

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HAYVAN BESLEME VE BESLENME  
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BAZI KABA YEMLERİN İN VİTRO KURU MADDE  
SİNDİRİLEBİLİRLİK DEĞERLERİNİN  
BELİRLENMESİNDE FARKLI SEVİYELERDE  
SULANDIRILMIŞ AT DIŞKISININ KULLANILMA  
OLANAKLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esmâ POLAT

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nihat DENEK

ŞANLIURFA

2007

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HAYVAN BESLEME VE BESLENME  
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BAZI KABA YEMLERİN İN VİTRO KURU MADDE  
SİNDİRİLEBİLİRLİK DEĞERLERİNİN  
BELİRLENMESİNDE FARKLI SEVİYELERDE  
SULANDIRILMIŞ AT DIŞKISININ KULLANILMA  
OLANAKLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esmâ POLAT

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nihat DENEK

Bu tez Hr.Ü Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından HÜBAK-766 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2007

**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

Esma POLAT'ın hazırladığı “**Bazı Kaba Yemlerin İn Vitro Kuru Madde Sindirilebilirlik Değerlerinin Belirlenmesinde Farklı Seviyelerde Sulandırılmış At Dışkısının Kullanılma Olanakları**” konulu çalışma, 28/12/2007 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Doç. Dr. Nihat DENEK**  
**Harran Üniversitesi**  
**BAŞKAN**

**Doç. Dr. Abdullah CAN**  
**Harran Üniversitesi**  
**ÜYE**

**Yrd. Doç. Dr. Mehmet AVCI**  
**Harran Üniversitesi**  
**ÜYE**

---

**O N A Y**

...../...../200

**Prof.Dr. Salih Zeki ZİYLAN**  
**Enstitü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tezimin hazırlanması süreçlerinde, sürekli ilgisi, sabrı ve desteği ile kolaylaştıran tez danışmanım sayın Doç.Dr. Nihat DENEK'e ve ders hocalarım sayın Yrd.Doç.Dr. Mehmet AVCI ve Yrd.Doç.Dr. Oktay KAPLAN'a, denemelerin yürütülmesinde desteklerini esirgemeyen Doç.Dr. Abdullah CAN ile yüksek lisans örgencisi Mahmut ŞEKER'e, istatistiksel analizlerin yapılmasında yardımcı olan Yrd.Doç.Dr. Seyrani KONCAGÜL'e, çalışmanın yürütülmesinde mali kaynak sağlayan Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığına ve yüksek lisans tez sürem boyunca desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

**Esmâ POLAT**  
**2007**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	i
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	ii-iii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	iv
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	v
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ÖZET</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1-2
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Ruminantlarda Mikroorganizma Faaliyetleri.....	3-4
2.2. Atlarda Mikroorganizma Faaliyetleri.....	4-5
2.3. Yemlerin Sindirilebilirliğinin Belirlenmesinde Yararlanılan Yöntemler.....	5-6
2.3.1. İn Vivo Yöntemler.....	6-8
2.3.2. İn Vitro Yöntemler.....	8
2.3.2.1. Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) Tekniği.....	8
2.3.2.2. İki Aşamalı Sindirim Yöntemi.....	9
2.3.2.3. Enzim Tekniği.....	9-11
2.3.2.4. Gaz Üretim Tekniği.....	11-12
2.3.2.5. Naylon Kese Tekniği.....	12-13
2.3.2.6. Dışkı Tekniği.....	14-15
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	16
3.1. Klasik Sindirim Denemesi (İn Vivo Yöntem).....	16
3.1.1. Materyal.....	16
3.1.1.1. Hayvan Materyali.....	16
3.1.1.2. Sindirim Denemesi Kafesleri.....	16
3.1.1.3. Gübre Toplama Torbaları ve Tespit Kuşakları.....	16-17
3.1.1.4. Deneme Yemleri.....	17

3.1.2. Metot.....	17
3.1.2.1. Yem Maddelerinin Kuru Madde Sindirilme Derecelerinin Belirlenmesi.....	17
3.1.2.2 Ham Besin Madde Analizleri.....	18
3.2. Dışkı Tekniği Denemesi (İn Vitro Yöntem).....	18
3.2.1. Materyal.....	18
3.2.1.1. Yem Materyali.....	18
3.2.1.2. Dışkı Materyali.....	18
3.2.1.3. İnkübasyon Tüpleri.....	19
3.2.2. Metot.....	19
3.2.2.1. Tampon Çözeltinin Hazırlanması.....	19
3.2.2.2. Pepsin Çözeltisi.....	19
3.2.2.3. Üre Çözeltisi.....	19
3.2.2.4. Dışkı Tekniğinin Uygulanması.....	20
3.3. İstatistiksel Analizler.....	21
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>23-29</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>30-34</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>35-40</b>

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

	<b>Sayfa No</b>
<b>Çizelge 1.</b> % 10 At dışkısı (100 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.....	25
<b>Çizelge 2.</b> % 15 At dışkısı (150 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.....	26
<b>Çizelge 3.</b> % 20 At dışkısı (200 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.....	27
<b>Çizelge 4.</b> % 25 At dışkısı (250 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki .....	28
<b>Çizelge 5.</b> % 30 At dışkısı (300 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki .....	29

**TABLolar DİZİNİ**

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b> At, sığır ve koyunda mikrobiyal sindirim oranları .....	5
<b>Tablo 2.</b> Araştırmada kullanılan yem maddelerinin ham besin madde içerikleri, % KM .....	23
<b>Tablo 3.</b> Araştırmada kullanılan yem maddelerinin in vivo ve farklı seviyelerde at dışkıları kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri, % KM .....	24



**RESİMLER DİZİNİ**

	<b>Sayfa No</b>
<b>Resim 1.</b> Klasik sindirim denemesinde kullanılan Sindirim kafesleri ve deneme hayvanları .....	21
<b>Resim 2.</b> İn vitro sindirim denemesinde kullanılan inkubasyon düzeneği.....	22
<b>Resim 3.</b> İn vitro sindirim denemesinde kullanılan süzme düzeneği.....	22

## ÖZET

### **Bazı Kaba Yemlerin İn Vitro Kuru Madde Sindirilebilirlik Değerlerinin Belirlenmesinde Farklı Seviyelerde Sulandırılmış At Dışkısının Kullanılma Olanakları**

Esmâ POLAT  
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları  
Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma, ruminant beslenmesinde kullanılan bazı kaba yemlerin; arpa samanı (AS), buğday samanı (BS), mercimek samanı (MS), buğday silajı (BSi), mısır silajı (MSi) ve yonca kuru otu (YKO)'nun in vitro kuru madde sindirilebilirliklerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak farklı seviyelerde at dışkısının kullanım olanaklarının araştırılması ve elde edilen değerlerin klasik sindirim değerleri ile karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Deneme yemleri %10, 15, 20, 25 ve 30 (litre tampon çözelti içerisinde 100, 150, 200, 250 ve 300 gr) taze at dışkısı içeren inokulant kaynağı ile 72 saat mikrobiyal inkubasyona bırakılmış, daha sonra tüplere 0.1 N %0.4 HCl - pepsin çözeltisi ilave edilerek 48 saat inkube edilmişlerdir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile klasik sindirim denemesinden belirlenen değerler karşılaştırıldığında en yüksek korelasyon katsayısı, regresyon eşitliği ve RSD değeri;  $r = 0.90$ ,  $y=0.699 (\pm 0.0717)x+15.52 (\pm 4.02)$ ,  $R^2 = 0.91$  ve  $RSD = 3.791$  olarak %10 at dışkısından; en düşük korelasyon katsayısı, regresyon eşitliği ve RSD değeri;  $r = 0.77$ ,  $y=0.5494 (\pm 0.09652)x+26.34 (\pm 4.98)$ ,  $R^2 = 0.60$  ve  $RSD = 5.56$  olarak %20 at dışkısının kullanıldığı denemeden elde edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, yem maddelerinin in vitro KMS değerlerinin belirlenmesinde ve regresyon eşitlikleri kullanılarak in vivo KMS değerlerinin tahmin edilmesinde at dışkısının yüksek bir potansiyele sahip olduğu, yem maddelerinin in vitro KMS değerlerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak at dışkısının kullanılabilmesi, in vivo değerler ile karşılaştırıldığında en yüksek korelasyon katsayısının ( $r = 0.90$ ) %10 dışkı içeren tampon çözeltiden elde edildiği, ancak yöntemin yayınlatabilmesi ve pratikte kullanılabilmesi için bu konuda klasik sindirim değerleri bilinen çok sayıda yem maddeleri ile daha fazla araştırmanın yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Ruminant, Sindirim, At, Dışkı, İn vitro.

## ABSTRACT

### **An Investigation of Usage Different Amount of Horse Faecal Fluid for Determining Dry Matter Digestibility of Roughages**

Esma POLAT

**Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Master's Thesis**

#### **Abstract**

This study was carried out to investigate the precision of buffered different amount of horse faecal suspensions (HFS) as the inoculums in the in vitro digestibilities of barley straw (BS), lentil straw (LS), wheat silage (WS), corn silage (CS), and alfalfa hay (AH) and their comparison with in vivo apparent digestibility technique. Experimental roughages were incubated with 10, 15, 20, 25 and 30% of fresh horse faeces ( 100, 150, 200, 250 and 300 g/ per liter of buffer solution, respectively) including inoculant for 72 h, then 0.1 N HCl including 0.4% pepsin solution were added for additional 48 h incubations. Results from this study indicate that 10% HFT has the highest potential to be used for predicting in vivo DM digestibility of roughages due to having higher correlation coefficient ( $r=0.90$ ) and  $R^2$  (0.91) and lower RSD (3.79) with equation  $Y=0.699 (\pm 0.0717)x + 15.52 (\pm 4.02)$ . In contrast, 20% HFS has the lowest potential to be used for predicting in vivo DM digestibility of roughages due to having lowest correlation coefficient ( $r=0.77$ ) and  $R^2$  (0.60) and highest RSD (5.56) with equation  $Y=0.549 (\pm 0.0965)x + 26.34 (\pm 4.98)$ . According to result of this study, 10% HFS has the high potential to determining in vitro dry matter digestibilities of roughages using regression equation obtained from in vivo values. However, more research with wide range of feedstuffs is required to modify HTS to get better regression equation and usage in practical field.

**Keywords:** Ruminat, Digestibility ,Horse, Faeces, In vitro.

## 1.GİRİŞ

İnsan ve hayvanlar, yaşama, büyüme, iş, süt ya da yumurta verimi gibi aktiviteler yanında yapılarındaki canlı maddelerin onarım ya da yeniden yapılabilmeleri için dışarıdan besin maddesi (karbonhidrat, yağ ve proteinler) dediğimiz kimyasal enerji kaynaklarını ve etkin maddeleri (su, mineral maddeler ve vitaminler) almak zorundadırlar. Böylece tüm fizyolojik fonksiyonların bütünlüğü sağlanarak canlılık olayları sürdürülmüş olur (11).

Bir yem maddesi ya da karmasının besin madde açısından besleyici değeri kimyasal analizlerle belirlenmektedir. Bununla beraber, organizmada sindirim, emilim ve metabolizma olayları sürecinde önemli ve kaçınılmaz kayıplar meydana gelmektedir. Dolayısıyla yemin gerçek besleyici değeri, kimyasal analiz yoluyla belirlenenden oldukça farklı olabilmektedir. Sindirim denemeleri, yemlerin değerliliğinin belirlenmesinde, kimyasal analizlerinden sonra en sık başvurulan ve güvenilir sonuç veren metotlardır. Yemlerin sindirilme derecelerinin belirlenmesinde in vivo ve in vitro sindirim yöntemleri kullanılmaktadır (22).

Yem maddelerinin sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler arasında en güvenilir olanı klasik sindirim denemeleridir. Ancak klasik sindirim denemelerinin canlı hayvan barındırma güçlüğü, deneme süresinin uzun zaman alması, fazla yem ve işçiliğe ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Klasik sindirim denemelerinin uzun zaman alması ve ekonomik olmaması gibi olumsuzlukları göz önünde bulunduran araştırmacılar çeşitli in vitro sindirim yöntemleri geliştirme yoluna gitmişlerdir (65).

Yem maddelerinin kuru madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde en bilinen ve yaygın olarak kullanılan in vitro yöntem Tilley ve Terry (86) tarafından geliştirilen iki aşamalı sindirim yöntemidir. Bu yöntemde yemlerin mikrobiyal fermentasyonu için rumen sıvısı kullanılmakta ve rumen sıvısı temini için hayvanlara cerrahi operasyonla rumen kanülü takılması, olası sağlık problemlerinin ortaya çıkması, uzun süreli bakım masrafları ve bu hayvanların kullanımı ile ilgili etik ve hayvan refahı gibi faktörlerin bulunması dezavantaj olarak kabul edilmektedir (60,61). Bu dezavantajları göz önünde bulunduran araştırmacılar in vitro çalışmalarda inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı yerine hayvan dışkı kullanım olanaklarını araştırmışlardır. İki aşamalı in vitro sindirim yönteminde rumen sıvısı yerine dışkı kullanılabileceği birçok çalışmada bildirilmektedir (6,34,35,55,57,74,75,76).

Çiftlik hayvanlarının dışkıları rumen ve sindirim sisteminden köken alan mikroorganizmalar içermektedirler. Böylece farklı çiftlik hayvanlarından alınan dışkı örneklerindeki mikroorganizma yoğunluğu ve etkinliği hayvan türü ve rasyondan etkilenmektedir. Atlarda mikroorganizma faaliyetleri kalın bağırsakta olmaktadır. Kalın bağırsak başlıca sekum, kolon ve rektum olmak üzere üç ana bölümden oluşmaktadır. Sekum 30–40 lt lik bir hacme sahiptir ve selulozca zengin yemler için fermentasyon bölümüdür. Mikroorganizma popülasyonu birinci derecede sekumda, ikinci derecede kolonda yoğun olarak bulunmaktadır. Ventral kolonda bakteri konsantrasyonu kolonun son bölümüne kıyasla 6–7 kat fazladır. Sekumda bakteri popülasyonu 1 gramda  $10^7$ - $10^{10}$ , protozoa popülasyonu ise  $10^3$ - $10^4$  kadardır. Tek mideli herbivorlarda incebağırsaklarda sindirilemeyen selüloz ve bir takım kolay eriyebilen karbonhidratlarla proteinlerin bir kısmı bakteri ve protozoalarla daha ileri derecede fermentatif ve çürüme olaylarına maruz kalır. Kalınbağırsaktaki bakterilerin yaklaşık %20'si proteinleri parçalar. Siliatalar, bakteri popülasyonunun yaklaşık milyonda biri kadardır (79). Bütün herbivorlarda alınan besin maddelerinin fermentasyonu, selülozlu kısımların sindirilebilmesi için özel bir bölme gerekir. Ruminantlarda rumen bu iş için idealdir. Tek mideli herbivorlarda ise bu işi sekum ve kolon karşılamaktadır. Kalınbağırsaktaki karbonhidratların fermentasyonu rumen sindirimine benzer ürünler meydana getirir (uçucu yağ asitleri,  $CO_2$ ,  $CH_4$ , H). Kısa zincirli yağ asitleri emilerek hayvanın yaralanmasına sunulur. Proteinli maddelerin çürümesi esnasında ise amino asitlerin yanında  $H_2S$ ,  $CH_4$ ,  $NH_3$ ,  $CO_2$  gazları ile yağ asitleri, fenol, krezol, indol vs. oluşur. Bu gazlar ya anüs ile ya da emilerek akciğerlerle atılır. Tek mideli herbivorlarda besin maddelerinin en uzun kaldığı bölüm kalın bağırsaklardır. Kalınbağırsaklarda bakteriyel faaliyet sadece besin maddelerinin parçalanması için olmayıp hayat için gerekli olan B ve K vitaminleri gibi bazı maddeler sentezlenir. Bazı araştırmacılar yem maddelerinin in vitro kuru madde sindirilebilirliklerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak koyun ve sığır dışkısının başarılı olarak kullanılabileceğini bildirmektedirler (6,35,39). At dışkısı ruminant dışkısının aksine abomasum ve ince barsağın etkisine maruz kalmadığından daha yüksek bir fermentasyon kabiliyetine sahip olduğu yönünde bildirimler bulunmaktadır (1,53,56).

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Ruminantlarda Mikroorganizma Faaliyetleri

Ruminantlarda midenin anatomik yapısı ve fizyolojik fonksiyonları tek mideli hayvanlardan çok farklı olduğundan, bu hayvanların beslenmelerinde büyük fizyolojik ayrılıklar görülür. Ruminantların ön mide sistemlerinde bakterilerden, protozoalardan ve anaerobik funguslardan oluşan son derece yoğun bir mikroorganizma popülasyonu mevcuttur. Bir gram rumen içeriğinde yaklaşık olarak  $10^{10}$ - $10^{11}$  bakteri bulunmaktadır ve bu bakterilerin çoğunluğunu gram pozitif streptokoklar (*Streptococcus bovis*) oluşturmaktadır (24,25,26,73). Rumende bulunan selülotik bakterilerden, önemli olanları, *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus* ve *Butyrivibrio fibrisolvens*'dir. *Bacteroides succinogenes*, ekstrasellüler selülaz enzimine sahip olmasıyla bilinir ve selülazı difüzyon yoluyla ortama yayar. Rumende bulunan hemiselülotik bakterilerden önemli olanları *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Bacteroides rumenicola* ve *Ruminococcus spp.*'dir. Ayrıca rumende bulunan selülotik bakterilerin çoğunluğu da hemiselülozu sindirebilmektedirler. Pektin sindirimi ise *Butyrivibrio fibrisolvens*'in pektinolitik özelliği sayesinde gerçekleşmektedir. Amilolitik bakterilerden *Succinivibrio dextrinosolvens* dextrini yıkımlar, ancak nişastanın tümünü yıkımlayamaz. Bunun yanında selülotik bakterilerin büyük çoğunluğu selülozun yanı sıra nişastayı da yıkımlarlar. Nişastanın yıkımlanması uygun pH'da amilolitik bakterilerin oluşturdukları  $\alpha$ -amilaz enziminin aktivitesi ile şekillenmektedir (24). Metan gazı üreten bakteriler, rumen popülasyonu içerisinde özel bir sınıfa aittirler ve bu bakteriler,  $H_2$  gazını kullanarak rumen fermentasyonunu düzenlerler.  $H_2$  gazı ile  $CO_2$ 'in redüksiyonu sonucunda rumende metan oluşur. Metan oluşumunda diğer bir yol ise, *Methanobacterium* isimli bakterinin metanol, metilamin ve asetatı kullanarak metan gazı oluşturmasıdır (24,73). Rumende oluşan gaz miktarının yaklaşık % 65'i  $CO_2$ , % 27'si  $CH_4$ , % 7'si  $N_2$ , % 0,01'i  $H_2S$ 'ten oluşmaktadır (24,25) .

Çoğunluğu anaerobik ve proteolitik olan rumen protozoalarının büyük çoğunluğu ciliatalardan oluşmakta ve bir ml rumen yaklaşık  $10^5$ - $10^6$  kadar protozoa bulunmaktadır. Protozoalar rumen içeriğinin % 2'sini mikrobiyal azotun % 40'ını ve rumendeki fermentasyon ürünlerinin % 60'ını oluştururlar. Rumendeki protozoa popülasyonunun kütleli olarak rumen bakterileri ile yaklaşık aynı miktarda oldukları düşünülmektedir. Ciliate protozoaları yem

partiküllerini kullanarak bunları selüloz, hemiselüloz, pektin, nişasta, suda eriyebilen karbonhidratlar ve lipit içeren büyük bitki yapılarına parçalarlar. Rumen protozoalarının tamamı nişasta benzeri polisakkaritleri kendi bünyelerinde depolar ve bunları eksojen enerji kaynakları kesildiğinde kullanmaya başlarlar (24,25). Ruminantlar yüksek oranda kaba yemlerle beslendiklerinde, rumendeki mikrobiyel ortamın % 8'inden fazlasının funguslardan oluştuğu belirtilmekte ve fungusların işlevi tam olarak bilinmemekle beraber, selülozu ve ksilanı yıkımladıkları, en azından selülozun sindiriminde rol oynadıkları bilinmektedir (24).

## 2.2. Atlarda Mikroorganizma Faaliyetleri

Tek mideli herbivorlar için kalın bağırsak sindirimi önemlidir. Bütün herbivorlarda alınan besin maddelerinin fermentasyonu, selülozlu kısımların sindirilebilmesi için özel bir bölme gerekir. Ruminantlarda rumen bu iş için idealdir. Tek mideli herbivorlarda ise bu işi sekum ve kolon karşılamaktadır. Taylar ancak 15-25 aylık yaşa gelince sekum bütün işlevlerini kazanmış olur. Tek mideli herbivorlarda kalın bağırsaklar sadece selüloz sindirimine değil, diğer maddelerin sindirim ve absorpsiyonunda görev üstlenir. Tek mideli herbivorlarda sekum ve kolon ruminantlarınkinden daha büyük bir kapasiteye sahiptir ve keseler oluşturur. Burada villuslar bulunmamaktadır. Müköz karakterde salgı bezleri vardır. Tek mideli herbivorlarda incebağırsaklarda sindirilemeyen selüloz ve bir takım kolay eriyebilen karbonhidratlarla proteinlerin bir kısmı bakteri ve protozoalarla daha ileri derecede fermentatif ve çürüme olaylarına maruz kalır (79).

Atlarda mikroorganizma faaliyetleri kalın bağırsakta olmaktadır. Kalın bağırsak başlıca sekum, kolon, ve rektum olmak üzere üç ana bölümden oluşmaktadır. Sekum 30-40 lt lik bir hacme sahiptir ve selulozca zengin yemler için fermentasyon bölgesidir. Mikroorganizma popülasyonu birinci derecede sekumda, ikinci derecede kolonlarda yoğundur. Sekumda bakteri popülasyonu 1 gramda  $10^7$ - $10^{10}$ , protozoa popülasyonu ise  $10^3$ - $10^4$  kadardır. Kalın bağırsaklarda oluşan uçucu yağ asitlerinden asetik asit oranı yaklaşık %67, propiyonik asit %19 ve bütirik asit ise %14 kadardır. Propiyonik asit kolonlarda sekuma göre daha fazla üretilmektedir. Kalın bağırsaklarda hiçbir enzim salgılanmaz. Müsinden zengin salgı fermentatif olayların oluşmasını kolaylaştırır (79)

Kalınbağırsaktaki karbonhidratların fermentasyonu rumen sindirimine benzer ürünler meydana getirir (uçucu yağ asitleri,  $CO_2$ ,  $CH_4$ , H). Kısa zincirli yağ asitleri absorbe edilerek

hayvanın yaralanmasına sunulur. Proteinli maddelerin çürümesi esnasında ise amino asitlerin yanında  $H_2S$ ,  $CH_4$ ,  $NH_3$ ,  $CO_2$  gazları ile yağ asitleri, fenol, krezol, indol vs. oluşur. Bu gazlar ya anüs ile ya da emilerek akciğerlerle atılır. Tek mideli herbivorlarda besin maddelerinin en uzun süre kaldığı bölüm kalın bağırsaklardır. Kalınbağırsaklarda bakteriyel faaliyet sadece besin maddelerinin parçalanması için olmayıp hayat için gerekli olan B ve K vitaminleri gibi bazı maddeler sentezlenir. Kalın bağırsakta bakteri popülasyonu en fazla sekum ve ventral kolondadır. Burada bakteri konsantrasyonu kolonun son bölümüne kıyasla 6-7 kat fazladır. Kalınbağırsaktaki bakterilerin yaklaşık %20'si proteinleri parçalar. Siliatlar, bakteri popülasyonunun yaklaşık milyonda biridir (79). Tablo 1'de at, sığır ve koyunların çeşitli sindirim organlarındaki mikrobiyal sindirim oranları sunulmuştur (11).

**Tablo 1:** At, sığır ve koyunda mikrobiyal sindirim oranları.

	Rumen	Sekum	Kolon ve Rektum	Toplam
At	-	15	54	69
Sığır	64	5	6	75
Koyun	71	8	4	83

### 2.3. Yemlerin Sindirilebilirliğinin Belirlenmesinde Yararlanılan Yöntemler

Yem maddelerinin sindirilme derecelerinin tespitinde kullanılan in vitro metotlardan en yaygın kullanılanı Tilley ve Terry (86)'nin iki aşamalı in vitro sindirim tekniğidir. Bu yöntem, birinci aşamada yem maddesinin rumen sıvısında, ikinci aşamada ise pepsin HCl çözeltisinde inkubasyona bırakılması ile uygulanmaktadır (36,86). İn vitro tekniklerden bir diğeri ise, enzim tekniği olarak bilinen ve yem maddesinin önce sellülaz, hemisellülaz ve amilaz enzimleri ile daha sonra pepsin HCl çözeltisi ile inkubasyona bırakılmasıyla uygulanmaktadır (4,8,10,14,19,22,30,36).

Yem maddelerinin organik madde sindirilebilirliklerinin ve enerji içeriklerinin tespitinde kullanılan in vitro metotlardan bir diğeri ise, 1979 yılında Alman araştırmacı Menke ve ark. (64) tarafından geliştirilen Hohenheim gaz testidir. Bu metoda göre, yemin sindirilebilir ham besin madde içeriğine dayandırılmadan ve sadece yemin in vitro ortamda oluşturabileceği gaz ( $CH_4$ ,  $CO_2$ ,  $NH_3$ , özellikle  $CH_4$ ) miktarından yararlanarak yemin



sindirilebilirliği ve enerji içeriğinin belirlenebileceği bildirilmektedir (22,36,37,45,48,64,73).

Naylon kese tekniği (in situ) tek başına yem maddesinin belirlenmesinde yeterli bir yöntem değildir. Ancak yem maddelerin naylon keselerde belirli bir süre rumende inkubasyona bırakıldıktan sonra, pepsin-HCl çözeltisinde belirli bir süre inkubasyona bırakılması ile yem maddesinin sindirilebilirliği belirlenebilmektedir (3,15,49,77).

Tilley ve Terry (86) tarafından geliştirilen iki aşamalı in vitro sindirim yönteminde yemlerin mikrobiyal fermentasyonu için rumen sıvısına ihtiyaç duyulmaktadır. İn vitro yöntemlerde rumen sıvısı temini için hayvanlara cerrahi operasyonla rumen kanülü takılması, olası sağlık problemlerinin ortaya çıkması, uzun süreli bakım masrafları ve bu hayvanların kullanımı ile ilgili etik ve hayvan refahı gibi faktörlerin bulunması dezavantaj olarak kabul edilmektedir (66). Bu dezavantajları göz önünde bulunduran araştırmacılar in vitro çalışmalarda inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı yerine taze koyun dışkısı kullanmışlardır (35). Çiftlik hayvanlarının dışkıları rumen ve sindirim sisteminden köken alan mikroorganizmalar içermektedirler. Böylece farklı çiftlik hayvanlarından alınan dışkı örneklerindeki mikroorganizma yoğunluğu ve etkinliği hayvan türü ve rasyondan etkilenmektedir.

### 2.3.1. İn Vivo Yöntemler

Yem maddelerinin sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde en güvenilir yöntem klasik sindirim denemesidir. Bir yem maddesinin organik madde sindirilebilirlik derecesi % 55-75 arasında ve fiziksel yapısı normal bir rumen fermentasyonu sağlıyorsa, sindirim denemesinde o yem maddesi doğrudan hayvanlara yedirilebilir. Ancak, konsantre yem maddelerinin çoğunluğu yalnız başına klasik sindirim denemesinde kullanılamaz. Bu tür yem maddeleri için “farklılıktan yararlanarak sindirilme derecesinin tespiti metodu” uygulanmaktadır (36,46).

Yem maddelerinin ham selüloz içeriği ile organik madde sindirilebilirliği arasında ters bir orantı vardır. Sığır ve domuzda yapılan çalışmalarda, yem maddesinin ham selüloz içeriğinin artışına bağlı olarak, organik madde sindirilebilirliğinde azalma görülmektedir. Aynı zamanda hayvanın tükettiği yem miktarı da organik maddenin sindirilme derecesini etkilemektedir. Yaşama payı ihtiyacının iki katı yem tüketildiğinde, organik maddenin sindirilme derecesinde 1-9 birim arasında bir gerileme görülmektedir (46).

Klasik sindirim denemeleri, koyun ve sığırların benzer sindirim yeteneğine sahip oldukları kabul edilerek, çoğunlukla koyunlarda uygulanmaktadır. Ancak yapılan çalışmalar, bu görüşün aksini göstermektedir (2,72). Aynı araştırmacılar bu farklılığın yemden yeme değişiklik göstermekle birlikte, genele olarak kaba yemlerin sığırlar tarafından daha iyi sindirildiğini bildirmektedir. Aynı araştırmacılar, yem maddesinde bulunan ham proteinin koyunlar, ham selülozu ise sığırlar tarafından daha yüksek düzeyde sindirildiğini göstermektedir.

Klasik sindirim denemesinde sindirim denemesi için özel olarak imal ettirilen, koyun ve keçilerin yerleştirilmelerine olanak sağlayan, ön tarafında portatif yemliği, yan tarafında portatif suluğu, arka tarafında ise hayvanların kafese konulup çıkarılabileceği kapılar bulunan sindirim kafesleri kullanılmaktadır. Gübre toplama torbaları ise polyester çadır kumaşından 40x60 cm ebatlarında, dört tarafında bağlama kemerleri bulunan ve bir tarafı fermuarlı gübre toplama torbaları kullanılmaktadır. At koşumuna benzer şekilde hazırlanan kuşaklar hayvanların üzerine yerleştirilerek, gübre toplama torbaları bu kuşakların arka kısımlarına bağlama kemerleri ile alt, üst ve yanlardan sıkıca bağlanmak suretiyle, hayvanlara tespit edilmekte ve böylece hayvanların gübrelerinin tamamı toplanmaktadır.

