

## Fitoöstrojenler ve Fertilite

Ali EROĞLU\*

### ÖZET

Östrojenik etkili maddeler, insan ve hayvan organizması yanında bitkilerde de meydana gelmektedir. Birçok yem bitkisi, steroid yapısında olan ve olmayan çeşili östrojenik etkili bileşikler içerir. Hayvanlar tarafından bunların alınması sonucu değişik fertilite bozuklukları şekillenmektedir. Bu derlemede, fitoöstrojenler ve bunların fertiliteye etkileri üzerinde durulmuştur.

### ZUSAMMENFASSUNG

#### Phytoöstrogene und Fruchtbarkeit

Östrogenwirksame Substanzen kommen nicht nur im menschlichen und tierischen Organismus, sondern auch in Pflanzen vor. Zahlreiche Futterpflanzen enthalten sowohl steroidale als auch nichtsteroidale östrogenwirksame Verbindungen. Die Tiere weisen verschieden Fruchtbarkeitsstörungen nach der Aufnahme von Phytoöstrogenen auf. In diesem Übersichtsartikel wurden Phytoöstrogene und deren Einfluss auf die Fruchtbarkeit besprochen.

Schlüsselwörter: Phytoöstrogene, Fertilität.

\* Öğr. Gör. Dr.; U.Ü. Veteriner Fakültesi, Doğum ve Reprodük. Hast. ABD, Bursa-Türkiye.

## GİRİŞ

20. yüzyılın özellikle ikinci yarısında bitkisel östrojenlerin fertilité üzerine etkileri giderek artan bir şekilde araştırılmış ve bu araştırmalarda çok sayıdaki yem bitkisinin fertilitéyi olumsuz etkileyebilecek östrojenik maddeler içerdđđi ortaya konmuştur<sup>1-4</sup>. Daha çok koyunlar üzerinde yoğunlaşan araştırmalar, fitoöstrojenlerin alınma süresine göre geçici ya da kalıcı infertiliteye yol açtığını göstermiştir<sup>5</sup>. Tahminler, Avustralya'da her yıl 1.000.000 koyundan fitoöstrojenlere bağlı infertilite nedeniyle yavru alınmadığı şeklinde-dir<sup>6,7</sup>.

Bu derlemenin amacı, önemli ekonomik kayıplara yol açabilen bitkisel östrojenlere bağlı infertilite konusuna dikkat çekmek ve konuya bir ölçüde açıklık getirebilmektir.

### FİTOÖSTROJEN OLARAK ETKİLİ MADDELER

Bitkiler insan ve hayvanlarda bulunan steroid östrojenler yanında hem steroid yapısında hem de steroid yapısında olmayan başka östrojenik bileşikler de içerirler. Bunların tümü fitoöstrojenler adı altında toplanır.

İnsan ve hayvan organizmasında bulunan steroid östrojenler dışındaki başlıca fitoöstrojenler, kimyasal yapılarına göre aşağıdaki gibi gruplandırılabilirler:

- I- İsoflavon'lar
  - a) Genistein
  - b) Biochanin A
  - c) Daidzein
  - d) Formononetin
  - e) Pratensein
- II- Coumestan'lar
  - a) Coumestrol
  - b) 4'-O- Methylcoumestrol
- III- Stilben'ler
  - a) Rhaponticin
  - b) Pinosylvin
- IV- Steroid'ler
  - a)  $\beta$ -Sitosterol
- V- Diğer bileşikler
  - a) Mröstro
  - b) 0-Hydroxydibenzoylmethan

Bunlardan yem bitkilerinde en yaygınları ve önemlileri isoflavon'lar ve coumestan'lardır. isoflavon'ların amaranthaceae (tilki kuyruğugiller), gramineae (buğdaygiller), iridaceae (süsen-giller), leguminoseae (yoncagiller), moraceae

(dutgiller), podocarpaceae, rosaeae (gülgiller), solanaceae (patlıcangiller) familyasından bitkilerde bulunduğu bildirilmiştir<sup>4,8</sup>. Özellikle leguminoseae familyasındaki bitkilerde yüksek konsantrasyonlarda bulunmaktadırlar<sup>8</sup>.

