

Bazı Kaba Yemlere Farklı Seviyelerde İlave Edilen Söğüt Ağacı (*Salix Alba*) Yaprığının *In Vitro* Sindirim ve Metan Oluşumu Üzerine Etkisi**

Ahmet ORUÇ¹, Mehmet AVCI^{2*}

¹Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, Türkiye.

²Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 14.03.2018

Kabul Tarihi: 26.05.2018

Özet: Bu araştırma, ruminant beslenmesinde yaygın olarak kullanılan buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına farklı oranlarda (% 0, % 10, % 25, % 50, % 75 ve % 100) eklenen söğüt ağacı (*Salix alba*) yaprağının (SAY) *in vitro* metan gazı oluşumuna etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Farklı oranlarda SAY eklenmiş deneme yemleri *in vitro* gaz tekniği ile 24 saatlik inkubasyona bırakılmıştır. *In vitro* gaz üretim tekniği ile 24 saat içerisinde meydana gelen gaz bilgisayar destekli metan gazı ölçüm cihazına özel bir düzenele enjekte edilerek metan gazı miktarları ölçülmüştür. SAY'da kuru maddede 105 g/kg seviyesinde kondanse tanen içeriği belirlenmiştir. En düşük metan üretimi buğday samanına % 50 ve 75, yonca kuru otuna ve mısır silajına % 75 seviyelerinde SAY ilave edilen gruplarda elde edilmiştir (P<0.05). En düşük amonyak azot değeri, yonca kuru otuna % 50 ve % 75 seviyelerinde SAY eklenen gruplarda saptanmıştır (P<0.001). Ancak buğday samanına eklenen SAY amonyak azot değerini yükseltmiştir (P<0.01). Sonuç olarak SAY'nın kaba yemlere eklenmesi, *in vitro* denemelerinde metan gazı oluşumunu düşürmüştür. SAY ilavesi metabolik enerji (ME) değerleri ile *in vitro* organik madde sindirilme derecesini (İVOMS) buğday samanında artırırken, yonca kuru otu ve mısır silajında düşürmüştür. Ayrıca SAY'nın hayvan performansı üzerindeki etkisinin ortaya konulabilmesi için *in vivo* çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Söğüt ağacı yaprağı, Metan, *In vitro* sindirilebilirlik.

The Effect of Willow Tree (*Salix Alba*) Leafs Added at Different Levels to Some Roughages on *In Vitro* Digestibility and Methane Production

Abstract: This study was carried out to investigate the effect of willow tree leaves (*Salix alba*) added at different levels (0 %, 10 %, 25 %, 50 %, 75 % and 100 %) to grass forage, wheat straw, alfalfa forage and maize silage on the *in vitro* methane production. Methane production after 24 h incubation of the roughages were measured by injection of the produced gas samples into a special apparatus connected to computer. Condensed tannin content of willow tree leaves was determined as 105 g/kg dry matter. The lowest methane production was determined in the groups of wheat straw added with 50 and 75% willow tree leaves as well as in the groups of alfalfa hay and corn silage added with 75 % willow tree leaves (P<0.05). The lowest ammonia nitrogen level was observed for alfalfa forage in the treatment group containing 50 and 75 % willow tree leaves (P<0.001). However addition of willow tree leaves to wheat straw increased the ammonia nitrogen value in all treatment groups compared to control group (P<0,01). As a conclusion addition of the willow tree leaf to roughages decreased *in vitro* methane production. Metabolic energy value and *in vitro* dry matter digestibility of wheat straw were increased while these values were decreased in alfalfa roughage and corn silage by addition of willow tree leaf. Further *in vivo* studies are required in order to determine the effect of willow tree leaf addition on animal performance.

Keywords: Willow leaf, Methane, *In vitro* digestibility.

Giriş

Yemde bulunan toplam enerjinin yaklaşık %12'si ruminal fermantasyon sırasında metana (CH₄) çevrilerek ruktus yoluyla doğaya salınır (Thornton ve Owens, 1981). Hayvansal üretimin önemli bir sektör haline gelmesi ile birlikte sera gazlarının atmosferdeki miktarında ciddi artışlar gözlemlenmiştir (Houghton ve ark., 1992). Başta ruminantlar olmak üzere bazı hayvanlarda sindirim sürecinde yan ürün olarak meydana çıkan metan, organik maddelerin bakteriler tarafından yıkılmasından da meydana gelmektedir. Rumendeki fermantasyonun yanı sıra gübre boşaltma ve

