

Rasyon inko miktarının boğalarda sperma miktar ve kalitesine etkisi

Engin ÜNAY¹, Sema YAMAN¹, Hüseyin KINET¹,

Pürhan Barbaros TUNCER³, Serhat BÜYÜKLEBLEBİCİ², Vedat KARAKAŞ¹

¹ Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Lalahan, Ankara

² Aksaray Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksek Okulu, Aksaray

³ Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, Aksaray

Geliř Tarihi / Received 12.02.2013, Kabul Tarihi / Accepted: 01.04.2014

Özet: Araştırmada, hayvan materyali olarak, Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsünde, dondurulmuş sperma üretimi yapılan 9 baş Siyah Alaca ırkı boğa kullanılmıştır. Araştırma, karma yemde 40 mg/kg çinko içeren kontrol grubu ve kontrol grubunda kullanan karma yeme ilave olarak 110mg/kg çinko (toplam 150 mg/kg Zn içeren 1. grup) ve 160 mg/kg (toplam 200 mg/kg Zn içeren 2. grup) inko eklenen 3 farklı muamele grubundan oluşmuştur. Her gruba tesadüfi olarak 3er baş boğa dağıtılmıştır.

Çinko preparatı olarak, kontrol grubu ve diğer iki muamele grubunda organik çinko bileşiği Bioplex Zinc (Aminoasit hidratin çinko şelat, Alltech) kullanılmıştır. Deneme başlangıcında, 60 gün ön yemleme yapılmıştır. Bu süre sonunda boğalardan suni vajen yöntemiyle 5 hafta boyunca, haftada 2 defa 2'şer ejakülat sperma alınmıştır. Sulandırılan spermalar, ekilibrazyondan sonra 0.25 ml'lik payetlere çekilerek, kontrollü dondurma cihazında dondurulup sıvı azot içinde saklanmıştır. Nativ spermatolojik değerlendirmeler aynı gün, çözüm sonu değerlendirmeleri ise 24 saatlik dondurma sürecinden sonra payetler 37°C'de 30 saniye süreyle çözdürülerek değerlendirilmiştir.

Çalışmada sperma miktarı yönünden kontrol grubu ile 200 mg/kg çinko içeren 2. grup arasından fark önemsiz, kontrol grubu ile 150 mg/kg çinko içeren 1. grup arasındaki fark önemli (P<0.05) bulunmuştur. Motilite oranı, mass aktivite değerleri ve yoğunluk yönünden kontrol grubu ile 1. ve 2. gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur (P<0.05). Sperma yoğunluğu bakımından en iyi sonuç 1. gruptan alınmıştır. özüm sonu en iyi motilite değerleri ise 2. grupta elde edilmiştir.

Damızlık boğaların beslenmesinde, karma yemde 40 mg/kg inko (NRC 2001) kullanılması yerine, 150 veya 200 mg/kg çinko kullanılmasının sperma miktarı ve kalitesi üzerine olumlu etki yaptığı kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Rasyon inko seviyesi, boğa sperması, sperma kalitesi

Effect of Diatery Zinc Level on Volume and Quality of Bull Semen

Summary: The project was conducted in Livestock Central Research Institute. In the experiment 9 head Holstein bulls were used as project material. Bulls were split into groups of three heads as one control (40 mg/kg) and 2 different levels of zinc groups (150 mg/kg, group 1; 200 mg/kg, group 2) randomly by drawing of lots. Bulls in the control group were fed with compound feed containing 40 mg/kg zinc and bulls in two other treatment groups were given additional 110 mg/kg (Group1) and 160 mg/kg (Group 2) zinc respectively. As zinc preparation in control and other two treatment groups, organic zinc compound, Bioplex Zinc (zinc chelate of amino acid hydrate by Alltech) was used. After 60 days of a preliminary feeding period, semen was collected as 2 ejaculates at each time in 2 times a week during 5 weeks. After dilution and equilibration, semen was filled into straws of 0.25 mL volume and frozen by controlled freezing device and stored in liquid nitrogen. Evaluation of native semen was carried out on the same day, and of frozen semen was done after the freezing procedure of 24 hours by thawing straws in 37°C for 30 seconds.

With regard to semen volume, there were no differences between the control group and group 2 while the difference between group 1 and the control was significant (P <0.05). For motility and mass activity, differences were significant for either experimental groups (P<0.005). As for density, differences between control group and experimental groups were statistically significant and the best result was obtained from the group 1. The best result for after-thawing motility was obtained from the group 2.

As a result, it may be deduced that compound feeds contain 150 mg/kg or 200 mg/kg zinc may be better for breeding bulls than compounds containing 40 mg/kg zinc which is recommended for breeding bulls by NRC 2001, but it still requires further investigations.

Key words: Diatery Zinc Level, Bull semen, semen quality

Giriş

Çinko organizmada düşük miktarlarda bulunması- na rağmen birçok enzim sisteminde önemli rol alır. Hücre büyümesi, DNA ve protein sentezlenmesi, enerji metabolizması, hormon düzeyleri, gen transkripsiyonunun ayarlanmasında ve büyüme faktörü metabolizmasını düzenleyen pek çok enzim sistemlerini katalizler veya bunların bileşimlerinde yer alır ve aktive eder. İnsan ve hayvanlarda büyüme yetersizliği ve cinsel gelişme bozukluğu, üreme ve döl verimindeki olumsuz sonuçları ile hayvancılık ekonomisini etkileyen önemli bir iz elementtir.

Çinko ilk olarak 1934 yılında Essential Trace Minerals (ETM)= esansiyel iz element olarak tespit edilmiştir (16). Çinko yetersizliğinde gelişmede gerileme, anoreksia, paraketozis ve hipogonadizm olduğu belirlenmiştir (17). Çinko DNA sentezinde ve gen kopyalanmasında önemli bir kofaktördür (3). Çinko protein, amino asit, nükleik asit, yağ, karbonhidrat ve vitamin metabolizmalarında diğer mikro elementlerle birlikte hayati bir rol almaktadır. Vücutta kemik gelişimi, üreme fonksiyonları, bağışıklık, kan pıhtılaşması ve biomembran stabilizesi gibi fizyolojik fonksiyonlar için gereklidir (19).

Steroidogenesisde enzim aktivitelerinin uyarımı ile FSH ve LH aktivitelerinin rasyondaki çinko düzeyine bağlı olduğu bildirilmektedir. Çinko yetersizliği, çinkoya bağlı enzimlerden hepatik alkalın fosfataz ve timik-timidin kinaz aktivitelerinde büyük azalmalara neden olmaktadır. Ayrıca Gonadotropin-reseptör kompleksini engelleyerek testesteron üretimini düşürdüğü bu nedenle testis, epididimis ve prostattaki çinko miktarındaki azalmadan dolayı gonadotropik hormonların salgılanmasını ve testis seviyesinde androjen üretimini etkilediği bildirilmektedir. Dişilerde ise çinko eksikliğinin uterus kaslarının hareketsizleşmesine ve gebeliğin uzamasına neden olduğu bildirilmiştir (2).

Çok sayıda metaloenzimin yapısında fonksiyonel olarak bulunur. Rasyonla alınan çinkonun emilimi %5-40 oranında ince bağırsakta olur ve kan yoluyla dokulara süratle yayılır (8). Çiftlik hayvanlarında plazma çinko seviyesi normal olarak 0.4-0.6 mg/L olup bu değer 0.4 mg/L nin altına düştüğünde yetersizlik belirtileri görülür (13).

Sığırların normal vücut fonksiyonlarının devamlılığı için günlük alınması gereken çinko miktarı

35-40 ppm/kg yem (kuru madde de) dir. Bağışıklık ve diğer verim fonksiyonları için ise daha yüksek oranlara ihtiyaç duyulmaktadır (14). Hayvan türlerine göre değişmekle birlikte testis dokusunda 20-200 mg/kg/KM oranında bulunmaktadır. Dokudaki çinko miktarı spermatogenesis için hayati önem taşır ve yetersizliğinde seminiferus tubullerinde atrofi, spermatogenesisde azalma ve ileri derecelerde ise tamamen durma tespit edilmiştir (18).

