

Koyunlarda Yeme Nane İlavesinin Rumenprotozoon Sayısı ve Bazı Rumen Parametreleri İle Kan Oksidan-Antioksidan Dengeye Etkisi[#]

İbrahim DURMUŞ¹, Elmas ULUTAŞ², Damla ARSLAN-ACARÖZ³, Sinan İNCE⁴, İsmail KÜÇÜKKURT³, Mehmet Naci SALİM⁵, Abdullah ERYAVUZ^{2*}

¹ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Şubat Meslek Yüksek Okulu, Laborant ve Veteriner Sağlık Bölümü, Afyonkarabisar.

² Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarabisar.

³ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Afyonkarabisar.

⁴ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Afyonkarabisar.

⁵ Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Eğitim, Araştırma ve Uygulama Çiftliği, Afyonkarabisar.

[#]Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje no:15.HIZ.DES.120).

*Corresponding author e-mail: erylavuz@aku.edu.tr

ÖZ

Bu çalışma, koyunlarda yeme nane ilavesinin rumen protozoon sayısı ile bazı rumen ve kan parametrelerine etkisini belirlemek amacıyla yapıldı. Çalışmada 18 adet koyun kullanılmış olup, bunlar her grupta 6 adet olacak şekilde 3 gruba ayrıldı. Toplam 30 gün süren deneme periyodu boyunca, Kontrol, %2.5 Nane ve %5 Nane gruplarındaki koyunlar sırasıyla nane içermeyen, %2.5 nane ve %5 nane ilave edilmiş yemlerle beslendi. Denemenin sonunda koyunlardan rumen ve kan örnekleri alındı. Rumen örneklerinde; protozoon sayısı, pH ve amonyak düzeyleri belirlendi. Kan örneklerinde ise kan sayımı, plazma üre, glikoz, malondialdehid (MDA) ve glutasyon (GSH) düzeyleri, eritrositlerde süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim aktiviteleri belirlendi. Çalışmada; gruplar arasında rumen protozoon sayısı, pH ve amonyak düzeyleri bakımından istatistiksel farklar olduğu tespit edildi. Yeme nane ilavesinin hematolojik parametreler ile plazma üre, glikoz, MDA ve GSH düzeyleri, SOD ve CAT enzim aktivitelerine etkisinin olmadığı bulundu. Bu çalışmada elde edilen bulgular, koyunların yemine %5 düzeyinde nane ilavesinin hematolojik parametreler ile kan oksidan-antioksidan dengeye etkilemeksizin rumen protozoon sayısını azalttığını gösterdi.

Anahtar Sözcükler: Nane, rumen protozoonları, oksidan-antioksidan denge, koyun.

Effect of Peppermint Supplementation to Diet on Rumen Protozoal Numbers and Some Ruminal Parameters in Sheep

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the effects of dietary supplementation of peppermint on rumen protozoal numbers and some ruminal and hematological parameters in sheep. Eighteen sheep in a completely randomized design were allocated to three treatments contained 6 sheep per group. During the experimental period (30 days), the sheep were fed to diets containing no peppermint, 2.5 % peppermint and 5% peppermint for groups of Control, 2.5%Peppermint and 5%Peppermint respectively. The rumen protozoal numbers, ruminal pH, rumen ammonia concentration, hematological parameters, plasma urea and glucose, malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) concentrations, enzyme activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) in ruminal and blood samples taken from sheep at the end of experiment were determined. Statistical significant differences were found in protozoal numbers, ruminal pH and rumen ammonia concentrations between three groups. Hematological parameters, concentrations of plasma urea, glucose, MDA and GSH, erythrocyte enzyme activities of SOD and CAT were not influenced by addition of peppermint to the diet. The results showed that addition of peppermint at a concentration of 5% to diet of sheep decreases ruminal protozoal numbers without affected hematological parameters and oxidant-antioxidant balance in the blood.

Key Words: Peppermint, rumen protozoa, oxidant-antioxidant balance, sheep.

To cite this article: Durmuş İ. Ulutaş E. Arslan-Acaröz D. İnce S. Salim M.N. Küçük Kurt İ. Eryavuz A.. Effect of of peppermint supplementation to diet on rumen protozoal numbers and some ruminal parameters in sheep. Kocatepe Vet J. (2017) 10(4): 300-307

GİRİŞ

Günümüzde artan dünya nüfusunun ihtiyacını karşılayabilmek amacıyla birim hayvandan daha fazla verim elde edebilmenin yolları araştırılmaktadır. Bilinçli yapılacak bir besleme düzeni ile yüksek verimlilik garantisi edilebileceği gibi en ekonomik ürün elde etme ortamı da sağlanmış olacaktır. Bu nedenle, yüksek ve kaliteli besin maddesi gereksinimlerini karşılama, hayvanın verimini ve yemden yararlanmasını artırma amacı ile “yem katkı maddeleri” adı verilen bir sektör oluşmuştur. Dirençli mikroorganizmaların etkin hale geçmeleri, ürünlere ilişkin metabolik kalıntıların hayvansal organizmada birikme ve insan sağlığını olumsuz yönde etkileme olasılıkları, yemden yararlanmayı dolayısıyla hayvan verimini artıran antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanımını tartışılır kılmuştur. Bu nedenle, Avrupa Birliği Konseyi’nin almış olduğu karar ile iyonofor, antibiyotik ve benzeri ürünlerin hayvan beslemede kullanımı 2005 yılından itibaren yasaklanmıştır (Jouany ve Morgavi, 2007).

