

Kimi Kaba Yemlerde Farklı Bitki Yapraklarının *In Vitro* Metan Üretimi Üzerine Etkisi

Nihat DENEK^{1*}, Mehmet AVCI¹, Abdullah CAN², Besime DAŞ¹, Sadık Serkan AYDIN³, Mehmet SAVRUNLU³

¹Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Şanlıurfa, Türkiye.

³Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Şanlıurfa Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 18.07.2014

Kabul Tarihi: 23.09.2014

Özet: Bu çalışma, ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan bazı kaba yemlere; (mısır silajı, yonca kuru otu ve buğday samanı) farklı seviyelerde (%0 (katkısız), %1, %3, %5 ve %10) ilave edilen akasya (*Robinia pseudacacia*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) ve asma (*Vitis vinifera*) yapraklarının *in vitro* metan gazı üretimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Farklı seviyelerde bitki yaprakları ilave edilmiş deneme yemleri *in vitro* gaz tekniği ile 24 saatlik inkubasyona bırakılmışlardır. *In vitro* gaz üretim tekniği ile 24. saatte oluşan toplam gaz miktarı bilgisayar destekli metan gazı ölçüm cihazı ile metan gazı düzeyi ölçülmüştür. Tüm deneme yemleri için katkısız grup ile kıyaslandığında katkı çeşidi ve seviyesinin istatistiksel olarak metan gazı (CH₄) oluşumunu genel olarak azalttığı görülmüştür (P<0.001). Katkısız grup ile kıyaslandığında tüm yemler için en düşük metan gazı oluşumu, %10 seviyesinde ilave edilen katkılardan elde edilmiştir (P<0.001). Sonuç olarak, ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan bazı kaba yemlere (mısır silajı, yonca kuru otu ve buğday samanı) değişik bitki yapraklarının katılması *in vitro* metan gazı üretimini azalttığı, ancak bu yapraklarının hayvan performansı üzerine etkilerinin *in vivo* yedirme çalışmaları ile incelenmesinin yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Akasya, biberiye, okaliptus, asma, kaba yem, metan üretimi, *in vitro* gaz üretim

The effect of different plant leaves on the *in vitro* methane production of Some Forages

Abstract: This study was carried out to investigate the effect of addition different plant leaves Acacia (*Robinia pseudacacia*), rosemary (*Rosmarinus officinalis*), eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) and vine leaf (*Vitis vinifera*) (0%, 1%, 3%, 5% and 10%) on the *in vitro* methane production of some roughages (maize silage, alfalfa forage and wheat straw). Methane and carbon dioxide production of 24 h incubated roughages inside the syringes were measured with injection of produced gases into special apparatus connected to computer. The lowest methane (CH₄) production was determined from the increasing levels plant leaves containing treatments for all experimental roughages (P<0.001). Similarly, methane production was decreased with addition of plant leaves for the 10% level of all roughages (P<0.001). Addition of these leaves to roughages decreased the methane and carbon dioxide productions with use of *in vitro* procedure. Furthermore effect of these leaves on animal performance should be examined with *in vivo* studies.

Keywords: Acacia, rosemary, eucalyptus, vine leaf, forage, methane production, *in vitro* gas production

Giriş

Ruminal kaynaklı metan gazı üretiminin çevreye olan olumsuz etkisinin yanı sıra, yemlerle alınan ve rumende metabolize edilen yem enerjisinin yaklaşık %2-12 arasında kaybına sebep olmaktadır (Pen ve ark., 2006). Geçmişte bu olumsuzluğun önlenmesi amacıyla ruminant rasyonlarına iyonofor grubu antibiyotiklerin katılması pratikte yaygın olarak uygulanmaktaydı. Ancak Avrupa Birliğine üye ve aday ülkelerde, yemlere katılan antibiyotiklerden kaynaklanan kalıntıların insan sağlığı üzerine yapabileceği olumsuzluklar (SSCECD, 1999) dikkate alınarak 2006 yılından itibaren yemlere antibiyotik katılması yasaklanmıştır. Bu sebeple bu konuda araştırma yapan bilim adamları alternatif katkılar (mayalar,

organik asitler, bitki ekstraktları ve probiyotikler) üzerine yoğunlaşmışlar ve en fazla ilgi çeken alan aromatik bitkilerden elde edilen yağlar olmuştur (Calsamiglia ve ark., 2006; Patra ve Saxena, 2010). Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal ve metan azaltıcı özellikleri, yapılarındaki esansiyel yağlarda bulunan tanen, saponin, terpen ve fenilpropanoidlerden kaynaklanmaktadır (Piacente ve ark., 2005). Kondanse tanen içeriği yüksek olan bitkiler ya doğrudan tanenlerin etkisiyle ya da selüloz sindirimini azaltmak suretiyle metan üretimini azaltmaktadırlar (Tavendale ve ark., 2005). Okaliptus yapraklarının metan üretimini azaltmasını, selülotik bakteri sayısını azaltması (McSweeney ve ark., 2001) ve fibrolitik bakterilerin

