

Kısa Süreli Saklanan Ördek Spermasına İlave Edilen *Lonicera iberica* M. Bieb ve *Berberis vulgaris* L. Bitki Ekstraktı Farklı Dozlarının Sperma Motilite ve Vitalite Değerleri Üzerine Etkisi

Demirel ERGÜN^{1*}, Atilla TAŞKIN², Fatma ERGÜN³

¹ Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi Kırşehir, Türkiye

² Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Kırşehir, Türkiye

³ Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Kırşehir, Türkiye

*Sorumlu Yazar: demirel.ergun@ahievran.edu.tr

Geliş Tarihi: 22.08.2022 Düzeltme Geliş Tarihi: 03.10.2022 Kabul Tarihi: 13.10.2022

Öz

Bu çalışmada; ördek semen sulandırıcısına ilave edilen, doğal antioksidan potansiyeline sahip bazı bitki ekstraktlarının, semeninin +5 °C'de kısa süreli muhafaza edilmesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla dadaş hanımeli (*Lonicera iberica* M. Bieb) (Li) ve kızamak (*Berberis vulgaris* L.) (Bv) bitki ekstraktları kullanılmıştır. Dört hafta süresince haftada iki kez olmak üzere, abdominal masaj yöntemi ile 6 adet ördekten ejakülat toplanmıştır. Miks semen beş tüpe eşit şekilde bölünerek üzerlerine 1 kısım semen 3 kısım sulandırıcı eklenmiştir. Çalışmada ördek semenlerinin kısa süreli saklanması işleminde %0.1 L. iberica ekstraktı içeren semen sulandırıcısı (LI), %0.2 L. iberica ekstraktı içeren semen sulandırıcısı (LII), %0.1 B. vulgaris ekstraktı içeren semen sulandırıcısı (BI) ve %0.2 B. vulgaris ekstraktı içeren semen sulandırıcısı (BII) ve kontrol grubunda (K) ise bitki ekstrakt içermeyen sulandırıcı kullanılmıştır. Sulandırılan semen örnekleri sırasıyla 37.5 °C'de 30 dakika ve 32-34 °C'de 30 dakika ekilibrasyona tabi tutulduktan sonra, +5 °C'de saklanmıştır. +5 °C'de 72 saat saklanan ördek semenlerinin vitalite değeri Kontrol grubunda %13.00±1.41, BII grubunda %17.50±2.12, LI grubunda %32.50±0.70, LII grubunda %34.50±0.70, BI grubunda ise %39.90±2.96 olarak tespit edilmiştir. Motilite değeri ise en düşük değer %9.62±0.53 olarak K grubunda, en yüksek değer ise %38.26±1.78 olarak BI grubunda tespit edilmiştir. Sonuç olarak ördek semeninin kısa süreli saklanması işleminde semen sulandırıcısına %0.1 oranında B. vulgaris bitki ekstraktının karıştırılmasının semen vitalite ve motilite değerlerini olumlu yönde etkileyerek ördek semeninin kısa süreli saklanması işleminde avantaj sağladığı ve yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Ördek, Semen, Kısa Süreli Saklama, *Berberis vulgaris* L., *Lonicera iberica* M. Bieb.

The Effect of Different Doses of *Lonicera iberica* M. Bieb and *Berberis vulgaris* L. Plant Extracts Added to Short Term Stored Duck Semen on Sperm Motility and Vitality Values

Abstract

In this study, the effects of some plant extracts with natural antioxidant potential added to duck semen extender on short-term storage of semen at +5 °C were investigated. For this purpose, plant extracts of dadaş honeysuckle (*Lonicera iberica* Bieb) (Li) and barberry (*Berberis vulgaris* L.) (Bv) were used. Ejaculate was collected from 6 ducks by abdominal massage method, twice a week for four weeks. Mixed semen was divided equally into five tubes and 1 part semen, and 3 parts diluents were added to them. In the short-term storage of duck semen, semen extender (LI) containing 0.1% L. iberica extract, semen extender (LII) containing 0.2% L. iberica extract, semen extender (BI) containing 0.1% B. vulgaris extract and 0.2% B. vulgaris extract containing semen extender (BII), and in the control group (K), the extender without plant extract was used. Reconstituted semen samples were equilibrated for 30 minutes at 37.5 °C and 30 minutes at 32-34 °C, respectively, and then stored at +5 °C. The vitality value of duck semen stored at +5 °C for 72 hours was 13.00±1.41% in the Control group, 17.50±2.12% in the BII group, 32.50±0.70% in the LI group, 34.50±0.70% in the LII group, and 39.90±2.96% in the BI group. detected. The lowest value of motility was 9.62±0.53% in the K group, and the highest value was found in the BI group as 38.26±1.78%. As a result, it was concluded that in the short-term storage of duck semen, mixing

0.1% B. vulgaris plant extract with the semen extender has a positive effect on semen vitality and motility, providing an advantage in the short-term storage of duck semen and new studies are needed.

Key words: Duck, Semen, Short-Term Storage, *Berberis vulgaris* L., *Lonicera iberica* M. Bieb.

Giriş

Toplumsal gelişme ile beslenme bilincinin artması, hayvansal protein tüketimini ve çeşitliliğini de artırmıştır. Bu durum sektörde verim artırıcı yöntem ve alternatif kaynak arayışını hızlandırmıştır. Bu alternatifler arasından ördek yetiştiriciliği öne çıkmaktadır. Çünkü ördek eti dünya çapında ve özellikle Asya'da bol miktarda arzu edilen ve tüketilen hayvansal protein kaynağıdır (Khan ve ark., 2019). Ayrıca ördekler yemi ete çevirme oranı yüksek, hastalıklara karşı dayanıklı ve yetiştirilmesi kolay su kuşlarıdır. (Akpınar ve ark., 2017). Dünyada 40'tan fazla evcil ördek türü bulunmaktadır. Yeşilbaş ördekler (*Anas platyrhynchos*) günümüzde evcil ve yabani olarak yaşayan ördek türlerinden biridir. Ayrıca yeşilbaş ördeğin diğer ördek ırklarının oluşmasında eşeyssel olarak katkısı çok fazladır.

Suni tohumlama verimin artırılması, fonksiyon bozukluklarına sebep olan cinsel hastalıkların önlenmesi ve çiftleşme sırasında şekillenen fiziksel bozuklukların önlenmesi için önemli bir yöntemdir. Bu yöntem ile erkek damızlıklardan toplanmış ve uygun şekilde in vitro ortamda saklanmış spermalar anaçlara aktarılır. Spermalar oldukça hassastırlar. İn vitro ortamda canlılıklarını ve dölleme yeteneklerini çok hızlı bir şekilde kaybedebilirler (Donoghue ve Wishart, 2000). Ancak in vitro ortamda çeşitli sulandırıcılar yardımıyla kısa süreli veya dondurularak (semen kreyoprezervasyonu) saklanabilirler. Kısa süreli saklama işleminde özel semen sulandırıcıları kullanılır ve sulandırılan semen düşük ısıda (+4 oC veya +5 °C) saklanır. Semen saklanması ve sonrasında suni tohumlama işlemi tavuk ve hindi üretimi başta olmak üzere kanatlı üretiminde kullanılan bir yöntemdir.

Abdominal masajı yöntemiyle ördeklerden alıştırıldıktan sonra kolaylıkla semen alınabilir. Bu işlem sırasında sperma kalitesini etkileyecek lenf sıvısı, kan ve dışkı gibi bulaşanlara dikkat edilmesi gerekir (Fujihara ve Mishiyama, 1976). Ayrıca ördek sperma kalitesi üzerine yaş, beslenme ve ejekülat toplama sıklığı gibi faktörlerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Taskin ve ark., 2020; Lake, 1983). Kanatlı spermının enerji ve metabolit rezervi çok azdır ve uzun süreli saklanacaksa bu ihtiyacın karşılanması gerekir. Ayrıca spermalar saklama ortamında zamanla birikecek metabolik atıklara ve sıcaklık değişimlerine karşı çok hassastırlar. Bu yüzden erkek damızlıklardan alınan spermaların oda sıcaklığında canlılığı muhafaza etme şansı oldukça

düşüktür ve canlılık çoğunlukla birkaç saat sonra kaybolur. Fakat in vitro ortamda ihtiyaçlarının karşılanması durumunda spermının canlı kalma süresi uzatılabilir. Bu da ancak düşük sıcaklıkta (+4 oC, +5 °C) ve spermının enerji ve metabolit ihtiyaçlarının karşılanması ile mümkündür. İşlem sırasında spermatozoa ölümlerine neden olabilecek stres faktörlerinin de ortadan kaldırılması gerekir (Blesbois, 2003). Çünkü kanatlı hayvan spermının hücre zar yapısı farklıdır ve saklama işlemi sırasında şekillenecek lipid peroksidasyonuna karşı çok duyarlıdır. (Blesbois ve ark., 1993; Surai ve ark., 2000). İn vitro semen saklanması sırasında şekillenen motilite ve vitalite değerlerindeki düşüşün bu duyarlılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir (Zaniboni ve ark., 2009). Lipid peroksidasyonu etkisinde kalan spermalarda morfolojik değişimler ve motilite değerlerinde azalma görülür (Long ve ark., 2003). Sperm bu olumsuz durumdan yapısında bulunan savunma sistemleri sayesinde kurtulmaya çalışır. Başlangıçta yeterli olan bu sistem zamanla yetersiz kalır ve spermaların ölümüne kadar neden olacak olumsuzlukların şekillenmesine neden olur. Bu tür olumsuzlukları önlemek için semen sulandırıcılarına antioksidan ilavesinin yararlı olduğu bilinmektedir (Fouda ve ark., 2021; Yata, 2022; Sarkar, 2020).

