

ÜRE VE ZEOLİT'İN MERİNOS KUZULARINDA RUMİNAL pH, ÜREAZ AKTİVİTESİ VE TOTAL UÇUCU YAĞ ASİTLERİ (VFA) İLE PLAZMA OROTİK ASİT DÜZEYLERİNE ETKİSİ ÜZERİNDE ARAŞTIRMALAR.

Arif Altıntaş<sup>1</sup>

Yılmaz Dündar<sup>2</sup>

İrfan Çolpan<sup>3</sup>

**Recherches sur l'influence de la zéolite et d'urée sur le pH, l'activité d'uréase et les acides gras volatils totaux (AGV) de la liqueur du rumen ainsi que sur l'acide orotique sanguin, chez les Agneaux Mérinos.**

**Résumé:** Dans ce travail, on a étudié l'influence de l'urée et de la zéolite sur le pH, l'activité de l'uréase et les acides gras volatils totaux (AGV) de la liqueur du rumen ainsi que sur l'acide orotique sanguin, Chez les Agneaux Mérinos alimentés par les rations à la base d'urée de 3 p 100 non protéinique, comme source de nitrogène (NPN) additionné à ce taux de Zéolite par proportions graduelles.

Pour ce travail on a utilisé 50 têtes d'agneaux sevrés. Les animaux se sont divisés en 5 lots dont chacun contenant 10 agneaux; l'un d'eux a été conservé comme témoin et les 4 comme animaux d'expérience. Additionné à la ration principale, on a administré au groupe témoin, des mélasses de la betterave et des grains de coton, et aux groupes I, II, III, IV d'expérience, de l'urée de 3 p. 100. On a additionné en outre de la zéolite (Clinoptilolite = CLN) par des taux respectivement de 2,5 p. 100, 5.0 p. 100 et 7.5 p. 100 à la rations des animaux appartenant aux groupes II. III et IV. Comme fourrage grossier, on a administré seulement du foin.

Au début de l'expérience, dans les 30 ième et 90 ième jours, on a prélevé, aux animaux, 3 fois des échantillons de la liqueur du rumen et des échantillons de sang dans les tubes à héparine; on a effectué ainsi les concentrations d'AGV

1 Dr. Ar. Gör., A. Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Bilim Dalı, Ankara-Turkey

2 Dr. Ar. Gör., A.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Bilim Dalı, Ankara

3 Yard. Doç. Dr. A.Ü. Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Ankara.

totaux, de pH, d'activité de l'uréase et que les analyses d'acides orotique dans le plasma.

Dans ce travail, nous n'avons pas pu constater, au début de l'expérience, entre les groupes, de différence du point de vue d'importance statistique au niveau du pH et d'AGV total de la liqueur du rumen, toutefois, la valeur moyenne d'activité d'uréase du 2<sup>e</sup> groupe était inférieure à celles des groupes I et IV au niveau de  $p < 0.05$ .

Au 30<sup>ième</sup> jour de l'essai, on n'a pas constaté de différence d'importance statistique du point de vue d'activité d'uréase et d'AGV total de la liqueur du rumen entre les groupes; pourtant, par rapport aux témoins, on a constaté que la valeur pH de liqueur du rumen du 1<sup>er</sup> groupe était inférieure à  $p < 0.05$ ; et à  $p < 0.01$  par rapport aux groupes II, III et IV. La valeur totale moyenne du pH de tous les groupes dont la ration étant de la zéolite, quoique supérieure aux témoins n'a une importance statistique qu'au niveau  $p < 0.05$  dans le 3<sup>e</sup> groupe.

Au 90<sup>ième</sup> jour de l'essai, la valeur moyenne du pH du premier groupe était inférieure de  $p < 0.05$  aux groupes II et III; il n'existait pas de différence importante du point de vue d'activité d'uréase entre la valeur du premier et celle du témoin; mais les valeurs des groupes II et III était supérieures de  $p < 0.05$  d'après les témoins, et celles du IV<sup>e</sup> groupe inférieures de  $p < 0.05$  aux témoins.

Parmi les groupes d'expérience, les valeurs moyennes d'activité d'uréase des groupes II et III était supérieure de  $p < 0.05$  au 1<sup>er</sup> groupe et de  $p < 0.01$  au groupe IV. La liqueur du rumen, quoiqu'elle possède une importance statistique du point de vue des concentrations totales d'AGV, les valeurs les plus élevées sont constatées dans le premier groupe.

On a travaillé sur les échantillons sanguins par la méthode de Stajner et Coll. sur la détermination d'acide orotique, mais nous avons constaté que les niveaux d'acides orotiques n'étaient pas à niveau pour être déterminés par cette méthode, chez les agneaux males Mérinos.

Nous avons constaté, d'autre part, au cours de l'essai, qu'une relation négative importante de niveau  $p < 0.05$  existait entre les niveaux du pH de la liqueur du rumen et d'AGV total de tous les groupes.

En conclusion, nous avons conclu que, le premier groupe contenant dans les rations d'urée de 3 p 100 avait des valeurs de pH les plus inférieures aux autres groupes, pourtant, il possédait des concentrations d'AGV les plus supérieures et

*d'activité d'uréase la plus proche aux contrôles toutefois, l'activité microbienne du rumen de ce groupe était plus active que d'autres groupes ; l'absorption de  $NH_3$  à partir du rumen était plus lente, par conséquent celle d'AGV plus accélérée, d'où une utilisation de NPN donnerait des résultats favorables par rapport aux groupes alimentés par les rations à la base de zéolite.*

**Özet:** *Bu çalışmada protein olmayan nitrojen (NPN) kaynağı olarak % 3 üreli ve % 3 üreye ilaveten artan oranlarda zeolitli rasyonlarla beslenen merinos kuzularında üre ve zeolit'in ruminal pH, üreaz aktivitesi ve total uçucu yağ asitleri (VFA) ile plazma orotik asit düzeyleri üzerine etkisi incelenmiştir.*

*Araştırmanın materyalini süttten kesilmiş 50 baş merinos kuzu teşkil etmiştir. Hayvanlar herbiri 10 baş kuzu ihtiva eden 1 kontrol ve 4 deneme olmak üzere 5 gruba ayrılmışlardır. Araştırmada temel rasyona ek olarak kontrol grubuna pamuk tohumu ve ayçiçeği küspesi ; I., II., III., ve IV. deneme gruplarına ise % 3 üre verilmiştir. Ayrıca II., III. ve IV. gruplardaki hayvanların rasyonlarına sırasıyla % 2,5; 5,0 ve 7,5 oranlarında zeolit (Clinoptilolite = CLN) katılmıştır. Kaba yem olarak sadece kuru ot verilmiştir.*