Coumestan'lar da *Medicago sativa* (kaba yonca), *Medicago truncatula* gaertn., *Trifolium repens* (akyonca) gibi leguminoseae familyasından bitkilerde bulunur<sup>9</sup>.

Bahçe ışığını stilben'lerden rhaponticin, çamların iğne yaprakları da pino-sylvin içerir<sup>8</sup>.

Steroid östrojenlerin bulunduğu bazı bitkiler Tablo: I'de verilmiştir.

Bitkisel östrojenlerin en etkililerinden biri olan miröstrool Tayland'daki bir tür sarmaşıktan (*Pueraria mirifica*), 0-Hydroxydibenzoylmethan ise şerbetçi otundan izole edilmiştir<sup>8</sup>.

**Tablo: I**  
**Steroid Östrojenlerin Bulunduğu Bazı Bitkiler<sup>4</sup>**

STEROİD	BİTKİ
$\beta$ -Sitosterol	Beta vulgaris (Pancar)
$\beta$ -Sitosterol	Glycyrrhiza glabra (Meyan kökü)
Östriol	Glycyrrhiza glabra (Meyan kökü)
Östriol	Phaseolus vulgaris (Fasulye)
Östron	Phaseolus vulgaris (Fasulye)
Östrodiol-17 $\alpha$	Phaseolus vulgaris (Fasulye)
Östron	Avena sativa (Yulaf)
Östron	Oryza sativa (Pirinç)
Östron	Triticum aestivum (Buğday)
Östron	Elaeis guineensis (Afrika yağ palmiyesi)
Östron	Phoenix dactylifera (Hurma)
Östron	Punica granatum var. nana (Nar)
Östron	Malus sylvestris (Yabani elma)

## FİTOÖSTROJENLERİN METABOLİZMASI

Yemle alınan fitoöstrojenlerin yaklaşık % 90-95'i absorpsiyon olmadan mikrobiyel olarak yıkıma uğramakta ve dışkı ile atılmaktadır<sup>1</sup>. Absorbe edilenlerin büyük kısmı da karaciğerde glukosiduronik aside bağlanarak kan dolaşımında glukosiduronat olarak bulunmaktadır. Bu formda fitoöstrojenlerin inaktif olduğu tahmin edilmektedir<sup>9</sup>.

Fitoöstrojenlerin hayvan organizmasında gerek sindirim kanalındaki mikroorganizmalar yoluyla gerekse karaciğerdeki metabolik olaylar yoluyla uğradıkları değişiklikler, bazen aktivitelerini azaltırken bazen de artırır.

Saf olarak rumen içine verilen genistein, biochanin A ve formononetin ovarektomi yapılan koyunlarda aynı şekilde östrojenik etki gösterirken coumestrol 15 kez daha aktif bulunmuştur. İntramuskuler verildiklerinde genistein, biochanin A ve coumestrol intraruminal verilmesine göre daha aktif, formononetin ise daha az aktif olmuştur<sup>1</sup>.

Oral yolla alındıklarında genistein ve biochanin A'ya karşı geniş getirenlerde, kemirgenlerden farklı olarak zamanla bir tür mikrobiyel inaktivasyon mekanizması gelişmektedir. Bu mekanizma gelişinceye kadar östrojenik etki gösteren her iki bileşik, daha sonra rumendeki mikroorganizmalar tarafından etkisiz olan p-etilfenol'e büyük ölçüde katabolize edilmektedir. Diğer taraftan düşük östrojenik etkili formononetin ise rumende equol ve daha az miktarda olmak üzere 0-Desmethyl-Angolensin'e dönüştürülerek daha etkili hale gelmektedir<sup>9,10</sup>.

Coumestan'ların rumendeki metabolizmaları, 4-0-methyl coumestrol'ün demetilasyon sonucu coumestrol'e dönmesi dışında tam olarak bilinmemektedir.

### BİTKİLERDE FİTOÖSTROJEN DÜZEYİNİ ETKİLEYEN FAKTÖRLER

Genel olarak ilkbaharda yoncaların fitoöstrojen düzeyinin yüksek olduğu, sonbaharda ise düşük olduğu bildirilmiştir<sup>11</sup>.

Toprağın P, S ve N bakımından fakir olması, Akdeniz yoncasında (Trf. subterraneum) isoflavon'ların düzeyini önemli ölçüde yükseltirken K, Cu ve Zn yönünden fakirlik önemli bir değişiklik yapmamaktadır<sup>9</sup>.

Bulgular, Akdeniz yoncasında büyüme ile birlikte isoflavon düzeyinin düştüğünü düşündürmektedir. Buna karşın yıllık yoncalarda ("annual medics") çiçeklenmeye kadar düşük olan coumestrol düzeyi, daha sonra bitkinin gelişmesi ile artmaktadır<sup>9</sup>.

Doğal koşullar altında kurutma, yoncadaki östrojen aktivitesini azaltırken kesimden hemen sonra yapılan yapay kurutmada östrojenik aktivite yüksek kalmaktadır<sup>12</sup>.

Yine, silaj işlemi östrojenik aktiviteyi 3-5 katı artırabilmektedir<sup>13</sup>.

Beyaz yonca ve Medicago familyasından yoncaların yapraklarında meydana gelen fungal enfeksiyonlar, coumestan konsantrasyonunu önemli ölçüde artırmaktadır. Bu artış, enfeksiyonun derecesine bağlıdır ve coumestan konsantrasyonu 100 kat artabilir<sup>9</sup>.

Ayrıca yağışlarda bir taraftan fitoöstrojen düzeyini arttırırken, diğer taraftan fungal enfeksiyonlar oluşmasına katkıda bulunmaktadır<sup>12</sup>.

İdrarla önemli miktarlarda östrojen atıldığından, gübre şerbeti ile gübrenin çayır ve meralara püskürtülmesi halinde bunların bitkiler tarafından alınacağı ve östrojen düzeyini yükseltebileceği de bildirilmiştir<sup>14</sup>.

## FİTOÖSTROJENLERİN FERTİLİTEYE ETKİLERİ

Fitoöstrojenler, östrodiol-17 $\beta$  ile karşılaştırıldığında en az 20 kez daha düşük bir affinite ile östrojen reseptörlerine bağlanmaktadır<sup>15</sup>. Biyolojik yarılanma süreleri de relatif olarak kısa olduğundan belirgin bir östrojenik etki, fitoöstrojen içeren bitkilerin uzun süre yenmesi halinde gözlenir<sup>16</sup>.

Fitoöstrojenlerin dışı hayvanlarda oluşturduğu önemli klinik semptomlar ve fonksiyon bozuklukları Tablo II'de özet olarak verilmiştir.

**Tablo: II**  
**Dişi Hayvanlarda Fitoöstrojenlere Bağlı**  
**Başlıca Klinik Semptomlar ve Fonksiyon Bozuklukları<sup>17</sup>**

Klinik Semptomlar ve Fonksiyon Bozuklukları	
1. Puberte öncesinde	<ul style="list-style-type: none"><li>- Vulva, perineum ve memede ödem</li><li>- Kızgınlık semptomlarının erken ortaya çıkması</li><li>- Süt bezlerinin gelişmesi ve süt sekresyonu</li></ul>
2. Siklik hayvanlarda	<ul style="list-style-type: none"><li>- Vulvada ödem, mukozada hiperemi, artmış mukus salgısı, prolapsus vagina</li><li>- Uterusun büyümesi ve tonusunun artması</li><li>- Endometritis</li><li>- Ovariumlarda hipoplazi ve kistler (küçük ya da büyük kistik dejenerasyon)</li><li>- Siklusda anomaliler (Anöstrus, kısalmış ya da uzamış östrus siklusu, sürekli östrus)</li><li>- Döl tutmayıp dönme ve sterilite</li><li>- Meme ödemi</li><li>- Laktasyonda olmayan hayvanların memelerinin gelişmesi</li><li>- Süt veriminin azalması</li><li>- Dişi ve erkek domuzlarda meme başlarının gelişmesi</li></ul>
3. Gebe hayvanlarda	<ul style="list-style-type: none"><li>- Gebelik sırasında kızgınlık (özellikle gebeliğin ilk yarısında)</li><li>- Bakteriyel olmayan erken ölüm ve abortlar</li><li>- Güç doğumlar ve özellikle kuzularda yüksek mortalite</li></ul>

### Koyunlarda Etkileri

Fitoöstrojenik etkiye bağlı olarak koyunlarda kalıcı ve geçici olmak üzere (Bkz. Tablo: III) iki tip infertilite sendromu ayırt edilmiştir<sup>9,18</sup>:

**1. Kalıcı İnfertilite:** Fitoöstrojen içeren bitkilerin uzun süre yenmesi ile gelişir. Bunun özel bir hali, Akdeniz yoncasının yıllarca yenmesi sonucu;

- fertilitede giderek artan azalma (% 30'a doğru),
- maternal distokia,

**Tablo: III**  
**Fitoöstrojenlerin Neden Olduğu**  
**Kalıcı ve Geçici İnfertilitenin Karşılaştırılması<sup>5</sup>**

	Geçici infertilite	Kalıcı infertilite
Asıl etkilenen organ	Ovarium/Hipofiz	Serviks
Asıl etki	Azalmış ikizlik oranı, Döl tutmada bazı sorunlar	Döl tutmama, Normal ikizlik oranı
Diyagnoz testi	Tohumlama sezonunda mera bitkilerinin analizi	Serviks patolojisi
Sağıtım	Fitoöstrojenik bitkiler içermeyen meraya alma	Yok

- prolapsus uteri,
- koyunlarda artan mortalite oranı (% 20-30),
- kuzularda yüksek perinatal mortalite oranı (% 40'a kadar),
- toklu, gebe olmayanlarda ve kastre edilmiş koçlarda laktasyon,
- dış genital organlarda maskulinizasyon

ile karakterize "yonca hastalığı" ("clover disease") dir<sup>9,11</sup>. Aynı zamanda koyunların serviks ve uterusunda sistik glanduler hiperplazi şekillenmektedir<sup>19</sup>. Koçların fertilitesi, görünüşe göre etkilenmemektedir. Bu hastalık, kastre edilmiş koçların bulbouretral bezlerinde büyüme ve üriner obstruksiyon oluşturmaktadır. 1950'li yıllarda Avustralya'da yaygın olarak gözlenen yonca hastalığına son yıllarda daha az rastlanmaktadır. Buna karşın subklinik kalıcı infertilite daha yaygın olarak ortaya çıkmaktadır. Yonca hastalığında sayılan klinik semptomlar gözlenmeden ortaya çıkan subklinik infertilite, *yonca infertilitesi* ("clover infertility") ya da *yonca östrojenlerince oluşturulan transdiferasyon* ("clover oestrogen-induced trans-differentiation") olarak adlandırılmaktadır<sup>5</sup>. Daha önceki araştırma bulgularından yola çıkan Adams'a göre<sup>5</sup>, uzun süre fitoöstrojenlerin etkisinde kalan koyunlarda, dişilikten erkekliğe doğru dönüşümsüz seksüel farklılaşma olmakta ve bu da infertiliteyi kalıcı yapmaktadır.

Kalıcı infertilitede asıl etkilenen organ serviks olup histolojik olarak uterus benzeri bir yapıya doğru farklılaşmaktadır<sup>20</sup>. Bu şekilde fitoöstrojenlerden etkilenen dişilerde, servikal mukusun yapısı ve miktarı üzerine endojen östrojenler etki edememektedir. Servikal mukus, sirkulasyondaki endojen östrojenlerden bağımsız olarak artmış miktarda salgılanmakta ve visko elastikliğini kaybedip sulu bir hal almaktadır<sup>21</sup>. Bu tür anormal servikal mukus, spermatozoonların serviksten geçişini büyük ölçüde engelleyerek ovumun dölleme şansını azaltmakta ve sonuç olarak infertiliteye yol açmaktadır.

**2. Geçici İnfertilite:** Aşım sezonunda koyunların fazla miktarda fitoöstrojenik bitki yemesi sonucu gelişir. Ovariumlar ile hipofiz arasındaki karşılıklı normal etkileşiminin bozulmasıyla hem ovulasyon hem defertilizasyon oranı düşmekte ve bu tip infertilite şekillenmektedir<sup>5,9</sup>. Koyunların östrojenik olmayan yemlerle beslenmeye alınması halinde fertilitte 3 hafta içinde normale dönmektedir.

Coumestan'lar koyunlarda fertilitteyi, östrusu geciktirme ve ovulasyon oranını azaltma yoluyla etkilemektedirler. Eğer coumestan'lar yem bitkilerinde büyük miktarlarda bulunuyorsa (örneğin 1000 ppm) hem östrus hem de ovulasyon inhibe olmaktadır. Coumestan'ların düzeyi 400 ppm ya da altında ise sadece ovulasyon yüzdesi etkilenmektedir. Rasyondaki 25 ppm coumestrol düzeyi bile ovulasyon yüzdesini belirgin şekilde bastırmaktadır<sup>22</sup>. Ancak coumestan'ların fertilitte üzerine etkileri kalıcı değildir ve yemlerden uzaklaştırılmaları halinde fertilitte kısa zamanda normale döner<sup>9</sup>.

### İneklerde Etkileri

Fitoöstrojenler, inekler tarafından büyük miktarlarda alındığında aşağıdaki fertilitte bozukluklarına yol açmaktadır<sup>23</sup>:

- Düzensiz östrus siklusu,
- Sürekli östrus,
- Genital organ mukozalarında hiperemi ve hipersekresyon,
- Ovariumlarda kistik dejenerasyon,
- Kuvvetli ve uzun süreli uterus kontraksiyonları (gebelerde de),
- Düvelerde memelerin gelişmesi.

Kallela ve arkadaşları<sup>24</sup> suböstrus, düzensiz östrus, anovulasyon, yavru atma ve premature doğum gibi fertilitte bozuklukları gözledikleri bir sürüde, bunların rasyondaki çayır tırfılı (*Trifolium pratense*) silajında bulunan isoflavon'lardan kaynaklandığını ortaya koymuşlardır.

Yine çamların (*Pinus ponderosa*) iğne yapraklarındaki fitoöstrojenlerin, ineklerde vaginada ödem, kanlı akıntı, *retentio secundinarum*, memelerin olağan dışı gelişmesi ve *nymphomania* gibi bulgularla birlikte aborta yol açtığı bildirilmiştir<sup>25</sup>.

Ancak koyunlarla karşılaştırıldığında fitoöstrojenler, ineklerde daha az etkili olmaktadır. Bu durum fitoöstrojenlerin ineklerde daha hızlı bir şekilde biyolojik olarak etkisiz metabolitlere dönüştürülmesine bağlanmıştır<sup>26</sup>.

Diğer evcil hayvanlardan at ve keçinin fertilitesi üzerine fitoöstrojenlerin etkisine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır.

## ÖNLEMLER

Doğal olarak akla gelebilecek ilk önlem, hayvanların fitoöstrojenik bitki yemesini elden geldiğince önlemek olacaktır. Bunun tam olarak mümkün olmadığı durumda, fitoöstrojen düzeyi düşük yem bitkileri ile besleme de olumsuz etkiyi azaltılabilecektir. Bu doğrultuda, bitkilerdeki fitoöstrojen düzeyini etkileyen faktörler (Bkz. ilgili bölüm) gözönünde tutulmalıdır. Örneğin toprağın P, S, N yönünden fakir olması, Akdeniz yoncasında isoflavon'ların düzeyini yükselttiğinden bu gibi durumlarda P, S ve N yönünden gübreleme yararlı olacaktır. Yine kesimden sonra doğal koşullarda kurutma ile Akdeniz yoncasının östrojenik aktivitesi azaltılabilecektir.

Ayrıca aşağıdaki noktalar da önlem olarak gözönünde tutulmalıdır:

**Meraların Islahı:** Meraların yüksek düzeyde fitoöstrojen içeren bitkilerden arındırılarak fitoöstrojenik olmayan ya da düşük düzeyde fitoöstrojen içeren bitkilerle ıslahı infertiliteyi azaltmada yararlı olacaktır.