L. iberica ve *B. vulgaris* çok yıllık orman bitkileridir. Bu türler üzerinde yapılan çalışmalarda özellikle bu bitkilerin meyvelerinden elde edilen ekstraktların antioksidan kapasitesinin yüksek olduğu bilinmektedir (Eminağaoğlu ve ark., 2014; Gundogdu, 2013; Ergün, 2021). Bu çalışmada antioksidan özelliğe sahip *L. iberica* ve *B. vulgaris* bitki meyvelerinden elde edilen ekstraktlar kullanılarak semen saklama koşullarının iyileştirilmek ve spermalarının canlılık ve fertilizasyon özelliklerini daha uzun süre koruması amaçlanmıştır. Bu kapsamda semen sulandırıcısına %0.1 ve %0.2 *L. iberica* ve *B. vulgaris* meyve ekstraktları ilave edilerek yeşilbaş ördeklerden alınan ejekülatın kısa süreli saklama koşullarında, sperma motilite ve vitalite değerlerinde ki değişim araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışma 2022 Mart ve Nisan aylarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmada iki yaşında 6 adet yeşilbaş erkek ördek (*Anas platyrhynchos*) kullanılmıştır. Ördekler %18 ham protein ve 2300 kcal ME/kg ticari yemle ad libitum olarak beslenmiş, yeme ve suya erişimde herhangi bir kısıtlama

yapılmamıştır. Sadece semenlere dışkı bulaşmasını önlemek amacıyla sabah semen toplanacak saatten 12 saat önce ördeklerin yem ve suya ulaşmaları engellenmiştir. Çalışma için Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Hayvan Deneyle Yere Etik Kurulunun dan 31.03.2021 Tarih ve 06/1 nolu etik kurulu kararı alınmıştır.

Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

Yerel kaynaklardan tedarik edilen bitki numuneleri fiziksel kirliliklerden arındırılmak için önce musluk suyu daha sonra distile su ile yıkandı. Bitkilerdeki nem oda sıcaklığında uzaklaştırıldı ve bitkiler +4 °C'de saklandı. Bitki ekstraktlarının hazırlanmasında çözücü olarak metanol kullanılmıştır. 15 g kurutulmuş *B. vulgaris* ve *L. iberica* örnekleri öğütücüde öğütüldükten sonra ayrı ayrı 1 litrelik ağız kapalı erlene konuldu, üzerlerine kütlelerinin yirmi katı metanol ilave edilerek manyetik karıştırıcıda karıştırıldı ve elde edilen metanol ekstresi süzüldü. Daha sonra 45 °C'de evaporatör yardımıyla metanol uzaklaştırılarak çalışmada kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Semen Örneklerinin Toplanması

Başlangıçta ördekler iki hafta süreyle semen vermeye alıştırılmıştır. Sabahın erken saatlerinde gerçekleştirilen toplama işleminde abdominal masaj yöntemi (Burrows ve Quinn, 1937) kullanılmıştır. Toplama işlemi soğuk şokuna (+37.5 °C) ve kontaminasyonlara karşı gerekli tedbirler alınarak steril ağız geniş cam tüpler yardımıyla yapılmıştır. Bu işleme 4 hafta süresince (6 ördek, haftada iki kez, bir ördekten 8, toplam 48 örnek) devam edilmiştir. Toplanan semen örnekleri bireysel olarak değerlendirildikten sonra birleştirilerek miks yapılmıştır.

Tablo 1. Semen sulandırıcısı

Çalışmada Kullanılacak Standart Sulandırıcısının Kimyasal İçeriği	
<i>I.V. İnfüzyon Çözeltilisi</i>	1000 ml
<i>Sodyum laktat</i>	3 gr
<i>Sodyum klorür</i>	6 gr
<i>Potasyum klorür</i>	0.4 gr
<i>Kalsiyum klorür</i>	0.3 gr
<i>Glukoz (dekstroz monohidrat)</i>	50 gr

Semen Sulandırıcılarının Hazırlanması

Çalışmada Tablo 1'de kimyasal içeriği verilen semen sulandırıcısı ve %0.1'lik ve %0.2'lik bitki ekstraktı içeren sulandırıcılar kullanılmıştır. Sulandırıcılar laboratuvar şartlarında steril olarak hazırlanmış, ağız kapalı şişelerde +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

Çalışma Gruplarının Oluşturulması: Çalışma 5 grup olarak planlanmıştır.

1. Grup (**Kontrol, K**): 1 kısım semen + 3 kısım sulandırıcı
 2. Grup (**LI**): 1 kısım semen + 3 kısım %0.1 Li ekstraktı içeren semen sulandırıcısı
 3. Grup (**LII**): 1 kısım semen + 3 kısım %0.2 Li ekstraktı içeren semen sulandırıcısı
 4. Grup (**BI**): 1 kısım semen + 3 kısım %0.1 Bv ekstraktı içeren semen sulandırıcısı
 5. Grup (**BII**): 1 kısım semen + 3 kısım %0.2 Bv ekstraktı içeren semen sulandırıcısı
- Miks semen, beşe bölünerek ağız kapaklı steril dereceli plastik tüplere konuldu ve üzerlerine 1/3 oranında (1 kısım semen, 3 kısım sulandırıcı) sulandırıcı eklenmiştir. Bu işlem sırasında sulandırıcılar ile spermanın aynı ısıda (+37.5 °C) olmasına, sulandırıcının spermanın üzerine kademeli olarak eklenmesine dikkat edilmiştir.

Semenin Saklanması

Semen saklama işleminde ağız kapaklı steril dereceli plastik tüpler kullanılmıştır. Bu işlem sırasında semen örnekleri soğuk şokuna karşı başlangıçta +37.5% °C'de 30 dakika ve sonra +34/32 °C'de 30 dakika ekilibrasyona tabi tutulmuştur. Daha sonra +5 °C'de saklanmıştır (Taşkın ve ark., 2020). Saklama işlemi +5 °C'de soğutucu ortamında gerçekleştirildi. Bu işlem sırasında ani sıcaklık değişimlerine karşı örneklerin bulunduğu tüpler +5 °C'de benmari usulü sulu ortamda saklanmıştır.

