



T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI AĞAÇ YAPRAKLARININ ANTI
METANOJENİK ÖZELLİKLERİNİN *İN VİTRO* GAZ
ÜRETİM TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ**

Nurullah ŞİMŞEK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2019

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI AĞAÇ YAPRAKLARININ ANTI
METANOJENİK ÖZELLİKLERİNİN *IN VITRO* GAZ
ÜRETİM TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ**

Nurullah ŞİMŞEK

**Bu tez,
Zootekni Anabilim Dalında
YÜKSEK LİSANS
derecesi için hazırlanmıştır.**

KAHRAMANMARAŞ 2019

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Nurullah ŞİMŞEK tarafından hazırlanan “BAZI AĞAÇ YAPRAKLARININ ANTI METANOJENİK ÖZELLİKLERİNİN *IN VITRO* GAZ ÜRETİM TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ” adlı bu tez, jürimiz tarafından 19/03/2019 tarihinde oy birliği ile Zootekni Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Adem KAMALAK (DANIŞMAN)

Zootekni Anabilim Dalı

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Doç. Dr. Çağrı Özgür ÖZKAN (ÜYE)

Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü

Göksun Meslek Yüksekokulu

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Emrah KAYA (ÜYE)

Zootekni Anabilim Dalı

Iğdır Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YAZICI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Nurullah ŞİMŞEK



Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri kanunundaki hükümlere tabidir.

BAZI AĞAÇ YAPRAKLARININ ANTI METANOJENİK ÖZELLİKLERİ *IN VITRO* GAZ ÜRETİM TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Nurullah ŞİMŞEK

ÖZET

Bu çalışmanın amacı tanen içeren bazı ağaç yapraklarının anti-metanojenik özelliklerinin *in vitro* gaz üretim testiyle belirlemektir. Ağaç yapraklarının kimyasal kompozisyonları arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. Ham kül içeriği % 4.42 ile 13.33 arasında olup en yüksek kül içeriği tesbih çalışmada bulunmuştur. Ham yağ içeriği % 5.68 ile 9.28 olurken en yüksek ham yağ içeriği tesbih ve söğüt yaprağında bulunmuştur. Ham protein içeriği % 11.64 ile 18.40 arasında olup en yüksek ham protein içeriği karaağaç yaprağında bulunmuştur. NDF ve ADF içerikleri sırasıyla % 28.95 ile 50.21 ve 22.73 ile 33.09 arasında değişmiş olup en yüksek NDF ve ADF içeriğine söğüt yaprağı sahip olmuştur. Ağaç yapraklarının kondense tanen içerikleri % 1.59 ile 14.29 arasında değişmiş olup en yüksek değere tesbih çalışmada rastlanmıştır. Ağaç yapraklarının PEG’li ve PEG’siz ortamlardaki gaz, metan üretimleri, organik madde sindirim derecesi ve metabolik enerji değerleri arasında önemli farklar bulunmuş olup PEG ilavesi hem tüm parametrelerde artışa neden olmuştur. Bu çalışmada ağaç yapraklarının metan içerikleri % 11 ile 14 arasında olduğundan dolayı söz konusu yapraklarının hepsinin düşük seviyede anti-metanojenik potansiyele sahip olduğu söylenebilir. Anti-metanojenik özellik bakımından bu çalışmaya konu olan ağaçları söğüt, karaağaç ve tesbih ağacı şeklinde sıralamak mümkündür. Bu çalışmaya konu olan ağaç yapraklarının anti-metanojenik özelliklerinin *in vivo* denemelerle test edilmesine ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Ağaç yaprağı, *in vitro* gaz, metan, tanen,

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Zootekni Anabilim Dalı, Mart/2019

Danışman: Prof. Dr. Adem KAMALAK

Sayfa Sayısı: 24

DETERMINATION OF ANTI METHANOGENIC CHARACTERISTICS OF SOME TREE LEAVES USING *IN VITRO* GAS PRODUCTION TECHNIQUE

(M.Sc. THESIS)

Nurullah ŞİMŞEK

ABSTRACT

The aim of the current experiment was to determine the antimethanogenic properties of some tree leaves containing condensed tannin. It has been found that there are significant differences among tree leaves in terms of chemical composition. Crude ash contents of tree leaves ranged from %4.42 to 13.33 with highest being for *Styrax officinalis*. Ether extract contents of tree leaves ranged from %5.68 to 9.28 with highest being for *Styrax officinalis* and *Salix alba*. Crude protein contents of tree leaves ranged from %11.64 to 18.40 with highest being for *Alnus glutinosa*. Neutral detergent fiber and acid detergent fiber contents of tree leaves ranged from %28.95 to 50.21 and 22.73 to 33.09 respectively, with highest being for *Salix alba*. Condensed tannin contents of tree leaves ranged from %1.59 to 14.29 with highest being for *Styrax officinalis*. It has been found that there are significant differences among tree leaves in terms of gas, methane production, organic matter digestibility, metabolisable energy contents in the absence and presence of Polyethylene Glycol. Supplementation of Polyethylene Glycol improved all parameters measured in the gas production experiment. It can be said that the tree leaves studied in the current experiment has a low anti-methanogenic potential since the percentage of methane ranged from %11 to 14. It is required that these tree leaves should be tested with *in vivo* experiment to determine the anti-methanogenic potential of these tree leaves.

Key Words: Tree leaves, *in vitro* gas, methane, condensed tannin,

Kahramanmaraş Sütçü Imam University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Animal Science, March/2019

Supervisor: Prof. Dr. Adem KAMALAK

Total pages: 24

TEŞEKKÜR

Lisans ve Yüksek lisans eğitimim boyunca manevi anlamda her zaman yanımda olan bölümümle ilgi engin bilgi, birikim ve tecrübelerini benimle paylaşıp bana yol gösteren mesleki hayatımda donanımlı bir birey olmamı sağlayan, çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren, kıymetli zamanını ayırıp sabırla faydalı olabilmek için elinden gelenin fazlasını sunan, her anımda elini omzumda hissettiğim çok saygıdeğer Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Adem KAMALAK'a, bir ömür saygılarımı, minnettarlığımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca büyük bir sabır ve ilgiyle yardımlarını esirgemeyen, her problemde çekinmeden yanına gidebildiğim güler yüzünü eksik etmeyen bana verdiği bilgilerden en iyi şekilde faydalandığım, Saygı değer Dr. Öğr. Üyesi Emrah KAYA ve Dr. Öğr. Üyesi Ali İhsan ATALAY'a, lisans hayatım boyunca mesleki ve manevi anlamda kazandırdıkları her şey için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Zootekni bölümündeki hocalarıma, yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca hayır dualarını eksik etmeyen kıymetli babaannem Hansi ŞİMŞEK'e, eğitim hayatıma yön verip ve bu yolda bana rehberlik eden değerli amcam Bilal ŞİMŞEK'e, her zaman yanımda olup beni destekleyen halalarım İde ŞİMŞEK ve Zeynep Adle ŞİMŞEK'e, kuzenim Nesim ŞİMŞEK'e, abim Muammer, Muharrem, Atilla ve kız kardeşim Canan, manevi desteğini esirgemeyen değerli dostum Ömer KILIÇ'a sonsuz teşekkürler.

