

## KOÇLARDA SPERMA KALİTESİ ÜZERİNE KASİÇİ VİTAMİN C UYGULAMALARININ ETKİSİ\*

Mustafa SÖNMEZ

Eşref DEMİRÇİ

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Döllerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı Elazığ – TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 05.03.2003

**The Effect of Intramuscular Vitamin C Administrations on Semen Quality in Rams**

### **Summary**

This study was conducted to investigate the effects of intramuscular vitamin C administrations on spermatological characteristics of rams.

In this investigation, six Akkaraman rams were used. Semen was collected by electroejaculation technique once in every three days for a month. Blood samples were taken after semen collections. After the intramuscular administration of vitamin C at a dose of 20 mg/kg/day for 30 days, blood and semen samples were taken similarly once in every three days during injections. All ejaculates were immediately evaluated for spermatological characteristics after collection and then vitamin C levels were determined in blood serum and semen samples.

While the average semen volume was  $1.02 \pm 0.02$  ml, average sperm concentration was  $2.677 \pm 0.055 \times 10^9$ /ml, and average sperm motility was  $80.7 \pm 0.31\%$ , these values were found to be  $1.18 \pm 0.02$  ml ( $P < 0.05$ ),  $3.027 \pm 0.040 \times 10^9$ /ml ( $P < 0.05$ ), and  $82.2 \pm 0.24\%$  ( $P > 0.05$ ), respectively, after administration of vitamin C. While the average vitamin C levels in blood serum and semen of rams were  $0.427 \pm 0.01$  mg/100 ml and  $3.384 \pm 0.08$  mg/100 ml, respectively before administration of vitamin C, these values were found as  $1.596 \pm 0.03$  mg/100 ml ( $P < 0.01$ ) and  $3.915 \pm 0.07$  mg/100 ml ( $P < 0.01$ ), respectively, after administration of vitamin C.

In conclusion, intramuscular administration of vitamin C in rams increased the levels of vitamin C in blood serum and semen, semen volume, and spermatozoon concentration. Therefore, intramuscular administration of vitamin C in rams can improve semen quality in breeding season.

**Key Words:** Ram, semen quality, vitamin C, blood serum, ascorbic acid

### **Özet**

Bu çalışma, koçlara kas içi uygulanan Vitamin C'nin, spermatolojik özellikler üzerine etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Çalışmada Akkaraman ırkından 6 koç kullanılmıştır. Koçlardan ilk önce bir ay süreyle, 3 günde bir, kan ve elektroejakülatör yardımıyla sperma alındı. Daha sonra koçlara 30 gün süreyle günlük 20 mg/kg dozunda i.m. olarak Vitamin C enjekte edildi. Bu süre esnasında da benzer şekilde kan ve sperma alındı. Kan ve sperma örneklerinde vitamin C düzeyleri ve spermaların spermatolojik özellikleri tespit edildi.

Koçlarda ortalama sperma miktarı  $1.02 \pm 0.02$  ml, spermatozoon yoğunluğu  $2.677 \pm 0.055 \times 10^9$ /ml ve motilite  $\%80.7 \pm 0.31$  iken, vitamin C enjeksiyonundan sonra bu değerler, sırasıyla  $1.18 \pm 0.02$  ml ( $P < 0.05$ ),  $3.027 \pm 0.040 \times 10^9$ /ml ( $P < 0.05$ ) ve  $\%82.2 \pm 0.24$  ( $P > 0.05$ ) olmuştur. Koçların kan serumu ve sperma vitamin C düzeyleri vitamin C enjeksiyonlarından önce sırasıyla  $0.427 \pm 0.01$  mg/100 ml ve  $3.384 \pm 0.08$  mg/100 ml iken, vitamin C enjeksiyonundan sonra bu değerler sırasıyla,  $1.596 \pm 0.03$  mg/100 ml ( $P < 0.01$ ) ve  $3.915 \pm 0.07$  mg/100 ml ( $P < 0.01$ ) bulunmuştur.

Sonuç olarak koçlara kas içi vitamin C uygulamasıyla kan serumu ve spermada yükselen vitamin C düzeyi, spermanın miktar ve yoğunluğunu önemli derecede artırdığından aşım mevsiminde yapılacak vitamin C enjeksiyonlarının koçlarda sperma kalitesini olumlu yönde etkileyeceği söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Koç, sperma kalitesi, vitamin C, kan serumu, askorbik asit

\* Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP-420) tarafından desteklenen doktora tezinden özetlenmiştir.

