

- **Ishraga G. IBRAHİM, Nurgül ATMACA, Ayşe KANICI, Ender YARSAN.** Evaluation of Effects of Enrofloxacin on Some Haematological Parameters in Broilers (*Broylerlerde Enrofloksasinin Bazı Kan Değerleri Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi*). 97-102
- **Ebru ÇETİN, Nazmi ÇETİN, Osman KÜÇÜK.** Toklularda Karayolu ile Taşımanın Oksidan-Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi (*The Effect of Road Transport on Oxidant-Antioxidant System in Yearling Lambs*). 103-109
- **İbrahim DEMİRKAN, Aytekin HİTİT, Z. Kadir SARITAŞ, Kamuran PAMUK, Musa KORKMAZ, Aysun ÇEVİK DEMİRKAN.** Symphysis Mandibula Ayrılmalarında Kemik Yapıştırıcısı, Kemik Çimentosu ve Cam İyonmerin Tutucu Etkilerinin Karşılaştırılması: *Ex Vivo* Taze Koyun Kemğinde Biyomekanik Bir Çalışma (*Comparison of the Binding Effects of Bone Adhesive, Bone Cement and Glass Ionomer in Separated Symphysis Mandible: An Ex Vivo Biochemical Study on Fresh Ovine Mandible*). 111-116
- **Harun ALP, İsmail AYTEKİN, Onur ATAKIŞI, Metin OGÜN.** Ratlarda Akut Malathion Toksikitesinin Neden Olduğu Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester ve Elajik Asit'in Etkileri (*The Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester and Ellagic Acid on Oxidative Stress Created by Acute Malathion Toxicity in Rat*). 117-124
- **Meryem KARAN, Sema TİMURKAAN.** Oklu Kirpelerde (*Hystrix cristata*) Karaciğerin Makro - Anatomik ve Işık Mikroskopik Yapısı (*Macro - Anatomical and Light Microscopical Structures of Liver in Porcupine (Hystrix cristata)*). 125-130
- **Cavit ARSLAN, Tuncay TUFAN.** Kars Yöresinde Farklı Tarihlerde Biçilen Çayırların Verim Özellikleri, Besin Madde İçerikleri ve En Uygun Biçim Tarihinin Belirlenmesi (*Determination of Herbage Yield, Nutrient Composition and Optimum Harvesting Date of Pastures in Kars District*). 131-138
- **Hacer ARSLAN, Muhlis MACİT.** Organik Olarak Açık Ahırda Yetiştirilen İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca Danaların Performans Özellikleri (*Performance Characteristics of Swedish Red And Holstein Friesian Calves Reared Organically at Open Barns*). 139-149

Olgu Sunumu / Case Report

- **İsmail AYTEKİN, Nuri ALTUĞ, Hasan Oktay ÖZTÜRK.** Bir Köpekte Amitraz Toksikasyonu (*Amitraz Toxicity in a Dog*). 151-156

Derlemeler / Reviews

- **Begüm YURDAKÖK, Emine BAYDAN.** Sirkadiyan Ritim ve Sitokrom p450 Enzimleri (*Circadian Rhythm and Cytochrome p450 Enzymes*). 157-162
- **Gamze Nuray YÖRÜK, Ahmet GÜNER.** Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması ve *Weissella* Türlerinin Gıda Mikrobiyolojisinde Önemi (*Taxonomy of Lactic Acid Bacteria and Importance of Weissella Species in Food Microbiology*). 163-176

Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg., 2011; 6(2)

Bu Sayının Hakem ve Danışman Listesi / List of Referees and Advisors for This Issue

- Prof. Dr. Abdurrahman AKSOY, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Prof. Dr. Ali BELGE, Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Prof. Dr. Ali Rıza AKSOY, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Prof. Dr. Kamil SEYREK, Balıkesir Üniversitesi, Tıp Fakültesi
- Prof. Dr. Mete CİHAN, Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Prof. Dr. Zafer OKUMUŞ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Ali KARADENİZ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Ekrem LAÇIN, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Gökhan ERASLAN, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Mehmet GÜL, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Murat KAMBUR, Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Taylan AKSU, Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Yasemin ÖZNURLU, Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Doç. Dr. Zekai HALICI, Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi
- Yrd. Doç. Dr. Ahmet Hulusi DİNÇOĞLU, Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Yrd. Doç. Dr. Demet ÇELEBİ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Yrd. Doç. Dr. Emre KARAKUŞ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Yrd. Doç. Dr. Mustafa Sinan AKTAŞ, Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
- Yrd. Doç. Dr. Nuri MAMAK, Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

* Hakem listesi isim ve akademik ünvana göre alfabetik olarak sıralanmıştır.



Evaluation of Effects of Enrofloxacin on Some Haematological Parameters in Broilers

Ishraga G. IBRAHİM¹, Nurgül ATMACA^{2✉}, Ayşe KANICI³, Ender YARSAN⁴

1. Department of Pharmacology and Toxicology, Central Veterinary Research Laboratories, Khartoum, SUDAN.
2. Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Kırıkkale, Kırıkkale.
3. Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Kafkas, Kars.
4. Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ankara, Ankara.

Abstract: In the present study, effects of enrofloxacin overdose on some haematological parameters of broiler chickens were investigated. A total of 50, Ross-308 one-day-old male broiler chickens were used. Broilers (10 days old) were divided into four groups: Animals in Group 1 (kept as control) and Group 2, 3 and 4 were administered 10, 100 and 200mg/kg body weight enrofloxacin for 30 consecutive days, respectively. Samples of blood were then collected to determine the haematological values. Haematological parameters were determined manually. Results revealed that the RBC decreased in Group 3 and 4; the Hb increased in Group 2 and decreased in Group 3 and 4; the MCV levels were higher in Group 3 and 4; the MCH increased in Group 2, 3 and decreased in Group 4; the MCHC decreased in Group 3 and 4. There were declines in the WBC in Group 3 and 4. The results suggest that the oral administration of enrofloxacin at approximately 10- and 20-fold of the proposed dosage of 10 mg /kg for up to 30 days altered some haematological parameters in broiler chickens. Additionally, it was shown that the resultant anaemia and leucopenia occurred in broilers.

Key words: Broiler, Enrofloxacin, Haematological Parameters.

Broyerlerde Enrofloksasinin Bazı Kan Değerleri Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

Özet: Bu çalışmada, enrofloksasinin yüksek dozlarının broyler piliçlerde bazı kan parametreleri üzerine etkileri araştırıldı. Toplam 50 adet, Ross-308, 1 günlük erkek broyler kullanıldı. Broylerler (10 günlük) dört gruba ayrıldı: Grup 1 (kontrol) ve Grup 2, 3 ve 4'e sırasıyla 10, 100 ve 200 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde 30 gün boyunca enrofloksasin uygulaması yapıldı. Tedavi süresi sonunda kan değerlerini belirlemek amacıyla kan örnekleri toplandı. Kan parametreleri manuel metotla tespit edildi. RBC Grup 3 ve 4'te düşük; Hb, Grup 2'de yüksek, Grup 3 ve 4'te düşük; MCV düzeyleri Grup 3 ve 4'te yüksek; MCH, Grup 2, 3'te yüksek, Grup 4'te düşük; MCHC, Grup 3 ve 4'te düşük bulundu. WBC değerinde Grup 3 ve 4'te azalma vardı. Bu çalışmada, enrofloksasinin önerilen 10 mg/kg dozunun yaklaşık 10 ve 20 katının 30 gün boyunca ağız yoluyla uygulanmasının, broylerlerde bazı hematolojik değerleri değiştirdiği sonucuna varıldı. Bununla birlikte, broylerlerde anemi ve lökopeni şekillendiği belirlendi.

Anahtar kelimeler: Broyler, Enrofloksasin, Kan Parametreleri.

✉ Nurgül ATMACA

Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Kırıkkale, Kırıkkale, e-posta: nurgul504@hotmail.com

INTRODUCTION

Antibiotics have been widely used in livestock industry not only to control disease but also to promote growth and improve feed conversion (Waldroup et al., 2003; Al-Mayah and Al-Ahmed, 2005). Enrofloxacin is a fluoroquinolone antibiotic which acts by inhibition of bacterial DNA-gyrase, has a broad spectrum of activity and low bacterial resistance, and is effective at low tissue concentrations. It was approved in poultry for controlling Gram negative, Mycoplasma and some Gram positive bacteria and was the first fluoroquinolone certified for use in animals (Martinez et al., 2006). Enrofloxacin was first synthesised after series of chemical modifications of nalidixic acid (Ellakany et al., 2007). Its recommended dose is 10 mg/kg body weight/day for 3 to 10 days in chicken and turkey (Carreras et al., 2004). Although antibiotic therapy is often prescribed for treatment of bacterial infection in humans and animals, but there are some reports on its side-effects. The main adverse effects in humans, reported with fluoroquinolones treatment include; gastro-intestinal tract disturbances (*i.e.* anorexia, nausea, vomitus and diarrhoea), hypersensitivity reaction and central nervous system reactions such as dizziness, sleep disorder and head-aches. Other less common adverse reactions include; photosensitivity, convulsion and tendinitis or tendon rupture (Christ et al., 1988; Hooper and Wolfson, 1993). In animal studies, the principal adverse effects are synovial effusion and cartilage damage of the major diarthrodial joints when juvenile animals are overdosed (Burkhardt et al., 1990; Gough et al., 1992). However, recently, certain antibiotics have been shown to exert diverse effect on different elements of the blood (Al-Mayah and Al-Ahmed). The haematological side-effects of fluoroquinolones in human are anaemia, thrombocytopenia, leucopenia and reversible decreases in haemoglobin and haematocrit levels (Lubran, 1989; Maguire et al., 1994). Therapeutic dose of the enrofloxacin has no important adverse effects on

blood parameters in dogs (Tras et al., 2001), but reduced blood parameters were reported in young broilers (Al-Mayah and Al-Ahmed, 2005). In addition to this therapeutic dose and 10-fold overdose of enrofloxacin were determined to lead adverse changes in blood parameters of broilers (Ellakany et al., 2007). Blood parameters are related to the animals' health conditions (Muhammad and Oloyede, 2009) and have diagnostic importance for estimation of the animals' general conditions (Toghyani et al., 2010).

Because of the common use of enrofloxacin in livestock industry for treatment of various diseases, its accidental overdose effect should be investigated in detail. Also, the knowledge related to haematological side-effects in animals is rather limited. Therefore, the aim of this study was to determine the influences of long-term oral administration of enrofloxacin overdose on some haematological parameters in healthy broiler chickens.

MATERIALS and METHODS

The ethical approval has been obtained before the experiments. For the study, one-day old 50 healthy broilers (Ross-308) were used. All chickens were housed together for 10 days prior to the experimentation. Animals were fed basal diet containing 22% protein and 3000 kcal energy. On day 10, chickens were randomly assigned into 4 groups: Group 1 was kept as control while Group 2, 3 and 4 received enrofloxacin (%10) once daily, via stomach tube, at 10, 100 and 200 mg/kg body weight for 30 consecutive days, respectively.

Samples of complete blood were collected from all broilers on day 30, following the last doses given. Blood samples were obtained from the wing vein using evacuated tubes containing EDTA. The red blood cell (RBC) and white blood cell (WBC) counts were determined by haemocytometer method using Natt-Herrick solution. Haematocrit

(Hct) or packed cell volume (PCV) and haemoglobin (Hb) values were measured by microhaematocrit and Sahli's methods (Konuk, 1981) respectively. The haematimetric indices, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin (MCH) and mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) were calculated from the RBC count, haematocrit and haemoglobin concentration. The

percentages of peripheral blood leukocyte were determined using blood smears stained by May Grunwald-Giemsa stain (Konuk, 1981). Data were presented as mean \pm SE and were analysed statistically by ANOVA. Duncan multiple range test was used to test the significance of differences between the experimental groups ($p < 0.05$).

Table 1. The effects of different doses of enrofloxacin on some haematological parameters in broilers (Means \pm SE, n=10)

Tablo 1. Enrofloksasinin farklı dozlarının broylerlerde bazı kan değerleri üzerine etkileri (Means \pm SE, n=10)

Parameters	Control	Group 2	Group 3	Group 4
RBC ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	2.70 \pm 0.01 ^a	2.70 \pm 0.01 ^a	1.98 \pm 0.01 ^b	1.82 \pm 0.01 ^b
Haemoglobin (g/dl)	7.56 \pm 0.29 ^b	9.0 \pm 0.36 ^a	7.06 \pm 0.43 ^c	5.00 \pm 0.01 ^c
PCV (%)	24.10 \pm 0.67	27.50 \pm 1.3	25.70 \pm 0.9	26.90 \pm 0.5
MCV (fl)	88.93 \pm 3.0 ^b	100.30 \pm 2.4 ^b	130.60 \pm 3.97 ^a	157.69 \pm 10.32 ^a
MCH (pg)	27.83 \pm 1.09 ^b	32.71 \pm 0.84 ^a	35.82 \pm 2.57 ^a	32.07 \pm 1.01 ^b
MCHC (%)	31.31 \pm 0.79 ^a	32.62 \pm 0.43 ^a	27.30 \pm 1.22 ^b	20.53 \pm 0.86 ^c
WBC ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	20.0 \pm 0.9 ^a	20.4 \pm 0.5 ^a	18.2 \pm 0.8 ^b	18.4 \pm 1.12 ^b
Heterophil (%)	44.8 \pm 3.7	47.0 \pm 4.15	49.0 \pm 1.51	48.8 \pm 1.15
Lymphocyte (%)	37.0 \pm 1.2	36.8 \pm 2.35	35.4 \pm 0.74	40.0 \pm 1.58
Monocyte (%)	11.0 \pm 3.34	8.2 \pm 2.92	4.2 \pm 1.77	6.40 \pm 1.22

Values with different superscripts are statistically significant at $p < 0.05$ in the same row.

RESULTS

The effects of enrofloxacin on haematological parameters of broiler chickens are shown in Table 1. In blood samples of broilers, treated with enrofloxacin for 30 days, the RBC decreased significantly in Group 3 and 4 ($p < 0.05$). The levels of Hb were significantly lower in all treated groups as compared to those in control, except in Group 2 as being significantly higher ($p < 0.05$). No significant changes were found for the PCV values ($p > 0.05$). The value of MCH was significantly ($p < 0.05$) increased in Group 2 and 3, but decreased in Group 4. The levels of MCHC was significantly decreased in Group 3 and 4 ($p < 0.05$). Besides, the value of MCV was significantly higher in Group 3 and 4 as compared to those in control ($p < 0.05$). The level of WBC decreased as

drug dose given increased, with significant decrease in Group 3 and 4 ($p < 0.05$). The values of heterophil, lymphocyte and monocyte were not significantly different between the groups ($p > 0.05$).

DISCUSSION

In this study, the effects of recommended dose, 10-fold and 20-fold overdoses of enrofloxacin on some haematological parameters were investigated in broilers. Haematological parameters are usually related to health status and are of diagnostic importance in clinical evaluation of the state of health. Blood parameters are good indicators of physiological, pathological and nutritional status of an animal concerned. In the present study, no marked difference in haematocrit values was found between the

groups ($p>0.05$). However, marked declines ($p<0.05$) in the RBC and Hb values were found in Group 3 and 4. These values given were found low, as compared to those (RBC= 2.84 ± 0.18 million/ mm^3 , Hb= 13.94 ± 0.25 g/dl) in healthy broilers, previously reported by Talebi et al. (2005). Similarly, declines in the RBC and Hb values were reported in chicken (1-5 days old) and horse treated with enrofloxacin (Al-Mayah and Al-Ahmed, 2005; Giguere et al., 1999). Ellakany et al. (2007) reported that treatment of 10-fold overdose resulted in no change in RBC and haematocrit values, but haemoglobin concentration showed decline in 29-34 days old broilers. On the other hand, no alterations in the RBC, Hb and PCV values were observed in dogs treated with enrofloxacin (Traş et al., 2001).

Bone marrow and peripheral blood cells may be affected adversely by drugs (Hooper and Wolfson, 1993; Maguire et al., 1994). However, Gilbertso and Jones (1972) reported a relationship between the incidence of anaemia and nalidixic acid (the main core of enrofloxacin). It can be presumed that high dose of enrofloxacin can lead anaemia via bone marrow suppression in broilers. Antibiotics are used in livestock industry to promote growth and increase feed efficiency in less ideal environment condition (Doyle, 2001). It can be expected that, according to Doyle (2001), treatment dose (as also used in Group 2, herein) of enrofloxacin had no adverse effect on blood parameters.

In this study, the MCV value, calculated by haematocrit levels and total number of erythrocyte, markedly increased in Group 3 and 4 as compared to those in control. The MCHC value, calculated by haemoglobin and haematocrit values, markedly decreased in Group 3 and 4 as compared to those in control ($p<0.05$). Traş et al. (2001) reported that there was no alteration in the MCHC value in dogs treated with enrofloxacin, but temporary increases in the MCV value was observed, as was also the case herein. Al-Mayah and Al-Ahmed (2005) reported that enrofloxacin decreased the MCV, MCH and

MCHC values in 1-5 days old broilers. However, the MCH, determined by the total red blood cell number and haemoglobin value, was markedly higher in Group 2 and 3 as compared to those in control ($p<0.05$). In this study, the MCV values increased in Group 3 and 4 as compared to those in healthy broilers (Talebi et al., 2005), while the MCHC values were lower. Cell volume (MCV) and haemoglobin concentration are the red cell indices used to characterise the blood of patients with anaemia (Mohandas et al., 1986). Thus, we may presume that macrocytic hypochromic anaemia occurred in Group 3 and 4. In this study, no marked difference was found in the rates of heterophil, lymphocyte and monocyte between the groups ($p>0.05$), while the number of total leukocyte increased in Group 3 and 4 as compared to those in control ($p<0.05$). These values given seemed to be lower as compared to those in healthy broilers (Talebi et al., 2005).

Ellakany et al. (2007) demonstrated that the 10-fold dose of enrofloxacin decreased the total leukocyte in young broilers (6 days old), with no alteration in older animals, but decreased number of lymphocyte and increased number of heterophil were observed in older animals (34 days old). Al-Mayah and Al-Ahmed (2005) showed that enrofloxacin decreased the total leukocyte in 1-5 days old broilers, however, no alteration were noted in 22-27 days old animals. It is known that the main function of leukocyte is to combat and prevent infection. A very low WBC can be related to the bone marrow problems. This condition is called leucopenia (Muhammad and Oloyede, 2009). Moreover, it was also reported that ciprofloxacin and perfloxacin caused declines in the WBC in rats (Kilic et al., 2003). Thus, it could be presumed herein that high doses (10- and 20-fold) of enrofloxacin may cause leucopenia in animals.

The results of study suggest that the oral administration of enrofloxacin at approximately 10- and 20-fold of the proposed dose of 10mg/kg body weight for 30 days led to changes in some haemato-

logical parameters in broiler chickens. Further, it was shown that anaemia and leucopenia occurred in broilers.

REFERENCES

- Al-Mayah AS., Al-Ahmed JA., 2005. Influence of antibiotic treatment on hematological aspect in chicken. *Int. J. Poult. Sci.*, 4, 323-325.
- Bertone AL., Tremaine H., Macoris DG., Simmons EJ., Ewert KM., Weisbrode SE., 1998. Effect of chronic systemic administration of an injectable enrofloxacin solution on physical musculoskeletal and histological parameters in adult horse. *AAEP Proceedings*, 44, 252-253.
- Burkhardt JE., Hill MA., Carlton WW., Kesterson JW, 1990. Histologic and histochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin, a fluoroquinolone. *Vet. Pathol.*, 27, 162-170.
- Carreras I., Castellari M., Garcia Regueiro JA., Guerrero L., Esteve-Garcia E., Sarraga C., 2004. Influence of enrofloxacin administration and α -tocopheryl acetate supplemented diets on oxidative stability of broiler tissues. *Poult. Sci.*, 83, 796-802.
- Christ W., Lehnet T., Ulbrich B., 1988. Specific toxicologic aspect of the quinolones. *Rev. Infect. Dis.*, 10, 141-146.
- Doyle ME., 2001. Alternative to antibiotics use for growth promotion in animal husbandry. Food Research Institute, Madison.
- Ellakany HF., Abu El-Azm IM, Bekhit AA., Shehawy MM., 2007. Studies on the effects of enrofloxacin overdose on different health parameters in boiler chickens. *BS. Vet. Med. J.*, 5th Scientific Conference 176-186.
- Giguere S., Sweeney RW., Habecker PL., Richardson DW., 1999. Tolerability of orally administered enrofloxacin in adult horses. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 22, 343-347.
- Gilbersto S., Jones DR., 1972. Effect of nalidixic acid on blood. *Brit. J. Urol.*, 44, 503
- Gough AW, Kasali OB., Sigler RE., Baragi V., 1992. Quinolone arthropathy-Acute toxicity to immature cartilage. *Toxicol. Pathol.*, 20, 436-449.
- Hooper DC., Wolfson JS., 1993. Adverse effects. In "Quinolones Antimicrobial Agents". Eds., DC Hooper and J Wolfson, American Society for Microbiology, Washington, USA.
- Kilic FS., Batu O., Yildirim E., Erol K., Deliorman S., 2003. Ciprofloxacin and Perfloxacin suppress the inflammatory response in rats. *J. Health. Sci.*, 49, 391-394.
- Konuk T., 1981. Pratik Fizoloji, 2. baskı. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara.
- Lubran MM., 1989. Haematological side effects of drug. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 19, 114-121.
- Maguire RB., Stroce EG., Yearlsey M., 1994. Haematological anemia and acute renal failure associated with temafloxacin-dependent antibodies. *Am. J. Hematol.*, 46, 363-366.
- Martinez M., McDermott P., Walker R., 2006. Pharmacology of fluoroquinolones: A perspective for the use in domestic animals. *Vet. J.*, 172, 10-28.
- Mohandas N., Kim YR., Tycko DH., Orlik J., Wyatt J., Groner W., 1986. Accurate and independent measurement of volume and hemoglobin concentration of individual red cells by laser light scattering. *Blood*, 68, 506-513.
- Muhammad NO., Oloyede OB., 2009. Haematological parameters of broiler chicks fed *Aspergillus niger*-fermented *Terminalia catappa* seed meal-based diet. *Global J. Biotechnol. Biochem.*, 4, 178-183.
- Sin CP., Wang R., Chu V., 2002. Liquid chromatographic determination of fluoro-quinolones in egg albumin and egg yolk of laying hens using fluorometric detection. *J. Agric. Food. Chem.*, 50, 4452-4455.
- Talebi A., Asri-Rezaei S., Rozeh-Chai R., Sahraei R., 2005. Comparative studies on haematological values of broiler strains (Ross, Cobb, Arbor-acres and Arian). *Int. J. Poult. Sci.*, 4, 573-579.
- Toghyani M., Tohidi M., Gheisari AA., Tabeidian SA., 2010. Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed

dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. *Afr. J. Biotechnol.*, 9, 6819-6825.

Traş B., Maden M., Baş L., Elmas M., Yazar E., Civelek T., 2001. Investigation of biochemical and haematological side-effects on enrofloxacin in dogs. *J. Vet. Med. A*, 48, 59-63.

Waldroup PW., Fritts CA., Yan F., 2003. Utilization of Bio-Mos® mannan oligosaccharide and Bioplex® copper in broiler diets. *Int. J. Poult. Sci.*, 2, 44-52.



Toklularda Karayolu ile Taşımanın Oksidan-Antioksidan Sistem Üzerine Etkisi

Ebru ÇETİN^{1✉}, Nazmi ÇETİN¹, Osman KÜÇÜK²

1. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.
2. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri.

Özet: Bu çalışmada, toklularda karayolu ile 5, 10 ve 24 saat süreyle taşımanın oksidan-antioksidan sistem üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Çalışmada toplam 60 adet Akkaraman ırkı toklu kullanıldı. Hayvanlar dört eşit gruba ayrılarak kontrol grubundaki hayvanlar taşınmazken deneme grubundakiler ise 5 (grup I), 10 (grup II) ve 24 (grup III) saat süreyle taşındı. Kontrol grubu ve taşınan hayvanlardan taşıma sonrası kan örnekleri alınarak oksidatif stres parametreleri değerlendirildi. Kontrol grubuna göre 10 ve 24 saat süreyle taşınan hayvanlarda malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri ile süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitelerinin daha yüksek ($p<0.05$) olduğu belirlendi. Katalaz aktivitesi ise taşımadan etkilenmedi ($p>0.05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 5 saat süreyle taşıma oksidatif stres parametrelerinde önemli bir değişiklik oluşturmadı. Sonuç olarak, koyunlarda 10 ve 24 saat süreyle taşımanın oksidatif stres oluşturabileceği belirlendi.

Anahtar kelimeler: Toklu, Oksidatif Stres, Taşıma.

The Effect of Road Transport on Oxidant-Antioxidant System in Yearling Lambs

Abstract: The aim of this study was to assess the effect of 5, 10 and 24 hours of road transport on oxidant-antioxidant status in yearling lambs. A total of 60 Akkaraman lambs were used in this study. Animals were divided into four equal groups: control group (untransported), group I (transported for 5 hours), group II (transported for 10 hours), group III (transported for 24 hours). Blood samples were collected from control group and other groups after transportation for oxidative stress markers. It was determined that the levels of MDA and NO, and SOD and GPx activities were significantly higher ($p<0.05$) in lambs transported for 10 and 24 h than in control animals. However, catalase activity was not affected by transportation ($p>0.05$). Transportation for 5 h did not cause any significant change in the oxidative stress markers as compared to those of control group. In conclusion, transportation for the duration of 10 and 24 h may cause oxidative stress in lambs.

Key words: Lamb, Oxidative Stress, Transportation.

✉Ebru ÇETİN

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, e-posta: ecetin@erciyes.edu.tr

GİRİŞ

Çiftlik hayvanlarında taşıma işlemi, gerek verim kayıplarına yol açması ve gerekse hayvan refahını olumsuz yönde etkilemesi nedeniyle hayvansal üretimde en kritik noktalardan birisi olarak kabul edilmektedir (Mormede et al., 1982; Grandin, 2000). Taşıma sırasında, gürültü, rüzgar, sıcak ve soğuk hava, sarsıntı, olumsuz yol şartları, taşıtın hızlı ve dikkatsiz sürülmesi, sıkışıklık, hareketsizlik, havasızlık, susuzluk, açlık ve uzun süre ayakta durmaya bağlı kaslarda yorgunluk gibi bir çok faktör hayvanlarda strese neden olmaktadır (Parrott ve ark., 1998; Hartung, 2003).

Hücrelerde devam eden metabolik faaliyetler sonucu serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri üretilmektedir. Serbest radikaller başlıca, moleküler oksijenin, normal metabolizma basamaklarında indirgenmesi ile açığa çıkan hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir. Oksijenden oluşan başlıca reaktif oksijen türleri; O_2^- (Süperoksit) radikali, H_2O_2 (Hidrojen peroksit), $HO^$ (Hidroksil) radikali, nitrik oksit radikali, $HOCl$ (Hipokloröz asit), Singlet O_2 ($O_2^{\uparrow\downarrow}$), $R^$ (Alkil radikali), $ROO^$ (Peroksil radikali), $RCOO^$ (Organik peroksit radikali), $HO_2^$ (Perhidroksil radikali) ve $RO^$ (Alkoksil radikali)'dir. (Freeman ve Crapo, 1982). Oluşan bu serbest radikaller vücuttaki SOD, CAT ve GPx gibi enzimatik veya glutatyon, melatonin, vitamin A, E ve C, flavanoidler gibi enzimatik olmayan anti oksidan savunma sistemleri tarafından kompanse edilerek hücrel homeostazis devam ettirilmeye çalışılır (Roder, 2001). Radikal üretimi ve antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulması dokularda oksidatif hasara yol açmaktadır (Alessio, 1993; Lili, 1995).

Taşıma sırasında fiziksel zorlanım sonucu artan kas kasılmaları enerji üretimi ve metabolik olaylarla birlikte vücuda oksijen girişini de önemli ölçüde artırmaktadır (Freeman ve Crapo, 1982). Serbest radikallerin oksijen kaynaklı olduğu düşünüldüğünde gerek oksijen kullanımının artması gerekse

mitokondriyal elektron transport zincirinden elektron sızıntısının artması sonucu süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi birçok reaktif oksijen türlerinde artış ortaya çıkmaktadır. Serbest radikaller antioksidan kapasiteyi aşarsa hücrelerin lipid, protein, DNA ve enzim gibi bileşiklerine zarar verir. Özellikle lipid peroksidasyonu olarak bilinen çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı oldukça hasar vericidir. Nitekim, taşıma süresinin hayvanlarda et kalitesini olumsuz yönde etkileyen en önemli faktörlerden biri olduğu (Kadim ve ark. 2006) ve olumsuz etkinin ette oluşan lipid peroksidasyona bağlı olduğu bildirilmiştir (McClelland, 2004). Öte yandan, strese bağlı olarak epinefrin ve diğer katekolaminlerin artışı, laktik asit, laktat dehidrogenaz, kreatin fosfokinaz gibi enzim aktivitelerinin yükselmesi sonucu oksidan-antioksidan denge radikaller lehine bozulabilir (Freeman ve Crapo, 1982). Atlarda egzersizin oluşturduğu oksidatif stresin pulmoner hemorajiye neden olduğu kaydedilmiştir (Mills ve Higgins, 1997). Taşıma stresinin sığırlarda oksidatif stres göstergelerini artırdığı bildirilmiştir (Chirase ve ark., 2004). Sığırlarda taşıma sonrasında ortaya çıkan hastalıkların patofizyolojisinde bozulan oksidan-antioksidan dengenin rol oynadığı ileri sürülmüştür (Pregel ve ark., 2005; Urban, 2006; Wernicki ve ark., 2006). Koyunlarda taşıma stresinin oksidan-antioksidan sistem üzerine etkisi ile ilgili çok az veri bulunmaktadır. Bu nedenle, birinci bölümünde taşıma stresinin hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisinin ele alındığı çalışmanın (Çetin ve ark., 2011) bu ikinci bölümünde ise taşıma stresinin oksidan-antioksidan sistem üzerine etkisi incelendi.

MATEYAL ve METOT

Çalışma, Haziran ayında, 60 adet, erkek Akkaraman toklular üzerinde gerçekleştirildi. Hayvanlar Kayseri'de bir üreticiden satın alınarak Erciyes Üniversitesi

Veteriner Fakültesi Araştırma Uygulama Çiftliği'ne nakledildi. Daha sonra hayvanlar her grupta 15 hayvan olacak şekilde 3 taşıma grubu ile 1 kontrol grubu olarak toplam 4 gruba ayrıldı. Taşınacak hayvanlar (15x3=45 toklu) kamyonu 0.35 m²/baş sıklıkta olacak şekilde yüklendikten sonra 5, 10 ve 24 saat süreyle taşındı. Kontrol grubu hayvanlar ise aynı sıklıkta çiftlikte tutuldu. 24 saat süreyle taşınacak hayvanlar 14 saat süreyle taşındıktan sonra yem ve su verilerek bir saat dinlendirildi. (Sarıözkan ve ark., 2009).

Kontrol ve taşınan hayvanların taşıma sonrasında *Vena jugularis*'inden antikoagulanlı tüplere kan örnekleri alındı. Alınan kanlar 5000 g devirde 10 dakika santrifüj edilerek plazma ve eritrositlerine ayrıldı. Plazmada malondialdehit (MDA) ölçümü Yoshioka ve ark. (1979) tarafından bildirilen yöntem göre yapılırken nitrik oksit düzeyi (NO) ise Griess reaksiyonu kullanılarak spektrofotometrede (Shimatzu UV-1700) belirlendi (Tracey ve ark., 1995). Antioksidan enzimlerden GPx ve SOD enzim aktiviteleri ticari kitler (Cayman, Italy) kullanılarak Eliza (BioTek Synergy HT) cihazıyla tayin edildi. Katalaz enzim aktivitesi Luck (1955)'in metoduna göre ortamdaki hidrojen peroksitin katalaz tarafından yıkımlanması ve hidrojen peroksitin 240 nm'de ışığı

absorbe etmesine dayanan spektrofotometrik yöntem ile belirlendi. GPx, SOD ve CAT enzim aktivitelerinin hesaplanmasında kullanılan hemoglobin konsantrasyonları ise Drabkin metoduyla ölçüldü (Fairbanks ve Klee, 1987).

Çalışmada elde edilen veriler istatistik bilgisayar paket programı (SPSS for Windows 12 Version) kullanılarak değerlendirildi. Gruplar arasında farklılığı tespit etmek için tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ve farkın anlamlı olduğu durumlarda çoklu karşılaştırma testlerinden Duncan testi kullanıldı. Veriler aritmetik ortalama ve standart hata olarak verildi. Önemlilik düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi.

BULGULAR

Kontrol grubu ile 5, 10 ve 24 saat taşınan koyunlarda MDA ve NO düzeyleri ile SOD, CAT ve GPx aktiviteleri Tablo 1'de verildi. Koyunlarda 5 saat süreyle taşımanın kontrol grubu ile karşılaştırıldığında oksidatif stres parametrelerinde önemli bir değişiklik oluşturmadığı gözlemlendi. Ancak, 5 saat süreyle taşınan hayvanların MDA düzeyinde kontrol grubuna göre bir artma gözlenmesine karşılık bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edildi (p>0.05).

Tablo 1. Kontrol ile 5 (Grup I), 10 (Grup II) ve 24 (Grup III) saat süreyle taşınan gruplarda plazma MDA ve NO düzeyleri ile eritrosit SOD, CAT ve GPx aktiviteleri.

Table 1. The levels of plasma MDA and NO, and erythrocyte SOD, CAT and GPx activities in control and groups transported for 5 (Group I), 10 (Group II) and 24 h (Group III).

Gruplar (n=15)	MDA (nmol/ml)	NO (nmol/ml)	SOD (U/g Hb)	CAT (U/g Hb)	GPx (nmol/dak/ g Hb)
Kontrol	8.75± 1.11 ^a	15.08± 0.72 ^a	1.08± 0.18 ^a	10.12± 0.15	321.70± 69.68 ^a
Grup I	12.84± 1.44 ^a	16.11± 1.12 ^a	1.11± 0.14 ^a	11.17± 0.17	329.32± 56.22 ^a
Grup II	15.10± 1.83 ^b	20.21± 2.06 ^b	1.76± 0.21 ^b	12.12± 1.18	478.56± 75.53 ^b
Grup III	16.65± 1.10 ^b	21.80± 1.89 ^b	1.87± 0.20 ^b	13.12± 0.19	495.46± 86.89 ^b

^{a,b}: Aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan değerler istatistiksel olarak farklıdır (p<0.05).

MDA: malondialdehit, NO: nitrik oksit, SOD: süperoksit dismutaz, CAT: katalaz, GPx: glutatyon peroksidad

Nitrik oksit ve MDA düzeylerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 10 ve 24 saat süreyle taşınan gruplarda daha yüksek olduğu belirlendi ($p<0.05$). Antioksidan enzimlerden SOD ve GPx aktivitelerinin 10 ve 24 saat süreyle taşınan hayvanlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek olduğu ($p<0.05$) gözlenirken, CAT aktivitesinde ise taşıma süresiyle doğru orantılı olarak bir artma kaydedilmesine karşın bu artma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

TARTIŞMA

Lipid peroksidasyon, serbest radikaller tarafından başlatılan ve membran yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu membran lipid yapısını değiştirerek hücrenin yapı ve fonksiyonlarını bozan kimyasal bir olaydır (Freeman ve Crapo, 1982). Malondialdehit lipid peroksidasyonunun en önemli belirteci olarak kabul edilmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Çalışmamızda elde edilen veriler oksidatif stres göstergelerinden MDA düzeyi açısından incelendiğinde, 5 saat süreyle taşınan hayvanların MDA düzeyinde kontrol grubuna göre bir artma görülmesine rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Öte yandan, 10 ve 24 saat süreyle taşınan hayvanlarda ise plazma MDA düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artışın şekillenmesi, taşıma stresi sonucu oluşan serbest radikallerin hücre lipid membranlarını hasara uğrattığının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Wernicki ve ark. (2006) kısa süreli (2 saat) taşınan sığırlarda plazma kortizol düzeyi ile lipid peroksidasyon arasında pozitif bir ilişki saptamışlar ve taşımanın hayvanlarda lipid peroksidasyonu artırdığını ileri sürmüşlerdir. Chirase ve ark. (2004)'nin sığırlarda taşımanın MDA düzeyinde artışlara yol açtığı yönündeki bildirimleri de bulgularımızı desteklemektedir. Avcı ve ark. (2008) 5 saat süreyle taşımanın koyunlarda MDA düzeyini önemli düzeyde artırdığını bildirmişlerdir.

Nitrik oksit muskarinik veya histamin reseptör-

leri gibi çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L- arjinin ve oksijenden, nitrik oksit sentaz enzimi etkisiyle sentezlenir. Önceleri endotel damar düz kasları arasında bir sinyal molekülü olarak tanımlanan nitrik oksitin, daha sonra ortamdaki konsantrasyonuna bağlı olarak düzenleyici, koruyucu ve sitotoksik etkileri de belirlenmiştir. Nitrik oksit hem fizyolojik hem patofizyolojik süreçlerde önemli bir role sahip serbest radikaldir. Nitrik oksit oksijenle birleşerek, dokular için son derece zararlı bir radikal olan peroksinitrit'e dönüşür. Peroksinitritin proteinlere doğrudan zararlı etkileri vardır (Tunçtan ve Abacıoğlu, 1998; Kılınç ve Kılınç, 2003). Çalışmada 10 ve 24 saat süreyle taşınan koyunlarda plazma NO düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunması, taşıma sırasında artan serbest radikallerin hücre lipid membranlarını peroksidasyona uğrattığını göstermektedir. Taşıma sonrasında hayvanların MDA ve NO düzeylerinde gözlenen bu artış, taşıma stresiyle artan glikokortikoid ve kateşolaminlerin aerobik enerji üretimini artırmasıyla ilişkili olabilir. Enerji üretimindeki artma ise reaktif oksijen türlerini ve dolayısıyla da lipid peroksidasyonunu artırır (Freeman ve Crapo, 1982). Diğer taraftan organizmada kan akımındaki azalma veya yetersizliği ile süperoksit anyon kaynağı olan ksantin oksidazın iskemi süresince ksantin dehidrogenaz'a dönüşümü de NO üretimini artırır. (Joannidis ve ark., 1990; Civan ve Keçeci, 2010). Aynı zamanda sıcaklık stresinin de hücrelerde reaktif oksijen türleri oluşumunu artırarak oksidatif stresi uyardığı bildirilmektedir (Hall ve ark., 1994; Harmon ve ark., 1997; Bernabucci ve ark., 2005).

Organizmanın serbest radikallere karşı savunma sisteminde öncelikle hücrelerdeki enzim sistemleri etkili olmaktadır. SOD, GPx ve CAT serbest radikallerin birikmesini ve lipid peroksidasyonunun başlamasını önleyen en önemli enzimatik antioksidanlardır (İnci ve ark., 1998; Gani ve ark., 2000). Bu antioksidanlardan SOD, peroksinitrit oluşumunu engelleyici ve süperoksit radikalini daha az zararlı H_2O_2 'ye dönüştürücü etkisi nedeniyle organizmayı

oksidanların zararlı etkisinden korur (Kılınç ve Kılınç, 2003). Çalışmada, 10 ve 24 saat süreyle taşınan gruplarda SOD aktivitesinde kontrol grubuna göre önemli bir artış kaydedildi. Bu durum, taşıma sırasında oluşan oksidatif stres sonucu ortamda artan süperoksit radikalini temizlemek için SOD enzim aktivitesinin arttığını düşündürmektedir. Bulgularımıza benzer şekilde yaz aylarında taşınan sığırlarda eritrosit SOD aktivitesinde önemli bir artış gözlenmiştir (Bernabucci ve ark., 2005). Öte yandan 5 saat süreyle taşınan develerde SOD aktivitesinde önemli bir artma saptanmaması bulgularımızla benzerlik göstermemektedir. (Nazifi ve ark., 2009). Bu farklılıklar taşıma süresi, taşıma koşulları, hava durumu ve hayvan türü gibi birçok faktörden kaynaklanabilir.

Katalaz enzimi, GPx ile beraber hücre içi hidrojen peroksitin yok edilmesi veya vücuttan uzaklaştırılmasında rol alır. Katalazın doku dağılımı geniştir. Ancak karaciger, böbrek ve eritrositlerde bu enzim daha yüksek düzeylerde bulunur. Katalaz özellikle hidrojen peroksitin arttığı durumlarda etkilidir ve hidrojen peroksiti oksijen ve suya dönüştürerek ortadan kaldırır (Finaud ve ark., 2006). Çalışmada taşıma süresiyle doğru orantılı olarak katalaz aktivitesinde bir artma tespit edilmiş, ancak bu artma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Benzer şekilde maraton koşusundan sonra eritrosit katalaz aktivitesinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir (Rokitcki ve ark., 1994). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, 10 hafta süreyle haftada 5 gün ve günde 15-60 dk yapılan yüzme antrenmanlarının böbrek ve diyafram kasının CAT aktivitesinde herhangi bir değişiklik oluşturmadığı tespit edilmiştir (Nakatani ve ark., 2005).

Eritrositlerde oksidan strese karşı en etkili antioksidan enzim GPx'dir. Bu enzim hidrojen peroksitin ve organik hidroperoksitlerin indirgenmesini sağlar. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksitin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Dündar ve Aslan, 2000). Sunulan çalışmada 10 ve 24 saat süreyle taşınan hayvanların eritrosit GPx aktivitesinin kont-

rol grubuna göre anlamlı olarak arttığı tespit edildi. Bu artma, ortamda hidrojen peroksitin artmasıyla ilişkili olabilir. İnsanlarda uzun süreli egzersizden sonra fiziksel stres faktörlerine karşı uyum mekanizmasının bir sonucu olarak GPx aktivitesinde artma gözlenmiştir (Tessier ve ark., 1995; Tauler ve ark., 2006). Bernabucci ve ark. (2005) sıcak mevsimde taşınan sığırların oksidatif strese bağlı olarak eritrosit GPx aktivitesinde artma tespit etmişlerdir. Benzer şekilde ağır egzersiz (günde 60 dakika) yapan sıçanların eritrosit total GPx aktivitelerinde kontrol grubuna göre artış saptanmıştır (Düzova ve ark., 2006). Reddy ve Fernandes (1999), sıçanlarda 8 hafta boyunca, haftada 6 gün, 45-50 dk koşu bandında yapılan antrenmanların karaciger, böbrek ve kalp kası GPx aktivitesinde, kontrol grubuna göre önemli düzeyde artışa neden olduğunu belirtmiştir.