Ördeklerden toplanan semen örnekleri makroskopik olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada miks semenin ve saklama koşullarında tutulan (+5 °C) semen örneklerinin spermatolojik özelliklerinin tespiti yapılmıştır.

Miks semenin spermatolojik özelliklerinin tespiti:

Çalışmada miks semen örneklerine yoğunluk analizi, pH analizi, motilite analizi (%) ve vitalite analizi (%) yapılarak miks semenin spermatolojik özelliklerinin tespiti edilmiştir.

Saklama koşullarında tutulan (+5 °C) semen örneklerinin spermatolojik özelliklerinin tespiti:

Saklama koşullarında tutulan (+5 °C) semenlerden 6, 12, 24, 48 ve 72. saate alınan örneklerden % motilite ve % vitalite analizleri yapılmıştır.

Makroskopik Analizler:

Toplanan semenler sulandırma işlemine kadar +37.5 °C'lik ortamda muhafaza edildi. Birleştirmeden önce toplanan semenler ayrı ayrı olmak kaydıyla gözlemlendi dışkı, kan gibi kirleticilerle bulaşık olmamasına dikkat edilmiştir.

Sperm konsantrasyonu: Hemositometrik yöntem kullanılarak belirlendi ve 10^9 sp/ml olarak ifade edildi. Bu amaçla 0.01 ml sperma 5 ml Hayem solüsyonu ile 1/500 sulandırılarak Thoma lamına konuldu. Thoma lamı üzerinde bulunan iki sayım sahasından her birinden 5, toplamda 10 büyük karede sperm sayımı yapıldı. Bulunan değerden hemositometrik sayım denklemi yardımı ile yoğunluğu hesaplandı ve 10^9 sp/ml olarak ifade edilmiştir (Taşkın ve ark., 2022).

$$\text{Yoğunluk } (\mu\text{l}) = \frac{\text{Sayılan Spermatozoa Sayısı}}{\text{Büyük kare alanı} \times \text{Büyük kare yüksekliği} \times \text{Sulandırma oranı}}$$

pH: Miks semenin pH değeri (MColorpHast) pH 0-14 Universal indikator yardımıyla tespit edilerek sayısal değer olarak ifade edilmiştir (Taskin ve ark., 2020).

Motilite: Miks semenin daha iyi gözlemlenebilmesi için 1:1 oranında serum fizyolojik (SF) ile sulandırıldı. 5 μ l sulandırılmış semen alınarak +37.5 °C ısıtılmış lam üzerine konularak aynı ısıdaki lamel üzerine kapatılmıştır. Daha sonra hazırlanan preparat +37.5 °C ısıtılmış ısı tablasına (Type D, Leica Mats) konularak spermatozoaların hareketleri faz-kontrast mikroskop (Leica DM750mikroskopta) yardımıyla, 400 büyütmede incelenmiştir. Bu işlem her seferinde 3 değişik mikroskop sahasında iki gözlemci tarafından tekrarlanmıştır (Etches, 1996).

Vitalite: Spermalardaki ölü spermatozoa oranını belirlemek için %3'lük sodyum sitrat ile hazırlanmış, %2'lik eosin boyası kullanılmıştır. Lam üzerine konulan bir damla spermanın üzerine eosin boyası damlatılmış, karıştırıldıktan sonra froti çekilerek kurutulmuştur. Daha sonra 400 büyütmede 400 spermatozoa sayılarak değerlendirilmiş ve canlı spermatozoa oranı yüzde (%) olarak ifade edilmiştir. Preparatların değerlendirilmesinde baş kısmı kırmızı boya alan spermatozoalar ölü, baş kısmı boya almamış spermatozoalar canlı olarak değerlendirilmiştir (Watson, 1998).

İstatistiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 22 V[®] istatistik paket programı kullanılmıştır. Serum sulandırıcısına katılan bitki ekstraktlarının +5 °C'de kısa süreli saklanan ördek semeninin spermatozoa değerleri üzerine etkileri tek yönü varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir (Souza ve ark., 2017). Farklılıkların önemli olarak belirlendiği durumlarda, bu farklılığın hangi uygulama ya da uygulamalardan kaynaklandığının belirlenebilmesinde ise çoklu karşılaştırma testlerinden olan Duncan testi kullanılmıştır (Duggan ve ark., 2017). Çalışmada önemlilik düzeyi $P < 0.05$ seviyesinde belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Çalışmada yeşilbaş ördeklerin günlük ortalama ejakulat miktarı 0.67 ± 0.96 ml/ördek olarak tespit edildi. Ördeklerde günlük ejakulat miktarı ve semen kalitesi semen toplama sıklığından etkilenir. Bu yüzden semen toplama sıklığını haftada iki kez olarak sınırlandırmak gerekir (Tan, 1980; Ghonim ve ark., 2009). Ördeklerden toplanan spermalarının ince ve süt beyazı olması iyi semen kalitesine işaret eder. Fakat semenden önce veya sonra gelen lenf sıvısından, kan ve dışkı gibi bulaşanlardan spermalar olumsuz etkilenir (Fujihara ve Mishiyama, 1976; Lake, 1983). Ancuelo ve ark., (2021) yeşilbaş ördekler üzerinde yaptıkları çalışmada ejakulat miktarını ortalama 0.14 ± 0.09 ml olduğunu bildirmişlerdir. Ördekler üzerinde yapılmış farklı bir çalışmada ise ejakulat miktarı 1.15 ml olarak bildirilmiştir (Lambio ve ark., 1993). Bulduğumuz değer, Lambio ve ark. (1993) değere benzer, Ancuelo ve ark. (2021) buldukları değerden büyüktür. Ayrıca ördeklerde ejakulat miktarı üzerine beslenme ve yaş gibi faktörlerin etkili olduğu da bilinmektedir (Nahak ve ark., 2015; Zawadzka ve ark., 2015).

