

## Farklı Kekik Yağı Dozlarının Mısır Silajının Sindirimi ve Rumen Fermantasyonu Üzerine Etkileri

Önder CANBOLAT \*  Şadımın KARAMAN \* İsmail FİLYA \*

\* Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, TR-16059 Görükle, Bursa -TÜRKİYE

Makale Kodu (Article Code): KVFD-2010-1959

### Özet

Bu araştırma, rumen sıvısı (RS)'na 0 (kontrol), 50, 100, 200, 400, 600 ve 800 mg/L kekik yağı (KY) ilavesinin *in vitro* gaz üretim tekniğiyle mısır silajının, organik madde sindirilebilirliği (OMS), metabolik enerji (ME) ile rumen fermantasyonu üzerine olan etkilerinin saptanması amacı ile yapılmıştır. Rumen sıvısına KY ilavesi mısır silajının *in vitro* gaz üretimi ile OMS ve ME içeriğini düşürmüştür ( $P<0.05$ ). Rumen sıvısına farklı dozlarda KY ilavesi rumen sıvısı toplam uçucu yağ asitleri (TUYA), asetik asit (AA), propiyonik asit (PA), butirik asit (BA) ve AA/PA oranı ile amonyak ( $NH_3$ ) düzeyini önemli düzeyde düşürürken, rumen pH'sını ise artırmıştır. Ayrıca KY ilavesi karbondioksit ( $CO_2$ ) ve metan ( $CH_4$ ) gazı üretimini de azaltmıştır ( $P<0.05$ ). Yukarıda sıralanan parametreler üzerinde en etkili KY dozunun 600 ve 800 mg/L RS olduğu saptanmıştır. Araştırma sonucunda, ruminant beslemede bu dozların altında KY kullanımının uygun olacağı, yüksek dozların ise hayvanların yem değerlendirme ve verim performansını düşürebileceği belirlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Kekik yağı, Gaz üretimi, Uçucu yağ asitleri, Sindirilebilirlik, Metan

## The Effect of Different Doses of Oregano Oil on Corn Silage Digestive and Rumen Fermentation

### Summary

The objective of this study was to determine the effect of inclusion of oregano oil (OO) (0 (control), 50, 100, 200, 400, 600 and 800 mg/L) on the incubation on gas production, organic matter digestibility (OMD) and metabolizable energy (ME) using *in vitro* gas production technique. The inclusion of oregano oil significantly ( $P<0.05$ ) decreased the *in vitro* gas production, OMD and ME contents of maize silage. The inclusion of oregano oil in different doses decreased the total volatile fatty acids (VFA), acetic acid, propionic acid, butyric acid, acetic acid/propionic acid ratio and ammonia level whereas the increased the rumen pH. In addition, the inclusion of oregano oil significantly ( $P<0.05$ ) decreased  $CO_2$  and  $CH_4$  production. The inclusion of oregano oil in 600 and 800 mg/L has been found to be the most effective doses. As a conclusion, oregano oil in a ratio which is lower than 600-800 mg/L should be used in ruminant nutrition. The higher doses may result in a decrease feed efficiency and animal performance.

**Keywords:** Oregano oil, Gas production, Volatile fatty acids, Digestibility, Methane

### GİRİŞ

Çiftlik hayvanlarının çeşitli patojenlerden korunması, büyümeyi uyarması ve elde edilen ürün miktarının artırılması için uzun yıllar antibiyotiklerden geniş ölçüde yararlanılmıştır. Bu yararlanma patojenlere karşı hayvanlarda rezistans gelişimi riskini artırması <sup>1,2</sup> ve gıda güvenliği açısından, başta Avrupa Birliği ülkeleri olmak üzere Türkiye'de de antibiyotiklerin büyüme performan-

sını artırıcı olarak yemlere katılması yasaklanmıştır <sup>3,4</sup>. Bu durum antibiyotiklere alternatif yeni yem katkı maddelerinin geliştirilmesine yönelik çalışmaları hızlandırmış ve bu bağlamda, aromatik bitki ekstraktları (esansiyel yağlar) ve bunların aktif bileşenleri üzerinde durulmuştur. Yapılan çalışmalar bu bitkilerden elde edilen esansiyel yağların çeşitli mikroorganizmalara karşı bakterisit ve



İletişim (Correspondence)



+90 224 2941558



canbolat@uludag.edu.tr

fungusit etkilerinin olduğunu ortaya konmuştur <sup>5-9</sup>.

Esansiyel yağların antimikrobiyal özellikleri nedeniyle antibiyotiklere alternatif olması düşüncesinden yola çıkılarak, rumen fermantasyonunun kontrolünde kullanılması gündeme gelmiştir <sup>10-12</sup>. Konuyla ilgili olarak yapılan ilk çalışmalarda esansiyel yağların rumen bakterileri üzerinde farklı etkilere sahip olduğu, bazı durumlarda mikrobiyal aktiviteyi uyardığı, çoğunlukta olumsuz etkilediği belirlenmiştir <sup>8,10</sup>. Canbolat <sup>13</sup> kuzu besi rasyonlarına 5 g/baş/gün kekik yağı (KY) ilavesinin besi performansına olumlu etkisi olmamasına rağmen, rumen sıvısı uçucu yağ asitleri, *in vitro* gaz üretimi, rasyonların sindirimi ve metabolik enerji (ME) düzeyi ile mikrobiyal protein üretimini (MPÜ) olumsuz etkilediğini bildirmiştir. Benzer bulgular Evans ve Martin <sup>14</sup>, Busquet ve ark. <sup>15</sup> ile Castillejos ve ark.'nın <sup>7</sup> yapmış olduğu çalışmalarda da görülmüştür. Bozkurt ve ark. <sup>16</sup> KY'nın yemlerin kuru madde ve organik madde sindirimi (OMS)'ni önemli düzeyde düşürdüğünü saptamışlardır (P<0.05).