adhezyona uğramasıyla (Bento ve ark., 2005) selüloz sindirimini azalttığını, sonuç olarak fibrolitik bakterilerin asetat formasyonundan ortaya çıkan hidrojen miktarını azaltmalarına bağlanmaktadır (Carulla ve ark., 2005). Carulla ve ark. (2005) birçok bitkide bulunan tanenlerin uygun miktarda kullanıldığında rumende yıkılan protein miktarını azaltarak duodenuma geçen miktarını arttırdığını bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar rasyona kuru maddenin %0.025 düzeyinde akasya bitkisi kaynaklı tanen ilavesinin metan üretimini %13 azalttığını bildirmektedirler. Benzer şekilde (Hariadi ve Santoso, 2010) kaba yeme %20 düzeyinde akasya bitkisi ilavesinin metan gazı üretimini önemli düzeyde azalttığını bildirmektedirler. Son yıllarda metan gazı şeklinde ortaya çıkan enerji kayıplarını önlemek amacıyla, bitkisel kaynaklı esansiyel yağlardan özellikle, kekik, nane, sarımsak, zencefil ve defne gibi bitkiler üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışma, ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan bazı kaba yem kaynaklarına (mısır silajı, yonca kuru otu ve buğday samanı) değişik seviyelerde ilave edilen farklı bitki yapraklarının (akasya, biberiye, okaliptus ve asma) ruminal metan gazı oluşumu üzerine etkilerinin *in vitro* gaz üretim tekniği ile belirlenmesini amaçlamaktadır.

Materyal ve Metot

Araştırmada kullanılan yem materyallerinden mısır silajı ve buğday samanı Harran Üniversitesi Hayvancılık Araştırma Ünitesinden, yonca kuru otu ise Türkiye Jokey Kulübü Şanlıurfa Pansiyon Harasından temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan akasya (*Robinia pseudacacia*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) ve asma (*Vitis vinifera*) yaprakları 2013 yılı nisan ayı içerisinde Harran Üniversitesi Yenişehir, Osmanbey ve Eyyubiye Yerleşkelerinde bulunan ağaç ve bitkilerin yeşil yapraklarından taze olarak elde edilmiştir. Taze yapraklar gölgede kurutularak öğütülmeye hazır hale getirilmiştir. Deneme yemleri ile katkı olarak kullanılan yaprakların (akasya, biberiye, okaliptus ve asma) ham besin madde içerikleri AOAC (2005)'e göre, ADF ve NDF analizleri ise Van Soest ve ark. (1991)'na göre yapılmıştır. Deneme yemlerinin ve katkı olarak kullanılan yaprakların kondanse tanen (KT) içeriklerinin belirlenmesi Makkar ve ark. (1995) tarafından bildirilen yöntemle yapılmıştır.

Her bir yem ham maddesine 4'er tekrerrül olacak şekilde (mısır silajı, yonca kuru otu ve buğday samanı) katkısız (kontrol), %1, %3, %5 ve %10 düzeyinde akasya, biberiye, okaliptus ve asma

yapağı %100 kuru madde esasına göre karıştırılarak kontrol ve deneme grupları oluşturulmuştur. Araştırmada 24. saat gaz üretim değerlerinin belirlenmesi Menke ve ark. (1988) tarafından bildirilen gaz üretim tekniği ile *in vitro* organik madde sindirimi (İVOMS) ve metabolik enerji (ME) değerleri ise Menke ve ark. (1979)'na göre belirlenmiştir. Gaz üretim tekniğinde her bir örnek için 4 tekrerrül olacak şekilde çalışılmıştır. İnkübasyon 39 °C'de 24 saat sürdürülmüş ve 24. saat gaz oluşum değerleri kaydedilerek, metan gazı ölçüm işlemleri için cam şırıngalarda oluşan gaz, üç yollu plastik şırınga sistemi ile alınmıştır. Alınan gaz bilgisayar destekli metan gazı ölçüm cihazına (Sensors Europe Analysetechnik GmbH, Erkrath, Germany) enjekte edilerek bilgisayarda metan gazı değeri (%) okunmuştur. Şırıngalarda kalan rumen sıvısı yem karışımı 4 kat tülbentten süzülerek pH değerleri okunmuş, bu örnekler amonyak azotu (NH₃-N) analizlerinin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda saklanmışlardır. *In vitro* rumen sıvısı amonyak analizi Markham distilasyon (Markham, 1942) yöntemi ile belirlenmiştir. Araştırma sonunda elde edilen veriler SPSS paket programının GLM prosedüründe değerlendirilmiştir. Grup ortalamalarının karşılaştırılmasında Duncan testi kullanılmıştır. Bu amaçla SPSS (1991) paket programından yararlanılmıştır.

Bulgular

Araştırmada kullanılan yem maddeleri ile katkı olarak kullanılan yaprakların ham besin madde içerikleri Tablo 1'de verilmiştir. Araştırmada kullanılan yem maddelerine ait *in vitro* 24. saat gaz (CH₄) oluşumu, pH, amonyak azotu, organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerleri Tablo 2'de verilmiştir. 24 saatlik gaz oluşum miktarı en düşük olarak (139.54 -141.43 ml/g KM) akasya ve biberiye yapraklarından elde edilirken, en düşük metan gazı üretimi (%6.93) biberiyeden elde edilmiştir (P<0.001). *In vitro* 24. saat amonyak azotu (NH₃-N) değerleri kıyaslandığında en düşük NH₃-N değeri okaliptus bitkisinden elde edilmiştir. Araştırmada kullanılan yem maddelerinden mısır silajına ait *in vitro* 24. saat gaz (CH₄) oluşumu, pH, amonyak azotu, organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerleri Tablo 3'te verilmiştir. Mısır silajına farklı seviyelerde yaprak ilavesi (akasya, biberiye, okaliptus ve asma) CH₄ gazı miktarı ile pH, amonyak azotu, organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerlerinde istatistiksel farklılık oluşturmuştur (P<0.001). En düşük CH₄ gazı üretimi (14.47 ml/g KM ve %7.70), kuru maddeye %10 düzeyinde okaliptus yapağı ilave edilen uygulamadan elde edilmiştir (P<0.001).