Nurullah ŞİMŞEK

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	viii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	2
3. MATERYAL VE METOD	6
3.1. Materyal	6
3.1.1. Ağaç yapraklarının toplanması, kurutulması ve öğütülmesi	6
3.2. Metod	6
3.2.1. Ağaç yapraklarının kimyasal kompozisyonlarının belirlenmesi	6
3.2.2. Ağaç yapraklarının kuru madde içeriklerinin belirlenmesi	7
3.2.3. Ağaç yapraklarının ham kül içeriklerinin belirlenmesi	7
3.2.4. Ağaç yapraklarının ham yağ içeriklerinin belirlenmesi	8
3.2.5. Ağaç yapraklarının ham protein içeriklerinin belirlenmesi	10
3.2.6. Ağaç yapraklarının asit deterjan fiber içeriklerinin belirlenmesi	11
3.2.7. Ağaç yapraklarının nötral deterjan fiber içeriklerinin belirlenmesi	11
3.2.8. Ağaç yapraklarının kondense tanen içeriklerinin belirlenmesi	11

3.3. Ağaç Yapraklarının Gaz Üretimlerinin Belirlenmesi	12
3.4. Ağaç Yapraklarının Metan Üretimlerinin Belirlenmesi	14
3.5. Ağaç Yapraklarının Metabolik Enerji İçeriklerinin Belirlenmesi	14
3.6. Ağaç Yapraklarının Organik Madde Sindirim Derecelerinin Belirlenmesi	14
3.7. İstatistiksel Analiz	14
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	15
4.1. Türün ağaç yaprakları üzerine etkisi	15
4.2. Türün ağaç yapraklarının gaz, metan üretimi, organik madde sindirim derecesi ve metabolik enerji üzerine etkisi	16
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	20
KAYNAKLAR	21
ÖZGEÇMİŞ	24

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 3.1. Ağaç yapraklarının öğütülmesinde kullanılan değirmen	6
Şekil 3.2. Ağaç yapraklarının ham kül içeriklerinin belirlenmesinde kullanılan kül fırını	8
Şekil 3.3. Ağaç yapraklarının ham yağ içeriklerinin belirlenmesinde kullanılan Soxhlet cihazı	9
Şekil 3.4. Ağaç yapraklarının ham protein analizinde kullanılan yağ yakma ünitesi .	10
Şekil 3.5. Ağaç yapraklarının ham protein analizinde kullanılan destilasyon ünitesi	10
Şekil 3.6. Spektrofotometre	12
Şekil 3.7. Ağaç yapraklarının metan üretimlerini belirlemede kullanılan gaz ölçüm seti	13

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
	No
Çizelge 4.1. Farklı türlerden elde edilen ağaç yapraklarının kompozisyonları ...	15
Çizelge 4.2. Türün ağaç yapraklarının gaz, metan üretimi, organik madde sindirim derecesi ve metabolik enerji üzerine etkisi	17



SİMGELER VE KISALTMALAR

AOAC	:	Association of official analytical chemists
ADF	:	Asit deterjan fiber
CH₄	:	Metan
CO₂	:	Karbondioksit
fHCl	:	0,1 N HCl'nin faktörü
fP	:	Protein çevirme faktörü
g / gr	:	Gram
GÜ	:	Gaz üretimi
H₂	:	Hidrojen
HK	:	Ham kül
HP	:	Ham protein
H₂SO₄	:	Sülfürik asit
HY	:	Ham yağ
K.	:	Azotun atom ağırlığı
KM	:	Kuru madde
KT	:	Kondense tanen
lt	:	Litre
M.	:	Yem miktarı
ME	:	Metabolik enerji
MJ	:	Mega Joule
ml	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
N	:	Azot

N.	:	Normalite
NDF	:	Nötral deterjan fiber
NH₃	:	Amonyak
nm	:	Nanometre
N₂O	:	Diazot monoksit
OMSD	:	Organik madde sindirim derecesi
ÖS	:	Önem seviyesi
P	:	Olasılık
pH	:	Power of hydrogen
PEG	:	Polietilen glikol
SHO	:	Standart hata ortalaması
V.	:	Kullanılan HCl
°C	:	Santigrat derece
%	:	Yüzde

1. GİRİŞ

Ruminant hayvanlar tarafından alınan karbonhidratlar rumende fermentasyona tabi tutularak uçucu yağlar, karbondioksit, metan ve hidrojen sülfür sentezine neden olmaktadır. Fermentasyon sırasında açığa çıkan H₂ rumen mikro-organizmaları için toksik olmasından dolayı ortamdaki uzaklaştırılması gerekmektedir. Rumen mikro-organizmaları için zararlı etkiye sahip olan H₂ karbondioksit ile birleşerek metana dönüşmekte ve dışarı salınmaktadır. Bu yüzden metan üretimi rumen ortamının korunması için elzem bir işlemdir. Ruminantlar tarafından üretilen bu metana enterik metan denmekte olup yaklaşık % 85'i geçirme yoluyla dışarı atılmaktadır. Diğer taraftan enterik metan üretimi enerji kaybına neden olduğu için hayvan besleme açısından arzu edilen bir işlem değildir. Ruminant hayvanlar tarafından alınan enerjinin % 2-12 enterik metan üretimi olarak kaybedilmektedir (Johnson ve Johnson 1995). Enterik metan üretiminin istenmemesinin diğer bir sebebi ise küresel ısınmaya önemli katkısının olmasındandır. Enterik metan üretimi insan kaynaklı metan üretiminin % 73'ü gibi önemli bir kısmından sorumludur (Johnson ve Johnson 1995). Çevreye verdiği zararlardan dolayı enterik metan üretimi çevreciler tarafından da arzu edilmemektedir. Bu yüzden, son zamanlarda ruminant beslemeciler enterik metan üretimini azaltmak için birçok araştırma yürütmektedirler. Bu araştırmalardan metan üretimini azaltmak için en fazla ümit vaat eden çalışmalar tanen içeren ağaç yaprakları ile yapılan çalışmalar olmuştur. Bu çalışmalar ağaç yapraklarında bol miktarda bulunan kondense tanenin anti-metanojenik olduğu ve enterik metan üretimini önemli derecede azalttığını göstermiştir (Woodward ve ark., 2004; Carulla ve ark., 2005; Puchala ve ark., 2005; Tiemann ve ark., 2008; Grainger ve ark., 2009; Hariadi ve Santoso, 2009; Jayanegara ve ark., 2012; Delgado ve ark., 2013; Bhatta ve ark., 2014).

