ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

RUMİNANTLARDA YEMLEMEYE BAĞLI OLARAK DEĞİŞEN RUMEN MİKROBİYAL POPULASYONUN BELİRLENMESİ

OSMAN TOLGA ÖZEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ
ZOOTEKNİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. B. ZEHRA SARIÇİÇEK

SAMSUN - 2005

ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Bu çalışma jürimiz tarafından …../…../…… tarihinde yapılan sınav ile Zootekni Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan:

Üye:

Üye:

ONAY:

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

…../…../…..

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

RUMİNANTLARDA YEMLEMEYE BAĞLI OLARAK DEĞİŞEN RUMEN MİKROBİYAL POPULASYONUN BELİRLENMESİ

ÖZET

Bu çalışmada, açlık durumunda, kaba yemle ve kaba yeme ilaveten 400 gr kesif yemle beslenen hayvanlarda yemleme tipinin rumen mikroorganizmalarının çeşidi ve toplam miktarı üzerine etkisi incelenmiştir.

Çalışmada yaklaşık 2 yaşında ortalama 40 kg canlı ağırlığında kanüllü 2 baş Sakız x Karayaka melezi koç kullanılmıştır. Yem materyali olarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi arazisinden temin edilen kaba yem (çayır kuru otu) ile piyasadan satın alınan kesif yem kullanılmıştır.

Açlık durumunda, kaba yemle beslenen hayvanlarda ve kaba + kesif yemle beslenen hayvanlarda rumen pH'sı sırasıyla; 5.71, 6.55, 6.08, mantar sayısı ise aynı sırayla; $0.21x10^3$, $20.5x10^3$, $2.02x10^3$ olarak belirlenmiştir. Kaba yemle beslenen hayvanlarda rumen pH'sı ve mantar sayısı kesif yemle beslenen ve açlık durumundaki hayvanlardan daha yüksek olmuştur ($P<0.01$). Rumen pH'sı bakımından deneme grupları arasındaki farklılık önemli olmuştur ($P<0.01$). Bakteri sayısı ve protozoa sayısı açlık durumunda, kaba yemle beslenen hayvanlarda ve kaba + kesif yemle beslenen hayvanlarda sırasıyla $31.18x10^8$,$17.14x10^8$, $39.14x10^8$ ve $4.30x10^5$, $9.20x10^5$, $15.38x10^5$ olarak belirlenmiştir. Kaba + kesif yemle beslenen hayvanlarda bakteri ve protozoa sayısı kaba yemle beslenen ve açlık durumundaki hayvanlardan daha yüksek bulunmuştur ($P<0.01$). Bakteri, protozoa ve mantar sayısı bakımından gruplar arasındaki farklılık önemli olmuştur ($P<0.01$).

Rumen pH'sı, bakteri, protozoa ve mantar sayısı bakımından örnekleme günleri (1. ve 5.günler) arasında fark saptanmamıştır.

Sonuç olarak; yemleme tipinin rumen pH'sı, bakteri, protozoa ve mantar sayılarında değişime neden olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Ruminant, yemleme tipi, rumen, mikroorganizma, pH

DETERMINATION OF RUMEN MICROBIAL POPULATION CHANGED DEPEND ON FEEDING IN THE RUMINANTS

ABSTRACT

In this study, the effects of feeding type on types and total counts of rumen microorganisms in starved animals, animals fed roughage or animals fed roughage + 400 g concentrates were investigated.

Two cannulated Sakız x Karayaka rams aged 2 (40 kg) were used in the study. Feed material was composed of grass hay which was supplied from the land of 19 Mayis University and concentrates purchased from the market.

Rumen pH and fungi counts were 5.71, 6.55, 6.08 and $0.21x10^3$, $20.5x10^3$, $2.02x10^3$ in starved animals, animals fed roughage and animals fed roughage + 400 g concentrates, respectively. Rumen pH and fungi counts were higher in animals fed roughage compared to starved animals and animals fed roughage + 400 g concentrates ($P<0.01$). The differences in terms of rumen pH were found significant among the experimental groups ($P<0.01$). Bacteria and protozoa counts were found as $31.18x10^8$, $17.14x10^8$, $39.14x10^8$ and $4.30x10^5$, $9.20x10^5$, $15.38x10^5$ in starved animals, animals fed roughage and animals fed roughage + 400 g concentrates, respectively. Both bacteria and protozoa counts were higher in animals fed roughage + 400 g concentrates compared to animals fed roughage and starved animals ($P<0,01$). The differences in terms of bacteria, protozoa and fungi counts were found significant among the groups ($P<0.01$).

There were no differences in terms of pH, bacteria, protozoa and fungi counts among the sampling days (1^{st} and 5^{th} days).

To conclude, it was determined that feeding type led to changes in the rumen pH, bacteria, protozoa and fungi counts.

Key words: Ruminants, feeding type, rumen, microorganisms, pH

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanmasından neticelendirilmesine kadar, her aşamasında yardım eden ve yol gösteren danışmanım Prof. Dr. B. Zehra SARIÇİÇEK başta olmak üzere, yardımlarından dolayı Dr. Ali Vaiz GARİPOĞLU'na, Dr. Ünal KILIÇ'a, Öğr. Gör. Murat AKSOY'a, Prof. Dr. Ahmet SANİÇ'e, Yrd. Doç. Dr. Cihan DARCAN'a ve ayrıca hayatımın her döneminde beni destekleyen ve yardımcı olan kıymetli anneme, babama ve kardeşlerime teşekkürü bir borç bilirim.

Yük. Lis. Öğr. Osman Tolga ÖZEL

İ Ç İ N D E K İ L E R

KISALTMALAR LİSTESİ

KM Kuru Madde

OM Organik Madde

HP Ham Protein

HY Ham Yağ

HY Ham Selüloz

HK Ham Kül

NÖM Nitrojensiz Öz Maddeler

UYA Uçucu Yağ Asitleri

MPN Most Probable Number

ADS Anaerobik Seyreltme Solüsyonu

YT Yemleme Tipi

ÖG Örnekleme Günü

ÇİZELGELER LİSTESİ

ŞEKİLLER LİSTESİ

1. GİRİŞ

Ruminant hayvanlar, tek mideli hayvanların sindiremediği besin maddelerini retikulorumende bulunan mikroorganizma populasyonu sayesinde sindirebilmektedirler. Ruminant hayvanların sindirim sistemi fermentasyon için ideal bir yer olup, sindirim faaliyetlerinin %60'ından fazlası retikulorumende gerçekleşmektedir (Garipoğlu ve Sarıçiçek, 2000; Russell ve Rychlik, 2001).

Rumen ve retikulumda yemlerin kimyasal olarak parçalanması mikroorganizmalar tarafından salgılanan enzimler yardımıyla olmaktadır. Retikulorumen bakteriler, protozoalar ve mantarlar için uygun ortama sahiptirler (Sevgican, 1996). Rumen mikroorganizmaları bakteri, protozoa ve mantarlardan oluşmaktadır. Rumen içeriği bakteri ve protozoa populasyonu tarafından oluşturulan fermentasyon nedeniyle asidik niteliktedir (Church, 1984). Normal koşullarda rumen içi sıcaklığı 38-41°C, pH'sı ise 5.5-7 arasında değişmektedir. Rumendeki anaerobik ortamın %95-99'u anaerobik karakterde olan mikroorganizma populasyonu için ideal bir ortam oluşturmaktadır (Garipoğlu ve Sarıçiçek, 2000). Hayvanlar tarafından tüketilen yem ve su rumende mikroorganizmalar tarafından fermentasyona tabi tutulmakta ve bunun sonucunda rumen UYA, metan gazı, CO_2 ve mikrobiyal hücreler meydana gelmektedir (Sevgican, 1996).

Retikulorumende değişik tipte mikroorganizmalar bulunmakla birlikte en çok bakteriler ve silli protozoalar bulunmaktadır. Mikroorganizmaların tamamına yakın kısmı anaerobik ya da fakültatif anaerobiktir. Mikroorganizma populasyonu çok yoğun olup, mikrobiyal protoplazma rumen sıvısının %10'una kadar çıkabilmektedir (Garipoğlu ve Sarıçiçek, 2000). Rumendeki bakteri sayısı 10^{10}-10^{11}, protozoa sayısı 10^5-10^6 ve mantar sayısı 10^3-10^5 arasında değişmektedir (Lederberg, 1992). Bu mikroorganizma grupları arasında gerek miktar gerekse rumen fizyolojisi açısından en önemli yeri bakteriler oluşturmaktadır (Garipoğlu ve Sarıçiçek, 2000). Rumende en çok bulunan selülolitik bakteri türü Fibrobacter succinogenes, Ruminococcus albus ve Ruminococcus flavefaciens olup, bu bakteriler selüloz sindiriminde önemli rol oynamaktadırlar (Weimer ve ark., 1997). Protozoa türleri içerisinde ise en fazla Entodinium, Diplodinium ve Isotricha türleri bulunmakta olup, bunlar da daha çok selüloz ve nişasta sindirimine katkıda bulunurlar (Sevgican, 1996).

Ruminantlar retikulorumende yerleşmiş olan mikroorganizmalarla ortak yaşam sürdürmektedirler. Rumende çok uygun bir çoğalma ortamı bulan mikroorganizmalar yemlerle hayvana sunulan organik ve inorganik besin maddelerini kullanarak yaşamlarını sürdürmekte ve çoğalmaktadırlar. Rumen mikroorganizma populasyonu rumende gerçekleşen fermentasyonda çok önemli bir yere sahiptir. Rumen fermentasyonunu etkileyen faktörler aynı zamanda yemden yararlanma etkinliğini ve verim seviyesini de etkilemektedir.

Mikroorganizmaların rumendeki metabolik etkinlikleri sonucu, sindirimi zor olan yemler sindirilebilmekte, selülozun enerjisinden yararlanma olanağı ortaya çıkmakta, yem proteininin değeri değişebilmekte, protein olmayan azotlu bileşikler bakteri proteinine çevrilebilmekte, ayrıca suda eriyen vitaminler sentezlenebilmektedir (Özkan ve ark., 1987; Kung, 2002). Rumen mikroorganizmaları tarafından sindirime uğratılan yem partikülleri toplam rumen ağırlığının %7-14'ünü oluşturmaktadır. Fermentasyon boyunca rumen mikroorganizmaları tarafından üretilen uçucu yağ asitleri (asetat, propiyonat ve bütirat gibi) ruminantlar tarafından enerji kaynağı olarak kullanılmaktadır (McAllister, 2000).

Mikrobiyal populasyon için gerekli besin maddeleri enerji, protein, vitamin ve minerallerdir. Bu besin maddelerinin herhangi birinin yetersiz olması durumunda, mikrobiyal büyüme ve üretim zayıflamaktadır. Kaba yem kalitesi bitkinin olgunlaşmasıyla değiştiğinden esansiyel mikrobiyal besin maddeleri (protein ve mineraller) sık sık sınırlayıcı düzeye düşmektedir. Kaba yemin ham protein düzeyi %8'den aşağı düştüğünde ise mikroorganizma sayısı ve sindirim etkinliği gerilemektedir. Mikrobiyal populasyon mineral maddelerin ilavesiyle doğrusal olarak artma eğilimi göstermekte, artan mikrobiyal populasyon da kaba yem sindirimini artırmaktadır (Lamb, 2004).

