



Yüzüncü Yıl Üniversitesi  
Tarım Bilimleri Dergisi  
(YYU Journal of Agricultural Science)



<http://dergipark.gov.tr/yyutbd>

Araştırma Makalesi/Research Article

**Farklı Düzeylerde Kekik Yaprağı (*Thymus kotschyanus*) İlavesinin Yonca Kuru Otonun *In vitro* Sindirim Parametrelerine Etkisi\*\***

**Emir KÖSEOĞLU<sup>1</sup>, Mehtap GÜNEY\*<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 65080, Van, Türkiye

<sup>2</sup>Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootehni Bölümü, 65080, Van, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-5874-8028> <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-0613-3600>

Sorumlu yazar e-posta: [mguney@yyu.edu.tr](mailto:mguney@yyu.edu.tr)

**Makale Bilgileri**

Geliş: 04.03.2020

Kabul: 10.06.2020

Online Yayınlanma 30.06.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.698468

**Anahtar Kelimeler**

Ruminant,

Kekik yaprakları,

Yonca kuru otu,

*In vitro* sindirim,

Rumen parametreleri

**Öz:** Bu çalışmada, yonca kuru otuna (YKO) farklı düzeylerde kekik yaprağı (*Thymus kotschyanus*) ilavesinin, *in vitro* kuru madde sindirimi (IVKMS), *in vitro* organik madde sindirimi (IVOMS), metabolik enerji (ME) düzeyleri ile rumen parametreleri üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaca yönelik olarak, YKO'na %2, %4 ve %6 seviyelerinde kekik yaprağı (KY) ilave edilmiştir. Çalışmada, mezbahaneye kesim için getirilen 2 adet büyükbaş hayvanın rumen sıvıları kullanılmıştır. İnkübatörde, katkısız (YKO), %2 KY (YKO+%2KY), %4 KY (YKO+%4KY) ve %6 KY (YKO+%6KY) olmak üzere 4 grup oluşturulmuştur. Her bir kavanoz için 10 adet örnek, 3 adet kör olmak üzere toplamda 52 adet kese inkübe edilmiştir. Daisy inkübatör cihazında *in vitro* olarak gerçekleştirilen bu çalışmada, 48 saat inkübasyon süresi uygulanmıştır. Yonca kuru otuna %2, %4 ve %6 düzeyinde KY ilavesi ile *in vitro* toplam sindirim (IVTS), IVKMS, IVOMS ile ME düzeyleri azalmıştır (P<0.001). *In vitro* pH düzeyleri %6 KY katkılı grupta kontrolden yüksek, %2 KY katkılı grupta ise kontrolden düşük elde edilmiştir. Çalışmada gruplara ait pH düzeyleri optimal rumen sıvısı pH aralıklarında belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre %4KY katkılı grupta asetik asit (AA) miktarı artarken (P<0.001), diğer gruplar arasında istatistiksel bir farklılık tespit edilmemiştir. Bu çalışmada aktif bileşikler tanımlanan kekik yaprağının kullanılan katkı seviyeleri *in vitro* rumen parametrelerine önemli derecede etki etmiş, YKO'nun *in vitro* sindirim derecelerini de olumsuz etkilemiştir. Bu sonuç tıbbi-aromatik bitkilerin yapılarındaki aktif bileşenler ve dozlarının rumen fermantasyon parametreleri ve YKO'nun sindirimine etkisi bakımından gelecekte yapılacak çalışmalara katkı sağlayacaktır.

**The Effects of Thymus Leaf's (*Thymus kotschyanus*) in Different Levels Added to Alfalfa Hay on *In vitro* Digestibility Parameters**

**Article Info**

Received: 04.03.2020

Accepted: 10.06.2020

Online Published 30.06.2020

DOI: 10.29133/yyutbd.698468

**Keywords**

Ruminant

Thymus Leafs

Alfalfa hay

**Abstract:** In this study, it was aimed to determine the effect of different levels of thymus leaf (*Thymus kotschyanus*) to alfalfa hay (AH) on *in vitro* dry matter digestion (IVDMD), *in vitro* organic matter digestion (IVOMS), metabolic energy (ME) levels and rumen parameters. For this purpose, the level of 2%, 4% and 6% thymus leaves (KY) were added to AH. In the study, rumen fluids of 2 cows brought to slaughterhouse were used. In the incubator, 4 groups were performed: no additive (AH), 2% TK (AH + 2%TK), 4% TK (AH+ 4%TK) and 6% TK (AH+ 6%TK). A total of 52 pouches, 10 samples and 3 blinds, were incubated for each jar. In this study performed *in vitro* on a Daisy incubator device, a 48 hour

*In vitro* digestibility  
Rumen parameters

incubation time was applied. With the addition of TK at the level of 2%, 4% and 6% to AH, the *in vitro* total digestion (IVTD), IVDMD, IVOMD, and ME levels decreased ( $P < 0.001$ ). The *in vitro* pH levels were higher than the control in group with 6%TK and lower than the control in the group with 2%TK. In the study, pH levels of the groups were determined in the optimal rumen fluid pH ranges. Compared to the control group, while the amount of acetic acid (AA) increased significantly in the group added 4TK ( $P < 0.001$ ), no statistical difference was found between the added groups. In this study, the additive levels of thyme leaf, whose active compounds were defined, had a significant effect on the *in vitro* rumen parameters and also negatively affected the *in vitro* digestion levels of AH. This result will contribute to future studies in terms of the effects of active ingredients and doses in the structures of medicinal-aromatic plants on rumen fermentation parameters and AH's digestion.