Bu çalışmada, KY'nın farklı dozlarının (0, 50, 100, 200, 400, 600 ve 800 mg/L rumen sıvısı (RS)) *in vitro* gaz üretimi, yemlerin sindirimi ve rumen fermantasyonu (pH, uçucu yağ asitleri (UYA), amonyak (NH<sub>3</sub>) üretimi) üzerine olan etkilerinin saptanması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOT

### Materyal

Araştırmanın yem materyalini Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yetiştirilen ve silolan mısır silajı oluşturmuştur. Mısır silajı 65°C'de 48 saat kurutulmuş ve daha sonra 1 mm elek çapına sahip değirmende öğütülerek araştırmada kullanılmıştır. Denemede kullanılan kekik yağı (*Origanum vulgare* L.) özel bir firmadan (Sigma-Aldrich) saf olarak sağlanmıştır (katalog no: W28281-2). Araştırmada *in vitro* gaz üretim tekniğinin uygulaması için rumen kanüllü 3 baş kıvrıkcık koç kullanılmış ve hayvanlar deneme süresince yonca kuru otu (%60) ve yoğun yem karması (%17 ham protein, 2700 kcal/kg ME KM) temeline dayanan rasyonla (%40) yemlenmişlerdir.

### Metot

#### *In vitro* Gaz Üretim Tekniğinin Uygulanması

Yem ham maddelerinin *in vitro* koşullarda sindirilebilirlik ve ME düzeyinin saptanmasında Menke ve Steingass <sup>17</sup> tarafından bildirilen "*in vitro* gaz üretim tekniği" kullanılmıştır. Yem ham maddelerinin gaz üretim miktarları ile ME ve OMS'nin saptanmasında 100 mL hacimli özel cam şırıngalara (Model Fortuna, Häberle

Labortechnik, Lonsee-Ettlenschief, Germany) üç paralel olacak şekilde KY'nın farklı dozları (0, 50, 100, 200, 400, 600 ve 800 mg /L RS) için yaklaşık 200±10 mg/KM mısır silajı örneği konmuştur. Daha sonra üzerine Menke ve ark. <sup>18</sup> tarafından bildirilen yöntemle göre hazırlanan RS/tampon çözeltisinden 30 mL ilave edilmiştir. Bu işlemde sonra tüpler 39°C'deki çalkalamalı su banyosunda inkübasyona alınmışlar ve sırasıyla 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96. saatlerde fermantasyonla oluşan gaz miktarları saptanmıştır.

İnkübasyonun sonunda şırıngalar içerisinde kalan rumen sıvısında pH, NH<sub>3</sub> ve TUYA ile birlikte bireysel olarak asetik, propiyonik, butirik, izobutirik, valerik ve izovalerik asitleri saptanmıştır. *In vitro* ortamda fermantasyon ile oluşan karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve metan (CH<sub>4</sub>) gazları ise inkübasyon sonunda elde edilen rumen sıvılarında yapılan UYA'den yararlanarak aşağıdaki eşitlikler ile hesaplanmıştır <sup>19</sup>.

$$\begin{aligned} \text{Karbondioksit, CO}_2 &= \text{Asetik asit}/2 + \text{Propiyonik asit}/4 + \\ &1.5 \times \text{Butirik asit} \\ \text{Metan, CH}_4 &= (\text{Asetik asit} + 2 \times \text{Butirik asit}) - \text{CO}_2 \\ &(\text{UYA'nin konsantrasyonu mmol olarak alınmıştır}). \end{aligned}$$

Yem ham maddelerinin metabolik enerji (ME) ve organik madde sindirilebilirliği (OMS) Menke ve Steingass <sup>17</sup> tarafından bildirilen aşağıdaki eşitliklerle saptanmıştır.

$$\begin{aligned} \text{OMS, \%} &= 15.38 + 0.8453 \times \text{GÜ} + 0.0595 \times \text{HP} + 0.0675 \times \text{HK} \\ \text{ME, MJ/kg KM} &= 2.20 + 0.1357 \times \text{GÜ} + 0.0057 \times \text{HP} + \\ &0.0002859 \times \text{HY}^2 \end{aligned}$$

(GÜ: 200 mg kuru yem örneğinin 24 saat inkübasyon süresi sonundaki net gaz üretimi, HP: % ham protein, HY: % ham yağ ve HK: % ham kül).

#### Kimyasal Analizler

Mısır silajının kuru madde, ham kül, ham protein ve ham yağ analizi AOAC <sup>20</sup>'da bildirilen yöntemlere göre yapılmıştır. Hücre duvarı bileşenlerini oluşturan nötr deterjan lif (NDF), asit deterjan lif (ADF) ve asit deterjan lignin (ADL) analizi ise Van Soest ve Robertson <sup>21</sup> tarafından bildirilen yöntemlere göre ANKOM 200 Fiber Analyzer (ANKOM Technology, 2008) ile analiz edilmiştir.

Rumen sıvısı parametrelerinden pH dijital pH metre ile (Sartorius PB-20, Goettingen, Germany), NH<sub>3</sub> ise Kjeldahl metodundan yararlanarak Blümmel ve ark.'nın <sup>22</sup> bildirdikleri yöntemle göre saptanmıştır. Rumen sıvısı UYA Wiedmeier ve ark.'nın <sup>23</sup> önerdiği yöntemle göre gaz kromatografisi (Agilent Technologies 6890N gaz kromatografisi, Stabilwax-DA, 30 m, 0.25 mm ID, 0.25 µm df. Max. temp: 260°C. Cat. 11023) ile yapılmıştır. Kekik yağı bileşimi de aynı gaz kromatografi cihazı ile saptanmıştır (Agilent Technologies 6890N gaz kromatografisi, DB-502.2, 105 m x 0.53 mm I.D., 3.0 µm, Max temp, 280°C, Cat: O.I.A. 4430).