## Giriş

Vitamin C (askorbik asit), vücutta bir çok biyokimyasal reaksiyonda rol oynayan asidik özellikle kimyasal bir maddedir. İnsanlar, primatlar ve bazı deney hayvanları vitamin C'nin vücuttaki sentezinde son enzim olan L-glukonulolakton oksidaz'ın yokluğu nedeniyle vitamin C sentezleyemezler. Bu yüzden bu türler için vitamin C esansiyel bir besindir. Diğer hayvanlarda ise üronik asit mekanizmasıyla glikozdan sentezlenebilir. Ancak türler arasında vitamin C sentezi kapasitelerinde çok büyük farklılıklar gözlenmektedir (7,27).

Ruminanlar yaşamlarının ilk birkaç haftası hariç diğer zamanlarda vitamin C sentezleyebilirler. Bu türlerde vitamin C yetersizliğine bağlı oluşan semptomlar genellikle ortaya çıkmamaktadır (37). Ancak özellikle erkeklerde dölveriminin azaldığı bazı vakalarda ilave vitamin C uygulamalarının faydalı olduğu ve fertiliteti olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir (30).

Testis dokusunda vitamin C konsantrasyonu, erkek genital organlarının diğer kısımlarına göre daha yüksektir. Bu nedenle vitamin C'nin özellikle erkek cinsiyet hücrelerinin şekillenmesi, bu hücrelerin fonksiyonel aktivitelerini sürdürmeleri ve tubuler yapının bütünlüğünün korunması üzerine önemli bir rol oynayabileceği bildirilmiştir (15,17). Spermada da değişik konsantrasyonlarda vitamin C bulunur. Bu seviye kan plazmasına göre 8-10 kat daha yüksektir (16). Diğer taraftan testis ve seminal plasma vitamin C konsantrasyonunun oldukça hassas olduğu ve vücuttaki seviyenin azalmasından etkilendiği de bildirilmektedir (12).

Vitamin C antioksidan bir madde olup, biyolojik moleküllerin oksidasyonunu önleyici ve azaltıcı bir özelliğe sahiptir. Vitamin C spermadaki serbest radikalleri nötralize ederek bunların spermatozoon membranlarında oluşturdukları lipid peroksidasyona engel olur. Ayrıca spermada vitamin C'nin yüksek konsantrasyonlarda olması, spermatozoon DNA'sının oksidatif hasara uğramasını engelleyerek spermatozoonların genetik bütünlüğünü sürdürmesinde anahtar bir rol oynar (18).

Vitamin C ve bazı önemli mineral maddelerin (Ca, Mg, Mn, Zn vb.) metabolizmaları arasında sinerjik bir etki vardır. Vitamin C'nin fertilité ve spermatolojik karakterleri geliştiren bu mineral maddelerin spermada depolanmasını kolaylaştırmasından kaynaklanabileceği bildirilmiş ve spermada vitamin C ve bazı mineral madde seviyesinin düşmesi ile spermanın kalitesinin bozulması arasında açık bir ilişkinin olduğu gözlenmiştir (23).

Erkek ve dişi üreme organlarındaki antiaglutininler motilitenin sınırlanmasına yol açabilen spermatozoon yapışmalarını önlemeye önemli bir rol oynarlar. Vitamin C, biyolojik olarak antiaglutininleri aktive edici bir özelliğe sahiptir. Seminal plazmada vitamin C düzeyinin artmasının spermatozoon aglutinasyonlarını önlemek suretiyle sperma miktarı, spermatozoon motilitesi, yaşayabilirliği ve morfolojik yapısı üzerine faydalı etkilerinin olduğu hem in vitro hem de in vivo çalışmalarla ispat edilmiştir (16,26).

Bu çalışma, koçlara üreme mevsiminde kas içi vitamin C uygulamalarının kan serumu, sperma vitamin C konsantrasyonu ile spermatolojik özelliklere etkisini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

## Materyal ve Metot

Araştırmada hayvan materyali olarak 2 yaşında 6 Akkaraman koç kullanıldı. Araştırma, Eylül-Aralık ayları arasında yapıldı. Çalışma süresince tüm koçlar Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliğinde kapalı şartlarda günlük olarak 1 kg kesif yem ve 2 kg kuru yonca verilerek beslendi.

Araştırmada, herhangi bir uygulama yapılmaksızın 6 koçtan bir ay süreyle 3'er gün aralıklarla kan ve elektroejakülatör yardımıyla sperma alındı (n=10). Alınan spermaların spermatolojik özellikleri belirlendikten sonra kan serumu ve sperma örneklerinin vitamin C düzeyleri ölçüldü. Daha sonra aynı koçlara bir ay süreyle günlük 20 mg/kg olmak üzere kas içi vitamin C (İnjakom-C - Roche) enjeksiyonları yapıldı. Günlük enjeksiyonlar sırasında 3'er gün aralıklarla enjeksiyonlardan 4 saat sonra hayvanlardan sperma ve kan örnekleri alındı (n=10). Alınan spermaların spermatolojik özellikleri belirlendikten sonra kan serumu ve sperma örneklerinin vitamin C düzeyleri ölçüldü. Enjeksiyonlar öncesi ve sonrasında elde edilen tüm değerler istatistikî yorden değerlendirildi.

### Spermatolojik Özelliklerin Belirlenmesi

Sperma miktarı, sperma toplama tüpü üzerindeki ölçü çizgilerine göre okunarak "ml" olarak belirlendi.

Kitle hareketi, sıcaklığı 37°C'ye ayarlanmış ısıtma tablasına yerleştirilen lam üzerine küçük bir damla sperma konularak 10X10'luk büyütmede belirlendi. Değerlendirme, ileri yönde güçlü hareket eden spermatozoonların oluşturduğu hareketler incelenerek 2 farklı sahada 0 ile 5 arasında bir puan verilerek yapıldı.

Motilite, 37°C'ye ayarlanmış mikroskopun ısıtma tablasındaki bir lam üzerine toplu iğne başı büyülüğünde sperma konularak sulandırmak maksadıyla aynı sıcaklıktaki %3'lük sodyum sitrat solüsyonu ile yaklaşık 1:10 oranında karıştırıldı. Üzeri lamelle kapatılarak mikroskop altında 10X40'lık büyütmede incelendi. Değerlendirme, 3-5 farklı sahada ve %0-100 arasında değer verilerek yapıldı.

Spermatozoon yoğunluğu hemositometrik yöntem kullanılarak belirlendi (8).

Spermatozoonların morfolojik yapılarının incelenmesi amacıyla "Hancock Solüsyonu" kullanıldı (22). Bu amaçla 0.5 ml Hancock solüsyonu içeren deney tüpüne bir damla sperma konularak tespit edildi. Hazırlanan karışımından 1 damla lam üzerine konularak üzeri lamel ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar mikroskop altında immersiyon objektifi (15X100) ile incelendi. Toplam 400 spermatozoon sayılaraak akrozoma bağlı bozukluların ve toplam anormal spermatozoonların oranı belirlendi.

Spermadaki ölü spermatozoon oranını belirlemek amacıyla eosin-nigrosin boyama metodu (8) kullanıldı.

Spermanın pH'sı 0.5 birim aralıklı pH test kağıtlarıyla tayin edildi.

#### Vitamin C Düzeylerinin Belirlenmesi

Kan serumu ve sperma örneklerinde vitamin C düzeylerinin belirlenmesi amacıyla spektrofotometrik bir yöntem olan fosfotungistik asit metodu (25) kullanıldı.

#### Renk Ayracının Hazırlanması

A Solüsyonu : 20 g Sodium Tungustate (MERCK-Art Nr: 06673) ve 10 g Disodium Hydrogen Phosphate (MERCK-Art Nr: 06580) karışımı 30 ml distile su içinde ısıtılarak çözürüldü.

B Solüsyonu : 5 ml sülfürik asit (MERCK-Art Nr: 00713) üzerine yavaş bir şekilde 15 ml distile su ilave edildi.

#### Hesaplama:

##### Testin Absorbansı

$$\text{Kan Örnekleri için} = \frac{\text{Kan Örnekleri için}}{\text{Standardın Absorbansı}}$$

Soluşyon B yavaş bir şekilde ilk durumda solüsyon A üzerine aktarıldı. Elde edilen karışım reflux (geri soğutucu) altında 2 saat süreyle kişik ateşe kaynatıldı. Elde edilen solüsyon (renk ayracı) oda sıcaklığında soğutularak saklandı.

#### Standart Solüsyonların Hazırlanması

**Stok Standart :** Önceden tartışan 5 g Oksalik Asit (MERCK-Art Nr: 00492) distile su ile 1000 ml'ye tamamlanıp çözürüldü. Daha sonra 50 mg Laskorvik asit (MERCK-Art Nr: 00127), hazırlanan %0.5'lük oksalik asit solüsyonu ile 100 ml'ye tamamlanıp 4°C'de saklandı.

**Çalışma Standardı :** Stok standarttan 1 ml alınıp %0.5'lük oksalik asit solüsyonu ile 50 ml'ye tamamlandı. Bu işlemle 50 kez daha sulandırılmış olan stok standarttan 1 mg/100 ml konsantrasyonunda çalışma standardı elde edildi.

