



Araştırma Makalesi (Research Article)

Sayı 1 Cilt 1: 15-19 / Ocak 2018

(Volume 1 Issue 1: 15-19 / January 2018)

FARKLI DÖNEMLERİNDE HASAT EDİLEN BAZI BAKLAGİL YEM BİTKİLERİNİN SİNDİRİM DERECESİNİN VE METABOLİK ENERJİ DEĞERLERİNİN İN-VİTRO GAZ TEKNİĞİ İLE BELİRLENMESİ

Çağrı Özgür ÖZKAN^{1*}, Adem KAMALAK¹, Mustafa ŞAHİN¹, Önder CANBOLAT²

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 46100, Kahramanmaraş, Türkiye

²Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, 16059, Bursa, Türkiye

Gönderi: 08 Aralık 2017; Yayınlanma: 01 Ocak 2018

(Submission: December 08, 2017; Published: January 01, 2018)

Özet

Bu çalışmada vejetatif, çiçeklenme, tohum bağlama döneminde hasat edilen ak üçgül (*Trifolium repens*), kırmızı üçgül (*Trifolium pratense*), taş yoncası (*Mellilotus officinalis*), adi fiğ (*Vicia sativa*)'den elde edilen otların beslenme değerleri, kimyasal kompozisyonu bakımından ve gaz üretimi tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Zamana bağlı gaz üretim değerleri 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96 saatlik zaman dilimlerinde yapılmıştır. Gaz üretimine ait kinetik değerler $y = a + b(1 - e^{-ct})$ fonksiyonu kullanılarak elde edilmiştir. Çalışmada hasat zamanı bitkilerin kimyasal kompozisyonunu önemli derecede etkilemiştir. Hasat zamanının gecikmesiyle birlikte elde edilen otların Nötral Deterjan Fiber (NDF), asit detergent fibre (ADF) ve yağ içerikleri yükselirken, protein ve kül içerikleri azalmıştır. Hasat zamanına bağlı olarak ham proteinde meydana gelen azalma % 16.65 ile 23.27 arasında olmuştur. Diğer taraftan hasat zamanına bağlı olarak NDF ve ADF de meydana gelen artış sırasıyla % 10.26 ile 59.63 ve %16.28 ile 44.23 arasında olmuştur. Hasat zamanı, zamana bağlı gaz üretim değerleri ve bu değerlerden tahmin edilen parametreleri de önemli derecede etkilemiştir ($P < 0.001$). Potansiyel gaz üretim miktarı, sindirim derecesi, metabolik enerji değerleri hasat zamanının gecikmesiyle birlikte düşmüştür. Yemlerin fermente hızı hariç diğer gaz parametreleri ile NDF ve ADF arasında negatif korelasyonlar bulunmuştur. Diğer taraftan Metabolik enerji (ME) ve organik madde sindirim derecesi (OMSD) ile HP arasında pozitif korelasyonlar bulunmuştur. Bu nedenle, metabolik enerjisi ve sindirim derecesi yüksek kaba yem elde etmek amaçlanırsa ak üçgül, kırmızı üçgül, sarıçiçekli taş yoncası ve adi fiğ vejetatif dönemde hasat edilebilir.

Determination of Digestive Degree and Metabolic Energy Values of Some Leguminous Feed Crop Harvest in Different Periods By In Vitro Gas Technique

Abstract: In this study the nutritive values of hays from *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Mellilotus officinalis*, *Vicia sativa* harvested at vegetative, flowering, seeding stages were evaluated by chemical composition and in vitro

gas production techniques. In vitro gas production were determined at 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 and 96 h incubation times and their kinetics were described using the equation $y = a + b(1 - e^{-ct})$. In this study maturity had a significant effect on the chemical composition. Neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF) and oil contents increased with increasing maturity whereas crude protein (CP) and ash contents decreased. The decrease in CP with increasing maturity ranged from %16.65 to 23.27. On the other hand the increase in NDF and ADF with increasing maturity ranged from %10.26 to 59.63 and %16.28 to 44.23. Maturity stage had also a significant ($P < 0.001$) effect on in vitro gas production and estimated parameters. Potential gas production, in vitro dry matter digestibility and metabolizable energy (ME) contents decreased as maturity advanced. All estimated gas parameter except fermentation rate were negatively correlated with NDF and ADF contents. On the other hand ME and OMSD were positively correlated with CP. Therefore, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Mellilotus officinalis*, *Vicia sativa* can be harvested at vegetative stage to obtain forage with higher metabolizable energy content and digestibility.

