeki payı 2008 yılı sonu itibarıyla % 58.43'tür. Ancak ülkemizdeki koyun sayısı giderek azalan bir ivme göstermektedir. Bir önceki yıla göre koyun sayısı 2008 yılında % 5.84 oranında azalma göstermiş ve buna paralel olarak et üretiminde % 17.69, süt üretiminde % 4.66, yapağı üretiminde % 5.53 ve deri üretiminde ise % 12.11 oranlarında düşüşler kaydedilmiştir. Türkiye'deki koyun sayısı da 1991-2008 döneminde % 40.7 oranında azalarak 40.432.340 baştan 23.974.591 başa gerilemiştir (1).

Koyun yetiştiriciliği, tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi Türkiye'de de hayvancılık sektörünün temel alanlarından biridir. Ülkemiz sosyo-ekonomik yapı ve ekonomik şartlar gereği başta Doğu, Güneydoğu ve İç Anadolu bölgeleri olmak üzere koyun yetiştiriciliği önemli bir yere sahiptir.

Koyun yetiştiriciliğinde et, süt, yapağı gibi verimler ülke ekonomisi için büyük katkılar sağlamakla birlikte en önemli verim dölverimidir. Yavru verimi alınamayan hayvanlardan diğer verimlerin alınması söz konusu değildir. Bu nedenle koyun yetiştiriciliğinde yetiştirme yönüne bakılmaksızın hedef, fizyolojik sınırlar içinde en yüksek dölverimini elde etmektir. Dölverimi düşük olan çiftlik hayvanlarından yüksek verimli yavrular elde edilemeyeceği gibi dölverimi çevresel faktörler tarafından olumsuz olarak etkilenmiş hayvanlardan da istenen düzeyde dölverimi elde etmek olanaksızdır.

Sürüler halinde yetiştirilen koyunlarda bireysel infertilite veya sterilite çok fazla önem taşımazken sürüdeki koçların dölverim özellikleri sürü fertilitesi için çok büyük bir önem arz etmektedir.

Koyunlar mevsimsel poliöstrik hayvanlar olup koyunlarda reproduksiyonu etkileyen en önemli faktör mevsimdir. Mevsim ise temelde gün ışığı süresi ile ilişkilidir. Koyunlarda hem Güney hem de Kuzey yarımkürede günlerin kısaltmaya başladığı mevsimlerde üreme aktiviteleri başlar. Bu özellik laktasyondaki annenin ve yavrusunun yaşamını güvence altına almak amacıyla doğumun gün uzunluğunun ve yem temininin arttığı ilkbahar ve yaz mevsimi başında meydana gelmesini sağlamaktadır (2).

Koçların gün ışığına olan hassasiyetleri koyunlardan farklıdır. Bazı ırk koçlarda seksüel aktivite yılboyu devam etmekle birlikte koyunlarda siklik aktivite başladığında koçların seksüel aktivitesinin yüksek olmasını gerektirir. Büyük çaplı follükülerin varlığı nedeniyle anöstrüsteki koyunlar hormonal stimulasyondan sonraki birkaç gün içerisinde ovulasyon gösterebilirken, koçlar spermatogenesisin tamamlanması için yaklaşık 45 güne ihtiyaç duyarlar (3).

Koyunlarda olduğu gibi koçlarda da reproduktif kapasite mevsime bağlı olarak değişmektedir. Dişilere göre koçlarda mevsimsel değişimlerin etkilerini ölçmek daha az zaman gerektirir. Çünkü spermatozoa üretimi, ovum üretiminden farklı olarak devamlıdır. Testis hacmi ve günlük spermatozoa üretimi arasında oldukça yüksek bir korelasyon mevcuttur. Bu nedenle testis hacmi reproduktif kapasitedeki değişimlerin belirlenmesinde oldukça önemli bir belirleyici olarak kullanılabilir (4).

Ekvator dışındaki bölgelerde pek çok türde insan (5, 6), teke (7-10), aygır (11, 12), boğa (13, 14), manda (15, 16), fil (17), ayı (18) v.b. spermatogenesis gün ışığındaki değişimlere bağlı olarak mevsim tarafından kontrol edilmektedir.

Koçlarda reproduksiyonu etkileyen faktörlerin başında çevre sıcaklığı, gün ışığı süresindeki değişimler, nemlilik, bakım ve beslenme şartları ve sosyal etkileşimler gibi faktörler gelmektedir (19).

Koçlarda dölverimini etkileyen faktörlerin pek çok çalışmada belirlenmiş olmasına rağmen tüm faktörler açıkça ortaya konamamıştır. Özellikle çevre faktörlerinin ne ölçüde etkili olduğunu ortaya konulabilmesi için pek çok çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu amaçla özellikle spermatozoon membran bütünlüğünün ve DNA hasarının belirlenmesiyle bu faktörlerin ne derece etkili olacağını ortaya konulmasıyla ilgili çalışmaların yapılmasında yarar vardır.

### **1.1. Morfometrik Testis Ölçümleri**

Koçların genetik yapılarını taşıyan spermatozoonların üretim aşamasından kapasite olabilecek aşamaya kadar geçen süreç testislerde gerçekleşmektedir. Koçların testislerinde meydana gelen morfolojik veya fizyolojik üreme bozuklukları, bu koçların kullanıldığı sürünün dölverimlerini önemli ölçüde etkileyebilmektedir.

Bundan dolayı aşım sezonunda veya öncesinde, sürülerin tohumlamasında kullanılacak koçlardan kaynaklanabilecek sorunların çözümü için koçların testis ve spermatolojik özelliklerinin önceden belirlenmesi önemlidir.

Testisin morfometrik özelliklerin kolayca ve erken yaşta ölçülebilir olması ve bu özelliklere ait kalıtım derecelerinin orta-yüksek düzeyde olması, pratikte dölveriminin iyileştirilmesine yönelik seleksiyon çalışmalarına yeni bir boyut kazandırmaktadır (20-22).

Gündoğan ve ark. (23) Dağlıç koçlarda sağ ve sol testis uzunluklarını sırasıyla aşım mevsimi öncesinde  $10.4 \pm 0.20$  cm ve  $10.5 \pm 0.19$  cm, esnasında  $10.7 \pm 0.14$  cm ve  $10.7 \pm 0.16$  cm ve sonrasında  $10.5 \pm 0.13$  cm ve  $10.5 \pm 0.05$  cm, İvesi koçlarda aşım mevsimi öncesinde  $10.5 \pm 0.07$  cm ve  $10.3 \pm 0.09$  cm, esnasında  $10.8 \pm 0.09$  cm ve  $10.9 \pm 0.12$  cm ve sonrasında  $10.6 \pm 0.18$  cm ve  $10.5 \pm 0.18$  cm, Sakız koçlarda aşım mevsimi öncesinde  $10.3 \pm 0.09$  cm ve  $10.5 \pm 0.16$  cm, esnasında  $11.0 \pm 0.14$  cm ve  $11.2 \pm 0.12$  cm ve sonrasında  $10.8 \pm 0.11$  cm ve  $10.8 \pm 0.21$  cm ve Akkaraman koçlarda aşım mevsimi öncesinde  $9.7 \pm 0.09$  cm ve  $9.9 \pm 0.16$  cm, esnasında  $10.0 \pm 0.13$  cm ve  $10.2 \pm 0.14$  cm ve sonrasında  $9.8 \pm 0.16$  cm ve  $10.0 \pm 0.11$  cm olarak bildirmişlerdir.

Aksoy ve ark. (24)'nin aşım mevsimi içinde Merinos koçlarda testis hacimlerine göre ayırdıkları  $300-500$  cm<sup>3</sup>,  $500-700$  cm<sup>3</sup> ve  $700-900$  cm<sup>3</sup> gruplarda sırasıyla sağ ve sol testis uzunluklarını  $8.70$  cm ve  $8.30$  cm,  $10.70$  cm ve  $10.20$  cm,  $10.50$  cm ve  $10.13$  cm olarak bildirmişlerdir.

Aral ve Tekin (25) aşım mevsimi dışında sağ ve sol testis uzunluklarını sırasıyla Akkaraman koçlarda  $11.19 \pm 0.39$  cm ve  $11.05 \pm 0.3$  cm, İvesi koçlarda  $11.31 \pm 0.38$  cm ve  $11.29 \pm 0.3$  cm ve Merinos koçlarda  $12.54 \pm 0.39$  cm ve  $12.36 \pm 0.3$  cm, aşım mevsimi içinde Akkaraman koçlarda  $14.42 \pm 0.49$  cm ve  $14.38 \pm 0.51$  cm, İvesi koçlarda  $13.62 \pm 0.52$  cm ve  $13.44 \pm 0.53$  cm ve Merinos koçlarda  $14.53 \pm 0.47$  cm ve  $14.46 \pm 0.49$  cm olarak bildirmişlerdir.

Gündoğan ve ark. (23) Dağlıç koçlarda sağ ve sol testis kalınlıklarını sırasıyla aşım mevsimi öncesinde  $6.2 \pm 0.14$  cm ve  $6.2 \pm 0.193$  cm, esnasında  $6.6 \pm 0.11$  cm ve  $6.6 \pm 0.11$  cm ve sonrasında  $6.4 \pm 0.13$  cm ve  $6.4 \pm 0.11$  cm, İvesi koçlarda aşım mevsimi öncesinde  $6.7 \pm 0.12$  cm ve  $6.5 \pm 0.10$  cm, esnasında  $7.0 \pm 0.15$  cm ve  $7.0 \pm 0.14$  cm ve sonrasında  $6.8 \pm 0.11$  cm ve  $6.6 \pm 0.14$  cm, Sakız koçlarda aşım mevsimi

öncesinde  $6.8 \pm 0.06$  cm ve  $7.1 \pm 0.09$  cm, esnasında  $7.2 \pm 0.08$  cm ve  $7.3 \pm 0.12$  cm ve sonrasında  $7.0 \pm 0.14$  cm ve  $7.2 \pm 0.13$  cm ve Akkaraman koçlarda aşım mevsimi öncesinde  $6.3 \pm 0.11$  cm ve  $6.2 \pm 0.03$  cm, esnasında  $6.6 \pm 0.16$  cm ve  $6.6 \pm 0.14$  cm ve sonrasında  $6.5 \pm 0.11$  cm ve  $6.4 \pm 0.13$  cm olarak bildirmişlerdir.

Aksoy ve ark. (24) aşım mevsimi içinde Merinos koçlarda testis hacimlerine göre ayırdıkları  $300-500$  cm<sup>3</sup>,  $500-700$  cm<sup>3</sup> ve  $700-900$  cm<sup>3</sup> gruplarda sırasıyla sağ ve sol testis kalınlıklarını  $4.75$  cm ve  $4.58$  cm,  $5.70$  cm ve  $5.60$  cm,  $6.30$  cm ve  $6.13$  cm olarak belirtmektedirler.

Aral ve Tekin (25) aşım mevsimi dışında sağ ve sol testis kalınlıklarını sırasıyla Akkaraman koçlarda  $5.24 \pm 0.1$  cm ve  $5.37 \pm 0.1$  cm, İvesi koçlarda  $5.16 \pm 0.1$  cm ve  $5.15 \pm 0.1$  cm ve Merinos koçlarda  $5.21 \pm 0.1$  cm ve  $5.23 \pm 0.1$  cm, aşım mevsimi içinde Akkaraman koçlarda  $6.57 \pm 0.26$  cm ve  $6.72 \pm 0.25$  cm, İvesi koçlarda  $6.17 \pm 0.28$  cm ve  $6.04 \pm 0.26$  cm ve Merinos koçlarda  $6.11 \pm 0.25$  cm ve  $6.14 \pm 0.24$  cm olarak bildirmişlerdir.

Gündoğan ve ark. (23) Dağlıç koçlarda scrotum çevresini aşım mevsim öncesinde  $30.8 \pm 0.36$  cm, esnasında  $31.6 \pm 0.36$  cm ve sonrasında  $30.4 \pm 0.21$  cm, İvesi koçlarda aşım mevsimi öncesinde  $31.8 \pm 0.43$  cm, esnasında  $32.5 \pm 0.11$  cm ve sonrasında  $32.1 \pm 0.16$  cm, Sakız koçlarda aşım mevsimi öncesinde  $32.1 \pm 0.24$  cm, esnasında  $31.7 \pm 0.13$  cm ve sonrasında  $31.3 \pm 0.18$  cm ve Akkaraman koçlarda aşım mevsimi öncesinde  $30.7 \pm 0.14$  cm, esnasında  $31.3 \pm 0.14$  cm ve sonrasında  $31.0 \pm 0.14$  cm olarak kaydetmişlerdir.

Aguirre ve ark. (26)'nın Pelibuey koçlarda yıl boyu yaptıkları çalışmada testis çevresini sperma alma sıklığının yüksek olduğu hayvanlarda kısa günlerde  $30.90 \pm 0.12$  cm uzun günlerde ise  $29.59 \pm 0.32$  cm, sperma alma sıklığının az olduğu hayvanlarda kısa günlerde  $30.67 \pm 0.29$  cm uzun günlerde ise  $28.59 \pm 0.37$  cm olarak bildirmişlerdir.

Kafi ve ark. (27) Persian Karakul koçlarda yıl boyu yaptıkları çalışmada scrotum çevresini kış mevsiminde  $31.1 \pm 1.6$  cm, ilkbahar mevsiminde  $31.9 \pm 1.2$  cm, yaz mevsiminde  $32.5 \pm 1.0$  cm ve sonbahar'da  $33.3 \pm 1.4$  cm olarak belirlemişlerdir.

Zamiri ve Khodaei (28)'nin Ghezel and Mehraban koçlarda yıl boyu yaptıkları çalışmada scrotum çevresini sırasıyla  $36.75 \pm 0.21$  cm ve  $34.97 \pm 0.19$  cm olarak bildirmişlerdir.

Gündoğan ve ark. (23) Dağlıç koçlarda scrotum kalınlığının aşım mevsimi öncesinde  $0.4 \pm 0.04$  cm, esnasında  $0.5 \pm 0.02$  cm ve sonrasında  $0.5 \pm 0.01$  cm, İvesi koçlarda aşım mevsimi öncesinde  $0.5 \pm 0.04$  cm, esnasında  $0.5 \pm 0.01$  cm ve sonrasında  $0.6 \pm 0.01$  cm, Sakız koçlarda aşım mevsimi öncesinde  $0.6 \pm 0.02$  cm, esnasında  $0.5 \pm 0.01$  cm ve sonrasında  $0.6 \pm 0.02$  cm ve Akkaraman koçlarda aşım mevsimi öncesinde  $0.7 \pm 0.02$  cm, esnasında  $0.6 \pm 0.01$  cm ve sonrasında  $0.7 \pm 0.01$  cm olarak belirlemişlerdir.

Aral ve Tekin (25) aşım mevsimi dışında scrotum kalınlıklarını sırasıyla Akkaraman koçlarda  $0.80 \pm 0.18$  cm, İvesi koçlarda  $0.80 \pm 0.18$  cm ve Merinos koçlarda  $0.85 \pm 0.18$  cm, aşım mevsimi içinde Akkaraman koçlarda  $0.73 \pm 0.04$  cm, İvesi koçlarda  $0.66 \pm 0.04$  cm ve Merinos koçlarda  $0.73 \pm 0.04$  cm olarak bildirmişlerdir.

Gündoğan ve Serteser (29) aşım mevsiminde Akkaraman ve İvesi koçlarda yaptıkları çalışmada relatif testis hacmini sırasıyla  $10.6 \pm 0.34$  ml/kg ve  $10.9 \pm 0.32$  ml/kg olarak kaydetmişlerdir.

Taha ve ark. (30) koçlarda yıl boyunca aylık relatif testis hacimlerini Ocak ayında  $9.76 \pm 0.56$  cm<sup>3</sup>/kg, Şubat ayında  $10.11 \pm 0.45$  cm<sup>3</sup>/kg, Mart ayında  $10.97 \pm 0.40$  cm<sup>3</sup>/kg, Nisan ayında  $10.12 \pm 0.29$  cm<sup>3</sup>/kg, Mayıs ayında  $11.16 \pm 0.57$  cm<sup>3</sup>/kg, Haziran ayında  $11.70 \pm 0.38$  cm<sup>3</sup>/kg, Temmuz ayında  $11.46 \pm 0.48$  cm<sup>3</sup>/kg, Ağustos ayında  $11.59 \pm 0.59$  cm<sup>3</sup>/kg, Eylül ayında  $11.59 \pm 0.37$  cm<sup>3</sup>/kg, Ekim ayında  $11.42 \pm 0.47$  cm<sup>3</sup>/kg, Kasım ayında  $10.47 \pm 0.46$  cm<sup>3</sup>/kg ve Aralık ayında  $10.60 \pm 0.50$  cm<sup>3</sup>/kg olarak bildirmişlerdir.

Ley ve ark. (31) Dorset ırkı koçların scrotum çevresi değişimini Hampshire ve Suffolk koçlardan daha önemli ( $p < 0.01$ ) ve bu farklılıkta koçların yaş ve canlı ağırlıklarının etkisinin de olduğuna dikkat çekmişlerdir.

Gündoğan ve Demirci (32) aynı yaş ve bakım besleme şartları altında tutulan ve yıl boyu sperma aldıkları Akkaraman ve İvesi koçlarda relatif testis hacmi arasındaki farkın önemli ( $p < 0.05$ ) olduğunu belirtmektedirler.

Nowakowski ve Cwikla (33) Merinos koçlarda testislerin morfometrik ölçülerinin mevsimsel farklılıklar gösterdiğini ve en yüksek reprodüktif performansın yaz sonlarında ve sonbahar aylarında, en düşük reprodüktif performansında Şubat-Nisan aylarında olduğunu bu farklılığında testislerin en küçük ölçülerinin söz konusu aylarda olmasıyla açıklamışlardır.

Dorostghoal ve ark. (34) steorolojik yöntemle seminifer tubul çaplarının aşım mevsimine kadar tedrici olarak arttığını ve bu artışla birlikte testis ağırlığı, hacmi ve scrotum çevresinde de artışların meydana geldiğini ve mevsimlerden önemli ( $p<0.05$ ) ölçüde etkilendiğini belirtmektedirler.

Türk ve Demirci (35) Akkaraman koçlarda seminifer tubul çaplarının sonbahar mevsiminde en yüksek, en düşük değerin ise kış mevsiminde olduğunu ve mevsimler arasındaki farkın önemli ( $p<0.05$ ) olduğunu bildirmişlerdir.

## 1.2. Spermatojistik Özellikler

Farklı çalışmalar (32, 35- 38)'da koçlarda sperma üretiminin yıl boyu devam ettiği, mevsimlere bağlı olarak spermatojistik özelliklerin değiştii ve bu değerlerin yazın düşmeye başladığı sonbaharda ise arttđı bildirilmektedir.

Koçlarda sperma sun'i vajen veya elektroejakülatör ile alınabilmekle birlikte sun'i vajen yöntemi hızlı, pratik, erkek hayvanda stres yaratmaması, reaksiyon süresinin belirlenebilmesine imkan sağlaması ve elde edilen spermanın kalitesinin daha yüksek olmasından dolayı tercih edilen bir metottur (39).

Mathew ve ark. (40) Dorper koçlarda sun'i vajen ve elektroejakülatör ile aldıkları spermada spermatozoon yoğunluğunu ve canlı spermatozoon oranlarını elektroejakülatör'e göre sun'i vajende daha yüksek bulmuşlardır.

Marco-Jimenez ve ark. (41)'nın Guirra koçlarda sperma alma yöntemlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında elektroejakülatör'e göre sun'i vajende spermatozoon yoğunluğunu daha yüksek bulmuşlardır.

Bunun yanında Taha ve ark. (30) koçlardan sun'i vajen yardımıyla sperma almaları esnasında yıl boyunca aylık olarak reaksiyon süresi değerlerini Ocak ayında  $9.58 \pm 2.54$  s, Şubat ayında  $6.78 \pm 1.05$  s, Mart ayında  $6.14 \pm 1.10$  s, Nisan ayında  $9.80 \pm 1.55$  s, Mayıs ayında  $8.33 \pm 1.45$  s, Haziran ayında  $8.97 \pm 1.36$  s, Temmuz ayında  $9.72 \pm 1.49$  s, Ağustos ayında  $10.49 \pm 2.87$  s, Eylül ayında  $6.45 \pm 0.77$  s,



Ekim ayında  $9.13 \pm 1.30$  s, Kasım ayında  $10.79 \pm 3.02$  s ve Aralık ayında da  $9.86 \pm 1.41$  s olarak bildirmişlerdir.

Aguirre ve ark. (26)'nın Pelibuey koçlarda yıl boyu yaptıkları çalışmada reaksiyon süresini sperma alma sıklığının yüksek olduğu hayvanlarda kısa günlerde  $14.65 \pm 1.22$  s, uzun günlerde ise  $26.46 \pm 4.52$  s, sperma alma sıklığının az olduğu hayvanlarda kısa günlerde  $23.53 \pm 5.34$  s uzun günlerde ise  $29.58 \pm 4.76$  s olarak bildirilmektedir.

Marai ve ark. (42) Suffolk koçlarda reaksiyon süresini kış (Aralık-Şubat) aylarında  $12.6 \pm 0.78$  s ve yaz (Mayıs-Temmuz) aylarında  $9.58 \pm 0.78$  s olarak bildirmişlerdir.

Gündoğan ve Demirci (32) Akkaraman ve İvesi koçlarda reaksiyon sürelerini yıllık ortalama  $8.40 \pm 0.39$  s ve  $8.52 \pm 0.38$  s olarak bildirmişlerdir.

Tajangookkeh ve ark. (43) koçda yıl boyunca sperma miktarını aylık olarak Ocak ayında 0.95 ml, Şubat ayında 0.90 ml, Mart ayında 0.87 ml, Nisan ayında 1.06 ml, Mayıs ayında 1.21 ml, Haziran ayında 1.15 ml, Temmuz ayında 1.03 ml, Ağustos ayında 1.12 ml, Eylül ayında 1.39 ml, Ekim ayında 1.13 ml, Kasım ayında 1.06 ml ve Aralık ayında 0.95 ml olarak bulmuşlar ve sperma miktarındaki aylık değişimler arasındaki farkın önemli ( $p < 0.05$ ) olduğunu belirtmişlerdir.

Yine Gündoğan ve Demirci (32) koçlarda yıl boyu aylık olarak sperma miktarlarını Ocak ayında  $0.78 \pm 0.06$  ml, Şubat ayında  $0.59 \pm 0.08$  ml, Mart ayında  $0.52 \pm 0.06$  ml, Nisan ayında  $0.48 \pm 0.05$  ml, Mayıs ayında  $0.51 \pm 0.07$  ml, Haziran ayında  $0.57 \pm 0.06$  ml, Temmuz ayında  $0.62 \pm 0.04$  ml, Ağustos ayında  $0.84 \pm 0.04$  ml, Eylül ayında  $0.96 \pm 0.06$  ml, Ekim ayında  $1.12 \pm 0.06$  ml, Kasım ayında  $1.04 \pm 0.04$  ml ve Aralık ayında  $0.92 \pm 0.06$  ml olarak bulmuşlar ve aylar arasındaki farkın önemli ( $p < 0.05$ ) olduğunu bildirmişlerdir.

Simplicio ve ark. (44) mevsimler arası farklılıkların yağış miktarlarına göre değiştiği yarı kurak ve sıcak Brezilyanın tropik bölgelerinde yetiştirilen Somali koçlarda Şubat-Nisan ayları arasında sperma viskozitesini  $2.99 \pm 0.14$ , Mayıs-Temmuz ayları arasında  $3.00 \pm 0.08$ , Ağustos-Ekim ayları arasında  $3.15 \pm 0.09$  ve Kasım-Ocak ayları arasında  $3.00 \pm 0.08$  olarak bildirmişler ve spermanın viskozitesi yönünden mevsimler arasındaki farkın önemli ( $p > 0.05$ ) olmadığını vurgulamışlardır.

Aral ve Tekin (25) Akkaraman, İvesi ve Merinos koçlarda sperma viskozitesini aşım mevsimi dışında sırasıyla  $3.22 \pm 0.11$ ,  $2.88 \pm 0.11$  ve  $2.23 \pm 0.08$  ve aşım mevsiminde  $3.60 \pm 0.12$ ,  $3.42 \pm 0.12$  ve  $3.53 \pm 0.11$  olarak bildirmişlerdir.

Gündoğan (45) 4 Akkaraman koç üzerinde yaptığı çalışmada sperma viskozitesini aşım mevsiminde ortalama  $4.25 \pm 0.05$  olarak bulmuştur.

Zamiri ve Khodaei (28) 3-4 yaşlı ve İran yağlı kuyruklu Ghezel and Mehraban koçta aşım mevsiminde ( Mayıs-Haziran) sperma pH değerlerini sırasıyla  $6.27 \pm 0.05$  ve  $6.19 \pm 0.06$  olarak bulduklarını bildirmektedirler.

Aral ve Tekin (25) Akkaraman, İvesi ve Merinos koçlarda sperma pH'sını aşım mevsimi dışında sırasıyla  $6.92 \pm 0.06$ ,  $7.01 \pm 0.06$  ve  $6.94 \pm 0.05$  ve aşım mevsiminde  $6.64 \pm 0.05$ ,  $6.65 \pm 0.05$  ve  $6.66 \pm 0.05$  olarak bildirmişlerdir.

İbrahim (36) Birleşik Arap Emirlikleri'nde koçlarda sperma pH değerini sonbaharda 6.95, kış aylarında 6.95, ilkbaharda 6.79 ve yaz aylarında 6.72 olarak bulduğunu belirtmektedir.

Tajangokeh ve ark. (43) koçlarda kitle hareketi değerlerini yıl boyu aylık olarak Ocak ayında 3.06, Şubat ayında 3.37, Mart ayında 2.81, Nisan ayında 2.93, Mayıs ayında 3.06, Haziran ayında 4.30, Temmuz ayında 4.25, Ağustos ayında 4.50, Eylül ayında 4.93, Ekim ayında 4.69, Kasım ayında 4.31 ve Aralık ayında 3.75 bulmuşlardır.

Mert ve ark. (46) dört Norduz, iki Karakaş ve üç Ile de France x Akkaraman melezi koçta Haziran-Ekim aylarında yaptıkları çalışmada sırasıyla kitle hareketi değerini  $3.53 \pm 0.20$ ,  $4.50 \pm 0.26$  ve  $4.33 \pm 0.22$  olarak tespit etmişlerdir.

Gündoğan ve ark. (47) 16-18 aylık üç Akkaraman koçta aşım mevsimi öncesi (15 Temmuz-30 Ağustos), esnası (1 Eylül-30 Ekim) ve sonrasında (1 Kasım-15 Aralık) kitle hareketini sırasıyla  $4.17 \pm 0.26$ ,  $4.69 \pm 0.06$  ve  $4.43 \pm 0.09$  olarak bildirmişlerdir.

Kaya ve ark. (37) Merinos koçlarda ilkbahar (Mart-Mayıs), yaz (Haziran-Ağustos), sonbahar (Eylül- Kasım) ve kış (Aralık-Şubat) olmak üzere 4 farklı

mevsimdeki spermatozoa motilitesini sırasıyla %  $71.0 \pm 0.93$ , %  $76.0 \pm 1.12$ , %  $85.7 \pm 1.04$  ve %  $69.5 \pm 1.08$  olarak bildirmişlerdir.

Gündoğan ve Demirci (32) koçlarda yıl boyu aylık olarak spermatozoa motilitesini araştırdıkları çalışmalarında en yüksek değerleri Eylül ile Aralık ayları arasındaki dönemde elde ettiklerini bildirmektedirler.

Taha ve ark. (30)'nın Mısır'da koçlar üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmada en yüksek motilite değerlerini Nisan ile temmuz ayları arasında elde ettiklerini belirtmektedirler.

Karagiannidis ve ark. (48) Sakız ve Fresian koçlarda spermatozoa motilitesini ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış mevsimlerinde sırasıyla %  $70.83 \pm 1.84$  ve %  $70.76 \pm 1.04$ , %  $69.35 \pm 1.17$  ve %  $69.21 \pm 1.78$ , %  $75.00 \pm 1.54$  ve %  $75.29 \pm 1.48$ , %  $73.77 \pm 1.53$  ve %  $74.29 \pm 1.42$  yıllık ortalamaları ise sırasıyla %  $72.17 \pm 0.84$  ve %  $72.36 \pm 0.75$  olarak bulmuşlardır.

Borque ve Vasquez (49) İspanya'da 2 yaşlı Manchego koçta yıl boyunca sun'i vajen ile aldıkları spermadan sperktrofotometre ile ölçtükleri spermatozoon yoğunluğunu Ocak ayında  $5.536 \pm 1.24 \times 10^9$ /ml, Şubat ayında  $4.716 \pm 0.164 \times 10^9$ /ml, Mart ayında  $5.399 \pm 0.218 \times 10^9$ /ml, Nisan ayında  $5.893 \pm 0.256 \times 10^9$ /ml, Mayıs ayında  $5.617 \pm 0.214 \times 10^9$ /ml, Haziran ayında  $4.477 \pm 0.159 \times 10^9$ /ml, Temmuz ayında  $5.376 \pm 0.187 \times 10^9$ /ml, Ağustos ayında  $4.787 \pm 0.156 \times 10^9$ /ml, Eylül ayında  $4.379 \pm 0.129 \times 10^9$ /ml, Ekim ayında  $4.825 \pm 0.189 \times 10^9$ /ml, Kasım ayında  $5.498 \pm 0.187 \times 10^9$ /ml, Aralık ayında  $5.419 \pm 0.192 \times 10^9$ /ml olarak bulduklarını bildirmektedirler.

Gündoğan ve ark. (47) 16–18 aylık 3 Akkaraman koçtan aşım mevsimi öncesi (15 Temmuz–30 Ağustos), esnası (1 Eylül–30 Ekim) ve sonrası (1 Kasım–15 Aralık)'nda suni vajenle almış oldukları spermada ortalama spermatozoon yoğunluğunu sırasıyla aşım mevsimi öncesinde  $3.15 \pm 0.13 \times 10^9$ /ml, esnası  $4.06 \pm 0.17 \times 10^9$ /ml ve sonrasında  $3.93 \pm 0.26 \times 10^9$ /ml olarak bulmuşlardır.

Taha ve ark. (30) Mısır'da koçlar üzerindeki çalışmalarında yıl boyunca aylık olarak spermatozoon yoğunluğunu Ocak ayında  $3.58 \pm 0.38 \times 10^9$ /ml, Şubat ayında  $5.59 \pm 0.35 \times 10^9$ /ml, Mart ayında  $5.98 \pm 0.49 \times 10^9$ /ml, Nisan ayında  $5.62 \pm 0.35 \times 10^9$ /ml, Mayıs ayında  $4.42 \pm 0.47 \times 10^9$ /ml, Haziran ayında  $5.61 \pm 0.39 \times 10^9$ /ml,

Temmuz ayında  $5.87 \pm 0.34 \times 10^9/\text{ml}$ , Ağustos ayında  $4.95 \pm 0.40 \times 10^9/\text{ml}$ , Eylül ayında  $4.64 \pm 0.26 \times 10^9/\text{ml}$ , Ekim ayında  $5.33 \pm 0.33 \times 10^9/\text{ml}$ , Kasım ayında  $5.25 \pm 0.24 \times 10^9/\text{ml}$ , Aralık ayında  $4.29 \pm 0.36 \times 10^9/\text{ml}$  olarak bildirmişlerdir.

Kaya ve ark. (37) 10 Merinos koçta ilkbahar (Mart-Mayıs), yaz (Haziran-Ağustos), sonbahar (Eylül- Kasım) ve kış (Aralık-Şubat) olmak üzere 4 farklı mevsimdeki anormal spermatozoon oranını sırasıyla, %  $13.0 \pm 1.30$ , %  $9.2 \pm 0.80$ , %  $3.6 \pm 0.21$  ve %  $16.3 \pm 1.49$  olarak elde etmişlerdir.

Tajangokeh ve ark. (43)'nin İran yağlı kuyruklu koçlarında anormal spermatozoon oranını Ocak ayında % 8.93, Şubat ayında % 12.10, Mart ayında % 11.75, Nisan ayında % 11.75, Mayıs ayında % 11.87, Haziran ayında % 13.62, Temmuz ayında % 8.87, Ağustos ayında % 11.68, Eylül ayında % 5.56, Ekim ayında % 18.25, Kasım ayında % 12.50 ve Aralık ayında % 10.43 olarak bildirmişlerdir.

Türk ve Demirci (35) Akkaraman koçlarda elektrojekülatör yöntemi ile alınan spermada anormal spermatozoon oranını Ocak ayında %  $6.50 \pm 0.28$ , Şubat ayında %  $6.87 \pm 0.23$ , Mart ayında %  $6.75 \pm 0.25$ , Nisan ayında %  $7.15 \pm 0.15$ , Mayıs ayında %  $6.57 \pm 0.30$ , Haziran ayında %  $9.80 \pm 0.33$ , Temmuz ayında %  $9.05 \pm 0.27$ , Ağustos ayında %  $8.05 \pm 0.23$ , Eylül ayında %  $4.42 \pm 0.28$ , Ekim ayında %  $4.40 \pm 0.23$ , Kasım ayında %  $5.02 \pm 0.21$  ve Aralık ayında %  $6.40 \pm 0.33$  olarak bulduklarını belirtmektedirler.

Soylu ve ark. (50) 29 Dorset Down, 6 Hampshire, 4 Siyah Baş Alman, 4 Linkoln ve 1 Border Leicester koçta anormal spermatozoon oranını sırasıyla % 19.80, % 9.19, % 6.07, % 34.84 ve % 3.9 olarak bildirmektedirler.

Aksoy ve ark. (24) aşım mevsiminde 9 Merinos koçta yaptıkları çalışmada testis hacimlerine göre ayırdıkları  $300-500 \text{ cm}^3$ ,  $500-700 \text{ cm}^3$  ve  $700-900 \text{ cm}^3$  gruplarda ölü spermatozoon oranını sırasıyla % 15.00, % 14.30 ve % 7.70 olarak tespit etmişlerdir.

Taha ve ark. (30) Mısır'da koçlarda yıl boyunca aylık olarak ölü spermatozoon oranını Ocak ayında %  $38.7 \pm 3.15$ , Şubat ayında %  $34.1 \pm 5.38$ , Mart ayında %  $40.6 \pm 3.83$ , Nisan ayında %  $17.5 \pm 1.47$ , Mayıs ayında %  $22.6 \pm 2.31$ , Haziran ayında %  $18.0 \pm 1.32$ , Temmuz ayında %  $18.2 \pm 1.50$ , Ağustos ayında %

20.5 ± 4.21, Eylül ayında % 22.2 ± 3.34, Ekim ayında % 12.6 ± 1.64, Kasım ayında % 31.9 ± 3.36 ve Aralık ayında % 24.0 ± 4.62 olarak elde ettiklerini bildirmektedirler.

Erkek infertilitesinin tanısında birçok spermatolojik özellikler kullanılabilmeyle beraber sınırlı sayıda yöntem, spermatozoa membranının fonksiyonel bütünlüğünü belirlemede etkindir. Spermatozoa membran bütünlüğü sadece spermatozoon metabolizması için değil, aynı zamanda kapasitasyon, akrozom reaksiyonu ve spermatozoonun oosit yüzeyine tutunmasının gerçekleşmesinde hayati bir öneme sahiptir. Bu nedenle membran bütünlüğü ve fonksiyonel aktivitesinin belirlenmesi, spermatozoonun fertilizasyon kapasitesinin iyi bir göstergesi olabilmektedir (51).

HOS testi hücre içi ve dışı arasında ozmotik basınç dengeleninceye kadar fonksiyonel bütünlüğü bozulmamış aktif hücre membranından suyun geçişi esasına dayanmaktadır (52). Plazma membranının biyokimyasal bütünlüğü, HOS testi boyunca intraselüler ve ekstraselüler sıvı arasında ozmotik basıncı dengelemeye çalışır. Bu sırada spermatozoa içerisine suyun girmesiyle hacimde bir artış meydana gelerek spermatozoa şişer ve böylece spermatozoonların kuyruklarının kıvrıldığı gözlenir. Spermatozoon hipo-ozmotik şartlar altında eğer fiziksel ve kimyasal olarak bütün bir membrana sahipse kuyruk kısmı kıvrılır inaktif bir membran ise bu tepkiyi vermez (51- 53).

Sadece kuyrukta esneme ile başlayıp kuyruğun kıvrılması, kısalmış ve kalınlaşmış kuyruk ve kuyruk fibrillerinin farklı derecede kıvrılması gibi çeşitli şekillerde ve derecelerde kıvrık kuyruk tipleri gözlenebilir (52). Hipo-ozmotik solüsyon varlığında spermatozoon kuyruğunun şişebilme kabiliyeti, membrandan su transportunun normal bir şekilde meydana geldiğinin bir göstergesi olarak kabul edilir (51). HOS testinde spermatozoonlarda kuyrukta kıvrılmanın görülmesi ilk olarak kuyruk membranının sağlam olduğunu gösterir. Ejaküle olmuş fonksiyonel olarak sağlam kuyruğa sahip spermatozoonların baş plazma membranları sağlam olduğu düşünülmektedir. İnsan spermasında % 60 ve üzeri HOS pozitif spermatozoon içerenler normal, % 50'nin altında olanlar anormal ve % 50-60 arası olanlar ise şüpheli olarak değerlendirilmektedir (52).

İnsan ve farklı hayvan türlerine ait spermatozoonlar HOS testine farklı ozmotik basınçlarda yanıt vermektedir. Buna göre insan sperması 150 mOsm (51), boğa ve manda sperması 150 mOsm (54), koç sperması 100 mOsm (55), teke sperması 125 mOsm (56), aygır sperması 100 mOsm (12, 57), köpek sperması 60 mOsm (58), fare sperması 20-160 mOsm (59), fil sperması 75-150 mOsm (60) ve domuz spermasında ise 100 mOsm (61)'da maksimum kuyruk kıvrılmaları oluşmaktadır.