Kan çinko düzeyleri normalden düşük 2- 4 yaşlı 6 adet boğanın testislerinde elektro mikroskop ile yapılan morfolojik incelemelerde nekrosis seminifer tübüllerde atrofi görülmüş ve aynı hayvanlara tek doz 3-5 mg çinko enjekte edildiğinde 60 gün sonra spermatogenezin normale döndüğü gözlenmiştir (5).

Doğal yemlerle düzenlenen rasyonlarda 500-600 mg/kg çinko ile hiçbir olumsuzluk beklenmemektedir. Ancak 600 mg/kg çinko içeren yemlerle beslenen sığırlarda homeostatik kontrol açık bir şekilde düşmektedir. Bu nedenle rasyon çinko miktarının 500 mg/kg dan yukarı olmaması istenir (7).

Rasyona çinko ilavesinin toklularda canlı ağırlık artışı, testis gelişimi, sperma üretimi ve sperma kalitesine olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; hayvanlar iki gruba ayrılmış ve bir kontrol grubu ile 30 µg/g çinko ilave edilen 2 grup oluşturularak 2 ay boyunca yemleme yapılmıştır. Rasyona çinko ilavesinin canlı ağırlık artışı ve plazma çinko konsantrasyonu üzerine etkili olmadığı belirtilmiştir. Ancak, testis gelişimi, sperma üretimi (kontrol grubunda 0.85 mL iken ilave çinko verilen grupta ise 1.75 mL) ve sperma kalitesi (anormal spermatozoa oranı kontrol grubunda %17.3 iken çinko takviyeli grupta %6.1, sperma motilitesi ise kontrol grubunda, %59.4 iken çinko takviyeli grupta ise %75.0) üzerinde olumlu etkileri saptanmıştır (10).

Çinko yetersizliğinin gelişmekte olan ruminantlarda steroidogenesis, testis gelişimi ve spermatogenesis üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada, çinkonun aşırı yetersizliği (<5 µg/g rasyon) parakeratosis, büyümede gerileme ve testis gelişiminde aksaklıklara neden olurken, hafif yetersizliğinde (5-17 µg/g rasyon) herhangi bir klinik belirti görülmediği ve hayvanın gelişiminin normal olmasına karşın testis gelişiminin ve sperma üretiminin önemli derecede olumsuz bir şekilde etkilendiği bildirilmiştir (15).

Yapılan bir araştırmada 18 baş Holstein boğa 6 ay boyunca 3 grup halinde 50 mg/kg, 100 mg/kg, 150 mg/kg çinko ilavesi yapılan rasyonlarla beslenmiş ve artan çinko miktarının sperma hacim ve canlılık oranlarını arttırdığı bildirilmiştir (6).

Boğa spermasında çinko yoğunluğunun ortalama olarak 83.15 ± 61.61 mg/kg testis KM düzeyinde olduğu bildirilmektedir (4). Domuz spermasındaki yüksek çinko oranı gametleri çevresel faktörlere karşı korumaktadır (12). Spermatogenesis sürecinde, sperm hareket kontrolünde, sperm membran bütünlüğünde, sperm hareketliliğinin ve çekirdek kromatinin korunmasında etkili olduğu bildirilmiştir (9).

Kontrol (0.35 ppm) ve iki farklı seviyede (35 ve 70 ppm) çinko içeren rasyonlarla 6 ay boyunca beslenen 16 baş melez boğa üzerinde yapılan bir çalışmada, çinko takviyeli rasyonlarla beslenen boğalardan elde edilen spermanın hacim ve kalitesinin kontrol grubuna oranla daha iyi olduğu bildirilmiştir (9).

Yemlerine 4 farklı miktarda çinko ilavesi yapılan genç damızlık Holstein boğalarla yürütülen bir çalışmada, boğaların kan testosteron seviyeleri kontrol grubuna oranla önemli derecede yüksek bulunmuştur (19). Rasyon çinko miktarı ile spermatozoitlerin ileri hareketleri, canlılık oranı, toplam hareketliliği arasında doğru orantılı, anormal spermatozoa oranı arasında ise ters orantılı yüksek bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (1).