Ruminantlar lifli maddelerce eksik rasyonlarla yemlendiğinde geğirme, ruminasyon ve salya akışı azalmakta, fermentasyon asitleri çoğalmakta, rumen pH'sı düşmekte, rumen mikrobiyal ekolojisi değişebilmekte (Russell ve Rychlik, 2001), bazı durumlarda da hayvanlarda asidozis ya da laminitis görülebilmektedir (McAllister, 2000). Bu durum hayvanlardan ekonomik yarar sağlanması açısından kullanılan yemlerin son derece önemli olduğunu göstermektedir. Dolayısıyla hem ruminantların dengeli beslenmesi hem de mikrobiyal aktivitenin arzulanan düzey ve şekilde gerçekleşmesi, açığa çıkacak fermentasyon ürünlerinin çeşidi ve rumen içi ortamı açısından hayvanların tüketimine sunulan yemlerin çeşidi ve sunuluşu büyük önem taşımaktadır.

Mikroorganizmaların rumen şartlarına göre sayı ve oranlarının değişiklik göstermesi hayvan beslemede etkin yem değerlendirilmesi, elde edilen ürünün miktar ve kalitesinin artması bakımından büyük önem taşımaktadır. Ruminantların besin madde ihtiyaçlarının karşılanması için rumen şartlarının optimum sınırlar içerisinde tutulması zorunludur. Rumen şartlarının optimum düzeyde tutulması ancak rumen mikroorganizmalarının özelliklerinin tam olarak bilinmesiyle sağlanmaktadır. Rumen mikroorganizma populasyonunu dolaylı ya da direk olarak etkileyen her faktör hayvanlardan elde edilen verimi ve yemden yararlanmayı da etkilemektedir.

Ruminantların beslenmesinde kaba yemler önemli bir yer tutar. Kaba yemler rumen doluluğu sağlaması, tükrük sekrasyonu oluşturması, rumen kontraksiyonlarını sağlaması, UYA'nin sağlanması ve ucuza besin maddesi sağlaması nedeniyle ruminant beslemede önem arzeder ve genellikle yaşama payı ihtiyacının karşılanmasında kullanılırlar. Yoğun (kesif) yemler ise besin madde içeriği ve sindirilebilirliği kaba yemlere kıyasla daha yüksek düzeyde ve daha pahalı oldukları için verim ihtiyaçlarının karşılanmasında kullanılırlar. Bu çalışma hayvanlara yedirilen yemlerin özelliğine bağlı olarak kaba yemle beslenen hayvanlara bir miktar kesif yem ilavesinin rumen mikrobiyal populasyonunun ne şekilde değiştiğini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1. Rumen Ortamı

Ruminantlarda sindirim sistemi tek midelilerden farklı olarak dört bölmeden oluşur. Bunlar rumen, retikulum, omasum ve abomasumdur. Rumen, retikulum ve omasum ön mideyi oluştururken, abomasum asıl mide olup tek mideli hayvanlardaki mideye eşdeğerdir. Bu bölmelerden en önemli yeri rumen ve retikulum oluşturur. Rumen ve retikulum mikroorganizmalar için uygun bir ortama sahiptirler. Nitekim, Lederberg (1992), rumen ortamını topraklar, sulak alanlar, göller ve akarsular gibi sürekli dışarıdan gelen mikroorganizmalara maruz kalan, açık mikrobiyal sistemler olarak tanımlamıştır. Rumen içi sıcaklığını Church (1984), 39-41°C, Lederberg (1992), 38-41°C, Sevgican (1996), 38-42°C, olarak bildirmekte, rumen pH'sını Murphy ve ark. (1982), 5.8-6.4, Lederberg (1992), 5.5-7.3, Sevgican (1996), ise 5.5-6.5 arasında olması gerektiğini ileri sürmektedirler.

Rumen ortamının, yemlerin kalış süresine (1–2 gün), osmotik basınca (250-350 mOsm) ve sık ve yüksek düzeyde sürekli besin maddesi sağlaması, diğer ekosistemlerden farklılık göstermesi bakımından anaerobik büyüme için gerekli indirgeyici bir ortam olduğu bildirilmektedir (Lederberg, 1992). Rumen içi şartların mikroorganizma gelişimi için ideal bir ortam oluşturduğu, kolaylıkla fermente olabilen, karbonhidratlarca zengin olan rumenin salya tarafından tamponlandığı, rumendeki nemli ortamın birçok mikroorganizma türü için uygun bir yaşama ortamı hazırladığı ve rumendeki anaerobik ortamın %95-99'u anaerobik karakterde olan mikroorganizma populasyonu için ideal bir ortam oluşturduğu bildirilmektedir (Garipoğlu ve Sarıçiçek, 2000).

2.2. Rumen Mikroorganizmaları ve Özellikleri

Rumen ve retikulumda birbirinden farklı özellikte ve çeşitte milyarlarca sayıda mikroorganizma bulunur. Ruminant hayvanlar bu mikroorganizmalar sayesinde yemlerde bulunan sindirimi güç besin maddelerini sindirebilmektedir. Lamb (2004), ruminant hayvanların, yemlerdeki besin maddelerini sindirebilmek için rumen mikroorganizmalarına

ihtiyaç duyduğunu, mikroorganizma populasyonundaki herhangi bir değişimin, sindirimi ve hayvanın performansını olumsuz yönde etkileyebildiğini bildirmektedir.

Garipoğlu ve Sarıçiçek (2000), rumen mikroorganizmaları ile ruminant hayvan arasında simbiyotik bir ilişkinin olduğunu, rumen mikroorganizmalarının rumende gelişmeleri için uygun bir ortam bulurken ruminant hayvanın ihtiyaç duyduğu besin maddelerini de sağladığını, rumen mikroorganizmalarının ruminantların ham selüloz içeriği yüksek olan kaba yemlerden daha iyi yararlanmalarını sağlayarak, yemlerdeki selüloz ve pentozanları, uçucu yağ asitleri olarak bilinen organik asitlere (asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit) kadar parçaladığını bildirmektedirler. Ayrıca Russell ve Rychlik (2001), rumen mikroorganizmalarının ruminantlar için protein, vitamin ve kısa zincirli organik asitleri de sağladığını bildirmektedirler.

Russell ve Rychlik (2001), ruminant hayvanların lifli maddeleri parçalayan enzimleri üretemediğini ancak bakteri, protozoa ve mantarları rumenlerinde barındırdığını ve onların salgıladıkları enzimler sayesinde lifli maddelerin parçalanabildiğini ve sindirilebildiğini bildirmektedirler.

2.2.1. Bakteriler

Rumendeki fermentatif faaliyetlerin büyük bir kısmından sorumlu olan bakterilerin (Ørskov ve Ryle, 1990) sayısı ile protozoaların sayısı arasında ters bir ilişki olduğu, protozoalı bir rumen içeriğinde $2x10^{10}$ kadar bakteri bulunurken, protozoasız bir rumende bu sayının $33x10^{10}$'a kadar yükseldiği bildirilmektedir (Tuncer ve ark.,1992). Yapılan bir çalışmada yüksek düzeyde dane yemle yemlenen hayvanlarda toplam bakteri sayısı $2.8x10^{10}$ iken, protozoaların uzaklaştırılması halinde bakteri sayısının $13x10^{10}$'a kadar yükseldiği belirlenmiştir (Nagaraja ve ark., 1992).

Rumendeki bakteri sayısını Ørskov ve Ryle (1990) ile Lederberg (1992), genellikle 10^{10}-10^{11}, Sevgican (1996), 10^{9}-10^{10}, Russell ve Rychlik (2001), ise 10^{10}'dan daha yüksek olduğunu bildirmektedirler. Lederberg (1992), rumen bakterilerinin 0.5-10 μm boyutlarında, kok, çubuk, kokobasil ve spiral şekilde olduğunu ve rumende çoğunluğu gram negatif bakterilerin (Anaerovibrio lipolytica, Bacteroides ruminicola, Megasphaera elsdenii, Veillonella parvula) oluşturduğunu bildirmektedir.

Weimer ve ark. (1997), kaba yemle yemlenen hayvanlarda selülolitik bakteri populasyonu mikrofloranın önemli bir bileşeni olduğunu, Fibrobacter succinogenes, Ruminococcus albus ve Ruminococcus flavefaciens gibi türlerin rumende en çok bulunan selülolitik bakteri türleri olduğunu ve bu üç bakteri türünün kristal yapıdaki selülozu hızlıca parçalayabilme yeteneğine sahip olduğunu bildirmektedirler.

2.2.2. Protozoalar

Öktem ve ark. (1997), rumen protozoaları kamçılılar (Mastigophora) ve siliyatlar (Ciliophora) olmak üzere iki gruba ayırmakta ve rumen ortamındaki çoğunluğu siliyatların oluşturduğunu bildirmektedirler. Rumendeki protozoa sayısının Ørskov ve Ryle (1990), Lederberg (1992) ve McAllister (2000), 10^5-10^6, civarında olduğunu bildirirken, protozoaların ebatlarının Ørskov ve Ryle (1990), 25-250 μm, Lederberg (1992), ise 20-200 μm, ise arasında değiştiğini bildirmektedir.

Lederberg (1992), Isotricha ve Dasytricha türü protozoaların sillere sahip olduğunu, bunların çözünebilir karbonhidratları kullanma eğilimlinde olduklarını, Ophryoscolecid türü protozoaların ise ağız bölgesinde sillerin bulunduğunu, bunların da çözünebilir substratların yanında partikül halindeki substratları da kullanabildiklerini bildirmektedir.

Siliyat protozoalar, yüksek düzeyde konsantre diyetlerin kullanılması durumunda rumende oluşan şeker ve kolay çözünebilen karbonhidratların büyük bir kısmını bünyelerine alarak laktik asit oluşumunu ve rumen pH'sındaki dalgalanmaları (Garipoğlu ve Sarıçiçek, 2000) ve ani pH düşmelerini önlemektedirler (Eugene ve ark., 2004). Siliyatsız bir rumen ortamında selüloz ve nişasta sindiriminin yavaşladığı ve rumen sıvısının proteolitik aktivitesinin düştüğü bildirilmektedir (Öktem ve ark., 1997).

Ruminantların rumeninde bulunan ve tüm siliyat cinsleri içinde en zengini olan Entodinium (Öktem ve ark., 1997), nişasta sindiren bir protozoadır (Fluharty ve Dehority, 2004) ve düşük pH derecelerine karşı dayanıklıdır. Bu yüzden yüksek dane yem içerikli diyetlerin verilmesi durumunda rumendeki protozoa populasyonun büyük bir kısmını oluşturmaktadır (Hristov ve ark., 2001). Kreikemeier ve ark. (1990)'nın, yapmış oldukları çalışmada siliyat protozoalar arasında Entodinium oranının yaklaşık %80 olduğunu bildirmektedirler.

Protozoalar rumende gerçekleştirilen lif sindiriminin 1/3-1/4'lük kısmından sorumlu olup (McAllister, 2000), diyet içeriği, pH, dönüşüm oranı, yemleme sıklığı ve yemleme düzeyi gibi faktörlerin protozoal faunayı etkileyen faktörler arasında yer aldığı bildirilmektedir (Franzolin ve Dehority, 1996).

2.2.3. Mantarlar

McAllister (2000), rumendeki mantar sayısının diğer mikroorganizma türlerine oranla daha az olduğunu (10^3-10^5) ve toplam rumen biyokitlesinin %8'lik kısmını oluşturduğunu bildirmektedir. Joblin (1981), Obispo ve Dehority (1992), rumen mantarların lif sindiriminde, McAllister (2000), ise arpa samanı gibi dirençli kaba yemlerin sindiriminde önemli rolleri olduğunu bildirmektedir.

Rumen mantarları bitki hücre duvarındaki yapısal polisakkaritlerin çoğunu hidrolize edebilecek enzimlere sahip olduğu, bitkisel materyaldaki yapısal engelleri parçalamak ya da kırmak yönündeki yeteneklerinin bakterilere göre yüksek olduğu ve rumenden uzaklaştırılmaları halinde yem tüketiminin ve lif sindiriminin düştüğü bildirilmektedir (Dehority ve Tirabasso, 2000).