Bu yüzden bu çalışmanın amacı, bazı ağaç yapraklarının anti-metanojenik özelliklerini *in vitro* gaz üretim tekniği kullanılarak belirlemektir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Ruminant hayvanlar yemlerde bulunan selüloz gibi sindirimi güç olan karbonhidratları rumende bulunan mikroorganizmalar vasıtasıyla parçalayarak enerji ihtiyaçlarını karşılamaktadırlar (Van Soest 1994). Bu özelliğinden dolayı non-ruminantlara göre önemli bir üstünlük sağlarlar. Ruminant sindirim sisteminin en önemli özelliklerinden birisi, mide ve ince bağırsak sindiriminden önce rumende mikrobiyal sindiriminin olmasıdır (Niwisnska, 2012). Ruminant hayvanlar tarafından alınan yemler önce rumende mikrobiyal fermentasyona tabi tutulur. Rumendeki fermentasyon başlangıçta karbonhidratları ve proteinleri basit şekerlere ve aminoasitlere dönüştürmektedir. Kısa süreli oluşan bu ürünler mikro-organizmalar tarafından ya mikrobiyal kütleyle ya da CO₂, CH₄, NH₃ ve uçucu yağ asitlerine (asetik, propiyonik ve bütirik asit vb.) dönüştürülürler. Rumende oluşan fermentasyonun miktarı önemli bir parametre olup hayvana sağlanan protein, vitamin ve uçucu yağ asidi miktarını belirlemektedir (Koenig ve ar. 2003). Ruminant hayvanlar fermentasyon sonucu açığa çıkan uçucu yağ asitlerini rumen duvarından absorbe ederek, protein, yağ ve basit şekerleri ise ince bağırsakta absorbe ederek yaşama ve verim için kullanırlar. Ruminant hayvanlar metabolik enerji ihtiyacının % 70'lik kısmını yemlerin rumendeki fermantasyonundan sağlamaktadırlar. Aminoasit ihtiyacının % 90'lık kısmını ince bağırsağa ulaşan mikrobiyal proteinden karşılamaktadırlar (Nocek ve Russell 1988; Bergman 1990). Ruminant rasyonlarının önemli bir kısmını karbonhidratlar oluşturmaktadır. Karbonhidratlar hem ruminant hayvanların hem de rumendeki mikroorganizmaların enerji ihtiyacını karşılamada kullanılırlar. Süt ineği rasyonunun % 70-80'lik kısmını karbonhidratlar oluşturur (Nocek ve Russell 1988). Genel olarak karbonhidratları yapısal ve yapısal olmayan karbonhidratlar olarak ikiye ayırmak mümkündür. Yapısal olmayan karbonhidratlar hücre içerisinde yer almasına rağmen yapısal karbonhidratlar hücre duvarında yer almaktadırlar. Yapısal karbonhidratlar kimyasal olarak üniform değildirler (Van Soest ve ark., 1991). Rasyonda bulunan karbonhidratlar ruminal fermentasyonun temel substratıdır. Mikrobiyal verim, karbonhidratların fermantasyonu ile yakından ilişkilidir. Hızlı fermente olan karbonhidratların mikrobiyal verimi daha yüksektir (Hall ve Herejk 2001). Karbonhidratların sindiriminin % 90'lık kısmı rumende gerçekleşmektedir. Bazı durumlarda önemli miktarda karbonhidrat sindirimi ince ve kalın bağırsakta da gerçekleşebilmektedir (Niwinska 2012).

Yapısal karbonhidratlar rasyonun % 30-40'ını oluşturabilmektedir (Hall ve ark., 2010). Yapısal olmayan karbonhidratların mikroorganizmalar için kolay ve çabuk erişilebilir enerji kaynağıdır (Ariza ve ark., 2001).

Uygun rasyon formülasyonu değişiklikleri yaparak rumen fermentasyonunu manipülasyonu mikrobiyal protein sentezi etkinliğini iyileştirilebilmektedir. Mikrobiyal protein sentezi artırmada temel unsurlar rumende erişilebilir veya kullanılabilir enerji ve azottur. Rumendeki bakteri popülasyonunu, karbonhidrat ve proteinin sindirimini etkileyen rasyona bağlı birçok faktör bulunmaktadır. Örneğin, rumende mikrobiyal fermentasyon organik asitlerin salınımına neden olmaktadır. Organik asitler rumen pH'sını düşürmektedirler. Rumen pH'sı rumen mikroorganizmalarının büyümesini ve çoğalmasını etkileyen önemli bir faktördür (Russell ve Rychlik, 2001).

Uygun bir şekilde beslemenin amacı, rumen mikroorganizmalarının ihtiyacı olduğu kadar enerji ve proteinin aynı anda rumende mikroorganizmaların kullanımına sunulmasıdır (Hall ve Weimer 2007). Besin maddelerinin rumende senkronize bir şekilde sunulması, mikrobiyal protein sentezini artırdığı için hayvana daha fazla besin maddesi sağlamak ve sonuç olarak hayvansal üretimi artırdığı bildirilmiştir (Sinclair ve ark., 1993, Hall ve Huntington 2008). Yapılan bazı araştırmalarda, yüksek miktarda parçalanmış karbonhidratların hızlı parçalanmış proteinlerle birlikte hayvanlara senkronize bir şekilde verilmesi mikrobiyal proteini artırdığı gözlemlenmiştir (Kovler ve ark., 1998, Charbonneau ve ark., 2006). Bununla birlikte, enerji ve protein arasındaki senkronizasyonun her zaman hayvansal üretimde artışa neden olmadığı bildirilmiştir (Yang ve ark., 2010). Çünkü ruminant hayvanlarda, rumende açığa çıkan fazla miktardaki amonyak rumenden uzaklaştırılmakta, rasyonun protein içeriğinin düşük olması durumunda kan ve salya yoluyla tekrar rumendeki mikroorganizmaların kullanımına sunulmaktadır (Niwinska 2012). Bu yüzden ruminantlarda senkronizasyon incelenirken sadece rumen göz önüne alınarak değerlendirilmemelidir, tüm hayvan göz önüne alınarak değerlendirilmelidir (Hall ve Huntington 2008).

Nişasta fermentasyonu uçucu yağ asidi ve laktik asit üretimini artırmakta, buna bağlı olarak rumen pH'sı azalmakta ve selülozu parçalayan mikroorganizmaları öldürmektedir. Böylece yemlerle alınan lifin sindirimi ve yem tüketimi azalmaktadır. Buna bağlı olarak asidosiz, rumenitis, laminitis vb. birçok metabolik bozukluklar ortaya çıkmaktadır (Plaizier ve ark., 2009). Rumen asidosiz riski nişasta sindiriminin artmasıyla birlikte yükselir. Asidosiz riski dane yeminin tipine ve işleme tabi tutulup tutulmadığına

bağlı olarak artar. Dane tipini buğday, yulaf, arpa, patates, mısır ve sorgum olarak sıralamak mümkündür (Callison ve ark., 2001; Mosavi ve ark., 2012).

Lif içeriği yüksek rasyonlar hidrojen ve karbondioksit üretimini buna bağlı olarak da metan üretimini artırırken nişasta içeriği zengin rasyonlar propiyonik asit üretimi artırmakta ve buna bağlı olarak da metan üretimini azaltmaktadır (Bannink ve ark., 2006; Ellis ve ark., 2008).

Enterik metan üretimini azaltmak için yemlerin sindirim derecesini kötüleştirmeden, H₂ kullanan ve üreten reaksiyonların yanında metanojenler üzerine odaklanması gerektiği bildirilmiştir (Martin ve ark., 2009).

Enterik metan üretimini etkileyen faktörleri aşağıdaki gibi sıralamak mümkündür

1. Besleme seviyesi, kaba yem/yoğun yem oranı ve yoğun yemin tipi
2. Kaba yemin kalitesi, türü ve tipi
3. Yemlere uygulanan fiziksel ve kimyasal uygulamalar
4. Rasyona yağ katılması ve yağ bileşimi
5. İyonofor kullanımı
6. Defaunasyon
7. Organik asit kullanımı
8. Aşılama
9. Probiyotikler
10. Hayvanlar arasındaki bireysel farklılıklar
11. Bitkiler ve ekstraktları

Jayanegara ve ark., (2012) yaptığı derlemede, tanen içeren ağaç yapraklarının ve ekstrakt edilmiş tanenin hem *in vitro* hem de *in vivo* koşullarda anti-metanojenik potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir. Rasyondaki tanenin miktarına bağlı olarak metan üretiminde önemli miktarda azalma meydana gelmiştir. Çayır otu ile yapılan çalışmada, kuru madde bazında % 20 oranında tanen içeren ağaç yapraklarının ilave edilmesi metan üretimini % 9.2 ile 28.9 arasında azaltmıştır (Hariadi ve Santoso, 2010). Tanen bakımından zengin ağaç yapraklarının rasyona % 30 oranında katılması *in vitro* metan üretimini % 60 oranında azaltmıştır (Bhatta ve ark., 2014). Rasyona meşe yaprağının katılmasıyla birlikte metan üretiminde önemli azalmalar meydana gelmiştir. % 25 oranında meşe yaprağının katılması metan üretiminde % 21.24'lik bir azalma meydana getirmiştir (Rajkumar ve ark., 2015).

