

BROİLER PİLİÇLERDE PAMUK TOHUMU VE PAMUK TOHUMU KÜSPESİ TOKSİKASYONLARINDA (GOSSİPOL TOKSİKOSİS) PATOLOJİK İNCELEMELER*

Aydın ÇEVİK, Erkan KARADAŞ

Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Elazığ-TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 10.03.2000

Pathological Investigations of Cottonseed and Cottonseed Meal Poisoning (Gossypol Toxicosis) in White Broiler Chickens

SUMMARY

This study was undertaken to investigate effects of gossypol poisoning in broiler chickens which were fed with cottonseed and cottonseed meal. Poisoning related findings were compared between the two groups. For this purpose, a total of 10 – day – old 117 Ross PM-3 broiler chickens without sex determination, were divided into three main groups: two trial groups (n=104) and one control group (n=13). Each trial group was further subdivided in four subgroups each containing 13 chickens. In the group I (trial group I), cottonseed was added to standard diets as: 5 % (subgroup 1), 10 % (subgroup 2), 15 % (subgroup 3) and 20 % (subgroup 4). In the group II (trial group II), cottonseed meal was added to standard diets as: 10 % (subgroup 1), 20 % (subgroup 2), 30 % (subgroup 3) and 40 % (subgroup 4). Feeding experiments were carried out for 8 weeks. In the present study, no significant clinical and pathological findings were observed in the subgroups 1, 2 and 3 of the trial group II chickens. Such findings in the subgroup 4 were mild or difficult to distinguish. Both clinical and pathological toxic effects were seen in the trial group I. Clinically, starting from the third week of the experiments, a significant decrease in body weight, weakness, dilatation of the crop, fall down in the chest position 4-9 hours before death and terminal convulsions following lying on a side were observed. Mortality rate was recorded as 26.15 %. Macroscopically, yellow coloured fluid in the pericardium and abdomen; congestion and oedema in the lung; an accumulation of frothy fluid in the caudal part of the trachea and cross sections of the lung; bilateral dilatation of the ventricles in the heart; enlargement in the oesophagus and crop; diffuse focal ulcers on the mucosa of the ventriculus, crop and oesophagus; severe congestion and focal necrosis in the liver were noted as the main findings. Microscopic lesions related to macroscopic ones were characterized with congestive heart failure and its complications. Toxicologically, free gossypol levels were determined in the heart (24-248 ppm) and liver (74-316 ppm) tissues sampled from all subgroups of the trial group I. In the trial group II, no gossypol was found in the subgroups 1, 2 and 3. However, there were low levels of free gossypol (12 ppm) only in the liver samples of the subgroup 4.

Key Words: Cottonseed, Cottonseed Meal, Chicken, Pathology.

* Bu çalışma, aynı başlıklı doktora tezinden özetlenmiştir.

ÖZET

Bu çalışma, ayrı ayrı gruplar halinde, broiler piliçlere pamuk tohumu ve pamuk tohumu küspesi yedirilerek, gossipol toksikasyonunun oluşturulması ve toksikasyona ilişkin şekillenen bulguların gruplar arasında karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Bu amaçla, 10 günlük, toplam 117 adet Ross PM-3 broiler piliç, cinsiyet ayrımı yapılmaksızın, 52'şer adet piliçten oluşan iki deneme grubu ve kontrol grubu (13 piliç) olmak üzere 3 ana gruba; her deneme grubu da, 13'erli piliçten oluşan, 4'er alt gruba ayrıldı. I. deneme grubu (I. grup) piliçlerin standart ticari yemlerine sırasıyla; % 5 (1. alt grup), % 10 (2. alt grup), % 15 (3. alt grup) ve % 20 (4. alt grup) oranlarında pamuk tohumu; II. deneme grubu (II. grup) piliçlerin standart ticari yemlerine de % 10 (1. alt grup), % 20 (2. alt grup), % 30 (3. alt grup) ve % 40 (4. alt grup) oranlarında pamuk tohumu küspesi ilave edildi. Yedirme denemesine 8 hafta devam edildi. Çalışmada, II. deneme grubu piliçlerde, 1, 2 ve 3. alt gruplarda, kayda değer klinik ve patolojik bir bulguya rastlanmadı, 4. alt grupta gözlenen klinik ve patolojik bulgular da oldukça hafif şiddette veya seçilemiyordu. Toksik etkinin görüldüğü I. deneme grubu piliçlerde klinik olarak, denemenin 3. haftasından itibaren, canlı ağırlık artışında yavaşlama, kaşeksi ve kursak genişlemesi ile ölümden 4-9 saat önce göğüs üstü pozisyonda aniden düşme ve terminal konvülsiyonlar en önemli bulguları. Ölüm oranı % 26.15 olarak hesaplandı. Makroskopik olarak, perikardda ve karın boşluğunda, saman sarısı renginde effuzyon, akciğerde konjesyon ve ödem, trakeanın kaudalinde ve akciğerin kesit yüzünde köpüklü sıvı; kalpte bilateral ventriküler dilatasyon; özofagusta ve kursakta dilatasyon ile birlikte özofagus, kursak ve muskuler mide mukozasında fokal ülserler; karaciğerde şiddetli konjesyon ve fokal nekrozlar gözlenen başlıca lezyonlardı. Mikroskopik bulgular, konjestiv kalp yetmezliği ve komplikasyonlarına ilişkin değişikliklerle karakterize idi. Toksikolojik olarak, I. deneme grubu piliçlerin tüm alt gruplarında, kalp (24-248 ppm) ve karaciğer (74-316 ppm) doku örneklerinde serbest gossipol düzeyleri demonstre edildi. İkinci deneme grubunun 1, 2 ve 3. alt gruplarında, kalp ve karaciğer doku örneklerinde ortaya konamayan serbest gossipol düzeyleri 4. alt grupta ve sadece karaciğerde (12 ppm) saptandı.

Anahtar Kelimeler : Pamuk Tohumu, Pamuk Tohumu Küspesi, Piliç, Patoloji.

GİRİŞ

Pamuk bitkisi, sistematikte Malvacea familyasının gossypium türünde yer alır (6,28,32). Ülkemiz'de ve Dünya'nın pek çok ülkesinde yetiştirilen bitki (1,3,11,25), başta tekstil olmak üzere, çeşitli endüstri dallarında hammadde olarak kullanılmakta (1,6), küspesi de yem sanayiinde bitkisel protein kaynağı olarak değerlendirilmektedir (8,21,38,40,41).

Bitkinin toprak üstündeki tüm bölümlerinde, özellikle tohumlarında, yağı ve bazı pigment bileşiklerin yanı sıra, oldukça toksik, polifenolik bir bileşik olan gossipol bulunur (6,16,22,32,36). Pamuk tohumunun işlenme yöntemine göre; gossipolun bir kısmı yağ ile birlikte ekstrakte olmakta, bir kısmı proteinlere bağlanmakta, bir bölümü ise serbest gossipol olarak kalmaktadır (18,19,30,41). Gossipolun serbest formu, uzun süre pamuk tohumu ya da pamuk tohumu küspesi ile beslenen hayvanlarda şekillenen toksikasyonların (gossipol toksikosis) da başlıca sebebidir (6,7,18,39). Gossipolun tek mideli hayvanlar (27,28,32,33,42) ile preruminantlar (13,24,25,43) ve kanatlılar (2,7,11,15,29,31) için toksik ve öldürücü olduğu

kaydedilmiş, deneysel ve doğal olgularda toksikasyonun klinik ve patolojik bulguları açıklanmıştır.

Yapılan literatür taramalarında, ülkemizde, fareler (14) ve broiler piliçlerde (15) deneysel olarak pamuk tohumu yedirilerek meydana getirilen iki ayrı çalışmanın dışında, pamuk tohumu ya da pamuk tohumu küspesi toksikasyonlarıyla ilgili patolojik bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışma ile pamuk tohumu ve pamuk tohumu küspesi, broiler piliçlere ayrı ayrı gruplar halinde yedirilerek, gossipol toksikasyonunun oluşturulması ve şekillenen patolojik değişikliklerin gruplar arasında karşılaştırılması amaçlanmış, böylece pamuk tohumu küspesinin patolojik etkileri ile ilgili literatürdeki eksikliğin giderilmesi ve broiler piliçlerin rasyonlarına hangi oranlarda ilave edilebileceği konularının araştırılması öngörülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada, Köy- Tür Elazığ Tav-San. ve Tic. A.Ş'nden sağlanan, 10 günlük, toplam 117 adet Ross PM-3 broiler piliç kullanıldı. Standart

ticari piliç yemleri de aynı işletmeden sağlandı. Ticari yemlere belirli oranlarda ilave edilen pamuk tohumu (*Gossypium hirsutum*; bitkinin bu alt türü Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde identifiye edilmiştir) çekirdeği, Elazığ Çukobirlik Tarım Satış Kooperatifi'nden; bitkinin aynı alt türünün küspeleri de Fırat Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nden sağlandı. İşletmeden 1 günlükken alınan broiler civcivler, 9 gün boyunca civciv büyüme yemiyle beslendi. Piliçler 10 günlük olduklarında, cinsiyet ayırımı yapılmaksızın, 52' şer piliçten oluşan I. deneme (I.grup) ve II. deneme (II.grup) grupları (104 piliç) ile kontrol (III.grup) grubu (13 piliç) olmak üzere üç ana gruba; her deneme grubu da 13' erli 4' er alt gruba ayrıldı. Standart ticari yemlerine, I. deneme grubu piliçlerde, öğütülüp elenmiş pamuk tohumu çekirdeği sırası ile % 5 (1.alt grup), % 10 (2. alt grup), % 15 (3. alt grup) ve % 20 (4. alt grup) oranlarında; II. deneme grubu piliçlerde ise pamuk tohumu küspesi % 10 (1.alt grup), % 20 (2. alt grup), % 30 (3. alt grup) ve % 40 (4. alt grup) oranlarında ilave edildi. Yedirme denemesine 8 hafta devam edildi. Deneme süresince, haftalık olarak, gruplardaki canlı ağırlık artışları kaydedildi.

Gerek deneme süresince ölen, gerekse denemenin sonunda kesilen piliçlerin sistemik nekropsileri yapılarak; akciğer, kalp, özofagus, kursak, glanduler ve muskuler mide, bağırsaklar, karaciğer, pankreas, dalak, böbrek, timus, tiroid ve bursa Fabricius ile serebrum ve serebellumdan ayrıca, but ve göğüs kasları, nervus işiadikus ve deriden alınan doku örnekleri % 10' luk nötral formalin solüsyonunda tespit edildi. Klasik işlemlerden geçirildikten sonra hazırlanan parafin blokları, 5 mikrona ayarlanmış mikrotomda kesilip, alınan kesitler hematoksilin-eosin (HE) ile, gerekli görülenler van Gieson ve Prussian Blue Reaction yöntemlerine göre boyanarak (20), ışık mikroskopunda incelendi.

Toksikolojik analizler için, yedirme denemesinin sonunda kesilen I. ve II. deneme gruplarına ait herbir alt gruptan 4' er adet olmak üzere toplam 32 adet piliçten kalp ve karaciğer doku örnekleri alınarak, % 90' lık aseton solüsyonuna bırakıldı. Gerek doku düzeyinde, gerekse bitkinin tohumlarında ve küspesindeki serbest gossipol düzeyleri, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı'nda, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Tebliği'nde bildirilen

spektrofotometrik (440 nm'de) yöntemle göre tayin edildi (35).

BULGULAR

Standart ticari yemlerine pamuk tohumu ilave edilen I. deneme grubu piliçlerde 3. haftasonu tartımlarından; pamuk tohumu küspesi ilave edilen II. deneme grubu piliçlerde de 4. haftasonu tartımlarından itibaren canlı ağırlık artışlarında yavaşlamalar tespit edildi. Birinci deneme grubu piliçlerin canlı ağırlık artışlarındaki yavaşlamalar, istatistiksel olarak, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; 4. alt grupta 3., 3. alt grupta 4., 2. alt grupta 5. ve 1. alt grupta 6. haftadan itibaren, denemenin sonuna kadar oldukça önemli ($p<0.001$) idi. İkinci deneme grubu piliçlerde 4. alt grupta 4. haftadan itibaren tespit edilen yavaşlamalar kısmen önemli ($p<0.05$) bulunurken, diğer alt gruplardaki yavaşlamaların ise önemsiz ($p>0.05$) olduğu görüldü.

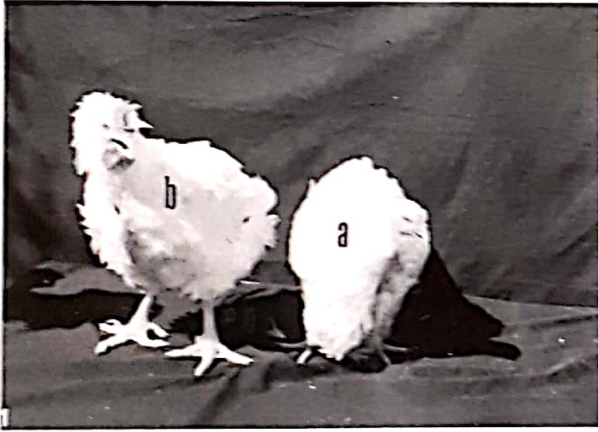
Klinik Bulgular

Önemli klinik bulgular, I. deneme grubunun 3 ve 4. alt gruplarında daha şiddetli olmak üzere, tüm alt gruplarında gözlemlendi. İkinci deneme grubunun 1, 2 ve 3. alt gruplarında herhangi bir klinik bulguya rastlanmadı, 4. alt grubuna ait 5 piliçte gözlenen klinik bulgular da oldukça hafif şiddette idi. İlk klinik belirtiler yedirme denemesinin 3. haftasında, I. deneme grubunun 4. alt grubunda; daha sonra sırasıyla 4. haftada 3., 5. haftada 2. ve 6. haftada 1. alt grubunda görülmeye başlandı. Klinik bulgular birbirine benzerlik gösteriyordu. Canlı ağırlık artışındaki yavaşlama ve kaşeksi en belirgin bulguydu. Önce uyarılara karşı aşırı duyarlılık, daha sonra bitkinlik ve yorgunluk, tüylerde kabarıklık, kirli ve mat bir görünüm, yürütülmek istendiğinde sendeleme, kaz yürüyüşü pozisyonunu alma ve şiddetli dispnö gözlenen diğer bulguları. Ölümünden 4-9 saat önce göğüs üstü pozisyonda birdenbire yere düşme, terminal konvülsiyonlar ve ardından şekillenen ölümler, ölen piliçlerin tamamında gözlemlendi. Yedirme denemesi süresince, günlere göre, gruplarda şekillenen ölüm olayları ile bunlara ilişkin % ölüm oranları ve total ölüm oranına ilişkin sonuçlar Tablo 1'de sunuldu. Denemenin 3-5. haftalarından itibaren I. deneme grubunun 1 ve 2. alt gruplarındaki piliçlerin tamamı ile 3 ve 4. alt gruplarında sağ kalan piliçlerde, kursak, portakal büyüklüğünde, hafif sert kıvamda bir kitle ile dolarak göğüs bölgesini tamamen kaplamış ve yere doğru pandül gibi sarkmıştı (Şekil 1).

Tablo 1. Gruplarda, günlere göre şekillenen ölüm olayları ve % ölüm oranlarını gösterir tablo.

GRUPLAR		Deneme Günleri																				Ölüm			
		7	14	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	32	35	36	38	39	42	43	48	49	56	Oranları (%)	
Deneme Grupları	I.	1. alt grup																						7.69	
	Deneme	2. alt grup																						23.07	
	Grubu	3. alt grup									+	+	+	+	+						+			38.46	
	(I. Grup)	4. alt grup				+	+	+	+		+	+	+	+	+									61.53	
	II.	1. alt grup																						-	
	Deneme	2. alt grup																						-	
	Grubu	3. alt grup																						-	
	(II. Grup)	4. alt grup																						-	
	Kontrol Grubu (III. Grup)																								-
	Total Ölüm Oranı (%)	I. Deneme Grubu																							26.15
	II. Deneme Grubu																							-	

+: Bir ölüm olayı



Şekil 1. Portakal büyüklüğünde bir kitle ile dolu ve göğüs bölgesini tamamen kaplayan kursağın yere doğru sarkık görünümü. (I. deneme grubu; a: 1.alt grup ve kontrol grubu (b), 5. hafta).

Morfolojik Bulgular

Makroskopik Bulgular

İkinci deneme grubunda 1, 2 ve 3. alt gruplara ait piliçlerin tamamı ile 4. alt gruba ait 8 piliçte herhangi bir lezyona rastlanmadı. Dördüncü alt gruba ait 5 piliçteki makroskopik lezyonlar da oldukça hafif şiddette idi. Önemli makroskopik lezyonlar I. deneme grubunun alt gruplarında gözlemlendi. Bu alt gruplara ait ölen 17 piliç ile denemenin sonunda kesilen piliçlerin tamamında saptanan lezyonlar birbirine benzerlik gösteriyordu. Ancak, lezyonların şiddeti deneme süresince ölen piliçlerde denemenin

sonunda kesilen piliçlere oranla; 3 ve 4. alt gruplarda da 1 ve 2. alt gruplara oranla daha şiddetli idi.

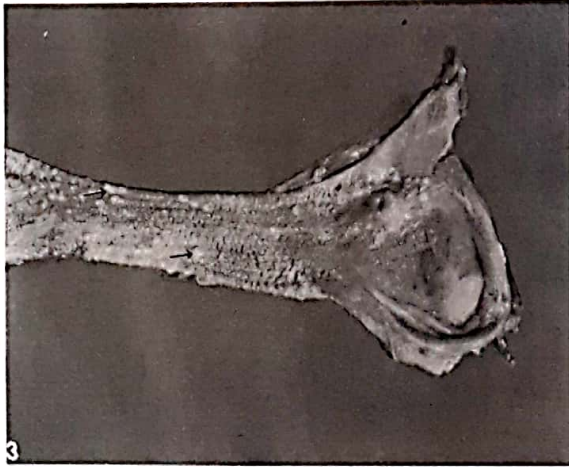
Makroskopik lezyonlar akciğerler ve kalp ile özofagus, kursak, kaslar mide ve karaciğerde saptandı. Deneme süresince ölen I. deneme grubuna ait 3 ve 4. alt gruplardaki piliçlerde daha belirgin olarak görülen kaşeksi ile birlikte ölen veya kesilen piliçlerde; karın boşluğunda 15-20 ml, perikardda da 3-5 ml arasında değişen, saman sarısı renginde bir effüzyon gözlemlendi. Şiddetli konjesyone ve ödemli olan akciğerlerin kesit yüzünde ve trakeanın kaudalinde, lumende, köpüklü bir sıvı vardı. Kalpte sulkus koronaryus ve sulkus longitudinalis boyunca subepikardiyal yaygın peteşiyal kanamalar gözlemlendi. Epikard üzerinde ve endokardda toplu iğne başı büyüklüğünde, boz renkte, multifokal alanlar tespit edildi. Bu odaklara miyokardın içinde de rastlandı. Miyokard haşlanmış görünümünde ve gevşek kıvamda idi. Pıhtılaşmış kan kitlesi ile dolu olan sağ ve sol ventrikülüsler oldukça genişlemiş, duvarları da incelmisti (bilateral ventriküler dilatasyon).

Birinci deneme grubunun 4. alt grubunda 5 piliçte, 3. alt grubunda 8 piliçte, 1 ve 2. alt gruplarındaki piliçlerin ise hemen hemen tamamında, kursakların portakal büyüklüğünde, içlerinde pamuk tohumu çekirdeklerinin de bulunduğu, yapışkan bir içerik ile dolarak genişlediği (kursak dilatasyonu) tespit edildi. Ayrıca kursak dilatasyonu saptanan piliçlerin 8'inde (5'i 1.alt gruba, 3'ü 2.alt gruba ait) özofagusun pamuk tohumu çekirdeklerini içeren bir kitle ile dolarak, kordon şeklinde genişlemiş olduğu görüldü (özofagus dilatasyonu, Şekil 2).

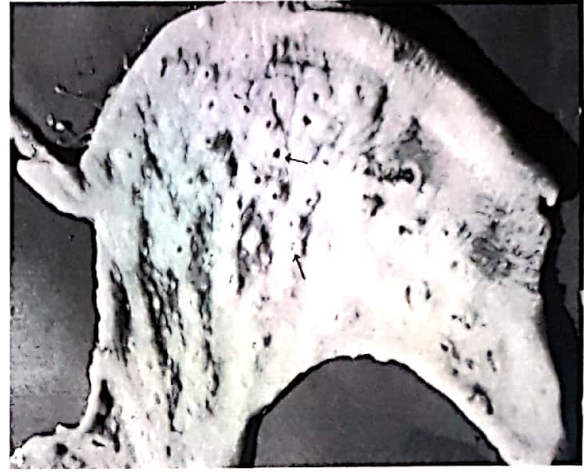


Şekil 2. Kursakta ve özofagusta dilatasyon, (I. deneme grubu, 2.alt grup, 6.hafta).

İçerik uzaklaştırıldığında, özofagus (Şekil 3) ve kursak mukozasında (Şekil 4), serpiştirilmiş tarzda, krater benzeri, fokal ülserlere rastlandı. Glanduler mide mukozası peteşiyal ve ekimotik kanamalar; muskuler mide mukozası da mukoza dürümüne paralel, çok sayıda erozyon ve ülserlerle kaplanmıştı. İnce bağırsaklarda daha belirgin olmak üzere, bağırsakların serozası hiperemik görünümde idi. Bağırsakların lumeninde, partiküller halinde sindirilmemiş pamuk tohumu çekirdekleri ile birlikte mukuslu, jelatinöz, hafif sulu bir içerik vardı. Bağırsak mukozası yer yer benekli veya çizgili bir biçimde, hemorajik, ödematöz görünümde idi.



Şekil 3. Özofagus mukozasında yaygın ülserler, oklar, (I. deneme grubu, 2.alt grup, 6.hafta).



Şekil 4. Kursak mukozasında yaygın ülserler, oklar, (I. deneme grubu, 2.alt grup, 6.hafta).

Şiddetli konjesyone olan karaciğer, koyu kahverengi-mor renkte ve sert kıvamda idi. Kesit yüzünden bol miktarda koyu kırmızı kan veya kırmızı şarap rengine bir sıvının aktığı görüldü. Karaciğerin parietal, viseral ve kesit yüzlerinde toplu iğne başı büyüklüğünde, boz renkte odaklar vardı. Safra kesesi dolgun olup, duvarı ödemli ve kalınlaşmıştı. Dalak ve böbreklerde konjesyonun dışında makroskobik bir bulguya rastlanmadı.

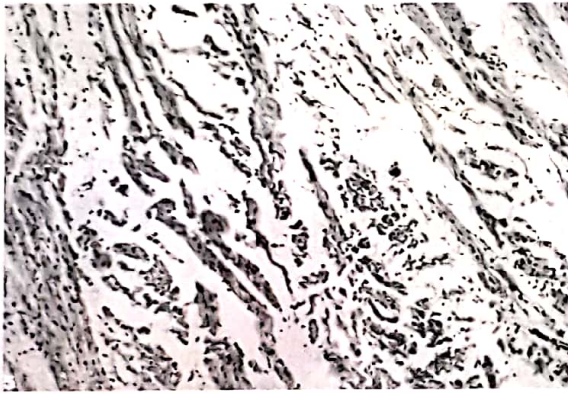
Mikroskobik Bulgular

İkinci deneme grubunun 1, 2 ve 3. alt gruplarında kayda değer herhangi bir bulguya rastlanmadı. Aynı grubun 4.alt grubunda saptanan bulgular da oldukça hafif şiddette veya seçilemiyordu. Önemli mikroskobik bulgular, I. deneme grubunun alt gruplarında gözlemlendi ve birbirine benzerlik gösteriyordu. Ancak, mikroskobik değişikliklerin şiddeti, alt gruplar arasında farklı; aynı alt grubun gerek deneme süresince ölen, gerekse denemenin sonunda kesilen piliçlerinde ise genellikle benzerdi.

Akciğerlerdeki en belirgin bulgu damarlardaki şiddetli konjesyondur; damarların duvarı oldukça kalınlaşmıştı. Bazı damarlarda intravasküler hemoliz gözlemlendi. Perivasküler alanlar ödemli ve kanamalı idi. Bazı alveol, bronş ve bronşiyollerin lumeni, eritrositlerin de bulunduğu, eozinofilik, pembemsi renkte ödem sıvısı ile dolu ve genişlemişti. İnteralveoler septumlar ödem ve bağ doku artışı nedeniyle kalınlaşmıştı. Denemenin sonunda kesilen 14 piliçte (7'si 1., 4'ü 2., 2'si 3. ve 1'i 4. alt gruba ait) bazı alveol, bronş ve bronşiyollerin lumeninde ve

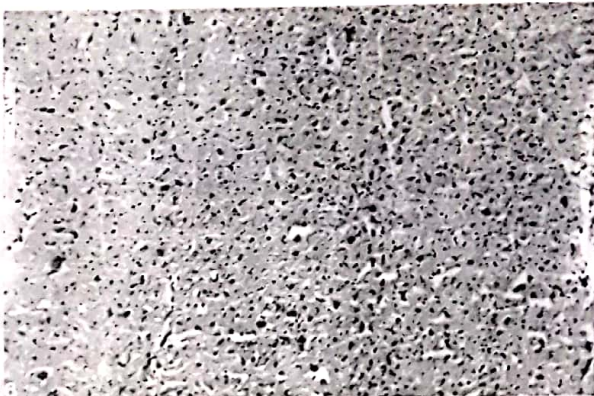
interalveoler septumlarda, lenfoid ve makrofaj hücre infiltrasyonları ile birlikte, tek tük çok çekirdekli sinsityal hücrelere rastlandı. Prussian Blue Reaction yöntemi ile yapılan boyamalarda, bazı makrofajların ve sinsityal hücrelerin demir pozitif reaksiyon veren materyal (hemosiderin) ile yüklü oldukları tespit edildi.

Kalpte subepikardiyal ve subendokardiyal alanlarda ödemle birlikte heterofil ve mononuklear hücre infiltrasyonları vardı. Miyokarda yaygın kanamalar tespit edildi. İntersitisyel ödem nedeniyle, miyofibriller birbirinden ayrılmıştı (Şekil 5).



Şekil 5. Kalpte, miyokarda ödem nedeniyle miyofibrillerde ayrılma, (I. deneme grubu, 4.alt grup, 5.hafta), HE X 175.

Bazı miyofibrillerde sentral veya eksantrik yerleşim gösteren, dağılmış, ince eozinofilik granüllü vakuolizasyonlar ile karakterize dejeneratif değişikliklere, bazı miyofibrillerde de piknoz ile karakterize nekroz (Şekil 6) ve distrofik kalsifikasyona rastlandı. Miyofibriller genellikle hipertrofik, çekirdek sayıları artmış ve hiperkromatik idi (Şekil 7).



Şekil 6. Kalpte, miyokarda piknoz ile karakterize yaygın nekroz, (I. deneme grubu, 2.alt grup, 6.hafta), HE X 175.



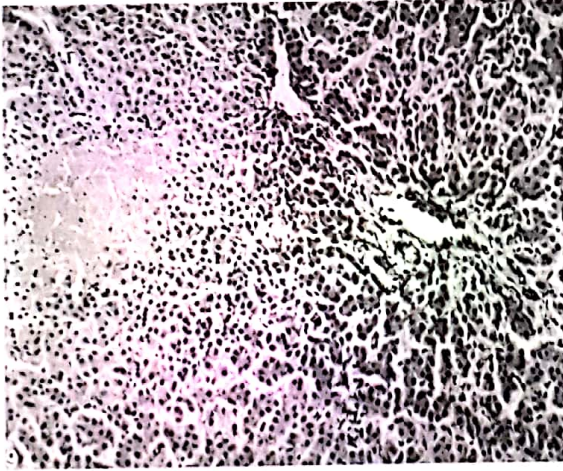
Şekil 7. Kalpte, miyokarda miyofibrillerin çekirdek sayılarında artış ve hiperkromazi, (I. deneme grubu, 3.alt grup, 5.hafta), HE X 350.

Özofagus, kursak (Şekil 8) ve muskuler midede, tunika muskularise kadar uzanan fokal ülserler ile bu alanların çevresindeki epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon gözlemlendi. Nekrotik hücre artıkları, eritrositler ve mononuklear hücrelerle birlikte çok sayıda heterofil granülositlerin de bulunduğu bu ülseratif odakların çevresinde yer yer bağ doku şekillenmişti. Kursak ve muskuler midede ayrıca, propria mukozada orta şiddette mononuklear hücre infiltrasyonları ve bezlerde kistik dilatasyonlar gözlemlendi. Bağırsaklarda, ince bağırsaklarda daha şiddetli olmak üzere, mukoza ve bez epitelinde dökülme, propria mukozada ve submukozada kanamalar ve damarlarda hiperemi vardı. İnce bağırsaklarda kript epitelileri genellikle yassılaştırmış ve kriptler kistik dilatasyona uğramıştı.

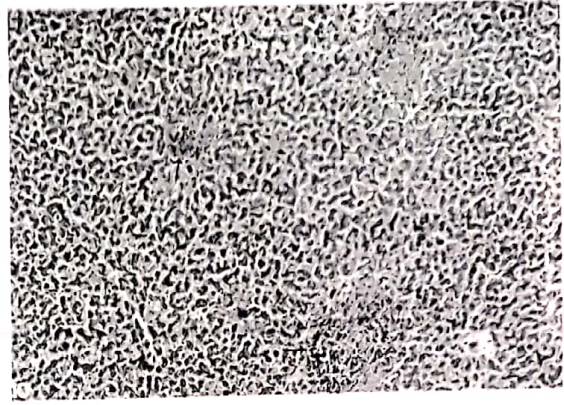


Şekil 8. Kursak mukozasında ülser ve çevresindeki epitel hücrelerinde hidropik dejenerasyon, (I. deneme grubu, 1.alt grup, 8.hafta), HE X 88.

Karaciğerde, genellikle sentrilobüler veya intermediyer koagülasyon nekrozu (Şekil 9) ile venlerdeki konjesyon ilk bakıda saptanan bulgulardı. Bazı portal ve sentral venlerde intravasküler hemoliz ile birlikte özellikle vena sentralislerin çevresinde, denemenin 26. gününden itibaren ölen piliçlerde (15 piliçte) gözlenmeye başlayan ve denemenin sonunda kesilen piliçlerde daha da belirginleşen bağ doku aktivasyonları (kardiyak sklerozis) dikkati çekti. Nekrotik alanlara yakın hepatositlerde parankim dejenerasyonu gözlemlendi. Periportal alanlardaki hepatositler genellikle normal görünümde idi. Sentrilobüler alanlardaki sinuzoidler genişlemiş ve eritrositlerle dolmuştu. Ölen ya da kesilen piliçlerin hemen hemen tamamında, çok sayıda hepatosit ve Kupffer hücrelerinin sitoplazmalarında parlak altın sarısı, kahverenginde pigmentasyon gözlemlendi. Aynı kesitlerin Prussian Blue Reaction yöntemi ile yapılan boyamalarında, hepatositlerin ve Kupffer hücrelerinin mavimsi menekşe renginde, demir pozitif reaksiyon veren bir materyal (hemosiderin) ile yüklü oldukları tespit edildi. Bazı alanlarda demir pozitif reaksiyon veren bu hücrelerin arasına ve çevresine çok sayıda lenfoid hücrelerin de katılmasıyla, tablo follikül tarzında, lenfoid hücre infiltrasyonu görünümünü almıştı (Şekil 10).



Şekil 9. Karaciğerde, intermediyer koagülasyon nekrozu, (I. deneme grubu, 1.alt grup, 8.hafta), HE X 231.



Şekil 10. Karaciğerde lenfoid infiltrasyonlar, oklar, (I. deneme grubu, 2.alt grup, 8.hafta), HE X 88.

Dalak venleri konjesyonlu idi. Genişlemiş olan venöz sinuslar ve kırmızı pulpa kordonlarının içleri eritrositler ile dolu idi. Söz konusu boşlukların içinde HE ile yapılan boyamalarda altın sarısı kahverengimsi; Prussian Blue Reaction ile yapılan boyamalarda da mavimsi menekşe renginde, demir pozitif materyaller içeren makrofajlara rastlandı.

Böbreklerde, damarlardaki konjesyon ilk bakıda saptanan bulgu idi. Kortekste, proksimal ve distal konvolut tubulus epitel hücrelerinde yaygın bir biçimde nekrotik değişiklikler; bazı proksimal ve distal konvolut tubulus epitellerinde de parankim dejenerasyonu gözlemlendi. Denemenin sonunda kesilen bazı piliçlerde, tubulus epitellerinde yassılaşma ile birlikte tubuluslarda dilatasyonlar ve orta şiddette mononuklear hücre infiltrasyonları ile karakterize fokal nonpurulent intersitisyel nefritis tablosu tespit edildi.

Birinci ve II. deneme grubu piliçlerde glanduler mide, pankreas, timus, tiroid, bursa Fabricius, deri, but ve göğüs kasları, perifer sinirler ve merkezi sinir sisteminde; kontrol grubu hayvanlarda da, incelenen tüm organlarda herhangi bir morfolojik bulguya rastlanmadı.

Toksikolojik Bulgular

Çalışmada, pamuk tohumu ve pamuk tohumu küspesindeki serbest gossipol düzeyleri sırasıyla, 12820 ppm ve 1240 ppm olarak ortaya kondu. Denemenin sonunda kesilen I. ve II. deneme gruplarına ait toplam 32 adet piliğin kalp ve karaciğer doku örneklerinde farklı değerlerde serbest gossipol düzeyleri saptandı ve sonuçlar tablo 2'de sunuldu.

Tablo 2 : Birinci ve II. deneme gruplarına ait piliçlerin (32 piliç), kalp ve karaciğer doku örneklerindeki serbest gossipol düzeylerini (ppm) gösterir tablo.

Organlar	Gruplar							
	I. Deneme Grubu (I. grup)				II. Deneme Grubu (II. grup)			
	1. alt grup	2. alt grup	3. alt grup	4. alt grup	1. alt grup	2. alt grup	3. alt grup	4. alt grup
Kalp	24	53	127	248	-	-	-	-
Karaciğer	74	154	228	316	-	-	-	12

TARTIŞMA ve SONUÇ

Gelişmekte olan ülkelerde, tavukçuluk sektörü, protein ve enerji kaynaklarının yüksek maliyeti nedeniyle, ekonomik güçlükler içindedir (2,8,10). Bu durum, Dünya’da ve Ülkemiz’de tavukçuluk işletmelerinde daha düşük maliyetli, alternatif protein ve enerji kaynaklarının bulunması ve değerlendirilmesi konularını da beraberinde getirmiştir. Bu amaçla, günümüzde pek çok ülkede evcil hayvanların ve kanatlıların rasyonlarında pamuk tohumu küspesi yaygın biçimde kullanılmaya başlanmıştır (1,8,11,21,29,31,38). Ancak, içerdği serbest gossipol nedeniyle pamuk tohumu küspesi, kanatlılar ile tek mideli hayvanlar ve preruminantlarda toksikasyonlara yol açmaktadır (13,15,24,25,27,33). Pamuk tohumu ya da pamuk tohumu küspesinde, 5’i identifiye edilmiş (diaminogossipol, gossiverdurin, gossipurpurin, gossifulvin, gossikaerulin) olmak üzere 15’e yakın toksik bileşiğin olduğu bildirilmektedir (6,16,28). Bu bileşikler içinde en yüksek oranda gossipolun bulunması nedeniyle, meydana gelen toksikasyonlar “gossipol toksikasyonu” adı altında tanımlanmaktadır (4,13,18,28,32,43). Pamuk tohumu ve pamuk tohumu küspesinde gossipolun dışında bulunan bileşiklerin biyolojik etkileri ile ilgili herhangi bir kayda rastlanılmamıştır.

Pamuk tohumunda 300-24000 ppm arasında serbest ve bağlı formda gossipol bulunur. Küspenin elde edilmesinde uygulanan yöntemle göre, serbest gossipol değerleri % 80-99 oranında azalarak, 200-1000 ppm’e kadar düşer (16). Bu çalışmada broiler piliçlerin standart ticari yemlerine ilave edilen *Gossypium hirsutum*’un toksikolojik analizinde, serbest gossipol düzeyleri; bitkinin herhangi bir işleme tabi tutulmamış tohumlarında 12820 ppm, ekspeller yöntemle elde edilen küspesinde ise 1240 ppm olarak tespit edilmiştir. Çalışmada pamuk tohumu küspesinde bulunan serbest gossipol düzeyi, Ülkemiz’de pamuk tohumu küspesinde bulunmasına

izin verilen 1200 ppm’lik serbest gossipol düzeyine (16) oldukça yakındır. Bununla birlikte, Ülkemiz’de pamuk tohumu küspelerinde ve kanatlı karma yemlerinde doğal olarak bulunan gossipol düzeylerinin saptandığı bir çalışmada (17), en düşük ve en yüksek serbest gossipol miktarları ppm olarak; pamuk tohumu küspelerinde 290-2090, etlik civciv yemlerinde 20-50, etlik piliç yemlerinde 10-90, damızlık tavuk yemlerinde 20-70, piliç geliştirme yemlerinde 20-60 ve yumurta tavuğu yemlerinde 40-60 olarak açıklanmıştır.

Pamuk tohumu küspesinin kanatlı karma yemlerine hangi düzeylerde (ppm) veya oranlarda (%) ilave edilebileceği ya da bulunabileceği konularında farklı görüş ve düşünceler vardır. Kimi araştırmacılar (16,17), kanatlı karma yemlerinde 600 ppm’den fazla serbest gossipolun etçi piliçlerde gelişme geriliğine ve ölümlere yol açtığını; 240 ppm’den fazla gossipolun da yumurtacı ırklarda yumurta veriminde ve yumurtadan embriyo çıkma oranında azalmalara neden olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bazı araştırmacılar (38,39), broiler piliçlerde 150 ppm’den, yumurtacı ırklarda da 50 ppm’den fazla serbest gossipolun rasyonda bulunmaması gerektiğini işaret etmişlerdir. Kimi araştırmacılar (7) ise pamuk tohumu küspesinin yumurtacı ırkların rasyonlarına % 30 oranının üzerinde ilave edilebileceğini açıklarken; bazı araştırmacılar (15), herhangi bir işleme tabi tutulmamış pamuk tohumu çekirdeklerinin broiler piliçlerin rasyonlarına % 5 oranında ilave edildiğinde dahi gossipol toksikasyonunun şekillendiğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada, toksikolojik analizler sonunda; herhangi bir işleme tabi tutulmamış *Gossypium hirsutum* tohumlarının 12820 ppm, küspesinin de 1240 ppm serbest gossipol içerdği dikkate alındığında, I. deneme grubu piliçlerden rasyonlarına % 5 (1.alt grup), % 10 (2. alt grup), % 15 (3. alt grup) ve % 20 (4.alt grup) oranlarında

pamuk tohumu ilave edilen alt gruplarda sırasıyla 641, 1282, 1923 ve 2564 ppm; rasyonlarına % 10 (1.alt grup), % 20 (2.alt grup), % 30 (3.alt grup) ve % 40 (4.alt grup) oranlarında pamuk tohumu küspesi ilave edilen II. deneme grubu piliçlerin alt gruplarında da sırasıyla 124, 248, 372 ve 456 ppm serbest gossipol bulunduğu anlaşılmaktadır. Broiler piliçlerde 150 ppm'den fazla serbest gossipolun, toksik etkilere yol açabileceği bildirilmekle birlikte (38), bu çalışmada II.deneme grubunun 124 ppm serbest gossipol içeren pamuk tohumu küspesi yedirilen 1. alt grubu ile 248 ppm ve 272 ppm serbest gossipol içeren pamuk tohumu küspesini tüketen 2. ve 3. alt gruplarında gossipol toksikasyonuna ilişkin herhangi bir bulguya rastlanılmamıştır. Buna karşın çalışmada, kimi araştırmacıların (16,17) görüşlerine paralel olarak, 600 ppm'in üzerinde serbest gossipol içeren pamuk tohumu ile beslenen I.deneme grubunun tüm alt gruplarında gossipol toksikasyonun klinik ve patolojik bulguları tespit edilmiştir. Ayrıca, standart ticari yemlerine % 40 oranında pamuk tohumu küspesi (456 ppm serbest gossipol) ilave edilen broiler piliçlerin 5'inde hafif şiddette olmakla birlikte, toksikasyonun klinik ve patolojik bulgularının gözlenmesi nedeniyle, yumurtacı ırkların rasyonlarına pamuk tohumu küspesinin % 30'un üzerinde ilave edilebileceği görüşünün (7) aksine, broiler piliçlerde rasyona % 30 oranından fazla pamuk tohumu küspesinin ilave edilmesinin uygun olmayacağı düşünülmüştür.

Gossipol toksikasyonunda yumurtacı ırklarda (11,26) ve broiler piliçlerde (10,15,31) bildirilen canlı ağırlık artışında yavaşlama, bu çalışmada da tespit edilen benzer klinik bulgu idi. Pamuk tohumu küspesi içeren rasyonla beslenen yumurtacı ırklar (8) ile herhangi bir işleme tabi tutulmamış pamuk tohumunu içeren rasyonla beslenen broiler piliçlerde (15), canlı ağırlık artışındaki yavaşlamanın dışında sırasıyla % 12.1 (8) ve % 23.3 (15) oranlarında ölümler bildirilmiştir. Bu çalışmada da , Tablo 1'de belirtildiği gibi total ölüm oranı I. deneme grubunda % 26.15 olarak hesaplanmış, II. deneme grubu piliçlerde ise görülmemiştir. Birinci deneme grubu piliçlerde saptanan ölüm oranının, rasyonlarına pamuk tohumu küspesi ilave edilerek yapılan bir çalışmada (8) bildirilen % 12.1'lik ölüm oranından yüksek olması, pek çok araştırmacı (19,30,36,41) tarafından da bildirildiği gibi, ısı veya ekstraksiyon işlemine tabi tutulmamış pamuk tohumlarındaki serbest gossipolun daha yüksek düzeyde bulunması ile açıklanabilir. Diğer bir ifadeyle, pamuk tohumu küspesi elde edilmesi sırasında, ısının etkisiyle pamuk tohumundaki serbest gossipol, lizin amino

asidinin epsilon- amino gruplarına bağlanmakta, böylece daha büyük moleküler ağırlıklı gossipol-protein kompleksinin emilimi güçleşmekte, dolayısıyla küspenin toksik etkisi de azalmaktadır (8,19,39). Çalışmada, I. deneme grubunda saptanan % 26.15'lik ölüm oranı, bitkinin aynı türünün tohumlarının yedirildiği bir çalışmada (15) bildirilen % 23.3'lük ölüm oranına yakın bulunmuştur. Ayrıca çalışmada, I. deneme grubunun 1 (% 7.69), 2 (% 23.07), 3 (% 38.46) ve 4 (% 61.53) alt gruplarında kaydedilen ölüm oranlarının, yedirilen pamuk tohumu miktarı ile orantılı bir şekilde yükseldiği dikkati çekmiştir. En son ölüm olayının rasyona % 5 oranında pamuk tohumu ilave edilen 1. alt grupta ve denemenin 48. gününde gözlenmiş olması, kimi araştırmacılar (15,18,24) tarafından da açıklandığı gibi, gossipolun kümülatif toksik etkisine yorumlanmıştır.

Doğal ve deneysel gossipol toksikasyonlarında kanatlılar (7,11,15,31) ile domuz (33), buzağı (12,13, 25,43), kuzu (24), keçi (9), köpek (27,42) ve deney hayvanlarında (14,23,34) klinik olarak bildirilen iştahsızlık, bitkinlik, kaşeksi, dispnö ve terminal konvülsiyonlar bu çalışmada da saptanan benzer bulgulardır. Denemenin 3-5. haftalarından itibaren I. deneme grubunun alt gruplarında (3 ve 4. alt gruplardaki ölen piliçler hariç) gözlenmeye başlayan ve deneme süresince gittikçe belirginleşen kursak dilatasyonu, broiler piliçlerde pamuk tohumu toksikasyonunun tanısında oldukça önemli bir bulgu olarak değerlendirilmiştir.

Akciğer, kalp ve karaciğer başta olmak üzere, böbrek ve dalakta tespit edilen makroskobik lezyonlar piliç (7,15), domuz (33), buzağı (12,13,25,43), keçi (9), kuzu (24), köpek (27,42), tavşan (34), fare (14) ve ratlarda (23) bildirilen lezyonlarla paralellik göstermiştir. Broiler piliçlerde bir başka çalışmada (15), kursak dilatasyonu ile birlikte kursak ve muskuler mide mukozalarında bildirilen fokal ülserler bu çalışmada da saptanmış, ayrıca çalışmada özofagusta dilatasyona ve fokal ülserlere de rastlanmıştır. Çalışmada, ince bağırsaklarda gözlenmemekle birlikte, kursak ve muskuler mide mukozalarındaki fokal ülserler aynı zamanda kursak dilatasyonu olgularının sebebinde açıklamaktadır.

Kalpdeki mikroskobik değişikliklerden; miyofibrillerde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler ile fokal distrofik kalsifikasyonlar, pek çok araştırmacı (24,25,27,43) tarafından da bildirildiği gibi konjestif kalp yetmezliğinin spesifik bulguları arasındadır. Miyofibrillerdeki bu değişiklikler gossipolun direk

kardiyotoksik etkisi (24,27,42) ile, miyofibrillerdeki hipertrofi de kompenzasyon (15,33) ile açıklanmaktadır. Kimi araştırmacılar, perikardda ve vücut boşluklarında sıvı toplanmasını konjestiv kalp yetmezliğine, konjestiv kalp yetmezliğini de gossipolun endoteliotoksik etkisine yorumlamışlardır (18,27,43). Çalışmada da pamuk tohumu içeren rasyonla beslenen I.deneme grubu piliçlerin tamamında, perikardda ve karın boşluğunda makroskopik olarak 15-20 ml arasında değişen, bulanık saman sarısı renginde effuzyonun varlığı, gossipolun endoteliotoksik etkisine bağlı olarak vasküler permeabilitenin bozulmuş olabileceğini akla getirmektedir (5).

Çalışmada akciğer ve karaciğerde şekillenen patomorfolojik değişiklikler, pek çok araştırmacının (24,33,43) görüşlerine paralel olarak, kronik konjestiv kalp yetmezliğinden ileri gelen pasif konjesyon ve stazis ile açıklanabilir. Konjestiv kalp yetmezliğinin spesifik bir bulgusu olarak kabul edilmemekle birlikte (33), I.deneme grubu piliçlerin 14'ünde, akciğerlerde alveol, bronş ve bronşiyollerde ve interalveoler septumlarda, bir kısmı hemosiderin ile yüklü çok çekirdekli sinsityal ve makrofaj hücre infiltrasyonları (kalp hatası hücreleri) gözlenmiş, domuzlarda kalp yetmezliğinin önemli bir bulgusu olarak değerlendirilen ve epitelioid görünüm olarak adlandırılan (33) makrofaj hücre infiltrasyonlarına (demir pozitif reaksiyon vermeyen) ise I. deneme grubu piliçlerin hemen hemen tamamında rastlanmıştır.

Gossipol toksikasyonlarında, evcil ve deney hayvanlarında karaciğerde bildirilen en önemli histopatolojik değişikliklerden biri sentrilobüler koagülasyon nekrozudur (9,12,14,15,18,43). Nekrozun patogenezi ile ilgili olarak iki ayrı görüş ileri sürülmektedir. Bunlardan birincisi, pek çok araştırmacı tarafından (12,24,27,43) da kabul edilen görüş; gossipolun doğrudan konjestiv kalp yetmezliğine ve ardından da, sekonder olarak karaciğerde nekrozlara yol açtığı yönündedir. Sadece bir kısım araştırmacı (23) tarafından kabul edilen ikinci görüş ise; karaciğerdeki nekrotik ve diğer histopatolojik değişikliklerin, konjestiv kalp yetmezliği sonucu sekonder olarak değil, gossipolun primer hepatotoksik etkisinin bir sonucu olarak şekillendiği yönündedir. Ancak, kimi araştırmacılar karaciğerdeki sentrilobüler nekrozların sadece hepatotoksik bileşiklerin etkileri sonucu şekillenmediğini (5), akut ya da kronik konjestiv kalp yetmezliklerinde de karaciğerde venalarda konjesyon ve stazis sonucu, hipoksi nedeniyle sentrilobüler

nekrozların şekillendiğini ileri sürmektedirler (43). Çalışmada periportal alanlardaki hepatositlerin normal yapı ve görünümde olmaları, lezyonların sentrilobüler alanlarda şekillenmesi, ayrıca vena sentralisler çevresinde kardiyak sklerozis tablosunun gözlenmesi, pek çok araştırmacının (12,24,27,43) gossipol toksikasyonlarında karaciğer lezyonlarının, konjestiv kalp yetmezliği sonucu sekonder olarak şekillendiği yönündeki görüşlerini destekler niteliktedir. Çalışmada, demir pozitif reaksiyon veren hepatositlerin ve Kupffer hücrelerinin de bulunduğu lenfoid infiltrasyonlar, I.deneme grubu piliçlerin hemen hemen tamamında gözlemlendi. Hemosiderinin kimyasal yapısının % 25-30 oranında demir (ferrik formu), geriye kalan kısmının da proteinden ibaret olduğu dikkate alındığında (37), lenfoid infiltrasyonların, kimi araştırmacılar (14,15) tarafından da ileri sürüldüğü gibi bu proteinlerin olası antijenik etkilerinden ileri gelebileceği söylenebilir.

Çalışmada pamuk tohumu küspesi içeren rasyonla beslenen II.deneme grubu piliçlerde kayda değer klinik ya da patolojik herhangi bir bulguya rastlanmadığı gibi, toksikolojik olarak da bu hayvanların kalp ve karaciğer doku örneklerinde serbest gossipol düzeyleri tayin edilemedi. Sadece 4.alt gruba ait piliçlerin karaciğerlerinde 12 ppm serbest gossipol düzeyi tespit edildi. Önemli klinik ve patolojik bulguların kaydedildiği, pamuk tohumu içeren rasyonla beslenen I.deneme grubu piliçlerin kalp ve karaciğer doku örneklerinde ise serbest gossipol düzeyleri oldukça yüksek değerlerde ortaya kondu (Tablo 2).

Sonuç olarak, bu çalışma ile broiler piliçlerin standart ticari yemlerine belirli oranlarda pamuk tohumu ve pamuk tohumu küspesi ilave edilerek, şekillenen toksikasyonda deneme grupları arasındaki klinik ve patolojik bulgular birbirleriyle karşılaştırılmıştır. Önemli klinik ve patolojik bulgular ile toksikolojik olarak doku düzeyinde demonstre edilen serbest gossipol düzeyleri, yedirilen pamuk tohumu miktarı ile orantılı bir biçimde I.deneme grubunun tüm alt gruplarında kaydedildi. Pamuk tohumu küspesi yedirilen II.deneme grubunun 1, 2 ve 3.alt grupları ile 4.alt grubuna ait 8 piliçte herhangi bir klinik ya da patolojik bulguya rastlanmadı. Dördüncü alt gruba ait 5 piliçte gözlenen klinik bulgular oldukça hafif şiddette idi ve bunlara ilişkin makroskopik ve mikroskopik bulgular da seçilemiyordu. Çalışmada kaydedilen ölümler gossipolun kardiyotoksik etkisine; akciğer ve karaciğer başta olmak üzere visceral organlarda şekillenen patomorfolojik değişiklikler de konjestiv

kalp yetmezliğinin sekonder olarak gelişen komplikasyonlarına yorumlanmıştır. Elde edilen klinik, patolojik ve toksikolojik sonuçlardan; herhangi bir işleme tabi tutulmamış pamuk tohumlarının broiler piliçlerin rasyonlarına % 5 oranında dahi ilave edilmesinin uygun olmayacağı; pamuk tohumu küspesinin ise % 30 oranına kadar ilave edilebileceği, ancak % 40 oranında ilave edilmesinin komplikasyonlara yol açabileceği kanaatine varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Aleator VA and Aturamu OA. Use of Oyster Shell as Calcium Supplement. Part II. An Assessment of the Responses of Hepatic and Serum Enzymes, Relative Organ Weights, and Bone Mineralization in the Broiler Chicken Fat Gossypol-Containing Cottonseed Cake Supplement with Oyster Shell. *Die. Nahrung.*, 1990; 34: 319-324.
2. Aleator VA and Onibi OE. Use of Oyster Shell as Calcium Supplement. Part I. Effects on the Utilization of Gossypol-Containing Cottonseed Cake by the Chicken. *Die. Nahrung.*, 1990; 34: 311-318.
3. Anonim. D.İ.E. Tarım İstatistikleri Özeti. Ankara, 1998.
4. Arshami J and Ruttler JL. Effects of Diets Containing Gossypol on Spermatogenic Tissues of Young Bulls. *Theriogenology*, 1988; 30: 507-516.
5. Cheville, N. F. Cell Pathology. 2nd ed., The Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA. 1983.
6. Clarke EGC and Clarke ML. Poisonous Plants. *Veterinary Toxicology*, 1st ed., Bailliere Tindall, London, England. 1975.
7. Couch JR, Chang WY and Lyman CM. The Effect of Free Gossypol on Chick Growth. *Poultry Sci.*, 1955; 34: 178-183.
8. Dangma T, Pane DK and Ngoupayon JDN. Cottonseed Cake in Breeder Hens Diets: Effect of Supplementation with Lysine and Methionine. *Arch. Geflügelk.*, 1985; 53: 231-234.
9. East NE, Anderson M and Lowenstine LJ. Apparent Gossypol-Induced Toxicosis in Adult Dairy Goats. *JAVMA.*, 1994; 204: 642-643.
10. El Boushy AR and Raterink R. Replacement of Soybean Meal by Cottonseed Meal and Peanut Meal or Both in Low Energy Diets for Broilers. *Poultry Sci.*, 1989; 68: 799-804.
11. Fitzsimmons RC, Newcombe M and Moul IE. The Long Term Effects of Feeding Ground and Whole Cottonseed to Laying Hens. *Can. J. Anim. Sci.*, 1989; 69: 425-429.
12. Holmberg CA, Weaver LD, Gueterback WM. et all. Pathological and Toxicological Studies of Calves Fed a High Concentration Cottonseed Meal. *Vet. Pathol.*, 1988; 25: 147-153.
13. Hudson LM, Kerr LM and Maslin WR. Gossypol Toxicosis in a Herd of Beef Calves. *JAVMA.*, 1988; 192: 1303-1305.
14. Karadaş E. Farelerde Deneysel Pamuk Tohumu Toksikasyonu Üzerine Patolojik İncelemeler. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, 1996; 20: 267-276.
15. Karadaş E, Özer H, Metin N ve Özdemir N. Broiler Piliçlerde Deneysel Pamuk Tohumu Toksikasyonunda Patolojik ve Biyokimyasal Çalışmalar. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences*, 1996; 20: 1-8.
16. Kaya S. Veteriner Klinik Toksikoloji. 2. Baskı, Medisan Yayınevi, Ankara. 1995.
17. Kaya S, Yarsan E, Filazi A ve Akar F. Yem ve Yem Hammaddelerinde Bulunan Bazı Doğal Olumsuzluk Faktörleri: 2. Gossypol Düzeyleri. *A. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 1995; 42: 3-9.
18. Kerr LA. Gossypol Toxicosis in Cattle. *The Comp. Food Anim.*, 1989; 9: 1139 - 1146.
19. Liu FK, Jou SY and Jung LY. A New Method of Detoxification of Cottonseed by Means of Mixed Solvent Extraction. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1989; 58: 93-96.
20. Luna LG. Manuel of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd ed., McGraw Hill Book Company, New York, USA. 1968.

Teşekkür

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde broiler piliç ve ticari yem teminindeki katkılarından dolayı Köy – Tür Elazığ Tav – San. ve Tic. A.Ş.’ ne; pamuk tohumları teminindeki katkılarından dolayı Elazığ Çukobirlik Tarım Satış Kooperatifi’ne ve toksikolojik analizleri yapan Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanlığı’na teşekkür ederiz.

21. Martinez WH, Berardi LC and Goldblalt LA. Cottonseed Protein Products. Composition and Functionality. *J. Agric. Food Chem.*, 1970; 18: 961.
22. Miravella RJ. The Plant Genetics Contribution Toward Changing the Lipid and Amino Acid Composition of Cottonseed. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1972; 49: 24-26.
23. Monabe S, Nuber DC and Lin YC. Zone-Specific Hepatotoxicity of Gossypol in Perfused Rat Liver. *Toxicon*, 1991; 6: 787-790.
24. Morgan S, Stair EL, Martin T. et all. Clinical, Clinicopathological, Pathologic and Toxicologic Alterations Associated with Gossypol Toxicosis in Feeder Lambs. *Am. J. Vet. Res.*, 1988; 49: 493-499.
25. Orgad KU and Adler H. Gossypol Poisoning in Calves. *Isr. J. Vet. Med.*, 1986; 42: 16-18.
26. Panigrahi S, Plumb VE and Machin DH. Effects of Dietary Cottonseed Meal, with and Without Iron-Treatment, on Laying Hens. *British Poult. Sci.*, 1989; 30: 641-651.
27. Patton CS, Legendre AM, Gompf RE and Walker MA. Heart Failure Caused by Gossypol Poisoning in Two Dogs. *JAVMA.*, 1985; 187: 625-627.
28. Radeleff ED. Poisonous Plants. *Veterinary Toxicology*, 2nd ed., Lea and Febiger, Philadelphia, USA. 1970; 98-99.
29. Reid BL, Galaviz-Moreno S and Malorino PMA. Comparison of Glandless and Regular Cottonseed Meals for Laying Hens. *Poultry Sci.*, 1984; 63: 1803-1809.
30. Reid BL, Galaviz-Moreno S and Malorino PM. Evaluation of Isopropanol-Extracted Cottonseed Meal for Laying Hens. *Poultry Sci.*, 1987; 66: 82-89.
31. Ryan JR, Kratzer FH, Grau CR and Vohra P. Glandless Cottonseed Meal for Laying and Breeding Hens and Broiler Chickens. *Poultry Sci.*, 1986; 65: 949-955.
32. Singleton VL and Kratzer FH. Plant Phenolics, Gossypol. *Toxicants Occuring Naturally in Foods*, 2nd ed., National Academy Sciences. Washington.D.C. USA. 1973; 309-323.
33. Smith HA. The Pathology of Gossypol Poisoning. *Am. J. Pathol.*, 1957; 33: 353-365.
34. Surywanshi SN, Bhandarker AG and Bhaquat S. Pathological Investigations of Acute Cottonseed Cake Toxicity in Rabbit and Chicken. *Livestock Advis.*, 1993; 18: 30-32.
35. Tarım Orman ve Köyişleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü Tebliği. 1 Mart 1986 tarih ve 19034 Sayılı Resmi Gazete.
36. Tuncer ŞD ve Yalçın S. Türkiye'de Üretilen Pamuk Tohumu Küspelerinde Gossypol Düzeylerinin Tespit Edilmesi Üzerine Bir Araştırma. *S. Ü. Vet. Fak. Derg.*, 1986; 2: 125-134.
37. Valli VEO. The Hematopoietic System. Jubb KVF, Kennedy PC and Palmer N. *Pathology of Domestic Animal*, 3rd ed., vol.3, Academic Press, Inc., Orlando, Florida, USA. 1985.
38. Waldroup PW. Cottonseed Meal in Poultry Diets. *Feedstuffs*, 1981; 53: 21-24.
39. Waldroup PW and Goodner TO. Tolerance Levels of Free Gossypol in Layer Diets as Influenced by Iron: Gossypol Rations. *Poultry Sci.*, 1973; 52: 20-28.
40. Watts AB. Use of Cottonseed Meal in Rations for Young Chickens. *Feedstuffs*, 1970; 42: 50-51.
41. Wedegaertner TC. Making the Most of Cottonseed Meal. *Feed. Man.*, 1981; 32: 1-2.
42. West JL. Lesions of Gossypol Poisoning in the Dog. *JAVMA.*, 1940; 96: 74-76.
43. Zelsk RZ, Rothwell JT, Moore RE and Kennedy DJ. Gossypol Toxicity in Preruminant Calves. *Aust. Vet. J.*, 1995; 72: 394-398.