Klasik sindirim denemesinde her bir yem maddesi için en az 4 adet aynı yaşta, aynı ırkta erkek hayvan kullanılmaktadır. Denemede kullanılacak hayvanların kafes ortamı ile yeme adapte olmaları ve yem tüketimlerinin belirlenmesi için 10 günlük ön alıştırmaya dönemi, bunu izleyen 10 günlük asıl alıştırmaya dönemi ve nihayetinde 7 günlük gübre toplama dönemi uygulanmaktadır. Gübre toplama döneminde hayvanların çıkartmış oldukları günlük toplam gübre miktarı tartılarak kaydedilmekte ve bunun %10'u analizler için derin dondurucuda saklanmaktadır. Elde edilen analiz sonuçlarına göre deneme yemlerinin besin madde sindirilme dereceleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmaktadır.

$$\text{Sindirilme derecesi, \%} = \frac{\text{TBMM} - \text{GBMM}}{\text{TBMM}} \times 100$$

TBMM: Tüketilen besin madde miktarı  
GBMM: Gübredeki besin madde miktarı

### 2.3.2. İn Vitro Yöntemler

Klasik sindirim denemelerinin pahalı, zaman alıcı ve düzenek kurma zorlukları araştırmacıları yem maddelerinin sindirilebilirliğini belirlemede yeni arayışlara yöneltmiştir (20). Yem maddelerinin ham besin madde içerikleri kullanılarak sindirilebilirlik değerlerinin belirlemek için çeşitli regresyon eşitlikleri geliştirilmiştir, ancak elde edilen sonuçların güvenilir olmadığı gözlenmiştir (4,20,73).

#### 2.3.2.1. Near İnfrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) Tekniği

Yem maddelerinin yapısını ve sindirilme potansiyelini ölçmek amacıyla son yıllarda geliştirilmiş olan Near İnfrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) yönteminden yararlanılabilmektedir. Yöntem kısaca çok sayıda örnekten laboratuvar analizleri ile belirlenen standartların bilgisayara aktarılması ve standart yem örneğinden yansıyan ışık miktarı ile deneme materyalinden yansıyan ışık miktarının karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Bu yöntemin çevre kirliliği açısından herhangi bir zararlı yanının olmayışı, örneklerin hazırlanmasının basit oluşu, kimyasal maddelere gereksinim duyulmaması ve kısa sürede çok sayıda örneğin analiz edilebilmesi gibi olumlu yanlarına karşın, ekipmanlarının pahalı oluşu, yapısı ve sindirilebilirliği bilinen kontrol örneklere gereksinim duyulması gibi dezavantajlarıda bulunmaktadır (28,52).

Coelho ve ark. (21)'nin kaba yemlerle yaptıkları çalışmada, dalga boyu ve kalibrasyon işlemleri uygun şekilde yapıldığında, NIRS yönteminden elde edilen sonuçların, in vivo ve in vitro KMS ile yakın sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Bughrara ve ark. (13)'da aynı metotla yonca türleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada, ham besin madde içerikleri ve OMS'nin, in vivo ve in vitro metotlarla elde edilen sonuçlarla uyum içinde olduğunu bildirmektedirler.

#### 2.3.2.2. İki Aşamalı Sindirim Yöntemi

Yem maddelerinin yapısında selüloz, hemiselüloz ve lignin gibi, o yem maddesinin sindirilme düzeyini etkileyen hücre duvarı elemanları bulunmaktadır. Bu nedenle, yem maddelerinin sindirilebilirliğini belirlemede, hücre duvarı elemanlarını yıkılmayabilen enzim karışımlarını kullanma esasına dayanan metotlar geliştirilmiştir. Bu metotların en eskisi,

Tilley ve Terry (86)'nin iki aşamalı in vitro sindirim yöntemidir. Bu metoda göre, yemlerin sindirilme derecesini belirlemede, yem maddesi birinci aşamada, rumen sıvısıyla anaerobik ortamda; ikinci aşamada ise seyreltik HCI çözeltisinde pepsinle muamele edilmektedir. Her iki aşamada da inkubasyon süresi 48 saat olup, inkubasyon ısısı 38-39 °C'dir. Metodun birinci aşaması yem maddesinin yapısında bulunan ham selülozun parçalanmasını, ikinci aşaması ise çözünmemiş proteinlerin parçalanmasını sağlamaktadır (27,36,86). Tilley ve Terry (86)'nin iki aşamalı sindirim tekniği Marten ve Barnes (58) tarafından modifiye edilerek, daha kısa sürede sonuç verilen bir konuma getirilmiştir.

İki aşamalı in vitro sindirim yönteminde rumen sıvısı temini için hayvanlara cerrahi operasyonla rumen kanülü takılması, olası sağlık problemlerinin ortaya çıkması, uzun süreli bakım masrafları ve bu hayvanların kullanımı ile ilgili etik ve hayvan refahı gibi faktörlerin bulunması dezavantaj olarak kabul edilmektedir (36).

### 2.3.2.3. Enzim Tekniği

İki aşamalı sindirim yönteminde, rumen sıvısının temini canlı hayvan barındırma zorluğu ve uzun zamana gereksinim duyulması gibi olumsuzluklar, araştırmacıları fungal sellüloz preparatları kullanarak yapılan enzim tekniklerinin geliştirilmesi yoluna yöneltmiştir (4,8). Bu amaçla sellüloz hemiselülaz, amilaz, ve pepsin gibi sindirim enzimleri yem maddelerinin sindirilme derecelerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (22,36). Yapısal karbonhidratların selülotik enzim çözeltisinde, bu öğelerin çözünürlüğü yardımıyla sindirilebilirliklerinin belirlenmesi yoluna gidilmiştir (73).

Funguslardan elde edilen sellüloz enzimi trichoderma viride, trichoderma resei ya da aspergillus niger'den elde edilmektedir. Trichoderma viride'den elde edilen enzimlerin selülotik hemiselülotik ve proteolitik aktiviteleri bulunmaktadır (10,67). Trichoderma viride'den elde edilen sellüloz (onozuka ss (p 1500)) enzim tekniğinin uygulanmasında en yaygın olarak kullanılan enzim preparatıdır. Ancak son yıllarda ticari bir preparat olan onozuka ss (p 1500) yerine aktivitesi daha yüksek olan onozuka 3s kullanılmaya başlanmıştır. Onozuka 3s, özellikle kaba yem maddelerinin sindiriminde selüloza ek olarak pektin, hemiselüloz ve protein sindiriminde etkili olan pektinaz, hemiselülaz ve proteazlarıda içermektedir (32,62).

Enzim tekniğinde, yem maddelerinin sindirilebilirliğinin belirlenmesi için sadece sellülaz, hemisellülaz ve amilaz enzimlerinin kullanımı yeterli değildir. Ayrıca, ruminantların alt sindirim organlarının etkisini gösterebilecek bir uygulamanın yapılması da gerekmektedir. Bu amaçla, proteinin sindirilmesi için seyreltik HCl'de hazırlanmış pepsin çözeltisi kullanılmaktadır (36). Dowman ve Collins (33) yapmış oldukları bir çalışmada *Trichoderma viride* ve *Aspergillus niger*'den elde edilmiş sellülaz enzimi kullanmışlar ve *Trichoderma viride*'den elde edilen enzimin tek başına kullanılmasının yemin içerdiği nişastanın sindiriminde etkili olmadığını, ancak nişasta sindiriminin amiloglukosidaz enzimi kullanımıyla mümkün olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada *Bacillus subtilis*'ten elde edilen amiloglukozidas enzimi kullanılmış ve bu enzimin  $\alpha$ -amilaz etkisi göstererek, özellikle konsantre yemlerin içerdiği nişastanın hidrolizini arttırdığını ve yem maddesinin sindirilebilirlik değerini yükselttiği tespit edilmiştir.

Enzim tekniğinde inkubasyon ısısı, çeşitli uygulamalarda 30–50 °C arasında değişmektedir. Sindirilebilirliğin tespitinde inkubasyon ısısının 40-47 °C arasında olması önemli bir fark oluşturmazken, bu ısının 50 °C üzerinde kuru madde sindiriminde azalma olduğu yapılan araştırmalarda görülmüştür. Birçok araştırmacı yaptıkları çalışmalarda inkubasyon ısısını 40 °C olarak bildirmektedirler (8,9,27,29,30,67).

Enzim tekniği için, çeşitli kaynaklara göre pepsin-HCl ve selülaz + hemiselülaz + amilaz inkubasyonları için 24 saat ile 48 saate kadar değişen inkubasyon süreleri bildirilmektedir. Bazı araştırmacılar ise, bu sürenin 48 saatten daha fazla olabileceğini bildirmektedirler (59,67). Pepsin-HCl çözeltisindeki inkubasyondan sonra, özellikle konsantre ve dane yem maddelerinde nişastanın yumuşaması (hidrolize) için yem numuneleri 80 °C ısıda 10-45 dakika süre ile su banyosunda bekletilmektedir (4,9,29,30).

Bu teknikte; sellülaz, hemisellülaz ve amilaz enzimleri kullanılarak hazırlanan tampon çözeltinin pH'sı 4,6–4,8 yem maddesinin partikül büyüklüğü 0,75–1 mm, kullanılan yem miktarı ise 0,2–0,5 gr arasında değişmektedir (8,27,29,33,59).

De Boever ve ark. (27) konsantre yem maddeleri kullanarak yaptıkları bir çalışmanın sonuçlarına dayanarak, enzim tekniğinin, iki aşamalı sindirim yöntemine göre daha güvenli olduğunu bildirmektedirler.

### 2.3.2.4. Gaz Üretim Tekniği

Gaz üretim tekniği, yem maddesinin rumen sıvısı ile anaerobik ortamda 39 °C'de inkube edilmesi sonucu oluşan gaz (CH<sub>4</sub> ve CO<sub>2</sub>) miktarından yararlanılarak organik madde sindirilme derecesinin belirlenmesi esasına dayanmaktadır (22,36,64,84). Gaz oluşumu karbonhidratların asetat, propiyonat ve bütirata fermentasyonu ve ayrıca kısa zincirli yağ asitlerinin tamponlanması sonucunda şekillenmektedir. Protein fermentasyonunda açığa çıkan gaz miktarı, karbonhidrat fermentasyonu ile oluşan gaz miktarından daha azdır. Yağların fermentasyonunda açığa çıkan gaz miktarı ise dikkate alınmayacak kadar düşük bulunmaktadır (37).

Gaz üretim tekniğinin uygulanmasında, canlı hayvan temini, rumen kanülü takılması, düzenli ve standart düzeyde yemlemenin yapılması ve elde edilen rumen sıvısının anaerobik koşullarda nakledilmesi oldukça zordur. Rumen sıvısının hayvandan alındıktan, in vitro gaz üretim tekniğinde kullanılacağı zamana kadar olan sürede taşınması, depolanması ve oksijen ile temasının aktivitesi üzerinde kimi istenmeyen sonuçlar doğurabileceği bildirilmektedir. Bu durumda, elde edilen rumen sıvısının, hemen kullanılmayacaksa derhal dondurularak saklanması önerilmektedir. Ancak, konserve edilmiş rumen sıvısı ile yapılan çalışmalarda, rumen sıvısının konservasyonu sırasında aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını da bildirilmektedir (73).

Hieronymi (41) mezbahalarda kesilen sığırlardan elde ettiği taze rumen sıvısını, gaz üretim tekniğinde kullanmış, elde edilen bulgulara dayanarak, rumen sıvısının alındığı hayvanın yemeleme şekli ve açlık süresinin rumen sıvısının aktivitesini değiştirmediğini, ancak deneme esnasında oluşan gaz miktarı üzerinde etkin bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Chung (18), sıcak veya normal çevre sıcaklığında tutulabilen rumen sıvısında mikroorganizma aktivitesinin belli bir süre mükemmel bir şekilde korunabileceğine değinmiştir, ancak bu sürenin ne kadar olduğu hakkında herhangi bir bildirimde bulunmamıştır. Bazı çalışmalarda rumen sıvısının 37 °C'de, konulduğu kabın ağzının parafin ile kapatılması durumunda, içerdiği protozoa grubu mikroorganizmaların 7 saate kadar, bakteri içeriği ve pH'nın ise 48 saate kadar önemli bir değişime uğramadığı belirtilmektedir (30). Newman (69), in vitro çalışmalarda kullanılacak rumen sıvısını daha önceden ısıtılmış termos kaplarda önemli bir sorun çıkmadan 32 saat saklayabilmiştir. Nehring (68) ise, sıvısının alımından en geç 2 saat'lik bir süre içerisinde kullanılması gerektiğini bildirmektedir. Steingass ve Menke (83)

taze rumen sıvısının uzunca bir yolda taşınması zorunluluğu halinde, termos kabı kullanımının en doğru uygulama olacağını ve rumen sıvısının taşınması esnasında ortamdaki O<sub>2</sub> artışını engellemek amacı ile termos kabı içerisine sürekli CO<sub>2</sub> gazı verilmesinin anaerob ortamın sağlanması yönünden uygun olacağını bildirmektedir.

### 2.3.2.5. Naylon Kese Tekniği

Bazı araştırmacılar tarafından *in vivo*, bazı araştırmacılar ise *in sacco* ya da *in situ* teknik olarak adlandırılan naylon kese tekniği, karmaşık bir işlem gerektirmeksizin, naylon ya da dakron kumaştan yapılmış keseler kullanılarak, yem maddelerinin rumende yıkımlanma düzeyi ve hızını kısa sürede hesaplanma imkanı sağlamaktadır (49,58,59). İlk naylon kese çalışmaları, rumen kanülü takılmış koyunlarda, yemlerin rumende yıkımlanma düzeylerini incelemek amacı ile suni elyaf ya da çok ince ipekten yapılmış keseler kullanılarak uygulanmış, daha sonraları ise suni elyaf, dakron veya naylon gibi rumen ortamından etkilenmeyen materyallerden yapılmış keseler kullanılmaya başlanmıştır (15,22,49). Bu tekniğin uygulanmasında rumen gelişimini tamamlamış ve rumen kanülü takılmış ergin koyun, keçi veya sığır kullanılabilir. Hayvanların rumenlerine takılacak olan kanüllerin çapı, naylon keselerin rumene kolayca girip çıkacağı genişlikte ve koyunlar için 2,5-4 cm, sığırlar için ise daha geniş iç çaplı olmalıdır (36,49). Naylon kese tekniğinde kullanılan naylon kesenin boyutları bazı kaynaklarda (36,49,77) 14x9 cm, bazı kaynaklarda (20,22) ise 15x7 cm olarak belirtilmektedir. Kese materyalinin gözenek ölçüsü 100 µm'den daha küçük ancak genel olarak 40-60 µm olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalarda, gözenek genişliği 52 µm'den küçük keselerin kullanılmaları durumunda yem maddelerinin rumen yıkılabilirlik değerlerinin düştüğü, diğer bir ifade ile yıkımlanmış materyalin rumene geçişlerinin azaldığı ifade edilmektedir (15,22,36,49,77).

İnkube edilecek yem örneklerinin partikül büyüklüğü, kaba ve konsantre yemler için 2,5-3 mm, silaj gibi yemlerde ise 5 mm olarak bildirilmekte, kese büyüklüğüne bağlı olarak, kaba yemlerden 2,5-3 g, konsantre yemlerde 5-6 g örnek kullanılması önerilmektedir (15,20,49,77). Naylon keselerin içersine örnekler konulup keselerin ağızları sıkıca ambalaj lastiği ile bağlandıktan sonra, koyunlarda 25 cm, sığırlarda ise 50 cm uzunluktaki kalın, esnek plastik borulara eşit aralıklarla bağlanması gerekmektedir. Boruların bir ucu rumen kanülüne

sabitlenmekte ve keseler rumenin sıvı ve katı fazıyla serbestçe hareket edecek şekilde rumenin ventral kesesine yerleştirilmektedir (20,36,49).

Rumende inkubasyona bırakılan yem maddelerinde en duyarlı parçalanma eğrisine belirlemek oldukça önemlidir. Buna göre, selülozca zengin kaba yemlerde inkubasyon süreleri 8, 16, 24, 48 ve 72 saat, protein kaynağı yem maddelerinde ise 4, 8, 16, 24 ve 48 saat olarak belirtilmektedir (15,49,77). Öngörülen inkubasyon süreleri sonunda rumenden çıkarılan keseler, mikrobiyal aktivitenin durdurulması için musluk suyu altında keselerden berrak su akıncaya kadar yıkanır ve daha sonra düşük devirli çamaşır makinesinde 15 dakika süreyle üzerlerinde partikül kalmayacak şekilde yıkanarak, bazı kaynaklarda 65 °C'lik ısıda 48 saat'lik süre ile (sabit ağırlığa gelinceye kadar) kurutma dolabında kurutulup tartılarak hesaplamalar yapılmaktadır (15,49,77).

Yem maddelerinin değerlendirilmesinde naylon kese tekniğinin bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Avantajları; basit, hızlı, doğru ve etkili bir yöntem olması, birçok yem maddesinin aynı anda ve kısa sürede yıkımlanabilirlik düzeylerinin saptanabilmesi ve kimyasal analiz yöntemlerine göre daha doğru sonuçlar vermesidir. Dezavantajları ise; en önemlisi rumen kanülü takılmış hayvan materyaline gereksinim duymasıdır. Ayrıca kese içerisinde yem materyali, çiğnenme ve geviş getirme gibi herhangi bir muameleye maruz kalmadığı için, inkubasyona bırakılan yem maddesi rumen mikroorganizmaları tarafından ancak uygun büyüklüklerde parçalandıktan sonra keseden ayrılmaktadır (36,49).

Naylon kese tekniği ile yem maddelerinin sindirilme derecesi belirlenemez sadece ilgili yem maddesinin rumende yıkılım düzeyleri belirlenir. Ancak, yıkılım sonrasında keselerin pepsin-HCl çözeltisinde belirli bir süre inkube edilmesi ve bu işlem sonunda kesede kalan yem miktarının tespiti ile yem maddesinin sindirilebilirliği belirlenebilmektedir (20,22,36). Orskov ve Bhargava (77) yem maddelerinin yıkılabilirlik değerlerinin tespitinde kese materyalinin tekrar tekrar kullanılabilirliğini belirtirken, Aerts ve ark. (3), naylon kese tekniği + pepsin – HCl sindirim denemesinde keselerin sadece bir defa kullanılabilirliğini bildirmektedir.



### 2.3.2.6. Dışkı Tekniği:

Tilley ve Terry (86)'nin iki aşamalı in vitro sindirim yönteminde yem maddeleri anaerob ortamda rumen sıvısı içerisinde mikrobiyal aktivite sonucu sindirilmektedir. Rumen sıvısı ya rumen kanülü takılmış hayvanlardan ya da rumen sondası yardımıyla donör hayvanlarından alınmaktadır. İki aşamalı sindirim yönteminin uygulanmasında gerekli olan taze rumen sıvısı rumen kanülü takılı hayvanlardan karşılanmakta ve canlı hayvan barındırma, cerrahi operasyona gereksinim göstermektedir. İn vitro çalışmalarda rumen sıvısı temini için canlı hayvan barındırma, cerrahi operasyonla rumen kanülü takılması, uzun süreli bakım masrafları ve bu hayvanların kullanımı ile ilgili etik ve hayvan refahı gibi faktörleri göz önünde bulunduran araştırmacılar rumen sıvısı yerine taze hayvan gübresi kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (60,61). Yapılan çalışmalarda (5,35,74,76,81) rumen sıvısı ile koyun gübresi kullanılarak elde edilen sonuçlar arasında %88'lik korelasyon olduğu, inokulant kaynağı olarak dışkı kullanıldığında rumen kanülü takılmış hayvan materyalini bağımlılığın ortadan kalkabileceği bildirilmektedir (84). Gaz üretim tekniğinde klasik yöntem olarak her ne kadar rumen sıvısı kullanılsa da son yıllarda bu yöntemin uygulanmasında ruminant (6) ve at (53) dışkılarının kullanılması rumen kanülü takılmış hayvanlara bağımlılığın azaltılması noktasında önem taşımaktadır (65,66). Yapılan araştırmalarda rumen sıvısı yerine taze koyun gübresi kullanılabileceğini, rumen sıvısı ve taze koyun gübresi ile elde edilen sindirilebilirlik değerleri arasında % 88'lik bir korelasyon bulunduğunu bildirmektedir. Ayrıca son yıllarda yapılan araştırmalarda at dışkısındaki mikroorganizma sayısının koyun dışkısındaki mikroorganizma sayısından daha fazla olduğu bildirilmiştir. Bunun nedeni atlarda mikroorganizma faaliyetlerinin kalın bağırsaklarda (ventral kolonda %54 ve sekumda %15) olmasıdır. Koyunların rumenlerinde bulunan mikroorganizmalar abomasumdan geçerken bir kısmının HCl asit etkisiyle inaktif hale geldiği, geri kalan kısmının ise bağırsaklara geçerek, sekum ve kolonda sınırlı bir mikrobiyel aktiviteye (%11–12) sahip olduğu bildirilmektedir (34,35). At dışkısının in vitro çalışmalarda inokulant kaynağı olarak kullanılmasının bazı avantajları bulunmaktadır. Bunlar, ucuz olması, sürekli temin edilebilen kaynak olması, cerrahi işlemlere gereksinim duyulmaması, çok sayıda hayvandan alındığında hayvan faktörünün ortadan kalkması gibi avantajlardır. Ayrıca at dışkısı midenin asit ortamı ile karşılaşmadığından ruminant dışkılarına kıyasla daha yoğun miktarda mikroorganizma içermektedir (53). Dışkı materyalindeki mikroorganizmalar dışkılamadan birkaç saat sonra

bile canlılıklarını sürdürebilmektedirler (42). Dışkı tekniğinin uygulanmasında ham selüloz içeriği yüksek olan kalitesiz kaba yemlerde (samanlar gibi) güvenilir sonuçlar vermemesi ve dışkının alınacağı hayvanların beslenme rejimleri analiz yapılacak yemlere yakın olması gibi bazı dezavantajlar bulunmaktadır (66). Varadyova ve ark. (88) gaz üretim tekniği ile yaptıkları çalışmada inokulant kaynağı olarak dışkı kullanıldığında gaz üretim miktarını rumen sıvısına göre daha düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Araştırmada inokulant kaynağı olarak dışkı kullanıldığında özellikle kalitesiz kaba yem sınıfına giren buğday ve arpa samanı gibi yem maddelerinin sindirilebilirliklerinin değerleri düşük bulunmuştur. Benzer şekilde El-Meadaway ve ark. (34) rumen sıvısı yerine taze dışkı kullanılabileceğini ancak kalitesiz kaba yemlerde bu inokulant kaynağının iyi sonuçlar vermediğini belirtmektedirler. Murray ve ark. (65) yaptıkları bir çalışmada in vitro denemede dışkı alacakları atlara yüksek ve düşük düzeyde nişasta içeren rasyonlar vermişlerdir. Elde ettikleri dışkıları in vitro denemelerde kullanmışlar ve sonuç olarak hayvanlara verilen rasyonların sonuçları etkilemediğini belirtmişlerdir. Akhter ve ark. (6)'nın yaptıkları çalışmada kaba yemlerin in vitro organik madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde 1 lt tampon çözelti içerisinde 83 gr yerine 333 gr dışkı kullanımının organik madde sindirilebilirlik değerlerini artırdığını bildirmektedirler. Ayrıca aynı araştırmacılar dışkı ile inkubasyon süresinin 48 saatten 72 saate çıkarılmasının organik madde sindirilebilirlik değerlerinde istatistiksel olarak artışa yol açmadığını sadece rakamsal olarak artışın görüldüğünü bildirmektedirler.

Bu çalışmanın amacı, bazı kaba yemlerin in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde farklı seviyelerde sulandırılmış at dışkısının kullanılma olanaklarının araştırılmasıdır. Bu amaçla elde edilecek klasik sindirim değerleri ile değişik oranlarda at dışkısı kullanılarak elde edilen kuru madde sindirim değerleri karşılaştırılacak ve kuru madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde uygun at dışkısı yoğunluğu belirlenecektir.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışma, klasik sindirim denemesi (in vivo yöntem) ve dışkı tekniği denemesi (in vitro yöntem) olmak üzere 2 deneme halinde yürütülmüştür.

#### **3.1. Klasik Sindirim Denemesi (İn Vivo Yöntem)**

##### **3.1.1. Materyal**

###### **3.1.1.1. Hayvan Materyali**

Bu denemede, hayvan materyali olarak Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi araştırma çiftliğinden temin edilen 8 adet 2 yaşlı İvesi erkek toklu kullanılmıştır. Denemede kullanılan hayvanlar deneme başında paraziter invazyonlara karşı ilaçlanmışlardır. Hayvanların mineral madde ihtiyaçları sindirim kafeslerinin ön kısımlarına bağlanan yalama taşları ile karşılanmış, hayvanların önlerinde sürekli taze ve temiz su bulundurulmuştur.

###### **3.1.1.2. Sindirim Denemesi Kafesleri**

Denemede Şanlıurfa sanayi sitesinde özel olarak imal ettirilmiş, içerisine koyun ve keçilerin yerleştirilmelerine olanak sağlayan, ön tarafında portatif yemliği, yan tarafında portatif suluğu, arka tarafında ise hayvanların kafese konulup çıkarılabileceği kapılar bulunan 8 adet sindirim kafesi kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan deneme hayvanları ve sindirim kafesleri Resim 1’de sunulmuştur.

###### **3.1.1.3. Gübre Toplama Torbaları ve Tespit Kuşakları**

Polyester çadır kumaşından 40x60 cm ebatlarında, dört tarafında bağlama kemerleri bulunan ve bir tarafı fermuarlı gübre toplama torbaları özel olarak diktirilmiştir. At koşumuna benzer şekilde hazırlanan kuşaklar hayvanların üzerine yerleştirilerek, gübre toplama torbaları

bu kuşakların arka kısımlarına bağlama kemerleri ile alt, üst ve yanlardan sıkıca bağlanmak suretiyle hayvanlara tespit edilmiş ve böylece hayvanların gübrelerinin tamamı toplanmıştır.

#### **3.1.1.4. Deneme Yemleri**

Bu denemede, yem materyali olarak ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan kaba yemlerden arpa samanı (AS), buğday samanı (BS), mercimek samanı (MS), buğday silajı (BSi), mısır silajı (MSi) ve yonca kuru otu (YKO) kullanılmıştır. Denemede kullanılan yem maddelerinden, AS, BS ve MS Şanlıurfa saman pazarından, MSi Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi araştırma çiftliğinden, BSi ve YKO ise özel bir çiftlikten temin edilmiştir.

#### **3.1.2. Metot**

##### **3.1.2.1. Yem Maddelerinin Kuru Madde Sindirilme Derecelerinin Belirlenmesi**

Denemede kullanılan yem maddelerinin in vivo sindirilme dereceleri, klasik sindirim denemesi ile belirlenmiştir. Denemede 8 adet hayvan kullanılmış ve her yem maddesi 4 tekrerrür halinde hayvanlara yedirilmiştir. Deneme “eksik blok dizayn” deneme desenine göre düzenlenmiştir. Denemede kullanılan hayvanların kafes ortamı ile yeme adapte olmaları ve yem tüketimlerinin belirlenmesi için 10 günlük ön alıştırmaya dönemi uygulanmıştır. Bunu izleyen 10 günlük asıl alıştırmaya döneminde ise toklulara tamamını tüketebilecekleri kadar deneme yemi yedirilmiştir. Esas alıştırmaya dönemi takip eden 7 günlük gübre toplama döneminde hayvanların çıkartmış oldukları günlük toplam gübre miktarı tartılarak kaydedilmiş ve %10’u analizler için derin dondurucuda saklanmıştır. Her gübre toplama döneminin sonunda toplanan gübre örnekleri hayvanlara göre tasnif edilmiş ve her hayvana ait örnekler homojen şekilde karıştırılarak, her dönem ve her hayvan için tek bir örnek elde edilmiştir. Elde edilen örnekten bir miktar homojen şekilde alınıp kuru madde analizi yapılmıştır. Bu işlem sırasında yaş gübrenin % KM’si belirlenerek kaydedilmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre deneme yemlerinin kuru madde sindirilme dereceleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Sindirilme derecesi, \%} = \frac{\text{TBMM} - \text{GBMM}}{\text{TBMM}} \times 100$$

TBMM: Tüketilen besin madde miktarı

GBMM: Gübredeki besin madde miktarı

### 3.1.2.2. Ham Besin Madde Analizleri

Denemede kullanılan yem maddelerinin kuru madde (KM), ham protein (HP), ham kül (HK) analizleri AOAC (7)'e göre, ham selüloz (HS) analizleri ise Crampton ve Maynard (23)'ün bildirdiği metotla, NDF ve ADF değerleri ise Goering ve Van Soest (38)'in bildirdiği metotla yapılmıştır.

## 3.2. Dışkı Tekniği Denemesi (İn Vitro Yöntem)

### 3.2.1. Materyal

#### 3.2.1.1. Yem Materyali

Bu denemede de, yem materyali olarak klasik sindirim denemesinde değerlendirilen aynı yem maddeleri (AS, BS, MeS, BSi, MSi ve YKO) kullanılmıştır.

