

TANEN İÇEREN MEŞE YAPRAKLARININ (*Quercus hartwissiana*) KUZULARDA BAZI HEMATOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE ETKİSİ*

Metehan Uzun^{@1} Feyyaz Önder¹ Metin Çenesiz²

Mehmet Kaya¹ Sedat Yıldız¹

Effects of Tanniferous Oak leaves (*Quercus hartwissiana*) on Some Haematological Parameters in Lambs

Özet: Bu çalışmada 2 ay boyunca tanen içeren meşe (*Quercus hartwissiana*) yaprakları ile beslenen kuzularda anemi oluşup oluşmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, 8-9 aylık toplam 42 adet dişi Tuj ırkı kuzu kullanıldı. Kuzular 7 eşit gruba ayrıldı ve aşağıdaki beslenme grupları oluşturuldu: Kontrol grubu; 0 g yaprak + 0 g PEG (polietilen glikol, tanenleri bağlamak amacıyla), 1. grup; 85 g yaprak + 0 g PEG, 2. grup; 185 g yaprak + 10 g PEG, 3. grup; 185 g yaprak + 20 g PEG, 4. grup; 370 g yaprak + 0 g PEG, 5. grup; 370 g yaprak + 20 g PEG ve 6. grup; 370 g yaprak + 40 g PEG. Tüm gruplara 272 g konsantre yem ve yaprakla birlikte kaba yem miktarı 645 g olacak şekilde kuru ot verildi. Kuzular bireysel metabolizma kafeslerinde tutuldular ve günde iki defa (saat 08.00 ve 16.00'da) beslendiler. Denemenin sonunda (60.gün) alınan kan örneklerinde; alyuvar sayısı, hemoglobin miktarı, hematokrit değeri, ortalama alyuvar hacmi, ortalama alyuvar hemoglobini, ortalama alyuvar hemoglobin derişimi ve minimum ve maksimum ozmotik hemoliz değerleri belirlendi. Ölçülen parametreler yönünden gruplar arasında istatistiksel öneme sahip bir farklılık bulunmadı. Sonuç olarak, diğer meşe türlerinin aksine, çalışmada kullanılan *Quercus hartwissiana* ile kuzuları 2 ay süreyle beslemenin anemiye neden olmadığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Meşe yaprağı, Kuzu, Anemi, Alyuvar

Summary: Aim of this study was to investigate whether feeding tanniferous oak leaves (*Quercus hartwissiana*) for two months results in anaemia in lambs. For that purpose, 42 Tuj ewe lambs (8-9-month-old) were used and the lambs were randomly allocated to one of seven treatment groups (n = 6) as follows: control group, 0g leaf 0g PEG (polyethylene glycol, for binding tannins), group 1; 185 g leaf + 0g PEG, group 2; 185 g leaf + 10g PEG, group 3; 185 g leaf + 20g PEG, group 4; 370 g leaf + 0g PEG, group 5; 370 g leaf + 20g PEG, group 6; 370 g leaf + 40g PEG. All groups were given 272 g concentrate and varying amounts of hay, such that the amount of leaf plus to hay was equal to 645 g. The lambs were fed in individual metabolism cages twice daily at 08.00 and 16.00 h and had access to water at all times. Blood samples were collected at the end of the experiment (Day 60) and red blood cell count, haemoglobin concentration, haematocrit values, mean corpuscular volume, mean corpuscular haemoglobin, mean corpuscular haemoglobin concentration and maximum and minimum osmotic haemolysis values were determined. Groups did not differ significantly in terms of the parameters measured. In conclusion, contrary to the reports related to other quercus species, in the current study, feeding *Quercus hartwissiana* for two months did not result in anaemia in lambs.

Key Words: Oak leaf, Lamb, Anaemia, Erythrocyte

Giriş

Farklı moleküler yapıya sahip tanenler (Makkar, 2003), insanlar tarafından tüketilen çay ile meşe yaprakları gibi hayvanların yediği yem maddelerinde bulunabilen polifenolik bileşiklerdir (Hagerman ve Carlson, 1998). Bu bileşiklerin antioksidatif özelliklerinden dolayı sağlığa yararlı etkilerinin olduğu bi-

linmektedir. Ancak olumsuz etkileri daha da dikkat çekicidir. Nitekim polifenolik maddelerin demir emilimini azalttığı (Afsana ve ark., 2004), alyuvarlarda hemoliz ve karaciğer ile böbreklerde toksikasyonlara neden olduğu (Garg ve ark., 1992) ve protein emilimini azaltarak (Lowry ve ark., 1996) anemilere yol açtığı bildirilmektedir. Ölümle sonuçlanan doğal toksikasyon vakaları dahi rapor edilmiştir (Spier ve ark.,

Geliş Tarihi: 20.12.2005

@: metehanuzun@hotmail.com

* Bu araştırma Uluslar arası Atom Enerjisi Kurumu (Viyana, Avusturya) tarafından TUR102272 kod nolu proje kapsamında kısmen desteklenmiştir.

1. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, KARS

2. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, SAMSUN

1987).

Ancak bu alandaki bulgular daha çok kısa süreli çalışmalarla elde edilmiştir ve uzun süreli tüketimler sonrası hematolojik sistemin nasıl etkilendiği konusunda yeterli bildirim bulunmamaktadır. Oysa alyuvar yapımı ve yıkımı sürekli ve hızlı bir şekilde gerçekleşir ve organizmadaki beslenme bozukluklarından kolaylıkla etkilenir. Alyuvar ve ilgili parametrelerde meydana gelecek azalmalar veya olumsuzluklar ise hayvancılıkta verim kayıplarına neden olarak ekonomik zarara yol açabilirler. Bu nedenle araştırmada; bölgede kış mevsiminde alternatif bir yem kaynağı olarak kullanılan meşe (*Quercus hartwissiana*) yapraklarının Tuj ırkı kuzulara uzun süreyle yedirilmesi sonucunda aneminin belirlenmesini sağlayan kriterler olan; alyuvar sayısı, hematokrit değeri, hemoglobinin miktarı, ortalama alyuvar hacmi, ortalama alyuvar hemoglobini, ortalama alyuvar hemoglobin derişimi ve alyuvarların frajilite özelliklerindeki olası değişimlerin belirlenmesi ve meydana gelebilecek olumsuz etkilerin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Yaprakların Toplanması

Denemenin dizaynı ve yaprakların tanen içerikleri ile ilgili tüm bilgiler Yıldız ve ark. (2005)'nin yaptıkları araştırmada ayrıntılı olarak verilmiştir. Hayvanlara yedirilen meşe yaprakları Temmuz ve Ağustos aylarında toplanarak, gölgede kurutuldu. Daha sonra büyük çuvallar içerisinde çiftliğe getirilen yapraklar temiz bir yere serildi ve karıştırıldı. Yaprakların 15 gün boyunca iyice kurumaları sağlandı ve denemede kullanılmaya kadar çuvallar içinde depo edildi.

Hayvanlar ve Deneme Grupları

Araştırmada 8-9 aylık ve ortalama canlı ağırlıkları 33 kg olan, toplam 42 adet dişi Tuj ırkı kuzu kullanıldı ve kuzular başlangıç canlı ağırlıklarına göre 7 eşit gruba ayrıldı. Hayvanlar araştırma boyunca bireysel metabolizma kafeslerinde tutuldu. Kuzuların 17 gün boyunca rasyona ve kafeslere alışmaları sağlandı ve antiparaziter ilaçlamaları yapıldı.

Hayvanların Beslenmesi

Kuzulardan biri kontrol olmak üzere 7 grup oluşturuldu (her grup için n=6) ve aşağıda belirlenen şekilde 60 gün boyunca beslendi. Polietilen glikol (PEG) tanenleri bağlamak amacıyla kullanıldı (Makar, 2003).

Kontrol; 0 g yaprak + 0g PEG

Grup 1; 185 g yaprak + 0g PEG

Grup 2; 185 g yaprak + 10g PEG

Grup 3; 185 g yaprak + 20g PEG

Grup 4; 370 g yaprak + 0g PEG

Grup 5; 370 g yaprak + 20g PEG

Grup 6; 370 g yaprak + 40g PEG.

Bütün gruplara 272 gram arpa ve değişen oranlarda kuru ot verildi. Yaprak ve kuru ot miktarının toplam 645 g olması sağlandı. Kuzulara verilecek yaprak miktarları ön deneme yapılarak belirlendi. Ön deneme sonucunda her bir kuzunun en fazla 400 g yaprak (kuru madde bazında 370 g) yiyebildiği gözlemlendi. Kuzulara kuru madde bazında % 30 konsantre ve % 70 kaba (kuru ot ve/veya yaprak) yem verildi. Konsantre yem % 98 arpa, %1 tuz ve %1 oranında ticari vitamin-mineral premiksinden oluşturuldu. Yemler hayvanlara saat 08.00 ve 16.00'da olmak üzere iki öğünde verildi ve suya sürekli olarak ulaşmaları sağlandı. Meşe yaprakları kuru ot ve konsantre yemin ardından verildi. Kuzuların tüketmediği meşe yaprakları günlük olarak tartıldı miktarlarının önemsiz olduğu görüldü. PEG tartıldı ve konsantre yemle (gölgede kurutulmuş yaprakların %5 ve 10 oranında) karıştırıldı.

Kan Örneklerinin Alınması ve Analizi

Kan örnekleri 60. günde sabah yemlemesinden 2 saat sonra v. jugularislerden her bir hayvandan 10 ml olmak üzere EDTA'lı tüplere alındı (Venoject, Terumo Europe N.V., 3001, Leuven, Belgium). Alınan kan örneklerinden alyuvar sayımı hemositometrik yöntemle, hematokrit değeri mikrosantrifüj yöntemi ile, MCV, MCH ve MCHC değerleri alyuvar sayısı, hemoglobin miktarı ve hematokrit değeri verileri kullanılarak ilgili formüllerden ve minimum ile maksimum ozmotik hemoliz değerleri farklı derişimlerdeki NaCl çözeltileri kullanılarak belirlendi (Yılmaz, 2000). Hemoglobin miktarı kan örneklerinin % 0.1 amonyum hidroksit çözeltisi ile muamele edilmesinin ardından spektrofotometrede 578 nm dalga boyundaki abzorbanları okunarak belirlendi (Yılmaz ve Otlu, 1989).

İstatistiksel Analizler

Sonuçların değerlendirilmesi MINITAB (Versiyon 11.2; 1996) istatistik paket programı yardımıyla one-way ANOVA (Tukey testi) kullanılarak yapıldı. Bulgular ortalama ve standart hata olarak sunuldu.

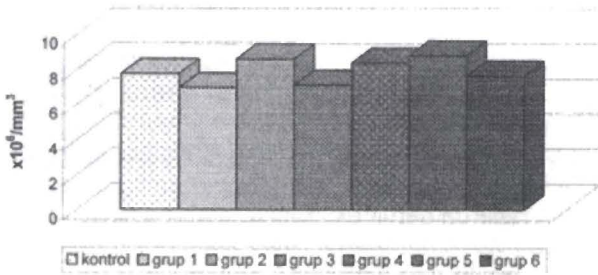
Bulgular

Bu araştırmanın sonucunda elde edilen alyuvar sayısı, hemoglobin miktarı, hematokrit değer, ortalama alyuvar hacmi, ortalama alyuvar hemoglobini ve ortalama alyuvar hemoglobin derişimi değerleri Şekil 1 A-F'de, minimum ve maksimum ozmotik hemoliz değerleri ise Tablo 1'de verilmiştir. Bu değerler için yapılan istatistiki testlerde deney grupları ile kontrol grubu karşılaştırıldığında herhangi bir farklılık belirlenmemiştir ($P>0.05$).

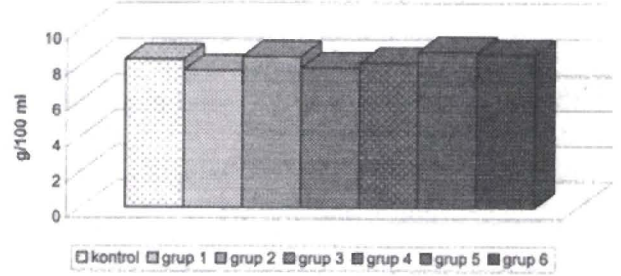
Alyuvar sayısı ($6,95 \times 10^6 /\text{mm}^3$), hemoglobin miktarı (7,72 g/dl), hematokrit değer (% 23,83) ve ortalama alyuvar hemoglobin derişimi (% 30,50) Grup 1'de en düşük değerleri göstermişken, ortalama alyuvar hacmi açısından (37,09 fL) ise en yüksek değerdedi. Alyuvar sayısı ($8,78 \times 10^6 /\text{mm}^3$), hemoglobin miktarı (8,74 g/100 ml) ve hematokrit değer (% 27) için en yüksek değerler ile ortalama alyuvar hemoglobini (9,97 pikogram) için en düşük değerler 5. grupta belirlenmiştir. Bunların dışında, ortalama alyuvar hacmi için en düşük (27,11 fL) ve ortalama alyuvar hemoglobin derişimi için (% 39,03) en yüksek değerler ise 4. grupta ortaya çıkmıştır. Ortalama alyuvar hemoglobini için (11,35 pikogram) en yüksek değer ise 3. grupta ortaya çıkmıştır.

Minimum ozmotik hemoliz değerleri % 0,70-0,75 arasında değişmişken, maximum ozmotik hemoliz değerleri ise % 0,48-0,60 arasında belirlenmiştir (Tablo 1).

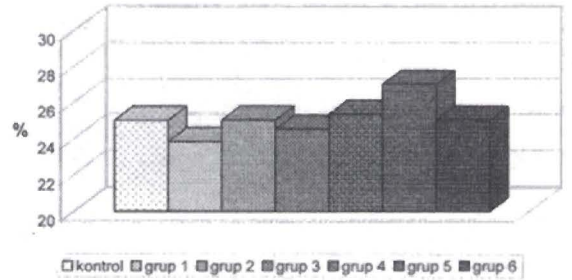
A) Alyuvar sayısı ($p=0,328$).



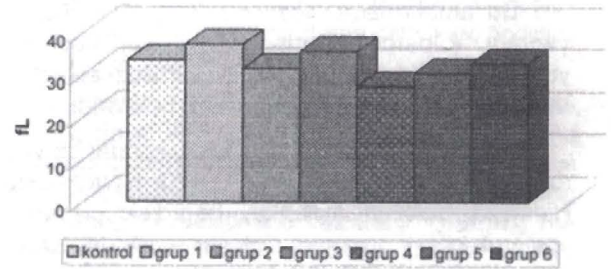
B) Hemoglobin miktarı ($p=0,467$).



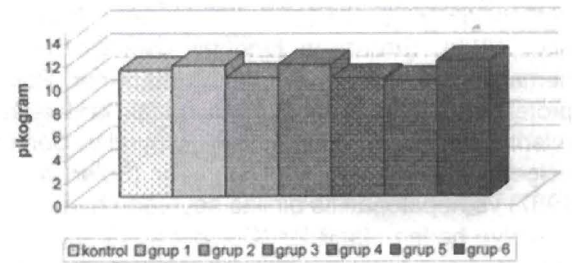
C) Hematokrit değer ($p=0,617$).



D) Ortalama alyuvar hacmi ($p=0,297$).



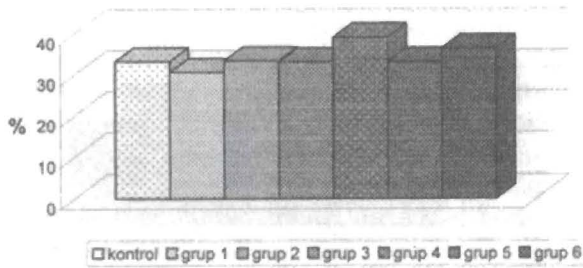
E) Ortalama alyuvar hemoglobini ($p=0,657$).



Tablo 1. Tüm gruplara ait en düşük ve en yüksek ozmotik hemoliz değerleri.

	Gruplar						
	Kontrol	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	Grup 5	Grup 6
Minimum Ozmotik Hemoliz (% NaCl)	0,70	0,73	0,70	0,75	0,70	0,70	0,74
Maximum Ozmotik Hemoliz (% NaCl)	0,56	0,54	0,56	0,60	0,59	0,56	0,48

F) Ortalama alyuvar hemoglobin derişimi ($p=0,267$).



Tartışma ve Sonuç

Bu araştırmada, kuzulara 2 ay boyunca meşe yaprağı (*Quercus hartwissiana*) verilmesinin alyuvarlar üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı ve anemi şekillendirmediği belirlendi.

Bitkilerdeki tanenli maddeler, kondanse ve hidrolize olabilenler olarak iki ana gruba ayrılmaktadır. Hidrolize olabilen tanenler, bağırsak sisteminden emilerek çeşitli organ ve dokular üzerinde zararlı etkiler oluştururlar. Akut toksik etkilerin hidrolize olabilen tanenlerden kaynaklandığı, gallotanenlerin rumende hidrolize olarak gallik asit ve pirogallol çevrildiği ve özellikle böbreklerde etki gösterdiği ileri sürülmektedir (Dollahite ve ark., 1962; Pigeon ve ark., 1962). Emilebilen tanenler böbrekler dışında hematolojik sistem için de toksik olabilirler. Plazma proteinlerine veya mikrosirkulasyondaki endotel hücrelerine bağlanarak hemorajilere, plöyral ve peritonral bölgeye sıvı sızmasına yol açabilir (Spier ve ark., 1987) ve hepatopati ile birlikte seyreden hemolitik bir anemiye neden olabilirler (Cornelius, 1989). Tuj kuzularında alyuvarların zar dayanıklılıklarını belirlemek amacıyla yaptığımız ozmotik frajilite testinde ve anemiyle ilgili diğer parametrelerde kontrol grupları ile deneme grupları arasında anlamlı bir değişiklik belirleyemedik. Hidrolize olabilen ve ölümlü sonuçlanan zehirlenmelere dahi neden olabilen tanenli

bileşikler olgun meşe yapraklarından çok taze yapraklarda daha fazla bulunurlar (Makkar ve ark., 1988). Tuj kuzularına yedirilen yaprakların taze olmaması ve hidrolize tanen düzeylerinin % 0,06 olması hematolojik sistemin etkilendiğine dair bir bulguyla karşılaşılmamızın nedeni olabilir.

Tuj kuzularına yedirdiğimiz yapraklarda kondanse tanen içeriği hidrolize olabilenlere göre çok yüksek olmasına rağmen, hayvanlarda anemiyle ilgili bir bulguya rastlayamadık. Oysa polifenollerin besin maddelerindeki demiri bağlayarak emilimini azalttığı bilinmektedir (Brune ve ark., 1991). Yine tannik asit (TA) ile beslenen ratlarda 3. haftada hemoglobin düzeyi ile hematokrit değerlerde anlamlı azalmalar ortaya çıkmıştır (Afsana ve ark., 2003). Polifenoller yalnızca demir bağlayarak değil aynı zamanda sekal fermantasyon olaylarını değiştirerek de mineral emilimini engellerler. Tannik asit verilen ratlarda sekal asetat ve propiyonat miktarlarının arttığı ve bakır ve mangan emilimi artarken ince bağırsaklarda demir ve çinko emiliminin azaldığı belirlenmiştir (Afsana ve ark., 2004). Ancak bütün bu etkilerin alınan besinlerdeki tannik asit veya polifenollü maddelerin düzeyleri ile ilgili olduğu da ileri sürülmektedir. Afsana ve ark.(2003) yaptıkları bir çalışmada diyetlerinde günlük 5 g/kg tannik asit bulunan ratlarda anemi gözlemlenmemişken, 10-20 g/kg tannik asit verilen ratlarda anemi tablosunun ortaya çıktığını belirlemişlerdir. Bu sonuçlara göre de kg'da 10 g veya daha fazla tannik asit içeren diyetlerin ratlarda demir eksikliği anemisine neden olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Aynı araştırmacılar (Afsana ve ark., 2003) yine ratlara 15 g/kg diyet olacak şekilde tannik asidi 3 hafta verdiklerinde hemoglobin miktarının, hematokrit değerinin, demir emiliminin ve karaciğer demir düzeyinin diğer gruplara göre daha az olduğunu belirlemişlerdir. Yukarıdaki çalışmada ratlarda anemi yapan dozlar, bizim koyunlara verdiğimiz yemdeki tannik asit düzeyine (63,7 g/kg yaprak) göre daha düşüktür (Yıldız ve ark., 2005). Ancak araştırmamızda kullanılan hayvanlar ruminant olması nedeni ile rumen tanenlerin detoksifikasyonunda önemli rol oynayarak hematolojik

sistemde oluşabilecek olumsuz etkileri engellemiş olabilir.

Polietilen glikol, tanenleri bağlamak üzere yemlere katılan bir maddedir (Makkar, 2003). Mevcut çalışmada toplam tanen düzeyi 63,7 g/kg yaprak olarak tespit edilmiş olup bu düzeyde de polietilen ilavesinin faydalı olduğu belirtilmiştir (Makkar, 2003). Fakat mevcut çalışmada polietilen glikolün herhangi bir etkisi gözlemlenmemiştir. Buna neden olarak da çalışmada kullanılan yaprakta bulunan tanenlerin hayvanlar tarafından tolere edilebilir düzeyde olması gösterilebilir. Kuzular, ya sindirim sisteminde ya da emilebilir tanenlerin emiliminden sonra, tanenleri etkisiz hale getirebilmişlerdir. Bu nedenle de polietilen glikolün bir etkisi gözlenmemiş olabilir.

Sonuç olarak Tuj kuzularına 2 ay boyunca tanen zengin meşe yaprakları (Quercus hartwissiana) yedirilmesinin; 1) anemi oluşturmadığı, 2) PEG'in etkisiz olup maliyeti artırdığı, 3) kaba yem sıkıntısı çekilen özellikle kışın uzun sürdüğü ve vegetasyonun kısa dönem olduğu bölgelerde bu yaprakların rasyona uygun bir oranda katılmasının ölçülen parametreler yönünden bir sakıncasının olmadığı belirlenmiştir.

Kaynaklar

Afsana, K., Shiga, K., Izhisuka, S., Hara, H. (2003). Ingestion of an indigestible saccharide, difructose anhydride III, partially prevents the tannic acid-induced suppression of iron absorption in rats. *J.Nutr.*, 133, 3553-3560.

Afsana, K., Shiga, K., Izhisuka, S., Hara, H. (2004). Reducing effect of ingesting tannic acid on the absorption of iron, but not of zinc, copper and manganese by rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68, 3, 584-592.

Brune, M., Hallberg, L., Skanberg, A.(1991). Determination of iron-binding phenolic groups in foods. *J.Food Sci.*, 56, 218-167.

Cornelius, C.E.(1989). Liver Function. In "Clinical Biochemistry of Domestic Animals", Ed., Kaneko, J.J., Academic Press Inc., New York.

Dollahite, J.W., Pigeon, R.F, Comp, B.J.(1962). The toxicity of gallic acid, pyrogallol, tannic acid and Quercus havardii in the rabbit. *Am.J.Vet. Res.*, 23, 1264-1267.

Garg, S.K., Makkar, H.P.S., Nagal, K.B., Sharma, S.K., Wadhwa, D.R., Singh, B.(1992). Oak (Quercus incana) leaf poisoning in cattle. *Vet. Hum. Toxicol.*, 34, 2, 161-164.

Hagerman, A.E., Carlson, D.M.(1998). Biological response to dietary tannins and other polyphenols. *Recent Res. Devel., In Agri. and Food Chem.*, 2, 689-704.

Lowry, J.B., Mcsweeney, C.S., Palmer, B.(1996). Changing perceptions of the effect of plant phenolics on the nutrient supply in ruminant. *Aust.J.Agric. Res.*, 47, 829-842.

Makkar, H.P.S., Dawra, R.K., Singh, B.(1988). Changes in tannin content, polymerization and protein precipitation capacity in oak (Quercus incana) leaves with maturity. *J.Sci.Food Agric.*, 44, 301-307.

Makkar, H.P.S.(2003). Effects of fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Rum. Res.*, 49, 241-256.

Pigeon, R.F., Camp, B.J., Dollahite, J.W.(1962). Oral toxicity and polyhydroxyphenol moiety of tannin isolated from Quercus havardii (shin oak). *Am. J.Vet. Res.*, 23, 1268-1270.

Spier, S.J., Bradford, B.S., Seawright, A.A., Norman, B.B., Ostrowski, S.R., Oliver, M.N.(1987). Oak toxicosis in cattle in northern California: Clinical and pathologic findings. *JAVMA*, 191, 8, 958-964.

Yildiz, S., Kaya, I., Unal, Y., Aksu-Elmalı, D., Kaya, S., Cenesiz, M., Kaya, M., Oncuer, A.(2005). Digestion and body weight change in Tuj lambs receiving oak (Quercus hartwissiana) leaves with and without PEG. In: Predicting and Improving the Safety and Efficiency of Feeding Ruminants on Tanniferous Tree Foliage, Ed. H.P.S. Makkar. *Animal Feed Science and Technology (Special Issue)*, 122, 159-172.

Yılmaz, B.(2000). Fiziyoloji, Feryal Matbaacılık, Ankara.

Yılmaz, K., Otlu, A.(1989). Veteriner Hematoloji El Kitabı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara.