

Koyunlarda Plazma Vitamin C ve Seruloplazmin Düzeyleriyle Eksojen Vitamin C Uygulamalarının Döl Verimi Üzerine Etkileri*

Seyfullah HALİLOĞLU, Behiç SERPEK
Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Konya- TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 22.06.1999

Özet : Bu çalışmada Merinos ırkı koyunlarda vitamin C'nin progesteron ve östradiol 17 β sentezi ile döl verimine etkileri araştırıldı.

Araştırmada plazma vitamin C düzeyi 30 adet düşük, 30 adet yüksek olmak üzere 60 adet 2-7 yaşlı koyun kullanıldı. Plazma vitamin C düzeyi yüksek ve düşük gruplar eşit sayıda koyun içeren 2'şer alt gruba ayrıldılar ve düşük gruplar 1, 2, yüksek gruplar 3 ve 4. grup olarak isimlendirildiler. Oluşturulan gruplardan birisi kontrol grubu olarak kullanılırken (2. ve 4. grup) diğer gruplarda (1. ve 3. grup) yer alan koyunlara haftada 2 kez 500 mg vitamin C kas içi olarak enjekte edildi.

Plazma vitamin C ve seruloplazmin analizleri spektrofotometrik metotlarla, plazma östradiol 17 β ve progesteron analizleri ise mikrotitrasyon enzim immunoassay (EIA) yöntemi ile yürütüldü.

Çalışmada plazma vitamin C düzeylerinin tüm gruplarda seksüel sikluslar sırasında düşük olmasına karşın, gebeliğin oluşumu ile yükseldiği gözlenirken, plazma seruloplazmin düzeylerinde düzenli bir değişim gözlenmemiştir. Plazma vitamin C düzeyleri düşük olan gruplarda özellikle östradiol 17 β düzeylerinin düşük, yüksek olan gruplarda yüksek bulunması steroid hormon sentezinde vitamin C'nin öneminin göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Plazma vitamin C düzeyleriyle annenin ve yavrunun canlı ağırlıkları arasında pozitif korelasyonlar ve ikiz gebelikte plazma vitamin C ve progesteron düzeylerinin yükseldiği gözlenmiştir.

Sonuç olarak; Vitamin C'nin hem döl verimini, hem de anne ve kuzunun canlı ağırlık kazancını olumlu yönde etkilediği ve eksojen vitamin C uygulamasının yararlı olacağı kanısına varılmıştır.

Anahtar Sözcükler: Vitamin C, seruloplazmin, progesteron, östradiol 17 β , döl verimi, koyun

The Effects of Plasma Vitamin C and Ceruloplasmin Levels and Exogen Vitamin C Supplementation on Reproduction in Sheep

Abstract : The effects of vitamin C on progesterone and oestradiol 17 β synthesis, and fertility rate were studied in Merino sheep.

A total of 60 sheep, aged between 2 and 7 years, of which 30 had low, and the other 30 had high plasma vitamin C levels were used. Each low and high vitamin C group was divided into 2 subgroups. Each subgroup had equal numbers of sheep. Subgroups 2 and 4 served as controls in the low and high vitamin C groups, respectively. 500 mg of vitamin C was injected intramuscularly into the subgroups 1 and 3 in the low and high vitamin C level groups, respectively.

Plasma vitamin C and ceruloplasmin levels were determined using spectrophotometric methods. Plasma progesterone and oestradiol 17 β levels were determined using the microtitration enzyme immunoassay technique.

Although vitamin C levels were low during the sexual cycles in all groups, there was an increase with the start of pregnancy. On the other hand, the changes in the plasma ceruloplasmin levels were irregular. The low and high oestradiol 17 β levels of the low and high vitamin C groups showed the importance of vitamin C in steroid hormone synthesis. There was a positive correlation between ascorbic acid levels and body weight of the mother sheep and new-born. The vitamin C and progesterone increases were observed in the sheep pregnant with twins.

It was concluded that exogen vitamin C increases the fertility rate along with body weight of pregnant sheep and new-born.

Key Words: Vitamin C, ceruloplasmin, progesterone, oestradiol 17 β , reproduction, sheep

* "Vitamin C'nin Koyunlarda Reprodüksiyon Üzerine Etkileri" isimli Doktora Tezinden Özetlenmiştir.

Giriş

Mevsimsel östrus siklusu gösteren koyunlar, günlerin kıalmaya başladığı güz mevsimi başlangıcında seksüel siklusun harekete geçtiği hayvanlardır. Bu dönemde bir yandan kaliteli ot bulunamaması, diğer yandan seksüel sikluslarla steroid hormon üretiminin başlaması ve stresin artmasına bağlı olarak hayvanların bazı vitaminlere olan gereksinimlerinin yükselmesine yol açar (1).

Ruminantlar, karaciğerde sentezin yeterli olmadığı durumlarda oral yolla alınan C vitamininin rumenin alkali pH'sında mikrofloranın da etkisiyle parçalanmasından dolayı vitamin C noksanlıklarına daha duyarlıdır (2). Hayvan türleri arasında askorbik asit sentez düzeyinde büyük farklılıklar görülebileceği gibi (3), karaciğerin sentez kapasitesine bağlı olarak hayvanlar arası bireysel farklılıkların da olduğu bildirilmektedir (4).

Adrenal bezlerde ve gonadlarda steroidlerin sentezinde regülatör olarak rol oynayan askorbik asit, sıgır adrenal mikrozomlarında elektron transport sistemi üzerine etkilidir ve ACTH tarafından adrenal bezlerin stimülasyonunda askorbat konsantrasyonlarında görülen düşme steroidogenez için vitamin C'nin gerekli olduğunu ortaya koymaktadır (5). Dabrowski ve ark (6) alabalıklara farklı dozlarda askorbik asit verilmesinin plazma testosteron düzeyini yükselttiğini belirlemişler ve alabalıklarda askorbik asitin steroid üretimi üzerine etkili olabileceği sonucuna varmışlardır.

