

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



**PLANTAGO LANCEOLATA OTUNUN BESİN MADDE KOMPOZİSYONU İLE
İN VİTRO RUMİNAL SİNDİRİMİ ORGANİK ASİT KONSANTRASYONU VE
RUMEN MİKROORGANİZMALARİ ÜZERİNE
BİTKİ FENOLOJİK DÖNEMİNİN ETKİSİ**

Proje No: TSA-2016-7065

Proje Türü: Normal Araştırma Projesi

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Yrd. Doç. Dr. Kanber KARA

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri

Araştırmacılar:

Prof.Dr. Berrin K. GÜÇLÜ¹, Prof.Dr. Erol BAYTOK¹, Uzman Dr. Serkan ÖZKAYA²,
Arş.Gör. Eray AKTUĞ¹

¹: Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri

²: Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Isparta

Ocak 2018
KAYSERİ

TEŞEKKÜR

“*Plantago Lanceolata* Otunun Besin Madde Kompozisyonu İle *In Vitro* Ruminal Sindirimi Organik Asit Konsantrasyonu Ve Rumen Mikroorganizmaları Üzerine Bitki Fenolojik Döneminin Etkisi” isimli TSA-2016-7065’nolu bu proje Erciyes Üniversitesi **Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi** (ERÜ-BAP) tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Bilimsel Araştırma Projeleri koordinasyon birimine teşekkür ederiz.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	6
ABSTRACT	7
1.GİRİŞ	8
2.GENEL BİLGİ	10
3.MATERYAL VE METOT.....	12
3.1.Toplam gaz ve metan üretiminin saptanması	13
3.2.Hesaplama ve istatistik	14
3.3.Kimyasal kompozisyon	15
3.4. In vitro gaz üretimi ve rumen sıvısının fermentasyon parametreleri.....	15
4.TARTIŞMA	22
4.1.Kimyasal Bileşim	22
4.2.Metan üretimi ve rumen florası	24
4.3.Toplam gaz üretimi ve hesaplanmış parametreler	24
4.4.Ruminal amonyak-N ve VFA konsantrasyonu.....	25
5. KAYNAKLAR.....	27

TABLÖLAR

Tablo 1. <i>P. lanceolata</i> 'nın fenolojik dönemleri.....	16
Tablo 2. <i>P. lanceolata</i> 'nın besin madde ve kondanse tanen düzeyleri	17
Tablo 3. Farklı fenolojik dönemdeki <i>P. lanceolata</i> otunun makro (g / kg KM) ve mikro mineral (mg / kg KM) içeriği	18
Tablo 4. <i>P. lanceolata</i> otunun farklı fenolojik dönemlerdeki gaz kinetiği ve fermentasyon parametreleri.....	19
Tablo 5. Ruminal bakteri sayısı ($\times 10^9$ / mL rumen sıvısı) ve protozoon sayısı ($\times 10^4$ / mL rumen sıvısı) ve VFA konsantrasyonu üzerine <i>P. lanceolata</i> bitkisinin farklı fenolojik dönemlerdeki etkileri.....	20
Tablo 6. Olgunluk dönemi ve gaz üretim kinetikleri ile kimyasal bileşiminin ve bazı hesaplanan parametrelerin korelasyon katsayısı (r) ilişkisi.....	21

**PLANTAGO LANCEOLATA OTUNUN BESİN MADDE KOMPOZİSYONU İLE
İN VİTRO RUMİNAL SİNDİRİMİ ORGANİK ASİT KONSANTRASYONU VE
RUMEN MİKROORGANİZMALARI ÜZERİNE BİTKİ FENOLOJİK DÖNEMİNİN
ETKİSİ**

ÖZET

Bu çalışma *Plantago lanceolata* bitkisinin farklı fenolojik evrelerdeki besleyici içerikleri ve in vitro ruminal fermantasyon parametrelerini belirlemek amacıyla yapılmıştır. Bitki örnekleri, bitkinin vejetatif, çiçekli ve erken tohum evrelerinde toplandı. Vejetatif ve çiçek açma evrelerinde ham protein, ham yağ, kül, yapısal olmayan karbonhidratlar ve proantosiyaniid düzeyleri erken dönem tohum evresinden yüksekti ($P < 0.001$). Yapısal karbonhidrat düzeyleri ($P < 0.05$) erken tohum evresinde daha yüksek bir değere sahip olduğu tespit edildi. Bitki olgunlaştıkça, Na, Zn ve Mn konsantrasyonları artarken ($P < 0.05$), glikoz, fruktoz, Ca, K, Mg, P, Fe ve Cu konsantrasyonları azaldı ($P < 0.001$). Asimptotlu gaz üretimi, gaz üretim hızı ($P < 0.001$), toplam gaz üretimi (24 saat) ($P = 0.002$), metabolik enerji, net enerji laktasyon ve organik madde sindirilebilirlik seviyeleri, *Entodinium* sayısı ($P < 0.001$) ve toplam bakteri sayısı ($P = 0.026$) çiçek açma vejetatif dönemleri de erken tohum evresindekinden daha yüksekti. 0.2 g KM ile üretilen metan, üç fenolojik evrede benzerdi ($P = 0.078$).

Bitkilerin bağlı kondanse tannin ve saponin içerikleri ve amonyak-N, toplam protozoon sayısı ve rumen sıvısı pH değerleri 3 farklı fenolojik evredede benzerdi ($P > 0.05$). Bu çalışma vejetatif ve çiçek dönemindeki *P. lanceolata*'nın, kimyasal bileşimi, enerji içeriği ve sindirilebilirliği açısından kurak topraklarda bulunan ruminantlar için bir kaba yem kaynağı olarak kullanılma potansiyeli taşıdığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: İn vitro gaz üretimi; mineral; Plantaginaceae; ruminal mikrobiyota

EFFECT OF PHENOLOGICAL STAGE ON CHEMICAL COMPOSITION, IN VITRO RUMINAL FERMENTATION, ORGANIC ACID CONCENTRATION AND RUMEN MICROORGANISMS OF PLANTAGO LANCEOLATA HERBAGE
ABSTRACT

This study purposed to determine the nutrient ingredients and in vitro ruminal fermentation parameters of *Plantago lanceolata* herbage in different phenological stages. The plant samples were gathered in the vegetative, flowering and early seed stages of the plant. The crude protein, diethyl ether extract, ash, non-fibre carbohydrates, and proanthocyanidins levels of the vegetative and flowering stages were higher than those of the early seed stage ($P < 0.001$). Structural carbohydrate levels ($P < 0.05$) were determined to have a higher value in the early seed stage. Glucose, fructose, Ca, K, Mg, P, Fe and Cu concentrations decreased as the plant matured ($P < 0.001$), but Na, Zn, and Mn concentrations increased ($P < 0.05$). The asymptote gas production, gas production rate ($P < 0.001$), total gas production at 24 h ($P = 0.002$), metabolic energy, net energy lactation, and organic matter digestibility levels and number of Entodinium ($P < 0.001$) and total bacteria count ($P = 0.026$) of the flowering and vegetative stages were higher than those of the early seed stage. Methane produced by 0.2 g DM was similar in the three phenological stages ($P = 0.078$). The bound condensed tannins and saponin contents of plants and ammonia-N, number of total protozoa and pH value of rumen fluid were similar in the three different phenological stages ($P > 0.05$). The present study indicated that *P. lanceolata* in the vegetative and flowering stages has the potential to be used as a forage source for ruminants in drought lands in terms of its chemical composition, energy content and digestibility.

