



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KAPSAİSİNİN FARKLI pH DEĞERLERİNDE VE
KONSANTRE YEM AĞIRLIKLİ BESLEME
ŞARTLARINDA RUMEN MİKROBİYEL
FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN RUMEN
SİMÜLASYON TEKNİĞİ (RUSITEC) KULLANILARAK
BELİRLENMESİ**

Ferhunde Melis ÜNLER

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Hakan ÖZTÜRK**

ANKARA

2022

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ
ENSTİTÜSÜ**

**KAPSAİSİNİN FARKLI pH DEĞERLERİNDE VE
KONSANTRE YEM AĞIRLIKLIL BESLEME
ŞARTLARINDA RUMEN MİKROBİYEL
FERMANTASYONU ÜZERİNE ETKİLERİNİN RUMEN
SİMÜLASYON TEKNİĞİ (RUSITEC) KULLANILARAK
BELİRLENMESİ**

Ferhunde Melis ÜNLER

**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

DANIŞMAN

Prof. Dr. Hakan ÖZTÜRK

**Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü'nün 15L0239005 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ANKARA

2022

ETİK BEYAN

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Kapsaisin Farklı pH Değerlerinde ve Konsantre Yem Ağırlıklı Besleme Şartlarında Rumen Mikrobiyel Fermantasyonu Üzerine Etkilerinin Rumen Simülasyon Tekniği (RUSITEC) Kullanılarak Belirlenmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler ve yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Ferhunde Melis Ünler

Tarih: 28.07.2022

İmza:

KABUL VE ONAY

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalında Ferhunde Melis ÜNLER tarafından hazırlanan “Kapsaisin Farklı pH Değerlerinde ve Konsantre Yem Ağırlıklı Besleme Şartlarında Rumen Mikrobiyel Fermantasyonu Üzerine Etkilerinin Rumen Simülasyon Tekniği (Rusitec) Kullanılarak Belirlenmesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından DOKTORA TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:22.07.2022

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi
Jüri Başkanı

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi
Raportör

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi
Üye

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi
Üye

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
Üniversitesi
Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

İmza
Unvanı Adı ve Soyadı
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	x
Şekiller	xii
Çizelgeler	xiii

1. GİRİŞ	1
1.1. Rumenin Genel Özellikleri ve Özel Bir Ekosistem Olarak Önemi	1
1.2. Ruminal Sindirimin Düzenlenmesi	6
1.2.1. Diyet İçeriği	6
1.2.2. Ruminal Geçiş ve Ruminasyon	6
1.2.3. Bakteriler ve Asitlik	8
1.2.4. Karbonhidratların Fermantasyonu	9
1.2.4.1. Selülozun Fermantasyonu	12
1.2.4.2. Nişastanın Fermantasyonu	13
1.2.5. Proteinlerin Fermantasyonu	14
1.2.6. Yağların Fermantasyonu	16
1.2.7. Rumende Vitaminlerin Sentezi	17
1.2.8. Fermantasyon Son Ürünlerinin Akıbeti	17
1.2.9. Metan (CH ₄) Oluşumu	20
1.2.10. Rumen Asidozu	22
1.3. Ruminal Fermantasyonun Modifikasyonu	24
1.3.1. İyonofor Grubu Antibiyotikler	26
1.3.2. Prebiyotikler	29
1.3.3. Probiyotikler	31
1.3.3.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	32
1.3.3.2. <i>Aspergillus oryzae</i>	34
1.3.4. Enzimler	36
1.3.5. Fitokimyasallar	37
1.3.5.1. Flavanoidler	38
1.3.5.1.1. Tanenler	39
1.3.5.2. Terpenoidler	40
1.3.5.2.1. Saponinler	40
1.3.5.2.2. Eterik Yağlar	41
1.3.5.3. Alkaloidler	46
1.3.6. İyonik Olmayan Sürfektanlar	46
1.3.7. Tampon Maddeler (Hidrojen Prekürsörleri)	46
1.3.8. Organik Asitler	47
1.4. Kapsaisin	48

2. GEREÇ ve YÖNTEM	55
2.1. İnkübasyon Tekniği	56
2.2. Asidoz Koşullarının Oluşturulması	61
2.3. Deney Kurgusu	61
2.4. Analizler	62
2.4.1. Ruminal pH'nın Ölçülmesi	62
2.4.2. Uçucu Yağ Asitleri (UYA) Analizi	62
2.4.3. Kuru Madde Sindirilebilirliği (KMS) Analizi	63
2.4.4. Protozoon Sayımı	63
2.4.5. Amonyak Azotu (NH ₃ -N) Analizi	64
2.4.6. Metan Gazı (CH ₄) Üretiminin Belirlenmesi	64
2.5. İstatistiksel Analizler	65
3. BULGULAR	66
3.1. Ruminal pH	68
3.2. Toplam Uçucu Yağ Asitleri (UYA) Üretimi	69
3.3. Asetik Asit Üretimi	70
3.4. Propiyonik Asit Üretimi	71
3.5. Bütirik Asit Üretimi	72
3.6. Metan Gazı (CH ₄) Üretimi	73
3.7. Amonyak Azotu (NH ₃ -N) Konsantrasyonu	74
3.8. Protozoon Sayısı	75
3.9. Kuru Madde Sindirilebilirliği (KMS)	76
4. TARTIŞMA	78
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	100
ÖZET	102
SUMMARY	104
KAYNAKLAR	106
EKLER	137
Etik Kurul Kararı	137
ÖZGEÇMİŞ	138

ÖNSÖZ

Ruminantlar ekonomik olarak önem teşkil eden et, süt, yün ve deri gibi ürünlerin esas kaynağını oluşturmaktadırlar. Bitki karbonhidratlarından selüloz, dünya üzerindeki organik madde miktarının yarısından fazlasını teşkil etmektedir. Tek tırnaklılar ve ruminantlar hariç, diğer canlılarda selüloz çok az miktarda sindirilebilmekte veya hiç sindirilememektedir. Ruminantlar selülozu ve protein olmayan azotlu bileşikleri değerlendirebildiklerinden besin zincirinde oldukça önemli bir rol oynamaktadırlar. Ruminantların bu yeteneği sindirim kanallarına yerleşmiş ve konakla simbiyotik bir ilişki kurmuş olan mikroorganizmalardan ileri gelmektedir. Mikrobiyel sindirim özellikle rumen adı verilen özelleşmiş mide bölümünde gerçekleşmektedir. Rumen ekonomik olarak oldukça önemli bir sistemdir. Rumende mikroorganizmalar fermentatif faaliyette bulunmakta ve bu faaliyetler sonucu oluşan ürünler, ruminant tarafından kullanılmakta ya da mikroorganizmaların metabolik faaliyetlerine (üreme, mikrobiyel protein sentezi) harcanmaktadır. Mikroorganizmaların fermentasyonu sonucu oluşan uçucu yağ asitleri hayvanın enerji ihtiyacını büyük oranda karşılayabilir. Rumende üreyip çoğalan mikroorganizmalar ise sindirilmiş besin parçalarıyla abomasuma ve ince bağırsaklara gelerek sindirim enzimleri ile parçalanıp ruminant için protein ve vitamin kaynağı olurlar.

Yemle alınan düşük kaliteli proteinler daha kaliteli olan mikrobiyel proteine çevrilerek hayvanın yararlanımına sunulmaktadır. Özellikle düşük proteinli rasyonlarla beslenen hayvanlarda, proteinin kalitesi mikrobiyel proteine dönüşerek artmakta ve bu durum hayvan sahibine ekonomik olarak katkı sağlamaktadır.

Ruminal fermentasyon sırasında oldukça fazla enerji kaybı meydana gelmektedir. Mikrobiyel fermentasyon sonucu oluşan metan gazı, atmosfere verilmekte ve bu şekilde yem ile alınan enerjinin bir kısmı (%2-12)

kaybedilmektedir. Metan ile kaybedilen enerji hem ekonomik hem de ekolojik açıdan sorunlara yol açmaktadır. Metan gazının küresel ısınmada rolü oldukça yüksektir. Hayvanın yem ile aldığı proteinler mikroorganizmalar tarafından amonyağa kadar yıkımlanmakta ve amonyak karaciğerde üreye dönüştürülmektedir. Ürenin bir kısmı ruminohepatik azot döngüsüne katılırken bir kısmı da idrarla atılmaktadır. Dışarı atılan üre ile birlikte hayvan normalde değerlendirebileceği azot kaynağını kaybetmektedir.

Ruminal fermentasyon sonucu oluşan metan oluşumu ve azot kaybını en aza indirmek ve hayvanın yemden yararlanmasını artırmak dolayısı ile ekonomik olarak hayvandan yararlanabilmeyi artırmak için yem katkı maddeleri bilim insanları tarafından araştırılmaya başlanmıştır. Antibiyotik kökenli büyüme uyarıcıları ruminal fermentasyonda, yem katkı maddesi olarak gerek uçucu yağ asidi (UYA) profilini iyileştirmek, gerekse protein ve protein olmayan azotlu bileşiklerden (NPN) yararlanım açısından ve metan oluşumunun azaltılması amacıyla etkin bir şekilde kullanılmışlardır. Ancak antibiyotiklerin kalıntı bırakma ve antibiyotik direnci oluşturma riski tartışmalara sebep olmuş ve 1 Ocak 2006 tarihinden itibaren Avrupa Birliği'ne üye ülkelerde yasaklanmıştır (Yasa No: 1831/2003/EC). Türkiye'de ise antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanımı 21 Ocak 2006 tarihinden itibaren yasaklanmıştır (Resmi Gazete: Sayı: 26056). Antibiyotiklerin yem katkısı olarak kullanımı yasaklandıktan sonra bilim insanları daha güvenli yem katkı maddelerine yönelmişlerdir. Bu katkı maddeleri içerisinde probiyotikler, prebiyotikler, maya ve mantarlar, fitokimyasallar, saponinler, taninler, eterik yağlar, iyonik olmayan sürfektanlar, hidrojen prekürsörleri, organik asitler ve ekzojen enzimler sayılabilir.

Bitkilerden elde edilen ikincil metabolit ürünler (eterik yağlar, saponinler ve taninler) tıbbi alanda uzun yıllardır kullanılagelmıştır. Fitokimyasallar ruminant beslemede de oldukça ilgi gören bir konu olmakla birlikte son yıllarda çeşitli bitki ikincil metabolitleri üzerinde çalışmalar artmıştır. Fitokimyasallardan eterik yağlar, bitkinin çeşitli kısımlarından elde edilen, kokulu ya da kokusuz bileşiklerdir. Eterik

yağların kapsamı oldukça geniştir ve henüz rumene etkileri araştırılmamış birçok eterik yağ ve eterik yağ bileşeni bulunmaktadır.

Kapsaisin, acı biberin özellikle plasenta kısmında bulunan ve acı bibere acı lezzetini veren temel maddedir. Yapılan araştırmalar kapsaisinin Gram pozitif ve negatif bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. Kapsaisinin rumen üzerine etkilerinin incelendiği sınırlı sayıda çalışma vardır. Türkiye, dünya acı biber üretiminde üst sıralardadır ve acı biberin fabrikasyonu sırasında her yıl binlerce ton acı biber atığı oluşmaktadır. Özellikle biberlerin kullanılmayan kısımlarında (örneğin: plasenta) kapsaisin yoğun miktarda bulunmaktadır ve salça fabrikalarındaki acı biber atıkları arasında bitkinin bu kısımları bolca bulunmaktadır. Bu atıkların içeriğinde bulunan kapsaisin miktarı göz önüne alındığında acı biber atıklarından elde edilecek yeni ürünlerin değerlendirilmesi ülke ekonomisi ve dışa bağımlılığı azaltmak açısından oldukça önemlidir.

Bu doktora tezinde kapsaisinin artan dozlarının, konsantre yem ağırlıklı besleme şartlarında ve farklı ruminal pH koşullarında rumen mikrobiyal fermantasyon üzerine etkileri, Rusitec sistem ile belirlenmiş ve kapsaisinin ruminal etkileri, iyonofor grubu bir antibiyotik olan monensin ile karşılaştırılmıştır. Bu bağlamda aşağıdaki şu hipotezler test edilmiştir.

H₀: Kapsaisinin incelenecek rumen mikrobiyal fermantasyon parametreleri üzerine etkisi yoktur.

H₁: Kapsaisinin incelenecek rumen mikrobiyal fermantasyon parametreleri üzerine (pozitif ve/veya negatif) etkisi vardır.

Öncelikle proje konusunu seçerken bana yardımcı olan ve çalışmamın her aşamasında bana destek olan, bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren danışman hocam

Sayın Prof. Dr. Hakan ÖZTÜRK'e ayrıca doktora öğrenimim süresince bilgi ve tecrübelerini paylaşan ve bana destek olan diğer hocalarıma çok teşekkür ederim. Tezin deney ve yazım süreçlerinde bana her anlamda destek olan Doç.Dr. Yasemin SALGIRLI DEMİRBAŞ, Araş. Gör. Dr. Celalettin Etkin ŞAFAK, Saad ADAM ve Durmuş ATILGAN'a teşekkür ederim.

Bilimsel katkılarından dolayı tez izleme komitesindeki değerli hocalarım Prof. Dr. Pınar SAÇAKLI ve Doç. Dr. Yasemin SALGIRLI DEMİRBAŞ'a, yem analizi konusundaki yardımı için Doç. Dr. Ali ÇALIK'a, kullandığım istatistiksel analizlerdeki yardımı için Biyoistatistik Anabilim Dalı'nda görev yapan Doç. Dr. Doğukan ÖZEN' e çok teşekkür ederim.

Aynı zamanda, Öğrenim hayatım boyunca beni maddi ve manevi olarak hep destekleyen ve hep yanımda olan aileme özellikle her türlü sorunumda bana destek olan Cem ÜNLER, Serpil ÜNLER ve Ceren ÜNLER'e teşekkür ederim.

Benden sevgisini, ilgisini asla esirgemeyen ve tezin çizelge ve şekillerinde bana yardım eden Ceren ÜNLER'e ben çalışırken benim ilğimden mahrum kalan ancak benim yanımda bana manen destek olmaktan hiç vazgeçmeyen kedim CEVİZ'e de çok teşekkür ederim.

SİMGELER ve KISALTMALAR

%	Yüzde
°C	Celsius Derecesi
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre
α-GOS	Alfa-Galaktooligosakkaritler
A	Asetik asit
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ATP	Adenozin Trifosfat
AO	<i>Aspergillus oryzae</i>
AY	Anason Yağı
B	Bütirat
C	Acı Biber Yağı
C10	Monoterpenler
C15	Seskiterpenler
C20	Diterpenler
CAP	Kapsaisin
CH ₄	Metan
CLA	Konjuge Linoleik Asit
cm	Santimetre
CO	Karbonmonoksit
CO ₂	Karbondioksit
CoA	Koenzim A
COS	Kitosan Oligosakkaritler
dk	Dakika
DMD	Dry Matter Digestibility
FOS	Fruktooligosakkaritler
GDH	Glutamat Dehidrojenaz
g	Gram
GS	Glutamin Sentetaz
H ₂	Hidrojen
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
HAP	Hyper Ammonia Producing (Yüksek Amonyak Üreten)
HCO ₃	Bikarbonat
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)
K	Potasyum
kg	Kilogram
KM	Kuru Madde
KMS	Kuru Madde Sindirilebilirliği
l	Litre
m	Metre

mm	Milimetre
M.Ö.	Milattan Önce
mg	Miligram
ml	Mililitre
mmol	Milimol
MOS	Mannaoligosakkaritler
mOsm	Miliosmol
mV	Milivolt
Na	Sodyum
N ₂	Azot Gazı
NH ₃ -N	Amonyak Azotu
nm	Nanometre
NPN	Non Protein Nitrogen (Protein Olmayan Azotlu Bileşikler)
O ₂	Oksijen
OH ⁻	Hidroksit
p	p Değeri
P	Propiyonat
pH	Potansiyel Hidrojen
rpm	Revolutions Per Minute (Bir Dakikadaki Devir Sayısı)
RUSİTEC	Rumen Simulation Technique
SARA	Subakut Rumen Asidozu
SCU	Scoville Units
SOT	Scoville Organik Testi
Sp	Tür
Spp	Taksonomide Bir Cinse Ait Tüm Türler
TCA	Trikarboksilik Asit
U	Ünite
UYA	Uçucu Yağ Asitleri
yy	Yüzyıl

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.	Karbonhidratların rumende fermentasyonu	12
Şekil 1.2.	Biber meyvesi	48
Şekil 1.3.	Kapsaisinoid çeşitlerinin kimyasal yapısı	49
Şekil 2.1.	Rusitec-sistem	58
Şekil 2.2.	Rusitec-sisteme ait tek bir fermenterin şeması	59
Şekil 2.3.	Fermenterin şematik yapısı	59
Şekil 3.1.	Ruminal pH'nın farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi	69
Şekil 3.2.	Toplam UYA'nın farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi	70
Şekil 3.3.	Asetik asit üretiminin farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi	71
Şekil 3.4.	Propiyonik asit üretiminin farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi	72
Şekil 3.5.	Bütirik asit üretiminin farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi	73
Şekil 3.6.	Amonyak azotu (NH ₃ -N) konsantrasyonunun farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi	74
Şekil 3.7.	Metan gazı üretiminin farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi	75
Şekil 3.8.	Protozoon sayısının farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi	76
Şekil 3.9.	Kuru madde sindirilebilirliğinin farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi	77

ÇİZELGELER

Çizelge 1.1. Akut ve subakut rumen asidozu arasındaki farklar	24
Çizelge 2.1. Araştırmada kullanılan yem maddelerinin analiz değerleri	57
Çizelge 2.2. Gakhar (2008)'a göre normal ve asidoz şartlarında kullanılan tampon solüsyonun bileşimi	58
Çizelge 3.1. Kapsaisin farklı dozlarının (1, 5 ve 25 mg/l) iki farklı pH koşulunda (normal ve asidoz) rumen mikrobiyel fermentasyonu üzerine etkileri	67

1. GİRİŞ

1.1. Rumenin Genel Özellikleri ve Özel Bir Ekosistem Olarak Önemi

Evrimsel ilişkili çıkarımların yanı sıra, bazı erken yaşam metabolizma tiplerinin belirlenmesine izin veren kükürt izotopları ve hidrokarbon molekülleri, yaşam hakkında en bilgilendirici kanıtları sunmaktadır. Bilim insanlarının yaptığı araştırmalar ile kükürt izotopları ve hidrokarbon moleküllerinden elde edilen verilerin ışığında, hayatın muhtemelen 3,8 milyar yıl önce Dünya'da mevcut olduğu, modern metabolizma tipine sahip mikroorganizmaların 3,45 milyar yıl, ökaryotların ise yaklaşık olarak 2,7 milyar yıl kadar eski bir geçmişe sahip olduğu sonucuna varılabilir (Buick, 2002). Dünya, ilkel bir gezegenken atmosferinde hidrojenin hakim olduğu bilinmektedir (Lemmon, 1970). Dolayısıyla ilkel zamanda yaşayan mikroorganizmaların anaerobik metabolizmaya tabi oldukları sonucu çıkarılabilir. Yetişkin bir insan sindirim sisteminde yaklaşık olarak 10^{13} - 10^{14} kadar mikroorganizma bulunmaktadır ve insanların çeşitli vücut yüzeyleri ve gastrointestinal kanalları 10^{14} kadar prokaryotik ve ökaryotik mikrobiyal hücre tarafından kolonize olabilmektedir (Gill ve ark., 2006 ve Savage, 1977). Yine yetişkin bir insanın kolonu incelenecek olursa 1 gram içerik başına 10^{11} bakteri hücresi düştüğü gözlenebilir. Bu bakteriler hemen hemen 400 farklı türe aittir (Raskin ve ark., 1997). Evcil hayvanların sindirim kanalında ise milyarlarca mikroorganizma yaşamaktadır. Rumen, mikroorganizmaların ideal ekosistemleri arasında ilk sırada yer almaktadır. Üzerinde en çok çalışılan ekosistemlerden biri olan rumen içerisinde gram içerik başına 10^{11} kadar 200 farklı çeşit bakteri gözlenmiştir. Silyalı protozoonlar 10^4 - 10^6 /g kadar ve 25 farklı türde karşımıza çıkarken, flagellalı protozoonlar rumende daha az bulunmaktadır. Anaerobik mantar türleri gram içerik başına 10^3 - 10^5 kadar ve 5 farklı tür olarak karşımıza çıkar. Son olarak bakteriyofajlar, geniş morfolojik çeşitlilikte gram içerik başına 10^7 - 10^9 kadar görülmektedirler (Mackie ve ark., 2000).

Vücut içerisinde konaklayan mikroorganizmalar, Dünya üzerinde yaşamakta olan ve çeşitli çevresel faktörlere maruz kalan mikroorganizmalara kıyasla daha korunaklı bir yaşam sürmektedirler. Hayvanın salgıladığı sindirim salgıları ve savunma mekanizmaları iç ortamın değişmez tutulmasına olanak sağlayıp, zararlı olabilen yabancı mikroorganizmaların yerleşmesine karşı da ortamı korumaktadır (Hungate, 1966). Özellikle canlıların sindirim kanalı konakçı mikroorganizmaların korunması anlamında büyük önem taşımaktadır. Mikroorganizmaların sindirim sisteminde yerleştiği kısımlar hayvan türüne göre farklılık göstermektedir. Bu hayvanlar fermentasyonun olduğu bölgeye göre ön mide ve kalın bağırsak fermenterleri olarak ikiye ayrılırlar. Rumen ve retikulum adı verilen özelleşmiş mide kompartmanlarına sahip hayvanlarda mikrobiyel sindirim yapılmaktadır. Kalın bağırsak fermenterleri olarak adlandırılan hayvanlarda ise mikrobiyel sindirim kalın bağırsakta gerçekleşmektedir. Kalın bağırsak fermenterleri de sindirimin gerçekleştiği bölgeye göre farklılık göstermekte ve sekum ya da kolon fermenterleri ismini almaktadır (Bölükbaşı, 1989; Hume ve Sakaguchi, 1991 ve Ley ve ark., 2008).

Dünya üzerindeki toplam biyokütlenin yarıdan fazlasını selüloz teşkil eder. (Kuenzle ve Jenny, 1979). Ancak bu devasa organik enerji kaynağı selüloz enzimine sahip olmamaları nedeniyle insanlar ve diğer memeli hayvanlar tarafından değerlendirilemez. Evrim süreci içinde ruminantların sindirim sisteminde ön mideler gelişmiş ve buraya bakteriler, protozoonlar ve mantarlar yerleşerek anaerobik şartlarda selülozu ruminantın değerlendirebileceği UYA gibi ürünlere dönüştürmüşlerdir (Öztürk, 2003). Bu şekilde konak olan ruminant hayvan ile konakçı durumundaki mikroorganizmalar arasında önemli bir iş birliği kurulmuştur (Hungate, 1984). Ruminantlar enerji gereksinimlerinin %75'ine kadar olan kısmını UYA ile karşılarlar (Faverdin, 1999). Rumende üreyip çoğalan mikroorganizmalar kimusla abomasuma ve ince bağırsaklara gelerek sindirim enzimleri ile parçalanıp hayvan için protein ve vitamin kaynağı olurlar. Özellikle B ve K vitamini sentezleme yeteneğine sahip mikroorganizmalar sayesinde ruminantlar vitamin ihtiyacının büyük kısmını karşılayabilirler (Mackie ve ark., 2000 ve Yokoyama ve Johnson, 1988).

İyi muhafaza edilmemiş yemlerde küf ve mikotoksin oluşması riski vardır ve ruminantlar yemlerle birlikte bu bileşenleri de sindirim sistemlerine alırlar. Bu toksik bileşenleri elimine etmede yine ruminantın sindirim sisteminde kolonize olmuş mikroorganizmalar görevlidir (Yiannikouris ve Jouany, 2002). Rumene yerleşmiş mikroorganizmalar, alınan besinlerin biyolojik değerliliklerini artırmalarının yanı sıra bazı besinlerin özellikle yüksek kaliteli protein ile beslenen hayvanlarda proteinlerin değerlendirilmesini azaltmaktadırlar. Ancak düşük kaliteli protein içeren yem ile beslenen hayvanlarda, yem ile alınan düşük kaliteli proteinler ve azotlu bileşikler, mikrobiyel protein denilen daha kaliteli ve yararlanma oranı yüksek proteinlere çevrilmektedir. Öyle ki ince bağırsağa kadar geçip hayvanın metabolizmasına katılan aminoasitlerin %90'ını mikrobiyal protein oluşturmaktadır (Russell ve Rychlik, 2001).

Rumende mikroorganizmaların ihtiyacı olan koşullar (besin, sıcaklık, pH, vb.) ruminant tarafından sağlanır, fermentasyon ürünleri ortamdan uzaklaştırılır ve bu sayede mikrobiyal fermentasyon için ideal bir ortam oluşturulur. Rumen ortamına gün boyunca ruminantın gezdiği alanlardan, suluk ve yemliklerden, temas ettiği her türlü ortamdan zararlı veya yabancı mikroorganizmalar gelmektedir. Ancak rumen belli bir pH ve redoks potansiyeline sahip olduğundan bu mikroorganizmaların rumen içerisinde üreyip gelişmesi önlenmektedir. Rumende anaerobik koşullar fermentasyon sırasında oluşan karbondioksit, metan ve hidrojen gibi gazlar tarafından korunur. Tüketilen yem içerisine hapsolmuş oksijenin bir kısmı rumen içinde bulunan fakültatif anaeroblar tarafından alınır ve böylece anaerobiozis devam ettirilir (Kamra, 2005). Bu durum rumen ortamının stabilitesini korumasını ve mikrobiyel fermentasyonunun belli sınırlar dahilinde devam etmesini sağlamaktadır. Aynı zamanda hayvanın aldığı yeme göre rumen ekosistemi ve içerisindeki mikroorganizmalar ortama uyum sağlamaktadır. Rumen iç ortamı değişikliği pH, tampon sistemler, sıcaklık, anaerobiozis gibi faktörler ile sınırlanır ve minimum düzeydedir (Kamra, 2005).

Parçacıkların ve sıvıların rumenden geçişlerindeki farklılık fermentasyonun niteliğini etkiler. Fermentasyon sonunda oluşan ürünlerin bir kısmı absorbe edilir ya da sıvı fazla birlikte bağırsaklara geçerken, fermentasyon sonucu oluşan gazlar ise ruktus ile atılır. Büyük parçacıklar ise parçalanana kadar rumende kalır. Alınan yemin rumenden diğer bölümlere geçmesi için partikül büyüklüğünün 1200 μm 'den küçük olması gerekmektedir (Martz ve Belyea, 1986). Rumende normal fermentasyon 260-340 mOsm/l'de gerçekleşir. Ancak silaj ve pelet yemle beslemeden 5-6 saat sonra bu değer 350-400 mOsm/l'ye yükselebilir. Ozmotik basınç 350 mOsm/l'yi aştığı zaman nişasta ve lif sindirimi sekteye uğrayabildiği gibi, ruminasyon da bozulmaktadır (Dehority, 2004 ve Owens ve Goetsch, 1988).

Ruminal pH, besinlerin fermentasyona katılmalarında elzem bir öneme sahiptir. Besin alımına ve çeşitli faktörlere bağlı olarak en sık değişim gösteren parametre pH'dır (Hungate, 1966). Rumende normal pH 6,4-7,2 arasında değişmektedir. Hızlı fermente olabilen karbonhidratlarca zengin yem ile beslenen ruminantlarda rumen pH'sı 5'in altına düşmektedir (Krause ve Oetzel, 2006). Özellikle beslenmeden sonra gerçekleşen mikrobiyel fermentasyon sonu açığa çıkan UYA, karbondioksit, laktik asit gibi ürünlerin birikmesi ile rumen pH'sı düşmektedir. Rumen pH'sı normal sınırları arasına tükürüğün tamponlama özelliği ve rumen epitelinin, asitliğin arttığı durumlarda adaptasyona uğrama kabiliyeti (epitel hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması) sayesinde getirilir (Steele ve ark., 2011). Yetişkin bir sığırdaki günlük tükürük salgısı 75-200 l arasındadır (McDougall, 1948). Tükürük beraberinde fosfat ve bikarbonat iyonlarını bol miktarda taşır ve rumendeki asitlerin tamponlanmasını üstlenir (Dehority, 2004).

Sıcaklık da reaksiyonların hızı için önemlidir ve rumende ideal sıcaklık 38-42°C'dir. Bu sıcaklıkta mikroorganizmaların optimal düzeyde aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ruminantlarda yem alımından sonra rumendeki fermentasyon neticesinde sıcaklık bir miktar yükselmektedir (Hungate, 1966).

Rumen ortamındaki mikroorganizmaların büyük çoğunluğunu anaerob mikroorganizmalar oluşturmaktadır. Bu yüzden rumende oksijenden fakir bir ortamın devam ettirilmesi önemlidir. Redoks potansiyeli, ortam anaerobizminin anlaşılmasında önemli bir indikatördür. Rumende redoks potansiyeli Dehority (2004) ve Owens ve Goetsch (1988)'e göre -250 ile -450 mV arasındadır. Clarke (1977) ise redoks potansiyelini -150 ile -350 mV olarak bildirmiştir. Rumendeki anaerob mikroorganizmalara oksijensiz ortam gerektiği gibi anaerob mikroorganizmalar da bulundukları ortamdaki organik maddeleri (karbondioksit, doymamış yağ asitleri, nitratlar ve sülfatlar) indirgeyerek metan, doymuş yağ asitleri, amonyak ve sülfür oluşturmakta ve ideal redoks potansiyelinin devamlılığına katkı sağlamaktadırlar (Owens ve Goetsch, 1988). Anaerob koşulların devamlılığı aynı zamanda fakültatif anaerob bakteriler tarafından da sağlanmaktadır. Fakültatif anaerobların avantajı ortama besinler, yutulan hava ve rumen epitelinden difüzyonla giren oksijeni tüketerek anaerob koşulların devamını sağlamaktır. Fakültatif anaerob bakteriler bu sebeple rumen duvarına tutunarak yaşamaktadır, böylece oksijen girişinin kan dolaşımı ile en fazla olduğu duvarda işlevlerini sürdürürken yem ile gelen oksijene de müdahale edebilirler (Church, 1976).

Rumen hacmi de beslenmeye ve türlere göre değişim göstermektedir. Lifli yemlerle beslenen ruminantlarda rumen hacmi, liften yoksun yemlerle beslenenlerden daha fazladır. Erişkin koyunda rumen sıvı hacmi 5,3 l veya vücut ağırlığının %13'üdür. Sığırdaki ise rumen sıvı hacmi 48 l veya vücut ağırlığının %15-21'i kadardır. Rumende fermentasyon sonucu çeşitli gazlar oluşur bunların dağılımı diyetin özelliklerine göre değişmekle birlikte %65 CO₂, %27 CH₄, %7 N₂, %0,6 O₂, %0,2 H₂ ve %0,01 H₂S şeklindedir (Owens ve Goetsch, 1988).

1.2. Ruminal Sindirimin Düzenlenmesi

1.2.1. Diyet İçeriği

Diyetle alınan besinin yapısı, rumendeki mikroorganizmaların türünü, sayısını ve aralarındaki ilişkiyi değiştirecek niteliktedir. Örneğin lifli yemler selüloz yönünden zengin yemler olmalarının yanında aynı zamanda çözünebilir şekerleri orta düzeyde içerirken nişastadan fakirdirler. Bundan dolayı selüloolitik ve sakkarolitik bakteriler bu tür diyetle beslemelerde daha aktiftir. Selüloolitik ve sakkarolitik bakterilerin fermentatif aktivitesi sonucu asetik asit üretimi daha fazladır. Yüksek nişasta içeren diyetlerde ise bakteriyel popülasyonda amilolitik bakterilerin oranı diğer bakterilere nazaran daha yüksektir. Bu tür beslemede propiyonat miktarı artar (Owens ve Goetsch, 1988). Rasyonun dağılımı (kaba yem:konsantre yem oranı), yemin son hali ve olgunluk dönemi, yemin hasat zamanı, hayvan türü, yemlere uygulanan ısıtma, ıslatma, öğütme ve benzeri işlemler ve yem katkı maddeleri mikrobiyel popülasyonu etkiler (McAllister, 2000 ve Özel ve Sarıçiçek, 2009).

1.2.2. Ruminal Geçiş ve Ruminasyon

Ruminantlarda beslenme alışkanlıkları türden türe değişmektedir. Alınan yemin niteliklerinin değişmesi ve yem alma davranışlarının farklılığı rumende katı ve sıvı kısımların geçiş hızını etkilemektedir (Clauss ve Lechner-Doll, 2001 ve Lechner ve ark., 2009). Katı yemin rumende alıkonulma süresi koyunlarda sığırlara nazaran daha kısa olmakla birlikte 58 ile 65 saat arasında değişmektedir (Bartocci ve ark., 1997). Ruminal geçiş küçük ruminantlarda, büyüklere nazaran her zaman daha hızlıdır (Nsahai ve Apaloo, 2007). Bu durum genellikle küçük ve büyük ruminantların çiğneme aktivitelerindeki farklılığa bağlanmaktadır. Yem materyalinin çiğneme oranı arttıkça ruminal geçiş hızı, küçülen partikül miktarının artmasına bağlı olarak hızlanmaktadır. Ortalama çiğneme miktarlarına bakıldığında koyunda ortalama dakikada 80-100 defa çiğneme görülürken, sığırdaki bu miktar dakikada 40-

60 kadardır (Parra, 1978). Son yıllarda ruminal geçiş hızının intraruminal papilla özelliklerine de bağlı olduğu bildirilmektedir (Clauss ve ark., 2009). Otlayıcılar (sığır ve koyunlar) ve tarayıcılar (antilop ve keçi) arasında papilla oluşumu bakımından farklılıkların olduğu bulunmuştur. Otlayıcıların rumen papillaları uzun ve kalınken, tarayıcıların papillaları ince ve kısadır. Uzun papillalar yemin tutulumunu artırdıklarından dolayı yemin alıkonulma süresi otlayanlarda daha fazla olmaktadır. (Clauss ve ark., 2009).

Yemin rumende alıkonulma süresi ve ruminal geçişi etkileyen sebeplerden bir diğeri ise yem alım miktarıdır. Fazla yem yenilmesi genellikle katı yem maddelerinin ruminal geçişinin azalmasıyla son bulmaktadır (Barboza ve ark., 2006). Konsantre:kaba yem dağılım yüzdeleri de ruminal geçişi etkileyen sebepler arasındadır. Kaba yemden zengin beslemelerde sıvı ve partikül geçiş oranı artmaktadır (Moyo ve Nsahlai, 2018). Konsantre yemden zengin rasyon içeriği ile beslenen ruminantlarda rumen sıvısının seyreltilmesi azalmaktadır (Evans, 1981 ve Poore ve ark., 1990). Otlayan hayvanlar, kaba yemi tarayıcı hayvanlara nazaran daha fazla tüketmektedirler. Kaba yem içeriği arttığında katı ve sıvı kısımların rumende ağırlıkları dolayısıyla kmeleriyle tabakalaşma oluşmaktadır. Konsantre yemin taneciklerinin daha küçük olmasından kaynaklı tabakalaşma yapmadığı bilinmektedir (Tschuor ve Clauss, 2008). Rumende oluşan bu tabakalaşma sıvı akışını ve dolaylı olarak da ruminal geçişi artırmaktadır. Dolayısı ile otlayan hayvanlarda sıvı maddelerin ruminal geçişi tabakalaşma oluşumuna bağlı olarak artmaktadır (Hofmann, 1989).

Ruminantın bulunduğu ortamın sıcaklığı da ruminal geçişi etkilemektedir. Kennedy ve ark. (1985), ortam sıcaklığı 21°C'den 0°C'ye düşürüldüğünde rumende katı yemin ortalama alıkonulma zamanında %21'lik bir azalma gözlemlemişlerdir. Bu durum hayvanların soğuktan dolayı daha fazla hareket etme ihtiyaı hissetmelerinden mütevellit, çeşitli vücut kısımlarının hareketine bağlanmıştır. Rumenin civarındaki diğer organların artan faaliyetleri ve hareketlilikleri ise rumen hareketlerini dolaylı olarak artırmaktadır (Kennedy ve Murphy, 1988). Laktasyon ve

gebelik de ruminal geçişi etkilemektedir. Laktasyonda veya gebe koyunlarda, diğerkoyunlara nazaran ruminal sıvı ve katı geçişi yüksek bulunmuştur (Gunter ve ark., 1990).

Ruminantlarda n midelerdeki yem maddelerinin daha fazla ğütölmek üzere ağıza getirilmesi ruminasyon olarak bilinmektedir ve bu olay retikulum ve rumen mukozasındaki reseptörlerin mekanik olarak uyarılmasıyla başlatılır. Ruminasyon, regurgitasyon, remastikasyon, resalivasyon ve redeglutasyon olarak dört bölümde incelenir. Regurgitasyon, glottis kapalıyken soluk alınması halinde intrapleural basıncın azalması ve buna bağılı olarak rumendeki içeriğın özofagusa ters peristaltikle geçmesi olarak açıklanmaktadır. Regurgite edilen bolus ağıza ulaştıktan sonra remastikasyon ve resalivasyona maruz bırakılır. İyice iğnenen besinler tekrar yutulur (redeglutasyon) ve beş saniye sonra yeni bir ruminasyon döngüsü başlar (Reece, 2012).

Ruminasyon, lifli yemlerde her zaman konsantre yemlerde olduğundan daha fazladır. Ruminasyon arttıkça tükürük üretimi ve rumen içeriğının tükürük ile tamponlanması artar. Konsantre besin içeriğı ile çiğneme ve geviş getirme süreleri azalırken rumene giren tükürük miktarı da azalır (Leek, 2004; McAllister, 2000 ve Owens ve Goetsch, 1988).

1.2.3. Bakteriler ve Asitlik

Asitlik, konsantre yemle beslenen sığırların rumeninde her zaman daha fazladır. Rumen pH'sı düştükçe amilolitik ve aside tolerans gösteren bakteriler artarken selölolitik bakteriler azalır. Ruminal pH 7'den 5-5,5 arasına düştüğünde rumen bakterilerinin çoğunun gelişimi baskılanır (Leek, 2004 ve Owens ve Goetsch, 1988). Rumen mikroorganizmalarının hücre membranları H^+ ve OH^- iyonlarının geçişine kısmen izin verirken, laktik asitin geçişini sınırlandırmaktadır. Ancak laktik asit ve bazı maddeler hücre membranı bozulduğunda ya da bir sebeple zarar

gördüğünde zarı geçebilir ve proton tetikleyici gücü değiştirirler. Proton tetikleyici güç ATP oluşumundan sorumludur. Asitlik değişince iyon konsantrasyonu ve hücre geçirgenliği değişebilir. Bu da ATP üretimini önler. Laktik asit gibi çoğu asit pH düştüğünde mikroorganizmaların sayıca artmasına engel olur ve bu etkileri asitlik arttıkça artar. Bunun sebebi iyonize olmayan formdaki asidin hücre membranına daha kolay tutunmasından kaynaklanır (Owens ve Goetsch, 1988). Rumen pH'sını değiştiren iki temel bakteri grubu vardır. Bunlar selülozu sindiren selülitik ve nişastayı sindiren amilolitik bakterilerdir. Lifli maddelerin sindirimi çoğunlukla pH: 6,0-6,2'de gerçekleşirken, nişasta sindirimi için daha asidik çevre şartları (pH: 5,2-6,0) gerekmektedir (Özel ve Sarıççek, 2009).

Konsantre yemlerin fermentasyonu bazen oldukça hızlı gerçekleşir ve fazladan üretilen asit, rumen pH'sını 4,0 civarına düşürür. Selülitik bakteri ve protozoonlar pH'nın aniden 6,0'ya düştüğü durumlarda inhibe olurlar. Konsantre ve kaba yemlerin karışık olarak verildiği durumlarda rumende lif sindirimi azalır. Kaba yemden konsantre yeme ani geçişlerde ya da yem parçacıklarının çok küçük olduğu durumlarda mikrobiyel popülasyon kararsız hale gelebilir. Bu şartlar altında rumende laktik asit birikir ve aside dayanıklı bakteriler baskın hale gelir (McAllister, 2000).

1.2.4. Karbonhidratların Fermantasyonu

Çoğu ruminantta temel besin kaynağı kaba yemlerdir. Kaba yemden kasıt genelde çayır otlarıdır. Otlarda bulunan temel besinler yapısal karbonhidratlar olup bitkinin desteklenmesinden sorumludur (Moore ve Hatfield, 1994 ve Nafikove ve Beitz, 2007). Kaba yemleri oluşturan hücreler yapısal olarak farklıdır. Hücre duvarı kalındır ve selüloz polisakkaritleri, hemiselüloz matriksi içinde gömülü vaziyettedir. Selüloz β -1,4 glikoz bağlı polisakkarittir (Leek, 2004). Selülozu çevreleyen pektin, rumende *Bacteroides succinogenes*, *Bacteroides ruminicola*, *Bacteroides fibrisolvens* ve bazı protozoonlar tarafından parçalanır. Pektin hidrolizi için metilesteraz ve poligalakturonidaz olmak üzere iki enzim gereklidir. Bu enzimler pektini

galakturonik aside, metil esterlerine ve diğer şekerlere indirger (Fahey ve Berger, 1988). Otsu bitkiler geliştikçe sağlamlığı artar, hemiselülozlar çapraz bağlar oluşturarak daha da yoğunlaşır ve bitki hücresinin polifenolik kısmındaki lignin-karbonhidrat kompleksleri olarak da bilinen üç boyutlu yapıya bağlanırlar. Bu sebeple bitkilerin enzimatik hidrolizi daha da zorlaşır (Laureano-Perez ve ark., 2005). Pektin hücre içi yapısal bir polisakkarit olup büyük oranda galakturonik asit olmak üzere galaktoz ve arabinozdan oluşur. Sadece mikroorganizmalarda ve bitkilerde bulunan selülaz, hemiselülaz, pektinliyaz ve fruktosanaz enzimleri β -1,4 bağlarını hidrolize etmek için gereklidir. Sadece mikroorganizmalar ve bazı omurgasızlar selüloz ve hemiselülozu sindirebilirken lignin neredeyse hiç sindirilmez (Lynd ve ark., 2002; Soest ve Robertson, 1977 ve Willats ve ark., 2001). Kaba ve konsantre yemler birbirinden içerdikleri karbonhidrat miktarı yönünden ayrılmaktadırlar. Kaba yemlerde kuru maddenin %60'ını yapısal karbonhidratlar oluştururken, konsantre yemlerde yapısal olmayan karbonhidratlar aynı oranda bulunmaktadır (Leek, 2004). Glikoz, dokular için ana enerji kaynağı olmakla birlikte aynı zamanda meme bezlerinde laktoz sentezi için gereklidir (Nafikov ve Beitz, 2007). Ruminantlarda diyetle alınan karbonhidratların çoğu rumende mikroorganizmalar tarafından fermentasyona uğratılmaktadır ve sadece %5-20 kadarı ince bağırsaktan emilmektedir (Huntington, 1997).

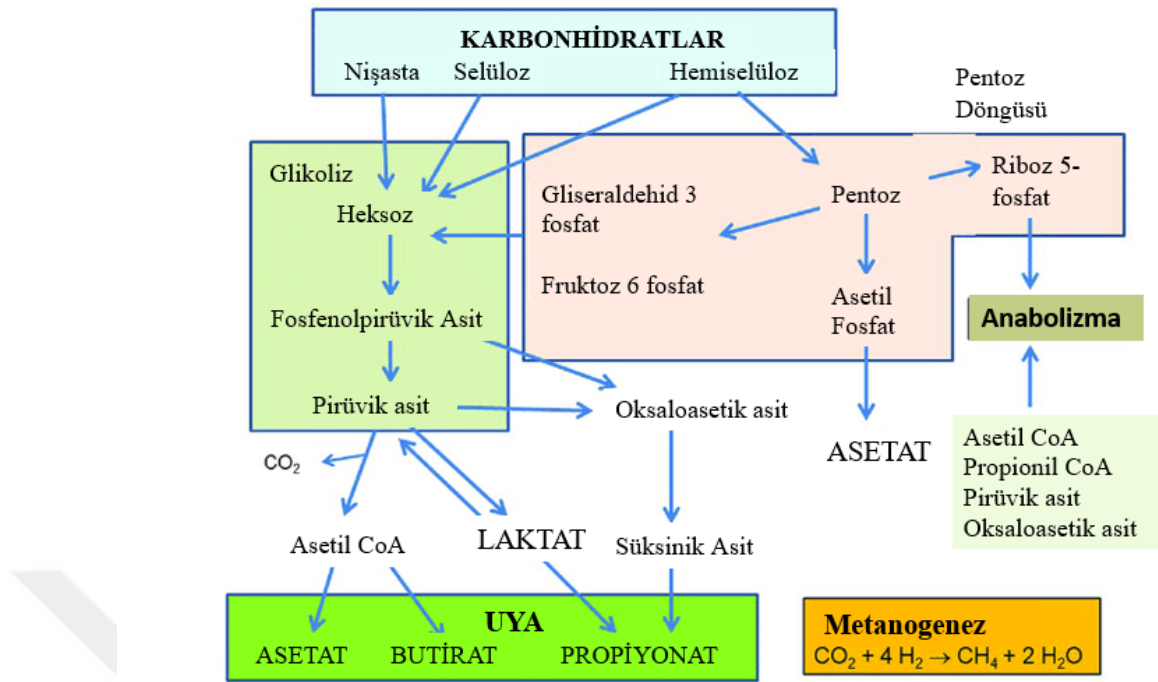
Karbonhidratların fermentasyonu sonucu uçucu yağ asitleri oluşur. Bunlardan en önemlileri asetik asit, propiyonat ve butirattır. Uçucu yağ asitleri ruminant için birinci derecede enerji kaynağıdır (Nafikov ve Beitz, 2007 ve Russell ve ark., 1992). Asetik asit ve bütirik asit özellikle fazla üretildiklerinde süt yağı ve vücut yağı oluşumuna katılmalarından dolayı önemlidir. Beden kitlesinin artırılmasını sağlamak amacıyla ruminantı dışarıdan ekstra yağ ile beslemek, eğer asetik asit düzenli bir şekilde fazla miktarlarda üretiliyorsa gereksizdir. Vücut yağı endojen asetik asit için esas kaynağı oluşturmaktadır (Hungate, 1966). Yirmi dört saat aç bırakılan koyunlarda kullanılan asetik asit miktarının %43-46'sı rumen dışındaki endojen kaynaklardan gelmektedir (Lindsay ve Ford, 1964). Propiyonat glikoneogenezde kullanılabilir, fakat propiyonat:asetat oranının çok artması süt yağında azalmaya yol

açmaktadır. Fermantasyonun hızlı olduğu durumlarda üretimi artan laktat ise kan glikozuna çevrilebilir ancak sürekli artması ruminal asidoza ve timpaniye sebebiyet vermektedir (Russell ve ark., 1992). Rumende oluşan izobutirik asit ruminantın glikoz kaynaklarından biridir ancak izovalerik asidin böyle bir işlevi bulunmamaktadır (Menahan ve Schultz, 1964).

Glikoneogenez, domuzlarda neonatal evrede, geviş getiren hayvanlar için yenidoğan ve yetişkin evrelerinde son derece önemlidir, çünkü bu hayvanlarda toplam glikoz sırasıyla %70, %75 ve %90 kadarıyla glikoneogenezden sağlanmaktadır (Donkin ve ark., 2005; Duee ve ark., 1996 ve Young, 1977). Glikoneogenez yem alımından hemen sonra başlamaktadır ve propiyonat, valerat, aminoasitler, laktat ve gliserolden glikoz üretilmesi ruminantlarda oldukça önem taşımaktadır (Leng, 1970 ve Young, 1977).

Fermantasyon genelde üç aşamada incelenir; birinci aşamada, bitki polisakkaritleri hidrolize olur ve kendi yapı taşları olan monosakkaritlere (glikoz, ksiloz ve pentoz) dönüşür. Daha sonra monosakkaritler fruktoz 1,6-difosfata dönüştürülür. Fruktoz 1,6-difosfat oluşumunda selüloz ve nişasta, glikoz üzerinden; fruktozanlar, fruktoz üzerinden; hemiselüloz ve pektin ise ksiloz üzerinden metabolize edilirler (Şekil 1.1.) (Coleman ve Laurie, 1977).

İkinci aşamada, anaerobik oksidasyon gerçekleşir ve fruktoz 1,6-difosfat, piruvata dönüştürülür. Üçüncü aşamada, piruvat fermantasyon son ürünlerine (format, asetat, butirat ve propiyonat) dönüştürülür. Bütirat, β -OH bütirat üzerinden üretilir. Propiyonat, okzaloasetik asit ve süksinat üzerinden olabileceği gibi laktat ve akrilat üzerinden de %30 civarında üretilir. Oluşan UYA aynı zamanda mikroorganizmaların kendi aminoasitlerini sentezlemesi için kalıp oluşturur. Transaminasyon işlemi ile birlikte fermantasyondan sağlanan enerji ile UYA sentezi tamamlanır (Şekil 1.1.) (Leek, 2004 ve Nozière ve ark., 2010).



Şekil 1.1. Karbonhidratların rumende fermantasyonu (Ungerfeld, 2020).

1.2.4.1. Selülozun Fermantasyonu

Bitkisel hücre duvarı bileşenlerinin mikrobiyel sindirimi ekzojen ve endojen faktörlerce belirlenir. Ekzojen faktörler arasında bitkisel epidermisin sağlamlığı önemlidir. Bu durumda mikroorganizmalar bitkiye yapışarak bitkisel bileşenleri daha güç sindirebilecektir. Endojen faktörler arasında ise polisakkaritlerin yapısı önem arz eder. Örneğin sindirilebilirliği etkileyen en önemli faktör bitkinin lignifikasyon derecesidir. Lignifikasyonun artması sindirilebilirliği kısıtlayan önemli bir faktördür. Selülozun amorf ve kristal yapılarının sindirilebilirlikleri arasında ise kayda değer bir farkın olmadığı belirlenmiştir (Martens ve ark., 2000). *B. succinogenes*'e selüloz kristali bakımından zengin rasyonları tüketen ruminantların rumeninde daha fazla rastlanmaktadır. Bakterinin selülozu sindirebilmesi için onunla fiziksel değide bulunması gerekmektedir ve bu tutunma selüloz sindiriminde elzem rol oynamaktadır (Aurilia ve ark., 2000 ve Fahey ve Berger, 1988). Selülitik bakterilerin metabolizmaları yavaş olduğundan selülozun fermantasyonu da yavaştır.

Rumende en çok rastlanılan selüloolitik bakteriler aşağıdaki gibi sıralanabilir (Russell ve Rychlik, 2001).

- *Bacteriodes succinogenes*
- *Ruminococcus albus*
- *Ruminococcus flavefaciens*

Protein sentezi için selüloolitik bakteriler aminoasit kaynağına gerek duymamalarına rağmen amonyağa ve izoasitlere ihtiyaç gösterirler. İzoasitler bitki proteinlerindeki dallanmış aminoasitlerin deaminasyonu ile oluşur. Selüloolitik ve metanojenik mikroorganizmaları içeren karma populasyonlar karbondioksit, metan ve UYA üretimine yol açarlar. Selüloz fermantasyonu sonucu açığa çıkan UYA'nın oranı yaklaşık olarak %75 asetat, %15 propiyonat ve %10 bütirat şeklindedir (Annison ve Lewis, 1959 ve Leek, 2004).

1.2.4.2. Nişastanın Fermantasyonu

Nişasta, çözünür karbonhidratlara benzer şekilde, yüksek oranda fermantasyon ürünlerine dönüşür ve sindirilmeyen kısım çok düşük düzeydedir (Hungate, 1966). Diyet ile alınan nişasta ya rumende mikrobiyel sindirime uğrayarak UYA'lara çevrilir ya da glikoz şeklinde ince bağırsakta sindirilir (Van der Poel ve ark., 2005). Nişastadan zengin beslemelerde, rumende asitlik, propiyonat miktarı ve bazen de bunlarla birlikte bütirat da artar (Reid ve ark., 1957 ve Donefer ve ark., 1963). Propiyonik asidin yüksek olduğu durumlarda metan oluşumu fermantasyon son ürünlerinin yaklaşık %9'una karşılık gelmektedir (Hungate, 1966). Propiyonik asidin bu şekilde fazlaca artması indirgeyici H₂ üretiminin azalmasıyla doğru orantılıdır ve bu yolla metan üretimi kısıtlanır. Selüloolitik bakterilerin aksine amilolitik bakterilerin fermantasyon hızları daha yüksek, sayısal artış süreleri daha kısa ve aktif oldukları pH değeri daha düşüktür (Leek, 2004). Rumende en çok

rastlanılan amilolitik ve dekstrinolitik bakteriler aşağıdaki gibi sıralanabilir (Hungate, 1966).

- *Bacteriodes amylophilus*
- *Streptococcus bovis*
- *Succinimonas amylolytica*
- *Succinivibrio dextrinosolvens*

Bu bakteriler nişastanın sindirilmesinde elzem önem taşıırken ruminal protozoonlar da nişasta sindiriminde rol oynamaktadır. Özellikle tahıl ağırlıklı beslenen ruminantlarda protozoonlar nişasta sindirimi üzerine iki şekilde etki edebilir: Rumen fermentasyon oranlarını azaltmak üzere bakterileri fagosit ederek ya da nişasta taneciklerini ve çözünür şekerleri fagosit ederek. Protozoonlar nişasta kaynaklarının bakteriler tarafından fermentasyona erişimini bu şekilde azaltarak nişasta sindirimini etkilemektedir. Rumende siliyalı protozoonların varlığında nişasta sindirimi azalmakla kalmayıp ince bağırsağa kaymaktadır. Yüksek nem içeriğiyle bilinen mısır ve kuru darı ile beslenen koyunların rumeninden protozoonlar uzaklaştırıldığında ruminal nişasta sindiriminin oranının ve derecesinin arttığı gözlenmiştir (Cerrilla ve Martinez, 2003 ve Mendoza ve ark., 1993).

1.2.5. Proteinlerin Fermantasyonu

Rumende protein ve aminoasitlerin yıkımlanması hayvancılıkta oldukça büyük ekonomik kayba yol açmaktadır. Yüksek miktarda amonyak üreten bakteriler (Hyper Ammonia Producing Bacteria-HAP) ise özellikle aminoasit deaminasyonuna sebep olmakla birlikte protein fermentasyonundan büyük oranda sorumludurlar (Flythe ve Kagan, 2010). Rumende proteinlerin yıkımı da selülozun yıkımına oldukça benzer. Proteolitik mikroorganizmalar ekstrasellüler proteazlar salgılamakta ve proteinleri peptid ve aminoasitlere parçalamaktadırlar (El-Shazly, 1952). Proteinlerin yıkımlanması tamamlandığında rumen mikroorganizmaları ortamdaki peptit ve aminoasitleri kullanarak amonyak üretmektedirler (Bach ve ark., 2005). Rumen bakterileri üretilen amonyanın bir kısmını kullansa da kalanı kan dolaşımıyla

karaciğere geçer. Karaciğerde üreye dönüştürülen amonyak, ruminahepatik azot dolaşımına katılır (Flythe ve Kagan, 2010). Protein parçalanmasından hemen hemen tüm rumen bakterileri sorumlu olsalar dahi özellikle HAP bakterileri proteinlerin deaminasyonuna filogenetik olarak daha yatkındır (Brock ve ark., 1982; Krause ve Russell, 1996 ve Nugent ve Mangan, 1981). En iyi bilinen HAP bakterileri *Clostridium sticklandii*, *Peptostreptococcus anaerobius* ve *Clostridium aminophilum*'dur (Attwood ve ark., 2006; Chen ve Russell, 1988; Chen ve Russell, 1989; Flythe, 2009 ve Paster ve ark., 1993). Rumende proteinlerin yıkımı, mikroorganizmaların bu yıkım sonucu oluşan ürünlerini kullanma kapasitesinden fazladır (Attwood ve ark., 1998). Bu durum fazladan üretilen amonyağın rumenden emilip karaciğere geçmesine sebep olur. Karaciğerde üreye çevrilen amonyağın bir kısmı tükürükle rumene salgılanıp ruminohepatik azot döngüsüne katılırken, bir kısmı da idrarla dışarı atılır (MacRae ve Ulyatt, 1974). Bu durum hayvan tarafından yemle alınan azotun verimsiz şekilde kullanılmasına yol açar.

Amonyak mikrobiyel protein sentezi için önemli bir substrattır. Mikrobiyel protein sentezi için aşağıdaki şartlar gereklidir (Leek, 2004):

- 1- Yeterli miktarda α -ketoglutarat bulunmalıdır.
- 2- Karbon iskeleti üzerine amino gruplarının da eklenebilmesi için ortamda uygun UYA'nın bulunması gerekir.
- 3- Enerjinin sağlanması amacıyla diyetle birlikte kolay fermente olabilir karbonhidratlar alınmış olmalıdır.

Mikrobiyel protein esansiyel aminoasitleri yeterince içerdiğinden biyolojik değeri yüksek kaliteli proteindir. Bakteriyel azotun %50-65'i ve protozoal azotun %31-55'i rumen amonyağından elde edilir (Özel ve Sarıççek, 2009). Mikrobiyel proteinin yaklaşık yarısını protozoal protein oluşturur (Owens ve Zinn, 1988). Bu yüzden protozoonların sayısını azaltmak proteoliz miktarını da bir nebze azaltacaktır (Leek, 2004).

1.2.6. Yağların Fermantasyonu

Ruminant diyetlerinde yağlar büyük bir yer kaplamasa dahi özellikle tane yemlerle ve konsantre yemlerle birlikte her gün bir miktar bitkisel yağ ruminant tarafından alınmaktadır (Garton, 1969). Lipid metabolizması özellikle süt yağının oluşumu için önemlidir (Hungate, 1966). Hayvanın yemle aldığı doymamış yağ asitleri rumende hidrojenize olarak doymuş yağ asitlerine dönüşmektedir (Reiser ve Reddy, 1956). Bitki kloroplastlarının yapısında bulunan lipidler de rumen mikroorganizmaları tarafından hidrojenize edilebilirler. Bu yolla yeme ilave edilen ham yağla birlikte yem maddeleri içerisindeki yağ da hidrojenizasyona tabi tutulmuş olur (Hungate, 1966 ve Wright, 1959). Hidrojenizasyona tabi olan yağların kimyasal yapısı değişmektedir. Rumen mikroorganizmaları yağ moleküllerini yağ asitlerine ve gliserole parçalamaktadırlar (Wright, 1961). Gliserol ise rumen bakterileri (özellikle *Selenomonas*, *Anaerovibrio* ve *Peptostreptococcus* suşları) tarafından fermente edilmektedir (Hobson ve Mann, 1961). Tek mideli hayvanlarda yağların sindirimi ve emilimi ince bağırsakta gerçekleşmektedir, ancak ruminantlarda yağ sindirimi oldukça farklı bir boyuttur. Rumene girdiği anda lipidler mikrobiyal lipaz enzimi tarafından hidrolize uğramaktadır. Serbest yağ asitleri daha sonra hidrojenizasyona tabi tutulmakta ve stearik asit açığa çıkmaktadır. Mikrobiyal yağ sentezinde de açığa çıkan yağ asitleri kullanılmaktadır. Mikrobiyel yağ içerisindeki stearik asit yemdeki yağ bileşiminden oldukça farklıdır. Yemdeki yağ bileşenleri linoleik ve linolenik asit bakımından daha zengindir (Harfoot ve Hazlewood, 1997).

Protozoonlar ruminal yağ metabolizmasında önemli bir role sahiptir ve uzun zincirli doymamış yağ asitlerinin ortamdan emilmesini sağlayarak onları kendi içlerinde hapsetmekte ve böylece hidrojenasyondan korumaktadırlar (Leek, 2004). Süt ve serumdaki yağ asitlerinin çoğu, bakteri ve protozoonlarda da bulunur (%7 mikrobiyel biyokütle) ve bir dereceye kadar süt yağ asitleri, serumun yağ asidi bileşimini yansıtır (Hungate, 1966 ve Williams ve ark., 1963). Protozoonlar rumenden geçtikten sonra ince bağırsaklarda sindirime uğrarlar ve ruminant için önemli bir uzun zincirli doymamış yağ asiti kaynağı oluşturlar (Leek, 2004).

Ruminal fermentasyon modifiye edilerek asetik asit oluşumu artırıldığı takdirde süt yağını ve vücut kitlesini artırmak amacıyla yeme ekstradan yağ eklemek fazla önem teşkil etmemektedir (Hungate, 1966).

1.2.7. Rumende Vitaminlerin Sentezi

Rumen mikroorganizmaları ruminant için önemli vitamin kaynağı olarak da hizmet görür. Bu vitaminler arasında suda eriyen B vitamin kompleksleri, C vitamini ile yağda eriyen K vitamini sayılabilir. Bununla birlikte rumen gelişimi tam olarak tamamlanmadığından buzağı ve kuzular bu vitaminleri diyetleriyle birlikte almak zorundadır. Bazı istisnai şartlarda yetişkin ruminantlarda tiamin (B₁) ve kobalamin (B₁₂) yetersizlikleri söz konusu olabilir. Tiamin yetersizliği özellikle aniden karbonhidratça zengin rasyonlara geçme durumlarında ya da bakteriyel tiaminazlar nedeniyle olabilmektedir. Kobalamin yetersizliği ise ruminantın yeterince kobalt alamaması durumunda gözlenir (Breves ve Leonhard-Marek, 2000).

1.2.8. Fermantasyon Son Ürünlerinin Akıbeti

Karbonhidrat fermentasyonu sonucu miktarca en fazla oluşan son ürünler asetik, propiyonik ve bütirik asittir. Bunun dışında n-bütirik, isobütirik, formik ve valerik asitler de az miktarda oluşur (Mangold, 1931). Besleme şekli uçucu yağ asidi profilini etkileyebilmektedir. Nişastadan zengin yemlerle beslemede propiyonik asitte, proteinden zengin yemlerle beslemede asetik, propiyonik ve bütirik asit yanında izoasitler ve valerik asit miktarında artış olur (Leek, 2004). Üretilen uçucu yağ asitlerinin çoğu ön mide duvarından emilir. UYA'ların emilim hızları ruminal pH düştüğünde ve UYA zincir uzunluğu arttığında artar (Doreau ve Chillard, 1997). Rumen duvarından emilen asetik asitin az miktarı keton cisimciklerine çevrilirken, büyük bir kısmı değişmeden portal sistem üzerinden karaciğere nakledilir. Asetik asit metabolizmasındaki ilk reaksiyon asetik asidin asetil CoA sentetaz enzimiyle asetil CoA'ya dönüşmesidir. Karaciğere ulaşan asetik asidin %80'i oksidasyona girmez ve

Çevresel dolaşıma verilir. Bu asetik asidin büyük kısmı ise TCA siklusuna girer ya da yağ asidi sentezinde kullanılır. Asetik asit aynı zamanda ruminantlarda vct yağının sentezlenmesinde de gerek duyulan UYA’lardandır (Bergman, 1990 ve Bloeman ve ark., 2010).

Rumen epitelinden emilen propiyonatın %30’u laktik aside çevrilirken geri kalanı portal dolaşıma katılır. Propiyonat aynı zamanda glikoneogeneizde kullanılır. Karaciğere ulaşan propiyonik asitler okside olur ya da glikoza çevrilir. Portal ven kanındaki laktik asidin kaynağı da propiyonik asittir (Mller ve ark., 1997).

Butirik asit, rumenden emilirken çoğu keton cisimciklerine çevrilir. Bu keton cisimciklerinin %80’den fazlası β -hidroksi butirik asittir. Geri kalanı ise asetoasetik asit ve asetondur. β -hidroksi butirik asit kaslarda okside olarak yağ asidi sentezine katılır (Fahey ve Berger, 1988 ve Jenkins, 1993). Butirik asit rumen epiteli için asetik ve propiyonik asitten daha önemli bir enerji kaynağıdır (Kristensen, 2005), aynı zamanda rumen epiteline olan mitotik etkileri dolayısıyla rumenden UYA’ların uzaklaştırılmasına katkıda bulunup fazla asit oluşumunu ve pH’da gerçekleşen düşüşleri engellemektedir (Lopreiato ve ark., 2020 ve Mentschel ve ark., 2001).

Belirli bazı amilolitik bakteriler nişastanın parçalanması sırasında diğer UYA’lar yanında laktik asit de üretirler (Hernandez ve ark., 2014). Normalde laktik asit düşük oranda bulunur. Bunun sebebi sekonder bakterilerin laktik asidi kullanarak propiyonik asit üretmeleridir (Johns, 1951). Laktik asit diğer UYA’lara göre daha güçlü bir asit olduğundan ruminal pH’yı çok hızlı bir şekilde düşürebilir (Hernandez ve ark., 2014 ve Leek, 2004). Rumende üretilen laktat, asetik asit, propiyonat ve butirat’a dönüşebilmektedir. Rumende oluşan propiyonatın büyük bir kısmından laktat sorumludur. Süt ineklerinin rumeni içerisine büyük miktarlarda laktat verildiğinde bütirat ve propiyonat oranlarının arttığı gözlenmiştir (Counotte ve Prins, 1981; Ekern ve Reid, 1963 ve Montgomery ve ark., 1963).

Rumene giren maddelerin fermentasyonu ve metabolize olması sırasında çeşitli gazlar da yan ürün olarak oluşur (Bengelsdorf ve ark., 2013). Fermentasyon sonucu rumende üretilen başlıca gazlar karbondioksit (%60-70) ve metandır (%30-40). Azot, hidrojen ve oksijen çok az miktarda ve kısa süreliğine bulunabilir. Karbondioksit, karbonhidratların ve aminoasitlerin deaminasyonu sırasında; metan ise metan üreten arkeler tarafından karbondioksitin indirgenmesiyle oluşur (Reece, 2012). Hidrojen sülfür varlığı sülfatların indirgenmesinden ve sülfür içeren aminoasitlerden kaynaklanır (Hungate, 1966). Hidrojen gazı normalde çok düşük konsantrasyonlarda bulunur, ancak ani ve fazla miktarda konsantre yem verildiğinde fermentasyonun hızlanmasına bağlı olarak miktarı artabilir (Leek, 2004). Ancak konsantre yemden zengin beslenen ruminantlarda rumende propiyonik asit miktarı da artmaktadır ve propiyonik asit yapımında ise hidrojenler kullanılmaktadır. Ruminal fermentasyon sırasında rumene verilen hidrojen atomları, propiyonik asit üretimine katıldığından dolayı metan oluşumunda önemli yere sahip H^+ iyonları azalmaktadır ve dolayısıyla metan oluşumu da düşmektedir (Broudiscou ve Lassalas, 1991 ve Johnson ve Johnson, 1995).

Amonyak, diyetle alınan proteinlerin deaminasyonundan, protein olmayan azotlu bileşiklerden (NPN), kan ve tükürükten gelen ve rumene geri dönen ürenin hidroliziyle, mikrobiyel proteinlerin yıkımlanmasıyla oluşur (Bach ve ark., 2005 ve MacRae ve Ulyatt, 1974). Yeterli karbonhidrat ve UYA miktarı sağlanırsa amonyak, mikrobiyel protein sentezine katılır. Protein sentezine katılmayan amonyak ise ruminal pH normal sınırlar içerisindeyken rumen duvarından emilir (Flythe ve Kagan, 2010). Amonyakın pKa değeri 9'dur (Leng ve Nolan, 1984). Henderson-Hasselbalch denklemi'ne göre pH değeri 6 ve 7 arasında ise amonyak iyonize formda olacak ve hücre zarının lipid katmanından geçişte zorlanacaktır. Rumen boşluğundaki amonyak miktarı arttıkça ve pH yükseldikçe amonyağın emilimi de artmaktadır. Aksine pH düştükçe lümendeki amonyak miktarına bağlı kalmaksızın amonyak emilimi azalmaktadır (Gärtner ve Engelhardt, 1964 ve Hogan, 1961). Bakteriler aktif olarak amonyak ve azotu kullanabilirken, protozoonlar bunu yapamaz (Bach ve ark., 2005 ve MacRae ve Ulyatt, 1974). Amonyak azotu rumen

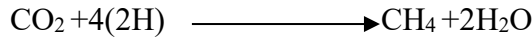
bakterileri tarafından salınan glutamin sentetaz (GS) ve glutamat dehidrojenaz (GDH) isimli iki enzim sayesinde karbonla birleşir. Yüksek amonyak konsantrasyonlarında amonyağın ortadan kaldırılması GDH sistemiyle gerçekleştirilir. Ancak düşük konsantrasyonlarda GS yolu daha yaygın olarak kullanılır. Çünkü GS'nin amonyak azotuna daha fazla affinitesi vardır. Amonyağın rumen duvarından emilimi amonyak azot konsantrasyonu ve pH'ya bağlıdır. Üre ile zenginleştirilmiş yemler rumen pH'sını yükseltir, bu da amonyak emilimini artırır (Leek, 2004 ve Owens ve Zinn, 1988).

Azotun bir kısmı sürekli olarak ruminohepatik azot döngüsü ile rumene geri döner. Rumene geri dönen azot miktarı diyetle alınanın %10-15'idir (Owens ve Zinn, 1988). Rumen duvarından emilen amonyak *vena porta* ile karaciğere ulaşır ve zehirli olmasından dolayı üreye dönüştürülür (amonyak detoksifikasyonu) (MacRae ve Ulyatt, 1974). Üre kan dolaşımıyla tükürük bezlerine, oradan da rumene veya doğrudan difüzyonla rumen duvarından rumen lumenine ulaşır. Rumende mikrobiyel üreazlar ile amonyak ve karbondioksit ayrışır. Tükürük salgısıyla rumene gelen üre miktarı plazmadaki üre konsantrasyonu ile orantılıdır. Genellikle tükürükteki üre miktarı plazmadaki miktarın %65'i kadardır (Breves ve Leonhard-Marek, 2000). Bu koruyucu mekanizma ruminantın düşük azot içerikli yemlerle hayatta kalmasına yardım eder. Plazmadaki ürenin %23-92'si sindirim kanalına geri taşınır. Azot alımının azalması bu geri dönüşümün miktarını artırır. Defaune edilmiş hayvanlarda amonyak azotunun rumen sıvısındaki konsantrasyonu faunalı hayvanlarda olduğundan daha azdır. Bunun sebebi protozoonların neden olduğu protein yıkımının ortadan kalkması ya da bakteriler tarafından artmış amonyak kullanımıyla ilgilidir (Owens ve Zinn, 1988).

1.2.9. Metan (CH₄) Oluşumu

Rumen metabolizması sonucu fermentasyon gazları oluşur, bu gazların %50-60'ı CO₂ ve %30-40'ı ise metandır. O₂, H₂, H₂S ve CO iz miktarda oluşur. Azot (N₂)

ve bir kısım oksijen atmosferik havadan kökenini alır ve fermantasyon gazı olarak kabul edilmez. Karbondioksit öncelikle, piruvatın dekarboksilasyonu, aminoasitlerin oksidatif dekarboksilasyonu ve ürenin yıkımlanması sırasında oluşur. Karbondioksitten metan oluşumu için gerekli indirgeyici H⁺ atomları (2H), glikoliz, pentoz-fosfat yolu, piruvatın dekarboksilasyonu ve aminoasitlerin yıkımı esnasında oluşur. Metan gazı ise metanojenik arkeler tarafından indirgeyici hidrojen atomlarından ve karbondioksitten üretilir.



Metan oluşumu konakçı için yem enerjisinin kaybı (yaklaşık %2-12) anlamına gelmektedir (Johnson ve Johnson, 1995). Koyunlar ve sığırlar için günlük metan üretimi sırasıyla ortalama 30 ve 150 litre kadardır. Metan rumende emilemediğinden dolayı ruktusla atmosfere atılmak zorundadır (Breves ve Leonhard-Marek, 2000).

Propiyonat ve metan oluşumu arasında ters bir ilişki vardır. Bunun sebebi glikozun asetik asit ve bütirik aside dönüşürken yan ürün olarak hidrojen ve karbondioksit oluşturmasıdır. Açığa çıkan hidrojen ise metanojenler tarafından metan üretiminde kullanılmaktadır. Propiyonat üretiminde ise süksinat ve akrilat yolları kullanılmakta ve ortamdaki H⁺ atomları propiyonat üretimi için sarf edilmektedir (Fahey ve Berger, 1988).

Methanobrevibacter, *Methanobacterium*, *Methanomicrobium*, *Methanosarcina* türlerinin rumende hakim metanojen türler olduğu belirlenmiştir (Baker ve ark., 1998 ve Miller ve Wolin, 1986). Rumen sıvısında hidrojenin kısmi basıncının düşük tutulması önem arz eder. Aksi takdirde ruminal fermantasyon sırasında büyük miktarlarda etanol ve laktat üretilir. Metanojenik arkeler tarafından hidrojenin metan üretim sürecinde kullanılması bir yandan yem enerjisinin sarfiyatı anlamına gelirken diğer yandan rumendeki fermantasyonun bozulmadan devam etmesini sağlamaktadır (Breves ve Leonhard-Marek, 2000).

Methanojenik arkeler, rumen protozoonları ile yakın ilişki içerisinde. Rumen protozoonları ve metanojenler arasındaki ilişki zorunlu türde değildir. Protozoona bağımlı metanojenlerin sayısı hayvanın yemlenmesiyle değişebilmektedir (Tokuca ve ark., 1997) ve yemlemeden hemen sonra fermantasyonun en yoğun olduğu anda bu oran artmaktadır (Baker ve ark., 1998). Bu bakterilerin bir kısmı protozoonların sitozolünde diğerleri ise dış yüzeyine tutunmuş olarak rumende varlığını sürdürür. Bu durum da protozoonların metan üretimine dolaylı da olsa katkıda bulunduğunu gösterir. Protozoonların ortamdan elemine edilmesiyle metan üretimi oldukça azalmaktadır (%37). Metan üreten bakterilerin olmadığı rumen ortamında protozoon sayısı da azalmaktadır (Coleman ve ark., 1976; Hegarty, 1999; Lee ve ark., 1987 ve Newbold ve ark., 1995).

1.2.10. Rumen Asidozu

Asidoz terimi kanda asiditenin patolojik olarak yüksek olması şeklinde tanımlanmaktadır. Asidoz, hidrojen iyonu konsantrasyonunun bazik faza oranla fazlaca artması olarak tanımlanabilir. Rumen asidozu bu terimi daha da genişleterek rumen içindeki asidik koşulları da içermektedir. Rumen pH'sının optimum aralığından (6,4-7,0) daha düşük değerlere kadar inmesi durumuna "rumen asidozu" denmektedir. Rumen asidozu yaşattığı ekonomik kayıplar ve hayvan sağlığı açısından sorun teşkil etmektedir. Rumen içerisinde anaerobik mikroorganizmalar, karbonhidratları fermente ederek uçucu yağ asitlerini ve laktatı oluşturmaktadır. Hayvanların enerji ihtiyacını karşılamak ve hayvanlardan kısa sürede daha fazla verim elde edebilmek amacıyla konsantre yem yüklemesi yapılmakta ya da kaba yemden konsantre yeme hızlı geçişler uygulanmaktadır. Tahıldan zengin beslemelerde ya da konsantre yeme adaptasyon sırasında aniden karbonhidrat alımı arttığında rumende asit oluşumu artmaktadır (Dunlop ve Hammond, 1965 ve Owens ve ark., 1998).

Krause ve Oetzel (2006), rumen asidozunu, akut ve subakut (SARA) olarak ikiye ayırmışlardır. Akut rumen asidozu, hayvanların yapısal olmayan kolay sindirilebilir karbonhidratları aşırı miktarda tüketmesi ya da uzun süre yem verilmemesinin ardından yüksek miktarda konsantre yem verilmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Normalde laktat sindirim sisteminde düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır, ancak konsantre yemden zengin beslemelerde mikroorganizmalarca oluşturulan laktat miktarı yükselmeye başlamaktadır. Laktik asit miktarının 100 mmol/l civarına kadar yükselmesi D-laktik asidozu olarak tanımlanmıştır (Dunlop ve Hammond, 1965 ve Owens ve ark., 2011). Akut rumen asidozunda (laktik asidoz) ruminal pH çok hızlı şekilde 5,0'in altına düşer. Bu durum rumende asit ürünlerin birikmesinden dolayıdır. Bu asitlerin sürekli olarak artması rumen pH'sını tamponlanamayacak seviyeye düşürebilmektedir. Düşük pH koşullarında ise sadece laktik asit üreten bakteriler hayatta kalmaktadır. Ruminal pH 5,0 civarına düştüğünde laktik asit tüketen bakteriler de inhibe olmakta ve bu durum kısır bir döngüye yol açmaktadır. Hayvanlarda akut rumen asidozu ile birlikte ishal, dehidratasyon, karaciğer apseleri, akciğer, kalp ve/veya böbrek enfeksiyonları, laminitis, serebrokortikal nekroz ve nörolojik semptomlar (nöronlar üzerinde laktik asidin doğrudan etkisi nedeniyle) görülebilmektedir. Hastalığın semptomları (çiğneme aktivitesinde, canlı ağırlık ve kuru madde alımında azalma ve laminitis ile ishal prevalansındaki artış) birçok başka hastalıkla karışabileceğinden diyagnozu zor, prognozu ise değişkendir (Gakhar, 2008; Hernandez ve ark., 2014 ve Owens ve ark., 1998).

Subakut rumen asidozu (SARA) ise rumen pH'sının yavaş yavaş azaldığı, klinik olarak daha zor teşhis edilebilen asidoz türüdür (Gakhar, 2008). Kaba yemden konsantre yeme hızlı ve bilinçsiz olarak yapılan geçişlerde ve konsantre yemden zengin beslemelerde SARA şekillenebilmektedir (Kleen ve ark., 2003). SARA'da rumen pH'sı akut tabloda olduğundan farklı olarak 5,5-5,8 arasında dalgalanır (Krause ve Oetzel, 2006). Akut asidozdan farklı olarak SARA'da pH'daki düşmesinin sebebi UYA üretimindeki artıştır (Oetzel ve ark., 1999). Her iki asidoz çeşidinde de rumen duvarı bariyer fonksiyonunu bir süre sonra yitirmektedir. Rumen

mikroorganizmaları ise rumenden kana geçtiklerinde pnömoni, endokardit, artrit ve karaciğer apseleri gibi patolojik durumlara sebep olmaktadır (Kleen ve ark., 2003). Ancak SARA sürü bazında görüldüğü için ekonomik açıdan daha büyük önem taşır (Öztürk ve Pişkin, 2009). Çizelge 1.1.'de akut ve subakut rumen asidozu arasındaki farklar görülmektedir.

Çizelge 1.1. Akut ve subakut rumen asidozu arasındaki farklar (Nagaraja ve Lechtenberg, 2007).

RUMİNAL ASİDOZ		
	AKUT	SUBAKUT
KLİNİK BELİRTİ	VAR	OLABİLİR
ÖLÜM	VAR	YOK
RUMİNAL DEĞİŞİKLİKLER		
Ruminal pH	5 ve beşin altı (<5)	5,0-5,4
Laktik Asit	Artar (50-120 mmol)	Normal (0-5 mmol)
Uçucu Yağ Asitleri	Azalıır (<100 mmol)	Artar (150-225 mmol)
Gram Negatif Bakteriler	Azalıır	Değişmez
Gram Pozitif Bakteriler	Artar	Değişmez
<i>Streptococcus bovis</i>	Artar	Değişmez
<i>Lactobacillus spp.</i>	Artar	Değişmez
Laktik Asit Üreten Mikroorganizmalar	Artar	Artar
Laktik Asit Tüketen Mikroorganizmalar	Azalıır	Artar
KAN PARAMETRELERİ		
KAN pH	Düşük	Sınırdı
HCO₃	Düşük	Sınırdı
Laktat	Yüksek	Normal

1.3. Ruminant Fermentasyonun Modifikasyonu

Besin kaynağımızın ana maddesini oluşturan protein kaynaklarının başında eti yenebilen hayvanlar gelmektedir. Ruminantlar ise protein kaynağı olarak oldukça fazla önem teşkil etmektedir. Ruminantların sahip oldukları bu öneme dayanarak

yetiştiriciler ruminantlardan daha fazla verim elde etmeye çalışmış ve antibiyotik kaynaklı büyüme uyarıcılarını uzun yıllar kullanmışlardır. Antibiyotik kökenli büyüme uyarıcılarının yem katkı maddesi olarak kullanımı 1 Ocak 2006 tarihinden itibaren Avrupa Birliği lkelerinde (OJEU, 2003) ve 21 Ocak 2006 tarihinden itibaren ise lkemizde (Resmi Gazete: Sayı: 26056) tamamen yasaklanmıştır. Bu yüzden probiyotikler, prebiyotikler, organik asitler, antimikrobiyel, fitokimyasallar, sindirime yardımcı ekzojen enzimler gibi doğal ve güvenli alternatifler üzerine yoğun bir ilgi oluşmuştur (Kutlu ve Serbest, 2014; Wallace ve Newbold, 1992 ve Weiss, 2006). Son yıllarda biyoteknolojik yöntemler de bu amaçla kullanılmaktadır. Örneğin, transgenik mikroorganizmalar üretilerek bunların hem probiyotik özellikleri hem de beta glukanaaz gibi sindirim enzimleri üretmesi sağlanmış ve arpa esaslı beslemelerde yemden yararlanma ile hayvan verimini artırmak amaçlanmıştır (nderci ve ark., 2008).

Hayvandan elde edilen karı artırmak birinci öncelik olmuşsa da yakın dönemde evre bilincinin artması ve hayvanın yemden yararlanmasının da artırılabilmesi amacıyla metan üretimini kısıtlamak gündeme gelmiştir. Metan oluşumunu önlemek amacıyla çeşitli yem katkı maddeleri ve fitokimyasallar denenmiştir. Tamayao ve ark. (2021a) ve Tamayao ve ark. (2021b), Rusitec sistemde ruminal fermentasyona ve metan oluşumuna etkileri yönünden biyokömürü incelemiş ancak bu iki bileşen başta olmak üzere yem sindirilebilirliğinin, protozoon sayısının ve mikrobiyal protein sentezinin biyokömür eklenmesinden etkilenmediğini gözlemlemişlerdir. Diğer yandan, Jayanegara ve ark. (2021) kitosanı (kitin'in deasetilasyonu ile elde edilen lineer bir aminopolisakkarit) yem katkı maddesi olarak kullanarak rumendeki etkilerini gözlemlemiş ve metan üretiminin %28 oranında azaldığını bildirmişlerdir.

Ruminant yemlerinde kullanılacak yem katkı maddelerinde olması gereken özellikler şunlardır (Adesogan, 2009);

- a. Ruminal pH'yı ayarlamalı ve laktat birikimini azaltmalı

- b. Neonatal hayvanlardaki diyare ve yaşlı hayvanlarda görülen ruminal asidoz, timpani gibi metabolik rahatsızlıkların görülme olasılığını azaltmalı
- c. Neonatal ruminantlarda rumen gelişimini teşvik etmeli
- d. Ruminal metanogenezisi baskılayarak ve süt yağını azaltmayacak şekilde asetik asit:propiyonik asit (A:P) oranını düşürerek ruminantın enerjiden yararlanmasını artırmalı
- e. Proteoliz, peptidoliz ve aminoasit deaminasyonunu baskılayarak azottan yararlanmayı artırmalı
- f. Amonyak üretimini ve çevreye amonyak salınımını en aza indirmeli
- g. Ruminal protozoonların aktivitesini baskılayarak faydalı bakterilerin fagosite edilmesinin önüne geçmeli
- h. Ruminal organik madde ve lif sindirimini artırmalı
- i. Hayvan verimini artırmalı
- j. Kolay karşılanabilir ve yasal olarak onaylanmış olmalı

1.3.1. İyonofor Grubu Antibiyotikler

Antibiyotik veteriner hekimliğinde ilk defa 1948 yılında kanatlılarda koksidiyoz hastalığını önlemek ve iyileştirmek amacıyla kullanılmıştır (Grumbles ve ark., 1948). İyonofor grubu antibiyotikler (monensin, lasalosid, laidlomisin, narrasin ve salinomisin) ise 1970 yılından itibaren kullanıma sunulmuştur (Bergen ve Bates, 1984; Callaway ve ark., 2003 ve Ryley ve Betts, 1973). Koksidiyoz etkenlerine aynı zamanda ruminantların sindirim sisteminde de rastlanmıştır. İyonofor grubu antibiyotikler hastalığı önlemek amacıyla ruminant yemlerine eklenmiştir. Parazitler dışkı yoluyla bir hayvandan diğerine aktarılmaktadır (Noack ve ark., 2019). Koksidiyoz hayvanın refahını etkileyen ve gıda güvenliği açısından kesinlikle elimine edilmesi gereken bir sorun olmuştur. İyonofor grubu antibiyotiklerden monensin ruminantlarda kullanılmaya başlandıktan sonra rumende başka etkilere de yol açtığı belirlenmiştir. Uçucu yağ asidi profilinde, yem alımında ve

sindirilebilirliğinde, metan gazı üretiminde, rumen dolumu ve sıvı geçişlerinde değişikliklerin olduğu gözlenmiştir (Schelling, 1984). İyonofor grubu antibiyotikler daha sonra yemden yararlanımı artırmak amacıyla ruminant beslenmesinde kullanılmaya başlanmıştır. Bu antibiyotikler özel olarak ruminal bakteriyel popülasyonu hedefler ve değiştirir, bu da artan karbon ve azot retansiyonu ile sonuçlanarak hayvan verimliliğini yükseltir (Callaway ve ark., 2003).

İyonoforlar, bakterilerin membran fizyolojisini bozarak etki göstermektedir. Lipofilik olmalarından dolayı kolayca bakteri hücre membranında çözünürler (Pressman, 1976). Ruminal bakterilerin hücre içi ortamı K^+ iyonu yönünden zenginken, Na^+ iyonu yönünden fakirdir. Rumen ortamı ise tersine Na^+ iyonu yönünden zengin, K^+ iyonu yönünden fakirdir (Chow ve Russell, 1992). İyonofor grubu antibiyotikler bakteri hücre zarındaki bu iyon dengesini tersine çevirip bozmaktadır. Örneğin monensin, Na^+ veya K^+ iyonlarını H^+ ile değiştirebilmektedir (Pressman, 1976 ve Russell ve Strobel, 1989). Potasyumun gradyanı sodyum gradyanından daha büyük olduğu için, hücre dışındaki hidrojen iyonları bakterinin içinde birikir. Bakteri bu artan asitlikle baş edebilmek için ATPaz ile aktive olan proton pompasını çalıştırır (Booth, 1985 ve Chow ve ark., 1994). Aynı zamanda bakteri membranı yerleri değişen Na^+ ve K^+ iyonlarını tekrar eski konumuna getirebilmek için ATP tüketen Na^+-K^+ pompasını çalıştıracaktır. ATP'nin hızlıca tükenmesi ise bakteriyi ölüme götürecektir (Bergen ve Bates, 1984 ve Pressman, 1976).

İyonofor grubu antibiyotikler Gram pozitif bakteriler üzerinde etkilidir, çünkü peptidoglikan yapısındaki membranlarında yer alan porlar küçük moleküllerin geçişine izin vermektedir. Tam tersine Gram negatif bakterilerin membranları lipopolisakkarit yapıdadır. Ayrıca hücre duvarı ve membranı arasındaki periplazmik boşluk sayesinde iyonofor grubu antibiyotiklere karşı daha savunmacıdır (Ahmed ve Booth, 1981 ve Callaway ve ark., 2003). İyonoforların hem Gram pozitif hem de negatiflere tutunmasına karşın monensinin sitoplazmada hızlıca çözünmesinden kaynaklanan katalizör etkisi sadece Gram pozitiflerde görülmektedir (Callaway ve

ark., 2003; Chow ve Russell, 1990 ve Chow ve ark., 1994). Özellikle rumen ortamından elimine edilmek istenen metan üreten arkeler ile HAP bakterilerin monensine hassas olduğu bilinmektedir (Callaway ve ark., 2003).

İyonofor grubu antibiyotikler içerisinde hayvan beslemede etkinliği en iyi bilinen ve en fazla kullanılan antibiyotik monensindir (Callaway ve ark., 2003). Monensin kullanımının ruminal fermantasyonu modifiye edici etkisinin yanında birçok etkisi daha bulunmaktadır. Monensin asidozu azaltabilir, bunun sebebi direk olarak laktat üreten bakterileri (*Streptococcus bovis*, *Lactobacilli*) inhibe etmesine bağlanmıştır (Dennis ve ark., 1981). Monensin kullanımının faydaları arasında, idrarla daha az NH₃ atılımı, yem proteinlerinin deaminasyonunun baskılanması ve laktik asit üretiminin azalması bulunmaktadır (Dennis ve ark., 1981 ve Russell ve Strobel, 1989).

Monensin ve diğer iyonofor grubu antibiyotiklerin ruminal fermantasyona etkileri özetlenecek olursa; H⁺ üreten bakterileri azaltarak, A:P oranını düşürerek, metan oluşumunu baskılamakta ve enerji kaybını azaltmaktadırlar. Amonyak üreten bakterilerin azalmasını sağlayarak protein deaminasyonunu önlemekte ve hayvanın proteinden yararlanımını artırmaktadırlar. Laktik asit üreten bakterilerin de iyonoforlara duyarlı olması, laktik asit üretimini baskılamakta ve fermantasyon için optimal pH koşulları sağlanabilmektedir. Bu tabloya göre besinlerin sindirim oranları artmakta ve aşırı yem tüketiminin önüne geçilmektedir (Russell ve Strobel, 1989).

Antibiyotiklerin bu yararlı yönlerinin yanında et, süt gibi hayvansal ürünlerde kalıntı bırakma riski ve hem konak hayvanda hem de bu besinleri tüketen insanlarda antibiyotiklere karşı bir direnç geliştirme olasılığı vardır. İnsanlarda oluşan etkiler sadece kalıntı ve direnç riski değildir. Monensin eklenen yemlerin üretimi sırasında monensine maruz kalan kişilerde baş ağrısı, mide bulantısı, burun kanaması ve deri döküntüsü gibi semptomlar görüldüğü bildirilmiştir. Benzer şekilde ruminantları monensin ile yemleme esnasında çiftlik çalışanlarında baş ağrısı ve baş dönmesi görüldüğü kaydedilmiştir (Pressman, 1985). Çoğunlukla ruminant yemleri ile at

yemleri aynı fabrikalarda üretilmekte olup atlar da yem yoluyla iyonofor antibiyotiklere maruz kalabilmektedir. Lasalosid ve monensinin çok düşük dozlarının dahi depresyon, ataksi, parezi, felç, anoreksi hatta ölüme yol açtığı belirlenmiştir (Hanson ve ark., 1981 ve Langston ve ark., 1985). İyonofor grubu antibiyotiklerin bu gibi bazı dezavantajları özellikle sağlık açısından risk oluşturması gerekçesiyle daha doğal kaynaklara yönelimi sağlamıştır. Bu bağlamda antibiyotiklere alternatif olarak birçok yem katkı maddesi gündeme gelmiştir. Bunlar arasında prebiyotikler, probiyotikler, ekzojen enzimler, dikarboksilik asitler ve bitki ekstraktları ya da ikincil biyoaktif bitki metabolitleri bulunmaktadır (Wallace, 2004).

