

Farklı Seviyelerde Okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) Yaprağının Bazı Kaba Yemlerin *in Vitro* Metan Gazı Üretimi Üzerine Etkisinin Araştırılması**

Eyyüp AKÇİL¹, Nihat DENEK^{2*}

¹ Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, Türkiye

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

Geliş Tarihi: 28.10.2013 Kabul Tarihi: 08.11.2013

Özet: Bu çalışma, ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan bazı kaba yemlere; (mısır silajı, yonca kuru otu, çayır kuru otu ve buğday samanı) farklı seviyelerde (%0, %0.5, %1.0, %1.5, %2.0 ve %2.5) ilave edilen okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağının *in vitro* metan gazı üretimi üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Farklı seviyelerde okaliptus yaprağı ilave edilmiş deneme yemleri *in vitro* gaz tekniği ile 24 saatlik inkubasyona bırakılmışlardır. *In vitro* gaz üretim tekniği ile 24. saatte oluşan toplam gaz miktarı bilgisayar destekli metan gazı ölçüm cihazına özel bir düzenele enjekte edilerek metan ve karbondioksit gazı düzeyleri ölçülmüştür. Tüm yem maddeleri için en düşük metan gazı (CH₄) %2.5 düzeyinde okaliptus yaprağı ilave edilen uygulamadan elde edilmiştir (P<0.05). Genel olarak çalışmada kullanılan tüm yem maddelerinde okaliptus yaprağı ilavesi karbondioksit gazı değerini azaltmıştır (P<0.05). Buğday samanı hariç tüm yem maddeleri için %2.0 düzeyinde okaliptus yaprağı ilavesi 24. saat *in vitro* rumen sıvısı amonyak azotu değerini azaltmıştır (P<0.05). Sonuç olarak, ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan bazı kaba yemlere (mısır silajı, yonca kuru otu, çayır kuru otu ve buğday samanı) okaliptus yapraklarının katılması *in vitro* metan ve karbondioksit gazı üretimini azalttığı, ancak okaliptus yapraklarının hayvan performansı üzerine etkilerinin *in vivo* çalışmalarla incelenmesinin yararlı olacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Okaliptus, metan üretimi, *in vitro* gaz üretim

Investigation of Different Levels Eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) Leaves Effect on *In Vitro* Methane Production of Some Roughages

Abstract: This study was carried out to investigate the effect of addition different levels of eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis*) leaf (0%, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% and 2.5%) on the *in vitro* methane production of some roughages (maize silage, alfalfa forage, grass forage and wheat straw). Methane and carbon dioxide production of 24 h incubated roughages inside the syringes were measured with injection of produced gases into special apparatus connected to computer. The lowest methane (CH₄) production was determined from the 2.5% eucalyptus leaf containing treatments for all experimental roughages (P<0.05). Similarly, carbon dioxide (CO₂) production was decreased with addition of eucalyptus leaf for all roughages (P<0.05). Ammonia nitrogen value of 24 h incubated samples of all roughage was decreased with usage of 2% of eucalyptus leaf (P<0.05). Addition of the eucalyptus leaf to roughages decreased the methane and carbon dioxide productions with use of *in vitro* procedure. Furthermore effect of eucalyptus leaf on animal performance should be examined with *in vivo* studies.

Keywords: Eucalyptus, methane production, *in vitro* gas production

Giriş

Güncel verilere göre yıllık küresel metan salınımının %19'u (86 milyon ton) hayvancılık faaliyetlerinden kaynaklandığı, bu değer ise %95-97'sini ruminant türü hayvanların ürettikleri (Johnson, 1996); geriye kalan %3-5'in ise tek mideli hayvanlar tarafından üretildiği (Crutzen, 1969) kabul edilmektedir. Ruminal kaynaklı metan gazının azaltılmasında üç temel yaklaşım bulunmaktadır. Bunlardan ilki, çiftlik yönetimi, genetik gelişmeler ve yem kalitesinin yükseltilmesi, ikincisi biyoteknolojik uygulamalar ışığında sindirim sistemindeki mikroorganizmaların modifiye edilmesi, üçüncüsü ise rasyondaki değişimler yada rasyona ilave edilecek katkı maddelerini

kapsamaktadır. Bu uygulama yöntemlerinden en pratik ve uygulanabilir olanı, rasyon değişikliği veya rasyona katkı maddesi ilavesi olarak kabul görmektedir (Newbold, 2005).