### İstatistik Analizler

Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiki olarak değerlendirilmesinde ortalamalar arasındaki farklılıkların saptanmasında varyans analizi (General Linear Model) Statistica <sup>24</sup>, görülen farklılıkların önem seviyelerinin belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testinden yararlanılmıştır <sup>25</sup>.

## BULGULAR

Araştırmada kullanılan mısır silajı ile KY'nın kimyasal bileşimleri saptanarak *Tablo 1*'de verilmiştir. Farklı dozlarda KY ilave edilmiş mısır silajlarının *in vitro* gaz üretimi, OMS ve ME içerikleri üzerine olan etkileri *Tablo 2*'de, *in vitro* gaz üretimi sonrası elde edilen rumen sıvısında rumen pH'sı, UYA'leri ve NH<sub>3</sub> düzeyi saptanarak *Tablo*

*3*'te verilmiştir. Farklı kekik yağı dozlarının CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> gazı üretimi üzerine etkileri saptanmış ve elde edilen bulgular *Tablo 4*'te verilmiştir.

**Tablo 1.** Mısır silajı ve kekik yağının (*Origanum vulgare* L.) kimyasal bileşimi

**Table 1.** Chemical composition of maize silage and oregano oil (*Origanum vulgare* L.)

	Mısır Silajı (g/kg KM)	Kekik Yağı (%)	
Organik maddeler	950.10	Karvakrol	72.49
Ham kül	49.90	Timol	3.78
Ham protein	81.13	γ-Terpinene	3.06
Ham yağ	28.13	Borneol	2.26
NDF	509.80	α-Pinene	1.22
ADF	281.33		
ADL	52.00		

NDF: Nötr deterjan lif; ADF: Asit deterjan lif; ADL: Asit deterjan lignin

**Tablo 2.** Kekik yağı ve farklı dozlarının *in vitro* gaz üretimi (mL), OMS ve ME içerikleri

**Table 2.** The effect of different doses of oregano oil on gas production (mL), organic matter digestibility (OMD) and metabolizable energy (ME)

Kekik Yağı	İnkübasyon Süresi (Saat)				OMS (%)	ME (MJ/kg KM)
	3	24	48	96		
0 (Kontrol)	17.00 <sup>a</sup>	62.36 <sup>a</sup>	72.00 <sup>a</sup>	76.50 <sup>a</sup>	68.62 <sup>a</sup>	10.71 <sup>a</sup>
50 mg	16.50 <sup>a</sup>	57.25 <sup>b</sup>	68.67 <sup>c</sup>	75.41 <sup>a</sup>	64.60 <sup>b</sup>	10.07 <sup>b</sup>
100 mg	15.50 <sup>ab</sup>	50.58 <sup>c</sup>	59.33 <sup>c</sup>	68.10 <sup>b</sup>	58.96 <sup>c</sup>	9.16 <sup>c</sup>
200 mg	15.31 <sup>bc</sup>	46.94 <sup>d</sup>	56.73 <sup>c</sup>	63.10 <sup>c</sup>	55.88 <sup>d</sup>	8.67 <sup>d</sup>
400 mg	12.75 <sup>c</sup>	43.83 <sup>d</sup>	51.58 <sup>d</sup>	59.17 <sup>d</sup>	53.26 <sup>d</sup>	8.20 <sup>e</sup>
600 mg	9.50 <sup>d</sup>	32.25 <sup>e</sup>	41.50 <sup>e</sup>	49.75 <sup>e</sup>	43.48 <sup>e</sup>	6.62 <sup>f</sup>
800 mg	8.88 <sup>d</sup>	31.96 <sup>e</sup>	39.17 <sup>e</sup>	48.36 <sup>e</sup>	43.22 <sup>e</sup>	6.58 <sup>f</sup>
*SH	0.759	1.128	1.075	1.046	0.954	0.152

\* P<0.05; OMS: Organik madde sindirimi; ME: Metabolik enerji; KM: Kuru madde; SH: Standart hata

**Tablo 3.** Kekik yağı ve farklı dozlarının rumen fermantasyon özelliklerine etkisi

**Table 3.** The effect of different doses of oregano oil on rumen fermentation

Kekik Yağı	UYA (mmol/L)					AA/PA	pH	NH <sub>3</sub> (mg N/100 mL)
	TUYA	AA	PA	BA	DUYA			
0 (Kontrol)	103.54 <sup>a</sup>	52.32 <sup>a</sup>	23.19 <sup>a</sup>	18.98 <sup>b</sup>	9.05 <sup>a</sup>	2.26 <sup>a</sup>	5.97 <sup>d</sup>	38.51 <sup>a</sup>
50 mg	97.57 <sup>b</sup>	49.92 <sup>a</sup>	22.09 <sup>ab</sup>	20.81 <sup>a</sup>	4.75 <sup>b</sup>	2.27 <sup>a</sup>	6.11 <sup>cd</sup>	36.87 <sup>ab</sup>
100 mg	87.94 <sup>c</sup>	51.25 <sup>a</sup>	23.69 <sup>b</sup>	9.71 <sup>c</sup>	3.29 <sup>c</sup>	2.16 <sup>b</sup>	6.26 <sup>c</sup>	34.87 <sup>b</sup>
200 mg	77.74 <sup>d</sup>	46.10 <sup>b</sup>	21.77 <sup>b</sup>	7.51 <sup>d</sup>	2.36 <sup>cd</sup>	2.11 <sup>ac</sup>	6.49 <sup>b</sup>	26.48 <sup>c</sup>
400 mg	68.43 <sup>e</sup>	39.88 <sup>c</sup>	19.06 <sup>c</sup>	7.27 <sup>d</sup>	2.22 <sup>de</sup>	2.09 <sup>c</sup>	6.68 <sup>a</sup>	18.47 <sup>d</sup>
600 mg	63.26 <sup>ef</sup>	36.41 <sup>d</sup>	18.87 <sup>c</sup>	6.96 <sup>d</sup>	1.02 <sup>e</sup>	1.93 <sup>d</sup>	6.79 <sup>a</sup>	12.72 <sup>e</sup>
800 mg	62.67 <sup>f</sup>	35.56 <sup>d</sup>	18.62 <sup>c</sup>	6.53 <sup>d</sup>	1.96 <sup>de</sup>	1.91 <sup>d</sup>	6.83 <sup>a</sup>	12.48 <sup>e</sup>
SH	1.660	0.995	0.556	0.517	0.118	0.026	0.065	0.790

