

**ORAL YOLLA VERİLEN SEPIYOLİTİN SIĞIRLARDA
RUMEN PROTOZOONLARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Serdar GÜVLÜ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Bülent ELİTOK
Tez No: 2017-018

2017-AFYONKARAHİSAR

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ORAL YOLLA VERİLEN SEPIYOLİTİN SIĞIRLARDA RUMEN
PROTOZOONLARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Serdar GÜVLÜ

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN

Doç. Dr. Bülent ELİTOK

**Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 16.SAĞBİL.14 proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No: 2017-018

2017-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

İç Hastalıkları Programı

çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 21.09.2017


Doç. Dr. Bülent ELİTOK

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Jüri Başkanı


Doç. Dr. Kenan SEZER

Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

Raportör


Yrd. Doç. Dr. Mustafa KABU

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Serdar GÜVLÜ'nün “Oral Yolla Verilen Sepiyolitin Sığırlarda Rumen Protozoonları Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tezi.....günü saat.....’da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Özal ÖZCAN

Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Önsöz	iv
Kısaltmalar	v
Tablolar	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Rumen Protozoonları	3
2. MATERYAL VE METOT	10
2.1. Materyal	10
2.2. Metot	10
2.2.1. Rutin Klinik Muayeneler.....	10
2.2.2. Hematolojik Muayeneler.....	11
2.2.3. Serum Biyokimyasal Muayeneleri.....	11
2.2.4. Rumen SIVISI Muayeneleri.....	11
2.2.4.1. Rumen SIVISINDA Metilen Mavisi Testi.....	12
2.2.4.2. Rumen SIVISI Total İnfusoriya Sayımı.....	12
2.2.4.3. Rumen SIVISINDA Sedimentasyon Testi.....	12
2.2.4.4. Rumen SIVISI Amonyak Tayini.....	13
2.2.5. İstatistiksel Analizler.....	14
3. BULGULAR	15
3.1. Klinik Muayene Bulguları.....	15
3.2. Rumen SIVISI Muayene Bulguları	16
3.2.1. İnfusoria Sayısı Bulguları	16
3.2.2. Metilen Mavisi Testi Bulguları	17
3.2.3. 3.2.3. Sedimentasyon Testi Bulguları	17

3.2.4. Rumen Sıvısında Amonyak Ölçümü Bulguları.....	17
3.3. Hematolojik Muayene Bulguları.....	18
3.4. Metabolik Profil Bulguları	22
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	24
ÖZET.....	36
ABSTRACT	37
KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ.....	51

ÖNSÖZ

Engin tecrübeleri ile bu tezin hazırlanması sırasında bana rehber olan, fikirlerini ve yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Bülent ELİTOK olmak üzere emeği geçen tüm hocalarıma teşekkür ederim.

Çalışmanın yürütülmesinde verdikleri destekten dolayı Veteriner Hekim Salih SEZER, Veteriner HEKİM İbrahim KIŞLALIOĞLU ve Eşme İlçe GTH Müdürü Ertan KELEŞ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca desteklerini ve fedakârlıklarını esirgemeyen ve her zaman yanımda olduğunu bilerek güç aldığım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından 16.SAĞBİL.14 proje numarası ile desteklenmiştir.

KISALTMALAR

ALB: Albumin

CREA: Kreatin

GLU: Glukoz

GRAN: Granülosit

GRAN%:Granülosit Yüzdesi

HGB: Hemoglobin

HCT: Hematokrit

IM: İntramuskuler

IV: İntravenöz

LDH: Laktat dehidrogenaz

LENF: Lenfosit

LENF%: Lenfosit yüzdesi

MCH: Mean Corpuscular Hemoglobin

MCHC: Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

MCV: Mean Corpuscular Volume

MONO: Monosit

R: Respiratory

RBC: Eritrosit

SC: Subkutan

T: Temperature

TP: Total protein

UREA: Üre

WBC: Lökosit

TABLolar

	<u>Sayfa</u>
Tablo 1. Çalışmada kullanılan hayvanların vücut sıcaklığı, kalp ve solunum frekansları ile rumen hareketleri açısından karşılaştırılması	16
Tablo 2. Çalışmada buzağuların rumen sıvısı istatistiki analiz sonuçları	18
Tablo 3. Hematolojik muayene bulguları istatistiki analiz sonuçları.....	21
Tablo 4. Metabolik profil parametreleri ortalamalarının istatistiki karşılaştırılması	23

1. GİRİŞ

Kil minerallerinin yeme ilavelerinin hayvanların sindirim sistemlerinde toksinleri bağlayıcı ve bloke edici etkileri nedeniyle toksisiteyi düşürdükleri bilinmektedir (Subramaniam, 2015) Kil minerallerinin mikotoksin (Philips ve ark., 2009; Philips ve ark., 1988; Philips, 1999; Philips ve ark., 2009; Lindemann ve ark., 1993), ağır metaller (Ramos, 1996; Ramos ve Hernandez, 1997; Xia ve ark., 2005) ve diğer toksinlerin etkilerini önelemedeki etkileri ile ilgili çok sayıda bilimsel çalışma mevcuttur. Killerin absorpsiyon kapasiteleri partiküllerinin yapısı, yüzey özellikleri ve iyon değişim kapasiteleri ile doğrudan ilişkilidir (Knezevich, 1994; Papaioannou ve ark., 2004; Hrenovic ve ark., 2012; Zayed ve ark., 2012).

Sepiyolit ($Mg_8Si_{12}O_{30}(OH)_4(OH_2)_4 \cdot 8H_2O$), poligorskit grubuna ait, alkali yapıya sahip, magnezyum hidrosilikattan dolayı antasid, gastrointestinal koruyucu, antibakteriyel, absorban, antidiyaretik etkileri olan oral veya topikal olarak kullanılabilen doğal bir kil mineralidir (Parisini ve ark., 1999; Almeida, 2013; Delavarian ve ark., 2013; Nezamzadeh-Ejhih ve Kabiri-Samani, 2013). Lifsi bir yapısı vardır ve lif boyunca devam eden kanal boşluklarına ve gözeneklere sahiptir (EFSA, 2013).

Sağladığı faydalar nedeniyle hayvancılık sektöründe uzun süreden bu yana kullanılan sepiyolit İspanya'daki toplam miktarının %7.5'unun yaygın bir şekilde hayvan yemlerine katıldığı bildirilmiştir (Clarke, 1985). Benzer bulgular 1991 yılında bir diğer araştırmacı (Russell, 1991) tarafından teyid edilmiştir. Ülkemiz değerli ve büyük kaynaklarına sahip olmakla birlikte, sepiyolin hayvan sağlığı açısından kullanımı, çiftliklerde altlık olarak kullanımı ile sınırlı kalmıştır (Russell, 1991). Buna karşılık, bu maddenin rasyona ilave edilmesi ve uzun süre (yaklaşık 8 ay) kullanılmasına rağmen, yan etkiler oluşturmadan, beden ağırlığı gibi parametrelerde artış sağladığı bildirilmektedir (Ayed ve ark., 2011; Tortuero, 1982). Aynı şekilde domuz rasyonlarına ilave edilen sepiyolit amonyak absorpsiyonu ve protein üretimini artırdığı için önemli derecede karkas ağırlığı artışına yol açtığı

bildirilmektedir (Yu ve ark., 2005; Yu ve ark., 2008). Benzer bulgular rayonlarına %1 oranında katılan tavuklarda gözlenmiş, hayvanların canlı ağırlıklarında artışla birlikte, vücut toplam yağ kitlesinde ile serum total kolesterol ve TG seviyelerinde azalma saptanmıştır (Sardi ve ark., 2004; Tortuero ve ark., 1992). Bazı araştırmacılar (Ayed ve ark., 2011; EFSA, 2013) hem yüksek ve hem düşük enerjili rasyonlara sepiyolit ilavelerinin, herhangi bir advers etkiye yol açmaksızın, zooteknik verimde önemli artışlara yol açtığını bildirmişlerdir. Yine tavşanlarda yapılan bir çalışmada farklı dozlarda %2-5 yemlerine sepiyolit ilavelerinin hiç bir yan etki oluşturmadan yem alımı ve canlı ağırlık kazanımlarında artışlara yol açtığı bildirilmiştir.

Buzağı ishallerinde patolojik etkenlerin olduğu kadar, *E. coli* enfeksiyonunda olduğu gibi, bu etkenlerin ürettiği toksinlerin de hastalığın oluşumunda ve şiddetinde etkileri söz konusudur (Trckova ve ark., 2009; Foster ve Smith., 2009). Rasyonlarına kil katılan hayvanlarda ishal durmunun görülme sıklığı, şiddeti ve devam eden süreyi düşürücü özelliklerini bildiren çok sayıda araştırma vardır (Subramaniam, 2015; Song ve ark., 2012; Trckova ve ark., 2009; Papaioannou ve ark., 2004; Xia ve ark., 2005). Rasyonlarına sepiyolit katılarak yapılan çalışmada; diyare olgusunun yarıyarıya azaldığı ve hayvanların benden ağırlıklarının arttığı saptanmıştır (Sardi ve ark., 2004). Bir başka çalışmada, aflatoksin bulunan rasyona sepiyolit maddesi eklendiğinde, hayvanlarda toksemi görülmüş ve sepiyolit toksin absorpsiyon yeteneğinin tıbbi kömürden çok daha yüksek olduğu saptanmıştır (EFSA, 2013). Antibakteryel, enzim stablizörü, toksin ve ağır metal absorpsiyon yetenekleri, koloidal etkileri ve verim artırıcı özelliklerinin yanında, ağız yoluyla alınan sepiyolit bir süre sonra bağırsaklarda çözüldüğü ve iyon değişimi üzerine önemli etkileri olduğu bildirilmiştir (Tortuero, 1992; Hrenovic ve ark., 2012; Zayed ve ark., 2012; Delavarian ve ark., 2013; Nezamzadeh-Ejhieh and Kabiri-Samani., 2013; Barrera ve ark., 2005). Yeni doğan buzağı diyarelerinde su kaybı ile birlikte şekillenen elektrolit yitimleri, hayvanın yaşaması açısından büyük önem arz etmektedir ve sepiyolit çok yüksek katyon düzeyine sahip bir kildir (EFSA, 2013). Yapısından kaynaklanan güçlü absorpsiyon özelliği sayesinde, bakteri ve diğer kaynaklı toksik maddeleri absorbe etme özelliğinin yanında, sıvıların sindirim sisteminde kalmasını sağlama ve alkalın içeriği ile mukuzayı koruma özellikleri, bu

maddeyi eşsiz kılmaktadır (Delavarian ve ark., 2013; Nezamzadeh-Ejchieh and Kabiri-Samani., 2013; Barrera ve ark., 2005). Sepiyolit mukusglikoprotein parçalanmasını engelleyerek, pepsinin nüfuzunu düşürür ve böylece mukusun akışkanlığını artırır (Phillips ve ark., 1988; Lindemann ve ark., 1993; Schell ve ark., 1993; Ramos ve ark., 1996). Bu madde, H⁺'yi bünyesinde alarak, mide pH'sını yükselterek, ülser oluşumunu engellemektedir (Sardi ve ark., 2004; Vondruskova ve ark., 2010) . Silva ve ark. (2015).

Antimikrobiyal ilaçlar 50 yıldan fazla bir süredir hayvan yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır (Vondruskova ve ark., 2010; Smith, 2013; Thacker, 2013). Ancak hayvan sağlığında kullanılan bu antibiyotiklerin insan sağlığında kullanılan antibiyotikler ilginç bir şekilde insanlardaki antibiyotik-dirençli patojen sayısında artışa yol açmıştır (Barton, 2000; Smith, 2013; Magana ve ark., 2015). Bu nedenle, USA'da hala kullanılmakla birlikte, Avrupa Ülkelerinde hayvan yemlerine antibiyotik katılımı yasaklanmış ve bu yasak dünya çapında yaygınlaşmaktadır (Vondruskova ve ark., 2010). Kıl minerallerinin, antibiyotiklerinkine benzer advers etkilerine sahip olmadığı ve ishale neden olan bakteriler üzerine antibakteriyel etki gösterebileceği 2012 yılında yapılan bir çalışma ile kanıtlanmıştır (Hrenovic ve ark., 2012). Mamafih, bir başka çalışmada, sepiyolit ile aynı kökenden gelen clinoptilolite kilinin *E. coli* ve *S. aureus* gibi bakterilerle kontamine suyu, bu bakterilerden 1 saat gibi kısa bir sürede temizlediği bildirilmiştir Bir başka araştırmada (Silva ve ark., 2015) sepiyolit antibakteriyel özelliklerinin yanında, yangı ve ödem çözücü olarak da oldukça etkili olabileceği bildirilmektedir.

1.1. Rumen Protozoonları

Sığır lümeninde ikinci en yaygın mikrop (kütlece) ciliata protozoonlardır. Toplam protozoonların yaklaşık% 90'ını selülozun hidrolizi ve fermantasyonundan sorumlu *Entodiniomorphida* ailesine dahil cinsler oluşturmaktadır (Yáñez-Ruiz ve ark., 2004). Bunlar içerisinde en yaygın türler ise, Epidinium, Entodinium, Diplodinium ve Holotrich ciliatlarıdır (Williams, 1986). Protozoonların bileşimi hayvanın rasyonu

ile ilişkilidir; Farklı rasyon alımı, ruminal protozoonların miktarını ve kompozisyonunu büyük ölçüde etkiler. Bazı vakalarda holotrichlerin aslında bu koşullar altında geliştiği biliniyorsa da, açlık, tüm protozoal sayıları azaltma eğilimindedir (Weller ve Pilgrim 1974; Eadi ve ark., 1970). Tylosin gibi besinsel katkı maddeleri, rumendeki protozoonların popülasyonunu arttırmaktadır (Purser ve ark., 1965).

Protozoonların sığır rüyasında oynadığı en büyük rolü, hayvanın normal olarak yapamayacağı malzemeyi sindirmektir. Hayvanın bitki materyalini, lipitleri ve proteinleri metabolize etmesine yardımcı olurlar (Willams, 1986). Protozoonlar, rumen sıvısında bulunan küçük öncü molekülleri kullanarak uzun zincirli yağ asitlerini sentezleyebilirler (Emmanuel, 1974). Fosfolipidlerin sterol esterleri ile lineolik asitler ekleyerek protozoonlardaki eksojen prekürsörlerden sentezlendiği düşünülmektedir (Bucholz ve Bergen, 1973). Rumende silinmiş protozoonların, rumende bitki materyali sindiriminin yaklaşık% 35'inden sorumlu olduğu düşünülmektedir (De Meyer, 1981). Farklı türde protozoon bitki materyalinin farklı kısımlarını sindirir; Büyük protozoa, bitki yapısındaki polimerleri almamayı ve parçalamayı tercih ederken, küçük protozoa depolamalı polimerleri ve şekerleri kullanır (Orpin 1983, Atkin ve Amos, 1979). Epidinium gibi protozoonlar bitki materyali üzerine kolonize edildiğinde, bitki materyaline büyük miktarda hasar görülür (Orpin 1983). Silindirler rumendeki bitki materyaline de yapışır ve onları dorsilateral yüzeyinde belirli bir organel kullanarak bazı şekerlere kemotaks yoluyla bulabilirler (Orpin ve Letcher, 1978). Bağlandıktan sonra bu siliatlar depolama şekerlerini, hemiselülozu, pektini ve daha az derecede selüloza zarar verebilir (Willams, 1986). Protozoonların protein metabolizması ve asimile etme kabiliyeti aynı zamanda hayvanın sağlığının anahtarıdır ve bunu diyet ve mikrobik proteinin parçalanmasıyla yapar (Coleman 1980). Bu özellikle önemlidir, çünkü protozoonlar, konakçının diyetlerinin genellikle yetersiz olduğu birçok amino asit sentezleyebildikleri düşünülmektedir (Coleman 1975). Bunun tersi tarafında, protozoonlar aslında rumendeki protein için ana hayvanla zararlı bir şekilde rekabet edebilir; Açlık çeken hayvanlarda özellikle geçerlidir ve iyi beslenen hayvanlarda önemsizdir (Willams, 1986).