\*\*Bu çalışma TYL-2019-8569 numaralı Yüksek Lisans Tez Projesinden üretilmiştir

## 1. Giriş

Doğa'da karbondioksit ve metan (CH<sub>4</sub>) gibi gazlar, atmosferin ısınmasına neden olmakla birlikte insan ve diğer canlıların yaşamı üzerinde önemli tehditler oluşturmaktadır. Bu gazların doğaya verdiği tahribat, Dünya'da ve ülkemizde giderek etkilerini artırmaktadır (Köknaoğlu ve Akünal, 2010). Sera gazı salınımının önemli bir iştirakçisi olan CH<sub>4</sub> (Thornton ve Owens, 1981), ruminantlarda karbonhidratların fermantasyonu sonucu doğal olarak oluşmaktadır. Bu hayvanlarda tüketilen karbonhidrat çeşidinden önemli derecede etkilenen CH<sub>4</sub>, genellikle selüloz bakımından zengin yemlerden oluşturulan rasyonlarda nişasta bakımından zengin yemlerle oluşturulan rasyonlara göre daha yüksek oranda meydana gelmektedir. Dolayısıyla küresel kirliliğin yanında enerji kaybı da söz konusudur (Köknaoğlu ve Akünal, 2010; Kaya ve ark., 2012). Bu nedenle, son yıllarda rumende fermentasyon seyrini değiştirmeye yönelik çeşitli alternatif arayışlara ağırlık verilmiştir. İyonofor grubu antibiyotiklerin de Avrupa Birliği tarafından büyüme faktörü olarak yasaklanması bu alandaki alternatif doğal madde arayışlarını güçlendirmiştir. Bu nedenle aromatik bitkiler ve bu bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar gibi ikincil metabolitleri içeren bitkilerden yararlanma önem kazanmıştır. Bu doğal maddelerin, ruminant hayvan rasyonlarına ilavesinin, rumen fermantasyon seyrini ruminant lehine değiştirmesi besin madde kullanımı açısından oldukça önemlidir (Gladine ve ark., 2007; Cobellis ve ark., 2015). Bu bitkiler içerisinde anılan kekik bitkisinin bünyesinde bulunan etken maddelerin antimikrobiyal etkilerinin olduğu ve bu etkinin bitkideki polifenollerden karvakrol ve timol aktif bileşiklerinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Mellencamp ve ark., 2011). Ülkemizde yaygın olarak yetiştirilen kekik otu, Türkiye genelindeki üretiminin tarım arazilerindeki genişlemeye bağlı olarak düzenli bir artış gösterdiği ve 2004 yılında 7000 ton olan kekik üretiminin 2016 yılında 14724 tona ulaştığı belirtilmektedir (Tunca ve Yeşilyurt, 2017). Fitoterapide birçok kullanım alanı bulan kekik bitkisinin, major aktif bileşiklerinin timol ve karvakrol olduğu da belirtilmektedir (Üstü ve Uğurlu, 2018). Kekik otunda bulunan timol aktif bileşiğinin YKO'na ilavesinin *in vitro* araştırıldığı çalışmada, kuru madde ve organik madde sindirimini azaldığı ve bu azalmanın selülotik bakterilerin, timole karşı olan hassasiyetinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Kalamak ve ark., 2011). Mısır silajı ve YKO'na kekik otu ve yağı ilavesinin IVOMS incelenmiştir. Mısır silajına ilave edilen %4.3 oranında kekik otunun CH<sub>4</sub> üretimini azalttığı ancak IVOMS'ni etkilemediği bildirilmiştir (Gül ve ark., 2017). Timol ve karvakrol aktif bileşikleri 0.3 ve 0.6 g/kg KM doz düzeyinde koyunlarda besin madde sindirilebilirliği üzerine araştırılmış ve önemli bir etkisinin olmadığı belirtilmiştir (Zamiri ve ark., 2015).

Ruminant hayvanların beslenmesinde yem giderlerinin maliyeti yüksektir. Bu bağlamda, yöremizde doğal olarak yetişen, çok yaygın ve kolaylıkla bulunabilen kekik yaprağının, ruminant rasyonlarında alternatif katkı maddesi olarak değerlendirilmesinin, söz konusu hayvanlarda gerek yem giderleri maliyetinin azaltılmasına gerekse alternatif katkı maddesi olarak yöre hayvancılığına katkı sağlayabilir. Bu nedenle yörede doğal olarak yetişen kekik yaprağının *in vitro* rumen koşullarında rumen sindirimi ve fermantasyonuna etkisinin araştırılarak, ruminant beslemeye katkı sağlama potansiyelinin araştırılması çalışmanın amacını oluşturmaktadır.

