

RUMEN MİKROFLORASININ ÜREAZE AKTİVİTESİ ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Rumen Özsuyunda Üreaze Aktivitesi, Uçucu Yağ Asitleri Konsantrasyonu ve
Canlı Bakteri Sayısında Değişiklikler

Necdet LELOĞLU(1)

ÖZET

Bu çalışmada üreli ve üresiz yemlerle beslenen iki tosundan alınan rumen özsuyu numuneleri anaerobik şartlarda inkübasyona tabi tutularak 0, 6, 12 ve 24 üncü saatlerde üreaze aktivitesi uçucu yağ asitleri konsantrasyonu total canlı bakteri sayısı ve hidrojen iyon konsantrasyonu yönlerinden incelenmiştir.

Her iki rumen özsuyu numunesinde de üreaze aktivitesi ve total canlı bakteri sayısı başlangıçta en yüksek olup inkübasyon müddetince dereceli olarak azaldığı, uçucu yağ asitleri konsantrasyonu ise yükseldiği müşühade edilmiştir. Rumen özsularının hidrojen iyon konsantrasyonunda belirli bir değişiklik olmamıştır. Bütün hallerde total canlı bakteri sayısı ve uçucu yağ asitleri konsantrasyonu üreli yem ile beslenen hayvanda üresiz yemle beslenenden daha fazla bulunmuştur.

GİRİŞ

Rumende mikroorganizmalar vasıtası ile bir çok reaksiyonlar vukua gelir. Çeşitli yemlerin ihtiva ettiği üre, organik asitler, proteinler ve karbonhidratlar parçalanır ve yeni maddeler sentez edilir. Pearson ve Smith (1943) göstermişlerdir ki üre bazı rumen bakterilerinin üreaze enzimi vasıtası ile amonyak ve karbondioksida ayrılır. Bu a-

monyak bakterilerin hücresel proteinlerinin imalinde basit azotlu madde olarak kullanılır. Bu bakteri proteinleri ise bağırsaklarda hazma uğrayarak ruminantların kendi proteinlerinin yapılmasında kullanılır. Bu sebepten ötürü ruminantların rasyonuna bir miktar sentetik üre ilâve edilmektedir. Bilhassa Birleşik Amerika'da bütün ticari yemler değişik miktarlarda üre ihtiva etmektedir.

[1] Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Mikrobiyoloji kürsüsü, Doktor Asistan

Üreyi parçalayabilen mecburi anaerob bakteri nevilerine rumende çok miktarda raslanılmamaktadır. Bu güne kadar üreaze enzimi ihtiva eden, normal rumen mikroflorasında olmayan dört veya beş mecburi anaerobik bakteri nevinin bulunduğu bildirilmiştir (Jones ve mesai ark. 1964). Halbuki rumende oldukça yüksek miktarlarda üre parçalanmaktadır. Bu hadise büyük ihtimalle rumen bakterileri arasında mevcut bir sinerjizm neticesinde meydana geldiği sanılmaktadır.

Rumen mikroflorasının üreaze aktivitesi mevzuunda zamanımızda bir çok nutrisyoncu, fizyolog ve bakteriyologlar çalışmaktadır. Bu çalışmada sığırların rumen özsuyunun, alındıktan sonra, 38°C de inkübasyonla 24 saat müddetle üreaze aktivitesinde, uçucu yağ asitlerinin konsantrasyonunda total canlı bakteri sayısında ve hidrojen iyon konsantrasyonunda ki *in vitro* değişiklikler tahlil edilerek aralarındaki münasebetler incelenmiştir.

LİTERATÜR BİLGİSİ

Rumende Üreaze, Üreolitik Bakteriler ve Üre Metabolizması :

Üreaze enzimi ilk defa 1682 de Mucculus tarafından elde edilmiş ve enzimin genel karakterleri de 1890 da Miguel tarafından gösterilmiştir (Summer ve Somers 1953).

Üreaze, tabiiatta oldukça yaygın bulunan bir enzimdir. Yüksek bitkiler ve hayvanlara ilaveten bir çok bakteri ve küf neveleri de bu enzime sahiptirler (Gibbons ve Doetsch 1959).