depolama işlemleri de metanın en önemli kaynaklarıdır (Jarvis ve ark., 1995). Atmosfere salınan bir yıllık metan gazının %16.4'ünün, ruminant hayvanlar ile hayvanların gübresinden meydana geldiği belirtilmektedir. Bu %16.4'lük değer küresel ısınmaya sebep olan bütün sera gazlarının aşağı yukarı %2.9'unu meydana getirmektedir (Johnson ve ark., 1992). Ruminantlarda meydana gelen metan gazının küresel ısınmaya olan etkisinin yanı sıra, rumende metabolize olan ve yemlerle alınan yem enerjisinin takriben %12'si metan oluşumu nedeniyle

kaybedilmektedir. Geçmiş zamanlarda bu enerji kaybını önlemek için rumendeki ortamı gram negatif (-) bakteriler lehine döndürerek metan gazı üretimini baskılayan iyonofor grubu antibiyotikler ruminant rasyonlarına ilave edilmiştir. Ancak Türkiye’de ve Avrupa Birliği ülkelerinde hayvan yemlerinde antibiyotik kullanımı yasak olduğundan iyonoforların metan gazı üretimini baskılamak için kullanılması mümkün olmamaktadır. Bu yüzden araştırmacılar rumen kaynaklı metan gazı üretimini ve dolayısıyla enerji kaybını önlemek için bitki ve bitkisel kaynaklı katkıları üzerinde çalışmalarını yoğunlaştırmışlardır. Bu doğrultuda bitki, bitki ekstraktları ve bitkilerden elde edilen esansiyel yağlar rumen mikrobiyal fermentasyonu ve besin maddeleri kullanım etkinliğini iyileştirmektedir (Busquet ve ark., 2005). Söğüt ağacı, söğütgiller (*Salicaceae*) familyasına bağlı söğüt (*Salix*) cinsi içerisinde yer alan bodur çalı veya uzun boylu ağaç halinde, çoğunlukla kışları yaprak döken odunsu ağaçlardır. Söğüt ağacının kabuklarından salisin adı verilen madde elde edilmekte, insan ve hayvanlar tarafından vücut içinde metabolize edilerek Aspirinin aktif maddesi olarak bilinen salisilik asit’e dönüştürülmektedir (Anonim, 2016). Türkiye’de yetişen söğüt ağaç türlerinin kurumuş dalların kabuğunda %15 dolaylarında tanen bulunmakta olup kuvvet verici, yatıştırıcı, peklük yapıcı, antiromatizmal ve ateş düşürücü tesirlere sahiptir (Baytop, 1984). Ülkemizde bilhassa söğüt ve meşe ağaçlarında var olan tanenler hemostatik, peklük yapıcı ve astrenjan (doku ya da mukoza büzücü) tesirlerinin yanında, alkaloit bulunduran bitkiler ile zehirlenme olaylarında antidot maksadıyla kullanılmaktadır (Baytop, 1984; Radeleff, 1970; Şener ve Yıldırım, 2000).

Bu araştırma kapsamında, ruminant rasyonlarında çok kullanılan buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına farklı düzeylerde ilave edilen SAY’ın (*Salix alba*) *in vitro* organik madde sindirimi ve metan (CH₄) oluşumuna etkisi araştırılmıştır.

Materyal ve Metot

Çalışmada kullanılan yonca kuru otu, buğday samanı ile mısır silajı Harran Üniversitesi Hayvancılık Araştırma Ünitesinden temin edilmiştir. Çalışmadaki SAY, söğüt ağacının yeşil yapraklarından taze olarak temin edilmiştir. Taze söğüt yaprakları gölgede kurutularak öğütülmeye hazır hale getirilmiştir. Araştırmada, kullanılan buğday samanı, yonca kuru otu, mısır silajı ve söğüt yaprakları 1 mm’lik eleklerden geçecek şekilde bitki öğütme değirmeninde öğütülmüştür. SAY ve test yemlerinin

ham kül, ham protein, kuru madde analizleri AOAC (2005)’e, NDF (Neutral Detergant Fibre) ve ADF (Asit Detergant Fibre) analizleri Van Soest ve ark. (1991)’nin bildirdikleri yöntemle yapılmıştır. SAY’ın kondanse tanen miktarının belirlenmesi Makkar ve ark. (1995) tarafından bildirilen metoda göre yapılmıştır. Yem maddelerinin (yonca kuru otu, buğday samanı ve mısır silajı) her birine katkısız (kontrol), %10, %25, %50, %75 ve %100 düzeyinde SAY ilave edilmiş ve her seviye 4 tekerrürlü olarak yapılmıştır.