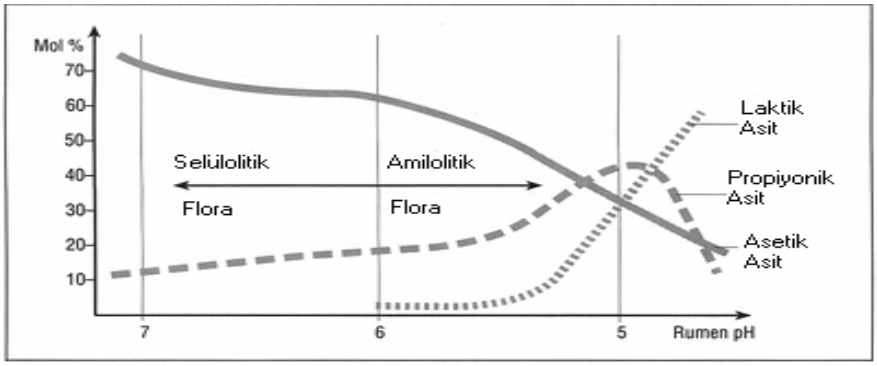
2.3. Rumen Mikrobiyal Populasyonunu Etkileyen Faktörler

Rumen mikroorganizmaları, yemlerin sindiriminde karşılıklı bir etkileşim içerisinde olup bir çok faktöre bağlı olarak sayı ve oranları değişmektedir. Bunlar, rasyonun yapısı (kaba yem : yoğun yem oranı), rumen uçucu yağ asitleri (UYA) oranı, yemin formu ve besin madde içeriği, rumen pH'sı, yemin olgunluk dönemi, biçim zamanı, hayvan türü, yemlere uygulanan ısıtma, ıslatma, öğütme v.b. işlemler olarak sıralanabilmektedir. Dolayısıyla bu faktörlere bağlı olarak yemlerin etkin olarak değerlendirilmesinde farklılıklar ortaya çıkabilmektedir (Anonymous, 2001).

Hayvanlar uzun süre aç kaldıklarında rumen mikroorganizmalarının farklı oranlarda kaybolduğu bildirilmektedir (Church, 1984). Bu durum ruminantların beslenmesinde mikrobiyal populasyonun değişmemesi ve elde edilecek ürünün nitelik ve niceliğinin korunabilmesi bakımından önemlidir.

McAllister (2000), ruminant diyetlerinin rumen ortamı üzerine büyük etkisi olduğunu, yem kompozisyonu, fiziksel işleme derecesi ve yem katkı maddelerinin varlığı gibi faktörlerin hepsinin rumen mikroorganizmalarının sayılarını, oranlarını ve sindirim aktivitelerini etkilediğini bildirmektedir.

Akkan ve Özkan (1987), Ruminantların selülozca zengin kaba yemlerle beslenmeleri durumunda rumen pH'sının (pH=6.0-6.8) arttığını, yoğun yemlerle beslenmeleri durumunda ise (pH=5.4-6.0) düştüğünü, kaba yemlerin öğütülmesi, otların ince kıyılması gibi işlemlerin de rumen pH'sını düşürdüğünü, dolayısıyla mikroorganizma populasyonunu değiştirebildiğini bildirmektedirler.



Kaufman ve ark., 1980.

Şekil 1. pH' a bağlı olarak ruminal fermentasyon seyri

Hayvanlar gece geviş getirme eğiliminde olduğu için rumen pH'sı sabah yemlemeden önce yüksek olup, yemlemeden sonra ise yüksek düzeyde fermente olabilen karbonhidratlar nedeniyle düşmektedir (Ghorbani ve ark., 2002). Rumen pH'sının, rasyonun bileşimine, yem tüketim hızına ve içeriğin rumende kalış süresine bağlı olarak 2-6 saat sonra en düşük düzeye indiği bildirilmektedir (Tuncer ve ark., 1992). Düşük pH rumende daha hızlı absorbe olan asitlerin oranında yükselişlere yol açmaktadır. Rumen pH'sı UYA üretim düzeyleri ve mikrobiyal populasyonu etkileyen birçok faktörden biridir. pH'yı değiştiren iki temel bakteri grubu vardır. Bunlar; selülolitik ve amilolitik bakterilerdir (Şekil 1). Lifli maddelerin sindirimi çoğunlukla 6.0–6.2 pH' da gerçekleşirken, nişastanın sindirimi için daha asidik çevre şartları (pH =5.2–6.0) gerekmektedir. Belirli protozoa türleri pH 5.5'in altında olduğu zaman önemli derecede

baskı altında olmaktadırlar. Bu nedenle rumen pH'sının 5.8-6.4 arasında olması gerektiği bildirilmektedir (Murphy ve ark., 1982).

2.4. Yemlemenin Rumen Mikrobiyal Populasyonu Üzerine Etkisi

Rumen ortamında en önemli değişim kaba yem ağırlıklı diyetten konsantre yem ağırlıklı diyete geçişte meydana gelmektedir. Konsantre yeme dayalı diyetlerin fermentasyonu oldukça hızlıdır ve aşırı laktik asit üretimi rumen pH'sının 5'ten aşağı düşmesine neden olmaktadır. Selülolitik bakteriler ve protozoalar rumen pH'sının 6'dan aşağı olması halinde etkisini gösterememekte ve konsantre yem ile kaba yem karışımları sık sık lifli maddelerin ruminal sindiriminin azalmasına neden olmaktadır (McAllister, 2000).

Kaba yemden konsantre yeme geçişte mikrobiyal populasyonun değişimi hemen olan bir süreç değildir. Bu tür diyet değişikliklerinde laktik asit üreten bakterilerin sayısı genellikle artmakta ve aynı zamanda laktik asiti metabolize eden bakterilerin sayısı da artmakta ve rumendeki laktik asit birikimi önlenmektedir. Eğer kaba yemden konsantre yeme geçiş çok ani ise ya da dane yemin partikül çapı çok küçük ise bu durumdan mikrobiyal populasyon olumsuz olarak etkilenmektedir (Church, 1984; McAllister, 2000).

Joblin ve Hudson (1997) rumendeki mikrobiyal populasyonun, diyetlerin değişmesiyle değiştiğini, dane yemle ya da konsantre yemle yemlenen ineklerin rumenlerindeki mikrobiyal populasyonun, mer'ada otlayan ineklerden farklı olduğunu bildirmektedirler.

Süt sığırlarında süt yağının oluşumu için gerekli asetik asit üretimi ancak selülolitik bakteriler tarafından selülozdan sağlandığından (Joblin ve Hudson, 1997), et sığırlarında ise asidosis tehlikesine karşı önlem olarak düşük rumen pH'sında aşırı laktik asit üretiminin engellemesi için dane yemce zengin beslemeden kaçınmak gerektiği bildirilmektedir (Russell ve Rychlik, 2001).

Dane yemce zengin diyetlerin verilmesi durumunda toplam bakteri sayısı artarken (Varel ve Dehority, 1989), çözünebilir karbonhidratlarca zengin ve proteince fakir diyetler selülolitik bakterilerin sayı ve oranlarında azalmalara neden olmaktadır. Tümüyle konsantre diyetle yemlenen koyunlarda ise sınırlı yemleme durumunda, serbest yemlemeye

kıyasla selülolitik bakteri sayısı artmakta, %65 oranında peletlenmiş kaba yemle besleme de ise toplam bakteri sayısı artmaktadır (Church, 1984).

Mackie ve ark. (1978), yüksek düzeyde kaba yem içeren bir diyetten %71 dane ve melas içeren diyete kademeli olarak geçen hayvanlarda selülolitik bakteri konsantrasyonunda herhangi bir değişiklik bulamamışken, Leedle ve ark. (1982) yüksek düzeyde kaba yem ve yüksek düzeyde konsantre yem içeren rasyonlarla yemlenen hayvanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada, yüksek düzeyde kaba yemle yemlemede selülolitik bakteri konsantrasyonunun 2.25 misli artış gösterdiğini belirlemişlerdir.

Yapılan bir çalışmada yüksek düzeyde sindirilebilir soya kabuğu içeren (%50) diyetlerle yemlenen hayvanlarda selülolitik bakteri sayısının arttığını, %40 soya kabuğu içeren diyetlerle yemlenen koyunlarda ise selülolitik bakteri sayısının azaldığı bildirilmiştir. Araştırıcılar yüksek düzeyde selülozlu diyetle yemlemede toplam bakteri konsantrasyonunun ve selülolitik bakteri konsantrasyonunun daha yüksek olduğunu da bildirmişlerdir (Dehority ve Tirabasso, 1998).

Dehority ve Grubb (1980), %60 mısır - %40 domuz ayrığı kuru otuyla yemlenen hayvanlarda toplam bakteri sayısını $31.19x10^9$ olduğunu bildirirken, Grubb ve Dehority (1976) aynı diyetle yemlemede bakteri sayısının $3x10^{10}$ ile $6x10^{10}$ arasında değiştiğini, %60 mısır- %40 domuz ayrığı kuru otuyla yemlenen koyunlardaki toplam bakteri sayısının tamamen yonca kuru otuyla ya da tamamen domuz ayrığı kuru otuyla yemlenenlerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Serbest düzeyde pennisetium kuru otuyla yemlenen hayvanlardan alınan rumen sıvısında toplam bakteri sayısı $14x10^8$ iken (Camacho ve ark., 1993), günde 1.8 kg yüksek düzeyde peletlenmiş kaba yemle yemlenen koyunlardan 1. ve 5. günde alınan rumen içeriğinde toplam bakteri sayıları sırasıyla; $37.7x10^8$ ile $17.5x10^8$ olarak bulunmuştur (Dehority ve Tirabasso, 2001).

Domuz ayrığı kuru otuyla yemlenen hayvanlarda toplam bakteri sayısı $207.5x10^8$ iken, şeker pancarı posası ve mısır ilave edilmesi durumunda toplam bakteri sayıları sırasıyla; $59x10^8$, $62.83x10^8$ olarak belirlenmiştir (Fluharty ve Dehority, 2004).

Yonca kuru otuyla yemlenen hayvanlarda toplam bakteri sayısı $4.62x10^9$ olarak belirlenirken, %25 ve %50 oranında mısır ilave edilmesi durumunda ise sırasıyla; $2.62x10^9$ ve $2.8x10^9$ olarak belirlenmiştir (Varel ve Dehority, 1989).

Konsantre yemlerce zengin diyetler protozoa sayısını azaltırken (Eugene ve ark., 2004), rasyondaki dane yem oranının artırılmasıyla birlikte toplam protozoa sayısında doğrusal bir artış görülmektedir, ancak protozoa sayısındaki toplam artışa rağmen bazen protozoaların bazı türlerinde (Diplodiniinae) azalma görülebilmektedir. Bu azalmalar pH 6'dan aşağı düştüğünde görülmektedir (Franzolin ve Dehority, 1996).

Otlatılan ruminantlarda ve kuru ot içeren diyetlerle yemlenen hayvanlarda bitki materyallerinin sindirimi sonucu çözülen şekerlerden dolayı holotricha türü protozoalar genellikle fazla sayıda bulunmaktadır. Nişasta diyetleri diğer türlerin dışında entodinium gibi türlerin gelişimini artırmaktadır. Bununla birlikte entodinium ve isotricha türleri peletlenmiş arpaya kıyasla dane arpayla yemlenen koyunlarda daha büyüktür. Bazal rasyona ilave edilen özü alınmamış keten tohumu protozoal konsantrasyonunun düşmesine neden olmaktadır. Temel rasyona üre ve gluten ilavesinde, ürenin protozoa konsantrasyonunu artırdığı belirlenmiştir (Church, 1984). Mısırla beslemede, pancar posası ile beslemeye kıyasla protozoa konsantrasyonunun ve entodinium sayısının daha yüksek olduğu görülmüştür. Bunda, entodiniumun nişasta sindiren bir protozoa türü olması önem taşımaktadır (Fluharty ve Dehority, 2004).