Antibiyotiklerin hayvansal ürünlerde oluşturabileceği kalıntılardan dolayı tüketiciler tarafından da bu tür ürünlere talep gün geçtikçe azalmakta ve ürün özellikleri açısından tüketici isteminin ön plana çıkmasıyla daha doğal ve insan sağlığına daha uygun ürün elde edilme istemi yaygınlık kazanmaktadır. Değişik tıbbi bitkilerin pek çok enfeksiyon etkenlerine karşı potansiyel etkilerinin olması ve tedavi amaçlı kullanılmaları (Rochfort ve ark., 2008), bilim adamlarını yem katkı maddesi olarak antibiyotiklere alternatif doğal tıbbi bitkilerin kullanılmasına sevk etmiştir (Benchaar ve ark., 2008, Taghavi-Nezhad ve ark., 2014, Khorrami ve ark., 2015, Roshan ve ark., 2017).

Ruminant hayvanların rumen fermentasyonunda işlev gören mikroorganizmaların önemli bir kısmını bakteriler, protozoonlar ve mantarlar oluşturmaktadır (Eryavuz, 2004). Protozoonlar, rumendeki mikrobiyel kitlenin %40-80’ini oluşturmalarına rağmen, seçici olarak rumende kalmaları ve alt sindirim organlarına geçişlerinin düşük olması gibi nedenlerle konakçı hayvanın beslenmesine sağladıkları katkı bakterilerinkinden düşük olmaktadır (Eryavuz, 2000). Rumen protozoonları amino asit kaynağı olarak kullandıkları rasyon ve bakteri proteinlerini düşük moleküler ağırlıklı maddelere parçalamalarından dolayı, konakçı hayvan için yararlı olan bu besin maddelerini azaltmaktadır (Eryavuz, 2000). Nitekim defaunasyon adı verilen rumen mikrobiyel ekosisteminden protozoonların eliminasyonu işleminin ruminantlarda bazı verim artışlarına yol açtığı gösterilmiştir (Eryavuz, 2000; Santra ve Karim, 2000; Eryavuz ve ark., 2002, 2003). Bu özelliklerinden dolayı bilim adamları, rumen ekosisteminden protozoonların eliminasyonunun ya

da en azından önemli oranda azaltılmasının ruminantların protein metabolizmasında dolayısıyla veriminde olumlu etkiler doğurabileceği gibi bir beklentiye yönelmiştir (Eryavuz, 2000, 2004). Defaunasyondan sonra ruminantlarda meydana gelen bazı verim artışlarından saha şartlarında da yararlanılmak istenmiş fakat defaunasyon amacıyla kullanılan metotların genellikle deneysel amaçlı oluşu ve pratiğe aktarılamayışı nedeniyle bu hedefe ulaşılamamıştır. Son yıllarda, saponince zengin bitki ilave edilmiş rasyonlarla beslenen ruminantların rumeninde protozoon sayısının azalması (Eryavuz, 2004, Eryavuz ve ark., 2015) nedeniyle bilim adamları tarafından defaunasyon ajanı olarak tıbbi bitkilerin kullanılması olanakları üzerinde durulmuştur (Jouany ve Morgavi, 2007). Bu bitkiler arasında nane (*Mentha piperita*, *Mentha spicata*) de yer almış (Ando ve ark., 2003, Taghavi-Nezhad ve ark., 2014) ve ilk bulgular bu bitkinin yem katkı maddesi olarak kullanılması halinde rumende protozoon miktarını azaltacağı şeklinde olmuştur (Ando ve ark., 2003). Bununla birlikte, ruminant hayvanlarda yeme katılacak nane düzeyi ve bu düzeyin hayvan sağlığı üzerine etkilerinin belirlenmesine yönelik çalışma yetersizliği bulunmaktadır. Nitekim nanenin vücuttaki hormonlar (Akdogan ve ark., 2004a) ve demir metabolizması (Akdogan ve ark., 2004b) üzerine olumsuz etkilerinin olabileceği de bildirilmektedir. Bu çalışmada; koyunların yemine değişik düzeylerde ilave edilen nanenin, rumen protozoon sayısı ve bazı rumen parametreleri ile kan oksidan-antioksidan dengesi üzerine etkilerinin ortaya çıkartılması hedeflendi.

MATERYAL VE METOT

Araştırma, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun (AKÜHADYEK-49533702-15) onayını takiben, AKÜ Hayvancılık Araştırma Merkezi’nde bulunan koyunculuk araştırma ünitesinde yürütüldü. Araştırmanın hayvan materyalini, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Çiftliği’nde yetiştirilen 18 adet yaklaşık 1-1.5 yaş ve canlı ağırlıkları ortalama 34 kg Merinos ırkı erkek toklu oluşturdu. Hayvanlar her bir grupta 6 adet toklu bulunacak şekilde biri kontrol, ikisi deneme olmak üzere toplam 3 gruba ayrıldı. Gruplardaki hayvanların birbirine yakın doğumlu ve ağırlıkta olmasına dikkat edildi ve gruplar birbirleriyle temas kuramayacak şekilde ayrı bölmelere yerleştirildi. Hayvanlar, NRC (2007)’nin koyunlar için bildirildiği günlük kuru madde ve besin madde ihtiyaçlarını karşılayacak şekilde hazırlanan ve Tablo 1’de verilen rasyonla beslendi. Tüm grupların rasyonları, AKÜ Veteriner Fakültesi Hayvancılık Araştırma ve Uygulama Çiftliği’nde bulunan yem kırma ve karıştırma makinesi ile

