

YEM VE YEM HAMMADDELERİNDE NİTRAT VE NİTRİTLER

Sezai Kaya*

Nitrates and nitrites in feeds and feedstuffs

Summary: *The subject of this study was to determine the amounts of nitrate and nitrite in processed feed and feedstuffs, sent to our department for full toxicologic analysis, suspected to give rise to poisoning and loss of condition and performance and other chronic toxicity signs in various species of animals.*

The amounts of nitrate and nitrite in the samples were measured spectrophotometrically after being extracted and clarified according to the procedure recommended by Kaya. Experiments were performed totally in forty-three samples consisting of the three livestock feeds, the twenty poultry feeds and a variety of feedstuffs.

The average amounts of nitrate and nitrite in the samples, regardless of the variety of feeds and feedstuffs, were 163.73 and 1.02 ppm, respectively. The highest level of nitrate was in a sample of poultry feed, whereas the lowest level was in the sunflowers meal. In addition, the highest level for nitrite was in a cottenseed meal. The mean levels of nitrate and nitrite was in a cottenseed meal. The mean levels of nitrate and nitrite were 190.97 ± 20.13 and 1.275 ± 0.02 ppm in the livestock feeds; those were 227.3 ± 21.79 and 0.91 ± 0.18 ppm in the poultry feeds; those were 71.77 ± 7.81 and 1.55 ± 0.95 ppm in the sunflowers meals; those were 120.76 ± 44.14 and 0.95 ± 0.68 ppm in the cottensed meals and those were 87.62 ± 27.06 and 0.1 ppm in the soyabean meals.

It is concluded that some samples of the poultry feeds will give rise to chronic toxicity on the birds.

Özet: *Bu çalışmanın amacı hayvanlarda zehirlenmeler ve verim düşüklüğü ile diğer bazı toksisite belirtilerine sebep olmaları şüphesiyle Farmakoloji-Toksikoloji-Bilim Dalı'na tam toksikolojik analiz amacıyla gönderilen bazı karma yem ve yem hammaddelerinde nitrat ve nitrit düzeyleri bakımından analiz yaparak, bulunan sonuçları değerlendirmektir.*

* Dr., A.Ü. Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji Bilim Dalı. Ankara.

Yem ve yem hammaddesi numunelerindeki nitrat ve nitrit miktarlarının tayini Kaya tarafından önerilen yönteme göre yapıldı. Yirmi üç karma yem ve 20 çeşitli yem hammaddesinden oluşan toplam 43 numüne analiz edildi. Analiz edilen numünelerin tamamında 26.96-512.27 ppm arasında nitrat ve 21'inde 0.1-3 ppm arasında nitrit bulundu. Tüm numünelerdeki ortalama nitrat düzeyi 163.73 ppm, nitrit düzeyi 1.02 ppm olarak hesaplandı. En yüksek nitrat düzeyine bir tavuk yemi numünesinde, en düşüğüne ise ayçiçeği küspesinde rastlandı. En yüksek nitrit yoğunluğunun pamuk tohumu küspesinde olduğu bulundu. Yem çeşitlerine göre ppm olarak tesbit edilen ortalama nitrat ve nitrit yoğunluğu, sırasıyla şöyledir: Besi yemi 190.97±20.13, 1.275±0.02; tavuk yemi 227.3±21.79, 0.9±0.18; ayçiçeği küspesi 71.77±7.81, 1.55±0.95 ve pamuk tohumu küspesinde 120.76±44.14, 0.95±0.68 ve soya küspesinde 87.62±27.06, 0.1.

Bazı tavuk yemlerinde bulunan nitrat miktarının özellikle genç hayvanlarda kronik toksisite yapabileceği sonucuna varıldı.

Giriş

Nitrat ve nitritler doğal olarak toprak, su, atmosfer, bitki ve tahıllar, tüm hayvansal doku ve artıklarda bulunur. Ekosistemleri oluşturan çevrede ve bütün canlılarda nitrat ve nitritlere bu kadar yaygın rastlanmasının sebebi atmosferik nitrojen, toprakta nitrat şeklinde mikrobiyal fikzasyon, bitkisel proteinlere karışma, hayvansal ve bitkisel artıklar ile nitrat, üre ve amonyağa kadar parçalanma ve azotun atmosfere liberasyonu- safhalarından oluşan doğal azot siklusudur (16, 21).