Keywords: Legumes, Forage, Nutritive value, Maturity stage, Metabolizable energy

***Corresponding author:** Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, 46100, Kahramanmaraş, Türkiye

Email: cagri@ksu.edu.tr (Ç. Ö. ÖZKAN)

1. Giriş

Türkiye'nin birçok bölgesinde küçükbaş hayvanlar besin madde ihtiyaçlarını genellikle doğal meralardan karşılamaktadır. Bulunduğu bölgeye bağlı olarak merayı baklagil, buğdaygil ve diğer gruplara ait bitkiler oluşturmaktadırlar. Merayı oluşturan bitkilerin kompozisyonu bölgeden bölgeye, yıldan yıla hatta mevsimden mevsime değişiklik göstermektedir. Yapılan birçok çalışmada merada yetişen bitkilerin beslenme değerini etkileyen en önemli unsur hasat zamanı olduğu göstermiştir (Buxton ve ark., 1985; Kamalak ve ark., 2005a.b).

Merayı oluşturan baklagil, buğdaygil ve diğer gruplara ait bitkiler ruminantların beslenmesinde önemli bir yere sahip olmasına rağmen, bu bitkilerin kompozisyonu ve besleme değerleri hakkında fazla çalışmalar yapılmamıştır. Doğal merada yetişen yem bitkilerin kimyasal kompozisyonu ve besleme değerlerinin belirlenmesi ruminant hayvanların beslenmesi için önemli olduğu gibi çayır ve meraların ıslahında kullanılacak verilerin elde edilmesi açısından da önemlidir.

Bu çalışmanın amacı, merada doğal olarak bulunan ve farklı zamanlarda hasat edilen ak üçgül (*Trifolium repens*), kırmızı üçgül (*Trifolium pratense*), taş yoncası (*Mellilotus officinalis*) ve adi fiğ (*Vicia sativa*) gibi baklagil yem bitkilerinin kimyasal kompozisyonunu, in vitro sindirim derecesini ve metabolik enerji değerlerini belirlemektir.

2. Materyal Metot

Bu çalışmada, ak üçgül (*Trifolium repens*), kırmızı üçgül (*Trifolium pratense*), taş yoncası (*Mellilotus officinalis*) ve adi fiğ (*Vicia sativa*) bitkileri Kahramanmaraş merkezine bağlı Çınar köyüne ait merada 10x2 m ebatlarında oluşturulan üç parsellerden 15 Nisan - 15 Haziran 2005 tarihleri arasında vejetatif, çiçeklenme ve tohum bağlama

gibi üç farklı dönemde toplanarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü bünyesinde bulunan Yemler ve Hayvan Besleme Laboratuvarı'na getirilmiş ve 65 OC'de etüvde kurutulmuştur. Kurutma işlemleri tamamlandıktan sonra yem örnekleri 1 mm elekten geçecek şekilde öğütülerek sonradan yapılacak analizler için hazır hale getirilmiştir.

2.1. Kimyasal Analizleri

Örnekler KM, HP, HY ve HK analizleri AOAC (1990)'da belirtilen yöntemlerle yapılmıştır. Örneklerin nötral deterjan fiber (NDF) ve asit deterjan fiber (ADF) içerikleri ise sırasıyla Van Soest ve Wine (1967) ve Van Soest (1963)'de belirtilen yöntemle yapılmıştır. Bütün kimyasal analizler üç tekerrürlü olarak yapılmıştır.

2.2. Menke Gaz Üretim Tekniği

Yemlerin gaz ölçümleri Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, Hayvan Besleme laboratuvarında yapılmıştır. Rumen sıvısı kanül takılmış iki adet koyundan alınmıştır. Denemede kullanılan koyunlara verilen rasyon %60 yonca ve %40 kesif yemlerden oluşmuştur.

