

Research Article
(Araştırma Makalesi)



J. Anim. Prod., 2019, 60 (1): 9-13
DOI: 10.29185/hayuretim.485134

Sema ÖZÜRETMEN¹  0000-0002-2071-9296
Hülya ÖZELÇAM¹  0000-0001-6270-0334

¹Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü,
35100, Bornova-İzmir

Corresponding author: hulya.ozelcam@ege.edu.tr

Buğday Samanının Karanfil Eterik Yağı ile Muamelesinin *in vitro* Kuru Madde Sindirilebilirliği ve Metabolik Enerji Değerine Etkisi*

Effect of Clove Oil Treatment on *in vitro* Dry Matter Digestibility and Metabolizable Energy Value of Wheat Straw

* İlk Yazarın Yüksek Lisans Tezinden Derlenmiştir.

Alınış (Received): 19.11.2018

Kabul tarihi (Accepted): 09.04.2019

Anahtar Kelimeler:

Karanfil yağı, saman, sindirilebilirlik, metabolik enerji.

Keywords:

Clove oil, straw, digestibility, metabolizable energy.

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada, karanfil eterik yağının buğday samanının *in vitro* kuru madde sindirimi (KMS) ve metabolik enerji (ME) değerlerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Araştırmada, karanfil yağı (%66.6 eugenol), farklı doz (0, 50, 100, 200 ppm) ve saatlerde (1,3,5,7,9,12) buğday samanı ile muamele edilmiştir. Çalışmada, öncelikle *in vitro* Selülaz yöntemi uygulanmıştır. Yöntemin uygulanmasında *Trichoderma viride*' den (Onozuka R-10, 1 U/mg aktivite) elde edilen Selülaz enzimi ile Pepsin (2000 FIP-U/g) kullanılmıştır. Daha sonra elde edilen değerlerden, yemin KMS değeri ile enzimde çözünebilen organik madde (ELOS) miktarı bulunmuş ve *in vitro* ME değerleri hesaplanmıştır.

Bulgular: Karanfil eterik yağı artan doza bağlı olarak, buğday samanının KMS, ELOS ve ME değerlerini artırmıştır (P<0.01). Buna göre, karanfil yağı muamelesi, samanın KMS, ELOS ve ME değerlerini sırasıyla %37.17 den %53.92 ye, %22.31 den %39.45 e ve 7.53 MJ/kg dan 8.13 MJ/kg a yükseltmiştir (P<0.01). Bu parametrelere ait en yüksek değerler, 200 ppm doz ve 5. saatte elde edilmiştir (P<0.01, P<0.05).

Sonuç: Sonuç olarak, buğday samanına karanfil yağı muamelesi, yemin *in vitro* sindirimini ve enerji değerini arttırmada önemli potansiyel etkiye sahiptir. Ancak çalışma sonuçları daha detaylı çalışmalarla ve özellikle *in vivo* çalışmalarla desteklenmelidir.

ABSTRACT

Objective: This study aimed to determine the effect of clove oil on *in vitro* dry matter digestibility (DMD) and metabolizable energy (ME) values of wheat straw.

Material and Methods: In the research, clove oil (66.6% eugenol) was treated with wheat straw at different doses (0, 50, 100, 200 ppm) and hours (1, 3, 5, 7, 9, 12). Firstly, *in vitro* cellulase method was applied in the study. In the application of the method, pepsin (2000 FIP-U/g) and also the cellulase enzyme obtained from *Trichoderma viride* (Onozuka R-10, 1 U/mg activity) were used. Then from obtained values, the DMD value of the feed and the amount of organic matter soluble in the enzyme (ELOS) were found and the *in vitro* ME values were calculated.