Spermada olduğu kadar erkek üreme sisteminin genelinde de çinko yoğun miktarda bulunmaktadır. Çinko ilavesinin spermatozoa üzerindeki etkilerini inceleyen araştırmaların çoğu insanlar üzerinde yapılmıştır. Bu konuda boğalar üzerinde yapılan çalışmalar yetersizdir.

Bu çalışma, karma yeme farklı miktarlarda katılan çinkonun, boğalarda sperma miktar ve kalitesine etkilerinin incelenmesi amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Hayvan Materyali: Denemenin hayvan materyalini Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsünde bulunan, dondurulmuş sperma üretiminde kullanılan 9 baş Siyah Alaca boğa oluşturmuştur. Hayvanlar tesadüfi olarak, her grupta 3 baş boğa bulunacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır.

Deneme Gruplarının Oluşturulması: Araştırma, üzerinde durulan özellikler bakımından, çinko seviyesi ve zaman arasında fark olup olmadığının belirlenmesi amacıyla, çinko seviyesi ve zaman etkisini dikkate alacak şekilde, 2 faktörlü faktöriyel deneme desenine göre düzenlenmiştir. Kontrol grubu 40 mg/kg çinko, diğer gruplara ise 150 mg/kg (150 mg Zn) ve 200 mg/kg (200 mg Zn) çinko içeren karma yem verilmiştir.

Yem Materyali ve Yemleme Düzeni: Hayvanlara yedirilen karma yemler Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü Yemler ve Hayvan Besleme Bölümü bünyesindeki yem hazırlama ünitesinde hazırlanmıştır. Hazırlanan karma yemin ham besin madde içeriği çizelge 1 de verilmiştir. Araştırmada, kontrol grubuna 40 mg/kg çinko içeren karma yem verilirken diğer iki gruba sırasıyla; kontrol grubunda kullanan karma yeme 110 mg/kg çinko (150 mg/kg Zn, 1. grup) ve 160 mg/kg çinko (200 mg/kg Zn, 2. grup) ilave edilmiştir. Çinko preparatı olarak kontrol grubu ve diğer iki muamele gruplarında, organik çinko bileşiği, Bioplex Zinc (Aminoasit hidratin çinko şelat, Alltech) kullanılmıştır.

Boğalara karma yem, her öğünde 2 kg olmak üzere günde 3 öğün şeklinde verilmiştir. Kaba yem olarak günde 12 kg (kuru yonca otu + kuru çayır otu + arpa samanı karışımı) verilmiştir. Sulama otomatik suluklar ile yapılmış ve hayvanların önünde sürekli içebildikleri kadar taze su bulundurulmuştur. Çinko ilavesi, farklı seviyelerdeki çinko gruplarının ayarlanan miktarı (150 mg/kg ve 200 mg/kg) günlük olarak hayvanlara verilen 6 kg karma yeme göre dozajlanarak 50 gr karma yeme homojen bir şekilde katılmıştır. Bu miktar, sabah yemlemesinde verilen karma yemin üzerine ilave edilerek hayvanların günlük almaları gereken çinko miktarını yemeleri sağlanmıştır.

Spermatogenesis periyodunun tamamlanması için gerekli olan 60 günlük süre göz önüne alınarak sperma sağımından 60 gün önce ön yemleme başlatılmıştır. Bu şekilde çinko miktarının dokularda yeterince birikmesi ve spermatogenesis de tam etkili olması amaçlanmıştır. Ön yemleme (ilk 60 gün) periyodun başında ve sonunda sperma ve kan örneği alınmıştır.

Ön yemlemenin (60 günlük) sonunda 5 hafta daha deneme yemlemesi devam etmiştir. Bu 5 haf-

talık deneme süresince sperma ve kan örnekleri toplanmıştır.

Denemede kullanılan karma yemin kimyasal kompozisyonu ve çinko içeriği çizelge 1 de verilmiştir.