*Denemenin başlangıcında , 30. ve 90. günlerinde olmak üzere hayvanlardan toplam 3 defa rumen sıvısı ve heparinli tüplere kan numuneleri alınmış ve rumen sıvısında pH, üreaz aktivitesi ve total VFA konsantrasyonları ile plazmada ise orotik asit analizleri gerçekleştirilmiştir.*

*Denemenin başlangıcında rumen sıvısı pH'sı ve total VFA düzeyleri yönünden gruplar arasında istatistik önem taşıyan bir farklılık tesbit edilememiş, ancak II. gruba ait üreaz aktivitesi ortalama değeri I. ve IV. grup değerlerinden  $p < 0.05$  düzeyinde önemli olarak düşük bulunmuştur.*

*Denemenin 30. gününde rumen sıvısı üreaz aktivitesi ile total VFA konsantrasyonları yönünden gruplar arasında istatistik önem taşıyan bir farklılık bulunamazken I. gruba ait rumen sıvısı pH değerlerinin kontrollere göre  $p < 0.05$  düzeyinde II., III. ve IV. gruplara göre de  $p < 0.01$  düzeyinde düşük olduğu tesbit edilmiştir. Rasyonlarıyla zeolit alan bütün gruplara ait pH ortalama değerlerinin kontrollere göre yüksek olmasına rağmen sadece III. grup  $p < 0.05$  düzeyinde istatistik önem taşımaktadır.*

*Denemenin 90. gününde I. gruba ait pH ortalama değerinin II. ve III. gruplardan  $p < 0.05$  düzeyinde düşük olduğu ; Üreaz aktivitesi yönünden I. grup değeri ile kontrol değeri arasında önemli bir fark olmadığı fakat II. ve III. grup değerlerinin kontrollere göre  $p < 0.05$  düzeyinde yüksek, IV. grubunkinin ise  $p < 0.05$  düzeyinde düşük olduğu bulunmuştur. Deneme grupları içerisinde II. ve III. gruplara ait üreaz aktivitesi ortalama değerleri I. gruba*

göre  $p < 0.05$  ve IV. gruba göre  $p < 0.01$  düzeyinde önemli olarak yüksek tesbit edilmiştir. Rumen sıvısı total VFA konsantrasyonları yönünden ise istatistik önem taşımamakla beraber en yüksek değerler I. grupta bulunmuştur.

Kan plazma numunelerinde Stajner ve Arkadaşlarının bildirdikleri metotla orotik asit miktarı tayinine çalışılmış, ancak orotik asit düzeylerinin bu metotla tesbit edilebilecek seviyede olmadığı görülmüştür.

Diğer taraftan, deneme süresince, bütün gruplarda rumen sıvılarına ait pH ile total VFA seviyeleri arasında  $p < 0.05$  düzeyinde öneme sahip negatif bir ilişkinin varlığı tesbit edilmiştir.

Sonuç olarak; Rasyonlarıyla % 3 üre alan I. grup diğer gruplara göre en düşük pH değerlerine, en yüksek VFA konsantrasyonlarına ve kontrollere göre en yakın üreaz aktivitesine sahip olmakla bu grupta ruminal mikrobiyel aktivitenin diğer gruplara göre daha fazla, rumenden  $\text{NH}_3$  absorpsiyonunun daha yavaş, VFA absorpsiyonunun daha hızlı olacağı ve böylece NPN den yararlanmanın da zeolitli rasyonla beslenen gruplardakinden daha yüksek olacağı kanaatine varılmıştır.

## Giriş

Biyolojik değeri yüksek olan hayvansal proteinlerin dengeli olarak tüketilememesi çağımızın sorunları arasındadır. Bu nedenle her hayvandan daha çok verim almak, verim maliyetini düşürmek günümüzde ilke haline gelmiştir.

Sindirim sistemlerinin fizyolojik özellikleri nedeniyle gevişen hayvanların protein olmayan nitrojenli maddeleri kendi vücut proteinlerine çevirebilme yetenekleri 1879'dan beri bilinip daima insanlığın yararına kullanıla gelmiştir. Bu şekilde ruminant beslenmesinde nitrojen ihtiyacını karşılamak için besinsel proteinlerin bir bölümünün yeri maliyet fiatı düşük nitrojenli maddelerle doldurulmaya çalışılmıştır. Yüksek nitrojen içeriği ve verim ekonomisi nedeniyle üre, ruminant rasyonlarına ilâve edilen protein olmayan nitrojen (NPN)'in çok popüler kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır (4,7,23,26,27).

Üre, rumende, hızlı bir üreolitik aktiviteye maruz kalırsa  $\text{NH}_3$  çıkışı çoğu kez protein sentezi hızını aşar ve nitrojen kullanımı kayıpla sonuçlanır. Çoğu araştırmacılar üre nitrojeninin yararlı kullanımı için optimal şartları bulmaya yönelmişlerdir.  $\text{HN}_3$ 'dan protein sentezinde, mikrobiyel yeterlilik yanında ruminal üreolitik aktivitenin uygun dü-

zeylerde azaltılmasının üreden yararlanılmasını arttırmada bir yol olabileceği öne sürülmüştür (10, 28).

Bazı araştırmacılar (3, 12, 15, 29) protein olmayan nitrojen (NPN) kaynağı olan üreden daha iyi yararlanmak amacıyla rasyona zeolit katmayı denemişlerdir.

Zeolitler, alkali ve toprak alkali metallerin sulu alumine silikatlarıdır. Endüstri mineralleri içinde önemli bir potansiyele sahip olup kırk kadar doğal türleri vardır (17).

Doğal ve sentetik zeolitlerle, ruminantlarda yapılan bir çalışmada zeolitlerin, NPN'li rasyonla beslenmede, rumen içeriğinde yüksek  $\text{NH}_3$  düzeylerinin toksik etkilerini azalttığı ve nitrojen kullanımını düzelttiği anlaşılmıştır (29). Aynı çalışmada ruminal  $\text{NH}_3$ 'ın % 15'inin zeolit tarafından tutulabildiği ve bu şekilde zeolit rumende bir  $\text{NH}_3$  deposu gibi davrandığı kaydedilmiştir.

% 5 zeolit içeren rasyonla beslenen danaların kontrollere göre, daha fazla ağırlık artışı gösterdikleri bildirilmiştir (12). Mc Collum ve Galyean (13) ise, % 2,5 ve % 5,0 düzeyinde sentetik bir zeolit olan Clinoptilolite (CLN) içeren rasyonla beslenen buzağılarda yem alımı, yemden yararlanma ve canlı ağırlık artışı açısından önemli bir farklılık tesbit edememişlerdir.

Sweeney ve ark. (22), süt sığırlarında sentetik zeolit rumen  $\text{NH}_3$  konsantrasyonları üzerine etkisiz kaldığını tesbit etmişlerdir. Galyean ve Chabot (6) ise, rasyonla % 3,5 düzeyinde CLN alan tosunlarda beslenmeden 4 saat sonra rumen amonyak düzeylerinde yükselmeye meyil olduğunu ve zeolit rumende total uçucu yağ asitleri konsantrasyonu üzerine etkisiz kaldığını kaydetmişlerdir.

