



**BAKLAGİL KABA YEMLERİNİ ORGANİK  
ASİTLERLE İŞLEMENİN *İN VİTRO* GAZ  
ÜRETİMİ, RUMEN FERMANTASYONU ve  
METAN ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Valiollah PALANGI**

**Doktora Tezi**

**Zootekni Anabilim Dalı**

**Yemler ve Hayvan Besleme Bilim Dalı**

**Prof. Dr. Muhlis MACİT**

**2019**

**Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**BAKLAGİL KABA YEMLERİNİ ORGANİK ASİTLERLE  
İŞLEMENİN *İN VİTRO* GAZ ÜRETİMİ, RUMEN  
FERMANTASYONU ve METAN ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Valiollah PALANGI**

**ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI  
Yemler ve Hayvan Besleme Bilim Dalı**

**ERZURUM  
2019  
Her hakkı saklıdır**



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ




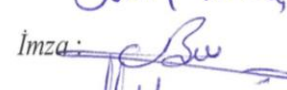





TEZ ONAY FORMU

**BAKLAGİL KABA YEMLERİNİ ORGANİK ASİTLERLE İŞLEMENİN İN VİTRO GAZ ÜRETİMİ, RUMEN FERMANTASYONU ve METAN ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Prof. Dr. Muhlis MACİT danışmanlığında, Prof. Dr. Ünal KILIÇ ortak danışmanlığında Valiollah PALANGI tarafından hazırlanan bu çalışma, 15/02/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Zootekni Anabilim Dalı - Yemler ve Hayvan Besleme Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği (7/7)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Binali ÇOMAKLI  
Üye : Prof.Dr. Muhlis MACİT  
Üye : Prof.Dr. Ünal KILIÇ  
Üye : Prof.Dr. Ş.Canan BÖLÜKBAŞI AKTAŞ  
Üye : Doç.Dr. Önder CANBOLAT  
Üye : Doç.Dr. Adem KAYA  
Üye : Dr. Öğretim Üyesi Sibel ERDOĞAN

İmza :   
İmza :   
İmza :   
İmza :   
İmza :   
İmza :   
İmza : 

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 28.02.2019 tarih ve 10.108 nolu kararı ile onaylanmıştır.

  
Prof. Dr. Mehmet KARAKAN  
Enstitü Müdürü

Bu çalışma TÜBİTAK-ARDEB tarafından VHAG-1170524 nolu proje ile desteklenmiştir.

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

Doktora Tezi

### BAKLAGİL KABA YEMLERİNİ ORGANİK ASİTLERLE İŞLEMENİN *İN VİTRO* GAZ ÜRETİMİ, RUMEN FERMANTASYONU ve METAN ÜRETİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Valiollah PALANGI

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Zootekni Anabilim Dalı  
Yemler ve Hayvan Besleme Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Muhlis MACİT

Bu çalışma, değişik organik asitlerin, bireysel ve kombinasyonlarının (Fumarik Asit (Fu), Malik Asit (Ma), Formik Asit (Fo), Fu + Ma, Fu + Fo, Fo + Ma ve Fu + Ma + Fo) yonca (*Medicago polymorpha*), ak üçgül (*Trifolium repens*) ve tüylü fiğ (*Vicia villosa*)'in *in vitro* koşullarda gaz ve metan (CH<sub>4</sub>) üretimi ile rumen sıvısı uçucu yağ asitleri (UYA), organik madde sindirimi (OMS), metabolik enerji (ME) ve net enerji laktasyon (NE<sub>L</sub>) düzeyine etkilerinin saptanması amacıyla düzenlenmiştir. Çalışmada yaklaşık 2 yaşlı 2 baş İvesi koç kullanılmıştır. Yem materyali olarak Erzurum il merkez ilçesi mer'alarından toplanan yonca (*Medicago polymorpha*), ak üçgül (*Trifolium repens*) ve tüylü fiğ (*Vicia villosa*) otu oluşturmuştur. Yemlerin *in vitro* gaz üretimlerinin ölçülmesinde Hohenheim gas testi kullanılmış ve gaz ölçümleri sırasıyla 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96. saat aralıklarla yapılmıştır.

Çalışmada elde edilen bulgulara göre, yemler x organik asit interaksiyonlarının baklagil yem bitkilerinin farklı inkübasyon saatlerinde tespit edilen *in vitro* gaz üretim miktarları, ME, NE<sub>L</sub> ve OMS değerleri ile rumen sıvısı toplam ve bireysel uçucu yağ asitleri ve inkübasyonun 24. saatinde ölçülen metan gazı değerleri üzerine etkileri önemli bulunmuştur (p<0.05, p<0.01). Organik asitlerin ise hem bireysel hem de kombinasyonlar şeklinde yemlere uygulanması ME ve OMS değerleri ile inkübasyonun 24. saatinde saptanan metan gazı miktarları dışında kalan bütün parametreleri önemli düzeyde etkilemiştir (p<0.01).

Sonuç olarak, 24 ve 96. saatlerde ölçülen toplam gaz üretimi miktarını artırması, ME, OMS ve NE<sub>L</sub> değerleri üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin olmaması, propiyonik asidi kontrol grubuna kıyasla düşürmeden asetik asit miktarını artırıp inkübasyonun 24. saatinde ölçülen metan miktarını azaltmasından dolayı, bireysel veya kombinasyonlar halinde bulunan organik asitlerden, fumarik asitin baklagil kaba yemlerine ilavesinin daha uygun olduğu tespit edilmiştir. Özetle, fumarik asitin ruminantlardan yayılan metan emisyonunu azaltarak çevre koşullarını iyileştirmede sürdürülebilir şekilde kullanılabileceği düşünülmekte ve aynı zamanda *in vitro* çalışmalardan elde edilen sonuçların test edilmesi için *in vivo* çalışmaların da yürütülmesi gerektiği kanaatine varılmıştır.

**2019, 71 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** baklagil kaba yemi, *in vitro* gaz üretimi, metan gazı, Organik asit, uçucu yağ asitleri

## ABSTRACT

Ph. D. Thesis

### EFFECTS OF PROCESSING LEGUME FORAGES WITH ORGANIC ACIDS ON *IN VITRO* GAS PRODUCTION, RUMEN FERMANTATION and METHAN PRODUCTION

Valiollah PALANGI

Atatürk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Animal Science  
Feeds and Animal Nutrition Science

Supervisor: Prof. Dr. Muhlis MACİT

This study was conducted to evaluate the effects of different organic acids as either individually or in combinations at varying levels (Fumaric Acid (Fu), Malic Acid (Ma), Formic Acid (Fo), Fu+Ma, Fu+Fo, Fo+Ma and Fu+Ma+Fo) on *in vitro* total gas (TG) and methane gas production (MP), organic matter digestibility (OMD), metabolizable energy (ME), net energy lactation (NE<sub>L</sub>) and volatile fatty acids (VFA) of some legume forages such as alfalfa (*Medicago polymorpha*), white clover (*Trifolium repens*) and hairy vetch (*Vicia villosa*). Two-years old of two Awassi Rams were used to get rumen fluid for gas production technique. Some legume forages such as alfalfa (*Medicago polymorpha*), white clover (*Trifolium repens*) and hairy vetch (*Vicia villosa*) grown as naturally in the pastures of Erzurum province were investigated as feed materials. Study was composed by *in vitro* gas experiments, which was conducted using Hohenhem gas test. Gas volume was measured and sampled at 3, 6, 12, 24, 48, 72 and 96h of incubation times, and the volatile fatty acid (VFA) profile was assessed at the end of the experiment.

The effects of legume forage x organic acid interactions and legume forages on the amounts of *in vitro* gas production determined at different incubation times; ME, NE<sub>L</sub> and OMD values; acetate, propionate, butyrate and total volatile fatty acids (TVFA); the amounts of methane production measured at 24h of incubation were found significant ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ). All of the parameters, except for ME and OMD values, and the amounts of methane production measured at 24h were affected by organic acids, either individually or in combinations at varying levels ( $p < 0.01$ ).

As a result, the addition of fumaric acid to legume forages was more effective than the other organic acids as either individually or in combinations at varying levels since it was able to increase the amounts of total gas production determined at 24h and at 96h, and decreased the amount of methane measured at 24h of incubation, and increased the acetate without decreasing of propionate compared to the control and did not have any adverse effect on the ME, NE<sub>L</sub> and OMD values. It was concluded that fumaric acid may be used in a sustainable way by reducing the emission of methane emitted from ruminants and improving the environmental conditions. However, *in vivo* studies have been recommended to test the results obtained from *in vitro* gas production techniques.

**2019, 71 pages**

**Keywords:** legume forage, *in vitro* gas production, methane emission, organic acid, VFA composition

## TEŞEKKÜR

Tez projesinine sağladıkları mali destek nedeniyle Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK-ARDEB)'na teşekkürlerimizi sunarız.

Tez çalışmasının yürütülmesinde her türlü bilgi ve deneyimini paylaşmaktan kaçınmayan, daima anlayışlı, sabırlı ve destekleyici tutumuyla bana yol gösteren ve büyük emeği olan danışman hocam sayın Prof. Dr. Muhlis MACİT'e saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam sırasında katkısını ve yardımını esirgemeyen Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü öğretim üyesi ortak danışman hocam Prof. Dr. Ünal KILIÇ'a teşekkür ederim.

Tez izleme komitemde yer alarak tavsiye ve eleştirileriyle katkı sağlayan Sayın Doç. Dr. Adem KAYA ve Prof. Dr. Binali ÇOMAKLI hocalarıma ve bölüm çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Gaz üretim tekniğinin uygulanmasında beni Kahramanmaraş'a davet eden, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Laboratuvarı ile Araştırma ve Uygulama İşletmesi'nde çalışmanın bir kısmının yürütülmesinde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Adem KAMALAK'a, rumen sıvısı uçucu yağ asitleri analizinde yardımcı olan Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü öğretim üyelerinden Sayın Doç. Dr. Önder CANBOLAT hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tezimi sabır ve motivasyonla devam ettirmemde desteğini her zaman yanımda hissettiğim sevgili eşim Somayyeh SHABESTANI ve biricik oğlum Eilyar PALANGI'ye çok teşekkür ederim.

Son olarak hayatım boyunca beni sabır ve şefkatle destekleyen rahmetli annem Zahrasoltan EBADI ve değerli varlığım olan babam Bayramali PALANGI'ye müteşekkir olduğumu belirtirim.

**Valiollah PALANGI**

**Şubat 2019**

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1. Ruminant Hayvanlarda Metan (CH <sub>4</sub> ) Üretimi.....	4
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ.....</b>	<b>8</b>
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>13</b>
3.1. Materyal.....	13
3.1.1. Hayvan Materyali.....	13
3.1.2. Yem ve Kimyasal Madde Materyali.....	14
3.1.3. Yem Örneklerinin Kimyasal Analizler İçin Hazır Hale Getirilmesi.....	16
3.2. Yöntem.....	16
3.2.1. <i>In vitro</i> Gaz Üretim Tekniğinin Uygulanması.....	28
3.2.2. Metan Üretiminin Belirlenmesi.....	31
3.2.3. Uçucu Yağ Asitlerinin Belirlenmesi.....	32
3.3. İstatistik Analizler.....	33
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....</b>	<b>34</b>
4.1. Yem Bitkilerinin Kimyasal Bileşimi.....	34
4.2. Yemlerin ve Organik Asitlerin Organik Madde Sindirilebilirliği, Metabolik Enerji ve Net Enerji Laktasyon İçerikleri Üzerine Etkileri.....	36
4.3. Yemlerin ve Organik Asitlerin <i>In vitro</i> Gaz ve Metan Üretimi Miktarları Üzerine Etkileri.....	40
4.4. Yemlerin ve Organik Asitlerin <i>In vitro</i> Gaz Üretim Parametreleri Üzerine Etkileri.....	48
4.5. Yemlerin ve Organik Asitlerin Rumen Uçucu Yağ Asitleri Üzerine Etkileri.....	52
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>57</b>

KAYNAKLAR .....	60
ÖZGEÇMİŞ .....	72





## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

a	Kolay Çözünebilir Fraksiyonların Gaz Miktarı
AA	Asetik Asit
ADF	Asit Deterjan Fiber
ADL	Asit Deterjan Lignin
b	Çözünemeyen Fraksiyonların Gaz Üretim Miktarı
BA	Bütirik Asit
c	Çözünemeyen Fraksiyonların (b) Gaz Üretim Oranı (saat <sup>-1</sup> )
Fo	Formik Asit
Fu	Fumarik Asit
HK	Ham Kül
HP	Ham Protein
HY	Ham Yağ
İBA	İzobütirik Asit
İVA	İzovalerik Asit
KSS	Kalıntı Standart Sapması
Ma	Malik Asit
ME	Metabolik Enerji
MG	Metan Gazı
NDF	Nör Deterjan Fiber
NEL	Net Enerji Laktasyon
OMS	Organik Madde Sindirilebilirliği
OSH	Ortalamaların Standart Hatası
ÖS	Önemsiz
PA	Propiyonik Asit
TG	Toplam Gaz
TUYA	Toplam Uçucu Yağ Asitleri
VA	Valerik Asit

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Deneme Kafesinden Bir Görünüm .....	14
Şekil 3.2. Yem Örneklerinin Kül Fırınında Yakılması .....	18
Şekil 3.3. Yem Örneklerinde Ham Protein Analizi .....	21
Şekil 3.4. Yem Örneklerinde Ham Yağ analizi .....	22
Şekil 3.5. Yem Örneklerinin ADF ve NDF Tayini İçin ANKOM Cihazı .....	26
Şekil 3.6. Yem Örneklerinde ADL Analizi .....	27
Şekil 3.7. Yem Örneklerinde Gaz Üretimini Belirlemede Kullanılan Sistem .....	29
Şekil 3.8. Yem Örneklerinin Metan Üretimini Belirlemede Kullanılan S-AGM 1010 Cihazı .....	31
Şekil 3.9. Uçucu Yağ Asitlerini Belirlemede Kullanılan GC Cihazı.....	32
Şekil 3.10. Uçucu Yağ Asidi Kromatografisi .....	33
Şekil 4.1. Yemlerin ME, NE <sub>L</sub> ve OMS İçerikleri Üzerine Etkileri .....	38
Şekil 4.2. Organik Asitlerin NE <sub>L</sub> İçerikleri Üzerine Etkileri .....	38
Şekil 4.3. Yemlerin <i>In vitro</i> Gaz ve Metan Üretim Miktarları (ml/saat) Üzerine Etkileri .....	43
Şekil 4.4. Organik Asitlerin <i>In vitro</i> Gaz ve Metan Üretim Miktarları (ml/saat) Üzerine Etkileri .....	43
Şekil 4.5. Yemlerin <i>In vitro</i> Gaz Üretim Parametreleri Üzerine Etkileri .....	50
Şekil 4.6. Organik Asitlerin <i>In vitro</i> Gaz Üretim Parametreleri Üzerine Etkileri .....	50
Şekil 4.7. Yemlerin Uçuşu Yağ Asitleri Üzerine Etkileri .....	54
Şekil 4.8. Organik Asitlerin Uçuşu Yağ Asitleri Üzerine Etkileri .....	54

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 4.1.</b> Yemlerin Kimyasal Kompozisyonu, (% KM'de).....	34
<b>Çizelge 4.2.</b> Yemlerin ve Organik Asitlerin Organik Madde Sindirilebilirliği, Metabolik Enerji ve Net Enerji Laktasyon İçerikleri Üzerine Etkileri.....	37
<b>Çizelge 4.3.</b> Yemlerin ve Organik Asitlerin <i>İn vitro</i> Gaz ve Metan Üretim Miktarları Üzerine Etkileri (ml/200mg KM) .....	42
<b>Çizelge 4.4.</b> Yemlerin ve Organik Asitlerin <i>İn vitro</i> Gaz Üretim Parametreleri Üzerine Etkileri .....	49
<b>Çizelge 4.5.</b> Yemlerin ve Organik Asitlerin Uçuçu Yağ Asitleri Üzerine Etkileri (mmol/L) .....	53

## 1. GİRİŞ

Çiftlik hayvallerından maksimum verim elde etmenin temel şartı, dengeli ve yeterli rasyonlarla beslemedir. Hayvan beslemede önemli olan, hayvanın ne kadar yem tükettiği değil, alınan yemin ne ölçüde verime çevrildiğidir. Hayvanın bir günlük besin madde ihtiyacını karşılayacak besin madde miktarının sağlanmasında kuru madde tüketimi önem taşımaktadır. Kuru madde tüketimi ise hayvanların vücut büyüklüğü, verim durumu vb fizyolojik özellikler ile yemlerin fiziksel ve kimyasal bileşimi ile çevre şartlarından direkt olarak etkilendiği bildirilmektedir (Karademir 2008).

Geviş getiren hayvanların temel yem kaynağı olan kaba yemin, ihtiyacı karşılayacak kadar üretilmemesi nedeniyle üretiminin yetersiz oluşu Türkiye hayvancılığının en önemli sorunlarından birisini oluşturmaktadır. Ülkemizde kaliteli kaba yem, çayır ve meralarımız ile yem bitkileri tarımı olmak üzere iki önemli kaynaktan elde edilmektedir. Bu kaynaklardan doğal çayır ve meralarımız, uzun zamandır devam eden bilinçsiz, erken ve aşırı otlatmalar nedeni ile verim güçlerini kaybetmişlerdir. Kaliteli kaba yem üretiminin diğer bir kaynağı olan tarla arazisi içerisinde yapılan yem bitkileri tarımı ise oldukça yetersizdir. Ülkemiz çayır ve meralarında doğal olarak birçok kaliteli yem bitkisi yetişmesine rağmen, çok az sayıda yem bitkisinin tarımı yapılmakta ve yem bitkileri tarımının tarla tarımı içindeki oranı %6'yı geçmemektedir. Tarımı gelişmiş ülkelerle kıyaslandığında bu oranın düşük olduğu ve arttırılması için yeni yem bitkisi tür ve çeşitlerinin tarla tarımına dahil edilmesi gerektiği bildirilmektedir (Başaran vd 2006).

Ruminant hayvanların beslenmesinde kaba yem kullanımı, gerek sindirim fizyolojisi bakımından, gerek maliyet ekonomisi açısından bir zorunluluktur. Hayvana verilecek olan kaba yem niteliklerinin belirlenmesi, mevcut kaba yemin hangi fizyolojik evredeki hayvan için daha elverişli olduğunun bilinmesinin yanısıra, kaba yemin fiyatlandırılması açısından da önem taşımaktadır. Kaba yem kalitesi, kaba yemin çeşidine bağlı olmakla birlikte oldukça değişkendir. Çeşit, varyete, hasattaki olgunluk, biçim sayısı ve biçim yüksekliği, iklim, üretim, depolama yöntemi, silolama vb. gibi

uygulamalar, kaba yem kalitesi üzerine etkili olan bazı faktörlerdir. Kaba yem kalitesindeki değişiklikler, kuru madde tüketimi, rasyon enerji yoğunluğu, rasyona eklenecek kesif yem, yemleme maliyeti, laktasyon performansı ve hayvan sağlığı üzerinede etkilidir. Kaba yem kalitesinin belirlenmesinde uygulanabilirliğin kolaylığına göre; duyuşal, kimyasal ve biyolojik analiz yöntemleri kullanılmaktadır (NRC 2001; Shaver 2004; Kılıç 2006; Kaya 2008).

Hayvan besleme çalışmalarında, yem değerini saptamada *in vivo* ve *in vitro* teknikler kullanılmakla birlikte en sağlıklı ve doğru olanı *in vivo* tekniklerdir. Ancak, günümüzde *in vivo* çalışmaların pahalı olması, çok zaman alması, fazla işgücü ve emek gerektirmesi ve hayvan refahı bakımından endişe yaratması nedeniyle daha az tercih edilmektedir. Bu sakıncaları ortadan kaldırmak için Tilley and Terry (1963) ile Van Soest *et al.* (1966) yemlerin sindirilebilirliğini belirlemek için *in vitro* teknikler geliştirmişlerdir. Bu teknikte fazla sayıda sindirim tüplerine ve iş yüküne gereksinim duyduğu bildirilmektedir (Taghizadeh *et al.* 2008).

Bu sakıncaları ortadan kaldırmak için araştırmacılar *in vitro* teknikler arasında yer alan gaz üretimi tekniğın geliştirmişlerdir (Menke *et al.* 1979). Bu yöntem halen yemlerin enerji değerlerinin veya sindirilebilirlik karakteristiklerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem diğeri *in vitro* tekniklere oranla kaba yemlerin enerji değeri ve *in vivo* sindirilebilirliği hakkında daha iyi tahminler yapılmasına olanak sağlamaktadır. Düşük maliyetli olması ve kolay tekrarlanabilmesi gibi özellikleri nedeniyle kullanımı yaygınlaşmıştır (Taghizadeh *et al.* 2008).

Günümüzde kullanılan *in vitro* gaz üretim tekniğinde, Tilley ve Terry tarafından geliştirilen iki aşamalı sindirim tekniğinden farklı olarak, fermentasyonla üretilen gaz miktarı net olarak kaydedildiği ve farklı zamanlarda üretilen gazı belirleme olanağı olduğu için daha avantajlı olduğu söylenebilir. Bu yöntem ayrıca yemlerin zamana bağı gaz üretimi ve gaz üretim parametrelerinin hesaplanmasında olanak sağlamaktadır (Pell *et al.* 1998; Palangi 2016).

*In vitro* gaz üretim teknikğinin uygulaması kolay ve ekonomik olup, ayrıca yemlerin *in vitro* rumen koşullarında mikrobiyal aktivite tahminine (Williams *et al.* 2000), yemlerdeki ikincil metabolitlerin (tanen, saponin, alkaloid, glikozid vb) toksisitesini belirleme (Ammar *et al.* 2004) ve yem katkı maddelerinin rumen fermantasyonu üzerine etkilerinin saptama (Colombatto *et al.* 2003) gibi bir çok amaçla kullanılmaktadır (Tamminga 1992; Hanigan *et al.* 1997; Dijkstra *et al.* 2002).

Yemler rumen veya *in vitro* rumen koşullarında rumen bakterileri tarafından fermente edilerek uçucu yağ asitleri (UYA), CO<sub>2</sub> ve CH<sub>4</sub> gibi gazlar üretilmektedir. Rumen ortamında gaz üretimi başlıca karbonhidratların asetik, propiyonik ve bütirik asite fermentasyonu sonucu meydana gelmektedir (Wolin 1960; Beuvink and Spoelstra 1992; Blümmel and Ørskov 1993). Protein rumende fermentasyonu sonucu üretilen gaz miktarı, karbonhidratlardan daha az olduğu bildirilmektedir (Wolin 1960). Yağların gaz üretimi üzerine etkisi ise çok az olup göz ardı edilebilecek düzeydedir. bu kapsamda Menke and Steingass (1988); Gatechew *et al.* (1997)'ı *in vitro* gaz üretim tekniği ile 200 mg hindistan cevizi, palmye çekirdeği ve soya yağlarının 2.0 ile 2.8 ml gaz ürettiğini, aynı miktarda kazein ve selülozun ise yaklaşık 23.4 ile 80 ml düzeyinde gaz oluştuğunu bildirmişlerdir.

Rumen fermantasyonu sonucu oluşan gazların besleme değeri olmadığı ve ayrıca özellikle CH<sub>4</sub> gazının önemli düzeyde enerji kaybına yol açtığı bildirilmektedir (Moss *et al.* 2000).

Rumende besin maddelerinin fermantasyonu sonucu asetik, propiyonik, bütirik vd. uçucu yağ asitleri ile gaz üretimi gerçekleşmektedir. Besin maddelerinin rumen fermentasyonu sırasında ne kadar fazla propiyonik asit üretilirse o kadar az H<sup>+</sup> iyonu ortama salınır ve gaz üretimi o kadar az olur (Wolin 1960; Hungate 1966; Van Soest 1994). Propiyonik asit oluşumu esnasında meydana gelen gaz, sadece *in vitro* koşullarda yapay tükürükteki tampon maddelerden kaynaklandığı söylenebilir (Beuvink and Spoelstra 1992). Uçucu yağ asitlerinin miktarları ve bireysel uçucu yağ asitlerinin farklılığı yem farklılığından kaynaklandığı söylenebilir (Beuvink and Spoelstra 1992;

Blümmel and Ørskov 1993). Bu farklılıktan yararlanarak asetik asitin propiyonik asite oranı besin madde farklılığının saptanmasında kullanılan önemli bir kriterdir. Rumende kolay çözünebilir karbonhidratlar asetik asite göre daha fazla propiyonik asit oluşumuna sebep olurken, yapısal karbonhidratlarda daha çok asetik asit oluşur. Pek çok araştırmacı konsantre yemlerle beslenen ruminantların rumen sıvılarında daha fazla propiyonik asit meydana geldiğini ve böylece asetik asit propiyonik asit oranının daha düşük olduğunu bildirmiştir (Ørskov and Ryle 1990; Lee *et al.* 2016; Zhang *et al.* 2017; Bharanidharan *et al.* 2018; Gunun *et al.* 2018).

### **1.1. Ruminant Hayvanlarda Metan (CH<sub>4</sub>) Üretimi**

Endüstrileşmenin başlamasından bu yana insan faaliyetleri sonucu bazı gazların atmosferdeki miktarlarında ciddi artışlar kaydedilmiş ve bu durum doğal sera etkisinin gittikçe güçlenmesine sebep olmuştur (Houghton *et al.* 1990; Khalil and Rasmussen 1990). Antropojenik sera etkisinden Kyoto-Protokolüne (1998) göre 6 tane gaz sorumlu tutulmakta olup, bu gazlar sırasıyla; karbondioksit (CO<sub>2</sub>), metan (CH<sub>4</sub>), diazotoksit (N<sub>2</sub>O), hidroflorokarbonlar (HFC), perflorokarbonlar (PFC) ve kükürt hekzaflorür (SF<sub>6</sub>)'dür. Karbondioksit'den sonra antropojenik sera etkisinin oluşumundaki payı %18 olan CH<sub>4</sub> en önemli ikinci sera gazıdır. Ruminantların antropojenik sera etkisi üzerindeki rolü de buradan kaynaklanmaktadır (Öztürk 2007).

Ruminant hayvanların rumenlerinde besin maddelerinin anaerobik fermantasyonu sonucu oluşan CO<sub>2</sub> ve hidrojen iyonu (H<sup>+</sup>) metanojen bakteriler tarafından CH<sub>4</sub> gazına indirgenirler (Klieve and Hegarty 1999; Görgülü vd 2009). Ruminantlarda, CH<sub>4</sub> üretimi vücuda alınan toplam enerjinin %2-12'ii arasında bir kayba sebep olduğu bildirilmektedir (Johnson and Johnson 1995). Bir başka araştırmacı grubu ise bunun %2-15 arasında değiştiğini bildirmektedir (Moss *et al.* 2000) Tamminga *et al.* (2007) ise yüksek verimli süt sığırlarında toplama enerjinin %6'sının CH<sub>4</sub> üretimi ile kayba uğradığını bildirmişlerdir.