Koyunlarda yapılan çalışmalarda askorbik asit içeriğinin Corpus luteum (CL)'un gelişimi döneminde yüksek seyrettiği, CL'un regresyonu ile düşmeye başladığı ve 15. siklus gününde tekrar gerilediği saptanmıştır (1). Endo ve ark (7) ratlarda luteolizisde askorbik asitin hızlı ve sürekli bir kaybını askorbik asitin kollagen biyosentezinde kullanılmasından ileri gelebileceğini öne sürmüşler, Luck ve Zhao (8) da sıgırlarda genel olarak luteal fazın tüm dönemlerinde vitamin C düzeylerinin yüksek bulunmasına karşın, luteal fazın ortalarında (siklusun 11-17. günleri) ulaşılan en yüksek düzeylerin, CL'un regresyonuyla birlikte düşmeye başladığını, doku büyümesi ve askorbik asit konsantrasyonları arasında çok sıkı bir ilişkinin bulunduğunu belirlemişlerdir.

Başpınar ve Serpek (9) sıgırlarda plazma askorbik asit düzeylerinin seksüel siklus günlerine bağlı olarak değiştiğini ($p < 0,01$), siklusun başlangıcından itibaren yükselen düzeylerin 12. günden sonra düşmeye başladığını ve 18. günde görülen en düşük

konsantrasyonun daha sonra tekrar yükselmeye başladığını saptamışlar ve östrus sırasında saptanan yüksek plazma vitamin C düzeylerinin bu fazda oluşan stres'ten kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Keza güvercinlerde yumurtlama dönemlerinde kan ve doku vitamin C düzeylerinde gözlenen düşmelerin bu vitaminin steroidogenez'de kullanıldığının kanıtı olduğu bildirilmiş (10) ve aynı şekilde balıklarda da vitamin C'nin büyüme ve oogenezis ile ilişkisi belirlenmiştir (6,11).

Vitamin C gereksinimlerini kendi vücutlarındaki biyosentezle karşılayan sıgırlarda gebelikle birlikte vitamin C ihtiyacında görülen yükselmenin büyük ölçüde fütüsteki bağ doku üretiminin artmasından kaynaklandığı ve gebeliğin ilerlemesiyle birlikte gereksinimin de yükseldiği bildirilmektedir (12).

Domuzlarda maksimum canlı ağırlık artışı için eksojen vitamin C uygulamalarına gereksinim duyulduğu (13), yeni doğan domuzlarda göbek kordonu kanamalarının önlenmesi ve süttten kesilme dönemine kadar maksimum canlı ağırlığa ulaşılabilmesi için eksojen vitamin C uygulamalarının yararlı olduğu belirlenmiştir (14).

Osaki ve ark (15)'nin seruloplazminin askorbat oksidaz aktivitesine sahip olduğunu belirlemesiyle birlikte askorbik asitle seruloplazmin arasındaki ilişkilerin incelendiği araştırmalar hız kazanmıştır. İnsanlarda ve ratlarda diyete askorbik asit ilavesiyle serum seruloplazmin aktivitesinin önemli derecede düştüğü bildirilmektedir (16). Askorbik asitin insanlarda seruloplazminin oksidaz aktivitesini düşürdüğünün ancak intestinal Cu absorpsiyonunu etkilemediğinin (17) bildirilmesine karşın, Pekiner ve Nebioğlu (18) askorbik asitin kobaylarda Cu metabolizması üzerine antogonistik etkiye sahip olduğunu bildirmekteirler.

Seruloplazmin'in bir akut faz proteini oluşu, plazma düzeylerinin bazı hastalıkların prognozunda kullanılabileceğini ve reproduksiyonda da akut enfeksiyonlar sonucu meydana gelebilen abort ve embriyonik ölümlerde değerlendirilebilecek bir kriter olabileceğini akla getirmektedir. Başpınar (19) koyunlarda gebelik ve postpartum ilk ayda seruloplazmin düzeylerinin yüksek seyrettiğini, aynı şekilde Burrows ve Pekala (20) da insanlarda gebeliğin başlamasıyla seruloplazmin düzeylerinin yükseldiğini, gebeliğin 22. haftasında pik yapan düzeylerin daha sonra hafifçe düşme göstererek doğuma yakın dönemde tekrar yükseldiğini bildirmekteirler.

Bu çalışmada, Merinos ırkı koyunlarda vitamin C'nin, seksüel siklusların oluşumunu başlatan steroid hormonların sentezine ve siklusun oluşumu sırasında döl verimini olumsuz yönde etkileyen stresin önlenmesiyle döl veriminin iyileştirilmesine etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Metot

Çalışma, Konya Merkez Hayvancılık Araştırma Enstitüsü'nde yetiştirilen 2-7 yaş arası Merinos (Alman Siyah Baş X Merinos ASBXM; Hampshire X Merinos HXM) ırkı damızlık koyunlarda gerçekleştirildi.

Araştırmaya başlamadan önce sağlıklı 100 koyundan birer hafta ara ile iki kez kan örnekleri alınarak plazmaları ayırdı ve vitamin C analizleri yapıldı. Vitamin C düzeylerinin ortalamaları alınarak ($6,44 \pm 0,13 \mu\text{g/ml}$), $x \pm 2Sx$ 'in altındaki ve üstündeki koyunlardan vitamin C düzeyleri düşük ve yüksek olan 30'ar koyun seçilerek iki grup oluşturuldu. Daha sonra bu gruplar ağırlıkları ve ırkları dengeli olacak şekilde aşağıda verilen, her biri 15'er koyun kapsayan 4 alt gruba ayrıldı.

1. Grup: Plazma vitamin C düzeyi düşük + kas içi vitamin C enjeksiyonu
2. Grup: Plazma vitamin C düzeyi düşük
3. Grup: Plazma vitamin C düzeyi yüksek + kas içi vitamin C enjeksiyonu
4. Grup: Plazma vitamin C düzeyi yüksek

Yukarıdaki şekilde oluşturulan gruplarda hormon düzeylerinin etkilenmemesi açısından seksüel siklus senkronizasyonu yapılmadı ve tedavi gruplarına (grup 1 ve 3) kan örneği alındığı sürece kas içi olarak haftada iki kez 500 mg dozda vitamin C enjeksiyonları (Injacom-C - Roche) yapıldı. Vitamin C'nin fertilitenin iyileştirilmesi amacıyla kullanımı oldukça yenidir. Ancak sığırlarda 6 hafta süre ile haftada 1 ya da 2 kez 2 g kullanıldığı bildirilmektedir (21) ve koyunlarda böyle bir uygulamaya rastlanmadığı için bu şekilde bir doz ayarlamasına gidilmiştir.