Çözünebilir şekerce zengin kuru otla ya da kaba yemle yemlenen hayvanlarda holotricha türü protozoalar yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. Dane yemce zengin diyetle yemlenen koyunlarda yüksek düzeyde holotricha protozoanın varlığı belirlenmiştir. Ayrıca nişastaca zengin diyetle yemlenen hayvanların rumeninde entodinia türü protozoaların yüksek konsantrasyonda bulunduğu da görülmüştür (Church, 1984).

Tamamen konsantre diyetle yemlenen koyunlarda sınırlı yemleme, serbest yemlemeye kıyasla toplam protozoa sayılarını artırmaktadır. Peletlenmiş kaba yem (%65) içeren rasyonlarla yemlenen koyunlarda yaşama payı yemleme düzeyinin 1.8 katına çıkarılması durumunda ise toplam protozoa sayısı (Dasytricha, Entodinium ve Ophryoscolex) azalmaktadır (Church, 1984).

Kuru ot, arpa ve şeker pancarı posasından oluşan diyete eklenen kolza yağı, ayçiçeği yağı ve keten yağı gibi bitkisel yağlar ile organik asitler (aspartik asit, malik asit gibi) rumen sıvısındaki toplam protozoa sayısını azaltmaktadır (Jalc ve ark., 2002). Bu nedenle rasyona katılan yağın cinsi ruminal populasyonu etkilemesi bakımından büyük önem taşımaktadır.

Hayvanlar %75 konsantre, %25 kaba yemle yemlendiğinde, tamamen kaba yemle yemlenenlere göre toplam protozoa sayıları artarken, tümüyle konsantre yemle ve %90 konsantre yem ile %10 kaba yemle yemleme arasında toplam protozoa sayılarında fark bulunmamıştır (Franzolin ve Dehority, 1996).

Martin ve ark. (1994), yaptıkları çalışmada, Domuz ayrığı kuru otuyla yemlenen hayvanlarda toplam protozoa sayısını $3.32x10^5$ olarak saptarken, %65 kuru ot, %35 peletlenmiş arpa ile yemlemede protozoa sayısı $4.04x10^5$ olarak belirlemişlerdir.

Kuru otla ($96x10^3$) ya da yeşil otla ($70x10^3$) yemlenen hayvanlarda toplam protozoa sayıları azalmaktadır. Buna karşın hayvanlar mer'a otuyla ($230x10^3$), kuru ot ile birlikte konsantre yem ($344x10^3$) ya da mer'a otu ile birlikte konsantre yem ($1236x10^3$) ile yemlendiğinde ise toplam protozoa konsantrasyonu artmaktadır (Dehority ve Mattos, 1978).

Hristov ve ark. (2001), %95 arpa danesi içeren diyetle beslenen hayvanlarda rumen sıvısındaki toplam protozoa sayısının ($470x10^3$ /ml), %62 arpa danesi içeren diyetle beslenenden ($804x10^3$ ml) %42 daha düşük olduğunu, mısıra kıyasla arpa danesinde rumendeki KM ve nişasta parçalanabilirlik oranının daha yüksek olduğunu, arpa danesine dayalı diyetlerde mikrobiyal protein sentezinin arttığını ve rumen PH'sını düşürdüğünü bildirmektedirler.

Domuz ayrığı kuru otuna mısır ya da şeker pancarı posası ilavesi mantar konsantrasyonunu etkilemezken (Fluharty ve Dehority, 2004), sulu kaba yem ya da dane yeme dayalı diyetlerle yemlenen ruminantlarda mantar sayıları düşmektedir (Russell ve Rychlil, 2001).

Koyunların diyetlerindeki yonca kuru otu yerine dane mısırın ikame edilmesinin, tümüyle yonca kuru otuna dayalı beslemeye kıyasla mantar sayılarını düşürdüğü belirlenmiştir (Obispo ve Dehority, 1992).

Obispo ve Dehority (2002), yapmış oldukları çalışmada, günde 1.5 kg peletlenmiş yonca ile beslenen koyunlarda mantar konsantrasyonunun $6.4x10^4$ olduğunu bildiriken, Dehority ve Tirabasso (2001), günde 1.8 kg yüksek düzeyde peletlenmiş kaba yemle yemlenen koyunlardan 1. ve 5. günde alınan rumen içeriğinde mantar sayılarının sırasıyla; $62.8x10^3$ ile $95.2x10^3$ olduğunu bildirmektedirler.

Domuz ayrığı kuru otuyla yemlenen hayvanlarda mantar sayısı $93.82x10^2$ iken, mısır ve şeker pancarı posası ilave edilmesi durumunda mantar sayısının sırasıyla; $168.38x10^2$ ve $198.55x10^2$ olduğu belirlenmiştir. Rumen pH'sı domuz ayrığı kuru otunda daha yüksek, pancar posası ilaveli diyette ise daha düşük bulunmuştur (Fluharty ve Dehority, 2004).

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

Denemede hayvan materyali olarak yaklaşık 2 yaş civarında ortalama 40 kg canlı ağırlığında rumen kanüllü 2 baş Sakız x Karayaka melezi koç kullanılmıştır. Yem materyali olarak Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi arazisinden temin edilen kaba yem (çayır kuru otu) ile Samsun ilinden temin edilen ticari kesif yem (kuzu besi yemi) kullanılmıştır. Kullanılan yemlerin besin madde içerikleri çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Deneme hayvanlarına verilen yemlere ait besin madde içerikleri, %

Yemler	KM	OM	HP	HY	HS	HK	NÖM
Kaba (Doğal Halde)	89.04	81.94	7.94	0.86	35.82	7.10	35.90
(KM'de)		92.03	8.92	0.96	40.23	7.97	40.32
Kesif (Doğal Halde)	85.62	76.95	14.44	4.05	8.52	8.67	49.94
(KM'de)		89.88	16.87	4.73	9.95	10.12	58.34

3.2. Metot

Araştırma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Döner Sermaye İşletmesi hayvancılık tesislerinde yürütülmüştür. Araştırmada kanüllü hayvanlarda farklı yemleme yapılması durumunda rumen mikroorganizma populasyonunun belirlenmesi için rumen içeriği alınmış ve içerikteki mikroorganizma miktarlarının belirlenmesine çalışılmıştır. Denemede rumen içeriği hayvanlar aç iken (kontrol), kaba yem (serbest düzeyde) tüketiminden ve kaba yem (serbest düzeyde) ile birlikte 400 gr kesif yem (sabah 08:00 ve akşam 16:00) tüketiminden sonra olmak üzere üç aşamada alınmıştır. Hayvanlara 10 günlük alıştırma dönemi uygulandıktan sonra bakteri, protozoa ve mantar sayılarını belirlemek amacıyla örnek alma dönemine geçilmiştir.

Birinci aşamada; örnek alma işleminin 1. ve 5. günlerinde sabah (08:00) aç karnına kanüllü 2 deneme hayvanından kanülden girilmek suretiyle sonda ile rumenin farklı bölgelerinden (Dehority ve Grubb, 1976; Grubb ve Dehority, 1976; Dehority ve ark.,1989) yaklaşık 30 ml rumen içeriği alınmış ve 100 ml'lik plastik şişe içerisine konulmuş, içerik hiç zaman kaybetmeden içerisinde 39°C sıcaklığında su bulunan termos içerisinde laboratuvara getirilmiş ve bakteri, protozoa ve mantar sayımı yapmak için hazırlıklara başlanmıştır.

İkinci aşamada serbest düzeyde çayır kuru otu ile beslenen hayvandan 10 günlük yeme alıştırma döneminden sonra, örnek alma döneminin 1. ve 5. günlerinde yemlemeden önce sadece sabah (08:00) olmak üzere günde bir kez sonda ile her hayvandan, ilk aşamada olduğu gibi rumenin değişik bölgelerinden rumen içeriği alınmış ve mikroorganizma sayımı için laboratuara getirilmiş ve hazırlıklara başlanmıştır.

Üçüncü aşamada ise hayvanlara serbest düzeyde verilen çayır kuru otuna ilave olarak günde 400 gr kesif yem (200 gr sabah, 200 gr akşam olmak üzere) verilmiştir. Kesif yem ilavesinde 10 günlük yeme alıştırma döneminden sonra, örnek alma döneminin 1. ve 5. günlerinde yemlemeden önce sadece sabah (08:00) olmak üzere günde bir kez her hayvandan rumenin değişik bölgelerinden sonda ile rumen içeriği alınmıştır. Örnek alma işlemi 3 kez tekrarlanmıştır. Mikroorganizma sayımı için laboratuvara getirilen içerik için, gerekli ortam ve solüsyonlar aşağıda açıklandığı şekilde hazırlanmış ve denemeye devam edilmiştir.

3.2.1. ADS (Anaerobik Seyreltme Solüsyonu)'nin hazırlanması

Bu çalışmada Anaerobik Seyreltme Solüsyonu aşağıda belirtildiği şekilde hazırlanmıştır (Sözlü görüşme B. A. Dehority, 2005). Mantar sayımı için gerekli Rumen içeriğini almadan bir gün önce ilk seyreltme için 180 ml'lik ADS, seri seyreltmeler için 300 ml'lik ADS hazırlanmıştır. Bu amaçla;

Anaerobik Seyreltme Solüsyonu (300 ml)

45 ml Mineral solüsyonu 1 (3gr K_2HPO_4 / lt)

45 ml Mineral solüsyonu 2 (3gr KH_2PO_4, 6gr $(NH_4)_2SO_4$, 6gr NaCl, 0.6gr $MgSO_4$, 0.6gr $CaCl_2$ / lt)

0.3 ml , %0.1' lik Resazurin solüsyonu,

197 ml Saf su

bileşikler 500 ml'lik cam balon içerisinde aspestli ısıtıcı üzerinde ısıtılmış ve CO_2 ile gazlanmıştır. Solüsyon indirgendiğinde (renk değişimi gözlendiğinde)

7.5 ml, %12' lik Na_2CO_3

5 ml , %3' lük Sistin- HCl

ilave edilmiştir. Cam balon içerisindeki bileşikler CO_2 altında 10 ml ölçümündeki pipet yardımıyla 9 ml' lik miktarlar alınarak Kültür tüpünün (16x150 mm) içine konulmuş ve her tüpün ağzı pamuk ile kapatılmıştır. Tüpler hiç zaman kaybetmeden 121°C de 20 dakika otoklav edilmiştir.

Anaerobik Seyreltme Solüsyonu (180 ml)

27 ml Mineral solüsyonu 1 (3gr K_2HPO_4 / lt)

27 ml Mineral solüsyonu 2 (3gr KH_2PO_4, 6gr $NH_4)_2SO_4$, 6gr NaCl, 0.6gr $MgSO_4$, 0.6gr $CaCl_2$ / lt)

0.18 ml , %0.1' lik Resazurin solüsyonu

118.32 ml Saf su

bileşikler 250 ml'lik cam balon aspestli ısıtıcı üzerinde ısıtılmış ve CO_2 ile gazlanmıştır. Solüsyon indirgendiğinde (renk değişimi gözlendiğinde) ,

4.5 ml, %12' lik Na_2CO_3

3 ml , %3' lük Sistin- HCl

ilave edilmiştir. Cam balon lastik tıpa ile kapatılmıştır ve hiç zaman kaybetmeden 121°C de 20 dakika otoklav edilmiştir.