Rumende CH<sub>4</sub> üretimi önemli düzeyde enerji kaybına yol açmasına rağmen, rumende metanojenik bakteriler tarafından ortamdaki H<sup>+</sup> iyonlarının kullanılması ile rumende asitliğin düşmesini önlediği ve rumen ortamının normal koşullarda devamını sağlaması bakımından önemli olduğu bildirilmektedir (Kumar *et al.* 2009).

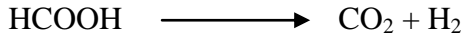
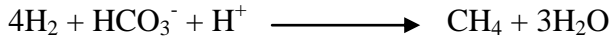
Rumende CH<sub>4</sub> üretimi yem miktarı ve tipinden etkilenmektedir. Buyüzden enterik CH<sub>4</sub> üretimini azaltmak için çeşitli besleme stratejiler önerilmektedir (Hristov *et al.* 2013a; Knapp *et al.* 2014). Ham sellüloz içeriği yüksek lifli rasyonlar, nişastaca zengin rasyonlarla karşılaştırıldığında nişasta fermantasyonu sonucu rumende propiyonik asit üretimini artmaktadır. Propiyonik asit üretimi için asetik asite göre daha fazla hidrojen kullanılır ve rumende serbest hidrojen miktarı azalır. Ortamda hidrojen iyonunun azalması rumende enterik CH<sub>4</sub> üretimini azaldığı bildirilmektedir (Bannink *et al.* 2006; Hristov *et al.* 2013b).

Karbonhidratların sindirimi sırasında ruminantlarda önemli miktarlarda rumende gaz üretildiği bilinmektedir. Gaz üretimi sığırlarda günde 400, koyunlarda 50 litreye kadar ulaşabilir (Görgülü vd 2009). Çıkan gazların büyük çoğunluğunu CO<sub>2</sub> (%20-65) ve CH<sub>4</sub> (%30-40) gazı oluşturmaktadır. Bu iki gazın dışında az miktarda oksijen, azot, hidrojen ve hidrojen sülfürde üretilmektedir. Bu gazların miktarı ve oranı yemin tipi ile yemlemeden ne kadar sonra yapıldığına bağlı olarak geniş varyasyon gösterebilmektedir. Ruminantlarda yem tüketim sonrası gaz üretimi hızla artmakta ve zaman geçtikçe gaz üretim hızı düştüğü bildirilmektedir (Capelari and Powers 2017; Khattab 2017).

Rumen gazlarından CO<sub>2</sub> yemlerin rumende oksidasyonu ve fermentasyonu sonucu son ürün olarak ortaya çıkmaktadır. Metan gazı ise anaerobik koşullarda karbonhidrat ve kolay çözünebilir karbonhidratların (şekerlerin) fermentasyonu sonucu zorunlu bir ürün olarak ortaya çıkmaktadır. Rumende oluşan CH<sub>4</sub> gazının yüksek enerjisi nedeniyle karbonhidrat ağırlıklı beslenen ruminantlarda yüksek düzeyde enerji kaybına (%2-15) neden olmaktadır (Moss *et al.* 2000). Rumende CH<sub>4</sub> karbonhidratların fermantasyonu



sonucu oluşan bikarbonat iyonlarının hidrojen iyonları ile karbondioksite indirgenmesi ile oluşur ve büyük oranda metajenik bakteriler tarafından üretilir (Aksoy vd 2017).



Rumende yemlerin fermantasyonu sırasında karbondioksit üretimi pirüvatın asetik asite dönüşümü sırasında üretilmektedir. Hidrojen iyonları da rumende şekerlerin pirüvik asit üzerinden asetik asite dönüşümü sırasında serbest kalmaktadır. Ayrıca formik dehidrojenaz enzimi ile de formik asitten de az miktarda CO<sub>2</sub> ve hidrojen üretildiği bildirilmektedir (Aksoy vd 2017).

Formik asit rumende pirüvik asidin asetik asite dönüşümü ile elde edilir. Rumen uçucu yağ asitleri içerisinde formik asit %1 düzeyindedir. Hidrojen gazı CH<sub>4</sub> üreten bakteriler tarafından süratli kullanılır ve diğer mikrobik indirgeme olaylarında da hidrojen iyonu vericisi olarak fonksiyon gösterir. Rumende mikrobiyal popülasyonun gelişimi içinde rumen ortamında bulunan hidrojen iyonlarının kullanılarak rumen ortamından uzaklaşmasında önemlidir. Aksi takdirde rumen pH'sı önemli düzeyde düşer (Aksoy vd 2017).

Rumende oluşan CH<sub>4</sub> hayvanlar tarafından metabolize edilemez ve geçirme ya da anüs yoluyla atmosfere salınır. Bu da önemli düzeyde enerji kaybına neden olur. Metan yoluyla yemlerin enerjisinin yaklaşık %2-15'i kayba uğramaktadır (Moss *et al.* 2000). Bu nedenle CH<sub>4</sub> üretimini düşürmek ve enerjiyi hayvanın kullanabileceği bileşiklere yöneltmek için çalışmalar yapılmaktadır. Bu amaçla ruminant rasyonlarına doymamış yağ asitlerinin ilavesi tavsiye edilmiştir (Garcia *et al.* 2018). Doymamış yağlar rumende mikroorganizmalar tarafından doymuş yağ haline dönüşümü sırasında hidrojen iyonları kullanılır ve CH<sub>4</sub> üretimi için hidrojen iyonu ortamda olmadığı için CH<sub>4</sub> üretiminin düştüğü bildirilmektedir (Nooriyan Soroor *et al.* 2016). Rumende CH<sub>4</sub> üretimi azaltmak için propiyonik asit üretiminin teşvik edilmesinde bir başka yoldur (Johnson and Johnson

1995). Metan üretimini azaltmak için kloroform, kloral hidrat, organik asitler, bakır tuzları vb. gibi diğer yem katkıları da vardır. Bu bileşikler spesifik CH<sub>4</sub> inhibitörleri değildir. Fakat genel olarak mikroorganizmaların gelişmesini olumsuz yönde etkileyen, baskı altında tutan bileşiklerdir (McGinn *et al.* 2004).

Organik asitler, başta kaba ve konsantre yemlerin korunması, silajda pH'yı düşürerek istenilen bakteri popülasyonunun oluşması, gastro-intestinal sistemdeki mikroorganizmalardan patojen olanları elimine edip faydalı olanları artırarak çiftlik hayvanlarında verimin iyileştirmesi, amonyak ve amin gibi bakteriyel toksinleri azaltarak hayvan sağlığının korunması ve son yıllarda özellikle ruminant hayvanlarda metan üretiminin azaltılması üzerine yapılan çalışmalarda yaygın bir şekilde antibiyotiklere alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır (Gül ve Tekce 2017).

Metan gazı sera gazı emisyonunda önemli bir yere sahiptir. Metan emisyonu aynı zamanda aynı miktardaki karbondioksit gazına oranla 25 kat daha fazla sera gazı emisyonuna sahip olduğu, ancak CO<sub>2</sub> göre ise (120 yıl) CH<sub>4</sub>'nin ömrünün (12 yıl) daha kısa olduğu bildirilmektedir (Moss *et al.* 2000). Genel olarak insan aktiviteleri sonucunda CH<sub>4</sub> emisyonunun yaklaşık %16'sının hayvansal kaynaklı olduğunda bildirilmektedir (Steinfeld *et al.* 2006).

Bu çalışma, değişik organik asitlerin (Fumarik (Fu), Malik (Ma) ve Formik (Fo) asit) bireysel ve kombinasyonlar (Fu+Ma, Fu+Fo, Fo+Ma ve Fu+Ma+Fo) halinde sinerji oluşturacak şekilde yemlere ilavesinin *in vitro* gaz üretim miktarı ve performans parametrelerini (OMS, ME ve NE<sub>L</sub>) olumsuz anlamda etkilemeden, rumen fermentasyonu sonucu oluşan H<sub>2</sub>'nin CH<sub>4</sub> oluşumuna katılmasını engelleyip diğer H<sub>2</sub> içeren bileşiklerin sentezinde kullanılmasını teşvik ederek CH<sub>4</sub> üretimini düşürüp düşürmediğini belirlemek amacıyla yürütülmüştür.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Ruminantların fizyolojileri gereği kaba yemlere ihtiyaçları vardır. Sindirim olaylarının sağlıklı devam edebilmesi için muhakkak kaba yem tüketmeleri gerekmektedir. Burada önemli olan alınan kaba yemin kalitesi ve hayvan tarafından ne kadarının verime (et, süt vb. gibi) dönüştürüldüğü olacaktır. Zaten günlük rasyonlarda sağmal inekler için hesaplanan toplam kuru maddenin en az %50'sinin kaba yem kaynaklarından karşılanması gerekmektedir. Bunun altındaki oranlarda bazı sindirim faaliyetlerinde aksaklıklar, yem tüketiminde azalma, süt yağı ve süt veriminde düşme gibi olaylar zincirinin birbirini izlemesi kaçınılmazdır. Yetersiz ya da kalitesiz kaba yem kaynakları bulunduran işletmeler, süt verimi için daha fazla kesif yem kaynaklarına yüklenmekte, dolayısıyla rasyon maliyeti artmakta ve kazanç düşmektedir. Bunun içinde süt sığırı işletmelerinin olmazsa olmazı olan kaliteli kaba yem kaynaklarının (kuru yonca otu, mısır silajı, vs.) bulundurulması, gerekmektedir.

Calabro *et al.* (2001), yem değerlerini *in vitro* gaz üretim tekniği ile belirledikleri bir çalışmada, yonca, çavdar+yulaf ve mısır silajlarının, gaz üretimini (ml/1 g OM), uçucu yağ asitleri miktarlarını (mmol/l) ve sindirilebilir organik madde miktarlarını (%) sırasıyla; 252, 72.8, 59.3; 308, 80.7, 63.8 ve 292, 67.0, 69.4 olarak saptamışlardır.

Kamalak (2005), *in vitro* gaz üretim tekniği ile dört farklı kaba yeme ait gaz üretim parametrelerini, metabolik enerji (ME) değerlerini ve organik madde sindirim derecelerini (OMS) tahmin etmiştir. Araştırmacı nötr deterjanda çözünmeyen fiber (NDF) ve asit deterjanda çözünmeyen fiber (ADF) miktarları bakımından zengin fakat protein bakımından fakir olan buğday ve arpa samanının *in vitro* gaz değerlerini, NDF ve ADF bakımından fakir, fakat protein bakımından zengin olan yonca kuru otu ve silajının fermentasyonu sonucundan önemli ölçüde düşük bulmuştur. Dolayısıyla, *in vitro* gaz üretim parametreleride arpa ve buğday samanında düşük bulmuştur. Çalışma sonucunda, yemler arasında *in vitro* gaz üretim hızları bakımından önemli farklar olmamasına rağmen, maksimum gaz üretim (A) değeri yonca kuru otu ve silajında daha yüksek bulmuştur. Araştırmacı, bu çalışmada kullanılan kaba yemlerin A, ME ve OMS

bakımdan sıralaması yapıldığında, yonca kuru otu = yonca silajı > buğday samanı = arpa samanı şeklinde olduğunu bildirmiştir.

Kılıç ve Sarıççek (2007), ruminant hayvanların beslenmesinde kullanılan bazı yem ham maddelerinin *in vitro* gaz üretim miktarları ve bunlara ait gaz üretim parametreleri ile organik madde sindirilebilirlikleri (OMS), metabolize edilebilir enerji (ME) ve net enerji laktasyon (NE<sub>L</sub>) içerikleri üzerine kaba yem türünün (buğdaygil-baklagil) ve kaba yemleri saklama tipinin (kurutma-silolama) etkilerini belirlemek amacıyla çalışma yapmışlardır. Yapılan çalışmada mısır kuru otu ve silajı, çayır kuru otu ve silajı, yonca kuru otu ve silajı ile fiğ kuru otu ve silajını kullanmışlardır. Araştırmacılar, kaba yemleri saklama tipinin *in vitro* gaz üretim miktarını etkilediğini dolayısıyla, aynı ham materyalden elde edilen kuru otların, silajlardan daha yüksek toplam gaz üretimi, organik madde sindirimi, metabolik enerji ve net enerji laktasyon değerlerine sahip olduğunu (P<0.01) bildirmişlerdir. Ayrıca, kaba yem türünün de toplam gaz üretimi, metabolik enerji ve net enerji laktasyon değerlerini etkilediğini, buğdaygil kaba yemlerinin baklagil kaba yemlerinden daha yüksek toplam gaz üretimine sahip olduğunu (P<0.05) bildirmişlerdir. Ayrıca gaz üretim hızı, ME ve NE<sub>L</sub> bakımından baklagillerin, buğdaygillerden daha yüksek değerler gösterdiğini belirlemişlerdir.

Beauchemin *et al.* (2006), sığırlarda rumende oluşan CH<sub>4</sub> yayılımını azaltmak için yem katkılarının etkilerini araştırmışlar; fumarik asit (175 g/gün), sodyum bikarbonat (75 g/gün), esansiyel yağ (1 g/gün) veya bitkisel ekstrakt (1 g/gün) ve kanola yağı (kuru madde tüketiminin %4.6)'ndan oluşan gruplarda CH<sub>4</sub> ölçümü yapmışlardır. Çalışmada kanola yağının, günlük CH<sub>4</sub> emisyonunu %32 oranında düşürdüğü, büyük ölçüde yağın yem tüketimini azaltması ve kuru madde ile selüloz sindirimini düşürmesinin bir sonucu olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, esansiyel yağların, bütün besin maddelerinin sindirilebilirliğini azalttığı, fakat CH<sub>4</sub> emisyonu üzerine etkisi olmadığı ve fumarik asit uygulamasının, toplam uçucu yağ asit oranını azalttığı ancak propiyonik asitin nispi oranını yükselttiği, CH<sub>4</sub> emisyonu üzerine ise önemli bir etkisinin bulunmadığı da bildirilmiştir. Araştırmacılar, kanola yağının, CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltması üzerine pozitif etkisinin olduğunu, hayvan performansı açısından yem tüketimini düşürme ve selüloz

sindirimini azaltma bakımından olumsuz yan etkileri meydana getirdiğini belirtmişlerdir. Çalışmada fumarik asit uygulamasının, rumen fermentasyonu istenen düzeye getirdiği, ancak CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltmadığı belirlenmiştir.

McGinn *et al.* (2004), büyümekte olan et tipi sığırlarda üretilen CH<sub>4</sub> ve CO<sub>2</sub> gazı miktarını belirlemek için yürüttükleri çalışmada, katkı maddesi olarak kontrol, monensin, ayçiçek yağı ve proteolitik enzimleri; bir başka denemede kontrol, maya ve fumarik asiti kullanmışlardır. İlk çalışmada, kontrol grubunda toplam enerjinin %6.5'unun CH<sub>4</sub> olarak atıldığı, ayçiçeği yağının ise CH<sub>4</sub> atılımını kontrole göre %22 oranında azalttığı bildirilmiştir. Fakat yağ ilavesi toplam NDF sindirimini %20 kadar düşürmüştür. Monensin ve enzimin pozitif veya negatif anlamda herhangi bir etkisi olmamıştır. İkinci çalışmada ise fumarik asit ve maya katkılarının CH<sub>4</sub> emisyonu üzerine herhangi bir etkisi bulunmamıştır. Sonuç olarak, araştırmacılar bazı katkıları yardımıyla CH<sub>4</sub> üretiminin azaltılabileceğini, ayçiçek yağı ve iyonofor ilavesinin de CH<sub>4</sub> yolu ile enerji kaybını azaltmada önemli bir role sahip olacağını bildirmişlerdir.

Martin (2004), DL-malatın karışık ruminal mikroorganizmalar ve lifli materyal sindirimi üzerine etkisini incelediği çalışmasında, DL-malatın UYA'dan propiyonik asit miktarında artışa neden olduğunu tespit etmiştir. Carro and Ranilla (2003), doğrusal olarak sorgum haricinde tüm substratlar için artan konsantrasyonda malat ilavesinin 17 saatlik inkübasyon sonunda rumen pH ve toplam uçucu yağ asiti üretimini artırdığını bildirmişlerdir.

Canbolat ve Karaman (2009), adi yonca, düğmeli yonca, tüylü yonca, hint yoncası, sarı taş yoncası, ak taş yoncası, korunga, tüylü fiğ ve gazal boynuzu gibi bazı baklagil kuru otlarını *in vitro* gaz üretimi, metabolik enerji (ME) ve organik madde sindirim (OMS) değerleri bakımından karşılaştırmışlar ve toplam *in vitro* gaz üretiminin 67.6-76.7 ml/200 mg KM, ME değerinin 9.3-11.1 MJ/kg KM ve organik madde sindiriminin (OMS) %65.5-78.3 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırma sonucunda, tüylü fiğ ve tüylü yoncanın toplam gaz üretimi, ME ve OMS içeriğinin diğer baklagil kaba yemlerinden önemli düzeyde yüksek olduğunu ifade etmişlerdir.

Abaş vd (2005), ruminantların beslenmesinde kullanılan kuru çayır otu, fiğ ve yonca gibi bazı kaba yemlerin enerji değerlerini inceledikleri çalışmada, kaba yemlerde net gaz üretim miktarlarını 12.38-52.54 ml/200 mg KM, metabolik enerji (ME) ve net enerji laktasyon (NE<sub>L</sub>) değerlerini ise sırasıyla 3.07-10.22 MJ/kg KM ve 1.08 – 6.24 MJ/kg KM arasında tespit etmişlerdir. Yulaf, arpa, buğday ve mısırın ortalama gaz üretim miktarını sırasıyla; 59.20, 63.54, 68.00 ve 67.94 ml/200 mg KM olarak bulmuşlardır. Mısır, buğday, arpa ve yulafın ME değerlerini sırasıyla; 13.08, 12.99, 12.45, 12.10 MJ/kg KM; NE<sub>L</sub> değerlerini ise yine aynı sırayla; 8.30, 8.25, 7.84 ve 7.55 MJ/kg KM olarak hesaplamışlardır.

Bharathidhasan *et al.* (2015), *in vitro* gaz üretim tekniğini kullanarak CH<sub>4</sub> üretimi üzerine malik ve fumarik asitlerin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, rumen inokulumuna kuru madde esasına göre yem örneği (200 mg)'nin yüzdesi olarak malik asidi; %0.0, 0.13, 0.26, 0.39 ve 0.54; fumarik asidi ise sırasıyla; 0.0, 0.07, 0.14, 0.21 ve 0.28 oranında ilave etmişler ve *in vitro* gaz üretiminin organik asitlerden etkilenmediğini; toplam gaz üretim miktarının yüzdesi olarak ve 100 mg gerçek sindirilebilir besin maddesi başına düşen miktar olarak üretilen CH<sub>4</sub> gazının organik asitlerden önemli derecede etkilendiklerini ve en düşük CH<sub>4</sub> gazı üretimi (ml)'nin %0.39 malik asit ve %0.21 fumarik asit gruplarında olduğunu, bu oranlardan sonra muamelenin CH<sub>4</sub> gazı üretimi üzerine etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmada kullanılan organik asitler ve diğer organik asitlerin hem bireysel hem de kombinasyonlarını içeren daha fazla *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların yapılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Foley *et al.* (2009b), DL-malik asitin etkilerini inceledikleri çalışmalarında, DL-malik asitin CH<sub>4</sub> üretimi üzerinde pozitif veya negatif anlamda herhangi bir etkisinin olmadığını ifade etmişlerdir.

Pisarčíková *et al.* (2016), fumarik asit ve bitki karışımı ilave edilen yüksek konsantrasyonlu diyetlerin *in vitro* ruminal fermentasyon parametrelerini incelemişler

ve propiyonik asit ile süksinat ve pH seviyesinin arttığını, CH<sub>4</sub> emisyonunun ise olumlu yönde azaldığını bildirmişlerdir.

Fiore *et al.* (2016), sığırların rumen sıvısında asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarlarını sırasıyla 3.19, 1.37 ve 0.07 (mg/mlt) olarak tespit etmişlerdir.

Rabelo *et al.* (2017), *in vitro* gaz üretim tekniğini (9 saat) kullandıkları bir çalışmada, asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarlarını molar cinsinden sırasıyla 61.3 – 65.3, 17.9 – 19.5 ve 1.28 – 1.86 arasında belirlemişlerdir.

Sherasia *et al.* (2017), toplam harmanlanmış rasyonun (THR) CH<sub>4</sub> üretimi üzerine etkisini araştırmışlar ve üretilen CH<sub>4</sub> miktarının 1.67 ile 2.01 (mL/100 mg DM) arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Metan, rumen fermantasyonunun son ürünlerinden olduğu için CH<sub>4</sub> emisyonunu azaltma stratejileri fermantasyon ürünlerinin değişimini gerektirmektedir. Ancak, mikrobiyal ekosistem tarafından fermantasyonu değiştirme çalışmaları oldukça karmaşık ve kompleks bir konu olduğundan bu bağlamda birçok araştırmacı tarafından yürütülen çalışmaların bir kısmında ruminant rasyonlarına bazı organik asit ve tuzlarının ilavelerinin rumendeki CH<sub>4</sub> üretiminde azalma, propiyonik asit miktarında oransal bir artış, toplam UYA içerisinde asetik/propiyonik asit oranında azalma meydana getirdikleri bildirilirken, bazılarında organik asit ve tuzlarının söz konusu parametreleri etkilemediği, bir kısmında ise organik asit ve kombinasyonları ile ilgili daha fazla araştırma yapılması gerektiği ifade edilmiştir (Asanuma *et al.* 1999; Martin *et al.* 2000; McGinn *et al.* 2004; Beauchemin *et al.* 2006; Foley *et al.* 2009a; Toprak ve Yılmaz 2013; Bharathidhasan *et al.* 2015; Kara vd 2015).

### **3. MATERYAL ve YÖNTEM**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Hayvan Materyali**

Çalışmanın hayvan materyalini rumen kanüllü yaklaşık 2 yaşında 2 baş İvesi koç oluşturmuştur. Deneme koçları Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde barındırılmıştır. Koçlardan rumen sıvısı olamadan önce hayvanlar 15 gün boyunca yaşama payı x 1.25 katı düzeyinde kuru ot ve yoğun yemle yemlenmişlerdir. Yemleme günde iki öğün olacak şekilde (sabah 08:00 ve akşam 16:00) yapılmıştır. Rumen sıvısının niteliğini denetim altına almak için deneme hayvanları araştırma süresince, kaba/yoğun yem oranı kuru madde temeline göre, 60/40 olacak şekilde düzenlenmiştir. Demende kullanılan kuru ot (%7.2 ham protein, 1.9 kcal/g ME) ve ticari besi yemi (%14 HP, 2.7 kcal/g ME) ile yemlenmiştir. Deneme süresince hayvanların önlerinde sürekli temiz içme suyu bulundurulmuştur. Denemede kullanılan hayvanların bakım ve beslenmesinde etik kurallar uyulmuştur (Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurul Başkanlığı 24.10.2016 tarih ve 75366018-000-E. 1600251581 sayılı karar).





**Şekil 3.1.** Deneme Kafesinden Bir Görünüm

### **3.1.2. Yem ve Kimyasal Madde Materyali**

Denemenin yem materyalini yonca (*Medicago polymorpha*), ak üçgül (*Trifolium repens*) ve tüylü fiğ (*Vicia villosa*) yem bitkileri oluşturmuştur. Bu bitkiler ülkemizde 39°-55' kuzey enlemi 41°-16' doğu boylamında yer alan Erzurum ilinden 2016 yılı Haziran-Temmuz ayları arasında toplanmıştır.

Yem örnekleri çiçeklenme döneminde 10 değişik yerden, topraktan 2 cm yüksekten sabah saatlerinde toplanmış ve Zootekni Bölümü Yem Analiz Laboratuvarı'nda kurutularak öğütülmüş ve uygun şartlarda analiz anına kadar muhafaza edilmiştir.

Yem örnekleri denemede kullanılmadan önce organik asitler işlenmiştir. Organik asitlerden fumarik (Fu), malik (Ma), formik (Fo) asit, Fu+Ma, Fu+Fo, Fo+Ma ve

Fu+Ma+Fo kombinasyonları yemlerin kuru madde düzeyleri esas alınarak sırasıyla; %0.20, 0.40, 0.60, 0.10+0.20, 0.10+0.30, 0.30+0.20 ve 0.07+0.13+0.20 olacak şekilde karıştırılmışlardır.

Deneme yemlerinden yonca (*Medicago polymorpha*), çok yıllık bir baklagil yem bitkisi olup, 50-75 cm arasında boylanabilen ve toprak üzerinde tamamen yatık gelişen ana gövdelere sahiptir. Ham protein içeriği farklı hasat dönemlerine bağlı olarak %9.9-23.3 arasında değişmektedir. Bitkinin saplarının kırmızimsı renkte olması belirgin bir özelliğidir (Dumlu vd 2017).

Ak üçgül (*Trifolium repens*), çok yıllık bir baklagil yem bitkisi olup dağlık bölgelerde yaygın olarak yetişir. Yatık gelişmesi ve stolon kök yapısına sahip olması nedeniyle otlatma ve çiğnenmeye karşı oldukça dayanıklıdır ve önemli bir yem bitkisidir (Demirkol ve Yılmaz 2018).

Tüylü fiğ (*Vicia villosa*) de çok yıllık bir baklagil yem bitkisi olup aşırı soğuğa ve kurağa karşı dayanıklıdır. Tüylü fiğde yüksek yem değerine sahip olup, otlatılarak, kuru ot ve silo yemi üretmek için yetiştirilmektedir (Soya vd 1997).

Denemede kullanılan fumarik asit ( $C_4H_4O_4$ ) (ürün kodu: 01834495 ve CAS numarası: 110-17-8 olan Sigma-Aldrich firmasından, formik asit ( $CH_2O_2$ ), (ürün kodu: 51376-00 ve CAS numarası: 64-18-6 olan Eastman Chemical Compony firması) ve malik asit ( $C_4H_6O_5$ ) (ürün kodu: 321394 ve CAS numarası: 6915-15-7 olan Amtrade International Pty Ltd,) üç farklı ticari firmalardan sağlanmıştır.

### 3.1.3. Yem Örneklerinin Kimyasal Analizler İçin Hazır Hale Getirilmesi

Usulüne göre meradan toplanan yem örnekleri laboratuvara getirilmiş ve 65°C'lik sıcaklığa ayarlanmış etüvde kurutulmuştur. Kurutma işlemleri yapıldıktan sonra yem örnekleri 1 mm elekten geçecek şekilde öğütülmüş ve analizlerde kullanılmıştır.