Zeolitli rasyonlarla beslenen tavuk, domuz ve sığır gibi evcil hayvanların sağlığında herhangi bir fena etki olmadığı ve yemden yararlanmada önemli artışların olduğu bildirilmiştir (15).

Çeşitli araştırmacıların zeolit etkisi hakkında değişik sonuçlar verdikleri görülmektedir. Zeolitli rasyonlarla beslenmeye karşı hayvanların farklı cevap vermelerinin zeolitlerin jeografik özelliklerinin farklı oluştundan kaynaklanabileceği bildirilmiştir (30).

Rumen pH sınırının düşmesiyle (5.4 - 6.0)  $\text{NH}_3$ 'ın rumen duvarından emilme derecesinin yavaşladığı ve böylece daha fazla miktarda  $\text{NH}_3$ 'ın mikrobiyel protein sentezinde kullanılabileceği (11), pH'nın

yükselmesiyle (6.5 - 7.0) ise  $\text{NH}_3$  absorpsiyonunun hızlanacağı bildirilmiştir (7). Koçlar üzerinde yapılan bir çalışmada ruminal pH ile  $\text{NH}_3$  absorpsiyonu arasında pozitif, VFA absorpsiyonu arasında ise negatif bir ilişkinin varlığı kaydedilmiştir (2).

Ruminantlar metabolize olabilen enerjilerinin önemli bir kısmını rumende karbonhidratların fermantasyonundan kaynaklanan uçucu yağ asitlerinden sağlarlar (25). Koyunların rumeninde isobutirik, isovalerik ve 2-metil-butirik asitlerin varlığının çeşitli yemlerle korunduğu ortaya konmuş (1) ve bu uçucu yağ asitlerinden sırasıyla valin, loysin ve isoloyisin'in sentezinde özel karbon iskeleti olarak yararlanıldığı kaydedilmiştir (24).

Diğer taraftan koyunların belli bir düzeyde orotik asit sentezleyebileceği ve bunu değişik yollarla atabileceği varsayımı kabul edilmekte olup kan  $\text{NH}_3$  düzeylerinin artması halinde idrarla orotik asit atılımının da artacağı bildirilmiştir (9). Normal ve üreli rasyonla beslenen sığırlarda istatistik önemde olmamakla birlikte, sütte orotik asit artışı tesbit edilmiştir (18).

Zeolitlerin çok çeşitli doğal türlerinin bulunması (17), çeşitli araştırmacılar tarafından hayvan besleme alanında zeolit hakkında çelişkili bilgilerin verilmiş olması (3, 12, 13, 15, 22, 29) bu çelişkinin zeolitlerin farklı jeografik özelliklerinden kaynaklanabileceğinin bildirilmesi (30) ve bu konunun yurdumuzda hiç incelenmemiş olması bizi, yurdumuza ait doğal zeolitlerin hayvan beslenmesi üzerine kimi etkilerinin incelenmesine yöneltmiştir. Bu amaçla NPN kaynağı olarak % 3 üreli ve % 3 üreye ilaveten artan oranlarda zeolitli rasyonlarla beslenen merinos kuzularında üre ve zeolitlerin ruminal pH, üreaz aktivitesi ve VFA ile plazma orotik asit düzeyi üzerine etkisi incelenmiştir.

### Materyal ve Metot

Araştırmanın materyalini, süttten kesilmiş 50 baş merinos kuzu teşkil etmiştir. Bu kuzular seçilirken mümkün olduğunca birbirine yakın doğum ve ağırlıkta olmalarına özen gösterilmiştir. Hayvanlar, herbiri 10 baş kuzu ihtiva eden 1 kontrol ve 4 deneme olmak üzere 5 gruba ayrılmışlardır. Araştırmada, temel rasyona ek olarak, kontrol grubuna pamuk tohumu ve ayçiçeği küspesi; I. II. III. ve IV. deneme gruplarına ise üre verilmiştir. Ayrıca II., III. ve IV. gruptaki hayvanların rasyonlarına sırasıyla % 2,5; 5,0 ve 7,5 oranlarında zeolit\* katılmıştır. Kaba yem olarak hayvanlara sadece kuru ot verilmiştir.

Araştırmada hayvanlara verilecek konsantre yem karmalarının bileşimleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Konsantre yem karışımının bileşimi (%).

Yem Maddesi	G r u p				
	Kontrol	I	II	III	IV
Arpa	35	57	60	69.4	69.9
Yulaf	10	17.4	11.9	-	-
Kuru Melaslı Şek. Pancarı Posası	20	20	20	20	17
Pamuk tohumu küspesi	10	-	-	-	-
Ayçiçeği tohumu küspesi	22.90	-	-	-	-
Üre (% 46 N)	-	3	3	3	3
Zeolit	-	-	2.5	5	7.5
Tuz	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
Kireç taşı	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
İz element karışımı	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
Vitamin karışımı	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Sodyum sülfat, susuz	-	0.50	0.50	0.50	0.50
Ham Protein	17.28	17.92	17.66	17.36	17.15
Metabolik Enerji M cal/kg	2.72	2.80	2.75	2.72	2.65

Denemenin başlangıcında, 30. ve 90. günlerinde olmak üzere 3 defa sabah yemlemesini izleyen 4. saatlerde hayvanlardan kan ve rumen sıvısı örnekleri alınmıştır. Kan numuneleri, heparinli temiz tüplere, V. jugularisten alınmış ve plazmaları ayrılarak analize kadar derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Rumen sıvısı örnekleri burun-meri sondası yardımıyla temiz, kapaklı plastik kaplara alınmış (27) ve vakit geçirilmeksizin Knick pH elektroduyla pH ları tayin edilmiş sonra diğer analizler için 2000 × g de 20 dakika santrifüj edilmiştir (16). Üreaz (Üre: amidohidrolaz EC 3.5.1.5) aktiviteleri pH sı 7.0 olan 0.02 M Fosfat tamponla 10 defa sulandırıldıktan sonra Gorin ve Chin (8)'in bildirdikleri gibi, 25°C de 2 dakika inkubasyonu takiben Alkalimetrik olarak tayin edilmiş ve sonuçlar Uluslararası Biyokimyacılar Birliğinin Enzim Komisyonu tarafından bildirilen birimle uyarlanmıştır. Buna göre 1 IUB Ünitesi 0,5 µmol ürenin hidrolizini katalize eden ve 1.0 µmol NH<sub>3</sub>'ı serbest bırakan enzim miktarıdır (19). Yaklaşık 11 IUB ünitesi 1 Sumner ünitesine eşittir (8, 19).