HOS test ile diğer spermatolojik parametreler arasında farklı korelasyonlar bildirilmekte ve özellikle yoğunluk, motilite ve canlı spermatozoonlar arasında önemli korelasyon mevcuttur (62-65). Bunun yanında Moskovtsev ve ark. (66) DNA Fragmentasyon Index yöntemi ile belirledikleri spermatozoon DNA hasarı ile HOS testi arasında önemli korelasyon bildirmişlerdir.

Pinto ve Kozink (67) köpeklerde yaptıkları çalışmada 1 ve 60 dakika inkübasyona maruz bıraktıkları spermada motilite, canlı spermatozoon oranı ve normal morfolojili spermatozoon arasında pozitif korelasyon ( $p < 0.05$ ) belirlemiş ve bununla birlikte süreler arasında da yüksek korelasyon ( $r = 0.88$ ,  $p < 0.05$ ) elde ettiklerini belirtmişlerdir.

Fukui ve ark. (68) dondurulmuş çözdürülmüş koç spermasında farklı sürelerde yaptıkları HOS testi sonuçlarını 0, 15, 30, 45, 60. dakikalarda sırasıyla %  $41.5 \pm 4.1$ , %  $47.2 \pm 7.0$ , %  $46.9 \pm 5.5$ , %  $46.6 \pm 5.5$  ve %  $44.8 \pm 6.0$  olarak bulmuşlar ve 0. dakika dışında farkın önemli olmadığını belirtmişlerdir.

Genetik olayların moleküler düzeydeki temeli genetik materyal görevini üstlenen nükleik asitlerin yapı ve özelliklerine dayanır. Nükleik asitlerin iki türü olan deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) temelde aynı yapısal özelliklere sahiptir. DNA sadece kalıtsal bilgiyi taşıyan makro moleküller olmayıp bu bilgiyi protein sentezine aktarmaktan da sorumludur (69). DNA kolay zarar görebilen bir molekül olup üzerinde kendiliğinden değişimler veya çevresel etmenler sonucu sürekli hasar meydana gelebilmektedir (70). Oluşan hasar DNA onarım sistemleri tarafından onarılmakla birlikte hasarın çok fazla olduğu veya onarım sistemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda DNA üzerinde oluşan hasar mutasyona veya hücre ölümüne neden olmaktadır (71).

Spermatozoon DNA bütünlüğünün korunmuş olması başarılı bir gebelik ve genetik materyalin sonraki kuşaklara taşınması açısından büyük önem taşır. Birçok çalışma (72-76) üremeye yardımcı tekniklerin kullanımının ardından tekrarlayan başarısızlıklarda erkek faktörünün önemine dikkat çekmektedir.

Spermatozoonların genetik yapısındaki bozulma ile infertilite arasında kuvvetli bir ilişki vardır. Spermatozoon DNA hasarlarının infertilitedeki önemi *in vitro* ve *in vivo* gerçekleştirilen çalışmalarda (77, 78) belirtilmekte olup hasarlı DNA taşıyan spermatozoonun fertilizasyon kabiliyetinin azaldığı ve DNA hasarlı spermatozoon oranı arttıkça doğal yolla gebe kalma oranının da azalabileceği bildirilmektedir. Bu yüzden ejakulatta DNA hasarlı spermatozoon oranının bilinmesi gerek fertilizasyonun önceden tahmin edilmesinde gerekse embriyonun maruz kalabileceği durumların belirlenmesinde önem kazanmaktadır.

Kendiliğinden değişimler sonucu oluşan DNA hasarının nedenleri arasında, DNA sentezi sırasında bazların yanlış eşleşmesi, purin ve pirimidin bazların ketoenol tautomerizm ve deaminasyon sonucu kimyasal yapısında gelişen değişimler, DNA yapısında bulunan pürin ve pirimidin bazlarının termal dayanıklılığına bağlı olarak hidrolitik baz kaybı ve hücresel metabolizmanın yan ürünü olarak üretilen serbest radikallerin neden olduğu DNA hasarları önemli yer tutmakta olup çevresel hasar ise fiziksel ve kimyasal hasar olmak üzere iki grupta incelenmektedir. DNA bütünlüğünün bozularak farklı DNA hasarlarının oluşmasına neden olan fiziksel etkenler arasında ultraviyole ve X-ışınları önemli yer tutmaktadır (71, 79, 80). DNA hasarlarının oluşmasına neden olan kimyasal ajanlar içerisinde ise çeşitli gıda maddelerinde, anti-tümöral ilaçlarda ve tütünde bulunan çevresel mutajen ve karsinogenlerin en geniş grubu olan alkilleyici maddeler, fotoaktive olmuş psoralenler gibi çapraz bağlayıcılar ve ksenobiotikler gibi elektrofilik reaktanlara metabolize edilebilen kimyasallar yer almaktadır (71).

Hücre DNA hasarlarına farklı metabolik yollar ile cevap verir. Ağır DNA hasarları hücrenin apoptoz yolunu aktive ederek hücreyi ölüme götürür. DNA hasarı replikasyon sırasında tamir edilemezse mutasyona ve sonuç olarak genomik kararsızlığa neden olur (79, 81).

Spermatozoon DNA'sı somatik hücre DNA'sından 6 kat daha yoğun ve 40 kat daha az hacme sahiptir. Bu yoğun yapı ve DNA'nın spesifik şekli, DNA ve

protaminler arasındaki disülfid bağları ile sağlanmaktadır. Spermatozoon DNA'sının koruyucu özellikteki bu şekli dışında spermatozoonun içinde bulunduğu seminal sıvı yüksek antioksidan seviyeleri içerir (82). Ayrıca, spermatozoonun DNA hasarlarını tamir etme kapasitesine sahip endonukleaz aktivitesi içerdiği de bilinmektedir (83). Bunun yanında DNA hasarlı spermatozoonun yetersiz ya da yanlış tamiri novo genetik mutasyonların gelişmesi ile de sonuçlanabilir (84). Spermatozoon DNA'sı hasarlarının hangi nedenlere bağlı olarak ortaya çıktığı konusu tam olarak izah edilememiş olmakla birlikte spermatozoonunda bir çok nedene bağlı olarak DNA hasarı meydana gelebilmektedir. DNA hasarı geçiren spermatozoon sonuçta tamir olabileceği gibi tamir kapasitesini aşmış ise hasarlı olarak çoğalabilir veya spermatogenesis belli bir aşamada duraklayabilir (maturasyon duraklaması) ya da ölür (85, 86).

İnflamasyon, apoptozis ve oksidanlar (Reaktif oksijen türleri, ROS) spermatozoonunda kromatinin kondanse hale geçmesini engellemektedirler. Kromatinde yeterli kondensasyon gelişmez ise spermatozoon DNA'sı da kırık gelişimine daha hassas hale gelmektedir. Spermatozoondaki DNA hasarına neden olan etkenlerin arasında süperoksit anyon ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türleri önemli yer tutmaktadır. Spermatozoon metabolik aktivite için gerekli enerjinin büyük bir kısmını glikoliz olayından karşılamalarına rağmen, yüksek aerobik aktiviteleri için fertilizasyon olayına katılan reaktif oksijen türlerinden yararlanır. ROS yüksek reaktivite ile karakterize olup orbitallerinde eşleşmemiş bir veya daha fazla elektron bulundurmaları diğer moleküllerle kovalent bağ kurmalarını sağlar. Özellikle ROS seviyesi ile spermanın miktarı ve spermatozoa motilitesi arasında ters bir orantı olduğu bildirilmektedir (87). Bununla birlikte ROS'un sebep olduğu DNA hasarı, hücrelerin apoptozisini hızlandırmakta ve spermatozoa yoğunluğunun azalması ile fertilité olumsuz etkilenebilmektedir (88).

Programlı hücre ölümü yani apoptozis DNA'nın parçalanması ile gerçekleşir ve organların fonksiyonlarını sağlıklı olarak sürdürebilmeleri için doğal olarak meydana gelebildiği gibi hormonal faktörler, ROS, çevresel toksinler gibi faktörler tarafından da uyarılabilmektedir. Spermatozoa için de aynı durum geçerli olup infertilite nedeni olarak bilinen çoğu faktör spesifik mekanizmalarla apoptozise yol açabilmektedir (89).



Sun'i tohumlama açısından önemli olan spermanın kısa ve uzun süreli saklanması işlemleri esnasında DNA hasarına ve dolayısıyla anormal embriyo gelişimine ve infertiliteye neden olunabilmektedir (90).

Sonuçta infertilite olgularında spermatozoon DNA'sı hasarlarının önemli bir faktör olabileceği kanısıyla DNA hasarlı spermatozoon oranının bilinmesi gerek fertilizasyon şansının önceden tahmin edilmesinde gerekse embriyonun maruz kalabileceği risklerin belirlenmesinde önem kazanmaktadır.

DNA yapısının araştırılabilmesi için farklı teknikler geliştirilmiş ve bu alan her geçen gün daha da ilerlemektedir. Bunların başlıcaları TdT-mediateddUTP nick end labeling testi (TUNEL), sperm chromatin dispersion testi (SCD), Spermatozoon Kromatin kondensasyon testi (SCSA), Akridin Oranj boyama tekniği, ELISA ve son yıllarda yaygınlaşmaya başlayan COMET (tek hücre jel elektroforezi) analiz teknikleridir (87, 88, 90).

DNA'daki hasar düzeyinin ölçülmesinde kullanılan en yaygın ölçme yöntemlerinden birisi olan "*Tek Hücre Jel Elektroforezi*" (SCGE) hassas, pratik ve hızlı bir görsel floresan tekniktir. Bu teknik, hücrelerde çeşitli ajanların indüklediği DNA hasarı ve onarım bozukluklarının tayini amacıyla genetik toksikolojiden moleküler epidemiyolojiye kadar birçok alanda kullanılmakta ve "*Single Cell Gel Electrophoresis*", "*Comet Analiz*" ya da "*Microgel Electrophoretic Technique*" olarak da adlandırılmaktadır (91, 92).

İnsan hücrelerinde DNA tek sarmal kırıklarının tespiti ilk kez Rydenberg ve Johanson tarafından gerçekleştirilmiştir (70, 91). Rydenberg ve Johanson DNA'nın ayrılmasına izin veren hafif alkali şartlar altında lam üzerinde agaroz gömülmüş olan hücreleri lize ederek hücreleri proteinlerden ayırmışlardır. Daha sonra nötralize edip akridin oranj ile DNA'yı boyayarak kırmızı flörosana yeşilin oranını hesaplamışlardır. Kırmızı flörosans tek sarmalı, yeşil flörosans ise çift sarmalı göstermiştir. Fakat bu teknik yaygın olarak kullanılmamıştır.

İlerleyen zaman içerisinde hücrelerdeki DNA hasar tespitinde duyarlılığı geliştirmek için, 1984 yılında Ostling ve Johanson tarafından nötral teknik modifiye edilerek hücredeki DNA hasarının direkt gösterilmesinde "*Microgel Electrophoretic Technique*" olarak sunulmuştur (93). Ostling ve Johanson agarozda süspanse edilen radyasyona maruz kalmış hücreleri lam üzerine yayarak, yüksek tuz ve deterjanla

lize etmiş ve ardından elektroforeze tabi tuttuktan sonra DNA bağlayıcı floresan boya olan akridin oranjla boyamışlardır. Sonuçta kırık içeren DNA ların, gevşediğini, kırılmış DNA fragmanları nedeni ile elektrik yükü kazandığını ve çekirdekten anoda doğru göç ederek kuyruklu yıldız görünümünü verdiğini izlemişler, bu nedenle hasarlı hücreleri “*COMET*” olarak adlandırmışlardır. Yine kuyruk uzunluğu DNA hasarını saptamak için ölçülmüş ve kuyruk uzunluğunun radyasyon dozunun fonksiyonu olduğunu gözlemlemişlerdir (94).

Ostling ve Johanson (91) tarafından 1984 yılında modifiye edilen teknik sadece DNA çift dal kırılmalarının belirlenmesine imkan vermektedir. Oysa DNA’da hasar oluşturan çoğu ajan DNA çift sarmalından ziyade DNA tek sarmalında hasar meydana getirmektedir. Bunun yanında nötral şartlarda proteinler tam olarak uzaklaştırılmamaktadır (95). Bu nedenle Singh ve ark. 1988 yılında “*Alkalın Comet Metodunu*” tanımlamışlardır. Böylece “*tek sarmal kırıkları*” denilen ve sadece alkali teknikle ortaya çıkarılabilen DNA tek sarmal kırıklarını tanımlama imkanı doğmuştur (70, 91, 92). Kullanılan daha güçlü lizis koşulları proteinlerin % 95’inden fazlasını yok edebilmektedir. Böylelikle tekniğin yeni dizaynı hücrelerin hemen hepsinde DNA hasar büyüklüğünün doğrudan tespitini sağlamaktadır (91, 92).

Elektroforez ve lizis aşamalarının pH’sına bağlı olarak tekniğin duyarlılığı değişebilmektedir. Bu nedenle nötral ve alkalın lizis solüzyonları sırasıyla çift ve tek sarmal kırılmalarını belirlemek için kullanıldığından, yapılacak araştırmada hangi metodun tercih edileceği çalışmanın amacına bağlı olarak değişmektedir.

Makhlouf ve Niederberger (96) TUNEL ve COMET tekniklerinin SCSA ile karşılaştırıldığında daha güvenilir olduğunu bildirmişlerdir.

Greco ve ark. (97)’da TUNEL tekniği kullanıldığında spermatozoon DNA hasarının %15’in üzerinde olduğunda gebelik oranının % 5,6 olduğunu, ancak hasar % 6’nın altında ise gebelik oranının % 44,4’e çıktığını bildirmişlerdir.

Duty ve ark. (98)’nin çalışmasında COMET yönteminin düşük düzeydeki DNA hasarının da ortaya çıkarılma özelliğinde olduğu bildirilmektedir (26).

Slowinska ve ark. (99) COMET analiz yöntemi ile taze ve dondurulmuş boğa spermasında yaptıkları çalışma sonucunda motilite ve canlı spermatozoon oranı gibi spermatolojik parametrelerle beraber DNA hasar düzeyi düşük olan spermanın

dondurma sonrasında dondurmanın olumsuz etkilerine karşı daha dirençli olduğunu bildirmektedirler.

Haines ve ark. (100) fare ve insan spermalarında radyasyonun DNA hasarı oluşturma düzeylerini Comet analiz yöntemi ile belirlemişler ve çalışma sonunda nötral comet yönteminde 100 Gy radyasyon verdikleri grupta fare ve insanlarda sırasıyla %  $60.4 \pm 5.6$  ve %  $56.6 \pm 6.4$ , alkalın comet yönteminde ise 100 Gy radyasyon verilen grupta fare ve insanda sırasıyla %  $94.3 \pm 2.5$  ve %  $94.4 \pm 1.7$  olarak belirtmişlerdir.

Kotlowska ve ark. (101) hindi spermasını kısa süreli saklamanın amidaz aktivitesi, DNA fragmentasyonu ve motilite üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında kısa süreli saklamanın 48. saatinden sonra spermatozoa motilitesinin azaldığını, amidaz aktivitesinin arttığını ve spermatozoon DNA'sında fragmentasyonun ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Jiang ve ark. (102) nötral Comet analiz yöntemi ile dondurulmuş çözdürülmüş domuz spermasında DNA bütünlüğü üzerine düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) etkisini araştırdıklarında Comet analiz yönteminin yüksek hassasiyette ve pratik bir yöntem olduğunu ve LDL'nin soğuktan koruyucu olarak spermaya katılmasıyla DNA hasarına karşı koruduğu sonucuna vardıklarını belirtmektedirler.

Linfor ve Meyers (103) aygır spermasının Comet analiz yöntemi ile dondurma hasarlarını belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada soğuktan koruyuculardan yoksun olarak  $-20^{\circ}\text{C}$  de dondurulan spermada önemli ölçüde DNA hasarının meydana geldiğini bildirmektedirler.

Comet analizin değerlendirilmesinde görsel skorlama kullanımı ile görüntü analiz sistemleri arasında önemli düzeyde korelasyon olduğu bir çok araştırmacı (104-106) tarafından bildirilmektedir.

Yapılan çalışmalarda (107-109) DNA fragmentasyonunun derecesi ile normal spermatozoon morfolojisi arasında negatif korelasyonlar bildirilmektedir. Buna paralel olarak spermatozoonun morfolojik bozuklukları ile DNA hasarı arasında da pozitif yönde önemli ilişki vurgulanmaktadır (110, 111).

### 1.3. Biyokimyasal ve Hormonal Özellikler

Günümüz suni tohumlama uygulamalarında spermanın değerlendirilmesinde spermatolojik karakterlerin dışında kan serumunun biyokimyasal özellikleri gibi parametreler de kullanılmakta ancak koç kan serumunun biyokimyasal muayenesi ve bunun spermatolojik özellikler ile ilişkisi tam anlamıyla bilinmemektedir. Daha önce farklı ırklardaki koçlar üzerinde sperma kalitesini, kan serum biyokimyasal ve enzimatik özelliklerin belirlenmesi amacıyla birçok araştırma yapılmıştır (38, 112, 113).

Taha ve ark. (30) koç seminal plazma total protein düzeyleri ile sperma kalitesi arasında ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Gündoğan ve Serteser (29) Akkaraman ve İvesi koçlarda aşım mevsiminde kan serum total protein miktarlarını sırasıyla  $7.2 \pm 0.23$  ve  $7.5 \pm 0.08$  olarak bildirmişlerdir. Gündoğan ve ark. (112) Sakız ve Dağlıç koçlarda kan serum total protein miktarları ile motilite ve yoğunluk arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmektedirler.

Albumin ve diğer polipeptitlerin koç spermatozoonlarının canlılığının korunmasında (114, 115) ve kapasitasyon, akrozom reaksiyonu ve fertilizasyonda da etkili rol oynamaktadır (116).

Hafez (113) Rahmani koçlarda albumin miktarlarını  $3.18 \pm 0.09$  g/dl globulin miktarlarını  $3.46 \pm 0.23$  g/dl ve A/G oranlarını  $1.15 \pm 0.10$  olarak bildirmektedir. Gündoğan ve Serteser (29) Akkaraman ve İvesi koçlarda sırasıyla albumin miktarlarını  $3.3 \pm 0.05$  ve  $3.3 \pm 0.08$  g/100ml, globulin miktarlarını  $3.9 \pm 0.20$  ve  $4.3 \pm 0.19$  g/100ml ve A/G oranlarını  $0.85 \pm 0.04$  ve  $0.77 \pm 0.02$  olarak bildirmektedirler.

Khalili ve ark. (117) infertil erkek hastalarda yaptıkları çalışmada kan serum trigliserid miktarlarının normal ve çok yüksek düzeyleri ile anormal spermatozoon oranları ve motilite arasında pozitif korelasyonlar tespit etmişlerdir.

Ergün ve ark. (118) infertil erkeklerde yüksek VLDL, trigliserid ve total testosteron miktarlarının motilite ile arasında önemli korelasyon bulmuşlar ve yüksek trigliserid oranlarının spermatogenesis üzerine zararlı etkilerinin olabileceğini bildirmişlerdir.

Kolesterol steroid hormonların ön maddesidir. Bütün steroidlerin öncülü olan kolesterol dolaşımdaki lipoproteinlerden sentezlenebileceği gibi endojen olarak asetatdan da sentezlenebilir. Genel olarak kolesterol ve total lipid seviyelerindeki azalmaya T<sub>3</sub> eşlik ederken testosteron ise bunun tersi bir eğilim içindedir. Tiroid hormonları hepatik mekanizma kadar kolesterol sentezini uyarır ve metabolik hızı artırır. Metabolik hızın artmasından önce kanda kolesterol düzeyi azalmaktadır (30).

Gündoğan ve ark. (112) Sakız ve Dağlıç koçlarda kan serum kolesterol düzeylerini sırasıyla 63.5 ve 65.8 mg/100ml olarak bulmuş ve her iki ırkta kolesterol ile T<sub>3</sub> arasında pozitif yönde ve Dağlıç koçlarda kolesterol ile testosteron arasında negatif yönde korelasyonlar tespit etmişlerdir. Gündoğan ve Serteser (29) Akkaraman ve İvesi koçlarda kan serumu kolesterol miktarlarını aşım mevsiminde sırasıyla 28.9 ± 1.4 ve 33.6 ± 1.24 mg/100ml olarak bulmuşlardır.

Transaminaz enzim aktivitesi (AST ve ALT) sperma membran sağlamlığı açısından sperma kalitesinin iyi bir göstergesidir (120, 121). Gündoğan ve Serteser (29) Akkaraman ve İvesi koçlarda sırasıyla AST 116.7 ± 4.03 U/L ve 115.8 ± 4.11 U/L, ALT 15.7 ± 0.65 U/L ve 14.6 ± 1.89 U/L ve AST/ALT oranlarını 7.4 ± 0.62 ve 7.9 ± 0.32 olarak bulmuş ve anormal spermatozoon oranları ile ALT arasında negatif, AST ve AST/ALT oranları arasında ise pozitif korelasyonlar olduğunu bildirmektedirler.

Testosteron testisteki Leydig hücreleri ve küçük bir kısmı ise adrenal korteks tarafından üretilen bir androjen olup organizmada üreme organlarının gelişimi ve fonksiyonlarını kontrol etmek suretiyle seksüel davranışların ortaya çıkmasını sağlar. Erkek genital kanalın korunması, ek salgı bezlerinin fonksiyonları ve spermatogenesisin devamı için gereklidir (119).

Koçlarda spermatogenesis dolaşımdaki testosteron miktarında meydana gelen değişimlere karşı hassastır. Yetişkin koçlarda spermatogenesis ya da yeni oluşan spermatogonia sayısı ile kandaki testosteron miktarı arasında pozitif bir korelasyon vardır. Spermatidlerin farklılaşması hem testosteron hem de diğer faktörler yardımı ile şekillenmektedir (122).

Dufour ve ark. (123) koçlarda yaptıkları çalışmada testosteron miktarlarını Mart ve Haziran aylarında en düşük düzeyde, Eylül ve Kasım aylarında ise en

yüksek düzeyde tespit etmişler ve en yüksek miktarı 6.6 ng/ml en düşük miktarı ise 0.8 ng/ml olarak bildirmişlerdir.

Mandiki ve ark. (124) mevsim ve yaşın seksüel olgunluk üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında RIA metodu ile tayin ettikleri testosteron miktarlarını 2 yaşlı Texel, Suffolk ve Ile-de France koçlarda kış mevsiminde  $1.48 \pm 0.36$  ng/ml,  $1.48 \pm 0.93$  ng/ml ve  $1.50 \pm 0.72$  ng/ml, ilkbaharda  $1.69 \pm 0.55$  ng/ml,  $1.48 \pm 0.64$  ng/ml ve  $1.46 \pm 0.54$  ng/ml, yaz mevsiminde  $2.56 \pm 1.45$  ng/ml,  $2.51 \pm 1.66$  ng/ml ve  $2.25 \pm 1.46$  ng/ml ve sonbahar mevsiminde  $5.25 \pm 1.98$  ng/ml,  $5.33 \pm 1.94$  ng/ml ve  $4.43 \pm 1.21$  ng/ml 3 yaşlı koçlarda kış mevsiminde  $3.24 \pm 0.78$  ng/ml,  $2.78 \pm 0.89$  ng/ml ve  $2.69 \pm 0.97$  ng/ml, ilkbaharda  $3.66 \pm 0.54$  ng/ml,  $2.25 \pm 0.82$  ng/ml ve  $2.56 \pm 0.54$  ng/ml, yaz mevsiminde ise  $3.88 \pm 0.96$  ng/ml,  $3.21 \pm 1.30$  ng/ml ve  $3.28 \pm 1.60$  ng/ml 4 yaşlı koçlarda sonbahar mevsiminde  $6.11 \pm 1.13$  ng/ml,  $6.21 \pm 0.98$  ng/ml ve  $2.59 \pm 1.06$  ng/ml olarak bulmuşlar ve yaş ile mevsimin testosteron düzeylerinde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Gündoğan ve Demirci (32) Akkaraman ve İvesi koçlarının Chemiluminescent yöntemiyle tayin ettikleri serum testosteron miktarlarını Ocak ayında  $3.96 \pm 0.66$  ng/ml, Şubat ayında  $3.41 \pm 0.61$  ng/ml, Mart ayında  $2.58 \pm 0.54$  ng/ml, Nisan ayında  $2.03 \pm 0.56$  ng/ml, Mayıs  $1.95 \pm 0.48$  ng/ml, Haziran  $1.53 \pm 0.34$  ng/ml, Temmuz  $1.58 \pm 0.28$  ng/ml Ağustos ayında  $3.58 \pm 0.58$  ng/ml, Eylül ayında  $7.67 \pm 0.46$  ng/ml, Ekim ayında  $7.06 \pm 0.44$  ng/ml, Kasım ayında  $5.64 \pm 0.42$  ng/ml ve Aralık ayında  $4.02 \pm 0.65$  ng/ml olarak tespit etmişlerdir.

Rhim ve ark. (125) Hampshire koçlarda radioimmunoassay (RIA) metoduyla belirledikleri ortalama testosteron miktarını çiftleşme mevsimi dışı olan Mayıs ayında  $2.82 \pm 0.21$  ng/ml, çiftleşme mevsimi olan Eylül ayında  $6.02 \pm 0.88$  ng/ml ve bu iki mevsim arasındaki Mart ayında  $2.00 \pm 0.26$  ng/ml olarak ölçtüklerini ve ortalama testosteron miktarı üzerine mevsimlerin önemli derecede ( $p < 0.001$ ) etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Kaya ve ark. (37) Merinos koçlarda plazma testosteron miktarlarını ilkbaharda  $2.0 \pm 0.52$  ng/ml, yaz aylarında  $3.06 \pm 0.43$  ng/ml, sonbaharda  $5.1 \pm 0.66$  ng/ml ve kış aylarında  $1.4 \pm 0.18$  ng/ml olarak bildirmişlerdir.

Tiroid hormonları, tetra-iodotironin tiroksin ( $T_4$ ) ve 3-5-3'-triiodotironin ( $T_3$ ) olup  $T_4$  hormonu periferde hedef hücrelerde ve tiroid bezinde deiodinasyon yoluyla

5-deiyodinaz enzimi ile biyolojik olarak aktif hormon olan  $T_3$ 'e ve 5'-deiyodinaz enzimi ile de inaktif olan reverse  $T_3$  ( $rT_3$ ) hormonuna dönüşmektedir (126).

Aktif hormon olan  $T_3$  düşük miktarlarda tiroid bezi tarafından üretilir. Fakat ergin koyunda serum  $T_3$  düzeyinin en az % 50'si ve serum  $rT_3$  düzeyinin de % 97'si çevresel dokularda  $T_4$  hormonunun monodeiodinasyonundan elde edilmektedir. Deiodinasyon dokuların çoğunluğunda meydana gelmektedir. Karaciğer ve böbrekler ise en yüksek deiodinasyon aktivitesi gösteren organlardır. İodotironin deiyodinaz enzimleri selenoproteinlerdir ve yapısal olarak farklılık göstermekle birlikte farklı türler arasında farklı doku dağılımı gösterirler. Koyun ve keçilerde üremenin mevsime bağlı oluşunda tiroid hormonlarının önemli bir rolü vardır. Koyunlarda tiroid hormonları, nöroendokrin üreme aktivitesinin gerçekleşmesinde önemli rol oynarlar. Koçlarda tiroidektomi uygulaması, testis büyümesini ve gonadotropin salınımının mevsimsel döngülerini durdurmaktadır (127-129)

Griffin ve ark. (130) tarafından yıl içerisindeki çok soğuk aylarda koçlarda tiroid hormon üretiminde ve sperma kalitesinde eşit oranda bir artış olduğu belirtilmiş ve üreme sistemini kontrol eden, tiroid fonksiyonu ve hipofizden gonadotropin salgılanması arasında yakın bir ilişki olduğu bildirilmektedir.

Souza ve ark. (131) Polwarth-Ideal ırkı koçlarında,  $T_3$  ve  $T_4$  hormonlarının yıllık döngüsel ritimleri ve 24 saatlik salınımları üzerine yaptıkları çalışmada hormonların gün içi maksimum seviyesinin öğleden sonra 14.30-16.30 saatleri arasında, en düşük miktarların ise sabah erken saatlerde olduğunu yıl boyunca ise Ekim, Aralık ve Şubat aylarında en yüksek seviyede olduklarını belirlemişlerdir.

Birçok araştırmada (28, 30, 131) mevsimin tiroid hormonları üzerindeki etkisinin sıcaklık değişimleri ile ilgili olmakla birlikte, gün ışığı süresinin etkinliğine de dikkat çekilmektedir.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1. Gereç

Araştırmada hayvan materyali olarak Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde bulunan 18-20 aylık on adet Pırlak ırkı koç kullanılmıştır. Koçlar yarı açık besi şartlarında yetiştirilen damızlık hayvanlar arasından Demirci (132)'nin bildirdiği yöntemlerle androlojik muayeneleri yapılarak seçildi.

Araştırmaya başlamadan önce belirlenen koçların sun'i vagene alımları sağlandı. Hayvanların her birinden 01.01.2008 ile 31.12.2008 tarihleri arasında ayda bir kez spermatolojik muayeneler için bir kez de spermatozoon DNA hasarının belirlenmesi amacı ile olmak üzere iki kez sperma alındı. Ayda bir kez morfometrik testis ölçüleri ve bir kez de Vena Jugularis'den kan örnekleri alınarak kan serumunda biyokimyasal ve hormonal parametrelerin değerlendirilmesi için kullanıldı. Araştırma süresince morfometrik testis ölçümleri, spermatolojik muayeneler ve kan serum örnekleri aynı gün içinde sabah erken saatlerde alındı ve müteakip aylarda da örneklerin eş zamanlı alınmasına özen gösterildi.



Resim 1. Araştırmanın yapıldığı merkez ve koçların genel görünümü



## **2.2. Yöntem**

### **2.2.1. Koçların Bakım ve Beslenmesi**

Koçların bakım ve beslenmesi için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin bakım ve besleme koşullarından yararlanılmıştır. Hayvanların beslenmesi için hazırlanan rasyondan günlük olarak koç başına sabah 500 gr akşam 500 gr olmak üzere 1 kg konsantre yem karması ile sabah 750 gr akşam 750 gr kuru yonca verildi. Su ihtiyaçları için ise önlerindeki suluklar sürekli dolu ve temiz bulunduruldu.

### **2.2.2. Morfometrik Testis Ölçümleri**

Testislerin morfometrik ölçüleri alınmadan önce scrotum üzerinde bulunan yabancı maddeler ve yapağı bir makas yardımı ile kesilerek yıkanıp kurulandı (39, 133).

#### **2.2.2.1. Testis Uzunluğu**

Epidydimis'in caput ve cauda kısımları hesaba katılmaksızın dijital kumpas yardımıyla dorso-ventral sağ ve sol testis uzunlukları ayrı ayrı ölçülerek kaydedildi (39, 133).

#### **2.2.2.2. Testis Kalınlığı**

Scrotum üzerinden dijital kumpas yardımıyla cranio-caudal sağ ve sol testis kalınlıkları ayrı ayrı ölçülerek kaydedildi. (39, 133).

#### **2.2.2.3. Scrotum Çevresi**

Yan yatırılan koçun arka ve ön ayakları ile başı bir yardımcı tarafından sabitlendikten sonra testislerin çevresi scrotum üzerinden bir mezro yardımı ile ölçülerek kaydedildi. Ölçüm esnasında testislerin scrotum içinde hareketsiz kalmasına özen gösterildi (39, 133).

#### **2.2.2.4. Scrotum Kalınlığı**

Skrotumun lateralindeki deri kalınlığı bir kumpas yardımı ile ölçülerek elde edilen bulgular skrotum deri kalınlığı olarak kaydedildi (39).

#### **2.2.2.5. Relatif Testis Hacmi**

Çift testis ile beraber scrotum hacmini ölçmek için yaklaşık 2 lt'lik bir kap tamamen 37<sup>0</sup>C sıcaklıkta su ile doldurularak scrotum bu kap içerisine daldırıldı. Kaptan taşan su, altta tutulan genişçe bir kap içerisinde toplandı. Daha sonra kapta toplanan su miktarı mezür yardımıyla ölçülerek scrotum hacmi olarak kaydedildi. Canlı hayvanda epididimis ve testisleri ayırmak mümkün olmadığından bu hacme, scrotum, testis ve epididimislerin hacimleri de dahildir. Elde edilen değer koçların eşzamanlı olarak belirlenen canlı ağırlıklarına bölünerek relatif testis hacmi olarak belirlendi (29, 39).

#### **2.2.3. Sun'î Vajenin Hazırlanması**

Koçlar için üretilmiş 110 mm uzunluğunda 55 mm çapındaki sun'î vajen silindiri ve silindir dışında kalan kısımlar deterjanlı su ile yıkandıktan sonra çeşme suyunda durulandı daha sonra distile sudan geçirildi son olarak 70<sup>0</sup>'lik etil alkolden geçirilip kurutuldu. Sert kauçuk silindir içerisine boru şeklindeki ince kauçuk lastik geçirilip her iki ucu silindirin dış yüzüne çevrilerek üzerine sabitliğini ve su sızdırmamasını sağlamak için lastik bantlar geçirildi. Daha sonra sperma toplama kadehine sabitlenen lastik huni silindirin uç kısmına uygun şekilde yerleştirildi. Sun'î vajene yarısına kadar 48-52 <sup>0</sup>C de sıcak su dolduruldu ve konulan sıcak su sperma alma esnasında 42-45 <sup>0</sup>C olacak şekilde ayarlandı. Penisin gireceği ön kısmına bir cam bageet yardımıyla bir miktar steril vazelin sürülerek kayganlığı, basıncı ise içerisine doldurulan sıcak su ve gerek görüldüğünde bir miktar hava üfleme suretiyle sağlandı (21, 132, 133).

#### **2.2.4. Reaksiyon Süresi**

Koçların koyunların perineal bölgelerini koklamaya başlamalarından itibaren aşım girişiminde bulunmalarına kadar gösterdikleri davranışların gözlenip bu sürenin kaydedilmesi ile belirlendi (133).

#### **2.2.5. Spermanın Alınması**

Koçlardan sun'i vajen yardımı ile sperma alma esnasında aşım partneri olarak kızgınlığı tespit edilmiş koyun, bulunamadığı dönemlerde ise kızgınlık göstermeyen koyunlar kullanıldı. Bir yardımcı tarafından tutulan koyunun üzerine atlayan koçun penisine daha önceden hazırlanmış sun'i vajen usulüne uygun takılarak sperma alındı. Spermanın toplandığı tüp 37 °C'lik su banyosuna yerleştirilerek gerekli muayeneleri yapıldı (39, 132, 133).

#### **2.2.6. Spermanın Muayenesi**

##### **2.2.6.1. Spermanın Makroskopik Muayenesi**

###### **2.2.6.1.1. Spermanın Miktarı**

Spermanın miktarı, sperma toplama kadehi üzerindeki ölçü çizgileri okunarak "ml" olarak kaydedildi.

###### **2.2.6.1.2. Spermanın Viskozitesi**

Çıplak gözle bakılıp 1-5 aralığında numaralandırılarak değerlendirildi. Bu değerlendirmeye göre 5 çok koyu, 4 krema koyuluğu, 3 sulu krema, 2 süt inceliği ve 1 de sulu olarak değerlendirildi (39).

###### **2.2.6.1.3. Spermanın pH'sı**

Spermanın pH'sı, 0.5 birim aralıklı ve duyarlılığı 5.0-10.0 arasında olan Merck Neuralit pH test kağıdı yardımıyla değerlendirildi. Bu amaçla pH indikatör kağıdının yeni alınmış spermaya teması sağlanarak 3-5 s içerisinde test kağıdındaki renk değişimi kutu üzerindeki skala ile karşılaştırıldı (132).

## **2.2.6.2. Spermannın Mikroskopik Muayenesi**

### **2.2.6.2.1. Spermatozoonların Kitle Hareketi**

Muayenede 37 °C'deki lam üzerine bir iki damla sperma konuldu. Daha sonra ısıtma tablalı faz-kontrast mikroskobun (Olympus CX31, Olympus Optical Co., Ltd., Japan) 10'luk objektifi ile lamel kapatılmadan farklı 2-3 mikroskop sahası incelendi. Spermada bulunan ileri yönlü, güçlü harekete sahip spermatozoon'ların yoğunluğuna bağlı olarak oluşturduğu kaynama ve dalgalanma hareketleri göz önüne alınarak 0-5 arasında puan verilerek değerlendirildi (133).

### **2.2.6.2.2. Spermatozoa Motilitesi**

Motilite tayini için faz-kontrast mikroskobun 37 °C'ye ayarlanmış ısıtma tablasına temiz bir lam yerleştirildi. Lam üzerine % 2.9'luk Sodyum Sitrat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) solüsyonu ile toplu iğne başı büyüklüğünde sperma konularak sulandırılmış olan bu sperma üzerine hava kabarcıklarının oluşmasını engelleyecek şekilde 45° eğimle lamel kapatıldı. Mikroskobun 100x objektifi ile görüntü bulunduktan sonra 200x ve 400x büyütmede spermatozoonların hareketleri tek tek ve birkaç mikroskop sahasında incelendi. Tek yönde hızlı hareket edenlerin % oranı spermatozoa motilitesi olarak kaydedildi. Tereddüt edilen durumlarda muayeneler tekrarlandı (21, 132, 133).