Rumendeki protozoonların bakteriyel komşuları ile kısmen simbiyotik ilişkileri vardır. Rumendeki protistlerin hepsi aktif olarak bakteri besler ve beslerler, sindirimle oluşan atık ürünler rumene salınır ve mikrofloralar tarafından alınabilir (Coleman 1975). Protozoonlar, oksijen alarak metanojenezin kolaylaştırılmasına yardımcı olurlar ve bu da anevrizma bakterileri ve arke'lerin metanogenezi yapmalarını sağlayan daha anaerobik bir ortam yaratır (Williams, 1986). Bunu, rumenin sıvı kısımlarından oksijen çıkararak ve daha sonra metanojenezin gerçekleşebildiği rüende bir ortam yaratan rumen retikulumuna hareket ettirerek yaptıklarını düşünüyoruz (Scott ve ark., 1983).

Protozoonların kendileri ev sahibi için bir beslenme kaynağı olarak da görev yapmaktadır; zira bunlar genellikle hayvan sindirim sistemi tarafından sindirilmektedir. Bakterilere kıyasla, rumen protozoonları yüksek oranda doymamış yağ asitleri içerir ve hayvan barınakları için önemli bir lipid kaynağı olduğu düşünülmektedir. Rumen sindirimindeki lipidlerin% 27'sine holotrich protistlerden geldiği düşünülmektedir (Keeney, 1970). Kılavuzlanmış protozoalar ayrıca, doymamış yağ asitlerini, bu yağ asitlerini zar fosfolipidlerine dahil ederek rumenden tamamen doymuş olmasını önlerler (Keeney 1970, De Meyer ve ark., 1978, Girard ve Hawke 1978). Protozoonlar ev sahibi hayvanlar için de büyük bir protein kaynağıdır ve ineklerde mikrobiyal protozoa toplam proteinin yaklaşık% 20'sini sağlar (Coleman, 1979; Coleman, 1980). Protozoal protein, sığır rumende bakteri proteini ile aynı kompozisyonu paylaşır, ancak protozoal protein daha kolay sindirilir (Coleman 1979, Johnson ve ark, 1944). Bu proteinlerin büyük bir yüzdesi (% 50) aşağıdaki dört amino asitten oluşur: glutamik asit, lösin lisin, izolösin (Coleman, 1979).

Yapılan bir çalışmada (Serra ve ark., 2013) naringin, acı turuncu özü ve sepiyolit karışımının, ruminantlarda konsantrasyonlarının uygulanmasından türetilen mikrobik fermantasyon işlemlerini düzenleyebildiğini, mikrobik fermantasyon işlemlerinin verimliliğini arttırdığını ve *S. bovis*'in çoğalmasını engelleyerek ruminal asidozu önlediğini ortaya koymuştur. Tavuklarda yapılan bir çalışmada (Mızrak ve ark., 2013) yemlerine sepiyolit ilave edilen hayvanlarda dışkı pH'sının yükseldiğinin

tespit edilmesi anılan çalışmayı desteklemektedir. Ayrıca yemlere ilave edilen sepiyolit'in yemelerin topaklaşmasını engelleyerek sindirimi kolaylaştıracağı bildirilmiştir (Alvarez, 1984; Castaing, 1989).

Çam yağı ile birlikte rasyonlarına ilave edilen sepiyolit'in katılmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; sığır rumeninde protozoa sayısında bir değişikliğe yol açmadan rumen amonyak düzeyine azalttığı ve sindirimi düzenlediği, VFA'ların kompozisyonunda değişikliğe yol açmazken ve miktarında ise artışa yol açtığı, bakteri popülasyonunda ise %4.5 bir azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Mcintosh ve ark., 2003). Roger ve ark. (1990) ve Meschy (1993) sepiyolit içeren selülozun içeren bitkilerin çeperinde parçalanmaya yol açarak sindirimini kolaylaştırdığı bildirilen diğer önemli çalışmalardır.

Magnezyum başta olmak üzere kalsiyum gibi pek çok elementi bünyesinde barındıran sepiyolit'in rumen mikrobik popülasyonu ve rumen sindirimine etkileri üzerine yapılan en önemli çalışmalarda (Ampian, 1984; Leonard ve Martens 1996; Wyli ve ark., 1985; Weiss, 2004) rumen mikroorganizmalarının depolama yetenekleri bulunmadığından ortamda aynı anda enerji ve azota ihtiyaç duydukları, bunun sağlanmasında magnezyum gibi bazı minerallerin hayati rol oynadıkları bildirilmiştir (Smith, 1963). Benzer şekilde Fonty ve ark. (1995) da Ca, Mg, Co gibi sepiyolit'in yapısında bulunan minerallerin rumen pH'sını ve rumen amonyak konsantrasyonuna üzerinde olumlu düzenleyici etkilerinin olduğunu saptamıştır. Meshy (1993), selülozun parçalanmasında oluşan sorunların rasyona kalsiyum ilavesi ile aşılabileceğini bildirmektedir. Jouany (1994), kil minerallerinin metan dışında amonyak ve karbondioksit gazlarında azalmaya, bakteri sayısında artışa ve protozoa sayısında azalmaya yol açtığını bildirmekle birlikte (defaunasyon), sepiyolit'in defaunasyona (protozoon sayısında azalma) yol açmayan bir kil maddesi olduğunu, sığırların enerji kaynağı olan bütrik asit ve propiyonik asit gibi VFA'ların miktarında artışa, uzaklaştırılması sırasında enerji kaybına yol açan metan gazının ise azalmasına yol açtığını rapor etmiştir. Metan gazının ortamdaki azaltılması metanojen bakterilerin popülasyonunda azalmanın bir sonucu olup, bu durum faydalı diğer bakteri ve protozoon popülasyonunun artışı anlamına gelmektedir (Wallace ve ark.,

2002; Newbold, 1991). Diğer bir kil maddesi olan betnoit çalışmasında (Ivan ve ark., 1992) ise, yemler ilave edilen betnoitin koyunlarda enerji verimliliğini artırdığı saptanmıştır.

Sepiyolit gibi killerin toksik etkilerinin partikül çapı ve verilme yoluyla doğrudan ilişkili olduğu rapor edilmektedir (Sohaebuddin ve ark., 2010; Magdolenova ve ark., 2014). Ağız yoluyla verildiğinde kanser oluşturulduğuna dair bir çalışma bulunmamasına rağmen, solunum yolu, plöra veya periton içine verilmesi durumunda 6 µm'den küçük lif çapına sahip sepiyolit kansere yol açmazken, daha büyük çaplı olanların kanserojen etki göstersenileceği tespit edilmiştir (IARC,1997). Yine aynı çalışmada; in Halk Cumhuriyeti menşeli sepiyolit fiber çapı büyük olduğundan periton içi verildiğinde ratlarda kanser oluştururken, Türkiye menşeli sepiyolit fiber çapı küçük olduğundan böyle bir etkiye yol açmadığı rapor edilmiştir (IARC,1997).

Kimi araştırmacılar (Denizeau ve ark., 1985; Koshi ve ark., 1991) genler üzerine toksik etkilerini araştırdıkları sepiyolit, fiber çapının 2 µm olduğunda akciğer kromozom yapısında bir değişiliğe neden olmazken, 1-10 µm çapında ancak bünyesinde az da olsa >20 µm uzun fiber bulunan sepiyolit Bir diğer çalışmada; yüksek dozda yemlerine sepiyolit katılan ve bir ay boyunca bu karışımdan yedirilen ratlarda, 2. haftanın sonunda dişilerde uterusun ovaryuma olan ağırlık düzeyinin yükseldiğin, kan GLU ve ALP düzeylerinin arttığı, ancak kolesterol düzeyinin düştüğü tespit edilmiştir (EFSA, 2013).

Mamafih, rasyona düşük düzeyde eklenen sepiyolit hayvanlarda herhangi bir advers etkiye yol açmadığı, beden ağırlığı gibi parametrelerde pozitif etkide bulunduğu ve ruminantlarda sepiyolit ile ilgili bilimsel araştırma eksikliğinin giderilmesi gerektiği ve sepiyolit ruminantlarda da önemli verim artışı sağlama kapasitesine haiz olabileceği rapor edilmiştir (Alvarez, 1984; EFSA, 2013). Hayvan sağlığı açısından oldukça pozitif etkilere sahip sepiyolit önemli bir kısım rezervinin ölkemizde bulunması ve ölkemiz sepiyolitinin fiber çapının kanser oluşturacak

düzyeyden küçük olması ($< 6\mu\text{m}$) ve ölkemizde bu madde ile ilgili ruminantlar özerin bir çalışmanın olmaması gibi nedenleri bizi bu aşlışmayı yapmaya teşvik etmiştir.

Projenin Amacı:

1. Avrupa Birliği Ölkeleri'nde hayvan yemlerine katılan antibiyotiklerin insanlardaki patojenlerin antibiyotik direnenci geliştirmesinde en önemli sebebi olduğunun anlışılmasından ve 2006 Yılı itibariyle antibiyotik kullanımına sınırlama getirmesinden ve bunun tüm dünyada yaygınlaşması nedeniyle, antibiyotiklere alternatif çözümleri özerinde yoğunlaşmaya neden olmuştur. Bu bağlamda bilimsel çalışmalar özellikle atıl durumdaki sepiyolit gibi kil mineralleri özerinde yoğunlaşmıştır. Bu projenin önemli amaçlarından birisi, alternatif çözümleri özerinde ölkemizin önemli rezerve sahip olduğu sepiyolit tüm yönleriyle araştırarak hem bilime, hem de hayvan sağlığına ve dolayısıyla insan sağlığına katkı sağlamak ve ölkemiz ekonomisine katkı sağlayacak kapsamlı bir çalışma ile dünya bilim gündeminde güncel olan bu konuyu ölkemiz bilimi adına araştırmaktır.
2. Ölkemizin önemli rezervlerine sahip olduğu, ancak pek bilinmeyen bir kil minerali olan sepiyolit, rumen içeriği özerine özelliklerinin ilk defa araştırılacak olması oldukça önemli bilimsel ve ekonomik katkı sağlayacak verilerin elde edilmesine olanak sağlamaktır.
3. Yurt dışında broiler yetiştiriciliği başta olmak üzere, hayvancılık sektöründe yaygın olarak kullanılan ve, toksin absorpsiyonu, bağırsak florasını koruyucu çok sayıda mineral içermesi, verim artırıcı gibi çok değerli özellikleri olan sepiyolit, buzağı ishallerinde oldukça fayda sağlayacağına ve bu proje ile ölkemizde hayvancılık sektöründe sadece altlık olarak kullanılan sepiyolit, tedavi amacıyla da yaygın kullanılmaya başlanacağını düşünmekteyiz.

4. Verilerin hipotezimizi destekler nitelikte olması sonucu ucuz ve etkili bir tedavi proçesinin ürün haline dönüştürülerek, hayvancılık sektöründeki eksikliği gidermek bir diğer amacımızdır.
5. Bu çalışmada yapılaması öngörülen ölçüm ve analizler bölgede yetiştirilen sağlıklı hayvanlarda bazı parametreler ilk kez ölçülmüş olacağından, referens değerleri oluşturmak amaçlanmıştır.
6. Ülkemizde sepiyolit in hayvan sağlığında ilk kez kullanılması ve elde edilecek verilerin ilk kez ölçülüyor olması hem çalışmanın orjinalligi, hem de bilimsel katkısı açısından örnek teşkil edecek bir çalışma niteliğine haiz olması hedeflenmiştir.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Çalışma Uşak İli'nde halk elinde bulunan 6-18 aylık 20 kontrol grubu ve 80 deney grubu olmak üzere toplam 100 baş sığırdan yapılmıştır. Günde 1-2 defa olmak üzere hayvana 3 gün verilen toplam gıdanın %2'sine tekabül eden ağırlıkta sepiyolit (Dolsan Mineral Yapı Kimyasalları Madencilik San. ve Tic. Ltd. Şti, Eskişehir) yemlerine katılmıştır. Çalışmaya alınan 1.2.3. günler sonunda hayvanlardan alınacak olan rumen içeriği incelenip sepiyolit'in protozoonlar üzerine etkisi sayım yapılarak ortaya konulmuştur. Bu çalışma AKUHADYEK 490-15 referans numarasıyla, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu etik kuralları çerçevesinde yürütülmüş olup, 16.SAĞBİL.14 referans numarası ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAPK) tarafından desteklenmiştir.

Çalışmada ölçümü yapılacak parametreler ve yöntemler şöyledir:

2.2. Metot

2.2.1. Rutin Klinik Muayeneler

Mahaline gidilerek materyali oluşturacağı tespit edilen hayvanların oral yolla sepiyolit verilmeden önce ve sonrasında inspeksiyon, vücut sıcaklıkları, solunum ve kalp frekansları, rumen kontraksiyonlarının sayısı, kuvveti gibi rutin klinik muayeneleri yapılmıştır. Elde edilen veriler kaydedilerek istatistiki değerlendirmeye tabii tutulmak üzere muhafaza edilmiştir.

2.2.2. Hematolojik Muayeneler

Klinik muayeneleri müteakip kontrol grubu ve çalışma grubu hayvanlarında sepiyolit oral yolla kullanımına başlamadan önce ve sonrasında 1., 2. ve 3. günlerde EDTA'lı kan tüplerine kan alınmış, alınan kanlar aynı gün içerisinde ve en kısa sürede laboratuvara gönderilmiştir. Bu kan örnekleri kan sayım cihazında sayım solüsyonları kullanılarak sayılmıştır. Elde edilen veriler kaydedilerek, ileriki aşamalarda kontrol grubu değerleriyle karşılaştırılmak üzere istatistiki değerlendirmeye tabii tutulmuştur. Hematolojik muayene amacıyla alınan kan örneklerinde; eritrosit, total lökosit, hematokrit, hemoglobin, MCV, MHC, MCHV gibi hematolojik muayeneler Anabilim Dalımız kan sayım cihazında (Mindray BC2800 Vet. Model) ticari test kitleri kullanılarak ölçülmüştür.

2.2.3. Serum Biyokimyasal Muayeneleri

Bu amaçla mahaline gidilerek kontrol ve çalışma grubu olarak belirlenmiş hayvanlarda oral yolla sepiyolit verilmeden önce ve sonrasındaki 1., 2. ve 3. günlerde V. jugularis'ten kan örnekleri elde edilmiştir. Kan biyokimyasal muayenelerinde; serum AST (proje haricinde kendi imkanlarımızla satın alınmıştır), LDH, üre, kreatinin, total protein, albümin, glukoz, gibi parametreler ticari kitler kullanılarak Anabilim Dalımız otoanalizatöründe (Roche marka Cobas C111 Model) yapılmıştır.