Araştırmada, Menke ve ark. (1988) tarafından bildirilen gaz üretim tekniği kullanıldı. Bu yöntemin temeli, yemlerin, rumen sıvısı ile 24 saatlik inkübasyonu sonucu oluşan gaz miktarının ölçülmesine dayanır. Elde edilen sonuçlar yem maddelerinin metabolik enerji (ME) ve *in vitro* organik madde sindirilebilirlik (İVOMS) düzeylerinin hesaplanmasında kullanılmıştır. Elde edilen gaz içerisindeki CH₄ yüzdesi bilgisayara bağlı metan gazı ölçüm cihazı (Sensors Analysentechnik GmbH&Co. KG, Berlin, Germany) yardımıyla belirlenmiştir. Enjektörlerde kalan rumen sıvısı ve yem karışımı 4 katlı tülbenkten süzülerek pH değerleri okunmuş, bu numunelerde NH₃-N analizlerinin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda eksi 20 °C’de bekletilmiştir. Rumen sıvısının NH₃-N değerleri Markham distilasyon yöntemi ile tespit edilmiştir (Markham, 1942).

Elde edilen değerlerin istatistiksel analizi SPSS 13.0 programında tek yönlü varyans (ANOVA) analizi ile yapıldı. Gruplar arasındaki farklılıkların önemi, Duncan çoklu karşılaştırma testiyle belirlendi (SPSS, 2004).

Bulgular

Çalışmada kullanılan SAY’daki tanen içeriğinin 105 g/kg KM olduğu tespit edilmiştir. Buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına farklı oranlarda SAY ilave edilmesinin *in vitro* gaz üretimi, İVOMS, ME, CO₂, CH₄, pH ve NH₃-N düzeylerine etkileri tablo1, 2 ve 3’de verilmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Bitkilerin, parazitlere karşı kendilerini korumak amacıyla sentezledikleri bioaktif metabolitler arasında flavanoidler, alkaloidler, karotenoidler, tanenler, fenolik bileşikler, eterik yağlar ve saponinler bulunur (Kaçar, 2008). Bitkilerin yapraklarında bulunan tanenlerin mayalar, küfler, bazı virüsler ve bakteriler üzerinde antimikrobiyel etkileri bulunmaktadır. Tanenlerin antimikrobiyel etkisi; mikroorganizmaların enzimler veya

substratlarıyla farklı bileşikler teşkil edip, hücre zarlarında toksik etki yaparak bakteriler üzerinde bakterisid ve bakteriyostatik etki oluşturmasıyla gerçekleşir (Akiyama ve ark., 2001; Scalbert, 1991). Meyve ve sebzelerde var olan fenolik bileşiklerin antioksidan tesirleri bilhassa redoks niteliklerinden ve iyi bir hidrojen vericisi olmalarından kaynaklanmaktadır (Banerjee ve ark., 2005; Başer, 2002). Yapılmış *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda, bahsedilen metabolitleri yoğun olarak bulunduran bir takım bitki ekstraktlarının rumende amonyak, laktik asit ve metan oluşumunu düşürdüğü, asetatin propiyonata oranını düşürerek rumende bulunan UYA (uçucu yağ asitleri) profilini hayvanın lehine dönüştürdüğü ortaya konulmuştur (Cardozo ve ark., 2004; Castillejos ve ark., 2008). Rumende, karbon içeren ve mikrobiyal fermantasyon sonucu şekillenen bütirik ve asetik asitin mikroorganizmalar tarafından üretimi sırasında, hidrojen meydana gelmektedir. Rumende oluşan hidrojen ise metanojenik mikroorganizmalarca CO₂ ile birleştirilerek CH₄'a dönüştürülmektedir (Houghton ve ark., 1992). Bütirik ve asetik asit üretilmesinden farklı olarak, propiyonik asidin üretilmesi sırasında ortamda bulunan hidrojen iyonları kullanılmaktadır (Newbold ve ark., 1988; Yost ve ark., 1977). Bu nedenle UYA profilinin propiyonik asit lehine dönüştürülmesi, yemden alınan enerjinin ruminantlar tarafından daha fazla kullanılmasını sağlamaktadır. Tanenler, proteinlerle ve diğer makro moleküllerle beraber çaprazlama bağlar oluşturabilmektedir (Hagerman ve ark., 1992; Kamalak ve ark., 2005; Silanikove ve ark., 2001). Tanenler, selülozu parçalayan mikroorganizmalar üzerinde baskılayıcı etki oluşturarak asetatin meydana gelişini düşürürler. Böylece metan gazının oluşumu için gerekli olan hidrojen iyonları ile karbondioksitin üretimini sınırlamaktadırlar (Patra ve Saxena, 2009; Waghorn, 2008). Yapılan bu çalışmada kullanılan SAY'ndaki tanen içeriğinin 105 g/kg KM olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan SAY'nın içerdiği tanen seviyesi metan üretimini düşürebilecek seviyededir. Araştırmada metan gazı üretimi, buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına ilave edilen SAY düzeyine bağlı olarak %27.70 ile 14.51 arasında değişmiştir. Yonca kuru otu ve mısır silajına yapılan SAY katkı düzeyine paralel olarak CH₄ gazının oluşumu önemli düzeyde azalırken (P<0.001) buğday samanı grubunda CH₄ gazı oluşumundaki düşüş P<0.05 seviyesinde önemli bulunmuştur. CO₂ ve CH₄ gazları, rumende bulunan yemlerin fermantasyonu neticesinde oluşan hidrojen (H⁺) iyonu ve UYA'lerini kullanan metanojenik mikroorganizmalar tarafından meydana getirilmektedir (Benchaar ve Greathead, 2011; Busquet ve ark. 2006). Rumende bulunan

metanojenik bakteriler, SAY'ndaki tanenin antimikrobiyel özelliklerinden dolayı sayıca azalma göstermektedirler. Böylece rumende CH₄ gazın meydana gelişini azalmaktadır (Benchaar ve Greathead, 2011). Benzer şekilde Canbolat ve ark. (2010) rumen içeriğine 800 mg /lt kekik yağı, Evans ve Martin (2000) ise 400 µg /ml seviyesinde timol ilavesinin CH₄ gazı oluşumunu baskıladığını bildirmişlerdir. Agarwal ve ark. (2009) CH₄ gazı oluşumu üzerindeki etkisini belirlemek için 0.33, 1 ve 2 µl/ml nane yağının rumen sıvısına ilavesinin CH₄ gaz oluşumunu %19.9, %46.0 ve %75.6 seviyelere düşürdüğünü bildirmişlerdir (P<0.01). Busquet ve ark. (2006) da rumen sıvısına sırasıyla; 0, 3, 30, 300 ve 3000 mg/lt düzeyinde kekik yağı ilavesinin CH₄ gazı oluşumunu düşürdüğünü saptamışlardır. Canbolat ve ark. (2011) rumen içeriğine kekik yağı ile nane yağı eklenmesinin CO₂ ve CH₄ gazlarını önemli oranda azalttığını bildirmişlerdir. Macheboeuf ve ark. (2008) rumen içeriğine 246 mg/l tarçın yağı eklenmesinin CH₄ gaz üretimini %13 seviyesinde azalttığını bildirmişlerdir. Chaves ve ark. (2008), rumen içeriğine 400 ile 500 mg/l düzeyinde karanfil yağı ilave etmişler ve bu düzeyde ilave edilen karanfil yağın CH₄ gazı oluşumunu düşürdüğünü (%30 ile %35) belirlemişlerdir. Bu çalışmada, daha önce yapılmış çalışmalar gibi metan gazı oluşumunu düşürdüğü gözlenmiş olup, bunun nedeni, SAY'ndaki tanenin, rumende bulunan metanojenik bakterileri baskılayarak metan gazı üretimini azalttığı düşünülmektedir.

Buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına ilave edilen SAY'nın İVOMS üzerine olan etkisi bu çalışmada saptanmış olup değerler %45.93 ile %63.01 arasında değişmiştir. Buğday samanı, yonca kuru otu ve mısır silajına ilave edilen söğüt ağacı yapraklarının İVOMS üzerine olan etkileri ile ilgili sonuçlara bakıldığında, İVOMS değerlerinin buğday samanında önemli derecede artış gösterdiği, yonca kuru otu ve mısır silajında ise azaldığı tespit edilmiştir (P<0.001). Sonuçlar buğday samanına ilave edilen SAY'nın, ME seviyesine etkisi bakımından değerlendirildiğinde ME değerinin arttığı, ancak yonca kuru otu ve mısır silajının ise ME değerlerini düşürdüğü belirlenmiştir (P<0.001). Yonca kuru otu, mısır silajı ve buğday samanına ilave edilen söğüt yapraklarının bu yem hammaddelerinin kuru madde ham protein miktarını belirgin bir şekilde artırdığı belirlenmiştir (P<0.001). Bu artışın sebebi olarak SAY'nın ham protein oranının, yonca kuru otu, mısır silajı ve buğday samanıdan yüksek olmasından kaynaklandığı söylenebilir. Araştırmada, söğüt ağacı yapraklarının *in vitro* gaz üretim miktarını, samanda belirgin bir şekilde artırırken, yonca kuru otu ve mısır silajında azalttığı

gözlenmiştir ($P < 0.001$). Söğüt ağacı yapraklarının, yonca kuru otu ve mısır silajında *in vitro* gaz üretimini azaltmasını, tanenlerin ve aktif bileşenlerinin antimikrobiyel etkisi nedeni ile (Benchaar ve ark., 2007; Calsamiglia ve ark., 2007; Evans ve Martin, 2000), rumen mikroorganizmalarının miktarında ve aktivelerinde sınırlamaya (Newbold ve ark., 2004) ve bakteriler üzerinde antimikrobiyel etkide bulunmasına bağlanılabilir. Yapılmış birçok araştırmada da (Agarwal ve ark., 2009; Kamalak ev ark., 2011) esansiyel yağların (portakal, kekik, timol, nane) *in vitro* gaz üretimini düşürdüğü bildirilmektedir.

Rumen sıvısının pH seviyesi ise tüm kaba yem grupları dikkate alındığında 6.93 ile 7.04 aralığında değişiklik göstermiş olup, SAY katkı seviyeleri

arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ($P < 0.001$). En yüksek pH değerleri kontrol gruplarında saptanmıştır. Yonca kuru otu ve buğday samanı SAY katkı seviyesindeki artışa paralel şekilde pH'daki düşüş, rumende alkali ortamın kaynağını meydana getiren protein yıkılımının az olması ile açıklanabilir. Mısır silajına SAY'ın katkı seviyesine paralel olarak pH değeri yükselmiştir. Çalışmada belirlenen pH seviyeleri değişik esansiyel yağlarla çalışan Busquet ve ark. (2005), Calsamiglia ve ark. (2007) ile Canbolat ve ark. (2010)'nın bulgularıyla benzer bulunmuştur. P^H bulguları portakal yağı, nane yağı ve kekik yağıyla çalışmalar yapan Canbolat ve ark. (2011)'nin bildirdikleri sonuçlar ile de uyumludur.

Tablo 1. Buğday samanına farklı oranlarda SAY (*Salix Alba*) ilavesinin ham besin madde (% KM) içerikleri, *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Parametre	Kontrol	%10 SAY	%25 SAY	%50 SAY	%75 SAY	%100 SAY	SEM	P
Gaz ml/g KM	155.29 ^e	161.10 ^{de}	165.21 ^d	176.20 ^c	189.89 ^b	197.41 ^a	3.31	**
CH ₄ %	17.00 ^a	16.76 ^a	16.00 ^a	14.64 ^b	14.51 ^b	14.11 ^b	0.31	*
NH ₃ -N mg/dl	19.11 ^b	22.56 ^a	24.45 ^a	24.99 ^a	25.41 ^a	25.60 ^a	0.63	**
pH	7.03 ^a	6.98 ^c	7.00 ^b	6.99 ^{bc}	6.99 ^{bc}	6.97 ^c	0.01	***
KM%	95.85 ^a	95.75 ^b	95.61 ^c	95.36 ^d	95.12 ^e	94.87 ^f	0.07	***
IVOMS %KM	45.93 ^c	46.18 ^c	49.14 ^b	49.23 ^b	56.24 ^a	56.19 ^a	0.90	***
ME MJ/kg KM	6.83 ^d	6.92 ^d	7.33 ^c	7.50 ^c	8.74 ^b	8.95 ^a	0.18	***
HP %KM	3.59 ^f	4.78 ^e	6.57 ^d	9.54 ^c	12.2 ^b	15.49 ^a	0.88	***
ADF %KM	48.33 ^a	46.29 ^b	43.24 ^c	38.15 ^d	33.05 ^e	27.96 ^f	1.51	***
NDF %KM	77.37 ^a	72.96 ^b	66.34 ^c	55.31 ^d	44.27 ^e	33.24 ^f	3.27	***
HK %KM	12.18 ^a	11.88 ^b	11.42 ^c	10.67 ^d	9.91 ^e	9.15 ^f	0.23	***

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir, HP: Ham protein, KM: Kuru madde, SAY: Söğüt ağacı yaprağı, (-): $P > 0.05$, (*): $P < 0.05$, (**): $P < 0.01$, (***): $P < 0.001$.

Tablo 2. Yonca kuru otuna farklı seviyelerde SAY (*Salix Alba*) ilavesinin *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Parametre	Kontrol	%10 SAY	%25 SAY	%50 SAY	%75 SAY	%100 SAY	SEM	P
Gaz ml/g KM	238.42 ^a	212.36 ^b	196.61 ^{cd}	190.24 ^d	202.11 ^c	189.89 ^d	3.67	***
CH ₄ %	27.70 ^a	21.76 ^b	21.15 ^b	17.00 ^c	15.49 ^d	14.11 ^d	0.98	***
NH ₃ -N mg/dl	35.21 ^a	32.70 ^a	32.74 ^a	27.06 ^b	27.95 ^b	22.56 ^c	0.98	***
pH	7.04 ^a	7.01 ^b	7.01 ^b	7.00 ^b	6.99 ^b	6.97 ^c	0.01	***
KM %	92.63 ^f	92.85 ^e	93.19 ^d	93.75 ^c	94.31 ^b	94.80 ^a	0.17	***
IVOMS %KM	63.84 ^a	59.09 ^b	56.57 ^{cd}	55.71 ^d	58.09 ^{bc}	56.19 ^d	0.61	***
ME MJ/kg KM	9.95 ^a	9.21 ^b	9.19 ^{bc}	8.95 ^{bd}	8.86 ^d	8.78 ^d	0.09	***
HP %KM	12.99 ^f	13.24 ^e	13.62 ^d	14.24 ^c	14.87 ^b	15.49 ^a	0.19	***
ADF %KM	34.74 ^a	34.06 ^b	33.05 ^c	31.35 ^d	29.66 ^e	27.96 ^f	0.50	***
NDF %KM	38.14 ^a	37.65 ^b	36.92 ^c	35.69 ^d	34.47 ^e	33.24 ^f	0.36	***
HK %KM	9.55 ^a	9.51 ^b	9.45 ^c	9.35 ^d	9.25 ^e	9.15 ^f	0.30	***

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir, HP: Ham protein, KM: Kuru madde, SAY: Söğüt ağacı yaprağı, (***) : $P < 0.001$.

Tablo 3. Mısır silajına farklı seviyelerde SAY (*Salix Alba*) ilavesinin *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Parametre	Kontrol	%10 SAY	%25 SAY	%50 SAY	%75 SAY	%100 SAY	SEM	P
Gaz ml/g KM	248.92 ^a	238.35 ^b	210.90 ^c	211.64 ^c	200.05 ^d	189.89 ^e	4.40	***
CH ₄ %	27.24 ^a	23.01 ^b	22.44 ^b	20.67 ^c	16.69 ^d	14.11 ^e	0.92	***
NH ₃ -N mg/dl	30.44 ^a	28.72 ^a	28.09 ^a	27.17 ^a	26.47 ^a	22.56 ^b	0.69	***
pH	6.98 ^a	6.93 ^c	6.95 ^{bc}	6.98 ^a	6.96 ^{ab}	6.97 ^{ab}	0.01	***
KM %	92.90 ^f	93.01 ^e	93.39 ^d	93.89 ^c	94.38 ^b	94.87 ^a	0.08	***
IVOMS % KM	63.01 ^a	60.72 ^b	56.86 ^{cd}	58.01 ^c	56.98 ^{cd}	56.19 ^d	0.53	***
ME MJ/kg KM	9.57 ^a	9.19 ^b	8.67 ^d	8.95 ^c	8.91 ^c	8.95 ^c	0.06	***
HP % KM	6.69 ^f	7.57 ^e	8.89 ^d	11.09 ^c	13.29 ^b	15.49 ^a	0.65	***
ADF % KM	32.50 ^a	32.05 ^b	31.37 ^c	30.23 ^d	29.10 ^e	27.96 ^f	0.34	***
NDF % KM	57.61 ^a	55.17 ^b	51.52 ^c	43.43 ^d	39.33 ^e	33.24 ^f	1.81	***
HK % KM	6.90 ^f	7.13 ^e	7.46 ^d	8.03 ^c	8.59 ^b	9.15 ^a	0.17	***

Aynı satırda farklı harf taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistik bakımdan önemlidir, HP: Ham protein, KM: Kuru madde, SAY: Söğüt ağacı yaprağı, (***) : $P < 0.001$.

Bütün gruplar dikkate alındığında rumen içeriği NH₃-N miktarı 19.11-35.21 mg/dl aralarında değişmiştir. En yüksek NH₃-N SAY içermeyen yonca ve mısır silajı gruplarında, en düşüğü ise 19.11 mg/dl ile söğüt yaprağı bulunmayan buğday samanı grubunda saptanmıştır. Yonca kuru otu ve mısır silajı gruplarındaki rumen içeriği NH₃-N seviyesindeki azalma, tanenlerin öncelikle rumende bulunan mikroorganizmalarının etkinliğini azaltması ile aminoasitlerin deaminasyonunun önlenmesinden kaynaklanmaktadır (Mcintosh ve ark., 2003). Yapılan bir araştırmada bitkilerde var olan tanenlerin doğru dozda kullanılması durumunda rumende parçalanmış protein miktarını düşürerek, ince bağırsağa geçen by pass protein miktarlarını yükselttiği bildirilmiştir (Carulla ve ark., 2005). Ruminantlarda NH₃-N şeklinde azot kaybının önlenmesi, verim kayıpları ve atmosfere CH₄ ile NH₃-N gazları salınımlarını düşürerek çevre kirliliğini önleyebileceği bildirilmektedir (Calsamiglia ve ark., 2007; Tamminga, 1996). Wallace ve ark. (2002), rumende NH₃-N oluşumunun düşmesinin beslenme açısından faydalı olduğunu bildirmişlerdir. Busquet ve ark. (2006) da rumen içeriğine sırasıyla; 0, 3, 30, 300 ve 3000 mg/l düzeylerinde kekik yağı ilavesinin NH₃-N düzeyini %30-50 aralarında düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Agarwal ve ark. (2009) rumen içeriğine eklenen nane yağının amonyak seviyesini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Canbolat ve ark. (2011)'ı rumen içeriğine 400 mg/l kekik yağı, portakal yağı ve nane yağı ilave edilmesinin NH₃-N'nu kontrol grubuna göre önemli düzeyde düşürdüğünü saptamışlardır. Bu çalışmada NH₃-N parametresi ile ilgili olarak ortaya çıkan sonuçlar yukarıda sayılan çalışma sonuçlarıyla uyumludur. Bir başka çalışmada Hristov ve ark. (2008) kısa süre zarfında *in vitro* inkübasyon denemelerinde, adaçayı ve biberiye yağlarının 10 ve 100 mg/l dozlarının ruminal NH₃-N konsantrasyonu üzerine istatistikî açıdan etkilerinin bulunmadığını bildirmişlerdir. Bu araştırmada saptanan NH₃-N düzeyleri, kekik yağının farklı dozları (0, 3, 30, 300 ve 3000 mg/l rumen sıvısı) ile çalışan Busquet ve ark. (2005)'nın bulgularından yüksek, timolun farklı dozları (0, 5, 50, 500 ve 5000 mg/l rumen sıvısı) ile çalışan Castillejos ve ark. (2006)'nın bulgularıyla benzerdir.