Keywords: *In vitro* gas production; mineral; Plantaginaceae; ruminal microbiota

1.GİRİŞ

Günümüzde küresel kuraklığın etkisinin daha belirgin olduğu Avrupa'nın güneyi ve Akdeniz bölgesi ülkelerinde son 900 yılın en kurak dönemi yaşanmaktadır. Hatta yarı kurak bölgeler kurak olarak değerlendirilmekte, kurak olan bölgeler ise çölleşmektedir. Ülkemiz de çölleşmekte olan bölgeler arasında yer almaktadır. Her geçen gün artan insan nüfusunun kırmızı et ve süt talebini karşılamak için yetiştiriciliğinin yapılması kaçınılmaz olan ruminantların en önemli yem kaynağını kaba yemler oluşturmaktadır. Ruminantlarda kaba yemin farklı iklim koşulları ve farklı mevsim şartlarında tedarik edilmesi gerekmektedir. Ancak Ülkemiz gibi tarım ve mera alanlarında kurak-yarı kurak iklim şartlarının hâkim olduğu bölgelere uygun olan alternatif kaba yem kaynaklarının araştırılması üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır.

Ruminant besleme için kaba yem açığının önem arz ettiği günümüzde alternatif kaba yem olarak *Plantago lanceolata*'nın kuru otunun araştırılması ve potansiyelinin ortaya konulması ülke hayvancılığı için önemlidir. Sunulan projenin ile vejetatif (genç; çiçeklenme öncesi), çiçeklenme ve tohum bağlama olmak üzere üç farklı bitki gelişim döneminde (fenolojik dönem) toplanan *Plantago lanceolata* yeşil otunun besin madde kompozisyonu ile *in vitro* sindirim parametreleri belirlenerek; Kayseri'de doğal olarak yetişen bu bitkinin kalitesi ve kaba yem olarak en uygun fenolojik dönemi ortaya konulmuş olacaktır.

Çayır ve mera alanlarında buğdaygil ve baklagil familyaları dışında diğer familyalara ait pek çok tür bulunmaktadır. Bu bitkilerin bazıları doğal olarak kaba yem özelliği taşımakta ve hayvanlar tarafından değerlendirilmektedir. Türkiye gibi sıcak iklime sahip ülkelerde yaz mevsimi ilerledikçe mera alanlarındaki bitki çeşitliliği ve bitki kalitesi azalmakta ve herbivorlar için kalitesiz ve yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle mevcut mera alanlarında kurak iklim koşullarına ve çeşitli toprak tiplerine uygun kaliteli bitki türlerinin belirlenmesi ve

geliştirilmesi gerekmektedir. Ülkemizin birçok bölgesinde doğal olarak yetişen *Plantago*, *Malva*, *Cichorium*, *Polygonum*, *Taraxacum* ve *Poterium* türleri kaba yem niteliği taşıyan önemli bitkilerdir. Dünyanın birçok bölgesinde olduğu gibi Türkiye’de de doğal olarak yetişen sinirotu türleri (*P. lanceolata*, *P. major*, gibi) alternatif ve kuraklığa dayanıklı bir bitki olması açısından önemlidir. Sinirotu türleri bitki hastalıklarına karşı dayanıklı olması yanında çok sıcak ve soğuk iklim şartlarında da büyümesini devam ettirebilmektedir.

Yukarıda bahsedilen alternatif cayır ve mera otlarının bazıları gelişmiş ülkelerde önem kazanmış ve seçilerek kültür formları geliştirilmiştir. *Plantago lanceolata*’nın Yeni Zelanda’da geliştirilmiş, yüksek fide gücüne sahip, bitki hastalıklarına dayanıklı, koyun meralarına uygun varyeteleri (*Grasslands Lancelot*) geliştirilmiştir. Avustralya’da yapılan bir başka çalışmada *Plantago* ve *Cichorium*’un hem yaz hem de kış aylarındaki büyüme oranlarının (kg kuru madde/ha/gün) İngiliz çiminden daha iyi olduğu saptanmıştır. Sinirotu türlerinin geleneksel yem bitkilerine göre en önemli avantajlarından bir diğeri de ham protein ve mineral (demir, kalsiyum, bakır, çinko, kükürt ve sodyum) maddelerce (yaprak veya tüm bitki kısmı ile) zengin olmalarıdır.

Ruminant besleme için kaba yem açığının önem arz ettiği günümüzde alternatif kaba yem olarak *Plantago lanceolata*’nın kuru otunun araştırılması ve potansiyelinin ortaya konulması ülke hayvancılığı için önemlidir.

Önerilen projede *Plantago lanceolata*’nın bitki gelişiminin farklı dönemlerindeki besin madde içeriği ile *in vitro* ruminal sindirim parametreleri ortaya konulduğunda;

- En uygun bitki fenolojik dönemi hangisi olduğu
- Mera ıslahı olarak tercih edilecek değere sahip olup/olmadığı,
- Kaba yem olarak kalitesinin ne olduğu,
- Mineral içeriği bakımından diğer kaba yemlerden farkının ne olduğu,

Rumen bakteri ve protozoa'ları ile uçucu yağ asitleri üzerine etkisi hakkında fikir sahibi olunacaktır.

2.GENEL BİLGİ

Plantago türü (sinir otu) *Plantaginaceae* familyasına ait olup, türlerine göre değişmekle birlikte çiçek sap uzunluğu 10-60 cm ve yaprak uzunluğu ise yaklaşık 25 cm olabilen hem insan hem de hayvan beslemede kullanılan çok yıllık bitkilerdir. Çok yıllık bitki olmasına karşın ilk yılda çiçeklenebilir. Genellikle Nisan ayından Ağustos ayına kadarki dönemde çiçeklenme görülmektedir (1,2). Bu bitki pH 4,2-7,8 (optimum pH 5,8) olan her tür toprak çeşidinde rahatlıkla yetişebilmekle birlikte daha çok kumlu ve nemli topraklar bitki gelişimi için idealdir (3). Sinirotu bitki ailesinin dünyanın sıcak iklime sahip bölgelerinde belirlenmiş olan 265 türü vardır (1). Plantago türleri soğuk hava şartlarına dayanıklıdır ve kışında büyümesini devam ettirebilmektedir (2). Ülkemizde de sinirotunun çayır ve mera alanlarında doğal olarak bulunan dar yapraklı (*P. lanceolata*) ve geniş yapraklı (*P. major*, *P. asiatica*) türleri mevcuttur (4–6). Bu bitki eski medeniyetler (Çin, Yunan ve Mısır) tarafından tedavi edici özeliğinden dolayı kullanılmıştır. Sinirotu türlerinin yaprak kısımlarında bulunan biyolojik aktif glikozitler (yaklaşık %2-3 iridoid glikozitler; aucubin ve catalpol), flavonoidler (apigenin ve luteolin), tanenler (fenolik karboksilik asit içeren phydroxybenzoic-, protocatechuic, gentisinic-, chlorogenic- ve neochlorogenic asitler), polisakkaritler (musilaj etkili arabinogalaktan) ve vitaminlerden dolayı günümüzde de tıbbi amaçla birçok alanda kullanılmaktadır. Önemli bir biyolojik ajan olan iridoid glikozitler (aucubin ve catalpol) bitki kartlaştıkça yaprak kısımlarında %9'a kadar ulaştığı bildirilmektedir (1). Aucubin maddesinin yara iyileştirici, antibakteriyel, antikanserojenik ve mast hücrelerinde NF-kB'i inhibe edici etkisi belirlenmiştir (7). Bitkinin yapraklarının özellikle tuzlu ve kurak toprak şartlarında yetişenlerde yüksek oranda biriken sorbitol maddesinden dolayı lezzeti arttığından merada

otlayan hayvanlar tarafından iştahla tüketilir (3). Sinirotunun türüne göre yaprakların şekilleri değişmektedir (lanset şeklinde; *P.lanceolata*, yuvarlak şekilde; *P.ovata*). Yapraklar toprağa paralel olarak uzanmaktadır. Çiçek sapı 60 cm'e kadar uzanır ve tohumları çiçek başında bulunur. Tohumları oldukça küçük (0,4-0,8×0,8-1,5 mm) ve hafif acımsıdır. Tohumun dış kısmındaki müsilağ içeriği yüksek olan kabukla sarılmıştır. Sinirotunun yaprak ve tohumlarının kendine has mantarımış kokusu içeriğindeki oct-1-en-3-ol bileşiğinden kaynaklanmaktadır. Bazı toplumlarda sinirotu türlerinin (*P. major* L.) yaprak kısımları salatalarda (Çin) ve çorbalarda (Fransa, İtalya) kullanılması yanında çay ve tütü olarak da değerlendirilmektedir.