Her gün üç adet arama koçu ile koyunların östrus tarihleri belirlendi ve koyunlar ikinci östruslarında bire-bir tohumlama yöntemi ile tohumlandılar. Tohumlamaların ardından bir siklus boyunca sürüye tekrar arama koçu katılarak gebe kalmayan hayvanlar belirlendi ve tekrar tohumlamaları yapıldı. Koyunlardan deneme başlangıcından gebelikleri belirleninceye kadar haftada 3 kez, daha sonra embriyonal döneminin sonuna kadar

(yaklaşık 40 gün) haftada iki kez kan örnekleri alındı ve kazanılan plazmalar 2'şer pool halinde plazma saklama tüplerine alındı. Plazma pool'ünün birinde aynı gün plazma vitamin C ve seruloplazmin analizleri yapılırken, diğer pool derin dondurucuda (-20°C 'de) saklanarak plazma östradiol 17- β ve plazma progesteron analizlerinde kullanıldı.

Plazma vitamin C analizleri kolorimetrik (22), plazma seruloplazmin analizleri PPD (p-fenilendiamin diklorid)'in kullanıldığı spektrofotometrik (23) metotlarla, plazma östradiol 17- β ve plazma progesteron analizleri ise laboratuvarlarımızda geliştirilen mikrotitrasyon enzim immunoassay (EIA) yöntemi ile yürütüldü. İncelenen parametreler arası farklılıklar istatistiki yöntemlerle Windows 95 paket programına uyumlu SPSS 6.0 istatistik programı uygulanarak belirlendi.

Koyunların ilk östrusları belirleninceye kadar alınan kan örnekleri 1. dönem (siklus öncesi), ilk östrustan tohumlama gününe (ikinci östrus) kadar alınan kan örnekleri 2. dönem (seksüel siklus) ve gebelik embriyonal dönemi süresince alınan kan örnekleri 3. dönem olarak değerlendirilmeye alındı. Ayrıca denemeye alınan koyunlarda doğum sonuçları alınarak da tek ve ikiz doğum, embriyonik ölüm, abort ve gebe kalmayan koyunlar olmak üzere sınıflandırılmışlardır.

Denemeye alınan 2. Grup koyunlardan biri doğuma yaklaşık 15 gün kala ölmüş bu nedenle doğumla ilgili bilgileri verilememiştir. Ayrıca 4. Grup koyunlardan birinin 2 siklus süresince her gün arama koçu ile yapılan taramalarında fertilité sorunu olduğu saptanmış ve bu koyun araştırmadan çıkarılmıştır.

Bulgular

Çalışmada plazma vitamin C düzeyi düşük gruplarda (Grup 1 ve 2) toplam 5 embriyonik ölüm ve 1 ikiz doğum (ölü) gözlenirken, yüksek gruplarda (Grup 3 ve 4) sadece 1 embriyonik ölüm ve 7 ikiz doğum gözlenmiştir. Araştırmada incelenen parametrelerin ortalamaları ve bu parametrelerle döl verimi arasındaki ilişkiler tablolar halinde verilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Hayvanlarda dışarıdan vitamin C verilmesinin plazma vitamin C düzeylerini etkilemesinin güçlüğü bildirilmesine

Tablo 1. Deneme gruplarında vitamin C, seruloplazmin, progesteron ve östradiol 17 β .

Gruplar	Vitamin C (μ /ml)	Seruloplazmin (mg/dl)	Progesteron (ng/ml)	Östradiol,17- β (pg/ml)
1. grup (düş.+vitc)	7,13 \pm 0,08 b	15,12 \pm 0,13 a	1,26 \pm 0,05 b	19,30 \pm 1,33 bc
2. grup (düşük)	6,70 \pm 0,09 b	15,14 \pm 0,15 a	1,36 \pm 0,05 ab	17,05 \pm 1,02 c
3.grup (yüks+vitc)	7,96 \pm 0,08 a	15,13 \pm 0,18 a	1,51 \pm 0,06 a	25,25 \pm 1,58 a
4. grup (yüksek)	7,91 \pm 0,09 ab	13,46 \pm 0,14 b	1,46 \pm 0,06 a	21,09 \pm 1,40 b
P	p<0,0001	p<0,0001	p<0,01	P<0,0001

Not : Aynı sütundaki farklı harfler birbirinden istatistiki açıdan farklıdır.

Tablo 2. Plazma vitamin C, seruloplazmin, progesteron ve Östradiol 17 β düzeylerinin gruplarda dönemlere göre değişimleri.

1. Grup	Vitamin C (μ /ml)	Seruloplazmin (mg/dl)	Progesteron (ng/ml)	Östradiol,17- β (pg/ml)
1.Dönem	6,99 \pm 0,19 b	15,11 \pm 0,26 ab	0,69 \pm 0,07 c	24,45 \pm 2,61 a
2.dönem	6,61 \pm 0,12 b	14,48 \pm 0,26 b	0,95 \pm 0,08 b	16,35 \pm 1,78 b
3.dönem	7,58 \pm 0,11 a	15,57 \pm 0,16 a	1,83 \pm 0,07 a	18,79 \pm 2,28 ab
p	p< 0,0001	p< 0,005	p< 0,0001	P< 0,05
2. Grup				
1.Dönem	6,55 \pm 0,19 b	14,69 \pm 0,29	0,65 \pm 0,06 c	22,78 \pm 2,04 a
2.dönem	6,10 \pm 0,15 b	15,13 \pm 0,32	1,13 \pm 0,10 b	17,25 \pm 1,70 b
3.dönem	7,19 \pm 0,13 a	15,38 \pm 0,18	1,86 \pm 0,07 a	11,97 \pm 1,40 c
p	p < 0,0001		p< 0,0001	p< 0,0005
3. Grup				
1.Dönem	7,59 \pm 0,18 b	15,09 \pm 0,41 a	0,83 \pm 0,07 c	40,36 \pm 4,22 a
2.dönem	7,72 \pm 0,14 b	14,11 \pm 0,35 b	1,32 \pm 0,10 b	19,20 \pm 1,52 b
3.dönem	8,33 \pm 0,12 a	15,86 \pm 0,21 a	2,00 \pm 0,07 a	20,78 \pm 2,18 b
p	p< 0,005	p< 0,001	p<0,0001	p<0,0001
4. Grup				
1.Dönem	7,48 \pm 0,13 b	12,95 \pm 0,29 b	0,85 \pm 0,07 b	30,92 \pm 2,91 a
2.dönem	7,40 \pm 0,16 b	12,23 \pm 0,30 b	1,06 \pm 0,09 b	15,95 \pm 1,79 b
3.dönem	8,45 \pm 0,13 a	14,48 \pm 0,16 a	2,00 \pm 0,08 a	17,96 \pm 2,24 b
p	p<0,0001	p<0,0001	p<0,0001	p<0,0001

Not : Aynı sütundaki farklı harfler birbirinden istatistiki açıdan farklıdır.