1.3.2. Prebiyotikler

Prebiyotikler, kolonda bir veya sınırlı sayıda bakterinin büyümesini ve/veya aktivitesini seçici olarak uyaran ve böylelikle konakçının sağlığını geliştirerek olumlu bir şekilde etkileyen, sindirilemeyen gıda bileşenleri olarak tanımlanmıştır (Gibson ve Roberfroid, 1995). Probiyotikler, uygun gıdalara (genellikle fermente edilmiş sütler) eklenen canlı mikrobiyal yem takviyeleriyle, prebiyotikler, kolonda seçici bir metabolizmaya sahip olan ve arzu edilen bakterilerin sayısını arttıran diyet karbonhidratlarıdır (Gibson ve Fuller, 2000). Bir gıda bileşeninin prebiyotik olabilmesi için bazı ayırıcı özelliklere sahip olması gerekmektedir (Collins ve Gibson, 1999):

1. Gastrointestinal sistemin üst kısmında ne hidrolize ne de absorbe edilmeli
2. Kolonda bulunan bir veya sınırlı sayıdaki potansiyel yararlı kommensal bakteriler için seçici substrat olmalı, böylece bakterilerin büyümesini, metabolik olarak aktif hale gelmesini veya her ikisini sağlamalı
3. Kolonik mikroflorayı daha sağlıklı yönde değiştirecek sonuçlara yol açmalı.

Mannaoligosakkaritler (MOS), fruktooligosakkaritler (FOS), kitosan oligosakkaritler (COS), alfa-galaktooligosakkaritler (α -GOS), galaktosil laktoz,

inulin, oligofruktoz ve betaglukanlar bu amaçla kullanılan maddeler arasında sayılabilir (Goiri ve ark., 2010; Güçlü ve Kara, 2009; Öztürk, 2008a; Quigley ve ark., 1997 ve Tunç, 2007). Prebiyotikler rumende değişikliğe uğramadan bağırsağa geçebilmeli ve konakçı sağlığını olumlu yönde etkilemelidir (Oral ve Gülmez, 2006 ve Perrin ve ark., 2001). Örneğin, 50:50 kaba:kesif yem rasyonuyla beslenen koyunlarda kitosan (136 mg/kg canlı ağırlık) ilavesinin rumen fermantasyonunu etkilediği, organik madde sindirilebilirliğini düşürmeksizin enerjinin daha etkin kullanılmasını sağladığı bildirilmiştir (Goiri ve ark., 2010). Seankamsorn ve ark. (2020), karışık rasyon diyetlerine %2 kitosan (yengeç ve karideslerin dış kabuklarından elde edilen biopolimer) ve %21 ham gliserin eklenmesinin, gaz kinetiğini veya yem sindirilebilirliğini olumsuz etkilemeden rumen propiyonat konsantrasyonunu arttırdığını ve metan üretimini azalttığını bildirmiştir. Kitosan aynı zamanda, rumen uçucu yağ asidi profilini değiştirerek metan üretimini de azaltabilmektedir (Goiri ve ark., 2010). MOS, mayaların hücre duvarından ekstrakte edilir. FOS, yer elması, şeker pancarı, muz, arpa, sarımsak ve soğan gibi bitkilerde bulunur. MOS ve FOS kalın bağırsaktaki *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi türlerin artmasına katkıda bulunur (Güçlü ve Kara, 2009). Oligosakkaritlerin ruminant yemlerine ilave edilmesiyle bunları tüketen ruminantların komplement sistemleri aktive olmakta ve immunglobulinlerin etkinliği artmaktadır. Böylece patojen mikroorganizmaların kolonizasyonu önlenmektedir. FOS ilavesi lenfosit sayısını artırmakta, laktoz ilavesi ise fekal bakterileri azaltmaktadır. MOS'lar yemlerdeki mikotoksinleri bağlayıp bağırsak epitellerinden emilimlerini engellemektedir (Güçlü ve Kara, 2009). Prebiyotikler üzerine yapılan çalışmalarda genellikle inulin kullanılmıştır. İnulin bitkilerin depo karbonhidratı halinde bulunan ve fruktoz polimerlerinin karışımına verilen isimdir (Perrin ve ark, 2001). İnulin'in bifidobakteria gelişimini teşvik ettiği ve patojen mikroorganizmalar üzerine inhibisyon yaptığı belirlenmiştir (Alp ve Aslım, 2009). Öztürk (2008a) ve Öztürk (2009) yaptığı *in vitro* rumen denemelerinde inulin'in özellikle ruminal amonyak üretimini baskıladığını göstermiştir.

1.3.3. Probiyotikler

Fuller (1989), probiyotikleri “bağırsaktaki mikrobiyal dengeyi iyileştirerek konakçı hayvanı faydalı şekilde etkileyen canlı mikrobiyal yem katkısı” olarak tanımlamıştır. Probiyotikler, antibiyotikler yerine yem endüstrisinde alternatif olarak kullanılmaktadır. Probiyotikler yem kuru madde tüketimini, selüloz sindirilebilirliğini ve büyüme performansını artırmaktadır (Hassan ve ark., 2020). Bir mikroorganizmanın probiyotik olabilmesi için belirli bazı kriterlere sahip olması gerekir (Buts, 2009; Diler, 2007; Güçlü ve Kara, 2009; Salminen ve ark., 2002; Sarıpınar ve Sulu, 2005 ve Tunç, 2007):

1. Gelişmiş teknikler kullanılarak tanımlanmış güvenilir suşlar olmalı
2. Mide asitliğine ve safra tuzlarına karşı dirençli olmalı
3. Yemden yararlanmayı artırmalı
4. *E.coli* ve *Salmonella* spp. gibi patojenler üzerine inhibitor etki göstermeli
5. Probiyotik suşlar bağırsak epiteline patojenlerden önce tutunabilmeli veya agregasyon oluşturabilmeli
6. Antibiyotik direncini aktarmamalı
7. Alerjiye sebep olmamalı
8. Konağın bağışıklık sistemini stimüle etmeli

Ruminantlarda sıklıkla *Aspergillus oryzae* mantarı ve *Saccharomyces cerevisiae* mayaları probiyotik olarak kullanılmaktadır. Bunlara ilaveten bakteriyel probiyotikler olarak *Lactobacillus*, *Bacteriodes*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Bacillus* ve *Bifidobacterium* türleri de kullanılmaktadır (Alp ve Aslım, 2009 ve Güçlü ve Kara, 2009). Özellikle *Aspergillus oryzae* ve *Saccharomyces cerevisiae*’nin canlı kültürleri ve ekstraktları uzun yıllardır probiyotik yem katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Wallace, 1994). *Aspergillus* ve *Saccharomyces* gibi probiyotik olarak kullanılan fakültatif anaerobik maya ve mantarların genç ruminantların rumeninde oksijeni kullanarak anaerobik mikroorganizmaların sayısını

ve yemlerin sindirebilirliğini artırdığı, laktik asit miktarını düşürdüğü gösterilmiştir. Bu sayede rumen flora ve faunası daha hızlı gelişmekte ve genç ruminantın daha erken süttten kesilmesi sağlanabilmektedir (Beharka ve ark., 1991; Krehbiel ve ark., 2003 ve Wallace ve Newbold, 2007). Aynı zamanda yem katkı maddesi olarak kullanılan maya ve mantarların içerdiği glutamik asit yemin lezzetini de artırmaktadır (Wallace ve Newbold, 2007).

Maya kaynaklı probiyotik ilaveleri rumende laktik asit kullanan bakteriler ve selülitik bakterilerin sayısını artırırken, laktik asit üreten bakterilerin sayısını azaltmaktadır (Diler ve Aydın, 2009). Yine maya ve mantar kullanımının rumende amonyak ve azot konsantrasyonunu düşürdüğü ve duodenuma ulaşan protein miktarını artırdığı bildirilmiştir (Öztürk, 2008b). Patojen mikroorganizmaların bağırsakta tutunduğu bölgelere probiyotik mikroorganizmalar da tutunmakta ve onların besinlerini kullanmaktadır. Bu şekilde patojen mikroorganizmalardan korunmanın bir yolu probiyotiklerin kullanılması olarak belirlenmiştir (Jenkins ve ark., 1999).

1.3.3.1. *Saccharomyces cerevisiae*

Mayalar bitki sistematğinde mantarlar aleminde yer almakta ve bilinen 50000 mantar türünden 500 tanesi maya olarak sınıflandırılmaktadır. En iyi tanınan maya türü ekmek ya da bira mayası olarak da bilinen *Saccharomyces cerevisiae*'dir (Barnett, 1992).

İnaktive edilmiş ölü mayalar, hayvan beslemede yem maddesi olarak uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Örneğin, 1925 yılında yayınlanmış bir makalede yemlik mayanın süt ineklerinde kullanımından bahsedilmektedir (Eckles ve Williams, 1925). Bu tür inaktif mayalar yüksek protein ve vitamin içerikleri nedeniyle sadece besin maddesi olarak önem taşırlar. Günümüzde kullanılan canlı maya kültürleri ise rumendeki mikrobiyel fermentasyonu düzenleyen probiyotik

ajanlar olarak çalışmaktadır. Bununla birlikte mayanın canlı olması probiyotik özelliklere sahip olacağı anlamına gelmemektedir. *Saccharomyces cerevisae* 1000'den fazla suşa sahiptir. Bu suşlardan bugüne kadar sadece birkaç tanesinin probiyotik özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Öztürk, 2008b). Probiyotik mayaların rumendeki etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte aşağıda belirtilen şekilde etkiyerek rumen metabolizmasını modifiye etmektedir (Öztürk, 2003 ve Öztürk, 2008b):

1. Özellikle selülitik ve laktitik bakterilerin metabolizmasını ve üremesini aktive ederler. Bu sayede yem sindirimini ve duodenuma geçen mikrobiyel protein miktarını artırır. Yemlerine *Saccharomyces cerevisae* eklenen hayvanlarda canlı bakteri sayısının %50 oranında arttığı gözlemlenmiştir. Bakteriyel etkinlik de buna bağlı olarak artmıştır (Öztürk, 2003; Öztürk, 2008b ve Wallace ve ark., 1993).

2. Rumendeki oksijeni kullanarak anaerobik şartlara katkı sağlarlar. Rasyonlara maya kültürü eklenmesi, lif sindiren bakterilerin etkinliğini artırmıştır (Öztürk, 2003; 2008b ve Wiedmeier ve ark., 1987). Bunun sebebi mayaların oksijeni tüketerek rumen ortamını anaerobik bakteriler için daha optimal hale getirmesidir (Chaucheyras-Durand ve ark., 2008; Öztürk, 2003 ve Öztürk, 2008b).

3. *Selenomonas ruminantium* ve *Megasphaera elsdenii* gibi laktitik bakterilerin gelişimini uyarak ve *Streptococcus bovis* gibi laktat üreten bakterilerle substrat için yarışarak rumen pH'sını stabilize ederler. Aynı zamanda mayalar rumen pH'sını, *Entodiniomorphid* protozoonları stimüle ederek de değiştirebilir. Bu protozoonlar, amilolitik bakterilerle nişasta için yarışır, laktat oluşumunu önleyebilir ve nişastayı UYA'lara parçalar (Chaucheyras-Durand ve ark., 2008; Öztürk, 2003; Öztürk, 2008b ve Williams ve Coleman, 1997).

4. Rumende metan üretimini baskılayarak yem enerjisinin daha verimli kullanılmasına aracılık ederler. Mayalar, ruminal asetik asit/propiyonik asit oranını düşürürken, propiyonat ve valerat miktarını artırır (Harrison ve ark., 1988; Öztürk, 2003; Öztürk, 2008b ve Wallace, 1994).

1.3.3.2. *Aspergillus oryzae*

Maya ekstraktları ve *Aspergillus oryza* (AO) fermantasyon ürünleri insan gıdalarında yaygın bir şekilde lezzet artırıcı olarak kullanılmaktadır (Wallace ve Newbold, 1995). *Aspergillus oryza*'nın aktivitesinden, salgıladığı enzimler (selüloz, ksilinaz ve fenolik asit esterleri) sorumludur. İçerdiği enzimler bitki hücre duvarını sindirebilme özelliğine sahiptir (Varel ve ark., 1993). *Aspergillus oryza* enzimlerinin, bitkilerin farklı kısımlarında farklı etkiler oluşturdıkları gözlenmiştir. Örneğin kaba yonca samanının sindirilebilirliğini artıran AO'nun, darı tanesi ve buğday samanı sindirilebilirliği üzerine etkili olmadığı bildirilmiştir (Gomez ve ark., 1990).

Aspergillus oryzae eklenmesinin rumen fermantasyonu üzerine etkileri oldukça sınırlı olmakla birlikte değişkenlik gösterir (Hobson ve Stewart, 1997). Ruminal pH, metan üretimi, ruminal mikroflora, aminoasit deaminasyonu ve mikrobiyel azot miktarı üzerine değişken etkiler gözlenmektedir (Firkins ve ark., 1990; Frumholtz ve ark., 1989 ve Wiedmeier ve ark., 1987). *Aspergillus oryza* ile yapılan çalışmalarda selüloolitik bakterilerin arttığı ve sellüloolitik enzimlerin salınımının arttığı gözlenmiştir (Fondevila ve ark., 1990; Schmidt ve ark., 2004 ve Wiedmeier ve ark., 1987). Selüloolitik bakterilerin sayısındaki artışlar ayrıca lif sindiriminin artmasına da katkıda bulunur. *Aspergillus oryza* eklenen yemle beslenen ruminantlarda lifli bitki materyallerinin infiltrasyonu ve yıkımlanmasında artış gözlenmiştir (Chang ve ark., 1999). *Aspergillus oryza*'nın anaerobik mantarlar ve protozoonlar üzerindeki etkileri hakkında farklı bildirimler bulunmaktadır (Wallace ve Newbold, 1995). Frumholtz ve ark. (1989) ve Newbold ve ark. (1993), AO ile beslenen ruminantların rumeninde protozoon sayılarının daha düşük çıktığını neredeyse yarıya kadar azaldığını

bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise protozoon sayılarının yükseldiği bildirilmiştir (Oellermann ve ark., 1990). Oellermann ve ark. (1990), AO eklemesi ile rumendeki mantarların arttığını ancak anaerobik mantarların bu artıştan etkilenmediğini tespit etmiştir. *Aspergillus oryza*'nın ruminal sellüloolitik mantarları artırdığı da bildirilmiştir (Harper ve ark., 1996).

Aspergillus oryzae'nin ruminant rasyonlarına laktasyonun değişik dönemlerde katılmasıyla değişik sonuçlar elde edilmiştir. *Aspergillus oryza* verilen laktasyon dönemindeki ineklerde kuru madde ve asit-deterjan-fiberin sindiriminde artış görülmüştür, ancak süt üretimi veya yem alımında değişiklik gözlenmemiştir. Kurudaki ineklerle yapılan çalışmalarda ise kuru madde, hemiselüloz ve ham protein sindirimi artmıştır (Van Hom ve ark., 1984 ve Wiedmeier ve ark., 1987), ancak UYA üretimi etkilenmemiştir (Gomez ve ark., 1990). Uçucu yağ asitleri üzerine yapılan başka bir çalışmada, AO ekstraktının, UYA'ları artırdığı saptanmıştır (Harper ve ark., 1996). Laktasyonun erken dönemlerinde verilen AO'nun süt üretimini artırdığı bildirilmiştir (Kellems ve ark., 1990).

Aspergillus oryza'nın bir rumen mantarı olan *Neocallimastix frontalis* üzerine etkilerinin incelendiği bir çalışmada AO fermantasyon ekstraktının, *N. frontalis*'in gelişim hızını ve biyokütlesi ile *N. frontalis*'in salgıladığı selüloz enzimini artırdığı gösterilmiştir. Artan enzimatik aktivite sonucu bitki liflerine tutulma ve liflerin yıkımlanması artmıştır (Chang ve ark., 1999; Harper ve ark., 1996; Schmidt ve ark., 2004 ve Welch ve ark., 1996). *Aspergillus oryza*'nın bazı selüloolitik rumen bakterileri (*Ruminococcus albus* ve *Fibrobacter succinogenes*) üzerine etkileri ise biyokütlenin, büyüme hızının ve selüloolitik aktivitenin yükselmesi şeklindedir. *Aspergillus oryza* etkisine maruz kalan rumen bakterilerinin daha fazla UYA ürettiği de bildirilmiştir (Beharka ve Nagaraja, 1998 ve Waldrup ve Martin, 1993).

1.3.4. Enzimler

Enzimler, reaksiyonların hızını artıran ve substratların ilişki kurulması amacıyla birbirine yakınlaşmasını sağlayan globüler proteinler ve biyolojik katalizörlerdir. Rumendeki yüksek hidrolitik enzim aktivitesinden dolayı ruminant beslemede enzim kullanımı çok gündeme gelmemiştir. Ancak gelişen teknolojiyle ve yeni biyoteknolojik enzim ürünlerinin geliştirilmesiyle, enzim kullanımına ilgi artmıştır. Son zamanlarda, *in vitro* rumen sindirim çalışmalarında eksojen fibrinolitik enzimlerin yemlerin sindirilebilirliğini arttırdığı bildirilmiştir (Li ve ark., 2019 ve Santoso ve ark., 2020). Bu bağlamda ruminant beslemede enzim kullanımı son zamanlarda oldukça popüler bir hale gelmiştir (Beauchemin ve ark., 2003). Enzimler genellikle tek mideli hayvanlarda (özellikle broylerlerde) yemden yararlanmanın artırılması amacıyla yeme katılmaktadır (Rode ve ark., 1999). Çiftlik hayvanlarında kullanılan enzim çeşitleri: *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus faecium* bakterileri, *Trichoderma longibrachiatum*, *Trichoderma reesei* mantarları ve *Saccharomyces cerevisiae* mayasından elde edilmektedir (McAllister ve ark., 1996). Özellikle selüloz ve hemiselüloz enzimlerini mutlaka içeren ve endoglukanaz, ekzoglukanaz, ksilanaz, proteaz ve β -glukosidaz enzimleri ile çeşitli kombinasyonlar oluşturulmuş birçok ticari karışım ruminant beslenmesinde kullanılmaktadır. Yemlerle alınan bitkilerin hücre duvarlarının rumende hidrolize edilmesinde bu karışımlar büyük yarar sağlamaktadır (Adesogan, 2009).

Yapılan çalışmalarda çoğunlukla ruminant yemlerindeki hücre duvarı unsurlarını parçalamak ve sindirimin niteliğini artırmak için fibrinolitik enzimler incelenmiştir (Güçlü ve Kara, 2009). Ekzojen enzimler rumende ya direkt olarak ya da mikroorganizmalarla sinerjik şekilde çalışarak yem maddelerinin sindirimini artırmaktadırlar. Ruminant yemlerine ekzojen enzim ilavesi ile rumendeki ve ince bağırsaktaki fibrinolitik enzimlerin aktivitesi yükselir (McAllister ve ark., 1996). Sindirim başlamadan önce enzimlerin etkisi hidroliz üzerine görülür. Enzimler hücre duvarı polisakkaritlerinin glikoz bağlarını hidrolize ederler. Sindirimden sonra mono-

disakkaritlerin oluşmasında rol oynar ve bakteriler tarafından salınan enzimlerle enzim kompleksi oluşturarak substrat ve mikroorganizma arasındaki bağı kuvvetlendirirler (Beauchemin ve ark., 2003 ve Rode ve ark., 1999). Ekzojen amilaz enzimi ilavesiyle sindirim düzeyinin arttığı görülmüştür. Ekstansif besleme şeklinde amilaz kullanımı, besin maddelerinin sindirimini etkilemediği halde (DiLorenzo ve ark., 2010) kuru madde alımını ve günlük canlı ağırlık kazancını artırmıştır (Tricarico ve ark., 2007). Kruger ve ark. (2008), fibrinolitik enzimleri çeşitli yollarla ruminantlara vermiş ve bütün yöntemlerde kuru madde sindiriminin arttığını gözlemlemişlerdir.

1.3.5. Fitokimyasallar

Fitokimyasallar ya da bitki ikincil metabolizma ürünleri bitkilerde bulunan ve birincil olarak biyokimyasal süreçlere katılmayan, bitkinin büyümesi ve gelişmesinde katkısı olmayan kimyasal bileşiklerdir. Bu bileşikler, bitkiyi oluşturan yapıların ve üreme organlarının böceklerle karşı savunmasında elzemdir (Patra ve Saxena, 2009 ve Tedeschi ve ark., 2021). Bitkiler çok geniş çeşitlilikte organik bileşikleri, ikincil metabolizmaları sayesinde büyümeleri ve gelişmeleriyle direk alakalı olmayan yollarla üretebilmektedir (Balandrin ve Klocke, 1985). Bu organik bileşikler yakın zamana kadar sadece bitkilerin kokusunu, tadını ve rengini veren maddeler olarak anılmış ve atık ürünler sınıfında değerlendirilmiştir. Ancak yapılan araştırmalar sonucu bitkinin çevresiyle ilişkisine yardım ettiği ve hatta bazı maya, bakteri ve mantar istilalarına karşı savunmada rol oynadıkları görülmüştür (Croteau ve Gershenzon, 1991). Ruminal fermentasyonunun etkinliğini artırmaları, protein metabolizmasını olumlu yönde etkilemeleri, metan üretimini azaltmaları, timpaniyi önlemeleri, konjuge linoleik asit (CLA) oluşumunu arttırmaları, alternatif büyüme uyarıcısı potansiyeline sahip olmaları ve hayvan sağlığı ve üretimini olumlu yönde etkilemeleri nedenleriyle fitokimyasallar hakkında çok fazla çalışma yürütülmüş (Benchaa ve ark., 2007 ve Patra ve ark., 2006), doğal veya doğala özdeş farklı ürünler bu bağlamda ticari olarak pazara sunulmuştur (Kutlu ve Serbester, 2014).

Rumende metanojenik arkeler protozoonlara yakın hatta onların endoplazmik veziküllerinde yaşamakta ve protozoon metabolizmasının son ürünü olan hidrojen iyonlarını kullanarak metan gazı üretmektedirler (Krumholz ve ark., 1983). Fitokimyasallar rumendeki protozoonları baskılayarak metan üretimini dolaylı olarak düşürürler. Karvakrol, sinemaldehit, timol, eugenol, gayakol, limonen, vanilya (*Vanilla planifolia*), biberiye (*Rosmarinus officinalis*), çördük otu (*Hyssopus officinalis*), adaçayı (*Salvia officinalis*), karanfil (*Syzygium aromaticum*), keklik otu (*Origanum vulgare*), tarçın (*Cinnamomum*), kekik (*Thymus vulgaris* L.) ve portakal kabuğu yağından oluşan esans yağ karışımı, nane yağı, metanol ekstrektı, gardenya (*Gardenia jasminoides*), ebegümeci (*Malva vulgaris*), okaliptüs (*Eucalyptus*) ve nane (*Mentha*) eterik yağları, anason (*Pimpinella anisum*), kırmızıbiber (*Capsicum*) ve sarımsak (*Allium sativum*) bu yolla kullanılan maddelere örnektir (Kutlu ve Serbester, 2014).

Fitokimyasallar ilk olarak flavonoidler (%9), terpenoidler (%55) ve alkaloidler (%36) olmak üzere üç gruba ayrılabilir. Flavonoidlere örnek olarak tanenleri verebiliriz. Terpenoidler içerisinde saponinler ve eterik yağları gösterebiliriz. Alkaloidler ise yüksek miktarda azot içeren kimyasal bileşikler olmakla birlikte henüz ruminant beslenmesinde yem katkı maddesi olarak değerlendirilmemişlerdir (Tedeschi ve ark., 2021).

1.3.5.1. Flavonoidler

Flavonoidler, flavon adı verilen üç karbonlu bir köprü ile birbirine bağlanan iki aromatik halkadan ve on beş karbondan oluşan polifenolik bileşiklerdir. Tanenler polifenolik bileşenlerin önemli bir alt sınıfıdır (Tedeschi ve ark., 2021).

1.3.5.1.1. Tanenler

Tanenler suda eriyebilen, yüksek molekül ağırlıklı ve proteinleri denatüre edebilen polifenolik bileşiklerdir. Ağaç, çalı, tohum ve tahıllarda bulunup, bunların besin olarak kullanımını sınırlamaktadırlar (Patra ve Saxena, 2009). Polifenolik bileşikler içinde tanenler, ruminant beslenmesinde en fazla kullanılan bileşiklerdendir (Cheeke, 1996). Çünkü proteini bağlayarak rumende normalde hızla yıkımlanan proteinlerin yıkımlanmasını azaltmaktadır (Wallace ve ark., 2002). Tanenlerin iki çeşidi vardır (Jiang ve ark., 2000):

- Hidrolize olabilir tanenler (gallik asit deriveleri)
- Yoğunlaştırılmış tanenler

Keçi boynuzundan elde edilen tanenlerin selüloolitik ve proteolitik bakterileri inhibe ettiği saptanmıştır (Tagari ve ark., 1965). Vera ve ark. (2021), Rusitec sistemde kaba yemin konsantre yeme oranı 70:30 ve 30:70 olan iki farklı diyetle polifenolik çam kabuğu ilave etmiş ve ruminal fermentasyon parametreleri olumsuz etkilenmeksizin amonyak azotunun azaldığını gözlemlemişlerdir. Ancak Zelter ve ark. (1970), kestane taneni ile yaptıkları çalışmada selüloolitik bakterilerin inhibe olmadığını görmüş ve farklı bitkilerden elde edilen tanenlerin farklı etkilere sahip olacağını bildirmişlerdir.

Tanenlerin mikroorganizmalara olan toksik özelliği, moleküler ağırlıklarıyla doğru orantılıdır (Okuda ve ark., 1985). Tanenler aynı zamanda rumen mantarlarına da etkir, selüloza zoospor tutunmasını önleyerek selüloolizi önler (Patra ve Saxena, 2009).

1.3.5.2. Terpenoidler

Fitokimyasallar içerisinde %55'lik oranıyla terpenoidler büyük yer kaplamaktadır. Terpenoidler arasında en çok saponinler ruminant beslenmesi yönünden araştırılmıştır (Tedeschi ve ark., 2011). Eterik yağlar da terpenoidler sınıflandırmasında yer almaktadır ve özellikle insan sağlığını tehdit eden yem katkı maddelerinin yasaklanmasından sonra araştırmalara konu olmuştur (Lillehoj ve ark., 2018 ve Tedeschi ve ark., 2021).

1.3.5.2.1. Saponinler

Saponinler fitokimyasal bileşikler ve yüksek molekül ağırlıklı glikozidlerdir. Çoğu bitki çeşidinde bulunur ve genelde sabun üretiminde kullanılırlar (Francis ve ark., 2002 ve Wallace ve ark., 2002). Yapılan çeşitli çalışmalarla saponinlerin antiprotozoal etkileri olduğu belirlenmiştir (Patra ve Saxena, 2009 ve Wallace ve ark., 2002). Saponinlerin biyolojik etkileri, membranlar üzerinde özel por oluşturma kabiliyetlerinden ileri gelmektedir (Authi ve ark., 1988; Choi ve ark., 2001; El Izzi ve ark., 1992 ve Plock ve ark., 2001). Saponinlerin eritrosit membranı üzerine lize edici etkisi (hemolitik) olduğu bilinmektedir ve bu özellik aynı zamanda saponinlerin keşfine yol açmıştır. Saponinlerin bu hemolitik aktivitesi membran sterollerinin (özellikle kolesterolün) aglikan kısmına affinite göstermelerinden ileri gelmektedir (Glauert ve ark., 1962). Tüm rumen mikroorganizmalarından özellikle protozoonlar, hücre zarındaki saponine bağlı değişikliklere en duyarlı olan mikroorganizma grubudur (Moss ve ark., 2000). Son zamanlarda bazı tropikal bitkiler defaunasyon amacıyla kullanılmıştır. Bu bitkilerin ortak yanı ise saponinlerden zengin olmalarıdır. Saponinlerle defaunasyon, diğer yöntemlerle defaunasyon yapılmasından daha güvenli bulunmuştur (Newbold ve ark., 1997 ve Odenyo ve ark., 1997). Saponinler sindirim kanalından çok kısıtlı miktarlarda emildiğinden etkilerini kanalda uzun süre kalarak gösterebilirler (Cheeke, 1996). Aynı zamanda saponin ve saponin içeren

bitkilerin antimikrobiyel etkileri de bu maddenin tercih edilebilirliğini artırmaktadır (Wallace ve ark., 2002).

1.3.5.2.2. Eterik Yağlar

Eterik yağlar kendine has kokusu olan, uçucu, organik olarak çözünebilir, kompleks ikincil metabolitlerdir ve çeşitli bitki bölümlerinden ekstrakte edilirler. Bakteri, mantar veya böcek saldırılarına karşı koruyucu rolleri nedeniyle birçok bitkide bir dereceye kadar bulunurlar (Patra ve Saxena, 2009 ve Yang ve ark., 2007). Bitki türlerine ve bitkinin hangi bölümünden elde edildiğine göre eterik yağ bileşimi değişmektedir (Dorman ve Deans, 2000). Bazı eterik yağların antimikrobiyel özelliği vardır ve antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabilir (Adesogan, 2009). Eterik yağların antimikrobiyal özelliği bakteri, protozoon ve mantarlar olmak üzere geniş bir mikroorganizma grubunu kapsamaktadır (Chao ve ark., 2000). Eterik yağlar çok çeşitli bileşime, yapıya ve aktiviteye sahip olarak karakterize edilirler. En önemli aktif bileşenleri terpenoidler (monoterpenoidler ve seskiterpenoidler) ve fenilpropanoidler olmak üzere iki kimyasal grup altında incelenebilir. Bu gruplar eterik yağların bitkinin farklı birincil metabolizma ürünlerinden olması ve farklı metabolik yollarla sentezlenmesinden ileri gelir (Calsamiglia ve ark, 2007). Bitki eterik yağları genellikle odunsu olmayan bitki materyallerinden, hidrodistilasyon ve buharlaştırma yöntemleri başta olmak üzere distilasyon yöntemleriyle elde edilmektedirler. Özellikle monoterpenler (C_{10}), seskiterpenler (C_{15}) başta olmak üzere bazen diterpenlerin de (C_{20}) dahil olduğu terpenoidlerin farklı karışımlarda bir araya gelmesiyle oluşurlar. Ayrıca düşük ağırlıklı alifatik hidrokarbonlar, asitler, alkoller, aldehidler, asiklik esterler, laktonlar, nitrojen ve sülfür içerikli bileşikler, kumarinler ve fenilpropanoid benzeri maddeler de yapılarına katılabilir (Dorman ve Deans, 2000).

Bitki ve bitki ekstraktları, özleri, tat verici özellikleri, antiseptik ve/veya koruyucu özellikleri nedeniyle insanlar tarafından eski zamanlardan beri (M.Ö. 2600

Mezopotamya) kullanılmıştır (Burt, 2004 ve Greathead, 2003). Eterik yağların antimikrobiyal aktivitelerini, Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler dâhil olmak üzere çok çeşitli mikroorganizmalara karşı gösterdiği gösterilmiştir. Bu antimikrobiyel aktivite eterik yağların içeriğindeki terpenoid ve fenolik bileşiklere atfedilmiştir (Chao ve ark., 2000 ve Panizzi ve ark., 1993). Eterik yağların Gram pozitif bakteriler üzerine etkisi Gram negatiflere nazaran daha fazla bulunmuştur. Bunun sebebi Gram negatif mikroorganizmaların ekstra bir dış membrana sahip olmalarına bağlanmıştır (Burt, 2004 ve Ratledge ve Wilkinson, 1988). Ancak yapılan başka bir çalışmada eterik yağların küçük olmalarından dolayı Gram negatif bakterilerin hücre zarına da tutunabildikleri bildirilmiştir (Benchaar ve ark., 2008). Eterik yağların kimyasal bileşenleri ve bu bileşenlerin ne oranda olduğu antimikrobiyel özelliklerini etkilemektedir (Burt, 2004 ve Dorman ve Deans, 2000). Bir eterik yağın oluşturacağı etki iki eterik yağın birleşmesiyle farklılaşabilmektedir. Kekik eterik yağı ve onun iki ana bileşeni olan timol ve karvakrolün *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı minimum inhibitör konsantrasyonu değerlendirilmiştir, timol ve karvakrol kombinasyonunun antibakteriyel aktivitesi, timolün ve karvakrolün tek başına antibakteriyel etkilerinden daha yüksek bulunmuştur. Kekik eterik yağının inhibitör etkisinin esas olarak bu iki bileşiğin birlikte etki etmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (Lambert ve ark., 2001). Eterik yağın elde ediliş şekli de antimikrobiyel etkisini değiştirmektedir. Örneğin, dereotu (*Anethum graveolens* L.) eterik yağı zayıf antimikrobiyal aktiviteye sahipken, aynı eterik yağın damıtılması ile elde edilen kimyasal bileşenler D-limonen ve karvonun daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediği gözlenmiştir (Delaquis ve ark., 2002).

Eterik yağların içeriğindeki çok sayıda bileşen göz önüne alındığında, antibakteriyel aktivitelerinin tek bir etki mekanizmasından kaynaklanmadığı ve bakteriyel hücrenin hedef alındığı birkaç mekanizma olduğu düşünülmektedir (Burt, 2004; Carson ve ark., 2002 ve Skandamis ve ark., 2001). Çoğu eterik yağın, elektron transportu, iyon gradyanları, protein translokasyonu, fosforilasyon ve diğer enzime bağımlı reaksiyonlar dahil olmak üzere, bakteriyel hücre membranı ile etkileşime

girerek antimikrobiyal aktivitelerini gösterdiklerine inanılmaktadır (Dorman ve Deans, 2000 ve Ultee ve ark., 1999). Eterik yağlar, lipit yapıdaki bakteri hücre zarına yüksek affinite göstermektedirler. Bu durum eterik yağların hidrofobik doğası ve lipofilik karakteriyle açıklanabilmektedir (Benzaar ve ark., 2008). Gram pozitif bakterilerin, Gram negatif bakterilere nazaran bitki eterik yağ komponentlerinin antibakteriyel etkisine daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Bu durumun sebebinin Gram negatif bakterilerin, hücre duvarlarını çevreleyen ve hidrofobik bileşiklerin erişimini sınırlandıran ekstra bir bariyere sahip olmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir (Burt, 2004). Ancak yapılan başka bir çalışmada timol ve karvakrol fenolik maddelerinin Gram negatif bakterileri de dış bariyerlerini parçalayarak etkilediği ve bu durumun düşük molekül ağırlıklı eterik yağların, Gram negatif bakterinin iç membranına sızmasından ileri geldiği öne sürülmüştür (Helander ve ark., 1998 ve Nikaido, 1994).

Eterik yağların antimikrobiyel etkisi, çeşitli araştırmacıları bu maddelerin rumen metabolizmasına etkilerini değerlendirmeye yöneltmiştir. Eterik yağların bileşenlerinin kapsamı oldukça geniştir ve bunların çoğu ruminal fermentasyona etkileri yönünden hala kapsamlı olarak araştırılmamıştır. Bunun yanında eterik yağlarla yapılan çalışmaların çoğu *in vitro* koşullarda yapılmış, *in vivo* denemeleri yapılmamıştır. Eterik yağların ruminal fermentasyona etkisi ilk kez gaz üretimi baz alınarak ölçülmüştür (Oh ve ark., 1967 ve Oh ve ark., 1968). Eterik yağların ruminal fermentasyon üzerine temel etkisi nişasta ve proteinin parçalanması ile aminoasit yıkımının önlenmesidir (Hart ve ark., 2008). Eterik yağlar genellikle yüksek protein içerikli diyetlerde kullanılır. Douglas köknarının iğne yapraklarından elde edilen eterik yağın ruminal fermentasyona etkisi *in vitro* şartlar altında incelenmiş ve ruminal bakteri aktivitesi üzerine inhibitörük etki yaptığı gözlenmiştir (Oh ve ark., 1967).

Birçok çalışma eterik yağların farklı kimyasal kompozisyonda ve dozda incelendiğinde ruminal azot metabolizmasına etkisinin de farklı olacağını göstermektedir. Busquet ve ark. (2005b), 1320 ml’lik fermenterler ile çalıştıkları bir

çalışmada, karanfil tomurcuğundan (*Syzygium aromaticum*) elde ettikleri eterik yağın (2,2 mg/l/fermenter) sürekli kültür ortamında NH₃-N konsantrasyonunu değiştirmediyi, ancak bakteriyel peptidolitik aktiviteyi baskıladığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacıların yaptıkları diğer çalışmada ise aynı konsantrasyonda (3000 mg/l) hem kekik eterik yağı hem de kekik yağı komponenti karvakrol, NH₃-N konsantrasyonunu azaltmıştır (Busquet ve ark., 2006). Castillejos ve ark. (2006), artan dozlarda (5, 50, 500 ve 5000 mg/l) farklı eterik yağ bileşiklerini *in vitro* deney şartlarında 24 saat rumen sıvısı içerisinde inkübasyona bırakmış ve farklı etkiler gözlemlemişlerdir. Vanilinin aldehid formu NH₃-N konsantrasyonuna etki etmezken (5, 50, 500 mg/l), monoterpen limonen (500 mg/l) ve fenolik ögenol (5, 50 ve 500 mg/l) NH₃-N konsantrasyonunu azaltmıştır (Castillejos ve ark., 2006). Eterik yağların farklı dozlarından farklı etkilerin elde edilmiş olması kimyasal bileşimin etkisinin ne kadar önemli olduğunu göstermektedir. Busquet ve ark. (2006)'nın çalışmasında anason yağı, katran ardıcı yağı, kırmızıbiber yağı, tarçın yağı, karanfil tomurcuk yağı, dereotu yağı, sarımsak yağı, zencefil yağı, kekik yağı ve çay ağacı yağı ile bunların ana bileşenleri anethol, benzil salisilat, karvakrol, karvon, sinnamaldehit ve ögenol, çeşitli rumen parametrelerine etkileri yönünden çeşitli dozlarda incelenmiş, pH, toplam UYA, asetik asit, propiyonat, bütirat, isobütirat, isovalerat ve NH₃-N miktarlarında farklı dozlarda farklı etkilere sebep olmuşlardır. Bu durumda eterik yağların etkilerinin uygulanan karışım ile doza oldukça bağımlı olduğu görülmektedir.

Eterik yağların ve eterik yağ bileşenlerinin uçucu yağ asidi profili üzerine farklı etkileri gözlenmiştir. *In vitro* bir çalışmada, ana bileşenleri timol, limonen ve gayakol olan ticari eterik yağ karışımından 1,5 mg/l fermenterlere tatbik edilmiş ve toplam UYA miktarının arttığı gözlenmiştir. Deney düzeneğine her gün, 1:9 kaba:konsantre ve 6:4 kaba:konsantre yemlerden ilave edilmiş ve kültürlerin sürekliliği sağlanmıştır (Castillejos ve ark., 2005). Uçucu yağ asiti üretimi eterik yağ eklenen diyetlerin kompozisyonuna da bağlıdır. Benchaar ve ark. (2007), ticari bir eterik yağ bileşimini 750 mg/gün olacak şekilde alfalfa silajı ile beslenen laktasyondaki inekler üzerinde denemiş ve toplam UYA miktarının arttığını

gözlemlemişlerdir, ancak mısır silajı ile beslenen süt ineklerinde toplam UYA miktarı azalmıştır. Genel olarak, eterik yağlar ya da bileşenleri ile yapılan çoğu çalışmada toplam UYA konsantrasyonu azalmış ya da değişmemiştir. Bu durum eterik yağların antimikrobiyal etkilerinin bir sonucu olabileceği gibi doza bağımlı da olabilir. Örneğin Busquet ve ark. (2006), çeşitli fitokimyasalların (anason yağı, katran ardıcı yağı, kırmızıbiber yağı, tarçın yağı, karanfil tomurcuk yağı, dereotu yağı, çemen otu, sarımsak yağı, zencefil yağı, kekik yağı, çay ağacı yağı ve yucca) ve ikincil bitki metabolitlerinin (anethol, benzil salisilat, karvakrol, karvon, sinnamaldehid ve ögenol) 3 g/l'ye kadar değişen dozlarda, 24 saatlik *in vitro* kültürde rumen fermantasyonu üzerinde etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak eklenen eterik yağların ve komponentlerin hiçbirisi toplam UYA'ları artırmamıştır ancak en yüksek konsantrasyonda (3 g/l) çoğu toplam UYA miktarını azaltmıştır. Bazı çalışmalar, belirli eterik yağ ve bileşenlerinin, UYA'ların molar oranlarını, monensin etkisine benzer bir şekilde (azalan asetat ve artan propiyonat) değiştirdiğini göstermiştir (McGuffey ve ark., 2001). Mohammad ve ark. (2004), siklodekstrin ile kapsüllenmiş yaban turpu eterik yağının hem *in vitro* hem *in vivo* olarak A:P oranını azalttığını belirtmişlerdir. Busquet ve ark. (2005a), bir *in vitro* sürekli kültür çalışmasında iki farklı dozda (31,2 ve 312 mg/l kültür sıvısı) sinnamaldehid ve sarımsak yağının etkilerini araştırmışlardır. Düşük sinamaldehyt dozunda (31,2 mg/l) ve yüksek sarımsak yağı dozunda (312 mg/l) asetat miktarı azalmış, propiyonat miktarı ise artmıştır. Butiratin molar oranı yüksek dozda artmıştır. Evans ve Martin (2000), bahçe kekiği (*Thymus vulgaris*) ve mercan köşkü (*Origanum vulgare*) bitkilerinden elde edilen eterik yağların bir ana bileşeni olan timolün (400 mg/l) *in vitro* olarak güçlü bir metan inhibitörü olduğunu, ancak asetat ve propionat konsantrasyonlarını da azalttıklarını gözlemlemişlerdir. Busquet ve ark. (2005a), sarımsak yağının (312 mg/l), azalmış metan üretimiyle tutarlı bir şekilde asetat oranını düşürdüğünü ve propiyonat oranını artırdığını *in vitro* bir çalışmayla bildirmiştir. Patra ve ark. (2005), karanfilin etanol ve metanol ekstraktlarının ve rezenenin metanol ekstraktının *in vitro* olarak metan üretimini baskıladığını, yem sindirilebilirliğini ise azalttığını bildirmişlerdir.

1.3.5.3. Alkaloidler

Alkaloidler, çevresel etkenlere karşı savunma amaçlı bitkiler tarafından sentezlenen nitrojen bazlı kimyasal bileşiklerdir. Zararlı konakçılar tarafından alındıktan sonra alkaloidler konakçı üzerinde fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açmaktadır. Alkaloidlerle yapılan çoğu çalışma, fitokimyasal yem katkı özelliklerinden ziyade hayvanlar üzerindeki toksikolojik etkileriyle ilgilidir. Akonitin, atropin, kafein, kodein, efedrin, ergotamin, hidrastin ve morfin gibi alkaloidler insanlarda çalışılmıştır ancak yem katkı maddesi olarak incelenmemişlerdir (Tedeschi ve ark., 2021).

1.3.6. İyonik Olmayan Sürfektanlar

İyonik olmayan sürfektanlar ruminal fermantasyonun modifikasyonunda kullanılan bir diğer madde grubudur. İyonik olmayan sürfektanların çalışma prensibi mantar ve bakterilerin enzim üretimlerini artırmasına dayanmaktadır (Wang ve ark., 2004). İyonik olmayan sürfektanlara örnek olarak polietilen glikol (polyoxyethylene), alkil poliglikozid (alkyl polyglycoside) ve polisorbitat (polioksietilen sorbitan monooleate) verilebilir. Bu maddeler organik madde ve nötral deterjan fiber sindirilebilirliğini artırmıştır (DiLorenzo, 2011).

1.3.7. Tampon Maddeler (Hidrojen Prekürsörleri)

Tampon maddeler zayıf asit veya zayıf bazlar olarak nitelendirilirler. Bu asit ve bazlar hidrojen konsantrasyonundaki değişiklikleri önlerler. Yemlere tükürüğün tampon özelliğini tamamlamak için ve rumen asitliğini düzenlemek için katılırlar (Adesogan, 2009). Bu şekilde tampon madde kullanımıyla asidoz riski azaltılabilmektedir.

Sodyum bikarbonat, kireçtaşı, sodyum bentonit, magnezyum oksit bu yönde kullanılan tampon maddelerine örnek olarak verilebilir. Tampon maddelerin genel çalışma şekli pH değişikliğini önleme ya da pH'yı yükseltme şeklindedir. Tampon eklenmesi A:P oranını artırır. Bazı tampon maddeler ruminal osmolalite ile birlikte rumendeki sıvı döngüsünü de hızlandırır. Asetik asit miktarının artmasına bağlı süt verimi de artar (Rogers ve ark., 1982).

1.3.8. Organik Asitler

Organik asitler ruminantlarda rumen fermantasyonunu değiştirerek metan oluşumunu baskılamaktadır (Kutlu ve Serbester, 2014). Laktik asit, propiyonik asit, sitrik asit, asetik asit, formik asit, aspartat, malat ve fumarat gibi dikarboksilik organik asitler yem katkı maddesi olabilme potansiyelleri yönünden incelenmişlerdir (Kutlu ve Serbester, 2014 ve Newbold ve Rode, 2006). Ayrıca yemlerin asitliğini artırarak yemin bozulmasını önlemek, sindirim sistemindeki patojen ve yararlı mikroorganizmalar arasındaki dengeyi korumak, alınan besin maddelerinin sindirim ve emilimini iyileştirmek için çeşitli organik asitler kullanılmıştır (Kaya ve ark., 2012).