Tohum kısımlarından ise ekmek, kek, kahvaltılık gevrek ve dondurma yapılabilir (1). Bitki turu, yetiştiği bölge (toprak çeşitliliği), bitki fenolojik dönemi (vejetasyon dönemi, çiçek açma, tohum bağlama) ve iklim şartları gibi etkenlere bağlı olarak sinirotunun besin madde içeriği farklılık göstermektedir.

Ülkemizin İç Anadolu Bölgesi'nde doğal olarak yetişen dar yapraklı sinirotunun (*P. lanceolata*) tohum bağlama döneminde farklı aksamalarının besin madde içeriğinin araştırıldığı bir çalışmada; yapraklarının yaklaşık %33 nötr deterjan fiber (NDF), %51 azotsuz öz madde (AÖM), % 46 lif içermeyen karbonhidrat (NFC), %13 ham protein (HP) ve %13 ham kül (HK); tohumlarının yaklaşık %73 NDF, %32 AÖM, %24 NFC, %3,4 HP ve %4 HK, kavuzlarının ise yaklaşık %56 NDF, %54 AÖM, %41 NFC, %1,5 HP ve %7,5 HK içerdiiği belirlenmiştir (5).

Bitkinin türüne göre değişmekle birlikte yapraklarındaki HP düzeyinin yüksek olduğu soylenebilir. Guil- Guerrero farklı *Plantago* türlerinin yapraklarında HP düzeyini; *P. major* için %18,61, *P. media* için %22,96 ve *P. lanceolata* için %15,82 olarak saptamıştır (8).

Bitkinin (*P.lanceolata*) ilkbahar ve sonbaharda yüksek düzeyde β-karotene, lutein, doymamış yağ asiti ve iyi düzeyde besinsel değere sahip olduğu saptanmıştır (9). *P.lanceolata*'nın mayıs

ayından ekim ayına kadar takibinin yapıldığı bir çalışmada çiçeklenme sonrası (Ekim ayına doğru) ot veriminin (kg/dekar), lezzetinin ve besin kalitesinin azaldığı bildirilmektedir (9). Başka bir çalışmada ise sıcak ve kuraklık stresi oluşturulan *P. lanceolata*'larda besin madde içeriklerinin değişmeyip sadece ot verimini azaldığı saptanmıştır (10,11).

Uluslararası İklim Değişikliği Paneli'ne (IPCC: göre insanların çeşitli etkilerle (tarım-hayvancılık ve sanayideki gelişmelerle) salınımında artışa neden olduğu sera gazları (metan, karbondioksit, nitrozoksit), son 50 yılda küresel ısınmayı önemli derecede arttırmıştır (12). Sera gazlarından metanın küresel ısınma üzerine etkisinin karbondioksitten 23-25 kat fazla ve atmosferde kalma süresinin yaklaşık 12 yıl olması gibi sebeplerden dolayı salınımının azaltılması önem arz etmektedir. Küresel metan salınımının %50-60'ı tarım ve hayvancılık sektöründen ileri gelmektedir (13). Yetişkin bir sut sığırı yıllık 35-55 kg metan üretirken, yetişkin bir at yıllık 18 kg metan üretmektedir (14,15). Bitkinin kondanse tanen düzeyinin orta düzeyde olması, anti-metanojenik etkinliğin sahip olacağını göstermiştir (5,16). Avrupa Tıp Ajansı'nın raporuna göre de %6,5 tanen içermektedir (17). Kara ve ark (2015)'nın *Plantago lanceolata* ile yaptıkları 24 saatlik *in vitro* gaz üretim denemesi sonunda; üretilen toplam ruminal gazın içinde yaklaşık %13'unun metan olduğunu belirlemişlerdir (5). Bu düzeydeki metan emisyonu ile bitkinin anti-metanojenik etkinliğe sahip olduğu ortaya konmuştur (5).

3.MATERYAL VE METOT

Çalışmada kullanılan dar yapraklı sinirotu (*P. lanceolata*) örnekleri Nevşehir (Türkiye) ilinde altı farklı bölgeden toplanmıştır. Bitkiler suni gübre uygulanmayan ve sulanmayan arazide doğal olarak yetişmektedirler. Bitkiler tohum bağlama döneminde tüm aksamı ile birlikte toplandıktan sonra laboratuvarında yapraklar ve tohum içeren başları makasla ayrılmıştır. Kimyasal analizler bitki örnekleri 55°C'deki hava girişi olan termostatik kontrol kabinde

(Lovidond, İsviçre) 48 saat süresince kurutularak kuru madde (KM) düzeyleri saptanmıştır. Bitki örnekleri kimyasal analizler ve *in vitro* gaz üretiminde kullanılmak üzere yaklaşık 1,0 mm elek çapındaki IKA-A10 laboratuvar tipi değirmende (IKA-Werke, Almanya) öğütülmüştür. Örneklerin ham protein (HP), ham yağ (HY) ve ham selüloz (HS) düzeyi AOAC (18)'a göre saptanmıştır. Nötr deterjan çözeltisinde çözünmeyen lifli bileşikler (NDF), asit deterjan çözeltisinde çözünmeyen lifli bileşikler (ADF) ve asit deterjan lignin (ADL) düzeyi Van Soest ve ark. (19) tarafından bildirilen metotlar doğrultusunda yapılmıştır. NDF analizi yapılırken sodyum sülfid (Merck, Almanya) ve ısıya dayanıklı alfaamilaz (Ankom) kullanılmıştır. Belirlenen NDF, ADF ve ADL % değerleri kül kalıntısı içermemektir. Kondanse tanen (KT) düzeyi Makkar ve ark. (20) tarafından bildirilen butanol-HCl metodu ile spektrofotometrik olarak (Shimadzu 1208 UV/VIS, Japonya) saptanmıştır. *In vitro* gaz üretim tekniği yaklaşık % 70 konsantre + % 30 kaba yem kuru maddesi tüketen iki besi sığırından alınan rumen sıvısı 39±1°C'deki ağız vidalı kapaklı cam şişe (Isolab, Almanya) içinde termos konteynır ile laboratuara getirilmiştir. Rumen sıvısı CO₂ gazı altında 4 kat tülbentten süzöldükten sonra *in vitro* gaz üretiminde kullanılmıştır. *In vitro* gaz üretimi 100 ml'lik cam şırıngalar (Model Fortuna, Haberle Labortechnik, Almanya) içine 200±10 mg bitki örneği ile buffer + makro mineral + mikro mineral + indirgenme + resazurin çözeltileri karışımı (20 ml) ve rumen sıvısı (10 ml) karışımı koyularak (21) 24 saat boyunca 39.0±0.2°C'lik termostatlı su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmada her bir grup üç tekrarlı olarak çalışılmıştır. Üç adet kör şırıngada (bitki içermeyen, sadece buffer ve çözelti ile rumen sıvısı içeren) hesaplamalarda kullanılmıştır.

3.1.Toplam gaz ve metan üretiminin saptanması

Çalışmada 24 saatlik inkübasyon sonunda her bir şırıngada üretilen gaz miktarı (ml) şırıngalar üzerinden okunarak belirlenmiştir. Üretilen toplam gaz içindeki metan oranı (%) ise

bilgisayar destekli infrared metan ölçüm cihazı (Sensor, Europe GmbH, Erkrath, Almanya) ile saptanmıştır (22).