3.2.2. Bazal MPN (Most Probable Number) ortamının hazırlanması

Mantar sayımı için gerekli rumen içeriğini almadan bir gün önce MPN ortamı hazırlanmıştır. MPN ortamının hazırlanması Dehority (1969)'nin belirttiği metoda göre aşağıdaki gibi modifiye edilerek yapılmıştır. Bu amaçla; Na_2CO_3 ve sistin-HCl dışındaki tüm bileşikler 500 ml'lik cam balon içine konulmuştur. Aspestli ısıtıcı üzerinde yavaşça ısıtılmış ve resazurin indikatörü indirgenene kadar CO_2 ile gazlanmıştır. Önce Na_2CO_3 daha sonra sistin HCl ilave edilmiş ve ortam PH' sı 6.9 ya da daha az olana kadar CO_2 ile

gazlamaya devam edilmiştir. Hazırlanan sıvı ortam içeriğinden 10 ml ölçümündeki pipetle 6 ml'lik miktarlar 16x150 mm' lik tüplerinin içine anaerobik olarak aktarılmış ve tüplerin ağzı pamuk ile kapatıldıktan sonra hiç zaman kaybetmeden 121°C de 20 dakika otoklav edilmiştir.

Mantar sayımı için kullanılan MPN sıvısının içeriği Obispo ve Dehority (1992)'nin tanımladığına benzerdir.

Bileşikler	Ortamın yüzdesi
Mineral solüsyonu 1	15
Mineral solüsyonu 2	15
Resazurin solüsyonu, % 0.1' lik	0.1
Hemin solüsyonu, %0.1' lik	0.1
Glukoz	0.1
Sellobiyoz	0.1
Maltoz	0.1
Ksiloz	0.1
Triptocase	0.2
Maya ekstraktı	0.05
Rumen sıvısı	20
UYA karışımı	0.45
Selüloz süspansiyonu, %3' lük	25
Sistin- HCl, %3' lük	1.67
Na_2CO_3 , %12' lik	3.33
Saf su	5.1
CO_2 gaz fazı	100

Mineral solüsyonu 1 : 3gr K_2HPO_4 / lt

Mineral solüsyonu 2 : 3gr KH_2PO_4, 6gr $NH_4)_2SO_4$, 6gr NaCl, 0.6gr $MgSO_4$, 0.6gr $CaCl_2$ / lt

UYA (uçucu yağ asidi) karışımı : 17 ml asetik asit, 6 ml propiyonik asit, 4 ml butirik asit, 1 ml izobutirik asit, 1 ml n- valerik asit, 1 ml izo- valerik asit, 1 ml α- CH_3 butirik asit

Rumen sıvısı : çift katlı süzekten süzülür ve 1000xg' de 10 dakika santrifüj edilirek yukarıdaki ortama ilave edilir.

3.2.3. Antibiyotik çözeltisinin hazırlanması

Bakteri büyümesini engellemek için kullanılan 130 U streptomycin sülfat, 2000 U penicilin–G antibiyotikleri saf suda eritilerek CO_2 ile en az 20 dakika gazlanmıştır ve 0.2 μm gözenek çaplı filtreden süzülerek sterilize edilmiştir (Obispo ve Dehority 1992).

3.2.4. Bakteri sayım işlemi

Bakteri sayımı Karahan ve ark. (2002)'nin belirttiği metoda göre aşağıdaki şekilde modifiye edilerek yapılmıştır. 16x150 mm'lik kültür tüplerinin içerisine 1ml'lik rumen içeriği mikropipet yardımıyla alınmış ve üzerine bakterilerin hareketlerini kısıtlamak için %50'lik formalinden 0.16 ml ilave edilmiştir. Örnek 1/500 oranında seyreltilmiştir. Seyreltilen örnekten bir miktar mikropipet yardımıyla alınarak, Thoma lamına aktarılmış ve X40 büyütmede mikroskopta sayılmıştır. Her bir deneme için 10 sayım yapılmıştır.

3.2.5. Protozoa sayım işlemi

Protozoa sayımı Dehority (1984)'ün belirttiği metoda göre aşağıdaki gibi modifiye edilerek yapılmıştır. Rumenden 10 ml rumen içeriği alınmış ve 16x150 mm'lik kültür tüpünün içine aktarılmıştır ve üzerine aynı miktarda %50'lik formalin (%18.5'lik formaldehit) ilave edilmiştir. İyice karıştırılan örnekten 1 ml'lik alt örnek alınmış ve 16x150 mm'lik kültür tüpünün içine aktarılmıştır ve üzerine iki damla brillant yeşili (2 g brillant yeşili ve 2 ml glasiyel asetik asit 100 ml'lik saf su içerisinde seyreltilmiştir) ilave edilmiştir. İçerik iyice karıştırılmış ve en az 4 saat bekletilmiştir. Boyamadan sonra %30'luk gliserol çözeltisinden 9 ml ilave edilmiştir. Seyreltilen örnekten bir miktar

mikropipet yardımıyla alınarak, Thoma lamına aktarılmış ve X40 büyütmede mikroskopta sayılmıştır. Her bir deneme için 10 sayım yapılmıştır.

3.2.6. Mantar sayım işlemi

Mantar sayımı Obispo ve Dehority (1992)'nin belirttiği metoda göre aşağıdaki gibi modifiye edilerek yapılmıştır. Bu amaçla rumenden alınan 20 ml rumen içeriği 250 ml'lik cam balon içinde 180 ml'lik ADS (Anaerobik Seyreltme Solüsyonu) ile seyreltilmiştir. Bu seyreltmeden 1ml alt örnek alınmış ve 16x150 mm'lik ADS tüplerinde seri olarak seyreltilmiştir. MPN tüpleri kullanılmadan önce her bir tüpe 1ml steril edilmiş antibiyotik solüsyonu ilave edilmiştir. Mantar sayısını belirlemek için 10^{-2}-10^{-6} seyreltmeler kullanılmıştır. Her bir seyreltme 3 MPN tüpüne aseptik olarak inoküle edilmiştir. Tüpler 2.5 lt kapasiteli anaerobik jar içerisine konulmuş ve içine anaerobik ortam sağlayan torba koyulduktan hemen sonra jarın ağzı kapatılmıştır. Tüplerdeki mantar büyümesi 38°C de 7 gün inkübasyondan sonra bulanıklığın artmasıyla ya da hif oluşumuyla belirlenmiştir.

3.2.7. İstatistiksel Analizler

Çalışma sonunda elde edilen değerler log10 tabanına transforme edilmiş ve SPSS paket programında tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Gruplara ait ortalamalar ise Duncan (1955) çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Rumen pH'sı

Her bir yemleme periyodunda elde edilen rumen içi pH değerlerine ilişkin veriler çizelge 2'de sunulmuştur. Açlık, kaba ve kaba + kesif yemle beslemede rumen içi pH değerleri sırasıyla; 5.71, 6.55, 6.08 olarak bulunmuştur. Rumen pH'sı bakımından gruplar arasında çok önemli farklılıklar saptanmış ($P<0.01$) olup, kaba ve kaba + kesif yemle beslenen grupta rumen pH değeri açlık durumundaki gruba göre önemli derecede artmıştır. Gruplar arasında en yüksek pH değerini kaba yemle beslenen grup gösterirken, en düşük pH değeri ise açlık durumundaki grupta bulunmuştur. Örnekleme günü bakımından ise günler arasında her üç grupta önemli farklılıklar saptanmamıştır. Grup ve örnekleme günü arasındaki etkileşim önemli bulunmamıştır.

Çizelge 2. Rumen pH'sı üzerine yemleme tipinin ve örnekleme gününün etkisi

pH		Açlık	Kaba yem	Kaba + Kesif yem	Ortalama	Sx	Etkiler		
							ÖG	YT	ÖG*YT
Günler	1.gün	5.72	6.53	6.03	6.09	0.015	ÖD	**	ÖD
	5.gün	5.70	6.58	6.13	6.14	0.015			
Ortalama		5.71 **a**	6.55 **b**	6.08 **c**					
S_x		0.019	0.019	0.019					

a,b,c, aynı satırda farklı harf ile gösterilen ortalamalar farklıdır $P<0,01$

4.2. Rumen Bakterileri

Her bir yemleme periyodundan sonra rumende saptanan bakterilere ilişkin değerler çizelge 3'de verilmiştir. Bakteri sayısı bakımından gruplar arasında en yüksek değeri kaba + kesif yemle beslenen grup ($39.14x10^8$) gösterirken, en düşük değeri ise kaba yemle beslenen grup ($17.14x10^8$) göstermiştir. Rumen bakterileri bakımından gruplar arasında çok önemli farklılık saptanmıştır ($P<0.01$). Kaba + kesif yemle beslenen grupta bakteri sayısı açlık durumundaki bakteri sayısına göre önemli derecede artış gösterirken ($P<0.01$), kaba yemle beslenen gruptaki bakteri sayısında azalma olduğu saptanmıştır. Açlık durumunda 1. gün bakteri sayısı $31.93x10^8$ iken, 5. gün bakteri sayısı $30.43x10^8$ olarak

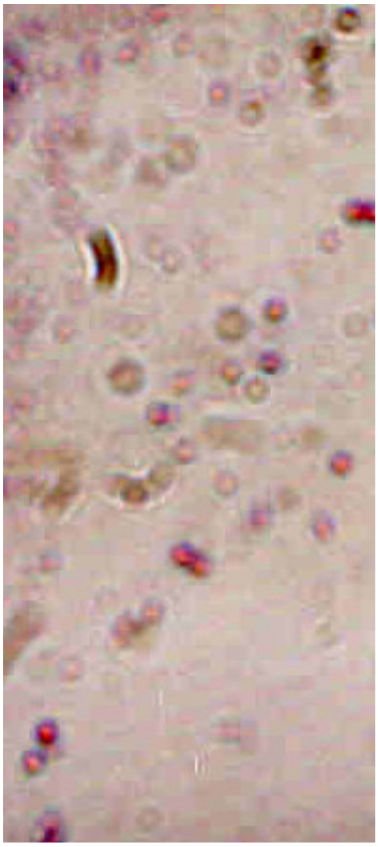
saptanmıştır. Kaba yemle beslemede 1. gün bakteri sayısı $17.10x10^8$ iken, 5. gün bakteri sayısı $17.18x10^8$ olarak saptanmıştır. Kaba + kesif yemle beslemede 1. gün bakteri sayısı $40.13x10^8$ iken, 5. gün bakteri sayısı $38.15x10^8$ olarak saptanmıştır. Örnekleme günü bakımından her üç grupta da farklılıklar önemli bulunmamıştır. Grup ve örnekleme günü arasındaki etkileşim önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 3. Rumen bakterileri üzerine yemleme tipinin ve örnekleme gününün etkisi ($x10^8$)

Bakteri		Açlık	Kaba yem	Kaba + Kesif yem	Ortalama	Sx	Etkiler		
							ÖG	YT	ÖG*YT
Günler	1.gün	31.93	17.10	40.13	29.72	0.009	ÖD	**	ÖD
	5.gün	30.43	17.18	38.15	28.58	0.009			
Ortalama		31.18 **a**	17.14 **b**	39.14 **c**					
S_x		0.011	0.011	0.011					

a,b,c, aynı satırda farklı harf ile gösterilen ortalamalar farklıdır P<0,01

Rumen sıvısının mikroskop altında incelenmesi sonucu gözlenen bakteri şekilleri şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. Mikroskop altında X100 büyütmede gözlenen gram negatif bakteriler