Bu araştırma sonuçlarına göre, SAY'nın kaba yemlere eklenmesi ile NH₃-N, CH₄, İVOMS ve ME parametrelerinde önemli gelişmeler görülmüştür. Ruminant beslemede küresel ısınmaya sebep olan sera gazlarının azaltılması hem çevre hem de ruminantlarda CH₄'dan kaynaklanan enerji kaybının azaltılması günümüzde önem arz eden konuların başında gelmektedir. Ruminant kaynaklı sera gazı

oluşumunun düşürülmesi, ruktusla CH₄ kaynaklı enerji kaybının azaltılması ve rumende NH₃-N oluşumunun düşürülmesi ruminant hayvanların beslenmesi açısından faydalı olacağı düşüncesiyle SAY'nın ruminant rasyonlarında kullanılması önemli bir fayda sağlayacaktır. Fakat rasyonlara eklenecek SAY'nın hayvansal üretim ve yem tüketimi üzerine etkisinin bütünüyle ortaya konulabilmesi için *in vivo* çalışmalara ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

- Agarwal N, Shekhar C, Kumar R, Chaudhary LC, Karma DN, 2009: Effect of peppermint (*Mentha piperita*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim Feed Sci Technol*, 148, 321-327.
- Akiyama H, Fujii K, Yamasaki O, Oono T, 2001: Antibacterial Action of Several Tannins Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48, 487-491.
- Anonim, 20016: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Söğüt>, Erişim Tarihi; 09.05.2016.
- AOAC, 2005: Official Methods of Analysis of AOAC international, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA.
- Banerjee A, Dasgupta N, De B, 2005: *In vitro* study of antioxidant activity of syzgium cumini fruit. *Food Chemistry*, 90, 727-733.
- Başer CHK, 2002: Fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler. 14. Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı, Bildiriler (29-31 Mayıs), Eskişehir.
- Baytop T, 1984: Türkiye' de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün). İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3255, Eczacılık Fakültesi No:40, 93, 167, 169, 195, 275, 327-330, 357, 382, 420.
- Benchaar C, Greathead H, 2011: Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants. *Anim Feed Sci Technol*, 166-167, 338-355.
- Benchaar C, Petit HV, Berthiaume R, Ouellet DR, Chiquette J, Chouinard PY, 2007: Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *J Dairy Sci*, 90, 886-897.
- Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C, 2006: Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci*, 89, 761-771.
- Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C, 2005: Screening for the effects of natural plant extracts and secondary plant metabolites on rumen microbial fermentation in continuous culture. *Anim. Feed Sci Technol*, 123-124, 597-613.
- Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A, 2007: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci*, 90, 2580-2595.

- Canbolat Ö, Kalkan H, Karaman Ş, Filya İ, 2011: Esansiyel yağların sindirim, rumen fermantasyonu ve mikrobiyal protein üretimi üzerine etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17(4): 557-565.
- Canbolat Ö, Karaman Ş, Filya İ, 2010: Farklı Kekik Yağı Dozlarının Yemlerin Sindirimi ve Rumen Fermantasyonu Üzerine Etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16(6): 933-939.
- Cardozo PW, Calsamiglia S, Ferret A, Camel C, 2004: Effects of Natural Plant Extracts on Ruminant Protein Degradation and Profiles in Fermentation Continuous Culture. *J Anim Sci*, 82, 3230-3236.
- 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.
- Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A, 2006: Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. *J Dairy Sci*, 89, 2649-2658.
- Castillejos L, Calsamiglia S, Martin-Tereso J, 2008: Ter Wijlen H, In vitro evaluation of effects of essential oils at three doses on ruminal fermentation of high concentrate feedlot-type diets. *Anim. Feed Sci Technol*, 145, 259-270.
- Chaves AV, He ML, Yang WZ, Hristov AN, McAllister TA, Benchaar C, 2008: Effects of essential oils on proteolytic, deaminative and methanogenic activities of mixed ruminal bacteria. *Can J Anim Sci*, 88, 117-122.
- Evans JD, Martin SA, 2000: Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Curr Microbiol*, 41, 336-340.
- Hagerman EA, Robbins TC, Weerasuriya Y, Wilson CT, McArthur C, 1992: Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of Range Management*, 45 (1): 57-62.
- Houghton JT, Callander BA, Varney SK, 1992: Climate Change, The Supplementary Report to the IPCC Scientific Assessment, NY, USA: Cambridge University Press.
- Hristov AN, Ropp JK, Zaman S, Melgar A, 2008: Effects of essential oils on in vitro ruminal fermentation and ammonia release. *Animal Feed Science and Technology* 144, 55-64.
- Jarvis SC, Lovell RD, Panayides R, 1995: Patterns of methane emissions from excreta of grazing animals. *Soil Biol Biochem*, 27 (12): 1581-1588.
- Johnson DE, Hill TM, Ward GM, 1992: Methane emissions from cattle; global warming and management issues, In Proc. Minnesota Nutr.Conf., Minnesota Ext.Serv., Univ. Minnesota, St Paul.
- Kaçar D, 2008: Screening of some plant species for their total antioxidant and antimicrobial activities. Master thesis, İzmir Institute of Technology, İzmir.
- Kamalak A, Canbolat Ö, Ozkan CO, Atalay AI, 2011: The effect of essential oil (Thymol) supplementation on in vitro gas production profiles and fermentation end products of alfalfa hay. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17(2): 211-216.
- Kamalak A, Canbolat Ö, Gürbüz Y, Özay O, Erer M, Özkan ÇÖ, 2005: Kondanse Taninin Ruminant Hayvanlar Üzerindeki Etkileri Hakkında Bir İnceleme. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8(1): 132-137.
- Macheboeuf D, Morgavi DP, Papon Y, Mousset JL, 2008: Arturo- Schaan M. Dose-response effects of essential oils on in vitro fermentation activity of the rumen microbial population. *Anim Feed Sci Technol*, 145, 335-350.
- Makkar HPS, Blummel M, Becker K, 1995: Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and their implication in gas production and true digestibility in vitro techniques. *Br J Nutr*, 73, 897-913.
- Markham R, 1942: Distillation apparatus suitable for microkjeldahl analysis. *Biochem J*, 36, 790.
- Mcintosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ, Beever DA, Newbold CJ, 2003: Effects of essential oil on rumenial microorganism and their protein metabolism. *Appl Environ Microbiol*, 69(8): 5011-5014.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W, 1988: Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research Development*, 28, 7-55.
- Newbold CJ, McIntosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ, 2004: Effect of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol*, 114, 105-112.
- Newbold CJ, Wallace RJ, Watt ND, Richardson AJ, 1988: The effect of the novel ionophore tetronasin (ICI 139603) on ruminal microorganisms. *Appl Environ Microbiol*, 54, 544-547
- Patra AK, Saxena J, 2009: Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 96, 363-375.
- Radeleff RD, 1970: Veterinary Toxicology. Philadelphia, Lea&Febiger, 33.
- Scalbert A, 1991: Antimicrobial properties of tannin. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- Silanikove N, Perevoltsky A, Provenza FD, 2001: Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postgestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 69-81.
- SPSS, 2004: Windows User's Guide. Version 13.0, SPSS Inc., Michigan Ave., Illinois, USA., Chicago.
- Şener S, Yıldırım M, 2000: Veteriner Toksikoloji. Teknik Yayıncılık, 221-223.
- Tammaing S, 1996: A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J Anim Sci*, 74, 3112-3124.
- Thornton JH, Owens FN, 1981: Monensin supplementation and in vitro methane production by steers. *Journal of Animal Science*, 52, 628-634.
- 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.
- Wallace RJ, McEwan NR, McIntosh M, Teferedegne B, Newbold CJ, 2002: Natural products as manipulators of rumen fermentation. *Asian-Aust J Anim Sci*, 15(10): 1458-1468.
- Yost WM, Young JW, Schmidt SP, McGilliarg AD, 1977: Gluconeogenesis in ruminants: Propionic acid production from a high-grain diet fed to cattle. *Journal of Nutrition*, 107, 2036-2043.

**Bu araştırma makalesi "Bazı kaba yemlere farklı seviyelerde ilave edilen söğüt ağacı (*salix alba*) yaprağının *in vitro* sindirim ve metan oluşumu üzerine etkisi" isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

***Yazışma Adresi:** Mehmet AVCI

Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa, Türkiye
e-mail: mavci@harran.edu.tr