3.2.Hesaplama ve istatistik

P. lanceolata örneklerindeki lif içermeyen karbonhidrat (NFC: non fibrous carbohydrate) düzeyi $NFC \% = 100 - (NDF \% + HP \% + HY \% + HK)$ (23) formülü ile hesaplanmıştır. Çalışmada kullanılan *P. lanceolata* örneklerinin metabolik enerji (ME), organik madde sindirimi (OMS) (24,25), net enerji laktasyon (NE_L) (26) düzeyleri aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır.

$$ME (MJ /kg KM) = 2.20 + 0.136 \times G\ddot{U} + 0.057 \times HP$$

$$OMS (\%) = 14.88 + 0.889 \times G\ddot{U} + 0.45 \times HP + 0,0651 \times HK$$

$$NE_L (MJ/kg KM) = 0.115 \times G\ddot{U} + 0.0054 \times HP + 0.014 \times HY - 0.0054 \times HK - 0.36$$

$$G\ddot{U} = 24 \text{ saatlik toplam gaz üretimi (ml/0.2 g KM)}$$

$$HP = \text{Ham protein (g/kg KM)}$$

$$HY = \text{Ham yağ (g/kg KM)}$$

$$HK = \text{Ham kül (g/kg KM)}$$

P. lanceolata yapraklarının kaba yem olarak kalitesinin belirlenmesi için bir kıstas olan nispi yem değeri (NYD), Jeranyama ve Garcia (27)'e göre hesaplanmıştır. Nispi yem değerinin hesaplanmasında kuru madde tüketimi (KMT) ve sindirilebilir kuru madde (SKM) değerlerinden yararlanılmıştır.

$$KMT = 88.9 - (0.779 * \% ADF)$$

$$SKM = 120 / (\% NDF)$$

$$NYD = (KMT * SKM) / 1.29$$

Çalışma verilerinin istatistik analizi SPSS 17.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arasındaki istatistiksel önemlilik Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir. Önemlilik düzeyinin belirlenmesi için Çoklu Karşılaştırma Testleri'nden

“Tukey Multiple Range Test” uygulanmıştır. İstatistiksel önemlilik olarak 0.05 altındaki ($P < 0.05$) değerler alınmıştır. Çalışmada kullanılan bitkilerin besin madde içeriği ile in vitro sindirim parametreleri (in vitro toplam gaz ve metan üretimi) arasındaki Pearson korelasyon (r) analizi kullanılarak belirlenmiştir.

3.3. Kimyasal kompozisyon

P. lanceolata'nın farklı fenolojik dönemlerindeki kimyasal bileşimleri Tablo 2'de sunulmuştur. Çiçeklenme dönemindeki HP içeriği (110.80 g/kg) diğer dönemlerle karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.001$). Ham yağ (HY), ham kül (HK), lif içermeyen karbonhidrat (NFC), kondanse tanen (KT) seviyeleri vejetatif ve çiçeklenme dönemlerinde, erken tohum dönemlerine göre daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.001$). Erken tohum döneminde aNDFom ($P < 0.001$), ADFom ($P \leq 0.05$), ve ADL ($P < 0.05$) içeriklerin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. *P. lanceolata* bitkisinin olgunlaşması ile glikoz, fruktoz, Ca, K, Mg, P, Fe ve Cu konsantrasyonları azalmakta ($P < 0.001$) fakat Na, Zn ve Mn konsantrasyonları artmaktadır ($P < 0.05$). *P. lanceolata*'nın farklı fenolojik dönemlerindeki NYD değerleri 100 ile 157 değerleri gibi çok geniş bir aralıkta bulunmuştur (Tablo 2 ve 3).

3.4. In vitro gaz üretimi ve rumen sıvısının fermentasyon parametreleri

Asymptote gaz üretimi (A_{gaz}), gaz üretim oranı (c_{gaz}) ($P < 0.001$), Gaz24, Gaz96 ($P = 0.002$), ME, NE_L , ve OMD düzeyi ve *Entodinium* sayısı ($P < 0.001$) ve total bakteri sayısı ($P = 0.026$) değerleri tohumlanma başlangıcına göre çiçeklenme ve vejetatif dönemde daha yüksek bulunmuştur.

Rumen sıvısındaki *Holotrich* silialı protozoa sayısı bitkinin olgunlaşması ile artmaktadır ($P < 0.05$).

Üç fenolik dönemde de in vitro metan üretimi (ml/0.2 g KM), amonyak azotu (NH_3-N) konsantrasyonu, total protozoa sayısı ve pH değerleri farklı değildir ($P > 0.05$) (Tablo 4 ve 5). Bitkinin olgunlaşmasına bağlı olarak rumen sıvısında asetik ve bütirik asit molaritesinde (%)

(mmol/L) ve total VFA molaritesinde (mmol/L) değişiklik olmamıştır ($P > 0.05$). Bitkinin vejetatif döneminde ruminal propiyonik asit konsantrasyonu, çiçeklenme ve erken tohum dönemine göre daha yüksektir ($P = 0.007$). Vejetatif dönemde rumen sıvısındaki (A+B)/P oranı diğer dönemlere göre daha düşüktür ($P = 0.008$) (Tablo 4 ve 5).

ME, NE_L ve OMD değerleri, bitkinin olgunlaşması ($r = -0.78$), aNDFom ($r = -0.81$) ve ADL ($r = -0.70$) arasında negatif korelasyon bulunmakta; bununla birlikte NFC ($r = 0.80$) ve KT ($r = 0.72$) (4.60-10.40 g/kg KT) ($P < 0.01$) ile pozitif korelasyon bulunmaktadır. Bitkinin olgunlaşması, aNDFom içeriği ($r = -0.92$ ve $r = -0.88$, sırası ile), ve ADL ($r = -0.92$ ve $r = -0.87$, sırası ile) ile c_{gaz} ve A_{gaz} negatif korelasyonlu fakat NFC ile pozitif korelasyonludur ($r = 0.88$ ve $r = 0.81$, sırası ile) ($P < 0.01$). Propiyonik asit bitkinin olgunlaşması ile negatif korelasyonlu ($r = -0.89$), aNDFom ($r = -0.84$) ve ADL ($r = -0.81$) ($P < 0.01$); bununla birlikte NFC ile pozitif korelasyonludur NFC ($r = 0.86$; $P < 0.01$) ve KT ($r = 0.73$; $P < 0.05$). Bitki olgunlaşması ($r = 0.84$) ve aNDFom ($r = 0.81$) ile (A+B)/P pozitif korelasyon var iken NFC ($r = -0.86$) ve KT ($r = -0.78$) ($P < 0.05$) ile negatif korelasyon bulunmaktadır (Tablo 6).

Tablo 1. *P. lanceolata*'nın fenolojik dönemleri

Fenolojik dönem	Aşama tanımı
Vejetatif	Gövde <10 cm; Tomurcuk ya da çiçek yok; yeşil yapraklar
Çiçeklenme	Gövde > 20 cm; çiçeklenmiş; yeşil yapraklar
Erken tohum	Sarmış çiçekler; yeşil yapraklar

Tablo 2. *P. lanceolata* 'nın besin madde ve kondanse tanen düzeyleri

Parametre (g/kg, KM)	Fenolojik dönem			SD	P değeri
	Vejetatif	Çiçeklenme	Erken tohum		
HP	104.80±0.40 ^b	110.80±1.10 ^a	66.40±0.50 ^c	20.80	<0.001
aNDFom	382.20±14.90 ^c	463.30±2.50 ^b	552.10±9.20 ^a	72.50	<0.001
ADFom	313.10±17.80	328.10±15.20	377.90±16.10	41.52	0.052
ADL	86.80±6.35 ^b	116.50±9.50 ^{ab}	148.10±13.70 ^a	32.00	0.025
HY	21.10±0.10 ^a	17.90±0.10 ^b	16.90±0.10 ^c	1.90	<0.001
HK	122.30±0.10 ^a	109.20±0.10 ^b	101.00±0.10 ^c	9.50	<0.001
NFC	390.80±14.80 ^a	301.30±1.04 ^b	236.30±10.16 ^c	68.93	<0.001
KT	10.40±0.40 ^a	6.00±0.20 ^b	4.60±0.20 ^c	2.60	<0.001
Glikoz	18.90±0.05 ^a	18.20±0.08 ^b	16.60±0.05 ^c	10.50	<0.001
Fruktoz	10.60±0.03 ^a	10.40±0.33 ^a	8.30±0.34 ^b	11.70	0.017
NYD	157.54±7.00 ^a	127.20±2.77 ^b	100.17±1.56 ^c	25.76	<0.001

HP = Ham protein; aNDFom = NDF'de amilaz kullanılarak ve NDF'deki kül düzeltilerek; ADFom = ADF'deki kül düzeltilerek; ADL = Asit deterjan lignin; HY = Ham yağ ; NFC = Lif içermeyen karbonhidrat; KT = Kondanse tanen; NYD: Nispi yem değeri; SD: Standart sapma.