Results: Clove etheric oil depending on the increasing dose was increased DMD, ELOS and ME values of wheat straw (P<0.01). Accordingly, clove oil treatment, increased the DMD, ELOS and ME values of the straw from 37.17% to 53.92%, from 22.31% to 39.45% and from 7.53 MJ/kg to 8.13 MJ/kg, respectively (P<0.01). The highest values for these parameters were obtained at 200 ppm dose and 5 hours (P<0.01, P<0.05).

Conclusion: As a result, clove oil treatment in wheat straw has an important potential effect in increasing the *in vitro* digestion and energy value of feed. However, the results of the study should be supported by more detailed studies, especially *in vivo* studies.



GİRİŞ

Son yıllarda, eterik yağlar ya da aktif bileşenlerinin *in vitro* rumen fermentasyonu ve yemin sindirilebilirliği üzerine etkilerini konu alan çalışma sayısı artış göstermiştir (Isman, 2000, Castillejos ve ark., 2007, Yang ve ark., 2010, Benchaar ve ark., 2006, Demirtaş ve ark., 2011). Çalışmalarda, genelde eterik yağların selülotik bakterileri artırarak selüloz sindirimini iyileştirmesi veya proteolitik bakterileri azaltarak protein deaminasyonunu engellemesi, dolayısıyla bypass protein oranını arttırmasına ilişkin etkileri araştırılmıştır (Burt, 2004, Hart ve ark., 2008, Sallam ve ark., 2009). Araştırma sonuçları oldukça değişkenlik gösterip, eterik yağların bazen rumendeki mikrobiyal aktiviteyi uyardığı, fakat genelde olumsuz yönde etkileyerek yemin sindirimi ile metabolik enerji (ME) değerini düşürdüğü bildirilmiştir (Canbolat ve ark., 2010 ve 2011). Konu ile ilgili çalışmaların çoğu, *in vitro* koşullarda eterik yağların rumen sıvısına ya da yoğun yeme ilavesi şeklinde yürütülmüş, ancak herhangi bir eterik yağın doğrudan kaba yeme ilavesiyle yem değerini etkileyip etkilemediği incelenmemiştir. Nitekim yoğun yeme eterik yağ ilavesinin; tüm sindirim sistemindeki patojen mikroorganizmaları öldürdüğü, yemin lezzetini ve tüketilebilirliğini arttırdığı, enzimlerin etkinliğini arttırarak yemin sindirilebilirliğini yükselttiği ve böylece yemden yararlanmayı iyileştirerek daha fazla ağırlık kazancı sağladığı, amonyağı bağlayarak daha sağlıklı bir çevre oluşturduğu da bildirilmiştir (Kutlu ve Görgülü, 2001, Calsamiglia ve ark., 2007, Tekeli ve ark., 2007, Adıyaman ve Ayhan, 2010).

Diğer yandan eterik yağlar içerisinde, sindirimi uyarıcı ve güçlü bir antimikrobiyal özelliğe sahip olan karanfil eterik yağı (Calsamiglia ve ark., 2007) ile yapılan bir çalışmada, 300 ppm lik dozun yemin *in vitro* kuru madde sindirimini (KMS) (%10) ve ME değerini (%11) arttırdığı bildirilmiştir (Rofiq ve ark., 2012a). Ayrıca karanfil yağının bazı bakterilerin gelişimi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, yağın etkinliğinin görülebilmesi için 6 saatlik bir bekleme süresinin gerektiği (Bergvist, 2007) ya da etkinin yağın muamelesinden hemen sonra başlayıp 5. saate kadar devam ettiği (Machado ve ark., 2011) saptanmıştır. Bununla birlikte karanfil yağının doğrudan kaba yemle muamelesinde, *in vitro* sonuçlara benzer etkilerin elde edilip edilemeyeceği ve farklı zaman periyodlarındaki muamelenin sonuçları etkileyip etkilemeyeceği de bilinmemektedir. Bu durum, karanfil yağının özelliklerinden dolayı, yemin sindiriminde ve dolayısıyla enerji değerinde bir artış beklentisini oluşturmuştur. Bu beklentiden hareketle