4.1. Rumen Protozoaları

Açlık, kaba ve kaba + kesif yemle yemleme periyodunda elde edilen rumen protozoa sayılarına ilişkin değerler çizelge 4'de verilmiştir. Açlık, kaba ve kaba + kesif yemle beslenen hayvanlarda rumen içi protozoa sayıları sırasıyla; $4.30x10^5$, $9.20x10^5$ ve $15.38x10^5$ olarak saptanmıştır. Rumen protozoa sayıları bakımından gruplar arasında çok önemli farklılık saptanmıştır ($P<0.01$). Kaba ve kaba + kesif yemle beslenen grupta protozoa sayısı, açlık durumundaki gruba göre önemli derecede artmıştır ($P<0.01$). Örnekleme günü bakımından ise günler arasında her üç grupta da farklılık bulunamamıştır. Grup ve örnekleme günü arasındaki etkileşim önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4. Rumen protozoaları üzerine yemleme tipinin ve örnekleme gününün etkisi ($x10^5$)

Protozoa		Açlık	Kaba yem	Kaba + Kesif yem	Ortalama	Sx	Etkiler		
							ÖG	YT	ÖG*YT
Günler	1.gün	4.26	8.74	15.71	9.57	0.016	ÖD	**	ÖD
	5.gün	4.35	9.67	15.05	9.69	0.016			
Ortalama		4.30 **a**	9.20 **b**	15.38 **c**					
S_x		0.019	0.019	0.019					

a,b,c, aynı satırda farklı harf ile gösterilen ortalamalar farklıdır P<0,01

Rumen sıvısının mikroskop altında incelenmesi sonucu gözlenen farklı protozoa türlerinden Entodinium caudatum şekil 3'de, Entodinium dubardi şekil 4'de ve Dasytricha ruminantium şekil 5'de gösterilmiştir.

Şekil 3. Mikroskop altında X40 büyütmede gözlenen protozoa türlerinden Entodinium caudatum

Şekil 4. Mikroskop altında X40 büyütmede gözlenen protozoa türlerinden Entodinium dubardi

Şekil 5. Mikroskop altında X40 büyütmede gözlenen protozoa türlerinden Dasytricha ruminantium

4.2. Rumen Mantarları

Her bir yemleme periyodu için belirlenen rumen mantarlarına ilişkin değerler çizelge 5'de verilmiştir. Çizelgede görüldüğü gibi rumen mantarları bakımından gruplar (açlık, kaba yem ve kaba + kesif yem) birbirlerinden önemli derecede farklı bulunmuştur ($P<0.01$). Kaba ve kaba + kesif yemle beslenen grupta mantar sayısı açlık durumundaki gruba göre önemli derecede artmıştır ($P<0.01$). Gruplar arasında en yüksek mantar sayısı kaba yemle beslenen grupta ($20.5x10^3$) görülürken, en düşük mantar sayısı ise açlık

durumundaki grupta ($0.21x10^3$) belirlenmiştir. 1. gün örnek alma gününde açlık, kaba ve kaba + kesif yemle beslenen grupta saptanan mantar sayıları ile 5. günde saptanan mantar sayıları arasında önemli fark bulunamamıştır. Grup ve örnekleme günü arasındaki etkileşim önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 5. Rumen mantarları üzerine yemleme tipinin ve örnekleme gününün etkisi ($x10^3$)

Mantar		Açlık	Kaba yem	Kaba + Kesif yem	Ortalama	Sx	Etkiler		
							ÖG	YT	ÖG*YT
Günler	1.gün	0.20	18.5	1.84	6.85	0.04	ÖD	**	ÖD
	5.gün	0.21	22.5	2.20	8.30	0.04			
Ortalama		0.21 **a**	20.5 **b**	2.02 **c**					
S_x		0.049	0.049	0.049					

a,b,c, aynı satırda farklı harf ile gösterilen ortalamalar farklıdır P<0,01

Rumen sıvısının mikroskop altında incelenmesi sonucu gözlenen mantar lifleri şekil 6'de verilmiştir.

Şekil 6. Mikroskop altında X40 büyütmede gözlenen mantar hifleri

5. TARTIŞMA

5.1. Rumen pH'sı

Bu çalışmada açlık, kaba ve kaba + kesif yemle beslenen gruplar arasında rumen pH değerleri birbirinden önemli derecede farklı bulunmuştur. Rumen pH'sı açlık durumunda 5.71, kaba yemle beslenen grupta 6.55, kaba + kesif yemle beslenen grupta ise 6.08 olarak bulunmuştur. Yemleme tipinin rumen pH'sı üzerine etkili olduğu görülmektedir (Çizelge 2). Rumen pH'sının rasyonun içeriğine, yem tüketim hızına ve içeriğin rumende kalış süresine bağlı olarak değiştiği bildirilmektedir (Ørskov ve Ryle,1990; Tuncer ve ark. 1992). Bu çalışmada kaba yemle beslenen hayvanlarda rumen pH'sının kaba + kesif yemle beslenen ya da açlık durumundaki hayvanlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kaba yemle beslemede gözlenen rumen pH'sındaki yükseklik rumendeki lifli maddelerin sindirilebilirliğinden kaynaklanmaktadır (Fluharty ve Dehority, 2004). Hayvanlar selülozca zengin kaba yemlerle beslendiklerinde Rumen pH'sı artmaktadır (Church,1984; Akkan ve Özkan, 1987). Fluharty ve Dehority (2004), Martin ve ark. (1994) yapmış oldukları çalışmalarda kaba yeme dayalı beslenen hayvanlarda rumen pH'sının arttığını vurgulamaktadır. Comacho ve ark. (1993) pennisetium kuru otuyla beslenen hayvanlarda rumen pH'sını 6.80 olarak belirtirken, Fluharty ve Dehority (2004), domuzayrığı kuru otuyla beslenen hayvanlarda rumen pH'sını 6.65 olarak belirlemişlerdir. Araştırıcıların bulguları ile bu çalışmanın sonucu uyumludur.

Bu çalışmada kaba yeme ilave edilen kesif yemin rumen pH'sını azalttığı belirlenmiştir. Kaba yemin yanında kullanılan yoğun yemin de rumen pH'sı üzerinde etkili olmaktadır (Franzolin ve Dehority, 1996). Ruminant hayvanlar yoğun yemlerle beslendiklerinde rumen pH'sı düşmektedir (Akkan ve Özkan, 1987). Rumen pH'sındaki düşüşte kaba yeme ilave edilen dane yemin çözülebilir karbonhidratlarca zengin olması önem taşımaktadır (Martin ve ark. 1994). Genellikle nişastaca zengin yemler lifli maddelerce zengin yemlere kıyasla daha düşük bir rumen pH'sına neden olmaktadır (Fluharty ve Dehority, 1994). Franzolin ve Dehority (1996) da yapmış oldukları çalışmada kaba yeme ilave edilen konsantre yemin rumen pH'sını azaltıcı bir etkiye sahip olduğu vurgulanmaktadır. Araştırıcıların bulguları ile bu çalışmanın sonucu uyumludur.

Bu çalışmada açlık durumunda rumen pH'sının (5.71) önemli ölçüde düştüğü belirlenmiştir. Açlık durumunda gözlenen bu düşüş hayvanların gece boyu yem tüketmemesi neticesinde rumen ortamının besin maddelerince yoksun olması ve buna bağlı olarak da geğirme ve geviş getirme gibi olayların yapılamaması ve rumen fonksiyonlarının tam olarak gerçekleşememesi sonucu olduğu düşünülebilir. Hayvanlar gece geviş getirme eğiliminde oldukları için rumen pH'sı sabah yemlemeden önce yüksek olup, yemlemeden sonra ise yüksek düzeyde fermente olabilen karbonhidratlar nedeniyle düşmektedir (Ghorbani ve ark. 2002). Genelde rumen pH'sı yemlemeden 2-6 saat sonra en düşük seviyeye inmektedir (Ørskov ve Ryle,1990). Kreikemeier ve ark. (1992) yapmış oldukları çalışmada yemlemeden sonra rumen pH'sının düştüğünü belirlemişlerdir. Fluharty Dehority (2004) günde bir kez yemlenen hayvanlarda sabah yemlemesinden 9 saat sonra rumen pH'sını 6.07 ve 6.21 olarak belirlemişlerdir. Bu konuda açlık durumuna ait yapılmış çalışmaya rastlanılamadığından elde edilen bulgular literatür bildirişleri ile karşılaştırılamamıştır.

Bu çalışmada rumen pH'sı 1. örnekleme gününde 6.09, 5. örnekleme gününde ise 6.14 olarak bulunmuştur. Bu değerlerin literatür bildirişlerinden düşük olması kullanılan yemlerin besin madde içeriğinden ve günlük verilen yem miktarından kaynaklanabileceği söylenebilir. Örnekleme gününün ise rumen pH'sı üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 2). Rumen pH'sının örnekleme gününden etkilenmemesi örnekleme gününün kısa günlerde yapılmış olmasından kaynaklandığı düşünülebilir. Hristov ve ark. (2001) yapmış oldukları çalışmada rumen pH'sının örnekleme gününden etkilendiğini belirlemişlerdir. Dehority ve Tirabasso (2001) günde bir kez ve 24 kez yemlenen hayvanlarda rumen pH'sını 1. örnekleme gününde 6.68 ve 5.72, 5. örnekleme gününde ise 6.81 ve 5.85 olarak belirlemişlerken, Hristov ve ark (2001) ise 5. örnekleme gününde rumen pH'sını 6.53 ve 6.19 olarak belirlemişlerdir.

5.2. Rumen Bakterileri

Bu çalışmada açlık, kaba ve kaba + kesif yemle beslenen gruplar arasında rumen bakteri sayıları birbirinden önemli derecede farklı bulunmuştur. Yemleme tipinin rumen bakterileri üzerine etkili olduğu görülmektedir (Çizelge 3). Yemleme tipinin bakteriler üzerine olan etkisi kullanılan yemlerdeki besin madde içeriklerinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır (Varel ve Dehority, 1989). Bu çalışmada en yüksek bakteri sayısı kaba + kesif yemle beslenen grupta ($39.14x10^8$) tespit edilirken bunu açlık durumundaki grup ($31.18x10^8$) takip etmiştir. En düşük bakteri sayısı ise kaba yemle beslenen grupta ($17.14x10^8$) tespit edilmiştir. Bakteri sayısının düşük olması, rumen pH'sının literatür bildirişlerinden düşük olması ve düşük rumen pH'sında protozoaların rumen ortamında bakterileri kullanabildiğini göstermektedir. Rumendeki fermantatif faaliyetlerin büyük bir kısmından sorumlu olan rumen bakterileri (Ørskov ve Ryle,1990) bitki hücre duvarındaki yapısal polisakkaritleri parçalayabilme yeteneğinde (Obispo ve Dehority, 2002) olup kaba yemle beslenen hayvanlarda sayıları daha yüksektir (Fluharty ve Dehority, 2004). Varel ve Dehority (1989) yapmış oldukları çalışmada yonca kuru otuyla beslenen hayvanlarda bakteri sayısını $4.62x10^9$ olarak belirlenirken, Fluharty ve Dehority (2004) ise domuz ayrığı kuru otuyla beslenen hayvanlarda bakteri sayısını $20.7x10^9$ olarak belirlemişlerdir.