Biberiye katkısının %3 düzeyi hariç; tüm katkıları için seviye artışına bağlı olarak metan gazı üretim miktarları linear olarak azalmıştır. *In vitro* 24. saat amonyak azotu değerleri kıyaslandığında yaprak ilavesinin genel olarak NH₃-N değerini düşürdüğü (P<0.001) görülmüştür. *In vitro* organik madde

sindirim ve metabolik enerji değerleri yaprak ilavesi ile azaldığı (%3 biberiye katkısı hariç) belirlenmiştir (P<0.001). En düşük *in vitro* organik madde sindirim ve metabolik enerji değerleri (%51.91 ve 7.88 MJ/ kg KM) %5 düzeyinde okaliptus yaprağı ilavesi ile elde edilmiştir.

Tablo 1. Yem maddeleri ile katkıların ham besin madde (% KM) ve kondanse tanen (KT, g/kg KM) içerikleri.

Yemler	KM	HK	HP	ADF	NDF	KT
Mısır silajı	33.19	4.91	6.52	29.59	54.26	2.29
Yonca Kuru Otu	94.46	10.38	18.56	31.92	40.24	7.29
Buğday Samanı	95.06	10.11	4.84	51.01	79.05	5.27
Akasya Yaprağı	94.29	13.15	39.31	15.48	22.71	174.03
Biberiye Yaprağı	94.69	8.82	41.01	8.08	35.37	8.94
Okaliptus Yaprağı	92.37	8.44	11.95	29.58	40.22	17.89
Asma Yaprağı	93.81	18.14	31.35	11.14	20.74	174.02

Tablo 2. Katkı olarak kullanılan yaprakların *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu değerleri.

Katkı	24.Saat Gaz ml/g KM	CH ₄ ml/g KM	CH ₄ %	pH	NH ₃ -N Mg/dl	İVOMS % KM	ME MJ/Kg KM
Akasya	139.54 ^c	11.56 ^b	8.28 ^b	7.00	22.97 ^a	46.60 ^c	7.25 ^c
Biberiye	141.43 ^c	9.80 ^c	6.93 ^c	7.01	20.97 ^a	44.51 ^d	6.78 ^d
Okaliptus	149.86 ^b	10.77 ^{bc}	7.19 ^{bc}	6.97	17.70 ^b	47.53 ^b	7.46 ^b
Asma	189.32 ^a	18.58 ^a	9.81 ^a	6.95	23.57 ^a	57.40 ^a	9.34 ^a
SEM	6.188	1.056	1.046	0.013	0.797	1.502	0.294
P value	***	***	***	NS	***	***	***

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur (P<0.001).

Tablo 3. Mısır silajına farklı seviyelerde yaprak ilavesinin *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Katkı	Seviye	24.Saat Gaz ml/g KM	CH ₄ ml/g KM	CH ₄ %	pH	NH ₃ -N Mg/dl	İVOMS % KM	ME MJ/Kg KM
Kontrol (%0)	%0	247.90	31.09	12.54	6.89	21.33	62.65	9.50
Akasya	%1	247.07	32.94	13.33	6.85	18.65	62.57	9.50
	%3	242.62	31.44	12.96	6.86	17.45	61.92	9.40
	%5	231.68	30.08	12.98	6.87	23.05	60.11	9.13
	%10	234.34	30.41	12.97	6.89	24.30	60.92	9.27
Biberiye	%1	245.92	31.79	12.92	6.86	19.78	62.34	9.46
	%3	270.32	36.14	13.37	6.85	21.98	66.77	10.14
	%5	237.73	31.80	13.38	6.89	22.18	61.06	9.27
	%10	207.36	16.97	8.19	6.82	17.50	55.89	8.49
Okaliptus	%1	231.80	21.96	9.48	6.82	25.30	59.84	9.08
	%3	211.91	16.21	7.65	6.83	20.78	56.45	8.56
	%5	185.65	14.93	8.04	6.84	21.38	51.91	7.88
	%10	187.75	14.47	7.70	6.82	21.10	52.59	8.00
Asma	%1	227.00	18.95	8.35	6.82	22.00	59.02	8.96
	%3	214.74	18.45	8.59	6.80	21.28	57.02	8.66
	%5	207.83	17.53	8.43	6.80	17.73	55.97	8.51
	%10	213.69	18.02	8.44	6.83	21.33	57.47	8.77
	SEM	0.56	0.09	0.08	0.00	0.09	0.10	0.02
İnteraksiyon	K	***	***	***	***	***	***	***
	S	***	***	***	***	***	***	***
	K*S	***	***	***	***	***	***	***

K: Katkı, S: Seviye, K*S: Katkı-seviye interaksiyonu.

Araştırmada kullanılan yem maddelerinden yonca kuru otuna ait *in vitro* 24. saat gaz (CH₄) oluşumu, pH, amonyak azotu, organik madde

sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerleri Tablo 4'te verilmiştir. Yonca kuru otuna farklı seviyelerde yaprak ilavesi (akasya, biberiye, okaliptus ve asma)

in vitro 24. saat CH₄ gazı miktarı ile pH, amonyak azotu, organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerlerinde istatistiksel farklılık oluşturmuştur (P<0.001). En düşük CH₄ gazı üretimi (17.16 ml/g KM ve %9.05), kuru maddeye %10 düzeyinde okaliptus yaprağı ilave edilen uygulamadan elde edilmiştir (P<0.001). Genel olarak tüm katkılar için

seviye artışına bağlı olarak metan gazı üretim miktarları linear olarak azalmıştır. *In vitro* 24. saat amonyak azotu değerleri karşılaştırıldığında yaprak ilavesinin genel olarak NH₃-N değerini azaltmadığı, aksine kısmi olarak arttırdığı (P<0.001) görülmüştür.

Tablo 4. Yonca kuru otuna farklı seviyelerde yaprak ilavesinin *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Katkı	Seviye	24.Saat Gaz ml/g KM	CH ₄ ml/g KM	CH ₄ %	pH	NH ₃ -N Mg/dl	İVOMS % KM	ME MJ/Kg KM
Kontrol (%0)	%0	239.91	30.92	12.88	6.94	21.03	64.45	10.10
Akasya	%1	223.48	30.45	13.63	6.93	24.55	61.60	9.67
	%3	221.45	29.09	13.13	6.94	20.90	61.38	9.65
	%5	241.61	30.62	12.68	6.95	22.40	65.10	10.24
	%10	240.36	29.72	12.36	6.94	21.30	65.23	10.29
Biberiye	%1	256.93	33.74	13.13	6.92	20.95	67.53	10.57
	%3	240.14	32.60	13.57	6.92	21.43	64.63	10.14
	%5	239.42	31.97	13.35	6.95	22.83	64.59	10.15
	%10	240.27	31.84	13.26	6.98	20.65	64.97	10.23
Okaliptus	%1	216.91	23.06	10.62	6.87	23.55	60.43	9.49
	%3	188.35	17.24	9.15	6.90	27.40	55.77	8.75
	%5	187.86	17.21	9.16	6.88	21.60	55.80	8.77
	%10	189.50	17.16	9.05	6.90	25.73	56.41	8.90
Asma	%1	210.00	19.51	9.29	6.89	23.68	59.23	9.31
	%3	217.96	21.27	9.76	6.89	23.13	60.83	9.58
	%5	221.24	21.95	9.92	6.87	24.70	61.59	9.72
	%10	213.95	21.24	9.92	6.89	22.65	60.75	9.66
İnteraksiyon	SEM	0.66	0.13	0.12	0.00	0.12	0.12	0.02
	K	***	***	***	***	***	***	***
	S	***	***	***	***	***	***	***
	K*S	***	***	***	***	***	***	***

K: Katkı, S: Seviye, K*S: Katkı-seviye interaksiyonu.

Tablo 5. Buğday samanına farklı seviyelerde yaprak ilavesinin *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Katkı	Seviye	24.Saat Gaz ml/g KM	CH ₄ ml/g KM	CH ₄ %	pH	NH ₃ -N Mg/dl	İVOMS % KM	ME MJ/Kg KM
Kontrol (%)	%0	192.22	21.74	11.31	6.93	30.83	51.54	7.68
Akasya	%1	180.18	20.02	11.11	6.92	22.75	49.47	7.37
	%3	167.72	18.12	10.80	6.94	32.88	47.39	7.05
	%5	162.59	16.49	10.15	6.93	29.25	46.62	6.93
	%10	156.27	14.95	9.57	6.93	27.68	45.84	6.81
Biberiye	%1	188.35	19.90	10.57	6.91	24.10	50.90	7.59
	%3	182.92	20.88	11.41	6.88	23.88	50.02	7.45
	%5	171.71	18.52	10.78	6.96	20.65	48.12	7.16
	%10	145.90	12.10	8.29	6.88	18.40	43.75	6.49
Okaliptus	%1	132.81	9.82	7.39	6.88	19.23	41.04	6.08
	%3	140.78	9.02	6.40	6.90	18.73	42.03	6.32
	%5	127.53	8.87	6.96	6.89	18.55	39.80	5.98
	%10	130.75	8.47	6.48	6.87	18.28	40.68	6.11
Asma	%1	136.38	9.60	7.04	6.88	16.93	41.70	6.18
	%3	134.14	9.67	7.21	6.87	15.48	41.49	6.15
	%5	139.00	9.81	7.06	6.86	19.05	42.53	6.31
	%10	151.46	10.44	6.89	6.88	17.70	45.20	6.73
İnteraksiyon	SEM	0.45	0.05	0.05	0.00	0.09	0.08	0.01
	K	***	***	***	***	***	***	***
	S	***	***	***	***	***	***	***
	K*S	***	***	***	***	***	***	***

K: Katkı, S: Seviye, K*S: Katkı-seviye interaksiyonu.

In vitro organik madde sindirim ve metabolik enerji değerleri genel olarak tüm yaprak ve seviye katkısında azaldığı; ancak %5-10 seviyesinde asma, %1 seviyesinde biberiye yaprağı ilavesi ile arttığı belirlenmiştir ($P<0.001$). En düşük *in vitro* organik madde sindirim ve metabolik enerji değerleri okaliptus yaprağı ilavesi ile elde edilmiştir.

Araştırmada kullanılan yem maddelerinden buğday samanına ait *in vitro* 24. saat gaz (CH_4) oluşumu, pH, amonyak azotu, organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerleri Tablo 5'de verilmiştir. Buğday samanı için farklı seviyelerde yaprak ilavesi (akasya, biberiye, okaliptus ve asma) *in vitro* 24. saat CH_4 gazı miktarı ile pH, amonyak azotu, organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerlerinde istatistiksel farklılık oluşturmuştur ($P<0.001$). En düşük CH_4 gazı üretimi (8.47 ml/g KM ve % 6.48), kuru maddeye %10 düzeyinde okaliptus yaprağı ilave edilen uygulamadan elde edilmiştir ($P<0.001$). Genel olarak tüm katkılar için seviye artışına bağlı olarak metan gazı üretim miktarları linear olarak azalmıştır. *In vitro* 24. saat amonyak azotu değerleri kıyaslandığında yaprak ilavesinin biberiye ve okaliptus katkı seviyesinin artışına paralel olarak linear bir azalma gösterdikleri ($P<0.001$) görülmüştür. *In vitro* organik madde sindirim ve metabolik enerji değerlerinin genel olarak tüm katkılar için katkı seviyesinin artışına bağlı olarak linear azaldığı belirlenmiştir ($P<0.001$). En düşük *in vitro* organik madde sindirim ve metabolik enerji değerleri okaliptus ve asma yaprağı katkılarının tüm seviyelerinden elde edilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Tanenlerin antibakterial etkileri tam olarak açıklanamamış olmasına karşın, muhtemelen bu etkilerini metan üretiminde rol oynayan mikroorganizmaların hücrelerindeki enzim ve proteinlerine bağlanarak bakteriyostatik ve bakterisid etki göstermelerinden kaynaklanmaktadır (Tavendale ve ark., 2005). Tanenler ayrıca rumendeki protozoalar üzerinde dolaylı etki göstererek metan üretimini azaltıcı etki göstermektedirler. Tanenler selülotik mikroorganizmaların gelişimini etkileyerek asetik asit üretimini azaltırlar, böylece rumende metan üretimi için ihtiyaç duyulan karbondioksit ve hidrojen iyonu üretimini sınırlamaktadırlar (Waghorn, 2008; Patra ve Saxena, 2009). Kondanse tanenler dolaylı etkileri ile selüloz sindirimini azaltarak metan üretimini düşürürler (Goel ve Makkar, 2012). Bu çalışmada kullanılan akasya (*Robinia pseudacacia*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) ve asma (*Vitis vinifera*) kondanse tanen içerikleri

sırasıyla 174.03; 8.94; 17.33 ve 174.02 g/kg KM olarak belirlenmiştir. Okaliptus için elde edilen değer bazı kaynak bildirimlerinden yüksek bulunurken (Sallam ve ark., 2010; Thao ve Wanapat, 2013), bazı kaynak bildirimlerinden düşük bulunmuştur (Salem ve ark., 2007). Bu farklılıkların coğrafik yapı, iklim ve toprak yapısının farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Değişik asma yapraklarının kondanse tanen içeriklerinin belirlendiği bir çalışmada asma yapraklarındaki kondanse tanen içeriğinin 64.1 ile 105.8 g/kg KM düzeyinde olduğu (Gürbüz, 2007); ancak bu değerler bu projede kullanılan asma yaprağı için elde edilen değerden (174.02 g/kg KM) düşük bulunmuştur.

Carulla ve ark. (2005) birçok bitkide bulunan tanenlerin uygun miktarda kullanıldığında rumende yıkılan protein miktarını azaltarak duodenuma geçen miktarını arttırdığını bildirmektedirler. Aynı araştırmacılar rasyona kuru maddenin %0.025 düzeyinde akasya bitkisi kaynaklı tanen ilavesinin metan üretimini %13 azalttığını bildirmektedirler. Benzer şekilde Hariadi ve Santoso, (2010) kaba yeme %20 düzeyinde akasya bitkisi ilavesinin metan gazı üretimini önemli düzeyde azalttığını bildirmektedirler. Yapılan bir çalışmada, yonca bitkisine kuru madde esasına göre %4 düzeyinde biberiye ilavesinin *in vitro* metan üretimini istatistiksel olarak önemli düzeyde azalttığını bildirilmektedir (Jahani-Azizabadi, 2009). Bu azalmanın, biberiye esansiyel yağında bulunan cineol, kamfur ve pinen adı verilen antimikrobiyal maddelerden kaynaklanabildiği yönünde bildirimler bulunmaktadır (Baratta ve ark., 1998; Burt, 2004).

Yapılan kaynak araştırmalarında, akasya, biberiye, okaliptus ve asma yaprakları kullanılarak metan üretimi üzerine etkilerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma (Sallam ve ark., 2009; Kumar ve ark., 2009; Sallam ve ark., 2009a; Sallam ve ark., 2010; Goel ve ark., 2011) bulunmaktadır. Akın ve ark. (2010) okaliptus (*E. Camaldulensis*)'un en önemli bileşenlerinin; ethanone (%13.73), eucalyptol (%25.36), caryophyllene (%11.55) olduğunu bildirmektedirler. Benzer şekilde Sallam ve ark. (2009) okaliptus bitkisinde temel maddenin eucalyptol (1.8-cineole) olduğunu bildirmişlerdir. Biberiye bitkisinde bulunan önemli bileşenlerin cineole (% 15-30), borneol esterleri (Baytop, 1999) ve camphore (%5-10) oluşturmaktadır (Ceylan, 1996). Goel ve ark. (2011)'nin mehndi (*Lawsonia inermis*) ve okaliptus yapraklarının karışımından (1:1) elde ettikleri katkının %5 düzeyinde *in vitro* gaz üretim tekniğinde kullanılması ile metan üretimi ve rumen sıvısı amonyak azotunu azalttığını bildirmektedirler. Benzer şekilde Sallam ve ark. (2010) okaliptus yapraklarının metan gazının azaltılmasında potansiyel olarak kullanılabileceği