## 2. Materyal ve Yöntem

Bu çalışma YYÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 27.06.2019 tarihli ve 2019/06 kararı ile etik kurul onaylıdır. Çalışmanın kaba yem kaynağını oluşturan ilk biçim YKO, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği'nden temin edilmiştir. Kekik otu (*Thymus kotschyanus*) ise Mayıs ayı içerisinde Van iline bağlı Karpuzalan köyü dağ eteklerinden toplandıktan sonra gölgede kurutulmuş öğütülmeye hazır hale getirilmiştir. Yonca kuru otu ve KY laboratuvar ortamında 1 mm'lik elekten geçirildikten sonra kuru madde (KM), ham protein (HP) ve ham kül (HK) içerikleri AOAC (2000)'a göre, asit deterjan lif (ADF) ve nötral deterjan lif (NDF) analizleri ise Van Soest ve ark. (1991)'e göre yapılmıştır. Ham yağ analizi Ankom XT15 cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kekik yaprağında bulunan etken maddelerin belirlenmesi için öncelikle bitkinin yapraklarından yağ elde edilmiştir. Kekik yapraklarındaki yağın elde edilmesi için klevenger düzeneği kullanılmıştır. Hidrodilasyon yöntemiyle su buharından faydalanılarak elde edilen kekik yağı, vialde toplanarak aktif bileşiklerinin belirlenmesi için Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilim Araştırma ve Uygulama Merkez Müdürlüğü'nde Thermo marka Trace 1310 model Gaz kromatografisi cihazında okutulmuştur (Dalar ve ark., 2015).

Çalışmada YKO'na, kekik yaprağı katkısız (kontrol), ağırlık esasına göre %2 (YKO+%2KY), %4 (YKO+%4KY) ve %6 (YKO+%6KY) düzeyinde kekik yaprağı ilave edilerek 4 grup oluşturulmuştur. Oluşturulan her grup yem örneği F57 filter bag torbalarına 0.5 g tartılmıştır. Dört adet kavanozu bulunan *in vitro* DaisyII inkübatör cihazının her biri, bir grubu oluşturacak şekilde her kavanoz için 10 adet yem örneği, 3 adet kör olmak üzere toplamda 52 adet torba hazırlanmıştır. Yapay rumen ortamını sağlayacak tampon çözelti için tükürük fonksiyonunu görecekteki iki ayrı solüsyon (A ve B solüsyonları) hazırlanmıştır. Bu solüsyonlar 1/5 oranında olacak şekilde karıştırıldıktan sonra DaisyII inkübatörüne yerleştirilmiş ve cihaz 39°C sıcaklığa sabitlenerek çalıştırılmıştır.

*In vitro* inkübasyon aşaması için kullanılan rumen sıvıları, Van Gölü Hayvan Kesim tesisinde kaba yeme dayalı beslenen 2 adet büyükbaş erkek hayvanın kesim sonrası hemen işkembesinden alınarak süzülüş ve pet şişelere alınarak thermobox çantalarında 39°C'de korunarak laboratuvar ortamına getirilmiştir. Daha sonra 1600 ml solüsyon+400 ml rumen sıvısı, CO<sub>2</sub> gazı eşliğinde cihazın herbir kavanozuna yerleştirilmiş ve hemen ardından yem örnekleri gruplara göre konularak yem örnekleri için inkübasyon aşaması başlatılmıştır. Yonca kuru otunun kaba yem kaynağı olması nedeniyle 48 saatlik inkübasyon süresi uygulanan gruplarda KM ve OM sindirilebilirlikleri ANKOM metodu (DaisyII-200/220 Incubator Operator's Manual) kullanılarak aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\%IVTS=100 - ((W3-(W1xC1))x100)/W2$$

W1: F57 torbalarının darası

W2: Kuru örnek veya kuru örnekteki besin madde miktarı (KM, OM)

W3: NDF çözeltisinden çıkmış rezidüdeki besin madde miktarı

W4: İnkübasyon öncesi örnek KM miktarı, %

C1: Kör ağırlığı (boş torba ağırlığı/orijinal torba ağırlığı)

SE: %OMS\*0.04409

ME: SE\*0.82

*In vitro* inkübasyon sonrası rumen sıvısı+tampon çözelti karışımından her uygulama grubu için 4'er paralel örnek alınarak Orion marka pH ile hemen pH ölçümü yapılmıştır. Daha sonra örnekler, Kjeldahl cihazının destilasyon ünitesine yerleştirilerek amonyak azotu (NH<sub>3</sub>-N) analizleri Markham (1942)'nin bildirdiği şekilde belirlenmiştir. Örneklerin asetik, propiyonik ve bütirik asit analizleri ise, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazında Spanghero ve ark. (2008)'nin bildirdiği şekilde yapılmıştır.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi aşağıdaki istatistiksel model kullanılarak tesadüf parselleri deneme deseninde tek yönlü varyans analizine (One-way ANOVA) göre gerçekleştirilmiştir. Katkı maddesinin IVKMS, IVOMS, ME ile rumen sıvısı arasındaki ilişkilerin belirlenmesinde varyans analizi, farklılıkların belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Çalışmada elde edilen verilerin istatistik analizinde, SAS 9.4 (SAS, 2014) paket programı kullanılmıştır.

Yij:  $\mu + a_i + e_{ij}$  olup

burada;

$\mu$  : Genel ortalama

Y<sub>ij</sub> : i. katkı düzeyinin j. gözlem değeri

a<sub>i</sub> : i. düzeyin etkisi

e<sub>ij</sub> : Şansa bağlı hata terimi.

### 3. Bulgular

Çalışmada kullanılan YKO ve kekik yaprağının ham besin madde içerikleri Çizelge 1’de verilmiştir. Kekik yaprağının tanımlanan aktif bileşikleri ile % konsantrasyon değerleri ise Çizelge 2’de görülmektedir. Yapılan tanımlama analizine göre KY’nda en yüksek aktif bileşenin timol, % konsantrasyon değerinin ise %70.36 olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan YKO ve KY’nın ham besin madde içerikleri, % KM

	KM	OM	HK	HP	HY	NDF	ADF
YKO	93.01	82.70	9.59	16.25	2.13	36.61	26.30
KY	91.33	82.09	8.44	15.68	2.03	24.01	16.66

YKO: yonca kuru otu; KY: kekik yaprağı; KM: kuru madde; OM: organik madde; HK: ham kül; HP: ham protein; HY: ham yağ; NDF: nötral deterjan lif; ADF: asit deterjan lif

Çizelge 2. Kekik yaprağından elde edilen uçucu yağın majör bileşikleri ve % konsantrasyon değerleri

Aktif bileşikler	% Konsantrasyon
Timol	70.36
Simol	10.06
Alfa-terpinen	9.37
Karvakrol	3.16

Yonca kuru otuna farklı seviyelerde ilave edilen kekik yaprağının 48 saatlik inkübasyon sonuçları Çizelge 3’de verilmiştir. Çizelge incelendiğinde, IVTS, IVKMS, IVOMS, SE ve ME düzeyleri, katkı yapılmayan YKO (kontrol) ile karşılaştırıldığında farklılığın önemli bulunduğu görülmektedir (P<0.001). Kekik yaprağı katkısının düzeyleri arttıkça *in vitro* sindirim miktarları da giderek azalmış ve incelenen tüm parametrelerde en düşük düzey %6 KY ilave edilen gruptan elde edilmiştir (Çizelge 3). Kekik yaprağı katkısı yapılmayan YKO’nun IVTS düzeyi %65.88 iken %2, %4 ve %6 KY katkısı ile sırasıyla %62.68, %56.38 ve %52.85’e düştüğü görülmektedir. Yonca kuru otunun IVKMS ve IVOMS düzeyi gruplarda sırasıyla %63.20 ve %69.51; %59.79, %66.78; %53.04, %59.58 ve %49.29, %56.73 olarak elde edilmiştir.

Çizelge 3. Yonca kuru otuna farklı düzeylerde kekik yaprağı ilavesinin *in vitro* sindirim parametreleri, ME ve SE üzerine etkisi

	IVTS %	IVKMS %	IVOMS %	SE, Mcal/kg	ME, Mcal/kg
	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$
YKO (K)	65.88±0.64a	63.20±0.69a	69.51±0.38a	3.06±0.02a	2.51±0.01a
YKO+%2KY	62.68±0.70b	59.79±0.75b	66.78±0.25b	2.94±0.01b	2.41±0.01b
YKO+%4KY	56.38±0.21c	53.04±0.23c	59.58±0.44c	2.63±0.02c	2.15±0.02c
YKO+%6KY	52.85±0.47d	49.29±0.51d	56.73±0.63d	2.50±0.03d	2.05±0.02d
P-değeri	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

a,b,c,d: Aynı sütünde farklı harf taşıyan ortalamalar arasında farklılık önemlidir (P<0.001)

YKO: yonca kuru otu; KY: kekik yaprağı; IVTS: *in vitro* toplam sindirim; IVKMS: *in vitro* kuru madde sindirimi; IVOMS: *in vitro* organik madde sindirimi; SE: sindirilebilir enerji; ME: metabolik enerji

Farklı seviyelerde KY’nın YKO’na ilavesinin *in vitro* inkübasyon sonrası rumen parametre sonuçları Çizelge 4’de verilmiş olup pH düzeyleri üzerine kekik yaprağının etkisi önemli bulunmuştur. En düşük pH değeri %2 KY katkılı gruptan elde edilirken, en yüksek pH değeri %6 KY katkılı gruptan

elde edilmiştir. Tüm gruplarda örneklemeler sonrası pH düzeyleri 6.78 ile 6.86 arasında değişmiştir (P<0.001; Çizelge 4). Çalışmada NH<sub>3</sub>-N üretimi, YKO'na ilave edilen tüm KY seviyeleri ile kontrol grubundan yüksek bulunmuştur. En yüksek NH<sub>3</sub>-N üretimi %2 KY ilave edilen grupta 37.56 mg/100ml olarak elde edilirken, en düşük NH<sub>3</sub>-N üretimi kontrol grubunda 26.37 mg/100 ml olarak elde edilmiştir. Çalışmada, *in vitro* inkübasyon sonrası PA konsantrasyonu KY katkısından etkilenmemiştir. Ancak AA (P<0.083) ve BA (P<0.010) konsantrasyonları önemli düzeyde değişmiştir (Çizelge 4). %4 KY katkısı yapılan grubun kontrolden yüksek, diğer grupların ise kontrole benzer AA düzeyine sahip olduğu ve ortalama AA düzeylerinin 14.23 ng/μL ile 17.23 ng/μL arasında değiştiği görülmektedir. Ayrıca %4 KY katkısının tüm gruplara kıyasla BA konsantrasyonunu azalttığı da belirlenmiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Yonca kuru otuna farklı düzeylerde KY ilavesinin rumen parametreleri üzerine etkisi

	pH	NH <sub>3</sub> -N, mg/100ml	AA, ng/μL	PA, ng/μL	BA, ng/μL
	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	$\bar{X} \pm S\bar{X}$
YKO (K)	6.83±0.01b	26.37±0.30d	14.23±0.69b	5.85±1.09	5.86±0.60a
YKO+%2KY	6.78±0.00c	37.56±0.26a	15.17±1.19ab	7.21±0.68	6.49±0.23a
YKO+%4KY	6.84±0.00b	32.63±1.06c	17.23±0.68a	6.23±0.19	3.88±0.67b
YKO+%6KY	6.86±0.00a	35.68±0.17b	16.36±0.28ab	5.66±0.20	5.92±0.32a
P-değeri	<0.001	<0.001	0.083	0.384	0.010

a,b,c,d: Aynı sütünde farklı harf taşıyan ortalamalar arasında farklılık önemlidir (P<0.001)

YKO: yonca kuru otu; KY: kekik yaprağı; NH<sub>3</sub>-N: Amonyak azotu; AA: Asetik asit; PA: Propiyonik asit; BA: Bütirik asit

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Yonca kuru otuna KY ilavesinin ham besin madde içeriği Tablo 1'de verilmiş olup YKO'nun ham besin madde bileşiminin yoncanın vejetasyon dönemine göre değişebildiği belirtilmektedir (Gül ve ark., 2017; Özdüven ve Celebi Cam, 2017).

Çalışmada IVTS, IVKMS, IVOMS ile IVOMS değerlerinden hesaplanan SE ve ME düzeyleri katkı seviyesi ile birlikte azalma göstermiştir (P<0.001; Çizelge 3). Kekik otunda bulunan aktif bileşiklerin güçlü antimikrobiyal özelliklerinin olduğu ve özellikle timol etken maddesinin gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Calsamiglia ve ark., 2007; Mirzaei-Aghsaghali ve ark., 2012). Dolayısıyla KY düzeyi arttıkça azalan *in vitro* sindirim değerleri, kekik yaprağında bulunan aktif bileşiklerin antimikrobiyal etkilerinden kaynaklanmaktadır. Nitekim yapılan çalışmada yürütülen tanımlama işlemine göre kullanılan KY'ndan elde edilen yağın aktif bileşenleri önemli antimikrobiyal etkiye sahip olan %70 düzeyinde timol bileşiği içermektedir (Tablo 2). Mirzaei-Aghsaghali ve ark. (2012), timol aktif bileşiğinin metan üretimini azaltabildiği gibi yüksek dozlarda kullanılması halinde etken maddenin besin madde sindirimini azaltabildiğini bildirmişlerdir. Farklı bir araştırmada, timol'ün esas bileşen olarak kullanıldığı uçucu yağ karışımlarının yüksek dozlarının besin madde sindirilebilirliğini azalttığı bildirilmektedir (Evans ve Martin, 2000). Farklı bir araştırmada ise, aromatik bitkilerin yemlerin duyuşal özellikleri üzerinde de etkili olduğu ve tat, koku gibi duyuşal özelliklerin yemlerin tüketimi ve lezzetini etkilediği dolayısıyla bu etkilerin sindirim enzim ve salgılarını uyardığını belirtmişlerdir (Yeşilbağ, 2007). Koyunlarda yapılan bir çalışmada, rasyonlara günlük 250 mg'lık kekik yağı katkısının kuru madde sindirilebilirliği bakımından önemli bir değişiklik meydana getirmediği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2009). Anlaşılacağı üzere kekik bitkisi aktif bileşenlerinin yemlerin sindirim düzeylerine etkileri kullanılan doza, rasyona, etken madde oranlarına bağlı olarak değişmektedir. Yapılan çalışmada kullanılan KY düzeyinin sindirim parametrelerini önemli düzeyde azalttığı gözlenmiş ve bu etkinin kullanılan KY düzeyi ile ilgili olduğu düşünülmüştür. Bunun yanında kontrol grubuna kıyasla KY'nın bünyesindeki hücre duvarı unsurlarının da bu azalmada payının olduğunu söylemek mümkündür. Çalışmada metan üretimi tespit edilmemiştir. Ancak *in vitro* sindirim parametrelerinin bu sonuçları dikkate alındığında metan üretiminin de azalmış olma ihtimalinin yüksek olabileceği düşünülmektedir.

Rumen mikroflorası üzerine pH, oluşan amonyak ve UYA konsantrasyonu önemli bir etkiye sahiptir. Dolayısıyla YKO'na KY ilavesinin *in vitro* koşullarda bu parametrelerden nasıl etkilendiğinin bilinmesi gerekmektedir. *In vitro* koşullarda yapılan bir araştırmada, kullanılan yüksek dozlardaki

aromatik bitki yağlarının rumen pH'sını artırdığı ancak düşük dozlarda rumen pH'sının etkilenmediği bildirilmiştir (Castillejos ve ark., 2008). Benzer şekilde rumen pH'sı esansiyel yağ katkısı yapılan gruplarda kontrole göre artmış ve bu artışın nedeninin aromatik bitkide bulunan polifenollerden kaynaklandığı ve sonuçta toplam UYA konsantrasyonunun azaldığı da bildirilmiştir (Odhaib ve ark., 2018). Bu sonuçların aksine Wang ve ark. (2009), kekik yağının rumen pH'sı üzerine önemli bir etkisinin olmadığını, Baruh ve Kocabağlı (2017) ise 250 ve 500 ppm kekik yağı dozlarının rumen pH düzeylerini değiştirmediklerini belirtmişlerdir. Kekik otundan elde edilen esansiyel yağlarla yapılan bazı çalışmalarda rumen pH'sı değişim göstermezken (Chaves ve ark., 2008; Khateri ve ark., 2017; Yeşilbağ ve ark., 2016; Vakili ve ark., 2013), bazı çalışmalarda rumen pH'sının katkı yapılmayan gruplara göre arttığı belirtilmektedir (Benchaar ve ark., 2006; Benchaar ve ark., 2007; Chaves ve ark., 2008). Katkı maddesi olarak KY ilave edilen bu çalışmada, pH düzeyleri tüm gruplarda rumen fermantasyonu için kabul edilen sınırlar içerisinde elde edildiğini göstermiştir. Aromatik bitkiler ve onların aktif bileşiklerinin etkilerinin, kullanılan dozlara bağlı olarak değişebildiği belirtilirken (Ünal ve Koçabağlı, 2014), NH<sub>3</sub>-N konsantrasyonu üzerine etkilerinin de farklı olduğu belirtilmiştir (Hart ve ark., 2008). Bunun yanında kimi bakteri ve arkea popülasyonlarının aktif bileşiklere karşı hassasiyetlerinin de farklı olduğu bildirilmektedir (Cobellis ve ark. (2016). Gram pozitif ve gram negatif bakterilerin amino asit deaminasyon hızını azaltabildiği ve yine amonyak üretim hızını ve yüksek düzeyde amonyak üretebilen bakteri sayısını azaltabildiği belirtilmiştir (Evans and Martin, 2000). Çalışmada bu durumun aksine NH<sub>3</sub>-N miktarı en düşük katkı seviyesinde bile önemli artış göstermiştir. Bu durum proteinlerin parçalanmasındaki artıştan dolayı meydana gelen ürünlerin amonyağa çevrilmesi sırasındaki deaminasyon aşamasının, kekik yaprağındaki etken maddeler tarafından inhibe edilemediğini göstermektedir. *In vitro* çalışmalarda, rumen mikroorganizmalarının esansiyel yağ etken maddelerine maruz kalma süresinin önemli olduğu, bu sürenin uzaması halinde rumen mikroorganizmalarının esansiyel yağlara adaptasyon sağlayabildiği, bunun sonucunda besin maddelerinin yıkımına yol açabildiği belirtilmiştir (Busquet ve ark., 2005; Cardozo et al., 2004).

Kekik yaprağının YKO'na ilave edilmesindeki en önemli nedenlerden birisi de kullanılan aromatik bitkideki etken maddelerin rumen fermantasyonunu baskılamadan UYA profilini olumlu yönde değiştirmesinin gerçekleşmesidir. Böylece bu değişime katkıda bulunan etken maddelerin ve optimal katkı maddesi seviyelerinin belirlenmesi mümkün olmaktadır. Çalışmada PA konsantrasyonu KY katkısı ile değişmezken, AA konsantrasyonu %4 KY katkılı grupta kontrolden yüksek elde edilmiştir. Aslında katkı maddesinin bu dozda, antimikrobiyal etkisinin rumende meydana gelen fermantasyonu azaltmadan selülaz enzim aktivitesini artırdığını söylemek mümkündür. Ancak *in vitro* besin madde sindiriminin katkı dozlarıyla azaldığı görülmektedir. Benchaar ve ark. (2008), etken maddelerin düzeylerine bağlı olarak oluşan antimikrobiyal etkilerin UYA konsantrasyonunu değiştirebileceği belirtilirken, Macheboeuf ve ark. (2008), *in vitro* yaptıkları bir çalışmada, timol ve karvakrol'un olduğu çeşitli uçucu yağların rumen sıvısında 0.5 mmol/l ile 10 mmol/l arasındaki farklı dozlarının UYA konsantrasyonlarını kontrol grubuna göre önemli derecede düşürdüğünü bildirmişlerdir. Farklı bir çalışmada ise kekik otundan elde edilen esansiyel yağın farklı dozlarının mısır silajına ilavesinin, *in vitro* rumen sıvısı toplam uçucu yağ asitleri (TUYA), AA, PA, BA ve asetik asit ile amonyak düzeyini önemli düzeyde düşürdüğü, rumen pH düzeyini ise artırdığı belirtilmiştir (Canbolat ve ark., 2010). Yapılan çalışmada kontrol grubuna kıyasla AA konsantrasyonunun %4 KY katkısı dışında değişime uğramadığı ayrıca PA konsantrasyonunun değişmediği görülmektedir. Bu çalışmada, kullanılan kekik yağı etken maddelerinin rumen mikroflorasına karşı inhibe edici etkisinin kullanılan dozlarda sınırlı düzeyde kaldığını söylemek mümkündür. Baruh Ünal ve Kocabağlı (2017), KY katkısının optimum ve toksik dozlarının birbirine yakın olduğunu dolayısıyla optimum dozun belirlenmesinin oldukça zor olduğunu vurgulamışlardır.

Bu çalışmadan elde edilen *in vitro* verilerin sonucuna dayanarak, kaba yem olan YKO'na KY ilavesinin, *in vitro* rumen parametrelerine etkisinin, aktif bileşenlerden kaynaklı olarak farklı dozlarda farklı etkiler meydana getirebildiği, yem tüketimi ile hayvan performansına olan etkilerinin ise tam olarak ortaya konulabilmesi için *in vivo* hayvan denemelerine ihtiyaç olduğunu söylemek mümkündür. Bu çalışmada yörede doğal olarak yetişen ve son yıllarda antimikrobiyal özelliklerinden dolayı hayvan beslemede önemli kullanım olanağı bulan kekik yapraklarının *in vitro* koşullarda besin madde sindirimi ve rumen fermantasyonuna etkisi araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, aktif bileşikleri tanımlanan ve YKO'na %2, %4, %6 düzeyinde ilave edilen KY'nın, *in vitro* rumen parametrelerine etkisi önemli bulunurken, incelenen tüm seviyelerde *in vitro* rumen KM ve OM sindirimi ile ME

değerlerine olumsuz etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal etkisi bilinen KY'nın kullanılan seviyelerinin ve tanımlanan aktif bileşiklerin gelecekte yapılacak çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## Teşekkür

Bu çalışma YYÜ Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 27.06.2019 tarihli ve 2019/06 kararı ile etik kurul onaylıdır. TYL-2019-8569 proje numarası ile bu çalışmayı destekleyen Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı'na teşekkür ederiz.

## Kaynakça

- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis* (17th Ed.). Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- Baruh Ünal, A., & Kocabağlı, N. (2017). Effect of different levels of Oregano essential oil on some rumen parameters in lambs. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 43(2), 116-122.
- Benchaar, C., Petit, H. V., Berthiaume, R., Whyte, T. D., & Chouinard, P. Y. (2006). Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production and milk composition in dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 89, 4352-4364.
- Benchaar, C., Petit, H. V., Berthiaume, R., Ouellet, D. R., Chiquette, J., & Chouinard, P. Y. (2007). Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *Journal of Dairy Science*, 90, 886-897.
- Benchaar, C., Calsamiglia, S., Chaves, A. V., Fraser, G. R., Colombatto, D., McAllister, T. A., & Beauchemin, K. A. (2008). A review of plant derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, 145, 209-228.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Carro, M. D., & Kamel, C. (2005). Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation in continuous culture. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 597-613.
- Calsamiglia, S., Busquet, M., Cardozo, P. W., Castillejos, L., & Ferret, A. (2007). Invited Review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal Dairy Science*, 90, 2580-2595.
- Canbolat, Ö., Karaman, Ş., & Filya, İ. (2010). Farklı kekik yağı dozlarının mısır silajının sindirimi ve rumen fermantasyonu üzerine etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(6), 933-939.
- Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A., & Kamel, C. (2004). Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. *Journal of Animal Science*. 82, 3230-3236.
- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Martin-Tereso, J., & Ter Wijlen, H. (2008). *In vitro* evaluation of effects of ten essential oils at three doses on ruminal fermentation of high concentrate feedlot-type diets. *Animal Feed Science and Technology*, 145, 259-270.
- Chaves, A. V., Stanford, K., Dugan, M. E. R., Gibson, L. L., McAllister, T. A., Van Herk, F., & Benchaar, C. (2008). Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lamb. *Livestock Science*, 117, 215-224.
- Cobellis, G., Acuti, G., Forte, C., Menghini, L., Vincenzi, S. De., Orru, M., Valiani, A., Pacetti, D., & Trabalza-Marinucci, M. (2015). Use of *Rosmarinus officinalis* in sheep diet formulations: Effects on ruminal fermentation, microbial numbers and in situ degradability. *Small Ruminant Research*, 126, 10-18.
- Cobellis, C., Trabalza-Marinucci, M., Marcotullio, M. C., & Yu, Z. (2016). Evaluation of different essential oils in modulating methane and ammonia production, rumen fermentation, and rumen bacteria *in vitro*. *Animal Feed Science and Technology*, 215, 25-36.
- Dalar, A., Guo, Y., Esim, N., Bengu, A. S., & Konczak, I. (2015). Health attributes of an endemic orchid from Eastern Anatolia, *Dactylorhiza chuhensis* Renz & Taub. – *In vitro* investigations. *Journal of Herbal Medicine*, 5, 77-85. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2015.02.001>.

- Evans, J. D., & Martin, S. A. (2000). Effects of timol on ruminal microorganisms. *Current Microbiolog*, 41, 336-340.
- Gladine, C., Rock, E., Morand, C., Bauchart, D., & Durand, D. (2007). Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition*, 98, 691-701.
- Gül, H., Avcı, M., & Kaplan, O. (2017). Bazı kaba yemlere çörek otu, kekik otu ve yağları ilavesinin *in vitro* organik madde sindirimi ve metan üretimi üzerine etkileri. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 6(2), 167-173.
- Hart, K. J., Yanez-Ruiz, D. R., Duval, S. M., McEwan, N. R., & Newbold, C. J. (2008). Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 147, 8-35. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.007>.
- Kalamak, A., Canbolat, Ö., Özkan, Ç. Ö., & Atalay, A. İ. (2011). Effect of timol on *in vitro* gas production, digestibility and metabolizable energy content of alfalfa hay. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17(2), 211-216. [10.9775/kvfd.2010.2854](https://doi.org/10.9775/kvfd.2010.2854).
- Kaya, A. Kaya, H., & Çelebi, Ş. (2012). Ruminant hayvanlarda metan üretimini azaltmaya yönelik çalışmalar. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 43(2), 197-204.
- Khateri, N., Azizi, O., & Jahani-Azizabadi, H. (2017). Effects of a specific blend of essential oils on apparent nutrient digestion, rumen fermentation and rumen microbial populations in sheep fed a 50:50 alfalfa hay:concentrate diet. *Asian-Australas J. Anim Science*, 30, 370-378. [10.5713/ajas.15.0865](https://doi.org/10.5713/ajas.15.0865). Epub 2016 Jan 18.
- Köknaoğlu, H., & Akünel, T. (2010). Küresel ısınmada hayvancılığın payı ve zooteknist olarak bizim rolümüz. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(1), 67-75.
- Macheboeuf, D., Morgavi, D. P., Papon, Y., Mousset, J. L., & Arturo-Schaan, M. (2008). Dose-response effects of essential oils on *in vitro* fermentation activity of the rumen microbial population. *Animal Feed Science and Technology*, 145, 335-350.
- Markham, P. (1942). A steam distillation apparatus suitable for micro-kjeldahl analyses. *Journal Biochemistry*, 36, 790-797.
- Mellencamp, M. A., Koppin, J., Lamb, R., & Dvorak, R. (2011). Antibacterial and antioxidant activity of oregano essential oil. Proceeding-Posters. USA.
- Mirzaei-Aghsaghali, A., Syadati, S. A., & Fathi, H. (2012). Some of thyme (Thymus vulgaris) properties in ruminant's nutrition. *Annals of Biological Research*, 3(2), 1191-1195.
- SAS. SAS/STAT Software (2014). Hangen and Enhanced, Version 9.4, SAS, Inst. Inc., Cary, N.C. USA.
- Odhaib, K. J., Adeyemi, K. D., Ahmed, M. A., Jahromi, M. F., Jusoh, S., Samsudin, A. A., Alimon, A. R., Yaakub, H., & Sazili, A. Q. (2018). Influence of Nigella sativa seeds, Rosmarinus officinalis leaves and their combination on growth performance, immune response and rumen metabolism in Dorper lambs. *Tropical Animal Health and Production*, 50(5), 1011-1023. [10.1007/s11250-018-1525-7](https://doi.org/10.1007/s11250-018-1525-7). Epub 2018 Apr 13.
- Özdüven, M. L., & Celebi Cam, A. (2017). The Effects of bacterial inoculants and/or enzymes on the fermentation characteristics and aerobic stability of alfalfa ensiled at different stages of maturity. *International Journal of Current Research*, 9(02), 45983-45988.
- Spanghero, M., Zanfi, C., Fabbro, E., Scicutella, N., & Camellini, C. (2008). Effects of a blend of essential oils on some end productus of *in vitro* rumen fermentation. *Animal feed science and technology*, 145, 364-374. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.048>.
- Thornton, J. H. & Owens, F. N. (1981). Monensin supplementation and in vivo methane production by steers. *Journal of Animal Science*, 52, 628-634. [10.2527/jas1981.523628x](https://doi.org/10.2527/jas1981.523628x).
- Tunca, H., & Yeşilyurt, M. E. (2017). Türkiye ve dünya'da kekik. DTB Raporu, Denizli.
- Ünal, A., & Kocabağlı, N. (2014). Effect of different dosages of Oregano Oil on performance and some blood parameters in lambs. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 61, 199-204.
- Üstü, Y., & Uğurlu, M. (2018). Kekikğin tıbbi kullanımı. *Ankara Med. J.*, 2, 242-245. [10.17098/amj.435291](https://doi.org/10.17098/amj.435291).
- Vakili, A. R., Khorrami, B., Danesh Mesgaram, M., & Parand, E. (2013). The Effects of thyme and cinnamon essential oils on performance, rumen fermentation and blood metabolites in Hostein Calves Consuming High Concentrate Diet. *Asian Australas. Journal of Animal Science*, 26(7), 935-944. [10.5713/ajas.2012.12636](https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12636).



- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., & Lewis, B. A. (1991). Methods of dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583-3597. [10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2).
- Wang, C. J., Wang, S. P., & Zou, H. (2009). Influences of flavomycin, ropadiar and saponin on nutrient digestibility, rumen fermentation and methane emission from sheep. *Animal Feed Science and Technology*, 148, 157-166. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2008.03.008>.
- Yeşilbağ, D. (2007). Fitobiyotikler. *Uludağ University Journal of Faculty Veterinary Medicine*, 26 (1-2), 33-39.
- Yeşilbağ, D., Biricik, H., Çetin, I., Kara, C., Meral, Y., Cengiz, S. S., Orman, A., & Udum, D. (2016). Effects of juniper essential oil on growth performance, some rumen protozoa, rumen fermentation and antioxidant blood. enzyme parameters of growing Saanen kids. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2016; 101(5): 67-76. [10.1111/jpn.12560](https://doi.org/10.1111/jpn.12560).
- Zamiri, M. J., Azizabadi, E., Momeni, Z., Rezvani, M. R., Atashi, H., & Akhlaghi, A. (2015). Effect of timol and karvakrol on nutrient digestibility in rams fed high or low concentrate diets. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 16(4), 335-340.