Bu çalışmada kaba + kesif yemle beslenen hayvanlarda bakteri sayısı 39.14×10^8 olarak bulunmuştur. Bu değerin literatür bildirişlerinden düşük olması kullanılan kesif yemin ve kaba yemin besin madde içeriğinden ve hayvanlara verilen günlük yem miktarından kaynaklandığı düşünülebilir. Rumendeki mikrobiyal populasyon diyet değişikliğinden önemli ölçüde etkilenmektedir (Joblin ve Hudson,1997). Rumen ortamında en önemli değişim kaba yem ağırlıklı diyetten konsantre yem ağırlıklı diyete geçişte meydana gelmektedir (McAllister, 2000). Kaba yeme konsantre yem ilavesi durumunda bakteri sayısı artmaktadır (Varel ve Dehority, 1989). Diyetin nişaştaca zengin olması durumunda mikrobiyal populasyon içindeki amilolitik bakterilerin oranı artış göstermektedir (Garipoğlu ve Saıçiçek, 2000). Nagaraja ve ark. (1992) yüksek düzeyde dane yemle beslenen hayvanlarda bakteri sayısını $13x10^{10}$ olarak belirlerken, Kreikemeier ve ark. (1990) ise yonca kuru otuna buğday danesinin ilave edilmesi durumunda bakteri sayısını $19.6x10^{10}$ olarak belirlemişlerdir.

Hayvanlar uzun bir süre aç kaldıklarında rumen mikroorganizmaları farklı oranlarda kaybolmaktadır (Church,1984). Bu durum ruminantların beslenmesinde mikrobiyal populasyonun değişmemesi ve elde edilen nitelik ve niceliğinin korunabilmesi bakımından önemlidir. Bu çalışmada açlık durumunda bakteri sayısı $31.18x10^8$ olarak bulunmuştur. Açlık durumunda elde edilen bakteri sayısının kaba yeme göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Açlık durumunda gözlenen yüksek bakteri sayısı rumen ortamındaki protozoa varlığının az olmasına bağlı olarak rumen bakterilerinin rumen ortamına hakim olduğunu göstermektedir. Bakteri sayısı ile protozoa sayısı arasında ters bir ilişki olup, protozoalı bir rumen içeriğinde bakteri sayısı, protozoasız rumen içeriğinden daha düşüktür (Tuncer ve ark. 1992). Bu konuda açlık durumuna ait yapılmış çalışmaya rastlanılamadığından elde edilen bulgular literatür bildirişleri ile karşılaştırılamamıştır.

Bu çalışmada 1. örnekleme gününde bakteri sayısı 29.72×10^8, 5. örnekleme gününde ise 28.57×10^8 olarak bulunmuştur. Örnekleme gününün rumen bakterileri üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 3). Dehority ve Tirabasso (2001) günde bir kez yemlenen hayvanlarda 1. örnekleme gününde bakteri sayısını 37.7×10^8, 5. örnekleme gününde ise 17.5×10^8 olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmanın sonucu araştırıcının bulgularına benzer bulunmuştur.

5. 3. Rumen Protozoaları

Araştırmada elde edilen bulgular yemleme tipinin rumen protozoaları üzerine etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4). Bu çalışmada çayır kuru otuna kesif yem ilave edilmesi durumunda protozoa sayısı 15.38×10^5 olarak bulunmuştur. Rumen protozoları diyet içeriği, pH, dönüşüm oranı, yemleme sıklığı ve yemleme düzeyi gibi faktörlerden etkilenmektedir (Franzolin ve Dehority, 1996). Kaba yeme konsantre yem ilave edilmesi durumunda protozoa sayısı artmaktadır (Franzolin ve Dehority, 1996). Bu çalışmada kaba yeme bir miktar kesif yem ilavesinin protozoa sayısını artırdığı bulunmuştur. Protozoa sayısındaki artış protozoaların rumen ortamındaki şeker ve kolay çözülebilen karbonhidratları bünyelerine aldığını (Garipoğlu ve Sarıçiçek, 2000) ve nişasta sindiriminde önemli rolleri olduğunu göstermektedir (Öktem ve ark. 1997). Zira diyetteki nişasta içeriğinin artması rumendeki protozoa populasyonunun artışına yol açmaktadır (Hristov ve ark. 2001). Dehority ve Mattos (1978) yapmış oldukları çalışmada konsantre yem ilaveli çayır kuru

otuyla beslenen hayvanlarda protozoa sayısını 3.44×10^5 olarak belirlerken, Franzolin ve Dehority (1996) ise %90 düzeyinde konsantre yemle beslenen hayvanlarda protozoa sayısını 11.18×10^5 olarak belirlemişlerdir.

Bu çalışmada çayır kuru otuyla beslenen protozoa sayısı 9.21×10^5 olarak bulunmuştur. Bu değerin literatür bildirişlerinden yüksek olması kullanılan yeminin farklı besin madde içeriğine sahip olması neticesinde rumen ortamında bakteri sayısının az olması protozoaların artışına neden olduğu söylenebilir. Rumen protozoaları sellüloz sindirimine katkıda bulundukları için (Öktem ve ark. 1997) kesif yemin yanında kullanılan kaba yeminde rumen protozoaları üzerine etkili olduğu söylenebilir. Kaba yemle beslenen hayvanlarda protozoa sayısı daha düşüktür (Varel ve Dehority, 1989; Martin ve ark. 1994; Fluharty ve Dehority, 2004). Rumen protozoalarının nişasta sindirimine katkıları olduğu bildirilmektedir (Sevgican, 1996 ve Fluharty ve Dehority, 2004). Nişastanın sindirimi için rumen pH'sının 5.2–6.6 arasında olması gerekmektedir (Murphy ve ark. 1982). Kaba yemle beslenen hayvanlarda rumen pH'sının artması ve kaba yemlerin nişastaca yetersiz olması protozoaların rumen ortamında sayılarının düşmesine neden olmaktadır. Bu çalışmada kaba yemle beslenen hayvanlarda protozoa sayısı kesif yemle beslenen hayvanlara kıyasla daha düşük bulunmuştur. Varel ve Dehority (1989) yapmış oldukları çalışmada yonca kuru otuyla beslenen hayvanlarda protozoa sayısını 1.6×10^5 olarak belirlerken, Martin ve ark. (1994) domuz ayrığı kuru otuyla beslenen hayvanlarda protozoa sayısını 3.32×10^5, Fluharty ve Dehority (2004) ise aynı diyetle beslemede protozoa sayısını 3.23×10^5 olarak belirlemişlerdir.

Bu çalışmada açlık durumunda protozoa sayısı diğer iki yemleme tipine göre daha düşük olup 4.3×10^5 olarak bulunmuştur. Açlık durumunda rumen pH'sındaki düşüşe paralel olarak protozoa sayısı da azalma göstermiştir. Rumen pH'sındaki düşüş protozoa sayısındaki azalmayla ilişkilidir (Franzolin ve Dehority 1996). Düşük rumen pH'sı protozoa populasyonunu etkilemesine rağmen siliyat protozoalar ve rumen pH'sı arasında zayıf bir ilişki vardır (Towne ve ark. 1990). Bu konuda açlık durumuna ait yapılmış çalışmaya rastlanılamadığından elde edilen bulgular literatür bildirişleri ile karşılaştırılamamıştır.

Bu çalışmada 1. gün örnekleme gününde protozoa sayısı 9.57×10^5, 5. örnekleme gününde ise 9.69×10^5 olarak belirlenmiştir. Rumen protozoa sayısı üzerine örnekleme gününün etkisi önemsiz bulunmuştur (Çizelge 4). Hristov ve ark. (2001) 5. örnekleme

gününde protozoa sayısını 15.7×10^4 ve 2.93×10^4 olarak belirlemişler ve protozoa sayısının örnekleme gününden etkilendiği belirlenmiştir.

5.4. Rumen Mantarları

Bu çalışmada kaba yemle beslenen hayvanlarda mantar sayısı daha yüksek bulunmuştur. En yüksek mantar sayısı kaba yemle beslenen ($20.5x10^3$) hayvanlarda tespit edilirken, bunu kesif yemle beslenen ($2.02x10^3$) hayvanlar takip etmiştir. En düşük mantar sayısı ise açlık durumundaki ($0.21x10^3$) hayvanlarda tespit edilmiştir. Mantar sayısındaki bu artış bitki hücre duvarının en önemli yapısal bileşimlerini parçalayacak çok geniş bir enzim sistemine sahip olmasına bağlanmaktadır. Bu çalışmada elde edilen bulgular yemleme tipinin rumen mantarları üzerine etkili olduğunu göstermektedir (Çizelge 5). Rumen mantarları lifli maddelerin (Joblin,1981; Obispo ve Dehority, 1992) ve arpa samanı gibi dirençli kaba yemlerin sindiriminde önemli rolleri olduğunu bildirmektedir (McAllister 2000). Mantarlar metanojen bakterilerle ve laktatı kullanan bakterilerle ortak kültüre alındığında selüloz sindirimi artmaktadır (Obispo ve Dehority, 1992). Rumen mantarları bitki hücre duvarındaki yapısal polisakkaritlerin çoğunu hidrolize edebilecek enzimlere sahip olup, bitkisel materyaldeki yapısal engelleri parçalamak ya da kırmak yönündeki yetenekleri bakterilere göre daha yüksek olduğu söylenmektedir (Dehority ve Tirabasso, 2000). Obispo ve Dehority (1992), yapmış oldukları çalışmada günde 1.5 kg peletlenmiş yonca ile beslenen hayvanlarda 6.4×10^4 olarak belirlenirken, Comocho ve ark. (1993) pennisetium kuru otuyla beslenen hayvanlarda mantar sayısını 7.9×10^3, Fluharty ve Dehority (2004) ise domuz ayrığı kuru otuyla beslenen hayvanlarda mantar sayısını 9.38×10^3 olarak belirlemişlerdir.

Bu çalışmada çayır kuru otuna kesif yemin ilave edilmesi durumunda mantar sayısı 2.02×10^3 olarak bulunmuştur. Bu değerin literatürde bildirilen değerden çok düşük olduğu görülmüştür. Mantar sayısındaki bu düşüş kullanılan kesif yemin kaba yemdeki kuru madde ve lif sindirimini düşürüp, fibrolitik olmayan mikroorganizmaların büyümesini teşvik ettiği düşünülebilir. Fluharty ve Dehority (2004) yapmış oldukları çalışmada domuz ayrığı kuru otuna ilave edilen mısır ve pancar posasının mantar sayısını artırdığını belirlemişlerdir.

Açlık durumunda ise rumen mantarları önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (0.21×10^3). Mantar sayısındaki bu azalma rumen ortamının besin maddelerince yoksun olması neticesinde rumen fonksiyonlarının yapılamamasından kaynaklandığı söylenebilir. Bu konuda açlık durumuna ait yapılmış çalışmaya rastlanılamadığından elde edilen bulgular literatür bildirişleri ile karşılaştırılamamıştır.