hazırlandı. Araştırmada hayvanlar barındırıldıkları padoklar içinde her zamanki koşullarında, sadece birbirlerinin yemine ulaşamayacak şekilde grup olarak ayrı padoklara ayrıldı. Yemleme ve su tüketimi düzenlerinde herhangi bir değişiklik yapılmadı. Deneme hayvanları 7 gün süreyle yeme alıştırma dönemini takiben toplam 30 günlük esas araştırma süresince kendilerine tahsis edilen yemle beslendi. Yemleme sabah ve akşam olmak üzere günde iki öğün halinde yapılarak kaba ve karma yem aynı öğün içinde ayrı ayrı verildi.

Esas araştırma periyodunun sonunda sabah yemlemesinden önce rumen ve kan örnekleri alındı. İç çapı 5-6 mm olan rumen sondası ile özefagustan girilerek geniş hacimli enjektör yardımıyla rumenin ventral kesesinden alınan rumen içeriğinde protozoon sayısı, pH ve amonyak düzeyleri belirlendi. Rumen örneklerinin pH'sı örnekler alındıktan hemen sonra digital pH-metre (Hanna Instruments pHmater, Mauritius) ile ölçüldü. Rumen içeriğinde amonyak düzeyi ticari kitler (Sigma AA0100) kullanılarak ELISA cihazında (Thermo Scientific, Multiskan FC, Finlandiya), protozoon sayıları ise Sulu ve ark., (1988)'nin bildirdikleri yöntemlere göre belirlendi.

Koyunların vena jugularisinden antikoagulanlı ve antikoagulanlı tüplere yeteri kadar alınan kan örneklerinin bir kısmı bekletilmeksizin, hematolojik değerler için AKÜ Veteriner Sağlık, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan otomatik kan sayım cihazı (Mindray BC 2800 Vet., Çin) ile kan hücreleri

sayımları yapıldı. Ölçümler yapılırken cihazın koyun için geçerli sayım modunda olmasına dikkat edildi. Diğer bir kısmının ise santrifüj (Nüve, NF 1000R, Türkiye) işlemi (1500 g, 4 °C, 15 dk) yapılarak elde edilen plazma ve serum örnekleri ile eritrosit paketleri ependorf tüplere alındı ve analiz edilinceye kadar -20 °C'de dondurucuda saklandı. Eritrositlerin hazırlanması Witterbourn ve ark., (1975)'nin bildirdikleri yöntemle göre yapıldı. Plazma üre azotu düzeyi ticari kit (Human, Almanya Kat No:12013) kullanılarak spektrofotometrede (Shimadzu UV 1601, Japonya), plazma glukoz düzeyi ise ticari test kiti (Human, Almanya Kat No: 13002) kullanılarak ELISA cihazında ölçüldü. Kan örneklerinde MDA düzeyleri Draper ve Hardley (1990)'nın ve GSH düzeyleri ise Beutler ve ark. (1963)'in bildirdikleri yöntemlere, eritrosit paketlerindeki SOD ve CAT enzim aktiviteleri sırasıyla Sun ve ark. (1998) ve Luck (1955)'un bildirdikleri yöntemlere göre spektrofotometre cihazı (Shimadzu UV 1601, Japonya) kullanılarak tespit edildi.

Araştırmada elde edilen gruplara ait verilerin istatistiki hesaplamaları ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılıkların önemliliği için tek yönlü varyans analiz (one way ANOVA) yapıldı, gruplar arasındaki önemliliklerin belirlenmesinde Duncan post hoc testi uygulandı. P<0,05 istatistiksel açıdan önemli kabul edildi. Bu amaçla, 'SPSS 16.0 istatistik paket programı' kullanıldı.

Tablo 1. Denemede kullanılan hayvanlara verilen rasyonun bileşimi ve kimyasal içeriği (Hayvanbaşı kg/gün)
Table 1. The chemical composition and components of the basal diet (per animal kg/day)

Yem maddesi	Hayvan başı kg/gün		
	Kontrol	Grup 1	Grup 2
Arpa samanı	0.300	0.320	0.315
Yonca	0.420	0.374	0.348
Arpa	0.200	0.200	0.200
Mısır	0.200	0.200	0.200
Pamuk Tohumu Küspesi	0.050	0.050	0.050
Nane	0	0.026	0.052
Tuz	0.003	0.003	0.003
Vitamin Mineral Karması	0.003	0.003	0.003
Toplam	1.176	1.176	1.176
Kimyasal içeriği			
Kuru Madde Tüketimi (Hesaplanmış)	1.05	1.05	1.05
Metabolize Olabilir Enerji (Mcal/kg KM)	2.40	2.39	2.38
Ham Protein (g/kg KM)	125	121	120
Rumende Yıkılabilir Protein (% KM)	8.4	8.2	8.2
Rumende Yıkılmayan Protein (% KM)	4.1	4.1	4.1
Ca (g/kg KM)	3,91	3.79	3.71
P (g/kg KM)	2,81	2.45	2.38