Günümüzde bitki ve bitki ekstraktlarının performans ve antimikrobiyal etkileri üzerine çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmaların büyük çoğunluğu bu kaynakların yem tüketimi ve performans üzerine etkilerini konu almakta olup, fonksiyonları ve etki mekanizmaları üzerinde fazlaca durulmamıştır. Bitkisel kaynaklı etkin metabolitlerin rumen metan gazı üretimini azaltmaları, ya doğrudan metan üreten mikroorganizmaları etkisiz hale getirmek yada metan üretimi için ihtiyaç duyulan hidrojen iyonu

üretimini inhibe etmek şeklindedir (Bodas, 2008). Okaliptus ağaçları *Myrataceae* familyasından olup dünya üzerinde 3800 civarında çeşidi bulunmaktadır. Okaliptus ağaçları yıl boyu yeşil aksama sahip, uzun boylu ve dünyanın hemen hemen her bölgesinde yetişebilen özellik taşımaktadır (Mabberly, 1997; Boland, 1991). Akdeniz bölgesinin yaygın aromatik bitkisi olarak da okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) karşımıza çıkmaktadır. Ülkemizin geneline adapte olmuş türü olan *Eucalyptus camaldulensis* çok yıllık, sürekli yeşil, geniş gövde kalınlığına sahip, bol yapraklı ve uzun boylu bir ağaç olup, bu bitkiden elde edilen aromatik yağlar tıp ve eczacılık alanlarında yoğun olarak kullanılmaktadır (Ghisalberti, 1996; Leung ve Foster, 1996).

Yapılan kaynak araştırmalarında, okaliptus yaprağı yada yağı kullanılarak metan üretimi üzerine etkilerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma olduğu belirlenmiştir (Kumar ve ark., 2009; Sallam ve ark., 2009a; Sallam ve ark., 2009b; Sallam ve ark., 2010; Goel ve ark., 2011; Patra, 2011). Kumar ve ark. (2009) okaliptus esansiyel yağı ile yaptıkları çalışmada, *in vitro* gaz üretim denemesinde rumen sıvısı tampon çözelti içerisine 0; 0.33; 0.66; 1.00; 1.33 ve 1.66 µl/ml dozunda yağ kullanmışlar ve metan üretiminin %10-56 düzeyinde azaldığı, 1.00 µl/ml rumen sıvısı seviyesinin üzerindeki seviyelerde ise *in vitro* sindirim değerinin azaldığı bildirilmiştir. Sallam ve ark. (2009a) ise *in vitro* gaz üretim denemesinde rumen sıvısı tampon çözelti içerisine 25, 50, 100 ve 150 µl/ 75 ml rumen sıvısı tampon çözelti (25 ml rumen sıvısı, 50 ml tampon çözelti) okaliptus yağı ilave etmişler ve sırasıyla metan azalış oranlarını %26, %46.8, %77.3 ve %85.3 tespit etmişlerdir. Sallam ve ark. (2009b), koyunlarla yaptıkları *in vivo* çalışmada günlük rasyona ilave olarak 10 ve 20 ml/gün okaliptus yağı ilave ederek yaptıkları çalışmada 10 ml/gün okaliptus yağı ilavesinin sindirim değerlerine olumsuz etki göstermeksizin metan üretimini azalttığını bildirmişlerdir. Okaliptus yaprakları ile yapılmış sınırlı çalışmalardan, Goel ve ark. (2011) Mehndi (*Lawsonia inermis*) ve okaliptus yapraklarının karışımından (1:1) elde ettikleri katkının %5 düzeyinde *in vitro* gaz üretim tekniğinde kullanılması ile metan üretimi ile Rumen sıvısı amonyak azotunu azalttığını bildirmektedirler. Benzer şekilde Sallam ve ark. (2010) okaliptus yapraklarının metan gazının azaltılmasında potansiyel olarak kullanılabileceği yönünde bildirimleri bulunmaktadır.

Bu çalışmada, ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan bazı kaba yem kaynaklarına (mısır silajı, yonca kuru otu, çayır kuru otu ve buğday samanı) farklı seviyelerde (kontrol, %0.5, %1, %1.5, %2 ve %2.5) ilave edilen okaliptus (*Eucalyptus*

camaldulensis) yaprağının ruminal metan gazı üretimi üzerine etkisinin *in vitro* gaz üretim tekniği ile belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Materyal ve Metot