İlk "Ürobacilli" Pasteur ve Miguel tarafından hava, toprak ve kanalizas-

yondan izole edilmiştir (Gibbons ve Goetsch 1959).

Stuart ve mesai ark. (1945), *Erwinia* hariç *Enterobacteriaceae* familyasının diğer bütün cinslerinin üreaze aktivitesine sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Huhtanen ve Gall (1955) bir cc de 2×10^9 bakteri ihtiva eden bir *Proteus mirabilis* suspansiyonunun aynı miktarda rumen özsuyu kadar üreaze aktivitesine sahip olduğunu göstermişlerdir.

Üreaze aktivitesi mecburi anaerob bakteriler arasında pek az raslanılmaktadır. Huet ve Aladame (1952) ye göre mecburi anaerob bakterilerden sadece *Neisseria vulvovaginitis*, *Catenabacterium cantortum*, *Cillobacterium sylvestris* ve *Clostridium sordelli* olmak üzere dört nevi üreolitikdir.

Huet ve De Cadore (1954) yeni bulmuş oldukları *Eubacterium ureolyticum*'un üreaze ihtiva ettiğini bildirmişlerdir.

Gibbons ve Doetsch (1959) üreolitik bir bakteri olan *Lactobacillus bifidus*'u sığır rumeninden izole etmişlerdir.

Gibbons ve McCarthy (1957) rumen özsuyunun çeşitli santrifüj fraksiyonları ve yem ekstratlarının üreaze aktivitelerini denemişlerdir. Bu yazarlara göre rumen protozoerleri çok az, rumen bakterileri de çok fazla üreaze aktivitesine sahip oldukları halde hücreden arı rumen özsuyu ve çeşitli yem ekstratları bu aktiviteye hiç sahip değildir.

Rumende ürenin bakteriel analizi ve sentezi üzerinde Pearson ve Smith (1943) çalışmışlardır. Araştırmacılar ürenin bakteri üreazesi yardımı ile amon-

yak ve karbondioksit ayrıldığı ve bu amonyakın bakteriel proteinlerin yapılmasında azot ihtiyacını karşıladığını göstermişlerdir. Bu bakteri proteinleri intestinal bölgenin daha aşağı kısımlarında hazma uğrayarak ruminantların kendi vücut proteinlerinin yapılmasında rol oynarlar.

Rumende Uçucu Yağ Asitlerinin Metabolizması :

Uçucu yağ asitleri (UYA) ruminantların en önemli enerji kaynağıdır. Rumende yemlerin bakteriler tarafından parçalanmasından, fazlalık sırasına göre, asetik, bütirik, izovalerik, propionik ve valerik asitlerle az miktarda da yüksek yağ asitleri meydana gelir (Elsden ve Philipson 1948).

Gray ve Pilgrim (1952), Annison ve Lewis'in (1959) bildirdiklerine göre karbonhidrat ve proteinlerin bakteriel parçalanmasından asetik, propionik ve bütirik asitler meydana gelir. Bir miktar propionik asit ise bazı bakteriler vasıtası ile izovalerik ve valerik aside döndürülür.

UYA rumen, retikulum, omazus ve karaciğerde başta aseto-asetikasit olmak üzere ketonlara döndürülürlelecek vücutta karbonhidrat biosentezinde kullanılır (Penington 1952).

Stewart ve Schultz (1958) üreli yemlerle beslenen ruminantların, diğerlerine nazaran rumende daha çok UYA sahip olduklarını bildirmişlerdir.

Rumende Total Canlı Bakteri Sayısı:

Bu konu ile bir çok araştırmacılar tarafından ilncelenmiştir. İlk defa 1944

de Johnson ve mesai ark. tarafından, sonrakilere nisbetle çok düşük olmak üzere, bir cc rumen öz suyunda 10^6 bakteri olarak bulunmuştur. Daha sonraları Doetsch ve mesai ark. (1952) bir cc de total canlı bakteri sayısını $10^8 - 10^9$ arasında bulmuşlardır.

Wilson ve Briggs (1955) ise yaptıkları 350 denemede rumen muhtevasının gramındaki canlı bakteri sayısının 10^7-10^{12} arasında olmakla beraber bunların % 94 ünün 10^8-10^{10} arasında olduğunu bildirmişlerdir. Briggs ve mesai ark. (1964) üreli yemlerle beslenmiş sığırlarda bir cc de 29×10^9 bakteri olduğu halde proteinli yemlerle beslenenlerde ise 19×10^9 bakteri olduğunu göstermişlerdir.

Yukarıdaki araştırmaların neticeleri göstermektedir ki rumende total canlı bakteri sayısı gıdanın cinsine ve muhit şartlarına bağlı olmakla beraber 10^8 ile 10^{10} arasında değişmektedir.

Rumende Hidrojen İyon Konsantrasyonu :

Normal şartlar altında rumen öz suyunun pH sı 5,5 ile 7,0 arasında değişmektedir. Rumen pH sı 4,5 in altına düştüğü hallerde normal bakteri florası bozulur ve rumen normal fonksiyonunu yapamaz. Ruminantların bol miktarda olan tükürüğü ile rumene bazı karbonat ve fosfatlar verilir. Bunların tampon tesiri ve fermentasyon mahsülü olan organik asitlerin rumen cidarından absorbe edilmesi ile rumen pH sı kontrol altında tutulur.

MATERYAL ve METOD

Rumen özsuyu numuneleri iki adet üç yaşlı, rumenlerine daimi fistül yapılmış, herefort tosunlarından tedarik edilmiştir. Bunlardan I nolu tosun üresiz (mısır ve alfalfa) rasyonla, diğeri ise (no iki) üreli ve zengin bir rasyon (mısır, alfalfa, üre, soya ve mineral tuzları) ile beslenilerek bu rasyonlardan herbiri tosunlara günde 20 libre (09,06 kg.) olarak verilmiştir.

Rumen özsuyu numuneleri, sabahları hayvanlar yemlendikten bir saat sonra steril bir kavanoz içerisine özel aletiyle rumen fistülünden alınarak hemen laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvarda özsuyu çok katlı bir mermeşten süzlmüştür. Filtrat 50 cc lik vidalı kapaklı dört tüpe ağzına kadar doldurularak tüpler sıkıca kapatılmıştır. Bundan sonra 39°C de inkübasyona tabi tutularak 0, 6, 12 ve 24 üncü saatlerde, her seferinde bir tüp özsuyu alınarak, (1) üreaze aktivitesi, (2) UYA nın konsantrasyonu, (3) total canlı bakteri ve üreolitik canlı bakteri sayısı ve (4) Hidrojen iyon konsantrasyonu bakımından incelenmişlerdir.

Rumen Özsuyunun Üreaze Aktivitesinin Ölçülmesi :

Numunelerin üreaze aktivitesi Huh-tanen ve Gall (1965) in monometrik üre hidrolizi metodu ile ölçülmüştür. Bu metoda göre numunelerden beş dakika kadar CO₂ geçirilmiştir. Bundan sonra % 6.9 luk NaHCO₃ ile pH 6,8-7,0 ye ayarlanmıştır. Üreaze aktivitesinin ölçülmesi için ürenin hidrolizinden meydana çıkacak CO₂ Warburg aleti ile 37°C de ölçülmüştür. Bunun için aletin özel şişesinin esas

kompartmentına 3 cc hazırlanmış olan numuneden, yan koluna da 0,5 mol üreden 0,1 cc konulmuştur. Cihazın borularından da onar dakika CO₂ geçirilmiştir. 37°C de alete ısı bakımından denge sağlandıktan sonra yan koldaki üre solüsyonu rumen özsuyuna ilâve edilmiştir. Her numune için çift alet ve bir kontrol kullanılarak tayinler yapılmıştır. Üreaze aktivitesi her cc rumen özsuyu tarafından bir saatte hidrolize uğrayan mikro mol (μ M) üre olarak hesaplanmıştır.