#### 3.2.1.2. Dışkı Materyali

Araştırmada kullanılan dışkıları, günlük olarak 6 kg arpa kırması ile 8 kg buğday samanı tüketen, önlerinde sürekli taze ve temiz su bulunan 2 adet Arap aygırı ile 1 adet Arap kırsrağından hemen dışkılama sonrası alınarak içersinden CO<sub>2</sub> gazı ve sıcak su geçirilmiş termos kap içersinde laboratuara getirilmiştir.

### 3.2.1.3. İnkubasyon Tüpleri

Denemede inkubasyon tüpü olarak 50 ml hacimli cam santrifüj tüpleri kullanılmıştır. İnkubasyon süresince tüplerin içerisine hava girişinin engellenmesi için üzerinde enjektör iğneleri yerleştirilmiş özel plastik kapaklar ile kapatılmışlardır. Denemede kullanılan inkubasyon tüpleri, kapakları ve su banyoları Resim 2’de sunulmuştur.

### 3.2.2. Metot

İnokulant kaynağı olarak at dışkısının kullanıldığı bu deneme El-Shear ve ark. (35)’nin bildirdiği metotla her yem örneği için 4’er tekerrür olacak şekilde yapılmıştır. Denemede 5 farklı dışkı yoğunluğu (1 litre tampon çözelti içerisinde 100, 150, 200, 250 ve 300 gr) araştırılmıştır.

#### 3.2.2.1. Tampon Çözeltinin Hazırlanması

Tampon çözelti McDougal, (63)’in bildirdiği metotla hazırlanmıştır. Bu amaçla 1 lt saf su içerisine 9.8 gr Sodyum hidrojen karbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ), 4.9 gr Di sodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), 0.57 Potasyum kloride (KCl), 0.12 gr Magnezyum sülfat ( $\text{MgSO}_4$ ), 0.04 gr Kalsiyum klorit ( $\text{CaCl}$ ) ve 0.47 gr Sodyum klorür ( $\text{NaCl}$ ) ilave edilerek magnetik karıştırıcıda çözdürülmüş ve bu esnada  $\text{CO}_2$  gazı ile doyurulmuştur.

#### 3.2.2.2. Pepsin Çözeltisi:

1 lt saf su üzerine 4.38ml HCl ve 4 gr pepsin (Merck 7190-2000 FIP-U/g) ilave edilerek 0.1N % 0.4 pepsin çözeltisi hazırlanmıştır.

#### 3.2.2.3. Üre Çözeltisi:

Denemede her tüpe inkubasyon öncesi ilave edilmek üzere 1 lt saf su içerisinde 30 gr saf üre çözdürülerek %3 üre çözeltisi hazırlanmıştır.

### 3.2.2.4. Dışkı Tekniğinin Uygulanması

Deneme yemleri %10, 15, 20, 25 ve 30 taze at dışkısı içeren inokulant kaynağı ile 72 saat inkubasyona bırakılmıştır.

Bu amaçla anaerob koşullar altında 38 °C sıcaklıktaki termos içerisinde laboratuara getirilen taze at dışkısının 100 g üzerine CO<sub>2</sub> gazı altında önceden hazırlanmış ve CO<sub>2</sub> gazı ile doyurulmuş 38 °C sıcaklıktaki 1 litre tampon çözelti ilave edilerek elde edilen karışım 4 kat tülbent bezinden süzülerek %10'luk inokulant kaynağı oluşturulmuştur. Aynı işlem 150, 200, 250 ve 300 gr dışkı kullanılarak %15, 20, 25 ve 30'luk tampon çözeltiler hazırlanması içinde tekrarlanmıştır. Tüm bu işlemler 39 °C ısı ve CO<sub>2</sub> gazı altında yapılmıştır. Deneme yemlerinden her birisi için yaklaşık 200 mg yem örneği 50 ml'lik santrifüj tüpüne konarak üzerine dışkı içeren tampon çözeltilerden CO<sub>2</sub> gazı altında 20 ml eklenmiştir. Her bir tüpe taze hazırlanmış üre çözeltilerinden (%3 üre çözeltisi) 0.6 ml konmuş ve CO<sub>2</sub> gazı altında üzerine enjektör iğnesi yerleştirilmiş kapaklar kapatılarak inkubasyona bırakılmıştır. Tüpler günde 3 kez tüp çevresi yem materyali yapışmayacak şekilde çalkalanmıştır. Dışkı ile inkubasyon süresinin bitiminde (72 saat) tüplere 20 ml taze hazırlanmış 0.1 N %0.4 HCl - pepsin çözeltisi ilave edilerek 48 saat inkube edilmişlerdir. Tüpler inkubasyon sonunda darası alınmış porozite büyüklüğü 2 olan Gooch krozelerinden süzülerek yemlerin kuru madde sindirim değerleri aşağıda belirtilen formül yardımı ile belirlenmiştir (35). Gooch krozeleri ve süzme düzeneği Resim 3'te sunulmuştur.

$$\text{İVKMS, \%} = (1 - ((B - C) - \text{kör}) / A) * 100$$

İVKMS: İn vitro kuru madde sindirimi, %

A=Numune miktarı (gr) kuru madde olarak

B=Kuru kroze +numune miktarı (gr)

C=Kroze dara (gr)

Kör=Sadece gübre konmuş örnekten kalan miktar, gr.

### 3.3. İstatistiksel analizler

Denemeden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesinde varians analizi (78), gruplar arasındaki farklılığın belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (82).

İnokulant kaynağı olarak at dışkısından elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri ile klasik sindirim değerleri arasındaki regresyon eşitlikleri ve korelasyon katsayıları SAS (78) paket programı kullanılarak belirlenmiştir.



**Resim 1:** Klasik sindirim denemesinde kullanılan Sindirim kafesleri ve deneme hayvanları





**Resim 2:** İn vitro sindirim denemesinde kullanılan inkubasyon düzeneği.



**Resim 3:** İn vitro sindirim denemesinde kullanılan süzme düzeneği.

## 4.BULGULAR

Araştırmada kullanılan yem maddelerinin ham besin madde içerikleri Tablo 2’de verilmiştir. Elde edilen ham besin maddeleri aynı yem maddelerinin referans değerleri ile karşılaştırıldığında besin madde içeriklerinden özellikle ham protein değerlerinin düşük ham selüloz ile ADF ve NDF değerlerinin ise yüksek olduğu görülmüştür. Bu farklılık özellikle belirli bir vejetasyon döneminde biçilerek kurutulan yonca otu ile silolanan buğday hâsılı ile mısır hâsılında belirgin olarak görülmektedir. Bu durum söz konusu üç yem maddesinin hasat zamanının geçirilerek biçilip konserve edildiklerini göstermektedir.

**Tablo 2:** Araştırmada kullanılan yem maddelerinin ham besin madde içerikleri, % KM.

YEMLER*	KM	HK	HP	ADF	NDF	HS
AS	94.02	9.32	2.68	46.71	79.19	43.57
BS	93.92	11.23	2.78	60.07	77.06	47.69
MS	93.52	13.76	6.08	44.22	57.07	30.45
BSi	46.04	7.81	8.20	38.81	55.13	31.25
MSi	30.41	9.94	8.58	39.74	59.78	30.15
YKO	93.99	10.28	10.95	43.80	60.99	29.29

\*: AS: Arpa samanı, BS: Buğday samanı, MS: Mercimek samanı, BSi: Buğday silajı, MSi: Mısır silajı, YKO: Yonca kuru otu.

Araştırmada kullanılan yem maddelerinin in vivo ve farklı seviyelerde at dışkısı kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri Tablo 3’te verilmiştir. AS için in vivo ve farklı seviyelerde at dışkısı kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri arasında istatistiksel farklılık görülmemiştir ( $P>0.05$ ). Buğday samanı için in vivo değerler ile %10 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler benzer bulunurken, %15, 20, 25 ve 30 yoğunluktaki dışkı ile uygulanan in vitro değerler farklı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Mercimek samanı için in vivo değerler ile tüm yoğunluktaki in vitro

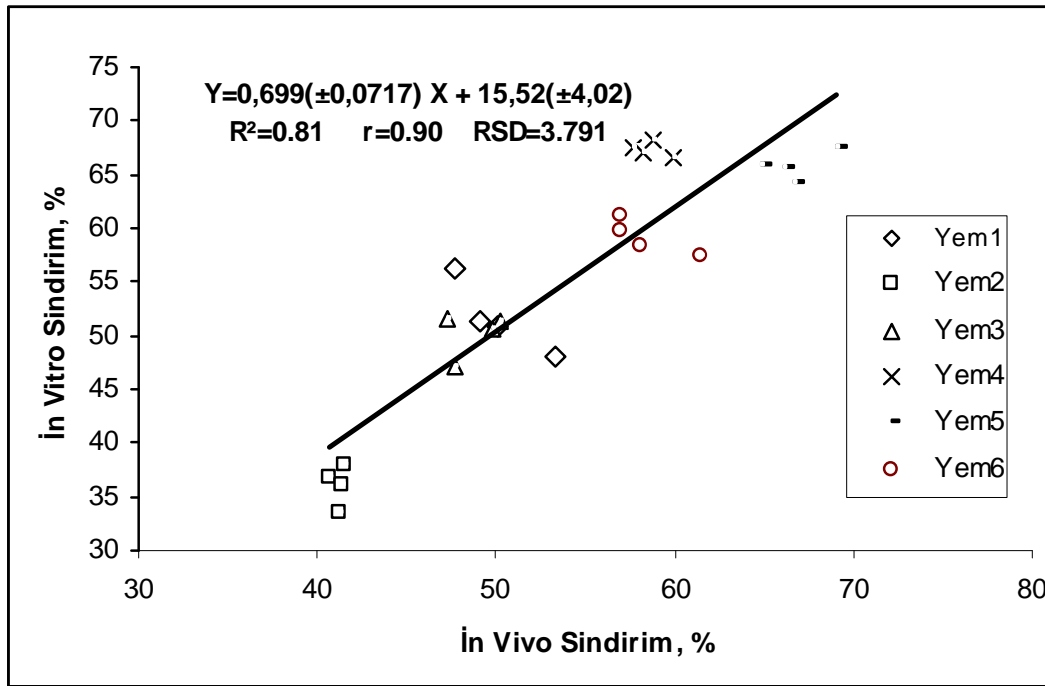
değerler benzer bulunmuştur. Buğday silajı için in vivo değerler ile %15, 20 ve 25 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler benzer bulunurken, %10 ve 30 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler farklı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Mısır silajı için in vivo değerler ile %10 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler benzer bulunurken, %15, 20, 25 ve 30 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler farklı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Yonca kuru otu için in vivo değerler ile %10, 15, 20, 25 ve 30 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler benzer bulunmuştur ( $P>0.05$ ). AS, BS, MS, MSi ve YKO'nun tümü için in vivo değerler ile kıyaslandığında %10 dışkı yoğunluğundan elde edilen in vitro değerlerin benzerlik gösterdiği, BSi için ise %15, 20 ve 25 yoğunluktaki dışkı ile uygulanan in vitro değerler benzer bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Yemlerin tümü bütün olarak ele alındığında in vivo ve farklı seviyelerde at dışkısı kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri arasında istatistiksel farklılık görülmemiştir ( $P>0.05$ )

**Tablo 3:** Araştırmada kullanılan yem maddelerinin in vivo ve farklı seviyelerde at dışkısı kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri, % KM.

YEMLER	İn vivo	%10 Dışkı	%15 Dışkı	%20 Dışkı	%25 Dışkı	%30 Dışkı	SEM
AS	50.09	51.61	45.47	42.69	42.92	44.04	1.23
BS	41.19 <sup>a</sup>	36.07 <sup>ab</sup>	31.88 <sup>bc</sup>	32.57 <sup>bc</sup>	26.92 <sup>c</sup>	32.37 <sup>bc</sup>	1.22
MS	48.75 <sup>ab</sup>	50.10 <sup>a</sup>	44.26 <sup>b</sup>	46.64 <sup>ab</sup>	48.06 <sup>ab</sup>	50.11 <sup>a</sup>	0.71
BSi	58.64 <sup>c</sup>	67.31 <sup>a</sup>	59.71 <sup>c</sup>	59.13 <sup>c</sup>	59.29 <sup>c</sup>	63.44 <sup>b</sup>	0.73
MSi	66.64 <sup>a</sup>	65.87 <sup>a</sup>	57.22 <sup>b</sup>	58.03 <sup>b</sup>	58.88 <sup>b</sup>	58.96 <sup>b</sup>	0.98
YKO	58.37 <sup>ab</sup>	59.15 <sup>ab</sup>	59.63 <sup>ab</sup>	62.49 <sup>a</sup>	58.05 <sup>ab</sup>	54.81 <sup>b</sup>	0.71
<b>Tüm Yemler</b>	<b>53.95</b>	<b>53.77</b>	<b>49.69</b>	<b>50.26</b>	<b>49.02</b>	<b>50.52</b>	<b>0.95</b>

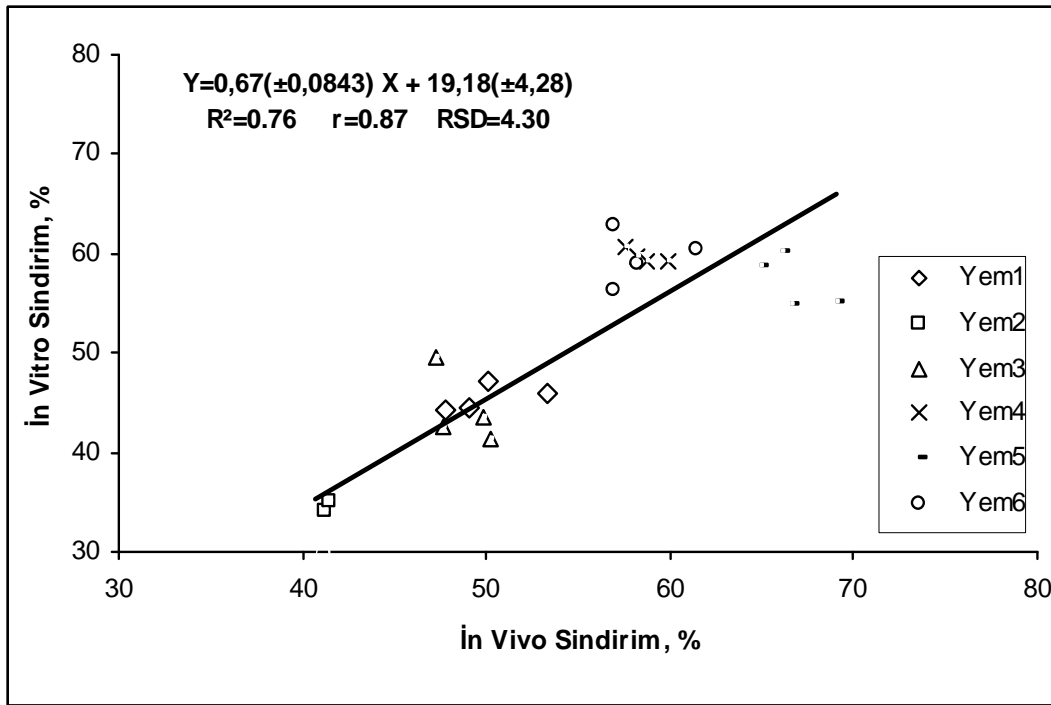
a-d: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

Araştırmada kullanılan yemlerin %10 at dışkısı (100 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS ile in vivo KMS değerleri arasındaki ilişki Çizelge 1’de verilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre tüm yem maddeleri için %10 at dışkısı kullanılarak elde edilen in vivo KMS (x) ile in vitro KMS (y) arasındaki regresyon eşitliği;  $y=0.699 (\pm 0.0717)x + 15.52 (\pm 4.02)$  olarak;  $R^2$ , korelasyon katsayısı ve RSD değerleri sırasıyla, 0.81, 0.90 ve 3.791 olarak tespit edilmiştir.



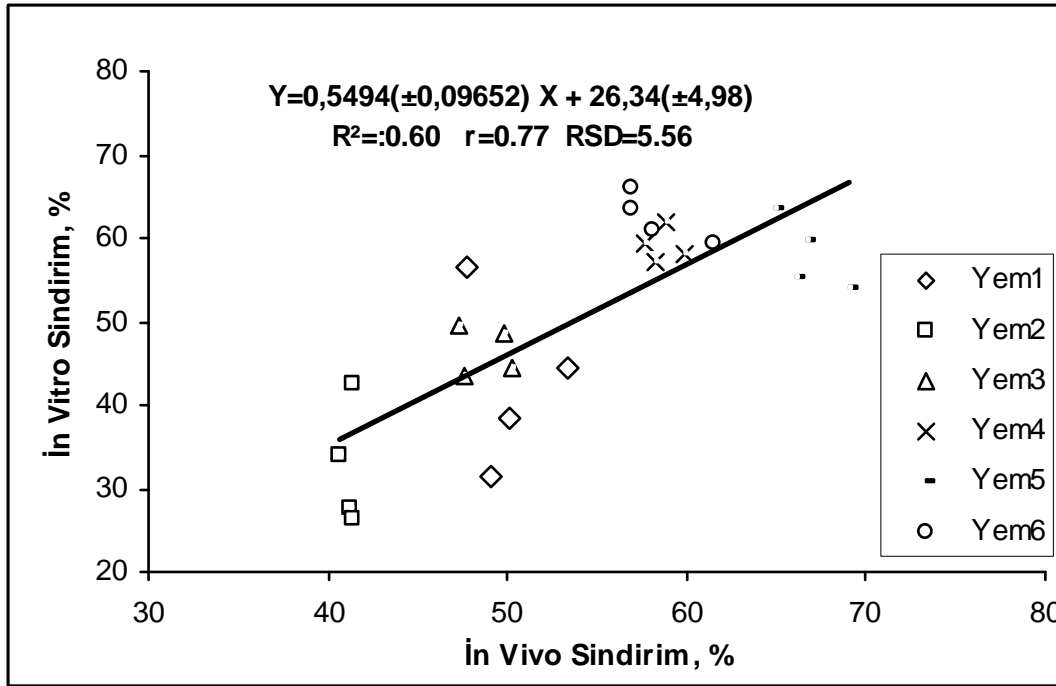
**Çizelge 1:** %10 At dışkısı (100 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.

Araştırmada kullanılan yemlerin %15 at dışkısı (150 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS ile in vivo KMS değerleri arasındaki ilişki Çizelge 2’de verilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre tüm yem maddeleri için %15 at dışkısı kullanılarak elde edilen in vivo KMS (x) ile in vitro KMS (y) arasındaki regresyon eşitliği;  $y=0.67 (\pm 0.0843)x + 19.18 (\pm 4.28)$  olarak;  $R^2$ , korelasyon katsayısı ve RSD değerleri ise sırasıyla 0.76, 0.87 ve 4.30 olarak tespit edilmiştir.



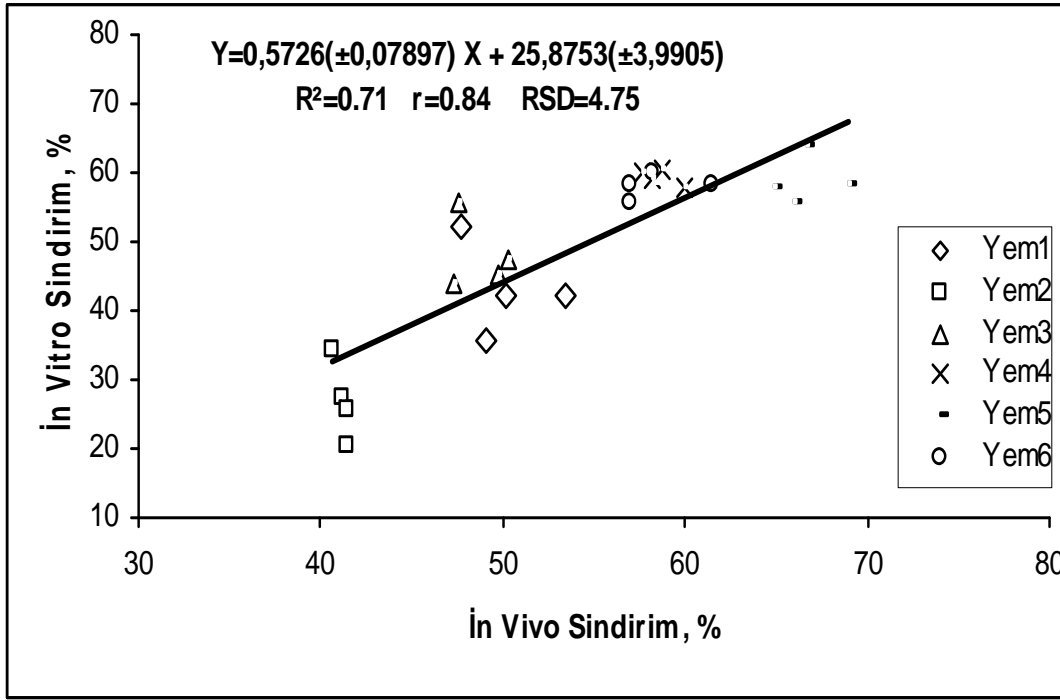
**Çizelge 2:** %15 At dışkısı (150 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.

Araştırmada kullanılan yemlerin %20 at dışkısı (200 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS ile in vivo KMS değerleri arasındaki ilişki Çizelge 3'te verilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre tüm yem maddeleri için %20 at dışkısı kullanılarak elde edilen in vivo KMS (x) ile in vitro KMS (y) arasındaki regresyon eşitliği;  $y=0.5494 (\pm 0.09652)x + 26.34 (\pm 4.98)$  olarak;  $R^2$ , korelasyon katsayısı ve RSD değerleri ise sırasıyla 0.60, 0.77 ve 5.56 olarak tespit edilmiştir.



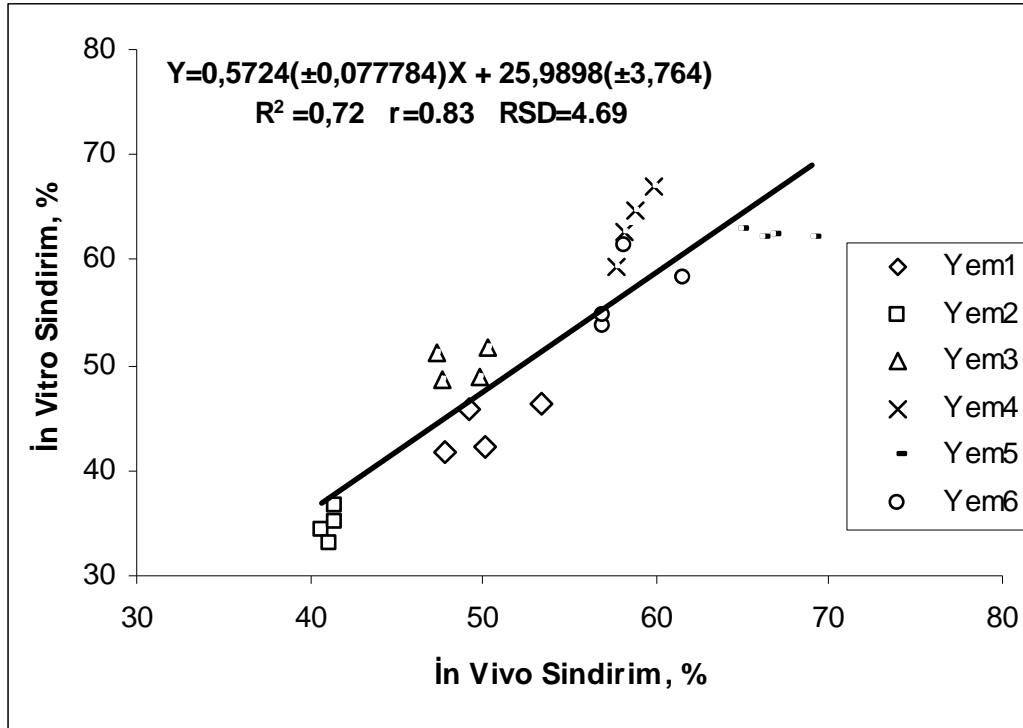
**Çizelge 3:** %20 At dışkısı (200 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.

Araştırmada kullanılan yemlerin %25 at dışkısı (250 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS ile in vivo KMS değerleri arasındaki ilişki Çizelge 4'te verilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre tüm yem maddeleri için %25 at dışkısı kullanılarak elde edilen in vivo KMS (x) ile in vitro KMS (y) arasındaki regresyon eşitliği;  $y=0.5726 (\pm 0.07897)x + 25.8753 (\pm 3.9905)$  olarak;  $R^2$ , korelasyon katsayısı ve RSD değerleri ise sırasıyla 0.71, 0.84 ve 4.75 olarak tespit edilmiştir.



**Çizelge 4:** %25 At dışkısı (250 gr dışkısı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.

Araştırmada kullanılan yemlerin %30 at dışkısı (300 gr dışkısı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS ile in vivo KMS değerleri arasındaki ilişki Çizelge 5'te verilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre tüm yem maddeleri için %30 at dışkısı kullanılarak elde edilen in vivo KMS (x) ile in vitro KMS (y) arasındaki regresyon eşitliği;  $y=0.5724 (\pm 0.077784)x + 25.9898 (\pm 3.764)$  olarak;  $R^2$ , korelasyon katsayısı ve RSD değerleri ise sırasıyla 0.72, 0.83 ve 4.69 olarak tespit edilmiştir.



**Çizelge 5:** %30 At dışkısı (300 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.

Yemlerin tümü bütün olarak ele alındığında, in vivo ve farklı seviyelerde (%10, 15, 20, 25 ve 30) at dışkısı kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri arasında korelasyon katsayıları (r) sırasıyla 0.90, 0.87, 0.77, 0.84 ve 0.83 olarak tespit edilmiştir.



## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan kaynak araştırmalarında dışkı kullanılarak uygulanan in vitro sindirim çalışmalarının çoğunluğunda inokulant kaynağı olarak daha çok koyun ve sığır dışkıları kullanıldığı, at dışkısı kullanılarak uygulanan in vitro sindirim çalışmalarının ise yeni bir konu olarak son yıllarda üzerinde çalışıldığı görülmüştür. Rumen sıvısına alternatif olarak dışkının kullanıldığı çalışmaların bir kısmında gaz üretim metoduna göre, bir kısmında ise Tilley ve Terry (86)'nin iki aşamalı sindirim metoduna göre çalışmalar yapılmıştır.