Araştırmada kullanılan yem materyallerinden mısır silajı ve buğday samanı Harran Üniversitesi Hayvancılık Araştırma Ünitesinden, yonca ve çayır kuru otları ise Türkiye Jokey Kulübü Şanlıurfa Pansiyon Harasından temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprakları Nisan ayı içerisinde Harran Üniversitesi Yenişehir ve Eyyübiye Kampüslerinde bulunan ağaçların yeşil yapraklarından taze olarak elde edilmiş, daha sonra gölgede kurutularak öğütülmeye hazır hale getirilmişlerdir. Araştırmada, kullanılan yem materyalleri ile okaliptus yaprakları 1 mm elekten geçecek şekilde laboratuvar değirmeninde öğütülerek analizlere hazır hale getirilmişlerdir. Deneme yemlerinin ve okaliptus yapraklarının ham besin madde içerikleri (kuru madde, ham protein ve ham kül) AOAC (2005)'e göre, ADF (asit detergant fibre) ve NDF (neutral detergant fibre) analizleri ise Van Soest ve ark. (1991)'na göre yapılmıştır. Deneme yemlerinin ve okaliptus yapraklarının kondanse tanen (KT) içeriklerinin belirlenmesi Makkar ve ark. (1995) tarafından bildirilen yöntemle yapılmıştır.

Her bir yem ham maddesine (mısır silajı, yonca kuru otu, çayır kuru otu ve buğday samanı) katkısız (kontrol, %0), %0.5, %1, %1.5, %2 ve %2.5 düzeyinde okaliptus yaprağı karıştırılarak elde edilen toplam 24 adet örneğin 24. saat gaz üretim değerlerinin belirlenmesi Menke ve ark. (1988) tarafından bildirilen gaz üretim tekniği ile, *In vitro* organik madde sindirimi ve Metabolik enerji değerleri ise Menke ve ark. (1979)'na göre belirlenmiştir. Gaz üretim tekniğinde her bir örnek için 4 tekerrür olacak şekilde çalışılmıştır. İnkübasyon 39 °C de 24 saat sürdürülmüş ve 24. saat gaz oluşum değerleri kaydedilerek, metan ve CO₂ gazı ölçüm işlemleri için şırıngalarda oluşan gaz üç yollu şırınga sistemi ile alınmıştır. Alınan gaz bilgisayar destekli metan gazı ölçüm cihazına (Sensors Analysentechnik GmbH&Co. KG, Berlin, Germany) enjekte edilerek bilgisayarda metan gazı değeri (%) okunmuştur. Şırıngalarda kalan rumen sıvısı yem karışımı 4 kat tülbentten süzülerek pH değerleri okunmuş, bu örnekler amonyak azotu (NH₃-N) analizlerinin yapılacağı zamana kadar derin dondurucuda saklanmışlardır. Rumen sıvısı amonyak analizi Markham distilasyon (1942) yöntemi ile belirlenmiştir. Araştırma sonunda elde edilen veriler SPSS paket programının GLM prosedüründe değerlendirilmiştir. Grup

ortalamalarının karşılaştırılmasında Duncan testi kullanılmıştır. Bu amaçla SPSS (1991) paket programından yararlanılmıştır.

Bulgular

Araştırmada kullanılan yem maddelerinin ham besin madde içerikleri Tablo 1’de verilmiştir. Araştırmada kullanılan yem maddelerinden mısır silajına ait *in vitro* 24. saat gaz (CH₄ ve CO₂) oluşumu, pH, amonyak azotu, organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerleri Tablo 2’de verilmiştir. Mısır silajı için farklı seviyelerde okaliptus yaprağı ilavesi CH₄ ve CO₂ gazı miktarı ile pH, amonyak azotu, organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerlerinde istatistiksel farklılık oluşturmuştur (P<0.05). En düşük CH₄ gazı

üretimi (29.97 ml/g KM), kuru maddeye %2.5 düzeyinde okaliptus yaprağı ilave edilen uygulamadan elde edilmiştir (P<0.05). Kuru maddeye %1, %1.5, %2 ve %2.5 düzeyinde okaliptus yaprağı ilavesi 24. saat pH değerini istatistiksel olarak düşürmüştür (P<0.05). *In vitro* 24. saat amonyak azotu değerleri kıyaslandığında okaliptus yaprağının tüm katkı seviyelerinin NH₃-N değerini düşürdüğü (P<0.05) ve en düşük NH₃-N değeri (10.50 mg/dl) kuru maddeye %2.5 seviyesinde okaliptus yaprağı ilavesi ile elde edilmiştir. *In vitro* organik madde sindirim ve metabolik enerji değerleri okaliptus yaprağı ilave seviyesinin artışına bağlı olarak düşüş göstermiştir (P<0.05). En düşük *in vitro* organik madde sindirim ve metabolik enerji değerleri (%66.55 ve 9.41 MJ/kg KM) %2.5 düzeyinde okaliptus yaprağı ilavesi ile elde edilmiştir.

Tablo 1. Araştırmada kullanılan yem maddeleri ve okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağının ham besin madde (% KM) ile kondanse tanen (KT, g/kg KM) içerikleri.