Kuru madde bazında % 4.1 tanen ilavesi koyunlarda, rumende amonyak seviyesini ve idrarla atılan N içeriğini azaltması yanında, metan üretiminin de % 13 azalmasına

neden olmuştur (Carulla ve ark., 2005). Merada otlayan ineklere % 0.9 oranında *Acacia mearnsii* tanen ilavesi metan üretimini % 14 oranında azaltmıştır (Grainger ve ark., 2009). Tanen bakımından zengin *Sericea lespedeza* yaprakları tüketen keçilerde metan üretimi, çayır otu tüketen keçilerden daha düşük olduğu bildirilmiştir (Puchala ve ark., 2005). Tanen bakımından zengin ağaç yapraklarının rasyona ilavesi koyunlarda günlük metan üretimini % 24 azalttığı bildirilmiştir (Tiemann ve ark., 2008). Kondense tanen içeren gazal boynuzu otu tüketen ineklerin çayır otu tüketen ineklere göre % 32 daha az metan ürettiği bildirilmiştir (Woodward ve ark., 2004). Rasyona % 27 oranında *L. Leucocephala* katılması metan üretimini % 15.6 oranında azaltmıştır (Delgado ve ark., 2013).



3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Ağaç yapraklarının toplanması, kurutulması ve öğütülmesi

Tez çalışmasında tesbih, söğüt ve karaağaç ağacı yaprakları kullanılmıştır. Ağaç yaprakları toplanarak KSÜ Ziraat Fakültesi Yemler ve Hayvan Besleme laboratuvarına getirilerek öncelikle kuru madde içerikleri belirlenmiştir (AOAC, 1990). Arta kalan ağaç yaprakları gölgede kurutulmuş ardından Şekil 3.1.'de görülen öğütme değirmeninde öğütülerek analize hazır hale getirilmiştir. Öğütme işlemi 1 mm elekten geçecek şekilde yapılmıştır.



Şekil 3.1. Ağaç yapraklarının öğütülmesinde kullanılan değirmen

3.2. Metod

3.2.1. Ağaç yapraklarının kimyasal kompozisyonlarının belirlenmesi

Toplanan ağaç yapraklarının kimyasal kompozisyonunu belirlemek amacı ile kuru madde, ham kül, ham protein, ham yağ, NDF, ADF ve kondense tanen analizleri en az üçer tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır.

3.2.2. Ağaç yapraklarının kuru madde içeriklerinin belirlenmesi

Bir milimetrelik elekten geçirilmiş ağaç yapraklarından yaklaşık 1 gram alınarak önceden darası alınmış porselen krozeler içerisine konulmuş ve 105 °C'lik etüvde iyice kuruyuncaya kadar bekletildikten sonra hassas terazide tartımları yapılmıştır. Ağaç yaprağının kuru madde içeriği aşağıda verilen formüller kullanılarak belirlenmiştir (AOAC, 1990).

$$\% \text{ KM} = 100 - \% \text{ Nem} \quad \% \text{ Nem} = ((A_1 - D) - (A_2 - D)) / A * 100$$

KM: Kuru madde (%)

A: Ağaç yaprağı miktarı, gram

A₁: Ağaç yaprağı + kabın darası, gram

D: Kabın darası, gram

A₂: Kuru madde + Kabın darası, gram

3.2.3. Ağaç yapraklarının ham kül içeriklerinin belirlenmesi

Boş olarak 550 °C'lik ham kül fırınında 2 saat bekletilen porselen krozeler desikatöre alınarak oda sıcaklığına ulaşmıncaya kadar bekletilmiştir. Krozeler, hassas terazide darası alınarak (D) içerisine yaklaşık 1 gram numune (A) tartılmıştır (A₁) ve ham kül fırınına yerleştirilerek (Şekil 3.2.) 550 °C'lik fırında 8 saat yakılmıştır. Fırın belli sıcaklığa kadar soğuduktan sonra desikatöre alınan krozelerin oda sıcaklığına kadar soğuması beklenmiş ve tartımı yapılmıştır (A₂). Aşağıdaki formüller kullanılarak ağaç yaprağının ham kül içeriği belirlenmiştir (AOAC, 1990).

$$\% \text{ HK} = ((A_1 - D) - (A_2 - D)) / A * 100$$

A: Ağaç yaprağı miktarı, gram

A₁: Ağaç yaprağı + kabın darası, gram

A₂: Son tartım

D: Kabın darası, gram

HK: Ham kül (%)



Şekil 3.2. Ağaç yapraklarının ham kül içeriklerinin belirlenmesinde kullanılan kül fırını

3.2.4. Ağaç yapraklarının ham yağ içeriklerinin belirlenmesi

Ağaç yaprağından 2 gram (A) hassas terazide tartıldıktan sonra Soxhlet kartuşu içine konup ve kartuşun ağzı ekstraksiyon kısmında numune dışarı çıkmayacak şekilde ağaç yapraklarının sıkıştırılmıştır. Daha sonra kartuşlar ve yağ balonları 95 °C 'de 2 saat kurutma dolabında bekletilmiştir. Kurutma dolabından alınan materyaller desikatörde soğutulduktan sonra balonların hassas terazide daraları alınıp (B), balonlara Soxhlet aletinin ekstraksiyon kısmı yerleştirilmiştir. Soxhletin ekstraksiyon kısmına kartuşlar ve bir tam birde yarım sifon olacak şekilde eter konulmuştur (Şekil 3.3.) Bu düzenek Soxhlet aletine yerleştirilip, soğutma ve ısıtma düzeni ayarlanarak (70°C) çalıştırılmıştır. 4 saat sonunda ekstraksiyon kısmındaki eter bir kaba alınarak yağ ile eter birbirinden ayrılmıştır. İçerisinde yağ bulunan balonlar 95 °C deki kurutma dolabında 1 saat bekletildikten sonra desikatöre alınarak soğutulmuş ve desikatörden alınarak hassas terazide tartımı yapılarak (C) bulunan sonuçlar formülde yerine konularak örneğin % ham yağ içeriği hesaplanmıştır.

$$\% \text{HY} = (C-B)/A * 100$$

HY: Ham yağ (%)

A: Ağaç yaprağı, gram

B: Balonların darası, gram

C: Son tartım, gram



Şekil 3.3. Ağaç yapraklarının ham yağ içeriklerinin belirlenmesinde kullanılan Soxhlet cihazı

3.2.5. Ağaç yapraklarının ham protein içeriklerinin belirlenmesi

Ağaç yaprağının ham protein içerikleri Kjeldahl yöntemine göre yaş yakma, destilasyon (Şekil 3.4.-3.5.), titrasyon olmak üzere üç aşamada yapılmıştır. Ağaç yaprağının ham protein içerikleri aşağıda verilen formül kullanılarak belirlenmiştir (AOAC, 1990).

$$\% \text{ Protein} = (K) * (V) * (N) * (f_{\text{HCl}}) * (100) / (M) * (1000) * (fp)$$

K: 14.007 (Azotun atom ağırlığı)

V: Kullanılan HCl (ml)

N: HCl' nin normalitesi (0.1)

f_{HCl}: 0.1 N HCl'nin faktörü

fp: Proteine çevirme faktörü (6.25)

M: Tartılan yem miktarı.



Şekil 3.4. Ağaç yapraklarının ham protein analizinde kullanılan yaş yakma ünitesi



Şekil 3.5. Ağaç yapraklarının ham protein analizinde kullanılan destilasyon ünitesi

3.2.6. Ağaç yapraklarının asit deterjan fiber içeriklerinin belirlenmesi

Asit deterjan fiber çözeltisi 20 trimethylammoniumbromide ($C_{19}H_{42}BrN$) 1 litre 1 N H_2SO_4 içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Bu çözeltiden 100 ml alınarak içerisinde

yaklaşık 1 gram (A) numune bulunan beher içersine boşaltılmıştır. Daha sonra 1 saat kaynatılmış (Şekil 3.6.) ve cam krozede süzülerek sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. ADF içeren krozeler kurutma dolabında 10–12 saat süre ile 80 °C' de bekletildikten sonra desikatörde soğutulup hassas terazide tartımı yapılmıştır(A₁). Yem materyallerinin ADF içerikleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (AOAC, 1990).

$$\text{ADF (g/kg KM)} = (A_1) / (A) * 100$$

A: Ağaç yaprağının miktarı gram

A₁: İlk tartım gram

KM: Kuru madde

3.2.7. Ağaç yapraklarının nötral deterjan fiber içeriklerinin belirlenmesi

Nötral deterjan fiber solüsyonu, 30 gr dodecylsulfatesodium salt (C₁₂H₂₅NaO₄S), 18.16 gr titriplex-III (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈2H₂O), 6.81 gr di-sodiumtetraboratedecahydrate (Na₂B₄O₄10H₂O), 4.56 gr di-sodiumhydrogenphosphateanhydrous (Na₂HPO₄) ve 10 ml etanol 1 litre saf su içerisinde pH 6.8 ile 7.2 arasında olacak şekilde sırası ile karıştırılarak saf su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Bu çözeltiden 100 ml alınarak içerisinde yaklaşık 1 gr (A) örnek bulunan beher içersine boşaltılmış ve 1 saat kaynatılmıştır. Daha sonra 3 porlu (gözenek çapı) cam krozede süzülerek sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. NDF içeren cam krozeler kurutma dolabında 10-12 saat süre ile 80 °C' de bekletildikten sonra desikatörde soğutulup tartımı yapılmıştır (A₁).Yem materyallerinin NDF içerikleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (AOAC, 1990).

$$\text{NDF (g/kg KM)} = (A_1) / (A) * 100$$

A: Ağaç yaprağı miktarı, gram

A₁: İlk tartım, gram KM: Kuru madde

3.2.8. Ağaç yapraklarının kondense tanen içeriklerinin belirlenmesi

Ağaç yapraklarının kondense tanen içerikleri belirlemek için yaklaşık 0.01 gram örnek 10 ml cam tüpler içersine konup ve üzerine 6 ml butanol-HCl çözeltisi eklenerek 1 saat 100 °C' de kaynatılmış ve ardından ani şekilde soğutulmuştur. Daha sonra 550 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Şekil 3.6.) okuma işlemi yapılmış ve aşağıdaki formül kullanılarak ağaç yapraklarının kondense tanen içerikleri belirlenmiştir (Makkar ve ark., 1995).

$$\text{Kondense tanen (g/kg)} = (\text{Okuma deęeri} * 0.584)/\text{yem miktarı}$$



Şekil 3.6. Spektrofotometre

3.3. Ağaç Yapraklarının Gaz Üretimlerinin Belirlenmesi

Gaz üretiminde kullanılan rumen sıvısı, 3 adet ivesi cinsi 2 yaşlı koçlardan alınarak homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Yem örnekleri (0.20 g), 30 ml çözeltiyle (10 ml rumen sıvısı + 20 ml yapay tükürük) 100 ml'lik şırıngalar içerisinde 39 °C'de üç tekerrürlü inkübasyona bırakılmış ve gaz ölçümleri inkübasyondan 24 saat sonra ölçülmüştür (Menke ve ark., 1979), (Şekil 3.7). Kör denemeden elde edilen gaz değerleri ölçümlerden çıkartılarak yem materyallerinden elde edilen net toplam gazlar belirlenmiştir. Rumen sıvısıyla karıştırılan yapay tükürüğün (tampon çözeltisinin) hazırlanışı aşağıda verilmiştir.

1) Makro element çözeltisi

5.7 g Na_2HPO_4 + 6.2 g KH_2PO_4 + 0.6 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 lt saf su içerisinde eritilmiş ve çözeltinin pH'sı 6.8 olarak ayarlanmıştır.

2) İz element çözeltisi

13.2 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ + 10.0 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ + 1.0 g $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ + 0.8 g $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ karışımı 100 ml saf su içerisinde eritilmiştir

3) Tampon çözeltisi

35 g NaHCO_3 + 4 g $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$ 1 lt saf su içerisinde çözündürülmüş ve çözeltinin pH'sı 8.1 olmuştur.

4) Resazurin çözeltisi

100 mg Resazurin 100 ml saf su içerisinde çözündürülmüştür.

5) Redüksiyon çözeltisi

2 ml 1.0 N (Normal) NaOH + 285 mg Na₂S.7H₂O + 47.5 ml saf su içerisinde çözündürülmüş, bu çözelti rumen sıvısı alınmadan hemen önce hazırlanmış ve taze olarak kullanılmıştır.

Yukarıdaki hazırlanan çözeltiler aşağıda belirtildiği sırada ve miktarda karıştırılarak kullanıma hazır hale getirilmiştir.

474 ml saf su

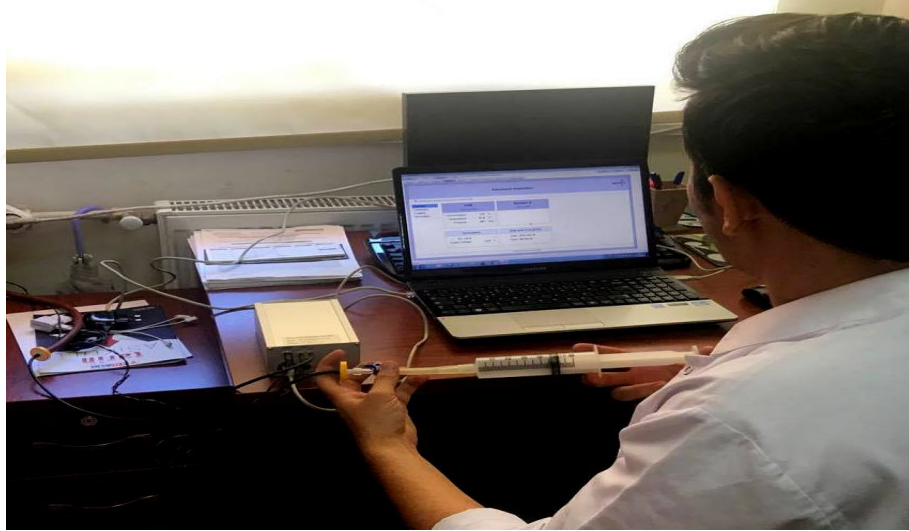
237 ml makro mineral çözeltisi

0.12 ml mikro mineral çözeltisi

1.22 ml resazurin çözeltisi

237 ml tampon çözeltisi

47.5 ml redüksiyon çözeltisi



Şekil 3.7. Ağaç yapraklarının metan üretimlerini belirlemede kullanılan gaz ölçüm seti

3.4. Ağaç Yapraklarının Metan Üretimlerinin Belirlenmesi

Yirmidört saatlik fermentasyon sonunda oluşan gaz plastik şırınga vasıtasıyla alınarak Infrared metan analiz cihazına (Sensor Europe GmbH, Erkrath, Germany) cihazında (Şekil 3.7.) metan içeriği belirlenmiş ve hem % hem de ml olarak ifade edilmiştir (Goel ve ark., 2008).