yönünde bildirimleri bulunmaktadır. Akçil ve Denek (2013) tarafından yapılan bir çalışmada; mısır silajı, yonca kuru otu, çayır kuru otu ve buğday samanına farklı seviyelerde (%0.5; 1.0; 1.5; 2.0 ve %2.5) düzeylerinde okaliptus yaprağı ilavesinin, seviye artışına bağlı olarak bu çalışmadan elde edilen sonuçlara benzer olarak *in vitro* metan gazı üretim değerlerinde azalmaya yol açtığını bildirmektedirler. Ruminantlarda rasyona ilave edilen herhangi bir katkının ruminal metan üretimini azaltıcı etki gösterebilmesi için, katkının *in vitro* gaz üretiminde oluşan gazdaki metan gazı oluşumunu azaltması gerekmektedir (Kaplan ve ark., 2014). Benzer şekilde Lopez ve ark. (2010) *in vitro* çalışmalarda fermentasyon neticesinde oluşan gaz içerisinde ortaya çıkan metan gazı oranının yüzdesine bakılarak kullanılacak katkının metan gazı üretimi üzerine etkisini araştırmışlar; %11-14 arasında metan gazı oluşturan katkıların düşük, %6-11 arasında metan gazı oluşturan katkıların orta ve %0-6 arasında metan gazı oluşturan katkıların ise yüksek antimetanojenik potansiyellerinin bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan akasya (*Robinia pseudacacia*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) ve asma (*Vitis vinifera*) yapraklarının metan gazı oluşturma değerleri sırasıyla %8.28, %6.93, %7.19 ve %9.81 bulunmuş ve Lopez ve ark. (2010)'nın değerlendirmelerine göre bu katkıların antimetanojenik potansiyellerinin orta düzeyde olabileceği görülmüştür.

Bu çalışmada akasya yaprağı katkısı ile ilgili elde edilen sonuçlar bütün olarak değerlendirildiğinde, buğday samanı için akasya yaprağı seviyesinin artışına bağlı olarak kimi parametrelerde (24. Saat gaz üretim miktarı, CH₄, İVOMS ve ME) düşüşlerin (P<0.001) olduğu görülmüştür. Yem maddelerine ilave edilen %3 düzeyinde akasya yaprağının rumen sıvısı NH₃-N ve İVOMS değerlerinin tüm yem maddeleri için düşük bulunmaları kullanılan akasya yapraklarında bulunan kondanse tanen içeriğine bağlanabilir. Biberiye yaprağı katkısı ile ilgili elde edilen sonuçlar bütün olarak değerlendirildiğinde, buğday samanı için biberiye yaprağı seviyesinin artışına bağlı olarak kontrol ile kıyaslandığında tüm parametrelerde düşüşlerin (P<0.001) olduğu görülmüştür. Yonca kuru otuna ilave edilen tüm seviyelerdeki biberiye katkısı, kontrol ile kıyaslandığında bazı (24. saat gaz üretim miktarı, CH₄, İVOMS ve ME) parametrelerde artışlara (P<0.001) sebep olurken, mısır silajına %1 ve %3 seviyesinde biberiye katkısının aynı parametreleri arttırdığı görülmüştür. Tüm yem maddeleri için okaliptus seviyesinin artışına bağlı olarak (buğday samanı için %3 okaliptus ilavesi hariç) bazı parametrelerde (24. Saat gaz üretim miktarı, CH₄,

İVOMS ve ME) düşüşlerin (P<0.001) olduğu görülmüştür. Bu çalışmada yem maddelerine ilave edilen okaliptus seviyesinin artışına bağlı olarak rumen sıvısı NH₃-N ve İVOMS değerlerinin genel olarak düşük bulunmaları kullanılan okaliptus yapraklarında bulunan kondanse tanen içeriğine bağlanabilir. Asma yaprağı katkısı ile ilgili elde edilen sonuçlar bütün olarak değerlendirildiğinde, tüm yem maddeleri için asma yaprağı seviyesinin artışına bağlı olarak kontrol ile kıyaslandığında tüm parametrelerde düşüşlerin (P<0.001) olduğu görülmüştür. Soltan ve ark. (2012) yaptıkları bir çalışmada yemlere ilave edilen tanen içeriği yüksek bitkisel katkıların metan üretimini azaltmalarının sadece tanen içeriğine bağlı olmadığını ayrıca yem maddelerinin NDF içeriğinin de CH₄ üretimi üzerine etkili olduğunu bildirmektedirler. Benzer şekilde Jayanegara ve ark. (2009), 17 farklı bitki ile yapmış oldukları bir çalışmada CH₄ üretimi ile yem maddesinin NDF içeriği arasında yüksek bir korelasyonun (r=0.86) olduğunu bildirmektedirler. Bu çalışmada kullanılan akasya, biberiye, okaliptus ve asma katkılarının tüm seviyelerinde incelenen parametreler (24. saat gaz üretim miktarı, CH₄, İVOMS ve ME), yem maddesi olarak değerlendirilen samanda azaltıcı etkilerinin ortaya çıkması bu katkıların içerdikleri tanenin yanı sıra samanda yüksek düzeyde NDF (%79.05 KM) içeriğine bağlanabilir.