Yemler	KM	HK	ADF	NDF	HP	KT
Mısır silajı	33.19	4.91	29.59	54.26	6.52	2.29
Yonca Kuru Otu	94.46	10.38	31.92	40.24	18.56	7.29
Çayır Kuru Otu	96.53	8.21	40.97	70.46	6.69	5.76
Buğday Samanı	95.06	10.11	51.01	79.05	4.84	5.27
Okaliptus Yaprağı	94.87	8.37	30.17	39.64	12.65	17.33

Araştırmada kullanılan yem maddelerinden yonca kuru otuna ait *in vitro* 24. saat gaz (CH₄ ve CO₂) oluşumu, pH, amonyak azotu, organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerleri Tablo 3’te verilmiştir. Metan gazı parametresi bakımından, kontrol (41.13 ml/g KM) ile kıyaslandığında en düşük CH₄ gazı üretimi (29.03 ml/g KM), kuru maddeye %2.5 düzeyinde okaliptus yaprağı ilave edilen uygulamadan elde edilmiştir (P<0.05). Karbondioksit gazı parametresi bakımından kontrol grubu ile %1 okaliptus yaprağı ilavesi ile elde edilen değerler benzer (P>0.05)

bulunurken, %0.5; %1.5; %2 ve %2.5 okaliptus yaprağı ilavesi düşük (P<0.05) bulunmuştur. Kuru maddeye %2 düzeyinde okaliptus yaprağı ilavesi 24. saat pH değerini istatistiksel olarak düşürmüştür (P<0.05). *In vitro* 24. saat amonyak azotu değerleri kıyaslandığında okaliptus yaprağının %2 ve %2.5 seviyelerinin NH₃-N değerini düşürdüğü (P<0.05) belirlenmiştir. Genel olarak *in vitro* organik madde sindirim ve metabolik enerji değerleri okaliptus yaprağı ilave seviyesinin artışına bağlı olarak düşüş (P<0.05) göstermiştir.

Tablo 2. Mısır silajına farklı seviyelerde okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağı ilavesinin *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Parametreler	Okaliptus yaprağı seviyesi						SEM
	%0	%0.5	%1	%1.5	%2	%2.5	
CH ₄ ml/ g KM	55.63 ^a	50.32 ^b	36.23 ^c	34.17 ^d	32.44 ^d	29.97 ^e	0.68
CO ₂ ml/ g KM	242.30 ^a	219.41 ^b	213.31 ^c	196.77 ^d	187.05 ^e	184.27 ^e	1.95
pH	6.80 ^{ab}	6.85 ^a	6.60 ^c	6.63 ^{bc}	6.60 ^c	6.50 ^c	0.06
NH ₃ -N, mg/dl	34.50 ^a	20.50 ^b	14.75 ^c	13.00 ^c	13.50 ^c	10.50 ^d	0.69
İVOMS, % KM	87.82 ^a	82.07 ^b	77.01 ^c	72.41 ^d	74.36 ^d	66.55 ^e	0.77
ME, MJ/ kg KM	13.75 ^a	11.11 ^b	10.51 ^c	9.48 ^e	9.89 ^d	9.41 ^e	0.06

a,b,c,d,e: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur (P<0.05).

Tablo 3. Yonca kuru otuna farklı seviyelerde okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağı ilavesinin *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Parametreler	Okaliptus yaprağı seviyesi						SEM
	%0	%0.5	%1	%1.5	%2	%2.5	
CH ₄ , ml/ g KM	41.13 ^a	37.11 ^b	36.94 ^b	31.44 ^c	31.62 ^c	29.03 ^c	1.16
CO ₂ , ml/ g KM	192.20 ^a	165.52 ^d	180.03 ^a	175.52 ^{bc}	165.26 ^d	168.17 ^{cd}	2.89
pH	6.76 ^{ab}	6.79 ^{ab}	6.90 ^a	6.68 ^b	6.43 ^c	6.75 ^{ab}	0.07
NH ₃ -N, mg/dl	19.00 ^b	20.67 ^a	17.75 ^{bc}	21.00 ^a	13.50 ^d	17.00 ^c	0.43
İVOMS, % KM	73.40 ^a	67.24 ^{bc}	68.47 ^b	64.96 ^c	73.10 ^a	66.33 ^{bc}	1.03
ME, MJ/ kg KM	11.54 ^a	10.60 ^b	8.79 ^c	10.75 ^b	10.44 ^b	10.46 ^b	0.11

a,b,c,d,e: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur (P<0.05).