^{a,b,c} Farklı üst simgeler içeren bir satırdaki değerler P <0.05 değerinde anlamlı derecede farklılık gösterir.

Tablo 3. Farklı fenolojik dönemdeki *P. lanceolata* otunun makro (g / kg KM) ve mikro mineral (mg / kg KM) içeriği

Parametre		Fenolojik dönem			SD	P değeri
		Vegetatif	Çiçeklenme	Erken tohum		
Makro mineraller	Ca	10.93±0.09 ^a	9.83±0.01 ^b	9.11±0.03 ^c	0.82	0.002
	K	8.37±0.01 ^a	7.30±0.01 ^b	6.69±0.03 ^b	0.78	0.002
	P	0.43±0.005 ^a	0.41±0.007 ^a	0.37±0.006 ^b	0.03	0.007
	Mg	0.21±0.002 ^a	0.17±0.009 ^b	0.14±0.003 ^b	0.03	0.010
	Na	0.01±0.001 ^b	0.02±0.001 ^a	0.02±0.001 ^a	0.004	0.006
Mikro mineraller	Fe	205.00±4.70 ^a	192.35±0.85 ^a	125.85±1.25 ^b	38.15	<0.001
	Zn	35.50±0.50 ^c	37.85±0.45 ^b	42.61±0.61 ^a	3.29	0.003
	Cu	32.05±0.75 ^a	28.56±0.46 ^b	14.16±0.04 ^c	8.50	<0.001
	Mn	27.85±0.65 ^c	35.01±0.29 ^b	39.48±1.08 ^a	5.31	<0.001

SD: Standart sapma

^{a,b,c} Farklı üst simgeler içeren bir satırdaki değerler P <0.05 değerinde anlamlı derecede farklılık gösterir.

Tablo 4. *P. lanceolata* otunun farklı fenolojik dönemlerdeki gaz kinetiği ve fermentasyon parametreleri

Parametre	Fenolojik dönem			SD	P değeri
	Vegetatif	Çiçeklenme	Erken tohum		
A_{gaz} (ml/0.2 g KM)	55.57±0.11 ^a	55.43±0.06 ^a	49.47±0.17 ^b	3.02	<0.001
c_{gaz} (s)	0.090±0.001 ^a	0.084±0.001 ^b	0.062±0.001 ^c	0.01	<0.001
Gaz24 (ml/0.2 g KM)	48.33±1.42 ^a	45.16±0.40 ^a	43.33±0.21 ^b	2.91	0.002
Gaz96 (ml/0.2 g KM)	57.00±0.63 ^a	54.88±0.61 ^a	52.33±0.91 ^b	2.62	0.002
ME (MJ/kg KM)	9.24±0.21 ^a	8.90±0.07 ^a	8.31±0.03 ^b	0.50	<0.001
NEL (MJ/kg KM)	5.58±0.18 ^a	5.29±0.06 ^a	4.78±0.03 ^b	0.43	<0.001
OMS (%)	59.94±1.35 ^a	57.69±0.44 ^a	53.99±0.19 ^b	3.17	<0.001
Metan (ml/0.2g KM)	7.97±0.23	7.61±0.06	8.09±0.04	0.80	0.078
NH₃-N (mg/dL)	37.40±0.43	36.75±1.41	35.77±1.98	2.25	0.854
pH	6.85±0.01	6.86±0.02	6.85±0.02	0.02	0.730

Agaz = Asimptot (üretilecek toplam gaz; ml / 0.2 g KM); Cgaz = Gaz üretim hızı (saat); ME: Metabolize edilebilir enerji; NEL: Net enerji laktasyon; OMS: Organik madde sindirilebilirliği; Gaz24: 24 saat inkübasyonda üretilen toplam gaz; Gaz96: 96 saat inkübasyonda üretilen toplam gaz; Metan = 24 saatte ml / 0.2 g KM olarak in vitro metan üretimi [Metan üretimi, ml = (Gaz24, ml x metan, Gaz 24'de yüzde olarak) / 100].

SD: standart sapma

^{a, b, c} Farklı üst simgeler içeren bir satırdaki değerler anlamlı derecede farklıdır (P <0.05).

Tablo 5. Ruminal bakteri sayısı ($\times 10^9$ / mL rumen sıvısı) ve protozoon sayısı ($\times 10^4$ / mL rumen sıvısı) ve VFA konsantrasyonu üzerine *P. lanceolata* bitkisinin farklı fenolojik dönemlerdeki etkileri

Parametre	Fenolojik dönem			SD	P değeri
	Vegetatif	Çiçeklenme	Erken tohum		
Toplam bakteri	3.01 $\pm$ 0.15 ^a	2.65 $\pm$ 0.19 ^{ab}	2.17 $\pm$ 0.12 ^b	0.43	0.026
Toplam protozoa	47.03 $\pm$ 0.23	47.80 $\pm$ 0.81	43.72 $\pm$ 0.37	2.27	0.850
Isotricha	0.16 $\pm$ 0.02 ^b	0.16 $\pm$ 0.01 ^b	0.33 $\pm$ 0.01 ^a	0.08	<0.001
Dasytricha	0.51 $\pm$ 0.02 ^b	0.47 $\pm$ 0.01 ^b	0.80 $\pm$ 0.09 ^a	0.17	0.011
Entodinium	43.13 $\pm$ 1.67 ^a	43.90 $\pm$ 1.53 ^a	27.93 $\pm$ 0.07 ^c	6.91	<0.001
Total VFA (mmol/L)	94.68 $\pm$ 3.57	99.15 $\pm$ 6.37	85.38 $\pm$ 5.05	9.81	0.233
VFA molar oranları (mmol/L)					
Asetik asit	56.01 $\pm$ 0.50	55.92 $\pm$ 5.18	48.69 $\pm$ 3.29	6.46	0.318
Propionik asit	28.30 $\pm$ 0.65 ^a	22.60 $\pm$ 1.19 ^b	19.36 $\pm$ 1.70 ^b	4.35	0.007
Bütirik asit	11.83 $\pm$ 0.17	12.40 $\pm$ 0.29	11.71 $\pm$ 0.38	0.55	0.286
VFA'daki bağımsız yüzde oranları (%)					
Asetik asit	59.34 $\pm$ 2.52	56.17 $\pm$ 1.72	56.99 $\pm$ 1.26	3.19	0.516
Propionik asit	29.99 $\pm$ 1.52 ^a	22.82 $\pm$ 0.28 ^b	22.61 $\pm$ 1.06 ^b	3.98	0.005
Bütirik asit	12.52 $\pm$ 0.29	12.66 $\pm$ 1.17	13.77 $\pm$ 0.53	1.29	0.491
(A+B)/P	2.39 $\pm$ 0.03 ^b	3.01 $\pm$ 0.06 ^a	3.14 $\pm$ 0.18 ^a	0.38	0.008

Toplam VFA = Rumen sıvısında mmol / L olarak asetik + propionik + bütirik asit;

(A + B) / P = (Asetik asit + Bütirik asit) / Propiyonik asit.

SD: standart sapma;

^{a, b, c} Farklı üst simgeler içeren bir satırdaki değerler anlamlı derecede farklıdır (P <0.05).

Tablo 6. Olgunluk dönemi ve gaz üretim kinetikleri ile kimyasal bileşiminin ve bazı hesaplanan parametrelerin korelasyon katsayısı (r) ilişkisi

	Bitki Olgunluğu	NFC	aNDFom	KT	ADL
ME	-0.784**	0.799**	-0.816**	0.716**	-0.708**
NE_L	-0.783**	0.797**	-0.814**	0.717**	-0.707**
OMD	-0.789**	0.804**	-0.819**	0.723**	-0.702**
C_{gaz}	-0.933**	0.883**	-0.936**	0.523	-0.918**
A_{gaz}	-0.875**	0.808**	-0.866**	0.394	-0.872**
NH₃-N	-0.125	0.132	-0.120	0.305	-0.023
Metan	0.277	-0.335	0.307	-0.218	0.180
Asetik asit	-0.491	0.409	-0.438	0.200	-0.656
Propionik asit	-0.890**	0.876**	-0.849**	0.738*	-0.813**
Bütirik asit	-0.098	-0.006	-0.069	-0.261	-0.095
VFA	-0.410	0.281	-0.339	0.069	-0.629
(A+B)/P	0.836**	-0.859**	0.811**	-0.782*	0.622

NFC = Lif içermeyen karbonhidrat; aNDFom= NDF’de amilaz kullanılarak ve NDF’deki kül düzeltilerek; KT = Kondanse tanen; ADL = Asit deterjan lignin; ME = Metabolize edilebilir enerji; NE_L = Net enerji laktasyon; OMD = Organik madde sindirilebilirliği; Agaz = asimptot (üretilen toplam gaz; ml / 0.2 g DM); C_{gaz} = Gaz üretim hızı (saat); Metan = 24 saatte ml / 0.2 g KM olarak in vitro metan üretimi; Toplam VFA = Rumen sıvısında mmol / L olarak asetik + propionik + bütirik asitler; (A + B) / P = (Asetik asit + Bütirik asit) / Propiyonik asit.

*: 0.01 seviyesinde korelasyon önemlidir, **: 0.05 seviyesinde korelasyon önemlidir.

4.TARTIŞMA

İklim değışikliğinin kaliteli yem üretimi üzerindeki olumsuz etkileri güney Avrupa ve doğu Akdeniz Levant bölgesini (Kıbrıs, İsrail, Ürdün, Lübnan, Filistin, Suriye ve Türkiye) içeren Akdeniz bölgesini kuşatmıştır (12,28). Kurak ve yarı kurak iklim koşullarına sahip olan Akdeniz Levant bölgesinde yem üretiminin kalitesi ve miktarı hasat ve otlatma için azalmıştır. Son yıllarda, kuraklığın etkilerinin telaffuz edildiği ülkelerdeki araştırmacılar, *P. lanceolata* 'nın kuraklık yaz aylarında otlatma için alternatif bir kaba yem olabileceğini vurgulamaktadırlar (29,30). *P. lanceolata*'nın Yeni Zelanda kurak koşullarında (sulama veya sulama olmadan) 8-19 t KM / ha / yıl elde ettiği gösterilmiştir (31,32). *Plantago* türleri, Akdeniz Levant bölgesi ile diğer kurak ve yarı kurak araziler için potansiyel alternatif bir kaba yem olarak değeriendirilmiştir (33,34).

4.1.Kimyasal Bileşim

Bu çalışmanın sonuçları, *P. lanceolata* otlarının en yüksek HP içeriğinin çiçekçekenme aşamasında olduğunu göstermiştir. Bitkinin HP içeriği olgunlaşma ile azalmaktadır. Buna ek olarak, daha önceki çalışmalar, *P. lanceolata*'nın yalnız yaprak kısımlarının farklı fenolojik aşamalarda 110 ila 160 g / kg HP arasında içerdiğini belirtmiştir (5,8). Guil-Guerrero (2001), *P. major* yapraklar için 186.10 g / kg HP ve *P. media* yaprakları için 229.60 g / kg HP bildirmiştir (8). Bu çalışmada, bitkinin yapısal karbonhidrat bileşimi bitki olgunlaşması ile artmıştır ve hücre duvarı karbonhidratının bileşimi önceki çalışmaların sonuçlarından farklıydı (5,16).

Bu muhtemelen bitki kısımları (yapraklar veya bitkinin tümü), bitkinin fenolojik aşaması ve mevsim ile ilgili olabilir. Buna ek olarak, Kamalak ve ark. (2005), Türkiye'de kaliteli yem üretimi için yaygın olarak kullanılan çiçeklenmenin başlangıcında hasat edilen on dört yonca çeşidinin HP içeriğinin 150.5 ila 213.9 g / kg arasında değıştiğini belirlemişlerdir (5).

P. lanceolata'nın HY içeriği Kamalak ve ark., (2005) tarafından yonca otları için bildirilen değerler ile benzerdir (35).

P. lanceolata bitkisinin kül içeriği, kurak veya yarı kurak arazilerde yetiştirilen bitkilerle aynı seviyededir (8,36,37). *P. lanceolata* otlarının kül içeriği, NRC'ye (2001) göre kalite yemler (yonca, baklagiller otları) ile aynı düzeyde idi (23). *Plantago* otlarının makro ve mikro mineral bileşimleri önceki çalışmaların sonuçlarıyla uyumluydu (36,38,39). Mevcut araştırmada *P. lanceolata* bitkilerinin Ca, Cu, Fe, Mn ve Zn içeriği, yonca, baklagiller vb. (23) ile aynı seviyededir. Bu çalışmanın sonuçları, fenolojik evrenin ilerlemesi ile *P. lanceolata*'da Ca, P, K, Mg, Fe ve Cu içeriğinin azaldığını göstermiştir; ancak Na, Zn ve Mn içeriği artmıştır. Buna göre, *P. lanceolata* bitkisinin tatmin edici mineral bileşimi, kurak eğilimli bir iklime sahip ülkelerin hayvanları için kaliteli bir kaba yem için uygun olduğunu göstermiştir.

Sindirim aktivitesi üzerine KT'nin etkileri rasyondaki konsantrasyona bağlı olarak değiştir. Rasyondaki düşük KT düzeylerinde (10-30 g / kg) rumendeki metan üretimini azalttığı ve proteine by-pass özelliklerini sağladığı bildirilmiştir (40). Bunun karşın, rasyondaki yüksek KT içeriğinin (> 50 g / kg) sindirim, protein ve diğer besin maddelerinin emilimini veya sindirim sistemindeki enzim aktiviteleri üzerine negatif etkileri olmaktadır (41). Bu çalışmada, *P. lanceolata*'nın farklı fenolojik evreleri için KT içeriği (4.6-10.4 g / kg), Jackson ve ark., (1996) gibi düşük KT içerikli olarak karakterize edilebilir (16). Önceki bir çalışmada, Çiçeklenme aşamasının başlangıcında *P. lanceolata* otunun 13.80 g / kg CT içerdiği tespit edilmiştir (5).

P. lanceolata'nın araştırılan fenolojik evreler için RFV'si, yoncanın tomurcuk öncesi ve tam çiçek açma aşamaları RFV'si ile benzerdir (27). Kara ve ark., (2015b), *P. lanceolata*'nın yaprakları RFV'sinin, seed bulking stages da % 196 olduğu görülmüştür (5). Alternatif kaba yem olarak, *P. lanceolata*'nın yüksek HP ve orta derecede aNDFom ve KT içeriği, özellikle

çiçek açma aşamasında, alternatif kaba yem kaynağı olarak kalitesiz meralar için protein takviyesi olarak kullanılabilmesi ile dikkat çekmektedir. Yapılan çalışmalarda, *Plantago* türlerinin besin maddesi içeriğindeki farklılıklar, ilerleyen fenolojik evre, bitki çeşitliliği, toprakta besin maddesi içeriği ve stres faktörlerine (sulama, tuzluluk gibi) bağlı olabilir. Çiftlik hayvanlarının beslenmesi açısından *Plantago* türlerinin besin kompozisyonu üzerine pek çok çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız, kurak ve yarı kurak arazilerde yetiştirilebilecek alternatif yemlerle ilgili araştırmalar hakkında literatüre katkıda bulunacaktır.