2.2.4. Rumen Sıvısı Muayeneleri

Sonda ile alınan taze rumen içeriklerinde; pH (Mulristix 10 SG-Bayer®-Almanya/ kendi imkânlarımızla temin edilmiştir) metilen mavisi testi, total infusoria sayısı ve sedimentasyon testi ölçümleri mahalinde yapılmış, yapılmasına engel bir durum olduğunda ise, bu örnekler alınarak termosaya konulmuş ve en kısa sürede içerisinde tetkikleri yapılmıştır. Rumen sıvısı analizlerinde ayrıca protozoonların hareketleri, büyüklükleri incelenmiş, önemli görülen olgular not edilmiştir.

2.2.4.1. Rumen Sıvısında Metilen Mavisini Testi

Rumen sıvısında metilen mavisini testi Hungate (1966) tarafından bildirilen yöntemine göre manuel yapılmıştır. Uygulanan prosedür şöyledir: İki adet cam tüp alınmıştır. Birinci tüp kontrol amacıyla rumen sıvısıyla doldurulmuştur. İkinci cam tüpe %0,03'lük metilen mavisinden 1 ml alınmıştır. Üzerine vücut sıcaklığındaki rumen sıvısından 20 ml konur ve tüp alt- üst edilmiştir. Renk kayboluncaya dek geçen süre saptanmıştır. Normal değer <3 dakika olarak baz alınmıştır.

2.2.4.2. Rumen Sıvısı Total İnfuzoriya Sayımı

Alınan rumen sıvısı örneklerinde total infuzoriya sayımları Boyne ve ark. (1957) tarafından bildirilen yöntemine göre yapılmıştır. Buna göre; protozoon sayımı için hazırlanmış eriyikten (bileşim: 150 ml gliserin, 20 ml formol, 820 ml bidistile su) 49 ml alınıp üzerine iki katlı tülbenz bezinden süzölmüş rumen sıvısı örneğinden 1 ml konmuş ve McMaster lamının her iki boşluğu bu karışım ile doldurulduktan sonra sayım yapılmıştır. Her iki boşluktaki total rumen protozoonu sayısı ikiye bölünerek ortalaması alınmıştır. Bir mililitre rumen sıvısındaki total protozoon sayısı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

1 ml rumen sıvısındaki total protozoon sayısı =sayılan protozoon sayısı × sulandırma oranı × 1000/150.

2.2.4.3. Rumen Sıvısında Sedimentasyon Testi

Ruminal sıvıda sedimentasyon testinin ölçümleri, Hungate (1966)'nin bildirdiği metod kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntemine göre; tüplere alınan rumen içeriğindeki kaba partiküllerin çöküş süreleri ölçülerek içeriğin aktivitesi <5 dakika üzerinden değerlendirilmiştir.

Yukarıda anılan ölçümlerin hepsi çalışma ve kontrol gurubu hayvanlarda oral yolla sepiyolit verilmeden önce ve sonrasındaki 1., 2. ve 3. günlerde tekrar edilmiştir.

2.2.4.4. Rumen Sıvısı Amonyak Tayini

Rumen sıvısı amonyak seviyesini belirlemek için en uygun zamanın yemlemeden sonraki 4 ile 6. saatler olduğu bildirilmiştir (Leng ve Nolan, 1994). Bizim çalışmamızda hayvanlara yem verilmesinin üzerinden en az 4 saat geçtikten sonra sonda yardımı ile termoslara rumen sıvısı alınmıştır. rumen sıvısı alınırken, salyanın karışmadığından emin olmak için bir müddet sondadan akması beklenmiş ve örnekler ondan sonra alınmıştır. Alınan rumen sıvısı örnekleri bekletilmeden mahalinde bir kaç kez steril tülbentlerden süzülükten sonra santrifüj ile 3000 rpm'de santrifüj edildikten 30 dakika sonra, pipetle üste kalan süpernatant ayrılarak tüplere konulmuştur. Mahalinde ölçülemeyen örneklere %50'lik sülfürik asitten 1/17 oranında ilave edilerek, ölçümleri yapıncaya kadar -20 °C'de saklanmıştır. Rumen sıvısında amonyak tayini için İnal (1991) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır.

Bu yöntemin uygulanışı şöyledir:

1. 20 ml hazırlanan rumen sıvısı alınır.
2. Üzerine konsantra H₂SO₄ (%96)'dan 4-5 damla konur ve çalkalanır.
3. 1-2 saat bekletilir. 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir. 4. Üstteki sıvıdan 5 ml alınır ve Kjeldahl tüpüne konur.
4. Üzerine 20-30 ml saf su ve 30-40 ml %33'lük NaOH eklenir.
5. Bir erlene 50 ml %2-3'lük borik asit konur ve üzerine 2-3 damla metil rot (metil kırmızısı/ 4'-Dimethylamino-azobenzol-2-carbon) damlatılır ve distilatın toplanacağı kısma konur.
6. Erlenide 50 cc distilat toplanıncaya kadar distile edilir (yaklaşık 6-7 dakika).
8. Titrasyon N/70'lik H₂SO₄ ile yapılır.
7. Renk kırmızıdan gri-yeşile dönene kadar izenir.

Hesaplama:

1 ml N/70'lik H₂SO₄ 0.2 mg amonyağı titre eder.

NH₃ konsantrasyonu (mg/L)= Harcanan N/70'lik H₂SO₄ x 0.2. x
1000/numune miktarı

2.2.5. İstatistiksel Analizler

Gruplararası istatistiksel farklılıkların saptanması için One-Way ANOVA ve Duncan testleri kullanılmıştır. Bunun yanı sıra, aynı hayvanlara ait farklı zamanlardaki tekrarlayan ölçümler varyans analizi (Repeated Measures ANOVA) kullanılarak tespit edilmiştir. Araştırmada elde edilen bulguların durumuna göre (normal dağılım sergileyip sergilemediği, varyanslarının homojen olup olmadığı gibi parametreler göz alınarak) yukarıda anılan parametrik testlerin non-parametrik karşılıkları da değerlendirilmiştir. Testlerde anlamlılık düzeyi 0.05 olarak belirlenmiş, analizlerde SPSS 18.0 for Windows paket programı kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Bu çalışmada yaşları 6-18 ay arasında değişen toplam 100 baş (kontrol n=20, çalışma grubu n=80) sığır kullanılmıştır. Çalışma gurubunu oluşturan 80 hayvanın 50 tanesi dişi, 30 tanesi erkek olup, çalışma grubu yaş ortalaması 14.2 ay olarak saptanmıştır. Kontrol grubunu oluşturan 20 baş sığırın 4 tanesi dişi, 16 tanesi erkek hayvan olup, yaş ortalamaları 14.0 ay olarak saptanmış, iki grubun yaş ortalamaları arasında istatistiki açıdan önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Çalışma başladıktan 1, 2 ve 3. günlerde tekrarlayan ölçümlerde şeklinde tüm zaman dilimlerinde edilen bulgular aşağıda gösterildiği üzere; klinik, rumen içeriği, hematolojik ve biyokimyasal bulgular başlıkları altında kaydedilmiştir.

3.1. Klinik Muayene Bulguları

Materyal ve metot bölümünde belirtilen yöntemler göz önüne alınarak çalışmanın materyalini oluşturan toplam 100 baş sığırda (Kontrol ve Çalışma grupları) tekrarlayan rutin klinik muayeneler yapılmış ve sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde çalışmanın materyalini oluşturan tüm hayvanlarda (Kontrol Grubu + Çalışma Grubu) tüm ölçüm zamanlarında (Kontrol grubu ve çalışma sonrası 1, 2 ve 3. günlerde) beden sıcaklığı, respirasyon ve pulzasyon frekansları ile 5 dakika sonundaki rumen kontraksiyon sayıları bakımından elde edilen değerlerin normal sınırlar içerisinde olduğu ve kontrol grubu dahil gruplar arası ve farklı zaman dilimleri ortalamaları açısından istatistiksel açıdan önemli farkların gerçekleşmediği ($p>0.05$) gözlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmada kullanılan hayvanların vücut sıcaklığı, kalp ve solunum frekansları ile rumen hareketleri açısından karşılaştırılması

Gruplar/Parametre	Kontrol	1. gün	2. Gün	3. Gün	Referans*	P
T (°C)	38.44± 3.26	38.46 ± 3.04	38.50 ± 2.88	38.12 ± 2.54	37.5-38.6	>0.05
P (frekans/dk)	87±2	87±1	87 ±3	87 ±0	70-120	>0.05
R (frekans/dk)	24±2	25±0	24±3	25±1	15-30	>0.05
Rumen hareketleri (hareket/5 dk)	9± 2	9± 2	9 ± 1	9± 3	6-12	>0.05

*İmren, HY (1997).

^{a,b} Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan kontrol grupları ortalamaları arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir (p<0.05).

3.2. Rumen Sıvısı Muayene Bulguları

Çalışmada alınan rumen örneklerinde ölçümü yapıp pH açısından gruplar arasında ve çalışma grubu grup içi karşılaştırmalarda istatistiki açıdan önemli farklılıklar gözlenmemiştir (p>0.05). Ölçümü yapılan diğer parametreler ve elde edilen sonuçlar aşağıda alt başlıklar halinde verilmiştir (Tablo 2).

3.2.1. İnfusoria Sayısı Bulguları

Tablo 2 incelendiğinde infusoria sayılarının çalışma grubunun diğer günleri ve kontrol grubu ortalamalarına göre 3. günde en yüksek seviyeye ulaştığı ve bu yüksek seviyelerin kontrol ve çalışma gruplarına ait infusoria sayıları ortalamaları arasında istatistiki olarak önemli (p<0.05) farklar olduğu gözlenmiştir.

3.2.2. Metilen Mavisi Testi Bulguları

Çalışma sonrası 3. gün metilen mavisi ortalamalarının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tüm çalışma grubu zamanlarında istatistiki açıdan önemli derecede ($p<0.05$) sürede kısalma elde edilirken, en kısa zaman istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) zaman düzeyleri farklılıkları 3. günde gözlenmiştir. Ayrıca çalışma grubunda sepiyolit verilmesini takip eden 3. günde elde edilen metilen mavisi testi ortalamasının 1. ve 2. günlerde elde edilen ortalamalardan da istatistiki açıdan önemli derecede ($p<0.05$) yüksek olduğu, fakat 1. ve 2. günlerde elde edilen ortalamaların kendileri arasında istatistiki açıdan önemli bir fark göstermediği ($p>0.05$) saptanmıştır (Tablo 2).

3.2.3. 3.2.3. Sedimentasyon Testi Bulguları

Rumen sıvısı sedimentasyon testi analizlerinden elde edilen bulguların gösterildiği Tablo 2 incelendiğinde, çalışma grubu farklı zaman dilimlerinde yapılan ölçümlerden elde edilen ortalamaların kontrol grubu ortalamalarından istatistiki açıdan önemli derecede ($p<0.05$) düşük farklılıklar arz ettiği, ancak çalışma grubu farklı zaman dilimleri ortalamaları arasında istatistiki açıdan önemli bir fark oluşmadığı ($p>0.05$) gözlenmiştir.

3.2.4. Rumen Sıvısında Amonyak Ölçümü Bulguları

Bu çalışmada rumen sıvısı ölçümlerinden elde edilen amonyak düzeyi sonuçları Tablo 2'de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde rumen sıvısı amonyak düzeyi çalışma grubu tüm zaman ortalamalarını (Tablo2) kontrol grubu ortalamasına (18.43 ± 1.38) göre istatistiki açıdan önemli derecede ($p<0.05$) düşük olduğu saptanmıştır.

Tablo 2. Çalışmada buzağuların rumen sıvısı istatistiki analiz sonuçları.

Gruplar	pH	İnfusoria (mm ³)	Metilen Mavisi Testi (dk)	Sedimentasyon Testi (10 dk)	Amonyak mg/L Rumen Sıvısı
	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD
Kontrol	7.20±0.00	182.40±42.10 ^c	3.86±0,30 ^a	4.46±0.60 ^b	18.43±1.38 ^a
1. Gün	7.10±0.00	252.78±28,10 ^b	3.10±0.20 ^b	5.30±0.40 ^a	16.06±1.30 ^b
2. Gün	7.20±0.00	246.54 ±32,76 ^b	3.08±0.40 ^b	5.28±050 ^a	15.68±1.22 ^b
3. Gün	7.20±0.00	369.30±40,40 ^a	2.42±0.30 ^c	5.30±060 ^a	15.20±1.32 ^b
	p>0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05	p<0.05

a,b,c Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan kontrol grupları ortalamaları arasındaki fark zaman bakımından önemlidir (p<0,05).

3.3. Hematolojik Muayene Bulguları

Kontrol ve çalışma gruplarının tüm zaman aralıklarında hematolojik parametreleri ile ilgili elde edilen veriler Tablo 3'de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde; oral yolla sepiyolit verilmesinin eritrosit sayısı başta olmak üzere hematolojik parametrelerde önemli bazı değişikliklere yol açtığı görülmüştür. Yapılan ölçümlerden elde edilen verilere göre; çalışma grubu RBC ortalamalarının 3. gününde (7.40±2.30) istatistiki açıdan kontrol grubu ortalamasına (6.30±1.00) göre istatistiki açıdan önemli derecede p<0,05 yüksek olduğu, ancak bu yüksekliğe rağmen referans sınırlar içerisinde olduğu gözlenmiştir. Çalışma grubunda gruplararası fark incelendiğinde ise 3. günde elde edilen RBC ortalamasının (7.40±2.30) 1 ve 2. gün ortalamasından (sırasıyla; 6.20±1.20, 6.36±1.12) istatistiki açıdan önemli derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Tersine bir şekilde WBC ortalamasının açısından bakıldığında; kontrol grubu ortalaması (9.34±1.88) ile çalışma grubu tüm zaman dilimlerindeki ortalamaları (Tablo 3) arasında sayısal ve istatistiki açıdan önemli farklılıklar gözlenmemiş (p>0.05), tüm grupların ortalamalarının referans sınırlar içerisinde yer aldığı gözlenmiştir. Çalışmada ölçümü yapılan hematolojik parametrelerden biri olan HGB açısından Tablo 3 incelendiğinde; HGB düzeyi ortalamalarının 3. gününde