Araştırmada kullanılan yem maddelerinden çayır kuru otuna ait *in vitro* 24. saat gaz (CH₄ ve CO₂) oluşumu, pH, amonyak azotu, organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerleri Tablo 4'de verilmiştir. Metan gazı parametresi bakımından, kontrol (30.00 ml/g KM) ile kıyaslandığında en düşük CH₄ gazı üretimi (15.68 ml/g KM), kuru maddeye %2.5 düzeyinde okaliptus yaprağı ilave edilen uygulamadan elde edilmiştir (P<0.05). Karbondioksit gaz parametresi bakımından tüm katkı seviyeleri kontrol grubundan düşük (P<0.05) bulunmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında 24. saat pH değerleri kuru maddeye %0.5, %1 ve %2.5 düzeyinde okaliptus yaprağı ilavesi ile benzer bulunmuş (P>0.05), %1.5

ve %2 seviyeleri ise kontrol grubundan düşük (P<0.05) bulunmuştur. *In vitro* 24. saat amonyak azotu değerleri kıyaslandığında kontrol grubu ile %2.5 düzeyinde okaliptus yaprağı ilavesi benzer (P>0.05) bulunurken, %0.5, %1, %1.5 ve %2 seviyelerinin NH₃-N değerini düşürdüğü (P<0.05) belirlenmiştir. *In vitro* organik madde sindirim ve metabolik enerji değerleri okaliptus yaprağı ilave seviyesinin artışına bağlı olarak düşüş göstermiştir (P<0.05). En düşük *in vitro* organik madde sindirim değerleri (%54.58 ve %54.75) ve en düşük metabolik enerji değerleri (6.84 ve 6.95 MJ/kg KM) %1 ve %2.5 düzeylerinde okaliptus yaprağı ilavesi ile elde edilmiştir.

Tablo 4. Çayır kuru otuna farklı seviyelerde okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağı ilavesinin *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Parametreler	Okaliptus yaprağı seviyesi						SEM
	%0	%0.5	%1	%1.5	%2	%2.5	
CH ₄ ml/ g KM	30.00 ^a	21.13 ^b	20.40 ^{bc}	19.33 ^{cd}	18.16 ^d	15.68 ^e	0.55
CO ₂ ml/ g KM	169.40 ^a	140.84 ^b	123.67 ^e	132.90 ^{cd}	136.16 ^{bc}	128.59 ^{de}	2.39
pH	6.77 ^a	6.76 ^a	6.83 ^a	6.49 ^c	6.58 ^{bc}	6.68 ^{ab}	0.07
NH ₃ -N, mg/dl	12.75 ^a	11.25 ^{bc}	10.50 ^c	11.00 ^c	10.75 ^c	12.25 ^{ab}	0.37
İVOMS, % KM	65.07 ^a	57.79 ^b	54.58 ^d	55.18 ^{cd}	56.63 ^{bc}	54.75 ^d	0.53
ME, MJ/ kg KM	8.53 ^a	7.24 ^b	6.84 ^c	7.18 ^b	7.24 ^b	6.95 ^c	0.07

a,b,c,d,e: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur (P<0.05).

Araştırmada kullanılan yem maddelerinden buğday samanına ait *in vitro* 24. saat gaz (CH₄ ve CO₂) oluşumu, pH, amonyak azotu, organik madde sindirilebilirliği ve metabolik enerji değerleri Tablo 5'de verilmiştir. Metan gazı parametresi bakımından, kontrol (30.08 ml/g KM) ile kıyaslandığında en düşük CH₄ gazı üretimi (14.19 ml/g KM), kuru maddeye %2 ve %2.5 düzeyinde okaliptus yaprağı ilave edilen uygulamadan elde edilmiştir (P<0.05). Karbondioksit gazı parametresi

bakımından tüm katkı seviyeleri kontrol grubundan düşük (P<0.05) bulunmuştur. Kontrol grubu ile kıyaslandığında 24. saat pH değerleri kuru maddeye %1.5 ve %2 düzeyinde okaliptus yaprağı ilavesi ile benzer bulunmuş (P>0.5), %0.5, %1 ve %2.5 seviyeleri ise kontrol grubundan düşük bulunmuştur (P<0.05). *In vitro* 24. saat amonyak azotu değerleri kıyaslandığında kontrol grubu ile %0.5, %1.5, %2 ve %2.5 düzeyinde okaliptus yaprağı ilaveleri benzer (P>0.05) bulunurken, %1

seviyesinin NH₃-N değerini arttırdığı belirlenmiştir (P<0.05). *In vitro* organik madde sindirim ve metabolik enerji değerleri okalıptus yaprağı ilave

seviyesinin artışına bağlı olarak düşüş göstermiştir (P<0.05).