Manh ve ark. (2012a) pirinç samanına, kuru madde esasına göre %1-6 düzeyinde okaliptus yaprağı ilave etmişler ve kuru maddeye %2'den daha yüksek düzeyde okaliptus yaprağı ilavesinin *in vitro* organik madde sindirim değerleri ile *in vitro* metan üretimini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Yine Manh ve ark. (2012b) holstein sığırların rasyonlarına günlük 100 ve 200 g öğütülmüş okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağı ilave ettiklerinde, rumen sıvısı NH₃-N ve CH₄ değerlerinin kontrole göre istatistiksel olarak düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada 200 gr öğütülmüş okaliptus yaprağı ilavesinin rumen sıvısı protozoa, toplam bakteri, proteolitik ve selulitik bakteri düzeylerini de azalttığı belirtilmiştir. Thao ve Wanapat, (2013)'ın yaptıkları bir *in vivo* çalışmada, hayvan başına günlük 40 ve 80 gr öğütülmüş okaliptus yaprağı ilavesinin rumen sıvısı NH₃-N değerini etkilemediğini, ancak 120 gr okaliptus yaprağı ilavesinin NH₃-N değerini istatistiksel olarak düşürdüğünü bildirmişlerdir. Goel ve ark. (2011), mehndi (*Lawsonia inermis*) ve okaliptus yapraklarının karışımından (1:1) elde ettikleri katkıdan %10 düzeyinde buğday samanına ilave ederek uyguladıkları *in vitro* gaz üretim tekniğinde katkının metan üretimi ile rumen sıvısı NH₃-N değerini azalttığını bildirmektedirler. Kumar ve ark. (2012) yüksek (%60 buğday samanı), orta (%50

buğday samanı) ve düşük düzeyde (%40 buğday samanı) selüloz içeren rasyonlara %2 düzeyinde okaliptus (*Eucalyptus globules*) yaprağı ilave ederek *in vitro* çalışma yapmışlardır. Yüksek ve orta düzeyde selüloz içeren rasyonlarda CH₄ değerinin azaldığını, düşük düzeyde selüloz içeren rasyonda ise rakamsal bir artış olduğunu bildirmektedirler. Aynı çalışmada benzer olarak yüksek ve orta düzeyde selüloz içeren rasyonlara okaliptus (*Eucalyptus globules*) yaprağı ilavesinin rumen sıvısı protozoa değerini düşürdüğü tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen *in vitro* verilere dayanılarak, kaba yemlere akasya, biberiye, okaliptus ve asma yaprağı ilavesinin *in vitro* metan gazı üretimini azalttığı söylenebilir. Bu azalmanın ülkemizde kaba yem kaynağı olarak değerlendirilen buğday samanında daha belirgin olduğu, ancak rasyonlara ilave edilecek akasya, biberiye, okaliptus ve asma yaprağının yem tüketimi ile hayvansal üretim ve performans etkisinin tam olarak ortaya konabilmesi açısından *in vivo* hayvan denemelerinin de yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Teşekkür

Bu çalışma, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından HÜBAK- 12141 nolu proje olarak desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Akçil E, Denek N. 2013: Farklı seviyelerde okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağının bazı kaba yemlerin *in vitro* metan gazı üretimi üzerine etkisinin araştırılması. *Harran Üniv Vet Fak Derg.* 2(2),75–81.
- Akın M, Aktümsek A, Nostro A, 2010: Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus Camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *Afr. J. Biotechnol.*, 9, 531-535.
- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC), 2005: Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC. 2005. USA.
- Baratta MT, Dorman HJD, Deans SG, Figueiredo AC, Barroso JG., Roberto G, 1998: Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 13: 235–244.
- Bento MHL, Acamovic T, Makkar HPS, 2005: The influence of tannin, pectin and polyethylene glycol on attachment of 15N-labelled rumen microorganisms to cellulose. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 122, 41–57.

- Baytop T, 1999: Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. ISBN: 975-420-021-1. Nobel Tıp Kitap Evleri.
- Burt S., 2004: Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
- Calsamiglia S, Castillejos L. and Busquet M, 2006: Alternatives to antimicrobial growth promoters in cattle. *Recent Advances in Animal Nutrition*, 129-167.
- Carulla JE, Kreuzer M, Machmüller A, Hess HD, 2005: Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust. J. Agric. Res.*, 56, 961–970.
- Ceylan A, 1996: Tıbbi bitkiler II. E. Ü. Zir. Fak. Yayın No:481.
- Goel G, Makkar HPS, 2012: Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. a status review. *Trop Anim Health Prod.*, 44,729-739.
- Goel N, Sirohi SK, Dwivedi J. and Chaudhary PP, 2011: Efficacy of different plant part combinations as rumen fermentation modulator in wheat straw based diet evaluated *in vitro*. *Annals of Biological Research.*, 2(6), 91-96.
- Gurbuz Y, 2007: Determination of nutritive value of leaves of several *Vitis vinifera* varieties as a source of alternative feedstuff for sheep using *in vitro* and *in situ* measurements. *Small Ruminant Research*, 71, 59-66.
- Hariadi TB, and Santoso B, 2010: Evaluation of tropical plants containing tannin on *in vitro* methanogenesis and fermentation parameters using rumen fluid. *J. Sci. Food Agric.*, 90,456-461.
- Jahani-Azizabadi H, Danesh Mesgaran M, Vakili AR, Heravi Moussavi AR, 2009: Screening the activity of medicinal plants or spices on *in vitro* ruminal methane production. *J. Anim. Sci.*, 87 E-Suppl. 2/ *J. Dairy Sci.* 92: E-Suppl. 1, 277-278.
- Jayanegara A, Togtokhbayer N, Makkar HPS, Becker K, 2009: Tannins determined by various methods as predictors of methane production reduction potential of plants by an *in vitro* Rumen fermentation system. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 150, 230-237.
- Kaplan M, Kamalak A, Özkan ÇÖ, Atalay Aİ, 2014: Vejetasyon döneminin yabancı korunga otunun potansiyel besleme değerine, metan üretimine ve kondanse tanen içeriğine etkisi. *Harran Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 3(1), 1-5.
- Kumar R, Kamra DN, Agrawal N, Chaudhary LC, 2009: Effect of *Eucalyptus (Eucalyptus globulus)* oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim. Nutr. Feed Technol.*, 9, 237-243.
- Kumar SS, Navneet G, Mehta M, Mohini M, Pandey P, Shete S, Brisketu K, 2012: Efficacy of garlic, eucalyptus and neem powders on rumen modulation, methanogenesis and gas production kinetics in wheat straw based diet evaluated *in vitro*. *Wayamba Journal of Animal Science*, 4(2), 331-339.

- Lopez S, Makkar HPS, Soliva CR, 2010: Screening plants and plant products for methane inhibitors. In "In vitro screening of plant resources for extra nutritional attributes in ruminants: Nuclear and related methodologies", Ed; Vercoe PE, Makkar HPS, Schlink A, London, New York, USA.
- Makkar HPS, Blummel M, and Becker K, 1995: Formation of complete between Polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycol and tannins and their implication in gas production and true digestibility in *in vitro* technique. *Br J Nutr.*, 73, 897-913.
- Manh NS, Hung LV, Long NT, Don NV, Huyen NT, 2012a: Effects of eucalyptus (*E. Camaldulensis*) leaf powder (ELP) on rumen fermentation, feed digestibility and methane production in ruminants by using *in vitro* gas production technique. Proceedings of International Conference Livestock-Based Farming Systems, Renewable Resources and the Environment. (Ed. R. Preston and S. Southavong) 6-9 June 2012, 2012a, Dalat, Vietnam.
- Manh NS, Wanapat M, Uriyapongson S, Khejornsart P, Chanthakhoun V, 2012b: Effect of eucalyptus (*Camaldulensis*) leaf meal powder on rumen fermentation characteristics in cattle fed on rice straw. *African Journal of Agricultural Research*, 7(14), 2142-2148.
- Markham R, 1942: Distillation apparatus suitable for microkjeldahl analysis. *Biochem. J.*, 36,790.
- McSweeney CS, Palmer B, Bunch R, Krause DO, 2001: Effect of the tropical forage Calliandra on microbial protein synthesis and ecology in the rumen. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 78-88.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W, 1979: The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *Journal of Agricultural Science*, 93, 217-222.
- Menke KH, Steingass H, 1988: Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim Res. Dev.*, 28,7-55.
- Patra AK, Saxena J, 2009: Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 96, 363-375.
- Patra AK, Saxena J, 2010: A new Perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in ruminants. *Phytochemistry*, 71,1198-1222.
- Pen B, Sar C, Mwenya B, Kuwaki K, Morikawa R, Takahashi J, 2006: Effects of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* extracts on *in vitro* ruminal fermentation and ethane emission. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 129, 175-186.
- Piacente S, Coratza P, 2005: L'associazione Nazionale "Geologia & Turismo". Per una nuova Prospettiva di sviluppo culturale e sociale del turismo in Italia. Atti del Convegno "Giornate del turismo 2003". Novara. 7-8 maggio 2003, 383-390.
- Salem AZ, Robinson PH, El-Adawya MM, Hassan AA, 2007: *In vitro* fermentation and microbial protein synthesis of some browse tree leaves with or without addition of polyethylene glycol. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 138,318-330.
- Sallam SMA, Bueno ICS, Nasser MEA, Abdalla AL, 2010: Effect of eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*) fresh or residue leaves on methane emission *in vitro*. *Ital. J. Anim. Sci.*, 9, 299-303.
- Sallam SMA, Bueno ICS, Brigide P, Godoy PB, Vitti DMSS, Abdalla AL, 2009a: Efficacy of eucalyptus oil on *in vitro* ruminal fermentation and methane emission. In 12th Seminar of the FAO-CIHEAM Sub-Network on Sheep and Goats, pp 267-272, Thessaloniki, Greece.
- Sallam SMA, Nasser MEA, Araujo RC, Abdalla AL, 2009: Methane emission *in vivo* by sheep consuming diet with different levels of eucalyptus essential oil. n Proc. FAO/IAEA Int. Symp. on sustainable improvement of animal production and health, pp 210-211, Vienna, Austria.
- Scientific Steering Committee of the European Commission Directorate XXIV. 1999. Report on Antibiotic Resistance. May 28. 1999. Brussels. Belgium.
- Soltan YA, Morsy AS, Sallam SMA, Louvandini H, Abdalla AL, 2012: Comparative *in vitro* evaluation of forage legumes (prosopis, acacia, atriplex, and leucaena) on ruminal fermentation and methanogenesis. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2, 759-772.
- SPSS, 1991: Statistical package for the social sciences (SPSS/PC+). 1991. Chicago. IL.
- Tavendale MH, Meagher LP, Pacheco D, Walker N, Attwood GT, Sivakumaran S, 2005: Methane production from *in vitro* rumen incubation with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa* and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 123/124, 403-419.
- Thao NT, Wanapat M, 2013: Effect of eucalyptus leaf meal supplementation on feed intake ruminal ecology and microbial protein synthesis of swamp buffaloes. *Khon Kaen Agr.*, J. 41(1),75-79.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA, 1991: Methods for dietary fiber. Neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.*, 74, 3583-3597.
- Waghorn GC, 2008: Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-progress and challenges. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 147, 116-139.

*Yazışma Adresi: Nihat DENEK

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.
e-mail: nihattendek@hotmail.com