

In Vitro Gaz Üretim Tekniğinde Sonuçları Etkileyen Faktörler

Ünal Kılıç*, B. Zehra Sarıççek

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootečni Bölümü, Samsun

*e-posta: unalk@omu.edu.tr Tel.: (362) 312 19 19 / 13 89; Fax: (362) 457 60 30

Özet

Bu çalışmada, son zamanlarda yemlerin değerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan *in vitro* gaz üretim tekniği (Hohenheim Yem Testi) ile yapılan çalışmaların sonuçlarını etkileyen faktörler üzerinde durulmuştur. Bu tekniğin kullanıldığı çalışmalardan elde edilen bulguların yorumlanmasında ve aynı çeşit yemler için farklı araştırmacılar tarafından elde edilen bulguların birbirleriyle karşılaştırılmasında bazı faktörlerin dikkate alınması gerekmektedir. Bu faktörler; *in vitro* gaz üretim tekniğinde kullanılan hayvanlara, yemlere ve metodun uygulanmasındaki farklılıklara bağlı faktörler olmak üzere üç kısma incelenebilir. Yapılan çalışmalar *in vitro* gaz üretim tekniğinin, yemlerin değerlendirilmesinde rutin olarak kullanılması durumunda yemlerin çok yönlü olarak değerlendirilmesine katkıda bulunacağını, ancak elde edilen sonuçların daha güvenilir olabilmesi için teknikte standardizasyona gidilmesi gerektiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *in vitro*, gaz üretim tekniği, Hohenheim yem testi, standardizasyon

Factors Affecting the Results of Gas Production Technique

Abstract

In this study, the factors affecting the results obtained from *in vitro* gas production technique (Hohenheim Feed Test) were discussed. Some factors must be taken into consideration when interpreting the findings obtained in these studies and also comparing the findings reported by different researchers for the same feeds. These factors were discussed in 3 groups: factors related to animal, factors related to feeds and factors related with differences in the application of method. It can be concluded that the use of *in vitro* gas production technique in feed evaluation routinely can be contributed to the comprehensive feed evaluation, but a standardisation is needed in this technique to attain more reliable results.

Key words: *in vitro*, gas production technique, Hohenheim feed test, standardisation

Giriş

Ruminant beslemede kullanılan yemlerin yem değerlerinin belirlenmesinde *in vivo*, *in vitro* ve *in situ* veya *in sacco* gibi farklı yöntemler kullanılmaktadır. Genelde en güvenilir sonuçlar *in vivo* çalışmalardan elde edilenler olmakla beraber zor, zahmetli ve pahalı olması, çalışmaların uzun zaman alması, deneme şartlarının her zaman kontrol altında tutulmasının güç olması, çok fazla miktarda yem örneğine ihtiyaç duyulması (Ørskov, 1994; Getachew ve ark., 1998) gibi dezavantajları nedeniyle *in vitro* yöntemler daha çok tercih edilmektedir. *In vitro* teknikler genelde ya ürünlerin ya da fermentasyon kalıntılarının ölçümüne dayanmaktadır. En çok kullanılan *in vitro* teknikler; İki Aşamalı Sindirim Tekniği ve Gaz Üretim Tekniğidir.

In vitro Gaz Üretim Tekniği, yemlerin mikrobiyal fermentasyonu sonucu açığa çıkan CO₂ gazının ölçümüne dayanan tekniktir. *In vitro* koşullarda CO₂ gazı üretimi, ya doğrudan yemlerde bulunan karbonhidratların fermentasyonu sonucu ya da karbonhidratların fermentasyonu sonucu ortaya çıkan

uçucu yağ asitlerinin (UYA) tampon çözeltisiyle reaksiyona girmesi sonucu oluşmaktadır (Wolin, 1960).

Rumen fermentasyonu ve gaz üretimi arasındaki ilişki uzun zamandan beri bilinmektedir. Rumende fermentatif gaz ölçüm tekniği uygulamasının 1939'lara dayandığı, bu tekniğin aslında bir mikrobiyal aktivite ölçümü olduğu bildirilmektedir (Getachew ve ark., 1998). Gaz Üretim Tekniği, *in vitro* gaz ölçümü ile *in vivo* sindirilebilirlik arasında yüksek derecede ilişki olduğunu saptayan Menke ve ark. (1979)'nın çalışmasından sonra yemlerin değerlendirilmesinde rutin olarak kullanılacak bir metod olarak kabul edilmiştir. Yemlerin gaz üretim miktarlarının belirlenmesinde farklı gaz ölçüm tekniklerine rastlanılabilmektedir. Günümüzde gaz üretim teknikleri arasında en yaygın olarak kullanılan Hohenheim (Menke) Gaz Üretim Tekniği olup, diğerleri; manometrik metod, el ve bilgisayara dayalı basınç dönüştürme sistemleri ile gaz salınım sisteminin kombinasyonu metodu ve sıvı yer değiştirme sistemi gibi metodlar olarak sıralanmaktadır.