(12.40±2.30) istatistiki açıdan kontrol grubu ortalamasına (9.96±1.24) göre istatistiki açıdan önemli derecede $p<0.05$ yüksek olduğu, ancak bu yüksekliğe rağmen referans sınırlar içerisinde olduğu gözlenmiştir. Çalışma grubunda gruplararası fark incelendiğinde ise 3. günde elde edilen HGB ortalamasının (12.40±2.30) 1 ve 2. gün ortalamalarından (sırasıyla; 10.08±1.22, 10.04±1.20) istatistiki açıdan önemli derecede yüksek olduğu gözlenmiştir. Aynı Tablo HTC değer açısından incelendiğinde HTC düzeyi ortalamaları açısından kontrol grubu ve çalışma grupları ile grup içi karşılaştırmalarda istatistiki açıdan önemli bir farklılıklar gözlenmiştir ($p<0.05$). Çalışma grubu tüm zaman dilimleri HTC ortalamaları grup içi fark göstermezken ($p>0.05$) ve referans sınırlar içerisinde kalmakla birlikte, tüm zaman dilimleri HTC ortalamalarının (Tablo 3) kontrol grubu ortalamasından (26.40±1.20) istatistiki açıdan önemli derecede ($p<0.05$) yüksek olduğu saptanmıştır. En düşük MCV ortalamasının (40.98±2.20) çalışma grubu 3. günü elde edildiği, diğer zaman dilimleri ve kontrol grubu ortalamalarından istatistiki açıdan önemli derecede ($p<0.05$) düşük olduğu (Tablo3), en yüksek MCV düzeylerinin ise çalışma grubu 1. ve 2. gününde elde edildiği (sırasıyla 49.34±2.22; 48.96±2.44) ve bu değerlerin kontrol grubu ortalamasından (42.02±2.40) istatistiki açıdan önemli derecede $p<0,05$ yüksek olduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde MCHC konsantrasyonu ortalamalarının çalışma gurubu tüm zamanlarında (1,3 ve 7. günler sırasıyla 32,28± 2,42; 34,20± 3,68; 34,68± 2,38) kontrol gurubu ortalamasından (30,40± 2,60) yüksek olduğu ve istatistiki açıdan bu yüksekliğin önemli ($p<0.05$) olmakla birlikte referans sınırlar (26-36 g/dL) içerisinde olduğu saptanmıştır. Ancak ölçümü yapılan MCH açısından bakıldığında; en yüksek MCHC düzeyi ortalamalarının kontrol grubu (37.02±3.40) ile çalışma grubu 3. gününde (37.68±4.12) elde edildiği, bu iki grup ortalamalarının istatistiki açıdan önemli farklar göstermemekle birlikte ($p>0.05$), bunların çalışma grubu 1 ve 2. günlerinde elde edilen ortalamalardan (Tablo 3) istatistiki açıdan önemli farklılıklar ($p<0.05$) sergilediği saptanmıştır. Farklı zaman dilimlerindeki ölçüm ortalamaları ve gruplar arası karşılaştırmalar yapıldığında MCH düzeyi ortalamaları açısından çalışma grubu zaman dilimleri arasında istatistiki açıdan önemli farklılıklar saptanmamışken ($p>0.05$), çalışma grubu tüm ölçüm düzeyi ortalamalarının kontrol grubu MCH ortalamasından (15.60±1.86) istatistiki açıdan önemli derecede ($p>0.05$) yüksek düzeyler elde edilmiştir. Tablo 3 incelendiğinde;

nötrofil düzeyi ortalmalarının tüm grup ve zaman dilimlerinde referans sınırların içerisinde olduğu, ancak çalışma grubu tüm zaman dilimi ortalamalarının kontrol grubu nötrofil ortalamasından (3.60 ± 0.60) istatistiki açıdan önemli derecede ($p < 0.05$) yüksek olduğu görülmüştür. Nötrofil düzeyi ortalamaları açısından çalışma grubu zaman dilimleri ortalamaları açısından ise istatistiki açıdan önemli farklar saptanmamıştır ($p > 0.05$) (Tablo 3). Benzer tablo EOZ ortalamaları için de söz konusu olup, grup içi karşılaştırmalarda istatistiki öıdan fark gözlenmeyen ($p > 0.05$) çalışma grubu ortalamalarının tüm zaman dilimleri açısından kontrol grubu EOZ ortlamasından (0.70 ± 0.20) istatistiki açıdan önemli farklılıklar ($p < 0.05$) gözlenmiştir.

LENF ortalamaları açısından ise tersi bir durum söz konusu olup, kontrol grubu LNF ortalamasının (5.20 ± 0.60) çalışma grubu tüm zaman dilimi ortalamalarından (Tablo 3) istatistiki açıdan önemli derecede ($p < 0.05$) yüksek olduğu, çalışma grubu zaman dilimleri karşılaştırıldığında grup içi ortalamalar arasında fark olmadığı ($p > 0.05$), kontrol grubu ortalamaları dahil tüm ortalamaların referans sınırlar içerisinde kaldığı gözlenmiştir. MON ve BAS açısından ise, grup içi ve gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiki açıdan önemli bir fark gözlenmemiştir ($p > 0.05$).

Tablo 3. Hematolojik muayene bulguları istatistiki analiz sonuçları

Gruplar	WBC (10 ³ / µL)	RBC (10 ⁶ / µL)	HGB (g/dL)	HCT (%)	MCV (fl)	MCHC (g/dL)	MCH (pg)	LENF (10 ³ / µL)	MONO (10 ³ / µL)	NOTR (10 ³ / µL)	EOS (10 ³ / µL)	BAS (10 ³ / µL)
	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD
Kontrol	9.34± 1.88	6.30± 1.00 ^b	9.96± 1.24 ^b	26.40±1.20 ^b	42.02 ± 2.40 ^b	37.02 ± 3.40 ^a	15.60± 1.86 ^b	5.20± 0.60 ^a	0,94± 0,04	3.60± 0.60 ^b	0.70± 0.20 ^b	
1. Gün	9.20± 1.60	6.20± 1.20 ^b	10.08± 1.22 ^b	30.60± 3,20 ^a	49.34± 2.22 ^a	32.86 ± 3.28 ^b	16.10±2.68 ^a	4.22± 0.40 ^b	0,98± 0,00	4.68 ± 0.46 ^a	1,30± 0.30 ^a	N
2. Gün	9.16± 1.44	6.36± 1.12 ^b	10.04± 1.20 ^b	31.00± 4,30 ^a	48.96± 2.44 ^a	32.68± 3,20 ^b	15.98± 2,04 ^a	4.24± 0.30 ^b	0,96± 0,02	4.32± 0.38 ^a	1.26± 0.36 ^a	N
3. Gün	9.20 ± 1.32	7.40± 2.30 ^a	12.40± 2.30 ^a	30.30± 4,20 ^a	40.98±2,20 ^c	37.68± 4.12 ^a	16.20± 2.60 ^a	4,30± 0.28 ^b	0,94± 0,03	4.28± 0.40 ^a	1,24± 0.28 ^a	N
Referans*	4-12	5-10	8-15	24-46	40-60	30-60	11-17	3-7.5	0.0-0.9	0.6-4	0-2.4	0-2
P	> 0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05

^{a,b,c} Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan kontrol grupları ortalamaları arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir (p<0,05).

N: Nadiren. * Fileder (2016).

3.4. Metabolik Profil Bulguları

Ölçümler sonucu elde edilen kan serumu biyokimyasal bulgularının ortalamaları Tablo 4'de gösterilmiştir. Bu tablo incelendiğinde; çalışma grubu tüm zaman dilimleri ve kontrol grubu AST ve LDH enzim düzeyi ortalamalarının referans sınırlar içerisinde kaldığı, gruplar arasında ve çalışma grubunda grup içi karşılaştırmalarda istatistiki açıdan önemli bir fark oluşmadığı ($p>0.05$) saptanmıştır. UREA ve CREA açısından aynı tablo incelendiğinde; kontrol grubu UREA ve CREA ortalamalarının (sırasıyla 51.48 ± 3.64 ; 1.74 ± 0.26) çalışma grubu tüm zaman dilimleri ortalamalarından (Tablo 4) istatistiki açıdan önemli derecede yüksek ($p<0.05$) olduğu, ancak kontrol grubu dahil ortalamaların referans sınırlar içerisinde yer aldığı gözlenmiştir (Tablo 4). UREA ve CREA düzeyi ortalamaları açısından incelendiğinde, çalışma grubu zaman dilimleri ortalamaları arasında istatistiki açıdan önemli bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). Bu durumun tersi olarak; çalışma grubu tüm zaman dilimleri TP ve ALB düzeyi ortalamalarının (Tablo 4) kontrol grubu ortalamalarından (sırasıyla 6.38 ± 1.16 ; 3.02 ± 0.14) istatistiki açıdan önemli derecede ($p<0.05$) yüksek olduğu, ancak kontrol grubu ortalamasının referans sınırlarda bulunmasına karşın, çalışma grubu tüm zaman dilimlerinde referans sınır biraz aştığı gözlenmiştir. TP ve ALB düzeyi ortalamaları açısından çalışma grubu zaman dilimlerinde elde edilen düzeyler arasında ise istatistiki açıdan önemli bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$). GLU düzeyleri açısından Tablo 4 incelendiğinde; kontrol grubu ortalaması (5.84 ± 1.62) ile çalışma grubu tüm zaman dilimleri ortalamaları açısından istatistiki olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 4. Metabolik profil parametreleri ortalamalarının istatistiki karşılaştırılması

Gruplar	AST (IU/L)	LDH (IU/L)	UREA (mg/dL)	CREA (mg/dL)	TP (g/dL)	ALB (g/dL)	GLU (mg/dL)
	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD
Kontrol	96.46±8,24	1138.34±86.30	51.48±3.64 ^a	1.74±0.26 ^a	6.38±1.14 ^b	3.02±0.16 ^b	5.84±1.62
1. Gün	98.03±9.64	1140.40±78.42	39.04±4.02 ^b	1.01±0.10 ^b	7.80±1.28 ^{ab}	3.94±0.38 ^a	5.68±1.44
2. Gün	97.56±8.42	1136.28±92.64	38.96 ±3.72 ^b	1.14±0.16 ^b	7.78±1,00 ^a	3.92 ±0,38 ^a	5.72±1.56
3. Gün	96.64±8.02	1138.76±90.08	38.76±4.28 ^b	1.06±0.12 ^b	7.84±1,30 ^a	3.96 ±0,26 ^a	5.80±1.70
Referans*	<240	<1500	42.8-64.2	1-2	6.7-7.5	3.0-3.5	4.5-7.5
P	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05

a,b,c Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan kontrol grupları ortalamaları arasındaki fark istatistiki açıdan önemlidir (p<0,05). * Altıntaş ve Fidancı (1993).

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Rumen mikroorganizmaları; bakteriler (rumen florası), protozoonlar (rumen faunası), mantar ve mayalar olmak üzere üç grupta toplanmaktadır. Mikrofauna adı da verilen protozoon popülasyonu birçok türü içermekte ve popülasyonun büyük bir kısmını erişkinlerde siliata; gençlerde ise flagellata sınıfı oluşturmaktadır. Siliat protozoonlar; nişasta ve kolay sindirilebilir karbonhidratları parçalayan enzimlere sahip Holotirch'ler ile selüloz ve hemiselülozu sindirebilen enzimlere sahip Entodiniomorphid olmak üzere ikiye ayrılır (Johnson ve ark., 1944; McIntosh ve ark., 2003; Smith, 1963; Weiss, 2004; Kamara, 2005). Bakterilere nazaran sayıları daha az olmasına rağmen rumen içeriği ağırlığının yaklaşık %2'sini ve mikrobiyal kitlenin %40-80'ini oluşturmaktadırlar. Birçok araştırmacı rumen içeriği protozoon sayısını çeşitli sayılarla bildirmekte birlikte, 1 ml rumen sıvısında genelde 104-106 civarında olduğu ifade edilmektedir (Kamara, 2005).

Rumen mikroorganizmalarından olan protozoonlar, protein ve karbonhidrat sindirimine katılmalarının yanısıra kalmaz, içeriğin mekanik karışımını da sağlayarak bakteriyel fermantasyonu kolaylaştırırlar. Konsantre gıdaların fazla alımı, ruminal protozoon sayısının düşmesine ya da tamamen neden olmaktadır (Russell, 1991).

Siliate protozoonlar da dahil olmak üzere rumen protozoon popülasyonu, uygun ek beslenme gerçekleştirildiğinde 8-10 hafta içinde tamamen şekilenebileceği bildirilmiştir. (Orpin ve Letcher, 1978). Bizim çalışmamızda 6-12 aylık hayvanlarda yaptığımız mikroskopik muayenelerde kontrol grubu ve çalışma grubu tüm zaman dilimlerinde protozoon kompozisyonunun gelişimini iyi olduğu, mikroskop sahasında küçük, orta ve büyük protozoon orantısının normal olduğu gözlenmiş, bu yönü ile anılan çalışmayı destekler nitelikte olduğu saptanmıştır. Protozoon sayıları ruminal içeriğin pH'sı ile doğrudan ilişkili olup, pH'nın düşmesi durumunda protozoon sayılarının da azaldığı bildirilmektedir (Nguyen ve ark., 2008). Kolay fermente olabilir karbonhidratlarca zengin rasyonların fazla tüketimi rumen sıvısı pH değerinde azalma ve protozoon ölümlerinde artışa neden olmaktadır (Kamara, 2005).

Rumende sindirilebilir azotun mevcudiyetinde bakteri sayısı artarken, protozoon sayısı değişmemektedir (Leng ve Nolan, 1984). Nitekim bizim çalışmamızda rasyonlarına sepiyolit ilave edilen çalışma grubu tüm zaman dilimlerinde ölçülen rumen pH düzeyleri ile kontrol grubu pH düzeyleri arasında istatistiki açıdan önemli bir fark gözlenmemesi ($p>0.05$), sepiyolitın rumen optimal şartları arasında yer alan rumen pH'sında değişikliğe yol açmadığını ortaya koyması anılan araştırmaların önemini destekler niteliktedir.

Rumen amonyak miktarı sidirim hakkında önemli veriler sağlayacağından, rumen sıvısının numune alma zamanları kritik önem arz etmektedir. Rumen içindeki amonyak konsantrasyonu, lifli beslemelerin sindirim oranını ve etkinliğini belirleyen en önemli faktörlerden biridir. Rumen amonyak yemdeki azot ilavesi miktarının belirlenmesinde kullanılacak parametrelerdendir. Ayrıca amonyak seviyeleri yüksek olduğunda rumen protozoon popülasyonlarının azaldığına işaret etmektedir (Mcintosh ve ark., 2003). Bu çalışmada ölçümü yapılan rumen içeriği amonyak düzeylerinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, çalışma grubunda daha düşük olduğu gözlenmiştir. Benzer düşük amonyak düzeyleri sepiyolit ile akraba bir kil olan zeolit ile yapılan bir çalışmada bildirilmiştir (Barrera ve ark., 2005; Ayed ve ark., 2011; Kaboul ve Ouchem 2012). Bu çalışmada zeolitın amonyak seviyelerini direkt düşürmediği, amonyak üretimini artıran toksik bileşikleri oluşumunu önlediğini bildirmektedir. Males ve Purser (1970) bu durumu yüksek amonyağın fazla protein yıkımını gösterdiği şeklinde açıklamaktadırlar. Bir kural olarak, rumen amonyak azotu en az 10-20 mg/L rumen sıvısı olmalıdır (Leng ve Nolan, 1984). Bizim yaptığımız çalışmada; rumen sıvısı infuzorya düzeylerinin çalışma grubu tüm zaman ortalamalarının kontrol grubu ortalamasından yüksek olmasına rağmen, amonyak düzeyi çalışma grubu tüm zaman ortalamalarının (Tablo2) kontrol grubu ortalamasına (18.43 ± 1.38) göre istatistiki açıdan önemli derecede ($p<0.05$) düşük olduğu saptanmıştır. Mcintosh ve ark. (2003) amonyak seviyesindeki düşüşün, rumen mikroorganizmalarının sayıca azalması sonucu aminoasit deaminasyonunun engellenmesinden kaynaklandığını rapor etmektedir. Wallace ve ark. (2002) bu durumu pozitif bir olgu olarak kabul etmiş ve ruminantlarda amonyağın düşüşünü, faydalı bir olgu olarak değerlendirmişlerdir. Nitekim, bu şekilde ruminantlarda NH_3

şeklinde azot kaybının önlenmekte, yemlerdeki enerji ve azotdan daha fazla yararlanılmakta ve atmosfere CH₄ ve NH₃ gazı salınımını azalarak, çevre kirliliğinin önlenmesine katkı sağlanmaktadır (Tamminga, 1996; Greathead, 2003).

Çevre yönü ile bakıldığında; sera gazlarından en önemlilerinden birinin kaynağını teşkil eden ve bizim çalışmamızda ölçümünü yapmadığımız metan gazı, ruminantların sindirim sisteminde meydana gelen fermantasyon sonucu önemli miktarda ortaya çıkan ve doğaya salınan bir gazdır. Sepiyolit metan gazı ile birlikte diğer gazların ayrıştırılması ve absorpsiyonunda rol oynamaktadır (Delgado ve ark., 2007). Metan gazı ise rumende ve bağırsaklar bazı metanogenz bakteriler tarafından (Archaea ailesine bağlı bakteriler) üretilmekte, ancak hem hayvanın bunları uzaklaştırmak için ekstra enerji sarfetmesine (regurgitasyon) hem de atmosfere zararlı bir sera gazı olması münasebetiyle önemlidir (Montero ve Cresbo, 2012). Ayrıca metan gazının sindirim sisteminden uzaklaştırılması enerji gerektiren ve enerji kaybına neden olan bir işlemdir. Nitekim, bu gazın sindirim sisteminden uzaklaştırılması için, rasyonla sağlanan brüt enerjinin %2- 12'sinin boşa harcanması söz konusudur (Johnson ve Johnson 1995). Ayrıca, ruminant menşeli metan gazı (yıllık 80 milyon ton), küresel ısınmada oldukça önemli bir paya sahiptir (Öztürk 2008).

Anılan etkilerinin yanı sıra, bu gazların rumende aşırı birikimi, gerginliğe (recumbency) ve hipomotiliteye neden olabilmektedir (Kaboul ve Ouchem, 2012). Bu çalışmada metan gazı ölçümleri yapılmamakla birlikte, amonyak ile birlikte sepiyolit atarfindan önemli miktarda oluşumunun sınırlandırıldığı ve sepiyolit aşırı mikrobiyal fermantasyonu kontrol altında tutabilmek için önemli bir alternatif olabileceği düşünülmektedir (Hook ve ark., 2010). Aşırı amonyak üretimi rumen pH'sını yükselterek, zararlı bazı bakterilerin artışına yol açmaktadır (Blood ve Radostits; Norrapoke ve ark., 2012). Bilindiği üzere rumende karbonhidrat ve bitkisel proteinlerin metabolizması sonucu ve ürenin parçalanması (rumende yeterince aminoasit olmadığında kandan çekilir) sonucu VFA'lar ve oluşan amonyak oluşmakta, amonyağın hepsi proteine dönüştürülememekte, amonyağın aşırı birikimi amonyak toksikasyonuna neden olmaktadır. Nitekim fazla amonyak portal yolla

karaciğere gelmekte ve üreye çevrilmekte, bu ürenin bir kısmı rumene gelip amonyağı ve amonyak da bakterilerin büyümesi için gerekli nitrojene dönüşmekte, ürenin bir kısmı bir kısmı ise idrarla atılmaktadır. Amonyak bakterilerde proteine ve bu kateriyel protein ise protozoonlar tarafından alınarak hayvansal proteine çevrilmektedir (Russel, 1991; Coleman, 1979). Meydana gelen amonyak kaynaklı azottan protein sentezlenebilmesi için gerekli enerjinin mevcut olmadığı koşullarda, serbest amonyak molekülleri süratle kana geçer ve karaciğere gelerek üreye dönüştürülürler. Kana karışan amonyağın fazla olması durumunda, amonyak ve üre toksikasyonu şekillenebilmektedir (Coleman, 1975; Coleman, 1980; De Meyer, 1981; Chen ve ark., 2005)

Ülkemizin, Avrupa Birliği üyelik müzakereleri süreci ile birlikte, çevre ve tarım ile ilgili önemli kararlara da imza atılmıştır. Amonyak metabolizması menşeli nitrat Avrupa Birliği Nitrat Direktifi çevreye zarar veren bir madde olarak nitelendirilmekte ve üzerinde hassasiyetle durulmaktadır. Türkiye bu anlaşmaya imza ttığından aynı hükümler ülkemizde de geçerlidir. Nitrat Direktifi toprak ve suyun korunması için yeni politikaları gerekli kılmaktadır. Bu direktifin temel amacı tarımsal kaynaklı su kirliliğini azaltmaktır. (Güzelordu, 2008). Bu bağlamda aşırı amonyak üretiminin nitrat oluşumunu tetiklemesi açısından bakıldığında, sepiyolit çevre ve su kaynaklarının lirlenmesinin önelenmesi açısından hayvan beslenmesindeki amaonyak düzeyinin regüle edilmesi rolünün önem arz ettiğini söylemek yanlış olmamaktadır.

Rasyona ilave edilen falvonidlerin hayvanlarda amonyak (N-NH₃) ve uçucu yağ asidi (VFA) konsantrasyonu ortalamalarını *in vitro* ortamda 3 kata kadar artırdığı bildirilmiştir. (Montero ve Cresbo, 2012). Oysa flavonidlerle birlikte sepiyolit ilavelerinin mikrobiyal fermentasyonu regüle ederek aşırı gaz oluşumunu ve dolayısıyla intoksikasyonu önelemede önemli bir madde olduğu bildirilmektedir (Serra ve ark., 2013)

Çam yağı ile birlikte rasyonlarına ilave edilen sepiyolit katılmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; sığır rumeninde protozoa sayısında bir değişikliğe yol

açmadan rumen amonyak düzeyine azalttığı ve sindirimi düzenlediği, VFA'ların kompozisyonda değişikliğe yol açmazken ve miktarında ise artışa yol açtığı, bakteri popülasyonunda ise azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Mcintosh ve ark., 2003). Jouany ve Morgavi (2007), ise sepiyolit in rumende protozoon sayısında artışa yol açtığını bildirmişlerdir. Bizim elde ettiğimiz bulgular bu çalışmalarını destekler niteliktedir. Roger ve ark. (1990) ve Meschy (1993), ayrıca sepiyolit içeren selülozun içeren bitkilerin çeperinde parçalanmaya yol açarak sindirimini kolaylaştırdığı bildirilen diğer önemli çalışmalardır.

Dünyada hayvancılık üretimi son yıllarda stratejik bir etkinlik haline gelmiştir. Bu gelişmeler; bitki örtüsü, gıda, üreme şartlarının iyileştirilmesi, hayvan sağlığı, genetik iyileştirme ve yeni bilgi alanlardaki ilerlemeleri teşvik etmiştir. Ruminant sindirim sisteminin daha işlevsel ve verimli bir hale getirilmesi, patojenlerin kontrolü ve verimin artırılması amaçlarıyla antibiyotik ve pek çok diğer maddelerin (monensin, lasalocid v.s.) yemlere ilavesi denenmiş, ancak bu maddelerin patojenlerle birlikte sindirim için gerekli mikroorganizmaları da beraberinde ettikleri görülmüştür (Muirhead, 1998; Aşan ve Özcan 2006, Nir ve Şenköylü 2000). Bu nedenle, yakın zamanda, sindirime pozitif katkı sağlayacak, kalite ve verim artışına yol açacak, ancak hayvana zarar vermeyecek, doğal katkı maddeleri üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır (Turner ve ark., 2001; USDA, 2008). Başta kanatlı sektörü olmak üzere sağlık, verim ve performans üzerine etkileri olacağı düşünülen pro ve prebiyotikler ile enzim benzeri alternatif maddelerin ruminantlarda faydaları ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır (Görgülü ve ark., 2003, Kurtoğlu ve ark., 2004, Yalçın ve ark., 2002; Kantautaitė ve ark., 2006, Güçlü ve Kara 2009; Fratter, 2014). Ne yazık ki, bu tür maddelerin kullanımı çiftliklerde pek çok sorunun ortaya çıkması eşlik etmiştir (deli dana antibiyotik direnci, süt humması, kirlilik gibi) (Jouany ve Morgavi, 2007; EFSA, 2013; Rodríguez-Beltrán ve ark., 2013).

Bu ürünlerin artıklarının çevre ve insan sağlığına olumsuz etkilerinin tespiti ile birlikte bilim adamları çevre ve insan sağlığına zararlı yan etkileri olmayacak, hayvansal verimi artıracak alternatif ürün arayışına girmişlerdir (EFSA 2013, Vondrovská ve ark., 2010, Mandal ve ark., 2014).

Kil, son yıllarda evcil hayvanların diyetine dahil edilen doğal bir katkı maddesidir. Yapılan araştırmalar sindirimi kolaylaştırıcı (Heivilin ve Murray, 1994; Rodríguez-Beltrán 2013) besleyici özellikleri (Ouhida ve ark., 2000a; Ouhida ve ark., 2000b, Xia ve ark., 2005), antibakteriyel ve detoks özellikleri açısından kil maddelerinin hayvancılık üretimi için oldukça önemli ve teknolojik bir maddede olabileceğini göstermiştir (Xia ve ark., 2005, Kaboul ve Ouachem 2012). Hayvan yemlerinde kullanılan kilin yaprak killeri veya fillosilikatlar (montmorillonit, sepiyolit, kaolinit, vermikülit ve attapuljit dahil olmak üzere bentonitler) ve tetrahedra veya tectosilikatların mimari killeri (klinoptilolit dahil zeolitler) (Kaboul ve Ouachem, 2012; Magana ve ark., 2015) olmak üzere iki farklı ana kategoride ele alınabileceği bildirilmiştir.

Sepiyolit yüksek absorpsiyon kapasitesi, ortamdaki toksikleri bünyelerine alarak ortamdaki uzaklaştırılmasıyla olmaktadır (Clarke, 1985; Clarke, 1989). Bu madde gerek toksik maddeleri ve gerek bakteri toksinleri gibi toksinler absorbe ederek ortmadan uzaklaştırmaktadır. Buna ilave olarak sepiyolit ayrıca antibakteriyel etkileri de söz konusu olmakla birlikte, doğal bir madde olduğu için insan sağlığı ve çevreye herhangi bir zararı ise söz konusu değildir (Galan ve Castillo, 1984; Muirhead, 1998; EFSA 2013). Oysa, sığırlarının beslenmesinde özellikle antibiyotikler olmak üzere, probiyotikler, mantarlar, enzimler ve aminoasitler gibi pek çok madde yem katkı maddesi olarak süt üretimini artırmak amacıyla uzun yıllar kullanılmıştır (Jouany ve Morgavi, 2007, Wang ve ark., 2012, Li ve Kim, 2013).

Bu çalışmada yem katkı maddesi olarak kullandığımız sepiyolit, doğal sediment kökenli büyük ve özel bir yüzey alanına sahip, şişmeyen, hafif, gözenekli bir kildir. Sepiyolit süspansiyonları, bentonit gibi diğer killerin süspansiyonlarından farklı olarak tuz içeriği yüksek (yüksek iyonik dayanım) sistemlerde bile kararlıdır. Sepiyolit; magnezyum haricinde alüminyum, kalsiyum gibi çok sayıda element de içermektedir. Bu özellikler evcil hayvan yuvaları, hayvan yemi katkı maddeleri, taşıyıcılar, emici maddeler, süspansiyon ve tiksotropik katkı maddeleri ve koyulaştırıcılar gibi geniş bir uygulama yelpazesi için değerli bir malzemedir. Kimyasal olarak, sepiyolit, tek tek partiküllerin iğne benzeri bir morfolojisine sahip

olan bir sulu magnezyum silikattır. Bu kilin yüksek yüzey alanı ve gözenekliliği, sıvılarda olağanüstü soğurma kapasitesinden kaynaklanmaktadır. Sepiyolit tanecikleri, sıvılarla doyurulduktan sonra bile parçalanmazlar (Brindley, 1959; Alvarez, 1984; Castaing, 1989; Almeida, 2013).

Şu anda dünyadaki insanların yaklaşık yarısının diyetlerinde protein eksikliği söz konusudur. BM Gıda ve Tarım Organizasyonu şehirleşme ve nüfus artışına bağlı olarak 2050 yılına kadar %60 dolayında hayvansal proteine ihtiyacın artacağını ve yemlere ilave edilen katkı maddelerine olan ihtiyacın dolayısıyla artacağını bildirmektedir. Halihazırda 2016 yılında tüm katkı maddelerinin ticari kapasitesi 20 milyar dolar civarındadır. Doğal katkı maddeleri ise en tercih edilenleri olup, sepiyolit bunların başında gelen bir maddedir. Diaz ve ark (2004) ruminantlarda sepiyolit kullanımının rumendeki fazla amonyağın kanda toksik düzeye ulaşmasını engellemesinin yanında, rumende oluşan amonyağın proteine çevrilmesinde önemli rol oynadığını ve hayvanlarda verimini artırdığını bildirmişlerdir. Kılıç ve Güleçyüz (2017) sepiyolit ruminantlarda yemlere %2 ilave edilmesinin pek çok yararının yanında karkas (protein) miktarında artışa yol açtıklarını bildirmişlerdir.

Mantarlar faydalı metabolitler üretebildikleri gibi toksik metabolitler de üretebilirler. Penisilinler "iyi metabolitler" olarak nitelenen antibiyotikler olurken, mikotoksinler mantarlar tarafından oluşturulan sekonder ve "toksik" metabolitlerdir. Hayvan yemlerine ilave edilen sepiyolit yemdeki topaklanmayı önemesinin yanı sıra yemdeki nemi absorbe ederken, aflatoksin gibi toksinleri bağlayarak hayvan sağlığına fayda sağlamalarının yanı sıra barmakların temizliğine de katkı sağlarlar. Yine sepiyolit maddesi amonyağı absorbe ederek dışkının kokusunu absorbe yeteneğine sahiptirler (Shurson ve ark., 1984; Ramos ve ark., 1996; EFSA 2013; Mandal ve ark., 2014).

Sepiyolit ile hayvanlarda çalışma yapan araştırmacılar (Santaren ve Alvarez, 1994; ; Mandal ve ark., 2014, Mızrak ve ark., 2013; Nguyen ve ark., 2008; EFSA, 2013) sepiyolit klinik bulgularda bir değişikliğe yol açtığını bildirmemişlerdir. Bizim çalışmamızda kontrol grubu ve çalışma grubu tüm zaman dilimlerinde

ölçülmüş, elde edilen bulgular istatistiki olarak karşılaştırılmıştır. Yapılan karşılatırmalarda T, P ve R frekansları ile 5 dakikadaki RH açısından önemli bir fark gözlenmediği ve bu değerlerin referans sınırlarda olduğu gözlenmiştir. Bu yönyle bu çalışmada elde edilen bulgular yukarıda anılan araştırmacıların buldukları ile örtüşmektedir.

Yaptığımız geniş çaplı literatür taramalarında maalesef sepiyolit ruminantlarda, özellikle sindirim sistemi üzerine etkili doğrudan literatüre rastlayamadık. Bu durum tartışmayı zor hale getirse de, çalışmanın orijinalliği açısından ise önemlidir. Ancak ruminantlarda sepiyolit ile ilgili yapılan çalışmalar önemli fikirler sunmaktadır. Yapılan bir çalışmada (Serra ve ark., 2013) naringin, acı turuncu özü ve sepiyolit karışımının, ruminantlarda konsantrasyonların uygulanmasından türetilen mikrobik fermantasyon işlemlerini düzenleyebildiğini, mikrobik fermantasyon işlemlerinin verimliliğini arttırdığını ve *S. bovis*'in çoğalmasını engelleyerek ruminal asidozu önlediğini ortaya koymuştur. Tavuklarda yapılan bir çalışmada (Mızrak ve ark., 2013) yemlerine sepiyolit ilave edilen hayvanlarda dışkı pH'sının yükseldiğinin tespit edilmesi anılan çalışmayı desteklemektedir. Ayrıca yemlere ilave edilen sepiyolit yemelerin topaklaşmasını engelleyerek sindirimi kolaylaştıracağı bildirilmiştir (Rodrigues-Beltran ve ark., 2013; Parisini ve ark., 1999).

Magnezyum başta olmak üzere kalsiyum gibi pek çok elementi bünyesinde barındıran sepiyolit rümen mikrobik popülasyonu ve rümen sindirimine etkileri üzerine yapılan en önemli çalışmalarda (Smith 1963; Stillings ve ark., 1962; Stojic ve ark., 1998); rümen mikroorganizmalarının depolama yetenekleri bulunmadığından ortamda aynı anda enerji ve azota ihtiyaç duydukları (Wolter, 1994), bunun sağlanmasında magnezyum gibi bazı minerallerin hayati rol oynadıkları bildirilmiştir (Roger ve ark., 1990). Benzer şekilde Fonty ve ark. (1995) da, Ca, Mg, Co gibi sepiyolit yapısında bulunan minerallerin rümen pH'sını ve rümen amonyak konsantrasyonuna üzerinde olumlu düzenleyici etkilerinin olduğunu saptamıştır. Meschy (1993), selülozun parçalanmasında oluşan sorunların rasyona kalsiyum ilavesi ile aşılabileceğini bildirmektedir. Jouany ve Morgavi (2007) ise, bu

maddelerin maddeler metan dışında amonyak ve karbondioksit gazlarında azalmaya, bakteri sayısında artışa ve protozoa sayısında azalmaya yol açtığını bildirmekle birlikte (defaunasyon), sepiyolit defaunasyona (protozoon sayısında azalma) yol açmayan bir kil maddesi olduğunu, sığırların enerji kaynağı olan bütrik asit ve propiyonik asit gibi VFA'ların miktarında artışa, uzaklaştırılması sırasında enerji kaybına yol açan metan gazının ise azalmasına yol açtığını rapor etmiştir. Metan gazının ortamdan azaltılması metanojen bakterilerin popülasyonunda azalmanın bir sonucu olup, bu durum faydalı diğer bakteri ve protozoon popülasyonunun artışı anlamına gelmektedir (Wallace ve ark., 2002). Diğer bir kil maddesi olan betnoit ile koyunlarda yapılan bir çalışmada (Colemann, 1975; Ivan ve ark., 2000) ise, betnoitin protozoa sayısını azalttığı (defaunasyon), rasyon enerji verimliliğini artırdığı bildirilmiştir. Mamafih, bizim çalışmamızda rumen sıvısı muayeneleri sürecinde elde ettiğimiz total infuzorya, sedimentasyon, metilen mavisi ölçümü ve amonyak düzeyi bulguları incelendiğinde (Tablo 2), yukarıda anılan araştırmacıların bulgularını destekler nitelikte infuzorya sayısının artışı olduğu, bir defaunasyon olgusunun gerçekleşmediği, ancak rumen amonyak düzeyinin azaldığı ve bu azalmanın gerginliğe sebep olan ve sindirimi zorlaştıran fazladan birikmiş amonyak olabileceğini ortaya koymaktadır. Bizim çalışmamızda ölçümü yapılmamakla birlikte, yemlerine sepiyolit ilave edilen domuzlarda diğer olumlu etkilerinin yanısıra canlı ağırlık artışına da yol açtığı bildirilmiştir (Santaren ve Alvarez, 1994; Pond ve ark., 1998; Prvulovic ve ark., 2007).

Rasyonlarına sepiyolit ilave edilen sığırlarda reaktif oksijen kapasitesinde bir değişikliğe yol açmamakla birlikte, kaolin kadar olmasa da, polimorf nükleer fagositoz kapasitesinin artırdığı saptamıştır (Amati ve ark., 1997). Bizim çalışmamızda fagositoz kapasitesi bulunan nötrofil düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek olması (Tablo 3) benzer şekilde yorumlanabilir. Ayrıca bizim çalışmamızda hematolojik bulgular incelendiğinde; verilen oral sepiyolit hayvanlarda yangısal bir süreçte yol açmadığı, lökosit sayısında artışın söz konusu olmadığı görülmektedir. Nitekim bakteriyel, bazı viral enfeksiyonlar, tümörler ile nadiren mantar veya parazit enfeksiyonları sırasında total lökosit sayısında artışların saptanabileceği bildirilmektedir (Hatipoğlu ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda hematolojik

ölçümlerde elde edilen bulgular çalışma grubu tüm zaman dilimlerinde hematolojik parametrelerin referans sınırlar içerisinde bulunduğu gözlenmiştir. Kanatlılarda yapılan bir çalışmada (Safameher A, 2008) yemlerine sepiyolit katılan hayvanlarda hematolojik performansın yükseldiğini ortaya koymaktadır. Kanatlılarla yapılan bir diğer çalışmada (İbrahim ve ark., 2000) benzer şekilde yemlerine kil minerali ilave edilen Newcastle hastalığı bulunan kanatlılarda hematolojik parametrelerin hasta lehine düzeldiği saptanmıştır.

Elitok ve Başer (2016), neonatal buzağı ishallerinde oral yolla sepiyolit etkinliği araştırmış, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hematolojik bulgu olarak; WBC düzeylerinin oral yolla sepiyolit verilemsinden sonraki 2 ve 3. günlerde yükseldiğini, benzer şekilde HGB düzeylerinin de ishali buzağılarda bir süre sonra artış gösterdiğini, yüksek olan HTC düzeylerinin ise bir süre sonra normale döndüğünü bildirmiştir. Bu çalışmamızda ise HB, RBC, HTC düzeylerinin kontrol grubuna göre yükseldiği, WBC'nin ise değişmediği saptanmıştır. Anılan çalışmada ishalin bu parametrelerde önemli belirleyici parametre olması, ortak bulguların varlığına rağmen farklılıkları ifade etmekte kullanılabilir. Weaver ve ark. (2013) sepiyolit ilave ettikleri ve aynı zamanda aflatoksin içeren rasyon verilen domuzlarda, sepiyolit hematolojik parametrelerde düzelmeye yol açarak, kontrol grubunun aksine MON düzeylerinde değişme oluşmadığı ancak MCV düzeylerinde düşmeye neden olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir şekilde bizim çalışmamızda da MON düzeyinde bir değişiklik olmadığını ve 3. gün itibarıyla kontrol grubuna göre daha düşük MCV düzeylerinin elde edildiği sağtanmıştır. Tavuklarda yapılan bir çalışmada (Mızrak ve ark., 2013) yemlerine sepiyolit ilave edilen hayvanlarda hematolojik parametrelerinde önemli değişikliklerin oluşmadığı bildirilmiştir. Duan ve ark. (2013), bizim çalışmamızda elde edilen hematolojik bulgulara benzer değerleri domuzlarda yaptıkları çalışmada dah önce elde etmişlerdir. Hansen ve Mossman (1987), yaptıkları çalışmada fibröz olmayam partiküllerin alveoler makrofaj etyetenegini artırabileceğini bildirmişlerdir.

Yaptığımız bu çalışmada yemlerine sepiyolit ilave edilen hayvanların serum biyokimyasal parametrelerinde önemli değişiklikler gözlenmiş, AST, LDH ve GLU

değişmemiş, UREA ve CREA düşmüş, TP ve ALB düzeyleri ise yükseldiği saptanmıştır. Bu çalışmada ölçümü yapılan AST ve LDH enzim düzeylerinin kontrol grubu hayvanları ile karşılaştırıldığında, yemelerine sepiyolit ilavesi yapılan hayvanlarda önemli değişiklikler arz etmemesi bu çalışma açısından önemli bir veridir. Nitekim AST ve LDH enzimleri karaciğer, böbrek, kas gibi organ ve dokuların hasarlarında yükselen enzimlerdir (Giannini ve ark., 2005). Bizim çalışmamızda bu enzimlerin seviyelerinde artışların gözlenmemesi, karaciğer, böbrek ve kalp gibi organlar üzerine toksik etkilerinin olmadığı ve toksikasyona yol açabilecek bakteri gibi ruminal mikroorganizmaların sayısında artışa yol açmadığının işareti sayılabilir. Nitekim, sepiyolit diğer birçok kil mineraline göre toksinleri absorbe etme ve hücre hasarını öneme etkilerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Weaver ve ark., 2013) Anılan bu çalışmada sepiyolit ilavesinin domuzlarda biyokimyasal parametrelerde önemli değişikliğe yol açmadığı, CREA seviyesinde bir miktar artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda CREA ve UREA seviyelerinde kontrol grubuna göre düşük değerlerin saptanması böbrek ve karaciğer üzerine sepiyolit kanatlılardan daha pozitif etkilerinin olduğunu işareti sayılabilir. Nitekim UREA ve CREA böbrek hasarının iyi bir göstergesi olmakla birlikte, CREA böbrek hasarının spesifik bir parametresidir (Alexopoulos ve ark., 2007). Tavuklarda yapılan bir çalışmada (Mızrak ve ark., 2013) yemlerine sepiyolit ilave edilen hayvanlarda kan parametrelerinde önemli değişikliklerin oluşmadığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda yemlerine sepiyolit ilavesi yapılan hayvanların GLU düzeyleri ile kontrol grubu hayvanlarının GLU düzeyleri arasında önemli bir farkın saptanmaması, sepiyolit rumen mikroflora ve faunasını bozmadığına yorumlanabilir.

Yine tavuklarda yemlere sepiyolit ilavesi yapılan bir çalışmada (Yalçın ve ark., 2016); sepiyolit ölçümü yapılan serum biyokimyasal parametrelerinden kolesterol ve trigliserid düzeylerinde önemli azalmalar, total protein düzeylerinde artış ve albumin düzeylerinde ise bir değişiklik saptanmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmanın tersine bizim çalışmamızda sepiyolit serum total protein ile birlikte albumin düzeylerinde de artışlar saptanmıştır. Serum total protein ve albumin düzeylerindeki

bu artışın muhtemel nedeni sepiyolitın bağırsaklardan protein sindiriminin yükselmesidir.

Sonuç olarak; dünyadaki sepiyolit rezervlerin önemli bir kısmını barındıran ülkemizde, pek çok kullanım alanı olan sepiyolitın, kanatlı sektörü haricinde sığırlarda yemlere ilavesinin yemin topaklaşmasını önlemesinden, toksin absorpsiyonuna, verim artışından rumen mikroflora ve faunasını düzenlenmesine kadar pek çok faydalarının olduğu, ülkemiz ekonomisine ve hayvancılığına önemli katkılar sağlayabileceği, ölçümü yapılan parametrele göz önüne alındığında hayvan sağlığını ve dolayısıyla insan sağlığını tehdit edecek boyutunun bulunmadığı saptanmıştır. Oral yolla sepiyolitın uygulandığı buçalışmanın, rumen mikroflora ve faunası üzerine etkilerinin, yanında hayvan sağlığı üzerine etkilerinin ilk defa ortaya konulduğu bu çalışmanın, ihtiyaç duyulan bu alandaki önemli bir boşluğu dolduran orijinal ve bilimsel bir çalışma olarak referans alınacağına inanmaktayız.

ÖZET

Oral Yolla Verilen Sepiyolitın Sığırlarda Rumen Protozoonları Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Rumende sindirimi oluşturan mikroflora ve faunanın önemli bir kısmını rumen protozoonları oluşturmaktadır. Rumen protozoonları, içeriğin mekanik olarak karıştırılması görevlerinin yanı sıra, yem ile alınan bitkisel kaynaklı proteinleri kendi bünyelerinde hayvansal kaynaklı proteinlere dönüştürürler. Sepiyolit amonyak absorpsiyonu ve protein üretimini artırarak önemli derecede karkas ağırlığı artışına yol açan doğal bir kil maddesidir. Bu çalışmada oral yolla verilen sepiyolitın rumen protozoonları üzerine etkileri araştırılacaktır. Bu çalışma Uşak Bölgesinde halk elinde bulunan 6-18 aylık 100 baş (80 deney ve 20 kontrol grubu olacak) sığırdan yapılacaktır. Çalışma kapsamında rumen protozoonlarının etkilerinin yanında, tüm hayvanlarda klinik, hematolojik ve serum biyokimyasal parametreleri de ölçülecektir. Bu çalışmada oral yolla verilecek sepiyolitın rumen protozoonlarının etkinliğinin artırması ve yemden yararlanmanın daha yüksek seviyelere çıkarması öngörülmektedir. Çalışma ülkemiz değerlerinden sepiyolitın hayvan sağlığında değerlendirileceği önemli bir bilimsel çalışma olacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Protozoon, Rumen, Sepiyolit, Sığır

ABSTRACT

Investigation on Effects of Orally Given Sepiolite on Ruminal Protozoa in Cattle

An important part of the digestion in the rumen that make up from microflora and fauna created by rumen protozoa. Rumen protozoa, as well as the task of mechanically mixing content, convert plant-derived proteins come from the feed to animal-derived protein in their body. A natural clay sepiolite increase ammonia absorption and protein production that leads to significantly rising of carcass weight. In this study were evaluated the effect orally given sepiolite on rumen protozoa in totally 100 animals (80 experimental and 20 control group) ages between 6 and 18 months growth by public in Uşak Region. Besides the examination of rumen protozoa, all the animals were examined regarding to their clinical, haematological and biochemical parameters. It was envisaged that orally given sepiolite would increase the efficiency of the rumen protozoa and higher feed benefits in this study. The present study was considered to be scientifically assessed work of one of the most important values of our country sepiolite in animal health.