Çizelge 1. Karma yem kimyasal kompozisyonu ve çinko içeriği

Ham Madde İçeriği (% KM de)	Kontrol grubu	150 mg/kg çinko	200 mg/kg çinko
KM	90.43	90.43	90.43
HK	7.51	7.51	7.51
HP	15.25	15.25	15.25
HY	2.96	2.96	2.96
NDF	39.37	39.37	39.37
ADF	11.44	11.44	11.44
ADL	3.41	3.41	3.41
Çinko	40.01	156.27	217.97

Sperma ve Kan Örneklerinin Toplanması:

Sperma suni vajen yöntemi ile toplanmıştır. Sperma kontrolleri ise Enstitünün Suni Tohumlama Laboratuvarında dondurulmuş sperma üretim tekniğinde kullanılan metotlarla yapılmıştır. Sulandırmalar için Tris ana solüsyonu kullanılmıştır (1. kısım %5 oranında gliserol, 2. kısım %7 oranında gliserol, 3. kısım %3 oranında etilen glikol ve 4. kısımda %5 oranında etilen glikol içermektedir). Nativ spermada bakılan özellikler şunlardır;

1. Hacim (ml)
2. Motilite (canlılık)
3. Mass Aktivite
4. Yoğunluk (konsantrasyon)
5. Çözdürme sonu motilitesi

Ön yemleme sonunda 5 haftalık deneme yemlemesi boyunca haftada 2 gün (Pazartesi ve Perşembe) sperma, 15 günde 1 kez ise kan örneği alınmıştır. Böylece deneme sonunda her hayvandan toplam 11 kez sperma, 4 kez kan örneği alınmıştır. Alınan sperma örneklerinin nativ sperma değerlendirilmesi (alınan ejakulat hacmi, motilite, mass aktivite, yoğunluk) aynı gün, dondurulmuş sperma özellikleri yönünden değerlendirme ise 1 gün sonra yapılmıştır. Dondurulmuş sperma 24 saat sıvı azotta

bekletildikten sonra payetler 37 °C de su banyosunda 20 saniyede çözündürülmüştür.

Kan örnekleri alınır alınmaz +4 °C de 3000 devir/da 5 dakika süreyle santrifüj edilerek çinko analizi yapılma kadar -20 °C de saklanmıştır. Kan ve yem örneklerinde çinko analizleri, Perkin Elmer AAS 600 cihazında (Butrimovitz and Purdy, 1977 ve Murthy, 1971) yapılmıştır.

Denemede Kullanılan İstatistik Metotları:

Araştırmada incelenecek özellikler bakımından, çinko seviyesi ve zaman arasında fark olup olmadığını belirlemek için; çinko seviyesi ve zaman faktörleri dikkate alınarak Faktöriyel Düzende (iki faktörlü) Tekrarlanan Ölçümlü Varyans Analizi metodu kullanılmıştır. Aralarındaki fark istatistik olarak önemli bulunan özellikler için Duncan çoklu karşılaştırma yöntemi ile yapılmıştır.

Bulgular

Çizelge 1 de görüldüğü gibi, karma yemlerin çinko içeriğinin; kontrol grubunda 40.01 mg/kg, 110 mg/kg çinko ilave edilen grupta (150 mg/kg) 156.27 mg/kg ve 160 mg/kg çinko ilave edilen grupta (200 mg/kg) ise 217.97 mg/kg olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca hayvanlara verilen kaba yem karışımının çinko içeriğinin ise 22.77 mg/kg olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 2 de boğalardan alınan kan serumundaki çinko seviyelerinin deneme süresince değişimleri gösterilmiştir. Çizelge incelendiğinde deneme başlangıcında kontrol, 150 mg/kg ve 200 mg/kg gruplarının kan çinko seviyeleri sırasıyla 0.524 mg/L, 0.516 mg/L ve 0.500 mg/L olarak belirlenmiştir. Ön yemlemenin (60 gün) ardından serum çinko seviyeleri sırasıyla 0.495 mg/L, 0.629 mg/L ve 0.788 mg/L olarak bulunmuştur. Denemenin 75. gününde alınan kan serumunda ise çinko seviyeleri sırasıyla 0.465 mg/L, 0.667 mg/L ve 0.857 mg/L olarak tespit edilmiştir. Denemenin 90. gününde kan serumunda çinko seviyeleri sırasıyla 0.508 mg/L, 0.713 mg/L ve 0.983 mg/L olarak bulunmuştur.