Organik asitler esas olarak hidrojen tutucu görevi yapmakta ve hidrojeni propiyonatın oluşumuna kadar korumaktadır (Newbold ve Rode, 2006). Organik asitler birçok yönden iyonofor grubu antibiyotiklere benzerler (Martin, 1998). Hidrojenin ortamdan daha fazla uzaklaştırılması selülitik bakteri aktivitesinin ve selüloz sindiriminin artmasına sebep olmaktadır (Adesogan, 2009).

Organik asitler içerisinde bulunan fumarik asit, metan oluşumunu azaltma amacıyla kullanılan bir yem katkı maddesidir. Elektron havuzu oluşturmamasından ve propiyonatın metabolik olarak öncü maddesi olmasından dolayı tercih edilmektedir (Ungerfeld ve ark., 2007).

Ruminant rasyonlarında organik asitler ile yapılan çalışmalarda, rumendeki metan üretiminde azalma, propiyonik asit miktarında artma ve A:P oranında azalma olduğu rapor edilmiştir (Asanuma ve ark., 1999; Foley ve ark., 2009 ve Martin ve ark., 2000).

1.4. Kapsaisin

Biber (*Capsicum*), *Solanacea* ailesinde patlıcan (*Solanum melongena*), domates (*Solanum lycopersicum*), patates (*Solanum tuberosum*) ve tütün (*Nicotiana tabacum*) ile birlikte yer almaktadır ve kökeni Güney Brezilya ve Bolivya'ya dayanmaktadır (Barboza ve Bianchetti, 2005). Amerika kıtasının keşfiyle (1492) Dünya'da yayılmaya başlayan biber çeşitleri Türkiye'ye 16. yy.'da yani Osmanlı İmparatorluğu döneminde gelmiş ve yoğun bir şekilde üretimine başlanmıştır (Şeniz, 1992 ve Vural ve ark., 2000). Biberin kullanılmaya başlanması ise tarımsal faaliyetlerin başlangıcından da öteye gitmektedir (Pickersgill, 1969). Tarihte ilk biber yetiştiriciliği M.Ö. 7500 yılında yapılmıştır. 1600'lü yıllarda ise ticareti yapılmaya başlanmış ve tüm Dünya'da hızla yayılmıştır (Dewitt ve Gerlach, 1990). Dünya biber üretiminde üçüncü sırada olan Türkiye'de (Abak, 1995) Devlet İstatistik Enstitüsü verilerine göre kırmızıbiber üretiminin yaklaşık %80'i Gaziantep ve Kahramanmaraş illerinde yapılmaktadır (Taydaş, 1993). TÜİK verilerine göre 2020 yılında kırmızı biber üretimi 256.735 ton, 2021 yılında ise 284.694 ton olarak kaydedilmiştir (TÜİK, 2022). Üretilen biberler Türkiye'de taze olarak tüketilmesinin yanı sıra turşu, salça, kurutulmuş biber, toz biber ve közlenmiş biber gibi katma değeri düşük şekillerde piyasaya sürülmektedir (Vural ve ark., 2000).

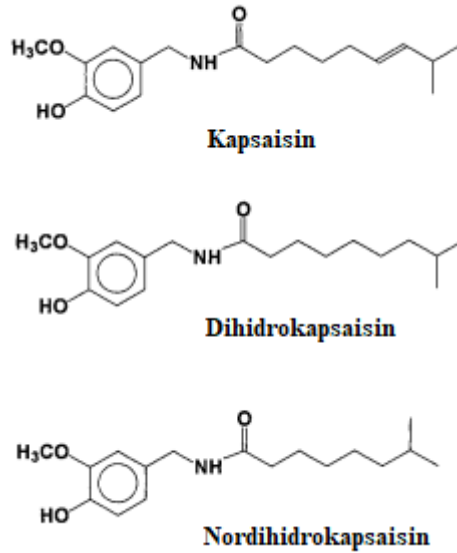
Biber meyvesi (Şekil 1.2.) perikarp, plasenta ve sap olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. Perikarp biberin dış kabuğu, plasenta ise biberin çekirdeklerinin yapıştığı ve biberin sapından ucuna kadar uzanan iç kısmına karşılık gelmektedir. Kapsaisinoidler olarak adlandırılan moleküller en fazla plasentanın interlokular septumundaki epidermal hücrelerde birirmektedir (Canto- Flick ve ark., 2008; Judd

ve ark., 1999 ve Supalkova ve ark., 2007). Perikarp ve çekirdekler ise bu moleküller açısından oldukça fakirdir (Canto- Flick ve ark., 2008 ve Supalkova ve ark., 2007).



Şekil 1.2. Biber Meyvesi.

Kapsaisinoidler ifadesi beş adet molekül için genişletilmiş anlam taşımaktadır. Kapsaisinoidlerin %69'u kapsaisin, %22'si dihidrokapsaisin, %7'si nordihidroksapsaisin, kalan %1'lik kısımlar ise homokapsaisin ve homohidroksapsisini kapsamaktadır (Gudeva ve ark., 2013, Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Kapsaisinoid çeşitlerinin kimyasal yapısı (Kirschbaum-Titze ve ark., 2002).

Biberin acılığı biber çeşidine bağlı olduğu gibi aynı bitkiden elde edilen biberler arasında da farklılık olabilmektedir. Bu farklılığı oluşturan sebepler ise bitkinin olgunluk derecesi ve çevresel faktörlerdir. (Garces- Claver ve ark., 2006). Biberin acılığından kapsaisinoidler, bunlar içerisinde ise %90 oranında kapsaisin ve dihidrokapsaisin molekülleri sorumludur (Bennet ve Kirby, 1968; Govindajaran, 1986; Iwai ve ark., 1979 ve Kosuge ve Furata, 1970). HPLC yöntemiyle yapılan araştırmalarda bu iki molekülün miktarındaki artışın biberin acılık oranının artışıyla doğru orantılı olduğu saptanmıştır (Garces-Claver ve ark., 2006).

Biberin acılığını veren ve acı biberin ana bileşeni olan kapsaisin molekülü triterpenoid grubundan bir karotenoiddir ve kapsikum yağının ana bileşenidir (Tekippe, 2010). Acı biberlerin kapsaisin molekülünü sentezlemelerinin, kapsaisinin antifungal etkisinden kaynaklandığı ve bu yeteneğin yıllar içinde evrimleştiği düşünülmektedir (Tewksbury ve ark., 2008). Kapsaisin doğal olarak acı biberin interlokular septalarında vanililamin molekülüne yağ asidi zinciri eklenmesiyle sentezlenmektedir (Stewart ve ark. 2005).

Kapsaisin ilk olarak 1816 yılında Christian Friedrich Bucholz tarafından ekstrakte edilip “*capsicin*” olarak adlandırılmıştır (Felter ve Lloyd, 1898). John Clough Thresh ise 1876’da kapsaisini saf bir şekilde elde etmiş ve “*capsaicin*” olarak adlandırmıştır. 1878’de Hagyes tarafından “*capsicol*” olarak adlandırılmış ve mukozada tahrişe ve gastrointestinal kanalda salgı artışına sebep olduğu açıklanmıştır (Nelson, 1919). Daha sonra kapsaisinin yapısı açıklanmış ve ilk defa 1930 yılında Späth ve Darling tarafından yapay olarak sentezlenmiştir.

Biberlerdeki kapsaisinoidlerin miktarı kimyasal ve duyuşal yollarla anlaşılabilir. Scoville isimli bir farmakolog 1912 yılında “Scoville Organik Testi’ni (SOT)” geliştirmiştir. Bu test subjektif bir şekilde biberin acılığının ölçülmesine dayanmakta ve günümüzde hala kullanılmaktadır. Daha sonra organoleptik, spektrofotometrik, ince katman kromatografisi, gaz-sıvı kromatografisi ve HPLC gibi yöntemlerle de biberin acılığı tespit edilmiştir (Anan ve ark., 1996 ve

Govindajaran ve ark., 1977). HPLC ise bu anlamda SOT'tan sonra en çok kullanılan analiz yöntemidir (Todd ve ark., 1977). Biberlerde acılık seviyesi SCU (Scoville Units) birimiyle belirtilir. Bosland ve Baral, 2007 yılında dört adet biber çeşidini SCU birimi açısından örneklemiş ve Scoville Organik Testine göre Habanero biberi 100000- 350000, Red Savina biberi 350000- 577000, Naga Jolakia biberi 855000- 1000000, Bhut Jolakia biberi ise 1000000 SCU çıkmıştır. *Capsicum chinense* ve *Capsicum frutescens* türlerinin hibridi olan “*Bhut Jolakia*” isimli biberin en acı biber olduğunu bildirilmiştir. Ancak *Bhut Jolakia* bu rekorunu Pepper X, Carolina Reaper ve Dragon's Breath biberlerine bırakmıştır. Guinness Dünya Rekorları kayıtlarına göre Dünya üzerindeki en acı biber Carolina Reaper 1641183 SCU ile kayıtlara geçmiştir (Guinness World Records, 2017).

Kırmızıbiber gıda dışındaki birçok alanda daha kendisine yer edinmiştir. Kapsaisinin antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, anti-kanser, anti-obezite, kalp koruyucu, mide koruyucu olduğu ve metabolizmayı değiştirdiği bilinmektedir (Baenas ve ark., 2019; Friedman ve ark., 2018; Ghiasi ve ark., 2019; Huang ve ark., 2018; Lu ve ark., 2017; Lu ve ark., 2019; Maksimova ve ark., 2016 ve Wang ve ark., 2019). Koyu kırmızı rengi dolayısıyla çeşitli gıda maddelerinin boyanmasında ve yumurta sarısını koyulaştırıcı özelliğinden dolayı tavuk yemlerinde kullanılmaktadır (Arıkan, 2004). Kapsaisinin intragastrik olarak uygulandığı çalışmalarda gastrik hasara karşı koruyucu olduğu gözlenmiştir (Holzer ve Sametz, 1986). Bunun sebebi *Nervus vagus*'u inaktive ederek asit üretimini önlemesine bağlanmıştır (Imatake ve ark., 2009).

Acı biber antimikrobiyel özellikleriyle de dikkati çekmektedir. Tarih boyunca ilaç yapımında, ağrıların dindirilmesinde ve gastrointestinal sistem hastalıklarında kullanılmış olan biberin antimikrobiyel özellik taşıyıp taşımadığı konusu 70'li yıllarda bilim adamlarının dikkatini çekmiştir. Kapsaisinin bakteri duvarındaki çeşitli reseptörlere bağlanması ve bu şekilde hücre içine sızarak bakterinin ölümüne sebep olması kapsaisinin antimikrobiyal yönden araştırılmasına öncülük etmiştir (Tekippe, 2010). Yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda kapsaisinin omurgasızlarda ölüme yol

açtığı ya da onların normal beslenme şeklini bozduğu tespit edilmiştir (Madhumathy ve ark., 2007). Kim ve Ryeon adlı iki araştırmacı 1979 yılında biberin etken maddesi olan kapsaisinin *B. subtilis* üzerine olan etkisini incelemiş ve bu türün gelişiminin kapsaisin ilavesiyle engellendiğini bildirmişlerdir. Daha sonraları 1987 yılında Deans ve Ritchie, kapsaisinin hem Gram negatif hem de pozitif bakteri gelişimini durdurabildiğini gözlemlemiştir. Cichewicz ve Thorpe (1996), *Capsicum* türlerinin mikroorganizmaları inhibe edip etmediğini test ettikleri bir çalışmada anılan türlerin *Clostridium sporogenes* ve *Clostridium tetani* bakterilerini inhibe ettiğini gözlemişlerdir. Kapsaisinin *Helicobacter pylori* için de bakterisidal etki gösterdiği 1997 yılında Jones ve ark. tarafından rapor edilmiştir. Dorantes ve ark., 2002 yılında yaptıkları bir araştırmada biber türü ve ekstraktlarının *Listeria monocytogenes*, *S. aureus*, *Salmonella typhimurium* ve *Bacillus cereus*'un gelişimini önlediklerini göstermişlerdir. Kapsaisinin tür spesifitesi de yine araştırmalara konu olmuştur (Molina- Torres ve ark., 1999). Kapsaisinin *Escherichia coli*, *Pseudomonas solanacearum*, *B. subtilis* ve *S. cerevisiae* üzerine etkilerini incelenmiş ve yüksek konsantrasyonlarda kapsaisinin sadece *E. coli* ve *P. Solanacearum*' un büyümesini yavaşlattığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte *B. subtilis* büyümesi de güçlü bir şekilde inhibe olurken, *S. cerevisiae*'nın büyümesi sadece başlangıçta artmıştır (Molina- Torres ve ark., 1998).

Biber ve etken maddesi olan kapsaisinin sinir ve solunum sistemlerini kapsayan birçok çalışmada etkileri araştırılmıştır. Son yıllarda ise gastrik etkileri baz alınarak sindirim sistemi üzerine etkileri incelenmiştir. Kapsaisinin ve biber içerikli ürünlerin gastrointestinal sistemdeki etkileri ilk defa 2000 yılında ele alınmıştır. İnsanlarda acı biber türlerinin metabolizmaya etkisi incelenmiş ve acı biberin iştahı artırdığı gözlenmiştir (Calixto ve ark., 2000). Başka bir çalışmada ise yemeklerden 30 dakika önce deneklere 0,9 g kırmızıbiber verilmiş ve kapsaisinin gastrointestinal ve duyuşal doymaya karşı etkileri incelenmiştir. Elde ettikleri sonuca göre kapsaisin alımı doyumunu artırmış ve enerji alımını kısıtlamıştır (Westerterp-Plantenga ve ark., 2004). Acı biberin metabolizmaya olan etkilerinin incelendiği bir diğer çalışmada, yemlerine kapsaisin ilave edilen farelerde su tüketiminin arttığı

bildirilmiştir (Zafra ve ark., 2003). Acı kırmızıbiberin rumen üzerine etkilerinin incelendiği çalışmalar da bulunmaktadır. Cardozo ve ark. (2005), *in vitro* sistem kullanarak yaptıkları bir çalışmada kaba yemin konsantre yeme oranı 10:90 olacak şekilde besledikleri sığırlardan rumen fistülü ile rumen sıvısı almışlar ve 6 doğal bitki ekstraktı (sarımsak, tarçın, acı biber, anason, avize ağacı ve keklik otu) ile 3 bitki ikincil metabolitini (anethol, sinemaldehid ve eugenol), 5 farklı dozda (0, 0,3, 3, 30 ve 300 mg/l) ve 2 farklı pH derecesinde (7,0 ve 5,5) incelemişlerdir. pH 7,0'de acı biber ekstraktının doza bağımlı olarak toplam UYA ve amonyak konsantrasyonlarını azalttığı, A:P oranını ise artırdığı belirlenmiştir. Rumen pH'sı 5,5'e indirildiğinde ise amonyak azotu azalmış, toplam UYA üretimi 0,3, 3 ve 30 mg/l dozlarında artarken 300 mg/l dozunda azalmış ve propiyonat miktarı artmış, asetat miktarı azalmıştır. Busquet ve ark. (2006), %12 kapsaisin içeren biber yağının da aralarında olduğu 12 bitki ekstraktı ve 6 ikincil bitki metabolitini sınırlı üremenin gerçekleştirildiği kültürlerde test etmiş ve çeşitli dozlarda bu bitkilerin ruminal etkilerini incelemişlerdir. Bu amaçla rumen fistülü takılmış iki dişi sığır 1:1 oranında kaba ve konsantre yem ile beslenmiş ve bunlardan rumen sıvısı örnekleri toplanmıştır. Acı biber ekstraktının artan dozları, pH, propiyonat, asetik asit ve butirat konsantrasyonlarında belirgin bir değişiklik oluşturmazken, amonyak azotu miktarında belirgin bir düşüşe yol açmıştır.

Fandino ve ark. (2008)'nın yaptıkları bir çalışmada konsantre yemce zengin (kaba yemin konsantre yeme oranı 10:90) beslenen düvelerde 15 günlük adaptasyon süresi sonrasında 9 gün boyunca rumen fistülü ile örnekleme yapılmıştır. Düveler dört gruba ayrılıp ilk gruba hiçbir katkı yapılmamış, ikinci gruba 238 mg/gün monensin verilmiş, üçüncü gruba 500 mg/gün anason yağı ve dördüncü gruba ise 500 mg/gün acı biber yağı verilmiştir. Çalışma sonucunda acı biber yağının pH'da istatistiksel bir değişim yapmaksızın kuru madde tüketimini ve butirat konsantrasyonunu artırdığı, asetat konsantrasyonunu ise azalttığı belirlenmiştir. Castillo ve ark. (2012), ticari bitki ekstraktı karışımı kullanılarak sığırlarda enerji, protein metabolizması ve karaciğer fonksiyonuyla ilgili enzimleri *in vivo* olarak incelemiştir. Bu amaçla 24 adet sığır 86 gün boyunca iki grup halinde izlenmiştir. İlk

grup kontrol grubu olurken ikinci gruba ticari bitki ekstraktı verilmiştir. Ticari ekstrakt içerisinde keklik otundan (*Origanum vulgare*) elde edilen karvakrol (5 mg/kg KM); tarçından elde edilen sinemaldehid (3 mg/kg KM), *Capsicum annum* cinsi acı biberden elde edilen kapsaisin (2 mg/kg KM) ve 90 mg/kg KM miktarında hidrojenize bitkisel yağ bulunmaktadır. Deneme süreci sonunda hayvanlarda serum laktat, doymamış yağ asitleri ve kreatinin seviyelerinde düşme gözlenirken, enerji kazancı ve protein döngüsünde iyileşme gözlenmiştir.

Geraci ve ark. (2012), esansiyel yağ karışımlarının rumende sodyum monensine benzer bir etki yapıp yapmadığını incelemiştir. Bu amaçla 24 Angus cinsi sığır dört gruba ayrılarak 84 günlük bir deneme sürecine tabi tutulmuştur. Bu süre boyunca yemlerine 46,7 mg/kg KM monensin, 266 mg/gün sinemaldehid, 266 mg/gün ögenol ve 133 mg/gün *Capsicum oleoresin* eklenmiştir. İki aşamada yürütülen araştırmanın birinci aşamasında kuru madde alımı, kilo alımı ve karkas gelişimi izlenirken, ikinci aşamada ruminal fistül uygulamasıyla fermentasyonda oluşan değişiklikler irdelenmiştir. Bitki ekstraktının monensine kıyasla kuru madde tüketimini değiştirmedığı, ilk aşamada (0-44 günler) karkas gelişimini azalttığı ancak ikinci aşamada (45-84 günler) günlük kilo alımının arttığı gözlenmiştir. Yine ikinci aşamada (45-84 günler) bitki ekstraktı katkısı ile amonyak azotunda azalma gözlenirken UYA miktarlarında değişiklik gözlenmemiştir.

Rumen ile ilgili yapılan bu çalışmalar göz önüne alındığında tez çalışmamızdan farklı oldukları görülebilmektedir. Bazı çalışmalar *in vivo* gerçekleştirilmiştir ki bu durumda hayvan farklılıkları, çevrenin yem alımına etkisi ve rumenlerindeki mikrobiyel ortam farklılıkları çalışma sonucuna etki etmektedir. Yapılan *in vitro* denemelerde ise inkübasyon süresi genellikle az olup, rumen bakterilerinin adaptasyon sürecine etki ettiğinden sonuçlarda değişiklik beklenmelidir. Çalışmaların bir kısmında acı biber yağı, bir kısmında acı biber ekstraktı kullanılmıştır. Bu durum içeriğindeki kapsaisin miktarı düşünüldüğünde farklı sonuçlar doğuracaktır. Tez çalışmamızda kapsaisini direkt olarak kullanmamız, kapsaisinin esas etkisini gözlemlemek için idealdir. *In vitro* ortamda çalışmayı

gerçekleştirmemiz ise ortam şartlarının ve hayvansal farklılıkların giderildiği daha sağlıklı bir deney ortamı hazırlamıştır. Deney inkübasyon süresinin uzunluğu da mikrobiyel ortamın adaptasyonu için ideal tutulmuştur.

Yapılan bu tez çalışmasında konsantre yem ağırlıklı besleme (%20 kaba yem, %80 konsantre yem) ve farklı ruminal pH değerlerinde (normal rumen pH'sı: 6,7-6,8 ve asidik pH: 5,7-5,8) acı biberin temel aktif maddesi olan kapsaisinin rumen mikrobiyal fermentasyonu üzerine etkilerini belirlemek ve bu etkileri iyonofor grubu bir antibiyotik olan monensin ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Kapsaisinin rumen florası üzerine etkileri, ruminal mikrobiyal fermentasyonu etkileme tarzı ve bu durumun yemden yararlanma ile hayvan verimliliğini nasıl etkileyeceği hakkında yeterli bilimsel veri mevcut değildir. Yapılmış çalışmanın bilimsel verilere kaynak olması amaçlanmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. İnkübasyon Tekniğı

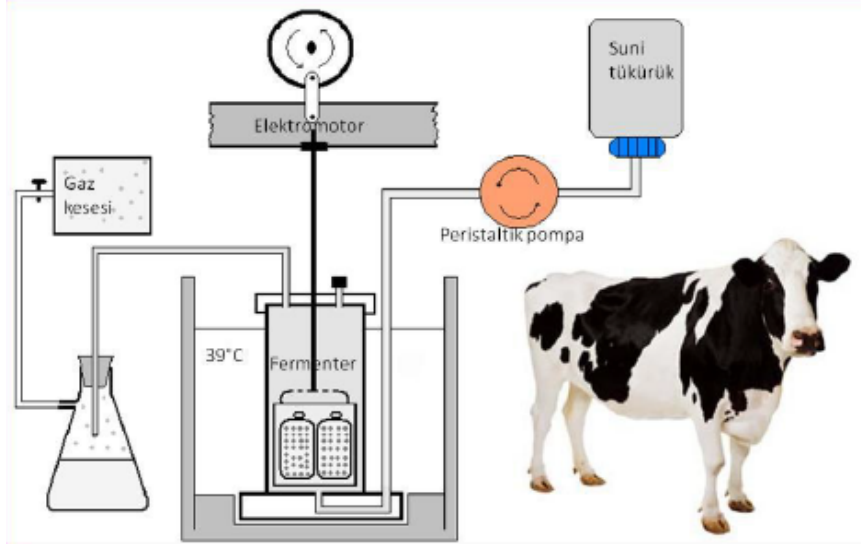
Doktora tez çalışmasında yarı-sürekli ve kapalı bir inkübasyon yöntemi olan RUSITEC (Rumen Simulation Technique) tekniğı Czerkawski ve Breckenridge'in (1977) tarif ettiğı şekilde uygulandı (Şekil 2.1). Rusitec sisteminde gerçek hacimleri 750 ml olan 10 adet fermenter kullanılmıştır. Bu fermenterlerde inokulum olarak Ankara'nın Akyurt ilçesi belediye mezbahasında kesilmiş canlı ağırlıkları yaklaşık 400 kg olan ve kesim öncesi en az üç hafta süresince günde 1,8 kg arpa samanı ve 7,2 kg konsantre yem ile beslenen iki adet sağlıklı erkek besi sığırından elde edilen rumen içerikleri kullanılmıştır. Rumen içerikleri yaklaşık 30 dakika içerisinde termokaplarda Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'ndaki Rusitec laboratuvarına ulaştırılmıştır. Alınan taze rumen içeriğı laboratuvarında karıştırıldıktan sonra 3 katlı steril gazlı bezden süzülerek sıvı ve katı fraksiyonlarına ayrıştırıldı ve sıvı kısım fermenterlere doldurulmuştur.

Hayvanlara yedirilen yem aynı zamanda Rusitec sisteminde de deneme yemi olarak kullanılmıştır. Araştırmanın ilk günü taze katı rumen içeriğinin 80 gramı ve 4 g arpa samanı ile 16 g ticari konsantre yemden oluşan deneme yemi karışımı (kaba yem %20, konsantre yem %80), 150 µm porlara sahip iki adet naylon keseye konulmuştur. Bu keseler Rusitec fermenterlerindeki delikli iç kaplara yerleştirilmiştir. Denemede kullanılan arpa samanı, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı'nda değirmenden geçirilerek 0,5 cm uzunluğuna kadar küçültülmüş ve yine aynı Anabilim dalında çalışmada kullanılan yemlerin analizi yapılmıştır (Çizelge 2.1.).

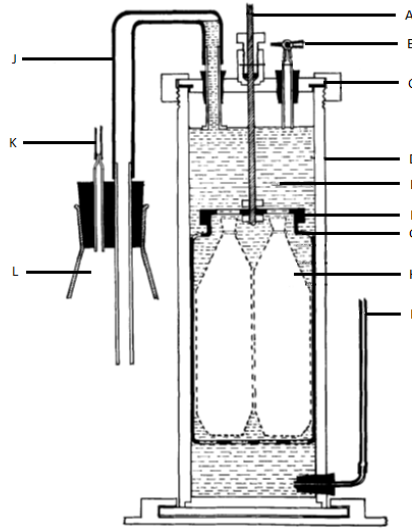
Çizelge 2.1. Araştırmada kullanılan yem maddelerinin analiz değerleri.

Besin maddeleri	Arpa samanı (%)	Konsantre yem (%)
Kuru madde	94,62	93,62
Ham protein	2,72	12,05
Ham selüloz	38,11	8,34
Ham yağ	0,93	3,47
Ham kül	5,32	6,96
Toplam enerji		2665 kcal/kg

Katı rumen içeriği bulunan naylon kese 24 saat sonra deneme yemi karışımı içeren başka bir kese ile değiştirilmiştir. Sistem fermenterlerinde her zaman 2 adet yem kesesi iç fermenterlere yerleştirilmiş halde bulunmaktadır (Şekil 2.1. ve Şekil 2.2.). Her gün bir adet yem kesesi yenisiyle değiştirilmiş ve yem keselerinin her birinin 48 saat inkübasyonda kalması sağlanmıştır. Yem kesesi değişimi yapılırken çıkarılan yem kesesi plastik bir keseye konulmuş ve üzerine 40 ml suni tükürük solüsyonu eklenmiştir. El ile sabit hareketlerle yem kesesi sıkılarak plastik kese içerisinde bulunan suni tükürük solüsyonuna, yem partiküllerine tutunmuş olan mikroorganizmalar ve sıvı kısım içinde çözünmüş halde bulunan maddelerin geçmesi sağlanmış, daha sonra kese içerisinde biriken sıvı kısım fermenterlere aktararak mikroorganizmalar ve çözünmüş yem bileşenleri sisteme geri kazandırılmıştır. Yem keselerinin değişimi sırasında anaerobik şartların devamı için fermenterlere CO₂ gazı uygulanmıştır. Sistemden çıkarılan yem kesesi ise kuru madde sindirilebilirliği analizi için -20°C’de çalıştırılan derin dondurucuda saklanmıştır.



Şekil 2.1. Rusitec sistem (Öztürk, 2003).



Şekil 2.2. Rusitec-sisteme ait tek bir fermenterin şeması (Czerkowski ve ark., 1977).

A: Elektromotora bağlı iç fermenteri hareket ettirerek rumen hareketlerinin taklit edilmesini ve yemin rumen sıvısı ile karıştırılmasını sağlayan metal çubuk; B: Örnek toplama vanası; C: Dış fermenter kapağı; D: Pleksiglas dış fermenter; E: Rumen sıvısı; F: İç fermenter kapağı; G: Pleksiglas iç fermenter; H: Yem keseleri; I: Suni tükürüğü peristaltik pompa vasıtasıyla fermentere ileten silikon hortum; J: Fermantasyon sonu oluşan ürünleri erlenmayere aktaran lastik boru; K: Gaz biriktirme kesesine bağlanan lastik boru; L: Erlenmayer.

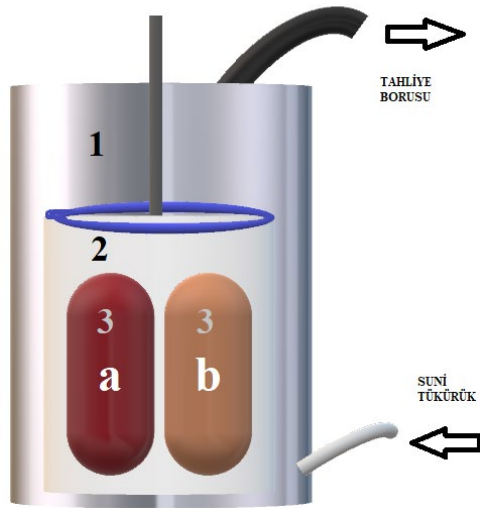
In vitro inkübasyonun mümkün olduğunca *in vivo* rumen şartlarına benzemesi için Rusitec sistemin fermenterleri sürekli 39°C'lik sabit sıcaklıkta tutulmuş ve Çizelge 2.2'de bileşimleri verilen pH değerleri 8,6 olan ancak asidoz safhasında

tamponlama derecesi düşürülen tampon solüsyonları (suni tükürük) ile sıvı döngüsü (liquid turnover) sağlanmıştır. Elektrikli motorlar yardımıyla fermenterlerin içindeki delikli iç kaplara dakikada 6 kez piston hareketi yaptırılarak rumen kontraksiyonları taklit edilmiştir ve Rusitec fermenterlerindeki katı ve sıvı fazlar arasında değişim sağlanmıştır (Şekil 2.1.). Fermantasyon gazları fermenterlere bağlı gaz keselerinde, fermenterlerden uzaklaşan rumen sıvıları ise kuru buza yerleştirilmiş erlenmayerlerde toplanmıştır (Şekil 2.2.).

Çizelge 2.2. Gakhar'a (2008) göre normal ve asidoz şartlarında kullanılan tampon solüsyonun bileşimi.

Bileşik (g/l)	S1	S2
NaHCO ₃	9,800	2,450
Na ₂ HPO ₄	3,720	0,620
NaCl	0,470	0,470
KCl	0,570	0,570
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0,053	0,053
MgCl ₂ . 6H ₂ O	0,128	0,128

S1: normal pH koşullarında kullanılan tampon solüsyonu; S2: asidoz koşullarında kullanılan tampon solüsyonu.



Şekil 2.3. Fermenterlerin şematik yapısı.

1: Dış fermenter; 2: İç fermenter; 3a: Yem kesesi; 3b: Yem kesesi.

Şekil 2.3.'de görüldüğü üzere 1 numaralı kompartman dış fermenter, 2 numaralı kompartman iç fermenter, 3 numaralı kompartmanın a ve b olarak işaretlendiği bölümleri ise yem keseleridir. Suni tükürük girişi dış fermenterin alt kısmında yer almaktadır. Oluşan fermentasyon sonu ürünler ise tahliye borusundan boşalmaktadır. Yem keselerinin her biri sistem içerisinde 48 saat boyunca kalmaktadır. Örneğin a kesesi değiştirildikten 24 saat sonra b kesesi değiştirilmekte, sonraki gün ise 48 saati dolan a kesesine geri dönülmektedir. Her gün çıkarılan yem kesesi temiz bir plastik kese içerisine alınmakta, üzerine 40 ml suni tükürük solüsyonu eklenmekte ve el ile 2 dakika boyunca sıkılarak yem partiküllerine tutunan mikroorganizmaların suni tükürük içerisine serbestlenmesi sağlanmaktadır. Kese içerisindeki suni tükürük solüsyonu daha sonra fermentere geri aktarılmakta ve bu şekilde yem partiküllerine tutunmuş mikroorganizmaların sisteme geri kazandırılması mümkün olmaktadır.

Mikroorganizmalar farklı kompartmanlarda farklı miktarda bulunmaktadır. Bir numaralı kompartman serbest mikroorganizmaların ve rumen sıvısının bulunduğu katmandır. İki numaralı kompartmanda yem keseleri ile rumen sıvısı yer almaktadır. Üç numaralı kompartmanda ise yem keseleri ve yeme tutunmuş mikroorganizmalar yer almaktadır. Bu kompartmanda özellikle yeme tutunmuş protozoonların miktarı, 1 numaralı kompartmana nazaran daha fazla olmaktadır. Mikroorganizma sayısı substrat varlığında sürekli artmaktadır. Substrat azaldığında ise mikroorganizmalar 3 numaralı kompartmandan 1 numaralı kompartmana doğru geçmektedirler. Bir numaralı kompartmanda ise çözünmüş yem maddelerinin oranı daha fazladır. Rusitec sistemin rumen ortamını çok başarılı bir şekilde yansıttığı yadsınamaz, ancak sistem, rumen duvarının bulunmaması sebebiyle rumen epitelinden emilim ve sekresyon olaylarını ve rumen epiteline tutunmuş mikroorganizmaları simüle edememektedir (Czerkawski ve Breckenridge, 1977 ve Czerkawski,1986).

2.2. Asidoz Koşullarının Oluşturulması

Tez çalışmasında 18 günlük deney periyodu belirlenmiş ve son 6 günde asidoz koşulları oluşturularak kapsaisin etkileri asidoz koşullarında da değerlendirilmiştir. Bu amaçla *in vitro* sistemde asidoz koşulları Çizelge 2.2.'de belirtilen S2 solüsyonu kullanılarak oluşturulmuştur. Gakhar (2008)'a göre tampon solüsyonları içerisinde bulunan tamponlayıcı maddeler asidoz şartları için miktarca azaltılmış, özellikle tamponlayıcı özelliği bulunan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ve NaHCO_3 miktarları sırasıyla 3,72 g/l ve 9,8 g/l'dan, 0,62 g/l ve 2,45 g/l'e düşürülmüştür. Böylece normal koşullarda 6,7-6,8 olan rumen pH'sı tampon solüsyon içeriğindeki maddelerin miktarları değiştirilerek ve bu bağlamda tamponlayıcı özellikleri azaltılarak yaklaşık 5,7-5,8'e düşürülmüştür.

2.3. Deney kurgusu

Rusitec sistemdeki *in vitro* inkübasyon toplam 18 gün sürmüş ve 3 aşamadan oluşmuştur. Her birisi 6 gün olan bu aşamalar: adaptasyon, normal pH ve asidik pH aşamalarıdır. İlk altı günlük adaptasyon fazında (1-6. günler) rumen mikroorganizmalarının *in vitro* şartlara adaptasyonu sağlanmış, daha sonraki altı günde (7-12. günler) normal rumen pH değerinde (pH 6,7-6,8) ilk iki fermentere hiçbir madde ilave edilmemiş ve negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Diğer iki fermentere günlük 5 mg/l dozunda sodyum monensin (Fluka) (pozitif kontrol), geri kalan altı fermenterden iki tanesine günlük 1 mg/l (CAP1), diğer ikisine 5 mg/l (CAP5) ve son ikisine ise 25 mg/l (CAP25) dozlarında kapsaisin (Capsaicin SC-3577A, Santa Cruz Biotechnology, CA, ABD) ilave edilmiştir. Araştırmanın son 6 günlük aşamasında (13-18. günler) ise bir önceki aşamada uygulanan dozlama devam etmiş, ancak burada tampon solüsyon modifikasyonu ile rumen pH'sı yaklaşık 5,7-5,8'e düşürülmüştür.

2.4. Analizler

2.4.1. Ruminal pH'nın Ölçülmesi

Rusitec-Sistem fermenterlerindeki sıvılarının pH değerleri, pH elektrodu (WD-35801-00, Oakton) ve elektroda bağlı pH metre (Ion 6, Acorn series, Oakton) yardımıyla her gün yem keseleri değişimi sırasında ölçülmüştür.

2.4.2. Uçucu Yağ Asitleri (UYA) Analizi

Uçucu yağ asitlerinin (asetik asit, butirat, propiyonat) analizi için fermantasyon sonu rumen sıvısı örnekleri, kuru buz içerisinde bulunan erlenmayerlerden her gün aynı saatte toplanmış ve analiz edilinceye kadar -20°C 'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Numuneler analiz öncesi buzdolabı sıcaklığında ($+4^{\circ}\text{C}$) çözündürülmüştür. Çözünen 5 ml' lik rumen sıvılarının içerisine 1 ml %25'lik metafosforik asit ilave edilmiştir. Metafosforik asit ilave edilen rumen sıvıları, 4°C 'de 30 dakika bekletildikten sonra 15 dakika soğutmalı santrifüjde (4°C) (Hettich Micro 200R) 15000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar viyallere konulup bu viyallerden alınan 1 µl miktarındaki süpernatantlar GC sistemine (ACME-6100 GC system) enjekte edilmiştir ve HP-Innovax kılcal kolonu (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm film kalınlığı) kullanılarak asetat, propiyonat ve bütirat konsantrasyonları belirlenmiştir. GC sisteminde Helyum gazı 1,8 ml/dk akış hızında taşıyıcı gaz olarak görev yapmıştır. Enjektör ve dedektör ısıları sırasıyla 250 ve 300°C 'ye ayarlanmıştır (Kosuge ve ark., 1961).

UYA'ların günlük üretim miktarları ise konsantrasyon değerlerinin erlenmayerlerde biriken günlük rumen sıvısı miktarları ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır (Ketchum ve ark., 1999 ve Oeztuerk ve ark., 2010).

2.4.3. Kuru Madde Sindirilebilirliği (KMS) Analizi

Yem kuru maddesi sindirilebilirlik oranı, yem maddelerinin fermentasyon öncesi ve sonrası içerdikleri kuru madde miktarları belirlenerek hesaplanmıştır. Bu amaçla fermentasyona uğramamış yem numunesinin nemi 65°C'lik etüvde 48 saat bekletilip uzaklaştırıldıktan sonra kuru madde miktarı belirlenmiştir. Rusitec sisteminde 48 saat fermentasyona bırakılan yem numunelerinin kuru madde miktarları yine aynı şekilde 65°C'lik etüvde 48 saat bekletildikten sonra hassas terazide (AS 220/C/2, Radwag) tartılarak bulunmuştur. Orskov ve ark. (1980)'nın yöntemine göre kuru madde miktarları arasındaki fark kuru madde sindirilebilirlik oranı olarak kabul edilmiştir.

$$\text{Kuru madde sindirilebilirliği (\%)} = (\text{Ö} - \text{S}) / \text{S} \times 100$$

Ö: Fermentasyon öncesi kuru madde miktarı

S: 48 saatlik ruminal fermentasyon sonrası kuru madde miktarı

2.4.4. Protozoon Sayımı

Protozoon sayımı için fermenterlerden alınan 1 ml rumen sıvısı ve 1 ml protozoon sayım çözeltisi karıştırılmıştır. Protozoon sayım çözeltisi, 0,6 g metil yeşili, 8 g NaCl ve 100 ml %37'lik formaldehit 1 litrelik balon jojeye konularak ve üzeri 1000 ml çizgisine kadar distile su ile tamamlanarak hazırlanmıştır. Işık mikroskobu (Leica CME) ve Fuchs-Rosenthal Lamı (derinlik: 0,2 mm, küçük kare alanı: 0,0625 mm²) yardımıyla protozoon sayımı yapılmıştır. Sayım yapılırken 1 büyük kareye (16 adet orta büyüklükteki kare) düşen protozoon sayısı sayılmış ve aşağıdaki formül kullanılarak protozoon sayısı hesaplanmıştır (Harmeyer, 1965).

$$1 \text{ ml rumen sıvısındaki protozoon sayısı} = \frac{\text{B.S} \times \text{SO} (2) \times \text{BH} (80)}{\text{S.A.} (256)} \times 1000$$

B.S: Bulunan sayı

S.O: Sulandırma oranı (1/2)

B.H: Birim hacim (En küçük birimin hacmi, 1/80 mm³)

S.A: Protozoon sayımının gerçekleştirildiği alan (256 küçük kare)

2.4.5. Amonyak Azotu (NH₃-N) Analizi

Deney süresince erlenmayerlerde toplanmış olan rumen sıvılarından örnekler alınıp, daha sonra analiz etmek üzere -20°C’de dondurulmuştur. Dondurulan numuneler 4°C’de çözündürüldükten sonra NH₃-N konsantrasyonu indofenol mavisi yöntemi ile spektrofotometrik (546 nm dalga boyunda) (UV-150-02, Shimadzu) olarak belirlenmiştir (Chaney ve Marbaeh, 1962). Bunun için 50 µl rumen sıvısının konulduğu tüplere 5 ml fenol ve Na-nitroprussit karışımı ile 5 ml sodyum hipoklorit ilave edilmiştir. Numune yerine, aynı miktarda distile suyun konulduğu tüp kör tüp ve 5 mmol/l NH₄Cl ilave edilen tüp ise standart tüp olarak hizmet etmiştir. Tüm tüpler parafilm ile kapatılıp 60°C’lik çalkalamalı su banyosunda (Memmert WNB14) 10 dk bekletildikten sonra numunelerdeki NH₃-N konsantrasyonu spektrofotometre aracılığıyla belirlenmiştir. Bu yöntemde sodyum nitroprussit varlığında amonyak ve fenol, sodyum hipoklorit ile okside edilmekte ve mavi renkli bir bileşik oluşturmaktadır. Oluşan mavi rengin yoğunluğu numunelerdeki NH₃-N konsantrasyonuyla doğru orantılıdır.

2.4.6. Metan Gazı (CH₄) Üretiminin Belirlenmesi

Rusitec sistemde fermantasyon faaliyetleri sonucu günlük üretilen metan gazı miktarı uçucu yağ asitleri üretimi üzerinden stokiyometrik olarak hesaplanmıştır (Abdl-Rahman, 2010; Lindsey ve ark., 1983 ve Wolin, 1960).

$$\text{CO}_2 \text{ üretim miktarı} = A/2 + P/4 + 1,5B$$

$$\text{CH}_4 \text{ üretim miktarı} = (A+2B) - \text{CO}_2$$

A: Asetik asit üretimi (mmol/gün)

P: Propiyonat üretimi (mmol/gün)

B: Bütirat üretimi (mmol/gün)

2.5. İstatistiksel Analizler

Verilere ilişkin tanımlayıcı istatistikler hesaplanarak "Aritmetik Ortalama $\pm$ Standart Hata" şeklinde gösterimde bulunulmuştur. Verilerin analizinde tekrarlı ölçümler için genel doğrusal modelleme tekniğinden yararlanılarak iki yönlü varyans analizi (two way repeated measures ANOVA) kullanılmıştır. Oluşturulan modelde Uygulama ve Koşul temel etkileri ile Uygulama x Koşul etkileşim terimlerine yer verilmiştir. Anlamlı bulunan etkileşim terimlerinin ileri aşamada çözümlenmesinde Bonferroni düzeltmesi ile birlikte basit etkiler (simple effects) analizi yapılmıştır. İstatistiki değerlendirmelerde $p < 0,05$ kriteri kullanılmıştır. Tüm istatistik analizler SPSS 21 paket programı ile gerçekleştirilmiştir.

3. BULGULAR

Kapsaisinın farklı pH değerlerinde ve konsantre yem ağırlıklı besleme şartlarında rumen mikrobiyel fermentasyonu üzerine etkilerinin Rusitec kullanılarak belirlendiği çalışmanın sonuçları izelge 3.1.'de gösterilmiştir.



Çizelge 3.1. Kapsaisin farklı dozlarının (1, 5 ve 25 mg/l) iki farklı pH koşulunda (normal ve asidoz) rumen mikrobiyel fermentasyonu üzerine etkileri¹.

Parametre	Koşul	Uygulama Grupları					P		KxU
		Kontrol	Monensin	CAP1	CAP5	CAP25	Koşul(K)	Uygulama(U)	
pH	Normal	6,77 ± 0,02 ^{a A}	6,68 ± 0,01 ^{b A}	6,71 ± 0,01 ^{b A}	6,72 ± 0,01 ^{b A}	6,66 ± 0,04 ^{b A}	<0,001	<0,001	0,62
	Asidoz	5,76 ± 0,01 ^{a B}	5,66 ± 0,02 ^{b B}	5,64 ± 0,03 ^{b B}	5,65 ± 0,01 ^{b B}	5,64 ± 0,03 ^{b B}			
Toplam UYA (mmol/gün)	Normal	57,48 ± 2,22 ^A	59,74 ± 0,65 ^A	55,89 ± 2,45 ^A	58,54 ± 1,87 ^A	58,32 ± 1,48 ^A	0,002	0,078	0,725
	Asidoz	44,10 ± 1,02 ^B	53,09 ± 2,26 ^B	46,63 ± 3,85 ^B	50,48 ± 1,11 ^B	50,03 ± 2,41 ^B			
Asetat (mmol/gün)	Normal	28,65 ± 0,85 ^A	26,93 ± 0,11 ^A	27,47 ± 1,71 ^A	29,41 ± 1,08 ^A	28,48 ± 1,22 ^A	0,001	0,054	0,724
	Asidoz	19 ± 1,21 ^B	19,86 ± 0,32 ^B	20,63 ± 2,13 ^B	23,24 ± 0,33 ^B	22,60 ± 0,10 ^B			
Propiyonat (mmol/gün)	Normal	14,04 ± 0,63 ^b	18,98 ± 1,41 ^a	14,03 ± 0,45 ^b	14,61 ± 1,07 ^b	14,7 ± 0,35 ^b	0,051	0,004	0,415
	Asidoz	10,96 ± 0,21 ^b	19,52 ± 1,12 ^a	12,53 ± 0,53 ^b	13,4 ± 1,08 ^b	13,22 ± 1,10 ^b			
Butirat (mmol/gün)	Normal	14,80 ± 0,75	13,83 ± 0,65	14,39 ± 0,29	14,51 ± 0,29	15,15 ± 0,1	0,203	0,4	0,973
	Asidoz	14,14 ± 0,41	13,72 ± 0,83	13,47 ± 1,19	13,84 ± 0,3	14,22 ± 0,36			
CH ₄ (mmol/l)	Normal	24,48 ± 0,89 ^{ab A}	21,54 ± 1,30 ^{b A}	23,06 ± 1,06 ^{ab A}	24,88 ± 0,42 ^{a A}	25,04 ± 0,84 ^{a A}	0,002	0,015	0,954
	Asidoz	19,04 ± 0,49 ^{ab B}	16,69 ± 0,25 ^{b B}	18,80 ± 2,3 ^{ab B}	20,99 ± 0,16 ^{a B}	21,21 ± 0,75 ^{a B}			
NH ₃ -N (mmol/l)	Normal	5,41 ± 0,43 ^A	4,70 ± 0,69 ^A	6,23 ± 0,18 ^A	6,54 ± 0,63 ^A	6,92 ± 0,24 ^A	<0,001	0,114	0,289
	Asidoz	2,55 ± 0,13 ^B	2,05 ± 0,09 ^B	2,66 ± 0,26 ^B	2,97 ± 0,66 ^B	3,04 ± 0,16 ^B			
Protozoon sayısı (sayı/mm ³)	Normal	9791,67 ± 312,5 ^{a A}	4114,59 ± 677,09 ^{b A}	8645,83 ± 937,5 ^{ab A}	7291,67 ± 833,34 ^{ab A}	8697,92 ± 2239,59 ^{ab A}	<0,001	0,036	0,418
	Asidoz	3541,67 ± 208,34 ^{a B}	625 ± 0 ^{b B}	2552,09 ± 52,085 ^{ab B}	2864,59 ± 260,42 ^{ab B}	3333,34 ± 208,34 ^{ab B}			
KMS	Normal	47,87 ± 2,31 ^A	52,29 ± 1,13 ^A	51,47 ± 1,14 ^A	49,56 ± 1,41 ^A	52,67 ± 0,89 ^A	<0,001	0,399	0,711
	Asidoz	41,68 ± 1,7 ^B	43,1 ± 2,73 ^B	43,15 ± 0,26 ^B	42,52 ± 0,11 ^B	43,88 ± 1,4 ^B			

¹:Değerler aritmetik ortalama ± standart hata ortalamasıdır.