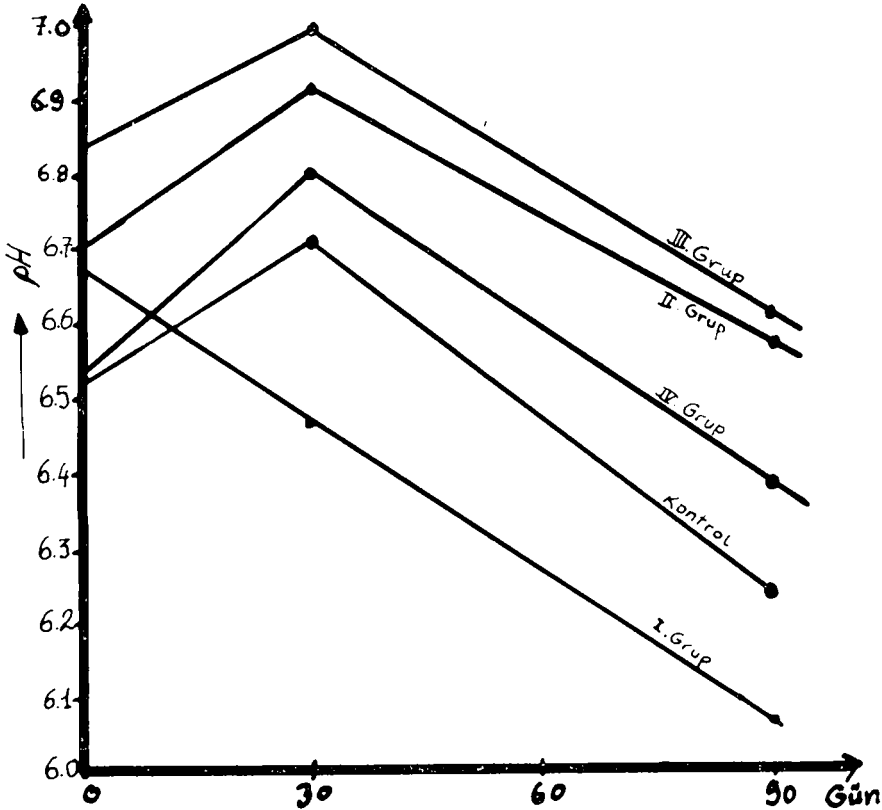
Total uçucu yağ asitleri (VFA), rumen içeriğinin deproteinizasyonunu takiben buhar distilasyonu ve standardize edilmiş 0.02 N NaOH'le titrasyon yoluyla tayin edilmiştir (1).

Plazma orotik asit düzeylerinin tayininde Stajner ve Arkadaşlarının (21) bildirdikleri metod kullanılmıştır.

Elde edilen laboratuvar verileri istatistik yönden varyans analiziyle değerlendirilmiş ve farklılıkların gruplar arasındaki dağılımı için de "Duncan testi" uygulanmıştır (5).

### Bulgular

Denemelerden elde edilen sonuçlar ve bu sonuçlara ait istatistik veriler Tablo 2'de toplu halde gösterilmiştir. Denemenin başlangıcında, 30. ve 90 .günde gruplara ait ortalama değerler dikkate alınarak ruminal pH, üreaz aktivitesi ve total VFA düzeylerinde meydana gelen değişiklikler sırasıyla şekil 1, 2 ve 3. de grafiklendirilmiştir.



Şekil 1. Deneme süresince Ruminal pH'daki değişimleri gösteren grafik.



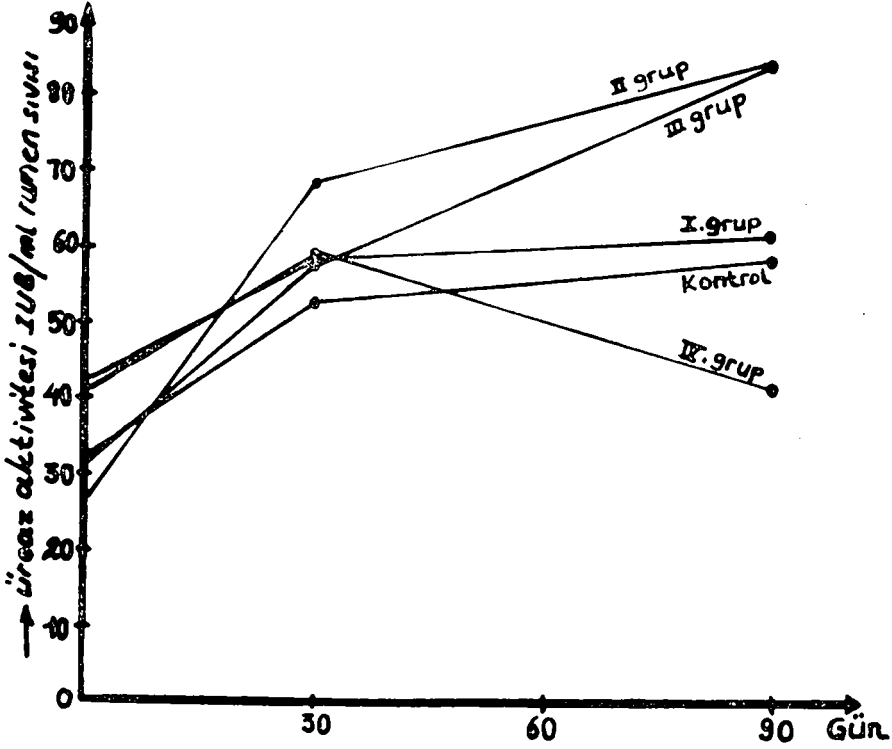
Tablo 2. Rumen sıvısında pH değerleri ile Üreaz aktivitesi ve total uçucu yağ asitleri (VFA) konsantrasyonları (n = 10).

Özellikler	Deneme Grupları										F
	Kontrol		I		II		III		IV		
	$\bar{x}$	S $\bar{x}$	$\bar{x}$	S $\bar{x}$	$\bar{x}$	S $\bar{x}$	$\bar{x}$	S $\bar{x}$	$\bar{x}$	S $\bar{x}$	
<i>Deneme başlangıcı</i>											
pH	6.524	0.13	6.685	0.16	6.709	0.09	6.841	0.06	6.536	0.15	1.20
Üreaz aktivitesi (IUB ünite/ ml)	33.75 <sup>abc</sup>	2.67	42.50 <sup>b</sup>	2.76	27.00 <sup>a</sup>	5.51	33.25 <sup>ab</sup>	4.67	41.75 <sup>bc</sup>	2.64	2.75*
Uçucu yağ asitleri (mmol/ L)	51.20	3.21	54.54	4.18	48.69	2.48	51.48	2.26	57.64	3.95	1.09
<i>Denemenin 30. günü</i>											
pH	6.711 <sup>a</sup>	0.11	6.464 <sup>b</sup>	0.09	6.905 <sup>bc</sup>	0.09	6.988 <sup>c</sup>	0.07	6.802 <sup>bc</sup>	0.09	7.86**
Üreaz aktivitesi (IUB ünite/ ml)	53.63	2.52	58.50	2.87	68.75	3.07	57.68	1.81	59.38	8.07	1.65
Uçucu yağ asitleri (mmol/ L)	52.14	2.75	58.26	3.37	54.21	2.81	53.17	1.46	54.92	3.51	0.62
<i>Denemenin 90. günü</i>											
pH	6.244 <sup>abc</sup>	0.15	6.070 <sup>a</sup>	0.10	6.570 <sup>b</sup>	0.05	6.611 <sup>bc</sup>	0.17	6.379 <sup>abc</sup>	0.09	3.77*
Üreaz aktivitesi (IUB ünite/ ml)	58.75 <sup>a</sup>	3.22	61.25 <sup>bc</sup>	3.93	84.38 <sup>b</sup>	5.53	83.33 <sup>b</sup>	2.37	41.25 <sup>c</sup>	10.13	9.54**
Uçucu yağ asitleri (mmol/ L)	67.83 <sup>a</sup>	6.08	69.32 <sup>ab</sup>	4.18	56.04 <sup>ab</sup>	1.87	56.45 <sup>b</sup>	3.76	68.13 <sup>ab</sup>	2.89	2.96*

Aynı sırada farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasındaki farklılıklar önemlidir (p < 0.05).

\*\* = P < 0.01

\* = p < 0.05

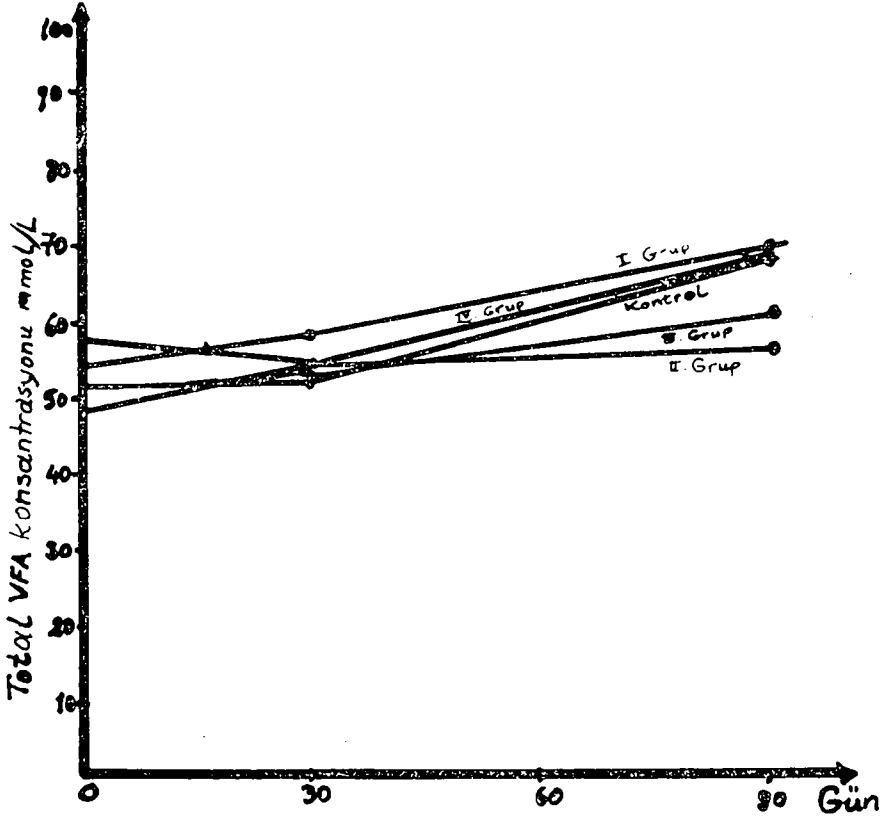


Şekil 2. Deneme süresince Ruminal Üreaz aktivitesindeki değişimleri gösteren grafik

*Rumen sıvısı pH'sı*: Denemenin başlangıcında gruplara ait ortalama değerler arasında gözle görülebilen bir farklılık olmasına karşın istatistik önem taşımadığı görülmüştür.

Denemenin 30. gününde rasyonlarıyla sadece % 3 üre alan I. gruba ait pH değerlerinin kontrollerinkinden  $p < 0.05$  düzeyinde, rasyonlarıyla zeolit alan II., III., ve IV. gruplarınkinden  $p < 0.01$  düzeyinde düşük olduğu tesbit edilmiştir. Rasyonlarıyla zeolit alan bütün gruplardaki pH ortalama değerlerinin kontrollerinkinden yüksek olmasına rağmen yalnız III. grup  $p < 0.05$  düzeyinde istatistik önem arz etmektedir.

Denemenin 90. gününde I. gruba ait pH ortalama değerinin II. ve III. gruplardan  $p < 0.05$  düzeyinde düşük olduğu bulunmuştur.



Şekil 3. Deneme süresince Rüminal Total VFA düzeylerindeki değişimleri gösteren grafik.

*Rumen sıvısı üreaz aktivitesi:* Denemenin başlangıcında deneme gruplarına ait ortalama üreaz aktiviteleri ile kontrollere ait değerler arasında istatistik yönden önemli bir farklılık bulunamamıştır. İkinci gruba ait üreaz aktivitesi değerleri ise I. ve IV. grup değerlerinden  $p < 0.05$  düzeyinde önemli olarak düşük tesbit edilmiştir.

Denemenin 30. gününde gruplar arasında istatistik önemi olan bir farklılık tesbit edilememiştir.

Denemenin 90. gününde I. grup değerleri ile kontrol değerleri arasında istatistik önemde bir fark bulunamazken II. ve III. grup üreaz aktivitesi değerleri kontrollere göre  $p < 0.05$  düzeyinde yüksek, IV.

grubunki ise  $p < 0.05$  düzeyinde düşük tesbit edilmiştir. Deneme grupları içerisinde II. ve III. gruplara ait üreaz aktivitesi ortalama değerleri I. grup değerlere göre  $p < 0.05$  ve IV. grup değerlere göre  $p < 0.01$  düzeyinde önemli olarak yüksek bulunmuştur.

*Rumen sıvısı total VFA'leri* : Denemenin başlangıcında ve 30. gününde kontrol ve deneme gruplarına ait, rumen total VFA konsantrasyonları arasında istatistik önemlilikte farklılıklar bulunamamıştır.

Denemenin 90. gününde yalnızca III. gruba ait ortalama VFA konsantrasyonu kontrollere göre  $p < 0.05$  düzeyinde önemli olarak düşük tesbit edilmiştir.