\* P<0.05; TUYA: Toplan uçucu yağ asidi; AA: Asetik asit; PA: Propiyonik asit; BA: Butirik asit; DUYA: Diğer uçucu yağ asitleri; AA/PP: Asetik asit/Propiyonik asit; SH: Standart hata

**Tablo 4.** Kekik yağı ve farklı dozlarının karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve metan (CH<sub>4</sub>) üretimi**Table 4.** The effect of different doses of oregano oil on carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) and methane (CH<sub>4</sub>)

Kekik Yağı	Gaz Üretimi (mmol/L)	
	CO <sub>2</sub>	CH <sub>4</sub>
0 (Kontrol)	60.43 <sup>a</sup>	29.85 <sup>a</sup>
50 mg	61.69 <sup>a</sup>	29.84 <sup>a</sup>
100 mg	46.11 <sup>b</sup>	24.56 <sup>b</sup>
200 mg	39.78 <sup>c</sup>	21.36 <sup>c</sup>
400 mg	35.62 <sup>d</sup>	18.81 <sup>d</sup>
600 mg	33.36 <sup>de</sup>	16.97 <sup>e</sup>
800 mg	32.23 <sup>e</sup>	16.39 <sup>e</sup>
SH	1.061	0.505

\* P<0.05; CO<sub>2</sub>: Karbondioksit; CH<sub>4</sub>: Metan; SH: Standart hata

## TARTIŞMA ve SONUÇ

### Mısır Silajı ve Kekik Yağının Kimyasal Bileşimleri

**Tablo 1** incelendiğinde mısır silajının organik madde, ham kül, ham protein, ham yağ, NDF, ADF ve ADL içerikleri sırasıyla; 950.10, 49.90, 81.13, 28.13, 509.80, 281.33 ve 52.00 g/kg KM arasında değiştiği görülmektedir. Mısır silajının ham besin maddeleri bileşimi Filya ve ark.<sup>26</sup> ve Öztürk ve ark.'nın<sup>27</sup> bildirdikleri besin maddeleri bileşimi ile benzer bulunmuştur. Kekik yağının aktif bileşenlerinden karvakrol %72.49 ile en yüksek düzeyde bulunurken, bunu sırasıyla timol (%3.78),  $\gamma$ -terpinene (%3.06), borneol (%2.26) ve  $\alpha$ -pinene (%1.22) izlemiştir. Kekik yağı aktif bileşenleri Bampidis ve ark.'nın<sup>28</sup> bulgularından farklı, Calsamiglia ve ark.'nın<sup>7</sup> bulguları ile benzer bulunmuştur. Kekik yağı bileşimindeki farklılığın temel nedeni kekik çeşit ve varyetelerinin farklılığından kaynaklandığı söylenebilir.

### Kekik Yağının *in vitro* Gaz Üretimi ile OMS ve ME Üzerine Etkisi

Farklı dozlarda KY ilave edilmiş mısır silajlarının *in vitro* gaz üretimi, OMS ve ME içerikleri üzerine olan etkileri **Tablo 2**'de verilmiştir. Rumen sıvısına farklı dozlarda KY ilavesi, mısır silajının *in vitro* gaz üretimini tüm inkübasyon dönemlerinde KY dozunun artışına bağlı olarak düşürmüştür (P<0.05). Kekik yağı dozlarına bağlı olarak 96 saat süre sonundaki gaz üretimi 76.50 ile 48.36 mL arasında değişmiştir. En yüksek gaz üretimi 76.50 mL ile KY ilave edilmeyen kontrol grubunda, en düşük ise 48.36 mL ile 800 mg KY/L RS ilave edilen grupta saptanmıştır. Ancak *in vitro* gaz üretimi rumen sıvısına 600 ve 800 mg KY/L ilave edilen gruplarda, tüm inkübasyon dönemlerinde de benzer bulunmuştur. Rumen sıvısına

ilave edilen KY dozunun artışına bağlı olarak gaz üretimindeki azalma, KY aktif bileşenlerinden karvakrol ve timol başta olmak üzere diğer aktif bileşenlerinin antimikrobiyal özellik göstermesi<sup>7,15,29</sup> ve bunun sonucu olarak rumen mikroorganizmalarının sayı ve fonksiyon olarak sınırlanmaları<sup>13,30</sup> ile açıklanabilir. Yapılan birçok çalışmada da<sup>13,31</sup> esansiyel yağı ve dozunun artması *in vitro* gaz üretimini azaltmıştır. Bu araştırmalardaki bulgular araştırma sonuçlarını desteklemektedir.