Yem örneklerine organik asit ve kombinasyonlarının ilavesi pulvarize edilerek katılmıştır.

Kurutulup öğütülen yem örneklerinde kuru madde, ham kül (HK), ham protein (HP), ham yağ (HY), ham selüloz (HS), asit çözücülerde çözünmeyen lifli bileşikler (ADF), nötr çözücülerde çözünmeyen lifli bileşikler (NDF) ve asit çözücülerde çözünmeyen lignin (ADL) analizleri ile *in vitro* gaz üretim ölçümleri yapılmıştır.

## 3.2. Yöntem

### a. Kuru Madde Analizi

Havada kuru yem örneklerinin ağırlığı belli bir miktarının, belirli bir sıcaklık derecesinde ısıtılarak suyunun tamamen uçurulması ilkesine dayanır. Kuru madde miktarı, örneklerin ilk ağırlığı ile kurutulduktan sonraki ağırlıkları arasındaki farkın bulunup, yüzde olarak hesaplanması ile belirlenir (Kutlu 2008).

Denemede yem örnekleri konacak petri kapları üzerinde mevcut nemini uçurmak amacıyla, analiz öncesi 2 saat süre ile 105°C'de, etüvde bekletilmiş ve daha sonra desikatöre alınarak oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutulmuştur. Desikatörden çıkarılan petri kaplarının daraları (D) hassas terazide belirlenip, yaklaşık 5 g kadar yem örneği (A) tartılarak kaydedilmiştir. Etüve alınan petri kapları 105°C'de sabit ağırlığa gelinceye kadar 4 saat süreyle etüvde bekletilmiştir. Daha sonra desikatöre alınmış ve dara + kuru örnek ağırlıkları tartım yapılarak (A<sub>2</sub>) veriler kaydedilmiştir.

Elde edilen veriler ile yem örneklerinin % Nem ve % KM madde içerikleri, aşağıdaki eşitlikler yardımıyla belirlenmiştir ( AOAC 1990).

$$\% \text{ KM} = 100 - \% \text{ Nem}$$

$$\% \text{ Nem} = [ (A_1 - D) - (A_2 - D) ] / A \times 100$$

**A**= Yem örneği, g

**D**= Kutuların darası, g

**A<sub>1</sub>**= Yem + dara, g

**A<sub>2</sub>**= Kurutulduktan sonra yem + dara, g

### **b. Ham Kül ve Organik Madde Analizi**

Ham kül, yem materyallerinin 550°C’de yakılmasından sonra geriye kalan inorganik maddelerden olur ve % olarak ifade edilir. (Kutlu 2008).

Ham kül ve organik madde analizi için kül yakma krezeleri kullanılmıştır. Kül krezeleri analiz öncesi üzerindeki nemi uçurmak için 2 saat süre ile 105°C sıcaklıkta etüvde tutulmuş ve daha sonra desikatörde oda oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve tartılmış ve daraları (D) alınmıştır. Darası alınmış krezelere yaklaşık 1.5-2.0 g yem örneği (A) tartılarak kaydedilmiştir. Daha sonra 550°C’ye ayarlı kül fırınında 5 saat yakılmıştır. Yakma işlemi sonrasında fırın sıcaklığının yaklaşık 100°C’ye kadar soğutulan krezeler desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutulup, tartılmıştır (A<sub>2</sub>).

Elde edilen verilerden yararlanarak ve aşağıdaki eşitlikler kullanılarak, yem örneklerinin ham kül ve organik madde içerikleri belirlenmiştir (AOAC 1990).

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

$$\% \text{ OM} = 100 - \% \text{ HK}$$

**A**= Yem örneği, g

**D**= Krezelerin darası, g

**A<sub>1</sub>**= Yem + dara, g

**A<sub>2</sub>**= Kurutulduktan sonra yem + dara, g



**Şekil 3.2.** Yem Örneklerinin Kül Fırınında Yakılması

### **c. Ham Protein Analizi**

Ham protein, yem maddesinin derişik  $H_2SO_4$  ile yakılması suretiyle yemde bulunan azotun önce amonyum sülfata sonra alkali ilavesi (sodyum hidroksit) ile amonyağa dönüştürülerek, 0.1 N HCl ile titre edilerek azot miktarının hesaplanması aşamasına dayanır (AOAC 1990).

Ham protein analizi için kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları

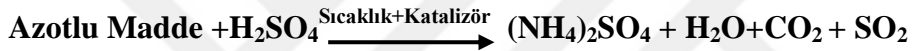
1. %98'lik N içermeyen  $H_2SO_4$ ,
2. %40'lık N içermeyen NaOH,
3. %4'lük  $H_3BO_3$  (borik asit),
4. Katalizör tablet (3.5 g  $K_2SO_4$ , 0.0035g Se),
5. İndikatör (Methyl red, Bromocresol gren),
6. 0.1 N HCl.

Deneme kapsamında incelenen yem bitkilerine ait ham protein analizleri toplam azot miktarı üzerinden yapılmıştır. Söz konusu analiz yaş yakma, damıtma ve titrasyon aşaması olmak üzere 3 aşamadan oluşmaktadır.

Bunlar;

### I. Yaş Yakma Aşaması

Yem örneği, derişik sülfürik asit ( $H_2SO_4$ ), katalizör ve ısı etkisiyle yakılarak, yemdeki azot, sülfürik asitin sülfat kökü ile bağlanması sağlanarak, amonyum sülfat ( $(NH_4)_2SO_4$ ) oluşturulması temeline dayanır.



Bu amaçla; yem ham maddelerinden ortalama 1 g yaş yakma tüplerine konmuştur. Üzerine 2 adet katalizör tablet eklenmiş ve üzerine 20 ml derişik sülfürik asit ( $H_2SO_4$ ) ilave edilmiştir. İçerisine örnek, katalizör ve sülfürik asit eklenen yaş yakma tüpleri yaş yakma bölümüne yerleştirilmiş ve ısı kadamelı olarak  $400\text{ }^\circ C$ 'ye yükseltilmiş ve bu sıcaklıkta 60 dakika yakılmıştır.

### II. Destilasyon Aşaması

Damırma aşamasında yaş yakma aşamasında oluşan amonyum sülfatın yapısındaki amonyum iyonları kuvvetli bir baz olan sodyum hidroksit ve ısının etkisiyle amonyak gazına dönüştürülür. Amonyak gazı da su buharı ile borik asit tarafından tutularak amonyumborata dönüştürülmesini kapsar.

Yaş yakma sonrası, soğutulan tüplere asit konsantrasyonunu düşürmek için 50 ml saf su ilave edilmiştir. Daha sonra tüpler destilasyon cihazına yerleştirilmiş ve üzerine yaklaşık 70 ml sodyum hidroksit çözeltisi ilave edilmiştir. Destilat toplama kısmına ise bir erlen içine 25 ml %4'lük borik asit ve 3-4 damla indikatör damlatılmıştır. Daha sonra cihaz çalıştırılarak 10 dakika detilasyon işlemi sürmüş ve borik asit konan erlende yaklaşık

150-200 ml destilat toplanmıştır. Toplanan destilatın rengi indikatörden dolayı mavi renge dönmüştür.

### I. Titrasyon Aşaması

Destilasyon ünitesinden alınan ve içerisinde destilat bulunan erlenler (mavi renkli sıvı), 0.1 N HCl asit çözeltisi ile renk, pembe-soğan kabuğu rengine dönüşüncüye kadar titre edilmiş ve harcanan 0.1 N HCl miktarı kaydedilmiştir.

Analiz sonucu elde edilen verilerden yararlanarak yem örneklerinin ham protein içerikleri %'de olarak aşağıdaki formüle hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam N} = \frac{1.4007 \times (\text{Tit.har.HCl} \times \text{Fak} - \text{Kör.için harcanan HCl} \times \text{Fak}) \times 0.1}{\text{Örnek miktarı (mg)}}$$

% **Ham Protein** içeriği ise yem numunelerinden elde edilen toplam N miktarının 6.25 ile çarpılması ile elde edilmiştir.



Şekil 3.3. Yem Örneklerinde Ham Protein Analizi

#### d. Ham Yağ Analizi

Ham yağ analizi soxleth ekstraksiyon cihazı ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4). Bu cihazla ham yağ analizi için yaklaşık 4 g yem örneği tartılmış (A) ve kartuşa konulmuş ve kartuşun ağzı pamukla kapatılmıştır. Ağzı kapatılmış kartuş ve yağın içerisinde toplanacağı 250 ml'lik cam balonlar 95 °C sıcaklıkta 2 saat süre ile kurutma dolabında tutulmuştur. Daha sonra balonlar desikatöre alınarak oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve balonun darası alınmıştır (D). Darası alınan balon en alt kısma yem örneği bulunana kartuş ise soxleth cihazının ekstraksiyon kısmına yerleştirilmiştir. Kartuşlar ise soxleth ekstraksiyon kısmına konduktan sonra ekstraksiyon kısmına bir tam, birde yarım sifon olacak şekilde eter ilave edilerek sistem çalıştırılmıştır. Sekiz saat sonunda ekstraksiyon kısmındaki eter bir kaba alınarak yağ ile eter birbirinden ayrılmıştır. İçerisinde yağ



bulunan balonlar 95 °C deki kurutma dolabında 1 saat bekletildikten sonra desikatöre alınarak soğutulup hassas terazi de tartımı yapılmıştır (A<sub>1</sub>).

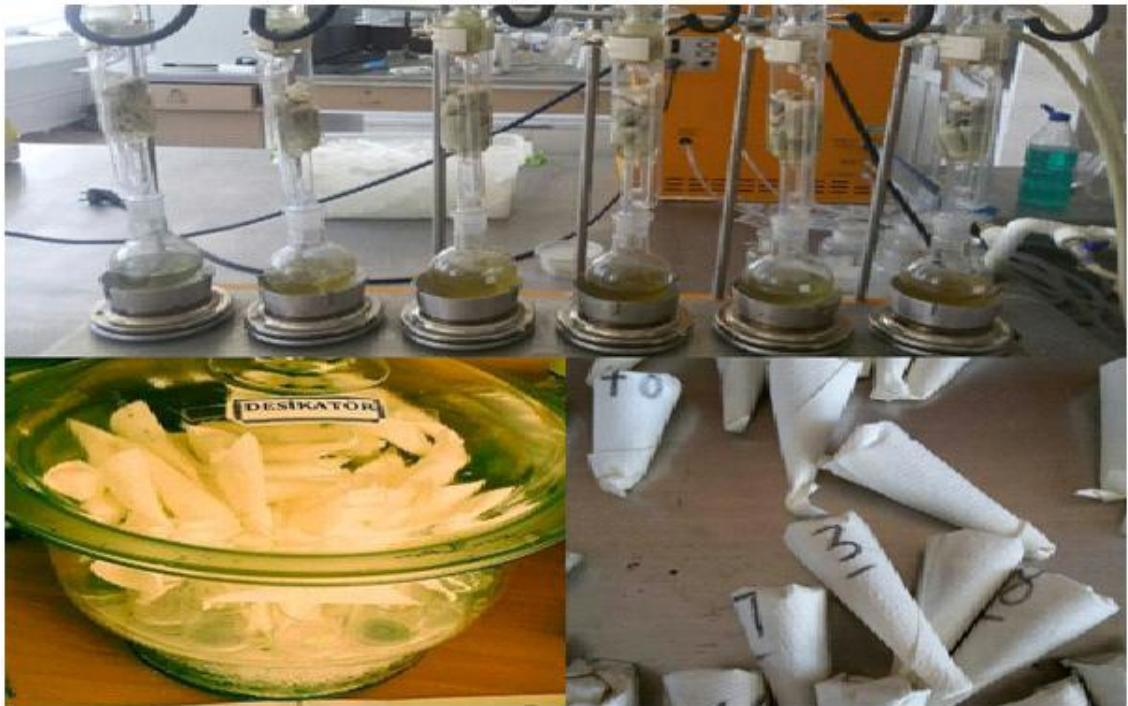
Elde edilen sonuçlar aşağıdaki formülde yerine konularak, yem materyallerine HY içeriği % olarak belirlenmiştir (AOAC 1990).

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

**A**= Yem örneği, g

**D**= Balonların darası, g

**A<sub>1</sub>**= Balonların darası + yağ, g



Şekil 3.4. Yem Örneklerinde Ham Yağ analizi

### e. Ham Selüloz Analizi

Ham selüloz analizi ANKOM 200 Fiber Analyzer cihazı kullanılarak yapıldı. Torbalar numaralandırıldı. Daha sonra darası alındı ( $W_1$ ). Her birisinin içine 0.5 g yem örneği tartıldı ( $W_2$ ). Torbaların ağzı ısıyla (heatsealer) kapatıldıktan sonra cihazın plastik raflarına yerleştirildi. Cihaz 40 dakikaya ayarlandı. Daha sonra cihazın kapağı açılarak içerisine 2000 ml, 80-90°C'lik çeşme suyu eklendi. Kapak kapatıldı, sadece agitate düğmesi açık konuma getirildi ve 5 dakika sıcak su ile yıkandı. Bu işlem bir kez daha tekrar edildi. Asit çözeltisi için yapılan işlemler 0.313 normallik sodyum hidroksit çözeltisi için de uygulandı. Daha sonra cihazın kapağı açılarak içerisine 2000 ml, 80-90°C'lik çeşme suyu eklendi. Kapak kısmı kapatıldı, agitate düğmesi açık konuma getirildi ve 5 dakika sıcak su ile yıkandı. Bu işlem bir kez daha tekrarlandı. Suyu uzaklaştırılan torbalar asetonda 3 dakika bekletildi. Bu işlem sonrasında aseton dökülerek uzaklaştırıldı ve torbalar oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Daha sonra torbalar KM dolabında 105°C'de sabit ağırlığa (4 saat) gelene kadar tutuldu. Kuru madde dolabından desikatöre alınan torbalar oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi ve tartıldı ( $W_3$ ). Darası alınan porselen kül krozeleri ile eşleştirilen torbalar kül fırınında 550°C'de 4 saat yakıldı. Kül fırınından desikatöre alınan torbalar oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi ve tartıldı ( $W_4$ ). Aşağıda verilen eşitlikten yararlanılarak % HS miktarı hesaplandı (Van Soest *et al.* 1991).

$$\%HS = \frac{(W_4 - (W_1 * C_2)) * 100}{W_2}$$

$W_1$ : Torbaların darası

$W_2$ : Tartılan yem miktarı

$W_3$ : Ekstraksiyon sonrası ağırlık

$W_4$ :  $W_3$ -kül (OM ağırlığı)

$C_2$ : Boş torba kül düzeltme faktörü (Yanma sonrası ağırlık/Boş torba ağırlığı)

## f. Asit Deterjan Fiber (ADF) Analizi

Hücre duvarı bileşenlerinden birisi olan asit deterjan fiber (ADF) yemin kalitesi hakkında fikir vermekte ve ADF içeriğinin yükselmesi yemlerin sindirilebilirliği ve enerji değerlerini düşürdüğü bildirilmektedir (Kutlu 2008).

Asit deterjan fiber (ADF) içeriğini belirlemek amacı ile önce erlende 40 g ADF tozu (ANKOM FAD20C Kodlu Kimyasal), 1800-1900 ml saf su, 54.8 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile karıştırılarak çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra 0.5 g tartılan örneklerin darası alınmış (W<sub>1</sub>) ve üzerleri çözücüye karşı dirençli kalem (ANKOM F08) ile yazılmış ve filtre torbalara (ANKOM F57 Torba) konularak ağızları kapatılmıştır (W<sub>2</sub>).

Örnekler, ANKOM cihazına yerleştirilerek ADF çözeltisi örneklerin üzerini örtecek düzeyde ilave edilmiş ve cihazın kapağı sıkıca kapatılmıştır. Cihaz 105 °C de 60 dk. çalıştırılmıştır. Süre tamamlandıktan sonra cihazın suyu dikkatli bir şekilde sistemden boşaltılarak cihazdaki örneklere tekrar 1800-1900 ml kaynamış saf su ilave edilmiş ve cihaz 15 dk. süre ile tekrar çalıştırılmıştır. Daha sonra cihazdaki sıcak su boşaltılarak aynı işlem soğuk su ile 5 dk. boyunca yinelenmiştir. Analizin son aşamasında ise örnekler 1-2 dk asetonda bekletilmiş ve suyunun alınması için sıkılan örnekler, kağıt üzerine serilmiş ve sonrasında 105 °C ye ayarlı etüvde 2-4 saat kurutulmuştur. Örnekler etüvden desikatöre alınarak soğutulduktan sonra hassas terazide tartımları yapılarak veriler kaydedilmiştir (W<sub>3</sub>). Aynı uygulama yem örneği konmadan boş filtre torbayada uygulanmıştır (C). Elde edilen sonuçlar, aşağıdaki formülde yerine konularak, yem materyallerinin ADF içeriği hesaplanmıştır (Van Soest *et al.* 1991).

$$\% \text{ ADF} = [ W_3 - (W_1 \times C) \times 100 ] / W_2$$

W<sub>1</sub>: Torbaların darası, g

W<sub>2</sub>: Örnek ağırlığı, g

W<sub>3</sub>: “Örnek + torba” nın kurutulduktan sonraki ağırlığı, g

C: Kör ağırlığı (boş torbanın kurutulduktan sonraki ağırlığı/darası), g

### g. Nötr Deterjan Fiber (NDF) Analizi

Yem örneklerinin NDF içerikleri analizi için 120 g toz (ANKOM FND20C Kodlu Kimyasal), 20 ml etilen glikol, 4 ml alfa amilaz, 1700-1800 ml saf su, ile karıştırılarak 2 lt çözelti hazırlanmıştır. Daha sonra 0.5 g kadar tartılan örnekler, darası alınmış ( $W_1$  ve üzerleri çözücüye dirençli kalem (ANKOM F08) ile yazılan torbalara (ANKOM F57 torba) konularak ağızları kapatılmıştır. Hazırlanan NDF çözeltisi ile örnekler ANKOM cihazına yerleştirilmiş ve cihazın ağızı sıkıca kapatılarak 105 °C sıcaklıkta 75 dk. süreyle çalıştırılmıştır. Süre tamamlandıktan sonra cihazın suyu dikkatli bir şekilde tahliye sisteminden boşaltılarak, cihazdaki örneklere 1800-1900 ml kaynamış saf su ve 4 ml alfa amilaz ilave edilmiş cihaz 15 dk. daha çalıştırılmıştır. Analizin sonunda örnekler 1-2 dk. süre ile asetonda bekletilmiştir. Daha sonra örnekler 105 °C ye ayarlı etüvde 2-4 saat süre ile bekletilerek kurutulmuştur. Örnekler desikatöre soğutulduktan sonra hassas terazide tartımları yapılarak veriler kaydedilmiştir ( $W_3$ ). Aynı uygulama yem örneği konmadan boş filtre torbayada uygulanmıştır (C).

Sonuçlar aşağıdaki formülde yerine konularak, yem materyallerinin NDF içerikleri hesaplanmıştır (Van Soest *et al.* 1991).

$$\% \text{ NDF} = [ W_3 - (W_1 \times C) \times 100 ] / W_2$$

$W_1$ : Torbaların darası

$W_2$ : Örnek ağırlığı

$W_3$ : “Örnek + torba” nın kurutulduktan sonraki ağırlığı

C: Kör ağırlığı (boş torbanın kurutulduktan sonraki ağırlığı/darası)



**Şekil 3.5.** Yem Örneklerinin ADF ve NDF Tayini İçin ANKOM Cihazı

#### **h. Asit Deterjan Lignin (ADL) Analizi**

Asit deterjan lignin (ADL) analizi, ADF' nin içerdiği selülozu çözebilen, oldukça güçlü bir asit ile işlendikten sonra geriye kalan hücre duvarı bileşeni olarak tanımlanmaktadır (Kutlu 2008).

Yem bitkilerine ait ADL içerikleri, ADF analizinde kullanılan örnekler üzerinden yapılan analizler aracılığı ile belirlenmiştir ( $W_2$ ). Bu amaçla ADF sonrası torbalar %72'lik  $H_2SO_4$  içerisinde 30 dakikada bir çalkalamak suretiyle 3 saat süresince bekletilmiştir. Bekleme sonrasında torbalar çeşme suyu ile pH nötr oluncaya kadar yıkanmış ve torbalar etüvde  $105^{\circ}C$ 'de 4 saat kurutulmuştur. Desikatöre alınarak soğutulan örnekler hassas terazide tartımları yapılmıştır ( $W_3$ ). Aynı uygulama yem örneği konmadan boş filtre torbayada uygulanmıştır (C). Elde edilen veriler aşağıdaki

formülde yerine konularak, yem materyallerinin ADL içerikleri hesaplanmıştır (Van Soest *et al.* 1991).

$$\% \text{ ADL} = [ W_3 - (W_1 \times C) \times 100 ] / W_2$$

**W<sub>1</sub>**: Torbaların darası, g

**W<sub>2</sub>**: Örnek ağırlığı, g

**W<sub>3</sub>**: “Örnek + torba” nın kurutulduktan sonraki ağırlığı, g

**C**: Kör ağırlığı (boş torbanın kurutulduktan sonraki ağırlığı/darası), g



**Şekil 3.6.** Yem Örneklerinde ADL Analizi

### 3.2.1. *In vitro* Gaz Üretim Tekniğinin Uygulanması

Yeme örneklerine fumarik asit (Fu), malik asit (Ma) ve formik asit (Fo) ile bu asitlerin farklı kombinasyonları (Fu+Ma, Fu+Fo, Fo+Ma ve Fu+Ma+Fo asit) kuru madde esasına göre 200 mg yeme %0.20, 0.40, 0.60, 0.10+0.20, 0.10+0.30, 0.30+0.20 ve 0.07+0.13+0.20'si kadar olacak şekilde hesaplanmış ve gaz üretimi uygulama sırasında yem örneklerine püskürtme yöntemiyle ilave edilmiştir (EFSA 2014; Bharathidhasan *et al.* 2015).

Yem örneklerinin *in vitro* koşullarda gaz üretimlerinin ölçülmesinde, *in vitro* gaz testi modifiye edilerek uygulanmıştır (Menke *et al.* 1979; Menke and Steingass 1988; Blümmel and Ørskov 1993). *In vitro* gaz üretiminin uygulaması için yaklaşık 2 yaşlarında 2 baş İvesi koçdan rumen sıvısı alınmış ve homojen olarak karıştırılmıştır. Yem örneklerinden cam şiringalara 200 mg olacak şekilde her yem ve uygulama için üç tekerrür olacak şekilde tartılmıştır. Daha sonra üzerine 30 ml rumen sıvısı ve yapay tükürük karışımından (10 ml rumen sıvısı + 20 ml yapay tükürük) ilave edilerek 39 °C'de su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96 saatlerinde oluşan *in vitro* gaz miktarları saptanmıştır (Menke *et al.* 1979), (Şekil 3.7). Her örnek ve standart için okunan gaz değerinden ortalama kör değeri çıkarılarak 200 mg kuru maddeye karşılık gelen değer bulunmuştur. Standart yem (gaz değeri 49.61 ml/200 mg, Hohenheim Üniversitesi, Almanya) gaz değeri baz alınarak hesaplanan düzeltme katsayısı ile yemlerin gaz değerleri çarpılarak yemlerin net gaz üretim değerleri hesaplanmıştır. Rumen sıvısıyla karıştırılan yapay tükürüğün (tampon çözeltisinin) hazırlanışı aşağıda verilmiştir.





**Şekil 3.7.** Yem Örneklerinde Gaz Üretimini Belirlemede Kullanılan Sistem

### 1) Makro Element Çözeltisi

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

### 2) İz Element Çözeltisi

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

### 3) Tampon Çözeltisi

35 g  $\text{NaHCO}_3$  + 4 g  $(\text{NH}_4)\text{HCO}_3$  1 lt saf su içerisinde çözüldürülmüş ve çözeltinin pH'sı 8.1 olarak ayarlanmıştır.



#### 4) Resazurin Çözeltisi

Resazurin kimyasalından 100 mg tartılarak, 100 ml saf su içerisinde çözündürülmüştür.

#### 5) Redüksiyon Çözeltisi

Sodyum hidroksit (NaOH) 2 ml 1.0 N (Normal) + 285 mg  $\text{Na}_2\text{S}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$  + 47.5 ml saf su içerisinde çözündürülmüş, bu çözelti rumen sıvısı alınmadan hemen önce hazırlanmış ve taze olarak hazırlanmış ve hemen kullanılmıştır.

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

474 ml saf su, 237 ml makro mineral çözeltisi, 0.12 ml mikro mineral çözeltisi, 1.22 ml resazurin çözeltisi, 237 ml tampon çözeltisi ve 47.5 ml redüksiyon çözeltisi karıştırılarak hazırlanmıştır.

Gaz üretim parametreleri, Ørskov and McDonald (1979)'ın bildirdiği modele göre SAS paket programında aşağıdaki matematik model kullanılarak hesaplanmıştır.

$$y = a+b(1-e^{-ct})$$

burada;

a: hemen çözülebilir fraksiyondan oluşan gaz miktarı (ml)

b: zamana bağlı oluşan gaz miktarı (ml)

c: gaz üretim hızı

a+b: potansiyel gaz üretimi (ml)

Yem ham maddelerinin metabolik enerji (ME) ve organik madde sindirilebilirliği (OMS) Menke and Steingass (1988) tarafından bildirilen aşağıdaki eşitliklerle saptanmıştır. Net enerji laktasyon ( $NE_L$ ) ise Gürsoy ve Macit (2015)'in bildirdiği eşitlikten yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$OMS, \% = 15.38 + 0.8453 \times G\ddot{U} + 0.0595 \times HP + 0.0675 \times HK$$

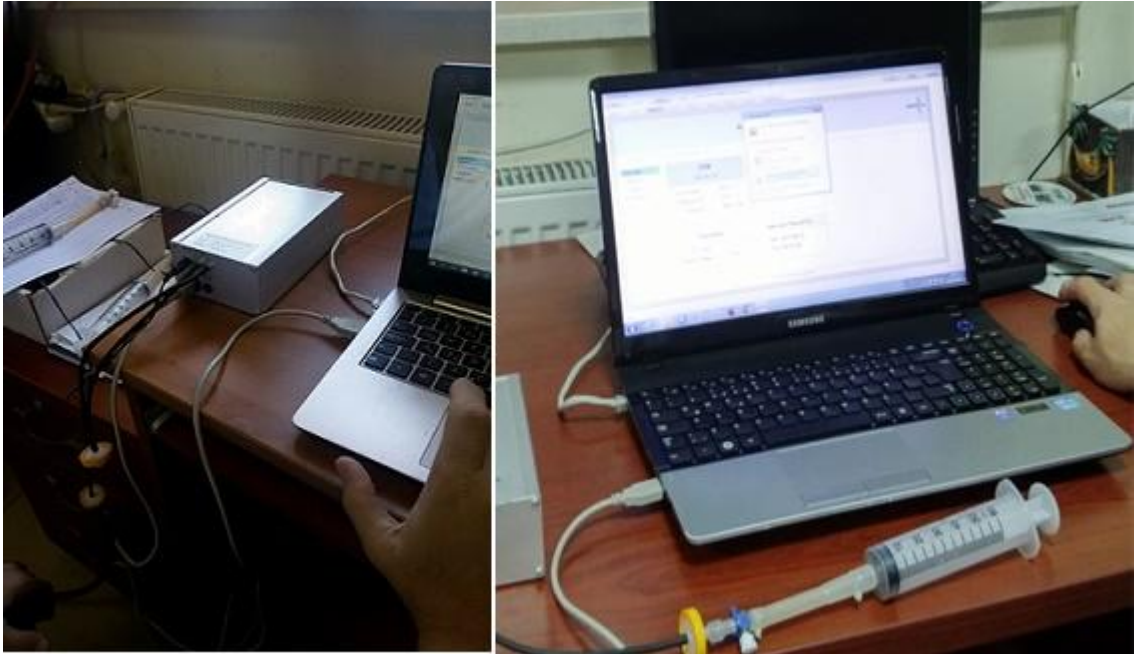
$$ME, MJ/kg DM = 2.20 + 0.1357 \times G\ddot{U} + 0.057 \times HP + 0.002859 \times HY^2$$

$$NE_L (MJ/kg KM) = 0.101 \times G\ddot{U} + 0.051 \times HP + 0.112 \times HY$$

(GÜ: 200 mg kuru yem örneğinin 24 saat inkübasyon süresi sonundaki net gaz üretimi, HP: %ham protein, HY: %ham yağ ve HK: %ham kül).