UYA: Uçucu yağ asitleri

KMS: Kuru madde sindirilebilirliği

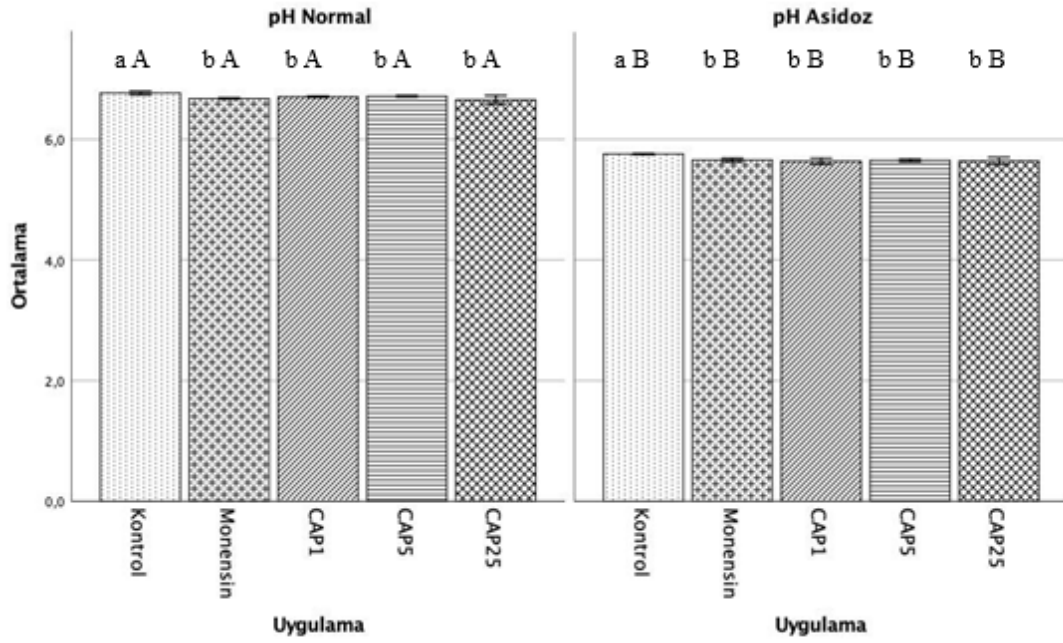
a, b: Her bir parametre için ayrı ayrı olmak üzere, aynı satırdaki farklı harfler uygulama grupları arasındaki istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (p<0,05).

A,B: Her bir parametre için ayrı ayrı olmak üzere, aynı sütundaki farklı harfler koşullar arasındaki istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (p<0,05).

KxU: Koşul ve uygulama etkileşimi

3.1. Ruminal pH

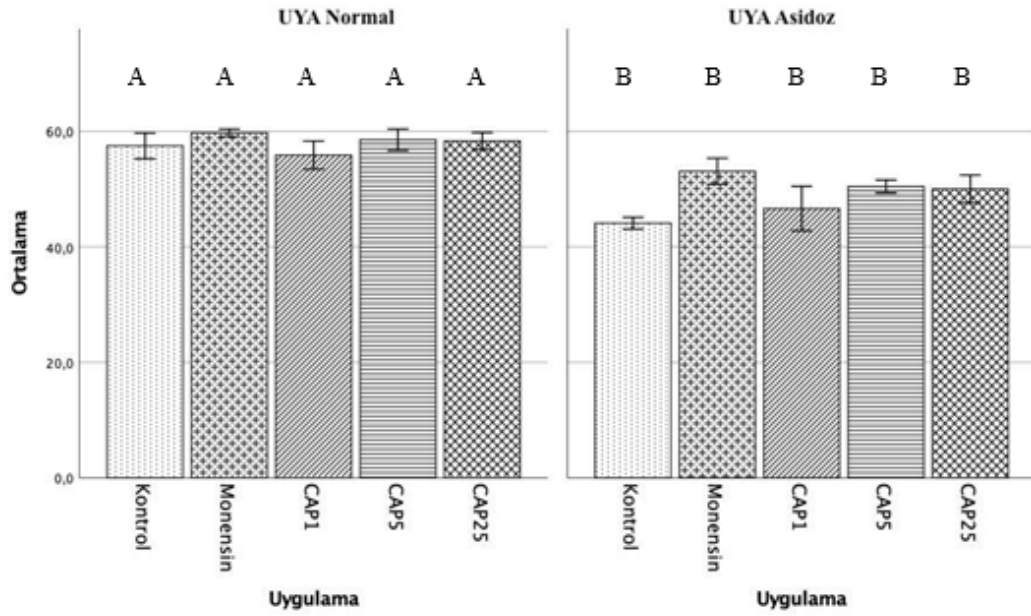
Çalışma sonuçları ruminal pH yönünden incelendiğinde koşul ve uygulama etkileşimleri ayrı ayrı istatistiki olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$), koşul x uygulama etkileşimi yönünden istatistiki olarak bir farklılık gözlenmemiştir. Koşul etkileşiminde gözlenen istatistiksel fark çalışmanın asidoz safhasında oluşturulan Rusitec fermenterlerindeki pH düşüşünün sonucudur. Asidoz safhasında ruminal pH değerleri normal pH koşullarını izleyen iki gün içerisinde yaklaşık pH 5,5 değerlerinde sabitlenmiştir. Bu durum *in vitro* SARA modelinin başarılı bir şekilde oluşturulduğunun da bir göstergesidir. Uygulama gruplarının her birinde normal ve asidoz safhaları arasında istatistiki fark gözlenmesi de bu durumun kanıtıdır. Normal pH koşullarının hüküm sürdüğü safhada, kontrol grubu fermenterlerine kıyasla monensin ve artan miktarlarda kapsaisin ilave edilen fermenterlerde ruminal pH değerleri istatistiksel olarak azalmış ($p<0,05$) ancak Monensin ve kapsaisin fermenterleri arasında istatistiki farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 3.1.). Normal koşullardakine benzer şekilde, asidoz koşullarında da kontrol grubuna kıyasla monensin ve kapsaisin gruplarında (CAP1, CAP5 ve CAP25) ruminal pH istatistiki olarak daha düşük belirlenmiştir ($p<0,05$). İlavelerin yapıldığı uygulama gruplarının kendi aralarında ise istatistiksel bir farklılık gözlenmemiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Ruminal pH'nin farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi.

3.2. Toplam Uçucu Yağ Asitleri (UYA) Üretimi

Araştırma sonucu elde edilen bulgular toplam UYA üretimi açısından değerlendirildiğinde koşul etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu istatistiksel fark altı günlük normal pH koşullarından sonra oluşturulan asidoz koşullarında UYA üretiminin azalmasından kaynaklanmaktadır (Şekil 3.2.). Toplam UYA her uygulama grubu için incelendiğinde asidoz safhasında her grupta genel bir azalma gözlenmektedir (Çizelge 3.1.). Normal fazda ve asidoz fazında uygulama grupları arasında toplam UYA üretimi açısından istatistiki bir fark yoktur.

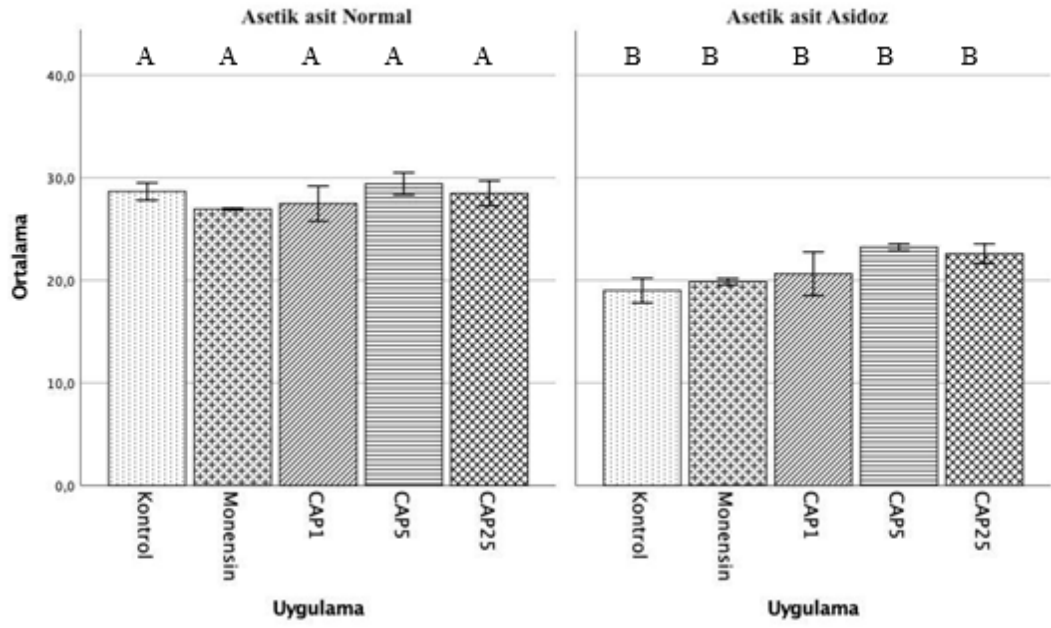


Şekil 3.2. Toplam UYA'nın farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi.

3.3. Asetik Asit Üretimi

Asetik asit üretimi bakımından koşul yönünden istatistiki bir değişim olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Bu durum zamana bağlı olarak asidoz şartlarında Rusitec fermenterlerinde asetik asit üretiminin azalmasına bağlıdır. Koşul x uygulama etkileşimi istatistiki olarak önem taşımamaktadır.

Normal ve asidik pH koşullarında, uygulama grupları arasında fark yoktur (Çizelge 3.1.). Her uygulama grubu için bakıldığında asidoz şartlarında asetat üretimi azalmıştır ($p < 0,05$) (Şekil 3.3.).

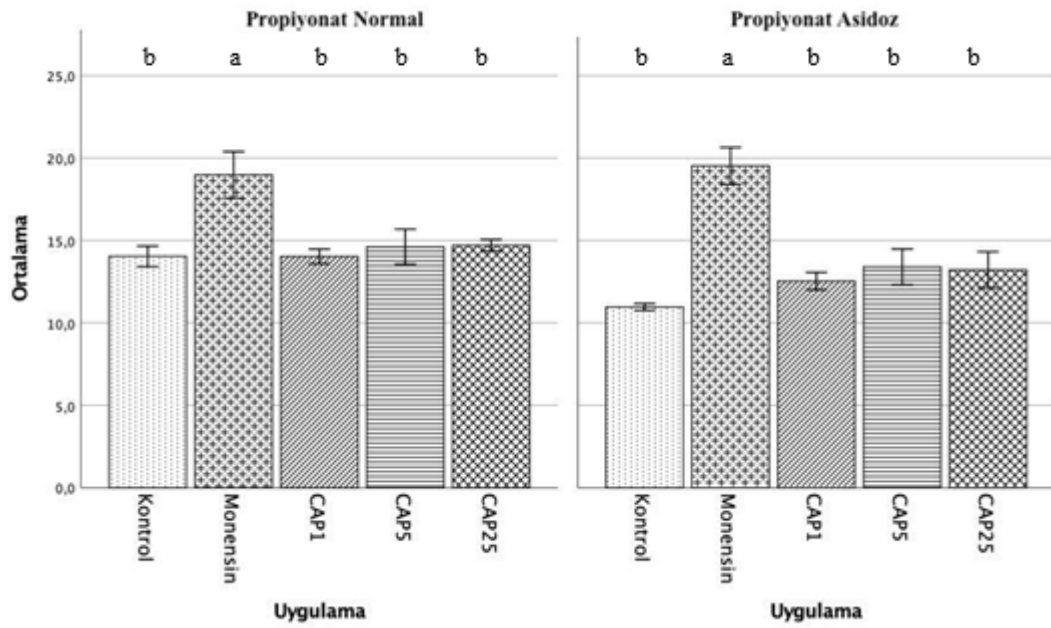


Şekil 3.3. Asetik asit üretiminin farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi.

3.4. Propiyonik Asit Üretimi

Rusitec fermenterlerindeki propiyonik asit üretimi sadece uygulama etkileşimi bakımından istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Monensin gruplarında hem normal hem asidoz koşullarında kontrole nazaran propiyonik asit üretimi istatistiki olarak artmıştır ($p<0,05$) (Çizelge 3.1.).

Normal ve asidik pH koşullarında, kontrol ve kapsaisin grupları arasında propiyonik asit üretimi bakımından istatistiki bir fark görülmemiştir (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Propiyonik asit üretiminin farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi.

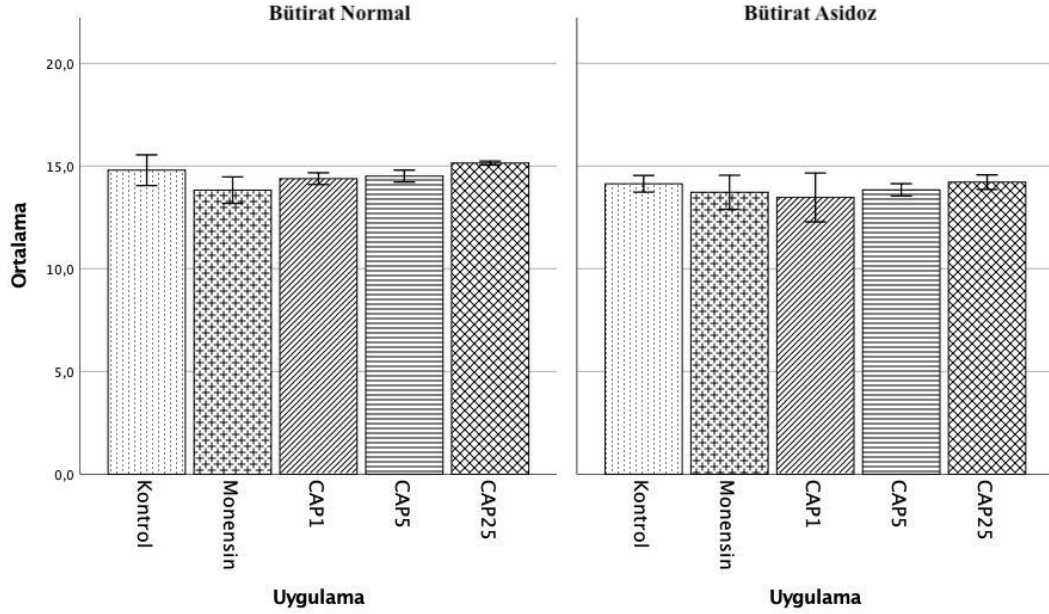
3.5. Bütirik Asit Üretimi

Bütirik asit üretimi yönünden koşul, uygulama ve koşul x uygulama faktörlerinin hiç birisinde istatistiksel bir etkileşim belirlenmemiştir.

Normal pH koşullarında, kontrol grubu ile kıyaslandığında monensin ve kapsaisin gruplarında (CAP1, CAP5, CAP25) bütirik asit üretimi yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Monensin ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sadece CAP25 grubunda bütirik asit üretimi sayısal olarak yükselmiştir (Çizelge 3.1.).

Asidoz koşullarında, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ne monensin ne de artan kapsaisin dozları bütirik asit üretimini istatistiksel olarak değiştirmemiştir (Çizelge 3.1; Şekil 3.5.).

Her uygulama grubu kendi içerisinde koşul yönünden değerlendirildiğinde normal fazdan asidoz fazına geçişte bütirik asit üretimi yönünden istatistiki olarak fark göstermemiştir.

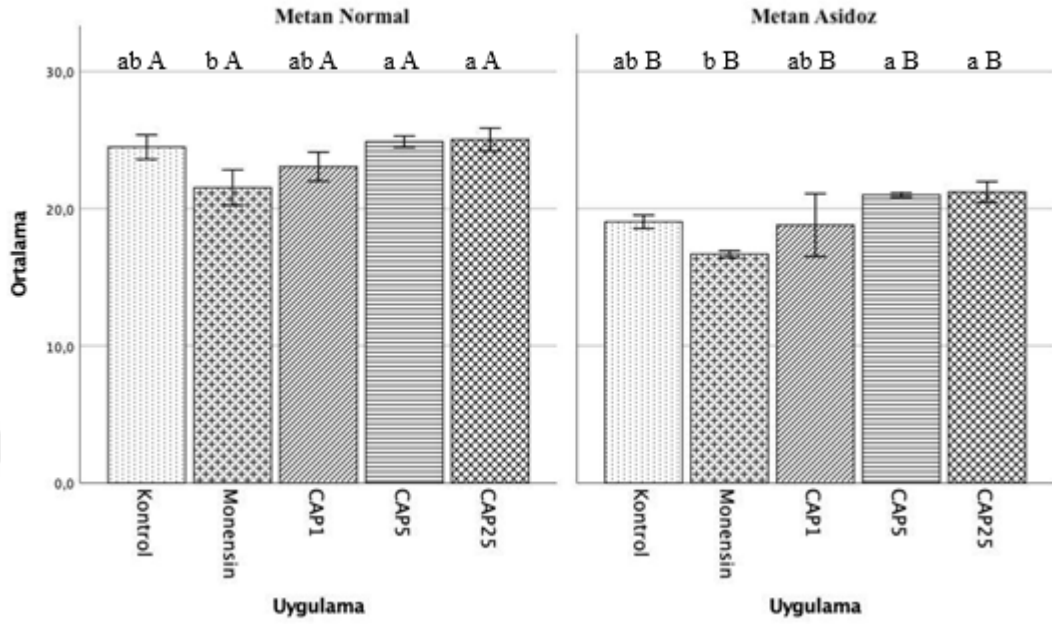


Şekil 3.5. Bütirik asit üretiminin farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi.

3.6. Metan Gazı (CH₄) Üretimi

Koşul ve uygulama faktörleri incelendiğinde, hem koşul hem uygulama etkileşimi yönünden istatistiki anlamlılık bulunmuş, Rusitec fermenterlerinde günlük üretilen metan gazı miktarları asidoz koşullarının da etkisiyle azalma trendi göstermiştir (Çizelge 3.1.; Şekil 3.6.).

Metan üretimi her iki koşulda da kapsaisin eklenen gruplarda kontrole nazaran değişmemiştir. Monensin ilave edilen grupta ise metan üretiminin kontrol ve CAP1 gruplarından farksız olmakla birlikte CAP5 ve CAP25 gruplarına göre daha düşük olduğu ($p<0,05$) gözlenmiştir.

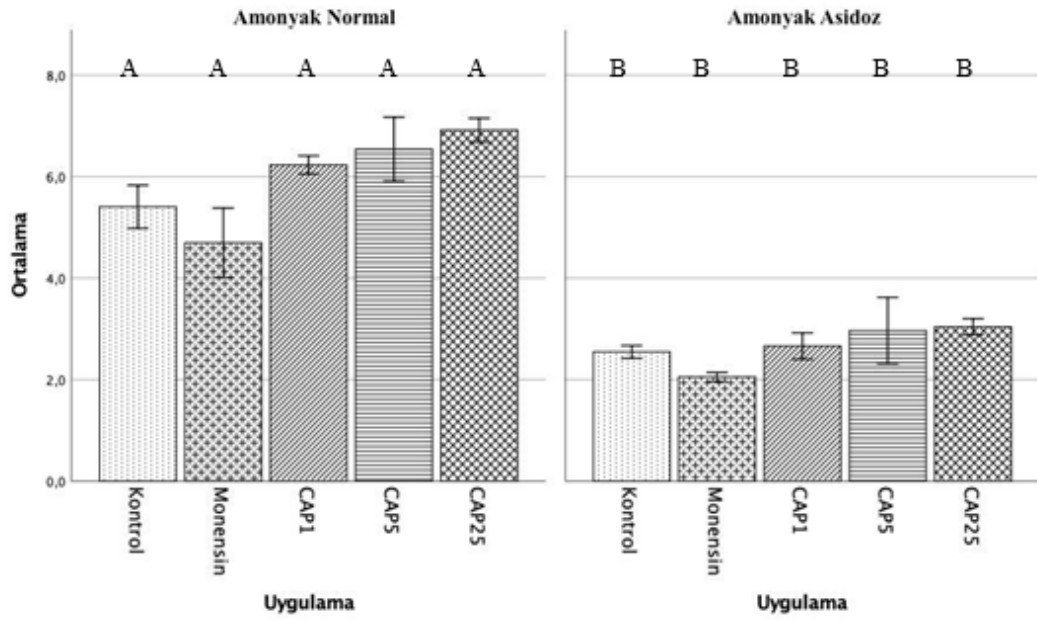


Şekil 3.6. Metan gazı üretiminin farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi.

3.7. Amonyak Azotu ($\text{NH}_3\text{-N}$) Konsantrasyonu

$\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonu açısından koşul ve uygulama interaksiyonları incelendiğinde yalnızca koşul yönünde istatistiki olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmiştir ($p < 0,05$). Koşul etkileşiminde gözlenen istatistiksel fark, $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonlarının asidoz şartlarında tüm gruplarda düşmesinden kaynaklanmaktadır (Şekil 3.7.).

Normal ve asidoz şartlarında uygulama grupları arasında $\text{NH}_3\text{-N}$ üretimi konusunda istatistiki olarak fark görülmemiştir.

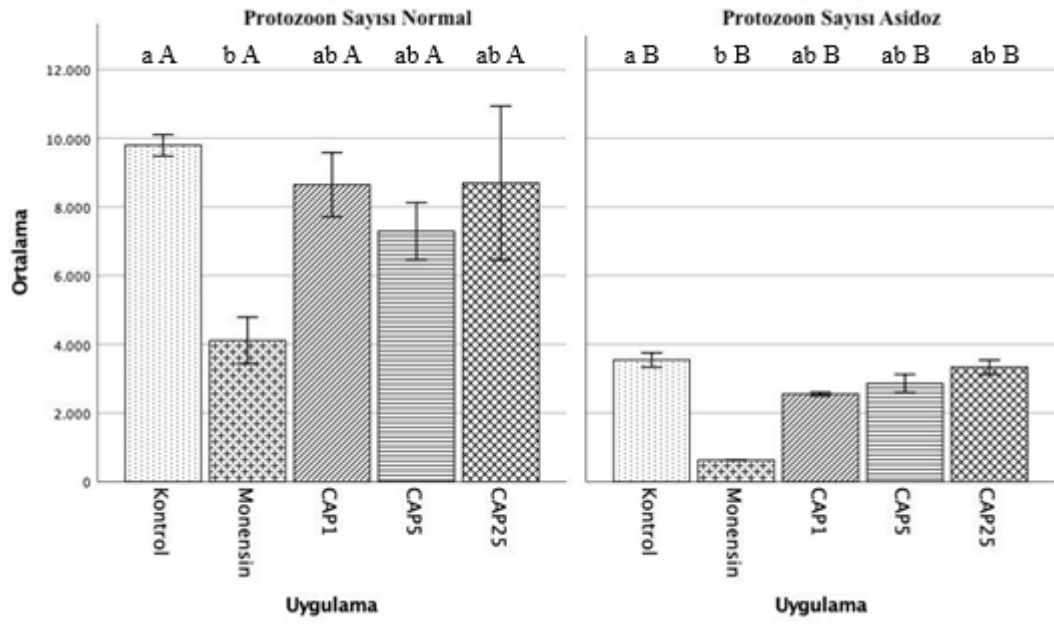


Şekil 3.7. Amonyak azotu ($\text{NH}_3\text{-N}$) konsantrasyonunun farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi.

3.8. Protozoon Sayısı

Uygulama ve koşul faktörleri protozoon sayısı yönünden karşılaştırıldığında hem uygulama hem koşul yönünden istatistiki olarak önem arz eden bir etkileşim saptanmıştır (Çizelge 3.1.).

Normal ve asidik pH koşullarında, monensin grubu protozoon sayısı bakımından tüm gruplara nazaran en düşük sayısal ifadeyi vermiştir. İstatistiki etkileşim yönünden değerlendirildiğinde ise monensin grubundaki protozoon sayısı her iki koşulda da kontrole göre azalmıştır ($p < 0,05$). Kapsaisin grupları ile kontrol grubu arasında her iki koşulda da istatistiksel fark bulunmamaktadır. Diğer taraftan, kapsaisin gruplarındaki protozoon sayıları her iki koşulda da monensin grubundakinden farksızdır (Şekil 3.8.).

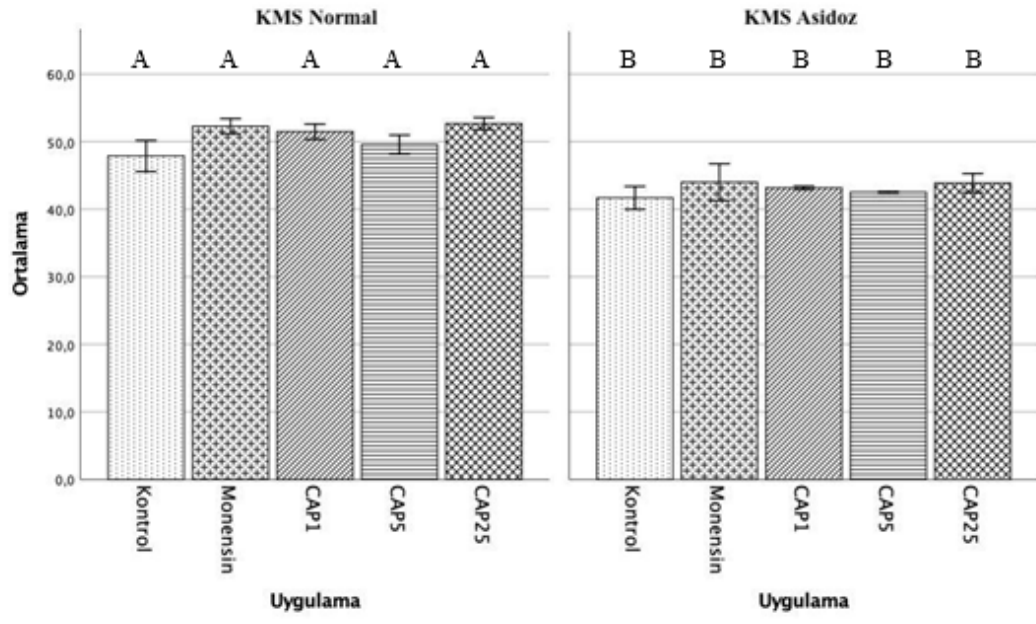


Şekil 3.8. Protozoon sayısının farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi.

3.9. Kuru Madde Sindirilebilirliği (KMS)

Kuru madde sindirilebilirliği, koşul ve uygulama faktörlerinin karşılıklı etkileşimleri yönünden incelendiğinde, koşul etkileşimi yönünden istatistiksel bir farkın olduğu ($p < 0,05$), uygulama ve uygulama x koşul etkileşimleri yönünden istatistiksel bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Koşul yönünden incelendiğinde normal fazdan asidoz fazına geçilirken KMS'nin tüm uygulama gruplarında azalma trendi gösterdiği gözlenmiştir ($p < 0,05$). Normal ve asidoz koşullarında, Rusitec fermenterlerinde 48 saat inkübasyona tutulan yem keselerindeki kuru madde sindirilebilirlikleri ne monensin ne de kapsaisin artan dozlarından istatistiksel olarak etkilenmiştir (Şekil 3.9.; Çizelge 3.1.).

Normal pH koşullarında, kontrol gruplarına kıyasla, monensin ve CAP25 gruplarında KMS sayısal olarak yüksekken, CAP1 ve CAP5 gruplarında kontrole kıyasla herhangi bir ciddi farklılık görülmemiştir (Çizelge 3.1.).



Şekil 3.9. Kuru madde sindirilebilirliğinin farklı koşullarda uygulama grupları arasındaki değişimi.

4. TARTIŞMA

Rumen ortamı sürekli olarak değişen ve kendini yenileyen bir sisteme sahiptir. *In vivo* çalışmalarda rumen sıvısına eklenen materyallerin kontrol edilebilmesi oldukça zordur ve bazı maddelerin rumen fermantasyon mekanizmasında değişikliklere yol açabilmesi için 2-3 güne nazaran haftalar geçmesi gerekebilmektedir (Czerkawski ve ark., 1977). Denenen maddelerin etkinliklerinin saptanabilmesi için bilim adamları daha kontrollü şartların arayışına düşmüşlerdir. Bu amaçla rumen sıvısının kullanıldığı *in vitro* inkübasyon teknikleri geliştirilmiştir. Kontrollü şartlar altında, incelenen materyalin etkileri daha rahat saptanabilmektedir. Inkübasyon teknikleri kısa ve uzun olarak ikiye ayrılmaktadır. Rusitec sistemi uzun dönem inkübasyon tekniğidir.

Rusitec kelimesi “Rumen Simulation Technique” kelimelerinin ilk heceleriyle oluşturulmuştur. İlk kez Czerkawski ve arkadaşları tarafından 1977 yılında tanımlanan Rusitec günümüz teknolojisine uyarlanmıştır. Bu sistem sayesinde rumen ortamı *in vivo* koşullara çok benzer şekilde taklit edilebilmektedir.

Rusitec sistem, *in vivo* hayvan deneylerine büyük oranda benzerlik göstermektedir. Sistem kontrollü bir laboratuvar ortamında çalışmaya olanak sağlamaktadır. Bu şekilde araştırmacılar sistem üzerinde tam kontrol sahibi olabilmektedir. *In vivo* çalışmalarda rumen içerisine giren maddeler ve ruminal ortamın son ürünleri, rumendeki içeriğin uğradığı ve büyük oranda rumen epiteli tarafından gerçekleştirilen aktif yıkım, emilim ve sekresyon olayları nedeniyle tam olarak kontrol edilememektedir. Rusitec sistem bu kontrolsüzlüğü ortadan kaldırarak araştırmacıya çok büyük bir avantaj sağlamaktadır ve elde edilen sonuçların güvenilirliğini artırmaktadır (Czerkawski, 1986). Yetişkin bir ruminantın metabolizması düşünüldüğünde tüm gün boyunca rumende emilim ve salgılanma olaylarının devam ettiği görülmektedir. Ruminantlarda büyük miktarlarda salgılanan tükürük salgısı ile birlikte rumene giren maddeler seyrelmekte ya da tam tersi olacak

şekilde tükürük miktarına bağlı olarak miktarları değişebilmektedir. Yine fermentasyon sonunda elde edilecek son ürünler rumen duvarının absorpsiyon ve sekresyon yeteneği karşısında miktar olarak azalmakta ve uygulanan maddenin esas etkinliğinin saptanması zorlaşmaktadır. Kullanılan Rusitec yönteminde bu gibi dezavantajlar özellikle rumen duvarının olmayışı sebebiyle engellenebilmektedir (Czerkawski, 1986).

Rusitec yöntemi de dahil olmak üzere çeşitli *in vitro* tekniklerin hayvan besleme araştırmalarında kullanılmasının diğer sebepleri arasında hayvan sayısı ve homojenliğini sağlamanın zorluğu yer almaktadır. *In vivo* bir çalışmada belirli sayıda canlı hayvan gereksinimi vardır ve hayvanlar arasında benzerliği sağlamak oldukça zordur. Verilen yem ve yaşam ortamları aynı olsa dahi metabolizmaya bağlı (hormonal ve genetik) birtakım değişikliklerin olması kaçınılmazdır. Bu da çalışmanın güvenilirliğini etkileyebilir. Aynı zamanda hayvanların çalışma süresindeki ek giderleri (yem, barınma, sağlık ve işçi) çalışma maliyetini artırmaktadır.

Bu doktora tez çalışmasında Rusitec sistemde 10 adet fermenter kullanılmıştır ve bu 10 fermenterin her biri bir ruminantın rumenine denk düşmektedir. İnkübasyon eşit şartlarda yapılabilmekte ve dış ortamın getireceği etkilerden korunmak mümkün olmaktadır. Rumen mikroorganizmaları belli koşullar sağlandığında kısa sürede *in vitro* ortama adapte olabilmeye özelliğine sahiptir. Bu çalışmanın ilk 6 günlük sürecini adaptasyon süreci oluşturmuştur ve mikroorganizmalar *in vitro* sisteme adapte olabilmektedir. Mikroorganizmaların bu adaptasyon yetenekleri sayesinde tıpkı *in vivo* şartlarda olduğu gibi Rusitec yöntemi günlerce sürdürülebilmektedir ve bu durum *in vivo* rumen üzerinde çalışıyor gibi özel araştırma koşullarını sağlamıştır. Rusitec sistemde diyet değişikliği yapıldığında mikrobiyel ve metabolik denge en fazla 4-6 gün içerisinde kurulurken, *in vivo* koşullarda diyet değişikliğine hayvanın adapte olabilmesi için 16-23 gün geçmesi gerekmektedir. Bu çalışmada seçilen 6 günlük adaptasyon süresi bu bağlamda yeterli olmaktadır (Czerkawski ve Breckenridge, 1977 ve Öztürk, 2003).

Bilindiği üzere asidoz ve alkaloz gibi özellikle hayvanın sağlığını ve verimini etkileyen durumlar rasyon dñzenlemesi ve yem katkı maddelerinin kullanımıyla giderilmeye çalışılmaktadır. Bu tür olgular, denenen maddenin etkinliğini ölçmek için elzemdir. Ancak canlı hayvanı asidoz gibi patolojik durumlara maruz bırakmak etik açıdan doğru olmayıp aynı zamanda maliyetli bir durumdur. *In vitro* çalışmalarda asidoz ve alkaloz durumları oldukça kolay bir şekilde oluşturulmakta ve incelenen maddenin bu gibi durumlarda etkinliği kolayca saptanabilmektedir. Böylelikle canlı yaşamı korunmuş olmakla kalmayıp aynı zamanda hayvan besleme ve fizyolojisi alanlarında çalışmaların artması ve hızlanması sağlanmaktadır.

Bu çalışmada doz olarak sırasıyla 1, 5 ve 25 mg/l dozlarında kapsaisin kullanılmıştır. Bitki ikincil metabolitleri ve eterik yağları ile yapılan çalışmalara bakıldığında denenecek olan maddelerin genellikle benzer sayısal değerler aralığında tutulduğunu görmekteyiz. Bu aralık eterik yağ denemelerinde içerik ile değişirken, ikincil metabolit ürünlerin direk verildiği durumlarda mikrobiyel fermantasyonun inhibe olduğu dozlar ile fermantasyona etkinin hiç gözlenmediği dozlar aralığı belirleyebilmektedir. Cardozo ve ark. (2005) farklı pH'larda (pH 7,0 ve pH 5,5), 10:90 oranında kaba ve konsantre yem ile beslenen 2 adet düveden elde ettikleri rumen sıvısını, ayrı ayrı altı adet bitki ekstraktı (sarımsak, tarçın, *Yucca schidegera*, kekik, acı biber ve anason) ve üç ikincil bitki metaboliti (saf sinamaldehyt, anetol ve eugenol) ile muamele ederek rumen mikrobiyel fermantasyona etkilerini inceledikleri bir çalışmada acı biber yağının (%12 kapsaisin içeren) etkilerini 0,3, 3, 30 ve 300 mg/l dozlarında incelemişlerdir. Bu da 0,0036; 0,36; 3,6 ve 36 mg/l kapsaisin miktarına denk düşmektedir. Bu tez çalışmasında kapsaisin için seçilen doz değerleri de (1, 5, 25mg/l) Cardozo ve ark. (2005)'nın uyguladıkları doz sınırları arasında yer almaktadır. Geraci ve ark. (2012), ruminal ekosistemin, yem alım şeklinin ve hayvan performansının, capsicum oleoresin, sinamaldehyd ve ögenol eklenmiş diyetlerle besi sığırlarında monensin ile karşılaştırmalı olarak nasıl değiştini araştırdıkları 84 gün süren bir çalışmada ticari bir acı biber özütünü (acı biber yağı ve reçinesi) 133 mg/gün olacak şekilde kullanmışlardır. Ticari preparatın 12 g/kg kapsaisin içerdiği bilinmektedir. Günlük hayvan başına verilen doz

hesaplandığında bir hayvana 1,6 mg kapsaisin verildiği hesaplanmaktadır. Çalışmada kullandıkları Angus ırkı düveler yaklaşık 140 kg ağırlıkta olup vücut ağırlığının 1/7-1/10'unu (Russell, 2009) kaplayan rumenleri yaklaşık 14- 20 litre olacaktır. Bu da litre başına 0,08-0,11 mg aralığında çok düşük bir değere tekabül etmektedir. Bu nedenle, bu tez çalışmasında kapsaisinin etkisinin tam olarak izlenebilmesi için en düşük kapsaisin miktarı 1 mg/l olarak belirlenmiştir. Busquet ve ark. (2006), rumen mikrobiyel fermentasyonuna bitki ekstraktlarının etkilerini inceledikleri çalışmada 50:50 oranında kaba ve konsantre yemle beslenmekte olan Holstein ırkı süt sığırlarından elde ettikleri rumen sıvısını *in vitro* olarak 24 saat çeşitli bitki ekstraktları (anason, ardıç, acı biber, tarçın, karanfil tomurcuğu, dere otu, çemen otu, sarımsak, zencefil, keklik otu, çayağacı, ve yucca) ve bitki ikincil metabolitleri (eugenol, anetol, benzil salisilat, karvakrol, karvon ve sinamaldehit) ile inkübe etmişlerdir. Bu amaçla her bitki ekstraktından da aynı miktar olmak üzere acı biber yağı ekstraktından (%12 kapsaisin içeren) 3, 30, 300 ve 3000 mg/l kullanmışlardır. Bu da 0,036, 3,6, 36 ve 360 mg /l kapsaisine denk düşmektedir. Kullandığımız değerler bu aralıklara uygundur. Fandino ve ark. (2020), rumende oluşan pH, NH₃-N ve UYA'yı inceledikleri bir çalışmada anason yağı ve acı biber yağı karışımını *in vitro* ve *in vivo* olarak 1:9 oranında kaba ve konsantre yem ile beslenen sığırların rumen içeriğinde uygulamış bu amaçla *in vitro* çalışmada 200 g/kg kapsaisin içeren acı biber yağından 5, 15 ve 30 mg/l kullanmışlardır. Bu da 1, 3 ve 6 mg/l kapsaisine denk gelmektedir. *In vivo* olarak devam ettirdikleri çalışmada ise 100, 250 ve 500 mg/gün acı biber yağı kullanmışlardır. Bu dozların ise 200 g/kg kapsaisin içeriği düşünülerek hesaplandığında 20, 50 ve 100 mg/gün oldukları görülmektedir. Bir düvenin ağırlığı çalışmada yaklaşık 230 kg verilmiştir buradan rumen hacminin, ağırlığın yaklaşık 1/7 – 1/10'unu (Russell, 2009) oluşturduğu dikkate alındığında 23-30 l'ye bu dozlar uygulanmaktadır. Litre başına düşen kapsaisin miktarı çok azdır. Bu tez çalışmasında kullanılan kapsaisin dozları Fandino ve ark. (2020)'nin *in vitro* dozlarıyla uyumludur.

Çalışmalara bakıldığında kullanılacak doz belirlenirken bitkinin kendisi (acı biber meyvesi) veya eterik yağı kullanıldıysa içerdiği kapsaisin miktarı göz önünde

bulundurulmuştur. Eğer kapsaisin kendisi kullanıldıysa hem hayvancılıkta kolaylıkla kullanılabilecek olası düşük seviyeleri hem de *in vitro* etkileri görmek için gerekli olabilecek daha yüksek seviyeleri göz önünde bulundurulmuştur. Bu bilgilerin yanında Calsamiglia ve ark. (2007), kullanılan fitokimyasalların dozunun 500 mg/l'nin üzerine çıktığı durumlarda ruminal fermentasyonun olumsuz etkilenebileceğini bildirmişlerdir. Cardozo ve ark. (2005), 5000 mg/l gibi çok yüksek dozların mikrobiyel fermentasyonu tamamen durdurabileceğini ve uçucu yağ asidi üretimini baskılayacağını bildirmiştir.

Yukarıdaki çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda kapsaisini belli miktarda içeren acı biberin ya da capsicum yağının uygulandığı görülmektedir. Ancak bu çalışmada etkilerini daha iyi belirleyebilmek adına kapsaisin direk uygulanmıştır. Kapsaisin gibi irrite edici bir maddenin normal koşullarda da uygulanabilirliği düşünülerek ve kullanılan kapsaisin dozlarının da etkileri göz önünde bulundurularak bu çalışmada kullanılan dozlar 1, 5 ve 25 mg/l olarak belirlenmiştir.

Gün içinde en fazla değişiklik gösteren rumen parametrelerinden birisi rumen pH'sıdır. Rusitec sistemde pH, *in vivo* ortamdan farklı olarak esasen tampon tükürük solüsyonu kullanılarak korunmakta ve belli sınırlar arasında tutulabilmektedir. Bu amaçla peristaltik pompa yardımıyla suni tükürük solüsyonu her gün fermenterlere pompalanmakta, böylece fermentasyon sonu oluşan ürünlerle düşmesi olası olan rumen pH'sı stabil tutulabilmektedir. Bu durum Rusitec sistemde kolaylıkla farklı pH koşulları oluşturularak farklı şartlardaki etkileri incelemeyi mümkün kılmaktadır.

Çalışmada ilk altı gün adaptasyon, sonraki altı gün normal pH koşulları ve son altı gün ise asidoz evresi olarak belirlenmiştir. Buna göre ilk 12 gün ruminal pH normal rumen pH değerleri arasında (6,6-6,8) seyretmiş, son altı günlük safhada ise tampon solüsyonunun içerisindeki tamponlayıcı maddelerin miktarları azaltılarak pH sınırları 5,4-5,6 arasına indirilmiştir. Çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılan monensinin normalde asit üreten bakterileri elimine ederek (örn: laktik asit üreten)

rumen pH'sını yükselttiği bildirilmektedir (Russell ve Strobel, 1989). Rumen pH'sının yükseldiği durumlar genellikle kaba yemden zengin besleme şartlarında ortaya çıkmaktadır (Dennis ve ark., 1981). Ancak tez çalışmamızda monensinin ruminal pH'yı her iki koşulda da düşürdüğü gözlenmiştir. Garcia ve ark. (2000), Öztürk ve ark. (2012), Takahashi ve ark. (2000) ve Yang ve Russell (1993), yaptıkları çalışmalarda monensinin uygulamasının ruminal pH'yı istatistiki olarak değiştirmedini bildirmişlerdir. Akbarian- Tefaghi ve ark. (2018), Huss ve ark. (2021) ve Silva ve ark. (2021) monensinin ile karşılaştırmalı ruminal fermentasyonu inceledikleri çalışmalarda monensinin kontrole nazaran pH'yı yükselttiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada her iki koşulda da kapsaisinin farklı dozlarının pH üzerine azaltıcı etki yaptıkları gözlenmiştir (Çizelge 3.1.). Fandino ve ark. (2008), ruminal fistül uygulanmış ve 1:9 oranında kaba ve konsantre yem ile beslenen dört Holstein ırkı düve ile yaptıkları çalışmada, 238 mg/gün monensinin ve kontrol grubu ile karşılaştırmak üzere uygulama gruplarına %15 kapsaisin içeren acı biber yağından 500 mg/gün uygulamış ve 500 mg kapsaisinin pH üzerine istatistiksel olarak anlamlı olacak bir etki yapmadığını bildirmişlerdir. Çalışmada kullandıkları kapsaisin miktarı hesaplandığında günlük 1,1 mg/l'ye denk düşmektedir. Bu tez çalışmasında CAP1 grubundan elde edilen sonuçlar pH'nın düştüğü yönündedir. Bu iki çalışma arasındaki farklılık çalışma şartlarından ileri gelebileceği gibi, kullanılan hayvanların ya da materyalin elde edildiği hayvanlar arası farklılığa, yem maddeleri bileşenlerinin (protein, karbonhidrat ve yağ) tabiatındaki farklılığa dayandırılabilir. Cardozo ve ark. (2006) yaptıkları 21 günlük *in vivo* çalışmada yonca ekstraktı, anason, kırmızıbiber ve sinemaldehid ile eugenol karışımının konsantre yemden zengin beslenen (%90 konsantre: %10 kaba yem) fistül bağlanmış dört adet Holstein düve (360-450 kg) üzerinde ruminal fermentasyon üzerine etkilerini incelemiş ve %15 kapsaisin içeren kırmızıbiber ekstraktından 1g/gün (2,1 mg/l) kapsaisin verdikleri bu çalışmada kapsaisinin pH üzerine yaptığı değişikliğin istatistiki olarak anlamlı olmadığını bulmuştur. Çalışılan kapsaisin dozlarının ruminal pH üzerinde çok fazla değişikliğe sebep olmaması normal pH aralıklarında olumlu bir etkiyken, asidoz şartlarında ruminal fermentasyonun verimliliği ve yem sindirimi açısından olumsuzdur. Bu çalışmada, kapsaisinin artan dozlarının ve monensinin ruminal pH'yı

asidoz şartlarında da negatif kontrol gruplarına nazaran düşürdüğü saptanmıştır (Çizelge 3.1.). Bu durum kapsaisin için belirlenen dozların pH'yı düşürmede etkili olduğunu göstermektedir. Bunun yanında asidik koşullarda laktik asit üreten bakterilerin aktivitesi uyarılmış olduğundan laktolitik bakterilerin bir dereceye kadar baskılanmış olacağı düşünülebilir. Fistüle edilmiş 6 Holstein ırkı inekte *in vivo* subakut rumen asidozu yaratılarak monensinin pH üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada monensinin pH üzerine etkisi olmadığı tespit edilmiştir (Mutsvangwa ve ark., 2002). Fandino ve ark. (2008) ruminal fistül uygulanmış kaba yemin konsantre yeme oranı 1:9 olan bir yemle ile beslenen dört Holstein ırkı düve ile yaptıkları 24 gün süren çalışmada monensin düve başına 238 mg/gün verilmiştir. Denek olarak kullanılan hayvanların kiloları (229 ± 24 kg) ile orantı kurulduğunda rumen hacimleri 23-32 litre civarında olduğu düşünülürse litre başına 7,4-10,3 mg monensin düşmektedir. Bu miktarda monensinin pH'yı istatistiksel olarak artırdığını bildirmişlerdir. Ruminal pH üzerine monensinin farklı sonuçları kaba ve konsantre yemin diyetteki dağılımına, rumen pH'sının değiştirilmesine, *in vivo* çalışmalarda kullanılan hayvanların mikrobiyel florasının bireyden bireye değişmesine bağlanabilir. Fandino ve ark. (2020) rumende oluşan pH, NH₃-N ve toplam UYA'yı inceledikleri bir çalışmada anason yağı ve acı biber yağı karışımını *in vitro* (1, 3 ve 6 mg/l) ve *in vivo* (20, 50 ve 100 mg/gün) olarak konsantre yemce zengin beslenen beslenen sığırların rumen içeriğinde uygulamış ve anason yağı (AY) ve acı biber yağı (C) miktarlarını farklı oranlarda (3AY:1C; 2AY:2C; 1AY:3C) incelemişlerdir. Eklenen maddelerin etkinlikleri *in vitro* denemede 3AY:1C ve *in vivo* denemede 2AY:2C; 1AY:3C miktarlarında gözlenmiştir. *In vitro* 3AY:1C oranı kullanıldığında istatistiki yönden pH'nın yükseldiğini görmüşlerdir. Çalışmamızda 1 ve 5 mg dozlarında pH düşmüştür. Fandino ve ark. (2020)'nın pH üzerine bulgularıyla bu çalışmanın bulgularının çatışması kullandıkları anason yağının rumen üzerine kapsaisinle birlikte kollektif etki yapması olarak yorumlanabilir. Bu durumda bu tez çalışması kapsaisinin doğudan etkisinin gözlenmesi açısından önem taşımaktadır. Monensin ve kapsaisin gruplarındaki kontrole nazaran gözlenen azalma istatistiki yönden anlamlı çıkmışsa da sayısal ifadede çok büyük farklar gözlenmemektedir (Çizelge 3.1.).

Uçucu yağ asitleri, rumende bitki bileşiklerinin protein, yağ ve karbonhidratlarının mikrobiyel flora tarafından sindirilmesi sonucu oluşur. UYA arasında en fazla asetat, propiyonat ve butirat üretilmektedir. Bu doktora çalışmasında toplam UYA ve bu üç uçucu yağ asidi miktarları gaz kromatografi cihazında belirlenmiştir. UYA'nın üretiminin artırılması hayvandan elde edilen verimin artırılması için anahtar bir öneme sahiptir. Bitki ikincil metabolitleri ve fitokimyasallar ile uçucu yağ asidi profillerinin değişmesi beklenmektedir (Cardozo ve ark., 2005). Bu çalışmada yer alan normal ve asidoz fazlarında kapsaisin eklentisi toplam uçucu yağ asidi miktarına istatistiki olarak anlamlı bir etki göstermemiştir. Sadece asidoz fazına geçilirken tüm gruplarda toplam UYA üretimi yönünden düşüş saptanmıştır. Castillo-Lopez ve ark. (2021)'nin yaptıkları çalışmada fitojenik bileşiklerin ruminal fermentasyon parametrelerine, pH' ya ve çiğneme davranışına etkisini araştırmışlardır. Konsantre yem ağırlıklı (%65) beslenen sığırlarda 10-100 mg/kg kapsaisini ruminal fistül yolu ile vermiş ve etkilerini incelemişlerdir. Ölçümler sonucunda kapsaisinin, çiğneme süresini (43,6; 49,4 ve 66,4 $\pm$ 4,93 dakika) artırdığı, ancak rumen toplam UYA'yı etkilemediği kaydedilmiştir (Castillo- Lopez ve ark., 2021). Bu bağlamda Castillo-Lopez ve ark.'nın çalışması bizim çalışmamızın sonuçlarıyla uygunluk göstermektedir. Fandino ve ark. (2008), ruminal fistül uygulanmış konsantre yem ağırlıklı beslenen dört Holstein ırkı düve ile yaptıkları 24 gün süren çalışmada monensine alternatif olarak anason ve kırmızıbiber yağının rumen fermentasyonuna *in vivo* etkilerini araştırmışlar ve günlük 500 mg/gün (%15 kapsaisin) miktarda yeme eklenen kırmızıbiber yağının toplam UYA profiline etki yapmadığını belirtmişlerdir. Fandino ve ark. (2008), konsantre yem ağırlıklı beslemede toplam uçucu yağ asidine, uygulanan kırmızıbiber yağının etkinliğinin gözlenmemesini kullandıkları dozun içerisindeki aktif bileşen olan kapsaisin miktarının az olmasına (1,1 mg/l) ya da farklı pH ve farklı besleme koşullarında fitokimyasalların farklı sonuçlar verebileceğine dayandırmışlardır. Tez çalışmamızda CAP1 dozunda da toplam UYA yönünden kontrole nazaran değişiklik olmaması, iki çalışmanın sonuçlarının uyumlu olduğunu göstermektedir. Cardozo ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada günlük 1 g/gün doz ile verilen (%15 kapsaisin içeren) dolayısıyla 2,1 mg/l kapsaisin içeren acı biber yağının toplam uçucu yağ asidi

konsantrasyonunu etkilemediğini bulmuştur. Bu tez çalışmasında elde edilen toplam UYA sonuçlarına dayanılarak bulguların Cardozo ve ark. (2006)'nın, Castillo- Lopez ve ark. (2021)'nin ve Fandino ve ark. (2008)'nin yaptıkları çalışmalarıyla uyumluluk gösterdiği söylenebilir. Fandino ve ark. (2020) rumende oluşan pH, NH₃-N ve UYA'yı inceledikleri bir çalışmada anason yağı ve acı biber yağı karışımını *in vitro* (1, 3 ve 6 mg/l) ve *in vivo* (20, 50 ve 100 mg/gün) olarak 1:9 kaba yem ağırlıklı beslenen sığırların rumenine uygulamış; anason yağı (AY) ve acı biber yağı (C) etkisini oranları değişmeli olacak şekilde (3AY:1C; 2AY:2C; 1AY:3C) incelemiştir. Eklenen maddeler *in vitro* 3AY:1C (anason yağının ağırlıklı olduğu bileşim) ve *in vivo* 2AY:2C; 1AY:3C denemelerde anlamlı sonuç vermiştir. *In vivo* 2AY:2C (anason yağı ve acı biber yağından eşit miktarlarda alınarak hazırlanan karışım) oranlarında 100 mg/gün (100'er mg anason yağı ve acı biber yağı) ve 500 mg/gün (500'er mg anason yağı ve acı biber yağı) dozlarında, istatistiki yönden UYA'nın düştüğü gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda uygulama grupları arasında istatistiki olarak değişiklik olmamıştır. Anason ve acı biber yağı bir arada kullanıldığından sinerjik olarak mikroorganizmalar üzerinde toksik etki oluşturmuş olabilirler. Diğer taraftan, ruminal fermentasyonda kullanılması tercih edilen bitki ekstraktları toplam UYA miktarı üzerine olumsuz etki göstermemelidir ve uygulanan doz mikroorganizmalar için toksik olmamalıdır. Bu çalışmada UYA miktarlarında değişiklik olmadığından dolayı kullanılan dozların bakterilerde belirgin bir baskılanma yapmadığı söylenebilir.

Propiyonik asitin tersine asetat ve butirat oluşumu sırasında metan oluşumuna aracılık eden hidrojen iyonu salınmaktadır. Bu yüzden asetik asit ve butirik asit genellikle besi sığırlarında miktarı azaltılmaya çalışılan UYA'lardandır. Brito da Silva ve ark. 2020 yılında yaptıkları bir araştırmada, bitki esansiyel yağ karışımını (kapsaisin, karvakrol, içeren biber ekstraktı, eugenol ve sinamaldehyd) standart bir yemde 56 gün boyunca süt ineklerine yedirmiş asetik asit miktarının rumende azaldığını gözlemlemişlerdir. Asetik asit miktarındaki azalma bizim çalışmamız ile uygunluk göstermemektedir. Bu uyumsuzluk bizim çalışmamızda kapsaisinin tek başına verilmesine dayandırılabilir. Ya da Brito da Silva ve ark. (2020)'nin

çalışmalarında uyguladığı kaba yemden zengin besin rejimi, tez çalışmasında kullanılan konsantre yem ağırlıklı beslenmemize uymadığından bu farklılık gerçekleşmiş olabilir. Fandino ve ark. (2008), ruminal fistül uygulanmış 1:9 kaba/konsantre yem ile beslenen dört Holstein ırkı düve ile yaptıkları 24 gün süren monensine alternatif olarak anason ve kırmızıbiber ekstraktlarının rumen fermentasyonuna *in vivo* etkilerini araştırdıkları çalışmada (238 mg/gün) yani 3,4 mg/l monensin verilen pozitif kontrol grubuna kıyasla 500 mg/gün (%15 kapsaisin) (1,1 mg/l) kapsaisin içeren acı biber yağının etkilerini incelemiş ve monensinin asetik asit miktarını düşürdüğünü, kapsaisinin ise etki yapmadığını bildirmişlerdir. Dolayısıyla Fandino ve ark. (2008)'nın, 3,4 mg/l monensin üzerinden elde ettikleri istatistiki fark bizim çalışmamızdaki 5 mg/l dozundaki monensin'de gözlenmemiştir. Monensin 5 mg/l dozunun ruminal fermentasyon parametrelerini değiştirmede yeterli olduğu çeşitli kaynaklar tarafından bildirilmiştir (Callaway ve ark., 1997; Jalc ve Laukova, 2002 ve Oeztuerk ve ark., 2010). İki çalışma arasında gözlenen farklılığın, Fandino ve ark. (2008)'nin saf kapsaisin kullanmamalarından veya anason ve acı biber yağını birlikte vermelerinden kaynaklanabileceği söylenebilir. Fandino ve ark. (2008)'nin kapsaisinin asetik asit üretimine katkıda bulunmadığı yönündeki çıkarımları, bu doktora çalışmasında kapsaisin dozlarının kontrole kıyasla istatistiki farklılık oluşturmadığı bilgisiyle desteklenmektedir. Fandino ve ark. (2008), 1,1 mg/l dozunda kapsaisinin asetik aside etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada CAP1 grubunun yani 1 mg/l miktarında kapsaisin uygulamasının normal ve asidoz şartlarında kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiki bir etki oluşturmadığı gözlenmektedir. Bu anlamda iki çalışma birbirine paralellik göstermektedir. Fandino ve ark. (2008)'nin deney şartlarının *in vivo* olduğu düşünülürse *in vitro* bir sistemde benzer sonucu yakalamak bu tez çalışması için önem arz etmektedir. Cardozo ve ark. (2005), iki farklı pH değerinde (7,0 ve 5,5) ve 90:10 konsantre yem ağırlıklı besleme şartlarında, doğal bitki ekstraktlarının ruminal fermentasyona etkinliğini araştırdıkları, iki düveden alınan rumen sıvısı ile bitki ekstraktlarını 24 saat inkübe ettikleri *in vivo* çalışmada, kapsaisinin 0,3, 3 ve 30 mg/l dozlarının normal pH 7,0'da asetik asidi artırdığını, pH 5,5'te ise düşürdüğünü belirlemişlerdir. Tez çalışmamızda her iki koşulda da uygulama gruplarında kontrole nazaran değişiklik görülmemesi

Cardozo ve ark. (2005), uyguladıkları tekniğin sürece kısıtlı olmasına bağlanabilir. Rumende bazı şartların oturup maddelerin etkinliğini göstermesi için belli bir süreye ihtiyaç olduğu bilinmektedir. Cardozo ve ark. (2005), inkübasyon süresini 24 saat ile sınırlandırmıştır. Yine aynı araştırmacıların 2006'da yaptıkları 21 günlük *in vivo* çalışmada yonca ekstraktı, anason, kırmızıbiber ve sinemaldehid ile eugenol karışımının konsantre yemden zengin beslenen (90/10 konsantre/kaba) fistül bağlanmış 4 adet Holstein düve (360-450 kg) ile ruminal fermentasyon üzerine etkilerini incelenmiş ve %15 kapsaisin içeren kırmızıbiber ekstraktından 1g/gün dolayısıyla 2,1 mg/l kapsaisinin asetik asit miktarını kontrol grubuna kıyasla azalttığını gözlemlemişlerdir (Cardozo ve ark., 2006). Bu bağlamda tez çalışmamız ile Cardozo ve ark. (2006)'nın çalışması birbirine uyum göstermemektedir. Kullandıkları 2,1 mg/l kapsaisin CAP1 ve CAP5 dozları arasında yer alsa da oluşan değişikliğin farklı olması, *in vivo* ve *in vitro* şartlarda çalışmanın farklı sonuçlar verebileceğine ve bir maddeyi rumene direkt uygulamak ile bir eterik yağ karışımı içerisinde vermenin farklı sonuçlar doğurabileceğine bağlanabilir. Yapılan başka bir çalışmada ise 52:48 kaba:konsantre yem besleme şartlarında süt ineklerinden elde edilen rumen içerikleri kullanılarak *in vitro* olarak doğal bitki ekstraktlarının rumende protein yıkımlanması ve fermentasyon parametreleri üzerine etkisi araştırılmış, bu bağlamda fermenter başına 0,22 mg/l kapsaisin verilmiştir ve asetik asit miktarının kontrol grubuna nazaran istatistiki olarak anlamlı bir fark göstermediği belirlenmiştir (Cardozo ve ark., 2004). Tez çalışmasında uyguladığımız üç farklı kapsaisin dozu asetik asit üretimi yönünden kontrol grubuna kıyasla istatistiki fark göstermemiştir. Bu benzerlik, Cardozo ve ark. (2004)'nın bulgularını destekleyen doğrultuda doz çalışması yaptığımızın göstergesi olarak kabul edilebilir.

Yukarıda adı geçen tüm çalışmalara baktığımızda, Cardozo ve ark. (2004) ve Fandino ve ark. (2008), asetat üretimi açısından değişiklik bildirmemişlerdir. Çalışmamızın sonuçları ile paralel olan bu sonuçlar literatür için önemlidir. Cardozo ve ark. (2004)'nın çalıştıklarından daha yüksek dozları çalışmamız ve benzer sonuçları elde etmemiz doz açısından kapsaisin denemelerinin tekrarlanabileceğini göstermektedir. Fandino ve ark. (2008)'nin *in vivo* elde ettikleri benzer sonuçlar *in*

vitro ortamda da benzer sonuçlar vermiş bu anlamda tez çalışması literatür için önemini korumuştur. Brito de Silva ve ark. (2020), Cardozo ve ark., (2005) ve Cardozo ve ark. (2006)'nın yaptıkları çalışmalarda asetat değerleri düşmüştür. Tez çalışmamız ile bu araştırmacıların elde ettikleri sonuçların farklı olmasının sebebi, Cardozo ve ark. (2005)'nin kısa süreli inkübasyon yapması; Cardozo ve ark.'nın (2006) *in vivo* ortamda çalışması ve Brito de Silva ve ark. (2020)'nin esansiyel yağ karışımı içerisinde acı biber kullanmış olması olabilir.

Asetik asit üreten selüloolitik mikroorganizmalar pH 6,0'nın altında baskılandıklarından dolayı asetik asit miktarı düşebilmektedir. Tez çalışmasında her uygulama grubu için ayrı ayrı olmak üzere normal ve asidoz şartlarında düşüş saptanmış ve istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. Bu farklılığın selüloolitik mikroorganizmaların baskılanmasından ileri gelmiş olabileceği düşünülebilir. Asetik asit miktarının yüksek tutulması besi sığırlarında istenen bir özellik olmamasına karşın sütçü ırklarda süt verimi açısından önem arz etmektedir. Asidoz şartlarında tüm kapsaisin gruplarında asetik asit miktarlarının sayısal olarak yüksek seyrediyor olması, yemlere aynı ya da farklı dozlarda kapsaisin ilavesinin kaba yem ağırlıklı beslenen sütçü ırklarda da incelenebilmesine ön ayak olmaktadır.

Süt ve besi sığırı yetiştiriciliğinde farklı UYA'ların miktarca daha fazla olması arzu edilir. Propiyonik asit miktarının yüksek olması, yem enerjisinin daha verimli kullanılması açısından önem taşımaktadır. Bu yüzden besi sığırı yetiştiriciliğinde propiyonik asit miktarının yüksek olması istenmektedir (Duffield ve Bagg, 2000; Ipharraguerre ve Clark, 2003 ve McGuffey ve ark., 2001). Normal koşullarda ve asidik rumen koşullarında monensin eklenen fermenterlerde propiyonat miktarı yüksek bulunmuştur. Monensinin propiyonat düzeyini artırdığı birçok çalışmada bildirilmiştir. Monensin gibi iyonofor grubu antibiyotikler özellikle asidik şartlarda daha iyi çalışmaktadır (Russell ve Houlihan, 2003). Bu çalışmada da bu durum gözlenmiş, özellikle pH'nın 5,5 civarına indiği durumlarda monensin, propiyonik asit üretimini daha dramatik şekilde artırmıştır. Propiyonik asitin artması da özellikle metan oluşumunun azaltılması bakımından önem taşımaktadır.

Propiyonik asit üretimi yönünden normal ve asidik koşullarda kapsaisinin artan dozları kontrole kıyasla herhangi bir etki göstermemiştir. Brito da Silva ve ark. 2020 yılında yaptıkları bir araştırmada, bitki esansiyel yağ karışımını (kapsaisin, karvakrol, içeren biber ekstraktı eugenol ve sinamaldehyd) standart bir yemde 56 gün boyunca süt ineklerine yedirmiş ve propiyonatın yükseldiğini gözlemlemişlerdir. Brito da Silva ve ark. (2020)'nın kullandıkları yağ karışımındaki maddelerin miktarı tam belirtilmemiştir ancak propiyonat miktarındaki yükselme CAP5 (14,61 mmol/gün) ve CAP25 (14,7 mmol/gün) grubunda kontrol grubumuza (14,035 mmol/gün) kıyasla sayısal olarak yüksek bulunmuştur. Bu durum Brito da Silva ve arkadaşlarının bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Asidoz şartlarında ise tüm Kapsaisin gruplarında propiyonik asit üretimi yine kontrole nazaran sayıca yüksek seyretmiştir. İstatistiki açıdan fark görülmemiş olsa da asidozda kapsaisin ilavesi monensine benzer şekilde propiyonik asidi yüksek tutma eğilimindedir. Fandino ve ark. (2008) konsantre yem ağırlıklı besleme şartlarında monensine alternatif olarak anason ve kırmızıbiber yağının rumen fermantasyonuna *in vivo* etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, günlük 500 mg miktarda yeme eklenen kırmızıbiber yağının (1,1 mg/l) propiyonik asit miktarına etki yapmadığını ve 238 mg/gün monensinin (3,4 mg/l) propiyonik asit miktarını artırdığını belirtmişlerdir. Elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında 1mg/l kapsaisin dozunun propiyonik asiti etkilemediği, 5 mg/l miktarında monensinin propiyonik asit miktarını artırdığı ve iki çalışmanın uyumlu olduğu görülmektedir. Cardozo ve ark. (2005), iki farklı pH değerinde (7,0 ve 5,5) ve konsantre yem ağırlıklı besleme şartlarında, doğal bitki ekstraktlarının ruminal fermantasyona etkisini araştırdıkları ve ortalama 200 kg canlı ağırlığı olan iki düveden alınan rumen sıvısı ile bitki ekstraktlarını 24 saat inkübe ettikleri *in vivo* çalışmada, kapsaisinin 0,3, 3 ve 30 mg/l dozlarının normal pH 7,0'de propiyonatu azalttığını, pH 5,5'da ise 3 ve 30 mg/l dozlarının propiyonatu artırdığını ve 0,3 mg/l dozunda propiyonat miktarının anlamlı değişiklik göstermediğini belirlemişlerdir. Buradan düşük dozlarda propiyonat miktarının etkilenmediği çıkarılabileceği gibi mevcut çalışmamızda asidoz fazındaki sayıca artışın Cardozo ve ark. (2005)'nin çalışması ile uyumluluk gösterdiğini söyleyebiliriz. Cardozo ve ark. (2005), propiyonik asitteki yükselişi asidozda bakteri membranlarının daha kırılgan

ve aşılır yapıda olması ile eterik bileşiklerin bakterilerin membranını daha kolay aşip antimikrobiyal etkinlik gösterebilmesine bağlamışlardır. Ancak uzun süreli bir inkübasyon modelini benimsemediklerinden kısa vadede kapsaisinin propiyonik asit üretimine etkisi, çalışmamızda elde edilen verilerden farklılık taşımaktadır. Fandino ve ark. (2020) rumende oluşan pH, NH₃-N ve UYA'yı inceledikleri bir çalışmada anason yağı ve acı biber yağı karışımını *in vitro* 5, 15 ve 30 mg/l (1, 3 ve 6 mg/l kapsaisin) ve *in vivo* 100, 250 ve 500 mg/gün (20, 50 ve 100 mg/gün kapsaisin) olarak 1:9 kaba yem ağırlıklı beslenen sığırların rumen içeriğinde uygulamış ve anason yağı (AY) ve acı biber yağı (C) miktarlarını oranları değişmeli olacak şekilde (3AY:1C; 2AY:2C; 1AY:3C) incelemişlerdir. Farklı oranlarda uygulanan maddeler arasından *in vitro* denemede 3A:1C ve *in vivo* denemede 2AY:2C; 1AY:3C miktarları anlamlı sonuç vermiştir. Tez çalışmamızda propiyonat CAP1 ve CAP5 dozlarında kontrole göre değişiklik göstermezken Fandino ve ark. (2020)'nın çalışmasında yükselmiştir. Bu yükselmenin yine anason yağına bağlı olduğu söylenebilir. Tez çalışmamızın aksine Cardozo ve ark. (2005)'nin yaptığı çalışmada, 3 ve 30 mg/l dozlarında (%12 kapsaisin içeren acı biber yağı ile) yani 0,36 ve 3,6 mg/l kapsaisin dozlarında propiyonat miktarı artmıştır. Benzer dozların (CAP1 ve CAP5) farklı etkiler göstermesi Cardozo ve ark. (2005)'nin çalışmasının *in vivo* olmasına, inkübasyon sürelerinin tez çalışmamıza kıyasla düşük olmasına, benzer dozların farklı rumen şartlarında farklı etkiler oluşturabileceğine bağlanabilir. Cardozo ve ark. (2006), yaptıkları 21 günlük *in vivo* çalışmada yonca ekstraktı, anason, kırmızıbiber ve sinemaldehid ile eugenol karışımının konsantre yemden zengin beslenen (90/10 konsantre/kaba) fistül bağlanmış dört adet Holstein düve (360-450 kg) üzerinde ruminal fermentasyon üzerine etkilerini incelemiş ve %15 kapsaisin içeren kırmızıbiber yağından 1 g/gün dolayısıyla 2,1 mg/l kapsaisinin propiyonat miktarını değiştirmediğini, kontrole göre yükselmiş olmasının ise istatistiki olarak anlamlı olmadığını saptamışlardır. Bu tez çalışmasında CAP1 ve CAP5 gruplarında propiyonik asit üretimi Cardozo ve ark. (2006)'nın bulguları ile benzerlik göstermektedir. Cardozo ve ark. (2004), 52:48 kaba yemden zengin besleme şartlarında 10 gün süren ve süt ineklerinden elde edilen rumen içeriklerini kullanarak yaptıkları *in vitro* çalışmada fermenter başına 0,22 mg/l kapsaisin vermiş

ve propiyonat miktarının kontrol grubuna nazaran istatistiki olarak anlamlı bir fark göstermediğini belirlemişlerdir. Yapmış olduğumuz tez çalışmasında kapsaisin gruplarında propiyonik asit miktarının istatistiki değişikliğe yol açmadığı göz önünde bulundurulursa iki çalışma arasında uyumluluk olduğu gözlenecektir.

Propiyonik asit, glikoneogenezise diğer UYA'ya kıyasla daha fazla dahil olarak glikoza dönüşebilmektedir. Bu bağlamda süt şekerinin oluşumunda diğer UYA'ya nazaran daha büyük rolü vardır (Yost ve ark., 1977). Rumende mikroorganizmalar tarafından oluşturulan aynı zamanda yemlerle alınan hidrojen iyonları, propiyonik asit moleküllerinin öncü maddesi olduğundan, propiyonik asit oluşumuna katılan H^+ iyonu miktarı arttıkça aynı zamanda metan oluşumuna katılması beklenen H^+ iyonu miktarı azalmakta ve bu yolla metan oluşumu azaltılabilmektedir. Metan oluşumunun azaltılması da hayvanın yemden yararlanımını artıracaktır (Ellis ve ark., 2008 ve Leng ve ark., 1967). Bu anlamda propiyonik asiti diğer UYA'ya nazaran arttırmaya çalışmak yerinde olacaktır. Çalışmada kapsaisin gruplarının istatistiki olarak olmasa da sayısal olarak propiyonatu artırması gelecekte yapılması planlanacak çalışmalarda doz yönünden kapsaisin ilavesi üzerinde durulabileceğinin göstergesi sayılabilir. Konsantre yemden zengin beslenen hayvanlarda propiyonat miktarının yüksek çıkması beklenen bir durumdur. Bu durum yapısal karbonhidratlar olan kaba yemlerden ziyade kolay sindirilebilen karbonhidratların sindirilmesinden kaynaklanmaktadır. Kaba yemlerin sindirilmesiyle üretilen asetik asit miktarı artarken, kolay sindirilebilen yemlerden zengin rasyonlarla beslenen hayvanlarda ise propiyonat miktarının arttığı gözlenmiştir (Ellis ve ark., 2008). Asidoz durumunda aside dayanıklı olan amilolitik bakterilerin artması da kolay sindirilebilir karbonhidratların sindirilerek propiyonat üretimine katkı sağlayabilir. Protozoon sayısı bu çalışmada asidik koşullarda giderek azalmış ve sıfırlanmıştır. Özellikle siliyalı protozoonların ortamda azalması yüksek propiyonat üretimi ile sonuçlanabilmektedir. Siliyalı protozoonlar ortamda yüksek oranda bulunuyorsa ruminal fermantasyon molar oranda butirat ile karakterize edilirken, onların yokluğunda propiyonat ana ürün olmaktadır (Grummer ve ark., 1983 ve Hess ve ark., 2003).

Çalışmada kullanılan kapsaisin dozları ve monensinin normal ve asidik rumen şartlarında, kontrol grubuna kıyasla butirat üretimine istatistiki olarak anlamlı bir etkide bulunmadığı gözlenmiştir. Aynı şekilde uygulama grupları bütirat üretimi açısından normal ve asidoz şartlarında istatistiki olarak farklılık göstermemiştir. Kapsaisinin konu edildiği bazı araştırmalarda bütirat üretimi artarken (Cardozo ve ark., 2005; Fandino ve ark., 2008 ve Fandino ve ark., 2020); bazı araştırmalarda ise kontrol gruplarına nazaran anlamlı değişiklik olmamış (Cardozo ve ark., 2004; Cardozo ve ark., 2006 ve Rodriguez-Prado ve ark., 2012) bazı araştırmalarda ise azaldığı belirlenmiştir (Ünlü ve ark., 2021). Doz açısından bakıldığında Cardozo ve ark. (2004) 52:48 kaba:konsantre yem besleme şartlarında 10 gün süren ve süt ineklerinden elde edilen rumen içeriklerini kullanarak yaptıkları *in vitro* çalışmada fermenter başına 0,22 mg/l kapsaisin vermiş ve bütirat miktarının kontrol grubuna nazaran istatistiki olarak anlamlı bir fark göstermediğini belirlemişlerdir. Besleme şartlarının farklı olmasına karşın tez çalışmasında benzer sonuç elde edildiği görülmektedir. Cardozo ve ark. (2006), yaptıkları 21 günlük *in vivo* çalışmada yonca ekstraktı, anason, kırmızıbiber ve sinemaldehid ile eugenol karışımının konsantre yemden zengin beslenen (90/10 konsantre/kaba) fistül bağlanmış dört adet Holstein düve (360-450 kg) üzerinde ruminal fermantasyon üzerine etkilerini incelemiş ve %15 kapsaisin içeren kırmızıbiber ekstraktından 1 g/gün dolayısıyla 2,1 mg/l kapsaisinin bütirat konsantrasyonlarına anlamlı etki yapmadığını bildirmişlerdir. Kapsaisinin 1 mg/l ve 5 mg/l dozlarının arasında yer alan 2,1 mg/l kapsaisinin etkisi tez çalışmasında elde edilen bütirat miktarlarıyla uyum göstermektedir. Fandino ve ark. (2020), ruminal fermantasyonu inceledikleri çalışmalarında anason yağı ve acı biber yağı karışımını *in vitro* (1, 3, 6 mg/gün kapsaisin) ve *in vivo* (20, 50, 100 mg/gün kapsaisin) olarak kaba yem ağırlıklı beslenen sığırlarda uygulamış ve anason yağı (AY) ve acı biber yağı (C) miktarlarını her uygulamada dozları değişecek şekilde (3AY:1C; 2AY:2C; 1AY:3C) incelemişlerdir. Eklenen maddeler *in vitro* denemede 3AY:1C yani anason yağının acı biber yağından daha fazla olduğu dozda ve *in vivo* denemede 2AY:2C (her iki maddeden eşit olacak şekilde); 1AY:3C (acı biber yağının anason yağından fazla olduğu dozda) miktarlarında göstermiştir. Butirat tez çalışmamızda CAP1 ve CAP5 dozlarında kontrole göre değişiklik

göstermezken Fandino ve ark. (2020)'nın çalışmasında yükselmiştir. Bu yükselmenin yine anason yağına bağlı olarak oluştuğu söylenebilir.

Metan gazı bilindiği üzere çevreyi tehdit eden en önemli sera gazlarından biridir. Son yıllarda hayvan besleme alanında yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu metan oluşumunu azaltmaya yöneliktir. Protozoonların metanojenik arkelerle simbiyotik ilişkide olduğundan daha önce de bahsedilmiştir, bu yüzden defaunasyonun metan oluşumu kısıtlamada yardımcı bir faktör olduğu düşünülebilir.

Bu çalışmada monensin ve kapsaisin farklı dozlarının metan gazı oluşumuna kontrole kıyasla istatistiki olarak etkili olmadıkları görülmüştür. Fermenterlerdeki metan gazı asidoz fazında istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde düşmeye devam etmiş olup düşüş sebebi, asidik rumen şartlarında protozoonların ortamdaki elimine olması olabilir. Azalan protozoonlar, metanojenik arkelerle iş birliği yapamamış dolayısıyla metanojenik arkeler azalmıştır. Ayrıca metanojenik arkelerin rumende pH değişikliğine oldukça duyarlı oldukları bilinmektedir (Hook ve ark., 2011).

Ruminant beslemede monensin kullanımının en bariz etkisi asetat ve bütirat üretimlerinde azalma, propiyonat üretiminde artma, bu değişime bağlı metan gazı üretiminde azalma olarak bildirilmektedir (Russell ve Strobel, 1989). Tez çalışmasında monensin metan miktarını kontrole nazaran azaltsa da istatistiki olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Ancak monensinin bilinen etkileri tez çalışmasında sayısal olarak doğrulanmaktadır. Monensin grubu fermenterlerde propiyonat miktarındaki istatistiki artış elde edilen metan gazındaki azalış ile anlamlı bir bütün oluşturmaktadır. Metan üretimi yönünden kapsaisin grupları incelendiğinde CAP5 ve CAP25 gruplarında Monensin grubuna nazaran anlamlı bir artış gözlenirse de kontrol grubundan farklı değildir. Bu durum metan gazının istenilen yönde azaltmaya yönelik kapsaisin dozlarının bir etki yapmadığı veya yüksek dozların olumsuz yönde etki yaptığını göstermektedir. Kapsaisin yapılan bilimsel çalışmalarda metan gazı yönünden direkt değerlendirilmemiştir. Bu anlamda tez çalışması bilimsel olarak önem taşımaktadır.

Fermentasyon sonunda oluşan NH_3 'ın bir kısmı rumen mikroorganizmaları tarafından tekrar değerlendirilerek mikrobiyel protein yapımında kullanılsa da fazlası karaciğerde üreye dönüşmektedir. Karaciğerdeki ürenin bir kısmı ruminohepatik azot dolaşımıyla tekrar rumene geri dönse de bir kısmı idrarla atılmaktadır. İdrarla atılan kısım yem ile alınan azot kaynağının yaklaşık %25-35'lik kısmına (Min ve ark., 2000) denk düşmektedir. Rumen fermentasyonunun modifikasyonu amacıyla yapılan çalışmalarda rumendeki $\text{NH}_3\text{-N}$ oluşumu azaltılmaya çalışılmaktadır. Bu çalışmada normal ve asidoz koşullarında $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonu monensin ilavesi sonucu sayısal olarak azalsa da istatistiki olarak değişiklik göstermemiştir. Ancak tüm koşullar ve gruplar arasında sayısal olarak en düşük $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonu monensin varlığında belirlenmiştir. Tez çalışmasının sonuçları bu bağlamda literatür ile uyumludur.

Kapsaisin $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonu açısından ele alındığı çalışmaların bazılarında $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonunun etkilenmediği (Cardozo ve ark., 2006 ve Fandino ve ark., 2008), bazı çalışmalarda ise düştüğü (Cardozo ve ark., 2004 ve Cardozo ve ark., 2005) bildirilmiştir. Bu çalışmada asidoz safhasında tüm fermenterlerde $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonunda istatistiki olarak anlamlı genel bir düşüş gözlenmiştir. Bunun sebebi olarak ortamın protozoonlardan tamamen arınmış olması düşünülebilir. Çünkü protozoonlar yüksek proteolitik aktiviteye sahiptir ve proteinleri sindirerek amonyak açığa çıkarmaktadır. Bu durumu destekleyen çalışmalar mevcuttur (Lu ve Jorgensen, 1987 ve Newbold ve ark., 1997). Protozoon aktivitesinin düşüşü haricinde $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonunu azaltan diğer önemli faktör ise hiper-amonyak üreten bakterilerin ortamda popülasyonca azalmalarıdır. Yüksek amonyak üreten bakterilerin genellikle Gram pozitif bakteriler olduğu ve Clostridium türlerinin de aralarında en baskın mikroorganizmalar olduğu bilinmektedir. pH değişikliklerinde Gram pozitif bakterilerin büyümesi etkilenmektedir. Yüksek amonyak üreten bakteriler ile deaminasyona yol açan bakterilerin varlığı ile $\text{NH}_3\text{-N}$ üretimi etkilenebilmektedir (Lana ve ark., 1998). Asidoz koşullarında deaminasyona yol açan mikroorganizmalarda azalma meydana gelmektedir. Clostridium aminophilum'un düşük pH düzeylerinde hala aktif kalabileceği belirlenmiş olsa da

Peptostreptococcus anaerobius pH 6,0'ın altına düştüğünde güçlü bir şekilde inhibe edilir (Chen ve Russell, 1988 ve Chen ve Russell, 1989). Konsantre yemden zengin beslemelerde bakterilerin deaminasyon yeteneğinin kaba yemle beslenenlere nazaran düşük olduğu da bildirilmiştir (Lana ve ark., 1998). Fandino ve ark. (2008)'nın konsantre yem ağırlıklı beslenen düvelerde yaptıkları 24 günlük *in vivo* çalışmada anason ve kırmızıbiber ekstraktlarını monensin ile karşılaştırmışlar bu bağlamda 238 mg/gün yani 3,4 mg/l monensin, 500 mg/gün (%15 kapsaisin) yani 1,1 mg/l kapsaisine denk düşen acı biber yağını kullanmışlardır. Monensinin NH₃-N miktarını düşürdüğünü, kapsaisinin ise NH₃-N miktarına istatistiki olarak anlamlı bir etki yapmadığını bildirmişlerdir. Kullandıkları monensin dozu (3,4 mg/l) düşünüldüğünde tez çalışmasında kullanılan 5mg/l monensine kıyasla NH₃-N miktarını düşürücü etki yapmış olması *in vivo* ve *in vitro* şartlar arasındaki farklılığa bağlanabilir. Çünkü tez çalışmasında kullanılan 5 mg/l doz sayısal olarak amonyak miktarını düşürmüştü de istatistiki olarak anlamlı çıkmamıştır. Bilindiği üzere canlı hayvan üzerinde yapılan deneylerin, canlı hayvanın izlenmesinin ve şartların takibinin zor olması göz önüne alındığında sabit veriler vermediği gözlenmektedir. Kullanılan monensin dozlarının birbirine yaklaşık değerlerde olduğu ancak farklı sonuçlar elde edilen bu iki çalışmada *in vivo* ortamda monensinin etkisinin farklı olacağına dair kanıt niteliğindedir. Çalışmada kullanılan kapsaisinin 1 mg/l dozunun NH₃-N miktarına istatistiki olarak anlamlı bir etki yapmamış olması, Fandino ve ark. (2008)'nın 1,1 mg/l kapsaisin dozu ile benzer sonuç elde etmesiyle uyum göstermektedir. Besleme şartlarının farklılığı da yine elde edilen NH₃-N miktarını değiştirebilmektedir. Örneğin Cardozo ve ark. (2004), 52:48 kaba:konsantre yem besleme şartlarında 10 gün süren ve süt ineklerinden elde edilen rumen içeriklerini kullanarak yaptıkları *in vitro* çalışmada fermenter başına 0,22 mg/l kapsaisin vermiş ve NH₃-N miktarının kontrol grubuna nazaran istatistiki olarak düştüğünü belirlemişlerdir. Bu durum kaba yem miktarının konsantre yemden daha fazla olması ile açıklanabilir. Cardozo ve ark. (2006), yaptıkları 21 günlük *in vivo* çalışmada yonca ekstraktı, anason, kırmızıbiber ve sinemaldehid ile ögenol karışımının konsantre yemden zengin beslenen fistül bağlanmış düvelerde (360-450 kg) ruminal fermentasyon üzerine etkilerini incelemiş ve %15 kapsaisin içeren kırmızıbiber

ekstraktından 1 g/gün dolayısıyla 2,1 mg/l kapsaisinin $\text{NH}_3\text{-N}$ miktarına istatistiki olarak anlamlı bir etkide bulunmadığı gözlenmiştir. Bu çalışma ile karşılaştırıldığında CAP1 değerlerinde $\text{NH}_3\text{-N}$ miktarları yönünden değişiklik olmaması sebebiyle iki çalışma, dozların birbirine yakın olması dolayısıyla benzerlik göstermektedir. Busquet ve ark. (2005b), farklı dozlarda 12 bitki ekstraktını ve altı ikincil bitki metabolitini 24 saatlik inkübasyon yoluyla inceledikleri çalışmada, kaba ve konsantre yemi eşit düzeylerde verdikleri süt ineğinden elde edilen rumen sıvılarını bitki metabolitleri ile inkübe etmişlerdir. Bu amaçla 3, 30, 300 ve 3000 mg/l dozlarında bitki ekstraktı ve ikincil bitki metaboliti kullanmışlardır. İçerisinde %12 kapsaisin bulunan acı biber yağı kullandıklarından kapsaisin değerleri 0,036; 3,6; 36 ve 360 mg/l şeklindedir. 0,036-36 mg/l arasındaki değerlerde $\text{NH}_3\text{-N}$ konsantrasyonunun değişmediğini bildirmişlerdir. Bu bağlamda vardıkları sonuç tez çalışmamız ile paralellik göstermektedir.

Protozoonların rumen metabolizmasındaki önemini incelediğimizde selüloz sindirimine yardımcı oldukları, amilolitik bakterilerin faaliyetini kısıtlayarak ortamda laktik asit birikimini önlediği, doymamış yağ asitlerini hidrolize ederek doymuş yağ asitleri oluşturduğu, bakır metabolizmasını da etkileyerek bakır zehirlenmesini engellediği bilinmektedir (Cerilla ve Martinez, 2003; Chin, 1997 ve Yokoyoma ve Johnson, 1988). Bu yararlı etkilerinin yanında protozoonlar hayvanın diyetle aldığı proteinli bileşikleri parçalayarak hayvanın protein kaynaklarına ortak olmaktadır. Mikroflorada yer alan bakterileri de yiyecek kaynağı olarak kullanan protozoonlar, ruminantın mikrobiyel proteinden yararlanmasını da kısıtlamaktadır. Aynı zamanda metanojenik arkeler ile mutualistik bir ilişki içerisinde olup metan üretimine dolaylı olarak katkıda bulunmaktadırlar (Ellis ve ark., 2008). Özellikle düşük kaliteli protein ile beslenen hayvanlarda az miktarda alınan proteine de ortak olmaları gerekçesiyle defaunasyon uygun görülmektedir (Rowe ve ark., 1985). Bu bilgilerin ışığında protozoonların varlığının hayvana ne derecede yarar sağladığı ve varlıklarının elzem olup olmadığı tartışmalıdır (Chin, 1997 ve Russell, 2002).

Monensinin protozoonlar üzerine azaltıcı etkisi bilinmektedir (Schelling, 1984). Bu çalışmanın pozitif kontrol grubu olan monensin, normal ve asidoz fazlarında protozoon miktarını istatistiki olarak azaltmıştır. Normal fazda kapsaisinin tüm dozları protozoon miktarı açısından negatif ve pozitif kontrolle karşılaştırıldığında istatistiki bir farklılık ortaya koymamıştır. Asidoz fazında ise kapsaisinin tüm dozlarında belli bir düşüş gözlenirse de monensin gibi anlamlı bir etki gözlenmemiştir. Bu durum, protozoonların pH değişimine en duyarlı mikroorganizmalar oldukları düşünüldüğünde (Dukes, 2008), kapsaisin eklenmiş fermenterlerdeki esas azalmanın asidozdan kaynaklanabileceğini göstermektedir. Ancak kapsaisinin her dozunda istatistiki olarak monensine benzerliğin yakalanmış olması da göz önünde bulundurmaya değerdir. Fandino ve ark. (2008), düvelere ruminal fistül uygulayarak gerçekleştirdikleri 24 gün süren bir çalışmada düveleri 1:9 konsantre yem ağırlıklı beslemiş ve monensine alternatif olarak anason ve kırmızıbiber ekstraktlarının rumen fermantasyonuna *in vivo* etkilerini araştırmışlardır. 238 mg/gün (3,4 mg/l) monensin verilen pozitif kontrol grubuna kıyasla 500 mg/gün (%15 kapsaisin) (1,1 mg/l) kapsaisine denk düşen acı biber yağının etkilerini incelemişlerdir. Deneme sonucunda monensinin protozoon sayısını düşürdüğünü, kapsaisinin ise etki yapmadığını bildirmişlerdir. Bu bağlamda yapılan tez çalışması ile Fandino ve ark. (2008)'nın çalışması uyumluluk göstermektedir. İki çalışma kıyaslandığında CAP1 dozunun etkisi ile 1,1 mg/l kapsaisinin (Fandino ve ark., 2008) etkileri uyuşmaktadır. Fandino ve ark. (2008)'nın, kullanmış oldukları 3,4 mg/l monensin ile tez çalışmasında kullanılan 5 mg/l monensinin etkileri de benzerdir. Konsantre yemden zengin rasyonlarla beslenen ruminantlarda protozoonlar ortamdaki elimine olabilmekte ve defaunasyon gerçekleşebilmektedir (Johnson, 1976). Kapsaisinin dahil olduğu çalışmalarda protozoon sayısı hakkında başka bir literatür bilgisine rastlanmamıştır.