Sonuç olarak, bulgularımız koyunlarda kısa süreli (5 saat) taşımanın oksidatif stres üzerine önemli bir etki yapmadığını ancak, uzun süreli (10 ve 24 saat) taşımalarda taşıma stresinin neden olduğu lipid peroksidasyonunun olumsuz etkilerini önlemek amacıyla antioksidan savunma sisteminin artırılarak oksidan-antioksidan dengenin oldukça iyi düzenlendiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Alessio HM., 1993. Exercise-induced oxidative stress. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 25, 218-224.
- Avcı G., Küçükkurt İ., Eryavuz A., Aslan R., Dündar Y., 2008. Nakil işlemine tabi tutulan koyunlarda vitamin C ve ksilazın uygulamasının kortizol ve lipid peroksidasyon ile bazı biyokimyasal parametrelere etkisi. *F.Ü. Sağ. Bil. Derg.*, 22, 147-152.
- Bernabucci U., Ronchi B., Lacetera N., Nardone A., 2005. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 88, 2017-2026.
- Chirase NK., Greene LW., Purdy CW., Loan RW., Auvermann BW., Parker DB., Walborg EF., Stevenson DE., Xu Y., Klaunig JE., 2004. Effect of

- transport stress on respiratory disease, serum antioxidant status, and serum concentrations of lipid peroxidation biomarkers in beef cattle. *Am. J. Vet. Res.*, 65, 860-864.
- Civan A., Keçeci T., 2010. Ginseng uygulamasının sporcularda ve sedanterlerde nitrik oksit ve malondialdehit üzerine etkisi. *Selçuk Üniv. Beden Eğit. Spor Bil. Derg.*, 12, 232-238.
- Çetin E., Çetin N., Küçük O., 2011. Toklularda karayolu ile taşımanın bazı hematolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkisi. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 8, 97-103.
- Dündar Y., Aslan R., 2000. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. 1. Basım, Afyon Kocatepe Üniversitesi yayınları, Afyon.
- Düzova H., Emre MH., Karakoç Y., Karabulut AB., Yılmaz Z., Gürsul C., Yoloğlu S., 2006. Orta ve yüksek düzeyde treadmill egzersizinin sıçanların kas ve eritrosit oksidan/antioksidan sistemine etkisi. *İnönü Üniv. Tıp Fak. Derg.*, 13, 1-5.
- Fairbanks VF., Klee GG., 1987. Biochemical aspect of hematology. In: "Fundamentals of Clinical Chemistry", Ed., NW Tietz, WB Saunders Company, Philadelphia.
- Finaud J., Lac G., Filaire E., 2006. Oxidative stress relationship with exercise and training. *Sports Med.*, 36, 327-358.
- Freeman BA., Crapo JD., 1982. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*, 47, 412-426.
- Gani H., Seyfikli Z., Çelik VK., Akkurt İ., Abadoğlu Ö., 2000. The effects of biomass exposure on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in Turkish female groups in rural areas. *Türk Toraks Dergisi*, 1, 13-18.
- Grandin T., 2000. *Livestock Handling and Transport*. CABI Publ., New York.
- Hall DM., Buettner GR., Matthes RD., Gisolfi CV., 1994. Hyperthermia stimulates nitric oxide formation: electron paramagnetic resonance detection of NO-heme in blood. *J. Appl. Physiol.*, 77, 548-553.
- Halliwell B., Gutteridge, JMC., 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford.
- Harmon RJ., Lu M., Trammel DS., Smith BA., 1997. Influence of heat stress and calving on antioxidant activity in bovine blood. *J. Dairy Sci.*, 80, 264.
- Hartung J., 2003. Effects of transport on health of farm animals. *Vet. Res. Com.*, 27, 525-527.
- İnci E., Seven A., İnci F., Civelek S., Korkut N., Burçak G., 1998. Larenks kanserli olgularda lipid peroksidasyon ve antioksidan statü göstergelerinin dokuda incelenmesi. *Türk Otolarengoloji Arşivi*, 36, 33-36.
- Joannidis M., Gstraunthaler G., Pfaller W., 1990. Xanthine oxidase, evidence against a causative role in renal reperfusion injury. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 258, 232-236.
- Kadim İT., Mahgoub O., Al-Kindi A., Al-Marzooqi W., Al-Saqri NM., 2006. Effects of transportation at high ambient temperatures on physiological responses, carcass and meat quality characteristics of three breeds of Omani goats. *Meat Sci.*, 73, 626-634.
- Kılınç A., Kılınç K., 2003. Nitrik oksit, biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Lili J., 1995. Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutritions. *Free Rad. Biol. Med.*, 18, 1079-1086.
- Luck H., 1955. Catalase. In: *Methods in Analysis*. Ed., HU Bergmeyer, Academic Press, London.
- Mc Clelland GB., 2004. Fat to the fire: The regulation of lipid oxidation with exercise and environmental stress. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 139, 443-460.
- Mills PC., Higgins AJ., 1997. Oxidant injury, nitric oxide and pulmonary vascular function: Implications for the exercising horse. *Vet. J.*, 153, 125-148.
- Mormede P., Soissons J., Bluthe RM., Raoult J., Legarff G., Levieux D., Dantzer R., 1982. Effect of transportation on blood serum composition, disease incidence, and production traits in young calves. Influence of the journey duration. *Ann. Rech. Vet.*, 13, 369-384.
- Nakatani K., Komatsu M., Kato T., Yamanaka T., Takekura H., Wagatsuma A, Aoyama K., Xu B., Hirano T., Kasai H., Ando S., Takeuchi T., 2005. Habitual exercise induced resistance to oxidative stress. *Free Radic. Res.*, 39, 905-911.
- Nazifi S., Saeb M., Baghshani H., Saeb S., 2009. Influence of road transportation during hot summer conditions on oxidative status biomarkers in Iranian

- dromedary camels (*Camelus dromedarius*). *Afr. J. Biochem. Res.*, 3, 282-287.
- Parrott RF., Hall SJG., Lloyd DM., 1998. Heart rate and stress hormone responses of sheep to road transport following two different loading procedures. *Anim. Welf.*, 7, 257-267.
- Pregel P., Bollo E., Cannizzo FT., Biolatti B., Contato E., Biolatti PG., 2005. Antioxidant capacity as a reliable marker of stress in dairy calves transported by road. *Vet. Rec.*, 156, 53-54.
- Reddy ACP., Fernandes G., 1999. Modulation of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in salivary gland and other tissues in mice by moderate treadmill exercise. *Aging (Milano)*, 11, 246-252.
- Roder JD., 2001. Pathophysiology of free radical generation, In: *Veterinary Toxicology*, Ed., JD order, Butterworth-Heinemann, Woburn.
- Rokitzki L., Logemann E., Sagredos AN., Murphy M., Wetzal-Roth W., Keul J., 1994. Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiol. Scand.*, 151, 149-158.
- Sarıözkan S., Cevger Y., Küçük O., Aral Y., 2009. Different effects of road transport on yearling lambs. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 15, 705-708.
- Tauler P., Aguilo A., Gimeno I., Fuentespina E., Tur JA., Pons A., 2006. Response of blood cell antioxidant enzyme defence to antioxidant diet supplementation and to intense exercise. *Eur. J. Nutr.*, 45, 187-195.
- Tessier F., Margaritis I., Richard M., Moynot C., Marconnet P., 1995. Selenium and training effects on the glutathione system and anaerobic performance. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 27, 390-396.
- Tracey WR., Tse J., Carter G., 1995. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 272, 1011-1015.
- Tunçtan B., Abacıoğlu N., 1998. Biyolojik örneklerde nitrik oksit ölçümü: Diazotizasyon yöntemi. *FABAD J. Pharm. Sci.*, 23, 161-170.
- Urban-Chmiel R., 2006. The influence of transport stress on oxidative stress parameters in bovine leukocytes. *Slovakia. Vet. Res.*, 43, 243-246.
- Wernicki A., Urban-Chmiel R., Kankofer M., Mikucki P., Puchalski A., Tokarzewski S., 2006. Evaluation of plasma cortisol and TBARS levels in calves after short-term transportation. *Rev. Med. Vet.*, 157, 30-34.
- Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 135, 372-376.



Symphysis Mandibula Ayrılmalarında Kemik Yapıştırıcısı, Kemik Çimentosu ve Cam İyonomerin Tutucu Etkilerinin Karşılaştırılması: *Ex Vivo* Taze Koyun Kemiğinde Biyomekanik Bir Çalışma

İbrahim DEMİRKAN^{1✉}, AYTEKİN HİTİT², Z. KADIR SARITAŞ¹, KAMURAN PAMUK¹

MUSA KORKMAZ¹, AYSUN ÇEVİK DEMİRKAN³

1. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar.
2. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Malzeme Bilimi ve Mühendisliği Bölümü, Afyonkarahisar.
3. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar.

Özet: Üç farklı kemik yapıştırıcısının tutucu etki güçlerinin karşılaştırması mezbahadan temin edilen koyun çene kemikleri (n=30) üzerinde gerçekleştirildi. Taze çene kemikleri symphysis mandibula hizasından üniversal mekanik test cihazıyla ayrıldı ve uygulanan güç dijital olarak kaydedildi. Yapıştırıcılar yardımıyla ayrılma yerleri hemen yapıştırıldı ve bir gece nemli (% 60) bir ortamda bekletildi. Yapıştırıcı uygulanan mandibulalara ertesi gün sağlam mandibulaya uygulanan aynı işlem uygulandı. Farklı yapıştırıcı uygulanan mandibulaların mekanik olarak ayrılmasıyla elde edilen sonuçlar, yapıştırıcıların tutma güçleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Biyomekanik, Kemik Yapıştırıcısı, Koyun, Symphysis Mandibula.

Comparison of the Binding Effects of Bone Adhesive, Bone Cement and Glass Ionomer in Separated Symphysis Mandible: An *Ex Vivo* Biochemical Study on Fresh Ovine Mandible

Abstract: Effects of binding strength of three bone adhesives on ovine mandibles (n=30) obtained from a slaughterhouse were compared. Fresh mandibles were separated via symphysis mandible by a universal mechanical test device. Applied force was recorded digitally. Separated mandibles were fixed with different bone glues and incubated in a humidified (60%) chamber at room temperature. Next day, the separation procedure that applied to intact mandible was repeated on the glued mandibles. The results indicated that there was no statistical difference between different artificial bone adhesives used for the fixation of symphysis mandible separation.

Key words: Biomechanics, Bone Adhesive, Sheep, Symphysis Mandible.

✉ İbrahim DEMİRKAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, e-posta: idemirkan@aku.edu.tr

GİRİŞ

Kırık sağaltımında miniplate ve mikroplate gibi, rijit tespit araçlarının kullanımı çok tercih edilen yöntemlerdendir. Ancak bunların uygulanmaları özellikle hassas bölgelerde, ince yapılı kemiklerin ve hareketin fazla olduğu kısımlarda bir takım zorluklara neden olmaktadır. Bu zorluklar aygıtın yerinden çıkması, palpe edilebilmesi, kemik rezorpsiyonu, devaskülarizasyon ve büyüme-gelişme bozuklukları sayılabilir (Kennady ve ark., 1989; Papay ve ark., 1995) mini-titanium ve diğer metal parçacıklarının nedbe dokusu içerisine, akciğerlere ve yerel lenf nodüllerine yayılması, dağılması olarak sıralanabilir (Schliephake ve ark., 1993). Bu nedenlerle cerrahlar tarafından hareketsizlik sağlayan ve metalik osteosentez aygıtlarının sorunlarını ortadan kaldıracak alternatif metotların kullanılması tercih edilmektedir.

İmmobilizasyon amacıyla kemiklerde metalik implantların uygulanmasıyla şekillenecek olumsuzların giderilmesi için, yapıştırıcı düzenek kullanımı ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır (Amarante ve ark., 1995; Gosain, 2002; Gosain ve Lyon, 2001). İlk defa kemik yapıştırıcı düzenek Mısırlılar tarafından 4000 yıl önce kullanılmıştır. 1772 yılında kemik kırıklarında günümüzde de yaygın kullanılan alçı sistemi uygulamaya sunulmuştur (Bloch, 1958; Heiss ve Schnettler, 2005; Heiss ve ark., 2006; Lye ve ark., 2009). Daha sonraları epoksi resin, siyanoakrilat, poliüretan ve fibrin yapıştırıcılar geliştirilmiş, ancak hiçbiri istenen düzeyde medikal gereksinimleri (biyouyumluluk, stabilite, sistemik veya lokal toksisite yokluğu, sterilize edilebilme, kolay uygulama, reabsorbilite, nemli ortamda etkinlik ve yağlı ortamlarda yapışabilme gibi) karşılayamamıştır.

Polimetilmetakrilat yaklaşık 60 yıl önce ortopedik cerrahlar tarafından ilk defa kullanılmıştır (Kühn, 2005). Halen yaygın olarak ortopedik olguların modern yöntemlerle sağaltımı içerisinde güncelliğini korumaktadır. Yapı bakımından tamamen çimento özelliğinde değildir, aksine hamur kıvamında bir

maddedir. Kalça protezlerinde, kırıklarda, tümör cerrahisinde ve perkutan vertebroplasti girişimlerinde geniş uygulama alanı bulmuştur (McGraw ve ark., 2002).

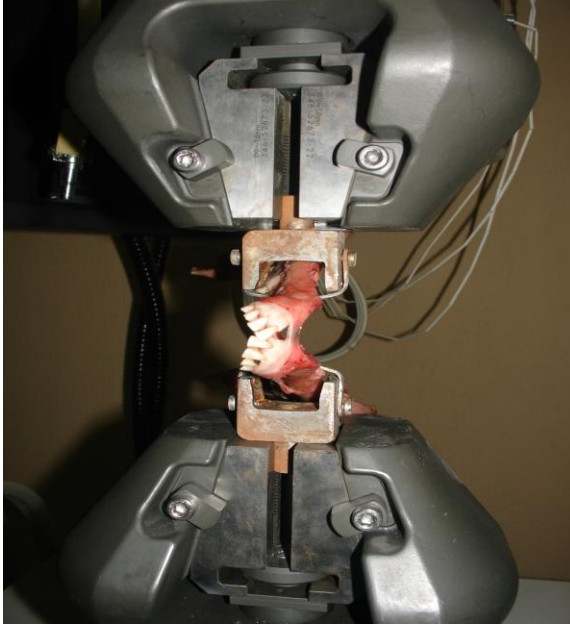
Kalsiyum-fosfat bileşimleri kemik yerine geçen madde olarak klinik uygulamalarda önemli bir yere sahiptir. Ayrıca trikalsiyum fosfat ve hidroksiapatit'te sıklıkla kullanılan maddelerdendir (Sarkar ve ark., 2001). Bu maddeler biyolojik uyumlu, biyoaktif (osteokondüksiyon) ve emilebilir özelliklere sahiptirler. Doku yapıştırıcıları hem yumuşak doku hemde kemik-kıkırdak gibi dokularda hemostatik, kemotaktik, mitojenik, hücre kültürü, transplantasyon ve destek amaçlı olarak kullanılmaktadır (Le Nihouannen ve ark., 2007). Symphysis mandibula ayrılmaları/kırıkları evcil karnivorlarda sıklıkla karşılan olgularındadır. Kedilerde mandibula kırıklarının tek başına %73.3'ünü symphysis ayrılmaları oluşturur (Umphlet ve Johson, 1988). Symphysis mandibula ayrılmalarında en çok tercih edilen yöntem, 8 rakamı şeklinde serklaj teli ile tespittir. Ancak bu uygulama telin ağız içerisinde yaklaşık 6 ay kadar kalması gerekmektedir.

Bu güne kadar symphysis mandibula ayrılmalarında doku ve kemik yapıştırıcılarının tutma gücünü belirleyen herhangi bir çalışmaya ait rapor olmadığı yaptığımız literatür taramayla saptanmış ve bu çalışmanın yapılmasına karar verilmiştir. Bu çalışmada veteriner ortopedide yaygın olarak karşılaşılan symphysis mandibula ayrılmalarında kemik yapıştırıcıların tutma güçlerinin karşılaştırmalı olarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Mezbahadan 30 adet taze koyun mandibulası temin edildi. Mandibulalar 10'arlı 3 gruba ayrıldı. Gruplar; grup 1 kemik çimentosu (Bone Cement), grup 2 kemik yapıştırıcısı (Çinko polikarboksilat çimento, Adhesor Carbofine) ve grup 3 dental yapıştırıcısı (Cam iyonomer, Meron) şeklinde oluşturuldu. Taze

mandibulalar symphysis bölgesinden Universal Mekanik Test Cihazı (Shimadzu AG-IS-100KN, Japonya) ile basınç (kiloNewton; kN) uygulanarak ayrıldı (Şekil 1).



Şekil 1. Üniversal mekanik test cihazıyla çeneleri ayırma işlemi.

Figure 1. Separation procedure of mandibles by universal mechanical test device.

Bu işlem sırasında uygulanan güç dijital olarak kayıt edildi. Ayrılma işlemi gerçekleşikten sonra kemik yapıştırıcıları uygulandı. Yapıştırıcılar üretici firmanın talimatları doğrultusunda hazırlandı ve ayrılmanın olduğu bölgeye 1-2 ml veya 2 g miktarında uygulandı. Çinko polikarboksilat çimento 1.8-2.2 gr toz kısım yaklaşık 1 gr likit içerisinde 30 saniye karıştırılarak hazırlandı. Ortam nem oranı % 60 idi. Çenelerin yapıştırılması 2 ve hazırlanan hamurun sertleşmesi 10 dakika sürdü. Cam iyonomerde aynı prensibe göre hazırlandı ancak karışım oranı 3 gr / 1 gr olarak hesaplandı.

Symphysis mandibulanın yapışması için sadece manuel basınç uygulandı. Yapıştırma tamamlandıktan sonra her bir kemik serum fizyolojik emdirilmiş

gazlı beze sarıldı ve plastik torba içerisinde 37 °C su banyosunda 24 saat bekletildi (Belkoff ve ark., 2002). İnkübasyondan sonra kemiklere Universal Mekanik test Cihazıyla daha önce uygulanan ayrılma gücü testi yapıldı, elde edilen ölçüm değerleri sayesinde normal symphysis ayrılması için ve yapıştırılmış symphysis ayrılması için uygulanan güçler karşılaştırıldı. Elde edilen verilerin analizinde her grup için, sağlam çeneyi (SÇ) ayırma gücü ile yapıştırıcı uygulanmış çeneyi (YUÇ) ayırma gücü karşılaştırılması için bağımsız örneklemeler için t testi (independent samples t test) ve SÇ ile YUÇ'lerin gruplara göre karşılaştırılması için ise tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) kullanıldı.

BULGULAR

Her gruba ait kaydedilen SÇ ve YUÇ bulguları Tablo 1'de verilmiştir. Her grup için tüm SÇ ile YUÇ arasındaki farklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.001$).

Tablo 1. Çalışmada elde edilen gruplara ait sonuçlar

Table 1. Results for correspondent groups in the study

No	Grup 1		Grup 2		Grup 3	
	SÇ	YUÇ	SÇ	YUÇ	SÇ	YUÇ
1	0.23	0.01	0.17	0.03	0.19	0.02
2	0.12	0.01	0.20	0.01	0.07	0.03
3	0.17	0.01	0.16	0.04	0.16	0.03
4	0.14	0.02	0.15	0.04	0.43	0.02
5	0.17	0.02	0.28	0.09	0.06	0.01
6	0.20	0.01	0.39	0.06	0.14	0.02
7	0.15	0.01	0.43	0.05	0.17	0.02
8	0.16	0.02	0.10	0.02	0.20	0.02
9	0.21	0.01	0.15	0.01	0.19	0.03
10	0.14	0.01	0.06	0.01	0.20	0.01
Ortalama	0.17	0.01	0.21	0.04	0.18	0.02

SÇ: Sağlam çeneyi ayırma gücü (kN)

YUÇ: Yapıştırıcı uygulanmış çeneyi ayırma gücü (kN)

Tablo 2'deki ortalama değerler incelendiğinde, tüm YUÇ değerlerinin her bir grup için SÇ'lerden düşük olduğu istatistiksel olarak görülmektedir. SÇ'ye ilişkin grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel

olarak önemli bulunmazken ($p>0.05$), YUÇ'ye ilişkin grup ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$). YUÇ açısından en fazla güç 2. gruba uygulanmışken en az güç ise 1. gruba uygulanmıştır (Tablo 3). Uygulanan basınç

kuvvetleri grafiksel olarak şekil 2 ve 3 gösterilmiştir. Sağlam çeneyi ayırma kuvveti ortalama 0.19 kN, iken doku yapıştırıcılarından sonra yapılan ortalama ayırma kuvveti ise, grup 1'de 0.01 kN, grup 2'de 0.04 kN ve grup 3'te 0.02 kN olarak bulunmuştur.

Tablo 2. Her grup için SÇ ile YUÇ karşılaştırılması (t testi sonuçları).

Table 2. Comparison of powers to separate sound (SÇ) and glue applied mandibles (YUÇ) for each group (t test results).

Grup	İşlem	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	P
1	NÇ	10	0.1690	0.03479	0.01100	0.000*
	YS	10	0.0130	0.00483	0.00153	
2	NÇ	10	0.2090	0.12096	0.03825	0.000*
	YS	10	0.0360	0.02591	0.00819	
3	NÇ	10	0.1810	0.10115	0.03199	0.000*
	YS	10	0.0210	0.00738	0.00233	

* $P<0.001$

Tablo 3. SÇ ile YUÇ'lerin gruplara göre karşılaştırılması (varyans analizi sonuçları).

Table 3. Comparison of powers to separate sound (SÇ) and glue applied mandibles (YUÇ) for groups (analysis of variance).

Grup	N	SÇ			P	YUÇ			P
		Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata		Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	
1	10	0.1690	0.03479	0.01100	0.621	0.0130 a	0.00483	0.00153	0.009*
2	10	0.2090	0.12096	0.03825		0.0360 c	0.02591	0.00819	
3	10	0.1810	0.10115	0.03199		0.0210 b	0.00738	0.00233	

* $P<0.01$, a,b,c aynı sütunda farklı harfleri içeren grup ortalamaları arasındaki farklar önemlidir ($P<0.05$)

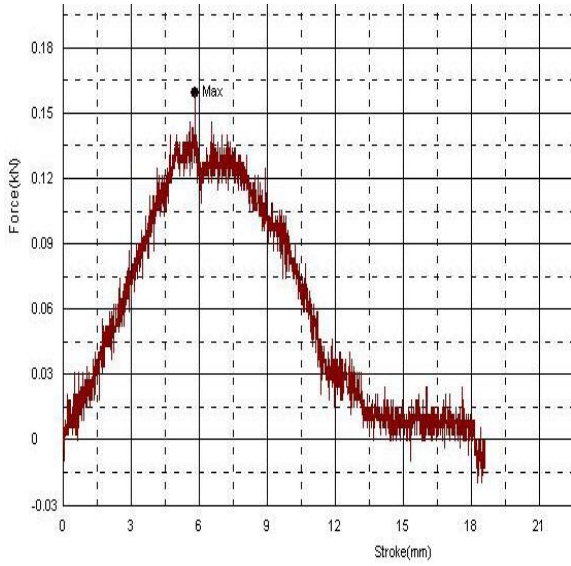
SÇ: Sağlam çeneyi ayırma gücü (kN), YUÇ: Yapıştırıcı uygulanmış çeneyi ayırma gücü (kN)

TARTIŞMA

Bu çalışma, ex vivo şartlarda 3 farklı doku yapıştırıcısının, mandibula ayrılmalarında kullanılabilirliğini karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır.

Mandibula'da bulunan çok sayıda diş kökleri invaziv metodların kullanılmasına engel teşkil etmekte ve bazen diş köklerine, çevre sinir ve damarlara zarar vermektedir (Garruba ve Robertson, 1979). Burada amaç fizyolojik bir ortamın sağlanması ve yapıştırıcıların etkisini göstermesidir. Elde edilen veriler ışığında hiçbir yapıştırıcının normal mandibula'nın yapışmasından daha dayanımlı bir tutunma sağlayamadığı istatistiksel olarak saptanmıştır.

Dental yapıştırıcılar kemik-kemik tutucu olarak kullanılmaktadır (Meechan ve ark., 1994; Meechan ve McCabe, 1995; Maurer ve ark., 2004; Ortiz ve ark., 2010). Cam iyonomer simanlar (polyalkenoate cement) öncelikle diş restorasyon maddesi olarak kullanıma sunulmuştur. Yüksek düzeyde biyouyumlulukla yapışma ve flor iyonlarının salınımını dolayısıyla diş çürümelerini engelleyici etkileri gibi faydaları vardır. Dolayısıyla medikal amaçlı kullanımı önerilmiştir (Brook ve Hatton, 1998). Ancak diş hekimliğinde başarılı sonuçlar elde edilen cam iyonomer simanlar bu çalışmada anlamlı bir sonuç vermemiştir.



Şekil 2. Sağlam çeneyi ayırma işlemine ait grafik.
Figure 2. Graph for separation of sound mandible.

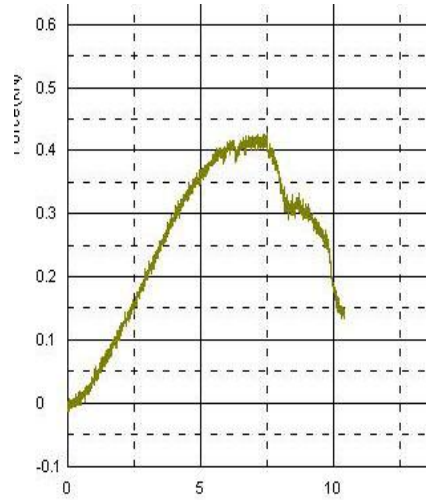
Yapıştırılacak yüzeylerin sahip olduğu pürüzlülük kemik tutucuların etkinliğini zayıflatabilir (Giebel ve Rimpler, 1981; Heiss ve Schnettler, 2003). Ayrılmış symphysis yüzeyinin girintili çıkıntılı olması, çalışmamızda tutucuların anlamlı sonuç vermemesinde etkili olduğunu göstermektedir.

Diğer ortopedik bozuklukların sağaltımında yaygın bir şekilde kullanılan kemik yapıştırıcıların (McGraw ve ark., 2002; Sakar ve ark., 2001) çalışmamızda anlamlı sonuç vermemesi, bölgede ki yumuşak doku varlığı ve tutunma alanının yetersizliği gibi unsurlara bağlı olacağı kanaatine varılmıştır. Yapıştırıcılar arasında ise çinko polikarboksilat çimento esaslı yapıştırıcı diğer yapıştırıcılara göre daha güçlü bir tutuculuk kuvveti göstermiştir.

İleride yapılacak çalışmalarda araştırmacıların bu hususları göz önünde bulundurmasında fayda vardır.

TEŞEKKÜR

İstatistiksel analizler için Yrd. Doç. Dr. İbrahim KILIÇ'a (Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyoistatistik Bölümü), Afyon Kocatepe Üniversitesi



Şekil 3. Doku tutucular uygulandıktan sonra yapılan ayırma işlemine ait grafik.

Figure 3. Graph for separation after tissue glue application.

Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne; mali desteklerinden ve Sayın Atilla DOĞAN ve Gamze YURDAKUL'a katkılarından dolayı teşekkür ederiz. Bu çalışma aynı başlıklı ve 07VF09 numaralı projeden üretilmiştir.

KAYNAKLAR

- Amarante MT., Constantinescu MA., O'Connor D., Yaremchuk J., 1995. Cyanoacrylate fixation of the craniofacial skeleton: an experimental study. *Plast. Reconstr. Surg.*, 95, 639-646.
- Belkoff SM., Mathis JM., Jasper LE., 2002. Ex vivo biomechanical comparison of hydroxyapatite and polymethylmetacrylate cements for use with vertebroplasty. *Am. J. Neuroradiol.*, 23, 1647-1651.
- Bloch B., 1958. Bonding of fractures by plastic adhesives. *J. Bone Joint Surg.*, 40A, 804-812.
- Brook IM., Hatton PV., 1998. Glass-ionomers: bioactive implant materials. *Biomaterials.*, 19, 565.
- Garruba Jr CN., Robertson RD., 1979. Lag-screw repair of feline mandibular symphyseal fracture. *Vet. Med. Small. Anim. Clin.*, 74, 1752.

- Giebel G., Rimpler M., 1981. Klebungen am skelettsystem: klebstoffe, 50 jahre hilfsstoffe für den chirurgen (teil 1). *Biomed. Technik.*, 26, 35-40.
- Gosain AK., 2002. The plastic surgery Educational Foundation DATA Committee: the current status of tissue glues: 1. For bone fixation. *Plast. Reconstr. Surg.*, 109, 2581-2583.
- Gosain AK., Lyon VB., 2001. Use of tissue glue: current status. *Perspect. Plast. Surg.*, 15, 129-145.
- Heiss C., Schnettler R., 2003. Bioabsorbable adhesives in trauma and orthopaedic surgery. *Biomaterialien.*, 4, 298-304.
- Heiss C., Schnettler R., 2005. Bioabsorbable bone adhesives. Historical perspective and current status. *Unfallchirurg.*, 108, 345-348.
- Heiss C., Kraus R., Schluckebier D., Stiller AC., Wenisch S., Schnettler R., 2006. Bone adhesives in trauma and orthopedic surgery. *European J. Trauma.*, 2, 141-148.
- Kennady MC., Tucker MR., Lester GE., Buckley MJ., 1989. Stress shielding effect of rigid fixation plates on mandibularbone grafts: a photon absorbtion densitometry and quantitative computerized tomographic evaluation. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 18, 307-310.
- Kühn KD., 2005. Properties of Bone Cement: What is Bone Cement. In: Breusch S., Malchau H (eds): *The well-cemented total hip arthroplasty*. Heidelberg: Springer Medizin Verlag: 52-59.
- Le Nihouannen D., Saffarzadeh A., Aguado E., Goyenvalle E., Gauthier O., Moreau F., Pilet P., Spaethe R., Daculsi G., Layrolle P., 2007. Osteogenic properties of calcium phosphate ceramics and fibrin glue based composites. *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, 18, 225-35.
- Lye KW., Tideman H., Merckx MAW., Jansen JA., 2009. Bone cements and their use in a mandibular endoprosthesis. *Tissue Engineering: Part B.*, 15, 485-496.
- Maurer P., Bekes K., Gernhardt CR., Schaller HG., Schubert J., 2004. Comparison of the bond strength of selected adhesive dental systems to cortical bone under in vitro conditions. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.*, 33, 377-81.
- McGraw JK., Lippert JA., Minkus KD., 2002. Prospective evaluation of pain relief in 100 patients undergoing percutaneous vertebroplasty: results and follow up. *J. Vasc. Interv. Radiol.*, 13, 883-886.
- Meechan JG., McCabe JF., Beynon AD., 1994. Adhesion of composite resin to bone-a pilot study. *British J. Oral Maxillofac. Surg.*, 32, 91-93.
- Meechan JG., McCabe JF., 1995. A comparison of the bond strengths of two different dentine-bonding agents to bone. *J. Oral Maxillofac. Surg.*, 53, 284-287.
- Ortiz Ruiz AJ., Vicente A., Camacho Alonso F., López Jornet P., 2010. A new use for self-etching resin adhesives: cementing bone fragments., *J. Dent.* 38, 750-756.
- Papay FA., Hardy S., Morales L., Walker M., Enlow D., 1995. "False" migration of rigid fixation appliances in pediatric craniofacial surgery. *J. Craniofac. Surg.*, 7, 309-313.
- Sarkar MR., Wachter N., Patka P., Kinzl L., 2001. First histological observations on the incorporation of a novel calcium bone substitute material in human cancellous bone. *J. Biomed. Mater. Res.*, 58, 329-334.
- Schliephake H., Reiss G., Urban R., Neukam FW., Guckel S., 1993. Metal release from titanium fixtures during placement in the mandible: an experimental study. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 8, 502-511.
- Umphlet RC., Johson AL., 1988. Mandibular fractures in the cat: A retrospective study. *Vet. Surg.*, 17, 333.



Ratlarda Akut Malathion Toksisitesinin Neden Olduğu Oksidatif Stres Üzerine Kafeik Asit Fenetil Ester ve Elajik Asit'in Etkileri

Harun ALP^{1✉}, İsmail AYTEKİN², Onur ATAKIŞI³, Metin OGÜN³

1. Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.
2. Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Balıkesir.
3. Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars.

Özet: Araştırma akut malathion (MAL) toksikasyonuna maruz kalan ratların akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında oluşan malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH) ve nitrik oksit (NO) aktiviteleri üzerine kafeik asit fenetil ester (CAPE) ve elajik asitin (EA) etkilerini incelemek amacıyla yapıldı. Toplam 36 adet Sprague Dawley soyunda yetişkin dişi rat, randomize şekilde her grupta 6 adet olmak üzere 6 gruba (kontrol, CAPE, EA, MAL, MAL+CAPE, MAL+EA) ayrıldı. Akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında redükte GSH, MDA ve NO düzeyleri spektrofotometrik yöntemle kolorometrik olarak ölçüldü. Kontrol grubu ile CAPE ve EA gruplarını redükte GSH, MDA ve NO aktiviteleri açısından karşılaştırdığımızda, gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmadı. MAL'un karaciğer dokusunda MDA düzeylerini önemli derecede arttırdığı, ancak CAPE'nin MAL'un toksik etkisini engelleyerek MDA seviyesini anlamlı şekilde azalttığı belirlendi. Ayrıca, MAL'un akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında redükte GSH düzeylerini azalttığı, buna karşın CAPE ve EA'in ise redükte GSH düzeylerini arttırdığı belirlendi. MAL'un neden olduğu şiddetli doku hasarına bağlı olarak NO düzeylerinin de önemli derecede arttığı, fakat CAPE ve EA'in NO düzeylerini azalttığı tesbit edildi ($p<0,05$). Sonuç olarak, CAPE ve EA'in birbirine benzer şekilde etki gösterdiği ve akut malathion zehirlenmesinin neden olduğu oksidatif stres ve doku hasarına karşı koruyucu amaçla kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Kafeik Asit Fenetil Ester, Elajik Asit, Malathion, Oksidatif Stres.

The Effects of Caffeic Acid Phenethyl Ester and Ellagic Acid on Oxidative Stress Created by Acute Malathion Toxicity in Rat

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and ellagic acid (EA) on activities of malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and nitric oxide (NO) in rat lung, liver and kidney tissues in acute malathion (MAL) toxicity. A total of 36 mature female Sprague Dawley rats were randomly divided into 6 groups of 6 including control, CAPE, EA, MAL, MAL+CAPE, MAL+EA. Reduced GSH, MDA and NO levels in lung, liver and kidney tissues were measured colorimetrically by spectrophotometer. When the unmedicated control group was compared with the CAPE and EA groups, there was no statistically significant difference between the groups in terms of GSH, MDA and NO activities. It was determined that MDA levels in liver tissue were significantly increased by MAL, but CAPE significantly reduced the MDA levels by blocking the toxic effect of MAL. Also, it was observed that the reduced GSH levels in the liver tissues of the groups given MAL were reduced, but CAPE and EA increased reduced GSH levels. The NO levels of the groups given MAL were significantly increased dependent on the severe tissue damage created by MAL, but CAPE and EA reduced those levels. As a result, it was concluded that CAPE and EA, which showed similar effects to each other, could be used for protection against the severe oxidative stress and damage tissue caused by acute MAL poisoning.

Key words: Caffeic Acid Phenethyl Ester, Ellagic Acid, Malathion, Oxidative Stress.

✉ Harun ALP

Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, e-posta: alpharun@gmail.com

GİRİŞ

Pestisitler, besinlerin korunması bakımından ekonomik faydalar sağlamaktadırlar. Tarımda pestisitler, hem kemiriciler, böcekler ve diğer pestileri yok etmek ve hem de bu hayvanlarla taşınan hastalıklara karşı mücadele etmek amacıyla sıkça kullanılmaktadırlar. Ayrıca pestisitler tarımsal amaç dışında, evlerde, bahçe işlerinde, kırsal alanlarda yabancı otlarla mücadelede ve sivrisinek ile rodentlere karşı resmi kuruluşlar tarafından da yaygın şekilde kullanılmaktadırlar. Ancak belirtilen faydalı etkilerinin yanı sıra bıraktıkları kalıntılarla su, toprak, hava ve besin kirlenmesine neden olup, ekolojik sistemin dengesini bozmaktadırlar. Pestisitlerin en önemli zararlı etkisi ise, insan ve hayvanlarda sıklıkla karşılaşılan zehirlenmelere neden olmalarıdır. Bu zehirlenmeler pestisitlerin üretimleri, uygulanmaları, depolanmaları, taşınmaları sırasında görülebilmektedir (Vural, 1996; Uzun, 2007). Dünyada yılda ortalama 2,5 milyon ton pestisit kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün raporlarında, her yıl yaklaşık olarak 3 milyon insanda pestisit zehirlenmesi meydana geldiği ve bu zehirlenmelerin 220.000'nin ölümle sonuçlandığı belirtilmektedir (Anonim, 1997).

Ülkemizdeki tarım ilacı kullanımı dünya tüketiminin % 1'i civarındadır. Ülkemizin kırsal kesimlerinde görülen zehirlenme olgularında en sık rastlanılan etken organofosfatlardır (OP) (Delen, 1990; Demircan, 2005; Oğuzhanoglu, 2009). OP'lar özellikle tarımsal üretim yapılan bölgelerde sağlık sektörü açısından önemli sorun oluşturmaktadırlar.

OP'ler hedef dokularda asetilkolinesteraz (AChE) enziminin inhibisyonuna sebep olarak dokularda asetilkolin birikimine yol açarlar. Bu şekilde nörotoksik etki yaparak sinir fonksiyonlarında hasarla birlikte geri dönüşü olmayan akut ya da kronik zehirlenmeler meydana getirirler (Savolainen ve ark., 2001; Hazarika ve ark., 2003). Bu amaçla OP grubuna ait olan Malathion (MAL) (S-1,2-bis (ethoxycarbonyl) ethyl O,O-dimethyl phosphoro-

dithioate), çalışmamızın toksik materyali olarak seçilmiştir. Ayrıca MAL, memeli hayvanlar ve insanlara yönelik toksisitesi en düşük OP türevlerinden biri olduğu için, yaygın kullanım alanına sahiptir. MAL doğada birkaç günden birkaç aya kadar kalabilir. Gastrointestinal sistem, deri ve solunum yoluyla vücuda alınır (Ören, 2009) ve karaciğer ile böbrekte yüksek yoğunlukta birikir. Başlıca karaciğerde esteraz hidrolizi ve konjugasyon ile metabolize edilir. MAL oksidatif ürünü ve etkin metaboliti olan maloksan'a dönüşür ve vücuttan çoğunlukla idrar, safra ve dışkı yolu ile atılır (Kozacı, 2006).

Araştırmamızda MAL'ın toksik etkilerine karşı, koruyucu etkileri araştırılan doğal maddeler ise kafeik asit fenetil ester (CAPE) ve elajik asit (EA)'dir. CAPE; propolis ekstraktının aktif birleşimidir ve uzun yıllar geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılmış çalışmalar, CAPE'nin antiinflamatuvar, antioksidan, immunomodülatör, antimikotik ve antikarsinojenik özelliklerinin olduğunu ortaya çıkarmıştır (Hepsen ve ark., 1997; İlhan ve ark., 1999; Orhan ve ark., 1999; Uz ve ark., 2002; Gurel ve ark., 2004). EA ise, deney hayvanı modellerinde ve in vitro çalışmalarda antioksidan, antikarsinojenik ve antimutajenik özellikleri ortaya konulmuş olan doğal bir fenolik birleşiktir (Solon ve ark., 2000; Festa ve ark., 2001). Pestisit zehirlenmesi konusunda son zamanlarda yapılan çalışmalara baktığımızda, pestisitler tarafından üretilen serbest radikallerin meydana getirdiği oksidatif strese ve memeli veya diğer organizmaların çeşitli dokularında artan lipid peroksidasyona dikkat çekilmektedir (Oruç ve Üner, 2000; Hazarika ve ark., 2003). Örneğin; Sharma ve ark., organofosfatlı bir pestisit olan dimethoat'a akut olarak maruz kalan erkek sıçanlarda hepatik sitokrom P450 enzimlerinde, beyin ve karaciğer lipid peroksidasyonunda, katalaz, (CAT), süper oksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) aktivitesinde artış olduğunu bildirmişlerdir (Sharma ve ark., 2005). Gupta ve Data., MAL'un in vitro şartlarda insan fetuslarından

elde edilen karaciğer ve beyin doku homojenatlarına etkilerini araştırmış ve her iki dokuda da SOD ile CAT aktivitelerinin önemli derecede azaldığını ve malondialdehit (MDA) oluşumunda artış olduğunu saptamışlardır (Gupta ve Data., 1992).

Yukarıda bahsedilen çalışmalar gibi oksidatif stres üzerine yapılmış çalışmalar fazla sayıda mevcuttur. Ancak, MAL'nun aynı anda akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında oluşturduğu oksidatif hasar ve bu oluşan hasara karşı muhtemel tedavi edici veya koruyucu etkileri olabilecek ilaç çalışmaları henüz yeterli seviyede değildir. Bu amaçla yapılan araştırma, 3 temel amaç çerçevesinde planlanmıştır; 1) MAL'un aynı anda rat akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında oluşturduğu oksidatif stresi araştırmak 2) Yalnız başına kullanılan CAPE ve EA'in oksidatif mekanizma üzerine etkilerini incelemek 3) Akut MAL toksisitesi sonucu oluşan oksidatif stres üzerine CAPE ve EA'in koruyucu etkilerini araştırmaktır.

MATERYAL ve METOD

Hayvanlar, Bakım, Besleme ve İlaç Uygulamaları

Çalışmada erişkin sprague dawley soyunda ortalama ağırlıkları 200-250 gr olan dişi ratlar kullanıldı. Her grupta 6 adet rat olmak üzere rastgele 6 gruba ayrılmış toplam 36 adet rat kullanıldı. Hayvanların laboratuvar şartlarında 12 saat aydınlık/karanlık periyodunda ve oda sıcaklığında (21±3°C) barınmaları sağlandı. Çalışmada kullanılan hayvanlar ve uygulanacak deneyler Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylandı.

Gruplar kendi içinde; ilaçsız kontrol, CAPE kontrol (Sigma C8221) (10 µmol/kg dozunda intraperitoneal (ip) yolla), EA kontrol (E2250 Sigma, CAS Number: 476-66-4) (85 mg/kg dozunda oral (po) yolla), MAL kontrol (Fluka- 36143, sigma) (200mg/kg dozunda po yolla MAL), MAL+CAPE ve MAL+EA olarak 6 gruba ayrıldı. İlaç uygulamalarını takiben 24 saat bekleme süresi sonrasında, ketamin (50 mg/kg dozunda ip yolla) ve ksilazin (5 mg/kg dozunda ip

yolla) anestezisi sonrası hayvanlar sakrifiye edildi. Akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında oluşan malondialdehit (MDA), redükte glutatyon (GSH) ve nitrik oksit (NO) aktiviteleri araştırıldı.

Biyokimyasal Parametreler

Akciğer, karaciğer ve böbrekten, redükte GSH, MDA ve NO düzeylerini spektrofotometrik yöntemle kolorimetrik olarak analiz etmek için doku örnekleri alındı. Dokular, hemen 4 °C'de 0.15M KCl ile fikse edildikten sonra, 3 dakika süreyle 290 g'de bir soğutuculu (A: 50 mM, H₂PO₄ ve B: 50 mM Na₂HPO₄.2H₂O:A:B (v/v) = 1:1.5) homojenizatör yardımıyla homojenize edildi. Homojenatlar 15 dakika süre ile 4 °C'de 2400 g devirde santrifüj edildikten sonra elde edilen süpernatantlar analiz edilene kadar -25 °C'de muhafaza edildi. NO düzeyleri Miranda ve ark., bildirdiği metoda göre spektrofotometre (PowerWave XS, BioTek, Instruments, Winooski, VT, USA) kullanılarak kolorimetrik olarak ölçüldü (Miranda ve ark., 2001). Redükte GSH ve MDA konsantrasyonları ise sırası ile Beutler ve ark., ve Yoshiko ve ark., bildirdiği metoda göre spektrofotometrik olarak (UV-1201, Shimadzu, Japan) ölçüldü (Beutler ve ark.,1963; Yoshiko ve ark.,1979).

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS Windows 10.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir parametre, 'analysis of repeated measures' metodu ile test edildikten sonra post-hoc testler (günler arası karşılaştırmalar) Bonferoni düzeltmesi kullanılmış paired samples t-testi ile yapıldı. Veriler mean ± SE şeklinde sunuldu ve p değeri p<0.05 olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar ve bu sonuçların istatistiksel analizleri aşağıda tablolar halinde sunulmuştur. Tablo 1.'de; kontrol, CAPE ve EA gruplarının MDA, GSH ve NO enzim seviyeleri üzerine

etkileri belirtildi. Tablo 2.'de; MAL+CAPE, MAL+EA ve yalnızca MAL'in karaciğer, böbrek ve akciğer

dokularında MDA, redükte GSH ve NO düzeyleri üzerine etkileri belirtildi.

Tablo 1. Kontrol, CAPE ve EA gruplarının karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında MDA (nmol/g Protein), redükte GSH ($\mu\text{g/g}$ Protein) ve NO (nmol/g Protein) düzeyleri üzerine etkileri.

Table 1. The effects on MDA (nmol/ g Protein), reduced GSH ($\mu\text{g/g}$ Protein) and NO (nmol/g Protein) parameters in liver kidney and lung tissue in the control, CAPE and EA groups.

Parametreler		Kontrol	CAPE	EA	P
Karaciğer	MDA	16.41 \pm 1.32	13.59 \pm 1.49	11.94 \pm 1.48	Ns
	GSH	15.53 \pm 1.05	16.34 \pm 0.98	16.80 \pm 0.82	Ns
	NO	275.55 \pm 41.40	250.94 \pm 30.75	266.31 \pm 30.74	Ns
Böbrek	MDA	10.78 \pm 0.88	10.59 \pm 1.21	10.65 \pm 1.05	Ns
	GSH	9.95 \pm 0.36	11.61 \pm 0.88	9.98 \pm 0.88	Ns
	NO	271.96 \pm 24.0	266.74 \pm 53.98	268.47 \pm 136.18	Ns
Akciğer	MDA	25.56 \pm 2.80	24.61 \pm 1.7	22.64 \pm 1.46	Ns
	GSH	15.44 \pm 1.85	12.32 \pm 0.81	14.18 \pm 2.19	Ns
	NO	962.23 \pm 138.8	930.65 \pm 192.41	950.55 \pm 144.07	Ns

Ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil.

Tablo 2. Kontrol, Malathion+CAPE, Malathion+EA ve yalnızca malahtion'un karaciğer, böbrek ve akciğer dokularında MDA (nmol/ g Protein), redükte GSH ($\mu\text{g/ g}$ Protein) ve NO (nmol/g Protein) düzeyleri üzerine etkileri.

Table 2. The effects on MDA, reduced GSH and NO levels in liver kidney and lung tissue in the Control, MAL, MAL+CAPE and MAL+ EA groups.

Parametreler		Kontrol	MAL	MAL+CAPE	MAL+EA	P
Karaciğer	MDA	16.41 \pm 1.32	22.82 \pm 1.53	16.45 \pm 1.35	20.86 \pm 1.92	0.019
	GSH	15.53 \pm 1.05	10.05 \pm 0.91	13.08 \pm 0.90	10.94 \pm 1.16	0.006
	NO	275.55 \pm 41.4	940.77 \pm 95.12	591.25 \pm 73.8 ^b	858.05 \pm 140.9	0.004
Böbrek	MDA	10.78 \pm 0.88	12.64 \pm 1.11	10.49 \pm 2.1	12.22 \pm 1.22	Ns
	GSH	9.95 \pm 0.36	9.70 \pm 1.12	12.24 \pm 1.65	12.79 \pm 0.76	Ns
	NO	271.96 \pm 24.0	594.38 \pm 87.5	353.16 \pm 44.1	573.35 \pm 91.3	0.011
Akciğer	MDA	25.56 \pm 2.80	25.82 \pm 2.4	21.71 \pm 2.3	24.38 \pm 2.9	Ns
	GSH	15.94 \pm 1.85	15.84 \pm 0.97	21.47 \pm 2.38	18.25 \pm 2.32	Ns
	NO	862.23 \pm 138.8	956.34 \pm 188	725.35 \pm 133	885.92 \pm 245	Ns

Ns: İstatistiksel olarak anlamlı değil.

a, b, c: aynı harflerin olması birbirine uyumlu sonuçların olduğunu göstermektedir.

Tablo1'de kontrol grubu ile CAPE ve EA gruplarını kendi aralarında MDA, NO ve redükte GSH parametreleri üzerine etkilerini karşılaştırdığımızda, istatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı bir fark

saptanmadı. Bu sonuç, CAPE ve EA'in yalnız başlarına kullanıldıklarında, akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında MDA, GSH ve NO seviyeleri üzerine herhangi bir negatif etki oluşturmadıklarını ve her iki

ilacın da bu enzimler üzerine birbirine benzer şekilde etkilere sahip olduğunu gösterdi.

Tablo 2'ye baktığımızda ise; MAL'un karaciğer dokusunda MDA düzeylerini yükselttiği, ancak özellikle CAPE'nin MDA seviyesini istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalttığı belirlendi. Yine MAL verilen grupların akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında redükte GSH düzeylerinin azaldığı, fakat CAPE ve EA'in redükte GSH düzeylerini arttırdığı saptandı. Ayrıca MAL'un neden olduğu şiddetli doku hasarına bağlı olarak, MAL verilen tüm dokularda NO düzeylerinin önemli derecede arttığı, fakat CAPE ve EA'in NO düzeylerini azalttığı tesbit edildi ($p<0,05$).

TARTIŞMA

Malathion toksisitesinin en önemli özelliği, dönüşümsüz olarak kan AChE enzim inhibisyonuna neden olmasıdır (Neishabouri ve ark., 2004). Ancak, son zamanlarda yapılmış çalışmalar OP'ların, oksidatif strese, serbest radikallerin üretimine ve antioksidan düzeylerde çeşitli değişikliklere neden olduğunu belirtmektedir (Bagchi ve ark., 1995; Ahmed ve ark., 2000; Gultekin ve ark., 2000; Sutcu ve ark., 2007). Buna karşın hücrelerin de OP zehirlenmesinde, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar yoluyla oksidatif hasara engel olduğu veya hücre hasarını onarmaya çalıştığı çeşitli çalışmalar ile ortaya konulmuştur.

OP toksisitesinin önemli hücresel mekanizmalarından bir tanesi lipid peroksidasyondur (LPO) (Yamano ve ark., 1992; Bagchi ve ark., 1995; Sutcu ve ark., 2007). LPO'un en büyük göstergesi ise oksidan ürünü olan MDA'dır. Bazı çalışmalar pestisidlerin dokularda MDA seviyesini arttırdığını bildirmiştir (Kehrer, 1993; Banerjee ve ark., 1999; Hazarika, 2003; Dilek ve ark., 2008). Örneğin, bazı in vivo ve in vitro çalışmalar, klorprifos ve diazinon uygulaması ile MDA düzeylerinin arttığını ortaya koymuştur (Gultekin ve ark., 2001; Altuntas ve ark., 2002; Altuntas ve ark., 2003; Altuntas ve ark., 2004; Sutcu ve ark., 2007). Ancak bazı çalışmalar ise, OP uygula-

malarının MDA seviyelerinde herhangi bir değişiklik meydana getirmediğini bildirmişlerdir. Örneğin, Yildirim ve ark., sisplatin uygulanan gruplarda NO düzeylerinin tersine, MDA seviyelerinde herhangi bir değişiklik oluşmadığını ve bunun nedeni olarak da karaciğer dokusunda LPO sonunda salıverilen MDA'nın çok hızlı metabolize olmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir (Yildirim ve ark., 2003). Gultekin ve ark., ise klorprifos uygulaması sonucu, eritrositlerde MDA seviyesinde artış meydana geldiğini ve buna reaktif oksijen radikallerinin ya da serbest radikallerin neden olabileceğini belirtmişlerdir (Gultekin ve ark., 2000).

Çalışmamızda ise Yildirim ve ark., belirttiğinin aksine ve Gultekin ve ark., belirttiğine benzer şekilde, akut MAL uygulaması sonucu oluşan oksidatif hasara bağlı olarak oksijen radikallerin ya da serbest radikallerin karaciğer dokusunda MDA düzeylerini yükselttiği ve oksidatif strese neden olduğu, ancak özellikle CAPE'nin MAL'un toksik etkisini engelleyerek MDA düzeylerini anlamlı şekilde azalttığı saptanmıştır.

Çalışmamızın diğer belirteç parametrelerinden biri olan NO ise, hücresel hasarı gösteren önemli diğer bir enzimdir. Celik ve ark., Escherichia Coli' nin neden olduğu pyonefritli grupları kontrol grubu ile karşılaştırdığında NO ve MDA düzeylerinin önemli miktarda arttığını, fakat CAPE uygulamasının NO ve MDA düzeylerini önemli şekilde azalttığını bildirmiştir (Celik ve ark., 2006). Ayrıca Altug ve ark., CAPE uygulanan gruplarda plazma MDA düzeylerinin önemli şekilde azaldığını ($p<0,05$) (Altug ve ark., 2008) ve Ozyurt ve ark., yaptıkları iskemi-reperfüzyon hasarının MDA ve NO düzeylerini arttırdığını buna karşın CAPE'nin, MDA ve NO düzeylerini azalttığını ortaya koymuştur (Ozyurt ve ark., 2007). Devipriya ve ark., ise alkol toksisitesine karşı antioksidan özelliğe sahip EA'in etkisini araştırmış ve alkole bağlı olarak yükselmiş olan TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) ve NO düzeylerinin EA'in etkisiyle önemli derecede azaldığını ve hatta normale yakın düzeylere indiğini

bildirmiştir (Devipriya ve ark., 2007). Yildirim ve ark., sisplatin tarafından böbrek dokusunda NO düzeylerinin arttığını, ancak erdosteinin bu artışı engellediğini ortaya koymuştur (Yildirim ve ark., 2003). Ayrıca Peresleni ve ark., oksidatif stresin epitelial hücrelerde NO üretimini ve saliverimini arttırdığını, buna bağlı olarak hücre sel canlılığın azaldığını bildirmiştir (Peresleni ve ark., 1996). Song ve ark., ise CAPE'nin NO üretimini azalttığını belirtmiştir (Song ve ark., 2002).

Çalışmamızda ise, yukarıda belirtilen çalışma sonuçlarına benzer şekilde, MAL verilen grupların tüm dokularında NO düzeylerinin önemli derecede artmasına karşın, CAPE ve EA'in NO düzeylerini azalttığı tesbit edildi ($p < 0,05$).

Araştırmamızın belirteç parametrelerinden olan ve reaktif oksijen türlerine karşı hücre sel savunmada önemli rol oynayan önemli diğer bir enzim ise redükte glutatyon (GSH)'dur. Redükte GSH aktivitesindeki artış, pestisid toksisitesine karşı daha iyi korumanın olduğunu göstermektedir. Redükte GSH aktivitesi inhibe edildiğinde ise, LPO ürünlerinin birikmeye başladığı ve hücre sel hasarın arttığı anlaşılmaktadır (Oruç ve ark., 2006; Oruc, 2010). Pari ve ark. (2008) siklosporin (CsA) toksisitesine karşı, EA'in redükte GSH düzeylerini arttırdığını, bundan dolayı karaciğerde koruyucu etkinlik gösterdiğini ve ayrıca TBARS düzeyleri ve hidroperoksidlerin önemli derecede azaldığını ve enzimatik, nonenzimatik antioksidan düzeylerin karaciğer dokusunda EA uygulamasıyla arttığını bildirmiştir.

Çalışmamızda redükte GSH ile ilgili verileri incelediğimizde; MAL verilen grupların akciğer, karaciğer ve böbrek dokularında LPO ürünlerinin (MDA) birikmeye başlaması ve hücre sel hasarın artmasına bağlı olarak redükte GSH düzeylerinin azaldığı, fakat CAPE ve EA'in ise redükte GSH düzeylerini arttırdığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, CAPE ve EA'in akut MAL toksikasyonunda oluşan oksidatif stres üzerine,

birbirine benzer şekilde antioksidan etki gösterdikleri ve akut MAL toksikasyonunda bu amaçla kullanılabilecekleri sonucuna varıldı.

KAYNAKLAR

- Ahmed RS., Sehit V., Pash ST., Banerjee BD., 2000. Influence of dietary (Zingiber officinales Rosc) on oxidative stress induced by malathion rats. *Food Chem. Toxicol.*, 38, 443–450.
- Altug ME., Serarslan Y., Bal R., Konaş T., Ekici F., Melek IM., Aslan H., Duman T., 2008. Caffeic acid phenethyl ester protects rabbit brains against permanent focal ischemia by antioxidant action: A biochemical and planimetric study. *Brain Res.*, 1201, 135-142.
- Altuntas I., Delibas N., Can M., Yonden Z., Orhan H., Sutcu R., 2002. Effects of organophosphate insecticide fenthion on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocyte (in vitro). *İbni Sina Dergisi.*, 7, 90–95.
- Altuntas I., Delibas N., Doguc DK., Ozmen S., Gultekin F., 2003. Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes in vitro. *Toxicol. in Vitro.*, 17, 153–157.
- Altuntas I., Kilinc I., Orhan H., Demirel R., Koylu H., Delibas N., 2004. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in erythrocytes in vitro. *Hum. Exp. Toxicol.*, 23, 9–13.
- Anonim. 1997. WHO (World Health Organization). Guidelines for poison control, http://www.who.int/ipcs/publications/training_poisons/guidelines_poison_control/en/index.html. [Erişim: 13.12.2010].
- Bagchi D., Bagchi M., Hassoun EA., Stohs SJ., 1995. In vitro and in vivo generation of reactive oxygen species. DNA damage and lactate dehydrogenase leakage by selected pesticides. *Toxicology*, 104, 129–140.
- Banerjee BD., Seth V., Bhattacharya A., Pahsa ST., Chakraborty AK., 1999. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol. Lett.*, 107, 33–47.
- Beutler E., Duron O., Kelly BM., 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.*, 61, 882-888.

- Celik S., Gorur S., Aslantas O., Erdogan S., Ocak S., Hakverdi S., 2007. Caffeic acid phenethyl ester suppresses oxidative stress in Escherichia coli-induced pyelonephritis in rats. *Mol. Cell. Biochem.*, 297, 131–138.
- Delen N., Özbek T., 1990. Türkiye'de Tarım İlacı Kullanımı ve Yarattığı Sorunlar. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları. Ankara. 26, 1015-1028.
- Demircan V., Yılmaz H., 2005. The analysis of pesticide use in apple production in Isparta province in terms of economy and environmental sensitivity perspective. *Ekoloji.*, 14,15-25.
- Devipriya N., Srinivasan M., Sudheer AR., Menon VP., 2007. Effect of elajik acid, a natural polyphenol, on alcohol-induced prooxidant and antioxidant imbalance: a drug dose dependent study. *Singapore Med. J.*, 48, 311.
- Durak D., Uzun FG., Kalender S., Ogutcu A., Uzunhisarcikli M., Kalender Y., 2009. Malathion-induced oxidative stress in human erythrocytes and the protective effect of vitamins C and E in vitro. *Environ. Toxicol.*, 24, 235-242.
- Festa F., Aglitti T., Duranti G., Ricordy R., Perticone P., Cozzi R., 2001. Strong antioxidant activity of ellagic acid in mammalian cells in vitro revealed by the comet assay. *Anticancer Res.*, 21, 3903.
- Gultekin F., Ozturk M., Akdogan M., 2000. The effect of organophosphate insecticide chlorpyrifos-ethyl on lipid peroxidation and antioxidant enzymes (in vitro). *Arch. Toxicol.*, 74, 533–38.
- Gultekin F., Delibas N., Yasar S., Kiline I., 2001. In vivo changes in antioxidant systems and protective role of melatonin and a combination of vitamin C and vitamin E on oxidative damage in erythrocytes induced by chlorpyrifos-ethyl in rats. *Arch. Toxicol.*, 75, 88–96.
- Gupta J., Data C., 1992. "Effects of malathion on antioxidant defence system in human fetus-An in vitro study", *Ind. J. Exp. Biol.*, 352-354.
- Gurel A., Armutcu F., Hosnuter M., Unalacak M., Kargi E., Altinyazar C., 2004. Caffeic acid phenethyl ester improves oxidative organ damage in rat model of thermal trauma. *Physiol. Res.*, 53, 675-682.
- Hazarika A., Sarkar SN., Hajare S., Kataria M., Malik JK., 2003. Influence of malathion pretreatment on the toxicity of anilofos in male rats: a biochemical interaction study. *Toxicology*, 185, 1–8.
- Hepsen IF., Bayramlar H., Gultek A., Ozen S., Tilgen F., Evreklioglu C., 1997. Caffeic acid phenethyl ester to inhibit posterior capsule opacification in rabbits. *J. Cataract Refract. Surg.*, 23, 1572-1576.
- Ilhan A., Koltuksuz U., Ozen S., Uz E., Ciralik H., Akyol O., 1999. The effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on spinal cord ischemia/ reperfusion injury in rabbits. *Eur. J. Cardio-Thorac. Surg.*, 16, 458-463.
- Kehrer JP., 1993. Free radical as mediator of tissue injury and disease. *Crit. Rev. Toxicol.*, 23, 21–48.
- Kozacı N., 2006. Organofosfat Zehirlenmelerinde Pralidoksimin Farklı Doz Uygulama Şekillerinin Etkinliği ve Yan Etkilerinin Klinik Karşılaştırılması. Ç.Ü. Acil Tıp ADı.Uzm. Tezi.
- Miranda KM., Espey MG., Wink DA., 2001. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.*, 5, 62-71.
- Neishabouri EZ., Hassan ZM., Azizi E., Ostad SN. 2004. Evaluation of immunotoxicity induced by diazinon in C57bl/6 mice. *Toxicology.*, 196, 173–79.
- Oğuzhanoğlu E., 2009. Ratlarda Diazinon Zehirlenmesinin Oluşturduğu Pankreatitte Kafeik Asit Fenetil Esterin Olası Etkileri. SDÜ Tıp Fak. Anesteziyoloji ve Reanimasyon AD.Uzm. Tezi.
- Orhan H., Marol S., Hepsen IF., Sahin G., 1999. Effects of some probable antioxidants on selenite-induced cataract formation and oxidative stress-related parameters in rats. *Toxicology*, 139, 219-232.
- Oruc E., 2010.Effects of diazinon on antioxidant defense system and lipid peroxidation in the liver of *Cyprinus carpio* (L.). *Environ. Toxicol.*, DOI 10.1002/tox.20573/pdf
- Oruç EÖ., Üner N., 2000. Combined effects of 2,4-d and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Orochromis niloticus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 127, 291–296.

- Oruç EÖ., Üner N., Sevgiler Y., Usta D., Durmaz H., 2006. Sublethal effects of organophosphate diazinon on the brain of *Cyprinus Carpio*. *Drug. Chem. Toxicol.*, 29, 57–67.
- Ozyurt H., Ozyurt B., Koca K., Ozgocmen S., 2007. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) protects rat skeletal muscle against ischemia–reperfusion-induced oxidative stress. *Vascul. Pharmacol.*, 47, 108–112.
- Ören P., 2009. Malathion'un *Oreochromis Niloticus*'ta Oksidatif Stres Kaynaklı Endokrin Bozucu Etkileri. *Ç.Ü. Fen Bil. Ens. Biyoloji AD. Yüksek Lisans Tezi*.
- Pari L., Sivasankari R., 2008. Effect of elajik acid on cyclosporine A-induced oxidative damage in the liver of rats. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 22 395–401.
- Peresleni T., Noiri E., Bahou WF., Goligorsky MS., 1996: Antisense oligodeoxynucleotides to inducible NO synthase rescue epithelial cells from oxidative stress injury. *Am. J. Physiol.*, 270, F971-77.
- Savolainen K., 2001. Understanding the toxic actions of organophosphates. In: Krieger RI (ed) New York, Academic Pres., *Hanbook of Pesticide Toxicology.*, 1013–1041.
- Sharma Y., Bashir S., Irshad M., Datta Gupta S., Dogra TD., 2005. Effect of acute dimethoate administration on antioxidant status of liver and brain of experimental rats. *Toxicology*, 206, 49-57.
- Solon S., Lopes L., P. Teixeira de Sousa Jr P., 2000. Schmeda-Hirschmann, J. *Ethnopharmacol.*, 72, 173.
- Song YS., Park EH., Hur GM., 2002. Caffeic acid phenethyl ester inhibits nitric oxide synthase gene expression and enzyme activity. *Cancer Letters.*, 175, 53-61.
- Sutcu R., Altuntas I., Buyukvanli B., Akturk O., Ozturk O., Koylu H., Delibas N., 2007. The effects of diazinon on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat erythrocytes: role of vitamins E and C. *Toxicol. Ind. Health.*, 23, 13–17.
- Uz E., Sogut S., Sahin S., Var A., Ozyurt H., Gulec M., Akyol O., 2002. The protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *World. J. Urol.*, 20, 264-270.
- Uzun FG., 2007. Malathion'un Ratlarda Nefrotoksik Etkisi ve Vitamin C ve E'nin Koruyucu Rolü. *GÜ. Fen Bil. Ens. Biyoloji. Yüksek Lisans Tezi*.
- Vural N., 1996. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 73, 342-373.
- Yamano T., Morita S., 1992. Hepatotoxicity of trichlorfon and dichlorvos in isolated rat hepatocytes. *Toxicology*, 76, 69–77.
- Yildirim Z., Sogut S., Odaci E., Iraz M., Ozyurt H., Kotuk M., Akyol O. 2003. Oral erdosteine administration attenuates cisplatin-induced renal tubular damage in rats. *Pharmacol. Res.*, 47, 149-56.
- Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., Mori M., 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gyn.*, 135, 372-376.



Oklu Kirpelerde (*Hystrix cristata*) Karaciğerin Makro - Anatomik ve Işık Mikroskopik Yapısı

Meryem KARAN^{1✉}, Sema TİMURKAAN²

1. Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Elazığ.

2. Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.

Özet: Bu çalışmada, oklu kirpelerde karaciğerin makro-anatomik ve ışık mikroskopik yapısı incelenmiştir. Bu amaçla 5 adet erişkin oklu kirpi (*Hystrix cristata*) kullanılmıştır. Oklu kirpelerde karaciğerin sağ lobu (lobus hepatis dexter), lateral ve medial olmak üzere 2 parça halindeyken, sol lop (lobus hepatis sinister) planum medianum'un solunda ve tek parçadan oluşmuştu. Lobus quadratus derin bir çentikle iki parçaya ayrılmıştı. Lobus caudatus karaciğerin en küçük lobu olup, iki uzantıya sahipti. Vesica fellea'nın varlığı gözlemlendi. Karaciğerin morfolojik üniteleri olan lobuli hepatis'lerin poligonal şekilli olduğu saptandı. Lopçukların merkezinde vena centralis görüldü. Karaciğerde hepatositler ve sinüzoid duvarında Kupffer hücreleri görüldü. Hepatositler poligonal şekilli olup farklı hücre sınırlarına sahipti. Sonuç olarak, oklu kirpi karaciğerinin hem anatomik hem de histolojik temel özellikleri vurgulanmış, oklu kirpi ile diğer rodentalar arasındaki bazı benzerlik ve farklılıklar saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Işık Mikroskop, Karaciğer, Makro-anatomi, Oklu kirpi.

Macro - Anatomical and Light Microscopical Structures of Liver in Porcupine (*Hystrix cristata*)

Abstract: The aim of this study was to investigate the macro-anatomical and light microscopical structures of liver in the porcupines (*Hystrix cristata*). For this purpose, five adult porcupines were used. The right lobe (lobus hepatis dexter) was divided into lateral and medial lobules. The left lobe was located at the left side of the midline, and it was not divided. The quadrate lobe was divided into two components by a deep notch. The caudate lobe was the smallest lobe of porcupine liver and it had two processes. Gallbladder was present. Polygonal hepatic lobules were the morphological units of the liver. V. centralis was seen in the centre of lobulus. Hepatocytes and Kupffer cells were observed in the walls of sinusoids in the liver. Hepatocytes were polyhedral cells with distinct boundaries. In conclusion, both anatomical and histological fundamental features of the liver of porcupine were stressed and, additionally, some similarities and differences were detected between porcupine and other rodentia.

Key words: Light Microscopy, Liver, Macro-anatomy, Porcupine.

✉ Meryem KARAN

Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Elazığ, e-posta: meryemkaran@hotmail.com

GİRİŞ

Oklu kirpi, rodentia takımının küçük bir grubu olan Hystriidae familyasının bir üyesidir (Kuru, 1987; Demirsoy, 1992).

Karaciğer, cavum abdominis'te bulunan en büyük bezdir. Salgı yapma fonksiyonundan başka, yaşama ilgili çok çeşitli görevleri yerine getirir (Jungueira ve ark., 1993). Karaciğer, kollagen ve elastik iplik içeren bağdokulu bir kapsülle sarıdır. Bağdoku organın içine girerek organı loplara ve lopçuklara ayırır. Loplanma durumu deve ve domuz gibi hayvanlarda belirginlik gösterir. Hekzagonal şekilli olan klasik lopçukların aralarında bulunan bağdoku alanı Kiernan aralığı adını alır (Gülmez, 2010).

Memeli türlerinde karaciğerin anatomik ve ışık mikroskopik yapısını tanımlayan çok sayıda çalışma (Lorente ve ark., 1995; Kogure ve ark., 1999; Martins ve Neuhaus, 2007; Perez ve Lima, 2007) olduğu halde, oklu kirpelerde karaciğerin yapısıyla ilgili herhangi bir bilgiye rastlanılmamıştır.

Bu çalışma, oklu kirpelerde karaciğerin makro-anatomik ve ışık mikroskopik yapısının incelenerek, bu konudaki bilgi birikimine katkıda bulunulması ve gelecekte oklu kirpi karaciğeri üzerine yapılacak çalışmalara ışık tutması amacıyla planlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada; Elazığ ili Keban ilçesinde köylüler tarafından ele geçirilmiş 5 adet erişkin (3 erkek, 2 dişi) oklu kirpi (*Hystrix cristata*) kullanıldı. Deneysel çalışma etik kurallara uygun bir şekilde yapıldı.

Hayvanlar eter inhalasyonu ile anestezi edilerek usulüne uygun bir şekilde diseke edildi. Karaciğerden alınan 0.5-1 cm'lik doku örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildikten sonra bilinen histolojik yöntemlerle yıkama, dehidrasyon ve parlatma işlemlerini takiben parafinde bloklandı. Hazırlanan parafin bloklarından 5-7 µm kalınlığında kesitler alınarak, Mayer'in hematoksilen-eozin

boyaması (Luna, 1968) ve Crossman'ın üçlü boyaması (Crossman, 1937) ile boyandı.

BULGULAR

Oklu kirpelerde karaciğer cavum abdominis'in cranial kısmında diaphragma'ya dayanmış, büyük bir kısmı cavum abdominis'in sağında (lobus hepatis sinister dışında kalan tüm karaciğer lopları), az bir kısmı ise (lobus hepatis sinister) sola geçmiş olarak bulunmaktaydı (Şekil 1).

Oklu kirpelerde karaciğer lobuler bir yapıya sahip, tüm kenarları keskin ve ince olarak gözlemlendi. Karaciğeri lopçuklara ayıran incisura interlobaris oldukça derin olup, ventral kenardan dorsal kenara kadar uzandığı tespit edildi. Kirpi karaciğerinde lobus hepatis dexter, lobus hepatis sinister, lobus caudatus ve lobus quadratus olmak üzere 4 ana lop görüldü. Lobus hepatis dexter, birbirinden tamamen ayrılmış lateral ve medial olmak üzere 2 parça halindeydi ve her bir parça bu haliyle ayrı bir lop görünümündeydi. Lobus hepatis dexter lateralis karaciğerin en uzun lobu olup, böbreğin margo lateralis'inden caudal'e doğru uzanmıştı. Lobus hepatis dexter medialis ise daha kısaydı. Lobus hepatis sinister planum medianum'un solunda ve tek parça halindeydi. Derin konkav bir facies visceralis'e sahipti. Lobus quadratus diğer loplardan daha ventralde uzanıp, oldukça derin olan incisura lig. teretis tarafından biri büyük, diğeri küçük olmak üzere 2 parçaya ayrılmıştı. Lobus caudatus karaciğerin en küçük lobu olup, iki uzantıya sahipti. Bunlardan proc. caudatus, lobus hepatis dexter lateralis ve medialis arasına doğru uzanmış, oldukça büyük ve 3 parçalı olarak görüldü. Daha küçük olan proc. papillaris ise sola doğru uzanan küçük bir çıkıntı halindeydi. Lobus quadratus'un sağ alt lobu üzerinde karaciğerin ventral kenarını aşan vesica fellea bulunmaktaydı.

Karaciğerin facies visceralis'i üzerinde çok belirgin olmayan bazı organ izleri bulunmaktaydı.

Hepar'ın sol lobu üzerinde impressio gastrica, lobus hepatis dexter medialis ile vesica fellea arasında impressio duodenalis, lobus hepatis dexter lateralis üzerinde ise impressio renalis bulunmaktaydı.

Karaciğerin poligonal şekilli lopçuklardan oluştuğu görüldü. Lopçukların çevrelerinde ince bağdoku bölmeleri (interlobüler intersitisyum) dikkati çekti. Lopçuklar birbirleriyle yakın temasta oldukları ve aralarındaki bağdokunun azlığı nedeniyle sınırları belirgin değildi (Şekil 2). Birbirine komşu olan lopçuklar arasında Kiernan aralığında interlobüler intersitisyumun daha belirgin olduğu dikkati çekti. Bu bölgede v. porta'nın dalı v. interlobularis, a.

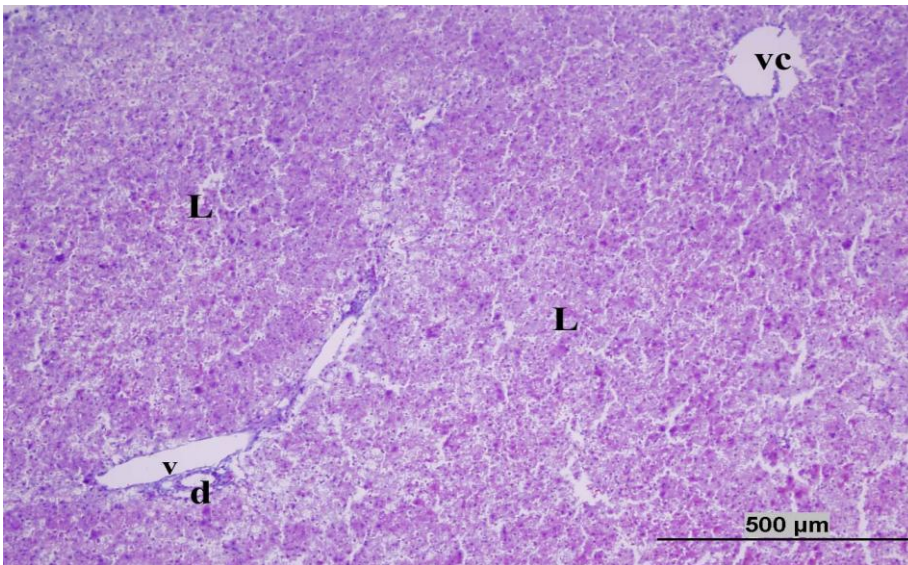
hepatica'nın dalı a. interlobularis ve ductus biliferus bulunmaktaydı (Şekil 2, Şekil 3). Lopçukların merkezinde vena centralis görüldü (Şekil 4).

Hepatositler poligonal şekilli olup, yuvarlak bir çekirdek ile asidofilik sitoplazmaya sahipti Hepatositlerin bazıları çift çekirdekli olarak görüldü. Bu hücreler birbirleriyle bağlantılı plaklar halinde gruplaşmışlardı ve lopçuk içinde ışınal bir biçimde hücre kordonlarını (Remark kordonları) oluşturmuştu. Hücre sınırları belirgindi (Şekil 5). Kupffer hücreleri sinuzoidlerdeki endotel hücreleri arasında görülen tipik yerleşik makrofajlardı (Şekil 5).



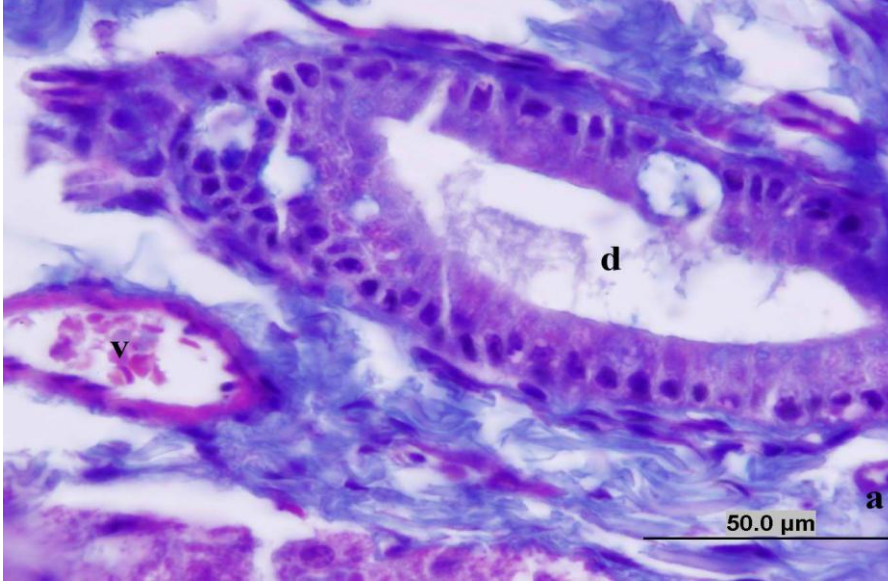
Şekil 1. Karaciğerin (k) vücuttaki pozisyonu.

Figure 1. Position of liver over the body.



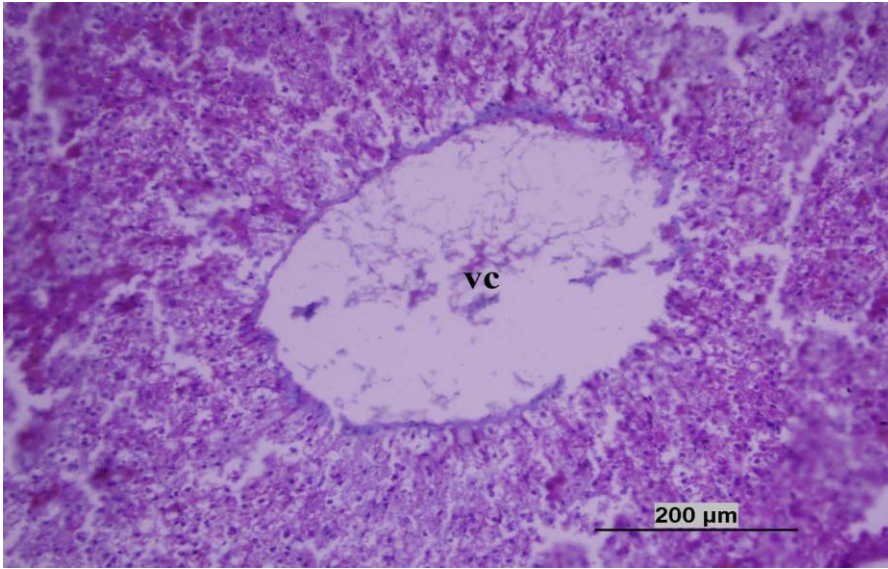
Şekil 2. Karaciğerin lopçuk yapısı (L), v. centralis (vc), v. interlobularis (v) ve ductus biliferus (d). Üçlü boyama, Bar: 500 µm.

Figure 2. Structure of lobulus (L), v. centralis (vc), v. interlobularis (v) and ductus biliferus (d). Triple staining, Bar: 500 µm.



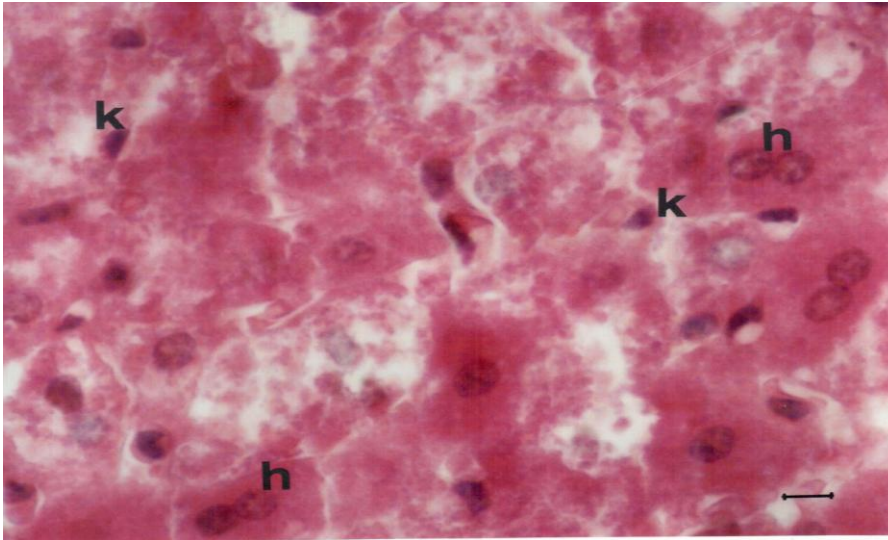
Şekil 3. Portal alan içinde bulunan v. interlobularis (v), a. interlobularis (a) ve ductus biliferus (d). Üçlü boyama, Bar: 50 µm.

Figure 3. Vena interlobularis (v), a. interlobularis (a) and ductus biliferus (d) inside the portal area. Triple staining, Bar: 50 µm.



Şekil 4. Lopçukların merkezinde bulunan v. centralis (Vc). Üçlü boyama, Bar: 200 µm.

Figure 4. Vena centralis (Vc) within the centre of lobules. Triple staining, Bar: 200 µm.



Şekil 5. Çift çekirdeğe sahip hepatositler (h), Kupffer hücreleri (k). H.E., Bar: 20 µm.

Figure 5. Binuclear hepatocytes (h), Kupffer cells (k). H.E., Bar: 20 µm.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Cooper ve Schiller (1975), kobaylarda karaciğerin cavum abdominis'in ön kısmında ve diaphragma'nın hemen caudal'inde olduğunu bildirmiştir. Araştırmada da karaciğerin cavum abdominis'te yerleşiminin araştırmacıların bulgularına benzer olduğu görülmüştür.

Greene (1968) ile Baker ve ark. (1979) rat karaciğerinde vesica fellea bulunmadığını, McLaughlin ve Chiasson (1990) tavşan karaciğerinde ve Cooper ve Schiller (1975) ise kobay karaciğerinde vesica fellea bulunduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada, oklu kirpelerde vesica fellea bulunduğu gözlenmiştir.

McLaughlin ve Chiasson (1990), tavşan karaciğerinde lobus hepatis dexter'in lateral, medial ve caudal olmak üzere 3 parça halinde bulunduğunu, lobus hepatis sinister'in ise medial ve lateral olmak üzere 2 kısımdan oluştuğunu bildirmişlerdir. Kogure ve ark (1999) ratlarda, Cooper ve Schiller (1975) ise kobaylarda lobus hepatis dexter'in iki parçadan oluştuğunu, lobus hepatis sinister'in tek parça halinde olduğunu, Evans ve Christensen (1979) köpeklerde, Perez ve Lima (2007) ise Şili kunduzunda hem lobus hepatis dexter'in hem de lobus hepatis sinister'in lateral ve medial olmak üzere 2'ye ayrıldığını bildirmişlerdir. Çalışmada kirpi karaciğerinin loplanma yönünden kobay ve ratlara benzerlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Greene (1968), rat karaciğerinde, Cooper ve Schiller (1975) ise kobay karaciğerinde lobus quadratus'un bir çentikle medial ve lateral olmak üzere eşit 2 lopçuğa ayrıldığını tespit etmişlerdir. Araştırmada ise lobus quadratus'un eşit olmayan 2 lopçuğa ayrıldığı görülmüştür.

Cooper ve Schiller (1975) kobay, Martins ve Neuhaus (2007) rat karaciğerinde en büyük lobun lobus quadratus olduğunu, Evans ve Christensen (1979) ise köpeklerde en büyük lobun lobus hepatis sinister lateralis olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada, oklu kirpelerde lobus hepatis dexter

lateralis'in karaciğerin en büyük lobu olduğu gözlenmiştir.

Cooper ve Schiller (1975), kobaylarda lobus hepatis dexter'in daha uzun medial bir alt lop ile, daha küçük lateral bir alt loba ayrıldığını bildirmiştir. Yapılan incelemede oklu kirpelerde lateral lobun daha uzun ve büyük olduğu saptanmıştır.

Bazı araştırmacılar (Jungueira ve ark., 1993; Young ve Heath, 2000) domuz ve deve karaciğerinde lopçukların interlobüler intersitisyum ile iyi bir şekilde sınırlandığını, insan ve primatlarda ise bu intersitisyumun belirgin olmadığını bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada oklu kirpelerde interlobuler intersitisyumun belirgin olmadığı, diğer hayvanlarda olduğu gibi Kiernan aralığında a. interlobularis, v. interlobularis ve ductus biliferus'un yer aldığı gözlenmiştir.

Rotsch ve ark. (1997) Kupffer hücrelerinin tipik makrofaj yapısında olduğunu, sinuzoidlere yerleştiğini ve endotel hücrelerinin lümene bakan yüzeyinde bulunduğunu bildirmiştir. Yapılan histolojik incelemeler bu bulgularla paralellik göstermektedir.

Sonuç olarak; yapılan incelemelerde, oklu kirpi karaciğerinin makro-anatomik özelliklerinin bazı yönlerden diğer rodentialara benzerlik göstermekle birlikte kendine ait bir takım spesifik özelliklerinin de olduğu; histolojik yapısının ise diğer memelilere benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

KAYNAKLAR

- Aytekin Y., Solakoğlu S., 1993. Temel histoloji. 7. Baskı Barış Kitap Evi, İstanbul. 317-321.
- Baker J., Lindsey RJ., Weisbroth SH., 1979. The Laboratory Rat. Volume I, Biology and Disease. Academic Pres, inc. 83.
- Cooper G., Schiller AL., 1975. The Digestive System. In: Anatomy of the Guinea Pig. Harvard University Pres, Cambridge, Massachusetts. 303-324.

- Crossman G., 1937. A Modification of Malloy's Connective Tissue Stain with a Discussion of the Principles Involved. *Anat. Rec.*, 69, 33-38.
- Demirsoy A., 1992. Yaşamın Temel Kuralları. Meteksan Anonim Şirketi. Ankara.
- Evans HE., Christensen GC., 1979. Miller's Anatomy of the Dog. W.B. Saunders Comp., Philadelphia.
- Greene EC., 1968. The Anatomy of the Rat. Transactions of the American Philosophical and Society Held at Philadelphia. Volume 27, p: 90.
- Gülmez N., 2010. Sindirim Sistemi I. In: "Veteriner Özel Histoloji" Ed., A. Özer, 2. Baskı, Nobel Yayın, Ankara, 151-160.
- Kogure K., Ishizaki M., Nemoto M., Kuwano H. and Makuuchi M., 1999. A Comparative study of the anatomy rat and human livers. *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.*, 6, 171-175.
- Kuru M., 1987. Omurgalı Hayvanlar. Atatürk Üniv. Basımevi. Erzurum.
- Lorente L., Aller MA., Rodriguez J., Duran M.C., Duran H.J. and Alonso S., 1995. Surgical anatomy of the liver in Wistar rats. *Surg. Res. Commun.*, 17, 113-21.
- Luna LG., 1968. Manuel of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Third Ed. Mc. Graw-Hill Book Company. Toronto, London.
- Martins P.N.A., Neuhaus P., 2007. Surgical anatomy of the liver, hepatic vasculature and bile ducts in the rat. *Liver International*, 27, 384-392.
- McLaughlin CA, Chiasson RB., 1990. Laboratory Anatomy of the Rabbit. Third edition, p: 64.
- Perez W. and Lima, M., 2007. Anatomical description of the liver, hepatic ligaments and omenta in the coypu (*Myocastor coypus*). *Int. J. Morphol.*, 25, 61-64.
- Rotsch C., Braet F., Wisse E., Radmacher M., 1997. AFM imaging and elasticity measurements on living rat liver macrophages. *Cell Biol. Int.*, 21, 685-696.
- Young B. and Heath W., 2000. Wheater's functional histology. A text and colour atlas. Fourth Edition Toronto, p: 202-204.



Kars Yöresinde Farklı Tarihlerde Biçilen Çayırların Verim Özellikleri, Besin Madde İçerikleri ve En Uygun Biçim Tarihinin Belirlenmesi

Cavit ARSLAN, Tuncay TUFAN✉

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Anabilim Dalı, Kars.

Özet: Bu çalışma, Kars yöresindeki çayırların verim özelliklerinin, besin madde içeriklerinin ve en uygun biçim tarihinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çayırlardan 22 Haziran, 2, 12 ve 21 Temmuz'da ot örnekleri alınmıştır. Biçim tarihlerine göre yaş ot verimi; 723, 829, 824 ve 599 kg/da, kuru madde verimi; 196, 235, 250 ve 205 kg/da olarak bulunmuştur. Biçim tarihlerinin ilerlemesine bağlı olarak, otların organik madde (%90.71, 91.41, 91.02 ve 91.61), ham kül (%9.29, 8.59, 8.98 ve 8.39), ham yağ (%2.63, 2.69, 3.01 ve 3.03) ve azotsuz öz madde (%43.98, 46.16, 45.57 ve 46.79) içeriklerinin değişmediği, ham proteinin (%13.94, 11.67, 10.48 ve 9.14) azaldığı (P<0.001), buna karşın ham selüloz (%30.15, 30.89, 31.96 ve 32.66), NDF (%48.23, 51.40, 52.96 ve 53.77) ve ADF (%33.70, 35.22, 37.85 ve 39.77) içeriğinin ise arttığı (P<0.001) belirlenmiştir. Aynı şekilde, birim alandan elde edilen organik madde miktarının değişmediği, son biçimde elde edilen ham protein miktarının ise öncekilerden düşük iken (P<0.05), ikinci ve üçüncü biçim tarihlerinde elde edilen NDF miktarının birinci biçimden yüksek olduğu (P<0.05) belirlenmiştir. Sonuç olarak, verim özellikleri, besin içeriği ve birim alandan elde edilen besin miktarından hareketle, ham protein verimi yönünden 22 Haziran ile 12 Temmuz, yapısal karbohidratlar yönünden ise 22 Haziran ile 2 Temmuz arasındaki biçimlerin avantajlı olabileceği, ancak daha güvenilir sonuçlar için sindirim denemelerine dayalı araştırmalara ihtiyaç bulunduğu kanısına varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Besin Madde İçeriği, Biçim Zamanı, Çayır, Çayır Verimi.

Determination of Herbage Yield, Nutrient Composition and Optimum Harvesting Date of Pastures in Kars District

Abstract: The present study was conducted to determine the herbage yield, nutrient contents and optimum harvesting date of pastures in Kars district. Herbage samples were harvested from pastures on June 22, July 2, 12 and 21. Fresh herbage yields were found to be 723, 829, 824 and 599 kg/da, while dry matter yields were 193, 218, 231 and 185 kg/da, respectively, according to the harvesting date. It was found that, depending on the progression of harvesting date, organic matter (90.71, 91.41, 91.02 and 91.61%), crude ash (9.29, 8.59, 8.98 and 8.39%), ether extract (2.63, 2.69, 3.01 and 3.03%) and nitrogen-free extract (43.98, 46.16, 45.57 and 46.79%) were not changed significantly, while crude protein (13.94, 11.67, 10.48 and 9.14%) decreased significantly (P<0.001), but crude fibre (30.15, 30.89, 31.96 and 32.66%), NDF (48.23, 51.40, 52.96 and 53.77%) and ADF (33.70, 35.22, 37.85 and 39.77%) increased significantly (P<0.001). The amounts of total organic matter obtained from the per unit field were not changed according to the progression of the harvesting date, while the amount of crude protein on the latest date was higher than those of other dates (P<0.05), as well as the contents of NDF on the second and third harvesting date were higher than that of the first harvesting date (P<0.05). Considering the production traits, it is concluded that, the nutrient contents and total nutrient amounts obtained from per unit field from 22 June to 12 July was more favourable for crude protein, while the time from June 22 to July 2 was more convenient for structural carbohydrates. However, researches are encouraged to conduct digestion studies in the future for drawing more reliable conclusions.

Key words: Nutrient Composition, Pasture, Pasture Yield, Optimum Harvesting Date.

✉Tuncay TUFAN

Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Anabilim Dalı, Kars, e-posta: tuncay-tufan@hotmail.com

GİRİŞ

Ruminantların beslenmesinde; beslenme fizyolojisine uygunluk, ekonomik bir besleme ve arzulanan verimlerin önemli bir kısmının elde edilebilmesi kaliteli kaba yemler ile mümkündür. Kaliteli kaba yem kaynakları içerisinde mera ve çayırlar önemli bir yer tutmaktadır. Türkiye’de 50 milyon ton kaliteli kaba yeme ihtiyaç duyulduğu, bunun 10 milyon tonunun çayır ve meralardan sağlandığı bildirilmektedir (Kutlu ve ark., 2003). Bölgelerimize göre mera ve çayır alanlarının dağılımı ile ot verim miktarları arasında önemli farklılıklar bulunmaktadır.

Doğu Anadolu Bölgesi ülkemizin en geniş çayır alanına (303.809 ha) sahip olup, çayırlarının yeşil ot verimi 3000 kg/ha’dır (DPT, 1991). Bu bölgemizin Kuzey Doğu Anadolu Bölümü (Ağrı, Ardahan, Erzurum, Kars) çayır ve mera bakımından bölgenin diğer kısımlarına göre daha da zengindir. Kars ili yüzölçümünün %39.2’sini çayır ve mera alanları oluşturmaktadır (Anonim, 2009). Söz konusu mera alanlarından mevsimin uygun olduğu dönemlerde otlatma, çayır alanlarından ise çayır kuru otu üretilmesi şeklinde yararlanılmaktadır.

Çayır ve mera otlarının kalitesi; büyüme şartları, vejetasyon dönemi, botaniksel bileşim, iklimsel faktörler, sulama ve gübrelemeye bağlı olarak değişmektedir (McDonald ve ark., 1987; Coşkun ve ark., 2000; Ergün ve ark., 2002). Van Erciş Altındere TİGEM merasının korunmuş alanlarındaki otların 30 Haziran, 15 ve 30 Temmuz’daki kuru madde verimi 97.13, 78.81 ve 67.61 kg/da olarak bulunmuştur (Karslı ve ark., 2003). Aynı çalışmada vejetasyonun ilerlemesine bağlı olarak mera otlarının kuru madde (KM), neutral detergent fibre (NDF) ve acid-detergent fibre (ADF) içeriğinin arttığı, ham protein (HP) içeriğinin azaldığı, ham kül (HK) ve organik madde (OM) içeriğinin değişmediği belirlenmiştir. Kars yöresi çayır ve mera alanlarının 21 Mayıs ile 30 Temmuz arasındaki ikişer haftalık aralıklarla besin madde değişiminin incelendiği bir çalışmada ortalama KM, OM, HP, HS, NDF, azotsuz öz madde (N’suz

ÖM), ham yağ (HY) ve HK içeriği sırasıyla %28.8, 90.8, 15.3, 30.0, 57.6, 43.4, 2.0 ve 9.2 olarak belirlenmiştir (Kaya ve ark., 2004). Erzurum Palandöken meralarının farklı kısımlarının 1992 ve 1993 yıllarındaki ortalama HP içeriği %13.40, HS içeriği ise %27.95 olarak tespit edilmiştir (Koç ve ark., 2000).

Kars yöresi çayırlarının farklı biçim tarihlerindeki besin madde içeriğinin belirlenmesine yönelik kısıtlı sayıda araştırma olmakla birlikte, mevcut araştırmadaki biçim tarihlerine ait ot verim miktarı ve en uygun biçim dönemi ile ilgili verilere rastlanılmamıştır. Bu araştırma; farklı tarihlerde (22.06.2010, 02.07.2010, 12.07.2010, 21.07.2010) biçilen Kars yöresi çayırlarının birim alandaki yeşil ot verimi, %100 kuru madde verimi, besin madde içerikleri ve biçim için en uygun tarihin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışma yerleri ve çayır otu örneklerinin alınması

Bu çalışma Kars il merkezinde ve merkeze bağlı 4 farklı yerleşim biriminde bulunan toplam 5 çayır alanında (Kars merkez, Bozkale köyü, Çağlayan köyü, Çorak köyü, Çakmak köyü) yürütülmüştür. Kars ilinin rakımı 1785 m’dir. Çevre ve Orman Bakanlığı, Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğünden alınan bilgilere göre bu çalışmanın yapıldığı 2010 yılı Haziran ve Temmuz aylarında Kars ilinin sıcaklık ortalaması sırasıyla 17.6 ve 20.8 °C, aylık toplam yağış miktarı sırasıyla 44.0 ve 121.6 kg/m²’dir.

Söz konusu çayırardan birinci biçim 22 Haziran 2010’da [Biçim tarihi 21 Haziran (gün dönümü) olarak planlanmış ancak yoğun yağmur yağışı sebebiyle biçim 1 gün sonra yapılmıştır], ikinci, üçüncü ve dördüncü biçimler ise ilk biçimden sonra 10’ar gün aralıklarla (02.07.2010, 12.07.2010, 21.07.2010) yapılmıştır. Çalışmada biçim zamanlarına yönelik olarak tarih yerine bitkinin vejetasyon dönemini belirten ifadelerin kullanılmasının daha bilimsel

olacağı düşünülmüş ancak, çayırlardaki otların botaniksel bileşimi monokültür bitkilerden oluşmadığı ve biçim tarihlerine göre baklagil ve buğdaygil otlarının oransal dağılımında farklılıklar gözleendiği için biçim tarihleri verilmek durumunda kalınmıştır. Çayır otu örnekleri Ergün ve ark. (2002) tarafından bildirilen "tarladan numune alma yöntemi"ne göre yapılmıştır. Bu amaçla çayır alanlarında yaklaşık 15 m uzunlukta zigzaglar gidilerek 20 ayrı noktada 50x50 cm'lik iç ebatları olan çerçeve içinde kalan çayır otu örnekleri yerden 2-3 cm yükseklikte olacak şekilde büyük makaslar yardımıyla biçilmiştir.

Bu çalışmanın yapıldığı çayır alanlarından 2 tanesinin toprak yüzeyi örnek alma tarihleri ilerledikçe sulaklık durumu azalmakla birlikte tüm örnek alma tarihlerinde sulak, bir tanesinin toprak yüzeyi 1. ve 2. örnek alımında sulak, 3. ve 4. örnek alımlarında kuru, diğer iki çayır alanının toprak yüzeyi tüm örnek alma dönemlerinde kuru idi. Çalışmanın yapıldığı çayırlar doğal çayırlar olup, yıllardır otlarının biçilmesi amacıyla korunmuş alanlardır. Kars yöresi çayır otlarının botaniksel bileşimi %64.2 buğdaygil, %22.8 baklagil ve %13.0 diğer familyalara ait ot türünden oluşmaktadır (Kaya ve ark., 2004).

Çayır otu verimlerinin belirlenmesi

Biçilen çayır otu örnekleri soldurulmadan hemen tartılarak biçim alanlarından elde edilen "yaş çayır otu miktarı" belirlenmiştir. Çayır otu örnekleri pencere ve kapısı açık bir odada bez üzerine serilerek 8-10 gün süreyle doğal kurutulduktan sonra 60 °C'lik etüvde 3-4 gün daha kurutulup "%100 kuru madde verimi" belirlenmiştir (Kaya ve ark., 2004). Çayır otu örneklerinin alındığı noktalardan elde edilen ot verim miktarlarından hareketle, oran-Orantı yoluyla dekar başına yaş ot ve %100 kuru ot verimi hesaplanmıştır.

Çayır otu örneklerinde yapılan besin madde analizleri

Kurutulmuş çayır otu örnekleri bez üzerine dökülerek el yardımıyla homojen oluncaya kadar karıştırıl-

dıktan sonra besin madde analizleri için gerekli miktarda ot örnekleri alınmıştır. Örnekler 1 mm gözenekli değirmende öğütülerek analizlere hazır hale getirilmiştir. Ot örneklerinin KM, HP, HY, HK, HS analizleri AOAC (1984)'de bildirilen metotlara, NDF ve ADF analizleri Van Soest ve Robertson (1985)'un bildirdiği metoda göre yapılmıştır.

İstatistiksel analizler

Araştırmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesinde varyans analizi yapılmış, gruplar arası farklılığın belirlenmesinde Duncan testinden yararlanılmıştır. İstatistiksel analizde SPSS, 12.0 paket programı (SPSS, 2003) kullanılmıştır. Sonuçlar, ortalama±standart hata şeklinde verilmiştir.

BULGULAR

Farklı tarihlerde biçilen Kars yöresi çayırlarının çayır otu verimine yönelik bilgiler Tablo 1'de verilmiştir. Tablo 1'den de görüleceği üzere dekar başına elde edilen yaş çayır otu verimi ve %100 kuru madde verimi biçim tarihlerine göre istatistiksel bir fark göstermemiştir.

Farklı tarihlerde biçilen Kars yöresi çayır otlarının besin madde içeriklerine yönelik bilgiler Tablo 2'de verilmiştir. Tablo 2'den de görüldüğü gibi son biçim tarihi olan 21 Temmuz'da elde edilen çayır otlarının kuru madde içeriği ilk biçim tarihi olan 22 Haziran'dakinden önemli derecede ($P<0.05$) yüksek bulunmuş, 2 ve 12 Temmuz'daki kuru madde içerikleri ise ilk ve son biçimler arasında gerçekleşmiştir.

Tüm biçim tarihlerinde elde edilen çayır otlarının organik madde, ham kül, ham yağ ve azotsuz öz madde içeriklerinde biçim tarihleri arasında istatistiksel bir farklılık oluşmamıştır. Biçim tarihlerinin ilerlemesine bağlı olarak çayır otlarının ham protein içeriğinde önemli derecede ($P<0.001$) azalma görülmüştür. En yüksek ham protein içeriği 22 Haziran'da biçilenlerde, en düşük ham protein içeriği ise son biçim olan 21 Temmuz'da biçilenlerde tespit edilmiştir. 2 ve 12 Temmuz'da biçilen çayır otlarının

ham protein içeriği ise ilk ve son biçimlerdekilerin ham protein değerleri arasında belirlenmiştir. Biçim tarihinin ilerlemesine bağlı olarak çayır otlarının ham selüloz, NDF ve ADF içerikleri önemli derecede

($P<0.001$) artmıştır. Söz konusu yapısal karbonhidrat içerikleri ilk biçim olan 22 Haziran ile son biçim olan 21 Temmuz arasında istatistiksel olarak farklılık göstermiştir.

Tablo 1. Farklı tarihlerde biçilen Kars yöresi çayırlarının verim özellikleri, (n= 5).

Table 1. Herbage yield of pastures cutting different dates in Kars district, (n = 5).

Verim özelliği	Biçim tarihleri			
	22.06.2010	02.07.2010	12.07.2010	21.07.2010
Yaş ot verimi, kg/da	723±68.60	829±77.50	824±86.60	599±77.05
%100 kuru madde verimi, kg/da	196±10.38	235±17.94	250±17.83	205±11.69

Tablo 2. Farklı tarihlerde biçilen Kars yöresi çayırlarının besin madde içerikleri,% (n = 5).

Table 2. Nutrient composition of pastures cutting different dates in Kars district,% (n = 5).

Besin maddesi	Biçim tarihleri				Önem
	22.06.2010	02.07.2010	12.07.2010	21.07.2010	
Kuru madde	27.16±1.55 ^b	28.40±1.46 ^{ab}	30.40±2.23 ^{ab}	34.13±2.81 ^a	*
----- Kuru maddenin %'si -----					
Organik madde	90.71±0.84	91.41±0.45	91.02±0.48	91.61±0.55	-
Ham kül	9.29±0.48	8.59±0.45	8.98±0.48	8.39±0.55	-
Ham protein	13.94±0.40 ^a	11.67±0.37 ^b	10.48±0.39 ^b	9.14±0.58 ^c	***
Ham selüloz	30.15±0.30 ^c	30.89±0.41 ^{bc}	31.96±0.53 ^{ab}	32.66±0.66 ^a	***
NDF	48.23±1.52 ^b	51.40±0.33 ^{ab}	52.96±1.10 ^a	53.77±1.21 ^a	***
ADF	33.70±0.23 ^b	35.22±0.50 ^b	37.65±0.68 ^a	39.77±1.17 ^a	***
Ham yağ	2.63±0.15	2.69±0.14	3.01±0.21	3.03±0.23	-
N'suz ÖM	43.98±0.97	46.16±0.48	45.57±0.87	46.79±1.06	-

-: Önemsiz, *: $P<0.05$, ***: $P<0.001$

Tablo 3. Farklı tarihlerde biçilen Kars yöresi çayırlarının birim alandaki toplam besin maddeleri verimi, kg/da % 100 KM'de (n = 5).

Table 3. Nutrients yield in the unit field of pastures cutting different dates in Kars district, kg/da at 100 % DM (n = 5).

Besin maddesi	Biçim tarihleri				Önem
	22.06.2010	02.07.2010	12.07.2010	21.07.2010	
Organik madde	177.79±10.85	214.81±15.81	227.55±15.70	186.88±10.61	-
Ham kül	17.42±0.42	20.19±2.36	22.45±2.53	17.07±1.61	-
Ham protein	27.32±1.66 ^a	27.42±2.27 ^a	26.20±2.58 ^a	18.65±1.98 ^b	*
Ham selüloz	59.09±3.14 ^b	72.59±5.34 ^{ab}	79.90±5.89 ^a	66.63±3.71 ^{ab}	*
NDF	94.53±4.58 ^b	120.79±9.38 ^a	132.40±9.58 ^a	109.69±5.98 ^{ab}	*
ADF	66.05±3.38 ^b	82.77±5.63 ^{ab}	94.62±7.24 ^a	81.13±5.64 ^{ab}	*
Ham yağ	5.15±0.40	6.32±0.77	7.53±0.65	6.18±0.60	-
N'suz ÖM	86.20±6.12 ^b	108.48±7.68 ^a	113.92±7.22 ^a	95.45±5.16 ^{ab}	*

-: Önemsiz, *: $P<0.05$

Dekar başına elde edilen toplam besin madde miktarlarına yönelik bilgiler Tablo 3'te verilmiştir. Biçim tarihlerine bağlı olarak OM, HK ve HY verimin-

de önemli bir farklılık gözlemlenmemiştir. Son biçimde elde edilen HP verimi ilk üç biçimde elde edilenden önemli derecede ($P<0.05$) düşük bulun-

muştur. Ham selüloz ve ADF verimleri üçüncü biçimde birinci biçimden önemli derecede ($P<0.05$) yüksek, ikinci ve dördüncü biçimler ise diğer biçimlere benzer bulunmuştur. İkinci ve üçüncü biçimlerdeki NDF verimi birinciden önemli derecede yüksek ($P<0.05$), dördüncüye benzer bulunmuştur.

TARTIŞMA

Çayır otu verim özellikleri

Kars yöresi çayırlarının 22 Haziran, 2, 12 ve 21 Temmuz tarihlerindeki yaş ot verimi sırasıyla 723, 829, 824 ve 599 kg/da olarak tespit edilmiş, biçim tarihleri arasında elde edilen yaş ot verimleri bakımından istatistiksel bir farklılık gözlemlenmemiştir (Tablo 1). Yaş ot verimlerine yönelik olarak tespit edilen miktarlar bu yöredeki otların vejetatif gelişiminin 12 Temmuz tarihine kadar hızlı bir şekilde devam ettiğini bu tarihten sonra yavaşladığını, ayrıca bu tarihten sonra çayır otlarındaki su içeriğinin de (Tablo 2) azalmasına bağlı olarak elde edilen toplam yaş ot miktarının azaldığını düşündürmektedir. Doğu Anadolu Bölgesi geneli için çayır otu verimine yönelik olarak DPT (1991) tarafından bildirilen değer (3000 kg/ha) bu çalışmada elde edilen değerden düşüktür. Erciş-Altındere TİGEM işletmesi merasından 18 Haziran ve 5 Temmuz tarihlerinde elde edilen yaş ot verim miktarlarına yönelik olarak Muruz ve ark., (2000) tarafından bildirilen değerler (sırasıyla 515.27 ve 339.84 kg/da) bu çalışmadaki değerlerden düşüktür.

Çayır alanlarından 22 Haziran, 2, 12 ve 21 Temmuz'da elde edilen çayır otlarının %100 KM miktarları sırasıyla 196, 235, 250 ve 205 kg/da olarak tespit edilmiş, miktarlar arasında istatistiksel farklılık gözlemlenmemiştir (Tablo 1). Kars yöresine yakın bölgelerde çayır kuru otu verimine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanılmadığı için direk çayır verimlerine yönelik bir karşılaştırma yapılamamıştır. Karşılaştırmalar mera verimi üzerine yapılabilmektedir. Bu bağlamda kuru ot verimine yönelik olarak; Avcı ve ark., (2006)'nın Ceylanpınar TİGEM meraları

rının farklı biçim tarihleri için bildirdikleri 32.96-66.51 kg/da, Muruz ve ark., (2000)'nın Erciş-Altındere TİGEM meralarının farklı biçim tarihleri için bildirdikleri 52.65-120.54 kg/da, Yılmaz ve ark., (1999)'nın Van merkezine bağlı köylerdeki hafif otlatma yapılan meralar için bildirdikleri 174.14 kg/da, Terzioğlu ve Yalvaç (2004)'in Van merkeze bağlı iki adet köye ait meralar için bildirdikleri 157.5 ve 180.4 kg/da sonuçları bu çalışmadaki değerlerden düşük, buna karşın Başbağ ve ark., (1997)'nin Diyarbakır'da korunmuş bir mera için bildirdikleri 377 kg/da değeri ise bu çalışmadaki değerlerden yüksektir. Bu düşüklüğün sebebi söz konusu alanların mera veya korunmuş mera niteliğinde olması, bu çalışmadaki alanların ise korunmuş çayır alanları olması ile iklimsel ve coğrafik farklılıklardan kaynaklanmış olabilir.

Çayır otu besin madde içerikleri

Çayır otlarının kuru madde içeriği biçim tarihlerinin ilerlemesine bağlı olarak artmış, 22 Haziran, 2, 12 ve 21 Temmuz'da sırasıyla %27.16, 28.40, 30.40 ve 34.13 olarak gerçekleşmiştir (Tablo 2). İlk biçim olan 22 Haziran ile son biçim olan 21 Temmuz tarihlerinde biçilen çayır otlarının kuru maddeleri arasında önemli derecede farklılık gözlenmiştir. Diğer tarihlerde (2 ve 12 Temmuz) biçilen çayır otlarında kuru madde bakımından farklılık gözlenmemesi Kars yöresi çayırlarının vejetasyon süresinin uzun sürdüğünü düşündürmektedir. Bu çalışmada olduğu gibi bazı çayır alanlarının tabanlarının tüm biçim tarihlerinde sulak olması ve çalışmanın yapıldığı haziran ve temmuz aylarının yağmurlu oluşu (sırasıyla 44 ve 121.6 kg/m²) vejetasyon süresinin uzamasında etkili olabilir. Vejetasyonun ilerlemesine bağlı olarak bitkilerdeki kuru madde içeriğinin artması bilinen bir durumdur. Bu çalışmada elde edilen kuru madde miktarları Kars yöresi çayır ve meralarında daha önce yapılan çalışma (Kaya ve ark., 2004) sonucuna benzer, Erciş-Altındere ve Ceylanpınar TİGEM işletmelerinin meralarında yapılan çalışma sonuçlarından (Muruz ve ark., 2000; Karslı ve ark., 2003; Avcı ve ark., 2006) düşüktür. Düşüklüğün sebebi söz

konu işletmelerin bulunduğu yerlerin iklimsel ve coğrafik özellikleri ile biçim tarihleri arasındaki farklılıklar olabilir.

Biçim tarihleri sırasına göre çayır otlarının organik madde içerikleri %90.71, 91.41, 91.02 ve 91.61, ham kül içerikleri 9.29, 8.59, 8.98 ve 8.39 olarak tespit edilmiş, söz konusu besin maddeleri ortalamaları arasında önemli farklılık görülmemiştir (Tablo 2). Benzer şekilde McDonald ve ark. (1987) vejetasyon süresine bağlı olarak ham kül içeriğinin değişmediğini bildirmektedir. Organik madde ve ham kül için elde edilen değerler diğer araştırma sonuçlarıyla (Baytok ve ark., 2003; Karslı ve ark., 2003; Kaya ve ark., 2004) uyum halindedir.

Tablo 2'den de görüleceği gibi biçim tarihinin ilerlemesine bağlı olarak çayır otlarının ham protein içeriğinde önemli derecede azalma gerçekleşmiştir. 22 Haziran'da biçilen çayır otlarında ortalama %13.94 olan ham protein düzeyi 21 Temmuz'da biçilenlerde %9.14'e düşmüştür. Vejetasyonun ilerlemesine bağlı olarak ham protein oranının düştüğü diğer birçok çalışmada da (Muruz ve ark., 2000; Karslı ve ark., 2003; Avcı ve ark., 2006) tespit edilmiştir. Diğer taraftan bu çalışmada elde edilen ham protein değerleri Kaya ve ark. (2004)'nın bildirdiği değerlerden düşük, Avcı ve ark. (2006) ile Muruz ve ark. (2000) tarafından bildirilen değerlere benzer, Karslı ve ark. (2003) tarafından bildirilen değerlerden yüksektir.

Vejetasyonun ilerlemesine bağlı olarak çayır otlarının ham selüloz içeriklerinde önemli derecede artış gözlenmiş, biçim tarihlerine göre sırasıyla %30.15, 30.89, 31.96 ve 32.66 olarak tespit edilmiştir. Vejetasyonun ilerlemesine bağlı olarak diğer bir ifade ile bitkilerin kartlaşmasına bağlı olarak hem selüloz düzeylerinin arttığı bilinen bir durumdur. Bu çalışmada elde edilen ham selüloz değerleri Kaya ve ark. (2004)'nın bildirdiği değere benzer, diğer bazı çalışmalarda (Muruz ve ark., 2000; Avcı ve ark., 2006) bildirilen değerlerden yüksektir. Çalışmalar arasındaki farklılıkların nedeni araştırmaların yapıldığı yerlerin iklimsel ve coğrafik özellikleri ile biçim

dönemlerindeki farklılıklara bağlı olabilir.

İyi kaliteli bir merada ham proteinin %8-12, ham selülozun %25.0-28.5 arasında olması gerektiği bildirilmektedir (Şenel, 1986). Bu çalışmada elde edilen ortalama ham protein ve ham selüloz değerleri göz önüne alındığında Kars yöresindeki çayırların orta ile iyi kaliteli çayırlar arasında bir konumda olduğu söylenebilir. Bu durum bölgede bulunan çayır alanlarının tamamen biçime ayrılmış olmaları ve kısmen iyi korunmuş olmalarıyla ilişkilendirilebilir. Buradan hareketle, kaliteli çayırların korunmasına devam edilmesi, gübreleme, baklagil otu tohumları ekimi gibi kaliteyi yükseltecek yöntemlerin uygulanması gerektiği vurgulanabilir.

Ham selülozda olduğu gibi biçim tarihlerinin ilerlemesine bağlı olarak hücre duvarı elemanlarından NDF ve ADF oranının yükseldiği ancak, son biçim ile ilk biçim arasında önemli derecede farklılık olduğu görülmektedir (Tablo 2). Benzer bulgular diğer birçok araştırmacı (Muruz ve ark., 2000; Baytok ve ark., 2003; Karslı ve ark., 2003; Kaya ve ark., 2004) tarafından da tespit edilmiştir. Bilindiği gibi vejetasyon döneminin ilerlemesi ile NDF ve ADF içeriği arasında pozitif bir ilişki vardır. Öte yandan bu çalışmada NDF ve ADF için elde edilen değerler bazı araştırmacıların (Muruz ve ark., 2000; Baytok ve ark., 2003; Karslı ve ark., 2003; Kaya ve ark., 2004) bildirdiği değerlerden düşüktür. Çalışmalar arasındaki farklılıklar biçim dönemlerine, bitkinin yerden biçim yüksekliğine, coğrafik ve iklimsel özelliklere bağlı olabilir.

Farklı tarihlerde biçilen çayır otlarının ham yağ içerikleri %2.63 ile %3.03 arasında değişmiş, biçim tarihlerine bağlı olarak ham yağ içeriğinde önemli bir farklılık oluşmamıştır (Tablo 2). Ancak vejetasyonun ilerlemesine paralel olarak ham yağ içeriğinde rakamsal olarak tedrici bir artış gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın tersine Avcı ve ark. (2006) vejetasyonun ilerlemesine bağlı olarak ham yağ oranının azaldığını tespit etmişlerdir. Ham yağ içeriğine yönelik olarak belirlenen miktarlar Avcı ve ark. (2006)'nın bildirdiği değerlere benzer, diğer bazı araştırmacılar (Muruz

ve ark., 2000; Karslı ve ark., 2003) tarafından bildirilen değerlerden yüksektir. Farklı biçim tarihlerine bağlı olarak çayır otlarının N'suz öz madde içeriği %43.98 ile %46.79 arasında değişiklik göstermiş, vejetasyon dönemine bağlı olarak önemli bir değişiklik gerçekleşmemiştir. Bu çalışmada elde edilen N'suz ÖM değerleri Kaya ve ark. (2004) tarafından bildirilen değerlerle uyum halindedir.

Birim alandan alınan toplam besin madde miktarları (% 100 KM'de kg/da) bakımından OM, HK ve HY'da biçim tarihlerine bağlı olarak bir farklılık oluşmamıştır (Tablo 3). Birim alandan alınan toplam protein miktarı ilk üç biçimde benzer bulunurken, son biçim tarihinde önemli derecede düşük bulunmuştur. Beklenildiği gibi ilk üç biçimde biçim tarihlerinin ilerlemesine bağlı olarak birim alandan alınan toplam HS, NDF, ADF ve N'suz ÖM miktarlarında bir yükseliş olduğu dikkati çekmektedir. Kaliteli kaba yemlerde HP miktarının mümkün olduğunca yüksek buna karşın yapısal karbonhidrat miktarının düşük olması arzu edilir. Bilindiği üzere kaba yemlerdeki NDF içeriği ile yem tüketimi, ADF ile sindirilebilirlik arasında negatif bir ilişki vardır. Öte yandan lezzetlilik yemlerdeki HS düzeyi ile ters orantılıdır ve selülozu yüksek yemler vücutta uzun süre kaldığı için yem tüketimi düşmektedir (Ensminger ve ark., 1990; Ergün ve ark., 2002). Buradan hareketle birim alandan elde edilen toplam ham protein miktarı açısından değerlendirildiğinde ilk üç biçim tarihinin, toplam yapısal karbonhidrat miktarları açısından değerlendirildiğinde ise ilk iki biçim tarihinin biçim için daha uygun olabileceği söylenebilir.

Bu araştırma sonucunda;

1. Yaş ot verimi ve %100 kuru madde verimi dikkate alındığında istatistiksel olarak farklılık olmamakla birlikte rakamsal olarak 2 ve 12 Temmuz tarihlerinde yapılan biçimlerden 22 Haziran ve 21 Temmuz tarihlerinde yapılan biçimlere göre daha fazla ot elde edildiği,
2. Vejetasyonun ilerlemesine bağlı olarak, çayır otlarının kuru madde, ham selüloz, NDF ve ADF

içeriklerinin önemli derecede arttığı, buna karşın ham protein içeriğinin önemli derecede azaldığı, organik madde, ham kül, ham yağ ve azotsuz madde içeriğinin değişmediği,

3. Dekar başına elde edilen toplam besin madde miktarlarından organik madde, ham kül ve ham yağ bakımından biçim tarihleri arasında farklılık olmadığı; ilk üç biçim tarihindeki çayır otlarının ham protein miktarlarının son biçim tarihinde elde edilenden yüksek olduğu; üçüncü biçim tarihindeki çayır otlarının ham selüloz ve ADF miktarının birinci biçim tarihindeki çayır otlarından yüksek olduğu; en düşük NDF miktarının ilk biçimden elde edildiği, ikinci ve üçüncü biçim tarihlerinden elde edilen N'suz ÖM miktarının birinci biçimden yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, çayır otu verim özellikleri ve kimyasal analiz sonuçlarına dayalı birim alandan elde edilen toplam besin madde miktarlarına yönelik veriler dikkate alındığında, Kars yöresi çayır otlarının 2 ile 12 Temmuz arasında biçilmesinin avantajlı olabileceği, ancak daha net bilgiler ortaya koyabilmek için sindirim denemeleri ve otların enerji değerlerini belirlemeye yönelik daha ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Anonim. 2009. Kars Tarım İl Müdürlüğü Kayıtları. <http://www.karstarim.gov.tr/taryapi.asp>. [Erişim 23.01.2008].
- AOAC, 1984. Official Methods of Analysis. 14th Edition, Ed by Sidney Williams, Arlington, Virginia 2009 USA 73.
- Avcı A., Kaplan O., Yertürk M., Aslan M., 2006. Nutrient and botanical composition of pastures in Ceylanpınar agricultural farm. YU. Vet. Fak. Derg., 17, 9-13.
- Başbağ M., Gül İ., Saruhan V., 1997. Diyarbakır'da korunan bir mera alanının bitki tür ve kompozisyonları ile ot verimlerinin incelenmesi üzerine bir araştırma. Türkiye 2. Tarla Bitkileri Kongresi, 22-25 Eylül 1997, Samsun.

- Baytok E., Muruz H., 2003. The effect of formic acid or formic acid plus molasses additives on the fermentation quality and DM and ADF degradable of grass silage. *Turk. J. Anim. Sci.*, 27, 425-431.
- Coşkun B., Şeker E., İnal F., 2000. Yemler ve Teknolojisi. 3. Baskı. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Yayın Ünitesi, KONYA.
- DPT 1991. VI. Beş Yıllık Kalkınma Planı ÖİK Raporu, Hayvancılık. Yayın ve Temsil Daire Başkanlığı, Yayın ve Basım Şube Müdürlüğü Matbaası, Ankara.
- Ensminger ME., Oldfield JE., Heinemann WW., 1990. Feed and Nutrition. Second Edition, Ensminger Publishing Company, California USA.
- Ergün A., Tuncer ŞD., Çolpan İ., Yalçın S., Yıldız G., Küçükersan MK., Küçükersan S., Şehu A., 2002. Yemler, Yem Hijyeni ve Teknolojisi. Ankara.
- Karslı MA., Deniz S., Nursoy H., Denek N., Akdeniz H., 2003. Vegetasyon döneminin mera kalitesi ve hayvan performansı üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 27, 117-124.
- Kaya İ., Öncüler A., Ünal Y., 2004. Nutritive value of pastures in Kars district. I. Botanical and nutrient composition at different stages of maturity. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 28, 275-280.
- Koç A., Gökkuş A., Bakoğlu A., Özaslan A., 2000. Palandöken meralarının farklı kesimlerinden alınan ot örneklerinde bazı kimyasal özelliklerin otlatma mevsimindeki değişimi. *International Animal Nutrition Congress 2000. Isparta-TURKEY*, s. 471-478.
- Kutlu HR., Gül A., Görgülü M., 2003. Türkiye hayvancılığının sorunları ve çözüm yolları; I. Damızlık hayvan – Kaliteli yem. II. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 18-20 Eylül 2003, Süleyman Demirel Kültür Merkezi, Sayfa 147-152. Konya.
- McDonald P., Edwards RA., Greenhalgh JFD., 1987. *Animal Nutrition. Fourth Edition.* Lohman House, BurrntMill, Harlow, Essex CM20 2JE, England.
- Muruz H., Baytok E., Aksu T., Terzioğlu Ö., 2000. Erciş-Altındere tarım işletmesi doğal merasının kalitesi. *YYÜ. Vet. Fak. Derg.*, 11, 66-70.
- SPSS, 2003. *SPSS for Windows:Release 12.0, Standart version, Copyright, SPSS Inc.*
- Şenel HS., 1986. Hayvan Besleme. İÜ Veteriner Fakültesi Yayınları, No: 3210, İstanbul.
- Terzioğlu Ö., Yalvaç N., 2004. Van yöresi doğal meralarında otlatmaya başlama zamanı, kuru ot verimi ve botanik kompozisyonun belirlenmesi üzerine bir araştırma. *YYU. Ziraat Fakültesi Tarım Bil. Derg.*, 14, 23-26.
- Van Soest PJ., Robertson JB., 1985. *Analysis of Forages and Fibrous Foods. A Laboratory Manual for Animal Science*, 613. Cornell University.
- Yılmaz İ., Terzioğlu Ö., Akdeniz H., Keskin B., Özgökçe F. 1999. Ağır ve nispeten hafif otlatılan bir meranın bitki örtüleri ile kuru ot verimlerinin incelenmesi üzerine bir araştırma. *Türkiye 3. Tarla Bitkileri Kongresi*, 15-18 Kasım 1999. Adana.



Organik Olarak Açık Ahırda Yetiştirilen İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca Danaların Performans Özellikleri*

Hacer ARSLAN^{1✉} Muhlis MACİT²

1. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Erzurum.
2. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Anabilim Dalı, Erzurum.

Özet: Araştırma, organik olarak açık ahırda yetiştirilen İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca danalarının besi performans özelliklerini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Araştırmada, 19 baş İsveç Kırmızısı ve 20 baş Siyah Alaca danası olmak üzere toplam 39 baş hayvan kullanılmış ve hayvanlara konsantre ve kaba yemlerle su ad-libitum olarak verilmiştir. İsveç Kırmızısı ve Siyah Alacalarda deneme başı ağırlığı (6. ay ağırlığı) sırasıyla 199.8 ± 6.19 ve 178.7 ± 6.04 kg; deneme sonu ağırlıkları (12. ay ağırlığı) 320.8 ± 7.77 ve 315.5 ± 7.55 kg; günlük canlı ağırlık artışları ise 0.712 ± 0.04 ve $0.684 \pm 0,04$ kg olarak belirlenmiştir. Bir kg canlı ağırlık artışı için kuru madde esasına göre tüketilen kaba, konsantre ve toplam yem miktarları İsveç Kırmızılarında 5.348 ± 0.75 , 5.357 ± 0.58 ve 10.705 ± 1.24 kg, Siyah Alacalarda ise 4.987 ± 0.75 , 5.257 ± 0.58 ve 10.244 ± 1.24 kg olarak bulunmuştur. Günlük canlı ağırlık artışı ve bir kg ağırlık artışı için tüketilen yem miktarları bakımından ırklar arasındaki farklılıklar önemsiz olmuştur. Mevcut çalışmadan elde edilen bulgular, yaklaşık 6 aylıkken 6 ay süreyle denemeye alınan İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca ırkı danaların performans özellikleri bakımından benzer özellikler sergilediklerini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: İsveç Kırmızısı, Organik Besleme, Performans Özellikleri, Siyah Alaca.

Performance Characteristics of Swedish Red And Holstein Friesian Calves Reared Organically at Open Barns

Abstract: This study was conducted to determine the performance traits of Swedish Red and Hosten Friesian calves reared organically at open sheeds of organic dairy farm of Dogan Organic Products Company in Dereyüzü distric of Kelkit. In present study, a total of 39 Swedish Red (n=19) and Hosten Friesian (n=20) female calves at about 6 months of age were used as animal material. Animals were fed ad libitum and had free access to water during the experiment. Initial weights, final weights and daily weight gains were determined to be 199.8 ± 6.19 and 178.7 ± 6.04 kg, 320.8 ± 7.77 and 315.5 ± 7.55 kg, and 0.712 ± 0.04 and $0.684 \pm 0,04$ kg for Swedish Red and Hosten Friesian calves, respectively. In addition, hay, concentrate and total feed consumption per kg live weight gain were 5.348 ± 0.75 and 4.987 ± 0.75 kg, 5.357 ± 0.58 and 5.257 ± 0.58 kg, and 10.705 ± 1.24 and 10.244 ± 1.24 kg for Swedish Red and Hosten Friesian calves, respectively. The effect of breed on daily weight gain and feed consumption per kg live weight gain was insignificant. Results obtained from present study showed that aproximately 6-month Swedish Red and Hosten Friesian calves subjected to 6-month experiment were similar in terms of performance traits.

Key words: Swedish Red, Organic Nutrition, Performance Traits, Holstein Friesian.

✉ Hacer ARSLAN

Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı, Erzurum, e-posta: harslan-25@hotmail.com

*Bu çalışma sorumlu yazarın Yüksek Lisans Tezinden özetlenmiştir.

GİRİŞ

Organik tarım; toprağa, suya, havaya, canlılara kısacası doğaya zarar vermeden hatta doğayı koruyarak, sağlıklı bitkisel ve hayvansal kaynaklı ürünler üretmektir. Avrupa'da 1920'li yıllarda başlayıp, 1970'lerde ticari önem kazanan organik tarım ülkemizde 1985'lerde başlamıştır (Rahman 2004). Türkiye'de 2003 yılında Kelkit'te organik süt üretimi organik tarım açısından önemli sektörel girişimdir. Organik tarım sadece bir üretim metodu olarak düşünülmeyp, doğal kaynakları ve doğayı koruması, çevre kirliliği yaratmaması, sağlıklı ürünler ortaya koyması gibi sebeplerle bugünü ve geleceği koruyup garanti altına almayı hedefleyen bir yaşam biçimi ve felsefesi olduğu bildirilmiştir (Altındişli ve İter 2002).

Son yıllarda hem bitkisel hem de hayvansal üretim alanında yoğun üretim metotlarının kullanılması ve karşılaşılan hastalıklar nedeniyle daha fazla ilaç kullanılması ilaç kalıntısına ve bu ürünleri tüketen insanlarda da sağlık sorunlarına neden olur (Şayan ve Polat 2002). Ayrıca, Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) gibi bazı hastalıklar da konvansiyonel üretimin getirdiği önemli bir problemdir (Aytuğ 1996). Hayvanların doğal davranışlarını yapabileceği; ekstrem hava koşullarından, stres, yaralanma ve hastalıklardan korunabileceği bir ortamın sağlanması ile yeterli beslenme olanaklarının verilmesi hayvan refahı yönünden önemlidir (Demirören 2002).

Konvansiyonel hayvansal üretimde, yemlerde olduğu gibi çeşitli katkı maddelerinin kullanılması da önemli sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Kırkpınar ve Erkek 2000). Bu nedenlerle Avrupa Birliği ülkeleri ve Türkiye antibiyotiklerin, hastalıkların tedavisi dışında gelişmeyi ve yemden yararlanmayı uyarıcı kullanımlarını yasaklamıştır (Anon 1999). Anabolizanlar, yani hormon ve benzeri maddelerin de gelişmeyi uyarıcı olarak kullanılmaları insan sağlığını olumsuz etkilemektedir (Erkek ve Kırkpınar 1993). Sonuçta organik ürün talebi ile

türlerin ve doğanın, yer altı sularının ve hayvanların korunması isteği hayvansal üretimde yeni arayışlara yönelmeyi doğurmuş ve organik hayvancılık ön plana çıkmıştır (Sundrum 2001). Organik tarımda bitkisel ve hayvansal üretim birlikte düşünülmelidir.

Türkiye organik hayvancılık açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Ancak, organik tarım ve organik hayvancılık yeterli düzeyde değildir. Organik hayvancılıkta besleme ve yemleme ile ilgili çeşitli uygulamalar da yer almış ve antibiyotik, antikoksidiyal, hormon ve anabolizan kullanımları yasaklanmıştır (Özen ve ark. 2006).

İnsanlara ekonomik fayda sağlayan evcil hayvanlarda, ele alınması ve üzerinde durulması gereken en önemli özelliklerden birisi büyümedir. Büyüme, canlının bu özellik bakımından genetik potansiyeli, beslenme ve bulunduğu çevre arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıkan türe hatta ırka has kalıtsal bir karakterdir (Bayram 2004). Bethard (1997) büyümeyi ağırlıkta meydana gelen artış ile hayvanların çeşitli doku ve organlarında meydana gelen fonksiyonel değişiklikler olarak tanımlamıştır.

Dünyada değişik ekolojik şartlarda yıllarca süren ıslah çalışmaları sonunda elde edilen önemli süt ırkları Siyah Alaca, İsviçre Esmeri, Jersey, Guernsey ve Ayrshire'dir (Özhan ve ark. 2001).

Hollanda'nın Frizya Bölgesi'nden olan Siyah Alaca, süt ırkları arasında sayı ve yayılış olarak ilk sırayı almaktadır (Akman ve Kumlu 1999). Sadece alçak ova sığırı olarak değil aynı zamanda çok değişik koşullara uyabilen bir ırk olarak kabul edilmektedir (Demirci ve ark. 1992; Özhan ve ark. 2001). Bu ırk, Türkiye'nin değişik bölgelerinde hem saf olarak yetiştirilmekte, hem de melezleme çalışmalarında kullanılmaktadır (Özkütük ve ark. 1986; Akman ve Kumlu 1999). Siyah Alaca buzağları doğumda iri yapılı oldukları ve hızlı bir gelişim gösterdikleri için erkekleri genç yaşta besiye alınmaktadır. Siyah-beyaz alaca erkeklerinin 500 kg'a kadar yapılan besileri 17-18 ay civarında sürmekte olup, bu süre

içinde günlük ağırlık artışları 900–1000 g arasında olmaktadır (Alpan 1992).

İsveç Kırmızısı ise yetişkin canlı ağırlıkları 550 kg civarında olup, laktasyonda günlük 25–35 lt süt verirler. Hızlı canlı ağırlık artışı özelliğine sahip olmalarından dolayı et üretiminde de kullanılmaktadırlar (Mason 1996). İsveç Kırmızısı ırkının en büyük avantajı mükemmel fonksiyonel özelliğidir. İsveç Kırmızıları çok kolay buzağılama özelliğine sahip olup, laktasyonda günlük 25–35 lt süt ürettiklerinde bile üretimi artırıcı katkı maddesi ya da hormonal desteğe ihtiyaç duymazlar. Kuruda kalma süreleri oldukça kısadır. Sadece olatmaya dayalı, elverişsiz, kötü hava koşullarında bile laktasyondaki süt verimi 6000–7000 kg civarındadır. İsveç Kırmızıları dünyadaki kırmızı inek nüfusunun soy gelişimcisi olarak kullanılır. İsveç Kırmızıları üretim noktasında Siyah Alacalarla yarışabilir. Gerçekte İsveç Kırmızı boğaları diğer boğalara göre daha yüksek dölleme yapar. Sütteki protein ve yağ yüzdelerinin yüksek olması dolayısıyla peynir üretiminde İsveç Kırmızı ırklarının sütleri tercih edilebilir. Kolay buzağılama konusunda İsveç Kırmızısı dünyanın en iyi soyudur (Anonim 3, 2006). İdeal bir İsveç Kırmızı ineği (SRB) güç ve zarafet izlenimi veren mandıra tipindedir. Olgun bir ineğin cidago yüksekliği 140–145 cm civarında olup, canlı ağırlığı 550–650 kg kadardır. Vücudu geniş, derin ve sırtı güçlüdür, kalça uzun, geniş ve hafifçe eğimlidir. Bacaklar paralel ve düzgün görünümündedir. Bu ırkta ideal meme sığ olup, arka lop yüksek ve geniş, ön meme güçlü bir bağa sahipken, meme uçları 5–6 cm uzunluğunda, dikey ve iyi yerleşmiştir (Anonim 2, 2006).

Bu çalışmada Türkiye’de organik süt üretimine ilk olarak özel sektör düzeyinde başlanılan Gümüşhane ili Kelkit ilçesindeki “Doğan Organik Tarım A.Ş. Dereyüzü Genç Hayvan ve Damızlık Yetiştirme Merkezi”nde bulunan İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca ırkı 6–12 aylık danalarda performans özellikleri değerlendirilmiştir.

MATERYAL ve METOT

Hayvan Materyali

Araştırma Türkiye’nin ilk özel sektör organik süt üretim tesisleri olan Kelkit Aydın Doğan Organik Ürünler San. Tic. A.Ş. Dereyüzü Genç Hayvan ve Damızlık Yetiştirme Merkezi’nde yürütülmüştür. Mevcut çalışmada, 20 baş Siyah Alaca ve 19 baş İsveç Kırmızı ırkı olmak üzere toplam 39 baş dişi dana hayvan materyali olarak kullanılmıştır. Araştırma, Kasım 2005 ile Mayıs 2006 tarihleri arasında yapılmış olup, 6 ay (185 gün) sürmüştür. Hayvan materyali olarak yaklaşık altı aylık yaşta olan İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca ırkı dişi danalar kullanılmıştır. Araştırma materyali olan bu hayvanlar işletmeye İsveç’ten ortalama 4–5 aylıkken 27 Ekim 2005 tarihinde getirilmiş ve organik olarak ad-libitum düzende beslenmişlerdir. İsveç Kırmızısı ırkı hayvanlar ilk defa ülkemize söz konusu işletmeye getirilmiştir.

Yem Materyali

Denemede kesif yem olarak kullanılan organik arpa, buğday, mısır ve mercimek unu (kapçıklı) Kelkit, Bayburt ve Erzurum’da bulunan, Doğan Organik Ürünleri San. Tic. A.Ş. ile sözleşmeli çiftçilerden; organik kepek, Gaziantep-Tiryaki Organik Ürünlerinden; özel olarak hazırlatılan konsantre düve 1 ve 2 yemleri Erzurum-Bayramoğlu Yem Sanayisinden temin edilmiştir. Kaba yem olarak ise sözleşmeli yöre çiftçilerince üretilen organik kuru çayır otu ve organik yonca kullanılmıştır. Ayrıca, yöredeki sözleşmeli çiftçiler tarafından organik olarak üretilen mısır silajı 9. aydan itibaren hayvanların rasyonlarına katılmıştır. Kullanılan yem materyalinde kuru madde bazında organiklik yüzdesi ortalama olarak %92 olarak bulunmuştur (Tablo 1).

Araştırmada kullanılan konsantre düve 1 ve 2 yemlerine Erzurum-Bayramoğlu Yem Fabrikası tarafından üretilen ve “Doğan Premiks”ler adını alan mineral-vitamin karmaları katılmıştır (Tablo 2). Denemede altlık olarak, Doğan Organik A.Ş. ile

sözleşmeli olan çiftçiler tarafından üretilen kuru çayır otu kullanılmıştır.

Araştırmada Kullanılan Aletler

Hayvanların canlı ağırlıklarının belirlenmesi için, baskül yerine EGE-VET firmasından temin edilen Hauptner/Rondo markalı kilo ölçer kullanılarak göğüs çevresinden alınan ölçülerden vücut ağırlığı tahmin edilmiştir. İşletme yönetimi, kilo ölçerin kullanımının pratik olması ve dolayısıyla da hayvanları daha az strese sokması nedeniyle bu metodu tercih etmişlerdir.

Hayvanlara verilecek olan rasyonların miktarlarının belirlenmesinde 10 gr'a kadar hassas olan, 150 kg ağırlığa kadar tartım yapabilen, CAS marka elektronik tartı cihazı kullanılmıştır.

Barınak Durum

Barınak olarak, kuzey - güney yönünde yerleştirilmiş, iki tarafı duvarla, iki tarafı ise demir korkuluklarla kapatılmış, orta kısmın üstü açık, hayvanların serbestçe dolaşabildiği avluya sahip ahır kullanılmaktadır. Ahırın duvarlarının bulunduğu kısımda, gölgelik oluşturmak amacıyla üstü örtülü, hayvan dinlenme birimleri mevcuttur.

Tablo 1. İsveç Kırmızı ve Siyah Alaca Irkı Danaların Beslenmesinde Kullanılan Rasyonların Bileşimi ve Kuru Madde Esasına Göre Besin Madde Kompozisyonları.

Table 1. Nutrient Compositions Based on Dry Matter and the Combination of the Ratios Used in the Feeding of Swedish Red and Holstein- Friesian Calves

6 – 8 Ay		9 – 12 Ay		Besin Madde Kompozisyonu (%)
Yem Ham Maddeleri	Rasyondaki Oranı (%)	Yem Ham Maddeleri	Rasyondaki Oranı (%)	
Org. Yonca	14,5	Org. Yonca	11,0	6 – 8 Ay Ham Protein = 13,93 Ham Selüloz = 14,51 ME =2875 kkal/kg KM
Org. K. Ç. Otu	29,0	Org. K. Ç. Otu	31,5	
Org. Arpa	13,8	Org. Mısır Silajı	11,5	
Org. Buğ.	13,8	Org. Arpa	11,0	
Org. Mısır	13,8	Org. Buğday	16,2	
Org. Kepek	4,15	Org. Mısır	8,4	
Org. Mercimek Unu (Kapçıklı)	4,05	Org. Mercimek Unu (Kapçıklı)	3,2	9 -12 Ay Ham Protein = 13,34 Ham Selüloz = 16,15 ME= 2801 kkal/kg KM
Kons. Düve1	6,9	Kons. Düve2	7,2	
Toplam	100		100	

Tablo 2. Düve 1 ve 2 Karmalarına İlave Edilen Premiksin İçerik ve Miktarları.

Table 2. The Contents and Amounts of Premiks Added on the Ratios of Heifer 1 and 2 Groups.

Premiks İçeriği	mg /kg	Premiks İçeriği	mg /kg
A, D3 Vitamini	5 000 000	Fe	50 000
E Vitamini	40 000	Zn	50 000
Biotin	1 000	Cu	10 000
Alkocell	110 000	I	800
Levucell	40 000	Co	200
Monensin	12 500	Se	240
Mn	50 000	Organik Se	220

Fe: Demir, Zn: Çinko, Cu: Bakır, I: İyot, Co: Kobalt, Se: Selenyum.

Hayvanlar yaş gruplarına göre padoklara alınarak, bu kısımlarda serbestçe dolaşmalarına imkân verilmektedir. Ahırın iç kısmında kuzey - güney doğrultusunda servis yolu bulunmakta olup, yemleme bu yol üzerinden yapılmaktadır. Yem materyali, gruptaki hayvan sayısına ve hayvanların günlük ortalama ihtiyacına göre hesaplanarak, günde sabah ve akşam olmak üzere 2 defa servis yoluna bırakılmaktadır. Hayvanlar buradan istediği kadar yiyerek ad-libitum olarak beslenmektedirler. Her yaş grubunun bölmesinde 2 adet şamandıra sistemli suluk bulunup, (her padokta 28 hayvan) hayvan her istediğinde su ihtiyacını temiz ve sağlıklı koşullarda temin edebilmektedir. Yemleme amacıyla kullanılan servis yolunda sürekli olarak yalama taşı bulunmaktadır.

Araştırma Merkezi Kelkit ilçe merkezinden 7.5 km uzaklıktaki Dereyüzü Köyü sınırları içerisinde bulunmaktadır. Sadece damızlık buzağı yetiştiriciliğinin yapıldığı bu işletme 110 dönümlük bir arazi olup, 47 dönüm işletme sahası, 5790 m² ahır iç alanına sahiptir. İşletmenin konumu itibarıyla rakımı 1490 m'dir. Araştırmanın yürütüldüğü işletmede hayvan başına 0,7 m² yemlik ve 17 m² barınma alanı hesaplanmıştır.

Grupların Oluşturulması

Araştırma planlandığında, Aydın Doğan Organik A.Ş. Dereyüzü İşletmesinde 196 baş Siyah Alaca, 147 baş İsveç Kırmızısı olmak üzere toplam 343 baş dişi dana bulunmaktaydı. Denemenin hayvan materyali, bu hayvanlar içerisinde mümkün olduğu kadar yaşı (doğum tarihleri) ve ağırlığı birbirine yakın olan hayvanlar seçilerek oluşturulmuştur. Denemede kullanılmak üzere 20 baş Siyah Alaca ve 19 baş İsveç Kırmızı ırkı dişi dana seçilmiştir.

Çalışmanın başlangıcında denemeye alınan hayvanların ölçümleri yapılarak deneme başı ağırlığı tespit edilmiştir. Daha sonra göğüs çevresi ölçümleri yapılarak canlı ağırlıklar belirlenmiştir. Bu uygulamalar düzenli olarak altı ay boyunca (185 gün) sürdürülmüştür.

Yemleme ve Barındırma

Denemeye alınan hayvanlara yeni bir rasyon kullanılmayıp, işletmenin kullandığı rasyon ile denemeye başlanmıştır. Ayrıca, işletmede organik hayvancılık yapıldığından hayvanlara sadece İsveç'ten getirilerek antiparaziter ilaç uygulanmıştır. İşletmedeki hayvanların ortalama canlı ağırlıkları, hedeflenen günlük canlı ağırlık artışları dikkate alınarak, organik çayır otu, kuru yonca, arpa, buğday, mısır, mercimek unu (kapıcıklı), kepek, mısır silajı, konsantre düve I ve konsantre düve II yeminden rasyonlar hazırlanmış ve gerekli miktarlarda sabah ve akşam olmak üzere iki öğün halinde grup yemlemesine tabi tutulan hayvanlara verilmiştir. Padok zemininin kirlenmesine göre günlük veya gün aşırı olarak altlıklar temizlenmiştir.

Verilerin Toplanması ve İstatistik Analiz

Deneme başı ağırlığı bakımından ırklar arası fark önemli olduğu için diğer performans özelliklerinin incelenmesinde deneme başı ağırlığı modele kovaryet olarak dahil edilmiştir. Araştırmanın istatistiksel analizlerinde SPSS 10.01 (1996) paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Araştırmaya alınan İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca ırk hayvanların deneme başı ağırlıkları (6. ay ağırlıkları) sırasıyla $199,8 \pm 6,19$ ve $178,7 \pm 6,04$ kg olarak belirlenmiştir. İki ırk arasındaki yaklaşık 21 kg'lık fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Deneme başı ağırlığı bakımından ırklar arası fark önemli olduğu için diğer performans özelliklerinin incelenmesinde deneme başı ağırlığı modele kovaryet olarak dahil edilmiştir. Deneme süresince ırklar arasındaki farklılıklar 2. tartımda çok önemli ($p < 0.01$); 3. ve 4. tartılarda önemli olmuştur ($p < 0.05$). 1., 5. ve 6. tartımlarda ise ırklar arasında herhangi bir farklılık ortaya çıkmamıştır (Tablo 3).

Tablo 3. İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca Irkların Deneme Başı ve Deneme Süresince Belirlenen Ortalama Canlı Ağırlıkları (kg) ve Standart Sapmaları.**Table 3.** The Weights Determined Beginning and During the Experiment in Swedish Red and Holstein-Friesian Races and Standart Deviations.

Tartımlar	Irk		P
	İsveç Kırmızısı	Siyah Alaca	
Deneme Başı Ağırlığı	199,8 ± 6,19	178,7 ± 6,04	*
1. Tartım (6-7. aylar arası)	220,8 ± 3,47	214,2 ± 3,38	ÖS
2. Tartım (7-8. aylar arası)	254,1 ± 4,70	230,9 ± 4,58	**
3. Tartım (8-9. aylar arası)	273,8 ± 4,99	255,5 ± 4,86	*
4. Tartım (9-10. aylar arası)	293,2 ± 5,46	272,5 ± 5,31	*
5. Tartım (10-11. aylar arası)	309,3 ± 6,06	294,7 ± 5,89	ÖS
6. Tartım (11-12. aylar arası)	320,8 ± 7,77	315,5 ± 7,55	ÖS

** : p<0.01; * : p<0.05; ÖS : p>0.05

Tablo 4. İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca Irkların Toplam Canlı Ağırlık Artışları ve Standart Sapmaları.**Table 4.** Total Live Weight Gains in Swedish Red and Holstein- Friesian Races and Standart Deviations.

Tartımlar	Toplam Canlı Ağırlık Artışı (kg)		P
	İsveç Kırmızısı	Siyah Alaca	
1. Tartım (6-7. aylar arası)	31,9 ± 3,47	25,2 ± 3,78	ÖS
2. Tartım (7-8. aylar arası)	33,3 ± 3,38	16,7 ± 3,29	**
3. Tartım (8-9. aylar arası)	19,7 ± 2,67	24,6 ± 2,57	ÖS
4. Tartım (9-10. aylar arası)	19,4 ± 2,02	17,0 ± 1,97	ÖS
5. Tartım (10-11. aylar arası)	16,1 ± 1,78	22,2 ± 1,73	*
6. Tartım (11-12. aylar arası)	11,5 ± 3,63	20,8 ± 3,53	ÖS

** : p<0.01; * : p<0.05; ÖS : p>0.05

Deneme başında İsveç Kırmızısı lehine olan ağırlık farklılığı ilk birkaç tartımda etkisini göstermiştir. Çizelgeden de görüleceği gibi 1 yaşına doğru iki ırk arasındaki farklılıklar önemsiz çıkmaya başlamıştır. Bir diğer ifadeyle 11–12 aylık yaşlarda iki ırka ait canlı ağırlıklar birbirine yakın değerler sergilemiştir.

Denemenin yapıldığı, Aydın Doğan Organik Tarım İşletmesi'nde hayvanlar 24 saat açık alanda tutulmaktadır. Aynı zamanda 2., 3. ve 4. tartımların alındığı dönemler (Ocak, Şubat, Mart) hayvanların 8, 9 ve 10 aylık yaşta oldukları dönemlere rast gelmektedir. Bu farklılık, İsveç Kırmızılarının erken dönemde daha iyi gelişme sağladıklarını düşündürmekle beraber, soğuk iklim şartlarına dayanıklılıklarının da iyi olduğunu göstermektedir.

Sekizinci ay ağırlıklarının İsveç Kırmızılarında 254,1 kg, Siyah Alacalarda 230,9 kg olduğu gözlen-

miş ve ırklar arasındaki fark çok önemli (P<0.01) bulunmuştur.

On ikinci ay ağırlık ortalamaları İsveç Kırmızılarında 320.8 kg, Siyah Alacalarda 315,5 kg olarak belirlenmiştir. Söz konusu ağırlık bakımından ırklar arasındaki fark önemsiz olmuştur.

Çalışmada kullanılan İsveç Kırmızıları ve Siyah Alaca ırklarının toplam canlı ağırlık artışları Tablo 4'de sunulmuştur. Bu çizelgede hayvanların tümünün o ay aldığı toplam canlı ağırlık artışları verilmiştir. İlk tartımın yapıldığı 7. ay ağırlıkları ile, 3. 4. ve 6. tartımların yapıldığı 9, 10 ve 12 aylık yaşlardaki ağırlıklar bakımından ırklar arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir. İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca kültür sığırlarında 2. tartımlardaki farklılık çok önemli, 6. tartımdaki farklılık ise önemsiz çıkmıştır. 2. tartımın yapıldığı ay bölgenin en soğuk aylarına

yani Aralık ve Ocak aylarına tekabül etmektedir. Aşağıdaki çizelge incelendiğinde İsveç Kırmızısı sığırlarda deneme başında yüksek toplam canlı ağırlık artışı sağlanmış ve takip eden tartımlarda bu değerler daha düşük bulunmuştur. Siyah Alacalarda keza toplam ağırlık artışı bakımından dalgalanmalar gözlenmektedir.

Denemeye alınan İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca ırkı hayvanların günlük canlı ağırlık artışları toplam ağırlık artışlarının deneme süresine bölünmesiyle elde edilmiş ve ortalamalar standart hatalarıyla birlikte Tablo 5'te verilmiştir. İki ırk arasında 2. tartımda ortaya çıkan fark çok önemli, 5. tartımda çıkan farklılık önemli bulunmuştur. Diğer dönemlerdeki farklılık ise önemsiz olmuştur. Genel olarak

bakıldığı zaman günlük canlı ağırlık artışları birbirine yakın şekillenmiştir. Bununla birlikte, İsveç Kırmızı ırkında günlük canlı ağırlık artışında çok büyük dalgalanmalar gözlenmiştir. Toplam ağırlık artışı bakımından ırklar arasındaki farklılıklar olduğu gibi ortalama günlük canlı ağırlık artışı bakımından meydana gelen farklılıklara yansımıştır. Günlük canlı ağırlık artışlarına genel olarak bakıldığında İsveç Kırmızısı ırkı ortalama 712 gr, Siyah Alaca ırkı ise 684 gr canlı ağırlık artışı sağlamış ve ırklar arasındaki fark önemli olmamıştır.

Günlük canlı ağırlık artışlarına genel olarak bakıldığında İsveç Kırmızısı ırkı ortalama 712 gr, Siyah Alaca ırkı ise 684 gr canlı ağırlık artışı sağlamış ve ırklar arasındaki fark önemli olmamıştır.

Tablo 5. İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca Irkların Günlük Canlı Ağırlık Artışları ve Standart Sapmaları.

Table 5. Daily Live Weight Gains in Swedish Red and Holstein-Friesian Races and Standart Deviations.

Tartımlar	Günlük Canlı Ağırlık Artışı (kg)		P
	İsveç Kırmızısı	Siyah Alaca	
1. Tartım (6-7. aylar arası)	0,885 ± 0,96	0,701 ± 0,10	ÖS
2. Tartım (7-8. aylar arası)	1,041 ± 0,11	0,521 ± 0,10	**
3. Tartım (8-9. aylar arası)	0,595 ± 0,08	0,747 ± 0,09	ÖS
4. Tartım (9-10. aylar arası)	0,842 ± 0,09	0,739 ± 0,09	ÖS
5. Tartım (10-11. aylar arası)	0,556 ± 0,06	0,765 ± 0,06	*
6. Tartım (11-12. aylar arası)	0,426 ± 0,10	0,769 ± 0,10	ÖS
Genel	0,712 ± 0,04	0,684 ± 0,04	ÖS

** : p<0.01; * : p<0.05; ÖS: p>0.05

Tablo 6. İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca Irk Danaların 1 Kg Canlı Ağırlık Artışı İçin Kuru Madde Esasına Göre Tükettikleri Kaba, Konsantre ve Toplam Yem Miktarları ve Standart Sapmaları.

Table 6. Hay, concentrate and total feed consumption and Standart Deviations according to dry matter substance for 1 kg weight gain in Swedish Red and Holstein- Friesian Calves.

Yem Tipi	İsveç Kırmızısı	Siyah Alaca	P
Kaba Y.(kg)	5,348 ± 0,75	4,987 ± 0,75	ÖS
Konsantre Y.(kg)	5,357 ± 0,58	5,257 ± 0,58	ÖS
Top. Tük.Y. Mik. (kg)	10,705 ± 1,24	10,244 ± 1,24	ÖS
Günlük C.A Artışı (kg)	0,712 ± 0,04	0,684 ± 0,04	ÖS
Günlük Top. Yem Tük.(kg)	7,135	7,135	
Günlük Kaba Yem Tük. (kg)	3,510	3,510	
Günlük Konsantre Yem Tük.(kg)	3,625	3,625	

ÖS: p>0.05

İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca ırkı danalarda 1 kg canlı ağırlık artışı için kuru madde esasına göre tüketilen kaba, konsantre ve toplam yem miktarları Tablo 6'da verilmiştir. Bu tablodan görüleceği gibi 1 kg canlı ağırlık artışı için tüketilen yem miktarları her iki ırkta birbirine çok yakın şekillenmiştir. Bu sonuç, her iki ırkın birbirine benzer büyüme, gelişme ve yemden yararlanma özelliklerine sahip olduğunu göstermekte olup, ırklar arasında istatistiksel bir fark saptanmamıştır.

İsveç Kırmızısı ve Siyah alacalarla yapılan bu çalışmada, 1 kg canlı ağırlık artışı için kuru madde esasına göre tüketilen kaba, konsantre ve toplam yem miktarları İsveç Kırmızılarında sırasıyla $5,348 \pm 0,75$, $5,357 \pm 0,58$ ve $10,71$ kg iken, Siyah Alacalarda $4,987 \pm 0,75$, $5,257 \pm 0,58$ ve $10,244 \pm 1,24$ kg olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında istatistikî bir farklılık olmamakla beraber İsveç Kırmızıları kuru madde esasına göre bir kg canlı ağırlık artışı için rakamsal olarak biraz daha fazla yem tüketmişlerdir.

TARTIŞMA

Türkiye'de Gümüşhane-Kelkit Aydın Doğan Organik Ürünleri San. Tic. A.Ş. Dereyüzü Genç Hayvan ve Damızlık Yetiştirme Merkezinde yapılan bu çalışmada, organik olarak açık ahırda beslenen İsveç Kırmızısı ve Siyah Alaca dişi danaların performans özellikleri belirlenmiştir.

Araştırmada deneme başı ağırlıkları (6. ay) İsveç Kırmızıları lehine yüksek çıkmış olup, İsveç Kırmızılarında $199,8$, Siyah Alacalarda $178,7$ kg olarak belirlenmiştir. 7. ay ağırlıkları birbirine benzer, 8. ay ağırlıkları istatistikî olarak çok önemli bulunmuş olup, İsveç Kırmızılarında $254,1$ kg iken Siyah Alacalarda $230,9$ kg olarak tespit edilmiştir. 9 ve 10. ay ağırlıkları önemli derecede farklılık göstermiş olsa da 11-12. aylarda bu farklılık kapatılmış, canlı ağırlık artışı bakımından bu iki ırkın bir yaşına doğru yakın değerler gösterdiği tespit edilmiştir. Deneme başlangıcındaki İsveç Kırmızısı ve Siyah Alacalar için tespit edilen $199,8$ kg ve $178,7$ kg

değerleri daha önce elde edilen verilerden yüksek (Akcan ve Alpan 1984; Gonzales and Cortes 1988; Akbulut ve ark. 1993; Yanar ve ark. 1994; Bayram 1998; Güler 2000; Yanar ve ark. 2002; Güler ve ark. 2003) bazı bulgulara ise yakın (Ertuğrul ve Apaydın 1989) çıkmıştır. Elde edilen sonuçların bir çok literatür bildirişiyle farklı olması hayvanın ırkı, yaşı, cinsiyeti ve yetiştirme şekli ile hayvanlara yedirilen rasyonların karakteri ve besin madde kompozisyonlarının farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.

Sekizinci ayda elde edilen sonuçlar ise araştırmalarda (Akbulut ve Tüzemen 1994; Akbulut ve ark. 1995; Sabuncuoğlu 2002) elde edilen bulgularından yüksek olmuştur. Farklılıkların, söz konusu denemenin yapıldığı işletmede organik beslemenin uygulanması, işletmede ad-libitum yemleme yapılması, hayvanların açık ahırda serbest olarak dolaşmalarından ve bütün stres faktörlerinden uzak tutulmaya çalışılarak yetiştirilmelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. On ikinci ay ağırlık ortalamaları İsveç Kırmızılarında $320,8$ kg, Siyah Alacalarda $315,5$ kg olarak belirlenmiştir. Bu veriler diğer araştırmacıların sonuçlarından daha düşük saptandığı halde (Akcan ve Alpan 1984; Tüzemen ve ark. 1996; Akbulut 1999; Uğur ve ark. 1999; Bayram ve ark. 2002; Sabuncuoğlu 2002; Kopuzlu 2003) bazı çalışmalar (Vaccaro ve ark.1986) ile de benzer çıkmıştır. Söz konusu ağırlık bakımından ırklar arasındaki fark önemsiz olmuştur. Farklılığın önemsiz olması zamanla hayvanların işletme şartlarına alışmış olmalarından ileri geldiği düşünülebilir.

Bu çalışmada süresince İsveç Kırmızı ırkının Siyah Alacalardan daha yüksek canlı ağırlığa sahip olduğu gözlenmiştir. Kelkit karasal iklim şartlarında Aralık, Ocak, Şubat ve Mart aylarının en soğuk aylar olduğu göz önünde bulundurulduğunda İsveç Kırmızı ırklarının Siyah Alacalara göre soğuk iklim şartlarına daha dayanıklı olduğu veya Siyah Alacalar kadar dayanabildikleri söylenebileceği gibi bu bölgede İsveç Kırmızı ırkının yetiştirilebileceği de ifade

edilebilir. Çalışmada kullanılan İsvaç Kırmızıları ve Siyah Alaca ırklarının toplam canlı ağırlık artışları dikkate alındığında ilk tartımın yapıldığı 7. ay ağırlıkları ile, 3. 4. ve 6. tartımların yapıldığı 9, 10 ve 12 aylık yaşlardaki ağırlıklar bakımından ırklar arasında herhangi bir fark gözlenmemiştir. İsvaç Kırmızısı ve Siyah Alaca kültür sığırlarında 2. tartımlardaki farklılık çok önemli, 6. tartımdaki farklılık ise önemsiz çıkmıştır. 2. tartımın yapıldığı ay bölgenin en soğuk aylarına yani Aralık ve Ocak aylarına tekabül etmektedir. Bu durum Siyah Alacaların soğuktan daha fazla etkilenmiş olmalarından ileri gelmiş olabilir. Kasım-Mayıs aylarında, açık ahırda yapılan bu araştırma bulgularına göre ortalama günlük canlı ağırlık artışı İsvaç Kırmızılarında 712 gr, Siyah Alacalarda 684 gr olarak tespit edilmiş olup söz konusu fark istatistikî olarak önemsiz bulunmuştur. Bu sonuçlar literatür (Alomar ve ark. 1986; Sınıvrski ve ark. 1988; Tomova ve ark. 1988; Akbulut ve Tüzemen 1994; Akbulut ve ark. 1995) bulgularına göre daha düşük olmuştur. Söz konusu çalışmalar besi amaçlı olduğu için hayvan materyali olarak erkek hayvanlar kullanılmıştır. Mevcut çalışmada ise dişi hayvanlar denemeye alınmış ve ayrıca damızlık amaçlı bir işletme olduğu için hayvanların günde 700 gr canlı ağırlık artışı sağlamaları amaçlanmıştır.

İsvaç Kırmızısı ve Siyah alacalarla yapılan bu çalışmada, 1 kg canlı ağırlık artışı için kuru madde esasına göre tüketilen kaba, konsantre ve toplam yem miktarları İsvaç Kırmızılarında sırasıyla 5,348±0,75, 5,357±0,58 ve 10,71 kg iken, Siyah Alacalarda 4,987±0,75, 5,257±0,58 ve 10,244±1,24 kg olarak belirlenmiştir. Gruplar arasında istatistikî bir farklılık olmamakla beraber İsvaç Kırmızıları kuru madde esasına göre bir kg canlı ağırlık artışı için rakamsal olarak biraz daha fazla yem tüketmişlerdir. Bu değerler, bazı çalışmalardaki değerlerden yüksek (Alomar ve ark. 1986; Sınıvrski ve ark. 1988; Akbulut ve Tüzemen 1994) bazı bulgulara yakın (Tomova ve ark. 1988) ve bazılarında ise düşük (Akbulut ve ark. 1995) çıkmıştır. Bir kg canlı ağırlık artışı için tüketilen

kaba, konsantre ve toplam yem miktarları çeşitli araştırmacılar tarafından farklı şekillerde hesaplandığı için mevcut çalışmadan elde edilen sonuçlar arzu edilen düzeyde tartışılmamıştır.

Sonuç olarak bütün bu bulgular, yaklaşık 6 aylıkken 6 ay süreyle denemeye alınan İsvaç Kırmızısı ve Siyah Alaca ırkı danaların performans özellikleri bakımından benzer özellikler sergilediklerini göstermiştir. Bununla birlikte, karasal iklim özelliği gösteren bölgelerde İsvaç Kırmızısı ırkına ait hayvanların yetiştiriciliğinin yapılabileceği de söylenebilir. Ayrıca, erken dönemde canlı ağırlık ortalamalarının yüksek olması bu ırka ait damızlık fazlası erkek ve dişi hayvanlarla besi çalışmalarının da yapılabileceğini düşündürmektedir.

KAYNAKLAR

- Akbulut Ö., 1999. Esmer ve Siyah Alaca Düvelerin Sert İklim Şartlarında Büyüme Analizleri. Tr. J. Vet. Anim. Sci., 23, Ek Sayı 1, 131-137.
- Akbulut Ö., Tüzemen N., Aydın R., 1993. Erzurum Şartlarında Siyah Alaca Sığırların Verimi. 2. Doğum Ağırlığı, Büyüme ve Yaşam Gücü Özellikleri. Doğa - Tr. J. Vet. Anim. Sci.,17, 193-200.
- Akbulut Ö., Tüzemen N., 1994. 8-12 Aylık Yaşlarda Besiye Alınan Esmer, Siyah Alaca ve Sarı Alaca Tosunların Besi Performansı, Kesim ve Karkas Özellikleri. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 25, 134-144.
- Akbulut Ö., Tüzemen N., Aydın R., 1995. Esmer ve Siyah Alaca Tosunların Açık Ahırlarda Besi Performansı ve Karkas Özellikleri 1: Besi Performansı. Tr. J. Vet. Anim. Sci., 19: 409-416.
- Akcan A., Alpan O., 1984. Siyah Alaca ve Siyah Alaca x Güney Anadolu Kırmızısı (GAK) Melezlerinde Bazı Verim Özellikleri. 1.Büyüme ve Yaşam Gücü. Doğa Bilim Derg. D1. 8, 216-224.
- Akman N., Kumlu S., 1999. Türkiye'de Siyah Alaca (Holstain) Damızlık Yetiştiriciliğinde Gelişmeler. Uluslararası Hayvancılık 99 Kongresi, 21-24 Eylül, İzmir, 9-16.
- Alomar CD., Anrique GR., Klein R.F., Uslar GE., 1986. Effect of concentrate level on feed intake and weight gain

- by calves at pastures. Nutrition Abst. and Reviews Seri. B., 56-6129.
- Alpan O., 1992. Sığır Yetiştiriciliği ve Besiciliği. 2. Baskı. Ankara Üniv. Vet. Fak. Zootekni Bölümü. Ankara.
- Altındışlı A., İliter E., 2002. Ekolojik Tarımda İlke ve Kavramlar. Organik Tarım. Organik (Ekolojik) Tarım Ders Notları. Emre Basımevi. İzmir. S:18 - 24
- Anonim 1, 1999. 13 Nisan 1999 tarihinde Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü'nde yapılan "Türkiyede Karma Yem Katkı Maddesi Olarak Antibiyotik- Büyütme Faktörlerinin Kullanımı, Geleceği ve Alınacak Önlemler" konulu toplantı görüşleri. Yem Magazin, Sayı 22, Haziran, 14-17.
- Anonim 2, 2006. <http://www.srb-foreningen.se/doks/welcome.htm>, Erişim Tarihi: 26.02.2006.
- Anonim 3, 2006, http://www.svenskavel.com/english/red/ref_02.htm, Erişim Tarihi: 26.02.2006.
- Aytuğ CN.,1996. Deli İnek Hastalığı (Bovine Spongiform Encephalopathy, BSE) Hakkında bilgi sirküleri.TOPKİM-A.Ş. Araştırma Grubu Eğitim Yayını,16 Nisan, İstanbul.
- Bayram B., 1998. Esmer ve Siyah Alaca Buzağlarının Büyüme Özellikleri ve Sütten Kesim Süresinin Tespiti. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enst., Erzurum.
- Bayram B., Akbulut Ö., Yanar M., Tüzemen N., 2002. Esmer ve Siyah Alaca Dişi Sığırlarda Büyüme Özelliklerinin Richard Modeli Analizi. Turk J. Vet. Anim. Sci., 28, 201-208.
- Bayram B., 2004. Esmer ve Siyah Alaca Sığırlarda Büyüme Eğrilerinin Doğrusal ve doğrusal Olmayan Modellerle Analizi. Doktora Tezi. Atatürk Üniv. Fen Bilim. Enst., Erzurum.
- Bethard GL., 1997. A microcomputer simulation to evaluate management strategies for rearing dairy replacement. Doctor of philosophy in animal science (dairy), April 18, 1997 Blacksburg, Virginia.
- Demirci M., Yüksel N., Soysal Mİ, 1992. Memeden Mamül Süt. Hasad Yayıncılık, Hayvancılık Serisi 1, 227-228.
- Demirören E., 2002. Hayvan Davranışları (Ders Kitabı). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 547. I. Basım. İzmir.
- Erkek R., Kırkpınar F., 1993. Hayvanlarda Verim Artırıcı Olarak Hormon Kullanımı.Yem Magazin, Sayı 83, Mart, 53-62.
- Ertuğrul M., Apaydın M., 1989. Siyah Alaca Buzağlarının az süt ile büyütülme olanakları. Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi Yıllığı 40, Fasikül No:1-2: 395-407, Ankara
- Gonzalez H., Cortes C., 1988. Evaluation of Concentrate supplementation in European Holstein calves raised under grazing. 1.From birth to six months of age. Avanges en Production Animal,1-2, 185-190.
- Güler O., 2000. Farklı Seviyelerde Kesif Yemle Beslenen Esmer ve Siyah Alaca Buzağlarının Büyüme ve Gelişme Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enst., Erzurum.
- Güler O.,Yanar M., Bayram B., 2003. Effect of different milk feeding schedules on the growth and feed conversion efficiencies in Holstein Friesian and Brown Swiss calves. Indian J. Anim. Sci., 73, 1278-1280.
- Kırkpınar F., Erkek R., 2000. Yem Katkı Maddeleri Kullanımı, Gelişmeler, Sorunlar. International Animal Nutrition Congress, Süleyman Demirel Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 4-6 September, Isparta, Turkey.
- Kopuzlu S., 2003. Esmer ve Siyah Alaca Sığırların Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü İşletmesi Şartlarında Süt Verimi, Döl Verimi, Büyüme ve Yaşama Gücü Özellikleri. Doktora Tezi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enst., Erzurum.
- Mason IL., 1996. A World Dictionary of Livestock Breeds, Types and Varieties. Fourt Edition. C.A.B International. 273 pp. Erişim Adresi: http://www.ansi.okstate.edu/breeds/cattle/swedish_red_and_white/index.htm Erişim tarihi:22.03.2006
- Özen N., Kırkpınar F., Özdoğan M., Ertürk MM., Yurtman İY., 2006. Hayvan Besleme. http://www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/037_nihatzen.pdf, Erişim Tarihi : 30.05.2006.
- Özhan M., Tüzemen N., Yanar M., 2001. Büyükbaş Hayvan Yetiştirme. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fak.Yayınları Ders Notu.Yayın No:134, 59-346.
- Özkütük K., Pekel E., Özcan L., Hausmann H., 1986. Entansif Süt Sığırcılığı Uygulamasında Hatay İli 2. En

- Büyük Sürüde Süt Verimi. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Derg., 1, 46-59.
- Rahman G., 2004. Organic Animal Husbandry in the European Union: Standarts Regulations and Practise with Special Consideration of Ruminants. I. Uslularası Organik Hayvancılık ve Gıda Güvenliği Kongresi (28 Nisan-1 Mayıs, Kuşadası) S: 8-24.
- Sabuncuoğlu N., 2002. Yüksek Rakım ve Sert İklim Şartlarında Yetiştirilen Esmer ve Siyah Alaca Danaların Bazı Fizyolojik Özelliklerine ve Kan Parametrelerine Çevre Faktörlerinin Etkisi. Atatürk Üniv. Fen Biliml. Enst., Doktora Tezi. Erzurum.
- SPSS, 1996. SPSS for windows release 10.01, SPSS Inc Chicago, IL, USA
- Sınıvrski G., Petkov P., Georgacvska ZH., İliev A., 1988. Effect of housing conditions on Growth and Meat Production of Bulls. Anim. Breed. Abstr., 56, 5406.
- Sundrum. A., 2001. Organic Livestock Farming: A Critical Review, Livestock Pruduction. Science, 67, 207-215.
- Şayan Y., Polat M., 2002. Ekolojik (Organik Biyolojik) Hayvansal Üretimin Genel İlkeleri.Organik Tarım Eğitimi Ders Notları. İzmir, 239-251
- Tomova Y., İvanov M., Staikov P., Simeonova S., 1988. Combined housing in semi open and closed sheeds of cattle during finishing. Anim. Breed. Abstr. 56, 6750.
- Tüzemen N., Akbulut Ö., Özhan M., 1996. Esmer ve Siyah Alaca Sığırların Erzurum Koşullarında Bazı Önemli Özellikler Bakımından Karşılaştırılması.Hayvancılık 96 Ulusal Kongresi., Cilt1. 121-125, 18-20 Eylül, İzmir.
- Uğur F., Yanar M., Tüzemen N., 1999. Erken Sütten Kesilen Esmer ve Siyah Alaca Dişi Sığırların Canlı Ağırlık ve Canlı Ağırlık Artışları. Tarım Bilimleri Derg., 100-103.
- Uz E., Sogut S., Sahin S., Var A., Ozyurt H., Gulec M., Akyol O., 2002. The protective role of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. World J. Urol., 20, 264-270.
- Vaccaro R., Vaccaro I., Combellas J., Martinez N., 1986. Growth and Viability to 12 Months of Age of Brahman x Holstein Friesian and Brown Swiss Calves. Animal Breeding Abst., 54, 5719
- Vural N., 1996. Toksikoloji . Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 73, 342-373.
- Yamano T., Morita S., 1992. Hepatotoxicity of trichlorfon and dichlorvos in isolated rat hepatocytes. Toxicology, 76, 69-77.
- Yanar M., Tüzemen N., Aydın R., Akbulut Ö., Ocherman HW., 1994. Growth Characteristics and Feed Efficiencies of the Early Weaned Brown Swiss, Holstein Friesian and Simental Calves Reared in Turkey. Indian J. Dairy Sci., 47, 273-275.
- Yanar M., Güler O., Bayram B., 2002. The Effect of Concantrate Feeding Levels on The Postweaning Performance of Holstein Friesian Calves.Turk J. Vet. Anim. Sci., 26, 1025-1032.



Bir Köpekte Amitraz Toksikasyonu

İsmail AYTEKİN^{1✉}, Nuri ALTUĞ², Hasan Oktay ÖZTÜRK³

1. Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Balıkesir.
2. Mustafa Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hatay.
3. Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Hatay.

Özet: Bu olguda amitraz toksikasyonlu bir köpekte laboratuvar parametrelerindeki değişimler araştırıldı. Olgunun materyalini 2 aylık labrador melezi bir köpek oluşturdu. Anamnezde veteriner hekim tarafından kene enfestasyonuna karşı amitraz banyosu önerildiği, ancak öneriye uyulmayarak 2 gün üst üste tüm vücuda uygulandığı öğrenildi. Köpek kusma, kasılma, hipersalivasyon ve anoreksi şikayetleri ile kliniğimize getirildi. Fiziksel muayenede tonik ve klonik kasılmalar, depresyon, konjunktiva mukozasında solgunluk, bradikardi, hipertermi ve polipne tespit edildi. Vakanın hematolojik ve biyokimyasal analizleri yapıldı. Serum insulin ve kortizol düzeyleri ölçüldü. Hematolojide; mikrositik-hipokromik anemi ve trombositoz belirlendi. Biyokimyasal analizlerde ise; glikoz, ALP, GGT, CK ve LDH düzeylerinde artış, Na, Cl ve insulin düzeylerinde ise azalma saptandı. Tedavi olarak; iki gün %0,9 NaCl sıvı tedavisi, atropin sülfat, diazepam, trimetobenzamid hidroklorür ve metil prednisolon, 1 hafta ise ferrosanol şurup uygulandı. Tedavi sonrası ikinci günde kasılmalar ve kusmanın düzeldiği, bir hafta sonra ise beden ısısı, kalp ve solunum frekansının referans değerlere geldiği saptandı. Tedavi sonrası 7. günde aneminin derecesinin azaldığı, ancak düzelmediği belirlendi. LDH ve CK düzeylerinin tedavi öncesine göre azaldığı, ancak referans değerlerin üzerinde olduğu tespit edildi. Tedavi sonrasında insulin düzeylerinin referans değer alt limitlerine, glikozun ise üst limitlerine yaklaştığı saptandı. Sonuç olarak; köpeklerde amitraz toksikasyonunda glikoz, insulin, CK, LDH, Na ve Cl düzeylerinin değerlendirilmesinin yararlı olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: Amitraz Toksikasyonu, Köpek, Tedavi.

Amitraz Toxicity in a Dog

Abstract: This case investigated the changes in laboratory parameters in a two months old labrador crossbred dog with amitraz toxicity. Anamnesis revealed that the veterinarian had recommended a amitraz bath against tick infestations, but it had apparently been applied to the whole body for two consecutive days. Dog was brought to our clinic with complaints of vomitus, contraction, anorexia, and hypersalivation. Physical examination detected tonic and clonic convulsions, depression, pallor of conjunctiva mucosa, bradycardia, hyperthermia, and polypnoea. Hematological and biochemical analysis were also performed. Serum insulin and cortisol levels were, thus, measured. Microcytic hypochromic anemia and thrombocytosis were determined in haematology. Biochemical analysis showed that the levels of glucose, ALP, GGT, CK, and LDH increased, while those of the Na, Cl, and insulin decreased. As the treatment, fluid therapy, atropine sulfate, diazepam, trimetobenzamid hydrochloride, and methyl prednisolone were administered for two days, and ferrosanol syrup were given for one week. Convulsions and vomiting diminished on the second day of the treatment. After the seven day of the treatment, the body temperature and heart and respiratory frequencies were found to be in the range of the reference value. Degree of the anemia lowered, but did not recover fully. The LDH and CK levels decreased, as compared to those before the treatment, but were still above the reference values. Although insulin levels were close to the lower limit of the reference values, glucose levels were close to the upper limits. The findings concluded that highlighting the levels of the glucose, insulin, CK, LDH, Na, and Cl may be useful in the evaluation of amitraz toxication in dogs.

Key words: Amitraz Toxication, Dog, Treatment.

✉ İsmail AYTEKİN

Balıkesir Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Balıkesir, e-posta: aytekin0331@gmail.com

GİRİŞ

Amitraz, 1972 yılında sentezlenmiş kimyasal bileşimi 1,5-di (2.4-dimethyl phenyl)-3-methyl 1,3,5-triazapenta-1,4-diene olan triazapentain üyesi bir insektisittir (Şanlı, 1999). Köpek ve ruminantlarda ektoparaziter enfestasyonların tedavisinde topikal olarak kullanılmaktadır (Jones, 1990; Şanlı, 1999; Shitole ve ark., 2010). Terapotik dozu hayvan türü ve parazit çeşidine göre % 0.005-0.1 arasında değişmektedir (Şanlı, 1999).

Toksik etki mekanizması nörotoksin ve α -2 adrenerjik reseptör agonisti olma özelliklerine dayanır (Proudfoot, 2003; Tunçok ve Kalyoncu, 2007; Andrade ve ark., 2008). Evcil hayvanlarda zehirlenme özellikle deriye banyo tarzında yüksek yoğunlukta kullanılması sonucu oluşmaktadır (Jones, 1990; Çiftçi ve ark., 2010). Amitraz toksikasyonunda reflex kaybı, bilinç bozukluğu, sedasyon, konvulziyon, bradikardi, hipotermi, hiperglisemi, poliuri, hipotansiyon, solunum depresyonu, bradipne, midriazis, 3. göz kapağı prolapsusu ve kusma gibi bulgular bildirilmiştir (Jones, 1990; Proudfoot, 2003; Andrade ve ark., 2005; Andrade ve ark., 2008). Amitraz toksikasyonunda yohimbin ve atipemazol gibi α -2 adrenerjik reseptör antagonistleri kullanılmakta (Hugnet ve ark., 1996; Andrade ve ark., 2006; Andrade ve ark., 2008), ancak topikal yolla oluşan toksikasyonun tedavisinde çoğunlukla semptomatik ve destekleyici tedavilerin yeterli olduğu bildirilmektedir (Jones, 1990; Grossman, 1993; Shitole ve ark., 2010; Proudfoot, 2003).

Türkiye’de koyun ve sığırlarda doğal olarak gelişmiş amitraz toksikasyonu bildirimleri bulunmasına rağmen (Kızıl ve ark., 2008; Çiftçi ve ark., 2010), köpeklerde sadece deneysel olarak oluşturulmuş toksikasyon bildirilmektedir (Özlem ve ark., 1997). Bu olguda Türkiye’de bir köpekte oluşan ilk doğal amitraz toksikasyonunda klinik ve laboratuvar parametrelerindeki değişimler ile klasik toksikasyon

tedavisinin etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

OLGU SUNUMU

Olgunun materyalini 2 aylık labrador melezi bir köpek oluşturdu. Anamnezde veteriner hekim tarafından kene enfestasyonuna karşı (Kenaz[®] %12.5 EC- Atabay Kimya Sanayi AŞ/ Kocaeli) banyo suyuna %0,5 oranında katılarak 30 saniye amitraz banyosu önerildiği, ancak öneriye uyulmayarak 2 gün üst üste yarım dakikadan fazla tüm vücuda banyo tarzında uygulandığı öğrenildi. Köpek uygulama sonrası 12. saatte anoreksi, hipersalivasyon, kusma ve kasılma şikayetleri ile kliniğimize getirildi. Fiziksel muayenede tonik ve klonik kasılmalar, depresyon, konjunktiva mukozasında solgunluk, bradikardi (P: 63/dk), hipertermi (39.3 °C) ve polipne (R: 44/dk) tespit edildi. Vakadan tedavi öncesi hematolojik ve biyokimyasal analizler için V. sephalica antebraçhi’den kan örnekleri alındı. Hematolojik parametreler veteriner hematoloji cihazı (Abacus[®] Junior Vet- Diatron/ Austria) ile, biyokimyasal parametreler biyokimya oto analizörü (Architect[®] C8000- Abbott Diagnostics/USA) ile, serum insulin ve kortizol düzeyleri ise immunoassay analizörü (Architect[®] i2000- Abbott Diagnostics/USA) ile belirlendi. Tedavide; iki gün %0,9 NaCl (%0,9 NaCl 500cc[®] - Orkim, intravenöz), atropin sülfat (Atropin[®]-Vetaş 0,04mg/kg/gün, intravenöz), diazepam (Diazem[®]-Deva, 0,5mg/kg/gün, intravenöz), trimetobenzamid hidroklorür (Metpamid[®]-Yeni ilaç, 0,3mg/kg/gün, intramusküler), metil prednisolon (Prednol-I[®]-Mustafa Nevzat, 2mg/kg/gün, intramusküler) ve 1 hafta ise ferrosanol şurup (Ferro Sanol B[®]-Adeka, 5cc/gün, oral) uygulandı. Hematolojik ve biyokimyasal analizler tedavi sonrası 7. günde tekrarlandı.

Olgunun tedavi öncesi hematolojik analizinde mikrositik-hipokromik anemi ve trombositoz belirlenirken (Tablo 1), tedavi öncesi biyokimyasal analizlerde ise glikoz, ALP, GGT, CK ve LDH düzeylerinde

artış, Na, Cl ve insülin düzeylerinde azalma saptandı (Tablo 2). Tedavi sonrası ikinci günde kasılmalar, hipersalivasyon ve kusmanın düzeldiği, bir hafta sonra ise beden ısısı (T: 38.5 °C), kalp (P: 85/dk) ve solunum (R: 28/dk) frekansının referans değerlere geldiği saptandı. Tedavi sonrası 7. günde trombosit sayısının referans değer aralığında olduğu, aneminin derecesinin azaldığı, ancak düzelmediği belirlendi

(Tablo 1). LDH ve CK düzeylerinin tedavi öncesine göre azaldığı, ancak referans değerlerin üzerinde olduğu belirlendi (Tablo 2). ALP ve GGT düzeylerinde tedavi öncesine göre değişim saptanmadı (Tablo 2). İnsülin düzeylerinin tedavi sonrasında referans değer alt limitlerine, glikozun ise üst limitlerine yaklaştığı saptandı (Tablo 2).

Tablo 1. Amitraz toksikasyonlu bir köpekte hematolojik parametreler.

Table 1. Haematological parameters in a dog with intoxicated amitraz.

Parametreler	Referans Değerler ⁽¹⁸⁾		Olgu Değerleri	
	Min-Max	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası	
WBC (10 ⁹ /L)	6-17	9.14	11.39	
Lenfosit (10 ⁹ /L)	1.0-4.8	3.78	2.85	
Monosit (10 ⁹ /L)	0.15-1.35	0.62	0.41	
Granülosit (10 ⁹ /L)	3.0-12.0	4.74	8.13	
RBC (10 ¹² /L)	5.5-8.5	4.69	5.04	
Hemoglobin (g/dl)	12.0-18.0	8.2	9.1	
Hematokrit (%)	37.0-55.0	27.76	29.03	
MCV (fl)	60-77	59	58	
MCHC (g/dl)	32-36	29.6	31.3	
PLT (10 ⁹ /L)	200-500	803	474	
MPV (fl)	3.9-11.1	9.4	9.9	

Tablo 2. Amitraz toksikasyonlu bir köpekte biyokimyasal parametreler.

Table 2. Biochemical parameters in a dog with intoxicated amitraz.

Parametreler	Referans Değerler ⁽¹⁹⁾		Olgu Değerleri	
	Min-Max	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası	
Glukoz (mg/dl)	65-118	139.4	123.0	
İnsülin (µU/ml)	5-20	3.79	4.94	
Kortizol (µg/dl)	0.96-6.81	2.11	1.63	
Kreatinin (mg/dl)	0.5-1.5	0.5	0.3	
Total Bilirubin (mg/dl)	0.10-0.50	0.2	0.1	
Direkt Bilirubin (mg/dl)	0.06-0.12	0.1	0.1	
AST (U/L)	23-66	35.5	38.3	
ALT (U/L)	21-102	16	15	
ALP (U/L)	20-156	259	267	
GGT (U/L)	1.2-6.4	9	10	
LDH (U/L)	45-233	563.4	334.4	
CK (U/L)	1.15-28.4	577.0	360.0	
Na (nmol/l)	141-152	135.7	150.8	
Cl (nmol/l)	105-115	82.8	111.5	

TARTIŞMA

Amitraz, ruminant ve köpeklerde ektoparazitlere karşı yaygın olarak kullanılan bir insektisittir (Jones, 1990; Hugnet ve ark., 1996). Köpeklerde özellikle demodex akarlarına bağlı uyuzun tedavisinde kullanılmaktadır (Jones, 1990). Amitraz'ın ticari preparatları genellikle ksilen gibi organik çözücüler içerisinde %12.5-20 oranında amitraz içermektedir (Agin ve ark., 2004; Tunçok ve Kalyoncu, 2007). İlacın çok ucuz ve kolay bulunabilir olması, popüler bir ürün olmasına neden olmuştur (Andrade ve ark., 2007). Ancak, özellikle sulandırma oranlarına uyulmaması deri yoluyla zehirlenmelere neden olmaktadır (Jones, 1990; Özlem ve ark., 1997; Çiftçi ve ark., 2010).

Amitraz toksikasyonunda klinik bulguların amitraz ve ilacın içerdiği organik çözücü ksilen'in etkilerine bağlı olarak geliştiği bildirilmektedir (Jones, 1990; Proudfoot, 2003). Sunulan olguda belirlenen anoreksi, hipersalivasyon, kusma, kasılma, depresyon, bradikardi, hipertermi ve polipne gibi klinik bulgulardan hipersalivasyon, hipertermi ve polipne hariç diğerleri birçok araştırmacı tarafından köpeklerde şekillenmiş amitraz toksikasyonunda karşılaşılan klinik bulgular olduğu belirtilmektedir (Jones, 1990; Grossman, 1993; Hugnet ve ark., 1996; Andrade ve ark., 2008). Ancak son yıllarda araştırmacılar amitraz ve diğer tüm monoaminooksidaz inhibitörlerinin serotonin metabolizmasını inhibe ettiğini ve serotonin sendromu geliştiğini bildirmektedirler (Crowell-Davis, 2008; Mohammad-Zadeh ve ark., 2008). Serotonin sendromunda kasılmalar, ataksi, kusma, hipersalivasyon, hipertermi veya hipotermi ve polipne gözlemlendiği belirtilmiştir (Crowell-Davis, 2008; Mohammad-Zadeh ve ark., 2008). Bu olguda gözlenen hipersalivasyon, hipertermi ve polipne literatür bilgileri (Crowell-Davis, 2008; Mohammad-Zadeh ve ark., 2008) ile değerlendirildiğinde vakanın amitraza bağlı serotonin sendromuna girmiş olduğunu göstermektedir.

Amitraz toksikasyonu tedavisinin birinci derecede destekleyici ve semptomatik olduğunu (Jones, 1990; Grossman 1993; Proudfoot, 2003; Shitole, 2010), hayvanlarda yohimbin ve atipemazol gibi α -2 adrenerjik reseptör antagonistlerinin toksikasyonun yan etkilerinin düzeltilmesinde kullanılabilse de sürecin nispeten kısa, semptomatik ve destekleyici tedaviye cevabın iyi olması nedeniyle konvansiyonel önlemlere cevap alınamayan olgular hariç, α -2 adrenerjik reseptör antagonistlerine gerek olmadığı bildirilmektedir (Proudfoot, 2003). Semptomatik ve destekleyici tedavi uygulanan bu olguda tedaviye olumlu yanıt alınmış olup, tedavi sonrası ikinci gün kısmen, bir hafta sonra büyük oranda iyileşme sağlanmıştır. Tedavideki bu başarı araştırmacıların bildirimleri ile uyum içindedir (Jones, 1990; Grossman, 1993; Shitole, 2010).

Grossman (1993), amitraz toksikasyonlu bir köpekte müköz membranlarda gözlenen solgunluğun anemi veya şok, hipovolemi ve hipotansiyona bağlı zayıf perfüzyon sonucu oluşabileceğini, hematokrit değerinin belirlenmesi ile perfüzyon problemlerinden aneminin ayrımının yapılabileceğini belirtmektedir. Bu bildirimde, sunulan çalışmada belirlenen konjunktiva mukozasında solgunluk ile mikrositik-hipokromik anemi ve trombositozun nedeninin anemi olduğu anlaşılmaktadır. Bu durum, amitraz toksikasyonunun eritrosit parametreleri üzerinde etkisi olmadığı bildirimleri (Andrade ve ark., 2006 ve 2007) ile de uyum içindedir. Mikrositik-hipokromik anemi ve trombositozun demir yetmezliği anemisinin bir özelliği olduğu ve %20-29 hematokrit değer aralığının orta derecede bir anemiyi gösterdiği bildirilmektedir (Weis ve Wardrop, 2010). Bu bilgiler ışığında olguda tespit edilen aneminin orta derecede bir anemi olduğu ve bu durumun demir yetmezliğine bağlı olabileceği düşünülerek oral demir tedavisi önerildi. Tedavi sonrası 7. günde aneminin derecesinin azaldığı, ancak düzelmediği ve trombosit sayısının referans değer aralığına geldiği belirlendi.

Serum ALP ve GGT aktivitelerinin büyüme dönemindeki yavru köpeklerde ergin hayvanlara göre 6 kata kadar yüksek olabileceği belirtilmektedir (Turgut, 2000). Bu nedenle bu olguda referans değerlere göre tedavi öncesi ve tedavi sonrası yüksek olarak belirlenen ALP ve GGT düzeyleri hayvanın büyüme döneminde olması ile açıklanabilir. Serum CK ve LDH musküler hasar göstergesi olarak kullanılabilen enzimlerdir (Kaneko ve ark., 1997; Turgut, 2000). Konvulziyon bulunan hayvanlarda serum CK düzeylerinde artış olabileceği bildirilmiştir (Turgut, 2000). Bu olguda serum CK ve LDH düzeylerinin referans değerlere göre tedavi öncesinde yükseldiği gözlemlendi. Bu enzim düzeylerinin, tedavi sonrasında azalmasına rağmen hala referans değerlerden yüksek olması ise, Turgut, (2000)'un bildirdiği gibi altı aylıktan küçük köpeklerde CK düzeylerinin erginlerden iki kat fazla olabileceği ifadesi ile açıklanabilir.

Kusmaya bağlı olarak oluşan gastrointestinal kaşıp nedeniyle hiponatremi ve hipokloremi oluşabileceği bildirilmektedir (Kaneko ve ark., 1997; Turgut, 2000). Bu olguda Na ve Cl düzeylerinde tedavi öncesinde gözlenen azalmanın kusmaya bağlı kayıp nedeniyle oluştuğu düşünülmektedir.

Köpeklerde topikal, oral ve intravenöz amitraz uygulamalarının plazma glikoz konsantrasyonunda artış ve insülin salınımında azalmaya neden olduğu bildirilmektedir (Hugnet ve ark., 1996; Hsu ve Schaffer, 1998; Andrade ve ark., 2008). Bu etkinin diğer α -2 adrenerjik reseptör agonistleri ile de benzer olduğu bilinmektedir (Abu-Basha ve ark., 1999). Bu olguda da araştırmacıların bildirimleri ile paralel olarak tedavi öncesi hiperglisemi ve hipoinsülinemi belirlenirken, tedavi sonrasında ise insülin düzeylerinin arttığı, glikoz düzeylerinin ise azaldığı saptandı. Bu bulgu Abu-Basha ve ark. (1999)'nın amitrazın perfüze pankreasdan insülin sekresyonunun inhibe ve glukagon sekresyonunun ise stimüle ettiği bildirimleri ile açıklanabilir.

Andrade ve ark. (2008), köpeklerde intravenöz yolla oluşturulan deneysel amitraz toksikasyonunda kan kortizol düzeylerinin uygulama sonrası 1. ve 4. saatlerde uygulama öncesine göre azaldığını, 8. saatte ise farklılık olmadığını bildirmesine rağmen, bu olguda serum kortizol düzeylerinin referans aralığında olduğu belirlenmiştir. Bulgulardaki bu farklılığın, amitrazın uygulama yolu ve uygulama sonrası geçen süreden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak köpeklerde amitrazın iki gün üst üste otuz saniyeden fazla banyo şeklinde uygulanmasının toksikasyona neden olduğu, anamnez bilgileriyle birlikte özellikle glikoz, insülin, CK, LDH, Na ve Cl düzeylerinin değerlendirilmesinin diaznoz ve prognoz açısından yararlı olduğu ve amitraz toksikasyonunda semptomatik ve destek-leyici tedavinin yeterli olduğu kanısına varıldı.

KAYNAKLAR

- Abu-Basha EA., Yibchok-Anun S., Hopper DL., Hsu WH., 1999. Effects of the pesticide amitraz and its metabolite BTS 27271 on insulin and glucagon secretion from the perfused rat pancreas: involvement of α 2D-adrenergic receptors. *Metabolism*, 48, 1461-1469.
- Agin H., Çalkavur S., Uzun H., Bak M., 2004. Amitraz poisoning: clinical and laboratory findings. *Indian Ped.*, 41, 482-486.
- Andrade SF., Sakate M., 2003. The comparative efficacy of yohimbine and atipamezole to treat amitraz intoxication in dogs. *Vet. Hum. Toxicol.*, 45, 124-127.
- Andrade SF., Sakate M., Crocci AJ., 2005. Effects of yohimbine and atipamezole on plasmatic glucose concentration and blood gas analysis in dogs intoxicated with triatox. *Ars. Veterinaria.*, 21, 121-128.
- Andrade SF., Sakate M., Laposy CB., Sangiorgio F., 2006. Yohimbine and atipamezole on the treatment of experimentally induced amitraz intoxication in cats. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.*, 4, 200-208.
- Andrade SF., Sakate M., Laposy CB., Valente SF., Bettanim

- VM., Rodriques LT., Marcicano J., 2007. Effects of experimental amitraz intoxication in cats. *Arg. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 59, 1236-1244.
- Andrade SF., Laposy CB., Rodriques LT., Marcicano J., Andrade CV., Appel TL., 2008. Comparative study of experimental amitraz intoxication between dogs and cats. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 45, 17-23.
- Crowell-Davis SL., Poggiagliolmi S., 2008. serotonin syndrome. *Compendium*, 30, 490-493.
- Çiftçi MK., Özdemir Ö., Ortatlı M., Erer H., Kanat Ö., Yavuz O., 2010. Bir koyun sürüsünde antiparaziter ilaçlamaya ilgili amitraz zehirlenmesi. *V. Ulusal Veteriner Patoloji Kongresi*, 14-18 Eylül 2010, 138-139, Mudanya, Bursa.
- Grossman MR., 1993. Amitraz toxicosis associated with ingestion of an acaricide collar in a dog. *JAVMA.*, 203, 55-57.
- Hsu WH., Schaffer DD. 1988. Effects of topical application of amitraz on plasma glucose and insulin concentrations in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 49, 130-131.
- Hugnet C., Buronrosse F., Pineau X., Cadoré JL., Lorgue G., Berny PJ. 1996. Toxicity and kinetics of amitraz in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 57, 1506-1510.
- Jones RD., 1990. Xylene/amitraz: a pharmacologic review and profile. *Vet. Hum. Toxicol.*, 32, 446-448.
- Kaneko JJ., Harvey JW., Bruss ML., 1997. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Fifth Ed., pp 895-899, Academic Press, California, 1997.
- Kızıl O., Balıkcı E., Dabak M., Ozdemir H., 2008. Amitraz intoxication in two cattle. *Rev. Med. Vet.*, 159, 166-168.
- Mohammad-Zadeh LF., Moses L., Gwaltney-Brant SM., 2008. Serotonin: a review. *J. Vet. Pharmacol. Therap.*, 31, 187-199.
- Özlem MB., Morkoç P., Ünsüren H., 1997. Köpeklerde deneysel amitraz zehirlenmesi ve tedavi girişimleri. *Vet. Hek. Dern. Derg.*, 68, 90-93.
- Proudfoot AT., 2003. Poisoning with amitraz. *Toxicol. Rev.*, 22, 71-74.
- Shitole DG., Kulkarni RS., Sathe SS., Rahate PR., 2010. Amitraz poisoning-an unusual pesticide poisoning. *JAPI.*, 58, 317-319.
- Şanlı Y., 1999. *Veteriner Klinik Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım Prensipleri*, Sayfa; 992-993, Özkan Matbaacılık, Ankara.
- Tunçok Y., Kalyoncu Nİ., 2007. Birinci basamağa yönelik zehirlenmeler tanı ve tedavi rehberleri. SB, RSHMB, Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü, Yayın No: SB-HM-2007/14, pp. 94-95, Yücel Ofset Mat, Ankara.
- Turgut K., 2000. *Veteriner Klinik Laboratuvar Teşhis*, İkinci Baskı, Bahçıvanlar Basım Sanayi AŞ, Konya.
- Weiss DJ., Wardrop KJ., 2010. *Schalm's Veterinary Hematology*, Sixth Ed., Blackwell Publishing Ltd, Iowa.



Sirkadiyan Ritim ve Sitokrom p450 Enzimleri

Begüm YURDAKÖK[✉], Emine BAYDAN

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Özet: Sirkadiyan ritim, ilaç ve ksenobiyotiklerin emilme, dağılma, metabolizma ve atılma kinetiğinde görev alan detoksifikasyon enzimlerini, biyokimyasal ve fizyolojik yollar üzerinden etkiler. Bu enzimler arasında önemli olan sitokrom P450 (CYP-450) ailesinden, CYP2 (CYP2A1/4/5, CYP2B1/2/10, CYP2C6/50, CYP2E1), CYP3 (CYP3A4/11), CYP4A3, CYP8B7A, CYP9, CYP7, CYP17 ve detoksifikasyon proteinlerinin birçoğunun transkripsiyonel aktivasyonunda rol oynayan nükleer reseptörlerden pregnane-X reseptör (PXR, NR112), konstitutif adrostan reseptörü (constitutive androstane receptor- CAR, NR113), peroksizome proliferatör-etkinleyici reseptör alfa (peroxisome proliferator-activated receptor alpha- PPAR), retinoik asit reseptör (retinoic acid receptor- RAR), related orphan reseptörü (related orphan receptor- ROR) ve RER-ERB α 'nın moleküler regülasyonun sirkadiyan ritim tarafından düzenlendiği çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Biyolojik saati etkileyen ve hepatik CYP450 monoksijenazları tarafından metabolize edilen melatonin de bu enzimlerin regülasyonunu etkilemektedir. Bu nedenle, kronoterapi ve kronotoksisite bakımından önem taşıyan, ilaç ve zehirlerin etkinliği ve toksisitesindeki gün içerisindeki farklılıkların, büyük çoğunlukla karaciğerde bulunan ilaç metabolizmasındaki sirkadiyan değişikliklerden kaynaklandığı söylenebilir ve özellikle deneysel çalışmalarda da daha doğru sonuçların alınabilmesi için, bu durum mutlaka dikkate alınmalıdır.

Anahtar kelimeler: Melatonin, Nükleer Reseptörler, Sirkadiyan Ritim, Sitokrom P450, Toksisite.

Circadian Rhythm and Cytochrome p450 Enzymes

Abstract: Circadian rhythm has an effect on the response of the metabolism, distribution, absorption and elimination kinetics of drug and xenobiotic metabolism through biochemical and physiological pathways of detoxification enzymes. Among those enzymes, cytochrome P450 enzymes (CYP-450); CYP2 (CYP2A1/4/5, CYP2B1/2/10, CYP2C6/50, CYP2E1), CYP3 (CYP3A4/11), CYP4A3, CYP8B7A, CYP9, CYP7, CYP17 and the transcriptional activators of these enzymes through nuclear receptors, such as pregnane-X receptor (PXR, NR112), constitutive androstane receptor (CAR, NR113), peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR), retinoic acid receptor (RAR), related orphan receptor (ROR) and RER-ERB α , have been shown to follow circadian rhythmicity in several studies. Melatonin which is metabolized by these hepatic CYP450 monooxygenases, affects the biological clock and the regulation of these enzymes. Therefore, it could be stated that the circadian variation of these detoxification enzymes affects the availability and toxicity of drugs and xenobiotics which influence the chronotherapeutical and chronotoxicity approaches rather than the classical one, should also be considered in future experimental studies for obtaining more reliable outcomes.

Key words: Circadian Rhythm, Cytochrome P450, Melatonin, Toxicity, Nuclear Receptors.

[✉] Begüm YURDAKÖK

Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara, e-posta: byurdakok@yahoo.com

GİRİŞ

Sirkadiyan terimi ilk olarak Franz Halberg tarafından kullanılmış olup Latince *circa* "döngü" ve *dies* "gün" kelimelerinin birleşiminden oluşmaktadır. Sirkadiyan ritmi, bitkilerde, hayvanlarda, mantarlarda ve siyanobakterilerde olduğu gibi tüm canlılarda yaklaşık 24 saat boyunca süren fizyolojik süreci kapsar. İnsanlar da dahil olmak üzere tüm hayvanların uyku ve yemek düzenlerinin belirlenmesinde sirkadiyan ritimi önemlidir. Günlük siklusa bağlı olarak beyin dalga boylarındaki değişiklikler, hormon üretimi, hücre rejenerasyonu ve diğer biyolojik aktiviteler arasında yakın ilişki bulunur. Retiküler oluşum sırasında retiküler etkinleştirme sisteminde de sirkadiyan ritmin rol oynadığı bilinmektedir (Ohdo, 2007).

Işık durumuna bağlı olarak dış ortamdan gelen uyarılar gözün retina katmanı ile alınır, fotoreseptörlere ulaşır ve buradan sirkadiyan ritmin ana kontrol merkezi olan anterior hipotalamustaki suprakiazmatik nükleusa iletilir. Bu uyarılar daha sonra paraventriküler çekirdeğe taşınır. Bu çekirdekten sempatik sinir sisteminin pregangliyonik adrenerjik sinirleriyle alınan uyarılar üst beyin gangliyonuna gelir ve buradan pineal beze ulaşır. Sempatik sinirlerin pineal hücreleri üzerine etkisiyle karanlık-aydınlık değişimlerine bağlı olarak ritmik biçimde değişen triptofanın artmasını uyarı norepinefrin salınımı artar. Aydınlıkta pineal hücrelerde triptofandan seratonin oluşturulur (Albrecht ve Eichele, 2003). Gündüzleri seratonin ve triptofan düzeyi yüksektir. Seratoninden sonra gelişen olaylar gün ışığı süresinin azaldığı ya da olmadığı günlerde (karanlık) gerçekleşir ve gece boyunca melatonin düzeyi yüksek kalır. Esas biyolojik saat olarak da bilinen suprakiazmatik nükleusa uyarı iletimi, sinir uçlarındaki nörotransmitterler sayesinde olmaktadır. Bu sistemdeki nörotransmitterler; uyarının SCN'ye iletilmesi, burada yorumlanması ve etkinin oluşturulması bakımından önem taşımaktadır (Yılmaz, 1999 ve Ohdo, 2007). Karaciğer, böbrek, kalp ve göz gibi periferel dokularda da sirkadiyan osilasyonda

görevli moleküler mekanizmaların bulunduğu bildirilmiştir (Balsalobre ve ark.,2000). Yapılan çalışmalarda karaciğerin, kendi diurnal ritmini gösterebilen bir organ olduğu bildirilmiştir (Turek ve Allada, 2002). Detoksifikasyonda en önemli rolü oynayan karaciğerin kendi diurnal ritmini göstermesi, çoğunlukla bu organda sentezlenen ve ilaçsenobiyotik metabolizmasında önemli olan CYP-450 enzimlerinin de sirkadiyan ritim farklılıkları gösterebileceğini düşündürmektedir (Lemmer, 1996).

Memelilerde CYP-450; ilaç, ksenobiyotikler ve araşidonik asit metabolizmasında, ökanazoit, kolesterol ve safra asidi biyosentezinde, steroid sentezi ve katabolizmasında rol oynamaktadır. CYP-450'ler tarafından katalizlenen en önemli reaksiyon, organik substratın içerisine bir oksijen atomunun ilavesi ve bir oksijen atomunun ise suya indirgenmesi ile yapılan monooksijenaz reaksiyonlarıdır. Sitokrom p450 ailesinden 1-3 (CYP1-CYP3) bütün faz-I reaksiyonlarından sorumludur. CYP4 ailesi genel olarak yağ asitleri ve ilgili lipid metabolizmasından sorumlu, CYP7 ailesi ise safra asidi biyosentezinden, CYP11 ve CYP17 steroid biyosentezinden sorumludur (Nebert ve Russell 2002).

Kronobiyolojik bulgulara göre, bir ilacın etkinliğinin 24 saat boyunca aynı olması beklenmemelidir. İlacın etkisi, reseptör bölgesi ve hedef hücre veya dokunun metabolizmasındaki hız sınırlayıcı özelliklerine göre değişiklik göstermektedir. Bir ilacın etki oluşturabilmesi için öncelikle sirkadiyan ritme bağımlılık gösteren farmakokinetik aşamaları geçerek hedef hücre reseptörüne ulaşması gerekmektedir. Mide pH'sı, mide boşalma süresi, gastrointestinal geçiş süresi, organ kan akımı, karaciğer enzim aktivitesi ve böbrek fonksiyonları sirkadiyan ritme bağlılık göstermektedir. Bu fonksiyonlar ilaçların absorpsiyon, dağılım, metabolizma ve atılımını etkilemektedir. Ayrıca ilaç metabolizmasında ve detoksifikasyonunda önemli olan sitokrom

p450 enzimlerinin bir çoğu araştırılarak sirkadiyan ritiminden etkilendiği bildirilmiştir (Baraldo ve Furlanut, 2006).

Sirkadiyan Ritim ve Sitokrom p450 Kontrolü

Sirkadiyan ritim ve CYP-450 enzimleri arasındaki ilişki, birçok araştırmacı tarafından çalışılmıştır. Nokturnal olan kemirgenlerde bu enzim etkinlikleri ve ekspresyonu, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık uygulamalarında, karanlık dönemde daha fazla bulunmuştur. Çalışmalar CYP-450'ler tarafından metabolize edilen problemlerin ve transkripsiyon faktörlerinin, farklı sirkadiyan yollar tarafından kontrol edildiğini göstermiştir. İlaç dağılım kinetiğinde önemli olan ise mRNA ekspresyonu ve protein içeriğini gösteren çalışmaların sayısı ise daha da azdır (Froy, 2009).

CYP 2A1, immunoreaktif proteini ve buna bağlı testosteron 7 α -hidroksilaz (7 α -TOHase) etkinliği sıçanlarda gündüz en yüksek, gece ise en düşük görülmüştür (Seng ve ark., 1999). CYP2A4, testosteron ve östrojen gibi steroid hormonların 15 α -hidroksilaz enzimatik etkinliğinden sorumludur. CYP2A5, kumarin 7 α -hidroksilaz etkinliğine sahiptir ve CYP2A4 ile %98 yapısal benzerlik gösterir. Bu iki enzim için de en yüksek ekspresyon, fare karaciğerinde albumin D-bölgesine bağlayıcı protein (DBP= albumin D-site-binding-protein) transkripsiyonel faktörleri yolağıyla akşam-gecedir. mRNAlarında olduğu gibi CYP2A4 ve CYP2A5 proteinleri de günlük ritim göstermektedir (Su ve Ding, 2004).

CYP2B1/2'nin ise sıçan karaciğerinde yapılan bir araştırmada, nükleer hormon reseptörlerinden, konstitutif adrostan reseptörü (constitutive androstane receptor- CAR) mRNA'sının günlük osilasyonu ile uyumlu olarak değiştiği gözlenmiştir; bu 1.7 katlık mRNA artışı ise gece daha yüksek bulunmuştur (Kanno ve ark., 2004).

Küçük ve hidrofobik bileşiklerin metabolizmasından sorumlu CYP2E1'in sıçan karaciğerinde mRNA ekspresyonu aktif oldukları karanlık dönemde daha

yüksek bulunmuşken, CYP2E1 protein miktarı ve hidroksilasyon etkinliği ise gündüz daha yüksek bulunmuştur. CYP2E1 tarafından metabolize edilen kloksazolün kinetik değerlendirilmesinde ilacın yarı ömrü gündüz uygulananlarda gece uygulananlara göre daha uzun bulunmuştur (Khemawoot ve ark., 2007).

CYP3A4 insan karaciğer ve ince bağırsağında en yaygın bulunan CYP-450 grubudur ve klinikte kullanılan ilaçların yaklaşık yarısının metabolizmasından sorumludur. Serum şoku uygulanmış insan hepatoma (HepG2) hücreleri ile yapılan bir çalışmada, DBP etkinliğinin gündüz fazla olması nedeniyle gündüzleri CYP3A4 transkripsiyonunun daha fazla görülmüştür. Enzimin gündüz daha etkin olmasını destekleyecek şekilde, CYP3A4 transkripsiyonunun baskılanmasından sorumlu olan E4BP4 ise geceleri daha yüksek bulunmuştur (Takiguchi ve ark., 2007).

Kolesterolden safra tuzu sentezinde hız belirleyici enzim olarak görev yapan CYP7A1 kolesterol, 7 α -hidroksilaz proteinini sentezlemektedir. CYP7A1 mRNA'sı ve transkripsiyon etkinliği DBP'ye bağımlı olarak invitro hepatositlerde gündüz, geceye göre daha düşük bulunmuştur (Berkowitz ve ark., 1995).

Sıçanlarda kolesterol katabolizmasından sorumlu olan bir diğer enzimin (sterol 12 α -hidroksilaz-CYP8B1), ise serum insulin seviyelerinin sirkadiyan ritmine tam ters yanıt vererek gündüzleri en yüksek mRNA düzeyini gösterdiği bildirilmiştir (Yamada ve ark., 2000).

Steroid biyosentezinde görev alan CYP17 (17 α -hidroksilaz) farelerde ve CYP51 (lanesterol 14-demetilaz) sıçanlarda transkripsiyonel düzeyde özellikle geceleri daha yüksek olmakla birlikte ritimsel farklılıklar göstermiştir (Akhtar ve ark., 2002).

Yukarıda belirtilen çalışmalarda CYP-450 mRNA ekspresyonu ya da CYP-450 enzim etkinliği gün içerisinde 10 katı kadar farklılık gösterebilmekte ve bu değişiklikler birçok ilacın sirkadiyan detoksifikasyonunu da etkileyebilmektedir. Ancak

fare hepatik CYP2B10, CYP1A1, CYP1A2 ve fare olfaktorik CYP2A5 gibi bazı CYP-450 kodlayan genler herhangi bir sirkadiyan farklılık göstermemektedir. Bunun yanısıra, karaciğer ve diğer dokular arasında da bu enzimlerin sirkadiyan ritmine ilişkin farklılıklar görülebilmektedir (Froy, 2009).

CYP-450'lerdeki Sirkadiyan Değişikliklerinin Mekanizması

DBP'nin hepatositlerde ve diğer hücrelerde transkripsiyonu Ebox yolu ile CLOCK:BMAL1 heterodimerinin etkinleşmesiyle aktive olur ve PER ve CRYler ile negatif geribildirim yoluyla da baskılanır. Biyolojik saat, DBP, HNF-1 α , C/EBP α / β , ROR α / γ , PPAR α gibi transkripsiyonel faktörlerin sirkadiyan ekspresyonunda rol oynar. Bu transkripsiyonel faktörlerin sirkadiyan uyarımları ise belirli CYP-450 genlerini, sitokrom p450 oksidoredüktaz (POR) ve CAR'ların sirkadiyan ekspresyonlarını etkiler. Sonuç olarak ksenobiyotiklerin, kolesterol ve steroid metabolizması ve yağ asidi metabolizmasında sirkadiyan ritim görülür. DBP'nin belirtilen CYP-450'lerin transkripsiyonlarındaki artışı ise E4 promotör-bağlayıcı protein-4 (E4BP4) ile azalır. Yağ asidi sentezi, depolanması, katabolizmasında rol oynayan bir başka nükleer reseptör PPAR (PPAR α)'lar da DBP gibi CLOCK:BMAL heterodimeri tarafından kontrol edilir. Bu nükleer reseptörler CYP4A ile doğrudan ilişkili olup, sirkadiyan yolaktan renal fonksiyon ve kan basıncını doğrudan etkilemektedir. Lipid, steroid ve ksenobiyotik metabolizmasında önemli rolü olan bir diğer nükleer reseptör ROR α ve ROR γ da sirkadiyan bir yolak izlemektedir. HNF-1 α ise CLOCK:BMAL heterodimer etkinliğini engelleyici şekilde ters etki göstermektedir.

Melatonin, Sirkadiyan Ritim ve CYP-450 İlişkisi

Uyku/Uyanıklık dönemlerinin ve diğer sirkadiyan ritmi ile ilişkilendirilen fizyolojik olaylarda en önemli rol oynayan hormon melatonindir ve hepatik p450 monooksijenazlar tarafından hidroksillenir ve daha sonra sülfat ile konjuge edilerek 6-

sülfatoksimeletonin şekliyle idrardan atılır. CYP1A1, CYP1A2 ve CYP1B1 melatoninin 6-hidroksilasyonunda önemli olan enzimlerdir, O-metilasyonunda ise CYP2C19 ve CYP1A2 rol oynar. Bu enzimler tarafından katalizlenen ilaçların ekzojen melatonin metabolizmasını yavaşlattığı, biyoyararlanımını arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca sigara dumanındaki polisiklik aromatik hidrokarbonların da melatonin hepatik metabolizmasında önemli olan CYP1A2'yi arttırdığı, bu nedenle sigara içenlerin, serum melatonin seviyelerinin içmeyenlere göre daha düşük olduğu bildirilmiştir (Froy, 2009).

Kronokinetik ve CYP bağımlı Kronotoksiste

Kronobiyolojik bulgulara göre, bir ilacın etkinliğinin 24 saat boyunca aynı olması beklenmemelidir. İlacın etkisi, reseptör bölgesi, hedef hücre veya metabolizmasındaki hız sınırlayıcı faktörlere göre değişiklik göstermektedir. Bir ilacın etki oluşturabilmesi için öncelikle sirkadiyan ritimlerine bağımlılık gösteren farmakokinetik aşamaları geçerek hedef hücre reseptörüne ulaşması gerekmektedir (Bruguerolle, 1998). İlaç ve ksenobiyotiklerin farmakotoksikokinetik (emilme, dağılıma, metabolizma ve atılma) özellikleri sirkadiyan ritimden etkilenmektedir. Gastrik pH, gastrik boşalma zamanı, ince bağırsak motilitesi, membran mikroviskozitesi, karaciğer ve renal kan akımları, safra miktarı gibi kinetik özellikleri belirleyen faktörler de doğrudan sirkadiyan ritimden etkilenmektedir (Lemmer, 1999; Ohdo, 2007).

Bazı ilaçlar için de ilaçların kronofarmakokinetik özellikleri, ilacı metabolize eden sitokrom p450'nin sirkadiyan ritim özelliklerine uymayabilir. Buna örnek olarak gece ve gündüz verilmesini takiben kronokinetik özelliklerinde bir farklılık görülmeyen sirkadiyan ritim gösterdiği bilinen CYP3A4 tarafından metabolize edilen kalsinörin inhibitörü takrolimus ve 5-fluorourasil gibi ilaçlar verilebilir.

CYP2E1 tarafından metabolize edilen asetaminofen kinetiği farelerde sirkadiyan ritim

göstermiş, en yüksek mortalite ve hepatotoksisite hayvanın aktif olduğu karanlık dönemde görülmüştür (Matsunaga ve ark. 2004). İlaçlarda olduğu gibi karbon tetraklorür (CCl₄) de farelerde karanlık dönemde en yüksek toksik etkiyi göstermiştir. CYP2E1 etkinliğini bastıran dialil sülfid ile ön tedavi uygulanan hayvanlarda ise zehirlenmedeki sirkadiyan ritmin ortadan kalktığı görülmüştür (Bruckner ve ark., 2002).

Pestisitler ve ilgili metabolitlerinin CYP-450'lere bağımlı kronotoksitesinin araştırıldığı bir çalışmada ise *Drosophila*'larda propoksür ve fipronil akut zehirlenmelerinde hayatta kalma oranının gün ortasında daha yüksek olduğu, deltametrin ve malatಿಯonda ise gün içerisinde belirgin bir farklılık görülmediği bildirilmiştir (Hooven LA ve ark. 2009).

SONUÇ

Biyolojik saat, CYP-450 enzimlerinin ekspresyonunu DBP, ROR, PPAR, HNF-1 α gibi nükleer reseptör yolakları ile etkilemektedir. Bunun yanı sıra CYP-450 enzimleri de sirkadiyan ritmi glukokortikoid ve NADPH üzerinden etkileyebilmektedir. Melatonin de sirkadiyan ritme ve metabolize olduğu çeşitli CYP-450'lere uyumluluk göstererek negatif geri bildirim yapmaktadır. İlaçların farmakolojik ve terapötik etkinliğinin artırılabilmesi, ilaç ve ksenobiyotiklerde yan etki ve zehirlenmelerin en aza indirilebilmesi amacıyla sirkadiyan ritmin dikkatle çalışılması ve anlaşılması gerekmektedir.

Kronofarmakokinetikte önemli yer alan kronogenetik alanı olarak da tanımlayabileceğimiz ksenobiyotik metabolizmasından sorumlu CYP-450'lerin sirkadiyan ritmindeki değişikliklerin en önemli ritim verici (zeitgeber) olan aydınlık-karanlık siklusu dışında beslenme, ısı gibi ekzojen faktörlerin yanında hormonal regülasyonlar gibi endojen kaynaklı faktörlerden de ileri gelebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Klinik anlamda optimum tedavi koşullarının sağlanması, ilaç-kimyasal madde uygulamalarında kronoterapötik yaklaşımın yanında

labaratuvar çalışanlarının da deney sonuçlarını değerlendirirken kronotoksikolojik bakış açısına sahip olması doğru değerlendirme yapabilmek için önemlidir. Biyolojik saat ve CYP-450 enzim ilişkisini değerlendiren daha detaylı çalışmaların yapılması, konu ile ilgili yorumların güvenilirliği için kaçınılmazdır.

KAYNAKLAR

- Akhtar RA., Reddy AB., Maywood ES., Clayton JD., King VM., Smith AG., Gant TW., Hastings MH., Kyriacou CP., 2002. Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by cDNA microarray, is driven by the suprachiasmatic nucleus. *Curr. Biol.*, 12, 540-550.
- Albrecht U., Eichele G., 2003. The mammalian circadian clock. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 13, 271-277.
- Balsalobre A., Brown SA., Marcacci L., Tronche F., Kellendonk C., Reicha HM., Schutz G., Schibler U., 2000. Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science*, 289, 2344-2347.
- Baraldo M., Furlanut M., 2006. Chronopharmacokinetics of ciclosporin and tacrolimus. *Clin. Pharmacokin.*, 45, 775-788.
- Berkowitz CM., Shen CS., Bilir BM., Guibert E., Gumucio JJ., 1995. Different hepatocytes express the cholesterol 7 α -hydroxylase gene during its circadian modulation in vivo. *Hepatology*, 21, 1658-1667.
- Bruckner JV., Ramanathan R., Lee KM., Muralidhara S., 2002. Mechanisms of circadian rhythmicity of carbon tetrachloride hepatotoxicity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 300, 273-281.
- Bruguerolle B., 1998. Chronopharmacokinetics: current status. *Clin. Pharmacokin.*, 35, 83-94.
- Froy O., 2009. Cytochrome 450 and the biological clock in mammals. *Curr. Drug Metabol.*, 10, 104-115.
- Hooven LA., Sherman KA., Butcher S., Giebultowicz JM., 2009. Does clock make the poison? Circadian variation in response to pesticides. *Plos. One.*, 4, 1-8.

- Kanno Y., Otsuka S., Hiromasa T., Nakahama T., Unouye Y., 2004. Diurnal difference in CAR mRNA expression. *Nucl. Recept.*, 2, 6.
- Khemawoot P., Nishino K., Ishizaki J., Yokogawa K., Miyamoto K., 2007. Circadian rhythm of cytochrome P450E1 and its effect on disposition kinetics of chlorzoxazone in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 574, 71-76.
- Lemmer B., 1996. The clinical relevance of chronopharmacology in therapeutics. *Pharmacol. Res.*, 33, 107-115.
- Lemmer B. 1999. Chronopharmacokinetics: Implications for drug treatment. *J. Pharm. Pharmacol.*, 51, 887-890.
- Matsunaga N., Nakamura N., Yoneda N., Qin T., Terazono H., To H., Higuchi S., Ohdo S., 2004. Influence of feeding schedule on 24-h rhythm of hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 311, 594-600.
- Nebert DW., Russell DW., 2002. Clinical importance of the cytochromes P450. *Lancet*, 360, 1155-1162.
- Ohdo S., 2007. Chronopharmacology focused on biological clock. *Drug Metab.*, 22, 3-14.
- Seng JE., Gandy J., Turturro A., Lipman R., Bronson RT., Parkinson A., Johnson W., Hart RW., Leakey JE., 1996. Effects of caloric restriction on expression of testicular cytochrome P450 enzymes associated with the metabolic activation of carcinogens. *Arch. Biochem. Biophys.*, 335, 42-52.
- Su T., Ding X., 2004. Regulation of cytochrome p450 2A genes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 199, 285-294.
- Tagiguchi T., Tomita M., Matsunaga N., Nakagawa H., Koyanagi S., Ohdo S., 2007. Molecular basis for rhythmic expression of CYP3A4 in serum-shocked HepG2 cells. *Pharmacogenet. Genomics.*, 17, 1047-1056.
- Turek FW., Allada R., 2002. Liver has rhythm. *Hepatology*, 35, 743-745.
- Yamada M., Nagatomo J., Setoguchi Y., Kuroki N., Higashi S., Setoguchi T., 2000. Circadian rhythms of sterol 12 α -hydroxylase, cholesterol 7 α -hydroxylase and DBP involved in rat cholesterol catabolism. *Biol. Chem.*, 38, 1149-1153.
- Yılmaz B., 1999. Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. 1.Baskı., Feryal Matbaacılık, Ankara.



Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması ve *Weissella* Türlerinin Gıda Mikrobiyolojisinde Önemi

Gamze Nuray YÖRÜK^{1✉}, Ahmet GÜNER²

1. Kocaeli Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Şefliği, Kocaeli.
2. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Konya.

Özet: Bakterilerin taksonomisi ve bilimsel adlandırılmasında yıllardan beri gerçekleşen sürekli değişimlere karşın son 20-30 yıldaki değişimler dikkat çekicidir. LAB'nin taksonomisi de sürekli değişken olmasına rağmen başlıca soylar; *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* olarak tanımlanmaktadır. 1990'lı yıllarda *Leuconostoc paramesenteroides* ve bazı *Lactobacillus* türleri *Weissella* cinsine dahil edilmiş ve günümüze kadar 13 tür belirlenmiştir. LAB'ın ya da laktiklerin ortak özellikleri, laktozdan laktik asit fermentasyonu sonucunda laktik asit oluşturmalarıdır. Laktik fermentasyonla, besinlerde hem organoleptik özellikler denilen tat, koku gibi duyuşal özelliklerin oluşumunu sağlamak, hem de fermentasyonu sağlamaktır. Starter kültür kullanımıyla biyojen aminlerin oluşumu ve istenilmeyen mikroorganizmaların gelişimleri engellenerek, daha sağlıklı, kaliteli ve standart bir ürün elde edilmektedir. LAB "güvenli bakteriler" olarak kabul edilirler ve koruyucu kültürlerin özelliklerini taşırlar. LAB antagonizması, diğer mikroorganizmalarla besin öğeleri için yarışarak ya da organik asitler (asetik, propiyonik asit) veya laktik asit üretimiyle gıdanın asitlenmesiyle bozulmaya neden olacak mikroorganizmaların büyümesi engellenmekte, hatta öldürebilmektedirler.

Anahtar kelimeler: Laktik Asit Bakterileri, Sınıflandırma, *Weissella* Türleri.

Taxonomy of Lactic Acid Bacteria and Importance of *Weissella* Species in Food Microbiology

Abstract: Despite continuous changes for years in taxonomy and nomenclature of bacteria, there are noteworthy changes occurred in the last 20-30 years. Although continuous changes has also been occurred in the LAB taxonomy, mainly genus are *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tet.ragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella*. In 1990. some *Lactobacillus* spp. and *Leuconostoc paramesenteroides* has been included in *Weissella* genus. 13 species has been identified until today. LAB's or chemical compositions (lactics) the common features of lactic acid fermentation of lactose as a result of the formation of lactic acid. Lactic fermentation, the so-called organoleptic characteristics of foods and taste, odor, such as to ensure the formation of sensory features, as well as to provide the fermentation. Development of undesirable microorganisms in the use of starter cultures and by preventing the formation of biogenic amines, more healthy, high quality and standard of a product are obtained. LAB "safe bacteria" are considered to carry the properties and protective cultures. LAB antagonism, by competing for nutrients with other microorganisms or organic acids (acetic, propionic acid) or lactic acid production prevented the growth of microorganisms that can cause deterioration of food chemical acidics, or even kills.

Key words: Lactic Acid Bacteria, Taxonomy, *Weissella* Species.

✉ Gamze Nuray YÖRÜK

Kocaeli Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Mikrobiyoloji Şefliği, Kocaeli, e-posta: ngamzeyoruk@hotmail.com

GİRİŞ

Laktik asit bakterilerinde (LAB) soy ve türler oldukça çeşitlidir ve süt, bitki, etler, tahıllar ve vertebralıların gastrointestinal sistemi olmak üzere çok geniş bir yayılım alanına sahiptirler (Pfeiler ve Klaenhammer, 2007). Hayvanlarda ve insanlarda, özellikle gençlerde, sindirim sisteminde önemli bir rol oynamaktadırlar (Stiles ve Holzapfel, 1997).

LAB endüstriyel olarak önem arz eden başlıca bakterilerdir ve gıda üretimi, sağlığı düzenleme, makromoleküllerin, enzim ve metabolitlerin üretiminde kullanılır (Pfeiler ve Klaenhammer, 2007). LAB, et ve balık ürünleri (örn., sucuk), süt ürünleri (örn., yoğurt, kefir), tahıl ürünleri (örn., ekmek, boza), şarap ve sebzeler (örn., lahana ve salatalık turşusu) gibi pek çok gıdada doğal veya starter kültür olarak ilave edilerek, gıdaların olgunlaştırılması, üretimi, dayanıklılığının artırılmasında önemli rol oynarlar (Tangüler ve Erten, 2006). Ayrıca bozulmuş pişirilmiş etlerden sıklıkla, *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus curvatus* ve *Leuconostoc mesenteroides*, depolanmış et ürünlerinden ise *Lactobacillus* spp, *Brochotrix thermospacta*, *Leuconostoc* spp, *Weissella viridescens*, *Carnobacterium divergens*, *Enterobacteriaceae*, *Aeromonas*, *Shewanella putrefaciens* ve çok az olarak da mayalar tespit edilmiştir (Hu ve ark., 2009).

Yıllardan beri bakterilerin taksonomisi ve bilimsel adlandırılmasında sürekli değişimler olmasına karşın son 20-30 yıldaki değişimler dikkat çekicidir (Stiles ve Holzapfel, 1997; Gobbetti ve ark., 2005). LAB'nin taksonomisi de sürekli değişken olmasına rağmen başlıca soylar; *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* olarak tanımlanmaktadır (Adams ve Nicolaidis, 1997). Bunlar içinde *Weissella* soyu son yıllarda, gıda mikrobiyolojisi açısından önemli bir yere sahip olmuştur (Stiles ve Holzapfel, 1997).

LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN TANIMI

Yüzyıl önce LAB yalnızca sütte ekşime yapan bakteriler olarak değil aynı zamanda diğer ortamlarda da (örn., tahılların fermentasyonu) bulunduğu bilinirdi (Ehrmann ve Vogel, 2005). 1900'lü yıllarda ortaya konulan LAB terimi, filogenetik bir sınıfa yansıtılmaz fakat nadiren bu türlerin metabolik özelliklerini gösterir (Pfeiler ve Klaenhammer, 2007). LAB'ın ilk sınıflandırmasını Orla-Jensen 1919 yılında morfolojisi, ekolojisi ve özellikle optimal üreme sıcaklıkları olmak üzere başlıca fizyolojik özelliklerine dayanarak bir klasifikasyon şeması oluşturmuştur. LAB *Thermobacterium*, *Streptobacterium* ve *Beta-bacterium* olmak üzere üç taksonomiye ayrılmıştır (Ehrmann ve Vogel, 2005).

LAB'ın veya laktiklerin ortak özelliği, laktozdan laktik asit fermentasyonu sonucu laktik asit oluşturmalarıdır. Laktik fermentasyonla, besinlerde hem organoleptik özelliklerin (örn., tat, koku) oluşumu hem de fermentasyon sağlanmaktadır (Salminen ve Wright, 1993; Tekinşen ve Atasever, 1994). Bu bakterilerin düşük GC içeriklerine sahip olduğu ve 1.8Mb (*Oenococcus oeni*) ve 3.3Mb (*Lactobacillus plantarum*) arasında değiştiği bilinmektedir (Pfeiler ve Klaenhammer, 2007).

LAB; oldukça fazla soy ve türe sahip çubuk, kok ve kokobasil şekilde, Gr(+), hareketsiz, spor şekillerini oluşturmayan, sitokrama sahip olmayan, katalaz (-), mikroaerofilik veya anaerobik, aside dayanıklı, kuvvetli fermantatif olup, nitratları indirgemeyen, büyüme ve gelişimleri için glikoz ve amonyum yanında bazı vitamin ve aminoasitlere ihtiyaç duyan mikroorganizmalardır (Holzapfel ve ark., 2007).

Laktik Asit Bakterilerinin Besinlerde Bulunması

LAB, fermente et, süt, sebze, meyve ve tahıl ürünlerinin üretim ve olgunlaştırılmasında önemli rol oynamaları nedeni ile gıda teknolojisinde büyük önem taşımaktadır (Tekinşen ve Atasever, 1994;

Anonim, 2006). Fakat bazı üyeleri ağız, bağırsak ve vaginada da doğal olarak bulunmaktadır. Çeşitli gıdaların LAB temel alınarak muhafazası, en eski gıda muhafaza metotlarından birisi olarak kabul edilmektedir. Günümüzde de tüketicilerin doğal ve katkısız ürünlere gösterdikleri talep artışı dolayısıyla, LAB potansiyel gıda koruyucusu olarak önemini halen sürdürmektedir (Çon ve Gökalp, 2000). LAB “güvenli bakteriler” olarak kabul edilirler ve koruyucu kültürlerin özelliklerini taşırlar. Gıdalarda sadece gıda kaynaklı patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmaları inhibe etmek ve/veya raf ömrünü uzatmak için kullanılan ve gıdanın duyuşal özelliklerinde değişime sebep olmayan antagonistik kültürlerle “koruyucu kültürler” denir (Lee, 2000).

Süt ve ürünlerinde asit oluşumu (*S. lactis*, *S. faecium*, *S. thermophilus* veya *L. bulgaricus*) ve/veya aroma ve lezzet oluşumunda (*Lb. cremoris*, *Lb. dextranicum* veya *S. lactis* subsp. *diacetylactis*) LAB’ın tek veya karışık suşlarından faydalanılmaktadır. Karışımlarda genellikle bir veya iki soy hakim durumdadır (Tekinşen ve Atasever, 1994).

Fermente et ürünlerinde olgunlaşma süresini kısaltmak ve kontrol altına almak, dayanıklılık süresini uzatmak, ürüne renk, aroma ve lezzet kazandırmak amacıyla tek ya da kombine olarak kullanılan yararlı mikroorganizmalardır. Ayrıca buldukları gıdalarda biyojen aminlerin oluşumu ve istenilmeyen mikroorganizmaların gelişimleri engellenerek, daha sağlıklı, kaliteli ve standart bir ürün elde edilmektedir (Salminen ve Wright, 1993; Çon ve Gökalp, 2000; Anonim, 2006). Fermente çiğ sucuklarda starter olarak, LAB (laktobasiller ve pediokoklar), mikrokoklar (Stafilokok ve Mikrokoklar), maya ve küflerin bazı türleri kullanılmaktadır (Anonim, 2006).

Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılmasının Tarihsel Gelişimi

Bakterilerin bir sınıfında birçok türün genomlarının dizilişi; onların değişimi ve o sınıftan uzaklaşmasının belirlenmesinde önem arz eder. *Archaea* ve *Proto-*

bacteria’da gözlemlendiği gibi genom azalması, LAB’ın değişimi sırasında sürekli bir eğilimdir. *Lactobacillales*’in tarihteki ataları olan *Bacilli*’den uzaklaşması, çoğu enzimlerinin biyosentezini gerçekleştiren 600-1200 gen kaybolması ile gerçekleşmiştir. Çok dikkat çeken gen kayıpları, patojenik *Streptococcus* türlerinden başlıca antibiyotik rezistans ve adhezyon özellikleri gibi patojenik genlerini kaybeden *Streptococcus thermophilus*’da gerçekleşmiştir. Bunun yanı sıra LAB besin ortamınca zengin ortamlara ve geniş bir alana adaptasyonu sırasında bazı genleri de kazanmıştır. Amino asit transferinde bulunan genler ve peptidaz, bu türlerin protein zengin ortamlara adapte olmaları için ikiye katlanmıştır. Nitekim *S. thermophilus*’un sütte oldukça az bulunan methionini sentezlemesi için *L. bulgaricus* tarafından sentezlenen gen örnek olarak verilebilir (Pfeiler ve Klaenhammer, 2007).

LAB’ın bir grup olarak ilk tanımlanması, koliform bakterilerle birlikte laktiklerin sütü fermente ve koagüle etme özellikleri üzerine yapılmıştır. 1901 yılında *Lactobacillus* mikroorganizmalarının gram pozitif olarak tanımlanması ile koliform bakteriler LAB grubundan ayrılmıştır. 1919 yılında Orla-Jensen, LAB’ı gram pozitif, hareketsiz, spor oluşturmayan, kok, kokobasil, karbonhidratları ve yüksek alkollerini başlıca laktik asit oluşturarak fermente eden bir grup olarak tanımlamış ve 7 tane soy ileri sürmüştür (Tablo 1) (Stiles ve Holzapfel, 1997). Orla-Jensen’in LAB üzerine olan makaleleri streptokokların süt ve süt ürünlerindeki önemi üzerine olmuştur. Streptokokların ilk sistematik klasifikasyonu Sherman tarafından 1937 yılında yapılmıştır. Mutlak anaeroblar ve pneumokoklar bu sınıflandırmadan çıkarılmış ve geri kalan fakültatif anaerob streptokoklar dört gruba (Piyojenik, Viridans, Laktik, *Enterococcus*) bölünmüştür (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Bakterilerin klasik taksonomisi; morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik özellikleri üzerine dayanmıştır. Bu daha sonra hücre duvarı kompozisyonu, hücre yağ asitleri, aromatik bileşiklerden elde edilen

quinone ve isoprene gibi organik bileşiklerin varlığına bakılarak genişletilmiştir (Stiles ve Holzapfel, 1997). Günümüzde bakterilerin taksonomisindeki büyük değişiklikler, önemli düzeyde bakteri DNA'sındaki nükleotit oranları (G+C içeriği) ile belirlenmektedir. G+C içeriği kesin olmamasına (%50'den daha az) rağmen, geniş dizimli cinslerin alt dallarına ayrılmasında iyi bir göstergedir (Stackebrand ve Teuber 1988). Ayrıca izole edilen genlerinin elektroforetik özellikleri, DNA: DNA hibridizasyonu ve RNA'nın yapısı ve sıralanması gibi moleküler özellikler taksonomide kullanılan başlıca çok önemli tekniklerdir. Bunlar LAB'ın taksonomisinde çok önemli değişikliklerin yapılmasına neden olmuştur (Stiles ve Holzapfel, 1997). Çünkü LAB'da önce yapılan sınıflandırmanın temeli fizyolojik, morfolojik ve biyokimyasal özelliklerin (örn., farklı sıcaklık, pH değeri ve tuz konsantrasyonlarında

gelişim ve karbonhidrat katabolizması) incelenmesini içeren fenotipik özelliklere dayanmaktaydı (Stiles ve Holzapfel, 1997; Gobbetti ve ark., 2005). Bundan dolayı, günümüzde yeni ortaya koyulan farklı soylar bilinmiyordu ve mikrobiyologlar LAB'dan veya laktiklerden bahsettiklerinde *Lactobacillus*, *Lactococcus* (*Streptococcus*), *Leuconostoc* ve *Pediococcus*'lar anlaşılmaktaydı.

Son yıllarda genetik çalışmalar sonucu ortaya çıkan sınıflandırmada gıdalarda önem arz eden başlıca LAB soyları: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella*'dır. Yeni oluşturulmuş LAB soyları *Carnobacterium*, *Weissella*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Atopobium* ve *Albiococcus*'dur (Stiles ve Holzapfel, 1997; Endo ve Okada, 2005; Tangüler ve Erten, 2006).

Tablo 1. LAB ve sınıflandırması

Table 1. LAB and taxonomy

Tür	Şekil	Katalaz	Nitrit indirgemesi	Fermentasyon	Cinsler
Betabacterium	Çubuk	-		Heterofermantatif	<i>Lactobacillus</i> <i>Weissella</i>
Thermobacterium	Çubuk	-		Homofermantatif	<i>Lactobacillus</i>
Streptobacterium	Çubuk	-		Homofermantatif	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
Streptococcus	Kok			Homofermantatif	<i>Streptococcus</i> <i>Enterococcus</i> <i>Lactococcus</i> <i>Vagococcus</i> <i>Leuconostoc</i>
Betacoccus	Kok			Heterofermantatif	<i>Oenococcus</i> <i>Weissella</i>
Microbacterium	Çubuk	+	+	Homofermantatif	<i>Brochotrix</i>
Tetracoccus	Kok	+ ^a	+	Homofermantatif	<i>Pediococcus</i> <i>Tetragenococcus</i>

a: Genelde pediokoklar katalaz negatiftir, fakat bazı türler yanlış pozitif sonuçlara yol açan pseudokatalaz üretirler

Streptococci

Gr(+), küresel veya oval, genellikle hareketsiz ve fakültatif anaerobik, bazen gelişimleri için karbondioksit ihtiyacı duyan, bazen de anaerobik ortamda gelişebilen ve katalaz (-) mikroorganizmalardır. Optimum üreme sıcaklıkları 37°C'dir (Yaygın

ve Kılıç, 1993). *Streptococcus* soyu morfolojik, serolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre *S. pneumonia*, *S. pyogenes*, ve *S. agalactia* gibi patojen mikroorganizmaları, *S. faecalis*, *S. faecium* gibi intestinal bakterileri ve *S. cremoris* ve *S. lactis*

gibi starter bakterileri içermektedir. 16S rRNA üzerine yapılan gen dizinlerinin tespit edilmesi ile streptokoklar genetik olarak farklı üç gruba ayrılmıştır. Bunlar, *S. sensu stricto*, *Enterococcus* ve *Lactococcus*'dur. *Streptococcus* soyu içerisinde kalan türler patojenik ve oral streptokokları içermektedir. *S. thermophilus* yoğurt ve peynir yapımında starter kültür olarak kullanıldığı için bu soyda diğerlerinden hariç tutulabilir. *S. thermophilus*'un taksonomisi hala tartışmalı olmakla birlikte gıdalarda starter kültür olarak kullanılmaktadır (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Lactococci

Lactococcus'un zaman zaman düz uzun zincir görünüşü (kokobasil) bazı laktokokların laktobasil olarak yanlış yorumlanmasına yol açabilmektedir. 1985 yılında Lanfield grup N laktik streptokokların önemli bir kısmı *Lactococcus* soyuna devredilmiştir. Bu çalışmanın sonucuna göre *Lb. xylosus*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* olarak ve *Lb. hordniae* ise *Lc. lactis* subsp. *hordniae* şeklinde yeniden sınıflandırılmıştır. *Lactococcus* soyu oldukça fazla ve çok yaygın bilinmeyen türler içermektedir: Sığır mastitisinde rol oynayan *Lc. garvieae*, somon balıklarında bulunan *Lc. piscium*, dondurulmuş bezelyede *Lc. plantarum* ve çiğ sütte *Lc. raffinolactis* ve *Lc. lactis*'in alt türleri ekonomik öneme sahiptirler. Sitratı kullanarak diasetil üreten *S. diacetylactis*, *Lc. lactis* subsp. *diacetylactis* olarak sınıflandırılmıştır. Sitrat kullanımı bu bakterilerde stabil bir durum olmadığı için bu bakteri, fermente süt ürünlerinde çok yaygın bir kullanımı olan *Lc. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris*'in bir varyetesi olarak klasifiye edilmiştir. *Lactococcus lactis*'in varyeteleri lantibiotic, nisin gibi önemli bakteriosinleri üretirler (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Enterococcus

10–45°C sıcaklık aralığında, pH 9,6'da, %6,5 NaCl'de üreyebilirler. Katalaz (-) özellik yansımalarına rağmen bazı türleri yalancı katalaz aktivitesi verebilir (Doming ve ark., 2003). Fakültatif anaerob bakteri-

lerdir. *Enterococcus* soyu ilk defa 1899 yılında Thiercelin tarafından, intestinal orjinli olduğu için, enterokok olarak tanımlanmıştır. Andrewes ve Horder 1906 yılında endokarditisli bir hastadan izole edilen bu bakteri için *S. faecalis* adını kullanmıştır. Klina 1970 yılında *S. faecalis* ve *S. faecium* için *Enterococcus* soyunu önermişse de, bu 1984 yılında Scheilfer ve Kilpper-Balz tarafından yapılan öneriye kadar kabul görmemiştir (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Enterococci, özellikle de *E. faecalis* endokarditis, üriner sistem ve hastane enfeksiyonlarında yer almasına rağmen *E. faecium* enterokokal enfeksiyonların yalnızca %20'sinde, her ikisi de abdomen ve pelvisin miks enfeksiyonlarından bildirilmiştir. Enterokokların gıda ve halk sağlığı mikrobiyologları tarafından kabul edilen önemleri; gıda güvenliği açısından indikatör olarak kullanılmaları ve muhtemel gıda kaynaklı hastalıklarda yer almasından kaynaklanmaktadır. Enterokoklar aynı zamanda bazı gıdalarda starter kültür olarak kullanılırlar. Ticari probiyotik olarak kullanılmaları da mevcuttur. *E. faecium* Kuzey Avrupa'da üretilen bazı peynirlerin fermentasyonu ile ilişkilidir. Son tanımlanan bazı *Enterococcus* soyları (örn., *E. durans* ve *E. Flavescens*) klinik orijinlidir. Dolayısıyla halk sağlığı ve gıda mikrobiyologları gıdalardaki enterokokların varlığını yorumlarken azami dikkat sarf etmeleri gerekmektedir (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Carnobacterium

Bu soy 1987 yılında Collins ve ark. tarafından önerilmiştir. Thorney, soğukta muhafaza edilen kanatlı etlerinde Gram (+), Katalaz (-), spor oluşturmeyen bakterileri tespit etmiştir. Benzer grup bakteriler vakum paketlenmiş soğuk depodaki etlerden tespit edilmiş ve asit oluşturmeyen laktobasiller olarak tanımlanmıştır. Asit oluşturmeyen bu bakterilerin iki grubu *Lb. divergens* ve *Lb. carnis* yeni tür olarak önerilmiştir.

Yapılan filogenetik çalışmalarda *Carnobacterium* soyu önerilmiştir. *Carnobacteria* laktobasillerle birlikte izole edilse de filogenetik

olarak *Enterococcus* ve *Vagococcus*'a daha yakın olarak bulunmuştur. *Carnobacteria*'nın kırmızı et, kanatlı eti ve balık eti dışında diğer gıdalarda nadir de olsa varlığı bildirilmiştir. *C. piscicola* ve *C. Divergens*'in küfle olgunlaştırılan peynirlerde dominant mikroflora olduğu saptanmıştır (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Tetragenococcus

Pediococcus halophilus %18 tuz konsantrasyonunda üreyebilen bir bakteridir. *Pediococcus* soyunun 16S rRNA ile yapılan filogenetik çalışmaları sonucunda, *P. halophilus* diğer pediokoklardan ayrılarak yeni bir soy olan *Tetragenococcus* soyunda kullanılmıştır. Bu soy laktobasillerden çok *Enterococcus* ve *Carnobacterium*'a yakın bulunmuştur (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Vagococcus

Tavuk dışkısından ve nehir suyundan izole edilen hareketli grup N streptokoklar *Vagococcus fluvialis* olarak isimlendirilmiştir. *V. salmoninarum* adlı yeni bir tür hasta somon balıklarından izole edilmiştir. 16S rRNA ile yapılan filogenetik çalışmalar sonucu, hareketli grup N streptokokların *Streptococcus* ve *Lactococcus*'dan daha çok *Enterococcus*, *Carnobacteria* ve *Listeria*'ya daha yakın olduğu ortaya konmuştur (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Lactobacillus, Leuconostoc ve Pediococcus Soyları

Geçmişte bu üç soy birbirinden uzak soylar olarak bilinirdi. 16S rRNA ile yapılan çalışmalar sonucunda yapılan başlıca gruplandırma; 1-*Lb. delbrueckii* grup, başlıca homofermentatif laktobasilleri içermektedir. 2-*Lb. casei*-*Pediococcus* grup, fakültatif ve obligat heterofermentatif bakterilerin yanı sıra obligat homofermentatif bakterileri de içermektedir. 3-*Leuconostoc* grup, bazı obligat heterofermentatifleri içerir ve son olarak *Leuconostoc*, *Oenococcus* ve *Weissella* olmak üzere üç soya bölünmüştür (Stiles ve Holzapfel 1997).

Lactobacillus

Lactobacillus soyundaki mikroorganizmalar basil şeklinde, Gr(+), spor oluşturmeyen ve katalaz(-) bakterilerdir. Bu soydaki bakteriler 2-53°C'de (optimum 30-40°C) gelişmektedirler, hafif asidik ortamda hızlı çoğalarak *Streptococcus*'lardan daha çok asit oluştururlar (Kıran, 2006). %1-3 oranında laktik asit oluşturarak pH'yı 3.2-3.5'e kadar düşürmektedirler. Proteolitik aktiviteleri de yüksektir (Tekinşen ve Atasever, 1994; Ünlütürk ve Turantaş, 1999). Oksijeni kullanma özelliğine göre mikroaerofilik ya da anaerob olup %5 CO₂'li ortamda gelişme gösterebilirler. Genellikle katalaz ve oksidaz negatif olarak bilinmektedirler (Hammes ve Vogel, 1995). *Lactobacillus* türleri, bitki, toprak, süt ürünleri ve bağırsak florasında bulunur. Fermente et, süt ve sebze ürünlerinin üretiminde rol oynamaktadırlar (Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

Günümüze kadar laktobasillerin klasik divizyonunda fermentatif özellikleri dikkate alınarak; obligat homofermentatifler, fakültatif heterofermentatifler ve obligat heterofermentatifler olmak üzere bir bölünme yapılmıştır. Grup 1 ve 2'deki bakterilerin çoğu ile grup 3'deki bazı bakterilerin fermente gıdalarda kullanılmış, fakat grup 3 genelde gıda bozulmaları ile ilişkilendirilmiştir (Tablo 2) (Stiles ve Holzapfel, 1997).

1986 yılında yayınlanan Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'de düzenli spor oluşturmeyen 7 soydan 4'ü gıda mikrobiyolojisi için önemli olarak gösterilmiş ve besin fermentasyonunda *Lactobacillus*'lar, besin bozulmalarında *Brochothrix* ve *Lactobacillus*, besin kaynaklı enfeksiyonlarda *Erysipelothrix* ve *Listeria* bildirilmiştir. 1980'li yıllardan sonra gerçekleştirilen filogenetik çalışmalarda *Lactobacillus* soyunda önemli değişiklikler gerçekleştirilmiştir. Buna göre; laktobasiller tam fermentatif (homo ve hetero) ve kompleks besin ortamlarına ihtiyaç duyarlar. Oldukça farklı çevrelerde ürer ve bulunur. Asidurik ve asidofilik özellik gösterirler. Fermentatif karbonhidratların bulunduğu gıdalarda

pH'yı 4 düzeylerine kadar düşürebilirler. pH 7.2'ye kadar üreyebilirler. Laktobasiller, değişik çeşitte peynirler, fermente bitkisel ürünler, fermente etler, şarap ve bira üretimi, ekşi hamur ve silajda starter kültür olarak kullanılırlar (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Obligat homofermentatif olan grup 1'de *Lb. acidophilus*, *Lb. delbrueckii* ve *Lb. helveticus*'un yanı sıra *Lb. farciminis* ve *Lb. kefiranofaciens* bulunmaktadır. *Lb. delbrueckii*, 1983 yılında *Lb. delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* olarak yeniden klasifiye edilmiştir. *Lb. acidophilus* ilk defa 1990 yılında dışkıdan izole edilerek bu isim verilmiştir. Asidofiluslu süt üretiminde kullanılır. Probiyotik bakterileri temsil eden önemli bir bakteri olarak bilinir. *Lb. acidophilus* BG'F04 1982 yılında *Lb. johnsonii* olarak tanımlanmıştır. Bu suş sağlık etkilerinden faydalanmak üzere yeni tip yoğurt üretiminde kullanılmaktadır. *Lb. helveticus*'un *Lb. acidophilus*'a daha yakın *Lb. delbrueckii*'den daha uzak olduğu düşünülmektedir. İsviçre-İtalyan tipi peynirlerin üretiminde kullanılır (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Fakültatif heterofermentatif olan grup II'de gıda ile ilişkili başlıca soylar *Lb. casei* ve *Lb.*

plantarum'dur. *Lb. casei*, süt ürünleri, silaj, insan ağız ve bağırsaklarında bulunur. Ekşi hamur ve salamurada fermente edilen peynirlerde ve bazı gıdalarda sitratı CO₂'e fermente ederek bozulmalara sebep olur. *Lb. plantarum*, bazı fermente sosisler ve tahıl ürünlerinde starter olarak kullanılır. Grup ikide yer alan diğer alt grup laktobasiller başlıca *Lb. curvatus* ve *Lb. sake*'dir. Bu bakteriler modifiye atmosfer ve vakum paketlenmiş soğuk muhafaza edilen et ve et ürünlerinin başlıca florasını oluşturur. Vakum paketlenmiş Frankfurter, Vienna vb. sosislerin bozulmasında rol oynayan dominant bakteri olarak *Lb. curvatus* tespit edilmiştir. Ayrıca fermente et ürünlerinde kullanılan önemli starterlerdendir (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Grup 3 obligat heterofermentatif bakterileri içerir. Hekzosları laktik asit, asetik asit ve/veya etanol ve CO₂'e fermente eden bakteriler yer alır. Glikozdan gaz oluşturması bu bakterilerin en önemli özellikleridir. *Lb. sanfrancisco* ekşi hamurda kullanıldığı zaman maltozu laktik ve asetik asidin yanı sıra değişik lezzet bileşiklerine parçalar. *Lb. brevis* ve *Lb. fermentum*'un ekşi hamurdan, *Lb. kefir* kefir granüllerinden izole edilen başlıca bakterilerdir (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Tablo 2. *Lactobacillus* türlerinin fenotipik karakterlerine göre sınıflandırılması

Table 2. Taxonomy of *Lactobacillus* spp according to the phenotypic characteristics

Grup 1	Grup 2	Grup 3
Obligat homofermentatif	Fakültatif heterofermentatif	Obligat heterofermentatif
<i>Lb. acidophilus</i>	<i>Lb. acetotolerans</i>	<i>Lb. brevis</i>
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp <i>bulgaricus</i>	<i>Lb. alimnetarius</i>	<i>Lb. buchnerii</i>
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp <i>delbrueckii</i>	<i>Lb. bifementas</i>	<i>Lb. fermentum</i>
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp <i>lactis</i>	<i>Lb. curvatus</i>	<i>Lb. hilgardii</i>
<i>Lb. helveticus</i>	<i>Lb. homohiochii</i>	<i>Lb. parabuchneri</i>
<i>Lb. johnsonii</i>	<i>Lb. paracasei</i> subsp <i>paracasei</i>	<i>Lb. parakefir</i>
<i>Lb. kefiranofaciens</i>	<i>Lb. plantarum</i>	<i>Lb. sanfrancisco</i>
<i>Lb. kefiraganum</i>	<i>Lb. pentosus</i>	<i>Lb. reuteri</i>
<i>Lb. mali</i>	<i>Lb. sake</i>	<i>Lb. vaccinostercus</i>

Leuconostoc

Bu bakterinin orijinal sınıflandırılması morfolojisi üzerine olmuştur. *Leuconostoc* soyu, her ne kadar Orla-Jensen tarafından betacocci olarak adlandırılmasına ve heterofermentatif kok olarak ayrı bir

soyda kabul edilmesine rağmen, morfolojisi bu soyu streptokoklara yakın kılmıştır (Stiles ve Holzapfel, 1997). *Leuconostoc*, bitkilerden izole edilen dominant bir soydur ve *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* bitkilerden izole edilen başlıca

türüdür. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'de soydaki tür sayısı altıdan dörde düşürülmüştür. *Leuc. mesenteroides*, *Leuc. Dextranum* ve *Leuc. cremoris*, *Leuc. mesenteroides*'in alt türleri olarak kabul edilmiştir (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Soğutulmuş olarak depolanan etlerden elde edilen 52 *Leuconostoc* izolatının taksonomik çalışması sonucunda üç grup oluşturulmuştur. Bir grup *Leuc. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* olarak tanımlanmıştır. Diğer iki grup *Leuc. gelidum* ve *Leuc. carnosum* adı verilen iki türü taşımaktadır. Asıl grup *Leuc. sensu stricto* olarak düzenlenmiş ve üç alt gruptan oluşturulmuştur. Bunlar; 1. *Leuc. Mesenteroides* ve *Leuc. Pseudo-mesenteroides*, 2. *Leuc. lactis* ve *Leuc. Citreum* 3. *Leuc. carnosum*, *Leuc. gelidum* ve *Leuc. amelibiosum*

Pediococcus

LAB soyları içinde mikroskop altında tetrat morfoloji gösteren gruptur (Stiles ve Holzapfel, 1997). Optimum gelişme sıcaklıkları 35°C'dir. 50°C'de gelişen türleri de (örn., *P. acidilactici*) bulunmaktadır. Homofermantatif gruba dahildirler. Katalaz negatiftirler. Pastörizasyon işlemi neticesinde varlıklarını sürdürebilmektedirler. Alkollü içeceklerde bozulmalara sebep olurlar. Fermente gıdalar (örn., turşu, şarap) ve sebzelerde sıklıkla bulunurlar (Salminen ve Wright, 1993; Ünlütürk ve Turantaş, 1999).

Pediokoklar morfolojik benzerlik, yalnızca katalaz üretimi ve tuz toleransı bakımından mikrokoklarla çok benzeştiğinden karışıklığa yol açmaktadır (Stiles ve Holzapfel, 1997). Bira ve bitkilerde bulunan pediokoklar önceleri tek tür *P. cerevisia* olarak belirtilmiştir. Fakat izolatlar üzerinde yapılan çalışmalar, biradakinin *P. damnosus*, bitkilerden elde edilenin ise *P. pentosaceus* olduğunu ortaya koymuştur. *P. cerevisia*, *P. acidilactici* olarak yeniden sınıflandırılmıştır. *P. halophilus* ise *Tetragenococcus* olarak isimlendirilen yeni bir soya ilave edilmiştir (Stiles ve Holzapfel, 1997).

LAB ile Yakın İlişkili Diğer Soylar

Bazı gram pozitif soylar LAB'ın tanımlanmasına uyum sağlamış fakat bunlar genellikle bu gruba üye olarak düşünülmemiştir. *Aerooccus* soyu tetrat oluşturur ve pediokoklara benzeyen bir bakteri olarak yanlış yorumlanır. *A. viridans* asit oluşturmayan mikroaerofilik *P. urinae-equi* yakın ilişkili bulunmuş, daha sonra *P. urinae-equi* pediokoklardan ayrılmış ve *Aerococcus equi* olarak önerilmiştir. Avrupa'da bal arılarının foulbrood hastalığının etkeni yeni soy olan *Melissococcus*'da *M. pluton* olarak isimlendirilmiş ve bu tür *Enterococcus*'a yakın bulunmuştur (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Bifidobacteria 1900 yılında bebek dışkılarından izole edilmiştir. 1957 yılında Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin yedinci düzenlemesinde, daha önce Orla-Jensen tarafından ayrı olarak taksonimisi yapılmasına rağmen, *Lb. bifidus* olarak bildirilmiştir. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin 1986 yılındaki baskısına kadar, soyda yalnızca *Lb. bifidus* olarak bilinmiş ve bu yılda *Bifidobacterium* soyuna dahil edilmiştir. Bunlar laktik asit ve asetik asiti 2/3 oranında oluşturduklarından gerçek laktikler olarak kabul edilmemektedir. Hekzosların fermentasyonunda kullanılmaları, onları laktiklerden ayırmaktadır. Bifidobakterileri LAB'dan ayıran en önemli özellik ise DNA'larındaki G+C oranının (%55-70) LAB'lardan çok yüksek olmasıdır (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Brochotrix soyu ilk defa *Microbacterium thermosphactum* olarak tanımlanmıştır. 1970 yılında bu tür *B. thermosphacta* olarak yeniden sınıflandırılmıştır. Bazı çalışmalarda *Lactobacillus* ve *Brochotrix* soyları arasındaki benzerlikten dolayı *Brochotrix*'in *Lactobacillaceae* familyasına geçici olarak alınmasına karar verilmiştir. Daha sonra *Brochotrix*'in *Listeria*'ya daha yakın olduğu gösterilmiştir (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Tablo 3. *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* türlerinin *Weissella* soyu olarak sınıflandırılması
Table 3. Taxonomy of *Lactobacillus* and *Leuconostoc* spp. as *Weissella* genus

Paramesenteroides grup	Yeni <i>Weissella</i> türleri
<i>Leuconostoc paramesenteroides</i>	<i>Weissella paramesenteroides</i>
<i>Lactobacillus confusus</i>	<i>W. confusa</i>
<i>Lb. halotolerans</i>	<i>W. halotolerans</i>
<i>Lb. kandleri</i>	<i>W. kandleri</i>
<i>Lb. viridescens</i>	<i>W. viridescens</i> , <i>W. hellenica</i>

WEISSELLA TÜRLERİ ve ÖNEMİ

Yunan fermente sucuklarında 1993 yılında *Leuconostoc* benzeri, ancak taksonomik tanımlaması tam olarak yapılmamış bir bakteri izole edilmiştir. Yapılan genetik çalışmalar sonucunda *Leuconostoc*'tan genetik yapısındaki farklılıklar nedeniyle ayrı olduğu ve *Leuconostoc paramesenteroides* türüne dahil edilemeyeceği bildirilmiştir. Bu gelişmelerin ışığında, *Leuconostoc* cinsinden farklı bir özellik gösteren *Leuc. paramesenteroides* ile önceki sınıflandırmalarda *Lactobacillus* cinsi içerisinde yer alan bazı türler *Weissella* cinsi adı altında toplanmıştır (Stiles ve Holzapfel, 1997; Tangüler ve Erten, 2006).

Bu cinse ait bakteriler gram (+), hareketsiz, spor oluşturmeyen, katalaz (-), fermentatif, kısa çubuk veya kokoid şekilli bakterilerdir (Shin ve ark 2009). Heterofermentatif ve asiduriktirler. Bazı suşları arjinini hidrolize eder. *Weissella paramesenteroides* ve *Weissella hellenica* glikozdan D-laktik asit, diğer türler ise DL-laktik asit üretirler (Stiles ve Holzapfel, 1997). 15°C' de gelişebilir ancak 45°C' de gelişemezler. Patogen olmayan mikroorganizmalar olarak değerlendirilmelerine rağmen bazı türlerin patojen olabileceği bildirilmiştir (Tangüler ve Erten, 2006). *Weissella* cinsine ait 13 tür belirlenmiş olup başlıcaları; *W. confusa*, *W. viridescens*, *W. halotolerans*, *W. hilgardii*, *W. kandleri*, *W. minor*, *W. hellenica*, *W. paramesenteroides*'dir (Stiles ve Holzapfel, 1997; Jang ve ark, 2002). Son yayınlarla *W. thailandensis*, *W. cibaria* ve *W. kimchii* eklenmiştir. *W. soli* ile *W. hanii* de NCBI Taxonomy Homepage tarafından yeni olabilecek türler arasında listelenmiştir. Bazı *Lactobacillus* ve *Leuconostoc*

türlerinin *Weissella* soyu olarak sınıflandırılması Tablo 3'de gösterilmektedir (Stiles ve Holzapfel, 1997).

Toprak, taze sebzeler, şeker kamışı, çiğ süt, fermente gıdalar veya balık, et ve et ürünleri, insan feçesi ve bağırsak içeriği gibi çok çeşitli yerlerden izole edilmektedirler (Jang ve ark., 2002; Tangüler ve Erten, 2006; Shin ve ark., 2009). Soğutulmuş et ürünlerinde lezzet bozukluğu, renk değişikliği, gaz çıkışı, salgı üretimi ve pH'nın düşmesine *B. thermosphacta*, *Carnobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp. ve *Weissella* spp. birlikte etki ederek neden olmaktadır (Borch ve ark., 1996). Kırmızı et ve tavuk etinde *Weissella*'nın oluşturduğu başlıca bozulma belirtisi; yapışkanlık ve H₂O₂'in sebep olduğu renk değişimi (yeşillenme) olarak bildirilmiştir (Nychas ve ark. (2008). Ekşi hamurdan ve ekşi hamur starterinden *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* ve *Weissella* olmak üzere sıklıkla dört soy izole edilmiştir (Ehrmann ve Vogel, 2005; Ganzle ve ark., 2007).

W. hellenica

İlk olarak fermente sucuklardan izole edilmiştir (Stiles ve Holzapfel, 1997). Şekerlerden D-laktik asit oluşturmaktadır. D-fruktoz, sükröz ve trehalozdan asit üretmektedir (Magnuson ve ark., 2002; Tangüler ve Erten, 2006). Morea ve ark (1998) *W. hellenica*'yı Mozerella peynirinden izole edilenler arasında sadece *Lb. casei* subsp. *casei* ve *W. hellenica*'nın proteolitik aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Urso ve ark. (2006), üç farklı konsantrasyonda şeker (kontrol, %1.5 ve %2.5) kullandıkları İtalyan fermen-

te sosislerinde *W. hellenica* ve *W. Paramesenteroides*'in yalnızca %2.5 şeker bulunan deneme gruplarında ürediklerini tespit etmişlerdir.

W. viridescens

Eski adı *Lb. viridescens*'tir. Maltozdan asit üretebil-mekte ancak arjininden amonyak oluşturmamaktadır (Stiles ve Holzapfel, 1997; Anonim, 2006; Tangüler ve Erten, 2006). Taze et ve et ürünlerinde sıklıkla izole edilen başlıca LAB'lar *Lactobacillus sakei*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Lb. Maltoramaticum*, ve *W. viridescens* olarak bildirilmiştir (Amor ve ark. 2005). 68°C'de 40 dakika canlılığını sürdürürken, 69°C ve üzeri sıcaklıklarda (örn., yemek yapımı, sosis üretimi) ısıl işlemlerle yıkılanmaktadır (Borch ve ark., 1996; Peirson ve ark., 2003). *W. viridescens*, etin pişirilme işlemi sonrasında canlı kalıp, aerobik şartlarda, H₂O₂ üreterek et ürünlerinin merkezinde yeşil renk oluşturmaktadır. *Lb. sakei* ve *Leuconostoc* benzeri bakteri grubunun tüm üyeleri tütsülenmiş hindi eti florasında bulunmaktadır. Bu nedenle, tütsülenmiş hindi eti 4°C'de 2 haftadan sonra; paketler şişmekte, kokusunda ve tadında bozukluk olmakta ve çok fazla salgı (bozulan ete özgü uzayan salgı) bulunmaktadır. Kaynatılmış hindi etinde, identifiye edilmeyen *Leuconostoc*lar hariç tutulduğunda yaşamaya devam eden mikro-organizmalar, ette dilimleme ve vakumla paketleme işlemleri esnasında kontaminasyon nedeniyle bozulma yapmaktadırlar. *Leuc. carnosum*'dan ziyade birçok *Leuconostoc* türüyle ilişkili bulunan *W. viridescens* biyokimyasal reaksiyonlarda ve hücre yağ asitlerinde değişiklik yaparak bozulmaya neden olmaktadır (Samelis ve ark., 2000). Santos ve ark. (2005), *W. viridescens*'in İspanyol kan sosisinden elde edilen izolatlar arasında en yüksek orana (%42) sahip olduğunu bildirmişlerdir.

W. paramesenteroides

Eski adı *Leuc. paramesenteroides*'dir. Yayıklık tereyağı, taze sebzeler, fermente sucuklardan izole edilmiştir (Anonim, 2006). Güney Afrika, Benin ve Kenya'da

fermente manyok ile Almanya'da cassavalardan toplam 375 laktik asit bakterisi izole edilmiş ve 18 tanesi *W. paramesenteroides* ile *W. cibaria* olarak identifiye edilmiştir (Kostinek ve ark., 2007). Chao ve ark. (2008), soyadan yapılan Çinlilerin hafif bir yemeği olan stinky tofuda tespit ettikleri 32 soyun 14'ünü *Lactobacillus*, 6'sını *Leuconostoc* ve 4'ünü *Weissella*'nın oluşturduğunu ve saptadıkları 136 türden yalnızca *W. paramesenteroides*'in her üç salamura tankında da bulunduğunu bildirmişlerdir. Sağdıç ve ark. (2002), Afyon, Antalya, Isparta ve Konya bölgelerinden topladıkları yayık ayranlarında 85 farklı LAB izole ettiklerini ve *W. paramesenteroides*'in izolatların % 5.9'unu oluşturduğunu ifade etmişlerdir. Hancıoğlu ve Karapınar (1997), Türk bozasında fermentasyon sırasında 77 adet LAB ve 70 maya izolatu elde ettiklerini, LAB izolatlarında en yüksek orana %25.6 ile *Leuc. Paramesenteroides*'in sahip olduğunu, *Lb. confusus*'un %7.8 oranında olduğunu bildirmişlerdir. Urso ve ark. (2006), İtalyan fermente sosislerinde *W. paramesenteroides*'in yalnızca şeker oranı en yüksek deneme gruplarında ürediklerini tespit etmişlerdir. Pal ve Raman (2009), salatalıkta izole edilen *W. paramesenteroides* DFR-8 adlı suşun protein özellik taşımayan bir antimikrobiyel madde (non bacteriocin) ürettiğini ve bunun gıdaların muhafazasında önemli bir potansiyel oluşturacağını bildirmişlerdir.

W. cibaria

Kısa çubuk şeklinde, 0,8-1,2µm genişliğinde ve 1,5-2,0µm uzunluğundadır (Tangüler ve Erten, 2006). İnsan safrası ve dışkıdan, kanarya karaciğerinden ve enfekte olmuş köpek kulağından izole edilmiştir (Vela ve ark., 2003). Yunan ekşi hamurunda, ürün yapısına ve maksimum büyüme oranı üzerine, metabolit üretimine ve total asitlik titrelerine etkileri bakımından *Saccharomyces cerevisiae* ile LAB (*W. cibaria*, *Lb. paralimentarius*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Enterococcus faecium*) arasındaki ilişki açıklığa kavuşturulmuştur (Paramithiotis ve ark., 2006). İacumin ve ark. (2009), starter kültür kullan-

madan 4 farklı tipte ekşi hamur üretmişler ve üçünü sınıf I, birisini sınıf II olarak sınıflandırmışlar. Araştırmacılar diğer üçünden farklı olan ve kuru ekşi hamur olarak isimlendirdikleri örnekten (sınıf II) izole ettikleri LAB'ın %58'ini *W. cibaria*'nın oluşturduğunu bildirmişlerdir. Fermente Türk tarhanasında izole edilen LAB'ların multipleks PCR ve 16S rDNA gen dizini analizinde %4'ü *W. cibaria* olarak belirlenmiştir. Reid (2008), dünya genelinde insan ve hayvanlardan izole edilen *W. cibaria*'nın ağız sağlığı için potansiyel kullanımı olacağını bildirmiştir.

W. confusa

Eski adı *Lb. confusus*'dur. Kısa çubuk şeklinde bir bakteridir. Riboz ve galaktozdan asit oluşturmaktadırlar. Bitkiler, çiğ süt, ekşi hamur, fermente et, şeker kamışı, havuç suyu, kanarya karaciğeri, lağım suyu ve insan dışkılarından izole edilmiştir (Hammes ve Vogel, 1995; Vela ve ark., 2003; Tangüler ve Erten, 2006). Tapai ve Chili Bo gibi Malezya'nın fermente gıdalarının mikroflorasından (Björkroth ve ark., 2002), 15°C'de fermente edilen geleneksel Kore sebze yemeği Kimchi'de (Choi ve ark., 2003) *W. confusa* büyük oranda izole edilmiştir. Böylece, *W. confusa* yaygın olarak gözlenmekle birlikte, bitkisel gıdaların fermentasyonunda büyük rol oynamaktadır. *W. confusa* ayrıca Doğu Himalaya bölgesi olan Nepal ve Hindistan'da geleneksel tütsülenmiş ve güneşte kurutulmuş balık ürünleri olan sukako maacha, gnuchi, sidra ve sukuti olarak bilinen ürünlerde de tespit edilmiştir (Björkroth ve ark., 2002). İspanyol kan sosisinde *W. confusa* en yüksek orana (%11.4) sahip üçüncü izolat olarak bulunmuştur (Santos ve ark., 2005). Şiddetli endokarditis şikâyetleri ile hastanede yatan hastanın mitral ve aortic kapaklarındaki vejetasyon üzerine yapılan mikrobiyolojik analizlerden elde edilen izolat, 16S rDNA dizini ile *W. confusa* olarak teyit edilmiştir (Shin ve ark., 2009).

W. halotolerans

Eski adı *Lb. halotolerans*'dır (Stiles ve Holzapfel, 1997). Düzensiz kısa çubuklar şeklindedir (Merivirta

ve ark., 2005). Et ve et ürünlerinde bulunmaktadır. Riboz, D-fruktoz, sellobiozdan ve trehalozdan asit, arjininden NH₃ oluşturmaktadır (Stiles ve Holzapfel, 1997; Tangüler ve Erten, 2006). Mangal kömüründe kızartılmış vakum paketli 3 tür nehir balığından izole edilen LAB'lar; *Lactobacillus curvatus* subsp. *curvatus*, *Leuconostoc mesenteroides* ve *W. halotolerans* olarak tanımlanmıştır (Merivirta ve ark., 2005).

W. minor

Eski adı *Lb. minor*'dür (Stiles ve Holzapfel, 1997; Tangüler ve Erten, 2006). Düzensiz kısa çubuklar şeklindedir. Süt işletmesi atık sularından izole edilmiştir. Riboz, D-fruktoz, sellobioz, sükröz ve trehalozdan asit, arjininden amonyak oluşturur (Magnuson ve ark., 2002; Tangüler ve Erten, 2006).

W. kandleri

Eski adı *Lb. kandleri*'dir (Stiles ve Holzapfel, 1997; Tangüler ve Erten, 2006). Düzensiz çubuk şeklindedir. Bitkilerden izole edilmiştir (Tangüler ve Erten, 2006).

W. thailandensis

0,5-0,7 µm. genişliğinde, hareketsiz bir bakteridir. Tayland'da fermente balıktan izole edilmiştir (Tangüler ve Erten, 2006).

W. soli

Hareketsiz, kısa çubuk şeklinde, 0,9x1.2-30µm çapındadır. 4-40°C'de gelişme gösterirken, 42°C'de gelişemez. Toprakta izole edilmiştir. L-arabinoz, riboz, D-ksiloz, D-glukoz, D-mannoz, maltoz, mellibioz, sakkaroz, trehaloz, D-rafinoz ve D-arabitol'den asit üretirken; gliserol, eritritol, D-arabinoz, L-ksiloz, adonitol, galaktoz, D-fruktoz, L-sorboz, ramnoz, inositol, mannitol, sorbitol, amigdalin, sellobioz, laktoz, inulin, glikojen ve L-arabitol'den asit üretmez (Magnuson ve ark., 2002; Tangüler ve Erten, 2006).

W. koreensis

L-arabinoz, riboz ve ksilozdan asit oluşturunca, galaktoz, maltoz, rafinoz, sakaroz ve trehalozdan üretmez. Dekstran oluşumu ve arjininden NH₃ oluşumu pozitifdir (Anonim, 2006; Tangüler ve Erten, 2006).

SONUÇ

LAB, gıda teknolojisinde et ve süt ürünleri ile sebzelerin fermentasyonu ve gıda maddelerinin korunmasının yanı sıra insan sağlığına olan faydaları bakımından günümüzde önemli bir yere sahiptir. Son yıllarda *Lactobacillus* soyundan gelen, ancak *Leuconostoc*'lara benzerliği ile de dikkat çeken yeni LAB soyu *Weissella*'daki birçok tür, çok çeşitli gıdaların fermentasyonunda rol oynarken, gıda hijyenine ve korunmasına dikkat edilmediği takdirde özellikle etlerde ve diğer gıdalarda çeşitli şekillerde bozulmalara neden olmaktadır. Bazı türleri patojen özellikte olup, çeşitli hastalıklara (örn., infektif endokarditis, konjunktivitis) neden olmaktadır.

KAYNAKLAR

- Adams MR., Nicolaidis L., 1997. Review of the sensitivity of different foodborne pathogens to fermentation. *Food Cont.*, 8, 227-239.
- Amor A., Rachman C., Chaillou S., Prevost H., Dousset X., Zagorec M., Dufour E., Chevallier I., 2005. Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *Food Microbiol.*, 22, 373-382.
- Anonim. <http://www.bacterio.cict.fr/bacdi/co/ww/tweissella.html>. Quelques Caractères Phénotypiques des Espèces du Genre *Weissella*. (Erişim: 18.01.2006).
- Björkroth KJ., Schillinger U., Geisen R., Weiss N., Hoste B., Holzappel WH., Korkeala HJ., Vandamme P., 2002. Taxonomic study of *Weissella confusa* and description of *Weissella cibaria* sp. nov., detected in food and clinical samples. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52, 141-148.

- Borch E., Muermans ML., Blixt Y., 1996. Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *Int. J. Food Microbiol.*, 33, 103-120.
- Chao SH., Tomii Y., Wtanbe K., Tsai YC., 2008. Diversity of lactic acid bacteria in fermented brines used to make stinky tofu. *Int. J. Food Microbiol.*, 123:134-141.
- Choi IK., Jung SH., Kim BJ., Park AY., Kim J., Han HU., 2003. Novel *Leuconostoc citreum* starter culture system for the fermentation of kimchi, a fermented cabbage product. *Antonie van Leeuwenhoek*, 84, 247-253.
- Çon AH., Gökalp AH., 2000. Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Metabolitleri ve Etki Şekilleri, *Türk Mikrobiyol. Cem Derg.*, 30, 180-190.
- Doming K. J., Mayer H. K., Kneifel W., 2003. Methods used for the isolation, enumeration, characterisation and identification of *Enterococcus* spp. 2. phenotypic and genotypic criteria. *Int. J. Food Microbiol.*, 88, 165-188.
- Ehrmann MA., Vogel RF., 2005. Molecular taxonomy and genetics of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Sci. Technol.*, 16, 31-42.
- Endo A., Okada S., 2005. Monitoring the Lactic Acid Bacterial Diversity during Schochu Fermentation by PCR-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, *J. Biosci. Bioengin.*, 99, 216-221.
- Ganzle MG., Vermeulen N., Vogel RF., 2007. Carbohydrate peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough. *Food Microbiol.*, 24, 128-138.
- Gobbetti M., Angelis M., Corsetti A., Cagno R., 2005. Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria. *Trends in Food Sci. Technol.*, 16, 1-13
- Hammes WP., Vogel RF., 1995. The genus *Lactobacillus*, in the lactic acid bacteria. The genera of lactic acid bacteria, Blackie Academics and Professionals, 2, 19-55.
- Hancıoğlu Ö., Karapinar M., 1997. Microflora of boza, a fermented Turkish beverage. *Int. J. Food Microbiol.*, 35, 271-274.
- Holzappel WH., Haberer P., Geisen R., Björkroth J., Schillinger U., 2007. The American Society for Nutr., *J. Nutr.*, 137, 838S-846S.

- Hu P., Zhou G., Xu X., Li C., Han Y., 2009. Characterization of the predominant spoilage bacteria in sliced vacuum-packed cooked ham based on 16S rDNA-DGGE. *Food Cont.*, 20, 99-104.
- Iacumin L., Cecchini F., Manzano M., Osualdini M., Boscolo D., Orlic S., Comi G., 2009. Description of the microflora of sourdoughs by culture-dependent and culture-independent methods. *Food Microbiol.*, 26, 128-135.
- Jang J., Kim B., Lee J., Kim J., Jeong G., Hongui H., 2002. Identification of *Weissella* species by the genus-specific amplified ribosomal DNA restriction analysis, *FEMS Microbiol. Let.*, 212, 29-34.
- Kıran F., 2006. Hücre Duvarı Protein Profilleri ve Plazmid İçeriklerine Göre Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Tanısı, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kostinek M., Specht I., Edward V. A., Pinto C., Egonlety M., Sossa C., Mbugua S., Dortu C., Thonart P., Taljaard L., Mengu M., Franz CMAP Holzappel WH., 2007. Characterisation and biochemical properties of predominant lactic acid bacteria from fermenting cassava for selection as starter cultures, *Int. J. of Food Microbiol.*, 114, 342-351.
- Lee I., 2000. *The Korean Language*. Albany, NJ: State University of New York Press.
- Magnuson J., Jonsson H., Schnürer J., Roos S., 2002. *Weissella soli* sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52, 831-834.
- Merivirta LO., Koort JMK., Kivisaarib M., Korkeala H., Björkroth KJ., 2005. Developing microbial spoilage population in vacuum-packaged charcoal-broiled European river lamprey (*Lampetra fluviatilis*), *Int. J. Food Microbiol.*, 101, 145-152.
- Morea M., Baruzzia F., Cappab F., Cocconcellib PS., 1998. Molecular characterization of the *Lactobacillus* community in traditional processing of Mozzarella cheese, *Int. J. Food Microbiol.*, 43, 53-60.
- Nychas GJE., Skandamis PN., Tassou CC., Koutsoumanis KP., 2008. Meat spoilage during distribution. *Meat Sci.*, 78, 77-89.
- Pal A., Raman KV., 2009. Isolation and preliminary characterization of a nonbacteriocin antimicrobial compound from *Weissella paramesenteroides* DFR-8 isolated from cucumber (*Cucumis sativus*). *Process Biochem.*, 44, 499-503.
- Paramithiotis S., Gioulatos Tsakalidou E., Kalantzopoulos G., 2006. Interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria in sourdough, *Process Biochem.*, 41, 2429-2433.
- Peirson MD., Guan TY., Holley RA., 2003. Thermal resistances and lactate and diacetate sensitivities of bacteria causing bologna discoloration, *Int. J. Food Microbiol.*, 86, 223-230.
- Pfeiler EA., Klaenhammer TR., 2007. The genomics of lactic acid bacteria. *Trends in Microbiol.*, 15, 546-553.
- Reid G., 2008. Probiotics and prebiotics-Progres and challenges. *Int. Dairy J.*, 18, 969-975.
- Sagdıç O., Arıcı M., Şimşek O. 2002. Selection of starters for a traditional Turkish yayık butter made from yoghurt. *Food Microbiol.*, 19, 303-312.
- Salminen S., Wright von A., 1993. *Lactic Acid Bacteria*, 270 Madison Avenue, New York 1001, USA.
- Samelis J., Kakouria A., Rementzisz J. 2000. The spoilage microflora of cured, cooked turkey breasts prepared commercially with or without smoking, *Int. J. Food Microbiol.*, 56, 133-143.
- Santos EM., Jaime I., Rovira J., Lyhs U., Korkela H., Björkroth J., 2005. Characterization and identification of lactic acid bacteria in "morcilla de Burgos." *Int. J. Food Microbiol.*, 97, 285-296.
- Sengün İY., Nielsen D. S., Karapınar M., Jakobsen M., 2009. Identification of lactic acid bacteria isolated from tarhana, a traditional Turkish fermented foods. *Int. J. Food Microbiol.*, 135, 105-111.
- Shin J. H., Kim D., Kim H., Kim D., Kook J., Lee J., 2009. Severe infective endocarditis of native valves caused by *Weissella confusa* detected incidentally on echocardiography, *J. Infect.*, 54, 149-151.
- Stackebrand E., Teuber M., 1988. Molecular taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria, *Biochimie*, 70, 317-324.
- Stiles ME., Holzappel WH., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy, *Int. J. Food*

- Microbiol., 36, 1-29.
- Tangüler H., Erten H., 2006. Çukurova Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Bölümü, Türkiye 9.Gıda Kongresi; Bolu.
- Tekinşen OC., Atasever M., 1994. Süt Ürünleri Üretiminde Starter Kültür, S.Ü. Vet. Fak. Yayın Ünitesi, Konya.
- Urso R. Comi G., Cocolin L., 2006. Ecology of lactic acid bacteria in Italian fermented sausages: isolation, identification and molecular characterization. Syst. Appl. Microbiol., 29, 671-680.
- Ünlütürk A.,Turantaş F., 1999. Gıda Mikrobiyolojisi 2.Baskı, Mengi Tan Basımevi, İzmir.
- Vela Al., Porrero CG., Nieto J., Sanchez A., Briones B., Moreno V., Dominguez MA., Fernandez L., Garayzabal JF., 2003. *Weissella confusa* infection in primate (*Cercopithecus mona*). Emer Inf Dis., 9, 1307-1309.
- Yaygın H., Kılıç S., 1993. Süt Endüstrisinde Saf Kültür, Altındağ Matba, İzmir.

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ VETERİNER BİLİMLERİ DERGİSİ YAYIN ŞARTLARI

1. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi'nin hakemli bilimsel yayın organı olup, Nisan, Ekim ve Aralık olmak üzere yılda 3 kez yayımlanır. Derginin kısaltılmış ismi "Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg." dir.
2. Bu dergide, Veteriner Hekimlik ve ilgili Anabilim Dallarını alanlarında hazırlanmış orijinal araştırma makalesi, vaka takdimi ve derlemeler yayımlanır.
3. Makaleler Türkçe veya İngilizce dillerinden birinde hazırlanmalıdır.
4. Makaleler daha önce başka bir dergide yayınlanmamış veya başka bir dergiye eşzamanlı olarak sunulmamış olmalıdır.
5. Yazarlar, başka kaynaklardan alınan ve kullanılan materyal ile ilgili telif hakkı şartlarına uymak ve telif hakkının dergiye devrini ifade eden sözleşmeyi imzalamakla yükümlüdürler. Dergide yer alan yazılardan doğacak her türlü sorumluluk yazar(lar)ına aittir.
6. Makaleler değerlendirme için en az iki danışmana gönderilir. Makalenin yayına kabulü, danışmanların ve yayın kurulunun kararına bağlıdır.
7. Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'nde yayımlanacak olan hayvan deneylerine dayalı bilimsel çalışmalarda "Etik Kurul Onayı Alınmıştır" ifadesi aranır. Tez çalışmalarından özetlenen makalelerde etik kurul kararı aranmaz.

MAKALENİN HAZIRLANMASI

1. **Makaleler**, A4 dosya kâğıdına (tek yüz), çift satır aralıklı olarak, kenarlarından 3 cm boşluk bırakarak yazılmalı, 16 sayfayı geçmemelidir. Makale, Microsoft Word 6.0 veya daha üst versiyonda, Times New Roman karakterinde ve 12 punto ile hazırlanmalıdır.
2. **Başlık**: Türkçe ve yabancı dilde yazılmalı, yalnız ilk harfleri büyük olmalıdır (**Sığırdaki Beta-endorfin Seviyesi**).
3. **Yazar(lar)ın isim ve Soyisimleri**: Yazarların adı ve soyadının (akademik unvanı) sadece baş harfleri büyük ve başlığın altına ortalı gelecek şekilde yazılması gerekir (**Yakup Kara**). Her bir yazarın adı, soyadı ve adresi açık bir şekilde yazılmalıdır.
4. **Sorumlu yazar ve adresler**: Sorumlu yazar (*) ile işaretlenmeli, yazarların isminin sağ üst köşesine sayı eklenmeli ve bu sayılar adresler bölümünde kullanılmalıdır. Yazarların adresinde; adı, soyadı, bağlı olduğu kurum, birim, şehir ve e-mail adresi belirtilmelidir.
5. **Birinci sayfa**: Başlık, Kısa başlık, Yazarların isim ve adresleri, Araştırmayı destekleyen kuruluş, proje veya tez gibi bilgiler içermeli
6. **İkinci sayfa**: Türkçe ve İngilizce özet içermelidir.
- ❖ **Özet**: Kısaca amaç, materyal, metod, bulgular sonuçları içermeli ve 180-200 kelime arasında olmalıdır. Türkçe ve İngilizce başlıkları ile birlikte tek satır aralıklarla yazılmalıdır.
7. **Anahtar kelimeler**: En fazla 5 adet olmalı ve her özetin altında alfabetik sıraya göre ve sadece baş harfleri büyük olacak şekilde yazılmalıdır.
8. Makale **üçüncü sayfadan** itibaren GİRİŞ, MATERYAL ve METOT, BULGULAR, TARTIŞMA ve KAYNAKLAR bölümleri halinde birbirini takip etmelidir. Bölüm başlıkları büyük harflerle yazılmalıdır.
- ❖ Bulgular ve tartışma birlikte verilebilir. Gerekli olduğu takdirde, Sonuç ve Öneriler ile Teşekkür bölümleri de eklenebilir.
- ❖ Bölümlere ait **1. alt başlıklar** yalnız ilk harfleri büyük olacak şekilde paragraf hizasında yazılmalıdır (**Kimyasal Analizler**).
- ❖ 2. ve devam eden alt başlıklarda ise **italik** ve yalnız ilk harfleri büyük harflerle yazılmalıdır (**Nitrik Oksit Tayini**)
- ❖ Tüm başlıklar **koyu** tonda ve 12 punto ile paragraf hizasında (1 cm) yazılmalıdır. Makaleye **satır (her sayfada yeniden)** olacak şekilde ve **sayfa numaraları** (sayfa altında ve ortalı) eklenmelidir.

9. Tablo ve Şekiller:

- ❖ Şekil, grafik, fotoğraf ve resimler başlıklarda ve metin içerisinde **Şekil** olarak ifade edilmelidir. Şekil ve tablolar metin içerisindeki sırasına göre numaralandırılmalı ve paragraf içerisinde kısaltılmadan yazılmalıdır (Şekil 1, Tablo 1).
- ❖ Tablo ve şekiller makale içerisinde bulunması gereken bölümlere yerleştirilmeli, başlık ve açıklamaları da Türkçe ve İngilizce olarak eklenmelidir.
- ❖ Tablo ve şekillerde kullanılan her türlü **kısaltma** tablo ve şekil altında açıklanmalıdır

Birimler ve Kısaltmalar: Birimler ve ölçülerde Uluslar Arası Standart birimleri (SI-sistem) kullanılmalıdır. Cins ve tür isimleri **italik** olarak yazılmalıdır.

10. KAYNAKLAR- Metin içerisinde:

- ❖ Kaynak bildirimleri **tarih** sıralamasına göre yapılmalıdır. Örneğin; Tekinşen ve ark. (1990) olduğunu bildirmiştir veya sığırdaki glukoz seviyesiolarak belirlenmiştir (Warris, 1984; Tume ve Shaw, 1991; Tennessen ve ark., 1998; Kara ve ark., 2009). Parantez içerisinde kaynaklar yazılırken tarihi en eski olandan yeni olana doğru sıralama yapılmalıdır.
- ❖ İngilizce hazırlanan makalelerde çok yazarlı kaynaklar **et al**, iki yazarlı kaynaklar **and** ile bildirilmelidir. (Tume and Shaw, 1991; Tennessen et al.,1998; Kara et al., 2009).
- ❖ Aynı yazar ve yıla sahip kaynaklarda ayırıcı harfler kullanılmalıdır (Akbulut, 1991a, 1991b).
- ❖ Kaynak internet ortamında ise: Anonim. 2009.
- ❖ **Kaynaklar Bölümünde**:
- ❖ Kaynaklar alfabetik ve kronolojik dize dikkate alınarak sıralanmalıdır.
- ❖ **Kaynak makale ise**: Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infect. Immun.*, 69, 4657-4660.
- ❖ **Kaynak kitap ise**: Lawrie RA., 2002. *Lawrie Meat Science*. 6th ed., Woodhead Publ., Cambridge.
- ❖ **Kaynak kitapta bir bölüm ise**: Mark E. 1989. Thyroid diseases. In "Textbook of Veterinary Internal Medicine", Ed., SJ Ettinger, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- ❖ **Kaynak bir kuruluşun yayını ise**: FAWC (1991). Report on the european commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publ.
- ❖ Kaynak bir yazılım ise: SAS, 1990. SAS user's guide: Statistics, 4th ed., Sas Institute, Cary.
- ❖ **Kaynak internet ortamında ise**: Anonim. 2009. Functional anatomy of the endocrine pancreas. <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/endocrine/pancreas/anatomy.html> [Erişim: 29.01.2009].
- ❖ Kaynak verilen bilimsel dergilerin isimlerinin yazılmasında derginin önerdiği uluslararası kısaltılmış şekli kullanılmalıdır.

MAKALENİN GÖNDERİLMESİ

- ❖ Makale sadece online sistem üzerinden gönderilecektir. <http://e-dergi.atauni.edu.tr/index.php/VBD/index>
- ❖ Orijinal makale (*.doc uzantılı), Tablolar, (*.doc uzantılı)
- ❖ Şekiller (grafik, fotoğraf, şekiller) **JPEG** formatında **300 DPI** çözünürlükte ayrı dosya halinde gönderilmelidir.

DERGİ BASKISI

1. Makalenin yayına kabulü durumunda baskı ücreti olarak 1-10 sayfa arası 50 TL, 10 sayfayı geçen makalelerde ise sayfa başına ek olarak 5 TL alınacaktır. Ayrıca, **renkli baskısı** yapılacak olan **resim, şekil, grafik** ya da **tablo** başına ek ücret talep edilecektir.
2. Kabul edileceği bildirilen makalelerin baskı ücretleri **00158007296932174** nolu **Vakıfbank, Atatürk Üniversitesi Şubesi**, (Erzurum-Türkiye) şubesine yatırılmalı, ücretin yatırıldığını gösterir dekontun **e-posta** yoluyla gönderilmesi gerekir.
3. Ücreti yatırılan ve bütün işlemleri biten makalenin kabul mektubu en kısa sürede gönderilecektir.
4. Baskı aşamasındaki makaleler pdf formatında dergimize ait WEB alanına eklenecektir.
5. Basılan dergiden makaledeki yazar sayısı kadar sorumlu yazara dergi gönderilecektir.

DERGİ ADRESİ

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 25240 , Kampüs / Erzurum / TÜRKİYE
Telefon: 0442 236 08 80, Faks: 0442 236 08 81
E-posta: atavetderg@hotmail.com; vetdergisi@atauni.edu.tr

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS OF THE JOURNAL OF VETERINARY SCIENCES OF ATATURK UNIVERSITY

1. The Journal of Veterinary Sciences of Ataturk University is a refereed scientific publication organ of Ataturk University Faculty of Veterinary Sciences and is published tri-annually in April, October and December. Abbreviation of the journal's title is "J. Vet. Sci. Ataturk University". 2. Original research papers, case reports and reviews prepared within the scope of Veterinary Medicine and relevant Departments are published in this journal. 3. Manuscripts to be submitted should be prepared either in Turkish or in English. 4. Manuscripts must not be published elsewhere or submitted concomitantly to any other journal. 5. Authors are responsible for complying with the copyright conditions related with the material cited (taken) from other resources or used and signing the agreement contract declaring transfer of the copyright to the journal. The full responsibility of the texts to be appeared within the journal belongs to the author(s). 6. Manuscripts to be considered are sent to the two referees at least. Acceptance of the manuscripts depends on both suggestion of the referees and final decision of the Editorial Board. 7. The statement of "Approved by the Board of Ethics" is warranted for scientific studies based on the animal experiments to be published within the Journal of Veterinary Sciences of Ataturk University. However, no such warranty is required for those manuscripts summarised from the studies of these.

MANUSCRIPT PREPARATION

1. **Manuscripts** should be written in A4-sized paper (one-sided), double-spaced, with 3 cm space from the margins of the paper and should not exceed 16 pages. They should be prepared by using Microsoft Word 6.0 or upper versions, Times New Roman characters with 12 point typing size. 2. **Title:** It should be written in Turkish or in foreign language along with the first letters to be in capital (β -endorphin Level in Cows) only. 3. **Name and Surname of Author(s):** Only the first letters of authors' names and surnames (without academic title) should be written in capital (Yakup KARA) and adjusted to the middle under the title. Name, surname and address of each author should be written clearly. 4. **Corresponding (responsible) author and addresses:** Corresponding author should be given along with (*) remark, a number should be added to the upper right-hand corner of the surname of authors and these numbers should be used accordingly in addresses section. For authors' addresses, name, surname, administrative body, work place, city and e-mail addresses should be given. 5. **First page:** It should contain title, authors' name-surname and addresses, funding body of the research, and details of project or thesis. 6. **Second page:** It should contain summary in Turkish and English. **Summary:** It should contain briefly the aim, material, method, results and conclusions. It should not exceed 200 words (180-200). Titles in Turkish and English should be written in single-spaced style.

7. **Key words:** They should be written 5 at maximum and alphabetic order along with the first letters to be in capital only under each abstract. 8. **Third page onwards,** the manuscript should continue with the sections of INTRODUCTION, MATERIALS and METHODS, RESULTS, DISCUSSION and REFERENCES in the following order. Section titles should be written in capital letters.

Results and Discussion may be compiled. The sections of Conclusions and Suggestions as well as Acknowledgement may also be included, as appropriate. The 1st sub-headings of the sections should be written with the first letters in capital only and aligned with the paragraph (Chemical Analyses). The 2nd and subsequent sub-headings should be written in *italic* style and their first letters should be in capital only (*Determination of Nitric Oxide*). All the headings should be written in black 12 point typing-size and aligned with the paragraph (1 cm).

9. Line (renewed on each page) and page numbers should be included within the manuscript. 10. **Tables and Figures:** Figures, graphics, photos and pictures within the headings and text should all be given as Figure. Figures and tables should be numbered according to their orders within the text and written without any abbreviation within the paragraph (Figure 1, Table 1). Tables and figures should be placed into the sections appropriately, and their headings and explanations should also be included in Turkish and English. All types of abbreviations (legends) used within tables and figures should be explained right under them. 11. **Units and Abbreviations:** For units and measurements, International Standard units (SI-system) should be used. The names of sub-species (breed) and species should be written in *italic* style. 12. **REFERENCES** For the text section: Reports of references should be listed in chronological order. For example, Tekinsen et al. (1990) reported that... or the level of glucose was reported as ... (Warris, 1984; Tume and Shaw, 1991; Tennessen et al., 1998; Kara et al., 2009). For manuscripts prepared in English, the references with numerous (more than two) authors should be given as et al., while those with two authors as and (Tume and Shaw, 1991; Tennessen et al., 1998; Kara et al., 2009).

For references of the identical author and publication year, separate letters should be used (Akbulut, 1991a, 1991b).

For web-based references: Anonymous. 2009. For References section: References should be listed according to alphabetical and chronological order. For manuscripts: Barbour AH., Rampling A., Hormaeche CE., 2001. Variation in the infectivity of *Listeria monocytogenes* isolates following intragastric inoculation of mice. *Infect. Immun.*, 69, 4657-4660. For books: Lawrie RA., 2002. Lawrie, Meat Science. 6th edn., Woodhead Publ., Cambridge. For chapters of a book: Mark E.1989. Thyroid diseases. In "Textbook of Veterinary Internal Medicine", Ed., SJ Ettinger, W.B. Saunders Company, Philadelphia. For publications of a Foundation: FAWC (1991). Report on the European Commission proposals on the transport of animals. London, MAFF Publ. For softwares: SAS 1990. SAS User's Guide: Statistics, 4th edn., SAS Institute, Cary. For web-based references: Anonymous. 2009. Functional anatomy of the endocrine pancreas. <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/endocrine/pancreas/anatomy> [Reached: 29.01.2009]. For writing the journal titles of the references cited, their short versions, as suggested by the journal concerned and recognized internationally, should be used.

SENDING MANUSCRIPTS

For sending the manuscripts by on line system <http://e-dergi.atauni.edu.tr/index.php/VBD/index>

Original manuscript (*.doc extension), Tables (*.doc extension), Figures (graphs, photos, figures) should be sent in JPEG format with 300 DPI resolution, as a separate file.

JOURNAL PUBLICATION

1. Once the manuscript is accepted for publication, a publication fee of 50 Turkish Liras (TL) will be charged for up to 1-10 pages, as well as an additional 5 TL for each of exceeding (over 10) pages. Moreover, a further fee will be due for colourful pressing of each photo, figure, graph and table. 2. Publication fees of the manuscripts as confirmed to be accepted are payable into the account number of 00158007296932174 at the Vakifbank, Ataturk University Branch (Erzurum-TURKEY), and its receipt showing the fee due was paid should be sent by e-mail. 3. For those manuscripts of which the fees due was paid and all the requirements was fulfilled, an acceptance letter will be sent at the earliest time possible. 4. For those manuscripts presently in press, a pdf file will be added at the journal's address on the web. 5. For those manuscripts pressed already, separate copies will be sent to the corresponding author free of charge.

JOURNAL'S ADDRESS

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 25240, Yakutiye-ERZURUM (TR)
Phone: +90 (442) 2360880, Fax: +90 (442) 2360881
E-mail: atavetderg@hotmail.com; vetdergisi@atauni.edu.tr

TELİF HAKKI DEVİR FORMU

Aşağıda imzaları bulunan (Yazarların adı-soyadı)
..... tarafından
yazılmış (Makale adı)
..... adlı makalenin
orijinal olduğu, kısmen veya tamamen daha önceden yayınlanmadığı veya yayınlanmak üzere başka yayın
kuruluşuna gönderilmediği; danışman ve dergi editörü tarafından gerekli görülen düzeltmelerle birlikte her
türlü yayın hakkını, yazının yayınlandığı tarihten itibaren Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi'ne
devrettiğimizi taahhüt ederiz.

Bütün yazarlar tarafından imzalanmak üzere

<u>Adı-Soyadı</u>	<u>İmza</u>	<u>Tarih</u>
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Sorumlu Yazar:

Adı ve Soyadı:

Adres:.....

Telefon:.....

Fax:

E- mail:.....

Tarih:..... **İmza:**.....

Not: Lütfen formu doldurduktan sonra, e-mail adreslerimizden herhangi birine makaleyle birlikte gönderiniz.

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
25240-Erzurum
Telefon: (0442) 236 08 80
Faks: (0442) 236 08 81
E-mail: vetdergisi@atauni.edu.tr
atavetderg@hotmail.com

COPYRIGHT RELEASE FORM

All authors (Name and surnames)
.....
.....of the manuscript titled
.....

.. is original\ has not been partially or totally published nor has it already been sent to any other journal.
After being revised by referees or editor and published, we agreed that all copyright is reserved by Ataturk
Universty journal of Vetarinary science.

Signatures

<u>Name and surname</u>	<u>Signature</u>	<u>Date</u>
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Correspondence Author:

Name and surname:

Address:.....

Phone:.....

Fax:

E- mail:.....

Date..... **Signature:**.....

Note: Send the e-mail and form after filled and signed to the address below.

Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi Editörlüğü
Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi
25240, Kampus-ERZURUM (TR)
Phone: +90 (442) 2360880
Fax: +90 (442) 2360881
E-mail: atavetderg@hotmail.com
vetdergisi@atauni.edu.tr