*Plazma orotik asidi* : Deneme süresince kuzuların kan plazmalarında orotik asit araştırılmış ise de plazmada, kullandığımız laboratuvar metoduyla ölçülebilecek düzeyde orotik asit tesbit edilememiştir.

Diğer taraftan, deneme süresince kontrol ve deneme gruplarında rumen sıvılarına ait pH ile total VFA seviyeleri arasında  $p < 0.05$  düzeyinde öneme sahip negatif bir ilişkinin varlığı tesbit edilmiştir.

### Tartışma ve Sonuç

Rumen sıvıları ve plazma numunelerinde analizi yapılan maddeler itibariyle bulduğumuz istatistik değerler, ilgili literatür verileri ışığında ayrı ayrı tartışılmıştır.

*Rumen Sıvısı pH'sı* : Denemenin başlangıcında pH ortalama değerleri kontrol ve I, II, III, IV. gruplarda sırasıyla  $6.524 \pm 0.13$ ;  $6.685 \pm 0.16$ ,  $6.709 \pm 0.09$ ,  $6.841 \pm 0.06$ ,  $6.536 \pm 0.15$  olarak tesbit edilmiştir. Yapılan istatistik analiz sonucu gruplar arasında önemli bir farklılık bulunamamıştır. Ancak denemenin 30. gününde kontrollerde ve rasyonları zeolit içeren gruplarda pH ortalama değerleri başlangıç değerlerine göre bir artış gösterirken rasyonlarında sadece % 3 üre içeren I. grupta ise kayda değer bir düşüş görülmüştür. Birinci grubun pH ortalama değerlerindeki bu düşüklük kontrollere göre  $p < 0.05$ , rasyonlarında zeolit bulunan gruplara göre de  $p < 0.01$ . düzeyinde istatistik önemde bulunmuştur. Rasyonlarıyla zeolit alan gruplar arasında en yüksek pH değeri III. grupta (% 5 zeolitli)  $6.988 \pm 0.07$  olarak tesbit edilmiş ve bu yükseklik kontrollere göre  $p < 0.05$  düzeyinde istatistik önemli bulunmuştur.

Denemenin 90. gününde I. gruba ait pH ortalama değeri  $6.070 \pm 0.10$  değerine kadar düşmesine, lineer olarak devam etmiştir. Denemenin 30. gününe kadar yükselme gösteren kontrol ve zeolitli grupların pH ortalama değerleri artık 90. güne kadar düşmüştür. Bununla beraber bu düşüş I. gruptaki pH değerine ulaşamamıştır. Zeolitli gruplar içerisinde en yüksek pH değeri yine III. grupta tesbit edilmiştir. Doksanıncı günde II. ve III. gruba ait pH ortalama değerleri I. gruba göre  $p < 0.05$  düzeyinde yüksek bulunmuştur.

Tüm deneme grupları ve kontrollere ait pH değişimleri şekil 1'de grafik halinde gösterilmiştir. Şekil 1 incelendiğinde, deneme grupları içerisinde yalnızca I. gruba ait pH değerlerinin denemenin başından sonuna kadar lineer bir şekilde düştüğü, oysa diğer gruplara ait pH değerlerinin bir tırmanıştan sonra düşüş kaydettiği daha açık görülebilmektedir. Bununla beraber rasyonla zeolit alan tüm gruplardaki pH, deneme süresince kontrollere göre daima yüksek seyretmiştir. Birinci grup yani zeolitsiz deneme grubu ise denemenin başlangıcında kontrollere göre yüksek pH değerine sahipken daha sonra kontrollere göre daima düşük seviyede seyretmiştir.

Grup I de, pH değerlerinin düşük olması nedeniyle rumen duvarından  $\text{NH}_3$  absorpsiyon derecesinin yavaşlamış olacağı ve böylece mikrobiyel protein sentezinde  $\text{NH}_3$ 'ın daha ekonomik olarak kullanılabilceği, buna karşın zeolitli gruplarda, yüksek ruminal pH nedeniyle  $\text{NH}_3$  absorpsiyonunda bir artışa bağlı olarak mikrobiyel protein sentezinde düşme olabileceği düşünülebilir (7, 11).

*Üreaz aktivitesi*: Endojen ve eksojen üre, rumende üreaz aktivitesi vasıtasıyla  $\text{NH}_3$  ve  $\text{CO}_2$ 'e parçalanır. Serbest kalan  $\text{NH}_3$  bakteriyel protein sentezinde kullanılır (19).  $\text{NH}_3$ 'dan protein sentezinde, mikrobiyel yeterlilik yanında ruminal üreolitik aktivitenin uygun düzeylerde azaltılmasının üre istifadesini artırmada bir yol olabileceği öne sürülmüştür (10, 28).

Denemenin başlangıcında üreaz aktivitesi ortalama değerleri kontrol, I, II, III ve IV. gruplarda sırasıyla  $33.75 \pm 2.67$ ;  $42.50 \pm 2.76$ ;  $27.00 \pm 5.51$ ;  $33.25 \pm 4.67$  ve  $41.75 \pm 2.64$  IUB ünite/ml olarak tesbit edilmiştir. Deneme grupları ile kontrol grubuna ait değerler arasında istatistik yönden önemli bir farklılık bulunamamıştır. Denemenin 30. gününde yukarıdaki gruplara ait değerler sırasıyla  $53.63 \pm 2.52$ ;  $58.50 \pm 2.87$ ;  $68.75 \pm 3.07$ ;  $57.64 \pm 1.81$  ve  $59.38 \pm$

8.07 IUB ünite / ml'lere yükselmişlerdir. Ancak kontrol ile deneme grupları arasında yine istatistik yönden önemli bir farklılık tesbit edilememiştir. Denemenin 90. gününde ise tüm zeolitli gruplara ait ruminal üreaz aktiviteleri kontrol grubuna ait değerlere göre  $p < 0.05$  düzeyinde istatistik önemde farklı bulunmuştur. % 3 üreli rasyon alan I. gruba ait üreaz aktiviteleri ile kontrol grup arasında istatistik önemli bir farklılık tesbit edilememiştir. % 2.5 ve 5.0 zeolit içeren rasyonla beslenen grupta üreaz aktivitesi kontrollere göre  $p < 0.05$  düzeyinde yüksek, % 7.5 zeolitli rasyon alan grupta ise kontrollerden  $p < 0.05$  düzeyinde düşük hesaplanmıştır.

Şekil-2 incelendiğinde, denemenin 30. gününe kadar deneme gruplarına ait üreaz aktivitelerinin kontrol grubuna ait değerlere yakın seyrettiği, fakat 30. günden sonra zeolitli rasyonla beslenenlere ait değerler kontrollerden önemli derecede uzaklaştığı halde % 3 üreli rasyonla beslenen I. grupta ise kontrollere yakın seyrine devam ettiği görülecektir. Bu sonuca göre, zeolitli rasyon alan gruplarda üreaz aktivitelerindeki değişmelerin istikrarlı olmadığı, dolayısıyla zeolitin ruminal üreaz aktivitesi üzerine etkisinin yönünü önceden kestirmenin güç olduğu kanısına varılmıştır. Oysaki rasyonlarıyla yalnızca % 3 düzeyinde üre alan I. gruptaki üreaz aktivitesi deneme boyunca uygun bir seviyeyi muhafaza etmiştir. Böylece bu gruptaki ruminal üreolitik aktivitenin zeolitli gruplardan daha çok yarar sağlayabileceği sonucu ortaya çıkmaktadır.

Merino ve Raun (14), rasyona % 1,5 düzeyinde üre ilâvesinin kuzularda ruminal üreaz aktivitesini önemli derecede düşürdüğünü bildirmişse de bu çalışmada, rasyona % 3 düzeyinde katılan ürenin ruminal üreaz aktivitesini önemli derecede etkilemediği tesbit edilmiştir.

Kontrol grupta üreaz aktivitesi ortalama değerleri denemenin başında, 30. ve 90. günde sırasıyla  $33.75 \pm 2.67$ ;  $53.63 \pm 2.52$  ve  $58.75 \pm 3.22$  IUB ünite / ml olarak tesbit edilmiştir.

Merino ve Raun (14), kontrol olarak seçtikleri kuzularda ruminal üreaz aktivitesini, 5 ml rumen sıvısında enzim tarafından oluşturulan 0.0001 eq.  $\text{NH}_3$  birimiyle 18.14 ve 22.85 olarak bildirmişlerdir. Spears ve Hatfield (20), kontrol grupta kuzulara ait üreaz aktivitesini 1 ml rumen sıvısında dakikada oluşan  $\mu\text{M}$   $\text{NH}_3$  nitrojeni cinsinden  $2.5 \pm 0.5$  olarak, Sidhu ve ark. (19) ise, kuzularda rumen sıvısının ortalama üreaz aktivitesini 34.5 IUB ünite / ml olarak vermişlerdir.

Bizim bulgularımızın birim açısından Sıdhu ve ark. kine benzer olduğu görülmektedir.

Ruminal ürcaz aktivitesi rasyon tipine ve beslenmeden sonra geçen süreye göre farklılıklar gösterdiğinden (19, 20), bulguların literatür verilerle karşılaştırılmasında farklılıklar ortaya çıkması doğaldır.

Yapılan literatür taramalarında zeolitlerin ruminal ürcaz aktivitesi üzerine etkisi ile ilgili bir yayına rastlanamamıştır. Bu nedenle bu konudaki bulguların literatür verileriyle karşılaştırılma olanağı bulunamamıştır.

*Ruminal total uçucu yağ asitleri*: Denemenin başlangıcında ruminal total VFA konsantrasyonları kontrol, I, II, III ve IV. gruplarda sırasıyla  $51.20 \pm 3.21$ ;  $54.54 \pm 4.18$ ;  $48.69 \pm 2.48$ ;  $51.48 \pm 2.26$  ve  $57.64 \pm 3.95$  mmol/ L olarak tesbit edilmiştir. Yapılan istatistik analizi sonucu gruplar arasında önemli bir farklılık bulunamamıştır. Denemenin 30. gününde ise bu değerler sırasıyla  $52.14 \pm 2.75$ ;  $58.26 \pm 3.37$ ;  $54.21 \pm 2.31$ ;  $53.17 \pm 1.46$  ve  $54.92 \pm 3.51$  mmol/ L olarak elde edilmiştir. Başlangıç değerlerinden önemli farklılık göstermedikleri gibi kendi aralarında da istatistik önemli bir farklılık göstermemişlerdir. Fakat 90. günde, II ve III. gruba ait total VFA değerleri deney boyunca hemen hemen aynı düzeyleri muhafaza ederken diğer gruplarda önemsiz de olsa bir artış gözlenmiştir.

Şekil-3 incelendiğinde, I. gruba ait değerlerin deneme süresince lineer bir artış kaydettiği ve  $69.32 \pm 4.18$  mmol/ L değeri ile gruplar arasında en yüksek seviyeye sahip olduğu görülecektir. Bu durumun zeolit olmaksızın % 3 ürelili rasyonla beslenen kuzularda ruminal mikrobiyel aktivitenin lehine bir gelişme sayılabileceği söylenebilir (24, 25, 26).

Deneme boyunca ruminal VFA düzeylerinin rasyon tiplerinin hiç birinden önemli derecede etkilenmediği görülmüş olup bu bulgu diğer araştırmacıların bulgularıyla uyum içerisindedir (6, 13).

Diğer taraftan ruminal pH ile VFA absorpsiyonu arasında negatif bir ilişki bildirilmiştir (2). Bu çalışmada rumen sıvısı pH sı ile total VFA konsantrasyonu arasında, tüm deneme boyunca, negatif bir ilişkinin varlığı saptanmıştır. Mullen (16) de bu araştırmanın bulgusuna benzer sonuçları inekler üzerinde elde ettiğini bildirmiştir.

*Orotik Asit* : Merinos kuzulardan alınan kan plazma numunelerinde Stajner ve Ark. (22)'nin bildirdikleri metodla orotik asit tayini yapılmış, ancak orotik asit düzeylerinin bu metodla tesbit edilebilecek seviyede olmadığı görülmüştür. Bu durum üre ve zcolitin plazma orotik asit düzeyini yararlandığımız metodla müspet sonuç elde edilebilecek seviyeye yükseltmediğini göstermektedir.

Sonuç olarak ; Rasyonlarıyla % 3 üre alan I. grup diğer gruplara göre en düşük pH değerlerine , en yüksek VFA konsantrasyonlarına ve kontrollere en yakın üreaz aktivitesine sahip olmakla bu grupta ruminal mikrobiyel aktivitenin diğer gruplara göre daha fazla, rumenden NH<sub>3</sub> absorpsiyonunun daha yavaş , VFA absorpsiyonunun daha hızlı olacağı ve böylece NPN'den yararlanmanın da zeolitli rasyonla beslenen gruplardakinden daha yüksek olacağı kanaatine varılmıştır.