Tablo 3. Denemeye alınan tüm koyunlarda döl verimi ile plazma vitamin C, seruloplazmin, progesteron ve östradiol 17 β düzeyleri ($\bar{x} \pm Sx$) arasındaki ilişkiler.

	N	Vitamin C (μ g/ml)	Seruloplazmin (mg/dl)	Progesteron (ng/ml)	Östradiol,17- β (pg/ml)
Tekiz Doğum	38	7,50 \pm 0,05 ab	14,56 \pm 0,09 c	1,35 \pm 0,03 b	20,61 \pm 0,83 c
İkiz Doğum	8	7,69 \pm 0,14 a	14,60 \pm 0,25 bc	1,70 \pm 0,09 a	21,96 \pm 2,06 b
Embriy. Ölüm	6	6,71 \pm 0,16 c	15,45 \pm 0,27 a	1,37 \pm 0,08 b	13,25 \pm 1,14 d
Abort	5	7,26 \pm 0,14 bc	15,20 \pm 0,24 ab	1,36 \pm 0,08 b	15,42 \pm 1,60 d
Negatif	2	7,27 \pm 0,22 abc	15,44 \pm 0,37 ab	1,24 \pm 0,12 b	40,84 \pm 4,27 a
p		p< 0,0001	p< 0,001	p< 0,0005	p<0,0001

Not : Aynı sütundaki farklı harfler birbirinden istatistiki açıdan farklıdır.

Tablo 4. Deneme gruplarında döl verimi ile plazma vitamin C, seruloplazmin, progesteron ve östradiol 17 β düzeyleri arasındaki ilişkiler.

1. Grup	N	Vitamin C (μ g/ml)	Seruloplazmin (mg/dl)	Progesteron (ng/ml)	Östradiol,17- β (pg/ml)
Tekiz Doğum	11	7,35 \pm 0,09 a	14,81 \pm 0,14 b	1,20 \pm 0,06 ab	18,32 \pm 1,55 b
İkiz Doğum	-				
Embriy. Ölüm	2	6,44 \pm 0,18 b	16,94 \pm 0,35 a	1,45 \pm 0,15 ab	18,72 \pm 2,74 b
Abort	1	6,51 \pm 1,15 b	14,63 \pm 0,43 b	1,63 \pm 0,23 a	7,47 \pm 0,80 c
Negatif	1	6,71 \pm 1,31 b	15,44 \pm 0,49 b	1,15 \pm 0,19 b	40,83 \pm 4,24 a
p		p<0,0001	p<0,0001	p<0,1	p<0,0001
2. Grup					
Tekiz Doğum	9	7,09 \pm 0,10 a	14,62 \pm 0,14 c	1,36 \pm 0,07 b	16,86 \pm 1,20 b
İkiz Doğum	1	4,56 \pm 0,22 c	20,41 \pm 0,68 a	2,15 \pm 0,30 a	42,00 \pm 7,17 a
Embriy. Ölüm	3	6,16 \pm 0,23 b	15,67 \pm 0,38 b	1,22 \pm 0,10 b	9,34 \pm 0,82 c
Abort	1	6,79 \pm 0,23 a	14,28 \pm 0,33 c	1,19 \pm 0,13 b	22,07 \pm 3,43 b
Negatif	-				
p		p< 0,0001	p< 0,0001	p<0,001	p< 0,0001
3. Grup					
Tekiz Doğum	9	7,78 \pm 0,11 b	15,06 \pm 0,25 b	1,48 \pm 0,07	25,88 \pm 1,95 b
İkiz Doğum	2	8,20 \pm 0,25 ab	15,56 \pm 0,35 ab	1,77 \pm 0,19	38,73 \pm 5,58 a
Embriy. Ölüm	1	8,82 \pm 0,33 a	12,04 \pm 0,42 c	1,72 \pm 0,23	12,93 \pm 1,84 c
Abort	2	8,14 \pm 0,18 ab	16,38 \pm 0,41 a	1,38 \pm 0,12	17,19 \pm 2,47 bc
Negatif	1	7,90 \pm 0,32 ab	15,43 \pm 0,56 ab	1,33 \pm 0,17	
p		p<0,05	p<0,0001		p<0,0005
4. Grup					
Tekiz Doğum	9	7,81 \pm 0,11	13,64 \pm 0,17	1,39 \pm 0,06	24,25 \pm 2,14 a
İkiz Doğum	5	8,09 \pm 0,14	13,17 \pm 0,26	1,59 \pm 0,29	17,46 \pm 1,66 b
Embriy. Ölüm	-				
Abort	-				
Negatif	-				
p					p<0,05

Not : Aynı sütundaki farklı harfler birbirinden istatistiki açıdan farklıdır.

Tablo 5. Koyunlarda plazma askorbik asit (AA) seruloplazmin (SP), progesteron (PG) ve östradiol 17 β (ES) düzeylerinin 1., 2., 3. dönem ortalamaları ile ilk ve son canlı ağırlık (CA-1 ve CA-2), yaş ve kuzu doğum ağırlığı (KDA) arasındaki korelasyonlar.