Bitkiler topraktaki nitratları nitritlere ve sonuçta amonyağa indirgeyip assimile ettikten sonra nitrat şeklinde yapılarında biriktirirler (36). Evcil hayvanlar için nitratlardan kaynaklanan tehlike fazla miktarda nitrat tuzları ihtiva eden topraklarda yetişen ve yapılarında hayvanlara toksik olabilecek düzeyde nitrat biriktirebilen bu tür bitkilerden ve bunlardan sağlanan içme sularından ileri gelmektedir (5, 6, 7, 23, 31, 42). Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda (7, 8, 9, 11, 27, 36, 39) bazı çevresel faktörlerin yardımıyla da yulaf, burçak, arpa ve buğday gibi tahıl çeşitleri ile şeker pancarı başta olmak üzere çoğu hayvan yemi olarak kullanılan 90 dolayındaki bitki ve ot çeşidinin tehlikeli düzeylerde nitrat biriktirdikleri anlaşılmıştır. Öyle ki, bazı hazırlayıcı faktörlerin etkisi ile (15, 16, 35) bitkilerdeki nitrat yoğunluğu % 10-30'a kadar çıkabilmektedir (28).

Evcil hayvanlarda nitratla zehirlenme olayları ya aşırı miktarda nitrat ihtiva eden yem, bitki veya suların hayvanlar tarafından tüketilmesi ile veya nitratlı gübre ya da artıklarının yenilmesinden ileri gelmektedir. Diğer taraftan, hayvanlar nitratça zengin bitki ya da sularında mikrobiyal dekompozisyon sonucu şekillenen ve nitrata göre 6-10 keze daha zehirli olan nitrite(lerc) de maruz kalabilirler (9, 17, 24, 25).

Kendisi çok az zehirli bir madde olan nitrat alındıktan sonra mikrobiyal yaşamın bulunduğu bir ortamda amonyağa indirgenirken ara metabolizma ürünü olarak şekillenen nitrit iyonu vasıtası ile dolaylı yoldan toksisitesini oluşturur (14, 33, 38, 40). Şekillenen nitrit mide-barsak kanalından hızla emilir ve damar düz kasları ile alyuvarlara doğrudan etkir. Alyuvarlara giren nitrit iyonu klor iyonu ile yer değiştirir. Nitrit iyonu hemoglobin (Hb) ile birleşerek methemoglobin (Met-Hb) şekillenir. Oluşan Met-Hb'nin oksijeni bağlama ve nakletme yeteneği yoktur. Kandaki Met-Hb düzeyi % 5-10 arasında olduğunda ilk siyanoz belirtileri görülebilir ve belirtiler Met-Hb şekillendikçe kötüleşir. Kan Met-Hb düzeyi % 50'yi geçtiğinde, özellikle aktif hayvanlarda ölüm görülebilir, % 80-90 olduğunda anoksiden ölüm oluşur (6, 16, 23, 31, 37, 42). Nitrit iyonunun damar düz kaslarına etkisi sonucu oluşan pulmoner arteriyel, sentral venöz ve sistemik arteriyel hipotansiyon ve kalp output azalması şekillenen Met-Hb'emi ile yol açılan doku oksijen açlığına ilişkin (anoksi) belirtilerin kötüleşmesine sebep olur (16, 20, 23).

Dencysel olarak rasyona katılarak veya doğal olarak yemlerde bulunan subletal miktarlardaki nitrat veya nitritin alınmasına bağlı olarak gelişen kronik nitrat zehirlenmelerinde vitamin A, E ve iyot metabolizması ile troid fonksiyonu bozulur; üreme, verim, ağırlık kazancı ve yemi değerlendirme azalır; kondisyon bozulur ve süt verimi düşer; yavru atma, ölü doğum, yaşama gücü zayıf ve bodur buzağı doğurma ile doğan buzağılarda amorozis insidensinde artış görülür (4, 16, 29, 39, 41, 43).