### 3.2.2. Metan Üretimini Belirlenmesi

*In vitro* gaz üretim tekniğinde 24 saat'lik fermentasyon sonunda oluşan gaz plastik şırınga vasıtasıyla alınarak S-AGM 1010 cihazına (Şekil 3.8) enjekte edilerek  $CH_4$  içeriği belirlenmiş ve ml olarak ifade edilmiştir (Goel *et al.* 2008).



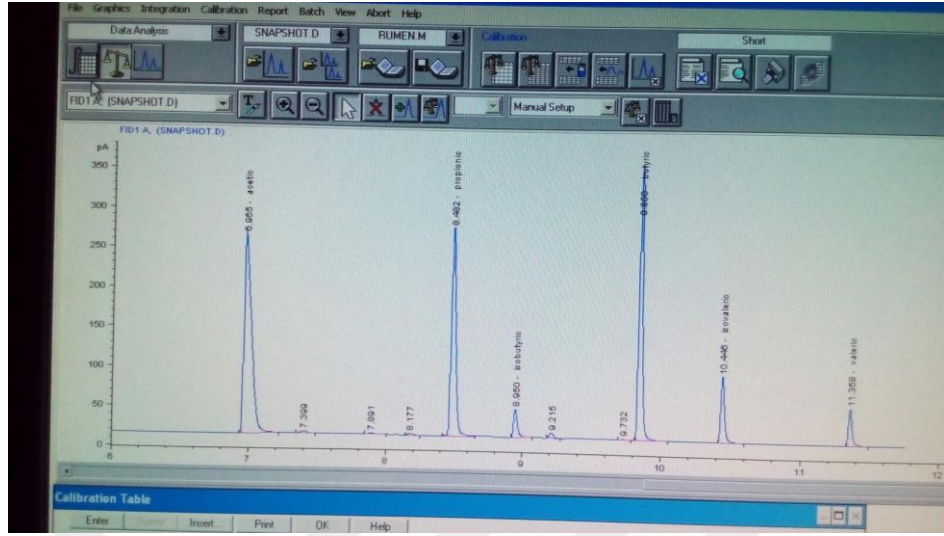
**Şekil 3.8.** Yem Örneklerinin Metan Üretimini Belirlemede Kullanılan S-AGM 1010 Cihazı

### 3.2.3. Uçucu Yağ Asitlerinin Belirlenmesi

*In vitro* gaz üretim denemesi sonunda şırıngalar içerisinde kalan rumen sıvısında toplam uçucu yağ asitleri (TUYA) ile birlikte bireysel olarak asetik, propiyonik, butirik, izobutirik, valerik ve izovalerik asitleri Wiedmeier *et al.* (1987)'nin bildirdiği yöntemle göre gaz kromatografisi (Agilent Technologies 6890N gaz kromatografisi, Stabilwax-DA, 30 m, 0.25 mm ID, 0.25 µm df. Max. temp: 260°C. Cat. 11023) ile Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Laboratuvarı'nda yapılmıştır.



**Şekil 3.9.** Uçucu Yağ Asitlerini Belirlemede Kullanılan GC Cihazı



**Şekil 3.10.** Uçucu Yağ Asidi Kromatografisi

### 3.3. İstatistik Analizler

Araştırmada tesadüf parsellerinde 3 x 8 faktöriyel deneme deseni şeklinde düzenlenmiş ve elde edilen veriler SAS paket programında varyans analizine tabi tutulmuştur (SAS 2016). Gruplara ait ortalamaların karşılaştırılmasında ise Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (Snedecor and Cochran 1976).

Yemlerin ve organik asitlerin etkilerini test etmek için aşağıdaki matematik model kullanılmıştır.

$$Y_{ijk} = \mu + a_i + b_j + (a \times b)_{ij} + e_{ijk}$$

$Y_{ijkl}$  = Gaz üretim parametreleri ve  $CH_4$  üretiminin herhangi birisinin değeri

$\mu$  = Populasyon ortalaması

$a_i$  = Yemlerin etkisi

$b_j$  = Organik asitlerin etkisi

$(a \times b)_{ij}$  = Yemler (i) ve Organik asitlerin (j) interaksyonu

$e_{ijk}$  = Hata

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

##### 4.1. Yem Bitkilerinin Kimyasal Bileşimi

Erzurum ili merkez ilçesi mer'alarında doğal olarak yetişen baklagil yem bitkilerinden yonca (*Medicago polymorpha*), ak üçgül (*Trifolium repens*) ve tüylü fiğ (*Vicia villosa*)'in kuru madde (KM), ham kül (HK), ham protein (HP), ham yağ (HY), nötr deterjan fiber (NDF), asit deterjan fiber (ADF) ve asit deterjan lignin (ADL) içeriklerine ait ortalama değerler ve varyans analiz sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Yemlerin Kimyasal Kompozisyonu, (% KM'de)

Yemler	Kimyasal Bileşim, (%)							
	KM	HK	HP	HY	HS	ADF	NDF	ADL
Yonca	95.72	10.37 <sup>c</sup>	17.64	1.04 <sup>b</sup>	14.33 <sup>c</sup>	19.86 <sup>c</sup>	30.49 <sup>c</sup>	6.73 <sup>c</sup>
Tüylü Fiğ	95.59	10.94 <sup>b</sup>	18.37	1.12 <sup>a</sup>	24.96 <sup>a</sup>	31.89 <sup>a</sup>	45.18 <sup>a</sup>	10.88 <sup>a</sup>
Ak Üçgül	95.03	13.10 <sup>a</sup>	17.12	1.57 <sup>a</sup>	21.48 <sup>b</sup>	27.65 <sup>b</sup>	40.39 <sup>b</sup>	8.80 <sup>b</sup>
OSH	0.246	0.300	1.325	0.270	0.654	0.363	0.738	0.532
P	ÖS	**	ÖS	**	**	**	**	**

<sup>a-c</sup> Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir. OSH: Ortalamaların Standart Hatası. \*\* = P<0.01, ÖS = Önemsiz (P>0.05) KM: kuru madde, HK: ham kül, HP: ham protein, HY: ham yağ, HS: ham selüloz NDF: nötr deterjan fiber, ADF: asit deterjan fiber ve ADL: asit deterjan lignin

Yemlerin KM ve HP içerikleri hariç diğer besin maddeleri arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur (P<0.01). Karabulut vd (2007), yonca ve ak üçgül için, Grela and Pietrzak (2014) ise sadece yonca için kuru madde oranını sırasıyla; %91.4, %90.2 ve %91.04 olarak tespit etmişlerdir.

Çalışmada kullanılan yem bitkilerinin ham kül içerikleri %10.37 ile %13.10 arasında değişmiştir. En yüksek ham kül içeriği %13.10 ile ak üçgülde, en düşük ise %10.37 ile yoncada tespit edilmiştir. Ham kül içeriği açısından yem bitkileri Ak Üçgül > Tüylü Fiğ > Yonca şeklinde sıralanmıştır. Chen *et al.* (2018)'nin yonca için bildirdikleri %10.1, Malushi *et al.* (2017)'nin yonca için bildirdikleri %8.6-10.8, Tabatabaei *et al.* (2011), büyümenin farklı aşamalarında ak üçgül için tespit ettikleri %12.30 ve %13.38 ham kül değerleri mevcut çalışmadan elde edilen veriler ile paralellik göstermiştir. Negash *et al.* (2017), tüylü fiğ için bildirdikleri ham kül oranı (%12.94) ise mevcut çalışmada belirlenen bulgulardan daha yüksek olmuştur. Genel olarak 100-120 g HK / kg KM içeren yemlerin, ham kül içeriklerinin normal düzeyde olduğu ve ham kül değerinin yemin çeşidi, hasat dönemi ve uygulanan tarım tekniklerine bağlı olarak değişebileceği çeşitli çalışmalarda ifade edilmiştir (Kamalak vd 2005; Karabulut vd 2007; Canbolat vd 2013a). Ham kül içeriğinin %17'nin üzerinde olması durumunda yemlerin herhangi bir nedenden dolayı kirlenmiş olabileceğinin bir göstergesi olduğu bildirilmektedir (Kutlu 2008).

İncelenen baklagil kaba yemleri ham protein içerikleri %17.12-18.37 arasında değişmiş ve protein değerleri bakımından bitkiler arasındaki farklılıkların önemsiz bulunmuştur ( $P>0.01$ ). Elde edilen değerler, Getachew *et al.* (2018)'nin yonca için bildirdikleri %21.5-24.2, Garcia *et al.* (2018)'nin yonca için bildirdikleri %19, Chen *et al.* (2018)'nin yonca için bildirdikleri %21.4, Guzatti *et al.* (2017)'nin kırmızı üçgül için bildirdikleri %20, Hublein *et al.* (2016)'nin ak üçgül için bildirdikleri %20.4 değerinden düşük olmasına rağmen Canbolat ve Karaman (2009) 'nin adi yonca ve tüylü fiğ için, Navarro-Villa *et al.* (2011)'nin kırmızı üçgül için, Uslu vd (2018)'nin ise ak üçgül için bildirdikleri %17.29 ve %18.46 değerleri arasında yer almıştır. Mevcut çalışmada en yüksek NDF (%45.18), ADF (%31.89) ve ADL (%10.88) tüylü fiğde en düşük değerler ise yine aynı sırayla (%30.49, %19.86 ve %6.73) yoncada saptanmış ve yemler arasındaki farklılıklar önemli bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Elde edilen bulgular diğer çalışmalarla kıyaslandığında, yonca için tespit edilen NDF ve ADF içerikleri Mahmood Ameen (2015)'in bulguları ile uyumlu, Işık (2016)'in bildirişlerinden ise yüksek, Uslu vd (2018), Malushi *et al.* (2017), Du *et al.* (2016), Heublein *et al.* (2016) ve Güler

(2016)'in bulgularından ise düşük olmuştur. Yemlerin yetiştirildiği bölgelerin iklimi, toprak yapısı, gübreleme, bitki tür ve çeşidi, hasat zamanı, yemlerin saklanma koşulları ve vejetasyon dönemi gibi birçok faktör yemlerin besin madde kompozisyonunda değişikliğe neden olmuştur.

Robinson (2003), ADF'nin yemin rumende sindirilebilirliği ile ilişkili olduğunu ve yemlerin net enerji içeriklerinin belirlenmesinde kullanıldığını belirtmiştir. Ronald and Rex (1993) ise ADF ve NDF sindirilebilirliğinin %20-80 arasında olduğunu, ADF içeriği benzer olan iki kaba yemden lignin içeriği düşük olanın daha iyi sindirildiğini ve yemlerin olgunluk derecesine ve türüne göre bu oranın değiştiğini bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada en düşük lignin (%6.73) içeriğine sahip olan yonca yem bitkisinin daha iyi sindirilebilirlik değerine sahip olacağı düşünülmektedir.

Van Soest and Robertson (1985), ışık, ısı ve toprağın yem kalitesini etkilediğini, Heath *et al.* (1985) ise yem bitkilerinin soğuk koşullarda tamamen olgunlaşmadığını ve daha fazla ham protein içerdiklerini belirtmişlerdir. Söz konusu araştırmacıların tespitleri dikkate alındığında, çalışmada kullanılan yem bitkilerinde hücre duvarı bileşenlerinin düşük, protein oranının ise yüksek olması bitkilerin yetiştiği bölgenin doğal şartlarından kaynaklanmış olabileceği söylenebilir.

#### **4.2. Yemlerin ve Organik Asitlerin Organik Madde Sindirilebilirliği, Metabolik Enerji ve Net Enerji Laktasyon İçerikleri Üzerine Etkileri**

Organik asitlerin bazı baklagil yemlerinin OMS, ME ve NE<sub>L</sub> içerikleri üzerine etkileri saptanmış ve elde edilen sonuçları Çizelge 4.2'de verilmiştir. Yemler × organik asitin (OA) interaksiyon etkisi incelendiğinde saptanan tüm parametreler üzerine önemli etkide (P<0.01) olmuştur. Yem çeşidinin OMS, ME ve NE<sub>L</sub> içerikleri üzerine etkisi önemli (P<0.01) saptanırken, organik asitlerin söz konusu parametrelerden yalnızca NEL değerlerini etkilemiştir (P<0.01).

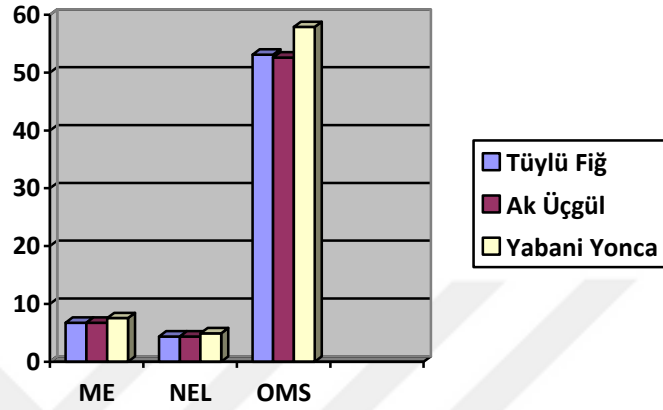
**Çizelge 4.2.** Yemlerin ve Organik Asitlerin Organik Madde Sindirilebilirliği, Metabolik Enerji ve Net Enerji Laktasyon İçerikleri Üzerine Etkileri

Yemler	Organik Asit	ME (MJ/Kg KM)	NE <sub>L</sub> (MJ/Kg KM)	OMS (%)
Yonca	K	7.73 <sup>abcd</sup>	5.12 <sup>abc</sup>	59.35 <sup>abcd</sup>
	Fo	8.14 <sup>a</sup>	5.37 <sup>a</sup>	61.90 <sup>a</sup>
	Fu	7.07 <sup>cdefg</sup>	4.28 <sup>def</sup>	52.66 <sup>efg</sup>
	Ma	7.96 <sup>ab</sup>	5.21 <sup>ab</sup>	60.95 <sup>ab</sup>
	Fu+Fo	7.78 <sup>abc</sup>	5.20 <sup>ab</sup>	59.74 <sup>abc</sup>
	Fu+Ma	7.37 <sup>abcde</sup>	4.87 <sup>abcd</sup>	56.89 <sup>abcde</sup>
	Fo+Ma	7.23 <sup>cdef</sup>	4.70 <sup>bcde</sup>	56.02 <sup>bcdef</sup>
	Fu+Fo+Ma	7.10 <sup>cdefg</sup>	4.63 <sup>bcde</sup>	55.48 <sup>cdef</sup>
Tüylü Fiğ	K	6.60 <sup>efg</sup>	4.23 <sup>def</sup>	51.71 <sup>efg</sup>
	Fo	6.83 <sup>efg</sup>	4.46 <sup>def</sup>	53.77 <sup>efg</sup>
	Fu	6.97 <sup>cdefg</sup>	4.52 <sup>cdef</sup>	54.50 <sup>defg</sup>
	Ma	6.24 <sup>g</sup>	3.97 <sup>f</sup>	49.52 <sup>g</sup>
	Fu+Fo	6.79 <sup>efg</sup>	4.38 <sup>def</sup>	53.43 <sup>efg</sup>
	Fu+Ma	6.92 <sup>efg</sup>	4.51 <sup>cdef</sup>	54.11 <sup>efg</sup>
	Fo+Ma	6.87 <sup>efg</sup>	4.48 <sup>def</sup>	53.78 <sup>efg</sup>
	Fu+Fo+Ma	6.92 <sup>efg</sup>	4.51 <sup>cdef</sup>	53.91 <sup>efg</sup>
Ak Üçgül	K	6.82 <sup>efg</sup>	4.37 <sup>def</sup>	52.96 <sup>efg</sup>
	Fo	6.73 <sup>efg</sup>	4.29 <sup>def</sup>	52.21 <sup>efg</sup>
	Fu	6.60 <sup>efg</sup>	4.23 <sup>def</sup>	51.64 <sup>efg</sup>
	Ma	6.77 <sup>efg</sup>	4.35 <sup>def</sup>	52.34 <sup>efg</sup>
	Fu+Fo	6.46 <sup>fg</sup>	4.20 <sup>ef</sup>	50.83 <sup>fg</sup>
	Fu+Ma	6.87 <sup>defg</sup>	4.42 <sup>def</sup>	53.44 <sup>efg</sup>
	Fo+Ma	6.91 <sup>defg</sup>	4.54 <sup>cdef</sup>	53.73 <sup>efg</sup>
	Fu+Fo+Ma	6.83 <sup>efg</sup>	4.50 <sup>cdef</sup>	53.59 <sup>efg</sup>
OSH		0.258	0.190	1.604
P		**	**	**
Yem	Tüylü Fiğ	6.77 <sup>b</sup>	4.38 <sup>b</sup>	53.09 <sup>b</sup>
	Ak Üçgül	6.75 <sup>b</sup>	4.36 <sup>b</sup>	52.59 <sup>b</sup>
	Yonca	7.55 <sup>a</sup>	4.92 <sup>a</sup>	57.87 <sup>a</sup>
OSH		0.091	0.067	0.567
P		**	**	**
Organik Asit	K	7.05	4.57 <sup>ab</sup>	54.67
	Fo	6.99	4.51 <sup>ab</sup>	54.27
	Fu	7.23	4.71 <sup>a</sup>	55.96
	Ma	6.88	4.34 <sup>b</sup>	52.93
	Fu+Fo	7.05	4.60 <sup>ab</sup>	54.81
	Fu+Ma	7.01	4.59 <sup>ab</sup>	54.67
	Fo+Ma	7.01	4.57 <sup>ab</sup>	54.51
	Fu+Fo+Ma	6.95	4.55 <sup>ab</sup>	54.33
OSH		0.149	0.110	0.926
P		ÖS	**	ÖS

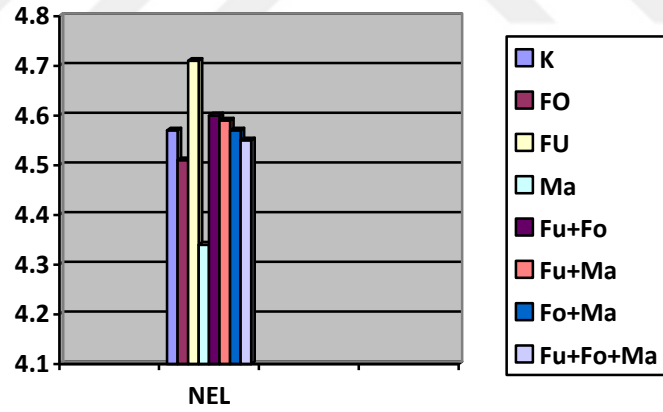
<sup>a-g</sup> Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir. OSH: Ortalamaların Standart Hatası. \*\* = P<0.01, ÖS= Önemsiz (P>0.05), ME:Metabolik enerji, NE<sub>L</sub>: Net enerji laktasyon ve OMS:Organik madde sindirilebilirliği, Fo: Formik asit, Fu: Fumarik asit ve Ma: Malik asit



Yem ve organik asitlerin ME,  $NE_L$  ve OMS içerikleri üzerine etkileri ile ilgili önemli bulunan ortalamalara ait değişimlerin grafiği Şekil 4.1 ve 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Yemlerin ME,  $NE_L$  ve OMS İçerikleri Üzerine Etkileri



Şekil 4.2. Organik Asitlerin  $NE_L$  İçerikleri Üzerine Etkileri

Yemler ve organik asit arası interaksiyonların ME, NE<sub>L</sub> ve OMS değerleri üzerine etkisi sırasıyla; 6.24-8.14, 3.97-5.37, 49.52-61.90 arasında değişmiştir. En yüksek ME, NE<sub>L</sub> ve OMS değerleri yonca × formik asit, en düşük değerler ise tüylü fiğ × malik asit interaksiyonlarında saptanmıştır.

Organik madde sindirilebilirliği (OMS), en yüksek yoncada (%57.87) ve en düşük ak üçgülde (%52.59) bulunmuştur (P<0.01). Organik asitlerin OMS değerleri üzerine önemli bir etkisi olmadığı saptanmıştır (P>0.01). Malik asit ile tüylü fiğ muamelesi en düşük (%49.52), formik asit ile yonca muamelesi ise en yüksek (%61.90) OMS değerine sahip olmuştur (P<0.01).

Yem bitkileri içerisinde en yüksek ME, NE<sub>L</sub> ve OMS değerleri yonca için tespit edilmiştir. Tüylü fiğ ve ak üçgül kendi aralarında benzer bulunurken, yoncadan ise daha düşük değerlere sahip olmuşlardır. Ak üçgül ve tüylü fiğın OMS, ME ve NE<sub>L</sub> içeriklerinin yoncadan düşük çıkması hücre duvarı bileşenlerinin yoncaya ait değerlerden daha yüksek, 24. saatte ölçülen *in vitro* gaz miktarının ise yonca için tespit edilen değerden daha düşük olmasından kaynaklandığı söylenebilir. Organik madde sindirimi ve ME değerleri organik asitlerden etkilenmemiş olmasına rağmen, organik asitlerin NE<sub>L</sub> içerikleri üzerine etkileri önemli bulunmuştur (P<0.01). Organik asitler içerisinde fumarik asit en yüksek NE<sub>L</sub> değerine sahip olmuş, diğer organik asit ve kombinasyonları ise fumarik asite ait olan değerden daha düşük ve kendi aralarında ise benzer bulunmuştur.

Yoncada en yüksek NE<sub>L</sub> ve OMS değerleri yoncanın Fo, Fu ve Fu+Fo asitlerle muamele edilen gruplarda saptanmış ve kontrol yonca ile paralellik göstermiştir. Tüylü fiğde en düşük ME, NE<sub>L</sub> ve OMS değerleri Fo asitle, en yüksek performans değerleri ise Fo dışında kalan diğer organik asitlerle (Fo, Fu, Ma, Fu+Fo, Fu+Ma, Fo+Ma ve Fu+Fo+Ma asit) muamele sonucu elde edilmiştir. Ham yağ oranı yüksek olan yemlerin organik madde sindirilebilirlik değerinin düşük olması, yağların karbonhidratlardan daha kompleks yapıda ve bakteriler tarafından daha az değerlendirildiği şeklinde açıklanabilir. Araştırma bulguları değerlendirildiğine NDF, ADF ve ADL gibi rumende

zor çözünen besin maddelerince zengin olan tüylü fiğın, mikrobiyal fermantasyonu sınırlayarak OMS miktarını düşürdüğü söylenebilir. Mevcut çalışmada kullanılan tüylü fiğle ilgili olarak elde edilen sonuçlarda bu bilgiyi doğrular niteliktedir. Tüylü fiğın ADF ve NDF içeriği yüksek olurken, OMS düşük bulunmuştur. Metabolik enerji ve OMS hesaplamalarında günlük (24 saatlik inkübasyon sonrasında) üretilen toplam gaz miktarından yararlanılmaktadır. ADF ve NDF içeriği fazla olan yemlerin *in vitro* gaz üretim değerleri düşük olması nedeniyle ME ve OMS değerleri de buna bağlı olarak düşmüştür.

Bu çalışmada tespit edilen ME, NE<sub>L</sub> ve OMS değerleri, Tunç vd (2017)'nin yonca için bildirdikleri değerlerden yüksek, Kamalak vd (2011)'nin yonca için, Uslu vd (2018)'nin yonca ve ak üçgül için, Filya *et al.* (2002), Kamalak vd (2004), Denek ve Deniz (2004), Tian *et al.* (2014), Canbolat ve Karaman (2009), Canbolat vd (2013b), Gürsoy ve Macit (2015)'in bazı baklagil yem bitkileri için bildirdikleri sonuçlardan düşük, Abaş vd (2005)'nin fiğ ve yonca için, Hamilton *et al.* (2005)'nin ise yonca için bildirdikleri değerlerle paralellik göstermiştir. Yemler arasındaki çeşit farklılıklarının OMS ve enerji içeriklerini etkilediği Kılıç ve Sarıçiçek (2007) tarafından bildirilmiştir. Buna göre yukarıda belirtilen farklılıklar bu faktörlere bağlanabilir. Organik asitlerin bireysel veya kombinasyonlar halinde ME, NE<sub>L</sub> ve OMS değerleri üzerine etkileri konusunda, literatür verisi bulunmadığı için söz konusu parametreler tartışılmamıştır.

### **4.3. Yemlerin ve Organik Asitlerin *In vitro* Gaz ve Metan Üretimi Miktarları Üzerine Etkileri**

Bazı baklagil kaba yemleri ve organik asitlerin farklı saatlerde tespit edilen *in vitro* gaz üretimi ile inkübasyonun 24. saatinde ölçülen CH<sub>4</sub> gazı miktarları saptanmış ve Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Yemler × organik asit (OA) interaksyonları incelendiğinde yemlerin ve organik asitlerin (bireysel ve kombinasyonlarını) tüm inkübasyon saatlerinde *in vitro* gaz üretimi üzerine etkisi önemli (P<0.01) olmuştur. Yemler × OA interaksyonları ile

yemlerin *in vitro* ortamda inkübasyonun 24. saatinde ölçülen CH<sub>4</sub> üretimi üzerine etkileri önemli (P<0.01), organik asitlerin söz konusu parametre üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur (P>0.01).