Mauricio ve ark. (60)'nın ruminant beslenmesinde kullanılan kaba yemlerin sindirilebilirliklerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak sığır dışkısı kullanılarak uyguladıkları gaz üretim tekniğinde elde edilen değerlerin in vivo değerler ile arasındaki korelasyonun yüksek olduğu ( $r = 0.77$ ), inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı kullanımında korelasyonun daha da yüksek ( $r = 0.89$ ) olduğunu, inokulant kaynağı olarak dışkı ve rumen sıvısı arasındaki korelasyonun ise  $r = 0.81$  olduğunu, sonuç olarak gaz üretim tekniğinde inokulant kaynağı olarak dışkının potansiyel olarak kullanılabileceğini bildirmektedirler. Araştırcılar rumen sıvısı kullanılarak elde edilen değerlerin in vivo değerlere daha yakın bulunmasını, dışkı içersinde bulunan mikroorganizmaların aktivitelerinin düşük oluşuna bağlamaktadırlar. Bu bağlamda dışkı yapısında bulunan mikrobiyal aktivite dşklğni ise, denemede incelenen yem maddelerinin kaliteli yada kalitesiz yem niteliği taşımına, dışkıdaki mikroorganizma populasyonunun düşüklüğüne ve inkubasyon süresine bağlamaktadırlar. Aynı araştırcılar, rumen sıvısına kıyasla dışkı kullanımında inkubasyon süresinin uzun olmasının gerektiğini bildirmektedirler. Bunun sebeplerini ise dışkıdaki mikroorganizma yoğunluğunun azlığına ve dışkı mikroorganizmalarının öncelikli olarak kendi hayatiyetlerini sürdürmeye çalıştıklarını, bölünme ve çoğalmaya başlamaları için daha uzun zamana gereksinim duymalarından kaynaklandığını böylece dışkıdaki mikroorganizmalar rumen mikroorganizmalarına kıyasla bölünme ve çoğalmadan çok yaşamlarını sürdürmek için çalıştıklarını şeklinde açıklamaktadırlar. Sunvold ve ark. (85)'nin farklı tür canlıların (köpek, kedi, insan, domuz, at ve sığır) dışkılarını kullanarak uyguladıkları in vitro sindirim denemesinde 6, 12 ve 24. saatteki organik madde sindirilebilirliği bakımından at dışkısından elde edilen değerlerin diğer türlerden elde edilen değerlerden düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırcılar 48. saatte ve sonrasında at dışkısındaki

mikroorganizmaların istenen fermentasyon kapasitesine ulaştıklarını bildirmektedirler. Bu sonuca göre Sunvold ve ark. (85) at dışkısı kullanılarak uygulanan in vitro çalışmalarda inkubasyon süresinin uzun tutulması gerektiğini bildirmektedirler. Aiple ve ark. (5)'nin gaz üretim tekniğinde koyun ve sığırlardan elde edilen dışkılarını inokulant kaynağı olarak kullanmışlar ve rumen sıvısı yerine inokulant kaynağı olarak dışkı kullanımının kaba ve konsantre yem maddelerinin in vitro kuru madde sindirilebilirliklerinin belirlenmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Chikwanda ve Mutisi (17), kaba yemlerle yaptıkları çalışmada rumen sıvısı ile karşılaştırıldığında inokulant kaynağı olarak dışkı kullanımında gaz üretim miktarının düşük bulunduğunu bunun nedeninin ise mikroorganizma popülasyonunun düşüklüğünden kaynaklanabileceğini bildirmektedir. Bu bildirimlerin aksine Borba ve ark. (12) gaz üretim tekniğinde in vivo değerler ile kıyaslandığında en yüksek ilişkinin sırasıyla rumen kanüllü hayvanlardan alınan rumen sıvısından ve mezbahada kesilen hayvanlardan alınan rumen sıvısından, en düşük ilişki ise inokulant kaynağı olarak dışkının kullanılması ile belirlemişlerdir. Chen ve Zhao (16) yemlerdeki değerlendirilebilir ham proteinin sindirilebilirliğinin gaz üretim tekniği ile belirlenmesinde rumen sıvısı yerine 35, 50, 100 ve 150 gr / litre tampon çözelti koyun dışkısı kullanmışlar ve elde ettikleri sonuçlara göre rumen sıvısı ile en yüksek korelasyonu 100 gr / litre tampon çözelti kullanımından elde etmişlerdir. El Meadaway ve ark. (34) ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan yem maddeleri (arpa, üçgül, yonca, çayır otu ve arpa samanı) ile gaz üretim tekniği ile yaptıkları in vitro sindirim denemelerinde rumen sıvısı yerine %3, 6 ve 9 sığır dışkısı içeren tampon çözelti kullanmışlardır. Arpa samanı dışında, %3 dışkı kullanımı ile elde edilen sonuçlar rumen sıvısı kullanımı ile elde edilen sonuçlar ile benzer bulunurken, %6 ve 9 dışkı kullanımı ile elde edilen sonuçların rumen sıvısı ile elde edilen sonuçlardan düşük bulunduğu gözlenmiştir. Aynı araştırmacılar kalitesiz kaba yemlerin (arpa samanı gibi) dışındaki yem maddelerinin in vitro kuru madde sindirilebilirliklerinin belirlenmesinde dışkının kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

El Shaer ve ark. (35) ruminant beslemede kullanılan 38 yem maddesinin in vitro kuru madde sindirim değerlerini Tilley ve Terry (86)'nin bildirdiği iki aşamalı sindirim denemesinde inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı yerine taze koyun dışkısı kullanarak denemişlerdir. İn vitro ile in vivo sindirim denemesinden elde ettikleri verileri karşılaştırdıklarında korelasyon katsayısını  $r = 0.98$ ,  $RSD = 1.54$  olarak belirlemişlerdir. El

Shaer ve ark. (35) yaptıkları çalışmada 166 gr dışkı / litre tampon çözelti yoğunluğunda dışkı ve inkubasyon süresini 48 saat olarak çalışmışlar, kullanılacak dışkının ise ya rektal palpasyonla alınması gerektiğini veya dışkılamadan en fazla bir saat içerisinde anaerobik koşullar altında laboratuara getirilerek işlenmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar denemede kullanılan yem maddelerinden kalitesiz olanların (arpa samanı) in vitro kuru madde sindirim değerlerinin in vivo değerlere yakın olmadığını dolayısıyla kalitesiz yem maddelerinde bu sürenin 48 yerine 72 saat olması gerektiğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde Van Der Bann ve ark. (87)'nin yaptıkları çalışmada in vivo ve in vitro organik madde sindirim değerlerini karşılaştırmışlar ve dışkı metodu ile elde ettikleri sonuçların in vivo değerlere benzer olduğunu ve yem maddelerinin in vitro organik madde sindirim değerlerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak dışkının kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Jones ve Barnes (43) kaba yemlerin in vitro kuru madde sindirim değerlerini rumen sıvısı ve dışkı kullanarak belirlemişler ve elde ettikleri değerler arasında yakın bir ilişki olduğunu ( $r = 0.98$ ,  $P < 0.001$ ) ve in vitro çalışmalarda rumen sıvısı yerine dışkı kullanılabilceğini bildirmişlerdir. Zhang (89) yulaf ve arpa samanının in vitro kuru madde sindirim değerlerini inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı ve dışkı kullanarak belirlemişler ve elde ettikleri değerler arasında güçlü bir lineer ilişki olduğunu ( $R^2 = 0.81$ ,  $P < 0.001$ ) bildirmiştir. Nguyen (70) pirinç samanının in vitro kuru madde sindirim değerlerini inokulant kaynağı olarak sığır rumen sıvısı ve dışkısı (%20 dışkı) kullanarak belirlemiş ve her iki yöntem arasında yakın bir lineer ilişki olduğunu ( $R^2 = 0.86$ ) bildirmiştir. Ancak rumen sıvısı ile elde edilen değerlerin dışkı kullanılarak elde edilen değerlerden yüksek olduğunu bildirmiştir. Kumar ve ark. (50) tarafından bu sonuç dışkıda bulunan selülotik bakteri varlığının rumen sıvısına göre az olmasına bağlanmaktadır. Akhter ve ark. (6) sığır dışkısının rumen sıvısı yerine kullanım olanaklarını araştırdıkları çalışmada litre tampon çözelti içerisinde 83 ve 333 gr dışkı kullanarak yem maddelerinin in vitro sindirilebilirliklerini belirlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre dışkı kullanarak bulunan değerlerin rumen sıvısından elde edilen değerlerden düşük olduğu, bunun nedeninin ise dışkıdaki enzim aktivitesinin rumen sıvısından düşük olabileceğinden kaynaklanabileceğini yorumlamışlardır. Ancak 333 gr dışkı kullanımı ile elde edilen sonuçların 83 gr dışkı kullanımından elde edilen sonuçlara göre rumen sıvısına daha yakın olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Nsahlai ve Umuna (71) kaba yemlerin in vitro kuru madde sindirim değerlerini inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı ve dışkı kullanarak belirlemişler ve elde ettikleri değerler arasında yakın bir ilişki olduğunu ( $R^2 = 0.88$ ,  $P < 0.001$ )

ve in vitro çalışmalarda rumen sıvısı yerine dışkı kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Omed ve ark. (74) in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı yerine dışkının kullanılabileceğini, ayrıca koyun dışkısında bulunan mikroorganizmaların rumen sıvısında bulunan mikroorganizmalar kadar etkili olduğunu ve in vitro çalışmalarda rumen sıvısı yerine dışkı kullanımının daha ucuz ve kolay temin edilebilir olduğunu bildirmektedir.

At dışkısının inokulant kaynağı olarak kullanıldığı in vitro çalışmalarda sınırlı sayıda bulunmaktadır. Denek ve Can (31) ruminant beslemede kullanılan çeşitli kaba yem ve değişik rasyonların in vitro kuru madde sindirilebilirliğini sığır, koyun ve at dışkısı kullanarak belirlemişler, in vivo değerlerle en yüksek korelasyon katsayısını  $r = 0.83$ , at dışkısı kullandıkları denemeden elde etmişlerdir. Bunun aksine koyun ve sığır dışkısından elde edilen korelasyon katsayıları (sırasıyla, 0.76 ve 0.63) at dışkısından elde edilen korelasyon katsayısından düşük bulunmuştur. Araştırmacılar (53) bu sonucu at dışkısının ruminant dışkısının aksine abomasum ve ince barsağın etkisine maruz kalmadığından daha yüksek bir fermentasyon kabiliyetine sahip olabileceğine bağlamaktadırlar. Henneke ve ark. (40) atların kalın bağırsaklarındaki her bir segmentin (sekum, kolon, rektum) bakteri ve protozoa bakımından sığırların rumenlerine benzer yapı gösterdiğini bildirmektedirler. Bu bildirim aksine bazı araştırmacılar (44,51) selülotik mikroorganizmalar bakımından rumen dışkıya kıyasla 10-1000 kat daha fazla mikroorganizma içermektedir. Rumen sıvısında selülotik bakterilerden *Butyrivibrio* türü mikroorganizmalar yoğunlukta iken, dışkıda ise *Ruminococcus* türü mikroorganizmalar yoğun olarak bulunmaktadır (80). At dışkısı ile rumen sıvısı ya da ruminant dışkıları kıyaslandığında rumen içeriğinde bulunan mikroorganizmaların partiküllere yapışık olarak bağırsaklara geçmesinden dolayı at dışkısından daha fazla mikroorganizma buldukları bazı çalışmalarda belirtilmektedir (25). At dışkısının fiziksel yapısı gereği topaklar haline bulunması (sekum ve kolonun haustralı olması) dışkı içerisindeki mikroorganizmaların canlılıklarını sürdürmeleri bakımından önem taşımaktadır (42). Gaz üretim tekniğinde at dışkısı kullanılarak uygulanan çalışmalarda (47,53,54,56) at dışkısının inokulant kaynağı olarak başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirtilmektedir. Abdouli ve Ben Attia (1)'nin yaptıkları çalışmada at dışkısının iki aşamalı sindirim yönteminde inokulant kaynağı olarak kullanılabilmesi ancak in vivo sindirim değerleri bilinen yemlerle yapılacak çalışmaların bu konuda daha güvenilir sonuçların elde edilebileceğini bildirmektedirler.

Bu çalışmada ayrı ayrı yemlere göre kıyaslama yapıldığında arpa samanı ve buğday samanı gibi kalitesiz kaba yemlerin in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak dışkı kullanılmasının güvenli sonuçlar vermediği görülmektedir. Arpa samanı için istatistiksel farklılık tespit edilememiş olsa da birçok araştırmada dışkı tekniğinin uygulanmasında ham selüloz içeriği yüksek olan kalitesiz kaba yemlerde (samanlar gibi) güvenilir sonuçlar vermediği bildirimleri bulunmaktadır (34,88).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, %10, 15, 20, 25 ve 30 düzeyinde at dışkısı içeren inokulant kaynakları ile elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri ile in vivo kuru madde sindirilebilirlik değerleri arasındaki korelasyon katsayıları (r) sırasıyla 0.90, 0.87, 0.77, 0.84 ve 0.83;  $R^2$  değerleri sırasıyla 0.81, 0.76, 0.60, 0.71 ve 0.72; residual standart deviation (RSD) değerleri ise sırasıyla 3.79, 4.30, 5.56, 4.75 4.69 olarak bulunmuştur. Denek ve Can (31) inokulant kaynağı olarak %16 at dışkısı içeren tampon çözelti kullandıkları çalışmada in vivo değerlerle in vitro değerler arasındaki korelasyon katsayısını  $r = 0.83$ ,  $R^2$  değerini 0.90, RSD değerini ise 4.89 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada %10, 15, 25 ve 30 oranında at dışkısı kullanılarak elde edilen korelasyon katsayıları (0.90, 0.87, 0.84 ve 0.83) Denek ve Can (31)'nin bildirimini ile uyum içersinde bulunmuştur. Bu çalışmada dışkı yoğunluğunun artışına bağlı olarak korelasyon katsayılarında ve  $R^2$  değerlerinde azalma görülürken, RSD değerlerinde artış tespit edilmiştir. Bu bulgu El Shaer ve ar. (35)'nin dışkının yüksek oranda sulandırılması organik madde sindirilebilirliğini azaltacağı yönündeki bildirimini uyuşmamaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmada ruminant beslenmesinde kullanılan yem maddelerinin in vitro KMS değerlerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak at dışkısının kullanılabilceği, in vivo değerler ile karşılaştırıldığında en yüksek korelasyon katsayısının ( $r = 0.90$ ) %10 dışkı içeren tampon çözeltilerden elde edildiği, ancak yöntemin yayınlştırılabilmesi ve pratikte kullanılabilmesi için bu konuda klasik sindirim değerleri bilinen yem maddeleri ile daha fazla araştırmanın yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

## 6. KAYNAKLAR

1. Abdouli H, Attia SB. Evaluation of a two-stage in vitro technique for estimating digestibility of equine feeds using horse faeces as the source of microbial inoculum. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 2007; 132:155–162
2. Aerts JV, De Boever JL, Cottyn BG, Buysee FX. Comparative digestibility of feedstuffs by sheep and cows. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1984-85; 12: 47 – 56.
3. Aerts JV, De Brabander DL, Cottyn BG, Buysse FX. Comparison of laboratory methods for predicting the organic matter digestibility of forages. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1977; 2:337-349.
4. Aiple KP, Steingass H, Drochner W. Prediction of the net energy content of raw materials and compound feeds for ruminants by different laboratory methods. *Arch. Anim. Nutr.* 1996; 49: 213-220.
5. Aiple KP, Steingass H, Menke KH. Suitability of a buffered faecal suspension as the inoculum in the Hobenheim gas test. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 1992;67: 57-66.
6. Akhter S, Owen E, Theodorou MK, Butler EA and Minson, DJ. Bovine faeces as a source of microorganisms for the in vitro digestibility assay of forages. *Grass and Forage Sci.* 1999; 54: 219-226.
7. AOAC. Official Methods of Analysis, 14th edn. Association of Official Analytical Chemists. The William Byrd Press, Inc., Richmond, Virginia. p. 500. 1984.
8. Aufrere J, Demarquilly C. Predicting organic matter digestibility of forage by two pepsin-cellulase methods XVI International grassland congress, Nice, France, 1989.
9. Aufrere J, Michalet-Doreau B. Comparison of methods for predicting digestibility of feeds. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1988;20: 203–218
10. Aufrere J. Use of enzymatic methods to predict feed energy and protein values. VI. International Grassland Congress, Nice, France, 1989.
11. Bölükbaşı F. Fizyoloji Ders Kitabı. Vücut Isısı ve Sindirim. Cilt 1, Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi Yayınları, No: 413, Ankara, 1989.
12. Borba AES, Correia PJA, Fernandes JMM, Borba AFRS. Comparison of three sources of inocula for predicting apparent digestibility of ruminant feedstuffs, *Anim Res.* 2001; 50: 265-273
13. Bughrara SS, Sleper DA, Belyea RR, Marten GC. Quality of alfalfa herbage estimated by a prepared cellulase. solution and near infrared reflectance spectroscopy. *Can. J. Plant. Sci.* 1989; 69:833 – 839.
14. Bughrara SS, Sleper DA. Digestion of several temperate forage species by a prepared cellulase solution. *Argon. J.* 1986;78:94-98.
15. Çetinkaya N. Yem maddelerinin değerlendirilmesinde naylon torba metodunun kullanılması. *Yem Magazin Dergisi Sayı 4* : 28 -30. 1992
16. Chen X, Zhao GY. The suitability of a faecal suspension of sheep as inocula for the estimation of utilizable crude protein of feeds by in vitro incubation. *Archives of Animal Nutrition* 2004;58:137-148.
17. Chikwanda AT, Mutisi C. The use of faecal fluid in evaluating ruminant feeds. 2001; 28: 335-341
18. Chung IK. Konservierung des pansenaftes für die futterwertbestimmung in vitro. Dissertation. Universität Stuttgart- Hohenheim, 1985.
19. Clark J, Beard J. Prediction of the digestibility of ruminant feeds from their solubility in enzyme solutions. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1977; 2: 153-159.

20. Close WH, Menke KH. Selected topic in animal nutrition. F.U.T. Müllerbader, Forststr. 18, 7024, Filderstadt 1986.
21. Coelho M, Hembry FG, Barton FE and Saxton AM. A comparison of microbial, enzymatic, chemical and near-infrared reflectance spectroscopy methods in forage evaluation. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1988; 20: 219 - 231.
22. Coşkun B, Şeker E, İnal F. *Yemler ve Teknolojisi*. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi. Konya. 1998.
23. Crampton EW, Maynard LA. The relation of cellulose and lignin content to nutritive value of animal feeds. *J. Nutr.* 1938;15: 383-395.
24. Curch DC. *Digestive Physiology and nutrition of Ruminants Volume 2nd Ed., A and B Books*, USA. 116. 1976
25. Czerkawski JW, Cheng KJ. Compartmentation in the rumen. In: P. N. Hobson (Ed.) *The Rumen Microbial Ecosystem*. p 361. Elsevier Applied Science, New York, 1988.
26. Czerkawski JW. *An introduction to rumen studies*. Pergamon Press Inc Maxwell House, Fairview Park, Elmsford, New York 10523, USA. 1986
27. De Boever JL, Cottyn BG, Buysse FX, Wainman FV, Vanacker JM. The use of an enzymatic technique to predict digestibility metabolizable and net energy of compound feedstuffs for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1986; 4: 203-214.
28. De Boever JL, Cottyn BG, Vanacker JM and Boucqué ChV. The use of NIRS to predict the chemical composition and the energy value of compound feeds. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1995; 51: 243 – 253.
29. De Boever JL, Cottyn BG, Vanacker JM, Boucque CV. An improved enzymatic method by adding gamma-glucuronidase to determine digestibility and predict energy value of compound feeds and raw materials for cattle. *Anim Feed Sci Technol* 1994; 47: 1-18.
30. De Boever JL, Cottyn BG, VerŸes JI, Buysse FX, Vanacker JM. The use of a cellulase technique to predict digestibility metabolizable and net energy of forages. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1988; 19: 247-260.
31. Denek N, Can A. Use of faecal fluid for dry matter digestibility of ruminant feeds. *J. Appl. Anim. Res.* 2007; 31: 29-32
32. Dickerson RL, Jr Dahl B, Scott G. Cellulase vs rumen fluid for in vitro digestibility of mixed diets. *Journal of range management.* 1988;41(4): 337 – 339
33. Dowman MG, Collins FC. The use of enzyme to predict the digestibility of animal feeds. *J. Sci. Food Agric.* 1982; 33: 689- 696.
34. El-Meadaway A, Mir Z, Mir, PS Zaman, MS and Yanke IJ, Relative efficacy of inocula from rumen fluid or faecal solution for determining in vitro digestibility and gas production. *Can. J. Anim. Sci.* 1998; 78: 673-679.
35. El-Shaer HM, Omed, HM and Chamberlain AG, Use of faecal organisms from sheep for the in vitro determination of digestibility. *J. Agric. Sci. Camb*, 1987;109: 257-259.
36. Ergün A, Tuncer ŞD, Çolpan İ, Yalçın S, Yıldız G, Küçükersan MK, Küçükersan S, ve Şehu A. "Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları". s 1-455, Özkan Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara. MEDİPRES, Malatya. 1991.
37. Getachew G, Blümmel M, Makkar HPS, Becker K. In vitro gas measuring techniques for assesment of nutritional quality of feeds. A review. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1998; 72: 261-281.
38. Goering MK, Van Soest PJ. Forage fibre analysis. *Agricultural Handbook*, No. 379, ARC, USDA, Washington, DC. 1970.

39. Harris DM, Barlet A, Chamberlain, AT. The use dairy cow faeces rather than rumen liquor in the gas pressure transducer technique for assessing digestion kinetics in vitro. *Anim. Sci.* 1995;60: 541-.
40. Henneke DR,. Potter GD, Kreider JL, Yeates BF. Relationship between condition score physical measurement and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary Journal* 1983: 15:371.
41. Hieronymi J. Eignung des pansensaftes von schlachtrindern für den Hohenheimer futterttest. Diplomarbeit. Universität Stuttgart- Hohenheim, 1987.
42. Holter P. Concentration of oxygen, carbon-dioxide and methane in the air within dung pats. *Pedobiologia* 1991;35: 381-386.
43. Jones RJ, Barnes P. In vitro digestibility assessment of tropical shrub legumes using Rumen fluid or faecal fluid as the inoculum source. *Tropical Grasslands.* 1996; 30: 374-377
44. Kern DL, Slyter LL, Leffel EC, Weaver JM, Oultjen RR. Ponies vs. steers: microbial and chemical characteristics of internal ingesta. *J. Anim. Sci.* 1974;38: 559–564.
45. Kılıç A. Süt karma yemlerinde net enerji laktasyon (NEL) içeriğinin tahmini yöntemi. *Yem Sanayi Dergisi*, 1984;45:16-21.
46. Kirchgessner M. Hayvan Besleme. Çeviri: Doç. Dr. Asım KILIÇ. TÜBİTAK Yayınları No: 611, Ankara. 1985
47. Kirkhope RTS, Lowman RS. Use of an in vitro gas production technique with faeces as inoculant to assess tropical forage quality for equids. *Anim. Sci.* 1996;62: 690-.
48. Krishnamoorthy U, Soller H, Sreingass H and Menke KH. A comparative study on rumen fermentation of energy supplements. *J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr.* 1991;65: 28 – 35.
49. Küçükersan S, Çolpan İ. Yemlerin yıkılabilirlik özelliklerinin saptanmasında naylon kese tekniğinin kullanılması. *Yem Magazin Dergisi*, Sayı , 1997;5: 47 – 52.
50. Kumar S, Gupta BS, Yadav KR. Effect of different roughage protein and energy sources on in vitro rumen fermentation using rumen and dung liquor inoculants. *Indian J. Ani. Nutr.* 1999: 16; 112-116.
51. Latham MJ, Sharpe ME, Sutton JD. The microflora of the rumen of cows fed hay and high cereal rations and its relationship to the rumen fermentation. *J. Appl. Bact.* 1971;34: 425–434.
52. Lindgren E. Prediction of energy value and protein content of forages. by near infrared reflectance spectroscopy. *Swedish J. Agric. Res*, 1988; 18: 21-26
53. Lowman RS, Theodorou MK, Hyslop JJ, Dhanoa MS and Cuddeford, D. Evaluation of an in vitro batch culture technique for estimating the in vivo digestibility and digestible energy content of equine feeds using equine faeces as source of microbial inoculum. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1999;80:11-17.
54. Lowman RS, Theodorou MK, Longland AC, Cuddeford D. A comparison of equine faeces or caecal digesta as sources of inoculum for in vitro fermentation studies using the pressure transducer technique. *Anim. Sci.* 1996; 62: 683-684.
55. Ly J, Nguyen VL, Rodrigez L, Preston TR. In vitro gas production and washing losses of tropical crop residues for ruminants and pigs. *Livestock Research for rural development*, 1997;9: 4.
56. Macheboeuf D, Jestin M. Utilization of the gas test method using horse faeces as a source of inoculum. In: *Proceedings of the Symposium on In Vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants*, Brit.Soc. Anim. Sci., P.O. Box 3, Penicuik, Midlothian EH26 ORZ, 1997; 36.



57. Manyuchi B, Rusike E, Chakoma C. Comparison of the use of Rumen fluid or dung as a source of microbial inoculum for the digestion of forages in vitro. *Zimbabwe J. Agric. Res.* 1991; 29: 17-25
58. Marten GC, Barnes RF. Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzyme systems. In *Proc. Int. Workshop on Standardization of Analytical Methodology for Feed*. Ed. W. J. Pigden, C.C. Balch, M. Graham, Int. Dev. Res. Center, Ottawa, Canada 1980.
59. Marten GC. Chemical, In vitro and nylon bag procedures for evaluating forage in the USA. "Forage evaluation and utilization – an appraisal of concepts and techniques" editors, Wheeler, J.L. Mochrie, R.D, 1980.
60. Mauricio RM, Owen E, Mould FL, Givens I, Theodorou M K, France J, Davies DR, Dhanoa MS. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for in vitro gas production technique for evaluating forages. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 2001;89:33-48.
61. Mauricio RM, Mould FL, Dhanoa MS, Owen E, Channa KS, Theodorou MK. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation *Anim. Feed Sci. and Tech.*, 1999; 79:321–330.
62. McLeod MN, Minson DJ. A note on onozuka 3S cellulase replacement for onozuka SS (P1500) Cellulase when estimating forage digestibility in vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1980; 5: 347 – 350.
63. McDougal EI. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*, 1948;43:99-109.
64. Menke KH, Steingass H. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 1988;28: 7-12.
65. Murray JMD, Longland AC, Moore-Colyer MJS, Dunnett C. The effect of enzyme treatment on the in vitro fermentation of Lucerne incubated with equine faecal inocula. *Br. J. Nutr.* 2005;94: 771–782.
66. Murray JMD, Longland AC, Moore-Colyer MJS. In vitro fermentation of different ratios of high-temperature dried lucerne and sugar beet pulp incubated with an equine faecal inoculum. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 2006; 129: 89 – 98
67. Nefzaoui A, Vanbelle M. Selection of appropriate methods for "in vitro" analysis of the nutritive value of crop residues agro-industrial by products in developing countries. *FAO. Animal production Better utilization of crop and health paper. 50. residues and by production Animal. Feed Research Guidelines*, 1987.
68. Nehring K. Die ermittlung des futterwertes auf grund einfacher kenndaten. 2. Mitt.: Die Ermittlung des energetischen futterwertes bei Grünfütterstoffen. *Arch. F. Tieremahr.*, 1975; 25: 293 – 311.
69. Newman DMR. The Universal application of the two stage in vitro technique for pasture quality evaluation. *Pro. XII th Int. Grassl. Congr. Moscow*, 1974; 4:428-440.
70. Nguyen VT. Effect of different strategies of processing rice straw on in vitro digestibility using Rumen fluid or faecal inocula of local cattle. "In Proceedings of National Seminar-Workshop on Sustainable Livestock Production on Local Feed Resources" 2003.
71. Nsahlai IV, Umuna NN. Comparison between reconstituted sheep faeces and rumen fluid inocula and between in vitro and in sacco digestibility methods as predictors of intake and in vivo digestibility. *J. Agric. Sci.* 1996;126: 235-248

72. O'Mara FP, Coyle JE, Drenman MJ, Young P, Caffrey PJ. A comparison of digestibility of some concentrate feed ingredients in cattle and sheep. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1999; 81: 167 – 174
73. Öğretmen T, Kılıç A. Gevişgetirenlerin beslenmesinde kullanılan önemli bazı yemlerin NEL içeriklerinin in vivo ve in vitro yöntemleri ile saptanması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. İzmir. 1991.
74. Omed HM, Axford RFE, Chamberlain AG and Givens DI. A comparison of three laboratory techniques for the estimation of the digestibility of feedstuffs for ruminants. *J. Agric. Sci. Camb.* 1989; 113: 35-39.
75. Omed HM, Lovett DK, Axford RFE. Faeces as a source of microbial enzymes for estimating digestibility. In: Givens, D.I., Owen, E., Omed, H.M., Axford, R.F.E. (Eds.), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CAB International, Wallingford, 2000; 135-154.
76. Omed HM, Faza A, Axford RFE, Givens DI. A low tech in vitro procedure using faecal liquor for the estimation of digestibility of forages. *Proceedings of the British society of animal science. Supp.* 1998; 59
77. Orskov ER, Bhargava PK. *Manual for use of nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs*. The Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen, Scotland, 1987.
78. SAS. *Statistical Analysis Systems. User's guide: Statistics (5 th Ed.)* Inc., Cary, NC, 1989.
79. Şehu A. *At Besleme*. 200 s., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara, 2002.
80. Sharpe EM, Latham MJ, Reiter B. The immune response of the host animal to bacteria in the rumen and caecum. In: McDonald, I.W., Warner, A.C.I. (Eds.), *Digestion and Metabolism in the Ruminant*. The University of New England, Sydney, NSW, Australia, 1975.
81. Shaw J, Baidoo SK, Aherne FX. Ileal and faecal energy digestibility coefficients of full-fat canola seed for swine. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1990; 28: 71 – 77.
82. Steel RG, Torrie JH. *Principle and Procedures of Statistics (2<sup>nd</sup> Ed.)*. McDonald book Co., Inc., 1980, New York, NY.
83. Steingass H, Menke KH. Schätzung des energetischen Futterwertes aus der in vitro mit Pansensaft bestimmten Gasbildung und der chemischen Analyse. 1. Untersuchungen zur Methode. *Übersichten Tierernährung*, 1986; 14, 251 – 270.
84. Stern MD, A Bach, S Calsamiglia. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. *J. Anim. Sci.* 1997; 75: 2256-2276.
85. Sunvold GD, Hussein HS, Fahey GC, Merchen Jr NR, Reinhart GA. In vitro fermentation of cellulose, beet pulp, citrus pulp, and citrus pectin using faecal inoculum from cats, dogs, horses, humans, and pigs and ruminal fluid from cattle. *J. Anim. Sci.* 1995; 73: 3639-3648
86. Tilley JMA, Terry RA. A two-stage technique for in vitro digestion of forage. *J. Br. Grassl. Soc.* 1963; 18: 104-111.
87. Van Der Baan AWA, Van Niekerk, NF, Rethman G, Coertze RJ. The determination of digestibility of atriblex nummularia ev. De kock (oldman's saltbush) using different in vitro techniques. *South African Journal of Animal Science*. 2004; 34: 95 -97.
88. Varadyov'a Z, Baran M, Zelenak I. Comparison of two in vitro fermentation gas production methods using both rumen fluid and faecal inoculum from sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2005; 123/124: 81-94.

89. Zhang YG. Effects of cultivar and maturity stage on chemical composition and ruminal digestibility of oat and barley hay using Rumen fluid or faecal liquor as the inoculum. *Journal of Northeast Agric. Uni.* 2004;11: 127-133.