Miks semenin pH değerinin 7.36 ± 0.55 , yoğunluğunun $3.43 \pm 0.40 \times 10^9$ /ml, motilitesinin 70.00 ± 5.35 ve vitalitesinin 81.00 ± 7.78 olduğu tespit edildi (Tablo 2).

Tablo 2. Miks semenin spermatozoa özellikleri

Spermatozoa Özellikleri	
pH	7.36 ± 0.55
Yoğunluk (10^9 /ml)	3.43 ± 0.40
Motilite (%)	70.00 ± 5.35
Vitalite (%)	81.00 ± 7.78

Günlük olarak ördeklerden toplandıktan sonra birleştirilen miks semenin pH değeri 7.36 ± 0.55 olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Mossa (2006)'da ördekler üzerinde yaptıkları çalışmada pH değerini 7.10 olarak bildirmiştir. Çalışmada bulduğumuz değer ile bu değer benzerlik göstermektedir.

Çalışmada sperm konsantrasyonu $3.43 \pm 0.40 \times 10^9$ /ml olarak tespit edilmiştir. Surai ve Wishart. (1996) bu değeri $1.5-8,0 \times 10^9$ /ml olarak, Cheng ve ark., (2016) ise $1.12 \pm 0.13 \times 10^9$ olarak bildirilmiştir. Bulduğumuz değer, bu değerler ile benzerlik göstermektedir. Ayrıca yapılmış farklı bir çalışmada ise E vitamininin sperm konsantrasyonunu artırıcı etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Safaa ve ark., 2019)

Miks semenin motilite değeri 70.00 ± 5.35 olarak tespit edilmiştir. Kasai ve Izumo (2001)'de ördekler üzerinde yaptıkları çalışmada motilite değeri %61.1 ve Cyniac ve ark. (2013)'de yaptıkları çalışmada ise bu değeri %60.83 olarak bildirilmiştir.

Çalışmada vitalite değeri ise %81.00±7.78 olarak tespit edilmiştir. Cheng ve ark. (2016) yaptıkları çalışmada ördek semen vitalite değerinin %74.1 ± 5.62 olduğunun bildirmişlerdir. Bulduğumuz değer bu değerden yüksektir.

+5 °C’de in vitro ortamda saklanan gruplara ait semen örneklerinin zamana bağlı % vitalite değerleri Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3. Gruplara ait zamana bağlı % vitalite değer tablosu

	K	LI	LII	BI	BII
6. saat	60.50±0.70 ^b	76.50±4.94 ^a	62.00±1.41 ^b	72.52±0.78 ^a	64.00±1.41 ^b
12. saat	42.33±1.52 ^d	63.08±1.00 ^a	59.04±0.94 ^b	61.14±1.21 ^a	54.66±0.57 ^c
24. saat	40.62±0.53 ^c	54.06±0.84 ^a	52.00±1.41 ^a	55.00±2.82 ^a	46.50±3.53 ^b
48. saat	29.50±0.70 ^b	40.00±2.82 ^{ab}	45.50±7.77 ^a	47.00±7.07 ^a	37.50±4.94 ^{ab}
72. saat	13.00±1.41 ^c	32.50±0.70 ^b	34.50±0.70 ^b	39.90±2.96 ^a	17.50±2.12 ^c

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar P<0.05 düzeyinde önemsizdir.

*: **K** (Kontrol) (Ekstrakt bulunmayan grup), **LI** (%0.1 *L. iberica* ekstraktı içeren semen sulandırıcısı kullanılan grup), **LII** (%0.2 *L. iberica* ekstraktı içeren semen sulandırıcısı kullanılan grup), **BI** (%0.1 *B. vulgaris* ekstraktı içeren semen sulandırıcısı kullanılan grup) ve **BII** (%0.2 *B. vulgaris* ekstraktı içeren semen sulandırıcısı kullanılan grup).

Vitalite değerleri arasındaki farklar istatistiki olarak P<0.05 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. 72 saat sonunda gruplara ait vitalite değerleri sırasıyla BI’de %39.90±2.96, LII’de %34.50±0.70, LI’de %32.50±0.70, BII’de %17.50±2.12 ve kontrol grubunda ise %13.00±1.41 olarak tespit edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında ördek semenin kısa süreli saklanması işleminde antioksidan yapıların etkisinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ördek çalışmaları daha çok diyetle ilave antioksidanların semen kalitesine ve saklama koşulları üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalardır (Fouda ve ark., 2021; Safaa ve ark., 2019). Rosotto ve ark., (2012) yaptıkları çalışmada hindi spermasının kısa süreli ve dondurarak saklanması işleminde semen sulandırıcısına ilave edilen antioksidan özelliğe sahip likopenin sperm canlılığını koruduğunu bildirmişlerdir. Farklı bir çalışmada ise E vitaminin

semen canlılığına etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Long ve Kramer, 2003).

Benzer şekilde tavuk semenin kısa süreli saklanması işleminde semen sulandırıcısına ilave antioksidan olarak kullanılan glutatyonun (Masoudi ve ark., 2019), N-asetil-L-sisteinin (Partyka ve ark., 2015), katalazın (Amini ve ark., 2015) ve L-karnitinin (Fattah ve ark., 2017) vitalite değerini artırdığı bildirilmiştir. BI uygulama grubunda bulduğumuz olumlu sonuç tavuk ve hindiler üzerindeki çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Bu olumlu sonucun ortaya çıkmasında yüksek antioksidan potansiyeline sahip *B. vulgaris* bitki ekstraktının saklama koşullarında zamana bağlı oluşan olumsuzluklara karşı spermatozoaları koruyucu özellik göstermiş olabileceği kanaati oluşmuştur.

Çalışmada +5 °C’de in vitro ortamda saklanan ördek semeninin zamana bağlı motilite değerleri tespit edilmiştir (Tablo 4)

Tablo 4. Gruplara ait zamana bağlı % motilite değer tablosu

	K	LI	LII	BI	BII
6. saat	56.00±3.00 ^{bc}	61.33±4.61 ^a	55.40±1.63 ^{bc}	60.47±2.25 ^{ab}	53.00±1.00 ^c
12. saat	35.50±0.70 ^d	53.60±0.56 ^a	52.26±0.36 ^b	52.55±0.77 ^{ab}	47.65±0.91 ^c
24. saat	32.50±0.70 ^c	44.06±2.74 ^{ab}	38.56±3.45 ^b	46.50±2.12 ^a	38.50±0.71 ^b
48. saat	30.60±0.56 ^c	37.06±1.49 ^b	34.56±0.62 ^b	44.68±0.45 ^a	36.56±2.03 ^b
72. saat	9.62±0.53 ^d	23.00±2.82 ^c	29.50±0.70 ^b	38.26±1.78 ^a	12.00±1.41 ^d

*: Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar P<0.05 düzeyinde önemsizdir

*: **K** (Kontrol) (Ekstrakt bulunmayan grup), **LI** (%0.1 *L. iberica* ekstraktı içeren semen sulandırıcısı kullanılan grup), **LII** (%0.2 *L. iberica* ekstraktı içeren semen sulandırıcısı kullanılan grup), **BI** (%0.1 *B. vulgaris* ekstraktı içeren semen sulandırıcısı kullanılan grup) ve **BII** (%0.2 *B. vulgaris* ekstraktı içeren semen sulandırıcısı kullanılan grup)

Çalışmada gruplar arasındaki zamana bağlı % motilite değer farklılıkları istatistiki olarak P<0.05

düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. 72 saat sonunda gruplara ait en yüksek motilite değeri %38.26 ±1.78 olarak BI de ve en düşük değer ise

%9.62±0.53 olarak kontrol grubunda tespit edilmiştir.

Tavuklar üzerinde yapılmış bir çalışmada semen sulandırıcısına E vitamini katılmasının +4 °C'de 24 saat saklanan tavuk semeninde sperm motilite değerini iyileştirdiği tespit edilmiştir (Blesbois ve ark., 1993). Benzer şekilde Partyka ve ark., (2015) tavuklar üzerindeki çalışmalarında ise +5 °C'de 48 saat saklanan tavuk semenleri üzerine N-asetil, sistein ve katalazin motilite değerini olumlu yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Ayrıca büyük orman tavukları (*Tetrao urogallus* L.) üzerinde yapılmış bir çalışmada ise semenin kısa süreli (4 °C'de 24 saat) saklanma işleminde motilite değerine selenyum ve E vitaminin olumlu etkisinin olduğu bildirilmiştir (Kowalczyk ve ark., 2017). 72 saat sonra bulduğumuz sonuç ile bu sonuçlar benzerlik göstermektedir. Her ne kadar en yüksek motilite değerinin BI uygulama grubunda tespit edilmiş ise de diğer uygulama gruplarındaki motilite değerleri kontrol grubunkinden yüksek bulunmuştur. Bu durum bitki ekstraktlarındaki antioksidan yapıların koruyucu özellik gösterdiği şeklinde açıklanabilir. Ayrıca ekstrakt uygulanan gruplar arasındaki farklılıkların ise bitki türü ve konsantrasyon farkından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç

Semenin in vitro koşullarda saklanması esnasında antioksidan özellikli bitki ekstraktlarının kullanılmasındaki amaç işlem sırasında oksidatif hasara ve strese karşı korunmasız olan spermi korumaktır. Çalışmada yeşilbaş ördek semeninin +5 °C'de in vitro saklanması üzerine antioksidan potansiyele sahip doğal bitki ekstraktlarının etkisi incelenmiştir. Ördek semeninin +5 °C'de kısa süreli saklama işleminde semen sulandırıcısına ilave edilen %0.1 ve %0.2 oranında dadaş hanımeli (*Lonicera iberica* Bieb.) ve %0.1 ve %0.2 oranında kızamik (*Berberis vulgaris* L.) meyve ekstraktlarının, kontrol grubuna göre sperm motilite ve vitalite değerlerini olumlu yönde etkilediği ve gruplar arasında en yüksek motilite ve vitalite değerinin ise %0.1 *B. vulgaris* ekstraktı kullanılan BI grubunda olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak ördek semen sulandırıcısına %0.1 *B. vulgaris* ekstraktı ilavesinin avantajlı olduğu, bu konuda yeni ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulduğu söylenebilir.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

Kaynaklar

- Akpınar, G.Ç., Alaşahan, S.S., Canoğulları, D. 2017. Halk elinde yetiştirilen Pekin ördeklerinde matematiksel formüller ile yumurta kalite özelliklerinin belirlenmesi. Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji dergisi. 5(12): 1470-1475.
- Amini, M.R., Kohram, H., Zare-Shahaneh, A., Zhandi, M., Sharideh, H., Nabi, M.M. 2015. The effects of different levels of catalase and superoxide dismutase in modified Beltsville extender on rooster post-thawed sperm quality. Cryobiology, 70: 226-232.
- Ancuelo, A.E., Landicho, M.M., Dichoso, G.A., Sangel, P.P. 2021. Superoxide Dismutase (SOD) Activity in Cryopreserved Semen of Itik Pinas-Khaki (*Anas platyrhynchos* L.). Tropical Animal Science Journal, 44(2): 138-145.
- Blesbois, E. 2003. Semen storage in turkeys: current status and future practice. In Fifth international symposium on turkey reproduction. Raleigh, USA. 96–100.
- Blesbois, E., Grasseau, I., Blum, J.C. 1993. Effects of vitamin E on fowl semen storage at 4 °C. Theriogenology, 39: 771-779.
- Burrows, W.H., Ouinn, J.P. 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and the turkey. Poultry Science, 16: 19-24.
- Cheng, M.C., Chiang, H.I., Liao, J.W., Hung, C.M., Tsai, M.Y., Chen, Y.H., Ju, J.C., Cheng, M.P., Tso, K.H., Fan, Y.K. 2016. Nonylphenol reduces sperm viability and fertility of mature male breeders in Brown Tsaiya ducks (*Anas platyrhynchos*). Animal Reproduction Science, 174: 114-122.
- Cyriac, S., Joseph, L., Peethambaran, P.A., Narayanankutty, K., Karthiayini K. 2013. Semen quality characteristics of White Pekin, Kuttanad (*Anas platyrhynchos domesticus*) and Muscovy (*Cairina moschata momelanotus*) drakes. Indian J. Anim. Sci, 83: 595-599.
- Donoghue, A.M., Wishart, G.J. 2000. Storage of poultry semen. Anim. Reprod. Sci. 62: 213-232.
- Duggan MR, Lee-Soety JY and Anderson MJ. Personality types in Budgerigars, *Melopsittacus undulatus*. Behav Processes. 2017; 138:34-40.
- Eminağaoğlu, Ö., Yüksel, E. Aksu, G. 2014. Türkiye'nin Doğal Egzotik Ağaç ve Çalıları I, Orman Genel Müdürlüğü Yayınları, 422-431.

- Ergün F. 2021. *Lonicera iberica* M. Bieb.: Investigation antioxidant activity and bioactive chemicals. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*. 9(6): 1124-1128.
- Etches, R.J. 1996. Artificial insemination. In: *Reprod poul.* Cambridge. Wallingford: CAB International. 234-262.
- Fattah, A., Sharafi, M., Masoudi, R., Shahverdi, A., Esmaeili, V. 2017. L-carnitine is a survival factor for chilled storage of rooster semen for a long time. *Cryobiology*, 74: 13-18.
- Fouda, S.F., Khattab, A.A., El Basuini, M.F., El-Ratel. I.T. 2021. Impacts of different antioxidants sources on semen quality and sperm fertilizing ability of Muscovy ducks under high ambient temperature. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*, 00: 1-12.
- Fujihara N., Mishiyama H. 1976. Studies on the accessory reproductive organs in the drake. 5. Effects of the fluid from the ejaculatory groove on the spermatozoa of the drake. *Poult Sci*, 55: 2415-2417.
- Ghonim, A.I.A., Awad, A.L., El-Sawy, M.A., Fatouh, M.H., Zenat, A.I. 2009. Effect of frequency of semen collection, dilution rate and insemination dose on semen characteristics and fertility of Domyati ducks. *Egypt. Poult. Sci. J*, 29: 1023-1045.
- Gundogdu, M. 2013. Determination of antioxidant capacities and biochemical compounds of *Berberis vulgaris* L. Fruits. *Advances in Environmental Biology*, 7: 344-348.
- Kasai, K., Izumo, A. 2001. Efficiency of artificial vagina method in semen collection from Osaka Drakes. *J. App. Poult. Res.* 10: 206-210.
- Khan, M.A., Ali, S., Yang, H., Kamboh, A.A., Ahmad, Z., Tume, R.K. et al. 2019. Improvement of color, texture and food safety of ready-to-eat high pressure-heat treated duck breast. *Food Chemistry*, 277: 646-654.
- Kowalczyk, A.M., Klećkowska-Nawrot, J., Łukaszewicz, E.T. 2017. Effect of selenium and vitamin E addition to the extender on liquid stored capercaillie (*Tetrao urogallus*) semen quality. *Reprod. Dom. Anim.*, 52: 603-609.
- Lake, P. E. 1983. The male in reproduction. In: *Physiology and Biochemistry of the domestic fowl*. Ed: B. K. Freeman. 5, 1-61.
- Lambio, A.L., Avante, D.C., Capuno, M.G., Frio, J.L. 1993. Semen characteristics of mallard (*Anas platyrhynchos*) and muscovy (*Cairina moschata*) ducks. *Philippine Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 19(2): 81-86.
- Long, J.A., Kramer, M. 2003. Effect of vitamin E on lipid peroxidation and fertility after artificial insemination with liquid-stored turkey semen. *Poult. Sci*, 82: 1802-1807.
- Masoudi, R., Sharafi, M., Shahneh, A.Z., Khodaei-Motlagh, M. 2019. Effects of reduced glutathione on the quality of rooster sperm during cryopreservation. *Theriogenology*. 128: 149-155.
- Mossa, R.K. 2006. Characterization of Iraqi local drake ejaculate and effect of frequency of collection on sperm quality. *Bas. J. Vet. Res*, 5: 146-152.
- Nahak, A.K., Giri, S.C., Mohanty, D.N., Mishra, P.C., Dash, S.K. 2015. Effect of frequency of collection on seminal characteristics of White Pekin duck. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 4(1): 70-73.
- Partyka, A., Nizański, W., Bratkowska, M., Maślikowski, P. 2015. Effects of N-acetyl-L-cysteine and catalase on the viability and motility of chicken sperm during liquid storage. *Reprod. Biol.*, 15: 126-129.
- Rosato, M.P., Centoducati, G., Santacroce, M.P., Iaffaldano, N. 2012. Effects of lycopene on in vitro quality and lipid peroxidation in refrigerated and cryopreserved turkey spermatozoa. *Br. Poult. Sci.* 53: 545-552.
- Safaa, A.M., Elsyed I.E., Hassan, A., Hassan, A.M. 2019. Effect of vitamin e-selenium supplementation on some semen quality traits of muscovy drake. *Arab Univ. J. Agric. Sci.*, 27(2): 1627-1636.
- Sarkar, P.K. 2020. Motility, viability and fertilizing ability of avian sperm stored under in vitro condition. *Reviews in Agricultural Science*, 8: 15-27, 2020.
- Souza, J.M., Montalvão, M.F., Silva, A.R., Lima Rodrigues, A.S., Malafaia, G. 2017. A pioneering study on cytotoxicity in Australian parakeets (*Melopsittacus undulates*) exposed to tannery effluent. *Chemosphere*, 175: 521-533.
- Surai, P.F., Wishart, G.J. 1996. Poultry artificial insemination technology in the countries of the former USSR. *World Poult. Sci. J.*, 52(1): 27-43.
- Surai, P.F., Brillard, J.P., Speake, B.K., Blesbois, E., Seigneurin, F., Sparks, N.H. 2000. Phospholipid fatty acid composition, vitamin E content and susceptibility to lipid peroxidation of duck spermatozoa. *Theriogenology*, 53: 1025–1039.

- Tan, N.S., 1980. The frequency of collection and semen production in *Muscovy drakes*. Br. Poult. Sci. 21: 265-272
- Taskin, A., Ergun, F., Karadavut, U., Ergun, D. 2022. Effect of different extenders on sperm motility and vitality in goose semen cryopreservation. Brazilian Journal of Poultry Science, 24.
- Taskin, A., Ergün, F., Karadavut, U., Ergün, D. 2020. Effects of extenders and cryoprotectants on cryopreservation of duck semen. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology. 8(9): 1965-1970.
- Taşkın A., Ergun, F., Karadavut, U., Ergun, D. 2020. In vitro Storage of Peking Duck Semen in Different Diluents at + 5 °C. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi 7(4): 1018–1025.
- Watson, P. 1998. Techniques for semen evaluation, semen storage, and fertility determination. M.R. Baskt, H.C. Cecil (Eds.). Cryobiology, 36(1): 73-74.
- Yata, V.K. 2022. Semen Extenders for Preservation of Sorted Semen. Sperm Sexing and its Role in Livestock Production, 83-99.
- Zaniboni, L., Cerolini, S. 2009. Liquid storage of turkey semen: Changes in quality parameters, lipid composition and susceptibility to induced in vitro peroxidation in control, n-3 fatty acids and alpha tocopherol rich spermatozoa. Anim. Reprod. Sci., 112: 51-65.
- Zawadzka, J., Łukaszewicz, E., Kowalczyk, A. 2015. Comparative semen analysis of two Polish duck strains from a conservation programme. Europ.Poult.Sci, 79: 1-9.