Rumen Özsuyundaki Uçucu Yağ Asitleri Konsantrasyonlarının Gaz Kromatografi Vasıtası ile Ölçülmesi :

Rumen özsuyu numunelerinde UYA konsantrasyonunun ölçülmesi için Erwin ve mesai ark. (1961) metodu kullanılmıştır. Buna göre her numuneden 5 cc alınarak iki damla doymuş HgCl₂ ilâve edilerek fermentasyonu durdurulmuştur. Bundan sonra 1 cc % 25 lik metafosforik asitten ilâve edilerek iyice karıştırıldıktan ve on dakika bekletildikten sonra, dakikada 5.000 hızla on dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonra filter kâğıdı (Watman No 42) ile süzülüp vidalı kapaklı tüplere konularak Kromatografa enjekte edilinceye kadar soğukta muhafaza edilmiştir. UYA konsantrasyonu tayini için bir "Modiline gaz Kromatografi" kullanılmıştır. Önce Ölçülecek asitlerin % 0,05 lik standart solüsyonları hazırlanarak kromatografda standart grafikleri çizilmiştir. Bundan sonra numunelerin aletle gaz grafileri çizilerek, standart grafiklerle mukayeseleri yapılarak her cc rumen özsuyunun ihtiva ettiği UYA miktarı mikro mol (μ M) olarak hesaplanmıştır. Bütün tayinler, standartlar ve gerekse nu-

muneler için iki defa tekrarlanmıştır.

Rumen Özsuyunda Total Canlı Bakteri ve Total Üreolitik Bakteri Sayısının Tayini :

Total canlı bakterilerin sayılmalarında Wilson ve Briggs in (1955) Jones ve mesai ark. (1964) tarafından modifiye edilmiş olan dilisyon ile sayma tekniği kullanılmıştır. Bu metoda göre rumen özsuyu numuneleri bir blenderde 30 saniye çalkalandıktan sonra özel vasatlar içerisinde 1/10 dan 1/10⁹ a kadar onar katlık dilisyonları hazırlanmıştır. 10⁶ dan 10⁹ a kadar ki dilisyonların her biri beş tüp özel sıvı vasata birer cc olarak inoküle edilmişlerdir. Bu vasatların 37°C de beş gün müddetle inkübasyondan sonra en yüksek dilisyonlara ait tüplerde meydana gelen gelişme en büyük ihtimal metoduna göre, özel listelere bakılarak, her cc rumen özsuyundaki total canlı bakteri sayısı hesaplanmıştır (Amerikan Public Health Ass. Inc. 1960).

Total üreolitik bakteri sayısı ise Jones ve mesai ark. (1964) metodlarına göre yapılmıştır. Bunun için yukarıda gelişme göstermiş olan tüpler santrifüj edilerek maleate buffer ile yıkanmıştır. Tüplerde kalan çöküntüye, her tüp için, bir cc üreaze test çözümü ilâve edilmiştir. Bu çözümü normal serum fizyolojik içerisinde % 10 üre ve indikatör olarak fenol kırmızısı ihtiva etmektedir. Tüplere ilâve edilmeden evvel asetik asit ile nötrleştirilerek portakal kırmızısı rengi verilmiştir. Bundan sonra tüplere bir miktar parafin ilave edilerek anaerobik ortam sağlanmıştır. Bu vasatlar 39°C de 48 saat inkübe edilerek mü-

şahade altına alınmıştır. Renk değişikliği gösteren tüpler nazari dikkate alınarak en büyük ihtimal metoduna göre, yukarıda olduğu şekilde bakteri sayımı yapılmıştır.

Rumen Özsuyunun Hidrojen İyon Konsantrasyonunun Tayini :

Rumen özsuyu numunelerinin pH ları bir Coleman cam elektrotlu pH metre ile usulü gereğince ölçülmüştür.