Rumen sıvısına farklı dozlarda KY ilavesi, mısır silajlarının OMS içerikleri %43.22 ile %68.62 arasında değişmiş ve KY dozları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (P<0.05). En yüksek %68.62 ile kontrol grubunda, en düşük ise %43.22 ile 800 mg KY/L RS ilave edilen grupta saptanmıştır. Mısır silajının ME düzeyi de KY ilavesine bağlı olarak 10.71 ile 6.38 MJ/kg KM arasında değişmiştir. Mısır silajının ME içeriği de KY dozundaki artışa bağlı olarak azalmıştır. En düşük ME düzeyi 800 mg KY/L RS ilave edilen grupta saptanmıştır. Kekik yağı dozunun artışına bağlı olarak OMS ve ME içeriğindeki azalma başta rumen fermantasyonunun sınırlanması<sup>7,14</sup> olmak üzere, hesaplamada kullanılan yöntemden kaynaklanmaktadır. Organik madde sindirimi ve ME değerlerinin hesaplanması için 24. saatte üretilen gaz hacminin (mL gaz/24 saat) kullanımı OMS ve ME'de farklılığa neden olmuştur. Kekik yağı dozunun artması antimikrobiyal etkiyi<sup>6</sup> artırarak daha düşük gaz üretimine (**Tablo 2**) buda daha düşük OMS ve ME içeriğine neden olduğu söylenebilir. Araştırmada saptanan OMS düzeyi ile ME içerikleri KY ile çalışan Canbolat<sup>13</sup> ve Martinez ve ark.<sup>32</sup> ile Bozkurt ve ark.'nın<sup>16</sup> bulgularıyla benzer bulunmuştur.

Kekik yağı dozunun artışına bağlı olarak gaz üretimi, OMS ve ME düzeyindeki azalma, KY bileşiminde bulunan karvakrol ve timol'ün lipofilik yapılarının rumen mikroorganizmalarını engellemesi ile açıklanabilir. Karvakrol ve timol'ün lipofilik özellikleri başta bakteriler olmak üzere diğer mikroorganizmaların hücre zarının geçirgenliğini artırarak, hücreden potasyum iyonunun (K<sup>+</sup>) sızmasına neden olmaktadır<sup>33,34</sup>. Bunun sonucu olarak hücre içi pH azalmakta ve hücre zarı özelliğini kaybederek, hücre içi sentez olayları engellenerek hücre ölmektedir<sup>35</sup>. Bu duruma bağlı olarak rumen sıvısında azalan bakteri sayısının, fermantasyonu sınırlayarak yemlerden yararlanma düzeyinin düşmesine neden olduğu da bildirilmektedir<sup>14,36</sup>.

### Kekik Yağının Rumen Fermantasyonu Üzerine Etkisi

Farklı dozlardaki KY'nın rumen fermantasyonu üzerine etkileri **Tablo 3**'te verilmiştir. Rumen sıvısına farklı dozlarda KY ilavesi TUYA ile bireysel uçucu yağ asitlerini (asetik, propiyonik ve butirik asit) önemli düzeyde düşür-



müştür ( $P<0.05$ ). Kekik yağı dozuna bağlı olarak rumen sıvısı TUYA'leri içeriği 103.54 ile 62.67 mmol/L, asetik asit içeriği 52.32 ile 35.56 mmol/L, propiyonik asit içeriği 23.19 ile 18.62 mmol/L, butirik asit içeriği ise 18.98 ile 6.53 mmol/L arasında değişmiştir. Toplam uçucu yağ asitleri ile bireysel (asetik, propiyonik, butirik asit) uçucu yağ asitleri üzerinde KY dozları etkili olmuştur. En etkili KY dozunun ise 800 mg KY/L RS olduğu saptanmıştır. **Tablo 3** incelendiğinde TUYA ile bireysel uçucu yağ sitleri üzerine 600 ve 800 mg KY/L RS ilave edilen grupların benzer sonuçlar verdiği saptanmıştır ( $P<0.05$ ).

Bu durum KY'nin rumen mikroorganizmaları üzerine sınırlayıcı, antibiyotik <sup>15,29</sup> etki yapması ile açıklanabilir. Kekik yağı dozunun artışına bağlı olarak rumen mikroorganizmalarının etkinliğinin düşmesi TUYA'leri ile bireysel uçucu yağ asitlerini düşürmüştür.

Busquet ve ark.'nın <sup>34</sup> yapmış oldukları bir çalışmada, karvakrol'ün (300 mg/L RS) rumen pH'sı ile butirik asit oranını artırdığı, TUYA'leri ile asetik asit ve propiyonik asit oranını ise düşürdüğünü bildirmişlerdir. Ayrıca Busquet ve ark.<sup>15</sup> da KY dozunun artışına (3, 30, 300 ve 3000 mg/t RS) bağlı olarak TUYA ile asetik asit düzeyinde azalma, propiyonik asit ve butirik asit düzeyinde ise artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. Castillejos ve ark.<sup>36</sup> ise timol'ün farklı dozlarının (0, 5, 50, 500 ve 5000 mg/L RS) TUYA'ni %28.5, amonyağı %31, propiyonik asiti %18.4 azalttığı, asetik asit ve propiyonik asit oranını %35.5 artırdığını saptamışlar ve bu araştırmalardan elde edilen sonuçlar, araştırma bulguları ile uyumlu bulunmuştur.

Rumende sentezlenen asetik asit/propiyonik asit oranı rumende bu asitleri üreten bakterilerin aktivitelerine göre değişmektedir. Rumende sellüloolitik aktiviteyi sınırlayan ve propiyonik asit aktivitesini artıran uygulamaların bu oranı etkilediği bildirilmektedir <sup>7,36</sup>. Araştırmada saptanan asetik asit/propiyonik asit oranı KY dozuna bağlı olarak 2.26 ile 1.91 arasında değişmiş olup, KY dozları arası farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). En yüksek asetik asit/propiyonik asit oranı KY içermeyen kontrol grubunda, en düşük ise 800 mg KY/L RS'nin olduğu grupta saptanmıştır. Araştırmada saptanan asetik asit/propiyonik asit oranı Castillejos ve ark.'nın <sup>36</sup> saptadıkları değerlerden düşük (3.55-3.66), sarmısak yağı ile çalışan Calsamiglia ve ark.'nın <sup>7</sup> saptadıkları değerlerle benzer saptanmıştır.