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HAYVAN BESLEME VE BESLENME  
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BAZI KABA YEMLERİN İN VİTRO KURU MADDE  
SİNDİRİLEBİLİRLİK DEĞERLERİNİN  
BELİRLENMESİNDE FARKLI SEVİYELERDE  
SULANDIRILMIŞ AT DIŞKISININ KULLANILMA  
OLANAKLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esmâ POLAT

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nihat DENEK

ŞANLIURFA

2007

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HAYVAN BESLEME VE BESLENME  
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**BAZI KABA YEMLERİN İN VİTRO KURU MADDE  
SİNDİRİLEBİLİRLİK DEĞERLERİNİN  
BELİRLENMESİNDE FARKLI SEVİYELERDE  
SULANDIRILMIŞ AT DIŞKISININ KULLANILMA  
OLANAKLARI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Esmâ POLAT

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nihat DENEK

Bu tez Hr.Ü Araştırma Fon Saymanlığı Tarafından HÜBAK-766 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA

2007

**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**

Esma POLAT'ın hazırladığı “**Bazı Kaba Yemlerin İn Vitro Kuru Madde Sindirilebilirlik Değerlerinin Belirlenmesinde Farklı Seviyelerde Sulandırılmış At Dışkısının Kullanılma Olanakları**” konulu çalışma, 28/12/2007 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalında **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Doç. Dr. Nihat DENEK**  
**Harran Üniversitesi**  
**BAŞKAN**

**Doç. Dr. Abdullah CAN**  
**Harran Üniversitesi**  
**ÜYE**

**Yrd. Doç. Dr. Mehmet AVCI**  
**Harran Üniversitesi**  
**ÜYE**

---

**O N A Y**

...../...../200

**Prof.Dr. Salih Zeki ZİYLAN**  
**Enstitü Müdürü**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tezimin hazırlanması süreçlerinde, sürekli ilgisi, sabrı ve desteği ile kolaylaştıran tez danışmanım sayın Doç.Dr. Nihat DENEK'e ve ders hocalarım sayın Yrd.Doç.Dr. Mehmet AVCI ve Yrd.Doç.Dr. Oktay KAPLAN'a, denemelerin yürütülmesinde desteklerini esirgemeyen Doç.Dr. Abdullah CAN ile yüksek lisans öğrencisi Mahmut ŞEKER'e, istatistiksel analizlerin yapılmasında yardımcı olan Yrd.Doç.Dr. Seyrani KONCAGÜL'e, çalışmanın yürütülmesinde mali kaynak sağlayan Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığına ve yüksek lisans tez sürem boyunca desteklerini esirgemeyen aileme teşekkür ederim.

**Esmâ POLAT**  
**2007**

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	i
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	ii-iii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	iv
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	v
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ÖZET</b> .....	vii
<b>ABSTRACT</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1-2
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Ruminantlarda Mikroorganizma Faaliyetleri.....	3-4
2.2. Atlarda Mikroorganizma Faaliyetleri.....	4-5
2.3. Yemlerin Sindirilebilirliğinin Belirlenmesinde Yararlanılan Yöntemler.....	5-6
2.3.1. İn Vivo Yöntemler.....	6-8
2.3.2. İn Vitro Yöntemler.....	8
2.3.2.1. Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) Tekniği.....	8
2.3.2.2. İki Aşamalı Sindirim Yöntemi.....	9
2.3.2.3. Enzim Tekniği.....	9-11
2.3.2.4. Gaz Üretim Tekniği.....	11-12
2.3.2.5. Naylon Kесе Tekniği.....	12-13
2.3.2.6. Dışkı Tekniği.....	14-15
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	16
3.1. Klasik Sindirim Denemesi (İn Vivo Yöntem).....	16
3.1.1. Materyal.....	16
3.1.1.1. Hayvan Materyali.....	16
3.1.1.2. Sindirim Denemesi Kafesleri.....	16
3.1.1.3. Gübre Toplama Torbaları ve Tespit Kuşakları.....	16-17
3.1.1.4. Deneme Yemleri.....	17



3.1.2. Metot.....	17
3.1.2.1. Yem Maddelerinin Kuru Madde Sindirilme Derecelerinin Belirlenmesi.....	17
3.1.2.2 Ham Besin Madde Analizleri.....	18
3.2. Dışkı Tekniği Denemesi (İn Vitro Yöntem).....	18
3.2.1. Materyal.....	18
3.2.1.1. Yem Materyali.....	18
3.2.1.2. Dışkı Materyali.....	18
3.2.1.3. İnkübasyon Tüpleri.....	19
3.2.2. Metot.....	19
3.2.2.1. Tampon Çözeltinin Hazırlanması.....	19
3.2.2.2. Pepsin Çözeltisi.....	19
3.2.2.3. Üre Çözeltisi.....	19
3.2.2.4. Dışkı Tekniğinin Uygulanması.....	20
3.3. İstatistiksel Analizler.....	21
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>23-29</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>30-34</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>35-40</b>

**ÇİZELGELER DİZİNİ**

	<b>Sayfa No</b>
<b>Çizelge 1.</b> % 10 At dışkısı (100 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.....	25
<b>Çizelge 2.</b> % 15 At dışkısı (150 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.....	26
<b>Çizelge 3.</b> % 20 At dışkısı (200 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.....	27
<b>Çizelge 4.</b> % 25 At dışkısı (250 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki .....	28
<b>Çizelge 5.</b> % 30 At dışkısı (300 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki .....	29

**TABLolar DİZİNİ**

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b> At, sığır ve koyunda mikrobiyal sindirim oranları .....	5
<b>Tablo 2.</b> Araştırmada kullanılan yem maddelerinin ham besin madde içerikleri, % KM .....	23
<b>Tablo 3.</b> Araştırmada kullanılan yem maddelerinin in vivo ve farklı seviyelerde at dışkıları kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri, % KM .....	24

**RESİMLER DİZİNİ**

	<b>Sayfa No</b>
<b>Resim 1.</b> Klasik sindirim denemesinde kullanılan Sindirim kafesleri ve deneme hayvanları .....	21
<b>Resim 2.</b> İn vitro sindirim denemesinde kullanılan inkubasyon düzeneği.....	22
<b>Resim 3.</b> İn vitro sindirim denemesinde kullanılan süzme düzeneği.....	22

## ÖZET

### **Bazı Kaba Yemlerin İn Vitro Kuru Madde Sindirilebilirlik Değerlerinin Belirlenmesinde Farklı Seviyelerde Sulandırılmış At Dışkısının Kullanılma Olanakları**

Esmâ POLAT  
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları  
Yüksek Lisans Tezi

Bu çalışma, ruminant beslenmesinde kullanılan bazı kaba yemlerin; arpa samanı (AS), buğday samanı (BS), mercimek samanı (MS), buğday silajı (BSi), mısır silajı (MSi) ve yonca kuru otu (YKO)'nun in vitro kuru madde sindirilebilirliklerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak farklı seviyelerde at dışkısının kullanım olanaklarının araştırılması ve elde edilen değerlerin klasik sindirim değerleri ile karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Deneme yemleri %10, 15, 20, 25 ve 30 (litre tampon çözelti içerisinde 100, 150, 200, 250 ve 300 gr) taze at dışkısı içeren inokulant kaynağı ile 72 saat mikrobiyal inkubasyona bırakılmış, daha sonra tüplere 0.1 N %0.4 HCl - pepsin çözeltisi ilave edilerek 48 saat inkube edilmişlerdir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar ile klasik sindirim denemesinden belirlenen değerler karşılaştırıldığında en yüksek korelasyon katsayısı, regresyon eşitliği ve RSD değeri;  $r = 0.90$ ,  $y=0.699 (\pm 0.0717)x+15.52 (\pm 4.02)$ ,  $R^2 = 0.91$  ve  $RSD = 3.791$  olarak %10 at dışkısından; en düşük korelasyon katsayısı, regresyon eşitliği ve RSD değeri;  $r = 0.77$ ,  $y=0.5494 (\pm 0.09652)x+26.34 (\pm 4.98)$ ,  $R^2 = 0.60$  ve  $RSD = 5.56$  olarak %20 at dışkısının kullanıldığı denemeden elde edilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, yem maddelerinin in vitro KMS değerlerinin belirlenmesinde ve regresyon eşitlikleri kullanılarak in vivo KMS değerlerinin tahmin edilmesinde at dışkısının yüksek bir potansiyele sahip olduğu, yem maddelerinin in vitro KMS değerlerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak at dışkısının kullanılabilmesi, in vivo değerler ile karşılaştırıldığında en yüksek korelasyon katsayısının ( $r = 0.90$ ) %10 dışkı içeren tampon çözeltiden elde edildiği, ancak yöntemin yayınlatabilmesi ve pratikte kullanılabilmesi için bu konuda klasik sindirim değerleri bilinen çok sayıda yem maddeleri ile daha fazla araştırmanın yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Ruminant, Sindirim, At, Dışkı, İn vitro.

## ABSTRACT

### **An Investigation of Usage Different Amount of Horse Faecal Fluid for Determining Dry Matter Digestibility of Roughages**

Esma POLAT

**Animal Nutrition and Nutritional Diseases, Master's Thesis**

#### **Abstract**

This study was carried out to investigate the precision of buffered different amount of horse faecal suspensions (HFS) as the inoculums in the in vitro digestibilities of barley straw (BS), lentil straw (LS), wheat silage (WS), corn silage (CS), and alfalfa hay (AH) and their comparison with in vivo apparent digestibility technique. Experimental roughages were incubated with 10, 15, 20, 25 and 30% of fresh horse faeces ( 100, 150, 200, 250 and 300 g/ per liter of buffer solution, respectively) including inoculant for 72 h, then 0.1 N HCl including 0.4% pepsin solution were added for additional 48 h incubations. Results from this study indicate that 10% HFT has the highest potential to be used for predicting in vivo DM digestibility of roughages due to having higher correlation coefficient ( $r=0.90$ ) and  $R^2$  (0.91) and lower RSD (3.79) with equation  $Y=0.699 (\pm 0.0717)x + 15.52 (\pm 4.02)$ . In contrast, 20% HFS has the lowest potential to be used for predicting in vivo DM digestibility of roughages due to having lowest correlation coefficient ( $r=0.77$ ) and  $R^2$  (0.60) and highest RSD (5.56) with equation  $Y=0.549 (\pm 0.0965)x + 26.34 (\pm 4.98)$ . According to result of this study, 10% HFS has the high potential to determining in vitro dry matter digestibilities of roughages using regression equation obtained from in vivo values. However, more research with wide range of feedstuffs is required to modify HTS to get better regression equation and usage in practical field.

**Keywords:** Ruminat, Digestibility ,Horse, Faeces, In vitro.

## 1.GİRİŞ

İnsan ve hayvanlar, yaşama, büyüme, iş, süt ya da yumurta verimi gibi aktiviteler yanında yapılarındaki canlı maddelerin onarım ya da yeniden yapılabilmeleri için dışarıdan besin maddesi (karbonhidrat, yağ ve proteinler) dediğimiz kimyasal enerji kaynaklarını ve etkin maddeleri (su, mineral maddeler ve vitaminler) almak zorundadırlar. Böylece tüm fizyolojik fonksiyonların bütünlüğü sağlanarak canlılık olayları sürdürülmüş olur (11).

Bir yem maddesi ya da karmasının besin madde açısından besleyici değeri kimyasal analizlerle belirlenmektedir. Bununla beraber, organizmada sindirim, emilim ve metabolizma olayları sürecinde önemli ve kaçınılmaz kayıplar meydana gelmektedir. Dolayısıyla yemin gerçek besleyici değeri, kimyasal analiz yoluyla belirlenenden oldukça farklı olabilmektedir. Sindirim denemeleri, yemlerin değerliliğinin belirlenmesinde, kimyasal analizlerinden sonra en sık başvurulan ve güvenilir sonuç veren metotlardır. Yemlerin sindirilme derecelerinin belirlenmesinde in vivo ve in vitro sindirim yöntemleri kullanılmaktadır (22).

Yem maddelerinin sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler arasında en güvenilir olanı klasik sindirim denemeleridir. Ancak klasik sindirim denemelerinin canlı hayvan barındırma güçlüğü, deneme süresinin uzun zaman alması, fazla yem ve işçiliğe ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Klasik sindirim denemelerinin uzun zaman alması ve ekonomik olmaması gibi olumsuzlukları göz önünde bulunduran araştırmacılar çeşitli in vitro sindirim yöntemleri geliştirme yoluna gitmişlerdir (65).

Yem maddelerinin kuru madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde en bilinen ve yaygın olarak kullanılan in vitro yöntem Tilley ve Terry (86) tarafından geliştirilen iki aşamalı sindirim yöntemidir. Bu yöntemde yemlerin mikrobiyal fermentasyonu için rumen sıvısı kullanılmakta ve rumen sıvısı temini için hayvanlara cerrahi operasyonla rumen kanülü takılması, olası sağlık problemlerinin ortaya çıkması, uzun süreli bakım masrafları ve bu hayvanların kullanımı ile ilgili etik ve hayvan refahı gibi faktörlerin bulunması dezavantaj olarak kabul edilmektedir (60,61). Bu dezavantajları göz önünde bulunduran araştırmacılar in vitro çalışmalarda inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı yerine hayvan dışkı kullanım olanaklarını araştırmışlardır. İki aşamalı in vitro sindirim yönteminde rumen sıvısı yerine dışkı kullanılabilceği birçok çalışmada bildirilmektedir (6,34,35,55,57,74,75,76).

Çiftlik hayvanlarının dışkıları rumen ve sindirim sisteminden köken alan mikroorganizmalar içermektedirler. Böylece farklı çiftlik hayvanlarından alınan dışkı örneklerindeki mikroorganizma yoğunluğu ve etkinliği hayvan türü ve rasyondan etkilenmektedir. Atlarda mikroorganizma faaliyetleri kalın bağırsakta olmaktadır. Kalın bağırsak başlıca sekum, kolon ve rektum olmak üzere üç ana bölümden oluşmaktadır. Sekum 30–40 lt lik bir hacme sahiptir ve selülozca zengin yemler için fermentasyon bölümüdür. Mikroorganizma popülasyonu birinci derecede sekumda, ikinci derecede kolonda yoğun olarak bulunmaktadır. Ventral kolonda bakteri konsantrasyonu kolonun son bölümüne kıyasla 6–7 kat fazladır. Sekumda bakteri popülasyonu 1 gramda  $10^7$ - $10^{10}$ , protozoa popülasyonu ise  $10^3$ - $10^4$  kadardır. Tek mideli herbivorlarda incebağırsaklarda sindirilemeyen selüloz ve bir takım kolay eriyebilen karbonhidratlarla proteinlerin bir kısmı bakteri ve protozoalarla daha ileri derecede fermentatif ve çürüme olaylarına maruz kalır. Kalınbağırsaktaki bakterilerin yaklaşık %20'si proteinleri parçalar. Siliatalar, bakteri popülasyonunun yaklaşık milyonda biri kadardır (79). Bütün herbivorlarda alınan besin maddelerinin fermentasyonu, selülozlu kısımların sindirilebilmesi için özel bir bölme gerekir. Ruminantlarda rumen bu iş için idealdir. Tek mideli herbivorlarda ise bu işi sekum ve kolon karşılamaktadır. Kalınbağırsaktaki karbonhidratların fermentasyonu rumen sindirimine benzer ürünler meydana getirir (uçucu yağ asitleri,  $CO_2$ ,  $CH_4$ , H). Kısa zincirli yağ asitleri emilerek hayvanın yaralanmasına sunulur. Proteinli maddelerin çürümesi esnasında ise amino asitlerin yanında  $H_2S$ ,  $CH_4$ ,  $NH_3$ ,  $CO_2$  gazları ile yağ asitleri, fenol, krezol, indol vs. oluşur. Bu gazlar ya anüs ile ya da emilerek akciğerlerle atılır. Tek mideli herbivorlarda besin maddelerinin en uzun kaldığı bölüm kalın bağırsaklardır. Kalınbağırsaklarda bakteriyel faaliyet sadece besin maddelerinin parçalanması için olmayıp hayat için gerekli olan B ve K vitaminleri gibi bazı maddeler sentezlenir. Bazı araştırmacılar yem maddelerinin in vitro kuru madde sindirilebilirliklerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak koyun ve sığır dışkısının başarılı olarak kullanılabileceğini bildirmektedirler (6,35,39). At dışkısı ruminant dışkısının aksine abomasum ve ince barsağın etkisine maruz kalmadığından daha yüksek bir fermentasyon kabiliyetine sahip olduğu yönünde bildirimler bulunmaktadır (1,53,56).



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Ruminantlarda Mikroorganizma Faaliyetleri

Ruminantlarda midenin anatomik yapısı ve fizyolojik fonksiyonları tek mideli hayvanlardan çok farklı olduğundan, bu hayvanların beslenmelerinde büyük fizyolojik ayrılıklar görülür. Ruminantların ön mide sistemlerinde bakterilerden, protozoalardan ve anaerobik funguslardan oluşan son derece yoğun bir mikroorganizma popülasyonu mevcuttur. Bir gram rumen içeriğinde yaklaşık olarak  $10^{10}$ - $10^{11}$  bakteri bulunmaktadır ve bu bakterilerin çoğunluğunu gram pozitif streptokoklar (*Streptococcus bovis*) oluşturmaktadır (24,25,26,73). Rumende bulunan selülotik bakterilerden, önemli olanları, *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens*, *Ruminococcus albus* ve *Butyrivibrio fibrisolvens*'dir. *Bacteroides succinogenes*, ekstrasellüler selülaz enzimine sahip olmasıyla bilinir ve selülazı difüzyon yoluyla ortama yayar. Rumende bulunan hemiselülotik bakterilerden önemli olanları *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Bacteroides rumenicola* ve *Ruminococcus* spp.'dir. Ayrıca rumende bulunan selülotik bakterilerin çoğunluğu da hemiselülozu sindirebilmektedirler. Pektin sindirimi ise *Butyrivibrio fibrisolvens*'in pektinolitik özelliği sayesinde gerçekleşmektedir. Amilolitik bakterilerden *Succinivibrio dextrinosolvens* dextrini yıkımlar, ancak nişastanın tümünü yıkımlayamaz. Bunun yanında selülotik bakterilerin büyük çoğunluğu selülozun yanı sıra nişastayı da yıkımlarlar. Nişastanın yıkımlanması uygun pH'da amilolitik bakterilerin oluşturdukları  $\alpha$ -amilaz enziminin aktivitesi ile şekillenmektedir (24). Metan gazı üreten bakteriler, rumen popülasyonu içerisinde özel bir sınıfa aittirler ve bu bakteriler,  $H_2$  gazını kullanarak rumen fermentasyonunu düzenlerler.  $H_2$  gazı ile  $CO_2$ 'in redüksiyonu sonucunda rumende metan oluşur. Metan oluşumunda diğer bir yol ise, *Methanobacterium* isimli bakterinin metanol, metilamin ve asetatı kullanarak metan gazı oluşturmasıdır (24,73). Rumende oluşan gaz miktarının yaklaşık % 65'i  $CO_2$ , % 27'si  $CH_4$ , % 7'si  $N_2$ , % 0,01'i  $H_2S$ 'ten oluşmaktadır (24,25).

Çoğunluğu anaerobik ve proteolitik olan rumen protozoalarının büyük çoğunluğu ciliatalardan oluşmakta ve bir ml rumen yaklaşık  $10^5$ - $10^6$  kadar protozoa bulunmaktadır. Protozoalar rumen içeriğinin % 2'sini mikrobiyal azotun % 40'ını ve rumendeki fermentasyon ürünlerinin % 60'ını oluştururlar. Rumendeki protozoa popülasyonunun kütleli olarak rumen bakterileri ile yaklaşık aynı miktarda oldukları düşünülmektedir. Ciliate protozoaları yem

partiküllerini kullanarak bunları selüloz, hemiselüloz, pektin, nişasta, suda eriyebilen karbonhidratlar ve lipit içeren büyük bitki yapılarına parçalarlar. Rumen protozoalarının tamamı nişasta benzeri polisakkaritleri kendi bünyelerinde depolar ve bunları eksojen enerji kaynakları kesildiğinde kullanmaya başlarlar (24,25). Ruminantlar yüksek oranda kaba yemlerle beslendiklerinde, rumendeki mikrobiyel ortamın % 8'inden fazlasının funguslardan oluştuğu belirtilmekte ve fungusların işlevi tam olarak bilinmemekle beraber, selülozu ve ksilanı yıkmadıkları, en azından selülozun sindiriminde rol oynadıkları bilinmektedir (24).

## 2.2. Atlarda Mikroorganizma Faaliyetleri

Tek mideli herbivorlar için kalın bağırsak sindirimi önemlidir. Bütün herbivorlarda alınan besin maddelerinin fermentasyonu, selülozlu kısımların sindirilebilmesi için özel bir bölme gerekir. Ruminantlarda rumen bu iş için idealdir. Tek mideli herbivorlarda ise bu işi sekum ve kolon karşılamaktadır. Taylar ancak 15-25 aylık yaşa gelince sekum bütün işlevlerini kazanmış olur. Tek mideli herbivorlarda kalın bağırsaklar sadece selüloz sindirimine değil, diğer maddelerin sindirim ve absorpsiyonunda görev üstlenir. Tek mideli herbivorlarda sekum ve kolon ruminantlarınkinden daha büyük bir kapasiteye sahiptir ve keseler oluşturur. Burada villuslar bulunmamaktadır. Müköz karakterde salgı bezleri vardır. Tek mideli herbivorlarda incebağırsaklarda sindirilemeyen selüloz ve bir takım kolay eriyebilen karbonhidratlarla proteinlerin bir kısmı bakteri ve protozoalarla daha ileri derecede fermentatif ve çürüme olaylarına maruz kalır (79).

Atlarda mikroorganizma faaliyetleri kalın bağırsakta olmaktadır. Kalın bağırsak başlıca sekum, kolon, ve rektum olmak üzere üç ana bölümden oluşmaktadır. Sekum 30-40 lt lik bir hacme sahiptir ve selulozca zengin yemler için fermentasyon bölmeleridir. Mikroorganizma popülasyonu birinci derecede sekumda, ikinci derecede kolonlarda yoğundur. Sekumda bakteri popülasyonu 1 gramda  $10^7$ - $10^{10}$ , protozoa popülasyonu ise  $10^3$ - $10^4$  kadardır. Kalın bağırsaklarda oluşan uçucu yağ asitlerinden asetik asit oranı yaklaşık %67, propiyonik asit %19 ve bütirik asit ise %14 kadardır. Propiyonik asit kolonlarda sekuma göre daha fazla üretilmektedir. Kalın bağırsaklarda hiçbir enzim salgılanmaz. Müsinden zengin salgı fermentatif olayların oluşmasını kolaylaştırır (79)

Kalınbağırsaktaki karbonhidratların fermentasyonu rumen sindirimine benzer ürünler meydana getirir (uçucu yağ asitleri,  $CO_2$ ,  $CH_4$ , H). Kısa zincirli yağ asitleri absorbe edilerek

hayvanın yaralanmasına sunulur. Proteinli maddelerin çürümesi esnasında ise amino asitlerin yanında  $H_2S$ ,  $CH_4$ ,  $NH_3$ ,  $CO_2$  gazları ile yağ asitleri, fenol, krezol, indol vs. oluşur. Bu gazlar ya anüs ile ya da emilerek akciğerlerle atılır. Tek mideli herbivorlarda besin maddelerinin en uzun süre kaldığı bölüm kalın bağırsaklardır. Kalınbağırsaklarda bakteriyel faaliyet sadece besin maddelerinin parçalanması için olmayıp hayat için gerekli olan B ve K vitaminleri gibi bazı maddeler sentezlenir. Kalın bağırsakta bakteri popülasyonu en fazla sekum ve ventral kolondadır. Burada bakteri konsantrasyonu kolonun son bölümüne kıyasla 6-7 kat fazladır. Kalınbağırsaktaki bakterilerin yaklaşık %20'si proteinleri parçalar. Siliatlar, bakteri popülasyonunun yaklaşık milyonda biridir (79). Tablo 1'de at, sığır ve koyunların çeşitli sindirim organlarındaki mikrobiyal sindirim oranları sunulmuştur (11).

**Tablo 1:** At, sığır ve koyunda mikrobiyal sindirim oranları.

	Rumen	Sekum	Kolon ve Rektum	Toplam
At	-	15	54	69
Sığır	64	5	6	75
Koyun	71	8	4	83

### 2.3. Yemlerin Sindirilebilirliğinin Belirlenmesinde Yararlanılan Yöntemler

Yem maddelerinin sindirilme derecelerinin tespitinde kullanılan in vitro metotlardan en yaygın kullanılanı Tilley ve Terry (86)'nin iki aşamalı in vitro sindirim tekniğidir. Bu yöntem, birinci aşamada yem maddesinin rumen sıvısında, ikinci aşamada ise pepsin HCl çözeltisinde inkubasyona bırakılması ile uygulanmaktadır (36,86). İn vitro tekniklerden bir diğeri ise, enzim tekniği olarak bilinen ve yem maddesinin önce sellülaz, hemisellülaz ve amilaz enzimleri ile daha sonra pepsin HCl çözeltisi ile inkubasyona bırakılmasıyla uygulanmaktadır (4,8,10,14,19,22,30,36).

Yem maddelerinin organik madde sindirilebilirliklerinin ve enerji içeriklerinin tespitinde kullanılan in vitro metotlardan bir diğeri ise, 1979 yılında Alman araştırmacı Menke ve ark. (64) tarafından geliştirilen Hohenheim gaz testidir. Bu metoda göre, yemin sindirilebilir ham besin madde içeriğine dayandırılmadan ve sadece yemin in vitro ortamda oluşturabileceği gaz ( $CH_4$ ,  $CO_2$ ,  $NH_3$ , özellikle  $CH_4$ ) miktarından yararlanarak yemin

sindirilebilirliği ve enerji içeriğinin belirlenebileceği bildirilmektedir (22,36,37,45,48,64,73).

Naylon kese tekniği (in situ) tek başına yem maddesinin belirlenmesinde yeterli bir yöntem değildir. Ancak yem maddelerin naylon keselerde belirli bir süre rumende inkubasyona bırakıldıktan sonra, pepsin-HCl çözeltisinde belirli bir süre inkubasyona bırakılması ile yem maddesinin sindirilebilirliği belirlenebilmektedir (3,15,49,77).

Tilley ve Terry (86) tarafından geliştirilen iki aşamalı in vitro sindirim yönteminde yemlerin mikrobiyal fermentasyonu için rumen sıvısına ihtiyaç duyulmaktadır. İn vitro yöntemlerde rumen sıvısı temini için hayvanlara cerrahi operasyonla rumen kanülü takılması, olası sağlık problemlerinin ortaya çıkması, uzun süreli bakım masrafları ve bu hayvanların kullanımı ile ilgili etik ve hayvan refahı gibi faktörlerin bulunması dezavantaj olarak kabul edilmektedir (66). Bu dezavantajları göz önünde bulunduran araştırmacılar in vitro çalışmalarda inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı yerine taze koyun dışkısı kullanmışlardır (35). Çiftlik hayvanlarının dışkıları rumen ve sindirim sisteminden köken alan mikroorganizmalar içermektedirler. Böylece farklı çiftlik hayvanlarından alınan dışkı örneklerindeki mikroorganizma yoğunluğu ve etkinliği hayvan türü ve rasyondan etkilenmektedir.

### 2.3.1. İn Vivo Yöntemler

Yem maddelerinin sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde en güvenilir yöntem klasik sindirim denemesidir. Bir yem maddesinin organik madde sindirilebilirlik derecesi % 55-75 arasında ve fiziksel yapısı normal bir rumen fermentasyonu sağlıyorsa, sindirim denemesinde o yem maddesi doğrudan hayvanlara yedirilebilir. Ancak, konsantre yem maddelerinin çoğunluğu yalnız başına klasik sindirim denemesinde kullanılamaz. Bu tür yem maddeleri için “farklılıktan yararlanarak sindirilme derecesinin tespiti metodu” uygulanmaktadır (36,46).

Yem maddelerinin ham selüloz içeriği ile organik madde sindirilebilirliği arasında ters bir orantı vardır. Sığır ve domuzda yapılan çalışmalarda, yem maddesinin ham selüloz içeriğinin artışına bağlı olarak, organik madde sindirilebilirliğinde azalma görülmektedir. Aynı zamanda hayvanın tükettiği yem miktarı da organik maddenin sindirilme derecesini etkilemektedir. Yaşama payı ihtiyacının iki katı yem tüketildiğinde, organik maddenin sindirilme derecesinde 1-9 birim arasında bir gerileme görülmektedir (46).

Klasik sindirim denemeleri, koyun ve sığırların benzer sindirim yeteneğine sahip oldukları kabul edilerek, çoğunlukla koyunlarda uygulanmaktadır. Ancak yapılan çalışmalar, bu görüşün aksini göstermektedir (2,72). Aynı araştırmacılar bu farklılığın yemden yeme değişiklik göstermekle birlikte, genele olarak kaba yemlerin sığırlar tarafından daha iyi sindirildiğini bildirmektedir. Aynı araştırmacılar, yem maddesinde bulunan ham proteinin koyunlar, ham selülozu ise sığırlar tarafından daha yüksek düzeyde sindirildiğini göstermektedir.

Klasik sindirim denemesinde sindirim denemesi için özel olarak imal ettirilen, koyun ve keçilerin yerleştirilmelerine olanak sağlayan, ön tarafında portatif yemliği, yan tarafında portatif suluğu, arka tarafında ise hayvanların kafese konulup çıkarılabileceği kapılar bulunan sindirim kafesleri kullanılmaktadır. Gübre toplama torbaları ise polyester çadır kumaşından 40x60 cm ebatlarında, dört tarafında bağlama kemerleri bulunan ve bir tarafı fermuarlı gübre toplama torbaları kullanılmaktadır. At koşumuna benzer şekilde hazırlanan kuşaklar hayvanların üzerine yerleştirilerek, gübre toplama torbaları bu kuşakların arka kısımlarına bağlama kemerleri ile alt, üst ve yanlardan sıkıca bağlanmak suretiyle, hayvanlara tespit edilmekte ve böylece hayvanların gübrelerinin tamamı toplanmaktadır.