Keywords: Cattle, Protozoa, Rumen, Sepiolite

KAYNAKLAR

- ALEXOPOULOS, C., PAPAIOANNOU, D.S., FORTOMARIS, P., KYRIAKIS, C.S., TSERVENI-GOUSSI, A., YANNAKOPOULOS, A. (2007). Experimental study of the effect of in-feed administration of a clinoptilolite-rich tuff on certain biochemical and hematological parameters of growing and fattening pigs. *Livest Sci*, **111**:230–41.
- ALMEIDA, JAS.(2013). Identification of mechanisms of beneficial effects of dietary clays in pigs and chicks during an enteric infection. PhD Thesis, University of Illinois, Champaign, Illinois, USA.
- ALVAREZ, A. (1984). Sepiolite: properties and uses. In: Singer, A. & Galan, E., eds, *Palygorskitesepiolite: Occurrences, Genesis and Uses*, New York, Elsevier, pp. 253-287.
- AMATI, M, VISONÀ, I, VALENTINO M., SCANCARELLO, G., GOVERNA, M. (1997). Reactive Oxygen Species Produced by the Addition of Sepiolite and Vermiculite (Expanded or Not) to Suspensions of Human Polymorphonuclear Phagocytes and Bovine Alveolar Macrophages. *Ital. Med Lav Ergon.*, **19(1)**: 59-61.
- AMPIAN, S.G. (1984). Meerschaum. In: *Minerals Yearbook 1984*, Vol. 1, Metal and Minerals. Washington DC, United States Government Printing Office, pp.1023-1024.
- ALTINTAŞ, A., FIDANCI, UR. (1993). Evcil hayvanlarda ve insanda kanın biyokimyasal normal degerleri. *A. V. Vet. Fak. Derg.* **40 (2)**: 173-186.
- AŞAN, M., ÖZCAN, N. (2006). Kanatlı beslemede insulinin prebiyotik olarak önemi. *Hayvansal Üretim*, **47(2)**: 48-53.
- ATKIN, D., AMOS, A. (1979). Mode of attack on Orchard grass leaf blades by rumen protozoa. *Applied Environmental Microbiology*, **37**:332-338
- AYED, M.H., I. ZGHAL AND B. REKIK. (2011). Effect of sepiolite supplementation on broiler growth performance and carcass yield. *Roavs*, **1(6)**: 375-378.
- BARRERA, D.C., ALMARAZ-CALDERÓN, C., OLGUÍN-GUTIÉRREZ, T., ROMERO-ROMO, M. (2005). Palomar-Pardav'e, CD(II) and PB(II) separation from aqueous solution using clinoptilolite and *Opuntia* ectodermis. *Environmental Technology*, **26(7)**: 821–829.

- BARTON, M.D.(2000). Antibiotic use in animal feed and its impact on human health. *Nutr Res Rev*, **13**:279–99.
- BEER, G., DOHERR, M.G., BAHLER, C., MEYLAN, M. (2015). Antibiotic use in Swiss calf feedlots. *Schweiz Arch Tierheilkd*, **157**(1): 55-7.
- BLOOD, D.C., RADOSTITS, O.M. (1989). *Veterinary Medicine*. 7. Edition, Bailliere Tindall, London, UK.
- BOYNE, A.W., EADIE, J. M., RAITT, K. (1957). The Development and Testing of a Method of Counting Rumen Ciliate Protozoa. *J. Gen. Microbiol*, **17**:414-423.
- BRINDLEY, G.W. (1959). X-ray and electron diffraction data for sepiolite. *Am. Miner*, **44**: 495-500.
- BUCHOLZ, H., BERGEN, W. (1973). Microbial phospholipid synthesis as a marker for microbial protein synthesis in the rumen. *Applied Microbiology*, **25**:504-513.
- CASTAING, J. (1989). Effet de l'introduction de 2% de sepiolite EXAL® dans des aliments deux niveaux énergétiques présentées en granules pour porcelets et porcs charcutiers. *Journées Rech. Porcine en France*, **21**: 51-58.
- CHEN, Y.J., KWON, O.S., MIN, B.J., SHON, K.S., CHO, J.H., KIM, I.H.(2005). The effects of dietary Biotite V supplementation on growth performance, nutrients digestibility and fecal noxious gas content in finishing pigs. *Asian-Aust J Anim Sci*, **18**:1147–52.
- CLARKE, G.M. (1985). Special clays. *Ind. Miner*, 6: 25-51.
- CLARKE, G.M. (1989). Sepiolite: the Spanish mineral. *Ind. Clays (Spec. Rev.)*, 85.
- COLEMAN, G. (1979). The role of rumen protozoa in the metabolism of ruminants given tropical feeds. *Trop. Anim. Prod.*, **4**:199-213.
- COLEMAN, G. (1980). Rumen Ciliate Protozoa. *Advanced Parasitology*, **18**:121-173.
- COLEMAN, S. (1975). The inter-relationships between rumen ciliate protozoa and bacteria, pp. 149-164. In McDonald I and Warner A. (ed), *Digestion and metabolism in ruminants*. University of New England Publishing Unit, Armidale, Australia.

- DELAVARIAN, M., HASSANVAND, A., GHARIBZADEH, S. (2013). Increasing performance in children with ADHD by trapping lead with a nano-zeolite. *Journal of Neuropsychiatry and Clinical Neurosciences*, **25**(1): 22–23.
- De MEYER, D. (1981). Rumen Microbes and digestion of plant cell walls. *Agriculture and Environment*, **6**:295-337.
- De MEYER, D., HENDERSON, C., PRINS, R. (1978). Relative significance of exogenous and de novo synthesized fatty acids in the formation of rumen microbial lipids *in vitro*. *Applied Environmental Microbiology*, **35**:24-31.
- DELGADO, MR (2007). Reward-related responses in the human striatum. *Ann. N.Y. Acad Sci.*, **1104**:70-88.
- DENIZEAU, F., MARION, M., CHEVALIER, G., COTE, M.G. (1985). Absence of genotoxic effects of nonasbestos mineral fibers. *Cell Biol. Toxicol*, **1**: 23-32.
- DIAZ, D.E., HAGLER, W.M., BLACKWELDER, J.T., EVE, J.A., HOPKINS, B.A., ANDERSON, K.L., JONES, F.T., WHITLOW, L.W. (2004). Aflatoxin binders II: reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathol*, **157**(2): 233-241.
- DUAN, Q.W., LI, J.T., GONG, L.M., WU, H., ZHANG, L.Y. (2013). Effects of graded levels of montmorillonite on performance, hematological parameters and bone mineralization in weaned pigs. *Asian Aust J Anim Sci*, **26**:1614–21.
- EADIE, J., HYLDGAARD-JENSEN, J., MANN, S., REID, R., WHITELAW, F. (1970). Observations on the microbiology and biochemistry of the rumen in cattle given different quantities of a pelleted barley ration. *British Journal of Nutrition*, **24**:157-177.
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY). (2013). Scientific Opinion on the safety and efficacy of a preparation of bentonite-and sepiolite (Toxfin® Dry) as feed additive for all species. *EFSA Journal*, **11**(4):3179.
- ELITOK, B., BASER, DF. (2016). Investigation of the Therapeutic Efficacy of Sepiolite in Neonatal Calf Diarrhea. *IBBJ*, **2**(3): 110-119.
- EMMANUEL, B. (1974). On the origin of rumen protozoan fatty acids. *Biochim. Biophys. Acta*, **337**:404-413.
- FILEDER, S.E. (2016). Hematologic Reference Ranges. In: Merck Veterinary Manuel. AIELLO, S.E., 11 Ed. Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA.

- FONTY, G., JOUANY, J.P., FORANO, E., GOUET, P.H. (1995). Nutrition des ruminants domestiques: l'écosystème microbien du réticulo rumen. Edition INRA- Route de Saint Cyr, Paris, France.
- FOSTER, D.M., SMITH, G.W. (2009). Pathophysiology of diarrhea in calves. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 25: 13-36.
- FRATTER, P. (2014). Feed additives in ruminant nutrition. Agriculture and Horticulture Development Board Report, USA
- GALAN, E. VE CASTILO, A. (1984). Sepiolite-palygorskite in Spanish tertiary basins: genetical patterns in continental environments. in: Palygorskite-sepiolite, Occurrences, Genesis and Uses (A. Singer & E. Gal-in, editors). Elsevier, Amsterdam, pp.87-125
- GIANNINI, E.G., TESTA, R., SAVARINO, V. (2005). Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *CMAJ*, 172(3): 367-379.
- GIRARD, V., HAWKE, J. (1978). The role of holotrichs in the metabolism of dietary linoleic acids in the rumen. *Biochim. Biophys. Acta*, 528:17-27
- GÖRGÜLÜ, M., SIUTA, A., ÖNGEL, E., YURTSEVEN, S., KUTLU, H.R. (2003). Effect of probiotic on growing performance and health of calves. *Pak J Biol Sci*, 6(7): 651-654.
- GREATHEAD, H. (2003). Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proc Nutr Soc*, 62: 79-290.
- GÜÇLÜ, B.K., ISCAN, K.M. (2006). Probiotic and mannan oligosaccharide on growth and biochemical parameters in Turkey. *Indian Vet J*, 83(12): 1324-1326.
- GÜÇLÜ, B.K., KARA, K. (2009). Ruminant Beslemede Alternatif Yem Katkı Maddelerinin Kullanımı: 1. Probiyotik, Prebiyotik ve Enzim. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 6(1): 65-75.
- GÜZELORDU, T. (2008). Avrupa Birliği'nde nitrat direktifi uygulamaları ve Türkiye'de uygulanabilirliği. Avrupa Birliği Uzmanlık Tezi, Ankara.
- HANSEN, K. VE MOSSMAN, B.T. (1987). Generation of superoxide from alveolar macrophages exposed to asbestiform and nonfibrous particles. *Cancer Res*, 47: 1681-1686.

- HATİPOĞLU, H., ERKAL, S., TÜRKMEN, S., ENGEREK, N., KURT, K., ŞİRANECİ, R. (2011). Enfeksiyon Hastalıklarının Tanısında Laboratuvar Bulguları. *JOPP Derg*, **3(1)**:5-11.
- HEIVILIN, F.G., MURRAY, H.H. (1994). Clays. Hormites: palygorskite (attapulgit) and sepiolite. *Industrial Minerals and Rocks*, 6th Ed., Litteton, Co, USA.
- HOOK, S.E., WRIGHT, A.D.G., MCBRIDE, B.W. (2010). Methanogens: Methane Producers of the Rumen and Mitigation Strategies. *Archaea*, **1**: 1-11
- HRENOVIC, J., MİLENKOVIC, J., IVANKOVIC, T., RAJIC, N., (2012). Antibacterial activity of heavy metal-loaded natural zeolite. *J. Hazard. Mater*, **201-202**: 260-264.
- HUNGATE, R.E. (1966). The rumen and its microbes. Academic Press Inc., New York.
- I.A.R.C. (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER). (1997). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume Summary of Data Reported and Evaluation Sepiolite.
- İBRAHİM, İ.K., SHAREEF, A.M., AL-JOUBORY, K.M. (2000). Ameliorative effects of sodium bentonite on phagocytosis and Newcastle disease antibody formation in broiler chickens during aflatoxicosis. *Res Vet Sci.*, **69(2)**:119-22.
- İVAN, M., DAYRELL-MDE, S., HİDİROĞLU M. (1992). Effects of bentonite and monensin on selected elements in the stomach and liver of fauna-free and faunated sheep. *J Dairy Sci.*, **75(1)**: 201-208.
- İMREN, H.Y. (1997). Veteriner İç Hastalıklarına Giriş. Genişletilmiş 2. Baskı. Medisan Yayınevi, Ankara.
- İNAL, F. (1991). Kuzu beslemede enerji kanağı olarak tapiokanın farklı azot kaynakları ile birlikte kullanılma imkanları. Doktora Tezi. Selçuk Üniversitesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Konya.
- JOHNSON, C., HAMILTON, T., ROBINSON, W., GAREY, J. (1944). On the mechanism of non protein nitrogen utilization by ruminants. *Journal of Animal Science*, **3**:287-298
- JOHNSON, K.A., JOHNSON, D.E. (1995). Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.*, **73**: 2483-2492.

- JOUANY, J.P., MORGAVI, D.R. (2007). Use of natural products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal*, **1**: 1443-1466.
- KABOUL, N., OUACHEM, D. (2012). Utilisation de l'argile chez les ruminants: Conséquences sur le métabolisme du rumen. *Livestock Research for Rural Development*, **24(12)**:45-53.
- KAMARA, D.N. (2005).Rumen microbial ecosystem. *Current Science*, **89(1)**: 10124-135.
- KANTAUTAITE, J., OBERAUSKAS, V., SUTKEVICIENE, R., SEDEREVICIUS, A. (2006). The effect of probiotic strains of *Lactobacillus* on the microbiological parameters in the faeces of neonate calves. *Veterinarija ir Zootechnika*, **36**: 58-67.
- KEENEY, M. (1970). Lipid metabolism in the rumen, p. 489-504 in Phillipson, A., Annison, E., Armstrong, D., Balch, C., Comline, R., Hardy, R., Hobson, P. and Keynes, R. (ed.), *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant*. Oriel Press, Newcastle-upon-Tyne, England.
- KILIÇ U., GÜLEÇYÜZ, E (2017). Effects of Some Additives on *in vitro* True 213.
- KNEZEVICH, D.L., TADIC, V. (1994). Decontamination with clay or alcoholate of pigs percutaneously poisoned with VX and soman (in Croatian). *Vojnosanit Pregl*, **51**:488–91.
- KOSHI, K., KOHYAMA, N., MYOJO, T., FUKUDA, K. (1991). Cell toxicity, hemolytic action and clastogenic activity of asbestos and its substitutes. *Ind. Health*, **29**: 37-56.
- KURTOGLU, V., KURTOGLU, F., SEKER, E., COSKUN, B., BALEVI, T., POLAT, E.S. (2004). Effect of probiotic supplementation on laying hen diets on yield performance and serum and egg yolk cholesterol. *Food Add Cont*, **21(9)**: 817-823.
- LENG, R.A., NOLAN, J.V. (1984). Nitrogen metabolism in the rumen. *J Dairy Sci.*, **67(5)**:1072–1089.
- LEONHARD-MAREK, S., MARTENS, H. (1996). Effects of potassium on magnesium transport across rumen epithelium. *Am J Physiol*, **271(6)**:1034-8.

- LI, J., KIM, I.H. (2013). Effects of dietary supplementation of sericite on growth performance nutrient digestibility blood profiles and fecal microflora shedding in growing pigs. *Anim Feed Sci Technol*, **184**:100–4.
- LINDEMANN, M.D., BLODGETT, D.J., KORNEGAY, E.T., SCHURIG, G.G. (1993). Potential ameliorators of aflatoxicosis in weanling/growing swine. *J Anim Sci*, 71:171–8.
- MAGANA, Y.T., FLORES-SANTOS, L., MONTES DE OCA, G. (2015). Effect of Clinoptilolite and Sepiolite Nanoclays on Human and Parasitic Highly Phagocytic Cells. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, **1**: 345-357.
- MAGDOLENOVA, Z., COLLINS, A., KUMAR, A., DHAWAN, A., STONE, V., DUSINSKA, M. (2014). Mechanisms of genotoxicity. A review of *in vitro* and *in vivo* studies with engineered nanoparticles. *Nanotoxicology*, 8 (3): 233–278.
- MALES, J.R., PURSER, D.B. (1970). Relationship between rumen ammonia levels and the microbial population and volatile fatty acid proportions in faunated and defaunated sheep. *Appl Microbiol.*, **19(3)**:483-90.
- MANDAL, G.P., ROY, A., PATRA, A.K. (2014). Effects of feeding plant additives rich in saponins and essential oils on the performance, carcass traits and conjugated linoleic acid concentrations in muscle and adipose tissues of Black Bengal goats. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **197**: 76-84.
- MCINTOSH, F.M., WILLIAMS, P., LOSA, R., WALLAC, R.J., BEEVER, D.A., NEWBOLD, C.J. (2003). Effects of essential oil on rumenial microorganism and their protein metabolism. *Appl Environ Microbiol*, **69 (8)**: 5011-5014.
- MESCHY, F. (1993). Rien ne se fera sans les minéraux. *Production Laitière Moderne*, **227(8)**: 32-33.
- MIZRAK, C., YENİCE, E., ERTEKİN, B. (2013). Effects of sepiolite supplement to feeds of laying breeder hens containing low calcium levels on performance, egg quality, some blood and digestive system. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, **53(2)**: 75-89.
- MONTERO, T.J.B., CRESPO, F.J. (2012). Feed composition for reducing ruminant methanogenesis. Patent No: [WO2013156574 A1](#), USA.
- MUIRHEAD, S. (1998). EU ban of antibiotics draws sharp criticism. *Feedstuffs*, **70**: 1.