çalışmada, buğday samanının farklı doz (50, 100, 200 ppm) ve zaman periyodlarında (1, 3, 5, 7, 9, 12 saat) karanfil yağı ile muamelesinin, *in vitro* KMS ile ME değerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Çalışmada yem materyali olarak, ticari bir işletmeden temin edilen buğday (*Triticum aestivum* L.) samanı kullanılmış, katkı olarak kullanılan karanfil eterik yağı (*Syzygium aromaticum*, %66.6 Eugenol içerikli) ise, piyasadaki ticari bir işletmeden (Mecit Efendi) temin edilmiştir.

Metot

Polietilen torbalara 100'er g tartılan yem örneklerinden, biri kontrol (karanfil yağı ilavesiz) olmak üzere toplam 4 muamele grubu oluşturulmuştur. Samanlar farklı doz (0, 50, 100, 200 ppm) ve zaman periyodlarında (1, 3, 5, 7, 9, 12 saat) karanfil yağı ile muamele edilmiş ve deneme iki farklı zamanda tekrarlanmıştır. Karanfil yağının samanlara ilavesinin hemen ardından torbalar sıkıca kapatılıp, alt üst yapılarak yağın samana iyice nüfus etmesi sağlanmış ve inkübasyon periyodu süresince torbalar kuru ve karanlık bir yerde muhafaza edilmiştir. İnkübasyon süreleri sonunda, torbalar açılarak, samanların önce besin madde içerikleri (kuru madde: KM, ham kül: HK, ham yağ: HY, ham selüloz: HS) belirlenmiş (AOAC, 1990), daha sonra *in vitro* Selülaz yöntemi ile KMS değerleri ve enzimde çözünebilir organik madde (ELOS) miktarları saptanmıştır. Araştırmada selülaz yöntemi olarak Tilley ve Terry (1963)'nin geliştirdiği enzimatik yöntemin modifikasyonundan yararlanılmıştır (De Boever ve ark., 1986). Yöntemin uygulanmasında *Trichoderma viride'* den (Onozuka R-10, 1 U/mg aktivite) elde edilen Selülaz enzimi ile Pepsin (2000 FIP-U/g) enzimi kullanılmıştır. Çalışmada tüm analitik işlemler eş zamanlı yürütülmüştür. Ayrıca aşağıdaki eşitlikler kullanılarak samanların KMS değerleri ile bazı besin maddeleri ve ELOS değerlerinden yararlanılarak *in vitro* ME değerleri hesaplanmıştır (GfE, 1998).

$$KMS, \% = ((A_n - (A_k - A_o)) / A_n) \times 100$$

$$ELOS, \% = KM - HK - G^* \quad *G, \% = ((A_k - A_y) / A_n) \times 100$$

$$ME (MJ/kg KM) = -1,04 + (0,00001611 \times ELOS \times ELOS) + (0,3724 \times HY) - (0,0003674 \times ELOS \times HY) - (0,0004919 \times HY \times HS) + (0,01548 \times HS)$$

Eşitliklerdeki; A_o: cam krozenin darası (g); A_n: numune ağırlığı (g); A_k: 105°C'deki kuru ağır. (g); A_y: 550°C'deki yanmış ağır. (g); KM: yemin kuru madde içeriği (%); HK: yemin ham kül içeriği (%); HY: yemin



ham yağ içeriği (%); HS: yemin ham selüloz içeriği (%)’ni ifade eder.

Bulguların istatistiki değerlendirmesinde SPSS programından yararlanılmış, ortalamalar arası farklar Duncan testi ($P<0.01$, $P<0.05$) ile karşılaştırılmıştır (SPSS, 2009).

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışmanın ilk aşamasında, karanfil eterik yağının farklı doz ve zaman periyodlarında buğday samanının *in vitro* KMS değerlerine etkisi araştırılmıştır. Buna göre, doz artışına bağlı olarak samanın KMS değerleri önemli düzeyde artmıştır ($P<0.01$, Çizelge 1). Kontrole (%37.17) kıyasla, KMS üzerine karanfil yağının etkinliği bakımından en yüksek artış, %53.92 ile 200 ppm doz ve 5. saatte bulunmuştur ($P<0.01$, $P<0.05$). Bu bulgu, Bergvist (2007) ile Newbold ve ark. (2004) nin bazı eterik yağların etkinliğinin görülebilmesi için yaklaşık 6 saat beklenmesi gerektiği bildirişleriyle uyumludur. Çalışmanın KMS değerleri, Yılmaz (2009) ile Sallam ve ark. (2009) ’nin bildirişleriyle de uyumludur. Nitekim Yılmaz (2009), rumen sıvısına 150 ppm çörekotu yağı ilavesinin, buğday samanının KMS’ni %88’den %91’e yükselttiğini bildirmiştir. Aynı şekilde Şahan ve ark. (2009), rumen sıvısına farklı dozlarda ilave edilen nane ve defne yağı ilavesinin buğday samanının KMS’ni arttırdığını, kontrole (%42.24) kıyasla, en yüksek etkinin nane için 100 ppm (%43.55) ve defne için 50 ppm (%45.64) dozlarda olduğunu saptamıştır. Rofiq ve ark. (2012a), rumen sıvısına farklı dozlarda karanfil yağı ilavesinin TMR’ın (%60 yoğun+%40 yonca otu) KMS’ni kontrole (%76.19) kıyasla, 200 ve 300 ppm dozlarda (sırasıyla %78.83 ve 81.41) arttırdığını, hatta hücre çeperi sindiriminin %37’den %51’e yükseldiğini ortaya koymuştur. Diğer yandan KMS için elde edilen bulgular, farklı ekstraktların KMS’ni %6-7 oranında azalttığı (Patra ve ark., 2006), 200 ppm karanfil yağının rumen sıvısına ilavesinin KMS’ni etkilemediği (Benchaar ve ark., 2008), 250 ppm adaçayı ve biberiye ekstraktı ilavesinin arpa samanının KMS’ni değiştirmediği

(Demirtaş ve ark., 2011) bildirişleriyle uyum sağlamamıştır. Bu durum, kullanılan eterik yağın çeşidine, etken madde miktarına, doza, uygulama şekline ve yöntem farklılıklarına dayandırılabilir. Bununla birlikte karanfil yağının selülotik bakteri aktivasyonunu sağlamada etkili olduğu yönünde çalışma sayısı da oldukça azdır (Rofiq ve ark, 2012a ve b). Çalışmamızdaki karanfil yağının samanın KMS üzerinde yaptığı olumlu etkinin, hücre zarı geçirgenliğini etkileme ve hücre içindeki önemli işlevlerin (elektron transferi, fosforilasyon aşamaları, enzime bağlı reaksiyonlar gibi) bozulması, dolayısıyla metabolizmayı yıkıma uğratma yoluyla olduğu düşünülmektedir (Brenes ve Roura, 2010; Chamdit ve Siripermool, 2012; Ünlü ve ark, 2013). Ayrıca karanfil yağının brokoli yaprak yüzeyinin geçirgenliğini arttırdığını ve bunun da yapraktaki elektrolit yıkımı ile gerçekleştiğini bildiren bir çalışma (Stocklosa ve ark, 2012) da sonuçlarımızı desteklemektedir. Dolayısıyla samanın *in vitro* sindiriminin artışına ilişkin bulgularımıza dayanarak, karanfil yağının selülotik aktiviteyi olumlu yönde etkilediği söylenebilir.

Çalışmanın ikinci aşamasında, karanfil yağının farklı doz ve zaman periyodlarında, samanın *in vitro* ELOS ve ME değerlerine etkisi araştırılmıştır. Buna göre, karanfil yağı doz artışına bağlı olarak ELOS ve ME değerlerini arttırmıştır ($P<0.01$, Çizelge 2 ve 3). Bilindiği üzere, yemin enzimde çözünebilir madde miktarı ile sindirilebilirlik ve enerji değeri arasında oldukça yüksek korelasyonlar (sırasıyla $r=0.86$ ve $r=0.91$) olup, yemin ELOS değeri arttıkça enerji değeri de artmaktadır (Şayan ve ark, 2003). Çizelge 2’de, kontrole (%22.31) kıyasla, ELOS değerine karanfil yağının etkinliği bakımından en yüksek artış (%39.45), 200 ppm doz ve 5. saatte bulunmuştur ($P<0.01$, $P<0.05$). Kontrol grubuna ait ELOS değeri, Şayan ve ark. (2003)’nin bildirdiği %23.0-39.5 değerleriyle uyum sağlamış, ancak eterik yağların yemin ELOS değerine etkilerinin incelendiği bir literatüre rastlanılmamıştır.

Çizelge 1. Karanfil yağının samanın *in vitro* KMS değerine etkisi

Table 1. The effect of clove oil on the *in vitro* DMD value of straw

Doz, ppm	Muamele süresi (Saat)						P** değeri
	1	3	5	7	9	12	
0	37.17±0.61 ^c	37.17±0.31 ^c	37.17±0.61 ^c	37.17±0.61 ^c	37.17±0.61 ^b	37.17±0.61 ^c	
50	45.60±0.47 ^b	43.76±1.85 ^b	47.12±0.70 ^b	43.55±0.85 ^b	43.58±1.00 ^b	45.19±0.61 ^b	0.06
100	48.72±0.25 ^{ab}	45.76±1.82 ^{ab}	49.37±0.44 ^b	46.70±0.82 ^b	47.79±0.89 ^a	47.64±0.36 ^b	0.17
200	51.13±0.36 ^{aB}	50.10±1.29 ^{aB}	53.92±0.84 ^{aA}	52.03±0.83 ^{aB}	49.50±0.96 ^{aB}	51.42±1.33 ^{aB}	0.05
P* değeri	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

*Aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir ($P<0.01$).

** Aynı satırda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir ($P<0.05$).



Çizelge 2 Karanfil yağının samanının *in vitro* ELOS değerine etkisi

Table 2. The effect of clove oil on *in vitro* ELOS value of straw

Doz, ppm	Muamele süresi (Saat)						P ** değeri
	1	3	5	7	9	12	
0	22.31±0.57 ^c	22.31±0.57 ^b	22.31±0.57 ^c	22.31±0.57 ^c	22.31±0.57 ^c	22.31±0.57 ^d	
50	33.06±0.51 ^{BA}	26.46±0.74 ^{BB}	33.61±0.58 ^{BA}	28.07±1.33 ^{BB}	29.18±1.40 ^{BB}	28.97±0.90 ^{CB}	0.00
100	34.90±0.66 ^{abA}	25.78±1.07 ^{bb}	35.33±0.38 ^{BA}	32.19±1.42 ^{BA}	34.69±0.67 ^{BA}	32.77±0.69 ^{BA}	0.00
200	36.09±0.42 ^{ab}	35.36±1.32 ^{ab}	39.45±0.72 ^{BA}	38.43±0.86 ^{AB}	36.05±1.04 ^{AB}	37.69±0.70 ^{AB}	0.00
P* değeri	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

* Aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir (P<0.01).

** Aynı satırda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir (P<0.05).

Çizelge 3 Karanfil yağının samanının *in vitro* ME değerine etkisi

Table 3. The effect of clove oil on *in vitro* ME value of straw

Doz, ppm	Muamele süresi (Saat)						P ** değeri
	1	3	5	7	9	12	
0	7.53±0.03 ^c	7.53±0.03 ^c	7.53±0.03 ^c	7.53±0.03 ^c	7.53±0.03 ^b	7.53±0.03 ^c	
50	7.72±0.03 ^{BA}	7.69±0.07 ^{ABC}	7.80±0.03 ^{BA}	7.67±0.06 ^{BCABC}	7.58±0.04 ^{BC}	7.65±0.04 ^{BCABC}	0.00
100	7.80±0.05 ^{abA}	7.75±0.08 ^{abA}	7.88±0.02 ^{BA}	7.74±0.05 ^{BA}	7.80±0.04 ^{BA}	7.76±0.03 ^{BA}	0.00
200	7.93±0.02 ^{AB}	7.92±0.09 ^{AB}	8.13±0.05 ^{BA}	8.00±0.06 ^{AB}	7.86±0.06 ^{AB}	7.84±0.05 ^{AB}	0.00
P* değeri	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

* Aynı sütunda farklı küçük harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir (P<0.01).

** Aynı satırda farklı büyük harf taşıyan ortalamalar arası farklar önemlidir (P<0.05).

ELOS değerine karanfil yağı etkinliği bakımından en yüksek değerler, *in vitro* sindirilebilirlikte olduğu gibi, 5. saatte gerçekleşmiştir (P<0.05). Nitekim Rofiq ve ark. (2012b), karanfil yağının doğrudan TMR'a ilavesinde, yemin çözünemeyen fraksiyonlarına etkisinin olmadığını, fakat "karanfil+tarçın yağı" kombinasyonunun, fraksiyonların çözünürlüğünü artırdığını bildirmişlerdir.

Diğer yandan Çizelge 3'de, karanfil yağı ilavesinin artan dozlarıyla birlikte ME değerinin arttığı yönündeki bulgular, çoğu literatürle uyumlu değildir (Canbolat ve ark. 2010; Canbolat ve ark. 2011; Salamatazar ve ark. 2011; Kamalak ve ark. 2011; Canbolat, 2012). Çalışmada kontrol grubuna ait ME değeri (7.53 MJ/kg), Canbolat (2012)'in bildirdiği ortalamalardan (10.3-10.8 MJ/kg) oldukça düşük bulunmuştur. Bu durum, söz konusu çalışmalarda kullanılan yemlerin farklılığına dayandırılabilir. Bununla birlikte, ME değeri bakımından en yüksek artışlar (+ %8), yine 200 ppm doz ve 5. saatte saptanmıştır (P<0.01, P<0.05). Ayrıca

50 ppm doz ve 5. saatte elde edilen ME değerinde de, + %4 oranında bir artış kaydedilmiştir. Bu bulgu, Canbolat ve ark. (2011)'nın, ruminal performansı olumsuz etkilememek için, eterik yağların düşük dozda kullanılması gerektiğine yönelik bildirişi destekler niteliktedir.

SONUÇ

Buğday samanına artan dozlarda karanfil yağı ilavesi, yemin *in vitro* KMS, ELOS ve ME değerlerini önemli düzeyde arttırmıştır. Araştırmada, samanının *in vitro* sindirimi ve enerji değeri üzerine en etkili doz ve zaman periyodunun, 200 ppm ve 5. saat olduğu ortaya konmuştur. Buna göre, karanfil yağı ilavesi, samanının sindirimini ve enerji değerini arttırmada potansiyel bir etkiye sahiptir. Ancak eterik yağlarla yapılan çoğu çalışma gibi, bu çalışma da *in vitro* koşullarda geçerli olup, konunun daha iyi irdelenmesi amacıyla daha fazla ve özellikle de *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

AOAC 1990. Official method of analysis, 15 th Ed, Association of Official Analytical Chemists, Inc., Virginia, USA, 770-771.
Adıyaman, E. ve Ayhan, V. 2010. Etlik piliçlerin beslenmesinde aromatik bitkilerin kullanımı, 51 (1), 57-63.
Benchaar C, Calsamiglia S, Chaves AV, Fraser GR, Colombatto D, McAllister TA, Beauchemin KA. 2008. A review of plant derived essential oils in ruminant nutrition and production. Anim Feed Sci Technol, 145, 209-228.

Benchaar C, Duynisveld JL, Charmley E. 2006. Effects of monensin and increasing dose levels of a mixture of essential oil compounds on intake, digestion and growth performance of beef cattle. Can J Anim Sci, 86, 91-96.
Bergvist TP. 2007. Antimicrobial activity of four volatile essential oils. Master thesis in Pharmacy, Göteborg University, 10p.
Brenes A, Roura, E. 2010. Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. Anim Feed Sci Technol, 158, 1-14.



- Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties an potential application in foods. A review: *Int. J Food Microbiol.* 94, 223-253.
- Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A. 2007. Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci.* 90, 2580-2595.
- Chamdit S, Siripermpool P. 2012. Antimicrobial effect of clove and lemongrass oils against planktonic cells and biofilms of *Staphylococcus aureus*. *Mahidol Uni, J Pharmaceutical Sci,* 39 (2), 28-36.
- Canbolat Ö. 2012. Comparison of *in vitro* gas production, organic matter digestibility, relative feed value and metabolizable energy contents of some cereal forages. *J Faculty Vet Med, University of Kafkas,* 18 (4), 571-577.
- Canbolat Ö, Kalkan H, Karaman Ş, Filya İ. 2011. Esansiyel yağların sindirim, rumen fermantasyonu ve mikrobiyal protein üretimi üzerine etkileri, *Kafkas Üniv Vet Fak Derg,* 17 (4), 557-565.
- Canbolat Ö, Karaman Ş, Filya İ. 2010. Farklı kekik yağı dozlarının mısır silajının sindirimi ve rumen fermantasyonu üzerine etkileri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg,* 16 (6), 933-939.
- Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A, Losa R. 2007. Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol,* 132: 186-201.
- Demirtaş A, Öztürk H, Pişkin İ, Demirkiran D, Salgirli Y. 2011. Biberiye ve adaçayı ekstraktlarının ruminal fermantasyon üzerine etkilerinin rumen simülasyon tekniği (RUSITEC) ile araştırılması. *İstanbul Üniv Vet Fak Derg,* 37 (2), 127-134.
- De Boever, J.L., Cottyn, B.G., Buysse, F.X., Waiman, F.W., Vanacker, J.M. 1986. The use of an enzymatic technique to predict digestibility, metabolizable energy of compound feedstuffs for ruminants, *Anim Feed Sci Technol,* 14, 203-214.
- GfE 1998. Ausschuss für Bedarfsnormen der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie. *Proc Soc Nutr Physiol,* 7, 141-149.
- Hart, KJ, Yañez-Ruiz, DR., Duval, SM., McEwan, NR., Newbold, CJ. 2008. Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol,* 147, 8-35.
- Isman, MB. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prod,* 19: 603-608.
- Kamalak, A, Canbolat, Ö, Özkan, O, Atalay, AI. 2011. Effect of thymol on *in vitro* gas production, digestibility and metabolizable energy content of alfalfa hay. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg,* 17 (2), 211-216.
- Kutlu, H.R. ve Görgülü, M., 2001. Kanatlı yemlerinde yem katkı maddesi olarak kullanılan antibiyotik-büyütmeye faktörü için alternatifler. *Yem Magazin Derg,* 27, 45-62.
- Machado, M, Dinis, AM, Salgueiro, L, Custódio, José BA, Cavaleiro, C, Sousa, MC. 2011. Anti-Giardia activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and eugenol: Effects on growth, viability, adherence and ultrastructure. *Experimental Parasitology,* 127, 732-739
- Newbold, CJ., McIntosh, FM., Williams, P, Losa, R, Wallace, RJ. 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol,* 114, 105-112.
- Patra, A.K., Kamra, D.N., Agarwal, N. 2006. Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Anim Feed Sci Technol,* 128 (3-4), 276-291.
- Rofiq, MN., Görgülü, M., Boğa, M. 2012a. Karanfil uçucu yağının (Clove oil) ruminantlarda *in vitro* gerçek KM ve NDF sindirilebilirliği ve yemin enerji içeriğine etkileri. 8. Ulusal Zootečni Öğrenci Kong, 127-129s.
- Rofiq, M.N., Martono, S., Görgülü, M., Boğa, M. 2012b. Combination effect of clove and cinnamon oil on *in vitro* rumen gas and methane production, *Proceeding of the 2nd International Seminar on Animal Industry,* 717p.
- Sallam, S.M.A., Bueno, I.C.S., Brigide, P., Godoy, P.B., Vitti, D.M.S.S., Abdalla, A.L. 2009. Investigation of potential new opportunities for plant extract on rumen microbial fermentation *in vitro*. *Options Méditerranéennes,* 85, 255-260.
- Salamat Azar., M. R. Salamat Doust-Nobar, Y.Asadi, M Kiani Nahand, S Najafyar, B. Khodaparast, H. Aminipour. 2011. Effect of thyme water extract (0, 1 ml/30 ml buffered rumen fluid) on short chain fatty acid, net energy for lactation, metabolizable energy and organic matter digestibility of soybean meal using *in vitro* gas production technique, *J American Sci,* 7, 127-130.
- SPSS Inc. Released 2009, PASW Statistics for Windows, version 18.0. Chicago: SPSS Inc.
- Stokosa A., Matraszek R., Isman M.B. and Upadhyaya M.K. 2012. Phytotoxic activity of clove oil, its constituents, and its modification by light intensity in broccoli and common lambsquarters (*Chenopodium album*), *Weed Science,* 60:607-611.
- Şahan, Z., Boğa, M., Çelik, L., Görgülü, M. 2009. Nane (*Mentha longifolia*), kişniş (*Coriandrum sativum*), defne (*Laurus nobilis*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*) uçucu yağlarının buğday samanı, SFK ve arpanın *in vitro* gerçek sindirilebilirliklerine etkileri, 6. Ulusal Zootečni Kong., Erzurum, 24-26 Haziran, 141-145.
- Şayan, Y., Özkul, H., Alçiçek, A., Akbaş, Y., Coşkuntuna, L., Önenç, S., Polat, C., Çapçı, T., Kılıç, A., Özkan, K. 2003. Bazı kaba yemlerin yem değerlerinin farklı analiz teknikleri ile belirlenmesi. TÜBİTAK (VHAG-1491) Sonuç Raporu, İzmir, 60s.
- Tekeli, A., Çelik, L., Kutlu, H.R. ve Görgülü, M. 2007. Effect of *Syzygium aromaticum* and *Zingiber officinale* essential oils on performance and some carcass, blood and intestinal parameters of broilers, 57th Annual Meeting of The European Association for Animal Production (EAAP), 17-20 September 2006, Antalya, TURKEY.
- Tilley, J.M.A., Terry, R.A. 1963. A two stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *J The British Grassland Society,* (18), 104-111.
- Ünlü, H.B., Erkek, R., Özdoğan, M., Mert, S. 2013. Buzağı beslemede doğal yem katkı maddelerinin kullanımı, *Hayvansal Üretim,* 54 (2), 36-42.
- Yang, W.Z., Benchaarb, C., Ametajc, B.N., Beauchemin, K.A. 2010. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle: ruminal fermentation and intestinal digestion. *Anim Feed Sci Technol,* 158 (1-2), 57-64.
- Yılmaz, Y. 2009. Kekik (*Origanum vulgare*) ve çörekotu (*Nigella sativa*) yağı ile arpa, soya fasulyesi küspesi ve buğday samanının gerçek kuru madde, organik madde ve NDF sindirilebilirliğine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniv Zootečni ABD., 39s.