Gaz Üretim Tekniğinde üretilen gaz miktarından faydalanılarak birçok parametre hesaplanabilmektedir. Bu parametreler, hayvanların performansı (Ørskov, 1989), yem tüketimi (Blümmel ve Ørskov, 1993), mikrobiyal protein sindirimi (Krishnamoorthy ve ark., 1991), yemlerin sindirilme derecelerinin belirlenmesi (Menke ve ark., 1979), yemlerin metabolik enerji (ME) ve net enerji (NE) içeriklerinin saptanması (Menke ve Steingass, 1988), rumen protein parçalanabilirliğinin (Raab ve ark., 1983) ve kuru madde parçalanabilirliğinin (Blümmel ve Ørskov 1993) belirlenmesi, yemlerde bulunan beslenmeyi engelleyici fenolik maddelerin (Getachew ve ark., 2004a), yem katkı maddelerinin, yağların (Getachew ve ark., 2001) ve rumen ortamını değiştiren maddelerin rumen fermentasyonu ve yemlerin sindirilebilirliği üzerine etkilerinin incelenmesi (Blümmel, 1994), yemlerin *in vitro* parçalanma hızı ve miktarının belirlenmesi, etkin bir fermentatif aktivite için gerekli olan mikrobiyal N ve karbonhidrat ihtiyaçlarının incelenmesi, rasyonlarda kullanılan yemlerin ortaklaşa etkilerinin ortaya konulması (Sampath ve ark., 1995), rumendeki mikrobiyal popülasyonu etkileyen yemle ilgili faktörlerin incelenmesi yanı sıra hayvansal artık bileşenlerinin ve bunların çevreye etkilerinin belirlenmesi amacıyla da kullanılmaktadır. Ancak, *in vitro* Gaz Üretim Tekniğinin uygulanmasında görülen farklılıklar nedeniyle elde edilen bulguların daha güvenilir olması ve uygulamada yaygın olarak kullanılabilmesi için teknikte standardizasyona gereksinim duyulmaktadır.

Bu çalışma ile son zamanlarda yemlerin değerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan *in vitro* Gaz Üretim Tekniği (Hohenheim Yem Testi) ile yapılan çalışmaların sonuçlarını etkileyen faktörlerin irdelenmesi amaçlanmıştır.

Gaz Üretim Tekniği Çalışmalarında Sonuçları Etkileyen Faktörler

In vitro Gaz Üretim Tekniği kullanılarak yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçların yorumlanmasında ve diğer literatür bildirişleriyle karşılaştırılmalarında sonuçları etkileyen faktörler dikkate alınmalıdır. Bunlar; yeme ait faktörler, hayvana ait faktörler ve metodun uygulanmasına ait faktörler olmak üzere başlıca üç kısımda incelenebilir.

Yeme İlişkin Faktörler

Yemlerin besin maddeleri içerikleri

Yemler arasındaki kimyasal farklılıkların (Ham protein

(HP), Ham selüloz (HS), Ham kül (HK) ile Nitrojensiz öz maddeler (NÖM)) *in vitro* gaz üretimini ve bunlardan elde edilen parametreleri önemli ölçüde etkilediği bilinmektedir (Owensby ve ark., 1996). Yemlerin HP ve NÖM içeriğinin artması gaz üretimini azaltmaktadır (Menke ve Steingass, 1988). Mikrobiyal faaliyetlerin optimum bir şekilde gerçekleşmesi için yemlerde en az %10 HP bulunmalıdır (Norton, 2003). Bu düzeyin altında HP içeren rasyonlarda mikrobiyal aktivitenin azalması nedeniyle gaz üretiminde azalmalar görülebilmektedir. Lifli maddelerin parçalanmasından elde edilen gaz miktarı, nişastanın parçalanmasından elde edilen gaz miktarından daha fazladır (Wolin, 1960). Anonymous (2001), Balley (1958)'e atfen bu durumu, selülozca zengin yemlerin ruminasyon zamanını artırmasına, rumen pH'sının bazik yöne kaymasına dolayısıyla, asetik asit oluşumunu artırmasına bağlamaktadır. Gaz üretimi esas olarak yemlerin UYA'ndan asetik asit ve bütirik asite fermente olması durumunda oluşmaktadır (Wolin, 1960).

Yemlerin hücre duvarı içerikleri (asit çözücülerde çözünmeyen lifli maddeler (ADF), nötr çözücülerde çözünmeyen lifli maddeler (NDF)) ile gaz üretimi arasında, mikrobiyal aktivitenin azalması nedeniyle negatif bir ilişki olduğu görülmekte olup (Abdulrazak ve ark., 2000) NDF içeriğinin artması ile gaz üretim miktarının düştüğü belirlenmiştir (Doane ve ark., 1997; Calabro ve ark., 2001). Bununla birlikte, NDF miktarının artması ile gaz üretiminin arttığı (Mertens ve ark., 1997) ve yemlerin NDF miktarı yanında sindirilebilirliğinin de gaz üretim miktarını doğrusal olarak etkilediği (Pell ve ark., 1997) bildirilmektedir. Dolayısıyla yemlerin NDF içeriklerinin artmasıyla gaz üretim miktarlarının da artacağı ya da azalacağını söylemek her zaman mümkün değildir (Kılıç, 2005).

Yemlerin gaz üretim miktarları ile tanen içerikleri arasında önemli düzeyde ters ilişki olduğu, yemlerin tanen içeriklerinin artması ile gaz üretim miktarlarının da azalacağı bildirilmektedir (Khazaal ve ark., 1994).

Yemlerin tür ve çeşit farklılıkları

In vitro gaz üretim miktarını yemin türü, çeşidi ve tipi etkilemekte (Filya ve ark., 2002; Getachew ve ark., 2004b), ayrıca bitkilerin farklı kısımlarından elde edilen gaz üretim miktarları da birbirinden farklılık gösterebilmektedir (Abdulrazak ve ark., 1999).