Araştırmada saptanan rumen sıvısı pH düzeyi KY dozuna bağlı olarak 5.97 ile 6.83 arasında değişmiş ve KY dozları arası farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). En düşük pH KY içermeyen kontrol grubunda, en yüksek ise 800 mg KY/L RS'nin olduğu grupta saptanmıştır. Kekik yağı dozunun artması rumen pH'sını artırmıştır. Kekik yağı dozunun artışına bağlı olarak pH'nın artması, rumen sıvısının asit ortamının kaynağını oluşturan uçucu yağ

asitlerinin azalması ile açıklanabilir (**Tablo 3**). Araştırmada saptanan pH düzeyleri, farklı esansiyel yağlar ile çalışan Castillejos ve ark.<sup>36</sup> ile Calsamiglia ve ark.'nın <sup>7</sup> bulguları tarafından da desteklenmektedir.

Rumen sıvısı NH<sub>3</sub> düzeyi KY dozu artışına bağlı olarak önemli düzeyde azalmıştır ( $P<0.05$ ). Amonyak miktarı KY dozlarına bağlı olarak 12.48 ile 38.51 mg N/100 mL arasında değişmiştir. En yüksek NH<sub>3</sub> KY bulunmayan kontrol grubunda, en düşük ise 12.48 mg N/100 mL ile 800 mg KY/L RS bulunan grupta saptanmıştır. Rumen sıvısı NH<sub>3</sub> düzeyindeki azalma başta rumen sıvısı mikroorganizmalarının etkinliğinin azalması yanında, esansiyel yağların amino asitlerin deaminasyonunu önlemesinden de kaynaklandığı bildirilmektedir <sup>37</sup>. Rumende NH<sub>3</sub> şeklinde azot kaybının azalması hayvan besleme açısından yarar sağlayacağı, yemin enerji ve azotundan yararlanmayı artıracığı bildirilmektedir. Ayrıca hayvanlardaki verim düşüklüğünün önüne geçeceği ve aynı zamanda atmosfere NH<sub>3</sub> ve CH<sub>4</sub> gazı salınımını azaltarak çevre kirliliğini önleyeceği de bildirilmektedir <sup>7,38</sup>. Wallace ve ark.<sup>10</sup> rumende NH<sub>3</sub> üretim oranındaki azalmanın besleme açısından yararlı olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmada saptanan rumen sıvısı NH<sub>3</sub> düzeyi farklı KY dozları (0, 3, 30, 300 ve 3000 mg/L RS) ile çalışan Busquet ve ark.'nın <sup>33</sup> bulgularından yüksek, farklı timol dozları (0, 5, 50, 500 ve 5000 mg/L RS) ile çalışan Castillejos ve ark.'nın <sup>36</sup> bulguları ile benzer bulunmuştur. Busquet ve ark.<sup>15</sup> da rumen sıvısına sırasıyla; 0, 3, 30, 300 ve 3.000 mg KY/L ilave edilmesi NH<sub>3</sub> miktarını %30 ile %50 arasında azaldığını bildirmişlerdir. Her iki araştırmacıda, esansiyel yağ dozu artışına bağlı olarak NH<sub>3</sub> üretiminin azaldığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar araştırma bulguları ile benzer bulunmuştur.

#### **Kekik Yağının Karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ve Metan (CH<sub>4</sub>) Gazı Üretimine Etkisi**

**Tablo 4**'te farklı dozlarda KY ilavesinin CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> gazı üretimine etkileri verilmiştir. Tablo incelendiğinde KY dozunun artışına bağlı olarak CO<sub>2</sub> gazı düzeyinde azalma meydana gelmiş ve bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Karbondioksit üretimi en yüksek 60.43 mmol/L ile KY içermeyen kontrol grubunda, en düşük ise 32.23 mmol/L ile 800 mg KY/L RS bulunan grupta saptanmıştır. Metan gazı üretimi ise KY dozlarına bağlı olarak 29.85 ile 16.39 mmol/L arasında değişmiştir. Kekik yağı dozlarının artışına (0, 50, 100, 200, 400, 600 ve 800 mg /L RS) bağlı olarak CH<sub>4</sub> gazı üretimi azalmış ve KY dozları arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Karbondioksit ve CH<sub>4</sub> gazı rumen ortamında yemlerin bakteriler tarafından parçalanması sonucu oluşan UYA ile hidrojen iyonlarını (H<sup>+</sup>) kullanan metajenik bakteriler tarafından üretilmektedir <sup>39</sup>. Metajenik bakteriler diğer rumen bakterilerinde olduğu gibi KY'nin antimikrobiyal

özelliğinden zarar görerek, sayıları azalmakta ve bu yolla CH<sub>4</sub> gazı oluşumu düşmektedir. Ruminant beslemede CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> gazı üretiminin azaltılması önem taşıyan konuların başında gelmekte ve CH<sub>4</sub> gazı üretimi ile yem enerjisinin %2-12'si kaybolduğu<sup>40</sup> ve küresel ısınmaya yol açtıkları bildirilmektedir<sup>41</sup>. Ayrıca CH<sub>4</sub> gazının küresel ısınmaya katkısı CO<sub>2</sub>'in 23 katı olması bakımından da önem taşımaktadır<sup>42</sup>. Dünyadaki sera gazı üretimine (yılda 80-115 milyon ton) ruminantların katkısı %18 düzeyinde olup oldukça önemli olduğu bildirilmektedir<sup>41</sup>. Bu açıdan ruminantların neden oldukları sera gazının azaltılmasında KY önemli bir kaynak olacağı söylenebilir.