Yem örnekleri (0.200 g), 30 ml çözeltiyle (10 ml rumen sıvısı + 20 ml yapay tükürük) 100 ml'lik şırıngalar içerisinde 96 saat 39 OC inkubasyona bırakılmıştır (Menke ve Steingass, 1988). Bu işlemler yapılmadan önce kullanılan şırıngalar 39 OC ön ısıtmaya tabi tutulmuştur. Şırıngalar inkubasyonun başlamasından yarım saat sonra on dakikada bir sallanmış. On saatlik inkubasyon sonunda her saat başı sallanmıştır. Gaz ölçümleri 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 ve 96 saatte yapılmıştır. Net toplam gaz üretimleri kör denemeden elde edilen gaz değerleri çıkartılarak hesaplanmıştır. Bütün gaz ölçümleri üç tekerrürlü yapılmıştır. Daha sonra elde edilen gaz değerlerinden üretilen gaz miktarı, Orskov ve McDonald (1979) tarafından geliştirilen $y = a + b(1 - e^{-ct})$ modeli kullanılarak gaz üretimiyle ilgili parametreler hesaplanmıştır.

a = kolay bir şekilde fermantasyona uğramış kısımdan elde edilen gaz miktarı

b = yavaş bir şekilde fermantasyona uğramış kısımdan elde edilen gaz miktarı

c = b nin fermente olma hızı

t = zaman

2.3. Metabolik Enerji İçerikleri

Gaz üretimi sonucu elde edilen 24 saatlik gaz ölçümleri ve yem içerikleri kullanılarak yemin metabolize olabilir enerji miktarı belirlenmiştir (Menke ve ark. 1979).

$$ME \text{ (MJ/kg KM)} = 2.20 + 0.136GP + 0.057HP + 0.002HP^2$$

ME: Metabolik enerji

GP: 24 saatlik gaz üretimi (ml)

HP: Ham protein

2.4. Organik Madde Sindirilebilirlik Derecesi

Gaz üretimi sonucu elde edilen 24 saatlik gaz ölçümleri ve yem içerikleri kullanılarak yemin Organik Madde Sindirilebilirliği belirlenmiştir (Menke ve ark., 1979).

$$OMSD \text{ (\%)} = 14.88 + 0.889GP + 0.45HP + 0.0651HK$$

OMSD: Organik madde sindirilebilirliği

GP: Gaz üretimi

HP: Ham protein

HK: Ham kül içeriği

2.5. İstatistiksel Analiz

Her dönem elde edilen yaprakların kimyasal kompozisyonu, in-vitro gaz üretim değerleri ve gaz üretimi ait bazı parametreler varyans analizine (ONE WAY ANOVA) tabi tutulmuştur (Statistica, 1993). Ortalamalar arasındaki farklar Tukey çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

Yaprakların kimyasal kompozisyonu ile gaz üretim değerleri, ME ve OMSD arasındaki ilişki basit korelasyon analizlerine tabi tutularak belirlenmiştir. Önem seviyesi en az $p < 0.05$ olarak alınmıştır.

3. Bulgular ve Tartışma

Farklı zamanlarda hasat edilen yem bitkilerinin kimyasal kompozisyonu Çizelge 1’de verilmiştir. Hasat zamanı, yem bitkilerinin kompozisyonunu önemli derecede etkilemiştir. Araştırmada üzerinde çalışılan bütün yem bitkilerinde hasat zamanının gecikmesi ham protein ve kül içeriğinin azalmasına, NDF, ADF ve yağ içeriklerinin artmasına neden olmuştur.

Hasat zamanına bağlı olarak ham proteinde meydana gelen azalma % 16.65 ile 23.27 arasında olmuştur. Ham protein oranında meydana gelen en büyük azalma adi fiğ’de gerçekleşmiştir. Hasat zamanının bir günlük gecikmesiyle ortalama olarak ham protein içeriğinde 1 g/kg KM azalma meydana geldiği bildirilmiştir (Minson, 1990).

Çizelge 1. Bazı baklagil bitkilerinde hasat zamanının kimyasal kompozisyona etkisi

	HASAT ZAMANI				ÖD
	Vejetatif	Çiçek	Tohum	SHO	
K. Üçgül					
KM	93.36	93.62	94.12	0.114	ÖS
HP	14.89b	11.98a	12.41a	0.126	***
NDF	44.73a	48.14b	49.32b	0.386	***
ADF	34.44a	36.16a	41.06	0.734	***
Kül	12.07c	9.83b	9.47a	0.075	***
Ham Yağ	3.32a	4.27b	6.83c	0.118	***
Ak Üçgül					
KM	92.96	93.33	94.01	0.619	ÖS
HP	14.76	11.10a	12.13b	0.140	***
NDF	40.29a	43.71b	46.85c	0.362	***
ADF	32.45a	36.97b	44.01c	0.509	***
Kül	12.30c	8.88a	10.16b	0.270	***
Ham Yağ	11.24a	10.71a	16.65b	0.330	***
ST Yoncası					
KM	93.69a	93.67a	95.71b	0.119	***
HP	16.56c	12.83a	13.66b	0.191	***
NDF	36.69a	49.01b	56.10c	0.916	***
ADF	36.81a	43.20b	43.57a	0.596	***
Kül	9.84c	8.20b	6.48a	0.161	***
Ham Yağ	6.01a	9.24b	12.98c	0.339	***
Adi fiğ					
KM	94.24a	93.67a	95.75b	0.198	***
HP	20.71b	15.21a	15.89a	0.617	***
NDF	38.82a	50.88b	61.97c	0.498	***
ADF	30.54a	37.35b	44.05	0.470	***
Kül	10.29c	9.15b	6.81a	0.053	***
Ham Yağ	5.17a	7.54c	6.84c	0.133	***

SHO: Standart hata ortalaması, ÖD: Önem düzeyi

***: $P < 0.001$, ÖS: Önemsiz ($P > 0.05$).

Diğer taraftan hasat zamanına bağlı olarak NDF ve ADF de meydana gelen artma sırasıyla % 10.26 ile 59.63 ve %16.28 ile 44.23 arasında olmuştur. NDF ve ADF de meydana gelen artış en fazla taş yoncası ve adi fiğ’de meydana gelmiştir. Ayrıca Çizelge 1’de görüldüğü gibi hasat zamanına bağlı olarak yemlerin yağ içeriğinde önemli derecede artışlar bulunmuştur. Yağ içeriğindeki artışlar yemde bulunan diğer unsurlara nazaran oldukça yüksek bulunmuştur. Yağ içeriğinde artışlar %32.30 ile 115.97 arasında olmuştur. Hasat zamanına bağlı olarak kimyasal kompozisyonda meydana gelen değişimler. Kamalak ve ark. (2005a, b) bulgularıyla uyum içerisindedir. Hem bu çalışma hem de yukarıda bahsedilen çalışma sonuçlarından görüldüğü gibi her bitki hasat zamanına karşı farklı bir şekilde tepki vermektedir. Bitkilerde olgunlaşma dönemleri arasındaki sürelerde farklılıklar olabilir. Söz konusu bu süredeki farklılık bitki kompozisyonunda meydana gelen değişikliklerde farklılıklara neden olabilir. Bundan dolayı bitkiler hasat zamanına karşı farklı bir şekilde yanıt vermesi doğaldır.

3.1. Gaz üretimi

Üç farklı zamanda hasat edilen yem bitkilerinin rumen sıvısıyla inkubasyonu sonucu açığa çıkan, zamana (h) bağlı gaz (ml) ölçümleri Çizelge 2’de verilmiştir. Hasat zamanı gaz

üretimini önemli derecede etkilemiş olup hasat zamanının gecikmesiyle birlikte gaz üretimi önemli derecede azalmıştır. Gaz üretimindeki en fazla azalma kırmızı üçgülde meydana gelirken en az ak üçgülde meydana gelmiştir. Hasat zamanına bağlı olarak gaz üretiminde azalmaların olduğu başka araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Kamalak ve ark., 2005a, b;Zinash ve ark., 1996;Lee ve ark., 2000).

Çizelge 2. Bazı baklagil bitkilerinde hasat zamanının *in vitro* gaz (ml/1 g KM) üretimine etkisi

	HASAT ZAMANI				
	Vejetatif	Çiçek	Tohum	SHO	ÖD
K. Üçgül					
3	119.16b	114.16b	101.66a	2.500	**
6	180.83c	165.83b	149.16a	2.500	***
12	240.00b	211.16a	200.00a	3.276	***
24	304.16c	290.83b	265.83a	2.635	***
48	355.83c	341.66b	302.50a	3.081	***
72	385.83c	367.50b	325.83a	3.298	***
96	397.50c	376.66b	340.00a	3.568	***
Ak Üçgül					
3	137.50b	116.66a	113.33a	2.453	**
6	189.16b	175.83ab	169.16a	3.536	**
12	241.66b	221.66a	216.16a	3.333	**
24	306.66b	286.66b	271.66a	3.005	***
48	350.83b	340.83ab	326.66a	3.727	**
72	390.83c	373.33b	358.33a	3.118	***
96	407.50b	385.00a	371.83a	3.164	***
ST Yoncası					
3	126.68b	116.66ab	114.16a	2.500	*
6	184.16b	178.33ab	170.83a	2.764	*
12	245.83b	230.83b	227.50a	2.966	*
24	301.66c	280.83b	259.16a	2.764	***
48	340.00b	325.00b	297.50a	4.160	***
72	369.16c	349.16b	331.66a	3.227	***
96	387.50c	365.83b	346.66a	2.966	***
Adi fiğ					
3	126.66b	120.00ab	113.33a	1.800	**
6	189.16b	180.00ab	171.66a	2.966	*
12	250.00b	240.83b	225.00a	3.568	**
24	300.00b	291.66ab	280.83a	2.846	**
48	349.16b	340.00b	326.66a	2.591	**
72	387.50c	366.66b	351.66a	2.722	***
96	407.50b	379.16a	366.66a	2.966	***

SHO: Standart hata ortalaması, ÖD: Önem düzeyi, *:P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001

3.2. Gaz Parametreleri

Farklı zamanlarda hasat edilen yemlere ait gaz üretimiyle ilgili parametreler Çizelge 3 verilmiştir. Hasat zamanı, fermente hızı hariç, gaz üretimiyle ilgili parametreler üzerinde de önemli bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Gaz üretiminde, hasat zamanına bağlı azalma % 8.14 ile 14.65 oranında olmuştur. Potansiyel gaz üretiminde hasat zamanına bağlı olarak en fazla düşüş kırmızı üçgülde en az ise ak üçgülde meydana gelmiştir.

Hasat zamanına bağlı olarak ME ve OMSD' deki en fazla düşüş taş yoncasında bulunmuştur. Hasat zamanına bağlı olarak ME'deki azalmalar sırasıyla %6.45 ile 12.67 arasında

olurken OMSD' deki azalma %6.90 ile 13.12 arasında bulunmuştur.

Çizelge 3. Bazı baklagil bitkilerinde hasat zamanının *in vitro* gaz parametrelerine etkisi

	HASAT ZAMANI				
	Vejetatif	Çiçek	Tohum	SHO	ÖS
K. Üçgül					
c	0.079b	0.073a	0.081b	0.0013	*
a	21.65ab	23.59b	17.54a	1.360	*
b	356.67b	343.93b	305.32a	3.266	***
a+b	378.32b	367.52b	322.86a	2.511	***
ME (MJ/kg KM)	11.30c	10.80b	10.13a	0.083	***
OMSD (%)	76.36c	72.66b	68.30a	0.485	***
Ak Üçgül					
c	0.083	0.0753	0.0753	0.0020	ÖS
a	30.94b	27.56a	25.72a	0.687	*
b	351.92b	340.40b	325.96a	2.830	**
a+b	382.87c	367.96b	351.68a	2.735	***
ME (MJ/kg KM)	11.36c	10.63b	10.26a	0.074	***
OMSD (%)	76.80b	71.46a	69.30a	0.527	***
ST Yoncası					
c	0.096	0.094	0.102	0.003	ÖS
a	19.21	18.70	16.86	1.230	ÖS
b	342.13c	323.32b	301.99a	2.517	***
a+b	361.34c	342.82b	318.85	3.032	***
ME (MJ/kg KM)	11.60c	10.80b	10.13a	0.083	***
OMSD (%)	78.80c	72.86b	68.46	0.492	***
Adi fiğ					
c	0.086	0.092	0.087	0.0015	ÖS
a	26.28b	20.81a	19.71	0.647	***
b	353.73b	338.49a	325.80a	3.391	**
a+b	380.01c	359.30b	345.51a	3.107	**
ME (MJ/kg KM)	11.31b	10.91a	10.58a	0.069	***
OMSD (%)	76.44c	73.41b	71.09a	0.511	***

SHO: Standart hata ortalaması, ÖS: Önem seviyesi, *:P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001

4. Sonuç ve Öneriler

Bu çalışma ile hasat zamanının, bu çalışmaya konu olan baklagil yem bitkilerinin besin madde içeriklerini ve kalitesini belirleyen önemli unsur olduğu ortaya konmuştur. Genel olarak, bitki olgunlaştıkça, yemin protein içeriği, enerji içeriği ve yemin sindirim derecesinde azalma, NDF, ADF içeriğinde ise artışlar olmaktadır. Diğer bir ifadeyle yemin kalitesinde hasat zamanının gecikmesiyle birlikte düşüşler meydana gelmektedir. Bu yüzden, kaliteli bir kaba yem elde etmek için hasat zamanının iyi tespit edilmesi gerekmektedir. Sadece *in vitro* çalışmaların sonuçlarına bakarak bitkiler için en uygun hasat zamanını belirlemek oldukça zordur. Bu çalışmada üzerinde durulan bitkilerden yüksek metabolik enerji ve sindirim derecesine sahip kaba yem elde etmek amaçlanırsa, vejetatif döneminde hasat edilmesi veya otlatılması gerekmektedir. Fakat unutulmamalıdır ki hasat zamanını iyi bir şekilde

belirlememek için birim alandan elde edilen veriminin tam olarak bilinmesi gerekmektedir. Hasat zamanının biraz geciktirilmesi yemin sindirim derecesini ve metabolik enerji içeriğini biraz düşürebilir, fakat birim alandan elde edilen toplam sindirebilir besin madde miktarını artırabilir. Dolayısıyla, bundan sonraki *in vitro* çalışmalar, birim alandan elde edilen toplam verim gibi diğer bazı parametrelerle desteklenirse daha akılcı kararlar vermek mümkün olacaktır.

Teşekkür

Bu çalışma Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Merkezi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2005/3-14).

Kaynaklar

AOAC. 1990. Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemists pp.66-88. 15th.edition. Washington, DC. USA.

Buxton DR, Homstein JS, Wedin WF, Marten0GC. 1985. Forage quality in stratified canopies of alfalfa, birdsfoot trefoil, and red clover. *Crop Sci*, 25: 429-435.

Kamalak A, O Canbolat, Gurbuz Y, Erol A, Ozay O. 2005a. Effect of maturity stage on chemical composition, *in vitro* and *in situ* dry matter degradation of tumbleweed hay (*Gundelia tournefortii* L.). *Small Rumin Res*, 58: 149-156.

Kamalak A, Canbolat O, Gurbuz Y, Erol A, Ozay O, Kizilsimsek M. 2005b. Determination of nutritive value of wild mustard, *sinapsis arvensis* harvested at different maturity stages using *in situ* and *in vitro* measurements. *Asian-Aust J Anim Sci*, 18(9): 1249-1254.

Lee MJ, Hwang SY, Chiou PWS. 2000. Metabolizable energy of roughages in Taiwan. *Small Rumin Res*, 36: 251-259.

Menke KH, Raab LL, Salewski A, Steingass H, Schneider W. 1979. The estimation of digestibility and metabolizable energy content of ruminant feeding stuffs from the gas production when they are incubated with rumen liqueur *in vitro*. *J Agric Sci*, 93: 217-222.

Menke KH, Steingass H. 1988. Estimation of energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using Rumen fluid. *Anim Res Dev*, 28: 7-55.

Minson DJ, 1990. Forage in ruminat nutrition. Academic Pres, San Diego, CA, pp. 482.

Orskov ER, Mcdonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurement weighed according to rate of passage. *J Agric Sci*, 92: 499-503.

Statistica. 1993. Statistica for Windows (Release 4.3), Sat Soft, Inc. Tulsa. OK.

Van Soest PJ. 1963. Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. Rapid method for the determination and lignin. *J Assoc Anal Chem*, 46: 830-835.

Van Soest PJ, Wine RH. 1967. Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. IV. Determination of Plant Cell-Wall Constituents. *J Assoc Anal Chem*, 50: 50-55.

Zinash S, Owen E, Dhanoa MS, Theodorou MK. 1996. Prediction of *in situ* ramen dry matter disappearance of Ethiopian forages from an *in vitro* gas production technique using a pressure transducer, chemical analyses or *in vitro* digestibility. *Anim Feed Sci Technol*, 61: 73-87.