3.5. Ağaç Yapraklarının Metabolik Enerji İçeriklerinin Belirlenmesi

Ağaç yaprağının 24 saatlik gaz ölçüm değerleri ve HP içerikleri kullanılarak, metabolik enerji değerleri aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir (Menke ve Steingass, 1988).

$$\text{Metabolik Enerji (ME) (MJ/kg KM)} = 24.59 + 0.7984\text{GÜ} + 0.0496\text{HP}$$

GÜ: 24 saatlik gaz üretimi (ml)

HP: Ham protein (%)

3.6. Ağaç Yapraklarının Organik Madde Sindirim Derecelerinin Belirlenmesi

Ağaç Yapraklarının 24 saatlik gaz ölçüm değerleri, HP ve kül içerikleri kullanılarak organik madde sindirim derecesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Menke ve Steingass, 1988).

$$\text{OMSD (\%)} = 1.68 + (0.1418\text{GÜ}) + (0.073\text{HP}) + (0.217\text{EE}) - (0.028\text{HK})$$

OMSD: Organik madde sindirilme derecesi

GÜ: Gaz üretimi (ml)

HP: Ham protein (%)

HK: Ham kül (%)

HY: Ham yağ (%)

3.7. İstatistiksel Analiz

Türün ağaç yapraklarının kompozisyonuna, gaz üretimine, metan üretimine, metabolik enerji, organik madde sindirim derecesine olan etkisini belirlemek için elde edilen datalar varyans analizine tabi tutulmuş ve ortalamalar arasındaki farklar Tukey çoklu karşılaştırma testleri belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Türün ağaç yaprakları üzerine etkisi

Türün ağaç yapraklarının kompozisyonuna olan etkileri Çizelge 4.1’de belirtilmiş olup ağaç yapraklarının kompozisyonunu türden türe önemli değişiklik göstermiştir. Ağaç yapraklarının kuru madde içerikleri aynı olmakla birlikte diğer parametreler bakımından türler arasında belirgin farklar görülmektedir. Ham kül içeriği % 4.42 ile 13.33 arasında olup en yüksek kül içeriği tesbih çalışında bulunmuştur. Ham yağ içeriği % 5.68 ile 9.28 olurken en yüksek ham yağ içeriği tesbih ve söğüt yaprağında bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Farklı türlerden elde edilen ağaç yapraklarının kompozisyonları

Parametreler	Türler				p
	Tesbih	Söğüt	Karaağaç	SHO	
KM	34.26	32.97	33.47	0.456	0.000
HK	13.33 ^a	4.42 ^c	6.99 ^b	0.279	0.000
HY	9.28 ^a	8.23 ^a	5.68 ^b	0.518	0.001
HP	11.64 ^c	14.71 ^b	18.40 ^a	0.547	0.000
NDF	28.95 ^c	50.21 ^a	40.35 ^b	0.950	0.000
ADF	22.94 ^b	33.09 ^a	22.73 ^b	1.444	0.001
KT	14.29 ^a	1.59 ^c	10.28 ^b	0.678	0.000

^{abc} Aynı satırda farklı harf olan ortalamalar arasındaki farklılık önemlidir (P<0.05), SHO – Standard hata ortalaması; KM: Kuru madde %, HK: Ham kül %, HY: Ham yağ %, HP – Ham protein %, NDF – Nötral deterjan fiber %, ADF – Asit deterjan fiber %, KT: Kondense tanen %.

Ham protein içeriği % 11.64 ile 18.40 arasında olup en yüksek ham protein içeriği karaağaç yaprağında bulunmuştur. NDF ve ADF içerikleri sırasıyla % 28.95 ile 50.21 ve 22.73 ile 33.09 arasında değişmiş en yüksek NDF ve ADF içeriğine söğüt yaprağı sahip olmuştur. Ağaç yapraklarının kondense tanen içerikleri % 1.59 ile 14.29 arasında değişmiş en yüksek değere tesbih çalışında rastlanmıştır.

Görüldüğü gibi araştırmaya konu olan ağaç yapraklarının ham protein içerikleri rumende normal bir fermentasyon için gerekli olan protein seviyesinin üzerinde bulunmuştur. Özellikle söğüt ve karaağacın ham protein içeriği ruminant hayvanların ihtiyaçlarını karşılayacak seviyede olduğu görülmektedir. Diğer taraftan ağaç yapraklarında bulunan kondense tanen miktarının yüksek olması özellikle proteinlerin kullanımını kısıtlayıcı bir unsur olarak görülmektedir. Bilindiği gibi kondense tanen yemlerde bulunan proteinlerle bileşik oluşturarak proteinlerin rumende parçalanmasını azaltmakta buna bağlı olarak ta sindirimini azaltmaktadır. Tesbih yapraklarında yüksek miktarda bulunan kondense tanen tam sınırdaki bulunan ham proteinin kullanımını sınırlandırabilir. Bilindiği gibi kondense tanen miktarının rasyonda % 5 fazla bulunması hayvan besleme açısından ciddi sonuçlar doğurabilir. Bu yüzden tesbih çalısının kullanımında kondense tanenin protein üzerinde olası zararlı etkisini azaltmak için bazı önlemlerin alınması gereklidir. Kondense tanenin negatif etkisini azaltmak için yem katkı maddesi olarak PEG gibi bağlayıcılar ekonomik olması durumunda kullanılması tavsiye edilebilir.

4.2. Türün ağaç yapraklarının gaz, metan üretimi, organik madde sindirim derecesi ve metabolik enerji üzerine etkisi

Türün ağaç yapraklarının gaz, metan üretimi, organik madde sindirim derecesi ve metabolik enerji üzerine etkisi Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Ağaç yapraklarının PEG'siz ortamda fermentasyona tabi tutulması sonucu oluşan gaz miktarı 37.34 ile 43.94 ml arasında olup en yüksek gaz üretimi tesbih ve karaağaç yapraklarında bulunmuştur. Ağaç yapraklarının PEG'li ortamda fermentasyona tabi tutulması sonucunda gaz üretimi 43.30 ile 49.36 ml arasında olmuş en yüksek gaz üretimi karaağaç yapraklarında olmuştur. Ağaç yapraklarının PEG ile muamelesi gaz üretimini önemli miktarda artırmıştır. PEG'den dolayı gaz üretimindeki artış söğüt yaprağında bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Türün ağaç yapraklarının gaz, metan üretimi, organik madde sindirim derecesi ve metabolik enerji üzerine etkisi

	GAZ (ml)		METAN (ml)		METAN (%)		ME (MJ/ kg KM)		OMSD (%)	
	PEG'siz	PEG'li	PEG'siz	PEG'li	PEG'siz	PEG'li	PEG'siz	PEG'li	PEG'siz	PEG'li
Tesbih	42.85 ^a	47.36 ^b	5.59 ^a	5.87 ^b	13.05 ^a	12.39 ^a	9.05 ^a	9.66 ^a	62.45 ^b	66.47 ^b
Söğüt	37.34 ^b	43.30 ^c	4.03 ^c	4.08 ^c	10.79 ^c	11.52 ^b	8.41 ^b	9.21 ^b	60.86 ^b	66.18 ^b
Karaağaç	43.94 ^a	49.36 ^a	5.06 ^b	6.35 ^a	11.53 ^b	12.86 ^a	9.07 ^a	9.81 ^a	67.85 ^a	72.66 ^a
Ö.S	***	***	***	***	***	***	***	***	***	***
SHO	0.727	0.586	0.131	0.081	0.171	0.237	0.099	0.078	0.847	0.519
Tür	***		***		***		***		***	
PEG	***		***		***		***		***	
TürxPEG	***		***		***		Ö.D		Ö.D	

Ağaç yapraklarının PEG'siz ortamda fermentasyona tabi tutulması sonucu oluşan metan miktarı 4.03 ile 5.59 ml arasında olup en yüksek metan üretimi tesbih ve karaağaç yapraklarında bulunmuştur. Ağaç yapraklarının PEG'li ortamda fermentasyona tabi tutulması sonucunda metan üretimi 4.08 ile 6.35 ml arasında olmuş en yüksek metan üretimi karaağaç yapraklarında olmuştur. Ağaç yapraklarının PEG ile muamelesi metan üretimini önemli miktarda artırmıştır. PEG'den dolayı metan üretimindeki artış karaağaç yaprağında bulunmuştur.

Ağaç yapraklarının PEG'siz ortamda fermentasyona tabi tutulması sonucu oluşan metan yüzdesi % 10.79 ile 13.05 ml arasında olup en yüksek metan yüzdesi tesbih ve karaağaç yapraklarında bulunmuştur. Ağaç yapraklarının PEG'li ortamda fermentasyona tabi tutulması sonucunda metan yüzdesi % 11.52 ile 12.86 arasında olmuş en yüksek metan yüzdesi tesbih ve karaağaç yapraklarında olmuştur. Ağaç yapraklarının PEG ile muamelesi metan yüzdesini önemli miktarda artırmıştır. PEG'den dolayı metan yüzdesindeki artış söğüt ve karaağaç yaprağında bulunmuştur. Fermentasyon sonunda açığa çıkan gazın metan içeriği (%) o yemin anti-metanojenik potansiyelini değerlendirmede önemli bir kriterdir. Normal koşullarda kaba yemin 24 saatlik fermentasyonu sonucunda üretilen gazın metan içeriği % 16-18 arasında değişmektedir. Lopez ve ark., (2010) anti-metanojenik özellik taşıyan yemleri üç gruba ayırmıştır. Metan içeriği % 11 ile 14 arasında olan yemlerin düşük, % 6 ile 11 arasında orta ve % 0 ile 6 arasında olanların yüksek anti-metanojenik özellikte olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada ağaç yapraklarının metan içerikleri % 11 ile 14 arasında olduğundan dolayı söz konusu yapraklarının hepsinin düşük seviyede anti-metanojenik potansiyele sahip olduğu söylenebilir. Anti-metanojenik özellik bakımından bu çalışmaya konu olan ağaçları söğüt, karaağaç ve tesbih ağacı şeklinde sıralamak mümkündür.

Ağaç yapraklarının PEG'siz ortamda fermentasyona tabi tutulması sonucu oluşan gaz değerleri kullanılarak hesaplanan ME 8.41 ile 9.07 MJ arasında olup en yüksek ME tesbih ve karaağaç yapraklarında bulunmuştur. Ağaç yapraklarının PEG'li ortamda fermentasyona tabi tutulması sonucu oluşan gaz değerleri kullanılarak hesaplanan ME değerleri 9.21 ile 9.81 arasında olmuş en yüksek ME değerleri tesbih ve karaağaç yapraklarında bulunmuştur. Ağaç yapraklarının PEG ile muamelesi ME değerlerini önemli miktarda artırmıştır. PEG'den dolayı ME artış söğüt yaprağında bulunmuştur.

Ağaç yapraklarının PEG'siz ortamda fermentasyona tabi tutulması sonucu oluşan gaz değerleri kullanılarak hesaplanan OMSD % 60.86 ile 67.85 arasında olup en yüksek OMSD tesbih ve karaağaç yapraklarında bulunmuştur. Ağaç yapraklarının PEG'li ortamda fermentasyona tabi tutulması sonucu oluşan gaz değerleri kullanılarak hesaplanan OMSD değerleri % 66.18 ile 72.66 arasında olmuş en yüksek OMSD değerleri tesbih yapraklarında bulunmuştur. Ağaç yapraklarının PEG ile muamelesi ME değerlerini önemli miktarda artırmıştır. PEG'den dolayı ME artış söğüt yaprağında bulunmuştur.

Çizelge 4.2.'de görüldüğü gibi ağaç yapraklarında bulunan kondense tanen PEG ile bağlanması sonucu hem gaz üretiminde hem de metan üretiminde ciddi artışlar meydana gelmektedir. PEG ile bağlanan kondense tanenler rumen mikro-organizmalar üzerindeki negatif etkisinin kalkmasıyla birlikte hem gaz üretiminde hem de metan üretiminde ciddi artışlar olmuştur. Fakat gaz ve metan üretimindeki artışlar kondense tanen miktarı ile doğru orantılı olmamıştır. Kondense tanen miktarı en düşük söğüt yapraklarında olmasına rağmen PEG ilavesiyle en fazla gaz üretim artışı söğüt yapraklarında bulunmuştur. Metan üretimindeki artış ise kondense tanen içeriği en yüksek olan karaağaç yapraklarında bulunmuştur. Yemlerde bulunan kondense tanenin negatif etkisinin sadece miktarına bağlı olmadığı bunun yanında moleküler ağırlığı ve polimerizasyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir. Daha önceki yapılan benzer çalışmalarda farklı ağaç yapraklarının PEG muamelesine farklı tepki verdiği bildirilmiştir (Canbolat ve ark., 2005).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmaya konu olan tesbih, söğüt ve karaağaç yapraklarının kompozisyonları arasında önemli farklılıklar olduğu, özellikle protein ve enerji açısından düşünüldüğünde ruminant hayvanların besin madde ihtiyacını karşılamada alternatif bir yem kaynağı olabileceği düşünülmektedir. Fakat yüksek miktarda kondense tanen içeren tesbih ve karaağaç yapraklarının ruminant hayvanların rasyonlarına ilavesi durumunda proteinlerin kullanım etkinliğinin düşebileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada ağaç yapraklarının metan içerikleri % 11 ile 14 arasında olduğundan dolayı söz konusu yapraklarının hepsinin düşük seviyede anti-metanojik potansiyele sahip olduğu söylenebilir. Anti-metanojenik özellik bakımından bu çalışmaya konu olan ağaçları söğüt, karaağaç ve tesbih ağacı şeklinde sıralamak mümkündür. Bu çalışmaya konu olan ağaç yapraklarının anti-metanojik özelliklerin *in vivo* denemelerle test edilmesine ihtiyaç vardır.

Bu çalışmanın *in vitro* kısmında, ağaç yapraklarında bulunan kondense tanenin gaz, metan, organik madde sindirim derecesi ve metabolik enerji içeriğine negatif etkisinin olduğu ve bu negatif etkisinin PEG muamelesiyle bertaraf edilebileceğini göstermiştir. Fakat PEG'in pahalı olmasından dolayı uygun ve ekonomik dozun belirlenmesi için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC. US.
- Ariza, P., Bach, A., Stern, M.D., Hall, M.B. 2001. Effects of carbohydrates from citrus pulp and hominy feed on microbial fermentation in continuous culture. *J. Anim. Sci.* 79:2713- 2718.
- Bannink, A., Kogut, J., Dijkstra, J., France, J., Kebreab, E., Van Vuuren, A.M., Tamminga, S. 2006. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. *J Theor Biol.* 238:36-51
- Bergman, E.N. 1990. Energy contribution of VFA from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* 70:567-590.
- Bhatta, R., Saravanan, M., Baruah, L., Prasad, C.S. 2014. Effects of graded levels of tannin-containing tropical tree leaves on *in vitro* rumen fermentation, total protozoa and methane production. *Journal of Applied Microbiology*, 118:557-564.
- Callison, S.L., Firkins, J.L., Eastridge, M.L., Hull, B.L. 2001. Site of nutrient digestion by dairy cows fed corn of different particle sizes or steam-rolled. *J Dairy Sci.* 84:1458-1467
- Canbolat, O., Kamalak, A., Ozkose, E., Ozkan, C.O., Sahin, M., Karabay, P. 2005. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* gas production, metabolizable energy and organic matter digestibility of *Quercus cerris* leaves. *Livestock Research for Rural Development. Volume 17, Article #42*. Retrieved August 30, 2018, from <http://www.lrrd.org/lrrd17/4/canb17042.htm>
- Carulla, J.E., Kreuzer, M., Machmüller, A., Hess, H.D. 2005. Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56:961-970.
- Charbonneau, E., Chouinard, P.Y., Allard, G., Lapierre, H., Pellerin, D. 2006. Milk from forage as affected by carbohydrate source and degradability with alfalfa silage based diets. *J. Dairy Sci.* 89:283–293.
- Delgado, D.C., Galindo, J., Cairo, J., Orta, I., Dominguez, M., Dorta, N. 2013. Supplementation with foliage of *L. leucocephala*. Its effect on the apparent digestibility of nutrients and methane production in sheep. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 47(3): 267-271.
- Ellis, J.L, Dijkstra, J., Kebreab, E., Bannink, A., Odongo, N.E., McBride, B.W., France, J. 2008. Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. *J Agricul Sci.* 146:213e33
- Goel, G., Makkar, H.P.S., Becker, K. 2008. Effect of *sesbania sesban* and *carduus pycnocephalus* leaves and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L) seeds and their extract on partitioning of nutrients from roughage-and concentrate-based feeds to methane. *Animal Feed Science and Technology*, 147(1-3): 72-89.
- Grainger, C., Clarke, T., Auld, M.J., Beauchemin, K.A., McGinn, S.M., Waghorn, G.C., Eckard, R.J. 2009. Potential use of *Acacia mearnsii* condensed tannins to reduce methane emission and nitrogen excretion from grazing dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science.* 89:241-251.

- Hall, M.B., Herejk, C. 2001. Differences in yields of microbial crude protein from *in vitro* fermentation of carbohydrates. *J. Dairy Sci.* 84:2486-2493.
- Hall, M.B., Huntington, G.B. 2008. Nutrient synchrony: Sound in theory, elusive in practice. *J. Anim. Sci.* 86(E. Suppl.):E287–E292.
- Hall, M.B., Larson, C.C., Wilcox, C.J. 2010. Carbohydrate source and protein degradability alter lactation, ruminal, and blood measures. *J. Dairy Sci.* 93:311–322.
- Hall, M.B., Weimer, P.J. 2007. Sucrose concentration alters fermentation kinetics, products, and carbon fates during *in vitro* fermentation with mixed ruminal microbes. *J. Animal Sci.* 8:1467-1478.
- Hariadi, B.T., Santoso, B. 2010. Evaluation of tropical plants containing tannin on *in vitro* methanogenesis and fermentation parameters using rumen fluid. *The Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90:456-461.
- Jayanegara, A., Lieber, F., Kreuzer, M. 2012. Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from *in vivo* and *in vitro* experiments. *Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96:365-375.
- Johnson, K.A., Johnson, D.E. 1995. Methane emissions from cattle. *Journal of Animal Science* 73: 2483-2492.
- Koenig, K.M., Beauchemi, K.A., Rode, L.M. 2003. Effect of grain processing and silage on microbial protein synthesis and nutrient digestibility in beef cattle fed barley based diets. *J. Anim. Sci.* 81:1057-1067.
- Kolver, E., Muller, L.D., Varga, G.A., Cassidy T.J. 1998. Synchronization of ruminal degradation of supplemental carbohydrate with pasture nitrogen in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 81:2017–2028.
- Lopez, S., Makkar, H.P.S., Soliva, C.R. 2010. Screening plants and plant products for methane inhibitors. In, Vercoe PE, Makkar HPS, Schlink A (Eds): *In vitro* Screening of Plant Resources for Extra-nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies. pp.191-231, London, New York.
- Martin, C., Morgavi, D.P., Doreau, M. 2009. Methane mitigation in ruminants: from microbes to the farm scale. *Animal* 4(3):351-365.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *Journal of Agricultural Science*, 93: 217–222
- Menke, K.H., Steingass, H. 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.
- Mosavi, G.H.R., Fatahnia, F., Mirzaei Alamouti, H.R., Mehrabi, A.A., Darmani Koh H. 2012. Effect of dietary starch source on milk production and composition of lactating Holstein cows. *S Afr J Anim Sci*, 42:201-209
- Niwisnska, B. 2012. Digestion in Ruminants In: Carbohydrates. Comprehensive Studies on glycobiology and glycotchnology Edited by Chang CF. DOI:10:5772/5174.

- Nocek, J.E., Russell, J.B. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminant protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk. *J. Dairy Sci.* 71:2070-2107.
- Plaizier, J.C., Krause, D.O., Gozho, G.N., McBride, B.W. 2009. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences. *Vet. J.* 176:2131.
- Puchala, R., Min, B.R., Goetsch, A.L., Sahl, T. 2005. The effect of condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *Journal of Animal Science*, 83(1):182-186.
- Rajkumar, K., Bhar, R., Kannan, A., Jadhav, R.V., Sing, B., Mal, G. 2015. Effect of replacing oat fodder with fresh and chopped oak leaves on *in vitro* rumen fermentation, digestibility and metabolizable energy. *Veterinary World*, pp.1021-1026.
- Russell, J.B., Rychlik, J.L. 2001. Factors that alter rumen microbial ecology. *Science* 292:1119- 1222.
- Sinclair, L.A., Garnsworthy, P.C., Newbold, J.R., Buttery, P.J. 1993. Effect of synchronizing the rate of dietary energy and nitrogen release on rumen fermentation and microbial protein synthesis in sheep. *J. Agric. Sci.* 120:251–263.
- Tiemann, T.T., Lascono, C.E., Wettstein, H.R., Mayer, A.C., Kreuzer, M., Hess, H.D. 2008. Effect the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy in growing lamb. *Animal*, 2(5):790-799.
- Van Soest, P.J. 1994 Nutritional ecology of ruminants. 2 nd ed. Cornell University Press Ithaca, New York USA. https://books.google.com.tr/books/about/Nutritional_Ecology_of_the_Ruminant.html?id=-mwUu6PL1UgC&redir_esc=y
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B., Lewis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74:3583-3597
- Woodward, S.L., Waghorn, G.C., Lassey, K.R., Laboyrie, P.G. 2004. Condensed tannin in birdshot trefoil (*Lotus corniculatus*) reduce methane emission from dairy cows. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 64:160-164.
- Yang, J.Y., Seo, J., Kim, H.J., Seo, S., Ha, J.K. 2010. Nutrient Synchrony: Is it a suitable strategy to improve nitrogen utilization and animal performance? *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 23:972-979.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Nurullah ŞİMŞEK
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 01.01.1989 / Mardin
Medeni hali : Bekar
Telefon : +90 505 996 7777
E-posta : n.ssimsek@hotmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek Lisans	KSÜ / Zootekni Bölümü	2019
Lisans	KSÜ / Zootekni Bölümü	2015
Lise	Kızıltepe Anadolu Lisesi	2005

Staj

KSÜ Ziraat Fakültesi (Haziran — Ağustos 2013)

Yabancı Dil

İngilizce, Arapça

Hobiler

Fotoğrafçılık

Yayınlar

Simsek, N., Kamalak, A., 2019. Bazı ağaç yapraklarının ani-metanojenik özelliklerinin *in vitro* gaz üretim tekniği ile Belirlenmesi. Black Sea Journal Of Agriculture 2(1)