### **2.2.6.2.3. Spermatozoa Yoğunluğu**

Spermatozoa yoğunluğu Hemositometrik yöntem ile tayin edildi. Bu amaçla eritrosit sayımında kullanılan pipetin 0.5 çizgisine kadar sperma, 101 çizgisine kadarda içerisine 1-2 damla eosin damlatılmış distile su çekilerek 1/200 oranında sulandırıldı. Ardından pipetin her iki ucu baş ve işaret parmaklar arasına kapatılarak yatay konumda yaklaşık 100 defa ileri-geri hareketlerle karışması sağlandı. Bu işlemin ardından 1 çizgisine kadar olan kılcal boruda spermatozoon bulunmadığından bu hacme karşılık gelen 5 damla atıldı. Pipetin ucu Thoma lamı üzerindeki ayağa temas ettirilerek daha önceden üzerine lamel yapıştırılmış olan Thoma lamı ile lamel

arasına sulandırılmış spermanın yayılması sağlandı. Thoma lamı yatay konumda 3-5 dk. bekletilerek pasif sıvı akışının durması sağlandı.

Spermatozoon sayımı faz-kontrast mikroskopta 400x büyütmede alt ve üst sayım sahalarında beşer orta karedeki (80 küçük kare) spermatozoonların sayımı ile gerçekleştirildi. Yoğunluk ml'deki sayı olarak aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı (132, 133 ).

$$\text{Spermatozoon Yoğunluğu (sayı/ml)} = \frac{\text{Sayılan Spermatozoon Sayısı}}{\text{Sayılan Küçük Kare Sayısı}} \times \frac{\text{Toplam Küçük Kare Sayısı (400)}}{\text{Thoma Lamının Derinliği (10)}} \times \frac{\text{Sulandırma Oranı (200)}}{1000 \text{ mm}^3}$$

#### 2.2.6.2.4. Ölü Spermatozoa Oranı

Ölü spermatozoa oranının belirlenmesinde eosin-nigrosin boyama yöntemi kullanıldı. Boya solüsyonları kullanımdan önce filtre edilerek ısıtma tablasındaki lam üzerine 1'e 4 oranında sperma ve 37 °C'ye ayarlanmış su banyosunda bekletilen eosin-nigrosin boylarından konulup hassas bir şekilde karışımları sağlandı. Daha sonra froti çekilerek çok kısa bir sürede kurumaları sağlandı. Kurumuş frotilerde mikroskopta (400 X büyütme) 400 spermatozoon sayılarak ölü spermatozoa oranı % olarak kaydedildi. Spermatozoon baş kısmının tamamı ya da bir bölümü boya almışsa hücre ölü boya almayanlar ise canlı olarak değerlendirildi. Şüpheli olanlar ise ölü olarak değerlendirildi.

Eosin ve nigrosin boylarının hazırlanışı:

Eosin-Y (1,67 gram)

Nigrosin (10 gram)

Sodyum Sitrat (2,9 gram), 100 ml distile suya tamamlanarak hazırlandı (39, 133).

### 2.2.6.2.5. Anormal Spermatozoa Oranı

Sperma numunelerinde anormal spermatozoa oranı sıvı fikzasyon yöntemi ile belirlendi. Fikzasyon amaçlı 1 ml Hancock sıvısı içerisine 1-2 damla sperma damlatılarak iyice karışımları sağlandı. Daha sonra karışımdan lam üzerine bir damla alınarak üzerine lamel kapatılıp immersiyon objektifinde 1000x faz-kontrast mikroskopta 400 spermatozoon sayıldı ve anormal spermatozoa oranı % olarak belirlendi. Normal spermatozoon yapısı dışında form gösteren yapılar anormal olarak değerlendirildi.

Hancock solüsyonunun hazırlanışı:

#### 1. Solüsyon:

NaCl (9.01 gram) Bidistile su (500 ml)

#### 2. Solüsyon: 200 ml A ile 80 ml B karışımından oluşturuldu.

A-  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (21,682 g) Bidistile su (500 ml)

B-  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (22,254 g) Bidistile su (500 ml)

Hancock solüsyonu;

Formalin (62,5 ml)

#### 1. Solüsyon (150 ml)

2. Solüsyon (150 ml), 500 ml bidistile su eklenerek hazırlandı (134).

### 2.2.6.2.6. Hipo-ozmotik Şişme Testi (HOS Testi)

Spermatozoon membranının fonksiyonel bütünlüğünün belirlenmesi amacıyla HOS test uygulandı. Fruktoz ve trisodium sitrat ile hazırlanan HOS test solüsyonunun ozmotik basıncını doğrulamak için Tarım Köy İşleri Bakanlığı Şap Enstitüsü Müdürlüğü bünyesindeki Advanced™ Micro Osmometer Model 3300 (USA)

ozmometreden yararlanıldı. Su banyosunda 37°C'taki 100 mOsm'luk HOST solüsyonundan 1 ml alınarak üzerine sperma numunesinden 10 µl eklendi. Bu karışımın 37°C'ta 30 dakika inkübasyonu sonrasında bu karışımdan lam üzerine bir damla alınıp lamel kapatılarak faz-kontrast mikroskop altında ve immersiyon objektifinde (1000x) 400 spermatozoon sayıldı. Değerlendirmede şişen spermatozoa oranları belirlendi.

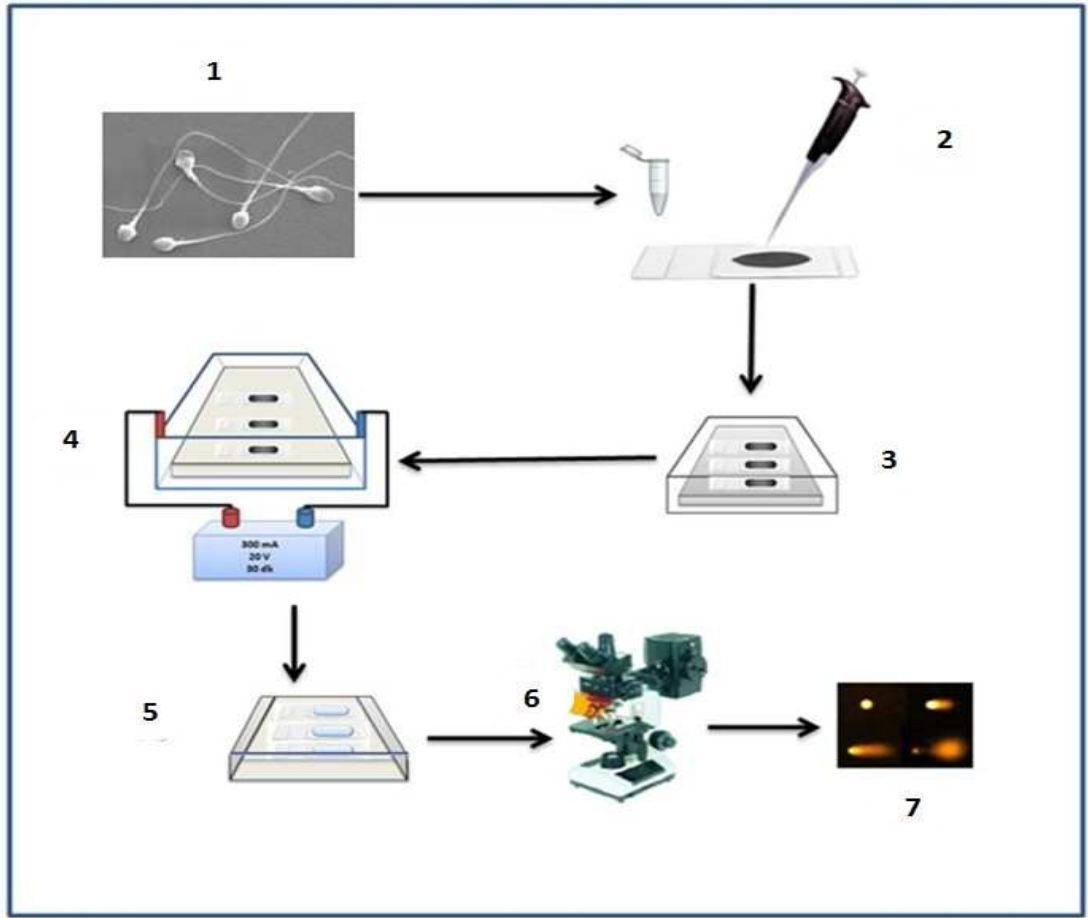
HOS Test Solüsyonunun hazırlanışı:

8,7 g fruktoz

4,9 g sodyum sitrat, 1000 ml'ye tamamlanarak (100 mOsm/kg) hazırlanmıştır (51, 135).

### **2.2.7. Spermatozoon DNA Hasarının Belirlenmesi**

Spermatozoon DNA hasarının belirlenmesinde, alkali pH da farklı molekül ağırlıklarına ve elektrik yüküne sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda göçleri esasına dayanan ve Comet assay olarak da adlandırılan Alkaline Single Cell Gel Electrophoresis (SCGE) yöntemi kullanıldı. Tek hücreler veya çekirdekçikler Şekil 1'de görüldüğü gibi agaroz gömülerek yüksek tuz ve deterjan içeren lizis solüsyonunda hücrelerin lize olmaları sağlanarak daha sonra DNA'lar elektroforez de yürütülürler. Yürütme esnasında hasarsız DNA'lar bütünlüğünü kaybetmeden yürürler ve kuyruk (comet) oluşturmazlar. Bunun yanında hasarlı DNA fragmenleri oluşan hasardan dolayı farklı moleküler ağırlıklara ve farklı elektrik yüklerine sahip olduklarından elektriksel alanda farklı hızda hareket ederler ve kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar. Değerlendirmede ise elde edilen DNA migrasyon görüntüleri bulgularına göre yapılmaktadır (82, 93).



Şekil 1. SCGE Yönteminin Genel Aşamaları 1: Sperma süspansiyonunun hazırlanması. 2: Slaytların hazırlanması ve spermatozoonların agarozda gömülmesi. 3: Lizis. 4: DNA sarmalının çözülmesi ve Elektroforez. 5: Nötralizasyon ve Boyama. 6: Hasarlı ve Hasarsız DNA Görüntülerinin elde edilmesi. 7: Değerlendirme.

### 2.2.7.1. Spermmanın Yıkınması

Alınan spermalar 37 °C'lik karanlık bir ortamda zaman kaybetmeden laboratuvara getirildi. Spermalar  $\text{Ca}^{+2}$  ve  $\text{Mg}^{+2}$  içermeyen Fosfat Buffer Saline solüsyonu (PBS) ile 1:1 oranında sulandırılarak +4 °C'ye ayarlı 300 x g'de 10 dk santrifüj edilerek yıkandı. Santrifüj bitiminde süpernatant atılarak sperma tekrar sulandırılarak santrifüj işlemi tekrarlandı. Süpernatant tekrar atılarak ml'de  $20 \times 10^6$  spermatozoa olacak şekilde PBS ile sulandırıldı (136, 139).



### **2.2.7.2. Slaytların Hazırlanması**

PBS içerisinde hazırlanmış % 0.75'lik normal kaynama dereceli agaroz (NMA) jelden 100 µl alınıp özel olarak traşlanarak buzlandırılmış lamalar üzerine damlatıldı ve froti şeklinde yayılarak oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Sulandırılmış sperma süspansiyonundan 10 µl alınarak 80 µl % 1 oranında düşük kaynama dereceli agaroz (LMA jel ile 37°C) karıştırılarak birinci agaroz kat üzerine tabakalandırıldı ve 24 x 60 mm ebatlarındaki lamel ile kapatılarak buzdolabında katılaşması için bekletildi. Katılaşma işleminden sonra lameller dikkatlice çekilerek slaytlar hazır hale getirildi (82, 138).

### **2.2.7.3. Hücre Lizisi**

Lizis solüsyonu hücre ve çekirdek zarını lize edip DNA sarmallarının agaroz içinde serbest kalmasını sağlamak amacıyla kullanılmakta olup spermatozoonlar lam üzerinde agaroz jele gömüldükten sonra, slaytlar yüksek yoğunlukta tuz ve deterjan içeren taze hazırlanmış soğuk lizis solüsyonunda (2.5 M NaCl, 100 mM Na<sub>2</sub>-EDTA, 10 mM Tris, 1% Triton X-100 ve 40 mM dithiothreitol (DTT), pH: 10) yaklaşık 1 saat süre ile inkübe edildi. Bir saat sonunda slaytlar yaklaşık 4 saat süre ile 37°C de 100 µg/ml proteinase K eklenen lizis solüsyonunda tekrar inkübe edildi (82, 138).

### **2.2.7.4. Slaytların Elektrofrez**

Elektrofrezde yürütmeden önce DNA zincirlerinin ayrılması için slaytlar taze olarak hazırlanmış ve soğutulmuş elektrofrez tamponunda 20 dk. inkübasyona bırakıldı. Agaroz gömülü spermatozoonların elektrofrez tamponunda (300 mM NaOH ve 1 mM EDTA, pH: 12.5) inkübasyonu tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözelti içerisinde 250 mA ve 12 volt'luk elektriksel alanda 20 dk. yürütüldü (82, 138).

### **2.2.7.5. Slaytların Nötralizasyonu**

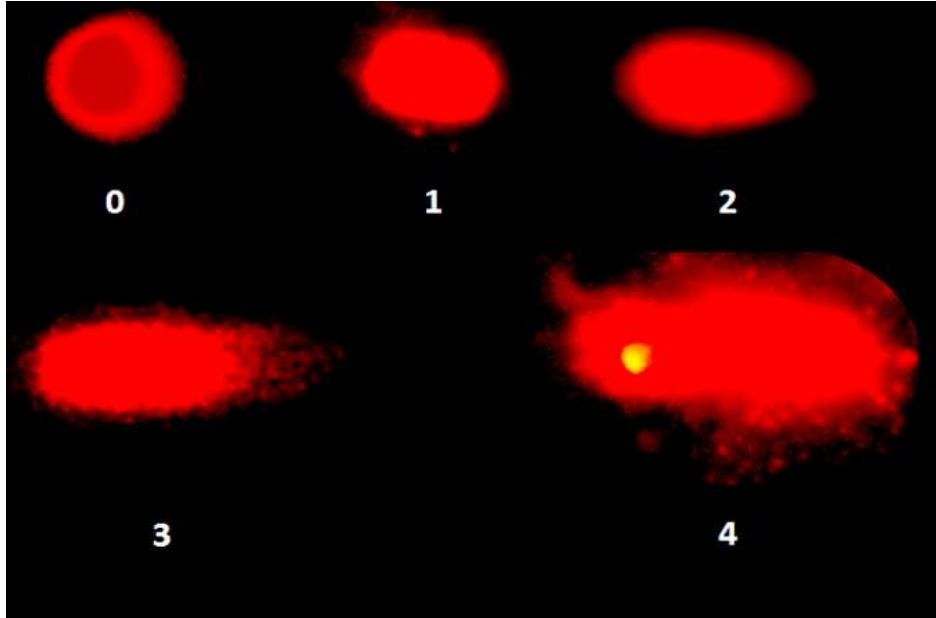
Elektrofrezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali elektrofrez çözeltisini slaytlardan uzaklaştırmak için slaytlar taze hazırlanmış Tris tamponuyla (40 mM Tris HCl, pH 7.4) 3 kez yıkanarak nötralizasyon sağlandı (82, 138).

### 2.2.7.6. Slaytların Boyanması

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra slaytlar floresan boya olan ethidium bromid (5 µg/ml) kullanılarak boyandı ve boyanan DNA'lar 4 saat içerisinde değerlendirildi (139).

### 2.2.7.7. Slaytların Değerlendirilmesi

Ethidium bromide ile boyanan slaytlar üzerine lamel kapatılarak 400x büyütme floresan aparatlı mikroskop (Olympus CX-31) ile 100 adet DNA görüntüsü değerlendirildi.



Resim 2. Görsel Skorlama Tekniği İle Hücrelerin Sınıflandırılması (0: Hasarsız DNA Görüntüsü, 1-4: Hasarlı DNA'ları hasar derecelerine göre aldığı puanlar) (400 x) (104).

Değerlendirme görsel skorlama yöntemi ile gerçekleştirildi. Migrasyon uzunluğu fragmentlerin miktarına, DNA zincir kırıklarına ve alkali-labil bölgelerin seviyesine bağlı olarak değişiklik gösterdiğinden, oluşan hasarın derecesine göre DNA görüntüleri 5 alt katagoride sınıflandırılarak puanlama yapıldı. Hiç hasar olmayan DNA'lar 0, hasar olan DNA'lar ise hasarın derecesine göre 1'den 4'e kadar puanlandırıldı. Her koç için sonuçlar toplanıp arbitrary unit (AU) olarak değerlendirildi (104).

### **2.2.8. Kan Örneklerinin Toplanması**

Koçlardan kan örnekleri ayda bir kez sabah saatlerinde Vena Jugularis'den steril iğne ve enjektör yardımı ile 8-10 ml alınıp 3000 RPM'de 15 dk. santrifüj edilerek elde edilen kan serumları endorf tüplere aktarıldı. Örneklemeler tamamlanincaya kadar kan serumları -20°C'de depolandı.

### **2.2.9. Biyokimyasal Özellikler**

Biyokimyasal özelliklerden kan serum Total Protein, Albumin, Globulin, A/G oranları, Kolesterol ve Trigiserid miktarları ölçüldü. Tüm biyokimyasal değerlendirmeler Roche Diagnostics GmbH (D-68298, Mannheim, Germany)'den temin edilen kitler kullanılarak Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Hastanesi bünyesinde bulunan Roche Diagnostic cobas c-111 otoanalizörde gerçekleştirildi.

#### **2.2.9.1. Total Protein**

Total kan serum protein miktarları, biüret metodu ve TP Gen.2 monochromatic (Kat. No. 04657586 190 ) kit yardımı ile ölçüldü (140, 141).

#### **2.2.9.2. Albumin**

Albumin miktarları, Albumin Gen.2 (Kat. No. 04657357 190) kit kullanılarak ölçüldü (140, 141).

#### **2.2.9.3. Globulin**

Globulin miktarları kan serum total protein miktarından albumin miktarının çıkartılması sonucu elde edildi.

#### **2.2.9.4. A/G Oranı**

Elde edilen kan serum albumin miktarlarının globulin miktarlarına bölünmesi suretiyle belirlendi.

### **2.2.9.5. Triglisericid**

Triglisericid miktarları, enzimatik-kolorimetrik metot ile Triglycerides (Kat. No. 04657594 190) kit kullanılarak ölçüldü (140).

### **2.2.9.6. Kolesterol**

Kolesterol miktarlarında yine Triglisericid miktarlarının belirlenmesinde kullanılan enzimatik-kolorimetrik metot ile Cholesterol Gen.2 (Kat. No. 04718917 190) kit yardımıyla ölçüldü (140).

### **2.2.9.7. Enzim Aktivitesi**

Enzim aktivitesi ile ilgili olarak özelliklerden Aspartat aminotransferaz (AST) ve Alanin aminotransferaz (ALT) düzeyleri ile AST/ALT oranları belirlendi.

#### **2.2.9.7.1. Aspartat aminotransferaz (AST)**

AST seviyeleri Aspartate aminotransferase (Kat. No. 04657543 190) kit kullanılarak belirlendi.

#### **2.2.9.7.2. Alanin aminotransferaz (ALT)**

ALT düzeyleri Alanine aminotransferase acc. IFCC (Kat. No. 04718569 190) kit yardımıyla ölçüldü.

#### **2.2.9.7.3. AST/ALT Oranı**

Belirlenen AST değerlerinin ALT değerlerine bölünmesi sonucunda elde edildi.

### **2.2.10. Kan Serum Hormon Tayini**

Kan serumu Total Testosteron ve triiodothyronine (T<sub>3</sub>) düzeylerinin belirlenmesi özel sektöre bağlı bir hormon laboratuvarında gerçekleştirildi.

#### **2.2.10.1. Testosteron**

Testosteron ölçümleri Coated Tube RIA (Kapalı-Tüp Radioimmunoassay) metodu ile Active® Testosterone RIA DSL-400 (Diagnostic System Laboratories Inc. Webster, Texas, USA) kit ile 1470 Wizard Automatic Gamma Counter (Wallac, Turku, Finland) kullanılarak yapıldı.

Bu yöntemde öncelikle testosteron hormon standartları ve kan serum örnekleri oda sıcaklığında çözündürülerek hazırlandı. Numaralandırılan tüplere sırasıyla 50 µl serum örnekleri konuldu. Kalibrasyon tüpleri hariç tüm tüplere 500 µl ( $I^{125}$ ) ilave edilerek tüpler iyice karıştırıldı. Tüplerin ağzı kapatılarak 37 °C'ye ayarlı su banyosunda 60-70 dk. inkube edildi. İnkubasyon sonrası ağzı açılan tüpler ters çevrilerek fazla kısımları boşaltıldı. Daha sonra 10'lu gruplar halinde RIA Gamma Counter'a yerleştirilip 1 dk. bekletildikten sonra sonuçlar her örnek için ayrı ayrı okunarak kaydedildi.

### **2.2.10.2. T<sub>3</sub>**

Triiodothyronine (T<sub>3</sub>) miktarları Electrochemiluminescence Immunoassay (ECLIA) yöntemi ile Roche Diagnostic Modular Analytics E170 Immunoassay System otoanalizator ve Roche Diagnostics GmbH (D-68298, Mannheim, Germany)'den temin edilen Roche Cobas T<sub>3</sub> (Triiodothyronine) kit kullanılarak belirlendi.

### **2.2.11. İstatistiksel Analiz**

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmeleri için SYSTAT 5.0 istatistik programından yararlanıldı. Sonuçlar ortalama ve standart hata ( $\pm$ S.E.M) olarak verildi. Değişkenler arasında farkın önemliliğinin belirlenmesinde Wilcoxon ve eşleştirilmiş örneklerde t-testi uygulandı. Önemlilik düzeyi  $p < 0.05$  olarak değerlendirildi. Elde edilen morfometrik testis ölçümleri, spermatolojik özellikler, kan serumu biyokimyasal ve hormonal özellikler arasındaki ilişkinin belirlenmesinde Pearson Korelasyon katsayıları kullanıldı. Önemlilik düzeyi  $p < 0.10$  olarak değerlendirildi (141).

### 3. BULGULAR

#### 3.1. İklimsel Veriler

Afyonkarahisar Meteoroloji Bölge Müdürlüğünden temin edilen araştırma süresince Afyonkarahisar ili iklimsel verileri Çizelge 1’de sunulmuştur.

Çizelge.1. Afyonkarahisar ili 2008 yılı meteorolojik verilerinin aylık ortalamaları

	Sıcaklık (°C)	Basınç (hPa*)	Nispi Nem (%)	Güneşlenme Süresi (saat)	Gün Uzunluğu (saat)
Ocak	-1.80	902.30	71.10	4.90	9.49
Şubat	-0.40	903.40	65.60	6.20	10.46
Mart	9.20	894.10	56.40	6.40	11.59
Nisan	12.30	896.40	56.70	7.10	13.15
Mayıs	13.90	897.60	54.60	8.40	14.18
Haziran	21.40	897.50	41.90	10.20	14.50
Temmuz	23.50	895.70	36.10	11.40	14.33
Ağustos	24.80	895.90	37.60	11.50	13.37
Eylül	18.30	897.40	54.50	7.90	12.25
Ekim	12.00	902.60	67.00	7.00	11.10
Kasım	8.20	901.80	74.60	4.10	10.04
Aralık	2.00	902.00	57.70	3.60	9.30

\* Hektopaskal

Afyonkarahisar ili 2008 yılı meteorolojik verileri incelendiğinde Eylül ayından itibaren ortalama çevre sıcaklığı, güneşlenme ve gün uzunluğu sürelerinin azalmaya başladığı bununla birlikte nispi nem oranlarının ise arttığı bunun yanında basınç düzeylerinin ise yıl içindeki değişimlerindeki dalgalanmaların minimal düzeyde olduğu görülmektedir.

#### 3.2. Morfometrik Testis Ölçümleri

Araştırmada kullanılan koçların yıl boyunca aylık olarak morfometrik testis ölçümlerinden sağ ve sol testis uzunlukları, sağ ve sol testis kalınlıkları, scrotum çevreleri ve kalınlıkları ile relatif testis hacimlerine ait ortalama değerler ve bu değerlere ilişkin istatistiki analizler Çizelge 2’de verilmiştir. Tüm çalışma süresince bu parametrelere ilişkin ortalama değerler sırasıyla  $9.24 \pm 0.11$  cm,  $8.90 \pm 0.08$  cm,  $6.22 \pm 0.07$  cm,  $6.14 \pm 0.06$  cm,  $31.45 \pm 0.29$  cm,  $0.42 \pm 0.01$  cm ve  $10.97 \pm 0.22$  ml/kg olarak bulunmuştur. Ayrıca morfometrik testis ölçümlerine ait aylık

değişimleri Şekil 2-6'da gösterilmektedir. Yapılan istatistiki değerlendirmede koçların morfometrik testis ölçümlerindeki aylık değişimler arasındaki farklar önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuş ve en yüksek değerlerin elde edildiği aylar ölçüm kriterlerine bağlı olarak değişmekle birlikte genel olarak Mayıs ile Kasım ayları arasında olduğu gözlenmiştir. Bunun yanında testis uzunlukları için Mayıs ve Haziran aylarındaki testis kalınlıkları için ise Nisan, Haziran, Temmuz ve Kasım aylarındaki sağ ve sol değerler arasındaki farklar istatistiki yönden önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur (Çizelge 2).

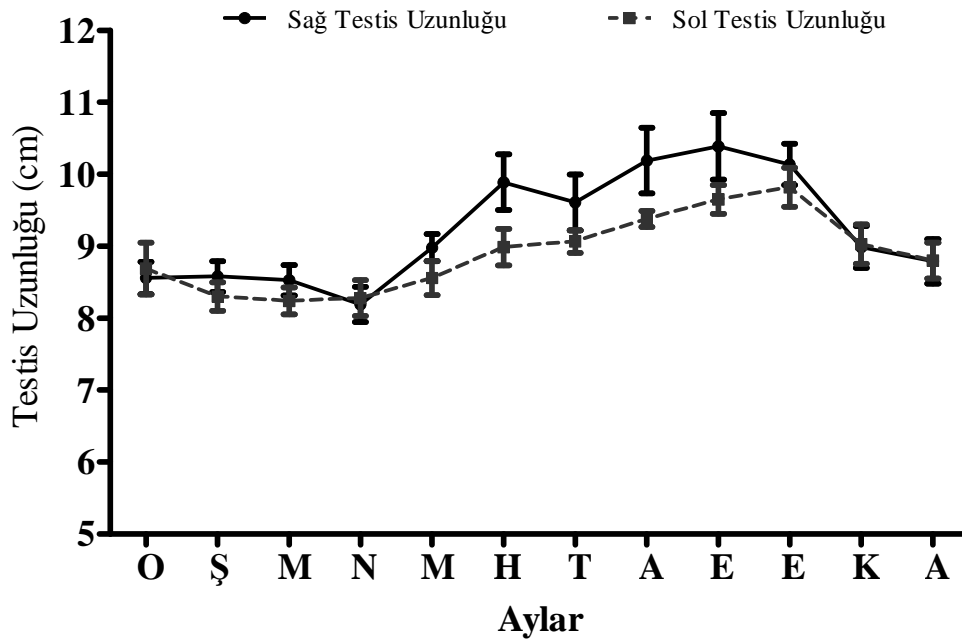
Çizelge 2. Araştırmada kullanılan koçların aylara göre tespit edilen morfometrik testis ölçümlerine ait ortalama değerler (Ortalama  $\pm$  S.E.M.) (n: 10)

Aylar	Testis Uzunluğu (cm)		Testis Kalınlığı (cm)		Scrotum Çevresi (cm)	Scrotum Kalınlığı (cm)	Relatif Testis Hacmi (ml/kg)
	Sağ	Sol	Sağ	Sol			
1	8.56 $\pm$ 0.22 <sup>aBC</sup>	8.69 $\pm$ 0.36 <sup>aBCD</sup>	5.51 $\pm$ 0.25 <sup>aF</sup>	5.67 $\pm$ 0.26 <sup>aE</sup>	27.31 $\pm$ 0.59 <sup>EF</sup>	0.47 $\pm$ 0.03 <sup>A</sup>	8.46 $\pm$ 0.24 <sup>F</sup>
2	8.58 $\pm$ 0.21 <sup>aBC</sup>	8.30 $\pm$ 0.20 <sup>aCD</sup>	5.55 $\pm$ 0.13 <sup>aF</sup>	5.43 $\pm$ 0.11 <sup>aE</sup>	27.57 $\pm$ 0.57 <sup>EF</sup>	0.46 $\pm$ 0.02 <sup>A</sup>	9.02 $\pm$ 0.28 <sup>E</sup>
3	8.53 $\pm$ 0.21 <sup>aBC</sup>	8.24 $\pm$ 0.19 <sup>aD</sup>	5.81 $\pm$ 0.12 <sup>aEF</sup>	5.76 $\pm$ 0.13 <sup>aD</sup>	28.70 $\pm$ 0.38 <sup>E</sup>	0.45 $\pm$ 0.02 <sup>A</sup>	8.76 $\pm$ 0.35 <sup>EF</sup>
4	8.19 $\pm$ 0.25 <sup>aC</sup>	8.28 $\pm$ 0.25 <sup>aD</sup>	5.78 $\pm$ 0.19 <sup>aEF</sup>	5.61 $\pm$ 0.21 <sup>bE</sup>	30.30 $\pm$ 0.71 <sup>D</sup>	0.41 $\pm$ 0.02 <sup>B</sup>	9.94 $\pm$ 0.77 <sup>DE</sup>
5	8.98 $\pm$ 0.19 <sup>aB</sup>	8.56 $\pm$ 0.24 <sup>bBCD</sup>	5.95 $\pm$ 0.17 <sup>aDE</sup>	5.72 $\pm$ 0.14 <sup>aD</sup>	30.97 $\pm$ 0.54 <sup>D</sup>	0.39 $\pm$ 0.02 <sup>B</sup>	11.53 $\pm$ 0.88 <sup>BC</sup>
6	9.89 $\pm$ 0.39 <sup>aAB</sup>	8.99 $\pm$ 0.26 <sup>bBC</sup>	6.31 $\pm$ 0.15 <sup>aCDE</sup>	6.11 $\pm$ 0.13 <sup>bC</sup>	33.15 $\pm$ 0.35 <sup>C</sup>	0.42 $\pm$ 0.01 <sup>AB</sup>	11.68 $\pm$ 0.75 <sup>BC</sup>
7	9.61 $\pm$ 0.39 <sup>aAB</sup>	9.07 $\pm$ 0.16 <sup>aB</sup>	6.56 $\pm$ 0.15 <sup>aBC</sup>	6.35 $\pm$ 0.11 <sup>bC</sup>	33.95 $\pm$ 0.39 <sup>B</sup>	0.41 $\pm$ 0.01 <sup>B</sup>	12.36 $\pm$ 0.55 <sup>B</sup>
8	10.19 $\pm$ 0.46 <sup>aA</sup>	9.38 $\pm$ 0.11 <sup>aA</sup>	6.68 $\pm$ 0.17 <sup>aB</sup>	6.41 $\pm$ 0.12 <sup>aBC</sup>	34.20 $\pm$ 0.67 <sup>B</sup>	0.44 $\pm$ 0.02 <sup>AB</sup>	13.04 $\pm$ 0.47 <sup>A</sup>
9	10.39 $\pm$ 0.46 <sup>aA</sup>	9.65 $\pm$ 0.20 <sup>aA</sup>	6.92 $\pm$ 0.18 <sup>aA</sup>	6.77 $\pm$ 0.18 <sup>aA</sup>	35.30 $\pm$ 0.71 <sup>A</sup>	0.45 $\pm$ 0.02 <sup>A</sup>	13.24 $\pm$ 0.61 <sup>A</sup>
10	10.14 $\pm$ 0.29 <sup>aA</sup>	9.82 $\pm$ 0.27 <sup>aA</sup>	7.04 $\pm$ 0.14 <sup>aA</sup>	6.85 $\pm$ 0.12 <sup>aA</sup>	33.95 $\pm$ 0.79 <sup>B</sup>	0.43 $\pm$ 0.02 <sup>AB</sup>	12.79 $\pm$ 0.71 <sup>AB</sup>
11	8.99 $\pm$ 0.29 <sup>aB</sup>	9.03 $\pm$ 0.27 <sup>aBC</sup>	6.34 $\pm$ 0.19 <sup>bBCD</sup>	6.68 $\pm$ 0.18 <sup>aAB</sup>	31.25 $\pm$ 0.83 <sup>D</sup>	0.35 $\pm$ 0.02 <sup>B</sup>	10.76 $\pm$ 0.62 <sup>C</sup>
12	8.79 $\pm$ 0.31 <sup>aBC</sup>	8.80 $\pm$ 0.25 <sup>aBCD</sup>	6.21 $\pm$ 0.21 <sup>aCDE</sup>	6.30 $\pm$ 0.21 <sup>aC</sup>	30.75 $\pm$ 0.72 <sup>D</sup>	0.33 $\pm$ 0.02 <sup>B</sup>	9.99 $\pm$ 0.48 <sup>D</sup>

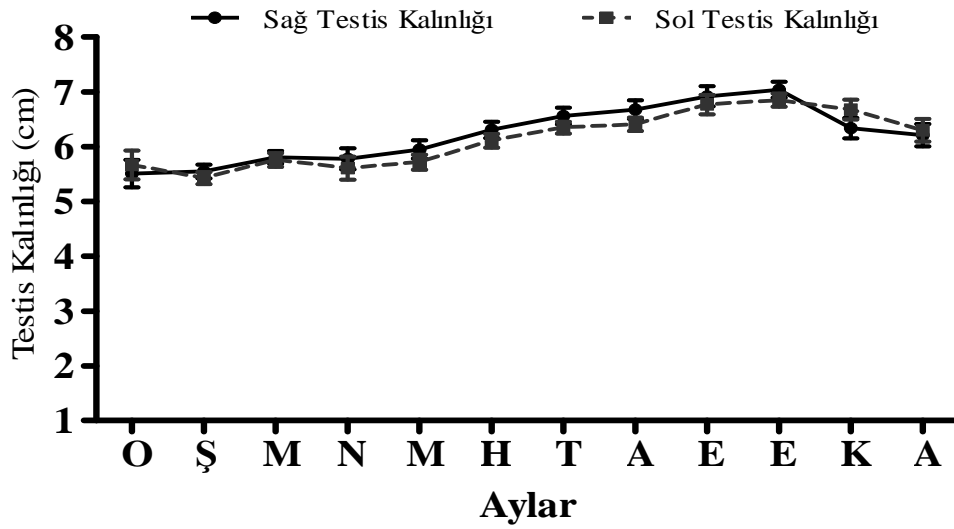
a-b : Aynı satır içerisinde farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklar istatistiki yönden önemlidir (p<0.05)

A- F : Aynı sütun içerisinde farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki farklar istatistiki yönden önemlidir (p<0.05)

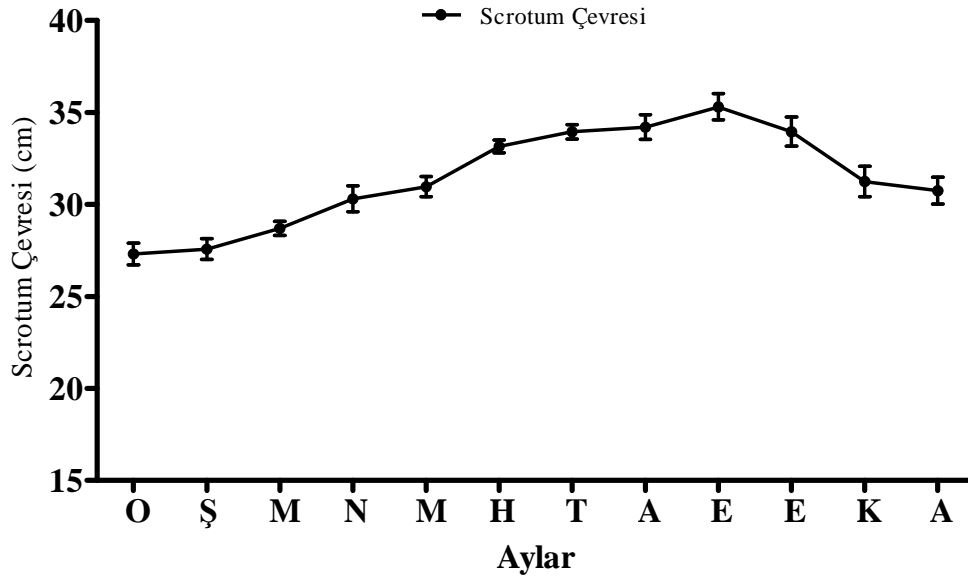




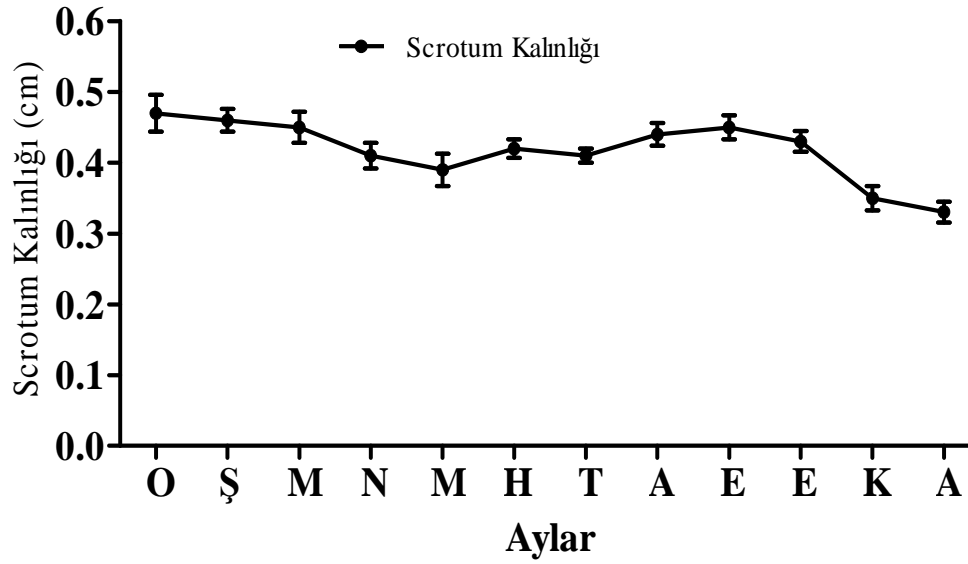
Şekil 2. Koçların Aylara Göre Ortalama Sağ ve Sol Testis Uzunlukları (n: 10)



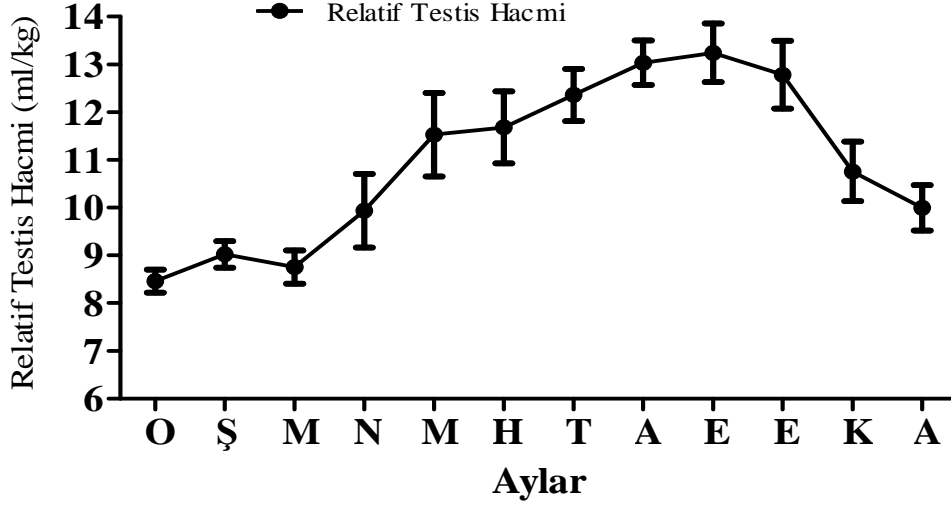
Şekil 3. Koçların Aylara Göre Ortalama Sağ ve Sol Testis Kalınlıkları (n: 10)



Şekil 4. Koçların Aylara Göre Ortalama Scrotum Çevreleri (n: 10)



Şekil 5. Koçların Aylara Göre Ortalama Scrotum Kalınlıkları (n: 10)



Şekil 6. Koçların Aylara Göre Ortalama Relatif Testis Hacimleri (n: 10)

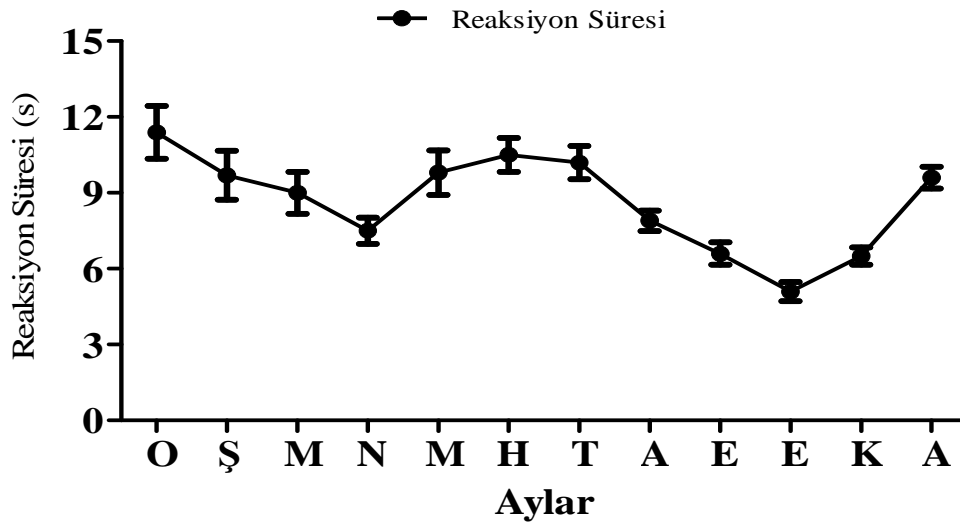
### 3.3. Spermatojistik Özellikler

Çalışma süresince koçların reaksiyon süreleri, sperma miktarları, viskoziteleri ve pH'ları ile spermatozoon kitle hareketleri motiliteleri ve yoğunlukları, ölü ve anormal spermatozoon oranları HOS test ve DNA Hasarına ilişkin ortalama değerler ve bu değerlere ait istatistiki analizler Çizelge 3 ve 4'de verilmiş olup aylık değişimler Şekil 7-17'de gösterilmiştir. Araştırma süresince reaksiyon süreleri, spermanın miktarı, viskozitesi ve pH'sı, spermatozoonların kitle hareketleri, motiliteleri ve yoğunlukları, ölü ve anormal spermatozoon oranları ile HOS test ve spermatozoon DNA hasarına ilişkin ortalama değerler sırasıyla  $8.65 \pm 0.25$  s,  $1.06 \pm 0.03$  ml,  $3.78 \pm 0.07$ ,  $6.63 \pm 0.04$ ,  $3.67 \pm 0.08$ , %  $77.67 \pm 0.77$ ,  $3.59 \pm 0.08 \times 10^9$ /ml, %  $10.39 \pm 0.30$ , %  $6.52 \pm 0.19$ , %  $66.34 \pm 0.81$  ve  $30.15 \pm 1.17$  AU olarak bulunmuştur. Koçların spermatojistik özelliklerindeki aylık değişimler arasındaki farklar istatistiki olarak önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuş ve istenilen değerlerin Ağustos ve Kasım ayları arasındaki dönemde olduğu gözlenmiştir.

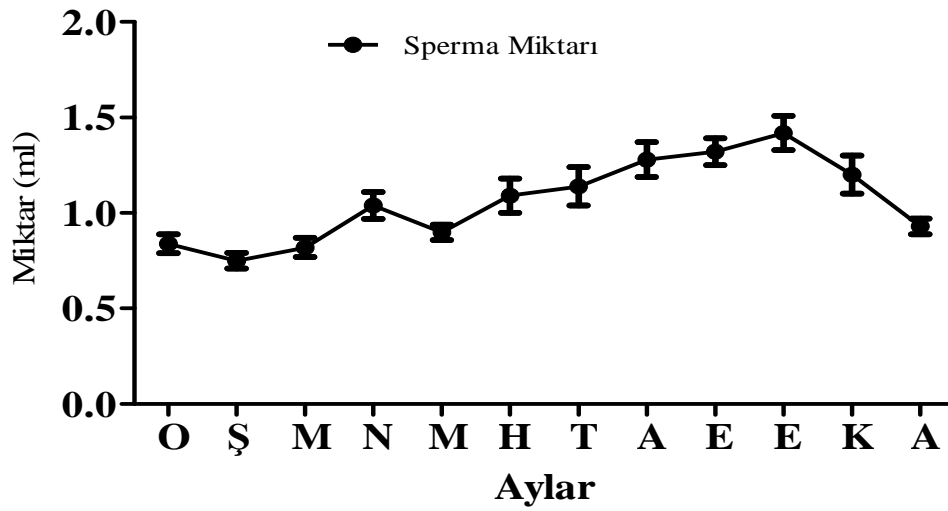
Çizelge 3. Araştırmada kullanılan koçların 1 yıl boyunca aylara göre tespit edilen reaksiyon süreleri ile spermanın makroskopik bulgularına ait ortalama değerler (Ortalama  $\pm$  S.E.M. (n: 10))

Aylar	Reaksiyon Süresi (s)	Sperma		
		Miktar (ml)	Viskozite (1-5)	pH (5-10)
1	11.40 $\pm$ 1.04 <sup>A</sup>	0.84 $\pm$ 0.05 <sup>EF</sup>	4.10 $\pm$ 0.18 <sup>AB</sup>	6.85 $\pm$ 0.11 <sup>AB</sup>
2	9.70 $\pm$ 0.97 <sup>BC</sup>	0.75 $\pm$ 0.04 <sup>F</sup>	4.40 $\pm$ 0.16 <sup>AB</sup>	6.80 $\pm$ 0.11 <sup>AB</sup>
3	9.00 $\pm$ 0.83 <sup>CD</sup>	0.82 $\pm$ 0.05 <sup>EF</sup>	3.90 $\pm$ 0.23 <sup>BC</sup>	6.60 $\pm$ 0.10 <sup>BC</sup>
4	7.50 $\pm$ 0.52 <sup>EF</sup>	1.04 $\pm$ 0.07 <sup>D</sup>	3.50 $\pm$ 0.22 <sup>CD</sup>	6.60 $\pm$ 0.19 <sup>BC</sup>
5	9.80 $\pm$ 0.88 <sup>BC</sup>	0.90 $\pm$ 0.04 <sup>E</sup>	3.30 $\pm$ 0.15 <sup>D</sup>	6.60 $\pm$ 0.15 <sup>BC</sup>
6	10.50 $\pm$ 0.67 <sup>AB</sup>	1.09 $\pm$ 0.09 <sup>CD</sup>	3.20 $\pm$ 0.20 <sup>D</sup>	6.40 $\pm$ 0.13 <sup>C</sup>
7	10.20 $\pm$ 0.66 <sup>ABC</sup>	1.14 $\pm$ 0.10 <sup>BCD</sup>	3.20 $\pm$ 0.13 <sup>D</sup>	6.45 $\pm$ 0.12 <sup>C</sup>
8	7.90 $\pm$ 0.41 <sup>DE</sup>	1.28 $\pm$ 0.09 <sup>AB</sup>	3.20 $\pm$ 0.13 <sup>D</sup>	6.55 $\pm$ 0.12 <sup>BC</sup>
9	6.60 $\pm$ 0.45 <sup>F</sup>	1.32 $\pm$ 0.07 <sup>AB</sup>	3.70 $\pm$ 0.15 <sup>CD</sup>	6.50 $\pm$ 0.18 <sup>BC</sup>
10	5.10 $\pm$ 0.38 <sup>G</sup>	1.42 $\pm$ 0.09 <sup>A</sup>	4.60 $\pm$ 0.16 <sup>AB</sup>	6.65 $\pm$ 0.11 <sup>ABC</sup>
11	6.50 $\pm$ 0.34 <sup>F</sup>	1.20 $\pm$ 0.10 <sup>ABC</sup>	4.70 $\pm$ 0.15 <sup>A</sup>	6.60 $\pm$ 0.15 <sup>BC</sup>
12	9.60 $\pm$ 0.43 <sup>BC</sup>	0.93 $\pm$ 0.04 <sup>DE</sup>	3.50 $\pm$ 0.17 <sup>D</sup>	6.90 $\pm$ 0.07 <sup>A</sup>

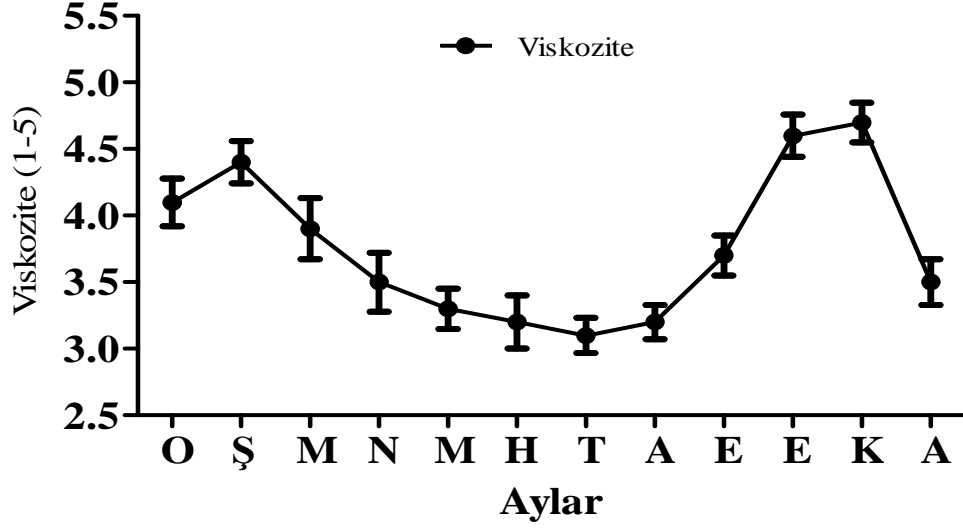
A-G: Aynı sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir (p<0.05)



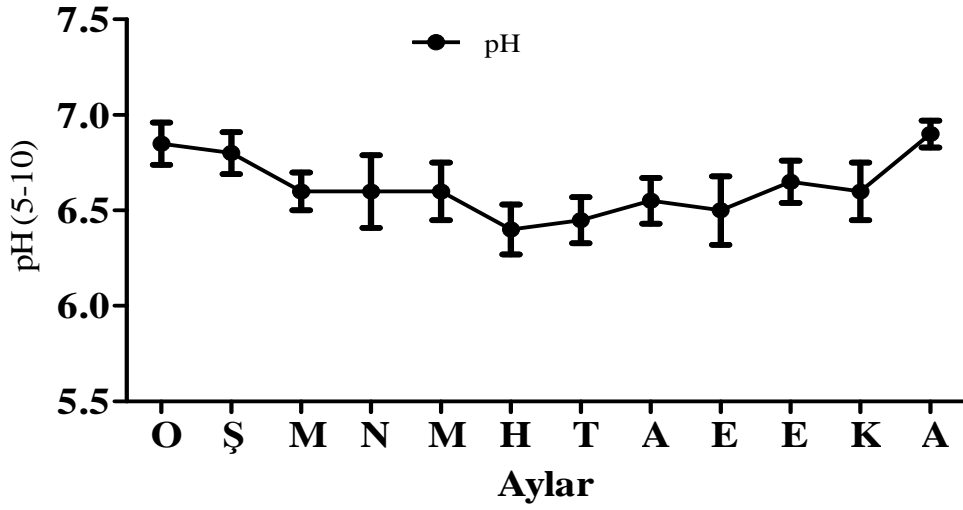
Şekil 7. Koçların Aylara Göre Ortalama Reaksiyon Süreleri (n: 10)



Şekil 8. Koçların Aylara Göre Ortalama Sperma Miktarları (n: 10)



Şekil 9. Koçların Aylara Göre Ortalama Sperma Viskoziteleri (n: 10)

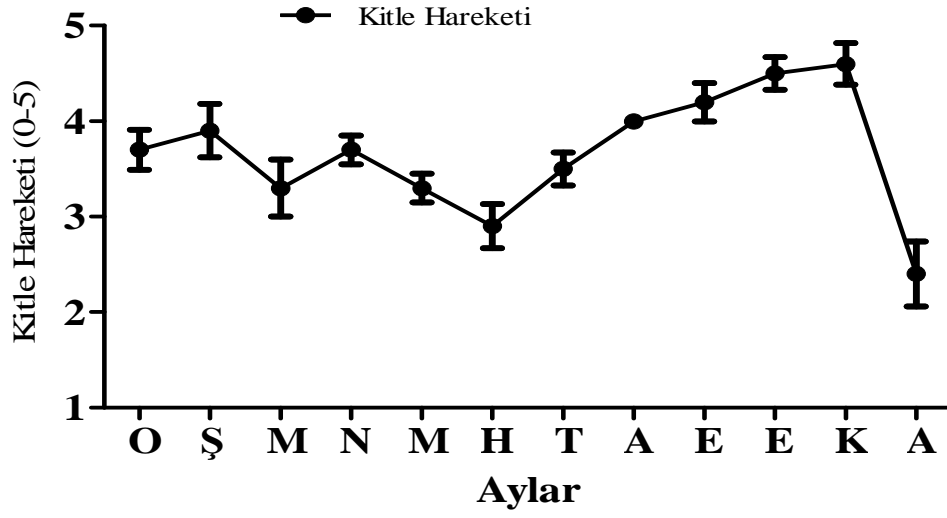


Şekil 10. Koçların Aylara Göre Ortalama Sperma pH'ları (n: 10)

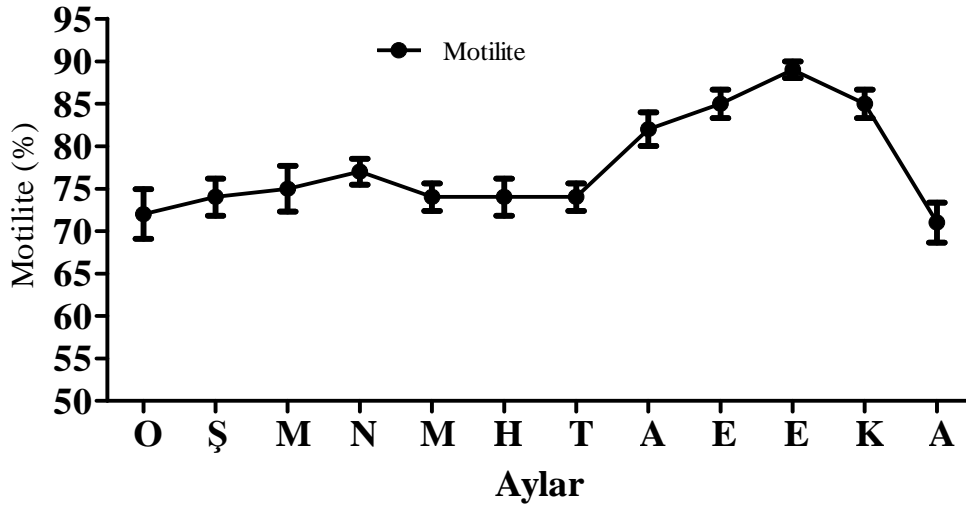
Çizelge 4: Araştırmada kullanılan koçların 1 yıl boyunca aylara göre tespit edilen spermatozoonların mikroskopik bulgularına ait ortalama değerler (Ortalama  $\pm$  S.E.M. (n: 10))

Aylar	Kitle Hareketi (0-5)	Motilite (%)	Yoğunluk (x 10 <sup>9</sup> / ml)	Ölü (%)	Anormal (%)	HOS Test (%)	DNA Hasarı (AU)
1	3.70 $\pm$ 0.21 <sup>BCD</sup>	72.00 $\pm$ 2.91 <sup>C</sup>	2.98 $\pm$ 0.27 <sup>F</sup>	12.53 $\pm$ 0.83 <sup>A</sup>	6.30 $\pm$ 0.61 <sup>DE</sup>	66.30 $\pm$ 2.32 <sup>BC</sup>	22.70 $\pm$ 3.90 <sup>D</sup>
2	3.90 $\pm$ 0.28 <sup>BC</sup>	74.00 $\pm$ 2.21 <sup>C</sup>	3.16 $\pm$ 0.29 <sup>EF</sup>	11.81 $\pm$ 1.05 <sup>A</sup>	6.90 $\pm$ 0.50 <sup>BCDE</sup>	64.98 $\pm$ 3.93 <sup>BCD</sup>	21.90 $\pm$ 3.08 <sup>D</sup>
3	3.30 $\pm$ 0.30 <sup>DE</sup>	75.00 $\pm$ 2.69 <sup>C</sup>	3.41 $\pm$ 0.26 <sup>DEF</sup>	12.25 $\pm$ 1.07 <sup>A</sup>	6.53 $\pm$ 0.34 <sup>CDE</sup>	69.15 $\pm$ 3.40 <sup>AB</sup>	21.30 $\pm$ 3.05 <sup>D</sup>
4	3.70 $\pm$ 0.15 <sup>BCD</sup>	77.00 $\pm$ 1.53 <sup>C</sup>	3.56 $\pm$ 0.25 <sup>CDE</sup>	12.71 $\pm$ 0.61 <sup>A</sup>	7.15 $\pm$ 0.35 <sup>BC</sup>	66.50 $\pm$ 1.71 <sup>BC</sup>	23.60 $\pm$ 3.77 <sup>CD</sup>
5	3.30 $\pm$ 0.15 <sup>DE</sup>	74.00 $\pm$ 1.63 <sup>C</sup>	3.22 $\pm$ 0.21 <sup>EF</sup>	12.68 $\pm$ 0.91 <sup>A</sup>	7.00 $\pm$ 0.24 <sup>BCD</sup>	63.48 $\pm$ 1.56 <sup>CD</sup>	28.60 $\pm$ 3.47 <sup>BCD</sup>
6	2.90 $\pm$ 0.23 <sup>EF</sup>	74.00 $\pm$ 2.21 <sup>C</sup>	3.42 $\pm$ 0.19 <sup>DEF</sup>	10.45 $\pm$ 0.83 <sup>AB</sup>	8.98 $\pm$ 0.52 <sup>A</sup>	66.39 $\pm$ 2.37 <sup>BC</sup>	42.30 $\pm$ 2.40 <sup>A</sup>
7	3.50 $\pm$ 0.17 <sup>CDE</sup>	74.00 $\pm$ 1.63 <sup>C</sup>	3.91 $\pm$ 0.24 <sup>BCD</sup>	9.03 $\pm$ 0.53 <sup>BC</sup>	8.13 $\pm$ 0.48 <sup>AB</sup>	66.07 $\pm$ 3.58 <sup>BC</sup>	42.40 $\pm$ 2.88 <sup>A</sup>
8	4.00 $\pm$ 0.00 <sup>B</sup>	82.00 $\pm$ 2.00 <sup>B</sup>	3.98 $\pm$ 0.20 <sup>BC</sup>	7.80 $\pm$ 0.38 <sup>CD</sup>	6.53 $\pm$ 0.61 <sup>CDE</sup>	65.55 $\pm$ 3.29 <sup>BCD</sup>	33.90 $\pm$ 2.47 <sup>BC</sup>
9	4.20 $\pm$ 0.20 <sup>AB</sup>	85.00 $\pm$ 1.67 <sup>B</sup>	3.99 $\pm$ 0.22 <sup>BC</sup>	7.47 $\pm$ 0.56 <sup>D</sup>	4.25 $\pm$ 0.39 <sup>F</sup>	69.30 $\pm$ 2.44 <sup>AB</sup>	28.10 $\pm$ 3.49 <sup>CD</sup>
10	4.50 $\pm$ 0.17 <sup>A</sup>	89.00 $\pm$ 1.00 <sup>A</sup>	4.01 $\pm$ 0.20 <sup>B</sup>	7.13 $\pm$ 0.47 <sup>D</sup>	3.53 $\pm$ 0.43 <sup>F</sup>	68.70 $\pm$ 2.59 <sup>AB</sup>	23.00 $\pm$ 3.60 <sup>D</sup>
11	4.60 $\pm$ 0.22 <sup>A</sup>	85.00 $\pm$ 1.67 <sup>B</sup>	4.54 $\pm$ 0.23 <sup>A</sup>	8.63 $\pm$ 0.40 <sup>BCD</sup>	5.70 $\pm$ 0.58 <sup>EF</sup>	70.30 $\pm$ 1.61 <sup>A</sup>	36.60 $\pm$ 4.31 <sup>AB</sup>
12	2.40 $\pm$ 0.34 <sup>F</sup>	71.00 $\pm$ 2.33 <sup>C</sup>	2.92 $\pm$ 0.30 <sup>F</sup>	12.20 $\pm$ 1.41 <sup>A</sup>	7.28 $\pm$ 0.58 <sup>BC</sup>	59.38 $\pm$ 3.43 <sup>D</sup>	37.40 $\pm$ 3.82 <sup>AB</sup>

A-F: Aynı sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir (p<0.05)

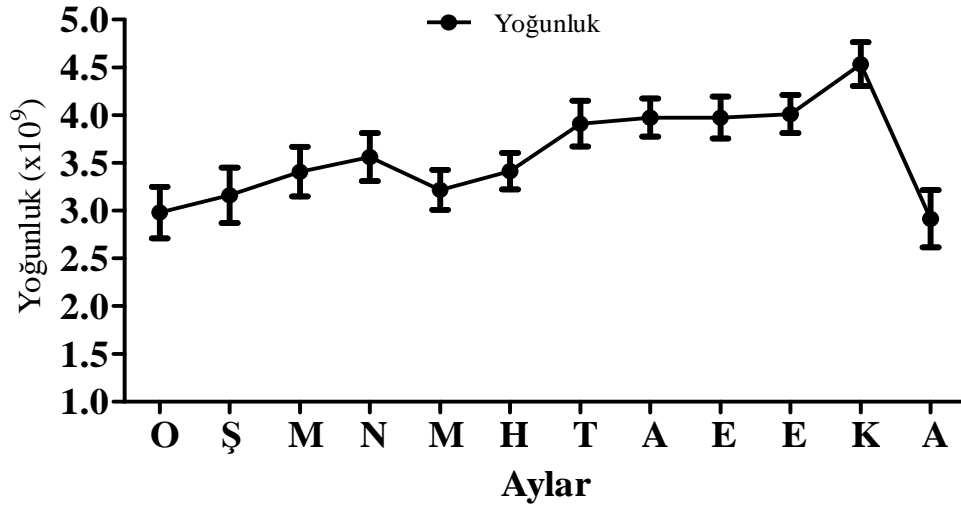


Şekil 11. Koçların Aylara Göre Ortalama Spermatozoon Kitle Hareketleri (n: 10)

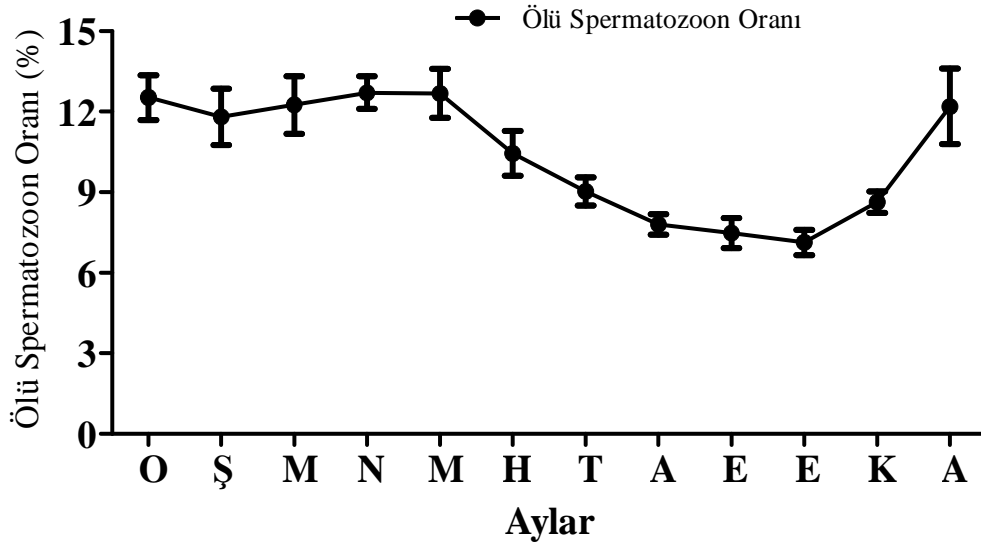


Şekil 12. Koçların Aylara Göre Ortalama Spermatozoon Motiliteleri (n: 10)

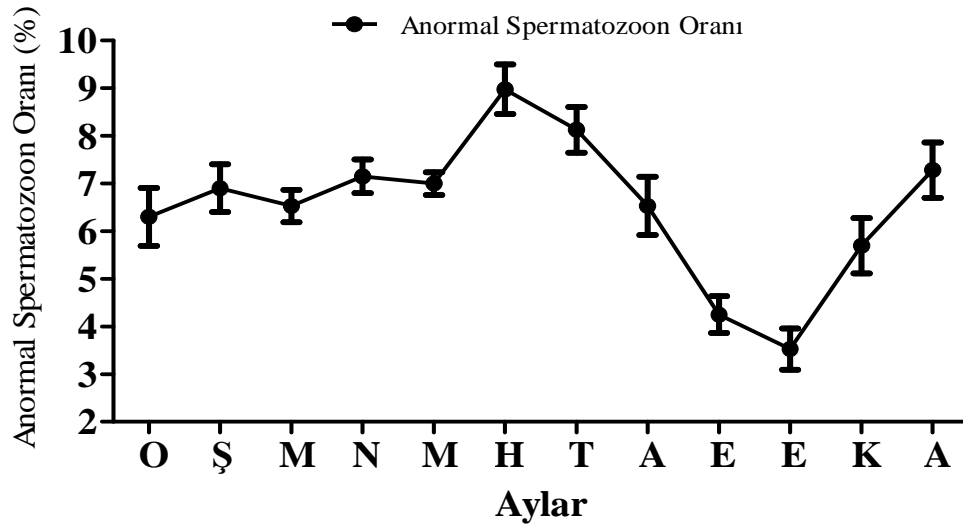




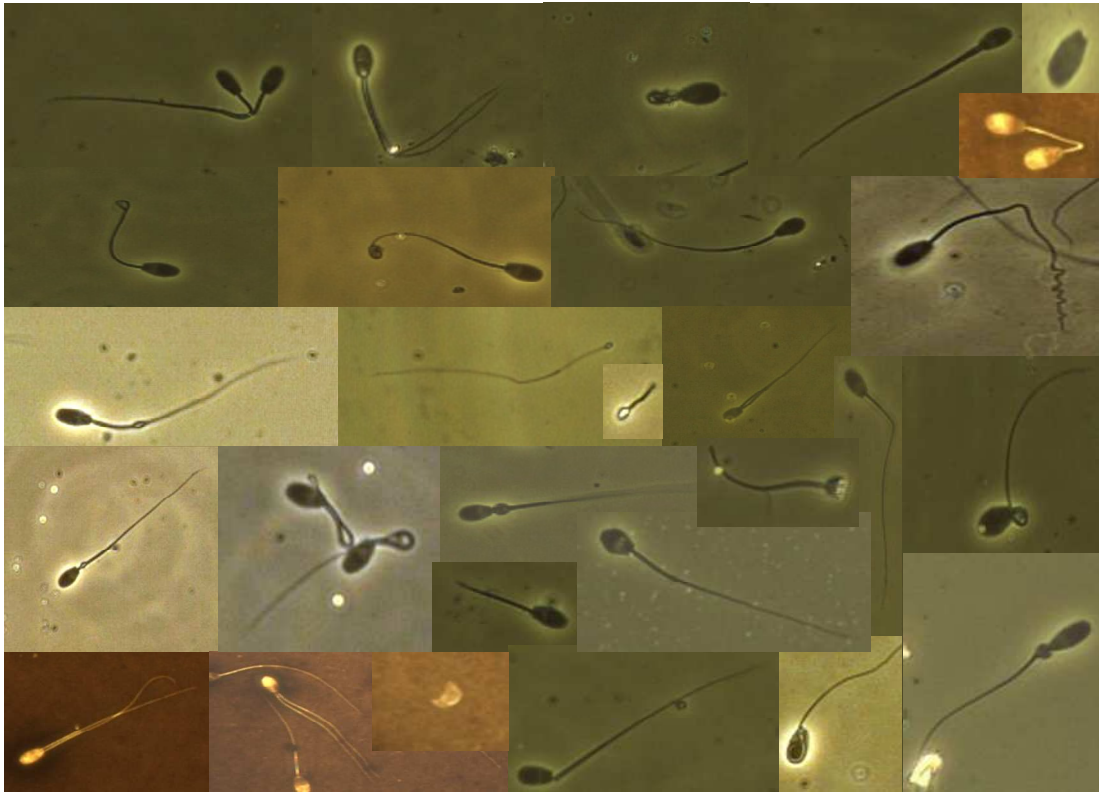
Şekil 13. Koçların Aylara Göre Ortalama Spermatozoon Yoğunlukları (n: 10)



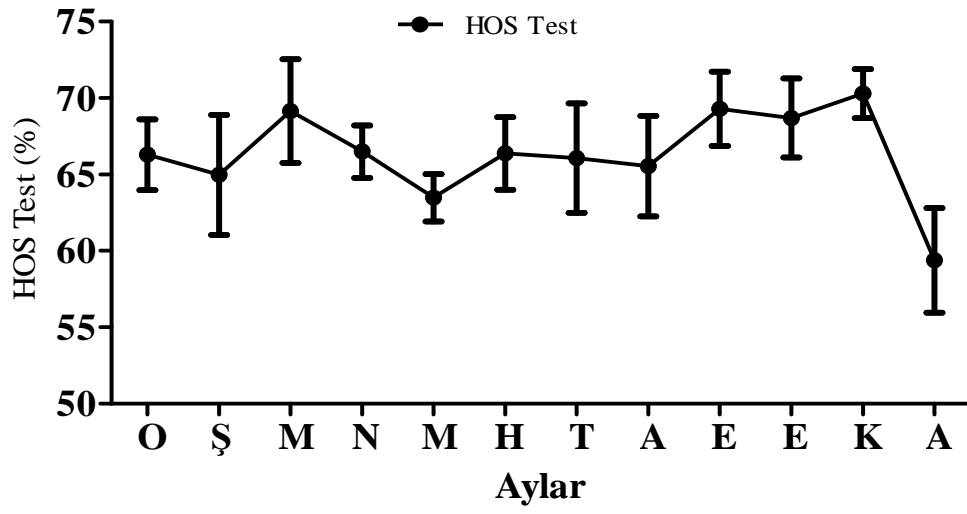
Şekil 14. Koçların Aylara Göre Ortalama Ölü Spermatozoon Oranları (n: 10)



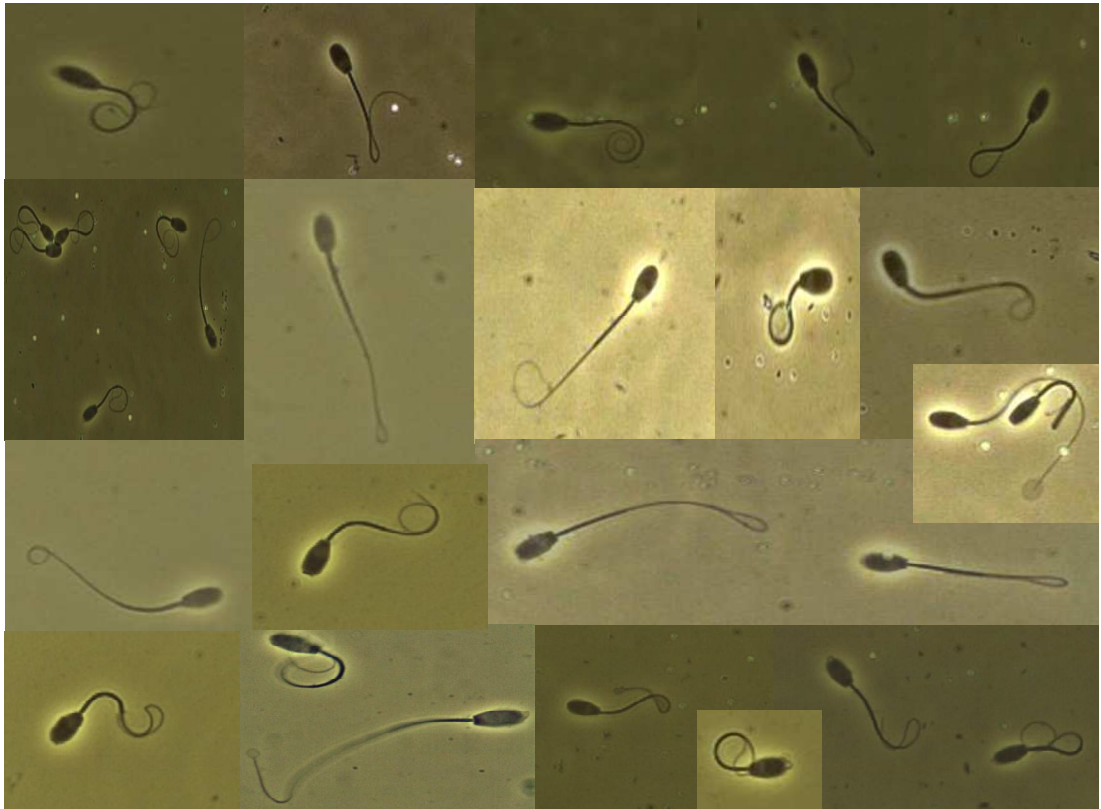
Şekil 15. Koçların Aylara Göre Ortalama Anormal Spermatozoon Oranları (n: 10)



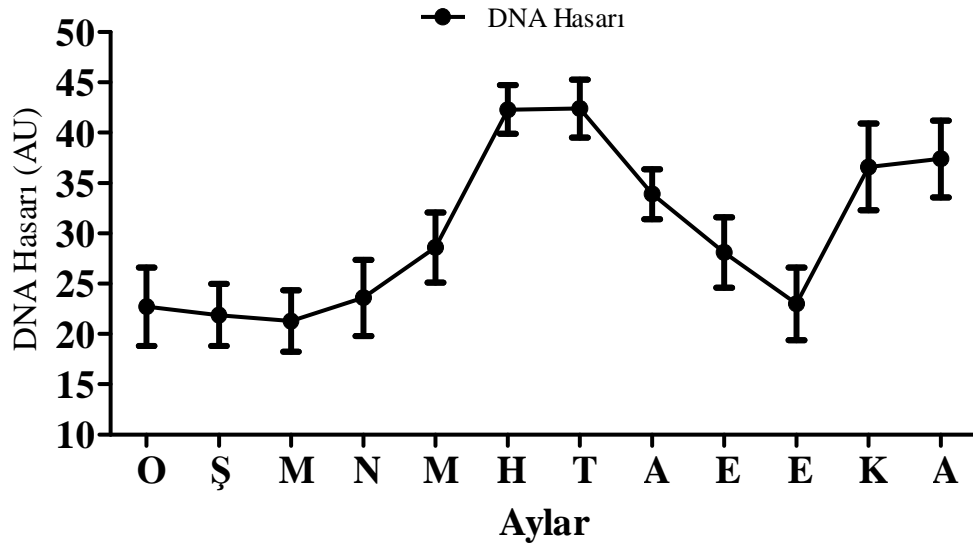
Resim 3. Koçların spermalarında gözlenen bazı anormal morfolojili spermatozoonlar (400 ve 1000x)



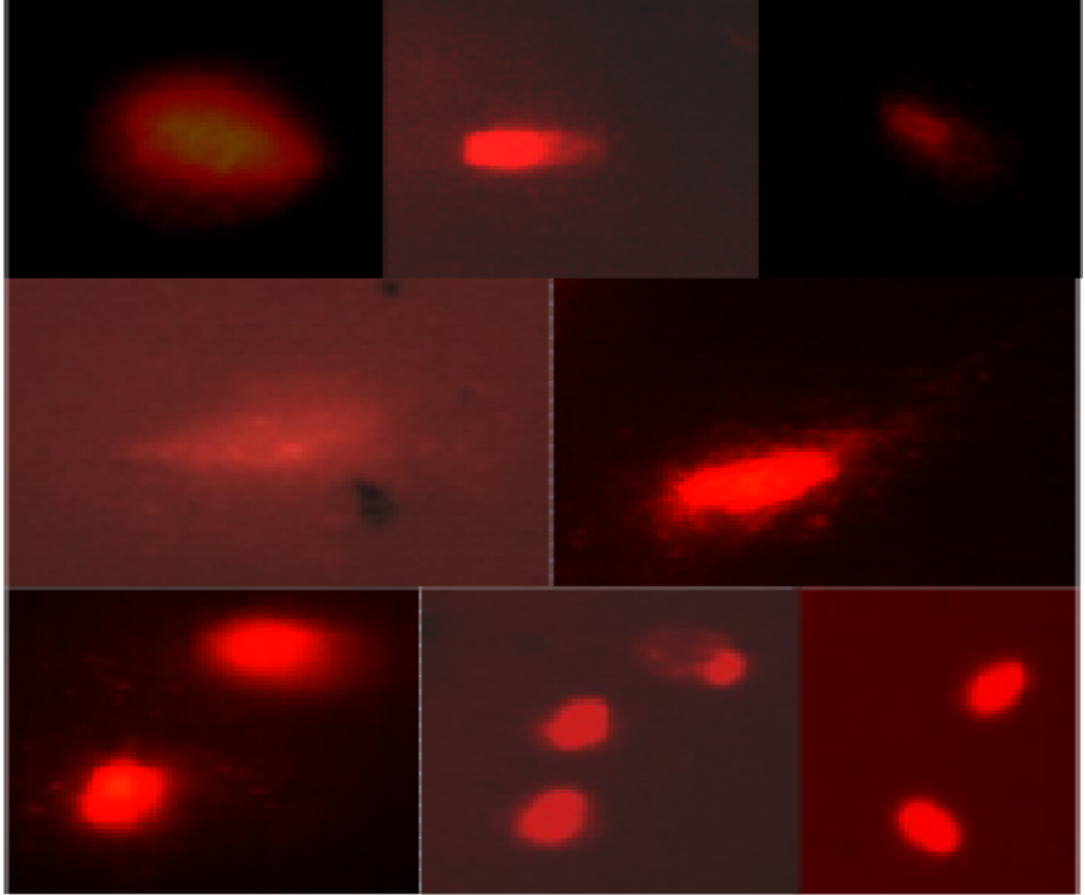
Şekil 16. Koçların Aylara Göre Ortalama Spermatozoon HOS Testi Oranları (n: 10)



Resim 4. Spermatozoonlarda HOS testi sonucunda gözlenen şişme ve kıvrılmalar (400 ve 1000x)



Şekil 17. Koçların Aylara Göre Ortalama Spermatozoon DNA Hasarları (n:10)



Resim 5. Araştırma sonucunda gözlenen spermatozoon DNA hasarları (400 ve 1000x)

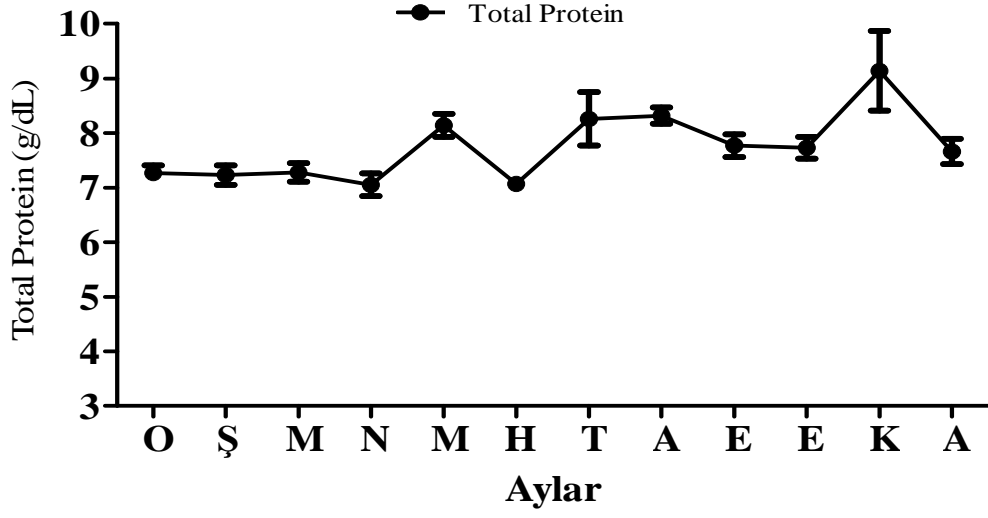
### 3.4. Biyokimyasal Özellikler

Araştırma süresince koçların kan serumu total protein, albumin, globulin, A/G oranı trigliserid, kolesterol, Aspartat Aminotransferaz, Alanin Aminotransferaz, AST/ALT oranlarına ait aylık ortalama değerler ve bu değerlere ilişkin istatistiki analizler Çizelge 5 ve Şekil 18-26'da verilmiş olup bu değerler yıl boyunca ortalama sırasıyla  $7.74 \pm 0.10$  g/dL,  $3.80 \pm 0.07$  g/dL,  $3.94 \pm 0.09$  g/dL ve  $1.05 \pm 0.07$ ,  $21.02 \pm 0.82$  mg/dL,  $47.81 \pm 0.97$  mg/dL,  $92.20 \pm 1.66$  U/L,  $21.82 \pm 0.43$  U/L ve  $4.31 \pm 0.07$  olarak bulunmuştur. Yapılan istatistiki değerlendirmede koçların kan serumu biyokimyasal özelliklerindeki aylık değişimler arasındaki farkın önemli ( $p < 0.05$ ) olduğu gözlenmiştir.

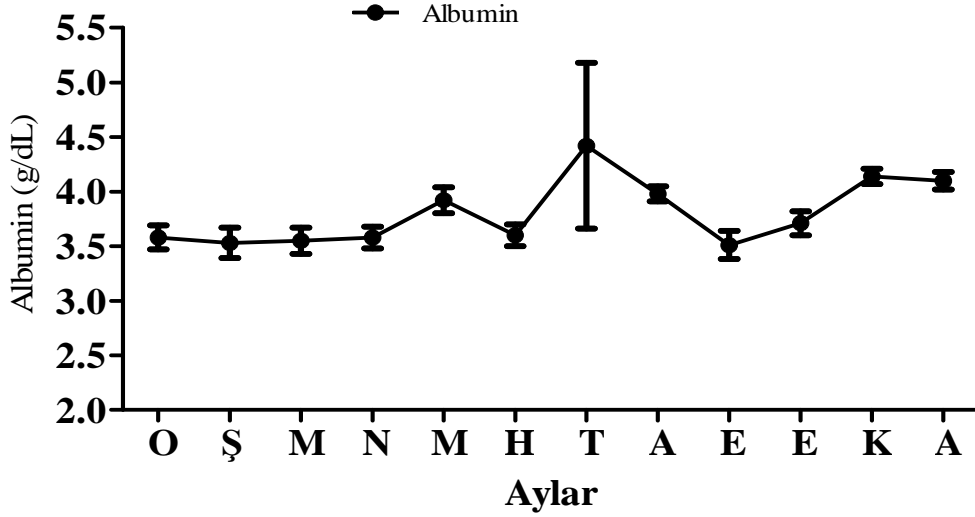
Çizelge 5. Araştırmada kullanılan koçların aylara göre tespit edilen kan serumu biyokimyasal özelliklerine ait ortalama değerler (Ortalama  $\pm$  S.E.M.) (n : 10)

Aylar	Total Protein (g/dL)	Albumin (A) (g/dL)	Globulin (G) (g/dL)	A/G Oranı	Trigliserid (mg/dL)	Kolesterol (mg/dL)	AST (U/L)	ALT (U/L)	AST/ALT Oranı
1	7.27 $\pm$ 0.14 <sup>D</sup>	3.58 $\pm$ 0.11 <sup>D</sup>	3.69 $\pm$ 0.22 <sup>CD</sup>	1.00 $\pm$ 0.07 <sup>BC</sup>	23.20 $\pm$ 1.58 <sup>ABC</sup>	46.10 $\pm$ 2.51 <sup>CDE</sup>	108.50 $\pm$ 6.39 <sup>A</sup>	26.10 $\pm$ 1.58 <sup>A</sup>	4.18 $\pm$ 0.14 <sup>BC</sup>
2	7.23 $\pm$ 0.18 <sup>D</sup>	3.53 $\pm$ 0.14 <sup>D</sup>	3.70 $\pm$ 0.27 <sup>CD</sup>	1.01 $\pm$ 0.09 <sup>BC</sup>	24.80 $\pm$ 2.93 <sup>ABC</sup>	42.00 $\pm$ 2.42 <sup>EF</sup>	79.10 $\pm$ 3.86 <sup>C</sup>	18.60 $\pm$ 0.79 <sup>C</sup>	4.31 $\pm$ 0.25 <sup>B</sup>
3	7.28 $\pm$ 0.17 <sup>D</sup>	3.55 $\pm$ 0.12 <sup>D</sup>	3.73 $\pm$ 0.27 <sup>BCD</sup>	1.01 $\pm$ 0.08 <sup>BC</sup>	28.20 $\pm$ 1.22 <sup>A</sup>	48.90 $\pm$ 2.24 <sup>CD</sup>	100.80 $\pm$ 6.62 <sup>AB</sup>	23.80 $\pm$ 1.44 <sup>AB</sup>	4.26 $\pm$ 0.18 <sup>B</sup>
4	7.05 $\pm$ 0.21 <sup>D</sup>	3.58 $\pm$ 0.10 <sup>D</sup>	3.47 $\pm$ 0.18 <sup>D</sup>	1.05 $\pm$ 0.06 <sup>B</sup>	28.10 $\pm$ 2.66 <sup>AB</sup>	43.60 $\pm$ 3.04 <sup>DEF</sup>	92.80 $\pm$ 3.43 <sup>B</sup>	21.60 $\pm$ 1.00 <sup>B</sup>	4.38 $\pm$ 0.25 <sup>B</sup>
5	8.14 $\pm$ 0.21 <sup>AB</sup>	3.92 $\pm$ 0.12 <sup>BC</sup>	4.22 $\pm$ 0.20 <sup>AB</sup>	0.95 $\pm$ 0.05 <sup>C</sup>	17.70 $\pm$ 2.80 <sup>D</sup>	63.70 $\pm$ 3.58 <sup>A</sup>	94.50 $\pm$ 7.25 <sup>AB</sup>	20.20 $\pm$ 1.49 <sup>BC</sup>	4.73 $\pm$ 0.26 <sup>A</sup>
6	7.07 $\pm$ 0.12 <sup>D</sup>	3.60 $\pm$ 0.10 <sup>CD</sup>	3.47 $\pm$ 0.11 <sup>D</sup>	1.05 $\pm$ 0.05 <sup>B</sup>	22.90 $\pm$ 1.21 <sup>BC</sup>	46.10 $\pm$ 3.28 <sup>CDE</sup>	96.60 $\pm$ 5.07 <sup>AB</sup>	22.10 $\pm$ 1.10 <sup>B</sup>	4.45 $\pm$ 0.32 <sup>AB</sup>
7	8.26 $\pm$ 0.49 <sup>AB</sup>	4.42 $\pm$ 0.76 <sup>A</sup>	3.84 $\pm$ 0.35 <sup>ABCD</sup>	1.75 $\pm$ 0.84 <sup>A</sup>	20.40 $\pm$ 2.62 <sup>CD</sup>	47.50 $\pm$ 2.57 <sup>CDE</sup>	84.10 $\pm$ 5.67 <sup>BC</sup>	20.10 $\pm$ 2.05 <sup>BC</sup>	4.39 $\pm$ 0.28 <sup>B</sup>
8	8.32 $\pm$ 0.15 <sup>A</sup>	3.98 $\pm$ 0.07 <sup>B</sup>	4.34 $\pm$ 0.15 <sup>A</sup>	0.93 $\pm$ 0.04 <sup>CD</sup>	17.80 $\pm$ 1.17 <sup>D</sup>	45.30 $\pm$ 1.81 <sup>DE</sup>	93.90 $\pm$ 5.98 <sup>AB</sup>	22.10 $\pm$ 1.42 <sup>B</sup>	4.33 $\pm$ 0.23 <sup>B</sup>
9	7.77 $\pm$ 0.21 <sup>BC</sup>	3.51 $\pm$ 0.13 <sup>D</sup>	4.26 $\pm$ 0.21 <sup>AB</sup>	0.85 $\pm$ 0.06 <sup>D</sup>	30.60 $\pm$ 4.06 <sup>A</sup>	39.50 $\pm$ 2.49 <sup>F</sup>	77.90 $\pm$ 3.32 <sup>C</sup>	21.10 $\pm$ 1.36 <sup>BC</sup>	3.88 $\pm$ 0.24 <sup>C</sup>
10	7.73 $\pm$ 0.20 <sup>C</sup>	3.71 $\pm$ 0.11 <sup>BCD</sup>	4.02 $\pm$ 0.13 <sup>ABC</sup>	0.93 $\pm$ 0.03 <sup>CD</sup>	10.80 $\pm$ 0.76 <sup>E</sup>	44.70 $\pm$ 3.46 <sup>DE</sup>	93.90 $\pm$ 4.06 <sup>B</sup>	22.30 $\pm$ 1.64 <sup>AB</sup>	4.34 $\pm$ 0.24 <sup>B</sup>
11	9.14 $\pm$ 0.73 <sup>A</sup>	4.14 $\pm$ 0.07 <sup>A</sup>	5.00 $\pm$ 0.72 <sup>A</sup>	0.94 $\pm$ 0.09 <sup>CD</sup>	17.00 $\pm$ 0.98 <sup>D</sup>	55.70 $\pm$ 3.58 <sup>B</sup>	79.90 $\pm$ 3.12 <sup>C</sup>	18.90 $\pm$ 0.77 <sup>C</sup>	4.26 $\pm$ 0.17 <sup>B</sup>
12	7.66 $\pm$ 0.23 <sup>C</sup>	4.10 $\pm$ 0.08 <sup>A</sup>	3.56 $\pm$ 0.20 <sup>D</sup>	1.18 $\pm$ 0.06 <sup>A</sup>	10.70 $\pm$ 0.62 <sup>E</sup>	50.60 $\pm$ 2.32 <sup>C</sup>	104.40 $\pm$ 4.33 <sup>A</sup>	24.90 $\pm$ 1.26 <sup>A</sup>	4.24 $\pm$ 0.17 <sup>B</sup>

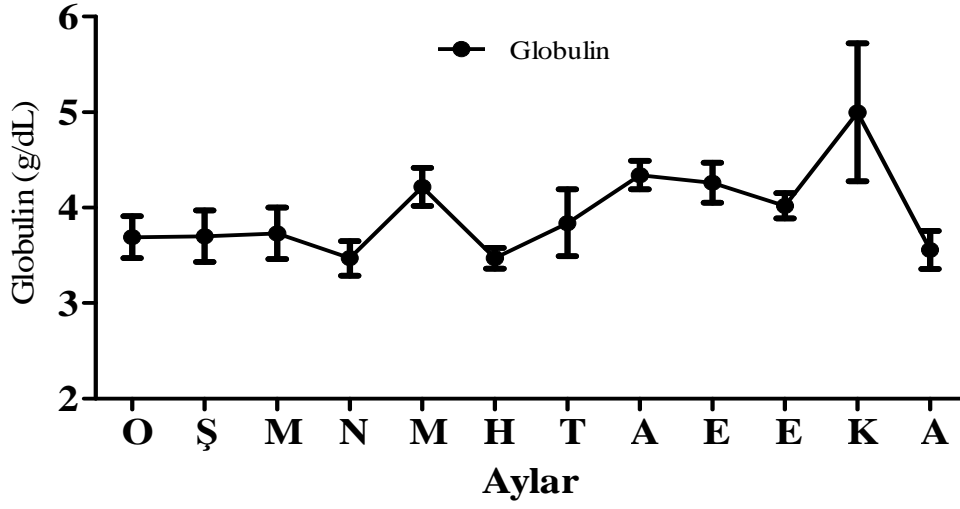
A-G: Aynı sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklar istatistik olarak önemlidir (p<0.05)



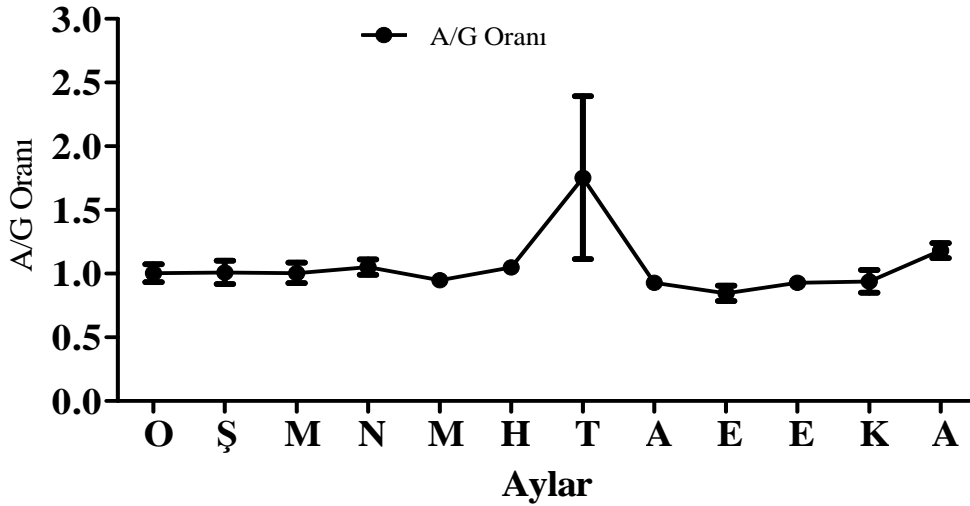
Şekil 18. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumu Total Protein Miktarları (n: 10)



Şekil 19. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumu Albumin Miktarları (n: 10)

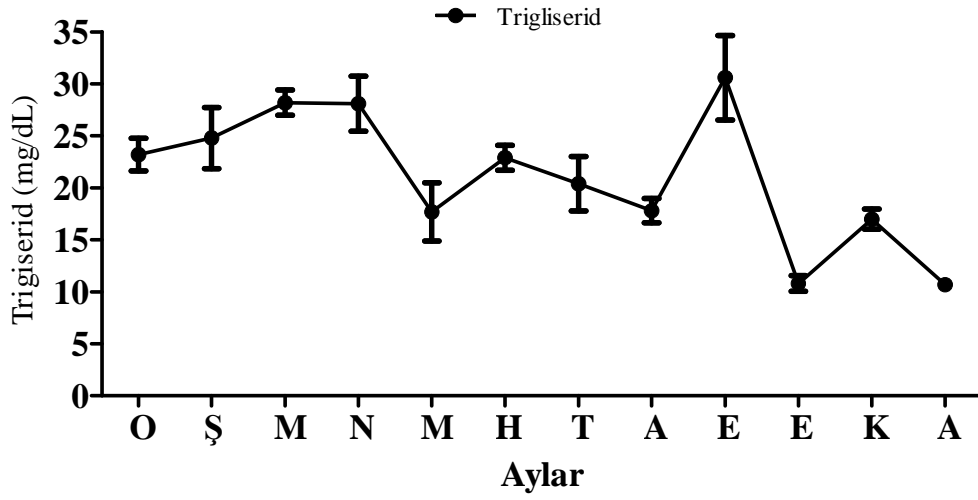


Şekil 20. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumu Globulin Miktarları (n: 10)

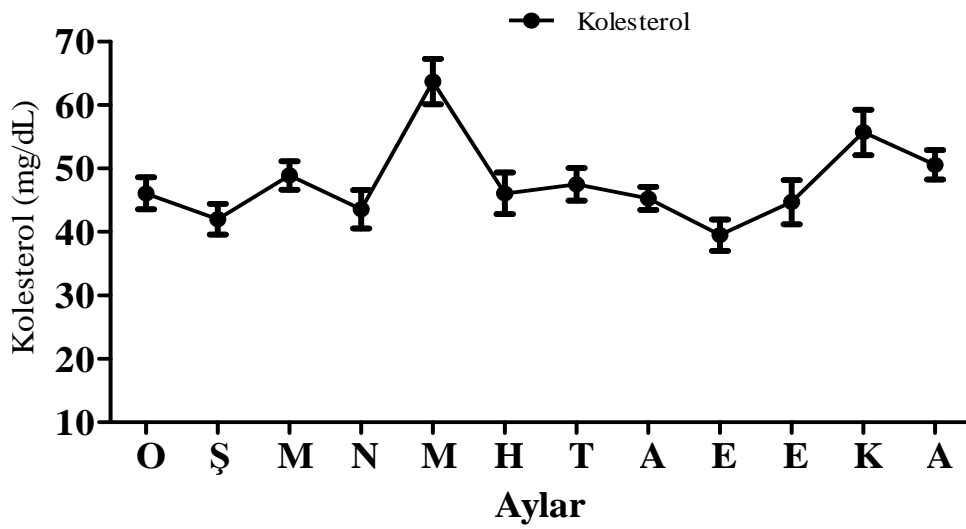


Şekil 21. Koçların Aylara Göre Ortalama A/G Oranları (n: 10)

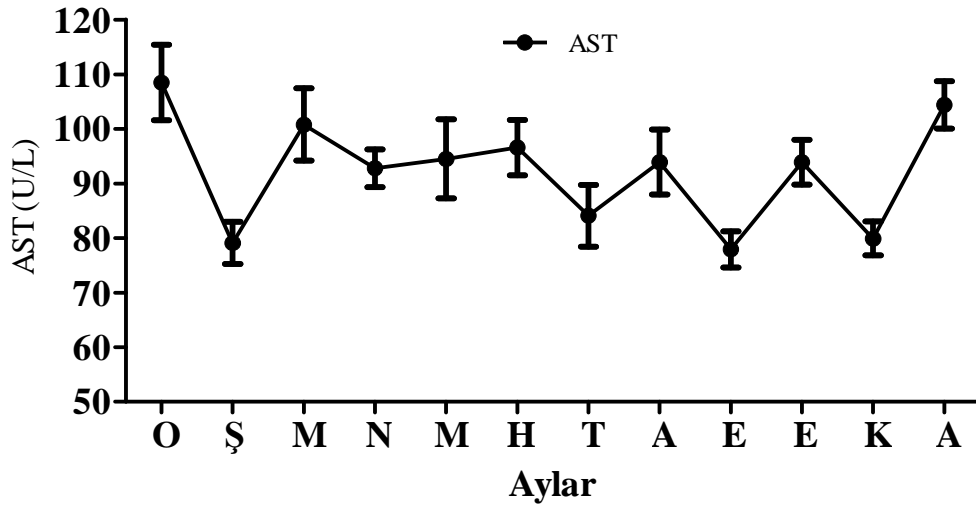




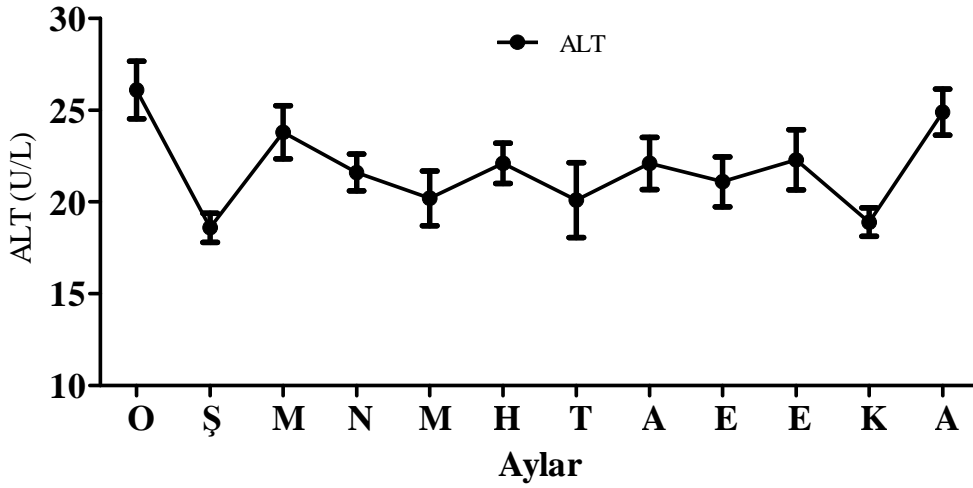
Şekil 22. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumu Trigliserid Miktarları (n: 10)



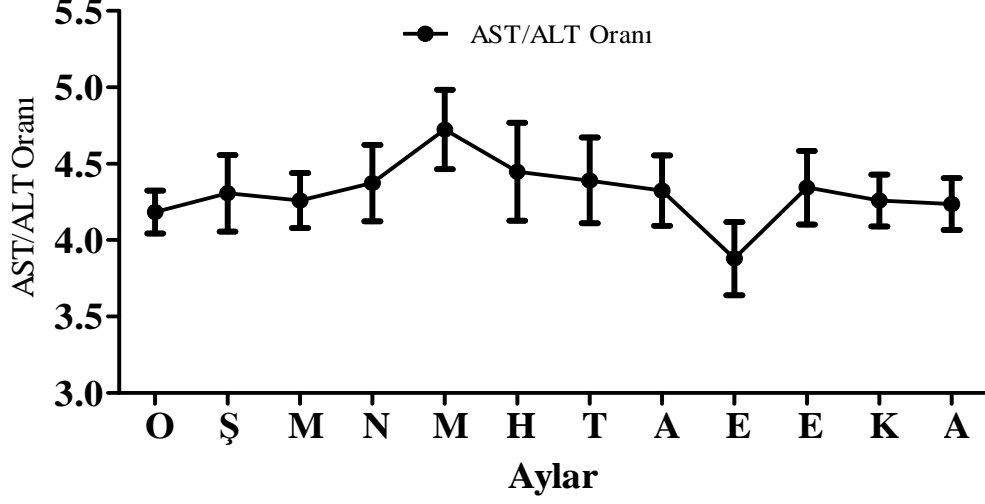
Şekil 23. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumu Kolesterol Miktarları (n: 10)



Şekil 24. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serum AST Miktarları (n: 10)



Şekil 25. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serum ALT Miktarları (n: 10)



Şekil 26. Koçların Aylara Göre Ortalama AST/ALT Oranları (n: 10)

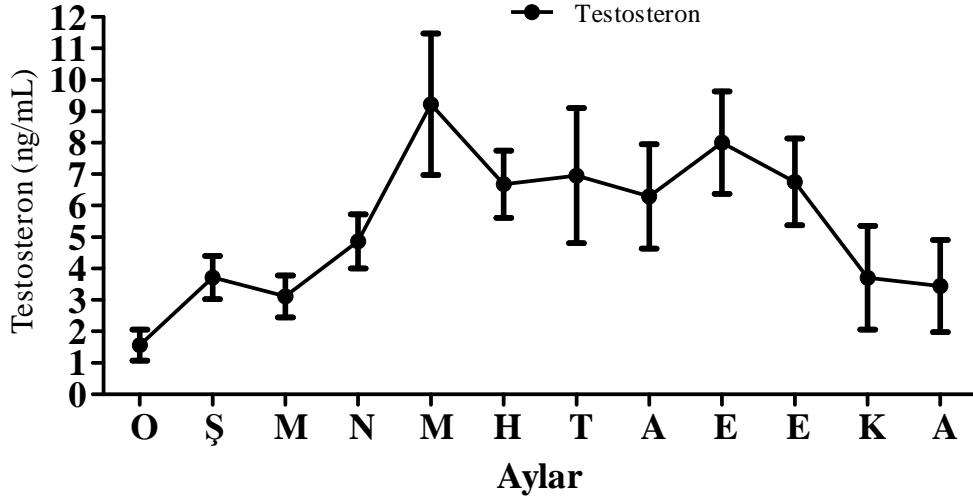
### 3.5. Hormonal Özellikler

Araştırma süresince koçların kan serumu testosteron ve triiodothyronine ( $T_3$ ) miktarlarına ait ortalama değerler ve bu değerlere ilişkin istatistiki analizler Çizelge 6 ve Şekil 27-28'de verilmiştir. Araştırma süresince koçların kan serumu testosteron ve  $T_3$  miktarları ortalama sırasıyla  $5.24 \pm 0.42$  ng/ml ve  $1.98 \pm 0.05$  ng/ml olarak bulunmuş ve hormonal özelliklerdeki aylık değişimler arasındaki farklar istatistiki yönden önemli ( $p < 0.05$ ) olmuştur.

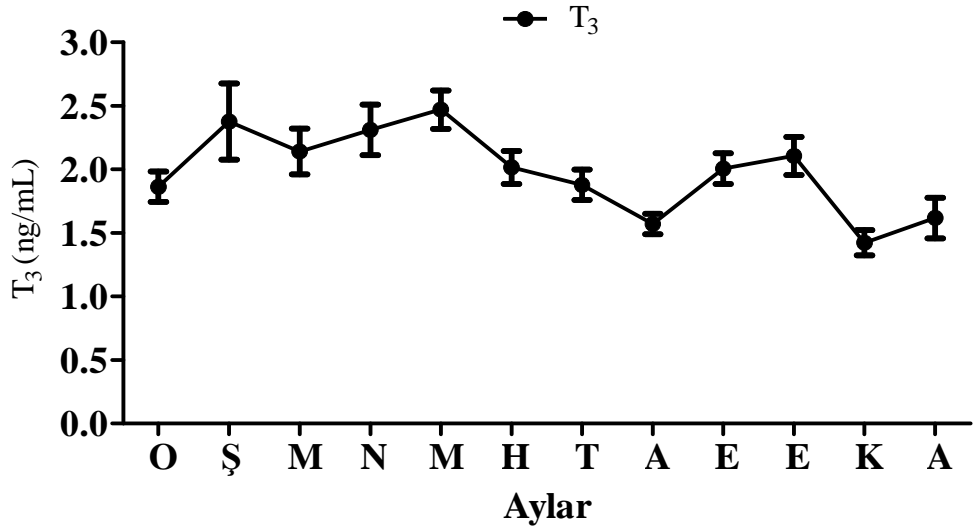
Çizelge 6. Araştırmada kullanılan koçların aylara göre tespit edilen kan serumu Testosteron ve T<sub>3</sub> miktarlarına ait ortalama değerler (Ortalama ± S.E.M.) ( n : 10)

Aylar	Testosteron (ng/mL)	T <sub>3</sub> (ng/mL)
1	1.56±0.49 <sup>C</sup>	1.86±0.12 <sup>CD</sup>
2	3.72±0.69 <sup>B</sup>	2.38±0.30 <sup>AB</sup>
3	3.11±0.67 <sup>BC</sup>	2.14±0.18 <sup>AB</sup>
4	4.87±0.86 <sup>AB</sup>	2.31±0.20 <sup>AB</sup>
5	9.23±2.25 <sup>A</sup>	2.47±0.15 <sup>A</sup>
6	6.68±1.07 <sup>A</sup>	2.02±0.13 <sup>B</sup>
7	6.95±2.15 <sup>A</sup>	1.88±0.12 <sup>C</sup>
8	6.29±1.66 <sup>AB</sup>	1.57±0.08 <sup>DE</sup>
9	8.00±1.63 <sup>A</sup>	2.01±0.12 <sup>B</sup>
10	6.76±1.38 <sup>A</sup>	2.11±0.15 <sup>AB</sup>
11	3.71±1.65 <sup>BC</sup>	1.42±0.10 <sup>E</sup>
12	3.45±1.47 <sup>BC</sup>	1.62±0.16 <sup>CDE</sup>

A-E: Aynı sütun içerisinde farklı harf taşıyan değerler arasındaki farklar istatistiki olarak önemlidir (p<0.05)



Şekil 27. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumu Testosteron Miktarları (n: 10)



Şekil 28. Koçların Aylara Göre Ortalama Kan Serumu T<sub>3</sub> miktarları (n: 10)

### 3.6. Korelasyon Bulguları

Bütün 1 yıl boyunca koçların morfometrik testis ölçümleri, spermatolojik parametreler, kan serumu biyokimyasal özellikler ve hormon miktarları ile ilgili elde edilen bulgular arasında korelasyon hesaplamaları yapılarak değerlendirilmiştir.

Araştırma süresince elde edilen koçların morfometrik testis ölçümleri arasında yapılan korelasyon hesaplamaları sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 7’de verilmiştir. Buna göre testis uzunlukları ile kalınlıkları arasındaki pozitif yöndeki ilişkiler önemli ( $p < 0.01$ ) bulunmuştur. Bunun yanında scrotum kalınlıkları ile değerlendirilen diğer morfometrik testis ölçümleri arasında önemli düzeyde bir ilişki gözlenememiştir ( $p > 0.10$ ).

Koçların yıl boyu spermatolojik özelliklerine ait korelasyon bulguları Çizelge 8’de verilmiştir. Özellikle kitle hareketi ( $r: 0.33$ ), motilite ( $r: 0.41$ ) ve yoğunluk ( $r: 0.37$ ) ile HOS testi değerleri arasında pozitif ( $p < 0.01$ ) yöndeki, reaksiyon süreleri ( $r: -0.31$ ) ve ölü spermatozoon oranları ( $r: -0.29$ ) arasında negatif yöndeki korelasyonlar önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur. Bunun yanında spermatozoon DNA hasarı ile sperma miktarı ( $r: 0.18$ ) ve anormal spermatozoon oranı ( $r: 0.30$ ) arasında pozitif ( $p < 0.05$ ), sperma viskozitesi ( $r: -0.32$ ) ile ise negatif ( $p < 0.01$ ) yönde gözlenen ilişkiler önemli bulunmuştur.

Çalışma süresince kan serumu biyokimyasal özellikleri ve hormon miktarları arasında yapılan korelasyon hesaplamaları sonucunda elde edilen bulgular Çizelge 9’da verilmiş olup total protein ile albumin ( $r: 0.49$ ) ve globulin ( $r: 0.72$ ) değerleri arasında pozitif yöndeki ilişkiler yüksek düzeyde önemli ( $p < 0.01$ ) bulunmuştur. Ayrıca kan serumu kolesterol miktarları ile AST/ALT ( $r: 0.43$ ) oranları arasında yüksek düzeyde önemli ( $p < 0.01$ ) pozitif yönde korelasyonlar bulunmuştur.

Araştırmada elde edilen morfometrik testis ölçümleri ile spermatolojik özellikler arasındaki korelasyon bulguları Çizelge 10’da verilmiştir. Buna göre scrotum çevresi, testis uzunlukları ve kalınlıkları ile sperma miktarı, spermatozoon motilitesi ve yoğunluğu arasında pozitif yönde önemli ( $p < 0.01$ ) korelasyonlar bulunmuştur. Bunun yanında ölü spermatozoon oranları ile scrotum çevreleri ( $r: -0.49$ ) ve relatif testis hacimleri ( $r: -0.38$ ), sağ ve sol testis uzunlukları ( $r: -0.36$  ve  $r: -$

0.34) ve kalınlıkları (r: -0.44 ve r: -0.42) arasında negatif yönde yüksek düzeyde önemli ( $p<0.01$ ) korelasyonlar elde edilmiştir. Ayrıca morfometrik testis ölçüleri ile HOS testi değerleri arasındaki ilişkilerde önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur.

Bu çalışmadan elde edilen morfometrik testis ölçümleri ile kan serumu biyokimyasal özellikler ve hormon miktarları arasındaki korelasyon hesaplamaları sonucu elde edilen bulgular Çizelge 11’de sunulmuştur. Buna göre koçların scrotum çevreleri ile kan serumu total protein (r: 0.18) ve albumin (r: 0.18) miktarları arasında pozitif yöndeki ( $p<0.05$ ) korelasyonların ve yine koçların relatif testis hacimleri ile kan serumu AST aktiviteleri (r: -0.33) arasında negatif yöndeki yüksek düzeyde önemli ( $p<0.01$ ) korelasyonların varlıkları dikkat çekicidir. Ayrıca koçların kan serumu testosteron miktarları ile scrotum çevreleri (r: 0.35), relatif testis hacimleri (r: 0.36), sağ ve sol testis uzunlukları (r: 0.29) ve kalınlıkları (r: 0.28 ve r: 0.23) arasında pozitif yönde korelasyonlar da önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur.

Bunun yanında koçların 1 yıl içinde elde edilen kan serumu biyokimyasal özellikleri ve hormonal miktarları ile spermatolojik özellikler arasındaki korelasyon bulguları da Çizelge 12’de verilmiştir. Özellikle koçların kan serumu total protein miktarları ile sperma miktarı (r: 0.18) ve spermatozoon motilitesi (r: 0.28) yoğunluğu (r: 0.27) ve HOS testi değerleri (r: 0.22) arasında pozitif yöndeki korelasyonlar önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. Ayrıca koçların kan serumu AST aktiviteleri ile spermatozoonların kitle hareketleri (r: -0.25), motiliteleri (r: -0.29), yoğunlukları (r: -0.19) ve HOS testi değerleri (r: -0.18) arasında negatif ( $p<0.05$ ) ölü spermatozoon oranları (r: 0.34) arasında ise pozitif ( $p<0.01$ ) yönde korelasyonlar gözlenmiştir. Bununla birlikte kan serumu testosteron miktarları ile spermatozoon motilitesi (r: 0.18) ve kitle hareketleri (r: 0.18) arasında pozitif yönde, ölü spermatozoon oranı (r: -0.19) arasında ise negatif yönde önemli ( $p<0.05$ ) korelasyonlar bulunmuştur. Koçların spermalarındaki spermatozoon DNA hasarları ile kan serumu  $T_3$  (r: -0.30) seviyeleri arasında da negatif yöndeki korelasyonların önemli ( $p<0.05$ ) olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 7. Araştırma süresince koçların morfometrik testis ölçümleri arasındaki korelasyon bulguları

	Sağ Testis Uzunluğu	Sol Testis Uzunluğu	Sağ Testis Kalınlığı	Sol Testis Kalınlığı	Scrotum Çevresi	Scrotum Kalınlığı	Relatif Testis Hacmi
Sağ Testis Uzunluğu	—						
Sol Testis Uzunluğu	0.74**	—					
Sağ Testis Kalınlığı	0.72**	0.67**	—				
Sol Testis Kalınlığı	0.66**	0.70**	0.86**	—			
Scrotum Çevresi	0.64**	0.59**	0.83**	0.71**	—		
Scrotum Kalınlığı	0.12	0.07	0.11	0.03	0.11	—	
Relatif Testis Hacmi	0.71**	0.67**	0.73**	0.68**	0.76**	0.10	—

\*\*p &lt; 0.01



Çizelge 8. Araştırma süresince koçların spermatojik özellikleri arasındaki korelasyon bulguları

	Reaksiyon Süresi	Miktar	Viskozite	pH	Kitle Hareketi	Motilite	Yoğunluk	Anormal Spermatozoon	Ölü Spermatozoon	HOS Test
Reaksiyon Süresi	—									
Miktar	-0.30*	—								
Viskozite	-0.31*	-0.09	—							
pH	0.16†	-0.10	-0.04	—						
Kitle Hareketi	-0.41**	0.30*	0.32**	-0.12	—					
Motilite	-0.54**	0.45**	0.29*	-0.12	0.51**	—				
Yoğunluk	-0.53**	0.34**	0.29*	-0.43**	0.51**	0.41**	—			
Anormal Spermatozoon	0.34**	-0.32**	-0.32**	-0.06	-0.30*	-0.40**	-0.14	—		
Ölü Spermatozoon	0.37**	-0.45**	-0.09	0.16†	-0.39**	-0.51**	-0.34**	0.31*	—	
HOS Test	-0.31*	0.09	0.14	-0.12	0.33**	0.41**	0.37**	-0.13	-0.29*	—
DNA Hasarı	0.15†	0.18*	-0.32**	0.09	-0.17†	-0.03	-0.08	0.30*	-0.12	-0.04

†p &lt; 0.10

\*p &lt; 0.05

\*\*p &lt; 0.01

Çizelge 9. Araştırma süresince koçların kan serumu biyokimyasal özellikleri ve hormon miktarları arasındaki korelasyon bulguları

	Total Protein	Albumin (A)	Globulin (G)	A/G	Trigliserid	Kolesterol	AST	ALT	AST/ALT	Testosteron
Total Protein	—									
Albumin (A)	0.49**	—								
Globulin (G)	0.72**	-0.24*	—							
A/G	0.24*	0.91**	-0.46**	—						
Trigliserid	-0.27*	-0.16†	-0.17†	-0.04	—					
Kolesterol	0.19*	0.21*	0.05	0.06	-0.12	—				
AST	-0.24*	-0.08	-0.20*	-0.07	-0.06	0.17†	—			
ALT	-0.24*	-0.12	-0.17†	-0.10	-0.04	-0.17†	0.68**	—		
AST/ALT	0.03	0.07	-0.02	0.08	-0.02	0.43**	0.25*	-0.52**	—	
Testosteron	-0.00	-0.07	0.06	-0.11	-0.10	-0.03	-0.01	0.02	-0.04	—
T <sub>3</sub>	-0.17†	-0.09	-0.12	-0.00	0.16 †	0.19*	0.01	-0.20*	0.28*	0.01

†p < 0.10      \*p < 0.05      \*\*p < 0.01

Çizelge 10. Araştırma süresince koçların morfometrik testis ölçümleri ile spermatolojik özellikleri arasındaki korelasyon bulguları

	Reaksiyon Süresi	Miktar	Viskozite	pH	Kitle Hareketi	Motilite	Yoğunluk	Anormal Spermatozoon	Ölü Spermatozoon	HOS Test	DNA Hasarı
Sağ Testis Uzunluğu	-0.16†	0.33**	0.01	-0.30*	0.15†	0.29*	0.33**	-0.19*	-0.36**	0.27*	-0.05
Sol Testis Uzunluğu	-0.23*	0.34**	0.18†	-0.14	0.20*	0.32**	0.34**	-0.25*	-0.34**	0.19*	-0.00
Sağ Testis Kalınlığı	-0.35**	0.41**	0.06	-0.24*	0.20*	0.32**	0.52**	-0.26*	-0.44**	0.26*	-0.02
Sol Testis Kalınlığı	-0.33**	0.34**	0.17†	-0.22*	0.21*	0.32**	0.49**	-0.28*	-0.42**	0.22*	-0.03
Scrotum Çevresi	-0.34**	0.48**	-0.14	-0.29*	0.17†	0.32**	0.50**	-0.11	-0.49**	0.25*	0.25*
Scrotum Kalınlığı	0.04	-0.03	0.08	-0.02	0.15	-0.05	0.02	-0.14	-0.01	0.20*	-0.18†
Relatif Testis Hacmi	-0.25*	0.26*	0.02	-0.26*	0.17†	0.40**	0.43**	-0.15	-0.38**	0.31*	0.09

†p &lt; 0.10

\*p &lt; 0.05

\*\*p &lt; 0.01

Çizelge 11. Araştırma süresince koçların morfometrik testis ölçümleri ile kan serumu biyokimyasal özellikleri ve hormon miktarları arasındaki korelasyon bulguları

	Total Protein	Albumin (G)	Globulin (G)	A/G	Trigliserid	Kolesterol	AST	ALT	AST/ALT	Testosteron	T <sub>3</sub>
Sağ Testis Uzunluğu	0.15†	0.14	0.06	0.12	-0.17†	-0.07	-0.09	-0.03	-0.04	0.29*	-0.09
Sol Testis Uzunluğu	0.23*	0.11	0.17†	0.02	-0.25*	-0.10	-0.10	-0.04	-0.06	0.29*	-0.19*
Sağ Testis Kalınlığı	0.20*	0.17†	0.09	0.11	-0.17†	-0.10	-0.13	-0.07	-0.02	0.28*	-0.13
Sol Testis Kalınlığı	0.28*	0.20*	0.16†	0.08	-0.19*	-0.05	-0.13	-0.11	0.01	0.23*	-0.17†
Scrotum Çevresi	0.18*	0.18*	0.06	0.09	-0.08	-0.13	-0.23*	-0.18†	-0.00	0.35**	-0.10
Scrotum Kalınlığı	-0.11	-0.12	-0.03	-0.05	0.26*	-0.28*	-0.04	0.04	-0.11	0.04	0.17†
Relatif Testis Hacmi	0.31*	0.21*	0.18†	0.09	-0.23*	-0.12	-0.33**	-0.19*	-0.11	0.36**	-0.04

†p < 0.10

\*p < 0.05

\*\*p < 0.01

Çizelge12. Araştırma süresince koçların kan serumu biyokimyasal özellikleri ve hormon miktarları ile spermatolojik özellikleri arasındaki korelasyon bulguları

	Reaksiyon Süresi	Miktar	Viskozite	pH	Kitle Hareketi	Motilite	Yoğunluk	Anormal Spermatozoon	Ölü Spermatozoon	HOS Test	DNA Hasarı
Total Protein	-0.22*	0.18*	0.17†	-0.01	0.13	0.28*	0.27*	-0.17†	-0.28*	0.22*	0.09
Albumin (A)	-0.14	-0.03	0.08	-0.19*	-0.09	0.03	0.32**	0.13	-0.15	0.18†	0.11
Globulin (G)	-0.14	0.23*	0.13	0.14	0.21*	0.29*	0.05	-0.30*	-0.20*	0.10	0.02
A/G	-0.03	-0.12	0.02	-0.16†	-0.14	-0.12	0.19*	0.22*	-0.03	0.12	0.06
Trigliserid	0.02	-0.15	-0.07	-0.07	0.02	-0.17†	0.01	0.03	0.05	0.03	-0.17†
Kolesterol	0.00	-0.08	0.03	-0.14	-0.10	-0.09	0.16†	0.16†	0.17†	0.00	0.00
AST	0.10	0.04	-0.15†	0.08	-0.25*	-0.29*	-0.19*	0.09	0.34**	-0.18*	-0.15
ALT	0.04	0.15	-0.17†	0.14	-0.18*	0.00	-0.23*	-0.08	0.13	-0.07	-0.06
AST/ALT	0.03	-0.13	0.02	-0.09	-0.04	-0.33**	0.09	0.19*	0.19*	-0.11	-0.10
Testosteron	-0.13	0.17†	-0.01	-0.15†	0.18*	0.18*	0.10	0.01	-0.19*	-0.01	0.04
T <sub>3</sub>	-0.04	-0.17†	0.06	-0.18†	0.06	-0.11	0.20*	0.02	0.15	-0.01	-0.30*

†p < 0.10      \*p < 0.05      \*\*p < 0.01

#### 4. TARTIŞMA

Kalıtım derecesinin yüksek olmasından dolayı testisin morfometrik özelliklerinin belirlenmesi dölverimine yönelik ıslah çalışmalarına hız kazandırabilecek önemli bir faktördür (20, 21).

Araştırmada kullanılan koçların aylara göre tespit edilen morfometrik testis ölçümlerine ait ortalama değerler Çizelge 2’de, dağılımları ise Şekil 2-6’da verilmektedir.

Bu çalışmada koçların sağ ve sol testis uzunluklarının yıl içinde aylardan etkilendikleri tespit edilmiş olup sağ testis uzunluğu en yüksek Eylül’de  $10.39 \pm 0.46$  cm, en düşük ise Nisan’da  $8.19 \pm 0.25$  cm olarak bulunmuştur. Sol testis uzunlukları ise en yüksek Ekim ayında  $9.82 \pm 0.27$  cm, en düşük ise Mart ayında  $8.24 \pm 0.19$  cm olarak bulunmuş ve koçların sağ ve sol testis uzunlukları arasında gözlenen fark önemli ( $p < 0.05$ ) olmuştur (Çizelge 2, Şekil 2).

Sağ ve sol testis uzunluğu ölçümlerinde bulunan değerler aynı dönemdeki Koyuncu ve ark. (143)’nin Karayaka koçlarda ve Gündoğan ve ark. (23)’nin Dağlıç, İvesi ve Akkaraman koçlarda bildirdikleri değerlere yakın, Aksoy ve ark. (24)’nin Merinos koçlarda, Aral ve Tekin (25)’in Akkaraman, İvesi, Merinos koçlarda, Marai ve ark. (42)’nin Suffolk koçlarda, Gündoğan ve ark. (23)’nin Sakız koçlarda ve İnce ve Karaca (145)’nin Karya ve Çine Çaparı koçlarda bildirdikleri değerlerden düşük ve Simplicio ve ark. (44)’nin Brezilya Somali koçlarında bildirdikleri değerlerden ise yüksek olmuştur.

Araştırmada koçların sağ testis kalınlığı en yüksek  $7.04 \pm 0.14$  cm ile Ekim ayında, en düşük ise  $5.51 \pm 0.25$  cm ile Ocak ayında, sol testis kalınlığı ise en yüksek  $6.85 \pm 0.12$  cm ile yine Ekim ayında, en düşük ise  $5.43 \pm 0.11$  cm ile Şubat ayında elde edilmiş ve sağ ve sol değerler arasındaki farklar önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Çizelge 2, Şekil 3)

Elde edilen testis kalınlığı ile ilgili değerler Gündoğan ve ark. (23)’nin Dağlıç, İvesi ve Akkaraman koçlarda ve Aral ve Tekin (25)’in Akkaraman, İvesi, Merinos

koçlarda bildirdikleri değerlerle paralel, Gündoğan ve ark. (23)'nin Sakız koçlarda bildirdikleri değerlerden düşük, İnce ve Karaca (145)'nin Karya ve Çine Çaparı koçlarda, Simplicio ve ark. (44)'nin Breziya Somali koçlarda, Aksoy ve ark. (25)'nin Merinos koçlarda, Koyuncu ve ark. (143)'nin Karayaka koçlarda ve Kırk (144)'in Norduz koçlarda bildirdiği değerlerden ise yüksek olmuştur.

Çalışma sonucunda koçlara ait scrotum çevresi ortalama  $31.45 \pm 0.29$  cm olarak bulunmasıyla birlikte ve en yüksek değer  $35.30 \pm 0.71$  cm ile Eylül ayında, en düşük değer ise  $27.31 \pm 0.59$  cm ile Ocak ayında tespit edildi ve scrotum çevresi yönünden aylar arasında gözlenen fark önemli ( $p < 0.05$ ) bulundu (Çizelge 2, Şekil 4).

Bu bulgular Kafi ve ark. (27)'nin Karagül koçlarda, Aksoy ve ark. (24)'nin Merinos koçlarda, Gündoğan (45)'in aşım mevsiminde Akkaraman koçlarda ve Gündoğan ve ark. (23)'nin aşım mevsimi öncesi, esnasında ve sonrasında Dağlıç, İvesi, Sakız ve Akkaraman koçlarda bildirdikleri değerlere yakın, Ataman ve ark. (147)'nin Akkaraman koçlarda, Aguirre ve ark. (26)'nin kısa ve uzun günlerde Pelibuey koçlarda, Kheradmand ve ark. (148)'nin Bakhtiary koçlarda, Söderquist ve Hulten (149)'in Gotlandik koçlarda ve Kaymakçı ve ark. (22)'nin Menemen koçlarda bildirdikleri değerlerden yüksek ve Zamiri ve Khodaei (28)'nin Ghezel and Mehraban koçlarda, İnce ve Karaca (145)'nin Karya ve Çine Çaparı koçlarda bildirdikleri değerlerden ise düşük olmuştur.

Araştırmadan elde edilen scrotum kalınlığı ortalama  $0.42 \pm 0.01$  cm olarak bulunurken en yüksek değer  $0.47 \pm 0.03$  cm ile Ocak ayında ve en düşük değerde  $0.33 \pm 0.02$  cm ile Aralık ayında tespit edilmiş ve Ocak, Şubat, Mart ve Eylül aylarında bulunan değerler ile Nisan, Mayıs, Temmuz, Kasım ve Aralık aylarında bulunan değerler arasındaki farklar önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur (Çizelge 2, Şekil 5). Ayrıca elde edilen bu değerler Gündoğan ve ark. (23)'nin Dağlıç koçlarda bildirdikleri değerler ile paralellik arz ederken yine Gündoğan ve ark. (23)'nin İvesi, Sakız ve Akkaraman koçlarda ve Aral ve Tekin (25)'in Akkaraman, İvesi ve Merinos koçlarda bildirdikleri değerlerden düşük olmuştur.

Araştırmada kullanılan koçların ortalama relatif testis hacmi değeri  $10.97 \pm 0.22$  ml/kg olarak ve en yüksek değeri  $13.24 \pm 0.61$  ml/kg ile Eylül ayında en düşük değeri ise  $8.46 \pm 0.24$  ml/kg ile Ocak ayında elde edildi ve yıl boyunca aylar arasında relatif testis hacmi yönünden gözlenen fark önemli ( $p < 0.05$ ) bulundu (Çizelge 2, Şekil 6).

Relatif testis hacmi ile ilgili olarak bulunan değerler Taha ve ark. (30)'nın Barki, ithal ve yerli İvesi koçlarda bildirdiği değerlere yakın ve Gündoğan ve Serteser (29)'in aşım sezonunda Akkaraman ve İvesi koçlarda sırasıyla 10.6 ve 10.9 ml/kg ve Tajangookeh ve ark. (43)'nin Shall, Afshari ve Zandi koçlarda bildirdikleri değerlerden ise yüksek olmuştur.

Sunulan çalışmada elde edilen morfometrik testis ölçümleri ile ilgili bulguların literatür bilgileriyle paralellik arzemesi bu çalışmanın benzer çalışmalarla uyum içerisinde olduğunu göstermektedir. Bunun yanında elde edilen bulguların bazılarının literatür bulgularından farklılık arzemesi ise kullanılan koçların ırkı ve vücut kondüsyonları başta olmak üzere genetik yapı, yaş, bakım ve beslenme, ölçümleri yapan kişi, kullanılan değerlendirme tekniği, coğrafi konum ve iklim özellikleri gibi faktörlerin etkisine bağlı olabilir.

Erkek hayvanlarda spermatolojik özelliklerin belirlenmesi hem koçların fertilitesi hem de küçük ruminantlar için sürü fertilitesi açısından önemli bir yer tutmaktadır. Bu çalışmada materyal olarak kullanılan koçların spermatolojik özelliklerine ait ortalama değerler Çizelge 3 ve 4'te dağılımları ise Şekil 7-17'de verilmiştir.

Araştırma neticesinde elde edilen en yüksek değeri  $11.40 \pm 1.04$  s ile Ocak ayında en düşük değeri ise  $5.10 \pm 0.38$  s ile Ekim ayında elde edildi ve aylar arasındaki farklar önemli ( $p < 0.05$ ) bulundu.

Koçların reaksiyon süreleri ile ilgili elde edilen değerler Gündoğan ve ark. (23)'nin Sakız ve Akkaraman koçlarda ve Taha ve ark. (30)'nin İvesi ve Barki koçlarda bildirdiği, Gündoğan ve Demirci (32)'nin Akkaraman ve İvesi koçlarda bildirdikleri değerlere yakın, Kheradmand ve Babaei (148)'nin Lory ve Ghezel koçlarda, Avdi ve ark. (150)'nin Sakız ve Serres koçlarda, Marai ve ark. (42)'nin Suffolk koçlarda, Aguirre ve ark. (26)'nin Pelibuey koçlarda, İbrahim (36)'in yerli ve yerli x Sakız melezi koçlarda



ve Kishk (151)'in Rahmani koçlarda ve Gündoğan ve ark. (23)'nin Dağlıç ve İvesi koçlarda bildirdiği değerlerden ise düşük olmuştur.

Bu çalışmada koçlardan elde edilen ortalama sperma miktarı  $1.06 \pm 0.03$  ml olarak bulunmuş ve yıl boyunca aylar arasında sperma miktarları yönünden gözlenen farkın önemli ( $p < 0.05$ ) olduğu gözlenmiştir.

Çalışmada elde edilen sperma miktarı ile ilgili değerler kimi araştırmacıların (25, 42, 43) bulgularına yakın bulunurken, kimilerinin (24, 30, 32, 35, 37, 153) bulgularından yüksek, kimilerinin (48, 145, 152) bulgularından da düşük olmuştur.

Çalışma süresince sperma viskozitesi en yüksek Kasım ayında, en düşük ise Temmuz ve Ağustos aylarında gözlenmiş olup yine aylar arasındaki fark önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur.

Spermanın viskozitesi ile ilgili bulgular Gündoğan ve ark. (23)'nin İvesi, Sakız ve Akkaraman koçlarda, Bozkurt ve ark. (154)'nin İvesi koçlarda, Simplicio ve ark. (44)'nin Brezilya Somali koçlarında, Aral ve Tekin (25)'in Akkaraman, İvesi, Merinos koçlardaki bulgularından yüksek, Gündoğan ve ark. (47)'nin Akkaraman ve yine Gündoğan ve ark. (23)'nin Dağlıç koçlardaki bulgularından ise düşük olmuştur.

Koçların ejakulatlarındaki sperma pH'ları ortalama  $6.63 \pm 0.04$  olarak bulunmuş ve en yüksek değer  $6.90 \pm 0.07$  ile Aralık ayında, en düşük değer ise  $6.40 \pm 0.13$  ile Haziran ayında elde edilmiş ve yıl boyunca aylar arasında istatistiki fark ( $p < 0.05$ ) gözlenmiştir. Çalışma süresince elde edilen pH değerleri bazı yazarlar (23, 25, 144) ile uyum içerisinde iken bazı yazar (36, 44, 155)'lerden düşük ve Zamiri ve Khodaei (28)'nin Ghezal and Mehraban koçlarda bildirdikleri değerlerden ise yüksek bulunmuştur.

Araştırma süresince en yüksek spermatozoa kitle hareketi  $4.60 \pm 0.22$  ile Kasım ayında, en düşük ise  $2.40 \pm 0.34$  ile Aralık ayında gözlendi ve aylar arasındaki fark önemli ( $p < 0.05$ ) bulundu. Elde edilen bu değerler, Aral ve Tekin (25)'in Akkaraman, İvesi ve Merinos koçlarda aşım mevsimi içinde  $4.18 \pm 0.09$  ve dışında  $3.38 \pm 0.09$  olarak ve Kafi ve ark. (27)'nin Karagül koçlarda yıl boyu ortalama  $3.8 \pm 0.8$  olarak bildirdikleri değerler ile paralellik gösterirken, Aral ve Aral (156)'ın Merinos koçlarda aşım

mevsiminde elektroejakülatör ile aldıkları spermada  $3.70 \pm 0.13$  olarak bildirdikleri değerden yüksek ve sun'i vajen yöntemiyle aldıkları spermada  $4.50 \pm 0.07$  olarak bildirdikleri değere yakın bulunmuştur. Ayrıca bulunan değerler Tajangookeh ve ark. (43)'nin Zandi koçlarda bildirdikleri değerlerle paralel, Shall ve Afshari koçlarda bildirdikleri değerlerden düşük bulundu. Bununla beraber Gündoğan ve ark. (23)'nin Dağlıç koçlarda buldukları değerlerden düşük, Sakız koçlarda bildirdikleri değerlere paralel ve İvesi ve Akkaraman koçlarda ise aşım mevsimi öncesindeki değerlere yakın, esnası ve sonrasındaki değerlerden ise düşük bulundu. Mert ve ark. (46)'nın Norduz koçlarda bildirdiği  $3.53 \pm 0.20$ 'lük değerden yüksek, Karakaş ve Ile de France x Akkaraman melezi koçlarda sırasıyla  $4.50 \pm 0.26$  ve  $4.33 \pm 0.22$  olarak bildirdikleri değerlerden de düşük bulundu. İbrahim (36)'in yerli ve yerli x Sakız melezi koçlarda ve Gündoğan ve ark. (47)'nin Akkaraman koçlarda bildirdikleri değerlerden düşük bulundu. Fourie ve ark. (155)'nin entansif ve extansif besleme yaptığı Dorper koçlarda sırasıyla  $3.3 \pm 0.2$  ve  $2.3 \pm 0.3$  olarak bildirdikleri değerlerden yüksek ve Günay ve ark. (157)'nin Merinos koçlarda bildirdikleri değerlerden de yüksek bulundu.

Çalışma süresince bulduğumuz spermatozoa motilitesi ortalama  $\% 77.67 \pm 0.77$  olarak bulundu ve en yüksek değer  $\% 89.00 \pm 1.00$  ile Ekim ayında tespit edildi ve aylar arasındaki fark önemli ( $p < 0.05$ ) bulundu.

Araştırmada bulunan motilite değerleri Aksoy ve ark. (164)'nin çeşitli ırklarda üreme mevsiminde bildirdikleri  $\% 83.3 \pm 1.7$  değerle, Aral ve Tekin (25)'in Akkaraman, İvesi ve Merinos koçlarda aşım sezonu içinde  $\% 83.37 \pm 1.27$ , Mert ve ark. (46)'nın Norduz, Karakaş ve Ile de France x Akkaraman melezi koçlarda Haziran-Ekim ayları arasında ortalama  $\% 82.26 \pm 2.64$ , Kaya ve ark. (37)'nin Merinos koçlarda yıl boyu ve Gündoğan ve ark. (47)'nin mevsim öncesi, esnası ve sonrasında Akkaraman koçlarda bildirdiği ortalama  $\% 76.84 \pm 2.24$  değerleri ile yakın bulundu. Türk ve Demirci (35)'nin Akkaraman koçlarda yıllık ortalama  $\% 72.66 \pm 0.71$  olarak, Taha ve ark. (30)'nin ithal ve yerli İvesi ve Barki koçlarda bildirdikleri sırasıyla  $\% 68.91 \pm 1.50$ ,  $\% 66.43 \pm 1.72$  ve  $\% 64.30 \pm 2.04$  olarak, Gündoğan (23)'in Sakız ve Dağlıç koçlarda yıllık ortalama  $\% 62.20 \pm 2.1$  ve  $\% 66.4 \pm 1.2$  olarak, Karagiannidis ve ark. (48)'nin Sakız ve Fresian

koçlarda yıllık ortalama sırasıyla  $72.17 \pm 0.84$  ve  $72.36 \pm 0.75$  olarak, Gündoğan (45)'ın Haziran-Şubat ayları arasında Akkaraman ve İvesi koçlarda sırasıyla %  $67.89 \pm 3.36$  ve %  $66.88 \pm 3.62$  olarak ve Simplicio ve ark. (44)'nın Brazilya Somali koçlarında bildirdikleri değerlerden yüksek bulundu. Ayrıca Öztürkler ve ark. (160)'nın Kıvırcık koçlarda aşım mevsimi içinde %  $86.50 \pm 3.37$  olarak bildirdikleri değere benzer, aşım mevsimi dışında %  $87.00 \pm 2.58$  olarak bildirdikleri değerlerden ise düşük bulundu.

Koçların spermalarındaki spermatozoon yoğunluğu ortalama  $3.59 \pm 0.08 \times 10^9$ /ml olarak ve en yüksek değer  $4.54 \pm 0.23 \times 10^9$ /ml ile Kasım ayında en düşük değer ise  $2.92 \pm 0.30 \times 10^9$ /ml ile Aralık ayında kaydedilmekle birlikte yıl boyunca aylar arasındaki farklar önemli ( $p < 0.05$ ) bulundu.

Zamiri ve Khodaei (28)'nin Ghezel and Mehraban koçlarda sırasıyla  $3.71 \pm 0.06 \times 10^9$ /ml ve  $3.64 \pm 0.07 \times 10^9$ /ml, Gündoğan ve ark. (47)'nin Akkaraman koçlarda aşım mevsimi öncesi, esnası ve sonrasında ortalama  $3.71 \pm 0.17 \times 10^9$ /ml olarak bildirdikleri değerlerle benzer bulundu. Bunun yanında Gündoğan ve ark. (23)'nin Dağlıç koçlarda aşım mevsimi öncesi ve esnasında bildirdiği değerlerden yüksek aşım mevsimi sonrasında bildirdikleri değerlere yakın, İvesi ve Akkaraman koçlarda aşım mevsimi öncesi bildirdikleri değerlerden yüksek esnası ve sonrası bildirdikleri değerlere yakın, Sakız koçlarda bildirdikleri değerlerden yüksek bulundu. Ayrıca araştırma neticesinde elde edilen spermatozoon yoğunluğu değerleri, Türk ve Demirci (35)'nin Akkaraman koçlarda yıllık ortalama  $2.55 \pm 0.03 \times 10^9$ /ml, Aksoy ve ark.(161)'nin Merinos koçlarda aşım mevsiminde ortalama  $2.61 \times 10^9$ /ml, İnce ve Karaca (145)'nin Karya ve Çine Çaparı koçlarda sırasıyla  $1.89 \pm 0.02 \times 10^9$ /ml ve  $1.56 \pm 0.02 \times 10^9$ /ml, Tajangookkeh ve ark. (43)'nin Shall, Afshari ve Zandi koçlarda yıllık ortalama sırasıyla  $3.28 \times 10^9$ /ml,  $3.47 \times 10^9$ /ml ve  $2.92 \times 10^9$ /ml, Mandiki ve ark. (162)'nin Texel, Suffolk ve Ile-de-France koçlarda bildirdiği sırasıyla ortalama  $3.3 \pm 0.81 \times 10^9$ /ml,  $3.35 \pm 0.79 \times 10^9$ /ml ve  $3.41 \pm 0.78 \times 10^9$ /ml, Kaya ve ark. (37)'nin Konya Merinosu koçlarda yıl boyu ve Simplicio ve ark. (44)'nın Brezilya Somali koçlarda bildirdikleri değerlerden yüksek bulundu. Bununla birlikte elde edilen bu değerler Taha ve ark. (30)'nin ithal ve yerli İvesi ve Barki koçlarda yıl boyu sırasıyla  $5.16 \pm 0.23 \times 10^9$ /ml,  $5.39 \pm 0.17 \times 10^9$ /ml ve

4.73 ± 0.20 x 10<sup>9</sup>/ml, Karagiannidis ve ark. (48)'nin Sakız ve Fresian koçlarda yıllık ortalama sırasıyla 4.01 ± 0.06 x 10<sup>9</sup>/ml ve 4.04 ± 0.17 x 10<sup>9</sup>/ml, Mert ve ark. (46)'nin Norduz, Karakaş ve Ile de France x Akkaraman melezi koçlarda sırasıyla 4.23 ± 0.53 x 10<sup>9</sup>/ml, 4.00 ± 0.70 x 10<sup>9</sup>/ml ve 5.49 ± 0.57 x 10<sup>9</sup>/ml ve Ibrahim (36)'in koçlarda 5.10 ± 0.46 x 10<sup>9</sup>/ml olarak bildirdikleri değerlerden düşük bulundu. Ayrıca Aguirre ve ark. (26)'nin Pelibuey koçlarda Nisan-Eylül aylarında haftada iki kez sperma aldığı grupta elde ettiği 4.02 ± 0.19 x 10<sup>9</sup>/ml ve haftada bir kez sperma aldığı grupta elde ettiği 3.88 ± 0.14 x 10<sup>9</sup>/ml ve Ekim-Mart aylarında haftada iki kez sperma aldığı grupta elde ettiği 4.40 ± 0.16 x 10<sup>9</sup>/ml ve haftada bir kez sperma aldığı grupta elde ettiği 4.44 ± 0.17 x 10<sup>9</sup>/ml olarak bildirdikleri değerlerden de düşük olduğu gözlemlendi.

Bu çalışmada anormal spermatozoon oranı yıl boyunca ortalama % 6.52 ± 0.19 olarak bulundu ve yıl boyunca aylar arasındaki farkların önemli (p<0.05) olduğu gözlemlendi.

Araştırmada elde ettiğimiz değerler, Türk ve Demirci (35)'nin Akkaraman koçlarda yıllık ortalama % 6.75 ± 0.16, Mert ve ark. (46)'nin Norduz, Karakaş ve Ile de France x Akkaraman melezi koçlarda Haziran-Ekim ayları arasında bildirdikleri ortalama % 6.20 ± 0.32 ve Karagiannidis ve ark. (48)'nin Friesian koçlarda % 6.68 ± 0.18 olarak bildirdikleri değerlere yakın Gündoğan ve ark. (23)'nin Dağlıç, İvesi, Sakız ve Akkaraman koçlarda aşım sezonu öncesi, esnası ve sonrasında, Gündoğan ve Serteser (29)'in aşım mevsiminde Akkaraman ve İvesi koçlarda bildirdiği sırasıyla ortalama % 3.9 ± 0.12 ve % 3.5 ± 0.10, Aral ve Tekin (25)'in Merinos, Akkaraman ve İvesi koçlarda bildirdiği, Gündoğan ve ark. (45)'nin Akkaraman koçlarda aşım sezonu öncesi, esnası ve sonrasında ortalama % 4.18 ± 0.21 ve Gündoğan (23)'in Sakız ve Dağlıç koçlarda yıllık ortalama sırasıyla % 4.1 ± 0.8 ve % 3.7 ± 0.8 olarak bildirdikleri değerlerden de yüksek bulundu. Bunun yanında Aksoy ve ark. (24)'nin Merinos koçlarda aşım mevsiminde, Tajangookeh ve ark. (43)'nin Shall, Afshari ve Zandi koçlarda yıllık ortalama sırasıyla % 11.54 ± 0.36, % 11.58 ± 0.36 ve % 11.22 ± 0.36 olarak, Taha ve ark. (30)'nin ithal ve yerli İvesi ve Barki koçlarda yıl boyu, Marai ve ark. (42)'nin Suffolk koçlarda, Aksoy ve ark. (164)'nin farklı ırklardan koçlarda aşım mevsiminde % 8.0 ± 1.3 olarak ve Perez ve ark. (38)'nin Corriedale koçlarda

bildirdikleri değerlerden düşük bulundu. Kaya ve ark. (37)'nin Konya Merinosu koçlarda ilkbahar, yaz ve kış aylarında bildirdikleri değerlerden düşük Sonbahar aylarında bildirdikleri değerlerden ise yüksek bulundu.

Bu araştırmada ölü spermatozoon oranı en yüksek %  $12.71 \pm 0.61$  ile Nisan ayında ve en düşük değere ise %  $7.13 \pm 0.47$  ile Ekim ayında tespit edildi ve fark ( $p < 0.05$ ) gözlemlendi.

Bulunan ölü spermatozoon oranları Taha ve ark. (30)'nin ithal ve yerli İvesi ile Barki koçlarda yıl boyu, Fourie ve ark. (155)'nin entansif ve extansif besleme yaptığı Dorper koçlarda, Hafez (113)'in Rahmani koçlarda Temmuz-Eylül ayları arasında % 15.86 olarak, Zamiri ve Khodaei (28)'nin Ghezal and Mehraban koçlarda, Simplicio ve ark. (44)'nin Brezilya Somali koçlarında, Marai ve ark. (42)'nin Suffolk koçlarda, Tekin ve ark. (162)'nin Akkaraman, Sakız ve Ramlıç koçlarda ortalama sırasıyla %  $17.6 \pm 6.2$ , %  $14.3 \pm 5.4$  ve %  $16.8 \pm 7.5$  olarak, D'Alessandro ve Martemucci (163)'nin Leccese koçlarda, Soylu ve ark. (50)'nin Dorset Down, Hampshire, Siyah Baş Alman, Linkoln ve Border Leichestre koçlarda ve İnce ve Karaca (145)'nin Çine Çaparı koçlarda ortalama %  $14.81 \pm 0.73$  olarak bildirdikleri değerlerden düşük bulunurken Aksoy ve ark. (164)'nin çeşitli ırklarda aşım mevsiminde ortalama %  $4.9 \pm 1.7$  olarak, Ataman ve ark. (147)'nin Merinos koçlarda aşım mevsimi dışında %  $3.1 \pm 1.56$  ile %  $9.3 \pm 5.38$  aşım mevsiminde %  $2.5 \pm 0.41$  ile %  $5.9 \pm 5.11$  aralığında ve Kaya ve ark. (37)'nin Merinos koçlarda yıl boyu bildirdikleri değerlerden yüksek bulundu. Bunun yanında Aksoy ve ark. (24)'nin Merinos koçlarda aşım mevsimi içinde % 7.70 ile % 15.00 aralığında, Kafi ve ark. (27)'nin Karagül koçlarda Aksoy ve ark. (164)'nin Akkaraman ve Corriedale koçlarda bildirdikleri değerlerle de uyum içerisinde gözlemlendi.

Bu çalışmada spermatozoon HOS testi sonuçları yıl boyunca ortalama %  $66.34 \pm 0.81$  olarak bulunurken aylık dalgalanmalar arasındaki farklar istatistiki yönden önemli ( $p < 0.05$ ) bulundu

HOS testi sonuçları ile ilgili bulunan değerler Aisen ve ark. (135)'nin aşım mevsiminde Pampinta koçlarda 100 mOsm'luk HOS testi solüsyonu ile yaptıkları çalışmada ortalama %  $80.1 \pm 9.0$  olarak ve Bucak ve Tekin (165)'in Sakız koçlarda aşım mevsiminde  $+5^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan spermada %  $76.3 \pm 1.3$  olarak bildirdikleri

değerlerden düşük bulunurken, Ollero ve ark. (166)'nın Salz koçlarda % 70, Gündoğan (167)'in Pırlak koçlarda aşım mevsiminde %  $69.25 \pm 3.81$  olarak ve Bucak ve ark. (168)'nin Akkaraman koçlarda aşım mevsiminde  $+5^{\circ}\text{C}$ 'de saklanan spermada %  $71.8 \pm 2.4$  olarak bildirdikleri değerlere yakın bulundu. Ayrıca Koonjaenak ve ark. (15) Mandalarda mevsimsel olarak yaptıkları bir çalışmada yaz (Mart-Haziran) mevsiminde HOS testi değerini %  $75.6 \pm 2.1$  olarak ve yağmur sezonu (Temmuz-Ekim) %  $69.1 \pm 2.1$  ve kış (Kasım-Şubat) %  $68.7 \pm 2.0$  mevsiminde buldukları değerler ile aralarındaki farkın önemli ( $p < 0.05$ ) olduğunu bildirmektedirler. Bunun yanında Janet ve ark. (12) sıcak kanlı aygırlarda yaptıkları mevsimsel çalışmada sonbahar (%  $45.8 \pm 1.4$ ), ilkbahar (%  $49.0 \pm 1.2$ ) ve yaz (%  $48.9 \pm 1.2$ ) mevsimlerinde buldukları HOS testi değerleri ile kış (%  $42.2 \pm 1.4$ ) mevsiminde buldukları değerler arasındaki farkın önemli ( $p < 0.05$ ) olduğunu belirtmektedirler.

Bu çalışmada elde edilen spermatolojik değerler ile kimi literatür bilgileri arasındaki farklılıkların sebepleri arasında ırk, yaş, bakım yöntemi, beslenme koşulları, araştırmanın yapıldığı bölgenin coğrafi konumu, iklim koşulları, değerlendirmeyi yapan kişi kullanılan metod ve teçizat kimyasal maddeler sayılabilir.

Günümüzde erkeklerin fertilitelerinin tahmin edilmesinde ve sürü fertilitelerinin sürdürülebilirliğinde spermatolojik özelliklerinin belirlenmesinin yanı sıra spermatozoon DNA hasarının tespit edilmesi önemli bir yere sahiptir. Nitekim Chan ve ark. (174) düşük DNA hasarı ile spermatozoonun hiperaktivasyonu ve oosit penetrasyonu arasında ilişki olduğunu bildirmektedirler.

Ding ve ark. (169) soğuk bölgelerde çalışan erkeklerde yaptıkları çalışmada rutin sperma analizlerinde bir farklılık olmamasına rağmen uzun süre soğuğa maruz kalmanın spermatozoon DNA hasarına yol açtığını, Freser ve Strzezek (170) domuzlarda sulandırıcı tipine bakılmaksızın  $5^{\circ}\text{C}$  ve  $16^{\circ}\text{C}$ 'lerde uzun süre saklanan spermatozoonlarda DNA hasarının kademeli olarak arttığını ve Baumber ve ark. (171) dondurulmuş aygır sperması ile taze sperma örneklerinin karşılaştırılması sonucunda spermanın dondurulması ile spermatozoon DNA hasarı artışı arasında bir ilişki ( $p < 0.01$ ) olduğunu bildirmektedirler. Li ve ark. (172) Rhesus maymunlarında taze spermadaki DNA hasarını % 0-2.7 olarak bildirmelerine karşın rutin yöntemlerle dondurup sıvı

nitrojende sakladıkları spermada DNA hasarını % 25.3-43.7 aralığında, kryoprotektan kullanmadan dondurdukları spermada ise bu aralığı % 52.7-92.0 olarak belirtmektedirler.

Slovinska ve ark. (99) boğalarda taze ve dondurulmuş spermada baş DNA miktarı ile comet kuyruk uzunluğu ( $p<0.05$ ) ve kuyruk momenti ( $p<0.01$ ) yönünden fark olduğunu bildirmektedir. Lopez- Fernandez ve ark. (175) farklı ırk koçlarda SCD yöntemi ile belirledikleri dondurulmuş-çözdürülmüş ve  $15^{\circ}\text{C}$ 'ye soğutulmuş spermatozoonda DNA hasarını % 5'ten düşük olarak bildirmektedirler.

Kasimanickam ve ark. (173) Polled Dorset, Hampshire ve Suffolk ırkı 6-11 aylık erkek kuzularda DNA hasarını SCSA yöntemi ile belirlemişler ve klasik sperma parametreleri ile DNA hasarı arasında negatif bir korelasyon bulunduğunu bildirmektedirler. Garcia-Macias ve ark. (18) Churra koçlarda yine SCSA yöntemi ile belirledikleri spermatozoon DNA hasarındaki mevsimsel farkın önemli ( $p<0.05$ ) olduğunu belirtmektedirler. Bunun yanında Gliozzi ve ark. (177) manda spermasında Comet analiz yöntemi ile spermatozoon DNA bütünlüğünün mevsimselliği ile ilgili yaptıkları çalışmada yaz sezonunda mandalarda spermatozoon DNA hasarının arttığını bildirmektedirler. Nandre (178) Surti mandalarda Comet analiz yöntemi ile yaptığı çalışmada spermanın dondurma öncesi ve sonrasında DNA hasarının yaz mevsiminde ( $\% 7.6 \pm 1.64$ ) kış mevsimine ( $\% 3.00 \pm 0.55$ ) oranla önemli ( $p<0.05$ ) düzeyde yüksek olduğunu ve bununda sıcaklık stresine bağlı olabileceğine dikkat çekmektedir.

Linfor ve Meyer (176) aygırlarda yaptıkları çalışmada kontrol grubunda taze spermada Comet analiz yöntemi ile spermatozoon DNA hasarını % 19 olarak bildirmektedirler. Ayrıca Henkel ve ark. (179)'nın insanlarda yaptıkları bir çalışmada SCSA yöntemi ile yaz aylarında DNA hasarını yüksek bulmuşlar ve bunu sıcaklık artışına bağlamışlardır. Bu kanaat, bu çalışmadan elde edilen sıcaklığın yüksek olduğu aylarda (Çizelge 1) DNA hasar düzeylerinde yüksek olduğu (Çizelge 4, şekil 17) bulguları ile desteklenmektedir.

Spermatozoon DNA hasarının belirlenmesinde birçok metod kullanılmakla birlikte bu çalışmada, düşük seviyedeki DNA hasar düzeylerini bile hassas bir şekilde belirlenebilmesi, az sayıda hücre ile analizin gerçekleştirilebilmesi, ekonomik olması,

sonuçların kısa sürede elde edilebilmesi ve değerlendirilmesi gibi nedenlerden dolayı DNA hasar tespitinde giderek yaygınlaşan Comet analiz yöntemi ile gerçekleştirildi (104).

Spermatozoon DNA hasar düzeyleri yıl boyunca ortalama  $30.15 \pm 1.17$  AU olarak bulunmuş ve aylık değişimler gözlenmiş olup en yüksek değer Temmuz ayında  $42.40 \pm 2.88$  AU olarak ve en düşük değer ise Mart ayında  $21.30 \pm 3.05$  AU olarak tespit edilmiştir. Bununla birlikte koçlarda yıl boyunca aylar arasında spermatozoon DNA hasar düzeyleri yönünden gözlenen farkın istatistiksel öneme ( $p < 0.05$ ) sahip olduğu gözlenmiş olup anormal spermatozoon oranı ile pozitif yönde ilişkiler önemli bulunmuştur.

Bu bulgular literatürde bildirilen spermatozoon DNA hasarında mevsimsel dalgalanmaların görüldüğü ve çevre sıcaklığının etkin bir rol oynadığı ve ayrıca anormal spermatozoon oranı ile ilişkili olduğu yönündeki bulgular ile uyum içerisindedir.

Araştırmada kullanılan koçların yıl boyu aylara göre kan serumu biyokimyasal ve hormonal analiz bulgularına ait ortalama değerler ve dağılımlar Çizelge 5 ve Şekil 18-28'de verilmiş olup yapılan istatistiksel analizlerde tüm parametreler bakımından yıl boyunca aylar arasında gözlenen farklar önemli ( $p < 0.05$ ) bulunmuştur.

Koçların kan serumlarında total protein miktarları ile ilgili bulduğumuz değerler, Gündoğan ve Serteser (29)'in aşım mevsiminde Akkaraman koçlarda  $7.2 \pm 0.23$  g/dL olarak ve Gündoğan ve ark. (112)'nin Sakız ve Dağlıç koçlarda aşım mevsiminde sırasıyla  $6.6$  g/dL ve  $7.1$  g/dL olarak bildirdikleri değerlerden yüksek, Marai ve ark. (42)'nin Suffolk koçlarda kış ve yaz mevsiminde sırasıyla  $21.5 \pm 2.08$  g/dL ve  $22.8 \pm 2.08$  g/dL olarak ve Hafez (113)'in Rahmani koçlarda kan plazmasında  $10.13 \pm 0.23$  g/dL olarak bildirdikleri değerlerden düşük olduğu gözlenmiştir.

Albumin değerleri ise Marai ve ark. (42)'nin Suffolk koçlarda kış ve yaz mevsimlerinde  $4.80 \pm 0.38$  g/dL ve  $4.26 \pm 0.38$  g/dL bildirdikleri değerden düşük, Gündoğan ve Serteser (29)'in aşım mevsiminde Akkaraman ve İvesi koçlarda sırasıyla  $3.3 \pm 0.05$  g/dL ve  $3.3 \pm 0.08$  g/dL ve Gündoğan ve ark. (112)'nin aşım mevsiminde Sakız ve Dağlıç koçlarda sırasıyla  $3.0$  g/dL ve  $3.4$  g/dL olarak bildirdikleri değerlerden



yüksek, Zamiri ve Rezaei-Roodbari (180)'nin Gazel ve Mehreban koçlarda sırasıyla  $14.65 \pm 1.28$  g/dL ve  $14.5 \pm 0.83$  g/dL olarak ve Hafez (113)'in Rahmani koçlarda kan plazmasında  $5.53 \pm 0.13$  g/dL olarak bildirdikleri değerden ise düşük bulundu.

Globulin miktarlarında Gündoğan ve Serteser (29)'in aşım mevsiminde Akkaraman koçlarda  $3.9 \pm 0.20$  g/dL olarak bildirdikleri değere yakın, İvesi koçlarda  $4.3 \pm 0.19$  g/dL bildirdikleri değerden ise düşük, Gündoğan ve ark. (112)'nin aşım mevsiminde Sakız ve Dağlıç koçlarda sırasıyla  $3.6$  g/dL ve  $3.8$  g/dL olarak ve Marai ve ark. (42)'nin Suffolk koçlarda kış ve yaz mevsimlerinde sırasıyla  $3.85 \pm 0.37$  g/dL ve  $3.57 \pm 0.37$  g/dL olarak bildirdikleri değerlerden yüksek, Hafez (113)'in Rahmani koçlarda kan plazmasında bildirdiği  $4.56 \pm 0.29$  g/dL değerden düşük bulundu. Bu çalışmada ortalama  $1.05 \pm 0.07$  olarak bulunan Albumin/Globulin oranı Gündoğan ve Serteser (29)'in aşım mevsiminde Akkaraman koçlarda  $0.85 \pm 0.04$  olarak bildirdikleri değere yakın, İvesi koçlarda  $0.77 \pm 0.02$  olarak bildirdikleri değerden yüksek ve Hafez (113)'in Rahmani koçlarda kan plazmasında bildirdiği  $1.34 \pm 0.11$  değerden de düşük olmuştur.

Kan serumu trigiliserid miktarları ortalama  $21.02 \pm 0.82$  mg/dL olarak bulunan bu çalışmada yüksek değer  $30.60 \pm 4.06$  mg/dL ile Eylül ayında, en düşük değer ise  $10.70 \pm 0.62$  mg/dL ile Aralık ayında tespit edildi. Bulunan bu değerler, Gabryszuk ve ark. (181) erkek Merinos kuzularda  $37.19 \pm 2.65$  mg/dL olarak, Zamiri ve Rezaei-Roodbari (180)'nin Gazel ve Mehreban koçlarda ve Hafez (113)'in Rahmani koçlarda kan plazma trigiliserid düzeylerini  $235.50 \pm 8.36$  mg/dL olarak bildirdikleri değerlerden düşük ve Lough ve ark. (182) Hampshire ve Suffolk kuzularda  $21.0 \pm 2.5$  mg/dL olarak ve Yur ve ark. (181) ile Gündüz ve Mert (184)'in koyunlarda bildirdikleri değerler ile paralellik arz etmektedir.

Yıl boyunca ortalama kan serumu kolesterol miktarları  $47.81 \pm 0.97$  mg/dL olarak bulunan bu çalışmada en yüksek değer  $63.70 \pm 3.58$  mg/dL olarak Mayıs ayında ve en düşük değer de  $39.50 \pm 2.49$  mg/dL olarak Eylül ayında elde edildi.

Kolesterol düzeyleri ile ilgili bulunan değerler, Nisbet ve ark. (185)'nin Karayaka koçlarda bildirdikleri  $48.2 \pm 12.1$  mg/dL değere yakın, Gündoğan ve Serteser

(29)'in aşım mevsiminde Akkaraman ve İvesi koçlarda sırasıyla  $28.9 \pm 1.41$  mg/dL ve  $33.6 \pm 1.24$  mg/dL olarak, Gündoğan ve ark. (112)'nin Sakız ve Dağlıç koçlarda aşım mevsiminde sırasıyla  $32.6$  mg/dL ve  $35.9$  mg/dL olarak bildirdikleri değerlerden yüksek, Raghuvansi ve ark. (186)'nin Malpura koçlarda ve Zamiri ve Khodaei (28)'nin Ghezel and Mehraban koçlarda sırasıyla  $54.66 \pm 1.52$  mg/dL ve  $59.27 \pm 1.42$  mg/dL olarak bildirdikleri değerlerden ise düşük olmuştur.

Bu çalışmada elde edilen AST aktivitesi, Marai ve ark. (42)'nin Suffolk koçlarda kış ve yaz mevsimlerinde sırasıyla  $92.2 \pm 3.95$  U/L ve  $82.8 \pm 3.95$  U/L olarak bildirdikleri değerlere yakın, Gündoğan ve Serteser (29)'in aşım mevsiminde Akkaraman ve İvesi koçlarda sırasıyla  $116.7 \pm 4.03$  U/L ve  $115.8 \pm 4.11$  U/L olarak, Gündoğan ve ark. (112)'nin aşım mevsiminde Sakız ve Dağlıç koçlarda sırasıyla  $125.6$  U/L ve  $136.3$  U/L olarak bildirdikleri değerlerden düşük, Hafez (113)'in Rahmani koçlarda kan plazmasında bildirdiği değerden ise yüksek bulundu.

ALT aktivitesi ile ilgili değerler, Marai ve ark. (42)'nin Suffolk koçlarda kış ve yaz mevsimlerinde sırasıyla  $21.5 \pm 2.08$  U/L ve  $22.8 \pm 3.95$  U/L olarak bildirdikleri değerlere yakın, Gündoğan ve Serteser (29)'in aşım mevsiminde Akkaraman ve İvesi koçlarda sırasıyla  $15.7 \pm 0.65$  U/L ve  $14.6 \pm 1.89$  U/L olarak bildirdikleri değerlerden yüksek, Gündoğan ve ark. (112)'nin aşım mevsiminde Sakız koçlarda  $19.6$  U/L olarak bildirdikleri değere yakın ve Dağlıç koçlarda  $16.8$  U/L olarak bildirdikleri değerden yüksek, Hafez (113)'in Rahmani koçların kan plazmasında bildirdiği değerden ise düşük bulundu.

Bulunan AST/ALT oranı Gündoğan ve Serteser (29)'in aşım mevsiminde Akkaraman ve İvesi koçlarda sırasıyla  $7.4 \pm 0.62$  ve  $7.9 \pm 0.32$  olarak bildirdikleri değerlerden düşük ve Hafez (113)'in Rahmani koçlarda kan plazmasında bildirdiği değerden ise yüksek bulundu.

Bu araştırmada kan serumu Testosteron miktarları yıl boyunca ortalama  $5.24 \pm 0.42$  ng/ml olarak bulundu. Bulunan bu değer farklı ırklara ait koçlarda bildirilen değerlerin bazıları (23, 123) ile paralellik arzederken bazılarında (30, 42) düşük ve kimilerinden (29, 32, 35, 37, 153, 187) de yüksek olmuştur.

Bu çalışmada koçların kan serumu T<sub>3</sub> miktarları yıl boyunca ortalama  $1.98 \pm 0.05$  ng/ml olarak bulunurken en yüksek değer  $2.47 \pm 0.15$  ng/ml ile Mayıs ayında, en düşük değeri ise  $1.42 \pm 0.10$  ng/ml ile Kasım ayında tespit edildi.

Bu araştırmadan elde edilen koçların kan serumundaki T<sub>3</sub> miktarları ile ilgili değerler, Tajangookeh ve ark. (43)'nin Shall, Afshari ve Zandi koçlarda yıl boyu sırasıyla  $0.98 \pm 0.02$  ng/ml,  $1.25 \pm 0.02$  ng/ml,  $1.10 \pm 0.02$  ng/ml, Souza ve ark. (131)'nin Polwarth–Ideal koçlarda yıllık ortalama  $0.98 \pm 0.21$  ng/ml, Taha ve ark. (30)'nin ithal ve yerli İvesi ve Barki koçlarda yıllık ortalama sırasıyla  $1.44 \pm 0.01$  ng/ml,  $1.37 \pm 0.10$  ng/ml ve  $1.59 \pm 0.16$  ng/ml, Marai ve ark. (42)'nin Suffolk koçlarda kış ve yaz mevsimlerinde sırasıyla  $0.94 \pm 0.10$  ng/ml ve  $0.39 \pm 0.10$  ng/ml, Zamiri ve Khodaei (28)'nin Ghezel and Mehraban koçlarda sırasıyla  $0.92 \pm 0.02$  ng/ml ve  $0.94 \pm 0.02$  ng/ml ve Karahan ve ark. (188)'nin Akkaraman koçlarda  $0.86 \pm 0.15$  ng/ml olarak bildirdikleri değerlerden yüksek, Gündoğan (153)'in Sakız ve Dağlıç koçlarda yıl boyu  $9.5 \pm 0.6$  ng/ml ve  $8.3 \pm 0.4$  ng/ml olarak bildirdikleri değerlerden de düşük olmuştur.

Çalışma sonucunda bulunan kan serumu biyokimyasal ve hormonal değerlerin literatür değerlerinden yüksek veya düşük olmasının nedenleri arasında materyal olarak kullanılan koçların ırkı, yaşı, bakım ve özellikle yüksek enerjili beslenme, yaşadıkları bölgenin iklim şartları, kan alma zamanı ve yeri değerlendirmede kullanılan metot, serum veya plazmada tayin edilmesi gibi faktörler sayılabilir.

Korelasyon bulguları dikkate alındığında yıl buyu scrotum kalınlıkları dışında morfometrik testis ölçümlerinin kendi aralarında korelasyonlar gözlenmiştir (Çizelge 7). Scrotum çevresi ile testis kalınlıkları ve testis hacmi arasında bulduğumuz pozitif korelasyon Aksoy ve ark. (24)'nin Merinos koçlarda yaptıkları çalışma ile uyumludur. Ataman ve ark. (147)'nin Merinos toklularda aşım mevsimi içi ve dışında testis uzunlukları ve testis kalınlıkları ile scrotum çevresi, testis kalınlıkları ve uzunlukları arasında buldukları pozitif korelasyonlar ( $p < 0.05$ ) bu çalışmada ki bulgular ( $p < 0.01$ ) ile paraleldir.

Gündoğan ve ark. (23)'nin Dağlıç, Sakız, Akkaraman ve İvesi koçlarda aşım sezonu öcesi sağ testis uzunluğu ile sol testis uzunluğu arasında ( $p < 0.05$ ), sağ testis kalınlığı ile sol testis kalınlığı arasında ( $p < 0.01$ ) ve scrotum hacmi ile scrotum çevresi

arasında ( $p<0.01$ ), aşım sezonu esnasında sağ ve sol testis uzunlukları arasında ( $p<0.01$ ), sağ ve sol testis kalınlıkları arasında ( $p<0.01$ ), sağ testis kalınlığı ile sol testis uzunluğu arasında ( $p<0.05$ ), scrotum hacmi ile scrotum çevresi arasında ( $p<0.01$ ) ve aşım sezonu sonrasında sağ testis uzunluğu ile sol testis uzunluğu arasında ( $p<0.05$ ), sağ testis kalınlığı ile sol testis kalınlığı arasında ( $p<0.05$ ) ve scrotum hacmi ile scrotum çevresi arasında ( $p<0.01$ ) bildirdikleri pozitif korelasyonlar bu çalışmanın bulguları ile uyum içindedir. Mert ve ark. (46)'nın Norduz, Karakaş ve Ile de France x Akkaraman melezi koçlarda testis kalınlığı ile scrotum çevresi arasında buldukları pozitif korelasyon ( $p<0.001$ ) bu çalışmada da önemli ( $p<0.01$ ) bulunmuştur. Koyuncu ve ark. (143)'nın Karayaka koçlarda testis kalınlığı ile testis uzunluğu arasında ( $p<0.01$ ) ve scrotum çevresi ile testis kalınlığı ve uzunluğu arasında buldukları pozitif korelasyonlar ( $p<0.01$ ) bu çalışmada da tespit edilmiştir. Koyuncu ve ark. (189)'nın Kıvırcık kuzularda testis kalınlığı, testis uzunluğu ve scrotum çevresi aralarında buldukları pozitif korelasyonlar ( $p<0.01$ ) yine bu çalışmada da gözlenmiştir.

Gündoğan ve Serteser (29)'in Akkaraman ve İvesi koçlarda relatif testis hacmi ile motilite ( $p<0.05$ ) ve yoğunluk ( $p<0.01$ ) arasında bildirdikleri negatif korelasyon bu çalışmada ( $p<0.01$ ) pozitif olarak bulunmuştur.

Kishk (151)'in Rahmani koçlarda reaksiyon süresi ile motilite ( $p<0.01$ ) ve yoğunluk ( $p<0.01$ ) arasında bildirdiği negatif korelasyon ve motilite ile sperma miktarı ( $p<0.05$ ) ve yoğunluk ( $p<0.01$ ) arasındaki pozitif korelasyonlar, Karagiannidis ve ark. (48) Sakız ve Fresian koçlarda motilite ve anormal spermatozoon oranı arasında bildirdikleri negatif korelasyonlar, Kaya ve ark. (37)'nin Merinos koçlarda sperma miktarı ile yoğunluk ve motilite arasında bildirdikleri pozitif korelasyon ile ölü spermatozoon oranı ve anormal spermatozoon oranı arasında bildirdikleri negatif korelasyon, yoğunluk ile motilite ve ölü spermatozoon oranı arasında bildirdikleri negatif korelasyon ve motilite ile ölü spermatozoon oranı ve anormal spermatozoon oranı arasında bildirdikleri negatif korelasyonlar, Mert ve ark. (46)'nın Norduz, Karakaş ve Ile de France x Akkaraman melezi koçlarda viskozite ile kitle hareketi ve motilite arasında bildirdikleri pozitif korelasyon, motilite ile kitle hareketi arasında pozitif korelasyon ve sperma miktarı ile yoğunluk arasında bildirdikleri pozitif korelasyonlar,

Gündoğan ve Serteser (29)'in Akkaraman ve İvesi koçlarda anormal spermatozoon oranı ile motilite arasında bildirdikleri negatif korelasyonlar, Salhab ve ark. (193)'nın İvesi koçlarda miktar, motilite ve yoğunluk arasında bildirdikleri pozitif korelasyonlar, Yılmaz ve Cengiz (191)'in Norduz koçlarda sperma miktarı ile motilite, kitle hareketi ve yoğunluk arasında pozitif anormal spermatozoon arasında ise negatif korelasyon, viskozite ile kitle hareketi, motilite ve yoğunluk arasında pozitif anormal spermatozoon arasında ise negatif korelasyon, kitle hareketi ile motilite ve yoğunluk arasında pozitif anormal spermatozoon arasında ise negatif korelasyon, motilite ile yoğunluk arasında pozitif anormal spermatozoon arasında bildirdikleri negatif korelasyonlar, Ataman ve ark. (147) Merinos koçlarda sperma miktarı ile kitle hareketi, motilite ve yoğunluk arasındaki, motilite ile yoğunluk ve kitle hareketi arasındaki, yoğunluk ile kitle hareketi arasındaki pozitif korelasyonlar ve anormal spermatozoon oranı ile miktar, yoğunluk ve kitle hareketi arasındaki negatif korelasyonlar bu çalışmada da gözlenmiştir.

Gündoğan (167) Pırlak koçlarda farklı sulandırıcılarla kısa süreli saklanan spermada HOS testi ile motilite arasında pozitif, anormal ve ölü spermatozoon oranları arasında negatif korelasyonlar bu çalışmada da elde edilmiş ancak anormal spermatozoon oranı ile aralarında bulunan negatif korelasyon önemsiz bulunmuştur.

Fukui ve ark. (68)'nin South Down ve Merinos x Dorset koçlarda HOS testi ile motilite arasında buldukları pozitif korelasyonlar bu çalışmada da önemli bulunmuştur.

Bunun yanında, Kasimanickam ve ark. (173) 6-11 aylık Dorset, Hampshire ve Suffolk koçlarda SCSA yöntemi ile belirledikleri DNA hasarı ile primer spermatozoon defekti arasında bildirdikleri pozitif ( $p<0.01$ ) korelasyon bu çalışma ile örtüşmektedir.

Moskovtsev ve ark. (66) İnsanlarda Spermatozoon DNA hasarını flow cytometre ile belirledikleri çalışmada DNA hasarı ile normal morfolojili spermatozoonlar arasında negatif korelasyonlar bulguları bu çalışma ile paralellik arzederken DNA hasarı ile yoğunluk ve motilite arasında elde edilen negatif korelasyonlar bu çalışmada önemli bulunamamıştır.

Smith ve ark. (194) varikoselli hastalarda SCSA yöntemi ile belirledikleri DNA hasarı ile normal morfoloji arasında bildirdikleri negatif korelasyonlar bu çalışmada

bulguları arasındadır. Bu da infertil erkeklerde anormal spermatozoon morfolojisinin yüksek DNA hasarına neden olduğuna dikkat çeken birçok araştırmacı (195-197)'yi destekler niteliktedir.

Gopalkrishnan ve ark. (198) insanlarda yaptıkları çalışmada yüksek viskozitenin spermatozoon kromatin bütünlüğünü önemli ölçüde azalttığını bildirdikleri çalışma ile sperma viskozitesi ile spermatozoon DNA hasarı arasında negatif korelasyon ( $p<0.01$ ) bulunan bu araştırma uyum göstermektedir.

Araştırmada kullanılan koçların morfometrik testis ölçümleri ile spermatolojik özellikler arasındaki korelasyonlar Çizelge 10'da verilmiş olup buna göre Aksoy ve ark. (24)'nin Merinos koçlardaki çalışmada testis uzunluğu ve yoğunluk arasındaki pozitif korelasyonlar çalışmada da ( $p<0.01$ ) bulunmuştur. Gündoğan ve ark. (23)'nin Dağlıç, İvesi, Sakız ve Akkaraman koçlarda aşım sezonu esnasında koçların testis kalınlıkları ile sperma miktarı arasında buldukları pozitif ve scrotum kalınlığı ile reaksiyon süresi arasındaki negatif korelasyonlar bu çalışma ile uyum içerisindedir. Elmaz ve ark. (190) Kıvırcık kuzuların 7-8 aylık dönemdeki motilite, sperma miktarı ve yoğunluk ile scrotum çevresi, testis kalınlığı ve testis uzunluğu arasında bildirdiği pozitif korelasyonlar bu çalışmada da görülmektedir. Gündoğan ve ark. (23)'nin Dağlıç, İvesi, Sakız ve Akkaraman koçlarda aşım sezonu öncesinde koçların scrotum çevresi ile reaksiyon süresi arasında bildirdikleri pozitif korelasyon bu çalışmada negatif yönde gözlenmiştir. Ataman ve ark. (147)'nin aşım mevsimi dışında Merinos koçlarda ölü spermatozoon oranı ile scrotum çevresi, testis uzunluğu ve testis kalınlığı arasında bildirdiği korelasyonlar bu çalışmada da tespit edilmiştir. Gündoğan (45) Akkaraman koçlarda scrotum çevresi ile sperma pH'sı ve viskozitesi arasında korelasyonlar pozitif yönde bildirilmiş ancak bu çalışmada negatif ( $p<0.05$ ) yönde bulunmuştur.

Yılmaz ve Cengiz (191)'in Norduz kuzularda testosteron miktarı ile testis kalınlığı, testis uzunluğu ve scrotum çevresi arasında bildirdikleri pozitif korelasyonlar bu çalışma ile uyumlu iken relatif testis hacmi ile bildirdikleri negatif korelasyon bu çalışmada pozitif olarak bulunmuştur. Gündoğan (45) Akkaraman koçlarda testosteron miktarı ile testis uzunluğu arasında bildirdiği pozitif korelasyon bu çalışmada da gözlenmiştir.

Elmaz ve ark. (190)'nın Kıvırcık kuzularda 7-8 aylık dönemde testosteron miktarları ile scrotum çevresi, testis uzunlukları ve kalınlıkları, testis hacmi ve vücut ağırlığı arasında bildirdikleri pozitif korelasyonlar ( $p < 0.01$ ), Fourie ve ark. (155)'nin Dorper koçlarda serum testosteron miktarı ile scrotum çevresi arasında bildirdiği pozitif korelasyonlar, Dickson ve Sanford (192) Dorset, Finn, Suffolk ve Siyah Yüzlü İskoç koçlarda scrotum çevresi ile testosteron miktarları arasında bildirdikleri pozitif korelasyonlar bu araştırmanın sonuçları ile uyum içerisindedir.

Gündoğan ve ark. (159)'nin Sakız ve Dağlıç koçlarda total protein ile motilite ve yoğunluk arasında, globulin ile motilite, AST/ALT oranları ile anormal spermatozoon oranı arasında bildirdikleri pozitif korelasyon ile AST ile yoğunluk arasında bildirdikleri negatif korelasyonlar bu çalışma ile uyumlu iken A/G oranı ile anormal spermatozoon oranı arasında bildirdikleri negatif korelasyon bu çalışmada pozitif olarak bulundu.

Türk ve Demirci (35)'nin Akkaraman koçlarda testosteron düzeyleri ile sperma miktarı ve motilite arasında bildirdikleri pozitif korelasyonlar, Gündoğan (199) Akkaraman ve İvesi koçlarda seminal plazma AST miktarı ile yoğunluk arasında bildirdiği negatif korelasyonlar ve Kishk (151)'in Rahmani koçlarda testosteron miktarı ile motilite arasında bulduğu pozitif korelasyonlar bu çalışma ile uyumludur.

Araştırmada kullanılan koçların biyokimyasal özellikler ve hormon miktarları arasındaki korelasyon bulguları Çizelge 9'da verilmiştir

Gündoğan ve Serteser (29)'in Akkaraman ve İvesi koçlarda kan serum total protein miktarları ile albumin ve globulin miktarları arasında bildirdikleri pozitif korelasyon ile AST miktarları arasında bildirdikleri negatif korelasyon bu çalışma ile uyumlu iken total protein ile ALT miktarları arasında bildirdikleri pozitif ve kolesterol miktarları arasında bildirdikleri negatif korelasyonlar ile farklı korelasyonlar bulundu. AST miktarı ile kolesterol miktarları arasında bildirilen negatif korelasyonlar bu çalışmada düşük düzeyde pozitif korelasyon ( $p < 0.10$ ) olarak gözlenirken ALT miktarı ile AST/ALT oranları arasında bildirilen pozitif korelasyonlar bu çalışmayla uyumlu bulundu. Ayrıca Gündoğan ve ark. (112)'nin Sakız ve Dağlıç koçlarda kolesterol ve  $T_3$  miktarları arasında bildirdikleri pozitif korelasyonlar çalışmada da tespit edilmiştir.

## 5. SONUÇ

Pırlak ırkı koçlarda morfometrik testis ölçümleri, spermatolojik özellikler ve kan serumu biyokimyasal ve hormonal özelliklerinin araştırıldığı bu çalışmada elde edilen bulguların yerli ırklarımıza yakın değerlerde olduğu, ve bu özelliklerin mevsimlerden hatta yıl içindeki aylardan önemli derecede etkilendiği, istenen değerlerin elde edildiği aşım sezonunun Ağustos ayının ikinci yarısında başlayıp Kasım ayı ortalarına kadar sürdüğü ve dolayısıyla bu dönem içerisinde kullanılan koçların dölverim parametrelerinin daha iyi olacağı ve özellikle morfometrik testis ölçümleri ile spermatolojik özellikler arasındaki korelasyon bulguları birlikte değerlendirildiğinde koçların dölveriminden daha sağlıklı yararlanılabileceği kanısına varıldı.

Bununla birlikte bir koçtan elde edilen yavru sayısı dişiye oranla çok daha yüksek olduğundan üzerinde durulan verim özelliği bakımından yüksek değere sahip genotiplerin oluşturulmasında kullanılacak erkek materyalin seçiminde özellikle spermatozoon DNA hasarı düzeyinde araştırmaların yapılmasının önemli olduğu ve özellikle halk elindeki koyunların Haziran ve Temmuz aylarında başlanan koç katımı mevsiminde artan spermatozoon DNA hasarı nedeniyle dölverimi kayıplarının olup olmadığının daha kapsamlı araştırmalar ile desteklenmesinin yararlı olacağı, spermatozoon DNA hasarının belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin klinik kullanımının yaygınlaştırılması ve özellikle COMET analiz yönteminin daha pratik kullanılabilirliği için yöntemin modifiye çalışmalarının sürdürülmesi ve yapılan bu çalışmanın konuyla ilgili yapılacak sonraki çalışmalar için bir kaynak oluşturabilmesinin katkısı büyük olacaktır.



## 6. KAYNAKLAR

1. T.C. Başbakanlık İstatistik Kurumu (2009) Hayvansal Üretim 2008 Haber Bülteni, **83**.
2. Foster A.R., Laads W.P., Hoffman D., Briggs G. D. (1989) The relationship of scrotal circumference to testicular weight in rams. *Aust Vet J.* **66**, 20-22.
3. Rosa H.J.D., Bryant M.J. (2003) Seasonality of reproduction in sheep. *Small Rum Res.* **48**, 155–171.
4. Cupps T.P. (1991) Reproduction in Domestic Animals (Ed. T.P. Cupps) Semen Production and Collection. Academic Press, Inc. California, 252-255.
5. Chen Z., Toth T., Bailey L.G., Mercedat N., Schiff I., Hauser R. (2003) Seasonal Variation and Age-Related Changes in Human Semen Parameters. *J Androl.* **24** (2), 226-231.
6. Levine R.J. (1999) Seasonal variation of semen quality and fertility *Scand J Work Environ Health.* **25** (1), 34-37.
7. Ahmad N., Noakes D.E. (1996) Seasonal variations in the Semen quality of young British goats. *Br Vet J.* **152** (2), 225-236.
8. Roca J., Martinez E., Vazquez J.M., Coy P. (1992) Characteristics and seasonal variations in the semen of Murciano-Granadina goats in the Mediterranean area. *Anim Reprod Sci.* **29** (3-4), 255-262.
9. Webb E.C., Dombo M.H., Roets M. (2004) Seasonal variation in semen quality of Gorno Altai cashmere goats and South African indigenous goats. *S Afr J Anim Sci.* **34** (5), 240-243.
10. Karagiannidis A., Varsakeli S., Karatzas G. (2000) Characteristics and seasonal variation in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology.* **53**, 1285-1293.
11. Araujo J.F., Righini A.S.F., Fleury J.J. et al. (1996) Seasonal Rhythm of Semen Characteristics of a Brazilian Breed (“Mangalarga”) Stallion. *Chronobiol Int J Biol Med Rhythm Res.* **13** (6), 477-485.
12. Janett F., Thun R., Niederer K., Burger D., Hassig M. (2003) Seasonal changes in semen quality and freezability in the Warmblood stallion. *Theriogenology.* **60**, 453–461.
13. Erb R.E., Andrews F.N., Hilton J.H. (1942) Seasonal variation in semen quality of the dairy bull. *J Dairy Sci.* **25** (9), 815-826.
14. Mostari M.P., Hasanat M.S., Azmal S.A., Monira K.N., Khatun H. (2005) Effect of seasonal variation on semen quality and herd fertility. *Pakistan J Biol Sci.* **8** (4), 581-585.
15. Koonjaenak S., Chanatinart V., Aiumlamai S., Pinyopumimintr T., Rodriguez-Martinez H. (2007) Seasonal variation in semen quality of swamp buffalo bulls (*Bubalus bubalis*) in Thailand. *Asian J Androl.* **9**, 92-101.
16. Tuli R.K., Singh M. (1983) Seasonal variation in freezability of buffalo semen. *Theriogenology.* **20** (3), 321-4.
17. Thongtip N., Saikhun J., Mahasawangku S. et al. (2008) Potential factors affecting semen quality in the Asian elephant (*Elephas maximus*). *Reprod Biol Endocrinol.* **6** (9), 1-9.

18. Garcia-Macias V., Martinez-Pastor F., Alvarez M. et al. (2006) Seasonal changes in sperm chromatin condensation in ram (*Ovis aries*), Iberian Red Deer (*Cervus elaphus hispanicus*), and Brown Bear (*Ursus arctos*). *J Androl.* **27** (6), 837-846.
19. Gündoğan M., Tekerli M. (2004) Sıcaklığın Dölverimine Etkisi (Derleme). *Türk Vet Hek Derg.* **16** (1-2), 68-69.
20. Fallah-Rad A.H., Connor M.L., Del Vecchio R.P. (2001) Effect of transient early hyperthyroidism on onset of puberty in Suffolk ram lambs. *Reproduction.* **121**, 639-646.
21. Hafez E.S.E. (1987) *Reproduction in Farm Animals (5nd ed)*. Philadelphia, Lea & Febiger, 455-480
22. Kaymakçı M., Koşum N., Taşkın T., Akbaş Y., Ataç F.E. (2006) Menemen koyun tipinde kimi verim özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Ege Üniv Ziraat Fak Derg.* **43** (1), 61-72.
23. Gündoğan M., Uçar M., Tekerli M. (2003) Afyon Koşullarında Yetiştirilen Koçlarda Aşım Sezonu Öncesi, Esnası ve Sonrasında Testislerin Morfometrik Ölçümleri ile Diğer Spermatolojik Özellikler Arasındaki İlişkinin Araştırılması. *Lalahan Hay Araş Enst Derg.* **43** (1), 9-22.
24. Aksoy M., Ataman M.B., Karaca F., Kaya A. (1994) Merinos Koçlarda Testisin Morfometrik Ölçümleri ve Sperma Kalitesi Arasındaki İlişkinin Araştırılması. *Vet Bil Derg.* **10** (1-2), 111-112.
25. Aral F., Tekin N. (1996) Koçlarda Sperma Kalitesi Üzerine Mevsimin Etkisi. *Hay Araş Derg.* **6**, 15-20.
26. Aguirre V., Orihuela A., Vázquez R. (2007) Effect of semen collection frequency on seasonal variation in sexual behaviour, testosterone, testicular size and semen characteristics of tropical hair rams (*Ovis aries*). *Trop Anim Health Prod.* **39**, 271-277.
27. Kafi M., Safradian M., Hashemi M. (2004) Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. *Small Rum Res.* **53**, 133-137.
28. Zamiri M.J., Khodaei H.R. (2005) Seasonal thyroidal activity and reproductive characteristics of Iranian fat-tailed rams. *Anim Reprod Sci.* **88**, 245-255.
29. Gündoğan M., Serteser M. (2005) Some Reproductive Parameters and Biochemical Properties in Akkaraman and Awassi Rams. *Türk J Vet Anim Sci.* **29** (3), 595-599.
30. Taha T.A., Abdel-Gawad E.I., Ayoub M.A. (2000) Monthly variations in some reproductive parameters of Barki and Awassi rams throughout 1 year under subtropical conditions I. Semen characteristics and hormonal levels. *Anim Sci.* **71**, 317-324.
31. Ley W.B., Sprecher D.J., Thatcher C.D., Pelzer K..D., Umberger S.H. (1990) Use of the point-score system for breeding soundness examination in yearling Dorset, Hampshire and Suffolk rams. *Theriogeneolgy.* **34** (4), 721-733.
32. Gündoğan M., Demirci E. (2003) Monthly Changes in Some Reproductive Parameters and in Testosterone and Thyroxine Values of Rams Throughout One Year Under Continental Climate Conditions. *Deuth Tierärztl Woch.* **110**, 450-453.
33. Nowakowski P., Cwikla A. (1994) Seasonal variation in testes size in polish Merino rams and its relationship to reproductive performance in spring. *Therigenology.* **42** (4), 613-622.

34. Dorostghoal M., Erfani Majd N., Goorani Nejad S. (2009) Stereological study of Arabian ram testis during different seasons. *Iranian Journal of Veterinary Research*. **10 (4)**, 360-366.
35. Türk G., Demirci E. (2005) Akkaraman Koçların Serum Testesteron Düzeylerinde ve Spermatogenesisindeki Mevsime Bağlı Değişikliklerin Araştırılması. I. Spermatoljik Özelliklerle Testesteron Miktarı Arasındaki İlişki. *FÜ Sağ Bil Derg.* **19 (1)**, 21-27.
36. Ibrahim S.A. (1997) Seasonal variations in semen quality of local and crossbred rams raised in the United Arab Emirates. *Anim Reprod Sci.* **49**, 161-167.
37. Kaya A., Yıldız C., Lehimcioğlu N.C., Ergin A., Aksoy M. (1999) Konya Merinos Koçlarında Sperma Kalitesi, Testis Ölçüleri ve Kan Testesteron Düzeylerine İlişkin Mevsimsel Değişikliklerin Araştırılması. *Hay Araş Derg.* **9 (1-2)**, 1-5.
38. Perez C.R., Lopez A., Castrillejo A. et al. (1997) Reproductive seasonality of corriedale rams under extensive rearing conditions. *Acta Vet Scand.* **38**, 109-117.
39. Evans G., Maxwell W.M.C. (1987) Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goat, Ed. G Evans and WMC Maxwell, Butterworths Pty Limited, Australia.
40. Matthews N., Bester N., Schwalbach L.M.J. (2003) Comparison of Ram Semen Collected By Artificial Vagina and Electro-Ejaculation. *S Afr J Anim Sci.* **4**, 28-30.
41. Marco-Jimenez 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**, 1756-1765.
42. Marai F.M., El-Darawany A.A., Abou-Fandoud E.I., Abdel-Hafez M.A.M. (2009) Reproductive and physiological traits of Egyptian Suffolk rams as affected by selenium dietary supplementation during the sub-tropical environment of Egypt. *Livest Res Rural Dev.* **21 (10)**, 157.
43. Tajangookeh H.D., Shahneh A.Z., Shahrehabab M.M., Shakeri M. (2007) Monthly variation of plasma concentrations of testosterone and thyroid hormones and reproductive characteristics in three breeds of iranian fat-tailed rams throughout one year. *Pakistan J Biol Sci.* **10 (19)**, 3420-3424.
44. Simplicio A.A., Riera G.S., Nelson E.A., Pant K.P. (1982) Seasonal variation in seminal and testicular characteristics of Brazilian Somali rams in the hot semi-arid climate of tropical northeast Brazil. *J Reprod Fert.* **66**, 735-738.
45. Gündoğan M. (1999) Koçların Testis Ölçülerinin Spermatolojik Özellikler ve Kan Serumu Testesteron Miktarları ile İlişkisi. *Hay Araş Derg.* **9 (1-2)**, 49-52.
46. Mert H., Karakuş K., Yılmaz A ve ark. (2009) Effect of genotype on testis, quality and mineral composition of semen in various ram breeds. *Biol Trace Elem Res.* **132**, 93-102.
47. Gündoğan M., Demirci E., Bozkurt T., Sönmez M. (1997) Aşım Mevsimi Öncesi, Esnası ve Sonrasında Koçların Spermatolojik Özelliklerindeki Değişimler. *YYÜ Vet Fak Derg.* **8 (1-2)**, 40-42.
48. Karagiannidis A., Varsakeli S., Alexopoulos C., Amarantidis I. (2000) Seasonal variation in semen characteristics of Chios and Fresian rams in Greece. *Small Rum Res.* **37**, 125-130.

49. Borque C., Vázquez I. (1999) Correlation between blood plasma levels of free and total testosterone and concentrations of some seminal markers in adult Manchego rams. *Small Rum Res.* **33** (3), 263-269.
50. Soylu M.K., Gökçen H., Tümen H., Doğan İ. (1991) Değişik Irk İthal Koçların Bazı Androlojik Özellikleri Üzerinde Araştırmalar. *Hay Araş Derg.* **1** (1), 15-18.
51. Jeyendran R.S, Van der Ven H.H, Perez-Pelaez M., Crabo B.G., Zaneveld L.J.D. (1984) Development of an assay to assess the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J Reprod Fertil.* **70**, 219-228.
52. Jeyendran R.S., Van der Ven H.H., Zaneveld L.J.D. (1992) The hypoosmotic swelling test: An update. *Arch Androl.* **29**, 105-116.
53. Correa J.R., Zavos P.M. (1994) The hypoosmotic swelling test: Its employment as an assay to evaluate the functional integrity of the frozen-thawed bovine sperm membrane. *Theriogenology.* **42**, 351-360.
54. Lodhi L.A., Zubair M., Qureshi Z.I., Ahmad I., Jamil H. (2008) Correlatio between hypo-osmotic swelling test and various conventional semen evaluation parameters in fresh Nili-Ravi buffalo and Sahiwal cow bull semen. *Pakistan Vet. J.* **28** (4), 186-188.
55. Aisen E.G., Quintana M., Medina V., Morello H., Venturino A. (2005) Ultramicroscopic and biochemical changes in ram spermatozoa cryopreserved with trehalose-based hypertonic extenders. *Cryobiol.* **50**, 239-249.
56. Fonseca J.F., Torres C.A.A., Maffili V.V. et.al. (2005) The hypoosmotic swelling test in fresh goat spermatozoa. *Anim Reprod.* **2** (2), 139-144.
57. Mansour M.M. (2009) Modification of Hypo-Osmotic Swelling Test to Evaluate the Integrity of Stallion Sperm Plasma Membrane. *Global Veterinaria.* **3** (4), 302-307.
58. Kumi-Diaka J., Adesun A.A., Sekom V., Ezeokoli C.D. (1985) Scrotal Dimension and Ejaculate Characteristics of three Breeds of Sheep in Tropical Nigeria. *Theriogenology.* **23**, 671-677.
59. Akman O. (2007) Swiss Albino ırkı farelerde sperma kalitesinin belirlenmesi amacıyla HOS testi sonuçlarını ve diğer spermatolojik parametreler arasındaki ilişkinin araştırılması. Doktora Tezi. T.C. Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya.
60. Matson P., Kappelle W., Malecki I. (2009) The use of a hypo-osmotic swelling (HOS) test on sperm of the pig (*Sus scrofa domesticus*), emu (*Dromaius novaehollandiae*), Asian elephant (*Elephas maximus*), hamadryas baboon (*Papio hamadryas hamadryas*), and central rock rat (*Zyzyomys pedunculatus*). *Reprod Biol.* **9** (2), 181-187.
61. Samardžija M., Dobranić T., Krušlin S. et al. (2008) The use of the hypoosmotic swelling test and supravital staining in evaluation of sperm quality in boars. *Veterinarski Arhiv.* **78** (4), 279-287.
62. Nur Z., Doğan I., Gunay U., Soylu M.K. (2005) Relationship between sperm membran integrity and other semen quality characteristics of the semen of Saanen goat bucks. *Bull Vet Inst Pulawy.* **49**, 183-187.
63. Check J.H., Nowroozi K., Wu C.H., Bollendorf A. (1988) Correlation of Semen Analysis and Hypoosmotic Swelling Test with Subsequent Pregnancies. *Arch Androl.* **20**, 251-255.

64. Coetzee K., Krunger T.F., Menkveld R., Lombard C.J., Swanson R.J. (1989) Hypoosmotic Swelling Test in the Prediction of Male Fertility. *Arch Androl.* **23**, 131-138.
65. Avarey S., Bolton V.M., Mason B.A. (1990) An Evaluation of the Hypo-Osmotic Sperm Swelling Test as a Predictor of Fertilizin Capacity in In Vitro. *Int J Androl.* **13**, 93-99.
66. Moskovtsev S.I., Willis J., Azad A., Mullen J.B.M. (2005) Sperm DNA integrity: correlation with sperm plasma membrane integrity in semen evaluated for male infertility. *Arch Androl.* **51**, 33-40.
67. Pinto C.R.F., Kozink D.M. (2008) Simplified hypoosmotic swelling testing (HOST) of fresh and frozen-thawed canine spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* **104**, 450-455.
68. Fukui Y., Togawa M., Abe N. et. al (2004) Validation of the sperm quality analyzer and the hypo-osmotic swelling test for frozen-thawed ram and Minke Whale (*Balaenoptera bonarensis*) Spermatozoa. *J Reprod Dev.* **50**, 147-154.
69. Sözbilir Bayşu N, (2007) Bayşu N. Biyokimya. 1nd Edition. Güneş Tıp Kitabevi, Ankara.
70. Fidan A.F. (2007) Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Diyete Katılan Farklı Yapılardaki Saponin İçerikli Bitkilerin DNA Hasarı, Protein Oksidasyonu Ve Lipid Peroksidasyonu İle Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Afyonkarahisar.
71. Dinçer Y., Akçay T. (2000) DNA hasarı. *Turk J Bioch.* **25 (2)**, 73-79.
72. Evenson D.P., Jost L.K., Marshall D. et al. (1999) Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Hum Reprod.* **14 (4)**, 1039-1049.
73. Spano M., Bonde J.P., Hjollund H.I. et al. (2000) Sperm chromatin damage impairs human fertility. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Fertil Steril.* **73 (1)**, 43-50.
74. Twigg J., Irvine D.S., Houston P., Fulton N., Michael L., Aitken R.J. (1998) Iatrogenic DNA damage induced in human spermatozoa during sperm preparation: protective significance of seminal plasma. *Mol Hum Reprod.* **4**, 439-445.
75. Agarwal A., Saleh R.A., Bedaiwy M.A. (2003) Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril.* **79**, 829-843.
76. Sakkas D., Manicardi G.C., Bizzaro D. (2003) Sperm nuclear DNA damage in the human. *Adv Exp Med Biol.* **518**, 73-84
77. Lopes S., Sun J.G., Jurisicova A. et al. (1998) Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation is increased in poor-quality semen samples and correlates with failed fertilization in intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* **69 (3)**, 528-32.
78. Ahmadi A., Ng S.C. (1999) Fertilizing ability of DNA-damaged spermatozoa. *J Exp Zool.* **284 (6)**, 696-704.
79. Müftüoğlu M. (2003) DNA Tamiri ve Erken Yaşlanma Sendromları. *Turk J Bioch.* **28 (1)**, 20-24.
80. Balajee A.S., Bohr V.A. (2000) Genomic heterogeneity of nucleotide excision repair. *Gene.* **250 (1-2)**, 15-30.
81. Bohr V.A. (1995) DNA repair fine structure and its relations to genomic instability. *Carcinogenesis.* **16**, 2885-2892.

82. Singh N.P., Muller C.H., Berger R.E. (2003) Effects of age on DNA double-strand breaks and apoptosis in human sperm. *Fertil Steril.* **80** (6), 1420-1430.
83. Maione B., Pittoggi C., Achene L., Lorenzini R., Spadafora C. (1997) Activation of endogenous nucleases in mature sperm cells upon interaction with exogenous DNA. *Cell Biol.* **16** (9), 1087-97.
84. Kuchino Y., Mori F., Kasai H. et al. (1987) Misreading of DNA templates containing 8-hydroxydeoxyguanosine at the modified base and at adjacent residues. *Nature.* **327**, 77-79.
85. Sun J.G., Jurisicova A., Casper R.F. (1997) Detection of deoxyribonucleic acid fragmentation in human sperm: correlation with fertilization in vitro. *Biol Reprod.* **56** (3), 602-7.
86. Jurisicova A., Lopes S., Meriano J., Oppedisano L., Casper R.F., Varmuza S. (1999) DNA damage in round spermatids of mice with a targeted disruption of the Pp1cgamma gene and in testicular biopsies of patients with non-obstructive azoospermia. *Mol Hum Repro.* **5** (4), 323-30.
87. Aitken R.J., Fisher H. (1994) Reactive oxygen species generation and human spermatozoa: the balance of benefit and risk. *BioEssays.* **16**, 259 -267.
88. Agarwal A., Saleh R.A., Bedaiwy M.A. (2003) Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril.* **79**, 829-843.
89. Vinatier D., Dufour P., Subtil D. (1996) Apoptosis: a programmed cell death involved in ovarian and uterine physiology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **67** (2), 85-102.
90. Zini A., Bielecki R., Phang D. et al. (2001) Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation, in fertile and infertile men. *Fertil Steril.* **75**, 674-677.
91. Rojas E., Lopez M.C., Valverde M. (1999) Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* **277** (1-2), 225-54.
92. Fairbain D.W., Olive P.L., O'Neill K.L. (1995) The Comet Assay: A Comprehensive Review. *Mutation Res.* **339**, 37-59.
93. Ostling O., Johanson K.J. (1984) Microelectrophoretic Study Of Radiation-Induced DNA Damage In Individual Mammalian Cells. *Biochem Biophys Res Comm.* **123**, 291-298.
94. Ertürk Ş. (2001) Sevofuloranın DNA Hasarı Üzerine Etkilerinin Bening Ve Maling Olgularda Comet Assay Yöntemi İle Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Ankara.
95. Ünal Y. (1998) Radyoterapi gören kanserli hastalara ait kan lenfositlerinde DNA hasarının COMET assay tekniği ile araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü. Ankara.
96. Makhoulouf A.A., Niederberger C. (2006) DNA Integrity Tests in Clinical Practice: It Is Not a Simple Matter of Black and White (or Red and Green) *J Androl.* **27** (3), 316-23.
97. Greco E., Scarselli F., Iacobelli M. et al. (2005) Efficient treatment of infertility due to sperm DNA damage by ICSI with testicular spermatozoa. *Hum Reprod.* **20**, 226 -230.
98. Duty S.M., Singh N.P., Ryan L. et al. (2002) Reliability of the comet assay in cryopreserved human sperm. *Hum Reprod.* **17** (5), 1274-1280.

99. Słowinska M., Karol H., Ciereszko A. (2008) Comet assay of fresh and cryopreserved bull spermatozoa. *Cryobiol.* **56**, 100–102.
100. Haines G., Marples B., Daniel P., Morris I. (1998) DNA damage in human and Mouse spermatozoa after in vitro-irradiation assessed by the comet assay. *Adv Exp Med Biol.* **444**, 79-91.
101. Kotłowska M., Dietrich G., Wojtczak M., Karol H., Ciereszko A. (2007) Effects of liquid storage on amidase activity, DNA fragmentation and motility of turkey spermatozoa. *Theriogenology.* **67** (2), 276-286.
102. Jiang Z.L., Li Q.W., Li W.Y., Hu J.H., Zhao H.W., Zhang, S.S. (2007) Effect of low density lipoprotein on DNA integrity of freezing-thawing boar sperm by neutral comet assay. *Anim Reprod Sci.* **99** (3-4), 401-407.
103. Linfor J.J., Meyers S.A. (2002) Detection of DNA damage in response to cooling injury in equine spermatozoa using single-cell gel electrophoresis. *J Androl.* **23** (1), 107-113.
104. Collins A.R., (2004) The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol.* **26**, 249–261.
105. Noroozi M., Angerson W.J., Lean M.E.J. (1998) Effects of flavonoids and vitamin C on oxidative DNA damage to human lymphocytes. *Amer J Clin Nutr.* **67**, 1210–1218.
106. Møller P. (2006) The Alkaline Comet Assay: Towards Validation in Biomonitoring of DNA Damaging Exposures. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* **98**, 336–345.
107. Benchaib M., Lornage J., Mazoyer C., Lejeune H., Salle B., Guerin J.F. (2007) Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as a prognostic indicator of assisted reproductive technology outcome. *Fertil Steril.* **87** (1), 93-100.
108. Huang C.C., Lin D.P.C., Tsao H.M., Cheng T.C., Liu C.H, Lee M.S. (2005) Sperm DNA fragmentation negatively correlates with velocity and fertilization rates but might not affect pregnancy rates. *Fertil Steril.* **84** (1), 130-140.
109. Varum S., Bento C., Sousa A.P. (2006) Characterization of human sperm populations using conventional parameters, surface ubiquitination, and apoptotic markers. *Fertil Steril.* **87** (3), 572-583.
110. Shen H.M., Ong C.N. (2000) Detection of oxidative DNA damage in human sperm and its association with sperm function and male infertility. *Adv Free Radic Biol Med.* **28** (4), 529–536.
111. Muratori M., Piomboni P., Baldi E. et al. (2000) Functional and ultrastructural features of DNA-fragmented human sperm. *J Androl.* **21** (6), 903-912.
112. Gündoğan M., Yeni D., Uçar M., Özenç E. (2004) Relationships Between Some Reproductive Parameters and Biochemical Properties of Blood Serum in Rams. *Arch Androl.* **50** (6) 387-390.
113. Hafez Y.M. (2009) Semen quality and relevant blood plasma parameters of Rahmani rams fed different dietary energy levels. *Archiva Zootechnica.* **12** (3), 64-72.
114. Khalili M.A., Zadeh N.Z., Hashemi H. (2009) Correlation between serum lipids profile with sperm parameters of infertile men with abnormal semen analysis. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* **7** (3), 123-127.

115. White., I.G. Voglmayr., J.K. (1986) ATP-induced Reactivation of Ram Testicular, Cauda Epididymal, and Ejaculated Spermatozoa Extracted with Triton X-1001. *Biol Reprod.* **34**, 183-193.
116. White, I. G., Goh, P. and Voglmayr, J. K.(1987) 'Effect of Male Reproductive Tract Fluids and Proteins on the Metabolism and Motility of Ram Spermatozoa. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, **19 (2)**, 115-125.
117. Lui C.W., Meizel S. (1977) Biochemical studies of the in vitro acrosome reaction inducing activity of bovine serum albumin. *Differentiation.* **9(1-2)**, 59–66.
118. Ergün A., Köse S.K., Aydos K., Ata A., Avci A. (2007) Correlation of Seminal Parameters with Serum Lipid Profile and Sex Hormones. *Arch Androl.* **53**, 21–23.
119. Corteel J.M. (1980) Effects of blood serum on the survival and fertility of spermatozoa cat in vitro. *Reprod Nutr Dev.* **20**, 1111-1123.
120. Khokhar B.S., Singh M., Chaudhary K.C. (1987) Transaminases in cattle and buffalo (*Bubalus bubalis*) semen in relation to fertility and seminal characteristics during moderate and colder seasons. *Anim Reprod Sci.* **13 (3)**, 177-182.
121. Hafez B., Hafez E.S.E. (2000) *Reproduction in Farm Animals (7nd ed)*. Williams & Wilkins, Lippincott, 2000.
122. Courot M., Ortavant R. (1981) Endocrine control of spermatogenesis in the ram. *J Reprod Fertil Suppl.* **30**, 47-60
123. Dufour J.J., Fahmy M.H., Minvielle F. (1984) Seasonal Changes in Breeding Activity, Testicular Size, Testosterone Concentration and Seminal Characteristics in Ram With Long or Short Breedig Season. *J Anim Sci.* **58 (2)**, 416-422.
124. Mandiki S.N.M., Derycke G., Bister J.L., Paquay R. (1998) Influence of season and age on sexual maturation parameters in Texel, Suffolk and Ile-de-France rams: 2. Circulating concentrations of follicle stimulating hormone, luteinizing hormone, prolactine and testosterone. *Small Rum Res.* **28 (1)**, 81-88.
125. Rhim T.J, Kuehl D, Jackson G.L. (1993) Seasonal changes in the relationships between secretion of gonadotropin-releasing hormone, luteinizing hormone, and testosterone in the ram. *Biol Reprod*, **48**, 197-204.
126. Utiger R.D. (1995) Altered thyroid function in nonthyroidal illness and surgery. To treat or not to treat? *N Engl J Med* **333**,1562–1563
127. Chadio S. E. Kotsampasi., B.M. Menegatos J.G. Zervas G.P. Kalogiannis D. G. (2006) Effect of Selenium Supplementation on Thyroid Hormone Levels and Selenoenzyme Activities in Growing Lambs. *Biol Trace Elem Res.* **109 (2)**, 145-154
128. Karsch F.J., Dahl G.E., Hachigian T.M., Thrun L.A. (1995) Involvement of thyroid hormones in seasonal reproduction, *J Reprod Fertil.* **49**, 409–422.
129. Parkinson T.J., Douthwaite J.A., Follett B.K. (1995) Responses of prepubertal and mature rams to thyroidectomy. *J Reprod Fertil.* **104**, 51-56.



130. Griffin S.A., Henneman H.A., Reineke E.P. (1962) Thyroid secretion rate and semen quality. *Am J Vet Res.* **23**, 109–114.
131. Souza M.I.L., Bicudo S.D., Uribe-Velásquez L.F., Ramos A.A. (2002) Circadian and circannual rhythms of T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> secretions in Polwarth–Ideal rams. *Small Rum Res.* **46**, 1–5.
132. Demirci E. (2002) Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon, Suni Tohumlama ve Androloji Ders Notları. No: **53**, *FÜ Vet Fak Ders Teksiri*. Elazığ.
133. Tekin N. (1994) Spermanın Muayenesi ve Değerlendirilmesi. In: Alaçam, E. Ed. Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama, Doğum ve İnfertilite. Dizgievi, Konya. 69-79.
134. Schafer S., Holzmann A. (2000) The use of transmigration and Spermac<sup>TM</sup> stain to evaluate epididymal cat spermatozoa. *Anim Reprod Sci.* **59**, 201-211.
135. Aisen E.G., Medina V.H., Venturino A. (2002) Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations. *Theriogenology.* **57**, 1801-1808.
136. Arabi M. (2005) Bull Spermatozoa under Mercury Stress. *Reprod Dom Anim.* **40**, 454–459.
137. Fraser L., Strzezek J. (2004) The use of comet assay to assess DNA integrity of boar spermatozoa following liquid preservation at 5°C and 16°C. *Folia Histochemica et Cytobiologica.* **42** (1), 49-55.
138. Hughes C.M., Lewis S.E., McKelvey-Martin V.J., Thompson W. (1997) Reproducibility of human sperm DNA measurements using the alkaline single cell gel electrophoresis assay. *Mutat Res.* **374**(2), 261–268
139. Hu J.H, Li Q.W, Jiang Z.J, Li W.Y (2008) Effects of different extenders on DNA integrity of boar spermatozoa following freezing–thawing. *Cryobiol.* **57**, 257–262
140. Mehmetoğlu I. (2002) Klinik Biyokimya Laboraruarı El Kitabı (2nd ed). Yelken Yayınları, Konya.
141. Doumas B.T., Kwok-Cheung P.P., Perry B.W. (1985) Candidate Reference Method for Determination of Total Bilirubin in Serum: Development and Validation. *Clin Chem.* **31** (11), 1779-1789.
142. Zar J.H. (1984) Biostatistical Analysis. (2nd ed). Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, New Jersey.
143. Koyuncu M., Şengül L., Tuncel E. (2000) Karayaka toklularında bazı testis özellikleri. *Hayvansal Üretim.* **41**, 102-107.
144. Kırk K. (2004) Norduz koçların testis morfolojisi ve spermatolojik özellikleri. IV. Ulusal Zootečni Bilim Kongresi, Süleyman Demirel Üniversitesi, 365-369.
145. İnce D., Karaca O. (2009) Çine Çaparı ve Karya koçlarında testis ve sperma özelliklerinin mevsimsel değişimi. *Hayvansal Üretim.* **50** (2), 9-15.
146. Gündoğan M., Uçar M., Tekerli M., Yeni D. (2003) Possible Association Between Age and Reproductive Parameters in Akkaraman Rams During Breeding Season. *Hay Araş Derg.* **13**(1-2), 13-18.

147. Ataman M.B., Kaya A., Karaca F. ve ark. (1996) Toklularda Testisin Sezon İçi ve Sezon Dışı Morfometrik Ölçümleriyle Spermatolojik Özellikler Arasındaki İlişkinin Belirlenerek Damızlık Seçiminde Kullanılabilirliğinin Araştırılması. *Hay Araş Derg* **6 (1-2)**, 1-7.
148. Kheradmand A., Babaei H., Batavani R.A. (2006) Effect of improved diet on semen quality and scrotal circumference in the ram. *Veterinarski Arhiv*. **76 (4)**, 333-341.
149. Söderquist L., Hulten F. (2006) Normal values for the scrotal circumference in rams of Gotlandic breed. *Reprod Dom Anim*. **41**, 61-62.
150. Avdi M., Banos G., Stefos K., Chemineau P. (2004) Seasonal variation in testicular volume and sexual behavior of Chios and Serres rams. *Theriogenology*. **62**, 275-282.
151. Kishk W.H. (2008) Interrelationship between ram plasma testosterone level and some semen characteristics. *Slovak J Anim Sci*. **41**, 67-71.
152. Tekin N., Uysal O., Akçay E., Yavaş İ. (2006) Farklı taurin dozlarının ve dondurma hızının koç spermasının dondurulması üzerine etkileri *Ankara Üniv Vet Fak Derg*. **53**, 179-184.
153. Gündoğan M. (2007) Seasonal variation in serum testosterone, T<sub>3</sub> and andrological parameters of two Turkish sheep breeds. *Small Rum Res*. **67**, 312-316.
154. Bozkurt T., Türk G., Gür S. (2007) Effects of Exogenous Oxytocin on Serologic and Seminal Steroids and Semen Characteristics in Rams. *Türk J Vet Anim Sci*. **31(5)**, 303-309.
155. Fourie P.J., Schwalbach L.M. Nesor F.W.C., Van der Westhuizen C. (2004) Scrotal, testicular and semen characteristics of young Dorper rams managed under intensive and extensive conditions. *Small Rum Res*. **54**, 53-59.
156. Aral F., Aral S. (2004) Merinos Koçlarda Sperma Alma Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *Türk J Vet Anim Sci*. **28**, 47-53.
157. Günay Ü., Nur Z., Doğan İ., Başpınar B., Soylu M.K. (2003) Sıfat Sezonuna Geçiş Döneminde ve Sıfat Sezonunda Koç Spermasının Dondurulabilirliğinin Araştırılması. *Uludağ Üniv Vet Fak Derg*. **22**, 81-85.
158. Aksoy M., Kaya A., Vatansev H., Tekeli T. (2002) Testosterone secretion and seminal plasma enzyme activity of rams with genital pathology stimulated with GnRH. *Theriogenology*. **57 (7)**, 1907-1916.
159. Gündoğan M. Elitok B. (2004) Seasonal Changes in Reproductive Parameters and Seminal Plasma Constituents of Rams in Afyon Province of Turkey. *Deuth Tierärztl Woch*. **111 (4)**, 158-161.
160. Öztürkler Y., Ak K., İleri İ.K. (1997) Kıvrıcık koçlarında donma ve eritme sonrası spermatolojik özellikler üzerine mevsimin etkisi. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*. **3 (1)**, 73-79.
161. Aksoy M., Tekeli T., Çoyan K., Karaca F. (1993) Konya Merinosu Koçlarının Spermatolojik Özellikleri Üzerinde Araştırmalar. *Hay Araş Derg*. **3 (2)**, 126.
162. Mandiki S.N.M., Derycke G., Bister J.L., Paquay R. (1998) Influence of season and age on sexual maturation parameters of Texel, Suffolk and Ile-de-France rams I. Testicular size, semen quality and reproductive capacity. *Small Rum Res*. **28**, 67-79.

163. D'Alessandro A.G., Martemucci G. (2003) Evaluation of seasonal variations of semen freezability in Leccese ram. *Anim Reprod Sci.* **79**, 93–102.
164. Aksoy M., Ataman M.B., Karaca F., Kaya A., Tekeli T. (1994) Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ait çeşitli ırklardan koçların spermatolojik özellikleri üzerinde araştırmalar. *SÜ Vet Fak Derg.* **10 (1-2)**, 111-112.
165. Bucak M.N., Tekin N. (2007) Protective effect of taurine, glutathione and trehalose on the liquid storage of ram semen. *Small Rum Res.* **73**, 103–108.
166. Ollero M., Cebrian-Perez J.A., Muino-Blanco T. (1997) Improvement of cryopreserved ram sperm heterogeneity and viability by addition of seminal plasma. *J Androl.* **18 (6)**, 732-739.
167. Gündoğan M. (2009) Short term preservation of ram semen with different extenders. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.* **15 (3)**, 429-435.
168. Bucak M.N., Tekin N., Kulaksız R. (2007) Koç spermasının kısa süreli saklanması antioksidanların etkisi. *Lalahan Hay Arast Enst Derg.* **47 (2)**, 15 – 21.
169. Ding X.P., Yan S.W., Zhang N. et al. (2004) A cross-sectional study on nonionizing radiation to male fertility. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* **25 (1)**, 40-43.
170. Fraser L., Strzezek J. (2004) The use of comet assess DNA integrity of boar spermatozoa following liquid preservation at 5 °C and 16 °C. *Folia Histochemica Et Cytobiologica.* **42 (1)**, 49-50.
171. Baumber J., Ball B.A., Linfor J.J., Meyers S.A. (2003) Reactive oxygen species and cryopreservation promote DNA fragmentation in equine spermatozoa. *J Androl.* **24 (4)**, 621-628.
172. Li M.W., Meyers S., Tollner T.L., Overstreet J.W. (2007) Damage to chromosomes and DNA of Rhesus monkey sperm following cryopreservation. *J Androl.* **24**, 601-609.
173. Kasimanickam R., Pelzer K.D., Kasimanickam V., Swecker W.S., Thatcher C.D. (2006) Association of classical semen parameters, sperm DNA fragmentation index, lipid peroxidation and antioxidant enzymatic activity of semen in ram-lambs. *Theriogenology.* **65**, 1407–1421.
174. Chan P.J., Corselli J.U., Patton W.C., Jacobson J.D., Chan S.R., King A. (2001) A simple comet assay for archived sperm correlates DNA fragmentation to reduced hyperactivation and penetration of zona-free hamster oocytes. *Fertil Steril.* **75 (1)**, 186-192.
175. Lopez-Fernandez C., Fernandez J.L., Gosalbez A. et al. (2008) Dynamics of sperm DNA fragmentation in domestic animals III. Ram. *Theriogenology.* **70 (6)**, 898-908.
176. Linfor J.J., Meyers S.A. (2002) Detection of DNA damage in response to cooling injury in equine spermatozoa using single-cell gel electrophoresis. *J Androl.* **23 (1)**, 107-113.
177. Gliozzi T.M., Stacchezzini M.C, Arrighi S., Cremonesi F. (2006) Seasonal variation of DNA integrity assessed by comet assay in buffalo (*Bubalus Bubalis*). *Reprod Dom Anim* **41**, 311.
178. Nandre R.M. (2007) Effect of preservation of spermatozoa at sub-zero temperature on DNA integrity by Comet Assay. Master of Veterinary Science, Department Of Animal Biotechnology College Of Veterinary Science And Animal Husbandry Anand Agricultural University, Anand, Gujarat.

179. Henkel R., Menkveld R., Kleinhappl M., Schill W.B. (2001) Seasonal changes in human sperm chromatin condensation. *J Assist Reprod Genet.* **18 (7)**, 371-377
180. Zamiri M.J., Rezaei-Roodbari A. (2004) Relationship between blood physiological attributes and carcass characteristics in Iranian fat-tailed sheep. *Iranian Journal of Science & Technology.* **28 (1)**, 97-106.
181. Gabryszuk M., Czauderna M., Baranowski A., Strzałkowska N., Jóźwik A., Krzyżewski J. (2007) The effect of diet supplementation with Se, Zn and vitamin E on cholesterol, CLA and fatty acid, contents of meat and liver of lambs. *Anim Sci Pap Rep.* **25 (1)**, 25-33.
182. Lough D.S., Solomon M.B., Rumsey T. S. (1991) Effects of dietary canola seed and soy lecithin in high-forage diets on performance, serum lipids, and carcass characteristics of growing ram lambs. *J Anim Sci.* **69**, 3292-3298.
183. Yur F., Belge F., Bildir A., Çamaş H. (1998) Norduz koyun ve keçilerin hemoglobin tipleri, serum protein fraksiyonları ve lipoprotein seviyelerinin belirlenmesi. *YYÜ Vet Fak Derg.* **9 (1-2)**, 29-31.
184. Gündüz H., Mert N. (1997) Farklı ırklardaki ithal etçi koyunlarda serum lipoprotein düzeyleri. *YYÜ Vet Fak Derg.* **8 (1-2)**, 25-27.
185. Nisbet C., Yarım G.F., Çiftçi G. (2006) Sağlıklı Karayaka ırkı koyunlara ait bazı serum biyokimyasal değerleri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.* **53**, 57-59.
186. Raghuvansi S.K.S., Tripathi M.K., Mishra A.S. (2007) Feed digestion, rumen fermentation and blood biochemical constituents in Malpura rams fed a complete feed-block diet with the inclusion of tree leaves. *Small Rum. Res.* **71**, 21-30.
187. Gomes W.R., Joyce M.C. (1975) Seasonal changes in serum testosterone in adult rams. *J Anim Sci.* **41**, 1373-1375.
188. Karahan İ., Pirinççi İ., Ateşşahin A., Gürsu F., Çıkım G., Güler O. (2002) Koçlarda indometasin, furosemid ve prostaglandin F2 Alfa'nın troid hormon düzeyleri üzerine etkileri. *Turk J Vet Anim Sci.* **26**, 1375-1380.
189. Koyuncu M., Uzun Ş. K., Öziş Ş., Duru S. (2005) Kıvrıcık Kuzularında Bazı Testis Özellikleri. *Ank Üniv Zir Fak Tarım Bilimleri Dergisi.* **11(1)**, 7-11
190. Elmaz Ö., Cirit Ü., Demir H. (2007) Relationship of testicular development with age, body weight, semen characteristics and testosterone in Kıvrıcık ram lambs. *S A Journal of Animal Science.* **37 (4)**, 269-274.
191. Yılmaz A., Cengiz F. (2006) Norduz erkek kuzularında bazı üreme özellikleri arasındaki korelasyonlar. *YYÜ Tar Bil Derg.* **16 (1)**, 69-75.
192. Dickson K.A., Sanford L.M. (2005) Breed diversity in FSH, LH and testosterone regulation of testicular function and in libido of young adult rams on the southeastern Canadian prairies. *Small Rum Res.* **56**, 189-203.
193. Salhab S.A., Zarkawi M., Wardeh M.F., Al-Masri M.R., Kassem R. (2003) Characterization and evaluation of semen in growing Awassi ram lambs. *Trop Anim Health Prod.* **35**, 455-463.

194. Smith R., Kaune H., Parodi D. (2006) Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress. *Hum Reprod.* **21** (4), 986–993
195. Cebesoy F.B., Ünlü C., Aydos K., Baltacı V. (2006) Sperm morfolojisi ve acridine orange boyamanın ICSI'deki fertilizasyon oranları ve embriyo kalitesi ile ilişkisi. *J Turkish-German Gynecol Assoc.* **7** (2), 110-114.
196. Song G.J., Norkus E.P., Lewis V. (2006) Relationship between seminal ascorbic acid and sperm DNA integrity in infertile men. *Int J Androl.* **29**, 569–575.
197. Huang C.C., Lin D.P.C., Tsao H.M., Cheng T.C., Liu C.H., Lee M.S. (2005) Sperm DNA fragmentation negatively correlates with velocity and fertilization rates but might not affect pregnancy rates. *Fertil Steril.* **84** (1), 130-140.
198. Gopalkrishnan K., Padwal V., Balaiah D. (2000) Does seminal fluid viscosity influence sperm chromatin integrity? *Arch Androl.* **45**, 99-103.
199. Gündoğan M. (2006) Some Reproductive Parameters and Seminal Plasma Constituents in Relation to Season in Akkaraman and Awassi Rams. *Türk J Vet Anim Sci.* **30** (1), 95-100.