Hasat zamanı ve yetiştirme mevsimi

Hasat zamanı ve yetiştirme mevsimi gaz üretimini etkilemekte olup, hasat zamanının gecikmesi ile gaz

üretim miktarının azalacağı (Doane ve ark., 1997; Cone ve ark., 1999; Filya ve ark., 2002; Getachew ve ark., 2004b; Kamalak ve ark., 2005) bilinmektedir. Ancak, en yüksek gaz üretiminin her zaman en erken dönemde hasat edilen bitkilerde görülmediği (Cone ve ark., 1999), en düşük gaz üretiminin de bazen en genç bitkilerde görüldüğü (Mould ve ark., 1999) saptanmıştır.

Yemlere uygulanan işlemler

Yemlere uygulanan işlemlerin gaz üretim tekniğinde elde edilen sonuçları etkilediği (Chenost ve ark., 2001; Kamalak ve ark. 2005), yemleri soldurma, dondurarak kurutma ve öğütme işlemlerinin yemlerin fermentasyon oranını artırdığı (Sanderson ve ark., 1997), ısıtma işlem uygulamalarının ise gaz üretimini azalttığı (Filya ve ark., 2002) bilinmektedir. Çünkü yemlere uygulanan öğütme, ıslatma, buharlama, gevretme, doğrama gibi işlemler sonucu mikroorganizmalar bu yolla parçalanan küçük parçacıklara daha kolay ve yoğun şekilde saldırmaktadırlar.

Otların kurutulması esnasında meydana gelebilecek yaprak kayıpları ve besin maddeleri kayıpları nedeniyle gaz üretim miktarlarında değişiklikler görülebilmektedir (Chenost ve ark., 2001). Ayrıca aynı yeme ait silajlarda gaz üretimi kuru otlarinkine kıyasla daha düşük olmaktadır (Mertens ve ark., 1997; Filya ve ark., 2002; Getachew ve ark., 2004b; Kılıç, 2005).

Örnek miktarı ve büyüklüğü

Gaz üretim tekniğinde kullanılan örnek miktarının artması, tamponun tükenmesine ve birim substrat başına düşen mikroorganizma sayısının azalmasına, bunun sonucunda gaz üretiminde düşmeye neden olmakta (Cone ve ark.,1996), öğütme büyüklüğünün azalması ise gaz üretimini artırmaktadır (Mould ve ark., 2000). Cone ve ark. (1996) *in vitro* sistemlerde inkübe edilen yem miktarının tamponlanmış rumen sıvısı hacmine göre ayarlanması gerektiğini belirtmişlerdir.

Yemlerin fermente olabilir substrat oranı

Yemlerin *in vitro* gaz üretimleri arasındaki farklılıklar, yemlerdeki fermente olabilir substrat oranı ile ilişkili olup (Abaş ve ark., 2005), hızlı fermente olabilen materyaller (arpa, buğday vb.) hazır enerji kaynağı olarak kullanıldığından rumen mikroorganizmalarının aktivitesini teşvik ederek kaba yemlerin sindirimini hızlandırmakta ve inkübasyonun erken aşamalarında gaz üretimini artırmaktadır (Sampath ve ark.,1995).

Hayvana İlişkin Faktörler

Hayvan türlerinin etkisi

Aynı yemlerle beslenen koyun ve sığırlardan alınan

rumen sıvılarının farklı aktiviteye sahip olabileceği (Goncalves ve Borba, 1996) ve koyunlardan alınan rumen içeriğinin mandalardan alınan rumen içeriğine kıyasla özellikle orta süreli inkübasyonlarda daha yüksek aktiviteye sahip olduğu (Calabro ve ark., 2005) bildirilmektedir. Zaten enerji içerikleri ve organik madde sindirilebilirlik değerleri orta süreli inkübasyonlar (24 saat) sonrasında elde edilmektedir, bu bağlamda rumen sıvısının alındığı hayvan türü önem taşımaktadır. Ancak Znidarsic ve ark. (2003), Gaz Üretim Tekniğinde kullanılan farklı hayvan türlerinin (sığır ve koyun) sonuçları etkilemediğini bildirmişlerdir. Ayrıca aynı türe ait farklı hayvanlardan alınan rumen sıvıları arasında gaz üretim miktarları bakımından önemli farklılıklar görülmüş (Menke ve Steingass, 1988; Mertens ve ark., 1997) ve en yüksek gaz üretimi ise bütün hayvanlardan alınan rumen sıvılarının karıştırılması durumunda elde edilmiştir (Mertens ve ark., 1997).

Hayvanların beslenmesi

Rumen şartlarının değişmesinin gaz üretimini etkilediği bilindiğinden (Menke ve Steingass, 1988) rumen sıvısının elde edildiği hayvanlara (döner hayvanlar) verilen diyet büyük önem taşımaktadır (Mertens ve ark., 1997). Verici hayvanların beslenmesinde yoğun yem miktarının artması durumunda amilolitik bakterilerin sayısı artmakta, selüolitik bakterilerin çalışması yavaşlamakta ve zamanla ham selülozun sindirimi düşebilmektedir.

Karslı ve Taşal (2003) yaptıkları çalışmada, rumen NH₃-N miktarlarının verici hayvanların beslenmesinde kullanılan rasyona bağlı olarak değiştiğini, rumen NH₃-N miktarının yemlemeden önce düşük değerler gösterirken, yemleme ile artış gösterdiğini ve yemlemeden 2-4 saat sonra tekrar düşüşe geçtiğini bildirmektedirler. Gaz üretim tekniğinde kullanılan rumen sıvısının standart olması için rumen NH₃-N miktarının da normal sınırlarda olması gerekmektedir. Çalışmalarda kullanılan rumen sıvısına ait NH₃-N miktarlarının belirtilmesi elde edilen bulguların değerlendirilmesinde önem taşımaktadır.

Kaba yem ağırlıklı rasyonla beslenen hayvanlarda rumen pH değerinin artmasıyla gaz üretimi de artmış (Lana ve ark., 1998) ancak sadece samanla beslenen koyunlardan alınan rumen sıvısının kullanıldığı çalışmada toplam gaz üretiminde % 25 azalma görülmüş (Menke ve Steingass, 1988), pelet yem oranının ot oranından fazla olduğu diyetlerde ise gaz üretim miktarında artış saptanmıştır (Nagadi ve ark.,

2001). Kesif yemlerce zengin yemleme sonrasında rumende propiyonik asit miktarının artması, asetik asit miktarının azalması nedeniyle gaz üretimi gerilemektedir (Getachew ve ark., 1998). Diyetlerdeki yağ asitleri diyetin % 25'ini aştığı zamanlarda ise, yağ asitlerindeki potasyum tuzları gaz üretimini azaltmaktadır (Getachew ve ark., 2001). Bu bakımdan yemlerin yağ asitleri içerikleri ile potasyum tuzu içerikleri de araştırılmalıdır. Ayrıca Öğretmen (1991)'in Hieronymi (1987)'ye atfen bildirdiği gibi, rasyona antibiyotik katılması oluşan gaz miktarını etkilemektedir. Dolayısıyla deneme hayvanlarının beslenmesindeki farklılıklar sonuçları etkilemektedir. Menke ve Steingass (1988) tarafından Steingass (1983) ile Steingass ve Menke (1986)'ye atfen *in vitro* çalışmalarda kullanılan rumen sıvısının alındığı hayvanların, hem selülitik hem de amilolitik mikroorganizma dengesinin sağlanması için % 40–50 yoğun yem ve % 50–60 kaba yem içeren rasyonlarla beslenmeleri gerektiği bildirilmiştir. Das ve Singh (1999) ise % 60 kuru ot, % 40 kesif yem oranlarının yeterli olacağını belirtmişlerdir. Yapılan çalışmalarda elde edilen bulguların karşılaştırılmasında bu husus mutlaka belirtilmelidir.

Rumen sıvısının özellikleri

Rumen sıvısının özelliği, Gaz Üretim Tekniğinde elde edilen sonuçları önemli düzeyde etkilemektedir (Mertens ve ark., 1997; Mauricio ve ark., 2001). Bu bakımdan, rumen sıvısının etkinliğinin korunması için hayvan seçimi, rumene kanül takılması, hayvanlara verilecek yemin bileşimi ve miktarı, uygun yemlemenin yapılması, hayvanların su tüketimi, rumen pH'sı, rumen sıvısının anaerobik koşullarının bozulmasına özen göstererek laboratuvar şartlarına taşınması, kullanılan yemlerin partikül büyüklüğü gibi birçok koşulun yerine getirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır (Valentin ve ark., 1999).

In vitro Gaz Üretim Tekniği çalışmalarda kullanılan rumen içeriği olarak katı faz kullanıldığında sıvı faza göre daha yüksek gaz üretimi saptanmaktadır (Muetzel, 2001). Aynı yem için yapılan karşılaştırmalarda, bazı araştırmacıların rumen katı fazını, bazılarının sıvı fazı kullanması yanlış yorumlara neden olabilmektedir. Ayrıca, gaz üretim hızı rumen mikroorganizmalarının miktar ve mevcudiyetleri ile ilişkili olarak değişmektedir (Mauricio ve ark., 2001).

Rumen sıvısı: tampon oranının 1:2'den fazla olması durumunda rumen sıvısının gaz üretimine katkısı tam olarak belirlenemeyeceğinden (Cone ve ark., 1997)

çalışmalarda bu oranın korunması önerilmektedir.

Farklı günlerde alınan rumen sıvısının aktivitesindeki farklılığa bağlı olarak *in vitro* gaz üretiminde de farklılıklar görülebilmektedir (Beuvink ve Spoelstra, 1992). Gaz Üretim Tekniği çalışmalarda rumen sıvısının alındığı hayvanların yemleme şekli ve açlık süresi rumen aktivasyonunu değiştirmemekte, fakat oluşan gaz üretimi üzerinde etkili olmaktadır. Rumen sıvısı aktivitesinin en yüksek düzeyine, yem tüketiminden 6 saat sonrasında ulaşılmakta, bundan sonra aktivasyon azalma eğilimi göstermektedir. Öğretmen (1991) tarafından Chung (1985) ile Steingass ve Menke (1986)'ye atfen, 16 saat süren açlık döneminden sonra alınan rumen sıvısı aktivitesinin yemlemeden hemen sonra alınana göre yaklaşık % 50 kayba uğradığı bildirilmektedir.

Rumen şartları

Rumen sıvısına ait pH ve sıcaklığın, selülitik bakterilerin gelişmesi için gereken uygun düzeyin altına düşmesi gaz üretimini de düşürmektedir (Russell ve Dombrowski, 1980). Gaz üretim miktarını rumen asetik asit:propiyonik asit oranları, pH'daki değişimler etkilemekte olup (pH 6.2'nin altına düştüğü durumlarda gaz üretiminde azalmalar olmaktadır) pH tamponun tükenmesine bağlı olarak düşmekte ve mikrobiyal aktivitede azalmalar görülmekte (Beuvink ve Spoelstra, 1992), dolayısıyla gaz üretimi azalmaktadır (Ørskov, 1994; Filya ve ark., 2002). *In vitro* çalışmalarda şırıngalardaki pH'nın düşmesi tamponlanmış rumen sıvısının tükendiğini göstermektedir.

Rumen UYA miktarı

Rasyonun yapısı, yemin formu, rumen pH'sı, yemin olgunluk dönemi ve biçim zamanı, hayvan türü, ölçümlerin yapılma zamanı ile yemlere uygulanan işlemler UYA miktarlarını etkilemektedir (Ørskov, 1994). Bilindiği gibi UYA miktarı da gaz üretimini etkilemektedir (Menke ve Steingass, 1988). Yağlar ise rumen fermentasyonunda UYA konsantrasyonunu azaltmakta dolayısıyla gaz üretimini düşürmektedir (Wettstein ve ark., 2000). Bu bakımdan yemlerdeki yağ oranlarının sonuçları etkilediği dikkate alınmalıdır.

Metodun Uygulanmasına İlişkin Faktörler

Araştırmacılara ait farklı uygulamalar

Gaz üretim tekniğinin uygulanmasında farklı araştırmacılar tarafından farklı uygulamalar yapıldığı görülmektedir (Çizelge 1). Bu uygulamalardaki farklılıklar (rumen sıvısının alınma zamanı, rumen

Çizelge 1. Farklı araştırıcılar tarafından gaz üretim tekniği uygulamaları

Özellik	Menke ve ark. (1979)	Blümmel (1994)	Theodorou ve ark. (1994)	Cone ve ark. (1996)	Kılıç (2005)
Rumen içeriği	Sıvı faz	Sıvı + katı faz	Sıvı + katı faz	Sıvı faz	Sıvı faz
Rumen sıvısı toplama zamanı	Yemleme öncesi	Yemleme öncesi	Yemleme öncesi	Yemlemeden 2 saat sonra	Yemleme öncesi
İnkübasyona alınan rumen sıvısı	10 ml	10 ml	10 ml	20 ml	10 ml
Örnek miktarı, mg	200-300	500	500-1000	400-500	200-300
Örnek miktarı (mg): Rumen sıvısı (ml)	100:5	100:2	100:5	100:4	100:4
Şırınga/şişe hacmi	100 ml	100 ml	125 ml	250 ml	100 ml
İnkübasyon yeri	Rotor içinde şırıngalarda	Su banyosunda şırıngalarda	İnkübatör içinde şişelerde	Su banyosunda şişelerde	Su banyosunda şırıngalarda

İçeriği (sıvı faz, katı faz), inkübasyona alınan rumen sıvısı miktarı, örnek miktarı, örnek miktarı: rumen sıvısı oranı, kullanılan şırıngaların özellikleri, inkübasyon yeri vb.) gaz üretim miktarını da etkilemektedir. Elde edilen sonuçların karşılaştırılmasında birçok faktör dikkate alınmalıdır. Nitekim Getachew ve ark. (2002), farklı coğrafik bölgelerde yer alan laboratuvarlarda gaz üretim tekniği kullanarak elde edilen değerlerin, denemede kullanılan hayvanlar (tür, sayı, ırk, yaş, içerisinde bulunduğu fizyolojik durum, beslenmelerinde kullanılan yemlerin farklılığı), rumen sıvısının alınma zamanı ve süzülmesi işlemindeki farklılıklar ile inkübasyonun yapıldığı ortamdaki (rotor-su banyosu) ve değişik birçok faktörden kaynaklanan nedenlerden dolayı aynı yemler için farklı olabildiğini bildirmişlerdir.

Kullanılan tamponun özelliği ve atmosferik basınç farkı

Gaz üretim tekniğinde tampon olarak yüksek fosfatlı tamponların kullanılmasının gaz üretimini azalttığı (Schofield, 2000) ve atmosferik basınç farkının gaz üretimlerinde sonuçları etkilediği (Williams, 2000) bilinmektedir.

Ölçümlerin yapılma zamanı

Aynı yem için farklı zamanlarda ölçülen gaz üretimleri arasında, farklı günlerde alınan rumen sıvısının aktivitelerindeki farklılığa bağlı olarak (Öğretmen 1991; Beuvinck ve Spoelstra, 1992) önemli değişikliklere rastlanılmıştır. Bu nedenle yemler en az iki farklı günde inkübe edilmelidir.

Düzeltilme faktörü uygulaması

Gaz üretim tekniği çalışmalarında hayvanların beslendiği yemlere göre gerek kuru ot ve gerekse kesif

yem karışımları için düzeltmeler yapılması önerilmektedir. Bu düzeltmeler sonrasında gerçek gaz üretim değerleri belirlenmektedir. Gaz Üretim Tekniğinde paraleller arasında %10 varyasyon olabilmektedir. Bu nedenle, Gaz Üretim Tekniği çalışmalarında yemlere ait paraleller ve farklı laboratuvarlarda aynı yemlere ait değerler arasındaki farklılığı azaltmak için standart yem örneği kullanılmalı ve düzeltme uygulanmalıdır (Znidarsic ve ark., 2003). Elde edilen düzeltme katsayılarının kullanılması, Gaz Üretim Tekniğinde sonuçları standardize etme bakımından önem taşımaktadır. Bu bakımdan Gaz Üretim Tekniği çalışmalarında düzeltme faktörü uygulanması önerilmektedir.

Şırıngalarda biriken hava kabarcıkları

In vitro gaz üretim tekniğinde kullanılan şırıngalarda biriken küçük hava kabarcıklarının göz ardı edilmesinin çalışmaların sonuçlarını değiştirmeyeceği (Menke ve Steingass, 1988) ve yem tüketimi sırasında yemle birlikte alınan oksijenin normal rumen fermentasyonunu etkilemediği (Öğretmen (1991) tarafından Menke ve Huss (1975–1980)'a atfen) bilinmektedir. Ancak kullanılan rumen sıvısının oksijen almamasına özen gösterilmesi gerekmektedir (Valentin ve ark., 1999).

Farklı matematiksel model ve eşitliklerin kullanılması

Gaz üretim parametrelerinin hesaplanmasında kullanılan modellerin farklı olması, elde edilen sonuçları etkilemektedir (Kamalak ve ark., 2004; Calabro ve ark., 2005). ME ve net enerji laktasyon değerlerinin hesaplanmasında çok değişik eşitlikler kullanılabilir (Menke ve Steingass, 1988) ve kullanılan eşitliklere

göre yemler farklı şekilde sıralanmaktadır (Kamalak ve ark., 2004). Tamamen araştırmacılara bağlı olan bu seçim sonrasında, aynı parametreler için farklı değerler saptanabildiğinden karşılaştırmalarda mutlaka çalışmalarda kullanılan matematiksel model ve eşitlikler belirtilmelidir.

Sonuç

In vitro Gaz Üretim Tekniğinde sonuçları etkileyen birçok faktör söz konusu olabilmektedir. Teknikte standardizasyon uygulamasına yönelik çalışmalara acilen ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla beraber, yemlerin besleme değerlerinin ortaya konulmasında *in vitro* Gaz Üretim Tekniğinin tek başına kullanılmasının hatalara neden olabileceği ve Gaz Üretim Tekniğinin “artık belirlenmesi” aşaması ile desteklenmesi önerilmektedir. Yemlerin değerlendirilmesinde *in vitro* Gaz Üretim Tekniği rutin olarak kullanılabilir bir metottur. Ancak, yapılacak çalışmalarda araştırmacılar yukarıda anlatılan faktörleri göz önünde bulundurmalı ve çalışmalarında kullandıkları materyal ve metot kısımlarını detaylı bir şekilde vermelidirler. *In vitro* Gaz Üretim Tekniği sonuçlarını etkileyen faktörlerin etkilerinin azaltılmasına yönelik çalışmalar yapılmalı, bu çalışmalar konunun uzmanı bilim adamlarınca tartışılmalı ve tekniğin standardizasyonu için alınacak ortak kararlar duyurulmalıdır.

Kaynaklar

Abaş, İ., Özpınar, H., Kutay, H.C., Kahraman, R., Eseceli, H. 2005. Determination of metabolizable energy (ME) and net energy lactation (NE_L) contents of some feeds in the Marmara Region by *in vitro* gas technique. Turk J. Vet. Anim. Sci. 29: 751–757.

Abdulrazak, S.A., Awano, T., Ichinohe, T., Fujihara, T., Nyangaga, J. 1999. Nutritive evaluation of prosopis juliflora fruits and leaves from Kenya: Chemical composition and *in vitro* gas production. Proceedings Bri. Soc. Anim. Sci. pp 146.

Abdulrazak, S.A., Fujihara, T., Ondilek, J.K., Ørskov, E.R. 2000. Nutritive evaluation of some Acacia tree leaves from Kenya. Anim. Feed Sci. Technol. 85: 89–98.

Anonymous 2001. From Feed To Milk: Understanding Rumen Function. <http://www-das.cas.psu.edu/den/catnut/422/index.html> (02.08.2001).

Beuvink, J.M.W., Spoelstra, S.F. 1992. Interactions between substrate, fermentation end products, buffering systems and gas production upon fermentation of different carbohydrates by mixed rumen microorganisms *in vitro*. Appl. Microbiol. Biotech. 37: 505–509.

Blümmel, M., Ørskov, E.R. 1993. Comparison of *in vitro* gas production and nylon bag degradabilities of roughages in predicting food intake of cattle. Anim. Feed Sci. Technol. 40: 109–119.

Blümmel, M. 1994. Relationship between kinetics of storer fermentation as described by the Hohenheim *in vitro* gas production test and voluntary feed intake of 54 cereal storer. PhD Thesis, Hohenheim University.

Calabro, S., Infascelli, F., Bovera, F., Moniello, G., Piccolo, V. 2001. *In vitro* degradability of three forages: fermentation kinetics and gas production of NDF and neutral detergent-soluble fraction of forages. J. Sci. Food Agric. 82: 222–229.

Calabro, S., Lopez, S., Piccolo, V., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S., France, J. 2005. Comparative analysis of gas production profiles obtained with buffalo and sheep ruminal fluid as the source of inoculum. Anim. Feed Sci. Technol. 123–124: 51–65.

Chenost, M., Aufrere, J., Macheboeuf, D. 2001. The gas-test technique as tool for predicting the energetic value of forage plants. Anim. Res. 50: 349–364.

Cone, J.W., Van Gelder, A.H., Visscher, G.J.W., Oudshoorn, L. 1996. Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. Anim. Feed Sci. Technol. 61: 113–128.

Cone, J.W., Van Gelder, A.H., Driehuis, F. 1997. Description of gas production profiles with a three-phasic model. Anim. Feed Sci. Technol. 66: 31–45.

Cone, J.W., Van Gelder, A.H., Soliman, I.A., De Visser, H., Van Vuuren, A.M. 1999. Different techniques to study rumen fermentation characteristics of maturing grass and grass silage. J. Dairy Sci. 82: 957–966.

Das, A., Singh, G.P. 1999. Effect of different levels of berseem (*Trifolium alexdrinum*) supplementation of wheat straw on some physical factors regulating intake and digestion. Anim. Feed Sci. Technol. 81 (1–2): 133–149.

Doane, P.H., Schofield, P., Pell, A.N. 1997. Neutral detergent fiber disappearance and gas and volatile fatty acid production during the *in vitro* fermentation of six forages. J. Anim. Sci. 75: 3342–3352.

Filya, İ., Karabulut, A., Canbolat, Ö., Değirmencioglu, T., Kalkan, H. 2002. Bursa bölgesinde yetiştirilen yem hammaddelerinin besleme değeri ve hayvansal organizmada optimum değerlendirme koşullarının *in vivo* ve *in vitro* yöntemlerle saptanması üzerinde araştırmalar. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bilimsel araştırmalar ve incelemeler serisi. No:25, Bursa, 1-16s.

- Getachew, G., Blümmel, M., Makkar, H.P.S., Becker, K. 1998. *In vitro* gas measuring techniques for assesment of nutritional quality of feeds: a review. Anim. Feed Sci. Technol. 72: 261–281.
- Getachew G., DePeters E.J., Robinson, P.H., Taylor, S.J. 2001. *In vitro* rumen fermentation and gas production: influence of yellow grease, tallow, corn oil and their potassium soaps. Anim. Feed Sci. Technol. 93: 1–15.
- Getachew, G., Crovetto, G.M., Fondevila, M., Singh, B., Spanghero, M., Steingass, H., Robinson, P.H., Kailas, M.M. 2002. Laboratory variation of 24 h *in vitro* gas production and estimated metabolizable energy values of ruminant feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 102: 169-180.
- Getachew, G., Robinson, P.H., DePeters, E.J., Taylor, S.J. 2004a. Relationships between chemical composition, dry matter degradation and *in vitro* gas production of several feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 111(1–4): 57–71.
- Getachew, G., DePeters, E.J., Robinson, P.H. 2004b. *In vitro* gas production provides effective method for assessing ruminant feeds. California Agriculture, 58 (1): 54–58. (<http://calag.ucop.edu/0401jfm/pdfs/ruminant.pdf>)
- Goncalves, L.M.B., Borba, A.E.S., 1996. Study of gas production capacity by three sources of inocula. J. Agric. Sci. (Camb.) 127: 511–515.
- Kamalak, A., Canbolat, O., Gurbuz, Y., Ozay, O., Ozkose, E. 2004. Variation in metabolizable energy content of forages estimated using *in vitro* gas production technique. Pakistan J. Biol. Sci. 7(4): 601–605.
- Kamalak, A., Canbolat, O., Gurbuz, Y., Özkan, C.Ö., Kizilsimsek, M. 2005. 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.
- Karşlı, M.A., Taşal, T. 2003. Ruminantlarda fındık küspesinin mikrobiyal protein sentezi üzerine etkisinin soya fasülyesi küspesiyle karşılaştırılması. II. Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, 18–20 Eylül 2003, Konya, s. 397–402.
- Khazaal, K., Boza, J., Ørskov, E.R. 1994. Assesment of phenolics-related anti-nutritive effects in Mediterranean browse: a comparison between the use of the *in vitro* gas production technique with or without polyvinylpyrrolidone or nylon bag. Anim. Feed Sci. Technol. 49: 133–149.
- Kılıç, Ü. 2005. Ruminant Beslemede Kullanılan Bazı Yem Hammaddelerinin *in vitro* Gaz Üretim Tekniği Kullanılarak Bazı Fermentasyon Ürünlerinin ve Enerji İçeriklerinin Belirlenmesi. Ondokuz Mayıs Üniv. Fen Bil. Enst. (Basılmamış Doktora Tezi) Samsun.
- Krishnamoorthy, H., Steingass, H., Menke, K.H. 1991. Preliminary observations on the relationships between gas production and microbial protein synthesis *in vitro*. Archiv Tierernahrung, 41: 521–526.
- Lana, R.P., Russell, J.B., Van Amburgh, M.E. 1998. The role of pH in regulating ruminal methane and ammonia production. J. Anim. Sci. 76: 2190–2196.
- Mauricio, R.O., Owen, E., Mould, F.L., Givens, I., Theodorou, M.K., France, J., Davies, D.R., Dhanoa, M.S. 2001. Comparison of bovine rumen liquor and bovine faeces as inoculum for an *in vitro* gas production technique for evaluating forages. Anim. Feed Sci. Technol. 89: 33–48.
- Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedingstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. J. Agric. Sci. Camb. 93: 217–222.
- Menke, K.H., Steingass, H. 1988. Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and *in vitro* gas production using rumen fluid. Anim. Res. Devel. Separate Print, 28: 7-55.
- Mertens, D.R., Weimer, P.J., Waghorn, G.C. 1997. Inocula differences affect *in vitro* gas production kinetics. USA Dairy Forage Research Center, 1997 Research Summaries, p.53–54.
- Mould, F.L., Smith, T., Owen, E., Phipps, R.H. 1999. The relationship between DOMD and gas release estimated *in vitro* using the reading pressure technique system for maize silages of different maturity. Proceedings Bri Soc. Anim. Sci., p. 150.
- Mould, F.L., Colombatto, D., Owen, E. 2000. The impact of particle size on the rate and extent of *in vitro* fermentation investigated using the reading pressure technique. Proceedings Bri. Soc. Anim. Sci., p. 61.
- Muetzel, S. 2001. Influence of tropical supplemental feeds on the composition and activity of rumen microorganisms, quantified by oligonucleotide probes. Aus dem Institut für tierproduktion in den tropen und subtropen der universitat Hohenheim. PhD thesis.
- Nagadi, S., Herrero, M., Jessop, N.S. 2001. The influence of diet of the donor animal on the initial bacterial concentration of ruminal fluid and *in vitro* gas production degradability parameters. Anim. Feed Sci. Technol. 93 (3–4): 177–192.
- Norton, B.W. 2003. The nutritive value of tree legumes. <http://www.fao.org/ag/AGP/AGPC/doc/Pub/licat/Gutt-shel/x5556e0j.htm>, pp. 1–10, (23.10.2003).

- Ørskov, E.R. 1989. Recent advances in evaluation of roughages as feeds for ruminants. In: Farel D.J.(ed): Advances in animal nutrition. University of New England Printery, Armidale, pp. 102–108.
- Ørskov, E.R. 1994. Recent advances in understanding of microbial transformation in ruminants. Livest. Prod. Sci. 39: 53–60.
- Owensby, C.E., Cochran, R.C., Auen, L.M. 1996. Effect of elevated carbon dioxide on forage quality for ruminants. In Carbon Dioxide, Populations, and Communities, (edited by Körner, C. Et al.) San Diego: Academic Pres, pp. 363–371.
- Öğretmen, T. 1991. Geviş getirenlerin beslenmesinde kullanılan önemli bazı yemlerin NE_L içeriklerinin *in vivo* ve *in vitro* yöntemleri ile saptanması. Ege Üniv. Fen Bil. Enst. (Doktora tezi), İzmir.
- Pell, A.N., Doane, P.H., Schofield, P. 1997. In vitro digestibility and gas production. <http://www.sbz.org.br/anais1997/simp/palest7.pdf> (15.10.2004).
- Raab, L., Cafantaris, B., Jilg, T., Menke, K.H. 1983. Rumen protein degradation and biosynthesis: I. A new method for determination of protein degradation in the rumen fluid *in vivo*. Br. J. Nutr. 50: 569–582.
- Russell, J.B., Dombrowski, D.B. 1980. Effect of pH on the efficiency of growth by pure cultures of rumen bacteria in continuous culture. App. Environ. Microbiol. 39: 604–610.
- Sampath, K.T., Wood, C.D., Prasad, C.S. 1995. Effect of urea and by-products on the *in vitro* fermentation of untreated and urea treated finger millet (*Eleusine coracana*) straw. J. Sci. Food Agric. 67: 323–328.
- Sanderson, R., Lister, S., A, S., Dhanoa, M. 1997. Effect of particle size on *in vitro* fermentation of silages differing in dry matter content. Proceedings Bri. Soc. Anim. Sci. Scarborough, p. 197.
- Schofield, P. 2000. Gas production methods. In: J.P.F. D'Mello (Editors), Farm Animal Metabolism and Nutrition. CAB International, Wallingford, pp. 209–232.
- Theodorou, M.K., Williams, B.A., Dhanoa, M.S., McAllan, A.B., France, J. 1994. A simple gas production method to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Anim. Feed Sci. Technol. 48: 185–197
- Valentin S.F., Wiliams P.E.V., Forbes, J.M, Sauvant D. 1999. Comparison of the *in vitro* gas production technique and the nylon bag degradability technique to measure short and long-term processes of degradation of maize silage in dairy cows. Anim. Feed Sci. Technol. 78: 81–99.
- Wettstein H.R., Machmuller, A., Kreuzer, M. 2000. Effects of raw and modified canola lecithins compared to canola oil, canola seed and soy lecithin on ruminal fermentation measured with rumen simulation technique. Anim. Feed Sci. Technol. 85 (3–4) 153–169.
- Williams, B.A. 2000. Cummulative gas-production techniques for forage evaluation. In: D.I. Givens, E. Owen, R.F.E. Axford and H.M. Omed (Editors), Forage Evaluation in Ruminant Nutrition. CAB International, Wallingford, pp. 189–213.
- Wolin, M.J. 1960. A theoretical rumen fermentation balance. J. Dairy Sci. 43: 1452–1459.
- Znidarsic, T., Verbic, J., Babnik, D. 2003. The importance of the standard sample for accurate estimation of the concentration of net energy for lactation in feeds on the basis of gas produced during the incubation of samples with rumen liquor. J. Central European Agric. (online). 4 (2): 79–88.