Yem × OA interaksiyonlarının *in vitro* gaz üretiminin 3., 6., 12., 24., 48., 72. ve 96. saatlerde miktarı sırasıyla; 12.0-17.5, 20.2-32.6, 27.4-46.8, 43.0-58.7, 48.9-65.0, 54.0-71.6 ve 55.6-74.4 ml/200 mg KM arasında değişmiştir. En yüksek gaz üretimi yonca × fumarik asit ve yonca × malik asit interaksiyonu için, en düşük değerler ise tüylü fiğ × formik asit, tüylü fiğ × Fo+Ma asit ile tüylü fiğ × Fu+Fo+Ma asit interaksiyonlarında saptanmıştır. Organik asitlerin gaz üretim değerleri üzerinde önemli etkisi olmuştur (P<0.01). İnkübasyonun 96. saatinde fumarik asit muamelesi en yüksek (67.8 ml), formik asit muamelesi ise en düşük (60.4 ml) gaz üretim miktarlarına sahip olmuştur (P<0.01).

Ak üçgül × fumarik ve formik asitin diğer yemlere göre daha az gaz üretmeleri bu iki organik asit kombinasyonunun mikroorganizmalar için daha az yararlanılabilir protein ve ADL sağlamalarından kaynaklanmış olabilir. Yem bitkileri içerisinde yonca tüm inkübasyon saatlerinde, ak üçgül ise 6 ve 12. saatlik inkübasyonların haricindeki diğer inkübasyonlarda en yüksek *in vitro* gaz üretim değerlerine sahip olmuşlardır. Tüylü fiğ ise her iki yemden de daha düşük değerler göstermiştir. Tüylü fiğde gaz üretiminin yonca ve ak üçgülden daha düşük çıkması, fiğin yapısındaki fenolik bileşenlerden, yüksek HP içeriği ve yoncadan fazla HY içeriğinden kaynaklanmış olabileceği söylenebilir (Kılıç, 2005).

**Çizelge 4.3.** Yemlerin ve Organik Asitlerin *İn vitro* Gaz ve Metan Üretim Miktarları Üzerine Etkileri (ml/200mg KM)

		İnkübasyonun süresi							
Yemler	Organik Asit	3.saat	6.saat	12.saat	24.saat	48.saat	72.saat	96.saat	Metan #
Yonca	K	16.5 <sup>bcd</sup>	29.4 <sup>bc</sup>	43.5 <sup>abc</sup>	54.0 <sup>cd</sup>	60.9 <sup>bcd</sup>	67.4 <sup>bc</sup>	69.8 <sup>bc</sup>	6.34 <sup>ab</sup>
	Fo	13.3 <sup>gh</sup>	23.1 <sup>ghijk</sup>	36.0 <sup>fgh</sup>	44.5 <sup>hi</sup>	52.5 <sup>hijk</sup>	57.2 <sup>ijkl</sup>	59.8 <sup>j</sup>	6.60 <sup>a</sup>
	Fu	17.5 <sup>ab</sup>	32.6 <sup>a</sup>	46.8 <sup>a</sup>	58.7 <sup>a</sup>	64.9 <sup>a</sup>	71.2 <sup>a</sup>	73.3 <sup>ab</sup>	5.56 <sup>bcde</sup>
	Ma	16.7 <sup>abc</sup>	32.0 <sup>a</sup>	46.7 <sup>a</sup>	58.4 <sup>a</sup>	64.1 <sup>ab</sup>	69.8 <sup>ab</sup>	71.6 <sup>ab</sup>	6.62 <sup>a</sup>
	Fu+Fo	14.5 <sup>efg</sup>	27.6 <sup>cd</sup>	38.3 <sup>defg</sup>	44.9 <sup>hi</sup>	54.4 <sup>fgh</sup>	60.5 <sup>efghij</sup>	62.1 <sup>fghij</sup>	6.16 <sup>abc</sup>
	Fu+Ma	15.4 <sup>cdef</sup>	22.9 <sup>hijk</sup>	40.8 <sup>cde</sup>	52.3 <sup>cde</sup>	59.4 <sup>cde</sup>	64.3 <sup>cde</sup>	67.2 <sup>cde</sup>	6.60 <sup>abcd</sup>
	Fo+Ma	14.0 <sup>fg</sup>	25.9 <sup>def</sup>	35.5 <sup>ghi</sup>	47.6 <sup>gh</sup>	56.1 <sup>efgh</sup>	61.9 <sup>efgh</sup>	64.2 <sup>defgh</sup>	6.06 <sup>abcd</sup>
	Fu+Fo+Ma	14.7 <sup>efg</sup>	26.8 <sup>de</sup>	40.7 <sup>cde</sup>	52.3 <sup>cde</sup>	57.6 <sup>cdefg</sup>	64.3 <sup>ghijk</sup>	65.8 <sup>cdef</sup>	5.57 <sup>bcde</sup>
Tüylü Fiğ	K	15.1 <sup>def</sup>	23.9 <sup>fghi</sup>	38.9 <sup>defg</sup>	48.0 <sup>fgh</sup>	53.0 <sup>hij</sup>	58.6 <sup>ghijk</sup>	60.4 <sup>ghij</sup>	5.23 <sup>cde</sup>
	Fo	12.0 <sup>i</sup>	21.5 <sup>ijkl</sup>	31.3 <sup>j</sup>	43.0 <sup>i</sup>	48.9 <sup>k</sup>	54.0 <sup>l</sup>	55.6 <sup>k</sup>	5.59 <sup>bcde</sup>
	Fu	15.6 <sup>cde</sup>	25.1 <sup>efgh</sup>	41.8 <sup>bcd</sup>	53.4 <sup>cd</sup>	54.6 <sup>fghi</sup>	59.5 <sup>fghijk</sup>	62.9 <sup>efghij</sup>	5.55 <sup>bcde</sup>
	Ma	14.1 <sup>fg</sup>	25.2 <sup>efg</sup>	40.7 <sup>cde</sup>	50.8 <sup>cdefg</sup>	54.8 <sup>fgh</sup>	61.1 <sup>fghijk</sup>	61.5 <sup>fghij</sup>	5.23 <sup>cde</sup>
	Fu+Fo	12.6 <sup>hi</sup>	21.2 <sup>kl</sup>	32.0 <sup>ij</sup>	44.3 <sup>hi</sup>	50.1 <sup>jk</sup>	56.4 <sup>kl</sup>	58.7 <sup>jk</sup>	5.42 <sup>bcde</sup>
	Fu+Ma	14.0 <sup>fg</sup>	23.3 <sup>ghijk</sup>	33.4 <sup>hij</sup>	47.9 <sup>fgh</sup>	52.5 <sup>hijk</sup>	58.0 <sup>hijk</sup>	59.7 <sup>ij</sup>	5.75 <sup>abcde</sup>
	Fo+Ma	11.9 <sup>i</sup>	20.2 <sup>l</sup>	27.4 <sup>k</sup>	42.5 <sup>i</sup>	49.3 <sup>jk</sup>	57.6 <sup>ijkl</sup>	58.9 <sup>jk</sup>	5.67 <sup>bcde</sup>
	Fu+Fo+Ma	13.6 <sup>gh</sup>	23.8 <sup>fghij</sup>	31.5 <sup>j</sup>	43.1 <sup>i</sup>	51.0 <sup>ijk</sup>	58.7 <sup>ghijk</sup>	60.0 <sup>ghij</sup>	5.52 <sup>bcde</sup>
Ak Üçgül	K	17.9 <sup>a</sup>	29.9 <sup>b</sup>	44.9 <sup>ab</sup>	57.6 <sup>ab</sup>	65.0 <sup>a</sup>	71.6 <sup>a</sup>	74.4 <sup>a</sup>	5.20 <sup>de</sup>
	Fo	14.5 <sup>efg</sup>	25.9 <sup>def</sup>	37.6 <sup>efg</sup>	50.4 <sup>defg</sup>	57.2 <sup>defg</sup>	63.6 <sup>de</sup>	65.6 <sup>cdef</sup>	5.27 <sup>cde</sup>
	Fu	16.1 <sup>bcd</sup>	25.8 <sup>def</sup>	37.4 <sup>efg</sup>	52.8 <sup>cd</sup>	59.0 <sup>cde</sup>	66.1 <sup>cd</sup>	67.1 <sup>cde</sup>	4.99 <sup>e</sup>
	Ma	16.1 <sup>bcd</sup>	27.9 <sup>bcd</sup>	39.5 <sup>def</sup>	54.5 <sup>bc</sup>	61.1 <sup>bc</sup>	67.6 <sup>bc</sup>	69.6 <sup>bc</sup>	5.53 <sup>bcde</sup>
	Fu+Fo	15.3 <sup>cdef</sup>	25.8 <sup>def</sup>	38.9 <sup>defg</sup>	51.6 <sup>cdef</sup>	58.2 <sup>cdef</sup>	63.3 <sup>def</sup>	67.5 <sup>cd</sup>	4.92 <sup>e</sup>
	Fu+Ma	14.3 <sup>efg</sup>	25.9 <sup>def</sup>	36.6 <sup>fgh</sup>	48.9 <sup>efg</sup>	54.6 <sup>fghi</sup>	61.4 <sup>efghi</sup>	63.7 <sup>defghi</sup>	5.50 <sup>bcde</sup>
	Fo+Ma	14.5 <sup>efg</sup>	23.8 <sup>fghij</sup>	35.6 <sup>fghi</sup>	50.6 <sup>defg</sup>	57.1 <sup>defg</sup>	62.1 <sup>efg</sup>	64.5 <sup>defg</sup>	5.50 <sup>bcde</sup>
	Fu+Fo+Ma	15.3 <sup>cdef</sup>	22.1 <sup>ijkl</sup>	35.4 <sup>ghi</sup>	48.9 <sup>efg</sup>	54.3 <sup>ghi</sup>	62.3 <sup>efg</sup>	64.5 <sup>defg</sup>	5.41 <sup>bcde</sup>
OSH		0.44	0.71	1.19	1.15	1.16	1.18	1.31	0.651
P		*	**	**	**	**	**	**	**
Yem	Tüylü Fiğ	13.6 <sup>b</sup>	23.0 <sup>c</sup>	34.6 <sup>c</sup>	46.6 <sup>b</sup>	51.8 <sup>b</sup>	58.0 <sup>b</sup>	59.7 <sup>b</sup>	5.49 <sup>b</sup>
	Ak Üçgül	15.5 <sup>a</sup>	25.9 <sup>b</sup>	38.2 <sup>b</sup>	51.9 <sup>a</sup>	58.3 <sup>a</sup>	64.7 <sup>a</sup>	67.1 <sup>a</sup>	5.29 <sup>b</sup>
	Yonca	15.3 <sup>a</sup>	27.5 <sup>a</sup>	41.1 <sup>a</sup>	51.6 <sup>a</sup>	58.7 <sup>a</sup>	64.6 <sup>a</sup>	66.7 <sup>a</sup>	6.12 <sup>a</sup>
OSH		0.15	0.25	0.42	0.41	0.41	0.42	0.46	0.096
P		**	**	**	**	**	**	**	**
Organik Asit	K	16.5 <sup>a</sup>	27.7 <sup>a</sup>	42.4 <sup>a</sup>	53.2 <sup>a</sup>	59.6 <sup>a</sup>	65.9 <sup>a</sup>	68.2 <sup>a</sup>	5.59
	Fo	13.3 <sup>e</sup>	23.5 <sup>c</sup>	35.0 <sup>b</sup>	46.0 <sup>d</sup>	52.8 <sup>c</sup>	58.3 <sup>c</sup>	60.4 <sup>c</sup>	5.79
	Fu	16.4 <sup>a</sup>	27.8 <sup>a</sup>	42.0 <sup>a</sup>	55.0 <sup>a</sup>	59.5 <sup>a</sup>	65.6 <sup>a</sup>	67.8 <sup>a</sup>	5.82
	Ma	15.6 <sup>b</sup>	28.4 <sup>a</sup>	42.3 <sup>a</sup>	54.5 <sup>a</sup>	60.0 <sup>a</sup>	66.2 <sup>a</sup>	67.6 <sup>a</sup>	5.37
	Fu+Fo	14.1 <sup>cd</sup>	24.9 <sup>b</sup>	36.4 <sup>b</sup>	46.9 <sup>cd</sup>	54.2 <sup>bc</sup>	60.1 <sup>bc</sup>	62.8 <sup>b</sup>	5.76
	Fu+Ma	14.6 <sup>c</sup>	24.0 <sup>bc</sup>	36.9 <sup>b</sup>	49.7 <sup>b</sup>	55.5 <sup>b</sup>	61.2 <sup>b</sup>	63.6 <sup>b</sup>	5.50
	Fo+Ma	13.5 <sup>de</sup>	23.3 <sup>c</sup>	32.8 <sup>c</sup>	46.9 <sup>cd</sup>	54.2 <sup>bc</sup>	60.5 <sup>b</sup>	62.5 <sup>b</sup>	5.74
	Fu+Fo+Ma	14.5 <sup>c</sup>	24.2 <sup>bc</sup>	35.9 <sup>b</sup>	48.1 <sup>bc</sup>	54.3 <sup>bc</sup>	61.8 <sup>b</sup>	63.4 <sup>b</sup>	5.50
OSH		0.25	0.41	0.68	0.66	0.67	0.68	0.76	0.156
P		**	**	**	**	**	**	**	ÖS

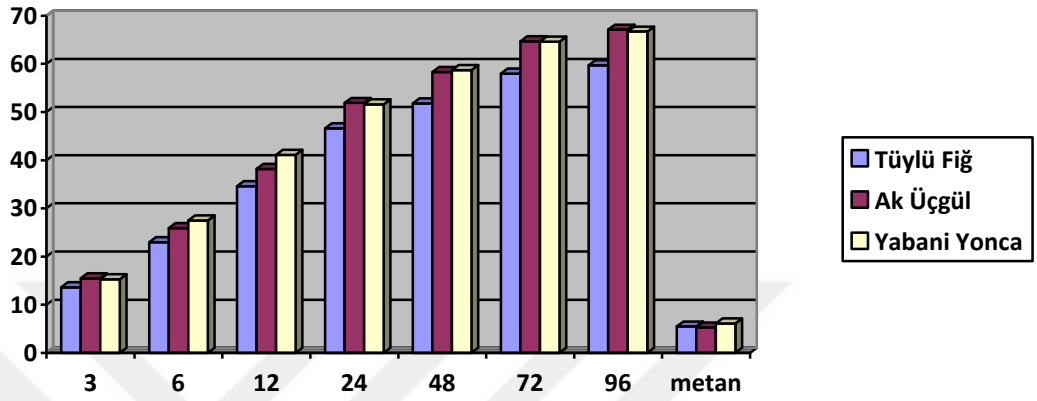
<sup>a-l</sup> Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir.

OSH: Ortalamaların Standart Hatası. \*\* = P<0.01, \* = P<0.05 ve ÖS = Önemsiz (P>0.05)

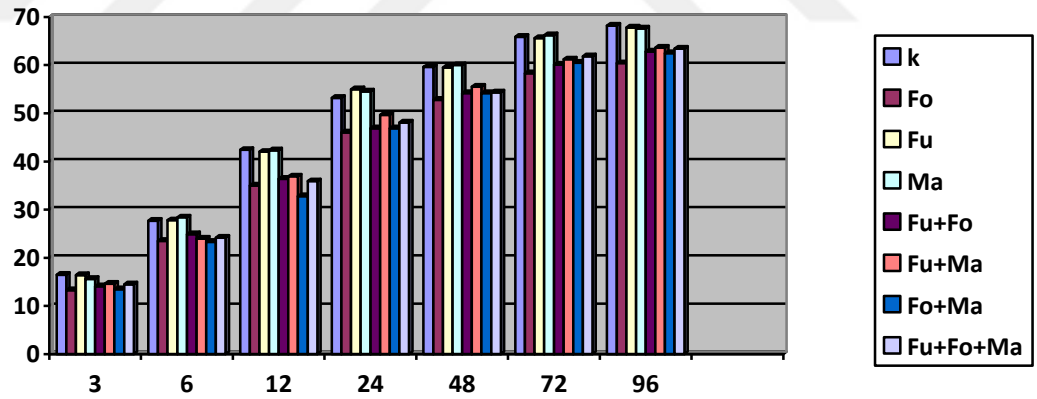
#: 24. saatte ölçülen değerler, ml

Fo: Formik asit, Fu: Fumarik asit ve Ma: Malik asit

Yem ve organik asitlerin *in vitro* gaz ve metan üretim miktarları üzerine etkileri ile ilgili ortalamalara ait değişimlerin grafiği Şekil 4.3 ve 4.4'de verilmiştir.



Şekil 4.3. Yemlerin *In vitro* Gaz ve Metan Üretim Miktarları (ml/saat) Üzerine Etkileri



Şekil 4.4. Organik Asitlerin *In vitro* Gaz ve Metan Üretim Miktarları (ml/saat) Üzerine Etkileri

Getachew *et al.* (2004)'nın belirttiği gibi bitkilerde ham protein içeriğinin artması, karbonhidrat oranının azalmasına neden olmaktadır. Protein parçalanması sonucunda açığa çıkan gaz miktarı karbonhidrat parçalanması sonucunda açığa çıkan gaz miktarından düşük olmaktadır. Bu durum rumende gaz üretimini sağlayan bakterilerin ortamda bulunması ve karbonhidratları proteinlere göre daha iyi değerlendirmeleri ile açıklanabilir.

Organik asitlerden fumarik asit bütün inkübasyon saatlerinde, malik asit ise 3. saatteki inkübasyon haricindeki tüm saatlerde gaz üretiminde artışa neden olmuştur ( $P<0.01$ ). Formik asitle muamele edilen tüylü fiğ bütün inkübasyon saatlerinde en düşük miktarda gaz üretimine sahip olmuştur ( $P<0.01$ ). Çalışmada incelenen formik asit ve Fo+Ma kombinasyonu diğer organik asitlere göre daha az *in vitro* gaz üretimine sebep olmuştur. Bu durum, söz konusu organik asit ve bunun malik asit ile kombinasyonunun rumen protozoa sayısı üzerindeki etkisine bağlı olabilir (Evans and Martin 2000). Çünkü ruminantların ruminal ekosisteminde, protozoalar azot uygulamasında olumsuz bir role sahiptirler. Protozoalar çok sayıda bakteriyi yutarak sindirirler ve böylece rumenden bağırsağa net bir mikrobiyal protein akışının azalmasına neden olurlar (Evans and Martin 2000).

Rumen ortamındaki metanojenik mikroorganizmalar (bakteriler) genellikle rumende yemlerin fermantasyonu sırasında asetik asit ve formik asit oluşumu sırasında meydana gelen  $CO_2$  ve  $H^+$  iyonlarını kullanarak  $CH_4$  gazı üretmektedirler (Wolin *et al.* 1997). Rumende  $CH_4$  üretiminin yemin yapısı, enerji içeriği, miktarı ile rumende fermantasyona uğrayan karbonhidratların miktarı, türü, asetik asit/propiyonik asit oranı, hayvanın vücut büyüklüğü, yaşı gibi birçok faktör tarafından etkilendiği bazı araştırmacılar tarafından ifade edilmektedir (Moss *et al.* 2000; Nkrumah *et al.* 2006).

Mevcut çalışmada, *in vitro* ortamda fermentasyon ile oluşan ve ml olarak tespit edilen  $CH_4$  üretim miktarları, Lima *et al.* (2018)'nin kaba yemlerde  $CH_4$  üretimini saptadıkları (5.55–7.82 ml/200 mg KM) değerlerle paralellik gösterirken, Melesse *et al.* (2017)'nin

bildirdikleri 1.05-1.79 (ml/200 mg KM) arasındaki değerlerden daha yüksek bulunmuştur.

Danielsson *et al.* (2017), ruminantlar tarafından üretilen CH<sub>4</sub> miktarının kuru madde tüketimi, rasyonun bileşimi ve sindirilebilirlik derecesi gibi faktörlere bağlı olarak değiştiğini belirlemişlerdir. Sherasia *et al.* (2017), ruminantlarda kuru madde sindirilebilirliği ile CH<sub>4</sub> üretimi arasında ters bir ilişkinin olduğunu, yani kuru madde sindirilebilirliği arttıkça CH<sub>4</sub> üretiminin düştüğünü bildirmişlerdir. *In vitro* CH<sub>4</sub> gazı üretim miktarının toplam gaz üretimine oranı (TG), baklagil türlerinin fermentasyonunun etkinliğinin bir göstergesi olarak kullanılabilir (Toit *et al.* 2018).

Fatehi *et al.* (2017), toplam uçucu yağ asitleri üretimi ile CH<sub>4</sub> üretimi arasında ters bir ilişkinin olduğunu bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada tespit edilen bulgular da söz konusu araştırmacıların bildirişlerini doğrular nitelikte olmuştur (Çizelge 4.5).

Yemle alınan formik asit rumen sıvısındaki mikroorganizmalar için önemli bir fermentasyon ürünüdür (Hungate *et al.* 1970). Rumen bakterileri CH<sub>4</sub> üretimi için fazla miktarda hidrojen iyonu kullanmaktadırlar (Hungate 1967). Ruminantların rumeninde yemleri fermentasyonu sonucu oluşan hidrojen iyonunu ortadan kaldıran en basit reaksiyonun  $CO_2 + 4H_2 = CH_4 + 2H_2O$  olduğu Liu and Whitman (2008) ile Morgavi *et al.* (2010) tarafından bildirilmiştir.

Yemlere fumarik asit ilavesi lifli materyallerin ayrışmasına yol açtığı ve mikrobiyal popülasyona ise olumsuz etki yapmadan CH<sub>4</sub> üretimini azalttığı bildirilmektedir. Ayrıca, fumarik asit, propiyonik asit üretimi için ara bir ürün olup fumarik asit redüktaz enzimi tarafından süksinik asite dönüştürüldüğünde belirtilmiştir (Voet and Voet 2006). Wolin (1960) ise asetik asit ve bütirik asit üreten yemlerin fermentasyonunun CH<sub>4</sub> üretimini artırdığını, fumarik asitin ise doğrudan propiyonik asit üretiminin ön maddesi olduğunu ve hidrojen iyonlarını CH<sub>4</sub> üretiminden ziyade süksinik asit üretimine yönlendirerek CH<sub>4</sub> oluşumunu azalttığını bildirmiştir.



Pisarcikova *et al.* (2016) ise fumarik asitin bitkilere karışımının yoğun yem içeriği yüksek rasyonlarda propiyonik ve süksinik asit üretimini artırdığı, bu yolla rumende CH<sub>4</sub> üretimini azalttığını tespit etmişlerdir. Bazı araştırmacılar (Asonuma *et al.* 1999; Boadi *et al.* 2004; Bharathidhasan *et al.* 2015)'da *in vitro* şartlarda rasyona fumarik asit ilavesinin CH<sub>4</sub> üretimini azalttığını bildirmişlerdir. Söz konusu araştırmacılar ile Pisarcikova *et al.* (2016)'nın bildirişleri, mevcut çalışmada ak üçgülde fumarik asit kullanımının CH<sub>4</sub> üretiminde azalmaya yol açmasıyla ilgili bulgularla uyum içerisinde olmuştur.

Mevcut çalışmada tüylü fiğ, ak üçgül ve yonca için inkübasyonun 96. saatinde tespit edilen gaz üretim miktarları, Nasehi *et al.* (2017) ile Polat vd (2007)'nin yonca için bildirdikleri değerlerden yüksek, Aderinboye *et al.* (2016), Taghizadeh *et al.* (2008), Paya *et al.* (2007) ve Kılıç (2005)'in yonca için tespit ettikleri sonuçlardan düşük olmasına rağmen, Uslu vd (2018)'nin yonca ve ak üçgül için, Canbolat vd (2013b)'nin yonca ve fiğ için ve Abaş vd (2005)'nin yonca için bildirdikleri değerlerle paralellik göstermiştir.

Kara vd (2015), formik asitin düşük dozları (0.1 ml/L ve 0.2 ml/L)'nın *in vitro* toplam gaz üretimini önemli düzeyde azalttığını, yüksek dozu (0.5 ml/L)'nun ise gaz üretimini artırdığını tespit etmişlerdir. Disodyum malat ve disodyum fumarat ile yapılan bazı çalışmalarda söz konusu katkıların *in vitro* toplam gaz üretimini artırdığı bildirilmiştir (Carro and Ranilla 2003, Tejido *et al.* 2005). Partanen and Jalava (2005), formik asitin toplam gaz üretimi üzerinde büyük bir engelleyici (inhibasyon) etki sergilediğini belirlemişlerdir. Formik asitin organik asitler içerisinde en kısa zincirli ve antibakteriyel etkiye sahip organik asit olması hücre içine kolayca yayılmasına ve sitoplazmanın asitlenmesine sebep olmaktadır (Raftari *et al.* 2009). Bu çalışmada formik asitle muamele edilen yemlerde diğer organik asitlerle muamele edilen yemlere göre daha az gaz üretilmesi söz konusu organik asitin bu özelliğinden kaynaklanmış olabilir.

Bazı araştırmacılar (Duane 1997, Calabro *et al.* 2001), yemlerin *in vitro* gaz üretimleri üzerine yürüttükleri çalışmalarında, yemin NDF içeriği ile gaz üretim miktarı arasında

ters bir ilişkinin olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle, daha önceki çalışmalara atfen yonca ve tüylü fiğ arasındaki farkın, içermiş oldukları NDF değerlerinin farklı olmasından kaynaklandığı söylenebilir (Çizelge 4.1.). Söz konusu farklılıkların, yeme ait yemlerin besin madde içerikleri ve yemlerin tür farklılıkları ile uygulanan organik asit farklılıklarından kaynaklandığı söylenebilir.

Organik asitler ve kombinasyonları yonca, tüylü fiğ ve ak üçgülün 24. saatteki inkübasyonuna CH<sub>4</sub> üretim miktarları üzerine etkileri önemsiz olmuştur (P>0.01). Mevcut çalışmada tespit edilen CH<sub>4</sub> üretimi değerleri, Melesse *et al.* (2017), Ojo *et al.* (2018), Kara vd (2018a), Khamoshi *et al.* (2017), Bharathidhasan *et al.* (2015)'nın formik asit için bildirdikleri değerlerden yüksek, Kara vd (2018b), Uslu vd (2018), Chen *et al.* (2018), Garcia *et al.* (2018), Hernández-Sanchez *et al.* (2018), Nooriyan Soroor *et al.* (2016), Kara vd (2015), Pirondini *et al.* (2015), Reis *et al.* (2014), Kolver *et al.* (2004)'nın bildirdikleri sonuçlardan düşük bulunmasına rağmen, Gunun *et al.* (2018), Toit *et al.* (2018), Soliva *et al.* (2003)'nin tespit ettikleri bulgularla paralellik göstermiştir. Söz konusu çalışmadan elde edilen sonuçların aksine Foley *et al.* (2009b) ve Bharathidhasan *et al.* (2015) malik asit ilavesinin CH<sub>4</sub> üretimini azalttığını bildirmişlerdir.

Rumende CH<sub>4</sub> üretimi yemin enerji içeriği, yemin kalitesi, miktarı, hayvanın kuru madde tüketimi, rumende fermentasyona uğrayan karbonhidratların miktarı ve türü, asetik asit/propiyonik asit oranı, hayvanın canlı ağırlığı ve yaşı gibi bir çok faktör tarafından etkilendiği bazı araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir (Moss *et al.* 2000; Nkrumah *et al.* 2006; Danielsson *et al.* 2017). Sherasia *et al.* (2017), ruminantlarda kuru madde sindirilebilirliği ile CH<sub>4</sub> üretimi arasında ters bir ilişkinin olduğunu, yani kuru madde sindirilebilirliği arttıkça CH<sub>4</sub> üretiminin düştüğünü bildirmişlerdir.

Literatür taraması sırasında organik asitlerin (formik, fumarik, malik asit) bireysel olarak *in vitro* gaz üretim miktarları üzerine etkileri konusunda yayınlanmış sınırlı sayıda çalışmaya ulaşılmış, kombinasyonlarıyla ilgili olarak da herhangi bir çalışmaya

rastlanılmadığından dolayı *in vitro* gaz üretim miktarları ile ilgili sonuçlar arzu edilen düzeyde karşılaştırmalı olarak tartışılmamıştır.

#### **4.4. Yemlerin ve Organik Asitlerin *In vitro* Gaz Üretim Parametreleri Üzerine Etkileri**

Bazı baklagil kaba yemleri ve organik asitlerin *in vitro* gaz üretimi parametreleri üzerine etkileri saptanmış ve Çizelge 4.4'da verilmiştir.

Yemler  $\times$  organik asit (OA) interaksiyonları yemlerin ve organik asitlerin (bireysel ve kombinasyonlar halinde) tespit edilen *in vitro* gaz üretim parametreleri üzerine etkisi önemli ( $P<0.01$ ) olmuştur.

İnteraksiyonlarla (yemler  $\times$  OA) ilgili gaz üretim parametrelerinden "a" ve "b" değeri bakımından, yonca  $\times$  Fu+Ma asit ile yonca  $\times$  fumarik asit muamelesi en yüksek ( $P<0.01$ ), yonca  $\times$  Fu+Fo asit ile tüylü fiğ  $\times$  malik asit en düşük değerlere sahip olmuştur ( $P<0.01$ ). Yem bitkileri içerisinde en yüksek a, b ve a+b değerleri ak üçgülde bulunmuştur. Tüylü fiğ ise söz konusu parametreler için en düşük değerleri göstermiştir. Malik asit muamelesi en yüksek b ve a+b (61.03 ve 65.34); formik asit muamelesi ise en düşük (52.59 ve 58.49) değerlere sahip olmuştur ( $P<0.01$ ). En yüksek a ve en düşük c değerleri (8.28 ve 0.052) Fu+Fo+Ma asit, en düşük a ve en yüksek c değeri ise (4.31 ve 0.078) malik asit muamelesinden elde edilmiştir ( $P<0.01$ ).

**Çizelge 4.4.** Yemlerin ve Organik Asitlerin *In vitro* Gaz Üretim Parametreleri Üzerine Etkileri

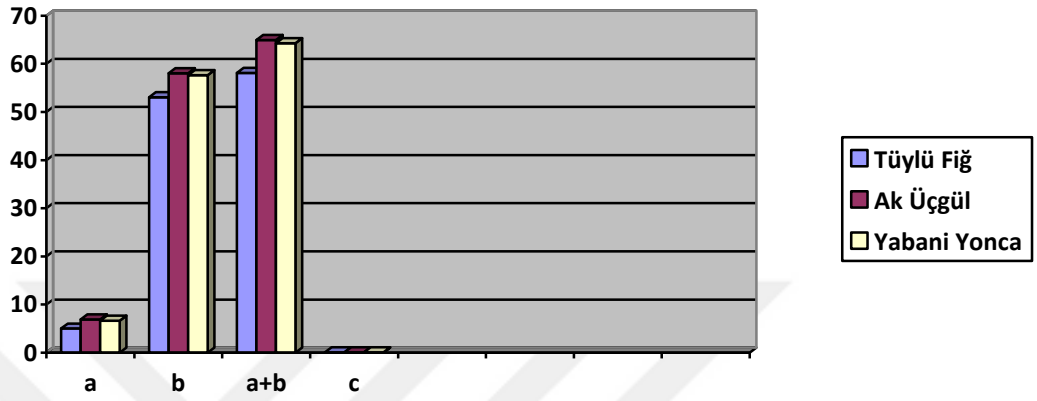
Yemler	Organik Asit	a	b	a+b	c	KSS
Yonca	K	7.22 <sup>bcdef</sup>	59.71 <sup>cd</sup>	66.93 <sup>bcde</sup>	0.070 <sup>cde</sup>	3.30
	Fo	6.16 <sup>cdefg</sup>	64.26 <sup>ab</sup>	70.42 <sup>ab</sup>	0.078 <sup>bc</sup>	3.36
	Fu	3.80 <sup>g</sup>	64.96 <sup>a</sup>	68.76 <sup>bc</sup>	0.085 <sup>ab</sup>	3.06
	Ma	6.10 <sup>cdefg</sup>	51.54 <sup>hijk</sup>	57.63 <sup>jk</sup>	0.063 <sup>efghi</sup>	2.58
	Fu+Fo	3.99 <sup>g</sup>	60.78 <sup>bc</sup>	64.77 <sup>def</sup>	0.068 <sup>def</sup>	2.63
	Fu+Ma	9.87 <sup>a</sup>	50.60 <sup>ijk</sup>	60.47 <sup>hij</sup>	0.058 <sup>ghi</sup>	3.58
	Fo+Ma	8.02 <sup>abc</sup>	54.70 <sup>efghi</sup>	62.72 <sup>fghi</sup>	0.055 <sup>hi</sup>	2.42
	Fu+Fo+Ma	8.02 <sup>abc</sup>	54.70 <sup>efghi</sup>	62.72 <sup>fghi</sup>	0.055 <sup>hi</sup>	2.42
Tüylü Fiğ	K	5.06 <sup>efg</sup>	52.93 <sup>ghijk</sup>	57.99 <sup>j</sup>	0.075 <sup>cd</sup>	2.63
	Fo	0.97 <sup>h</sup>	58.48 <sup>cde</sup>	59.45 <sup>ij</sup>	0.094 <sup>a</sup>	2.88
	Fu	1.59 <sup>h</sup>	57.88 <sup>cdef</sup>	59.47 <sup>ij</sup>	0.086 <sup>ab</sup>	2.59
	Ma	5.00 <sup>fg</sup>	49.15 <sup>k</sup>	54.15 <sup>k</sup>	0.062 <sup>efghi</sup>	1.91
	Fu+Fo	5.70 <sup>cdefg</sup>	52.49 <sup>hijk</sup>	58.19 <sup>j</sup>	0.064 <sup>efghi</sup>	2.04
	Fu+Ma	5.70 <sup>cdefg</sup>	51.23 <sup>hijk</sup>	56.93 <sup>jk</sup>	0.057 <sup>ghi</sup>	2.23
	Fo+Ma	6.59 <sup>cdef</sup>	52.38 <sup>hijk</sup>	58.97 <sup>ij</sup>	0.044 <sup>j</sup>	2.20
	Fu+Fo+Ma	9.51 <sup>ab</sup>	50.12 <sup>jk</sup>	59.63 <sup>ij</sup>	0.046 <sup>j</sup>	2.39
Ak Üçgül	K	7.71 <sup>abcd</sup>	63.85 <sup>ab</sup>	71.56 <sup>a</sup>	0.067 <sup>defg</sup>	3.06
	Fo	7.55 <sup>abcde</sup>	58.45 <sup>cde</sup>	66.00 <sup>cdef</sup>	0.059 <sup>fghi</sup>	2.17
	Fu	7.53 <sup>abcde</sup>	60.24 <sup>bc</sup>	67.77 <sup>bcd</sup>	0.061 <sup>efghi</sup>	2.42
	Ma	6.62 <sup>cdef</sup>	57.07 <sup>cdefg</sup>	63.69 <sup>efgh</sup>	0.062 <sup>efghi</sup>	2.56
	Fu+Fo	6.66 <sup>cdef</sup>	53.92 <sup>fghij</sup>	60.58 <sup>ghij</sup>	0.065 <sup>efgh</sup>	2.86
	Fu+Ma	5.48 <sup>defg</sup>	57.87 <sup>cdef</sup>	64.50 <sup>defg</sup>	0.063 <sup>efghi</sup>	2.69
	Fo+Ma	6.59 <sup>cdef</sup>	57.41 <sup>cdef</sup>	62.88 <sup>fghi</sup>	0.062 <sup>efghi</sup>	1.84
	Fu+Fo+Ma	7.30 <sup>bcdef</sup>	55.44 <sup>defgh</sup>	62.74 <sup>fghi</sup>	0.054 <sup>i</sup>	2.67
OSH		0.732	1.315	1.206	0.003	-
P		**	**	**	**	-
Yem	Tüylü Fiğ	5.02 <sup>b</sup>	53.08 <sup>b</sup>	58.10 <sup>b</sup>	0.066 <sup>a</sup>	2.36
	Ak Üçgül	6.94 <sup>a</sup>	58.03 <sup>a</sup>	64.96 <sup>a</sup>	0.062 <sup>b</sup>	2.53
	Yonca	6.65 <sup>a</sup>	57.66 <sup>a</sup>	64.30 <sup>a</sup>	0.067 <sup>a</sup>	2.92
OSH		0.259	0.465	0.426	0.001	-
P		**	**	**	*	-
Organik Asit	K	6.66 <sup>bc</sup>	58.83 <sup>a</sup>	65.49 <sup>a</sup>	0.071 <sup>b</sup>	3.00
	Fo	5.90 <sup>cd</sup>	52.59 <sup>c</sup>	58.49 <sup>c</sup>	0.062 <sup>cd</sup>	2.35
	Fu	4.89 <sup>de</sup>	60.40 <sup>a</sup>	65.29 <sup>a</sup>	0.077 <sup>a</sup>	2.80
	Ma	4.31 <sup>e</sup>	61.03 <sup>a</sup>	65.34 <sup>a</sup>	0.078 <sup>a</sup>	2.69
	Fu+Fo	7.40 <sup>ab</sup>	53.23 <sup>c</sup>	60.63 <sup>b</sup>	0.059 <sup>d</sup>	2.83
	Fu+Ma	5.45 <sup>cde</sup>	55.73 <sup>b</sup>	61.18 <sup>b</sup>	0.066 <sup>bc</sup>	2.51
	Fo+Ma	6.70 <sup>bc</sup>	54.83 <sup>bc</sup>	61.53 <sup>b</sup>	0.054 <sup>e</sup>	2.15
	Fu+Fo+Ma	8.28 <sup>a</sup>	53.42 <sup>c</sup>	61.70 <sup>b</sup>	0.052 <sup>e</sup>	2.49
OSH		0.423	0.759	0.696	0.002	-
P		**	**	**	**	-

<sup>a-k</sup> Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir.

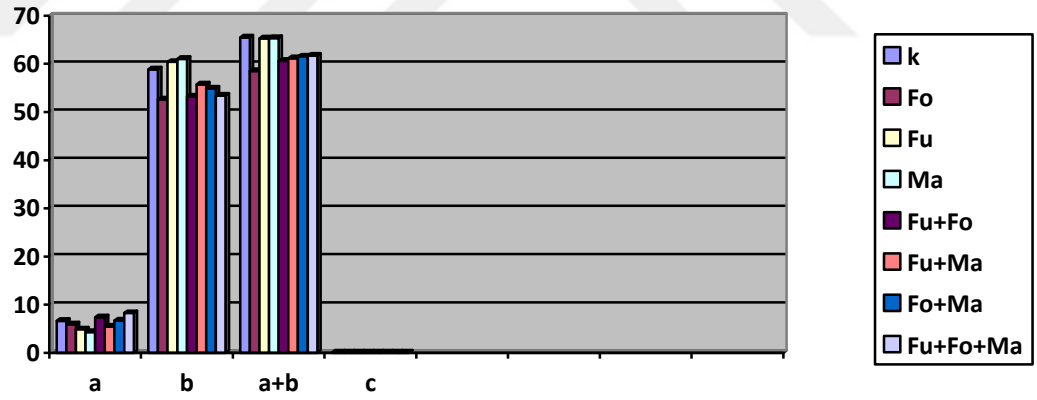
OSH: Ortalamaların Standart Hatası. \*\* = P<0.01, \* = P<0.05

a: kolay çözünebilir fraksiyonların gaz miktarı (ml); b: çözünemeyen fraksiyonların gaz üretim miktarı (ml); a+b: potansiyel gaz üretimi (ml); c: çözünemeyen fraksiyonların (b) gaz üretim oranı (saat<sup>-1</sup>); KSS: Kalıntı standart sapması

Yem ve organik asitlerin *in vitro* gaz üretim parametreleri üzerine etkileri ile ilgili ortalamalara ait değişimlerin grafiği Şekil 4.5 ve 4.6'de verilmiştir.



Şekil 4.5. Yemlerin *In vitro* Gaz Üretim Parametreleri Üzerine Etkileri



Şekil 4.6. Organik Asitlerin *In vitro* Gaz Üretim Parametreleri Üzerine Etkileri

Gaz üretimi hızı, yemlerin sindirilebilirliği, fermentasyonu ve mikrobiyal protein sentezinin iyi bir göstergesi olarak düşünülebilir (Elahi *et al.* 2017; Elghandour *et al.* 2015; Elahi *et al.* 2014). Kalıntı standart sapması (KSS), *in vitro* gaz üretim tekniği çalışmalarında testin güvenilirliğini ifade etmek için kullanılmaktadır. Bu değerin 3.5'den küçük olması, *in vitro* gaz üretim tekniği çalışmalarında elde edilen verilerin yüksek güvenilirliğe sahip olduğu anlamına gelmektedir. Bu konuda çalışan araştırmacılar elde ettikleri bulguları, kalıntı standart sapma (KSS) değerlerinin 4'ün üzerinde olması durumunda değerlendirmeye almamakta, çalışmayı tekrarlamaktadırlar (Kılıç ve Sarıççek 2006). Kalıntı standart sapma değerlerine göre bu çalışmada elde edilen verilerin güvenilir olduğu görülmektedir.

Bruno-Soares *et al.* (2010), yemlerin NDF ve a, b parametreleri arasında negatif bir ilişkinin (-0.846) olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle mevcut çalışmada söz konusu parametrelerin tüylü fiğde düşük olması NDF oranının tüylü fiğde yüksek olmasından kaynaklanmış olabilir.

Mevcut çalışmada tüylü fiğ, ak üçgül ve yonca için belirlenen *in vitro* gaz üretimi parametreleri ile ilgili değerler, Sui (2018), Boga *et al.* (2014), Aydın (2008), Canbolat ve Karaman (2009)'ın yonca için bildirdikleri değerlerden yüksek, Lei *et al.* (2018), Palangi and Safamehr (2016), Kamalak vd (2011), Kamalak (2006) ve Kamalak vd (2005)'nin yonca için tespit ettikleri sonuçlardan düşük olmasına rağmen, Uslu vd (2018)'nin yonca ve ak üçgül için, Erişek ve Kılıç (2017), Canbolat ve Karaman (2009), Karabulut vd (2007) ve Kılıç (2005)'in sadece yonca için bildirdikleri değerlerle paralellik göstermiştir.

Mevcut çalışmadan elde edilen sonuçların *in vitro* gaz üretim parametreleri ile ilgili olarak bazı araştırmacıların bildirdikleri değerlerden farklı olması, üzerinde çalışılan yemlerin ve bu yemlere uygulanan yöntemlerin farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.

#### 4.5. Yemlerin ve Organik Asitlerin Rumen Uçuçu Yağ Asitleri Üzerine Etkileri

Bazı baklagil yemlerin ve organik asitlerin rumen sıvısı uçuçu yağ asitleri üzerine olan etkileri saptanmış ve Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Yemler × organik asit (OA) interaksiyonlarının, başlıca uçucu yağ asitleri olan asetik asit (AA), propiyonik asit (PA) ve bütirik asit (BA) ile toplam uçucu yağ asitleri (TUYA) miktarları üzerine etkisi önemli olmuştur ( $P < 0.01$ ). Asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit değerleri sırasıyla; 40.64 (tüylü fiğ × Fo) – 49.26 mmol/L (yonca × Fu), 18.91 (ak üçgül × Fo) – 22.66 mmol/L (yonca × Ma) ve 12.22 (tüylü fiğ × Ma) – 13.78 mmol/L (ak üçgül × Fo) arasında değişmiştir.

Yemlerin asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarı ile toplam uçucu yağ asitleri üzerine etkisi önemli ( $P < 0.01$ ), diğer uçucu yağ asitleri üzerine etkisi ise önemsiz olmuştur ( $P > 0.05$ ). Yem bitkileri içerisinde yonca, hem ak üçgül, hem de tüylü fiğe göre daha yüksek AA, PA, BA ve TUYA miktarına sahip olmuştur. Tüylü fiğ ise söz konusu parametreler bakımından en düşük değerleri göstermiştir. Organik asitlerin, izobütirik dışında kalan uçucu yağ asitleri üzerine etkisi önemli olmuştur ( $P < 0.01$ ). Fumarik asit muamelesi AA, PA, BA ve TUYA miktarlarını artırmasına rağmen, formik asit muamelesi kontrole göre asetik asit ve toplam uçucu yağ asitleri miktarını düşürmüş, propiyonik asit ve bütirik asit bakımından da kontrol grubuyla aynı değerlere sahip olmuştur.

Makkar (2010), gaz üretimindeki değişikliklerin uçucu yağ asitlerinin üretim miktar veya oranları üzerine etkili olduğunu bildirmiştir. Toplam gaz üretiminin azalmasıyla formik asit ile muamele edilen gruplarda yağ asiti miktarının da azaldığı gözlenmiştir. Organik asitler hidrofobik özelliğe sahip oldukları için bakteriyel hücrenin plazma zarının iki katmanlı yapısına (Burt 2004) girerek membranın strüktürünü değiştirip akışkanlığı ve geçirgenliği arttırarak bakterilerin büyüme hızını azaltırlar (Newbold *et al.* 2004).

**Çizelge 4.5.** Yemlerin ve Organik Asitlerin Uçuşu Yağ Asitleri Üzerine Etkileri (mmol/L)

Yemler	Organik Asit	AA	PA	BA	İBA	İVA	VA	TUYA
Yonca	K	47.05 <sup>abcde</sup>	20.73 <sup>cdefg</sup>	13.66 <sup>ab</sup>	1.86	2.59 <sup>abcde</sup>	3.01 <sup>a</sup>	88.90 <sup>abcd</sup>
	Fo	44.31 <sup>def</sup>	20.06 <sup>efghi</sup>	13.37 <sup>abcde</sup>	1.73	2.25 <sup>cdefg</sup>	2.72 <sup>abcd</sup>	84.45 <sup>efgh</sup>
	Fu	49.26 <sup>a</sup>	22.34 <sup>ab</sup>	13.29 <sup>abcde</sup>	1.69	1.96 <sup>g</sup>	2.89 <sup>ab</sup>	91.42 <sup>a</sup>
	Ma	48.51 <sup>ab</sup>	22.66 <sup>a</sup>	12.65 <sup>def</sup>	1.80	2.01 <sup>g</sup>	2.69 <sup>abcd</sup>	90.32 <sup>abc</sup>
	Fu+Fo	48.42 <sup>ab</sup>	21.39 <sup>bcd</sup>	13.26 <sup>abcde</sup>	1.84	2.57 <sup>abcde</sup>	2.53 <sup>bcd</sup>	90.01 <sup>abc</sup>
	Fu+Ma	46.03 <sup>abcde</sup>	21.94 <sup>abc</sup>	13.48 <sup>abc</sup>	1.69	2.43 <sup>abcdefg</sup>	2.48 <sup>cdef</sup>	88.05 <sup>abcde</sup>
	Fo+Ma	48.75 <sup>ab</sup>	20.78 <sup>cdefg</sup>	13.44 <sup>abcd</sup>	1.72	2.64 <sup>abcd</sup>	2.32 <sup>ef</sup>	89.64 <sup>abc</sup>
	Fu+Fo+Ma	49.16 <sup>a</sup>	21.45 <sup>abcd</sup>	13.10 <sup>abcde</sup>	1.80	2.75 <sup>ab</sup>	2.65 <sup>abcde</sup>	90.91 <sup>ab</sup>
Tüylü Fiğ	K	46.24 <sup>abcde</sup>	18.91 <sup>i</sup>	13.03 <sup>abcde</sup>	1.59	2.26 <sup>bcd</sup>	3.00 <sup>a</sup>	85.07 <sup>defgh</sup>
	Fo	40.64 <sup>g</sup>	19.98 <sup>efghi</sup>	13.11 <sup>abcde</sup>	1.59	2.24 <sup>cdefg</sup>	2.49 <sup>cdef</sup>	80.05 <sup>i</sup>
	Fu	46.88 <sup>abcde</sup>	21.19 <sup>bcd</sup>	13.24 <sup>abcde</sup>	1.91	2.06 <sup>fg</sup>	2.68 <sup>abcde</sup>	87.97 <sup>abcde</sup>
	Ma	44.18 <sup>ef</sup>	19.57 <sup>ghi</sup>	12.22 <sup>i</sup>	1.76	2.20 <sup>defg</sup>	2.71 <sup>abcd</sup>	82.63 <sup>ghi</sup>
	Fu+Fo	44.33 <sup>def</sup>	19.53 <sup>ghi</sup>	13.22 <sup>abcde</sup>	1.82	2.51 <sup>abcdef</sup>	2.37 <sup>def</sup>	83.79 <sup>fghi</sup>
	Fu+Ma	44.22 <sup>ef</sup>	20.43 <sup>defgh</sup>	13.30 <sup>abcde</sup>	1.72	2.67 <sup>abcd</sup>	2.61 <sup>bcd</sup>	84.94 <sup>defgh</sup>
	Fo+Ma	44.76 <sup>cdef</sup>	18.90 <sup>i</sup>	12.69 <sup>cdef</sup>	1.75	2.61 <sup>abcde</sup>	2.66 <sup>abcde</sup>	82.90 <sup>ghi</sup>
	Fu+Fo+Ma	46.46 <sup>abcde</sup>	19.62 <sup>ghi</sup>	13.10 <sup>abcde</sup>	1.82	2.76 <sup>a</sup>	2.76 <sup>abc</sup>	86.52 <sup>cdefg</sup>
Ak Üçgül	K	46.24 <sup>abcde</sup>	19.23 <sup>hi</sup>	12.92 <sup>bcd</sup>	1.83	2.12 <sup>efg</sup>	2.62 <sup>bcd</sup>	84.97 <sup>defgh</sup>
	Fo	42.27 <sup>fg</sup>	19.01 <sup>i</sup>	13.78 <sup>a</sup>	1.65	2.22 <sup>cdefg</sup>	2.47 <sup>cdef</sup>	81.41 <sup>hi</sup>
	Fu	48.61 <sup>ab</sup>	20.65 <sup>cdefg</sup>	13.10 <sup>abcde</sup>	1.79	2.07 <sup>fg</sup>	2.65 <sup>abcde</sup>	88.88 <sup>abcd</sup>
	Ma	48.34 <sup>ab</sup>	20.43 <sup>defgh</sup>	12.63 <sup>ef</sup>	1.74	2.31 <sup>abcdefg</sup>	2.72 <sup>abcd</sup>	88.17 <sup>abcde</sup>
	Fu+Fo	45.48 <sup>bcd</sup>	20.03 <sup>efghi</sup>	13.00 <sup>abcde</sup>	1.76	2.41 <sup>abcdefg</sup>	2.54 <sup>bcd</sup>	85.21 <sup>defgh</sup>
	Fu+Ma	47.59 <sup>abcd</sup>	20.00 <sup>efghi</sup>	12.95 <sup>bcd</sup>	1.75	2.34 <sup>abcdefg</sup>	2.72 <sup>abcd</sup>	87.35 <sup>bcd</sup>
	Fo+Ma	44.46 <sup>def</sup>	19.67 <sup>fghi</sup>	13.18 <sup>abcde</sup>	1.72	2.72 <sup>abc</sup>	2.19 <sup>f</sup>	84.40 <sup>efgh</sup>
	Fu+Fo+Ma	48.75 <sup>abc</sup>	20.99 <sup>cdef</sup>	12.69 <sup>cdef</sup>	1.76	2.44 <sup>abcdefg</sup>	2.79 <sup>abc</sup>	88.42 <sup>abcde</sup>
OSH		0.971	0.400	0.231	0.095	0.145	0.107	1.196
P		**	**	**	ÖS	**	**	**
Yem	Tüylü Fiğ	42.72 <sup>c</sup>	19.77 <sup>b</sup>	12.99 <sup>b</sup>	1.74	2.41	2.60	84.23 <sup>c</sup>
	Ak Üçgül	46.34 <sup>b</sup>	20.00 <sup>b</sup>	13.03 <sup>b</sup>	1.75	2.33	2.62	86.10 <sup>b</sup>
	Yonca	47.68 <sup>a</sup>	21.42 <sup>a</sup>	13.28 <sup>a</sup>	1.77	2.40	2.66	89.21 <sup>a</sup>
OSH		0.343	0.141	0.082	0.034	0.051	0.038	0.423
P		**	**	**	ÖS	ÖS	ÖS	**
Organik Asit	K	46.52 <sup>abc</sup>	19.63 <sup>c</sup>	13.21 <sup>ab</sup>	1.76	2.32 <sup>bcd</sup>	2.88 <sup>a</sup>	86.31 <sup>c</sup>
	Fo	42.41 <sup>d</sup>	19.68 <sup>c</sup>	13.42 <sup>a</sup>	1.66	2.24 <sup>cde</sup>	2.56 <sup>bcd</sup>	81.97 <sup>d</sup>
	Fu	48.25 <sup>a</sup>	21.40 <sup>a</sup>	13.21 <sup>ab</sup>	1.80	2.03 <sup>e</sup>	2.74 <sup>ab</sup>	89.42 <sup>a</sup>
	Ma	47.01 <sup>abc</sup>	20.89 <sup>ab</sup>	12.50 <sup>c</sup>	1.77	2.18 <sup>de</sup>	2.71 <sup>ab</sup>	87.04 <sup>bc</sup>
	Fu+Fo	46.07 <sup>bc</sup>	20.32 <sup>bc</sup>	13.16 <sup>ab</sup>	1.81	2.50 <sup>ab</sup>	2.48 <sup>cd</sup>	86.34 <sup>c</sup>
	Fu+Ma	45.95 <sup>c</sup>	20.79 <sup>ab</sup>	13.24 <sup>ab</sup>	1.72	2.48 <sup>abc</sup>	2.60 <sup>bc</sup>	86.78 <sup>bc</sup>
	Fo+Ma	45.99 <sup>c</sup>	19.78 <sup>c</sup>	13.10 <sup>ab</sup>	1.73	2.65 <sup>a</sup>	2.39 <sup>d</sup>	85.65 <sup>c</sup>
Fu+Fo+Ma	47.79 <sup>ab</sup>	20.69 <sup>ab</sup>	12.96 <sup>b</sup>	1.79	2.65 <sup>a</sup>	2.73 <sup>ab</sup>	88.62 <sup>ab</sup>	
OSH		0.561	0.231	0.133	0.055	0.083	0.062	0.691
P		**	**	**	ÖS	**	**	**

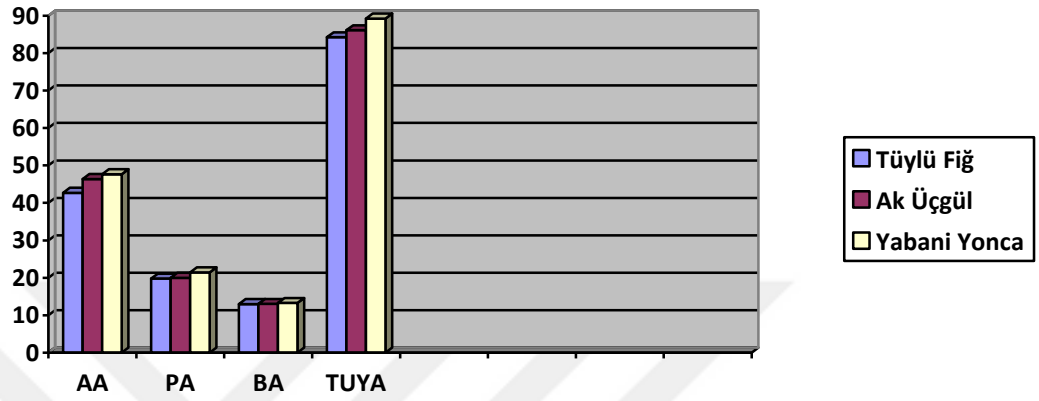
<sup>a-i</sup> Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki farklılıklar önemlidir.