ARAŞTIRMA SONUÇLARI

Rumen Özsuyunun Üreaze Aktivitesi:

Tablo I de izah edildiği şekilde rumen özsuyunun üreaze aktivitesi başlangıç zamanında iki hayvanda da en yüksek, her cc için 6,1 ve 6,3 μ M üre, dereceli azalarak 24 üncü saatte her cc için 3,5 ve 3,9 μ M üre sıra ile bir ve iki nolu tosunların rumen özsularında bulunmuştur. Üreden mahrum rasyon (mısır ve alfalfa) ile beslenen bir nolu hayvan ile üreli ve zengin rasyon (üre, mısır, alfalfa, soya, mineral tuzları) ile beslenen iki nolu hayvan arasında üreaze aktivitesi bakımından fark başlangıç saatinde ve 24 üncü saatte sıra ile her cc rumen özsuyu için 0,2 ve 0,4 μ M üre olarak bulunmuştur.

Rumende Uçucu Yağ Asitlerinin Konsantrasyonları :

Bir ve iki nolu tosunların rumen özsularında tahlili yapılan beş ayrı UYA toplamı denemeye başlandığı saatte her cc için 58,3 ve 106,0 μ M iken 24 saatlik inkübasyon müddetince yavaşça yükselerek 90,1 ve 128,6 μ M olmuştur (Tablo II). Üresiz rasyonla ve üreli zengin rasyonla beslenen hayvanlar arasında total UYA farkı ikinci hayvanın lehine olmak üzere başlan-

Tablo I. Rumen Özsuynunun Üreaze Aktivitesi x

Hayvan Rasyon No.	inkübasyon müddetleri					
	0. saat	6. saat	12. saat	24. saat	u Mol. üre	% azalma xx
I Üresiz	6,1	4,7	4,0	3,5	4,0	34
II Üreli	6,3	5,0	4,1	3,9	4,1	35
Aki hayvan arasın- daki farklar	0,2	0,3	0,1	0,4		

x Üreaze aktivitesi bir saatte bir cc rumen özsuyu tarafından hidroliz edilen mikromol üre olarak ölçülmüştür.

xx Başlangıç zamanından itibaren yüzde artışlar.

Tablo II. Rumen Özsuynunun UYA Konsantrasyonu x inkübasyon müddetleri

Hayvan Rasyon No.	inkübasyon müddetleri											
	0. saat	6. saat	12. saat	24. saat	u M asit	% artışxx	u m asit	% artışxx	u M asit	% artışxx	u M asit	% artışxx
I Üresiz	39,0	44,8	52,3	54,3	15	34	17,8	54	19,8	72	27,5	90
Asetik	11,5	13,5	17	19,8	17	79	11,3	150	2,5	150	2,5	150
Propionik	6,3	7,5	18	21	18	150	2,5	150	2,5	150	2,5	150
Bütirik	1,0	1,3	50	54	50	150	2,5	150	2,5	150	2,5	150
İzovalerik	58,3	67,9	84,7	90,1	16	45	84,7	45	90,1	54	128,6	21
Toplam	66,5	71,0	73,0	75,3	7	10	25,0	14	27,5	25	38,5	—
II Üreli	22,0	23,8	25,0	27,5	8	17	16,8	17	19,8	37	43	95
Propionik	14,3	16,5	15	19,8	15	43	3,3	75	1,5	87	1,5	87
Bütirik	2,3	2,8	21	21	21	150	2,5	150	2,5	150	2,5	150
İzovalerik	0,8	1,1	37	43	37	150	2,5	150	2,5	150	2,5	150
Valerik	106,0	115,2	119,5	128,6	9	12	119,5	12	128,6	21	128,6	21
Toplam	47,7	47,3	34,3	38,5	—	—	34,3	—	38,5	—	38,5	—
İki hayvan ara- sındaki farklar	82	70	40	43								

x. Uçucu yağ asitleri her cc rumen özsuynunda u Mol olarak hesaplanmıştır.

xx. Başlangıç zamanına oranla yüzde artışlar.

gıç saatinde her cc için 47,7 ve 24 üncü saat için 38,5 μ M olarak bulunmuştur.

Rumen Öz suyunda Total Canlı Bakteri Sayısı ve Total Üreolitik Bakteri Sayısı :

Tablo III de gösterildiği gibi her iki hayvan içinde başlangıç zamanında total canlı bakteri sayısı her cc rumen öz suyuna için 7.60×10^8 ve 1.45×10^9 olarak en yüksek durumda idi. Yirmi dört saatlik inkübasyon müddetince tedrici olarak azalmıştır. Netice olarak her cc de birinci hayvan için 1.72×10^8 ve ikinci için 3.45×10^8 bakteri bulunmuştur. İkinci hayvanın rumen öz suyuna bakteri sayısı birincisine oranla başlangıçta % 91 ve inkübasyon sonunda % 99 daha fazla olduğu görülmüştür.

Üreolitik bakteri sayısı ise birinci hayvan için total bakteri sayısının % 4,5 ve ikinci hayvan için % 22 sini teşkil etmiştir (Tablo IV).

Rumen Öz suyunun Hidrojen İyon Konsantrasyonu :

Her iki tosundan alınan rumen öz suyuna numunelerinde de pH da önemli bir değişiklik gözle çarpmamıştır (Tablo V).

SONUÇLARIN TARTIŞILMASI

Denemeye tabi hayvanlardan alınan rumen öz suyuna numunelerinin üreaze aktivitesi 24 saatlik inkübasyon devresinde tedricen azalarak bir ve iki nolu tosuna için % 43, % 38 oranında bir düşme göstermiştir. Total üreolitik bakteri sayısında da aynı şekilde bir düşme müşahade edilmiştir. Jones ve ark. (1964) nın bildirdiklerine göre üreli rasyona beslenen hayvanların

rumen öz suyunun üreaze aktivitesi her cc için bir saatte 5,7 μ M üredir. Bu çalışmada ise üreaze aktivitesi aynı miktarda rumen öz suyuna ve aynı zaman için bir ve iki nolu hayvanlarda 6,1 ve 6,3 μ M üre olarak bulunmuştur. Bu neticeler yukarıdakine nisbetle biraz yüksek olmakla beraber uygun gözükmemektedir.

İkinci hayvanın üreaze aktivitesi birinciye nisbetle daha fazla olacağı beklenmekte idiysen de arada pek büyük fark olmamasına gıda bakımından daha zengin bir rasyona beslenen ikinci hayvanın daha fazla su alması ve rumen öz suyunun birinciye nisbetle daha fazla sulandırılması sebep olarak gösterilebilir.

Total UYA inkübasyon müddetince her iki tosuna için % 54 ve % 21 oranında bir yükselme göstermiştir. Bu netice, test tüpünde olması sebebiyle, rumende olduğu gibi absorpsiyon olamadığından gayet normal olarak mütalaa edilebilir. İkinci hayvanın total UYA konsantrasyonu birinciye nisbetle deneme başlangıcında % 82 ve deneme sonunda % 43 daha yüksektir. Mamafih ürenin UYA konsantrasyonu üzerine artırıcı olarak tesir ettiğine dair literatür mevcuttur (Briggs ve ark. 1964b).

Tablo III de görüldüğü veçhile 24 saatlik inkübasyon periyodu içerisinde her iki tosuna ait rumen öz suyuna da total canlı bakteri bakımından aynı nisbetlerde düşme görülmüştür. İkinci hayvana ait total canlı bakteri sayısı her seferinde % 90 nisbetinde birincisinininkinden fazla bulunmuştur. Bu sonuç ikinci hayvanın almış olduğu zengin gıdalı rasyona atfolunabilmektedir. Rumen öz suyunun total

Tablo III. Rumen Özsuyunda Total Canlı Bakteri Sayısı x

Hayvan	Rasyon	İnkübasyon Periyodu							
		0 saat	6. saat	12. saat	24. saat	cc de bakteri	% azalmaxx	cc de bakteri	% azalmaxx
I	Üresiz	7,60x10 ⁸	3,15x10 ⁸	2,05x10 ⁸	1,72x10 ⁸	58	73	1,72x10 ⁸	76
II	Üreli	1,45x10 ⁹	6,80x10 ⁸	5,25x10 ⁸	3,45x10 ⁸	54	65	3,45x10 ⁸	77
	İki hayvan arasındaki fark	6,90x10 ⁸	3,65x10 ⁸	3,20x10 ⁸	1,73x10 ⁸	—	—	1,73x10 ⁸	—
	% fark	91	116	156	99	—	—	—	—

x. Rumen özsuunun her cc sindeki en büyük ihtimal metoduna göre bakteri sayısı.

xx. Başlangıç zamanına oranla yüzde azalma.

Tablo IV. Rubmen Özsuynunun Total Canlı Üreolitik Bakteri Sayısı x

Hayvan No.	Rasyon	İnkübasyon müddeti	Total bakteri sayısı.	Üreolitik bak. sayısı.	%x
I	Üresiz	0 saat	9,20x10 ⁸	3,90x10 ⁷	4
		6. saat	3,50x10 ⁸	1,40x10 ⁷	4
		12. saat	2,20x10 ⁸	1,40x10 ⁷	6
		24. saat	1,80x10 ⁸	7,80x10 ⁶	4
II	Üreli	0. saat	1,50x10 ⁹	2,20x10 ⁸	21
		6. saat	4,10x10 ⁸	1,25x10 ⁸	30
		12. saat	4,10x10 ⁸	1,04x10 ⁸	25
		24. saat	2,85x10 ⁸	2,15x10 ⁷	8

x. Her cc rumen özsuynundaki üreolitik bakteri sayısı en büyük ihtimal metoduna göre hazırlanmıştır.

xx. Total bakteri sayısının üreolitik bakteri sayısına göre oranı.

Tablo V. Rumen Özsuynunun Hidrojen -İyon Konsantrasyonu.

Hayvan No.	Rasyon	İnkübasyon müddetince			
		0 saat	6. saat	12. saat	24. saat
I	Üresiz	7,00	6,90	6,85	6,80
II	Üreli	6,70	6,60	6,20	6,45

canlı bakteri sayısı her ne kadar gıda ve muhit şartlarına bağlı olarak değişebilirse de bir çok araştırmacılar tarafından 10⁸-10¹⁰ arasında tesbit edilmiştir. Bu araştırmalardaki neticelerde 7,60x10⁸ ve 1,45x10⁹ olarak yukarıdaki hakikate uymaktadır.

Jones ve ark. (1964) tarafından üreli bir rasyonla beslenmiş hayvanlarda üreolitik total bakteri sayısı, total bakteri sayısının % 35 i olarak gösterilmiştir. Bu araştırmada ise üresiz rasyonla beslenmiş hayvanda %

4,5 ve üreli rasyonla beslenende % 22 olarak bulunmuştur. Aradaki farklar rasyonlardaki maddelerin cinsleri ve üre miktarları tarafından meydana getirilmiş olduğu söylenebilir.

Denemeye alınan rumen özsuynunun 24 saatlik inkübasyonu müddetince UYA konsantrasyonu bakımından muayyen bir miktar artma göstermiş isede, tükruk bikarbonat ve fosfatları ile ağır tampon olan rumen özsuynunun pH sında kayda değer bir değişiklik yapmamıştır.

LITERATURE

SUMMARY

STUDIES ON UREASE ACTIVITY OF RUMEN MICROFLORA

In Vitro Changes In Urease Activity, Concentrations of Volatile Fatty Acids and Number of Viable Bacteria of Rumen Liquor

Rumen fluid obtained from two permanently fistulated steers was incubated anaerobically at 0, 6, 12 and 24 hour intervals for (1) urease activity, (2) Volatile Fatty Acids (VFA) concentrations, (3) total number of viable bacteria and ureolytic viable bacteria and (4) hydrogen ion concentration.

The rations of one animal (I) consisted of corn-alfalfa hay and that of the other (II) consisted of an enriched one containing corn cobs, alfalfa hay, soybean meal, urea and mineral salts.

The urease activity and the number of the viable bacteria and viable ureolytic bacteria of the rumen fluid were highest at zero time then gradually decreased for both animals over a 24 hours incubation period while VFA concentrations of the rumen liquor increased over the same period.

No difference was observed between the urease activity of the rumen fluid from animal I and II. In all cases, VFA concentrations and number of viable bacteria and viable ureolytic bacteria of the animal II were higher than that of animal I.

No changes were observed in the pH of the rumen liquor over a 24 hour incubation period.

American Public Health Association Inc., 1960 Standard Methods examination of water and sewage. 1970 Broadway, New York 19, N.Y. pp. 382-387.

Annisson, E.F. and Lewis, 1959. Metabolism in the rumen. John Wiley and Sons Inc., New York.

Briggs, M.H., T.W., Heard, A. Whitcroft and M.L. Hogg, 1964 a. Studies on urea-fed cattle: Chemical and microbiological properties of rumen fluid. Life Sciences 3: 7-10.

Briggs M.H., T.W. Heard, A. Whitcroft and M.L., Hogg, 1964 b. Studies on urea-fed cattle: Levels of rumen fatty acids. Life Sciences, 3; 137-139.

Doetsch, R.N., R.Q. Robinson and J.C. Shaw, 1952. Techniques employed in cultural investigations of the bacteriology of bovine rumen content. J. Animal Sci., 11: 536.

Eldsen, S.R. and A.T. Phillipson, 1948. Ruminant digestion. Ann. Rev. Biochem., 17: 705-726.

Erwin, E.S., G.J. Marco and E.M. Emery, 1961. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography J. Dairy Sci., 44: 1768-1771.

Gibbons, R.J. and R.N. Doetsch, 1959. Physiological study of an obligately anaerobic ureolytic bacterium. J. Bacteriol, 77: 417-428.

Gibbons, R.J. and R.D. McCarthy, 1957. Obligately anaerobic urea-

- hydrolyzing bacteria in the bovine rumen. Misc. Pub. No. 291. pp. 12-16. University of Maryland Ag. Exp. Sta.
- Gray, F.V. and A.F. Pilgrim, 1952. Origins of the volatile fatty acids in the rumen. *Nature*, 170:375-376.
- Huet, M. and N. Aladame, 1952. Recherches sur l'urease des bacteries anaerobies. *Ann. Inst. Pasteur*, 82: 766-767,
- Huet, M. and F. De Condore, 1954. Technique d'isolement des bacterium anaerobies ureolytiques. Description d'une espece nouvelle isole'e par cette methode. *Ann. Inst. Pasteur*, 86: 241-243.
- Huhtanen, C.N. and L.S. Gall, 1955. Manometric estimation of rumen urease. *J. Bacteriol.*, 69: 102-103.
- Johnson, B.C., T.S. Hamilton, W.B. Robinson and J.C. Garey, 1944. On the mechanism of non-protein nitrogen utilisation by ruminants. *J. Anim. Sci.*, 5: 285.
- Jones, G.A., R.A. Macleod and A.C. Blackwood, 1964. Ureolytic rumen bacteria: I. Characteristics of the microflora from a urea fed sheep. II. Effects of the inorganic ions on urease activity. *Canadian J. Microbia*, 10: 371-387.
- McDugall, E.I. 1948. Studies on ruminant saliva. I. The composition, and output of sheep's saliva. *Biochem. J.*, 43:99-109.
- Pearson, R.M., and J.A.B. Smith, 1943. The utilisation of urea in the bovine rumen. 2. The conversion of urea to ammonia. *Biochem. J.*, 37: 148-153.
- Penington, R.J., 1952. The Metabolism of short-chain fatty acids in the sheep. I. Fatty acid utilisation and ketone body production by rumen epithelium and other tissues. *Biochem. J.* 51: 251-258.
- Steward, W.E. and L.N. Schultz, 1958. *In vitro* volatile fatty acid production from various feeds by bovine rumen microorganisms. *J. Animal Sci.* 17: 737-742.
- Stuart, C.A., E. Van Stratum and R. Rustigian, 1945. Further studies on urease production by *Proteus* and related organism. *J. Bacteriol.* 49:337-444.
- Sumner, J. B. and G.F. Somers, 1953. *Chemistry and Methode of Enzymes*. 3rd ed., Academic Press Inc., New York.
- Wilson, M K. and R.E. Briggs, 1955. The normal flora of bovine rumen II. Quantitative bacteriological studies. *J. Appl. Bacterial*, 18: 294-306.