Tablo 5. Buğday samanına farklı seviyelerde okalıptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağı ilavesinin *in vitro* gaz oluşumu ve amonyak azotu üzerine etkisi.

Parametreler	Okalıptus yaprağı seviyesi						SEM
	%0	%0.5	%1	%1.5	%2	%2.5	
CH ₄ ml/ g KM	30.08 ^a	25.16 ^b	20.33 ^c	17.69 ^d	14.19 ^e	14.19 ^e	0.75
CO ₂ ml/ g KM	147.13 ^a	128.52 ^b	121.46 ^b	104.83 ^c	84.49 ^d	107.67 ^c	2.72
pH	6.89 ^a	6.72 ^{bc}	6.59 ^c	6.84 ^{ab}	6.85 ^{ab}	6.64 ^c	0.06
NH ₃ -N, mg/dl	12.75 ^b	12.00 ^{bc}	22.25 ^a	13.00 ^b	11.00 ^b	13.50 ^b	0.56
İVOMS, % KM	61.85 ^a	57.24 ^b	54.95 ^c	50.96 ^d	46.51 ^e	51.18 ^d	0.64
ME MJ/ kg KM	7.85 ^a	7.32 ^b	6.66 ^c	6.25 ^d	5.51 ^e	6.22 ^d	0.07

a,b,c,d,e: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur (P<0.05).

Tartışma ve Sonuç

Okalıptus bitkisinde tanen içeriği oldukça yüksektir. Tanenler polifenolik bileşikler olup, molekül ağırlıkları ve diğer maddelerle (özellikle proteinlerle) kompleks bileşik oluşturma kapasiteleri yüksektir (Barszcz ve Skomial, 2011). Tanenlerin antibakterial etkileri tam olarak açıklanamamış olmasına karşın, muhtemelen bu etkilerini metan üretiminde rol oynayan mikroorganizmaların hücrelerindeki enzim ve proteinlerine bağlanarak bakterisid ve bakteriyostatik etki göstermektedirler (Tavendale ve ark., 2005). Tanenler ayrıca rumendeki protozoalar üzerinde dolaylı etki göstererek metan üretimi üzerine etki göstermektedirler. Tanenler selülotik mikroorganizmalar üzerine olumsuz etki yaparak asetik asit üretimini azaltırlar, böylece metan üretimi için ihtiyaç duyulan karbondioksit ve hidrojen iyonu üretimini sınırlamaktadırlar (Waghorn, 2008; Patra ve Saxena, 2009b). Kondanse tanenler dolaylı etkileri ile selüloz sindirimini azaltarak metan üretimini düşürürler (Goel ve Makkar, 2012). Yapılan bir çalışmada (Carulla ve ark., 2005) birçok bitkide bulunan tanenlerin uygun miktarda kullanıldığında rumende yıkılan protein miktarını azaltarak duodenuma geçen miktarını arttırdığını bildirmektedirler. Bu çalışmada kullanılan okalıptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yapraklarının kondanse tanen içeriği 17.33 g/kg KM olarak belirlenmiş olup bu değer bazı kaynak bildirimlerinden yüksek bulunurken (Sallam ve ark., 2010; Thao ve Wanapat, 2013), bazı kaynak bildirimlerinden düşük bulunmuştur (Salem ve ark., 2007). Bu çalışmanın sonuçları bütün olarak değerlendirildiğinde tüm yem maddeleri için okalıptus seviyesinin artışına bağlı olarak bazı

parametrelerde (CH₄, CO₂, NH₃-N, İVOMS ve ME) düşüşlerin (P<0.05) olduğu, ancak buğday samanı için rumen sıvısı NH₃-N okalıptus seviyesinin artışına bağlı olarak farklılığın olmadığı (P>0.05) görülmüştür. Metan üretimini azaltmak amacıyla okalıptus yaprakları kullanılarak etkilerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma (Sallam ve ark., 2010; Goel ve ark., 2011; Patra, 2011; Kumar ve ark., 2012; Manh ve ark., 2012a; Manh ve ark., 2012b; Thao ve Wanapat, 2013) bulunmaktadır. Bu çalışmada yem maddelerine ilave edilen okalıptus seviyesinin artışına bağlı olarak rumen sıvısı NH₃-N ve *in vitro* organik madde sindirim değerlerinin genel olarak düşük bulunmaları kullanılan okalıptus yapraklarında bulunan yüksek kondanse tanen içeriğine bağlanabilir. Benzer şekilde Manh ve ark. (2012a) pirinç samanına kuru madde esasına göre %1-6 düzeyinde okalıptus yaprağı ilave etmişler ve kuru maddeye %2'den yüksek düzeyde okalıptus yaprağı ilavesinin *in vitro* organik madde sindirim değerleri ile *in vitro* metan üretimini düşürdüğünü bildirmişlerdir. Yine Manh ve ark. (2012b) holstein sığırların rasyonlarına günlük 100 ve 200 gr öğütülmüş okalıptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağı ilave etmişler ve rumen sıvısı NH₃-N ve CH₄ değerlerini kontrole göre istatistiksel olarak düşürdüğünü tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada 200 gr öğütülmüş okalıptus yaprağı ilavesinin rumen sıvısı protozoa, toplam bakteri, proteolitik ve selülotik bakteri düzeylerini de azalttığı belirtilmiştir. Başka bir *in vivo* çalışmada (Thao ve Wanapat, 2013) hayvan başına günlük 40 ve 80 gr öğütülmüş okalıptus yaprağı ilavesinin rumen sıvısı NH₃-N değerini etkilemediğini, ancak 120 gr okalıptus yaprağı ilavesinin NH₃-N değerini istatistiksel olarak düşürdüğünü bildirmişlerdir. Goel ve ark. (2011), Mehndi (*Lawsonia inermis*) ve okalıptus yapraklarının karışımından (1:1) elde

ettikleri katkıdan %10 düzeyinde buğday samanına ilave ederek uyguladıkları *in vitro* gaz üretim tekniğinde katkının metan üretimi ile rumen sıvısı NH₃-N değerini azalttığını bildirmektedirler. Kumar ve ark. (2012) yüksek (%60 buğday samanı), orta (%50 buğday samanı) ve düşük düzeyde (%40 buğday samanı) selüloz içeren rasyonlara %2 düzeyinde okaliptus (*Eucalyptus globules*) yaprağı ilave ederek *in vitro* çalışma yapmışlardır. Yüksek ve orta düzeyde selüloz içeren rasyonlarda CH₄ değerinin azaldığını, düşük düzeyde selüloz içeren rasyonda ise rakamsal bir artış olduğunu bildirmektedirler. Aynı çalışmada benzer olarak yüksek ve orta düzeyde selüloz içeren rasyonlara okaliptus (*Eucalyptus globules*) yaprağı ilavesinin rumen sıvısı protozoa değerini düşürdüğü tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen *in vitro* verilere dayanılarak, kaba yemlere okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) yaprağı ilavesinin *in vitro* metan ve karbondioksit gazı üretimini azalttığı söylenebilir. Ancak rasyonlara ilave edilecek okaliptus yaprağının yem tüketimi ile hayvansal üretim ve performans etkisinin tam olarak ortaya konabilmesi açısından *in vivo* hayvan denemelerinin de yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

Kaynaklar

- Association of Official Analytical Chemistry (AOAC), 2005: Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, 2005, USA.
- Barszcz M Skomial J, 2011: Possibilities of tannins utilization in the protection of animals and human health. *Post Nauk Roln*, (2),95-110.
- Bodas R, Lopez S, Fernandez M, Garcia-Gonzalez R, Rodriguez AB, Wallace RJ, Gonzalez JS, 2008: *In vitro* screening of the potential of numerous plant species as antimethanogenic feed additives for ruminants. *Anim Feed Sci Tech*, (145), 245-258.
- Boland DJ, Brophy JJ, House APN, 1991: Eucalyptus Leaf Oils: Use, Chemistry, Distillation and Marketing. Inkata Press Melbourne, Australia.
- 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.
- Crutzen P, Aselmann I, Seiler W, 1986: Methane production by domestic animals, wild ruminants, and other herbivorous fauna and humans. *Tellus*, (38), 271.
- Ghisalberti EL, 1996: Bioactive acylphloroglucinol derivatives from *Eucalyptus* species. *Phytochemistry*, (41), 7-22.
- Goel N, Sirohi SK, Dwivedi J, Chaudhary PP, 2011: Efficacy of different plant part combinations as rumen fermentation modulator in wheat straw based diet evaluated *in vitro*. *Annals of Biological Research*, 2(6), 91-96.
- Goel G, Makkar HPS, 2012: Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins, a status review. *Trop Anim Health Prod*, (44),729-739.
- Johnson DE, Ward GM, 1996: Estimates of animal methane emissions. *Environ Monit Assess*, (42), 133-141.
- Kumar R, Kamra DN, Agrawal N, Chaudhary LC, 2009: Effect of Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. *Anim Nutr Feed Technol*, (9), 237-243.
- Kumar SS, Navneet G, Mehta M, Mohini M, Pandey P, Shete S, Brisketu K, 2012: Efficacy of garlic, eucalyptus and neem powders on rumen modulation, methanogenesis and gas production kinetics in wheat straw based diet evaluated *in vitro*. *Wayamba Journal of Animal Science*, 4(2), 331-339.
- Leung AY, Foster S. 1996: Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics. 2nd Edition. John Wiley & Sons. 232-233.
- Mabberly DJ, 1997: The Plant Book. A Portable Dictionary of the Vascular Plants. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Makkar HPS, Blummel M, Becker K, 1995: Formation of complete between Polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycol and tannins and their implication in gas production and true digestibility in *in vitro* technique. *Br J Nutr*, (73), 897-913.
- Manh NS, Hung LV, Long NT, Don NV, Huyen NT, 2012a: Effects of eucalyptus (*E. Camaldulensis*) leaf powder (ELP) on rumen fermentation, feed digestibility and methane production in ruminants by using *in vitro* gas production technique. Proceedings of International Conference Livestock-Based Farming Systems, Renewable Resources and the Environment. (Ed. R. Preston and S. Southavong) pp:6-9 June, Dalat, Vietnam.
- Manh NS, Wanapat M, Uriyapongson S, Khejornsart P, Chanthakhoun V, 2012b: Effect of eucalyptus (*Camaldulensis*) leaf meal powder on rumen fermentation characteristics in cattle fed on rice straw. *African Journal of Agricultural Research*, 7(14), 2142-2148.
- Markham R, 1942: Distillation apparatus suitable for microkjeldahl analysis. *Biochem J*, (36), 790.
- Menke KH, Steingass H, 1988: Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Anim Res Dev*, (28), 7-55.
- Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, and Schneider W. 1979: The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *Journal of Agricultural Science*, (93), 217-222.