Bu tez çalışmasında KMS normal fazdan asidoz fazına geçiş olduğunda istatistiki olarak düşmüştür. Kapsaisin grupları arasında KMS yönünden istatistiki olarak bir değişim yoktur. Toplam UYA yem kuru madde sindiriminin artması sonucu yükselebilir. Bu çalışmada toplam UYA üretiminde uygulama grupları

arasında değişiklik olmamasına rağmen normal şartlar altında CAP25, yem kuru madde sindirilebilirliğini kontrole kıyasla sayısal olarak artırmıştır. Kapsaisin dahil olduğu iki çalışmada da kuru madde sindirilebilirliğinin arttığı bildirilmiştir (Cardozo ve ark., 2006 ve Fandino ve ark., 2008). Kuru madde sindirilebilirliğinin genellikle konsantre yem ağırlıklı besleme şartlarında yapılan çalışmalarda arttığı gözlenmiştir. Bu durum özellikle bazı fitokimyasal ve eterik yağların belli başlı pH aralıklarında ve diyetlerde çalıştığını göstermektedir (Calsamiglia ve ark., 2007). Asidozda asit üreten bakterilerin artması, protozoonların azalması ve ruminal fermentasyonun belirli pH aralığının altında baskılanması KMS'i tüm uygulama gruplarında azaltmıştır. Cardozo ve ark. (2006)'nın ve Fandino ve ark. (2008)'nin yem kuru madde sindirilebilirliğinin arttığını tespit ettikleri çalışmalarda konsantre yemden zengin besleme olmasına karşın belli bir asidoz durumu söz konusu değildir. 25 mg/l kapsaisin dozunun KMS'yi artırıcı etkisi asidoz durumunda gözlenmemiştir. Bu bağlamda tez çalışmasında normal şartlarda elde edilen değerler ile Cardozo ve ark. (2006)'nın ve Fandino ve ark. (2008)'nin çalışmaları uyumluluk göstermektedir. Kuru madde sindirilebilirliği düzeyi bilindiği üzere yemden yararlanmanın en önemli belirtisi ve fermentasyonun beklenen olumlu sonuçlarından biridir. Bu bağlamda normal şartlarda 25 mg/l kapsaisin dozunun kontrole kıyasla monensine benzer şekilde KMS'yi sayısal olarak artırmış olması istatistiki olarak anlamlı olmasa da dikkate değerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu doktora tezinde kapsaisinin 1, 5 ve 25 mg/l dozlarının, monensin ile karşılaştırmalı olarak ruminal fermantasyon üzerine etkileri uzun süreli *in vitro* inkübasyon modeli olan Rusitec ile araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda kullanılan kapsaisin dozlarının ruminal fermantasyonu değiştirmede yeterli olmadığı ve istenilen değişiklikleri (toplam UYA'da artış ya da değişiklik olmaması, toplam UYA profilinde propiyonat lehine değişim, metan gazı üretiminde azalma, yem kuru madde sindirilebilirliğinde yükselme) oluşturamadığı gözlenmiştir. Kapsaisinin antibakteriyel özelliği ve acı biber sanayiindeki atık miktarı göz önünde bulundurularak iyonofor gubu antibiyotiklere önemli bir alternatif olabileceği düşünülerek çalışma planlanmıştır. Bitki ekstraktlarının rumendeki etkinliği esas olarak pH'ya bağımlı değişmekle birlikte her bitkinin çalıştığı pH aralığı farklı olmaktadır. Yapılan çalışmalarda düşük pH aralıklarında kapsaisin molekülünün daha iyi çalıştığına dair sonuçlar alınmıştır. Düşük pH aralıklarında kapsaisin dozları çeşitlendirilerek kapsaisin etkinliğinin, yine düşük pH aralığında etkinliği belirlenmiş farklı fitokimyasallar ya da enzimlerle kombine edilerek, araştırılması gelecekte yapılacak çalışmalar için fikir oluşturmaktadır. Toplam UYA üretiminde kontrole nazaran istenen değişiklikler elde edilememiş olmasına karşın asidoz şartlarında kapsaisin gruplarının toplam UYA profilini kontrole nazaran sayısal olarak artırdığı tespit edilmiştir. İleride kapsaisin üzerine yapılacak çalışmalarda dozlamının değiştirilmesi ile toplam UYA profilinde istenen etkinin yakalanabileceği olasılığı göz önünde bulundurulmalıdır. Bilindiği üzere süt performansını etkileyen en önemli uçucu yağ asidi asetik asittir. İdeal bir süt verimi için rumen fermantasyon parametrelerinde asetik asidin yüksek seyretmesi beklenir. Asidoz şartlarında tüm kapsaisin gruplarında asetik asit miktarları sayısal olarak yüksek seyretmiştir. Yemlere bu tez çalışmasında kullanılan dozlarda ya da farklı dozlarda kapsaisin ilavesinin kaba yem ağırlıklı beslenen sütçü ırklarda incelenmesi ile umut verici sonuçlar elde edilebileceği ön görülebilir. Çalışmada asidoz koşullarında kapsaisin gruplarının istatistiki olarak olmasa da sayısal olarak

propiyonatı artırması gelecekte yapılması planlanacak çalışmalarda doz yönünden kapsaisin ilavesi üzerinde durulabileceğinin göstergesi sayılabilir. Çalışmada normal ve asidoz şartlarında kuru madde sindirilebilirliğinin 25 mg/l kapsaisin dozunda sayısal olarak yükseldiği tespit edilmiştir. Bu bağlamda kapsaisinin daha yüksek dozları da kuru madde sindirilebilirliği yönünden araştırılabilir. Kuru madde sindirilebilirliği düzeyi yemden yararlanmanın en önemli belirtisi ve fermantasyonun beklenen olumlu sonuçlarından biridir. Bu bağlamda normal şartlarda 25 mg/l kapsaisin dozunun kontrole kıyasla monensine benzer şekilde KMS'yi sayısal olarak artırmış olması istatistiki olarak anlamlı olmasa da dikkate değerdir.

Bu tez çalışmasında SARA koşulları altında kapsaisinin etkisi demonstre edilmiş asidoz şartlarının getirdiği fermantasyon değişikliği yakalanırken kapsaisinin kullanılan dozlarında beklenen etki sağlanamamıştır. SARA koşulları altında, kapsaisinin fermantasyonu tamamen durdurmayacak, güvenli yüksek dozları araştırılabileceği gibi rumenin farklı metabolik rahatsızlıklarında da kapsaisinin etkinliği araştırma konusu olabilir. Farklı besleme rejimlerinde uçucu yağ asidi profilinde gerçekleşen değişimler istenilen yönde olabilir.

ÖZET

Kapsaisin farklı pH değerlerinde ve konsantre yem ağırlıklı besleme şartlarında rumen mikrobiyel fermentasyonu üzerine etkilerinin rumen simülasyon tekniği (Rusitec) kullanılarak belirlenmesi

Kapsaisin bibere acı lezzetini veren ve geniş bir yelpazede Gram pozitif ve negatif bakteriler üzerine antimikrobiyal etkinlik gösteren bir maddedir. Bu araştırmanın amacı, uzun süreli bir inkübasyon modeli olan rumen simülasyon tekniğini (Rusitec) kullanarak normal ve asidik rumen pH koşullarında kapsaisin ruminal mikrobiyal fermentasyon üzerine *in vitro* etkilerini monensinle karşılaştırmalı olarak belirlemektir. Araştırma toplamda 18 gün olacak şekilde 3 faza ayrılmıştır. İlk 6 günlük faz adaptasyon süresini oluştururken ikinci 6 günlük faz normal koşullar, son 6 günlük faz ise asidoz fazını oluşturmaktadır. Çalışmada kapsaisin 1, 5 ve 25 mg/l halinde fermenterlere uygulanan dozları farklı pH'larda ve konsantre yemden zengin besleme şartlarında monensin ile karşılaştırılmıştır.

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre ruminal pH, kapsaisin 1, 5 ve 25 mg/l dozlarında istatistiki olarak anlamlı bir düşüş göstermiştir. SARA koşulları 12. günden sonra deneyde başarılı bir şekilde uygulandığından dolayı tüm fermenterlerde pH miktarlarındaki düşüş uygulama gruplarından bağımsız olarak istikrarlı bir şekilde gerçekleşmiştir. Asidoz fazında kapsaisin artan dozları kontrol grubuna göre anlamlı şekilde pH'yı değiştirmiştir. Uygulama gruplarının kendileri aralarında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Toplam UYA miktarı normal ve asidoz şartlarında monensin ve kapsaisin uygulamalarından istatistiki olarak etkilenmemiştir. Daha sonra oluşturulan asidoz koşullarında UYA üretimi tüm gruplarda kendi içlerinde azalmıştır.

Asetik asit miktarı normal ve asidik pH koşullarında kontrole nazaran hiçbir uygulama grubunda anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Asidoz koşullarında asetik asit üretimi tüm gruplarda kendi içlerinde azalmıştır.

Propiyonik asit üretimi, hem normal hem de asidik koşullarda, tüm kapsaisin ve kontrol gruplarında monensin grubuna nazaran istatistiki olarak düşük belirlenmiştir. Monensin grubu beklenildiği üzere kontrol grubuna nazaran propiyonat üretimini her iki koşulda da artırmıştır. Normal ve asidoz koşulları arasında ise hiçbir grup kendi içerisinde anlamlı değişiklik göstermemiştir.

Butirat konsantrasyonları, normal ve asidoz safhalarında kapsaisin farklı dozlarından istatistiki olarak anlamlı şekilde etkilenmemiştir.

Monensin ilavesi metan gazı üretimini kontrole nazaran istenen düzeyde düşürse de istatistiki olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. Normal şartlarda kapsaisin 5 mg/l ve 25 mg/l dozları metan gazı üretimini monensine nazaran olumsuz yönde etkilemiştir.

NH₃-N miktarı yönünden gruplar arasında asidoz ve normal şartlarda fark bulunamamıştır. Çalışmanın 12. gününde oluşturulan asidoz koşullarıyla birlikte NH₃-N miktarı tüm gruplarda kendi içlerinde azalma göstermiştir.

Protozoon sayısı normal ve asidoz koşullarında tüm gruplar arasında en düşük monensin grubunda çıkmıştır. Monensin grubu fermenterler incelendiğinde kontrolden farklı olarak her koşulda protozoon sayısı istatistiki olarak düşmüştür. Asidoz koşullarının etkin biçimde uygulanmasıyla her grup kendi içerisinde asidoz fazında normal faza kıyasla anlamlı olacak şekilde düşük protozoon sayısı vermiştir. Kapsaisin farklı dozları protozoon sayısı yönünden negatif ve pozitif kontrolden farklı bulunmamıştır.

Yem kuru madde sindirilebilirliğinde ne normal ne de asidoz koşullarında gruplar arası değişiklik saptanmıştır. Kapsaisin 25 mg/l dozu, monensine benzer şekilde KMS'yi artırmışsa da istatistiki yönden anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Asidoz safhasında normal faza nazaran tüm gruplarda KMS anlamlı olarak azalmıştır.

Sonuç olarak, bu araştırma koşullarında, 1, 5 ve 25 mg/l düzeylerinde kapsaisin ilaveleri, rumen mikroorganizmalarının fermentasyon aktivitesi üzerinde çok düşük düzeyde etki oluşturmuştur.

Anahtar Sözcükler: Kapsaisin, Metan, Rumen, Ruminal Fermantasyon, Rusitec.

SUMMARY

Determination of the effects of capsaicin on rumen microbial fermentation at different pH values and concentrated feed weighted feeding conditions using rumen simulation technique (Rusitec).

Capsaicin is a substance that makes chili peppers taste hot and has wide spectrum antimicrobial activity against gram-positive and gram negative bacteria. The aim of this study was to determine the effects of capsaicin under normal and acidic pH conditions on *in vitro* ruminal fermentation using the long-term rumen simulation technique (Rusitec) by comparing its effects with those of monensin. The study has divided into 3 phases as 18 days in total. The first 6 day is the adaptation period while the second 6 day is the normal condition and the last 6 day is the acidosis phase. In the study, the doses of capsaicin applied to fermenters at 1, 5 and 25 mg/l were compared with monensin at different pHs and under concentrated feed conditions.

According to the results obtained from the study Ruminal pH showed a statistically significant decrease in the doses of capsaicin which administered to fermenters at 1, 5 and 25 mg/l. As the SARA (subacute rumen acidosis) conditions were successfully applied in the experiment after day 12, the pH-related decrease in all fermentors was consistently independent of the treatment groups. Increasing doses of capsaicin in the acidosis phase significantly changed the pH compared to the control group. There was no statistically significant difference between the treatment groups themselves.

The amount of VFA was not statistically affected by the application of monensin and capsaicin in normal and acidosis conditions. Afterwards, VFA production decreased under acidosis conditions in all groups individually.

The amount of acetic acid did not show a significant change in any treatment group compared to the control under normal and acidic pH conditions. Under acidosis conditions, acetic acid production decreased in all groups separately.

Propionic acid production was found to be statistically lower in all capsaicin and control groups compared to the monensin group in both normal and acidic conditions. As expected, the monensin group increased propionate production in both conditions compared to the control group. Between normal and acidosis conditions, no group showed significant difference within itself.

Butyrate concentrations were not statistically significantly affected by different doses of capsaicin in the normal and acidosis stages.

Although the addition of monensin decreased the methane gas production at the desired level compared to the control, statistically significant results could not be obtained. Under normal conditions, 5 mg/l and 25 mg/l doses of capsaicin negatively affected methane gas production compared to monensin.

There was no difference between the groups in terms of the amount of $\text{NH}_3\text{-N}$ in acidosis and normal conditions. With the acidosis conditions created on the 12th day of the study, the amount of $\text{NH}_3\text{-N}$ decreased in all groups individually.

The number of protozoa was the lowest in the monensin group among all groups under normal and acidosis conditions. When the Monensin group fermenters were examined, unlike the control, the number of protozoa decreased statistically in all conditions. With the effective application of acidosis conditions, each group gave significantly lower protozoan counts in the acidosis phase compared to the normal phase. Different doses of capsaicin were not different from the negative and positive controls in terms of the number of protozoa.

There was no difference between groups in feed dry matter digestibility (DMD) under either normal or acidosis conditions. Although the 25 mg/l dose of capsaicin increased DMD similar to monensin, no statistically significant results were obtained. In the acidosis phase, DMD was significantly reduced in all groups compared to the normal phase.

In conclusion, capsaicin additions at the levels of 1, 5 and 25 mg/l had a very low effect on the fermentation activity of rumen microorganisms under these research conditions.

Keywords: Capsaicin, Methane, Rumen, Ruminal Fermentation, Rusitec.

KAYNAKLAR

- ABAK K (1995). Kahramanmaraş kırmızıbiberinde ihracata yönelik kaliteli yetiştirme, işleme ve pazarlamada karşılaşılan sorunlara çözüm arayışları. Panel, KSÜ Rektörlüğü Yayınları. Kahramanmaraş. **11**: 5-6.
- ABDL-RAHMAN MA (2010). *In vitro* manipulation of rumen fermentation efficiency by fumaric acid-bentonite coupled addition as an alternative to antibiotics. *J. Agric Sci.*, **2**: 174-180.
- ADESOGAN AT (2009). Using dietary additives to manipulate rumen fermentation and improve nutrient utilization and animal performance. *20th Florida Ruminant Nutrition Symposium. Gainesville*, **s**: 13-37.
- AHMED S, BOOTH IR (1981). Quantitative measurements of the proton-motive force and its relation to steady state lactose accumulation. *Escherichia coli. Biochem. J.*, **200**: 573-581.
- AKBARIAN-TEFAGHI M, GHASEMI E, KHORVASH M (2018). Performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves fed starter mixtures supplemented with herbal plants, essential oils or monensin. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **102**(3): 630-638.
- ALP G, ASLIM B (2009). İnsan bağırsak sisteminde probiyotik olarak bifidobakterilerin önemi. *AUJST*, **10**(2): 343-354.
- ANAN T, ITO H, MATSUNAGA H, MONMA SY (1996). A simple method for determining the degree of pungency of peppers. *Capsicum And Eggplant Newsletter*, **16**: 61-64.
- ANNISON E, LEWIS D (1959). Metabolism in the rumen. London: Methuen.
- ARIKAN BC (2004). Acı kırmızıbiberin (*Capsicum annuum* L.) serum leptin ve serum nitrik oksit düzeylerine akut etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. s:36.
- ASANUMA N, IWAMOTO M, HINO T (1999). Effect of the addition of fumarate on methane production by ruminal microorganisms *in vitro*. *J Dairy Sci.*, **82**: 780-787.
- ATTWOOD GT, KLIEVE AV, OUWERKERK D, PATEL BKC (1998). Ammonia-hyperproducing bacteria from New Zealand ruminants. *American Society for Microbiology*, **64**(5): 1796-1804.

- ATTWOOD G, LI D, PACHECO D, TAVENDALE M (2006). Production of indolic compounds by rumen bacteria isolated from grazing ruminants. *J Appl Microbiol.*, **100**: 1261–1271.
- AURILIA V, MARTIN JC, MCCRAE SI, SCOTT KP, RINCON MT, FLINT HJ (2000). Three multidomain esterases from the cellulolytic rumen anaerobe *Ruminococcus flavefaciens* 17 that carry divergent dockerin sequences. *Microbiology*, **146**(6): 1391–1397.
- AUTHI KS, RAO GH, EVENDEN BJ, CRAWFORD N (1988). Action of guanosine 5'-[β -thio]diphosphate on thrombin-induced activation and Ca^{2+} mobilization in saponin-permeabilized and intact human platelets. *Biochemical Journal*, **255**(3): 885–893.
- BACH A, CALSAMIGLIA S, STERN M (2005). Nitrogen metabolism in the rumen. *J Dairy Sci.*, **88**: E9–E21.
- BAENAS N, BELOVIC M, ILIC N, MORENO DA, GARCIA-VIGUERA C (2019). Industrial use of pepper (*Capsicum annum* L.) derived products: Technological benefits and biological advantages. *Food Chem.*, **274**: 872–885.
- BAKER SK, CHAMBERLEIN NL, KICIC A, KLEIN L, MUNYARD KA (1998). How many rumen methanogens are there? *Proc. Nutr. Soc. Aust.*, **22**: 350.
- BALANDRIN MF, KLOCKE JA (1985). Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. *Science*, **228**: 1154–1160.
- BARBOZA GE, BIANCHETTI LB (2005). Three new species of capsicum (solanaceae) and a key to the wild species from Brazil. *Syst. Bot.*, **30**: 863–871.
- BARBOZA PS, PELTIER TC, FOSTER RJ (2006). Ruminal fermentation and fill change with season in an arctic grazer: Responses to hyperphagia and hypophagia in muskoxen (*Ovibos moschatus*). *Physiological and Biochemical Zoology.*, **79**(3): 497–513.
- BARNETT JA (1992). The taxonomy of the genus *Saccharomyces* meyen ex reess: A short review for nontaxonomists. *Yeast*, **81**: 1–23.
- BARTOCCI S, AMICI A, VERNA M, TERRAMOCCIA S, MARTILLOTTI F (1997). Solid and fluid passage rate in buffalo, cattle and sheep fed with diets with different forage to concentrate ratios. *Livestock Production Science*, **52**(3): 201–208.
- BEAUCHEMIN KA, COLOMBATTO D, MORGAVI DP, YANG WZ (2003). Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. *J. Anim Sci.*, **81**: E37–47.

- BEHARKA A, NAGARAJA T (1998). Effect of aspergillus oryzae extract alone or in combination with antimicrobial compounds on ruminal bacteria. *Journal of Dairy Science*, **81**(6): 1591-1598.
- BEHARKA AA, NAGARAJA TG, MORRILL JL (1991). Performance and ruminal function development of young calves fed diets with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. *J Dairy Sci*, **74**(12): 4326-4336.
- BENCHAAAR C, CALSAMIGLIA S, CHAVES AV, FRASER GR, COLOMBATTO D, MCALLISTER TA, BEAUCHEMIN KA (2008). A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim. Feed. Sci. Technol.*, **145**: 209-228.
- BENCHAAAR C, PETIT HV, BERTHIAUME R, OUELLET DR, CHIQUETTE J, CHOUINARD PY (2007). Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. *J Dairy Sci*, **90**: 886–897.
- BENGELSDORF FR, STRAUB M, DURRE P (2013). Bacterial synthesis gas (syngas) fermentation. *Environmental Technology*. **34**(13-14): 1639-1651.
- BERGEN WG, BATES DB (1984). Ionophores: Their effect on production efficiency and mode of action. *J. Anim. Sci.*, **58**: 1465-1483.
- BERGMAN EN (1990). Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.*, **70**: 567–590.
- BOLUKBASI MF (1989). Fizyoloji ders kitabı. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara. 172-184.
- BOSLAND PW, BARAL JB (2007). ‘Bhut jolokia’ the world’s hottest known chile pepper is a putative naturally occurring interspecific hybrid. *Hort Science*, **42**: 222–224.
- BREVES G, LEONHARD-MAREK S (2000). Verdauungsvorgänge in den Vormagen. Ed: Engelhardt, W.v. ve Breves, G. *Physiologie Der Haustiere*. Enke Im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart, s: 345-354.
- BRITO DA SILVA R, PEREIRA MN, CANONENCO DE ARAUJO R, DE REZENDE SILVA W, PEREIRA RAN (2020). A blend of essential oils improved feed efficiency and affected ruminal and systemic variables of dairy cows. *Translational Animal Science*, **4**(1): 182–193.
- BROCK FM, FORSBERG CW, BUCHANAN-SMITH JG (1982). Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**: 561–569.

- BUICK R (2002). Earliest evidence for life on earth. *Bulletin of the American Astronomical Society*, **34** (1213).
- BURT S (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int. J. Food Microb.*, **94**: 223–253.
- BUSQUET M, CALSAMIGLIA S, FERRET A, CARDOZO PW, KAMEL C (2005a). Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. *J. Dairy Sci.*, **88**: 2508–2516.
- BUSQUET M, CALSAMIGLIA S, FERRET A, KAMEL C (2005b). Screening for the effects of plant extracts and active compounds of plants on dairy cattle rumen microbial fermentation in a continuous culture system. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **124**: 597–613.
- BUSQUET M, CALSAMIGLIA S, FERRET A, KAMEL C (2006). Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.* **89**: 761–771.
- CALIXTO JB, BEIRITH A, FERREIRA J, SANTOS ARS, FILHO VC, YUNES RA (2000). Naturally occurring antinociceptive substances from plants: a review. *Phytother. Res.*, **14**: 401–418.
- CALLAWAY TR, CAMEIRE DE MELO AMS, RUSSELL JB (1997). The effect of nişin and monensin on ruminal fermentations *in vitro*. *Curr. Microbiol.*, **35**: 90–96.
- CALLAWAY TR, EDRINGTON TS, RYCHLIK JL, GENOVESE KJ, POOLE TL, JUNG YS, BISCHOFF KM, ANDERSON RC, NISBET DJ (2003). Ionophores: Their use as ruminant growth promotants and impact on food safety. *Curr. Issues Intest. Microbiol.*, **4**: 43–51.
- CALSAMIGLIA S, BUSQUET M, CARDOZO PW, CASTILLEJOS L, FERRET A (2007). Invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *J. Dairy Sci.*, **90**: 2580–2595.
- CALSAMIGLIA S, CASTILLEJOS L, BUSQUET M (2006). Alternatives To Antimicrobial Growth Promoters In Cattle. Ed. Garnsworthy P.C. ve Wiseman J. *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham University Press, Nottingham, UK. 129–167.
- CANTO-FLICK A, BALAMUC E, BELLO-BELLO JJ, LECONA-GUZMA'N C, SOLI'S-MARROQUI'N D, AVILE'S-VIN S, GO'MEZ-UC E, LO'PEZ-PUC G, SANTANA-BUZZY N (2008). Capsaicinoids content in Habanero pepper (*capsicum chinense* jacq.): hottest known cultivars. *Hortscience*, **43**(5): 1344–1349.
- CARDOZO PW, CALSAMIGLIA S, FERRET A, KAMEL C (2004). Effects of natural plant extracts on protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. *J. Anim. Sci.*, **82**: 3230–3236.

- CARDOZO PW, CALSAMIGLIA S, FERRET A, KAMEL C (2005). Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. *J. Anim. Sci.*, **83**: 2572-2579.
- CARDOZO PW, CALSAMIGLIA S, FERRET A, KAMEL C (2006). Effects of alfalfa extract, anise, capsicum and a mixture of cinnamaldehyde and eugenol on ruminal fermentation and protein degradation in beef heifers fed a high concentrate diet. *J. Anim. Sci.*, **84**: 2801–2808.
- CARSON CF, MEE BJ, RILEY TV (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemoth.*, **46**: 1914–1920.
- CASTILLEJOS L, CALSAMIGLIA S, FERRET A, LOSA R (2005). Effects of a specific blend of essential oil compounds and the type of diet on rumen microbial fermentation and nutrient flow from a continuous culture system. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **119**: 29–41.
- CASTILLO C, BENEDITO JL, VÁZQUEZA P, PEREIRAA V, MÉNDEZ J, SOTILLO J, HERNÁNDEZ J (2012). Effects of supplementation with plant extract product containing carvacrol, cinnamaldehyde and capsaicin on serum metabolites and enzymes during the finishing phase of feedlot-fed bull calves. *Animal Feed Science And Technology*, **171**: 246-250.
- CASTILLO-LOPEZ E, RIVERA-CHACON R, RICCI S, PETRI RM, REISINGER N, ZEBELI Q (2021) Short-term screening of multiple phytochemical compounds for their potential to modulate chewing behavior, ruminal fermentation profile, and pH in cattle fed grain-rich diets. *Journal of Dairy Science*, **104** (4): 4271-4289.
- CERILLA ME, MARTINEZ GM (2003). Starch digestion and glucose metabolism in the ruminant: a review. *Interciencia*, **28**: 380-386.
- CHANEY AL, MARBACH EP (1962). Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* **8**: 130-132.
- CHANG JS, HARPER EM, CALZA RE (1999). Fermentation extract effects on the morphology and metabolism of the rumen fungus *Neocallimastix frontalis* EB188. *Journal of Applied Microbiology*, **86**(3): 389-398.
- CHAO SC, YOUNG DG, OBERG CJ (2000). Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *J. Essent. Oil Res.*, **12**: 639–649.
- CHAUCHEYRAS-DURAND F, WALKERA ND, BACH A (2008). Effects of active dry yeasts on the rumen microbial ecosystem: Past, present and future. *Anim. Fd. Sci. Technol.*, **145**: 5-26.

- CHAVES AV, STANFORD K, DUGAN MER, GIBSON LL, MCALLISTER TA, VAN HERK F, BENCHAAAR C (2008). Effects of cinnamaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, growth performance, and carcass characteristics of growing lambs. *Livest Sci.*, **117**: 215-224.
- CHEEKE PR (1996). Biological effects of feed and forage saponins and their impacts on animal production. Ed: Waller, G.R., Yamasaki, K. *Saponins used in food and agriculture*. Newyork plenum pres., 377-385.
- CHEN G, RUSSELL JB (1988). Fermentation of peptides and amino acids by a monensin-sensitive ruminal peptostreptococcus. *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**: 2742-2749.
- CHEN GJ, RUSSELL JB (1989). More monensin-sensitive, ammoniaproducing bacteria from the rumen. *Appl Environ Microbiol*, **55**: 1052-1057.
- CHIN SC (1997). *In vitro* studies on the adhesion of fibrobacter succinogenes strain D3 to macrocrystalline cellulose. Thesis of master degree. Instute of bioscience, Universiti Putra, Malaysia.
- CHOI S, RHO S, JUNG S, KIM S, PARK C, NAH S (2001). A novel activation of Ca²⁺ - activated Cl⁻ channel in Xenopus oocytes by Ginseng saponins: Evidence for the involvement of phospholipase C and intracellular Ca²⁺ mobilization. *British Journal of Pharmacology*, **132**(3): 641-648.
- CHOW JM, RUSSELL JB (1990). Effect of ionophores and pH on growth of Streptococcus bovis in batch and continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**: 1588-1593.
- CHOW JM, RUSSELL JB (1992). Effect of pH and monensin on glucose transport by *Fibrobacter succinogenes*, a cellulolytic ruminal bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**: 1115-1120.
- CHOW JM, VAN KESSEL JAS, RUSSELL JB (1994). Binding of radiolabeled monensin and lasalocid to ruminal microorganisms and feed. *J. Anim. Sci.*, **72**: 1630-1635.
- CICHEWICZ RH, THORPE PA (1996). The antimicrobial properties of chile peppers (capsicum species) and their uses in mayan medicine. *Journal Of Ethnopharmacology*, **52**: 61-70.
- CLARKE RTJ (1977). Protozoa in the rumen ecosystem. In: *Microbial Ecology of the Gut*, Ed.: RTJ Clarke, T Bauchop. New York: Academic Press, Inc., s.: 251-275.
- CLAUSS M, FRITZ J, BAYER D, NYGREN K, HAMMER S, HATT JM (2009). Physical characteristics of rumen contents in four large ruminants of different feeding type, the addax, bison, red deer and moose. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, **152**(3): 398-406.

- CLAUSS M, LECHNER-DOLL M (2001). Differences in selective reticulo-ruminal particle retention as a key factor in ruminant diversification. *Oecologia*, **129**(3): 321-327.
- CLAVER AG, ARNEDO-ANDRES M, ABADIA J, ORTEGA RG, FERNANDEZ AA (2006). Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in Capsicum fruits by liquid chromatography-electrospray/time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, **54**: 9303-9311.
- COLEMAN GS, LAURIE JI (1976). The uptake and metabolism of glucose, maltose and starch by the ciliate *Epidinium ecaudatum caudatum*. *J. Gen. Microbiol.*, **95**: 257-264.
- COLEMAN GS, LAURIE JI, BAILEY JE, HOLDGATE SA (1976). The cultivation of cellulolytic protozoa isolated from the rumen. *J. Gen. Microbiol*, **95**: 144-150.
- COLLINS MD, GIBSON GR (1999). Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut, *The American Journal of Clinical Nutrition*, **69**(5): 1052–1057.
- COUNOTTE GHM, PRINS RA (1981). Regulation of lactate metabolism in the rumen. *Vet Res Commun*, **5**: 101–115.
- CROMBIE L (1999). Natural product chemistry and its part in the defence against insects and fungi in agriculture. *Pesticid Science*, **55**: 761-774.
- CZERKAWSKI JW (1986). An introduction to rumen studies. Pergamon Press Oxford, UK s: 67-72.
- CZERKAWSKI JW, BRECKENRIDGE G (1977). Design and development of a long term rumen simulation technique (Rusitec). *Br. J. Nutr.*, **38**: 371-384.
- DEANS SG, RITCHIE G (1987). Antibacterial properties of plant essential oils. *Int. J. Food Microbiol*, **5**: 165–180.
- DEHORITY BA (2004). Ed. Rumen Microbiology. Nottingham University Press. Nottingham. s: 25.
- DELAQUIS RJ, STANICH K, GIRARD B, MASSA G (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int. J. Food Microbiol.*, **74**: 101–109.
- DEMIRTAS A (2013). Isırgan otu (*urtica dioica* l.), papatya (*matricaria chamomilla* l.) Ve hayıt meyvesi (*vitex agnuscastus* l.) ekstraktlarının normal koşullarda ve asidoz koşullarında rumen mikrobiyal fermentasyonuna *in vitro* etkileri. Doktora tezi. Ankara.

- DENNIS SM, NAGARAJA TG, BARTLEY EE (1981). Effects of lasalocid or monensin on lactate producing or using rumen bacteria. *J. Anim. Sci.*, **52**: 418-426.
- DEWITT D, GERLACH N (1990). The whole chile pepper book. Boston: Little, Brown.
- DILER A (2007). Probiyotik+enzim kombinasyonunun esmer ırkı buzağılarda yemden yararlanma ve büyüme performansı üzerine etkileri. *Yüksek lisans tezi*. Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Programı. Erzurum.
- DILER A, AYDIN R (2009). Rasyona probiyotik enzim kombinasyonu ilavesinin İsviçre esmeri ırkı buzağılarda büyüme performansı ve yemden yararlanma ve sağlık üzerine etkileri. *Hayvansal Üretim*, **50**(2): 22-28.
- DILORENZO N (2011). Manipulation of the rumen microbial environment to improve performance of beef cattle. *20th Florida Ruminant Nutrition Symposium. Gainesville*, s: 118-132.
- DILORENZO N, SMITH DR, QUINN MJ, MAY ML, PONCE CH, STEINBERG W, ENSGTROM MA, GALYEAN ML (2010). Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. *Livest. Sci.*, **137**(1-3): 178-184.
- DONEFER E, LLOYD LE, CRAMPTON EW (1963). Effect of varying alfalfa: barley ratios on energy intake and volatile fatty acid production by sheep. *J. Anim. Sci.*, **22**: 425-428.
- DONKIN SS HAMMON H (2005). Hepatic gluconeogenesis in developing ruminants. In: Burrin DG, Mersmann HJ editors. *Biology of metabolism in growing animals*. London: Elsevier; s: 375-90.
- DORANTES L, FERNÁNDEZ E, SÁNCHEZ HH (2002). Antimicrobial activity of capsicum extracts against some pathogenic bacteria. Proceedings of the 16th international pepper conference (10-12 Kasım 2002), Mexico.
- DOREAU M, CHILLIARD Y (1997). Digestion and metabolism of dietary fat in farm animals. *British journal of nutrition*, **78**(1): 15-35.
- DORMAN HJD, DEANS SG (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*, **88**: 308-316.
- DUEE PH, PEGORIER JP, DARCY VRILLON B, GÉRARD J (1996). Glucose and fatty acid metabolism in the newborn pig. Ed: Tumbleson ME, Schook LB In: *Advances in swine in biomedical research*. Vol. 2. New York: Plenum Press, 865-884.
- DUFFIELD TF, BAGG RN (2000). Use of ionophores in lactating dairy cattle: A review. *Can. Vet J.*, **41**: 388-394.

- DUKES (2008). Ruminantlarda sindirim. In: Veteriner Fizyoloji. Ed.: W.O. Reece, Malatya: Medipres, s: 439-470.
- DUNLOP RH, HAMMOND PB (1965). D-lactic acidosis of ruminants. *Ann. NY Acad. Sci.*, **119**: 1109-1132.
- ECKLES CH, WILLIAMS VM (1925). Yeast as a supplementary feed for lactating cows. *J Dairy Sci.*, **8**: 89-93.
- EKERN A, REID J (1963). Efficiency of energy utilization by young cattle ingesting diets of hay, silage, and hay supplemented with lactic acid. *Journal of Dairy Science*, **46**(6): 522-529.
- EL IZZI A, BENIE T, THIEULANT M, MEN-OLIVIER L, DUVAL J (1992). Stimulation of LH Release from Cultured Pituitary Cells by Saponins of *Petersianthus macrocarpus*: A Permeabilizing Effect. *Planta Medica*, **58**(03): 229-233.
- ELLIS JL, DIJKSTRA J, KEBREAB EB, ANNINK A, ODONGO NE, MCBRIDE BW, FRANCE J (2008). Aspects of rumen microbiology central to mechanistic modelling of methane production in cattle. *J Agric. Sci.*, **146**: 213-233.
- EL-SHAZLY K (1952). Degradation of protein in the rumen of the sheep II. The action of rumen micro-organisms on amino acids. *Biochem J.*, **51**: 647-653.
- EVANS EW (1981). An evaluation of the relationships between dietary parameters and rumen liquid turnover rate. *Canadian Journal of Animal Science*, **61**: 91-96.
- EVANS JD, MARTIN SA (2000). Effects of timol on ruminal microorganisms. *Curr. Microbiol.*, **41**: 336-340.
- FAHEY GC, BERGER LL (1988). Carbohydrate nutrition of ruminants. Ed: CHURCH DC, The Ruminant Animal Digestive Physiology And Nutrition. Waveland Press Inc. USA. s: 269-297.
- FANDINO JI, CALSAMIGLIA S, FERRET A, BLANCH M (2008). Anise and capsicum as alternatives to monensin to modify rumen fermentation in beef heifers fed a high concentrate diet. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **145**: 409-417.
- FANDINO JI, FERRET A, CALSAMIGLIA S (2020). Dose and combinations of anise oil and capsicum oleoresin as rumen fermentation modifiers *in vitro* and *in vivo* with high concentrate diets fed to Holstein beef heifers. *Animal Feed Science and Technology*, **260**: 114363.
- FAVERDIN P (1999). The effect of nutrients on feed intake in ruminants. *Proc. Nutr. Soc.*, **58**(3): 523-531.

- FELTER HW, LLOYD JU (1898). King's American dispensatory. Eclectic Medical Publications fermentation using two continuous culture systems. Thesis of master degree, Dalhousie Cincinnati, Ohio. **1**: 435.
- FIRKINS JL, WEISS WP, EASTRIDGE ML, HULL BL (1990). Effects of feeding fungal culture extract and animal-vegetable fat on degradation of hemicellulose and on ruminal 120 bacterial growth in heifers. *J. Dairy Sci.*, **73**: 1812-1822.
- FLYTHE MD (2009) The antimicrobial effects of hops (*Humulus lupulus* L.) on ruminal hyper ammonia-producing bacteria. *Lett Appl Microbiol.*, **118**: 242–248.
- FLYTHE M, KAGAN I (2010). Antimicrobial effect of red clover (*Trifolium pratense*) phenolic extract on the ruminal hyper ammonia-producing bacterium, *Clostridium sticklandii*. *Current Microbiology*, **61**(2): 125-131.
- FOLEY PA, KENNY DA, CALLAN JJ, BOLAND TM, O'MARA FP (2009). Effect of DL-malic acid supplementation on feed intake, methane emission, and rumen fermentation in beef cattle. *J Anim Sci.*, **87**: 1048-1057.
- FRANCIS G, KEREM Z, MAKAR HPS, BECKER K (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review. *Br J Nutr*, **88**: 587–605.
- FRIEDMAN JR, NOLAN NA, BROWN KC, MILES SL, AKERS AT, COLCLOUGH KW, SEIDLER JM, RIMOLDI JM, VALENTOVIC MA, DASGUPTA P (2018). Anticancer activity of natural and synthetic capsaicin analogs, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **364**: 462.
- FRUMHOLTZ PP, NEWBOLD CJ, WALLACE RJ (1989). Influence of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the fermentation of a basal ration in the rumen simulation technique (Rusitec). *J. Agric. Sci. Camb*, **113**: 169-172.
- FULLER R (1989). Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, **66**: 365-378.
- GAKHAR N (2008). Development of alternate markers of subacute ruminal acidosis (SARA). A thesis of master degree. Department of Animal Science, The University of Manitoba. Winnipeg, Manitoba.
- GALYEAN ML, OWENS FN (1988). Effects of monensin on growth, reproduction, and lactation in ruminants. In: *ISI Atlas of Science: Anim. Plant Sci.* ed. ISI Press, Philadelphia, PA. **s**: 71-75.
- GARCÉS-CLAVER A, ARNEDO-ANDRÉS MS, ABADIA J, GIL-ORTEGA R, ALVAREZ-FERNANDEZ A (2006). Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in capsicum fruits by liquid chromatography electrospray/time-of-flight mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, **54**: 9303-9311.

- GARCIA-LOPEZ PM, KUNG L, ODOM JMI (1996). *In vitro* inhibition of microbial methane production by 9,10- anthraquinone, *J. Anim. Sci.*, **74**: 2276–2284.
- GÄRTNER K, ENGELHARDT VW (1964). Experiments concerning the resorption mechanism of ammonia through the ruminal mucosa of ruminants. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, **71**: 57–60.
- GARTON G (1969). Digestion and absorption of lipids in the ruminant. *Proceedings of the Nutrition Society*, **28**(1): 131-139.
- GERACI JI, GARCIARENA AD, GAGLIOSTRO GA, BEAUCHEMIN KA, COLOMBATTO D (2012). Plant extracts containing cinnamaldehyde, eugenol and capsicum oleoresin added to feedlot cattle diets: Ruminal environment, short term intake pattern and animal performance. *Ani. Feed Sci. and Tech.*, **176**: 123-130.
- GERSHENZON J, CROTEAU R (1991). Terpenoids. Ed: ROSENTHAL GA, BERENBAUM MR *Herbivores: Their Interactions with Secondary Plant Metabolites*. Academic Press, San Diego, CA. Vol. 1. s: 165–219.
- GHIASI Z, ESMAELI F, AGHAJANI M, GHAZI-KHANSARI M, FARAMARZI MA, AMANI A (2019). Enhancing analgesic and anti-inflammatory effects of capsaicin when loaded into olive oil nanoemulsion: An *in vivo* study, *Int. J. Pharm.*, **559**: 341.
- GIBSON GR, FULLER R (2000). Aspects of *in vitro* and *in vivo* research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human use. *The Journal of Nutrition*, **130**(2): 391S–395S.
- GIBSON GR, ROBERFROID MB (1995). Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, **125**: 1401–1412.
- GILL SR, POP M, DEBOY RT, ECKBURG PJ, SAMUEL BS, GORDON JI, RELMAN DA, FRASER-LIGETT CM, NELSON K (2006). Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science*, **312**: 1355-1359.
- GLAUERT AM, DINGLE JT, LUCY JA (1962). Action of saponin on biological cell membranes. *Nature*, **196**(4858): 953-955.
- GOIRI I, OREGUI LM, GARCIA-RODRIGUEZ A (2010). Use of chitosans to modulate ruminal fermentation of a 50:50 forage to concentrate diet in sheep. *J. Anim. Sci.*, **88**: 749-755.
- GOMEZ RA, DUDAS C, HUBER JT (1990). Influence of cultures of *Aspergillus oryzae* on rumen and total tract digestibility of dietary components. *J. Dairy Sci.*, **73**: 703.

- GOVINDAJARAN VS (1986). Capsicum production, technology, chemistry, and quality. Part II. Processed products, standards, world production and trade. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **24**: 207–288.
- GOVINDARAJAN VS, NARASIMHAM S, DHANARA SJ (1977). Evaluation of spices and oleoresins II. Pungency of scoville heat units a standardized procedure. *J. Food Sci. Technol.*, **14**: 28–34.
- GREATHEAD H (2003). Plant and plant extract for improving animal productivity. *Proc. Nutr. Soc.*, **62**: 279–290.
- GRUMBLES LC, DELAPLANE JP, HIGGINS TC (1948). Continuous feeding of low concentrations of sulfaquinoxaline for the control of coccidiosis in poultry. *Poult Sci*, **27**(5): 605-608.
- GRUMMER RR, STAPLES CR, DAVIS CL (1983). Effect of defaunation on ruminal volatile fatty acids and pH of steers fed a diet high in dried whole whey. *J. Dairy Sci.*, **66**: 1738-1741.
- GUCLU BK, KARA K (2009). Ruminant beslemede alternatif yem katkı maddelerinin kullanımı:1. probiyotik, prebiyotik ve enzim. *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, **6**(1): 65-75.
- GUDEVA LK, MITREV S, MAKSIMOVA V, SPASOV D (2013). Content of capsaicin extracted from hot pepper *Capsicum annuum* ssp. *Microcarpum* l. and its use as an ecopesticide. *Hem. ind.*, **67**(4): 671–675.
- GUINNESS WORLD RECORDS (2017). Hottest chilli pepper. Erişim: <http://www.guinnessworldrecords.com/world-records/hottest-chili> Erişim tarihi: 17/12/2018.
- GUTIERREZ J (1955). Experiments on the culture and physiology of holotrichs from the bovine rumen. *Biochemical Journal*, **60**: 516-522.
- HANSON LJ, EISENBEIS HG, GIVENS SV (1981). Toxic effects of lasalocid in horses. *Am. J. Vet. Res.*, **42**: 456–461.
- HARFOOT CG, HAZLEWOOD GP (1997). Lipid metabolism in the rumen. Ed: PN HOBSON, CS STEWART The rumen microbial ecosystem. Chapman & Hall, 384-426.
- HARPER EG, WELCH RP, LARA DC, CHANG JS, CALZA RE (1996). The effect of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the anaerobic fungi *Neocallimastix frontalis* EB 188, *Piromyces communis* DC 193 and *Orpinomyces* ssp. RW 206: Generalized effects and component analysis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **45**(6): 817-821.

- HARRISON GA, HEMKEN RW, DAWSON KA, HARMON RJ, BARKER KB (1988). Influence of addition of yeast culture supplement to diets of lactating cows on ruminal fermentation and microbial populations. *J. Dairy Sci.*, **71**: 2967.
- HART KJ, YANEZ-RUIZ DR, DUVAL SM, MCEWAN NR, NEWBOLD CJ (2008). Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Anim Feed Sci Technol*, **147**: 8–35.
- HASSAN A, GADO H, ANELE UY, BERASAIN MA, SALEM AZ (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.
- HEGARTY RS (1999). Reducing rumen methane emissions through elimination of rumen protozoa. *Australian Journal of Agricultural Research*, **50**: 1321-1328.
- HELANDER IM, ALAKOMI HL, LATVA-KALA K, MATTILA-SANDHOLM T, POL L, SMID EJ, GORRIS LGM, VON WRIGHT A (1998). Characterization of the action of selected essential oil components on Gram negative bacteria. *J. Agric. Food Chem.*, **46**: 3590–3595.
- HERNÁNDEZ J, BENEDITO JL, ABUELO A, CASTILLO C (2014). Ruminal acidosis in feedlot: From aetiology to prevention. *The Scientific World Journal*, 1-8.
- HESS HD, KREUZER M, D'IAZ TE, LASCANO CE, CARULLA JE, SOLIVA CR, MACHMULLER A (2003). Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **109**: 79-94.
- HOBSON PN, MANN SO (1961). The isolation of glycerol-fermenting and lipolytic bacteria from the rumen of the sheep. *Journal of General Microbiology*, **25**(2): 227-240.
- HOBSON PN, STEWART CS (1997). The rumen microbial ecosystem. 2nd Edition. Blackie Academic and Professional, London, UK.
- HOFMANN RR (1989). Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: A comparative view of their digestive system. *Oecologia*, **78**(4): 443-457.
- HOGAN JP (1961). The absorption of ammonia through the rumen of the sheep. *Australian Journal of Biological Science*, **14**: 448–460.
- HOLZER P, SAMETZ W (1986). Gastric mucosal protection against ulcerogenic factors in the rat mediated by capsaicin-sensitive afferent neurons. *Gastroenterology*, **91**: 975-981.

- HOOK SE, STEELE MA, NORTHWOOD KS, WRIGHT AG, MCBRIDE BW (2011). Impact of high-concentrate feeding and low ruminal pH on methanogens and protozoa in the rumen of dairy cows. *Microbial Ecology*, **62**(1): 94-105.
- HUANG J, LIU Z, XU P, ZHANG Z, YIN D, LIU J, HE H, HE M (2018). Capsaicin prevents mitochondrial damage, protects cardiomyocytes subjected to anoxia/reoxygenation injury mediated by 14-3-3 η /Bcl-2. *Eur. J. Pharmacol.*, **819**: 43.
- HUME ID, SAKAGUCHI E (1991). 19 patterns of digesta flow and digestion in foregut and hindgut fermenters. *Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants*, 427–451.
- HUNGATE RE (1966). The rumen and its microbes. New York: Academic Press. **s**: 209, 355, 357, 368-373, 382, 397.
- HUNGATE RE (1984). Symposium on ‘nutritional implications of microbial action in the nonruminant alimentary tract’: Microbes of nutritional importance in the alimentary tract. *P.Nutr. Soc.*, **43**: 1-11.
- HUNTINGTON GB (1997). Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *J Anim Sci.*, **75**: 852–67.
- HUSZ TC, SMITH WN, LOCKARD CG, HOMOLKA MN, ANDERSON PT, GENTRY WW, SUGG JD, CASEY KD, JENNINGS JS (2021). Comparison of monensin sodium sources for finishing beef cattle. *Translational Animal Science*, **5**(2): txab090.
- IMATAKE K, MATSUI T, MORIYAMA M (2009). The effect and mechanism of action of capsaicin on gastric acid output, *J Gastroenterol*, **44**: 396-404.
- IPHARRAGUERRE IR, CLARK JH (2003). Usefulness of ionophores for lactating dairy cows: A review. *Anim. Feed Sci Technol.*, **106**: 39-57.
- IWAI K, SUSUKI T, FUJIWAKI H (1979). Simultaneous microdetermination method of capsaicin and its four analogues by HPLC and GC/MS. *J. Agr. Food Chem.*, **172**: 303–311.
- JALC D, LAUKOVA A (2002). Effect of nişin and monensin on rumen fermentation in artificial rumen. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.*, **115**: 6-10.
- JAYANEGARA A, HARAHA RP, SUHARTI S, NAHROWI N (2021). Chitosan as a feed additive: Its modulatory effect on methane emission and biohydrogenation under artificial rumen system. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.*, **1098**: 042101.
- JENKINS TC (1993). Lipid metabolism in the rumen. *J. Dairy Sci.*, **76**: 3851- 3863.

- JENKINS DJA, KENDALL CWC, VUKSAN V (1999) Inulin, oligofructose and intestinal function. *J. Nutr.*, **129**(7): 1431-1433.
- JIANG RW, MING DS, BUT PPH, MAK TCW (2000). Gallic acid monohydrate. *Acta Cryst.*, **C56**: 594-595.
- JOHNS AT (1951). Isolation of a bacterium, producing propionic acid, from the rumen of sheep. *Journal of General Microbiology*, **5**(2): 317-325.
- JOHNSON KA, JOHNSON DE (1995). Methane emissions from cattle. *J Anim Sci*, **73**: 2483-2492.
- JOHNSON RR (1976). Influence of carbohydrate solubility on non-protein nitrogen utilization in the ruminant. *J. Anim. Sci.*, **43**: 184-191.
- JONES NL, SHABIB S, SHERMAN PM (1997). Capsaicin as an inhibitor of the growth of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *FEMS Microbiology Letters*, **146**: 223-227.
- KAMRA DN (2005). Rumen microbial ecosystem. *Curr. Sci. India*, **89**: 124-135.
- KELLEMS RO, LAGERSTEDT A, WALLENTINE MV (1990). Effect of feeding *Aspergillus oryzae* fermentation extract or *Aspergillus oryzae* plus yeast culture plus mineral and vitamin supplement on performance of Holstein cows during a complete lactation. *J. Dairy Sci.*, **73**: 2922.
- KENNEDY PM (1985). Influences of cold exposure on digestion of organic matter, rates of passage of digesta in the gastrointestinal tract, and feeding and rumination behaviour in sheep given four roughage diets. *British Journal of Nutrition*, **53**(1): 159-173.
- KENNEDY PM, MURPHY MR (1988). The nutritional implications of differential passage of particles through the ruminant alimentary tract. *Nutrition Research Reviews*, **1**(1): 189-208.
- KETCHUM RE, TANDON M, GIBSON DM, BEGLEY T, SHULER ML (1999). Isolation of labeled 9-dihydroxybaccatin III and related taxoids from cell cultures of *Taxus canadensis* elicited with methyl jasmonate. *Journal of Natural Product*, **62**: 1395-1398.
- KIM K, RYEON K (1979). A study on content and antibacterial effects of capsaicin from Korean hot pepper. *Report Of The National Institute Of Health*, **16**: 241-251.
- KIRSCHBAUM-TITZE P, HIEPLER C, MUELLER-SEITZ E, PETZ M (2002). Pungency in Paprika (*Capsicum annum*). 1. Decrease of Capsaicinoid Content Following Cellular Disruption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**(5): 1260-1263.

- KOSUGE S, FURATA M (1970). Studies on the pungent principle of Capsicum. part XIV: chemical constitution of the pungent principle. *Agric. Biol. Chem.*, **34**: 248-256.
- KOSUGE S, INAGAKI Y, OKUMURA H (1961). Studies on the pungent principles of red pepper. Part VIII. On the chemical constitutions of the pungent principles. *Nippon Nogei Kagaku Kaishi Journal of Agricultural Chemistry Society*, **35**: 923-927.
- KRAUSE DO, RUSSELL JB (1996). An rRNA approach for assessing the role of obligate amino acid-fermenting bacteria in ruminal amino acid deamination. *Appl Environ Microbiol.*, **62**: 815-821.
- KRAUSE KM, OETZEL GR (2006). Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. *Animal Feed Science and Technology*, **126**(3-4): 215-236.
- KREHBIEL CR, RUST SR, ZHANG G, GILLILAND SE (2003). Bacterial direct-fed microbials in ruminant diets: Performance response and mode of action. *J Anim Sci*, **81**(14): 120-132.
- KRISTENSEN N (2005). Splanchnic metabolism of volatile fatty acids in the dairy cow. *Animal Science*, **80**(1): 3-10.
- KRUMHOLZ LR, FORSBERG CW, VEIRA DM (1983). Association of methanogenic bacteria with rumen protozoa. *Can. J. Microbiol.*, **29**: 676-680.
- KUENZLE CC, JENNY E (1979). Biochemistry of microbial forestomach digestion in ruminants. *Schweiz Arch Tierheilkd*, **121**(10): 503-519.
- KUTLU HR, SERBESTER U (2014). Ruminant beslemede son gelişmeler. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, **2**(1): 18-37.
- LAMBERT RJW, SKANDAMIS PN, COOTE P, NYCHAS GJE (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, timol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.*, **91**: 453-462.
- LANA RP, RUSSELL JB, VAN AMBURGH ME (1998). The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. *Journal of Animal Science*, **76**(8): 2190-2196.
- LANGSTON VC, GALEY F, LOVELL R, BUCK WB (1985). Toxicity and therapeutics of monensin: a review. *Vet. Med.*, **80**: 75-84.
- LAUREANO-PEREZ L, TEYMOURI F, ALIZADEH H, DALE BE (2005) Understanding factors that limit enzymatic hydrolysis of biomass. *Twenty-Sixth Symposium on Biotechnology for Fuels and Chemicals*, 1081-1099.

- LECHNER I, BARBOZA P, COLLINS W, GUNTHER D, HATTENDORF B, HUMMEL J, CLAUSS M (2009). No 'bypass' in adult ruminants: Passage of fluid ingesta vs. fluid inserted into the rumen in fistulated muskoxen, reindeer and moose. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, **154**(1): 151-156
- LEE MJ, SCHREURS PJ, MESSER AC, ZINDER SH (1987). Association of methanogenic bacteria with flagellated protozoa from a termite hindgut. *Current Microbiology*, **15**(6): 337-341.
- LEEK BF (2004). Ruminantlarda sindirim. Ed: REECE WO. Dukes Veteriner Fizyoloji. Medipres Matbaacılık Ltd. Şti. s: 439-470.
- LEMMON RM (1970). Chemical evolution. *Chem. Rev.*, **70**(1): 95-109.
- LENG RA (1970). Glucose synthesis in ruminants. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.*, **14**: 209-260.
- LENG RA, NOLAN JV (1984). Symposium: protein nutrition of the lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, **67**: 1072-1089.
- LENG RA, STEEL JW, LUICK JR (1967). Contribution of propionate to glucose synthesis in sheep. *Biochem. J.*, **103**: 785.
- LEY RE, HAMADY M, LOZUPONE C, TURNBAUGH PJ, RAMEY RB, BIRCHER JS, SCHLEGEL ML, TUCKER TA, SCHRENZEL MD, KNIGHT R, GORDON JI (2008). Evolution of mammals and their gut microbes. *Science*, **320**(5883): 1647-1651.
- LI L, QU M, LIU C, PAN K, XU L, OUYANG K, SONG X, LI Y, ZHAO X (2019). Expression of a recombinant *Lentinula edodes* cellobiohydrolase by *Pichia pastoris* and its effects on *in vitro* ruminal fermentation of agricultural straws. *International Journal of Biological Macromolecules*, **134**: 146-155.
- LILLEHOJ H, LIU Y, CALSAMIGLIA S, FERNANDEZ-MIYAKAWA ME, CHI F, CRAVENS RL, OH S, GAY CG (2018). Phytochemicals as antibiotic alternatives to promote growth and enhance host health. *Vet Res.*, **49**: 76.
- LINDSAY DB, FORD EJH (1964). Acetate utilisation and the turnover of citric-acid cycle components in pregnant sheep. *Biochem J.*, **90**: 24-30
- LOESCHE WJ (1969). Oxygen sensitivity of various anaerobic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **18**: 723-727.
- LOPREIATO V, VAILATI-RIBONI M, MORITTU VM, BRITTI D, PICCIOLI-CAPPELLI F, TREVISI E, MINUTI A (2020). Post-weaning rumenfermentation of Simmental

- calves in response to weaningage and relationship with rumination time measured bythe Hr-Tag rumination-monitoring system. *Livestock Sci.*, **232**: 103918.
- LU C, JORGENSEN N (1987). Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion ruminants. *J. Nutr.*, **117**: 919-927.
- LU M, CAO Y, HO CT, HUANG Q (2017). The enhanced anti-obesity effect and reduced gastric mucosa irritation of capsaicin-loaded nanoemulsions. *Food Funct.*, **8**: 1803-1809.
- LU M, LAN Y, XIAO J, SONG M, CHEN C, LIANG C, HUANG Q, CAO Y, HO CT (2019) Capsaicin ameliorates the redox imbalance and glucose metabolism disorder in an insulin-resistance model via Circadian Clock-Related Mechanisms. *J. Agric. Food Chem.*, **67**: 10089–10096.
- LYND LR, WEIMER PJ, VAN WHZYL, PRETORIUS IS (2002). Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **66**: 506-577.
- MACKIE RI, AMINOV RI, WHITE BA, MCSWEENEY CS (2000). Molecular ecology and diversity in gut microbial ecosystems. In: Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction, Ed.: PB Cronjé, New York: CABI Publishing, s.: 61-77.
- MACRAE JC, ULYATT MJ (1974). Quantitative digestion of fresh herbage by sheep. II. The sites of digestion of some nitrogenous constituents. *J. Agric. Sci. Camb.*, **82**: 309–319.
- MADHUMATHY AP, AIVAZI AA, VIJAYAN VA (2007). Larvicidal efficacy of Capsicum annum against Anopheles stephensi and Culex quinquefasciatus. *J. Vect. Borne Dis.*, **44**: 223–226.
- MAKSIMOVA V, MIRCESKI V, GULABOSKI R, GUDEVA LK, SARAFINOVSKA ZA (2016). Electrochemical Evaluation of the synergistic effect of the antioxidant activity of capsaicin and other bioactive compounds in Capsicum sp. extracts, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **11**: 6673–6687.
- MANGOLD (1931). Handbuch der Ernährung und des Stoffwechsels der Landwirtschaftlichen Nutztiere als Grundlagen der Fütterungslehre. Ed: Ernst Mangold, Armbruster L, Honcamp F, Kirsch W, Lehmann F, Lintzel W, Mangold E, Paechtner J, Seuffert RW, Völtz W, Wundsch HH. Springer Berlin, Heidelberg.
- MARTENS H, BREVES G, LEONHARD-MAREK S (2000). Funktionen der vormagen. Ed: ENGELHARDT WV ve BREVES G. Physiologie Der Haustiere. Enke Im Hippokrates Verlag GmbH, Stuttgart.

- MARTIN SA (1998). Manipulation of ruminal fermentation with organic acids: a review. *J. Anim. Sci.*, **76**: 3123-3132.
- MARTIN SA, SULIVAN HM, EVANS JD (2000). Effect of sugars and malate on ruminal microorganisms. *J.Dairy Sci.*, **83**: 2574-2579.
- MARTZ FA, BELYEA RL (1986). Role of particle size and forage quality in digestion and passage by cattle and sheep. Symposium: Forage Utilization By The Lactating Cow. *J.Dairy Sci.*, **69**(7): 1996-2008.
- MCALLISTER TA (2000). Learning more about rumen bugs: genetics and environmental factors affecting rumen bugs. *Southern Alberta Beef Review*, January, **2**(1).
- MCALLISTER TA, OKINE EK, MATHISON GW, CHENG KJ (1996). Dietary, environmental and microbiological aspects of methane production in ruminants. *Can. J. Anim. Sci.*, **76**: 231-243.
- MCDUGALL EI (1948). Studies on ruminant saliva. 1. the composition and output of sheep's saliva. *Biochemical Journal*, **43**(1): 99-109.
- McGUFFEY RK, RICHARDSON LF, WILKINSON JD (2001). Ionophores for dairy cattle: current status and future outlook. *J. Dairy Sci.*, **84**: 194-203.
- MENAHAN LA, SCHULTZ LH (1964). Effect of leucine and valine on ketogenesis in the ruminant. *Journal of Dairy Science*, **47**(10): 1086-1091.
- MENDOZA GD, BRITTON RA, STOCK RA (1993). Influence of ruminal protozoa on site and extent of starch digestion and ruminal fermentation. *J. Anim. Sci.*, **71**: 1572.
- MENTSCHER J, LEISER R, MULLING C, PFARRER C, CLAUS R (2001). Butyric acid stimulates rumen mucosa development in the calf mainly by a reduction of apoptosis. *Arch. Anim. Nutr.*, **55**: 85-102.
- MERCHEN NR (2002). Fermentation in the rumen. In: Encyclopedia of Dairy Science. Vol. 4. Ed.: H Roginski, JW Fuquay, PF Fox. New York: Academic Press, **s.:** 2112-2119.
- MILLER TL, WOLIN MJ (1986). Methanogens in human and animal intestinal tracts. *Syst. Appl. Microbiol.*, **7**: 223-229.
- MIN BR, MCNABB WC, BARRY TN, PETERS JS (2000). Solubilization and degradation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (EC 4.1.1.39; Rubisco) protein from white clover (*Trifolium repens*) and *Lotus corniculatus* by rumen microorganisms and the effect of condensed tannins on these processes. *J. Agric. Sci. Cam.*, **134**: 305-317.

- MOLINA-TORRES J, GARCIA-CHAVEZ A, RAMIREZ-CHAVEZ E (1999). Antimicrobial properties of alkamides present in flavouring plants traditionally used in MesoAmerica: affinin and capsaicin. *J. Ethnopharmacol.*, **64**: 241–248.
- MØLLER P, DIERNÆS L, SEHESTED J, HYLDGAARD-JENSEN J, SKADHAUGE E (1997). Absorption and fate of l- and d-Lactic Acid in Ruminants. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **118**(2): 387-388.
- MONTGOMERY M, SCHULTZ L, BAUMGARDT B (1963). Effect of intraruminal infusion of volatile fatty acids and lactic acid on voluntary hay intake. *Journal of Dairy Science*, **46**(12): 1380-1384.
- MOORE KJ, HATFIELD RD (1994). Carbohydrates and forage quality Ed: G.C. Fahey Jr, M. Collins, D.R. Mertens, L.E. Moser. Forage quality, evaluation, and utilization, ASA-CSSA-SSSA, Madison, WI, USA s: 229-280.
- MOSS AR, JOUANY JP, NEWBOLD J (2000). Methane production by ruminants: its contribution to global warming. *Ann. Zootech.*, **49**: 231–253.
- MOYO M, NSAHLAI IV (2018). Rate Of Passage Of Digesta In Ruminants; Are Goats Different? In: Goat Science. Ed.: Kukovics S. Intechopen Chapter 3 s: 39-74
- MUTSVANGWA T, WALTON JP, PLAIZIER JC, DUFFIELD TF, BAGG R, DICK P, VESSIE G, MCBRIDE BW (2002). Effects of a monensin controlled-release capsule or premix on attenuation of subacute ruminal acidosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **85**: 3454-3461.
- NAFIKOV RA, BEITZ DC (2007). Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. *The Journal of Nutrition*, **137**(3): 702–705.
- NAGARAJA TG, LECHTENBERG KF (2007). Acidosis in feedlot cattle. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, **23**(2): 333-350.
- NELSON EK (1919). The constitution of capsaicin, the pungent principle of capsicum, *J. Am. Chem. Soc.*, **41**: 1115–1121.
- NEWBOLD C, LASSALAS B, JOUANY J (1995). The importance of methanogens associated with ciliate protozoa in ruminal methane production *in vitro*. *Letters in Applied Microbiology*, **21**(4): 230-234.
- NEWBOLD CJ, ELHASSAN SM, WANG J, ORTEGA ME, WALLACE RJ (1997). Influence of foliage from african multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. *J. Nutr.*, **78**: 237- 249.

- NEWBOLD CJ, MCKAIN N, WALLACE RJ (1993). Combined effects of *Aspergillus oryzae* fermentation extract and monensin on fermentation in the rumen simulation technique (Rusitec). *J. Agric. Sci.*, **121**: 241-246.
- NEWBOLD CJ, RODE LM (2006). Dietary additives to control methanogenesis in the rumen. *Intl. Cong. Series*, **1293**: 138–147.
- NIKAIDO H (1994). Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science*, **264**: 382–388.
- NOACK S, CHAPMAN HD, SELZER PM (2019). Anticoccidial drugs of the livestock industry. *Parasitology research*, **118**(7): 2009-2026.
- NOZIÈRE P, ORTIGUES-MARTY I, LONCKE C, SAUVANT D (2010). Carbohydrate quantitative digestion and absorption in ruminants: From feed starch and fibre to nutrients available for tissues. *Animal*, **4**(07): 1057-1074.
- NSAHLAI IV, APALOO J (2007). On the suitability of the Illius and Gordon's model for simulating the intake and digestibility of roughage diets by ruminants. *South African Journal of Animal Science*, **37**(4): 275-289.
- NUGENT JHA, MANGAN JL (1981). Characteristics of the rumen proteolysis of fraction I (18S) leaf protein from lucerne (*Medicago sativa* L). *Br. J. Nutr.*, **46**: 39–58.
- ODENYO A, OSUJI PO, KARANFIL O (1997). Effect of multipurpose tree (MPT) supplements on ruminal ciliate protozoa. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **67**: 169-180.
- OELLERMANN SO, ARAMBEL MJ, KENT BA, WALTERS JL (1990). Effect of graded amounts of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility in cattle. *J. Dairy Sci.*, **73**: 2412-2416.
- OETZEL GR, NORDLUND KV, GARRETT EF (1999). Effect of ruminal pH and stage of lactation on ruminal lactate concentrations in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, **82**: 38.
- OEZTUERK H, EMRE B, SAGMANLIGIL V, PISKIN I, FIDANCI UR, PEKCAN M (2010). Effects of nisin and propolis on ruminal fermentation *in vitro*. *J. Anim. Vet. Adv.*, **9**: 2752-2758.
- OH HK, JONES MB, LONGHURST WM (1968). Comparison of rumen microbial inhibition resulting from various essential oils isolated from relative unpalatable plant species. *Appl. Microbiol.*, **16**: 39–44.
- OH HK, SAKAI T, JONES MB, LONGHURST WM (1967). Effect of various essential oils isolated from Douglas Fir Needles upon sheep and deer rumen microbial activity. *Appl. Microbiol.*, **15**: 777–784.

- OJEU (2003). Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *Official Journal of European Union*. L268/36 in OJEU of 10/18/2003.
- OKUDA T, MORI K, HATANO T (1985). Relationship of the structures of tannins to the binding activities with hemoglobin and methylene blue. *Chem Pharm Bull*, **33**: 1424-1433.
- ONDERCI M, SAHIN N, CIKIM G, AYDIN A, OZERCAN I, OZKOSE E, EKINCI S, HAYIRLI A, SAHIN K (2008). β -glucanase-producing bacterial culture improves performance and nutrient utilization and alters gut morphology of broilers fed a barley-based diet. *Anim. Feed Sci. And Tech.*, **150**: 175-186.
- ORAL G, GULMEZ M (2006). Gıda kaynaklı patojenler için kesim öncesi dekontaminasyon uygulamaları. *Kafkas Üni. Vet. Fak. Derg.*, **12**(1): 77-84.
- ORPIN CG, JOBLIN KN (1997). The rumen anaerobic fungi Ed: PN HOBSON, CS STEWART The rumen microbial ecosystem. Chapman & Hall, 140.
- ORSKOV ER, HOVELL FDB, MOULD F (1980). The use of the nylon bag technique for the evaluation of feedstuffs. *Trop. Anim. Prod.*, **5**: 195-213.
- OWENS FN, GOETSCH AL (1988). Ruminant fermentation. Ed: DC Church The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition. Waveland Press Inc. USA. 145-171.
- OWENS FN, SECRIST DS, HILL WJ, GILL DR (1998). Acidosis in cattle: A review. *J. Anim. Sci.*, **76**: 275-286.
- OWENS FN, ZINN R (1988). Protein metabolism of ruminant animals. In: The Ruminant Animal, Digestive Physiology and Nutrition. Ed.: D.C. Church, U.S.A: Waveland Press, Inc., s.: 227-249.
- OZEL OT, SARICICEK BZ (2009). Ruminantlarda rumen mikroorganizmalarının varlığı ve önemi. *TUBAV*, **2**(3): 277-285.
- OZTURK H (2003). *In vitro* studien zum einfluss von topinamburmehl und saccharomyces boulardii auf den mikrobiellen vorgastrungsstoffwechsel. Dissertation of PhD. Hannover.
- OZTURK H (2008a). Effects of inulin on rumen metabolism *in vitro*. *Ankara üni. Vet. Fak. Derg.*, **55**: 79-82.
- OZTURK, H. (2008b). Ruminant beslemesinde probiyotik mayalar. *Vet. Hekim Der. Derg.*, **79**(3): 37-42.

- OZTURK H (2009). Effects of chiocory inulin on ruminal fermentation *in vitro*. *Ankara üniv. Vet. Fak. Derg.*, **56**: 171-175.
- OZTURK H, PISKIN I (2009). Rumen asidozuna fizyopatolojik bakış. *Vet. Hekim. Der. Derg.*, **80**: 3-6.
- PANIZZ L, FLAMINI G, CIONI PL, MORELI I (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *J. Ethnopharmacol.*, **39**: 167–170.
- PARRA R (1978). Comparison of foregut and hindgut fermentation in herbivores. In: The Ecology of Arboreal Folivores. Ed: Montgomery GG. Washington DC, USA: Smithsonian Institute Press. s: 209-229.
- PASTER BJ, RUSSELL JB, YANG CMJ, CHOW JM, WOESE CR, TANNER R (1993). Phylogeny of the ammonia-producing ruminal bacteria *Peptostreptococcus anaerobius*, *Clostridium sticklandii*, and *Clostridium aminophilum* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **43**: 107–110.
- PATRA AK, KAMRA DN, AGARWAL N (2005). Effect of spices on rumen fermentation, methanogenesis and protozoa counts in *in vitro* gas production test. In: Soliva Ed: CR Takahashi, J., Kreuzer, M. Proceedings of the 2nd International Conference of Greenhouse Gases and Animal Agriculture. ETH Zurich, Zurich, Switzerland, s: 115–118.
- PATRA AK, KAMRA DN, AGARWAL N (2006). Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Anim Feed Sci Technol*, **128**: 276–291.
- PATRA AK, SAXENA J (2009). Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations. *Anton Van Leeuwen*, **96**: 363- 375.
- PERRIN S, WARCHOL M, GRILL JP, SCHNEIDER F (2001). Fermentations of fructo-oligosaccharides and their components by *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697 on batch culture in semi-synthetic medium. *Journal of Applied Microbiology*, **90**: 859-865.
- PICKERSGILL B (1969). The domestication of chili peppers. Ed. Ucko, P.J. ve Dimleby, G.W. The Domestication And Exploitation Of Plants And Animals, Duckworth, London. UK. 443-450.
- PLOCK A, SOKOLOWSKA-KOHLER W, PRESBER W (2001). Application of flow cytometry and microscopical methods to characterize the effect of herbal drugs on *Leishmania* spp. *Experimental Parasitology*, **97**(3): 141-153.

- POORE M, MOORE J, SWINGLE R (1990). Differential passage rates and digestion of neutral detergent fibre from grain and forages in 30, 60 and 90% concentrate diets fed to steers. *Journal of Animal Science*, **68**(9): 2965-2973.
- PRESSMAN BC (1985). Antibiotics and their Complexes., Vol. 19 Ed: Sigel H Marcel Dekker, Inc., New York. **s**: 1-18.
- QUIGLEY JD, DREWRY JJ, MURRAY LM, IVEY SJ (1997). Body weight gain, feed efficiency and fecal scores of dairy calves in response to galactosyl-lactose or antibiotics in milk replacers. *J Dairy Sci*, **80**(8): 1751-1754.
- RASKIN L, CAPMAN WC, SHARP R, STAHL DA (1997). Molecular ecology of gastrointestinal ecosystems. Ed: Mackie RI, White BA ve Isaacson RE Gastrointestinal Microbiology, Chapman and Hall, New York, **s**: 243-298.
- REECE WO (2012). Evcil hayvanların fonksiyonel anatomisi ve fizyolojisi. Ed: Reece, W.O. Nobel Yayıncılık. Ankara. Bölüm: 12.
- REID RL, HOGAN JP, BRIGGS PK (1957). Effect of diet on individual volatile fatty acids in the rumen of sheep, with particular reference to the effect of low rumen pH and adaptation on high-starch diets. *Australian Vet. J.*, **23**: 136-140.
- REISER R, REDDY HGR (1956). The hydrogenation of dietary unsaturated fatty acids by the ruminant. *J.Am. Oil Chemists' Soc.*, **33**: 155-156.
- RODE LM, YANG WZ, BEAUCHEMIN KA (1999). Fibrolytic enzyme supplements for dairy cows in early lactation. *J. Dairy Sci.*, **82**: 2121-2126.
- RODRÍGUEZ-PRADO M, FERRET A, ZWIETEN J, GONZALEZ L, BRAVO D, CALSAMÍGLIA S (2012). Effects of dietary addition of capsicum extract on intake, water consumption and rumen fermentation of fattening heifers fed a high-concentrate diet. *Journal of Animal Science*, **90**(6): 1879–1884.
- ROGERS JA, DAVIS CL, CLARK JH (1982). Alteration of rumen fermentation, milk fat synthesis and nutrient utilization with mineral salts. *J. Dairy Sci.*, **65**: 577-586.
- ROWE JB, DAVIES A, BROOME AWJ (1985). Quantitative effects of defaunation on rumen fermentation and digestion in sheep. *Br. J. Nutr.*, **54**: 105-119.
- RUSSELL JB (2002). Rumen microbiology and its role in ruminant nutrition. New York: James B. Russell Publishing Co. Ithaca. **s**: 12-88.
- RUSSELL JB (2009). Rumen. In Encyclopedia of Microbiology (Third Edition) Ed: Moselio Schaechter. Robert C Holley Research Center, Ithaca, NY, USA **s**:164.

- RUSSELL JB, HOULIHAN AJ (2003). Ionophore resistance of ruminal bacteria and its potential impact on human health. *FEMS Microbiology Reviews*, **27**(1): 65-74.
- RUSSELL JB, OCONNOR JD, FOX DG, SOEST PJ, SNIFFEN CJ (1992). A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. *Ruminal fermentation*. *Journal of Animal Science*, **70**(11): 3551-3561.
- RUSSELL JB, RYCHLIK JL (2001). Factors that alter rumen microbial ecology. *Science*, **292**: 1119-1122.
- RUSSELL JB, STROBEL HJ (1989). Effect of Ionophores on Ruminal Fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**: 1-6.
- RYLEY JF, BETTS MJ (1973). Chemotherapy of chicken coccidiosis. *Adv Pharmacol Chemother*, **11**: 221-293
- SALMINEN S, OUWEHAND AC, ISOLAURI E (2002). Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **82**: 279-289.
- SANTOSO B, WIDAYATI TW, HARIADI BT (2020). Improvement of fermentation and the *in vitro* digestibility characteristics of agricultural waste-based complete feed silage with cellulase enzyme treatment. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, **8**(8): 873-881.
- SARIPINAR D, SULU N (2005). Ruminantlarda probiyotiklerin kullanımı ve rumene etkileri. *Kafkas Üniv Vet Fak Derg*, **11**(1): 93-98.
- SAVAGE DC (1977). Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Ann. Rev. Microbiol.*, **31**: 107-133.
- SCHELLING GT (1984). Monensin mode of action in the rumen. *J. Anim. Sci.*, **58**: 1518-1527.
- SCHMIDT JA, ALBRIGHT S, CALZA GM, CALZA RE (2004). Characterization of *Aspergillus oryzae* fermentation extract effects on the rumen fungus *Neocallimastix frontalis*, EB 188. Part 2. Carbon source utilization and effects on zoospore production. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **63**(4): 431-437.
- SEANKAMSORN A, CHERDTHONG A, WANAPAT M (2020). Combining crude glycerin with chitosan can manipulate *in vitro* ruminal efficiency and inhibit methane synthesis. *Animals*, **10**(1): 37.
- SENİZ V (1992). Domates, biber ve patlıcan yetiştiriciliği, 2. Bölüm. Biber yetiştiriciliği. Tarımsal Araştırma Ve Destekleme Matbaası, Yalova. **26**: 128.

- SILVA SNS, CHABRILLAT T, KERROS S, GUILLAUME S, GANDRA JR, DE CARVALHO GGP, SILVA DA, MESQUITA LG, GORDIANO LA, CAMARGO GMF, DI RIBEIRO CV, DE ARAÚJO MLGML, ALBA HDR, E SILVA RDG, DE FREITAS JR JE (2021). Effects of plant extract supplementations or monensin on nutrient intake, digestibility, ruminal fermentation and metabolism in dairy cows. *Animal Feed Science and Technology*, **275**: 114886.
- SKANDAMIS P, KOUTSOUMANIS K, FASSEAS K, NYCHAS GJE (2001). Inhibition of oregano essential oil and EDTA on Escherichia coli O157:H7. *Italian J. Food Sci.* **13**(1): 65–75.
- SOEST PJ, ROBERTSON JB (1977). What is Fibre and Fibre in Food? *Nutrition Reviews*, **35**(3): 12-22.
- SPÄTH E, DARLING SF (1930). Synthese des capsaïcins. *Chem Ber.*, **63B**: 737–743.
- STEELE MA, CROOM J, KAHLER M, ALZAHAL O, HOOK SE, PLAIZIER K, MCBRIDE BW (2011). Bovine rumen epithelium undergoes rapid structural adaptations during grain-induced subacute ruminal acidosis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **300**(6): 1-31.
- STEWART C, KANG BC, LIU K, MAZOUREK M, MOORE SL, YOO EY, KIM BD, PARAN I, JAHN MM (2005). The PUN 1 gene for pungency in pepper encodes a putative acyltransferase. *Plant J.*, **42**: 675-688.
- SUPALKOVA V, STAVELIKOVA H, KRIZKOVA S, ADAM V, HORNA A, HAVEL L, RYANT P, BABULA P, KIZEK R (2007). Study of capsaicin content in various parts of pepper fruit by liquid chromatography with electrochemical detection. *Acta Chim. Slov.*, **54**: 55-59.
- TAGARI H, HEINS Y, TAMIR M, VOLCANI R (1965). Effect of carob pod extract on cellulolysis, proteolysis, deamination, and protein biosynthesis in an artificial rumen. *Appl Microbiol*, **13**: 437–442.
- TAMAYAO P, O.RIBEIRO G, MCALLISTER T, OMINSKI K, SALEEM A, EUNYANG H, OKINE E, MCGEOUGH E (2021a). Effect of pine-based biochars with differing physiochemical properties on methane production, ruminal fermentation, and rumen microbiota in an artificial rumen (Rusitec) fed barley silage. *Canadian Journal of Animal Science*, **101**(3): 577-589.
- TAMAYAO P, RIBEIRO GO, MCALLISTER T, YANG HE, SALEEM AM, OMINSKI KH, OKINE EK, MCGEOUGH EJ (2021b). Effects of post-pyrolysis treated biochars on methane production, ruminal fermentation, and rumen microbiota of a silage-based diet in an artificial rumen system (Rusitec). *Animal Feed Science and Technology*, **273**: 114802.

- TAYDAS E (1993). Kırmızıbiberlerde aflotoksin ve okratoksin oluşumu üzerinde araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. H.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- TEDESCHI LO, CALLAWAY TR, MUIR JP, ANDERSON R (2011). Potential environmental benefits of feed additives and other strategies for ruminant production. *Rev Brasil Zoot.*, **40**: 291–309.
- TEDESCHI LO, MUIR JP, NAUMANN HD, NORRIS AB, RAMIREZ-RESTREPO CA, RAMIREZ-RESTREPO AMP, MERTENS-TALCOTT SU (2021). Nutritional aspects of ecologically relevant phytochemicals in ruminant production. *Frontiers in Veterinary Science*, **8**: 628445.
- TEKIPPE JA (2010). Natural bioactive products as rumen fermentation modifiers. The Pennsylvania State University, The Graduate School, College of Agricultural Sciences. Master Thesis.
- TEWKSBURY JJ, REAGAN KM, MACHNICK NJ, CARLO TA, HAAK DC, PENALOZA ALC, LEVEY DJ (2008). Evolutionary ecology of pungency in wild chilies. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, **105**(33): 11808-11811.
- THORNTON JH, OWENS FN (1981). Monensin supplementation and *in vitro* methane production by steers. *Journal of Animal Science*, **52**: 628-634.
- THRESH JC (1876). Isolation of capsaicin. *The Pharmaceutical Journal And Transactions*, **3**(6): 941-947.
- TODD PH, BENSINGER MG, BIFTU T (1977). Determination of pungency due to capsaicin by gas–liquid chromatography. *J. Food Sci.*, **42**: 660–665.
- TOKURA M, USHIDA K, MIYAZAKI K, KOJIMA Y (1997). Methanogens associated with rumen ciliates. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **22**: 137-143.
- TOPAK H, ERBİL N, DIGRAK M (2008), Doğu Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde yetiştirilen biberlerin (*Capsicum annuum* L.) antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, **20**(2): 257-264.
- TRICARICO JM, ABNEY MD, GALYEAN ML, RIVERA JD, HANSON KC, MCLEOD KR, HARMON DL (2007). Effects of a dietary *Aspergillus oryzae* extract containing amylase activity on performance and carcass characteristics of finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.*, **85**: 802-811.
- TSCHUOR A, CLAUS M (2008). Investigations on the stratification of forestomach contents in ruminants: An ultrasonographic approach. *European Journal of Wildlife Research*, **54**(4): 627-633.

TUNC MA (2007). Humatların koyunlarda rumen parametreleri ve bazı kan değerleri üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Univ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı. Erzurum.

TÜİK Türkiye İstatistik Kurumu. Baharat bitkileri. [https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1] Erişim tarihi: 04/05/22.

ULTEE A, KETS EPW, SMID EJ (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**: 4606–4610.

UNGERFELD EM (2020). Metabolic hydrogen flows in rumen fermentation: principles and possibilities of interventions. *Front. Microbiol.*, **11**: 589.

UNGERFELD EM, KOHN RA, WALLACE RJ, NEWBOLD CJ (2007). A meta-analysis of fumarate effects on methane production in ruminal batch cultures. *J. Anim. Sci.*, **85**: 2556-2563.

ÜNLÜ HB, İPÇAK HH, KANDEMİR Ç, ÖZDOĞAN M, CANBOLAT Ö (2021). Effects of oregano essential oil and capsicum extract on fattening, serum constituents, and rumen fermentation of lambs. *South African Journal of Animal Science*, **51**: 172-179.

VAN DER POEL AFB, PRESTLOKKEN E, GOELEMA JO (2005). Feed processing: effects on nutrient degradation and digestibility. Ed: J Dijkstra, JM Forbes, J France in: Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism. CAB International, s: 627.

VAN HOM HH, HARRIS B, TAYLOR JR MJ, BACHMAN KC, WILCOX CJ (1984). By-product feeds for lactating dairy cows: effects of cottonseed hulls, sunflower hulls, corrugated paper, peanut hulls, sugarcane bagasse, and whole cottonseed with additives of fat, sodium bicarbonate, and *Aspergillus oryzae* product on milk production. *J. Dairy Sci.*, **67**: 2922.

VAREL VH, KREIKEMEIER KK, JUNG HJG, HATFIELD RD (1993). *In vitro* stimulation of forage fiber degradation by ruminal microorganisms with *Aspergillus oryzae* fermentation extract. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**: 3171-3176.

VARGA GA, KOLVER ES (1997). Microbial and animal limitations to fibre digestion and utilisation. *J Nutr.*, **127**: 819-823.

VERA N, GUTIERREZ C, WILLIAMS P, FUENTEALBA C, ALLENDE R, AVILA-STAGNO J (2021). PSXIII-26 Supplementation with a polyphenolic pine bark extract reduces ammonia nitrogen production in a Rusitec system as determined by principal component analysis. *Journal of Animal Science*, **99**(3): 435-436.

- VURAL H, ESIYOK D, DUMAN I (2000). Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme). Ege Üniversitesi Basım Evi. Bornova, İzmir.
- WALDRIP HM, MARTIN SA (1993). Effects of an *Aspergillus oryzae* fermentation extract and other factors on lactate utilization by the ruminal bacterium *Megasphaera elsdenii*. *Journal of Animal Science*, **71**(10): 2770-2776.
- WALLACE RJ (1994). Ruminal microbiology, biotechnology and ruminant nutrition: progress and problems. *J. Anim. Sci.*, **72**: 2992-3003.
- WALLACE RJ (2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. *Proceedings of the Nutrition Society*, **63**(04): 621-629.
- WALLACE RJ, MCEWAN NR, MCINTOSH FM, TEFEREDEGNE B, NEWBOLD CJ (2002). Natural products as manipulators of rmen fermentation. *J. Anim.Sci.*, **15**(10): 1458-1468.
- WALLACE RJ, NEWBOLD CJ (1992). Probiotics for ruminants. In: Probiotics The Scientific Basis. Ed: R FULLER. Springer, Dordrecht **s**: 317-353.
- WALLACE RJ, NEWBOLD CJ (1995). Microbial feed additives for ruminants. Ed: R Fuller, PJ Heidt, V Rusch, D Van Der Waaij. Probiotics: Prospects of Use in Opportunistic Infections, Institute for Microbiology and Biochemistry. Herborn-Dill, Germany. 101-125.
- WALLACE RJ, NEWBOLD CJ (2007). Microbial feed additives for ruminants. Ed: Wallace RJ, Chesson A. Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding. Published Online, **s**: 101-125.
- WALLACE RJ, NEWBOLD CJ, MCINTOSH FM (1993). Influence of *Saccharomyces cerevisiae* NCYC and malic acid on bacterial numbers and fibre breakdown in the sheep rumen. *J. Anim. Sci.*, **71**(1): 287.
- WANG X, YU L, LI F, ZHANG G, ZHOU W, JIANG X (2019) Synthesis of amide derivatives containing capsaicin and their antioxidant and antibacterial activities. *J. Food Biochem.*, **43**: e13061.
- WANG Y, ALEXANDER TW, MCALLISTER TA (2004). *In vitro* effects of monensin and tween 80 on ruminal fermentation of barley grain:barley silage-based diets for beef cattle. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **116**: 197-209.
- WEISS B (2006). Antioxidants for beter cow health. *Feed Mix.*, **14**: 22-24.
- WELCH RP, TSAI, K, HARPER EG, CHANG JS, CALZA RE (1996). The effect of *Aspergillus oryzae* fermentation extract on the anaerobic fungus *Neocallimastix*

- frontalis EB 188: Effects on physiology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **45**(6): 811-816.
- WESTERTERP-PLANTENGA MS, SMEETS A, LEJEUNE MP (2004). Sensory and gastrointestinal satiety effects of capsaicin on food intake. *International Journal of Obesity*, **29**(6): 682-688.
- WIEDMEIER RD, ARAMBEL MJ, WALTERS JL (1987). Effect of yeast culture and *Aspergillus oryzae* fermentation extract on ruminal characteristics and nutrient digestibility. *J. Dairy Sci.* **70**: 2063-2068.
- WILLATS WG, MCCARTNEY L, MACKIE W, KNOX JP (2001). Pectin: Cell biology and prospects for functional analysis. *Plant Molecular Biology*, **47**: 9-27.
- WILLIAMS AG, COLEMAN GS (1997). The rumen protozoa Ed: PN Hobson, CS Stewart. The rumen microbial ecosystem. Chapman & Hall, s: 73.
- WILLIAMS W, HOERNICKE H, WALDO D, FLATT W, ALLISON M (1963). Ruminal Carbonate as a Precursor of Eructed Methane and Carbon Dioxide. *Journal of Dairy Science*, **46**(9): 992-993.
- WOLIN MJ (1960). A theoretical rumen fermentation balance. *J. Dairy Sci.*, **43**: 1452-1459.
- WRIGHT DE (1959). Hydrogenation of lipids by rumen protozoa. *Nature*, **184**: 875-876.
- WRIGHT DE (1961). Bloat in cattle. XX. Lipase activity of rumen microorganisms. *New Zealand J. Agr. Res.*, **4**: 216-223.
- YANG WZ, BENCHAAR C, AMETAJ BN, CHAVES AV, HE ML, MCALLISTER TA (2007). Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. *J. Dairy Sci.*, **90**: 5671-5681.
- YIANNIKOURIS A, JOUANY JP (2002). Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Anim. Res.*, **51**: 81-99.
- YOKOYAMA MT, JOHNSON KA (1988). Microbiology of the rumen and intestine. In: The Ruminant Animal, Digestive Physiology and Nutrition. Ed.: DC Church, U.S.A:Waveland Press, Inc., s: 125-144.
- YOST WM, YOUNG JW, SCHMIDT SP, MCGILLIARD AD (1977). Gluconeogenesis in ruminants: Propionic acid production from a high-grain diet fed to cattle. *J. Nutr.*, **107**: 2036-2043.
- YOUNG JW (1977). Gluconeogenesis in cattle: significance and methodology. *J Dairy Sci.*, **60**: 1-15.

ZAFRA MA, MOLINA F, PUERTO A (2003). Effects of perivagal administration of capsaicin on post-surgical food intake. *Auto. Neurosci.: Basic and Clin.*, **107**: 37–44.

ZELTER SZ, LEORY F, ISSIER JP (1970). Protection of protein in the feed against bacterial deamination in the rumen. I. Studies *in vitro*: behaviour in the rumen of some protein tanned with tannins from chestnut wood of certain aldehydes (formaldehyde, glutaraldehyde, glyoxal). *Ann Biol Anim Biochim Biophys*, **10**: 111–122.



EKLER

Etik Kurul Kararı

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR ÖRNEĞİ

TOPLANTI TARİHİ : 11/02/2015
TOPLANTI NO : 2015-2
DOSYA NO : 2015-34
KARAR NO : 2015-2-42

Yürütücülüğünü Üniversitemiz Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç.Dr.Hakan Öztürk'ün yaptığı ve araştırmacı olarak Araş.Gör.Ferhunde Melis Ünler'in katıldığı "Kapsaisin Farklı pH Değerlerinde ve Konsantre Yem Ağırlıklı Besleme Şartlarında Rumen Mikrobiyel Fermantasyonu Üzerine Etkilerinin Rumen Simülasyon Tekniği (RUSITEC) Kullanılarak Belirlenmesi" başlıklı araştırma projesinin içeriği Kurulumuzca incelenmiştir. Söz konusu çalışma, 15 Şubat 2014 tarihli Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliğinin, 8 inci maddesinin sekizinci fıkrasının (k) bendi kapsamında ele alınmış olup, çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu iznine tabi değildir.

ASLININ AYNIDIR
11/02/2015

Prof.Dr.Oğuz SARİMEHMETOĞLU
A.Ü. HADYEK Başkanı