	AA-1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2- AA-2	0,66**														
3- AA-3	0,68**	0,75**													
4- CA-1	0,38**	0,44**	0,39*												
5- CA-2	0,36**	0,43**	0,39*	0,85**											
6- ES-1	0,22	0,04	0,22	0,36*	0,23										
7- ES-2	-0,18	-0,14	-0,08	0,35*	0,21	0,78**									
8- ES-3	-0,04	-0,02	0,07	0,34*	0,27 ^X	0,69**	0,89**								
9- PG-1	0,22 ^X	0,05	-0,04	0,21	0,13	0,06	0,09	-0,10							
10-PG-2	0,10	0,02	-0,04	0,10	0,12	-0,15	-0,15	-0,04	0,40*						
11-PG-3	0,06	-0,04	-0,20	0,28 ^x	0,26 ^X	-0,07	0,01	-0,17	0,34**	0,30 ^X					
12- SP-1	-0,00	-0,31 ⁺	-0,29	-0,08	-0,09	0,13	0,11	-0,06	0,23	0,12	0,03				
13- SP-2	-0,38**	-0,36**	-0,47**	-0,30 ⁺	-0,24 ^X	-0,12	-0,02	-0,15	0,04	0,08	-0,03	0,60**			
14- SP-3	-0,28 ^X	-0,31 ⁺	-0,39 ⁺	-0,16	-0,23 ^X	-0,01	0,01	-0,02	0,12	0,20	0,04	0,57**	0,79**		
15-YAŞ	0,21	0,23 ^X	0,33**	0,65**	0,54**	0,30 ^X	0,37 ⁺	0,26 ^X	0,11	-0,19	0,13	-0,07	-0,12	-0,10	
16- KDA	0,24	0,29 ^X	0,26 ⁺	0,58**	0,62**	0,19	0,11	0,26	0,23	0,17	0,28 ^X	-0,04	-0,25 ^X	-0,07	0,21

Not : 1., 2. ve 3. dönemler sırasıyla siklus öncesi, siklus ve gebelik dönemlerini tanımlamaktadır.

karşın (24), deneme sonunda vitamin C uygulaması yapılan gruplarda (grup 1 ve 3) plazma askorbik asit konsantrasyonlarında istatistiki açıdan anlamlı olmamakla birlikte rakamsal olarak artışlar gözlenmiştir (Tablo 1). Ayrıca başlangıç ortalama askorbik asit düzeyinin ($6,44 \pm 0,13 \mu\text{g/ml}$) deneme sonunda tüm gruplarda yükseldiği gözlenmiş, bu yükselmenin koyunlara aşım sezonu öncesi uygulanan flushing'den kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Ortalama serum vitamin C düzeylerinin koyunlarda $9,1 \pm 0,2 \mu\text{g/ml}$, keçilerde $10,1 \pm 0,4 \mu\text{g/ml}$, sığırlarda $13,2 \pm 0,2 \mu\text{g/ml}$ (22), Merinos ve Akkaraman ırkı kuzularda sırasıyla $8,71, 7,78 \mu\text{g/ml}$ (25) bulunduğu bildirilmektedir. Başpınar (19) Merinos ırkı koyunlarda gebeliğin 1. ayındaki serum vitamin C düzeylerini $6,9 \pm 0,6 \mu\text{g/ml}$ olarak belirlemiş ve gebelik süresince ve postpartum ilk ayda vitamin C düzeylerinin anlamlı derecede ($p < 0,01$) dalgalanmalar gösterdiğini bildirmiştir. Bu araştırmada grup oluşturulmadan önce belirlenen $6,44 \pm 0,13 \mu\text{g/ml}$ 'lik ortalama askorbik asit düzeylerinin Başpınar (19)'ın aynı ırk koyunlar için bildirdiği gebelik dönemi birinci ay serum askorbik asit ortalamalarına yakın olduğu gözlenmiştir. Çalışmada ortalama vitamin C düzeyleri Çamaş ve Ergun (25)'un Merinos ırkı kuzular için bildirdikleri vitamin C düzeylerinden düşük bulunurken, Akkaraman ırkı kuzular için bildirilen düzeylerle uyumlu olduğu gözlenmiştir. Tüm gruplarda gebelik dönemi (birinci ay) vitamin C düzeylerinin yüksek olduğu, sadece yüksek grupların (3. ve 4) gebelik dönemleri vitamin C düzeylerinin Çamaş ve Ergun (25)'un Merinos ırkı kuzular için bildirdiği düzeylerle uyumlu olduğu gözlenmiştir. Ayrıca tüm gruplarda gebelik 1. ay vitamin C düzeylerinin aynı ırk koyunlarda Başpınar (19)'ın bildirdiği gebelik birinci ay vitamin C ortalamalarından yüksek olduğu bulunmuştur (Tablo 2).

Çalışmada elde edilen plazma seruloplazmin düzeyleri tüm gruplarda Evans ve Wiederanders (26)'ın koyunlar için genel olarak bildirdiği ($26,5 \text{ mg/dl}$) ve Serpek ve ark (27) ile Başpınar (19)'ın Merinos ırkı koyunlar için bildirdikleri (sırasıyla $19,3 \pm 0,67$ ve $16,11 \pm 1,22$) düzeylerden oldukça düşük bulunmasına karşın, Bildik ve ark (28)'nın fenotip olarak Akkaraman koyunlarına benzeyen Hamdani koyunları için bildirdikleri $12,68 \pm 0,87 \text{ mg/dl}$ 'lik düzeyden yüksektir. Serpek ve ark (27) ve Başpınar (19)'ın aynı işletmede ve aynı ırk koyunlarda bildirdikleri seruloplazmin düzeylerinden çok daha düşük

değerlerin elde edilmesinin toprağında Cu yetmezliğinin varlığı bilinen işletmede yetiştirilen yem maddelerinin kullanımından ileri geleceği düşünülmüştür.

Başpınar (19) koyunlarda gebeliğin ilk ayı ve postpartum ilk ayda seruloplazmin düzeylerinin yüksek seyrettiğini saptamış, bu çalışmada da seksüel siklus ve gebelik dönemleri arasında seruloplazmin düzeylerinde 2. grupta herhangi bir farklılık gözlenmezken, 1, 3 ve 4. gruplarda gebelik dönemi seruloplazmin düzeylerinin önemli derecede (sırasıyla $p < 0,005$, $p < 0,001$ ve $p < 0,0001$) yüksek olduğu gözlenmiş (Tablo 2) ve sonuçlar Başpınar (19)'ın bulgularıyla uyumlu bulunmuştur.