- Newbold CJ, Lopez S, Nelson N, Oudo JO, Wallace RJ, Moss AR, 2005: Propionate precursors and other metabolic intermediates as possible alternative electron acceptors to methanogenesis in ruminal fermentation *in vitro*. *British Journal of Nutrition*, (94), 27-35.
- Patra AK, and Saxena J. 2009b: Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek*, (96), 363-375.
- Patra AK, 2011: Effects of Essential Oils on Rumen Fermentation, Microbial Ecology and Ruminant Production. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 1-13.
- Salem AZ, Robinson PH, El-Adawya MM, Hassan AA, 2007: *In vitro* fermentation and microbial protein synthesis of some browse tree leaves with or without addition of polyethylene glycol. *Anim Feed Sci Technol*, (138), 318-330.
- Sallam SMA, Bueno ICS, Brigide P, Godoy PB, Vitti DMSS, Abdalla AL, 2009a: Efficacy of eucalyptus oil on *in vitro* ruminal fermentation and methane production. *Options Mediterraneennes Nutritional and foraging ecology of sheep and goats*, (85), 267-272.
- Sallam SMA, Nasser MEA, Araujo RC, Abdalla AL, 2009b: Methane emission *in vivo* by sheep consuming diet with different levels of eucalyptus essential oil. In Proc. FAO/IAEA Int. Symp. pp: 210-211 on sustainable improvement of animal production and health, Vienna, Austria.
- Sallam SMA, Bueno ICS, Nasser MEA, Abdalla AL, 2010: Effect of eucalyptus (*Eucalyptus Citriodora*) fresh or residue leaves on methane emission *in vitro*. *Italian Journal of Animal Science*, (9), 299-303.
- SPSS, 1991: Inc. Statistical package for the social sciences (SPSS/PC+). Chicago, IL.
- Tavendale MH, Meagher LP, Pacheco D, Walker N, Attwood GT, Sivakumaran S, 2005: Methane production from *in vitro* rumen incubation with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Anim Feed Sci Technol*, (123-124), 403-419.
- Thao NT, Wanapat M, 2013: Effect of eucalyptus leaf meal supplementation on feed intake ruminal ecology and microbial protein synthesis of swamp buffaloes. *Khon Kaen Agr J*, 41(1),75-79.
- Van Soest PJ, Robertson JB, Lewis BA, 1991: Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*, (74), 3583-3597.
- Waghorn GC, 2008: Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-progress and challenges. *Anim Feed Sci Technol*, (147),116-139.
- **Bu araştırma makalesi "Farklı Seviyelerde Okaliptus (*Eucalyptus camaldulensis*) Yaprağının Bazı Kaba Yemlerin *In Vitro* Metan Gazı Üretimi Üzerine Etkisinin Araştırılması" isimli yüksek lisans tezinden özetlenmiş, HÜBAK tarafından 12184 nolu proje olarak desteklenmiştir.**
- *Yazışma Adresi:** Nihat DENEK
Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları
Anabilim Dalı, Şanlıurfa
e-mail: nihatenek@hotmail.com