Görüldüğü gibi, çinko ilave edilen (150 mg/kg ve 200 mg/kg) gruplardaki kan çinko düzeyleri (mg/L), kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek bulunmuştur (P<0.05).

Çizelge 3 de kontrol ve diğer iki muamele gruplarında deneme başı, 60 günlük ön yemleme

sonu ve 5 haftalık sperma toplama sürecinde haftada 2 kez yapılan sperma sağımından elde edilen sperma hacimleri mL olarak verilmiştir. Denemenin başlangıcında kontrol grubundaki 3 baş boğadan 2 ejakülatta alınan sperma verimlerinin ortalaması 4.250 mL, 1. gruptaki 3 baş boğanın 2 ejakülatından alınan spermanın miktarı 5.033 mL, 2. gruptaki 3 baş boğanın 2 ejakülatından alınan spermanın ortalaması ise 3.167 mL olarak bulunmuştur. Ön yemleme sonrasında gruptaki 3 er baş boğadan

2 ejakülatta alınan sperma miktarlarının ortalaması sırasıyla kontrol grubunda 5.000, 1. grupta 3.830 ve 2. grupta ise 3.417 mL olarak bulunmuştur. Beş haftalık deneme süresinde toplam 10 ejakülatın ortalamaları ise, kontrol grubunda 2.876 mL, 1. grupta 6.613 mL ve 2. grupta ise 3.393 mL olarak bulunmuştur. Grupların, deneme başı, ön yemleme sonu ve deneme sürecinde alınan sperma miktarları arasındaki farkta ejakülatlar arasındaki miktar farklılığının etkili olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 2. Kan serumu çinko düzeyi, mg/L

Gruplar	Deneme Başı $\bar{X} \pm S\bar{x}$	60. gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$	75. gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$	90. gün $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Kontrol	0.524 ± 0.0464 ^a	0.495 ± 0.0694 ^b	0.465 ± 0.0498 ^c	0.508 ± 0.0620 ^c
1. Grup	0.516 ± 0.0201 ^a	0.629 ± 0.0167 ^b	0.667 ± 0.00353 ^b	0.713 ± 0.0148 ^b
2. Grup	0.500 ± 0.0359 ^a	0.788 ± 0.00833 ^a	0.857 ± 0.0234 ^a	0.983 ± 0.0545 ^a

a, b, c: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki olarak önemli bulunmuştur. (P<0.05)

Çizelge 3. Grupların Sperma miktarları (mL)

Gruplar	Deneme Başı $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Ön yemleme sonu $\bar{X} \pm S\bar{x}$	Sperma toplama süreci $\bar{X} \pm S\bar{x}$
Kontrol	4.250 ± 0.901	5.000 ± 1.500	2.876 ± 0.260
150 mg	5.033 ± 0.484	3.830 ± 1.090	6.613 ± 0.786
200 mg	3.167 ± 0.441	3.417 ± 0.546	3.393 ± 0.286

Çizelge 4 de grupların sperma motilite ve mass aktiviteleri verilmiştir. Kontrol, 1. ve 2. grupların sperma motilite test sonuçları sırasıyla; 34.34, 76.00 ve 75.67 olarak belirlenmiştir ve kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki fark önemli iken (P<0.05), deneme grupları arasındaki fark önemsiz bulun-

muştur. Sperma mass aktivite yönünden, kontrol, 1. ve 2. grupların test sonuçları sırasıyla 1.400, 2.900 ve 2.533 olarak belirlenmiştir ve kontrol grubu ile diğer gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur (P<0.05). Deneme grupları arasındaki fark ise önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4. Sperma motilite ve mass aktivite analiz sonuçları

Gruplar	n	Replikasyon	Motilite	Mass Aktivite
Kontrol	3	10	34.34 ± 14.47b	1.400 ± 0.6944b
1. Grup	3	10	76.00 ± 12.18a	2.900 ± 0.7379a
2. Grup	3	10	75.67 ± 10.61a	2.533 ± 0.7062a

a, b, c: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki olarak önemli bulunmuştur. (P<0.05)

Çizelge 5 de çözüm sonu, grupların sperma yoğunluk ve motilite analiz sonuçları verilmiştir. Çizelge 5 incelendiğinde, grupların sperma yoğunluk analizi sonuçları sırasıyla kontrol grubunda

476.6, 1. grupta 1141.6 ve 2. grupta 788.1 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre gruplar arasındaki fark önemli (P<0.05) bulunurken en iyi sonuç 1. gruptan elde edilmiştir. Çözüm sonu motilite

yönünden ise, kontrol, 1. ve 2. grupların sonuçları sırasıyla 15.87, 31.60 ve 39.60 olarak belirlenmiş ve gruplar arasındaki fark önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Çözüm sonu motilite yönünden en iyi so-

nuç 2. gruptan elde edilmiş olup 1. grubun çözüm sonu motilitesi kontrol grubuna göre önemli bulunmuştur ($P<0.05$).

Çizelge 5. Sperma yoğunluk ve çözüm sonu motilite analiz sonuçları

Gruplar	n	Replikasyon	Yoğunluk	Çözüm Sonu Motilite
Kontrol	3	10	476.6 ± 165.7c	15.870 ± 7.706c
150 mg/kg	3	10	1141.6 ± 211.8a	31.600 ± 9.104b
200 mg/kg	3	10	788.1 ± 210.8b	39.600 ± 6.582a

a, b, c: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiki olarak önemli bulunmuştur. ($P<0.05$)

Bu sonuçlar ışığında, çözüm sonu motilite yönünden 2. grubun, 1. gruba göre daha iyi bulunması, yüksek düzeyde çinko alımının, özellikle sperma üzerindeki soğuk şokunu atlatmada ve dondurma sonucunda meydana gelen hasarlara karşı spermatozoitleri korumada daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Tartışma ve Sonuç

Bu araştırma sonucunda, rasyona kuru maddede 40 mg/kg'ın üzerinde (150 mg/kg ve 200 mg/kg) çinko ilave edilmesiyle, native sperma yoğunluğu ve sperma motilitesi ile çözüm sonu sperma yoğunluğu ve sperma motilitesi üzerinde olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle soğuk şokuna karşı spermanın korunmasında etkili olduğu gözlenmiştir. Bu konuda çok az çalışma vardır. Cupic ve arkadaşları (1998), 50 mg/kg, 100 mg/kg ve 150 mg/kg çinko ilaveli rasyonla besledikleri boğalarda serum çinko düzeylerini sırasıyla 2.20, 2.67 ve 2.83 µg/mL, sperma yoğunluğunu ise bahsedilen gruplarda sırasıyla 2.03, 2.48 ve 2.99 x 10⁹ spermatozoit/mL bulmuşlardır. Bu çalışmada bulunan sonuçlar, serum çinko değerleri yönünden Cupic ve arkadaşlarının bulunduğu değerlerden düşük, sperma yoğunluğu açısından ise yüksek bulunmuştur.

Çinkonun sperma üzerindeki olumlu sonuçları birçok araştırmacı tarafından (Cupic ve ark., 1998; Cigankova ve ark., 1994; Kuran ve ark., 1998; Kumar ve ark., 2006; Alavi-Shoushtari ve ark., 2009) belirtilmekte olup yapılan çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada çinkonun dondurulmuş sperma üretimi işlemleri sı-

rasında ilk defa test edilmiş olması da bu çalışmaya özgün bir değer katmıştır.