**Tohumlama sayısının artırılması ya da intrauterin tohumlama:** Fitoöstrojenlerin servikse etkileri sonucu spermatozoonların buradan geçişi güçleştiğinden tohumlama sayısının artırılması ile fertilizasyon şansı yükselecektir. İntrauterin tohumlamada ise spermatozoonlar doğrudan kornulara verildiğinden serviks engeli ortadan kalkmakta ve fertilizasyon oranı yükselmektedir.

**İmmünizasyon:** Koyunlar, fitoöstrojenlere karşı immunize edilerek fitoöstrojenlerin aktiviteleri nötralize edilmeye çalışılmış; ancak sınırlı başarı elde edilmiştir<sup>27</sup>. İlerleme kaydedebilmek için konuyla ilgili ayrıntılı araştırmalara gereksinim vardır.

Diğer bir immunizasyon çalışması ise coumestrol'un etkisi ile ilgili yürütülmüştür. Bilindiği gibi steroidlere karşı immunizasyon, ovulasyon oranını artırmaktadır<sup>28</sup>. Öte yandan coumestan'ların koyunlardaki asıl etkisi ovulasyon oranını azaltmaktır<sup>22</sup>. Böylece steroid immunizasyon, coumestrolün ovulasyon oranı üzerine olumsuz etkisini dengeleyebilmektedir<sup>29</sup>.

**Fitoöstrojenlerin metabolizmasının değiştirilmesi:** Normal olarak, biohain A ve genistein rumende inaktif metabolitlere çevrilmektedirler. Diğer fitoöstrojenlerin de metabolizmaları değiştirilerek benzer şekilde inaktif metabolitlere çevrilmesi düşünülmüştür. Konuyla ilgili araştırmaların sürdürülmesiyle bu yöntem, gelecekte yararlı olabilecektir<sup>9</sup>.

Yine gelecekte araştırılması gereken diğer bir nokta ise fitoöstrojenleri etkisiz kılan rumen mikroorganizmalarının geliştirilmesidir<sup>9</sup>.

## KAYNAKLAR

1. BRADEN, A.W.H., HART, N.K., LAMBERTON, J.A.: The estrogenic



- activity and metabolism of certain isoflavones in sheep. *Aust. J. Res.*, 18, 335-348 (1967).
2. KRAUSE, E.: Hormonellwirksame Stoffe in Futterpflanzen. *Mh. Vet. Med.*, 25, 148-157 (1970).
  3. FARNSWORTH, N.R., BINGEL, A.S., CORDELL, G.A., CRANE, F.A., FONG, H.H.S.: Potential value of plants as sources of new antifertility agents I. *J. Pharm. Sci.*, 64, 535-598 (1975).
  4. FARNSWORTH, N.R., BINGEL, A.S., CORDELL, G.A., CRANE, F.A., FONG, H.H.S.: Potential value of plants as sources of new antifertility agents II. *J. Pharm. Sci.*, 64, 535-598 (1975).
  5. ADAMS, N.R.: Permanent infertility in ewes exposed to plant oestrogens. *Aust. Vet. J.*, 67, 197-201 (1990).
  6. LIGHTFOOT, R.J.: A look at recommendations for the control of infertility due to clover disease in sheep. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 10, 113-121 (1974).
  7. ADAMS, N.R.: Cervical mucus and reproductive efficiency in ewes after exposure to oestrogenic pastures. *Aust. J. Agric. Res.*, 28, 481-489 (1977).
  8. HESSE, R.: Versuche zur Anwendung eines Rezeptortests zur Bestimmung von Phytoöstrogenen. Dissertation, Technische Universität München (1980).
  9. COLLINS, W.J. and COX, R.I.: Oestrogenic Activity in Forage Legumes. In *Forage Legumes for Energy-Efficient Animal Production*, Eds.: Barnes, R.F., Ball, P.R., Brougham, R.W., Marten, G.C., Minson, D.J., Agricultural Research Service, New Zealand, 268-276 (1984).
  10. LINDNER, H.R.: Occurrence of anabolic agents in plants and their importance. In *Anabolic Agents in Animal Production*, Eds.: Lu, P.C. & Rendel, J., Georg Thieme Verlag Stuttgart, 151-158 (1976).
  11. BLOOD, D.C. & RADOSTITS, O.M.: Poisoning caused by miscellaneous legumes. In *Veterinary Medicine*, 7th Edition, Bailliere Tindall London, 1335-1339 (1989).
  12. BEHRENS, H.: *Lehrbuch der Schafkrankheiten*. Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg (1979).
  13. LUDEWIG, C.: Östrogenwirksame Stoffe in Futterpflanzen und deren Konservierungsprodukten. *Mh. Vet. Med.*, 22, 853-856 (1973).
  14. RIECK, G.W. & ZEROBIN, K.: *Zuchthygiene*. Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg (1985).
  15. SHUTT, D.A. & COX, R.I.: Steroid and phyto-estrogens binding to sheep uterine receptors in vitro. *J. Endocr.*, 52, 299-310 (1972).
  16. OBST, J.M. & SEAMARK, R.F.: Hormone studies on ewe grazing on

- oestrogenic (Yarloop clover) pasture during the reproductive cycle. *Aust. J. Biol. Sci.*, 28, 279-290 (1976).
17. DÖCKE, F.: Pflanzliche Östrogene, Antiöstrogene und Antigonadotropine. In *Veterinaermedizinische Endokrinologie*, Ed.: Döcke, F., Gustav Fischer Verlag Jena, 647-653 (1981).
  18. ADAMS, N.R., SANDERS, M.R. & RITAR, A.J.: Oestrogenic Damage and Reduced Fertility in Ewe Flocks in South Western Australia. *Aust. J. Agric. Res.*, 39, 71-77 (1988).
  19. ADAMS, N.R.: Pathological changes in the tissues of infertile ewes with clover disease. *J. Comp. Path.*, 86, 29-35 (1976).
  20. LIGHTFOOT, R.J. & ADAMS, N.R.: Changes in servical histology in ewes following prolonged grazing on oestrogenic subterranean clover. *J. Comp. Path.*, 89, 367-373 (1979).
  21. ADAMS, N.R. & TANG, B.Y.: Changed control of cervical secretion from infertile ewes previously exposed to oestrogenic clover pasture. *J. Reprod. Fert.*, 76, 147-152 (1986).
  22. SMITH, J.F., JAGUSCH, K.T., BRUNSWICK, L.F.C., KELLY, R.W.: Coumestans in lucerne and ovulation in ewes. *N.Z.J. Agric. Res.*, 22, 411-416 (1979).
  23. LOTHAMMER, K.H.: Umweltbedingte Fruchtbarkeitsstörungen. In *Fertilitaetsstörungen beim weiblichen Rind*, Eds.: Grunert, E., Berchtold, M., Paul Parey Verlag Berlin und Hamburg, 390-424 (1982).
  24. KALLELA, K., HEINONEN, K., SALONIEMI, H.: Plant oestrogens; The Cause of Decreased Fertility in Cows. *Nord. Vet. Med.*, 36, 124-129 (1984).
  25. JAMES, L.F., CALL, J.W., STEVENSON, A.H.: Experimentally induced pine needle abortion in range cattle. *Cornell Vet.*, 67, 294-299 (1977).
  26. BRADEN, A.W.H., THAIN, R.I., SHUTT, D.A.: Comparison of plasma phytoestrogen levels in sheep and cattle after feeding on fresh clover. *Aust. J. Agric. Res.*, 22, 663-669 (1971).
  27. COX, R.I., WILSON, P.A., MATTNER, P.E.: Immunization of sheep to block the effects of ingested or administered phytoestrogens. *Toxicol. Suppl.*, 3, 85-88 (1983).
  28. COX, R.I., WILSON, P.A., SCARAMUZZI, R.M., HOSKINSON, R.M., GEORGE, J.M., BINDON, B.M.: The active immunization of sheep against oestrone, androstenedione or testosterone to increase twinning. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 14, 511-514 (1982).
  29. SMITH, J.R., COX, R.I., MCGOWAN, L.T., WILSON, P.A.: Immunization of sheep against oestrone to offset the effects of coumestrol. *Proc. Aust. Soc. Reprod. Biol.* 14, 95 (1982).