Klasik sindirim denemesinde her bir yem maddesi için en az 4 adet aynı yaşta, aynı ırkta erkek hayvan kullanılmaktadır. Denemede kullanılacak hayvanların kafes ortamı ile yeme adapte olmaları ve yem tüketimlerinin belirlenmesi için 10 günlük ön alıştırmaya dönemi, bunu izleyen 10 günlük asıl alıştırmaya dönemi ve nihayetinde 7 günlük gübre toplama dönemi uygulanmaktadır. Gübre toplama döneminde hayvanların çıkartmış oldukları günlük toplam gübre miktarı tartılarak kaydedilmekte ve bunun %10'u analizler için derin dondurucuda saklanmaktadır. Elde edilen analiz sonuçlarına göre deneme yemlerinin besin madde sindirilme dereceleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmaktadır.

$$\text{Sindirilme derecesi, \%} = \frac{\text{TBMM} - \text{GBMM}}{\text{TBMM}} \times 100$$

TBMM: Tüketilen besin madde miktarı  
GBMM: Gübredeki besin madde miktarı

### 2.3.2. İn Vitro Yöntemler

Klasik sindirim denemelerinin pahalı, zaman alıcı ve düzenek kurma zorlukları araştırmacıları yem maddelerinin sindirilebilirliğini belirlemede yeni arayışlara yöneltmiştir (20). Yem maddelerinin ham besin madde içerikleri kullanılarak sindirilebilirlik değerlerinin belirlemek için çeşitli regresyon eşitlikleri geliştirilmiştir, ancak elde edilen sonuçların güvenilir olmadığı gözlenmiştir (4,20,73).

#### 2.3.2.1. Near İnfrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) Tekniği

Yem maddelerinin yapısını ve sindirilme potansiyelini ölçmek amacıyla son yıllarda geliştirilmiş olan Near İnfrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) yönteminden yararlanılabilmektedir. Yöntem kısaca çok sayıda örnekten laboratuvar analizleri ile belirlenen standartların bilgisayara aktarılması ve standart yem örneğinden yansıyan ışık miktarı ile deneme materyalinden yansıyan ışık miktarının karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Bu yöntemin çevre kirliliği açısından herhangi bir zararlı yanının olmayışı, örneklerin hazırlanmasının basit oluşu, kimyasal maddelere gereksinim duyulmaması ve kısa sürede çok sayıda örneğin analiz edilebilmesi gibi olumlu yanlarına karşın, ekipmanlarının pahalı oluşu, yapısı ve sindirilebilirliği bilinen kontrol örneklerle gereksinim duyulması gibi dezavantajlarıda bulunmaktadır (28,52).

Coelho ve ark. (21)'nin kaba yemlerle yaptıkları çalışmada, dalga boyu ve kalibrasyon işlemleri uygun şekilde yapıldığında, NIRS yönteminden elde edilen sonuçların, in vivo ve in vitro KMS ile yakın sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir. Bughrara ve ark. (13)'da aynı metotla yonca türleri üzerinde yaptıkları bir çalışmada, ham besin madde içerikleri ve OMS'nin, in vivo ve in vitro metotlarla elde edilen sonuçlarla uyum içinde olduğunu bildirmektedirler.

#### 2.3.2.2. İki Aşamalı Sindirim Yöntemi

Yem maddelerinin yapısında selüloz, hemiselüloz ve lignin gibi, o yem maddesinin sindirilme düzeyini etkileyen hücre duvarı elemanları bulunmaktadır. Bu nedenle, yem maddelerinin sindirilebilirliğini belirlemede, hücre duvarı elemanlarını yıkılmayabilen enzim karışımlarını kullanma esasına dayanan metotlar geliştirilmiştir. Bu metotların en eskisi,

Tilley ve Terry (86)'nin iki aşamalı in vitro sindirim yöntemidir. Bu metoda göre, yemlerin sindirilme derecesini belirlemede, yem maddesi birinci aşamada, rumen sıvısıyla anaerobik ortamda; ikinci aşamada ise seyreltik HCI çözeltisinde pepsinle muamele edilmektedir. Her iki aşamada da inkubasyon süresi 48 saat olup, inkubasyon ısısı 38-39 °C'dir. Metodun birinci aşaması yem maddesinin yapısında bulunan ham selülozun parçalanmasını, ikinci aşaması ise çözünmemiş proteinlerin parçalanmasını sağlamaktadır (27,36,86). Tilley ve Terry (86)'nin iki aşamalı sindirim tekniği Marten ve Barnes (58) tarafından modifiye edilerek, daha kısa sürede sonuç verilen bir konuma getirilmiştir.

İki aşamalı in vitro sindirim yönteminde rumen sıvısı temini için hayvanlara cerrahi operasyonla rumen kanülü takılması, olası sağlık problemlerinin ortaya çıkması, uzun süreli bakım masrafları ve bu hayvanların kullanımı ile ilgili etik ve hayvan refahı gibi faktörlerin bulunması dezavantaj olarak kabul edilmektedir (36).

### 2.3.2.3. Enzim Tekniği

İki aşamalı sindirim yönteminde, rumen sıvısının temini canlı hayvan barındırma zorluğu ve uzun zamana gereksinim duyulması gibi olumsuzluklar, araştırmacıları fungal sellüloz preparatları kullanarak yapılan enzim tekniklerinin geliştirilmesi yoluna yöneltmiştir (4,8). Bu amaçla sellüloz hemiselülaz, amilaz, ve pepsin gibi sindirim enzimleri yem maddelerinin sindirilme derecelerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır (22,36). Yapısal karbonhidratların selülotik enzim çözeltilerinde, bu öğelerin çözünürlüğü yardımıyla sindirilebilirliklerinin belirlenmesi yoluna gidilmiştir (73).

Funguslardan elde edilen sellüloz enzimi trichoderma viride, trichoderma resei ya da aspergillus niger'den elde edilmektedir. Trichoderma viride'den elde edilen enzimlerin selülotik hemiselülotik ve proteolitik aktiviteleri bulunmaktadır (10,67). Trichoderma viride'den elde edilen sellüloz (onozuka ss (p 1500)) enzim tekniğinin uygulanmasında en yaygın olarak kullanılan enzim preparatıdır. Ancak son yıllarda ticari bir preparat olan onozuka ss (p 1500) yerine aktivitesi daha yüksek olan onozuka 3s kullanılmaya başlanmıştır. Onozuka 3s, özellikle kaba yem maddelerinin sindiriminde selüloza ek olarak pektin, hemiselüloz ve protein sindiriminde etkili olan pektinaz, hemiselülaz ve proteazlarıda içermektedir (32,62).

Enzim tekniğinde, yem maddelerinin sindirilebilirliğinin belirlenmesi için sadece sellüloz, hemisellüloz ve amilaz enzimlerinin kullanımı yeterli değildir. Ayrıca, ruminantların alt sindirim organlarının etkisini gösterebilecek bir uygulamanın yapılması da gerekmektedir. Bu amaçla, proteinin sindirilmesi için seyreltik HCl'de hazırlanmış pepsin çözeltisi kullanılmaktadır (36). Dowman ve Collins (33) yapmış oldukları bir çalışmada *Trichoderma viride* ve *Aspergillus niger*'den elde edilmiş sellüloz enzimi kullanmışlar ve *Trichoderma viride*'den elde edilen enzimin tek başına kullanılmasının yemin içerdiği nişastanın sindiriminde etkili olmadığını, ancak nişasta sindiriminin amiloglukosidaz enzimi kullanımıyla mümkün olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada *Bacillus subtilis*'ten elde edilen amiloglukosidaz enzimi kullanılmış ve bu enzimin  $\alpha$ -amilaz etkisi göstererek, özellikle konsantre yemlerin içerdiği nişastanın hidrolizini arttırdığını ve yem maddesinin sindirilebilirlik değerini yükselttiği tespit edilmiştir.

Enzim tekniğinde inkubasyon ısısı, çeşitli uygulamalarda 30–50 °C arasında değişmektedir. Sindirilebilirliğin tespitinde inkubasyon ısısının 40-47 °C arasında olması önemli bir fark oluşturmazken, bu ısının 50 °C üzerinde kuru madde sindiriminde azalma olduğu yapılan araştırmalarda görülmüştür. Birçok araştırmacı yaptıkları çalışmalarda inkubasyon ısısını 40 °C olarak bildirmektedirler (8,9,27,29,30,67).

Enzim tekniği için, çeşitli kaynaklara göre pepsin-HCl ve selüloz + hemiselüloz + amilaz inkubasyonları için 24 saat ile 48 saate kadar değişen inkubasyon süreleri bildirilmektedir. Bazı araştırmacılar ise, bu sürenin 48 saatten daha fazla olabileceğini bildirmektedirler (59,67). Pepsin-HCl çözeltisindeki inkubasyondan sonra, özellikle konsantre ve dane yem maddelerinde nişastanın yumuşaması (hidrolize) için yem numuneleri 80 °C ısıda 10-45 dakika süre ile su banyosunda bekletilmektedir (4,9,29,30).

Bu teknikte; sellüloz, hemisellüloz ve amilaz enzimleri kullanılarak hazırlanan tampon çözeltinin pH'sı 4,6–4,8 yem maddesinin partikül büyüklüğü 0,75–1 mm, kullanılan yem miktarı ise 0,2–0,5 gr arasında değişmektedir (8,27,29,33,59).

De Boever ve ark. (27) konsantre yem maddeleri kullanarak yaptıkları bir çalışmanın sonuçlarına dayanarak, enzim tekniğinin, iki aşamalı sindirim yöntemine göre daha güvenli olduğunu bildirmektedirler.



#### 2.3.2.4. Gaz Üretim Tekniği

Gaz üretim tekniği, yem maddesinin rumen sıvısı ile anaerobik ortamda 39 °C'de inkube edilmesi sonucu oluşan gaz (CH<sub>4</sub> ve CO<sub>2</sub>) miktarından yararlanılarak organik madde sindirilme derecesinin belirlenmesi esasına dayanmaktadır (22,36,64,84). Gaz oluşumu karbonhidratların asetat, propiyonat ve bütirata fermentasyonu ve ayrıca kısa zincirli yağ asitlerinin tamponlanması sonucunda şekillenmektedir. Protein fermentasyonunda açığa çıkan gaz miktarı, karbonhidrat fermentasyonu ile oluşan gaz miktarından daha azdır. Yağların fermentasyonunda açığa çıkan gaz miktarı ise dikkate alınmayacak kadar düşük bulunmaktadır (37).

Gaz üretim tekniğinin uygulanmasında, canlı hayvan temini, rumen kanülü takılması, düzenli ve standart düzeyde yemlemenin yapılması ve elde edilen rumen sıvısının anaerobik koşullarda nakledilmesi oldukça zordur. Rumen sıvısının hayvandan alındıktan, in vitro gaz üretim tekniğinde kullanılacağı zamana kadar olan sürede taşınması, depolanması ve oksijen ile temasının aktivitesi üzerinde kimi istenmeyen sonuçlar doğurabileceği bildirilmektedir. Bu durumda, elde edilen rumen sıvısının, hemen kullanılmayacaksa derhal dondurularak saklanması önerilmektedir. Ancak, konserve edilmiş rumen sıvısı ile yapılan çalışmalarda, rumen sıvısının konservasyonu sırasında aktivitesinin önemli ölçüde azaldığını da bildirilmektedir (73).

Hieronymi (41) mezbahalarda kesilen sığırlardan elde ettiği taze rumen sıvısını, gaz üretim tekniğinde kullanmış, elde edilen bulgulara dayanarak, rumen sıvısının alındığı hayvanın yeme şekli ve açlık süresinin rumen sıvısının aktivitesini değiştirmediğini, ancak deneme esnasında oluşan gaz miktarı üzerinde etkin bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Chung (18), sıcak veya normal çevre sıcaklığında tutulabilen rumen sıvısında mikroorganizma aktivitesinin belli bir süre mükemmel bir şekilde korunabileceğine değinmiştir, ancak bu sürenin ne kadar olduğu hakkında herhangi bir bildirimde bulunmamıştır. Bazı çalışmalarda rumen sıvısının 37 °C'de, konulduğu kabın ağzının parafin ile kapatılması durumunda, içerdiği protozoa grubu mikroorganizmaların 7 saate kadar, bakteri içeriği ve pH'nın ise 48 saate kadar önemli bir değişime uğramadığı belirtilmektedir (30). Newman (69), in vitro çalışmalarda kullanılacak rumen sıvısını daha önceden ısıtılmış termos kaplarda önemli bir sorun çıkmadan 32 saat saklayabilmiştir. Nehring (68) ise, sıvısının alımından en geç 2 saat'lik bir süre içerisinde kullanılması gerektiğini bildirmektedir. Steingass ve Menke (83)

taze rumen sıvısının uzunca bir yolda taşınması zorunluluğu halinde, termos kabı kullanımının en doğru uygulama olacağını ve rumen sıvısının taşınması esnasında ortamdaki O<sub>2</sub> artışını engellemek amacı ile termos kabı içerisine sürekli CO<sub>2</sub> gazı verilmesinin anaerob ortamın sağlanması yönünden uygun olacağını bildirmektedir.

### 2.3.2.5. Naylon Kese Tekniği

Bazı araştırmacılar tarafından *in vivo*, bazı araştırmacılar ise *in sacco* ya da *in situ* teknik olarak adlandırılan naylon kese tekniği, karmaşık bir işlem gerektirmeksizin, naylon ya da dakron kumaştan yapılmış keseler kullanılarak, yem maddelerinin rumende yıkımlanma düzeyi ve hızını kısa sürede hesaplanma imkanı sağlamaktadır (49,58,59). İlk naylon kese çalışmaları, rumen kanülü takılmış koyunlarda, yemlerin rumende yıkımlanma düzeylerini incelemek amacı ile suni elyaf ya da çok ince ipekten yapılmış keseler kullanılarak uygulanmış, daha sonraları ise suni elyaf, dakron veya naylon gibi rumen ortamından etkilenmeyen materyallerden yapılmış keseler kullanılmaya başlanmıştır (15,22,49). Bu tekniğin uygulanmasında rumen gelişimini tamamlamış ve rumen kanülü takılmış ergin koyun, keçi veya sığır kullanılabilir. Hayvanların rumenlerine takılacak olan kanüllerin çapı, naylon keselerin rumene kolayca girip çıkacağı genişlikte ve koyunlar için 2,5-4 cm, sığırlar için ise daha geniş iç çaplı olmalıdır (36,49). Naylon kese tekniğinde kullanılan naylon kesenin boyutları bazı kaynaklarda (36,49,77) 14x9 cm, bazı kaynaklarda (20,22) ise 15x7 cm olarak belirtilmektedir. Kese materyalinin gözenek ölçüsü 100 µm'den daha küçük ancak genel olarak 40-60 µm olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalarda, gözenek genişliği 52 µm'den küçük keselerin kullanılmaları durumunda yem maddelerinin rumen yıkılabilirlik değerlerinin düştüğü, diğer bir ifade ile yıkımlanmış materyalin rumene geçişlerinin azaldığı ifade edilmektedir (15,22,36,49,77).

İnkube edilecek yem örneklerinin partikül büyüklüğü, kaba ve konsantre yemler için 2,5-3 mm, silaj gibi yemlerde ise 5 mm olarak bildirilmekte, kese büyüklüğüne bağlı olarak, kaba yemlerden 2,5-3 g, konsantre yemlerde 5-6 g örnek kullanılması önerilmektedir (15,20,49,77). Naylon keselerin içersine örnekler konulup keselerin ağızları sıkıca ambalaj lastiği ile bağlandıktan sonra, koyunlarda 25 cm, sığırlarda ise 50 cm uzunluktaki kalın, esnek plastik borulara eşit aralıklarla bağlanması gerekmektedir. Boruların bir ucu rumen kanülüne

sabitlenmekte ve keseler rumenin sıvı ve katı fazıyla serbestçe hareket edecek şekilde rumenin ventral kesesine yerleştirilmektedir (20,36,49).

Rumende inkubasyona bırakılan yem maddelerinde en duyarlı parçalanma eğrisine belirlemek oldukça önemlidir. Buna göre, selülozca zengin kaba yemlerde inkubasyon süreleri 8, 16, 24, 48 ve 72 saat, protein kaynağı yem maddelerinde ise 4, 8, 16, 24 ve 48 saat olarak belirtilmektedir (15,49,77). Öngörülen inkubasyon süreleri sonunda rumenden çıkarılan keseler, mikrobiyal aktivitenin durdurulması için musluk suyu altında keselerden berrak su akıncaya kadar yıkanır ve daha sonra düşük devirli çamaşır makinesinde 15 dakika süreyle üzerlerinde partikül kalmayacak şekilde yıkanarak, bazı kaynaklarda 65 °C'lik ısıda 48 saat'lik süre ile (sabit ağırlığa gelinceye kadar) kurutma dolabında kurutulup tartılarak hesaplamalar yapılmaktadır (15,49,77).

Yem maddelerinin değerlendirilmesinde naylon kese tekniğinin bazı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Avantajları; basit, hızlı, doğru ve etkili bir yöntem olması, birçok yem maddesinin aynı anda ve kısa sürede yıkımlanabilirlik düzeylerinin saptanabilmesi ve kimyasal analiz yöntemlerine göre daha doğru sonuçlar vermesidir. Dezavantajları ise; en önemlisi rumen kanülü takılmış hayvan materyaline gereksinim duymasındır. Ayrıca kese içerisinde yem materyali, çiğnenme ve geviş getirme gibi herhangi bir muameleye maruz kalmadığı için, inkubasyona bırakılan yem maddesi rumen mikroorganizmaları tarafından ancak uygun büyüklüklerde parçalandıktan sonra keseden ayrılmaktadır (36,49).

Naylon kese tekniği ile yem maddelerinin sindirilme derecesi belirlenemez sadece ilgili yem maddesinin rumende yıkılım düzeyleri belirlenir. Ancak, yıkılım sonrasında keselerin pepsin-HCl çözeltisinde belirli bir süre inkube edilmesi ve bu işlem sonunda kesede kalan yem miktarının tespiti ile yem maddesinin sindirilebilirliği belirlenebilmektedir (20,22,36). Orskov ve Bhargava (77) yem maddelerinin yıkılabilirlik değerlerinin tespitinde kese materyalinin tekrar tekrar kullanılabilirliğini belirtirken, Aerts ve ark. (3), naylon kese tekniği + pepsin – HCl sindirim denemesinde keselerin sadece bir defa kullanılabilirliğini bildirmektedir.

### 2.3.2.6. Dışkı Tekniği:

Tilley ve Terry (86)'nin iki aşamalı in vitro sindirim yönteminde yem maddeleri anaerob ortamda rumen sıvısı içerisinde mikrobiyal aktivite sonucu sindirilmektedir. Rumen sıvısı ya rumen kanülü takılmış hayvanlardan ya da rumen sondası yardımıyla donör hayvanlarından alınmaktadır. İki aşamalı sindirim yönteminin uygulanmasında gerekli olan taze rumen sıvısı rumen kanülü takılı hayvanlardan karşılanmakta ve canlı hayvan barındırma, cerrahi operasyona gereksinim göstermektedir. İn vitro çalışmalarda rumen sıvısı temini için canlı hayvan barındırma, cerrahi operasyonla rumen kanülü takılması, uzun süreli bakım masrafları ve bu hayvanların kullanımı ile ilgili etik ve hayvan refahı gibi faktörleri göz önünde bulunduran araştırmacılar rumen sıvısı yerine taze hayvan gübresi kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (60,61). Yapılan çalışmalarda (5,35,74,76,81) rumen sıvısı ile koyun gübresi kullanılarak elde edilen sonuçlar arasında %88'lik korelasyon olduğu, inokulant kaynağı olarak dışkı kullanıldığında rumen kanülü takılmış hayvan materyalini bağımlılığın ortadan kalkabileceği bildirilmektedir (84). Gaz üretim tekniğinde klasik yöntem olarak her ne kadar rumen sıvısı kullanılsa da son yıllarda bu yöntemin uygulanmasında ruminant (6) ve at (53) dışkılarının kullanılması rumen kanülü takılmış hayvanlara bağımlılığın azaltılması noktasında önem taşımaktadır (65,66). Yapılan araştırmalarda rumen sıvısı yerine taze koyun gübresi kullanılabileceğini, rumen sıvısı ve taze koyun gübresi ile elde edilen sindirilebilirlik değerleri arasında % 88'lik bir korelasyon bulunduğunu bildirmektedir. Ayrıca son yıllarda yapılan araştırmalarda at dışkısındaki mikroorganizma sayısının koyun dışkısındaki mikroorganizma sayısından daha fazla olduğu bildirilmiştir. Bunun nedeni atlarda mikroorganizma faaliyetlerinin kalın bağırsaklarda (ventral kolonda %54 ve sekumda %15) olmasıdır. Koyunların rumenlerinde bulunan mikroorganizmalar abomasumdan geçerken bir kısmının HCl asit etkisiyle inaktif hale geldiği, geri kalan kısmının ise bağırsaklara geçerek, sekum ve kolonda sınırlı bir mikrobiyel aktiviteye (%11–12) sahip olduğu bildirilmektedir (34,35). At dışkısının in vitro çalışmalarda inokulant kaynağı olarak kullanılmasının bazı avantajları bulunmaktadır. Bunlar, ucuz olması, sürekli temin edilebilen kaynak olması, cerrahi işlemlere gereksinim duyulmaması, çok sayıda hayvandan alındığında hayvan faktörünün ortadan kalkması gibi avantajlardır. Ayrıca at dışkısı midenin asit ortamı ile karşılaşmadığından ruminant dışkılarına kıyasla daha yoğun miktarda mikroorganizma içermektedir (53). Dışkı materyalindeki mikroorganizmalar dışkılamadan birkaç saat sonra

bile canlılıklarını sürdürebilmektedirler (42). Dışkı tekniğinin uygulanmasında ham selüloz içeriği yüksek olan kalitesiz kaba yemlerde (samanlar gibi) güvenilir sonuçlar vermemesi ve dışkının alınacağı hayvanların beslenme rejimleri analiz yapılacak yemlere yakın olması gibi bazı dezavantajlar bulunmaktadır (66). Varadyova ve ark. (88) gaz üretim tekniği ile yaptıkları çalışmada inokulant kaynağı olarak dışkı kullanıldığında gaz üretim miktarını rumen sıvısına göre daha düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Araştırmada inokulant kaynağı olarak dışkı kullanıldığında özellikle kalitesiz kaba yem sınıfına giren buğday ve arpa samanı gibi yem maddelerinin sindirilebilirliklerinin değerleri düşük bulunmuştur. Benzer şekilde El-Meadaway ve ark. (34) rumen sıvısı yerine taze dışkı kullanılabileceğini ancak kalitesiz kaba yemlerde bu inokulant kaynağının iyi sonuçlar vermediğini belirtmektedirler. Murray ve ark. (65) yaptıkları bir çalışmada in vitro denemede dışkı alacakları atlara yüksek ve düşük düzeyde nişasta içeren rasyonlar vermişlerdir. Elde ettikleri dışkıları in vitro denemelerde kullanmışlar ve sonuç olarak hayvanlara verilen rasyonların sonuçları etkilemediğini belirtmişlerdir. Akhter ve ark. (6)'nın yaptıkları çalışmada kaba yemlerin in vitro organik madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde 1 lt tampon çözelti içerisinde 83 gr yerine 333 gr dışkı kullanımının organik madde sindirilebilirlik değerlerini artırdığını bildirmektedirler. Ayrıca aynı araştırmacılar dışkı ile inkubasyon süresinin 48 saatten 72 saate çıkarılmasının organik madde sindirilebilirlik değerlerinde istatistiksel olarak artışa yol açmadığını sadece rakamsal olarak artışın görüldüğünü bildirmektedirler.

Bu çalışmanın amacı, bazı kaba yemlerin in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde farklı seviyelerde sulandırılmış at dışkısının kullanılma olanaklarının araştırılmasıdır. Bu amaçla elde edilecek klasik sindirim değerleri ile değişik oranlarda at dışkısı kullanılarak elde edilen kuru madde sindirim değerleri karşılaştırılacak ve kuru madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde uygun at dışkısı yoğunluğu belirlenecektir.

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

Bu çalışma, klasik sindirim denemesi (in vivo yöntem) ve dışkı tekniği denemesi (in vitro yöntem) olmak üzere 2 deneme halinde yürütülmüştür.

#### **3.1. Klasik Sindirim Denemesi (İn Vivo Yöntem)**

##### **3.1.1. Materyal**

###### **3.1.1.1. Hayvan Materyali**

Bu denemede, hayvan materyali olarak Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi araştırma çiftliğinden temin edilen 8 adet 2 yaşlı İvesi erkek toklu kullanılmıştır. Denemede kullanılan hayvanlar deneme başında paraziter invazyonlara karşı ilaçlanmışlardır. Hayvanların mineral madde ihtiyaçları sindirim kafeslerinin ön kısımlarına bağlanan yalama taşları ile karşılanmış, hayvanların önlerinde sürekli taze ve temiz su bulundurulmuştur.

###### **3.1.1.2. Sindirim Denemesi Kafesleri**

Denemede Şanlıurfa sanayi sitesinde özel olarak imal ettirilmiş, içerisine koyun ve keçilerin yerleştirilmelerine olanak sağlayan, ön tarafında portatif yemliği, yan tarafında portatif suluğu, arka tarafında ise hayvanların kafese konulup çıkarılabileceği kapılar bulunan 8 adet sindirim kafesi kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan deneme hayvanları ve sindirim kafesleri Resim 1’de sunulmuştur.

###### **3.1.1.3. Gübre Toplama Torbaları ve Tespit Kuşakları**

Polyester çadır kumaşından 40x60 cm ebatlarında, dört tarafında bağlama kemerleri bulunan ve bir tarafı fermuarlı gübre toplama torbaları özel olarak diktirilmiştir. At koşumuna benzer şekilde hazırlanan kuşaklar hayvanların üzerine yerleştirilerek, gübre toplama torbaları

bu kuşakların arka kısımlarına bağlama kemerleri ile alt, üst ve yanlardan sıkıca bağlanmak suretiyle hayvanlara tespit edilmiş ve böylece hayvanların gübrelerinin tamamı toplanmıştır.

#### **3.1.1.4. Deneme Yemleri**

Bu denemede, yem materyali olarak ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan kaba yemlerden arpa samanı (AS), buğday samanı (BS), mercimek samanı (MS), buğday silajı (BSi), mısır silajı (MSi) ve yonca kuru otu (YKO) kullanılmıştır. Denemede kullanılan yem maddelerinden, AS, BS ve MS Şanlıurfa saman pazarından, MSi Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi araştırma çiftliğinden, BSi ve YKO ise özel bir çiftlikten temin edilmiştir.

#### **3.1.2. Metot**

##### **3.1.2.1. Yem Maddelerinin Kuru Madde Sindirilme Derecelerinin Belirlenmesi**

Denemede kullanılan yem maddelerinin in vivo sindirilme dereceleri, klasik sindirim denemesi ile belirlenmiştir. Denemede 8 adet hayvan kullanılmış ve her yem maddesi 4 tekrerrür halinde hayvanlara yedirilmiştir. Deneme “eksik blok dizayn” deneme desenine göre düzenlenmiştir. Denemede kullanılan hayvanların kafes ortamı ile yeme adapte olmaları ve yem tüketimlerinin belirlenmesi için 10 günlük ön alıştırmaya dönemi uygulanmıştır. Bunu izleyen 10 günlük asıl alıştırmaya döneminde ise toklulara tamamını tüketebilecekleri kadar deneme yemi yedirilmiştir. Esas alıştırmaya dönemi takip eden 7 günlük gübre toplama döneminde hayvanların çıkartmış oldukları günlük toplam gübre miktarı tartılarak kaydedilmiş ve %10’u analizler için derin dondurucuda saklanmıştır. Her gübre toplama döneminin sonunda toplanan gübre örnekleri hayvanlara göre tasnif edilmiş ve her hayvana ait örnekler homojen şekilde karıştırılarak, her dönem ve her hayvan için tek bir örnek elde edilmiştir. Elde edilen örnekten bir miktar homojen şekilde alınıp kuru madde analizi yapılmıştır. Bu işlem sırasında yaş gübrenin % KM’si belirlenerek kaydedilmiştir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre deneme yemlerinin kuru madde sindirilme dereceleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Sindirilme derecesi, \%} = \frac{\text{TBMM} - \text{GBMM}}{\text{TBMM}} \times 100$$

TBMM: Tüketilen besin madde miktarı

GBMM: Gübredeki besin madde miktarı

### 3.1.2.2. Ham Besin Madde Analizleri

Denemede kullanılan yem maddelerinin kuru madde (KM), ham protein (HP), ham kül (HK) analizleri AOAC (7)'e göre, ham selüloz (HS) analizleri ise Crampton ve Maynard (23)'ün bildirdiği metotla, NDF ve ADF değerleri ise Goering ve Van Soest (38)'in bildirdiği metotla yapılmıştır.

## 3.2. Dışkı Tekniği Denemesi (İn Vitro Yöntem)

### 3.2.1. Materyal

#### 3.2.1.1. Yem Materyali

Bu denemede de, yem materyali olarak klasik sindirim denemesinde değerlendirilen aynı yem maddeleri (AS, BS, MeS, BSi, MSi ve YKO) kullanılmıştır.

#### 3.2.1.2. Dışkı Materyali

Araştırmada kullanılan dışkıları, günlük olarak 6 kg arpa kırması ile 8 kg buğday samanı tüketen, önlerinde sürekli taze ve temiz su bulunan 2 adet Arap aygırı ile 1 adet Arap kırsrağından hemen dışkılama sonrası alınarak içersinden CO<sub>2</sub> gazı ve sıcak su geçirilmiş termos kap içersinde laboratuara getirilmiştir.



### 3.2.1.3. İnkubasyon Tüpleri

Denemede inkubasyon tüpü olarak 50 ml hacimli cam santrifüj tüpleri kullanılmıştır. İnkubasyon süresince tüplerin içerisine hava girişinin engellenmesi için üzerinde enjektör iğneleri yerleştirilmiş özel plastik kapaklar ile kapatılmışlardır. Denemede kullanılan inkubasyon tüpleri, kapakları ve su banyoları Resim 2’de sunulmuştur.

### 3.2.2. Metot

İnokulant kaynağı olarak at dışkısının kullanıldığı bu deneme El-Shear ve ark. (35)’nin bildirdiği metotla her yem örneği için 4’er tekerrür olacak şekilde yapılmıştır. Denemede 5 farklı dışkı yoğunluğu (1 litre tampon çözelti içerisinde 100, 150, 200, 250 ve 300 gr) araştırılmıştır.

#### 3.2.2.1. Tampon Çözeltinin Hazırlanması

Tampon çözelti McDougal, (63)’in bildirdiği metotla hazırlanmıştır. Bu amaçla 1 lt saf su içerisine 9.8 gr Sodyum hidrojen karbonat ( $\text{NaHCO}_3$ ), 4.9 gr Di sodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), 0.57 Potasyum kloride (KCl), 0.12 gr Magnezyum sülfat ( $\text{MgSO}_4$ ), 0.04 gr Kalsiyum klorit ( $\text{CaCl}$ ) ve 0.47 gr Sodyum klorür ( $\text{NaCl}$ ) ilave edilerek magnetik karıştırıcıda çözdürülmüş ve bu esnada  $\text{CO}_2$  gazı ile doyurulmuştur.

#### 3.2.2.2. Pepsin Çözeltisi:

1 lt saf su üzerine 4.38ml HCl ve 4 gr pepsin (Merck 7190-2000 FIP-U/g) ilave edilerek 0.1N % 0.4 pepsin çözeltisi hazırlanmıştır.

#### 3.2.2.3. Üre Çözeltisi:

Denemede her tüpe inkubasyon öncesi ilave edilmek üzere 1 lt saf su içerisinde 30 gr saf üre çözdürülerek %3 üre çözeltisi hazırlanmıştır.

### 3.2.2.4. Dışkı Tekniğinin Uygulanması

Deneme yemleri %10, 15, 20, 25 ve 30 taze at dışkısı içeren inokulant kaynağı ile 72 saat inkubasyona bırakılmıştır.

Bu amaçla anaerob koşullar altında 38 °C sıcaklıktaki termos içerisinde laboratuara getirilen taze at dışkısının 100 g üzerine CO<sub>2</sub> gazı altında önceden hazırlanmış ve CO<sub>2</sub> gazı ile doyurulmuş 38 °C sıcaklıktaki 1 litre tampon çözelti ilave edilerek elde edilen karışım 4 kat tülbent bezinden süzülerek %10'luk inokulant kaynağı oluşturulmuştur. Aynı işlem 150, 200, 250 ve 300 gr dışkı kullanılarak %15, 20, 25 ve 30'luk tampon çözeltiler hazırlanması içinde tekrarlanmıştır. Tüm bu işlemler 39 °C ısı ve CO<sub>2</sub> gazı altında yapılmıştır. Deneme yemlerinden her birisi için yaklaşık 200 mg yem örneği 50 ml'lik santrifüj tüpüne konarak üzerine dışkı içeren tampon çözeltilerden CO<sub>2</sub> gazı altında 20 ml eklenmiştir. Her bir tüpe taze hazırlanmış üre çözeltilerinden (%3 üre çözeltisi) 0.6 ml konmuş ve CO<sub>2</sub> gazı altında üzerine enjektör iğnesi yerleştirilmiş kapaklar kapatılarak inkubasyona bırakılmıştır. Tüpler günde 3 kez tüp çevresi yem materyali yapışmayacak şekilde çalkalanmıştır. Dışkı ile inkubasyon süresinin bitiminde (72 saat) tüplere 20 ml taze hazırlanmış 0.1 N %0.4 HCl - pepsin çözeltisi ilave edilerek 48 saat inkube edilmişlerdir. Tüpler inkubasyon sonunda darası alınmış porozite büyüklüğü 2 olan Gooch krozelerinden süzülerek yemlerin kuru madde sindirim değerleri aşağıda belirtilen formül yardımı ile belirlenmiştir (35). Gooch krozeleri ve süzme düzeneği Resim 3'te sunulmuştur.

$$\text{İVKMS, \%} = (1 - ((B - C) - \text{kör}) / A) * 100$$

İVKMS: İn vitro kuru madde sindirimi, %

A=Numune miktarı (gr) kuru madde olarak

B=Kuru kroze +numune miktarı (gr)

C=Kroze dara (gr)

Kör=Sadece gübre konmuş örnekten kalan miktar, gr.

### 3.3. İstatistiksel analizler

Denemeden elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesinde varians analizi (78), gruplar arasındaki farklılığın belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır (82).

İnokulant kaynağı olarak at dışkısından elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri ile klasik sindirim değerleri arasındaki regresyon eşitlikleri ve korelasyon katsayıları SAS (78) paket programı kullanılarak belirlenmiştir.



**Resim 1:** Klasik sindirim denemesinde kullanılan Sindirim kafesleri ve deneme hayvanları



**Resim 2:** İn vitro sindirim denemesinde kullanılan inkubasyon düzeneği.



**Resim 3:** İn vitro sindirim denemesinde kullanılan süzme düzeneği.

## 4.BULGULAR

Araştırmada kullanılan yem maddelerinin ham besin madde içerikleri Tablo 2’de verilmiştir. Elde edilen ham besin maddeleri aynı yem maddelerinin referans değerleri ile karşılaştırıldığında besin madde içeriklerinden özellikle ham protein değerlerinin düşük ham selüloz ile ADF ve NDF değerlerinin ise yüksek olduğu görülmüştür. Bu farklılık özellikle belirli bir vejetasyon döneminde biçilerek kurutulan yonca otu ile silolanan buğday hâsılı ile mısır hâsılında belirgin olarak görülmektedir. Bu durum söz konusu üç yem maddesinin hasat zamanının geçirilerek biçilip konserve edildiklerini göstermektedir.

**Tablo 2:** Araştırmada kullanılan yem maddelerinin ham besin madde içerikleri, % KM.

YEMLER*	KM	HK	HP	ADF	NDF	HS
AS	94.02	9.32	2.68	46.71	79.19	43.57
BS	93.92	11.23	2.78	60.07	77.06	47.69
MS	93.52	13.76	6.08	44.22	57.07	30.45
BSi	46.04	7.81	8.20	38.81	55.13	31.25
MSi	30.41	9.94	8.58	39.74	59.78	30.15
YKO	93.99	10.28	10.95	43.80	60.99	29.29

\*: AS: Arpa samanı, BS: Buğday samanı, MS: Mercimek samanı, BSi: Buğday silajı, MSi: Mısır silajı, YKO: Yonca kuru otu.

Araştırmada kullanılan yem maddelerinin in vivo ve farklı seviyelerde at dışkısı kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri Tablo 3’te verilmiştir. AS için in vivo ve farklı seviyelerde at dışkısı kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri arasında istatistiksel farklılık görülmemiştir ( $P>0.05$ ). Buğday samanı için in vivo değerler ile %10 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler benzer bulunurken, %15, 20, 25 ve 30 yoğunluktaki dışkı ile uygulanan in vitro değerler farklı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Mercimek samanı için in vivo değerler ile tüm yoğunluktaki in vitro

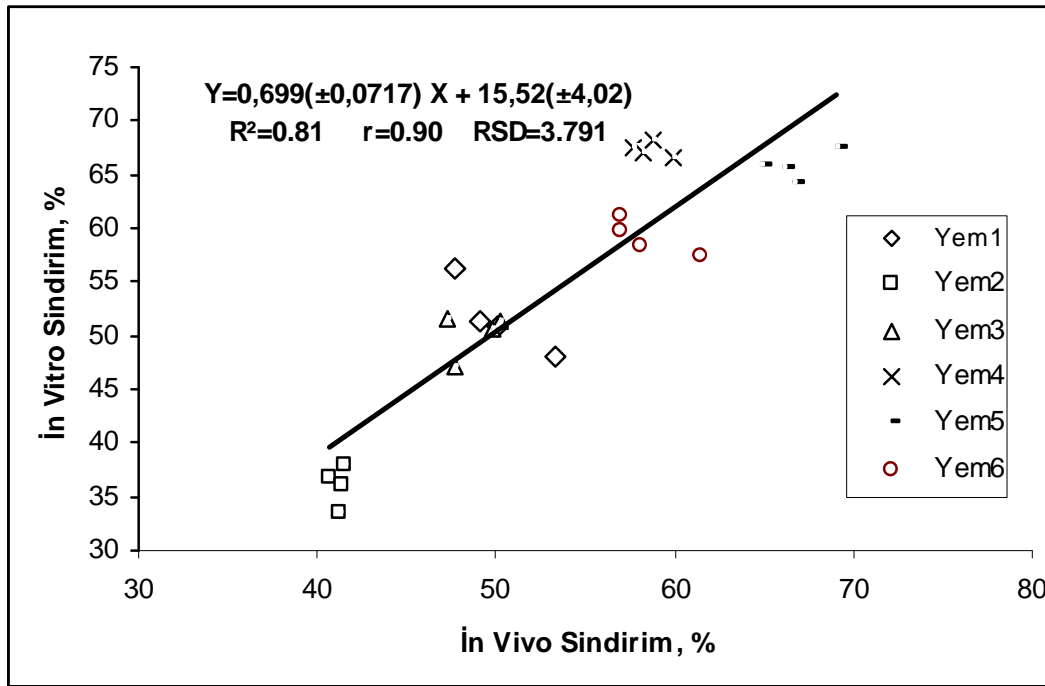
değerler benzer bulunmuştur. Buğday silajı için in vivo değerler ile %15, 20 ve 25 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler benzer bulunurken, %10 ve 30 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler farklı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Mısır silajı için in vivo değerler ile %10 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler benzer bulunurken, %15, 20, 25 ve 30 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler farklı bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Yonca kuru otu için in vivo değerler ile %10, 15, 20, 25 ve 30 yoğunluktaki dışkı ile elde edilen değerler benzer bulunmuştur ( $P>0.05$ ). AS, BS, MS, MSi ve YKO'nun tümü için in vivo değerler ile kıyaslandığında %10 dışkı yoğunluğundan elde edilen in vitro değerlerin benzerlik gösterdiği, BSi için ise %15, 20 ve 25 yoğunluktaki dışkı ile uygulanan in vitro değerler benzer bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Yemlerin tümü bütün olarak ele alındığında in vivo ve farklı seviyelerde at dışkısı kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri arasında istatistiksel farklılık görülmemiştir ( $P>0.05$ )

**Tablo 3:** Araştırmada kullanılan yem maddelerinin in vivo ve farklı seviyelerde at dışkısı kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri, % KM.

YEMLER	İn vivo	%10 Dışkı	%15 Dışkı	%20 Dışkı	%25 Dışkı	%30 Dışkı	SEM
AS	50.09	51.61	45.47	42.69	42.92	44.04	1.23
BS	41.19 <sup>a</sup>	36.07 <sup>ab</sup>	31.88 <sup>bc</sup>	32.57 <sup>bc</sup>	26.92 <sup>c</sup>	32.37 <sup>bc</sup>	1.22
MS	48.75 <sup>ab</sup>	50.10 <sup>a</sup>	44.26 <sup>b</sup>	46.64 <sup>ab</sup>	48.06 <sup>ab</sup>	50.11 <sup>a</sup>	0.71
BSi	58.64 <sup>c</sup>	67.31 <sup>a</sup>	59.71 <sup>c</sup>	59.13 <sup>c</sup>	59.29 <sup>c</sup>	63.44 <sup>b</sup>	0.73
MSi	66.64 <sup>a</sup>	65.87 <sup>a</sup>	57.22 <sup>b</sup>	58.03 <sup>b</sup>	58.88 <sup>b</sup>	58.96 <sup>b</sup>	0.98
YKO	58.37 <sup>ab</sup>	59.15 <sup>ab</sup>	59.63 <sup>ab</sup>	62.49 <sup>a</sup>	58.05 <sup>ab</sup>	54.81 <sup>b</sup>	0.71
<b>Tüm Yemler</b>	<b>53.95</b>	<b>53.77</b>	<b>49.69</b>	<b>50.26</b>	<b>49.02</b>	<b>50.52</b>	<b>0.95</b>

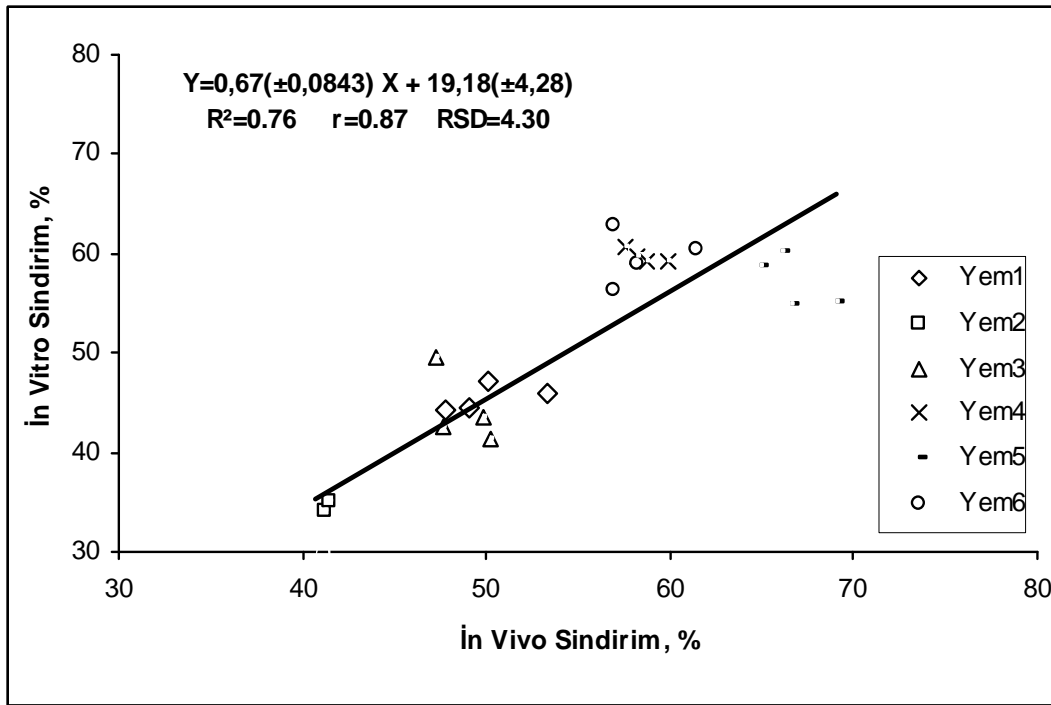
a-d: Aynı satırda farklı harf taşıyan değerler farklı bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

Araştırmada kullanılan yemlerin %10 at dışkısı (100 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS ile in vivo KMS değerleri arasındaki ilişki Çizelge 1’de verilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre tüm yem maddeleri için %10 at dışkısı kullanılarak elde edilen in vivo KMS (x) ile in vitro KMS (y) arasındaki regresyon eşitliği;  $y=0.699 (\pm 0.0717)x + 15.52 (\pm 4.02)$  olarak;  $R^2$ , korelasyon katsayısı ve RSD değerleri sırasıyla, 0.81, 0.90 ve 3.791 olarak tespit edilmiştir.



**Çizelge 1:** %10 At dışkısı (100 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.

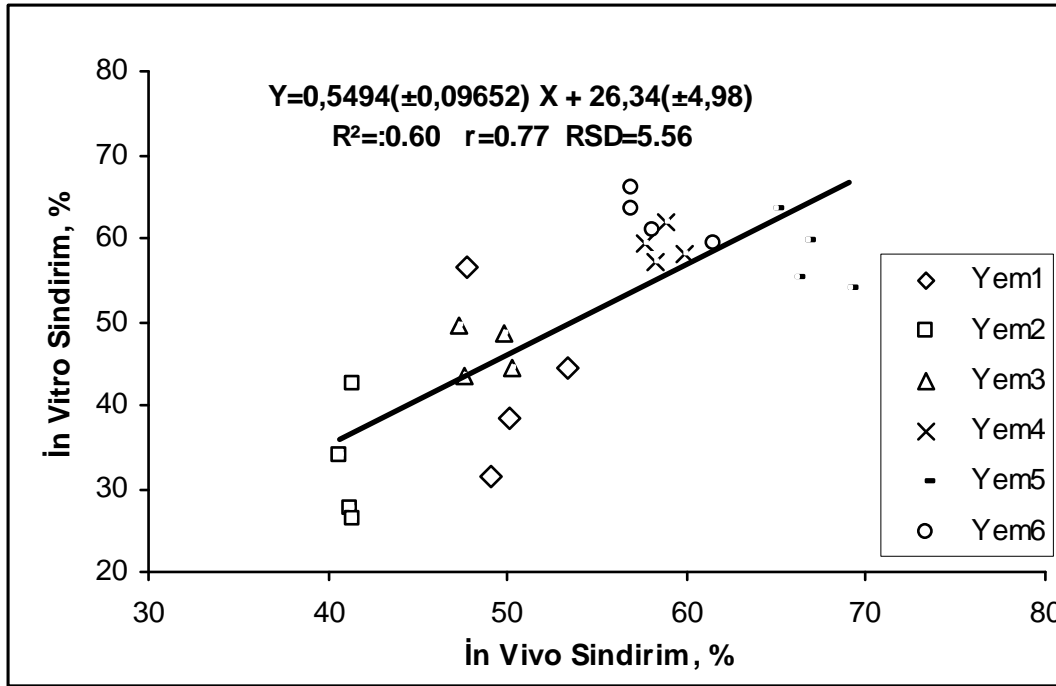
Araştırmada kullanılan yemlerin %15 at dışkısı (150 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS ile in vivo KMS değerleri arasındaki ilişki Çizelge 2’de verilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre tüm yem maddeleri için %15 at dışkısı kullanılarak elde edilen in vivo KMS (x) ile in vitro KMS (y) arasındaki regresyon eşitliği;  $y=0.67 (\pm 0.0843)x + 19.18 (\pm 4.28)$  olarak;  $R^2$ , korelasyon katsayısı ve RSD değerleri ise sırasıyla 0.76, 0.87 ve 4.30 olarak tespit edilmiştir.



**Çizelge 2:** %15 At dışkısı (150 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.

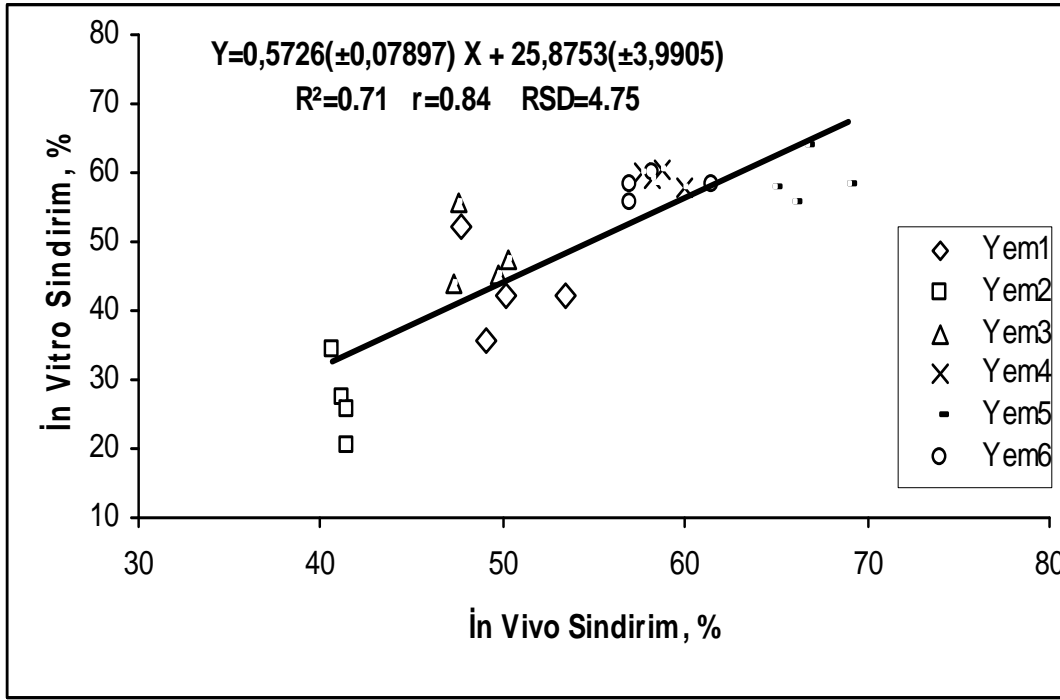
Araştırmada kullanılan yemlerin %20 at dışkısı (200 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS ile in vivo KMS değerleri arasındaki ilişki Çizelge 3'te verilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre tüm yem maddeleri için %20 at dışkısı kullanılarak elde edilen in vivo KMS (x) ile in vitro KMS (y) arasındaki regresyon eşitliği;  $y=0.5494 (\pm 0.09652)x + 26.34 (\pm 4.98)$  olarak;  $R^2$ , korelasyon katsayısı ve RSD değerleri ise sırasıyla 0.60, 0.77 ve 5.56 olarak tespit edilmiştir.





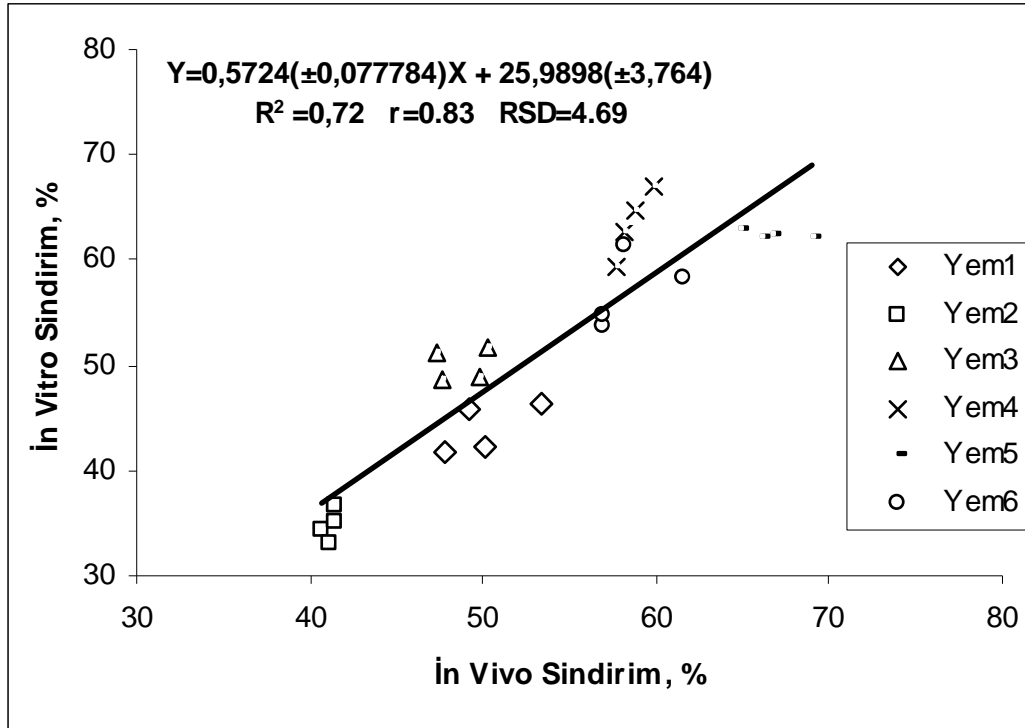
**Çizelge 3:** %20 At dışkısı (200 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.

Araştırmada kullanılan yemlerin %25 at dışkısı (250 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS ile in vivo KMS değerleri arasındaki ilişki Çizelge 4'te verilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre tüm yem maddeleri için %25 at dışkısı kullanılarak elde edilen in vivo KMS (x) ile in vitro KMS (y) arasındaki regresyon eşitliği;  $y=0.5726 (\pm 0.07897)x + 25.8753 (\pm 3.9905)$  olarak;  $R^2$ , korelasyon katsayısı ve RSD değerleri ise sırasıyla 0.71, 0.84 ve 4.75 olarak tespit edilmiştir.



**Çizelge 4:** %25 At dışkısı (250 gr dışkısı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.

Araştırmada kullanılan yemlerin %30 at dışkısı (300 gr dışkısı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS ile in vivo KMS değerleri arasındaki ilişki Çizelge 5'te verilmiştir. Araştırmadan elde edilen sonuçlara göre tüm yem maddeleri için %30 at dışkısı kullanılarak elde edilen in vivo KMS (x) ile in vitro KMS (y) arasındaki regresyon eşitliği;  $y=0.5724 (\pm 0.077784)x + 25.9898 (\pm 3.764)$  olarak;  $R^2$ , korelasyon katsayısı ve RSD değerleri ise sırasıyla 0.72, 0.83 ve 4.69 olarak tespit edilmiştir.



**Çizelge 5:** %30 At dışkısı (300 gr dışkı / L tampon çözelti) kullanılarak elde edilen in vitro KMS değeri ile in vivo KMS arasındaki ilişki.

Yemlerin tümü bütün olarak ele alındığında, in vivo ve farklı seviyelerde (%10, 15, 20, 25 ve 30) at dışkısı kullanılarak elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri arasında korelasyon katsayıları (r) sırasıyla 0.90, 0.87, 0.77, 0.84 ve 0.83 olarak tespit edilmiştir.

## 5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan kaynak araştırmalarında dışkı kullanılarak uygulanan in vitro sindirim çalışmalarının çoğunluğunda inokulant kaynağı olarak daha çok koyun ve sığır dışkıları kullanıldığı, at dışkısı kullanılarak uygulanan in vitro sindirim çalışmalarının ise yeni bir konu olarak son yıllarda üzerinde çalışıldığı görülmüştür. Rumen sıvısına alternatif olarak dışkının kullanıldığı çalışmaların bir kısmında gaz üretim metoduna göre, bir kısmında ise Tilley ve Terry (86)'nin iki aşamalı sindirim metoduna göre çalışmalar yapılmıştır.

Mauricio ve ark. (60)'nın ruminant beslenmesinde kullanılan kaba yemlerin sindirilebilirliklerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak sığır dışkısı kullanılarak uyguladıkları gaz üretim tekniğinde elde edilen değerlerin in vivo değerler ile arasındaki korelasyonun yüksek olduğu ( $r = 0.77$ ), inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı kullanımında korelasyonun daha da yüksek ( $r = 0.89$ ) olduğunu, inokulant kaynağı olarak dışkı ve rumen sıvısı arasındaki korelasyonun ise  $r = 0.81$  olduğunu, sonuç olarak gaz üretim tekniğinde inokulant kaynağı olarak dışkının potansiyel olarak kullanılabileceğini bildirmektedirler. Araştırcılar rumen sıvısı kullanılarak elde edilen değerlerin in vivo değerlere daha yakın bulunmasını, dışkı içersinde bulunan mikroorganizmaların aktivitelerinin düşük oluşuna bağlamaktadırlar. Bu bağlamda dışkı yapısında bulunan mikrobiyal aktivite dşklğni ise, denemede incelenen yem maddelerinin kaliteli yada kalitesiz yem niteliği taşımına, dışkıdaki mikroorganizma populasyonunun düşüklüğüne ve inkubasyon süresine bağlamaktadırlar. Aynı araştırcılar, rumen sıvısına kıyasla dışkı kullanımında inkubasyon süresinin uzun olmasının gerektiğini bildirmektedirler. Bunun sebeplerini ise dışkıdaki mikroorganizma yoğunluğunun azlığına ve dışkı mikroorganizmalarının öncelikli olarak kendi hayatiyetlerini sürdürmeye çalıştıklarını, bölünme ve çoğalmaya başlamaları için daha uzun zamana gereksinim duymalarından kaynaklandığını böylece dışkıdaki mikroorganizmalar rumen mikroorganizmalarına kıyasla bölünme ve çoğalmadan çok yaşamlarını sürdürmek için çalıştıklarını şeklinde açıklamaktadırlar. Sunvold ve ark. (85)'nin farklı tür canlıların (köpek, kedi, insan, domuz, at ve sığır) dışkılarını kullanarak uyguladıkları in vitro sindirim denemesinde 6, 12 ve 24. saatteki organik madde sindirilebilirliği bakımından at dışkısından elde edilen değerlerin diğer türlerden elde edilen değerlerden düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Araştırcılar 48. saatte ve sonrasında at dışkısındaki

mikroorganizmaların istenen fermentasyon kapasitesine ulaştıklarını bildirmektedirler. Bu sonuca göre Sunvold ve ark. (85) at dışkısı kullanılarak uygulanan *in vitro* çalışmalarda inkubasyon süresinin uzun tutulması gerektiğini bildirmektedirler. Aiple ve ark. (5)'nin gaz üretim tekniğinde koyun ve sığırlardan elde edilen dışkılarını inokulant kaynağı olarak kullanmışlar ve rumen sıvısı yerine inokulant kaynağı olarak dışkı kullanımının kaba ve konsantre yem maddelerinin *in vitro* kuru madde sindirilebilirliklerinin belirlenmesinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Chikwanda ve Mutisi (17), kaba yemlerle yaptıkları çalışmada rumen sıvısı ile karşılaştırıldığında inokulant kaynağı olarak dışkı kullanımında gaz üretim miktarının düşük bulunduğunu bunun nedeninin ise mikroorganizma popülasyonunun düşüklüğünden kaynaklanabileceğini bildirmektedir. Bu bildirimlerin aksine Borba ve ark. (12) gaz üretim tekniğinde *in vivo* değerler ile kıyaslandığında en yüksek ilişkinin sırasıyla rumen kanüllü hayvanlardan alınan rumen sıvısından ve mezbahada kesilen hayvanlardan alınan rumen sıvısından, en düşük ilişki ise inokulant kaynağı olarak dışkının kullanılması ile belirlemişlerdir. Chen ve Zhao (16) yemlerdeki değerlendirilebilir ham proteinin sindirilebilirliğinin gaz üretim tekniği ile belirlenmesinde rumen sıvısı yerine 35, 50, 100 ve 150 gr / litre tampon çözelti koyun dışkısı kullanmışlar ve elde ettikleri sonuçlara göre rumen sıvısı ile en yüksek korelasyonu 100 gr / litre tampon çözelti kullanımından elde etmişlerdir. El Meadaway ve ark. (34) ruminant beslemede yaygın olarak kullanılan yem maddeleri (arpa, üçgül, yonca, çayır otu ve arpa samanı) ile gaz üretim tekniği ile yaptıkları *in vitro* sindirim denemelerinde rumen sıvısı yerine %3, 6 ve 9 sığır dışkısı içeren tampon çözelti kullanmışlardır. Arpa samanı dışında, %3 dışkı kullanımı ile elde edilen sonuçlar rumen sıvısı kullanımı ile elde edilen sonuçlar ile benzer bulunurken, %6 ve 9 dışkı kullanımı ile elde edilen sonuçların rumen sıvısı ile elde edilen sonuçlardan düşük bulunduğu gözlenmiştir. Aynı araştırmacılar kalitesiz kaba yemlerin (arpa samanı gibi) dışındaki yem maddelerinin *in vitro* kuru madde sindirilebilirliklerinin belirlenmesinde dışkının kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

El Shaer ve ark. (35) ruminant beslemede kullanılan 38 yem maddesinin *in vitro* kuru madde sindirim değerlerini Tilley ve Terry (86)'nin bildirdiği iki aşamalı sindirim denemesinde inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı yerine taze koyun dışkısı kullanarak denemişlerdir. *In vitro* ile *in vivo* sindirim denemesinden elde ettikleri verileri karşılaştırdıklarında korelasyon katsayısını  $r = 0.98$ ,  $RSD = 1.54$  olarak belirlemişlerdir. El

Shaer ve ark. (35) yaptıkları çalışmada 166 gr dışkı / litre tampon çözelti yoğunluğunda dışkı ve inkubasyon süresini 48 saat olarak çalışmışlar, kullanılacak dışkının ise ya rektal palpasyonla alınması gerektiğini veya dışkılamadan en fazla bir saat içerisinde anaerobik koşullar altında laboratuara getirilerek işlenmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar denemede kullanılan yem maddelerinden kalitesiz olanların (arpa samanı) in vitro kuru madde sindirim değerlerinin in vivo değerlere yakın olmadığını dolayısıyla kalitesiz yem maddelerinde bu sürenin 48 yerine 72 saat olması gerektiğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde Van Der Bann ve ark. (87)'nin yaptıkları çalışmada in vivo ve in vitro organik madde sindirim değerlerini karşılaştırmışlar ve dışkı metodu ile elde ettikleri sonuçların in vivo değerlere benzer olduğunu ve yem maddelerinin in vitro organik madde sindirim değerlerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak dışkının kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Jones ve Barnes (43) kaba yemlerin in vitro kuru madde sindirim değerlerini rumen sıvısı ve dışkı kullanarak belirlemişler ve elde ettikleri değerler arasında yakın bir ilişki olduğunu ( $r = 0.98$ ,  $P < 0.001$ ) ve in vitro çalışmalarda rumen sıvısı yerine dışkı kullanılabilceğini bildirmişlerdir. Zhang (89) yulaf ve arpa samanının in vitro kuru madde sindirim değerlerini inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı ve dışkı kullanarak belirlemişler ve elde ettikleri değerler arasında güçlü bir lineer ilişki olduğunu ( $R^2 = 0.81$ ,  $P < 0.001$ ) bildirmiştir. Nguyen (70) pirinç samanının in vitro kuru madde sindirim değerlerini inokulant kaynağı olarak sığır rumen sıvısı ve dışkısı (%20 dışkı) kullanarak belirlemiş ve her iki yöntem arasında yakın bir lineer ilişki olduğunu ( $R^2 = 0.86$ ) bildirmiştir. Ancak rumen sıvısı ile elde edilen değerlerin dışkı kullanılarak elde edilen değerlerden yüksek olduğunu bildirmiştir. Kumar ve ark. (50) tarafından bu sonuç dışkıda bulunan selülotik bakteri varlığının rumen sıvısına göre az olmasına bağlanmaktadır. Akhter ve ark. (6) sığır dışkısının rumen sıvısı yerine kullanım olanaklarını araştırdıkları çalışmada litre tampon çözelti içerisinde 83 ve 333 gr dışkı kullanarak yem maddelerinin in vitro sindirilebilirliklerini belirlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre dışkı kullanarak bulunan değerlerin rumen sıvısından elde edilen değerlerden düşük olduğu, bunun nedeninin ise dışkıdaki enzim aktivitesinin rumen sıvısından düşük olabileceğinden kaynaklanabileceğini yorumlamışlardır. Ancak 333 gr dışkı kullanımı ile elde edilen sonuçların 83 gr dışkı kullanımından elde edilen sonuçlara göre rumen sıvısına daha yakın olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Nsahlai ve Umuna (71) kaba yemlerin in vitro kuru madde sindirim değerlerini inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı ve dışkı kullanarak belirlemişler ve elde ettikleri değerler arasında yakın bir ilişki olduğunu ( $R^2 = 0.88$ ,  $P < 0.001$ )

ve in vitro çalışmalarda rumen sıvısı yerine dışkı kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Omed ve ark. (74) in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak rumen sıvısı yerine dışkının kullanılabileceğini, ayrıca koyun dışkısında bulunan mikroorganizmaların rumen sıvısında bulunan mikroorganizmalar kadar etkili olduğunu ve in vitro çalışmalarda rumen sıvısı yerine dışkı kullanımının daha ucuz ve kolay temin edilebilir olduğunu bildirmektedir.

At dışkısının inokulant kaynağı olarak kullanıldığı in vitro çalışmalarda sınırlı sayıda bulunmaktadır. Denek ve Can (31) ruminant beslemede kullanılan çeşitli kaba yem ve değişik rasyonların in vitro kuru madde sindirilebilirliğini sığır, koyun ve at dışkısı kullanarak belirlemişler, in vivo değerlerle en yüksek korelasyon katsayısını  $r = 0.83$ , at dışkısı kullandıkları denemeden elde etmişlerdir. Bunun aksine koyun ve sığır dışkısından elde edilen korelasyon katsayıları (sırasıyla, 0.76 ve 0.63) at dışkısından elde edilen korelasyon katsayısından düşük bulunmuştur. Araştırmacılar (53) bu sonucu at dışkısının ruminant dışkısının aksine abomasum ve ince barsağın etkisine maruz kalmadığından daha yüksek bir fermentasyon kabiliyetine sahip olabileceğine bağlamaktadırlar. Henneke ve ark. (40) atların kalın bağırsaklarındaki her bir segmentin (sekum, kolon, rektum) bakteri ve protozoa bakımından sığırların rumenlerine benzer yapı gösterdiğini bildirmektedirler. Bu bildirim aksine bazı araştırmacılar (44,51) selülotik mikroorganizmalar bakımından rumen dışkıya kıyasla 10-1000 kat daha fazla mikroorganizma içermektedir. Rumen sıvısında selülotik bakterilerden *Butyrivibrio* türü mikroorganizmalar yoğunlukta iken, dışkıda ise *Ruminococcus* türü mikroorganizmalar yoğun olarak bulunmaktadır (80). At dışkısı ile rumen sıvısı ya da ruminant dışkıları kıyaslandığında rumen içeriğinde bulunan mikroorganizmaların partiküllere yapışık olarak bağırsaklara geçmesinden dolayı at dışkısından daha fazla mikroorganizma buldukları bazı çalışmalarda belirtilmektedir (25). At dışkısının fiziksel yapısı gereği topaklar haline bulunması (sekum ve kolonun haustralı olması) dışkı içerisindeki mikroorganizmaların canlılıklarını sürdürmeleri bakımından önem taşımaktadır (42). Gaz üretim tekniğinde at dışkısı kullanılarak uygulanan çalışmalarda (47,53,54,56) at dışkısının inokulant kaynağı olarak başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirtilmektedir. Abdouli ve Ben Attia (1)'nin yaptıkları çalışmada at dışkısının iki aşamalı sindirim yönteminde inokulant kaynağı olarak kullanılabilmesi ancak in vivo sindirim değerleri bilinen yemlerle yapılacak çalışmaların bu konuda daha güvenilir sonuçların elde edilebileceğini bildirmektedirler.

Bu çalışmada ayrı ayrı yemlere göre kıyaslama yapıldığında arpa samanı ve buğday samanı gibi kalitesiz kaba yemlerin in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerlerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak dışkı kullanılmasının güvenli sonuçlar vermediği görülmektedir. Arpa samanı için istatistiksel farklılık tespit edilememiş olsa da birçok araştırmada dışkı tekniğinin uygulanmasında ham selüloz içeriği yüksek olan kalitesiz kaba yemlerde (samanlar gibi) güvenilir sonuçlar vermediği bildirimleri bulunmaktadır (34,88).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, %10, 15, 20, 25 ve 30 düzeyinde at dışkısı içeren inokulant kaynakları ile elde edilen in vitro kuru madde sindirilebilirlik değerleri ile in vivo kuru madde sindirilebilirlik değerleri arasındaki korelasyon katsayıları (r) sırasıyla 0.90, 0.87, 0.77, 0.84 ve 0.83;  $R^2$  değerleri sırasıyla 0.81, 0.76, 0.60, 0.71 ve 0.72; residual standart deviation (RSD) değerleri ise sırasıyla 3.79, 4.30, 5.56, 4.75 4.69 olarak bulunmuştur. Denek ve Can (31) inokulant kaynağı olarak %16 at dışkısı içeren tampon çözelti kullandıkları çalışmada in vivo değerlerle in vitro değerler arasındaki korelasyon katsayısını  $r = 0.83$ ,  $R^2$  değerini 0.90, RSD değerini ise 4.89 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada %10, 15, 25 ve 30 oranında at dışkısı kullanılarak elde edilen korelasyon katsayıları (0.90, 0.87, 0.84 ve 0.83) Denek ve Can (31)'nin bildirimini ile uyum içersinde bulunmuştur. Bu çalışmada dışkı yoğunluğunun artışına bağlı olarak korelasyon katsayılarında ve  $R^2$  değerlerinde azalma görülürken, RSD değerlerinde artış tespit edilmiştir. Bu bulgu El Shaer ve ar. (35)'nin dışkının yüksek oranda sulandırılması organik madde sindirilebilirliğini azaltacağı yönündeki bildirimini uyuşmamaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmada ruminant beslenmesinde kullanılan yem maddelerinin in vitro KMS değerlerinin belirlenmesinde inokulant kaynağı olarak at dışkısının kullanılabilmesi, in vivo değerler ile karşılaştırıldığında en yüksek korelasyon katsayısının ( $r = 0.90$ ) %10 dışkı içeren tampon çözeltilerden elde edildiği, ancak yöntemin yaygınlaştırılabilmesi ve pratikte kullanılabilmesi için bu konuda klasik sindirim değerleri bilinen yem maddeleri ile daha fazla araştırmanın yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.



## 6. KAYNAKLAR

1. Abdouli H, Attia SB. Evaluation of a two-stage in vitro technique for estimating digestibility of equine feeds using horse faeces as the source of microbial inoculum. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, 2007; 132:155–162
2. Aerts JV, De Boever JL, Cottyn BG, Buysee FX. Comparative digestibility of feedstuffs by sheep and cows. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1984-85; 12: 47 – 56.
3. Aerts JV, De Brabander DL, Cottyn BG, Buysse FX. Comparison of laboratory methods for predicting the organic matter digestibility of forages. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1977; 2:337-349.
4. Aiple KP, Steingass H, Drochner W. Prediction of the net energy content of raw materials and compound feeds for ruminants by different laboratory methods. *Arch. Anim. Nutr.* 1996; 49: 213-220.
5. Aiple KP, Steingass H, Menke KH. Suitability of a buffered faecal suspension as the inoculum in the Hobenheimer gas test. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 1992;67: 57-66.
6. Akhter S, Owen E, Theodorou MK, Butler EA and Minson, DJ. Bovine faeces as a source of microorganisms for the in vitro digestibility assay of forages. *Grass and Forage Sci.* 1999; 54: 219-226.
7. AOAC. Official Methods of Analysis, 14th edn. Association of Official Analytical Chemists. The William Byrd Press, Inc., Richmond, Virginia. p. 500. 1984.
8. Aufrere J, Demarquilly C. Predicting organic matter digestibility of forage by two pepsin-cellulase methods XVI International grassland congress, Nice, France, 1989.
9. Aufrere J, Michalet-Doreau B. Comparison of methods for predicting digestibility of feeds. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1988;20: 203–218
10. Aufrere J. Use of enzymatic methods to predict feed energy and protein values. VI. International Grassland Congress, Nice, France, 1989.
11. Bölükbaşı F. Fizyoloji Ders Kitabı. Vücut Isısı ve Sindirim. Cilt 1, Ankara Üniv. Veteriner Fakültesi Yayınları, No: 413, Ankara, 1989.
12. Borba AES, Correia PJA, Fernandes JMM, Borba AFRS. Comparison of three sources of inocula for predicting apparent digestibility of ruminant feedstuffs, *Anim Res.* 2001; 50: 265-273
13. Bughrara SS, Sleper DA, Belyea RR, Marten GC. Quality of alfalfa herbage estimated by a prepared cellulase solution and near infrared reflectance spectroscopy. *Can. J. Plant. Sci.* 1989; 69:833 – 839.
14. Bughrara SS, Sleper DA. Digestion of several temperate forage species by a prepared cellulase solution. *Argon. J.* 1986;78:94-98.
15. Çetinkaya N. Yem maddelerinin değerlendirilmesinde naylon torba metodunun kullanılması. *Yem Magazin Dergisi Sayı 4* : 28 -30. 1992
16. Chen X, Zhao GY. The suitability of a faecal suspension of sheep as inocula for the estimation of utilizable crude protein of feeds by in vitro incubation. *Archives of Animal Nutrition* 2004;58:137-148.
17. Chikwanda AT, Mutisi C. The use of faecal fluid in evaluating ruminant feeds. 2001; 28: 335-341
18. Chung IK. Konservierung des Pansenflüssigkeit für die Futterwertbestimmung in vitro. Dissertation. Universität Stuttgart- Hohenheim, 1985.
19. Clark J, Beard J. Prediction of the digestibility of ruminant feeds from their solubility in enzyme solutions. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1977; 2: 153-159.

20. Close WH, Menke KH. Selected topic in animal nutrition. F.U.T. Müllerbader, Forststr. 18, 7024, Filderstadt 1986.
21. Coelho M, Hembry FG, Barton FE and Saxton AM. A comparison of microbial, enzymatic, chemical and near-infrared reflectance spectroscopy methods in forage evaluation. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1988; 20: 219 - 231.
22. Coşkun B, Şeker E, İnal F. *Yemler ve Teknolojisi*. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi. Konya. 1998.
23. Crampton EW, Maynard LA. The relation of cellulose and lignin content to nutritive value of animal feeds. *J. Nutr.* 1938;15: 383-395.
24. Curch DC. *Digestive Physiology and nutrition of Ruminants Volume 2nd Ed., A and B Books*, USA. 116. 1976
25. Czerkawski JW, Cheng KJ. Compartmentation in the rumen. In: P. N. Hobson (Ed.) *The Rumen Microbial Ecosystem*. p 361. Elsevier Applied Science, New York, 1988.
26. Czerkawski JW. *An introduction to rumen studies*. Pergamon Press Inc Maxwell House, Fairview Park, Elmsford, New York 10523, USA. 1986
27. De Boever JL, Cottyn BG, Buysse FX, Wainman FV, Vanacker JM. The use of an enzymatic technique to predict digestibility metabolizable and net energy of compound feedstuffs for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1986; 4: 203-214.
28. De Boever JL, Cottyn BG, Vanacker JM and Boucqué ChV. The use of NIRS to predict the chemical composition and the energy value of compound feeds. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1995; 51: 243 – 253.
29. De Boever JL, Cottyn BG, Vanacker JM, Boucque CV. An improved enzymatic method by adding gamma-glucanase to determine digestibility and predict energy value of compound feeds and raw materials for cattle. *Anim Feed Sci Technol* 1994; 47: 1-18.
30. De Boever JL, Cottyn BG, VerŸes JI, Buysse FX, Vanacker JM. The use of a cellulase technique to predict digestibility metabolizable and net energy of forages. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1988; 19: 247-260.
31. Denek N, Can A. Use of faecal fluid for dry matter digestibility of ruminant feeds. *J. Appl. Anim. Res.* 2007; 31: 29-32
32. Dickerson RL, Jr Dahl B, Scott G. Cellulase vs rumen fluid for in vitro digestibility of mixed diets. *Journal of range management.* 1988;41(4): 337 – 339
33. Dowman MG, Collins FC. The use of enzyme to predict the digestibility of animal feeds. *J. Sci. Food Agric.* 1982; 33: 689- 696.
34. El-Meadaway A, Mir Z, Mir, PS Zaman, MS and Yanke IJ, Relative efficacy of inocula from rumen fluid or faecal solution for determining in vitro digestibility and gas production. *Can. J. Anim. Sci.* 1998; 78: 673-679.
35. El-Shaer HM, Omed, HM and Chamberlain AG, Use of faecal organisms from sheep for the in vitro determination of digestibility. *J. Agric. Sci. Camb*, 1987;109: 257-259.
36. Ergün A, Tuncer ŞD, Çolpan İ, Yalçın S, Yıldız G, Küçükersan MK, Küçükersan S, ve Şehu A. "Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları". s 1-455, Özkan Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara. MEDİPRES, Malatya. 1991.
37. Getachew G, Blümmel M, Makkar HPS, Becker K. In vitro gas measuring techniques for assesment of nutritional quality of feeds. A review. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1998; 72: 261-281.
38. Goering MK, Van Soest PJ. Forage fibre analysis. *Agricultural Handbook*, No. 379, ARC, USDA, Washington, DC. 1970.

39. Harris DM, Barlet A, Chamberlain, AT. The use dairy cow faeces rather than rumen liquor in the gas pressure transducer technique for assessing digestion kinetics in vitro. *Anim. Sci.* 1995;60: 541-.
40. Henneke DR,. Potter GD, Kreider JL, Yeates BF. Relationship between condition score physical measurement and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary Journal* 1983: 15:371.
41. Hieronymi J. Eignung des pansensaftes von schlachtrindern für den Hohenheimer futtertest. Diplomarbeit. Universität Stuttgart- Hohenheim, 1987.
42. Holter P. Concentration of oxygen, carbon-dioxide and methane in the air within dung pats. *Pedobiologia* 1991;35: 381-386.
43. Jones RJ, Barnes P. In vitro digestibility assessment of tropical shrub legumes using Rumen fluid or faecal fluid as the inoculum source. *Tropical Grasslands.* 1996; 30: 374-377
44. Kern DL, Slyter LL, Leffel EC, Weaver JM, Oultjen RR. Ponies vs. steers: microbial and chemical characteristics of internal ingesta. *J. Anim. Sci.* 1974;38: 559–564.
45. Kılıç A. Süt karma yemlerinde net enerji laktasyon (NEL) içeriğinin tahmini yöntemi. *Yem Sanayi Dergisi*, 1984;45:16-21.
46. Kirchgessner M. Hayvan Besleme. Çeviri: Doç. Dr. Asım KILIÇ. TÜBİTAK Yayınları No: 611, Ankara. 1985
47. Kirkhope RTS, Lowman RS. Use of an in vitro gas production technique with faeces as inoculant to assess tropical forage quality for equids. *Anim. Sci.* 1996;62: 690-.
48. Krishnamoorthy U, Soller H, Sreingass H and Menke KH. A comparative study on rumen fermentation of energy supplements. *J. Anim. Physiol. A. Anim. Nutr.* 1991;65: 28 – 35.
49. Küçükersan S, Çolpan İ. Yemlerin yıkılabilirlik özelliklerinin saptanmasında naylon kese tekniğinin kullanılması. *Yem Magazin Dergisi*, Sayı , 1997;5: 47 – 52.
50. Kumar S, Gupta BS, Yadav KR. Effect of different roughage protein and energy sources on in vitro rumen fermentation using rumen and dung liquor inoculants. *Indian J. Ani. Nutr.* 1999: 16; 112-116.
51. Latham MJ, Sharpe ME, Sutton JD. The microflora of the rumen of cows fed hay and high cereal rations and its relationship to the rumen fermentation. *J. Appl. Bact.* 1971;34: 425–434.
52. Lindgren E. Prediction of energy value and protein content of forages. by near infrared reflectance spectroscopy. *Swedish J. Agric. Res*, 1988; 18: 21-26
53. Lowman RS, Theodorou MK, Hyslop JJ, Dhanoa MS and Cuddeford, D. Evaluation of an in vitro batch culture technique for estimating the in vivo digestibility and digestible energy content of equine feeds using equine faeces as source of microbial inoculum. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1999;80:11-17.
54. Lowman RS, Theodorou MK, Longland AC, Cuddeford D. A comparison of equine faeces or caecal digesta as sources of inoculum for in vitro fermentation studies using the pressure transducer technique. *Anim. Sci.* 1996; 62: 683-684.
55. Ly J, Nguyen VL, Rodrigez L, Preston TR. In vitro gas production and washing losses of tropical crop residues for ruminants and pigs. *Livestock Research for rural development*, 1997;9: 4.
56. Macheboeuf D, Jestin M. Utilization of the gas test method using horse faeces as a source of inoculum. In: *Proceedings of the Symposium on In Vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants*, Brit.Soc. Anim. Sci., P.O. Box 3, Penicuik, Midlothian EH26 ORZ, 1997; 36.

57. Manyuchi B, Rusike E, Chakoma C. Comparison of the use of Rumen fluid or dung as a source of microbial inoculum for the digestion of forages in vitro. *Zimbabwe J. Agric. Res.* 1991; 29: 17-25
58. Marten GC, Barnes RF. Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermentation and fungal enzyme systems. In *Proc. Int. Workshop on Standardization of Analytical Methodology for Feed*. Ed. W. J. Pigden, C.C. Balch, M. Graham, Int. Dev. Res. Center, Ottawa, Canada 1980.
59. Marten GC. Chemical, In vitro and nylon bag procedures for evaluating forage in the USA. "Forage evaluation and utilization – an appraisal of concepts and techniques" editors, Wheeler, J.L. Mochrie, R.D, 1980.
60. Mauricio RM, Owen E, Mould FL, Givens I, Theodorou M K, France J, Davies DR, Dhanoa MS. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for in vitro gas production technique for evaluating forages. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 2001;89:33-48.
61. Mauricio RM, Mould FL, Dhanoa MS, Owen E, Channa KS, Theodorou MK. A semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation *Anim. Feed Sci. and Tech.*, 1999; 79:321–330.
62. McLeod MN, Minson DJ. A note on onozuka 3S cellulase replacement for onozuka SS (P1500) Cellulase when estimating forage digestibility in vitro. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1980; 5: 347 – 350.
63. McDougal EI. Studies on ruminant saliva. 1. The composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*, 1948;43:99-109.
64. Menke KH, Steingass H. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Anim. Res. Dev.* 1988;28: 7-12.
65. Murray JMD, Longland AC, Moore-Colyer MJS, Dunnett C. The effect of enzyme treatment on the in vitro fermentation of Lucerne incubated with equine faecal inocula. *Br. J. Nutr.* 2005;94: 771–782.
66. Murray JMD, Longland AC, Moore-Colyer MJS. In vitro fermentation of different ratios of high-temperature dried lucerne and sugar beet pulp incubated with an equine faecal inoculum. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 2006; 129: 89 – 98
67. Nefzaoui A, Vanbelle M. Selection of appropriate methods for "in vitro" analysis of the nutritive value of crop residues agro-industrial by products in developing countries. *FAO. Animal production Better utilization of crop and health paper. 50. residues and by production Animal. Feed Research Guidelines*, 1987.
68. Nehring K. Die ermittlung des futterwertes auf grund einfacher kenndaten. 2. Mitt.: Die Ermittlung des energetischen futterwertes bei Grünfutterstoffen. *Arch. F. Tieremahr.*, 1975; 25: 293 – 311.
69. Newman DMR. The Universal application of the two stage in vitro technique for pasture quality evaluation. *Pro. XII th Int. Grassl. Congr. Moscow*, 1974; 4:428-440.
70. Nguyen VT. Effect of different strategies of processing rice straw on in vitro digestibility using Rumen fluid or faecal inocula of local cattle. "In Proceedings of National Seminar-Workshop on Sustainable Livestock Production on Local Feed Resources" 2003.
71. Nsahlai IV, Umuna NN. Comparison between reconstituted sheep faeces and rumen fluid inocula and between in vitro and in sacco digestibility methods as predictors of intake and in vivo digestibility. *J. Agric. Sci.* 1996;126: 235-248

72. O'Mara FP, Coyle JE, Drenman MJ, Young P, Caffrey PJ. A comparison of digestibility of some concentrate feed ingredients in cattle and sheep. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 1999; 81: 167 – 174
73. Öğretmen T, Kılıç A. Gevişgetirenlerin beslenmesinde kullanılan önemli bazı yemlerin NEL içeriklerinin in vivo ve in vitro yöntemleri ile saptanması. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi. İzmir. 1991.
74. Omed HM, Axford RFE, Chamberlain AG and Givens DI. A comparison of three laboratory techniques for the estimation of the digestibility of feedstuffs for ruminants. *J. Agric. Sci. Camb.* 1989; 113: 35-39.
75. Omed HM, Lovett DK, Axford RFE. Faeces as a source of microbial enzymes for estimating digestibility. In: Givens, D.I., Owen, E., Omed, H.M., Axford, R.F.E. (Eds.), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CAB International, Wallingford, 2000; 135-154.
76. Omed HM, Faza A, Axford RFE, Givens DI. A low tech in vitro procedure using faecal liquor for the estimation of digestibility of forages. *Proceedings of the British society of animal science. Supp.* 1998; 59
77. Orskov ER, Bhargava PK. *Manual for use of nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs*. The Rowett Research Institute, Bucksburn, Aberdeen, Scotland, 1987.
78. SAS. *Statistical Analysis Systems. User's guide: Statistics (5 th Ed.)* Inc., Cary, NC, 1989.
79. Şehu A. *At Besleme*. 200 s., Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Ankara, 2002.
80. Sharpe EM, Latham MJ, Reiter B. The immune response of the host animal to bacteria in the rumen and caecum. In: McDonald, I.W., Warner, A.C.I. (Eds.), *Digestion and Metabolism in the Ruminant*. The University of New England, Sydney, NSW, Australia, 1975.
81. Shaw J, Baidoo SK, Aherne FX. Ileal and faecal energy digestibility coefficients of full-fat canola seed for swine. *Anim. Feed Sci. Technol.* 1990; 28: 71 – 77.
82. Steel RG, Torrie JH. *Principle and Procedures of Statistics (2<sup>nd</sup> Ed.)*. McDonald book Co., Inc., 1980, New York, NY.
83. Steingass H, Menke KH. Schätzung des energetischen Futterwertes aus der in vitro mit Pansensaft bestimmten Gasbildung und der chemischen Analyse. 1. Untersuchungen zur Methode. *Übersichten Tierernährung*, 1986; 14, 251 – 270.
84. Stern MD, A Bach, S Calsamiglia. Alternative techniques for measuring nutrient digestion in ruminants. *J. Anim. Sci.* 1997; 75: 2256-2276.
85. Sunvold GD, Hussein HS, Fahey GC, Merchen Jr NR, Reinhart GA. In vitro fermentation of cellulose, beet pulp, citrus pulp, and citrus pectin using faecal inoculum from cats, dogs, horses, humans, and pigs and ruminal fluid from cattle. *J. Anim. Sci.* 1995; 73: 3639-3648
86. Tilley JMA, Terry RA. A two-stage technique for in vitro digestion of forage. *J. Br. Grassl. Soc.* 1963; 18: 104-111.
87. Van Der Baan AWA, Van Niekerk, NF, Rethman G, Coertze RJ. The determination of digestibility of atriblex nummularia ev. De kock (oldman's saltbush) using different in vitro techniques. *South African Journal of Animal Science*. 2004; 34: 95 -97.
88. Varadyov'a Z, Baran M, Zelenak I. Comparison of two in vitro fermentation gas production methods using both rumen fluid and faecal inoculum from sheep. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2005; 123/124: 81-94.

89. Zhang YG. Effects of cultivar and maturity stage on chemical composition and ruminal digestibility of oat and barley hay using Rumen fluid or faecal liquor as the inoculum. *Journal of Northeast Agric. Uni.* 2004;11: 127-133.