#### Örneklerin Hazırlanması:

Çalışmada kullanılan 6 koçtan alınan kan örneklerinin serumları ayırdıktan sonra otomatik pipetle 2'şer ml alınarak steril cam tüplere aktarıldı. Alınan spermaların spermatojik muayenelerinin yapılmasının ardından, otomatik pipetle 0.2 ml sperma alınıp steril cam tüplere konulduktan sonra %0.5'lük oksalik asit solüsyonu ile 10 kat sulandırılmak suretiyle 2 ml'ye tamamlandı.

Hazırlanan kan serumları, spermalar, çalışma standarı ve distile su örnekleri ayrı ayrı steril santrifüj tüplerine 2'şer ml olarak konulduktan sonra üzerlerine otomatik pipet yardımıyla 2'şer ml renk ayracı ilave edildi. Vortexe karıştırılan örnekler oda sıcaklığında 30 dakika bekletilip 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Üstte kalan süpernatantlar, otomatik pipet yardımıyla alınıp spektrofotometre'de (SHIMADZU-UV. Vis) sırasıyla aynı özel cam quartz tüp kullanılarak 700 nm'de köre (distile suyu) karşı okundu. Elde edilen absorbans değerlerine göre vitamin C düzeyleri hesaplandı.

$$X \quad \text{Konsantrasyonu} = \frac{\text{Standardın}}{\text{Standardın Absorbansı}} \times \frac{\text{mg Askorvik asit/100 ml}}{(mg/100 ml)}$$

$$\text{Sperma Örnekleri için} = \frac{\text{Testin Absorbansı X 10}}{\text{Standardın Konsantrasyonu} = \frac{\text{mg Askorbik asit/100 ml}}{\text{Standardın Absorbansı}}} \times \frac{(\text{mg/100 ml})}{}$$

Araştırmada incelenen gruplar arasındaki spermatolojik özelliklere ilişkin verilerin istatistiksel karşılaştırmaları için SPSS istatistik programından yararlanıldı. Vitamin C enjeksiyonu önce ve sonrasında ait değerler için bağımlı T testi ve yüzde değerlerinin önemlilik derecelerinde Chi kare testi kullanıldı.

### Bulgular

Bu çalışmada koçlara vitamin C enjeksiyonları yapılmadan önce ve sonra alınan 10'ar ejakülat spermanın ortalama miktarı, kitle hareketi,

spermatozoon motilitesi, spermatozoon yoğunluğu, ölü spermatozoon oranı, akrozoma bağlı anormal spermatozoon oranı, toplam anormal spermatozoon oranı ve pH değerleri Tablo 1 de verilmiştir.

Hazırlanan değişik konsantrasyonlardaki standart solüsyonların spektrofotometrik ölçümünün ortalama absorbans değerleri Tablo 2 de gösterilmiştir.

Araştırmada kullanılan 6 koça vitamin C enjekte etmeden önce ve ettikten sonra ölçülen kan serumu ve sperma vitamin C düzeyleri Tablo 3 de verilmiştir.

Tablo 1. Koçlara vitamin C enjeksiyonları yapılmadan önce ve sonraki spermatolojik özellikler

Spermatolojik Özellikler (n=10)	Koçlar						Ortalama
	1	2	3	4	5	6	
Sperma miktarı (ml)	Önce	0.90±0.04	0.85±0.04	1.08±0.03	1.16±0.03	1.09±0.02	1.02±0.02
	Sonra	1.14±0.05	1.08±0.04	1.22±0.03	1.24±0.02	1.19±0.05	1.18±0.04
	P						*
Kitle hareketi (0-5 puan)	Önce	3.90±0.07	3.95±0.09	4.10±0.07	4.10±0.07	4.05±0.09	4.05±0.09
	Sonra	4.10±0.07	4.10±0.07	4.15±0.08	4.15±0.08	4.20±0.08	4.10±0.07
	P						4.13±0.03
Motilite (%)	Önce	80.0±1.07	79.0±0.80	81.4±0.67	81.6±0.50	81.0±0.75	81.2±0.53
	Sonra	82.2±0.47	82.0±0.60	82.2±0.63	82.6±0.67	82.6±0.60	81.8±0.63
	P						82.2±0.24
Yoğunluk ( $\times 10^9/\text{ml}$ )	Önce	2.015±0.056	2.310±0.071	2.910±0.046	2.780±0.046	2.880±0.047	3.165±0.055
	Sonra	2.620±0.089	2.825±0.075	3.140±0.064	3.165±0.063	3.170±0.063	3.240±0.063
	P						3.027±0.040
Ölü spermatozoon oranı (%)	Önce	11.84±0.48	11.32±0.56	7.80±0.41	8.50±0.15	9.06±0.44	9.42±0.44
	Sonra	10.28±0.30	9.80±0.16	7.24±0.29	8.00±0.84	8.94±0.34	9.03±0.25
	P						8.72±0.17
Akrozoma bağlı anormal spermatozoon oranı (%)	Önce	2.84±0.09	2.26±0.11	2.10±0.05	1.74±0.08	2.00±0.06	1.84±0.12
	Sonra	2.56±0.11	2.08±0.07	2.02±0.07	1.80±0.08	2.00±0.07	1.84±0.10
	P						2.05±0.05
Toplam anormal spermatozoon oranı (%)	Önce	9.96±0.20	10.93±0.30	7.60±0.14	7.94±0.12	7.30±0.12	8.40±0.24
	Sonra	9.64±0.21	10.74±0.30	7.26±0.09	7.62±0.14	7.28±0.12	8.20±0.18
	P						8.46±0.19
PH Değeri	Önce	7.00±0.13	6.90±0.13	6.90±0.10	6.75±0.08	6.70±0.08	6.85±0.08
	Sonra	6.90±0.10	6.75±0.08	6.75±0.08	6.70±0.08	6.75±0.08	6.80±0.08
	P						6.78±0.03