Sonuç olarak sperma üretimi yapılan boğalarda rasyona 40 mg/kg düzeyinden daha fazla çinko katılmasının iyi sonuçlar verdiği kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

1. Alavi-Shoushtari SM, Asri Rezai S, Ansari MHKh, Khaki A (2009): Effects of the Seminal Plasma Zinc Content and Catalase Activity on the Semen Quality of Water Buffalo (*Bubalus bubalis*) Bulls. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 12(2): 134-139.
2. Apgar J (1985): Zinc and reproduction. *Ann Rev Nut.*, 5: 43-68.
3. Chesters JK (1978): Biochemical functions of Zn in animals. *World Review Nutrition Dietetics* 32: 135-164.
4. Chia SE, Ong CN, Chua LH, Ho LM, Tay SK (2000): Comparison of Zinc concentration in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. *J. Androl* 21: 53-57.
5. Cigankova V, Mesaros P, Bires J, Tomajkova E, Cernota S (1994): Morphological structure of the testes of bulls with zinc deficiency and the effect of administering Zindep inj. On the recovery of Spermatogenesis. *Slovensky Veterinarsky Cosapis*, 19(3): 134-138.
6. Cupic Z, Sinovec Z, Veselinovic S, Ivkov O, Medic D, Ivancev N, Grubac S (1998): The effect of dietary zinc, on semen quality in Holstein – Friesian Bulls. 4th International Symposium on Animal Reproduction, Ohrid, Macedonia. Proceeding, page 96.
7. Doğan K (1998): Çinkonun hayvan beslenmesindeki yeri ve önemi. I. Ulusal Çinko Kongresi kitabı s: 25-30. Adana
8. Hambidge KM, Casey CE, Krebs NF (1986): Zinc, 4th ed.. In: Mertz, W. (Ed.),. *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, vol. 2. Academic Press, San Diego, pp. 1-37.
9. Kumar N, P Verma R, P Singh L, P Varshney V, Dass RS (2006): Effect of different levels and sources of zinc supplementation on quantitative and qualitative semen at-

- tributes and serum testosterone level in crossbred cattle bulls. *Reprod. Nutr. Dev.* 46: 663-675
10. **Kuran M, Çam MA, Ocak N, Oflaz M** (1998): Çinkonun toklularda sperma kalitesine etkisi. I. Ulusal Çinko Kongresi kitabı. s: 663-670. Adana
11. **Martin Gb, White Cl, Markey Cm, Blackberry M** (1994): Effect of dietary zinc deficiency on the reproductive system of young male sheep: testicular growth and the secretion of inhibin and testosterone. *J. Reprod Fertil* 1994, 101: 87-96.
12. **Massanyi P, Toman R, Trandzik J, Nad P, Skalicka M, Korenekova B** (2004): Concentration of copper, zinc, iron, cadmium, lead and nickel in bull, ram, boar, stallion and fox semen. *Trace Elements and Electrolytes*, 21 (1): 50-54.
13. **Mills C F** (1987): Biochemical and physiological indicators of mineral status in animals: copper, cobalt and zinc. *J. Anim. Sci.*, 65: 1702- 1711
14. **NRC** (2001): *Nutrient Requirements of Domestic Animals*. National Acad. Sci., Washington D.C.
15. **Ocak N, Kuran M, Erener G** (1998): Çinko yetersizliği, Testis gelişimi ve sperma üretimi. I. Ulusal Çinko Kongresi kitabı. s: 839-842. Adana
16. **Todd WR, Elvehjem CA, Hart EB** (1934): Zinc in the nutrition of the rat. *American Journal of Physiology* 107: 146-156.
17. **Tucker HF, Salmon WD** (1955): Parakeratosis or zinc deficiency disease in the pig. *Proceedings of the Society for Experimental Biology in Medicine* 88: 613-616.
18. **Vallee BL, Falchuk KH** (1993): The biochemical basis of zinc physiology. *Physiology Reviews* 73: 79-118.
19. **Xin F, Hou M, Li Y, Wang L** (2007): Effect of different levels of zinc on blood physiological and biochemical parameters in stud holstein bulls. *Chinese Journal of Animal Nutrition* 19 (5).