Denemeye alınan hayvanlarda yüksek ve düşük gruplar arasında plazma progesteron düzeylerinin farklı olduğu ($p < 0,01$) ve Pintauro ve Bergan (29) in vitro vitamin C uygulamasının kobaylarda progesteron düzeylerini düşürdüğünü bildirmesine karşın, istatistik açıdan önemli olmamakla birlikte plazma vitamin C düzeylerini yükselten eksojen vitamin C uygulamalarının plazma progesteron düzeylerini etkilemediğini gözlemişlerdir. McPhee ve Tiberghien (30) tohumlamanın 16-17. günlerinde yavru sayısı ve plazma progesteron konsantrasyonu arasında bir ilişki saptanamadığını bildirirlerken, Gadsby ve ark (31) koyunlarda gebeliğin 80. gününden sonra yavru sayısı ile plazma progesteron düzeyleri arasındaki ilişki olduğunu belirlemişlerdir. Bedford ve ark (32) koyunlarda aynı türün bireyleri arasında plazma progesteron düzeyleri arasındaki farklılığın nedenini yavruların kilosuna bağlamakta ve 4 kg'dan yüksek yavru ağırlığına sahip koyunlarda, Van de Wiel ve ark (33) da birden fazla yavru taşıyan hayvanlarda plazma progesteron düzeyinin yüksek olduğunu bildirmektedirler. Bu bilgiler ışığında plazma vitamin C düzeyleri yüksek gruplarda (3. ve 4. grup) görülen yüksek plazma progesteron düzeyinin, ikizlik ve doğum oranının bu gruplarda daha fazla görülmesinden kaynaklanabileceğini akla getirmektedir. Her ne kadar gebelik dönemi kan örnekleri sadece embriyonal dönemde alınmış olsa da, doğum sonuçlarıyla karşılaştırıldığında ikiz doğum yapan koyunlarda plazma progesteron düzeyleri daha yüksek bulunmuştur (Tablo 3). Ancak embriyonal dönemde plasental kaynaklı progesteron salınımının olmayışı bu olasılığı düşürmektedir ve özellikle vitamin C uygulaması yapılan grup (3) olmak üzere plazma vitamin C düzeyi yüksek gruplarda seksüel siklus boyunca plazma progesteron ortalamalarının daha yüksek

oluşu, artışın ikizlikten değil vitamin ile hormon arasındaki ilişkiden kaynaklanabileceği olasılığını güçlendirmektedir (Tablo 2).

Bu çalışmada kan örneklerinin alınma aralıkları çok sık olmadığından kısa sürede plazma östradiol 17 β piklerinin oluşumu yakalanamamıştır. Buna rağmen 3 ve 4. grupta deneme boyunca östradiol 17 β düzeylerinin 1. ve 2. gruplardan daha yüksek ($p<0,0001$) olduğu, eksojen vitamin C verilen gruplardan 3. grupta plazma östradiol 17 β düzeylerinin kontrol grubundan (4. grup) anlamlı derecede yükseldiği görülmüştür (Tablo 1). Bu bulgu östrojen konsantrasyonunun maksimuma ulaştığı östrusta plazma vitamin C konsantrasyonlarının yüksek bulunduğunu bildiren Başpınar ve Serpek (9)'in bulgularını desteklemektedir ve eksojen vitamin C uygulamalarının plazma östradiol düzeylerini yükseltmesi vitaminin seksüel steroidlerin biyosentezindeki önemini göstermektedir. Ayrıca çalışmada kullanılan tüm koyunlar ele alındığında, plazma vitamin C düzeyleriyle plazma östradiol 17 β ve plazma progesteron düzeyleri arasında da pozitif korrelasyonlar bulunması Chattopadhyay ve ark (12)'nin gebelikte yüksek plazma progesteron düzeylerini plazma vitamin C düzeylerinin yüksekliğinin izlediği bulgularıyla uyumludur ve seksüel steroid biyosentezinde vitamin C'nin önemini göstermektedir.

Greer ve ark (34) sezonal infertil domuzlarda vitamin C uygulamasının istatistik olarak bir anlam ifade etmese de çiftleşmedeki başarı yüzdesini artırdığını fakat doğum ve yavru üzerine herhangi bir etkisi olmadığını saptamışlardır. Bu çalışmada da ırk ve canlı ağırlıkları dengelenerek oluşturulan gruplarda 8 ikiz doğumun 7'sinin yüksek gruplarda gözleendiği düşük kontrol grubunda (2. grup) gerçekleşen bir ikiz doğumun da ölü doğum şeklinde gerçekleştiği görülmüştür. Hatta ikiz doğum yapan koyunların deneme süresince plazma askorbik asit düzeylerinin de abort ve embriyonik ölüm gerçekleşen koyunlara göre daha yüksek ($p< 0,0001$) olduğu saptanmıştır (Tablo 3). Ayrıca embriyonik ölüm ve abortun büyük bir kısmının düşük gruplarda gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu bulgular düşük askorbik asit düzeyine sahip hayvanlarda fetal embriyonik ölümlerin arttığı ve gebe kalma oranının düştüğünün bildirildiği Rivers ve Devine (24)'in ifadelerini doğrulamaktadır (Tablo 4).

Hayvanlarda herhangi bir enfeksiyon sonucu akut faz yanıtta akut faz proteinlerinin plazma düzeylerini aniden arttırdığı, bunlardan seruloplazminin % 50 oranında artışlar gösterdiği ve hastalığın sağıtımının tam olarak gerçekleşip

gerçekleşmediğinin belirlenmesinde de bu proteinlerin düzeylerinden yararlanılabileceği bildirilmektedir (35, 36). Bu bilgilere paralel olarak Serpek ve ark (37) ishali buzağılarda, Çetin ve ark (38) gastrointestinal nematodlarla enfekte köpeklerde plazma seruloplazmin düzeylerinin sağlıklılara göre daha yüksek olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmada tek ve ikiz doğum yapan koyunlara göre embriyonik ölüm görülen koyunların plazma seruloplazmin düzeylerindeki yükselmenin ($p<0,001$) (Tablo 3), herhangi bir metabolik bozukluğa bağlı olarak şekillenebileceğini ve embriyonik ölümün sebebi olabileceğini düşündürmektedir.

Denemeye alınan tüm koyunlarda incelenen parametrelerin arasındaki ilişkilerin incelenmesinde, hem seksüel siklus hem de gebelik dönemi askorbik asit düzeyleri ile seruloplazmin düzeyleri arasında (sırasıyla $p<0,005$ ve $p<0,001$) negatif korrelasyonlar belirlenmiş ve bu olgunun askorbat oksidaz aktivitesine sahip olan seruloplazminin askorbik asitle negatif bir korelasyon gösterdiğini bildiren çalışmalarla (15, 39) uyumlu olduğu görülmüştür (Tablo 5).