#### Literatür

1. **Annison, E.F.** (1954): *Some observations on Volatile Fatty Acids in the sheep's Rumen.* Biochem. J. 57: 25-30.
2. **Bloomfield, R.A., Kearley, E.O.; Creach, D.O. and Muhrer, M.E.** (1963): *Ruminal pH and Absorption of Ammonia and VFA.* J. Anim. Sci., 22:833 (Abstr.)
3. **Cheshmedzhiev, B.V.; Dzharova, M.; Stanchev, K.M.** (1981): *Effect of zeolit in diets with urea in experiments with sheep.* Zhivotnov'dniNauki., 18 (6); 64-68. "Alınmıştır" Nutr. Abstr. Rev., 1983: 53:477.
4. **Çolpan, İ.** (1983): *Farklı düzeylerde üre içeren rasyonların Doğu Anadolu Kırmızısı sığırlarda yem tüketimi, yemden yararlanma ve canlı ağırlık artışı üzerine etkisi.* Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg. 30 (2); 292-307.
5. **Düzgüneş, O., Kesici, T. ve Gürbüz, F.** (1983): *İstatistik metodları -I-*, 218. A.Ü. Basımevi-Ankara.
6. **Galyean M.L. and Chabot, R.C.** (1981) *Effects of sodium Bentonite, buffer salts, Cement Klin Dust and Clinoptilolite on rumen characteristics of beef steers fed a high roughage Diet.* J. Anim. Sci., 52 (5): 1197-1204.
7. **Goodrich, R.D., Meiske, J.C. and Gharib, F.H.** (1972): *Utilisation of urea by ruminants* World Review of Journal Production, 8: 54-69.
8. **Gorin, G. and Chin, C.C.** (1966): *Urease VI. A New Method of Assay and the spesific Enzymic Activity.* Analytical Biochem. 17: 49-59.
9. **Gülen, Ş. Özgen, H.** (1978): *Koyunlarda Gebelik öncesi, gebelik ve laktasyon dönemlerinde idrar kan ve sütle orotik asit üre ve Amonyak miktarlarının belirtilmesi üzerinde araştırma.* A.Ü. Vet. Fak. Derg., 25 (1): 62-84.



10. **Harbers, L.H.; Alvares, A.P. Jacobson A.I. and Visek, W.J.** (1962): *Growth of chicks fed diets supplemented with chlortetracycline or barbituric acid.* Fed. Proc., 21: 386 (Abstr.)
11. **Hogan, T.P.** (1961): *The absorption of Ammonia.* Through the rumen of the sheep. Austr. J. Biol. Sci., 14:448.
12. **Kondo, Kanae.; Seiji Fujiishiro; Fumio Suzuki, Taga; Hideo Mormaga; Bunsaku Wagai and Tonosuke Kondo.** (1969): *Effect of zeolites on Calf growth.* Chikusan No Kemikyu 23: 987. "Alınmıştır" Mumpton, F.A. and Fishman P.H. (1977): *The application of natural zeolites in Animal Science and aquaculture.* J. Anim. Sci., 45 (5): 1188-1203.
13. **Mc Collum, F.T. and Galyean M.L.** (1983): *Effects of Clinoptilolite on rumen fermentation, digestion and feedlot performance in beef steers fed high concentrate diets.* J. Anim. Sci., 56 (3): 517-524.
14. **Merino, H. and Raun NS.** (1964): *Effect of chlortetracycline and urea on ruminal urease activity in sheep.* J. Anim. Sci., 23:884. (Abstr).
15. **Minato, H.** (1968): *Characteristics and uses of natural Zeolites.* Kotsugasu. 5:536. "Alınmıştır" Mumpton. F. A. and Fishmann P.H. (1977): *The application of natural Zeolites in Animal Science and Aquaculture.* J. Anim. Sci., 45 (5): 1188-1203.
16. **Mullen, P.A.** (1973): *Rumen liquor pH, osmolality and volatile fatty acid changes in calves fed intensively on barley with hay added.* Br. Vet. J. 129 (3):267-276.
17. **Mumpton, F.A. and Fishman, P.H.** (1977): *The Application of natural zeolites in Animal Science and aquaculture.* J. Anim. Sci., 45 (5): 1188-1203.
18. **Rashid, R.** (1976): *Acid - Soluble purine and pyrimidine derivatives in cow's milk produced on normal feed and almost protein free-feed with urea as the main nitrogen source.* Nahrung., 20 (10): 875-882.
19. **Sidhu, K.S.; Jones, E.W. and Tillman, A.D.** (1968): *Effect of urease immunity on Growth, Digestion and nitrogen metabolism in Ruminant Animals.* J. Anim.. Sci. 27 (6): 1703-1708.
20. **Spears, J.W. and Hatfield, E.E.** (1978): *Nickel for Ruminants: 1. Influence of Dietary nickel on ruminalurease activity.* J. Anim. Sci., 47 (6): 1345-1350.
21. **Stajner, A. Suva, J. and Musil, F.** (1968): *The Determination of orotic acid in the Blood serum by Means of the spectrophotometric Method.* Experientia, 24: 2: 116-117.
22. **Sweeney, T.F., Bull L.S. and Hemken, R.W.** (1980): *Effect of zeolite as a feed additive on growth performance in ruminants.* J. Anim Sci., 51 (Suppl. 1): 401.
23. **Tillmann, A.D. and Swift, R.W.** (1953): *The utilisation of ammoniated industrial by-products and urea by sheep.* J. Anim. Sci., 12 (1): 201-212.
24. **Tillman, A.D. and Sidhu, K.S.** (1969): *Nitrogen metabolism in ruminants: Rate of ruminal ammonia production and nitrogen utilization by Ruminants-A review.* J. Anim. Sci., 28 (5): 689-697.

25. **Trenkle A. and Kuhlemeier, K.V.** (1966): *Relationship of Rumen volatile Acids, Blood Glucose and Plasma Nonesterified Fatty acids in Sheep.* J. Anim. Sci., 25 (4): 1111-1115.
26. **Tuncer, Ş.D.** (1982): *Sütten kesilmiş merinos kuzularının rasyonlarına değişik düzeylerde katılan üre ve Amonyum sülfatın besi performansı, Karkas özellikleri ile kan ve rumen sıvısı metabolitleri üzerine etkisi.* Doğa Bilim Dergisi: Vet. Hay./ Tar. Orm.: 6 (3): 75-90.
27. **Varner, L.W. and Woods W.** (1971): *Influence of ammonium salts of volatile Fatty acids upon ration digestibility rumen fermentation and nitrogen retention by steers.* J. Anim. Sci., 33 (5): 1110-1117.
28. **Vissek, W.J., Baron J.M. and Switz, D.M.** (1959): *Urea metabolism and intestinal ureolytic activity of rats fed antimicrobial agents.* J. Pharm. Exp. Therap. 126: 359.
29. **White, J.L. and Ohlrogge, A.J.** (1974): *Ion exchange materials to increase consumption of non-protein nitrogen in Ruminants.* Can. Patent. 939186. Jan 2,30 p. "Alınmıştır"  
Mumpton, F.A. and Fishman P.H. (1977): *The application of natural zeolites in animal Science and aquaculture.* J. Anim. Sci., 45 (5): 1188-1203.
30. **Willis, W.L.; Quarles C.L. and Fagerberg D.J.** (1982): *Evaluation of Zeolites Fed to Male Broiler Chickens.* Poultry Sci., 61: 438-442.