OSH: Ortalamaların Standart Hatası. \*\* = P<0.01, ÖS = Önemsiz (P>0.05)

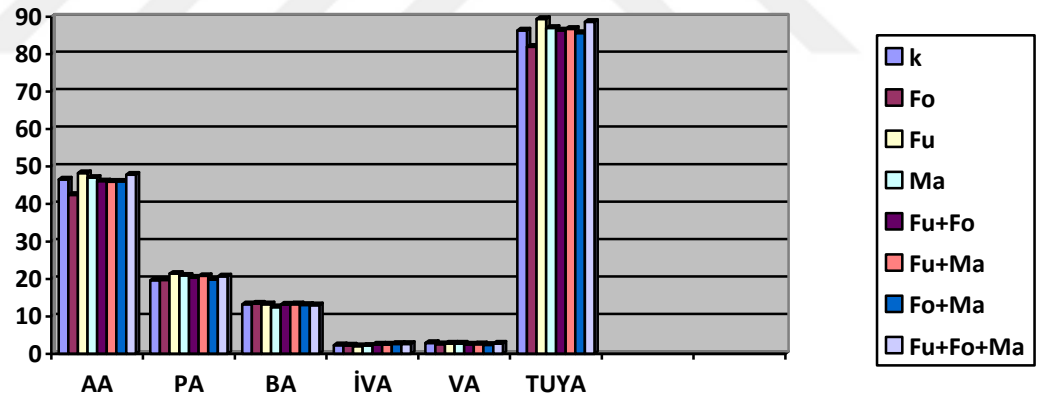
AA: Asetik Asit, PA: Propiyonik Asit, BA: Bütirik Asit, İBA: İzobütirik Asit, İVA: İzovalerik Asit, VA: Valerik Asit ve TUYA: Toplam uçucu yağ asitleri



Yem ve organik asitlerin uçucu yağ asitleri üzerine etkileri ile ilgili ortalamalara ait değişimlerin grafiği Şekil 4.7 ve 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Yemlerin Uçucu Yağ Asitleri Üzerine Etkileri



Şekil 4.8. Organik Asitlerin Uçucu Yağ Asitleri Üzerine Etkileri

Organik asitlerin bireysel ve kombinasyonlar halinde tüylü fiğ, yonca ve ak üçgülde izobütirik dışında kalan diğer uçucu yağ asitleri üzerine etkileri önemli bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Yoncada en yüksek AA, PA ve TUYA değerleri fumarik asit, en düşük değerler ise formik asit muamelesi neticesinde meydana gelmiştir. Tüylü fiğde fumarik asit ve malik asit muamelesiyle en yüksek AA, PA, BA ve TUYA değerleri elde edilmiştir. Ak üçgülde en yüksek AA, PA ve TUYA değerleri fumarik asit, en düşük değerler ise formik asit muamelesi ile tespit edilmiştir.

Rabelo *et al.* (2017), *in vitro* gaz üretim tekniği ile mısır silajında inkübasyonun 9. saatinde üretilen AA, PA ve BA miktarlarını molar cinsinden sırasıyla; 65.3, 17.9 ve 13.0 mmol/L olarak tespit etmişlerdir. Capelari and Powers (2017) aynı teknikle çayır otunda inkübasyonun 48. saatinde AA, PA ve BA miktarlarını sırasıyla; 62.6, 22.5 ve 9.2 mmol/L olarak belirlemişlerdir. Fiore *et al.* (2016) ise toplamı harmanlanmış rasyonla (THR) beslenen sığırların (besinin 8. gününde) rumen sıvısında AA, PA ve BA miktarlarının sırasıyla; 3.18, 1.45 ve 0.96 mg/mL olduğunu bildirmişlerdir. Mevcut çalışmada elde edilen bulgular, Rabelo *et al.* (2017) ve Capelari and Powers (2017)'in bildirdiği değerlerden düşük, Fiore *et al.* (2016)'nin bildirdiği sonuçlardan yüksek bulunmuştur.

Fumarik asitin, bakteriyel enerji metabolizmasında ve metanojenezdeki rolünün tam olarak tespit edildiği bir çalışmada, bazı rumen anaerobik bakterileri piruvattan propiyonat üretmek için indirgeyici veya tersi sitrik asit döngüsünü kullanırlar (Gottschalk 1986; Kolver *et al.* 2004). Bu aşamada fumarik asit, propiyonik asit elde etmek için dekarboksile edilen süksinik asitin üretiminde gerekli olan  $H_2$  için alternatif bir elektron havuzu olarak rol oynar. Fumarik asiti indirgemek için  $H_2$ 'nin kullanılması, rumende metanogenez için gerekli olan  $H_2$  mevcudiyetini azaltır. Mevcut çalışmada propiyonik asitin ruminal konsantrasyonundaki artışı, ilave edilen fumaratın propiyonik asite metabolize edildiğini göstermektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuç, Gottschalk (1986) ve Kolver *et al.* (2004)'nın bildirişleriyle uyum içerisinde bulunmuştur.

Mevcut çalışmada elde edilen bulgularla, söz konusu araştırma ile ilgili olarak bildirilen sonuçlar arasında meydana gelen farklılıkların, yem, hayvan ve yöntem uygulanması gibi faktörlerden kaynaklanabileceği bildirilmektedir (Kılıç 2005; Kılıç ve Sarıççek 2006).



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

1- Yemlerin kuru madde ve ham protein içerikleri arası farklılıklar önemsiz ( $P>0.05$ ), diğer besin maddeleri ise önemli olmuştur ( $P<0.01$ ). Yemlerin kimyasal bileşimlerdeki farklılıklar *in vitro* gaz üretim (3.-96. saat) miktarlarını ve parametrelerini (a, b, c ve a+b) önemli düzeyde etkilemiştir ( $P<0.01$ ).

2- Yemler  $\times$  organik asit interaksiyonlarının, farklı inkübasyon saatlerinde tespit edilen *in vitro* gaz üretim miktarları üzerine etkileri önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ). Yemler  $\times$  organik asit interaksiyonlarına ait toplam gaz üretim değerleri 24. saatte 42.5–58.7 ml/200 mg KM arasında değişmiştir. En yüksek gaz üretim değerleri yonca  $\times$  fumarik ve yonca  $\times$  malik asit interaksiyonları, en düşük gaz üretim miktarları ise tüylü fiğ  $\times$  formik asit, tüylü fiğ  $\times$  formik+malik asit, tüylü fiğ  $\times$  fumarik+formik+malik asit interaksiyonlarında tespit edilmiştir. Organik asitlerden fumarik asit bütün inkübasyon saatlerinde, malik asit ise 3. saatin haricindeki inkübasyon saatlerinde daha yüksek gaz üretimine neden olurken, formik asit bütün inkübasyonlarda düşük değerlere sahip olmuştur. *İn vitro* ortamda fermentasyon ile oluşan ve inkübasyonun 24. saatinde ölçülen  $CH_4$  üretim miktarları yonca  $\times$  formik asit ile yonca  $\times$  malik asit interaksiyonlarında en yüksek, ak üçgül  $\times$  Fu + Fo ile ak üçgül  $\times$  Fu asit interaksiyonlarında ise en düşük bulunmuştur. Yani fumarik asit  $CH_4$  üretimini azaltıcı özelliği ile ön plana çıkmıştır.

3- Yemler  $\times$  organik asit interaksiyonunun yemlerin enerji değerlerine etkisi önemli ( $P<0.01$ ) olmuştur. Yemler  $\times$  organik asit interaksiyonlarıyla ilgili ME,  $NE_L$  ve OMS değerleri sırasıyla; 6.24-8.14 Mj/kg KM, 3.97-5.97 Mj/kg KM, %49.52-61.90 arasında değişmiştir. En yüksek ME,  $NE_L$  ve OMS değerleri yonca  $\times$  formik asit, en düşük ise tüylü fiğ  $\times$  malik asit interaksiyonları için saptanmıştır. Yemin OMS, ME ve  $NE_L$  içeriklerinin tamamı üzerine etkisi önemli ( $P<0.01$ ) olmasına rağmen, organik asitlerin söz konusu parametrelerden sadece  $NE_L$  değerleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Yem bitkileri içerisinde en yüksek ME,  $NE_L$  ve OMS değeri yonca için tespit

edilmiştir. Tüylü fiğ ve ak üçgül ise kendi aralarında benzer olmalarına rağmen, yoncadan daha düşük değerlere sahip olmuşlardır.

4- Yemler  $\times$  organik asit interaksiyonun, başlıca uçucu yağ asitleri olan asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarı ile toplam uçucu yağ asitleri miktarları üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit değerleri sırasıyla; 40.64 (tüylü fiğ  $\times$  formik asit) – 49.26 (yonca  $\times$  fumarik asit), 18.91 (ak üçgül  $\times$  formik asit) – 22.66 (yonca  $\times$  malik asit) ve 12.22 (tüylü fiğ  $\times$  malik asit) – 13.78 mmol/L (ak üçgül  $\times$  formik asit) arasında değişmiştir. Yemin, uçucu yağ asitlerinin başlıcaları olan asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit miktarı ile toplam uçucu yağ asitleri miktarı üzerine etkisi önemli ( $P<0.01$ ), diğer uçucu yağ asitlerine etkisi önemsiz olmuştur ( $P>0.05$ ). Yem bitkileri içerisinde yonca hem ak üçgül, hem de tüylü fiğ'e göre daha yüksek asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit ile toplam uçucu yağ asitleri miktarına sahip olmuştur. Ak üçgül, asetik asit miktarı hariç diğer uçucu yağ asitleri ve toplam uçucu yağ asitleri miktarları bakımından tüylü fiğ'e üstünlük sağlamıştır. Organik asitlerden fumarik asit muamelesi AA, PA, BA ve TUYA miktarlarını artırmasına rağmen, formik asit AA ve TUYA miktarlarını kontrole göre düşürmüştür.

5- Yemler  $\times$  organik asit interaksiyonları için inkübasyonun 24. saatinde ölçülen  $CH_4$  üretim değerleri 4.92-6.62 ml arasında değişmiştir. En yüksek  $CH_4$  üretim değerleri yonca  $\times$  formik asit ve yonca  $\times$  malik asit, en düşük  $CH_4$  gazı üretim miktarları ise ak üçgül  $\times$  fumarik asit, ak üçgül  $\times$  fumarik + formik asit interaksiyonları için tespit edilmiştir. Yirmidört saatlik fermentasyon sonunda tespit edilen  $CH_4$  üretimi yoncada, fiğ ve üçgül kaba yemlerine göre daha yüksek bulunmuştur ( $P<0.01$ ). Ancak, organik asitlerin 24. saatte ölçülen  $CH_4$  üretim miktarları üzerine etkisi önemsiz olmuştur ( $P>0.05$ ).

Yukarıda bahsedilen sonuçlar doğrultusunda, 24 ve 96. saatlerde ölçülen toplam gaz miktarını artırması, ME, OMS ve  $NE_L$  değerleri üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin olmaması, propiyonik asidi kontrole göre düşürmeden asetik asit miktarını artırıp inkübasyonun 24. saatinde ölçülen  $CH_4$  miktarını azaltmasından dolayı, bireysel veya

kombinasyonlar halinde bulunan organik asitlerden, fumarik asitin baklagil kaba yemlerine ilavesinin daha uygun olduğu, fakat buğdaygil kaba yemleri, özellikle de düşük kaliteli kaba yemler (buğdaygil sap, samanları ve otları), baklagil yemlerine göre CH<sub>4</sub> üretimini daha fazla teşvik ettiklerinden dolayı bu yemleri organik asitlerle muamele ederek metan oluşumunu azaltmaya yönelik daha çok *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların yapılması gerektiği kanaatine varmıştır.



**KAYNAKLAR**

- Abaş, İ., Özpınar H., Kutay H.C., Kahraman R. ve Eseceli H., 2005. Determination of the metabolizable energy (ME) and net energy lactation (NEL) contents of some feeds in the marmara region by *in vitro* gas technique. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29, 751-757.
- Aderinboye, R.Y., Akinlolu A.O., Adeleke M.A., Najeem G.O., Ojo V.O.A., Isah O.A. and Babayemi O.J., 2016. *In vitro* gas production and dry matter degradation of four browse leaves using cattle, sheep and goat inocula. Slovakian Journal of Animal Science, 49(1), 32-43.
- Aksoy, A., Macit M. ve Karaoğlu M., 2017. Hayvan Besleme. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi Yayınları No: 220, 493 s, Erzurum.
- Ammar, H., Lopez S., Gonzalez J.S. and Ranilla M.J., 2004. Comparison between analytical methods and biological assays for the assessment of tannin-related antinutritive effects in some spanish browse species. Journal of the Science of Food and Agriculture, 84, 1349–1356.
- AOAC., 1990. Official Method of Anallysis. Association of Official Analytical Chemists pp. 66-88. 15th. edition Washington. DC, USA.
- Asanuma, N., Iwamoto M. and Hino T., 1999. Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms *in vitro*. Journal of Dairy Science, 82, 780-787.
- Aydın, D., 2008. İn Vitro Gaz Üretim Tekniğinde Gübrenin Rumen Sıvısı Yerine Kullanımı. Yüksek Lisans Tezi. K.S.İ.Ü. Fen. Bil. Ens. Kahramanmaraş.
- Bannink, A., Kogut J., Dijkstra J., France J., Kebreab E., Van Vuuren A.M. and Tamminga S., 2006. Estimation of the stoichiometry of volatile fatty acid production in the rumen of lactating cows. Journal of Theoretical Biology, 238, 36–51.
- Başaran, U., Acar Z., Mut H., Aşçı Ö.Ö., 2006. Doğal Olarak Yetişen Bazı Baklagil Yembitkilerinin Bazı Morfolojik ve Tarımsal Özellikleri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21(3), 314-317.
- Beauchemin, K.A. and McGinn S.M., 2006. Methane emission from beef cattle: effects of fumaric acid, essential oil, and canola oil. Journal of Animal Science, 84, 1489–1496.
- Beuvink, J.M.W. and Spoelstra S.F., 1992. Interactions between substrate, fermentation end-products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms *in vitro*. Applied Microbiology and Biotechnology, 37, 505-509.
- Bharanidharan, R., Arokiyaraj S., Kim E.B., Lee C.H., Woo Y.W., Na Y., Kim D. and Kim K.H., 2018. Ruminant methane emissions, metabolic, and microbial profile of Holstein steers fed forage and concentrate, separately or as a total mixed ration. Plos One, 13(8), e0202446. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202446>
- Bharathidhasan, A., Karunakaran R., Pugazhenthii T.R. and Ezhilvalavan S., 2015. The effect of supplemental organic acid on methane reduction to decrease the global

- warming from dairy cattle. *International Journal of Advanced Chemical Science and Applications*, 3(4),
- Blümmel, M. and Ørskov E.R., 1993. Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradabilities of roughages in predicting food intake of cattle. *Animal Feed Science and Technology*, 40, 109-119.
- Boadi, D., Benchaar C., Chiquette J. and Massé D., 2004. Mitigation strategies to reduce enteric methane emissions from dairy cows: update review. *Canadian Journal of Animal Science*, 84, 319-335.
- Boga, M., Yurtseven S., Kilic U., Aydemir S. and Polat T., 2014. Determination of nutrient contents and *in vitro* gas production values of some legume forages grown in the Harran plain saline soils. *Asian Australas Journal of Animal Science*, 27(6), 825-831.
- Bruno-Soares, A.M., Cadima J. and Matos T.D.J.S., 2010. Predicting degradability parameters of diets for ruminants using regressions on chemical components. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 949-955.
- Burt, S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223-253.
- Calabro, S., Ifascelli F., Moniello G. and Piccolo V., 2001. *In vitro* degradability of three forages: fermentation kinetics and gas production of NDF and neutral detergent-soluble fraction of forages. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 222-229.
- Canbolat Ö., Kara H. ve Filya İ., 2013b Bazı baklagil kaba yemlerinin *in vitro* gaz üretimi, metabolik enerji, organik madde sindirimi ve mikrobiyal protein üretimlerinin karşılaştırılması. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 27, 71-81.
- Canbolat, Ö. ve Karaman Ş., 2009. Bazı baklagil kaba yemlerinin *in vitro* gaz üretimi, organik madde sindirimi, nispi yem değeri ve metabolik enerji içeriklerinin karşılaştırılması. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 15(2), 188-195.
- Canbolat, Ö., Kalkan H. ve Filya İ., 2013a. Yonca silajlarında katkı maddesi olarak gladiçya meyvelerinin (*Gleditsia Triacanthos*) kullanıma olanakları. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19, 291-297.
- Capelari, M. and Powers W., 2017. The effect of nitrate and monensin on *in vitro* ruminal fermentation. *Journal of Animal Science*, 95, 5112-5123.
- Carro, MD. and Ranilla M.J., 2003. Influence of different concentrations of disodium fumarate on methane production and fermentation of concentrate feeds by rumen microorganisms *in vitro*. *British Journal of Nutrition*, 90, 617-623.
- Chen, L., Dong Z., Li J. and Shao T., 2018. Ensiling characteristics, *in vitro* rumen fermentation, microbial communities and aerobic stability of low-dry matter silages produced with sweet sorghum and alfalfa mixtures. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, DOI 10.1002/jsfa.9406.
- Colombatto, D., Mould F.L., Bhat M.K. and Owen E., 2003. Use of fibrolytic enzymes to improve the nutritive value of ruminant diets. a biochemical and *in vitro* rumen degradation assessment. *Animal Feed Science and Technology*, 107, 201-209.
- Danielsson, R., Ramin M., Bertilsson J., Lund P. and Huhtanen P., 2017. Evaluation of a gas *in vitro* system for predicting methane production *in vivo*. *Journal of Dairy Science*, 100, 8881-8894.



- Danielsson, R., Ramin M., Bertilsson J., Lund P. and Huhtanen P., 2017. Evaluation of a gas *in vitro* system for predicting methane production *in vivo*. Journal of Dairy Science, 100 (11), 8881-8894.
- Demirkol, G. ve Yılmaz N., 2018. Ak üçgül (*Trifolium repens* L.) populasyonlarında genetik çeşitliliğin belirlenmesi. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 5(1), 40-44.
- Denek, N. ve Deniz S., 2004. Ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan kimi kaba yemlerin sindirilebilirlik ve metabolik enerji düzeylerinin *in vitro* metotlarla belirlenmesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 28, 115-122.
- Dijkstra, J., Mills J.A.N. and France J., 2002. The role of dynamic modelling in understanding the microbial contribution to rumen function. Nutrition Research Reviews, 15, 67–90.
- Du, Sh., Xu M. and Yao J., 2016. Relationship between fibre degradation kinetics and chemical composition of forages and byproducts in ruminants. Journal of Applied Animal Research, 44(1), 189-193.
- Duane, E.U., 1997. Hay Quality Evaluation. Nutrition Advisory Group Handbook. <http://www.nagonline.net/Technical%20Papers/NAGFS00197HayJONIFEB24,2002MODIFIED.pdf>
- Dumlu, S.E., Çakal Ş., Aksakal E., Uzun M., Özgöz M.M., Terzioğlu K., Uysal P., Atıcı M. ve Mentşe Ö., 2017. Erzurum ekolojik koşullarında yonca (*Medicago Sativa* L.) çeşit adayının performansının belirlenmesi. Alinteri Journal of Agricultural Sciences, 32(2), 55-61.
- EFSA. 2014. European Food Safety Authority. Scientific opinion on the safety and efficacy of formic acid when used as a technological additive for all animal species. EFSA Journal. 12, 1-16.
- Elahi, M.Y., Kargar H., Salehi Dindarlou M., Kholif A.E., Elghandour M.Y., Rojas-Hernandez S., Odongo N.E. and Salem A.Z.M., 2017. The chemical composition and *in vitro* digestibility evaluation of almond tree (*Prunus dulcis* D. A. Webb syn. *Prunus amygdalus*; var. *Shokoufeh*) leaves versus hulls and green versus dry leaves as feed for ruminants. Agroforestry Systems, 91, 773–780.
- Elahi, M.Y., Nia M.M., Salem A.Z.M., Mansouri H., Olivares-Perez J. and Kholif A.E., 2014. Effect of polyethylene glycol on *in vitro* gas production kinetics of *Prosopis cineraria* leaves at different growth stages. Italian Journal of Animal Science, 13, 363–368.
- Elghandour, M.M.Y., Kholif A.E., Marquez-Molina O., Vazquez- Armijo J.F., Puniya A.K. and Salem A.Z.M., 2015. Influence of individual or mixed cellulase and xylanase mixture on *in vitro* rumen gas production kinetics of total mixed rations with different maize silage and concentrate ratios. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 39(4), 435–442.
- Erişek, A. and Kilic U., 2017. Determination of *in vitro* gas production and forage qualities of alfalfa and sorghum-sudangrass forages. Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences, 4(7), 273-281.
- Evans, J.D. and Martin S.A., 2000. Effects of thymol on ruminal microorganisms. Current Microbiology, 41(5), 336-340.
- Fatehi, F., Zali A., Dehghan-Banadaky M. and Danesh Mesgaran M., 2017. The study of synchrony effect of starch and rumen degradable protein concentrations by

- gas production technique. *Journal of Animal Science Researches*, 26(4), 121-141.
- Filya, I., Karabulut A., Canbolat O., Degirmencioglu T. ve Kalkan H., 2002. Bursa Bölgesinde Yetiştirilen Yem Hammaddelerinin Besleme Değeri ve Hayvansal Organizmada Optimum Değerlendirme Koşullarının *in vivo* ve *in vitro* Yöntemlerle Saptanması Üzerinde Araştırmalar. U.Ü. Ziraat Fakültesi Bilimsel Araştırmalar ve İncelemeler Serisi. No:25: Bursa, 1- 16.
- Fiore, E., Armato L., Morgante M., Muraro M., Boso M. and Giancesella M., 2016. Methaphylactic effect of tulathromycin treatment on rumen fluid parameters in feedlot beef cattle. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 80, 60–65.
- Foley, P.A. Kenny D.A., Lovett D.K., Callan J.J., Boland T.M. and O'Mara F.P., 2009a. Effect of dl-malic acid supplementation on feed intake, methane emissions, and performance of lactating dairy cows at pasture. *Journal of Dairy Science*, 92(7), 3258-64.
- Foley, P.A., Kenny D.A., Callan J.J., Boland T.M. and O'Mara F.P., 2009b. Effect of DL-malic acid supplementation on feed intake, methane emission, and rumen fermentation in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 87, 1048-1057.
- Garcia, F., Brunetti M.A., Lucini E.I., Scorcione Turcato M.C., Moreno M.V., Frossasco G.P., Colombatto D., Martínez M.J. and Martínez Ferrer J., 2018. Essential oils from Argentinean native species reduce *in vitro* methane production. *La Revista de Investigaciones Agropecuarias (RIA)*, 44(1), 76-83.
- Getachew, G., DePeters E.J. and Robinson P.H., 2004. *In vitro* gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. *California Agriculture*, 58, 54-58.
- Getachew, G., Laca E.A., Putnam D.H., Witte D., McCaslin M., Ortega K.P. and DePeters E.J., 2018. The impact of lignin downregulation on alfalfa yield, chemical composition, and *in vitro* gas production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98, 4205–4215.
- Goel, G., Makkar H.P.S. and Becker K., 2008. Effects of sesbania sesban and carduus pycnocephalus leaves and fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seeds and their extracts on partitioning of nutrients from roughage- and concentrate-based feeds to methane. *Animal Feed Science and Technology*, 147 (1-3), 72-89.
- Gottschalk, G., 1986. *Bacterial Metabolism*. 2nd Edition, Springer-Verlag, New York.
- Görgülü, M., Kolumnan Darcan N. ve Göncü S., 2009. Hayvancılık ve küresel ısınma. V. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 30 Eylül-3 Ekim, Çorlu.
- Grela, E.R., Pietrzak K., 2014. Production technology, chemical composition and use of alfalfa protein-xanthophyll concentrate as dietary supplement. *Journal of Food Processing and Technology*. 5, 373-377.
- Gunun, P., Gunun N., Cherdthong A., Wanapat M., Polyorach S., Sirilaophaisan S., Wachirapakorn C. and Kang S., 2018. *In vitro* rumen fermentation and methane production as affected by rambutan peel powder. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 626–631.
- Guzatti, G.C., Duchini P.G., Kozloski G.V., Niderkorn V. and Ribeiro-Filho H.M.N., 2017. Associative effects between red clover and kikuyu grass silage: proteolysis reduction and synergy during *in vitro* organic matter degradation. *Animal Feed Science and Technology Journal*, 23, 107–110.
- Gül, M., Tekce, E., Organik Asitler: Organik Asitler ve Hayvan Beslemede Kullanım Alanları. *Hayvan Besleme Ve Beslenme Hastalıkları*, 3(1), 57-63.

- Güler, A., 2016. Bazı Kaba Yemlere İlave Edilen Probiyotiklerin *in vitro* Organik Madde Sindirimi ve Metan Üretimi Üzerine Etkisi. Harran Üniv. Sağlık Bil. Enst. (Yüksek Lisans Tezi), Şanlıurfa.
- Gürsoy, E. ve Macit M., 2015. Erzurum ili meralarında doğal olarak yetişen bazı baklagil yem bitkilerinin *in vitro* gaz üretim değerlerinin belirlenmesi. Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 30(3), 292-299.
- Hamilton, M.A., Murray B.R., Cadotte M.W., Hose G.C., Baker A.C., Harris C.J. and Licari D., 2005. Life-history correlates of plant invasiveness at regional and continental scales. Ecology Letters, 8, 1066–1074.
- Hanigan, M.D., Dijkstra J., Gerrits W.J.J. and France J., 1997. Modelling post-absorptive protein and amino acid metabolism in the ruminant. Proc. The Nutrition Society, 56, 631–643.
- Heath, M.E., Barnes R.F. and Metcalfe D.S., 1985. Forages: The Science of Grassland Agriculture. Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA.
- Hernández-Sánchez, a, D., Cervantes-Gómez, D., Ramírez-Bribiesca, J.E., Cobos-Peralta, M., Pinto-Ruiz, R., Astigarragac L. and Gered J.I., 2018. The influence of copper levels on *in vitro* ruminal fermentation, bacterial growth and methane production. Journal of the Science of Food and Agriculture, <https://doi.org/10.1002/jsfa.9274>
- Heublein, C., Südekum K.H., Gill F.L., Dohme-Meier F. and Schori F., 2016. Using plant wax markers to estimate the diet composition of grazing Holstein dairy cows. Journal of Dairy Science, 100, 1019–1036.
- Houghton, J.T., Jenkins G.J. and Ephramus J.J., 1990. Climate Change: The IPCC Scientific Assessment. Cambridge University Press, New York.
- Hristov, A.N., Oh J., Firkins J.L., Dijkstra J., Kebreab E., Waghorn G., Makkar H.P.S., Adesogan A.T., Yang W., Lee C., Gerber P.J., Henderson B. and Tricarico J.M., 2013a. Special topics – Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: I. A review of enteric methane mitigation options. Journal of Animal Science, 91, 5045-5069.
- Hristov, A.N., Ott T., Tricarico J.M., Rotz A., Waghorn G., Adesogan A., Dijkstra J., Montes F., Oh J., Kebreab E., Oosting S.J., Gerber P.J., Henderson B., Makkar H.P.S. and Firkins J.L., 2013b. Special topics – Mitigation of methane and nitrous oxide emissions from animal operations: III. A review of animal management mitigation options. Journal of Animal Science, 91, 5095-5113. <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4612-1072-6>
- Hungate, R.E., 1966. The Rumen and Its Microbes. Academic Press, NY, 533 pp.
- Hungate, R.E., 1967. Hydrogen as an intermediate in the rumen fermentation. Archives of Microbiology, 59, 158-164.
- Hungate, R.E., Smith W., Bauchop T., Yu I. and Rabinowitz J.C., 1970. Formate as an intermediate in the bovine rumen fermentation. Journal of Bacteriology, 102(2), 389-397.
- Işık, Y., 2016. Şanlıurfa İli Antepfistiği (*Pistacia Vera L.*) Bahçelerinin Mikro Besin İçeriklerinin Belirlenmesi. Harran Üniv. Fen Bil. Enst. (Yüksek Lisans Tezi) Şanlıurfa.
- Johnson, K.A. and Johnson D.E., 1995. Methane emissions from cattle. Journal of Animal Science, 73, 2483–2492.

- Kamalak, A. 2005. Bazı kaba yemlerin gaz üretim parametreleri ve metabolik enerji içerikleri bakımından karşılaştırılması. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi. 8(2).
- Kamalak, A., 2006. Determination of nutritive value of leaves of a native grown shrub *Glycyrrhiza glabra* L. using *in vitro* and *in situ* measurement. Small Ruminant Research, 64, 268-278.
- Kamalak, A., Canbolat O., Gurbuz Y., Ozay O. and Ozköse E., 2005. Chemical composition and its relationship to *in vitro* gas production of several tannin containing trees and shrub leaves. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 18 (2), 203-208.
- Kamalak, A., Canbolat Ö., Gürbüz Y., Özay O., Özkan C.O. ve Sakarya M., 2004. Chemical composition and *in vitro* gas production characteristics of several tannin containing tree leaves. Livestock Research for Rural Development, 16 (6).
- Kamalak, A., Canbolat Ö., Özkan Ç.Ö. ve Atalay A.İ., 2011. Effect of thymol on *in vitro* gas production, digestibility and metabolizable energy content of alfalfa hay. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17(2), 211-216.
- Kamalak, A., Canpolat Ö., Gürbüz Y. ve Özay O., 2005a. Prediction of dry matter intake and dry matter digestibilities of some forages using the gas production technique in sheep. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 29, 517-523.
- Kamalak, A., Canpolat Ö., Gürbüz Y. ve Özay O., 2005b. Comparison of *in vitro* gas production technique with *in situ* nylon bag technique to estimate dry matter degradation. Czech Journal of Animal Science, 50(2), 60–67.
- Kara, K., Aktuğ E., Çağrı A., Kocaoğlu Güçlü B. ve Baytok E., 2015. Formik asitin *in vitro* rumen fermentasyonu ve metan üretimine etkisi. Türk Tarım–Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(11), 856-860.
- Kara, K., Ozkaya S., Baytok E., Guclu B.K., Aktug E. and Erbas S., 2018. Effect of phenological stage on nutrient composition, *in vitro* fermentation and gas production kinetics of *Plantago lanceolata* herbage. Veterinary Medicine, 63 (06), 251–260.
- Kara, K., Özkaya S., Erbaş S. and Baytok E., 2018. Effect of dietary formic acid on the *in vitro* ruminal fermentation parameters of barley-based concentrated mix feed of beef cattle. Journal of Applied Animal Research, 46(1), 178-183.
- Karabulut, A., Canbolat O., Kalkan H., Gurbuzol F., Sucu E. and Filya I. 2007. Comparison of *in vitro* gas production, metabolizable energy, organic matter digestibility and microbial protein production of some legume hays. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 20(4), 517 – 522.
- Karademir, G., 2008. Değişik Oranlarda Konsantre Yem İçeren Rasyonlarla Beslenen Kuzularda Alkan İndikatör Tekniği Kullanılarak Yem Tüketimi ve Sindirilebilirlik Tahmini. Doktora Tezi. K. Ü. Sağ. Bil. Enst. Kars.
- Kaya, Ş., 2008. Kaba Yemlerin Değerlendirilmesinde Göreceli Yem Değeri ve Göreceli Kaba Yem Kalite İndeksi. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 1 (1), 59-64.
- Khalil, M.A.K. and Rasmussen R.A., 1990. Global increase of atmospheric molecular hydrogen. Nature, 347, 743- 745.
- Khamoshi, S., Kafilzadeh F., Jahani- Azizabadi H. and Naseri V., 2017. Ruminal methane emission, microbial population and fermentation characteristics in

- sheep as affected by *Malva sylvestris* leaf extract: *in vitro* study. Iranian Journal of Applied Animal Science, 7(2), 259-264.
- Khattab, M.S.A., 2017. Mathematical Prediction Equations of Methane Emission from Dairy Cattle (Review Article). Science International. 5(4), 133-141.
- Kılıç, A., 2006. Kaba Yemlerde Niteliğin Saptanması. Yardımcı Ders Kitabı. Hasad Yayıncılık, 159 s.
- Kılıç, Ü. ve Sariççek B.Z. 2006. *In vitro* gaz üretim tekniğinde sonuçları etkileyen faktörler. Hayvansal Üretim, 47(2), 54-61.
- Kılıç, Ü. ve Sariççek B.Z., 2007. Kaba yemleri saklama tipinin *in vitro* gaz üretim miktarı, gaz üretim parametreleri ve enerji içerikleri üzerine etkileri. 5. Ulusal Zootekni Bilim Kongresi, S.69. 05-08 Eylül, Van.
- Kılıç, Ü., 2005. Ruminant Beslemede Kullanılan Bazı Yem Hammaddelerinin *In vitro* Gaz Üretim Tekniği Kullanılarak Bazı Fermentasyon Ürünlerinin ve Enerji İçeriklerinin Belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniv. Fen Bil. Enst. (Doktora Tezi) Samsun.
- Klieve, A.V. and Hegarty R.S., 1999. Opportunities of biological control of ruminant methanogenesis. Australian Journal of Agricultural Research, 50, 1315-1319.
- Knapp, J.R., Laur G.L., Vadas P.A., Weiss W.P. and Tricarico J.M., 2014. Invited review: enteric methane in dairy cattle production: quantifying the opportunities and impact of reducing emissions. Journal of Dairy Science, 97, 3231-3261.
- Kolver, E.S., Aspin P.W., Jarvis G.N., Elborough K.M. and Roche J.R., 2004. Fumarate reduces methane production from pasture fermented in continuous culture. Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production, 64, 155-159.
- Kumar, R., Kamra D.N., Agrawal N. and Chaudhary L.C., 2009. Effect of Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) oil on *in vitro* methanogenesis and fermentation of feed with buffalo rumen liquor. Animal Nutrition and Feed Technology, 9, 237-243.
- Kutlu, H.R., 2008. Yem Değerlendirme ve Analiz Yöntemleri. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü. Ders notu. Z.M. 208. Adana.
- Kyoto-Protocol., 1998. Kyoto protocol to the united nations framework convention on climate change. <https://unfccc.int/resource/docs/convkp/kpeng.pdf> (17.11.2018).
- Lee, B.H., Ghassemi Nejad J., Kim B.W., Ohh S.J. and Sung K.I., 2016. Fatty acid profile of meat, diurnal changes in volatile fatty acids, rumen fluid parameters, and growth performance in Korean native (Hanwoo) steers fed high- and low-forage diets supplemented with chromium-methionine . Revista Brasileira de Zootecnia, 45(8), 483-488.
- Lei, Y., Hannoufa A., Prates L.L., Shi H., Wang Y., Biligetu B., Christensen D. and Yu P., 2018. Effects of TT8 and HB12 silencing on the relations between the molecular structures of alfalfa (*Medicago sativa*) plants and their nutritional profiles and *in vitro* gas production. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 66, 5602–5611.
- Lima, P.M.T., Moreira G.D., Sakita G.Z., Natel A.S., Mattos W.T., Gimenes F.M.A., Gerdes L., McManus C., Abdalla A. L. and Louvandini H., 2018. Nutritional evaluation of the legume *Macrotyloma axillare* using *in vitro* and *in vivo* bioassays in sheep. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 102, e669–e676.

- Liu, Y. and Whitman W.B., 2008. Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic archaea. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1125, 171–189.
- Mahmood Ameen, Sh., 2015. Potential Nutritive Value and Methane Production of Some Ruminant Feedstuffs From North of Iraq Estimated Using an *In vitro* Gas Technique. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü (Yüksek Lisans Tezi) Kahramanmaraş.
- Makkar, H.P.S., 2010. *In vitro* screening of feed resources for efficiency of microbial protein synthesis. In: Vercoe P. E. Makkar H. P. S. Schlink A. C. (Eds), *In vitro* screening of plant resources for extra-nutritional attributes in ruminants: nuclear and related methodologies. New York. Springer, pp. 106-144.
- Malushi, N., Maia M.R.G., Cabrita A.R.J., Papa L., Oliveira H.M., Fonseca A.J.M. and Celami A., 2017. Chemical content and *in vitro* digestibility of successive cuts of fresh alfalfas and its hay. *Albanian Journal of Agricultural Sciences*, 11-18.
- Martin, S.A., 2004. Effects of DL-malate on *in vitro* forage fiber digestion by mixed ruminal microorganisms. *Current Microbiology*, 48 (1), 27-31.
- Martin, S.A., Sullivan H.M. and Evans J.D., 2000. Effect of sugars and malate on ruminal microorganisms. *Journal of Dairy Science*, 83, 2574-2579.
- McGinn, S.M., Beauchemin K.A., Coates T. and Colombatto D., 2004. Methane emissions from beef cattle: effects of monensin, sunflower oil, enzymes, yeast, and fumaric acid. *Journal of Animal Science*, 82, 3346-3356.
- Melesse A., Steingass H., Schollenberger M., Holstein J. and Rodehutsord M., 2017. Nutrient compositions and *in vitro* methane production profiles of leaves and whole pods of twelve tropical multipurpose tree species cultivated in Ethiopia. *Agroforestry Systems*, DOI 10.1007/s10457-017-0110-9.
- Menke, K.H. and Steingass H., 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. *Animal research and development, Separate Print*, 28, 7-55.
- Menke, K.H., Raab L., Salewski A., Steingass H., Fritz D. and Schneider W., 1979. The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *The Journal of Agricultural Science*, 93, 217–222.
- Morgavi D.P., Forano E., Martin C. and Newbold C.J., 2010. Microbial ecosystem and methanogenesis in ruminants. *Animal*, 4(7), 1024–1036.
- Moss, A.R, Jouany J.P.O. and Newbold C.J., 2000. Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Annals of Zootechnology*, 49, 231–235.
- Nasehi, M., Torbatinejad N.M., Rezaie M. and Ghoorchi T., 2017. Effect of polyethylene glycol addition on nutritive value of green and black tea co-products in ruminant nutrition. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 12(5), 254-260.
- Navarro-Villa, A., Brien M.O., Boland T.M. and Kiely P.O., 2011. *In vitro* rumen methane output of red clover and perennial ryegrass assayed using the gas production technique (GPT). *Animal Feed Science and Technology*, 168, 152–164.
- Negash, D., Animut G., Urgie M. and Mengistu S., 2017. Chemical composition and nutritive value of oats (*Avena Sativa*) grown in mixture with vetch (*Vicia Villosa*) with or without phosphorus fertilization in east shoa zone, Ethiopia.

- Academic Research Journal of Agricultural Science and Research, 5(7), 471-479.
- Newbold, C.J., McIntosh F.M., Williams P., Losa R. and Wallace R.J., 2004. Effects of a specific blend of essential oil compounds on rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*, 114 (1-4), 105-112.
- Nkrumah, J.D., Okine E.K., Mathison G.W., Schmid K., Li C., Basarab J.A., Price M.A., Ang Z. and Moore S.S., 2006. Relationships of feedlot feed efficiency, performance, and feeding behavior with metabolic rate, methane production and energy partitioning in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 84, 145–153.
- Nooriyan Soroor, M.E., Moeini M.M. and Vosoghi F., 2016. The effect of eucalyptus essential oil on sheep *in vitro* fermentation parameters and production of methane. *Journal of Animal Research and Nutrition*, 2(3), 19-26.
- NRC 2001. *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7th Rev. Ed. National Academic Sci., Washington, DC.
- Ojo, V.O.A., Adeyemi T.A., Adelusi O.O., Bolarin-Akinwande O.O. and Amodu J.T., 2018. Chemical composition and *in vitro* gas production of fruits of four tropical forage species. *Animal Production Research*, 30(1), 60-71.
- Ørskov, E.R. and McDonald I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92, 499-503.
- Ørskov, E.R. and Ryle M., 1990. *Energy Nutrition in Ruminants*. Elsevier, London, 149 pp.
- Öztürk, H., 2007. Küresel ısınmada ruminantların rolü. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 78(1).
- Palangi, V. and Safamehr A., 2016. The determination of nutritive value of alfalfa in different cuts using nylon bags and gas production techniques. *Journal of Research in Animal Nutrition*, 2(3), 1-7.
- Palangi, V., 2016. The effects of heat treating on ruminal disappearance of crude protein and dry matter of barley and investigation the degradation process using different digestible models. *Journal of Research in Animal Nutrition*, 2(4), 9-17.
- Partanen, K. and Jalava T., 2005. Effects of some organic acids and salts on microbial fermentation in the digestive tract of piglets estimated using an *in vitro* gas production technique. *Agricultural and Food Science*, 14, 311–324.
- Paya, H., Taghizadeh, A., Janmohammadi H. and Moghadam G.A., 2007. Nutrient digestibility and gas production of some tropical feeds used in ruminant diets estimated by the *in vivo* and *in vitro* gas production techniques. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2(4), 108-113.
- Pell, A.N., Pitt R.E., Doane P.H. and Schofield P., 1998. The development, use and application of the gas production technique at Cornell university, USA. In: British Society of Animal Science (Ed.), *In vitro* techniques for measuring nutrient supply to ruminants. Occasional Publication, no. 22. British Society of Animal Science. Edinburgh, UK. pp. 45–54.
- Pirondini, M., Colombini S., Malagutti L., Rapetti L., Galassi G., Zanchi R. and Crovetto G.M., 2015. Effects of a selection of additives on *in vitro* ruminal methanogenesis and *in situ* and *in vivo* NDF digestibility. *Journal of Animal Science*, 86, 59–68.

- Pisarčíková J., Váradyová Z., Mihalíková K. and Kišidayová S., 2016. Quantification of organic acids in ruminal *in vitro* batch culture fermentation supplemented with fumarate using a herb mix as a substrate. *Canadian Journal of Animal Science*, 96, 60–68.
- Polat, M., Şayan Y., Özkul H. ve Öneç S., 2007. Kaba yemlerin çeşitli inkübasyon periyotlarındaki *in vitro* gaz oluşumları ve farklı regresyon eşitlikleri ile tahminlenen *in vitro* metabolik enerji değerleri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 44 (1), 113-122.
- Rabelo, C.H.S., Basso F.C., Lara E.C., Jorge L.G.O., Harter C.J., Mari L.J. and Reis R.A., 2017. Effects of lactobacillus buchneri as a silage inoculant or probiotic on *in vitro* organic matter digestibility, gas production and volatile fatty acids of low dry-matter whole-crop maize silage. *Grass and Forage Science*, 72, 534–544.
- Raftari, M., Azizi Jalilian F., Abdulmir, A.S., Son R., Sekawi Z. and Fatimah A.B., 2009. Effect of organic acids on escherichia coli O157:H7 and staphylococcus aureus contaminated meat. *The Open Microbiology Journal*, 3, 121-127.
- Reis, L.G., Chaves A.V., Williams S.R.O. and Moate P.J., 2014. Comparison of enantiomers of organic acids for their effects on methane production *in vitro*. *Animal Production Science*, 54, 1345–1349.
- Robinson, P.H., 2003. Estimating Alfalfa Hay and Corn Silage Energy Levels UC Davis Equations using NDF and ADF. Cooperative Extension. University of California, Davis. <https://animalscience.ucdavis.edu/sites/g/files/dgvnsk446/files/inline-files/Web200309.pdf> (17.11.2018).
- Ronald, L.B. and Rex E.R., 1993. Forages for Cattle: New Methods of Determining Energy Content and Evaluating Heat Damage. University of Missouri. <https://extension2.missouri.edu/g3150> (17.11.2018).
- SAS Institute Inc. 2016. SAS/CONNECT® 9.4 User's Guide. Fourth Edition. Cary. NC: SAS Institute Inc.
- Shaver, R.D., 2004. Forage Quality Variation. Mid-South Ruminant Nutrition Conference, Arlington.
- Sherasia, P.L., Pandya P.R., Parnerkar S., Murty S. and Devalia B.R., 2017. *In vitro* digestibility and methane production as affected by incorporation of different levels of solid state fermented biomass in total mixed rations. *Indian Journal of Animal Nutrition*, 34 (4), 420-424.
- Snedecor, G.W. and Cochran W.A., 1976. *Statistical Methods* (6th ed.). Ames, Iowa: The Iowa State University Press.
- Soliva, C.R., Hindrichsen I.K., Meile L., Kreuzer M. and Machmuller A., 2003. Effects of mixtures of lauric and myristic acid on rumen methanogens and methanogenesis *in vitro*. *Letters in Applied Microbiology*, 37, 35–39.
- Steinfeld, H., Gerber P., Wassenaar T., Castel V., Rosales M. and Haan C., 2006. *Livestock's long shadow: environmental issues and options*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 82-114.
- Sui, M.X., 2018. Correlation research between gas production characteristics and CNCPS components for roughages. 4th International Conference on Agricultural and Biological Sciences. *Earth and Environmental Science*, 185, 012015.



- Tabatabaei, S.M.M., Najaf-nejad B., Zamani P., Taghizadeh A., Ahmadi A. and Aliarab H., 2011. Estimating chemical composition, degradation parameters and gas production of persian clover nutrients at different plant's growth stages. *Iranian Journal of Animal Science*, 42(3), 255-264.
- Taghizadeh, A., Safamehr A., Palangi V. and Mehmannaavaz Y., 2008. The determination of metabolizable protein of some feedstuffs used in ruminant. *Research Journal of Biological Sciences*, 3, 804-806.
- Tamminga, S., 1992. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. *Journal of Dairy Science*, 75(1), 345–357.
- Tamminga, S., Brandsma G.G., Dijkstra J., Van Duinkerken G., Van Vuuren A.M. and Blok M.C., 2007. Protein Evaluation for Ruminants: The DVE/OEB2007 System. CVB Documentation Report nr. 53. Centraal Veevoeder Bureau (CVB), Lelystad, The Netherlands.
- Tejido, M.L., Ranilla M.J., Garcia-Martinez R. and Carro M.D., 2005. *In vitro* microbial growth and rumen fermentation of different substrates as affected by the addition of disodium malate. *Journal of Animal Science*, 81, 31-38.
- Tian, J., Yu Y., Yu Z., Shao T., Na R. and Zhao M., 2014. Effects of lactic acid bacteria inoculants and cellulase on fermentation quality and *in vitro* digestibility of *Leymus chinensis* silage. *Grassland Science*, 60, 199-205.
- Tilley, J.M.A. and Terry R.A.A., 1963. Two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18, 104-111.
- Toit, C.J.L., Niekerk W.A., Meissner H.H., Erasmus L.J. and Morey L., 2018. Nutrient composition and *in vitro* methane production of sub-tropical grass species in transitional rangeland of South Africa. *The Rangeland Journal*, 40: 1–8.
- Toprak, N.N. ve Yilmaz A., 2013. The effects of malic acid and its salts on rumen fermentation and fattening performance of cattle. *Krmiva 55. Zagreb 4*, 197-207.
- Tunç, A.E., Cufadar Y. ve Yaman S., 2017. Estimation of relationship between *in situ* and *in vitro* rumen protein degradability of extruded full fat soybean. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 5(10), 1237-1242.
- Uslu, O.S., Kurt O., Kaya E. ve Kamalak A., 2018. Effect of species on chemical composition, metabolizable energy, organic matter digestibility and methane production of some legume plants grown in Turkey. *Journal of Applied Animal Research*, 46(1), 1158-1161.
- Van Soest, P. and Robertson J.B., 1985. *A Laboratory Manual for Animal Science 612*. Cornell University, Ithaca, New York, USA.
- Van Soest, P.J., 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant*, second ed. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA.
- Van Soest, P.J., Robertson J.D. and Lewis B.A., 1991. Methods for dietary fibre, neutral detergent fibre and non-starch polysaccharides in relation to animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*, 74, 3583–3597.
- Van Soest, P.J., Wine R.H. and Moore L.A., 1966. Estimation of the true digestibility of forages by the *in vitro* digestion of cell walls. In: *Proceedings of the Xth International Grassland Congress*. Finnish Grassl. Assoc., Helsinki, Finland, pp. 438–441.
- Voet, D. and Voet J.G., 2006. *Biochemistry*. 3rd Edition. John Wiley and Sons, Inc. NY.

- Wiedmeier, R.D., Arambell M.J. and Walters J.L., 1987. Effect of orally administered pilocarpine on ruminal characteristics and nutrient digestibility in cattle. *Journal of Dairy Science*, 70, 284-289.
- Williams, B.A., Tamminga S. and Verstegen M.W.A., 2000. Fermentation kinetics to assess microbial activity of gastro-intestinal microflora. In: British Society of Animal Science (Ed.), *Gas Production: Fermentation Kinetics for Feed Evaluation and to Assess Microbial Activity*. An EAAP Satellite Symposium. pp. 97–100.
- Wolin, M.J., 1960. A theoretical rumen fermentation balance. *Journal of Dairy Science*, 43, 1452–1459.
- Wolin, M.J., Miller T.L. and Stewart C.S., 1997. Microbe-microbe interactions. *The Rumen Microbial Ecosystem*. pp. 467-491.
- Zhang, J., Shi H., Wang Y., Li S., Cao Z., Ji S., He Y. and Zhang H., 2017. Effect of dietary forage to concentrate ratios on dynamic profile changes and interactions of ruminal microbiota and metabolites in Holstein heifers. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1-19.

## ÖZGEÇMİŞ

İran'ın Bonab (Binab, Binev Azericede) şehrinde 1982 yılında doğdu. İlköğrenimini 1990 yılında Bonab'da tamamladıktan sonra 2001 yılında Maragheh'nin Nemoneye Azadeghan Lisesi'nden mezun oldu. İki bin bir yılında Maragheh Azade Eslami Üniversitesi Ziraat Mühendisliği Fakültesi Zootekni Bölümüne birincilikle yerleşerek Genç Araştırmacılar ve Seçkinler Kulübü'ne girmeye hak kazandı. Lisans öğrenimini 2005 yılında tamamlayarak aynı yılın güz döneminde Ziraat Mühendisliği Fakültesi Zootekni Bölümü Besleme Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başlayarak öğrenimini 2008 yılında tamamladı. Yaklaşık dört yıl süreyle özel firmalarda rasyon hazırlama danışmanı olarak çalıştıktan sonra Şahin Dezh Peyam Noor Üniversitesi ve Maragheh ve Ajabshir Peyam Noor Üniversitesi'nde hayvan besleme konuları üzerine çalıştı. İki bin on üç yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı Yemler ve Hayvan Besleme Bilim Dalı'nda doktora eğitimine başladı. İyi derecede Azerice, Türkçe, Farsça ve İngilizce bilen Valiollah PALANGI 'nin aynı zamanda 12 adet SCI expanded kapsamındaki dergilerde, 3 adet ulusal hakemli ve 27 adet ulusal ve uluslar arası kongrelerde sunulan yayını bulunmaktadır. Evli ve bir erkek çocuk babasıdır.