Bu çalışma kapsamında toksikolojik analiz için gönderilen bazı yem hammaddeleri ile karma yem numünelerinde belirlenen nitrat ve nitrit düzeylerinin irdelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada, hayvanlarda zehirlenmelere veya verim düşüklüğüne sebep oldukları gerekçesiyle, çeşitli kamu ve özel kuruluş ve kişi-

lerce, tam toksikolojik analiz için A.Ü. Vet. Fak. Farmakoloji-Toksikoloji Bilim Dalı'nda gönderilen 23 karma yem ve 20 çeşitli yem hammaddesinden oluşan toplam 43 numüne kullanıldı.

Yem ve yem hammaddelerinde nitrat ve nitrit düzeylerinin ölçümü, aşağıdaki değişikliklerle, Kaya (21) tarafından önerilen kolorimetrik yöntemle göre gerçekleştirildi. Söz konusu yöntemde, yem ve yem hammaddelerinden nitrat ve nitritin ekstraksiyonu esnasında % 5 süblime ve 0.5 M sodyum karbonat çözeltisi yerine temizleyici olarak 0.42 M çinko sulfat ve % 2'lik sodyum hidrosit çözeltileri kullanıldı (32). Numünelerden nitrat ve nitritler özetle: 1. hafif alkali su ile ekstrakte edildi ve ekstraktın kirlilikleri çinko sulfatla giderildi; 2. temizlenmiş ve süzölmüş filtrata sulfonamidle diazotizasyon ve N-(1-naftil)-etilendiamin ile kenetlenme reaksiyonu vasıtasıyla önce nitrit düzeyi belirlendi; 3. belli hacimde filtrat kadmiyum kolondan geçirilerek ortamdaki nitrat nitrite indirgendii ve numunenin total nitrit-nitrattan indirgenmiş nitrit değeri bulundu. Bundan ilk nitrit miktarını çıkarıp elde edilen değeri, ekimolar çevrilme sağlamak amacı ile, 1.348 ile çarparak numunenin nitrat düzeyi bulundu. Sonuçlar ppm olarak nitrit (NO₂⁻) ve nitrat (NO₃⁻) şeklinde ifade edildi.

Bulgular

Karma yem ve yem hammaddelerinden oluşan 43 numünede yapılan analiz sonuçlarına ilişkin nitrat ve nitrit düzeyleri Tablo 1'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde analiz edilen tüm numünelerin nitrat ihtiva ettikleri ve 21 numünede de nitrite rastlandığı görülecektir. Numünelerdeki nitrat düzeyinin 26.96-512.57 ppm, nitrit düzeyinin 0.1-3 ppm arasında değiştiği anlaşılacaktır. Yem çeşitlerine göre ppm olarak tesbit edilen ortalama nitrat ve nitrit yoğunluğu, sırasıyla, şöyledir: Besi yemi 190.97 ± 20.13, 1.275 ± 0.02; tavuk yemi 227.3 ± 21.79, 0.91 ± 0.18; ayçiçeği küspesi 71.77 ± 7.81, 1.55 ± 0.95; pamuk tohumu küspesi 120.76 ± 21.76, 0.95 ± 0.68 ve soya küspesi 87.62 ± 27.06, 0.1.

Yem çeşidi dikkate alınmaksızın tüm analiz numünelerinde ortalama 163.73 ppm nitrat ve 1.02 ppm nitrit bulunmuştur.

Tartışma ve Sonuç

Doğal azot siklusunun bir sonucu olarak tüm bitki ve hayvan dokularında, toprak ve suda belli limitlerde nitrat ve nitrit bulunur.

Tablo 1. Yem ve yem hammaddelerindeki nitrat ve nitrit düzeyleri (ppm).

Yem çeşidi	Gönderilen yer	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻
Besi yemi	Ankara	—	148.28
"	"	1.25	202.20
"	"	1.30	222.42
		n: 2	n: 3
		x: 1.275	x: 190.97
		Sx: 0.02	Sx: 20.13
Tavuk yemi	Ank. Yem. Sanayii	—	172.25
"	"	—	131.43
"	"	—	215.00
"	Super Yem Sanayii	0.5	208.94
"	"	0.5	158.39
"	"	—	512.57
"	Polatlı	—	161.76
"	Bayrampaşa	—	215.68
"	Ankara	1.25	202.20
"	"	—	175.24
"	"	—	222.20
"	Safranbolu	1.0	298.25
"	Vet.Fak.	1.5	185.35
"	"	2.0	438.00
"	"	0.1	141.54
"	Aydede Tavuk	0.5	202.20
"	Tür. Kal. Vakfı	0.5	134.49
"	"	0.6	208.94
"	"	1.5	262.86
"	"	2.0	296.56
		n: 12	n: 20
		x: 0.91	x: 227.30
		Sx: p.18	Sx: 21.79
Ayçiçeği küspesi	—	—	50.55
"	—	—	101.10
"	İstanbul	—	80.80
"	"	—	26.96
"	—	—	67.40
"	Ayekş Yem Sanayii	—	70.77
"	Meray Yem Sanayii	—	114.58
"	Has Yem/ Konya	0.6	57.29
"	Polatlı Yem Sanayii	2.5	77.50
		n: 2	n: 10
		x: 1.55	x: 71.77
		Sx: 0.95	Sx: 7.81
Pamuk tohumu küspesi	—	—	87.62
"	—	0.35	222.42
"	İüleburgaz	0.35	70.77
"	Pak Yağ	—	124.69
"	Ulaş	0.1	111.21
"	Paymar	3.0	107.84
		n: 4	n: 6
		x: 0.95	x: 120.76
		Sx:	Sx: 44.14
Soya küspesi	—	—	67.40
"	Mudurnu	—	57.29
"	Çukobirlik	—	57.29
"	Çukobirlik	0.1	168.50
		n: 4	n: 4
		x: 87.62	x: 87.62
		Sx: 27.06	Sx: 27.06

Bazı bitki ve otlar ile tarım ürünleri toprakta bulunan nitratı yapılarında biriktirerek, evcil hayvanlar için akut ve kronik zehirlenme riski doğururlar (28). Yemlerdeki 1200-1500 ppm nitratın (veya yemde % 0.12-0.15) sığırlarda yavru atmaya ve diğer kronik nitrat zehirlenmesi belirtilerine yol açtığı dikkate alınır (16), nitrat biriktirebilen bitkiler ile tarım ürünlerinin hayvancılık endüstrisi bakımından önemi kolayca anlaşılır.

Analiz sonuçlarının değerlendirilebilmesi için akut ve kronik nitrat zehirlenmesine yol açabilen yem ya da sulardaki nitrat ve nitrit miktarlarının hayvan türlerine göre incelenmesinde yarar vardır. Şunu hemen belirtmek gerekir ki, söz konusu çalışmaların çoğu nitrat ya da nitritin ya rasyona katılması veya doğrudan sindirim kanalına sokulması ya da damar içi verilmesine dayanmaktadır. Bu durumda, doğal olarak bitkilerde birikmiş nitratta olduğu gibi, sindirim kanalında nitratın çözünüp mide veya sindirim kanalı sıvısına geçmesi için zaman önemli bir faktör olmadığından, daha az miktardaki nitrat veya nitrit zehirlenmeye yol açabilmektedir. Ayrıca, yem çeşidinin taze veya kuru olması da sindirim sıvısına belli sürede geçen nitrat miktarını önemli derecede etkilemektedir (7, 14, 16, 18, 34).

Deneysel yedirme şartlarında, genellikle % 0.5'den fazla nitrat ihtiva eden yemler ruminantlarda zehirleyici olabilmektedir. Bu sebeple söz konusu değer, akut toksisite yönünden, rasyonla alınabilecek en yüksek nitrat düzeyi olarak kabul edilir. Nitratın sığırlarda akut minimal letal dozu ağızdan 0.5 g/ kg veya rasyonla % 2'dir (28). Canlı ağırlık esasına göre 1g/ kg miktarda verilen nitrat sığırlarda letal doz 50 olarak kabul edilir (16). Nitratın tüketim hızı ve nitrate alışma toksisitesi bakımından önemlidir; 0.32 g/ kg miktarda nitrat 4 saat içinde tüketildiğinde danalarda ölümle sonuçlanan zehirlenme yaparken, bir güne yayılarak alınan 1.134 g/ kg nitrat zehirlenme yapmamaktadır (10).

Alınan nitrat miktarı ile kan Met-Hb değerleri arasında son derece yakın bir ilişki vardır. Sığırlara rumen içi yolla 0.55 g/ kg dozda sodyum nitrat verildiğinde 5 saat içinde kan Met-Hb düzeyi % 26'ya çıkmaktadır (18). Her yemlemeyle sığırlara 100 kg canlı ağırlığa 15 g NO₃⁻ verildiğinde kan Met-Hb değeri tehlikeli şekilde % 50'nin üzerine çıkabilmektedir (13, 22). Bartik tarafından yapılan bir çalışmada (3), rumen içi verilen 18.5 g nitrat veya 6.7 g nitritin Hb'ni % 60 oranında Met-Hb'ne çevirdiği anlaşılmıştır.

Hindilere içme suyu ile verilen 3990-4655 ppm nitrat 22 günde % 60 oranında ölüm yapmaktadır (2). Kanatlılarda, su ya da rasyonla verilen 300 ppm'e kadar nitrat veya 100 ppm'e kadar nitritin akut toksik etkisi görülmemektedir (1).

Yem ve yem hammaddelerinde belirlenen nitrat ve nitrit düzeyleri yukarıda kısaca sıralanan bilgilerle karşılaştırıldığında hayvanlarda herhangi bir şekilde akut toksisiteye yol açmayacağı ve böyle bir risk taşımadığı açıkça görülmektedir.

Sığırlarda % 0.21'e kadar düşük oranlarda nitrat ihtiva eden yemler gelişmeyi ve vitamin A metabolizmasını olumsuz yönde etkiler, % 0.12-0.15 oranındaki nitrat yavru atmaya ve diğer bazı belirtilere sebep olur (16). Kronik nitrat zehirlenmelerinde A avitaminosis ve iyot metabolizması bozuklukları ile sıkça karşılaşılır. Rasyonda bulunan % 0.92 nitrat tiroid bezindeki normal iyot metabolizmasını bozar (4). Nitratın iyot metabolizmasına nasıl etkideğinin mekanizması bilinmemekle beraber iyotun aktif transportunu bloke ettiği ve iyödürlerin tiroid bezinde birikimini engellediği belirlenmiştir (12). Jainudean ve ark. (19) 440-660 mg/kg nitratın ineklerde iyot metabolizması bozukluğuna atfedilebilen herhangi bir değişikliğe yol açmadığını belirtmişlerdir.

Sindirim kanalında şekillenen nitrit iyonu ve vitamin A arasındaki ters etkileşim sebebiyle (36), nitrit iyonu vitamin A ve betakarotenin parçalanmasına (17, 26), karotenoidlerin vitamin A'ya çevrilmesinin engellenmesine ve karaciğer depolarına ulaşacak vitamin A miktarının azalmasına yol açmaktadır (17). Yemle alınan % 0.3 nitrat veya % 0.08 nitrit domuzlarda karaciğer vitamin A depolarını önemli derecede azaltmaktadır (43). İçme suyu ile verilen 200 ppm nitrit civcivlerde büyümenin gerilemesine ve karaciğerin vitamin A düzeyinin azalmasına sebep olur. Yüz ppm nitrit piliçlerde önemli bir etkiye sebep olmamakta, 200 ppm düzeyinde büyüme, su ve yem tüketimi, karaciğer vitamin A düzeyi ve betakaroten miktarı önemli derecede gerilemektedir. Aynı düzeydeki nitritin yumurta tavuklarına olumsuz etkisi olmamaktadır (1).

İçme suyu ile domuzlarda 300 ppm'e, koyunlarda 1000 ppm'e kadar alınan nitratın büyüme ve ağırlık kazancı üzerinde olumsuz etkisi görülmemekle beraber kan Met-Hb düzeyinde farkedilebilir bir artışa sebep olduğu belirlenmiştir (30).

Sıralanan literatür bilgilerle yem ve yem hammaddelerinde belirlenen nitrat ve nitrit düzeylerinin kronik nitrat zehirlenmesine yol açabilmeleri yönünden değerlendirildiklerinde, özellikle bazı kanatlı yemlerinin bu bakımdan önem taşıyabilecekleri görülecektir. Kanatlı yemlerinde belirlenen 272.3 ± 21.79 ppm (131.43–512.57 ppm arasında) nitratın başta civcivler olmak üzere genç kanatlılarda zararlı olabileceği söylenebilir. Özellikle 438 ve 512.57 ppm nitrat ihtiva eden yemlerin civcivlere verilmesi durumunda Vitamin A metabolizması, canlı ağırlık kazancı ve yem tüketimi üzerinde olumsuz etkiler yapabilecekleri açıktır.

Ülkemizde gerek yem ve gerekse yem hammaddeleri ile çeşitli bitkilerde bulunan nitrat ve nitrit düzeylerini belirlemek için yapılan çalışma sayısı son derece azdır. Şanlı ve ark. (36) Isparta ili yöresinden sağladıkları arpa numünelerinde, ppm olarak, 134.68 nitrat, 1.53 nitrit; fiğ numünelerinde 160.4 nitrat, 0.79 nitrit; buğday numünelerinde 120.43 nitrat, 1.05 nitrit; ve saman numünelerinde 63.35 nitrat, 0.44 nitrit bulmuşlar ve numünelerdeki ortalama nitrat düzeyini 120.11 ppm, nitrit düzeyini 0.75 ppm olarak hesaplamışlardır. Pirinçi ve Acet (27) değişik bölgelerde üretilen 49 çeşitli karma yem numunesinde 180–1195 ppm arasında nitrat, 10–66.6 ppm arasında nitrit bulmuşlardır. Yukarıda sıralanan çalışmalarda nitrat ve nitrit değerleri ile sözkonusu çalışmada belirlenen değerlere karşılaştırıldığında, bulunan nitrat ve nitrit miktarı ilk çalışmadakilerle (36) uyum gösterirken, son çalışmadaki (27), özellikle, nitrit miktarlarının önemli derecede yüksek olduğu görülmektedir.

Sonuç olarak, kanatlılara verilen bazı karma yem numünelerinin hayvanlarda kronik bir nitrat zehirlenmesine yol açabilecek düzeyde nitrat ihtiva ettikleri anlaşılmıştır.

Diğer yandan, modern tarım tekniklerinin yaygın şekilde kullanılmaya başladığı ülkemizde, gerek aşırı miktardaki nitratlı gübre kullanımı gerekse 2,4-diklorofenoksi asetik asit ve 2, 3, 5-triklorofenoksi asetik asit gibi herbisitlerin kullanımı sonucu bitki, tarım ürünlerinin ve otlar ile bunlardan hazırlanan karma yem ve yem hammaddelerinde düzenli aralıklarla nitrat ve nitrit miktarlarına ilişkin tarama çalışmalarının yapılmasında yarar vardır. Böylece hem bitki ve tahıl florasındaki nitrat ve nitrit yoğunlukları ortaya konacak hem de elde edilen sonuçlara göre toksisiteleri bakımından değerlendirmeleri yapılabilecektir.

Kaynaklar

1. **Adams, A.W., Emerick, R.J. and Carlson, C.W.** (1966). *The effects of nitrate and nitrite in the drinking water on chicks, poults and laying hens.* Poult. Sci., 45: 1215-1222.
2. **Adams, A.W., West, J.L. and Kahrs, A.H.** (1969). *Some effects on turkeys of nitrate in the drinking water.* Poult. Sci., 48: 1222-1229
3. **Bartik, M.** (1967). *The metabolism of nitrates and nitrites in ruminants.* Biol. Chem. Vyziv Zvirat, 3: 267-272.
4. **Bloomfield, R.A., Welsch, C.W., Gardner, G.B. and Mührer, M.E.** (1961). *Effects of dietary nitrate on thyroid function.* Science, 134(3491): 1690.
5. **Borneff, M.** (1980). *Untersuchungen an sauglingen in gegendn mit nitrathaltigem trinkwasser.* Zbl. Bakt. Hyg. 1, Abt. Orig B 172: 59-66.
6. **Burden, J.R.** (1980). *Nitrate contamination of New Zealand aquifers: a review.* N.Z. Vet. J., 25: 205-220.
7. **Clarke, M.L., Harvey, D.C. and Humphreys, D.J.** (1981). *Veterinary Toxicology.* Second ed. Bailliere Tindall. London.
8. **Crawford, R.F., Kennedy, W.K. and Davison, K.L.** (1966). *Factors influencing the toxicity of forages that contain nitrate when fed to cattle.* Cornell Vet., 56: 3-17.
9. **Davison, K.L., Hansel, W., Krook, L., Mc Entec, K. and Writh, M.S.** (1964). *Nitrate toxicity in dairy heifers. 1: effects on reproduction, growth, lactation and Vitamin A nutrition.* J. Dairy Sci., 47: 1065-1072.
10. **Dollahite, J.W. and Holt, E.C.** (1970). *Nitrate poisoning.* S. Afr. Med. J., 44: 171-174.
11. **Emerick, R.S. and Embry, L.B.** (1961). *Effects of chlortetracycline on methemoglobinemia resulting from the ingestion of sodium nitrate by ruminants.* J. Anim. Sci., 20: 844-848.
12. **Ersoy, E., Bayşu, N., Ertürk, K. ve Üstdal, M.** (1979). *Biyokimya.* A.Ü. Vet. Fak. yayınları: 358, Ders Kitabı 256. A.Ü. Basımevi, Ankara.
13. **Geurink, J.H., Malestein, A., Kemp, A. and Klooster, A. Th. Vant** (1979). *Nitrate poisoning in cattle. 3. The relationship between nitrate intake with hay or fresh roughage and the speed of intake on the formation of methemoglobin.* Neth. J. Agric. Sci., 27: 268-276.
14. **Geurink, J.H., Malestein, A., Kemp, A., Korzenowski, A. and Klooster, A. Th. Van't.** (1982). *Nitrate poisoning in cattle. 7. prevention.* Neth. J. Agric. Sci., 30: 105-113.
15. **Haliburton, J.C. and Edwards, W.C.** (1978). *Nitrate poisoning in Ochlahoma cattle during the winter of 1977-1978.* Vet. Human Toxicol., 20: 401-403.
16. **Hatch, R.C.** (1982). *Poisons causing respiratory insufficiency.* In *Veterinary Pharmacology and Therapeutics.* Booth, N.H. and Mc-Donald, L.E. Ed., fifth ed., The Iowa State Univ. Press, Ames.
17. **Hoar, D.W., Embry, L.B. and Emerick, R.J.** (1968). *Nitrate and vitamin A interrelationships in sheep.* J. Anim. Sci., 27: 1727-1733.
18. **Ishigami, K. and Inove, K.** (1976). *Metabolism of nitrate and methemoglobinemia in ruminants.* Res. Bull. Obilhiro Univ., 10: 45-55.

19. **Jainudeen, M.R., Hansel, W. and Davison, K.L.** (1965). *Nitrate toxicity in dairy heifers. 3. endocrine responses to nitrate ingestion during pregnancy.* J. Dairy. Sci., 48: 271-281.
20. **Jones, I.R., Weswig, P.H., Bone, J.F., Peters, M.A. and Alban, S.O.** (1966). *The effects of high nitrate consumption on lactation and vitamin A nutrition of dairy cows.* J. Dairy Sci., 49: 491-499.
21. **Kaya, S.** (1984). *Yem ve yem hammaddeleri ile bazı biyolojik sıvılarda nitrat ve nitrit analizi.* A.Ü. Vet. Fak. Derg., 31: 15-27.
22. **Kemp, A., Geurink, J.H., Haalstra, R.T. and Malestein, A.** (1977). *Nitrate poisoning in cattle. 2. changes in nitrate in rumen fluids and methemoglobin formation in blood after high nitrate intake.* Neth. J. Agric. Sci., 25: 51-62.
23. **Korzeniowski, A., Geurink, J.H. and Kemp, A.** (1980). *Nitrate poisoning in cattle. 5. The effect of Tungsten on nitrate formation by rumen microbes.* Neth. J. Agric. Sci., 28: 16-19.
24. **London, W.T., Henderson, W. and Cross, R.F.** (1967). *An attempt to produce chronic nitrate toxicosis in swine.* J. Amer. Vet. Med. Ass., 150: 398-402.
25. **Murdock, F.R. and Hodgson, A.S.** (1972). *Utilization of nitrate by dairy cows,* J. Dairy Sci., 55: 640-642.
26. **Phillips, W.E.J.** (1966). *The effect of dietary nitrate on the liver storage of vitamin A in the rat.* Can. J. Biochem., 44: 1-7.
27. **Pirinçci, İ. ve Acet, A.** (1984). *Yemlerde nitrat ve nitrit düzeyleri ile ilgili çalışmalar.* A.Ü. Vet. Fak. Derg., 31: 41-52.
28. **Radeleff, R.D.** (1970). *Veterinary Toxicology.* Second ed. Lea and Febiger.
29. **Schneider, N.R. and Yeary, R.A.** (1975). *Nitrate and nitrite pharmacokinetics in the dog, sheep and pony.* Am. J. Vet. Res., 36: 941-947.
30. **Seerly, R.W., Emerick, R.J., Embry, L.B. and Olson, O.E.** (1965). *Effects of nitrate or nitrite administered continuously in drinking water for swine and sheep.* J. Anim. Sci., 24: 1014-1019.
31. **Selenka, F.** (1980). *Gesundheitliche beurteilung des nitrates im Trinkwasser.* Zbl. Bakt. Hyg., 1. Abt. Orig B 172: 44-58.
32. **Sen, N.P. and Donaldson, B.** (1978). *Improved colorimetric method for determining nitrate and nitrite in foods.* J.A.O.A.C., 61: 1389-1394.
33. **Sinclair, K.B. and Jones, D.I.H.** (1964). *Nitrate toxicity in sheep.* J. Sci. Food Agric., 15: 717-721.
34. **Sinclair, K.B. and Jones, D.I.H.** (1967). *Nitrate toxicity in sheep.* Res. Vet. Sci., 8: 65-70.
35. **Steingröver, E., Oosterhuis, R. and Wieringa, F.** (1982). *Effects of light treatment and nutrition on nitrate accumulation in spinach (Spinachia oleraceae L.)* Z. Pflanzenphysiol. Bd., 107: 97-102.
36. **Şanlı, Y. İmren, H.Y., Kaya, S., Koç, B. ve Kahraman, M.** (1983). *Isparta yöresinde doğmuş buzağılarda görülen amarozis olguları ile gebe ineklerde karşılaşılan kronik nitrat zehirlenmeleri arasındaki ilişkilerin incelenmesi.* A.Ü. Vet. Fak. Derg., 30: 657-673.

37. **Thienes, C.H. and Haley, T.J.** (1972). *Clinical Toxicology*. Fifth ed. Lea and Febiger. Philadelphia.
38. **Tillman, A.D., Sheriha, G.M. and Sirny, R.J.** (1965). *Nitrate reduction studies with sheep*. J. Anim. Sci., 24: 1140-1146.
39. **Turner, C.A. and Kienholz, E.W.** (1972). *Nitrate toxicity*. *Fecfstuffs*. 27: 28-30.
40. **Wallace, J.D., Raleigh, R.I. and Weswig, P.H.** (1964). *Performance and carotene conversion in hereford heifers fed different level of nitrate*. J. Anim. Sci., 25: 1042-1045.
41. **Weichenthal, B.A., Embry, L.B., Emerick, R.J. and Whetzal, F.W.** (1963). *Influence of sodium nitrate, vitamin A and protein level on feedlot performance and vitamin A status of fattening cattle*. J. Anim. Sci., 22: 979-984.
42. **W.H.O.** (1977). *Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds*. Environmental health criteria 5. World Health Organization Publication. Geneva.
43. **Wood, R.D., Chaney, C.H., Waddill, D.G. and Garrison, G.W.** (1967). *The effect of adding nitrate or nitrite to drinking water on the utilization of carotene by growing swine*. J. Anim. Sci., 26: 510-513.