Yen ve Pond (13) domuzlarda maksimum canlı ağırlığa ulaşılabilmesi için eksojen vitamin C uygulamalarının zorunlu olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmada da benzer şekilde plazma vitamin C düzeyleriyle hem anne ($p< 0,001$) hem de kuzuların ($p<0,05$) canlı ağırlıkları arasında pozitif korelasyon bulunmuş ve vitamin C'nin canlı ağırlık artışını pozitif yönde etkilediği gözlenmiştir. Vitamin C düzeylerinin domuzlarda yaşla birlikte değiştiği ve yaşın artmasıyla birlikte düştüğü bildirilmektedir (40). Bu çalışmada seksüel sikluslar başlamadan önce plazma vitamin C düzeyleri ve yaş arasında bir ilişki bulunmamasına karşın, seksüel siklusların başlamasıyla birlikte ortaya çıkan ilişki gebelikte de devam etmektedir (Tablo 5). Aynı dönemlerde yaşla östradiol 17 β düzeyleri arasında gözlenen pozitif anlamlı korrelasyonun, koyunlarda ilk yaşlarda düşük olan döl veriminin yaşın ilerlemesiyle yükseldiği ve 4-5 yaşlarda en üst düzeye ulaştığına ilişkin bulgulara (41, 42) uyumlu olarak yaşın ilerlemesiyle birlikte ikizlik oranlarının yükselmesinden kaynaklanabileceğini akla getirmektedir. Koyunlarda gebelik dönemi vitamin C düzeyleri ile koyunların canlı ağırlığı arasındaki pozitif korrelasyon vitamin C'nin anaç hayvan yanısıra kuzunun doğum ağırlığı üzerindeki önemini de ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak koyunlarda bir yandan plazma vitamin C düzeyleri ile seksüel steroidlerden östradiol 17 β ve progesteron düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunması, diğer yandan eksojen vitamin C uygulamalarının seksüel steroidlerin düzeylerini istatistik açıdan önemli derecede

yükseltmesi, koyunlarda vitamin C'nin üremedeki önemini gösterdiğinden, döl veriminin iyileştirilmesi amacıyla üreme mevsiminde eksojen vitamin C uygulamalarının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Kolb, E.: Bedeutung der Ascorbinsäure (Vitamin C). In "Die Bedeutung der Vitamine für die Fortpflanzung" Leipzig, Roche, 43-55. 1997.
2. Itze, L.: Ascorbic Acid Metabolism in Ruminants. In "Ascorbic Acid in Domestic Animals" Eds. Wegger, I., Tagwerker, F., Moustgaard, J., 120-130, Copenhagen, The Royal Danish Agri. Soc., 1983.
3. Kolb, E., Wahren, M., Dobeleit, G. and Gründel, G.: Untersuchungen über den Gehalt an Askorbinsäure in verschiedenen Geweben von Rindern, normal entwickelten Ferkeln, Graetschferkeln, adulten Schweinen sowie von Hunden. Arch. Exper. Vet. Med. 1989; 43 (3): 327-334.
4. Chatterjee, I.B., Majumder, A.K., Nandi, B.K. and Subramanian, N.: Synthesis and Some Major Functions of Vitamin C in Animals. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1975; 258, 24-47.
5. Kitachi, A.E. and West, W.H.: Effect of Steroidogenesis on Ascorbic Acid Content and Uptake in Isolated Adrenal Cells. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1975; 258, 422-431.
6. Dabrowski, K., Ciereszko, R.E., Blom, J.H., Ottebie, J.S.: Relationship Between Vitamin C and Plasma Concentrations of Testosterone in Female Rainbow Trout, *Oncorbychus Mykiss*. Fish Physiol. and Biochem., 1995; 14 (5): 409-415.
7. Endo, T., Aten, R.F., Wang, F. and Behrman, H.R.: Co-ordinate Induction and Activation of Metalloproteinase and Ascorbate Depletion in Structural Luteolysis. Endocrinology, 1993; 133 (2): 690-698.
8. Luck, M.R. and Zhao, Y.: Identification and Measurement of Collagen in The Bovine Corpus Luteum and Its Relationship with Ascorbic Acid and Tissue Development. J. Reprod. Fertil. 1993; 99, 647-652.
9. Başpınar, N. ve Serpek B.: İneklerde Östrus Siklusu Boyunca Vitamin C ve Kolesterol Değerlerindeki Değişimler. Hay. Araşt. Derg. 1993; 3 (1): 39-42.
10. Kotak, V.C., Ambadkar, P.M.: Variations in Ascorbic Acid Concentrations in Liver, Gonads, Kidney and Blood Serum of Fetal Blue Rock Pigeon (*Columba Livia Gmelin*) During The Breeding and non-breeding Seasons. Poultry Sci. 1985; 64 (3): 542-544.
11. Sandnes, K. and Braekkan, O.K.: Ascorbic Acid and The Reproductive Cycle of Ovaries in Cod (*Gadus Morrhua*). Exp Biochem J. 1981; 44, 545-546.
12. Chattopadhyay, R., Choudhury, G. and Sinra, R.: Studies on The Ascorbic Acid Content of Blood Plasma During Different Stages of Oestrus Cycle and Early Pregnancy in Cross Bred Cows (Jersey X Hariana Cross). Proc. Session Indian Cong. 1972; 59 (4): 26-27.
13. Yen, J.T. and Pond, W.G.: Effect of Dietary Vitamin C Addition on Performance, Plasma Vitamin C and Hepatic Iron Status in Weaning Pigs. J. Anim. Sci. 1981; 53, 1292-1294.
14. Sandholm, M.T., Honkanen-Bzalski and Rasi, V.: Prevention of Navel Bleeding in Piglets by Preparturient Administration of Ascorbic Acid. Vet. Rec. 1979; 104, 337-340.
15. Osaki, S., McDermott, J.A. and Frieden, E.: Proof for The Ascorbat Oxidase Activity of Ceruloplasmin. J. Biol. Chem. 1964; 239, 3570-3575.
16. Johnson, M.H. and Murphy, C.L.: Adverse Effects of High Dietary Iron and Ascorbic Acid on Copper Status in Copper Deficient and Copper Adequate Rats. J. Clin. Nutr., 1988; 47, (1): 96-101.
17. Jacop, R.A., Skala, J.H., Omaye, S.T., Tuinlung, J.R.: Effect of Varying Ascorbic Acid Intakes on Copper Absorption and Ceruloplasmin Levels of Young Men. J. Nutr. 1987; 117, (12): 2109-2115.
18. Pekiner, B. and Nebioğlu, S.: Effect of Vitamin C on Copper and Iron Status in Men and Guinea Pigs. J. Nutr. Sci. and Vitaminol. 1994; 40, (5): 401-410.
19. Başpınar, N.: Gebe Koyunlarda Vitamin C, Seruloplazmin, Glikoz ve Hemoglobin Değerlerinin Postpartum İlk Aya Kadar Değişimleri ve Bu Parametreler Arasındaki İlişkiler. Doktora Tezi. S.Ü. Sađ. Bil. Enst. Konya, 1989.
20. Burrows, S. and Pekala, B.: Serum Copper and Ceruloplasmin in Pregnancy. Am. J. Obstet. Gynec. 1971; 109, 907-909.
21. Brander, G.C., Pugh, D.M., Bywater, R.J. and Jenkins W.L.: The Vitamins. In "Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics", Fifth Ed., ELBS, London, 1991.
22. Haag, W.: Zur Methodik und Praktischen Bedeutung der Vitamin C-Bestimmung beim Rind in Vergangenheit und Gegenwart. Inaugural Dissertation, Justus Liebig Universitaet. Giessen. 1985.
23. Colombo, J.P., Richterich, R.: Zur Bestimmung Des Caeruloplasmin im Plasma. Schweiz Med Wschr. 1964; 94, 715-720.