Bu çalışmada 1. örnekleme gününde mantar sayısı 6.85×10^3, 5. örnekleme gününde 8.30×10^3 olarak bulunmuştur. Bu değerlerin literatür bildirişlerinden düşük olması kullanılan yemlerin besin madde içeriğinden kaynaklanabileceği söylenebilir. Örnekleme gününün rumen mantarları üzerine etkili olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 5). Dehority ve Tirabasso (2001), 1. örnekleme gününde 62.8×10^3, 5. örnekleme gününde ise 95.2×10^3 olarak belirlemişlerdir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar örnekleme zamanından bağımsız olarak ruminant hayvanlarda yemleme tipinin rumen pH'sını ve rumen mikroorganizmalarını (bakteri, protozoa ve mantar) sayısal olarak etkilediğini, dolayısıyla kaba yemlerin rumen pH'sını ve mantar sayısını arttırırken bakteri sayısını ve protozoa sayısını azaltığını; kaba + kesif yemlerin ise bakteri sayısını ve protozoa sayısını arttırdığını, rumen pH'sını ve mantar sayısını ise düşürdüğünü göstermiştir. Ruminantların dengeli beslenmesi ve mikrobiyal aktivitenin arzulanan düzey ve şekilde gerçekleşmesi, hayvanların beslenmesinde kullanılan yemlerin tipi, çeşidi, veriliş şekli, verilme zamanı ve besin maddeleri içerikleri gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Dolayısıyla bu çalışmada da yemleme tipinin rumen pH ve mikrobiyal populasyonu etkilemesi bu bilgileri desteklemektedir. Böylece, uygun yem tipi ile rumen mikroorganizmalarının oran ve miktarları ayarlanarak istenilen üretimin miktarı sağlanabilir. Ancak, rumen mikroorganizmaların hangi yem tipi ve yem oranlarında daha etkin olduklarını belirleme konusunda daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

Akkan, S., Özkan, K., 1987. Rasyonun kaba-yoğun yem oranının süt miktar ve kalitesi ile rumen içeriğine etkileri. EÜZFD. Cilt, 24, Sayı: 1, sayfa: 261-273.

Anonymous (2001), From Feed To Milk: Understandig Rumen Function. (http://www-das.cas.psu.edu/den/catnut/422/index.html) erişim tarihi: 02.08.2001 Internet Belgesi.

Church, D. C., 1984. Digestive Physiology and Nutrition of Ruminants. Volume 1-Digestive Physiology (Second Edition), Oregon.

Comacho, A. N., Laredo, M. A., Cuesta, A., Anzola, H., Jeon, J. C. 1993. Effect of Supplementation with a Tree Legume Forage on Rumen Function. Livestock Research for Rural Development Volume 5, Number 2, September.

Dehority, B. A.,1969, Pektin-Fermenting Bacteria Isolated From the Bovine Rumen. Journal of Bacteriology, July, p. 189-196.

Dehority, B. A., Grubb, J. A., 1976. Basal Medium for the Selective Enumeration of Rumen Bacteria Utilizing Specific Energy Sources. Applied and Environmental Microbiology, Nov. p. 703-710

Dehority, B. A., Mattos, W. R. S., 1978. Diurnal Changes and Effect of Ration on Concentrations of the Rumen Ciliate Charon Ventriculi. Applied and Environmental Microbiology, Dec. p. 953-958.

Dehority, B. A., Grubb, J. A., 1980. Effect of Short-Term Chilling of Rumen Contennts on Viable Bacterial Numbers. Applien and Environmental Microbiology, Feb. p. 376-381.

Dehority, B. A., 1984. Evaluation of Subsampling and Fixation Procedures Used for Counting Rumen Protozoa. Applied and Environmental Microbiology, July, p.182–185.

Dehority, B. A., Tirabasso, P. A., 1998. Effect of Ruminal Cellulolytic Bacterial Concentrations on İn Situ Digestion of Forage Cellulose. Journal Animal Science 76: 2905-2911.

Dehority, B. A., Tirabasso, P. A., Grifo, P., JR. 1989. Most-Probable-Number Procedures for Enumerating Ruminal Bacteria, Including the Simultaneous

Estimation of Total and Cellulolytic Numbers in One Medium. Applied and Environmental Microbiology, Nov. p. 2789-2792.

Dehority, B. A., Tirabasso, P. A., 2000. Antibiosis between Ruminal Bacteria and Ruminal Fungi. Applied and Environmental Microbiology, July, p. 2921-2927.

Dehority, B. A., Tirabasso, P. A., 2001. Effect of Feeding Frequency on Bacterial and Fungal Concentrations, pH and Other Parameters in the Rumen. Journal of Animal Science. 79:2908-2912.

Duncan, D. B., 1955. Mutiple range and multiple F tests. Biometrics, 11:1-42.

Eugene, M., Archimede, H., Sauvant, D., 2004. Quantitative Meta-Analysis on the Effects of Defaunation of the Rumen on Growth, Intake and Digestion in Ruminants. Livestock Production Science 85: 81-97

Fluharty, F. L., Dehority, B. A., 2004. Effects of Sugar Beet Pulp and Corn as Energy Supplements for Cattle Fed Forage Diets on Diet Digestibility and Ruminal Microorganisms. http://ohioline.osu.edu/sc156/sc156-10.html (erişim tarihi: 20.04.2004).

Franzolin, R., Dehority, B. A., 1996. Effect of Prolonged High- Concentrate Feeding on Ruminal Protozoa Concentrations. Journal Animal Science 74: 2803-2809.

Garipoğlu, A. V., Sarıçiçek, B. Z., 2000. Rumen Bakterileri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi , 15 (3): 131-137

Ghorbani, G. R., Morgavi, D. P., Beauchemin, K. A., Leedle, J. A. Z., 2002. Effects of Bacterial Direct-Fed Microbials on Ruminal Fermentation, Blood Variables, and The Microbial Populations of Feedlot Cattle. Journal of Animal Science. 80:1977-1985.

Grubb, J. A., Dehority, B. A., 1976. Variation in Colony Counts of Total Viable Anaerobic Rumen Bacteria as Influenced by Media and Cultural Methods. Applied and Environmental Microbiology, Feb. . P. 262-267.

Hristov, A. N., Ivan, M., Rode, L. M., McAllister, T. A., 2001. Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal populations in cattle fed medium or high concentrate barley based diets. Journal Animal Science 79:515-524.

Jalc, D., Kisidayova, S., Nerud, F., 2002. Effect of Plant Oils and Organic acids on Rumen Fermentation In Vitro. Folia Microbial. 47(2) :171-17.

Joblin, K. N., Hudson, A., 1997. Management of Milk Flavour Through the Manipulation of Rumen Microoganisms. Edited by R.A.S.Welch, D.J.W.Burns, S.R. Davis, A.I. Popay and C.G. Prosser. Milk Composition Production and Biotechnology CAB Internitional, USA.

Joblin, K. N., 1981. Isolation, Enumeration and Maintenance of Rumen Anaerobik Fungi in Roll Tubes. Applied and Environmental Microbiology, Dec. p. 1119-1122.

Karahan, A. G., Arıdoğan, B. C., Çakmakçı, M. L., 2002. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Klavuzu. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 24.

Kaufman, W., Hagemaister, H., Durksen, G.,1980. Adaptation To Changes in Dietary Composition Level and Frecuency of Feeding in Digestion Physiolgy and Metabolism in Ruminants. Ed. Y. Ruckebusch and P. Thivend. Westport,ct.:AVI Publishing, p. 587.

Kreikemeier, K. K., Harmon, D. L., Brandt, R. T., Jr., Nagaraja, T. G., Cochran, R. C. 1990. Steam-Rollad Wheat Diets For Finishing Cattle: Effects of Dietary Roughage and Feed Intake on Finishing Steer Peformance and Ruminal Metabolism. Journal of Animal Science. 68: 2130-2141.

Kung, J. R., Ruminant Nutrition and Microbiology. Internet Belgesi, Erişim Tarihi:03.04.2002.
(http://ag.udel.edu/departments/anfs/faculty/kung/kungcv.htm)

Lamb, B., 2004. Forage Quality Influences Animal Performance. http://www.moormans.com/Ecosyl/ForageQualityInfluencesAnimal.htm.

Lederberg, J., 1992. Encyclopedıa of Microbiology. Academic press. Inc. Harcourt Brace Jovanovich Publishers. New York.

Leedle, J. A., Bryant, M. P., Hespell, R. B., 1982. Diurnal Variations in Bacterial Numbers and Fluid Parameters in Ruminal Contents of Animals Fed Low or High Forage Diets. Applied Environmental Microbiology. 44:402-412.

Mackie, R. I., Gilchrist, M. C., Robberts, A. M., Hannah, P. E., Schwartz, H. M., 1978. Microbiological and Chemical Changes in the Rumen During the Stepwise Adaptation of Sheep to High Concentrate Diets. Journal Agricultural Science. 90:241-254.

Martin, C., Williams, A. G., Doreau, M., 1994. Isolation and Characteristics of the Protozoal and Bacterial Fractions from Bovine Ruminal Contents. Journal of Animal Science. 72:2962-2968.

McAllister, T., 2000. Learning More About Rumen Bugs: Genetics and Environmental Factors Affecting Rumen Bugs. Southern Alberta Beef Review – January, Volume 2, Issue 1.

Murphy, M. R, Baldvin, R. L., Koomg, L. J., 1982. Estimation of stoichiometric parameters for rumen fermentation of roughage and concentrate, J. Anim. Sci. 55:411-421.

Nagaraja, T. G., Towne, G., Beharka, A. A., 1992. Moderation of Ruminal Fermentation by Ciliated Protozoa in Cattle Fed a High-Grain Diet. Applied and Environmental Microbiology, Aug. p. 2410-2414.

Obispo, N. E., Dehority, B. A., 1992. A most probable number method for enumeration of rumen fungi with studies on factors affecting their concentration in the rumen. J. Microbiol. Methods 16:259-270.

Obispo, N. E., Dehority, B. A., 2002. Factors Affecting the Concentration and Cellulolytic Activity of Sheep Rumen Fungi. Livestock Research for Rural Development 14 (5) 2002.

Ørskov, E. R., Ryle, M., 1990. Energy Nutrition in Ruminants. Elsevier, Applied Science Publ. London.

Öktem, N., Göçmen, B., Torun, S., 1997. Türkiye Evcil Koyun (Ovis ammon aries)' larının İşkembe Siliyat (Protozoa : Ciliophora) Faunası Hakkında Bir Ön Çalışma: 1. Familya Isotrichidae (Trichostomatida) ve Entodiniidae (Entodiniomorphida). Doğa-Tr. Journal of Zoology, 21(4): 475-502.

Özkan, K., Erkek, R., Akkan, S., 1987. Karma Yemin Protein Düzeyinin Rumen Fermantasyonuna Etkisi EÜZFD, Cilt 24, sayı 2, sayfa: 147-156, 1987.

Russell, J. B., Rychlik, J. L., 2001. Factors That Alter Rumen Microbial Ecology. http://www.distillersgrains.com/pdf/Russell - Factors that alter Rumen.pdf.

Sevgican, F., 1996. Ruminantların Beslenmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:524.

Towne, G., Nagaraja, T. G., Brandt, R. T, JR, Kemp, K. E., 1990. Dynamics of Ruminal Ciliated Protozoa in Feedlot Cattle. Applied Environmental Microbiology, oct. p. 3174-3178.

Tuncer, Ş. D., Kocabatmaz, M., Çoşkun, B., Eksen, N., İnal, Ş., 1992. Besi Kuzularının Rasyonlarına Katılan Niasin'in Besi Performansı, Kan ve Rumen Sıvısı Metabolitleri İle Rumen Mikroorganizmaları Üzerine Etkisi. Hayvancılık Araştırma Dergisi, 2, 1, 28-33.

Varel, V. H., Dehority, B. A., 1989. Ruminal Cellulolytic Bacteria and Protozoa from Bison, Cattle-Bison Hybrids and Cattle Fed Alfalfa-Corn Diets. Applied Environmental Microbiology, Jan. p. 148-153.

Weimer, P. J., Odt, C. L., Waghorn, G. C., Merten, D. R., 1997. Population of İndividual Species of Cellulolytic Bacteria in the Rumen of Lactating Cows Fed Different Diets. http://www.dfrc.wisc.edu/RS97_pdfs/RM3.pdf.

8. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Trabzonda doğdu. İlk, orta ve lise tahsilini Trabzonda tamamladı. 1998 yılında kayıt yaptırdığı Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölüm'ünden 2002 yılında mezun oldu. Aynı yıl Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Zootekni Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı.