

**FARKLI HAYVAN TÜRLERİNE AİT
RUMEN SIVILARINA KİTOSAN
İLAVESİNİN BAZI KABA YEMLERİN
İN VİTRO SİNDİRİLEBİLİRLİKLERİNE
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

Derya Merve KARAGÖZ

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. İsmail BAYRAM

İkinci Danışman: Prof. Dr. Mustafa Numan OĞUZ

**AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAYVAN BESLEME VE BESLENME HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI
ORTAK DOKTORA TEZİ**

**FARKLI HAYVAN TÜRLERİNE AİT RUMEN SIVILARINA
KİTOSAN İLAVESİNİN BAZI KABA YEMLERİN *İN VİTRO*
SİNDİRİLEBİLİRLİKLERİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**Hazırlayan
Derya Merve KARAGÖZ**

**Danışman
Prof. Dr. İsmail BAYRAM**

**2. Danışman
Prof. Dr. M. Numan OĞUZ**

Tez No: 2022-006

AFYONKARAHİSAR

**Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Proje Araştırmaları
Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir. Proje No:
“19.SAĞ.BİL.22”**

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ve Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veteriner Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı** ortak doktora programı çerçevesinde Derya Merve KARAGÖZ tarafından hazırlanan “**Farklı Hayvan Türlerine ait Rumen Sıvılarına Kitosan İlavesinin Bazı Kaba Yemlerin *In Vitro* Sindirilebilirliklerine Etkisinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışması Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca 17.05.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. İsmail BAYRAM

Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Üye

Prof. Dr. Fatma KARAKAŞ OĞUZ

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Üye

Prof. Dr. Hasan ÇİÇEK

Afyon Kocatepe Üniversitesi
Veteriner Fakültesi

Üye

Prof. Dr. Pınar SAÇAKLI

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Üye

Prof. Dr. Huzur Derya ARIK

Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

..... / / tarih ve

..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

...../...../.....

İmza

Öğrenci – Adı- Soyadı

ÖZET

Farklı Hayvan Türlerine ait Rumen Sıvılarına Kitosan İlavesinin Bazı Kaba Yemlerin *In vitro* Sindirilebilirliklerine Etkisinin Belirlenmesi

Bu araştırma, inek, manda, koyun ve keçi rumen sıvılarına kitosan çözeltisi ilavesi ile bu hayvanların rasyonlarında sık kullanılan kaba yemlerden olan yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunun *in vitro* sindirilebilirlikleri üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırmada kullanılan rumen sıvıları mezbahanedeki kesim esnasında inek (Holstein) (> 2 yaşında), manda (Murrah x Anadolu) (> 2 yaşında), koyun (> 5 aylık) ve keçiden (> 5 aylık) elde edilmiştir. İnkübasyonda kullanılan dört farklı kaba yemde kuru madde (KM) analizi yapıldıktan sonra ham protein (HP), ham selüloz (HS), ham yağ (HY), ham kül (HK), asit deterjan lif (ADF), asit deterjan lignin (ADL), nötr deterjan lif (NDF) analizleri yapılmıştır. Daha sonra nispi yem değerleri (NYD) hesaplanmıştır. Yemlerin *in vitro* sindirilebilirlikleri Daisy inkübatör cihazında 48 saatlik inkübasyonun ardından NDF analizi yapılarak belirlenmiştir. Analizden hemen önce kitosanlı grupların buffer solüsyonuna %2,5 'luk 16 ml kitosan ilave edilmiştir. Yapılan analizler sonunda yıkanıp kurutulan keseler tartılarak *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (IVGS), *in vitro* kuru madde sindirilebilirliği (IVGS_{KM}) hesaplamaları yapılmıştır. *In vitro* sindirilebilirlik analizi sonunda keselerin içerisinde sindirilmiş yem kalıntılarının ham protein ve ham selüloz analizleri yapılarak ham selüloz sindirilebilirlik (HSS) ve ham protein sindirilebilirlik (HPS) hesaplamaları yapılmıştır. Farklı hayvan türlerine ait rumen sıvılarına kitosan ilave edilmesi yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunun IVGS_{KM}, IVGS ve HPS azaltırken ($p<0,01$); HSS'nde anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Benzer şekilde dört farklı yem maddesinde kitosan kullanımının manda, koyun, keçi ve inek hayvan türlerinde IVGS_{KM}, IVGS ve HPS azaltırken ($p<0,01$); HSS'nde anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Yonca kuru otu, yonca silajı ve çayır kuru otunda farklı hayvan türüne ait rumen sıvısının kullanılması IVGS_{KM}, IVGS, HPS ve HSS değerlerinde anlamlı bir fark oluştururken ($p<0,01$); mısır silajında IVGS_{KM}, IVGS ve HSS değerleri ($p<0,01$) hariç, HPS değerinde anlamlı bir fark oluşturmamıştır ($p=0,055$).

Sonuç olarak rumen sıvısına kitosan ilavesinin IVGS_{KM}, IVGS ve HPS değerlerini azalttığı görülmüştür. Bu azalma kitosanın antimikrobiyal etkisi ile ilişkilendirilmiştir. Kitosanın rasyondaki proteinleri ruminal fermentasyondan koruyacağı ne srlmştir. Tüm yem maddesi türlerinde de farklı ruminant türlerinin ruminal sindirilebilirliğinde farklılıklar olduğu ortaya konmuştur. Tüm hayvan türlerinde IVGS_{KM} oranı en yüksekte en düşüğe doğru sırasıyla; yonca silağı, yonca kuru otu, ayır kuru otu ve mısır silağı şeklinde belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İnek, Keçi, Kitosan, Koyun, Manda, Sindirilebilirlik, *In vitro*.

SUMMARY

Determination of the Effects of Chitosan Addition to Rumen Fluids of Different Animal Species on *In vitro* Digestibility of Some Roughage

The aim of this study was to determine the effect of chitosan addition to the rumen fluids of cow, buffalo, sheep and goat on the *in vitro* digestibility of commonly used roughages like alfalfa hay, alfalfa silage, corn silage, and meadow hay. Rumen fluids used in the study were obtained from cow (Holstein) (> 2 years old), buffalo (Murrah x Anadolu) (> 2 years old), sheep (> 5 months old) and goat (> 5 months old) from the slaughterhouse. Dry matter (DM), crude protein (CP), crude fiber (CF), ether extract (EE), crude ash, acid detergent fiber (ADF), acid detergent lignin (ADL), and neutral detergent fiber (NDF) were analyzed in the roughages. Relative feed values were calculated. *In vitro* digestibility of feeds was determined by NDF analysis after 48 hours of incubation in Daisy incubator. The chitosan used in this study was prepared in 2.5% acetic acid solution. Before incubation, 16 ml of buffer solution was added to the groups with chitosan. At the end of the incubation, the washed and dried bags were weighed to calculate the *in vitro* true digestibility (IVTD) and *in vitro* dry matter digestibility (IVTD_{DM}). At the end of the *In vitro* digestibility assay, digested feed residues were analyzed for CP and, CF to ascertain the CF and CP digestibilities (CFD and CPD). Addition of chitosan to rumen fluids of different animal species decreased the IVTD_{DM}, IVTD and, CPD of all the roughages ($p < 0.01$) while no significant difference was noted in CFD. Similarly, the use of chitosan in four different feeds decreased the IVTD_{DM}, IVTD and, CPD in buffalo, sheep, goat and cow animal species ($p < 0.01$) whereas no significant difference in CFD. The use of rumen fluid from different animal species in alfalfa hay, alfalfa silage and meadow hay created a significant difference in IVTD_{DM}, IVTD, CFD and CPD values ($p < 0.01$). Maize silage created a significant difference in IVTD_{DM}, IVTD and CFD values ($p < 0.01$) while no significant difference in CPD value ($p = 0.055$). In conclusion, it was observed that the addition of chitosan to the rumen fluid reduces IVTD_{DM}, IVTD and CPD. This might be associated with the antimicrobial effect of chitosan. The findings of this study suggest that chitosan protects the dietary proteins from ruminal fermentation. In addition, results also reveal that there are

differences in ruminal digestibility among the different ruminant species in all the roughages. The extent of IVTD_{DM} in all animal species were: alfalfa silage> alfalfa hay> meadow hay> corn silage.

Keywords: Cow, Goat, Chitosan, Sheep, Buffalo, Digestibility, *In vitro*.

ÖNSÖZ

Proje numarası “19.SAĞ.BİL.22” olan doktora tez çalışmam, Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Proje Araştırmaları Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Doktora tez çalışmamın tüm aşamaları boyunca sabırla bilgi ve tecrübelerini aktararak yardım ve desteklerini esirgemeyen sayın danışman hocam Prof. Dr. İsmail BAYRAM ve 2. danışman hocam Prof. Dr. Mustafa Numan OĞUZ’a çok teşekkür ederim. Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarım Prof. Dr. İ. Sadi ÇETİNGÜL, Dr. Öğr. Üyesi Cangir UYARLAR, istatistik hesaplamalarında desteğini biran olsun esirgemeyen Doç. Dr. E. Eren GÜLTEPE’ye ve tüm tecrübesini sabırla aktararak bana büyük destek veren Dr. Öğr. Üyesi Ümit ÖZÇINAR’a teşekkürü bir borç bilirim. Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı hocalarımdan biran olsun manevi desteğini ve tecrübesini esirgemeyen Anabilim Başkanı Prof. Dr. Fatma KARAKAŞ OĞUZ, Doç. Dr. Kadir Emre BUĞDAYCI, Doç. Dr. Hıdır GÜMÜŞ ve Dr. Öğr. Üyesi Eren KUTER’e bana yol gösterdikleri için teşekkür ederim. Yine tüm bilgi ve tecrübeleriyle bana yardımcı olan Öğr. Gör. Umair Ahsan’a teşekkür ederim. Daha önceden Veteriner Hekim olarak görev yaptığım Doğan Et Mezbahanesi çalışanlarına ve Veteriner Hekim Mehmet Mustafa DEMİR’e teşekkür ederim. Analiz sırasında bana yardımcı olan Veteriner Hekim Ahmet Bolat ve Veteriner Hekim Selahattin Erkan’a teşekkür ederim. Son olarak da benden maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili eşim Akif’e ve aileme çok teşekkür ederim.

Derya Merve KARAGÖZ

Afyonkarahisar

2022

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
KABUL VE ONAY SAYFASI	
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI	
ÖZET	I
SUMMARY	III
ÖNSÖZ	V
İÇİNDEKİLER	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR	IX
ÇİZELGELER	XI
ŞEKİLLER	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Kaba Yemlerin Ruminant Beslemedeki Önemi ve Ruminantların Sindirimi Üzerine Etkisi	2
1.2. Yonca	3
1.2.1. Yonca Kuru Otu	4
1.2.2. Yonca Silajı	5
1.3. Çayır Otu	5
1.3.1. Çayır Kuru Otu	5
1.4. Mısır	6
1.4.1. Mısır Silajı	6
1.5. Ruminatlarda Sindirim Sistemi Anatomisi ve Fizyolojisi	7
1.5.1. Manda ve İneklerin Sindirim Sistemi Anatomisi ve Fizyolojisi	11
1.5.2. Koyun ve Keçilerin Sindirim Sistemi Anatomisi ve Fizyolojisi	13
1.6. Ruminantlarda Karbonhidrat Sindirimi	14
1.7. Ruminatlarda Protein Sindirimi	17
1.7.1. Rumende Yıkımlanmayan Proteinler	20
1.8. Kaba Yemlerin Sindirilebilirliğini Etkileyen Yem Katkı Maddeleri	22
1.9. Prebiyotikler	24
1.9.1. Kitosan	25
1.10. Kaba Yemlerin Sindirilebilirliklerinin Belirlenme Yöntemleri	26
1.10.1. <i>In-Vivo</i> Yöntemler	27
1.10.2. <i>In-Situ</i> Yöntemler	28
1.10.3. <i>In- Vitro</i> Yöntemler	29
1.10.3.1. Daisy İnkübatör Yöntemi	31
2. MATERYAL ve METOT	35

2.1. Materyal	35
2.1.1. Yem Materyali	35
2.1.2. Hayvan Materyali	35
2.1.3. <i>İn vitro</i> Çalışmalarda Kullanılan Alet ve Ekipmanlar	36
2.2. Yöntem	36
2.2.1. Kimyasal Analizler	38
2.2.1.1. Kuru Madde	38
2.2.1.2. Ham Kül	39
2.2.1.3. Ham Yağ	39
2.2.1.4. Ham Protein	40
2.2.1.5. Ham Selüloz	41
2.2.1.6. Asit Deterjan Lif (ADF)	42
2.2.1.7. Nötr Deterjan Lif (NDF)	43
2.2.1.8. Asit Deterjan Lignin (ADL)	44
2.2.2. Nispi Yem Değerinin Belirlenmesi	45
2.2.3. <i>İn vitro</i> Sindirim Denemesi	46
2.2.3.1. Kitosan Solüsyonunun Hazırlanması	46
2.2.3.2. F57 Torbaların ve Örneklerin Hazırlanması	46
2.2.3.3. Tampon (Buffer) Çözeltilerinin Hazırlanması	46
2.2.3.4. Rumen Sıvısının Hazırlanması	47
2.2.3.5. İnkübasyon Aşaması ve İnkübasyon Sonrası Hesaplamalar	47
2.2.3.6. Ham Protein Sindirilebilirlik Analizi	48
2.2.3.7. Ham Selüloz Sindirilebilirlik Analizi	49
2.2.4. İstatistik Analizler	49
3. BULGULAR	50
3.1. Yem Maddelerinin Besin Madde Değerleri	50
3.2. Rumen Sıvılarının pH Değerleri	50
3.3. Hayvan Türleri Karşılaştırması	50
3.3.1. Yonca Kuru Otu	51
3.3.2. Yonca Silajı	54
3.3.3. Mısır Silajı	57
3.3.4. Çayır Kuru Otu	60
3.4. Yem Maddesi Karşılaştırması	63
3.4.1. Manda	63
3.4.2. İnek	66
3.4.3. Koyun	69
3.4.4. Keçi	72
4. TARTIŞMA	75

4.1. Hayvan Türünün Sindirilebilirliğe Etkisi	75
4.2. Kullanılan Yem Türünün Sindirilebilirliğe Etkisi	78
4.3. Kitosanın sindirilebilirliğe Etkisi	79
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	86
6. KAYNAKLAR	88
7. EKLER	96
7.1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı	96
ÖZGEÇMİŞ	97

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%: Yüzde

°C: Celsius Santigrat derece

µm: Mikrometre

ADF: Asit Deterjan Lif

ADL: Asit Deterjan Lignin

AIA: Asitte çözünmeyen kül

BAP: Bilimsel Araştırma Projeleri

By-pass: Rumende parçalanmayan hammadde

C1: Boş torba düzeltme faktörü

C2: Boş torba kül düzeltme faktörü

CaCl₂·2H₂O: Kalsiyum Klorür Dihidrat

CO₂: Karbondioksit

Cr₂O₃: Kromik oksit

dk: Dakika

EAA: Esansiyel Aminoasit

g: Gram

HK: Ham Kül

HP: Ham Protein

HPS: Ham protein sindirilebilirliği

HSS: Ham selüloz sindirilebilirliği

HY: Ham Yağ

IVGS: *In vitro* Gerçek Sindirilebilirlik

IVGS_{KM}: *In vitro* Gerçek Kuru Madde Sindirilebilirliği

Kd: Fraksiyonel Sindirilebilirlik Oranı

KH₂PO₄: Monopotasyumfosfat

KM: Kuru Madde

Kp: Fraksiyonel Pasaj Oranı

L: Litre

m: Metre

MgSO₄7H₂O: Magnezyumsülfat Heptahidrat

MKY: Mobil (hareketli) kese yöntemi

ml: Mililitre

MOS: Mannanligosakkaritler

N: Azot

Na₂CO₃: Sodyum Karbonat

Na₂S-9H₂O: Sodyum Sülfid nonahidrat

NaCl: Sodyum Klorür

NaOH: Sodyum Hidroksit

NDF: Nötral Deterjan Selülozu

NH₃: Amonyak

NPN: Protein niteliğinde olmayan azotlu maddeler

NYD: Nispi Yem Değeri

OM: Organik Madde

P: Anlamlılık (önemlilik) testine ilişkin olasılık değeri

pH: Asit- Baz Değeri, H⁺ iyonlarının konsantrasyonunun kologaritma değeri

RDP: Rumende parçalanmış protein

RUP: Rumende parçalanmayan protein

SD: Standart Hata

TDN: Toplam sindirilebilir besin

UYA: Uçucu Yağ Asitleri

ÇİZELGELER

	SAYFA
Çizelge 1.1. Geviş getiren hayvanlarda protein ile ilgili kavramlar	19
Çizelge 1.2. Kaba yem sindirilebilirliğini etkileyen bazı yem katkı maddeleri	22
Çizelge 1.3. <i>İn vivo</i> ve Daisy İnkübatör yöntemlerinin karşılaştırılması	34
Çizelge 2.1. İnek ve Mandalara verilen bazal rasyon içeriği ve kimyasal kompozisyonu	36
Çizelge 2.2. Deneme düzeni	38
Çizelge 2.3. Yem bitkilerinde NYD kalite standartları	46
Çizelge 2.4. Tampon Solüsyonlarının içerikleri	47
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan yem hammaddelerinin besin madde içerikleri (Kuru madde bazında) ve NYD	50
Çizelge 3.2. Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yonca kuru otunun, farklı hayvan türlerindeki <i>in vitro</i> gerçek kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	53
Çizelge 3.3. Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yonca kuru otunun <i>in vitro</i> gerçek kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek kuru madde, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	54
Çizelge 3.4. Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yonca silajının, farklı hayvan türlerindeki <i>in vitro</i> gerçek kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	56
Çizelge 3.5. Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yonca silajının <i>in vitro</i> kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	57
Çizelge 3.6. Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz mısır silajının, farklı hayvan türlerindeki <i>in vitro</i> gerçek kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	59
Çizelge 3.7. Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz mısır silajının <i>in vitro</i> kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	60
Çizelge 3.8. Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz çayır kuru otunun, farklı hayvan türlerindeki <i>in vitro</i> kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	62
Çizelge 3.9. Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz çayır kuru otunun <i>in vitro</i> kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham	63

	protein, ham selüloz sindirilebilirliği	
Çizelge 3.10.	Manda rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmadaki kitosanlı ve kitosansız yem maddelerinin <i>in vitro</i> gerçek kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	65
Çizelge 3.11.	Manda rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yem bitkileri grup ortalamalarının <i>in vitro</i> kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	66
Çizelge 3.12.	İnek rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmadaki kitosanlı ve kitosansız yem maddelerinin <i>in vitro</i> kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	68
Çizelge 3.13.	İnek rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yem bitkileri grup ortalamalarının <i>in vitro</i> kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	69
Çizelge 3.14.	Koyun rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmadaki kitosanlı ve kitosansız yem maddelerinin <i>in vitro</i> kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	71
Çizelge 3.15.	Koyun rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yem bitkileri grup ortalamalarının <i>in vitro</i> kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	72
Çizelge 3.16.	Keçi rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmadaki kitosanlı ve kitosansız yem maddelerinin <i>in vitro</i> kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	74
Çizelge 3.17.	Keçi rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yem bitkileri grup ortalamalarının <i>in vitro</i> kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	75

ŞEKİLLER

	SAYFA
Şekil 1.1. Yoncanın yapısal bileşenleri	4
Şekil 1.2. Ruminantların rumen, retikulum, omasum ve abomasumunun sindirim akışı	10
Şekil 1.3. Gerçek ruminantların sindirim sistemlerine göre sınıflandırılması	11
Şekil 1.4. Sığırlardaki ruminoretikulumun şematik görüntüsü. Rumen ile retikulum arasındaki temel bariyer	12
Şekil 1.5. Koyunlardaki ruminoretikulumun şematik görüntüsü. Rumen ile retikulum arasındaki temel bariyer	14
Şekil 1.6. Rumende karbonhidratların pirüvata dönüşümü ve pirüvatin rumende uçucu yağ asitlerine dönüşümü	16
Şekil 1.7. Ruminantlardaki N dolaşımı	18
Şekil 1.8. Protein Kategorileri (Cornell Sistemine göre)	20
Şekil 1.9. Daisy İnkübatör Cihazı, F57 Filtre Kese, Kavanoz ve Heat Sealer	34
Şekil 3.1. Yonca kuru otunun, farklı hayvan türlerindeki <i>in vitro</i> gerçek kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	53
Şekil 3.2. Yonca silajının, farklı hayvan türlerindeki <i>in vitro</i> gerçek kuru madde, <i>in vitro</i> gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği	56
Şekil 3.3. Mısır silajı <i>in vitro</i> kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri	59
Şekil 3.4. Çayır kuru otu <i>in vitro</i> gerçek kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri	62
Şekil 3.5. Manda rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada yem bitkilerinin <i>in vitro</i> gerçek kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri	65

Şekil 3.6.	İnek rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada yem bitkilerinin <i>in vitro</i> gerçek kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri	68
Şekil 3.7.	Koyun rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada yem bitkilerinin <i>in vitro</i> kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri	75
Şekil 3.8.	Keçi rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada yem bitkilerinin <i>in vitro</i> kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri	74

1. GİRİŞ

Gelecekteki küresel talepleri karşılamak için ruminant beslemenin temelini oluşturan alternatif uygun maliyetli yem maddeleri belirlenmelidir. Kaliteli kaba yemler ve çeşitli yöntemlerle besin madde yararlanımı artırılmış kaba yemler bu ihtiyacı karşılayabilir (Badhan, 2018). Kaba yem kalitesini, lezzet, yem tüketimi, besin madde bileşimi, antinütrisyonel faktör, hayvan performansı, yemin hasat zamanı gibi faktörlerin yanında yemin sindirilebilirlik derecesi de etkilemektedir. Yem içerisindeki yüksek NDF seviyeleri ve daha yavaş selüloz sindirimi yem tüketiminin ve tüketilen besin madde miktarının azalmasına sebep olmaktadır. Yemin sindirilme derecesinin artması ise yem tüketiminin ve besin madde alımının artmasını sağlar (Ball, 2001).

Rumen, bitki selülozunu sindirmek için sinerjik olarak çalışan bakteri, protozoa ve mantarlar dahil olmak üzere çok çeşitli selülitik mikroorganizmaları barındırır. Bitki hücre duvarı yapısı ruminal mikroflora tarafından tamamen nadiren sindirilir. Yemlerin rumende yetersiz kalış süresi ve hız sınırlayıcı enzim aktivitelerinin mevcudiyeti ruminal selüloz sindirimini kısıtlayan faktörler arasındadır (Badhan, 2018).

Yem değerinin belirlenmesi kimyasal ve biyolojik analizlerle yapılmaktadır. Bununla birlikte, kimyasal analizler hayvan yemlerinin gerçek değerini yeterince ölçemez. Gerçek yem kalitesi besinlerin değerlendirilme oranına bağlıdır (Baran vd.,2017). Hayvanların yem tüketimi, tüketilen yemin sindirilebilirliği ve hayvansal verime dönüştürülmesi yem kalitesiyle ilişkilidir (Van Soest, 1994). Yem kalitesini belirleyen en önemli unsurlardan birisi olan sindirilebilirliğin doğru ve güvenilir bir şekilde belirlenebilmesine imkan sağlayan metotların geliştirilmesi uzun yıllardan beri araştırmacıların ilgi odağını oluşturmuştur ve pek çok yem ve/veya yem katkı maddesi üzerinde çalışmalar yapılmıştır (Garipoğlu, 2015). Bu sebeple ruminant beslemede kullanılan yemlerin yem değerlerinin belirlenmesinde *in vivo*, *in vitro*, *in situ* gibi farklı yöntemler kullanılmıştır (Kılıç ve Sarıçiçek, 2006). Genelde en güvenilir sonuçlar *in vivo* çalışmalarından elde edilenler olmakla birlikte zor, zahmetli, pahalı, iş gücü sarfiyatının fazla olması, uzun süre gerektirmesi, deneme şartları kontrolünün zorluğu, çok fazla yem örneğine ihtiyaç duyulması (Ørskov vd., 1980; Getachew vd., 1998; Cişmileanu ve Toma, 2017; Atalar ve Çetinkaya, 2017) gibi dezavantajlardan dolayı *in vitro* yöntemler son zamanlarda daha çok tercih edilmektedir (Kılıç ve Sarıçiçek, 2006).

Kitosan eklem bacaklıların (yengeç ve karides) dış iskeletinde bulunan, toksik olmayan ve biyolojik olarak yararlanılabilen biyopolimer yapıdaki kitin'in, deasetile edilmesi ile elde edilir. Kitosan'ın önemli fonksiyonel aktiviteleri olduğu bilinmesine karşın kitosandan daha yüksek çözünürlüğü nedeniyle kitosan oligosakkarit formu (KOS) geliştirilmiştir. Son yıllarda prebiyotik ve biyokoruyucu oligosakkarit olarak bilinen sakkaritik doğal ürünlerle ilgili çalışmalar devam etmekte ve bu ürünler içerisinde bulunan KOS'a ilgi giderek artmaktadır. Prebiyotik olarak kullanılabilen KOS'ın bağışıklık sistemini güçlendirici, sindirim ve performansı iyileştirici, antimikrobiyal, antioksidan, antikanserojen, antidiyabetik etkileri yanında lipid ve kolesterol düşürücü etkilerinin olduğu yakın zamanda yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Bilal ve Keser, 2009)

Kaba yemler, rumen mikrobiyolojisi ve fermentasyonu için gerekli olan besin maddelerini içermesi nedeniyle sindirim fizyolojisi bakımından önem taşımaktadır. Rumen içeriğinin mikrobiyolojisi ve fermentasyonunun türler arasında farklılık gösterdiği ortaya konulmuştur (Sahu ve Kamra, 2002). Bu durum, kaba yem sindiriminde de farklılık oluşturacağını düşündürmektedir. Yapılan tez çalışmasında kitosanın yonca kuru otu, çayır kuru otu, mısır silajı ve yonca silajı kaba yemlerinin sindirilebilirlikleri üzerindeki etkisinin yanında bazı hayvan türleri arasındaki etkisinin karşılaştırması ortaya konmuştur.

1.1. Kaba Yemlerin Ruminant Beslemedeki Önemi ve Ruminantların Sindirimi Üzerine Etkisi

Kaba yemler, ucuz bir kaynak olmasının yanı sıra geviş getiren hayvanların rumen mikroflora ve faunasının gelişimi için gerekli besin değerlerini içermesi, hayvanların performansını olumlu etkilemesi, beslemeye bağlı birçok metabolik hastalığın önlenmesi ve yüksek kalitede hayvansal ürün sağlanması bakımından büyük öneme sahiptir (Adıyaman, 2014).

Ruminant olmayanların ve preruminantların önemli miktarlarda kaba yem kullanamamasının başlıca nedeni, diğer memeliler gibi, bitki hücre duvarlarını oluşturan kompleks β -bağlı polimerleri parçalayabilen enzimlere sahip olmamalarıdır. Bununla

birlikte, geviş getiren hayvanlarda, kaba yemlerle ilgili olarak başlıca sindirim bölgesi, yemin anaerobik koşullar altında yoğun mikrobiyal fermentasyona tabi tutulduğu rumendir (Givens vd., 2000)

Rumen ortamı, besin, su ve mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Bu bölgede kendi aralarında çeşitli pozitif veya negatif etkileşimler içinde bulunan bakteri, protozoa, mantar, mikoplazma ve bakteriyofaj popülasyonları bulunmaktadır. Mikrobiyal popülasyonların dengesinin kurulması ve sürdürülmesi, rasyonun kalitesine, yem dağıtım sıklığına ve rumende meydana gelen mikrobiyal etkileşimlere bağlıdır (Almeida, 2012).

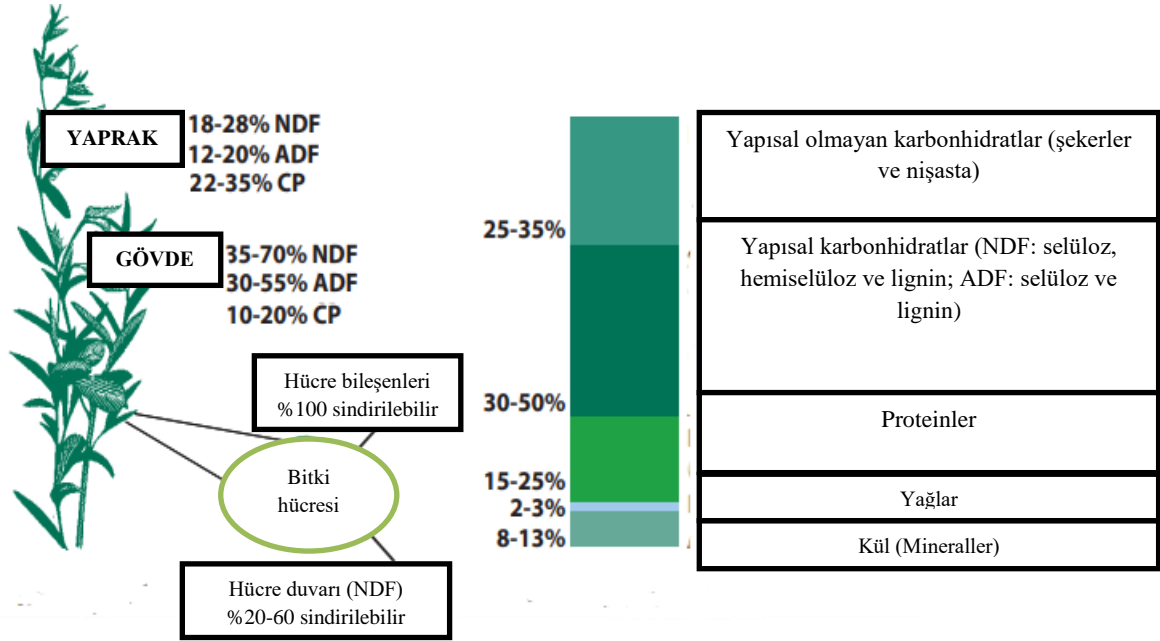
Kaba yem kalitesini bitkinin türü (baklagil veya buğdaygil), bitkinin olgunluğu, çevresel faktörler (hava sıcaklığı, su vb.), depolama gibi birçok faktör etkilemektedir. Bir yemin kalitesi besin konsantrasyonu ve bu besinlerin geri kazanımı yani sindirilebilirliği ile ilişkilidir. Kaba yemler temelde, kolay sindirilebilir hücre çözünürlüğü, hemiselüloz, selüloz, pektin ve ligninden oluşur. Nötr deterjan lifi (NDF), yemin hemiselüloz, selüloz ve lignin kısmının ifade şeklidir. Asit deterjan lif (ADF) ise yemin selüloz ve lignin içeriğinin ifade şeklidir. ADF içeriği, yemin sindirilebilirliğini doğrudan etkiler. ADF içeriği arttıkça, hücre çözünürlüğü azalır ve dolayısıyla yemin sindirilebilirliği de azalır. Bitki yaprak/ gövde oranı ile NDF, ADF ve lignin içeriğinin değiştirilmesinde doğrudan etkilidir. Bitki yaşlandıkça ve bitki içeriğindeki NDF, ADF ve lignin oranı arttıkça sindirilebilirlik azalır (Ahern, 2014).

Yapısal karbonhidratlar bakımından zengin olan kaba yemlerdeki yapısal polisakkaritler rumen ortamındaki anaerobik bakteriler, mantarlar ve protozoalar tarafından fermente edilmektedirler (Jayanegara, 2009). Yemlerin hücre duvarı, ruminal mikroorganizmalar tarafından salgılanan enzimler tarafından kısmen parçalanmış yapısal polisakkaritler, selüloz ve hemiselüloz içerir. Dışkıdan geri kazanılan selüloz fraksiyonu fermente edilebilir olduğundan rumende selüloz bozunması optimal değildir (Gallardo vd., 2010).

1.2. Yonca

Yonca, yüksek ham protein ve sindirilebilirliğe sahip bir baklagil yem bitkisidir. Yüksek besin değeri nedeniyle "Kaba Yemlerin Kraliçesi" olarak kabul edilir. Üretimi için azotlu gübrelemeye gerek yoktur. Yüksek kuru madde verimi (6-12 ton / dönüm),

ürünlerin çok yönlülüğü (saman, yeşil ot, silaj, saman) ve Mart ortasından Kasım ayının sonuna kadar neredeyse yıl boyunca yem üretimi gibi olumlu özelliklere sahiptir (Dubeux, 2015). Yoncanın yapısal bileşenleri Şekil 1.1’ de gösterilmiştir.



Şekil 1.1: Yoncanın yapısal bileşenleri

1.2.1.Yonca Kuru Otu

Yonca yılda birkaç kez hasat edilebilir. Hasat için en iyi aşama %25-50 çiçeklenmedir. Bu aşamadan sonra besin madde içeriği azalmaya başlar. İlk hasattan sonra, bir sonraki hasata kadar bitkinin 35-50 mm uzunluğuna ulaşmasını beklemek tavsiye edilir. (Anonim, 2016). Bağırsaklarda hızlı sindirilmesi, büyük miktarda çözünebilir mikrobiyal protein kaynağı olması gibi sebeplerden dolayı kuru ot olarak kullanımı yaygındır. Diğer kaba yemlere kıyasla kısmen daha fazla çözünebilir hücre duvarı unsurları ve B, E, A, K gibi vitaminleri içermesinden dolayı sık tercih edilen bir kaba yemdir (Adıyaman, 2014).

1.2.2.Yonca Silajı

Yonca silajı taze yonca veya önceden solmuş yonca kullanılarak yapılabilir. Besin madde sızıntısını önlemek ve protein bozunmasını azalttığı için en iyi yol önceden soldurma yapmaktır. Nem oranı %50-70 arasında olmalıdır (Mason, 1998). Yaprak kaybının ve buna bağlı olarak da protein kaybının olmaması için kuru madde oranı %50'nin üzerine çıkarılmamalıdır (Mauriès, 2003). Aynı zamanda silajdaki nem oranının fazla olması, Clostridia gibi anaerobik bakterilerin oluşumuna ortam hazırlar. Organik asitler (formik asit, formik asit + formaldehit, propiyonik asit) veya kalsiyum tuzları gibi katkı maddeleri, pH değerini düşürmeye yardımcı olabilir (Mason, 1998). Yoncanın kuru madde oranının fazla olması veya yetersiz sıkıştırma, silajda oksijenin kalmasına ve maya ve küf oluşumuna neden olabilir (Anonim, 2016).

1.3. Çayır Otu

Yeşil otlar alt sınıfında yer alan çayır otları, 6000'den fazla farklı türe sahip olan *Gramineae* ailesinin üyesidir. En iyi ilkbahar ve sonbaharda büyüyen soğuk mevsim otları çayır kelp kuyruğu otu, mavi çayır otu gibi yemlerden oluşmaktadır. İlkbahar başında yavaş, yaz başında daha hızlı büyüyen sıcak mevsim otları ise Bermuda çayır otu, darı otu gibi yemlerden oluşmaktadır. Çayır otlarının verimi güneş, su, topraktaki besin madde varlığı ve gübreleme gibi etkenlere bağlıdır. Çayır otları olgunlaştıkça daha fazla yapısal karbonhidrat biriktirir ve lignin içeriği artar. Bu sebeple çayır otlarını sindirilebilirliğini ve besin madde değerini etkileyen ana faktörlerden birisi biçim zamanıdır (Kellems ve Church, 2010).

1.3.1.Çayır Kuru Otu

Çayır otu, üretimin fazla olduğu yaz veya ilkbahar aylarında hasat edilip kurutularak saklanır ve yem bitkisinin az olduğu kış aylarında kullanılır. İyi bir kuru ot elde etmek için, yemlerdeki besin madde içeriğindeki değişikliği minimum seviyede tutmak

amacıyla nem seviyesi düşük tutulmalıdır. Normal hasat olgunluğuna gelen ayır otları %60-75 arasında nem içerir. Hasat edilen ayır otunun nem düzeyi %15-18 aralığına kurutularak düşürülmelidir. Nem düzeyinin %20'nin üzerinde olması sonucunda küflenme ve ısınma sebebiyle depolama kayıpları görülebilir (Kellems ve Church, 2010).

1.4. Mısır

Mısır Amerika Birleşik Devletleri'nde altın tahıl olarak bahsedilmektedir. Bunun sebebi ise diğer tahıllara kıyasla birim arazi başına daha fazla sindirilebilir enerji sağlanmasıdır. Mısır tane özelliklerine göre dişli, sert, unluk, tatlı, patlatmalık, mumlu ve tohum zarflı olmak üzere 7 gruba ayrılmaktadır. Bunlardan dişli mısır tahıl ürünü olarak kullanılmaktadır (Kellems ve Church, 2010). Mısır kuru maddesinde yaklaşık olarak %66 nişasta, %4 ham yağ, %8 ham protein ve %11,2 ham selüloz içermektedir (Ahern, 2014).

1.4.1. Mısır Silajı

Mısır (*Zea mays* L.) silajı, genetiğe, olgunluk evresine ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak değişken oranlarda hem nişasta (tahıldan) hem de selüloz (sap ve yapraklardan hücre duvarları) içeren heterojen bir yemdir (Roth vd., 2001). Mısır silajı yaklaşık %25-35 kuru madde içerir. Protein açısından nispeten fakirdir (%5-10 KM) ve selüloz bakımından zengindir (%15-27 KM). Oldukça değişken nişasta içeriğine (%18-37 KM) sahiptir. Mısır silajının organik madde sindirilebilirliği, yetiştirme koşullarına ve hasattaki büyüme aşamasına bağlı olarak %62 ile %76 arasında değişmektedir (Barrière vd., 2003).

Mısır silajı silolanmış mısır bitkilerinden yapılır. Geviş getiren hayvanlar için en değerli yemlerden birisidir ve ılıman bölgelerden tropik bölgelere kadar mısırın yetişebildiği her yerde kullanılır. Süt sığıruları, koyunlar ve keçiler de dahil olmak üzere tüm geviş getiren hayvan sınıfları için lezzetli, sindirilebilirliği ve enerjisi yüksek bir yem kaynağıdır (Roth vd., 2001).

Mısırın silaj yapımı için en uygun hasat zamanı tanelerin nişasta birikiminin aşağı yukarı tamamlandığı dönemdir. Bu dönem, tahıl tanesinin katı ve sıvı kısmı arasındaki süt çizgisinin görülmesiyle belirlenir. İyi bir mısır silajı sindirilebilir enerji içeriği yüksek, lezzetli olmasının yanı sıra sindirilebilir protein bakımından kısmen düşüktür (Kellems ve Church, 2010)

1.5. Ruminatlarda Sindirim Sistemi Anatomisi ve Fizyolojisi

Ruminantlar retikulum, rumen ve omasum adı verilen üç ana ön mideden ve abomasumdan oluşmaktadır (Şekil 1.2). Yeni doğan ruminatlarda, rumen ve retikulum kısmen gelişmiştir (Diler vd., 2007). Süt, özefagus veya retiküler oluk olarak bilinen tüp benzeri bir doku katıyla (sulkus özefagikus) doğrudan omasum ve abomasuma gelmektedir. Genç ruminatlarda sindirim sisteminin gelişimi rumendeki toplam bakteri sayısına ve rumenin anatomik olarak gelişimine bağlıdır (Sarıpınar ve Sulu, 2005). Rumendeki papilla gelişimi konsantre yemler tarafından, kassal gelişimi ise kaba yemler ile sağlanır (Aydilek, 2021). Ruminantlar katı yiyecekler yemeye başladığında, rumen ve retikulum yetişkinlerde midenin toplam kapasitesinin %85'ini oluşturana kadar büyük ölçüde gelişirler. Kaba yem tüketimi kas gelişimine katkı sağlar. Gıdanın rumendeki mikroorganizmalar tarafından fermentasyonu sonucu uçucu yağ asitleri (asetik asit, propiyonik asit, bütirik asit) oluşur. Özellikle konsantre yemlerin fermentasyonundan elde edilen bütirik asit, rumen duvarındaki papilla oluşumuna katkı sağlar. Papilla, besinlerin emilmesi için yüzey alanını artıran küçük parmak benzeri çıkıntılardır. Böylece, lifli ve nişastalı yemlerin bir kombinasyonu rumen gelişimini teşvik eder ve süttten kesme sürecine yardımcı olur (McDonald, 2010; Reece ve Swenson, 2008).

Ruminant dişleri ve çiğneme hareketleri, selüloz içerikli gıdaların verimli bir şekilde parçalanması için uyarlanmıştır. Günlük üretilen ortalama tükürük miktarı sığırlarda 60-160 l, koyunlarda 6-16 l'dir (Reece ve Swenson, 2008). Ruminant tükürüğünün pH'sı ortalama 8.1'dir. Ruminant tükürüğünde tek midelilerden farklı olarak üre bulunmaktadır. Rumen fermentasyonu sonucu ortaya çıkan UYA tükürük sayesinde tamponlanarak rumen sıvı pH'sı fermentasyon için uygun olan 5.7-6.8 aralığında tutulur

(Aydilek, 2021). Ruminant tükürüğü amilaz içermez (Kleinschmidt, 2009). Tükürükte bulunan fosfat ve bikarbonat tampon görevi görür; ek olarak, asitlerin ve yemdeki amonyağın hızlı emilmesi rumen pH'sının stabilize edilmesine yardımcı olur (McDonald, 2010).

Gıdanın parçalanması kısmen fiziksel, kısmen de kimyasal yollarla gerçekleştirilir. Rumenin içeriği sürekli olarak duvarlarının ritmik kasılmaları ile karıştırılır. Geviş getirme sırasında ön uçtaki içeriğin yemek borusu yoluyla tekrar ağza gelip çiğnenerek tekrar yutulması aktivitesine ruminasyon denilmektedir. Ruminasyon, yem partikül büyüklüğünün küçültülmesi ve rumende meydana gelebilecek asit ortamın önlenmesi için tükürük üretiminin artırılması gibi olumlu etkilere sahiptir. Herhangi bir sıvı hızla tekrar yutulur, ancak daha iri materyal rumene geri döndürülmeden önce iyice çiğnenir. Hayvanın geviş getirmesini sağlayan ana faktör muhtemelen rumen epitelinin dokusal uyarılmasıdır. (McDonald, 2010). Geviş getirme günde yaklaşık 8-10 saat sürer. Kaba yemin yetersiz olması ve/veya ince kıyılmış olması geviş getirme için yeterli uyarımı sağlayamayabilir. Böyle durumlarda günlük ruminasyon 3 saat veya daha az olabilir (Reece ve Swenson, 2008).

Retikülo-rumen içeriği, anaerobik bakteriler, protozoa ve mantarlar için sürekli bir kültür sistemi sağlar. Yem ve su rumene girer ve gıda, temelde uçucu yağ asitleri, mikrobiyal hücreler ile metan ve karbondioksit gazlarını vermek üzere kısmen fermente edilir. Gazlar geğirme ile kaybolur ve uçucu yağ asitleri esas olarak rumen duvarı yoluyla emilir. Bozulmamış gıda bileşenleri ile birlikte mikrobiyal hücreler abomasuma ve ince bağırsağa geçer; burada konakçı hayvan tarafından salgılanan enzimler tarafından sindirilirler ve sindirim ürünleri emilir. Kalın bağırsakta ikinci bir mikrobiyal sindirim aşaması vardır. Kalın bağırsakta üretilen uçucu yağ asitleri emilir, ancak mikrobiyal hücreler sindirilmemiş gıda bileşenleriyle birlikte dışkı ile atılırlar (McDonald, 2010).

Rumen sıvısında her mililitre başına 10^9 - 10^{10} adet bakteri bulunur. Bu bakterilerin çoğu spor oluşturmeyen anaeroblardır. Toplam bakteri sayısı ve türü hayvanın rasyonuna göre değişir. Kolay fermente olabilen konsantre yemlerce zengin rasyon verilmesi halinde amilolitik bakteriler üreyerek laktik asit üretimini artırır. Rumen sıvısı pH değerinin 5.5'in altına düşmesi halinde ise *Lactobacillus* türlerinin çoğalmasına neden

olur (McDonald, 2010). Kaba yemce zengin beslenen hayvanlarda ise *Ruminococcus albus*, *Fibrobacter succinogenes* gibi selülitik bakteriler çoğalır. Ortamda yeterli nişansta ve amonyak bulunduğunda ise amilolitik bakteriler (*Ruminococcus amylophilus*, *Prevotella ruminicola* vb.) çoğalmaktadır (Aydilek, 2021).

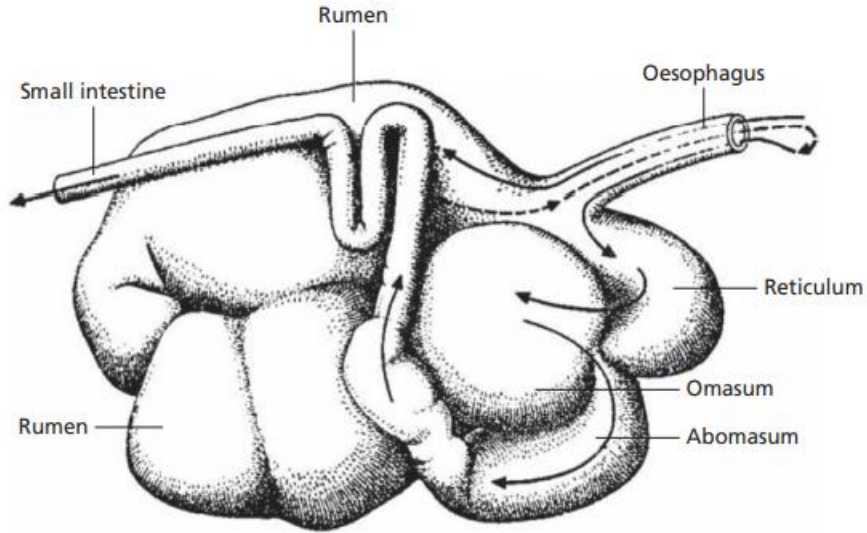
Protozoa, bakterilerden çok daha az sayıda (10^6 / ml) bulunur, ancak daha büyük olmaları nedeniyle, toplam kütle olarak ikinci sırada yer alır. Rumende 100'den fazla protozoa türü tespit edilmiştir (McDonald, 2010). Rumen protozoonları genel olarak kolay eriyebilir karbonhidratları tercih eden holotrişler ve yapısal karbonhidratları tercih eden oligotrişlerden oluşmaktadır. Protozoonlar yemlerin sindirimini artırır. Bunun yanında rumende tutularak protein yararlanımını azaltırlar. Rumende kalan protozoonların bir kısmı parçalanarak mikroorganizmalar tarafından kullanılırken bir kısmı ise abomasumda parçalanarak kaliteli protein kaynağı olarak kullanılır (Aydilek, 2021). Konsantre yem açısından zengin rasyonlar kolayca sindirildiğinden ve uçucu yağ asitleri (UYA) konsantrasyonu hızla yükseldiğinden rumen pH'sı hızla düşebilir. Farklı protozoa türlerinin farklı pH toleransları vardır, ancak protozoa pH 5.5 veya altında tamamen elimine edilirler (Dryden, 2008).

Rumenin mantarları, anaerobiktirler ve yaşam döngüleri hareketli bir faz (zoospor olarak) ve vejetatif bir faz (sporangium) içerir. İkinci fazda, hücre duvarlarına nüfuz edebilen rizoidler tarafından gıda parçacıklarına bağlanırlar. Tipik olarak *Neocallimastix* cinsine ait olanlar olmak üzere en az 12 suş tanımlanmıştır. Rumen mantarları, çoğu polisakkaridi ve birçok kolay eriyebilir karbonhidratları kullanabilir. Bu mantarlar tarafından kullanılmayan bazı karbonhidratlar pektin, poligalakturonik asit, arabinoz, fukoz, mannoz ve galaktozdur. Rumen mantarlarının gıdanın fermantasyonuna katkısı henüz ölçülmemiştir, ancak rasyon selüloz bakımından zengin olduğunda sayılarının arttığı bilinmektedir (McDonald, 2010).

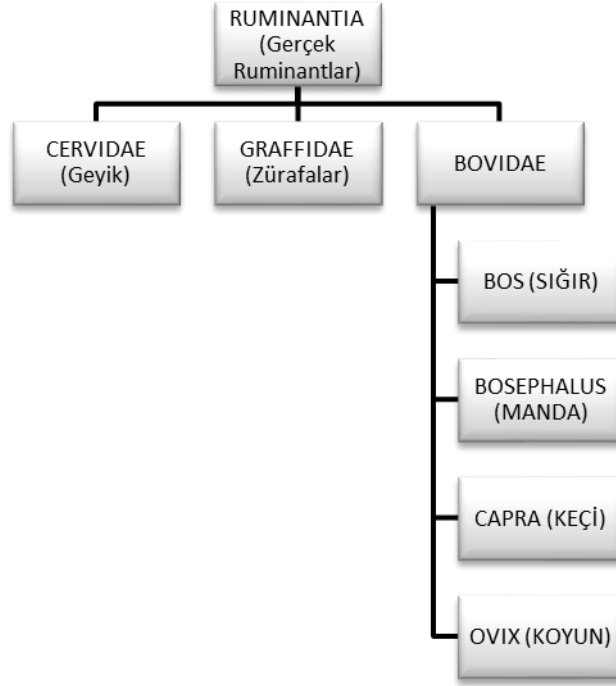
Hayvan türleri arasında sindirim organlarındaki farklılıklar yemlerin sindirilme derecesi üzerinde etkilidir (Karabulut ve Canbolat, 2005). En önemli fark ise ham selülozun sindirilme derecesidir. Selülozca fakir yemler, ruminantlar ve nonruminantlar tarafından aynı oranda sindirildiği halde (Ergün vd., 2017); selülozca zengin yemler ruminantlarda tek midelilere oranla rumen mikroorganizmaları tarafından salgılanan selülaz enzimi sayesinde daha iyi sindirilmektedir (Karabulut ve Canbolat, 2005). Gerçek

ruminantların sindirim sistemlerine göre sınıflandırılması Şekil 1.3’de gösterilmiştir (Reece ve Swenson, 2008).

Rumende 2 tür kontraksiyon hareketi mevcuttur. Bunlardan birisi karıştırıcı olarak da bilinen primer kontraksiyon (A dalgası) hareketleridir. Primer hareketlerin işlevleri, yem partikülleri ile tükürük karışımını sağlamak, mikroorganizmaların yem partiküllerine ulaşımını kolaylaştırarak enzim aktivitesini artırmak, sindirilmiş ürünlerin papillalara ulaşımını kolaylaştırarak emilimin artmasını sağlamaktır. Sağlıklı ruminantlarda her biri 30-50sn süren 2dk içerisinde 3 kontraksiyon gerçekleşir. Bir diğer kontraksiyon hareketi ise geçirme (eruktasyon) olarak da bilinen sekonder kontraksiyon (B dalgası) hareketleridir. Bu kontraksiyonlar rumen içi gaz basıncına duyarlı reseptörler yoluyla gerçekleşir. Geçirme kasılmaları 3-5 kez gerçekleşen karıştırıcı kasılmalar sonrasında oluşur ve yaklaşık 30sn sürer (Aydilek, 2021).



Şekil 1.2: Ruminantların rumen, retikulum, omasum ve abomasumunun sindirim akışı (McDonald, 2010).



Şekil 1.3: Gerçek ruminantların sindirim sistemlerine göre sınıflandırılması (Reece ve Swenson, 2008)

1.5.1. Manda ve Sığırların Sindirim Sistemi Anatomisi ve Fizyolojisi

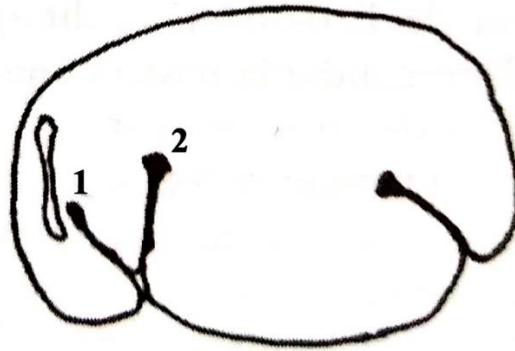
Mandalarda *os parietale*, kafanın önüne doğru yuvarlak bir şekilde ilerler. Bu sayede lignin oranı yüksek olan kaba yemleri kolayca koparıp ağızlarına alabilirler (Bülbül vd., 2017). Manda tükürüğü izotonik yapıda olup sığır pH'sından yüksektir. Sığır tükürük pH'sı 6.2-6.8'ken mandanınki 7.0'dır (Presicce, 2017). Mandaların rumen hareketleri sığırlara kıyasla daha yavaştır. Mandalar sığırlardan %53 daha fazla geviş getirirler. Mandalarda rumen içeriğinin rumende tutulma süresi sığırlara kıyasla %35 daha kısadır. Mandalar selüloza bağlı olan proteinleri sığırlara kıyasla daha iyi değerlendirirler. Mandalarda toplam rumen siliyat protozoon sayısı 3.68×10^5 iken, sığırlarda 2.18×10^5 'tir (Bülbül vd., 2017).

Sığırlarda ruminoretiküler kıvrım koyunlara göre daha aşağıda şekillenmiştir. Rumenin ventral bölümü ise ventral kese ve kaudo-ventral keseden oluşur (Şekil. 1.4) Rumen ve retikulum sol bölümde olmasına karşın dolgunluğa bağlı olarak sağa ve aşağıya doğru geçebilir (Reece ve Swenson, 2008).

Manda, kalitesiz kaba yemleri kullanmak için sığırlardan daha iyi bir sindirim kabiliyetine sahiptir (Wang vd., 2020). Manda (*Bubalus bubalis*) beslenme programları öncelikle yüksek kaba yem içeriğine dayalıdır (Costa, 2012).

Mandalar rumenlerinde bulunan mikrobiyal çeşitliliğin fazla olması sebebiyle, kalitesiz kaba yemleri sığırlara göre daha iyi değerlendirirler (Van Soest, 1994). Yalnızca sağım aşamasında verilen konsantre yemler bazen dengesiz bir rumen ortamına, zayıf sindirime neden olabilir ve üretim maliyetini de artırabilir (Anjum, 2018).

Aynı enerji içeriğine sahip rasyonlar için, mandaların sığırlara göre daha az proteine ihtiyaç duymaları, mandalardaki daha yüksek mikrobiyal protein sentezi oluşması ile ilişkilendirilmiştir. Mandanın daha verimli olmasının birkaç nedeni vardır. Bunlar, amonyak-azotun kullanımı için daha elverişli ruminal özellikler, çözünür karbonhidratlar tarafından selüloz sindiriminin daha az inhibisyonu, stresli ortamlarla baş etmede üstün yetenek ve kaba yem kaynaklarına daha kolay uyum sağlamasıdır. Aynı enerji içeriğine sahip rasyonlar için mandanın besi sığırlarından daha az protein gerektirdiği bildirilmiştir. Bu, manda rumeninde daha yüksek mikrobiyal protein sentezi nedeniyle bağırsakta daha yüksek protein mevcudiyetinin bir yansıması olabilir. Asetik ve bütirik asitlerin UYA üretimi, manda rumen sıvısı inek rumen sıvısına göre önemli ölçüde daha düşük olduğu bildirilmiştir (Calabro vd., 2004).

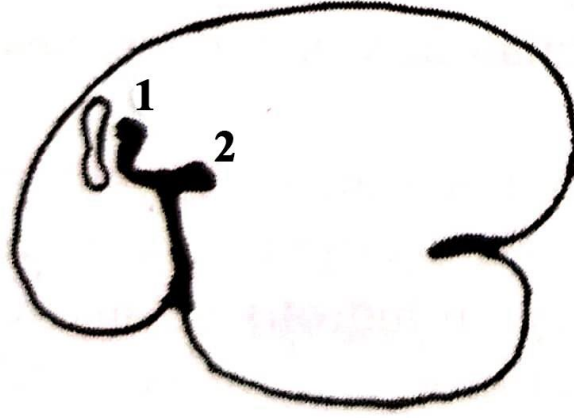


Şekil 1.4: Sığırlardaki ruminoretikulumun şematik görüntüsü. Rumen ile retikulum arasındaki temel bariyer (1). Kranial sütun (2). (Reece ve Swenson, 2008)

1.5.2. Koyun ve Keçilerin Sindirim Sistemi Anatomisi ve Fizyolojisi

Koyun ve keçilerin sindirim sistemi anatomi ve fizyolojileri benzerlik göstermektedir. Koyun ve keçiler dudaklarının sığırlara kıyasla daha esnek ve ince olmasından dolayı bitkileri daha iyi kavrayarak koparabilirler. Keçilerin dil kökleri yapışık olmadığı için dillerini dışarı rahatlıkla dışarı çıkarabilirler. Keçi ve koyunların üst çenelerinde kesici diş yerine *pulvinus dentalis* (diş yastığı) vardır. Keçiler ön dişlerinin dışı doğru eğimli olmasından dolayı ağaç kabuklarını da kemirebilirler. Koyun ve keçilerin tükürük salgısı günlük 6-16 g/l aralığındadır. Keçiler koyunlara kıyasla konsantre yemleri daha çok tercih ederler. Bu sebeple rumen fermentasyonları daha hızlıdır dolayısıyla tükürük bezleri daha çok gelişmiştir. Tükürük salgısındaki bu farklılık lignoselülotik besin sindirimini de etkilemektedir. Koyun ve keçiler doğumdan sonraki ilk haftalarda katı yem tüketip geviş getirmeye başlar. Keçiler düşük kaliteli kaba yemleri daha iyi değerlendirirler. Bunun sebebi anatomik yapı, tükürük miktarı ve kompozisyonu rumendeki amonyak düzeyi, rumendeki mikrobiyal aktivite gibi sebeplerdir (Aydilek, 2021).

Keçiler hem kaba yem hem konsantre yem tüketen grubundadır. Keçilerin kaba yemleri sindirim kapasitesi, konsantre ve kaba yem tüketicileri arasındadır. Bu grupta yer alan keçiler asidoz riskinden koruyan yüksek tükürük salgısı, rumen epitelinin geniş emilim yüzeyi gibi özelliklere sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı keçiler çok çeşitli beslenme koşullarına uyum sağlayabilirler. Ayrıca keçiler, mevcut yemler arasından en yüksek protein içeriğine ve en yüksek sindirilebilirliğe sahip bitki kısımlarını seçebilmektedir (Francesconi, 2007; Goetsch, 2019). Koyunlarınki ise sığır ve keçiler arasındadır. *Caprinae* alt familyasından olan koyun ve keçiler kromozom sayıları ile birbirinden ayrılırlar (Koyunlar 54, keçiler 64 diploid kromozom) (Aydilek, 2021). Koyunlarda ruminoretiküler kıvrım sığırlara göre daha yüksektedir ve retikulum ile dorsal kese arasında bariyer oluşturur (Şekil 1.5) (Reece ve Swenson, 2008).



Şekil 1.5: Koyunlardaki ruminoretikulumun şematik görüntüsü. Rumen ile retikulum arasındaki temel bariyer (1). Ruminoretiküler katlanma (2). (Reece ve Swenson, 2008)

1.6. Ruminantlarda Karbonhidrat Sindirimi

Geviş getirenlerin beslenmesi önemli miktarlarda selüloz, hemiselüloz, nişasta ve fruktan şeklinde olan suda çözünür karbonhidrat içerir. Kaba yemlerde, selüloz ve hemiselüloz oranı çok daha yüksek, suda çözünür karbonhidratların oranı çok daha düşüktür. Rumende, karbonhidratlar çeşitli yollarla piruvik aside hidrolize edilir ve daha sonra asetik, propiyonik ve bütirik asitlere fermente edilir (Şekil 1.6). Üretilen yağ asitlerinin çoğu doğrudan rumen, retikulum ve omasumdan emilir, ancak yüzde 10-20'si abomasumdan geçebilir ve ince bağırsakta emilebilir. Konsantre yemlerin fazla olduğu rasyonlarda, laktat rumende birikebilir ve hayvanı asidoza sürükleyebilir. Kaba yemlerin yüksek oranda (yaklaşık %70) bulunduğu rasyonlarda asetik asit oranı artmaktadır. Konsantre yemlerin yüksek oranda (yaklaşık %60) bulunduğu rasyonlarda ise propiyonik asit oranı artmaktadır (McDonald, 2010).

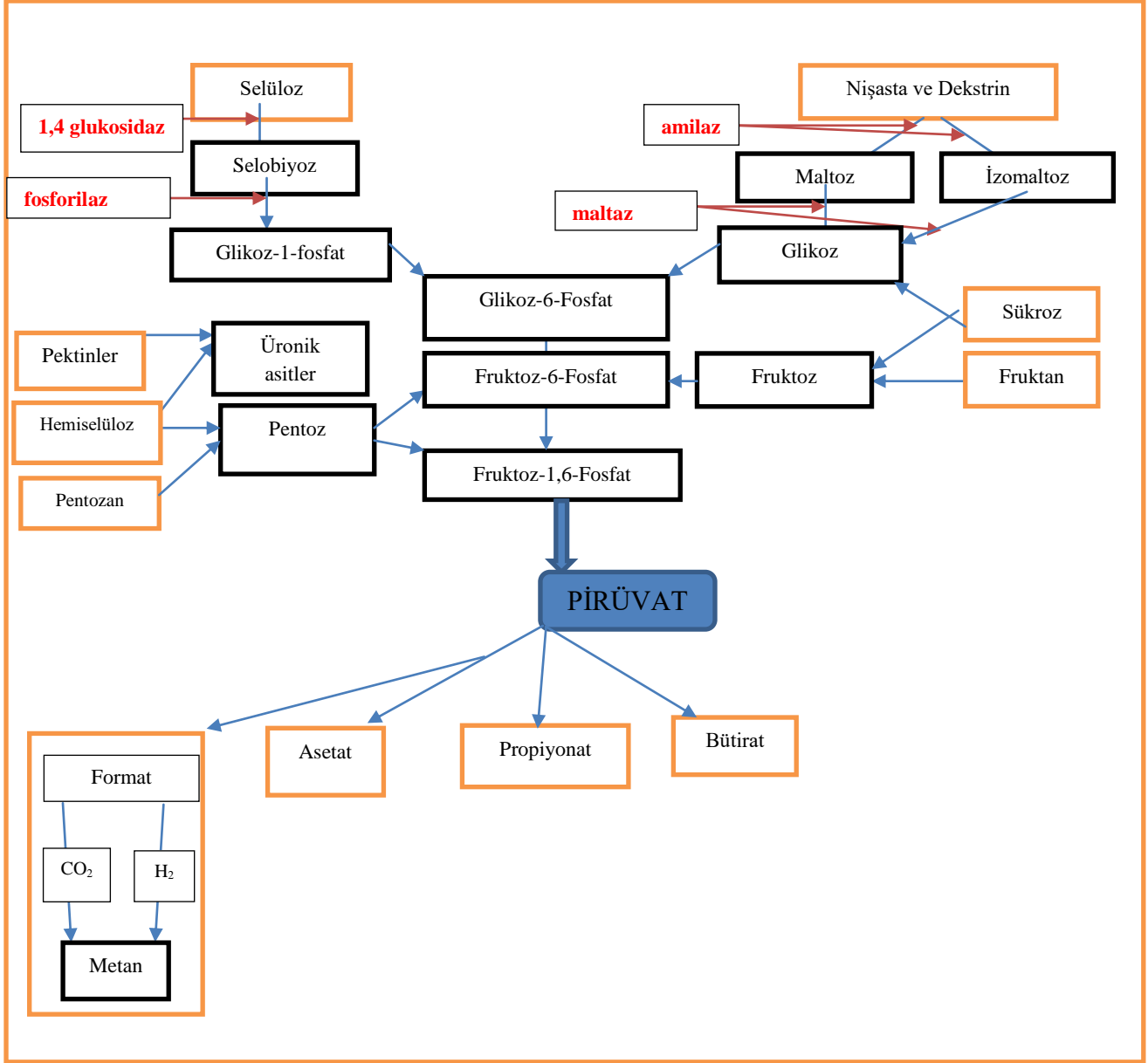
Selülozun rumende sindirilme derecesi, özellikle bitki materyalinin odunlaşma derecesine bağlıdır. Lignin ve aynı zamanda ilgili madde olan kütin, muhtemelen düşük oksijen içeriği ve yoğunlaştırılmış yapısı (hidrolizi inhibe eden) nedeniyle anaerobik bakterilerin saldırısına karşı dirençlidir. Selüloz gibi yapısal karbonhidratların sindirimi,

rumende gerçekleşen en önemli sindirim sürecidir. Ruminantların enerji metabolizmasına katkıda bulunmasının yanı sıra, sindirime uğramayacak diğer besin maddelerinin enzim etkisine maruz kalmasını sağlar (McDonald, 2010).

Ruminantların sindirim açısından, özelleşmiş sindirim sistemleri ve buraya yerleşmiş bakteri, protozoa ve mantar gibi mikroorganizmalar sayesinde selüloz, hemiselüloz gibi yapısal karbonhidrat unsurlarını sindirerek, gıda formlarına (et, süt gibi) dönüştürebilmeleri gibi avantajları vardır. Ancak bunun yanında metanogenezisin (metan oluşumu), besin maddelerinin yetersiz sindirimi ve azot kaybı gibi bazı sorun teşkil eden yönleri de vardır (Khampa ve Wanapat, 2007).

Ruminasyon aktivitesine harcanan zamanın daha uzun olması, kaba yem oranının, kaba yem türünün ve bu yemin rumende kalma süresinin artması ile açıklanabilir. Van Soest'e (1994) göre, bir hayvanın geviş getirme faaliyetinde geçirdiği süre, rasyonun doğasından, rasyonun fiziksel biçiminden ve NDF miktarından etkilenir. Bu etki, kaba yem oranının yüksek olmasına rağmen, yemin rumende kalma süresinde bir artış olmadığı için bu çalışmada tespit edilmemiştir (Li vd., 2013).

Yapılan bir çalışmada (Bueno vd., 2015), manda rumen sıvısı haricindeki büyükbaş geviş getiren hayvanların (süt sığırı ve dana) rumen sıvılarının, küçükbaş geviş getiren hayvanların (keçiler ve koyunlar) rumen sıvılarına kıyasla daha fazla metan üretimi olduğu görülmüştür. Küçükbaş geviş getirenlerin metan gazındaki azlığı mikrobiyotaların lifli karbonhidratları sindirmedeki yetersizliğine bağlanırken; mandalardaki metan üretiminde gözlemlenen azalmanın ise, daha büyük rumen boyutuna sahip olmalarından kaynaklanan üstün sindirim sistemleriyle ilişkilendirilmiştir (Van Soest, 1994).



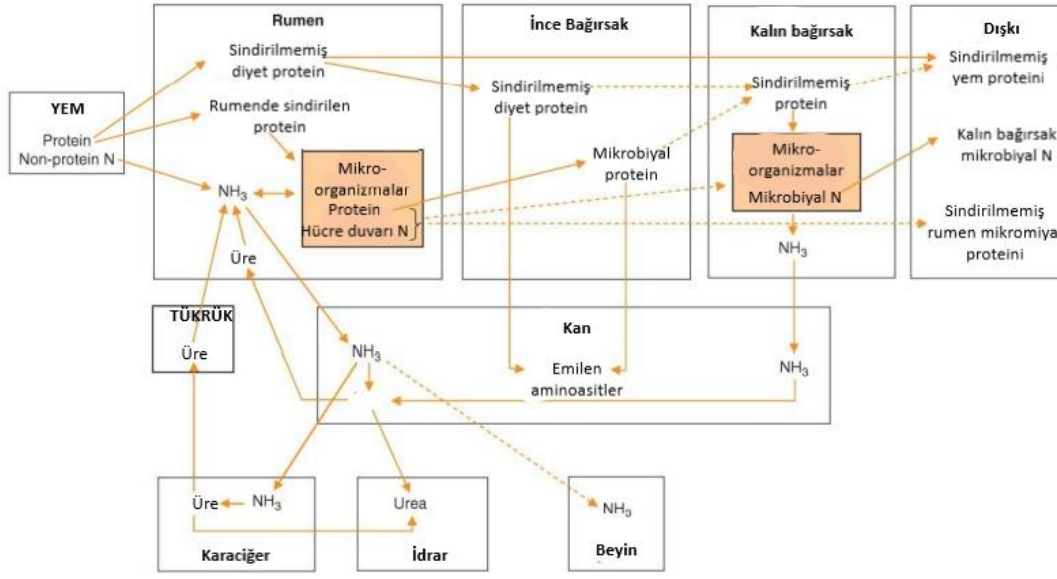
Şekil 1.6: Rumende karbonhidratların pirüvata dönüşümü ve pirüvatin rumende uçucu yağ asitlerine dönüşümü (McDonald, 2010).

1.7. Ruminatlarda Protein Sindirimi

Ruminantlarda yemden alınan proteinin bir kısmı rumende parçalanmadan abomasuma geçerken, bir kısmı ise mikroorganizmalar tarafından amonyak, peptit ve aminoasitlere kadar parçalanırlar. Oluşan amonyak rumen duvarından emilerek vena porta yoluyla karaciğere getirilir. Amonyak karaciğerde üreye dönüştürülür. Ürenin bir kısmı böbrekler tarafından idrar ile atılırken bir kısmı ise tükürük ve kan dolaşımıyla rumene gelerek mikroorganizmaların ürettiği üreaz enzimiyle parçalanarak karbondioksit ve amonyak meydana gelir. Bu sürece rumenohepatik azot dolaşımı denir (Aydilek, 2021). Yem ile alınan proteinin bir bölümü rumende yıkılmadan abomasuma geçerken, bir bölümü mikroorganizmalarca amonyak, aminoasit ve peptitlere parçalanır. Amonyak rumen duvarından emilerek vena porta ile karaciğere ulaşır. Ruminohepatik azot dolaşımı olarak bilinen bu süreç, geniş getiren hayvanlarda nitrojen kullanımının verimliliğini en üst düzeye çıkarmaya yardımcı olur (Wu, 2017) (Şekil 1.7).

Rasyondaki proteininin rumende ne ölçüde yıkıldığı çok fazla tartışma konusu olmuştur. Taze kaba yemlerde ribuloz-1,5-bifosfat karboksilaz (Rubisco veya fraksiyon 1 proteini) başlıca proteindir ve birçok çalışma bu proteinin mikrobiyal proteazların etkisine karşı oldukça duyarlı olduğunu göstermiştir (Dryden, 2008).

Yem tüketiminin artması, yemin rumende kalış süresini azaltır. Bu durum bağırsaklarda bozulmadan hayatta kalan rasyon proteininin oranının artmasına neden olur. Mikrobiyal protein sentezi, esas olarak amonyak ve amino asit mevcudiyetine bağlıdır. Sonuç olarak, mikrobiyal biyokütle, ya yıkılmamış yem parçacıklarına bağlı olarak ya da sindirilmiş sıvı fazda serbest yüzerek ince bağırsaklara geçer (Dryden, 2008).



Şekil 1.7: Ruminantlardaki N dolaşımı (Dryden, 2008)

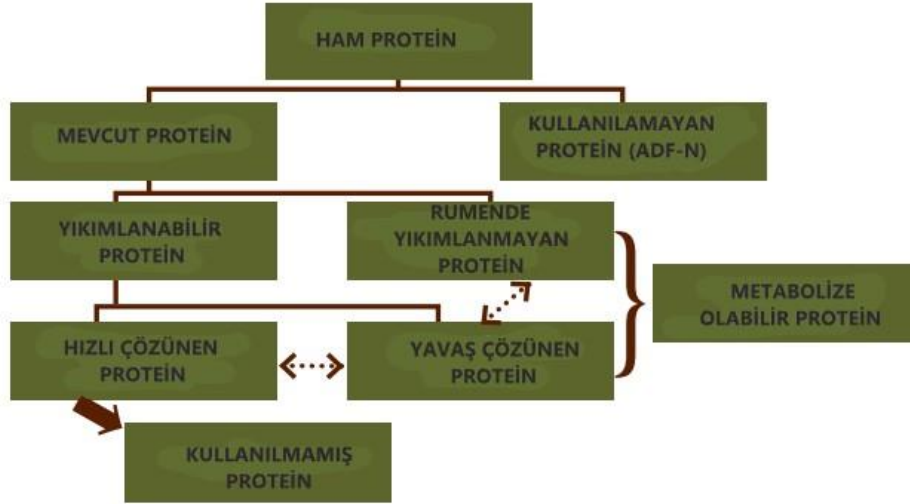
Geviş getiren hayvanlarda protein ile ilgili bazı kavramlar Çizelge 1.1'de verilmiştir. Metabolize Protein (MP), amino asit tedarikini amino asit gereksinimlerine bağlayan kavramdır. Hayvanın ihtiyaç duyduğu amino asit miktarı, mikrobiyal protein (MCP) ve rumende parçalanmayan protein (UDP) karışımı olarak rasyondan elde edilen MP miktarı ile karşılaştırılır. Bir eksiklik varsa ve gereğinden az MCP üretilmişse aradaki fark ekstra UDP ile kapatılmalıdır (Dryden, 2008).

Çizelge 1.1: Geviş getiren hayvanlarda protein ile ilgili kavramlar (Dryden, 2008).

Kavram	Sembol	Tanım
Yemin protein sindirilebilirliği	dg	Rumende bozulan gıda proteini oranı; 'etkili bozunabilirlik' (Edg), sindirilmemiş gıdanın işkembeden geçiş hızına göre dg düzeltilmiştir.
Rumende parçalanmış (yıkılan) protein	RDP	Rumende yıkılan protein
Rumende parçalanmayan protein (bypass protein)	RUP-UDP	Rumende yıkılanmayan protein
Mikrobiyal ham protein	MCP	Ham protein olarak ifade edilen toplam mikroorganizma azotu
Metabolize Protein	MP	Retikülo-rumenden ayrılan ve abomazum ve ince bağırsakta sindirilebilen mikrobiyal (esas olarak bakteriyel), endojen ve bozulmamış gıda proteininin toplamı; herhangi bir protein olmayan N'yi hariç tutar
Kullanılmayan protein	ADF-N	Kullanılmayan protein (ADF-N ve Bağlı Protein) proteinin hayvan tarafından kullanılmayan ve dışkıya geçen kısmıdır. ADF'ye bağlı azot olarak ölçülür.
Hızlı Çözünen Protein (SIP):		Yıkılan proteinin rumende hızlı bozulan kısmı.
Yavaş Çözünen Protein:		Yıkılan proteinin rumende yavaş bozulan kısmı.

Peptitler, amino asit yapı taşları olan kısa zincirlerdir. Amonyak, nitratlar ve üre, geviş getiren hayvanın N havuzuna önemli katkıda bulunan bileşiklerdir. Eski ham protein testinin özgünlüğünün olmaması, mevcut nitrojen formlarını mevcut olmayanlardan ayırt edememesiyle birleştiğinde, NRC (1989) tarafından benimsenen ve Cornell Sistemine dayanan yeni bir protein sisteminin geliştirilmesine yol açtı. Sistemin geliştirilmesinde, birkaç yeni terim tanıtıldı ve protein bileşenlerini tanımlamanın birkaç

farklı yolu geliştirildi. Aşağıda gösterilen şemada yemin protein içeriğinin fraksiyonlara ayrımı gösterilmiştir (Şekil 1.8)



Şekil 1.8: Protein Kategorileri (Cornell Sistemine göre) (Kleinschmidt, 2009)

1.7.1. Rumende Yıkımlanmayan Proteinler (RUP) ve Sindirilebilirliği

Birçok mikroorganizma, özellikle selülitik bakteriler, NH_3 'a ihtiyaç duyar. Bu ise, rumende parçalanmış gıda proteininin fraksiyonundan elde edilir. Yemdeki tüm protein tamamen parçalanamaz ve sindirilemez; yıkımlanan proteine "rumende parçalanabilir (yıkımlanan) protein" (RDP; SCA, 1990) veya "parçalanabilir alım proteini" (DIP; NRC, 2000) denir. Rumendeki işlemlerin çoğu proteine değil azota (N) dayanır ve bazen RDP yerine 'rumende yıkımlanan N' ifadesi kullanılır. Mikrobiyal saldırıdan kaçan rasyon proteini 'rumende yıkımlanmayan rasyon proteini' (RUP), 'sindirilmeyen alım proteini' (UIP), 'bypass proteini' veya Fransız sisteminde 'bağırsakta gerçekten sindirilebilir protein' olarak adlandırılır. RUP açısından zengin bir rasyonla beslenmedikçe, abomazuma giren proteinin çoğu bakteriyeldir (Dryden, 2008).

RUP yavaş yıkımlanabilir ve rumende sindirimden kaçan proteinlerdir. Alt gastrointestinal (GI) yola bozulmadan ulaşır. Yıkımlanmayan protein, monogastrikte olduğu gibi GI yolunda parçalanır (Kleinschmidt, 2009).

Ruminantlarda sindirim çalışmaları, bağırsak ve sekum sindirimine kıyasla, kaba yemin toplam sindirilebilir organik maddesinin yaklaşık %60'ının rumende sindirildiğini göstermektedir (Dryden, 2008). Düşük kaliteli kaba yemlerde oran daha da yüksek olabilir: NaOH ile muamele edilmiş öğütülmüş buğday samanı için %80'e varan değerler rapor edilmiştir (Demeyer, 1981).

Rasyonunun toplam proteini şu bileşenlere ayrılabilir:

1. Hızla yıkımlanan protein (QDP) veya 'Fraksiyon A' proteini: Protein olmayan N içeriği (NRC, 2001) veya suda çözünür protein olarak tanımlanır. Kolay sindirilebilir fraksiyon olduğu varsayılır.
2. Yavaş yıkımlanan protein (SDP) veya "Fraksiyon B" proteini: Potansiyel olarak sindirilebilir suda çözünmeyen proteindir; Fraksiyon C proteini toplam protein ile QDP arasındaki fark ile hesaplanır.
3. Yıkımlanmayan protein veya "Fraksiyon C" proteini: Bu, rumen mikroorganizmaları veya bağırsak enzimleri tarafından sindirilemeyen proteindir. Rumende sindirimden kaçan potansiyel olarak sindirilebilir yem proteini olan UDP ile karıştırılmamalıdır (Dryden, 2008).

Bu fraksiyonları belirlemek için, test edilecek yem maddesini (havada kurutulmuş veya 55 °C'de kurutulmuş) içeren Dakron polyester torbalar (40-60 µm gözenek boyutu) rumende farklı sürelerle inkübe edilir. Rumenden çıkarıldıktan sonra torbalar durulanır ve torbadan "kaybolan" materyal sindirilmiş olarak kabul edilir. Fraksiyon A, yem içeren torbaların ılık (39 °C) suda 15 dk bekletirilir. Torbadan çıkan herhangi bir materyal çözünür olarak kabul edilir ve bu nedenle sindirildiği varsayılır. Fraksiyon C, potansiyel sindirilebilirliğin tam kapsamına ulaşmak için gerekli olanın çok ötesinde bir inkübasyon süresinden sonra kalan olarak belirlenir. Bu, tipik olarak, konsantre yemler için en az 48 saatlik ve kaba yemler için en az 72 saatlik inkübasyonla elde edilir. B fraksiyonu (potansiyel olarak sindirilebilir) daha sonra, inkübe edilen toplam materyale A ve C fraksiyonları çıkarılarak hesaplanır. Hesaplamaları kolaylaştırmak için, bu fraksiyonlar genellikle inkübe edilen toplam materyal miktarının yüzdeleri olarak ölçülür. Ruminal olarak parçalanabilen protein (RDP) miktarının hesaplanmasında iki temel bileşen vardır: bozunma hızı (Kd) ve geçiş hızı (Kp) (Millen vd., 2016).

1.8. Kaba yemlerin Sindirilebilirliğini Etkileyen Yem Katkı Maddeleri

Sindirimi düzenleyen ve yemden yararlanma oranını etkileyen yem katkı maddeleri arasında enzimler, organik asitler, bitkisel katkıları, probiyotikler, prebiyotikler, aromatik yem maddeleri ve ekstraktları, organik asitler bulunmaktadır (Cheeke, 1999).

Düşük sindirilebilirliğe sahip kaba yemlerin sindirilebilirliğini dolayısıyla da besleme değerini artırmak için farklı fiziksel (öğütme, peletleme, vb.), kimyasal (alkalilerle ve asitlerle muamele) ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Biyolojik yöntemlerden ise mantarlar, bakteriler ve enzimlerle (sellülaz, hemisellülaz, pektinaz ve ksilanaz vb. enzimlerle işleme) muameleler üzerinde çalışmalar olduğu bilinmektedir (Kalkan; Filya, 2011; Abdiwali ve Kılıç, 2018).

Çizelge 1.2: Kaba yem sindirilebilirliğini etkileyen bazı yem katkı maddeleri.

Hayvan Türü	Yem Katkı Maddesi	Kullanılan Yem	Kullanılan Metot	Doz	Kaynak
İnek	Sellülaz, Ksilanaz, BES, Monensin	Çayır Otu	RUSITEC	Sellülaz (0,2g), Ksilanaz(0,2g), BES (20.5 µmol veya 41 µmol), Monensin (20.5 µmol)	Dong vd., 2018
Koyun	Çemen otu tohumu, Kuşkonmaz kökü	Yonca samanı	Tilley Terry	0, %5, %10, %15 ve %20 (Kuru Maddede)	Nasari vd., 2013
İnek	<i>Trichoderma viride</i> kaynaklı sellülaz	Buğday samanı	Gaz Üretim Tekniği	%0, 0.2, 0.4, 0.6 ve 0.8 (Kuru Maddede)	Kalkan ve Filya, 2011
Boğa	<i>Lignin peroksidaz</i>	Buğday samanı, Soya samanı, Sorgum samanı	ANKOM Daisy II İnkübatör	Her 10 g saman için 1 birim enzim	Abdi ve Kılıç 2018
Kuzu	<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	Konsantre yem (%60) + Pirinç	Gaz Üretim Tekniği	Toz (20 g) veya sıvı (10 ml)	Hassan vd., 2020

		samanı (%40)			
Koyun	Probiyotik	Buğday Samanı, Buğday Kepeği	ANKOM Daisy II İnkübatör	% 0.1	Seifdavati vd., 2021
İnek	Formik asit	Sarkık yabancı çavdar (<i>Elymus nutans</i> Griseb.) silajı	Gaz Üretim Tekniği	3 g /kg	Zhang vd., 2017

*BES: a-bromoetansülfonat. RUSITEC: Rumen Stimulasyon Tekniği. Probiyotik: kurutulmuş *Lactobacillus plantarum*, şeker, kurutulmuş mantarlar, di-potasyum fosfat, glisin, magnezyum sülfat, sodyum alüminyum oksit, sodyum eritorbat.

Dong vd. (2018), BES'in sindirilebilirliği azalttığını, monensinin ise hem selüloz sindirimini hem de metan üretimini azalttığını ortaya koymuştur. Kalkan ve Filya (2011) fibrolitik enzim kullanımının buğday samanının besleme değerini artırdığı ve en iyi sonuçların 40°C sıcaklık uygulanarak sellülozla yapılan işlemlerin en yüksek dozlarında (%0,8) alındığını bildirmişlerdir. Abdi ve Kılıç (2018), lignin peroksidaz enziminin buğday samanı, soya samanı ve sorgum samanının lignin sindirilebilirliğini artırdığını ortaya koymuştur. Naseri vd. (2013), yonca samanı temelli bir rasyona çemen otu tohumu (*Trigonella foenum*) ve kuşkonmaz kökü (*Asparagus officinalis*) 'nün katılması sonrasında *in vitro* sindirilebilirlik ve fermentasyon parametrelerini değerlendirmiştir. Sonuç olarak, çemen otu tohumunun farklı inkübasyon sürelerinde *in vitro* organik madde (OM) sindirilebilirliğini artırdığını, 18 ve 24. saatlerde ise ham protein (HP) sindirilebilirliğini azalttığını bildirmiştir. Kuşkonmaz kökü kullanımında ise *in vitro* OM sindirilebilirliğinin arttığını ve farklı inkübasyon sürelerinde HP sindirilebilirliğinin ise azaldığını ortaya koymuştur. Hassan vd. (2020), ruminant yem katkı maddeleri olarak bakteriyel probiyotiklerin kullanılmasının kuru madde tüketimini, selüloz sindirilebilirliğini ve büyüme performansını artırabileceğini bildirmişlerdir. Seifdavati vd. (2021), probiyotik ile muamele edilen buğday samanı ve buğday kepeğinin kuru madde ve organik madde sindirilebilirliğini artırdığını bildirmiştir. Zhang vd. (2017), sarkık yabancı çavdar (*Elymus nutans* Griseb.) silajının 3 g/kg formik asit ile işlenmesinin kümülatif gaz üretimini artırdığını ancak *in vitro* rumen sindirilebilirliğini etkilemediğini bildirmiştir (Çizelge 1.2)

Günlük ortalama 8 litre süt veren 16 mandanın rasyonuna *Saccharomyces cerevisia* mayasının ilave edilmesinin süt verimi ve selüloz sindirilebilirliği üzerine etkisi araştırılan bir çalışmada, Grup 1 [mısır silajı+ günde 3 kg/hayvan konsantre yem (%16 ham protein ve % 72 toplam sindirilebilir besin (TDN)] ve Grup 2 [mısır silajı+ günde 3 kg/hayvan konsantre yem (%16 ham protein ve % 72 toplam sindirilebilir besin (TDN)+ *Saccharomyces cerevisiae* (günde 14 g /hayvan)] rasyonları ad libitum olarak verilmiştir. Sonuç olarak, silaj bazlı rasyonla beslenen mandalarda süt üretimi ve selüloz sindirilebilirliği üzerinde olumlu etkileri olmuştur (Anjum, 2018).

Ruminococcus albus, *Ruminococcus flavefaciens*, *Fibrobacter succinogenes* ve *Butyrivibrio fibrisovens* gibi selülitik bakteriler rumendeki bitki materyallerine yapışır ve bitki yapısındaki lif unsurlarının sindiriminden büyük ölçüde sorumludur (Kara vd. 2015). *Mycobacterium*, *Arthrobacter* ve *Flavobacterium* türü bakteriler lignini parçalayabilme özelliğine sahiptir (Atalar ve Çetinkaya, 2017).

Manda rumen sıvısından izole edilen *Fusobacterium sp.* Bakterileriyle *in vitro* gaz üretim tekniği kullanılarak yapılan çalışmada, yemlere bu tür bakterilerin ilavesinin metan oluşumunu azalttığı, selüloz sindirimini ise inkübasyon sıvısındaki selülitik bakteri ve mantarların sayısında hiçbir değişiklik olmaksızın artırdığı tespit edilmiştir (Paul vd., 2011).

Mannanoligosakkaritler (MOS), bağırsakta lokal olarak mayanın hücre duvarından türetilen mannan bazlı oligosakkaritleri içeren düşük katkılı bir yem katkı maddesidir. MOS'un hücrelere bağlanarak ve hücrelerin metabolizmasını bloke ederek ve bozarak hayvanlarda sindirimi ve bağırsak sağlığını iyileştirdiği bilinmektedir (Gill ve Holley, 2004). Probiyotiklerin toplam UYA'ları arttırdığı ve dolayısıyla selülitik aktiviteyi, mikrobiyal protein sentezini ve lif bozulmasını etkilediği bilinmektedir (Yoon ve Stern, 1995).

1.9. Prebiyotikler

Prebiyotikler, sindirilmeyen kompleks karbonhidrat olan oligosakkaritler (non digestible oligosaccharide, NDO) olarak tanımlanmaktadır (Kocaoğlu Güçlü ve Kara,

2009). Prebiyotiklerin son zamanlarda yapılan bir başka tanımını ise, sağlığa faydalı konakçı mikroorganizmalar tarafından seçici olarak kullanılan substrat şeklindedir. Prebiyotikler sindirim sistemindeki patojen mikroorganizmaların inhibisyonu, bağışıklık sistemi aktivasyonu, vitamin sentezi gibi faydalara sahiptir (Cherry vd., 2019). Esas olarak buzağuların beslenmesinde kullanılan prebiyotikler, uçucu yağ asitleri üreten karbonhidratları içermektedir. Bu da besinlerin sindirilebilirliğini ve dolayısıyla yem verimliliğini artırabilir (Singh vd., 2017).

1.9.1. Kitosan

Kitosan, kimyasal ve mikrobiyolojik yöntemlerle üretilen yengeç ve karides gibi kabukluların kabuklarından elde edilen kitinin deasetile edilmesiyle üretilen katyonik polisakkaritlerden biridir ve selülozdan sonra doğada en sık bulunan ikinci doğal polimerdir (Henry vd., 2015; Araújo vd.,2015). Bir prebiyotik olarak kullanılan kitosan antibakteriyel, antifungal ve antioksidan gibi özelliklere sahiptir. Aynı zamanda biyolojik olarak parçalanabilen kitosan, çevre dostu, toksik olmayan koruyucu bir filmidir ve yapışkandır (Sharafati-Chaleshtor ve Sharafati-Chaleshtori, 2017).

Kitosan, çeşitli bakteri, mantar ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Kitosan, dış zar proteinleri ile etkileşime girerek bakteri hücre zarı bozulmasına ve hücre ölümüne neden olur (Zanferari vd., 2018). Goiri vd. (2010) koyunlarda, Araújo vd. (2015) ise danalarda kitosan kullanımının rumen sıvısında propiyonat/asetat oranını düşürme potansiyelini göstermiştir. Uçucu yağ asitleri üretimi üzerindeki etkilerin yanı sıra, kanıtlar kitosanın rumendeki biyohidrojenasyonu azalttığını göstermektedir (Goiri vd. 2010).

Kitosan tek bir bileşik olarak düşünülmemeli, daha ziyade farklı deasetilasyon seviyelerine ve diğer fizik-kimyasal özelliklere sahip bir dizi bileşik olarak düşünülmelidir (Goiri vd., 2009a). Kitosan'ın önemli fonksiyonel aktiviteleri olduğu bilinmesine karşın kitosandan daha yüksek çözünürlüğe sahip olması nedeniyle kitosan oligosakkarit formu (KOS) geliştirilmiştir (Kim vd., 2005). KOS'in bağırsak mukozasında lokal yangılanmayı azalttığı, kompleks moleküllerin basit moleküllere yıkımlanmasına yardımcı olarak besin maddelerinin sindirim ve emilimini desteklediği

ve dolayısıyla performans üzerinde olumlu etki yarattığı tahmin edilmektedir (Bilal ve Keser, 2009).

Kitosan, ruminal fermantasyonu daha enerjik olarak verimli bir yola kaydırarak, iyonoforların benzer aktivitesini ruminal modülatör olarak gösterdiği için beslenme uzmanlarının ilgisini çekmiştir. Araújo vd. (2015), sığırların kitosan aldığı ruminal propiyonat konsantrasyonunda doğrusal bir artış olduğunu ve kuru madde, ham protein ve NDF sindirilebilirliğini artırdığını bildirmiştir

ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından 4 Eylül 2012 tarihinden beri genel olarak güvenli (GRAS) olarak kabul edilmektedir (GRN 443; FDA, 2012). Bu sebeple antibiyotiklere alternatif olarak kullanılmasına izin verilmiştir.

Çalışmalar, geniş getiren hayvanlara yönelik rasyonlarda kitosanın kullanımının, görünür sindirilebilirlik ve rumen fermantasyon parametreleri üzerindeki etkisini göstermiştir (Araújo vd., 2015; Dias vd., 2017; Paiva vd., 2016; Mingoti vd., 2016; Vendramini vd., 2016).

1.10. Kaba Yemlerin Sindirilebilirliklerinin Belirlenme Yöntemleri

Yemlerin kaliteleri değerlendirilirken yemlerin besin madde bileşimini bilmek yetersiz kalmaktadır. Bu sebeple yemlerin asıl değerini ortaya koyabilmek için besin maddelerin ne kadarının hayvan tarafından sindirildiği ve ne kadarının yararlanıldığı da bilinmelidir (Canbolat, 2012). Yem kalitesi, konsantre seviyesi, besin madde sindirilebilirliği ve yem tüketimi birbiriyle ilişkilidir. Aynı zamanda rumende enterik CH₄ üretimini doğrudan etkiler (Degola ve ak., 2016).

Ruminantlarda yem tüketimi, yemin lezzetine ve sindirilebilme derecesine bağlıdır (Şanlı, 2011). Yemlerin sindirilme derecesini yeme ve hayvana bağlı olarak çeşitli faktörler etkilemektedir. Yem kalitesini belirleyen en önemli unsurlardan birisi olan sindirilebilirliğin doğru ve güvenilir bir şekilde belirlenebilmesinde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Garipoğlu, 2015). Bu yöntemler *in vivo*, *in situ* ve *in vitro* yöntemlerdir (Gültepe ve Bayram, 2017).

1.10.1. *İn-Vivo* Yöntemler

Canlı hayvan üzerinde çalışılan *in vivo* yöntemler, dışkı toplama yöntemi, fark yöntemi ve indikatör yönteminden oluşur (Karabulut ve Canbolat, 2005). *In vivo* yöntemler güvenilir olmakla birlikte; zor, zahmetli, pahalı, iş gücü sarfiyatının fazlalığı, deneme şartlarının kontrol altında tutulmasının güçlüğü, çok fazla yem örneğine ihtiyaç duyulması gibi dezavantajlara sahiptir (Ørskov vd., 1980; Getachew vd., 1998)

Sindirim denemeleri doğru bir şekilde yapıldığı zaman, bir yemin besleyici değerini belirlemede kimyasal analizlerle yapılanlardan daha doğru sonuçlar alınır. Klasik *in vivo* sindirim denemelerinde bazı besin maddelerinin değerini endojen sekresyondan (sindirim sistemi salgılarından) dolayı gerçek değerinden daha düşük ölçülürken, rasyondaki bazı organik maddelerin metan gibi gazlara dönüşmesi sebebiyle ise olduğundan daha fazla ölçülür (Cheeke, 1999; Kellems ve Church, 2010).

Aşağıdaki formül, sindirim sistemi salgıları hesaba katılması gerekmeyen belirli bir besin için kullanılan klasik *in vivo* sindirilebilirlik hesaplamasıdır (Ahern, 2014).

$$\% \text{Besin madde sindirimi} = \frac{\text{Tüketilen besin maddesi (kg)} - \text{Dışkıdaki besin maddesi (kg)}}{\text{Tüketilen besin maddesi (kg)}} \times 100$$

Mandalarda düşük kaliteli kaba yemlerin sindirilebilirliğini belirlemek amacıyla daha uygulanabilir bir yöntem bulmak amacıyla yapılan çalışmada; toplam dışkı toplama yöntemini, Cr₂O₃ (kromik oksit), AIA (asitte çözünmeyen kül), ve ADL (asit deterjan lignin) olmak üzere üç ayrı teknik karşılaştırılmıştır. Cr₂O₃ ve AIA'nın dışkı geri kazanımı %95,89 ve %97,14 iken ADL'nin %88,90'dır. ADL yöntemi ile karşılaştırıldığında Cr₂O₃ ve AIA yöntemlerinin manda kaba yem sindirilebilirliğini belirlemek için daha doğru bir yöntem olduğu belirtilmiştir (Wang vd., 2020).

1.10.2. *İn-Situ* Yöntemler

Hem hayvan hem laboratuvar ortamında gerçekleştirilen yöntemlerdir (Ergün vd., 2017). Bu yöntemler arasında naylon kese yöntemi ve mobil kese yöntemi bulunmaktadır (Gültepe ve Bayram, 2017).

Naylon kese yöntemi, yem maddelerinin naylon keseler içerisinde rumende belirli sürelerde inkübasyona bırakılması sonucunda besin madde sindirilebilirliğinin hesaplanması esasına dayanır. Yemin partikül büyüklüğü, yemin miktarı, inkübasyon süresi ve denemede kullanılan hayvanın rasyonu bu yöntemi etkileyen faktörler arasındadır (Adıyaman,2014).

Tüm kanal sindirilebilirliğinin ölçümü için mobil (hareketli) kese yöntemi (MKY) geliştirilmiştir. Mobil naylon kese yöntemi, hayvanlara ağızdan ya da duodenumdan verilen mobil keselerin ileumdan ya da doğrudan dışkıdan alınması temeline dayalıdır. Denemede kullanılan hayvana mobil kese yönteminde ölçümleri etkilemeyecek bazal bir rasyon verilir. Bu yöntem ile duodenum-ileum veya duodenum-anüs arasındaki sindirilebilirlik ölçümü, intestinal kuru madde kaybı, ham protein sindirilebilirliği, ham kül kaybı gibi birçok parametre incelenebilmektedir (Gültepe ve Bayram, 2017).

Mobil naylon kese tekniği, ilk olarak domuzların rasyonundaki proteinin sindirilebilirliklerini belirlemek için kullanılmıştır. Geviş getiren hayvanlarda bu teknik, amino asitlerin, proteinin ve minerallerin bağırsaktan sindirilebilirliğini belirlemek için kullanılmıştır (Cherry vd., 2010). Ruminantlarda diğer hayvanlardan farklı olarak daha büyük ve daha geniş porlu keseler kullanılır. Daha sonra keseler yıkanarak mikrobiyel aktivite durdurulur ve endojen atıklar uzaklaştırılır. Yıkama, kurutma ve tartım işlemlerinden sonra yem kalıntıları daha küçük ve daha ince porlu keselere aktarılır. Kaba ve konsantre yemlerle dolu keseler aynı anda kullanıldıkları zaman, dışkıdan ayrı zamanlarda toplanır. Bunun nedeni; kaba yemlerin ıslanarak şişmesi sonucunda geçiş süresinin uzamasıdır (Gültepe ve Bayram, 2017).

Yapılan bir çalışmada, kimyasal analizleri yapılmış olan 20 adet mısır silajı örneği ve 20 adet çayır otu silajı önce naylon kese tekniği kullanılarak 6 saat (nişasta), 12 saat (ham protein) veya 24 saat (aNDFom) rumende inkübe edilmiştir. Rumen inkübasyonlarından kalan kalıntılar, hareketli naylon keselere aktarılmış ve bir kanül

aracılığıyla duodenuma yerleştirilmiştir. Ham protein ve nişasta torbalarının yarısı ileal kanülden, yarısı dışkıdan, aNDFom için tüm torbalar ise dışkıdan toplanmıştır. Ve gerekli sindirilebilirlik hesaplamaları yapılmıştır. Silajların kimyasal bileşiminin, rumen sindirilebilirliğini, bağırsak sindirilebilirliğini, aNDFom ve ham proteini etkilediği bildirilmiştir. (Ali vd., 2012). Benzer şekilde Cherry vd. (2010), yonca kuru otu, mısır silajı gibi yaygın kullanılan yemlerin P salımının yerini ve sindirilebilirliğini belirlemek için mobil kese yöntemini kullanmıştır.

1.10.3. *İn-Vitro* Yöntemler

Yem sindirilebilirliğinin doğru tahmini, diyet formülasyonu ve hayvan performansı için zorunludur. *İn vivo* çalışmalar yapmak zaman alıcı, maliyetlidir ve büyük miktarda yem kullanımı gerektirir. Hayvanın otlarken doğal olarak neyi seçeceğini doğru bir şekilde belirlemek zordur. Aynı şekilde, yemlerin elle kırılması büyük miktarda el emeği gerektirir ve zaman kaybına sebep olur (Ahern, 2014). *İn vitro* yöntemler genelde ya ürünlerin ya da fermentasyon kalıntılarının ölçümüne dayanmaktadır (Kılıç ve Sarıçiçek, 2006).

İn vivo ve *in situ* yöntemlerinin dezavantajlarından dolayı kolay yapılabilen, daha kısa sürede sonuç alınabilen, daha az masraflı olan ve deneme şartları her zaman kontrol altında tutulabilen *in vitro* çalışmaları son zamanlarda daha çok tercih edilmektedir. Laboratuvar ortamında çalışılan *in vitro* yöntemler Daisy inkübatör, Goering ve Van Soest (1970) yöntemi, enzim yöntemi, gaz üretim yöntemi gibi yöntemlerden oluşmaktadır (Karabulut ve Canbolat, 2005).

İn vitro sindirim denemelerinin ilk denemesi Tilley ve Terry (1963) tarafından ortaya konmuştur. Uygulama iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada yem örneği, rumen sıvısı ve tampon çözeltiler kullanılarak karanlık ortamda ve anaerobik şartlarda 39 °C'de 48 saat bekletilir. Bu aşamada yem örneğindeki ham selüloz sindirilir. İkinci aşama da ise asit-pepsin ile 48 saat (pH=2) muamele edilmektedir. Bu aşamada ise çözünmeyen proteinler yıkımlanır. Yöntemin dezavantajları arasında uzun sürmesi ve zahmetli olması gösterilmektedir (Baran vd., 2017). Goering ve Van Soest (1966), asit-pepsin aşamasını nötr deterjan sindirim aşaması ile değiştirerek bu yöntemi modifiye etmiştir.

Ardından rumen sıvısının değişkenliği ile ilgili problemlerin üstesinden gelmek için Czerkawski ve Breckenridge (1977) bir sürekli kültür sistemi geliştirmişlerdir. Bu sistem hala başarıyla kullanılan “Rumen Simulation Techhnique (Rusitec)” ‘dir.

Yemlerin besleme değerinin saptanmasında hızlı, kolay ve ucuz bir yöntem olması nedeniyle *in vitro* gaz üretim tekniği de geliştirilen başka bir yöntemdir (Menke vd. 1979). Günümüzde gaz üretim teknikleri arasında en yaygın olarak kullanılanı Hohenheim (Menke) Gaz Üretim Tekniği’dir (Kılıç ve Sarıççek, 2006, Kara vd. 2015). Gaz Üretim Tekniği fermentasyonun son ürünlerinden ortamda oluşan gazların [metan (CH₄), karbondioksit (CO₂),...] ölçülmesi esasına dayalı yem değerlendirme yöntemidir (Karabulut ve Canbolat, 2005).

Fermantasyon sırasında üretilen gaz miktarı da sindirilebilirliği tahmin etmek için kullanılmıştır. Menke ve Steingass (1988), yemlerin enerji içeriğini tahmin etmek için gaz hacmi ve yem bileşimi verilerinin kullanılmasını önerir. Son zamanlarda, Ankom RF Gaz Üretim Sistemi (GP; Ankom Teknolojisi) gibi gaz basıncını ölçmek için otomatik yöntemler geliştirilmiştir. Bu sistemde, numuneler belirli bir süre boyunca çalkalayıcı bir su banyosunda inkübe edilir ve şişe üstü sensörler, zaman aralıklarında gaz basıncını ölçerek, sindirim kinetiğinin yanı sıra toplam sindirilebilirlik sonuçlarını verir (Alende vd., 2017). *In vitro* gaz üretim miktarını; yemin türü (Getachew vd., 2004; Sampath vd.,1995), yemin hasat zamanı, yetiştirme mevsimi (Getachew vd., 2004; Kamalak vd., 2005), yemlere uygulanan işlemler (Kamalak vd. 2005), hayvanın türü (Calabro vd., 2005), rumen sıvısının elde edildiği hayvanlara verilen rasyon (Kılıç ve Sarıççek, 2006) etkilemektedir.

Numune işleme ve manuel filtrasyon adımlarındaki bazı analitik hataları çözebilmek ve geleneksel *in vitro* yöntemleri otomatikleştirmek için bir cihaza ihtiyaç duyulmuştur. Bunun sonucunda Ankom Daisy^{II} inkübatörü geliştirilmiştir. Cişmileanu ve Toma (2017), *in vitro* sindirilebilirlik yöntemlerinden olan Tilley-Terry yönteminin yeni versiyonu olan Daisy Inkübatör yöntemi ile arasında anlamlı bir fark olmadığını bildirmiştir.

Başka bir *in vitro* yöntem olan enzim yönteminde ise, yemler selülaz, hemiselülaz ve amilaz enzimleri ile inkubasyona tabi tutulduktan sonra pepsin çözeltisinde tekrar

inkubasyona bırakıp yemin sindirebilirliği belirlenmektedir (Çerçi vd., 2004). Enzim testinde kullanılan enzimlerden selüloz *Trichoderma viride*, *Trichoderma resei* ya da *Aspergillus niger*'den elde edilmektedir (Boever vd., 1994). *İn vitro* yöntemlerden enzim tekniği ile yapılan bir çalışmada arpa ve mısırın organik madde sindirilme oranları sırasıyla %88,50 ve %92,20 olarak tespit edilirken (Aufreere ve Doreau, 1988), Yazıcıoğlu vd. (1987) bu oranı sırasıyla %71,57 ve %70,32 olarak saptamışlardır.

Yemlerin *in vivo* sindirilebilirliği, maliyetli ve zaman alıcı olabilir. Yemlerin *İn vitro* değerlendirilmesi, besinlerin sindirilebilirliğini değerlendirmek için hızlı ve daha ucuz bir yaklaşım sağlar ve daha fazla verinin zamanında değerlendirilmesine izin verir (Ahern,2014; Alende vd., 2017).

1.10.3.1. Daisy İnkübatör Yöntemi

Yemlerin sindirilebilirliğini *in vivo* yöntemler belirlerken etik engeli, yüksek maliyetlerin olması ve emek fazlalığı gibi sebepler alternatif laboratuvar temelli tekniklerin kullanılmasına yol açmıştır. Yaygın olarak kullanılan *in vitro* yöntemler (Tilley ve Terry, 1963; Van Soest vd., 1966), çeşitli inkübasyon zamanlarında yem maddelerinin sindirilebilirliğine ilişkin nispeten doğru tahminler üretir. Bu tür yöntemler, yemlerin kalitesini ve hayvanlarda kullanım verimliliğini tahmin etmek için önemlidir. Geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında (Çizelge 1.3), daha yeni olan ANKOM Daisy İnkübatör yöntemi (ANKOM Teknolojisi, Makedonya, New York, ABD), genellikle emeğin yoğun adımlardan birisi olan sindirimden sonra numunelerin filtrelenmesini ortadan kaldırarak ölçümde kolaylık sağlar. (Adesogan, 2005).

Daisy inkübatör, *in vitro* kuru madde sindirilebilirliğinin (IVKMS) belirlenmesinde, geleneksel Tilley ve Terry yöntemine alternatif olarak geliştirilmiştir (Tilley ve Terry 1963). Bu yeni yöntemin iş gücü verimliliğini ve hassasiyeti arttırdığı gösterilmiştir (Holden 1999). ANKOM *in vitro* gerçek sindirilebilirlik prosedüründe, bir rumen sıvısı sindirimini, geleneksel IVGS_{KM} prosedüründen farklı olarak bir nötr deterjan lifi (NDF) sindirimi takip eder (Vogel vd., 1999).

Daisy inkübatör yöntemi Kanadalı bir müşteri için bir proje olarak başlamış ve 1994 yılında ahşap bir kabin olarak halka tanıtılmıştır. 1997 yılında, tam olarak şu anda pazarlanan formda olduğu gibi daha dayanıklı bir metal dolap ile yeni bir model yapılmıştır (Tassone vd., 2020). ANKOM Daisy İnkübatör, ANKOM Technology Corporation (Fairport, NY, ABD) tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntemde polyester keselere kapatılan yem numuneleri, Daisy II İnkübatör adı verilen yalıtımlı bir bölmede döndürülen cam kavanozlara yerleştirilir (Şekil 1.9). Bu yöntem kavanozda birkaç örneğin toplu inkübasyonuna izin verdiği için iş gücünü azaltır (Adesogan, 2002). Hazne içindeki sıcaklık, bir ısı kontrolörü tarafından $39 \pm 0,5$ °C'de tutulur (Eriş ve Kılıç, 2018). Bir zamanlayıcı, her inkübasyon periyodunun ayarlanmasına izin verir. Numuneler F57 filtre torbalarında (25 µm gözenek boyutu) (Ankom Technology Corporation Fairport, NY, ABD) tartılır. İnokulum (rumen sıvısı, dışkı veya enzimler) ve tampon çözeltiler kavanozlara konur (Tassone vd., 2021). İnkübatör içindeki döner raflara yerleştirilen dört cam kavanozun her biri, iç hacmi ikiye bölen ve sindirim ortamının serbest hareketine izin veren delikli bir karıştırıcı bölme içerir. Torbalar belirli bir inkübasyon periyodundan önce ve sonra tartılır ve kaybolan materyal sindirilebilir kuru madde olarak kabul edilir (Tassone vd., 2020).

Orijinal ANKOM filtre torbası tekniği, Goering ve Van Soest (1970) tarafından açıklanan *in vitro* gerçek sindirilebilirlik yöntemine dayanmaktadır. ANKOM filtre torbası tekniği ile belirlenen sindirilebilirliğin geleneksel *in vitro* tekniklerle uyumlu olduğu bildirilmiştir (Adesogan, 2005). Diğer taraftan, bazı kaba yemler için ise kuru madde (DM) sindirilebilirlik değerini Vogel ve ark. (1999) geleneksel *in vitro* tekniklere göre daha yüksek bulmuştur. Aynı zamanda benzer şekilde Damiran ve ark. (2008) ANKOM Daisy İnkübatör yöntemi ile belirlenen sindirilebilirlik değerlerini *in vivo* yöntemlere göre bazı yem bitkilerinde fazla bulmuştur. Wilman ve Adesogan (2000), geleneksel *in vitro* tekniklerin Daisy İnkübatör yönteminden daha kesin sonuçlar vermesinin muhtemel olduğunu ancak Daisy İnkübatör yöntemi kullanımının iş gücünden tasarruf sağlaması sebebiyle kaba yemler için kabul edilebilir sindirilebilirlik tahminleri verdiğini öne sürmüşlerdir.

Daisy İnkübatör yöntemi, Tilley ve Terry yöntemi ve Van Soest yöntemi gibi geleneksel yöntemlere göre zaman, verimlilik ve işgücü gereksinimleri açısından avantajlar sunar.

Ancak yapılan bir çalışmada, diğer tekniklerle (Ankom Gaz Üretim Sistemi, Rumen Simülasyon Tekniğinin kullanılması gibi) karşılaştırıldığında, Daisy İnkübatör yöntemi farklı inkübasyon sürelerinde daha yüksek değerler verdiği bildirilmiştir (Alende vd., 2018).

In vivo sindirilebilirlik yöntemleri maliyetli, zahmetli ve erişilemez olmakla birlikte, hayvan refahı ile ilgili endişeleri giderek artırmaktadır. Öte yandan *in vitro* yöntemler ise inkübasyon sırasında tamponlu rumen sıvısı gerektirir (Tilley ve Terry, 1963; Goering ve Van Soest, 1970; Menke ve Steingass, 1988). Farklı laboratuvarlarda donör hayvanların farklı beslenme koşulları nedeniyle bu tür yöntemlerin standardize edilmesi de zordur (Kowalski vd.,2014).

Yapılan bir çalışmada, Ankom Daisy II İnkübatörü'nde rumen sıvısı yerine fibrolitik enzim karışımları (selülaz ve hemiselülaz) kullanılmıştır. Enzim inokulumu yüksek maliyet ve enzim preparasyonları arasındaki yüksek çeşitlilik gibi dezavantajları sebebiyle kullanımı sınırlıdır. Rumen sıvısı inokulumu kullanımı sonucu enzim inokulumu kullanımına göre sindirilebilirlik daha yüksek bulunmuştur. Bunun sebebi ise spesifik enzim aktivitesinin eksikliği ile ilişkilendirilmiştir (Colombatto vd., 2000).



Şekil 1.9: Daisy İnkübatör Cihazı, F57 Filtre Kесе, Kavanoz ve Heat Sealer (Ankom Technology Corporation Fairport, New York, NY, USA).

Çizelge 1.3: *In vivo* ve Daisy İnkübatör yöntemlerinin karşılaştırılması (Czerkowski ve Breckenridge, 1977; Öztürk, 2003; Demirtaş, 2013).

<i>In Vivo</i>	Daisy İnkübatör
Çalışma hayvan üzerinden yürütülmektedir.	Rumen metabolizması alanında yapılacak araştırmaları kontrollü bir şekilde laboratuvar ortamında yapmayı mümkün kılar.
Sisteme giriş yapan ve sistemden ayrılan maddeler net bir şekilde belirlenemez.	Sisteme giriş yapan ve sistemden ayrılan maddeleri net bir şekilde belirlemek mümkündür.
Rumendeki homojen olmayan şartlar ve alınan numunenin tüm rumeni temsil etmez.	Rumen epitelinin fonksiyonlarına sahip değildir.
Fermentasyon son ürünleri rumen epitelinden hızla emildiğinden günlük oluşan net miktarları Belirlemek mümkün olamamakta, yalnızca anlık Değerler ölçülebilmektedir.	Fermentasyon son ürünleri hiçbir kayba uğramadan (rumen epitelinden emilim veya salınım ile seyrelme, ruktus, vs) ayrı bölmelerde toplanır ve miktarları tam olarak belirlenebilir.
Fermentasyon ürünlerinin günlük miktarları tam Olarak ölçülemez.	Rumen mikroorganizmalarının kısa süre içinde sisteme adapte olarak araştırmacıya <i>in vivo</i> rumen şartlarına çok yakın araştırma koşulları sağlamaktadır.
Rumendeki yoğun absorpsiyon ve sekresyon olayları nedeniyle alınan numuneler seyrelir veya yoğunlaşır.	Asidoz gibi sıra dışı bir besleme programı gerektiren ve hayvan sağlığını ve refahını olumsuz yönde etkileyip ölüme yol açabilen fizyopatolojik olguları, canlı hayvan kullanımına gerek olmadan <i>In vitro</i> şartlarda çalışma imkanı sunar.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu tez çalışması, Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 14.04.2021 tarihli, AKÜHADYEK-84-19-Referans numaralı onay yazısıyla (Sayı: 49533702/54) (Ek 7.1), 19.SAĞ.BİL.22 numaralı proje BAP desteği ile gerçekleştirilmiştir.

2.1. Materyal

2.1.1. Yem Materyali

Çalışmada yem materyali olarak kullanılan yonca silajı, yonca kuru otu, mısır silajı ve çayır kuru otu Burdur ili Bucak ilçesinde faaliyet gösteren büyükbaş işletmelerinden temin edilmiştir. Yonca kuru otu, yonca silajı, çayır kuru otu ve mısır silajı örnekleri için kimyasal analizler üç tekrar olarak yapılmıştır. Analizler öncesi temin edilen yonca silajı ve mısır silajı kurutulduktan sonra; çayır kuru otu ve yonca kuru otu ise direkt öğütülerek homojenize edilmiştir.

2.1.2. Hayvan Materyali

Çalışmada kullanılan, rumen sıvıları, mezbahannede kesim sırasında dişi manda, inek, koyun ve keçiden alınmıştır. Alınan rumen sıvısı karbondioksit tüpü ile doyurularak 2 litrelik 39 °C' de ısıtılmış termos içerisinde en kısa sürede (15-30 dk) laboratuvara taşınmıştır. Arpa, toklu yemi ve yonca ile beslenip meraya çıkarılan koyun (>1,5 yaş, 40-50 kg, Merinos) ve keçiler (>1,5 yaş, 40-50 kg, Kıl keçisi) Burdur ili Bucak ilçesinde merada otlatılarak beslenen hayvanlardır. Yine çalışmada kullanılan Manda (Murrah x Anadolu mandası) (*Bubalus bubalis*) (<2 yaş, 650 kg) ve İnek (Holstein) (<2 yaş, 550 kg) türlerine ait bazal rasyonun içerik ve besin madde analiz sonuçları Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1: İnek ve Mandalara verilen bazal rasyon içeriği ve kimyasal kompozisyonu

Yem maddeleri	İçerik, % KM
Saman	5,03
Yonca	10,06
Mısır Silajı	53,65
Arpa	13,41
Süt Yemi	17,60
Zeolit	0,25
TMR kimyasal kompozisyonu	
KM % yem	57,01
HP, % KM	15,63
HY, % KM	3,24
HS, % KM	18,21
HK, %KM	8,98
aNDF, % KM	34,25
ADF, % KM	16,91

2.1.3. *In vitro* Çalışmalarda Kullanılan Alet ve Ekipmanlar

In vitro gerçek sindirilebilirliğin belirlenmesi için ANKOM Daisy^{II} İnkubatör cihazı, F57 filtre torba (kese), torba mühürleyici (Bag sealer), mezür (500ml ve 1000ml), çelik termos, tülbent ve ANKOM Selüloz Analiz Cihazı (A220) kullanılmıştır. Bu cihazda buffer solüsyonları (Buffer Solüsyonu A ve Buffer Solüsyonu B) ANKOM Daisy *in vitro* fermentasyon sistemi için Çizelge 2.4'te tanımlanan şekilde hazırlanmıştır.

2.2. Yöntem

Yem örneklerinin kuru madde (KM), ham kül (HK), ham selüloz (HS), ham protein (HP), ham yağ (HY), asit deterjan lif (ADF), nötr deterjan lif (NDF), asit deterjan lignin (ADL) analizleri ve *in vitro* sindirilebilirlik çalışması, Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı

Laboratuvarı ve Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Deneme grupları; manda rumen sıvısına kitosan ilaveli-yonca kuru otu (MKYK), manda rumen sıvısına kitosan ilavesiz-yonca kuru otu (MYK), manda rumen sıvısına kitosan ilaveli-çayır kuru otu (MKÇK), manda rumen sıvısına kitosan ilavesiz-çayır kuru otu (MÇK), manda rumen sıvısına kitosan ilaveli- mısır silajı (MKMS), manda rumen sıvısına kitosan ilavesiz-mısır silajı (MMS), manda rumen sıvısına kitosan ilaveli-yonca silajı (MKYS), manda rumen sıvısına kitosan ilavesiz-yonca silajı (MYS), inek rumen sıvısına kitosan ilaveli-yonca kuru otu (İKYK), inek rumen sıvısına kitosan ilavesiz-yonca kuru otu (İYK), inek rumen sıvısına kitosan ilavesiz-çayır kuru otu (İÇK), inek rumen sıvısına kitosan ilaveli-çayır kuru otu (İKÇK), inek rumen sıvısına kitosan ilaveli-mısır silajı (İKMS), inek rumen sıvısına kitosan ilavesiz-mısır silajı (İMS), inek rumen sıvısına kitosan ilaveli-yonca silajı (İKYS), inek rumen sıvısına kitosan ilavesiz-yonca silajı (İYS), koyun rumen sıvısına kitosan ilaveli-yonca kuru otu (KOKYK), koyun rumen sıvısına kitosan ilavesiz-yonca kuru otu (KOYK), koyun rumen sıvısına kitosan ilaveli-çayır kuru otu (KOKÇK), koyun rumen sıvısına kitosan ilavesiz-çayır kuru otu (KOÇK), koyun rumen sıvısına kitosan ilaveli- mısır silajı (KOKMS), koyun rumen sıvısına kitosan ilavesiz-mısır silajı (KOMS), koyun rumen sıvısına kitosan ilaveli-yonca silajı (KOKYS), koyun rumen sıvısına kitosan ilavesiz-yonca silajı (KOYS), keçi rumen sıvısına kitosan ilaveli-yonca kuru otu (KEYK), keçi rumen sıvısına kitosan ilavesiz-yonca kuru otu (KEYK), keçi rumen sıvısına kitosan ilaveli-çayır kuru otu (KEKÇK), keçi rumen sıvısına kitosan ilavesiz-çayır kuru otu (KEÇK), keçi rumen sıvısına kitosan ilaveli- mısır silajı (KEKMS), keçi rumen sıvısına kitosan ilavesiz-mısır silajı (KEMS), keçi rumen sıvısına kitosan ilaveli-yonca silajı (KEKYS), keçi rumen sıvısına kitosan ilavesiz-yonca silajı (KEYS) şeklinde oluşturulmuştur (Çizelge 2.2). Her grup 24 keseden oluşmuştur.

Çizelge 2.2: Deneme düzeni

		KABA YEM CİNSİ			
		YONCA KURU OTU	YONCA SİLAJI	ÇAYIR KURU OTU	MISIR SİLAJI
RUMEN SIVISI KAYNAĞI	İNEK	+	+	+	+
		-	-	-	-
	MANDA	+	+	+	+
		-	-	-	-
	KOYUN	+	+	+	+
		-	-	-	-
	KEÇİ	+	+	+	+
		-	-	-	-

+: Kitosanlı, -: Kitosansız

2.2.1. Kimyasal Analizler

In vitro sindirim denemelerinde kullanılmış olan yemlerde besin madde analizi için, Weende analiz yöntemi kullanılmıştır. Parçalanıp, kurutulup, öğütülen mısır silajı, yonca silajı, yonca kuru otu ve çayır kuru otu yem numuneleri kuru madde (KM), ham kül (HK), ham yağ (HY), ham protein (HP), ham selüloz (HS), asit deterjan fiber (ADF), amilaz ilaveli- nötral deterjan fiber (aNDF), asit deterjan lignin (ADL) analizleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılmıştır.

2.2.1.1. Kuru Madde

Silaj numuneleri darası alınmış olan alüminyum kapların içerisine 100 g tartılarak konulmuştur. Öncelikle 65°C'de 48 saat süreyle sabit ağırlığa ulaşmaya kadar etüvde kurutulmuştur. Kurutulan alüminyum kapları sabit ağırlığa ulaşınca tartılarak kuru madde düzeyi AOAC (1990; metot 934.01) yöntemine göre hesaplanmıştır.

Kuru otlar öğütüldükten sonra vezin kaplarının içerisinde 105°C'de 8-12 saat süreyle kurutulmuştur. Analiz sonu kuru madde kapları desikatörde sabit ağırlığa ulaşmaya kadar bekletilmiştir. Desikatörde sabit ağırlığa ulaşan kapların terazide tartımları

yapılmıştır. Kuru madde düzeyleri AOAC (1990; metot 934.01) yöntemine göre hesaplanmıştır.

$$\%Kuru Madde = \frac{K - D}{N} \times 100$$

K: Analiz sonu tartım

D: Dara

N: Numune miktarı

2.2.1.2. Ham Kül

Porselen krozelerin daraları alınmıştır. Öğütülmüş yem numunesinden yaklaşık 1 g porselen krozelerin içerisine tartılarak ilave edilmiştir. Porselen krozeler 600 °C' de 5-6 saat süreyle sabit ağırlığa ulaşincaya kadar kül fırınında yakılmıştır. Yakılan numuneler desikatörde oda sıcaklığına ulaşincaya kadar bekletilerek tekrar tartılmış ve elde edilen değerler ile yemlerdeki ham kül oranı hesaplanmıştır (AOAC 1990; metot 942.05).

$$\%Ham Kül = \frac{K - D}{N} \times 100$$

K: Analiz sonu tartım

D: Dara

N: Numune miktarı

2.2.1.3. Ham Yağ

Analiz Gerhardt SOX-416 Otomatik Yağ Tayin Cihazında gerçekleşmiştir. Etüvde 105 °C' de sabit sıcaklığa gelene kadar bekletilmiş yağ beherleri desikatöre alınmıştır. Sabit ağırlığa ulaşan yağ beherlerinin darası alınmıştır. Soxhlet ekstraksiyon kartuşları beher içerisine yerleştirilmiştir. Öğütülen numunelerden yaklaşık 0,5 gram tartılarak kartuş içerisine alınmıştır. Ekstraksiyon beherinin içerisinde bulunan kartuş üzerinden 140 ml

petrol eteri ilave edilerek soxhlet ekstraksiyon cihazına yerleştirilmiştir. Analiz bittikten sonra beherler, maşa yardımıyla alındıktan sonra içerisindeki kartuşlar çıkarılarak etüve alınmıştır. Beherler, etüvde 105°C’de sabit ağırlığa ulaşınca kadar yaklaşık 2 saat bekletilmiş ve desikatöre alınmıştır. Desikatörde sabit ağırlığa ulaşan beherler tartılmıştır. Elde edilen değerler ile ham yağ değeri hesaplanmıştır (AOAC, 1990; metot 920.39).

$$\% \text{Ham Yağ} = \frac{K - D}{N} \times 100$$

K: Analiz sonu tartım

D: Dara

N: Numune miktarı

2.2.1.4. Ham Protein

Ham Protein analizinde Kjeldahl yöntemi kullanılmıştır. Kjeldahl yöntemi yağ yakma, distilasyon ve titrasyon olmak üzere 3 aşamada gerçekleştirilmiştir. Analizin yağ yakma aşaması “Gerhardt KT 20s Azot Protein Tayin Cihazı” ile, distilasyon ve titrasyon aşamaları ise “Gerhardt VAPODEST® 50s Carousel Azot Protein Tayin Cihazı” ile yapılmıştır. Öğütülmüş numunelerden Kjeldahl tüplerine yaklaşık olarak 0,5 gram tartılmıştır. Her bir kjeldahl tüpü içerisine bir adet Gerhardt katalizör tablet (12-0326 Se KJELCAT-tablet, 1,000’lik kutu 3.5 g K₂ SO₄ + 0.0035 g Se) ve 25 ml konsantre H₂SO₄ eklenerek tüplüğe, tüplük ise yakma ünitesine yerleştirilmiştir. Yağ yakma aşaması 410°C’de 30 dk ısınma + 1,5 saat yağ yakma + 30 dk soğuma şeklinde toplam 2,5 saatte tamamlanmıştır. Yakma işleminden sonra tüpler sırasıyla distilasyon ünitesine yerleştirilerek distilasyon ve titrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Cihaz otomatik olarak her numune tüpüne 80 ml distile suyu ve 120 ml NaOH; beher içerisine de 78 ml borik asit çözeltisini ilave ederek distilasyon işlemini tamamlamıştır. Ardından 0,1 N sülfürik asit ile titrasyon işlemi yapılarak analiz tamamlanmıştır.

$$\%Azot = \frac{(1,4007 \times M \times (V - Vb))}{E}$$

$$\%Ham\ Protein = \%Azot \times Protein\ Faktörü$$

M: Titrasyon asitinin normalitesi; 0,1 mol/l

V: Örnekte harcanan titrasyon asiti miktarı (ml)

Vb: Kör numunede harcanan titrasyon asiti miktarı (ml)

E: Numune miktarı (g)

Protein Faktörü: 6,25

2.2.1.5. Ham Selüloz

Ham selüloz analizi, yemlerin asit içerisinde kaynatılması, süzülmesi ve kül fırınında yakılması aşamalarından oluşmaktadır. Selüloz tüplerinin içerisine öğütülmüş numunelerden yaklaşık 1 gram tartılmıştır. Üzerine 12,5 ml glasiyel asetik asit (%100, Merck) ve 2,5 ml konsantre nitrik asit (%65, Merck) ilave edilmiştir. Ardından selüloz tüpleri içerisinde bir miktar su bulunan beher içerisinde yarım saat kaynatılmıştır. Ardından asitte kaynatılarak besin madde bileşenlerine ayrılan asit numune karışımı darası alınmış gooch krezelleri (40-100µm) içerisine süzülmüştür. Süzme işlemi sonrasında gooch krezelleri kuru madde dolabında 105 °C'de 8-12 saat kurutulmuş ve desikatörde sabit ağırlığa ulaşınca kadar bekletilip tartılmıştır. Tartım sonrasında gooch krezelleri 600 °C'de 5-6 süre ağırlıkları sabitleninceye kadar kül fırınında (Carbolite Elf) yakılmış ve desikatöre alınıp oda sıcaklığına gelince tartılmıştır. Elde edilen veriler ile Crampton ve Maynard'ın (1938) bildirmiş olduğu yönteme göre hesaplanmıştır.

$$\%Ham\ Selüloz = \frac{(A - B)}{C} \times 100$$

A: Süzme sonrası tartım (Gooch krozesi+ Ham selüloz+ Ham kül)

B: Yakma sonrası tartım (Gooch krozesi+ Ham kül)

C: Numune miktarı

2.2.1.6. Asit Deterjan Lif (ADF)

ADF analizi, ANKOM 2000 Selüloz Tayin Cihazı'nda yapılmıştır. ADF solüsyonunu hazırlamak için; 40 gr CTAB (Cetyltrimethylammoniumbromide) alınarak 2 litre 1,0 Normal H₂SO₄ içerisinde çözdürülmüştür. İki litre 1,0 Normal H₂SO₄ hazırlamak için ise; 54,4ml %95-98'lik H₂SO₄ alınarak 100 ml distile su içerisine eklenerek karıştırılıp, 2000 ml ye distile su ile tamamlanmıştır. 57 µ gözenek çaplı F57 filtre keselerinin kese daraları alınmıştır. Filtre keselerinin içerisine yaklaşık olarak 0,5 gram (±0,05 gram) öğütülmüş numunelerden tartılmış ve filtre keselerine yerleştirilmiştir. Ek olarak kör kese tartılarak ağırlığı not edilmiştir. Numune keselerinin ağız kısmı 0,4 cm mesafeden torba mühürleyici kullanarak mühürlenmiştir. ADF solüsyonunun içerisinde bulunduğu kutu uygun bölmeye yerleştirilmiştir. İçerisinde keselerin bulunduğu numune kompartımanı da cihaza yerleştirildikten sonra cihaz çalıştırılmıştır. Analiz 60 dk sürmüştür. Durulama işleminden sonra cihaz kapağı açılmıştır. Soğuk su ile yıkanıp süzdürülen numuneler beher içerisine alınarak üzerini kaplayacak şekilde aseton içerisinde 3 dk bekletilmiştir. Asetondan çıkartılan numuneler asetonun uçması için 10 dk kadar bekletilmiştir. Etüvde 105°C derecede 2- 4 saat arasında kurutulmuştur. Kurutulan numuneler ANKOM MoistureStop'a (desikatör torba) alınarak oda sıcaklığında bekletilmiş ve tartılmıştır. Krozeler desikatöre alınıp oda sıcaklığına gelince tartımları yapıp kaydedilmiştir ve ADF oranı hesaplanmıştır.

$$\%ADF \text{ (Kuru Madde Bazında)} = \frac{(T3 - (T1 \times D1))}{W2} \times 100$$

$$\%ADF \text{ (Yaş Yem Bazında)} = \frac{[(T4 - (T1 \times D1))]}{T2 \times KM} \times 100$$

T1: Torba ağırlığı

T2: Numune ağırlığı

T3: Ekstraksiyon sonrası ağırlık

D1: Boş torba düzeltme faktörü (etüvde kurutma sonrasındaki ağırlık / boş torbanın kendi ağırlığı)

KM: Kuru madde oranı (kuru madde miktarı %75 ise bu değer 0,75 olarak alınmıştır)

2.2.1.7. Nötr Deterjan Lif (NDF)

NDF analizi, ANKOM 2000 Selüloz Tayin Cihazı'nda yapılmıştır. NDF solüsyonu hazırlığı için; 1,8 litre distile suya 120 gr FND20C/1 ve 20 ml trietilen glikol FND20C/2 ekleyerek çözünene kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılmış ve 2 litreye distile su ile tamamlanmıştır. Solvente dayanıklı kalem ile filtre keselerine numara verilmiştir. Filtre kesesi boş halde tartılmıştır. Numunelerden 0,5 g ($\pm 0,05$ g) tartılmıştır. Kör kese tartılarak ağırlığı kayıt altına alınmıştır. Numune eklenen keseler torba mühürleyici kullanarak üst kısımlarının 0,4 cm altından mühürlenmiştir. İçerisinde NDF solüsyonunun bulunduğu kutu ile 4ml sulandırılmış alfa amilazın bulunduğu beher cihaza yerleştirilmiştir. Numuneler kompartımana yerleştirilerek analiz başlatılmıştır. Karıştırma işlemi cihaz tarafından başladığı sırada, 20 gr sodyum sülfid ve 4 ml alfa amilazı direkt olarak cihazın haznesine ilave edilip cihazın kapağı kapatılmıştır. Analiz sonrasında (75dk) cihaz tarafından numune kompartımanına 2000 ml sıcak su ve 4 ml sulandırılmış alfa amilaz eklenerek yıkama yapılmıştır. Bu işlem 2 kez tekrarlanmıştır. Son kez sadece sıcak su ile yıkama işlemi yapılmıştır. Son durulamanın ardından akan suda keseler yıkanmıştır. Süzdürülen numune keseleri aseton içerisine koyulmuş ve 3 dk bekletilmiştir. Asetondan çıkarılan numuneler 10 dk bekletilmiştir. Etüvde 105 °C 2 – 4 saat kurutulmuştur. Alınan numuneler ANKOM MoistureStop'a (desikatör torba) koyularak oda sıcaklığına kadar soğuması beklenerek tartılmıştır. Tartılan numuneler darası alınmış olan porselen krozeler içerisine koyularak kül fırınında 600°C (± 15

°C)'de 3 saat yakılmıştır. Krozeler desikatöre alınıp oda sıcaklığına gelince tartımları yapıp kaydedilmiştir ve NDF oranı hesaplanmıştır.

$$\%a\text{NDF (Kuru Madde Bazında)} = \frac{(T3 - (T1 \times D1))}{T2} \times 100$$

$$\%a\text{NDF (Yaş Yem Bazında)} = \frac{[(T4 - (T1 \times D1)) \times \text{KM}]}{T2} \times 100$$

T1: Torba ağırlığı

T2: Numune ağırlığı

T3: Ekstraksiyon sonrası ağırlık

D1: Boş torba düzeltme faktörü (etüvde kurutma sonrasındaki ağırlık / boş torbanın

KM: Kuru madde oranı (kuru madde miktarı %75 ise bu değer 0,75 olarak alınmıştır)

2.2.1.8. Asit Deterjan Lignin (ADL)

ADF analizindeki dara ve numune ağırlığı kayıtları baz alınır. ADF işleminden sonra kurumuş numuneler 3 litrelik behere konarak üstüne torbaları örtecek kadar (yaklaşık 250 ml) sülfürik asit eklenmiştir. Asit eklenmeden önce torbaların kesinlikle kuru ve ortam sıcaklığında olması gerekmektedir. 2 litre beheri 3 litre beherin içine sokarak torbalar tamamen dibe batırılmıştır. Her yarım saatte bir 2 litrelik beher ortalama 30 kez hafifçe bastırılarak dibe batırılarak numuneler karıştırılmıştır. 3 saat sonunda sülfürik asit boşaltılmıştır. Ve numuneler pH nötr seviyeye yaklaşıncaya kadar yıkanmıştır. Yıkanan torbalar sudan arındırılmak için 3 dk boyunca yaklaşık 250 ml asetonda bekletilmiştir. Daha sonra 105°C sıcaklıkta 2-4 saat etüvde kurutulmuştur. Filtre torbalar etüvden alındıktan sonra ANKOM MoistureStop'a (desikatör torba) konulup düzleştirilerek havası alınmıştır. Ortam sıcaklığına kadar soğuyunca tekrar tartılmıştır. ADL oranı hesaplanmıştır.

$$\%ADL \text{ (Kuru Madde Bazında)} = \frac{(T3 - (T1 \times D1))}{T2 \times KM} \times 100$$

$$\%ADL \text{ (Yaş Yem Bazında)} = \frac{[(T4 - (T1 \times D1))]}{T2} \times 100$$

T1: Torba ağırlığı

T2: Numune ağırlığı

T3: Analiz sonrası ağırlık

D1: Boş torba düzeltmesi

KM: Kuru madde oranı (Kuru madde miktarı %75 ise bu değer 0,75 olarak alınmıştır.)

2.2.2. Nispi Yem Değerinin Belirlenmesi

Nispi yem değeri, yem bitkileri için kullanılan bir kalite ölçüsüdür. Çalışmada kullanılan yem bitkilerinin nispi yem değerleri Van Dyke ve Anderson (2000) tarafından bildirilen eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır. Nispi yem değeri ADF ve NDF değerleri kullanılarak hesaplanır. Çizelge 2.4.'te yem bitkilerinin NYD kalite sınıflandırılması verilmiştir.

$$\%Sindirilebilir \text{ Kuru Madde (SKM)} = 88,9 - (0,779 \times \%ADF)$$

$$\%Kuru \text{ Madde Tüketimi (KMT)} = \frac{120}{\%NDF}$$

$$\%Nispi \text{ Yem Değeri} = \%SKM \times \%KMT \times 0,775$$

Çizelge 2.3: Yem bitkilerinde NYD kalite standartları (Rocateli ve Zhang, 2017)

Kalite Standartları	NYD, %
En İyi Kalite	>151
1. Kalite	125-151

2. Kalite	101-124
3. Kalite	86-100
4. Kalite	77-85
5. Kalite	<77

2.2.3. *İn vitro* Sindirim Denemesi

2.2.3.1. Kitosan Solüsyonunun Hazırlanması

Kitosan dozu, daha önce yapılmış olan sığır denemelerine göre (Araújo ve diğerleri, 2015; Mingoti vd., 2016) belirlenmiştir. Kitosan rumen sıvısına çözelti şeklinde ilave edilmiştir. Çalışmada kullanılan kitosanın (n-asetyl-D-glucosamine) moleküler formülü (C₆H₁₁NO₄)_n, deasetilasyon derecesi %80-85 ve pH değeri 4,5-6,5 aralığındadır (Adaga Gıda ve Danışmanlık San. A.Ş.). Yapılan literatür taramaları sonucunda her bir kitosanlı grup kavanozuna analizden hemen önce buffer solüsyonuna %2'lik asetik asit çözeltisinde çözdürülen %2,5'luk kitosan solüsyonundan 16 ml yani 400 mg/l kültür sıvısı dozunda ilave edilmiştir (Goiri vd., 2009a)

2.2.3.2. F57 Torbaların ve Örneklerin Hazırlanması

İn vitro gerçek sindirilebilirlik analizi için torbalar (F57) 3-5 dk süreyle asetonda yıkayıp, asetonun uçması için oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu işlem, mikrobiyel sindirimi inhibe edebilecek etkenleri uzaklaştırmak amacıyla yapılmıştır. Torbalar asit ve alkaliye dayanıklı kalemle numaralandırılarak kuru madde dolabında 105 °C'de 8 saat bekletilmiştir. Kuruyan torbalar desikatörde, oda sıcaklığına gelene kadar bekletilip daraları alınmıştır (T1). Öğütülmüş ve homojenize edilmiş 0,25 g yem örneği tartılıp (T2) ağızları torba mühürleyici ile kapatılmıştır.

2.2.3.3. Tampon (Buffer) Çözeltilerin Hazırlanması

Buffer solüsyonları, Çizelge 2.4'e göre hazırlanmıştır. Her kavanoza hazırlanan buffer solüsyonu A'dan 1330 ml, buffer solüsyonu B'den 266 ml CO₂ tüpü eşliğinde ilave edilmiştir. İçerisinde buffer solüsyonu bulunan kitosanlı grup kavanozlarına 16 ml kitosan çözeltisi ilave edilmiştir.

Çizelge 2.4: Tampon Solüsyonlarının içerikleri

	Kimyasal Adı	Kimyasal Miktarı (1 kavanoz için)
Buffer Solüsyonu A (1 kavanoz= 1330 ml)	KH ₂ PO ₄	13,3 g
	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,665 g
	NaCl	0,665 g
	CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,133 g
	Üre	0,665 g
	Distile su	1330 ml
Buffer Solüsyonu B (1 kavanoz= 266 ml)	Na ₂ CO ₃	3,99 g
	Na ₂ S·9H ₂ O	0,266 g
	Distile su	266 ml

2.2.3.4. Rumen Sıvısının Hazırlanması

Kesimden hemen sonra manda, inek, koyun ve keçiden alınan rumen sıvıları karbondioksit tüpü ile doyurularak 2 litrelik 39 °C' de ısıtılmış termos içerisinde 10 dk içerisinde laboratuvara taşınmıştır. Hızla laboratuvara getirilen rumen sıvıları dört kat tülbent yardımıyla, önceden 39 °C sıcaklığına getirilmiş 5 litrelik içerisinde su bulunan beher içerisine oturtulmuş olan mezür içerisine süzümüştür. Süzülen rumen sıvıları her kavanoza 400 ml olacak şekilde ilave edilmiştir. Daha sonra keseler de kavanoza eşit şekilde atıldıktan sonra kavanozlar cihaza yerleştirilip 48 saatlik inkübasyon süresi başlatılmıştır. Cihaz her seferinde iki kavanozda manda rumen sıvısı iki kavanozda inek rumen sıvısı olmak üzere dört kez çalıştırılmıştır. Böylece aynı miktarda numune

çalışılmış aynı zamanda gün-saat etkisi de ortadan kaldırılmıştır. Koyun ve keçi denemesinde de aynı uygulama gerçekleştirilmiştir.

2.2.3.5. İnkübasyon Aşaması ve İnkübasyon Sonrası Hesaplamalar

Torbalar, inkübatöre CO₂ tüpü eşliğinde koyulduktan sonra 48 saat süre ile inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon süresi dolunca tüm keseler kavanozlardan çıkartılıp çeşme suyu altında berrak su akana kadar yıkanmıştır. Yıkanan keseler selüloz tayin cihazına yerleştirilerek NDF analizi yapılmıştır. NDF analizi sonunda 105°C'deki etüvde 3 saat tutulmuştur. Etüvden çıkartılan torbalar ANKOM MoistureStop'a (desikatör torba) alınır. Soğuyan torbalar tartıldıktan sonra gerekli analizler ve hesaplamalar yapılmıştır.

İnkübasyon sonrası; IVGS (*In vitro* gerçek sindirilebilirlik), IVGS_{KM} (*In vitro* kuru madde sindirilebilirliği) hesaplamaları yapılmıştır.

$$\%IVGS = \frac{100 - [((T3 - (T1 \times D1)) \times 100]}{T2}$$

$$\%IVGSKM = \frac{100 - [((T3 - (T1 \times D1)) \times 100]}{T2 \times KM}$$

T1: Torba ağırlığı

T2: Numune ağırlığı

T3: *In vitro* inkübasyon ve NDF analizleri sonunda elde edilen numune ve torba ağırlığı

D1: Boş torba düzeltme faktörü (etüvde kurutma sonrasındaki ağırlık / boş torbanın kendi ağırlığı)

KM: Kuru madde oranı (Örn; %53=0,53)

2.2.3.6. Ham Protein Sindirilebilirlik Analizi

İn vitro sindirim denemesi öncesinde tüm yem maddelerinin ham protein analizleri gerçekleştirilmiştir. Aynı şekilde *İn vitro* sindirilebilirlik denemesinin sonucunda da elde edilen keselerdeki sindirilmemiş yem kalıntılarının da ham protein analizleri Kjeldahl metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerle ham protein sindirilebilirliği (HPS) hesaplanmıştır.

2.2.3.7. Ham Selüloz Sindirilebilirlik Analizi

İn vitro sindirim denemesi öncesinde tüm yem maddelerinin ham selüloz analizleri yapılmıştır. *İn vitro* sindirim denemesi sonunda keselerin içerisindeki sindirilmemiş yem kalıntılarının da ham selüloz analizleri yapılarak elde edilen verilerle ham selüloz sindirilebilirlik (HSS) hesaplaması yapılmıştır.

2.2.4. İstatistik Analizler

Çalışma sonucunda elde edilen veriler IVGSKM, IVGS, HPS ve HSS değerleri aritmetik ortalamalar ve standart hatalar (havuz) kullanılarak özetlenmiştir. Her bir yem maddesinin kitosanla muamelesinin etkisi, hayvan türlerindeki farklılığın etkisi, son olarak her ikisinin interaksyonu belirlenmiştir. Aynı şekilde her bir hayvan türünün yem maddelerindeki farklılığın etkisi, kitosanla muamelesinin etkisi, son olarak da her ikisinin interaksyonu belirlenmiştir. Bu karşılaştırmalar “Univariate” testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Öncesinde yine aynı komut kullanılarak verilerin normal dağılımları belirlenmiştir. Hazırlanmış olan grafik ve çizelgelerde ortalamalar arasındaki farklılıklar IVGSKM, IVGS, HPS ve HSS değerlerinde ($p < 0,05$) seviyelerine göre TUKEY çoklu karşılaştırma testi kullanılarak belirlenmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Yem Maddelerinin Besin Madde Değerleri

Çalışmada kullanılan dört farklı yem hammaddesinin besin madde içerikleri ve Nispi Yem Değerleri (NYD) Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1: Çalışmada kullanılan yem hammaddelerinin besin madde içerikleri (Kuru madde bazında) ve NYD, %

Yem Hammaddesi	KM	HP	HS	HY	HK	ADL	aNDF	ADF	NYD
YKO	70,89	17,65	26,23	2,24	11,31	11,21	60,67	37,82	91,07
YS	30,74	18,65	21,22	0,68	6,71	5,20	28,01	23,65	234,05
MS	26,66	5,37	22,85	3,41	11,79	4,70	42,18	28,35	147,33
KO	86,76	10,96	32,12	1,53	10,90	7,69	40,62	30,52	149,12

KM: Kuru madde, HP: Ham protein, HS: Ham selüloz, HY: Ham yağ, HK: Ham küle, ADF: Asit deterjan lif, aNDF: Amilaz kullanılarak, Nötr deterjan lif, ADL: Asit deterjan lignin, NYD: Nispi Yem Değeri, YKO: Yonca kuru otu, YS: Yonca silaji, MS: Mısır silaji, KO: Çayır kuru otu

3.2. Rumen Sıvılarının pH Değerleri

Kesimden hemen sonra, inek rumen sıvısının pH'sı $6,34 \pm 0,075$ (ortalama \pm SD), manda rumen sıvısı pH'sı $6,48 \pm 0,056$ (ortalama \pm SD), koyun rumen sıvısı pH'sı $6,39 \pm 0,086$ (ortalama \pm SD), keçi rumen sıvısı pH'sı $6,41 \pm 0,098$ (ortalama \pm SD)'tür.

3.3. Hayvan Türleri Karşılaştırması

Manda, inek, koyun ve keçi hayvan türlerinin *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (IVGS), *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik (IVGS_{KM}), ham protein sindirilebilirlik (HPS), ham selüloz sindirilebilirlikleri (HSS) karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte kitosan yem katkı maddesinin sindirilebilirlik üzerindeki etkisi de incelenmiştir.

3.3.1. Yonca Kuru Otu

Yonca kuru otunun 48 saatlik *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik (IVGS_{KM}), *in vitro* gerçek sindirilebilirlik (IVGS), ham selüloz sindirilebilirlik (HSS) ve ham protein sindirilebilirlik (HPS) değerleri Çizelge 3.2'de verilmiştir. Çalışmada yonca kuru otuna kitosan ilave edilmesinin mandalarda *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirliğinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığı; inek, koyun ve keçide ise kitosanlı grup ortalamalarının kitosansız grup ortalamalarından anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Hayvan türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz keçi (%65,64) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli koyun olarak bulunmuştur (%60,15).

Yonca kuru otuna kitosan ilave edilmesinin mandalarda *in vitro* gerçek sindirilebilirliğinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığı; inek, koyun ve keçide ise kitosanlı grup ortalamalarının kitosansız grup ortalamalarından anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Hayvan türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). *In vitro* gerçek sindirilebilirlik ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz keçi (%46,61) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli koyun olarak bulunmuştur (%42,71).

Yonca kuru otuna kitosan ilave edilmesinin tüm hayvan türlerinde ham protein sindirilebilirlik değerlerinin kitosanlı grup ortalamalarının kitosansız grup ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Hayvan türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). Ham

protein sindirilebilirlik ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz keçi (%85,36) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli koyun olarak bulunmuştur (%67,16).

Yonca kuru otuna kitosan ilave edilmesinin tüm hayvan türlerinde ham selüloz sindirilebilirlik değerlerinde anlamlı bir fark görülmemiştir. Ham selüloz sindirilebilirlik ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz keçi (%56,25) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilavesiz koyun olarak bulunmuştur (%47,84).

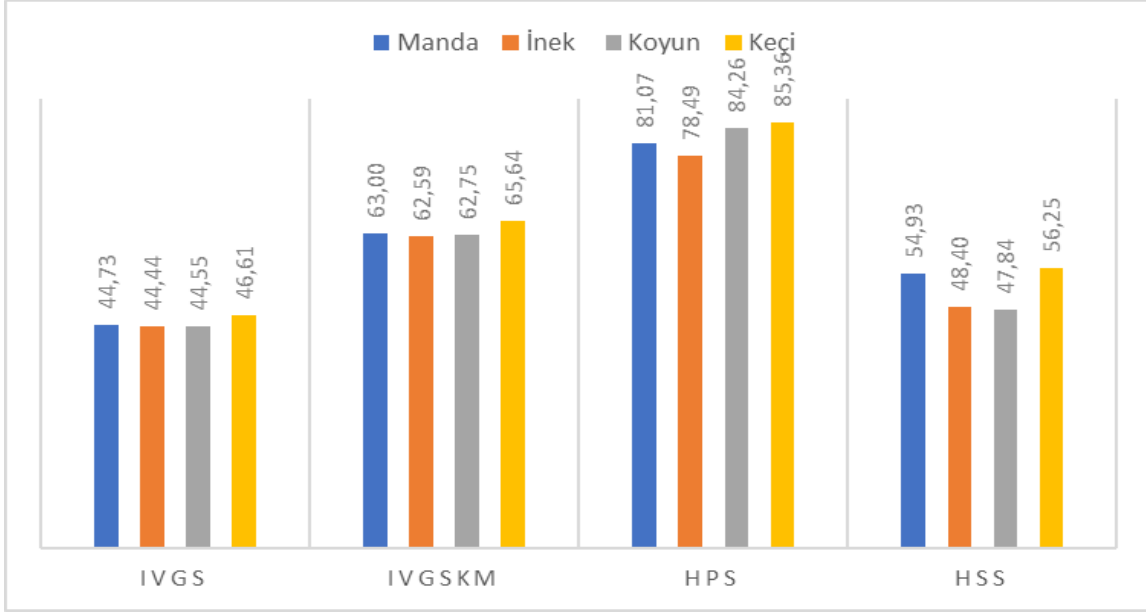
Yonca kuru otunun, *in vitro* kuru madde sindirilebilirlik, *in vitro* gerçek sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeylerinin farklı hayvan türlerindeki karşılaştırmalı gösterimi Şekil 3.1'de verilmiştir. IVGS_{KM} ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %63,00; %62,59; %62,75; %65,64 olarak bulunmuştur. IVGS ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %44,73; %44,44; %44,55; %46,61 olarak bulunmuştur. HSS ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %54,93; %48,40; %47,84; %56,25 olarak bulunmuştur. HPS ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %81,07; %78,49; %84,26; %85,36 olarak bulunmuştur.

Yonca kuru otuna kitosan ilaveli ve ilavesiz grupların IVGS_{KM}, IVGS, HPS, HSS değerleri Çizelge 3.3'te gösterilmiştir. Kitosan ilaveli grupların IVGS_{KM} ortalaması (%61,93), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%63,50) anlamlı olarak düşük bulunmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların IVGS ortalaması (%43,97), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%45,08) anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HPS ortalaması (%71,79), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%82,29) anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HSS ortalaması (%51,69) ile kitosan ilavesiz grupların ortalaması (%51,85) arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (p=0,520).

Çizelge 3.2: Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yonca kuru otunun, farklı hayvan türlerindeki *in vitro* gerçek kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Gruplar		IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Hayvan Türü	Yem katkı maddesi				
Manda	Kitosanlı	62,99 ^{bc}	44,73 ^{bc}	77,35 ^c	54,27 ^b
	Kitosansız	63,00 ^{bc}	44,73 ^{bc}	81,07 ^b	54,93 ^{ab}
İnek	Kitosanlı	60,93 ^d	43,26 ^d	69,92 ^e	48,73 ^c
	Kitosansız	62,59 ^c	44,44 ^c	78,49 ^c	48,40 ^c
Koyun	Kitosanlı	60,15 ^d	42,71 ^d	67,16 ^f	47,90 ^c
	Kitosansız	62,75 ^{bc}	44,55 ^{bc}	84,26 ^a	47,84 ^c
Keçi	Kitosanlı	63,63 ^b	45,18 ^b	72,72 ^d	55,86 ^{ab}
	Kitosansız	65,64 ^a	46,61 ^a	85,36 ^a	56,25 ^a
Standart hata		0,233	0,166	0,358	0,355
P değerleri (Hayvan türü × Kitosan)		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *In vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik



Şekil 3.1: Yonca kuru otunun, farklı hayvan türlerindeki *in vitro* gerçek kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Çizelge 3.3: Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yonca kuru otunun *in vitro* gerçek kuru madde, *in vitro* gerçek kuru madde, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Yem katkı maddesi	IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Kitosanlı	61,93 ^b	43,97 ^b	71,79 ^b	51,69 ^a
Kitosansız	63,50 ^a	45,08 ^a	82,29 ^a	51,85 ^a
Standart hata	0,117	0,083	0,179	0,178
P değerleri (Kitosan)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,520

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: İn vitro gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: İn vitro gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik

3.1.2. Yonca Silajı

Yonca silajına ait 48 saatlik IVGS_{KM}, IVGS, HSS ve HPS değerleri Çizelge 3.4'te verilmiştir. Çalışmada tüm hayvan türlerinde yonca silajına kitosan ilave edilmesinin IVGS_{KM} değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüşe sebep olduğu görülmüştür (p<0,01). Hayvan türü × kitosan interaksyonunda anlamlı bir fark görülmüştür

($p < 0,01$). $IVGS_{KM}$ ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz keçi (%79,27) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli koyun olarak bulunmuştur (%69,67).

Yonca silajına kitosan ilave edilmesinin IVGS değeri tüm hayvan türlerinde kitosanlı grup ortalamalarının kitosansız grup ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ($p < 0,01$). Hayvan türü \times kitosan interaksyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p < 0,01$). IVGS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz keçi (%24,57) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli koyun olarak bulunmuştur (%21,60).

Yonca silajına kitosan ilave edilmesinin tüm hayvan türlerinde HPS değerlerinin kitosanlı grup ortalamalarının kitosansız grup ortalamalarından istatistiksel olarak anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ($p < 0,01$). Hayvan türü \times kitosan interaksyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p < 0,01$). HPS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz manda (%96,03) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli inek olarak bulunmuştur (%87,84).

Yonca kuru otuna kitosan ilave edilmesinin tüm hayvan türlerinde HSS değerlerinde anlamlı bir fark görülmemiştir. HSS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilaveli manda (%55,54) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli koyun olarak bulunmuştur (%48,07).

Yonca silajı $IVGS_{KM}$, IVGS, HPS, HSS düzeylerinin farklı hayvan türlerindeki karşılaştırmalı gösterimi Şekil 3.2’de verilmiştir. $IVGS_{KM}$ ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %75,81; %74,83; %74,94; %79,27 olarak bulunmuştur. IVGS ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %23,50; %23,20; %23,23; %24,57 olarak bulunmuştur. HPS ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %96,03; %93,37; %95,76; %95,17 olarak bulunmuştur. HSS ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %55,45; %51,14; %48,46; %55,06 olarak bulunmuştur.

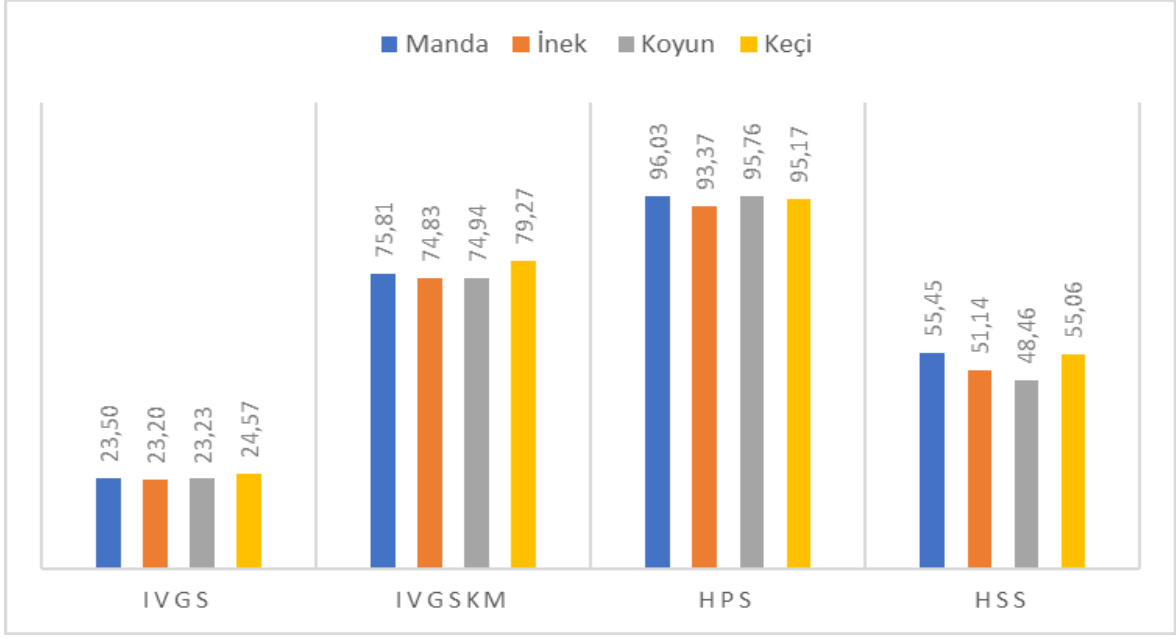
Yonca silajına kitosan ilaveli ve ilavesiz grupların $IVGS_{KM}$, IVGS, HSS ve HPS değerleri Çizelge 3.5’te gösterilmiştir. Kitosan ilaveli grupların $IVGS_{KM}$ ortalaması (%71,46), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%76,21) anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($< 0,001$). Kitosan ilaveli grupların IVGS ortalaması (%22,15), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%23,63) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur

(<0,001). Kitosan ilaveli grupların HPS ortalaması (%88,61), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%95,08) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HSS ortalaması (%52,58), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%52,53) anlamlı olarak bir fark görülmemiştir (p=0,809).

Çizelge 3.4: Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yonca silajının, farklı hayvan türlerindeki *in vitro* gerçek kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Gruplar		IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Hayvan Türü	Yem katkı maddesi				
Manda	Kitosanlı	72,58 ^c	22,50 ^c	88,47 ^{cd}	55,54 ^a
	Kitosansız	75,81 ^b	23,50 ^b	96,03 ^a	55,45 ^a
İnek	Kitosanlı	72,95 ^c	22,62 ^c	87,84 ^e	51,89 ^b
	Kitosansız	74,83 ^b	23,20 ^b	93,37 ^b	51,14 ^b
Koyun	Kitosanlı	69,67 ^d	21,60 ^d	88,83 ^c	48,07 ^c
	Kitosansız	74,94 ^b	23,23 ^b	95,76 ^a	48,46 ^c
Keçi	Kitosanlı	70,66 ^d	21,90 ^d	89,32 ^{cd}	54,84 ^a
	Kitosansız	79,27 ^a	24,57 ^a	95,17 ^a	55,06 ^a
Standart hata		0,280	0,087	0,430	0,325
P değerleri (Hayvan türü × Kitosan)		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: İn vitro gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: İn vitro gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik



Şekil 3.2: Yonca silajının, farklı hayvan türlerindeki *in vitro* gerçek kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Çizelge 3.5: Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yonca silajının *in vitro* kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Yem katkı maddesi	IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Kitosanlı	71,46 ^b	22,15 ^b	88,61 ^b	52,58 ^a
Kitosansız	76,21 ^a	23,63 ^a	95,08 ^a	52,53 ^a
Standart hata	0,318	0,043	0,152	0,163
P değerleri (Kitosan)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,809

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *In vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik

3.3.3. Mısır Silajı

Mısır silajına ait 48 saatlik IVGS_{KM}, IVGS, HSS ve HPS değerleri Çizelge 3.6'de verilmiştir. Çalışmada mısır silajına kitosan ilave edilmesinin inek ve mandalarda IVGS_{KM} değerinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığı; koyun ve keçide ise kitosanlı grup ortalamalarının kitosansız grup ortalamalarından anlamlı olarak düşük olduğu

görülmüştür ($p<0,01$). Hayvan türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). $IVGS_{KM}$ ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz keçi (%55,80) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli koyun olarak bulunmuştur (%46,99).

Mısır silajına kitosan ilave edilmesinin ineklerde $IVGS$ değerinde anlamlı bir farklılık oluşturmadığı; manda, koyun ve keçide ise kitosanlı grup ortalamalarının kitosansız grup ortalamalarından anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Hayvan türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). $IVGS$ ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz keçi (%15,07) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli koyun olarak bulunmuştur (%12,69).

Mısır silajına kitosan ilave edilmesinin tüm hayvan türlerinde ham protein sindirilebilirlik değerlerinin kitosanlı grup ortalamalarının kitosansız grup ortalamalarından anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Hayvan türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). Ham protein sindirilebilirlik ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz manda (%77,46) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli koyun olarak bulunmuştur (%67,13).

Mısır silajına kitosan ilave edilmesinin tüm hayvan türlerinde ham selüloz sindirilebilirlik değerlerinde anlamlı bir fark görülmemiştir. Ham selüloz sindirilebilirlik ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz manda (%40,84) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilavesiz koyun olarak bulunmuştur (%30,91).

Mısır silajı $IVGS_{KM}$, HPS, HSS düzeylerinin farklı hayvan türlerindeki karşılaştırmalı gösterimi Şekil 3.3'te verilmiştir. $IVGS_{KM}$ ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %54,01; %54,91; %52,76; %55,80 olarak bulunmuştur. $IVGS$ ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %14,58; %14,76; %14,25; %15,07 olarak bulunmuştur. HSS ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %40,84; %36,13; %30,91; %39,86 olarak bulunmuştur. HPS ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %75,42; %75,18; %78,24; %77,46 olarak bulunmuştur.

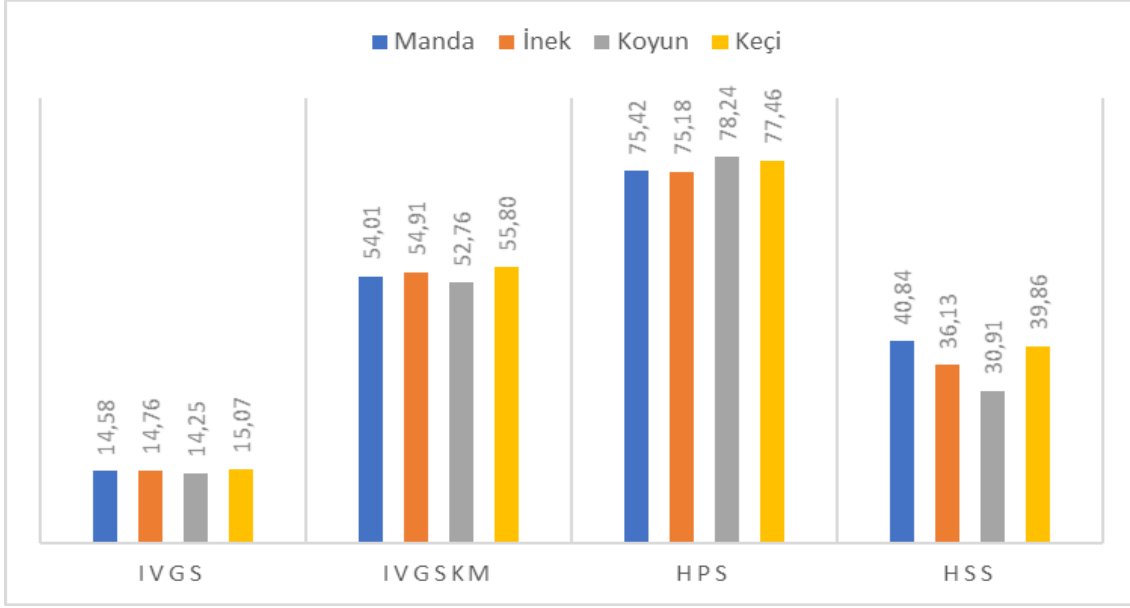
Mısır silajına kitosan ilaveli ve ilavesiz grupların $IVGS_{KM}$, $IVGS$, HPS, HSS değerleri Çizelge 3.9'da gösterilmiştir. Kitosan ilaveli grupların $IVGS_{KM}$ ortalaması (%51,27), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%54,29) anlamlı olarak düşük bulunmuştur

(<0,001). Kitosan ilaveli grupların IVGS ortalaması (%13,84), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%14,66) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HPS ortalaması (%69,27), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%76,58) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HSS ortalaması (%36,89), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%36,94) anlamlı olarak bir fark görülmemiştir (p=0,851).

Çizelge 3.6: Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz mısır silajının, farklı hayvan türlerindeki *in vitro* gerçek kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %.

Gruplar		IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Hayvan Türü	Yem katkı maddesi				
Manda	Kitosanlı	53,09 ^{bc}	14,34 ^{cd}	70,89 ^c	40,70 ^a
	Kitosansız	54,01 ^b	14,58 ^{bc}	75,42 ^b	40,84 ^a
İnek	Kitosanlı	53,97 ^{ab}	14,57 ^{bc}	70,94 ^c	36,14 ^b
	Kitosansız	54,91 ^{ab}	14,76 ^b	75,18 ^b	36,13 ^b
Koyun	Kitosanlı	46,99 ^e	12,69 ^f	67,13 ^d	31,08 ^c
	Kitosansız	52,76 ^c	14,25 ^d	78,24 ^a	30,91 ^c
Keçi	Kitosanlı	51,01 ^d	13,77 ^e	67,33 ^d	39,65 ^a
	Kitosansız	55,80 ^a	15,07 ^a	77,46 ^a	39,86 ^a
Standar Hata		0,255	0,069	0,281	0,321
P değerleri (Hayvan türü × Kitosan)		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *In vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik



Şekil 3.3: Mısır silajı *in vitro* kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri, %.

Çizelge 3.7: Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz mısır silajının *in vitro* kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Yem katkı maddesi	IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Kitosanlı	51,27 ^b	13,84 ^b	69,07 ^b	36,89 ^a
Kitosansız	54,29 ^a	14,66 ^a	76,58 ^a	36,94 ^a
Standart Hata	0,129	0,034	0,141	0,161
P değerleri (Kitosan)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,851

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *İn vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *İn vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik

3.3.4. Çayır Kuru Otu

Çayır kuru otuna ait 48 saatlik IVGS_{KM}, IVGS, HSS ve HPS değerleri Çizelge 3.8'de verilmiştir. Çalışmada çayır kuru otuna kitosan ilave edilmesinin IVGS_{KM} değerinde tüm hayvan türlerinde kitosanlı grup ortalamalarının kitosansız grup ortalamalarından anlamlı olarak düşük olduğu görülmüştür (p<0,01). Hayvan türü × kitosan interaksyonunda anlamlı bir fark görülmüştür (p<0,01). IVGS_{KM} ortalamaları en yüksek

olan grup kitosan ilavesiz inek (%63,99) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli inek olarak bulunmuştur (%56,92).

Çayır kuru otuna kitosan ilave edilmesinin IVGS değerinde tüm hayvan türlerinde anlamlı olarak düşüğe sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Hayvan türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). IVGS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz inek (%55,67) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli inek olarak bulunmuştur (%49,52).

Çayır kuru otuna kitosan ilave edilmesinin tüm hayvan türlerinde ham protein sindirilebilirlik değerlerinde anlamlı olarak düşüğe sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Hayvan türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). Ham protein sindirilebilirlik ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz manda (%80,90) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli keçi olarak bulunmuştur (%63,70).

Çayır kuru otuna kitosan ilave edilmesinin tüm hayvan türlerinde ham selüloz sindirilebilirlik değerlerinde anlamlı bir fark görülmemiştir. Ham selüloz sindirilebilirlik ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz keçi (%51,23) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli inek olarak bulunmuştur (%40,93).

Yonca kuru otuna $IVGS_{KM}$, HPS, HSS düzeylerinin farklı hayvan türlerindeki karşılaştırmalı gösterimi Şekil 3.4'te verilmiştir. $IVGS_{KM}$, IVGS ve HPS ortalamalarında manda ve inek arasında anlamlı bir fark görülmemişken, koyun ve keçi arasında istatistik olarak anlamlı bir fark görülmüştür. HSS ortalamaları için tüm hayvan türleri arasında anlamlı bir fark olduğu ortaya konmuştur ($<0,001$). $IVGS_{KM}$ ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %63,44; %63,99; %61,55; %63,47 olarak bulunmuştur. IVGS ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %54,78; %55,67; %53,55; %55,22 olarak bulunmuştur. HSS ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %45,81; %41,03; %47,95; %50,92 olarak bulunmuştur. HPS ortalamaları manda, inek, koyun ve keçide sırasıyla %80,90; %80,72; %79,92; %81,45 olarak bulunmuştur.

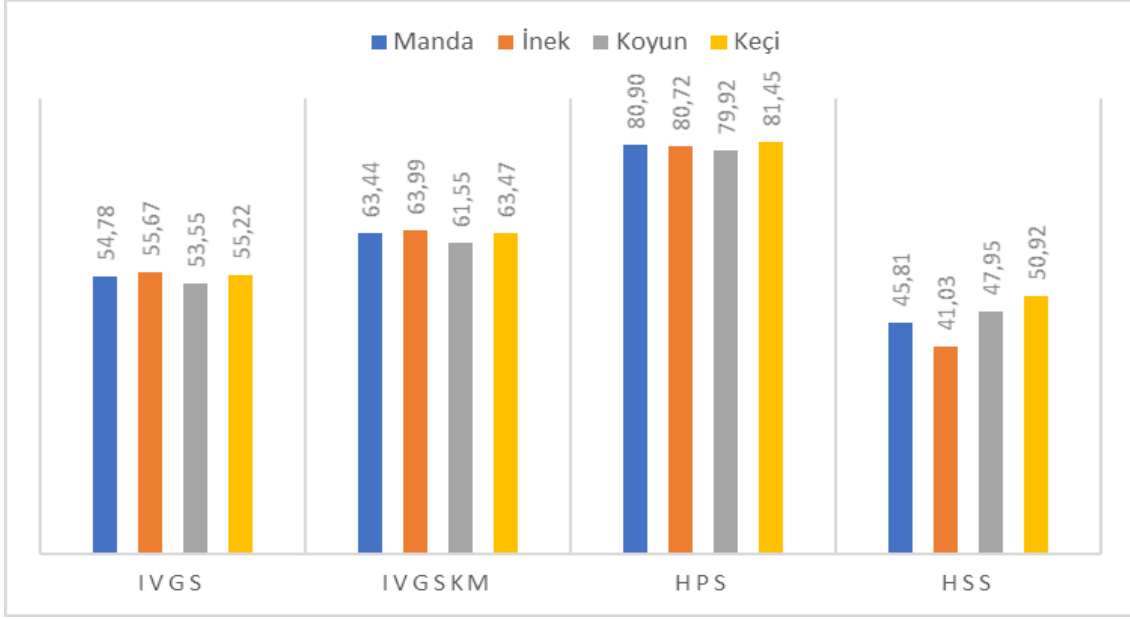
Çayır kuru otuna kitosan ilaveli ve ilavesiz grupların $IVGS_{KM}$, IVGS, HPS, HSS değerleri Çizelge 3.9'da gösterilmiştir. Kitosan ilaveli grupların $IVGS_{KM}$ ortalaması

(%59,46), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%63,11) anlamlı olarak düşük bulunmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların IVGS ortalaması (%51,69), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%54,80) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HPS ortalaması (%68,00), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%80,75) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HSS ortalaması (%46,72), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%46,43) anlamlı olarak bir fark görülmemiştir (p=0,278).

Çizelge 3.8: Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz çayır kuru otunun, farklı hayvan türlerindeki *in vitro* kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Gruplar		IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Hayvan Türü	Yem katkı maddesi				
Manda	Kitosanlı	57,62 ^d	49,99 ^e	70,87 ^c	46,44 ^{cd}
	Kitosansız	63,44 ^a	54,78 ^{ab}	80,90 ^{ab}	45,81 ^d
İnek	Kitosanlı	56,92 ^d	49,52 ^e	69,96 ^c	40,93 ^e
	Kitosansız	63,99 ^a	55,67 ^a	80,72 ^{ab}	41,03 ^e
Koyun	Kitosanlı	60,97 ^c	53,04 ^d	67,46 ^d	48,28 ^{bc}
	Kitosansız	61,55 ^{bc}	53,55 ^{cd}	79,92 ^b	47,95 ^b
Keçi	Kitosanlı	62,33 ^b	54,22 ^{bc}	63,70 ^e	51,23 ^a
	Kitosansız	63,47 ^a	55,22 ^a	81,45 ^{ab}	50,92 ^a
Standart Hata		0,236	0,208	0,160	0,374
P değerleri (Hayvan türü × Kitosan)		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *In vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik



Şekil 3.4: Çayır kuru otu *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri, %

Çizelge 3.9: Kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz çayır kuru otunun *in vitro* kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Yem katkı maddesi	IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Kitosanlı	59,46 ^b	51,69 ^b	68,00 ^b	46,72 ^a
Kitosansız	63,11 ^a	54,80 ^a	80,75 ^a	46,43 ^a
Standart Hata	0,118	0,104	0,130	0,187
P değerleri (Kitosan)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,278

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *In vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik

3.4. Yem Maddesi Karşılaştırması

Yonca kuru otu, çayır kuru otu, yonca silajı ve mısır silajı hayvan türlerinde IVGS_{KM}, IVGS, HSS ve HPS değerleri karşılaştırılmıştır. Bununla birlikte kitosan yem katkı maddesinin sindirilebilirlik üzerindeki etkisi de incelenmiştir.

3.4.1. Manda

Manda rumen sıvısı kullanılarak yapılmış olan 48 saatlik denemede tüm yem maddelerine ait IVGS_{KM}, IVGS, HSS ve HPS değerleri Çizelge 3.10'da verilmiştir. Çalışmada manda rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin yonca kuru otunda IVGS_{KM} değerinde anlamlı bir fark görülmediği; yonca silajı, mısır silajı çayır kuru otunda ise anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Yem türü × kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). IVGS_{KM} ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz yonca kuru otu (%63,00) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli mısır silajı olarak bulunmuştur (%53,09).

Manda rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin yonca silajında IVGS değerinde anlamlı bir fark görülmediği; yonca silajı, mısır silajı çayır kuru otunda ise anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Yem türü × kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). IVGS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz yonca kuru otu ve kitosan ilaveli yonca kuru otu (%44,73) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli mısır silajı olarak bulunmuştur (%14,34).

Manda rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin tüm yem türlerinin HPS değerinde anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Yem türü × kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). HPS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz yonca silajı (%96,03) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli çayır kuru otu olarak bulunmuştur (%70,87).

Manda rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin tüm yem türlerinde HSS değerinde anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). HSS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilaveli yonca silajı (%55,54) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli mısır silajı olarak bulunmuştur (%40,70).

Manda rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin farklı yem türlerindeki IVGS_{KM}, HSS ve HPS değerlerinin karşılaştırmalı gösterimi Şekil 3.5'te verilmiştir. IVGS_{KM} ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %63,00; %75,81; %54,01; %63,44 olarak bulunmuştur. IVGS ortalamaları yonca kuru

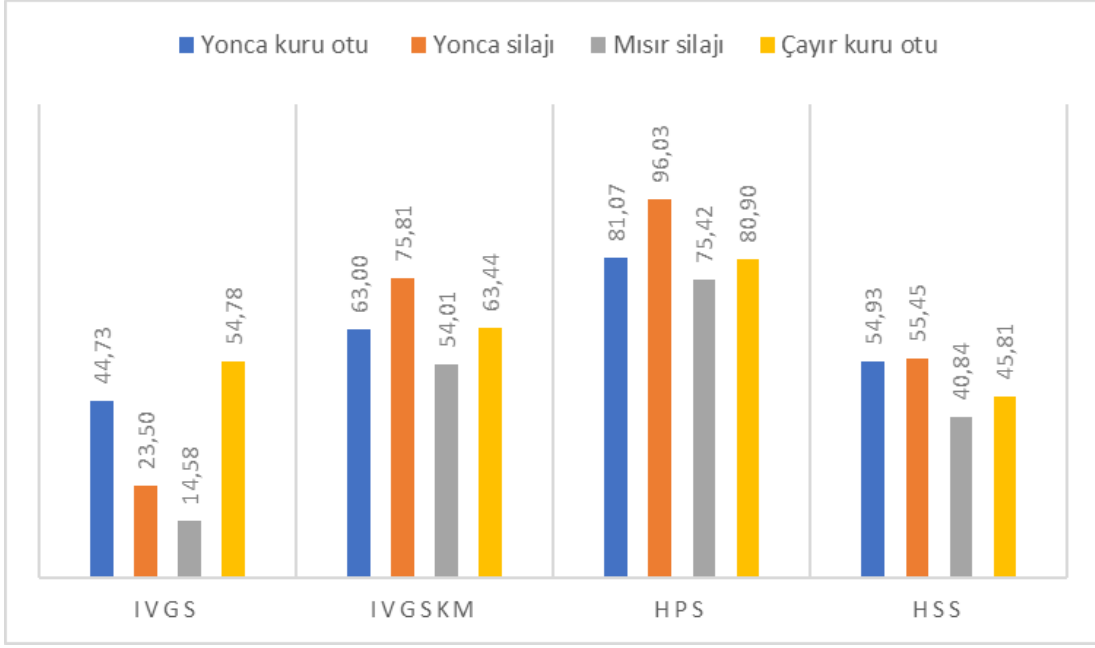
otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %44,73; %23,50; %14,58; %54,78 olarak bulunmuştur. HSS ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %54,93; %55,45; %40,84; %45,81 olarak bulunmuştur. HPS ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %81,07; %96,03; %75,42; %80,90 olarak bulunmuştur.

Manda rumen sıvısı kullanılan kitosanlı grup ve kitosansız grupların IVGS_{KM}, IVGS, HPS, HSS ortalamaları Çizelge 3.11’de gösterilmiştir. Kitosan ilaveli grupların IVGS_{KM} ortalaması (%61,53), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%63,95) anlamlı olarak düşük bulunmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların IVGS ortalaması (%32,89), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%34,40) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HPS ortalaması (%76,90), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%83,36) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HSS ortalaması (%49,24), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%49,26) anlamlı olarak bir fark görülmemiştir (p=0,921).

Çizelge 3.10: Manda rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmadaki kitosanlı ve kitosansız yem maddelerinin *in vitro* gerçek kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Gruplar		IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Yem Bitkisi Türü	Yem katkı maddesi				(x ± Sx)
Yonca kuru otu	Kitosanlı	62,99 ^c	44,73 ^c	77,35 ^d	54,27 ^a
	Kitosansız	63,00 ^c	44,73 ^c	81,07 ^c	54,93 ^a
Yonca silajı	Kitosanlı	72,58 ^b	22,50 ^e	88,47 ^b	55,54 ^a
	Kitosansız	75,81 ^a	23,50 ^d	96,03 ^a	55,45 ^a
Mısır silajı	Kitosanlı	53,09 ^e	14,34 ^f	70,89 ^f	40,70 ^c
	Kitosansız	54,01 ^e	14,58 ^f	75,42 ^e	40,84 ^c
Çayır kuru otu	Kitosanlı	57,62 ^d	49,99 ^b	70,87 ^f	46,44 ^b
	Kitosansız	63,44 ^c	54,78 ^a	80,90 ^c	45,81 ^b
Standart Hata		0,267	0,153	0,304	0,290
P değerleri (Yem türü × Kitosan)		< 0,001	< 0,001	0,0095	p<0,01

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *In vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik



Şekil 3.5: Manda rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada yem bitkilerinin *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri, %

Çizelge 3.11: Manda rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yem bitkileri grup ortalamalarının *in vitro* kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Yem katkı maddesi	IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Kitosanlı	61,53 ^b	32,89 ^b	76,90 ^b	49,24 ^a
Kitosansız	63,95 ^a	34,40 ^a	83,36 ^a	49,26 ^a
Standart Hata	0,133	0,076	0,152	0,145
P değerleri (Kitosan)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,921

^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *In vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik

3.4.2. İnek

İnek rumen sıvısı kullanılarak yapılmış olan 48 saatlik denemede tüm yem maddelerine ait IVGS_{KM}, IVGS, HSS ve HPS değerleri Çizelge 3.12'de verilmiştir. Çalışmada inek rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin mısır silajında IVGS_{KM} değerinde anlamlı bir

fark görülmediği; yonca silajı, yonca kuru otu, çayır kuru otunda ise anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Yem türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). IVGS_{KM} ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz yonca silajı (%74,83) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli mısır silajı olarak bulunmuştur (%53,97).

İnek rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin mısır silajında IVGS değerinde anlamlı bir fark görülmediği; yonca silajı, yonca kuru otu, çayır kuru otunda ise anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Yem türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). IVGS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz çayır kuru otu (%55,67) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli mısır silajı olarak bulunmuştur (%14,57).

İnek rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin tüm yem türlerinin HPS değerinde anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Yem türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). HPS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz yonca silajı (%93,37) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli yonca kuru otu olarak bulunmuştur (%69,92).

İnek rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin tüm yem türlerinde HSS değerinde anlamlı bir farka sebep olmadığı görülmüştür ($p=0,741$). HSS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilaveli yonca silajı (%51,89) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilavesiz mısır silajı olarak bulunmuştur (%36,13).

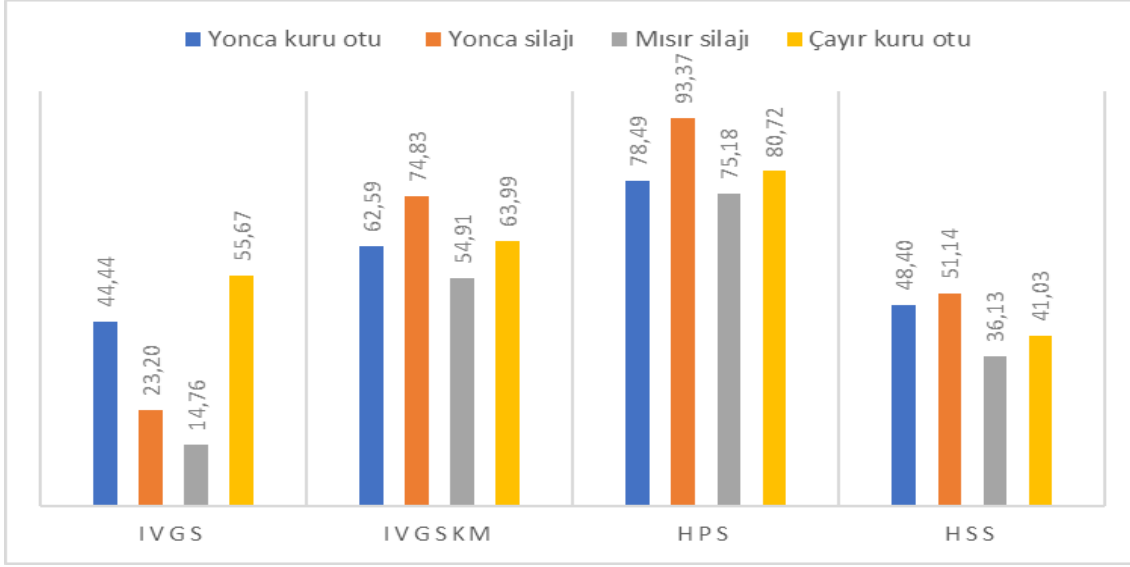
İnek rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin farklı yem türlerindeki IVGS_{KM}, HSS ve HPS değerlerinin karşılaştırmalı gösterimi Şekil 3.6'da verilmiştir. IVGS_{KM} ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %62,59; %74,83; %54,91; %63,99 olarak bulunmuştur. IVGS ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %44,44; %23,20; %14,76; %55,67 olarak bulunmuştur. HSS ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %48,40; %51,14; %36,13; %41,03 olarak bulunmuştur. HPS ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %78,49; %93,37; %75,18; %80,72 olarak bulunmuştur.

İnek rumen sıvısı kullanılan kitosanlı grup ve kitosansız grupların IVGS_{KM}, IVGS, HPS, HSS ortalamaları Çizelge 3.13'de gösterilmiştir. Kitosan ilaveli grupların IVGS_{KM} ortalaması (%61,19), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%64,02) anlamlı olarak düşük bulunmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların IVGS ortalaması (%32,49), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%34,52) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HPS ortalaması (%74,67), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%81,94) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HSS ortalaması (%44,42), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%44,18) anlamlı olarak bir fark görülmemiştir (p=0,414).

Çizelge 3.12: İnek rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmadaki kitosanlı ve kitosansız yem maddelerinin *in vitro* kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Gruplar		IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Yem Bitkisi Türü	Yem katkı maddesi				
Yonca kuru otu	Kitosanlı	60,93 ^e	43,26 ^d	69,92 ^f	48,73 ^b
	Kitosansız	62,59 ^d	44,44 ^c	78,49 ^d	48,40 ^b
Yonca silajı	Kitosanlı	72,95 ^b	22,62 ^e	87,84 ^b	51,89 ^a
	Kitosansız	74,83 ^a	23,20 ^e	93,37 ^a	51,14 ^a
Mısır silajı	Kitosanlı	53,97 ^g	14,57 ^f	70,94 ^f	36,14 ^d
	Kitosansız	54,91 ^g	14,76 ^f	75,18 ^e	36,13 ^d
Çayır kuru otu	Kitosanlı	56,92 ^f	49,52 ^b	69,96 ^f	40,93 ^c
	Kitosansız	63,99 ^c	55,67 ^a	80,72 ^c	41,03 ^c
Standart Hata		0,237	0,139	0,324	0,415
P değerleri (Yem türü × Kitosan)		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

^{a,b,c,d,e} Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *In vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik



Şekil 3.6: İnek rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada yem bitkilerinin *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri, %

Çizelge 3.13: İnek rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yem bitkileri grup ortalamalarının *in vitro* kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Yem katkı maddesi	IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Kitosanlı	61,19 ^b	32,49 ^b	74,67 ^b	44,42 ^a
Kitosansız	64,02 ^a	34,52 ^a	81,94 ^a	44,18 ^a
Standart Hata	0,119	0,070	0,162	0,207
P değerleri (Kitosan)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,414

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *In vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik

3.4.3. Koyun

Koyun rumen sıvısı kullanılarak yapılmış olan 48 saatlik denemede tüm yem maddelerine ait IVGS_{KM}, IVGS, HSS ve HPS değerleri Çizelge 3.14'da verilmiştir. Çalışmada koyun rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin çayır kuru otunun IVGS_{KM} değerinde anlamlı bir fark görülmediği; yonca silajı, yonca kuru otu, mısır silajında ise anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür (p<0,01). Yem türü × kitosan

interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). $IVGS_{KM}$ ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz yonca silajı (%74,94) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli mısır silajı olarak bulunmuştur (%46,99).

Koyun rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin çayır kuru otunun IVGS değerinde anlamlı bir fark görülmediği; yonca silajı, yonca kuru otu, mısır silajında ise anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Yem türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). IVGS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz çayır kuru otu (%53,55) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli mısır silajı olarak bulunmuştur (%12,69).

Koyun rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin tüm yem türlerinin HPS değerinde anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Yem türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). HPS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz yonca silajı (%95,76) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli yonca kuru otu olarak bulunmuştur (%67,16).

Koyun rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin tüm yem türlerinde HSS değerinde anlamlı bir farka sebep olmadığı görülmüştür. HSS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz yonca silajı (%48,46) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilavesiz mısır silajı olarak bulunmuştur (%30,91).

Koyun rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin farklı yem türlerindeki $IVGS_{KM}$, HSS ve HPS değerlerinin karşılaştırmalı gösterimi Şekil 3.7'da verilmiştir. $IVGS_{KM}$ ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %62,75; %74,94; %52,76; %61,55 olarak bulunmuştur. IVGS ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %44,55; %23,23; %14,25; %53,55 olarak bulunmuştur. HSS ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %47,84; %48,46; %30,91; %47,95 olarak bulunmuştur. HPS ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %84,26; %95,76; %78,24; %79,91 olarak bulunmuştur.

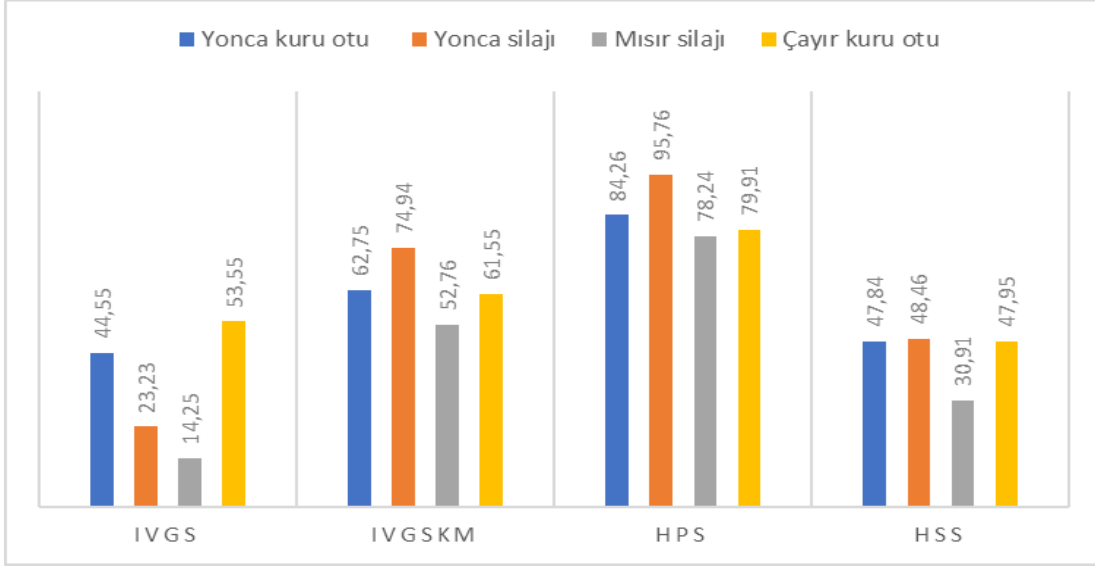
Koyun rumen sıvısı kullanılan kitosanlı grup ve kitosansız grupların $IVGS_{KM}$, IVGS, HPS, HSS ortalamaları Çizelge 3.15'de gösterilmiştir. Kitosan ilaveli grupların $IVGS_{KM}$ ortalaması (%59,44), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%63,00) anlamlı olarak

düşük bulunmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların IVGS ortalaması (%32,51), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%33,89) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HPS ortalaması (%72,77), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%84,40) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HSS ortalaması (%43,83), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%43,79) anlamlı olarak bir fark görülmemiştir (p=0,855).

Çizelge 3.14: Koyun rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmadaki kitosanlı ve kitosansız yem maddelerinin *in vitro* kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Gruplar		IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Yem Bitkisi Türü	Yem katkı maddesi				
Yonca kuru otu	Kitosanlı	60,15 ^e	42,71 ^c	67,16 ^f	47,90 ^a
	Kitosansız	62,75 ^c	44,55 ^b	84,26 ^c	47,84 ^a
Yonca silajı	Kitosanlı	69,67 ^b	21,60 ^e	88,83 ^b	48,07 ^a
	Kitosansız	74,94 ^a	23,23 ^d	95,76 ^a	48,46 ^a
Mısır silajı	Kitosanlı	46,99 ^g	12,69 ^g	67,13 ^f	31,08 ^b
	Kitosansız	52,76 ^f	14,25 ^f	78,24 ^e	30,91 ^b
Çayır kuru otu	Kitosanlı	60,97 ^{de}	53,04 ^a	67,46 ^f	48,28 ^a
	Kitosansız	61,55 ^d	53,55 ^a	79,92 ^d	47,95 ^a
Standart Hata		0,256	0,131	0,316	0,354
P değerleri (Yem türü × Kitosan)		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *İn vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *İn vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik



Şekil 3.7: Koyun rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada yem bitkilerinin *in vitro* kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri, %

Çizelge 3.15: Koyun rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yem bitkileri grup ortalamalarının *in vitro* kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Yem katkı maddesi	IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Kitosanlı	59,44 ^b	32,51 ^b	72,77 ^b	43,83 ^a
Kitosansız	63,00 ^a	33,89 ^a	84,40 ^a	43,79 ^a
Standart Hata	0,128	0,066	0,158	0,177
P değerleri (Kitosan)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,855

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: İn vitro gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: İn vitro gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik

3.4.4. Keçi

Keçi rumen sıvısı kullanılarak yapılmış olan 48 saatlik denemede tüm yem maddelerine ait IVGS_{KM}, IVGS, HSS ve HPS değerleri Çizelge 3.16'da verilmiştir. Çalışmada keçi rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin tüm yem türlerinin IVGS_{KM} değerinde anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür (p<0,01). Yem türü × kitosan

interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). $IVGS_{KM}$ ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz yonca silajı (%79,27) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli mısır silajı olarak bulunmuştur (%51,01).

Keçi rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin tüm yem türlerinin IVGS değerinde anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Yem türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). IVGS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz çayır kuru otu (%55,22) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli mısır silajı olarak bulunmuştur (%13,77).

Keçi rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin tüm yem türlerinin HPS değerinde anlamlı olarak azalmaya sebep olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Yem türü \times kitosan interaksiyonunda anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0,01$). HPS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz yonca silajı (%95,17) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli çayır kuru otu olarak bulunmuştur (%63,70).

Keçi rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin tüm yem türlerinde HSS değerinde anlamlı bir farka sebep olmadığı görülmüştür. HSS ortalamaları en yüksek olan grup kitosan ilavesiz yonca kuru otu (%56,25) bulunurken; en düşük olan grup ise kitosan ilaveli mısır silajı olarak bulunmuştur (%39,65).

Keçi rumen sıvısına kitosan ilave edilmesinin farklı yem türlerindeki $IVGS_{KM}$, HSS ve HPS değerlerinin karşılaştırmalı gösterimi Şekil 3.8'de verilmiştir. $IVGS_{KM}$, IVGS, HSS ve HPS ortalamalarında tüm yem türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($<0,001$). $IVGS_{KM}$ ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %65,64; %79,27; %55,80; %63,47 olarak bulunmuştur. IVGS ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %46,61; %24,57; %15,07; %55,22 olarak bulunmuştur. HSS ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %56,25; %55,06; %39,86; %50,92 olarak bulunmuştur. HPS ortalamaları yonca kuru otu, yonca silajı, mısır silajı ve çayır kuru otunda sırasıyla %85,36; %95,17; %77,46; %81,45 olarak bulunmuştur.

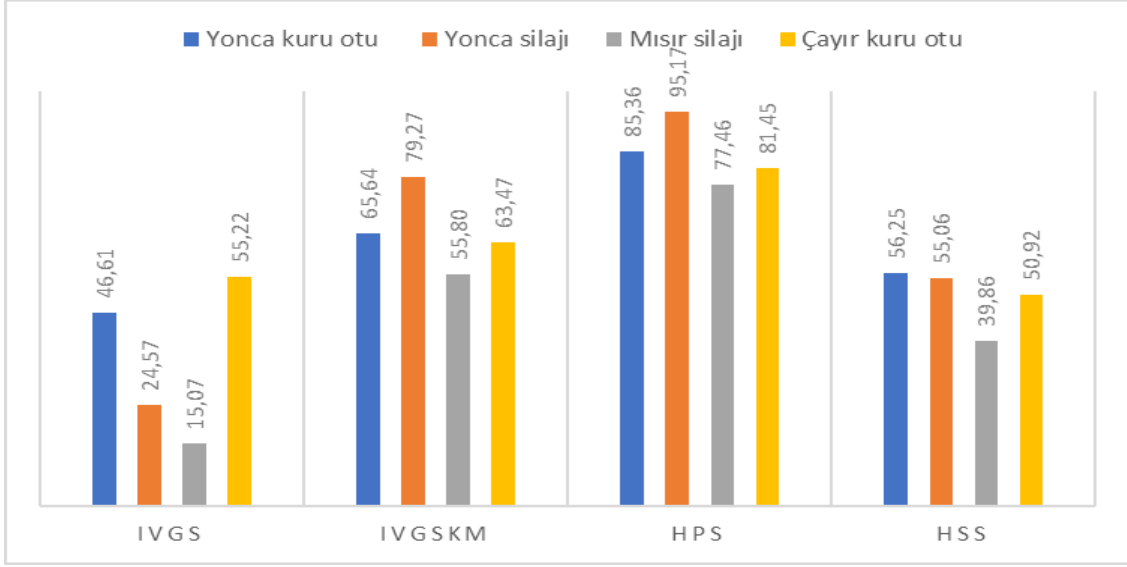
Keçi rumen sıvısı kullanılan kitosanlı grup ve kitosansız grupların $IVGS_{KM}$, IVGS, HPS, HSS ortalamaları Çizelge 3.17'de gösterilmiştir. Kitosan ilaveli grupların $IVGS_{KM}$

ortalaması (%61,91), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%66,04) anlamlı olarak düşük bulunmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların IVGS ortalaması (%33,77), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%35,36) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HPS ortalaması (%73,14), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%85,01) anlamlı olarak düşük ortaya konmuştur (<0,001). Kitosan ilaveli grupların HSS ortalaması (%50,39), kitosan ilavesiz grupların ortalamasından (%50,52) anlamlı olarak bir fark görülmemiştir (p=0,563).

Çizelge 3.16: Keçi rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmadaki kitosanlı ve kitosansız yem maddelerinin *in vitro* kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Gruplar		IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Yem Bitkisi Türü	Yem katkı maddesi				
Yonca kuru otu	Kitosanlı	63,63 ^d	45,16 ^d	72,72 ^f	55,86 ^a
	Kitosansız	65,64 ^c	46,61 ^c	85,36 ^c	56,25 ^a
Yonca silajı	Kitosanlı	70,66 ^b	21,90 ^f	89,32 ^b	54,84 ^a
	Kitosansız	79,27 ^a	24,57 ^c	95,17 ^a	55,06 ^a
Mısır silajı	Kitosanlı	51,01 ^g	13,77 ^h	67,33 ^g	39,65 ^c
	Kitosansız	55,80 ^f	15,07 ^g	77,46 ^e	39,86 ^c
Çayır kuru otu	Kitosanlı	62,33 ^e	54,22 ^b	63,70 ^h	51,23 ^b
	Kitosansız	63,47 ^d	55,22 ^a	81,45 ^d	50,92 ^b
Standart Hata		0,250	0,142	0,267	0,306
P değerleri (Yem türü × Kitosan)		< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *In vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik



Şekil 3.8: Keçi rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada yem bitkilerinin *in vitro* kuru madde sindirilebilirlik, ham protein sindirilebilirlik, ham selüloz sindirilebilirlik düzeyleri, %

Çizelge 3.17: Keçi rumen sıvısı kullanılarak yapılan çalışmada kitosan ilaveli ve kitosan ilavesiz yem bitkileri grup ortalamalarının *in vitro* kuru madde, *in vitro* gerçek, ham protein, ham selüloz sindirilebilirliği, %

Yem katkı maddesi	IVGS _{KM}	IVGS	HPS	HSS
Kitosanlı	61,91 ^b	33,77 ^b	73,14 ^b	50,39 ^a
Kitosansız	66,04 ^a	35,36 ^a	85,01 ^a	50,52 ^a
Standart Hata	0,124	0,071	0,133	0,153
P değerleri (Kitosan)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,563

^{a,b,c,d,e}Aynı sütunda aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında anlamlı bir fark yokken, farklı harflerle gösterilen gruplar birbirinden farklıdır. IVGS_{KM}: *In vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirlik, IVGS: *In vitro* gerçek sindirilebilirlik, HPS: Ham protein sindirilebilirlik, HSS: Ham selüloz sindirilebilirlik

4. TARTIŞMA

Yapılan çalışmada, alternatif yem katkı maddelerinden birisi olan kitosanın mısır silajı, yonca kuru otu, yonca silajı ve çayır kuru otunun *in vitro* sindirilebilirliklerine etkisi Daisy inkübatör yöntemiyle ölçülerek incelenmiştir. Bu ölçümler inek, manda, koyun ve

keçi olmak üzere dört farklı hayvan türünde yapılarak hayvan türleri arasındaki farklılıkların karşılaştırması yapılmıştır.

4.1. Hayvan Türünün Sindirilebilirliğe Etkisi

Ruminantların sindirim sisteminin fizyolojisi ve anatomisi türler arasında farklılık göstermektedir. Evcilleştirilmiş ruminantlar arasında olan koyun, sığır ve mandalar kaba yem seçici olarak nitelendirilirken; keçiler ise hem kaba yem hem konsantre yem seçici olarak nitelendirilirler (Aydilek, 2021; Özçınar, 2021)

Yapılan çalışmada koyun ve inek hayvan türleri karşılaştırıldığında yonca kuru otu ve yonca silajı yem bitkilerinin sindirilebilirlik oranında anlamlı bir fark olmadığı ($p < 0,01$) görülürken; mısır silajı ve çayır kuru otunun sindirilebilirlik oranında ise türler arasında fark olduğu tespit edilmiştir. Koyunların sığırlardan daha zayıf, daha iyi veya özdeş olduğunu kesin olarak söylemek mümkün olmamaktadır. Koyun ve sığırların arasında farklılıkların olduğu ve bu farklılıkların kullanılan yemin niteliğiyle de ilişkili olduğu bildirilmiştir (Cipolloni vd. (1951).

Chanthakhoun vd. (2012), mandanın ruminal pH ve ruminal $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonunun sığırlardan farklı olmadığını; ancak mandalarda kuru madde, organik madde, ham protein, NDF ve ADF sindirilebilirliğinin sığırlara göre daha yüksek olduğu bildirmiştir. Rumen sıvısındaki toplam selülitik bakteri sayısının mandada sığırlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ancak sığırlardaki *F. succinogenes* mandadan daha yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmada da benzer şekilde mandanın sığıra kıyasla yonca kuru otu ve yonca silajı yem maddelerinin kuru madde, ham selüloz ve ham protein sindirilebilirliği anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,01$).

Calabro vd. (2004), kanüllü manda ve ineklerden elde edilen rumen sıvılarını, mısır silajı, buğday samanı, çayır silajı yem bitkilerinin fermantasyon kinetiğini belirlemek için kullanmıştır. Manda ve inek rumen sıvısının organik madde sindirilebilirliğinin aynı olduğu bildirilmiştir. İnekler mandalardan daha az fibrolitik rumen bakteri popülasyonuna sahip olmasına rağmen, inek rumen sıvısında daha yüksek fibrolitik mantar popülasyonu ile telafi edildiği öne sürülmüştür (Calabro, 2004). Grant vd.

(1974) ise rumen sıvısı kaynağının (sığır ve manda) kaba yemlerin *in vitro* gerçek kuru madde sindirilebilirliği üzerindeki etkisini incelemiştir ve eğer donör hayvanlar aynı rasyonu tüketiyorsa sindirilebilirliğin iki inokülant için aynı olduğunu bildirmiştir. Yapılmış olan çalışmada ise mısır silajının inek rumen sıvısındaki sindirilebilirliği mandaya kıyasla daha yüksek bulunurken; yonca kuru otunun manda rumen sıvısındaki sindirilebilirliği ineğe kıyasla daha düşük bulunmuştur ($p < 0,001$). Çayır kuru otu ve yonca silajında ise inek ve manda hayvan türleri arasında anlamlı bir fark olmadığı ortaya konmuştur.

Aynı yemlerle beslenen (%60 kaba yem, %40 konsantre yem) koyun ve sığırlardan alınan rumen sıvılarının farklı sindirilebilirliğe sahip olabileceği ve mandalardan alınan rumen içeriğinin koyunlardan alınan rumen içeriğine kıyasla 120 saatlik inkübasyonda daha yüksek sindirilebilirliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Calabro vd., 2005). Mısır silajının *in vitro* organik madde sindirilebilirliği koyunda %72, mandada ise %75,6 olarak bulunmuştur. Manda rumen pH değeri 6.45 olarak bulunurken koyun rumen pH değeri 6.39 olarak bildirilmiştir. Çayır kuru otunun *in vitro* organik madde sindirilebilirliği koyunda %69,0; mandada ise %69,7 olarak bildirilmiştir. Manda rumen pH değeri 6.58 olarak bulunurken koyun rumen pH değeri 6.47 olarak bildirilmiştir. Yapılan çalışmadaki veriler incelendiği zaman ise benzer bir şekilde manda rumen sıvısı pH değeri $6.48 \pm 0,056$, koyunlarda ise rumen sıvısı pH değeri $6.39 \pm 0,104$ olarak ölçülmüştür. Mısır silajının 48 saatlik inkübasyon sonrasında $IVGS_{KM}$ değeri mandada %54,01 olarak, koyunda %52,76 olarak ölçülmüştür. Çayır kuru otunun 48 saatlik inkübasyon sonrasında $IVGS_{KM}$ değeri mandada %63,44 olarak, koyunda %61,55 olarak ölçülmüştür. Calabro vd. (2005) tarafından ortaya konulan veriler ile çalışmada ölçülen değerlerden farklı olmasının sebebi yemin besin madde içeriğindeki farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Buna karşın koyunlardaki besin madde sindirilebilirliğinin mandadaki sindirilebilirliğinden düşük olması sonucu literatürü destekler niteliktedir.

Mandaların sığırlara kıyasla kaba yemleri daha iyi değerlendirmesinin sebepleri; mandalara ait ruminal özelliklerin amonyak-nitrojen kullanımı için daha elverişli olması, mandalarda çözünür karbonhidratlar tarafından selüloz sindiriminin daha az engellenmesi, mandaların stresli ortamlarla başa çıkmada üstün yetenek sahibi olması

ve mandaların kaba yem kaynaklarına daha kolay adapte olması gibi faktörlerle ilişkilendirilmiştir (Calabro, 2004).

Bueno vd., (2015) küçükbaş hayvanların büyükbaş hayvanlardan daha düşük rumen sindirilebilirliği, asetat üretimi ve gaz üretimine sahip olduğunu bildirmiştir. Van Soest (1994) aynı durumu küçükbaş hayvanların, özellikle keçilerin rumen sıvılarındaki fibrolitik mikroorganizma oranının daha az olması ile ilişkilendirmiştir. Keçi gibi küçük baş hayvanlar daha küçük rumen, daha az gelişmiş omasum ve daha gelişmiş bağırsağa sahiptir. Bu anatomik yapılar, küçük baş hayvanlarda yüksek sindirim geçiş oranı sağlar (Bueno vd., 2015). Geviş getiren hayvanların *in vitro* fermantasyon ve sindirilebilirliklerindeki farklılıklar farklı mikrobiyal popülasyonlara bağlanabilir.

King ve Plaizier (2006), kullanılan inokulum kaynağının (süt ineği ve besi sığırı) yonca silajının *in vitro* kuru madde sindirilebilirliği üzerindeki etkisini belirlemiştir. İnokulum kaynağının *in vitro* kuru madde sindirilebilirliğini önemli ölçüde etkilemediği bildirilmiştir. Yonca silajının *in vitro* kuru madde sindirilebilirliği %72,7 olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada, inek rumen sıvısının inokulum olarak kullanıldığı denemede yonca silajının IVGS_{KM} değeri %74,83 olarak bulunmuştur.

4.2. Kullanılan Yem Maddesinin Sindirilebilirliğe Etkisi

Rumende yıkımlanacak besinler, substratın içsel özelliklerine bağlıdır. Potansiyel olarak bozunabilir ve bozunamaz fraksiyonun boyutu, maksimum bozunma hızına ulaşıldıktan sonra sabit kalır. Bu aşamadan sonra bozunma oranı yalnızca alt tabakanın özelliklerine göre belirlenir. Hiçbir enzimatik faktör, substrata tamamen özgü olan bir yem maddesinin potansiyelini etkileyemez (Li vd., 2013).

Köseoğlu vd. (2020) sığır rumen sıvısı kullanılan çalışmada ham protein oranı %16,25 olan yonca kuru otunun *in vitro* kuru madde sindirilebilirliğini %63,20 olarak bildirmiştir. Yapmış olduğumuz çalışma da benzer şekilde ham protein oranı %17,65 olan yonca kuru otunun IVGS_{KM} değerinin inek rumen sıvısı kullanılan çalışmada %62,59, manda rumen sıvısı kullanılan çalışmada ise %63,00 olduğu bulunmuştur.

Kirwan vd. (2021), yapmış oldukları çalışma sonucunda ham protein değeri %16 olan rasyona eklenen kitosanın kuru madde sindirilebilirliğini %69,95'den %67,50'ye

düşürürken; ham protein oranı %13 olan rasyona eklenen kitosanın kuru madde sindirilebilirliğini %69,29'ten %67,22'ye düşürdüğünü bildirmiştir. Ham protein değeri %16 olan rasyona eklenen kitosanın ise ham protein sindirilebilirliğini %71,47'den %68,83'e düşürürken; ham protein oranı %13 olan rasyona eklenen kitosanın kuru madde sindirilebilirliğini %64,38'ten %61,36'ya düşürdüğü bildirilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışma da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ham protein oranı %12,92 olan yonca silajı ve inek rumen sıvısı kullanılan denemede *in vitro* kuru madde sindirilebilirliği %60,93'ten %60,59'a düşerken, ham protein sindirilebilirliği %78,48'den %69,92'ye düşmüştür. Ham protein oranı %17,65 olan yonca kuru otu ve inek rumen sıvısı kullanılan denemede ise *in vitro* kuru madde sindirilebilirliği %74,83'ten %72,95'a düşerken, ham protein sindirilebilirliği %93,00'dan %87,15'e düşmüştür.

Goiri vd. (2010), koyunlarda kitosanın sindirilebilirlik üzerindeki etkilerini farklı substrat modelleriyle karşılaştırmalı olarak araştırmıştır. Substrat olarak selüloz ve nişasta kullanılmıştır. Farklı inkübe edilmiş substratlar arasındaki sonuçlardaki farklılıklar, kitosanın farklı rumen bakterilerini farklı şekillerde etkilediğini göstermektedir. Ayrıca kitosan, ruminal NH₃-N konsantrasyonunun azalmasına neden olmuştur. Sonuçlara göre, kitosanın rumen mikrobiyal ekosistemini, özellikle selülitik bakterileri etkileyebileceğini ve bu şekilde rumen fermentatif aktivitesini değiştireceği fikrini oluşturmuştur. Bir yemin NDF fraksiyonu, sadece rumende veya kalın bağırsakta fermentasyon ile sindirilebilir. Kitosanın, lifli yemlerin *in vitro* ruminal sindirimini azalttığı rapor edilmiştir. Bu da selülitik bakterilere karşı bir etki olduğunu düşündürmektedir (Goiri vd., 2009a). Goiri vd. (2010) ayrıca kitosanın, kuru madde alımını etkilemeden propiyonat oranını artırarak ve asetat/propiyonat oranını azaltarak koyunların rumen fermentasyon modelini değiştirdiğini bildirmiştir. Yapılan çalışmada da benzer şekilde koyunlarda kitosanın *in vitro* kuru madde sindirilebilirliğini ve ham protein sindirilebilirliğini azalttığı tespit edilmiştir.

Wencelová vd., (2014), inokülant olarak koyun rumen sıvısı kullandıkları çalışmada kitosanın mısır silajının *in vitro* kuru madde sindirilebilirliğini azalttığını bildirmiştir. Bu durum, kitosanın antimikrobiyal özelliğinden dolayı rumen protozoalarının azalması ve buna bağlı olarak rumende kuru madde sindiriminin azalması ile ilişkilendirilmiştir.

Kitosan ilaveli mısır silajının *in vitro* kuru madde sindirilebilirlik oranı %53,2 olarak, kitosansız grupların oranı ise %53,9 olarak bildirilmiştir. Yapılan çalışmada da benzer şekilde koyun rumen sıvısının kullanıldığı kitosanlı gruplarda mısır silajının IVGS_{KM} oranı %46,99 olarak bulunurken, kitosansız gruplarda bu oran %52,76 olarak tespit edilmiştir.

4.3. Kitosanın Sindirilebilirliğe Etkisi

Son yıllarda geniş getiren hayvanların performansını ve dolayısıyla hayvancılık üretimini optimize etmek için maksimum karlılık sağlamayı amaçlayan çeşitli ürün ve teknikler geliştirilmiştir. Bu mekanizmalardan biri, katkı maddeleri kullanılarak rumen fermantasyonunun manipüle edilmesidir. Katkı maddelerinin kullanımı ile, ruminal mikrobiyota bileşiminin olumlu yönde değişmesinin sağlanması amaçlanmaktadır. Bu nedenle alternatif antimikrobiyal katkı maddeleri araştırılmıştır. Bunlar arasındaki kitosan, çeşitli bakteri, mantar ve mayalara karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal özelliklerinden dolayı umut verici bir potansiyel göstermiştir (Vendramini vd., 2016).

Kitosanın rasyona eklenmesinin, özellikle selülitik bakteriler üzerinde seçici etki yaparak rumen fermantasyonunu değiştirdiğini ve bu süreci daha enerji verimli hale getirdiğini göstermektedir. Propiyonat, glukoneogenezin ana substratıdır ve geniş getiren hayvanlar için önemli bir enerji kaynağını temsil eder. Kitosan kaplamanın emülsiyonun stabilitesini arttırmada etkili olduğu, ancak sindirilebilirliği biraz azalttığı bildirilmiştir (Li vd., 2013).

Goiri vd. (2009a), kitosanın optimum doz seviyesini ve uygun fiziksel karakterdeki kitosanı belirlemek için deasetilasyon derecesi %75, %85 ve <%95 olan kitosanların her birini 0, 325, 750 ve 1500 mg/l rumen sıvısı dozunda kullanmışlardır. Koyun rumen sıvısı kullanılan denemede substrat olarak da yonca kuru otu ve konsantre yem karması karışımı 80:20 (yüksek kaba yem içeriği), 50:50 (orta kaba yem içeriği) ve 20:80 (düşük kaba yem içeriği) kullanılmıştır. Kitosan türünden bağımsız olarak artan dozların *in vitro* organik madde sindirilebilirliğini (IVOMS) azalttığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmaya en yakın şartlara sahip olan yüksek kaba yem içeren substratın kullanıldığı denemede %85 deasetilize kitosan IVOMS kontrol grubunda %68, 325 mg/l rumen

sıvısı dozunda %58, 750 mg/l rumen sıvısı dozunda %52, 1500 mg/l rumen sıvısı dozunda %49'dur. IVOMS değerindeki en belirgin azalma yüksek kaba yem kullanılan denemede olduğu bildirilmiştir. Sırasıyla düşük, orta ve yüksek kitosan dozlarında yüksek kaba yem içeriğinde %14, 24 ve 29; orta kaba yem içeriğinde %13, 20 ve 22; düşük kaba yem içeriğinde %8, 15 ve %20 azalma olduğu bildirilmiştir. Lif açısından zengin rasyonlar için kitosan ilavesini azalan IVOMD'nin kuru madde tüketimini tehlikeye atabileceğinden dolayı önerilmeyeceği bildirilmiştir. Aynı zamanda rasyona kitosan eklenmesiyle sindirilebilirliğin azalması mikrobiyal büyümenin sınırlanmasıyla ilişkilendirilmiştir. Kitosanların varlığında, uçucu yağ asidi (VFA) profilini, enerji kaynağı olarak daha yüksek olan propiyonat yönünde kaydırarak ve buna bağlı olarak daha az metan üreterek rumen fermantasyon metabolizmasının değiştirilebileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte, bu faydalı etkinin, azalan yem sindirilebilirliği ve toplam UYA üretimi ile dengelenebileceği düşüncesi ortaya konmuştur.

Gandra vd. (2016), kitosanın süt sığırlarındaki toplam sindirimi, azot kullanımı, mikrobiyal protein sentezi üzerindeki etkilerini incelemiştir. Kitosanın, besin sindirimini iyileştirdiği, kuru madde alımını azalttığı ve sonuç olarak dışkıyla atılan nitrojeni azalttığı bildirilmiştir. Kuru madde alımı, açlığı ve tokluğu değiştiren rasyon ve hayvan faktörleri tarafından belirlenen, öğün büyüklüğü ve öğün sıklığının bir fonksiyonudur. Azalan KM alımı, rumenden besin maddeleri geçişini değiştirir ve yem ruminal ortamda daha uzun süre kullanılabilir. Böylece rumen besin sindirimini artırır. Karaciğerdeki okside olabilen enerjice zengin moleküller, hepatik vagal afferent sinirler yoluyla merkezi sinir sistemine bilgi ileterek yem tüketimini etkilemektedir. Kitosan katkılı yemle beslenen hayvanların rumende kuru madde sindirilebilirliğinin azaldığı, böylece bağırsaklardan emilerek karaciğere ulaşan enerjice zengin moleküllerin artarak kuru madde tüketiminin azaldığı öne sürülmüştür. Monensinin ruminal protein yıkımını azalttığı ve sonuç olarak ince bağırsağa mikrobiyal protein akışını azalttığı bildirilmiştir (Poos vd., 1979). Kitosanın, rumen protein yıkımında monensin ile aynı etkiye sahip olabileceği düşünülmüştür. Yapmış olduğumuz çalışmada benzer bir şekilde kitosanın tüm gruplarda protein sindirimini anlamlı olarak azalttığı görülmüştür ($p<0,01$). Fakat yine yapılan çalışmada bahsedilen çalışmanın (Gandra vd., 2016) aksine kitosan kullanımını sindirilebilirlik artışı yerine azalışa sebep olmuştur.

Goiri vd. (2008a), her biri farklı moleküler ağırlıklarına ve asetilasyon derecelerine sahip altı tip kitosan'ın rumen mikrobiyal fermentasyonu üzerindeki etkilerini incelemiştir. İlk denemede, altı kitosanın (CHI1, CHI2, CHI3, CHI4, CHI5 ve CHI6; asetilasyon derecesi sırasıyla %75, 85, 85, 85, 75-90, >95; moleküler ağırlıkları sırasıyla 200, 2000, 500, 200 20-200, <500 mPas) her biri için ayrı bir 750 mg/l kültür sıvısı konsantrasyonu 24 süreyle inkübe edilmiştir. Substrat olarak mısır silajı kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak iyonofor antibiyotik monensin (MON) ve kitosan içermeyen (CTR) bir negatif kontrol grubu kullanılmıştır. Altı kitosanın tümünde IVOMD değerlerini azalttığı bildirilmiştir. Bunun sebebinin kitosanın antimikrobiyal etkisi olabileceği öne sürülmüştür. Kitosan polimerlerinin antimikrobiyal aktivitesinin mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır, ancak en uygun hipotez, polikationik kitosan ve hücre yüzeylerindeki elektronegatif yükler arasındaki etkileşimler nedeniyle hücre geçirgenliğinde bir değişiklik olmasıdır (Sudarshan vd., 1992). Benzer şekilde yapılan çalışmada da %85 asetilasyon derecesine sahip kitosan kullanımı mısır silajı kullanılan denemede *in vitro* kuru madde sindirilebilirliğini azaltmıştır ($p<0,001$).

Hassan vd. (2015) ağır metallerin uzaklaştırılmasında ve antioksidan olarak kitosan, pektin ve C vitaminin keçi performansı üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak kitosan kullanımının ruminal sindirilebilirliğini artırdığı bunun yanında diğer katkılara kıyasla rumendeki propiyonik asidin kitosan eklenmiş grupta en yüksek değere sahip olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmada, Hassan vd. (2015)'nin yapmış olduğu çalışmanın aksine keçi rumen sıvısı kullanıldığında ham protein, kuru madde ve gerçek sindirilebilirliği azalırken ($p<0,001$), ham selüloz sindirilebilirliğinde anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Mingoti vd. (2016), laktasyondaki süt ineklerinin rasyonuna kitosan dahil edilmesinin fekal azot atılımını azalttığını bulmuşlar ve bunun, kitosanın neden olduğu rumen fermentasyonundaki değişikliklerin bir sonucu olarak ince bağırsağa ulaşan azotun daha iyi kullanılması sayesinde olduğu sonucuna varmışlardır. Ancak Goiri vd. (2009a), kitosan'ın koyunlarda NDF sindirilebilirliği üzerinde olumsuz bir etkisi olduğunu ve dışkı örneklerinde UYA konsantrasyonlarını azalttığını bildirmişlerdir. Bunun

sebebinin, kitosanın rumende gösterdiği antimikrobiyel etkiyi sekumda daha büyük ölçüde gösterdiği öne sürülmüştür.

Henry vd. (2015), kitosanın yüksek konsantre (%85 konsantre) veya düşük konsantre (%36 konsantre) yem içeren rasyon tüketen sığırlarda enterik metan (CH₄) ve toplam besin sindirilebilirliği üzerindeki etkilerini değerlendirmek için bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Rasyona ilave edilen kitosan miktarı kuru maddenin %0, %0,5 (CH-0,5) ve %1 (CH-1) 'i kadardır. Sonuç olarak düveler yüksek kaba yem rasyonu ile birlikte rasyon kuru maddesinde %1,0 kitosan aldığı anda besinlerin toplam sindirilebilirliğinin arttığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmada ise kitosanın IVGS_{KM} ve HPS değerini azaltırken HSS'ni değiştirmediği tespit edilmiştir. Bunun sonucunda kitosanın bypass protein niteliğinde olabileceği düşünölmüştür.

Dias vd. (2020), kitosan kullanımının mandalarda besin alımı, sindirilebilirliği, azot kullanımı, mikrobiyal protein sentezi, kan metabolitleri, beslenme davranışı, rumen fermentasyonu, sindirim kinetiği ve besin maddelerinin retiköler akışı üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Kitosanın bütün ham soya fasulyesi ile birlikte verildiğinde rumen fermentasyonunu düzenleyici olarak potansiyel etkilere sahip olduğunu, bu nedenle kitosanın mandalar için iyonofor antibiyotikler yerine alternatif olarak uygulanabileceği bildirilmiştir.

Mingoti vd. (2016), kitosanın laktasyondaki süt ineklerinin kuru madde tüketimi, besin maddeleri sindirilebilirliği, kan metabolitleri, süt verimi, sütün bileşimi ve süt yağ asitleri profili üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamıştır. Deneme grupları: C0: CHI ilavesiz bazal diyet; C50, C100 ve C150 sırasıyla 50, 100 ve 150 mg/kg CA CHI şeklinde oluşturulmuştur. Kitosan ilavesinin kuru madde tüketimini etkilemediği, ancak toplam sindirim sistemindeki kuru madde, organik madde, ham protein ve NDF sindirilebilirliğini arttırdığı bildirilmiştir.

Vendramini vd., (2016), uçucu yağlar, kitosan veya monensin karışımının Holstein ineklerin besin sindirilebilirliği, nitrojen kullanımı, mikrobiyal protein sentezi, ruminal fermentasyonu ve kan profili üzerindeki etkilerini belirlemiştir. Deneme grupları Kontrol, Uçucu yağlar (günde 1 g; Crina® Ruminants — DSM Nutritional Products Brazil Ltd., Sao Paulo, Brezilya; timol, guaiacol, öjenol, vanilin, salisilaldehit ve

limonenden oluşur), Kitosan (150 mg / kg CA), Monensin (24 mg / kg KM) şeklinde oluşturulmuştur. Besin madde sindirilebilirliği dışkı toplama yöntemi ile belirlenmiştir. Sonuç olarak kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm katkı maddeleri sindirilebilirliği etkilemekle birlikte, kitosan ile beslenen hayvanlar, uçucu yağlar ile beslenenlere göre kuru madde sindirilebilirliğinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Vendramini vd., 2016).

Garcia-Rodriguez vd. (2015), kitosan ve çiğ soya fasulyesinin yem tüketimi ve toplam sindirilebilirliği, azot kullanımı, mikrobiyal protein sentezi, kan metabolitleri ve ineklerin enerji dengesi üzerindeki etkilerini belirlemek için yapmıştır. Kitosanın kuru madde ve NDF alımını azalttığı, bununla beraber toplam kuru madde sindirimini (%67,7-69,2) ve ham protein sindirimini (%75,5-77,0) arttırdığı bildirilmiştir. Kitosan, rumendeki protein yıkımında monensin ile aynı etkiye sahip olabileceği düşünülmüştür. Azalan kuru madde tüketiminin, rumen besin geçişini değiştirdiği ve yemlerin ruminal ortamda daha uzun süre kalmasıyla rumende besin sindiriminin artmasının söz konusu olduğu bildirilmiştir.

Araújo vd. (2015) kitosanın Nelore sığırlarında kuru madde tüketimi, besin maddeleri sindirimi, ruminal fermantasyon ve kan metabolitleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Hayvanlara sırasıyla kanül yoluyla 50, 100 ve 150 mg/kg CA dozunda kitosan verilerek; Q0 (KONTROL), Q50, Q100, Q150 şeklinde deneme grupları oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda, kuru madde tüketimi üzerinde gruplar arasında bir fark olmamasına rağmen; kitosan ilavesinin kuru madde, NDF ve ham protein sindirilebilirliğini arttırdığı görülmüştür. Kitosan ilavesi ruminal pH'yı etkilememişken, NH₃-N konsantrasyonu kuadratik olarak etkilenmiştir. Gruplar arasında UYA konsantrasyonunda bir fark görülmemiş, ancak asetat: propiyonat oranı kitosan ilavesiyle azalmıştır. Kitosan ilavesinin, ruminal fermantasyonu değiştirdiği, besinlerin sindirilebilirliğini arttırdığı ve hayvan sağlığına zarar vermediği sonucuna varılmıştır. Yapılan çalışmada ise kullanılan kitosan özelliklerinin toplam kül ≤%2,0; pH 7.0–9.0; viskozite <200 cPs; ve deasetilasyon derecesi > %92 şeklinde olduğu bildirilmiştir. Araújo vd. (2015) tarafından yapılan çalışmanın aksine kitosan kullanımının kuru madde sindirilebilirliğini ve ham protein sindirilebilirliğini azalttığı bildirilmiştir. Bu farklılığın kullanılan kitosanın özelliklerinin farklı olmasından, kullanılan sindirim denemesinin

farklılığından, denemede kullanılan hayvan ırkının ve hayvanın tükettiği rasyonun farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Dias vd. (2017), merada otlayan sığırlar için artan kitosan dozlarının kuru madde tüketimi, sindirilebilirlik oranı, ruminal fermantasyon parametreleri, mikrobiyal protein sentezi, azot kullanımı, üre ve kreatinin metabolizması üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla yaptıkları 21 günlük çalışmada, 5 adet kanüllü dana (300 ± 25 kg CA) kullanılmıştır. Çalışmada 5x5 Latin kare deneme düzeni uygulanmıştır. Danalara rastgele 0, 400, 800, 1200 veya 1600 mg / kg KM dozunda kitosan (≥ 85 deasetilasyon derecesi, 0.32 g/ml yoğunluk, pH 7.90) uygulanmıştır. Sonuç olarak, kitosanın kuru madde tüketimini, kuru madde sindirilebilirliğini, rumende propiyonat konsantrasyonunu ve rumende mikrobiyal ham protein üretimini arttırdığı görülmüştür.

Zanferari vd. (2018), soya fasulyesi (rasyon kuru maddesinde %0 veya %14) ile desteklenen rasyonlarla beslenen ineklere kitosan (0 veya 4 g/kg kuru madde dozunda) verilmesinin besin madde sindirilebilirliğini, ruminal fermantasyonu ve bakteri popülasyonlarını, mikrobiyal protein sentezini, azot kullanımını, kan metabolitlerini ne yönde etkilediğini incelemişlerdir. Genel olarak, soya fasulyesi ve kitosan karışımının ineklerin yem tüketimini ve sindirilebilirliğini olumsuz yönde etkilediği, kitosanın ruminal pH'yı artırdığı ve asetat / propiyonat oranını düşürdüğü belirtilmiştir. Yapılan çalışmada da benzer şekilde tüm yem bikilerinde kitosanın $IVGS_{KM}$ 'ni azalttığı görülmüştür ($p < 0,001$).

Yapılan bazı çalışmalarda bir yandan kitosanın *in vitro* çalışmada mikrobiyal ve amonyak nitrojen çıkışı arttırmış olduğu bildirilirken (Belanche vd., 2016); öte yandan, kitosan laktasyondaki ineklerde mikrobiyal azot üretimi üzerinde herhangi bir etkisi olmadığı veya azalttığı bildirilmiştir (Paiva vd., 2016; Gandra vd., 2016).

Araújo vd. (2015) yaptıkları çalışmada sığırlarda artan dozlarda kitosan verildiğinde kuru madde ve ham protein sindirilebilirliğinde doğrusal bir artış bulmuşlardır. Buna karşılık, koyunlarda organik madde ve ham protein sindirilebilirliği üzerinde bir farklılık olmadığı bildirilmiştir (Goiri vd., 2010). Bu çalışmalar arasındaki farklılıklar ruminal pH ile ilişkili olabilir, çünkü kitosan daha düşük pH değerlerinde daha güçlü antimikrobiyal etkiler gösterir.

Kirwan vd. (2021) kitosanın (10g/kg) sığır rasyonuna eklenmesinin besin alımı ve sindirilebilirliği, rumen fermantasyonu ve azot atılımı üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmada kullanılan kitosanın pH değeri 8.5, deasetilasyon derecesi >%90, viskozitesi 40 mPa/s olarak bildirilmiştir. Kullanılan kitosanın HP sindirilebilirliğini artıracığı ve dolayısıyla N atılımını azaltacağı varsayılmıştır. Çalışmada rasyona kitosan eklenmesi, kuru madde ve ham protein sindirilebilirliğini azalttığı, feçesle atılan nitrojen miktarını artırdığı görülmüştür. Yapılan çalışmada ise kitosanın ham protein sindirilebilirliğini azalttığı sonucuna varılmıştır. Bu sonucun kullanılan kitosanın niteliklerinin farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Yapılan çalışmada IVGS_{KM} ve HPS değerlerinin azalması kitosanın antimikrobiyal mekanizmasıyla da ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Kitosanın antimikrobiyal mekanizması tam olarak aydınlatılamamış olsa da hücre içi sızıntı mekanizması en çok kabul gören teoridir (Helander vd., 2001; Kong vd., 2010). Bu teoride, pozitif yüklü kitosan, bakteriyel negatif yüklü yüzeye bağlanır, membran geçirgenliğini değiştirir (peptidoglikanların hidrolizi), hücre içi bileşenlerin sızmasına ve sonuç olarak hücre ölümüne neden olur (Helander vd., 2001). Zhong vd. (2008), kitosanın gram negatif dış membran bariyerine sahip olmasının bir sonucu olarak gram pozitif bakterilerin kitosan türevlerine daha duyarlı olduğunu bildirmiştir. Protein sindirilebilirliğindeki artış, kitosanın proteoliz ve deaminasyonunu teşvik eden bakteriler üzerindeki etkisi ile ilişkili olabilir, bu da rumen protein bozulmasının azalmasına ve bağırsakta amino asit mevcudiyetinin artmasına neden olur (Russell ve Mart'in, 1984).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmada rasyona kitosan eklenmesi *in vitro* gerçek kuru madde, *in vitro* gerçek ve ham protein sindirilebilirliğini azaltmıştır. Besin madde sindirilebilirliğindeki bu azalma, muhtemelen kitosanın rumen mikroorganizmalarına (protozoa ve fibrolitik bakteriler) karşı antimikrobiyal etkisinden kaynaklanmaktadır. Protozoa, geniş getiren hayvanlarda protein yıkımında önemli bir rol oynar ve genellikle protein bozulmasının azalmasıyla sonuçlanır. Kitosanın etki şekli olarak birkaç hipotez öne sürülmüştür. Yaygın olarak kabul edilen teori, kitosan'ın polikatyonik doğasıdır, çünkü protonlanmış amino gruplarının (NH₃ +) pozitif yüklerinden dolayı, hücre yüzeyinde geniş değişikliklere neden olarak, sayısız mikroorganizmanın negatif yüklü dış zarı ile

etkileşime girmesine izin verir, hücre içi maddelerin sızmasına yol açarak hücre ölümüne neden olur. Dış peptidoglikan tabakasına, çoğu fibrolitik bakterinin ait olduğu fakat bunun yanında Gram-negatif bakterilere göre Gram pozitif bakteriler daha duyarlıdır. Bunun sonucunda rumendeki protein parçalanabilirliğinin azalabileceği düşünülmüştür. Protein parçalanabilirliğindeki bu azalma söz konusu olduğunda, amino asit parçalanabilirliğindeki bir azalmanın amonyak üretimindeki bir azalma ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Böylece, kitosanın rasyondaki proteinleri rumendeki fermantasyondan koruyabilecekleri varsayılabılır. Kitosanın bu etkisinin ileriki çalışmalarda daha detaylı parametreler içeren *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla detaylandırılmalıdır.

Kitosan tek bir bileşik değildir. Asetilasyon derecesi ve diğer fizyokimyasal özellikler bakımından farklılık gösteren bir dizi farklı bileşik olduğundan, kitosan'ın rumen fermantasyonunu değiştirmede bir rolü olup olmadığını belirlemek için daha ileri çalışmalar gereklidir.

Yapılan çalışmada tüm hayvan türlerinde *in vitro* kuru madde sindirilebilirlik oranı en yüksekten en düşüğe doğru sırasıyla; yonca silajı, yonca kuru otu, çayır kuru otu ve mısır silajıdır. Yem kalitesinin metan üretimi üzerinde önemli bir etkisi vardır ve kalite düşerse metan gazı miktarı artmaktadır. Kaba yem, yem alımının kalitesini iyileştirmeye katkıda bulunur ve rumende kalma süresini kısaltır, böylece daha verimli enerjiyi teşvik eder, daha fazla sindirim süreçleri kullanılır. Bitki türü, çeşidi ve hasattaki olgunluk gibi faktörler kaba yem kalitesini ve sindirilebilirliğini etkileyebilir. Bitkinin olgunluğu arttıkça nötr deterjan lifi (NDF) ve asit deterjan lifi (ADF) konsantrasyonu artar ve sindirilebilirliği azalır. Rumen dinamik parametreleri, diğer faktörlerin yanı sıra, yemin fiziksel özelliklerinden de etkilenir.

Çalışmada tüm yem türlerinde farklı hayvan türleri (inek, manda, koyun ve keçi) arasında ruminal sindirilebilirlik yönünden farklılıklar tespit edilmiştir. Farklı hayvan türleri arasındaki *in vitro* rumen sindirilebilirlik farklılığı anatomik ve fizyolojik farklılıklara dayandırılmaktadır. Daha net sonuçlar elde edebilmek için *in vivo* veya *in situ* çalışmalarla desteklenmelidir.

6. KAYNAKLAR

- Abdiwali, M. A., Kılıç, Ü. (2014). Farklı samanlarda lignin peroksidaz enzimi kullanımının yem değeri üzerine etkisi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(1): 18-37.
- Adesogan, A. (2005). T. Effect of bag type on the apparent digestibility of feeds in ANKOM DaisyII incubators. *Anim Feed Sci Technol*, 119(3-4): 333-344.
- Adesogan, A.T. (2002). What are feeds worth?: A critical evaluation of selected nutritive value methods. Proc. 13th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, pp. 33-47
- Adıyaman, E. (2014). Farklı olgunlaşma dönemlerinde hasat edilen yoncanın (medicago sativa l.) yem değerinin in situ ve in vitro olarak araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Ayhan Doktora Tezi Zootekni Anabilim Dalı, Isparta
- Ahern, N. A. (2014). Comparison of wet or dry distillers grains plus solubles to corn as an energy source in forage based diets and in vitro forage standard development based on in vivo digestibilities utilizing brome hay, prairie hay and meadow hay. University of Nebraska-Lincoln, Animal Science Department, AThesis.
- Alende, M., Lascano, G. J., Jenkins, T. C., Koch, L. E., Volpi-Lagreca, G., & Andrae, J. G. (2018). Comparison of 4 methods for determining in vitro ruminal digestibility of annual ryegrass. *Prof Anim Sci*, 34(3): 306-309.
- Ali, M., Weisbjerg, M. R., Cone, J. W., Van Duinkerken, G., Blok, M. C., Bruinenberg, M., & Hendriks, W. H. (2012). Post-ruminal degradation of crude protein, neutral detergent fibre and starch of maize and grass silages in dairy cows. *Anim Feed Sci Technol*, 177(3-4), 172-179.
- Almeida, P.N.M.D., Duarte, E.R., Abrão, F.O., Freitas, C.E.S., Geraseev, L.C., Rosa, C.A. (2012). Aerobic fungi in the rumen fluid from dairy cattle fed different sources of forage. *Rev Bras de Zootec*, 41(11): 2336-2342.
- Anjum, M. I., Javaid, S., Ansar, M. S., Ghaffar, A. (2018). Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) supplementation on intake, digestibility, rumen fermentation and milk yield in Nili-Ravi buffaloes. *Iran J Vet Res*, 19(2): 96.
- Anonim (2016). Erişim Adresi: <https://www.feedipedia.org/node/275>, Erişim Tarihi: 19.01.2021
- Mason S (1998) Alfalfa protein. Alberta Dairy Management 1A1, 1–2.
- AOAC (1990). Association of Official Analytical Chemists. In: Helrich K (Ed.), Official Methods of Analysis. USA, pp. 69–88.USA: 69–88.
- Araújo, A.P.C., Venturelli, A B.C., Santos, M.C.B., Gardinal, R., Cônsolo, N.R.B., Calomeni, G.D., Freitas, J.E., Barletta, R.V., Gandra J.R., Paiva, P.G., Rennó, F.P. (2015). Chitosan affects total nutrient digestion and ruminal fermentation in Nellore steers. *Anim Feed Sci Technol*, 206: 114–118.
- Atalar, A., Çetinkaya, N. (2017). Samanlarda Biyolojik Muamelelerle Lignoselüloz Kompleksin Sindirilebilirliğinin Artırılması. *Türk Tarım Gıda Bilim Teknol Derg*, 5(13), 1720-1725.
- Aydilek, N. Koyun ve keçilerde sindirim sisteminin fizyolojik yapısı ve beslenme ile olan ilişkisi. Baran MS, editör. Koyun ve Keçilerin Rasyonel Beslenmesi ve Beslenme Hastalıkları. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri; 2021. p.1-10.

- Badawi, Mohammed E., Hesham H.M. (2013). Nutrient Digestibility, Rumen Ferment of Goat Fed Ration Supplement. *Int J Curr Res*, 5(6): 1555-1560.
- Badhan, A., Ribeiro, G.O., Jones, D.R., Wang, Y., Abbott, D.W., Di Falco, M., Tsang, A., Mcallister, T. A. (2018). Identification of novel enzymes to enhance the ruminal digestion of barley straw. *Bioresour Technol*, 260: 76-84.
- Ball, D. M., Collins, M., Lacefield, G.D., Martin, N. P., Mertens, D. A., Olson, K.E., Putnam, D., Undersander, D., Wolf, M.W. (2001). Understanding forage quality. *American Farm Bureau Federation Publication*. 1(01).
- Baran, M. S., Altaçlı, S., Kaplan, O., Deniz, S. (2017). The Determination of Nutrient Value, Digestibility and Energy Levels of Compound Feeds Used for Ruminant Nutrition by *In vitro* Methods. *TURJAF*, 5(7): 832-835.
- Barrière, Y., Guillet, C., Goffner, D., Pichon, M. (2003). Genetic variation and breeding strategies for improved cell wall digestibility in annual forage crops. A review. *Anim Res*, 52 (3): 193-228.
- Bilal, T., Keser, O. (2009). Kitosan oligosakkaritin hayvan beslemede kullanımı 1-bağıışıklık sistemi ve performans üzerine etkisi. *Lalahan Hay Araşt Enst Derg*, 49(2): 137-147.
- Bueno, I. C., Brandi, R. A., Franzolin, R., Benetel, G., Fagundes, G. M., Abdalla, A. L., ... Muir, J. P. (2015). *In vitro* methane production and tolerance to condensed tannins in five ruminant species. *Anim Feed Sci Technol*, 205: 1-9.
- Bülbül, T., Ulutaş, E., Bülbül, A. (2017). Mandalarda sindirim sisteminin fizyolojik yapısı ve beslenmeyle olan ilişkisi. *Türkiye Klinikleri Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları*. 3(2): 84-89.
- Calabro, S., Lopez, S., Piccolo, V., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S., France, J. (2005). Comparative analysis of gas production profiles obtained with buffalo and sheep ruminal fluid as the source of inoculum. *Anim. Feed Sci Technol*, 124: 51–65.
- Calabrò, S., Williams, B. A., Piccolo, V., Infascelli, F., & Tamminga, S. (2004). A comparison between buffalo (*Bubalus bubalis*) and cow (*Bos taurus*) rumen fluids in terms of the *In vitro* fermentation characteristics of three fibrous feedstuffs. *J Sci Food Agric*, 84(7): 645-652.
- Canbolat, O. (2012). Bazı Bugdaygil Kaba Yemlerinin *In vitro* Gaz Üretimi, Sindirilebilir Organik Madde, Nispi Yem Değeri ve Metabolik Enerji İçeriklerinin Karsılaştırılması. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 18 (4): 571-577.
- Chanthakhoun, V., Wanapat, M., Kongmun, P., Cherdthong, A. (2012). Comparison of ruminal fermentation characteristics and microbial population in swamp buffalo and cattle. *Livest Sci*, 143(2-3): 172-176.
- Cheeke, P.R. (1999). *Applied Animal Nutrition Feeds and Feeding*, 3rd, New Jersey.
- Cherry, N. M.; Lambert, B. D.; Muir, J. P. (2010), Ruminal and total tract phosphorus release from feedstuffs in cattle measured using the mobile nylon bag technique. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 94(5): 665-669.
- Cherry, P., Yadav, S., Strain, C. R., Allsopp, P. J., McSorley, E. M., Ross, R. P., Stanton, C. (2019). Prebiotics from seaweeds: An ocean of opportunity? *Marine drugs*, 17(6): 327.

- Cipolloni, M. A., Schneider, B. H., Lucas, H. L., & Pavlech, H. M. (1951). Significance of the differences in digestibility of feeds by cattle and sheep. *Anim Sci J*, 10(2): 337-343.
- Cismileanu, A. E., Toma, S. (2017). Validation of the in vitro ruminant digestibility method applied on Daisy incubator. Scientific Papers. *J Anim Sci Biotechnol*, 50(2): 8-10.
- Colombatto, D., Mould, F.L., Bhat, M.K., E. (2000). Owen Fibrolytic enzyme mixtures as an alternative to rumen fluid for assessing feed degradation kinetics *In vitro*. *Proc Brit Soc Anim Sci*, 27.
- Costa Jr, J. B. G., Zeoula, L. M., Franco, S. L., de Moura, L. P., Valero, M. V., Simioni, F. L., Samensari, R. B. (2012). Effect of propolis product on digestibility and ruminal parameters in buffaloes consuming a forage-based diet. *Ital J Anim Sci*, 11(4), 78.
- Crampton, EW, Maynard, LA (1938). The relation of cellulose and lignin content to the nutritive value of animal feeds. *J Nutr*, 15: 383–395
- Czerkawski, J.W. Breckenridge, G. (1977). Design and development of a long term rumen simulation technique (Rusitec). *Br J Nutr*, 38: 371-384.
- Damiran, D., Del, T. Curto, D.W. Bohnert, S.L. (2008). Findholt Comparison of techniques and grinding size to estimate digestibility of forage based ruminant diets. *Anim Feed Sci Technol*, 141: 15-35.
- Degola, L., Trupa, A., Aplocina, E. (2016). Forage quality and digestibility for calculation of enteric methane emission from cattle. In *15th Internal Scientific Conference "Engineering for Rural Development", Jelgava, Latvia, 25-27 May, 2016* (pp. 456-461). Latvia University of Agriculture.
- Demeyer, D.I. (1981). Rumen microbes and digestion of plant cell walls. *Agriculture and Environment*, 6: 295–337.
- Demirtaş, A., 2013. Isırgan Otu (*Urtica Dioica* L.), Papatya (*Matricaria Chamomilla* L.) Ve Hayıt Meyvesi (*Vitex Agnus-Castus* L.) Ekstraktlarının Normal Koşullarda ve Asidoz Koşullarında Rumen Mikrobiyal Fermentasyonuna *In vitro* Etkileri. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Dias, A.O.C., Goes, R.H.T.B., Gandra, J.R., Takiya, C.S., Branco, A.F., Jacaún, A.G., Oliveira, R.T., Souza, C.J.S., Vaz, M.S.M. (2017). Increasing doses of chitosan to grazing beef steers: Nutrient intake and digestibility, ruminal fermentation, and nitrogen utilization. *Anim Feed Sci Technol*, 225: 73–80.
- Dias, L. S., Silva, D. D. S., Carvalho, G. G. P. D., Araújo, M. L. G. D., Silva, F. F. D., Pereira, M. L. A., Freitas Júnior, J. E. D. (2020). Chitosan associated with whole raw soybean in diets for Murrah buffaloes on ruminal fermentation, apparent digestibility and nutrients metabolism. *Anim Sci J*, 91(1): 134-135.
- Diler, A. (2007). Probiyotik + Enzim Kombinasyonunun Esmer Irkı Buzağılarda Yemden Yararlanma ve Büyüme Performansı Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Dong, Y., Bae, H.D., Mcallister, T.A., Mathison, G.W., Cheng, K.J. (1999). Effects of exogenous fibrolytic enzymes, α -bromoethanesulfonate and monensin on fermentation in a rumen simulation (RUSITEC) system. *Can J Anim Sci*, 79(4): 491-498.
- Dryden, G. M. (2008). Animal nutrition science. Cabi, Australia.

- Dubeux, J.C.B., Munor, Jr.P., Blount, A.R.S., Quesenberry, K.H., Sollenberger, L.E., Moraes, B.F.X., Rivero, U., Santos E.R.S. (2015). Alfalfa Production in North-Central Florida, Florida Beef Research Report. 67-74, Florida.
- Ellis, J.L., Bannink, A., Hindrichsen, I.K., Kinley, R.D., Pellikaan, W.F., Milora, N., Dijkstra, J. (2016). The effect of lactic acid bacteria included as a probiotic or silage inoculant on *In vitro* rumen digestibility, total gas and methane production. *Anim Feed Sci Technol*, 211: 61–74.
- Ergün, A., Çolpan, İ., Yıldız, G., Küçükersan, S., Saçaklı, P., Tuncer, Ş.D., Yalçın, S., Küçükersan, M.K., Şehu, A. (2017). Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları, 7. Baskı, Ankara.
- Eriş, A., Kılıç, U. (2018). Ruminant Yemlerinin Rumen Simülasyon Tekniği (Rusitec) ile Değerlendirilmesi. 2. Uluslararası Hayvan Besleme Kongresi, Antalya/Türkiye, Poster Bildirisi.
- FDA. 2012. GRAS Notices. GRN No. 443. Accessed May 7, 2018. [https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set= grasnotices&id=443](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=grasnotices&id=443)
- Francesconi, A. H. D. (2007). Dairy goats feeding and nutrition. Cabi, Italy.
- Gallardo, I., Bárcena, R., Pinos-Rodríguez, J. M., Cobos, M., Carreón, L., Ortega, M. E. (2010). Influence of exogenous fibrolytic enzymes on *In vitro* and in sacco degradation of forages for ruminants. *Ital J Anim Sci*, 9(1): 8.
- Gandra, J. R., Takiya, C. S., Oliveira, E. R. D., Paiva, P. G. D., Goes, R. H. D. T., Gandra, É. R. D. S., & Araki, H. M. C. (2016). Nutrient digestion, microbial protein synthesis, and blood metabolites of Jersey heifers fed chitosan and whole raw soybeans. *Rev Bras de Zootec*, 45: 130-137.
- Garcia-Rodriguez, A., Arranz, J., Mandaluniz, N., Beltrán-de-Heredia, I., Ruiz, R., Goiri, I. (2015). Short-communication: production performance and plasma metabolites of dairy ewes in early lactation as affect by chitosan. *Span J Agric Res*, 13(4): 20.
- Garipoğlu, A.V. (2015). Yemlerin Sindirilebilirliğinin Belirlenmesinde Alternatif Bir Yöntem: Nırs.
- Getachew, G., Blummel, M., Makkar, H.P.S., Becker, K. (1998). *In vitro* gas measuring techniques for assesment of nutritional quality of feeds: a review. *Anim Feed Sci Technol*, 72: 261–281.
- Getachew, G., De Peters, E.J., Robinson, P.H. (2004). *In vitro* gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. *California Agriculture*, 58(1): 54–58.
- Gill, A.O. and Holley, R.A. (2004). Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. *Appl Environ Microbiol*, 70: 5750-5755.
- Givens, D. I., Owen, E., Omed, H. M., Axford, R. F. E. (2000). Forage evaluation in ruminant nutrition. CABI, UK.
- Goering, H.K. and Van Soest, P.J. (1970). Forage Fiber Analysis (Apparatus Reagents, Procedures and Some Applications). Agriculture Handbook. United States Department of Agriculture, Washington DC.
- Goetsch, A. L. (2019). Recent advances in the feeding and nutrition of dairy goats. *Asian-australas J. Anim Sci*, 32(8): 1296.
- Goiri, I., Oregui, L.M., Garcia-Rodriguez, A. (2009a). Dose-response effects of chitosans on *In vitro* rumen digestion and fermentation of mixtures differing in forage-to-concentrate ratios. *Anim Feed Sci Technol*, 151: 215-227.

- Goiri, I., Garcia-Rodriguez, A., Oregui, L.M. (2009b). Effect of chitosan on mixed ruminal microorganism fermentation using the rumen simulation technique (Rusitec). *Anim Feed Sci Technol*, 152: 92–102.
- Goiri, I., Oregui, L.M., Garcia-Rodriguez, A. (2010). Use of chitosans to modulate ruminal fermentation of 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep. *J Anim Sci*, 88: 749–755.
- Goiri, I.; Garcia-Rodriguez, A.; Oregui, L. M. (2008). Effect of chitosans on *În vitro* rumen digestion and fermentation of maize silage. *Animal feed science and technology*, 148(2-4): 276-287.
- Gültepe, Eyüp Eren; Bayram, İsmail. Sindirim Denemelerinde Yeni Bir Yaklaşım: Mobil Kese Yöntemi. 6. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi. Temmuz 2011.
- Hassan, A. A., Khalel, M. S., Shwerab, A. M., Yacout, M. H., El-Nobi, H. M., Gohar, Y. M. (2015). Chitosan, Pectin and Vitamin C As Tools for Removing Heavy Metals from Diets and Its Effect on Goats Performance. *EJNF*, 18(2): 187-202.
- Hassan, A., Gado, H., Anele, U. Y., Berasain, M. A., Salem, A. Z. (2020). Influence of dietary probiotic inclusion on growth performance, nutrient utilization, ruminal fermentation activities and methane production in growing lambs. *Animal biotechnology*, 31(4), 365-372.
- Helander, I.M., Nurmiaho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., Roller, S., (2001). Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. *Int J Food Microbiol*, 71: 235–244.
- Henry, D. D., Ciriaco, F. M., Ruiz-Moreno, M., Mercadante, V. R. G., Schulmeister, T. M., Lamb, G. C., DiLorenzo, N. Effects of Chitosan on Enteric Methane Production and Nutrient Digestibility of Beef Heifers. 2015 Florida Beef Research Report, 149.
- Holden, L. A. (1999). Comparison of methods of in vitro dry matter digestibility for ten feeds. *J Dairy Sci*, 82: 1791–1794.
- İnal, F., Uludağ, M., Kahraman, O., Alataş, M. S., Özbilgin, A., Özköse, A., Kurtoğlu, V. (2018). Silaj Katkı Maddesi Olarak Peynir Altı Suyu ve Tozunun Kullanılabilirliği, 2. Uluslararası Hayvan Besleme Kongresi, Antalya/TÜRKİYE.
- Jayanegara, A. (2009). Ruminal methane production on simple phenolic acids addition in *În vitro* gas production method. *Media Peternakan*, 32(1): 53-62.
- Kalkan, H., Filya, İ. (2011). Sellülaz Enziminin Buğday Samanının Besleme Değeri, *În vitro* Sindirimi ve Mikrobiyal Protein Üretimi Üzerine Etkileri. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 17(4): 585-594.
- Kamalak, A., Canbolat, Ö., Gürbüz, Y., Özay, O. (2005). Prediction of Dry Matter Intake and Dry Matter Digestibilities of Some Forages Using the Gas Production Technique in Sheep. *Turk J Vet Anim Sci*, (29): 517-523.
- Kara, K., Aktuğ, E., Çağrı, A., Kocaoğlu Güçlü, B., Baytok, E. (2015). Formik Asitin *În Vitro* Rumen Fermentasyonu ve Metan Üretimine Etkisi. *Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(11): 856-860.
- Karabulut, A., Canbolat, Ö. (2005). Yem Değerlendirme ve Analiz Yöntemleri, Uludağ Üniversitesi Basımevi Müdürlüğü, Bursa.

- Kellems, R.O., Church, D.C. (2010). *Livestock Feeds and Feeding*. Pearson Education. *Çiftlik Hayvanlarının Yemleri ve Beslenmesi*. Alp, M., Kocabağlı, N. (2016). Nobel Akademik Yayıncılık.
- Khampa, S., Wanapat, M. (2007). Manipulation of rumen fermentation with organic acids supplementation in ruminants raised in the tropics. *Pak J Nutr*, 6(1): 20-27.
- Kılıç, Ü., Sarıççek, B. Z. (2006). *İn vitro* gaz üretim tekniğinde sonuçları etkileyen faktörler. *Hayvansal Üretim*. 47(2).
- Kim, S.K., Rajapakse, N. (2005). Enzymatic production and biological activities of chitosan oligosaccharide (COS): a review. *Carbohydrate Polymers*, 62: 357-368.
- King, J., Plaizier, J. C. (2006). Effects of source of rumen fluid on in vitro dry matter digestibility of feeds determined using the DAISYII incubator. *Can J Anim Sci*, 86(3): 439-441.
- Kirwan, S. F., Pierce, K. M., Serra, E., McDonald, M., Rajauria, G., Boland, T. M. (2021). Effect of Chitosan Inclusion and Dietary Crude Protein Level on Nutrient Intake and Digestibility, Ruminant Fermentation, and N Excretion in Beef Heifers Offered a Grass Silage Based Diet. *Animals*, 11(3), 771.
- Kleinschmidt, J. (2009). *Sheep and Goat Management in Alberta: Nutrition*. Hay Lakes: Alberta Lamb Producers and Alberta Goat Breeders Association. p.176.
- Kocaoğlu Güçlü, B., Kara, K. (2009). Ruminant Beslemede Alternatif Yem Katkı Maddelerinin Kullanımı: 1. Probiyotik, Prebiyotik ve Enzim. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 6(1): 65-75.
- Kong, M., Chen, X.G., Xing, K., Park, H.J., (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *Int J Food Microbiol*. 144: 51-63.
- Kowalski, Z. M., Ludwin, J., Górka, P., Rinne, M., Weisbjerg, M. R., Jagusiak, W. (2014). The use of cellulase and filter bag technique to predict digestibility of forages. *Anim Feed Sci Technol*, 198: 49-56.
- Köseoğlu, E., Güney, M. (2020). Farklı düzeylerde kekik yaprağı (*thymus kotschyanus*) ilavesinin yonca kuru otunun in vitro sindirim parametrelerine etkisi. *YYÜ Tar Bil Derg*, 30(2): 234-242.
- Li, J., Hwang, I. C., Chen, X., Park, H. J. (2016). Effects of chitosan coating on curcumin loaded nano-emulsion: Study on stability and in vitro digestibility. *Food Hydrocoll*, 60: 138-147.
- Mauriès, M. (2003). *Luzerne: culture, récolte, conservation, utilisation*. France Agricole Editions
- McDonald, P., Edwards, R. A., Greenhalgh, J. F. D., Morgan, C. A., Sinclair, L. A., Wilkinson, R. G. (2011). *Animal Nutrition* 7th ed., England UK. p 171-188.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W. (1979). The estimation of the digestibility and metabolisable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. *J Agric Sci Camb*, 93(1): 217-222.
- Menke, K.H., Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *İn vitro* gas production using rumen fluid. *Anim Res Devel, Separate Print*, (28): 7-55.
- Mingoti, R. D., Freitas Jr, J. E., Gandra, J. R., Gardinal, R., Calomeni, G. D., Barletta, R. V., Rennó, F. P. (2016). Dose response of chitosan on nutrient digestibility, blood metabolites and lactation performance in holstein dairy cows. *Livest Sci*, 187: 35-39.

- Nasari, V., Hozhabri, F., Kafilzadeh, F. (2013). Assessment of *In vitro* digestibility and fermentation parameters of alfalfa hay-based diet following direct incorporation of fenugreek seed (*Trigonella foenum*) and asparagus root (*Asparagus officinalis*). *Rev Bras de Zootec*, 46(4): 348-353.
- National Research Council, 2001, Nutrient Requirements of Dairy Cattle, 7th rev. edn. National Academy Press, Washington, DC.
- Orskov, E.R., Hovell, F.D.B., Mould, F. (1980). The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Trop Anim Prod*, 5: 195-213.
- Özçınar, Ü., 2021, Farklı Soya Ürünlerinin *İn Situ* ve *İn Vitro* Sindirilebilirlik Düzeylerinin Karşılaştırılması. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 126s, Afyon.
- Öztürk, H. (2008). Effects of inulin on rumen metabolism *In vitro*. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 55: 79-82.
- Paul, S.S., Deb, S.M., Singh, D. (2011). Isolation and characterization of novel sulphate-reducing *Fusobacterium* sp. and their effects on *In vitro* methane emission and digestion of wheat straw by rumen fluid. *Anim Feed Sci Tech*, (166): 132-140.
- Poos, M. I. Hanson, T. L., Klopfenstein, T. J. (1979). Monensin effects on diet digestibility, ruminal protein bypass and microbial protein synthesis. *Anim Sci J*, 48:1516-1524
- Presicce, G.A. (2017). The Buffalo (*Bubalus bubalis*) – Production and Research. Regione Lazio, Rome, Italy, Published by Bentham Science Publishers. First published.
- Reece, W. O., Swenson, M. J. (2008). Dukes veteriner fizyoloji. *Yıldız, S. (Çev.)*, Medipres, Malatya. P 439-470.
- Rocateli, A., Zhang, H. (2017). Forage quality interpretations, Oklahoma Cooperative Extension Service F-2117. Erişim Tarihi: Aralık 2021. Erişim Adresi: <https://extension.okstate.edu/fact-sheets/print-publications/pss/forage-quality-interpretations-pss-2117.pdf>
- Roth, G.W., Heinrich, A.J. (2001). Corn silage production and management. PennState Ext., Agron. Facts, 18.
- Russell, J. B., Martin, S. A. (1984). Effects of various methane inhibitors on the fermentation of amino acids by mixed rumen microorganisms *In vitro*. *J Anim Sci*, 59(5): 1329-1338.
- Sahu, N.P., Kamra, D.N. (2002). Microbial eco-system of the gastro-intestinal tract of wild herbivorous animals. *J Appl Anim Res*, 21(2): 207-230.
- Sampath, K.T., Wood, C.D., Prasad, C.S. (1995). Effect of urea and by-products on the *In vitro* fermentation of untreated and urea treated finger millet (*Eleusine coracana*) straw. *J Sci Food Agric*, 67: 323–328.
- Sarıpınar, D., Sulu, N. (2005). Ruminantlarda probiyotiklerin kullanımı ve rumene etkileri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, 11(1): 93-98.
- Seifdavati, J., Seifzadeh, S., Ramezani, M., Mashak, R. B., Seyedsharifi, R., Elghandour, M. M., ... & Salem, A. Z. (2021). Wastes Valorization of Wheat Straw and Wheat Bran Treated with Urea, Probiotic or Organic Acids to Enhance Ruminant Gas Production and Digestibility of Pumpkin By-product. *Waste and Biomass Valorization*, 1-11.

- Sharafati-Chaleshtor, F., Sharafati-Chaleshtor, R. (2017). *In vitro* antibacterial and antioxidant properties of Elettaria cardamomum Maton extract and its effects, incorporated with chitosan, on storage time of lamb meat. *Veterinarski arhiv*, 87(3): 301-315.
- Singh, A. K., Kerketta, S., Yogi, R. K., Kumar, A., Ojha, L. (2017). Prebiotics: the new feed supplement for dairy calf. *Int J Livest Res*, 7: 1-17.
- Standing Committee on Agriculture (SCA) (1990). Feeding Standards for Australian Livestock. Ruminants. CSIRO, Melbourne, Australia.
- Sudarshan, N.R., Hoover, D.G., Knorr, D. (1992). Antibacterial action of chitosan. *Food Biotechnol.* 6: 257-272.
- Şanlı, M. (2011). Taninin Ruminant Hayvanlar Üzerindeki Etkileri. 7. Ulusal Zootekni Öğrenci Kongresi, 127-135.
- Tassone, S., Fortina, R., Peiretti, P. G. (2020). *In Vitro* techniques using the DaisyII incubator for the assessment of digestibility: A review. *Anim*, 10(5): 775.
- Tilley, J.M.A., Terry, R.A. (1963). A two stage technique for the *In vitro* digestion of forage crops. *J Br Grassl Soc*, 18: 104-111.
- Van Dyke, N. J, Anderson, P. M. (2000). Interpreting a Forage Analysis. Alabama Cooperative Extension. Circular ANR-890.
- Van Soest, P. J (1994). Nutritional Ecology of the Ruminant. Ithaca, N.Y.: Cornell University Press, 2nd Ed.
- Van Soest, P.J., Wine, R.H., Moore, L.A. (1966). Estimation of the true digestibility of forages by the *In vitro* digestion of cell walls. In: Proceedings of the Xth International Grassland Congress. Helsinki. Fin. Grassland Association, pp. 438-441.
- Vendramini, T. H. A., Takiya, C. S., Silva, T. H., Zanferari, F., Rentas, M. F., Bertoni, J. C., Rennó, F. P. (2016). Effects of a blend of essential oils, chitosan or monensin on nutrient intake and digestibility of lactating dairy cows. *Anim Feed Sci Technol*, 214: 12-21.
- Vogel, K. P., Pedersen, J. F., Masterson, S. D., Toy, J. J. (1999). Evaluation of a filter bag system for NDF, ADF, and IVDMD forage analysis. *Crop Science*, 39 (1): 276-279.
- Wang, Z., Wu, Y., Shi, L., Cui, L., Li, X., He, C., Li, X. (2020). Evaluation and mining the applicable methods of roughage digestibility determination for buffalo (*Bubalus bubalis*). *Trop Anim Health Prod*, 52: 2639-2646.
- Wencelova, M., Varadyova, Z., Mihalikova, K., Kisidayova, S., Jalc, D. (2014). Evaluating the effects of chitosan, plant oils, and different diets on rumen metabolism and protozoan population in sheep. *Turk J Vet Anim Sci*, 38(1): 26-33.
- Wilman, D., Adesogan, D. (2000). A comparison of filter bag methods with conventional tube methods of determining the in vitro digestibility of forages. *Anim Feed Sci Technol*, 84: 33-47.
- Wu, G. (2017). Principles of animal nutrition. CRC Press.
- Yoon, I. K., Stern, M. D. (1995). Influence of direct-fed microbials on ruminal microbial fermentation and performance of ruminants: A review. *Asian-australas J Anim Sci*, 8(6): 533-555.

- Zanferari, F., Vendramini, T. H. A., Rentas, M. F., Gardinal, R., Calomeni, G. D., Mesquita, L. G., ... Rennó, F. P. (2018). Effects of chitosan and whole raw soybeans on ruminal fermentation and bacterial populations, and milk fatty acid profile in dairy cows. *Journal of dairy science*, 101(12), 10939-10952.
- Zhang, Q., Yang, H. ve Yu, Z. (2017). Effects of sucrose, formic acid and lactic acid bacteria inoculant on quality, in vitro rumen digestibility and fermentability of drooping wild ryegrass (*Elymus nutans* Griseb.) silage. *J Anim. Feed Sci*, 26 (1): 26-32.
- Zhong, Z., Xing, R., Liu, S., Wang, L., Cai, S., & Li, P. (2008). Synthesis of acyl thiourea derivatives of chitosan and their antimicrobial activities *In vitro*. *Carbohydrate Research*, 343(3): 566-570.