24. Rivers, J.M. and Devine, M.M.: Relationships of Ascorbic Acid to Pregnancy and Oral Contraceptive Steroids. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1975; 258, 465-482.
25. Çamaş, H. ve Ergun, H.: Kuzuların Kanında Methemoglobin ve Vitamin C Değerleri ile Glikoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Aktivitesi Üzerine Araştırmalar. *U.Ü. Vet. Fak. Derg.* 1985; 4, (1-2-3): 35-41.
26. Evans, R.M. and Wiederanders, G.: Blood Copper Variations Among Species. *Amer. J. Physiol.* 1967; 213, 1183-1185.
27. Serpek, B., Başpınar, N., Soysal, S.: Konya İli ve Çevresinde Yetiştirilen Koyunlarda Hipokuprozis Tanısı ve Tedavisi Amacıyla Serum Seruloplazmin Konsantrasyonlarının Saptanması. *İ.Ü. Vet. Fak. Derg.* 1989; 15, (2): 1-7.
28. Bildik, A., Yur, F., Belge, F., Değer, Y. ve Dede, S.: Hamdani Koyunlarında Bazı Kan Parametrelerinin Belirlenmesi. *S.Ü. Vet. Bil. Derg.* 1997; 13, (1): 17-21.
29. Pintauro, S.J. and Bergan, J.G.: Effects of Ascorbic Acid on in vitro Steroidogenesis in Guinea Pigs. *J. Nutr.* 1982; 112, (3): 584-591.
30. McPhee, J.M. and Tiberghien, M.P.: Assessment of Pregnancy in Sheep by Analysis of Plasma Progesterone Using an Amplified EIA Technique. *Vet. Rec.* 1987; 121, (3): 63-65.
31. Gadsby, J.E., Heaf, R.B., Powell, D.G. and Walters, D.E.: Diagnosis of Pregnancy and of the Number of Foetuses in Sheep From Plasma Progesterone Concentrations. *Vet. Res.* 1972; 90, 339-342.
32. Bedford, C.A., Challis, J.R.G., Harrison, F.A. and Heap, R.B.: The Role of Estrogens and Progesterone in The Onset of Parturition in Various Species. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1972; 1, 1-23.
33. Van de Wiel, D.F.M., Vissler, A.H. and Dekker, T.P.: Use of a Radioimmunoassay of Plasma Progesterone for Predicting Litter Size and Subsequent Adaptation of Feeding Level in Sheep. In "Nuclear Techniques in Animal Production and Health." Vienna. Int. Atomic Agency, 547- 553. 1976.
34. Greer, E.B., Gardner, I.A. and Wright, G.L.: Failure of Dietary Vitamin C Supplementation to Prevent Seasonal Infertility in Pigs. *Aust. J. Exp. Agric.* 1987; 27, 343-347.
35. Koshner, I.: The Phenomenon of the Acute Phase Response. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1982; 389, 39-45.
36. Nakajima, Y., Momotani, E., Murakami, T., Ishikawa, Y., Morimatsu, M., Saito, M., Suzuki, H., Yasukawa, K.: Induction of Acute Phase Protein by Recombinant Human Interleukin-6 (IL-6) in Calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1993; 35, (3-4): 385-391.
37. Serpek, B., Aslan, V., Tuncer, Ş.D., Ateş M.: İshalli Buzağılarda Serum Vitamin C ve Seruloplazmin Düzeyleri ile Vitaminin Tedaviye Etkisi. *L.H.A.E.D.* 1989; 29, (1-4): 37-52.
38. Çetin, M., Güneş, N., Aydın, L.: Gastrointestinal Nematodlarla Enfekte Köpeklerin Plazma Vitamin C, Seruloplazmin, Total Protein Düzeylerindeki Değişmeler. *Veterinarium.* 1995; 6, (1-2): 76-78.
39. Basu, T.K.: Effects of Estrogen and Progesteron on Ascorbic Acid Status of Female Guinea Pigs. *J. Nutr.* 1986; 110, (4): 570-579.
40. Yen, J.T. and Pond, W.G.: Response of Swine to Periparturient Vitamin C Supplementation. *J. Anim. Sci.* 1983; 56, (3): 621-624.
41. Ogan, M.M.: Türk Merinosu Koyunlarının Büyüme, Döl ve Yapağı Verim Özelliklerine Ait Parametrelerin Tayini Üzerine Bir Araştırma. *Doktora Tezi. İ.Ü. Vet. Fak. İstanbul.* 1988.
42. Sönmez, R. ve Kaymakçı, M.: Koyunlarda Dölverimi. *Ege Ü. Zir. Fak. Yayını. No: 404, İzmir.* 1987.