Evans ve Martin<sup>13</sup> rumen sıvısına 400 µg/mL RS düzeyinde timol ilavesinin CH<sub>4</sub> gazı üretimini azalttığını bildirmişlerdir. Agarwal ve ark.<sup>43</sup> da nane yağının CH<sub>4</sub> üretimini dozun artışına bağlı olarak (0.33, 1.0 ve 2.0 µl/mL RS) sırasıyla; %19.9, %46 ve %75.6 azaldığını (P<0.001) bildirmişlerdir. Busquet ve ark.<sup>15</sup> da rumen sıvısına sırasıyla; 0, 3, 30, 300 ve 3000 mg KY/L ilavesinin CH<sub>4</sub> gazı üretiminin azaldığını bildirmişlerdir. Araştırmada saptanan CH<sub>4</sub> gazı üretimi Moss<sup>44</sup> ve Eun ve ark.'nın<sup>45</sup> koyunlarda saptadığı 31-33 mL CH<sub>4</sub>/g kuru madde (KM) ile Agarwal ve ark.'nın<sup>43</sup> mandalarda saptadıkları CH<sub>4</sub> gazı üretimi ile benzer, Blümmel ve ark.<sup>19</sup> saptadıkları değerlerden ise yüksek saptanmıştır.

Sonuç olarak, rumen sıvısına artan dozlarda KY ilave edilmesi başta *in vitro* gaz üretimi olmak üzere yemlerin OMS ve ME düzeyini önemli düzeyde düşürmüştür. Aynı durum rumen sıvısı metabolitleri içinde geçerli olup, KY dozunun artışına bağlı olarak azalmıştır. Araştırmadan elde edilen bulgular, yapılan diğer araştırma bulguları ile birlikte değerlendirildiğinde, ruminant hayvanların performanslarını düşürmeden kullanılacak KY dozunun düşük dozlar olduğu (100-200 mg KY/L RS) söylenebilir. Ayrıca araştırma sonuçları değerlendirildiğinde, KY'nın rumende amonyak (NH<sub>3</sub>) düzeyini azaltarak, rumende parçalanmayan (by-pass) protein içeriğinin artırılmasına katkı sağlayacağı da söylenebilir. Kekik yağının ruminant beslemede kullanımını sağlayacağı bir başka yarar ise CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> gazı üretimini azaltmasıdır. Bu yolla sera gazı etkisine sahip CH<sub>4</sub> üretiminin azalacağı da söylenebilir. Kekik yağının ruminant beslemede kullanımına yönelik çalışma sayısı artmasına rağmen, konu henüz yeterince aydınlatılmamıştır. Bu alanda *in vitro* ve *in vivo* yeni çalışmalar gerek olduğu söylenebilir.

## KAYNAKLAR

1. Bach Knudsen KE: Development of antibiotic resistance and options to replace antimicrobials in animal diets. *Proc Nutr Soc*, 60, 291-299, 2001.
2. Botsoglou NA, Florou-Paner P, Christaki E, Fletouris DJ, Spais AB: Effect of dietary oregano essential oil on performance

of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissues. *Br Poult Sci*, 43, 223-230, 2002.

3. Shane S: Mannan oligosaccharides in poultry nutrition: mechanisms and benefits. In, Jacques KA, Lyons TP (Eds): *Biotechnology in the Feed Industry, Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium*. pp. 65-77, Nottingham University Press, Nottingham, UK, 2001.
4. Anonim: Yem katkı maddeleri ve premikslerin üretimi, ithalatı, ihracatı, satışı ve kullanımı hakkında tebliğde değişiklik yapılmasına dair tebliğ (Tebliğ No: 2006/1). *T.C. Resmi Gazete*, 21 Ocak 2006, Sayı: 26056, 2006.
5. Bilge Oral N, Vatanserver L, Duman Aydın B, Sezer C, Güven A, Gülmez M, Baser KHC, Kürkcüoğlu M: Effect of oregano essential oil on biofilms formed By *Staphylococci* and *Escherichia coli*. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16 (Suppl-A): 23-29, 2010.
6. Friedman M, Henika PR, Mandrell RE: Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica*. *J Food Prot*, 65, 1545-1560, 2002.
7. Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci*, 90, 2580-2595, 2007.
8. Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A, Losa R: Effects of dose and adaptation time of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol*, 132, 186-201, 2007.
9. Aydın BD: Bazı tıbbi bitki ve baharatların gıda patojenleri üzerine antibakteriyel etkisinin araştırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 14 (1): 83-87, 2008.
10. Wallace RJ, McEwan NR, McIntosh M, Teferedegne B, Newbold CJ: Natural products as manipulators of rumen fermentation. *Asian-Aust J Anim Sci*, 15 (10): 1458-1468, 2002.
11. Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A, Losa R: Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. *Anim Feed Sci Technol*, 119 (1-2): 29-41, 2005.
12. Tekeli A, Çelik L, Kutlu HR: Plant extract: A new rumen moderator in ruminant diets. *Tekirdağ Zir Fak Derg*, 4 (1): 71-79, 2007.
13. Canbolat Ö: Seçmeli yemlemenin kuzularda besi performansı, karkas özellikleri, bazı rumen sıvısı ve kan parametreleri üzerine etkileri. *Doktora Tezi*. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 2006.
14. Evans JD, Martin SA: Effects of thymol on ruminal microorganisms. *Curr Microbiol*, 41, 336-340, 2000.
15. Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C: Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J Dairy Sci*, 89, 761-771, 2006.
16. Bozkurt Z, Görgülü M, Çelik L: Kekik (*Origanum vulgare*) ve çörekotu (*Nilgella sativa*) esansiyel yağı ile propolisin buğday samanının *in vitro* gerçek kuru madde, organik madde ve NDF sindirilebilirliğine etkisi. *IV. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi*, 24-28 Haziran Bursa, s. 94-97, 2007.
17. Menke KH, Steingass H: Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas

- production using rumen fluid. *Anim Res Develop*, 28, 9-55, 1988.
- 18. Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W:** The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J Agr Sci*, 93 (1): 217-222, 1979.
- 19. Blümmel M, Aiple K-P, Steingass H, Becker K:** A note on the stoichiometrical relationship of short chain fatty acid production and gas evolution *in vitro* in feedstuffs of widely differing quality. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 81, 157-167, 1999.
- 20. Association of Official Analytical Chemists (AOAC):** Official Method of Analysis. 15<sup>th</sup> ed., pp. 66-88. Washington, DC, USA, 1990.
- 21. Van Soest P, Robertson JB:** A laboratory manual for animal science 612. Cornell University, Ithaca, New York, USA, 1985.
- 22. Blümmel M, Steingass H, Becker K:** The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and N-15 incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *Br J Nutr*, 77, 911-921, 1997.
- 23. Wiedmeier RD, Arambell MJ, Walters JL:** Effect of orally administered pilocarpine on ruminal characteristics and nutrient digestibility in cattle. *J Dairy Sci*, 70, 284-289, 1987.
- 24. Statistica: Minitab Inc:** Minitab for Windows, Release 11.1. Minitab Inc., State College, 3081 Enterprise Drive, PA 16801-3008, USA, 1996.
- 25. Snedecor GW, Cochran WG:** Statistical Methods. Iowa State University Press, Ames, 1967.
- 26. Filya I, Karabulut A, Canbolat Ö, Degirmencioglu T, Kalkan H:** Bursa bölgesinde yetiştirilen yem hammaddelerinin besleme değeri ve hayvansal organizmada optimum değerlendirme koşullarının *in vivo* ve *in vitro* yöntemlerle saptanması üzerinde araştırmalar. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bilimsel Araştırmalar ve İncelemeler Serisi*. 1-16, No: 25, Bursa, 2002.
- 27. Öztürk D, Kizilsimsek M, Kamalak A, Canbolat Ö, Özkan CÖ:** Effects of ensiling alfalfa with whole maize crop on the chemical composition and nutritive value of silage mixtures. *Asian-Aust J Anim Sci*, 19 (4): 526-532, 2006.
- 28. Bampidis VA, Christodoulou V, Florou-Paneri P, Christaki E, Spais AB, Chatzopoulou PS:** Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. *Anim Feed Sci Technol*, 121, 285-295, 2005.
- 29. Dorman HJD, Deans SG:** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*, 88, 308-316, 2000.
- 30. Newbold CJ, McIntosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ:** Effect of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol*, 114, 105-112, 2004.
- 31. Benchaar C, Chaves AV, Fraser GR, Wang Y, Beuchemin KA, McAllister TA:** Effects of essential oils and their components on *in vitro* rumen microbial fermentation. *Can J Anim Sci*, 87, 413-419, 2007.
- 32. Martinez S, Madrid J, Hernández F, Megías MD, Sotomator JA, Jordán MJ:** Effects of Thyme essential oils (Thymus hyemalis and Thymus zygis) and Monensin on *in vitro* ruminal degradation and volatile fatty acid production. *J Agric Food Chem*, 54, 5698-6602, 2006.
- 33. Sikkema J, de Bond JAM, Poolman B:** Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiol Rev*, 59, 201-222, 1995.
- 34. Busquet M, Calsamiglia S, Ferret A, Kamel C:** 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, 2005.
- 35. Ultee A, Kets EPW, Alberda M, Hoekstra FA, Smid EJ:** Adaptation of the foodborne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*, 65, 4606-4610, 2000.
- 36. Castillejos L, Calsamiglia S, Ferret A:** Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in *in vitro* systems. *J Dairy Sci*, 89, 2649-2658, 2006.
- 37. McIntosh FM, Williams P, Losa R, Wallace RJ, Beever DA, Newbold CJ:** Effects of essential oil on ruminal microorganism and their protein metabolism. *Appl Environ Microbiol*, 69 (8): 5011-5014, 2003.
- 38. Tamminga S:** A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J Anim Sci*, 74, 3112-3124, 1996.
- 39. Demeyer DI, Fiedler D, De Graeve KG:** Attempted induction of reductive acetogenesis into the rumen fermentation *in vitro*. *Reprod Nutr Dev*, 36, 233-240, 1996.
- 40. Johnson KA, Johnson DE:** Methane emissions from cattle. *J Anim Sci*, 73, 2483-2492, 1995.
- 41. Hu Wei-lian, Wu Yue-ming, Liu Jian-xin, Guo Yan-qiu, Ye Jun-an:** Tea saponins *in vitro* fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *J Zhejiang Univ Sci B*, 6 (8): 782-792, 2005.
- 42. IPCC (Intergovernment Panel on Climate Change):** Guidelines for national greenhouse gas inventories-Greenhouse gas inventory reference manual. IPCC WGI Technical Support Unit, Bracknell, UK, 1996.
- 43. Agarwal N, Shekhar C, Kumar R, Chaudhary LC, Karma DN:** 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, 2009.
- 44. Moss AR:** Environmental control of methane production by ruminants. In, Takahashi J, Young BA (Eds): Greenhouse Gases and Animal Agriculture. pp. 67-76, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, 2002.
- 45. Eun J-S, Fellner V, Gumpertz ML:** Methane production by mixed ruminal cultures incubated in dual-flow fermenters. *J Dairy Sci*, 87, 112-121, 2004.