4.2. Metan üretimi ve rumen florası

Ruminantlar tarafından tüketilen yemlerde yüksek KT içeriğinin sindirim ve asimilasyon aktivitesi üzerinde olumsuz etkileri olmasına rağmen yüksek KT, rumen ortamında protozoa sayısı ve metan üretimini azaltabilir (13,40). Bu çalışmada, *P. lanceolata*'nın düşük KT içeriği metan üretimini veya toplam protozoon sayısını değiştirmemiştir. Rumen protozoonları iki tipte sınıflandırılabilir: Entodinium (*Oligoisotricha*) ve Holotrich (*Isotricha*, *Dasytricha*) siliyerler (42). Belanche ve ark., (2015), Holotrich protozoonlarının Entomodiyomorfiterden daha fazla rumen metanogenezi üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (43). Bu çalışmada bulunan *P. lanceolata*'nın erken tohum evresindeki *Isotricha* ve *Dasytricha*'nın artan sayısı metan üretimini etkilemedi. Buna ek olarak, *P. lanceolata*'nın erken tohum evresindeki Entodinium sayısının ve toplam bakteri sayısının azalması, HP ve NFC içeriğindeki azalmaya ve lif içeriğindeki (özellikle ADL içeriğinin azalmasına) azalmasına bağlı olabilir (44,45).

4.3. Toplam gaz üretimi ve hesaplanmış parametreler

In vitro gaz üretim düzeyi, analiz edilen yemlerin besin kompozisyonu, gaz üretimini engelleyici bileşiklerin (KT, polietilen glikol gibi) varlığı, rumen sıvısının mikroflora ve mikrofauna içeriği (donör hayvanın rasyonu) ve kalitesinden etkilenir (13,26). Bu çalışmada, *P. lanceolata*'nın vegetative ve çiçeklenme evrelerinde asimptotlu gaz üretimi, gaz üretim

oranı, gas₂₄ ve gas₉₆ değerleri, erken tohum evresindekinden daha yüksekti. *P. lanceolata* tüm fenolojik aşamalarında yüksek *in vitro* fermantasyon değerlerine sahipti. Bitki olgunlaşmasıyla azaltılmış *in vitro* toplam gaz üretimi, bitki hücre duvarı yapısal bileşenlerinin artışı, ruminal toplam bakteri sayısı ve NFC içeriğindeki azalma ile ilişkili olabilir.

Hücrenin duvar yapısındaki karbonhidratlar (aNDFom ve ADL) ile *in vitro* gaz üretimi arasında negatif bir korelasyon vardı; lif içermeyen karbonhidrat (NFC) ile *in vitro* gaz üretim değerleri arasında da pozitif bir korelasyon vardı. Mevcut çalışmada, *P. lanceolata* otu, Akdeniz Levant bölgesi için sindirilebilirliği ve enerjisi bakımından daha fazla sulama gerektiren geleneksel yemliklere (baklagiller, çim meraları ve ayrıca yonca otu) alternatif yem olabilir (5,35). Bu sebepten, *P. lanceolata* kurak ve yarı kurak veya tuzlu topraklar için yüksek enerji ve OMD değerine sahip kaliteli kaba yem olarak yetiştirilebilir.

4.4.Ruminal amonyak-N ve VFA konsantrasyonu

Tahmin edilen gaz üretim parametreleri bitki olgunlaşmasıyla düşük olmasına rağmen, ruminal amonyak-N konsantrasyonları değişmedi. Normal olarak, yüksek gaz üretimi, yüksek ruminal degradasyonu gösterir, ancak HP bakımından zengin yemler fermantasyon sırasında düşük toplam gaz üretebilir. Bunun nedeni, rumendeki protein ve nonprotein azot fermantasyonu, karbondioksit salınmadan uçucu yağ asitlerinden H⁺ iyonlarını nötralize ederek karbonat tamponu dengesini etkileyen amonyak-N'yi üretmesidir.

Bu çalışmada, *P. lanceolata* fermantasyon sürecinde, ruminal toplam VFA düzeyi (85.38 - 94.68 mmol / L) normal ruminal ekosistem için ideal seviyededir. Vejetatif evreler için molar propiyonik asit ve (A + B) / P rumen sıvısı, çiçek açma ve erken dönem evrelerine göre en yüksekti; bu, çözünebilir karbonhidrat seviyeleri, aNDFom, ADL ve bakteri - protozoon sayılarıyla ilişkili olabilir. Buna ek olarak, asetik ve bütirik asitlerin VFA'daki molar oranlarının ve tek tek yüzde oranlarının fenolojik evreler arasında farklı olmadığı gerçeği P.

lanceolata yüksek sindirilebilirlik kapasitesiyle ilişkili olabilir. Rumen mikroorganizmaları fermentasyona dahil olduklarından dolayı metabolizmalarındaki değişiklikler; sindirilebilirlik, metan üretimi, amonyak-N konsantrasyonu veya VFA profili gibi rumen sürecinin temel parametrelerini değiştirebilir.

Bu çalışmanın sonuçları, sıcak iklim koşullarına ve Orta Anadolu florasına uygun *P. lanceolata*'nın alternatif bir kaliteli kaba yem kaynağı olarak, özellikle vejetatif veya çiçeklenme aşamalarda (yaklaşık 110 g/ kg CP, 380-460 g / kg aNDFom, 6-10 g / kg CT, 9 MJ / kg ME,% 60 OMD ve yüksek makro mikro mineral içeriği) ruminant beslemede kullanılabileceğini göstermiştir. Buna ek olarak, *P. lanceolata*'nın mera kalitesini artırmak için ekilmesi önerilmektedir. *Plantago* türlerinin, Güney Avrupa'da ve doğu Akdeniz Levant bölgesindeki yetiştiriciliği ve *in vivo* beslenme çalışmaları hakkında daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

5. KAYNAKLAR

1. Weryszko-Chmielewska E, Matysik-Woźniak A, Sulborska A, Rejdak R. Commercially important properties of plants of the genus *Plantago*. *Acta Agrobot* 2012;65(1):11–20.
2. Laws D, Genever L. Using chicory and plantain in beef and sheep systems. Better Returns Program. 2015; 1–26. www.eblex.org.uk
3. Stewart A. Plantain (*Plantago lanceolata*)-a potential pasture species. *Proc New Zeal Glas Assoc* 1996; 58:77–86.
4. Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J Ethnopharmacol* 2000; 71(1–2):1–21.
5. Kara K, Güçlü BK, Aktuğ E, Baytok E. Dar yapraklı sinir otunun (*Plantago lanceolata*) besin madde düzeyi ve ruminantlarda in vitro sindirim parametrelerinin belirlenmesi. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilim Enstitüsü Derg.* 2015;
6. Cobanoglu S. Aphididae (Homoptera) species of Edirne province (Thrace part of Turkey). *Entomol Mon Mag.* 2000; 136:45–52.
7. Jeong H-J, Koo H-N, Na H-J, Kim M-S, Hong S-H, Eom J-W. Inhibition of TNF- α and IL-6 production by Aucubin through blockade of NF- κ B activation RBL-2H3 mast cells. *Cytokine.* 2002; 18(5):252–259.
8. Guil-Guerrero JL. Nutritional composition of *Plantago* species (*P. Major* L., *P. Lanceolata* L., and *P. Media* L.). *Ecol Food Nutr.* 2001; 40(5):481–495.
9. Elgersma A, Søegaard K, Jensen SK. Interrelations between Herbage Yield, α -Tocopherol, β -Carotene, Lutein, Protein, and Fiber in Non-Leguminous Forbs, Forage Legumes, and a Grass–Clover Mixture as Affected by Harvest Date. *J Agric Food Chem.* 2015; 63(2):406–414.
10. Küchenmeister, F Küchenmeister K, Kayser M, Wrage-Mönning N. Effects of drought stress and sward botanical composition on the nutritive value of grassland herbage. *Int J Agric Biol.* 2014; 16(4):715–722.
11. Töngel Mö, Ayan İ. Samsun ili çayır ve meralarında yetişen bazı zararlı bitkiler ve hayvanlar üzerindeki etkileri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi.* 2005; 20(1):84–93.
12. IPCC. Summary for Policymakers. In: *Climate Change 2014: Mitigation of climate change.* contribution of working group iii to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change [Edenhofer, O., R. Pichs-Madruga, Y.

- Sokona, E. Farahani, S. Kadner, K. Seyboth, A. Adler, I. Baum, S. Brunner, P. Eickemeier, B. Kriemann, J. Savolainen, S. Schlömer, C. von Stechow, T. Zwickel and J.C. Minx (eds.)). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 2014.
13. Hook SE, Wright A-DG, McBride BW. Methanogens: Methane Producers of the Rumen and Mitigation Strategies. *Archaea*. 2010; 1–11.
 14. Crutzen PJ, Aselmann I, Seiler W. Methane production by domestic animals, wild ruminants, other herbivorous fauna, and humans. *Tellus B* 1986; 38(3–4):271–284.
 15. Rafiu O, Noor Z, Abba A, Hassan M, Din M. Greenhouse gas emissions: quantifying methane emissions from livestock. *Am J Eng Appl Sci*. 2012; 5:1–8.
 16. Jackson FS, McNabb WC, Barry TN, Foo YL, Peters JS. The condensed tannin content of a range of subtropical and temperate forages and the reactivity of condensed tannin with ribulose- 1,5-bis-phosphate carboxylase (rubisco) protein. *J Sci Food Agric*. 1996; 72(4):483–492.
 17. Agency EM. Assessment report on *Plantago lanceolata* L, folium. EMA/HMPC/437859/2010. *Comm Herb Med Prod*. 2012;1–24.
 18. AOAC. Official methods of analysis of AOAC International. Vol. II, Association of Official Analysis Chemists International, 1990.
 19. Van Soest PJJ, Robertson JBB, Lewis BAA. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J Dairy Sci*. 1991; 74(10):3583–3597.
 20. Makkar HP, Blümmel M, Becker K. Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycols and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in in vitro techniques. *Br J Nutr*. 1995; 73(6):897–913.
 21. Menke H, Steingass H. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim Res Dev*. 1988; 28:7–55.
 22. Kara K, Aktuğ E, Çağrı A, Kocaoğlu Güçlü B, Baytok E. Formik asitin in vitro rumen fermentasyonu ve metan üretimine etkisi. *Turkish J Agric - Food Sci Technol* 2015; 3(11):856.
 23. NRC. Nutrient Requirements of Dairy Cattle Seventh Revised Edition. National Research Council Board on Agriculture and Natural Resources Committee on Animal Nutrition Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition, 2001.
 24. Menke KH, Raab L, Salewski A, Steingass H, Fritz D, Schneider W. The estimation of

- the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor. *J Agr Sci.* 1979; 93(1):217–222.
25. Bluemm M, Steingass H, Becker K. The relationship between in vitro gas production, in vitro microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. *Br J Nutr.* 1997; 77(6):911–921.
 26. Bluemm M, Ørskov ER. Comparison of in vitro gas production and nylon bag degradability of roughages in predicting feed intake in cattle. *Anim Feed Sci Technol.* 1993; 40(2–3):109–119.
 27. Jeranyama P, Garcia A. Understanding relative feed value (RFV) and relative forage quality (RFQ). *Collage Agric Biol Sci South Dakota State Univ South Dakota-USA*, 2004.
 28. Cook BI, Anchukaitis KJ, Touchan R, Meko DM, Cook ER. Spatiotemporal drought variability in the Mediterranean over the last 900 years. *J Geophys Res Atmos* 2016; 121(5):2060–2074.
 29. Powell A, Kemp P, Jaya I, Osborne M. Establishment, growth and development of plantain and chicory under grazing. *Proceeding New Zeal Grassl Assoc.* 2007; 69:41–45.
 30. Somasiri SC, Kenyon PR, Kemp PD, Morel PCH, Morris ST. Growth performance and carcass characteristics of lambs grazing forage mixes inclusive of plantain (*Plantago lanceolata* L.) and chicory (*Cichorium intybus* L.). *Small Rumin Res.* 2015; 127:20–27.
 31. Minnee E, Clark C, Clark D. Herbage production from five grazable forages. *Proceeding New Zeal Grassl Assoc.* 2013; 75:245–250.
 32. Lee JM, Hemmingson NR, Minnee EMK, Clark CEF. Management strategies for chicory (*Cichorium intybus*) and plantain (*Plantago lanceolata*): impact on dry matter yield, nutritive characteristics and plant density. *Crop Pasture Sci.* 2015; 66(2):168–183.
 33. Fraser T, Scott S, Rowarth J. Pasture species effects on carcass and meat quality. *Proceeding New Zeal Grassl Assoc.* 1996; 58:63–66.
 34. Ramírez-Restrepo CA, Barry TN. Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving sustainable productivity in grazing ruminants. *Anim Feed Sci Technol.* 2005; 120(3–4):179–201.
 35. Kamalak A, Canbolat O, Gurbuz Y, Ozay O. Comparison of in vitro gas production

- technique with in situ nylon bag technique to estimate dry matter degradation. Czech J Anim Sci. 2005; 50(2):60–67.
36. Harrington K, Thatcher A, Kemp P. Mineral composition and nutritive value of some common pasture weeds. New Zeal Plant Prot. 2006; 59:261–265.
 37. Kara K, Güçlü B, Aktuğ E, Baytok E. The determination of nutrient matter composition and in vitro digestion parameters of narrow-leaf plantain (*Plantago lanceolata*) in ruminant. J Heal Sci. 2015;24:149–55.
 38. Yıldırım E, Dursun A, Turan M. Determination of the nutrition contents of the wild plants used as vegetables in upper Çoruh Valley. Turk J Botany. 2001; 25:367–371.
 39. Ștef D, Gergen I, Trașca T, Harmanescu M, Ștef L, Druga M, et al. Screening of 33 medicinal plants for the microelements content. J Anim Sci Biotechnol. 2010; 43:127–132.
 40. Min BR, Pinchak WE, Anderson RC, Fulford JD, Puchala R. Effects of condensed tannins supplementation level on weight gain and in vitro and in vivo bloat precursors in steers grazing winter wheat. J Anim Sci. 2006; 84(9):2546.
 41. Barry T. Secondary compounds of forages. In, Hacker JB, Ternouth JH (Eds): Nutrition of Herbivores. Academic Press, Sydney, Australia. 1987; 91-120
 42. Göçmen B, Özbel Y. Flagellated (Mastigophora) and Holotrichous ciliated (Ciliophora) protozoa inhabiting the rumen. Türk Parazitoloji Derg. 2001; 25:405–425.
 43. Belanche A, de la Fuente G, Newbold CJ. Effect of progressive inoculation of fauna-free sheep with holotrich protozoa and total-fauna on rumen fermentation, microbial diversity and methane emissions. FEMS Microbiol Ecol. 2015; 91(3).
 44. Takenaka A, Tajima K, Mitsumori M, Kajikawa H. Fiber digestion by rumen ciliate protozoa. Microbes Environ. 2004; 19:203–210.
 45. Martinele, I, Santos GRA, Matos DS, Batista AMV, D'Agosto M. Diet botanical composition and rumen protozoa of sheep in Brazilian Semi-Arid area. Archivos de Zootecnia. 2010; 59: 169-175.