- NEZAMZADEH-EJHIEH, A., KABIRI-SAMANI, M. (2013). Effective removal of Ni(II) from aqueous solutions by modification of nano particles of clinoptilolite with dimethylglyoxime. *Journal of Hazardous Materials*, **260**: 339–349.
- NGUYEN, QT., OGLE, B., PETTERSSON, H. (2008). Efficacy of bentonite clay in ameliorating aflatoxicosis in piglets fed aflatoxin contaminated diets. *Trop Anim Health Prod*, **40**:649–56.
- NIR, I., SENKOYLU, N. (2000). Sindirimi Destekleyen Yem Katkı Maddeleri. Birinci baskı. Tekirdağ: *Roche*, pp. 1-112.
- NORRAPOKE, T., WANAPAT, M., WANAPAT, S. (2012). Effects of Protein Level and Mangosteen Peel Pellets (Mago-pel) in Concentrate Diets on Rumen Fermentation and Milk Production in Lactating Dairy Crossbreds. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, **25**(7): 971 - 979.
- ORPIN, C. (1983). The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. *Anim. Feed Sci. Technol*, **10**:121-143
- ORPIN, C., LETCHER., A. (1978). Some factors controlling the attachment of the rumen holotrich protozoa *Isotricha intestinalis* and *I. prostoma* to plant particles *in vitro*. *J. Gen. Microbiol.*, **106**:33-40
- OUHIDA, I., PEREZ, J.F., GASA, J., PUCHAL, F. (2000a). Enzymes (b-glucanase and arbinoxylanase) and/or sepiolite supplementation and the nutritive value of maize-barley wheat based diets for broiler chickens. *British Poultry Science*, **41**:617-624
- OUHIDA I, PEREZ, J.F., PIEDRAFITA, J., GASA, J. (2000b). The effect of sepiolite in broiler chicken diets of high, medium and low viscosity. Productive performance and nutritive value. *Animal Feed Science and Technology*, **85**: 183-194.
- ÖZTÜRK, H. (2008). Ruminant beslemesinde probiyotik mayalar. *Vet Hek Der Derg*, **79**(3): 37-42.
- PAPAIOANNOU, D.S., KYRIAKIS, C.S., ALEXOPOULOS, C., TZIKA, E.D., POLIZOPOULOU, Z.S., KYRIAKIS, S.C. (2004). A field study on the effect of dietary use of a clinoptilolite-rich tuff, alone or in combination with certain antimicrobials on the health status and performance of weaned, growing and finishing pigs. *Res Vet Sci*, **76**:19–29.

- PARISINI, P., MARTELLI, G., SARDI, L., ESCRIBANO, F. (1999). Protein and energy retention in pigs fed diets containing sepiolite. *Anim Feed Sci Technol*, **79**:155–62.
- PHILLIPS, T.D., MARROQUIN, C.A., DENG, Y., TAYLOR, J.F., HALLMARK, C.T., JOHNSON, N.M. (2009). In vitro and in vivo characterization of mycotoxin-binding additives used for animal feeds in Mexico. *Food Addit Contam A*, **26**:733-43.
- PHILLIPS, T.D. (1999). Dietary clay in the chemoprevention of aflatoxin-induced disease. *Toxicol Sci*, **52**:118–26.
- PHILLIPS, T.D., KUBENA, L.F., HARVEY, R.B., TAYLOR, D.R., HEIDELBAUGH, N.D. (1988). Hydrated sodium calcium aluminosilicate: a high affinity sorbent for aflatoxin. *Poultry Sci*, **67**: 243-247.
- POND, W.G., YEN, J.T., VAREL, V.H. (1988). Response of growing pigs to dietary copper and clinoptilolite supplementation. *Nutr Rep*, **37**:795–803.
- PRVULOVIC, D., JOVANOVIC-GALOVIC, A., STANIC, B., GRUBOR-LAJASIC, POPOVIC, M. (2007). Effects of clinoptilolite supplement in pig diets on performance and serum parameters. *Czech J Anim Sci*, **52**:159–64.
- PURSER, B., KLOPFENSTEIN, T., CLINE, J. (1965). Influence of tylosine and aureomycin upon rumen metabolism and the microbial population. *Journal of Animal Science*, **24**:1039-1044.
- RAMOS, A.J., FINK-GREMMELS, J., HERNANDEZ, E. (1996). Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of nonnutritive adsorbent compounds. *J Food Prot*, **59**: 631–41.
- RAMOS, A.J., HERNANDEZ, E. (1997). Prevention of aflatoxicosis in farm animal by means of hydrated sodium calcium aluminosilicate addition to feedstuffs: A review. *Anim Feed Sci Technol*, **65**:197–206.
- RODRIGUEZ-BELTRÁN, J., RODRIGUEZ-ROJAS, A., YUBERO, E., BLÁZQUEZ, J. (2013). The animal food supplement sepiolite promotes a direct horizontal transfer of antibiotic resistance plasmids between bacterial species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **57(6)**: 2651-2653.
- ROGER, V., FONTY, G., KOMISARCZUK, B.S., GOUET, P.H. (1990). Effects of physico-chemical factors on the adhesion to cellulose avicel of the ruminal bacteria. *British Journal Nutrition*, **54**:105-119.

- RUSSELL, A. (1991). Specialty clays: market niches taken by unique properties. *Ind. Miner*, **2**: 49-59.
- SAFAMEHER A, 2008. Effects of CLI on performance, biochemical parameters and hepatic lesions in broiler chickens during aflatoxosis. *J. Anim Vet Adv.*, **7**: 381-388.
- SANTAREN, J., ALVAREZ, A. (1994). Assessment of the health effects of mineral dusts. The sepiolite case. *Ind. Miner*, April, 1-12.
- SARDI, L., MARTELLI, G., ESCRIBANO, F.P., PARISINI, P. (2004). The effects of Sepiolite-SPLF on piglet and heavy pig production. *Ital J Anim Sci*, **3**: 225-234.
- SCHELL, T.C., LINDEMANN, M.D., KORNEGAY, E.T., BLODGETT, D.J., DOERR, J.A. (1993). Effectiveness of different types of clay for reducing the detrimental effects of aflatoxin contaminated diets on performance and serum profiles of weanling pigs. *J Anim Sci*, **71**:1226–31.
- SCOTT, R., YARLETT, N., HILLMAN, K., WILLIAMS, T., WILLIAMS, A., LLOYD, D. 1983. The presence of oxygen in rumen liquor and its effects on methanogenesis. *Journal of Applied Bacteriology*, **55**:143-149
- SERRA, M.D.M., HEREDIA, F., CRESBO, F.J., BELCELLS, J. (2013). Mixture of citric flavonoids to improve ruminal fermentation. PATENT NO: US 8377487 B2, USA.
- SHURSON, G.C., KU, P.K., MILLER, E.R., YOKOYAMA, M.T. (1984). Effects of zeolite or clinoptililite in diets of growing swine. *J Anim Sci*, **59**:1536–45.
- SILVA, J.C., CAMACHO, A.N., VIDALES, V.G., KAUFHOLD, S., BENNY, K.G. (2015). The anti-inflammatory activity of natural allophane. *Applied Clay Science*, **105–106**: 48–51.
- SMITH, G.W. (2013). Antibiotic decision making – calf scours. Proceedings of the 46th Annual Conference of the American Association of Bovine Practitioners, USA.
- SMITH, K.J. (1963). Relationship of ruminal calcium, magnesium, ammonia and total salts to the occurrence of bloat in lambs.. Retrospective Theses and Dissertations. 2497, Iowa State University, USA
- SOHAEBUDDIN, S.K., THEVENOT, P.T., BAKER, D., EATON, J.W., TANG, L. (2010). Nanomaterial cytotoxicity is composition, size, and cell type dependent. *Particle and Fibre Toxicology*, **7**: 22.

- SONG, M., LIU, Y., SOARES, J.A., CHE, T.M., OSUNA, O., MADDOX, C.W. (2012). Dietary clays alleviate diarrhea of weaned pigs. *J Anim Sci*, **90**:345–60.
- STILLINGS, B., BRATZLER, R.J.W., KARRIOTT, L.F., KILLER T.C. (1962). Mineral balance trials with sheep fed orchardgrass containing varying levels of nitrogen. (Abstract) *J. Animal Sci.*, **21**:1014.
- STOJIC, V., GAGRCIN, M., KIROVSKI, D., FRATRIC, N. (1998). The effect of clinoptilolite based mineral adorbher on colostrum immunoglobulin G adsorption in newborn piglets. *Acta Vet*, **48**:19–26.
- SUBRAMANIAM, M.D., KIM, I.H. (2015). Clays as dietary supplements for swine: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, **6**:38, 2-9.
- TAMMINGA, S. (1996). A review on environmental impacts of nutritional strategies in ruminants. *J Anim Sci*, **74**: 3112-3124.
- THACKER, P.A. (2013). Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production. A review. *J Anim Sci Biotechnol*, **4**:35.
- TORTUERO, C., GONZALES, E., MARTIN, L. (1992). Efectos de la sepiolita sobre el crecimiento, las medidas viscerales y el transito intestinal en los pollos. *Arch. Zootec*, **41**:209-217.
- TRCKOVA, M., VONDRUSKOVA, H., ZRALY, Z., ALEXA, P., HAMRIK, J., KUMMER, V. (2009). The effect of kaolin feeding on efficiency, health status and course of diarrhoeal infections caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* strains in weaned piglets. *Vet Med*, **54**:47–63.
- TURNER, J.L, PAS, S., DRITZ, S.S., MINTON, J.E. (2001). Review: Alternatives to conventional antimicrobials in swine diets. *Prof Anim Sci*, **25**:217–26.
- USDA. (2008). Dairy 2007 Part II: Changes in the U.S. Dairy Cattle industry, 1991-2007". USDA-APHIS-VS, CEAH, Fort Collins, USA, 57-61.
- VONDRUSKOVA, H., SLAMOVA, R., TRCKOVA, M., ZRALY, Z., PAVLI, I. (2010). Alternatives to antibiotic growth promoters in prevention of diarrhea in weaned piglets: A review. *Vet Med*, **55**:199–224.
- WALLACE, R.J, MCEWAN, N.R., MCINTOSH, M., TEFEREDEGNE., NEWBOLD, C.J. (2002). Natural products as manipulators of rumen fermentation. *Asian Australas J Anim Sci*, **15 (10)**: 1458-1468.

- WANG, J.P., CHI, F., KIM, I.H. (2012). Effects of montmorillonite clay on growth performance, nutrient digestibility, vulva size, faecal microflora, and oxidative stress in weaning gilts challenged with zearalenone. *Anim Feed Sci Technol*, **178**:158–66.
- WEAVER, A.C., TODD SEE, M., HANSEN, J.A., KIM, Y.B., DE SOUZA, A.L.P. (2013). The use of feed additives to reduce the effects of aflatoxin and deoxynivalenol on pig growth, organ health and immune status during chronic exposure. *Toxins*, **5**: 1261-1281
- WEISS, W. (2004) Macromineral digestion by lactating cows: factors affecting Mg digestibility of magnesium. *J Dairy Sci*, **87**: 2167-2171.
- WELLER, R., PILGRIM, A. (1974). Passage of protozoa and volatile fatty acids from the rumen of a sheep and from a continuous in vitro fermentation system. *British Journal of Nutrition*, **32**:341-351.
- WILLIAMS, A.G. (1986). Holotrich Ciliate Protozoa. *American Society for Microbiology*, **50**:25-49
- WOLTER, R. (1994). Alimentation de la vache laitière. 2. Edition. France Agricole. p.255.
- WYLIE, M., FONTENOT, J., GREENE, L. (1985). Absorption of magnesium and other macrominerals in sheep infused with potassium in different parts of the digestive tract. *J Anim Sci*, **61**: 1219-1229.
- XIA, MS, HU, CH, XU, ZR. (2005). Effects of copper bearing montmorillonite on the growth performance, intestinal microflora and morphology of weanling pigs. *Anim Feed Sci Technol*, **118**:307–17.
- YALCIN, S., KOCAOGLU, G.B., KARAKAŞ, O.F, YALÇIN, S (2002). Yumurta tavuğu rasyonlarında enzim, probiyotik ve antibiyotik kullanılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **49**: 135-141.
- YALCIN, S., ESER, H., ONBAŞILAR, İ., YALÇIN, S., OĞUZ, F.K. (2016). Effects of dietary sepiolite on performance, egg quality and some blood parameters in laying hens. *Ankara Üniv. Vet Fak. Derg.*, **63**: 25-29.
- YÁNEZ-RUIZ, D.R., MOUMEN, A., MARTIN GARCIA, A.I, MOLINA ALCAIDE, E. (2004). Ruminant fermentation and degradation patterns, protozoa population, and urinary purine derivatives excretion in goats and wethers fed diets based on two-stage olive cake: Effect of PEG supply. *J Anim Sci.*, **82**: 2023-2032.

- YU, D.Y., LI, X.L., LI, W.F. (2008). Effect of montmorillonite superfine composite on growth performance and tissue lead level in pigs. *Biol Trace Elem Res*, **125**:229–35.
- YU, D.Y., XU, Z.R., YANG, X.G.(2005). Effects of lead and particulate montmorillonite on growth performance, hormone and organ weight in pigs. *Asian-Aust J Anim Sci*, **18**: 1775–9.
- ZAYED, M.A., EL-BEGAWY, S.E.M., HASSAN, H.E.S. (2012). Enhancement of stabilizing properties of double-base propellants using nano-scale inorganic compounds. *Journal of Hazardous Materials*, **227-228**: 274–279.

ÖZGEÇMİŞ

Vet. Hekim Serdar GÜVLÜ 1988 yılında Uşak'ta doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini Uşak'ın Eşme ilçesinde tamamladı. 2007-2008 eğitim-öğretim yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Lisans Programı'nda eğitimine başladı ve 2012 yılında mezun oldu. 2014-2015 eğitim-öğretim yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimine başladı.

2014 yılında Uşak'ın Banaz ilçesinde 'Simental ırkının Banaz ilçesinde yaygınlaştırılması' isimli ve özel idare destekli projeyi yaptı.

2013 yılında Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nda Veteriner HEKİM olarak göreve başladı ve halen görev yapmaktadır.