-: (P>0.05)

\*: (P<0.05)

Tablo 2. Standart kontrolü (Değişik miktarda vitamin C içeren solüsyonların spektrofotometrik ölçüm değerleri) (n=5)

Vitamin C miktarı (mg/100 ml)	0.1	0.2	0.5	1.0	2.0
Absorbans değeri	0.0228	0.0568	0.1420	0.2812	0.5628

Tablo 3. Vitamin C enjeksiyonundan önce ve sonra koçların kan serumu ve spermasındaki vitamin C düzeyleri (n=10)

Koçlar	Kan Serumundaki Vitamin C Düzeyleri (mg/100 ml)			Spermadaki Vitamin C Düzeyleri (mg/100 ml)		
	Enjeksiyon Öncesi	Enjeksiyon Sonrası	P	Enjeksiyon Öncesi	Enjeksiyon Sonrası	P
1	0.361±0.01	1.326±0.04		2.654±0.13	3.371±0.07	
2	0.379±0.01	1.311±0.06		2.704±0.16	3.311±0.07	
3	0.443±0.01	1.871±0.06		3.623±0.10	4.054±0.10	
4	0.454±0.01	1.675±0.05		3.796±0.13	4.014±0.11	
5	0.488±0.01	1.645±0.04		3.894±0.12	4.472±0.08	
6	0.467±0.01	1.776±0.04		3.663±0.07	4.282±0.09	
Ortalama	0.427±0.01	1.596±0.03	*	3.384±0.08	3.915±0.07	*

\*: (P&lt;0.01)

### Tartışma

Yapılan çalışmada, vitamin C enjeksiyonlarından önce koçlardan elde edilen ortalama sperma miktarı, Aksoy ve ark. (1)'larının 1.01 ml, Gökçen ve ark. (19)'larının 1.0 ml ve Soylu (33)'nun 1.03 ml olarak bildirdikleri değerlere yakın bulunurken, Gündoğan ve Demirci (21)'nin 0.81 ml, Öztürkler ve ark. (29)'larının 0.8 ml ve Sinha ve Sahni (32)'nın 0.71 ml olarak bildirdikleri değerlerden yüksek, Artiga ve ark. (4)'larının 1.19 ml ve Özkoca (28)'nın 1.19 ml olarak bildirdikleri değerlerden ise düşük bulunmuştur. Sperma miktarları arasındaki bu farklılıklar, araştırmalarda kullanılan koçların ırkına, yaşına, beslenme şekline, ejakülasyon sıklığına, seksUEL prestimülasyon'a, sperma alma yöntemine ve mevsimlere bağlı olabilir.

Sunulan çalışmada, vitamin C enjeksiyonları uygulanmadan önce koçlardan elde edilen ortalama spermatozoon yoğunluğu, Özkoca (28)'nın  $2.492 \times 10^9$ /ml, Aksoy ve ark. (2)'sının  $2.680 \times 10^9$ /ml ve Sinha ve Sahni (32)'nın  $2.700 \times 10^9$ /ml olarak bildirdiği ortalama spermatozoon yoğunluğununa yakın bulunurken, Cameron (11)'un  $1.330 \times 10^9$ /ml olarak bildirdiği değerden yüksek, Soylu (33)'nın  $2.960 \times 10^9$ /ml, Gökçen ve ark. (19)'larının  $3.100 \times 10^9$ /ml, Gülyüz ve ark. (20)  $3.300 \times 10^9$ /ml, Gündoğan ve Demirci (21)'nın  $3.620 \times 10^9$ /ml, ve Artiga ve ark. (4)'larının  $5.400 \times 10^9$ /ml olarak bildirdikleri değerlerden ise düşük bulunmuştur. Spermatozoon yoğunlukları arasındaki bu farklılıklar, araştırmalarda kullanılan hayvanların beslenme şekline ırkına, yaşına, sperma alma yöntemine, sperma alma sıklığına, mevsimlere, yoğunluğu tayin etme metoduna ve tayin eden kişiye bağlı olabilir.