BULGULAR

Yeme nane ilavesinin koyunlarda rumen protozoon sayısı ve bazı rumen parametreleri ile kan oksidan-antioksidan denge üzerine etkilerinin araştırıldığı ve toplam 30 gün süren bu çalışmada, uygulamaların; rumen içeriği pH, amonyak azotu düzeyi ve protozoon sayısına etkileri ile istatistiksel değerleri Tablo 2’de, Akyuvar sayısı (WBC); Alyuvar sayısı (RBC); Hemoglobin (HGB); Hematokrit (HTC); Ortalama Alyuvar Hacmi (MCV), Ortalama Hemoglobin Yoğunluğu (MCH), Ortalama Alyuvar Hemoglobin Yoğunluğu (MCHC), Kan pulcuğu (PLT) düzeylerine etkileri Tablo 3’te ve plazma glukoz, BUN, MDA ve GSH düzeyleri ile SOD ve CAT aktivitelerine etkileri ise Tablo 4’te verildi.

Araştırmanın sürdürüldüğü 30 günlük periyodun sonunda sabah yemlemesinden önce hayvanlardan alınan rumen içeriklerinde pH değerlerinin; Nane %5 grubunda, Nane %2,5 grubundakine göre önemli ($p<0.05$) olmak üzere diğer gruplardakinden daha düşük olduğu saptandı (Tablo 2). Rumen içeriği amonyak azotu değerleri bakımından; Nane %5 grubundaki değerlerin, Nane %2,5 ve Kontrol

gruplarındaki değerlerden önemli oranda ($p<0,001$) daha düşük olduğu bulundu. Yeme nane ilave edilen gruplarda Kontrol grubundakilere göre rumende protozoon sayısının önemli oranda ($p<0.01$) azaldığı, yemdeki nane düzeyi arttıkça bu azalmanın istatistiksel anlamda önemli olmamakla birlikte devam ettiği gözlemlendi (Tablo 2).

Koyunlardan alınan kan örneklerinde; akyuvar sayısı (WBC), Alyuvar sayısı (RBC), Hemoglobin (HGB), Hematokrit (HTC), Ortalama Alyuvar Hacmi (MCV), Ortalama Hemoglobin Yoğunluğu (MCH), Ortalama Alyuvar Hemoglobin Yoğunluğu (MCHC) ve Kan pulcuğu (PLT) değerleri bakımından gruplar arasında istatistiksel anlamda bir farkın olmadığı ($p>0.05$) bulundu (Tablo 3).

Araştırmada; kan örneklerinde ölçümü yapılan biyokimyasal değerlerden glukoz ve BUN değerleri ile antioksidan- oksidan durumu ortaya koyan MDA, AOA ve GSH düzeyleri, SOD ve CAT aktiviteleri bakımından gruplar arasında istatistiki olarak herhangi bir farklılık ($p>0,05$) tespit edilmedi (Tablo 4).

Tablo 2. Koyunlara yeme nane ilavesinin rumen içeriği pH ve amonyak azotu düzeyleri ile protozoon sayısına etkisi ($n=6, \pm$ SEM).

Table 2. Effects of peppermint supplementation to diet on ruminal pH, ammonia concentration and protozoal numbers in sheep ($n=6, \pm$ SEM).

Parametreler	Nane%5	Nane%2,5	Kontrol	P değeri
pH	6,81 \pm 0,20 ^b	7,19 \pm 0,25 ^a	7,06 \pm 0,28 ^{ab}	,047
NH ₃ (mg/dl)	22,90 \pm 4,82 ^b	30,95 \pm 2,40 ^a	33,75 \pm 3,60 ^a	,000
Protozoon sayısı (10 ³ /ml)	189,68 \pm 50,69 ^b	240,29 \pm 70,90 ^b	322,62 \pm 57,07 ^a	,006

Tablo 3. Koyunlarda yeme nane ilavesinin hematolojik parametre düzeylerine etkisi ($n=6, \pm$ SEM).

Table 3. Effects of peppermint supplementation to diet on hematological parameters in sheep ($n=6, \pm$ SEM).

Parametreler	Nane%5	Nane%2,5	Kontrol	P değeri
WBC (10 ³ /mm ³)	8,28 \pm 4,29	8,50 \pm 5,25	9,95 \pm 2,74	,762
RBC (10 ⁶ /mm ³)	11,34 \pm 0,78	11,26 \pm 1,60	12,68 \pm 1,17	,112
Hg (gr/dL)	11,28 \pm 1,23	11,33 \pm 1,35	12,40 \pm 1,41	,290
HCT (%)	35,63 \pm 2,21	34,70 \pm 4,36	37,38 \pm 3,77	,437
MCV (fL)	31,50 \pm 1,08	30,95 \pm 1,62	29,52 \pm 1,30	,059
MCH (pg)	9,90 \pm 0,68	10,05 \pm 0,56	9,73 \pm 0,29	,601
MCHC (g/dL)	31,57 \pm 1,55	32,63 \pm 1,20	33,12 \pm 1,33	,168
PLT (10 ³ /mm ³)	367,00 \pm 109,18	332,00 \pm 145,49	395,83 \pm 129,74	,698

Akyuvar sayısı (WBC); Alyuvar sayısı (RBC); Hemoglobin (Hg); Hematokrit (HTC); Ortalama Alyuvar Hacmi (MCV), Ortalama Hemoglobin Yoğunluğu (MCH), Ortalama Alyuvar Hemoglobin Yoğunluğu (MCHC), Kan pulcuğu (PLT).

Tablo 4. Koyunlarda yeme nane ilavesinin plazma glukoz, BUN, MDA, GSH, SOD ve CAT düzeylerine etkisi ($n=6, \pm$ SEM).

Table 4. Table 3. Effects of peppermint supplementation to diet on concentrations of glucose, BUN, GSH, and SOD and CAT activities in sheep ($n=6, \pm$ SEM).

Parametreler	Nane%5	Nane%2,5	Kontrol	P değeri
Glukoz (mg/dl)	63,80 \pm 9,67	61,37 \pm 6,48	53,35 \pm 12,57	,215
BUN (mg/dl)	34,07 \pm 3,54	41,27 \pm 3,09	39,38 \pm 11,16	,114
MDA (nmol/ml)	2,76 \pm 0,40	3,56 \pm 2,05	5,46 \pm 3,18	,126
GSH (nmol/ml)	19,20 \pm 7,56	25,42 \pm 10,33	21,73 \pm 10,04	,529
SOD (U/gHb)	7,33 \pm 3,76	8,90 \pm 1,25	8,37 \pm 1,82	,557
CAT (nmoldk ⁻¹ /gHb)	0,35 \pm 0,13	0,41 \pm 0,16	0,32 \pm 0,14	,509

TARTIŞMA

Hayvansal üretimde hayvanlara verilen yemlerden yararlanmayı arttırmak, elde edilen ürünlerin kalitesini yükseltmek, hayvanların sağlıklı bir şekilde yetiştirilmesini sağlamak ve elde edilen ürünün maliyetini düşürmek için kullanılan yem katkı maddeleri arasında yer alan antibiyotiklere doğal bitkisel kaynak olarak nenenin bir alternatif olup olmayacağını belirlemek amacıyla yürütülen bu çalışmada; hayvan materyali olarak kullanılan koyunlar, kontrol, yeme %2.5 ve % 5'i düzeyinde nane ilave edilmiş üç değişik rasyonla toplam 1 ay süren çalışma süresince beslendiler. Yeme nane ilavesi, daha önce yapılan araştırmalarda kullanılan (Ando ve ark., 2003) düzeye yakın miktarlar seçilerek yapıldı.

Çalışmada, sabah yemlemesinden önce alınan örnekleme zamanına göre, yemine %5 nane katılan hayvanlarda kaydedilen rumen içeriği pH değerlerinin; Kontrol grubu hayvanlardakinden, özellikle yeme %2.5 düzeyinde nane katılan hayvanlarda istatistiksel anlamda önemli olmak üzere, daha düşük olduğu saptandı (Tablo 2). Bu bulgu, nane ilave edilmiş yemle beslenen sığırlarda rumen içeriği pH düzeyinin azaldığını bildiren çalışmaları (Ando ve ark., 2003, Hosoda ve ark., 2006) desteklemektedir. Rumen sıvısı pH değerinin genelde; rasyon bileşimine, yemleme sıklığına, yemin çabuk tüketilmesi ya da rumende biriktirilmesi ile yemlemeden sonra geçen süreye göre değişebileceği, bununla birlikte 5.80-7.50 arasında olabileceği (Bölükbaşı, 1989) dikkate alınır, çalışmada belirlenen değerlerin normal sınırlar içinde olduğu gözlenmektedir. Bununla birlikte, Khamisabad ve ark. (2016)'nın 90 gün boyunca rasyona %3 oranında nane ilavesinin besi kuzularında yemleme öncesi alınan rumen içeriği örneklerinde rumen pH'sı üzerinde etkisi olmadığı yönündeki bildirimlerini destekler nitelikte bu çalışmada da, %2.5 nane ilavesi ile beslenen koyunlardaki rumen pH düzeyinin kontrol grubundaki hayvanlarınkine benzer bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen bulgular, yeme ilave edilecek nane düzeyinin rumen pH düzeyi üzerinde önemli etkiye sahip olduğuna işaret etmektedir. Koyunların yeminde selüloz içeriği yüksek kaba yemlerin ağırlıkta olması (Çolpan 2008), yem katkı maddelerinin rumen selüloz sindirimini olumsuz etkilememesini gerektirmektedir. Rumen selüloz sindirimi için en uygun pH düzeyinin 6.2-6.8 arasında olduğu bildirimi (Eryavuz ve Dehority, 2009) dikkate alınır, bu çalışmada, %5 nane ilave edilen gruptaki pH düzeyinin rumen selüloz sindirimini olumsuz etkilemeyecek düzeyde olduğu söylenebilir.

Rumen içeriği amonyak düzeyi, ruminant hayvanların yemle aldıkları azotlu maddelerin rumende mikrobiyel sindirimi sonucu oluşmakta ve rumende azotlu maddelerin sindirimini bir göstergesi olarak kullanılmaktadır (Eryavuz ve ark., 2003). Ruminant hayvanların yemine ilave edilen bitki ya da ekstratlarının yemde bulunan azotlu maddelerin rumende sindirimini azalttığı bildirilmektedir (Wallace ve ark., 2002, Eryavuz ve ark., 2015). Çalışmada, yeme % 5 düzeyinde nane katılmasının rumen içeriği amonyak değerlerini önemli düzeyde ($p < 0.001$) düşürdüğü bulundu (Tablo 2). Bu bulgu, nane ilavesinin rumen amonyak düzeyini azalttığı yönündeki bildirimlerle (Ando ve ark., 2003, Zmora ve ark., 2012) uyumluydu. Bununla birlikte, kuzuların yemine % 3 düzeyinde nane ilavesinin rumen amonyak düzeyi üzerine etkisinin olmadığı yönündeki bildirimle (Khamisabadı ve ark., 2016) %2.5 Nane grubundakiler uyum göstermektedir. Bu bulgular, yeme katılacak nane düzeyinin rumen içeriği amonyak değerlerine etkisinin olduğuna ve rumende yem proteinlerinin sindirimini azaltarak alt sindirim organlarına geçişini artıracağına işaret etmektedir.

Ruminant hayvanların rumen mikrobiyel ekosistemini oluşturan mikroorganizma grubu içerisinde yer alan protozoonların, konakçı hayvanın tüketmiş olduğu yemdeki besin maddelerinden hayvanın yararlanma düzeyinde değişiklikler yaptığı bildirilmektedir (Eryavuz, 2000, 2004). Bu değişiklikler arasında en belirgin olanı, ruminant hayvanın tükettiği yemdeki proteinlerin rumende sindirimini artırarak alt sindirim organlarına geçişini azaltmalarıdır (Eryavuz ve ark., 2003). Araştırmada, sabah yemlemesinden önce alınan örnekleme zamanına göre, yeme hem %2.5 hem de %5 nane ilavesinin rumen protozoon sayısını önemli ($p < 0.01$) oranda azalttığı, yeme ilave edilen nane düzeyi arttıkça rumende protozoon sayısının istatistiksel açıdan önemli olmamakla birlikte daha çok azaldığı bulundu (Tablo 2). Bu bulgu, daha önce nenenin ruminant hayvanlarda rumen protozoon sayısını azalttığı yönündeki pek çok bildirimle (Ando ve ark., 2003, Agarwal ve ark., 2009, Zmora ve ark., 2012, Wanapat ve ark., 2013) uyumluydu. Nenenin rumende protozoonları azaltmasının nedeninin, bu bitkinin ana esansiyel yağ olarak içermiş olduğu L-menthol'un olduğu öne sürülmektedir (Ando ve ark., 2003). Nitekim yapılan bir araştırmada (Djouvinov ve ark., 1997), eterle yağı alınmış nenenin posası koyunların rasyonuna ilave edildiğinde rumen protozoon sayısının etkilenmediği bulunmuştur. Rumen fermentasyonu hakkında önemli bir bilgi veren rumen pH ve amonyak düzeyi ile protozoon sayısı ele alındığında, çalışmada kullanılan nane düzeyinin; rumende protozoon sayısını azalttığı, buna bağlı olarak azotlu maddelerin rumende sindirimini

düşmesi nedeniyle rumen amonyak düzeyinin azaldığı ve bazik etkiye sahip amonyakın rumende azalmasına bağlı rumen içeriği pH düzeyinin de düştüğü söylenebilir. Çalışmada rumen parametrelerine yönelik elde edilen bulguların, rumende protozoonların elimine edilmesinin ya da sayılarının azaltılmasının rumen fermentasyonunda değişiklikler yaparak konakçı hayvanın veriminde olumlu etkilere yol açacağı yönündeki bildirimleri (Eryavuz, 2000, 2004) desteklemektedir. Bu bulgular, yeme nane ilavesinin rumen protozoonların azaltılmasında saha şartlarında uygulanarak yaygınlık kazanabileceğine ve bu amaçla yem katkı maddesi olarak kullanılan antibiyotiklere alternatif olabileceğine işaret etmektedir.

Doğal bitkisel ürünlerin yem katkı maddesi olarak kullanılabilmesi için hem hayvanın verimini hem de sağlığını olumsuz etkilememesi gerekmektedir (Rochfort ve ark., 2008). Sıçanlarda yapılan daha önceki çalışmalarda nanenin vücuttaki hormonlar (Akdogan ve ark., 2004a) ve demir metabolizması (Akdogan ve ark., 2004b) üzerine olumsuz etkilerinin olabileceği bildirilmektedir. Kan demir düzeyindeki azalma kemik iliğinde kan hücrelerinin üretimini de olumsuz etkilemektedir (Yılmaz, 2000). Bu çalışmada, 30 gün süren deneme periyodu sonucu alınan kan örneklerinde; yeme nane ilave edilmesinin akyuvar sayısı, alyuvar sayısı, hemoglobin düzeyi ve hematokrit değer ile ortalama alyuvar hacmi, ortalama hemoglobin yoğunluğu, ortalama alyuvar hemoglobin yoğunluğu düzeyleri ve kan pulcuğu sayılarına etkisinin olmadığı saptandı (Tablo 3). Çalışmada tüm gruplarda kan hücreleri için elde edilen değerler, koyunlar için bildirilen (Yılmaz, 2000) normal fizyolojik düzeyler arasındaydı. Bu bulgu, koyunların yemine % 5 düzeyine kadar nane katılmasının hayvanların kan hücreleri değerlerine olumsuz bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

Yem katkı maddesi olarak bitki ya da bitkisel ekstraktların yeme ilave edilmesiyle gerçekleştirilen daha önceki çalışmalarda, tıbbi bitkilerin ya da bunların ekstraktlarının ruminant hayvanlarda bazı biyokimyasal parametrelerin kan düzeylerinde değişikliklere yol açabileceği bildirilmiştir (Raghuvansi ve ark., 2007, Mahgoub ve ark., 2008). Nitekim son yapılan bir çalışmada (Devi ve ark., 2017), tavuklarda yeme nane ilavesinin bazı biyokimyasal parametrelerin kan değerlerini değiştirdiği gözlenmiş ve kan glikoz düzeyini düşürdüğü ifade edilmiştir. Buna karşın, başka bir çalışmada ise yine kanatlılarda kan glikoz düzeyine yeme nane ilavesinin etkisinin olmadığı bildirilmektedir (Abdel-Wareth ve Lohakare, 2014). Çalışmada, koyunların yemine nane ilavesinin plazma glikoz ve BUN düzeylerine etki etmediği bulundu (Tablo 4). Bu bulgu, 90 gün besi periyodu boyunca yemlerine %3 düzeyinde nane katılarak

beslenen kuzuların deneme sonunda kan glikoz ve BUN düzeyleri bakımından herhangi bir farkın olmadığı yönündeki bildirimle (Khamisabadi ve ark.,2016) uyumluydu.

Vücut hücrelerinin fonksiyonu esnasında üretilen serbest radikaller oksidatif strese neden olmakta ve hücrelere zarar vermektedir. Hücreler serbest radikallerin zararlarından korunmak için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemine sahiptir (İnce ve ark., 2010). Çalışmada, oksidatif stresin göstergelerinden lipid peroksidasyon ürünü MDA düzeyleri ile hücre içi non enzimatik bir antioksidan olan GSH ve enzimatik bir antioksidan olan SOD ile CAT enzim aktivitesi düzeyleri bakımından da gruplar arasında istatistiksel önemde bir farklılık tespit edilmedi (Tablo 4). Bu bulgu, antioksidan bir özelliğe sahip nanenin (Singh ve ark., 2015) koyunların yemine % 5 düzeyine kadar ilave edilmesinin kan oksidan ya da antioksidan dengeye etkisinin olmadığını göstermektedir.

Sonuç olarak; çalışmada, koyunların yemine %5 düzeyinde nane ilave edilmesinin rumen protozoon sayısını azaltarak rumen fermentasyonunu manipule etme potansiyelinin olduğu ve kan değerleri üzerine olumsuz bir etkisinin olmadığı tespit edildi. Nanenin hayvansal ürünlerde antibiyotik kalıntısı istenmeyen tüketici talebini karşılamada sentetik ürünlere alternatif yem katkı maddesi olarak kullanılabilmesi ancak değişik ruminant türleri ve uzun süreli çalışmalar ile bu potansiyelin teyit edilmesi gerektiği kanaatine varıldı. Yapılacak böyle çalışmalar sonucu elde edilecek verilerin bu çalışmadaki bulguları desteklemesi halinde, nanenin özellikle yem katkı maddesi üreten kuruluşlar ile hayvan yetiştiricileri ve üreticileri tarafından kullanılması mümkün olacak, bu sayede hem nanenin ruminant hayvanlarda kullanılmasının yaygınlık kazanması hem de tüketicilere daha doğal ve güvenilir ürünlerin sunulması sağlanabilecektir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Wareth, A. A. ve Lohakare, J. D.** 2014. Effect of dietary supplementation of peppermint on performance, egg quality, and serum metabolic profile of Hy-Line Brown hens during the late laying period. *Anim. Feed Sci. Tech.* 197: 114–120.
- Agarwal, N., Shekhar, C., Kumar, R., Chaudhary, L. C., Kamra, D. N.** 2009. Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on in vitro methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 148(2), 321-327.
- Akdogan, M., Gultekin, F., Yontem, M.,** 2004b. Effect of *Mentha piperita* (Labiatae) and *Mentha spicata* (Labiatae) on iron

- absorption in rats. *Toxicol. Ind. Health.*, 20; 119-122.
- Akdogan, M., Ozguner, M., Kocak, A., Oncu, M., Cicek, E.**, 2004a. Effects of peppermint teas on plasma testosterone, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone levels and testicular tissue in rats. *Urology*, 64: 394-398.
- Ando S. N., İshida M., Hosoda K., Bayaru E.** (2003). Effect of peppermint feeding on the digestibility, ruminal fermentation and protozoa. *Livestock Production Sci.*, 82: 245-248.
- 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.
- Beutler, E., Olga, D., Barbara, M.R.** 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab.Clin.Med.*, 61; 882-888.
- Bölükbaşı, F.** 1989. Fizyoloji Ders Kitabı (Vücut Isısı ve Sindirim), Cilt I, A.Ü. Vet. Fak. Yayınları, AÜ Basımevi, Ankara.
- Çolpan, İ. ve ark.** (2014). Hayvan besleme ve beslenme hastalıkları. Ankara
- Devi K.M, Palod J, Singh D.V., Singh C.B., Dar A.H., Singh P.K., Singh V. S.** 2017. Effect of Pudina (*Mentha arvensis*) Leaf Powder on Biochemical Parameters in White Leghorn. *Int.J.Live.Res.*, 7; 206-216.
- Djouvinov, D., Pavlov, D., Ilchev, A., Enev, E.,** 1997. Peppermint (*Mentha piperita* huds.) and basil (*Ocimum basilicum* L.) etheric oil by-products as roughages for sheep feeding. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 68; 287-294.
- Draper, H. H., Hardley, M.** 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 186: 421-431.
- Eryavuz A.,** 2000. Defaunasyonun ruminantların sindirimine etkileri (Derleme). *Hayv. Araş. Derg.*, 10 (1-2); 78-84.
- Eryavuz, A.,** 2004. Saponinler ve ruminantlarda rumen protozoon sayısının azaltılmasında bunların kullanılması (Derleme). *Hayv. Araş.Derg.*, 13, (1-2); 60-66.
- Eryavuz A. Dehority BA.** 2009. Effects of supplemental zinc concentration on cellulose digestion and cellulolytic and total bacterial numbers in vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 151; 175-183.
- Eryavuz, A., Dundar, Y., Özdemir, M., Aslan, R., Tekerli, M.,** 2003. Effects of adding urea and sulfur on performance of faunate and defaunate Ramlic lambs, and some rumen and blood parameters. *Anim.Feed Sci.Technol.*109; 35-46.
- Eryavuz A., Küçük Kurt İ., İnce S., Fidan AF., Avcı G., Bülbül T.** 2015. Kuzularda rasyona *Yucca schidigera* tozu katılması ve günlük dozunun rumen fermentasyonu ile verime etkilerinin araştırılması. *Kocatepe Vet. J.*, 8; 1-10.
- Hosoda, K., Kuramoto, K., Eruden, B., Nishida, T., & Shioya, S.** 2006. The effects of three herbs as feed supplements on blood metabolites, hormones, antioxidant activity, IgG concentration, and ruminal fermentation in Holstein steers. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 19(1), 35.
- İnce S., Küçük Kurt I., Cigerci İH., Fidan AF., Eryavuz A.** 2010. The effects of dietary boric acid and borax supplementation on lipid peroxidation, antioxidant activity, and DNA damage in rats. *J. Tarce Elem. Med.Biol.*, 24; 161-164.
- Jouany, J.P. and Morgavi, D.R.** 2007. Use of natural products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *ANIMAL*, 1; 1443-1466.
- Khamisabadi, H., Kafilzadeh, F., Charaen, B.** 2016. Effect of thyme (*Thymus vulgaris*) or peppermint (*Mentha piperita*) on performance, digestibility and blood metabolites of fattening Sanjabi lambs. *Biharean Biologist*, 10(2).
- Khorrani B, Vakili AR, Danesh Mesgaran M, Klevenhusen F.** Thyme and cinnamon essential oils: Potential alternatives for monensin as a rumen modifier in beef production systems. *Anim Feed Sci Technol.* 2015. 200; 8-16.
- Luck H** (1955) Catalase. in: Bergmeyer, H.U. (Ed.), *Methods in Analysis*. Academy Press, London.
- Mahgoub, O., Kadim, I.T., Tageldin, M.H., Al-Marzooqi, W.S., Khalaf, S.Q., Ambu Ali, A.** 2008. Clinical profile of sheep fed non-conventional feeds containing phenols and condensed tannins. *Small Rum. Res.* 78: 115-122.
- Raghuvansi, S. K. S., Prasad, R., Mishra, A. S., Chaturvedi, O. H., Tripathi, M. K., Misra, A. K., Jakhmola, R. C.** 2007. Effect of inclusion of tree leaves in feed on nutrient utilization and rumen fermentation in sheep. *Bioresource technology*, 98(3), 511-517.
- Rochfort S., Parker AJ., Dunshea FR.** 2008. Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry*, 69; 299-322.

- Roshan N., Riley TV., Hammer KA.** 2017. Antimicrobial activity of natural products against *Clostridium difficile* in vitro. *J Appl. Microbiol.*, 123; 92-103.
- Sulu, N., Bölükbaşı, F., Börkü, K.** 1988. "Merinos koyunları rumen sıvısında protozoa sayısı ve bazı protozoon tiplerinin identifikasyonu", *A.Ü.Vet.Fak.Derg.*, 35 (1); 157-168.
- Sun Y, Oberley LW, Li Y** (1988) A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 34:497-500.
- Taghavi-Nezhad M., Alipour D., Flythe MD.,** 2014. The effect of essential oils of *Zataria multiflora* and *Mentha spicata* on the in vitro rumen fermentation, and growth and deaminative activity of amino acid-fermenting bacteria isolated from Mebraban sheep. *Anim Prod.Sci.*, 3; 299-307.
- Wallace RJ., McEwan NR., McIntosh FM., Teferedegne B., Newbold CJ.** 2002. Natural Products as Manipulators of Rumen Fermentation. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 15: 1458-1468.
- Wanapat, M., Kang, S., Khejornsart, P., Wanapat, S.** 2013. Effects of plant herb combination supplementation on rumen fermentation and nutrient digestibility in beef cattle. *Asian-Aust. J Anim.Sci.*, 26;1127-1136.
- Witterbourn CC, Hawkins RE, Brain M, Carrel W.** The estimation of red cell superoxide dismutase activity. *J Lab Clin Med.* 1975. 55:337-41.
- Yılmaz B.** 2000. 'Kan' Fizyoloji, 2.Baskı, Feryal Matbaacılık, Ankara, S: 45-133.
- Zmora, P., Cieslak, A., Pers-Kamczyc, E., Nowak, A., Szczechowiak, J., Szumacher-Strabel, M.** 2012. Effect of *Mentha piperita* L. on in vitro rumen methanogenesis and fermentation. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A-Animal Science*, 62(1), 46-52.