Bu çalışmada, vitamin C enjeksiyonları uygulanmadan önce ve sonra elde edilen spermalara ait ortalama kitle hareketleri, spermatozoon motilitesi, ölü spermatozoon oranları, akrozoma bağlı anormal spermatozoon oranları, toplam anormal spermatozoon oranları ve pH değerleri açısından vitamin C enjeksiyonuna bağlı olarak önemli bir farklılık görülmemiştir.

Elde edilen bu değerler kimi araştırmacıların (5,16,19,29,34,36) bildirdiği değerlere benzerlik göstermektedir. Ancak bu değerlerin bazı araştırmacıların (4,11,20,28) bildirdiği değerlerden farklı olması araştırmalarda kullanılan hayvanların ırkına, yaşına, sperma alma yöntemine, koçların beslenme şekline, sperma alma sıklığına ve mevsimlere bağlı olabilir.

Yapılan literatür taramalarında koçlara vitamin C uygulanması sonucu elde edilen spermatolojik özelliklerle ilgili araştırmaya rastlanmamıştır.

Yapılan bazı araştırmalarda (12,15,16,17,23) besinlerle alınan vitamin C miktarının önemli derecede azalmasının spermadaki vitamin C konsantrasyonunun düşmesine, sperma kalitesinin bozulmasına ve ejakülat hacminin azalmasına yol açtığı, bunun yanında alınan vitamin C miktarındaki artışıının ise sperma vitamin C konsantrasyonunu artırdığı ve sperma kalitesini yükselttiği bildirilmiştir. Philips ve Lary (30), boğa spermasında vitamin C düzeyindeki azalmanın dölverimi düşüklüğü ile ilişkili olduğunu ve dölverimi düşük bazı boğalara derialtı vitamin C uygulamalarının bu hayvanlarda sperma kalitesini ve fertilité oranlarını önemli derecede artırdığını bildirmiştir. Sunulan bu çalışmada, kas içi vitamin C uygulamaları sonucu

sperma miktarı ve spermatozoon yoğunluğunda önemli derecede bir artışın görülmesi mevcut çalışmalarla uygunluk göstermektedir.

Ancak kimi araştırmacılar (23,35), ilave vitamin C uygulamalarına bağlı olarak normal morfolojiye sahip spermatozoon oranının ve spermatozoon motilitesinin arttığını bildirmiştirlerdir. Bu çalışmada ise söz konusu özelliklerin vitamin C uygulamaları sonucu önemli derecede değişmediği belirlenmiştir. Bu durum, söz konusu spermatolojik özelliklerin vitamin C enjeksiyonları yapılmadan önce alınan spermalarda yüksek olmasından kaynaklanabilir.

Bu çalışmada koçlara kas içi vitamin C uygulanmasından sonra sperma hacminin ve yoğunluğunun artması, kimi araştırmacıların (9,15,17,23,24) belirttiği gibi vitamin C'nin metabolik ve çevresel stresi azaltması ve plazma LH ve testosteron seviyesini artırması sonucu spermatogenezisi ve ek salgı bezlerini stimüle etmesine bağlı olarak ortaya çıkmış olabilir.

Sunulan çalışmada vitamin C enjeksiyonları uygulanmadan önce koçlardan elde edilen kan serumu vitamin C düzeyleri, Başpinar ve ark. (6)'larının  $0.38 \pm 0.05$ - $0.90 \pm 0.05$  mg/100 ml ve Robinson ve ark. (31)'larının 0.48 mg/100 ml olarak bildirdikleri değerlerle yakın bulunurken, Çamaş ve ark. (14)'larının 0.78 mg/100 ml ve Altıntaş ve ark. (3)'larının 1.30 mg/100 ml olarak bildirdikleri değerlerden ise düşük bulunmuştur. Görülen bu farklılıklar, büyük ölçüde çalışmada kullanılan hayvanların aldığı yemlere, ırklarına, yaşılarına,

## Kaynaklar

1. Aksoy M, Ataman MB, Karaca F, Kaya A, Tekeli T. Konya Hayvancılık Merkez Araştırma Enstitüsü'ne ait çeşitli ırklardan koçların spermatolojik özellikleri üzerinde araştırmalar. Hay Arş Derg 1994; 10(1-2): 111-112.
2. Aksoy M, Tekeli M, Çoyan K, Karaca F. Konya Merinosu koçlarının spermatolojik özellikleri üzerinde araştırmalar. Hay Arş Derg 1993; 3(2): 126.
3. Altıntaş A, Fidancı UR. Evcil hayvanlarda ve insanda kanın biyokimyasal normal değerleri. AÜ Vet Fak Derg 1993; 40(2): 173-186.
4. Artiga CG, Garde J, Gutierrez AA, Vazquez I. Seminal characteristic of Manchego ram. Proceedings of the 12<sup>th</sup> International Congress on Animal Reproduction. The Hague-The Netherlands 1992; 399-401.
5. Ataman MB. Koyunların donmuş-çözünmüş sperma kullanılarak laparaskop yardımıyla intrauterin olarak mevsimlere ve vitamin C tayin etme metoduna bağlı olabilir.
6. Vitamin C enjeksiyonları uygulandıktan sonra koçlardan elde edilen kan serumu vitamin C düzeyleri ise, Black ve ark (10)'larının vitamin C enjeksiyonları sonucu 7. saatte 0.86 mg/100 ml olarak bildirdikleri ortalama kan serumu vitamin C düzeyinden yüksek bulunmuştur. Bu farklılık araştırmacının kullandığı hayvanların ırkına, yaşına ve beslenme şekline bağlı olabileceği gibi vitamin C enjeksiyonları sonrası kanların alınma saatine ve vitamin C tayin etme metoduna bağlı olabilir.
7. Sunulan çalışmada, spermanın ortalama vitamin C düzeyinde, koçlara vitamin C enjeksiyonlarından sonra bir artışın olduğu tespit edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında koçlarda spermanın vitamin C düzeyine ilişkin bir çalışmaya rastlanmamıştır.
8. Kimi araştırmacılar (13,16,38), ilave vitamin C uygulamalarının kan serumu ve sperma vitamin C konsantrasyonunu yükselttiğini ve bunlar arasında direk bir ilişkinin olduğunu bildirmiştir. Sunulan bu çalışmada da yapılan vitamin C enjeksiyonları sonucunda kan serumu vitamin C düzeyinin artmasına paralel olarak sperma vitamin C düzeyinin arttığı tespit edilmiştir.
9. Sonuç olarak koçlara kas içi Vitamin C uygulanmasıyla kan serumu ve spermada yükselen vitamin C düzeyi, spermanın miktar ve yoğunluğunu önemli derecede artırdığından aşım mevsiminde yapılacak vitamin C enjeksiyonlarının koçlarda sperma kalitesini olumlu yönde etkilediği söylenebilir.
10. tohumlanması. SÜ Sağ Bil Enst Doktora Tezi, Konya. 1996.
11. Başpinar N, Serpek B. Gebe koyunlarda vitamin C, seruloplazmin, glikoz ve hemoglobin değerlerinin pospartum ilk aya kadar değişimleri ve bu parametreler arasındaki ilişkiler. Hay Arş Derg 1993; 3(2): 88-92.
12. Baykut F. Vitamin C, L (-) Askorbik Asid. İst Ün Biyomedikal Mühendislik Uygulama ve Araştırma Merkezi, 1998.
13. Bearden HJ, Fuquay JW. Applied Animal Reproduction 3rd Ed. Englewood Cliffs, New Jersey 1992.
14. Biswas NM, Chaudhuri A, Sarkar M, Biswas R. Effect of ascorbic acid on invitro synthesis of testosterone in rat testis. Indian J Exp Biol 1996; 34(6): 612-613.
15. Black WD, Hidiroglu M. Pharmacokinetic study of ascorbic acid in sheep. Can J Vet Res 1996; 60(3): 216-221.

11. Cameron RDA. Semen collection and evaluation in the ram. The effect of method of stimulation on response to electroejaculation. *Aust Vet J* 1977; 53(8): 380-383.
12. Chinoy NJ, Buch-Nee RP, Melita RR, Seethalakshimi L, Sharma JD, Chinoy MR. Effects of Vitamin C deficiency on physiology of male reproductive organs of guinea pigs. *Int J Fertil* 1986; 31: 232-239.
13. Ciereszko A, Dabrowski K. Sperm quality and ascorbic concentration in rainbow trout semen are affected by dietary vitamin C: across-season study. *Biol Reprod* 1995; 52(5): 982-988.
14. Çamaş H, Ergun H. Kuzuların kanında methemoglobin ve vitamin C değerleri ile Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesi üzerine araştırmalar. *ÜÜ Vet Fak Derg* 1985; 4: 35-41.
15. Dabrowski K, Ciereszko A. Ascorbic acid protects against male infertility in a teleost fish. *Experientia* 1996; 52(2): 97-100.
16. Dawson EB, Harris WA, Teter MC, Powell LC. Effect of ascorbic acid supplementation on the sperm quality of smokers. *Fertil Steril* 1992; 58: 1034-1039.
17. Dvorak M, Podany J. Ascorbic acid levels in the genital glands of breeding boars and castrates. *Acta Vet* 1971; 40: 397-403.
18. Fraga CD, Motchnik PA, Shinegana MK, Helbock HJ, Jacob RA, Ames BN. Ascorbic acid protects against oxidative DNA damage in human sperm. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88: 11003-11006.
19. Gökçen H, Erdinç H, Çamaş H, Çekgül E, Şener E. Koç rasyonlarına katılan pamuk tohumu küspesinin sperma verimi ve etkisi üzerine araştırmalar. *ÜÜ Vet Fak Derg* 1984; 1(3): 93-101.
20. Gülyüz F, Yıldız C. Değişik ırktan koçların spermatolojik özellikleri ve dölverimleri üzerinde araştırmalar. *YYÜ Vet Fak Derg* 1995; 6(1-2): 60-63.
21. Gündoğan M, Demirci E. Koçlarda scrotal sıcaklık artusunun spermatogenesis ve diğer spermatolojik özellikler üzerine etkisi. *FÜ Sağ Bil Derg* 1999; 13(2): 193-200.
22. Hancock JL. The morphology of bull spermatozoa. *J Exp Biol* 1952; 29: 445-447.
23. Harris WA, Harden TE, Dawson EB. Apparent effect of ascorbic acid medication on semen metal levels. *Fertil Steril* 1979; 32(4): 455-459.
24. Ito Y, Tsuji M, Terada N, Miyano M, Mori H. Testosterone production in mature scorbutic mutant rats unable to synthesize ascorbic acid. *Int J Androl* 1992; 15(2): 160-169.
25. Kyaw AA. Simple colorimetric method for ascorbic acid determination in blood plasma. *Clinica Chimica Acta* 1978; 86: 153-157.
26. Lindalh PE. Some factors influencing the biological activity of sperm agglutinins. *J Reprod Fertil* 1960; 1: 3-22.
27. Luck MR, Jeyaseelan I, Scholes RA. Ascorbic acid and fertility. *Biol Reprod* 1995; 52: 262-266.
28. Özkoç A. Lalahan Zootekni Araştırma Enstitüsünde yetişirilen Merinos koçlarının ve Ankara keçisi tekelerinin sperma özellikleri üzerine araştırmalar. *Lalahan Zoot Arş Ens Derg* 1965; 5: 19-25.
29. Öztürkler Y, Ak K, İleri İK. Koç spermasının yoğun gliserollü sulandırıcıclarda dondurulması. *İÜ Vet Fak Derg* 1999; 25(2): 399-414.
30. Phillips PH, Lardy HA, Heizer EE, Rupel IW. Sperm stimulation in the bull through the subcutaneous administration of ascorbic acid. *J Dairy Sci* 1940; 23: 873-878.
31. Robinson JA, Gulick BA, Hodges RE, Glad BW. Comparative studies of whole blood and plasma ascorbic acid levels in some species of animals. *Fed Proceed* 1979; 38(31): 556.
32. Sinha NK, Sahni KL. Effect of age and season on certain characteristics of Muzaffarnagri Rams. *Ind J Anim Health* 1985; 24(1): 45-48.
33. Soylu K. Çeşitli sulandırıcılar ve yöntemler kullanılarak dondurulan koç spermalarının bazı spermatolojik özellikleri üzerinde araştırmalar. Doktora Tezi, İstanbul. 1988.
34. Tekin N, Günzel AR. Koç spermasının değişik sulandırıcıclarda dondurulması ve invitro değerlendirilme yöntemleri üzerine araştırmalar. *AÜ Vet Fak Derg* 1986; 33(3): 381-393.
35. Thiele JJ, Friesleben HJ, Fuchs J, Ochsendorf FR. Ascorbic acid and urate in human seminal plasma: determination and interrelationships with chemiluminescence in washed semen. *Hum Reprod* 1995; 10(1): 110-115.
36. Tümen H, Özkoç A. Çeşitli tekniklerle sulandırılıp tohumlamada kullanılan koç spermasının spermatolojik özellikleri ve dölverimleri üzerinde araştırmalar. *Tr J Vet Anim Sci* 1994; 18: 287-291.
37. Wallis GC. Evidence of the synthesis of Vitamin C by Dairy Cow. *J Dairy Sci* 1943; 26: 401-408.
38. Yousef MI, Abdallah GA, Kamel KI. Effect of ascorbic acid and Vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits. *Anim Reprod Sci* 2002; 52: 1-13.